

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 97107205

※ 申請日期： 97.2.29

GOIN³³/574 (2006.01),
※IPC 分類： A61K³⁹/395 (2006.01),

一、發明名稱：(中文/英文)

C12Q 1/68 (2006.01),
(2006.01,

預測HER抑制劑之反應

PREDICTING RESPONSE TO A HER INHIBITOR

二、申請人：(共 2 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

1. 美商建南德克公司
GENENTECH, INC.
2. 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司
F. HOFFMANN-LAROCHE AG

代表人：(中文/英文)(簽章)

1. 提摩西 R 史瓦茲
SCHWARTZ, TIMOTHY R.
2. 菲杜林 克勞士納
KLAUSNER, FRIDOLIN
丹尼斯 史崔柏
STREBEL, DENISE

住居所或營業所地址：(中文/英文)

1. 美國加州舊金山市DNA路1號
1 DNA WAY, SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080-4990, U.S.A.
2. 瑞士貝士勞市格蘭山查街124號
124 GRENZACHERSTRASSE CH-4002 BASEL SWITZERLAND

國籍：(中文/英文)

1. 美國 U.S.A.
2. 瑞士 SWITZERLAND

三、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 路卡斯 C 安樂
AMLER, LUKAS C.
2. 莫里爾 柏克尼爾
BIRKNER, MERRILL
3. 林錦瑜
LIN, CHIN-YU
4. 裘齊姆 莫艾克斯
MOECKS, JOACHIM
5. 安德利亞斯 斯卓斯
STRAUSS, ANDREAS

國 籍：(中文/英文)

1. 德國 GERMANY
2. 美國 U.S.A.
3. 中華民國 TAIWAN
4. 德國 GERMANY
5. 德國 GERMANY

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年03月02日；60/892,640
2. 美國；2007年04月16日；60/912,053
3. 美國；2008年02月19日；61/029,748

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

- 1.
- 2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於低HER3的用途，其係用作用諸如帕妥珠單抗(pertuzumab)之HER抑制劑治療諸如卵巢癌患者之癌症患者之選擇標準。

本發明亦係關於高HER2:HER3比率的用途，其係用作用諸如帕妥珠單抗之HER抑制劑治療諸如卵巢癌患者之癌症患者之選擇標準。

另外，本發明係關於高HER3的用途，其係用作用例如吉西他濱(gemcitabine)之化學治療劑治療癌症患者之選擇標準。

【先前技術】

HER受體及針對其之抗體

受體酪胺酸激酶之HER家族為細胞生長、分化及存活之重要介體。該受體家族包括4個不同成員，包括表皮成長因子受體(EGFR、ErbB1或HER1)、HER2(ErbB2或p185^{neu})、HER3(ErbB3)及HER4(ErbB4或tyro2)。

由 $erbB1$ 基因編碼之EGFR已牽涉人類惡性腫瘤之原因。尤其已在乳癌、膀胱癌、肺癌、頭部癌、頸部癌及胃癌以及膠質母細胞瘤中觀察到EGFR表現之增加。EGFR受體表現之增加通常與經由自分泌刺激路徑使得受體活化之相同腫瘤細胞之EGFR配位體、轉化生長因子 α (TGF- α)之產生的增加相關。Baselga及Mendelsohn *Pharmac. Ther.* 64:127-154 (1994)。已對針對EGFR或其配位體、TGF- α 及

EGF之單株抗體作為治療該等惡性腫瘤之治療劑加以評估。例如參見Baselga及Mendelsohn, 同上; Masui等人, *Cancer Research* 44:1002-1007 (1984); 及Wu等人, *J. Clin. Invest.* 95:1897-1905 (1995)。

HER家族之第二成員p185^{neu}最初鑑別為來自化學治療大鼠之神經母細胞瘤之轉化基因的產物。neu原癌基因之活化形式係由編碼蛋白質之橫跨膜區中之點突變(纈胺酸突變為麩胺酸)產生。在乳癌及卵巢癌中觀察到neu之人類同系物之擴增且該擴增與不良預後相關(Slamon等人, *Science*, 235:177-182 (1987); Slamon等人, *Science*, 244:707-712 (1989); 及美國專利第4,968,603號)。迄今, 關於人類腫瘤尚未報導有點突變類似於neu原癌基因中之點突變。在其他癌瘤(包括胃癌、子宮內膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎癌、結腸癌、甲狀腺癌、胰腺癌及膀胱癌)中亦觀察到HER2之過度表現(通常(但非一律)歸因於基因擴增)。尤其參見King等人, *Science*, 229:974 (1985); Yokota等人, *Lancet*: 1:765-767 (1986); Fukushige等人, *Mol Cell Biol.*, 6:955-958 (1986); Guerin等人, *Oncogene Res.*, 3:21-31 (1988); Cohen等人, *Oncogene*, 4:81-88 (1989); Yonemura等人, *Cancer Res.*, 51:1034 (1991); Borst等人, *Gynecol. Oncol.*, 38:364 (1990); Weiner等人, *Cancer Res.*, 50:421-425 (1990); Kern等人, *Cancer Res.*, 50:5184 (1990); Park等人, *Cancer Res.*, 49:6605 (1989); Zhau等人, *Mol. Carcinog.*, 3:254-257 (1990);

Aasland等人，*Br. J. Cancer* 57:358-363 (1988)；Williams等人，*Pathobiology* 59:46-52 (1991)；及McCann等人，*Cancer*, 65:88-92 (1990)。在前列腺癌中HER2可能過度表現(Gu等人，*Cancer Lett.* 99:185-9 (1996)；Ross等人，*Hum. Pathol.* 28:827-33 (1997)；Ross等人，*Cancer* 79:2162-70 (1997)；及Sadasivan等人，*J. Urol.* 150:126-31 (1993))。

已描述針對大鼠p185^{neu}及人類HER2蛋白質產物之抗體。

Drebin及同事已培養抗大鼠^{neu}基因產物p185^{neu}之抗體。例如參見Drebin等人，*Cell* 41:695-706 (1985)；Myers等人，*Meth. Enzym.* 198:277-290 (1991)；及WO94/22478。Drebin等人，*Oncogene* 2:273-277 (1988)報導對p185^{neu}之兩個不同區具反應性之抗體的混合物對植入裸小鼠中之^{neu}轉化NIH-3T3細胞產生協同抗腫瘤效應。亦參見1998年10月20日頒布之美國專利5,824,311。

Hudziak等人，*Mol. Cell. Biol.* 9(3):1165-1172 (1989)描述HER2抗體組之產生，使用人類乳房腫瘤細胞株SK-BR-3表徵該等抗體。72小時後，由結晶紫單層染色測定暴露於抗體後SK-BR-3細胞之相對細胞增殖。使用該檢定，用稱為4D5之抗體獲得最大抑制，其使細胞增殖抑制56%。在該檢定中，該組中之其他抗體使細胞增殖降低至較小程度。進一步發現抗體4D5使HER2過度表現乳房腫瘤細胞株對TNF- α 之細胞毒性效應敏感。亦參見1997年10月14日頒

布之美國專利第5,677,171號。Hudziak等人中所討論之HER2抗體在以下文獻中得以進一步表徵：Fendly等人，*Cancer Research* 50:1550-1558 (1990)；Kotts等人，*In Vitro* 26(3):59A (1990)；Sarup等人，*Growth Regulation* 1:72-82 (1991)；Shepard等人，*J. Clin. Immunol.* 11(3):117-127 (1991)；Kumar等人，*Mol. Cell. Biol.* 11(2):979-986 (1991)；Lewis等人，*Cancer Immunol. Immunother.* 37:255-263 (1993)；Pietras等人，*Oncogene* 9:1829-1838 (1994)；Vitetta等人，*Cancer Research* 54:5301-5309 (1994)；Sliwkowski等人，*J. Biol. Chem.* 269(20):14661-14665 (1994)；Scott等人，*J. Biol. Chem.* 266:14300-5 (1991)；D'souza等人，*Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:7202-7206 (1994)；Lewis等人，*Cancer Research* 56:1457-1465 (1996)；及 Schaefer 等人，*Oncogene* 15:1385-1394 (1997)。

鼠類HER2抗體4D5之重組人化形式(huMAb4D5-8、rhuMAb HER2、曲妥珠單抗(trastuzumab)或HERCEPTIN®；美國專利第5,821,337號)在已廣泛接受先前抗癌療法之患有HER2過度表現轉移性乳癌之患者中為臨床活性的(Baselga等人，*J. Clin. Oncol.* 14:737-744 (1996))。曲妥珠單抗於1998年9月25日收到食品與藥物管理局(Food and Drug Administration)用於治療腫瘤過度表現HER2蛋白質之患有轉移性乳癌之患者的上市批准。

在以下文獻中描述具有各種性質之其他HER2抗體：

Tagliabue 等人， *Int. J. Cancer* 47:933-937 (1991)；
McKenzie 等人， *Oncogene* 4:543-548 (1989)；Maier 等人，
Cancer Res. 51:5361-5369 (1991)；Bacus 等人， *Molecular
Carcinogenesis* 3:350-362 (1990)；Stancovski 等人， *PNAS
(USA)* 88:8691-8695 (1991)；Bacus 等人， *Cancer Research*
52:2580-2589 (1992)；Xu 等人， *Int. J. Cancer* 53:401-408
(1993)；WO94/00136；Kasprzyk 等人， *Cancer Research*
52:2771-2776 (1992)；Hancock 等人， *Cancer Res.*
51:4575-4580 (1991)；Shawver 等人， *Cancer Res.* 54:1367-
1373 (1994)；Arteaga 等人， *Cancer Res.* 54:3758-3765
(1994)；Harwerth 等人， *J. Biol. Chem.* 267:15160-15167
(1992)；美國專利第 5,783,186 號；及 Klapper 等人，
Oncogene 14:2099-2109 (1997)。

同源性篩選產生對兩個其他 HER 受體家族成員之鑑別：
HER3(美國專利第 5,183,884 號及第 5,480,968 號以及 Kraus
等人， *PNAS (USA)* 86:9193-9197 (1989))及 HER4(歐洲專
利申請案第 599,274 號；Plowman 等人， *Proc. Natl. Acad.
Sci. USA*, 90:1746-1750 (1993)；及 Plowman 等人， *Nature*,
366:473-475 (1993))。該兩種受體在至少一些乳癌細胞株
上呈現增加之表現。

HER 受體通常以各種組合形式於細胞中發現且認為異源
二聚合增加多種 HER 配位體之細胞反應之多樣性(Earp 等
人， *Breast Cancer Research and Treatment* 35: 115-132 (1995))。
EGFR 由 6 種不同配位體結合：表皮成長因子(EGF)、轉化生

長因子 α (TGF- α)、雙性調節素(amphiregulin)、肝素結合表皮生長因子(HB-EGF)、 β 細胞調節素(betacellulin)及表皮素(epiregulin)(Groenen 等人, *Growth Factors* 11:235-257 (1994))。由替代性拼接單一基因產生之神經調節素-1(heregulin)蛋白質之家族為HER3及HER4之配位體。神經調節素-1家族包括 α 、 β 及 γ 神經調節素-1(Holmes 等人, *Science*, 256:1205-1210 (1992); 美國專利第5,641,869號; 及 Schaefer 等人, *Oncogene* 15:1385-1394 (1997)); neu分化因子(NDF); 神經膠質生長因子(GGF); 乙醯膽鹼受體活性誘導蛋白(ARIA)及感覺及運動神經元衍生因子(SMDF)。關於綜述, 參見 Groenen 等人, *Growth Factors* 11:235-257 (1994); Lemke, G. *Molec. & Cell. Neurosci.* 7:247-262 (1996) 及 Lee 等人, *Pharm. Rev.* 47:51-85 (1995)。最近鑑別三種其他HER配位體: 神經調節素-2(neuregulin-2, NRG-2), 據報導其與HER3或HER4結合(Chang 等人, *Nature* 387 509-512 (1997); 及 Carraway 等人, *Nature* 387:512-516 (1997)); 神經調節素-3, 其結合HER4(Zhang 等人, *PNAS (USA)* 94(18):9562-7 (1997)); 及神經調節素-4, 其結合HER4(Harari 等人, *Oncogene* 18:2681-89 (1999))。HB-EGF、 β 細胞調節素及表皮素亦與HER4結合。

雖然EGF及TGF α 不結合HER2, 但EGF刺激EGFR及HER2以形成異源二聚體, 其在異源二聚體中使EGFR活化且使HER2產生轉磷酸作用。二聚合及/或轉磷酸作用似乎使

HER2酪胺酸激酶活化。參見Earp等人，同上。同樣，當HER3與HER2共表現時，形成活性信號轉導複合物，而針對HER2之抗體能夠破壞該複合物(Sliwkowski等人，*J. Biol. Chem.*, 269(20):14661-14665 (1994))。另外，當HER3與HER2共表現時，HER3對神經調節素-1(HRG)之親和力增加至較高親和力狀態。關於HER2-HER3蛋白質複合物，亦參見Levi等人，*Journal of Neuroscience* 15: 1329-1340 (1995)；Morrissey等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 1431-1435 (1995)；及Lewis等人，*Cancer Res.*, 56:1457-1465 (1996)。如同HER3般，HER4與HER2形成活性信號轉導複合物(Carraway及Cantley, *Cell* 78:5-8 (1994))。

關於HER抗體之專利公開案包括：US 5,677,171、US 5,720,937、US 5,720,954、US 5,725,856、US 5,770,195、US 5,772,997、US 6,165,464、US 6,387,371、US 6,399,063、US 2002/0192211A1、US 6,015,567、US 6,333,169、US 4,968,603、US 5,821,337、US 6,054,297、US 6,407,213、US 6,719,971、US 6,800,738、US 2004/0236078A1、US 5,648,237、US 6,267,958、US 6,685,940、US 6,821,515、WO 98/17797、US 6,127,526、US 6,333,398、US 6,797,814、US 6,339,142、US 6,417,335、US 6,489,447、WO 99/31140、US 2003/0147884A1、US 2003/0170234A1、US 2005/0002928A1、US 6,573,043、US 2003/0152987A1、WO 99/48527、US 2002/0141993A1、WO 01/00245、US 2003/0086924、US 2004/0013667A1、WO 00/69460、WO

01/00238 、 WO 01/15730 、 US 6,627,196B1 、 US
6,632,979B1 、 WO 01/00244 、 US 2002/0090662A1 、 WO
01/89566 、 US 2002/0064785 、 US 2003/0134344 、 WO
04/24866 、 US 2004/0082047 、 US 2003/0175845A1 、 WO
03/087131 、 US 2003/0228663 、 WO 2004/008099A2 、 US
2004/0106161 、 WO 2004/048525 、 US 2004/0258685A1 、
US 5,985,553 、 US 5,747,261 、 US 4,935,341 、 US 5,401,638 、
US 5,604,107 、 WO 87/07646 、 WO 89/10412 、 WO 91/05264 、
EP 412,116 B1 、 EP 494,135 B1 、 US 5,824,311 、 EP 444,181
B1 、 EP 1,006,194 A2 、 US 2002/0155527A1 、 WO 91/02062 、
US 5,571,894 、 US 5,939,531 、 EP 502,812 B1 、 WO 93/03741 、
EP 554,441 B1 、 EP 656,367 A1 、 US 5,288,477 、 US 5,514,554 、
US 5,587,458 、 WO 93/12220 、 WO 93/16185 、 US 5,877,305 、
WO 93/21319 、 WO 93/21232 、 US 5,856,089 、 WO 94/22478 、
US 5,910,486 、 US 6,028,059 、 WO 96/07321 、 US 5,804,396 、
US 5,846,749 、 EP 711,565 、 WO 96/16673 、 US 5,783,404 、
US 5,977,322 、 US 6,512,097 、 WO 97/00271 、 US 6,270,765 、
US 6,395,272 、 US 5,837,243 、 WO 96/40789 、 US 5,783,186 、
US 6,458,356 、 WO 97/20858 、 WO 97/38731 、 US 6,214,388 、
US 5,925,519 、 WO 98/02463 、 US 5,922,845 、 WO 98/18489 、
WO 98/33914 、 US 5,994,071 、 WO 98/45479 、 US 6,358,682 B1 、
US 2003/0059790 、 WO 99/55367 、 WO 01/20033 、 US
2002/0076695 A1 、 WO 00/78347 、 WO 01/09187 、 WO 01/21192 、
WO 01/32155 、 WO 01/53354 、 WO 01/56604 、 WO 01/76630 、 WO

02/05791、WO 02/11677、US 6,582,919、US 2002/0192652A1、US 2003/0211530A1、WO 02/44413、US 2002/0142328、US 6,602,670 B2、WO 02/45653、WO 02/055106、US 2003/0152572、US 2003/0165840、WO 02/087619、WO 03/006509、WO 03/012072、WO 03/028638、US 2003/0068318、WO 03/041736、EP 1,357,132、US 2003/0202973、US 2004/0138160、US 5,705,157、US 6,123,939、EP 616,812 B1、US 2003/0103973、US 2003/0108545、US 6,403,630 B1、WO 00/61145、WO 00/61185、US 6,333,348 B1、WO 01/05425、WO 01/64246、US 2003/0022918、US 2002/0051785 A1、US 6,767,541、WO 01/76586、US 2003/0144252、WO 01/87336、US 2002/0031515 A1、WO 01/87334、WO 02/05791、WO 02/09754、US 2003/0157097、US 2002/0076408、WO 02/055106、WO 02/070008、WO 02/089842及WO 03/86467。

診斷法

選擇經HER2抗體曲妥珠單抗治療之患者進行基於HER2過度表現/擴增之療法。例如參見WO 99/31140(Paton等人)、US 2003/0170234A1(Hellmann, S.)及US 2003/0147884(Paton等人)以及WO 01/89566、US 2002/0064785及US 2003/0134344(Mass等人)。亦參見US 2003/0152987, Cohen等人, 其係關於用於偵測HER2過度表現及擴增之免疫組織化學(IHC)及螢光原位雜交(FISH)。

WO 2004/053497及US 2004/024815A1(Bacus等人)以及US 2003/0190689(Crosby及Smith)提及測定或預測曲妥珠單抗療法之反應。US 2004/013297A1(Bacus等人)係關於測

定或預測 ABX0303 EGFR 抗體療法之反應。WO 2004/000094 (Bacus 等人)係針對測定小分子 EGFR-HER2 酪氨酸激酶抑制劑 GW572016 之反應。WO 2004/063709, Amler 等人提及測定對 EGFR 抑制劑埃羅替尼鹽酸鹽 (erlotinib HCl) 之敏感性之生物標記物及方法。US 2004/0209290, Cobleigh 等人係關於乳癌預後之基因表現標記物。

可選擇經帕妥珠單抗治療之患者進行基於 HER 活化或二聚合之療法。涉及帕妥珠單抗及用於其療法之患者之選擇的專利公開案包括：WO 01/00245 (Adams 等人)；US 2003/0086924 (Sliwkowski, M.)；US 2004/0013667A1 (Sliwkowski, M.) 以及 WO 2004/008099A2 及 US 2004/0106161 (Bossenmaier 等人)。

Cronin 等人，*Am. J. Path.* 164(1): 35-42 (2004) 描述存檔石蠟包埋組織中之基因表現之量測。Ma 等人，*Cancer Cell* 5:607-616 (2004) 描述使用與取自存檔初級活檢之腫瘤組織切片分離之 RNA 由基因寡核苷酸微陣列進行之基因剖析。

帕妥珠單抗 (亦稱為重組人類單株抗體 2C4；OMNITARG™, Genentech, Inc, South San Francisco) 代表第一個已知為 HER 二聚合抑制劑 (HDI) 之新穎類別之藥劑，且起抑制 HER2 與其他 HER 受體 (諸如 EGFR/HER1、HER3 及 HER4) 形成活性異源二聚體之能力的作用且不管 HER2 表現水平均具有活性。例如參見 Harari 及 Yarden, *Oncogene* 19:6102-14 (2000)；Yarden 及 Sliwkowski, *Nat Rev Mol Cell*

Biol 2:127-37 (2001); Sliwkowski, *Nat Struct Biol* 10:158-9 (2003); Cho等人, *Nature* 421:756-60 (2003); 及 Malik 等人, *Pro Am Soc Cancer Res* 44:176-7 (2003)。

已證明帕妥珠單抗對腫瘤細胞中HER2-HER3異源二聚體之形成之阻斷可抑制關鍵細胞信號轉導，此使得腫瘤增生降低及存活(Agus等人, *Cancer Cell* 2:127-37 (2002))。

帕妥珠單抗已以單一藥劑在臨床上經受患有晚期癌症之患者之Ia期試驗及患有卵巢癌及乳癌以及肺癌及前列腺癌之患者之II期試驗的測試。在I期研究中，每3週經靜脈內給予帕妥珠單抗來治療患有在標準療法期間或之後進展之不能治癒、局部晚期、復發性或轉移性實體腫瘤的患者。帕妥珠單抗通常具有良好的耐受性。在可評估反應之20位患者中之3位中達成腫瘤消退。兩位患者已確認部分反應。在21位患者中之6位中觀察到穩定疾病持續超過2.5個月(Agus等人, *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:192 (2003))。在劑量為2.0-15 mg/kg時，帕妥珠單抗之藥物動力學為線性的，且平均清除率在每公斤每天2.69 mL至3.74 mL範圍內，且平均終期消除半衰期在15.3天至27.6天範圍內。未偵測到帕妥珠單抗之抗體(Allison等人, *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:197 (2003))。

Sergina等人報導評定HER酪胺酸激酶抑制劑(TKI)之功效之生物標記物應為HER3之轉磷酸作用而非自磷酸作用。Sergina等人, *Nature* 445(7126): 437-441 (2007)。

Jazaeri等人評估與上皮卵巢癌化學療法之反應相關之基

因表現概況。Jazaeri 等人，*Clin. Cancer Res.* 11(17): 6300-6310 (2005)。

Tanner 等人報導 HER3 預測卵巢癌之存活。Tanner 等人，*J. Clin. Oncol.* 24(26):4317-4323 (2006)。

【發明內容】

本申請案至少部分係關於如下令人驚訝之觀察結果：在人類臨床試驗中，癌症以低水平表現 HER3 之癌症患者(例如卵巢癌患者)較癌症以高水平表現 HER3 之患者更佳回應 HER 二聚合抑制劑。因為該等患者通常具有高 HER2:HER3 比率(歸因於 HER3 之低水平)，所以評估 HER2 與 HER3 之相對水平提供選擇用 HER 二聚合抑制劑之療法之患者的另一或替代方法。

因此，在第一態樣中，本發明在本文中係關於一種治療患有能夠回應 HER 抑制劑之癌症類型之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之 HER 抑制劑，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之 HER3 表現之中值水平的水平表現 HER3。所涵蓋之 HER 抑制劑之實例包括 HER 抗體或小分子抑制劑；HER2 抗體或小分子抑制劑；酪胺酸激酶抑制劑，包括(但不限於)拉帕替尼(lapatinib)、Tykerb；等。HER 抑制劑最佳為 HER 二聚合抑制劑。因此，本發明提供一種治療患有能夠回應 HER 二聚合抑制劑之癌症類型之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之 HER 二聚合抑制劑，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之 HER3 表現之中值水平的水平表現 HER3。

根據該實施例，該患者之癌症較佳以小於該癌症類型中之HER3表現之第25百分位數的水平表現HER3。該患者之癌症視情況以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數、較佳大於中值水平且最佳大於第75百分位數的水平表現HER2:HER3。量測HER3(及HER2)表現之較佳檢定包含聚合酶鏈反應(PCR)，最佳為定量即時聚合酶鏈反應(qRT-PCR)。

HER二聚合抑制劑較佳為抗體，最佳為HER2抗體，諸如帕妥珠單抗。

在本文中待治療或診斷之癌症類型較佳係選自由卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌(MBC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、前列腺癌及結腸直腸癌組成之群。在本文中所治療或診斷之癌症類型最佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。該癌症類型可為抗化學療法型、抗鉑型、晚期、難治癒及/或復發性。該方法可延長患者之存活，包括無疾病進展存活(PFS)及總存活(OS)。

HER抑制劑可以單一抗腫瘤劑投與或可與一或多種其他療法組合。在一實施例中，HER抑制劑與一或多種化學治療劑一起投與，諸如吉西他濱、卡鉑(carboplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多烯紫杉醇(docetaxel)、拓朴替康(topotecan)及脂質體多柔比星(liposomal doxorubicin)，且較佳為抗代謝物，諸如吉西他濱。HER抑制劑亦可與曲妥珠單抗、埃羅替尼或貝伐單抗(bevacizumab)組合。

在另一態樣中，本發明係關於一種治療患有卵巢癌、腹

膜癌或輸卵管癌之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之帕妥珠單抗，其中該患者之癌症以小於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

在本文中本發明進一步係關於一種選擇用於患有能夠回應HER抑制劑(例如HER二聚合抑制劑)之癌症類型之患者的療法的方法，該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，則選擇HER抑制劑(例如HER二聚合抑制劑)作為該療法。

另外，本發明提供一種製品，該製品包含封裝在一起之包含處於醫藥學上可接受之載劑中之HER二聚合抑制劑的醫藥組合物及說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應HER二聚合抑制劑之癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

在另一態樣中，本發明係關於一種製造HER二聚合抑制劑或其醫藥組合物之方法，該方法包含將該抑制劑或醫藥組合物與說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應HER二聚合抑制劑之癌症類型之患者的標籤組合於封裝中，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

在又另一實施例中，本發明提供一種宣傳HER二聚合抑制劑或其醫藥學上可接受之組合物之方法，該方法包含向

目標對象推銷該HER二聚合抑制劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者群體之用途，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

除上述發明外，本文中所提供之人類臨床資料證明癌症以高水平表現HER3之癌症患者(例如卵巢癌患者)具有較癌症以低水平表現HER3之患者為佳之對諸如吉西他濱之化學治療劑的臨床反應。

關於本發明之該另一態樣，本發明提供一種選擇用於患有有可能回應化學治療劑之癌症類型之患者的療法的方法，該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，則選擇化學治療劑作為該療法。該癌症類型較佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌，包括抗鉑型卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌以及晚期、難治癒或復發性卵巢癌。所選擇之化學治療劑較佳為抗代謝物，諸如吉西他濱。

本發明亦係關於一種治療患有能夠回應化學治療劑之癌症類型之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之化學治療劑，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。該患者之癌症較佳以大於該癌症類型中之HER3表現之第25百分位數的水平表現HER3。量測HER3表現之較佳檢定包含聚合酶鏈反應(PCR)，最佳為定量即時聚合酶鏈反應(qRT-PCR)。

該化學治療劑較佳為抗代謝物，最佳為吉西他濱。

根據本發明之該另一態樣，待治療或診斷之癌症類型較佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。該癌症類型可為抗化學療法型、抗鉑型、晚期、難治癒及/或復發性。該方法可延長患者之存活，包括無疾病進展存活(PFS)及總存活(OS)。

在另一態樣中，本發明係關於一種治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之吉西他濱，其中該患者之癌症以大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

本發明亦提供一種製品，該製品包含封裝在一起之包含處於醫藥學上可接受之載劑中之化學治療劑(諸如吉西他濱)的醫藥組合物及說明指示該化學治療劑或醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

在又另一態樣中，本發明係關於一種製造化學治療劑(諸如吉西他濱)或其醫藥組合物之方法，該方法包含將該化學治療劑或醫藥組合物與說明指示該化學治療劑或醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者的標籤組合於封裝中，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

在又另一實施例中，本發明提供一種宣傳化學治療劑或

其醫藥學上可接受之組合物之方法，該方法包含向目標對象推銷該化學治療劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者群體之用途，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

本申請案提供證明具有高HER2:HER3表現之患者更有利地回應HER抑制劑(諸如帕妥珠單抗)之人類臨床資料。因此，在另一態樣中，本發明提供一種藉由評估HER2及HER3表現水平選擇患者及自療法排除彼等癌症以低水平表現HER2:HER3之患者的方法。

因此，本發明亦係關於一種治療患有能夠回應HER抑制劑之癌症類型之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之HER抑制劑，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。該患者之癌症較佳以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之中值且最佳大於第75百分位數的水平表現HER2:HER3。

另外，本發明提供一種治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之帕妥珠單抗，其中該患者之癌症以大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

在另一態樣中，本發明係關於一種選擇用於患有能夠回應HER抑制劑之癌症類型之患者的療法的方法，該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER2及HER3表現，及若該

癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3，則選擇HER抑制劑作為該療法。

本發明亦係關於一種製品，該製品包含封裝在一起之包含處於醫藥學上可接受之載劑中之HER抑制劑的醫藥組合物及說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應HER抑制劑之癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

此外，本發明提供一種製造HER抑制劑或其醫藥組合物之方法，該方法包含將該抑制劑或醫藥組合物與說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應HER抑制劑之癌症類型之患者的標籤組合於封裝中，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

另外，本發明係關於一種宣傳HER抑制劑或其醫藥學上可接受之組合物之方法，該方法包含向目標對象推銷該HER抑制劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者群體之用途，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

【實施方式】

I. 定義

"HER受體"為受體蛋白酪胺酸激酶，其屬於HER受體家

族且包括EGFR、HER2、HER3及HER4受體。HER受體通常將包含可結合HER配位體及/或與另一HER受體分子二聚之細胞外域；親脂性跨膜域；保守細胞內酪胺酸激酶域；及容納若干個可磷酸化之酪胺酸殘基之羧基末端信號轉導域。HER受體可為"天然序列"HER受體或其"胺基酸序列變異體"。HER受體較佳為天然序列人類HER受體。

術語"ErbB1"、"HER1"、"表皮成長因子受體"及"EGFR"在本文中互換使用且係指如(例如)Carpenter等人, *Ann. Rev. Biochem.* 56:881-914 (1987)中所揭示之EGFR, 包括其天然存在之突變形式(例如, 如Humphrey等人, *PNAS (USA)* 87:4207-4211 (1990)中之缺失突變EGFR)。erbB1係指編碼EGFR蛋白質產物之基因。

表達"ErbB2"與"HER2"在本文中互換使用且係指如(例如)Semba等人, *PNAS (USA)* 82:6497-6501 (1985)及Yamamoto等人, *Nature* 319:230-234 (1986)中所述之人類HER2蛋白質(基因庫寄存編號X03363)。術語"erbB2"係指編碼人類ErbB2之基因且"neu"係指編碼大鼠p185^{neu}之基因。較佳HER2為天然序列人類HER2。

本文中, "HER2細胞外域"或"HER2 ECD"係指錨於細胞膜或循環中之細胞外部之HER2域, 包括其片段。在一實施例中, HER2之細胞外域可包含四個域: "域I"(約1-195之胺基酸殘基; SEQ ID NO: 19)、"域II"(約196-319之胺基酸殘基; SEQ ID NO: 20)、"域III"(約320-488之胺基酸殘基; SEQ ID NO: 21)及"域IV"(約489-630之胺基酸殘基;

SEQ ID NO: 22)(無信號肽之殘基編號)。參見Garrett等人，*Mol. Cell.* 11: 495-505 (2003)；Cho等人，*Nature* 421: 756-760 (2003)；Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004)；及Plowman等人，*Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:1746-1750 (1993)以及本文之圖1。

"ErbB3"及"HER3"係指如(例如)美國專利第5,183,884號及第5,480,968號以及Kraus等人，*PNAS (USA)* 86:9193-9197 (1989)中所揭示之受體多肽。

術語"ErbB4"及"HER4"係指如(例如)歐洲專利申請案第599,274號；Plowman等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:1746-1750 (1993)；及Plowman等人，*Nature*, 366:473-475 (1993)中所揭示之受體多肽，包括其同功異型物，例如，如1999年4月22日公開之WO99/19488中所揭示者。

"HER配位體"意謂與HER受體結合及/或活化HER受體之多肽。本文中尤其關注之HER配位體為天然序列人類HER配位體，諸如表皮成長因子(EGF)(Savage等人，*J. Biol. Chem.* 247:7612-7621 (1972))；轉化生長因子 α (TGF- α)(Marquardt等人，*Science* 223:1079-1082 (1984))；雙性調節素，亦稱為神經鞘瘤或角化細胞自分泌生長因子(Shoyab等人，*Science* 243:1074-1076 (1989)；Kimura等人，*Nature* 348:257-260 (1990)；及Cook等人，*Mol. Cell. Biol.* 11:2547-2557 (1991))； β 細胞調節素(Shing等人，*Science* 259:1604-1607 (1993)；及Sasada等人，*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 190:1173 (1993))；肝素結合表皮成

長因子(HB-EGF)(Higashiyama等人, *Science* 251:936-939 (1991)); 表皮素(Toyoda等人, *J. Biol. Chem.* 270:7495-7500 (1995); 及Komurasaki等人, *Oncogene* 15:2841-2848 (1997)); 神經調節素-1(參見下文); 神經調節素-2(NRG-2)(Carraway等人, *Nature* 387:512-516 (1997)); 神經調節素-3(NRG-3)(Zhang等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:9562-9567 (1997)); 神經調節素-4(NRG-4)(Harari等人, *Oncogene* 18:2681-89 (1999)); 及Cripto(CR-1)(Kannan等人, *J. Biol. Chem.* 272(6):3330-3335 (1997))。結合EGFR之HER配位體包括EGF、TGF- α 、雙性調節素、 β 細胞調節素、HB-EGF及表皮素。結合HER3之HER配位體包括神經調節素-1。能夠結合HER4之HER配位體包括 β 細胞調節素、表皮素、HB-EGF、NRG-2、NRG-3、NRG-4及神經調節素-1。

