



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107614015 A

(43)申请公布日 2018.01.19

(21)申请号 201680031816.8

(22)申请日 2016.05.27

(30)优先权数据

62/168,809 2015.05.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.11.30

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/034835 2016.05.27

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/196373 EN 2016.12.08

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 A·E·瓜尔迪诺 M·萨曼特

A·斯特拉萨克 M·斯密特

M·帕特

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 岑晓东

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

A61K 31/337(2006.01)

A61K 31/395(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/04(2006.01)

权利要求书2页 说明书20页

序列表15页 附图9页

(54)发明名称

治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法

(57)摘要

提供了使用抗HER2-美登木生物碱缀合物(例如曲妥珠单抗-艾美坦辛)治疗已经接受过紫杉烷的在先治疗的具有HER2阳性,局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的患者的方法。

1. 一种治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法,该方法包括对具有所述乳腺癌的患者施用治疗有效量的抗HER2-美登木生物碱缀合物,其中该患者接受过紫杉烷的在先治疗。

2. 权利要求1的方法,其中该施用在该紫杉烷的在先治疗之后 ≥ 6 个月发生。

3. 权利要求1或2的方法,其中该患者接受过紫杉烷和至少一种HER2定向疗法的在先治疗。

4. 权利要求3的方法,其中该患者接受过紫杉烷和曲妥珠单抗的在先治疗。

5. 权利要求4的方法,其中该患者接受过紫杉烷,曲妥珠单抗,和帕妥珠单抗的在先治疗。

6. 权利要求1-5任一项的方法,其中该在先治疗是在辅助设置中施用的。

7. 权利要求1-5任一项的方法,其中该在先治疗是在新辅助设置中施用的。

8. 在先权利要求任一项的方法,其中该紫杉烷是帕利他赛。

9. 权利要求8的方法,其中该帕利他赛是以每周一次静脉内 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 施用的。

10. 权利要求9的方法,其中该帕利他赛施用最少18周。

11. 权利要求1-7任一项的方法,其中该紫杉烷是多西他赛。

12. 权利要求11的方法,其中该多西他赛是以每3周静脉内 $75\text{mg}/\text{m}^2$ 或 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 施用的。

13. 权利要求12的方法,其中该多西他赛施用最少6个周期。

14. 权利要求4-13任一项的方法,其中该曲妥珠单抗是以周期1静脉内 $8\text{mg}/\text{kg}$,接着后续周期每3周 $6\text{mg}/\text{kg}$ 施用的。

15. 权利要求4-13任一项的方法,其中该曲妥珠单抗是以周期1第1天静脉内 $4\text{mg}/\text{kg}$,接着周期1第8天开始每周一次 $2\text{mg}/\text{kg}$ 施用的。

16. 权利要求5-15任一项的方法,其中该帕妥珠单抗是以周期1第1天静脉内 840mg ,接着后续周期每3周静脉内 420mg 施用的。

17. 在先权利要求任一项的方法,其中该抗HER2-美登木生物碱缀合物是曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物。

18. 权利要求17的方法,其中该曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物是曲妥珠单抗-DM1缀合物。

19. 权利要求18的方法,其中该曲妥珠单抗-DM1缀合物是曲妥珠单抗-MCC-DM1。

20. 权利要求19的方法,其中该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以 $3.6\text{mg}/\text{kg}$ 每3周施用的。

21. 权利要求19的方法,其中该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以 $2.4\text{mg}/\text{kg}$ 每周施用的。

22. 在先权利要求任一项的方法,其中所述乳腺癌是先前未治疗的转移性乳腺癌。

23. 一种治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法,该方法包括(1) 确定患者是否已经接受过紫杉烷的在先治疗,并(2) 如果该患者已经接受过紫杉烷的在先治疗的话,对具有所述乳腺癌的患者施用治疗有效量的抗HER2-美登木生物碱缀合物。

24. 权利要求23的方法,其中该施用在该紫杉烷的在先治疗之后 ≥ 6 个月发生。

25. 权利要求23或24的方法,其中该患者接受过紫杉烷和至少一种HER2定向疗法的在先治疗。

26. 权利要求25的方法,其中该患者接受过紫杉烷和曲妥珠单抗的在先治疗。

27. 权利要求26的方法,其中该患者接受过紫杉烷,曲妥珠单抗,和帕妥珠单抗的在先

治疗。

28. 权利要求23-27任一项的方法,其中该在先治疗是在辅助设置中施用的。
29. 权利要求23-27任一项的方法,其中该在先治疗是在新辅助设置中施用的。
30. 权利要求23-29任一项的方法,其中该紫杉烷是帕利他赛。
31. 权利要求30的方法,其中该帕利他赛是以每周一次静脉内80mg/m²施用的。
32. 权利要求31的方法,其中该帕利他赛施用最少18周。
33. 权利要求23-30任一项的方法,其中该紫杉烷是多西他赛。
34. 权利要求33的方法,其中该多西他赛是以每3周静脉内75mg/m²或100mg/m²施用的。
35. 权利要求34的方法,其中该多西他赛施用最少6个周期。
36. 权利要求26-35任一项的方法,其中该曲妥珠单抗是以周期1静脉内8mg/kg,接着后续周期每3周6mg/kg施用的。
37. 权利要求26-35任一项的方法,其中该曲妥珠单抗是以周期1第1天静脉内4mg/kg,接着周期1第8天开始每周一次2mg/kg施用的。
38. 权利要求27-37任一项的方法,其中该帕妥珠单抗是以周期1第1天静脉内840mg,接着后续周期每3周静脉内420mg施用的。
39. 权利要求23-38任一项的方法,其中该抗HER2-美登木生物碱缀合物是曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物。
40. 权利要求39的方法,其中该曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物是曲妥珠单抗-DM1缀合物。
41. 权利要求40的方法,其中该曲妥珠单抗-DM1缀合物是曲妥珠单抗-MCC-DM1。
42. 权利要求41的方法,其中该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以3.6mg/kg每3周施用的。
43. 权利要求41的方法,其中该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以2.4mg/kg每周施用的。
44. 权利要求23-43任一项的方法,其中所述乳腺癌是先前未治疗的转移性乳腺癌。

治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2015年5月30日提交的美国临时专利申请No.62/168,809在35U.S.C.§ 119下的权益,据此通过援引完整收录其公开内容。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有ASCII格式的序列表且据此通过援引完整收录。ASCII文本文件于2016年5月20日创建,命名为GNE-0423R1-WO Sequence Listing.txt且大小是30,476个字节。

发明领域

[0005] 本发明涉及使用抗HER2-美登木生物碱缀合物,诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1来治疗HER2阳性进展性或复发性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法,其中该患者接受过紫杉烷的在先治疗。

[0006] 发明背景

[0007] 乳腺癌和HER2靶向性治疗

[0008] 乳腺癌是全世界的发病率和死亡率的一项高度重大的原因。每年全球诊断出超过130万例乳腺癌病例,超过450,000例死亡与该疾病相关(Jemal A,Bray F,Center M,et al.,Global cancer statistics.CACancer J Clin,2011;61(2):69-90)。

[0009] HER2(ErbB2)受体酪氨酸激酶是跨膜受体的表皮生长因子受体(EGFR)家族的成员。在约20%人乳腺癌中观察到HER2过表达(在下文中称为HER2阳性乳腺癌),并且其牵涉攻击性生长和与这些肿瘤有关的不良临床结果(Slamon et al(1987)Science 235:177-182)。可以使用固定肿瘤块的基于免疫组织化学的评估测定HER2蛋白过表达(Press MF,et al(1993)Cancer Res53:4960-70)。

[0010] 曲妥珠单抗(Trastuzumab,CAS 180288-69-1,HERCEPTIN®,huMAb4D5-8,rhuMAb HER2,Genentech)是一种重组DNA衍生的,IgG1κ单克隆抗体,其是在基于细胞的测定法中以高亲和力(K_d=5nM)选择性结合HER2的胞外域的鼠抗HER2抗体(4D5)的人源化型式(US 5677171;US5821337;US 6054297;US 6165464;US 6339142;US 6407213;US 6639055;US 6719971;US 6800738;US 7074404;Coussens et al(1985)Science230:1132-9;Slamon et al(1989)Science 244:707-12;Slamon et al(2001)New Engl.J.Med.344:783-792)。在体外测定法和动物两者中,已经显示了曲妥珠单抗抑制过表达HER2的人肿瘤细胞的增殖(Hudziak et al(1989)Mol Cell Biol 9:1165-72;Lewis et al(1993)Cancer Immunol Immunother;37:255-63;Baselga et al(1998)Cancer Res.58:2825-2831)。曲妥珠单抗是抗体依赖性细胞性细胞毒性ADCC的介导物(Lewis et al(1993)Cancer Immunol Immunother37(4):255-263;Hotaling et al(1996)[摘要].Proc.Annual Meeting Am Assoc Cancer Res;37:471;Pegram MD,et al(1997)[摘要].Proc Am Assoc Cancer Res;38:602;Sliwkowski et al(1999)Seminars in Oncology 26(4),Suppl12:60-70;Yarden Y.and Sliwkowski,M.(2001)Nature Reviews:Molecular Cell Biology,Macmillan Magazines,Ltd.,Vol.2:127-137)。

[0011] **HERCEPTIN®**在1998年批准用于治疗已经接受广泛在先抗癌疗法的HER2过表达性转移性乳腺癌的患者(Baselga et al (1996) J.Clin.Oncol.14:737-744),并且自此以后已经在超过300,000名患者中使用(Slamon DJ,et al.,N Engl J Med 2001;344:783-92;Vogel CL,et al.,J Clin Oncol2002;20:719-26;Marty M,et al.,J Clin Oncol 2005;23:4265-74;Romond EH,et al.,T N Engl J Med 2005;353:1673-84;Piccart-Gebhart MJ,et al.,N Engl J Med2005;353:1659-72;Slamon D,et al.[摘要].Breast Cancer Res Treat 2006,100 (Suppl 1):52)。在2006年,FDA批准**HERCEPTIN®**(曲妥珠单抗,Genentech Inc.)作为含有多柔比星(doxorubicin),环磷酰胺(cyclophosphamide)和帕利他赛(paclitaxel)的治疗方案的一部分,用于HER2阳性结阳性乳腺癌患者的辅助治疗。

[0012] 抗体靶向性疗法的一种备选方法是利用抗体将细胞毒性药物特异性投递到抗原表达癌细胞。抗体-药物缀合物,或ADC是已经与高度有力的细胞毒剂缀合的单克隆抗体。ADC代表一种对系统性施用的抗肿瘤治疗剂赋予肿瘤选择性的新颖方法。利用肿瘤特异性和/或过表达的抗原,设计ADC以聚焦将高度有力的细胞毒剂投递至肿瘤细胞。此办法的潜力是为此类药剂创建比通过其作为游离药物施用可以实现的治疗窗更有利的治疗窗。

