(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103547598 A
(43)申请公布日 2014.01.29

(21)申请号 201280019977.7

(22)申请日 2012.02.24

(30)优先权数据
61/446,326 2011.02.24 US
61/470,848 2011.04.01 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2013.10.23

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2012/026602 2012.02.24

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2012/116317 EN 2012.08.30

(71)申请人 梅里麦克制药股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 张波 查尔洛特·麦克唐纳格
亚历山大拉·胡哈洛夫

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责任公司 11240
代理人 余刚 张英

(51)Int.Cl.
C07K 16/30(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
C12P 21/08(2006.01)

权利要求书4页 说明书30页 附图39页

(54)发明名称

包含抗-ERBB3药剂的联合治疗

(57)摘要

公开的是用于抑制受试者中肿瘤(例如,恶性肿瘤)的生长的方法和组合物。特别是,通过共同给予亦或i)有效量的抗雌激素药剂亦或ii)有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂和有效量的双特异性抗ErbB2/抗ErbB3抗体,以及可选地有效量的曲妥珠单抗用于治疗受试者中肿瘤的联合治疗。还公开的是用于在肿瘤的治疗中与亦或i)抗雌激素药剂亦或ii)受体酪氨酸激酶抑制剂,以及可选地与曲妥珠单抗组合使用的双特异性抗ErbB2/抗ErbB3抗体。

CN 103547598 A

1. 一种用于治疗患有恶性肿瘤的受试者的方法，所述方法包括将亦或 i）有效量的抗雌激素药剂亦或 ii）有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂和有效量的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体、以及可选地有效量的曲妥珠单抗共同给予受试者。

2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与亦或 i 亦或 ii、以及可选地与有效量的曲妥珠单抗的组合，特征在于如下：当制备包含所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体（在第一浓度下）与亦或所述抗雌激素药剂（在第二浓度下）亦或所述受体酪氨酸激酶抑制剂（在第三浓度下）的组织培养基，并且将所述培养基与细胞培养物中的细胞系的癌细胞接触时，抑制细胞生长或细胞增殖或所述细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或提高所述培养物中凋亡的细胞的百分比。

3. 根据权利要求 2 所述的方法，其中，抑制细胞生长或细胞增殖或所述细胞中 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或将所述培养物中凋亡的细胞的百分比提高至高于当细胞培养物中所述细胞系的癌细胞与以下接触时：a）第二培养基即与权利要求 2 所述的培养基基本上相同，除了不包含双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体，和 b）第三培养基即与权利要求 2 所述培养基基本上相同，除了不包含任何抗雌激素药剂并且不包含任何受体酪氨酸激酶抑制剂，抑制细胞生长或细胞增殖或细胞中 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或提高所述培养物中凋亡的细胞的百分比的程度。

4. 根据权利要求 2 或权利要求 3 所述的方法，其中，所述细胞系是 BT474-M3。

5. 根据权利要求 2、3、和 4 中任一项所述的方法，其中，所述培养物是球体培养物。

6. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所有的有效量是亦或小鼠有效量亦或人类有效量。

7. 根据权利要求 6 所述的方法，其中，所有的有效量是小鼠有效量，并且亦或 i 亦或 ii 和所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体的组合其特征在于如下：当共同给予至具有测定体积的肿瘤的携带 BT474-M3 异种移植肿瘤的小鼠时，在抑制肿瘤体积增长方面在共同给予治疗的 32 天之后，治疗剂的所述组合比给予小鼠有效量的所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体而没有共同给予 i）或 ii）更有效。

8. 根据权利要求 7 所述的方法，其中，所述小鼠有效量的曲妥珠单抗与所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体被共同给予。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法，其中，所述共同给予至受试者并不在所述受试者中产生药物 - 药物相互作用介导的毒性。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述共同给予至受试者产生基本上加性或超加性的效果。

11. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的方法，其中，所述抗雌激素药剂是雌激素受体拮抗剂或芳香酶抑制剂。

12. 根据权利要求 11 所述的方法，其中，所述雌激素受体拮抗剂是氟维司群或他莫昔芬。

13. 根据权利要求 11 所述的方法，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑、依西美坦、阿那曲唑、氨鲁米特、睾内酯酮、伏氯唑、福美司坦、或法倔唑。

14. 根据权利要求 13 所述的方法，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

15. 根据权利要求 1 至 14 中任一项所述的方法，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3

抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列。

16. 根据权利要求 1 至 15 中任一项所述的方法，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体选自由 A5-HSA-ML3.9、ML3.9-HSA-A5、A5-HSA-B1D2、B1D2-HSA-A5、B12-HSA-B1D2、B1D2-HSA-B12、A5-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-A5、H3-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-H3、F4-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-F4、B1D2-HSA-H3 和 H3-HSA-B1D2 所组成的组中。

17. 根据权利要求 1 至 16 中任一项所述的方法，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是埃罗替尼、阿法替尼、达沙替尼、吉非替尼、伊马替尼、帕唑帕尼、拉帕替尼、舒尼替尼、尼洛替尼或索拉非尼。

18. 根据权利要求 1 至 17 中任一项所述的方法，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

19. 根据权利要求 18 所述的方法，其中，通过包含 14 天给药时间表的给药方案给予所述拉帕替尼，并且其中间断地给予所述拉帕替尼。

20. 根据权利要求 19 所述的方法，其中，在所述 14 天给药时间表的第 1 至 3 天、第 1 至 4 天、第 1 至 5 天、第 1 至 6 天、或第 1 至 7 天时给予所述拉帕替尼。

21. 根据权利要求 20 所述的方法，其中，在所述 14 天给药时间表的第 1 至 5 天时给予所述拉帕替尼。

22. 根据权利要求 19 至 21 中任一项所述的方法，其中，以 2000mg/ 天至 9000mg/ 天之间的剂量给予所述拉帕替尼。

23. 根据权利要求 22 所述的方法，其中，所述剂量是 3000mg/ 天。

24. 根据权利要求 19 至 23 中任一项所述的方法，其中，在所述 14 天给药周期的第 1 天给予的所述拉帕替尼的剂量包含负荷剂量。

25. 根据权利要求 1 至 24 中任一项所述的方法，进一步包含有效量的卡培他滨和 / 或顺铂。

26. 一种用于在恶性肿瘤的联合治疗中使用的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体，其中，所述联合治疗包括同时使用亦或 i）抗雌激素药剂亦或 ii）受体酪氨酸激酶抑制剂并且可选地包括使用曲妥珠单抗。

27. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，其中，所述抗雌激素药剂是雌激素受体拮抗剂或芳香酶抑制剂。

28. 根据权利要求 26 或 27 所述的联合治疗，其中，所述雌激素受体拮抗剂是氟维司群或他莫昔芬。

29. 根据权利要求 26 或 27 所述的联合治疗，其中，所述抗雌激素药剂是选自由来曲唑、依西美坦、阿那曲唑、氨鲁米特、睾内酯酮、伏氯唑、福美司坦、和法倔唑所组成的组中的芳香酶抑制剂。

30. 根据权利要求 26、27、和 29 中任一项所述的联合治疗，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

31. 根据权利要求 26 至 30 中任一项所述的联合治疗，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的所述氨基酸序列。

32. 根据权利要求 26 至 31 中任一项所述的联合治疗，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体选自由 A5-HSA-ML3.9、ML3.9-HSA-A5、A5-HSA-B1D2、B1D2-HSA-A5、

B12-HSA-B1D2、B1D2-HSA-B12、A5-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-A5、H3-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-H3、F4-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-F4、B1D2-HSA-H3 和 H3-HSA-B1D2 所组成的组中。

33. 根据权利要求 26 至 32 中任一项所述的联合治疗，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂选自由埃罗替尼、阿法替尼、达沙替尼、吉非替尼、伊马替尼、帕唑帕尼、拉帕替尼、舒尼替尼、尼洛替尼和索拉非尼所组成的组中。

34. 根据权利要求 26 至 33 中任一项所述的联合治疗，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

35. 根据权利要求 26 至 34 中任一项所述的联合治疗，所述，联合治疗进一步包括同时使用卡培他滨和 / 或顺铂。

36. 一种包含第一浓度的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体和亦或 i）第二浓度的抗雌激素药剂亦或 ii)第三浓度的受体酪氨酸激酶抑制剂的水溶液，其中，当制备包含所述第一浓度的所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体和亦或所述第二浓度的所述抗雌激素药剂亦或所述第三浓度的所述受体酪氨酸激酶抑制剂的组织培养基并且使所述培养基与细胞培养物中的细胞系的癌细胞接触时，抑制细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或提高所述培养物中凋亡的细胞的百分比。

37. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生被抑制至，或所述培养基中凋亡的细胞的百分比被提高至比当细胞培养物中的所述细胞系的细胞与第二组织培养基即与权利要求 15 所述的培养基基本相同除了不包含任何抗雌激素药剂接触时更低的程度。

38. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生被抑制至，或所述培养基中凋亡的细胞的百分比被提高至比当细胞培养物中的所述细胞系的细胞与第三组织培养基即与权利要求 15 所述的培养基基本上相同除了不包含任何双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体接触时更低的程度。

39. 根据权利要求 36-38 中任一项所述的水溶液，进一步包含第四浓度的曲妥珠单抗，其中，所述培养基进一步包含第四浓度的曲妥珠单抗。

40. 根据权利要求 36 至 39 中任一项所述的水溶液，其中，所述细胞系是 BT474-M3。

41. 根据权利要求 36 至 40 中任一项所述的水溶液，其中，所述培养物是球体培养物。

42. 一种包含第一浓度的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体和亦或 i）第二浓度的抗雌激素药剂或 ii)第三浓度的受体酪氨酸激酶抑制剂的水溶液，其中，每个浓度是有效浓度并且当所述水溶液是受试者（可选地是人类患者）的血浆时，所述受试者不经历毒性，所述毒性是足够有害的以至于在给予所述受试者的治疗中需要改变，其中毒性是通过在所述受试者中所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体和所述抗雌激素药剂或所述受体酪氨酸激酶抑制剂之间的药物 - 药物相互作用所介导的。

43. 根据权利要求 36 至 42 中任一项所述的水溶液，其中，所述抗雌激素药剂是氟维司群或他莫昔芬。

44. 根据权利要求 36、37、和 39 至 43 中任一项所述的水溶液，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的所述氨基酸序列。

45. 根据权利要求 36、37、和 39 至 44 中任一项所述的水溶液，其中，所述双特异性抗

ErbB3/ 抗 ErbB2 抗体选自由 A5-HSA-ML3.9、ML3.9-HSA-A5、A5-HSA-B1D2、B1D2-HSA-A5、B12-HSA-B1D2、B1D2-HSA-B12、A5-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-A5、H3-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-H3、F4-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-F4、B1D2-HSA-H3 和 H3-HSA-B1D2 所组成的组中。

46. 根据权利要求 36 和 38 至 45 中任一项所述的水溶液，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂选自基本上由埃罗替尼、阿法替尼、达沙替尼、吉非替尼、伊马替尼、帕唑帕尼、拉帕替尼、舒尼替尼、尼洛替尼和索拉非尼所组成的组中。

47. 根据权利要求 36 和 38 至 46 中任一项所述的水溶液，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

48. 一种抑制包括肿瘤细胞的恶性肿瘤的生长的方法，所述方法包括将所述肿瘤细胞与权利要求 36 至 47 中任一项所述的水溶液接触。

49. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述雌激素受体拮抗剂是氟维司群或他莫昔芬。

50. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

51. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的所述氨基酸序列。

52. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

53. 根据权利要求 1 所述的方法，进一步包括有效量的卡培他滨和 / 或顺铂。

54. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，其中，所述抗雌激素药剂是氟维司群或他莫昔芬。

55. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的所述氨基酸序列。

56. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

57. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

58. 根据权利要求 26 所述的联合治疗，进一步包括同时使用卡培他滨和 / 或顺铂。

59. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，所述抗雌激素药剂是氟维司群或他莫昔芬。

60. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，所述双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的所述氨基酸序列。

61. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

62. 根据权利要求 36 所述的水溶液，其中，所述受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

63. 根据权利要求 36 所述的水溶液，进一步包括伴随使用的卡培他滨和 / 或顺铂。

64. 一种治疗患有恶性肿瘤的受试者的方法，所述方法包括共同给予受试者，1)有效量的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体、2) 有效量的曲妥珠单抗、3) 有效量的顺铂和 4) 有效量的卡培他滨。

65. 一种治疗患有恶性肿瘤的受试者的方法，所述方法包括共同给予受试者，1)有效量的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体、2) 有效量的曲妥珠单抗和 3) 有效量的白蛋白结合型紫杉醇。

包含抗 -ERBB3 药剂的联合治疗

技术领域

[0001] 本文中所公开的本发明的各种方面涉及用于治疗癌症的方法和组合物。

背景技术

[0002] 大约 75% 的乳腺癌是雌激素受体(ER)阳性的。其它癌症也是 ER 阳性的(ER+)。雌激素受体介导的细胞内信号可以提高细胞分裂的频率并且促使肿瘤生长。尽管抗内分泌治疗剂(anti-endocrine therapies)如他莫昔芬、氟维司群和来曲唑在治疗 ER+ 乳腺癌患者方面已经显示了显著的功效,但是对这类治疗的固有抗性或获得的抗性已经限制了它们的成功。

[0003] 在乳腺癌和其它癌症中的人类表皮生长因子受体 2 (HER2,或 ErbB2)的扩大的发病率已经导致了将 ErbB2 作为治疗目标的药物的研究与开发。尽管抗 ErbB2 单克隆抗体曲妥珠单抗和 ErbB1/ErbB2 双重受体酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼两者在临床中已经接近成功,但是许多患者不能受益于这些药物。此外,在使用这些治疗剂长期治疗之后最初响应的大部分患有肿瘤的患者将最终复发。

[0004] 在相互作用的强度方面,ErbB2/ErbB3 异源二聚体是最有效的 ErbB 受体配对,其影响了受体酪氨酸磷酸化,并且通过有丝分裂原(mitogen)激活的蛋白激酶和磷酸肌醇 -3 激酶通路来影响下游信号。调蛋白(Heregulin)是 ErbB3 的主要配体,并且通过 ErbB2/ErbB3 异源二聚体激活信号。当前 ErbB2 的靶向治疗不能有效地抑制调蛋白激活的信号。MM-111 是双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体,该抗体阻断调蛋白结合至 ErbB2/ErbB3 并且抑制调蛋白激活 ErbB2/ErbB3 而不显著的影响 ErbB2 生物学活性。在 HER-2+ 胃癌、乳腺癌、卵巢癌和肺癌的临床前模型中,MM-111 抑制 ErbB3 磷酸化、细胞周期进程和肿瘤生长。

[0005] 因此,存在对于提供 ErbB3 激活的改善的抑制(例如,配体诱导的活性)的疗法和治疗策略以及对于提供雌激素受体信号活性或 ErB1 与 ErbB2 受体信号活性的提高的抑制的疗法和治疗策略的需要。

[0006] 在癌症的治疗中,联合给予多种抗癌症药物(联合治疗)通常比单独治疗提供更好的治疗结果。这种结果可以是次加性的、加性的、或超加性的。就是说两种抗癌症药物(其中每一种提供了可定量的益处)的组合效果,可以是小于、等于、或大于每种药物的益处的总和。例如,两种药物,当单独使用其中的一种来治疗致命的癌症时提供了平均一年延长的无进展生存率(progression free survival),一起使用时可以提供<24 个月的延长(例如,18 个月的延长)、约 24 个月的延长、或 >24 个月的延长(例如,30 个月的延长)的无进展存活率。通常,用于癌症治疗的联合治疗提供了显著的次加性结果。接近加性的、加性的、或超加性的结果是最期望的,但是只有很少的发生。此外,当共同给予两种药物时已知许多药物改变了生物利用度、或相反影响了其它药物的安全性。作为在联合治疗中首次使用的新药物,在患者中可能观察到导致药物 - 药物相互作用介导的毒性的无法预料的、危险的药物 - 药物相互作用。

[0007] 因此,用于安全地给予联合治疗的方法包括给予用于癌症治疗的 ErbB2/ErbB3 异

源二聚体靶向的药剂，并且尤其需要产生接近加性的、加性、或超加性的结果的组合物。

发明内容

[0008] 本文中提供的是对于抑制 ErbB3 活性有效的并且对于抑制雌激素受体活性有效的方法和组合物。也提供了对于抑制 ErbB3 活性有效的并且对于抑制 ErB1 和 / 或 ErbB2 活性有效的的方法和组合物。这些方法和组合物对于治疗肿瘤，如恶性肿瘤，以及对于治疗其它癌症是有用的。

[0009] 在第一实施方式中，提供了治疗患有恶性肿瘤的受试者的方法，其中，肿瘤是表达 ErbB2 的或过表达 ErbB2 的肿瘤（例如，HER^{++} 或 HER^{+++} 肿瘤）并且肿瘤可以是黑色素瘤、透明细胞肉瘤、头颈部瘤、子宫内膜瘤，前列腺瘤，乳腺瘤、卵巢瘤、胃瘤、结肠瘤、结直肠瘤、肺瘤、膀胱瘤、胰腺瘤、唾液腺瘤、肝脏瘤、皮肤瘤、脑瘤或肾脏瘤。该方法包括将亦或有效量的抗雌激素药剂亦或有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂与有效量的抗 ErbB3 药剂，例如，双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体（例如，包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列的抗体）和可选地有效量的曲妥珠单抗结合共同给予受试者。

[0010] 在一个方面中，双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与亦或有效量的抗雌激素药剂亦或有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂、和可选地有效量的曲妥珠单抗的组合，其特征在于以下：当制备包含第一浓度的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体（例如，包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列的抗体）和亦或第二浓度的抗雌激素药剂亦或第三浓度的受体酪氨酸激酶抑制剂（例如，拉帕替尼）（其中对于彼此浓度每个浓度是相同的或不同的）的第一组织培养基，并且将该培养基与细胞培养物中的细胞系的癌细胞接触时，抑制细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或提高培养基中凋亡的细胞的百分比。在某些方面中，抑制细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生，或使培养基中凋亡细胞的百分比提高至高于当细胞培养物中的细胞系的癌细胞与第二培养基和第三培养基的每一个接触时使细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生抑制至、或使培养基中凋亡细胞的百分比提高至的更低程度的程度，第二培养基与第一培养基基本上相同除了其不包含双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体，而第三培养基与第一培养基基本上相同除了其不包含任何抗雌激素药剂并且其不包含任何受体酪氨酸激酶抑制剂。

[0011] 在另一方面中，所有的有效量是亦或小鼠有效量亦或人类有效量。在另一方面中，所有的有效量是小鼠有效量并且双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体（可选地该抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列）和亦或有效量的抗雌激素药剂亦或有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂的组合的特征如下：当共同给予至具有测定体积的肿瘤的携带 BT474-M3 异种移植瘤的小鼠时，在共同给药 32 天之后在抑制肿瘤体积增长方面该组合比给予小鼠有效量的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体而没有共同给予亦或有效量的抗雌激素药剂亦或有效量的受体酪氨酸激酶抑制剂更有效。在另一方面中，将小鼠有效量的曲妥珠单抗与双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体共同给予。

[0012] 在第二实施方式中，提供双特异性的抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体（抗体可选地包含 SEQ ID NO:1）用于在癌症（可选地黑色素瘤、透明细胞肉瘤、头颈部瘤、子宫内膜瘤、前列腺瘤、乳腺瘤、卵巢瘤、胃瘤、结肠瘤、结肠直肠瘤、肺瘤、膀胱瘤、胰腺瘤、唾液腺瘤、肝瘤、皮肤瘤、脑瘤或肾脏瘤）的联合治疗中使用，其中联合治疗包括同时使用亦或抗雌激素药剂亦或受

体酪氨酸激酶抑制剂以及可选地包括同时使用曲妥珠单抗。

[0013] 在第三实施方式中，提供包含第一浓度的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体(可选地该抗体包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列)和亦或第二浓度的抗雌激素药剂亦或第三浓度的受体酪氨酸激酶抑制剂的水溶液。在某些方面中，当制备包含第一浓度的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体和亦或第二浓度的抗雌激素药剂亦或第三浓度的受体酪氨酸激酶抑制剂的第一组织培养基，并且使该培养基与细胞培养物中细胞系的癌细胞接触时，抑制细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB 的产生或 pAKT 的产生，或提高培养基中凋亡细胞的百分比。在某些方面中，当细胞培养物中的细胞系的细胞与第二组织培养基相接触时，细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生被抑制至、或培养基中凋亡的细胞的百分比被提高至更低的程度，第二组织培养基与第一培养基基本上相同除了其不包含任何抗雌激素药剂并且其不包含任何受体酪氨酸激酶抑制剂外。在另一方面中，当细胞培养物中的细胞系的细胞与第三组织培养基接触时，细胞生长或细胞增殖或细胞中的 pErbB3 的产生或 pAKT 的产生被抑制至、或培养基中凋亡细胞的百分比被提高至更低的程度，第三组织培养基与第一培养基基本上相同除了其不包含任何双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体外。

[0014] 在另一方面中，水溶液是受试者的血浆，并且受试者不经历足够有害以至于在给予受试者的治疗中需要改变的毒性，其中毒性是通过在受试者中双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与抗雌激素药剂或受体酪氨酸激酶抑制剂之间的药物 - 药物相互作用所介导的。

[0015] 在另一方面中，水溶液进一步包含第四浓度的曲妥珠单抗，并且该培养基也包含第四浓度的曲妥珠单抗。

[0016] 在另一方面中，方法、联合治疗或水溶液不包含芳香酶抑制剂或雌激素受体拮抗剂。在一个实施方式中，方法、联合治疗或水溶液包含白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel)。

[0017] 在上述的其每个实施方式和方面中，抗雌激素药剂可以是雌激素受体拮抗剂(例如，氟维司群或他莫昔芬)或芳香酶抑制剂(例如，其中该芳香酶抑制剂是来曲唑、依西美坦、阿那曲唑、氨鲁米特、睾内酯酮、伏氯唑、福美司坦、或法倔唑)。优选地，芳香酶抑制剂是来曲唑。同样在其上述的每个实施方式和方面中，受体酪氨酸激酶抑制剂是埃罗替尼、阿法替尼、达沙替尼、吉非替尼、伊马替尼、帕唑帕尼(pazopinib)、拉帕替尼、舒尼替尼、尼洛替尼或索拉非尼。优选地，受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。同样在上述的其每个实施方式和方面中，双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体是 A5-HSA-ML3.9、ML3.9-HSA-A5、A5-HSA-B1D2、B1D2-HSA-A5、B12-HSA-B1D2、B1D2-HSA-B12、A5-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-A5、H3-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-H3、F4-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-F4、B1D2-HSA-H3、H3-HSA-B1D2，或包含在 SEQ ID NO:1 中给出的氨基酸序列的抗体。在上述的其每个实施方式和方面还可以进一步包括使用卡培他滨和 / 或顺铂。

[0018] 在上文的其每个实施方式和方面中，可以可选地应用下文中 a)-x)的一种或多种：a) 细胞系是 BT474-M3 ；b) 培养物是球体培养物，c) 可选地根据制造商的指导，共同给予紫杉醇或其它紫杉烷或其它化疗药物，d) 根据制造商的指导给予抗雌激素药剂，e) 根据制造商的指导给予受体酪氨酸激酶抑制剂，f) 根据制造商的指导给予曲妥珠单抗，g) 双特异性

的抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与抗雌激素药剂一起共同给予产生了约加性的或超加性的效果，h）共同给予双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与受体酪氨酸激酶抑制剂（例如，拉帕替尼）大约产生了基本上加性的或超加性的效果，i）双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体是包含 SEQ ID NO:1 的抗体并且根据在下文实施例 12 和实施例 13 中所描述的任何方案（例如，模式、剂量、给药间隔、负荷剂量和维持剂量以及给药方案）给予该抗体，j）根据下文实施例 16 中所描述的任何方案（例如，模式、剂量、给药间隔、负荷剂量和维持剂量以及给药方案）给予拉帕替尼。

附图说明

[0019] 图 1 是示出 MM-111 和他莫昔芬的组合在体内抑制肿瘤生长更好于亦或 MM-111 亦或他莫昔芬的单独抑制的曲线图。x- 轴示出以天计的肿瘤植入之后的时间而 y- 轴示出以 mm^3 计的肿瘤体积。在 BT474-M3 细胞植入之后在第 7 天开始使用抑制剂治疗小鼠。

[0020] 图 2 是示出在体外在抑制雌激素刺激的球体生长方面，MM-111 与抗雌激素药物阳性结合的七个曲线图。图 2a 示出了 MM-111、他莫昔芬（4- 羟泰米芬或 4OHT）或 MM-111 和他莫昔芬在体外球体生长上的效果。图 2b 示出曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果。图 2c 示出 MM-111、氟维司群（FVT）或 MM-111 和氟维司群的效果。图 2d 示出曲妥珠单抗、氟维司群或曲妥珠单抗和氟维司群的效果。图 2e 示出 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的效果。图 2f 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果与任何双重组合的效果的比较。图 2g 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和氟维司群的效果与任何双重组合的效果的比较。x- 轴是对于每个试验条件以 nM 计的每种药物浓度的对数标度而 y 轴是作为对照球体尺寸的 % 的球体尺寸。

[0021] 图 3 是示出在体外在抑制调蛋白（HRG）刺激的球体生长方面，MM-111 与抗雌激素药物阳性结合的七个曲线图。图 3a 示出 MM-111、他莫昔芬（4- 羟泰米芬或 4OHT）或 MM-111 和他莫昔芬的效果。图 3b 示出曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果。图 3c 示出 MM-111、氟维司群（FVT）或 MM-111 和氟维司群的效果。图 3d 示出曲妥珠单抗、氟维司群或曲妥珠单抗和氟维司群的效果。图 3e 示出 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的效果。图 3f 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果与任何双重组合的效果的比较。图 3g 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和氟维司群与任何双重组合的效果的比较。x- 轴是对于每个试验条件以 nM 计的每种药物浓度的对数标度而 y 轴是作为对照球体尺寸的 % 的球体尺寸。

[0022] 图 4 是示出在体外在抑制双重配体（雌激素和调蛋白）刺激的球体生长方面，MM-111 与抗雌激素药物阳性结合。图 4a 示出 MM-111、他莫昔芬或 MM-111 和他莫昔芬的效果。图 4b 示出曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果。图 4c 示出 MM-111、氟维司群（FVT）或 MM-111 和氟维司群的效果。图 4d 示出曲妥珠单抗、氟维司群或曲妥珠单抗和氟维司群的效果。图 4e 示出 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的效果。图 4f 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果与任何双重组合的效果的比较。图 4g 示出组合的 MM-111、曲妥珠单抗和氟维司群的效果与任何双重组合的效果的比较。x- 轴是对于每个试验条件以 nM 计的每种药物浓度的对数标度而 y 轴是作为对照球体尺寸的 % 的球体尺寸。

[0023] 图 5 是概括了在体外在抑制单配体(雌激素或调蛋白)或双重配体(雌激素和调蛋白)刺激的球体生长方面,组合的 MM-111、曲妥珠单抗和他莫昔芬的效果与任何双重组合的效果相比较或组合的 MM-111、曲妥珠单抗和氟维司群的效果与任何双重组合的效果相比较的曲线图。y 轴是归一至刺激的对照的球体尺寸的 % 抑制。

[0024] 图 6 是示出 MM-111 和拉帕替尼的组合在体内抑制肿瘤生长的曲线图。x- 轴示出以天计的肿瘤植入之后的时间而 y- 轴示出以 mm^3 计的肿瘤体积。在肿瘤植入之后第 7 天使用抑制剂治疗小鼠。

[0025] 图 7 评价了在调蛋白刺激的细胞中拉帕替尼抑制 ErbB3 和 AKT 活性的能力。7a 是比较计算机产生的剂量响应曲线与在调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞中的实验结果的曲线图。7b 是示出在使用抑制剂温育一小时之后在调蛋白刺激的和未刺激的细胞中 ErbB3 和 AKT 活性的拉帕替尼抑制(IC50)的曲线图。

[0026] 图 8 是示出在使用抑制剂温育持续 15 分钟、1 小时、4 小时、和 24 小时的调蛋白刺激的细胞中 MM-111 或拉帕替尼抑制 ErbB3 (8a)或 AKT (8b)活性的一系列曲线图。图 8c 示出对于 BT474M3 细胞与 ZR75-30 细胞两者在 1 小时和 24 小时时 MM-111 和拉帕替尼的 IC50 的比较。

[0027] 图 9 是示出了在调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞中 MM-111 和拉帕替尼组合治疗对 AKT 活性的效果的曲线图。

[0028] 图 10 是示出作为未刺激的 BT474-M3 细胞和调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞的增殖的测量结果,拉帕替尼对细胞活力的影响的曲线图。

[0029] 图 11 是示出 MM-111、拉帕替尼或组合物在 BT474-M3 细胞凋亡上的效果的曲线图。定量了死细胞、晚期凋亡细胞、早期凋亡细胞和活细胞的数目。

[0030] 图 12 是示出在体外在抑制双重配体(雌激素(E2)和调蛋白(HRG))刺激的球体生长方面,MM-111 与抗雌激素药物和拉帕替尼阳性结合的三个曲线图。图 12a 示出单独的拉帕替尼或拉帕替尼和氟维司群(FVT)的组合的效果。图 12b 示出单独的拉帕替尼或拉帕替尼和 MM-111 的组合的效果。图 12c 示出单独的拉帕替尼、MM-111 和氟维司群的组合或 MM-111、FVT、和拉帕替尼的三重组合的效果。以 3.3nM、10nM、或 30nM 剂量给予拉帕替尼。x- 轴是以 nM 计的每个 MM-111 和 / 或 FVT 浓度的对数标度而 y 轴是作为对照(仅 FBS)球体尺寸的 % 的球体尺寸。