"神經調節素-1"(HRG)當在本文中使用时係指由神經調節素-1基因產物編碼之多肽, 如美國專利第5,641,869號或Marchionni等人, *Nature*, 362:312-318 (1993)中所揭示者。神經調節素-1之實例包括神經調節素-1- α ; 神經調節素-1- β 1; 神經調節素-1- β 2及神經調節素-1- β 3(Holmes等人, *Science*, 256:1205-1210 (1992); 及美國專利第5,641,869號); *neu*分化因子(NDF)(Peles等人, *Cell* 69:205-216 (1992)); 乙醯膽鹼受體活性誘導蛋白(ARIA)(Falls等人, *Cell* 72:801-815 (1993)); 神經膠質生長因子(GGF)(Marchionni等人, *Nature*, 362:312-318

(1993))；感覺及運動神經元衍生因子(SMDF)(Ho等人，*J. Biol. Chem.* 270:14523-14532 (1995))； γ -神經調節素-1 (Schaefer等人，*Oncogene* 15:1385-1394 (1997))。

"HER二聚體"在本文中為包含至少兩個HER受體之非共價締合二聚體。當表現兩個或兩個以上HER受體之細胞暴露於HER配位體時，可形成該等複合物且其可由免疫沈澱法分離且由如(例如)Sliwowski等人，*J. Biol. Chem.*, 269(20):14661-14665 (1994)中所述之SDS-PAGE來分析。其他蛋白質(諸如細胞激素受體亞單元(例如gp130))可與該二聚體締合。HER二聚體較佳包含HER2。

"HER異源二聚體"在本文中為包含至少兩個不同HER受體之非共價締合異源二聚體，諸如EGFR-HER2、HER2-HER3或HER2-HER4異源二聚體。

"HER抑制劑"為干擾HER活化或功能之藥劑。HER抑制劑之實例包括HER抗體(例如EGFR、HER2、HER3或HER4抗體)；EGFR靶向藥物；小分子HER拮抗劑；HER酪胺酸激酶抑制劑；HER2及EGFR雙重酪胺酸激酶抑制劑，諸如拉帕替尼(lapatinib)/GW572016；反義分子(例如參見WO2004/87207)；及/或與諸如MAPK或Akt之下游信號轉導分子結合或干擾其功能之藥劑(參見圖5)。HER抑制劑較佳為與HER受體結合之抗體或小分子。

"HER二聚合抑制劑"為抑制HER二聚體或HER異源二聚體之形成之藥劑。HER二聚合抑制劑較佳為HER2二聚合抑制劑及/或抑制HER異源二聚合。HER二聚合抑制劑較佳

為抗體，例如在異源二聚結合位點處與HER2結合之抗體。最佳HER二聚合抑制劑在本文中為帕妥珠單抗或MAb 2C4。2C4與HER2之異源二聚結合位點之結合說明於圖4中。HER二聚合抑制劑之其他實例包括與EGFR結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體(例如EGFR單株抗體806(MAb 806)，其與活化或"無束縛"EGFR結合；參見Johns等人，*J. Biol. Chem.* 279(29):30375-30384 (2004))；與HER3結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體；與HER4結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體；肽二聚合抑制劑(美國專利第6,417,168號)；反義二聚合抑制劑等。

"HER2二聚合抑制劑"為抑制包含HER2之二聚體或異源二聚體之形成之藥劑。

"HER抗體"為與HER受體結合之抗體。HER抗體視情況進一步干擾HER活化或功能。HER抗體較佳與HER2受體結合。本文中尤其關注之HER2抗體為帕妥珠單抗。HER2抗體之另一實例為曲妥珠單抗。EGFR抗體之實例包括西妥昔單抗(cetuximab)及ABX0303。

"HER活化"係指任何一或多個HER受體之活化或磷酸化。HER活化通常產生信號轉導(例如，由使HER受體或受質多肽中之酪胺酸殘基磷酸化之HER受體細胞內激酶域引起)。HER活化可由HER配位體與包含所關注之HER受體之HER二聚體的結合來介導。HER配位體與HER二聚體之結合可活化二聚體中之HER受體中之一或多者的激酶域，且

藉此使得HER受體中之一或多者中之酪胺酸殘基磷酸化及/或諸如Akt或MAPK細胞內激酶之其他受質多肽中之酪胺酸殘基磷酸化，例如參見圖5。

"磷酸化"係指向諸如HER受體或其受質之蛋白質中添加一或多個磷酸基。

"抑制HER二聚合"之抗體為抑制或干擾HER二聚體之形成之抗體。該抗體較佳在異源二聚結合位點處與HER2結合。最佳二聚合抑制抗體在本文中為帕妥珠單抗或MAb 2C4。2C4與HER2之異源二聚結合位點之結合說明於圖4中。抑制HER二聚合之抗體之其他實例包括與EGFR結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體(例如EGFR單株抗體806(MAb 806)，其與活化或"無束縛"EGFR結合；參見Johns等人，*J. Biol. Chem.* 279(29):30375-30384 (2004))；與HER3結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體；及與HER4結合且抑制其與一或多種其他HER受體之二聚合的抗體。

"比曲妥珠單抗更有效地阻斷HER受體之配位體活化"之抗體為比曲妥珠單抗更有效(例如，至少約2倍更有效)地降低或消除HER受體或HER二聚體之HER配位體活化的抗體。該抗體較佳至少約與鼠類單株抗體2C4或其Fab片段一樣或與帕妥珠單抗或其Fab片段一樣有效地阻斷HER受體之HER配位體活化。可藉由直接研究HER二聚體或藉由評估由HER二聚合產生之HER活化或下游信號轉導及/或藉由評估抗體-HER2結合位點等來評估抗體阻斷HER受體之配

位體活化之能力。篩選具有比曲妥珠單抗更有效地抑制HER受體之配位體活化能力之抗體的檢定描述於Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)及WO01/00245(Adams等人)中。僅以舉例之方式，可就以下方面進行檢定：HER二聚體形成之抑制(例如參見Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)之圖1A-B及WO01/00245)；表現HER二聚體之細胞之HER配位體活化之降低(例如，WO01/00245及Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)之圖2A-B)；HER配位體與表現HER二聚體之細胞結合之阻斷(例如，WO01/00245及Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)之圖2E)；在存在(或不存在)HER配位體之情況下表現HER二聚體之癌細胞(例如，MCF7、MDA-MD-134、ZR-75-1、MD-MB-175、T-47D細胞)之細胞生長抑制(例如，WO01/00245及Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)之圖3A-D)；下游信號轉導之抑制(例如，HRG依賴性AKT磷酸化之抑制或HRG或TGF α 依賴性MAPK磷酸化之抑制)(例如參見WO01/00245及Agus等人，*Cancer Cell* 2: 127-137 (2002)之圖2C-D)。亦可藉由研究抗體-HER2結合位點(例如藉由評估與HER2結合之抗體之結構或模型，諸如晶體結構)評定抗體是否抑制HER二聚體(例如參見Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004))。

HER2上之"異源二聚結合位點"係指HER2與EGFR、HER3或HER4形成二聚體之後，與EGFR、HER3或HER4之細胞外域中之區接觸或交界的HER2之細胞外域中之區。

該區可於HER2之域II中發現。Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004)。

HER2抗體可比曲妥珠單抗更有效(例如至少2倍更有效)地"抑制HRG依賴性AKT磷酸化"及/或抑制"HRG或TGF α 依賴性MAPK磷酸化"(例如參見Agus等人，*Cancer Cell* 2:127-137 (2002)及WO01/00245)。

HER2抗體可為如帕妥珠單抗之"不抑制HER2胞外域裂解"之抗體(Molina等人，*Cancer Res.* 61:4744-4749(2001))。另一方面，曲妥珠單抗可抑制HER2胞外域裂解。

與HER2之"異源二聚結合位點結合"之HER2抗體與域II中之殘基結合(且視情況亦與HER2細胞外域之其他域(諸如域I及III)中之殘基結合)，且至少在一定程度上可在空間上阻礙HER2-EGFR、HER2-HER3或HER2-HER4異源二聚體之形成。Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004)表徵了HER2-帕妥珠單抗晶體結構(寄存於RCSB蛋白質資料庫(識別碼(ID Code)IS78))，其說明與HER2之異源二聚結合位點結合之例示性抗體。

與HER2之"域II結合"之抗體與域II中之殘基結合且視情況與HER2之其他域(諸如域I及III)中之殘基結合。與域II結合之抗體較佳與HER2之域I、II及III之間的接合點結合。

蛋白質"表現"係指使編碼於基因中之資訊轉化為信息RNA(mRNA)且隨後轉化為蛋白質。

本文中，"表現"所關注之蛋白質(諸如HER3及/或HER2)

之樣品或細胞為確定樣品或細胞中存在編碼蛋白質之 mRNA 或蛋白質(包括其片段)之樣品或細胞。

某癌症類型中"以小於HER3表現之中值水平的水平表現HER3"之樣品、細胞、腫瘤或癌症為熟習該癌症類型之技術者認為HER3表現水平為"低HER3水平"之樣品、細胞、腫瘤或癌症。相對於具有相同癌症類型之樣品、細胞、腫瘤或癌症之群體之HER3水平，該水平通常將在約0至小於約50%之範圍內。舉例而言，用於達到中值表現水平之群體通常可為卵巢癌樣品或其亞群，諸如抗化學療法型卵巢癌、抗鉑型卵巢癌以及晚期、難治癒或復發性卵巢癌。本文中之實例演示可如何測定中值表現水平。此可構成表現之絕對值。因此，參考本文之圖17，認為以低水平表現HER3之抗鉑型卵巢癌患者之界點可為約2.8或以下(小於第60百分位數)；約2.41或以下(小於第55百分位數)；約2.28或以下(小於第50百分位數)；約1.88或以下(小於第45百分位數)；約1.71或以下(小於第40百分位數)；約1.57或以下(小於第35百分位數)；約1.4或以下(小於第30百分位數)；約1.19或以下(小於第25百分位數)；約0.99或以下(小於第20百分位數)等。該等絕對值將在檢定中在規定檢定條件下定量，諸如本文所揭示之qRT-PCR且最佳為如實例1中之qRT-PCR檢定。HER3表現水平較佳小於第50百分位數，且最佳小於第30百分位數或第25百分位數。

表達"HER2:HER3"或"HER2比HER3"在本文中係指相對於樣品、細胞、腫瘤或癌症中HER3表現水平的HER2表現

水平。該(等)表現水平可使用多種不同技術定量，諸如本文所揭示之技術。雖然此可計算為HER2表現與HER3表現之比率，但本發明涵蓋多種評估HER2及HER3之水平之其他方式以便選擇用於本文療法之患者，該等方式包括(但不限於)使用在HER2及/或HER3表現結束或在某些界點下時選擇患者之決策樹等。本文中之片語"HER2:HER3"或"HER2比HER3"涵蓋該等比較HER2與HER3之多種其他方法。

某癌症類型中"以大於HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3"之樣品、細胞、腫瘤或癌症為HER2表現相對於HER3表現之比率不為該癌症類型之"低HER2:HER3水平"之樣品、細胞、腫瘤或癌症。相對於具有相同癌症類型之樣品、細胞、腫瘤或癌症之群體之HER2:HER3水平，該水平較佳將在大於約25%至約100%之範圍內。舉例而言，用於達到該等表現水平之群體通常可為卵巢癌樣品或其亞群，諸如抗化學療法型卵巢癌、抗鉑型卵巢癌以及晚期、難治癒或復發性卵巢癌。本文中之實例演示可如何測定百分位數表現水平。在一實施例中，HER2:HER3水平構成表現之絕對值。因此，參考本文之圖29，以該水平表現HER2:HER3之抗鉑型卵巢癌患者之界點可為約0.82或以上(大於第25百分位數)；約0.90或以上(大於第30百分位數)；約1.06或以上(大於第35百分位數)；約1.13或以上(大於第40百分位數)；約1.26或以上(大於第45百分位數)；約1.53或以上(大於第50百分位數)；約1.70或

以上(大於第55百分位數); 約1.86或以上(大於第60百分位數); 約2.15或以上(大於第65百分位數); 約2.49或以上(大於第70百分位數); 約2.62或以上(大於第75百分位數); 約2.92或以上(大於第80百分位數)等。該等絕對值將在檢定中在規定檢定條件下定量, 諸如本文所揭示之qRT-PCR且最佳為如實例1中之qRT-PCR檢定。在一實施例中, HER2:HER3表現水平大於第50百分位數, 較佳大於第70百分位數, 且最佳大於第75百分位數。癌症以如本文所述之水平表現HER2:HER3之患者可或可不過度表現HER2。

如本文所用之"聚合酶鏈反應"或"PCR"技術泛指如1987年7月28日頒布之美國專利第4,683,195號所述擴增核酸、RNA及/或DNA之微量特異片的程序。通常需要可利用所關注或不關注之區之末端的序列資訊, 使得可設計寡核苷酸引子; 該等引子在序列方面將與待擴增之模板之相對鏈一致或相似。兩個引子之5'末端核苷酸可與擴增物質之末端相符。可使用PCR擴增特定RNA序列、來自總基因組DNA之特定DNA序列及自總細胞RNA、噬菌體或質體序列轉錄之cDNA等。通常參見Mullis等人, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 51: 263 (1987); Erlich編, *PCR Technology*, (Stockton Press, NY, 1989)。如本文所使用, PCR視為擴增核酸測試樣品之核酸聚合酶反應法之一(但非唯一)實例, 其包含使用已知核酸(DNA或RNA)作為引子且利用核酸聚合酶擴增或產生核酸特異片或擴增或產生與特定核酸互補之核酸特異片。

"定量即時聚合酶鏈反應"或"qRT-PCR"係指在PCR反應中之各步驟量測PCR產物之量的PCR形式。該技術已描述於多個公開案中，包括Cronin等人，*Am. J. Pathol.* 164(1):35-42 (2004)；及Ma等人，*Cancer Cell* 5:607-616 (2004)。

術語"微陣列"係指可雜交陣列元件、較佳為聚核苷酸探針於受質上之有序排列。

術語"聚核苷酸"在以單數或複數使用時泛指任何聚核糖核苷酸或聚去氧核苷酸，其可為未經修飾RNA或DNA或經修飾RNA或DNA。因此，例如，如本文所定義之聚核苷酸包括(但不限於)單鏈或雙鏈DNA、包括單鏈區及雙鏈區之DNA、單鏈及雙鏈RNA及包括單鏈區及雙鏈區之RNA、包含可為單鏈或更通常為雙鏈或包括單鏈區及雙鏈區之DNA及RNA的雜交分子。另外，如本文所用之術語"聚核苷酸"係指包含RNA或DNA或RNA與DNA兩者之三鏈區。該等區中之鏈可來自同一分子或來自不同分子。該等區可包括該等分子中之一或多者之整體，但更通常僅涉及一些分子之某一區。具有三螺旋區之分子中之一者通常為寡核苷酸。術語"聚核苷酸"特定包括cDNA。該術語包括含有一或多個修飾鹼基之DNA(包括cDNA)及RNA。因此，具有出於穩定性或其他原因而修飾之主鏈之DNA或RNA為如本文所意欲之術語"聚核苷酸"。此外，包含諸如肌苷之罕見鹼基或諸如氫化鹼基之修飾鹼基之DNA或RNA包括在如本文所定義之術語"聚核苷酸"內。一般而言，術語"聚核苷酸"包

括未經修飾之聚核苷酸之所有經化學、酶促及/或代謝修飾的形式以及病毒及細胞(包括簡單及複雜細胞)之特有DNA及RNA的化學形式。

術語"寡核苷酸"係指相對較短之聚核苷酸，包括(但不限於)單鏈去氧核苷酸、單鏈或雙鏈核糖核苷酸、RNA:DNA雜交物及雙鏈DNA。諸如單鏈DNA探針寡核苷酸之寡核苷酸通常(例如)使用市售自動寡核苷酸合成器由化學方法合成。然而，寡核苷酸可由多種其他方法製造，包括活體外重組DNA介導技術及表現DNA於細胞及生物體中。

片語"基因擴增"係指在特定細胞或細胞株中形成基因或基因片段之多個複本之方法。重複區(擴增DNA之伸展)通常稱為"擴增子(amplicon)"。所產生之信息RNA(mRNA)之量通常亦增加由所表現之特定基因製得之複本之數目的比例。

雜交反應之"嚴格性"可由一般技術者容易地確定，且通常為視探針長度、洗滌溫度及鹽濃度而定之經驗計算值。一般而言，較長探針需要較高溫度以適當退火，而較短探針需要較低溫度。當互補鏈存在於低於其熔融溫度之環境中時，雜交通常係視變性DNA再退火之能力而定。探針與可雜交序列之間的所需同源性程度越高，可使用之相對溫度越高。因此，由此可見較高相對溫度將傾向於使反應條件較嚴格，而較低溫度傾向於使反應條件較不嚴格。關於雜交反應之嚴格性之其他詳情及解釋，參見 Ausubel 等人，*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley

Interscience Publishers, (1995)。

如本文所定義之"嚴格條件"或"高嚴格性條件"通常如下：(1)洗滌採用低離子強度及高溫，例如在50°C下用0.015 M氯化鈉/0.0015 M檸檬酸鈉/0.1%十二烷基硫酸鈉；(2)雜交期間採用變性劑，諸如甲醯胺，例如在42°C下用50%(v/v)甲醯胺與0.1%牛血清白蛋白/0.1%聚蔗糖(Ficoll)/0.1%聚乙烯吡咯啉酮/50 mM磷酸鈉緩衝液(pH 6.5)以及750 mM氯化鈉、75 mM檸檬酸鈉；或(3)在42°C下採用50%甲醯胺、5×SSC(0.75 M NaCl、0.075 M檸檬酸鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 6.8)、0.1%焦磷酸鈉、5×丹哈德溶液(Denhardt's solution)、超音波處理之鮭魚精液DNA(50 µg/ml)、0.1% SDS及10%硫酸葡聚糖，在42°C下以0.2×SSC(氯化鈉/檸檬酸鈉)洗滌及在55°C下以50%甲醯胺洗滌，接著為由55°C下含有EDTA之0.1×SSC組成之高度嚴格洗滌。

"中等嚴格條件"可如 Sambrook 等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989所述鑑別，且包括使用比上述條件較不嚴格之洗滌溶液及雜交條件(例如，溫度、離子強度及SDS%)。中等嚴格條件之實例為在37°C下在包含20%甲醯胺、5×SSC(150 mM NaCl、15 mM檸檬酸三鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 7.6)、5×丹哈德溶液、10%硫酸葡聚糖及20 mg/ml變性剪切鮭魚精液DNA之溶液中培育隔夜，接著在約37-50°C下以1×SSC洗滌過濾器。熟習此項技術者將認識到如何調節適應諸如

探針長度及其類似因素之因素所必需之溫度、離子強度等。

"天然序列"多肽為具有與源自自然界之多肽(例如, HER受體或HER配位體)(包括天然存在變異體或對偶基因變異體)相同之胺基酸序列之多肽。該等天然序列多肽可自自然界分離或可由重組或合成方法產生。因此, 天然序列多肽可具有天然存在之人類多肽、鼠類多肽或來自任何哺乳動物物種之多肽之胺基酸序列。

本文中術語"抗體"以最廣泛之意義使用且特定涵蓋單株抗體、多株抗體、由至少兩個完整抗體形成之多特異性抗體(例如, 雙特異性抗體)及抗體片段, 只要該等抗體片段展示所需生物活性即可。

"經分離"抗體為已自其自然環境之組分中鑑別及分離及/或回收之抗體。其自然環境之污染物組分為將干擾抗體之研究、診斷或治療用途之物質且可包括酶、激素及其他蛋白性或非蛋白性溶質。在一些實施例中, 抗體經純化(1)至如由(例如)勞立(Lowry)方法測定有大於95重量%之抗體, 且在一些實施例中至大於99重量%; (2)至利用(例如)旋杯式定序儀足以獲得至少15個N-末端殘基或內部胺基酸序列的程度, 或(3)使用(例如)考馬斯藍(Coomassie blue)染色或銀染色在還原或非還原條件下由SDS-PAGE達成均質。經分離抗體包括重組細胞內原位抗體, 此係因為抗體之自然環境之至少一種組分將不存在。然而, 經分離抗體通常將由至少一個純化步驟製備。

"天然抗體"通常為約150,000道爾頓(Dalton)之異四聚體糖蛋白，包含兩個一致輕(L)鏈及兩個一致重(H)鏈。各輕鏈經由一個共價二硫鍵與重鏈連接，而二硫鍵之數目在不同免疫球蛋白同型之重鏈間有所不同。各重鏈及輕鏈亦具有規則間隔之鏈內二硫橋。各重鏈在一末端具有可變域(V_H)，繼之以大量恆定域。各輕鏈在一末端具有可變域(V_L)且在其另一末端具有恆定域；輕鏈之恆定域與重鏈之第一恆定域對準，且輕鏈之可變域與重鏈之可變域對準。成信特定胺基酸殘基在輕鏈可變域與重鏈可變域之間形成界面。

抗體之"可變區"或"可變域"係指抗體之重鏈或輕鏈之胺基末端域。重鏈之可變域可稱為"V_H"。輕鏈之可變域可稱為"V_L"。該等域通常為抗體之最可變部分且含有抗原結合位點。

術語"可變"係指可變域之某些部分在序列方面在抗體間廣泛不同且用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性的事實。然而，可變性在整個抗體可變域中並非均勻分布。在輕鏈及重鏈可變域中，其均集中於三個稱為高變區(HVR)之區段。可變域之更高度保守部分稱為構架區(FR)。天然重鏈及輕鏈之可變域各自包含四個經由形成環連接之三個HVR連接的FR區，其大部分採用β-片狀構型，且在一些情況下形成β-片狀結構之部分。各鏈中之HVR經由FR區緊密保持在一起，且與來自另一鏈之HVR一起促成形成抗體之抗原結合位點(參見Kabat等人，*Sequences of*

Proteins of Immunological Interest，第5版，National Institute of Health, Bethesda, MD (1991))。雖然恆定域不直接涉及抗體與抗原之結合，但其展示多種效應功能，諸如抗體依賴性細胞毒性中抗體之參與。

來自任何脊椎動物物種之抗體(免疫球蛋白)之"輕鏈"可基於其恆定域之胺基酸序列歸屬於兩個稱為 κ 及 λ 之明顯不同類型中之一者。

視其重鏈之恆定域之胺基酸序列而定，抗體(免疫球蛋白)可歸屬於不同類別。存在五種主要類別之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且該等免疫球蛋白中之若干者可進一步分成亞類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同類別之免疫球蛋白之重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同類別之免疫球蛋白之次單元結構及三維構型為熟知的且通常描述於(例如)Abbas等人，*Cellular and Mol. Immunology*，第4版(W.B. Saunders, Co., 2000)中。抗體可為由抗體與一或多個其他蛋白或肽共價或非共價締合而形成之較大融合分子之部分。

本文中術語"全長抗體"、"完整抗體"及"完全抗體"互換使用以指呈實質上完整形式之抗體而非如下所定義之抗體片段。該等術語尤其指具有含有Fc區之重鏈之抗體。

出於本文之目的，"裸抗體"為未與細胞毒素部分或放射性標記接合之抗體。

"抗體片段"包含完整抗體之一部分，較佳包含其抗原結

合區。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

抗體之木瓜蛋白酶消化產生兩個稱為"Fab"之相同抗原結合片段，其各具有單個抗原結合位點；及殘餘"Fc"片段，其名稱反映其易於結晶之能力。胃蛋白酶處理產生具有兩個抗原組合位點且仍能夠與抗原交聯之F(ab')₂片段。

"Fv"為含有完全抗原結合位點之最小抗體片段。在一實施例中，雙鏈Fv種類由一重鏈可變域與一輕鏈可變域以緊密非共價締合之二聚體組成。在單鏈Fv(scFv)種類中，一重鏈可變域與一輕鏈可變域可經由可撓性肽連接子共價連接，使得輕鏈及重鏈可以類似於雙鏈Fv種類中之結構的"二聚體"結構締合。正是在該構型中，各可變域之三個HVR相互作用以界定VH-VL二聚體之表面上的抗原結合位點。六個HVR共同賦予抗體抗原結合特異性。然而，即使單個可變域(或Fv之一半，其僅包含三個對抗原具特異性之HVR)亦具有識別且結合抗原之能力，但親和力比整個結合位點低。

Fab片段含有重鏈可變域及輕鏈可變域且亦含有輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(CH1)。Fab'片段因在重鏈CH1域之羧基末端添加包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱氨酸的數個殘基而與Fab片段不同。Fab'-SH在本文中為恆定域之半胱氨酸殘基帶有游離硫醇基之Fab'的名稱。F(ab')₂抗體片段最初以在其間具有鉸鏈半胱氨酸之Fab'片段對產

生。亦已知抗體片段之其他化學偶合。

"單鏈Fv"或"scFv"抗體片段包含抗體之VH及VL域，其中該等域存在於單一多肽鏈中。scFv多肽通常進一步包含在VH與VL域之間的多肽連接子，該多肽連接子使scFv能夠形成抗原結合所需之結構。關於scFv之綜述，例如參見Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷，Rosenburg及Moore編，(Springer-Verlag, New York, 1994)，第269-315頁。本文中scFv片段特定包括"小模組免疫藥劑(small modular immunopharmaceutical)"(SMIP)，諸如屬於Trubion之US2005/0180970A1及US2005/0186216A1中所揭示者。

術語"雙功能抗體"係指具有兩個抗原結合位點之抗體片段，該等片段包含與同一多肽鏈(VH-VL)中之輕鏈可變域(VL)連接之重鏈可變域(VH)。藉由使用過短而無法使同一鏈上兩個域配對之連接子，該等域被迫與另一鏈之互補域配對且產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體可為二價或雙特異性。雙功能抗體更完全地描述於(例如)EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)；及Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)中。Hudson等人，*Nat. Med.* 9:129-134 (2003)中亦描述三功能抗體及四功能抗體。

如本文所用之術語"單株抗體"係指自一群實質上同類之抗體獲得之抗體，亦即構成該群體之個別抗體除可以微量存在之可能突變(例如，天然存在之突變)外均相同。因

此，修飾語"單株"表明抗體並非為離散抗體之混合物之特徵。在某些實施例中，該單株抗體通常包括包含結合標靶之多肽序列之抗體，其中藉由包括自複數個多肽序列選擇單個標靶結合多肽序列之方法來獲得標靶結合多肽序列。舉例而言，選擇方法可為自複數個純系(諸如，融合瘤純系池、噬菌體純系池或重組DNA純系池)選擇獨特純系。應瞭解，所選擇之標靶結合序列可進一步改變(例如)以改良對標靶之親和力、使標靶結合序列人化、改良其在細胞培養物中之產生、減少其活體內免疫原性、產生多特異性抗體等，且包含經改變之標靶結合序列之抗體亦為本發明之單株抗體。與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製劑相反，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原上之單個決定子。除其特異性外，單株抗體製劑為有利的，此係因為其通常未受到其他免疫球蛋白污染。

修飾語"單株"表明如自實質上同類群體之抗體獲得之抗體特徵，且不應理解為需要由任何特定方法產生抗體。舉例而言，根據本發明待使用之單株抗體可由多種技術製成，包括(例如)融合瘤方法(例如，Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495-97 (1975)；Hongo等人，*Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995)；Harlow等人，*Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press，第2版，1988)；Hammerling等人，*Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981))、重組

DNA方法(例如參見美國專利第4,816,567號)、噬菌體呈現技術(例如參見Clackson等人, *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 及Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004))及在具有部分或全部人類免疫球蛋白基因座或編碼人類免疫球蛋白序列之基因之動物中產生人類或類人抗體的技術(例如參見WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits等人, *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann等人, *Year in Immunol.* 7:33 (1993); 美國專利第5,545,807號、第5,545,806號、第5,569,825號、第5,625,126號、第5,633,425號及第5,661,016號; Marks等人, *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg等人, *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild等人, *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); 及Lonberg及Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995))。

本文中單株抗體特定包括"嵌合"抗體, 其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體類別或亞類之抗體中的相應序列一致或同源, 而該(該等)鏈之其餘部分

與源自另一物種或屬於另一抗體類別或亞類之抗體中的相應序列一致或同源；以及該等抗體之片段，只要其展示所需生物活性即可(美國專利第4,816,567號；及Morrison等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984))。嵌合抗體包括PRIMATIZED®抗體，其中抗體之抗原結合區源自藉由(例如)用所關注之抗原使獼猴免疫所產生之抗體。

"人化"形式之非人類(例如，鼠類)抗體為含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列之嵌合抗體。在一實施例中，人化抗體為其中來自接受者之HVR之殘基係經來自非人類物種(供體抗體)(諸如，小鼠、大鼠、兔或具有所需特異性、親和力及能力之非人類靈長類動物)之HVR之殘基置換的人類免疫球蛋白(接受者抗體)。在一些情況下，人類免疫球蛋白之FR殘基係經相應非人類殘基置換。此外，人化抗體可包含未在接受者抗體或供體抗體中發現之殘基。進行該等修飾以進一步改進抗體效能。人化抗體通常將包含實質上全部之至少一個且通常兩個可變域，其中全部或實質上全部高變環對應於非人類免疫球蛋白之彼等高變環且全部或實質上全部FR為人類免疫球蛋白序列之彼等FR。人化抗體視情況將亦包含免疫球蛋白恆定區(Fc)(通常為人類免疫球蛋白之免疫球蛋白恆定區)之至少一部分。關於其他詳情，例如參見Jones等人，*Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，*Nature* 332:323-329 (1988)；及Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。亦例如參

見 Vaswani 及 Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998) ; Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995) ; Hurle 及 Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994) ; 及美國專利第 6,982,321 號及第 7,087,409 號。

人化 HER2 抗體包括 huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7 及 huMAb4D5-8 或曲妥珠單抗 (HERCEPTIN®)，如美國專利 5,821,337 (其以引用之方式明確併入本文中) 之表 3 中所述；人化 520C9 (WO93/21319)；及人化 2C4 抗體，諸如本文所述之帕妥珠單抗。

出於本文之目的，"曲妥珠單抗"、"HERCEPTIN®" 及 "huMAb4D5-8" 係指包含分別在 SEQ ID NO: 15 及 16 中之輕鏈胺基酸序列及重鏈胺基酸序列的抗體。

本文中，"帕妥珠單抗" 及 "OMNITARG™" 係指包含分別在 SEQ ID NO: 13 及 14 中之輕鏈胺基酸序列及重鏈胺基酸序列的抗體。

圖 6 中說明曲妥珠單抗與帕妥珠單抗之間的差異。

"人類抗體" 為具有對應於由人類產生之抗體之胺基酸序列的胺基酸序列之抗體及 / 或已使用如本文所揭示之製備人類抗體之技術中之任一者製備之抗體。人類抗體之此定義特定排除包含非人類抗原結合殘基之人化抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之各種技術，包括噬菌體呈現庫來產生。Hoogenboom 及 Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991) ; Marks 等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)。製備

人類單株抗體亦可用描述於 Cole 等人，*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss，第 77 頁 (1985)；Boerner 等人，*J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991) 中之方法。亦參見 van Dijk 及 van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001)。人類抗體可藉由將抗原投與經修飾以回應抗原挑釁而產生該等抗體但內源基因座已喪失能力之抗體之轉殖基因動物(例如，經免疫之異種小鼠)來製備(關於 XENOMOUSE™ 技術，例如參見美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號)。關於經由人類 B 細胞融合瘤技術產生人類抗體，亦例如參見 Li 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。

"構架"或"FR"殘基為除如本文所定義之 HVR 殘基以外之彼等可變域殘基。

術語"如 Kabat 中可變域殘基編號"或"如 Kabat 中胺基酸位置編號"及其變體係指 Kabat 等人，同上中用於編制抗體之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。使用該編號系統，實際線性胺基酸序列可含有對應於使可變域之 FR 或 HVR 縮短或插入其中的更少或其他胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括在 H2 之殘基 52 後插入之單個胺基酸(根據 Kabat 之殘基 52a)及重鏈 FR 殘基 82 後插入之殘基(例如，根據 Kabat 之殘基 82a、82b 及 82c 等)。可藉由將抗體序列與"標準" Kabat 編號之序列之同源區對準來確定給定抗體之殘基之 Kabat 編號。

在整個本發明說明書及申請專利範圍中，當提及可變域

中之殘基(大約輕鏈之殘基1-107及重鏈之殘基1-113)時，通常使用Kabat編號系統(例如，Kabat等人，*Sequences of Immunological Interest*. 第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。

當提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基，通常使用"EU編號系統"或"EU指數"(例如，Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)中所報導之EU指數，該文獻係以引用之方式併入明確本文中)。除非本文中另有說明，否則提及抗體之可變域中之殘基編號意謂經由Kabat編號系統之殘基編號。除非本文中另有說明，否則提及抗體之恆定域中之殘基編號意謂經由EU編號系統之殘基編號(參見例如美國臨時申請案第60/640,323號，針對EU編號之圖式)。

"親和力成熟"抗體為一或多個HVR中具有一或多個改變之抗體，與不具有彼等改變之親本抗體相比，該或該等改變使抗體對抗原之親和力得以改良。在一實施例中，親和力成熟抗體對標靶抗原具有奈莫耳濃度或甚至皮莫耳濃度(picomolar)之親和力。可使用此項技術中已知之某些程序產生親和力成熟抗體。舉例而言，Marks等人，*Bio/Technology* 10:779-783 (1992)描述由VH及VL域改組引起之親和力成熟。HVR及/或構架殘基之隨機突變誘發係例如由以下文獻描述：Barbas等人，*Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994)；Schier等人，*Gene* 169:147-155

