



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116850283 A

(43) 申请公布日 2023. 10. 10

(21) 申请号 202310813342.4

C07K 16/32 (2006.01)

(22) 申请日 2018.02.28

A61P 35/04 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 35/00 (2006.01)

62/466,239 2017.03.02 US

A61K 31/555 (2006.01)

62/469,317 2017.03.09 US

A61K 31/337 (2006.01)

62/486,876 2017.04.18 US

(62) 分案原申请数据

201880014322.8 2018.02.28

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 M·C·本尤尼斯 G·A·罗斯

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 岑晓东

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

权利要求书1页 说明书40页

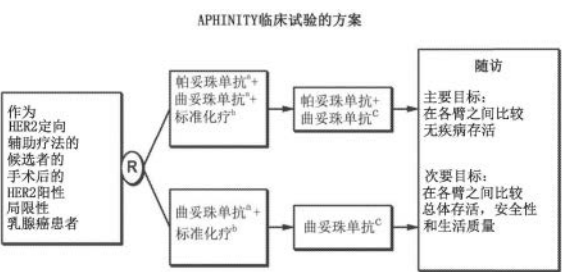
序列表(电子公布) 附图18页

(54) 发明名称

HER2阳性乳腺癌的辅助治疗

(57) 摘要

本发明涉及HER2阳性乳腺癌的辅助治疗。提供了人患者中的可手术的HER2阳性原发性乳腺癌的辅助治疗的方法,其通过在化疗和曲妥珠单抗以外还施用帕妥珠单抗。与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比,该方法为诊断有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的患者降低侵入性乳腺癌复发或死亡的风险。



1. 一种为诊断有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的患者降低侵入性乳腺癌复发或死亡的风险的方法,其包含在手术后对所述患者施用与曲妥珠单抗和化疗组合的帕妥珠单抗,其中侵入性乳腺癌复发或死亡的风险与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比降低,其中该患者是淋巴结阳性的。

2. 权利要求1的方法,其中该患者是激素受体(HR)阴性的。

3. 权利要求1的方法,其中该癌症是HER2扩增的。

4. 权利要求1的方法,其中该癌症是HER2突变的。

5. 权利要求1的方法,其中帕妥珠单抗和曲妥珠单抗是每3周施用的,其中帕妥珠单抗是作为840mg IV加载剂量,继以每3周通过IV给予420mg施用的,其中曲妥珠单抗是作为8mg/kg静脉内(IV)加载剂量,继以每3周通过IV输注给予6mg/kg施用的。

6. 权利要求1的方法,其中所述化疗包含施用多西他赛+卡铂。

7. 一种辅助疗法的方法,其包含在手术后对具有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的人受试者施用与曲妥珠单抗和化疗组合的帕妥珠单抗,其中与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比,所述疗法在所述施用后至少一年为所述患者降低侵入性乳腺癌复发或死亡的风险,其中所述患者是淋巴结阳性的。

8. 权利要求7的方法,其中所述患者是激素受体阴性的。

9. 权利要求7的方法,其中帕妥珠单抗和曲妥珠单抗是每3周施用的,其中帕妥珠单抗是作为840mg IV加载剂量,继以每3周通过IV给予420mg施用的,其中曲妥珠单抗是作为8mg/kg静脉内(IV)加载剂量,继以每3周通过IV输注给予6mg/kg施用的。

10. 权利要求7的方法,其中所述化疗包含施用多西他赛+卡铂。

## HER2阳性乳腺癌的辅助治疗

[0001] 本申请是申请日为2018年02月28日、中国申请号为201880014322.8、发明名称为“HER2阳性乳腺癌的辅助治疗”的发明申请的第三分案申请。

[0002] 序列表

[0003] 本申请含有序列表,已经以ASCII格式电子提交且据此通过援引完整收录。于2018年2月5日创建的所述ASCII拷贝命名为P34141-WO\_SL.txt且大小为33,918个字节。

### 发明领域

[0004] 本发明涉及通过在化疗和曲妥珠单抗之外还施用帕妥珠单抗来治疗人患者中的可手术的HER2阳性原发性乳腺癌。具体地,本发明涉及通过帕妥珠单抗,曲妥珠单抗和化疗的辅助施用来治疗可手术的HER2阳性早期乳腺癌(eBC)。

[0005] 还涉及一种制品,其包含其中有帕妥珠单抗的管形瓶和其上提供说明书的包装插页,说明书关于帕妥珠单抗与曲妥珠单抗和化疗组合的辅助施用来治疗HER2阳性早期乳腺癌,和供本文中的方法使用的组合物。

[0006] 发明背景

[0007] HER受体酪氨酸激酶家族的成员是细胞生长,分化和存活的重要介导体。该受体家族包括四种独特的成员,包括表皮生长因子受体(EGFR,ErbB1,或HER1),HER2(ErbB2或p185<sup>neu</sup>),HER3(ErbB3)和HER4(ErbB4或tyro2)。该受体家族的成员已牵连于多种类型的人恶性肿瘤。

[0008] 鼠抗HER2抗体4D5的重组人源化型式(huMAb4D5-8,rhuMAb HER2,曲妥珠单抗或HERCEPTIN®;美国专利No.5,821,337)在患有过表达HER2的转移性乳腺癌,已接受过大量在前抗癌疗法的患者中是有临床活性的(Baselga等,J.Clin.Oncol.14:737-744(1996))。

[0009] 曲妥珠单抗在1998年9月25日从食品药品监督管理局得到上市许可,用于治疗其肿瘤过表达HER2蛋白的转移性乳腺癌患者。目前,批准曲妥珠单抗在转移性背景中用作单一药剂或与化疗或激素治疗组合,和作为单一药剂或与化疗组合作为辅助治疗用于患有早期HER2阳性乳腺癌的患者。基于曲妥珠单抗的疗法现在是用于患有HER2阳性早期乳腺癌,不具有其使用禁忌证的患者的推荐治疗(HERCEPTIN®处方信息;NCCN指南,版本2.2011)。曲妥珠单抗加多西他赛(或帕利他赛)是一线转移性乳腺癌(MBC)治疗背景中的经注册的标准医护(Slamon等,N Engl J Med.2001,344(11):783-792;Marty等,J Clin Oncol.2005,23(19):4265-4274)。

[0010] 基于HER2表达为疗法选择用HER2抗体曲妥珠单抗治疗的患者。参见例如,W099/31140(Paton等),US2003/0170234A1(Hellmann,S.)和US2003/0147884(Paton等);以及W001/89566,US2002/0064785和US2003/0134344(Mass等)。亦参见美国专利No.6,573,043,美国专利No.6,905,830和US2003/0152987,Cohen等,其涉及用于检测HER2过表达和扩增的免疫组织化学(IHC)和荧光原位杂交(FISH)。如此,对转移性乳腺癌的最佳管理现在不仅考虑患者的一般状况,医学史,和受体状态,而且还考虑HER2状态。

[0011] 帕妥珠单抗(亦称为重组人源化单克隆抗体2C4(rhuMAb 2C4);Genentech, Inc, South San Francisco)代表称为HER二聚化抑制剂(HDI)的一类新药剂中的第一种,且发挥抑制HER2与其他HER受体(如EGFR/HER1, HER2, HER3和HER4)形成活性异二聚体或同二聚体的能力的功能。参见例如, Harari和Yarden, *Oncogene* 19:6102-14 (2000); Yarden和Sliwkowski, *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:127-37 (2001); Sliwkowski, *Nat Struct Biol* 10:158-9 (2003); Cho等, *Nature* 421:756-60 (2003); 和Malik等, *Pro Am Soc Cancer Res* 44:176-7 (2003)。

[0012] 已显示帕妥珠单抗对肿瘤细胞中HER2-HER3异二聚体形成的阻断抑制关键的细胞信号传导,其导致降低的肿瘤增殖和存活(Agus等, *Cancer Cell* 2:127-37 (2002))。

[0013] 帕妥珠单抗已在临床中进行作为单一药剂的试验,即患有晚期癌症的患者的Ia期试验和患有卵巢癌和乳腺癌以及肺癌和前列腺癌的患者中的II期试验。在I期研究中,将患有不能治愈的,局部晚期的,再发或转移性实体瘤,已在标准疗法期间或之后进展的患者用每3周静脉内给药的帕妥珠单抗治疗。帕妥珠单抗一般耐受较好。20位可评估应答的患者中有3位实现肿瘤消退。确认了2位患者的部分响应。在21位患者中有6位中观察到持续超过2.5个月的稳定疾病(Agus等, *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:192 (2003))。在2.0-15mg/kg的剂量,帕妥珠单抗的药动学为线性,且均值清除范围为2.69至3.74mL/d/kg,均值终末消除半衰期范围为15.3至27.6天。未检测到针对帕妥珠单抗的抗体(Allison等, *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:197 (2003))。

[0014] US 2006/0034842描述了用抗ErbB2抗体组合来治疗表达ErbB的癌症的方法。US 2008/0102069描述了曲妥珠单抗和帕妥珠单抗在治疗HER2阳性转移性癌症如乳腺癌中的用途。Baselga等, *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Col.25, No.18S (June 20 Supplement), 2007:1004报告了对患有经预治疗的HER2阳性乳腺癌,在用曲妥珠单抗治疗期间已进展的患者的治疗,其使用曲妥珠单抗和帕妥珠单抗的组合。Portera等, *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol.25, No.18S (June 20 Supplement), 2007:1028评估了曲妥珠单抗+帕妥珠单抗组合疗法在已在基于曲妥珠单抗的疗法上疾病进展的HER2阳性乳腺癌患者中的功效和安全性。作者得出结论,需要对该组合治疗的功效的进一步评估来定义该治疗方案的总体风险和益处。

[0015] 帕妥珠单抗已在II期研究中与曲妥珠单抗组合在患有HER2阳性转移性乳腺癌,先前针对转移性疾病接受过曲妥珠单抗的患者中进行评估。一项由国家癌症研究院 (NCI) 进行的研究招募了11位患有先前治疗过的HER2阳性转移性乳腺癌的患者。11位患者中有2位展现出部分响应 (PR) (Baselga等, *J Clin Oncol* 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings; 25:18S (June 20 Supplement):1004。

[0016] 在患有早期HER2阳性乳腺癌的女性中评估帕妥珠单抗和曲妥珠单抗加化疗(多西他赛)的新组合方案效果的II期新辅助研究的结果(2010年12月8-12日在CTRC-AACR圣安东尼奥乳腺癌学术会议(SABCS)上呈现)显示,在手术前的新辅助背景中给予两种HER2抗体加多西他赛将乳腺中完全肿瘤消失的比率(病理学完全响应率, pCR, 45.8个百分点)相比于曲妥珠单抗加多西他赛(pCR, 29.0个百分点)显著改进了超过一半,  $p=0.014$ 。

[0017] 帕妥珠单抗和曲妥珠单抗(CLEOPATRA) II期临床研究的临床评估评价作为具有局部复发,不可切除,或转移性HER2阳性乳腺癌的患者的一线治疗,与安慰剂加曲妥珠单抗加

多西他赛相比,帕妥珠单抗加曲妥珠单抗加多西他赛的功效和安全性。当作为HER2阳性转移性乳腺癌的一线治疗使用时,与安慰剂加曲妥珠单抗加多西他赛相比,帕妥珠单抗加曲妥珠单抗加多西他赛的组合显著延长无进展存活,心脏毒性效应没有升高(Baselga等,N Eng J Med 2012,366:2,109-119)。

[0018] II期临床研究NeoSphere评价帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的新辅助施用在具有可手术,局部晚期,和炎性乳腺癌的未治疗女性(尚未接受任何在先癌症疗法的患者)中的功效和安全性。给予帕妥珠单抗和曲妥珠单抗加多西他赛的患者显示与给予曲妥珠单抗加多西他赛的患者相比显著改善的病理学完全响应率,而耐受性没有实质性差异(Gianni等,Lancet Oncol 2012,13(1):25-32)。报告了5年随访的结果(Gianni等,Lancet Oncol 2016,17(6):791-800)。

[0019] 辅助疗法最广义地指在主要疗法以外给予的用于杀伤任何可能已经扩散的癌细胞的治疗,即使通过放射学或实验室测试检测不到该扩散。

[0020] 涉及辅助疗法的出版物或研讨会包括:Paik等,J.Natl.Cancer Inst.,92(24):1991-1998(2000);Paik等,J.Natl.Cancer Inst.,94:852-854(2002);Paik等,Successful quality assurance program for HER2 testing in the NSABP Trial for Herceptin.San Antonio Breast Cancer Symposium,2002;Roche P C等,J.Natl.Cancer Inst.,94(11):855-7(2002);Albain等,Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Thirty-Eighth Annual Meeting,May 18-21 2002,Orlando,Fla., Abstract 143;The ATAC(Arimidex,Tamoxifen Alone or in Combination)Trialists' Group,Lancet,359:2131-39(2002);Geyer等,26th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium(SABCS),December 2003,Abstract 12;Perez等,Proc.ASCO,2005,Abstract 556。

[0021] 美国专利公开文本No.2004/0014694(2004年1月22日公布)描述了一种用于治疗早期乳腺癌的辅助疗法的方法,其包括施用多西他赛,多柔比星和环磷酰胺。

[0022] 美国专利No.8,591,897公开了通过施用HERCEPTIN®的乳腺癌的辅助治疗。

[0023] 涉及HER2抗体的专利公开文本包括:美国专利No.5,677,171;5,720,937;5,720,954;5,725,856;5,770,195;5,772,997;6,165,464;6,387,371;6,399,063;6,015,567;6,333,169;4,968,603;5,821,337;6,054,297;6,407,213;6,639,055;6,719,971;6,800,738;5,648,237;7,018,809;6,267,958;6,695,940;6,821,515;7,060,268;7,682,609;7,371,376;6,127,526;6,333,398;6,797,814;6,339,142;6,417,335;6,489,447;7,074,404;7,531,645;7,846,441;7,892,549;6,573,043;6,905,830;7,129,840;7,344,840;7,468,252;7,674,589;6,949,245;7,485,302;7,498,030;7,501,122;7,537,931;7,618,631;7,862,817;7,041,292;6,627,196;7,371,379;6,632,979;7,097,840;7,575,748;6,984,494;7,279,287;7,811,773;7,993,834;7,435,797;7,850,966;7,485,704;7,807,799;7,560,111;7,879,325;7,449,184;7,700,299;8,591,897;和US 2010/0016556;US 2005/0244929;US 2001/0014326;US 2003/0202972;US 2006/0099201;US 2010/0158899;US 2011/0236383;US 2011/0033460;US 2005/0063972;US 2006/018739;US 2009/0220492;US 2003/0147884;US 2004/0037823;US 2005/0002928;US 2007/0292419;US 2008/0187533;US 2003/0152987;US 2005/0100944;US 2006/0183150;US2008/0050748;

US 2010/0120053;US 2005/0244417;US 2007/0026001;US 2008/0160026;US 2008/0241146;US 2005/0208043;US 2005/0238640;US 2006/0034842;US 2006/0073143;US 2006/0193854;US 2006/0198843;US 2011/0129464;US 2007/0184055;US 2007/0269429;US 2008/0050373;US 2006/0083739;US 2009/0087432;US 2006/0210561;US 2002/0035736;US 2002/0001587;US 2008/0226659;US 2002/0090662;US 2006/0046270;US 2008/0108096;US 007/0166753;US 2008/0112958;US 2009/0239236;US 2004/008204;US 2009/0187007;US 2004/0106161;US 2011/0117096;US 2004/048525;US 2004/0258685;US 2009/0148401;US 2011/0117097;US 2006/0034840;US 2011/0064737;US 2005/0276812;US 2008/0171040;US 2009/0202536;US 2006/0013819;US 2006/0018899;US 2009/0285837;US 2011/0117097;US 2006/0088523;US 2010/0015157;US 2006/0121044;US 2008/0317753;US2006/0165702;US 2009/0081223;US 2006/0188509;US 2009/0155259;US 2011/0165157;US 2006/0204505;US 2006/0212956;US 2006/0275305;US 2007/0009976;US 2007/0020261;US 2007/0037228;US 2010/0112603;US 2006/0067930;US 2007/0224203;US 2008/0038271;US 2008/0050385;2010/0285010;US 2008/0102069;US 2010/0008975;US 2011/0027190;US 2010/0298156;US 2009/0098135;US 2009/0148435;US 2009/0202546;US 2009/0226455;US 2009/0317387;和US 2011/0044977。

#### [0024] 发明概述

[0025] 估计占据美国每年大约6000-8000例死亡,欧洲每年12,000-15,000例死亡,和全球每年60,000-90,000例死亡(基于乳腺癌总体的死亡率),具有HER2阳性乳腺癌的患者需要新的积极的治疗(Levi等,Eur J Cancer Prev2005;14:497-502;Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:GLOBOCAN 2008.Int J Cancer 2010;127:2893-917;SEER cancer statistics review,1975-2008[Internet].Bethesda,MD.National Cancer Institute;November 2010[updated,2011];Malvezzi等,Ann Oncol 2013;24:792-800)。呈现HER2阳性乳腺癌的患者的中值年龄是50-60岁中段,比一般乳腺癌群体年轻大约5岁(Breast Cancer Res Treat 2008;110:153-9;Breast Cancer Res2009;11:R31)。当女性的保险精算存活>80岁时,每位患者的寿命损失中值是大约20年。当疾病仍然局限于乳房和区域淋巴结时改善初始疗法的结果提供潜在治愈疾病,以及在没有治愈的患者中延迟疾病复发和死亡的机会。

[0026] 本发明至少部分基于对一项随机化,双盲,以安慰剂为对照,双臂III期临床研究(乳腺癌中的初始疗法中的辅助帕妥珠单抗和HERCEPTIN (APHINITY),NCT01358877/B025126)的结果的分析,评估在具有可手术的HER2阳性原发性癌症的患者中在化疗加曲妥珠单抗以外还有帕妥珠单抗作为辅助疗法的安全性和功效。

[0027] 在第一个方面,本发明关注一种为诊断有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的患者降低侵入性乳腺癌复发或死亡的风险的方法,其包含在手术后对该患者施用与曲妥珠单抗和化疗组合的帕妥珠单抗,其中侵入性乳腺癌复发或死亡的风险与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比降低。

[0028] 在一个实施方案中,该患者在所述施用后至少1年仍然活着且没有侵入性乳腺癌复发。

[0029] 在第二个方面,本发明关注一种辅助疗法的方法,其包含在手术后对具有HER2阳

性早期乳腺癌(eBC)的人受试者施用与曲妥珠单抗和化疗组合的帕妥珠单抗,其中与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比,所述疗法在施用后至少一年为所述患者降低侵入性乳腺癌复发或死亡的风险。

[0030] 在这两个方面,且在各个实施方案中,该患者可以在施用后至少2年,或至少3年仍然活着且没有侵入性乳腺癌复发。

[0031] 在一个实施方案中,该患者是淋巴结阳性的。

[0032] 在第二个实施方案中,该患者是激素受体(HR)阴性的。

[0033] 在第三个实施方案中,侵入性乳腺癌复发或死亡的风险与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比降低至少约5%,或至少约10%,或至少约15%,或至少约20%,或至少约25%,诸如例如与在没有帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗和化疗相比降低至少19%。

[0034] 在第四个实施方案中,该HER2阳性癌症特征在于IHC 2+或3+的HER2表达水平。

[0035] 在第五个实施方案中,该癌症是HER2扩增的,其中HER2扩增可以例如是通过荧光原位杂交(FISH)测定的。

[0036] 在第六个实施方案中,该癌症是HER2突变的,其中HER2突变可以例如是选自由HER2的外显子20内的插入,HER2的氨基酸残基755-759左右的删除,G309A,G309E,S310F,D769H,D769Y,V777L,P780-Y781insGSP,V8421I,R896C和在两份或更多份独特标本中找到的其它推定活化性突变组成的组。

[0037] 帕妥珠单抗和/或曲妥珠单抗可以是静脉内或皮下施用的。

[0038] 在各个实施方案中,帕妥珠单抗和曲妥珠单抗典型地是每3周施用的。

[0039] 依照一种施用进度表,帕妥珠单抗是作为840mg IV加载剂量,继以每3周通过IV给予420mg施用的。

[0040] 依照一种施用进度表,曲妥珠单抗是作为8mg/kg静脉内(IV)加载剂量,继以每3周通过IV输注给予6mg/kg施用的。

[0041] 依照另一种施用进度表,帕妥珠单抗是以1200mg的加载剂量,继以每3周600mg皮下施用的。

[0042] 帕妥珠单抗和曲妥珠单抗可以是作为两次分开的皮下注射皮下共施用的,或作为单次皮下注射共混合的,或作为用于皮下施用的单一共配制剂施用的。

[0043] 在一个实施方案中,帕妥珠单抗和曲妥珠单抗施用至少52周。

[0044] 在另一个实施方案中,帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的施用在化疗后。

[0045] 化疗可以包含基于蒽环类抗生素的化疗,或可以是非基于蒽环类抗生素的化疗。

[0046] 在一个实施方案中,化疗包含施用5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺,任选地进一步包含施用紫杉烷,例如多西他赛和/或帕利他赛。

[0047] 在第二个实施方案中,化疗包含施用多柔比星或表柔比星+环磷酰胺,任选地进一步包含施用紫杉烷,例如多西他赛和/或帕利他赛。

[0048] 该非基于蒽环类抗生素的化疗可以例如包含施用多西他赛+卡铂。

[0049] 在另一个方面,本发明关注一种制品,其包含装有帕妥珠单抗的管形瓶和包装插页,其中该包装插页提供如本文中公开的那样施用所述帕妥珠单抗的说明书。

[0050] 在还有另一个方面,本发明关注一种制品,其包含一个或多个装有帕妥珠单抗和

曲妥珠单抗的管形瓶和包装插页,其中该包装插页提供如本文中公开的那样施用所述帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的说明书。

[0051] 在又一个实施方案中,本发明关注帕妥珠单抗的组合物,供如本文中公开的那样与曲妥珠单抗组合使用来治疗具有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的患者。

[0052] 在仍有又一个实施方案中,本发明关注帕妥珠单抗在制备用于如本文中公开的那样与曲妥珠单抗组合治疗具有HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的患者的药物中的用途。