[0031] 图 13 是示出在稳定表达人类芳香酶(其将雄烯二酮转变为雌激素)的调蛋白(HRG)和雄烯二酮(A4)刺激的 BT474-M3-Aro 细胞中,MM-111 与芳香酶抑制剂来曲唑与酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼阳性结合。图 13a 示出来曲唑、MM-111 或来曲唑与 MM-111 的组合的效果。图 13b 示出拉帕替尼、MM-111 或拉帕替尼和 MM-111 的组合的效果。图 13c 示出拉帕替尼、来曲唑或拉帕替尼和来曲唑的组合的效果。图 13d 示出 MM-111 和来曲唑、MM-111 和拉帕替尼、拉帕替尼和来曲唑的双重组合,以及 MM-111、拉帕替尼和来曲唑的三重组合的效果。x- 轴是以 nM 计的 MM-111 浓度的对数标度。药物浓度是 10:20:1MM-111: 来曲唑 : 拉帕替尼的比值。y 轴是作为对照球体尺寸的 % 的球体尺寸。

具体实施方式

[0032] 如本文中所提供的,使双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体(例如,MM-111)与一种或

多种另外的治疗药剂(例如芳香酶抑制剂或酪氨酸激酶抑制剂)共同给予,以对患有癌症的人类患者提供有效的治疗。

[0033] 术语“抗 ErbB3 药剂”是指结合至 ErbB3 或结合至 ErbB3 特异性配体或阻断 ErbB3 的表达,并因此抑制由 ErbB3 介导的细胞信号的活性的任何治疗性药剂。抗 ErbB3 药剂的类型的非限制性实例包括抗体、双特异性抗体、配体类似物、ErbB3 或 ErbB3 胞外域的可溶形式、ErbB3 特异性 RNAi 分子和相似的生物制剂。

[0034] 术语“抗体”描述了包含至少一个抗体来源的抗原结合位点(如,V_H/V_L 区或 Fv、或互补决定区 -CDR)的多肽,该结合位点特异性地结合至特异性抗原例如 ErbB3。“抗体”包括完全抗体和任何抗原结合片段,例如 Fab 或 Fv、或单链片段(例如,scFv),以及双特异性抗体和相似的工程化变体、人类抗体、人源化抗体、嵌合抗体 Fab、Fab’2、ScFv、SMIP、Affibodies®、纳米抗体、或结构域抗体,并且可以是任何以下的同种型:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgAsec、IgD 和 IgE。抗体可以是天然存在的抗体或可以是已经改变的抗体(例如,通过突变、删除、替换、连接至非抗体部分)。例如,抗体可以包括一种或多种变异的氨基酸(与天然存在的抗体相比较)其改变抗体的性质(如,功能性质)。例如,很多这种改变是本领域中已知的其影响了半衰期(half-life)、效应子功能、和 / 或患者中对抗体的免疫应答。术语“抗体”因此包括完全抗体和任何抗原结合片段(即,“抗原结合部分”例如 Fab)或其单链(例如,scFv)以及双特异性抗体与相似的工程变形体,条件是它们保留抗体的结合特异性。

[0035] “抗 ErbB3 抗体”是免疫特异性结合至 ErbB3 的胞外结构域的抗体而“抗 ErbB2 抗体”是免疫特异性结合至 ErbB2 的胞外结构域的抗体。抗体可以是分离的抗体。如通过表面等离子体共振分析或细胞结合分析所测量的这种对 ErbB3 或 ErB2 结合表现出具有不超过 50nM 的值的 Kd 值。示例性抗 ErbB3 抗体抑制 EGF 样配体介导的 ErbB3 的磷酸化,例如,抗 ErbB2 抗体抑制了调蛋白结合至 ErbB2/ErbB3 异源二聚体。EGF 样配体包括 EGF、TGFα、β 细胞素、肝素结合表皮生长因子、biregulin、epigen、表皮调节素和双调蛋白,其通常结合至 ErbB1 并且诱导 ErbB1 与 ErbB3 的异源二聚化。

[0036] 如在本文中使用的术语“双特异性抗体”是指包括两个抗原结合位点的蛋白质,第一结合位点表现出对第一抗原或表位的免疫特异性结合而第二结合位点表现出对不同于第一个的第二抗原或表位的免疫特异性结合。“抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 双特异性抗体”是包括两个结合位点的抗体,其一个免疫特异性地结合至 ErbB3 的胞外结构域而另一个免疫特异性地结合至 ErbB2 的胞外结构域。优选地,双特异性 ErbB3、ErbB2 抗体是包含 SEQ ID NO:1 的抗体。

[0037] 如在本文中使用的“抗雌激素药剂”是指阻止或减少雌激素的产生或阻止或降低由雌激素受体介导的信号的药剂。抗雌激素药剂包括但不限于:雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂。雌激素受体拮抗剂包括但不限于:雷洛昔芬、氟维司群、他莫昔芬、阿非昔芬(4- 羟氧基他莫昔芬)、阿佐昔芬、托瑞米芬和 lasofoxone。优选地,雌激素受体拮抗剂是他莫昔芬或氟维司群。芳香酶抑制剂通过阻断动物中(如,小鼠或人类)雌激素的合成而起作用。这降低了动物中的雌激素水平,从而抑制雌激素促使的癌症的生长。芳香酶抑制剂的实例包括但不限于:依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯酮、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。优选地,芳香酶抑制剂是依西美坦或来曲唑。

[0038] “癌症”是指特征在于异常的、不受控制的、恶性的细胞生长的任何病症。

[0039] “恶性肿瘤”是指采取肿瘤形式的任何癌症。

[0040] 术语“有效量”是指有效的达到预期效果，如缓解受试者中的疾病的药物的量。其中该疾病是癌症，有效量的药物可以抑制（如，减慢至一定的程度、抑制或停止）一个或多个以下特征：癌细胞生长、癌细胞增殖、癌细胞运动性、癌细胞浸润入周围的器官、肿瘤转移和肿瘤生长。其中疾病是癌症时，将有效量的药物给予至受试者可以可替换地完成下列的一项或多项：减慢或停止肿瘤生长、缩小肿瘤尺寸（例如，体积或质量）；减轻与癌症相关的一种或多种症状的程度、延长无进展存活期、产生客观响应（包括部分响应或完全响应），并且提高总体的存活时间。对于药物可以阻止生长和 / 或杀死现存的癌细胞的程度，该药物是细胞生长抑制的和 / 或细胞毒性的。

[0041] “小鼠有效量”是指当受试者是小鼠时药物有效达到预期效果的量。

[0042] “人类有效量”是指当受试者是人类患者时药物有效达到预期效果的量。

[0043] 术语“联合治疗”、“同时使用”、“共同给药”、“共同给予”、“共同给予的”等，是指亦或同时地亦或在其中当给予较晚给予的治疗药剂时较早给予治疗剂的效果仍然在受试者中有效的一段时间内，将至少两种治疗药剂给予至受试者。

[0044] 如在本文中使用的“受体酪氨酸激酶抑制剂”是指特异地抑制受体酪氨酸激酶从而降低或消除各种信号转导途径的活性的一类药物的成员。如本文中公开的对治疗癌症有用的受体酪氨酸激酶抑制剂包括但不限于：小分子抑制剂：埃罗替尼、阿法替尼、达沙替尼、吉非替尼、伊马替尼、帕唑帕尼（pazopinib）、拉帕替尼、舒尼替尼、尼洛替尼和索拉非尼。受体酪氨酸激酶抑制剂也包括抗体类治疗剂如西妥昔单抗、帕尼单抗、扎鲁目单抗、尼妥珠单抗和马妥珠单抗。优选地，受体酪氨酸激酶抑制剂是拉帕替尼。

[0045] “剂量”或“剂量方案”是指用于以每单位时间（例如，每小时，每日，每周，每月等）确定的量将药物给予至患者的参数。这种参数包括，例如每个剂量的大小。这种参数也包括每个剂量的配置，其可以以一个或多个单位来给予，例如，以单次给予摄取，例如口服（如，一个、两个、三个或以上的丸剂、胶囊剂等）或注射（如，作为推注）。剂量大小也可以涉及连续给予的剂量（例如，如在几分钟或几小时时间内静脉内注射）。这种参数进一步包括给予单独剂量的频率，可以随着时间改变该频率。“给药周期”或“给药间隔”是包括用于剂量方案的治疗的一个周期（例如，21 天或 28 天）的时间段。

[0046] “剂量”是指在单次给予所给出的药物的量。

[0047] 优选的细胞系的癌细胞是 ErbB2 的表达细胞系如 ErbB2 过表达细胞系的细胞，例如，BT474-M3（ATCC ® #CRL-HTB-20™，源自乳腺管恶性肿瘤细胞）、BT474-M3-Aro（BT474-M3 稳定表达人类芳香酶的细胞）、ZR75-30（ATCC ® #CRL-1504™，源自乳腺管恶性肿瘤细胞）、SKOV-3（ATCC ® #HTB-77™，源自转移性卵巢腺癌细胞）、MCF7（ATCC ® #HTB-22 ™）克隆 18、MDA-MB-453（ATCC ® #HTB-131 ™，源自乳腺癌细胞）、SK-BR-3（ATCC ® #HTB-30 ™，源自乳腺癌细胞）和 NCI-N87（ATCC ® #CRL-5822 ™，源自胃癌细胞）。

[0048] 癌症可以包括，例如，实体瘤如：肉瘤（例如，透明细胞肉瘤）、恶性肿瘤（例如，肾脏细胞恶性肿瘤）和淋巴瘤；乳腺瘤、结肠瘤、直肠瘤、肺瘤、口咽瘤、下咽瘤、食管瘤、胃瘤、胰腺瘤、肝瘤、胆总管瘤、胆道瘤、小肠瘤、泌尿系统（包括肾脏、膀胱和泌尿道的上皮）、雌性生

殖系统(包括子宫颈、子宫、卵巢、绒毛膜瘤和滋养细胞)瘤、雄性生殖系统(包括前列腺、精囊腺和睾丸)瘤、内分泌腺体(包括甲状腺、肾上腺和垂体)瘤、皮肤瘤(包括血管瘤、黑色素瘤、源自骨组织或软组织的肉瘤和卡波济氏肉瘤)、大脑和脑脊膜瘤(包括星形细胞瘤、神经星形细胞瘤、恶性胶质细胞瘤、视网膜母细胞瘤、神经瘤、神经母细胞瘤、神经鞘瘤和神经母细胞瘤)、神经瘤和眼瘤。

[0049] 癌症可以是雌激素受体阳性的(ER+)癌症。这些癌症例证了用于治疗方案的包括抗雌激素药剂的候选物。这些癌症可以包括但不限于某些乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、子宫内膜癌、肺癌、骨癌、脑癌、膀胱癌、肝癌和泌尿生殖系统癌。

[0050] 癌症可以是 ErbB2 基因倍增的癌症和 / 或 ErbB2 表达的或过表达的癌症。ErbB2，也称为 HER2 或 Neu，是细胞表面跨膜受体蛋白，ErbB2 通过其细胞内的酪氨酸激酶活性产生细胞内的信号(例如，在配体激活之时)。过量的这种信号通过例如引发细胞分裂可以促进肿瘤发生。ErbB2 基因在许多类型的人类恶性肿瘤(包括但不限于乳腺、卵巢、子宫内膜、胰腺、结直肠、前列腺、唾液腺、肾脏、和肺脏肿瘤)中倍增和 / 或过量表达。取决于 ErbB2 过量表达的水平将 ErbB2 过量表达的癌症指定为 $HER2^{+++}$ 或 $HER2^{++}$，使用 $HER2^{+++}$ 表示最高水平的 HER2 表达。通常通过免疫测定如免疫组织化学例如 Herceptest® 测定 $HER2^{+++}$ 和 $HER2^{++}$ 状态。可以通过，例如，FISH (荧光原位杂交) 测定 ErbB2 基因倍增，具有倍增的 HER2 的癌细胞是为 HER2 倍增具有的两个以上 HER2 基因拷贝的那些，并且包含倍增的 HER2 的癌细胞的细胞和 / 或肿瘤被称为“FISH 阳性的”。

[0051] 在共同未决的美国专利公开号 2011-0059076 以及 PCT 公开号 WO2009/126920 和 WO2010/059315 中所描述的许多双特异性抗 ErbB2、抗 ErbB3 抗体是 scFv HSA 复合物，其中的每一个通过引用将其整体结合至本文中并且其中的每一个公开了 MM-111 (也称为 B2B3-1)和其它双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体是 scFv HSA 复合物，并且适合在本文中所提供的方法和组合中使用，包括 A5-HSA-ML3.9、ML3.9-HSA-A5、A5-HSA-B1D2、B1D2-HSA-A5、B12-HSA-B1D2、B1D2-HSA-B12、A5-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-A5、H3-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-H3、F4-HSA-F5B6H2、F5B6H2-HSA-F4、B1D2-HSA-H3 和 H3-HSA-B1D2 的组分。在美国专利号 US 7,332,580 和 US 7,332,585 中公开了并且要求权益的其它合适的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB 抗体，通过引用将其结合至本文中。MM-111 目前正在进行临床试验，包括在患有晚期的、难治疗的 HER2 阳性癌症的患者中 MM-111 的开放标签 1/2 期和药理学研究、在患有晚期 HER2 阳性乳腺癌的患者中 MM-111 的开放标签 1/2 期试验与曲妥珠单抗 (Herceptin®) 组合、以及 MM-111 的开放标签、1/2 期和药理学研究与三个不同组合的治疗：MM-111 与顺铂、卡培他滨和曲妥珠单抗组合；MM-111 与拉帕替尼和曲妥珠单抗组合；以及 MM-111 与紫杉醇和曲妥珠单抗组合。

[0052] 在恶性肿瘤的放疗或外科手术以去除恶性肿瘤之前(如，新辅助治疗)、同时、或之后(如，辅助治疗)，可以将双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体与其它治疗剂(如，抗雌激素受体药剂或受体酪氨酸激酶抑制剂)共同给予。

[0053] 适合用于与抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体组合的另外的治疗剂可以进一步包括：1)单克隆抗体 EGFR 抑制剂(例如西妥昔单抗、帕尼单抗、泊妥珠单抗、尼妥珠单抗和马妥珠单抗)、另外的小分子酪氨酸激酶抑制剂如 PKI-166、PD-158780、EKB-569、酪氨酸磷酸化抑制剂 AG 1478 和 pan-HER 激酶抑制剂(例如 CI-1033 (PD 183805)、AC480、HM781-36B、AZD8931 和

PF299804);2)微管稳定剂(例如 laulimalide、埃博霉素 A、埃博霉素 B、盘皮海绵内酯、软珊瑚醇(eleutherobin)、匍枝珊瑚醇(sarcodictyin)A、匍枝珊瑚醇 B、紫杉醇、白蛋白结合型紫杉醇或多西紫杉醇 ;3)抗代谢药如 5- 氟尿嘧啶(5-FU)和卡培他滨 ;以及铂类治疗剂如奥沙利铂、卡铂和顺铂。可以在以下表 5 和附录中找到适合用于与抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体组合的治疗剂的另外的实例。

[0054] MM-111 适用于大规模生产和系统治疗两者。MM-111 结合至 ErbB2/ErbB3 异源二聚体并且与 ErbB2 和 ErbB3 形成三聚体复合物,有效的抑制 ErbB3 信号。MM-111 的抗肿瘤活性需要 ErbB2 和 ErbB3 二者的存在,但是特别地依赖于 ErbB2 表达。MM-111 的 ErbB2 抗原结合位点的亲合力比其 ErbB3 抗原结合位点的亲合性高约 30 倍,但是当结合至 ErbB2 时 ErbB2 抗原结合位点不是单独地抑制 ErbB2 活性。MM-111 对 ErbB2 的强结合使 ErbB3 抗原结合位点靠近结合的 ErbB2/ErbB3 异源二聚体,产生使 ErbB3 抗原结合位点对异源二聚体 ErbB3 的结合增强的亲和力效果,借此产生了生物学效应。将 MM-111 如下给予人类受试者(患者):以天计的间隔,以 MM-111 的至少 20mg/kg 的单次负荷剂量,随后至少七天间隔的(例如,每 2 星期)至少一次给予 MM-111 的单一维持剂量,其中维持剂量通常小于负荷剂量,如,低于负荷剂量至少 5mg/kg。

[0055] 实施例

[0056] 仅通过例证而不是通过限制的方式提供以下实施例。那些本领域技术人员将容易地识别出各种可以改变或修改以产生基本上相同或相似的结果的非临界参数。

[0057] MM-111 与抗雌激素治疗剂组合

[0058] 方法 :

[0059] 球体体外肿瘤模型试验

[0060] 将 BT474-M3 野生型细胞(2000 个细胞 / 孔)接种在超低聚簇(Ultra Low Cluster)96- 孔板(Costar)中。过夜温育之后,将指定的治疗引入平板。继续培养细胞持续六天。然后通过 Nikon 显微镜检查球体并且通过 MetaMorph 图像分析软件(Molecular Devices)分析球体。将来自包含 10%FBS 的培养基中培养的细胞的球体尺寸设为对照。

[0061] 异种移植模型

[0062] 将 BT474-M3 细胞(2×10^7 细胞 / 小鼠)皮下接种到 Nu/Nu 免疫缺陷型小鼠,在实验前一天使用雌激素丸剂(0.72mg ;60 天释放)植入小鼠。七天后测量肿瘤并且将小鼠随机分成四组 :分别使用安慰剂、MM-111 (60mg/kg,Q7D)、4- 羟基他莫昔芬(5mg ;60 天释放的丸剂)和 MM-111 与 4- 羟基他莫昔芬的组合治疗的那些组。每三天一次测量肿瘤并且在 32 天结束实验。

[0063] 实施例 1 :MM-111 和他莫昔芬联合治疗在体内抑制肿瘤生长。

[0064] 为了比较 MM-111 与他莫昔芬联合治疗在体内对肿瘤生长的影响,使用上文描述的方法或其细微的变化形式在异种移植模型中制备雌激素刺激的小鼠。使用肿瘤形成 BT474-M3 细胞接种小鼠并且在第 7 天给予安慰剂(载体对照)、MM-111、他莫昔芬、或 MM-111 和他莫昔芬的组合并且随着时间测量肿瘤生长。如在图 1 中示出的,该体内 BT474-M3 异种移植模型示出了对他莫昔芬治疗的耐性,但是当将 MM-111 和他莫昔芬的组合给予小鼠时该组合物治疗剂表现出明显更大程度地抑制了肿瘤生长。对于组合组,当与载体对照相比时从第 28 天起、当与 MM-111 相比时从第 21 天起、当与他莫昔芬相比时从 25 天起观察到了

统计显著性($p<0.05$)。

[0065] 实施例 2:在抑制雌激素刺激的球体生长方面 MM-111 与抗雌激素药物阳性结合

[0066] 使用多细胞球体来模拟肿瘤体外的生长和微环境条件。当 MM-111 与抗雌激素药物组合时,为了进一步研究 MM-111 抑制细胞生长的能力,使用上文描述的方法或其细微的变化形式制备 BT474-M3 的球体并且使用结合 ErbB2 的治疗剂和 / 或抗雌激素治疗剂治疗。使用 MM-111、他莫昔芬或 MM-111 和他莫昔芬的组合(图 2a);曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的组合(图 2b);MM-111、氟维司群或 MM-111 和氟维司群的组合(图 2c);曲妥珠单抗、氟维司群或曲妥珠单抗和氟维司群的组合(图 2d);或 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的组合(图 2e)的剂量范围来治疗雌激素刺激的细胞的球体。当以单一药剂使用时,在雌激素刺激的 BT474-M3 球体检测中,MM-111、曲妥珠单抗、氟维司群和他莫昔芬在球体生长上显示出抑制效果。他莫昔芬或氟维司群和 MM-111(分别是图 2a 和 2c)或曲妥珠单抗(分别是图 2b 与 2d)的组合提高了生长抑制的程度,正如 MM-111 和曲妥珠单抗的组合也提高了生长抑制的程度(图 2e)。与药物的双重组合物相比,当使用 MM-111、曲妥珠单抗和他莫昔芬(图 2f)或 MM-111、曲妥珠单抗和氟维司群(图 2g)的三重组合处理雌激素刺激的球体时仍然进一步提高了抑制效果。

[0067] 实施例 3:在抑制调蛋白刺激的球体生长方面 MM-111 与抗雌激素药物阳性结合

[0068] 为了进一步研究当与抗雌激素药物组合时 MM-111 抑制细胞生长的能力,使用上文描述的方法或其细微的变化形式来制备调蛋白(HRG)刺激的 BT474-M3 细胞的球体并且使用 MM-111、他莫昔芬或 MMM-111 和他莫昔芬的组合(图 3a);曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的组合(图 3b);MM-111、氟维司群或 MM-111 和氟维司群的组合(图 3c);曲妥珠单抗、氟维司群或曲妥珠单抗和氟维司群的组合(图 3d);或 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的组合(图 3e)的剂量范围处理球体。MM-111 抑制了调蛋白诱导的球体生长但是他莫昔芬(图 3a)、曲妥珠单抗(图 3b)和氟维司群(图 3c)不抑制调蛋白刺激的球体生长。当 MM-111 与他莫昔芬(图 3a)或氟维司群(图 3c)一起使用时没有观察到显著的组合效果。曲妥珠单抗和亦或他莫昔芬(图 3b)亦或氟维司群(图 3d)的组合没有显示的显著大于任一单独药物的抑制活性。如在图 3e 中示出的,在调蛋白刺激的球体生长方面 MM-111 而不是曲妥珠单抗显示了抑制活性。当两者药物组合时观察到改善的抑制效果。与亦或 MM-111 亦或曲妥珠单抗和他莫昔芬或氟维司群的双重组合相比,在调蛋白(神经生长因子,heregulin)刺激的球体生长方面 MM-111、曲妥珠单抗和亦或他莫昔芬(图 3f)亦或氟维司群(图 3g)的三重组合显示出如与以组合形式的 MM-111 与曲妥珠单抗(图 3e)的那些相似的抑制效果。

[0069] 实施例 4:在抑制双重配体(雌激素和调蛋白)刺激的球体生长方面 MM-111 与抗雌激素药物阳性结合

[0070] 使用他莫昔芬、MM-111 或 MM-111 和他莫昔芬的组合(图 4a)或曲妥珠单抗、他莫昔芬或曲妥珠单抗和他莫昔芬的组合(图 4b)的剂量范围来处理双重配体(雌激素和调蛋白)刺激的球体。当 MM-111 与曲妥珠单抗各自抑制球体生长时(图 4a),MM-111 和他莫昔芬的组合显示了比单独的药物更大的抑制效果。相比之下,单独的曲妥珠单抗没有显著的抑制效果并且曲妥珠单抗和他莫昔芬的组合显示了与单独的他莫昔芬相似的效果。

[0071] 然后使用氟维司群、MM-111 或 MM-111 和氟维司群的组合(图 4c)或氟维司群、曲妥

珠单抗或氟维司群或曲妥珠单抗的组合(图 4d)的剂量范围处理双重配体刺激的球体。此外,当 MM-111 与氟维司群各自单独抑制球体生长时,MM-111 和氟维司群的组合显示出比任一药物单独使用更大的抑制效果(图 4c)。单独的曲妥珠单抗没有显著的抑制效果而曲妥珠单抗和氟维司群的组合显示出与单独的他莫昔芬相似的效果(图 4d)。

[0072] 然后使用 MM-111、曲妥珠单抗或 MM-111 和曲妥珠单抗的组合处理双重配体刺激的球体。在双重配体刺激的球体生长方面 MM-111 显示出比曲妥珠单抗更大的抑制效果。当两个药物组合时观察到增强的抑制效果(图 4e)。

[0073] 与 MM-111 或曲妥珠单抗和他莫昔芬或氟维司群的双重组合相比,在雌激素和调蛋白(双重配体)刺激的球体生长方面 MM-111、曲妥珠单抗和亦或他莫昔芬(图 4f)亦或氟维司群(图 4g)的三重组合显示出与在组合物中的 MM-111 和曲妥珠单抗(图 4e)的那些效果相似的抑制效果。

[0074] 在前述实施例中的数据证明包含 MM-111 和抗雌激素治疗剂的联合治疗比这些治疗剂的每一个更有效。在图 5 和表 1 中概括了在雌激素或调蛋白刺激下由每种处理所诱导的球体生长抑制的百分比。需要 MM-111 来抑制使用调蛋白刺激的球体。对于每个测试的刺激的条件,三重组合物产生球体生长的最大抑制,提供了范围从约 70% 至约 90% 的百分比抑制。

[0075] 表 1. 抑制剂诱导的最大球体生长抑制的百分比

[0076]

他莫昔芬组合物				
	MM-111+曲妥珠单抗	MM-111+抗雌激素	曲妥珠单抗+抗雌激素	三重组合物
E2	54%	49%	55%	73%
HRG	65%	43%	0%	71%
E2+HRG	46%	43%	36%	79%
氟维司群组合物				
E2	54%	49%	55%	77%
HRG	64%	34%	4%	71%
E2+HRG	46%	57%	47%	88%

[0077] 对于 1μM 剂量的抑制剂处理测定了球体生长抑制的百分比(归一化至未处理的、刺激的对照)。

[0078] MM-111 和他莫昔芬的组合导致体内肿瘤生长的有效的抑制。综上,这些数据证明 MM-111 和抗雌激素治疗剂的组合在体外和体内产生了有效的抗肿瘤效果。

[0079] MM-111 与拉帕替尼组合

[0080] 方法

[0081] 计算模型

[0082] 使用之前所描述的(Schoeberl, et al 2009)HRG 诱导的磷酸 -ErbB3 信号的计算模型以及拉帕替尼的模型。

[0083] 细胞信号检测

[0084] 以标示的剂量和处理次数使用 MM-111、拉帕替尼或组合物的连续稀释液预温育血清饥饿的细胞,随后使用 5nM 调蛋白 1-β (R&D Systems, Minneapolis, MN)刺激持续 10 分钟。针对磷酸 -ErbB3 (pErbB3)和磷酸 -AKT (pAKT),通过如前描述的 ELISA (Schoeberl

等,2009)来探测细胞裂解液。通过将剂量响应数据拟合至 4- 参数 S 形曲线(GraphPad Prism ®,GraphPad Software,Inc.,La Jolla,CA)计算抑制剂 IC_{50} 值。

[0085] 细胞增殖分析

[0086] 将细胞(8,000/ 孔)接种在 96- 孔板中并且过夜温育。以标示的剂量添加抑制剂并且处理细胞持续 24 小时。对于使用配体刺激的实验,在添加抑制剂之前将细胞血清饥饿过夜,并在抑制剂处理后 1 小时添加在包含 5%FBS 的培养基中的 2nM 调蛋白 1-β (R&D Systems,Minneapolis,MN)。使用 CellTiter-Glo ®发光的细胞存活性检测(Promega,Madison,WI)测量存活细胞的数量作为细胞增殖的指标。

[0087] 细胞凋亡检测

[0088] 将 BT474-M3 细胞(2000 个细胞 / 孔)接种在超低聚簇 96- 孔板(Costar ®,Corning,NY)中。在过夜温育之后,使用标示浓度下的抑制剂处理球体持续 72 小时。然后胰蛋白酶消化球体并且与漂浮的细胞结合。使用冷 PBS 洗涤细胞两次并且悬浮在结合缓冲液(0.01M HEPES,pH7.4;0.14M NaCl;2.5mM $CaCl_2$)中。然后使用 FITC- 标记的膜联蛋白 V(Annexin V)和 PI 染色细胞。在 FACSCalibur ™ FACS 机器上量化凋亡的细胞。

[0089] 异种移植效果研究

[0090] 通过将 BT474-M3 细胞皮下注射入 5-6 周大的雌性无胸腺裸鼠(nu/nu;Charles River Labs,Wilmington,MA)来完成肿瘤异种移植。小鼠接受皮下注射 60 天,在注射细胞前 24 小时将缓释雌激素(0.72mg 丸剂 ;Innovation Research of America,Sarasota,FL)植入对侧。一旦肿瘤达到 $150mm^3$-$500mm^3$ 的平均体积,将小鼠随机分成 8 或 10 组并且使用载体、MM-111 或拉帕替尼每三天一次通过腹膜内注射剂量。对于拉帕替尼组合物研究,以标示的剂量通过胃管灌食法每七天一次给予 MM-111 并且每天给予拉帕替尼。

[0091] 芳香酶过表达的 BT474-M3 细胞和增殖测定

[0092] 使用包含人类芳香酶(基因序列号 :NM_000103.2)的 PS100010 载体转染 BT474-M3 细胞。在使用 400μg/ml 遗传霉素(geneticin)选择之后获得具有稳定表达芳香酶的细胞(BT474-M3-Aro)。对于细胞增殖测定,将 BT474-M3-Aro 细胞(5000 个细胞 / 孔)接种在包含 5% 活性炭处理的 FBS 的无酚红 RPMI-1640 培养基中至 96- 孔平板中。在过夜温育之后,在雄甾烯二酮(A-4 ;200nM)和调蛋白(HRG ;2nM)的存在下引入标示的处理。在处理三天之后,根据制造商的说明书由 WST-1 (Roche; 目录号 11 644 807 001)测定细胞存活性。将在 5% 活性炭处理的 FBS 的存在下的细胞存活性设置为对照(100%)。