[0013] 美登木生物碱(maytansinoids),抗有丝分裂药物美登素(maytansine)的衍生物,以与长春花生物碱药物相似的方式结合微管(Issell BF et al (1978) Cancer Treat.Rev.5:199-207;Cabanillas F et al (1979) Cancer Treat Rep,63:507-9)。DM1是一种自天然发生酯安丝菌素P3衍生的含硫醇的美登木生物碱(Remillard S,Rebhun LI,Howie GA,et al (1975) Science189 (4207):1002-1005.3;Cassady JM,Chan KK,Floss HG. (2004) Chem Pharm Bull 52 (1):1-26.4)。已经在约800名患者中以化学治疗剂研究了相关的植物酯美登素,其每3周以单剂或者连续3天以2.0mg/m²的剂量施用(Issell BF,Crooke ST. (1978) Maytansine.Cancer Treat Rev 5:199-207)。尽管有临床前活性,临床中的美登素活性在可以安全投递的剂量是适度的。剂量限制毒性(DLT)是胃肠的,由恶心,呕吐和腹泻(经常继之以便秘)组成。这些毒性是剂量依赖性的,但不是日程表依赖性的。报告了周围神经病(主要是感觉性),并且其在具有先前存在的神经病的患者中最明显。报告了肝转氨酶,碱性磷酸酶和总胆红素的亚临床瞬时升高。体质毒性(包括虚弱,嗜睡,病理性心境恶劣,和失眠)是常见的。不太常见的毒性包括输注部位静脉炎和轻度骨髓抑制。由于窄的治疗窗,在20世纪80年代放弃了药物的进一步开发。

[0014] 曲妥珠单抗-MCC-DM1 (T-DM1,曲妥珠单抗-艾美坦辛(Trastuzumab emtansine), ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛,**KADCYLA®**),一种用于治疗HER2阳性乳腺癌的新颖的抗体-药物缀合物(ADC),由经由MCC接头在赖氨酸侧链处与曲妥珠单抗缀合的细胞毒剂DM1(一种含有硫醇的美登木生物碱抗微管剂)构成,平均药物负荷(药物与抗体比率)为约3.5。在结合肿瘤细胞上表达的HER2后,T-DM1经历受体介导的内化,从而导致含有DM1的细胞毒性分解代谢物的胞内释放及随后的细胞死亡。

[0015] 在T-DM1 (TDM3569g)的I期研究中,通过IV输注每3周(q3w)施用的T-DM1的最大耐受剂量(MTD)是3.6mg/kg.DLT(剂量限制毒性)由以4.8mg/kg治疗的患者中的短暂性血小板减少组成。以3.6mg/kg q3w的治疗是完全耐受的,并且与重大的临床活性有关。(Krop (2010) J.Clin.Oncol.28 (16):2698-2704)。那个相同的研究还显示了以2.4mg/kg的每周给

药也是完全耐受的,并且具有抗肿瘤活性。(Beeram (2012) Cancer 118 (23):5733-5740)。

[0016] 一项II期研究(TDM4374g)证明了以3.6mg/kg q3w施用的T-DM1在具有HER2阳性转移性乳腺癌的重度预先治疗的患者群体中具有单一药剂抗肿瘤活性。(Krop (2012) 30 (26):3234-3241)。一项III期研究(TDM4370g,“EMILIA”)证明了在先前用曲妥珠单抗和紫杉烷治疗的HER2阳性晚期乳腺癌(二和三线转移性乳腺癌)患者中,与用拉帕替尼(lapatinib)加卡培他滨(capecitabine)治疗相比,以3.6mg/kg q3w施用的T-DM1在更小毒性的情况下显著延长无进展存活和总体存活。(Verma (2012) New England Journal of Medicine 367:1783-1791)。

[0017] 美国食品药品监督管理局在2013年2月22日批准在商标KADCYLA®下销售的ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛,用于治疗先前接受用曲妥珠单抗和紫杉烷的治疗的HER2阳性转移性乳腺癌患者。

[0018] 帕妥珠单抗(Pertuzumab,又称为重组人源化单克隆抗体2C4,rhuMAb2C4,PERJETA®,Genentech,Inc,South San Francisco)代表称为HER二聚化抑制剂(HDI)的新一类药剂中的第一种,并且发挥功能以抑制HER2与其它HER受体(诸如EGFR/HER1,HER2,HER3和HER4)形成活性异二聚体或同二聚体的能力。见例如Harari and Yarden Oncogene 19:6102-14(2000);Yarden and Sliwkowski.Nat Rev Mol Cell Biol 2:127-37(2001);Sliwkowski Nat Struct Biol 10:158-9(2003);Cho et al.,Nature 421:756-60(2003);及Malik et al.,Pro Am Soc Cancer Res 44:176-7(2003)。

[0019] 已经证明了帕妥珠单抗对肿瘤细胞中的HER2-HER 3异二聚体形成的阻断抑制至关重要的细胞信号传导,这导致降低的肿瘤增殖和存活(Agus et al.,Cancer Cell 2:127-37(2002))。

[0020] 帕妥珠单抗已经在晚期癌症患者中的Ia期试验和卵巢癌和乳腺癌以及肺和前列腺癌患者中的II期试验的情况中在临床中以单一药剂经历测试。在I期研究中,用每3周静脉内给予的帕妥珠单抗治疗在标准疗法期间或之后已经进展的难治性,局部晚期,复发性或转移性实体瘤患者。一般地,帕妥珠单抗是耐受良好的。在可评估响应的20名患者的3名中实现肿瘤消退。2名患者已经确认部分响应。在21名患者的6名中观察到持续超过2.5个月的稳定疾病(Agus et al.,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是线性的,并且均值清除范围为2.69至3.74mL/天/kg,并且均值终末消除半衰期范围为15.3至27.6天。没有检出针对帕妥珠单抗的抗体(Allison et al.,Pro Am Soc Clin Oncol 22:197(2003))。

[0021] US 2006/0034842描述了用于用抗ErbB2抗体组合治疗表达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,诸如乳腺癌中的用途。Baselga et al.,J Clin Oncol,2007ASCO Annual Meeting Proceedings Part I,Col.25,No.18S(6月20日增刊),2007:1004报告了用曲妥珠单抗和帕妥珠单抗的组合治疗具有预先治疗的HER2阳性乳腺癌(其在用曲妥珠单抗治疗期间已经进展)的患者。Portera et al.,J Clin Oncol,2007ASCO Annual Meeting Proceedings Part I.Vol.25,No.18S(6月20日增刊),2007:1028在HER2阳性乳腺癌患者中评估了曲妥珠单抗+帕妥珠单抗联合疗法的效力和安全性,所述HER2阳性乳腺癌患者在基于曲妥珠单抗的疗法上具有进行性疾病。作者推断需要联合治疗的效力的进一步评估以限定此治疗方案的总体

风险和益处。

[0022] 已经在HER2阳性转移性乳腺癌患者中与曲妥珠单抗联合在II期研究中评估了帕妥珠单抗,所述患者先前已经接受了用于转移性疾病的曲妥珠单抗。由国家癌症研究所(National cancer Institute,NCI)进行的一项研究登记11名具有先前治疗的HER2阳性转移性乳腺癌的患者。11名患者中的2名展现出部分响应(PR) (Baselga et al.,J Clin Oncol 2007ASCO Annual Meeting Proceedings;25:18S(6月20日增刊):1004。在具有早期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学疗法(多西他赛(Docetaxel))的新颖联合方案的效果的II期新辅助研究的结果(在CTRC-AACR圣安东尼奥乳腺癌研讨会(SABCS)呈现,2010年12月8-12日)显示了与曲妥珠单抗加多西他赛(29.0%的pCR)相比,在手术前的新辅助背景中给予的两种HER2抗体加多西他赛在乳房中显著改善完全肿瘤消失的速率(45.8%的病理学完全响应率,pCR)达超过一半, $p=0.014$ 。

[0023] 在2012年批准在商品名**PERJETA®**下销售的帕妥珠单抗,用于治疗晚期或晚期阶段(转移性)HER2阳性乳腺癌患者。HER2阳性乳腺癌具有增加量的促成癌细胞生长和存活的HER2蛋白。

[0024] 在2013年9月30日,美国食品药品监督管理局对作为手术前用于具有早期阶段乳腺癌(EBC)的患者的完全治疗方案(新辅助背景)的一部分的**PERJETA®**(帕妥珠单抗)授予加速批准。**PERJETA®**是用于乳腺癌的新辅助治疗的第一种得到FDA批准的药物。

[0025] 与HER2抗体相关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;8,075,890;5,648,237;7,018,809;6,267,958;6,685,940;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;8,075,892;6,573,043;6,905,830;7,129,051;7,344,840;7,468,252;7,674,589;7,919,254;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;8,076,066;8,044,017;7,435,797;7,850,966;7,485,704;7,807,799;8,142,784;7,560,111;7,879,325;8,241,630;7,449,184;8,163,287;7,700,299;7,981,418;8,247,397;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 2008/0286280;US 2005/0063972;US 2006/0182739;US 2009/0220492;US 2003/0147884;US 2004/0037823;US 2005/0002928;US 2007/0292419;US 2008/0187533;US 2011/0250194;US 2012/0034213;US 2003/0152987;US 2005/0100944;US 2006/0183150;US 2008/0050748;US 2009/0155803;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 2007/0166753;US 2008/0112958;US 2009/0239236;US

2012/0034609;US 2012/0093838;US 2004/0082047;US 2012/0065381;US 2009/0187007;US 2011/0159014;US 2004/0106161;US 2011/0117096;US 2004/0258685;US 2009/0148402;US 2009/0099344;US 2006/0034840;US 2011/0064737;US 2005/0276812;US 2008/0171040;US 2009/0202536;US 2006/0013819;US 2012/0107391;US 2006/0018899;US 2009/0285837;US 2011/0117097;US 2006/0088523;US 2010/0015157;US 2006/0121044;US 2008/0317753;US 2006/0165702;US 2009/0081223;US 2006/0188509;US 2009/0155259;US 2011/0165157;US 2006/0204505;US 2006/0212956;US 2006/0275305;US 2012/0003217;US 2007/0009976;US 2007/0020261;US 2007/0037228;US 2010/0112603;US 2006/0067930;US 2007/0224203;US 2011/0064736;US 2008/0038271;US 2008/0050385;US 2010/0285010;US 2011/0223159;US 2008/0102069;US 2010/0008975;US 2011/0245103;US 2011/0246399;US 2011/0027190;US 2010/0298156;US 2011/0151454;US 2011/0223619;US 2012/0107302;US 2009/0098135;US 2009/0148435;US 2009/0202546;US 2009/0226455;US 2009/0317387;US 2011/0044977;US 2012/0121586。

[0026] 发明概述

[0027] 本发明涉及使用抗HER2-美登木生物碱缀合物,诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1来治疗HER2阳性进展性或复发性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌(一线转移性乳腺癌)的方法,其中该患者先前已经用紫杉烷治疗过。虽然对于HER2阳性癌症患者存在辅助,新辅助和转移性设置中的治疗选项,但是需要别的选项,包括“一线”转移性设置中的,即对于具有先前未治疗的转移性乳腺癌的患者,或具有局部晚期乳腺癌的患者。

[0028] 本发明部分基于下述观察结果,即与未曾接受过在先紫杉烷的患者相比,曲妥珠单抗-MCC-DM1出乎意料地有效治疗具有一线转移性HER2阳性乳腺癌的患者,其中该患者已经接受过紫杉烷的在先治疗。

[0029] 在一个方面,本发明提供治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法,该方法包括对具有所述乳腺癌的患者施用治疗有效量的抗HER2-美登木生物碱缀合物,其中该患者接受过紫杉烷的在先治疗。

[0030] 在另一个方面,本发明提供治疗有效量的抗HER2-美登木生物碱缀合物在制造用于在受试者中治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的药物中的用途,其中该受试者接受过紫杉烷的在先治疗。