[0053] 这些和别的方面和实施方案基于相关领域的公开内容和一般知识对本领域技术人员会是明显的。

[0054] 附图简述

[0055] 图1提供HER2蛋白结构的示意图,及其胞外域的域I-IV的氨基酸序列(分别为SEQ ID No.1-4)。

[0056] 图2A和2B绘出以下的氨基酸序列的比对:鼠单克隆抗体2C4的可变轻( $V_L$ ) (图2A)和可变重( $V_H$ ) (图2B)域(分别为SEQ ID No.5和6);变体574/帕妥珠单抗的 $V_L$ 和 $V_H$ 域(分别为SEQ ID No.7和8),及人 $V_L$ 和 $V_H$ 共有框架(hum $\kappa$ 1,轻卡帕亚组I;humIII,重亚组III)(分别为SEQ ID No.9和10)。星号指示帕妥珠单抗和鼠单克隆抗体2C4的可变域之间或帕妥珠单抗和人框架的可变域之间的差异。互补决定区(CDR)在括号内。

[0057] 图3A和3B显示帕妥珠单抗轻链(图3A;SEQ ID NO.11)和重链(图3B;SEQ ID NO.12)的氨基酸序列。CDR粗体显示。轻链和重链的计算分子量为23,526.22Da和49,216.56Da(半胱氨酸以还原形式)。碳水化合物模块附接于重链的Asn 299。

[0058] 图4A和4B分别显示曲妥珠单抗轻链(图4A;SEQ ID NO.13)和重链(图4B;SEQ ID NO.14)的氨基酸序列。可变轻和可变重域的边界由箭头指示。

[0059] 图5A和5B分别绘出变体帕妥珠单抗轻链序列(图5A;SEQ ID NO.15)和变体帕妥珠单抗重链序列(图5B;SEQ ID NO.16)。

[0060] 图6A是如实施例1中描述的评估可手术的HER2阳性早期乳腺癌(eBC)中基于帕妥珠单抗的辅助疗法的功效的APHINITY临床试验的方案。注:<sup>a</sup>曲妥珠单抗6mg/kg IV q3周,帕妥珠单抗420mg IV q3周;<sup>b</sup>或是基于蒽环类抗生素的方案及紫杉烷,或是Taxotere及卡铂;<sup>c</sup>HER2疗法达1年(52周)。缩写:HER:人表皮生长因子受体;IV:静脉内;q3周:每3周。

[0061] 图6B显示APHINITY临床试验的研究设计,使用基于蒽环类抗生素的化疗。

[0062] 图6C显示APHINITY临床试验的研究设计,使用非基于蒽环类抗生素的化疗。

[0063] 图7A显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=2400)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=2404)治疗的患者中的功效结果,使用无侵入性疾病存活(iDFS)作为主要临床终点。

[0064] 图7B显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=2400)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=2404)治疗的患者中的无远程复发间隔(月)的Kaplan-Meier图。

[0065] 图8A显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=1503)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=1502)治疗的结阳性乳腺癌患者中的功效结果(iDFS)。

[0066] 图8B显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=1503)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=1502)治疗的乳腺癌患者的结阳性队列中以治疗方案分的第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图。



[0067] 图8C显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=987)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=902)治疗的乳腺癌患者的结阴性队列中以治疗方案分的第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图。

[0068] 图9A显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=864)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=858)治疗的中枢激素受体阴性乳腺癌患者中的功效结果(iDFS)。

[0069] 图9B显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=864)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=858)治疗的中枢激素受体阴性患者中以治疗方案分的第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图。

[0070] 图9C显示如实施例1中描述的分别用帕妥珠单抗+曲妥珠单抗(n=1536)和安慰剂+曲妥珠单抗(n=1546)治疗的中枢激素受体阳性患者中以治疗方案分的第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图。

[0071] 图10显示第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图,显示经过审查的患者,以治疗方案分(分别用帕妥珠单抗(Ptz)+曲妥珠单抗(H)+化疗(n=2400)和安慰剂(Pla)+曲妥珠单抗+化疗(n=2404)治疗的患者),ITT群体,如实施例1中描述的。

[0072] 发明详述

[0073] I. 定义

[0074] 如本文中使用的,术语“化疗”指包含施用如本文中下文定义的化疗的治疗。

[0075] “存活”指患者保持存活,并且包括总体存活以及无进展存活。

[0076] “总体存活”或“OS”指患者自诊断或治疗时间起保持限定时段存活,诸如1年,5年等。就实施例中描述的临床试验的目的而言,总体存活(OS)定义为从患者群体随机化的日期起到因任何原因而死亡的日期的时间。

[0077] “无进展存活”或“PFS”指患者保持存活且癌症没有进展或恶化。就实施例中描述的临床试验的目的而言,无进展存活(PFS)定义为从研究群体随机化到首次记载的进展性疾病或难管理的毒性或因任何原因的死亡(以先发生者为准)的时间。疾病进展可通过任何临床接受的方法记载,如例如,如通过实体瘤中的响应评估标准(RECIST)确定的射线照相进展性疾病(Therasse等,J Natl Ca Inst 2000,92(3):205-216),通过对脑脊髓液的细胞学评估诊断的癌性脑膜炎,和/或监测皮下损伤的胸壁再发的医学摄影。

[0078] “无疾病存活”或“DFS”指患者自治疗启动或自初始诊断起保持一定时间段活着且癌症没有复发,诸如约1年,约2年,约3年,约4年,约5年,约10年,等。在构成本发明的基础的研究中,DFS依照治疗意图原则来分析,即在其指派疗法的基础上评估患者。DFS分析中使用的事件典型地包括局部,区域性和远端癌症复发,继发性癌症发生,及在没有在先事件(乳腺癌复发或第二原发性癌症)的患者中死于任何原因。

[0079] 如本文中定义的,“无侵入性疾病存活”或“iDFS”是在辅助治疗之后患者活着且在任何部位侵入性乳腺癌没有复发或死于任何原因的时间。换言之,iDFS定义为患者自治疗启动或自初始诊断起在辅助治疗之后保持一定时间段活着(存活)且侵入性疾病没有复发,诸如约1年,约2年,约3年,约4年,约5年,约10年,等。在一个实施方案中,iDFS是自治疗启动起约1年,或约3年。

[0080] “延长存活”意味着使依照本发明治疗的患者中总体或无进展存活相对于未治疗的患者和/或相对于用一种或多种已获批准的抗肿瘤药剂治疗但未接受依照本发明治疗的

患者延长。在一个具体的例子中,“延长存活”意味着使接受本发明的组合疗法(例如用帕妥珠单抗,曲妥珠单抗和化疗的组合治疗)的癌症患者的无进展存活(PFS)和/或总体存活(OS)相对于仅用曲妥珠单抗和化疗治疗的患者延长。在另一个具体的例子中,“延长存活”意味着使接受本发明的组合疗法(例如用帕妥珠单抗,曲妥珠单抗和化疗的组合治疗)的癌症患者的无进展存活(PFS)和/或总体存活(OS)相对于仅用帕妥珠单抗和化疗治疗的患者延长。

[0081] “客观响应”指可测量的响应,包括完全响应(CR)或部分响应(PR)。

[0082] “完全响应”或“CR”意指癌症的所有症候响应治疗而消失。这并不总是意味着癌症得到治愈。

[0083] “部分响应”或“PR”指一处或多处肿瘤或损伤的大小或癌症在身体中的范围响应治疗而缩小。

[0084] “HER受体”是属于HER受体家族的受体蛋白质酪氨酸激酶,包括EGFR,HER2,HER3和HER4受体。HER受体通常会包含胞外域,它可结合HER配体和/或与另一个HER受体分子二聚化;亲脂性跨膜域;保守的胞内酪氨酸激酶域;和含有几个可被磷酸化的酪氨酸残基的羧基末端信号传导域。HER受体可以是“天然序列”HER受体或其“氨基酸序列变体”。优选的是,HER受体是天然序列人HER受体。

[0085] 表述“ErbB2”和“HER2”在本文中可互换使用,指例如Semba等,PNAS(USA)82:6497-6501(1985)和Yamamoto等,Nature 319:230-234(1986)中描述的人HER2蛋白(Genebank登录号X03363)。术语“erbB2”指编码人ErbB2的基因,而“neu”指编码大鼠p185<sup>neu</sup>的基因。优选的HER2是天然序列人HER2。

[0086] 本文中“HER2胞外域”或“HER2 ECD”指锚定于细胞膜或处于循环中的在细胞外部的HER2域,包括其片段。HER2的氨基酸序列显示于图1。在一个实施方案中,HER2的胞外域可以包含4个域:“域I”(约1-195的氨基酸残基;SEQ ID NO:1),“域II”(约196-319的氨基酸残基;SEQ ID NO:2),“域III”(约320-488的氨基酸残基;SEQ ID NO:3)和“域IV”(约489-630的氨基酸残基;SEQ ID NO:4)(没有信号肽的残基编号)。参见Garrett等,Mol.Cell.11:495-505(2003),Cho等,Nature 421:756-760(2003),Franklin等,Cancer Cell 5:317-328(2004)和Plowman等,Proc.Natl.Acad.Sci.90:1746-1750(1993),以及本文中图1。

[0087] “HER3”或“ErbB3”在本文中指如例如美国专利No.5,183,884和5,480,968及Kraus等,PNAS(USA)86:9193-9197(1989)中公开的受体。

[0088] “低HER3”癌症是以低于该癌症类型中HER3表达的中值水平表达HER3的癌症。在一个实施方案中,所述低HER3癌症是上皮卵巢癌,腹膜癌或输卵管癌。可评估癌症中的HER3 DNA,蛋白质和/或mRNA水平来确定癌症是否是低HER3癌症。关于低HER3癌症的更多信息参见例如美国专利No.7,981,418。任选地,实施HER3 mRNA表达测定法来确定癌症是低HER3癌症。在一个实施方案中,评估癌症中的HER3 mRNA水平,例如使用聚合酶链式反应(PCR),如定量逆转录PCR(qRT-PCR)。任选地,所述癌症以等于或低于约2.81的浓度比表达HER3,如通过qRT-PCR,例如使用COBAS **z480**®仪评估的。

[0089] “HER二聚体”在本文中指包含至少两个HER受体的非共价联合二聚体。当表达两种或更多种HER受体的细胞暴露于HER配体时可能形成此类复合物,且可通过免疫沉淀进行分离及通过SDS-PAGE进行分析,如例如Sliwkowski等,J.Biol.Chem.269(20):14661-14665

(1994)中所述。其它蛋白质,如细胞因子受体亚基(例如gp130)可与所述二聚体联合。优选地,所述HER二聚体包含HER2。

[0090] “HER异二聚体”在本文中指包含至少两个不同HER受体的非共价联合异二聚体,如EGFR-HER2,HER2-HER3或HER2-HER4异二聚体。

[0091] “HER抗体”是结合HER受体的抗体。任选地,HER抗体进一步干扰HER活化或功能。优选地,HER抗体结合HER2受体。本文中感兴趣的HER2抗体是帕妥珠单抗和曲妥珠单抗。

[0092] “HER活化”指任一种或多种HER受体的活化或磷酸化。一般而言,HER活化导致信号转导(例如由HER受体胞内激酶域引起的,磷酸化HER受体或底物多肽中的酪氨酸残基)。HER活化可由结合包含感兴趣HER受体的HER二聚体的HER配体介导。结合HER二聚体的HER配体可活化二聚体中一种或多种HER受体的激酶域,并由此导致一种或多种HER受体中酪氨酸残基的磷酸化和/或其它底物多肽如Akt或MAPK胞内激酶中酪氨酸残基的磷酸化。

[0093] “磷酸化”指一个或多个磷酸基向蛋白质如HER受体或其底物的添加。

[0094] “抑制HER二聚化”的抗体是抑制或干扰HER二聚体形成的抗体。优选地,这类抗体结合HER2于其异二聚体结合位点处。本文中最优选的二聚化抑制性抗体是帕妥珠单抗或MAb 2C4。抑制HER二聚化的抗体的其他例子包括结合EGFR并抑制其与一种或多种其他HER受体二聚化的抗体(例如EGFR单克隆抗体806,MAb 806,其结合活化或“未栓系”的EGFR;参见Johns等,J.Biol.Chem.279(29):30375-30384(2004));结合HER3并抑制其与一种或多种其他HER受体二聚化的抗体;和结合HER4并抑制其与一种或多种其他HER受体二聚化的抗体。

[0095] “HER2二聚化抑制剂”是抑制包含HER2的二聚体或异二聚体形成的药剂。

[0096] HER2上的“异二聚体结合位点”指HER2胞外域中在与EGFR,HER3或HER4形成二聚体时,接触EGFR,HER3或HER4胞外域中某区域或与EGFR,HER3或HER4胞外域中某区域形成介面的区域。已发现所述区域在HER2的域II中(SEQ ID NO:15)。Franklin等,Cancer Cell 5:317-328(2004)。

[0097] “结合HER2的异二聚体结合位点的”HER2抗体结合域II(SEQ ID NO:2)中的残基,且任选还结合HER2胞外域的其他域,如域I和III(SEQ ID NO:1和3)中的残基,而且至少在一定程度上能在空间上阻碍HER2-EGFR,HER2-HER3或HER2-HER4异二聚体的形成。Franklin等,Cancer Cell 5:317-328(2004)表征了存放在RCSB蛋白质数据库(ID Code IS78)的HER2-帕妥珠单抗晶体结构,举例说明了结合HER2的异二聚体结合位点的例示性抗体。

[0098] “结合HER2的域II”的抗体结合域II(SEQ ID NO:2)中的残基和任选HER2的其他域,如域I和III(分别为SEQ ID NO:1和3)中的残基。优选的是,结合域II的抗体结合HER2域I,II和III之间的连接处。

[0099] 就本文中目的而言,可交换使用的“帕妥珠单抗”和“rhuMAb 2C4”指包含分别SEQ ID NO:7和8中的可变轻链和可变重链氨基酸序列的抗体。在帕妥珠单抗是完整抗体的情况下,它优选包含IgG1抗体;在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:11或15中的轻链氨基酸序列,和SEQ ID NO:12或16中的重链氨基酸序列。任选地,所述抗体由重组中国仓鼠卵巢(CHO)细胞产生。术语“帕妥珠单抗”和“rhuMAb 2C4”在本文中覆盖具有美国采用名称(USAN)或国际非专有名称(INN):帕妥珠单抗的药物的生物类似型式。

[0100] 就本文中目的而言,可交换使用的“曲妥珠单抗”和“rhuMAb4D5”指包含分别来自

SEQ ID NO:13和14的可变轻链和可变重链氨基酸序列的抗体。在曲妥珠单抗是完整抗体的情况下,它优选包含IgG1抗体;在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:13中的轻链氨基酸序列和SEQ ID NO:14中的重链氨基酸序列。任选地,所述抗体由中国仓鼠卵巢(CHO)细胞产生。术语“曲妥珠单抗”和“rhuMAb4D5”在本文中覆盖具有美国采用名称(USAN)或国际非专有名称(INN):曲妥珠单抗的药物的生物类似型式。

[0101] 术语“抗体”在本文中以最广义使用,具体覆盖单克隆抗体,多克隆抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体),及抗体片段,只要它们展现期望的生物学活性。

[0102] 非人(例如啮齿类)抗体的“人源化”形式指最低限度包含衍生自非人免疫球蛋白的序列的嵌合抗体。对于大部分而言,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体高变区的残基用来自具有期望特异性,亲和力和能力的非人物种(供体抗体)如小鼠,大鼠,家兔或非人灵长类的高变区的残基替换。在有些情况中,将人免疫球蛋白的框架区(FR)残基用相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中没有发现的残基。进行这些修饰是为了进一步改进抗体的性能。通常,人源化抗体会包含至少一个,通常两个基本上整个如下的可变域,其中所有或基本上所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,且所有或基本上所有的FR是人免疫球蛋白序列的FR。任选的是,人源化抗体还会包含至少部分的免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人免疫球蛋白的恒定区。更多细节参见Jones等,Nature321:522-525(1986);Riechmann等,Nature 332:323-329(1988);及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。人源化的HER2抗体具体包括曲妥珠单抗(HERCEPTIN®),如记载于美国专利5,821,337(通过提述明确并入本文)的表3中和如本文中定义的;和人源化2C4抗体,如本文中描述和定义的帕妥珠单抗。

[0103] “完整抗体”在本文中为包含两个抗原结合区和Fc区的抗体。优选地,完整抗体具有功能性Fc区。

[0104] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选包含其抗原结合区。抗体片段的例子包括Fab,Fab',F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段;双抗体;线性抗体;单链抗体分子;及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0105] “天然抗体”通常是由两条相同的轻链(L)和两条相同的重链(H)构成的约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。每条轻链通过一个共价二硫键与重链连接,而二硫化物连接的数目在不同免疫球蛋白同种型的重链间有所变化。每条重链和轻链还具有间隔规律的链内二硫桥。每条重链在一端具有一个可变域(V<sub>H</sub>),接着是多个恒定域。每条轻链具有在一端的一个可变域(V<sub>L</sub>)和在另一端的一个恒定域。轻链的恒定域与重链的第一恒定域排列在一起,而轻链的可变域与重链的可变域排列在一起。认为特定的氨基酸残基在轻链和重链可变域之间形成界面。

[0106] 术语“高变区”在用于本文时指抗体中负责抗原结合的氨基酸残基。高变区通常包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如轻链可变域中的残基24-34(L1),50-56(L2)和89-97(L3)及重链可变域中的31-35(H1),50-65(H2)和95-102(H3);Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD.(1991))和/或那些来自“高变环”的残基(例如轻链可变域中的残基26-32(L1),50-52(L2)和91-96(L3)及重链可变域中的26-32(H1),53-55(H2)和96-101(H3);Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。“框架

区”或“FR”残基是本文定义的高变区残基以外的那些可变域残基。

[0107] 术语“Fc区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的C端区,包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可以变化,但人IgG重链Fc区通常定义为自位置Cys226,或自Pro230处的氨基酸残基延伸至其羧基端。可以除去Fc区的C端赖氨酸(依照EU编号系统的残基447),例如在抗体的产生或纯化期间,或通过重组工程化改造编码抗体重链的核酸。因此,完整抗体的组合物可以包含已除去所有K447残基的抗体群体,未除去任何K447残基的抗体群体,和具有有和无K447残基的抗体混合物的抗体群体。

[0108] 除非另有指示,本文中免疫球蛋白重链中残基的编号方式是EU索引的编号方式,如记载于Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991),其通过提述明确并入本文。“如Kabat中的EU索引”指人IgG1 EU抗体的残基编号方式。

[0109] “功能性Fc区”拥有天然序列Fc区的“效应器功能”。例示性的“效应器功能”包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)下调等。此类效应器功能一般要求Fc区与结合域(例如抗体可变域)联合,而且可使用多种测定法来评估,例如本文中所公开的。

[0110] “天然序列Fc区”包含与自然界中找到的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区(非A和A同种异型);天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;及天然序列人IgG4 Fc区,以及其天然存在变体。

[0111] “变异/变体Fc区”包含由于至少一处氨基酸修饰,优选一处或多处氨基酸替代而与天然序列Fc区的氨基酸序列有所不同的氨基酸序列。优选的是,变异Fc区具有与天然序列Fc区或与亲本多肽的Fc区相比至少一处氨基酸替代,例如在天然序列Fc区中或在亲本多肽的Fc区中具有约1处至约10处氨基酸替代,优选约1处至约5处氨基酸替代。变异Fc区在本文中会优选与天然序列Fc区和/或亲本多肽的Fc区拥有至少约80%的同源性,最优选与其至少约90%的同源性,更优选与其至少约95%的同源性。

[0112] 根据完整抗体的重链恒定域的氨基酸序列,可将其归入不同的“类”。完整抗体有五种主要的类:IgA,IgD,IgE,IgG和IgM,其中有些可进一步分为“亚类”(同种型),例如IgG1,IgG2,IgG3,IgG4,IgA1和IgA2。将与不同抗体类对应的重链恒定域分别称作 $\alpha$ , $\delta$ , $\epsilon$ , $\gamma$ 和 $\mu$ 。不同类的免疫球蛋白的亚基结构和三维构造是众所周知的。

[0113] “裸抗体”指未缀合异源分子,如细胞毒性模块或放射性标记物的抗体。

[0114] “亲和力成熟的”抗体指在一个或多个其高变区中具有一处或多处改变的抗体,与不拥有此类改变的亲本抗体相比,此类改变导致该抗体对抗原的亲和力改善。优选的亲和力成熟的抗体会对靶抗原具有纳摩尔级或甚至皮摩尔级的亲和力。亲和力成熟的抗体由本领域中已知的规程产生。Marks等Bio/Technology 10:779-783(1992)描述了通过VH和VL域改组的亲和力成熟。CDR和/或框架残基的随机诱变记载于以下:Barbas等,Proc Natl.Acad.Sci,USA 91:3809-3813(1994);Schier等,Gene 169:147-155(1995);Yelton等,J.Immunol.155:1994-2004(1995);Jackson等,J.Immunol.154(7):3310-9(1995);和Hawkins等,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0115] “脱酰胺”的抗体是其一个或多个天冬酰胺残基已衍生化为例如天冬氨酸,琥珀酰亚胺,或异天冬氨酸的抗体。

[0116] 术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中特征通常为不受调控的细胞生长的生理疾患。

[0117] 如本文中使用的,“早期乳腺癌”或“eBC”指尚未扩散到乳腺或腋淋巴结之外的乳腺癌。这类癌症一般用新辅助或辅助疗法治疗。

[0118] “晚期”癌症指通过局部侵入或转移而扩散到最初的部位或器官之外的癌症。因此,术语“晚期”癌症包括局部晚期的和转移性的疾病二者,诸如“晚期乳腺癌”。

[0119] “顽固性/不应性(refractory)”癌症指尽管对癌症患者施用抗肿瘤剂如化疗,仍然发生进展的癌症。顽固性癌症的一个例子是铂抗性癌症。

[0120] “再发的”癌症指在对初始治疗如手术的响应之后,在初始部位或远端部位再次生长的癌症。

[0121] “局部再发的”癌症是治疗后在与先前所治疗癌症相同的位置处返回的癌症。

[0122] “不可切除的”癌症是不能通过手术除去(切除)的。

[0123] “辅助疗法”或“辅助治疗”或“辅助施用”指在手术后给予的系统性疗法。辅助治疗可以在确定性手术之后给予,其中检测不到残余疾病的证据,从而来降低疾病复发的风险。辅助疗法的目标是预防癌症复发,及因此降低癌症相关死亡的机会。

[0124] “确定性手术”(definitive surgery)指完全切除肿瘤及周围组织以及任何累及的淋巴结。此类手术包括肿块切除术,乳房切除术,诸如全乳房切除术加腋窝解剖,双乳房切除术等。