[0093] 实施例 5 :MM-111 和拉帕替尼的组合抑制体内肿瘤生长

[0094] 使用上文描述的方法或其细微的变化形式在 BT474-M3 乳腺癌异种移植模型中在体内研究了 MM-111 和拉帕替尼的组合。分别以每周和每天的最佳的有效剂量各自配制 MM-111 和拉帕替尼。与任一单独的药物相比 MM-111 和拉帕替尼的组合提供了更大效力,对于 MM-111 ($p=3.9\times10^{-4}$) 和拉帕替尼($p=5.1\times10^{-3}$) 在第 13 天达到了统计显著性(图 6)。对于每个组,计算了从第 40 天至第 7 天(接种)肿瘤体积方面的百分比变化(图 6b)。在肿瘤体积方面,与对于拉帕替尼的 -11% (约 10%)和对于 MM-111 的 14% (约 15%)相比,MM-111 和拉帕替尼的组合产生～ 69% (约 70%)的百分比变化,反应了肿瘤消退。

[0095] 实施例 6 :在抑制调蛋白驱动的 pErbB3 和 pAKT 方面模拟预测拉帕替尼具有次优的活性

[0096] 使用上文描述的计算模型预测拉帕替尼抑制 pErbB3 活性的剂量范围。将拉帕替尼的剂量范围施加至 BT474-M3 细胞，随后使用 5nM 调蛋白刺激持续 10min。使用上文描述的方法或其细微的变化形式通过 ELISA 测量 pErbB3 的量。模型产生的剂量响应曲线覆盖了实验数据(图 7a)。在调蛋白刺激的或未刺激的(基础的)细胞中进行拉帕替尼的抑制活性的比较，以证明调蛋白信号干扰拉帕替尼的活性。对于 pErbB3 和 pAKT 探测了的未处理的和调蛋白刺激的细胞并计算 IC50 (图 7b)。这些数据示出单独的拉帕替尼不是调蛋白激活信号的有效抑制剂。

[0097] 实施例 7 :较之拉帕替尼，MM-111 是 HRG 驱动的 ErbB3 和 AKT 磷酸化的更有效的抑制剂

[0098] 为了比较 MM-111 和拉帕替尼抑制调蛋白诱导的 ErbB3 激活的能力，使用任一抑制剂的连续稀释液温育 BT474-M3 细胞或另外的 ErbB2 过表达的乳腺瘤细胞系 ZR75-30 (ATCC ® #CRL-1504 ™) 细胞持续 15 分钟、1 小时、4 小时和 24 小时，随后使用 5nM 调蛋白刺激持续 10min。基本上如所描述的通过 ELISA 测量 pAKT 和 pErbB3 的量。在 BT474-M3 (IC_{50}=3nM)细胞(图 8a)和 ZR75-30 细胞(IC_{50}=5nM)(图 8c)中，MM-111 有效地降低了 pErbB3 水平(抑制 ErbB3 磷酸化)。在 BT474-M3 (IC_{50}=10)细胞(图 8b)和 ZR75-30 细胞(IC_{50}=4nM)中也观察到了由 MM-111 良好降低的 pAKT 水平(抑制 AKT 磷酸化)。MM-111 抑制调蛋白诱导的 ErbB3 活性的能力(磷酸化)优于拉帕替尼高出一个数量级，并且在使用抑制剂温育上达至 24 小时之后对于各个抑制剂的相对的 IC_{50} (图 8c)是一致的，说明治疗次数在抑制剂的效力上几乎没有影响。

[0099] 实施例 8 :MM-111 和拉帕替尼的组合有效地抑制 pAKT

[0100] 在调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞中评估了 MM-111 与拉帕替尼组合在 pAKT 抑制(减少 pAKT 浓度)上的效果。使用 MM-111、拉帕替尼或它们的组合的剂量范围温育细胞持续 2 小时并且通过 ELISA 测量 pAKT。在调蛋白的存在下，MM-111 和拉帕替尼的组合是非常有效的，在治疗性相关的浓度下将 pAKT 很好地抑制在基础浓度以下(图 9)。单独使用亦或 MM-111 (1μM)亦或拉帕替尼(1μM)的治疗产生 pAKT 抑制的相似的水平(参见图 8b)而组合物产生 pAKT 的约 20% 更多的抑制。

[0101] 实施例 9 :在调蛋白刺激的条件下干扰了拉帕替尼抑制细胞增殖的能力

[0102] 在未刺激的和调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞中测量拉帕替尼在细胞增殖上的效果。使用在整个剂量范围内的拉帕替尼处理在血清中或在血清 +2nM 调蛋白中生长的细胞持续 24 小时。拉帕替尼治疗产生未刺激细胞的约 50% 抑制，但是在调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞中其影响被降低至约 23% 抑制(图 10)。

[0103] 实施例 10 :使用 MM-111 和拉帕替尼的组合处理产生了增加的细胞凋亡

[0104] 在 BT474-M3 球体模型中评估 MM-111 和拉帕替尼的组合在细胞凋亡上的效果。使用上文描述的方法或其细微的变化形式制备球体并使用 MM-111 (100nM)、拉帕替尼(33nM)或 100nM MM-111 和 33nM 拉帕替尼的组合处理球体。然后使用膜联蛋白 V 和碘化丙啶(PI)染色并且使用 FACS 量化细胞(图 11，表 2)。将具有膜联蛋白 V 和 PI 的阳性染色的细胞群量化为晚期凋亡、将具有膜联蛋白 V 而没有 PI 的阳性染色的细胞群量化为早期凋亡，将具有 PI 而没有膜联蛋白 V 的阳性染色的细胞群量化为死细胞而将既没有膜联蛋白 V 也没有 PI 的染色的细胞群认为是存活的未凋亡的细胞(表 2)。与仅使用拉帕替尼(约 31%)或仅使

用 MM-111（约 20%；图 10）处理的那些细胞相比，使用 MM-111 和拉帕替尼两者处理的球体具有更多数量的总细胞凋亡（约 46%）。

[0105] 表 2. 使用 MM-111、拉帕替尼或组合物处理之后的百分比细胞群

[0106]

	活细胞	早期细胞凋亡	晚期细胞凋亡	死细胞
对照	75.2	17.3	7.2	0.42
MM-111	78.9	12.9	7.5	0.74
拉帕替尼	67.9	16.8	14.5	0.73
组合物	52.1	30.0	16.2	1.74

[0107] 实施例 11：在抑制双重配体（雌激素和调蛋白）刺激的球体生长方面 MM-111 与抗雌激素药物和拉帕替尼阳性结合

[0108] 为了进一步研究当 MM-111 与抗雌激素药物和酪氨酸激酶抑制剂组合时 MM-111 抑制细胞生长的能力，使用上文描述的方法或其细微的变化形式来制备雌激素和调蛋白刺激的 BT474-M3 细胞的球体并且使用：3.3nM、10nM、或 30nM 拉帕替尼，亦或单独地亦或与氟维司群（FVT）的剂量范围组合处理球体（图 12a）；3.3nM、10nM、或 30nM 拉帕替尼，亦或单独地亦或与 MM-111 的剂量范围组合处理球体（图 12b）；或 3.3nM、10nM、或 30nM 拉帕替尼，亦或单独地亦或与 MM-111 与氟维司群两者的剂量范围组合处理球体（图 12c）。在双重配体刺激的存在下拉帕替尼和 FVT 的组合相对于单独的拉帕替尼没有较大的提高球体生长的抑制（图 12a）。相比之下，添加 MM-111 较大的提高了球体对拉帕替尼处理的敏感性（图 12b），并且拉帕替尼、FVT 和 MM-111 的三重组合相对于单独的拉帕替尼显示出球体生长抑制的甚至更大的提高。

[0109] 实施例 12：在过表达人类雄甾烯二酮的 BT474-M3 细胞中在抑制球体生长方面 MM-111 与抗雌激素药物阳性结合

[0110] 雄甾烯二酮是甾类激素，由芳香酶将其转化为雌激素。为了进一步研究 MM-111 抑制球体生长的能力，在雄甾烯二酮（A4）和调蛋白（HRG）的存在下使用 MM-111、来曲唑或 MM-111 或来曲唑的组合（图 13a）；MM-111、拉帕替尼或 MM-111 和拉帕替尼的组合（图 13b）；拉帕替尼、来曲唑或拉帕替尼和来曲唑的组合（图 13c）；以及 MM-111、拉帕替尼、与来曲唑的每一个双重组合 + 三重组合（图 13d）处理表达芳香酶的细胞。在使用 A4 和 HRG 处理的细胞中，与对照（未处理的）细胞相比，来曲唑处理并未导致显著抑制球体细胞生长，然而单独使用 MM-111 或 MM-111 和来曲唑的组合处理细胞使细胞增殖抑制至相似的程度（图 13a）。除在高浓度下，拉帕替尼处理细胞并不导致生长抑制，然而除了在较高浓度下，单独使用 MM-111 或以组合形式处理导致相似水平的细胞生长抑制，其中组合物表现出超过任一单独处理的细胞生长的提高的抑制（图 13b）。除了在高浓度下，使用单独的拉帕替尼、单独的来曲唑、或拉帕替尼和来曲唑的组合处理并不导致显著的细胞生长抑制（图 13c）。类似地，如在图 13d 中示出的，拉帕替尼和来曲唑的双重组合仅在高药物浓度下导致细胞生长抑制。相反，与对照相比，MM-111 和来曲唑或 MM-111 和拉帕替尼的双重组合均表现出在细胞生长抑制方面

的提高，并且 MM-111、拉帕替尼和来曲唑的三重组合使细胞生长抑制至甚至更高的程度。

[0111] 实施例 13 :MM-111 的氨基酸序列（SEQ ID NO:1）

[0112] QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLE

[0113] WVANINRDGSASYYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY

[0114] YCARDRGVGYFDLWGRGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQSALT

[0115] QPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMIYDVS

[0116] DRPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSSSTHVIFGG

[0117] GTKVTVLGAASDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFE

[0118] DHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG

[0119] EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEE

[0120] TFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPK

[0121] LDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFA

[0122] EVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKE

[0123] CCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV

[0124] FLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKV

[0125] FDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT

[0126] LVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPV

[0127] SDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTLSE

[0128] KERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKE

[0129] TCFAEEGKKLVAASQAALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKG

[0130] SGYSFTSYWIAWVRQMPGKGLEYMGLIYPGDSDTKYSPSFQGQVTISV

[0131] DKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWLGV

[0132] WGQGTLVTVSSGGGGSSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISC

[0133] SGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTS

[0134] ASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWVFGGGTKLTVLG

[0135] MM-111 与一种或多种另外的治疗剂组合的剂量和给药

[0136] 实施例 14 :给予 MM-111 的模型

[0137] 在包含 20mM 的 L- 组氨酸盐酸盐、150mM 氯化钠、pH6.5 的无菌水溶液中将 MM-111 制备为包含 25mg/ml MM-111 的制剂，将其保存在 2-8℃下。

[0138] 在给予前必须将 MM-111 置于室温。不能摇动 MM-111 的容器（例如，小瓶）。从容器中移取适当量的 MM-111，稀释在 250mL 的 0.9% 生理盐水中并使用低蛋白结合率的串联过滤器（如，0.22 微米过滤器）作为输液给予。

[0139] 在约 90 分钟内初次给予 MM-111（第一次给予）。在没有输液反应的情况下，在约 60 分钟内给予后续剂量。

[0140] 使用在剂量循环开始时的患者体重来计算整个循环中所使用的剂量。患者的体重变化高于 10%，应当计算新的总剂量以反映此变化。

[0141] 实施例 15 :MM-111 的剂量和给药

[0142] 在治疗期间达到的 MM-111 的优选血浆浓度是至少 106mg/L。现在已经发现在至少一半的、并且优选地在超过 60%、70% 或 80% 的待治疗患者中在治疗期间剂量频率和剂量的

某些组合将达到并维持该血浆浓度。

[0143] 在某些实施方式中给予较高的初始剂量(负荷剂量 -LD),随后给予以确定的时间间隔的至少一个维持剂量(MD)。通常地,将以天计的给药间隔表示为 QxD,其中 x 表示整数,因此,7 的 QxD 表示每 7 天的给药。以下表 3A、表 3B、和表 3C 示出本发明的剂量和给药间隔。在表 3A、表 3B、和表 3C 中标示的负荷剂量是可选择的,优选地,以标示的负荷剂量(LD)制备初始剂量,但是可以(例如,如直接地或在医师的指导下)以维持剂量(MD)制备初始剂量。表 3A 提供了一组示例性的给药间隔、负荷剂量和维持剂量。表 3B 提供了容许对于上达至 +/-3mg/mL 的剂量可变性(表示为“约”)的表 3A 的变化值。在下文出现了表 3C 并且提供了更广泛的一组示例性的给药间隔、负荷剂量和维持剂量。在表 3A、表 3B、和表 3C 的每个单元格中,顶部数字是间隔 QxD 中的整数 x (例如,在单元格中作为顶部数字的 18 表示 Q18D 的给药间隔或每 18 天),中间数字表示(可选的)负荷剂量(LD)(mg/kg),而底部数字表示以 mg/kg 计的维持剂量(MD)。因此在表 3A 中的顶部单元格表示每七天一次的给药间隔(QxD)、25mg/kg 患者体重的负荷剂量(可选的)和 20mg/kg 患者体重的维持剂量 ;而在表 3C 的首行上最左边的单元格表示每七天一次的给药间隔(QxD)、30mg/kg 患者体重的负荷剂量(可选的)和 15mg/kg 患者体重的维持剂量。

[0144]

表 3A

7 25 20
7 40 30
14 60 45
14 90 75
21 120 105

表 3B

7 约 25 约 20
7 约 40 约 30
14 约 60 约 44
14 约 90 约 75
21 约 120 约 105

[0145] 表 3C

[0146]

7 10 5	7 15 5	7 20 5	7 25 5	7 30 5	7 15 10	7 20 10	7 25 10	7 30 10	7 35 10	7 20 15	7 25 15	7 30 15
7 35 15	7 40 15	7 25 20	7 30 20	7 35 20	7 40 20	7 45 20	7 30 25	7 35 25	7 40 25	7 45 25	7 50 25	7 55 25
7 60 25	7 65 25	14 35 30	14 40 30	14 45 30	14 50 30	14 55 30	14 60 30	14 65 30	14 70 30	14 75 30	14 40 35	14 45 35
14 50 35	14 55 35	14 60 35	14 65 35	14 70 35	14 75 35	14 45 40	14 50 40	14 55 40	14 60 40	14 65 40	14 70 40	14 75 40
14 50 45	14 55 45	14 60 45	14 65 45	14 70 45	14 75 45	14 55 50	14 60 50	14 65 50	14 70 50	14 75 50	14 60 55	14 65 55
14 70 55	14 75 55	14 65 60	14 70 60	14 75 60	14 70 65	14 75 65	14 75 70	21 60 55	21 65 55	21 70 55	21 65 60	21 70 60
21 75 60	21 70 65	21 75 70	21 80 75	21 85 80	21 90 85							

[0147] 实施例 16. MM-111 连同拉帕替尼和曲妥珠单抗的剂量和给药

[0148] 对患有曲妥珠单抗难治疗的过表达 HER2 的乳腺癌的患者的治疗是在乳腺肿瘤学领域中关键的未满足需求，并且需要新方法来解决这个需求。尽管选择性的酪氨酸激酶抑制剂（TKI）已经被卓有成效地用于治疗某些酪氨酸激酶致癌基因引发的癌症，在治疗 HER2 引发的乳腺癌方面它们的临床抗肿瘤功效是令人失望的，尽管有足够的生物学分布和明显的靶向抑制。使用最有效的 HER2 TKI（拉帕替尼）的两个完整的 II 期试验已经报导了在患有曲妥珠单抗难治疗的过表达 HER2 的乳腺癌患者中仅 4%-8% 的响应率。现在已知 HER2+ 乳腺癌的有效治疗比以前想的更复杂的且更艰难。最近证据已经突出显示了 HER3 的功能并且在 HER2-HER3 肿瘤引发中固有的强烈的信号缓冲能力，该能力保护其抵抗 HER2 催化活性的两个对数抑制，使其位于超过甚至最有效的酪氨酸激酶抑制剂（TKI）的治疗指数之处。

[0149] 通常，以 250mg 片剂以 1000mg 至 1500mg 的剂量每天服用一次给予拉帕替尼。拉帕替尼通常与另一种癌症药物治疗卡培他滨组合使用，以两次之间一周间隔的 14 天周期服用卡培他滨。

[0150] 为了测试使用高得多的 TKI 剂量以间断的给药方案达到 HER2-HER3 驱动子的完全失活是否比连续给药更有效，使用修改的给药方案其中在 14 天周期的第 1-5 天给予拉帕替尼的增加剂量，所述提高的剂量是比 1000mg/ 天至 1500mg/ 天的标准剂量更高的剂量。在一些实施方式中，更高的拉帕替尼剂量是 2000mg/ 天至 9000mg/ 天之间。例如，更高的拉帕替尼剂量可以是 2000mg/ 天、2250mg/ 天、3375mg/ 天、3000mg/ 天、3250mg/ 天、3500mg/ 天、3750mg/ 天、4000mg/ 天、4250mg/ 天、4500mg/ 天、4750mg/ 天、5000mg/ 天、5250mg/ 天、5500mg/ 天、5750mg/ 天、6000mg/ 天、6250mg/ 天、6500mg/ 天、6750mg/ 天、7000mg/ 天、7250mg/ 天、7500mg/ 天、7750mg/ 天、8000mg/ 天、8250mg/ 天、8500mg/ 天、8750mg/ 天 或 9000mg/ 天等。

[0151] 在某些实施方式中在14天周期的第1天给予负荷剂量，该负荷剂量是比随后几天给予的维持剂量较高的剂量。例如，在14天周期的第1天给予的负荷剂量可以是7000mg/天，随后是3000mg/天的维持剂量。在下文的表4中列出了负荷剂量和维持剂量组合的非限制性实例。

[0152] 如在实施例15中描述的给予MM-111。在一些实施方式中治疗进一步包括曲妥珠单抗。通常使用初始负荷剂量随后是维持剂量给予曲妥珠单抗。例如，可以以8mg/kg的负荷剂量随后是每三个星期6mg/kg的维持剂量给予曲妥珠单抗。

[0153] 表4. 示例性的拉帕替尼给药方案：负荷剂量(顶部数字)和维持剂量(底部数字)(mg/天)

[0154]

2000 1000	2000 1500	2000 2000	2500 1000	2500 1500	2500 2000	3000 1000	3000 1500	3000 2000	3000 2500	3000 3000	3500 1000	3500 1500
3500 2000	3500 2500	3500 3000	4000 1000	4000 1500	4000 2000	4000 2500	4000 3000	4000 3500	4500 1000	4500 1500	4500 2000	4500 2500
4500 3000	4500 3500	4500 4000	5000 1000	5000 1500	5000 2000	5000 2500	5000 3000	5000 3500	5000 4000	5000 4500	5500 1000	5500 1500
5500 2000	5500 2500	5500 3000	5500 3500	5500 4000	5500 4500	5500 5000	6000 1000	6000 1500	6000 2000	6000 2500	6000 3000	6000 3500
6000 4000	6000 4500	6000 5000	6000 5500	7500 1000	7500 1500	7500 2000	7500 2500	7500 3000	7500 3500	7500 4000	7500 4500	7500 5000
7500 5500	7500 6000	7500 6500	7500 7000	8000 1000	8000 1500	8000 2000	8000 2500	8000 3000	8000 3500	8000 4000	8000 4500	8000 5000
8000 5500	8000 6000	8000 6500	8000 7000	8000 7500	9000 1000	9000 1500	9000 2000	9000 2500	9000 3000	9000 3500	9000 4000	9000 4500
9000 5000	9000 5500	9000 6000	9000 6500	9000 7000	9000 7500	9000 8000	9000 8500					

[0155]

[0156] 实施例17：MM-111连同顺铂、卡培他滨和曲妥珠单抗的剂量和给药

[0157] 例如，通过以下方法或其细微的变化形式完成MM-111与顺铂、卡培他滨和曲妥珠单抗的给予

[0158] 以21天治疗周期向患者给予治疗。以80mg/m^2的剂量，在两小时内通过静脉内(i.v.)输液在每个21天周期的第1天给予顺铂。以1000mg/m^2的剂量，一天两次，口服给予卡培他滨。给予上达至21天周期的顺铂和卡培他滨。在第一周以8mg/kg负荷剂量下在90分钟内静脉内(i.v.)给予曲妥珠单抗，随后每21天在30-90分钟内给予6mg/kg的维持剂量。如在上文实施例中描述的给予MM-111。例如，对于第一剂量，在90分钟内静脉内

(i.v.)给予 MM-111,然后在此之后是每周在 60 分钟内给予。

[0159] 实施例 18 :MM-111 连同拉帕替尼和曲妥珠单抗的剂量和给药

[0160] 例如,通过以下方法或其细微的变化形式完成 MM-111 与拉帕替尼和曲妥珠单抗的给药。在第 1 周在 90 分钟内以 4mg/kg 负荷剂量静脉内(i.v.)给予曲妥珠单抗,随后在此之后是每周 2mg/kg 的维持剂量。亦或以 1000mg 每日剂量亦或以在实施例 13 中所描述的剂量方案的一种下经口给予拉帕替尼。如在上文实施例中描述的给予 MM-111。例如,针对第一剂量在 90 分钟内给予 i.v.MM-111,然后在此之后是每周在 60 分钟内给予。

[0161] 实施例 19 :MM-111 连同紫杉醇和曲妥珠单抗的剂量和给药

[0162] 例如,通过以下方法或其细微的变化形式完成 MM-111 连同紫杉醇和曲妥珠单抗的给药。以 28 天治疗周期给予患者治疗。在第 1 周期的第 1 天开始紫杉醇给药。以在 60 分钟内 i.v. 输液,以每周 80mg/m^2 给予紫杉醇。在第 1 周,在 90 分钟内以 4mg/kg 负荷剂量静脉内(i.v.)给予曲妥珠单抗,然后在此之后是每周 2mg/kg 的维持剂量。如在上文实施例中描述的给予 MM-111。例如,对于第一剂量在 90 分钟内静脉内(i.v.)给予 MM-111,然后在此之后是每周 60 分钟内静脉内(i.v.)给予 MM-111。

[0163] 附注

[0164] 虽然已经描述了本发明连同其具体实施方式,应理解的是能够进一步修改且该应用旨在覆盖随后本发明的任何变形、用途、或改变,通常覆盖本发明的原理并且包括由本公开内容的这种变更,本公开内容在本发明所述领域内已知的范围或惯例中并且可以应用于上文中给出的基本特征。

[0165] 通过引用将本文中提及的所有专利的专利申请和出版物如每个独立专利或专利申请被具体地与单独地表示相同的程度结合,通过以其整体引用而结合。

[0166] 附录

[0167] 抗癌药剂

[0168] 以与抗雌激素受体药剂或受体酪氨酸激酶抑制剂组合共同给予的双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体可以进一步与选自任何下文所公开的那些的至少一个第三抗肿瘤剂一起共同给予。

[0169] 表 5 :与双特异性抗 ErbB2/ 抗 ErbB3 抗体组合用于治疗乳腺癌的示例性抗肿瘤药剂。

[0170]

治疗剂种类	示例性药剂（全称/商品名称）	示例性剂量
有丝分裂抑制剂	紫杉醇（TAXOL®; ABRAXANE ®）	175 mg/m^2
	多西紫杉醇（TAXOTERE ®）	60-100 mg/m^2
拓扑异构酶抑制剂	喜树碱	
	盐酸拓扑替康（HYCAMTIN®）	
	依托泊甙（EPOSIN ®）	
烷化剂	环磷酰胺（CYTOXAN ®）	600 mg/m^2
铂类药剂	顺铂	20-100 mg/m^2
	卡铂（PARAPLATIN®）	300 mg/m^2
	奈达铂（AQUPLA ®）	
	奥沙利铂（ELOXATIN ®）	65-85 mg/m^2
	沙铂（SPERA®）	
	四硝酸三铂	
选择性的雌激素调节剂（SERM）	他莫昔芬（NOLVADEX ®）	20-40 mg/天
	雷洛昔芬（EVISTA ®）	60 mg/天
	托瑞米芬（FARESTON ®）	
抗代谢药	氨甲喋呤	40 mg/m^2
	氟尿嘧啶（5-FU）	500 mg/m^2
	雷替曲塞	
抗肿瘤抗生素	多柔比星（ADRIAMYCIN ®）	40-75 mg/m^2
	表柔比星（ELLENCE ®）	60-120 mg/m^2
芳香酶抑制剂	氨鲁米特（CYTADREN ®）	250-2000 mg/天
	阿那曲唑（ARIMIDEX ®）	1 mg/天
	来曲唑（FEMARA ®）	2.5 mg/天
	伏氯唑	
	依西美坦（AROMASIN ®）	25-50 mg/天
	睾内酯酮	

[0171]

	法倔唑（AFEMA ®）	
抗 VEGF 药剂	贝伐珠单抗（AVASTIN ®）	10 mg/kg
抗 ErbB2（HER2/neu）药剂	曲妥珠单抗（HERCEPTIN ®）	2-8 mg/kg
	帕妥珠单抗（OMNITARG ®）	
抗 ErbB3（HER3）药剂	U3-1287（AMG 888）	

[0172] 附录

[0173] 抗癌药剂

[0174]

用于与双特异性抗 ErbB2/抗 ErbB3 抗体组合的其它抗癌药剂	商标名称（一种或多种）	制造商/所有者
抗 IGF 1R 抗体		
AMG 479（完全人源化的 mAb）		Amgen
IMCA12（完全人源化的 mAb）		ImClone
NSC-742460		Dyax
19D12（完全人源化的 mAb）		
CP751-871（完全人源化的 mAb）		Pfizer
H7C10（人源化的 mAb）		
α-IR3（小鼠）		
scFV/FC（小鼠/人类嵌合体）		
EM/164（小鼠）		
MK-0646，F50035		Pierre Fabre Medicament，Merck
靶向 IGF 1R 的小分子		
NVP-AEW541		Novartis
BMS-536,924(1H-苯并咪唑-2-基)-1H-嘧啶-2-酮		Bristol-Myers Squibb
BMS-554,417		Bristol-Myers Squibb
Cycloligan		
TAE226		
PQ401		
抗 EGFR 单克隆抗体		
INCB7839		Incyte
贝伐珠单抗	Avastin®	Genentech
西妥昔单抗	Erbitux®	IMCLONE

[0175]

mAb 806 马妥珠单抗（EMD72000） 尼妥珠单抗 （TheraCIM） 帕尼单抗	 Vectibix®	 Amgen
抗 ErbB3 治疗剂 U3-1287 / AMG888 MM-121	- 	- U3 Pharma/Amgen Merrimack Pharmaceuticals
抗 ErbB2 治疗剂 曲妥珠单抗 HKI-272 - 来那替尼 KOS-953 - 替拉替尼	- Herceptin® 	- Genentech Wyeth Kosan Biosciences
Her/ErbB 二聚化抑制剂 2C4, R1273 - 帕妥珠单抗	 Omnitarg®	 Genentech, Roche
靶向 EGFR 的小分子 CI-1033 （PD 183805） EKB-569 吉非替尼 拉帕替尼（GW572016） 拉帕替尼对甲苯磺酸酯 盐酸埃罗替尼（OSI-774） PD158780 PKI-166 酪氨酸磷酸化抑制剂 AG1478（4-(3-氯苯胺)-6,7-二甲氧基喹唑啉）	 IRESSA™ Tykerb® Tarceva® 	 Pfizer, Inc. AstraZeneca GlaxoSmithKline SmithKline Beecham OSI Pharms Novartis
抗 cmet 抗体治疗剂 AVEO（AV299） AMG102 5D5（OA-5D5）	 	 AVEO Amgen Genentech
靶向 cmet 的小分子 PHA665752 ARQ-650RP ARQ 197	 	 ArQule ArQule

[0176]

烷化剂		
BCNU→1,3-双(2-氯乙基)-亚硝基脲		
苯达莫司汀		
白消安	Myleran	GlaxoSmithKline
卡铂	Paraplatin	Bristol-Myers Squibb
卡波醌		
卡莫司汀		
CCNU→1,-(2-氯乙基)-3-环己基-1-亚硝基脲（甲基 CCNU）		
苯丁酸氮芥	Leukeran®	Smithkline Beecham
氮芥		
顺铂（顺铂，CDDP）	Platinol	Bristol-Myers
环磷酰胺	Cytoxan Neosar	Bristol-Myers Squibb Teva Parenteral
达卡巴嗪（DTIC）		
福莫司汀		
六甲三聚氰胺（六甲蜜胺，HMM）	Hexalen®	MGI Pharma, Inc.
异环磷酰胺	Mitoxana®	ASTA Medica
洛莫司汀		
甘露舒凡		
美法仑	Alkeran®	GlaxoSmithKline
奈达铂		
尼莫司汀		
奥沙利铂	Eloxatin®	Sanofi-Aventis US
泼尼莫司汀		
盐酸丙卡巴肼	Matulane	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
核糖核苷酸还原酶抑制剂（RNR）		
雷莫司汀		
沙铂		
司莫司汀		
链佐星		
替莫唑胺		
曲奥舒凡		
三亚胺醌		
三乙烯亚胺三嗪		

[0177]

噻替派 四硝酸三铂 曲磷胺 乌拉莫司汀		Bedford, Abraxis, Teva
抗代谢药物 5-氮杂胞苷 氟脲嘧啶（5-FU）/卡培他滨 6-巯基嘌呤（巯基嘌呤，6-MP） 6-硫鸟嘌呤（6-TG） 阿糖胞苷（阿糖胞苷，Ara-C） 硫唑嘌呤 卡培他滨 克拉屈滨（2-CdA，2-二氯脱氧腺苷） 5-三氟甲基-2'-脱氧尿苷 氟达拉滨磷酸酯 氟尿苷（5-氟-2） 甲基蝶啶钠 培美曲塞 喷司他丁 雷替曲塞 替加氟	 Purinethol® Thioguanine® Azasan® XELODA® Leustatin® Fludara® FUDR® Trexall Alimta® Nipent® Tomudex®	 Teva GlaxoSmithKline AAIPHARMA LLC HLR（Roche） Ortho Biotech Bayer Health Care Hospira, Inc. Barr Lilly Hospira, Inc. AstraZeneca
芳香酶抑制剂 酮康唑		
糖皮质激素 地塞米松 脱氢皮醇 泼尼松	Decadron® Dexasone, Diodex, Hexadrol, Maxidex Deltasone, Orasone, Liquid Pred, Sterapred®	Wyeth, Inc.
免疫治疗剂 α 干扰素		