[0031] 在某些实施方案中,该施用在该紫杉烷的在先治疗之后 ≥ 6 个月发生。在一些实施方案中,该患者接受过紫杉烷和至少一种HER2定向疗法的在先治疗。在一个实施方案中,该患者接受过紫杉烷和曲妥珠单抗的在先治疗。在另一个实施方案中,该患者接受过紫杉烷,曲妥珠单抗,和帕妥珠单抗的在先治疗。在一些实施方案中,该在先治疗是在辅助设置中施用的。在还有其它实施方案中,该在先治疗是在新辅助设置中施用的。

[0032] 在某些其它方面,本发明提供治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法,该方法包括(1)确定患者是否已经接受过紫杉烷的在先治疗,并(2)如果该患者已经接受过紫杉烷的在先治疗的话,对具有所述乳腺癌的患者施用治疗有效量的抗HER2-美登木生物碱缀合物。在某些实施方案中,该施用在该紫杉烷的在先治疗之后 ≥ 6 个月发生。在一些实施方案中,该患者接受过紫杉烷和至少一种HER2定向疗法的在先治疗。在一个实施方案中,该患者接受过紫杉烷和曲妥珠单抗的在先治疗。在另一个实施方案中,该患者

接受过紫杉烷,曲妥珠单抗,和帕妥珠单抗的在先治疗。在一个实施方案中,该在先治疗是在辅助设置中施用的。在其它实施方案中,该在先治疗是在新辅助设置中施用的。

[0033] 在上述方面的某些实施方案中,该紫杉烷是帕利他赛。在一些实施方案中,该帕利他赛是以每周一次静脉内80mg/m²施用的。在某些实施方案中,该帕利他赛施用最少18周。

[0034] 在其它实施方案中,该紫杉烷是多西他赛。在一些实施方案中,该多西他赛是以每3周静脉内75mg/m²或100mg/m²施用的。在某些实施方案中,该多西他赛施用最少6个周期。

[0035] 在该患者接受过紫杉烷和曲妥珠单抗的在先治疗的实施方案中,和在一个实施方案中,该曲妥珠单抗可以是或是以周期1静脉内8mg/kg,接着后续周期每3周6mg/kg施用的。在另一个实施方案中,该曲妥珠单抗可以是或是以周期1第1天静脉内4mg/kg,接着周期1第8天开始每周一次2mg/kg施用的。

[0036] 在该患者接受过紫杉烷,曲妥珠单抗和帕妥珠单抗的在先治疗的实施方案中,和在一个实施方案中,该帕妥珠单抗可以是或是以周期1第1天静脉内840mg,接着后续周期每3周静脉内420mg施用的。

[0037] 在所有实施方案中,该抗HER2-美登木生物碱缀合物可以是曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物。在某些实施方案中,该曲妥珠单抗-美登木生物碱缀合物是曲妥珠单抗-DM1缀合物。在一个实施方案中,该曲妥珠单抗-DM1缀合物是曲妥珠单抗-MCC-DM1。在一些实施方案中,该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以3.6mg/kg每3周施用的。在其它实施方案中,该曲妥珠单抗-MCC-DM1是以2.4mg/kg每周施用的。

[0038] 在本发明的某些实施方案中,该乳腺癌是先前未治疗的转移性乳腺癌。

[0039] 附图简述

[0040] 图1提供HER2蛋白质结构的示意图,和其细胞外结构域的域I-IV的氨基酸序列(分别为SEQ ID No.1-4)。

[0041] 图2A和2B描绘鼠单克隆抗体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),和人V_L和V_H共有框架(hum id,轻卡帕亚组I;humIII,重亚组III)(分别为SEQ ID No.9和10)的氨基酸序列的比对。星号标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该人框架的可变域之间的差异。互补决定区(CDR)在方括号中。

[0042] 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以粗体显示。轻链和重链的计算分子量是23,526.22Da和49,216.56Da(半胱氨酸处于还原形式)。碳水化合物模块附着于重链的Asn 299。

[0043] 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以箭指示。

[0044] 图5A和5B分别描绘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)。

[0045] 图6描绘实施例1中描述的MARIANNE临床试验设计的示意图。^a局部进展性或复发且不适合于治愈意图的切除;^b帕妥珠单抗安慰剂。LD,加载剂量。

[0046] 图7显示来自实施例1中描述的MARIANNE临床试验的结果。总之,与标准护理曲妥珠单抗(HERCEPTIN®)+紫杉烷(HT)相比,T-DM1(KADCYLA®)展现非劣效性无进展存活(PFS),但是它没有优于HT。然而,数据(阴影框)提示KADCYLA®胜过HT对于先前已

经接受过紫杉烷疗法的患者有利的效果,指示应当选择此类患者来用KADCYLA®治疗局部晚期和一线转移性Her2阳性乳腺癌。

[0047] 发明详述

[0048] 现在会详细参考本发明的某些实施方案,其例子在附随的结构和式中例示。虽然会结合例举的实施方案描述本发明,但是应当理解它们并不意图将本发明限于那些实施方案。相反,本发明意图覆盖所有备选,修改和等同方案,其可以包括在如权利要求书限定的本发明的范围内。本领域技术人员会认可与本文中描述的那些方法和材料相似或等同的许多方法和材料,它们可以在本发明的实践中使用。本发明绝不限于所描述的方法和材料。

[0049] 通过援引明确将贯穿公开内容引用的所有参考文献完整收入本文。在并入的文献,专利,和类似的材料中的一个或多个与本申请(包括但不限于定义的术语,术语用法,描述的技术,等等)不同或与本申请矛盾的情况中,以本申请为准。

[0050] 定义

[0051] 词语“包含”和“包括”在本说明书和权利要求书中使用时意图规定叙述的特征,整数,组分,或步骤的存在,但是它们不排除一种或多种其它特征,整数,组分,步骤,或其组的存在或添加。

[0052] 术语“治疗”和“处理”指治疗性处理和预防性或防范性措施二者,其中目标是预防或减缓(减轻)不想要的生理学变化或病症,诸如过度增殖性状况,诸如癌症的生长,形成或扩散。为了本发明,有利或期望的临床结果包括但不限于:缓解症状,削弱疾病的程度,疾病状态稳定(即不恶化),延迟或减缓疾病进展,改善或减轻疾病状态,及消退(无论是部分的还是完全的),无论是可检测的还是不可检测的。“治疗/处理”还可以指与不接受治疗的预期存活相比延长存活。需要治疗的受试者包括已经患有状况或病症的受试者以及倾向于患上状况或病症的受试者或者要预防状况或病症的受试者。

[0053] 术语“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长为特征的生理学状况。“肿瘤”包含一种或多种癌性细胞。癌症的例子包括但不限于癌瘤,淋巴瘤,母细胞瘤,肉瘤和白血病或淋巴样恶性。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌),肺癌(包括小细胞肺癌,非小细胞肺癌(“NSCLC”),肺腺癌和肺鳞癌),腹膜癌,肝细胞癌,胃癌(包括胃肠癌),胰腺癌,成胶质细胞瘤,宫颈癌,卵巢癌,肝癌,膀胱癌,肝癌,乳腺癌,结肠癌,直肠癌,结肠直肠癌,子宫内膜癌或子宫癌,唾液腺癌,肾癌,前列腺癌,外阴癌,甲状腺癌,肝的癌,肛门癌,阴茎癌,及头和颈癌。

[0054] 将肿瘤或癌症称为“0期”,“I期”,“II期”,“III期”,或“IV期”和此分类内的各个亚阶段指示使用本领域中已知的总体阶段分组(Overall Stage Grouping)或Roman数字分期(Roman Numeral Staging)方法分类肿瘤或癌症。虽然癌症的实际阶段取决于癌症的类型,但是一般地,0期癌症是原位损伤,I期癌症是小局部化肿瘤,II和III期癌症是展现出局部淋巴结累及的局部晚期肿瘤,而IV期癌症代表转移性癌症。每类肿瘤的特定阶段是熟练内科医生已知的。

[0055] 术语“转移性乳腺癌”意指癌细胞通过血管或淋巴管自初始部位传播至身体中别处的一个或多个部位以在乳房外的一种或多种器官中形成一个或多个继发性肿瘤的乳腺癌状态。

[0056] 术语“一线”转移性乳腺癌或“先前未治疗的”转移性乳腺癌指未曾接受过转移性

设置中的治疗的转移性乳腺癌。

[0057] 如本文中使用的,术语“局部晚期”乳腺癌指进展性或复发性局部晚期乳腺癌。

[0058] 术语“在先治疗”在提到紫杉烷时指在一线转移性或局部晚期设置前已经发生的治疗。例如,“在先治疗”可以指在一线转移性或局部晚期设置前的新辅助,辅助或其它设置中的治疗。

[0059] “晚期”癌症是已经通过局部侵入或转移在起源的部位或器官外部扩散的癌症。因而,术语“晚期”癌症包括局部晚期和转移性疾病两者。

[0060] “难治性”癌症是即使对癌症患者施用抗肿瘤剂,诸如化学疗法仍进展的癌症。难治性癌症的例子是铂难治的癌症。

[0061] “复发性”癌症是在响应初始疗法,诸如手术后在初始部位处或在远端部位处已经再生长的癌症。

[0062] “局部复发性”癌症是与先前治疗的癌症在相同位置中在治疗后复发的癌症。

[0063] “能施手术的”或“可切除的”癌症是局限于原发性器官并且适合于手术(切除)的癌症。

[0064] “非可切除的”或“不能切除的”癌症不能通过手术去除(切除)。

[0065] “HER2阳性”癌症包含具有高于正常的HER2水平的癌细胞。HER2阳性癌症的例子包括HER2阳性乳腺癌和HER2阳性胃癌。任选地,HER2阳性癌症具有2+或3+的免疫组织化学(IHC)得分和/或 ≥ 2.0 的原位杂交(ISH)扩增比率。

[0066] 在本文中,“患者”或“受试者”是人患者。患者可以是“癌症患者”,即患有或有风险患有癌症,特别是胃癌或乳腺癌的一种或多种症状的患者。

[0067] “患者群体”指癌症患者组。可以使用此类群体证明药物,诸如帕妥珠单抗的统计学显著的效力和/或安全性。

[0068] “复发”患者是在消退后具有癌症的体征或症状的患者。任选地,患者在辅助或新辅助治疗后已经复发。

[0069] “展现出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/或在其它方面表明HER受体的活化或磷酸化的。

[0070] “新辅助治疗”或“术前疗法”在本文中指在手术前给予的疗法。新辅助治疗的目的是提供即刻系统性治疗,从而潜在根治微转移,所述微转移在其它情况中在遵循手术,继之以系统性疗法的标准顺序时会增殖。新辅助治疗也可以帮助缩小肿瘤大小,从而容许最初不能切除的肿瘤的完全切除或者保留器官及其功能的部分。此外,新辅助治疗允许药物效力的体内评估,其可以指导随后治疗的选择。

[0071] “辅助疗法”在本文中指在确定性手术(其中不能检出残余疾病的证据)之后给予的疗法,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。辅助疗法在本文中明确排除新辅助治疗。

[0072] “存活”指患者保持存活,包括无疾病存活(DFS),无进展存活(PFS)和总体存活(OS)。可以通过Kaplan-Meier法评估存活,并且使用分层时序检验计算存活的任何差异。