(1995)；Yelton等人，*J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995)；Jackson等人，*J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995)；及Hawkins等人，*J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)。

抗體"效應功能"係指可歸於抗體之Fc區(天然序列Fc區或胺基酸序列變異Fc區)之彼等生物活性且隨抗體同型變化。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之向下調控；及B細胞活化。

本文使用術語"Fc區"定義免疫球蛋白重鏈之C端區，包括天然序列Fc區及變異Fc區。雖然免疫球蛋白重鏈之Fc區之邊界可能變化，但人類IgG重鏈Fc區通常定義為自位置Cys226之胺基酸殘基或自Pro230延伸至其羧基端。Fc區之C端離胺酸(根據EU編號系統為殘基447)可以例如在抗體產生或純化期間或藉由編碼抗體重鏈之核酸重組工程化移除。因此，完整抗體之組成可包含移除所有K447殘基之抗體群體、未移除K447殘基之抗體群體、及有與無K447殘基之抗體之混合物的抗體群體。

除非本文另有說明，否則免疫球蛋白重鏈中殘基之編號為上述Kabat等人之EU指數之編號。"Kabat之EU指數"係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。

"功能Fc區"具有天然序列Fc區之"效應功能"。例示性"效應功能"包括：C1q結合；CDC；Fc受體結合；ADCC；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體，BCR)之向下調

節等。該等效應功能通常需要Fc區與一個結合域(例如抗體可變域)組合，且可使用例如本文定義中所揭示之多種檢定來評定。

"天然序列Fc區"包含與自然界中發現之Fc區之胺基酸序列一致之胺基酸序列。天然序列人類Fc區包括天然序列人類IgG1 Fc區(非A異型及A異型)；天然序列人類IgG2 Fc區；天然序列人類IgG3 Fc區；及天然序列人類IgG4 Fc區，以及其天然存在變異體。

"變異Fc區"包含由於至少一個胺基酸修飾、較佳一或多個胺基酸取代而與天然序列Fc區之胺基酸序列不同之胺基酸序列。與天然序列Fc區或與親本多肽之Fc區相比，變異Fc區在天然序列Fc區中或在親本多肽之Fc區中較佳具有至少一個胺基酸取代，例如約1至約10個胺基酸取代，且較佳約1至約5個胺基酸取代。本文中變異Fc區較佳與天然序列Fc區及/或與親本多肽之Fc區具有至少約80%之同源性，且最佳與其具有至少約90%之同源性，更佳與其具有至少約95%之同源性。

"Fc受體"或"FcR"描述與抗體之Fc區結合之受體。在一些實施例中，FcR為天然人類FcR。在一些實施例中，FcR為結合IgG抗體之FcR(γ 受體)且包括Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII亞類受體，包括該等受體之對偶基因變異體及替代性剪接形式。Fc γ RII受體包括Fc γ RIIA("活化受體")及Fc γ RIIB("抑制受體")，其具有主要在其細胞質域中存在不同之類似胺基酸序列。活化受體Fc γ RIIA在其細胞質域中

含有免疫受體酪胺酸基活化基元(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。抑制受體FcγRIIB在其細胞質域中含有免疫受體酪胺酸基抑制基元(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, ITIM)。(例如參見Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。FcR綜述例如可見於以下參考文獻中：Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)；Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)。本文之術語"FcR"涵蓋包括彼等將來待鑑別之FcR之其他FcR。

術語"Fc受體"或"FcR"亦包括新生兒受體FcRn，其造成母體IgG向胎兒中之轉移(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))及免疫球蛋白動態平衡之調控。量測與FcRn之結合之方法為已知的(例如參見Ghetie及Ward., *Immunol. Today* 18(12):592-598 (1997)；Ghetie等人, *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640 (1997)；Hinton等人, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004)；WO 2004/92219(Hinton等人))。

可(例如)在表現人類FcRn之轉殖基因小鼠或經轉染人類細胞株中或在投與具有變異Fc區之多肽之靈長類動物中檢定活體內與人類FcRn之結合及人類FcRn高親和力結合多肽之血清半衰期。WO 2000/42072(Presta)描述具有改良或減弱之與FcR之結合的抗體變異體。亦例如參見Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001)。

"人類效應細胞"為表現一或多種FcR且執行效應功能之白血球。在某些實施例中，該等細胞表現至少FcγRIII且執行ADCC效應功能。介導ADCC之人類白血球之實例包括周邊血液單核細胞(PBMC)、自然殺傷(NK)細胞、單核細胞、細胞毒性T細胞及嗜中性白血球。效應細胞可自天然來源分離，例如自血液分離。

"抗體依賴性細胞介導細胞毒性"或"ADCC"係指細胞毒性形式，其中結合於某些細胞毒性細胞(例如NK細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)上存在之Fc受體(FcR)上的分泌Ig能夠使該等細胞毒性效應細胞與帶有抗原之標靶細胞特異性結合且接著用細胞毒素殺死標靶細胞。介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現FcγRIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。造血細胞上FcR表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)第464頁之表格3中。為評定所關注之分子之ADCC活性，可進行活體外ADCC檢定，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號或美國專利第6,737,056號(Presta)中所述之檢定。適用於該等檢定之效應細胞包括PBMC及NK細胞。或者或另外，所關注之分子之ADCC活性可活體內評定，例如，在諸如Clynes等人，*PNAS(USA)* 95:652-656 (1998)中揭示之動物模型中評定。

"補體依賴性細胞毒性"及"CDC"指在補體存在下溶解標靶細胞。經典補體路徑之活化係藉由使補體系統之第一組分(C1q)與結合於同源抗原之(適當亞類之)抗體結合來引

發。為評定補體活化，可進行CDC檢定，例如，如Gazzano-Santoro等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述進行。Fc胺基酸序列改變(具有變異Fc區之多肽)及C1q結合能力增加或降低之多肽變異體描述於(例如)美國專利第6,194,551 B1號及WO 1999/51642中。亦例如參見Idusogie等人，*J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)。

術語"包含Fc區之抗體"係指包含Fc區之抗體。Fc區之C-末端離胺酸(根據EU編號系統為殘基447)可(例如)在抗體純化期間或藉由使編碼抗體之核酸重組工程化來移除。因此，根據本發明之包含具有Fc區之抗體的組合物可包含具K447之抗體、所有K447均移除之抗體或具K447殘基之抗體及不具K447殘基之抗體的混合物。

術語"主要種類抗體"在本文中係指組合物中之抗體結構，其為組合物中在數量上佔優勢之抗體分子。在一實施例中，主要種類抗體為HER2抗體，諸如與HER2之域II結合之抗體、比曲妥珠單抗更有效地抑制HER二聚合之抗體及/或與HER2異源二聚結合位點結合之抗體。主要種類抗體之較佳實施例在本文中為包含SEQ ID No. 3及SEQ ID No. 4中之可變輕鏈及可變重鏈胺基酸序列之抗體，且最佳為包含SEQ ID No. 13及SEQ ID No. 14中之輕鏈及重鏈胺基酸序列之抗體(帕妥珠單抗)。

"胺基酸序列變異"抗體在本文中為具有不同於主要種類抗體之胺基酸序列之抗體。胺基酸序列變異體通常將與主要種類抗體具有至少約70%之同源性，且其較佳將與主要

種類抗體至少約80%、更佳至少約90%同源。胺基酸序列變異體在主要種類抗體之胺基酸序列內或附近之某些位置處具有取代、缺失及/或添加。胺基酸序列變異體之實例在本文中包括酸性變異體(去醯胺基抗體變異體)、鹼性變異體、在一或兩個輕鏈上具有胺基末端前導序列擴展(例如, VHS-)之抗體、在一或兩個重鏈上具有C-末端離胺酸殘基之抗體等, 且包括重鏈及/或輕鏈之胺基酸序列之變化的組合。尤其關注之抗體變異體在本文中為在一或兩個輕鏈上包含胺基末端前導序列擴展的抗體, 視情況進一步包含相對於主要種類抗體之其他胺基酸序列及/或醣基化差異。

"醣基化變異"抗體在本文中為具有一或多個連接於其上之碳水化合物部分之抗體, 該或該等部分不同於一或多個連接於主要種類抗體上之碳水化合物部分。醣基化變異體之實例在本文中包括具有連接於Fc區之G1或G2寡醣結構而非G0寡醣結構之抗體、具有一或兩個連接於一或兩個輕鏈之碳水化合物部分之抗體、不具有連接於抗體之一或兩個重鏈之碳水化合物的抗體等, 以及醣基化改變之組合。

當抗體具有Fc區時, 寡醣結構可連接於抗體之一或兩個重鏈, 例如在殘基299處(殘基之Eu編號為298)。就帕妥珠單抗而言, G0為佔優勢之寡醣結構, 其中諸如G0-F、G-1、Man5、Man6、G1-1、G1(1-6)、G1(1-3)及G2之其他寡醣結構在帕妥珠單抗組合物中以較少量發現。

除非另外指示, 否則"G1寡醣結構"在本文中包括G-1、

G1-1、G1(1-6)及G1(1-3)結構。

"胺基末端前導序列擴展"在本文中係指存在於抗體之任何一或多個重鏈或輕鏈之胺基末端處的胺基末端前導序列之一或多個胺基酸殘基。例示性胺基末端前導序列擴展包含抗體變異體之一個或兩個輕鏈上存在之三個胺基酸殘基VHS或由該三個胺基酸殘基組成。

"去醯胺基"抗體為已使其一或多個天冬醯胺酸殘基衍生為(例如)天冬胺酸、丁二醯亞胺或異天冬胺酸之抗體。

術語"癌症"及"癌性"係指或描述哺乳動物之通常以不受調控細胞生長為特徵之生理病狀。"癌症類型"在本文中係指癌症之特定種類或適應症。該等癌症類型之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、胚細胞瘤(包括神經管胚細胞瘤及視網膜母細胞瘤)、肉瘤(包括脂肪肉瘤及滑膜細胞肉瘤)、神經內分泌腫瘤(包括類癌、胃泌素瘤及小島細胞癌)、間皮瘤、神經鞘瘤(包括聽神經瘤)、脊膜瘤、腺癌、黑色素瘤及白血病或淋巴惡性腫瘤。該等癌症之更特定實例包括鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、肺腺癌及肺鱗狀細胞癌)、腹膜癌、肝細胞癌、胃癌(包括胃腸癌)、胰腺癌、膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝瘤、乳癌(包括轉移性乳癌)、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、前列腺癌、陰門癌、甲狀腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、肛門癌、陰莖癌、睪丸癌、食道癌、膽道腫

瘤以及頭頸癌以及任何該等癌症之亞型，包括(但不限於)其抗化學療法型、抗鉑型、晚期、難治癒及/或復發性類型。

"能夠回應HER抑制劑之癌症類型"為當用諸如HER2抗體或小分子抑制劑之HER抑制劑治療時，根據熟練腫瘤學家已知之療效標準中之任一者在與此有關之患者中展示治療有效益處之癌症類型，該益處包括本文中詳述之益處，但尤其在存活(包括無疾病進展存活(PFS)及/或總存活(OS))方面。該癌症較佳係選自卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌(MBC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、前列腺癌及結腸直腸癌。該癌症最佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌，包括該等癌之抗鉑形式，以及晚期、難治癒或復發性卵巢癌。

"能夠回應HER二聚合抑制劑之癌症類型"為當用諸如帕妥珠單抗之HER二聚合抑制劑治療時，根據熟練腫瘤學家已知之療效標準中之任一者在與此有關之患者展示治療有效益處之癌症類型，該益處包括本文中詳述之益處，但尤其在存活(包括無疾病進展存活(PFS)及/或總存活(OS))方面。該癌症較佳係選自卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌(MBC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、前列腺癌及結腸直腸癌。該癌症最佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌，包括該等癌之抗鉑形式，以及晚期、難治癒或復發性卵巢癌。

"有效反應"及相似詞組係指對HER二聚合抑制劑、HER抑制劑或化學治療劑之反應，其顯著高於不以指定水平表

現HER3之患者之反應。

"晚期"癌症為已由局部侵入或轉移擴散到起源位點或器官之外部的癌症。

"難治癒"癌症為即使正向癌症患者投與諸如化學治療劑之抗腫瘤劑亦進展之癌症。難治癒之癌症之實例為鉑難治癒之癌症。

"復發性"癌症為對初始療法反應後已在初始位點或遠處位點處再生長之癌症。

"患者"在本文中為人類患者。患者可為"癌症患者"，亦即罹患一或多種癌症症狀或處於罹患一或多種癌症症狀之風險下之患者。

"腫瘤樣品"在本文中為源自患者腫瘤或包含患者腫瘤之腫瘤細胞的樣品。腫瘤樣品之實例在本文中包括(但不限於)腫瘤活檢、循環腫瘤細胞、循環血漿蛋白質、腹水、源自腫瘤或展示類腫瘤性質之初級細胞培養物或細胞株以及保藏腫瘤樣品，諸如福馬林(formalin)固定、石蠟包埋腫瘤樣品或冷凍腫瘤樣品。

"固定"腫瘤樣品為已使用固定劑在組織學上保藏之樣品。

"福馬林固定"腫瘤樣品為已使用甲醛作為固定劑保藏之樣品。

"包埋"腫瘤樣品為由諸如石蠟、蠟、火棉或樹脂之堅實且通常硬質之介質包裹之樣品。包埋使得有可能切割薄片以用於顯微鏡檢查或產生組織微陣列(TMA)。

"石蠟包埋"腫瘤樣品為由源自石油之固體烴類純化混合物包裹之樣品。

在本文中，"冷凍"腫瘤樣品係指正冷凍或已冷凍之腫瘤樣品。

"呈現HER表現、擴增或活化"之癌症或生物樣品為在診斷測試中表現(包括過度表現)HER受體、具有擴增HER基因及/或另外證明HER受體之活化或磷酸化之樣品。

"HER受體過度表現或擴增"之癌細胞為與具有相同組織類型之非癌性細胞相比，具有顯著較高水平之HER受體蛋白質或基因的癌細胞。該過度表現可由基因擴增或由轉錄或轉譯之增加引起。HER受體過度表現或擴增可在診斷或預後檢定中藉由評估細胞表面上所存在之HER蛋白質之水平的增加來測定(例如經由免疫組織化學檢定；IHC)。或者或另外，可(例如)經由螢光原位雜交(FISH；參見1998年10月公開之WO 98/45479)、南方墨點法(southern blotting)或聚合酶鏈反應(PCR)技術(諸如定量即時PCR(qRT-PCR))量測細胞中編碼HER之核酸之水平。亦可藉由量測諸如血清之生物流體中之排出抗原(shed antigen)(例如，HER細胞外域)來研究HER受體過度表現或擴增(例如參見1990年6月12日頒布之美國專利第4,933,294號；1991年4月18日公開之WO91/05264；1995年3月28日頒布之美國專利5,401,638；及Sias等人，*J. Immunol. Methods* 132: 73-80 (1990))。除上述檢定外，熟練從業者可利用多種活體內檢定。舉例而言，可將患者體內之細胞暴露於視情況經例如

放射性同位素之可偵測標記標記之抗體，且可(例如)藉由外部掃描放射性或藉由分析自之前暴露於抗體之患者取出之活檢來評估抗體與患者之細胞之結合。

相反地，"不過度表現或擴增HER受體"之癌症為與具有相同組織類型之非癌性細胞相比，不具有高於正常水平之HER受體蛋白質或基因的癌症。可使用諸如帕妥珠單抗之抑制HER二聚合之抗體治療不過度表現或擴增HER2受體之癌症。

在本文中，"抗腫瘤劑"係指用於治療癌症之藥物。抗腫瘤劑之非限定性實例在本文中包括化學治療劑、HER抑制劑、HER二聚合抑制劑、HER抗體、針對腫瘤相關抗原之抗體、抗激素化合物、細胞激素、EGFR靶向藥物、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、生長抑制劑及抗體、細胞毒性劑、誘導細胞凋亡之抗體、COX抑制劑、法呢基轉移酶(farnesyl transferase)抑制劑、結合癌胚蛋白(oncofetal protein)CA 125之抗體、HER2疫苗、Raf或ras抑制劑、脂質體多柔比星、拓朴替康、紫杉烷(taxane)、雙重酪胺酸激酶抑制劑、TLK286、EMD-7200、帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、埃羅替尼及貝伐單抗。

"經批准抗腫瘤劑"為諸如食品與藥物管理局(FDA)或其國外等效機構之管理當局已給予銷售批准之用於治療癌症之藥物。

當HER抑制劑或HER二聚合抑制劑以"單一抗腫瘤劑"投與時，其為投與治療癌症之唯一抗腫瘤劑，亦即，其不與

另一抗腫瘤劑(諸如化學療法)組合投與。

"護理標準物"在本文中意欲指常規用於治療特定形式之癌症之抗腫瘤劑。舉例而言，就抗鉑型卵巢癌而言，護理標準物為拓朴替康或脂質體多柔比星。

"生長抑制劑"當在本文中使用时係指活體外或活體內抑制細胞、表現HER之癌細胞生長之化合物或組合物。因此，生長抑制劑可為在S期中顯著降低表現HER之細胞之百分率之藥劑。生長抑制劑之實例包括(處於S期外之位置)阻斷細胞週期進程之藥劑，諸如誘導G1停滯及M期停滯之藥劑。經典M期阻斷劑包括長春花類(vincas)(長春新鹼(vincristine)及長春鹼(vinblastine))、紫杉烷，及拓撲異構酶 II(topo II)抑制劑，諸如多柔比星、表柔比星(epirubicin)、柔紅黴素(daunorubicin)、依託泊苷(etoposide)及博萊黴素(bleomycin)。停滯G1之彼等藥劑亦外溢至S期停滯中，例如DNA烷基化劑，諸如他莫昔芬(tamoxifen)、潑尼松(prednisone)、達卡巴嗪(dacarbazine)、氮芥(mechlorethamine)、順鉑(cisplatin)、甲胺喋呤(methotrexate)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)及阿拉伯糖苷(ara-C)。其他資訊可見於*The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn及Israel編，第1章，標題為"Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs", Murakami等人(WB Saunders: Philadelphia, 1995)，尤其第13頁。

"生長抑制"抗體之實例為與HER2結合且抑制過度表現HER2之癌細胞之生長的抗體。在約0.5 µg/mL至30 µg/mL

之抗體濃度下，較佳生長抑制HER2抗體抑制細胞培養物中之SK-BR-3乳房腫瘤細胞之生長大於20%，且較佳大於50%(例如約50%至約100%)，其中將SK-BR-3細胞暴露於抗體後6天，測定生長抑制(參見，1997年10月14日頒布之美國專利第5,677,171號)。SK-BR-3細胞生長抑制檢定更詳細描述於該專利及下文中。較佳生長抑制抗體為鼠類單株抗體4D5之人化變異體，例如，曲妥珠單抗。

"誘導細胞凋亡"之抗體為如由膜聯蛋白V(annexin V)之結合、DNA碎裂、細胞收縮、內質網擴張、細胞碎裂及/或膜囊之形成(稱為細胞凋亡體)測定，誘導漸進式細胞死亡之抗體。該細胞通常為過度表現HER2受體之細胞。該細胞較佳為腫瘤細胞，例如乳房、卵巢、胃、子宮內膜、唾液腺、肺、腎、結腸、甲狀腺、胰腺或膀胱細胞。在活體外，該細胞可為SK-BR-3、BT474、Calu 3細胞、MDA-MB-453、MDA-MB-361或SKOV3細胞。可利用多種方法評估與細胞凋亡相關之細胞事件。舉例而言，可由膜聯蛋白結合量測磷脂醯絲胺酸(PS)易位；可經由DNA梯狀電泳(DNA laddering)評估DNA碎裂；且可由亞二倍體細胞之任何增加評估細胞核/染色質凝縮以及DNA碎裂。誘導細胞凋亡之抗體較佳為在使用BT474細胞之膜聯蛋白結合檢定(參見下文)中相對於未處理之細胞產生約2至50倍、較佳約5至50倍且最佳約10至50倍之膜聯蛋白結合誘導的抗體。誘導細胞凋亡之HER2抗體之實例為7C2及7F3。

"抗原決定基2C4"為與抗體2C4結合之HER2之細胞外域

中之區。為篩選與2C4抗原決定基結合之抗體，可進行常規交叉阻斷檢定(cross-blocking assay)，諸如 *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow 及 David Lane 編(1988)中所述之檢定。抗體較佳使2C4與HER2之結合阻斷約50%或以上。或者，可進行抗原決定基定位以評定抗體是否與HER2之2C4抗原決定基結合。抗原決定基2C4包含來自HER2之細胞外域中之域II之殘基。2C4及帕妥珠單抗與HER2之細胞外域在域I、II及III之接合點處結合。Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004)。

"抗原決定基4D5"為與抗體4D5(ATCC CRL 10463)及曲妥珠單抗結合之HER2之細胞外域中之區。該抗原決定基靠近HER2之跨膜域且在HER2之域IV內。為篩選與4D5抗原決定基結合之抗體，可進行常規交叉阻斷檢定，諸如 *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow 及 David Lane 編(1988)中所述之檢定。或者，可進行抗原決定基定位以評定抗體是否與HER2之4D5抗原決定基(例如，約殘基529至約殘基625之區中之任何一或多個殘基，包括HER2 ECD，殘基編號包括信號肽)結合。

"抗原決定基7C2/7F3"為與7C2及/或7F3抗體(各寄存於ATCC中，參見下文)結合之HER2之細胞外域之N末端處、域I內之區。為篩選與7C2/7F3抗原決定基結合之抗體，可進行常規交叉阻斷檢定，諸如 *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow 及 David

Lane編(1988)中所述之檢定。或者，可進行抗原決定基定位以確定抗體是否與HER2上之7C2/7F3抗原決定基(例如，HER2 ECD之約殘基22至約殘基53之區中之任何一或多個殘基，殘基編號包括信號肽)結合。

"治療"係指治療性治療與預防治療措施或預防措施。彼等需要治療者包括早已患有癌症者以及待預防癌症者。因此，待治療之患者在本文中可能已診斷為患有癌症或可能易感癌症。

術語"治療有效量"或"有效量"係指有效治療患者之癌症之藥物之量。藥物之有效量可減少癌細胞之數目；減小腫瘤大小；抑制(亦即，在一定程度上減緩且較佳停止)癌細胞浸潤於周邊器官；抑制(亦即，在一定程度上減緩且較佳停止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上減輕與癌症相關之症狀中之一或多個症狀。在藥物可阻止生長及/或殺死現有癌細胞之程度上，其可抑制細胞生長及/或具有細胞毒性。有效量可延長無疾病進展存活(例如，如實體腫瘤之反應評估標準(Response Evaluation Criteria for Solid Tumors, RECIST)或CA-125變化所量測)，產生客觀反應(包括部分反應PR或完全反應CR)，改善存活(包括總存活及無疾病進展存活)及/或改善癌症之一或多個症狀(例如，如FOSI所評定)。藥物之治療有效量最佳為有效改善無疾病進展存活(PFS)及/或總存活(OS)。

"存活"係指仍活著的患者，且包括總存活以及無疾病進

展存活。

"總存活"係指所界定之時段(諸如自診斷或治療時間起1年、5年等)內仍活著的患者。

"無疾病進展存活"係指無癌症進展或惡化之仍活著的患者。

"延長存活"意謂相對於未治療之患者(亦即，相對於未經HER抑制劑、HER二聚合抑制劑(諸如帕妥珠單抗)治療之患者)，或相對於不以指定水平表現HER3或HER2:HER3之患者，及/或相對於以經批准抗腫瘤劑(當癌症為卵巢癌時，諸如拓朴替康或脂質體多柔比星)治療之患者，經治療患者之總存活或無疾病進展存活增加。

"客觀反應"係指可量測反應，包括完全反應(CR)或部分反應(PR)。

"完全反應"或"CR"意欲指回應治療，癌症之所有病徵消失。此並不始終意謂癌症已治癒。

"部分反應"或"PR"係指回應治療，一或多個腫瘤或病變之大小減小或體內癌症範圍減小。

如本文所用之術語"細胞毒性劑"係指抑制或阻止細胞之功能及/或引起細胞破壞之物質。該術語意欲包括放射性同位素(例如，At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²及Lu之放射性同位素)；化學治療劑；及毒素，諸如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，包括其片段及/或變異體。

"化學治療劑"為適用於治療癌症之化合物。化學治療劑

之實例包括烷基化劑，諸如塞替派(thiotepa)及環磷醯胺(CYTOXAN®)；磺酸烷基酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醯(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；伸乙基亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲密胺(altretamine)、曲他胺(triethylenemelamine)、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺(trimethylolomelamine)；乙醯原類化合物(acetogenin)(尤其布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚(屈大麻酚(dronabinol)，MARINOL®)； β -拉帕酮(beta-lapachone)；拉帕醇(lapachol)；秋水仙鹼(colchicine)；樺木酸(betulinic acid)；喜樹鹼(包括合成類似物拓朴替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康(irinotecan)，CAMPTOSAR®)、乙醯喜樹鹼(acetylcamptothecin)、斯考普萊叮(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼(9-aminocamptothecin))；苔蘚蟲素(bryostatin)；卡利他汀(callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；鬼臼毒素(podophyllotoxin)；足葉草酸(podophyllinic acid)；替尼泊苷(teniposide)；念珠藻環肽(cryptophycin)(尤其念珠藻環肽1及念珠藻環肽8)；海兔毒素(dolastatin)；多卡米辛(duocarmycin)(包括合成類似物，KW-2189及CB1-TM1)；艾榴素(eleutherobin)；盤克斯塔叮(pancratistatin)；沙考的汀(sarcodictyin)；海

綿抑素 (spongistatin)；氮芥劑 (nitrogen mustard)，諸如苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、萘氮芥 (chlornaphazine)、膽磷醯胺 (cholophosphamide)、雌莫司汀 (estramustine)、異環磷醯胺 (ifosfamide)、氮芥、氧化氮芥鹽酸鹽 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法倫 (melphalan)、新恩比興 (novembichin)、苯司汀 (phenesterine)、潑尼莫司汀 (prednimustine)、曲洛磷胺 (trofosfamide)、烏拉莫司汀 (uracil mustard)；亞硝基脲，諸如卡莫司汀 (carmustine)、氯脲菌素 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、洛莫司汀 (lomustine)、尼莫司汀 (nimustine) 及拉甯司汀 (ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔類抗生素 (例如，刺孢黴素 (calicheamicin)，尤其刺孢黴素 γ II 及刺孢黴素 ω II (例如參見 Nicolaou 等人，*Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994))；口服 α -4 整合素抑制劑 CDP323；達米辛 (dynemicin)，包括達米辛 A；艾斯帕米辛 (esperamicin)；以及新製癌菌素發色團 (neocarzinostatin chromophore) 及相關色蛋白烯二炔類抗生素發色團)、克拉斯米辛 (aclacinomycin)、放線菌素 (actinomycin)、奧斯拉米辛 (authramycin)、偶氮絲胺酸 (azaserine)、博萊黴素、放線菌素 C (cactinomycin)、卡拉比辛 (carabycin)、洋紅黴素 (carminomycin)、嗜癌菌素 (carzinophilin)、克羅米辛 (chromomycinis)、放線菌素 D (dactinomycin)、柔紅黴素、地托比星 (detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、多柔比星 (包括 ADRIAMYCIN®、嗎啉基多柔比星、甙基

嗎啉基多柔比星、2-吡咯啉基多柔比星、多柔比星鹽酸鹽脂質體注射液(DOXIL®)、脂質體多柔比星TLC D-99(MYOCET®)、聚乙二醇化脂質體多柔比星(CAELYX®)及去氧多柔比星)、表柔比星、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾拉黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈佐星(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin); 抗代謝物, 諸如甲胺喋呤、吉西他濱(GEMZAR®)、喃氟啶(tegafur)(UFTORAL®)、卡培他濱(capecitabine)(XELODA®)、埃坡黴素(epothilone)、及5-氟尿嘧啶(5-FU); 葉酸類似物, 諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate); 嘌呤類似物, 諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯嘌呤(6-mercaptopurine)、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine); 嘧啶類似物, 諸如安西他濱(ancitabine)、阿紫胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙脫氧尿苷(dideoxyuridine)、脫氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine); 抗腎上腺物, 諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛

司坦 (trilostane) ; 葉酸補充劑 , 諸如亞葉酸 (frolinic acid) ; 醋葡醛內酯 (aceglatone) ; 醛磷醯胺糖苷 (aldophosphamide glycoside) ; 胺基乙醯丙酸 (aminolevulinic acid) ; 乙炔尿嘧啶 (eniluracil) ; 安吡啶 (amsacrine) ; 倍思塔布 (bestrabucil) ; 比生群 (bisantrene) ; 艾達曲克 (edatraxate) ; 得弗伐胺 (defofamine) ; 秋水仙胺 (demecolcine) ; 地吡醯 (diaziquone) ; 艾弗利散 (elfornithine) ; 依利醋銨 (elliptinium acetate) ; 依託格魯 (etoglucid) ; 硝酸鎳 (gallium nitrate) ; 羥基脲 (hydroxyurea) ; 蘑菇多糖 (lentinan) ; 羅尼達寧 (lonidainine) ; 類美登素 , 諸如美登素 (maytansine) 及胺沙托辛 (ansamitocin) ; 米托胍脞 (mitoguazone) ; 米托蒽醯 (mitoxantrone) ; 莫比達摩 (mopidanmol) ; 硝拉維林 (nitraerine) ; 噴司他汀 (pentostatin) ; 凡那明 (phenamet) ; 吡柔比星 (pirarubicin) ; 洛索蒽醯 (losoxantrone) ; 2-乙基醯肼 ; 丙卡巴肼 (procarbazine) ; PSK®多醣複合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR) ; 雷佐生 (razoxane) ; 根瘤菌素 (rhizoxin) ; 西佐喃 (sizofiran) ; 鍺螺胺 (spirogermanium) ; 細交鏈孢菌酮酸 (tenuazonic acid) ; 三亞胺醯 (triaziquone) ; 2,2',2"-三氯三乙胺 ; 單端孢徽烯 (trichothecene)(尤其 T-2 毒素、弗納庫林 (verracurin)A、桿孢菌素 (roridin)A 及胺癸叮 (anguidine)) ; 烏拉坦 (urethan) ; 達卡巴嗪 (dacarbazine) ; 甘露莫司汀 (mannomustine) ; 二溴甘露醇 (mitobronitol) ; 二溴衛矛醇 (mitolactol) ; 哌泊溴烷 (pipobroman) ; 甲托辛 (gacytosine) ;

阿拉伯糖苷 (arabinoside)("Ara-C")；塞替派；紫杉醇 (taxoid)，例如太平洋紫杉醇(TAXOL®)、太平洋紫杉醇之白蛋白工程化奈米顆粒調配物(ABRAXANE™)及多烯紫杉醇(TAXOTERE®)；克羅南布(chloranbucil)；6-硫鳥嘌呤(6-thioguanine)；巯嘌呤；甲胺喋呤；鉑劑，諸如順鉑(cisplatin)、奧賽力鉑(oxaliplatin)及卡鉑(carboplatin)；防止微管蛋白聚合形成微管之長春花類，包括長春鹼(VELBAN®)、長春新鹼(ONCOVIN®)、長春地辛(vindesine)(ELDISINE®、FILDESIN®)及長春瑞賓(vinorelbine)(NAVELBINE®)；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；甲醯四氫葉酸(leucovorin)；諾凡特龍(novantrone)；依達曲沙(edatrexate)；道諾黴素(daunomycin)；胺蝶呤(aminopterin)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；拓撲異構酶抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素，諸如視黃酸(retinoic acid)，包括貝沙羅汀(bexarotene)(TARGRETIN®)；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)(例如，BONEFOS®或OSTAC®)、依替膦酸鹽(etidronate)(DIDROCAL®)、NE-58095、唑來膦酸(zoledronic acid)/唑來膦酸鹽(zoledronate)(ZOMETA®)、阿侖膦酸鹽(alendronate)(FOSAMAX®)、帕米膦酸鹽(pamidronate)(AREDIA®)、替魯膦酸鹽(tiludronate)(SKELID®)或利塞膦酸鹽(risedronate)(ACTONEL®)；曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其抑制

牽涉異常細胞增殖之信號轉導路徑中之基因表現的反義寡核苷酸，諸如 PKC- α 、Raf、H-Ras 及表皮生成因子受體 (EGF-R)；疫苗，諸如 THERATOPE® 疫苗及基因療法疫苗，例如 ALLOVECTIN® 疫苗、LEUVECTIN® 疫苗及 VAXID® 疫苗；拓撲異構酶 1 抑制劑（例如，LURTOTECAN®）；rmRH（例如，ABARELIX®）；BAY439006（索拉非尼 (sorafenib)；Bayer）；SU-11248 (Pfizer)；派瑞福松 (perifosine)、COX-2 抑制劑（例如塞來昔布 (celecoxib) 或依託昔布 (etoricoxib)）、蛋白體抑制劑（例如 PS341）；硼替佐米 (bortezomib) (VELCADE®)；CCI-779；替皮法尼 (tipifarnib) (R11577)；奧拉凡尼 (orafenib)、ABT510；Bcl-2 抑制劑，諸如奧利默森鈉 (oblimersen sodium) (GENASENSE®)；匹克生瓊 (pixantrone)；EGFR 抑制劑（參見下文定義）；酪胺酸激酶抑制劑（參見下文定義）；及上述物質中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述物質中之兩者或兩者以上之組合，諸如 CHOP（環磷醯胺、多柔比星、長春新鹼及潑尼龍 (prednisolone) 之組合療法的縮寫）及 FOLFOX（奧賽力鉑 (ELOXATIN™) 與 5-FU 及甲醯四氫葉酸組合之治療方案的縮寫）。