[0178]

血管生成抑制剂	Avastin®	Genentech
IL-12→ 白细胞介素 12		
IL-2→白细胞介素 2（阿地白介素）	Proleukin ®	Chiron
受体酪氨酸激酶抑制剂		
AMG 386		Amgen
阿西替尼（(AG-013736）		Pfizer, Inc
博舒替尼 （SKI-606）		Wyeth
布立尼布 alalinate（BMS-582664）		BMS
西地尼布（AZD2171）	Recentin	AstraVeneca
达沙替尼（BMS-354825）	Sprycel®	Bristol-Myers Squibb
甲磺酸伊马替尼	Gleevec	Novartis
来他替尼（CEP-701）		Cephalon
莫特塞尼二磷酸盐（AMG-706）		Amgen/Takeda
尼洛替尼盐酸一水化合物	Tasigna®	Novartis
盐酸帕唑帕尼（GW786034）	Armala	GSK
司马沙尼（SU5416）		Pharmacia,
甲苯磺酸索拉非尼	Nexavar®	Bayer
苹果酸舒尼替尼	Sutent®	Pfizer, Inc.
凡德他尼（AZD647）	Zactima	AstraZeneca
瓦他拉尼；PTK-787		Novartis;Bayer Schering Pharma
XL184，NSC718781		Exelixis, GSK
微管靶向药剂		
秋水仙素		
多西紫杉醇	Taxotere®	Sanofi-Aventis US
伊沙匹隆	IXEMPRA™	Bristol-Myers Squibb
拉洛他赛		Sanofi-aventis
沃塔紫杉醇		Spectrum Pharmaceuticals
纳米颗粒紫杉醇（ABI-007）	Abraxane®	Abraxis BioScience, Inc.
紫杉醇	Taxol®	Bristol-Myers Squibb
他西紫杉醇		Genta
硫酸长春碱	Velban®	Lilly
长春新碱	Oncovin®	Lilly
硫酸长春地辛	Eldisine®	Lilly
长春氟宁		Pierre Fabre
酒石酸长春瑞滨	Navelbine®	Pierre Fabre

[0179]

mTOR 抑制剂		
雷帕霉素（AP23573，MK 8669）		ARIAD Pharmaceuticals, Inc
依维莫司（RAD001，RAD001C）	Certican®, Afinitor	Novartis
西罗莫司（Rapamycin）	Rapamune®	Wyeth Pharama
替西莫司（CCI-779）	Torisel®	Wyeth Pharama
蛋白合成抑制剂		
L-天冬酰胺酶	Elspar®	Merck & Co.
生长激素抑制素类似物		
奥曲肽醋酸盐	Sandostatin®	Novartis
拓扑异构酶抑制剂		
放线菌素 D		
喜树碱（CPT）		
贝洛替康		
柔红霉素柠檬酸盐	Daunoxome®	Gilead
多柔比星盐酸盐	Doxil®	Alza
依托泊苷	Vepesid® Etopophos	Bristol-Myers Squibb Hospira, Bedford, Teva Parenteral, Etc.
盐酸伊立替康（CPT-11）	Camptosar®	Pharmacia & Upjohn
盐酸米托蒽醌	Novantrone	EMD Serono
卢比替康		
替尼泊苷（VM-26）	Vumon®	Bristol-Myers Squibb
盐酸托泊替康	Hycamtin®	GlaxoSmithKline
化疗剂		
亚德里亚霉素，5-氟尿嘧啶，细胞分裂素，博莱霉素，丝裂霉素 C，红必霉素，洋红霉素，蝶啶胺，放线菌素，丝裂霉素，埃斯波霉素氯法拉滨，巯基嘌呤，喷司他丁，硫鸟嘌呤，阿糖胞苷，地西他滨，氟尿苷，吉西他滨（Gemzar），依诺他滨，沙帕他滨		
激素治疗剂		

[0180]

阿巴瑞克	Plenaxis™	Amgen
阿比特龙乙酸酯	CB7630	BTG plc
阿非昔芬	TamoGel	Ascend Therapeutics, Inc.
阿那曲唑	Arimidex®	AstraZeneca
芳香酶抑制剂	Atamestane plus toremifene	Intarcia Therapeutics, Inc.
	Arzoxifene	Eli Lilly & Co.
Asentar; DN-101		Novartis; Oregon Health & Science Univ.
比卡鲁胺	Casodex®	AstraZeneca
布舍瑞林	Suprefact®	Sanofi Aventis
西曲瑞克	Cetrotide®	EMD Serono
依西美坦	Aromasin®	Pfizer
依西美坦	Xtane	Natco Pharma, Ltd.
法倔唑（CGS 16949A ）		
氟他胺	Eulexin®	Schering
氟他胺	Prostacur	Laboratorios Almirall, S.A.
氟维司群	Faslodex®	AstraZeneca
醋酸性瑞林	Zoladex®	AstraZeneca
来曲唑	Femara®	Novartis
来曲唑（CGS20267）	Femara	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
来曲唑	Estrochek	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
来曲唑	Letrozole	Indchemie Health Specialities
亮丙瑞林	Eligard®	Sanofi Aventis
亮丙瑞林	Leopril	VHB Life Sciences, Inc.
亮丙瑞林	Lupron®/Lupron Depot	TAP Pharma
亮丙瑞林	Viador	Bayer AG
亮丙瑞林	Megace®	Bristol-Myers Squibb
亮丙瑞林	Estradiol Valerate（Delestrogen）	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
醋酸甲羟孕酮	Veraplex	Combiphar
MT206		Medisyn Technologies, Inc.
那法瑞林		
癸酸诺龙	Zestabolin	Mankind Pharma, Ltd.
尼鲁米特	Nilandron®	Aventis Pharmaceuticals

[0181]

盐酸雷洛昔芬	Evista®	Lilly
他莫昔芬	Taxifen	Yung Shin Pharmaceutical
他莫昔芬	Tomifen	Alkem Laboratories, Ltd.
枸橼酸他莫昔芬	Nolvadex	AstraZeneca
枸橼酸他莫昔芬	Soltamox	EUSA Pharma, Inc.
枸橼酸他莫昔芬	Tamoxifen citrate SOPHARMA	Sopharma JSCo.
枸橼酸他莫昔芬	Fareston®	GTX, Inc.
双羟萘酸曲普瑞林	Trelstar®	Watson Labs
双羟萘酸曲普瑞林	Trelstar Depot	Paladin Labs, Inc.
蛋白激酶 B（PKB）抑制剂		
Akt 抑制剂 ASTEX		Astex Therapeutics
Akt 抑制剂 NERVIANO		Nerviano Medical Sciences
AKT 激酶抑制剂 TELIK		Telik, Inc.
AKT DECIPHERA		Deciphera Pharmaceuticals, LLC
哌立福辛（KRX0401， D-21266）		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
哌立福辛连同多西他赛		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
哌立福辛连同多西他赛		AEterna Zentaris, Inc.
哌立福辛连同紫杉醇		Keryx Biopharmaceuticals, Inc, AEterna Zentaris, Inc.
蛋白激酶 B 抑制剂 DEVELOGEN		DeveloGen AG
PX316		Oncothyreon, Inc.
RX0183		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
RX0201		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
VQD002		VioQuest Pharmaceuticals, Inc.
XL418		Exelixis, Inc.
ZEN027		AEterna Zentaris, Inc.
磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）抑制剂		
BEZ235		Novartis AG
BGT226		Novartis AG
CAL101		Calistoga Pharmaceuticals, Inc.
CHR4432		Chroma Therapeutics, Ltd.
Erk/PI3K 抑制剂 ETERNA		AEterna Zentaris, Inc.

[0182]

GDC0941		Genentech Inc./Piramed Limited/Roche Holdings, Ltd.
盐酸双吲哚马来酰胺（LY317615）	Enzastaurin	Eli Lilly
LY294002/渥曼青霉素		
PI3K 抑制剂 SEMAFORE		Semafore Pharmaceuticals
PX866		Oncothyreon, Inc.
SF1126		Semafore Pharmaceuticals
VMD-8000		VM Discovery, Inc.
XL147		Exelixis, Inc.
XL147 连同 XL647		Exelixis, Inc.
XL765		Exelixis, Inc.
PI-103		Roche/Piramed
细胞周期蛋白依赖的激酶抑制剂		
CYC200，r-roscovitine	Seliciclib	Cyclacel Pharma
NSC-649890，L86-8275，HMR-1275	Alvocidib	NCI
TLr9, CD289		
IMOxine		Merck KGaA
HYB2055		Idera
IMO-2055		Isis Pharma
1018 ISS		Dynavax Technologies/UCSF
PF-3512676		Pfizer
酶抑制剂		
洛那法尼（SCH66336）	Sarasar	SuperGen, U Arizona
Anti-TRAIL		
AMG-655		Aeterna Zentaris, Keryx Biopharma
Apo2L/TRAIL, AMG951		Genentech, Amgen
Apomab（完全人源化的 mAb）		Genentech
其它		
Imprime PGG		Biothera
CHR-2797	AminopeptidaseM1	Chroma Therapeutics
E7820, NSC 719239	Integrin-α2	Eisai
INCB007839	ADAM 17, TACE	Incyte
CNF2024, BIIB021	Hsp90	Biogen Idec
MP470, HPK-56	Kit/Met/Ret	Shering-Plough
SNDX-275/MS-275	HDAC	Syndax

[0183]

Zarnestra，替匹法尼，R115777	Ras	Janssen Pharma
伏洛昔单抗；Eos 200-4, M200	α581 integrin	Biogen Idec; Eli Lilly/UCSF/PDL BioPharma
帕瑞昔布（TP2001）	COX-2 Inhibitor	Daiichi Sankyo; Tragara Pharma

[0184] 。

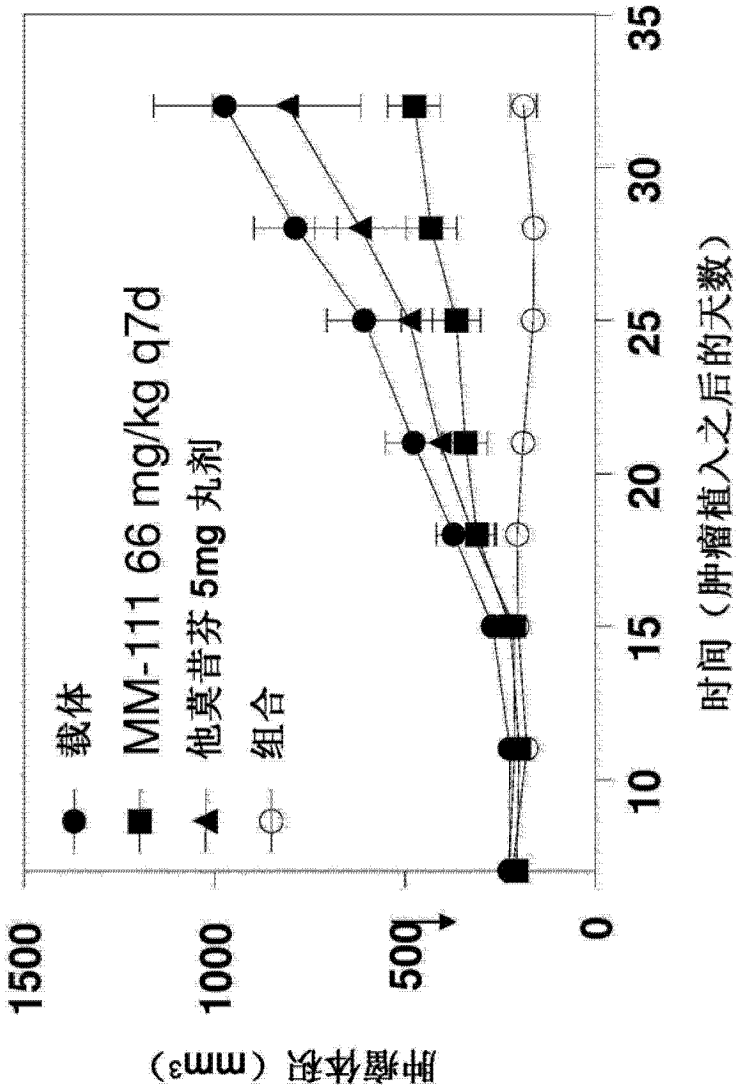

肿瘤体积（mm3）
1500
1000
500
0
10
15
20
25
30
35
时间（肿瘤植入之后的天数）
载体
MM-111 66 mg/kg q7d
他莫昔芬 5mg 丸剂
组合

图 1

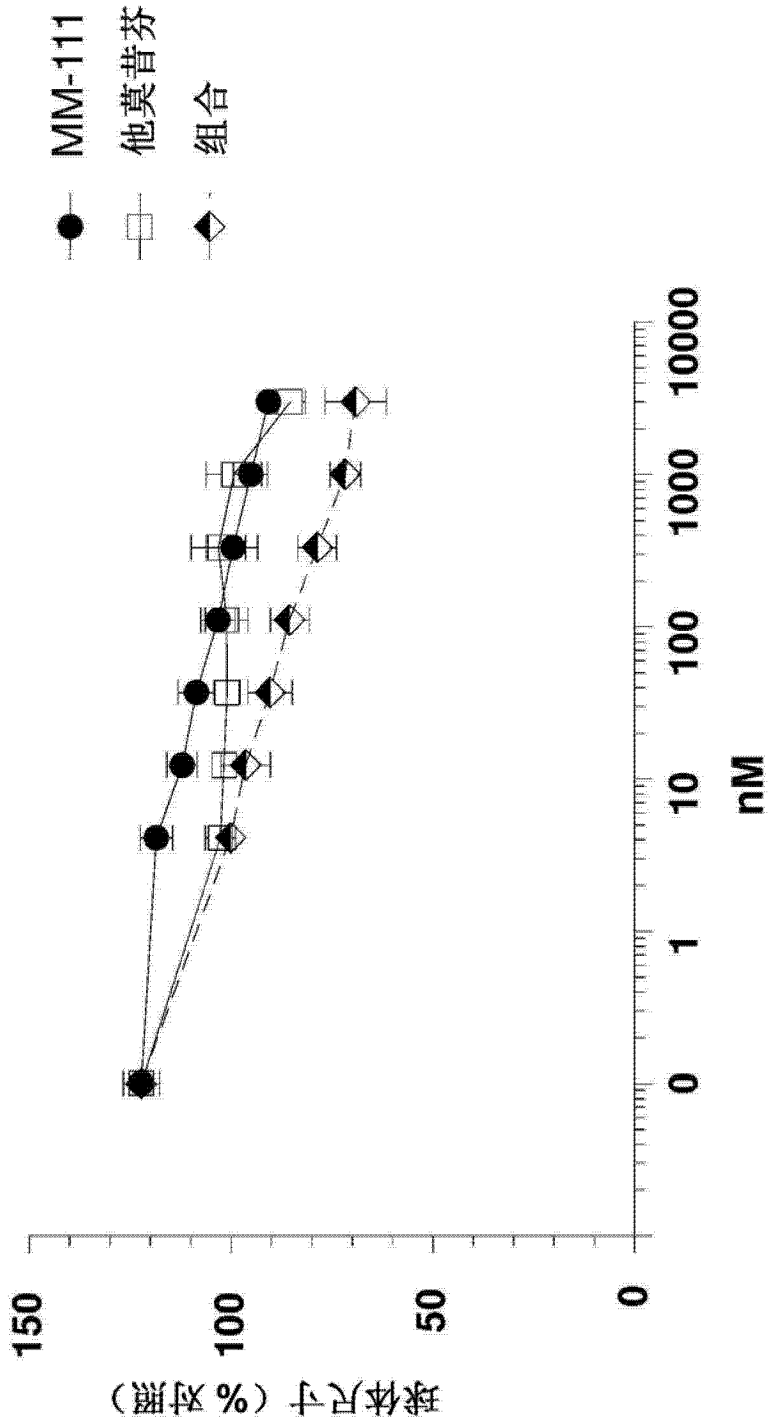


图 2a

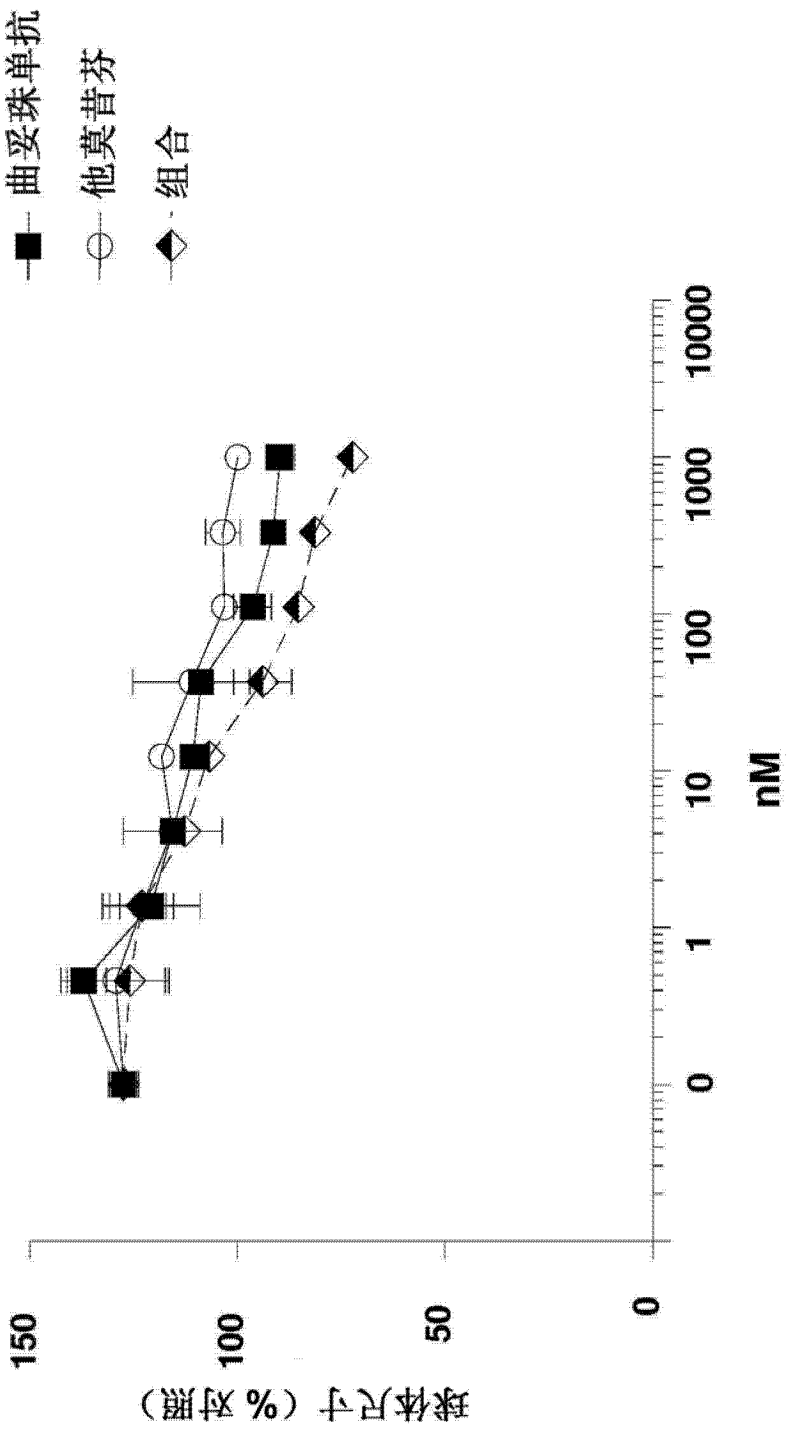


图 2b

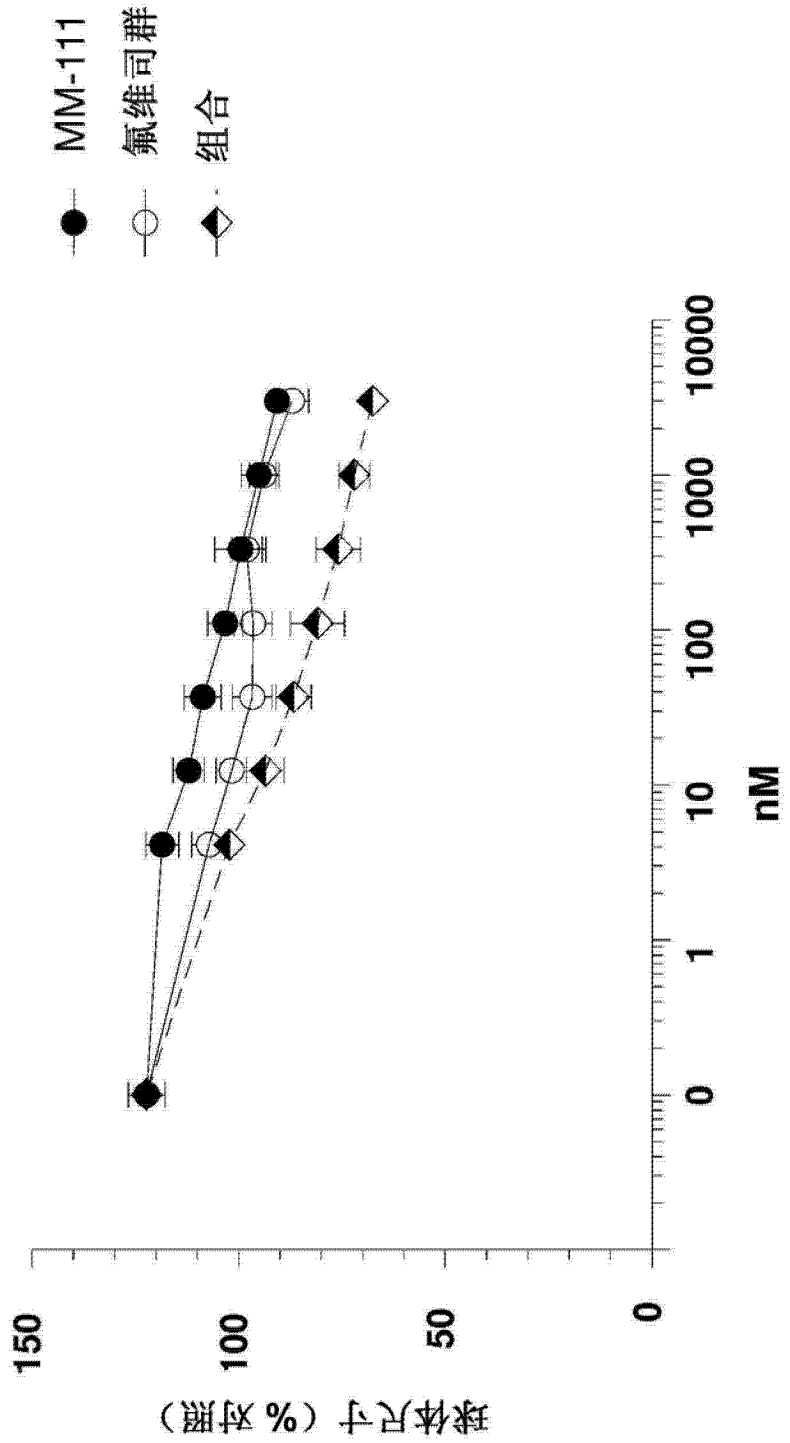


图 2c

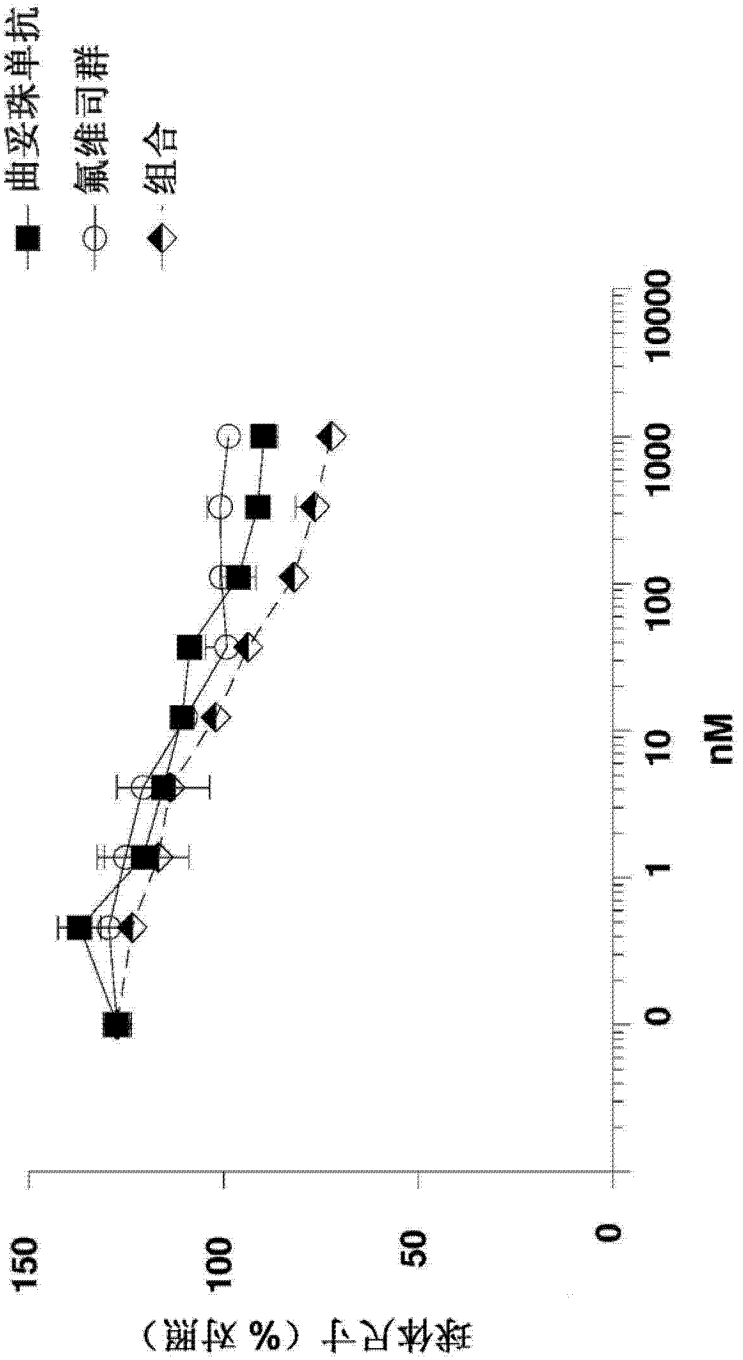


图 2d

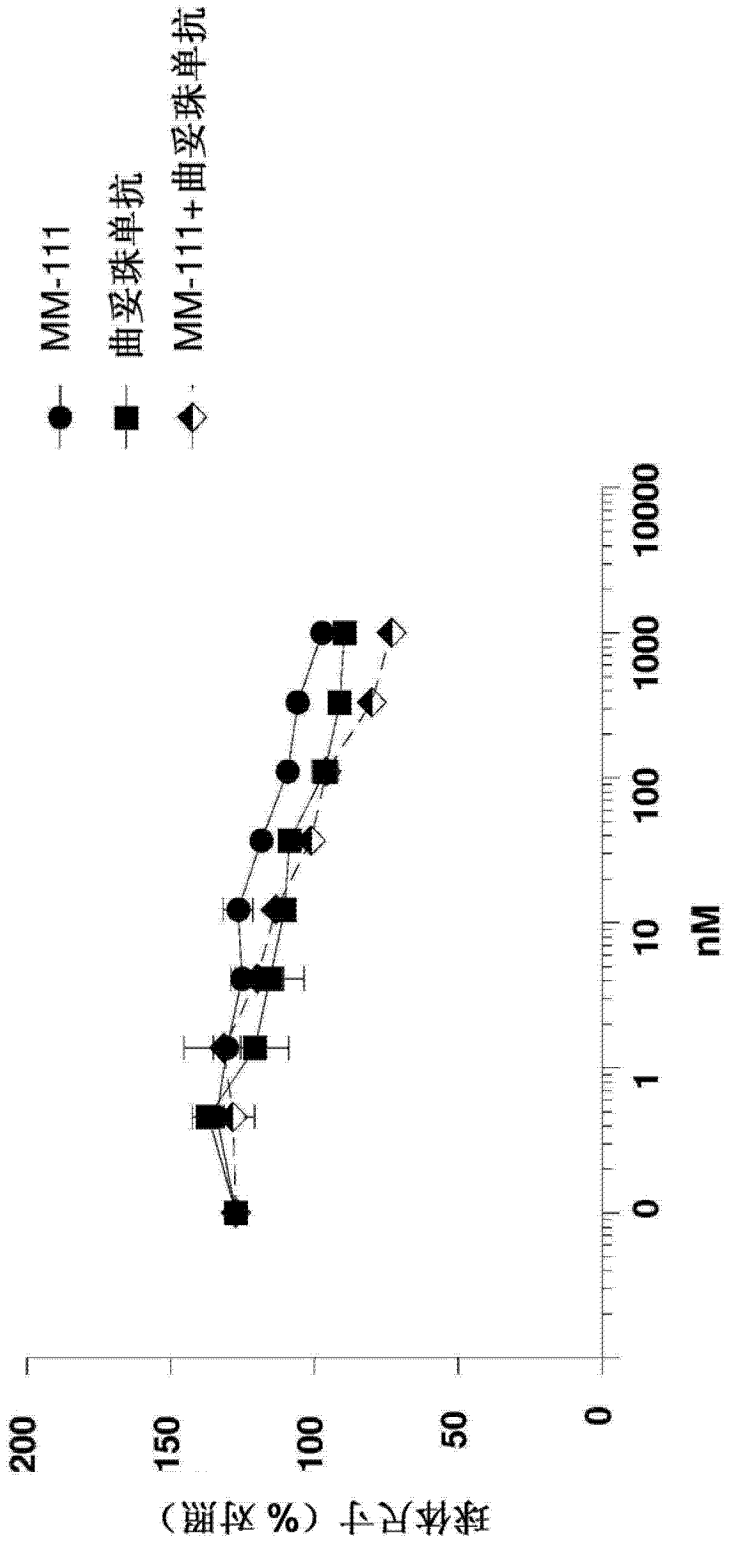

MM-111
曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗
球体尺寸（% 对照）
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 2e