[0073] “无进展存活”(PFS)是从第一天治疗至证明的疾病进展(包括孤立性CNS进展)或来自研究的任何原因的死亡(以先发生者为准)的时间。

[0074] “无疾病存活(DFS)”指患者自治疗启动或自初始诊断起保持限定时间段活着且癌

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。在本发明的一个方面,依照治疗意图原则分析DFS,即在其指派疗法的基础上评估患者。DFS分析中使用的事件可以包括局部,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(例如乳腺癌复发或第二原发性癌症)的患者中死于任何原因。

[0075] “总体存活”指患者自治疗启动或自初始诊断起保持限定时间段活着,诸如约1年,约2年,约3年,约4年,约5年,约10年,等。在本发明基础的研究中,用于存活分析的事件是任何原因的死亡。

[0076] “延长存活”意味着相对于未治疗的患者或相对于对照治疗方案增加治疗的患者中的DFS和/或OS。在治疗启动之后或在初始诊断之后监测存活至少约6个月,或至少约1年,或至少约2年,或至少约3年,或至少约4年,或至少约5年,或至少约10年,等。

[0077] 存活分析中的“危害比”是两条存活曲线之间的差异的汇总,代表随访期里与对照相比治疗的死亡风险降低。危害比是事件比率的统计定义。为了本发明的目的,危害比定义为代表任何特定时间点时实验分部中的事件概率除以对照分部中的事件概率。

[0078] “单一疗法”意指如下的治疗方案,其在治疗期的过程期间只包括单一治疗剂来治疗癌症或肿瘤。

[0079] “维持疗法”意指为了降低疾病复发或进展的可能性而给予的治疗方案。维持疗法可提供任意长度的时间,包括长至受试者终身的延长的时段。维持疗法可在初始疗法之后或与初始或别的疗法联合提供。用于维持疗法的剂量可变化,而且可包括与其它类型的疗法使用的剂量相比降低的剂量。

[0080] “确定性手术”如该术语在医学界内使用的那样使用。确定性手术包括例如导致肿瘤清除或切除的规程,手术或其它,包括那些导致所有明显可见肿瘤清除或切除的。确定性手术包括例如肿瘤的完全的或治愈性的切除或完全总体切除。确定性手术包括以一个或多个阶段进行的规程,而且包括例如多阶段手术规程,其中在切除肿瘤之前实施一次或多次手术或其它规程。确定性手术包括清除或切除肿瘤,包括累及的器官,部分器官和组织,以及周围的器官,诸如淋巴结,部分器官,或组织的规程。

[0081] 如本文中定义的,术语“曲妥珠单抗”,“HERCEPTIN®”和“huMAb4D5-8”可互换使用。优选地,此类抗体包含分别在图4A (SEQ ID NO:13) 和图4B (SEQ ID NO.14) 中显示的轻链和重链氨基酸序列。

[0082] “表位4D5”或“4D5表位”或“4D5”指HER2的胞外域中与抗体4D5 (ATCC CRL 10463) 和曲妥珠单抗结合的区域。此表位接近HER2的跨膜域,且在HER2的域IV内。为了筛选结合4D5表位的抗体,可以实施常规的交叉阻断测定法,诸如Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow和David Lane, 1988中所记载的。或者,可以实施表位作图以评估抗体是否结合HER2的4D5表位(例如HER2的大约第529位残基至大约第625位残基区域(含两端点)中的任何一个或多个残基)。

[0083] “表位2C4”或“2C4表位”指HER2的胞外域中与抗体2C4结合的区域。为了筛选结合2C4表位的抗体,可以实施常规的交叉阻断测定法,诸如Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988) 中所记载的。或者,可以实施表位作图以评估抗体是否结合HER2的2C4表位。表位2C4包含来自HER2胞外域中的域II的残基。2C4抗体和帕妥珠单抗在域I, II和III的连接处结合HER2的胞外域 (Franklin

et al., Cancer Cell 5:317-328 (2004))。

[0084] 为了本文中的目的,“帕妥珠单抗”,“**PERJETA®**”和“rhuMAb 2C4”可互换使用。优选地,此类抗体包含分别在SEQ ID NO:7和8中的轻链和重链氨基酸序列。在帕妥珠单抗是完整抗体的情况中,优选地,它包含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,通过重组中国仓鼠卵巢(CHO)细胞生成抗体。

[0085] 如本文中定义的,术语“T-DM1”,“曲妥珠单抗-MCC-DM1”,“ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛”,“曲妥珠单抗-艾美坦辛”,和“**KADCYLA®**”可互换使用,并且指经由接头模块MCC连接至美登木生物碱类药物模块DM1的曲妥珠单抗,包括各种负荷和附着的抗体-药物缀合物的所有混合物,其中1,2,3,4,5,6,7,和8个药物模块共价附着至抗体曲妥珠单抗(US 7097840;US 2005/0276812;US 2005/0166993)。

[0086] 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学治疗剂,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,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),和贝伐珠单抗(bevacizumab)。

[0087] “化学疗法”是可用于治疗癌症的化学治疗剂的使用。

[0088] “化疗剂”指可用于治疗癌症的化学化合物,不管作用机制。化疗剂的类别包括但不限于:烷化剂类(alkylating agents),抗代谢物类(antimetabolites),纺锤体毒植物生物碱类(spindle poison plant alkaloids),细胞毒性/抗肿瘤抗生素类(cytotoxic/antitumor antibiotics),拓扑异构酶抑制剂类(topoisomerase inhibitors),抗体类(antibodies),光敏剂类(photosensitizers),和激酶抑制剂类(kinase inhibitors)。化疗剂的例子包括:erlotinib(**TARCEVA®**,Genentech/OSI Pharm.),多西他赛(docetaxel)(**TAXOTERE®**,Sanofi-Aventis),5-FU(氟尿嘧啶,5-氟尿嘧啶,CAS No.51-21-8),吉西他滨(gemcitabine)(**GEMZAR®**,Lilly),PD-0325901(CAS No.391210-10-9,Pfizer),顺铂(cisplatin)(顺式-二胺,二氯铂(II),CAS No.15663-27-1),卡铂(carboplatin)(CAS No.41575-94-4),帕利他赛(paclitaxel)(**TAXOL®**,Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.),替莫唑胺(temozolomide)(4-甲基-5-氧-2,3,4,6,8-五氮双环[4.3.0]九-2,7,9-三烯-9-羧酰胺,CAS No.85622-93-1,**TEMODAR®**,**TEMODAL®**,Schering Plough),他莫昔芬(tamoxifen)((Z)-2-[4-(1,2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基-乙胺,**NOLVADEX®**,**ISTUBAL®**,**VALODEX®**),和多柔比星(doxorubicin)(**ADRIAMYCIN®**),Akti-1/2,HPPD,和雷帕霉素(rapamycin)。

[0089] 化疗剂的更多例子包括:奥沙利铂(oxaliplatin)(**ELOXATIN®**,Sanofi),bortezomib(**VELCADE®**,Millennium Pharm.),sutent(**SUNITINIB®**,SU11248,

Pfizer), 来曲唑 (letrozole) (**FEMARA®**, Novartis), 甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesylate) (**GLEEVEC®**, Novartis), XL-518 (MEK抑制剂, Exelixis, WO 2007/044515), ARRY-886 (Mek抑制剂, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (PI3K抑制剂, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (PI3K抑制剂, Novartis), XL-147 (PI3K抑制剂, Exelixis), PTK787/ZK222584 (Novartis), 氟维司群 (fulvestrant) (**FASLODEX®**, AstraZeneca), 亚叶酸 (leucovorin, folinic acid), 雷帕霉素 (rapamycin) (西罗莫司 (sirolimus), **RAPAMUNE®**, Wyeth), 拉帕替尼 (lapatinib) (**TYKERB®**, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), 索拉非尼 (sorafenib) (**NEXAVAR®**, BAY43-9006, Bayer Labs), 吉非替尼 (gefitinib) (**IRESSA®**, AstraZeneca), 伊立替康 (irinotecan) (**CAMPTOSAR®**, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson&Johnson), ABRAXANE™ 不含克列莫佛 (Cremophor), 清蛋白改造纳米颗粒剂型帕利他赛 (paclitaxel) (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Il), vandetanib (rINN, ZD6474, **ZACTIMA®**, AstraZeneca), chlorambucil, AG1478, AG1571 (SU5271; Sugen), temsirolimus (**TORISEL®**, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), canfosfamide (**TELCYTA®**, Telik), 塞替派 (thiotepa) 和环磷酰胺 (cyclophosphamide) (**CYTOXAN®**, **NEOSAR®**); 磺烷基酯类 (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 (methylamelamines), 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 (trimethylomelamine); 番荔枝内酯类 (acetogenins) (尤其是布拉他辛 (bullatacin) 和布拉他辛酮 (bullatacinone)); 喜树碱 (camptothecin) (包括合成类似物托泊替康 (topotecan)); 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); 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 (chlorophosphamide), 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 (nitrosoureas), 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); 抗生素类, 诸如烯二炔类抗生素 (enediyne) (例如加利车霉素 (calicheamicin), 加利车霉素 γ II, 加利车霉素 ω II (Angew Chem.Intl.Ed.Engl., (1994)

33:183-186); 蒽环类抗生素 (dynemicin), dynemicin A; 二膦酸盐类 (bisphosphonates), 诸如氯膦酸盐 (clodronate); 埃斯波霉素 (esperamicin); 以及新制癌素 (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), 氨基霉素 (authramycin), 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 (chromomycinis), 放线菌素D (dactinomycin), 柔红霉素 (daunorubicin), 地托比星 (detorubicin), 6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸, 吗啉代多柔比星, 氰基吗啉代多柔比星, 2-吡咯代多柔比星和脱氧多柔比星), 表柔比星 (epirubicin), 依索比星 (esorubicin), 伊达比星 (idarubicin), 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 (porfiromycin), 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), 佐柔比星 (zorubicin); 抗代谢物类, 诸如甲氨蝶呤 (methotrexate) 和5-氟尿嘧啶 (5-FU); 叶酸类似物, 诸如二甲叶酸 (denopterin), 甲氨蝶呤 (methotrexate), 蝶罗呤 (pteropterin), 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), 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 (azaauridine), 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), 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 (mepitiostane), 睾内酯 (testolactone); 抗肾上腺类, 诸如氨基葡萄糖 (aminogluthetamide), 米托坦 (mitotane), 曲洛司坦 (trilostane); 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸 (frolinic acid); 醋葡萄糖内酯 (aceglatone); 醛磷酸胺糖苷 (aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid); 恩尿嘧啶 (eniluracil); 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); 埃坡霉素 (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); 鬼臼酸 (podophyllinic acid); 2-乙基酰肼 (ethylhydrazide); 丙卡巴肼 (procarbazine); **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生 (razoxane); 根霉素 (rhizoxin); 西佐喃 (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) (T-2毒素, 疣孢菌素 (verrucurin) A, 杆孢菌素 (roridin) A 和蛇行菌素 (anguidine)); 乌拉坦 (urethan); 长春地辛 (vindesine); 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露莫

司汀(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(cyclophosphamide);塞替派(thiotepa);6-硫鸟嘌呤(thioguanine);巯基嘌呤(mercaptopurine);甲氨蝶呤(methotrexate);铂类似物,诸如顺铂(cisplatin)和卡铂(carboplatin);长春碱(vinblastine);依托泊苷(etoposide)(VP-16);异环磷酰胺(ifosfamide);米托蒽醌(mitoxantrone);长春新碱(vincristine);长春瑞滨(vinorelbine)(NAVELBINE®);能灭瘤(novantrone);替尼泊苷(teniposide);依达曲沙(edatrexate);道诺霉素(daunomycin);氨基蝶呤(aminopterin);卡培他滨(capecitabine)(XELODA®,Roche);伊本膦酸盐(ibandronate);CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMF0);类视黄酸类(retinoids),诸如视黄酸(retinoic acid);及任何上述物质的制药学可接受的盐,酸和衍生物。