[0125] “结阳性”或“淋巴结阳性”乳腺癌是已经扩散至区域性淋巴结(通常是臂下的那些)的乳腺癌。具有结阳性乳腺癌的受试者在本文中包括那些具有1-3个累及的结;4-9个累及的结;和10个或更多个累及的结的。具有4个或更多个累及的结的受试者处于比具有更少或没有累及的结的那些更高的复发风险。

[0126] “雌激素受体(ER)阳性”癌症是ER的表达测试呈阳性的癌症。相反,“ER阴性”癌症对此类表达测试呈阴性。ER状态的分析可以通过本领域知道的任何方法来实施。为了本文中的研究的目的,ER阳性肿瘤定义为根据右旋糖酐包被的木炭或蔗糖密度梯度方法的 $\geq 10\text{fmol/mg}$ 胞质溶胶蛋白质,或根据酶免疫测定法(EIA)方法或根据免疫细胞化学测定法的阳性(使用个别实验室标准)。

[0127] “癌症复发”在本文中指癌症在治疗后回来,而且包括癌症在乳腺中的回来,以及远端复发,即癌症在乳腺以外回来。

[0128] 处于“高癌症复发风险”的受试者是具有更大机会经历癌症复发的受试者,例如,相对年轻的受试者(例如不到约50岁),具有阳性淋巴结(特别是4个或更多个累及淋巴结,包括4-9个累及淋巴结,和10个或更多个累及淋巴结)的那些,具有直径大于2cm的肿瘤的那些,具有HER2阳性乳腺癌的那些,和具有激素受体阴性乳腺癌(即雌激素受体(ER)阴性且孕酮受体(PR)阴性)的那些。受试者的风险水平可以由熟练内科医师来测定。一般地,此类高风险受试者会具有淋巴结累及(例如4个或更多个累及的淋巴结);然而,没有淋巴结累及的受试者也会是高风险的,例如如果他们的肿瘤大于或等于2cm的话。

[0129] “孕酮受体(PR)阳性”癌症是PR的表达测试呈阳性的癌症。相反,“PR阴性”癌症对此类表达测试呈阴性。PR状态的分析可以通过本领域知道的任何方法来实施。为了本文中的研究的目的,可接受的方法包括右旋糖酐包被的木炭或蔗糖密度梯度方法,酶免疫测定

法(EIA)技术,和免疫细胞化学测定法。

[0130] “新辅助疗法”或“新辅助治疗”或“新辅助施用”指在手术前给予的系统性疗法。

[0131] 在本文中,“治疗启动”指手术切除肿瘤之后治疗方案的开始。在一个实施方案中,这可以指在手术之后施用AC。或者,这可以指HER2抗体和/或化疗剂的初始施用。

[0132] HER2抗体和化疗剂的“初始施用”表示作为治疗进度表一部分的第一剂HER2抗体或化疗剂。

[0133] “治愈”癌症在本文中表示开始辅助疗法之后约4或约5年没有癌症复发。这取决于癌症的类型。

[0134] “转移性”癌症指从身体的一个部位(例如乳腺)扩散到身体的另一个部位的癌症。

[0135] 在本文中,“患者”或“受试者”是人患者。所述患者可以是“癌症患者”,即患有或有风险患上癌症(特别是乳腺癌)的一种或多种症状的患者。

[0136] “患者群体”指一组癌症患者。这类群体可用于证明药物如帕妥珠单抗和/或曲妥珠单抗的统计学显著的功效和/或安全性。

[0137] “复发的”患者是在消退后具有癌症的症候或症状的患者。任选地,患者在辅助或新辅助疗法后复发。

[0138] “展示HER表达,扩增或活化”的癌症或生物学样品是在诊断测试中表达(包括过表达)HER受体,具有扩增的HER基因,和/或以其它方式展现出HER受体活化或磷酸化的癌症或生物学样品。

[0139] “展示HER活化”的癌症或生物学样品是在诊断测试中显示HER受体活化或磷酸化的癌症或生物学样品。这类活化可直接(例如通过ELISA来测量HER磷酸化)或间接(例如通过基因表达概况分析或通过检测HER异二聚体,如本文中描述的)测定。

[0140] “HER受体过表达或扩增”的癌细胞指与同一组织类型的非癌细胞相比,具有显著更高水平的HER受体蛋白质或基因的癌细胞。此类过表达可以由基因扩增或者转录或翻译增加引起的。可在诊断或预后测定法中通过评估细胞表面上存在的HER蛋白水平的升高(例如通过免疫组化测定法;IHC)来测定HER受体的过表达或扩增。或者/另外,可测量细胞中编码HER的核酸的水平,例如通过原位杂交(ISH),包括荧光原位杂交(FISH;参见1998年10月公布的WO 98/45479)和生色原位杂交(CISH;参见例如Tanner等,Am.J.Pathol.157(5):1467-1472(2000);Bella等,J.Clin.Oncol.26:(May 20suppl;abstr22147)(2008)),Southern印迹或聚合酶链式反应(PCR)技术,诸如定量实时PCR(qRT-PCR)。还可通过测量生物学流体诸如血清中的脱落抗原(例如HER胞外域)来研究HER受体过表达或扩增(参见例如1990年6月12日公告的美国专利No.4,933,294;1991年4月18日公布的WO 91/05264;1995年3月28日公告的美国专利No.5,401,638;和Sias等J.Immunol.Methods 132:73-80(1990))。在上述测定法之外,熟练从业人员还可利用多种体内测定法。例如,可将患者体内细胞暴露于任选用可检测标记物例如放射性同位素标记的抗体,并且可评估该抗体与患者中细胞的结合,例如通过外部扫描放射性或通过分析取自事先已暴露于所述抗体的患者的活检样品。

[0141] “HER2阳性”癌症包含具有高于正常水平的HER2的癌细胞,诸如HER2阳性乳腺癌。任选地,HER2阳性癌症具有2+或3+的免疫组织化学(IHC)评分和/或 $\geq 2.0$ 的原位杂交(ISH)扩增比。

[0142] 在本文中,“抗肿瘤剂”指用于治疗癌症的药物。本文中的抗肿瘤剂的非限制性例子包括化疗剂,HER二聚化抑制剂,HER抗体,针对肿瘤相关抗原的抗体,抗激素化合物,细胞因子,EGFR靶向药物,抗血管发生剂,酪氨酸激酶抑制剂,生长抑制剂和生长抑制性抗体,细胞毒剂,诱发凋亡的抗体,COX抑制剂,法尼基转移酶抑制剂,结合癌胚蛋白CA125的抗体,HER2疫苗,Raf或ras抑制剂,多柔比星脂质体,托泊替康,紫杉烷(taxene,taxane),双重酪氨酸激酶抑制剂,TLK286,EMD-7200,帕妥珠单抗,曲妥珠单抗,厄洛替尼(erlotinib)和贝伐单抗(bevacizumab)。

[0143] “表位2C4”是HER2胞外域中抗体2C4所结合的区域。为了筛选基本结合2C4表位的抗体,可进行常规的交叉阻断测定法,如Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Ed Harlow和David Lane(1988)中所描述的。优选地,抗体将2C4对HER2的结合阻断约50%或更多。或者,可进行表位映射以评估抗体是否基本结合HER2的2C4表位。表位2C4包含来自HER2胞外域中域II的残基(SEQ ID NO:2)。2C4和帕妥珠单抗在域I,II和III(分别为SEQ ID NO:1,2和3)的连接处结合HER2的胞外域。Franklin等Cancer Cell 5:317-328(2004)。

[0144] “表位4D5”指HER2胞外域中抗体4D5(ATCC CRL 10463)和曲妥珠单抗所结合的区域。此表位接近HER2的跨膜域,且在HER2的域IV(SEQ ID NO:4)之内。为了筛选基本结合4D5表位的抗体,可进行常规的交叉阻断测定法,如Antibodies,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Ed Harlow和David Lane(1988)中所描述的。或者,可进行表位映射以评估抗体是否基本结合HER2的4D5表位(例如约第529位残基至约第625位残基区域内的任何一个或多个残基,包含HER2 ECD;残基编号包括信号肽)。

[0145] “治疗”指治疗性处理和防护性或预防性措施二者。需要治疗的那些包括已经患有癌症的以及要预防癌症的。因此,本文中待治疗的患者可能已经诊断为患有癌症或者可能有患上癌症的倾向性或易感性。

[0146] 术语“有效量”指在患者中有效治疗癌症的药物量。药物的有效量可减少癌细胞的数目;缩小肿瘤的尺寸;抑制(即减缓到一定程度和优选阻止)癌细胞浸润到周围器官中;抑制(即减缓到一定程度和优选阻止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上减轻一种或多种与癌症有关的症状。在药物可阻止生长和/或杀死现有癌细胞的程度上,它可以是抑制细胞的和/或细胞毒性的。有效量可延长无进展存活(例如如通过实体瘤的响应评估标准RECIST或CA-125变化测量的),导致客观响应(包括部分响应,PR或完全响应,CR),增加总体存活时间,和/或改善癌症的一种或多种症状(例如如FOSI评估的)。

[0147] 如本文中使用的,术语“细胞毒剂”指抑制或阻止细胞的功能和/或引起细胞破坏的物质。该术语意图包括放射性同位素(例如At<sup>211</sup>,I<sup>131</sup>,I<sup>125</sup>,Y<sup>90</sup>,Re<sup>186</sup>,Re<sup>188</sup>,Sm<sup>153</sup>,Bi<sup>212</sup>,P<sup>32</sup>和Lu的放射性同位素),化疗剂,和毒素诸如小分子毒素或者细菌,真菌,植物或动物起源的酶活毒素,包括其片段和/或变体。

[0148] “化疗剂”指可用于治疗癌症的化学化合物。用于化疗的化疗剂的例子包括烷化剂类(alkylating agents),如塞替派(thiotepa)和CYTOXAN®环磷酰胺;磺酸烷基酯类(alkyl sulfonates),诸如白消安(busulfan),英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类(aziridines),诸如苯佐替派(benzodopa),卡波醌(carboquone),美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙撑亚胺类(ethylenimines)和甲基蜜胺类



(methyldiamines),包括六甲蜜胺(altretamine),三乙撑蜜胺(triethylenemelamine),三乙撑磷酰胺(triethylenephosphoramidate),三乙撑硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)和三羟甲蜜胺(trimethylolomelamine);TLK 286(TELCYTATM);番荔枝内酯类(acetogenin)(尤其是布拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮(bullatacinone)); $\delta$ -9-四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol)(屈大麻酚(dronabinol),**MARINOL®**); $\beta$ -拉帕醌(lapachone);拉帕醇(lapachol);秋水仙素类(colchicines);白桦脂酸(betulinic acid);喜树碱(camptothecin)(包括合成类似物托泊替康(topotecan)(**HYCAMTIN®**),CPT-11(伊立替康(irinotecan),**CAMPTOSAR®**),乙酰喜树碱,东莨菪亭(scopoletin)和9-氨基喜树碱);苔藓抑素(bryostatin);callystatin;CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin),卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物);鬼臼毒素(podophyllotoxin);鬼臼酸(podophyllinic acid);替尼泊苷(teniposide);隐藻素类(cryptophycins)(特别是隐藻素1和隐藻素8);多拉司他汀(dolastatin);duocarmycin(包括合成类似物,KW-2189和CB1-TM1);艾榴塞洛素(eleutherobin);pancratistatin;sarcodictyin;海绵抑素(spongistatin);氮芥类(nitrogen mustards),诸如苯丁酸氮芥(chlorambucil),萘氮芥(chlornaphazine),胆磷酰胺(cholophosphamide),雌莫司汀(estramustine),异环磷酰胺(ifosfamide),双氯乙基甲胺(mechlorethamine),盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride),美法仑(melphalan),新氮芥(novembichin),苯芥胆甾醇(phenesterine),泼尼莫司汀(prednimustine),曲磷胺(trofosfamide),尿嘧啶氮芥(uracil mustard);亚硝脲类(nitrosureas),诸如卡莫司汀(carmustine),氯脲菌素(chlorozotocin),福莫司汀(fotemustine),洛莫司汀(lomustine),尼莫司汀(nimustine)和雷莫司汀(ranimustine);二膦酸盐类,如氯膦酸盐(clodronate);抗生素类,诸如烯二炔类(enediyne)抗生素(例如加利车霉素(calicheamicin),尤其是加利车霉素 $\gamma$ 1I和加利车霉素 $\omega$ 1I(参见例如Agnew,Chem Intl.Ed.Engl.,33:183-186(1994)) and 蒽环类抗生素如annamycin,AD 32,alcarubicin,柔红霉素(daunorubicin),多柔比星(doxorubicin),右雷佐生(dexrazoxane),DX-52-1,表柔比星(epirubicin),GPX-100,伊达比星(idarubicin),戊柔比星(valrubicin),KRN5500,美诺立尔(menogaril),dynemicin,包括dynemicin A,埃斯波霉素(esperamicin),新制癌素(neocarzinostatin)发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团,阿克拉霉素(aclacinomycin),放线菌素(actinomycin),蒽蒽霉素(anthracycline),偶氮丝氨酸(azaserine),博来霉素(bleomycin),放线菌素C(cactinomycin),carabycin,洋红霉素(carminomycin),嗜癌霉素(carzinophilin),色霉素(chromomycin),放线菌素D(dactinomycin),地托比星(detorubicin),6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸,**ADRIAMYCIN®**多柔比星(doxorubicin)(包括吗啉代多柔比星,氰基吗啉代多柔比星,2-吡咯代多柔比星,脂质体多柔比星,和脱氧多柔比星),依索比星(esorubicin),麻西罗霉素(marcellomycin),丝裂霉素类(mitomycins)诸如丝裂霉素C,霉酚酸(mycophenolic acid),诺拉霉素(nogalamycin),橄榄霉素(olivomycin),培洛霉素(peplomycin),泊非霉素(potfiromycin),嘌呤霉素(puromycin),三铁阿霉素(quelamycin),罗多比星(rodorubicin),链黑菌素(streptonigrin),链佐星(streptozocin),杀结核菌素(tubercidin),乌苯美司(ubenimex),净司他丁

(zinostatin), 和佐柔比星(zorubicin); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸(denopterin), 蝶酰三谷氨酸(pteropterin), 和三甲曲沙(trimetrexate); 嘌呤类似物, 诸如氟达拉滨(fludarabine), 6-巯基嘌呤(mercaptopurine), 硫咪嘌呤(thiamiprine), 和硫鸟嘌呤(thioguanine); 嘧啶类似物, 诸如安西他滨(ancitabine), 阿扎胞苷(azacitidine), 6-氮尿苷, 卡莫氟(carmofur), 阿糖胞苷(cytarabine), 双脱氧尿苷(dideoxyuridine), 去氧氟尿苷(doxifluridine), 依诺他滨(enocitabine), 和氟尿苷(floxuridine); 雄激素类, 诸如卡鲁睾酮(calusterone), 丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate), 表硫雄醇(epitiostanol), 美雄烷(mepitiothane), 和睾内酯(testolactone); 抗肾上腺类, 诸如氨基鲁米特(aminogluthethimide), 米托坦(mitotane), 和曲洛司坦(trilostane); 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸(folinic acid) (leucovorin); 醋葡萄糖内酯(aceglatone); 抗叶酸抗赘生物药剂如ALIMTA®, LY231514培美曲塞(pemetrexed), 二氢叶酸还原酶抑制剂如甲氨蝶呤, 抗代谢物如5-氟尿嘧啶(5-FU) 及其前药如UFT, S-1和卡培他滨, 和胸苷酸合酶抑制剂和甘氨酸酰胺核糖核苷酸甲酰基转移酶抑制剂如雷替曲塞(raltitrexed) (TOMUDEX<sup>RM</sup>, TDX); 双氢嘧啶脱氢酶的抑制剂如恩尿嘧啶(eniluracil); 醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid); 安吡啶(amsacrine); bestabucil; 比生群(bisantrene); 依达曲沙(edatraxate); 地磷酰胺(defofamine); 地美可辛(demecolcine); 地吡醌(diaziquone); elfornithine; 依利醋铵(elliptinium acetate); epothilone; 依托格鲁(etoglucid); 硝酸镓; 羟脲(hydroxyurea); 香菇多糖(lentinan); 氯尼达明(lonidainine); 美登木素生物碱类(maytansinoids), 诸如美登素(maytansine) 和安丝菌素(ansamitocin); 米托胍脲(mitoguazone); 米托蒽醌(mitoxantrone); 莫哌达醇(mopidanmol); 二胺硝吡啶(nitraerine); 喷司他丁(pentostatin); 蛋氨酸芥(phenamet); 吡柔比星(pirarubicin); 洛索蒽醌(losoxantrone); 2-乙基酰肼(ethylhydrazide); 丙卡巴肼(procarbazine); PSK7多糖复合物(JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生(razoxane); 根霉素(rhizoxin); 西索菲兰(sizofiran); 螺旋锗(spirogermanium); 细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid); 三亚胺醌(triaziquone); 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢菌素类(trichothecenes) (尤其是T-2毒素, 疣孢菌素(verracurin)A, 杆孢菌素(roridin)A和蛇行菌素(anguidine)); 乌拉坦(urethan); 长春地辛(vindesine) (ELDISINE®, FILDESIN®); 达卡巴嗪(dacarbazine); 甘露醇氮芥(mannomustine); 二溴甘露醇(mitobronitol); 二溴卫矛醇(mitolactol); 哌泊溴烷(pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷(arabinoside) ("Ara-C"); 环磷酰胺; 塞替派(thiotepa); 紫杉烷(taxanes); 苯丁酸氮芥(chloranbucil); 吉西他滨(GEMZAR®); 6-硫鸟嘌呤(thioguanine); 巯基嘌呤(mercaptopurine); 铂; 铂类似物或基于铂的类似物, 诸如顺铂(cisplatin), 奥沙利铂(oxaliplatin) 和卡铂(carboplatin); 长春碱(vinblastine) (VELBAN®); 依托泊苷(etoposide) (VP-16); 异环磷酰胺(ifosfamide); 米托蒽醌(mitoxantrone); 长春新碱(vincristine) (ONCOVIN®), 长春花生物碱(vinca alkaloid); 长春瑞滨(vinorelbine) (NAVELBINE®); 能灭瘤(novantrone); 依达曲沙(edatrexate); 道诺霉素(daunomycin); 氨基蝶呤(aminopterin); 希罗达(xeloda); 伊本膦酸盐(ibandronate);

拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMF0);类维A酸(retinoids),诸如维A酸(retinoic acid);及任何上述各项的药学可接受盐,酸或衍生物;以及两种或更多种上述各项的组合,诸如CHOP(环磷酰胺,多柔比星,长春新碱和泼尼松龙联合疗法的缩写)和FOLFOX(奥沙利铂(ELOXATINTM)联合5-FU和亚叶酸的治疗方案的缩写)。

[0149] 还包括在该定义内的是作用于调节或抑制激素对肿瘤作用的抗激素剂如抗雌激素和选择性雌激素受体调控物(SERM),包括例如,他莫昔芬(tamoxifen)(包括NOLVADEX®他莫昔芬),雷洛昔芬(raloxifene),屈洛昔芬(droloxifene),4-羟基他莫昔芬,曲沃昔芬(trioxifene),那洛昔芬(keoxifene),LY117018,奥那司酮(onapristone)和FARESTON®托瑞米芬(toremifene);芳香酶抑制剂类;和抗雄激素类诸如氟他米特(flutamide),尼鲁米特(nilutamide),比卡米特(bicalutamide),亮丙瑞林(leuprolide),和戈舍瑞林(goserelin);以及曲沙他滨(troxacitabine)(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物);反义寡核苷酸类,特别是那些抑制涉及异常细胞增殖的信号传导途经中的基因表达的,诸如例如PKC- $\alpha$ ,Raf,H-Ras和表皮生长因子受体(EGF-R);疫苗类,如基因疗法疫苗,例如ALLOVECTIN®疫苗,LEUVECTIN®疫苗和VAXID®疫苗;PROLEUKIN® rIL-2;LURTOTECAN®拓扑异构酶1抑制剂;ABARELIX®rmRH;及任何上述物质的药学可接受的盐,酸或衍生物。

[0150] “紫杉烷类”是一种抑制有丝分裂并干扰微管的化疗。紫杉烷类的例子包括帕利他赛(TAXOL®;Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.);不含克列莫佛(Cremophor),清蛋白工程化的纳米颗粒剂型帕利他赛或nab-帕利他赛(ABRAXANETM;American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,Illinois);及多西他赛(TAXOTERE®;Rhône-Poulenc Rorer,Antony,France)。

[0151] “蒽环类抗生素”是一种抗生素类型,其来自真菌Streptococcus peucetius,例子包括:柔红霉素,多柔比星,表柔比星,和任何其它蒽环类抗生素化疗剂,包括之前列出的那些。

[0152] “基于蒽环类抗生素的化疗”指组成为或包含一种或多种蒽环类抗生素的化疗方案。例子包括但不限于5-FU,表柔比星和环磷酰胺(FEC);5-FU,多柔比星和环磷酰胺(FAC);多柔比星和环磷酰胺(AC);表柔比星和环磷酰胺(EC);剂量密集的多柔比星和环磷酰胺(ddAC)等等。

[0153] 就本文中目的而言,“基于卡铂的化疗”指组成为或包含一种或多种卡铂的化疗方案。例子是TCH(多西他赛/TAXOL®,卡铂和曲妥珠单抗/HERCEPTIN®)。

[0154] “芳香酶抑制剂”抑制芳香酶,其调节肾上腺中的雌激素产生。芳香酶抑制剂的例子包括:4(5)-咪唑,氨鲁米特,MEGASE®乙酸甲地孕酮(megestrol),AROMASIN®依西美坦(exemestane),甲酚苯丙胺(formestane),法偈唑(fadrozole),RIVISOR®伏氯唑(vorozole),FEMARA®来曲唑(letrozole)和ARIMIDEX®阿那曲唑(anastrozole)。在一个实施方案中,本文中所述芳香酶抑制剂是来曲唑或阿那曲唑。

[0155] “抗代谢物类化疗”是使用结构上与代谢物相似但不能被身体以生产性方式利用的药剂。许多抗代谢物类化疗干扰核酸,RNA和DNA的生成。抗代谢物类化疗剂的例子包括吉