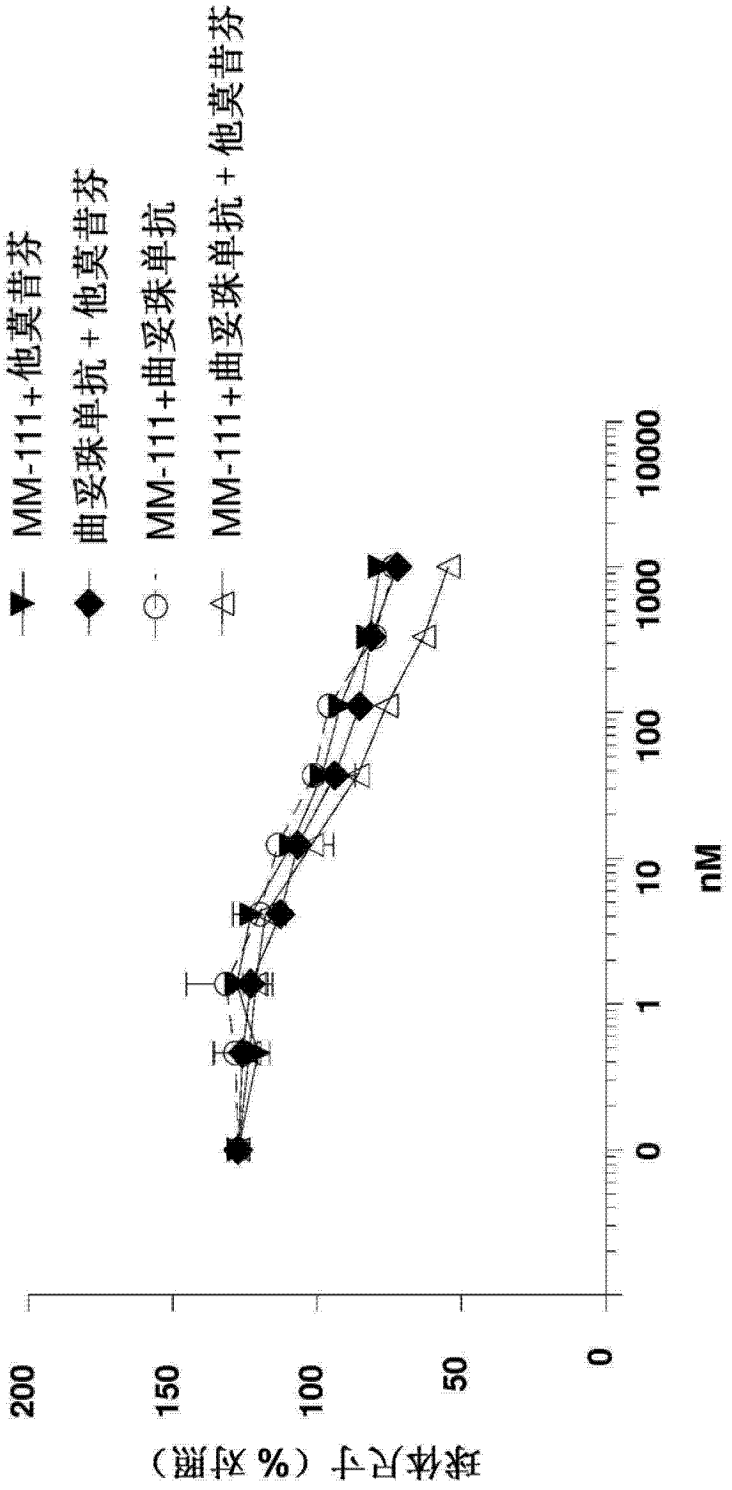

MM-111+他莫昔芬
曲妥珠单抗 + 他莫昔芬
MM-111+曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗 + 他莫昔芬
球体尺寸（% 对照）
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 2f

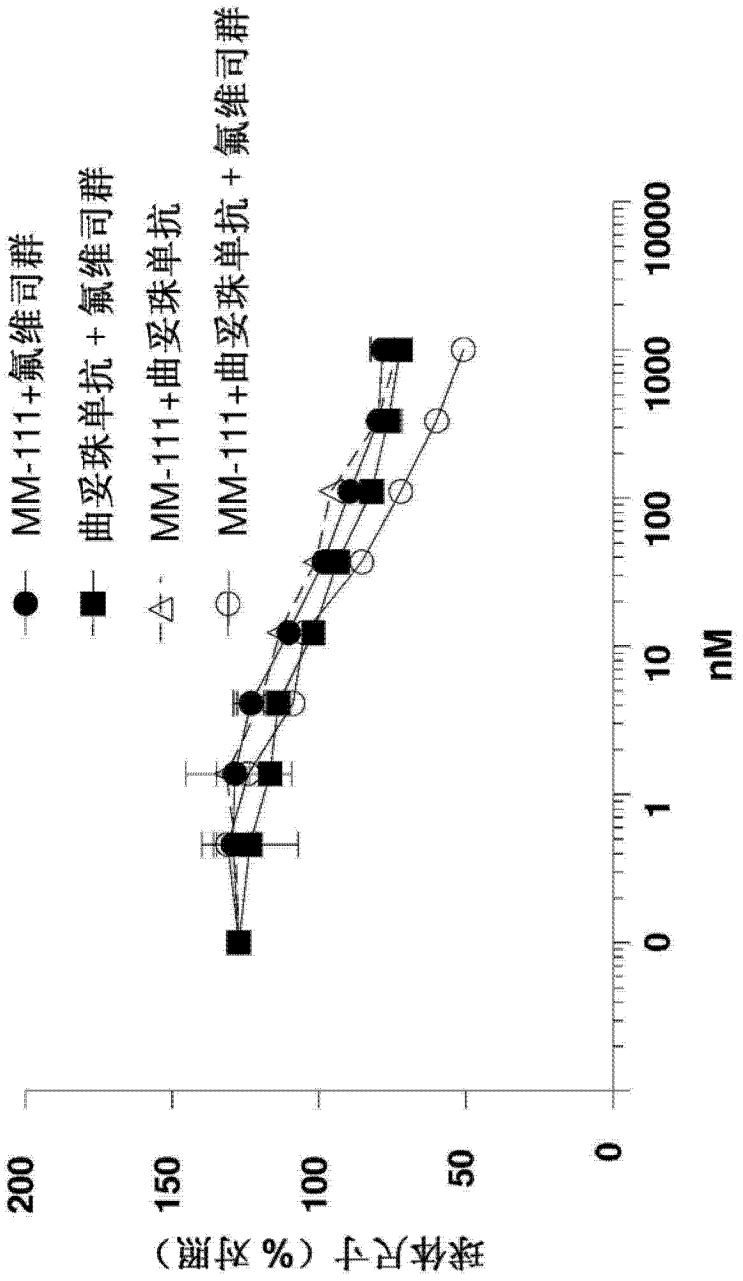

MM-111+氟维司群
曲妥珠单抗 + 氟维司群
MM-111+曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗 + 氟维司群
球体尺寸（% 对照）
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 2g

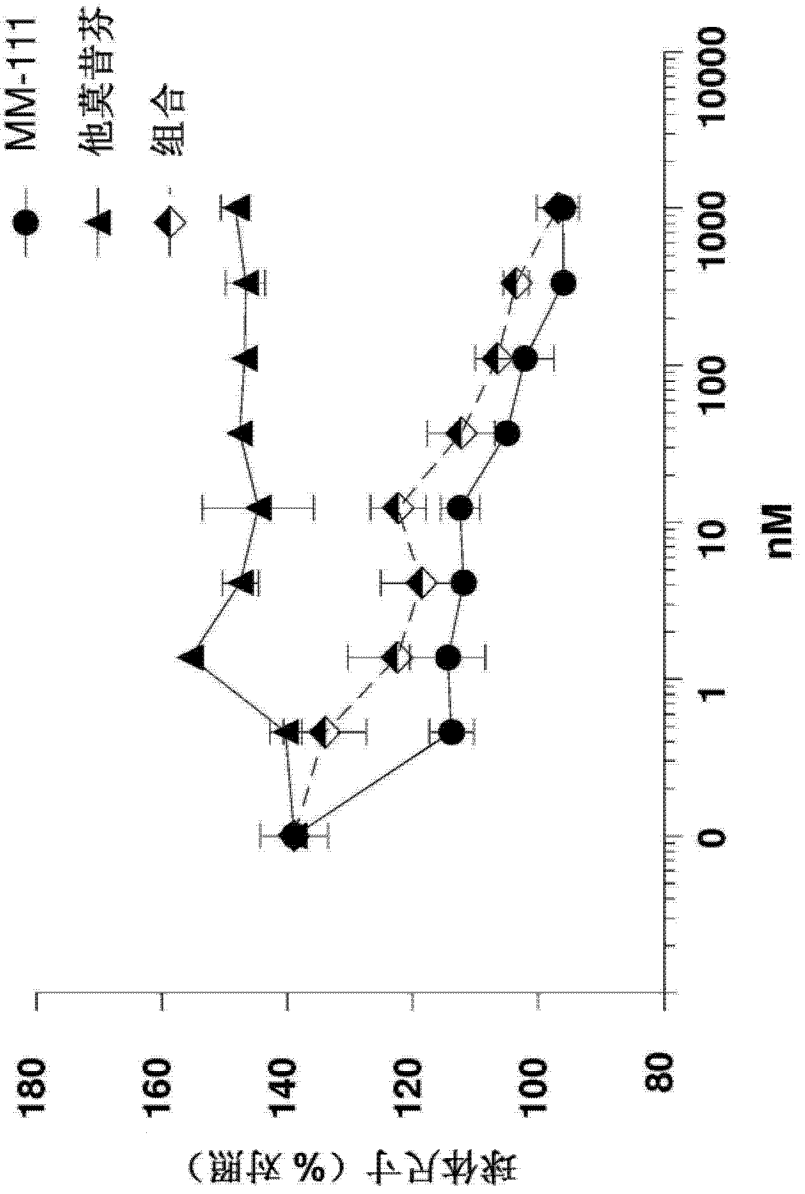

MM-111
他莫昔芬
组合
球体尺寸（% 对照）
180
160
140
120
100
80
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 3a

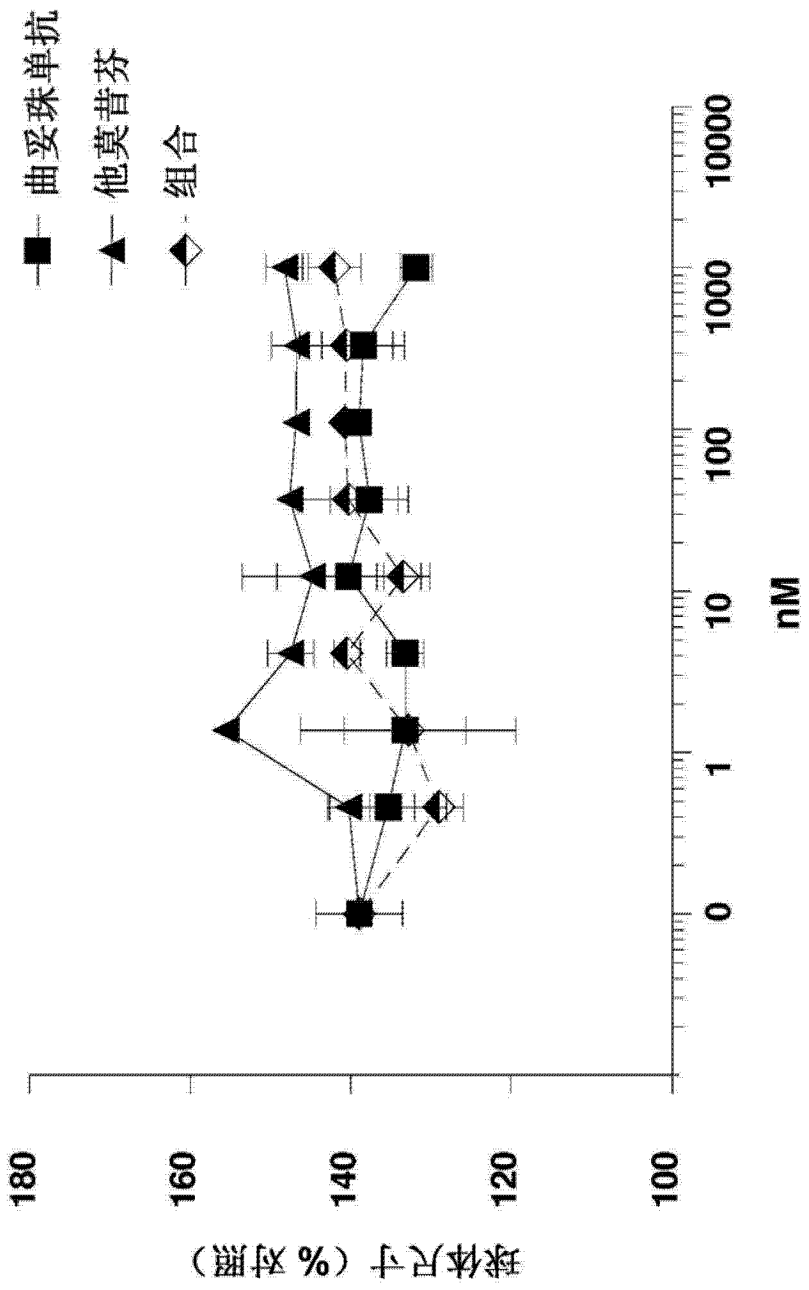

曲妥珠单抗
他莫昔芬
组合
10000
1000
100
10
1
0
nM
180
160
140
120
100
球体尺寸（% 对照）

图 3b

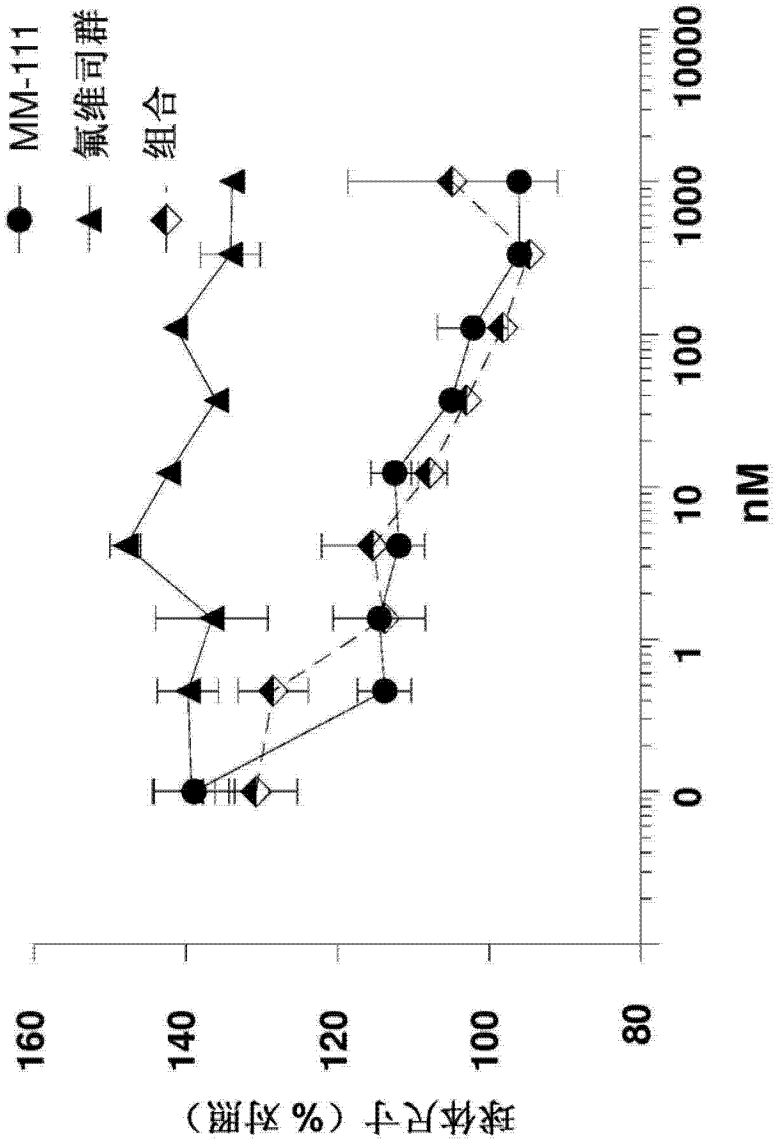


图 3c

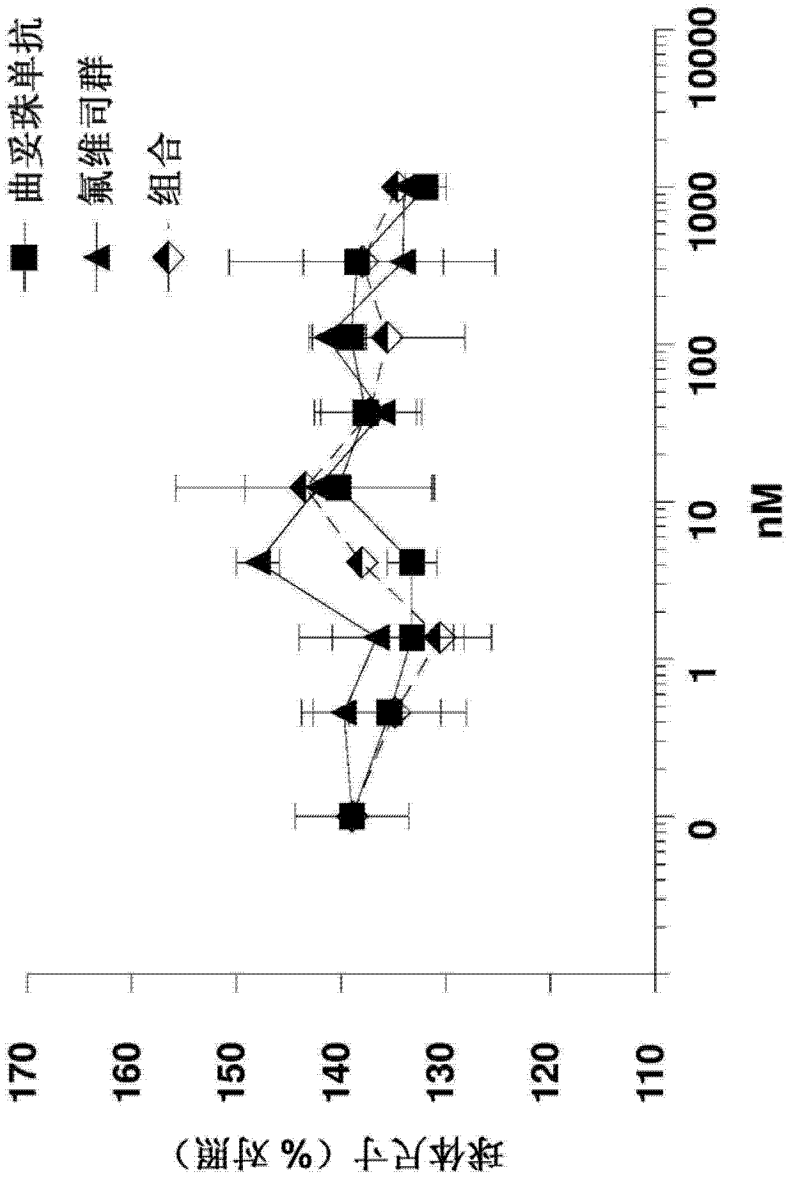

曲妥珠单抗
氟维司群
组合
0
1
10
100
1000
10000
nM
170
160
150
140
130
120
110
球体尺寸（% 对照）

图 3d

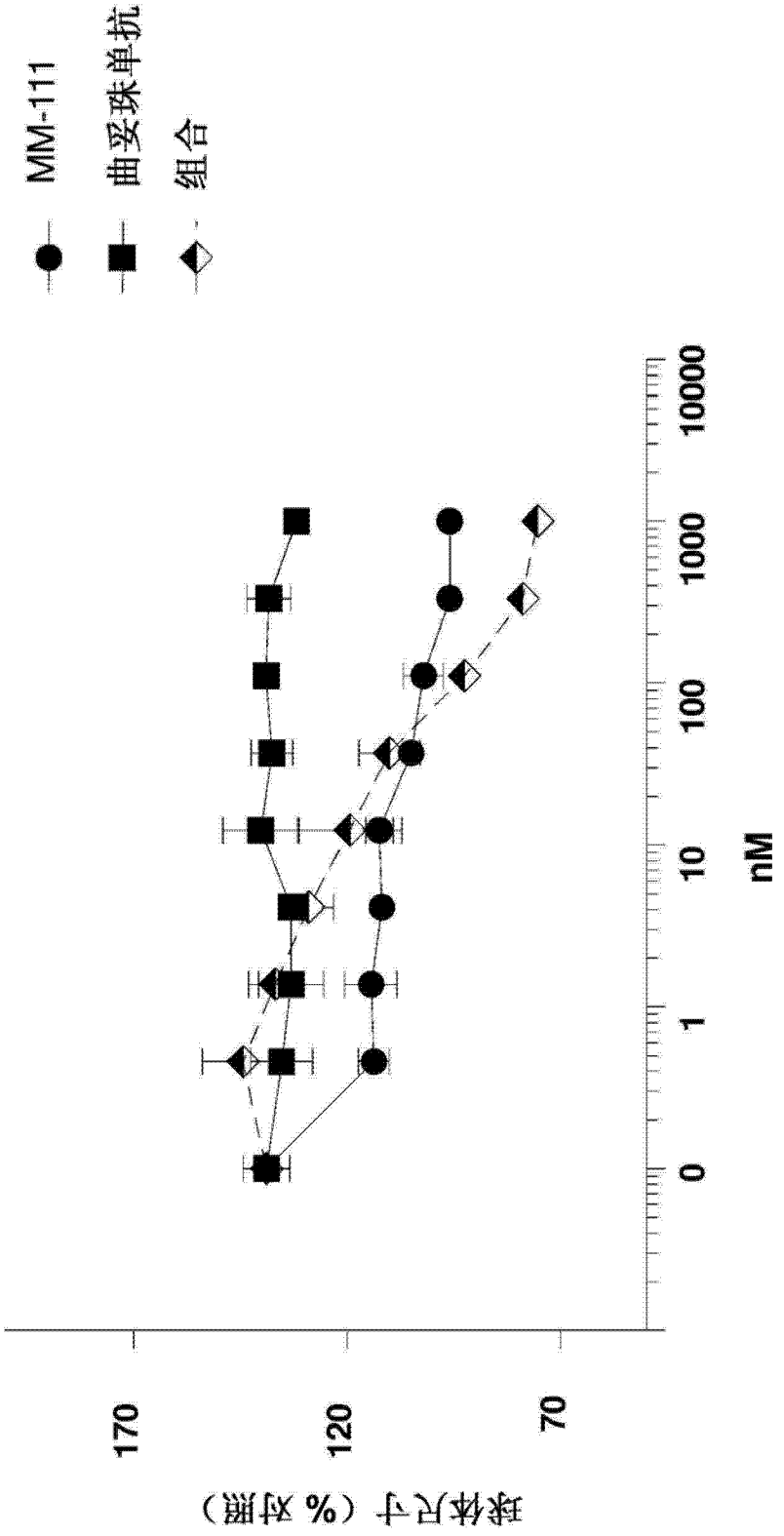


图 3e

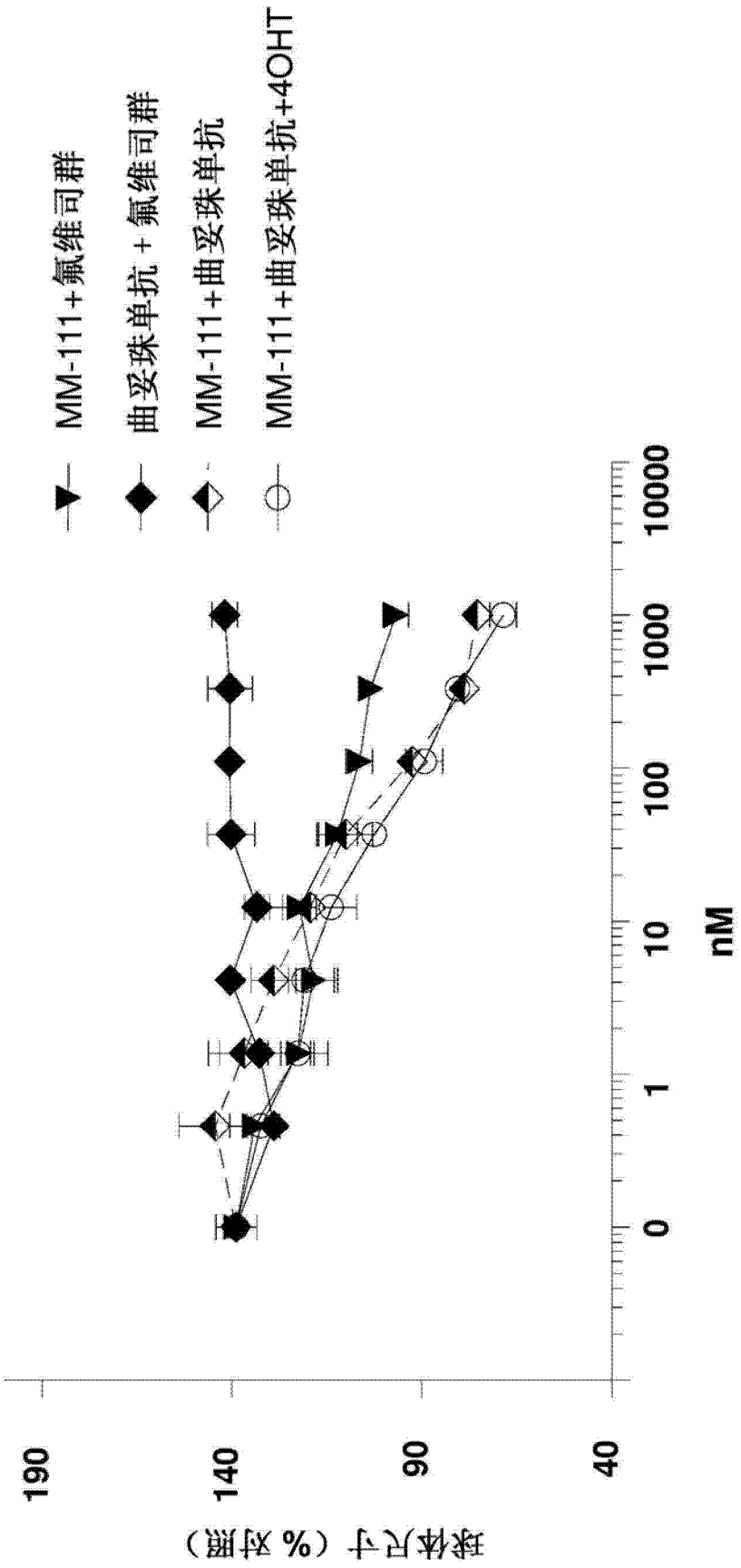

MM-111+氟维司群
曲妥珠单抗 + 氟维司群
MM-111+曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗+4OHT
0
1
10
100
1000
10000
nM
190
140
90
40
球体尺寸（% 对照）

