

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101505792 B

(45) 授权公告日 2012.10.03

(21) 申请号 200780030855.7

(22) 申请日 2007.08.17

(30) 优先权数据

06017330.9 2006.08.21 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009.02.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2007/007276 2007.08.17

(87) PCT申请的公布数据

W02008/022746 EN 2008.02.28

(73) 专利权人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 托马斯·弗里斯 马克斯·哈斯曼

维尔纳·朔伊尔

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021

代理人 王旭

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

(56) 对比文件

Epstein M et al. HER2-overexpressing human breast cancer xenografts exhibit increased angiogenic potential mediated by vascular endothelial growth

factor (VEGF). 《Breast Cancer Research and Treatment》. 2002, 第 76 卷 (第附加 1 期), 第 S143 页.

Pegram MD et al. Combined biological therapy of breast cancer using monoclonal antibodies directed against HER2/neu protein and vascular endothelial growth factor. 《Semin Oncol》. 2002, 第 29 卷 (第 suppl. 11 期), 第 29-37 页.

Jeanne M. du Manoir et al. Strategies for Delaying or Treating In vivo Acquired Resistance to Trastuzumab in Human Breast Cancer Xenografts. 《Clinical Cancer Research》. 2006, 第 12 卷 (第 3 期), 第 904-906 页.

Pegram M D et al. Phase I combined biological therapy of breast cancer using two humanized monoclonal antibodies directed against HER2 proto-oncogene and vascular endothelial growth factor (VEGF). 《Breast Cancer Research and Treatment》. 2004, 第 88 卷 (第 Suppl. 1 期), 第 S124-S125 页.

审查员 曹扣

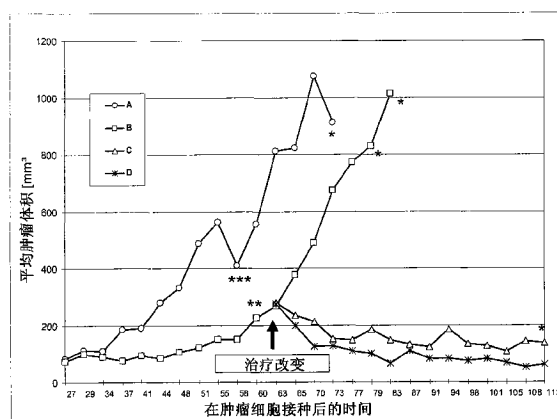
权利要求书 1 页 说明书 17 页 附图 2 页

(54) 发明名称

使用抗-VEGF 抗体的肿瘤疗法

(57) 摘要

本发明提供在使用抗-HER2 抗体治疗的过程中或之后使用抗-VEGF 抗体治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的方法。本发明还提供相对应的制品。



1. 抗 -VEGF 抗体在制备药物中的应用,所述药物用于预防或减少在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后患有复发的 HER2 阳性乳腺癌的患者中的转移,其中所述复发的 HER2 阳性乳腺癌是指在最初对用抗 -HER2 抗体的前期治疗起反应,但是在用所述抗 -HER2 抗体的治疗过程中没有保持该治疗反应的肿瘤患者中,以 HER2 蛋白过量表达为特征的异常细胞的不受控制的生长,其中所述抗 -VEGF 抗体是贝伐单抗,所述抗 -HER2 抗体是曲妥单抗。

2. 权利要求 1 所述的应用,其特征在于所述药物用于在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中施用给所述患者。

3. 权利要求 2 所述的应用,其特征在于所述药物用于施用给遵循用抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法的所述患者。

4. 权利要求 1 所述的应用,其特征在于所述药物用于在用抗 -HER2 抗体治疗之后施用给所述患者。

5. 权利要求 4 所述的应用,其特征在于所述药物用于在用抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法之后施用给所述患者。

使用抗-VEGF 抗体的肿瘤疗法

[0001] 本发明涉及在使用抗-HER2 抗体治疗的过程中或之后使用抗-VEGF 抗体对患有复发的 HER2 阳性癌症的患者进行治疗。

[0002] 发明背景

[0003] 血管发生参与各种病症的发病机理,所述疾病包括实体瘤、眼内新血管综合征如增殖性视网膜病或年龄相关的黄斑变性 (AMD),类风湿性关节炎,和银屑病 (Folkman, 等, J. Biol. Chem. (生物的化学杂志) 267(1992) 10931-10934 ;Klagsbrun, 等, Annu. Rev. Physiol. (物理学年度综述) 53(1991) 217-239 ;和 Garner, A, Vascular diseases (血管疾病), 在: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach (眼科疾病, 即动力学途径的病理学), Garner, A., 和 Klintworth, G. K, (eds.) 第二版 Marcel Dekker, 纽约, (1994), 第 1625-1710 页)。在实体瘤的情形中, 与正常细胞相比较, 新血管生成允许所述肿瘤细胞获得生长优势和增殖自主性。因此, 在乳腺癌以及在一些其它肿瘤中, 已经观察到在肿瘤切片中的微血管密度与患者存活之间的相关性 (Weidner, 等, N. Engl. J. Med. (新英格兰医学杂志) 324(1991) 1-8 ;Horak, 等, Lancet 340(1992) 1120-1124 ;和 Macchiarini, 等, Lancet 340(1992) 145-146)。

[0004] 血管内皮生长因子 (VEGF) 参与与肿瘤和眼内病症相关的正常和异常的血管发生与新血管生成的调控 (Ferrara, 等, Endocr. Rev. (内分泌综述) 18(1997) 4-25 ;Berkman, 等, J. Clin. Invest. (临床研究杂志) 91(1993) 153-159 ;Brown, 等, Human Pathol. (人类病理学) 26(1995) 86-91 ;Brown, 等, Cancer Res. (癌症研究) 53(1993) 4727-4735 ;Mattern, 等, Brit. J. Cancer (英国癌症学杂志) 73(1996) 931-934 ;和 Dvorak, 等, Am. J. Pathol. (美国病理学杂志) 146(1995) 1029-1039)。抗 VEGF 中和抗体抑制各种人肿瘤细胞系在小鼠中的生长 (Kim, 等, Nature (自然) 362(1993) 841-844 ;Warren, 等, J. Clin. Invest. (临床研究杂志) 95(1995) 1789-1797 ;Borgstrom, 等, Cancer Res. (癌症研究) 56(1996) 4032-4039 ;和 Melnyk, 等, Cancer Res. (癌症研究) 56(1996) 921-924)。WO 94/10202, WO 98/45332, WO 2005/00900 和 W000/35956 提及针对 VEGF 的抗体。人源化的单克隆抗体贝伐单抗 (以商标 **Avastin®** 出售) 是一种用于肿瘤治疗的抗 VEGF 抗体, 并且是批准用于癌症治疗的唯一一种抗-血管发生剂 (WO 98/45331)。

[0005] HER2 是人表皮生长因子受体家族的一员, 并且在其细胞质结构域具有蛋白激酶活性。HER2 在肿瘤细胞中过量表达, 并且与极低的预后和存活有关。因此, HER2 是乳腺癌治疗的有价值的靶标。针对 HER2 的抗体从下列各项中已知: Takai, N., 等, Cancer (癌症) 104(2005) 2701-2708 ;Yeon, C. H., 等, Invest. New Drugs (新药物研究) 23(2005) 391-409 ;Wong, W. M., 等, Cancer Pract. (癌症实践) 7(1999) 48-50 ;Albanell, J., 等, Drugs Today (今日药物) (Barc). 35(1999) 931-46。

[0006] 曲妥单抗 (以商标 **Herceptin®** 出售) 是一种用于治疗 HER2 过表达的 /HER2 基因扩增的转移性乳腺癌的重组人源化抗 HER2 单克隆抗体。预临床研究表明该抗体具有体内和体外抗肿瘤活性。此外, 在小鼠模型中, 在各种抗肿瘤药剂的组合中观察到曲妥单抗抗肿瘤活性的附加的或协同增强。在临床研究中, 在 HER2 过表达转移性乳腺癌患者中观察到存