西他滨 (gemcitabine) (**GEMZAR®**), 5-氟尿嘧啶 (5-FU), 卡培他滨 (capecitabine) (**XELODATM**), 6-巯基嘌呤, 甲氨喋呤 (methotrexate), 6-硫鸟嘌呤, 培美曲塞 (pemetrexed), 雷替曲塞 (raltitrexed), 阿糖胞苷 (arabinosylcytosine ARA-C cytarabine) (**CYTOSAR-U®**), 达卡巴嗪 (dacarbazine) (**DTIC-DOME®**), 偶氮胞嘧啶 (azocytosine), 脱氧胞嘧啶 (deoxycytosine), pyridimidine, 氟达拉滨 (fludarabine) (**FLUDARA®**), 克拉屈滨 (cladribine), 2-脱氧-D-葡萄糖等。

[0156] “化疗抗性”癌症指癌症患者在接受化疗方案时癌症有进展 (即患者是“化疗不应性”的), 或者患者在完成化疗方案后12个月内 (例如6个月内) 有进展。

[0157] 术语“铂”用于本文指基于铂的化疗, 包括但不限于, 顺铂, 卡铂和奥沙利铂。

[0158] 术语“氟嘧啶”用于本文指一种抗代谢物化疗, 包括但不限于, 卡培他滨, 氟尿苷和氟尿嘧啶 (5-FU)。

[0159] 在本发明的语境中, “化疗”用于指任何用于治疗侵入性乳腺癌的化疗, 包括基于蒽环类抗生素的化疗和非基于蒽环类抗生素的化疗的标准护理。在一个实施方案中, 化疗包含施用5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺, 任选地进一步包含施用紫杉烷, 例如多西他赛和/或帕利他赛。在另一个实施方案中, 化疗包含施用多柔比星或表柔比星+环磷酰胺, 任选地进一步包含施用紫杉烷, 例如多西他赛和/或帕利他赛。非基于蒽环类抗生素的化疗可例如包含施用多西他赛+卡铂。

[0160] 本文中, 化疗剂的“固定的” (fixed) 或“不变的” (flat) 剂量指不考虑患者的体重 (WT) 和体表面积 (BSA) 而施用于人类患者的剂量。因此, 固定的或不变的剂量不是作为mg/kg剂量或mg/m<sup>2</sup>剂量提供的, 而是作为治疗剂的绝对量提供的。

[0161] “加载” (loading) 剂量在本文中一般包括施用于患者的治疗剂的初始剂量, 后续其一个或多个维持剂量。一般而言, 施用单个加载剂量, 但本文中也涵盖多个加载剂量。通常, 所施用的加载剂量的量超过所施用的维持剂量的量, 和/或加载剂量的施用比维持剂量更频繁, 从而比使用维持剂量更早达到治疗剂的期望稳态浓度。

[0162] “维持” (maintenance) 剂量在本文中指在治疗期间施用于患者的一个或多个剂量的治疗剂。通常, 维持剂量以一定的治疗间隔施用, 例如大约每周一次, 大约每两周一次, 大约每三周一次, 或大约每四周一次, 优选每三周一次。

[0163] “静脉内”施用指将药物 (例如曲妥珠单抗和/或帕妥珠单抗和/或化疗) 施入患者的静脉, 例如通过输注 (进入静脉的缓慢治疗剂导入)。

[0164] “皮下”施用指将药物 (例如曲妥珠单抗和/或帕妥珠单抗和/或化疗) 施用在患者的皮肤下。

[0165] “输注”指将含药物的溶液经过血管引入体内以用于治疗目的。一般地, 这是经由静脉内 (IV) 袋实现的。

[0166] “静脉内袋”或“IV袋”是能装存可经由患者静脉施用的溶液的袋。在一个实施方案中, 所述溶液是盐水溶液 (例如约0.9%或约0.45% NaCl)。任选地, 所述IV袋由聚烯烃或聚氯乙烯形成。

[0167] “共施用”意指在同一施用期间静脉内施用两种 (或更多种) 药物, 而非连续输注这两种或更多种药物。一般地, 这将牵涉将两种 (或更多种) 药物在其共施用之前组合到同一

IV袋中。

[0168] “心脏毒性”指自药物或药物组合的施用产生的任何毒性副作用。心脏毒性可基于以下任一种或多种评估:症状性左心室收缩功能障碍(LVSD)或充血性心力衰竭(CHF)的发生率,或左心室射血分数(LVEF)的降低。

[0169] 短语“未增加心脏毒性”对于包含帕妥珠单抗的药物组合指等于或低于在药物组合中使用帕妥珠单抗以外的药物治疗的患者中所观察到的心脏毒性发生率(例如等于或低于从施用曲妥珠单抗和化疗例如多西他赛得到的)。

[0170] “管形瓶(vial)”是一种适用于装存液体或冻干制备物的容器。在一个实施方案中,管形瓶是一次性管形瓶,例如带有塞子的20-cc一次性管形瓶。

[0171] “包装插页”是由食品和药物监督管理局(FDA)或其他管理机构命令的,必须放在每个处方药的包装内的散页印刷品。该散页印刷品一般包含药物的商标,其通用名,及其作用机制;说明其适应证,禁忌证,警告,预防,不良作用和剂量形式;而且包括用于推荐剂量,时间和施用路径的用法说明。

[0172] 表述“安全性数据”涉及在受控的临床试验中获得的数据,其显示不良事件的流行性和严重度以在药物安全性方面指导使用者,包括如何监测和预防对药物的不良反应的指导。本文中表3和表4提供帕妥珠单抗的安全性数据。安全性数据包含表3和4中最常见的不良事件(AE)或不良反应(ADR)的任一种或多种(例如两种,三种,四种或更多种)。例如,所述安全性数据包含关于嗜中性白细胞减少,发热性嗜中性白细胞减少,腹泻和/或如本文中公开的心脏毒性的信息。

[0173] “功效数据”指在受控的临床试验中获得的数据,其显示药物有效治疗疾病,如癌症。

[0174] “稳定混合物”在指代两种或更多种药物如帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的混合物时意指混合物中的每种药物在混合物中基本保留其物理和化学稳定性,如通过一种或多种分析测定法评估的。针对此目的的例示性分析测定法包括:颜色,外观和澄清度(CAC),浓度和浊度分析,微粒分析,大小排阻层析(SEC),离子交换层析(IEC),毛细管区带电泳(CZE),成像毛细管等电聚焦(iCIEF)和效力测定法。在一个实施方案中,已显示混合物在5℃或30℃稳定达长达24小时。

[0175] 与一种或多种其他药物“同时”施用的药物是在同一治疗周期期间,在与所述一种或多种其他药物治疗的同一天,且任选地,在与所述一种或多种其他药物的同一时间施用的。例如,对于每3周给予的癌症疗法,同时施用的药物各在3周周期的第1天施用。

[0176] II. 抗体和化疗组合物

[0177] 要用于生产抗体的HER2抗原可以是例如可溶形式的HER2受体胞外域或其部分,其含有期望的表位。或者,在其细胞表面处表达HER2的细胞(例如经转化以过表达HER2的NIH-3T3细胞;或癌细胞系如SK-BR-3细胞,参见Stancovski等,PNAS(USA)88:8691-8695(1991))可用于生成抗体。可用于生成抗体的HER2受体的其他形式对于本领域技术人员来说将是明显的。

[0178] 本领域中存在多种用于制备本文中单克隆抗体的方法。例如,可使用Kohler等,Nature 256:495(1975)首次描述的杂交瘤方法,通过重组DNA方法(美国专利No.4,816,567)来制备单克隆抗体。

[0179] 依照本发明使用的抗HER2抗体曲妥珠单抗和帕妥珠单抗是商品化的。

[0180] (i) 人源化抗体

[0181] 本领域已经记载了用于将非人抗体人源化的方法。优选的是,人源化抗体具有一个或多个从非人来源引入的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基常常称作“输入”残基,它们典型的取自“输入”可变域。人源化可基本上遵循Winter及其同事的方法进行(Jones等, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann等, Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen等, Science 239:1534-1536 (1988)), 通过用高变区序列替代人抗体的相应序列。因此,此类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利No. 4,816,567), 其中基本上少于整个人可变域用来自非人物种的相应序列替代。在实践中,人源化抗体典型的是其中一些高变区残基和可能的一些FR残基用来自啮齿类抗体中类似位点的残基替代的人抗体。

[0182] 用于构建人源化抗体的人可变域的选择,包括轻链和重链二者,对于降低抗原性非常重要。依照所谓的“最适”(best-fit)方法,用啮齿类抗体的可变域序列对已知的人可变域序列的整个文库进行筛选。然后选择与啮齿类序列最接近的人序列作为人源化抗体的人框架区(FR) (Sims等, J. Immunol. 151:2296 (1993); Chothia等, J. Mol. Biol. 196:901 (1987))。另一种方法使用由特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列衍生的特定框架区。同一框架可用于数种不同的人源化抗体(Carter等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285 (1992); Presta等, J. Immunol. 151:2623 (1993))。

[0183] 更为重要的是,抗体在人源化后保持对抗原的高亲和力和其它有利的生物学特性。为了实现这一目标,依照一种优选的方法,通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法来制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型是普遍可获的且为本领域技术人员所熟悉。可获得图解和显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序。检查这些显示图像容许分析残基在候选免疫球蛋白序列行使功能中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。这样,可以从受体和输入序列选出FR残基并进行组合,从而获得期望的抗体特征,诸如对靶抗原的亲和力提高。一般而言,高变区残基直接且最实质的涉及对抗原结合的影响。

[0184] 美国专利No. 6,949,245描述了例示性人源化HER2抗体的产生,该抗体结合HER2并阻断HER受体的配体活化。

[0185] 人源化HER2抗体具体包括如美国专利5,821,337(通过提述明确并入本文)表3中描述的和本文中定义的曲妥珠单抗;以及如本文中描述和定义的人源化2C4抗体如帕妥珠单抗。

[0186] 本文中的人源化抗体可以例如,包含掺入人可变重域的非人高变区残基,且还可以包含在选自下组的位置处的框架区(FR)取代:69H,71H和73H,其利用Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)中所列的可变域编号系统。在一个实施方案中,所述人源化抗体包含在69H,71H和73H中的两个或所有位置处的FR取代。

[0187] 本文中感兴趣的例示性人源化抗体包含可变重域互补决定残基GFTFTDYTEX (SEQ ID NO:17), 其中X优选是D或S; DVNPNSGGSIYNQRFKG (SEQ ID NO:18); 和/或NLGPSFYFDY (SEQ ID NO:19), 任选包含那些CDR残基的氨基酸修饰,例如其中修饰基本上保持或改善抗体的亲和力。例如,用于本发明方法的抗体变体可在上述可变重CDR序列中具有约1个至约7个或

者约5个氨基酸替代。此类抗体变体可通过亲和力成熟来制备,例如如下文所述。

[0188] 例如,在前一段中的那些可变重域CDR残基之外,人源化抗体还可包含可变轻域互补决定残基KASQDVSIGVA (SEQ ID NO:20);SASYX<sup>1</sup>X<sup>2</sup>X<sup>3</sup>,其中X<sup>1</sup>优选是R或L,X<sup>2</sup>优选是Y或E,而X<sup>3</sup>优选是T或S (SEQ ID NO:21);和/或QQYYIYPYT (SEQ ID NO:22)。此类人源化抗体任选包含上述CDR残基的氨基酸修饰,例如其中修饰基本上保持或改善抗体的亲和力。例如,目的抗体变体可在上述可变轻CDR序列中具有约1个至约7个或者约5个氨基酸替代。此类抗体变体可通过亲和力成熟来制备,例如如下文所述。

[0189] 本申请还涵盖结合HER2的亲和力成熟的抗体。亲本抗体可以是人抗体或人源化抗体,例如包含轻链和/或重链可变区序列分别为SEQ ID NO:7和8的抗体(即包含帕妥珠单抗的VL和/或VH)。帕妥珠单抗的亲和力成熟的变体优选以优于鼠2C4或帕妥珠单抗的亲和力结合HER2受体(例如根据使用HER2胞外域(ECD)ELISA的评估,例如亲和力提高约2倍或约4倍至约100倍或约1000倍)。例示性的用于取代的重链可变区CDR残基包括H28,H30,H34,H35,H64,H96,H99,或者两个或多个的组合(例如这些残基中的2个,3个,4个,5个,6个或7个)。用于改变的轻链可变区CDR残基的例子包括L28,L50,L53,L56,L91,L92,L93,L94,L96,L97,或者两个或多个的组合(例如这些残基中的2个至3个,4个,5个或直到约10个)。

[0190] 将鼠4D5抗体人源化以生成其人源化变体,包括曲妥珠单抗,记载于美国专利No.5,821,337,6,054,297,6,407,213,6,639,055,6,719,971和6,800,738以及Carter等,PNAS (USA),89:4285-4289 (1992)。HuMAb4D5-8 (曲妥珠单抗)对HER2抗原结合比小鼠4D5抗体紧密3倍,且具有允许人源化抗体在存在人效应器细胞情况下的定向细胞毒性活性的次级免疫功能(ADCC)。HuMAb4D5-8包含掺入V<sub>L</sub>κ亚组I共有框架的可变轻(V<sub>L</sub>)CDR残基,和掺入V<sub>H</sub>亚组III共有框架的可变重(V<sub>H</sub>)CDR残基。该抗体还包含在以下位置处的框架区(FR)取代:V<sub>H</sub>的71,73,78和93 (FR残基的Kabat编号);和在V<sub>L</sub>的位置66处的FR取代 (FR残基的Kabat编号)。曲妥珠单抗包含非A同种异型人γ1Fc区。

[0191] 涵盖各种形式的人源化抗体或亲和力成熟的抗体。例如,人源化抗体或亲和力成熟的抗体可以是抗体片段。或者,人源化抗体或亲和力成熟的抗体可以是完整抗体,诸如完整的IgG1抗体。

[0192] (ii) 帕妥珠单抗组合物

[0193] 在HER2抗体组合物的一个实施方案中,该组合物包含主要种类帕妥珠单抗抗体及其一种或多种变体的混合物。本文中帕妥珠单抗主要种类抗体的优选实施方案是包含SEQ ID No.5和6中的轻链和重链可变域氨基酸序列,最优选包含SEQ ID No.11的轻链氨基酸序列及SEQ ID No.12的重链氨基酸序列的抗体(包括那些序列的脱酰胺和/或氧化变体)。在一个实施方案中,组合物包含主要种类帕妥珠单抗抗体及其包含氨基末端前导延伸的氨基酸序列变体的混合物。优选的是,所述氨基末端前导延伸位于抗体变体的轻链上(例如位于抗体变体的一条或两条轻链上)。所述主要种类HER2抗体或抗体变体可以是全长抗体或抗体片段(例如Fab或F(ab')<sub>2</sub>片段),但优选二者都是全长抗体。本文中的抗体变体可以在其任何一条或多条重链或轻链上包含氨基末端前导延伸。优选的是,所述氨基末端前导延伸位于抗体的一条或两条轻链上。所述氨基末端前导延伸优选包含VHS-或由其组成。组合物中氨基末端前导延伸的存在可通过多种分析技术来检测,包括但不限于N-末端序列分析,电荷异质性的测定法(例如阳离子交换层析或毛细管区带电泳),质谱等。组合物中抗体变

体的量通常在如下范围内,从构成用于检测变体的任何测定法(优选N-末端序列分析)的检出限的量至少于主要种类抗体量的量。通常,组合物中约20%或更少(例如从约1%至约15%,例如从5%至约15%)的抗体分子包含氨基末端前导延伸。这样的百分比量优选使用定量N-末端序列分析或阳离子交换分析(优选使用高分辨率,弱阳离子交换柱,诸如PROPAC WCX-10<sup>TM</sup>阳离子交换柱)来测定。在氨基末端前导延伸变体之外,还涵盖主要种类抗体和/或变体的氨基酸序列改变,包括但不限于在其一条或所有两条重链上包含C-末端赖氨酸残基的抗体,脱酰胺抗体变体等。

[0194] 此外,主要种类抗体或变体还可包含糖基化变异,其非限制性例子包括包含附着于其Fc区的G1或G2寡糖结构的抗体,包含附着于其轻链的碳水化合物模块的抗体(例如一种或两种碳水化合物模块,诸如葡萄糖或半乳糖附着于抗体的一条或两条轻链,例如附着于一个或多个赖氨酸残基),包含一条或两条非糖基化重链的抗体,或包含附着于其一条或两条重链的唾液酸化寡糖的抗体等。

[0195] 组合物可从表达HER2抗体的基因工程细胞系回收,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系,或者可通过肽合成来制备。

[0196] 关于例示性帕妥珠单抗组合物的更多信息,参见美国专利No.7,560,111和7,879,325以及US 2009/0202546A1。

[0197] (iii) 曲妥珠单抗组合物

[0198] 曲妥珠单抗组合物通常包含主要种类抗体(分别包含SEQ ID NO:13和14的轻链和重链序列)及其变体形式,特别是酸性变体(包括脱酰胺化变体)的混合物。优选地,组合物中的这类酸性变体的量低于约25%,或低于约20%,或低于约15%。参见美国专利No.6,339,142。亦参见Harris等,J.Chromatography,B 752:233-245(2001),其涉及可通过阳离子交换层析解析的曲妥珠单抗形式,包括峰A(Asn30在两条轻链中脱酰胺化为Asp);峰B(Asn55在一条重链中脱酰胺化为异Asp);峰1(Asn30在一条轻链中脱酰胺化为Asp);峰2(Asn30在一条轻链中脱酰胺化为Asp,且Asp102在一条重链中异构化为异Asp);峰3(主要峰形式,或主要种类抗体);峰4(Asp102在一条重链中异构化为异Asp);和峰C(Asp102在一条重链中琥珀酰亚胺(Asu))。这类变体形式和组合物包含在本文的发明中。

[0199] (iv) 化疗

[0200] 用于治疗HER2阳性早期乳腺癌(eBC)的标准化疗包括但不限于含蒽环类抗生素的和不含蒽环类抗生素的化疗,诸如用多柔比星,表柔比星,5-氟尿嘧啶+表柔比星,多柔比星+环磷酰胺,和紫杉烷(例如多西他赛或帕利他赛)中的一种或多种治疗。如本发明的方法中使用的,标准化疗具体包括1)3-4个周期(q3w)的5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺,继以4个周期(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛。2)4个周期(q3w)的多柔比星或表柔比星+环磷酰胺,继以4个周期(q3w)多西他赛或12个每周周期的帕利他赛,和3)(非蒽环类抗生素化疗疗法)6个周期(q3w)的多西他赛+卡铂,如实施例1中描述的。各种标准化疗方案中使用的药物可商购获得且依照当地处方信息及如实施例1中所述施用。

[0201] III. 为疗法选择患者

[0202] HER2检测可用来选择用于依照本发明治疗的患者。有几种FDA批准的商业测定法用于鉴定HER2阳性癌症患者。这些方法包括HERCEPT<sup>®</sup>(Dako)和PATHWAY<sup>®</sup> HER2(免疫组织化学(IHC)测定法)和PathVysion<sup>®</sup>和HER2 FISH pharmDx<sup>™</sup>(FISH测定法)。



使用者应参照特定测定试剂盒的包装插页中关于每种测定法的验证和性能的信息。

[0203] 例如,HER2过表达可通过IHC分析,例如使用**HERCEPTEST<sup>®</sup>** (Dako)。可将来自肿瘤活组织检查的石蜡包埋的组织切片进行IHC测定,并对照如下的HER2蛋白染色强度标准:

[0204] 得分0:未观察到染色或者在少于10%的肿瘤细胞中观察到膜染色。

[0205] 得分1+:在超过10%的肿瘤细胞中检测到微弱的/刚刚可察觉的膜染色。所述细胞只在其部分膜中有染色。

[0206] 得分2+:在超过10%的肿瘤细胞中观察到微弱至中等的完全膜染色。

[0207] 得分3+:在超过10%的肿瘤细胞中观察到中等至强烈的完全膜染色。

[0208] 那些HER2过表达评估得分为0或1+的肿瘤可表征为HER2阴性,而那些得分为2+或3+的肿瘤可表征为HER2阳性。

[0209] HER2过表达的肿瘤可根据对应于每个细胞表达的HER2分子拷贝数的免疫组化得分进行定级,并且可通过生化方法测定:

[0210] 0=0-10,000个拷贝/细胞,

[0211] 1+=至少约200,000个拷贝/细胞,

[0212] 2+=至少约500,000个拷贝/细胞,

[0213] 3+=至少约2,000,000个拷贝/细胞。

[0214] 导致酪氨酸激酶的配体独立性活化的3+水平的HER2过表达 (Hudziak等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA84:7159-7163(1987))发生于约30%的乳腺癌中,而且在这些患者中,无复发存活和总体存活减少 (Slamon等, Science244:707-712(1989); Slamon等, Science 235:177-182(1987))。

[0215] HER2蛋白过表达的存在和基因扩增高度相关,因此,或者/另外地,使用原位杂交 (ISH) 例如荧光原位杂交 (FISH),用于检测基因扩增的测定法也可以用于选择适用于依照本发明治疗的患者。可对福尔马林固定,石蜡包埋的肿瘤组织进行FISH测定法如INFORMTM (由Ventana,Arizona销售)或**PathVysion<sup>®</sup>** (Vysis,Illinois)以测定肿瘤中HER2扩增的程度(如果有的话)。

[0216] 最常见的是,使用档案性石蜡包埋的肿瘤组织,利用任一种前述方法来确认HER2阳性状态。

[0217] 优选地,选择具有IHC得分为2+或3+或FISH或ISH阳性的HER2阳性患者用于依照本发明的治疗。

[0218] 亦参见美国专利No.7,981,418中的筛选患者用于帕妥珠单抗治疗的其他测定法,和实施例。

[0219] IV. 药物配制剂

[0220] 制备依照本发明使用的HER2抗体的治疗性配制剂用于存储,其通过将具有期望纯度的抗体与任选的药学可接受的载体,赋形剂或稳定剂混合 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition,Osol,A.Ed.(1980)),一般以冻干剂型或水溶液的形式。还涵盖抗体晶体(参见美国专利申请2002/0136719)。可接受的载体,赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的,包括缓冲剂,诸如磷酸盐,柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六

甲双铵(hexamethonium chloride);氯化苯甲烃铵(benzalkonium chloride);氯化苄乙铵(benzethonium chloride);酚,丁醇或苯甲醇;烷基对羟基苯甲酸酯如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(低于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清清蛋白,明胶,或免疫球蛋白;亲水性聚合物如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸或赖氨酸;单糖,二糖,和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖或糊精;螯合剂如EDTA;糖如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨糖醇;形成盐的反荷离子如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白复合物);和/或非离子型表面活性剂如TWEENTM, PLURONICSTM或聚乙二醇(PEG)。冻干的抗体剂型记载于WO 97/04801,其通过提述明确并入本文。