图 3f

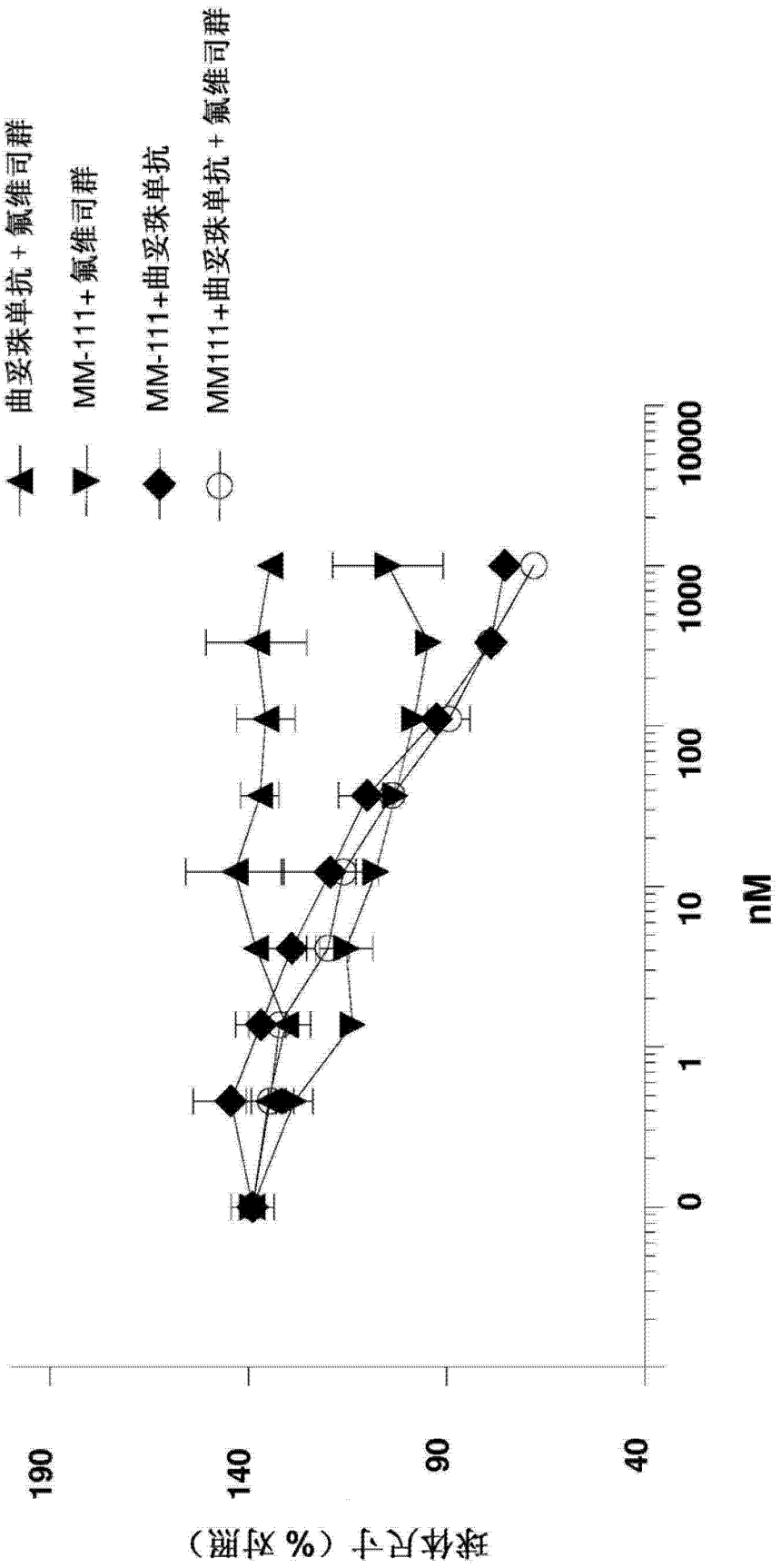

曲妥珠单抗 + 氟维司群
MM-111+氟维司群
MM-111+曲妥珠单抗
MM111+曲妥珠单抗 + 氟维司群
球体尺寸（% 对照）
190
140
90
40
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 3g

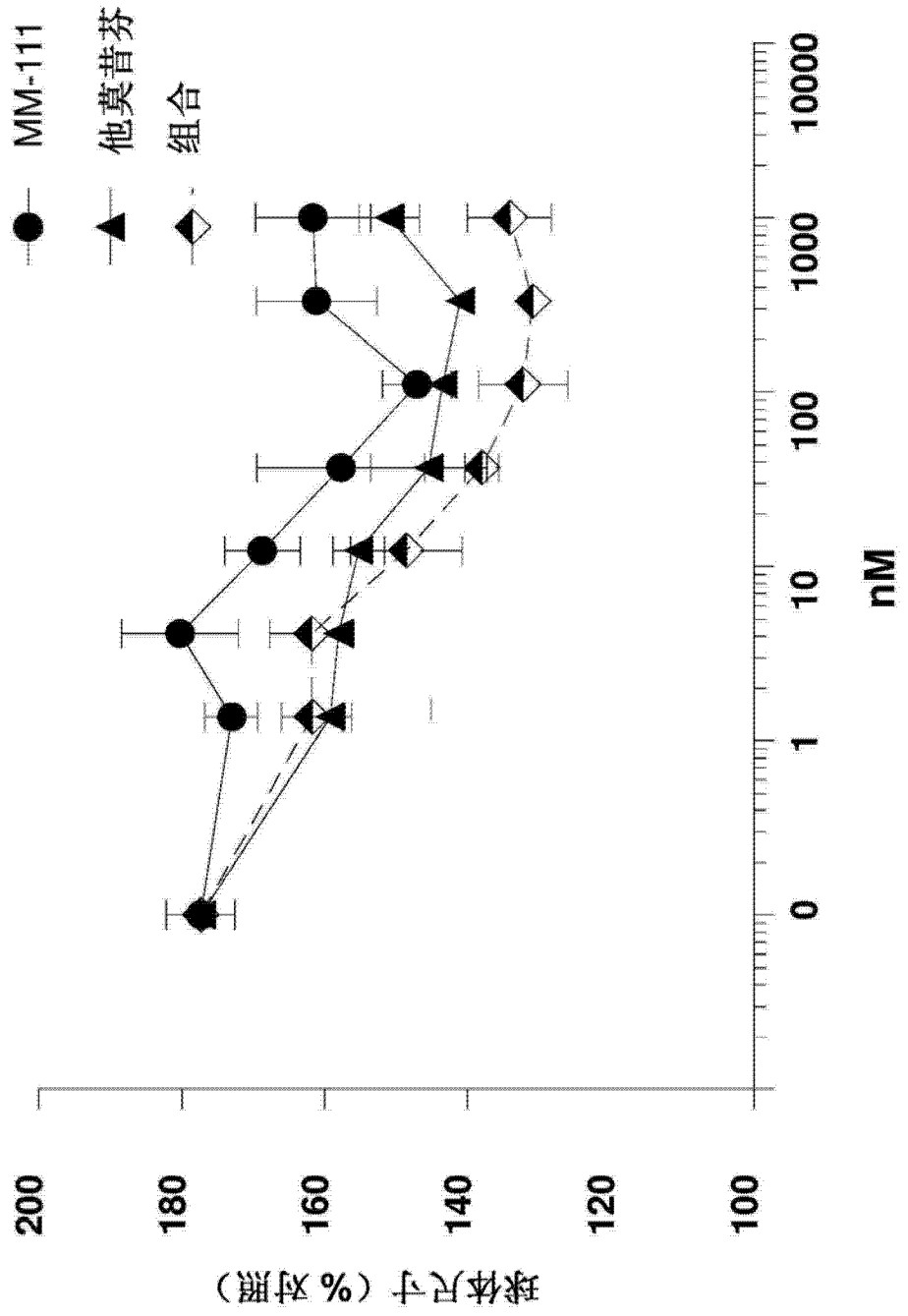

MM-111
他莫昔芬
组合
200
180
160
140
120
100
球体尺寸（% 对照）
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4a

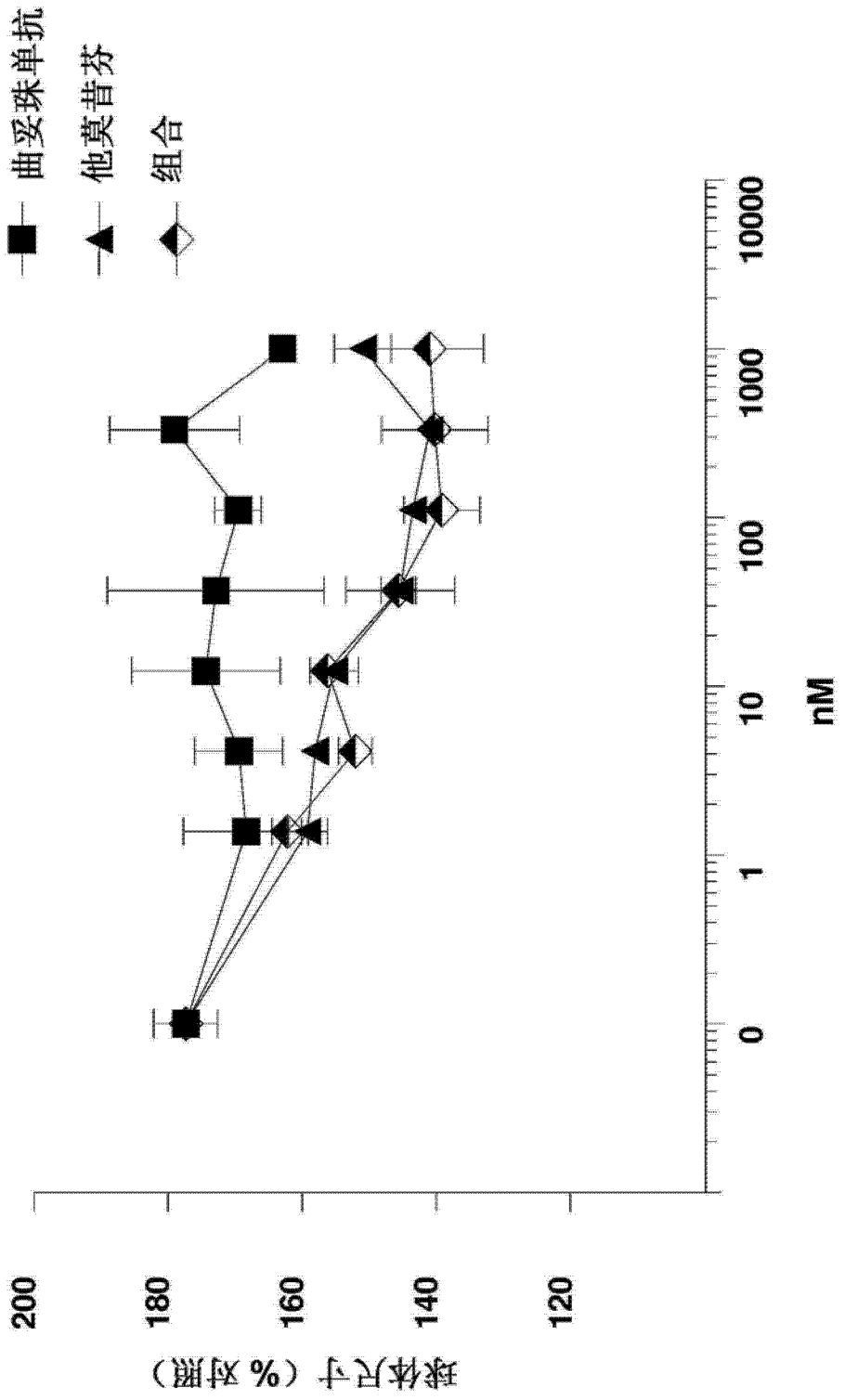

曲妥珠单抗
他莫昔芬
组合
球体尺寸（% 对照）
200
180
160
140
120
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4b

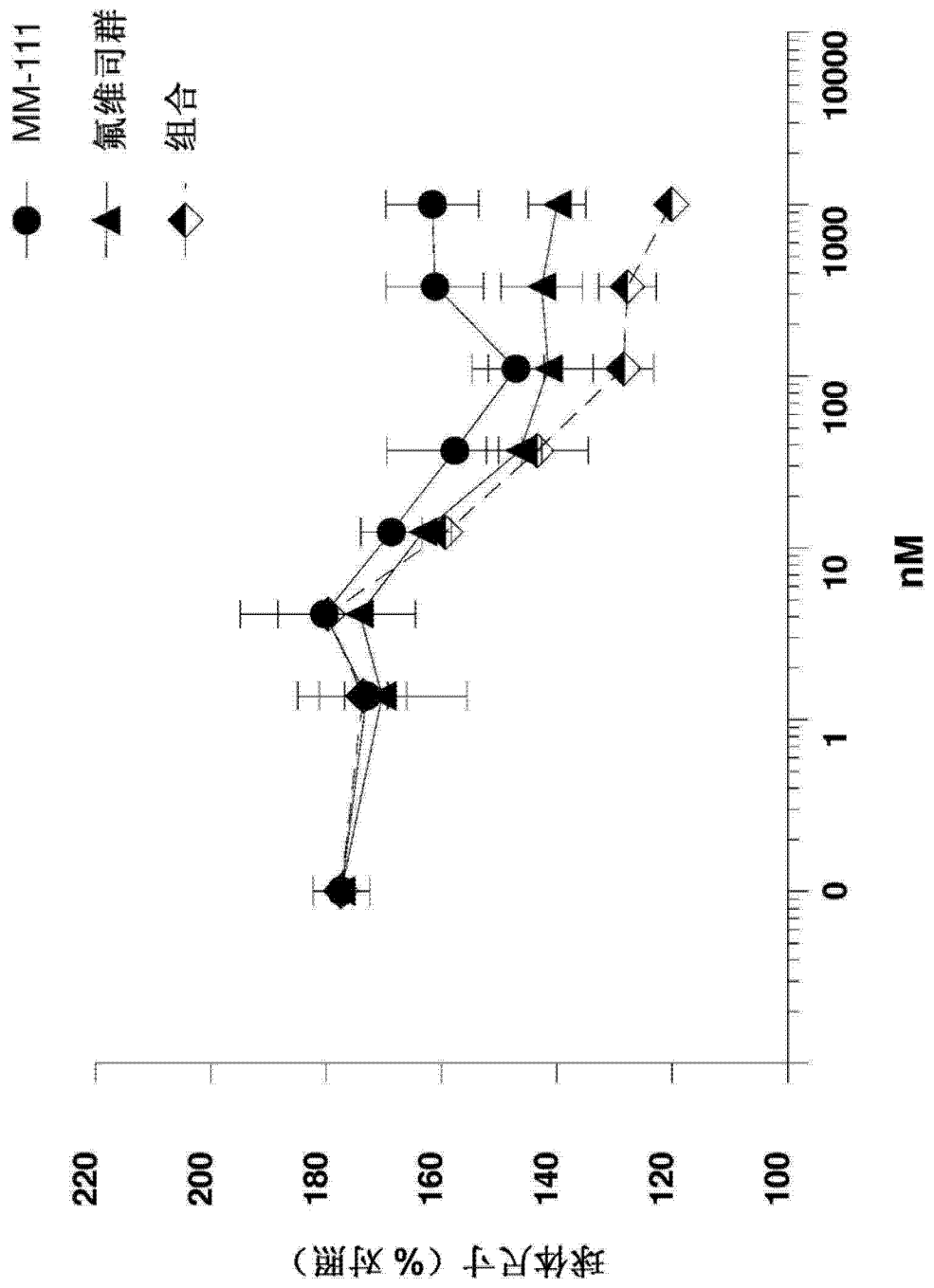

MM-111
氟维司群
组合
球体尺寸（% 对照）
220
200
180
160
140
120
100
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4c

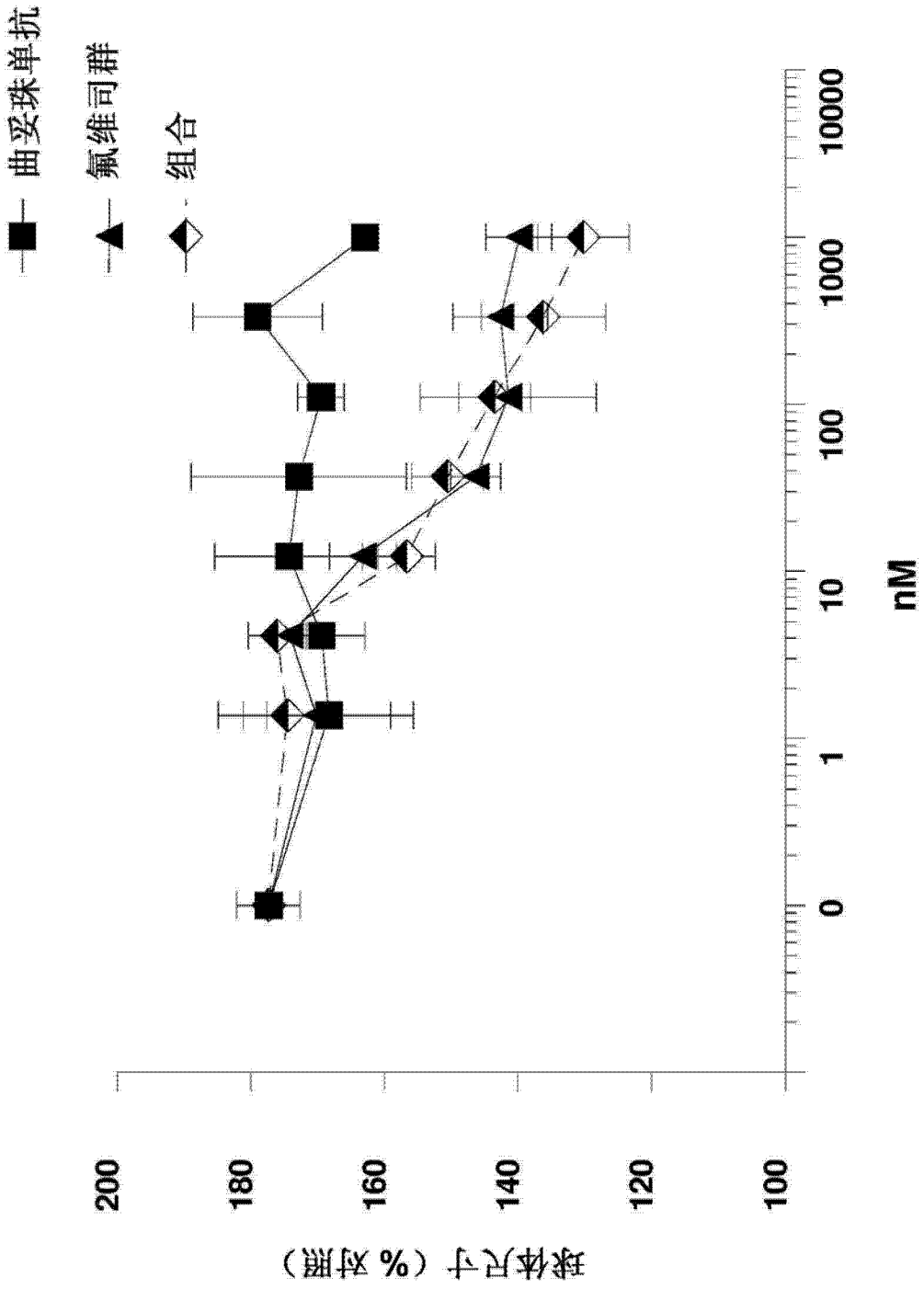

曲妥珠单抗
氟维司群
组合
200
180
160
140
120
100
球体尺寸（% 对照）
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4d

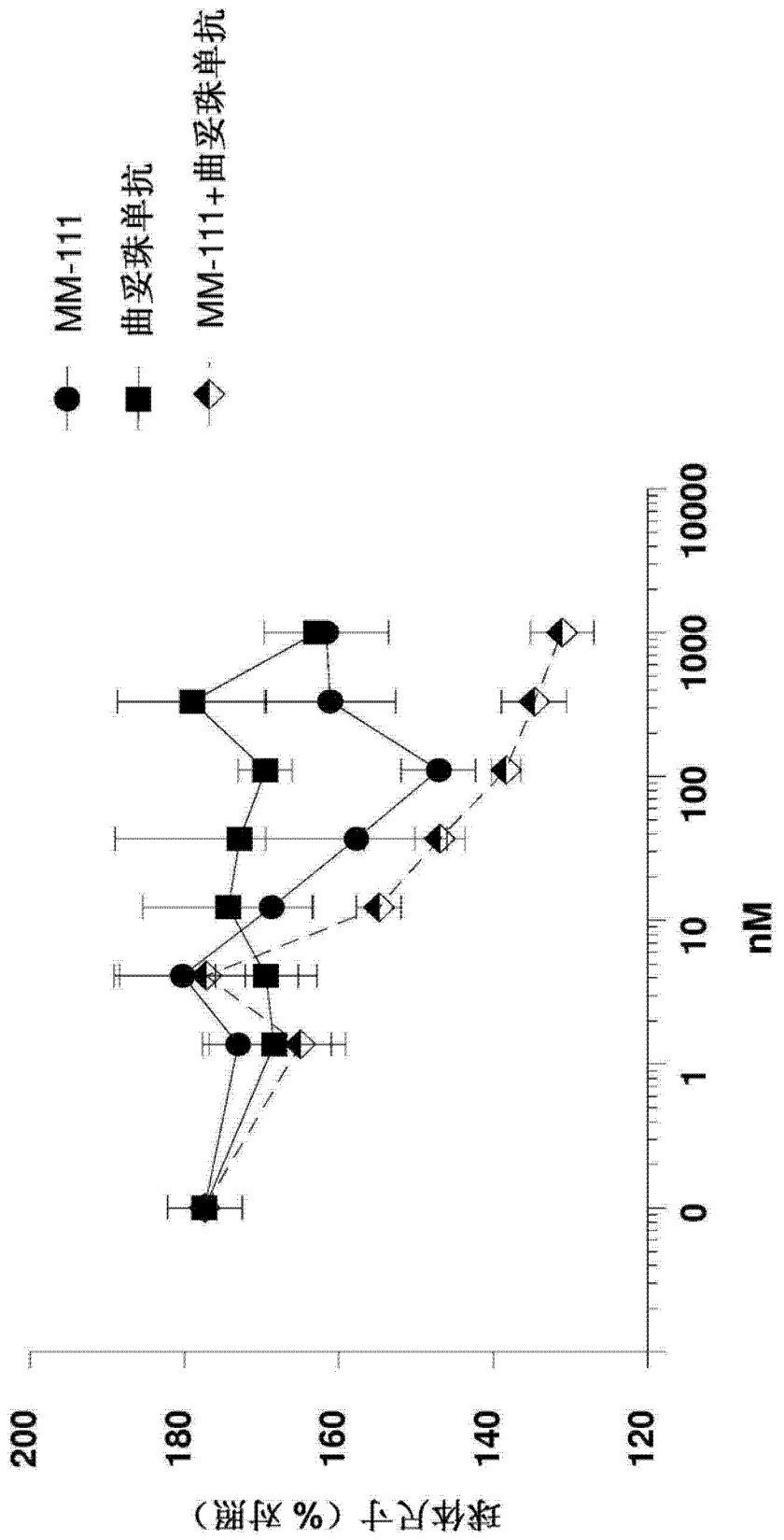

MM-111
曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗
球体尺寸（% 对照）
200
180
160
140
120
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4e

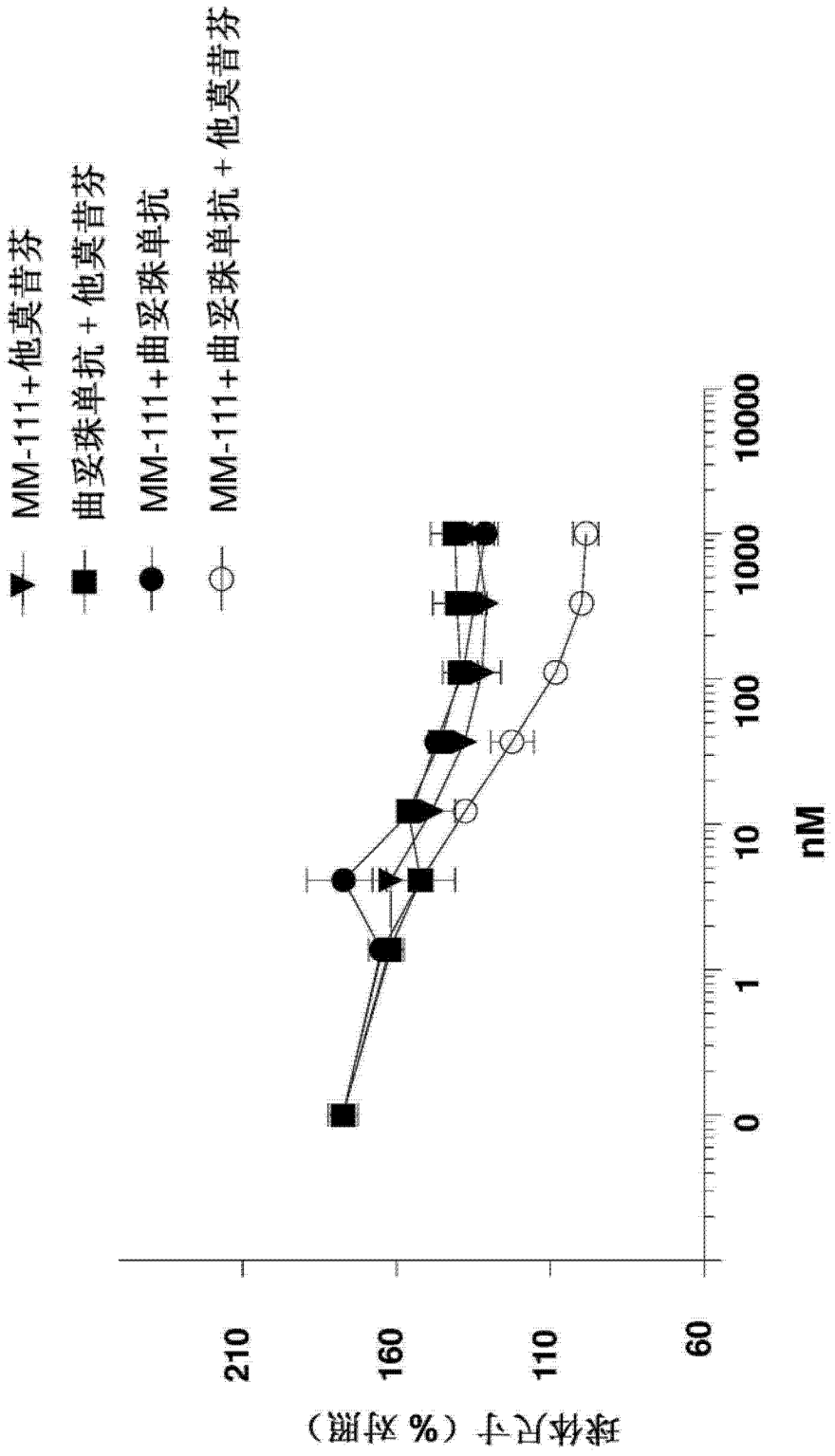

MM-111+他莫昔芬
曲妥珠单抗 + 他莫昔芬
MM-111+曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗 + 他莫昔芬
球体尺寸（% 对照）
210
160
110
60
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4f

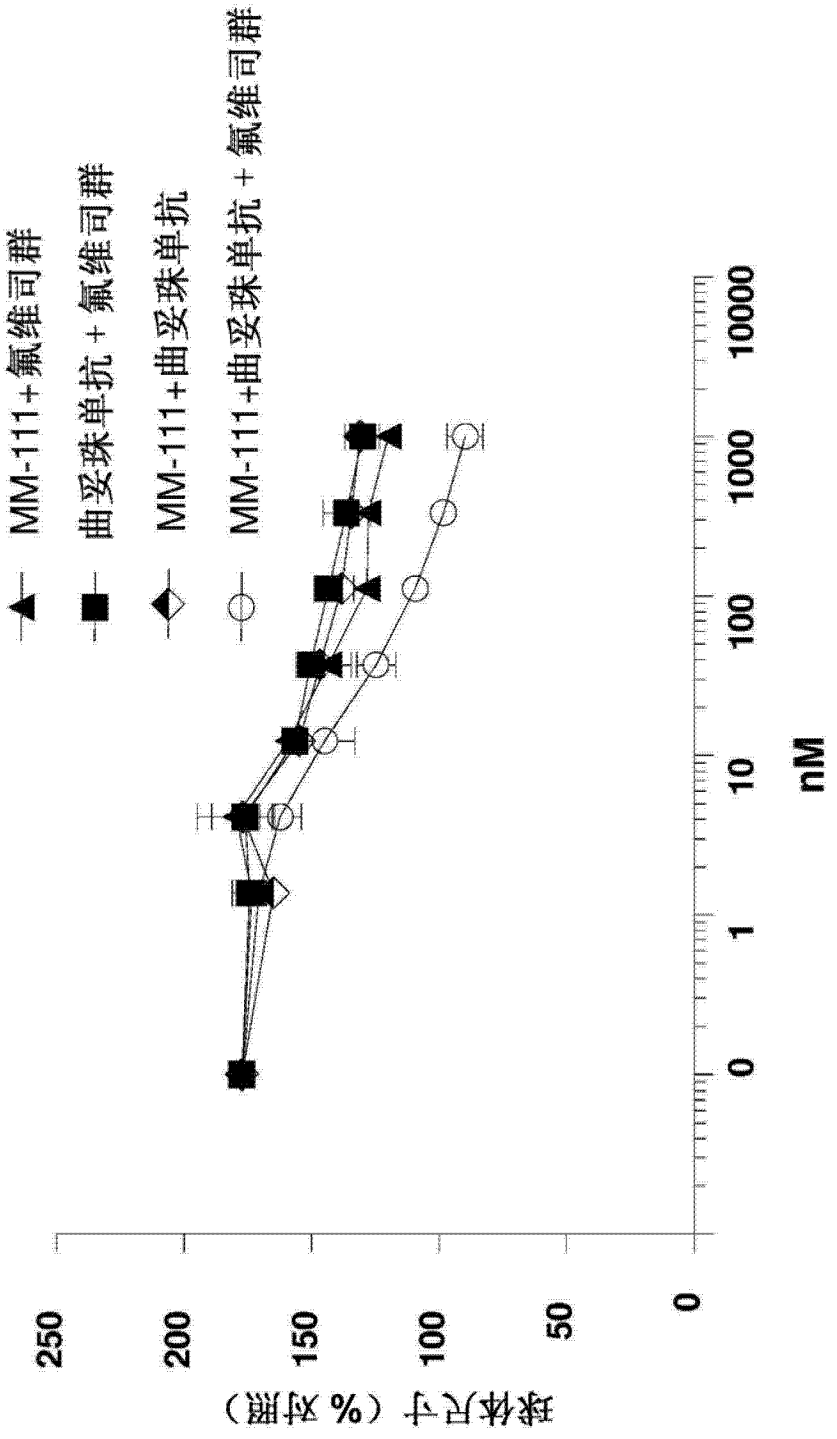

MM-111+氟维司群
曲妥珠单抗 + 氟维司群
MM-111+曲妥珠单抗
MM-111+曲妥珠单抗 + 氟维司群
球体尺寸（% 对照）
250
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 4g