[0090] 术语“有效量”指在患者中有效治疗癌症的药物量。有效量的药物可以减少癌细胞的数目;缩小肿瘤的尺寸;抑制(即在一定程度上减缓和优选阻止)癌细胞浸润到周围器官中;抑制(即在一定程度上减缓和优选阻止)肿瘤转移;在一定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。根据药物可阻止现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度,它可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。有效量可延长无进展存活(例如根据实体瘤的响应评估标准(Response Evaluation Criteria for Solid Tumors,RECIST)或CA-125变化的测量),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(例如根据FOSI的评估)。术语“有效量”明确包括适合于实现实施例1中描述的临床试验的任何主要或次要终点的量。

[0091] “紫杉烷”是抑制有丝分裂并且干扰微管的化学疗法。紫杉烷的例子包括帕利他赛(TAXOL®;Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.);帕利他赛的无克列莫佛(cremophor)的,清蛋白工程化的纳米颗粒配制剂或nab-帕利他赛(ABRAXANE™;American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,Illinois);和多西他赛(TAXOTERE®;Rhône-Poulenc Rorer,Antony,France)。

[0092] “蒽环类抗生素”是来自真菌Streptococcus peucetius的一类抗生素,例子包括:柔红霉素,多柔比星,和表柔比星,等等。

[0093] “基于蒽环类抗生素的化学疗法”指由一种或多种蒽环类抗生素组成或者包含一种或多种蒽环类抗生素的化学疗法方案。例子包括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);等等。

[0094] 为了本文中的目的,“基于卡铂的化学疗法”指由一种或多种卡铂组成或包含一种或多种卡铂的化学疗法方案。一个例子是TCH(多西他赛/TAXOL®,卡铂,和曲妥珠单抗/HERCEPTIN®)。

[0095] “芳香酶抑制剂”抑制酶芳香酶,其调节肾上腺中的雌激素生成。芳香酶抑制剂的例子包括:4(5)-咪唑,氨鲁米特(aminoglutethimide),MEGASE®醋酸甲地孕酮,AROMASIN®依西美坦,福美坦,法倔唑(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,芳香酶抑制剂在本文中是来曲唑或阿那曲唑。

[0096] “抗代谢物化学疗法”指在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的使用。许多抗代谢物化疗剂干扰核酸,RNA和DNA的生成。抗代谢物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) (XELODA™),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),pyridmidene,氟达拉滨(fludarabine) (**FLUDARA®**),克拉屈滨(cladribine),2-脱氧-D-葡萄糖等。

[0097] “化学疗法抗性”癌症意指癌症患者虽然接受化学疗法方案但已经进展(即患者是“化学疗法难治的”),或者患者在完成化学疗法方案后12个月内(例如在6个月内)已经进展。

[0098] 术语“铂”在本文中用于指基于铂的化学疗法,包括但不限于顺铂,卡铂和奥沙利铂。

[0099] 术语“氟嘧啶”在本文中用于指抗代谢物化学疗法,包括但不限于卡培他滨,氟尿苷,和氟尿嘧啶(5-FU)。

[0100] 治疗剂的“固定的”(fixed)或“平坦的”(flat)剂量在本文中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,固定的或平坦的剂量不是作为mg/kg剂量或mg/m²剂量提供的,而是作为治疗剂的绝对量提供的。

[0101] “加载”剂量或“LD”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,但本文中也设想了多个加载剂量。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。

[0102] “维持”剂量在本文中指在治疗期里施用于患者的一剂或多剂治疗剂。通常,维持剂量以间隔的治疗间隔施用,例如大约每周,大约每2周,大约每3周,或大约每4周,优选每3周。

[0103] “输注”指出于治疗目的经由静脉将含有药物的溶液引入身体中。一般地,这经由静脉内(IV)袋实现。

[0104] “静脉内袋”或“IV袋”是可以容纳可以经由患者的静脉施用的溶液的袋。在一个实施方案中,溶液是盐水溶液(例如约0.9%或约0.45%NaCl)。任选地,IV袋由聚烯烃或聚氯乙烯形成。

[0105] “共施用”意指在同一次施用期间静脉内施用两种(或更多种)药物,而不是序贯输注两种或更多种药物。一般地,这会牵涉将两种(或更多种)药物在其共施用前组合入同一个IV袋中。

[0106] 与一种或多种其它药物“并行”施用的药物在相同治疗周期期间,与一种或多种其它药物在相同治疗日,和任选地与一种或多种其它药物在相同时间施用。例如,对于每3周给予的癌症疗法,在3周周期的第-1天各自施用并行施用的药物。

[0107] “心脏毒性”指影响心脏并且源自药物或药物组合的施用的任何毒性副作用。基于

下列的任一项或多项评估心脏毒性：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，或左心室射血分数 (LVEF) 的降低。

[0108] 短语“在不增加包含帕妥珠单抗的药物组合的心脏毒性的情况中”指等于或小于用药物组合中与帕妥珠单抗不同的药物治疗的患者中观察到的心脏毒性 (例如等于或小于源自施用曲妥珠单抗和化学疗法，例如多西他赛的心脏毒性) 的心脏毒性的发生。

[0109] “管形瓶”是适合于容纳液体或冻干制剂的容器。在一个实施方案中，管形瓶是一次性管形瓶，例如具有塞子的20-cc一次性管形瓶。

[0110] 术语“包装插页”用于指通常包括在治疗产品的商业包装中的用法说明，其含有关于涉及此类治疗产品的使用的适应征，用法，剂量，施用，禁忌症和/或警告的信息。

[0111] “不利事件”是与调查 (医学) 产品或其它方案强加的干预 (不管属性如何) 的使用短暂有关的任何不利且不想要的体征，症状或疾病；并且包括：在方案规定的AE报告期期间出现的先前在患者中没有观察到的AE，包括AE报告期前不存在的与乳腺癌有关的体征或症状；由于方案强制执行的干预 (例如侵入性规程，诸如活组织检查) 而发生的并发症；若适用的话，与药物清除，无治疗运转，或其它方案强制执行的干预有关的研究治疗分配前发生的AE；在方案规定的AE报告期期间由调查人员判断为在严重性或频率上已经恶化或者在特征上变化的先前存在的医学状况 (除了研究的状况外)。

[0112] 若不利事件满足以下标准，则它分类为“严重不利事件” (SAE)：导致死亡 (即，AE实际上引起或导致死亡)；威胁生命的 (即，按调查人员的意见，AE使患者置于立即的死亡风险，但是不包括若它以更严重的形式发生，则可以已经引起死亡的AE)；需要或延长患者住院；导致持久或重大的失能/无能 (即，AE导致对患者进行正常生活机能的能力的实质性破坏)；导致暴露于调查产品的母亲出生的新生儿/婴儿中的先天性畸形/出生缺陷；或者基于医学判断被调查人员认为是重大的医学事件 (例如可以危害患者或者可以需要医学/手术干预以防止上文列出的后果之一)。认为不满足任何严重标准的所有AE是非严重AE。术语“重度”和“严重”不是同义的。严重性 (或强度) 指特定AE的等级，例如轻度 (1级)，中度 (2级)，或重度 (3级) 心肌梗死 (见5.2.2节)。“严重”是管理定义 (见先前的定义)，并且基于患者或事件后果或通常与对患者的生命或机能发挥造成威胁的事件有关的行为标准。严重度 (不是严重性) 充当用于限定从发起人至适用的管理当局的管理报告义务的指南。应当在eCRF上记录AE和SAE时独立评估严重性和严重度。

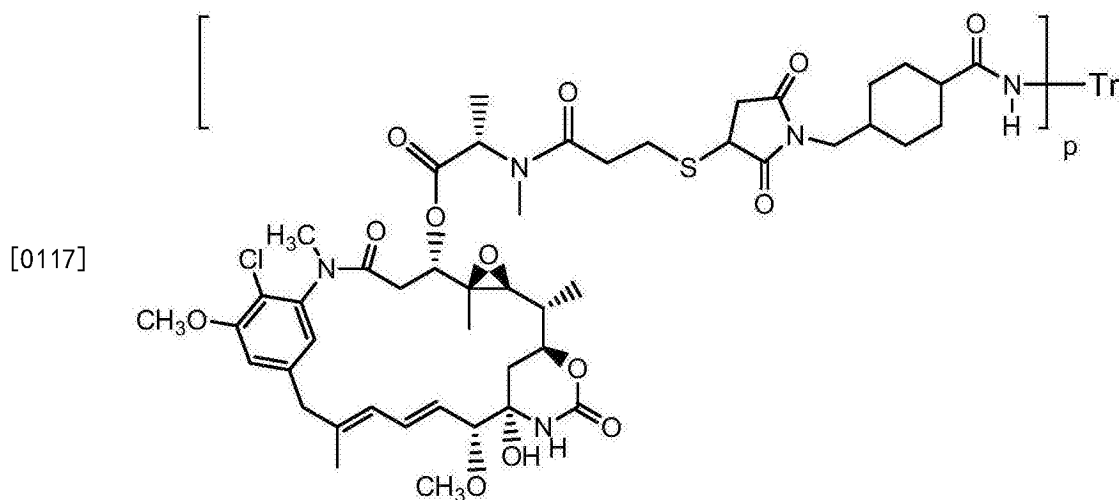
[0113] 详细描述

[0114] 本发明部分基于下述观察结果，即与未曾接受过在先紫杉烷的患者相比，曲妥珠单抗-MCC-DM1出乎意料地有效治疗具有一线转移性HER2阳性乳腺癌的患者，其中该患者已经接受过紫杉烷的在先治疗。本发明提供使用抗HER2-美登木生物碱缀合物，诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1来治疗HER2阳性进展性或复发性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌 (一线转移性乳腺癌) 的方法，其中该患者先前已经用紫杉烷治疗过。虽然对于HER2阳性癌症患者存在辅助，新辅助和转移性设置中的治疗选项，但是需要别的选项，包括“一线”转移性设置中的，即对于具有先前未治疗的转移性乳腺癌的患者，或具有局部晚期乳腺癌的患者。总之，与标准护理HERCEPTIN+紫杉烷 (HT) 相比，T-DM1展现非劣效性的无进展存活 (PFS)，但是它没有优于HT。然而，数据提示T-DM1胜过HT对于先前已经接受过紫杉烷疗法的患者有利的效果，指示应当选择此类患者来用抗HER2-美登木生物碱缀合物，诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1

治疗局部晚期和一线转移性Her2阳性乳腺癌。

[0115] 曲妥珠单抗-MCC-DM1 (T-DM1)

[0116] 本发明包括用曲妥珠单抗-MCC-DM1 (T-DM1)，即抗体-药物缀合物 (CAS Reg.No.139504-50-0) 的治疗性处理，所述曲妥珠单抗-MCC-DM1 (T-DM1) 具有以下结构：