活的延长。

[0007] WO 2005/012531 描述了在结肠直肠癌、转移性乳腺癌和肾癌的治疗中可以与抗 -ErbB 抗体（例如，**Herceptin®**，还叫作曲妥单抗）和 / 或抗 -VEGF 抗体（例如，**Avastin®**，也叫作贝伐单抗）结合的抗体。依据 WO2005/063816，在转移性乳腺癌的治疗中，抗 -VEGF 抗体可以与抗 -ErbB 抗体组合。依据 WO 98/45331，抗 VEGF 抗体在预防或治疗疾病中的效用可以通过连续或与对那些目的有效的另一种药剂如能够与 HER2 受体结合的抗体组合施用该抗体而提高。WO 2005/00090 和 WO 2003/077841 也公开了抗 -VEGF 抗体与抗 -ErbB2 抗体组合用于肿瘤治疗。Pegram, M. D., 等, Seminars in Oncology (肿瘤学研讨会) 29(2002) 29-37, 涉及抗 -ErbB2 抗体与抗 -VEGF 抗体在治疗乳腺癌中的组合。

[0008] 临床肿瘤学家一致认为，癌症治疗的失败不是必然由原发肿瘤的生长引起，而是由向不同器官的转移性扩散引起，所述原发肿瘤通常用手术进行处理。不同细胞毒性药物对原发肿瘤的消退本身不总是抗转移活性的指征。相反，在对一些抗癌药物的反应中，观察到增强的转移 (Geldof, 等, Anticancer Res. (抗癌研究) 8(1988) 1335-40 ; Murphy, J. Clin. Oncol. (临床肿瘤学杂志) 11(1993) 199-201 ; 和 De Larco, 等, Cancer Res. (癌症研究) 61(2001) 2857-61)。清楚地，存在对开发不但靶向原发肿瘤而且抑制转移的疗法的需要。这些抗 - 转移性活性可以，例如，通过 Schneider, T., 等, Clin. Exp. Metas. (临床实验和转移性) 19(2002) 571-582 所述的方法进行评估。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明包括用抗 -VEGF 抗体制备在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的药物中的应用。

[0011] 另外的实施方案是抗 -VEGF 抗体用于制备在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后用于预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的转移的药物中的应用。

[0012] 本发明还包括在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的抗 -VEGF 抗体。

[0013] 另外的实施方案是在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后用于预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的转移的抗 -VEGF 抗体。

[0014] 优选地，所述用抗 -HER2 抗体治疗是用所述抗 -HER2 抗体进行的第一线的单一疗法。

[0015] 优选地，所述抗 -VEGF 抗体结合的表位与贝伐单抗结合的表位相同。

[0016] 优选地，所述抗 -VEGF 抗体是贝伐单抗。

[0017] 优选地，所述抗 -HER2 抗体是曲妥单抗。

[0018] 在优选实施方案中，本发明包括对患者共同施用所述抗 -VEGF 抗体和所述抗 -HER2 抗体。

[0019] 本发明还提供这样的制品，其包括容器，在所述容器内包括抗 -VEGF 抗体的组合物和药品说明书 (package insert)，所述药品说明书指导该组合物的使用者在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后为患有复发的 HER2 阳性癌症的患者施用所述抗 -VEGF 抗体。

[0020] 发明详述

[0021] 依据本发明，术语“VEGF”指血管内皮细胞生长因子 (Swiss-Prot 号 P15692)，可变剪接形式（参见，例如，Leung, 等, Science (科学), 246(1989) 1306-1309 ; 和 Houck, 等,

Mol. Endocrin. (分子内分泌学) 5 (1991) 1806-14) 和活性片段, 优选其 N 端片段。

[0022] 依据本发明, 术语“抗-VEGF 抗体”是与 VEGF 特异性结合并且表现出抗血管生成活性的抗体。本文优选的人源化抗-VEGF 抗体或变体抗-VEGF 抗体以不大于约 1×10^{-8} M 并且优选地不大于约 5×10^{-9} M 的 Kd 值结合人 VEGF。优选地, 所述抗-VEGF 抗体是单克隆抗体, 其与依据 Presta, 等, Cancer Res. (癌症研究) 57 (1997) 4593-4599 产生的重组人源化抗-VEGF 单克隆抗体 (贝伐单抗) 结合相同的表位。优选的抗体是贝伐单抗。抗-VEGF 抗体及其制备方法, 例如, 记述在 US 6, 054, 297, US 2003/0190317, US 6, 632, 926, US 6, 884, 879, 和 US 2005/0112126 中。

[0023] 贝伐单抗包括突变的人 IgG1 构架区和来自鼠源抗-hVEGF 单克隆抗体的抗原结合互补决定区, 所述抗体阻碍人 VEGF 与其受体的结合。贝伐单抗约 93% 的氨基酸序列, 包括大部分构架区, 是来源于人 IgG1, 并且约 7% 的序列是来自于鼠源抗体 A4. 6. 1。贝伐单抗具有约 149, 000 道尔顿的分子质量, 并且是糖基化的。贝伐单抗及其制备方法在 EP 1325932 中描述。

[0024] 依据本发明, 术语“HER2”是指 185-kDa 的生长因子受体, 还叫作 neu 和 c-erbB-2 (Slamon, 等, Science (科学) 235 (1987) 177-182; Swiss-Prot P04626), 其功能与人乳腺癌细胞中的肿瘤转化相关。已经在 20-30% 的乳腺癌患者中鉴定到这种蛋白的过量表达, 其中它与地方性晚期疾病、肿瘤复发的增加的可能性和减少的患者存活相关。多如 30-40% 的患有胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、卵巢癌、腹膜癌、前列腺癌或结肠直肠癌的患者也可以表现出这种蛋白的过量表达。

[0025] 依据本发明, 术语“抗-HER2 抗体”是特异性结合与鼠源抗-HER2 抗体 4D5 结合的相同的 HER2 表位的抗体, 记述在 Hudziak 等, Mol. Cell. Biol. (分子细胞生物学) 9 (1989) 1165-1172 中。结合“HER2 的 4D5 表位”的抗-HER2 抗体, 包括抗-HER2 抗体 4D5 本身, 及其制备方法, 例如, 记述在 US 6, 054, 297, WO 89/06692, US 6, 399, 063, US 6, 165, 464, US 6, 054, 297, US 5, 772, 997, WO 2003/087131, WO 01/00245, WO 01/00238, WO 00/69460, WO 99/31140 和 WO 98/17797 中。在本发明的优选实施方案中, 所述抗-HER2 抗体是曲妥单抗, 即一种重组的人源化抗-HER2 单克隆抗体 (鼠源抗-HER2 抗体 4D5 的人源化版本, 称为 rhuMAb HER2 或曲妥单抗), 其在抗癌治疗之前已经接受了大量的患有 HER2- 过量表达转移性乳腺癌的患者中是临床活性的。(Baselga 等, J Clin. Oncol. (临床肿瘤学杂志) 14 (1996) 737-744)。曲妥单抗及其制备方法在 EP 590058 中描述。

[0026] “表位 4D5”是抗体 4D5 (ATCC CRL 10463) 结合的在 ErbB2 的细胞外结构域中的区域。这一表位接近 ErbB2 的跨膜区。为了筛选与所述 4D5 表位结合的抗体, 可以进行常规的交叉-封闭测定, 诸如在抗体, 实验室手册 (Antibodies, A Laboratory Manual), 冷泉港实验室编, Harlow 和 David Lane (1988) 中所述的。备选地, 可以进行表位定位, 以评估所述抗体是否与 ErbB2 的 4D5 表位结合。

[0027] 当用于本申请时, 术语“表位”表示能够特异性与抗体结合的蛋白决定子。表位通常由分子的化学活性表面组如氨基酸或糖侧链组成, 并且通常具有特异性的三维结构特征, 以及特异性的电荷特征。构象和非构象表位区别在于当存在变性溶剂时, 失去与前者而不是与后者的结合。取决于所述表位所属于的抗原的大小, 每个抗原多于一个表位可以是可利用的, 同样导致每个抗原多于一个抗体结合位点 (= 表位) 的可能性。

[0028] 抗体可以针对例如人、小鼠、或大鼠多肽产生。本发明包括特异性识别靶点抗原的抗体，多克隆或单克隆的。利用本领域熟练的技术人员已知的标准免疫学技术生成这样的抗体。抗体可以是多克隆的或单克隆的，或者可以重组产生，诸如人源化抗体。在竞争性检测系统中可以容易地进行鉴定，以判断抗体是否不结合与已知的治疗抗体结合的表位相同的表位。

[0029] 与相同靶点抗原结合的两个抗体的可能的表位重叠可以在竞争性检测系统的帮助下进行检测。对于这一目的，例如，在酶免疫测定的帮助下，检测新抗体与已知的抗体竞争性结合固定的靶点抗原的程度。对于这一目的，将适当固定的靶点抗原用处于标记形式的已知抗体和过量的待检测的抗体温育。通过检测其中结合的标记，可以容易地确定所述待检测的抗体可以从所述结合位点（=表位）替换所述已知抗体的程度。如果在相同浓度或在更高的浓度存在大于 10% 优选大于 20% 的替换，优选地在参照所述已知抗体存在 10^5 - 倍过量的待检测抗体的情形中，那么存在表位重叠。这意味着所述待检测的抗体与所述已知抗体一样结合相同的表位。