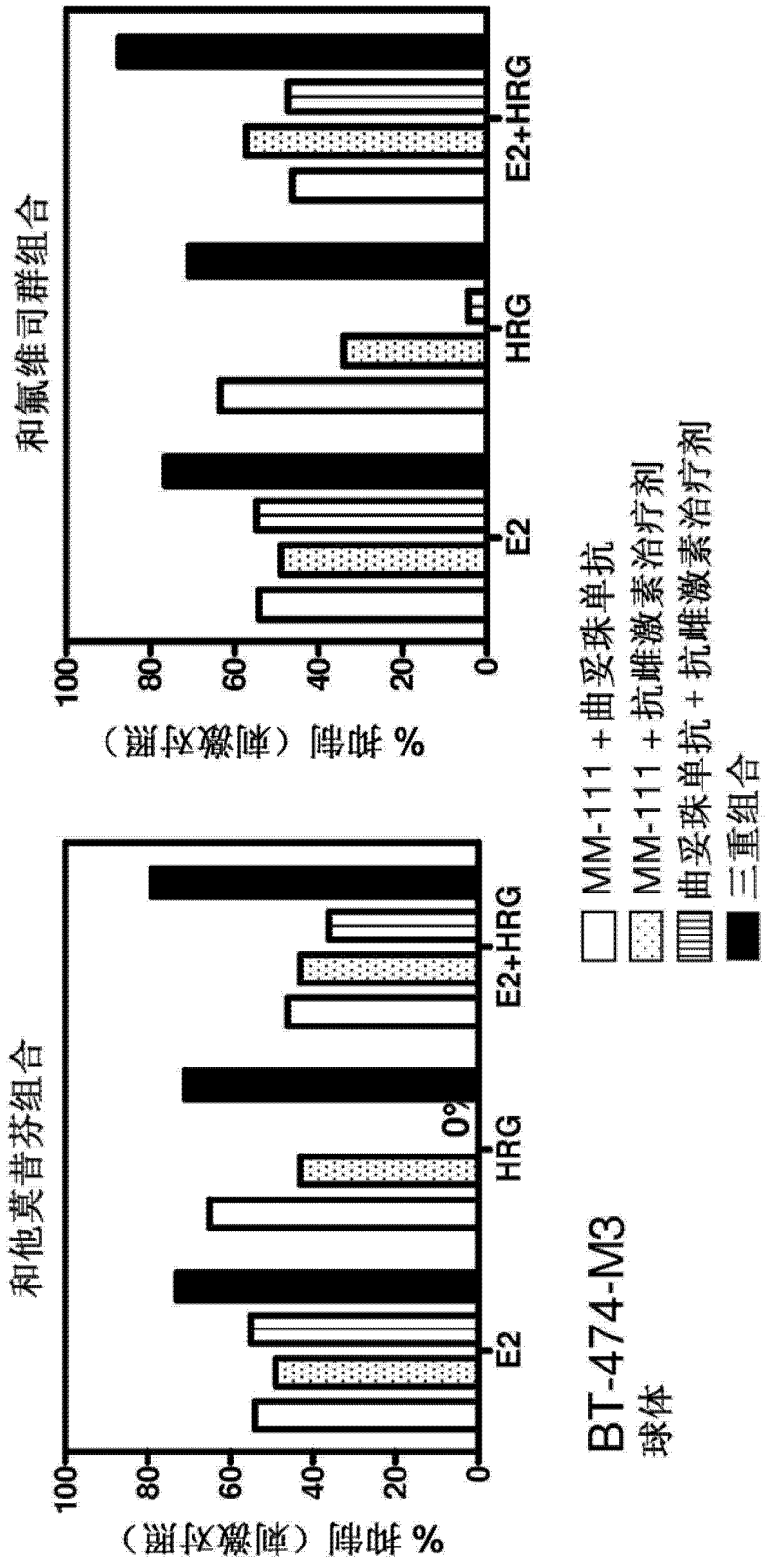

和氟维司群组合
% 抑制（刺激对照）
100
80
60
40
20
0
E2
HRG
E2+HRG
和他莫昔芬组合
% 抑制（刺激对照）
100
80
60
40
20
0
0%
E2
HRG
E2+HRG
MM-111 + 曲妥珠单抗
MM-111 + 抗雌激素治疗剂
曲妥珠单抗 + 抗雌激素治疗剂
三重组合
BT-474-M3
球体

图 5

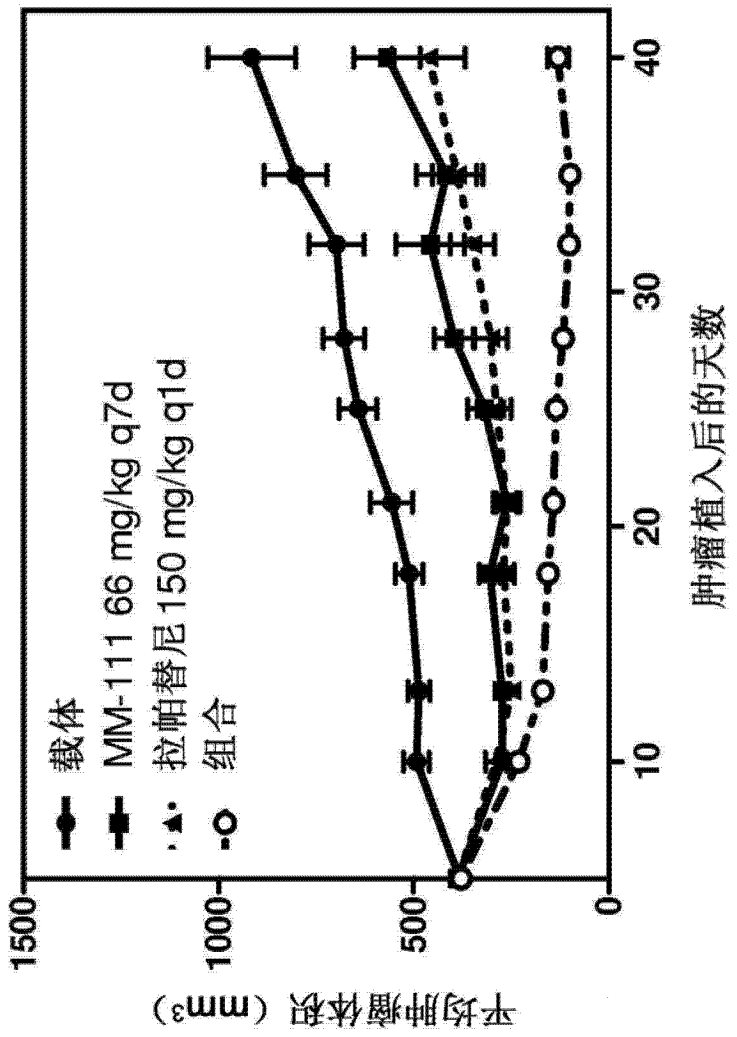

平均肿瘤体积（mm3）
1500
1000
500
0
10
20
30
40
肿瘤植入后的天数
载体
MM-111 66 mg/kg q7d
拉帕替尼 150 mg/kg q1d
组合

图 6

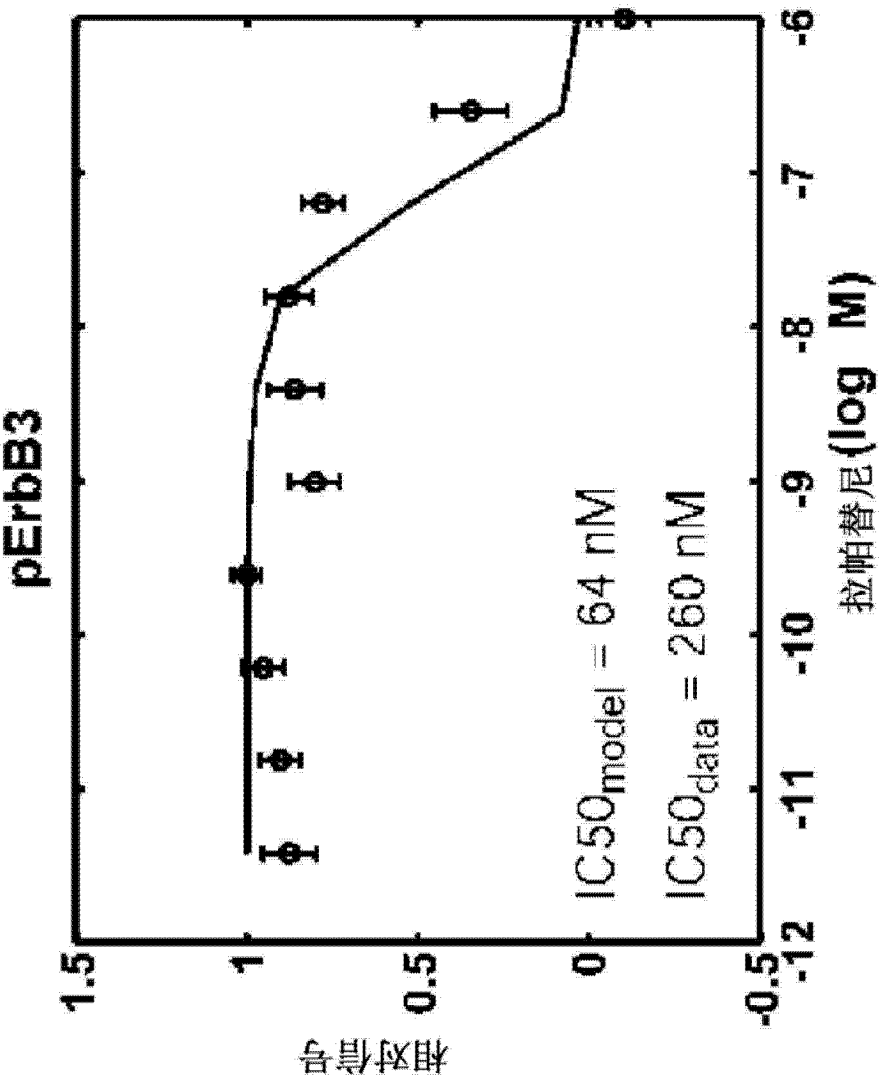

pErbB3
相对信号
拉帕替尼(log M)
IC50model = 64 nM
IC50data = 260 nM
1.5
1
0.5
0
-0.5
-6
-7
-8
-9
-10
-11
-12

图 7a

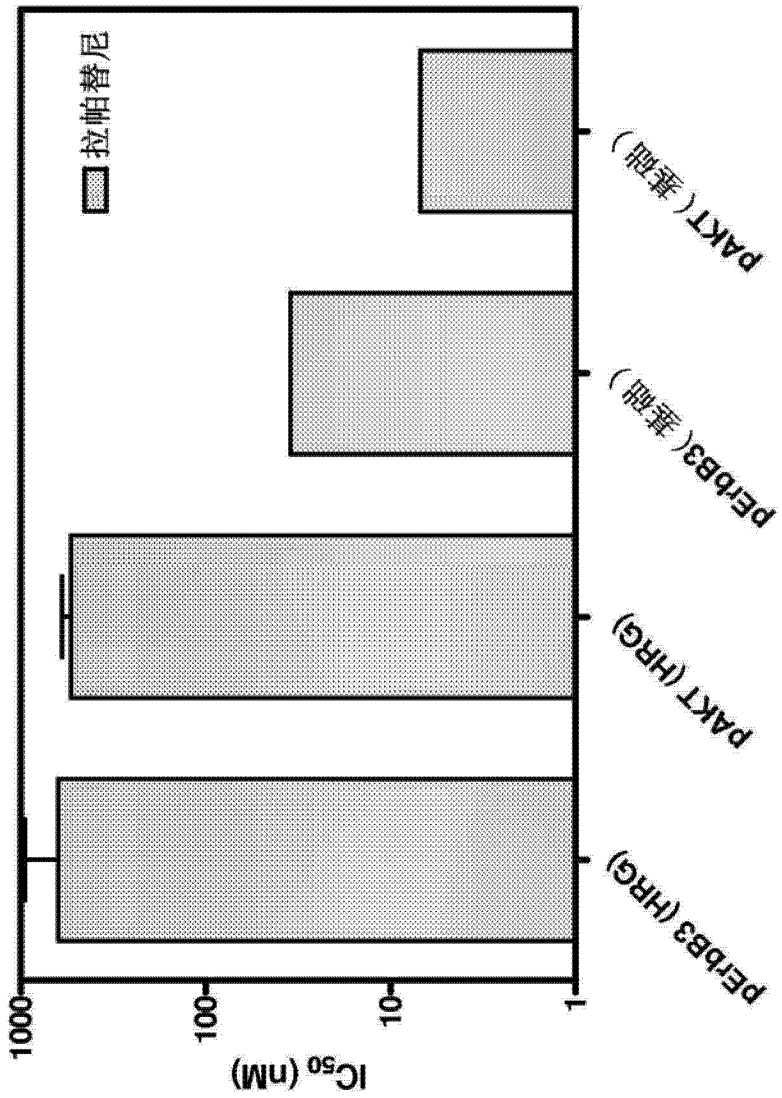

拉帕替尼
pAKT（基础）
pErbB3（基础）
pAKT（HRG）
pErbB3（HRG）
1000
100
10
1
IC50 (nM)

图 7b

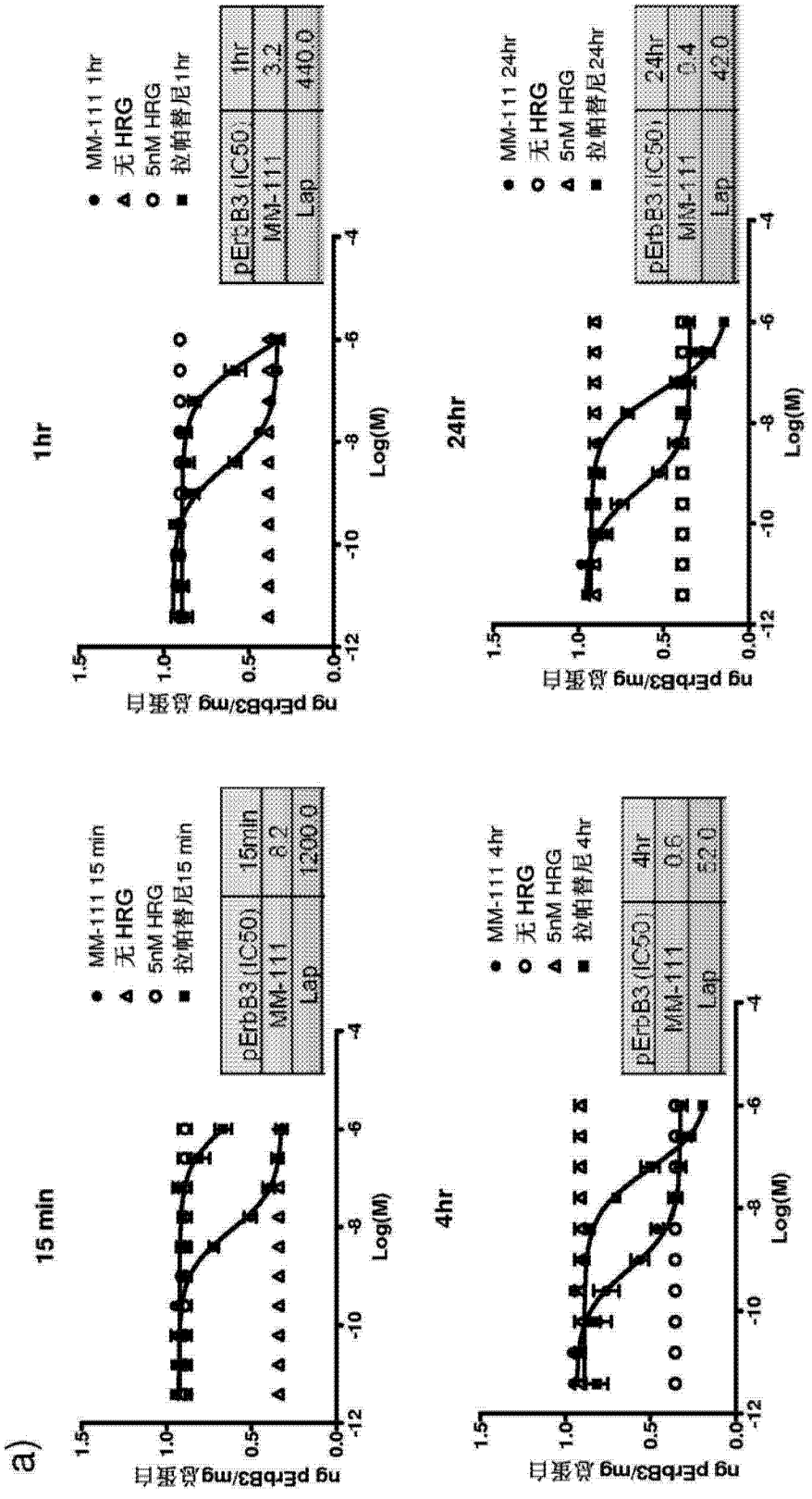

a)
15 min
MM-111 15 min
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼15 min
pErbB3 (IC50) 15min
MM-111 8.2
Lap 1200.0
1hr
MM-111 1hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼1hr
pErbB3 (IC50) 1hr
MM-111 3.2
Lap 440.0
4hr
MM-111 4hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼 4hr
pErbB3 (IC50) 4hr
MM-111 0.6
Lap 52.0
24hr
MM-111 24hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼24hr
pErbB3 (IC50) 24hr
MM-111 0.4
Lap 42.0
ng pErbB3/mg 总蛋白
Log(M)

图 8a

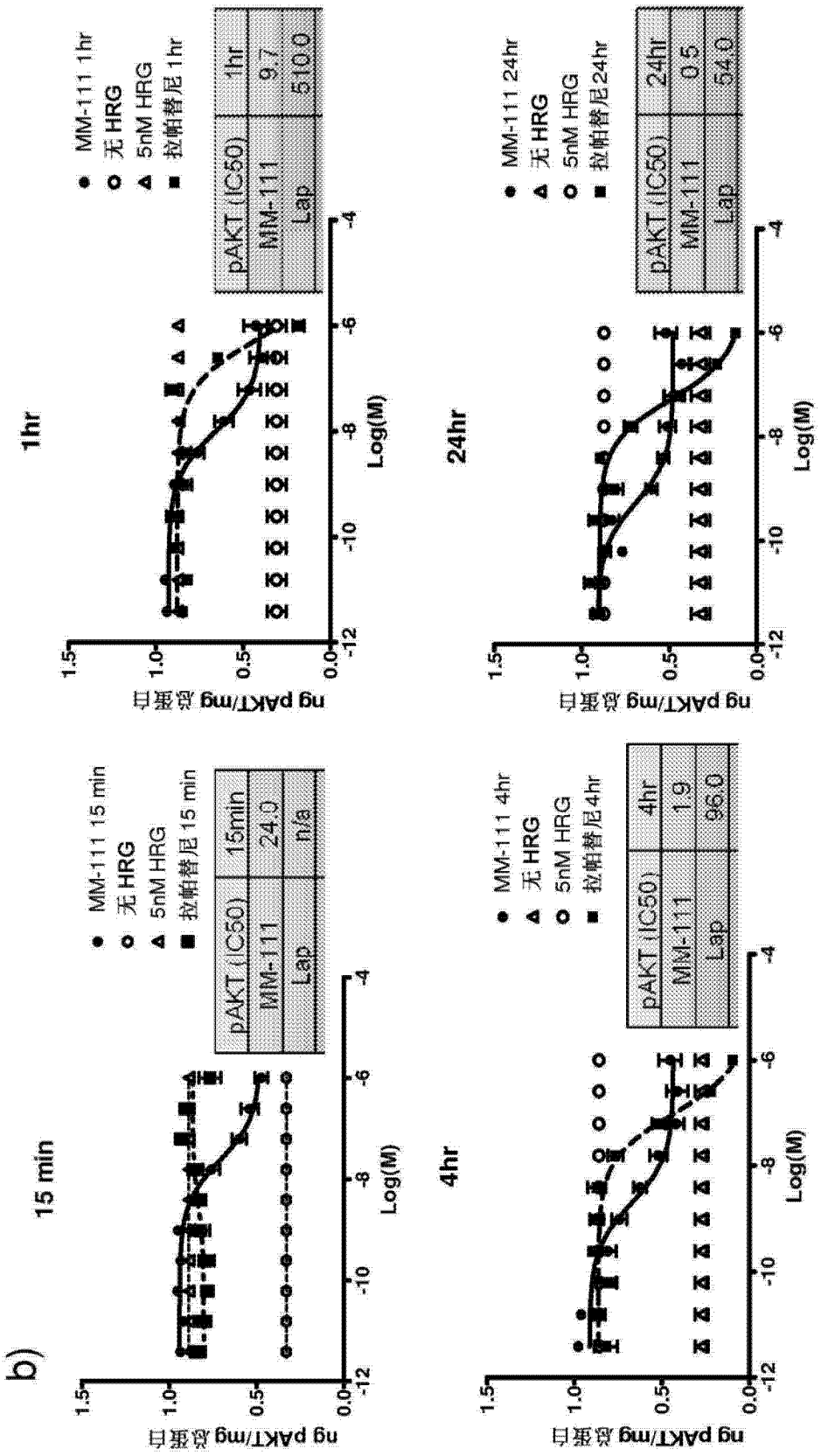

b)
15 min
MM-111 15 min
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼 15 min
pAKT (IC50) 15min
MM-111 24.0
Lap n/a
1hr
MM-111 1hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼 1hr
pAKT (IC50) 1hr
MM-111 9.7
Lap 510.0
4hr
MM-111 4hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼 4hr
pAKT (IC50) 4hr
MM-111 1.9
Lap 96.0
24hr
MM-111 24hr
无 HRG
5nM HRG
拉帕替尼 24hr
pAKT (IC50) 24hr
MM-111 0.5
Lap 54.0
ng pAKT/mg 总蛋白
Log(M)

图 8b

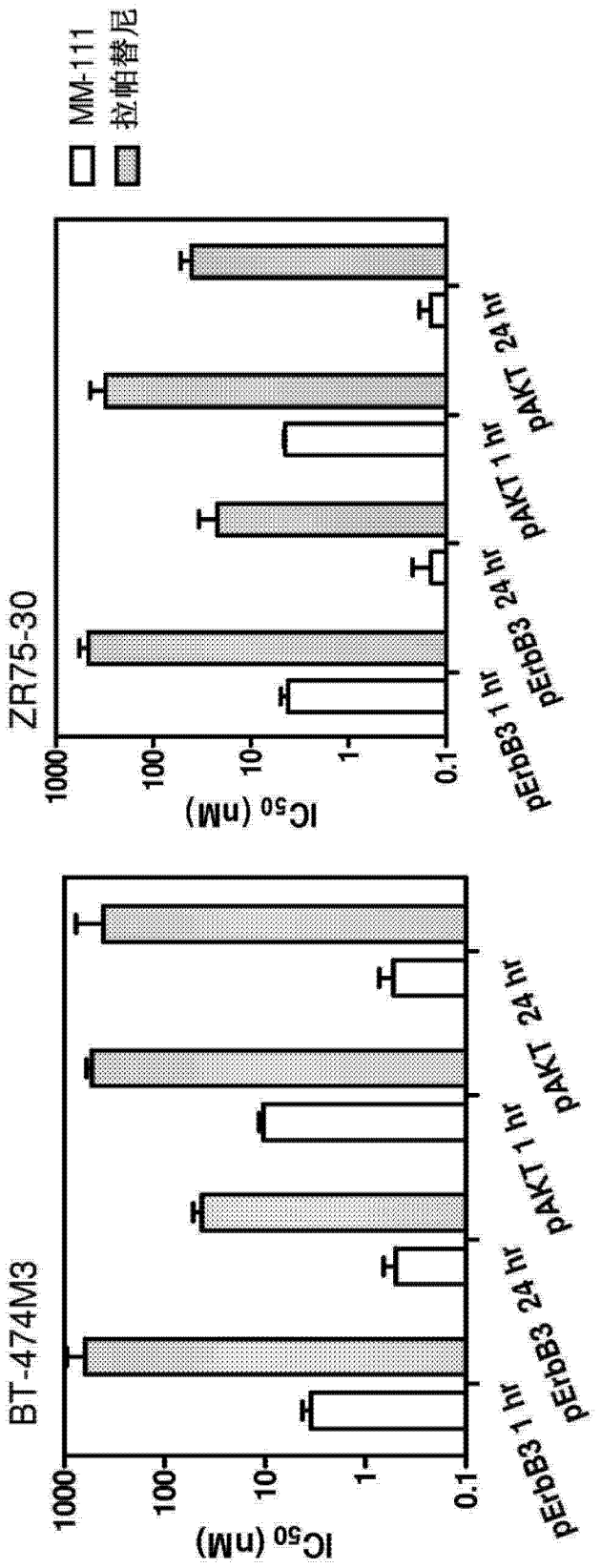

MM-111
拉帕替尼
ZR75-30
BT-474M3
IC50 (nM)
1000
100
10
1
0.1
pErbB3 1 hr
pErbB3 24 hr
pAKT 1 hr
pAKT 24 hr

图 8c

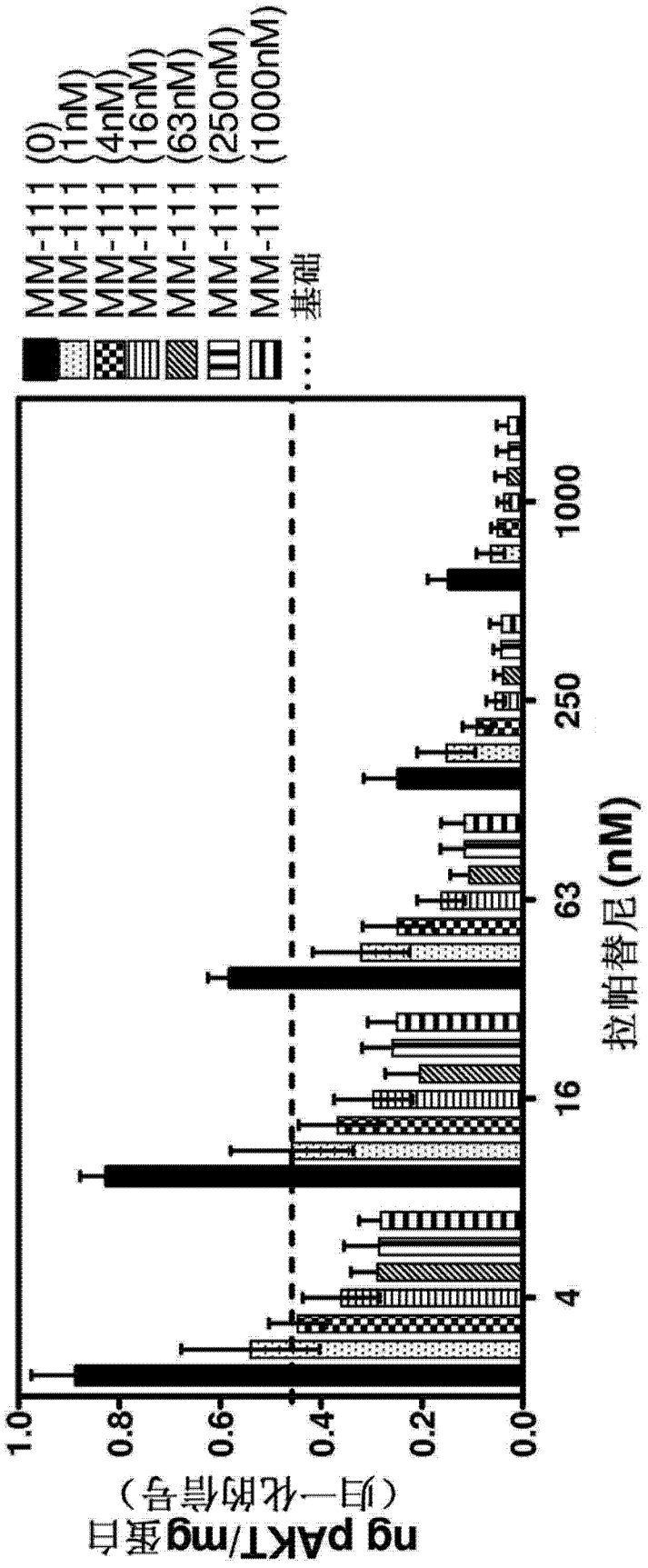

MM-111 (0)
MM-111 (1nM)
MM-111 (4nM)
MM-111 (16nM)
MM-111 (63nM)
MM-111 (250nM)
MM-111 (1000nM)
基础
ng pAKT/mg蛋白
（归一化的信号）
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
4
16
63
250
1000
拉帕替尼 (nM)