[0221] 冻干的抗体剂型记载于美国专利No.6,267,958,6,685,940和6,821,515,其通过提述明确并入本文。

[0222] 在一个实施方案中,曲妥珠单抗配制剂是一种针对静脉内(IV)施用的无菌,白色到浅黄色的无防腐剂冻干粉末,包含440mg曲妥珠单抗,400mg $\alpha$ , $\alpha$ -海藻糖脱水物,9.9mg L-组氨酸-HCl,6.4mg L-组氨酸和1.8mg聚山梨醇酯20,USP。用含有1.1%苯甲醇作为防腐剂的20mL抑菌性注射用水(BWFI)的重建,得到含有21mg/mL曲妥珠单抗,pH为约6.0的多剂量溶液。更多细节参见曲妥珠单抗处方信息。

[0223] 在另一个实施方案中,美国专利No.9,345,661中公开了一种曲妥珠单抗配制剂,例如适合于皮下施用的。这种配制剂包含

[0224] (a)约100至约150mg/ml的曲妥珠单抗;

[0225] (b)约1至约50mM的提供 $5.5 \pm 2.0$ 的pH的缓冲剂;

[0226] (c)约150至约250mM的 $\alpha$ , $\alpha$ -海藻糖二水合物或蔗糖作为第一稳定剂和约5至约15mM的甲硫氨酸作为第二稳定剂;

[0227] (d)约0.01至约0.08%的非离子性表面活性剂;和

[0228] (e)约1'000至16'000U/ml的至少一种透明质酸酶。

[0229] 在一个实施方案中,用于治疗用途的帕妥珠单抗配制剂包含20mM组氨酸乙酸盐,120mM蔗糖,0.02%聚山梨醇酯20,pH 6.0中30mg/mL的帕妥珠单抗。备选的帕妥珠单抗配制剂包含25mg/mL帕妥珠单抗,10mM组氨酸-HCl缓冲剂,240mM蔗糖,0.02%聚山梨醇酯20,pH 6.0。

[0230] 在另一个实施方案中,用于治疗用途的帕妥珠单抗配制剂适合于皮下施用且包含浓度为60mg/ml的600mg帕妥珠单抗,浓度为60mg/ml的600mg曲妥珠单抗,1,000U/mL rHuPH20,20mM His-HCl pH 5.5,105mM海藻糖,100mM蔗糖,0.04%聚山梨酯20,10mM甲硫氨酸,和无菌注射用水,直至10ml的总体积,其可以装在15-ml管形瓶中。

[0231] 在又一个实施方案中,用于治疗用途的帕妥珠单抗配制剂适合于皮下施用且包含浓度为80mg/ml的1,200mg帕妥珠单抗,浓度为40mg/ml的600mg曲妥珠单抗,1,000U/mL rHuPH20,20mM His-HCl pH 5.5,70mM海藻糖,133mM蔗糖,0.04%聚山梨酯20,10mM甲硫氨酸,和无菌注射用水,直至15ml的总体积,其可以装在20-ml管形瓶中。

[0232] 在仍有又一个实施方案中,帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的共配制剂(例如适合于皮下施用的)包含单个固定剂量的约600mg的帕妥珠单抗和单个固定剂量的约600mg的曲妥珠单抗,或单个固定剂量的约1200mg的帕妥珠单抗和单个固定剂量的约600mg的曲妥珠单抗,

和透明质酸酶,诸如重组人透明质酸酶(rHuPH20),其量足以导致相同液体配制剂中含有的帕妥珠单抗和曲妥珠单抗在皮下施用期间的分散增加,诸如处于至少约600U/mL的浓度,或处于介于约600U/ml和约2,000U/ml之间的浓度,例如处于约1,000U/mL的浓度。

[0233] 在又一些实施方案中,帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的共配制剂(例如适合于皮下施用的)包含:

[0234] 浓度为60mg/ml的600mg帕妥珠单抗,浓度为60mg/ml的600mg曲妥珠单抗,1,000U/mL rHuPH20,20mM His-HCl pH 5.5,105mM海藻糖,100mM蔗糖,0.04%聚山梨酯20,10mM甲硫氨酸,和无菌注射用水,直至10ml的总体积,或

[0235] 浓度为80mg/ml的1,200mg帕妥珠单抗,浓度为40mg/ml的600mg曲妥珠单抗,1,000U/mL rHuPH20,20mM His-HCl pH 5.5,70mM海藻糖,133mM蔗糖,0.04%聚山梨酯20,10mM甲硫氨酸,和无菌注射用水,直至15ml的总体积。

[0236] 在实施例中所用临床试验中使用的安慰剂配制剂等同于无活性剂的帕妥珠单抗。

[0237] 本文中配制剂还可以含有待治疗的特定适应证所必需的超过一种活性化合物,优选具有不会彼此不利影响的互补活性的那些活性成分。可与HER二聚化抑制剂组合的多种药物在下文方法部分描述。这类分子以对意图目的有效的量适宜地组合存在。

[0238] 用于体内施用的配制剂必须无菌。这可容易地通过经由无菌滤膜过滤而实现。

[0239] V. 治疗方法

[0240] 本发明涉及一种用于治疗HER2阳性早期乳腺癌的方法,其包括对具有HER2阳性早期乳腺癌的患者辅助施用有效量的帕妥珠单抗,曲妥珠单抗和标准化疗的组合,其中相对于在不施用帕妥珠单抗的情况下施用曲妥珠单抗及标准化疗,此类施用延长达到主要和/或次要功效终点,诸如延长无疾病存活(DFS),特别是无侵入性疾病存活(iDFS)。

[0241] 在一个实施方案中,依照本发明治疗的患者已经诊断有HER2阳性,结阳性早期乳腺癌。

[0242] 在另一个实施方案中,依照本发明治疗的患者已经诊断有HER2阳性,激素受体阴性乳腺癌。

[0243] 在一个实施方案中,遵循下面的进度表之一施用帕妥珠单抗,曲妥珠单抗和化疗:帕妥珠单抗IV和曲妥珠单抗IV q3w,与依照下面的进度表之一的化疗组合(遵照主治医师的斟酌):1)3-4个周期(q3w)的5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺,继以4个周期(q3w)(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛;2)4个周期(q3w)的多柔比星或表柔比星+环磷酰胺,继以4个周期(q3w)或多西他赛或12个每周周期的帕利他赛;3)(非蒽环类抗生素疗法)6个周期(q3w)的多西他赛+卡铂。

[0244] 在一个实施方案中,静脉内施用曲妥珠单抗和/或帕妥珠单抗。在其它实施方案中,皮下施用曲妥珠单抗和/或帕妥珠单抗(例如经由适合于皮下施用的包括曲妥珠单抗和帕妥珠单抗二者的共配制剂)。

[0245] 在一个实施方案中,以840mg的加载剂量,继以420mg每3周施用帕妥珠单抗iv。

[0246] 在一个实施方案中,以8mg/mg的加载剂量,继以6mg/kg每3周施用曲妥珠单抗iv。

[0247] 在一个实施方案中,以1200mg的加载剂量,继以600mg每3周施用帕妥珠单抗sc。

[0248] 在一个实施方案中,以600mg的加载剂量,继以600mg每3周施用曲妥珠单抗sc。

[0249] 用于治疗HER2阳性早期乳腺癌的化疗的另外的剂量和进度表在下文实施例中公

开,但是其它剂量和进度表依照本文中的发明是已知且涵盖的。

#### [0250] VI. 制品

[0251] 在本发明的另一个实施方案中,提供了一种制品,其装有对于治疗乳腺癌有用的材料。该制品包含有固定剂量的该HER2(帕妥珠单抗)的管形瓶,其中该固定剂量是大约420mg,大约525mg,大约600mg,大约840mg,大约1050mg,或大约1200mg的该HER抗体。

[0252] 该制品优选进一步包含包装插页。该包装插页可提供将该固定剂量静脉内或皮下施用于乳腺癌患者的用法说明书。

[0253] 在一个实施方案,该制品包含两种管形瓶,其中第一管形瓶装固定剂量的大约840mg的帕妥珠单抗,而第二管形瓶装固定剂量的大约420mg的帕妥珠单抗。

[0254] 在另一个实施方案中,该制品包含两种管形瓶,其中第一管形瓶装固定剂量的大约1200mg的帕妥珠单抗,而第二管形瓶装固定剂量的大约600mg的帕妥珠单抗。

[0255] 本文中的制品的一个实施方案包含一种静脉内(IV)袋,其装有适用于对癌症患者施用的帕妥珠单抗和曲妥珠单抗的稳定混合物。任选地,所述混合物是盐水溶液;例如包含约0.9% NaCl或约0.45% NaCl。例示性IV袋是聚烯烃或聚氯乙烯输注袋,例如250mL IV袋。依照本发明的一个实施方案,所述混合物包含约420mg或约840mg的帕妥珠单抗,和约200mg至约1000mg的曲妥珠单抗(例如约400mg至约900mg的曲妥珠单抗)。

[0256] 任选地,IV袋中的混合物在5℃或30℃稳定长达24小时。混合物的稳定性可通过一种或多种选自下组的测定法评估:颜色,外观和澄清度(CAC),浓度和浊度分析,微粒分析,大小排阻层析(SEC),离子交换层析(IEC),毛细管区带电泳(CZE),成像毛细管等电聚焦(iCIEF)和效力测定法。

#### [0257] VII. 生物材料保藏

[0258] 以下杂交瘤细胞系已保藏在美国典型培养物保藏中心,10801University Boulevard,Manassas,VA 20110-2209,USA(ATCC):

	抗体名	ATCC No.	保藏日期
[0259]	4D5	ATCC CRL 10463	1990年5月24日
	2C4	ATCC HB-12697	1999年4月8日

[0260] 表1

[0261] 序列的表格

[0262]

描述	SEQ ID NO	图
HER2结构域I	1	1
HER2结构域II	2	1
HER2结构域III	3	1
HER2结构域IV	4	1
2C4可变轻	5	2A
2C4可变重	6	2B
574/帕妥珠单抗可变轻	7	2A
574/帕妥珠单抗可变重	8	2B
人V <sub>L</sub> 共有框架	9	2A

人V <sub>H</sub> 共有框架	10	2B
帕妥珠单抗轻链	11	3A
帕妥珠单抗重链	12	3B
曲妥珠单抗轻链	13	4A
曲妥珠单抗重链	14	4B
变体帕妥珠单抗轻链	15	5A
变体帕妥珠单抗重链	16	5B
GFTFTDYTEMX	17	
DVNPNSGGSIYNQRFKG	18	
NLGPSFYFDY	19	
KASQDVSIGVA	20	
SASYX <sup>1</sup> X <sup>2</sup> X <sup>3</sup>	21	
QQYYIYPYT	22	

[0263] 本发明的进一步的细节由以下非限制性实施例例示。说明书中所有引用的公开内容均通过提述明确并入本文。

[0264] 在下面的表2中提供贯穿说明书(包括实施例)使用的术语的缩写和定义的列表。

[0265]

缩写	定义
AC	多柔比星(ADRIAMYCIN®)加环磷酰胺
ADCC	抗体依赖性细胞介导的细胞毒性
AE	不良事件
ARDS	急性呼吸窘迫综合征
ATA	抗治疗剂抗体
BCS	保乳手术
bpCR	乳腺病理学完全响应
BSA	体表面积
CALGB	B组癌症和白血病
CBE	临床乳房检查
CHF	充血性心力衰竭
CISH	显色原位杂交
CR	完全响应
CSR	临床研究报告
CT	计算机断层照相术
CTCAE	不良事件常用术语标准
D	多西他赛
DCarbH	多西他赛, 卡铂, 和曲妥珠单抗(HERCEPTIN®) (也称作TCH)
DCIS	导管原位癌
dd	剂量密集的
ddAC	剂量密集的多柔比星(ADRIAMYCIN®)加环磷酰胺
DFS	无疾病存活
EBC或eBC	早期乳腺癌
EBCTCG	早期乳腺癌试验者协作组
ECG	心电图
ECHO	超声心动图

[0266]

ECOG	东部肿瘤学协作组
eCRF	电子病例报告表
EDC	电子数据捕捉
EFS	无事件存活
EGFR	表皮生长因子受体
ER	雌激素受体
ESMO	欧洲医学肿瘤学学会
FFPE	福尔马林固定, 石蜡包埋
FISH	荧光原位杂交
GCG	德国乳房小组
G-CSF	粒细胞集落刺激因子
H	HERCEPTIN
HER2	人表皮生长因子受体2
HR	危害比
IB	调查人员手册
IBC	炎性乳腺癌
ICH	国际协调会议
iDFS	侵袭性无疾病存活
IMP	调查性医药产品
IND	调查性新药物
ISH	原位杂交
ITT	意图治疗
IV	静脉内
IUD	子宫内装置
IxRS	交互式语音/网路响应系统
LABC	局部晚期乳腺癌
LCIS	小叶原位癌
LPLV	最后一名患者, 最后一次拜访
LVEF	左心室射血分数
LVSD	左心室收缩功能障碍
MAPK	丝裂原活化的蛋白质激酶

[0267]

MBC	转移性乳腺癌
MRI	磁共振成像
mRNA	信使RNA
MUGA	多门获取扫描
NCCN	国家综合癌症网络
NCCTG	北方中央癌症治疗组
NCI	国家癌症研究所
NSABP	国家手术辅助乳房和肠道计划
NYHA	纽约心脏联合会
OS	总体存活
P	帕利他赛
pCR	病理学完全响应
PET	正电子发射断层照相术
PFS	无进展存活
PgR	孕酮受体
PH	PERJETA®和HERCEPTIN®
PI3K	磷酸肌醇3-激酶
Pla	安慰剂
PR	部分响应
PVC	聚氯乙烯
RCB	残余癌症负荷
RCR	Roche临床存储库
RECIST	实体瘤响应评估标准
RT	放射疗法
SD	稳定疾病
SISH	银原位杂交
SLN	前哨淋巴结
SLNB	前哨淋巴结活检
SWFI	无菌注射用水
T	帕利他赛(TAXOL®)
TCH	多西他赛 (TAXOTERE®), 环磷酰胺, 和曲妥珠单抗



[0268]	(HERCEPTIN®) (在此文件中缩写成DCarbH)	
	TH	帕利他赛加HERCEPTIN®
	tpCR	总病理学完全响应
	ULN	正常上限

## 实施例1

[0269] 在具有HER2阳性原发性乳腺癌的参与者中作为辅助疗法的在化疗和曲妥珠单抗以外还有帕妥珠单抗的III期研究。

### [0270] 目的

[0271] 这项随机化, 双盲, 以安慰剂为对照, 双臂III期研究(乳腺癌中的初始疗法中的辅助帕妥珠单抗和HERCEPTIN, APHINITY, NCT01358877), 当前登记了4806名患者, 在具有可手术的HER2阳性原发性乳腺癌的参与者中评估在化疗加曲妥珠单抗以外还有帕妥珠单抗作为辅助疗法的安全性和功效。这项研究是与乳腺国际小组(BIG)合作进行的。

### [0272] 研究设计

[0273] 研究设计的示意图在图6A, 6B, 和6C中显示。在研究中登记的患者经历手术且(1: 1)随机化入两个处理组之一以接受:

[0274] • **PERJETA®**和HERCEPTIN及6-8个周期的化疗(含蒽环类抗生素或非含蒽环类抗生素的方案), 继以**PERJETA®**和HERCEPTIN®每三周, 总共治疗1年(52周)。特别地, 在这个实验臂中, 参与者接受帕妥珠单抗IV和曲妥珠单抗IV q3w, 与依照下面的进度表之一的化疗(遵照调查人员的斟酌)组合治疗1年: 1) 3-4个周期(q3w)的5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺, 继以4个周期(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛。2) 4个周期(q3w)的多柔比星或表柔比星+环磷酰胺, 继以4个周期(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛。3) (非蒽环类抗生素疗法)6个周期(q3w)的多西他赛+卡铂。

[0275] • 安慰剂和HERCEPTIN®及6-8个周期的化疗(含蒽环类抗生素或非含蒽环类抗生素的方案), 继以安慰剂和HERCEPTIN每三周, 总共治疗1年(52周)。特别地, 在这个安慰剂比较臂中, 参与者接受安慰剂IV和曲妥珠单抗IV q3w, 与依照下面的进度表之一的化疗(遵照调查人员的斟酌)组合治疗1年: 1) 3-4个周期(q3w)的5-氟尿嘧啶+表柔比星或多柔比星+环磷酰胺, 继以4个周期(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛。2) 4个周期(q3w)的多柔比星或表柔比星+环磷酰胺, 继以4个周期(q3w)的多西他赛或12个每周周期的帕利他赛。3) (非蒽环类抗生素疗法)6个周期(q3w)的多西他赛+卡铂。

[0276] • 药物帕妥珠单抗: 参与者接受帕妥珠单抗, 周期1中的加载剂量840mg IV, 继以420mg IV q3w。

[0277] • 药物曲妥珠单抗: 参与者接受曲妥珠单抗, 加载剂量8毫克/千克(mg/kg), 继以6mg/kg IV q3w。

[0278] • 药物: 5-氟尿嘧啶: 参与者可接受5-氟尿嘧啶500-600毫克每平方米(mg/m<sup>2</sup>) IV q3w。

[0279] • 药物: 卡铂: 参与者可接受卡铂, 剂量为6倍浓度时间曲线下面积(AUC) (最大剂量900mg) IV q3w。

- [0280] • 药物:环磷酰胺:参与者可接受环磷酰胺 $500-600\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w。
- [0281] • 药物:多西他赛:参与者可接受多西他赛 $75\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w,或 $100\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w,或第一周期的 $75\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w继以 $100\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w。
- [0282] • 药物:多柔比星:参与者可接受多柔比星 $50\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w。
- [0283] • 药物:表柔比星:参与者可接受表柔比星 $90-120\text{mg}/\text{m}^2$  IV q3w。
- [0284] • 药物:帕利他赛:参与者可接受帕利他赛 $80\text{mg}/\text{m}^2$  IV一周一次。
- [0285] 放射疗法和/或内分泌疗法可以在辅助疗法结束时启动。APHINITY研究容许使用标准辅助化疗方案。淋巴结阳性和淋巴结阴性参与者对于登记均是适格的(见下文)。
- [0286] 适格性
- [0287] 对于研究适格的年龄:18岁以上(成年,老年)
- [0288] 对于研究适格的性别:所有
- [0289] 接受健康志愿者:否
- [0290] 纳入标准
- [0291] • 经过组织学确认的,且适当切除的非转移性可手术的原发性侵入性HER2阳性乳腺癌
- [0292] • 淋巴结阳性疾病,或结阴性疾病(pN0)且肿瘤尺寸 $>1.0\text{cm}$ 。具有pN0肿瘤和 $0.5-1.0\text{cm}$ 的肿瘤尺寸的患者最初是适格的,如果存在下面的特征至少之一的話:3级,两种激素受体均阴性,或年龄 $<35$ 岁。具有pN0的患者在随机化3655名患者之后的方案修改下不再是适格的。
- [0293] • 东部肿瘤学协作组(ECOG)性能状态小于或等于( $\leq$ )1
- [0294] • 乳腺癌的确定性手术和第一剂化疗之间的间隔必须不超过8周(56天)。第一个周期的化疗必须在随机化7天内或在第56天施用,以先发生者为准
- [0295] • 已知的激素受体状态(雌激素受体和孕酮受体)
- [0296] • 基线LVEF大于或等于( $\geq$ )55%,通过超声心动图(ECHO)或多门控采集(MUGA)扫描测量
- [0297] • 经过确认的HER2阳性状态,要求确认患者的乳腺癌具有 $>10\%$ 免疫反应性细胞中的免疫组织化学得分3+或根据原位杂交的c-erbB2基因扩增(c-erbB2基因信号与着丝粒17信号之比 $\geq 2$ )。
- [0298] • 有生育潜力的女性和伴侣有生育潜力的男性参与者必须同意由参与者和/或伴侣在研究处理期间且在最后一剂研究药物后至少7个月使用有效的避孕(由方案定义的)。
- [0299] 排除标准
- [0300] • 任何在先(同和/或对侧)侵入性乳腺癌的历史
- [0301] • 研究进入前5年内非乳腺恶性的历史,宫颈原位癌,结肠原位癌,原位黑素瘤,和基细胞和鳞状细胞皮肤癌除外
- [0302] • 任何“临床”T4肿瘤,如通过原发性肿瘤/区域性淋巴结/远端转移(TNM)定义的,包括炎性乳腺癌
- [0303] • 任何先前的用于癌症的系统性化疗或用于癌症的放射疗法
- [0304] • 出于任何原因的在先使用抗HER2疗法或用于癌症的其它在先生物学或免疫疗法

- [0305] • 其它调查性试验中的并行抗癌症治疗
- [0306] • 严重的心脏或心血管疾病或状况
- [0307] • 其它并行的可能干扰计划的治疗的严重的疾病,包括重度肺部状况/病
- [0308] • 临随机化前的异常实验室测试
- [0309] • 妊娠或哺乳女性
- [0310] • 对任何研究药疗或这些药疗的任何组分或赋形剂敏感

[0311] 结局度量

[0312] 下面列出研究的主要和次要结局度量的完整列表。

[0313] APHINITY研究的一项主要功效终点是iDFS,即在辅助治疗后患者在任何部位没有侵入性乳腺癌返回的情况下活着或死于任何起因的时间。

[0314] 使用分层对数秩检验在两个处理组之间比较IDFS。使用Kaplan-Meier办法来估算每个处理组的3年IDFS百分比。使用分层Cox比例风险模型来估算两个处理组之间的危害比(HR)和它的95%置信区间(CI)。主要分析基于意向治疗(ITT)群体。研究设计成具有80%效力以5%的双侧显著性水平检测0.75的危害比。基于BCIRG 006研究(NCT00021255)的发现为安慰剂组估算出89.2%的3年IDFS百分比。在这些假设下,IDFS的主要分析需要大约379例IDFS事件。