[0118] 其中Tr是曲妥珠单抗，其经由接头模块MCC连接至美登木生物碱类药物模块DM1 (US 5208020;US 6441163)。药物对抗体比或药物载荷在曲妥珠单抗-MCC-DM1的上述结构中用p表示，并且范围为1至约8的整数值。曲妥珠单抗-MCC-DM1包括各种加载和附着的抗体-药物缀合物的所有混合物，其中1,2,3,4,5,6,7,和8个药物模块共价附着至抗体曲妥珠单抗 (US 7097840;US 2005/0276812;US 2005/0166993)。平均药物载荷是约3.5。

[0119] 曲妥珠单抗可以由哺乳动物细胞 (中国仓鼠卵巢,CHO) 悬浮培养物生成。HER2 (或c-erbB2) 原癌基因编码一种185kDa跨膜受体蛋白，其在结构上与表皮生长因子受体相关。曲妥珠单抗是一种具有鼠4D5抗体 (ATCC CRL 10463, 依据布达佩斯条约于1990年5月24日保藏于美国典型培养物保藏中心,12301Parklawn Drive,Rockville,Md.20852) 的或自鼠4D5抗体衍生的抗原结合残基的抗体。例示性的人源化4D5抗体包括huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 和 huMAb4D5-8 (HERCEPTIN®)，如US5821337中的。

[0120] 例如，可以依照美国申请公开文本No.20110165155的实施例1制备曲妥珠单抗-MCC-DM1。

[0121] 抗HER2-美登木生物碱缀合物的配制剂

[0122] 可以依照治疗组合中使用的标准药学实践配制抗HER2-美登木生物碱缀合物，诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1。药物组合物包含与一种或多种药学可接受载体，助流剂，稀释剂或赋形剂结合的曲妥珠单抗-MCC-DM1。

[0123] 合适的载体，稀释剂和赋形剂是本领域熟练技术人员公知的，而且包括下述物质，诸如碳水化合物，蜡，水溶性和/或可膨胀聚合物，亲水性或疏水性物质，明胶，油，溶剂，水等等。所使用的具体载体，稀释剂或赋形剂会取决于应用本发明化合物的手段和目的。一般基于本领域技术人员公认对哺乳动物施用安全 (GRAS) 的溶剂来选择溶剂。一般而言，安全的溶剂是无毒的水性溶剂，诸如水和其它在水中可溶或易混合的无毒溶剂。合适的水性溶剂包括水，乙醇，丙二醇，聚乙二醇 (例如PEG 400, PEG300)，等及其混合物。配制剂还可以包

括一种或多种缓冲剂,稳定剂,表面活性剂,湿润剂,润滑剂,乳化剂,悬浮剂,防腐剂,抗氧化剂,不透明剂,助流剂,操作助剂,着色剂,增甜剂,芳香剂,矫味剂和其它已知添加剂以提供药物(即本发明的化合物或其药物组合物)精致的外观或帮助制造药学产品(即药物)。

[0124] 可以使用常规溶解和混合规程来制备配制剂。例如,在一种或多种上文所述赋形剂存在下在合适的溶剂中溶解散装药物物质(即本发明的化合物或化合物的稳定化形式(例如与环糊精衍生物或其它已知的络合剂复合))。本发明的化合物通常配制成药学剂量形式,以提供可容易控制剂量的药物和使得患者顺从处方方案。

[0125] 可以以多种方式包装供应用的药物组合物(或配制剂),这取决于用于施用药物的方法。一般而言,分发的物品包括容器,其中放置有适宜形式的药物配制剂。合适的容器是本领域技术人员公知的,而且包括诸如瓶(塑料的和玻璃的),囊,安瓿,塑料袋,金属筒,等等材料。容器还可以包括防干扰装置以防止不慎存取包装的内容物。另外,容器上放置有描述容器的内容物的标签。标签还可以包括适宜的警告。

[0126] 可以以冻干配制剂,碾碎的粉末,或水溶液的形式用药学可接受稀释剂,载体,赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences(1995)第18版,Mack Publ.Co., Easton,PA)配制药物配制剂,供各种路径和类型的施用。可以通过于环境温度和适宜的pH,及于期望的纯度,与生理学可接受载体(即在所采用的剂量和浓度对接受者无毒的载体)混合来进行配制。配制剂的pH主要取决于具体用途和化合物的浓度,但是范围可以是约3至约8。

[0127] 药物配制剂优选是无菌的。具体而言,用于体内施用的配制剂必须是无菌的。这种无菌易于通过无菌滤膜过滤来实现。

[0128] 药物配制剂通常能作为固体组合物,冻干配制剂或作为水溶液来贮存。

[0129] 本发明的药物配制剂会以与优良医学实践一致的方式即量,浓度,时间表,疗程,媒介和施用路径来进行剂量给药和施用。在此语境中要考虑的因素包括所治疗的具体病症,患者个体的临床状况,病症的起因,药剂的递送部位,施用方法,施用时间表,和医学从业人员知道的其它因素。

[0130] 可接受的稀释剂,载体,赋形剂和稳定剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的,并且包括: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(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯己双铵;苯扎氯铵,苄索氯铵;酚,丁醇,乙醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;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,诸如血清清蛋白,明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸或赖氨酸;单糖类,二糖类和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖类,诸如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN™(包括Tween 80),PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)(包括PEG400)。活性药物组分还可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),在胶状药物递送系统中(例如脂质体,清蛋白微球体,微乳剂,纳米颗粒和纳米胶囊),或在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences第18版,(1995)Mack Publ.Co.,Easton,PA。药物配制剂的其它例子可以参见

Lieberman, H.A. and Lachman, L. 编, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Vol 3, 2nd Ed., New York, NY.

[0131] 药物配制剂包括那些适合于本文详述的施用路径的。配制剂可以方便地以单位剂量形式存在,而且可以通过药学领域公知的任何方法来制备。技术和配方一般见 Remington's Pharmaceutical Sciences 第18版(1995) Mack Publishing Co., Easton, PA。此类方法包括使活性组分与构成一种或多种辅助组分的载体联合的步骤。一般而言,通过均匀且紧密地使活性组分与液体载体或粉碎的固体载体或二者联合,然后在必要时使产物定形来制备配制剂。

[0132] 药物组合物可以是无菌可注射制剂形式,诸如无菌可注射水性或油性悬浮液。可以依照已知技术,使用上文所述那些合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来配制这种悬浮液。无菌可注射制剂可以是在无毒胃肠外可接受稀释剂或溶剂中的溶液或悬浮液,诸如在1,3-丁二醇中或自冻干粉制备的溶液。在可以采用的可接受的媒介和溶剂中有水,林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,可以方便地采用无菌非挥发性油作为溶剂或悬浮介质。为了这一目的,可以采用任何温和的非挥发性油,包括合成的甘油单酯或二酯。另外,脂肪酸诸如油酸同样可以用于制备可注射制剂。

[0133] 可以与载体材料联合以产生单个剂量形式的活性组分的量会根据所治疗的宿主和具体的施用模式而变化。例如,预定对人口服施用的时间-释放配制剂可以含有大约1至1000mg的活性材料,其与适当和方便量的载体材料复合,载体材料可以在总组合物的约5至约95% (重量:重量)变化。可以制备药物组合物来提供容易测量的量供施用。例如,预定用于静脉内输注的水溶液可以含有约3至500 μ g的活性组分每毫升溶液,以便能以约30mL/小时的速率输注合适的体积。

[0134] 适合于胃肠外施用的配制剂包括水性和非水性无菌注射溶液,其可以含有抗氧化剂,缓冲剂,抑菌剂和使得配制剂与预定接受者的血液等渗的溶质;和水性和非水性无菌悬浮液,其可以包括悬浮剂和增稠剂。

[0135] 可以将配制剂包装在单剂(unit-dose)或多剂(multi-dose)容器中,例如密封的安瓿和管形瓶,而且可以将其在冷冻干燥(冻干)条件下贮存,在使用前仅需要添加无菌液体载体,例如水以便即刻注射。由先前所述类型的无菌粉末,颗粒和片剂制备临时注射的溶液和悬浮液。优选的单位剂量配制剂为那些含有如上所述每日剂量或单位每日亚剂量或其合适的部分的活性组分的。

[0136] 作为一般建议,每剂施用的曲妥珠单抗-MCC-DM1的初始药理学有效量会在约0.3至15mg/kg/天的患者体重的范围中。

[0137] 商业T-DM1配制剂(KADCYLA[®], ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛)是一次性管形瓶中的无菌的,白色至灰白色的无防腐剂的冻干粉末。每个管形瓶含有100mg或160mg ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛。在重建后,每个一次性管形瓶含有ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛(20mg/mL), Polysorbate 20 [0.02% (w/v)], 琥珀酸钠(10mM), 和蔗糖[6% (w/v)], 具有pH 5.0和1.026g/mL的密度。通过稀释后的静脉内输注施用含有20mg/mL ado-曲妥珠单抗-艾美坦辛的所得溶液。

[0138] 帕妥珠单抗的配制剂

[0139] 帕妥珠单抗的商业配制剂(PERJETA[®])含有用于IV输注的无防腐剂的溶液形式

的帕妥珠单抗420mg/14mL (30mg/mL)。

[0140] 药物组合物的施用

[0141] 本文所述药物组合物可以通过对于要治疗的状况适宜的任何路径来施用。合适的路径包括口服,胃肠外(包括皮下,肌肉内,静脉内,动脉内,吸入,皮内,鞘内,硬膜外,和输注技术),透皮,直肠,鼻,表面(包括口腔和舌下),阴道,腹膜内,肺内和鼻内。表面施用还可涉及使用透皮施用诸如透皮贴或离子透入装置。对于局部免疫抑制治疗,可以通过病灶内施用来施用化合物,包括灌注或以其它方式在移植前使移植物接触抑制剂。应当领会,优选的路径可以随例如接受者的状况而变化。若口服施用化合物,则它可以与药学可接受载体,助流剂,或赋形剂一起配制成丸剂,胶囊剂,片剂,等。若胃肠外施用化合物,则它可以与药学可接受胃肠外媒介或稀释剂一起,以单位剂量可注射形式配制,如下文详述的。

[0142] 制品

[0143] 提供了含有可用于本文中的治疗方法的抗HER2-美登木生物碱缀合物,诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1的制品,或“试剂盒”。在一个实施方案中,试剂盒包含容器,所述容器包含曲妥珠单抗-MCC-DM1。试剂盒可以进一步包含标签或包装插页,其在容器上或与容器有关。术语“包装插页”用于指通常包括在治疗用产品的商业包装中的说明书,它们包含有关涉及此类治疗用产品使用的适应征,用法,剂量,施用,禁忌症和/或警告的信息。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,泡罩包,等,容器可以由各种材料,诸如玻璃或塑料形成。容器可以装有有效用于在本文中的治疗方法中使用的抗HER2-美登木生物碱缀合物,诸如曲妥珠单抗-MCC-DM1或其配制剂,而且可以具有无菌存取口(例如容器可以是具有皮下注射针头可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或管形瓶)。标签或包装插页指示组合物用于治疗,如本文中描述和要求保护的。制品还可以含有别的容器,其包含药学可接受缓冲液,诸如注射用抑菌水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,林格氏溶液和右旋糖溶液。它可以进一步包括从商业和用户立场看想要的其它材料,包括其它缓冲液,稀释剂,滤器,针头,和注射器。

[0144] 试剂盒可以进一步包含关于施用曲妥珠单抗-MCC-DM1的指导。例如,如果试剂盒包括包含曲妥珠单抗-MCC-DM1的第一组合物和第二药物配制剂,那么试剂盒可以进一步包含关于对有所需要的患者同时,序贯或分开施用第一和第二药物组合物的指导。