[0030] 术语“靶点抗原”涉及被其相对应的治疗抗体结合的生物分子。例如，针对 HER2 的治疗抗体（= ErbB2 或 p 185^{neu}）如 Herceptin® 或 Omnitarg® 的靶点抗原是 HER2，针对 EGFR 的治疗抗体如 Erbitux® 的靶点抗原是 EGFR，针对 VEGF 的治疗抗体如 Avastin® 的靶点抗原是 VEGF。所述靶点抗原可以是可溶的，即分泌的或脱落的（shed），是靶点抗原或（细胞-）膜结合的靶点抗原。

[0031] 免疫测定是熟练的技术人员公知地。实施这样的测定的方法以及实践应用和步骤总结在相关的教科书中。相关的教科书的实例是 Tijssen, P., Preparation of enzyme-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates (酶-抗体或其它酶-大分子缀合物的制备), 在: Practice and theory of enzyme immunoassays (酶免疫测定的实践和理论) 中, Burdon, R. H. 和 v. Knippenberg, P. H. (eds.), Elsevier, Amsterdam (1990), 第 221-278 页; 以及 Colowick, S. P. 和 Caplan, N. O. (eds.), Methods in Enzymology (酶学方法), Academic Press (学院出版社) 中关于免疫学检测方法的各卷, 特别是第 70, 73, 74, 84, 92 和 121 卷。

[0032] 术语 HER2 受体蛋白的“过量表达”意欲指示在来自患者的特定组织或器官内的肿瘤的细胞中，相对于在来自该组织或器官的正常细胞中的表达水平，HER2 受体蛋白的表达的异常水平。患有特征在于 HER2 受体的过量表达的癌症的患者可以通过本领域已知的标准测定确定。优选地，过量表达使用免疫组织化学 (IHC) 检测在冷冻或石蜡-包埋的组织切片的固定细胞中检测。当与组织学染色偶联时，可以确定被靶向的蛋白的区域，并且可以定量或半定量地检测其在肿瘤内的表达程度。所述 IHC 检测测定在本领域内是已知的，并且包括临床试验测定 (CTA)，商购的 LabCorp 4D5 检测，和商购的 DAKO HercepTest® (DAKO, Carpinteria, Calif.)。后一种测定使用 0-3+ 细胞染色 (0 是正常表达, 3+ 表示最强的阳性表达) 的特定范围来鉴定具有 HER2 蛋白过量表达的癌症 (参见, the Herceptin® (trastuzumab) full prescribing information (Herceptin® (曲妥单抗) 完全开药信息); 1998 年 9 月; Genentech, 公司, San Francisco, 加利福尼亚)。因此，患有特征在于在 1+, 2+, 或 3+, 优选地 2+ 或 3+, 更优选地 3+ 范围内的 HER2 蛋白过量表达的癌症的患者将得益于本发明的治疗方法。

[0033] 术语“HER2 阳性癌症”是指特征在于 HER2 蛋白的过量表达的癌症疾病,诸如乳腺癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、卵巢癌、腹膜癌、前列腺癌、或结肠直肠癌。

[0034] 所述 HER2 阳性癌症可以是,例如,肺癌,非小细胞肺 (NSCL) 癌, Bronchioloalviolar 细胞肺癌,骨癌,胰腺癌,皮肤癌,头或颈癌,皮肤或眼内黑素瘤,子宫癌,卵巢癌,直肠癌,肛门区癌,胃癌 (stomach cancer),胃癌 (gastric cancer),结肠癌,乳腺癌,子宫癌,输卵管癌,子宫内膜癌,宫颈癌,阴道癌,外阴癌,霍奇金病,食道癌,小肠癌,内分泌系统癌,甲状腺癌,甲状旁腺癌,肾上腺癌,软组织癌,尿道癌,阴茎癌,前列腺癌,膀胱癌,肾或尿道癌,肾细胞癌,肾盂癌,间皮瘤,肝细胞癌,胆囊癌,慢性或急性白血病,淋巴细胞淋巴瘤,中枢神经系统 (CNS) 癌,脊柱肿瘤,脑干神经胶质瘤,多形式成胶质细胞瘤 (glioblastoma multiforme),星形细胞瘤,神经鞘瘤,室管膜瘤,成神经管细胞瘤,脑膜瘤,鳞状细胞瘤,垂体腺瘤,包括任一种上述癌症的难控制形式,或一种或多种上述癌症的组合。癌前病症或损伤包括,例如,由下列各项组成的组:口腔黏膜白斑病,光化性角化病 (actinic keratosis) (光化性角化病 (solar keratosis)),结肠或直肠的癌前期息肉,胃上皮发育异常,腺瘤发育异常,遗传性非息肉结肠癌综合征 (HNPCC),巴特雷食道病,膀胱发育异常,和癌前期宫颈病症。在优选实施方案中,所述癌症是复发的 HER2 阳性乳腺癌,其优选地在用抗 -HER2 抗体的第一线单一治疗的过程中或之后进行治疗,其中所述抗 -HER2 抗体优选地是曲妥单抗。

[0035] 术语“乳腺癌”是指异常乳腺细胞的不受控制的生长。它包括原位导管癌,侵入性导管癌,原位小叶癌,侵入性小叶癌,脊髓癌,乳头的佩吉特病和转移性乳腺癌。

[0036] 术语“复发的癌症”是指在最初对前期治疗起反应但是没有保持该治疗反应的肿瘤患者中的异常细胞的不受控制的生长。术语“复发的 HER2 阳性癌症”是指在最初对用抗 -HER2 抗体优选曲妥单抗的前期治疗起反应但是在用所述抗 -HER2 抗体的治疗过程中没有保持该治疗反应的肿瘤患者中,以 HER2 蛋白过量表达为特征的异常细胞的不受控制的生长。最初对用抗 -HER2 抗体优选曲妥单抗的前期治疗起反应但是没有保持该治疗反应的肿瘤患者称为“复发者”。

[0037] 治疗反应 (RE) 是基于通过来自临床和实验室数据的结果确定的执业者的医学判断,所述结果通常在本领域中已知用于评估患者治疗。例如,这样的数据可以从临床检查、细胞学和组织学技术、内窥镜和腹腔镜检查、超声、CT 和 MRI 扫描、胸腔 X-射线和乳房 X 线摄影术、和测量肿瘤标记的浓度获得,所述肿瘤标记诸如 CEA、Cyfra、CA15-3、白介素 8 和可溶的 HER2。优选地,RECIST 标准可以用来确定肿瘤反应 (RE)。 (Therasse 等, J. Nat. Cancer Institute (国家癌症研究所杂志). 92(2000)205-216)。

[0038] 按照这些 RECIST 标准,实体瘤的肿瘤反应 (Therasse, 等 J. Nat. Cancer Institute (国家癌症研究所杂志). 92(2000)205-216) 依赖于体积发展或肿瘤消减 (例如,通过 CT 测量的) 分成 4 个水平:完全反应 (CR) 或部分反应 (PR),稳定疾病 (SD) 和进展性疾病 (PD) (见表 1)。此外,欧洲癌症研究和治疗组织 (EORTC) 提议依赖于通过 2-[¹⁸F]-氟 -2-脱氧葡萄糖正电子发射体层摄影术 (FDG-PET) 测量的肿瘤的新陈代谢而分成 4 个水平 (Young H., 等, Eur J Canc (欧洲癌症杂志) 35(1999)1773-1782 和 Kelloff, G. J., 等, Clin Canc Res (临床癌症研究) 11(2005)2785-2808):完全代谢反应 (CMR) 或部

分代谢反应 (PMR), 稳定代谢疾病 (SMD) 和进展性代谢疾病 (PMD) (见表 2)。

[0039] 表 1 :CT- 标准 (依据 RECIST)

[0040]

CT- 测量 :在总最大直径中的变化	RECIST
消失 ;在 4 周 (在治疗开始后) 符合	CR
30%减少 ;在 4 周符合	PR
PR 和 PD 标准都不符合	SD
20%增加,在增加疾病前没有记录 CR, PR, SD	PD

[0041] 表 2 :提议的 FDG-PET 标准 (依据 EORTC, 见 Young H., 等, Eur J Canc (欧洲癌症杂志) 35 (1999) 1773-1782)