[0315] 次要功效终点包括心脏和总体安全性,总体存活,无疾病存活和健康相关生活质量。

[0316] 无远程复发间隔(DRFI)定义为随机化和远程乳腺癌复发之日之间的时间。在分析时没有远程疾病复发的患者会在死亡之日或最后知道活着之日审查。当发生640例死亡时计划确定性(最终事件驱动的)OS分析。OS的第一次中期分析在IDFS的主要分析之时变得可得,与确定性分析相比信息有限。会实施两次后续中期分析。出于管理目的,对于四次OS分析,总体 $\alpha$ 水平会控制在0.05。OS的第一次中期分析时的经过调整的两侧显著性水平是 $< 0.00001$ 。

[0317] 接受任何量的研究处理(化疗或靶向疗法)的患者包括在安全性分析中,以患者实际接受的处理分。接受辅助帕妥珠单抗的患者在帕妥珠单抗安全性分析群体臂中。接受研究药疗但非帕妥珠单抗的患者在安慰剂安全性分析群体臂中。

[0318] 主要心脏终点是重度充血性心力衰竭(CHF),定义为:心力衰竭NYHA III或IV类和LVEF自基线下降至少10个百分点且低于50%或心脏死亡。心脏死亡由APHINITY心脏咨询委员会(CAB)定义。

[0319] 次要心脏终点定义为无症状或轻度症状的(NYHA II类)根据MUGA扫描或ECHO的LVEF显著下降,通过大约3周内的也显示显著下降的第二次LVEF评估确认或由APHINITY CAB确认。

[0320] 主要结局度量

[0321] • 无侵入性疾病存活(iDFS)持续时间(排除第二原发性非乳腺癌作为IDFS事件),如使用放射学,组织学检查或实验室发现评估的[时间框:随机化直至方案定义的IDFS事件(排除第二原发性非乳腺癌)(总体长至12年)]

[0322] • 具有纽约心脏联合会(NYHA) III或IV类心力衰竭和左心室射血分数(LVEF)自基线下降至少10个百分点且低于50%二者的参与者的百分比[时间框:基线长至12年(长至头12月

每12周;第18,24,30,36,48,60月和之后总体长至12年每12个月评估)]

[0323] 次要结局度量

[0324] • IDFS持续时间(包括第二原发性非乳腺癌作为IDFS事件),如使用放射学,组织学检查或实验室发现评估的[时间框:随机化直至方案定义IDFS事件(包括第二原发性非乳腺癌)(总体长至12年)]

[0325] • 无疾病存活(DFS)持续时间(包括第二原发性非乳腺癌或对侧或同侧原位导管癌作为事件),如使用放射学,组织学检查或实验室发现评估的[时间框:随机化直至方案定义的DFS事件(包括第二原发性非乳腺癌或对侧或同侧原位导管癌)(总体长至12年)]

[0326] • 总体存活(OS)[时间框:随机化直至任何起因所致死亡(总体长至12年)]

[0327] • 无复发间隔(RFI),如使用放射学,组织学检查或实验室发现评估的[时间框:随机化直至局部,区域或远程乳腺癌复发(总体长至12年)]

[0328] • 无远程复发间隔(DRFI),如使用放射学,组织学检查或实验室发现评估的[时间框:随机化直至远程乳腺癌复发(总体长至12年)]

[0329] • 具有不良事件的参与者的百分比[时间框:基线长至12年]

[0330] • 具有无症状或轻度症状(NYHA II类)左心室射血分数(LVEF)自基线下降至少10个点且低于50%的参与者的百分比[时间框:基线长至12年(长至头12个月每12周;第18,24,30,36,48,60月和之后总体长至12年每12个月评估)]

[0331] • 研究过程里的LVEF测量[时间框:基线长至12年(长至头12个月每12周;第18,24,30,36,48,60月和之后总体长至12年每12个月评估)]

[0332] • 欧洲癌症研究和治疗组织生活质量问卷表-核心30(EORTC QLQ-C30)得分[时间框:基线,第10,13,19,和25周;最后一剂研究药疗之后28天(第56周);和第18,24,和36月]

[0333] • 欧洲癌症研究和治疗组织乳腺癌模块生活质量(EORTC QLQ BR23)功能性量表得分[时间框:基线,第10,13,19,和25周;最后一剂研究药疗之后28天(第56周);和第18,24,和36月]

[0334] • 欧洲生活质量五维(EQ-5D)问卷表得分[时间框:基线,第10,13,19,和25周;最后一剂研究药疗之后28天(第56周);和第18,24,和36月]

[0335] 配制,包装,和操作

[0336] 作为在20mM L-组氨酸(pH 6.0),120mM蔗糖,和0.02%聚山梨酯-20中配制的含有30mg/mL帕妥珠单抗的单次使用配制剂提供**PERJETA®**。每个20cc管形瓶装有大約420mg帕妥珠单抗(14.0mL/管形瓶)。关于进一步的详情,参见**PERJETA®**IB或**PERJETA®**的当地处方信息。

[0337] **PERJETA®**的标示

[0338] 会依照每个国家的管理要求,以及依照国际协调会议(ICH)优秀临床实践标示**PERJETA®**。研究发起人会给所有研究地点提供**PERJETA®**,标示仅仅用于调查性用途。

[0339] **PERJETA®**的储存

[0340] 以范围为2°C至8°C(36°F至46°F)的温度运输**PERJETA®**的管形瓶,而且必须在收到后立即放置在冰箱中(相同温度范围)以确保最佳保持物理和生物化学完整性,而且直

至临使用前应当保持冷藏。必须在冰箱上保存温度记录(依照当地药房实践)以确保适当的储存条件。如果在运输或储存任一期发现温度偏离容许的2℃至8℃的话,联系发起人来确定是否药物仍然适合于使用。

[0341] 不可以摇晃**PERJETA®**管形瓶。所有管形瓶应当储存在外纸箱内且避光。不得超出IMP试剂盒标签上提供的截止使用日期信息使用药疗。

[0342] **PERJETA®**的制备

[0343] 因为**PERJETA®**配制剂不含防腐剂,所以管形瓶密封只可以刺穿一次。应当丢弃任何剩余溶液。

[0344] 应当自管形瓶取出指示体积的**PERJETA®**溶液并添加至0.9%氯化钠注射液的250cc IV袋。应当温和颠倒袋以混合溶液,但是不应剧烈摇晃。应当在施用之前对溶液目视检测颗粒和变色。应当作为连续IV输注施用袋内的整个体积。应当使用0.9%氯化钠注射液完全冲洗施用管道中含有的体积。

[0345] 在装有0.9%氯化钠注射液的聚氯乙烯(PVC)或非PVC聚烯烃袋中稀释的,用于输注的**PERJETA®**溶液可以在使用之前于2℃至8℃(36°F至46°F)储存达长至24小时。已经显示稀释的**PERJETA®**于室温(2℃至25℃)稳定达长至24小时。然而,因为稀释的**PERJETA®**不含防腐剂,所以无菌稀释的溶液应当冷藏(2℃至8℃)储存不超过24小时。

[0346] 可以对所有研究药物输注使用速率调节装置。当研究药物IV袋是空的,可将50mL 0.9%氯化钠注射液添加至IV袋或可以悬挂另一个袋,而且可以继续输注达与管道体积相等的体积以确保研究药物的完全投递。

[0347] 如果发生研究药物输注的外渗的话,应当采取下面的步骤:

[0348] • 中止输注。

[0349] • 依照关于非苛性药外渗的机构指南处理外渗。

[0350] • 如果保留显著体积的研究药物输注的话,在另一侧上或在相同肢体中的更近部位重新开始输注。

[0351] **HERCEPTIN®**的配制

[0352] 作为冷冻干燥制备物,发起人会供应供这项研究中使用的**HERCEPTIN®**(冻干配制剂)。所有**HERCEPTIN®**是供应胃肠外IV施用的;这项研究中不允许皮下**HERCEPTIN®**。在组氨酸,海藻糖,和聚山梨酯20中配制**HERCEPTIN®**。发起人会在装有用于胃肠外施用的冷冻干燥制备物的管形瓶中供应供这项研究中使用的**HERCEPTIN®**。对于IV施用,根据管形瓶大小用无菌注射用水(SWFI)重建每个**HERCEPTIN®**管形瓶,如下:

[0353] • **HERCEPTIN®**440mg管形瓶与20.0mL SWFI(不供应)混合

[0354] • **HERCEPTIN®**150mg管形瓶与7.2mL SWFI(不供应)混合

[0355] 不容许使用其它重建溶剂。重建的溶液含有21mg/mL曲妥珠单抗且会添加至250mL 0.9%氯化钠注射液,用于施用于患者。无一**HERCEPTIN®**配制剂含有防腐剂。并不意图在重建和稀释之后储存产品,除非这在无菌条件下发生。因此,一旦准备好输注,它仅仅供单次使用且应当迅速施用。必须在重建之后8小时内输注剂量,除非于2℃至8℃无菌制备和

储存(最大冷藏储存时间是24小时)。为这项研究提供的每个HERCEPTIN®管形瓶要作为仅单剂管形瓶使用。每个管形瓶不应用于超过一次施用HERCEPTIN且不应一次超过1名患者。不要冷冻重建的HERCEPTIN。

[0356] HERCEPTIN®的标示

[0357] 会依照每个国家的管理要求,以及依照ICH优秀临床实践标示HERCEPTIN®。研究发起人会给所有研究地点提供HERCEPTIN®,标示仅仅用于调查性用途。

[0358] HERCEPTIN®的储存

[0359] 用冷包于范围为2℃至8℃(36°F至46°F)的温度运输HERCEPTIN®管形瓶,而且必须在收到后立即放置在冰箱中(相同温度范围)以确保最佳保持物理和生物化学完整性。必须在冰箱上保存温度记录(依照当地药房实践)以确保适当的储存条件。不要超出管形瓶上盖章的截止使用日期使用。不要冷冻。

[0360] HERCEPTIN®可能对剪切诱导的应力(例如,搅动或自注射器快速排出)敏感。不要摇晃。剧烈操作HERCEPTIN®溶液导致蛋白质聚集且可能产生混浊的溶液。在重建期间应当小心操作HERCEPTIN®。在重建期间引起过量起泡或摇晃重建的HERCEPTIN®可能导致能自管形瓶取出的HERCEPTIN®的量的问题。

[0361] HERCEPTIN®的制备

[0362] 在制备研究药物时应当使用适宜的无菌技术。如上文所述用SWFI重建每个HERCEPTIN®管形瓶。在重建期间应当小心操作HERCEPTIN®。在重建期间引起过量起泡或摇晃重建的HERCEPTIN®可能导致能自管形瓶取出的HERCEPTIN®的量的问题。

[0363] 必须遵循下面的指令:

[0364] 1. 使用无菌注射器,将无菌注射用水缓慢注入装有冻干HERCEPTIN®的管形瓶,将液流引导入冻干饼。

[0365] 2. 温和旋转管形瓶以帮助重建。不要摇晃!

[0366] 重建时产品的轻微起泡并不罕见。容许管形瓶不受扰动静置大约5分钟。重建的HERCEPTIN®产生无色至淡黄色透明溶液且应当本质上没有可见颗粒。

[0367] 不要冷藏或冷冻重建的HERCEPTIN®。

[0368] 药物制备:稀释

[0369] 会将重建的溶液添加至装有250mL 0.9%氯化钠注射液(美国药典)的输注袋。一旦准备好输注,它应当立即施用。如果无菌稀释的话,它可以最多自重建起储存24小时(不要在30℃以上储存)。

[0370] 结果

[0371] 研究达到了它的主要终点且显示用PERJETA®-HERCEPTIN®组合进行的辅助(在手术后)治疗与单独的HERCEPTIN®和化疗相比显著降低具有HER2阳性eBC的人们中侵入性疾病复发(无侵入性疾病存活;iDFS)或死亡的风险。下文讨论的图7A和7B,8A-8C,9A-9C中呈现的结果呈现研究的iDFS主要分析的结果(基于在电子病例报告表“eCRF”上

收集的数据)。

[0372] 主要终点:

[0373] • 如图7A中显示的, iDFS的危害比(HR)是0.81; [95% CI 0.66-1.00; p=0.0446], 代表PERJETA®-HERCEPTIN®臂中的患者的侵入性乳腺癌复发或死亡的风险与HERCEPTIN®对照臂相比降低19%。还见图7B中显示的Kaplan-Meier图。

[0374] 3年iDFS率的对应估算是:

[0375] • PERJETA®, HERCEPTIN®和化疗臂=94.06%

[0376] • 安慰剂, HERCEPTIN®和化疗(对照)臂=93.24%

[0377] 功效

[0378] 研究达到了它的主要研究终点, 无侵入性疾病存活(iDFS)有统计学显著改善, 危害比0.81 (95% CI, 0.66-1.00; P=0.0446), 有利于帕妥珠单抗组。45.4个月的中值随访后, 在随机化入帕妥珠单抗组的患者中报告了171例(7.1%) iDFS事件, 而在随机化入对照组的患者中报告了210例(8.7%) 事件。3年时的iDFS的估算是帕妥珠单抗组中的94.1%和安慰剂组中的93.2%。远程复发作为第一iDFS事件分别在帕妥珠单抗组中的112名(4.7%)患者和对照组中的139名(5.8%)患者中发生, 而具有局部复发的患者的数目分别是16人(1.1%)和34人(1.4%)。中枢神经系统(CNS)转移作为第一iDFS事件分别在帕妥珠单抗组中的1.9%和对照组中的1.8%的患者中发生。内脏或CNS部位的第一远程复发比骨更加常见。

[0379] 在次要分析中, 第二主要非乳腺癌事件也认为是iDFS事件。事件的数目分别升高至帕妥珠单抗组中的189例和对照组中的230例, 导致统计学显著的危害比0.82 (95% CI, 0.68-0.99; P=0.043)。

[0380] PERJETA®-HERCEPTIN®组合的心脏和总体安全性概况与先前的PERJETA®的研究一致且没有鉴定出新的安全性信号。

[0381] 虽然在各个亚组的患者中均匀地观察到在治疗方案中包括帕妥珠单抗的积极效果, 但是iDFS的亚组分析揭示了治疗效果在淋巴结阳性(图8A和8B)和激素受体(HR)阴性患者(图9A和9B)中最突出。如图8A中显示的, 在具有结阳性疾病的患者中, 帕妥珠单抗组中有139例(9.2%) IDFS事件而安慰剂组中有181例(12.1%) iDFS事件。3年IDFS百分比是帕妥珠单抗组中的92.0%和安慰剂组中的90.2%。危害比是0.77 (95% CI 0.62-0.96; P=0.0188)。Kaplan-Meier图的曲线在随机化后2年开始分开(图8B)。与之对比, 具有结阴性疾病的患者显示很低数目的IDFS事件(帕妥珠单抗有32例[3.6%], 安慰剂有29例[3.2%])且检测不到治疗效果(危害比1.13 (95% CI 0.68-1.86; P=0.6436)) (图8C)。

[0382] 在具有激素受体阴性肿瘤的患者中, 帕妥珠单抗组中有71例(8.2%) IDFS事件, 安慰剂组中有91例(10.6%), 导致危害比0.76 (0.56-1.04; P=0.0847)。3年IDFS百分比是帕妥珠单抗组中的92.8%和安慰剂组中的91.2% (图9A和9B)。事件的数目在具有激素受体阳性肿瘤的患者中很低(帕妥珠单抗组中的100例[6.5%]和安慰剂组中的119例[7.7%]), 导致危害比0.86 (0.66-1.13) (P=0.2771)。3年IDFS百分比是帕妥珠单抗组中的94.8%和安慰剂组中的94.4% (图9C)。

[0383] 在这项主要终点分析时, 实施了总体存活的第一中期分析, 帕妥珠单抗臂有80例

死亡和安慰剂臂有89例死亡。在这个早期时间点没有显著的治疗效果(危害比0.89;95% CI 0.66-1.21;P=0.4673)。

[0384] 图10和下文表3和4呈现APHINITY研究的预先规定的主要iDFS终点的灵敏度分析的结果,基于分层因子,通过交互式网络/语音响应系统“TxRS”收集的数据。

[0385] 表3:来自APHINITY临床研究的功效结果

		<b>PERJETA + 曲妥珠单抗 + 化疗 N=2400</b>	<b>安慰剂 + 曲妥珠单抗 + 化疗 N=2404</b>
[0386]	<b>无侵入性疾病存活(IDFS)</b>		
	具有事件的患者的数目(%)	171 (7.1%)	210 (8.7%)
	HR [95% CI] <sup>1</sup>	0.82 [0.67, 1.00]	
	P值(对数秩检验, 分层的 <sup>1</sup> )	0.047	
	3年无事件率 <sup>2</sup> , % [95% CI]	94.1 [93.1, 95.0]	93.2 [92.2, 94.3]
[0387]	<b>IDFS, 包括第二原发性非乳腺癌</b>		
	具有事件的患者的数目(%)	189 (7.9%)	230 (9.6%)
	HR [95% CI] <sup>1</sup>	0.83 [0.68, 1.00]	
	3年无事件率 <sup>2</sup> , % [95% CI]	93.5 [92.5, 94.5]	92.5 [91.4, 93.6]
[0387]	<b>无疾病存活(DFS)</b>		
	具有事件的患者的数目(%)	192 (8.0%)	236 (9.8%)
	HR [95% CI] <sup>1</sup>	0.82 [0.68, 0.99]	
	3年无事件率 <sup>2</sup> , % [95% CI]	93.4 [92.4, 94.4]	92.3 [91.2, 93.4]
[0387]	<b>总体存活(OS)<sup>3</sup></b>		
	具有事件的患者的数目(%)	80 (3.3%)	89 (3.7%)
	HR [95% CI] <sup>1</sup>	0.89 [0.66, 1.21]	
	3年无事件率 <sup>2</sup> , % [95% CI]	97.7 [97.0, 98.3]	97.7 [97.1, 98.3]

[0388] HR=危害比,CI=置信区间

[0389] <sup>1</sup>所有分析以结状态,方案型式,中枢激素受体状态,和辅助化疗方案分层。分层因子依照IDFS的随机化数据定义。

[0390] <sup>2</sup> 3年无事件率自Kaplan-Meier估量推导

[0391] <sup>3</sup>数据来自第一中期分析

[0392] 表4:来自APHINITY临床研究的以基线疾病特征和辅助化疗分的功效结果<sup>1</sup>



[0393]

群体	事件的数目/总N (%)		3年时的IDFS (%, 95% CI)		未分层的HR (95% CI)
	PERJETA+ 曲妥珠单抗 + 化疗	安慰剂 + 曲妥珠单抗 + 化疗	PERJETA+ 曲妥珠单抗 + 化疗	安慰剂 + 曲妥珠单抗 + 化疗	
激素受体状态					
阴性	71/864 (8.2%)	91/858 (10.6%)	92.8 (90.8, 94.3)	91.2 (89.0, 92.9)	0.76 (0.56, 1.04)
阳性	100/1536 (6.5%)	119/1546 (7.7%)	94.8 (93.5, 95.8)	94.4 (93.1, 95.4)	0.86 (0.66, 1.13)
结状态					
阴性	32/897 (3.6%)	29/902 (3.2%)	97.5 (96.3, 98.4)	98.4 (97.3, 99.0)	1.13 (0.68, 1.86)
阳性	139/1503 (9.2%)	181/1502 (12.1%)	92.0 (90.5, 93.3)	90.2 (88.5, 91.6)	0.77 (0.62, 0.96)
辅助化疗方案					
蒽环类抗生素	139/1865 (7.4%)	171/1877 (9.1%)	93.8 (92.6, 94.8)	93.0 (91.8, 94.1)	0.82 (0.66, 1.03)
非蒽环类抗生素	32/535 (6.0%)	39/527 (7.4%)	94.9 (92.6, 96.6)	94.0 (91.5, 95.8)	0.82 (0.51, 1.31)

[0394]

[0395] <sup>1</sup>没有调整多重比较的探索性分析,因此认为结果是描述性的。

#### [0396] 安全性

[0397] 在具有激素受体阴性肿瘤的患者中,帕妥珠单抗臂中有71例(8.2%) IDFS事件,安慰剂臂中有91例(10.6%),导致危害比0.76(0.56-1.04;P=0.0847)。3年IDFS百分比是帕妥珠单抗臂中的92.8%和安慰剂臂中的91.2%。事件的数目在具有激素受体阳性肿瘤的患者中很低(帕妥珠单抗臂中的100例[6.5%]和安慰剂臂中的119例[7.7%]),导致危害比0.86(0.66-1.13;P=0.2771)。3年IDFS百分比是帕妥珠单抗臂中的94.8%和安慰剂臂中的94.4%。

[0398] 在这项主要终点分析时,实施了总体存活的第一中期分析,帕妥珠单抗臂有80例死亡和安慰剂臂有89例死亡。在这个早期时间点没有显著的治疗效果(危害比0.89;95% CI 0.66-1.21;P=0.4673)。

#### [0399] 心脏安全性

[0400] 接受至少一剂研究处理(化疗或靶向疗法)的患者包括在安全性分析中,以患者实际接受的处理分。接受帕妥珠单抗用于辅助治疗的患者在帕妥珠单抗安全性分析群体组中。接受研究药疗但非帕妥珠单抗的患者在对照安全性分析群体组中。

[0401] 主要心脏终点是重度充血性心力衰竭(CHF),定义为:心力衰竭NYHA III或IV类和LVEF自基线下降至少10个EF点且低于50%或心脏死亡。心脏死亡由APHINITY心脏咨询委员会(CAB)前瞻性定义。

[0402] 次要心脏终点定义为无症状或轻度症状的(NYHA II类)根据MUGA扫描或ECHO的LVEF显著下降,通过大约3周内的也显示显著下降的第二LVEF评估确认或由APHINITY CAB确认。

[0403] 讨论

[0404] APHINITY研究是一项大型,足够有力的,以安慰剂为对照的,III期临床研究。治疗效果遍及所有亚组是均匀的;然而,在分析的这个早期时间点,它表现为在由于淋巴结受累或阴性激素受体状态而具有更高复发风险的患者中最易检测到。与在转移性或新辅助设置中报告的安全性相比,以这种组合给予帕妥珠单抗一年的安全性概况是有利的且没有观察到新的安全性信号。

[0405] 患者益处的评估总是不得不将效果大小与来自副作用的潜在风险联系起来。 $\geq 3$ 级腹泻在添加帕妥珠单抗时超过6.2%发生且可能是用抗腹泻药疗不能充分治疗的且因此导致治疗中断。无论如何,帕妥珠单抗的总体治疗中断率与安慰剂相比仅仅要高2.9%。最重要的是,尽管有大量的患者,检测不到就心脏毒性而言的统计学差异。假设帕妥珠单抗的心脏毒性的类型与由曲妥珠单抗诱发的类型相当,大多数心脏事件会是在当前分析之时早就观察到的且晚期心脏事件会是不频繁的。帕妥珠单抗的心脏安全性早就在先前的转移性设置中的试验中证明(Swain等,Oncologist.2013,18(3):257-64)和甚至为了在新辅助设置中与曲妥珠单抗和表柔比星同时应用证明(Schneeweiss等,Ann.Oncol.2013,24(9):278-84)。