本文中，化學治療劑包括“抗激素劑”或“內分泌治療劑”，其用於調控、降低、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素之作用。其可為激素本身，包括（但不限於）具有混合促效劑/拮抗劑概況之抗雌激素劑，包括他莫昔芬 (NOLVADEX®)、

4-羥基他莫昔芬、托瑞米芬(toremifene)(FARESTON®)、艾多昔芬(idoxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、雷諾昔酚(raloxifene)(EVISTA®)、曲沃昔芬(trioxifene)、克沃昔芬(keoxifene)及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，諸如SERM3；不具有促效劑性質之純抗雌激素，諸如氟維司群(fulvestrant)(FASLODEX®)及EM800(該等藥劑可阻斷雌激素受體(ER)二聚合，抑制DNA結合，增加ER轉換及/或抑止ER水平)；芳香酶抑制劑，包括類固醇芳香酶抑制劑，諸如福美司坦(formestane)及依西美坦(exemestane)(AROMASIN®)，及非類固醇芳香酶抑制劑，諸如阿那曲唑(anastrozole)(ARIMIDEX®)、來曲唑(letrozole)(FEMARA®)及胺魯米特，且其他芳香酶抑制劑包括伏羅唑(vorozole)(RIVISOR®)、醋酸甲地孕酮(megestrol acetate)(MEGASE®)、法屈唑(fadrozole)及4(5)-咪唑；黃體成長激素釋放激素促效劑，包括亮丙瑞林(leuprolide)(LUPRON®及ELIGARD®)、戈舍瑞林(goserelin)、布舍瑞林(buserelin)及曲特瑞林(tripterelin)；性類固醇(steroid)，包括妊娠素，諸如醋酸甲地孕酮及醋酸甲羥孕酮(medroxyprogesterone acetate)，雌激素，諸如己烯雌酚(diethylstilbestrol)及普雷馬林(premarin)，及雄激素/類視色素，諸如氟甲睾酮(flouxymesterone)，所有轉視黃酸(transretionic acid)及芬維A胺(fenretinide)；奧那司酮(onapristone)；抗孕酮(anti-progesterone)；雌激素受體向下調控劑(estrogen receptor down-regulator)(ERD)；抗雄激

素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)及比卡魯胺(bicalutamide)；及上述物質中之任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物以及上述物質中之兩者或兩者以上之組合。

"抗代謝物化學治療劑"為在結構上類似於代謝物但不能以富有成效之方式由身體使用之藥劑。許多抗代謝物化學治療劑干擾核酸(RNA及DNA)之產生。抗代謝物化學治療劑之實例包括吉西他濱(GEMZAR®)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、卡培他濱(capecitabine)(XELODA™)、6-巰嘌呤、甲胺喋呤、6-硫鳥嘌呤、培美曲唑(pemetrexed)、雷替曲賽(raltitrexed)、阿拉伯糖胞嘧啶 ARA-C 阿糖胞苷(CYTOSAR-U®)、達卡巴嗪(DTIC-DOME®)、氮雜胞嘧啶(azocytosine)、去氧胞嘧啶、嘧啶(pyrimidine)、氟達拉濱(fludarabine)(FLUDARA®)、克拉曲濱(cladribine)、2-去氧-D-葡萄糖等。較佳抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。

"吉西他濱"或"(2'-去氧-2',2'-二氟胞嘧啶核苷單鹽酸鹽(b-異構體)"為展示抗腫瘤活性之核苷類似物。吉西他濱鹽酸鹽之經驗式為 $C_9H_{11}F_2N_3O_4 \cdot HCl$ 。吉西他濱鹽酸鹽由Eli Lilly以商標GEMZAR®出售。

"鉑基化學治療劑"包含含有鉑作為分子之不可分割之部分的有機化合物。鉑基化學治療劑之實例包括卡鉑、順鉑及奧賽力鉑。

"鉑基化學療法"意欲指用一或多種鉑基化學治療劑、視

情況與一或多種其他化學治療劑組合之療法。

"抗化學療法型"癌症意謂雖然癌症患者接受化學療法方案，但其疾病仍進展(亦即，患者為"化學療法難治癒")，或在完成化學療法方案後12個月內(例如，6個月內)，患者疾病進展。

"抗鉑型"癌症意謂雖然癌症患者接受鉑基化學療法，但其疾病仍進展(亦即，患者為"鉑難治癒")，或在完成鉑基化學療法方案後12個月內(例如，6個月內)，患者疾病進展。

"抗血管生成劑"係指在一定程度上阻斷或干擾血管發育之化合物。抗血管生成因子可(例如)為與涉及促進血管生成之生長因子或生長因子受體結合之小分子或抗體。較佳抗血管生成因子在本文中為與血管內皮生長因子(VEGF)結合之抗體，諸如貝伐單抗(AVASTIN®)。

術語"細胞激素"為作為細胞間介體作用於另一細胞而由一細胞群體釋放之蛋白質之通稱。該等細胞激素之實例為淋巴激活素、單核球激素及傳統多肽激素。細胞激素包括生長激素，諸如人類生長激素、N-甲硫胺醯基人類生長激素及牛生長激素；副甲狀腺激素；甲狀腺素；胰島素；胰島素原；鬆弛素；鬆弛素原；糖蛋白激素，諸如促濾泡激素(FSH)、促甲狀腺激素(TSH)及黃體成長激素(LH)；肝生長因子；纖維母細胞生長因子；催乳激素；胎盤催乳素；腫瘤壞死因子- α 及腫瘤壞死因子- β ；苗勒抑制物質(mullerian-inhibiting substance)；小鼠促性腺激素締合

肽；抑制素；活化素；血管內皮生長因子；整合素；血小板生成素(TPO)；神經生長因子，諸如NGF- β ；血小板生長因子；轉化生長因子(TGF)，諸如TGF- α 及TGF- β ；胰島素樣生長因子-I及胰島素樣生長因子-II；促紅細胞生成素(EPO)；骨生成誘導因子；干擾素，諸如干擾素- α 、干擾素- β 及干擾素- γ ；集落刺激因子(CSF)，諸如巨噬細胞-CSF(M-CSF)；粒細胞-巨噬細胞-CSF(GM-CSF)；及粒細胞-CSF(G-CSF)；介白素(IL)，諸如IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；腫瘤壞死因子，諸如TNF- α 或TNF- β ；及其他多肽因子，包括LIF及套組配位體(KL)。如本文所使用，術語細胞激素包括來自天然來源或來自重組細胞培養物之蛋白質及天然序列細胞激素之生物活性等效物。

如本文所使用，術語"EGFR靶向藥物"係指與EGFR結合且視情況抑制EGFR活化之治療劑。該等藥劑之實例包括與EGFR結合之抗體及小分子。與EGFR結合之抗體之實例包括MAb 579(ATCC CRL HB 8506)、MAb 455(ATCC CRL HB8507)、MAb 225(ATCC CRL 8508)、MAb 528(ATCC CRL 8509)(參見Mendelsohn等人之美國專利第4,943,533號)及其變異體，諸如嵌合225(C225或西妥昔單抗；ERBUTIX®)及再成形人類225(H225)(參見WO 96/40210，Imclone Systems Inc.)；IMC-11F8，一種完全人類EGFR靶向抗體(Imclone)；結合II型突變體EGFR之抗體(美國專利第5,212,290號)；結合EGFR之人化及嵌合抗體，如美國專

利第5,891,996號中所述；及結合EGFR之人類抗體，諸如ABX-EGF(參見WO 98/50433，Abgenix)；EMD 55900(Stragliotto等人，*Eur. J. Cancer* 32A:636-640 (1996))；EMD7200(馬妥珠單抗(matuzumab))，一種針對EGFR之與EGF及TGF- α 競爭以與EGFR結合之人化EGFR抗體；及mAb 806或人化mAb 806(Johns等人，*J. Biol. Chem.* 279 (29):30375-30384 (2004))。抗EGFR抗體可與細胞毒性劑接合，從而產生免疫接合物(例如參見EP 659,439A2，Merck Patent GmbH)。與EGFR結合之小分子之實例包括ZD1839或吉非替尼(Gefitinib)(IRESSA™；Astra Zeneca)；CP-358774或埃羅替尼(TARCEVA™；Genentech/OSI)；及AG1478、AG1571(SU 5271；Sugen)；EMD-7200。

"酪胺酸激酶抑制劑"為抑制諸如HER受體之酪胺酸激酶之酪胺酸激酶活性的分子。該等抑制劑之實例包括之前段落中所說明之EGFR靶向藥物；小分子HER2酪胺酸激酶抑制劑，諸如可獲自Takeda之TAK165；CP-724,714，一種ErbB2受體酪胺酸激酶之口服選擇性抑制劑(Pfizer and OSI)；雙重HER抑制劑，諸如EKB-569(可獲自Wyeth)，其優先結合EGFR，但抑制過度表現HER2與EGFR之細胞；GW572016(可獲自Glaxo)，一種口服HER2及EGFR酪胺酸激酶抑制劑；PKI-166(可獲自Novartis)；pan-HER抑制劑，諸如卡紐替尼(canertinib)(CI-1033；Pharmacia)；Raf-1抑制劑，諸如可獲自ISIS Pharmaceuticals之反義劑ISIS-5132，其抑制Raf-1信號轉導；非HER靶向TK抑制劑，諸

如可獲自 Glaxo 之甲磺酸伊馬替尼 (GLEEVAC™)；MAPK 細胞外調控激酶 I 抑制劑 CI-1040 (可獲自 Pharmacia)；喹唑啉，諸如 PD 153035，4-(3-氯苯胺基)喹唑啉；吡啶并嘧啶；嘧啶并嘧啶；吡咯并嘧啶，諸如 CGP 59326、CGP 60261 及 CGP 62706；吡啶并嘧啶、4-(苯基胺基)-7H-吡咯并 [2,3-d] 嘧啶；薑黃素 (curcumin) (二阿魏醯甲烷 (diferuloyl methane)、4,5-雙(4-氟苯胺基)鄰苯二甲醯亞胺)；含有硝基噻吩部分之替伏汀 (tyrphostine)；PD-0183805 (Warner-Lambert)；反義分子 (例如，與編碼 HER 之核酸結合之反義分子)；喹噁啉 (美國專利第 5,804,396 號)；曲非司汀 (tryphostin) (美國專利第 5,804,396 號)；ZD6474 (Astra Zeneca)；PTK-787 (Novartis/Schering AG)；pan-HER 抑制劑，諸如 CI-1033 (Pfizer)；阿非尼他 (Affinitac) (ISIS 3521；Isis/Lilly)；甲磺酸伊馬替尼 (Gleevac；Novartis)；PKI 166 (Novartis)；GW2016 (Glaxo SmithKline)；CI-1033 (Pfizer)；EKB-569 (Wyeth)；司馬沙尼 (Semaxinib) (Sugen)；ZD6474 (AstraZeneca)；PTK-787 (Novartis/Schering AG)；INC-1C11 (Imclone)；或如以下專利公開案中之任一者中所述：美國專利第 5,804,396 號；WO99/09016 (American Cyanamid)；WO98/43960 (American Cyanamid)；WO97/38983 (Warner Lambert)；WO99/06378 (Warner Lambert)；WO99/06396 (Warner Lambert)；WO96/30347 (Pfizer、Inc)；WO96/33978 (Zeneca)；WO96/3397 (Zeneca) 及 WO96/33980 (Zeneca)。

治療劑之"固定"或"均一"劑量在本文中係指不考慮患者之體重(WT)或體表面積(BSA)而向人類患者投與之劑量。因此，固定或均一劑量不以mg/kg劑量或mg/m²劑量提供，而以治療劑之絕對量提供。

"負荷"劑量(loading dose)在本文中通常包含向患者投與之治療劑之最初劑量，且接著投與一或多次其維持劑量。雖然通常投與單一負荷劑量，但在本文中涵蓋多個負荷劑量。所投與之負荷劑量之量通常超過所投與之維持劑量之量，及/或負荷劑量比維持劑量更頻繁地投與以比維持劑量可達成早地達成所需穩態治療劑濃度。

"維持"劑量在本文中係指隨治療時間向患者投與之治療劑之一或多次劑量。通常以分開之治療間隔投與維持劑量，諸如約每週、約每兩週、約每三週或約每四週投與。

"藥物"為治療癌症之活性藥物，諸如HER抑制劑、HER二聚合抑制劑(諸如帕妥珠單抗)或化學治療劑(諸如吉西他濱)。

"目標對象"為正藉由銷售或宣傳之方式向其推銷或意欲推銷特定藥物(尤其用於特定用途、治療或適應症)之人群或機構，諸如個別患者；患者群體；報紙、醫學文獻及雜誌之讀者；電視或網際網路觀眾；無線電或網際網路聽眾；醫師；藥物公司等。

"包裝插頁"係用於指治療產品之商業封裝內通常包括之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投藥、禁忌症、待與所封裝產品組合之其他治療產品及/或涉及使用

該等治療產品之警告等的資訊。

II. 抗體之產生

因為在較佳實施例中，HER抑制劑為抗體，所以關於產生根據本發明使用之HER抗體之例示性技術展開描述。待用於產生抗體之HER抗原可為(例如)含有所需抗原決定基之HER受體或其部分之細胞外域之可溶形式。或者，可使用表現HER之細胞在其細胞表面(例如經轉化以過度表現之HER2之NIH-3T3細胞；或癌瘤細胞株，諸如SK-BR-3細胞，參見 Stancovski 等人，PNAS (USA) 88:8691-8695 (1991))產生抗體。適用於產生抗體之HER受體之其他形式對熟習此項技術者而言將顯而易見。

(i) 多株抗體

多株抗體較佳在動物中藉由多次皮下(sc)或腹膜內(ip)注射相關抗原及佐劑來培養。可適用於使用雙官能劑或衍生化劑(例如馬來醯亞胺苯甲醯基磺基琥珀醯亞胺酯(經由半胱氨酸殘基接合)、N-羥基琥珀醯亞胺(經由離胺酸殘基)、戊二醛、丁二酸酐、 SOCl_2 或 $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$ (其中R及 R^1 為不同烷基))使相關抗原與在待免疫之物種中具有免疫原性之蛋白質(例如，鑰孔蟲血藍蛋白(keyhole limpet hemocyanin)、血清白蛋白、牛甲狀球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制劑)接合。

藉由使(例如)100 μg 或5 μg 蛋白質或接合物(分別用於兔或小鼠)與3體積弗氏完全佐劑(Freund's complete adjuvant)組合且多處皮內注射該溶液使動物對抗原、免疫原性接合

物或衍生物免疫。1個月後，用1/5至1/10之初始量之於弗氏完全佐劑中之肽或接合物藉由多處皮下注射追加注射動物。7至14天後，將動物放血且就抗體效價檢定血清。追加注射動物直至效價平線區。較佳用具有相同抗原但與不同蛋白質及/或經由不同交聯劑接合之接合物追加注射動物。接合物亦可在重組細胞培養物中以蛋白質融合物形式製得。諸如明礬之凝集劑亦適合用於增強免疫反應。

(ii) 單株抗體

在本文中可利用此項技術中之多種製備單株抗體之方法。舉例而言，可使用由Kohler等人，*Nature*, 256:495 (1975)首次描述之融合瘤方法、由重組DNA方法(美國專利第4,816,567號)製備單株抗體。

在融合瘤方法中，如上文所述使小鼠或諸如倉鼠之其他適當宿主動物免疫以激發產生或能夠產生將與用於免疫之蛋白質特異性結合的抗體的淋巴細胞。或者，可活體外使淋巴細胞免疫。隨後使用諸如聚乙二醇之合適融合劑使淋巴細胞與骨髓瘤細胞融合以形成融合瘤細胞(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, 第59-103頁(Academic Press, 1986))。

使如此製備之融合瘤細胞接種且生長於較佳含有一或多種抑制未融合親本骨髓瘤細胞之生長或存活之物質的合適培養基中。舉例而言，若親本骨髓瘤細胞缺乏酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則融合瘤之培養基通常將包括次黃嘌呤、胺蝶呤及胸苷(HAT培養基)，

該等物質阻止缺乏HGPRT之細胞之生長。

較佳骨髓瘤細胞為高效融合、支持由所選擇之抗體產生細胞穩定高水平產生抗體的骨髓瘤細胞，且其對諸如HAT培養基之培養基敏感。其中，較佳骨髓瘤細胞株為鼠類骨髓瘤細胞株，諸如可獲自Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA之源自MOPC-21及MPC-11小鼠腫瘤之細胞株及可獲自American Type Culture Collection, Rockville, Maryland USA之SP-2或X63-Ag8-653細胞。亦已描述人類骨髓瘤及小鼠-人類雜骨髓瘤細胞株用於產生人類單株抗體(Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)；及Brodeur等人，*Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*，第51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

就針對抗原之單株抗體之產生檢定融合瘤細胞生長之培養基。由融合瘤細胞產生之單株抗體之結合特異性較佳由免疫沈澱法或由諸如放射免疫檢定(RIA)或酶聯免疫吸附檢定(ELISA)之活體外結合檢定來測定。

單株抗體之結合親和力可(例如)由Munson等人，*Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之史卡查分析(Scatchard analysis)測定。

鑑別融合瘤細胞產生具有所需特異性、親和力及/或活性之抗體後，可由限制稀釋程序來將純系次選殖且經由標準方法使其生長(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*，第59-103頁(Academic Press, 1986))。出於此目

的，合適培養基包括(例如)D-MEM或RPMI-1640培養基。另外，融合瘤細胞可在動物體中活體內生長為腹水腫瘤。

由諸如蛋白質A-瓊脂糖、羥基磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和性層析之習知抗體純化程序適合地使由次純系分泌之單株抗體與培養基、腹水流體或血清分離。

使用習知程序(例如，藉由使用能夠與編碼鼠類抗體之重鏈及輕鏈之基因特異性結合之寡核苷酸探針)容易地將編碼單株抗體之DNA分離且測序。融合瘤細胞充當該DNA之較佳來源。分離後，可將DNA置放於表現載體中，隨後將該等表現載體轉染於不另外產生抗體蛋白質之諸如大腸桿菌(*E. coli*)細胞、猿猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞之宿主細胞中，以獲得重組宿主細胞中單株抗體之合成。關於編碼抗體之DNA之細菌中的重組表現綜述文章包括 Skerra等人，*Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993)及Plückthun, *Immunol. Revs.*, 130:151-188 (1992)。

在另一實施例中，可使用McCafferty等人，*Nature*, 348:552-554 (1990)中所述之技術自所產生之抗體噬菌體庫中分離單株抗體或抗體片段。Clackson等人，*Nature*, 352:624-628 (1991)及Marks等人，*J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)分別描述使用噬菌體庫分離鼠類及人類抗體。後續公開案描述藉由鏈改組(Marks等人，*Bio/Technology*, 10:779-783 (1992))，以及作為構築極大噬菌體庫之策略的組合感染及活體內重組(Waterhouse等人，*Nuc. Acids. Res.*,

21:2265-2266 (1993))產生高親和力(奈莫耳濃度(nM)範圍)人類抗體。因此，該等技術為分離單株抗體之傳統單株抗體融合瘤技術之可行替代方案。

亦可(例如)藉由用人類重鏈及輕鏈恆定域之編碼序列取代同源鼠類序列(美國專利第4,816,567號；及Morrison,等人, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984))或藉由使整個或部分非免疫球蛋白多肽之編碼序列共價連接於免疫球蛋白編碼序列來修飾DNA。

通常，該等非免疫球蛋白多肽取代抗體之恆定域，或其取代抗體之一個抗原組合位點之可變域以產生包含一個對抗原具有特異性之抗原組合位點及另一個對不同抗原具有特異性之抗原組合位點的嵌合二價抗體。

(iii) 人化抗體

此項技術中已描述用於使非人類抗體人化之方法。人化抗體較佳具有一或多個自非人類來源引入其中之胺基酸殘基。該等非人類胺基酸殘基通常稱為"輸入"殘基，其通常係取自"輸入"可變域。人化大體上可根據Winter及合作者之方法(Jones等人, *Nature*, 321:522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature*, 332:323-327 (1988)；Verhoeyen等人, *Science*, 239:1534-1536 (1988))，藉由用高變區序列取代人類抗體之對應序列來進行。因此，該等"人化"抗體為嵌合抗體(美國專利第4,816,567號)，其中實質上小於完整人類可變域已由來自非人類物種之對應序列取代。實務中，人化抗體通常為其中一些高變區殘基及可能一些FR殘基由

齧齒動物抗體之類似位點之殘基取代的人類抗體。

待用於製備人化抗體之人類輕鏈及重鏈可變域之選擇對降低抗原性而言極重要。根據所謂的"最佳匹配"方法，針對整個已知人類可變域序列庫篩選齧齒動物抗體之可變域序列。隨後將最接近齧齒動物序列之人類序列接受為人化抗體之人類構架區(FR)(Sims等人，*J. Immunol.*, 151:2296 (1993)；Chothia等人，*J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987))。另一方法使用源自具有輕鏈或重鏈之特定亞群之所有人類抗體的一致序列的特定構架區。若干不同人化抗體可使用同一構架(Carter等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；Presta等人，*J. Immunol.*, 151:2623 (1993))。

另外，經人化抗體保留對抗原之高親和力及其他有利生物性質係重要的。為達成此目標，根據一較佳方法，藉由使用親本序列及人化序列之三維模型來分析親本序列及各種概念性人化產物的方法製備人化抗體。三維免疫球蛋白模型普遍可得且為熟習此項技術者熟知。可獲得說明及呈現所選擇之候選免疫球蛋白序列之可能三維構形結構的電腦程式。該等呈現之檢驗准許分析殘基在候選免疫球蛋白序列之功能中之可能作用，亦即，分析影響候選免疫球蛋白結合其抗原之能力的殘基。以此方式，可自接受者序列及輸入序列選擇FR殘基且將其加以組合，以便達成所需抗體特徵，諸如對標靶抗原之親和力增加。高變區殘基通常直接且大部分實質上涉及對抗原結合之影響。

WO01/00245描述結合HER2且阻斷HER受體之配位體活

化的例示性人化HER2抗體之產生。在本文中尤其關注之人化抗體大體上與鼠類單株抗體2C4(或其Fab片段)一樣有效地阻斷EGF、TGF- α 及/或HRG介導之MAPK活化及/或大體上與鼠類單株抗體2C4(或其Fab片段)一樣有效地結合HER2。在本文中入化抗體可(例如)包含併入人類可變重鏈域中之非人類高變區殘基且可進一步包含於選自由利用Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)中所述之可變域編號系統之69H、71H及73H組成之群之位置處的構架區(FR)取代。在一實施例中, 人化抗體包含於位置69H、71H及73H中之兩者或全部之處的FR取代。

在本文中所關注之一例示性人化抗體包含可變重鏈域互補判定殘基GFTFTDYTMX, 其中X較佳為D或S(SEQ ID NO: 7); DVNPNSGGSIYNQRFKG(SEQ ID NO: 8); 及/或NLGPSFYFDY(SEQ ID NO: 9), 視情況包含彼等CDR殘基之胺基酸修飾, 例如其中該等修飾大體上維持或改良抗體之親和力。舉例而言, 所關注之抗體變異體可在上述可變重鏈CDR序列中具有約1至約7或約5個胺基酸取代。該等抗體變異體可由親和力成熟製備, 例如如下所述來製備。最佳人化抗體包含SEQ ID NO: 4中之可變重鏈域胺基酸序列。

舉例而言, 除之前段落中之彼等可變重鏈域CDR殘基外, 人化抗體可包含可變輕鏈域互補判定殘基

KASQDVSIGVA(SEQ ID NO: 10); SASYX¹X²X³, 其中X¹較佳為R或L, X²較佳為Y或E, 且X³較佳為T或S(SEQ ID NO: 11)及/或QQYYIYPYT(SEQ ID NO: 12)。該等人化抗體視情況包含上述CDR殘基之胺基酸修飾, 例如其中該等修飾大體上維持或改良抗體之親和力。舉例而言, 所關注之抗體變異體可在上述可變輕鏈CDR序列中具有約1至約7或約5個胺基酸取代。該等抗體變異體可由親和力成熟製備, 例如如下所述來製備。最佳人化抗體包含SEQ ID NO: 3中之可變輕鏈域胺基酸序列。

本申請案亦涵蓋結合HER2且阻斷HER受體之配位體活化的親和力成熟抗體。親本抗體可為人類抗體或人化抗體, 例如包含分別為SEQ ID No. 3及SEQ ID No. 4之可變輕鏈及/或可變重鏈序列之抗體(亦即, 包含帕妥珠單抗之VL及/或VH)。親和力成熟抗體較佳以優於鼠類2C4或帕妥珠單抗之親和力(例如約2或約4倍至約100倍或約1000倍之改良親和力, 例如, 如使用HER2細胞外域(ECD)ELISA所評定)與HER2受體結合。用於取代之例示性可變重鏈CDR殘基包括H28、H30、H34、H35、H64、H96、H99或兩個或兩個以上殘基(例如2、3、4、5、6或7個該等殘基)之組合。用於改變之可變輕鏈CDR殘基之實例包括L28、L50、L53、L56、L91、L92、L93、L94、L96、L97或兩個或兩個以上殘基(例如2至3、4、5或多達約10個該等殘基)之組合。

涵蓋人化抗體或親和力成熟抗體之多種形式。舉例而

言，人化抗體或親和力成熟抗體可為諸如Fab之抗體片段，其視情況與一或多種細胞毒性劑接合以產生免疫接合物。或者，人化抗體或親和力成熟抗體可為完整抗體，諸如完整IgG1抗體。較佳完整IgG1抗體包含SEQ ID NO: 13中之輕鏈序列及SEQ ID NO: 14中之重鏈序列。

(iv) 人類抗體

作為人化之替代，可產生人類抗體。舉例而言，現有可能產生在免疫後在不存在產生內源免疫球蛋白之情況下能夠產生全譜系人類抗體之轉殖基因動物(例如，小鼠)。舉例而言，已描述嵌合及生殖系突變小鼠中抗體重鏈連接區(J_H)基因之同型純合子缺失導致內源抗體產生之完全抑制。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至該等生殖系突變小鼠中將會在抗原挑釁後導致產生人類抗體。例如參見Jakobovits等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993)；Jakobovits等人，*Nature*, 362:255-258 (1993)；Bruggermann等人，*Year in Immuno.*, 7:33 (1993)；及美國專利第5,591,669號、第5,589,369號及第5,545,807號。或者，可使用噬菌體呈現技術(McCafferty等人，*Nature* 348:552-553 (1990))由未免疫供體之免疫球蛋白可變(V)域基因譜系活體外產生人類抗體及抗體片段。根據該技術，將抗體V域基因同框(in-frame)選殖於絲狀噬菌體之主要或次要鞘蛋白基因(諸如M13或fd)中且呈現為噬菌體顆粒之表面上之功能抗體片段。因為絲狀顆粒含有噬菌體基因組之單鏈DNA複本，所以基於抗體之功能性質進行選擇亦導

致選擇編碼展示彼等性質之抗體之基因。因此，噬菌體模擬B-細胞之一些性質。可以多種格式進行噬菌體呈現；關於其綜述，例如參見Johnson, Kevin S.及Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993)。噬菌體呈現可使用若干V基因區段來源。Clackson等人，*Nature*, 352:624-628 (1991)自源自免疫小鼠之脾之V基因之小隨機組合庫分離抗噁唑酮抗體之多樣性陣列。可構築未免疫人類供體之V基因譜系且可大體上根據Marks等人，*J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)或Griffith等人，*EMBO J.* 12:725-734 (1993)所述之技術分離多樣性抗原(包括自體抗原)陣列之抗體。亦參見美國專利第5,565,332號及第5,573,905號。

如以上所討論，人類抗體亦可由活體外活化B細胞產生(參見美國專利5,567,610及5,229,275)。

人類HER2抗體描述於1998年6月30日頒布之美國專利第5,772,997號及1997年1月3日公開之WO 97/00271中。

(v) 抗體片段

已開發多種產生包含一或多個抗原結合區之抗體片段之技術。該等片段傳統上經由完整抗體之蛋白水解消化獲得(例如參見Morimoto等人，*Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992)；及Brennan等人，*Science*, 229:81 (1985))。然而，現可由重組宿主細胞直接產生該等片段。舉例而言，可自以上所討論之抗體噬菌體庫分離該等抗體片段。或者，可直接自大腸桿菌回收Fab'-

SH片段且使其化學偶合以形成F(ab')₂片段(Carter等人, Bio/Technology 10:163-167 (1992))。根據另一方法,可自重組宿主細胞培養物直接分離F(ab')₂片段。產生抗體片段之其他技術對熟練從業者而言將顯而易見。在其他實施例中,所選擇之抗體為單鏈Fv片段(scFv)。參見WO 93/16185;美國專利第5,571,894號及美國專利第5,587,458號。抗體片段亦可為"線性抗體",例如,如美國專利5,641,870中所述。該等線性抗體片段可為單特異性或雙特異性抗體。

(vi) 雙特異性抗體

雙特異性抗體為對至少兩個不同抗原決定基具有結合特異性之抗體。例示性雙特異性抗體可與HER2蛋白質之兩個不同抗原決定基結合。其他該等抗體可使HER2結合位點與EGFR、HER3及/或HER4之結合位點組合。或者,HER2臂可與結合白血球上之觸發分子(諸如T-細胞受體分子(例如,CD2或CD3)或IgG之Fc受體(FcγR),諸如FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及FcγRIII(CD16))之臂組合,從而將細胞防衛機制集中於HER2表現細胞上。亦可使用雙特異性抗體將細胞毒性劑定位於表現HER2之細胞中。該等抗體具有HER2結合臂及結合細胞毒性劑(例如沙泊寧(saporin)、抗干擾素α、長春花屬生物鹼、蓖麻毒素(ricin)A鏈、甲胺喋呤或放射性同位素半抗原)之臂。雙特異性抗體可製備成全長抗體或抗體片段(例如F(ab')₂雙特異性抗體)。

WO 96/16673描述雙特異性HER2/FcγRIII抗體且美國專利第5,837,234號揭示雙特異性HER2/FcγRI抗體IDM1(Osidem)。WO98/02463中展示雙特異性HER2/Fcα抗體。美國專利第5,821,337號教示雙特異性HER2/CD3抗體。MDX-210為雙特異性HER2-FcγRIII Ab。

此項技術中已知製造雙特異性抗體之方法。全長雙特異性抗體之傳統產生係基於兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共表現，其中兩個鏈具有不同特異性(Millstein等人，*Nature*, 305:537-539 (1983))。由於免疫球蛋白重鏈及輕鏈之隨機配列，因此該等融合瘤(四融合瘤(quadromas))產生10種不同抗體分子之潛在混合物，其中僅一個具有正確的雙特異性結構。通常由親和性層析步驟進行之正確分子之純化相當繁瑣且產物產率低。類似程序揭示於WO 93/08829中及Traunecker等人，*EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991)中。

根據一不同方法，使具有所需結合特異性(抗體-抗原組合位點)之抗體可變域與免疫球蛋白恆定域序列融合。較佳與包含鉸鏈區、CH2及CH3區中之至少部分之免疫球蛋白重鏈恆定域融合。較佳具有第一重鏈恆定區(CH1)，該恆定區含有輕鏈結合所必需之位點(存在於融合中之至少一者中)。將編碼免疫球蛋白重鏈融合及必要時編碼免疫球蛋白輕鏈之DNA插入獨立表現載體中且共轉染於合適的宿主生物體中。在構築中所使用之3個多肽鏈之不相比率提供最佳產率之實施例中，此舉提供調節3個多肽片段

之相互比例之高靈活性。然而，當等比率之至少兩個多肽鏈之表現產生高產率時或當比率不具有特殊顯著性時，有可能將兩個或所有三個多肽鏈之編碼序列插入一個表現載體中。

在該方法之一較佳實施例中，雙特異性抗體包含一臂中之具有第一結合特異性之雜交免疫球蛋白重鏈及另一臂中之雜交免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(提供第二結合特異性)。已發現該不對稱結構有利於分離所需雙特異性化合物與非所需免疫球蛋白鏈組合，因為雙特異性分子之僅一半中存在免疫球蛋白輕鏈提供容易的分離方法。該方法揭示於WO 94/04690中。關於產生雙特異性抗體之其他詳情，例如參見Suresh等人，*Methods in Enzymology*, 121:210 (1986)。

根據美國專利第5,731,168號中所述之另一方法，可使一對抗體分子之間的界面工程化以最大化自重組細胞培養物回收之異源二聚體的百分率。較佳界面包含抗體恆定域之C_H3域之至少一部分。在該方法中，用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換一或多個來自第一抗體分子界面之小胺基酸側鏈。藉由用較小側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈在第二抗體分子界面上產生具有與大側鏈相同或相似大小之補償"空腔"。此舉提供使異源二聚體之產率增加超過諸如同源二聚體之非所需最終產物之機制。