[0042]

PET- 测量	提议的 FDG-PET 标准
2-[¹⁸ F]- 氟 -2- 脱氧葡萄糖 (FDG) 肿瘤吸收的完全消退	CMR
在一个治疗周期后,最少减少标准化吸收值 (SUV) 的 15-25%,并且在多于一个治疗周期后 > 25%	PMR
标准化的吸收值 (SUV) 增加 < 25% 或 SUV 减少 < 15% FDG 肿瘤 (> 20% 最长尺寸) 吸收的程度没有明显的增加	SMD

SUV 增加 > 25% FDG 肿瘤吸收的明显 增加 (最长尺寸的 > 20%) 在转移性损伤中出现 新的 FDG 吸收	PMD
--	-----

[0043] 因此,依据本发明,“反应 (RE)”和“无 - 反应 (NR)”最优选地基于使用上述 RECIST 和 FDG-PET 标准由计算机体层摄影 (CT) 和 2-[18F]- 氟 -2- 脱氧葡萄糖正电子发射体层摄影术 (FDG-PET) 的结合获得的数据确定 (Kelloff, G. J., 等, Clin Canc Res (临床癌症研究) 11 (2005) 2785-2808 和 Young H., 等, Eur J Canc (欧洲癌症杂志) 35 (1999) 1773-82)。因此,如下确定本发明所述的反应 (RE) 和无 - 反应 (NR) :

[0044] 反应 (RE) :CR 或 PR 通过 CT-RECIST 标准确立 (表 1), 并且同时 CMR 或 PMR 通过 FDG-PET 确立 (表 2)。因此,反应 (RE) 意指下述关于组合的 CT 和 PET 测量的 4 种情形中的一种 :CR 和 CMR, PR 和 PMR, CR 和 PMR, 以及 PR 和 CMR。

[0045] 无 - 反应 (NR) :SD 或 PD 通过 CT-RECIST 标准确立 (表 1), 并且同时 SMD 或 PMD 通过 FDG-PET 确立 (表 2)。因此,下述 4 种关于组合的 CT 和 PET 测量的情形表示无 - 反应 (NR) :SD 和 SMD, SD 和 PMD, PD 和 SMD, 以及 PD 和 PMD。

[0046] 通常所述反应在治疗开始后约 3-8 周确定,优选地在约 6 周确定。这种应答确定通常以 4-8 周,优选地 6-8 周的时间间隔重复。当在第一次确定鉴定了显著的反应 (RE) 时,那么复发 (其意味着在第一次确定之后的无反应 (NR)) 可以在第二次应答确定时最早确定。使用抗 -VEGF 抗体治疗最早在确定了 HER2 阳性癌症复发后开始。优选地,使用所述抗 -VEGF 抗体治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者最早在开始用所述抗 -HER2 抗体治疗的时刻 12 周后,更优选地在 15 周后,并且更优选地在 18 周后开始。在优选实施方案中,待治疗的癌症是复发的 HER2 阳性癌症,优选是复发的 HER2 阳性乳腺癌。

[0047] 术语“患有复发的 HER2 阳性癌症的患者”是指这样的患者,在他们中在第一次反应确定后确定为反应 (RE),并且在第二次或随后的反应确定时确定为无 - 反应 (NR)。

[0048] 当用于本文时,术语“患者”优选是指需要治疗癌症、或癌前期病况或损伤的治疗的人。然而,术语“患者”还可以指需要治疗的非人动物,特别优选哺乳动物如狗、猫、马、牛、猪、绵羊和非人灵长类。

[0049] 术语“组”指一组患者以及亚组患者。

[0050] 本发明包括抗 -VEGF 抗体用于制备药物中的应用,所述药物用于在抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者。

[0051] 本发明还包括在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的抗 -VEGF 抗体。所述抗 -VEGF 抗体优选是贝伐单抗,其优选地在用曲妥单抗的第一线单一疗法后施用。

[0052] 在优选实施方案中,本发明包括抗 -VEGF 抗体用于制备药物中的应用,所述药物用于在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者。这是指抗 -VEGF 抗体用于制备药物中的应用,所述药物用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患

者,其包括在 HER2 阳性癌症复发后向所述患者共同施用所述抗 -VEGF 抗体和所述抗 -HER2 抗体。

[0053] 因此,优选地,所述药物在用所述抗 -HER2 抗体治疗的过程中施用给患者。在优选实施方案中,本发明包括抗 -VEGF 抗体用于制备药物中的应用,其中所述药物在用抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法的过程中用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者。因此,优选地,所述药物在用所述抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法过程中施用给患者。

[0054] 在优选实施方案中,本发明包括抗 -VEGF 抗体用于制备药物中的应用,其中所述药物用于在用抗 -HER2 抗体治疗之后治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者。这是指抗 -VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者,其包括在 HER2 阳性癌症复发后将所述抗 -VEGF 抗体单独地施用给所述患者。

[0055] 因此,优选地,所述药物在用所述抗 -HER2 抗体治疗之后施用。在优选实施方案中,本发明包括抗 -VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法之后治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者。因此,优选地,所述药物在用所述抗 -HER2 抗体的第一线单一疗法之后施用给患者。

[0056] 优选地,所述抗 -VEGF 抗体与贝伐单抗结合相同的表位。

[0057] 优选地,所述抗 -VEGF 抗体是贝伐单抗。

[0058] 优选地,所述抗 -HER2 抗体是曲妥单抗。

[0059] 当用于本发明时,术语“第一线治疗”指为治疗癌症或转移提供的第一类型的药物治疗。这可以是在诊断和 / 或手术之后第一线提供的辅助性或新佐剂化学治疗或免疫治疗。当用于本文时,术语“辅助性化学治疗或免疫治疗”是指在手术后的治疗,目的是预防癌症复发,术语“新佐剂化学治疗或免疫治疗”当用于本文时是指在手术之前提供的治疗,目的是减小肿瘤的尺寸。当用于本文时,术语“化学治疗”是指利用化学或生物化学物质如细胞毒性药物如 5- 氟尿嘧啶进行的癌症化学治疗,或用单克隆抗体如曲妥单抗,或用激酶抑制剂如 erlotinib 治疗癌症的靶向治疗。

[0060] 当用于本文时,术语“第一线的单一疗法”是指如上文定义的用单一化学或生物化学物质进行的第一线治疗(与使用两种或多种化学或生物化学物质的第一线治疗的术语“第一线的组合治疗”相反)。

[0061] 在优选实施方案中,本发明包括向患者共同施用所述抗 -VEGF 抗体和所述抗 -HER2 抗体。

[0062] 术语“制备药物的方法”涉及制备用于本文所述的适应症并且特别是通常用于治疗肿瘤、肿瘤转移或癌症的药物。

[0063] 本发明还包括在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的抗 -VEGF 抗体。

[0064] 在优选实施方案中,本发明包括在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的方法,所述方法包括在 HER2 阳性癌症复发后向所述患者共同施用治疗有效量的抗 -VEGF 抗体和所述抗 -HER2。

[0065] 在优选实施方案中,本发明包括在用抗 -HER2 抗体治疗之后治疗患有复发的 HER2 阳性癌症的患者的方法,所述方法包括在 HER2 阳性癌症复发之后向所述患者单独施用治疗有效量的抗 -VEGF 抗体。

[0066] 当用于本发明时,除非另外指明,术语“治疗”意指对患者中肿瘤生长、肿瘤转移、或其它引起癌症或瘤性细胞的部分或完全逆转、减轻、抑制发展,或者防止。当用于本文时,除非另外指明,术语“治疗”指治疗的行为。

[0067] 短语“治疗方法”或其等价体,例如,当用于癌症时,指设计成减少或消除患者中的癌细胞数目或减轻癌症症状的作用方法或过程。“治疗癌症或另一种增殖性病症的方法”不必意指所述癌细胞或其它病症将实际上被消除,细胞数目或病症将实际上被减少,或者癌症或其它病症的症状将实际上被减轻。通常,治疗癌症的方法将甚至以低成功可能性而进行,但是,给出患者的医疗史和估计的存活预测,仍然认为其是一种大体上有益的作用过程。

[0068] 抗体以治疗有效量施用给患者是不证自明的,所述治疗有效量指将引发组织、系统、动物或人的生物或医学反应的受试化合物或组合的量,所述组织、系统、动物或人是研究者、兽医、医学医生或其他临床医师所寻找的。