实施例

[0145] 为了例示本发明,包括附图,前述附图简述,和下述实施例中提供的实施例。然而,要理解,这些实施例并非限制本发明且仅仅意图提示实施本发明的方法。

[0146] 实施例1

[0147] III期临床研究

[0148] 这项研究(clinicaltrials.gov标识符#NCT01120184;研究编号B022589)是一项随机化,3分支,多中心,III期研究,评估曲妥珠单抗-艾美坦辛(T-DM1)与帕妥珠单抗,或单独的曲妥珠单抗-艾美坦辛(T-DM1)(即,帕妥珠单抗-安慰剂)较之曲妥珠单抗(Herceptin)加紫杉烷(多西他赛或帕利他赛)的组合在具有HER2阳性进展性或复发性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的患者中的功效和安全性(见图6)。

[0149] 分层因素:世界地区,在先新辅助疗法(如果是:在先曲妥珠单抗/拉帕替尼),内脏疾病。

[0150] 主要终点:独立审查机构 (IRF) 评估的无进展存活 (PFS), 评估的非劣效性和优效性。

[0151] 关键次要终点:总体存活 (OS), PFS (调查人员评估的), 客观响应率 (ORR), 安全性, 患者报告的结局。

[0152] 这项研究的纳入和除斥标准如下:

[0153] 标准

[0154] 纳入标准如下:1) 成年患者 ≥ 18 岁;2) HER2阳性乳腺癌;3) 组织学或细胞学确认的乳腺癌,具有局部复发性或转移性疾病,而且是化学疗法的候选。具有局部晚期疾病的患者必须具有复发性或进展性疾病,它不得适合于治愈意图的切除;4) 患者必须具有可测量的和/或不可测量的疾病,它必须遵照RECIST 1.1可评价;5) ECOG性能状态0或1;6) 根据实验室结果确定为器官功能适当。

[0155] 除斥标准如下:1) 用于转移性乳腺癌或复发性局部晚期疾病的在先(或任何)化学疗法的历史;2) 自最后一剂长春花生物碱或紫杉烷细胞毒性化学疗法直至转移性诊断之时 < 6 个月的间隔;3) 随机化之前 < 7 天的激素疗法;4) 随机化之前 < 21 天的曲妥珠单抗疗法和/或拉帕替尼(新或辅助设置);5) 在先曲妥珠单抗-艾美坦辛或帕妥珠单抗疗法。

[0156] 结局测量如下:

[0157] 使用下述测量来评估主要结局:1) 基于独立审查机构 (IRF) 实施的肿瘤评估的无进展存活 (PFS);和2) 不良事件 (AE) 发生率。

[0158] 使用下述测量来评估次要结局:1) 在2年时截断的总体存活 (OS);2) 1年存活率;3) 总体存活 (OS) 率;4) 总体或客观响应率;5) 响应持续时间;6) 由独立审查机构 (IRF) 评估的治疗失败前时间;和7) 临床受益率。

[0159] 如图7中所示,数据提示T-DM1 (Kadcyla®)对于先前已经接受过紫杉烷疗法的具有一线转移性HER2阳性乳腺癌的患者有利的效果。

序列表

<110> 豪夫迈·罗氏有限公司(F. HOFFMANN-LA ROCHE AG)

<120> 治疗HER2阳性局部晚期或先前未治疗的转移性乳腺癌的方法

<130> GNE-0423R1-W0

<140>

<141>

<150> 62/168,809

<151> 2015-05-30

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 195

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 1

Thr	Gln	Val	Cys	Thr	Gly	Thr	Asp	Met	Lys	Leu	Arg	Leu	Pro	Ala	Ser
1			5					10					15		
Pro	Glu	Thr	His	Leu	Asp	Met	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Gln	Gly	Cys	Gln
			20					25					30		
Val	Val	Gln	Gly	Asn	Leu	Glu	Leu	Thr	Tyr	Leu	Pro	Thr	Asn	Ala	Ser
			35					40					45		
Leu	Ser	Phe	Leu	Gln	Asp	Ile	Gln	Glu	Val	Gln	Gly	Tyr	Val	Leu	Ile
			50					55					60		
Ala	His	Asn	Gln	Val	Arg	Gln	Val	Pro	Leu	Gln	Arg	Leu	Arg	Ile	Val
65				70					75					80	
Arg	Gly	Thr	Gln	Leu	Phe	Glu	Asp	Asn	Tyr	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Asp
				85					90					95	
Asn	Gly	Asp	Pro	Leu	Asn	Asn	Thr	Thr	Pro	Val	Thr	Gly	Ala	Ser	Pro
			100					105					110		
Gly	Gly	Leu	Arg	Glu	Leu	Gln	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Glu	Ile	Leu	Lys
			115					120					125		
Gly	Gly	Val	Leu	Ile	Gln	Arg	Asn	Pro	Gln	Leu	Cys	Tyr	Gln	Asp	Thr
			130					135					140		
Ile	Leu	Trp	Lys	Asp	Ile	Phe	His	Lys	Asn	Asn	Gln	Leu	Ala	Leu	Thr
145				150					155					160	
Leu	Ile	Asp	Thr	Asn	Arg	Ser	Arg	Ala	Cys	His	Pro	Cys	Ser	Pro	Met
				165					170					175	
Cys	Lys	Gly	Ser	Arg	Cys	Trp	Gly	Glu	Ser	Ser	Glu	Asp	Cys	Gln	Ser

180	185	190
Leu Thr Arg		
195		
<210> 2		
<211> 124		
<212> PRT		
<213> 人(Homo sapiens)		
<400> 2		
Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr		
1 5 10 15		
Asp Cys Cys His Glu Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His		
20 25 30		
Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu		
35 40 45		
Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser		
50 55 60		
Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr		
65 70 75 80		
Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu		
85 90 95		
Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln		
100 105 110		
Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro Cys Ala Arg Val		
115 120		
<210> 3		
<211> 169		
<212> PRT		
<213> 人(Homo sapiens)		
<400> 3		
Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu Val Arg Ala Val Thr		
1 5 10 15		
Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe Gly Ser		
20 25 30		
Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala Ser Asn Thr		
35 40 45		
Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu Thr Leu Glu Glu		
50 55 60		
Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp		
65 70 75 80		

Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His
 85 90 95
 Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu
 100 105 110
 Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His
 115 120 125
 His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu
 130 135 140
 Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu
 145 150 155 160
 Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala
 165

<210> 4

<211> 142

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 4

Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr
 1 5 10 15
 Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu
 20 25 30
 Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg
 35 40 45
 His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val
 50 55 60
 Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr
 65 70 75 80
 Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro
 85 90 95
 Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala
 100 105 110
 Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp
 115 120 125
 Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr
 130 135 140

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 5

Asp	Thr	Val	Met	Thr	Gln	Ser	His	Lys	Ile	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Ile	Gly
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
			35					40					45		
Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
			50				55				60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala
65					70					75					80
Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Tyr
					85					90					95
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
					100					105					

<210> 6

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 6

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Thr
1					5					10				15	
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
					20					25				30	
Thr	Met	Asp	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile
					35					40				45	
Gly	Asp	Val	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Tyr	Asn	Gln	Arg	Phe
							50			55				60	
Lys	Gly	Lys	Ala	Ser	Leu	Thr	Val	Asp	Arg	Ser	Ser	Arg	Ile	Val	Tyr
65						70				75					80
Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Phe	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
							85				90				95
Ala	Arg	Asn	Leu	Gly	Pro	Ser	Phe	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly

100	105	110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 7		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"		
<400> 7		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly		
20 25 30		
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35 40 45		
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65 70 75 80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100 105		
<210> 8		
<211> 119		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"		
<400> 8		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1 5 10 15		
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr		
20 25 30		
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35 40 45		

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Leu Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 10

<211> 119

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 10

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
Ala Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		80
85	90	95
Ala Arg Gly Arg Val Gly Tyr Ser Leu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 11		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 来源		
<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"		
<400> 11		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly		15
20	25	30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr		80
85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
		160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 12
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"
 <400> 12
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 13

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
          20           25           30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35           40           45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
          85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
          100          105          110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
          115          120          125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
          130          135          140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145          150          155          160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
          165          170          175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
          180          185          190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
          195          200          205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          210

```

<210> 14

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 14

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

```

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr			
20	25	30	
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445

Gly

<210> 15

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala		
1	5	10
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val		
20	25	30
Ser Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys		
35	40	45
Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg		
50	55	60
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser		
65	70	75
Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile		
85	90	95
Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr		
100	105	110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 16

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述：合成的多肽"

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
	165	170
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
	180	185
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
	195	200
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
	245	250
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
	260	265
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
	275	280
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
	325	330
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
	340	345
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
	355	360
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
	405	410
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
	420	425
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445

Lys

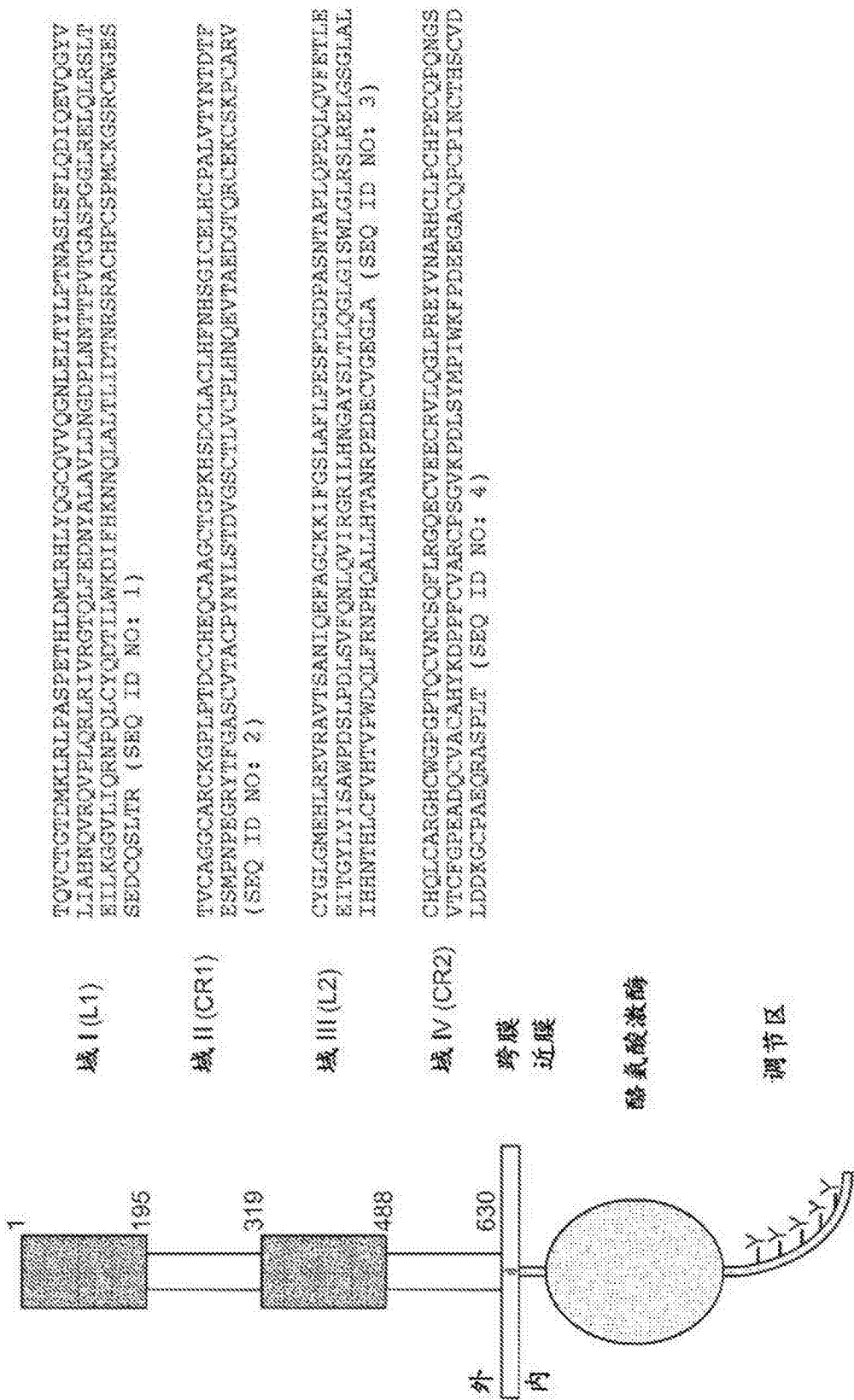


图1

可变轻

		10	20	30	40
2C4		DTVMTQSHKIMSTSVGDRVSITC	[KASQUVSIGVA]	WYQQRF	
		** * *		*	
574		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQKF	
			* ** ***		
人 κI		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[KASQISNYLA]	WYQQKF	