雙特異性抗體包括交聯或"異源接合"抗體。舉例而言，可使異源接合物中之抗體中之一者與抗生物素蛋白(avidin)偶合，另一個與生物素偶合。已提出(例如)該等抗

體使免疫系統細胞靶向非所需細胞(美國專利第4,676,980號)且用於治療HIV感染(WO 91/00360、WO 92/200373及EP 03089)。異源接合抗體可使用任何方便的交聯方法製得。合適的交聯劑以及許多交聯技術在此項技術中為熟知的且揭示於美國專利第4,676,980號中。

文獻中亦已描述由抗體片段產生雙特異性抗體之技術。舉例而言，可使用化學鍵聯製備雙特異性抗體。Brennan等人，*Science*, 229: 81 (1985)描述使完整抗體蛋白水解裂解以產生F(ab')₂片段之程序。在二硫醇錯合劑亞砷酸鈉存在下，該等片段被還原以使鄰二硫醇穩定且阻止形成分子間二硫化物。隨後使所產生之Fab'片段轉化為硫基硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物。隨後藉由用巰基乙胺還原使Fab'-TNB衍生物中之一者再轉化為Fab'-硫醇且將其與等莫耳量之另一Fab'-TNB衍生物混合以形成雙特異性抗體。所產生之雙特異性抗體可用作酶選擇性固定化之試劑。

最近進展已有利於自大腸桿菌直接回收Fab'-SH片段，可使該等片段化學偶合以形成雙特異性抗體。Shalaby等人，*J. Exp. Med.*, 175: 217-225 (1992)描述完全人化雙特異性抗體F(ab')₂分子之產生。各Fab'片段係獨立地自大腸桿菌分泌且使其活體外經受直接化學偶合以形成雙特異性抗體。所形成之雙特異性抗體能夠與過度表現HER2受體之細胞及正常人類T細胞結合，以及觸發人類細胞毒性淋巴細胞對人類乳房腫瘤標靶之溶解活性。

亦已描述多種直接自重組細胞培養物製備及分離雙特異

性抗體片段之技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體。Kostelny等人，*J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)。藉由基因融合使來自Fos蛋白質及Jun蛋白質之白胺酸拉鏈肽與兩個不同抗體之Fab'部分連接。使抗體同源二聚體在鉸鏈區處還原以形成單體且隨後再氧化以形成抗體異源二聚體。亦可利用該方法產生抗體同源二聚體。Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)所述之"雙功能抗體"技術已提供製備雙特異性抗體片段之替代機制。該等片段包含經由過短而無法使同一鏈上之兩個域配對之連接子與輕鏈可變域(V_L)連接之重鏈可變域(V_H)。因此，一個片段之 V_H 域及 V_L 域被迫與另一片段之互補 V_L 域及 V_H 配對，從而形成兩個抗原結合位點。亦已報導利用單鏈Fv(sFv)二聚體製備雙特異性抗體片段之另一策略。參見Gruber等人，*J. Immunol.*, 152:5368 (1994)。

涵蓋具有超過兩個價數之抗體。舉例而言，可製備三特異性抗體。Tutt等人，*J. Immunol.* 147: 60 (1991)。

(vii) 其他胺基酸序列修飾

涵蓋本文所述之抗體之胺基酸序列修飾。舉例而言，可能需要改良抗體之結合親和力及/或其他生物性質。抗體之胺基酸序列變異體係藉由將適當核苷酸變化引入抗體核酸中製備或由肽合成製備。該等修飾包括(例如)使抗體之胺基酸序列內的殘基缺失及/或在該等殘基中插入其他殘基及/或使該等殘基被取代。可進行缺失、插入及取代之

任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵。胺基酸變化在抗體之轉譯過程後亦可能改變，諸如糖基化位點之編號或位置變化。

鑑別抗體之某些為突變誘發之較佳位置的殘基或區的適用方法如 Cunningham 及 Wells *Science*, 244:1081-1085 (1989)所述稱為"丙胺酸掃描突變誘發"。此處，鑑別殘基或標靶殘基組(例如，帶電殘基，諸如 arg、asp、his、lys 及 glu)且用中性或帶負電胺基酸(最佳為丙胺酸或聚丙胺酸)將其置換以影響胺基酸與抗原之相互作用。隨後藉由在取代位點處或針對取代位點引入其他變異體來改進彼等對取代證實功能敏感性之胺基酸位置。因此，雖然預先確定引入胺基酸序列變化之位點，但不必預先確定突變之性質本身。舉例而言，為分析給定位點處之突變效能，在標靶密碼子或區處進行 ala 掃描或隨機突變誘發，且就所需活性篩選所表現之抗體變異體。

胺基酸序列插入包括長度在1個殘基至含有一百個或以上之殘基之多肽範圍內的胺基及/或羧基末端融合，以及單一或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N-末端甲硫胺醯基殘基之抗體或與細胞毒性多肽融合之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之N-末端或C-末端與酶(例如，對於ADEPT而言)或多肽的融合體，其增加抗體之血清半衰期。

另一類變異體為胺基酸取代變異體。該等變異體在抗體分子中具有至少一個經不同殘基置換之胺基酸殘基。雖然

最受關注之取代性突變誘發之位點包括高變區，但亦涵蓋FR變化。保守取代展示於表1中之"較佳取代"之標題下。若該等取代導致生物活性變化，則可引入表1中稱為"例示性取代"或如以下關於胺基酸類別之進一步所描述之更實質性變化且篩選產物。

表 1

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala(A)	Val ; Leu ; Ile	Val
Arg(R)	Lys ; Gln ; Asn	Lys
Asn(N)	Gln ; His ; Asp,Lys ; Arg	Gln
Asp(D)	Glu ; Asn	Glu
Cys(C)	Ser ; Ala	Ser
Gln(Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu(E)	Asp ; Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn ; Gln ; Lys ; Arg	Arg
Ile(I)	Leu ; Val ; Met ; Ala ; Phe ; 正白胺酸	Leu
Leu(L)	正白胺酸 ; Ile ; Val ; Met ; Ala ; Phe	Ile
Lys(K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met(M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe(F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val ; Ser	Ser
Trp(W)	Tyr ; Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp ; Phe ; Thr ; Ser	Phe
Val(V)	Ile ; Leu ; Met ; Phe ; Ala ; 正白胺酸	Leu

抗體之生物性質之實質性修飾係藉由選擇對維持以下各者之作用顯著不同之取代來實現：(a)取代區域內之多肽骨架之結構，例如呈片狀構形或螺旋構形；(b)標靶位點處之分子之電荷或疏水性；或(c)側鏈之堆積。可將胺基酸根據其側鏈性質之類似性來分組(於 A. L. Lehninger，

Biochemistry, 第2版, 第73-75頁, Worth Publishers, New York (1975)中):

(1) 非極性: Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M)

(2) 不帶電之極性: Gly(G)、Ser(S)、Thr(T)、Cys(C)、Tyr(Y)、Asn(N)、Gln(Q)

(3) 酸性: Asp(D)、Glu(E)

(4) 鹼性: Lys(K)、Arg(R)、His(H)

或者, 可基於常見側鏈之性質將天然存在之殘基分為以下各組:

(1) 疏水性: 正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

(2) 中性親水性: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

(3) 酸性: Asp、Glu;

(4) 鹼性: His、Lys、Arg;

(5) 影響鏈取向之殘基: Gly、Pro;

(6) 芳族: Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將必然使該等類別中之一者之成員換成另一類別。

通常亦可用絲胺酸取代任何不涉及維持抗體之適當構形之半胱胺酸殘基以改良分子之氧化穩定性且阻止異常交聯。相反地, 可將半胱胺酸鍵添加至抗體中以改良其穩定性(尤其當抗體為諸如Fv片段之抗體片段時)。

一類尤其較佳取代性變異體涉及取代親本抗體(例如, 人化抗體或人類抗體)之一或多個高變區殘基。相對於產

生該等變異體之親本抗體，選擇用於進一步研發之所得變異體通常將具有改良之生物性質。產生該等取代性變異體之方便方法涉及使用噬菌體呈現之親和力成熟。簡言之，使若干高變區位點(例如，6-7個位點)突變以在各位點處產生所有可能的胺基酸取代。使如此產生之抗體變異體與封裝於各絲狀噬菌體顆粒內之M13之基因III產物融合而由絲狀噬菌體顆粒以單價形式呈現。隨後，如本文所揭示，就生物活性(例如，結合親和力)篩選噬菌體呈現變異體。為鑑別用於修飾之候選高變區位點，可進行丙胺酸掃描突變誘發以鑑別顯著有助於抗原結合之高變區殘基。或者或另外，分析抗原-抗體複合物之晶體結構可有益於鑑別抗體與人類HER2之間的接觸點。根據本文詳述之技術，該等接觸殘基及相鄰殘基為取代候選物。一旦產生該等變異體，則如本文所述使一系列變異體經受篩選，且可選擇在一或多個相關檢定中具有優良性質之抗體以用於進一步研發。

另一類抗體胺基酸變異體改變抗體之原始醣基化模式。改變意謂使抗體中發現之一或多個碳水化合物部分缺失及/或添加抗體中不存在之一或多個醣基化位點。

抗體之醣基化通常為N-連接型或O-連接型。N-連接型係指碳水化合物部分與天冬醯胺酸殘基之側鏈的連接。三肽序列天冬醯胺酸-X-絲胺酸及天冬醯胺酸-X-蘇胺酸(其中X為除脯胺酸以外之任何胺基酸)為碳水化合物部分與天冬醯胺酸側鏈之酶促連接的識別序列。因此，在多肽中存在

該等三肽序列中之任一者產生潛在醣基化位點。雖然O-連接型醣基化係指糖N-乙醯基半乳胺糖、半乳糖或木糖中之一者與羥基胺基酸(最常見為絲胺酸或蘇胺酸)的連接，但亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

將醣基化位點添加至抗體係方便地藉由改變胺基酸序列從而使其含有上述三肽序列中之一或多者來實現(就N-連接型醣基化位點而言)。該改變亦可藉由向原始抗體之序列添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或用一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基取代來實現(就O-連接型醣基化位點而言)。

當抗體包含Fc區時，可改變與其連接之碳水化合物。舉例而言，具有缺乏連接於抗體之Fc區之海藻糖的成熟碳水化合物結構的抗體描述於Presta, L.之美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號中。亦參見US 2004/0093621 A1(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。在連接於抗體之Fc區之碳水化合物中具有等分N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)之抗體提及於Jean-Mairet等人之WO03/011878及Umana等人之美國專利第6,602,684號中。在連接於抗體之Fc區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體報導於Patel等人之WO97/30087中。亦參見WO98/58964(Raju, S.)及WO99/22764(Raju, S.)，其係關於具有改變之連接於Fc區之碳水化合物的抗體。

可能需要在效應功能方面修飾本發明之抗體，例如用以增強抗體之抗原依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)。此可藉由在抗體之Fc區中引入

一或多個胺基酸取代來達成。或者或另外，可在Fc區中引入半胱胺酸殘基，從而使得在該區中形成鏈間雙硫鍵。所產生之同源二聚抗體可具有改良之內在化能力及/或增加之補體介導細胞殺死性及抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。參見 Caron 等人，*J. Exp Med.* 176:1191-1195 (1992) 及 Shopes, B. *J. Immunol.* 148:2918-2922 (1992)。亦可如 Wolff 等人，*Cancer Research* 53:2560-2565 (1993) 中所述使用異源雙功能交聯劑製備具有增強之抗腫瘤活性之同源二聚抗體。或者，可使具有雙Fc區之抗體工程化且可藉此增強補體溶解作用及ADCC能力。參見 Stevenson 等人，*Anti-Cancer Drug Design* 3:219-230 (1989)。

WO00/42072(Presta, L.)描述在人類效應細胞存在下具有改良之ADCC功能之抗體，其中該等抗體包含於其Fc區中之胺基酸取代。具有改良之ADCC之抗體較佳包含於Fc區之位置298、333及/或334(殘基之Eu編號)處之取代。經改變之Fc區較佳為包含於該等位置中之1、2或3處之取代或由該等取代組成之人類IgG1 Fc區。該等取代視情況與增加C1q結合及/或CDC之取代組合。

C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)經改變之抗體描述於WO99/51642、美國專利第6,194,551B1號、美國專利第6,242,195B1號、美國專利第6,528,624B1號及美國專利第6,538,124號(Idusogie等人)中。該等抗體包含於其Fc區之胺基酸位置270、322、326、327、329、313、333及/或334(殘基之Eu編號)中之一或多處之胺基酸取代。

為增加抗體之血清半衰期，可(例如)如美國專利 5,739,277中所述將補救受體結合抗原決定基併入抗體(尤其抗體片段)中。如本文所使用，術語"補救受體結合抗原決定基"係指使得IgG分子(例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)活體內血清半衰期增加之IgG分子之Fc區之抗原決定基。

與新生兒Fc受體(FcRn)之結合改良且半衰期增加之抗體描述於 WO00/42072(Presta, L.) 及 US2005/0014934A1 (Hinton等人)中。該等抗體包含其中具有一或多個改良Fc區與FcRn之結合之取代的Fc區。舉例而言，Fc區可具有於位置238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428或434(殘基之Eu編號)中之一或多處之取代。FcRn結合改良之較佳含Fc區抗體變異體包含於其Fc區之位置307、380及434(殘基之Eu編號)中之一、二或三處之胺基酸取代。

亦涵蓋具有3個或3個以上(較佳4個)功能性抗原結合位點之工程化抗體(美國申請案第US2002/0004587 A1號, Miller等人)。

編碼抗體之胺基酸序列變異體之核酸分子係由此項技術中已知之多種方法製備。該等方法包括(但不限於)自天然來源分離(在天然存在之胺基酸序列變異體情況下)或藉由使早期製備之抗體之變異體或非變異體形式發生寡核苷酸介導(或定點)之突變誘發、PCR突變誘發及盒式突變誘發

而製備。

(viii) 篩選具有所需性質之抗體

產生抗體之技術已在上文中描述。可按需要進一步選擇具有某些生物特徵之抗體。

為鑑別阻斷HER受體之配位體活化之抗體，可測定抗體阻斷HER配位體與表現HER受體之細胞結合之能力(例如，在與另一HER受體之接合物中，該另一HER受體與所關注之HER受體一起形成HER異源寡聚物)。舉例而言，可將天然表現或經轉染表現HER異源寡聚物之HER受體的細胞與抗體一起培育，且隨後使其暴露於經標記之HER配位體中。隨後可評估抗體阻斷配位體與HER異源寡聚物中之HER受體結合之能力。

舉例而言，以HER2抗體抑制HRG與MCF7乳房腫瘤細胞株結合可大體上如WO01/00245中所述使用於冰上24孔板格式中之單層MCF7培養物進行。可將HER2單株抗體添加至各孔中且培育30分鐘。隨後可添加¹²⁵I-標記之rHRGβ₁₁₇₇₋₂₂₄(25 pm)，繼續培育4至16小時。可製備劑量反應曲線，且可計算所關注抗體之IC₅₀值。在一個實施例中，阻斷配位體活化HER受體之抗體在該檢定中具有約50 nM或以下、更佳10 nM或以下之抑制HRG與MCF7細胞結合的IC₅₀。當抗體為諸如Fab片段之抗體片段時，在該檢定中抑制HRG與MCF7細胞結合之IC₅₀可為例如約100 nM或以下，更佳50 nM或以下。

或者，或另外，可評估抗體阻斷HER異源寡聚物中所存在

之HER受體經HER配位體刺激酪胺酸磷酸化的能力。舉例而言，可將內在表現HER受體或經轉染表現HER受體之細胞與抗體一起培育，隨後使用抗磷酸酪胺酸單株抗體(其視情況與可偵測標記接合)檢定HER配位體依賴性酪胺酸磷酸化活性。描述於美國專利第5,766,863號中之激酶受體活化檢定亦可用於測定HER受體活化及抗體對該活性之阻斷。

在一個實施例中，可大體上如WO01/00245中所述篩選抑制HRG刺激MCF7細胞中p180酪胺酸磷酸化的抗體。舉例而言，可將MCF7細胞塗於24孔板中，且可將HER2之單株抗體添加至各孔中，且在室溫下培育30分鐘；隨後可將rHRG β ₁₁₇₇₋₂₄₄添加至各孔中直至最終濃度為0.2 nM，且繼續培育8分鐘。可自各孔抽吸培養基，且藉由添加100 μ l SDS樣品緩衝液(5% SDS、25 mM DTT及25 mM Tris-HCl, pH 6.8)使反應停止。各樣品(25 μ l)在4-12%梯度凝膠(Novex)上電泳，隨後電泳轉移至聚偏氟乙烯膜。可將抗磷酸酪胺酸(1 μ g/mL)免疫墨點顯影，且可由反射密度測定法在M_r-180,000定量優勢反應性帶之強度。在該檢定中，所選擇之抗體較佳顯著抑制HRG刺激p180酪胺酸磷酸化至對照之約0-35%。可製備如反射密度測定法所測定的抑制HRG刺激p180酪胺酸磷酸化之劑量-反應曲線，且可計算所關注抗體之IC₅₀。在一個實施例中，阻斷配位體活化HER受體之抗體在該檢定中具有約50 nM或以下、更佳10 nM或以下之抑制HRG刺激p180酪胺酸磷酸化之IC₅₀。當抗體

為諸如 Fab 片段之抗體片段時，在該檢定中抑制 HRG 刺激 p180 酪胺酸磷酸化之 IC_{50} 可為例如約 100 nM 或以下，更佳 50 nM 或以下。

亦可(例如)大體上如 Schaefer 等人，*Oncogene* 15:1385-1394 (1997) 中所述評定抗體對 MDA-MB-175 細胞之生長抑制效應。根據該檢定，可用 HER2 單株抗體 (10 μ g/mL) 將 MDA-MB-175 細胞處理 4 天且用結晶紫染色。與 HER2 抗體一起培育可展示類似於單株抗體 2C4 所呈現之對該細胞株之生長抑制效應的效應。在另一實施例中，外源 HRG 將不顯著逆轉該抑制。在存在及不存在外源 HRG 之情況下，抗體較佳應能較單株抗體 4D5 程度大地抑制 MDA-MB-175 細胞之細胞增殖(且視情況較單株抗體 7F3 程度大)。

在一實施例中，如共免疫沈澱法實驗(諸如 WO01/00245 中所述者)中所測定，所關注之 HER2 抗體在 MCF7 與 SK-BR-3 細胞中可實質上較單株抗體 4D5 有效地且較佳實質上較單株抗體 7F3 有效地阻斷 HER2 與 HER3 之神經調節素-1 依賴性締合。

為鑑別生長抑制 HER2 抗體，可篩選抑制過度表現 HER2 之癌細胞之生長的抗體。在一實施例中，在細胞培養物中，所選擇之生長抑制抗體在約 0.5 μ g/mL 至 30 μ g/mL 之抗體濃度下能夠抑制 SK-BR-3 細胞之生長約 20-100% 且較佳約 50-100%。為鑑別該等抗體，可進行美國專利第 5,677,171 號中所述之 SK-BR-3 檢定。根據該檢定，使 SK-BR-3 細胞在 F12 與補充有 10% 胎牛血清、麩醯胺酸及青黴

素鏈黴素之DMEM培養基之1:1混合物中生長。將SK-BR-3細胞以20,000個細胞塗於35 mm細胞培養物培養皿(2毫升/35毫米培養皿)中。每培養皿添加0.5 µg/mL至30 µg/mL HER2抗體。6天後，與未處理之細胞相比，使用電子COULTER™細胞計數器對細胞數目計數。可選擇彼等抑制SK-BR-3細胞生長約20-100%或約50-100%之抗體作為生長抑制抗體。關於篩選生長抑制抗體(諸如4D5及3E8)之檢定，參見美國專利第5,677,171號。

為選擇誘導細胞凋亡之抗體，可利用使用BT474細胞之膜聯蛋白結合檢定。如之前段落中所討論，將BT474細胞培養且接種於培養皿中。隨後移除培養基且僅用新鮮培養基或用含有10 µg/ml單株抗體之培養基代替。3天培養期後，將單層用PBS洗滌且藉由胰蛋白酶消化使其脫離。隨後將細胞離心，再懸浮於Ca²⁺結合緩衝液中且如以上細胞死亡檢定中所討論等分於試管中。試管隨後接受經標記膜聯蛋白(例如膜聯蛋白V-FTIC)(1 µg/ml)。可使用FACSCAN™流式細胞儀及FACSCONVERT™ CellQuest軟體(Becton Dickinson)分析樣品。選擇彼等相對於對照誘導統計上顯著水平之膜聯蛋白結合的抗體作為細胞凋亡誘導抗體。除膜聯蛋白結合檢定外，可利用使用BT474細胞之DNA染色檢定。為進行該檢定，將已如前述兩段所述經所關注之抗體處理之BT474細胞與9 µg/ml HOECHST 333429™一起在37°C下培育2小時，隨後在EPICS ELITE™流式細胞儀(Coulter Corporation)上使用MODFIT LT™軟體

(Verity Software House)分析。可使用該檢定選擇誘導比未經處理之細胞(至多100%細胞凋亡細胞)大2倍或以上(且較佳3倍或以上)的細胞凋亡細胞百分率變化的抗體作為促細胞凋亡抗體。關於篩選誘導細胞凋亡之抗體(諸如7C2及7F3)之檢定，參見WO98/17797。

為篩選與所關注之抗體所結合之HER2上的抗原決定基結合的抗體，可進行常規交叉阻斷檢定(諸如 *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow 及 David Lane 編(1988)中所述之檢定)以評定抗體是否交叉阻斷抗體(諸如2C4或帕妥珠單抗)與HER2之結合。或者或另外，可由此項技術中已知之方法進行抗原決定基定位及/或可研究抗體-HER2結構(Franklin等人，*Cancer Cell* 5:317-328 (2004))以找出與抗體結合之HER2之域。

(ix) 帕妥珠單抗組合物

在HER2抗體組合物之一實施例中，組合物包含主要種類帕妥珠單抗抗體與一或多種其變異體之混合物。在本文中帕妥珠單抗主要種類抗體之較佳實施例為包含SEQ ID No. 3及SEQ ID No. 4中之可變輕鏈及可變重鏈胺基酸序列，且最佳包含選自SEQ ID No. 13及17之輕鏈胺基酸序列及選自SEQ ID No. 14及18之重鏈胺基酸序列(包括彼等序列之去醯胺基及/或氧化變異體)的抗體。在一實施例中，組合物包含主要種類帕妥珠單抗抗體與其包含胺基末端前導序列擴展之胺基酸序列變異體的混合物。胺基末端前導序列擴展較佳在抗體變異體之輕鏈上(例如，在抗體變異

體之一或兩個輕鏈上)。主要種類HER2抗體或抗體變異體可為全長抗體或抗體片段(例如F(ab=)2片段之Fab)，但較佳兩者均為全長抗體。在本文中抗體變異體可包含任何一或多個其重鏈或輕鏈上之胺基末端前導序列擴展。胺基末端前導序列擴展較佳在抗體之一或兩個輕鏈上。胺基末端前導序列擴展較佳包含VHS-或由VHS-組成。組合物中胺基末端前導序列擴展之存在可由多種分析技術偵測，該等技術包括(但不限於)N-末端序列分析、帶電異質檢定(例如，陽離子交換層析或毛細管區帶電泳)、質譜等。組合物中抗體變異體之量通常在構成偵測變異體所使用之任何檢定(較佳N-末端序列分析)中之偵測極限的量至小於主要種類抗體之量的量的範圍內。通常組合物中約20%或以下(例如約1%至約15%，例如5%至約15%)之抗體分子包含胺基末端前導序列擴展。較佳使用定量N-末端序列分析或陽離子交換分析(較佳使用高解析度弱陽離子交換管柱，諸如PROPAC WCX-10™陽離子交換管柱)測定該等百分率量。除胺基末端前導序列擴展變異體外，涵蓋主要種類抗體及/或變異體之其他胺基酸序列改變，包括(但不限於)在一或兩個重鏈上包含C-末端離胺酸殘基之抗體、去醯胺基抗體變異體等。

此外，主要種類抗體或變異體可進一步包含醣基化變化，其非限定性實例包括包含連接於Fc區之G1或G2寡醣結構之抗體、包含連接於輕鏈之碳水化合物部分之抗體(例如一或兩個連接於抗體之一或兩個輕鏈(例如連接於一

或多個離胺酸殘基)的碳水化合物部分(諸如葡萄糖或半乳糖))、包含一或兩個非醣基化重鏈之抗體或包含連接於一或兩個重鏈之唾液酸化寡醣(sialidated oligosaccharide)之抗體等。

該組合物可自遺傳學工程化細胞株(例如表現HER2抗體之中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株)回收或可由肽合成製備。

(x) 免疫接合物

本發明亦係關於包含與細胞毒性劑接合之抗體之免疫接合物，該細胞毒性劑諸如化學治療劑、毒素(例如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素，包括其片段及/或變異體)或放射性同位素(亦即，放射接合物)。

以上已描述適用於產生該等免疫接合物之化學治療劑。本文中亦涵蓋抗體與一或多個諸如刺孢黴素、美登素(美國專利第5,208,020號)、單端孢黴烯(trichothene)及CC1065之小分子毒素之接合物。

在本發明之一較佳實施例中，使抗體與一或多個美登素分子(例如每抗體分子約1至約10個美登素分子)接合。可(例如)使美登素轉化為May-SS-Me，May-SS-Me可還原成May-SH3且與經修飾抗體(Chari等人，*Cancer Research* 52: 127-131 (1992))反應以產生類美登素-抗體免疫接合物。

另一所關注之免疫接合物包含與一或多個刺孢黴素分子接合之抗體。抗生素之刺孢黴素家族能夠在亞皮莫耳濃度下產生雙鏈DNA碎片。可使用之刺孢黴素之結構類似物包

括(但不限於) γ_1^I 、 α_2^I 、 α_3^I 、N-乙醯基- γ_1^I 、PSAG及 θ_1^I (Hinman等人, *Cancer Research* 53: 3336-3342 (1993)及Lode等人, *Cancer Research* 58: 2925-2928 (1998))。亦參見美國專利第5,714,586號、第5,712,374號、第5,264,586號及第5,773,001號,其以引用之方式明確併入本文中。

可使用之酶活性毒素及其片段包括白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈、相思子毒素A鏈、莫迪素(modeccin)A鏈、 α -帚麴菌素、桐油樹蛋白(*Aleurites fordii* protein)、康乃馨蛋白、洋商陸蛋白(*Phytolaca americana* protein)(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜抑制劑、麻楓樹蛋白(curcin)、巴豆毒素、肥皂草抑制劑、天堂果蛋白、有絲分裂素、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及黴菌毒素(tricothecene)。例如參見1993年10月28日公開之WO 93/21232。

本發明進一步涵蓋在抗體與具有核分解活性之化合物(例如,核糖核酸酶或DNA核酸內切酶,諸如去氧核糖核酸酶;DNase)之間形成之免疫接合物。

可利用多種放射性同位素產生放射接合HER2抗體。實例包括 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 及Lu之放射性同位素。

可使用多種雙官能蛋白偶合劑製備抗體與細胞毒性劑之接合物,該等蛋白偶合劑諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶

基二硫基)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯之雙官能衍生物(諸如,己二醯亞胺酸二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如,辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛類(諸如,戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如,雙-(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮鹽衍生物(諸如,雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如,甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如,1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言,蓖麻毒素免疫毒素可如 Vitetta 等人, *Science* 238:1098 (1987) 中所述來製備。碳 14 標記之 1-異硫氰基苄基-3-甲基二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為一種用於使放射性核苷酸與抗體接合之例示性螯合劑。參見 WO94/11026。連接子可為有助於細胞中細胞毒性藥物釋放之"可裂解連接子"。舉例而言,可使用酸不穩定性連接子、肽酶敏感性連接子、二甲基連接子或含二硫化物連接子 (Chari 等人, *Cancer Research* 52:127-131 (1992))。

或者,包含抗體及細胞毒性劑之融合蛋白可(例如)由重組技術或肽合成製得。

本文中涵蓋其他免疫接合物。舉例而言,抗體可與多種非蛋白性聚合物中之一者連接,該等聚合物例如聚乙二醇、聚丙二醇、聚氧化乙烯或聚乙二醇與聚丙二醇之共聚物。亦可將抗體捕集於(例如)由凝聚技術或由界面聚合製備之微膠囊(例如,分別為羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中、捕集於膠狀藥物傳送系統

(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)中或捕集於巨乳液中。該等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences*，第16版，Osol, A. 編，(1980)中。

本文中所揭示之抗體亦可調配為免疫脂質體。含有抗體之脂質體係由此項技術中已知之方法製備，諸如描述於以下文獻中之方法：Epstein等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688 (1985)；Hwang等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4030 (1980)；美國專利第4,485,045號及第4,544,545號；及1997年10月23日公開之WO97/38731。循環時間增長之脂質體揭示於美國專利第5,013,556號中。

尤其適用之脂質體可由逆相蒸發法用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及PEG衍生之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組合物產生。可將脂質體經由具有規定孔尺寸之過濾器排出以得到具有所需直徑之脂質體。可如Martin等人，*J. Biol. Chem.* 257: 286-288 (1982)中所述經由二硫化物互換反應使本發明之抗體之Fab'片段與脂質體接合。脂質體內視情況含有化學治療劑。參見Gabizon等人，*J. National Cancer Inst.* 81(19)1484 (1989)。

III. 診斷方法

在第一態樣中，本發明在本文中提供一種選擇用於患有能夠回應HER抑制劑或HER二聚合抑制劑(例如帕妥珠單抗)之癌症類型(例如卵巢癌)之患者的療法的方法，該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症

樣品以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3及/或若該癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數(或大於中值水平)的水平表現HER2:HER3, 則選擇HER抑制劑或HER二聚合抑制劑作為該療法。

在第二態樣中, 本發明提供一種選擇用於患有能夠回應化學治療劑之癌症類型(例如卵巢癌)之患者的療法的方法, 該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER3表現, 及若該癌症樣品以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3, 則選擇化學治療劑(例如吉西他濱)作為該療法。

中值或百分位數表現水平可大體上與量測HER3表現(或HER2及HER3表現)同時測定或可在之前已測定。

在如下所述之治療方法之前, 評定患者之癌症中之HER3表現水平, 且視情況評定HER2表現水平。通常自需要療法之患者獲得生物樣品, 使該樣品經受一或多個診斷檢定, 通常經受至少一個活體外診斷(IVD)檢定。然而, 在本文中明確地涵蓋評估HER3及/或HER2表現之其他形式, 諸如活體內診斷。生物樣品通常為腫瘤樣品, 較佳來自卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌(MBC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、前列腺癌或結腸直腸癌腫瘤樣品。

在本文中生物樣品可為固定樣品, 例如福馬林固定樣品、石蠟包埋(FFPE)樣品或冷凍樣品。

多種測定mRNA或蛋白質表現之方法包括(但不限於)基

因表現剖析、聚合酶鏈反應(PCR)(包括定量即時PCR(qRT-PCR))、微陣列分析、基因表現連續分析(serial analysis of gene expression, SAGE)、MassARRAY、大規模平行信號測序(Massively Parallel Signature Sequencing, MPSS)基因表現分析、蛋白質組研究、免疫組織化學(IHC)等。較佳將mRNA定量。該mRNA分析較佳使用聚合酶鏈反應(PCR)技術或藉由微陣列分析進行。當採用PCR時，PCR之較佳形式為定量即時PCR(qRT-PCR)。較佳qRT-PCR檢定為下文實例1中所述之檢定。

多篇公開期刊文章(例如：Godfrey等人，*J. Molec. Diagnostics* 2: 84-91 (2000)；Specht等人，*Am. J. Pathol.* 158: 419-29 (2001))中給出使用固定的石蠟包埋組織作為RNA來源剖析基因表現之代表性方案之步驟，包括mRNA分離、純化、引子擴展及擴增。簡言之，代表性方法以切割石蠟包埋腫瘤組織樣品之約10微克厚切片開始。隨後提取RNA，且移除蛋白質及DNA。分析RNA濃度後，必要時可包括RNA修復及/或擴增步驟，且使用基因特異性啟動子逆轉錄RNA，接著為PCR。最後，分析資料以基於所檢查之腫瘤樣品中所確定之特徵基因表現模式確定可用於患者之最佳治療方案。

現將更詳細地描述多種測定基因表現之例示性方法。

(i) 基因表現剖析

基因表現剖析之方法通常可分為兩大組：基於聚核苷酸之雜交分析之方法及基於聚核苷酸測序之方法。此項技術

中已知之定量樣品中之mRNA表現的最常用方法包括北方墨點法 (northern blotting) 及原位雜交 (Parker 及 Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)) ; RNase保護檢定 (Hod, *Biotechniques* 13:852- 854 (1992)) ; 及聚合酶鏈反應 (PCR)(Weis 等人, *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992))。或者, 可採用可識別特異性雙鏈體之抗體, 該等雙鏈體包括DNA雙鏈體、RNA雙鏈體及DNA-RNA雜交雙鏈體或DNA-蛋白質雙鏈體。基於測序之基因表現分析之代表性方法包括基因表現連續分析(SAGE)及大規模平行信號測序(MPSS)基因表現分析。

(ii) 聚合酶鏈反應(PCR)

在以上所列之技術中, 靈敏且靈活的定量法為PCR, 其可用於比較不同樣品群體、正常及腫瘤組織、經或未經藥物治療之mRNA含量以表徵基因表現模式, 辨別密切相關mRNA, 及分析RNA結構。