[0069] 抗-VEGF 抗体施用的量或抗-VEGF 和抗-HER2 抗体共同施用的量以及施用的时间选择将取决于被治疗的患者的类型(人种、性别、年龄、体重等)和病症,以及被治疗的疾病或病症的严重性。通常使用抗-VEGF 和抗-HER2 抗体如贝伐单抗和曲妥单抗的典型剂量。例如,施用本发明所述的抗体的剂量可以是约 $1\mu\text{g/kg}$ - 50mg/kg (例如, 0.1 - 20mg/kg) 抗体,通过一次或多次分开的施用,或通过连续的输注。典型的日常剂量可能在约 $1\mu\text{g/kg}$ -约 100mg/kg 范围内。在优选的方面,所述抗体每两到三周施用,以在约 1mg/kg -约 15mg/kg 范围内的剂量。曲妥单抗的优选剂量是作为连续输注施用的 4mg/kg 的负载剂量,并且随后作为连续输注施用的 3 次每周一次(3-weekly) 的 2mg/kg - 6mg/kg 的输注,优选 2mg/kg 的输注,直到检测到疾病进展。贝伐单抗的优选剂量是以 IV 输注 5mg/kg - 15mg/kg ,优选地 5mg/kg - 10mg/kg ,更优选 5mg/kg ,每 14 天一次。

[0070] 术语“在用抗-HER2 抗体治疗的过程中”是指“共同-施用”或“正在共同施用”抗-VEGF 抗体,所述抗-VEGF 抗体是除了抗-HER2 抗体之外被施用。“共同施用”意指除了所述抗-HER2 抗体之外同时或顺序地施用所述抗-VEGF 抗体。共同施用可以是同时的或以任何顺序先后的,其中优选存在一段时间阶段,而两种(或全部)活性试剂同时发挥它们的生物学活性。当两种抗体同时施用时,剂量在同一天以一次给药施用,例如,在一次连续的输注过程中。当两种抗体顺序地施用时,剂量在同一天以两次分开的给药施用,例如,两次分开的连续输注,或在第一天施用一种抗体,并且在第 2-7 天施用第二种抗体,优选地在第 2-4 天施用第二种抗体。关于抗-VEGF 抗体和抗-HER2 抗体的保持剂量的术语“共同施用”或“正在共同施用”意指所述保持剂量可以同时施用,例如,在一次连续的输注过程中,如果治疗周期对于两种抗体是合适的。或者所述保持剂量是顺序地施用,在一或数天内,例如,抗 HER2- 抗体的保持剂量每 3 周施用,并且抗-VEGF 抗体的保持剂量每 2 周施用。对于两种抗体可以使用其它的治疗周期/通常 1-4 周,优选 2-3 周。

[0071] 术语“在用抗-HER2 抗体治疗之后”是指在停止用所述抗-HER2 抗体的治疗后实施的抗-VEGF 抗体施用。

[0072] 在优选实施方案中,所述药物有效用于减少在这样的患者中的转移,增加这样的患者的生存持续时间,增加这样的患者的连续的自由生存,增加反应的持续时间,导致被治疗的患者的统计学显著和临床有意义的改善,这是通过生存持续时间、连续的自由生存、反

应速率或反应的持续时间测量的。在优选实施方案中,所述药物有效用于增加在患者组中的反应速率。

[0073] 在优选实施方案中,在用抗-HER2 抗体治疗的过程中,通过向患者共同施用所述抗-VEGF 抗体,优选贝伐单抗,和所述抗-HER2 抗体,优选曲妥单抗,所述药物有效用于减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0074] 在优选实施方案中,本发明包括抗-VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗-HER2 抗体治疗的过程中或之后预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0075] 其它实施方案是抗-VEGF 抗体用于在用抗-HER2 抗体治疗的过程中或之后预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。所述抗-VEGF 抗体优选是贝伐单抗,其优选地在用曲妥单抗的第一线单一疗法之后施用。

[0076] 在优选实施方案中,本发明包括抗-VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗-HER2 抗体治疗的过程中预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0077] 因此,优选地,所述药物在用所述抗-HER2 抗体治疗的过程中施用。

[0078] 在优选实施方案中,本发明包括抗-VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗-HER2 抗体的第一线单一疗法的过程中预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0079] 因此,优选地,所述药物在用所述抗-HER2 抗体的第一线单一疗法的过程中施用。

[0080] 在优选实施方案中,本发明包括抗-VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗-HER2 抗体治疗之后预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0081] 因此,优选地,所述药物在用所述抗-HER2 抗体治疗之后施用。

[0082] 在优选实施方案中,本发明包括抗-VEGF 抗体用于制备药物的应用,所述药物用于在用抗-HER2 抗体的第一线单一疗法之后预防或减少患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移。

[0083] 因此,优选地,所述药物在用所述抗-HER2 抗体的第一线单一疗法之后施用。

[0084] 依据本发明,术语“转移”指癌细胞从原发性肿瘤向患者中的一个或多个其它位点的传播。确定癌症是否已经转移的方法在本领域内是已知的,并且包括骨扫描、胸腔 X-线、CAT 扫描、MRI 扫描、与肿瘤标记检测。

[0085] 当用于本发明时,术语“用于预防转移的药物”或“用于减少转移的药物”是指所述药物以这样的方式作为针对在患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中的转移的预防药剂的应用,所述方式抑制或减少癌细胞从原发性肿瘤向患者中的一个或多个其它位点的进一步传播。这意味着预防、延迟或抑制了原发性、转移瘤或癌症的转移。优选地,预防或减少肝的转移,这意味着癌细胞从原发性肿瘤向肝的转移性传播被预防或抑制。

[0086] 在本发明的情形中,额外的其它细胞毒性的、化学治疗或抗癌药,或增强所述药剂的作用的化合物可以用在所述抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体的组合治疗,或在先前治疗失败后,优选地在用抗-HER2 抗体的先前的第一线单一疗法失败后(即,在用第一线的曲妥单抗单一疗法后患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中),用在抗-VEGF 抗体治疗中。优选地,在不使用所述额外的细胞毒性的、化学治疗或抗癌药、或增强所述药剂的作用的化合物的条件下,使用所述抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗或所述抗-VEGF 抗体治疗。

[0087] 所述药剂包括,例如:烷化剂或具有烷化作用的药剂,诸如环磷酰胺 (CTX;例如, **cytoxan®**), 苯丁酸氮芥 (CHL;例如 **leukeran®**), 顺铂 (CisP;例如, 川铂注射剂® (**platinol®**)), 白消安 (例如, 马利兰® (**myleran®**)), 美法仑, 卡莫司汀 (BCNU), 链脲霉素, 曲他胺 (TEM), 丝裂霉素 C 等; 抗代谢物, 诸如甲氨蝶呤 (MTX), 依托泊苷 (VP16;例如, 凡必士® (**vepesid®**)), 6- 巯嘌呤 (6MP), 6- 硫鸟嘌呤 (6TG), 阿糖胞苷 (Ara-C), 5- 氟尿嘧啶 (5-FU), 卡培他滨 (例如, 适罗达® (**Xeloda®**)), 达卡巴嗪 (DTIC), 等; 抗生素, 诸如放线菌素 D, 多柔比星 (DXR;例如, 阿霉素®), 柔红霉素 (道诺霉素), 博来霉素, 光辉霉等; 生物碱, 诸如长春生物碱如长春新碱 (VCR), 长春碱等; 以及其它抗肿瘤药, 诸如紫杉醇 (例如, 泰素®) 和紫杉醇衍生物, 细胞生长抑制剂, 糖皮质激素诸如地塞米松 (DEX;例如, **decadron®**) 和皮质类固醇诸如泼尼松, 核苷酶抑制剂诸如羟基脲, 氨基酸耗尽酶如天冬酰胺酶, 亚叶酸和其它叶酸衍生物, 以及类似的、不同的抗肿瘤药。下述药剂也可以用作添加剂: arnifostine (例如, **ethyol®**), 放线菌素 D, 氮芥 (mechlorethamine) (氮芥 (nitrogen mustard)), 链佐星, 环磷酰胺, 洛莫司汀 (CCNU), 多柔比星脂质体 (例如, 盐酸多柔比星脂质体®), 吉西他滨 (例如, **gemzar®**), 柔红霉素脂质体 (例如, **daunoxome®**), 丙卡巴肼, 丝裂霉素, 多西他赛 (例如, **taxotere®**), 阿地白介素, 卡铂, 奥沙利铂, 克拉屈滨, 喜树碱, CPT 11 (伊立替康), 10- 羟基 7- 乙基 - 喜树碱 (SN38), 氟尿苷, 氟达拉滨, 异环磷酰胺, 伊达比星, 美钠, 干扰素 β , 干扰素 α , 米托蒽醌, 托泊替康, 亮丙立德, 甲地孕酮, 美法仑, 巯嘌呤, 普卡霉素, 米托坦, 培门冬酶, 喷司他丁, 哌泊溴烷, 普卡霉素, 他莫昔芬, 替尼泊苷, 睾内酯, 硫鸟嘌呤, 塞替哌, 乌拉莫司汀, 长春瑞滨, 苯丁酸氮芥。优选地, 在没有这类额外试剂的条件下, 使用所述抗 -VEGF 抗体加抗 -HER2 抗体组合治疗或所述抗 -VEGF 抗体治疗。