图 9

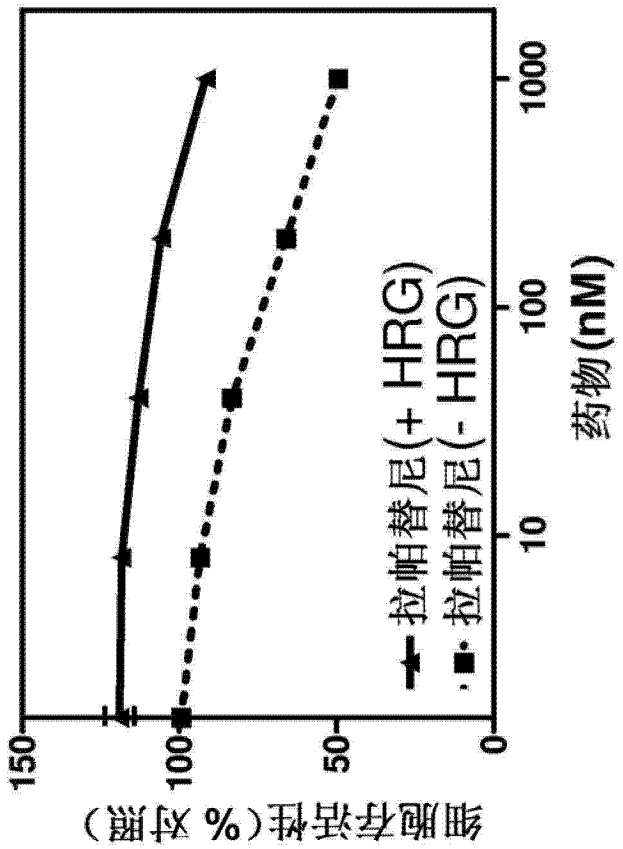


图 10

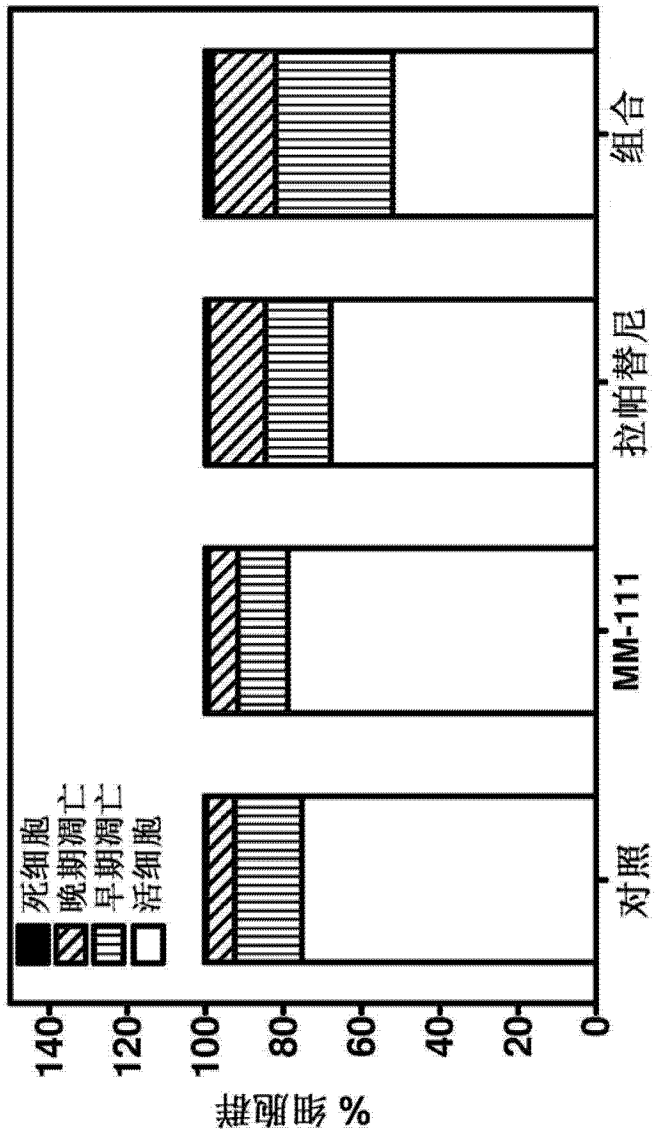


图 11

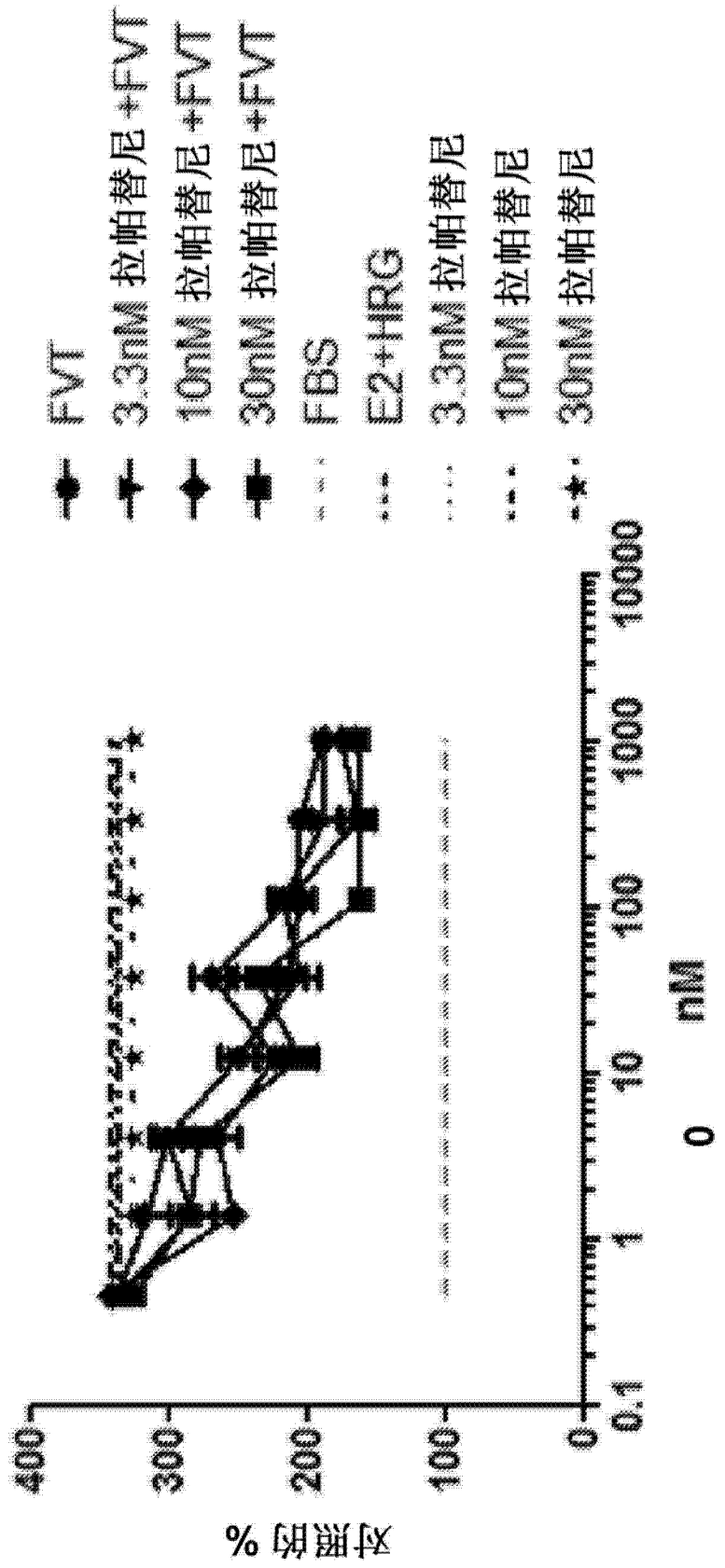

FVT
3.3nM 拉帕替尼 +FVT
10nM 拉帕替尼 +FVT
30nM 拉帕替尼 +FVT
FBS
E2+HRG
3.3nM 拉帕替尼
10nM 拉帕替尼
30nM 拉帕替尼
对照的 %
400
300
200
100
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM

图 12a

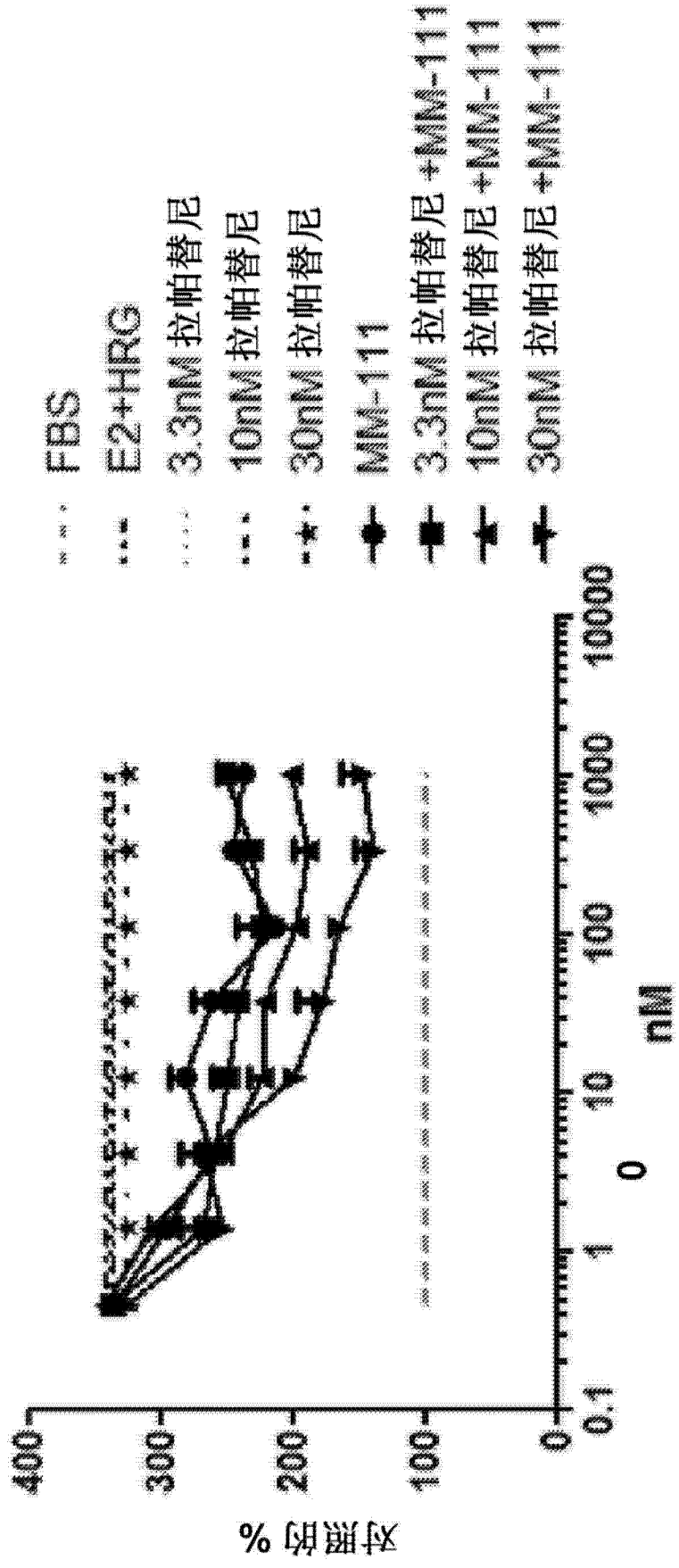

FBS
E2+HRG
3.3nM 拉帕替尼
10nM 拉帕替尼
30nM 拉帕替尼
MM-111
3.3nM 拉帕替尼 +MM-111
10nM 拉帕替尼 +MM-111
30nM 拉帕替尼 +MM-111
对照的 %
400
300
200
100
0
0.1
1
10
100
1000
10000
nM

图 12b

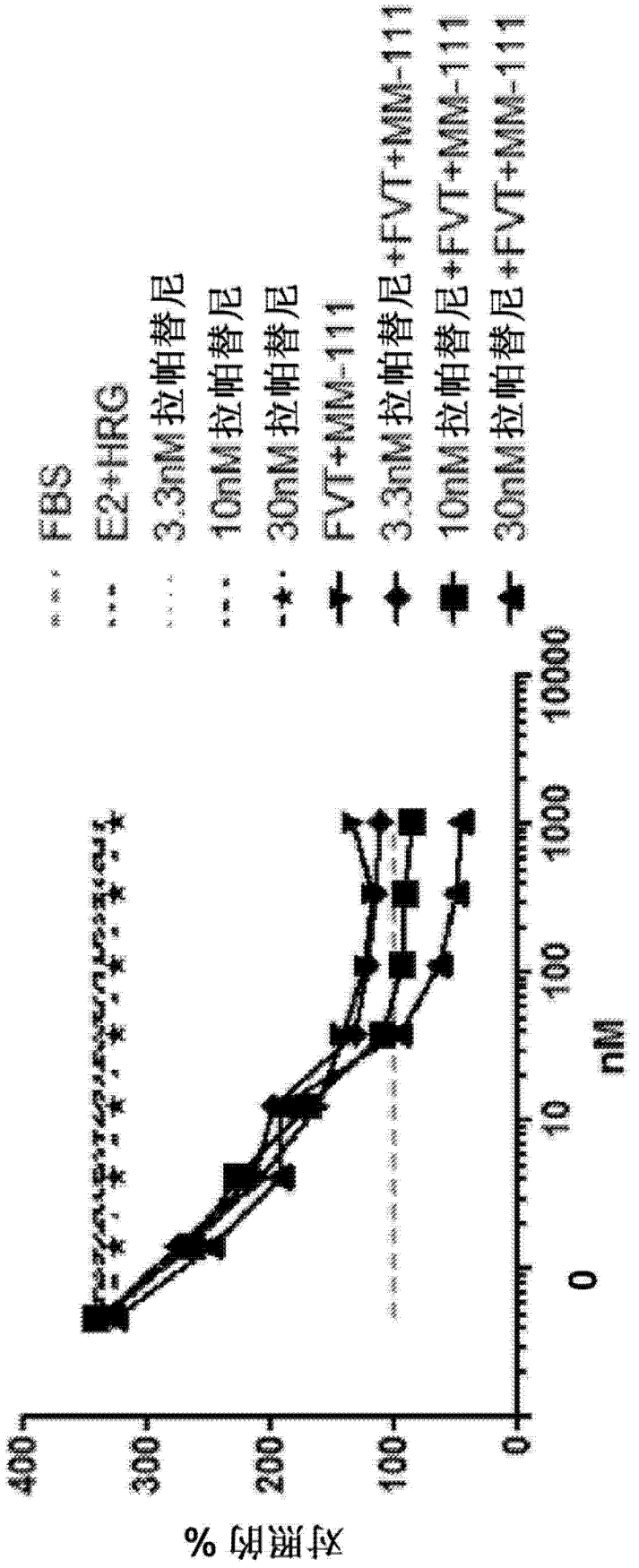

FBS
E2+HRG
3.3nM 拉帕替尼
10nM 拉帕替尼
30nM 拉帕替尼
FVT+MM-111
3.3nM 拉帕替尼 +FVT+MM-111
10nM 拉帕替尼 +FVT+MM-111
30nM 拉帕替尼 +FVT+MM-111
对照的 %
400
300
200
100
0
0
10
100
1000
10000
nM

图 12c

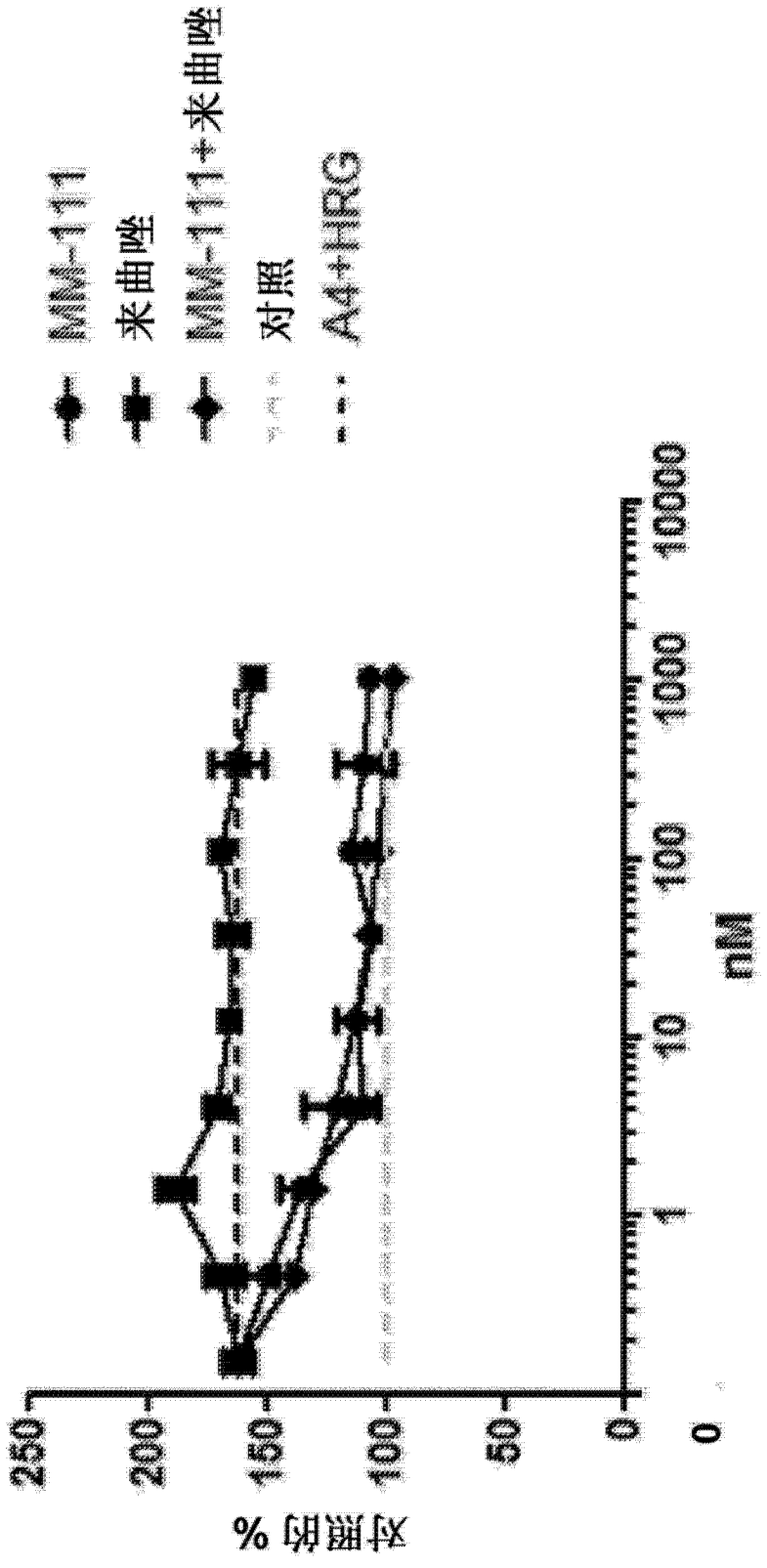

MM-111
来曲唑
MM-111+来曲唑
对照
A4+HRG
对照的 %
250
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 13a

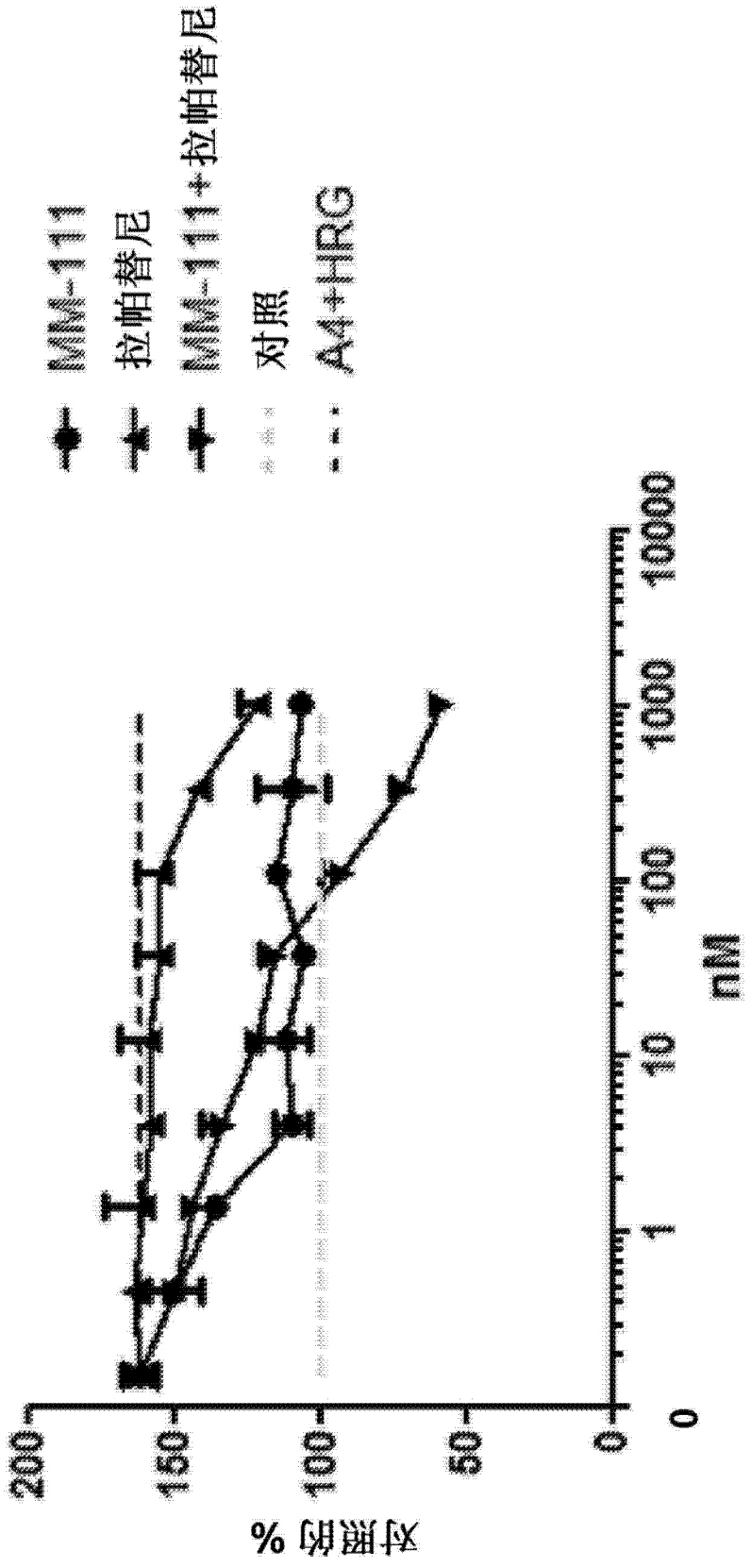

MM-111
拉帕替尼
MM-111+拉帕替尼
对照
A4+HRG
对照的 %
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 13b

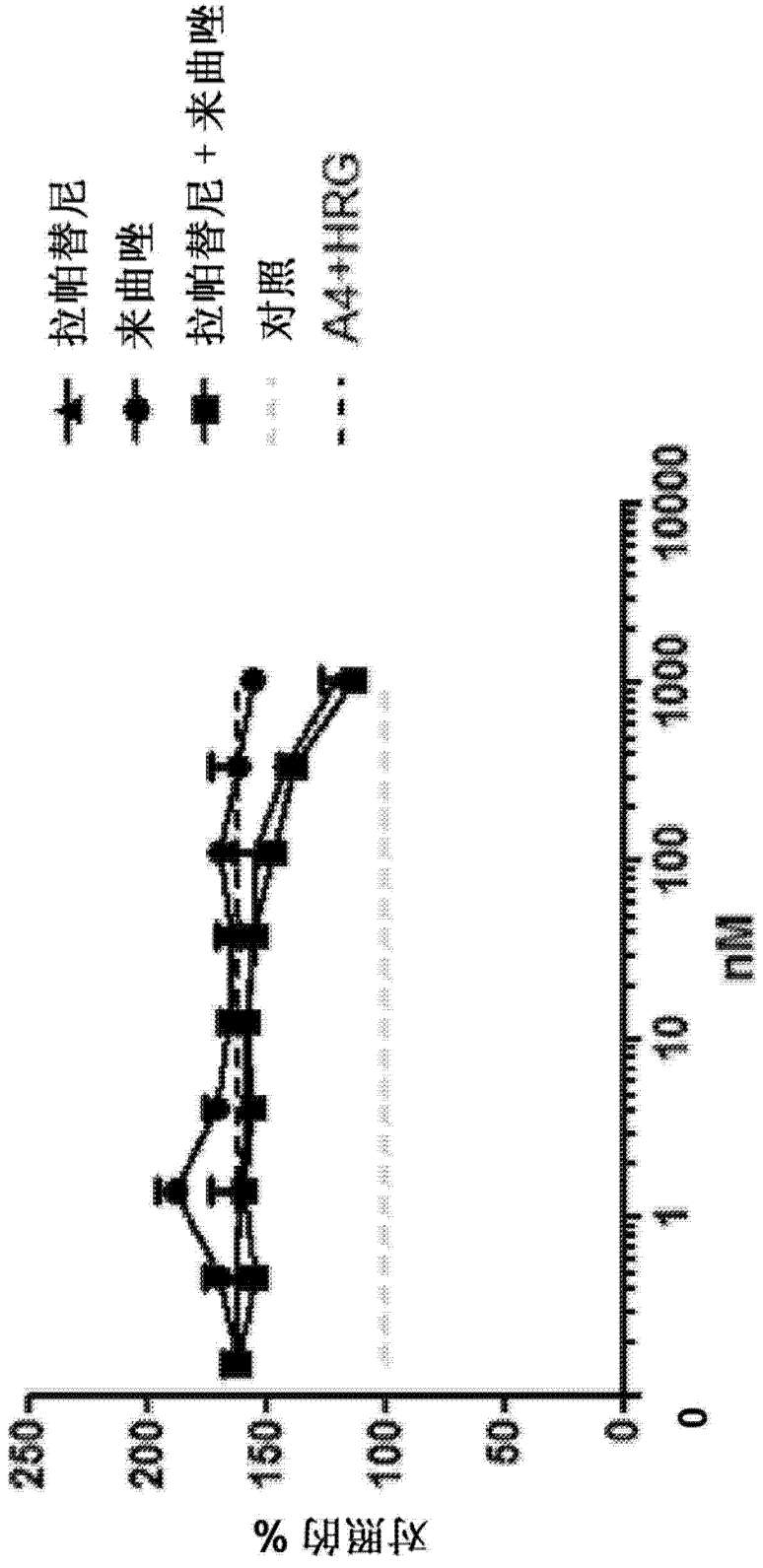

拉帕替尼
来曲唑
拉帕替尼 + 来曲唑
对照
A4+HRG
250
200
150
100
50
0
对照的 %
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 13c

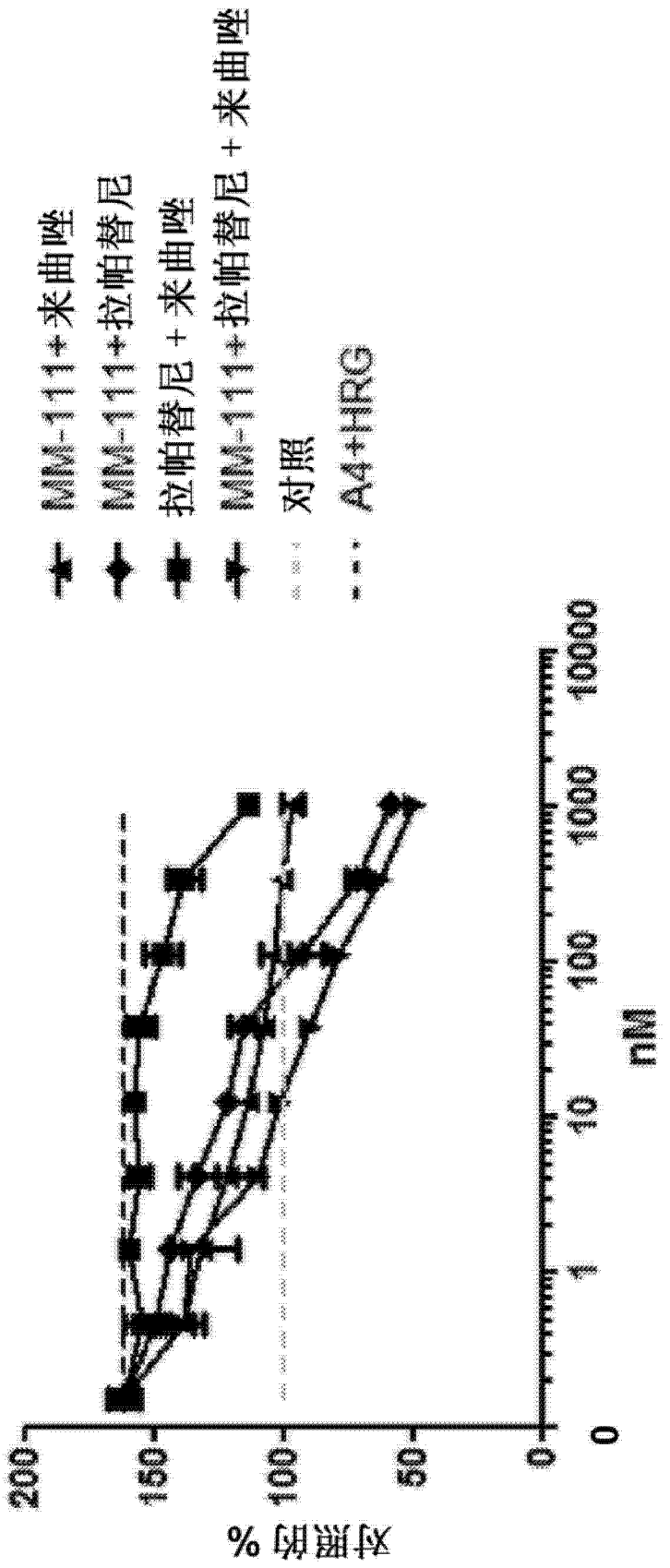

MM-111+来曲唑
MM-111+拉帕替尼
拉帕替尼 + 来曲唑
MM-111+拉帕替尼 + 来曲唑
对照
A4+HRG
对照的 %
200
150
100
50
0
0
1
10
100
1000
10000
nM

图 13d