第一步為自標靶樣品分離mRNA。起始物質通常為分別自人類腫瘤或腫瘤細胞株及相應正常組織或細胞株分離之總RNA。因此, RNA可自多種原發性腫瘤分離, 包括乳房、肺、結腸、前列腺、腦、肝、腎、胰腺、脾、胸腺、睪丸、卵巢、子宮等腫瘤或腫瘤細胞株, 具有來自健康供體之彙集DNA。若mRNA來源為原發性腫瘤, 則可(例如)自冷凍或存檔石蠟包埋及固定(例如福馬林固定)組織樣品中提取mRNA。mRNA提取之一般方法在此項技術中為熟知的且揭示於分子生物學之標準教科書中, 包括Ausubel

等人，*Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sons (1997)。自石蠟包埋組織提取RNA之方法揭示於(例如)Rupp及Locker, *Lab Invest.* 56:A67 (1987)及De Andrés等人，*BioTechniques* 18:42044 (1995)中。詳言之，RNA分離可使用來自商業製造商(諸如Qiagen)之純化套組、緩衝液套裝及蛋白酶根據製造商之說明書進行。舉例而言，可使用Qiagen RNeasy小型管柱自培養物中之細胞分離總RNA。其他市售RNA分離套組包括MASTERPURE®完全DNA及RNA純化套組(Complete DNA and RNA Purification Kit)(EPICENTRE®, Madison, Wis.)及石蠟塊RNA分離套組(Paraffin Block RNA Isolation Kit)(Ambion, Inc.)。可使用RNA Stat-60(Tel-Test)自組織樣品分離總RNA。可(例如)由氯化銫密度梯度離心分離自腫瘤製備之RNA。

因為RNA不能充當PCR之模板，所以PCR之基因表現剖析中之第一步為將RNA模板逆轉錄於cDNA中，接著使其在PCR反應中指數擴增。兩種最常用逆轉錄酶為禽骨髓胚細胞過多症病毒逆轉錄酶(AMV-RT)及莫洛尼鼠類白血病病毒(Moloney murine leukemia virus)逆轉錄酶(MMLV-RT)。逆轉錄步驟通常視表現剖析之境況及目標而使用特异性引子、隨機六聚物或寡聚dT(oligo-dT)引子引發。舉例而言，可使用GENEAMP™ RNA PCR套組(Perkin Elmer, Calif., USA)根據製造商之說明書逆轉錄所提取之RNA。隨後可使用所衍生之cDNA作為後續PCR反應中之模板。

雖然 PCR 步驟可使用多種熱穩定的 DNA 依賴性 DNA 聚合酶，但其通常採用具有 5'-3' 核酸酶活性但缺乏 3'-5' 校對核酸內切酶活性之 Taq DNA 聚合酶。因此，雖然 TAQMAN® PCR 通常利用 Taq 或 Tth 聚合酶之 5'-核酸酶活性使與標靶擴增子 (amplicon) 結合之雜交探針水解，但可使用任何具有等效 5' 核酸酶活性之酶。使用兩個寡核苷酸引子產生 PCR 反應之典型擴增子。設計第三寡核苷酸或探針偵測位於兩個 PCR 引子之間的核苷酸序列。探針經由 Taq DNA 聚合酶為非可擴展的，且用報導基因螢光染料及抑止劑螢光染料標記。當兩種染料靠在一起定位如同其在探針上時，由猝滅染料使報導基因染料之任何雷射誘導發射猝滅。擴增反應期間，Taq DNA 聚合酶以模板依賴性方式裂解探針。所得探針片段在溶液中解離，且來自釋放報導基因染料之信號無第二螢光團之猝滅效應。對所合成之各新穎分子而言需釋放一個報導基因染料分子，且對未猝滅報導基因染料之偵測提供對資料之定量解釋的基礎。

TAQMAN® PCR 可使用市售設備進行，該等設備諸如 ABI PRISM 7700® 序列偵測系統 (Sequence Detection System®) (Perkin- Elmer-Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA) 或 Lightcycler (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)。在一較佳實施例中，在諸如 ABI PRISM 7700® 序列偵測系統之即時定量 PCR 裝置上運行 5' 核酸酶程序。該系統由熱循環儀、雷射、電荷耦合裝置 (CCD)、攝影機及電腦組成。該系統以 96 孔格式在熱循環

儀上擴增樣品。擴增期間，經由光導纖維電纜即時收集所有96孔之雷射誘導螢光信號且在CCD處偵測該信號。該系統包括運行儀器及分析資料之軟體。

5'-核酸酶檢定資料最初以Ct或臨界週期表示。如以上所討論，每個週期期間記錄螢光值且其表示擴增反應中處於該點時所擴增之產物量。螢光信號因統計上顯著而首次記錄之點為臨界週期(Ct)。

為最小化誤差及樣品與樣品間變化之影響，通常使用內標物進行PCR。理想內標物在不同組織中以恆定水平表現且不受實驗處理影響。使基因表現模式正規化最常用之RNA為看家基因甘油醛-3-磷酸酯-脫氫酶(GAPDH)及P-肌動蛋白之mRNA。

PCR技術之較近變化為定量即時PCR(qRT-PCR)，其經由雙重標記致螢光探針(亦即，TAQMAN®探針)量測PCR產物累積。即時PCR與使用各標靶序列之內部競爭者正規化之定量競爭PCR相容，且與使用樣品內所含之正規化基因或PCR之看家基因的定量比較PCR相容。關於其他詳情，例如參見Held等人，*Genome Research* 6:986-994 (1996)。

多篇公開期刊文章(例如：Godfrey等人，*J. Molec. Diagnostics* 2: 84-91 (2000); Specht等人，*Am. J. Pathol.* 158: 419-29 (2001))中給出使用固定的石蠟包埋組織作為RNA來源剖析基因表現之代表性方案之步驟，包括mRNA分離、純化、引子擴展及擴增。簡言之，代表性方法以切割石蠟包埋腫瘤組織樣品之約10微克厚切片開始。隨後提

取RNA，且移除蛋白質及DNA。分析RNA濃度後，必要時可包括RNA修復及/或擴增步驟，且使用基因特異性啟動子逆轉錄RNA，接著為PCR。

根據本發明之一態樣，基於待擴拉之基因中所存在之內含子序列設計PCR引子及探針。在該實施例中，引子/探針設計中之第一步為繪示基因內的內含子序列。此可由諸如由Kent, W., *Genome Res.* 12(4):656-64 (2002)開發之DNA BLAT軟體之公開可用軟體或由BLAST軟體(包括其變體)完成。後續步驟遵循PCR引子及探針設計之充分建立之方法。

為避免非特定信號，重要的是當設計引子及探針時遮蔽內含子內之重複序列。此可藉由使用Baylor College of Medicine線上可用之Repeat Masker程式容易地實現，該程式針對重複元件庫篩選DNA序列且返回其中遮蔽重複元件之詢問序列。隨後可使用經遮蔽內含子序列利用任何商業上或另外公開可用之引子/探針設計程式包來設計引子及探針序列，該等程式包諸如Primer Express(Applied Biosystems)；MGB assay-by-design(Applied Biosystems)；Primer3(Rozen及Skaletsky (2000)，一般使用者及生物學家編程者之全球資訊網上之Primer3。於Krawetz S, Misener S(編)*Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, N.J., 第365-386頁中)。

PCR引子設計中考慮之因素包括引子長度、熔融溫度

(T_m)及G/C含量、特異性、互補引子序列及3'-末端序列。一般而言，最佳PCR引子之長度通常為17-30個鹼基且含有約20-80%(諸如約50-60%)的G+C鹼基。通常較佳為T_m介於50°C與80°C之間，例如約50°C至70°C。

關於PCR引子及探針設計之其他準則，例如參見Dieffenbach等人，"General Concepts for PCR Primer Design", *PCR Primer, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1995，第133-155頁；Innis及Gelfand, "Optimization of PCRs", *PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications*, CRC Press, London, 1994，第5-11頁；及Plasterer, T. N. Primerselect: Primer and probe design. *Methods Mol. Biol.* 70:520- 527 (1997)，其整體揭示內容以引用之方式明確併入本文中。

較佳條件、引子、探針及內部參考(G6PDH)如下文實例1中所述。

(iii) 微陣列

亦可使用微陣列技術鑑別或確認差異基因表現。因此，可在新鮮腫瘤組織或石蠟包埋腫瘤組織中使用微陣列技術量測乳癌相關基因之表現概況。在該方法中，將所關注之聚核苷酸序列(包括cDNA及寡核苷酸)塗於或成陣列於微晶片受質上。隨後將成陣列之序列與所關注之細胞或組織之特異性DNA探針雜交。正如PCR方法中一般，mRNA來源通常為自人類腫瘤或腫瘤細胞株及相應正常組織或細胞株分離之總RNA。因此，可自多種原發性腫瘤或腫瘤細胞株

分離 RNA。若 mRNA 來源為原發性腫瘤，則可(例如)自日常臨床實務中常規製備且保藏之冷凍或存檔石蠟包埋及固定(例如福馬林固定)組織樣品中提取 mRNA。

在微陣列技術之一特定實施例中，將 cDNA 純系之 PCR 擴增插入物施加於緻密陣列中之受質。較佳將至少 10,000 個核苷酸序列施加於受質。以各晶片 10,000 個元件而固定於微晶片上之成微陣列基因適於在嚴格條件下雜交。可藉由將自所關注之組織提取之 RNA 逆轉錄來併入螢光核苷酸，從而產生螢光標記 cDNA 探針。使施加於晶片上之經標記 cDNA 探針與陣列上之 DNA 之各點特異性雜交。嚴格洗滌以移除非特異性結合探針後，由共焦雷射顯微術或另一偵測方法(諸如 CCD 攝像機)掃描晶片。各成陣列元件之雜交的定量允許評定相應 mRNA 豐度。在雙色螢光下，將由兩個 RNA 來源產生之經獨立標記 cDNA 探針與陣列逐對雜交。因此，同時測定來自對應於各特定基因之兩個來源之轉錄物之相對豐度。微型化規模之雜交提供對大量基因之表現模式之方便且快速的評估。已展示該等方法具有偵測以每細胞極少複本表現之稀有轉錄物及再現性偵測表現水平至少約 2 倍差異所需的靈敏度(Schena 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(2):106-149 (1996))。可由市售設備根據製造商之方案進行微陣列分析，諸如藉由使用 Affymetrix GENCHIP™ 技術或 Incyte 之微陣列技術。

開發用於基因表現之大規模分析之微陣列方法使得有可能系統地檢索多種腫瘤類型之癌症分級及結果預測之分子

標記物。

(iv) 基因表現連續分析(SAGE)

基因表現連續分析(SAGE)為在無需為各轉錄物提供個別雜交探針之情況下允許同時且定量分析大量基因轉錄物的方法。首先，產生含有唯一地鑑別轉錄物之足夠資訊之短序列標誌(約10-14個鹼基對)，其限制條件為該標誌係獲自各轉錄物內之唯一位置。隨後，將許多轉錄物連接在一起以形成可測序之長連續分子，從而同時揭露多個標誌之一致性。可藉由測定個別標誌之豐度且鑑別對應於各標誌之基因來定量評估轉錄物任何群體之表現模式。關於更多詳情，例如參見 Velculescu 等人，*Science* 270:484-487 (1995)；及 Velculescu 等人，*Cell* 88:243-51 (1997)。

(v) *MassARRAY*技術

MassARRAY(Sequenom, San Diego, Calif.)技術為使用質譜(MS)偵測之基因表現分析之自動高產量方法。根據該方法，在分離RNA、逆轉錄及PCR擴增後，使cDNA經受引子擴展。將cDNA衍生之引子擴展產物純化且分配於預裝載有MALTI-TOF MS樣品製備所需之組分之晶片陣列上。藉由分析所獲得之質譜中之峰面積來將反應中所存在之各種cDNA定量。

(vi) 大規模平行信號測序(MPSS)基因表現分析

由 Brenner 等人，*Nature Biotechnology* 18:630-634 (2000)描述之該方法為組合非凝膠基信號測序(non-gel-based signature sequencing)與活體外選殖數百萬模板於獨

立的5微克直徑微珠上的測序方法。首先，藉由活體外選殖構築DNA模板之微珠庫。接著，將含模板之微珠之平面陣列以高密度(通常大於 3×10^6 個微珠/平方公分)組裝於流槽中。同時使用不需要DNA片段分離之螢光基信號測序法分析各微珠上所純殖之模板之自由端。已展示該方法在一次操作中同時且精確地提供數十萬個來自酵母cDNA庫之基因標誌序列。

(vii) 免疫組織化學

免疫組織化學方法亦適於偵測本發明之預後性標記物之表現水平。因此，使用對各標記物具有特異性之抗體或抗血清、較佳多株抗血清且最佳單株抗體偵測表現。可藉由(例如)用放射性標記、螢光標記、半抗原標記(諸如生物素)或酶(諸如辣根過氧化物酶或鹼性磷酸酶)直接標記抗體本身來偵測抗體。或者，與包含對初級抗體具有特異性之抗血清、多株抗血清或單株抗體之經標記二次抗體聯合使用未標記之初級抗體。免疫組織化學方案及套組在此項技術中為熟知的且為市售的。

(viii) 蛋白質組研究

術語"蛋白質組"係定義為在某時間點時樣品(例如組織、生物體或細胞培養物)中所存在之蛋白質總數。蛋白質組研究尤其包括研究樣品中蛋白質表現之總體變化(亦稱為"表現蛋白質組研究")。蛋白質組研究通常包括以下步驟：
(1)由二維凝膠電泳(2-D PAGE)分離樣品中之個別蛋白質；
(2)(例如)由質譜或N-末端測序鑑別自凝膠回收之個別蛋白

質；及(3)使用生物資訊學分析資料。蛋白質組研究方法為基因表現剖析之其他方法的重要補充，且可單獨使用或與其他方法組合使用來偵測本發明之預後性標記物之產物。

(ix) mRNA分離、純化及擴增之一般描述

多篇公開期刊文章(例如：Godfrey等人，*J. Molec. Diagnostics* 2: 84-91 (2000)；Specht等人，*Am. J. Pathol.* 158: 419-29 (2001))中給出使用固定的石蠟包埋組織作為RNA來源剖析基因表現之代表性方案之步驟，包括mRNA分離、純化、引子擴展及擴增。簡言之，代表性方法以切割石蠟包埋腫瘤組織樣品之約10微克厚切片開始。隨後提取RNA，且移除蛋白質及DNA。分析RNA濃度後，必要時可包括RNA修復及/或擴增步驟，且使用基因特異性啟動子逆轉錄RNA，接著為PCR。最後，分析資料以基於所檢查之腫瘤樣品中所確定之特徵基因表現模式確定可用於患者之最佳治療方案。

在一實施例中，在本文中所治療之患者除以某一水平表現HER3及/或以某一水平表現HER2:HER3外，該患者另外不過度表現HER2。可(例如)使用HERCEPTEST®(Dako)由IHC分析HER2過度表現。可使來自腫瘤活檢之石蠟包埋組織切片經受IHC檢定且匹配如下之HER2蛋白質染色強度標準：

分數0：未觀察到染色或觀察到小於腫瘤細胞之10%之膜染色。

分數1+：偵測到超過腫瘤細胞之10%之模糊/勉強可覺察膜染色。細胞僅在其膜之部分上被染色。

分數2+：觀察到超過腫瘤細胞之10%之弱至中等完全膜染色。

分數3+：觀察到超過腫瘤細胞之10%之中等至強完全膜染色。

彼等HER2過度表現評定分數為0或1+之腫瘤可表徵為不過度表現HER2，而彼等分數為2+或3+之腫瘤可表徵為過度表現HER2。

過度表現HER2之腫瘤可由對應於每細胞表現HER2分子之複本之數目的免疫組織化學分數來分級且可在生物化學上測定：

0 = 0-10,000個複本/細胞，

1+ = 至少約200,000個複本/細胞，

2+ = 至少約500,000個複本/細胞，

3+ = 至少約2,000,000個複本/細胞。

導致酪胺酸激酶配位體獨立性活化之3+水平之HER2過度表現 (Hudziak 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84:7159-7163 (1987))在約30%之乳癌中出現，且在該等患者中，無復發存活及總存活降低(Slamon 等人，Science, 244:707-712 (1989); Slamon 等人，Science, 235:177-182 (1987))。或者或另外，可對福馬林固定石蠟包埋腫瘤組織進行諸如 INFORM™(由 Ventana, Arizona 出售)或 PATHVISION™(Vysis, Illinois)之 FISH 檢定以確定腫瘤中 HER2 擴增之範圍(若存在)。

亦可使用活體內診斷檢定評估HER3及/或HER2表現，例如藉由投與結合待偵測之分子且用可偵測標記(例如放射性同位素)作標誌之分子(諸如抗體)且就標記之定位外部掃

描患者。

IV. 醫藥調配物

藉由將具有所需純度之抗體與可選之醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑混合 (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 第16版, Osol, A.編(1980))製備根據本發明使用之HER抑制劑、HER二聚合抑制劑或化學治療劑之醫藥調配物以供儲存,其通常呈凍乾調配物或水溶液形式。亦涵蓋抗體晶體(參見美國專利申請案2002/0136719)。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者而言係無毒的,且包括緩衝劑,諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸;抗氧化劑,包括抗壞血酸及甲硫胺酸;防腐劑(諸如,氯化十八烷基二甲基苯甲基銨;氯化六羥季銨;氯化苯甲烴銨;苜索氯銨(benzethonium chloride);苯酚、丁醇或苯甲醇;對羥基苯甲酸烷基酯,諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯;兒茶酚;間苯二酚;環己醇;3-戊醇;及間甲酚);低分子量(小於約10個殘基)多肽;蛋白質,諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白;親水性聚合物,諸如聚乙烯吡咯啉酮;胺基酸,諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸;單醣、二醣及其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合劑,諸如EDTA;糖,諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇;成鹽平衡離子,諸如鈉;金屬錯合物(例如,Zn-蛋白質錯合物);及/或非離子界面活性劑,諸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。凍乾抗體

調配物描述於 WO 97/04801 中，其以引用之方式明確併入本文中。

治療用途之較佳帕妥珠單抗調配物包含 30 mg/mL 於 20 mM 組胺酸乙酸鹽、120 mM 蔗糖、0.02% 聚山梨醇酯 20 (pH 6.0) 中之帕妥珠單抗。另一帕妥珠單抗調配物包含 25 mg/mL 帕妥珠單抗、10 mM 組胺酸鹽酸鹽緩衝液、240 mM 蔗糖、0.02% 聚山梨醇酯 20 (pH 6.0)。

在本文中調配物亦可含有超過一種所治療之特定適應症所必需之活性化合物，較佳為彼等不相互不利影響之具有互補活性之活性化合物。多種可與 HER 抑制劑或 HER 二聚合抑制劑組合之藥物描述於下文之治療部分中。該等分子以對預定目標有效之量適當地存在於組合中。

亦可將活性成分捕集於(例如)由凝聚技術或由界面聚合製備之微膠囊(例如，分別為羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中、捕集於膠狀藥物傳送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)中或捕集於巨乳液中。該等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences*，第 16 版，Osol, A. 編，(1980) 中。

可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之合適實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件之形式，例如薄膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如，聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美國專利第 3,773,919 號)、L-麩胺酸

與 γ -乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(諸如, LUPRON DEPOT™)(由乳酸-乙醇酸共聚物與乙酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)組成之可注射微球體)及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。

待活體內投藥使用之調配物必須無菌。此易藉由經由無菌過濾膜過濾來實現。

因此, 提供一種製造HER抑制劑或HER二聚合抑制劑(諸如帕妥珠單抗)或其醫藥組合物之方法, 該方法包含將該抑制劑或醫藥組合物與說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應該抑制劑之癌症類型(例如卵巢癌)之患者的標籤組合於封裝中, 其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3, 及/或其中該患者之癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

另外, 提供一種製造化學治療劑(諸如吉西他濱)或其醫藥組合物之方法, 其中該方法包含將該化學治療劑或醫藥組合物與說明指示該化學治療劑或醫藥組合物用於治療患有某癌症類型(例如卵巢癌)之患者的標籤組合於封裝中, 其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

V. 用HER抑制劑治療

本發明在本文中提供一種治療患有能夠回應HER抑制劑或HER二聚合抑制劑之癌症類型之患者的方法, 該方法向

該患者投與治療有效量之抑制劑，其中該患者之癌症樣品以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，及/或其中該癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。該患者之癌症較佳以小於該癌症類型中之HER3表現之第25百分位數的水平表現HER3，及/或以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之中值水平(最佳大於第75百分位數)的水平表現HER2:HER3。

在一尤其較佳實施例中，本發明提供一種治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者的方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之帕妥珠單抗，其中該患者之癌症以小於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，及/或其中該患者之癌症樣品以大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。在該實施例中，該患者之癌症較佳以小於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER3表現之第25百分位數的水平表現HER3，及/或以大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中之HER2:HER3表現之中值水平(最佳大於第75百分位數)的水平表現HER2:HER3。

在另一態樣中，本發明提供一種選擇用於患有能夠回應化學治療劑之癌症類型之患者的療法的方法，該方法包含測定該患者之癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，則選擇化學治療劑作為該療法。在該實施例中，

該癌症類型較佳為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌，包括抗鉑型卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌以及晚期、難治癒及/或復發性卵巢癌。該化學治療劑較佳為抗代謝物，諸如吉西他濱。因此，在該實施例中，高HER3與對用諸如吉西他濱之化學治療劑之療法的反應改良相關。

可用HER抑制劑或HER二聚合抑制劑治療之多種癌症類型之實例列於上文之定義部分中。較佳癌症類型包括卵巢癌；腹膜癌；輸卵管癌；乳癌，包括轉移性乳癌(MBC)；肺癌，包括非小細胞肺癌(NSCLC)；前列腺癌；及結腸直腸癌。在一實施例中，所治療之癌症為晚期、難治癒、復發性、抗化學療法型及/或抗鉑型癌症。

用HER抑制劑、HER二聚合抑制劑及/或化學治療劑之療法較佳延長存活，包括無疾病進展存活(PFS)及/或總存活(OS)。在一實施例中，用HER抑制劑或HER二聚合抑制劑之療法延長存活比投與用於所治療之癌症之經批准抗腫瘤劑或護理標準物所達成之存活高至少約20%。

在較佳實施例中，該方法涉及治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者。患者可患有晚期、難治癒、復發性、抗化學療法型及/或抗鉑型卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。向患者投與帕妥珠單抗可(例如)延長存活比向該患者投與拓朴替康或脂質體多柔比星所達成之存活高至少約20%。

HER抑制劑或HER二聚合抑制劑及/或化學治療劑係根據已知方法向人類患者投與，諸如靜脈內投與，例如以快速注射形式或經一段時間連續輸注；經由肌肉內、腹膜內、

腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、口服、局部或吸入途徑。較佳為靜脈內投與抗體。

就預防或治療癌症而言，HER抑制劑、HER二聚合抑制劑及/或化學治療劑之劑量應視以下因素而定：如以上所定義之待治療之癌症類型、癌症之嚴重程度及病程、抗體出於預防性目的或治療性目的投與、先前療法、患者之臨床病史及對藥物之反應及主治醫師之判斷。

在一實施例中，投與固定劑量之抑制劑。固定劑量可一次性或經一系列治療而合適地向患者投與。當投與固定劑量時，其較佳在約20 mg至約2000 mg抑制劑的範圍內。舉例而言，固定劑量可為約420 mg、約525 mg、約840 mg或約1050 mg抑制劑，諸如帕妥珠單抗。

當投與一系列劑量時，其可(例如)約每週、約每2週、約每3週或約每4週投與，但較佳約每3週投與。在疾病進展、不利結果或醫師確定之其他時間之前可(例如)繼續投與固定劑量。舉例而言，可投與約2、3或4次至多達約17或17次以上固定劑量。

在一實施例中，投與一或多次負荷劑量之抗體，接著投與一或多次維持劑量之抗體。在另一實施例中，向患者投與複數次相同劑量。

根據本發明之一較佳實施例，投與約840 mg(負荷劑量)之固定劑量之HER二聚合抑制劑(例如帕妥珠單抗)，接著投與一或多次約420 mg(維持劑量)之劑量之抗體。較佳約每3週投與維持劑量，總計至少兩次劑量至多達17或17次

以上劑量。

根據本發明之另一較佳實施例，例如每3週投與一或多次約1050 mg之固定劑量之HER二聚合抑制劑(例如帕妥珠單抗)。根據該實施例，投與1、2或2次以上固定劑量，例如根據需要長達1年(17個週期)及更長。

在另一實施例中，以負荷劑量投與約1050 mg之固定劑量之HER二聚合抑制劑(例如帕妥珠單抗)，接著投與一或多次約525 mg之維持劑量。根據該實施例，可每3週向患者投與約1、2或2次以上維持劑量

雖然可以單一抗腫瘤劑投與HER抑制劑、HER二聚合抑制劑或化學治療劑，但視情況用抑制劑(或化學治療劑)與一或多種(其他)化學治療劑之組合治療患者。例示性化學治療劑在本文中包括：吉西他濱、卡鉑、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、拓朴替康及/或脂質體多柔比星。化學治療劑中之至少一者較佳為抗代謝物化學治療劑，諸如吉西他濱。組合投藥包括使用獨立調配物或單一醫藥調配物共投藥或同時投藥，及以任意順序連續投藥，其中較佳存在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性的，時段。因此，可在投與抑制劑之前或之後投與抗代謝物化學治療劑。在該實施例中，抗代謝物化學治療劑之至少一投藥與抑制劑之至少一投藥之間的時間較佳為約1個月或以下且最佳為約2週或以下。或者，以單一調配物或獨立調配物同時向患者投與抗代謝物化學治療劑及抑制劑。用化學治療劑(例如抗代謝物化學治療劑，諸如吉西他濱)與抑制劑(例如

帕妥珠單抗)之組合之治療可對患者產生協同(或大於其加和)之治療益處

尤其所需之與抑制劑組合之化學治療劑(例如用於卵巢癌療法)包括：抗代謝物化學治療劑，諸如吉西他濱；鉑化合物，諸如卡鉑；紫杉醇，諸如太平洋紫杉醇或多烯紫杉醇；拓朴替康；或脂質體多柔比星。

抗代謝物化學治療劑投與時通常以其已知劑量投與，或歸因於藥物之組合作用或投與抗代謝物化學治療劑所產生之負面副作用而視情況以減小之劑量投與。可根據製造商之說明書或如熟練從業者憑經驗所確定使用該等化學治療劑之製劑及給藥時程。當抗代謝物化學治療劑為吉西他濱時，較佳(例如)在3週週期之第1天及第8天以約600 mg/m²至1250 mg/m²(例如約1000 mg/m²)之間的劑量投與。

除抑制劑及抗代謝物化學治療劑外，可與之組合其他治療方案。舉例而言，可投與第二(第三、第四等)化學治療劑，其中該第二化學治療劑為另一不同抗代謝物化學治療劑或不為抗代謝物之化學治療劑。舉例而言，該第二化學治療劑可為紫杉烷(諸如太平洋紫杉醇或多烯紫杉醇)、卡培他濱或鉑基化學治療劑(諸如卡鉑、順鉑或奧賽力鉑)、蔥環黴素(諸如多柔比星，包括脂質體多柔比星)、拓朴替康、培美曲唑、長春花屬生物鹼(諸如長春瑞賓)及TLK 286。可投與不同化學治療劑之"混合液"。

可與抑制劑及/或化學治療劑組合之其他治療劑包括以下各物中之任何一或多者：第二不同HER抑制劑、HER二

聚合抑制劑(例如，生長抑制HER2抗體，諸如曲妥珠單抗；或誘導過度表現HER2之細胞之細胞凋亡的HER2抗體，諸如7C2、7F3或其人化變異體)；針對不同腫瘤相關抗原之抗體，諸如EGFR、HER3、HER4；抗激素化合物，例如抗雌激素化合物(諸如他莫昔芬)或芳香酶抑制劑；保心藥(阻止或減小與療法相關之任何心肌功能障礙)；細胞激素；EGFR靶向藥物(諸如TARCEVA®、IRESSA®或西妥昔單抗)；抗血管生成劑(尤其由Genentech以商標AVASTIN™出售之貝伐單抗)；酪胺酸激酶抑制劑；COX抑制劑(例如COX-1或COX-2抑制劑)；非類固醇抗發炎藥物，塞來昔布(CELEBREX®)；法呢基轉移酶抑制劑(例如，替皮法尼/可獲自Johnson and Johnson之ZARNESTRA® R115777或可獲自Schering-Plough之Lonafarnib SCH66336)；結合癌胚蛋白質CA 125之抗體，諸如Oregovomab(MoAb B43.13)；HER2疫苗(諸如來自Pharmexia之HER2 AutoVac疫苗或來自Dendreon之APC8024蛋白質疫苗或來自GSK/Corixa之HER2肽疫苗)；另一HER靶向療法(例如曲妥珠單抗、西妥昔單抗、ABX-EGF、EMD7200、吉非替尼、埃羅替尼、CP724714、CI1033、GW572016、IMC-11F8、TAK165等)；Raf及/或ras抑制劑(例如參見WO 2003/86467)；多柔比星鹽酸鹽脂質體注射液(DOXIL®)；拓撲異構酶I抑制劑，諸如拓撲替康；紫杉烷；HER2及EGFR雙重酪胺酸激酶抑制劑，諸如拉帕替尼/GW572016；TLK286(TELCYTA®)；EMD-

7200；治療噁心之藥物，諸如血清素拮抗劑、類固醇或苯并二氮呋；預防或治療皮疹之藥物或標準痤瘡療法，包括局部或口服抗生素；治療或預防腹瀉之藥物；降低體溫之藥物，諸如乙醯胺苯酚、苯海拉明(diphenhydramine)或哌替啶(meperidine)；造血生長因子等。

上述共投與藥劑中之任一者之合適劑量為目前所使用之劑量，且歸因於該藥劑與抑制劑之組合作用(協同作用)，該等劑量可減小。

除上述治療方案外，可使患者經受癌細胞之手術移除及/或放射療法。

當抑制劑為抗體時，所投與之抗體較佳為裸抗體。然而，所投與之抑制劑可與細胞毒性劑接合。所接合之抑制劑及/或其所結合之抗原較佳經細胞內在化，從而使得接合物殺死其所結合之癌細胞之治療功效增加。在一較佳實施例中，細胞毒性劑靶向或干擾癌細胞中之核酸。該等細胞毒性劑之實例包括類美登素、刺孢黴素、核糖核酸酶及DNA核酸內切酶。

本申請案涵蓋由基因療法投與抑制劑。例如參見1996年3月14日公開之WO96/07321，其係關於使用基因療法產生細胞內抗體。

存在兩種主要的使核酸(視情況含於載體中)進入患者細胞中之方法；活體內及離體。就活體內傳送而言，通常需要在需要抗體之部位將核酸直接注射至患者體內。就離體治療而言，移除患者之細胞，將核酸引入該等分離細胞中，且

直接或(例如)包裹在植入患者體內之多孔膜內向患者投與該等修飾細胞(例如參見美國專利第4,892,538號及第5,283,187號)。存在多種可用於將核酸引入活細胞中之技術。該等技術視核酸活體外轉移至培養細胞中或活體內轉移至預定宿主之細胞中而變化。適於將核酸活體外轉移至哺乳動物細胞中之技術包括使用脂質體、電穿孔、微量注射、細胞融合、DEAE-葡聚糖、磷酸鈣沈澱法等。基因離體傳送之常用載體為反轉錄病毒。

目前較佳之活體內核酸轉移技術包括用病毒載體(諸如腺病毒、單純疱疹I病毒或腺相關病毒)轉染及脂質基系統(適用於基因之脂質介導轉移之脂質為(例如)DOTMA、DOPE及DC-Chol)。在一些情形下,需要提供具有靶向標靶細胞之藥劑之核酸來源,該藥劑諸如對細胞表面膜蛋白或標靶細胞具有特異性之抗體、標靶細胞上之受體之配位體等。當採用脂質體時,可使用與內飲作用相關之與細胞表面膜蛋白結合之蛋白質靶向及/或促進攝取,例如對特定細胞類型具有向性之衣殼蛋白或其片段、經受循環內在化之蛋白質之抗體及靶向細胞內定位及增強細胞內半衰期之蛋白質。受體介導之內飲作用之技術由(例如)Wu等人,*J. Biol. Chem.* 262:4429-4432 (1987);及Wagner等人,*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:3410-3414 (1990)描述。關於目前已知之基因標記及基因療法方案之綜述,參見Anderson等人,*Science* 256:808-813 (1992)。亦參見WO 93/25673及其中所引用之參考文獻。

VI. 製品

在本發明之另一實施例中，提供一種含有適用於治療上述疾病或病狀之物質之製品。該製品包含容器及於容器上或與容器相關聯之標籤或包裝插頁。合適容器包括(例如)瓶子、小瓶、注射器等。容器可由諸如玻璃或塑料之多種材料形成。該容器容納或含有有效治療所選擇之疾病或病狀之組合物且可具有無菌存取口(例如，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針穿孔之塞子之小瓶)。組合物中至少一種活性劑為HER二聚合抑制劑，諸如帕妥珠單抗；或化學治療劑，諸如吉西他濱。

該製品可進一步包含第二容器，該第二容器包含醫藥學上可接受之稀釋劑緩衝液，諸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。該製品就商業及使用者觀點而言可進一步包括其他所需物質，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