[0088] 在本发明的情形中, 抗激素药可以用在抗 -VEGF 抗体加抗 -HER2 抗体组合治疗中, 或在先前治疗失败后, 优选是用抗 -HER2 抗体的先前的第一线单一疗法失败后 (即, 在患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中), 用在抗 -VEGF 抗体治疗中。当用于本文时, 术语“抗激素药”包括天然的或合成的起作用调控或抑制激素对肿瘤的作用的有机或肽化合物。抗激素药包括, 例如: 类固醇受体拮抗剂, 抗雌激素如他莫昔芬, 雷洛昔芬, 芳香酶抑制性 4(5) - 咪唑, 其它芳香酶抑制药, 42- 羟基他莫昔芬, 曲沃昔芬, keoxifene, LY 117018, 奥那司酮, 和托瑞米芬 (例如, **Fareston®**); 抗雄激素药如氟他胺, 尼鲁米特, 比卡鲁胺, 亮丙立德, 和戈舍瑞林; 以及上述任一种的药用盐、酸或衍生物; 糖蛋白激素的激动剂和 / 或拮抗剂, 如滤泡刺激激素 (FSH), 甲状腺刺激激素 (TSH), 和黄体生成素 (LH) 与 LHRH (促性腺激素释放激素); LHRH 激动剂醋酸戈舍瑞林, 可以 **Zoladex®** (AstraZeneca) 商购; LHRH 拮抗剂 D- 丙氨酸酰胺 (alaninamide) N- 乙酰基 -3-(2- 萘基) -D- 丙氨酸 -4- 氯 -D- 苯丙氨酸 -3-(3- 吡啶基) -D- 丙氨酸 -L- 丝氨酸 -N6-(3- 吡啶基羰基) -L- 赖氨酸 -N6-(3- 吡啶基羰基) -D- 赖氨酸 -L- 亮氨酸 -N6-(1- 甲基乙基) -L- 赖氨酸 -L- 脯氨酸 (例如, **Antide®**, Ares-Serono); LHRH 拮抗剂醋酸加尼瑞克; 类固醇抗雄激素醋酸环丙孕酮 (CPA) 和醋酸甲地孕酮, 可以 **Megace®** (Bristol-Myers Oncology) 商购; 非类固醇抗雄激素氟他胺 (2- 甲基 N-[4, 20- 硝基 -3-(三氟甲基) 苯基] 丙酰胺), 可以 **Eulexin®** (Schering 公司) 商购; 非类固醇抗雄激素尼鲁米特, (5,5- 二甲基 -3-[4- 硝基 -3-(三氟甲基 -4' - 硝基苯基) -4,4- 二甲

基-咪唑烷二酮);和其它非许可的受体的拮抗剂,诸如 RAR(视黄酸受体),RXR(类视黄醇 X 受体),TR(甲状腺受体),VDR(维生素-D 受体)等的拮抗剂。优选地,在不使用这类额外的抗激素药的条件下,使用所述抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗或所述抗-VEGF 抗体治疗。

[0089] 上述细胞毒性和其它抗癌药在化学治疗方案中的应用在癌症治疗领域中通常被充分表征,并且它们的应用在这里是处于监测耐受性和功效和控制施用途径和剂量的同一考虑中,具有一些调整。例如,细胞毒性剂的实际剂量可以随着通过使用组织培养方法确定的患者的培养的细胞反应而变化。通常,与不存在额外的其它药剂时所用的量相比,所述剂量将是减少的。

[0090] 有效细胞毒性药的典型剂量可以在供应商推荐的范围内,并且在由体外反应或在动物模型中的反应所指示的情形中,可以减少多至约一个数量级浓度或量。因此,基于原代培养的恶性细胞或组织培养的组织样品的体外反应或在适当的动物模型中观察到的反应,实际剂量将取决于医师的判断、患者的病况、和治疗方法的功效。

[0091] 在本发明的情形中,其它的抗增殖药可以用在抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗中,或在先前治疗失败后,优选是用抗-HER2 抗体的先前的第一线单一疗法失败后,用在抗-VEGF 抗体治疗中,所述抗增殖药包括,例如:酶法尼基蛋白转移酶的抑制剂和受体酪氨酸激酶 PDGFR 的抑制剂,包括在美国专利号 6,080,769;6,194,438;6,258,824;6,586,447;6,071,935;6,495,564;6,150,377;6,596,735 和 6,479,513,以及国际专利公布 WO 01/40217 中公开和要求的化合物。优选地,在不使用所述其它的抗增殖药的条件下,使用所述抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗或所述抗-VEGF 抗体治疗。

[0092] 在本发明的情形中,除了抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗或在先前治疗失败后,优选是用抗-HER2 抗体的先前的第一线单一疗法失败后(即,在患有复发的 HER2 阳性癌症的患者中)的抗-VEGF 抗体治疗之外,可以实行有效量的电离辐射和/或可以使用放射药物。放射源可以在被治疗的患者的外部或内部。当所述放射源在患者外部时,该治疗叫作外光束放射治疗(EBRT)。当放射源在患者内部时,治疗叫作近距放射治疗(BT)。用于本发明情形中的放射活性原子可以选自包括但不限于下列各项的组:镭,铯-137,铪-192,钨-241,金-198,钴-57,铜-67,镓-67,碘-123,碘-131,和铟-111。当本发明所述的 EGFR 激酶抑制剂是抗体时,将所述抗体用这样的放射活性同位素标记也是可能的。优选地,在不使用所述电离辐射的条件下,使用所述抗-VEGF 抗体加抗-HER2 抗体组合治疗或所述抗-VEGF 抗体治疗。

[0093] 放射治疗是用于控制不能切除的或不宜手术的肿瘤和/或肿瘤转移的标准治疗。当放射治疗与化学治疗组合时,已经观察到改善的结果。放射治疗是基于这样的原理,即,递送至靶点区域的高剂量的射线将导致肿瘤和正常组织中的生殖细胞的死亡。放射剂量方案通常根据吸收的射线剂量(Gy)、时间和级分而定义,并且必须由肿瘤学家认真地定义。患者接受的射线的量将取决于各种考虑,但是两种最重要的考虑是肿瘤相对于机体的其它关键结构或器官的位置,以及肿瘤扩散的程度。关于进行放射治疗的患者的典型的治疗疗程应该是持续 1-6 周时间的治疗时间表,将在 10-80Gy 之间的总剂量施用给患者,单日常级分约 1.8-2.0Gy,一周 5 天。在本发明的优选实施方案中,当人患者中的肿瘤用本发明的组合治疗和放射进行治疗时,存在增效作用。换言之,当与放射组合,任选地与其它化学治疗

或抗癌药组合时,通过包括本发明的组合或单一疗法的药剂方式对肿瘤生长的抑制得以增强。辅助的放射治疗的参数,例如,包含在国际专利公布 WO 99/60023 中。

[0094] 所述抗体按照已知的方法施用给患者,作为大丸剂 (bolus) 通过静脉内施用,或者通过在某一时间阶段连续输注,通过肌内,腹膜内,脑脊液内 (intracerebrospinal),皮下,关节内,滑膜内,或鞘内途径施用。优选静脉内或皮下施用所述抗体。

[0095] 本发明还提供这样的制品,其包括容器、在所述容器内包括抗 -VEGF 抗体的组合物、和药品说明书,所述药品说明书指导该组合物的使用者在用抗 -HER2 抗体治疗的过程中或之后为患有复发的 HER2 阳性癌症的患者施用所述抗 -VEGF 抗体。

[0096] 术语“药品说明书”是指通常包含在商购治疗产品的包装内的说明书,其可以包括关于所述治疗产品的应用的适应证、用途、剂量、施用、禁忌症、和 / 或警告的信息。