		50	60	70	80
2C4		GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVOA		
		**	* *	* *	**
574		GRAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQF		
			* *****		
人 κI		GRAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQF		

		90	100
2C4		EDLAVYYC [QQYIYPYT]	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:5)
		* *	* *
574		EDFATYYC [QQYIYPYT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:7)
			*** *
人 κI		EDFATYYC [QQYNSLPWT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:9)

图2A

可变重

		10	20	30	40
2C4		EVQLQQSGPELVKPGTSPVHISKAS	[GFTFTDYTMD]	WVKQS	
		** * * * *		*	*
574		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA	
			** * *		
人 III		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA	

		50 a	60	70	80
2C4		HGKSLIEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	KASLTVDRSSRIVYM		
		* * *	*** *	*** *	
574		PGKGLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	RFTLSVDRSKNTLYL		
		***** * *	* *		
人 III		PGKGLEWVA [VISGDDGSTYYADSVKG]	RFTISRDNSENKNTLYL		

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

人 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
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
70      80      90      100     110     120
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIPYTFGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
130     140     150     160     170     180
SDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
190     200     210
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (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
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
70      80      90      100     110     120
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSA
130     140     150     160     170     180
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
190     200     210     220     230     240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
250     260     270     280     290     300
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
310     320     330     340     350     360
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
370     380     390     400     410     420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
430     440     448
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12)

```

图3B

曲安珠单抗轻链

```

1  D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D V N T A V A W Y Q Q K P G K A P K      45
└─┘
46  L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q      90
60
91  H Y T T P P T F G Q C T K K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L      135
105
136  L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T      180
150
181  L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO: 13)      214
195

```

图4A

曲安珠单抗重链

```

1  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNYKDTYIHWWVRQAPGKGL 45
46  EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSSLRAED 90
91  TAVYYCSRWGCGDGFYANDYWGQGTLVTVSSASTKGPSSVFFPLAPSS 135
136  KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALLTSGVHTFPFAVLQSS 180
181  GLYSSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNKKPSNTKKVDKKVDEPKSCDK 225
226  THTCPPCPAPELLGGPSSVFLFPKPKDGLMISRTPEVTCVVVDVS 270
271  HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD 315
316  WLNCKEKCKVKSNKALPAPIEKFTISKAKGQPRRPQVYTLPPSREE 360
361  MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNCGQPENNYKTTTPPVLDSDG 405
406  SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFRSCSVMHHEALHNHYTQKSSLSPG 449

```

(SEQ ID NO: 14)

图4B

抗爭與抵抗

```

1  V V H S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D V S I G V A W Y Q Q K P G K 45
46  A P K L L I Y S A S Y R Y T G V P S R R P S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y 90
91  C C Q Q Y Y I Y P Y T F C Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V 135
136 V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S 180
181 T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO: 15) 210

```

帕安珠单抗可变更键

1	15	30	45
E V Q L V B S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F T D Y T M D W V R Q A F G K C L			
46	60	75	90
E W V A D V N P N S G G S I Y N Q R F K G R F T L S V D R S K N T L Y L Q M N S L R A E D			
91	105	120	135
T A V Y Y C A R N L G P S F Y F D Y N G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F F L A P S S K			
136	150	165	180
S T S G G T A A L G C L V K D Y F P K P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G			
181	195	210	225
L Y S L S S V V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T			
226	240	255	270
H T C P P C P A P B L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H			
271	285	300	315
E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W			
316	330	345	360
L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E H			
361	375	390	405
T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S			
406	420	435	449
F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V R S C S V M H E A L H N N Y T Q K S L S L S P G K			

(SEQ ID NO: 16)

图5B

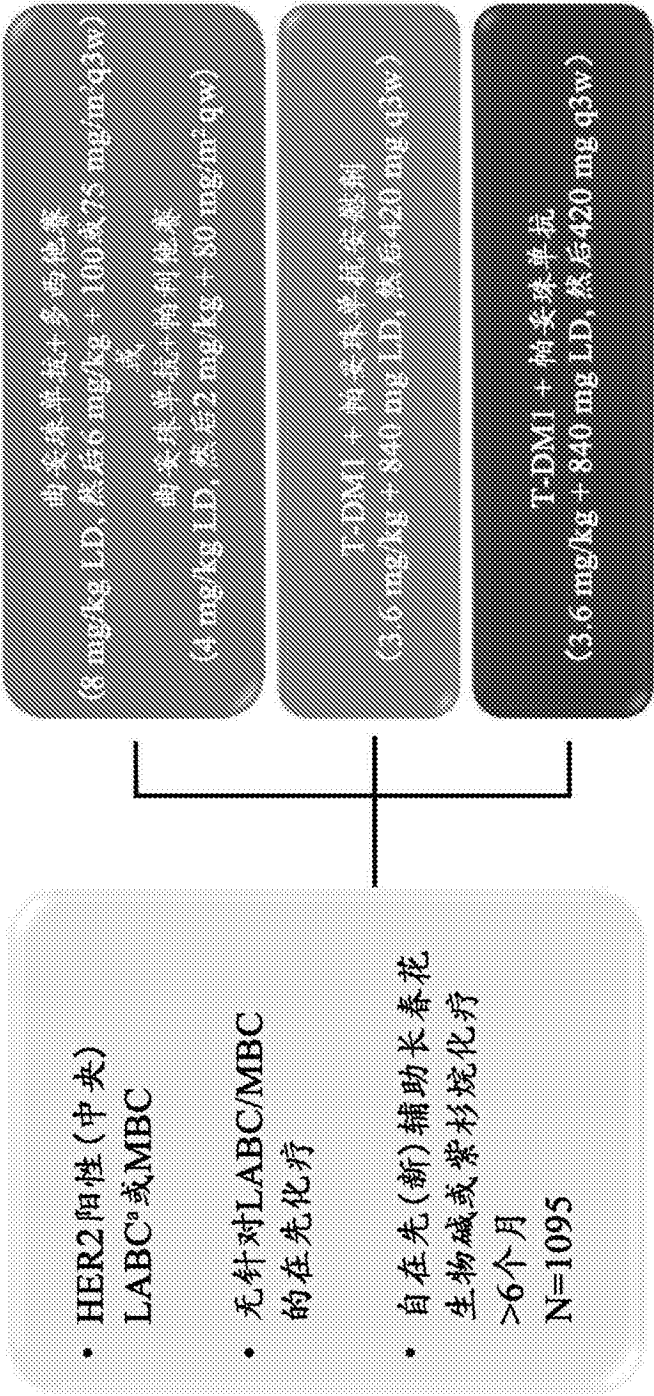


图6

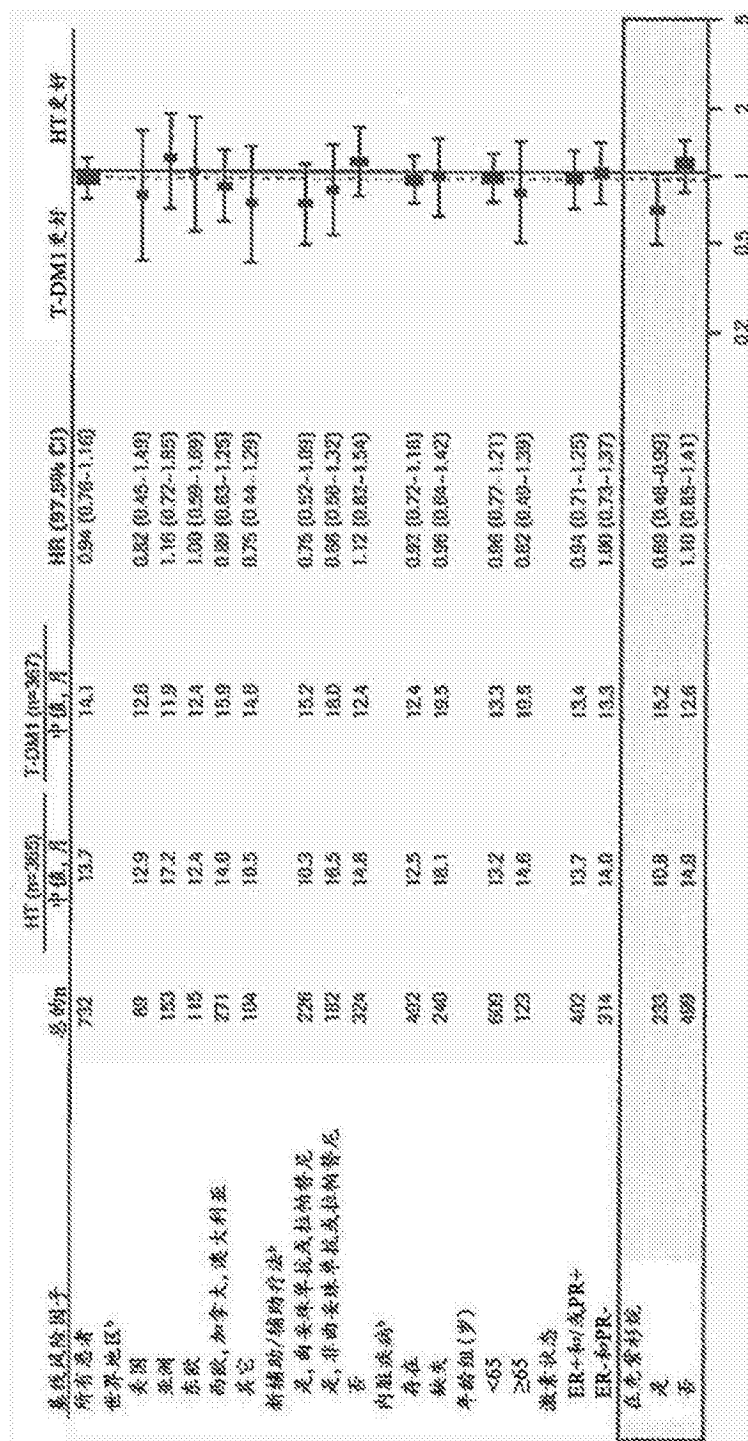


图7