本發明之套組及製品亦包括資訊，例如呈指示該組合物用於治療癌症之包裝插頁或標籤的形式，其中患者之癌症以視藥物而定之確定水平表現HER3及/或HER2:HER3。插頁或標籤可採用任何形式，諸如紙或在諸如磁性記錄媒體(例如，軟性磁碟)或CD-ROM之電子媒體上。標籤或插頁亦可包括其他關於套組或製品中之醫藥組合物及劑型之資訊。

該資訊通常有助於患者及醫師有效且安全地使用所附醫

藥組合物及劑型。舉例而言，下列關於HER二聚合抑制劑或化學治療劑之資訊可提供於插頁中：藥物動力學、藥效學、臨床研究、功效參數、適應症及用法、禁忌症、警告、預防措施、不良反應、劑量過量、適當劑量及投藥、如何供應、適當儲存條件、參考文獻及專利資訊。

在本發明之一特定實施例中，提供一種製品，其包含封裝在一起之包含處於醫藥學上可接受之載劑中之HER抑制劑或HER二聚合抑制劑之醫藥組合物及說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能夠回應HER抑制劑或HER二聚合抑制劑之癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3，及/或其中該患者之癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

在本發明該態樣之一可選實施例中，該製品在本文中進一步包含含有第二藥物之容器，其中HER抑制劑或HER二聚合抑制劑為第一藥物，且該製品進一步包含包裝插頁上之有效量用第二藥物治療患者之說明書。第二藥物可為彼等上述藥物中之任一者，其中例示性第二藥物為另一HER2抗體或化學治療劑。

在另一態樣中，本發明提供一種製品，該製品包含封裝在一起之包含處於醫藥學上可接受之載劑中之化學治療劑(諸如吉西他濱)的醫藥組合物及說明指示該化學治療劑或醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者的標籤，其中

該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

包裝插頁於容器上或與容器相關聯。合適容器包括(例如)瓶子、小瓶、注射器等。容器可由諸如玻璃或塑料之多種材料形成。該容器容納或含有有效治療癌症類型之組合物，可具有無菌存取口(例如，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針穿孔之塞子之小瓶)。組合物中至少一種活性劑為HER抑制劑、HER二聚合抑制劑或化學治療劑。標籤或包裝插頁指示組合物用於治療符合治療條件之個體之癌症，其中提供關於抑制劑與任何其他藥物之給藥量及間隔的特定準則。該製品可進一步包含另一容器，該另一容器包含醫藥學上可接受之稀釋劑緩衝液，諸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液及/或右旋糖溶液。該製品就商業及使用者觀點而言可進一步包括其他所需物質，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

許多此項技術中已知之替代實驗方法可被本發明之實務中在本文中特定描述之方法成功取代，如(例如)本發明相關之技術領域中可用之許多極佳手冊及教科書(例如 *Using Antibodies, A Laboratory Manual*, Harlow, E.及 Lane, D. 編，1999, Cold Spring Harbor Laboratory Press(例如 ISBN 0-87969-544-7)；Roe B. A.等人，1996, *DNA Isolation and Sequencing (Essential Techniques Series)*, John Wiley & Sons.(例如 ISBN 0-471-97324-0)；*Methods in Enzymology*：

Chimeric Genes and Proteins, 2000, J. Abelson, M. Simon, S. Emr, J. Thomer編, Academic Press; *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2001, 第3版, Joseph Sambrook及 Peter MacCallum, (Maniatis Cloning manual前身)(例如 ISBN 0-87969-577-3); *Current Protocols in Molecular Biology*, Fred M. Ausubel等人編, John Wiley & Sons(例如 ISBN 0-471-50338-X); *Current Protocols in Protein Science*, John E. Coligan編, John Wiley & Sons(例如 ISBN 0-471-11184-8); 及 *Methods in Enzymology: Guide to protein Purification*, 1990, 第182卷, Deutscher, M.P.編, Academic Press, Inc.(例如 ISBN 0-12-213585-7))中所述, 或如許多致力於描述分子生物學中之實驗方法之大學及商業網站中所述。

VII. 宣傳方法

本發明在本文中亦涵蓋一種宣傳HER抑制劑、HER二聚合抑制劑(例如帕妥珠單抗)或其醫藥學上可接受之組合物之方法, 該方法包含向目標對象推銷該抑制劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型(諸如卵巢癌)之患者群體之用途, 其中該患者之癌症以小於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3, 及/或其中該患者之癌症樣品以大於該癌症類型中之HER2:HER3表現之第25百分位數的水平表現HER2:HER3。

在又另一實施例中, 本發明提供一種宣傳化學治療劑(諸如吉西他濱)或其醫藥學上可接受之組合物之方法, 該

方法包含向目標對象推銷該化學治療劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型(諸如卵巢癌)之患者群體之用途，其中該患者之癌症以大於該癌症類型中之HER3表現之中值水平的水平表現HER3。

宣傳通常經由鑑別主辦者且控制訊息之非個人媒體傳播。出於本文之目的的宣傳包括公共場所、公共關係、置入性行銷(product placement)、贊助、包銷及促銷。該術語亦包括以任何印刷傳播媒體出現之主辦資訊公開啟事，其經設計以呼籲大眾勸說、告知、促進、激發或另外調整行為，從而朝向購買、支持或贊同本文中之本發明的有利模式。

宣傳及推銷本文中之診斷方法可以任何方式實現。用於傳送該等訊息之宣傳媒體之實例包括電視機、無線電、電影、雜誌、報紙、網際網路及廣告牌，包括以廣播媒體出現訊息之商業廣告節目。宣傳亦包括位於雜貨車座位、機場走道牆壁及公共汽車側面上之宣傳，或電話保持訊息或儲存PA系統(in-store PA system)中所聽到之宣傳，或任何可置放視覺或聽覺傳播之處。

推銷或宣傳方式之更特定實例包括電視機、無線電、電影、網際網路(諸如網路廣播及網路研討會)、意欲同時到達使用者之交互式電腦網路、固定或電子廣告牌及其他公共標誌、海報、傳統或電子文學(諸如雜誌及報紙)、其他媒體銷路、表現形式或個體接觸物，例如，電子郵件、電話、即時訊息、明信片、急件遞送人、集會，或運載郵

件、親自訪問等。

所使用之宣傳類型應視多種因素而定，例如待到達之目標對象之性質(例如醫院、保險公司、診所、醫生、護士及患者)以及成本因素及管理藥物及診斷法宣傳之相關司法法律及法規。宣傳可基於由服務相互作用及/或諸如使用者人口分布及地理位置之其他資料所確定之使用者特徵個別加以考慮或定製。

VIII. 材料寄存

已將下列融合瘤細胞株寄存於 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA之美國典型微生物菌種保藏中心(American Type Culture Collection) (ATCC)：

抗體名稱	ATCC編號	寄存日期
7C2	ATCC HB-12215	1996年10月17日
7F3	ATCC HB-12216	1996年10月17日
4D5	ATCC CRL 10463	1990年5月24日
2C4	ATCC HB-12697	1999年4月8日

本發明之其他詳情由下列非限定性實例說明。本說明書中之所有引用文獻之揭示內容以引用之方式明確併入本文中。

實例 1

帕妥珠單抗及吉西他濱用於抗鉑型卵巢癌、原發性腹膜癌或輸卵管癌之療法

該實例提供評估帕妥珠單抗與吉西他濱之組合在患有抗鉑型卵巢癌、原發性腹膜癌或輸卵管癌之患者中的安全性、耐受性及功效之III期臨床試驗的結果。帕妥珠單抗代

表新穎類別之抑制HER2與EGFR、HER3及HER4之二聚合且抑制經由MAP及P13激酶之信號轉導的稱為HER二聚合抑制劑(HDI)之靶向藥劑。帕妥珠單抗在二聚體-二聚體相互作用位點處結合，對HER2作為共受體之作用產生重要影響，阻止EGFR/HER2及HER3/HER2二聚合，且抑制多個HER介導之信號轉導路徑。

在所有患者中及在腫瘤含有指示HER2活化之標記物之患者子集中評估帕妥珠單抗及吉西他濱對無疾病進展存活(PFS)及總存活(OS)之影響。研究設計/方案展示於圖9中。

接受鉑基化學療法方案時或接受該療法6個月內已進展之患者符合該研究之條件。隨機分布患者以接受吉西他濱與帕妥珠單抗之組合或吉西他濱與安慰劑之組合。所治療之患者在本文中包括彼等在進入研究之前尚未接受針對抗鉑型疾病之先前補救方案治療的患者及彼等已接受一種針對抗鉑型疾病之先前方案的患者。

以1000 mg/m²在各21天週期之第1天及第8天時投與吉西他濱。首先經30分鐘輸注吉西他濱。就毒性而言，准許劑量減少。在21天週期之第1天投與安慰劑或帕妥珠單抗。向隨機分布以接受帕妥珠單抗之個體投與840 mg之初始負荷劑量(週期1)，接著在週期2及其後週期投與420 mg。週期1、週期2及其後週期向隨機分布以接受安慰劑之個體投與體積與投與帕妥珠單抗臂相同的安慰劑。無進展性疾病之個體接受治療歷時長達17個週期或1年。患者使標準吉西他濱劑量減小且由於血細胞減少症而保持劑量。對於任

何保持第1天吉西他濱劑量之情形而言，亦保持帕妥珠單抗。後續劑量為減小劑量且不增加。若在超過4種情形中需要減少劑量或保持劑量，或若保持劑量超過3週，則中止吉西他濱且在治療醫師及醫學監測器批准下，繼續盲藥物(blinded drug)直至疾病進展。若保持第8天吉西他濱劑量，則忽略第8天劑量且以下一個週期(先前週期的第22天)開始後續治療。

保持吉西他濱且如下表所推薦減小其劑量：

粒細胞絕對計數 ($\times 10^6/L$)		血小板計數($\times 10^6/L$)	全劑量%
>1000	及	>100,000	100
500-999	或	50,000-99,000	75
<500	或	<50,000	保持

需要減少劑量之任何患者之後續劑量為減小之劑量。若由於血細胞減少症而保持劑量超過3週，則認為患者具有不可接受之毒性且中止吉西他濱。若不存在其他額外等級III或IV之毒性，則根據醫師及醫學監測器之判斷繼續盲藥物。吉西他濱之血液學毒性與劑量投與之速率相關。不考慮總劑量，經30分鐘給予吉西他濱。根據治療醫師之判斷使用用於NCI-CTC等級2血細胞減少症之群落刺激劑。

提供與單一藥劑帕妥珠單抗交叉之選擇。在下一個週期投與840 mg負荷劑量，每21天之後續週期繼續420 mg。

在第2、4、6、8、12及17個週期結束時評定反應。使用實體腫瘤反應評估準則(Response Evaluation Criteria for Solid Tumors)(RECIST)由臨床評估及CT掃描或等效物評定

可量測疾病。根據CA-125之變化及疾病之臨床及放射性跡象評定患有可評估疾病之個體之反應。反應最初存檔後4-8週確認反應。評定下列結果量度。

第一功效終點

無疾病進展存活，在各臂中啟始所有個體之指定研究治療之後，使用RECIST或CA-125變化由研究者評定確定。

無疾病進展存活，在下列亞群之各臂中啟始指定研究治療後，使用RECIST或CA-125變化由研究者評定確定：

具有HER2活化之可偵測標記物之個體。

無HER2活化之可偵測標記物之個體。

第二功效終點

客觀反應(PR或CR)

反應持續時間

存活時間

4個月時無進展

在各臂中之所有個體及下列亞群中評定該等終點：

具有HER2活化之可偵測標記物之個體。

無HER2活化之可偵測標記物之個體。

為預防或治療可能的噁心及嘔吐，以血清素拮抗劑、類固醇及/或苯并二氮吡使患者預先用藥。為預防或治療可能的皮疹，使用標準痤瘡療法，包括局部及/或口服抗生素。其他可能的相伴藥物為第1天之前7天起且延續至跟蹤研究時段之最後一天的間隔期間個體使用之任何處方藥物或非處方製劑。用乙醯胺苯酚、苯海拉明或哌替啶在症狀

上治療經歷輸注相關之至 $>38.5^{\circ}\text{C}$ 之發燒或其他輸注相關症狀的個體。就NCI-CTC等級2血細胞減少症投與非實驗性造血生長因子。

就EGFR、HER2、HER3、兩種HER配位體(雙性調節素及 β 細胞調節素)及G6PDH(看家基因)由qRT-PCR分析獲自處於該臨床試驗之患者之福馬林固定石蠟包埋組織(FFPET)樣品。由TARGOS Molecular Pathology GmbH(Kassel, Germany)使用Roche Diagnostic實驗室批次套組進行qRT-PCR檢定。對臨床樣品進行qRT-PCR檢定之工作流程及分析描繪於本文之圖27及28中。

一式兩份進行EGFR、HER2、HER3、雙性調節素及 β 細胞調節素之mRNA分析。為允許定量資料分析，亦分析G6PDH作為內部參考。設計引子及探針以僅擴增mRNA而不擴增DNA。對各標記物及G6PDH以兩步程序分開進行qRT-PCR。

在第一步中，使用AMV逆轉錄酶及特異性引發各標記物及G6PDH由5 μl 總RNA來逆轉錄cDNA。黏接之溫度概況為10 min/ 25°C ，逆轉錄之溫度概況為60 min/ 42°C 且酶失活之溫度概況為5 min/ 94°C 。

在第二步中，使用LIGHTCYCLER®儀器(Roche Applied Science, Mannheim, Germany)由5 μl cDNA來擴增標記物及G6PDH mRNA之100-120個鹼基對之片段。使用特異性標記雜交探針對由螢光來偵測擴增子(螢光共振能量轉移之原理)。qRT-PCR所使用之所有試劑係來自Roche Applied

Science, Mannheim, Germany。最初變性之溫度概況為 10 min/95°C 及 45 個 (黏接為 10 sec/62°C，伸長為 9 sec/72°C，變性為 10 sec/95°C) 之週期。關於所使用之引子/探針序列，參見下表。

名稱	序列
G6PDH cDNA引子	5'-tgc gga tgt cag cca ctg tg-3'(SEQ ID NO: 23)
G6PDH前向引子	5'-ggg tgc atc ggg tga cct g-3'(SEQ ID NO: 24)
G6PDH反向引子	5'-agc cac tgt gag gcg gga-3'(SEQ ID NO: 25)
G6PDH Fluos探針	5'-ggt gtt ttc ggg cag aag gcc atc c-Fluos-3'(SEQ ID NO: 26)
G6PDH LC Red探針	5'-LCred 640-aac agc cac cag atg gtg ggg tag atc tt-3'(SEQ ID NO: 27)
EGFR cDNA引子	5'-ccg tca atg tag tgg gca cac-3'(SEQ ID NO: 28)
EGFR前向引子	5'-ggg tga gcc aag gga gtt tg-3'(SEQ ID NO: 29)
EGFR反向引子	5'-gca cac tgg ata cag ttg tct ggt c-3'(SEQ ID NO: 30)
EGFR LC Fluos探針	5'-tgt gca ggt gat gtt cat ggc ctg agg-Fluos-3'(SEQ ID NO: 31)
EGFR LC Red探針	5'-LCred 640-cac tct ggg tgg cac tgt atg cac tc-3'(SEQ ID NO: 32)
HER2 cDNA引子	5'-gga cct gcc tca ctt ggt tg-3'(SEQ ID NO: 33)
HER2前向引子	5'-cag gtg gtg cag gga aac ct-3'(SEQ ID NO: 34)
HER2反向引子	5'-ctg cct cac ttg gtt gtg agc-3'(SEQ ID NO: 35)
HER2 Fluos探針	5'-caa tgc cag cct gtc ctt cct gca g-Fluos-3'(SEQ ID NO: 36)
HER2 LC Red探針	5'-LCred 640-tat cca gga ggt gca ggg cta cgt gc-3'(SEQ ID NO: 37)
HER3 cDNA引子	5'-gtg tcc atg tga caa agc tta tcg-3'(SEQ ID NO: 38)
HER3前向引子	5'-gat ggg aag ttt gcc atc ttc g-3'(SEQ ID NO: 39)
HER3反向引子	5'-tct caa tat aaa cac ccc ctg aca g-3'(SEQ ID NO: 40)
HER3-Fluos探針	5'-aac acc aac tcc agc cac gct ctg-Fluos-3'(SEQ ID NO: 41)
HER3 LC Red探針	5'-LCred 640-agc tcc gct tga ctc agc tea ccg-3'(SEQ ID NO: 42)
雙性調節素cDNA引子	5'-ctt gtc gaa gtt tc-3'(SEQ ID NO: 43)
雙性調節素前向引子	5'-cca tag ctg cct tta tgt ctg c-3'(SEQ ID NO: 44)
雙性調節素反向引子	5'-ctt teg ttc ctc agc ttc tcc ttc-3'(SEQ ID NO: 45)
雙性調節素Fluos探針	5'-tga tcc tca cag ctg ttg ctg tta-Fluos-3'(SEQ ID NO: 46)
雙性調節素LC Red探針	5'-LC red tac agt cca gct tag aag aca ata cgt cag gaa-3'(SEQ ID NO: 47)
β細胞調節素cDNA引子	5'-gtc aac tct ctc aca c-3'(SEQ ID NO: 48)

β細胞調節素前向引子	5'-tct agg tgc ccc aag c-3'(SEQ ID NO: 49)
β細胞調節素反向引子	5'-tag cct tca tca cag aca cag-3'(SEQ ID NO: 50)
β細胞調節素Fluos探針	5'-gca tta ctg cat caa agg gag atg ccg-Fluos-3'(SEQ ID NO: 51)
β細胞調節素LC Red探針	5'-LCred 640-tcg tgg tgg ccg agc aga cg-3'(SEQ ID NO: 52)

各運行中包括校正子RNA(來自HT29細胞株之純RNA)以允許相對定量，使用陽性及陰性對照核實工作流程及試劑。

使用LIGHTCYCLER®相對定量軟體(Relative Quantification Software)(Roche Applied Science, Mannheim, Germany)根據製造商之說明書進行資料分析。結果為各患者樣品之各標記物之"校正子正規化比率"。

可由119位/130位患者(92%)獲得qRT-PCR值。動態範圍為：EGFR約10倍，HER2約10倍，HER3約20倍。使用"相對定量"之原理。參考同一樣品之看家基因之表現(參考=G6PDH)，相對定量樣品中之基因表現(mRNA水平)。隨後使該相對基因表現正規化為校正子中之相對基因表現。對各標記物而言，如下計算"校正子正規化比率"：

$$\text{校正子正規化比率} = \frac{\frac{\text{標靶濃度}}{\text{參考濃度}} \quad (\text{樣品})}{\frac{\text{標靶濃度}}{\text{參考濃度}} \quad (\text{校正子})}$$

標靶=所關注之基因

參考=看家基因(G6PDH)

校正子=HT29結腸直腸癌細胞株RNA

在7.1個月中值跟蹤研究(範圍為1.3-20.3)時評定功效結果。此時，存在101個無疾病進展存活(PFS)事件。圖10A及圖10B表示經吉西他濱與安慰劑或吉西他濱與帕妥珠單抗治療之所有患者之PFS。p值已由隨機分層因子(randomization stratification factor)(ECOG PS、抗鉑型疾病之先前方案的數目及疾病可量測性)使用分層Cox模型及分層對數秩檢驗估計。

預測pHER2狀態之PFS展示於圖11A及圖11B中，其比較預測pHER2為陰性之患者與預測pHER2為陽性之患者的PFS。使用80個市售卵巢癌樣品開發預測性算法。HER2、HER3及雙性調節素表現之組合預測30%最高pHER2樣品，準確性為80%。若雙性調節素、HER2及HER3大於及等於第70百分位數，則預測患者pHER2為陽性，其他視為pHER2為陰性。

圖12A及圖12B表示基於qRT-PCR EGFR界點之PFS；圖13A及圖13B表示基於qRT-PCR HER2界點之PFS；且圖14A及圖14B表示由qRT-PCR HER3界點而得之PFS。具有低HER3之患者在PFS方面具有較佳結果。該等資料更詳細地展示於圖15A及圖15B中。如彼等圖所示，帕妥珠單抗活性在患有低HER3表現腫瘤之患者中最大且傾向於隨HER3基因表現水平降低而增加。該等圖包括如qRT-PCR檢定中所定量之HER3表現的絕對值。

圖16A及圖16B說明由HER3亞群而得之PFS。該等資料展示在患有高HER3表現腫瘤之患者中帕妥珠單抗與吉西

他濱之間可存在負相互作用。

圖 17A 及圖 17B 為概述針對高 HER3 表現與低 HER3 表現由 HER3 亞群而得之 PFS 之資料的其他表。圖 18A 及圖 18B 表示由 HER3 亞群而得之基於 4 個不同百分位數之 PFS。HER3 表現在 0 至小於第 50 百分位數及尤其 0 至第 25 百分位數之患者就 PFS 而言具有改良之風險比率 (HR)。(較低 HR 與如由 PFS 量測之改良結果相關)。

圖 19A 及圖 19B 提供展示 50/50 分割下由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS 的資料。與高 HER3 表現患者(大於及等於第 50 百分位數)相比，低 HER3 表現患者(小於第 50 百分位數)PFS 之持續時間以月量度增加。該相關性在圖 20A 及圖 20B 中更明顯，其中低 HER3 表現患者以小於第 25 百分位數之患者表徵且高 HER3 表現患者為大於或等於第 25 百分位數之患者。兩個診斷亞群之間的 HR 之差異的 p 值為 0.0007。第 25 百分位數等於 1.19 CNR。

初步資料可用於總存活(OS)。所有患者之該等資料提供於圖 21A 及圖 21B 中。圖 22A 及圖 22B 比較由 HER3 qRT-PCR 而得之 OS，其比較低 HER3 表現(小於第 50 百分位數)與高 HER3 表現(大於或等於第 50 百分位數)。

圖 23A 及圖 23B 說明 50/50 分割下、高風險比率對低風險比率(HR)之由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS。包括 5% 至 95% 之百分位數之 PFS 全集展示於圖 24A 及圖 24B 中。

HER3 校正正規化比率表現範圍展示於圖 26 中。該範圍為約 20-80 倍。

相對於HER2:HER3比率進一步評定PFS結果。該等進一步分析之結果繪示於圖29至圖31中。如該等圖所示，帕妥珠單抗活性在具有高HER2:HER3比率之患者中最大。

結論

帕妥珠單抗活性在患有HER3低表現癌症之患者中最大且傾向於隨HER3基因表現水平降低而增加。帕妥珠單抗活性在患有高HER2:HER3表現癌症之患者中亦最大且傾向於隨HER2:HER3基因表現水平增加而增加。大多數回應帕妥珠單抗療法之具有低HER3表現水平之患者亦具有高HER2:HER3比率。

在患有HER3高表現腫瘤之患者中帕妥珠單抗與吉西他濱之間可存在負相互作用。

在化學療法之背景下，HER3表現可為預後性的，其中高表現腫瘤較佳。

結果令人驚訝且意外。

實例2

帕妥珠單抗用於晚期、難治癒或復發性卵巢癌之療法

該實例係關於卵巢癌患者之單臂開放性多中心II期臨床試驗。用人化HER2抗體帕妥珠單抗治療患有晚期、難治癒或復發性卵巢癌之患者。

使患有復發卵巢癌之患者接受用"低劑量"單一藥劑帕妥珠單抗之療法；以840 mg負荷劑量，接著每3週420 mg劑量來靜脈內(IV)投與帕妥珠單抗。

用"高劑量"帕妥珠單抗治療第二組患者；每3週1050 mg

以單一藥劑投與。

在第2、4、6、8、12及16個週期後獲得腫瘤評定。由RECIST而得之反應速率(RR)為第一終點。另外評估安全性及耐受性。第二終點為TTP、反應持續時間、存活持續時間、藥物動力學(PK)及FOSI(第2組)。

對存檔福馬林固定石蠟包埋組織進行qRT-PCR檢定。可由46位/117位患者獲得檢定資料。作為最佳分割而選擇之25/75下由HER3 qRT-PCR而得之PFS及OS展示於圖25中。此處，高HER3表現子大於及等於第75百分位數，而低HER3表現子小於第75百分位數。

在PFS及OS方面，經帕妥珠單抗治療之具有低HER3表現之患者再次顯示較佳結果。

實例3

帕妥珠單抗用於抗鉑型復發性卵巢癌之療法

在該隨機開放性II期臨床研究中，在患有鉑敏感復發性卵巢癌之患者中研究帕妥珠單抗治療與卡鉑基標準化學療法之組合之功效及安全性。標靶樣品之大小為100-500位個體。標靶樣品大小為148。

包括標準：

- 組織學上確認之卵巢癌、原發性腹膜癌或輸卵管癌；
- 僅1種須為鉑基之先前方案；
- 由完成鉑基化學療法後超過6個月之無疾病進展間隔所界定之鉑敏感疾病。

排除標準：

- 先前放射療法；
- 用抗癌疫苗或任何靶向療法之先前治療；
- 研究4週內大的外科損傷或外傷；
- 中樞神經系統轉移病史或跡象。

結果展示於圖32-35中。該試驗之結果進一步確認帕妥珠單抗活性在患有HER3低表現癌症之患者中最大且傾向於隨HER3基因表現水平降低而增加。帕妥珠單抗活性在患有高HER2:HER3表現癌症之患者中亦最大且傾向於隨HER2:HER3基因表現水平增加而增加。大多數回應帕妥珠單抗療法之具有低HER3表現水平之患者亦具有高HER2:HER3比率。

在患有HER3高表現腫瘤之患者中帕妥珠單抗與吉西他濱之間可存在負相互作用。

在化學療法之背景下，HER3表現可為預後性的，其中高表現腫瘤較佳。

實例4

患有抗鉑型上皮卵巢癌之患者在帕妥珠單抗+吉西他濱對吉西他濱+安慰劑之II期研究中的HER路徑基因表現分析

背景：患有抗鉑型(CDDP-R)上皮卵巢癌(EOC)之患者中之帕妥珠單抗+吉西他濱對吉西他濱對安慰劑的隨機II期試驗(N=130)提出帕妥珠單抗可延長PFS(HR 0.66, 95% CI 0.43, 1.03)且PFS持續時間可能與HER3基因表現相關(參見實例2及3)。

方法：將患有CDDP-R EOC之患者隨機分布於吉西他濱

+帕妥珠單抗或吉西他濱+安慰劑。給予治療直至進展或直至不可接受之毒性。第一終點為PFS。第二目標為以HER2活化相關表現概況評估功效結果。使用如上所述預成形之存檔福馬林固定石蠟包埋組織(FFPET)之qRT-PCR檢定允許HER路徑基因(包括HER1、HER2、HER3、雙性調節素及β細胞調節素)之mRNA表現分析。結果由低基因表現(<中值)及高基因表現(≥中值)描述。

結果：在5個所測試之生物標記物中，基於低對高結果僅HER3基因表現提出具有差異PFS及OS結果之患者亞群。所有患者且由qRT-PCR HER3結果而得之最終PFS及OS結果如下：

	吉西他濱+ 帕妥珠單抗	吉西他濱+ 安慰劑	風險比率 (95% CI)
PFS(中值月數)			
所有患者(n=130)	2.9	2.6	0.66* (0.43, 1.03)
低HER3(N=61)	5.3	1.4	0.34 (0.18, 0.63)
高HER3(N=61)	2.8	5.5	1.48 (0.83, 2.63)
OS(中值月數)			
所有患者(n=130)	13.0	13.1	0.91* (0.58, 1.41)
低HER3(N=61)	11.8	8.4	0.62 (0.35, 1.11)
高HER3(N=61)	16.1	18.2	1.59 (0.8, 3.2)

*由ECOG狀態、疾病可量測性及CDDP-R疾病之先前方案之數目分層所有患者分析。

結論：該探索性分析提出低腫瘤HER3基因表現水平可用作患有CDDP-R EOC之患者之預後性指示。帕妥珠單抗治療可有助於腫瘤具有低HER3基因表現之患者之吉西他濱的臨床活性。該等資料提出可使用HER3 mRNA表現水平作為預後性及預測性診斷生物標記物。

【圖式簡單說明】

圖 1 提供 HER2 蛋白質結構及其細胞外域之域 I-IV (分別為 SEQ ID No. 19-22) 之胺基酸序列的示意圖。

圖 2A 及 2B 繪示鼠類單株抗體 2C4 之可變輕鏈 (V_L) (圖 2A) 及可變重鏈 (V_H) (圖 2B) 域 (分別為 SEQ ID No. 1 及 SEQ ID No. 2)；變異 574/帕妥珠單抗之 V_L 域及 V_H 域 (分別為 SEQ ID No. 3 及 SEQ ID No. 4) 及人類 V_L 及 V_H 一致構架 (hum $\kappa 1$ ，輕鏈 κ 亞群 I；hum III，重鏈亞群 III) (分別為 SEQ ID No. 5 及 SEQ ID No. 6) 之胺基酸序列之比對。星號指出帕妥珠單抗與鼠類單株抗體 2C4 之可變域之間的差異或帕妥珠單抗與人類構架之可變域之間的差異。互補判定區 (CDR) 在方括號中。

圖 3A 及 3B 展示帕妥珠單抗輕鏈 (圖 3A；SEQ ID NO. 13) 及重鏈 (圖 3B；SEQ ID No. 14) 之胺基酸序列。CDR 以粗體展示。輕鏈及重鏈之計算分子質量為 23,526.22 Da 及 49,216.56 Da (半胱胺酸呈還原形式)。碳水化合物部分與重鏈之 Asn 299 連接。

圖 4 示意性繪示 2C4 在 HER2 之異源二聚結合位點處之結合，藉此阻止與活化 EGFR 或 HER3 之異源二聚合。

圖 5 繪示 HER2/HER3 與 MAPK 及 Akt 路徑之偶合。

圖 6 比較曲妥珠單抗與帕妥珠單抗之多種活性。

圖 7A 及 7B 分別展示曲妥珠單抗輕鏈 (圖 7A；SEQ ID No. 15) 及重鏈 (圖 7B；SEQ ID No. 16) 之胺基酸序列。

圖 8A 及 8B 分別繪示變異帕妥珠單抗輕鏈序列 (圖 8A；

SEQ ID No. 17)及變異帕妥珠單抗重鏈序列(圖8B; SEQ ID No. 18)。

圖9繪示實例1中涉及經吉西他濱與安慰劑或吉西他濱與帕妥珠單抗治療之患有抗鉑型卵巢癌、原發性腹膜癌或輸卵管癌之患者的臨床試驗的研究設計/方案。

圖10A繪示來自實例1中之研究之所有患者的無疾病進展存活(PFS)。

圖10B為圖10A之更新方案。PFS已由隨機分層因子(ECOG PS、抗鉑型疾病之先前方案的數目及疾病可量測性)使用分層Cox模型及分層對數秩檢驗估計。

圖11A表示由預測pHER2狀態而得之PFS。

圖11B為圖11A之更新方案。

圖12A表示由qRT-PCR EGFR(HER1)界點而得之PFS。

圖12B為由wRT-PCR EGFR(HER1)界點而得之PFS的另一表示，亦指示各EGFR界點值處HER1(高)及HER1(低)組中之個體的數目。

圖13A表示由qRT-PCR HER2界點而得之PFS。

圖13B為由qRT-PCR HER2界點而得之PFS的另一表示，亦指示各HER2界點值處HER2(高)及HER2(低)組中之個體的數目。

圖14A表示由qRT-PCR HER3界點而得之PFS。

圖14B為由qRT-PCR HER3界點而得之PFS的另一表示，亦指示各HER3界點值處HER3(高)及HER3(低)組中之個體的數目。

圖 15A 展示由 HER3 亞群而得之 PFS。帕妥珠單抗活性在患有低 HER3 表現腫瘤之患者中最大且傾向於隨 HER3 基因表現水平降低而增加。

圖 15B 為由 qRT-PCR HER3 水平而得之 PFS 的另一表示。

圖 16A 演示由 HER3 亞群而得之 PFS。該資料展示在患有 HER3 高表現腫瘤之患者中帕妥珠單抗與吉西他濱之間可存在負相互作用。

圖 16B 為由 qRT-PCR HER3 水平而得之 PFS 的另一表示。該資料進一步證實在患有 HER3 高表現腫瘤之患者中帕妥珠單抗與吉西他濱之間可存在負相互作用。

圖 17A 概述由 HER3 亞群 (高 HER3 表現亞群及低 HER3 表現亞群) 而得之 PFS。

圖 17B 為圖 17A 中所示之由 qRT-PCR HER3 水平而得之 PFS 的更新方案。

圖 18A 進一步演示由 HER3 亞群而得之 PFS。

圖 18B 為圖 18A 中所示之由 HER3 表現四分位數而得之 PFS 分析的更新方案。

圖 19A 展示 50/50 分割 (小於第 50 百分位數之低 HER3 表現及大於或等於第 50 百分位數之高 HER3 表現) 下由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS。

圖 19B 為圖 19A 中所示之 50/50 分割下由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS 的更新方案。

圖 20A 展示 25/75 分割 (小於第 25 百分位數之低 HER3 表現及大於或等於第 25 百分位數之高 HER3 表現) 下由 HER3

qRT-PCR而得之PFS。

圖 20B 為圖 20A 中所示之 25/75 分割下由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS 的更新方案。

圖 21A 展示所有患者之總存活 (OS) 之初步資料。資料係基於 46/130 個事件。

圖 21B 為由隨機分層因子 (ECOG PS、抗鉑型疾病之先前方案之數目及疾病可量測性) 使用分層 Cox 模型及分層對數秩檢驗估計之 OS 資料的更新圖。

圖 22A 說明由 qRT-PCR 中 HER3 而得之 OS 的初步資料。資料係基於 43/119 個事件。

圖 22B 為 50/50 分割 (小於第 50 百分位數之低 HER3 表現及大於或等於第 50 百分位數之高 HER3 表現) 下由 qRT-PCR 中 HER3 而得之 OS 資料的更新圖。

圖 23A 演示比較高對低風險比率 (HR) 之由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS。

圖 23B 為比較高對低風險比率 (HR) 之由 HER3 qRT-PCR 而得之 PFS 的更新圖。

圖 24A 展示實例 1 中抗帕妥珠單抗鉑型卵巢癌由 qRT-PCR HER3 而得之 PFS 的全集資料。註：未調整 HR 及對數秩 p 值以進行多重比較。

圖 24B 為抗帕妥珠單抗鉑型卵巢癌由 qRT-PCR HER3 而得之 PFS 的另一套資料。正如圖 24A 中般，未調整 HR 及對數秩 p 值以進行多重比較。

圖 25 展示如實例 2 中用單一藥劑帕妥珠單抗治療之患者

由HER3 qRT-PCR而得的PFS及OS。高HER3為大於及等於第75百分位數之患者，低HER3之患者為小於第75百分位數之患者。低表現患者之中值存活為3.31年(95% CI, 1.93-4.69)，高HER3表現患者之中值存活為1.80年(95% CI, 0.83-2.78)。

圖26A展示HER3校正正規化比率；表現範圍為約20-80倍。對大部分樣品而言，CP介於約23與30之間。

圖26B為展示HER3校正正規化比率之另一圖；表現範圍為約20-80倍。對大部分樣品而言，CP介於約23與30之間。

圖27展示LIGHTCYCLER® 2.0帕妥珠單抗qRT-PCR活體外診斷(IVD)檢定工作流程。

圖28展示用1個標記物及參比之帕妥珠單抗IVD檢定工作流程及分析。

圖29A提供實例1中所治療之患者由HER2:HER3百分位數而得的PFS。

圖29B為展示實例1中所治療之患者由HER2:HER3百分位數而得的PFS的另一圖。註：未調整HR及對數秩p值以進行多重比較。

圖30A使用特定針對具有高於中值或高於第75百分位數之HER2與HER3比率的患者之卡本麥爾曲線圖(Kaplan Meyer plot)評估實例1由HER2:HER3比率而得的PFS。

圖30B為展示使用特定針對具有高於中值或高於第75百分位數之HER2與HER3比率的患者之卡本麥爾曲線圖針對

實例 1 由 HER2:HER3 比率而得的 PFS 的更新圖。

圖 31A 評定亦來自實例 1 由 HER2:HER3 比率四分位數亞群而得的 PFS。

圖 31B 為由 HER2/HER3 四分位數復發性卵巢癌而得之 PFS 分析的另一概述。

圖 32 分別展示如實例 3 中所述治療之具有小於中值及等於或大於中值之 HER3 水平之患有卵巢癌之個體的 PFS 卡本麥爾曲線圖。

圖 33 分別展示具有小於中值及等於或大於中值之 HER3 水平的患者群組中經化學療法或帕妥珠單抗治療之患有卵巢癌之個體的 PFS 卡本麥爾曲線圖。

圖 34 分別展示小於中值及等於或大於中值之 HER2/HER3 比率的經帕妥珠單抗與化學療法或經帕妥珠單抗單獨治療之患有卵巢癌之個體的 PFS 卡本麥爾曲線圖。

圖 35 分別展示小於中值及等於或大於中值之 HER2/HER3 比率的經化學療法或帕妥珠單抗治療之患有卵巢癌之個體的 PFS 卡本麥爾曲線圖。

五、中文發明摘要：

本申請案描述低HER3的用途，其係用作用諸如帕妥珠單抗(pertuzumab)之HER抑制劑治療患者之選擇標準。

本申請案亦描述高HER2:HER3比率的用途，其係用作用諸如帕妥珠單抗之HER抑制劑治療諸如卵巢癌患者之癌症患者之選擇標準。

另外，本申請案描述高HER3的用途，其係用作用例如吉西他濱(gemcitabine)之化學治療劑治療癌症患者之選擇標準。

六、英文發明摘要：

The present application describes the use of low HER3 as a selection criterion for treating patients with a HER inhibitor, such as pertuzumab.