[0097] 在优选实施方案中,所述制品容器可以进一步包括药用载体。所述制品可以进一步包括无菌稀释剂,其优选地保存在分开的其它容器中。

[0098] 当用于本发明时,“药用载体”意欲包括与药物施用相容的任何和全部物质,包括溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、和与药物施用相容的其它物质和化合物。除了任何常规的介质或试剂与所述活性化合物相容之外,考虑其在本发明的组合物中的应用。还可以将补充的活性化合物结合在所述组合物中。

[0099] 提供下述实施例和附图以辅助对本发明的理解,本发明的真正的范围是在后附的权利要求中提出的。应该理解,在不背离本发明的精神的条件下,可以在所述方法中进行修改。

[0100] 附图描述

[0101] 图 1 在曲妥单抗治疗失败后, a) 组合曲妥单抗和贝伐单抗治疗和 b) 单独的贝伐单抗治疗对肿瘤生长的抗肿瘤活性。肿瘤体积 (mm^3) 的平均值绘制在 y- 轴上;将肿瘤细胞注射后的天数绘制在 x- 轴上。A) 赋形剂 (圆圈), B) 曲妥单抗 (正方形), 以 30mg/kg 负荷剂量和 15mg/kg 维持剂量,每周一次。在第 60 天,组 B 的动物进一步分成 3 个另外的组 B' (在第 60 天后的正方形)、C 和 D。对于组 B' 仅保持只用曲妥单抗的治疗,以 15mg/kg 的剂量 (保持剂量) 每周一次。C) 从第 61 天,15mg/kg 每周一次的曲妥单抗保持剂量与 5mg/kg 每周两次的额外的贝伐单抗治疗剂量 (三角形) 组合,曲妥单抗保持剂量为 15mg/kg 每周一次,和 D) 从第 61 天,当停止用曲妥单抗治疗时,开始以 5mg/kg 每周两次的贝伐单抗治疗 (十字形)。当一只小鼠 (*) 或多只小鼠 (***) 基于终止标准被处死时的时间点用一个或多个星号 (*) 表示。

[0102] 图 2 (A) 无治疗赋形剂组, (B) 单独的曲妥单抗治疗 (直到第 83 天), (C) 在单独的曲妥单抗治疗 (第 27 天 - 第 60 天) 后组合的曲妥单抗和贝伐单抗治疗 (第 61 天 - 第 112 天), 和 (D) 在单独的曲妥单抗治疗 (第 27 天 - 第 60 天) 后贝伐单抗单独治疗 (第 61 天 - 第 112 天), 对肝转移的作用。人 Alu DNA 序列的平均值 (pg/ml) 用实时 PCR 从肝组织定量,并且绘制在 y- 轴上。

[0103] 实验方法

[0104] 导言

[0105] 本研究在人乳腺异种移植物模型中检验了在单独的曲妥单抗治疗失败后, a) 曲妥单抗和贝伐单抗组合和 b) 仅用贝伐单抗治疗的抗肿瘤活性。本研究的其它目的是检验治

疗对转移的作用。

[0106] 检测药剂

[0107] 曲妥单抗以在组氨酸-HCl, α - α 海藻糖 (60mM), 0.01% 药用有机聚合物载体 (Polysorb), pH 6.0 中的 25mg/ml 的储液提供(Herceptin®)。贝伐单抗以在磷酸钠, α - α 海藻糖 (60mM), 0.01% 药用有机聚合物载体 (Polysorb), pH 6.0 中的 25mg/ml 的储液提供(Avastin®)。两种溶液都适当地稀释在 PBS 中用于注射。

[0108] 细胞系和培养条件

[0109] 人乳腺癌细胞系 KPL-4 建立自患有炎性皮肤转移的乳腺癌患者的恶性胸膜渗出液, 并且过量表达 ErbB 家族受体。(Kurebayashi, 等, Br. J. Cancer (英国癌症杂志) 79(1999)707-17) 肿瘤细胞通常在补充了 10% 胎牛血清 (PAA) 和 2mM L-谷氨酰胺 (Gibco) 的 DMEM 培养基 (PAA 实验室, 奥地利) 中在 37°C 在水饱和的 5% CO₂ 氛围中培养。培养物的传代用胰蛋白酶 EDTA 1x (PAA) 进行, 分裂 2 次/周。细胞传代 P6 用于体内研究。动物

[0110] SCID beige (C.B. -17) 小鼠; 10-12 周龄; 体重 18-20g (Charles River, Sulzfeld, 德国) 依据国际指南 (GV-Solas; Felasa; TierschG) 保持在无特异性病原体的条件下, 每天 12 小时光照/12 小时黑暗循环。在到达后, 将动物在动物机构的检疫部门笼养 1 周, 以适应新环境和用于观察。在常规基础上进行连续的健康监测。饮食食品 (Alltromin) 和水 (酸化 pH 2.5-3) 随意提供。

[0111] 体内肿瘤生长抑制研究

[0112] 将肿瘤细胞从培养瓶 (Greiner TriFlask) 收集下来 (胰蛋白酶-EDTA), 并且转移到 50ml 培养基中, 洗涤一次并重悬在 PBS 中。在用 PBS 的另一洗涤步骤和过滤 (细胞过滤器; Falcon 100 μ m) 之后, 将最终细胞滴度调整到 0.75×10^8 /ml。将肿瘤细胞混悬液仔细用转移液管混合, 以避免细胞聚集。使用用于小动物的 Stephens 吸入部件进行麻醉, 该部件在封闭的循环系统中具有预培育室 (树脂玻璃), 个体小鼠鼻面具 (硅) 和 Isoflurane (Pharmacia-Upjohn, 德国)。在注射前两天, 将动物的毛剃掉。对于乳房内脂肪垫 (i. m. f. p.) 注射, 将细胞以 20 μ l 的体积同位 (orthotopically) 注射到每只麻醉小鼠的右侧倒数第二个腹股沟乳房脂肪垫中。对于同位移植, 将细胞混悬液通过在乳头下的皮肤进行注射。肿瘤细胞注射对应于实验的第一天。

[0113] 监测

[0114] 每日控制动物, 以检测不利作用的临床症状。对于在整个实验过程中的监测, 动物的体重每周记录两次, 并且肿瘤体积通过卡钳每周测量两次。原代肿瘤体积依据 NCI 方法 ($TW = 1/2ab^2$, 其中 a 和 b 是肿瘤尺寸的长径和短径, 单位为 mm, Teicher, B., Anticancer drug development guide (抗癌药开发指南), Humana 出版社 5(1997)92) 计算。计算值记录为平均值和标准偏差。

[0115] 动物的治疗

[0116] 当肿瘤体积约 100mm³ 时, 将带有肿瘤的小鼠随机化 (每组 n = 10)。在治疗之前将每组紧密地匹配, 其在肿瘤细胞注射后 27 天开始。组 A: 赋形剂组——腹膜内接受 10ml/kg PBS 缓冲液, 每周一次。组 B: 曲妥单抗以 30mg/kg 的负荷剂量腹膜内施用, 而后以 15mg/kg 的剂量 (维持剂量) 每周一次。在第 60 天, 组 B 的动物进一步分成 3 个另外的组, 即组

B'、C 和 D。仅对组 B' 保持用单独的曲妥单抗的治疗,以 15mg/kg 的剂量(保持剂量)每周一次。组 C:在第 61 天,对于组 C 的治疗转换为曲妥单抗(15mg/kg,每周一次,腹膜内)和贝伐单抗(5mg/kg,每周两次,腹膜内)的组合治疗。组 D:在第 61 天,对于组 D 的治疗转换为用贝伐单抗(5mg/kg,每周两次,腹膜内)的单一疗法,同时停止用曲妥单抗的治疗。

[0117] 转移的评估

[0118] 在处死的动物中确定肿瘤细胞向肺部的扩散。转移依据 Schneider, T., 等, Clin. Exp. Metastasis(转移的临床实验) 19(2002) 571-582 进行测量。概言之,收集肺组织,并且通过实时 PCR 定量人 Alu 序列。通过实时 PCR 定量的更高的人 DNA 水平对应更高的转移水平。

[0119] 结果

[0120] 治疗对原代肿瘤生长的效果显示在图 1 和表 1 中。在赋形剂组(组 A)中的肿瘤生长迅速,并且由于肿瘤溃疡和临床症状的发展,在肿瘤细胞注射后 73 天将小鼠处死。使用曲妥单抗的治疗(组 B)显著抑制肿瘤生长;然而,在大约第 50 天,肿瘤开始重新生长。在第 61 天开始的用曲妥单抗和贝伐单抗组合治疗的改变(组 C)以及变换为贝伐单抗单一疗法(组 D)二者在实验持续过程中(112 天)都导致对肿瘤生长的完全抑制,并且治疗是很好耐受的。