[0406] APHINITY研究的发现的重要性超出帕妥珠单抗作为辅助治疗的应用。这项辅助研究还认为是在长期结局的新辅助研究中观察到的病理学完全响应(pCR)的替代的概念证明。NeoSphere研究报告了pCR率自多西他赛和曲妥珠单抗的12周治疗后的29.0%升高至相同治疗但添加帕妥珠单抗后的45.8%(Gianni等,Lancet Oncol.2012,13(1):25-32)。对应的5年无进展存活率是没有帕妥珠单抗时的81%(95% CI 71%-87%)和有帕妥珠单抗时的86%(95% CI 77%-91%);但是试验的效力不足以显示统计学显著差异。考虑到更强的化疗,包括紫杉烷和蒽环类抗生素(或卡铂),在APHINITY研究中观察到的效果大小在达到pCR方面很好地对应于所报告的新辅助效果。

[0407] 总之,APHINITY试验证明帕妥珠单抗在添加至化疗和曲妥珠单抗时显著改善具有可手术的HER2阳性乳腺癌的患者中的IDFS且没有鉴定出新的安全性信号。虽然会需要进一步探索别的方面(诸如功效或更长或更短的治疗持续时间),这项试验代表具有HER2阳性EBC的患者的治疗的里程碑。

[0408] 虽然已经在本文中显示和描述了本发明的某些实施方案,但是本领域技术人员会理解此类实施方案仅仅是通过举例提供的。本领域技术人员现在会想到众多变异,变化,和取代而不背离本发明。应当理解在实践本发明时可以采用本文中描述的发明的实施方案的各种备选方案。意图是所附权利要求书限定发明的范围并由此涵盖这些权利要求的范围内的方法和结构和它们的等同方案。

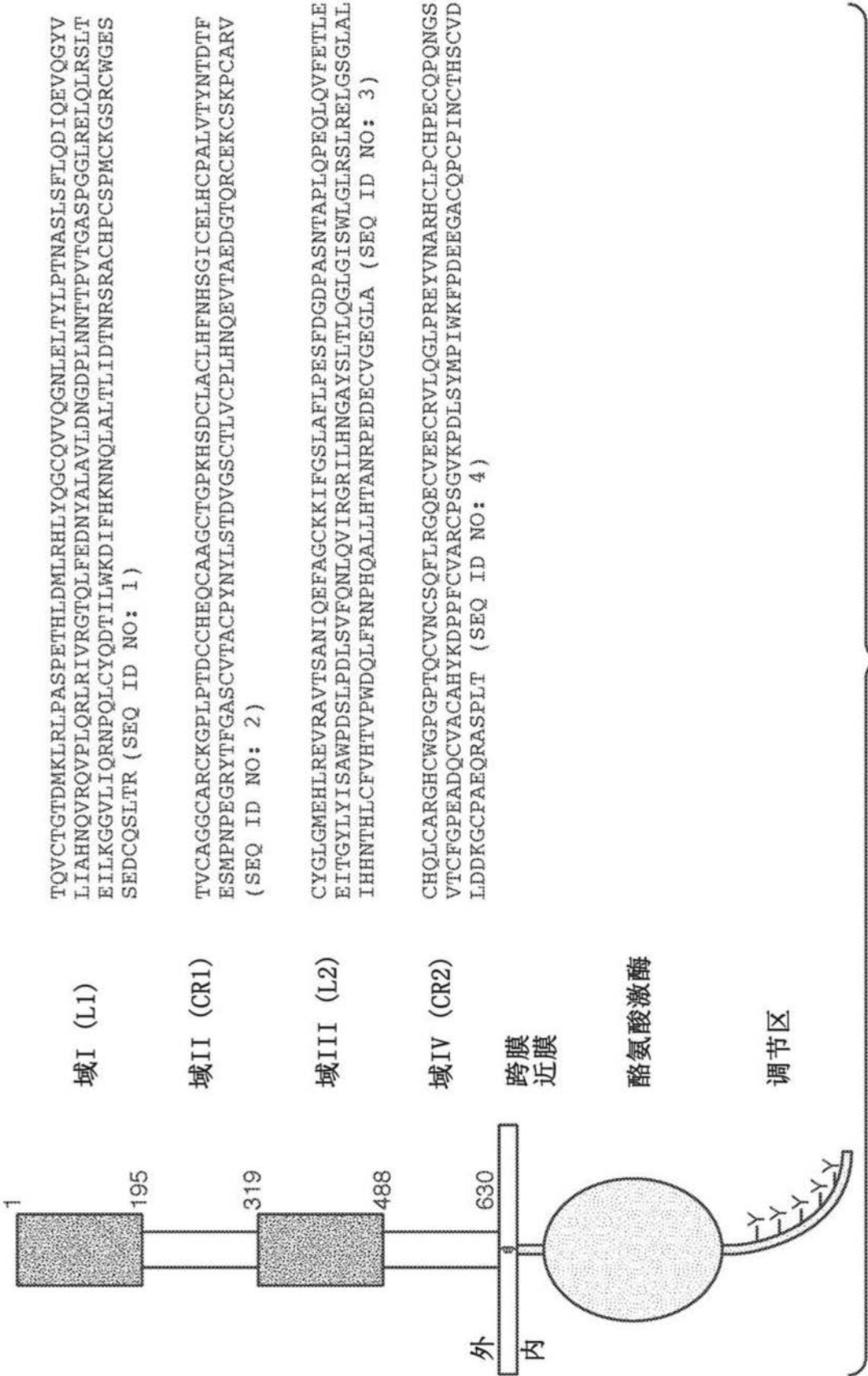


图1

图1

可变轻

	10	20	30	40
2C4	DTVMTQSHKIMSTSVGDRVSITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQR	P
	**      ***** *	*		*
574	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQK	P
		*      **      ***		
hum κI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASQISNYLA]	WYQQK	P
	50	60	70	80
2C4	GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQA		
	**      *	*      *	*	*
574	GKAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP		
	*      *****			
hum κI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP		
	90	100		
2C4	EDLAVYYC [QQYIYPYT]	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:5)		
	*      *	*      *		
574	EDFATYYC [QQYIYPYT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:7)		
	***      *			
hum κI	EDFATYYC [QQYNLPWT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:9)		

图2A

可变重

	10	20	30	40
2C4	EVQLQQSGPELVKPGT	SVKISCKAS	[GFTFTOYTMO]	WVKQS
	** ** *	* ** *		**
574	EVQLVESGGGLVQP	GGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA
			** * *	
hum III	EVQLVESGGGLVQP	GGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA

	50 a	60	70	80
2C4	HGKSLEWIG	[DVNPNSGGSIYNQ	RFGK]	KASLTVDRSSRIVYM
	* * **		*** *	*****
574	PGKGLEWVA	[DVNPNSGGSIYNQ	RFGK]	RFTLSVDRSKNTLYL
		***** ** *		* * *
hum III	PGKGLEWVA	[VISGDGGSTYYAD	SVKG]	RFTISRDNKNTLYL

	abc	90	100ab	110
2C4	ELRSLTFEDTAVYYCAR	[NLGPSFYFDY]	WGQGTTLTVSS	(SEQ ID NO:6)
	*** **		**	
574	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[NLGPSFYFDY]	WGQGTTLTVSS	(SEQ ID NO:8)
		*****		
hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[GRVGYSLYDY]	WGQGTTLTVSS	(SEQ ID NO:10)

图2B

帕妥珠单抗轻链的氨基酸序列

1	10	20	30	40	50	60
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	<b>KASQDVSIGVA</b>	WYQQKPGKAPKLLIYS	<b>ASRYR</b>	TGVPS		
70	80	90	100	110	120	
RFSGSGSGTDFTLTIS	SLQPEDFATYYC	<b>QQYIYPY</b>	TFGQGTKVEIKRTVAAPS	VFIFPP		
130	140	150	160	170	180	
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYP	PREAKVQWKVDNALQSGNSQES	VTEDSKDSTYSL	SSTLT			
190	200	210				
LSKADYEEKHKVYACEVTHQGL	SSPVTKSFNRGEC					

(SEQ ID NO: 11)

图3A

## 帕妥珠单抗重链的氨基酸序列

```

1      10      20      30      40      50      60
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFTDTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY

70      80      90      100     110     120
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSA

130     140     150     160     170     180
STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

190     200     210     220     230     240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP

250     260     270     280     290     300
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRREQYNS
*

310     320     330     340     350     360
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

370     380     390     400     410     420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

430     440     448
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12)

```

图3B

## 曲妥珠单抗轻链

```

1      15      30      45
↓DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK
→

46     60     75     90
LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ

91     105     120     135
HYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
←

136     150     165     180
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT

181     195     210 214
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

```

图4A

## 曲妥珠单抗重链

```

1      15      30      45
|EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL
|
46      60      75      90
EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED

91      105     120     135
TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVSSASTKGPSVFPLAPSS
|
136     150     165     180
KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

181     195     210     225
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK

226     240     255     270
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

271     285     300     315
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD

316     330     345     360
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE

361     375     390     405
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

406     420     435     449
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO: 14)

```

图4B

## 帕妥珠单抗可变轻链

```

1      15      30      45
VHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGK

46      60      75      90
APKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY

91      105     120     135
CQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV

136     150     165     180
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS

181     195     210     217
TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15)

```

图5A

## 帕妥珠单抗可变重链

```
1           15           30           45
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGL

46          60          75          90
EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAED

91          105         120         135
TAVYYCARNLGPSFYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK

136         150         165         180
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

181         195         210         225
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

226         240         255         270
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH

271         285         300         315
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW

316         330         345         360
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

361         375         390         405
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS

406         420         435         449
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 16)
```

图5B



## APHINITY临床试验的方案

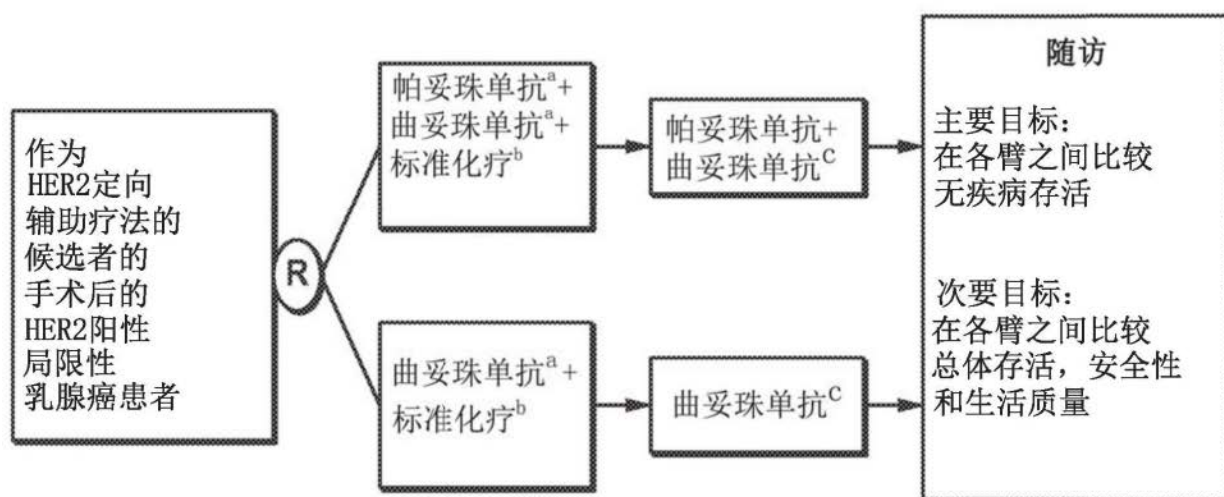


图6A

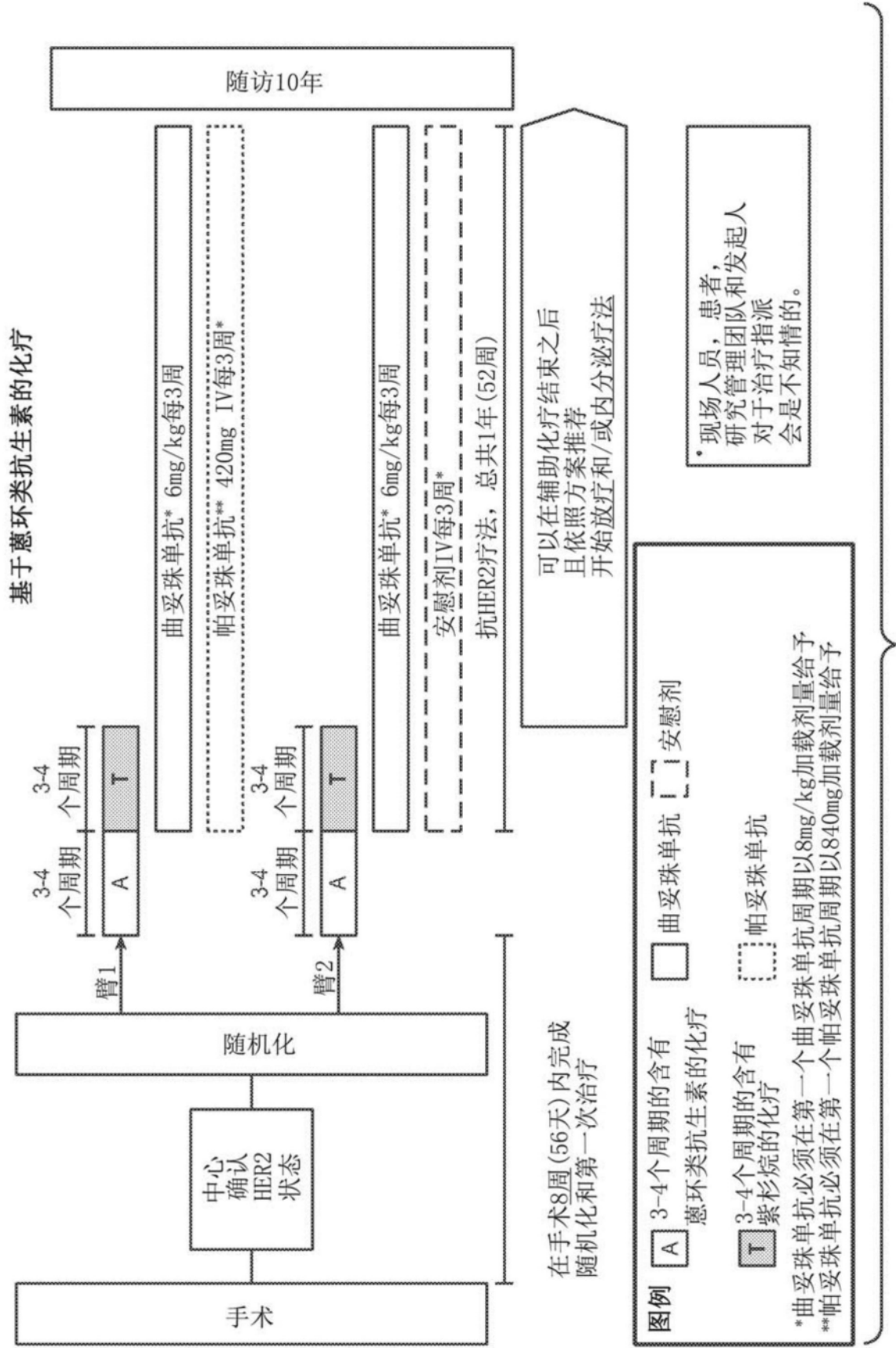


图6B

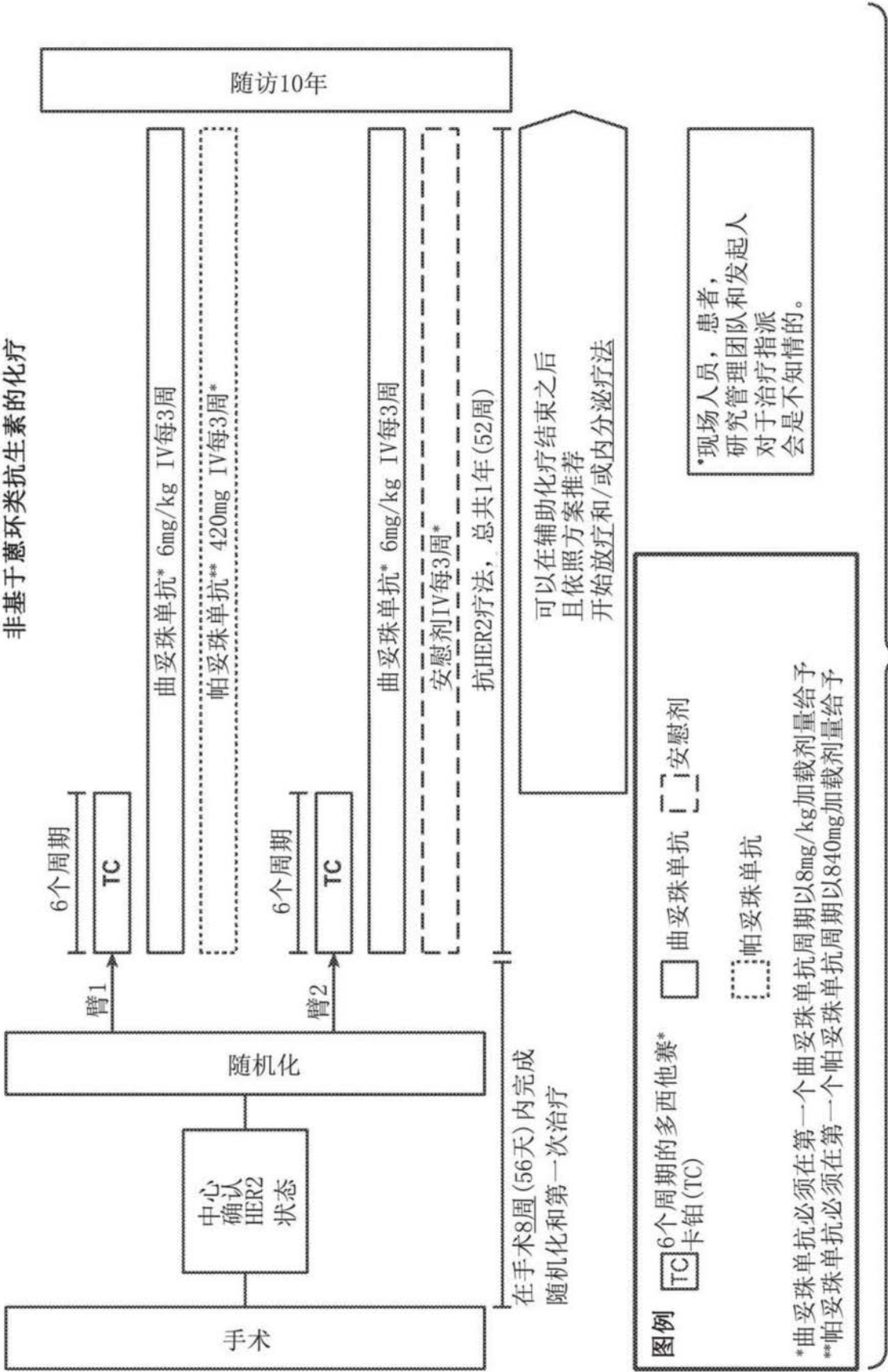


图6C

图6C

功效IDFS (ITT)

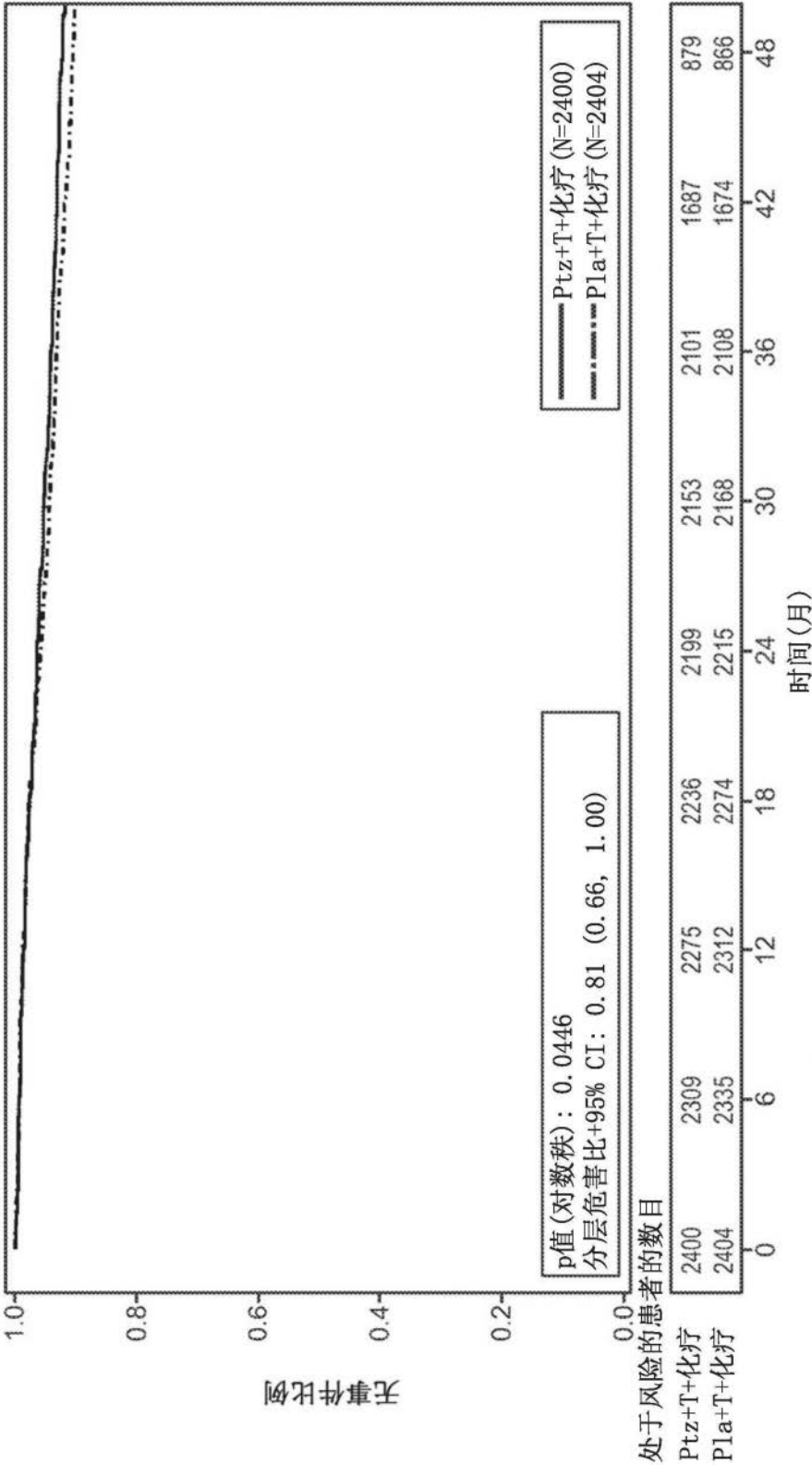
			3年IDFS		
	HR	P值	帕抗+曲抗 n=2400	安慰剂+曲抗 n=2404	Δ 3年 IDFS
主要 终点 IDFS	0.81 (CI: 0.66, 1.00)	0.0446*	94.06% (CI: 93.01, 95.03)	93.24% (CI: 92.21, 94.26)	0.82%
有事件 的患者			171例事件	210例事件	