[0121] 表 1:

[0122] 在曲妥单抗治疗失败后, a) 组合的曲妥单抗和贝伐单抗和 b) 单独的贝伐单抗治疗对肿瘤生长的抗肿瘤活性(图 1 的数据)。报道了以 mm³ 为单位的平均肿瘤体积和标准偏差(SD)。

[0123]

天	赋形剂 (A)	SD	曲妥单抗 (B+B')	SD	从曲妥单抗改 变为曲妥单抗 + 贝伐单抗 (C)	SD	从曲妥单抗 改变为贝伐 单抗单一疗 法 (D)	SD
27	85	27	81	29				
29	115	42	106	36				
34	136	66	100	49				
37	193	108	97	70				
41	235	163	133	100				
44	335	220	139	128				
48	406	309	172	181				

51	591	463	201	203				
55	690	479	263	286				
58	565	333	315	383				
60	729	402	393	426				
63	911	391	493	531	407	263	427	365
65	898	313	585	582	350	210	306	220
70	1213	440	798	776	190	45	180	142
73	1015	330	961	841	149	44	154	112
77			861	418	146	45	129	78
79			896	434	159	92	127	84
83			1034	485	158	148	97	80
87					193	228	95	57
91					159	166	100	82
94					225	292	120	106
98					242	340	112	95
101					154	160	120	108
105					119	109	92	85
108					175	157	104	105
112					122	68	110	103

[0124] 治疗对肝转移的作用显示在图 2 和表 2 中。在曲妥单抗治疗失败后曲妥单抗和贝伐单抗组合导致转移的急速降低。与在第 73 天处死的赋形剂治疗的动物相比,在从第 61 天开始用组合治疗持续 31 天治疗的动物中,人 Alu 序列的水平(与肿瘤细胞向次级组织中的侵入相关)显著更低。在第 83 天或第 112 天处死的曲妥单抗或贝伐单抗单一疗法治

观察到的作用相反 (Geldof, 等, Anticancer Res. (抗癌研究) 8(1988) 1335-1339 ;Murphy, J. Clin. Oncol. (临床肿瘤学杂志) 11(1993) 199-201, 和 De Larco, 等, Cancer Res. (癌症研究) 61(2001) 2857-2861)。

[0125] 表 2:

[0126] 治疗对肝转移的作用。

[0127] 对于每只动物,通过实时 PCR 定量 Alu DNA 并报告。

[0128]

	赋形剂 (A) (第 73 天)	曲妥单抗 (B + B') (第 83 天)	贝伐单抗 (D) (第 112 天)	曲妥单抗 + 贝 伐单抗 (C) (第 112 天)
人 DNA [pg/ml]	41.750	21.000	12.250	7.155
	51.400	10.550	7.405	6.785
	54.500	26.600	45.600	15.500
	19.300	12.250	29.200	8.040
	6.545	37.900	7.640	8.305
	48.550	25.050	22.900	
			7.740	
平均值	37.008	22.225	18.962	9.157

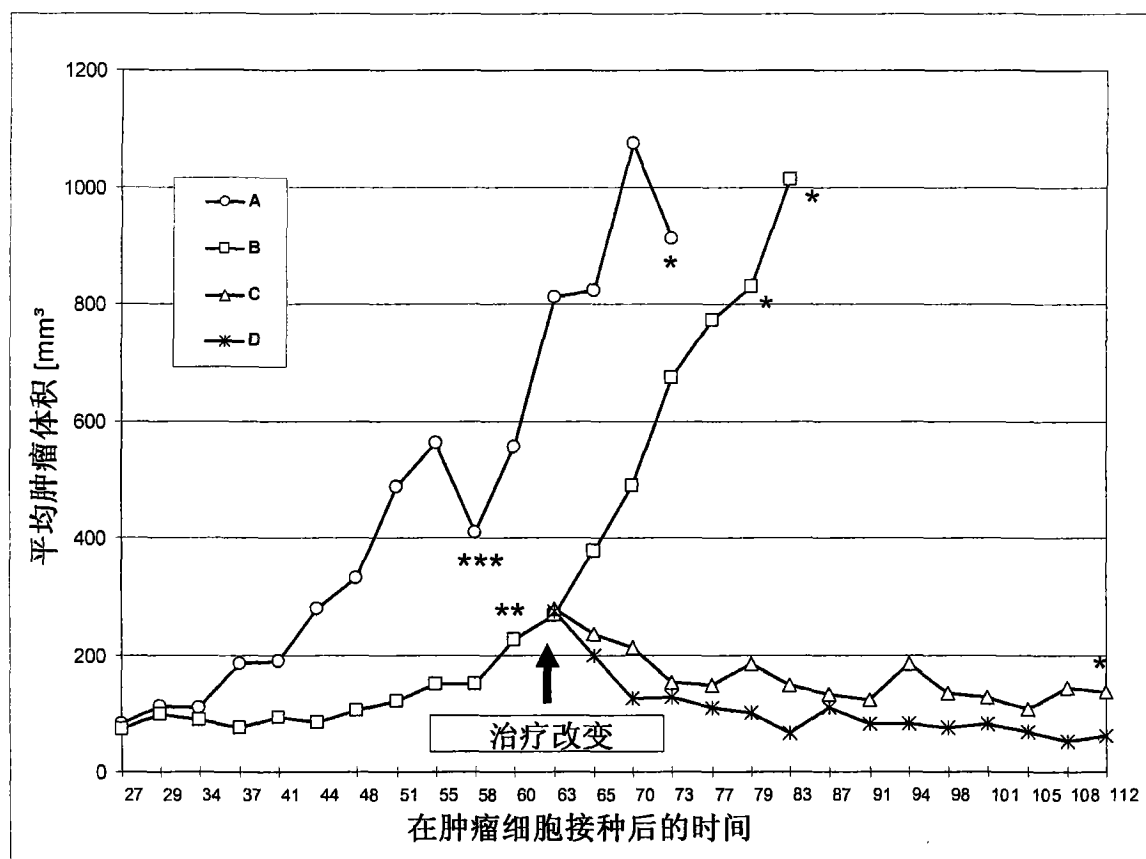


图 1

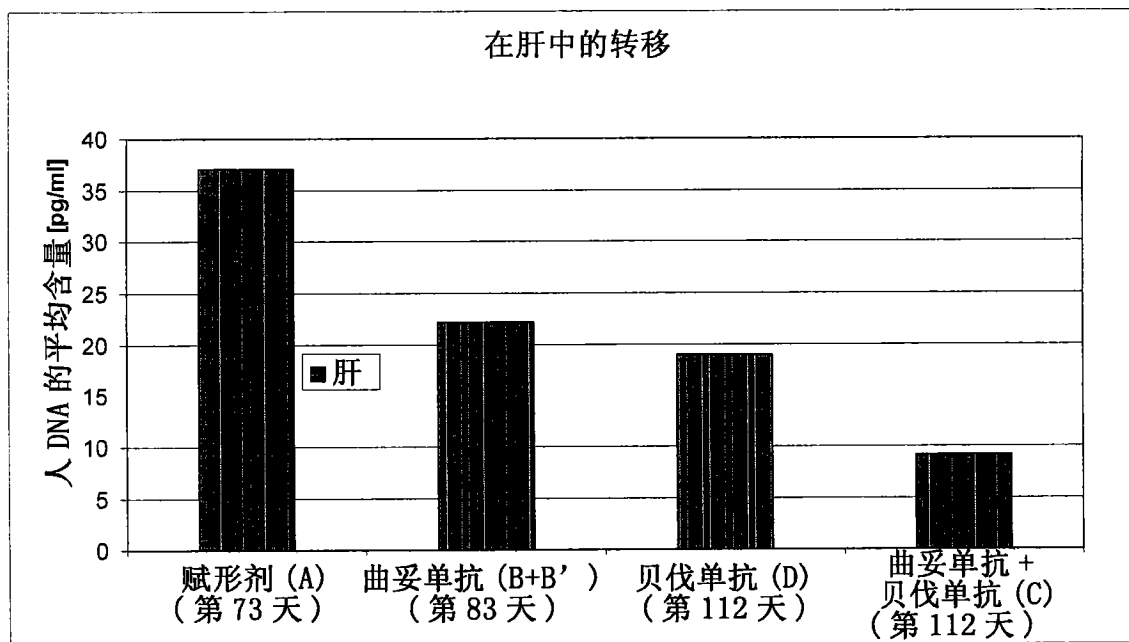


图 2