\* 此表中显示的P值基于自eCRF取得的分层因子数据。  
在一项基于来自IxRS系统的分层因子数据的灵敏度分析(FDA分析)中，  
来自分层对数秩检验的P值是0.0471。

图7A

图7A

第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图, 以治疗方案分, ITT群体  
方案: BIG 4-11/B025126/TOC4939G



程序: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g\_ef\_km.sas 输出: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/j25126a/reports/g\_ef\_km\_IDFS\_IT.pdf 2017年2月25日 11:58

图7B

图7B

功效IDFS (结状态)

			3年IDFS		
	HR	P值	帕抗+曲抗 n=1503	安慰剂+曲抗 n=1502	Δ 3年 IDFS
结 阳性	0.77 (CI: 0.62, 0.96)	0.0188	91.99% (CI: 90.05, 93.29)	90.15% (CI: 89.62, 91.69)	1.84%
有事件 的患者			139例事件	181例事件	

图8A

图8A

第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图，以治疗方案分，结阳性队列，ITT群体  
方案: BIG 4-11/B025126/TOC4939G

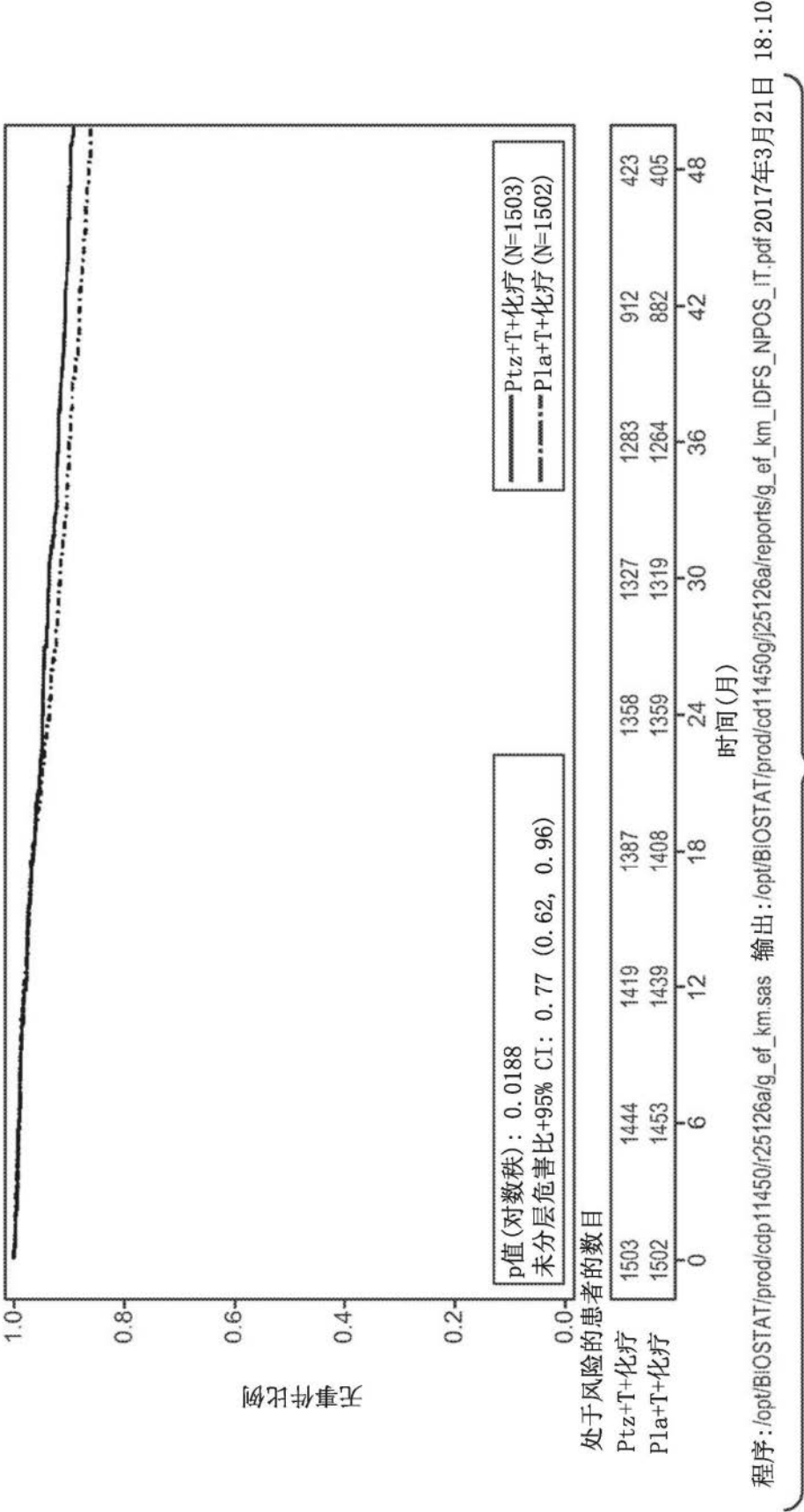


图8B

图8B



第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图，以治疗方案分，结阴性队列，ITT群体  
方案: BIG 4-11/B025126/TOC4939G

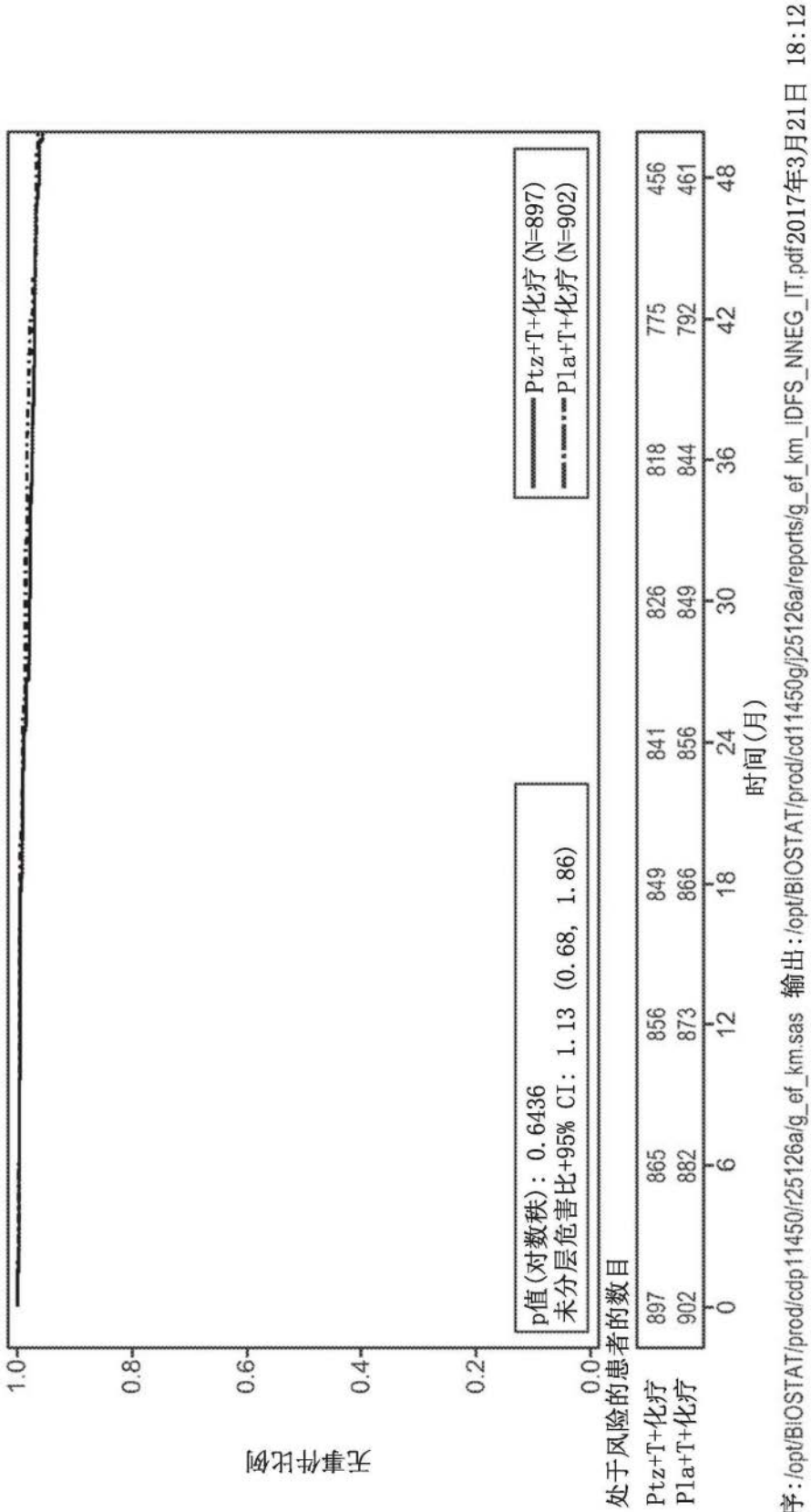


图8C

图8C



功效IDFS (HR状态)

			3年IDFS		
	HR	P值	帕抗+曲抗 n=864	安慰剂+曲抗 n=858	Δ 3年 IDFS
HR 阴性	0.76 (CI: 0.56, 1.04)	0.0847	92.71% (CI: 91.01, 94.53)	91.2% (CI: 89.24, 93.12)	1.51%
有事件 的患者			71例事件	91例事件	

图9A

图9A

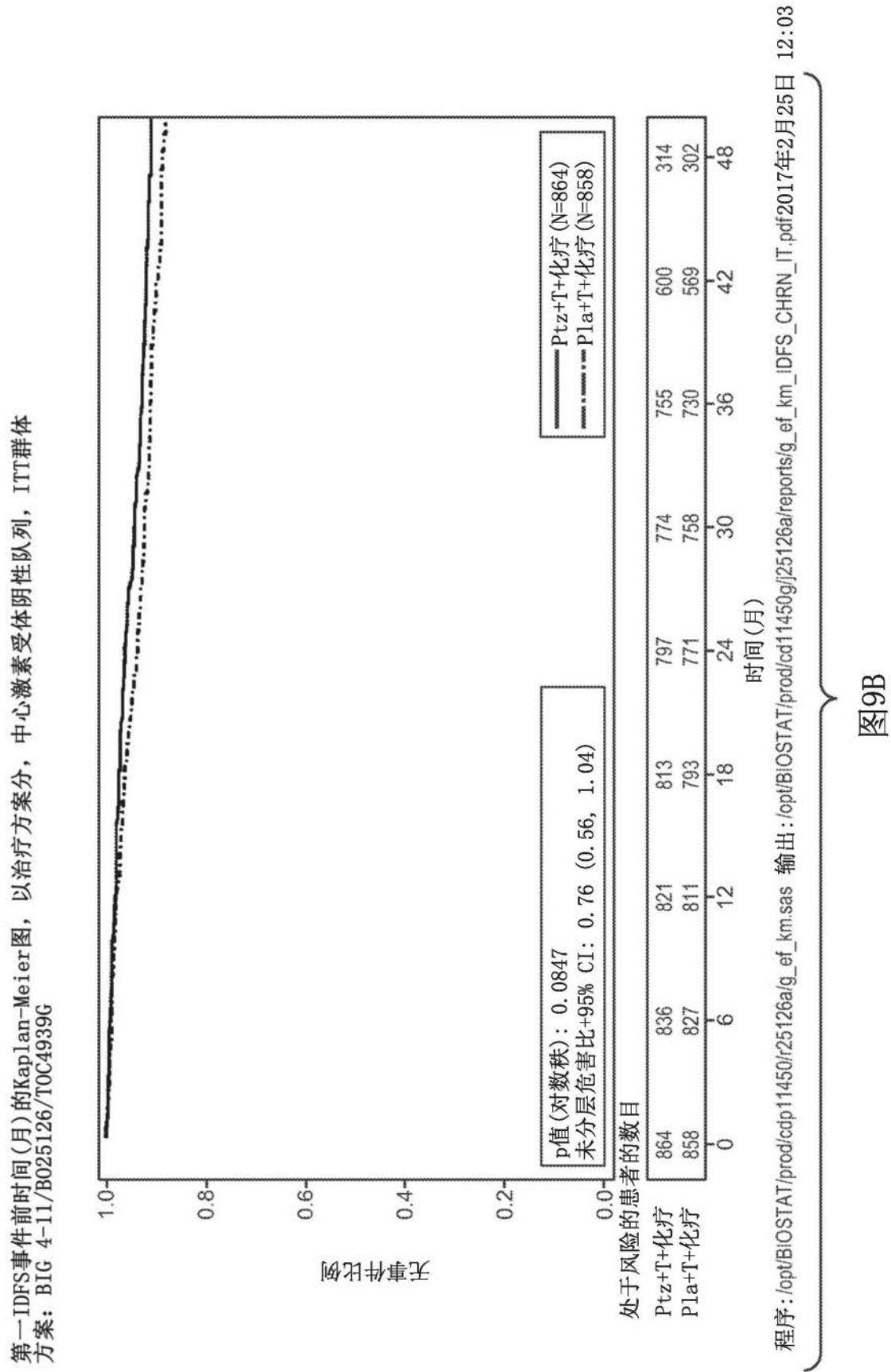


图9B

第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图，以治疗方案分，中心激素受体阳性队列，ITT群体  
方案: BIG 4-11/B025126/TOC4939G

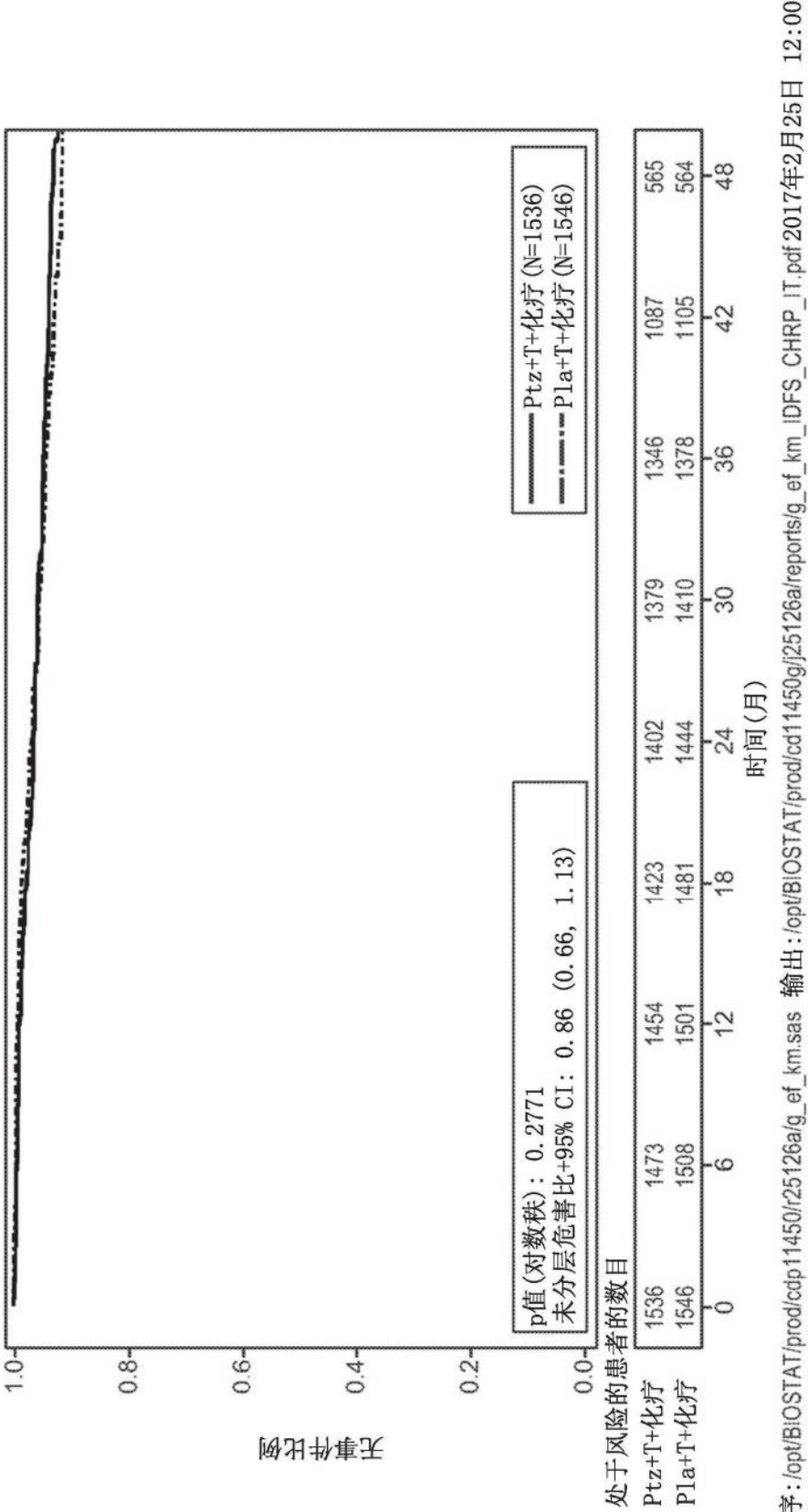


图9C

图9C

截止日期：2016年12月19日  
第一IDFS事件前时间(月)的Kaplan-Meier图，显示经过审查的患者，以治疗方案分，ITT群体  
方案：BIG 4-11/B025126/TOC4939G

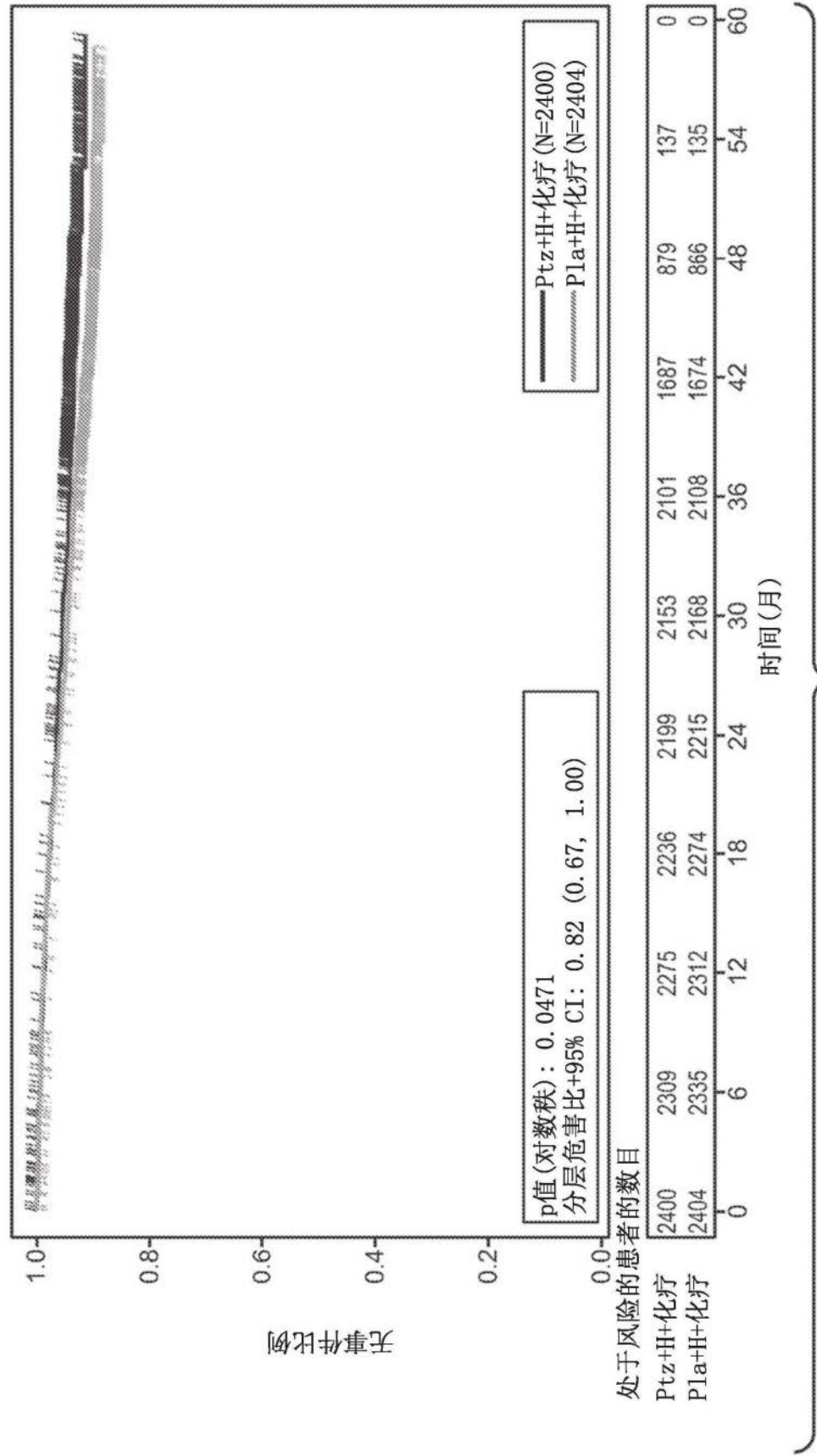


图10

图10

60