It also describes the use of high HER2:HER3 ratio as a selection criterion for treating cancer patients, such as ovarian cancer patients, with a HER inhibitor, such as pertuzumab.

In addition, the application describes the use of high HER3 as a selection criterion for treating cancer patients with a chemotherapeutic agent, for instance gemcitabine.

十、申請專利範圍：

1. 一種治療患有能對HER二聚合抑制劑反應之癌症類型之患者的方法，其包含向該患者投與治療有效量之HER二聚合抑制劑，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值。
2. 如請求項1之方法，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之第25百分位數。
3. 如請求項1或2之方法，其中HER3表現已使用聚合酶鏈反應(PCR)測定。
4. 如請求項3之方法，其中該PCR為定量即時(real time)聚合酶鏈反應(qRT-PCR)。
5. 如前述請求項中任一項之方法，其中該HER二聚合抑制劑為HER2二聚合抑制劑。
6. 如前述請求項中任一項之方法，其中該HER二聚合抑制劑抑制HER異二聚合。
7. 如前述請求項中任一項之方法，其中該HER二聚合抑制劑為抗體。
8. 如請求項7之方法，其中該抗體與一種選自由EGFR、HER2及HER3組成之群之HER受體結合。
9. 如請求項8之方法，其中該抗體與HER2結合。
10. 如請求項9之方法，其中該HER2抗體與HER2細胞外域之域II結合。
11. 如請求項10之方法，其中該抗體與HER2細胞外域之域I、II及III之間的一個接合點結合。

12. 如請求項 10 之方法，其中該 HER2 抗體包含分別在 SEQ ID No. 3 及 SEQ ID No. 4 中之可變輕鏈胺基酸序列及可變重鏈胺基酸序列。
13. 如請求項 12 之方法，其中該 HER2 抗體為帕妥珠單抗 (pertuzumab)。
14. 如請求項 7 至 13 中任一項之方法，其中該 HER 抗體為裸抗體。
15. 如請求項 7 至 14 中任一項之方法，其中該 HER 抗體為完整抗體。
16. 如請求項 7 至 14 中任一項之方法，其中該 HER 抗體為包含抗原結合區之抗體片段。
17. 如前述請求項中任一項之方法，其中該癌症類型係選自由卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌 (MBC)、非小細胞肺癌 (NSCLC)、前列腺癌及結腸直腸癌組成之群。
18. 如請求項 17 之方法，其中該癌症類型為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。
19. 如請求項 18 之方法，其中該癌症類型為抗鉑型。
20. 如請求項 18 之方法，其中該癌症類型為晚期 (advanced)、難治癒 (refractory) 或復發性卵巢癌。
21. 如前述請求項中任一項之方法，其延長該患者之無疾病進展存活 (PFS)。
22. 如前述請求項中任一項之方法，其延長該患者之總存活 (OS)。

23. 如前述請求項中任一項之方法，其中該HER二聚合抑制劑以單一抗腫瘤劑投與。
24. 如請求項1至22中任一項之方法，其包含向該患者投與第二治療劑。
25. 如請求項24之方法，其中該第二治療劑係選自由以下組成之群：化學治療劑、HER抗體、針對腫瘤相關抗原之抗體、抗激素化合物、保心藥、細胞激素(cytokine)、EGFR靶向藥物、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、COX抑制劑、非類固醇抗發炎藥物、法呢基(farnesyl)轉移酶抑制劑、結合癌胚(oncofetal)蛋白質CA 125之抗體、HER2疫苗、HER靶向療法、Raf或ras抑制劑、脂質體多柔比星(doxorubicin)、拓朴替康(topotecan)、紫杉烷(taxane)、雙重酪胺酸激酶抑制劑、TLK286、EMD-7200、治療噁心之藥物、預防或治療皮疹之藥物或標準瘡癬療法、治療或預防腹瀉之藥物、降低體溫之藥物及造血生長因子。
26. 如請求項25之方法，其中該第二治療劑為化學治療劑。
27. 如請求項26之方法，其中該化學治療劑係選自由吉西他濱(gemcitabine)、卡鉑(carboplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多烯紫杉醇(docetaxel)、拓朴替康及脂質體多柔比星組成之群。
28. 如請求項26之方法，其中該化學治療劑為抗代謝物。
29. 如請求項28之方法，其中該抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。

30. 如請求項24之方法，其中該第二治療劑為曲妥珠單抗 (trastuzumab)、埃羅替尼 (erlotinib) 或貝伐單抗 (bevacizumab)。
31. 如前述請求項中任一項之方法，其中該患者之癌症表現 HER2:HER3 之量大於該癌症類型中 HER2:HER3 表現之第 25 百分位數。
32. 如請求項31之方法，其中該患者之癌症表現 HER2:HER3 之量大於該癌症類型中 HER2:HER3 表現之中值。
33. 如請求項32之方法，其中該患者之癌症表現 HER2:HER3 之量大於該癌症類型中 HER2:HER3 表現之第 75 百分位數。
34. 一種治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者的方法，其包含向該患者投與治療有效量之帕妥珠單抗，其中該患者之癌症表現 HER3 之量小於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中 HER3 表現之中值。
35. 如請求項34之方法，其中該患者之癌症表現 HER3 之量小於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中 HER3 表現之第 25 百分位數。
36. 如請求項34或35之方法，其中 HER3 表現已使用聚合酶鏈反應 (PCR) 測定。
37. 如請求項36之方法，其中該 PCR 為定量即時聚合酶鏈反應 (qRT-PCR)。
38. 如請求項34至37中任一項之方法，其延長無疾病進展存活 (PFS)。

39. 如請求項34至38中任一項之方法，其延長總存活(OS)。
40. 如請求項34至39中任一項之方法，其中該患者患有卵巢癌。
41. 如請求項40之方法，其中該卵巢癌為抗鉑型卵巢癌。
42. 如請求項40或41之方法，其中該患者患有晚期、難治癒或復發性卵巢癌。
43. 如請求項34至42中任一項之方法，其進一步包含向該患者投與化學治療劑。
44. 如請求項43之方法，其中該化學治療劑係選自由吉西他濱、卡鉑、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、拓朴替康及脂質體多柔比星組成之群。
45. 如請求項44之方法，其中該化學治療劑為抗代謝物化學治療劑。
46. 如請求項45之方法，其中該抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。
47. 如請求項34至46中任一項之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數。
48. 如請求項47之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之中值。
49. 如請求項48之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中HER2:HER3表現之第75百分位數。
50. 一種選擇用於患有能對HER二聚合抑制劑反應之癌症類

型之患者療法的方法，其包含測定該患者癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值，則選擇HER二聚合抑制劑作為該療法。

51. 一種製品，其包含封裝在一起一種包含HER二聚合抑制劑於醫藥學上可接受之載劑中之醫藥組合物及一個說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能對HER二聚合抑制劑反應之癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值。
52. 一種製造HER二聚合抑制劑或其醫藥組合物之方法，其包含將該抑制劑或醫藥組合物與一個說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能對HER二聚合抑制劑反應之癌症類型之患者的標籤組合於封裝中，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值。
53. 一種宣傳HER二聚合抑制劑或其醫藥學上可接受之組合物之方法，其包含向目標對象推銷該HER二聚合抑制劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者群體之用途，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值。
54. 一種選擇用於患有能對化學治療劑反應之癌症類型之患者療法的方法，其包含測定該患者癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品表現HER3之量大於該癌症類型中

HER3表現之中值，則選擇化學治療劑作為該療法。

55. 如請求項54之方法，其中該癌症類型為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。
56. 如請求項55之方法，其中該癌症類型為抗鉑型卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。
57. 如請求項55之方法，其中該癌症類型為晚期、難治癒或復發性卵巢癌。
58. 如請求項54至57中任一項之方法，其中該化學治療劑為抗代謝物。
59. 如請求項58之方法，其中該抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。
60. 一種治療患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患者的方法，其包含向該患者投與治療有效量之HER抑制劑，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數。
61. 如請求項60之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之中值。
62. 如請求項61之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第75百分位數。
63. 如請求項60至62中任一項之方法，其中HER2及HER3表現已使用聚合酶鏈反應(PCR)測定。
64. 如請求項63之方法，其中該PCR為定量即時聚合酶鏈反應(qRT-PCR)。

65. 如請求項 60 至 64 中任一項之方法，其中該 HER 抑制劑為 HER 二聚合抑制劑。
66. 如請求項 60 至 65 中任一項之方法，其中該 HER 抑制劑為 HER2 抑制劑。
67. 如請求項 65 或 66 之方法，其中該 HER 二聚合抑制劑為 HER2 二聚合抑制劑。
68. 如請求項 65 之方法，其中該 HER 抑制劑抑制 HER 異二聚合。
69. 如請求項 60 至 68 中任一項之方法，其中該 HER 抑制劑為抗體。
70. 如請求項 69 之方法，其中該抗體與一種選自由 EGFR、HER2 及 HER3 組成之群之 HER 受體結合。
71. 如請求項 70 之方法，其中該抗體與 HER2 結合。
72. 如請求項 71 之方法，其中該 HER2 抗體與 HER2 細胞外域之域 II 結合。
73. 如請求項 71 之方法，其中該抗體與 HER2 細胞外域之域 I、II 及 III 之間的一個接合點結合。
74. 如請求項 73 之方法，其中該 HER2 抗體包含分別在 SEQ ID No. 3 及 SEQ ID No. 4 中之可變輕鏈胺基酸序列及可變重鏈胺基酸序列。
75. 如請求項 74 之方法，其中該 HER2 抗體為帕妥珠單抗。
76. 如請求項 69 至 75 中任一項之方法，其中該 HER 抗體為裸抗體。
77. 如請求項 69 至 76 中任一項之方法，其中該 HER 抗體為完

整抗體。

78. 如請求項69至76中任一項之方法，其中該HER抗體為包含抗原結合區之抗體片段。
79. 如請求項60至78中任一項之方法，其中該癌症類型係選自由卵巢癌、腹膜癌、輸卵管癌、轉移性乳癌(MBC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、前列腺癌及結腸直腸癌組成之群。
80. 如請求項79之方法，其中該癌症類型為卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌。
81. 如請求項80之方法，其中該癌症類型為抗鉑型。
82. 如請求項80之方法，其中該癌症類型為晚期、難治癒或復發性卵巢癌。
83. 如請求項60至82中任一項之方法，其延長該患者之無疾病進展存活(PFS)。
84. 如請求項60至83中任一項之方法，其延長該患者之總存活(OS)。
85. 如請求項60至84中任一項之方法，其中該HER抑制劑以單一抗腫瘤劑投與。
86. 如請求項60至84中任一項之方法，其包含向該患者投與第二治療劑。
87. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑係選自由以下組成之群：化學治療劑、HER抗體、針對腫瘤相關抗原之抗體、抗激素化合物、保心藥、細胞激素、EGFR靶向藥物、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、COX抑制

劑、非類固醇抗發炎藥物、法呢基轉移酶抑制劑、結合癌胚蛋白質CA 125之抗體、HER2疫苗、HER靶向療法、Raf或ras抑制劑、脂質體多柔比星、拓朴替康、紫杉烷、雙重酪胺酸激酶抑制劑、TLK286、EMD-7200、治療噁心之藥物、預防或治療皮疹之藥物或標準痊癒療法、治療或預防腹瀉之藥物、降低體溫之藥物及造血生長因子。

88. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為化學治療劑。
89. 如請求項88之方法，其中該化學治療劑係選自由吉西他濱、卡鉑、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、拓朴替康及脂質體多柔比星組成之群。
90. 如請求項88之方法，其中該化學治療劑為抗代謝物。
91. 如請求項90之方法，其中該抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。
92. 如請求項86之方法，其中該第二治療劑為曲妥珠單抗、埃羅替尼或貝伐單抗。
93. 一種治療患有卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌之患者的方法，其包含向該患者投與治療有效量之帕妥珠單抗，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中HER2:HER3表現之第25百分位數。
94. 如請求項93之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中HER2:HER3表現之中值。
95. 如請求項94之方法，其中該患者之癌症表現HER2:HER3

之量大於卵巢癌、腹膜癌或輸卵管癌中HER2:HER3表現之第75百分位數。

96. 如請求項93至95中任一項之方法，其中HER2及HER3表現已使用聚合酶鏈反應(PCR)測定。

97. 如請求項96之方法，其中該PCR為定量即時聚合酶鏈反應(qRT-PCR)。

98. 如請求項93至97中任一項之方法，其延長無疾病進展存活(PFS)。

99. 如請求項93至98中任一項之方法，其延長總存活(OS)。

100. 如請求項93至99中任一項之方法，其中該患者患有卵巢癌。

101. 如請求項100之方法，其中該卵巢癌為抗鉑型卵巢癌。

102. 如請求項100或101之方法，其中該患者患有晚期、難治癒或復發性卵巢癌。

103. 如請求項93至102中任一項之方法，其進一步包含向該患者投與化學治療劑。

104. 如請求項103之方法，其中該化學治療劑係選自由吉西他濱、卡鉑、太平洋紫杉醇、多烯紫杉醇、拓朴替康及脂質體多柔比星組成之群。

105. 如請求項103之方法，其中該化學治療劑為抗代謝物化學治療劑。

106. 如請求項105之方法，其中該抗代謝物化學治療劑為吉西他濱。

107. 一種選擇用於患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患

者療法的方法，其包含測定該患者癌症樣品中之HER2及HER3表現，及若該癌症樣品表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數，則選擇HER抑制劑作為該療法。

108. 一種製品，其包含封裝在一起一種包含HER抑制劑於醫藥學上可接受之載劑中之醫藥組合物及一個說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患者的標籤，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數。

109. 一種製造HER抑制劑或其醫藥組合物之方法，其包含將該抑制劑或醫藥組合物與一個說明指示該抑制劑或醫藥組合物用於治療患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患者的標籤組合於封裝中，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數。

110. 一種宣傳HER抑制劑或其醫藥學上可接受之組合物之方法，其包含向目標對象推銷該HER抑制劑或其醫藥組合物用於治療患有某癌症類型之患者群體之用途，其中該患者之癌症表現HER2:HER3之量大於該癌症類型中HER2:HER3表現之第25百分位數。

111. 一種治療患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患者的方法，其包含向該患者投與治療有效量之HER抑制劑，其中該患者之癌症表現HER3之量小於該癌症類型中

HER3表現之中值。

112. 一種選擇用於患有能對HER抑制劑反應之癌症類型之患者療法的方法，其包含測定該患者癌症樣品中之HER3表現，及若該癌症樣品表現HER3之量小於該癌症類型中HER3表現之中值，則選擇HER抑制劑作為該療法。

113. 如請求項111或112之方法，其中該HER抑制劑為HER2抑制劑。

十一、圖式：

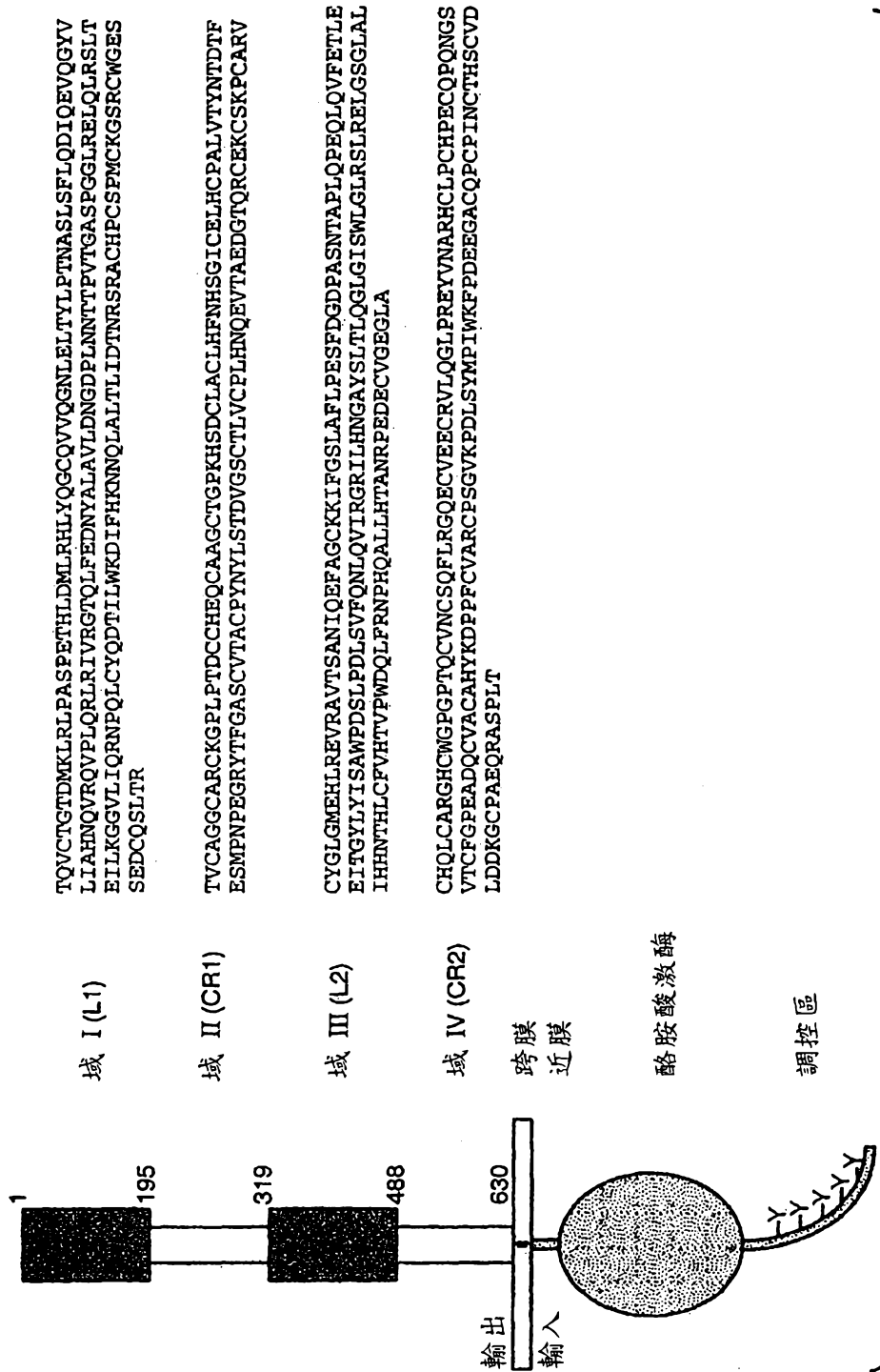


圖 I

可變輕鏈

	10	20	30	40
2C4	DTVMTQSHKIMSTSVGDRVSITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQRP	
	**	**** *	*	*
574	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQKP	
		* ** **		
hum κI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	[RASQISNYLA]	WYQQKP	
	50	60	70	80
2C4	GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDFTF	TISSVQA	
	**	* *	* **	**
574	GKAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSRFGSGSGTDFTL	TISSLQP	
	* *****			
hum κI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRFGSGSGTDFTL	TISSLQP	
	90	100		
2C4	EDLAVYYC [QYYIYPYT]	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:1)		
	**	* *		
574	EDFATYYC [QYYIYPYT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:3)		
	*** *			
hum κI	EDFATYYC [QYNSLPWT]	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:5)		

圖 2A

可變重鏈

	10	20	30	40
2C4	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS	[GFTFTDYTMD]	WVKQS	
	**	** * * * * *	*	**
574	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA	
		*** **		
hum III	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA	
	50 a	60	70	80
2C4	HGKSLEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	KASLTVDRSSRIVYM		
	* * **	*** * * * * *	*** **	
574	PGKGLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	RFTLSVDRSKNTLYL		
	***** * * * * *	* * *		
hum III	PGKGLEWVA [VISGDGGSTYYADSVKG]	RFTISRDNKNTLYL		
	abc	90	100ab	110
2C4	ELRSLTFEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:2)		
	*** **		**	
574	QMNSLRAEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY]	WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:4)		

hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR [GRVGYSLYDY]	WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:6)		

圖 2B

帕妥珠單抗輕鏈之胺基酸序列

```

1      10      20      30      40      50      60
|      |      |      |      |      |      |
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVSIGVAWYQOKPGKAPKLLIYSASRYTGVPS
70      80      90      100     110     120
|      |      |      |      |      |
RFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
130     140     150     160     170     180
|      |      |      |      |      |
SDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT
190     200     210
|      |      |
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

```

圖3A

帕妥珠單抗重鏈之胺基酸序列

```

1      10      20      30      40      50      60
|      |      |      |      |      |
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFDYMHWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
70      80      90      100     110     120
|      |      |      |      |      |
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVVYCARNLGPSFYFDYWGQGLVTVSSA
130     140     150     160     170     180
|      |      |      |      |      |
STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
190     200     210     220     230     240
|      |      |      |      |      |
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGP
250     260     270     280     290     300
|      |      |      |      |      |
SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
310     320     330     340     350     360
|      |      |      |      |      |
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
370     380     390     400     410     420
|      |      |      |      |      |
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
430     440     448
|      |      |
QGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

```

圖3B

輕鏈

1 15 30 45
 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
 46 60 75 90
 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
 91 105 120 135
 H Y T T P P T F G 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 V C L
 136 150 165 180
 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
 181 195 210 214
 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

圖7A

重鏈

1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLRLSCLRAASGFNIKDTYIHWVRRQAPGKGL 45
 30
 46 EWVARIYPTNGYTRYADSSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR AED 90
 75
 91 TAVYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFLAPSS 135
 120
 136 KSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS 180
 150
 181 GLYSLSVVTVPPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDK 225
 210
 226 THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS 270
 255
 271 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY^NSTYRVVSVLTVLHQD 315
 300
 316 WLVNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREE 360
 345
 361 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG 405
 390
 406 SFFLYSKLTVDKSRWQQGQGVNFS^CSVMH^EALHN^HY^TQK^SL^SL^SLP^G 449
 435

圖7B

1 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 F 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 Q Q Y Y I Y P Y T F G Q 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 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 217

圖 8A

1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTM³⁰LDWVVRQAPGKGL⁴⁵
46 EWVADVNPNSGGSIY⁶⁰NQRFKGRFTLSVDRRSK⁷⁵NTLYLQMNSLRAED⁹⁰
91 TAVYYCAR¹⁰⁵NLGPSSFYFDYWGQGLVTVSSAS¹²⁰TKGPSVFPPLAPSSK¹³⁵
136 STSGGTAA¹⁵⁰LGLVKDYFPPEPVTVSWNSGAL¹⁶⁵TSGVHTFFPAVLQSSG¹⁸⁰
181 LYSLS¹⁹⁵SVVTVPS²¹⁰SLG²²⁵TQTYICNVNHKPSNTKVDK²⁴⁰KKVEPKSCDKT²⁵⁵
226 H²⁴⁰TCPPC²⁵⁵PAPEL²⁷⁰LG²⁸⁵GPSV³⁰⁰FLFPKPKD³¹⁵TL³³⁰MI³⁴⁵SRTPEV³⁶⁰TCV³⁷⁵V³⁹⁰VDVSH⁴⁰⁵
316 EDPEV³³⁰KFNWY³⁴⁵V³⁶⁰DGV³⁷⁵EV³⁹⁰HN⁴⁰⁵AKTKPREEQY⁴²⁰NS⁴³⁵TYRV⁴⁴⁹VS⁴⁶⁴VL⁴⁷⁹TL⁴⁹⁴HL⁵⁰⁹Q⁵²⁴D⁵³⁹W⁵⁵⁴
361 L³⁷⁵NG³⁹⁰KE⁴⁰⁵Y⁴²⁰CK⁴³⁵V⁴⁵⁰SN⁴⁶⁵KA⁴⁸⁰LP⁴⁹⁵API⁵¹⁰E⁵²⁵KT⁵⁴⁰ISK⁵⁵⁵AK⁵⁷⁰G⁵⁸⁵Q⁶⁰⁰PRE⁶¹⁵P⁶³⁰Q⁶⁴⁵V⁶⁶⁰Y⁶⁷⁵TL⁶⁹⁰PP⁷⁰⁵SR⁷²⁰E⁷³⁵EM⁷⁵⁰
406 TK⁴¹⁵N⁴³⁰Q⁴⁴⁵V⁴⁶⁰SL⁴⁷⁵TC⁴⁹⁰LV⁵⁰⁵K⁵²⁰GF⁵³⁵Y⁵⁵⁰PS⁵⁶⁵DI⁵⁸⁰AVE⁵⁹⁵W⁶¹⁰ES⁶²⁵NG⁶⁴⁰Q⁶⁵⁵PE⁶⁷⁰NN⁶⁸⁵Y⁷⁰⁰KT⁷¹⁵TP⁷³⁰PP⁷⁴⁵VL⁷⁶⁰DS⁷⁷⁵DG⁷⁹⁰S⁸⁰⁵
FFLYSKLTVDKSRWQ⁴²⁰Q⁴³⁵GN⁴⁵⁰V⁴⁶⁵FS⁴⁸⁰CS⁴⁹⁵VM⁵¹⁰HE⁵²⁵AL⁵⁴⁰HN⁵⁵⁵HY⁵⁷⁰T⁵⁸⁵Q⁶⁰⁰KS⁶¹⁵LS⁶³⁰LS⁶⁴⁵SP⁶⁶⁰G⁶⁷⁵PK⁶⁹⁰

圖 8B

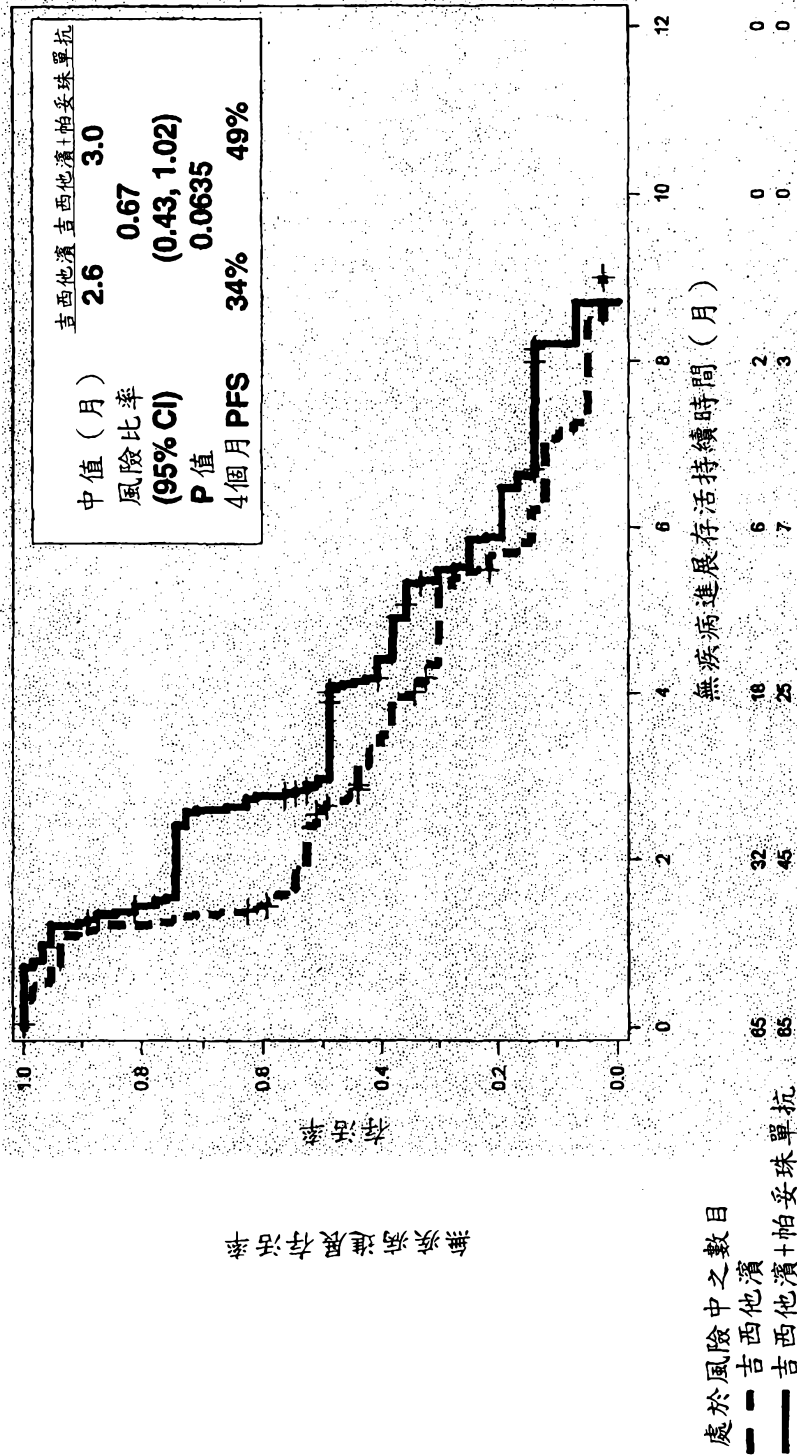
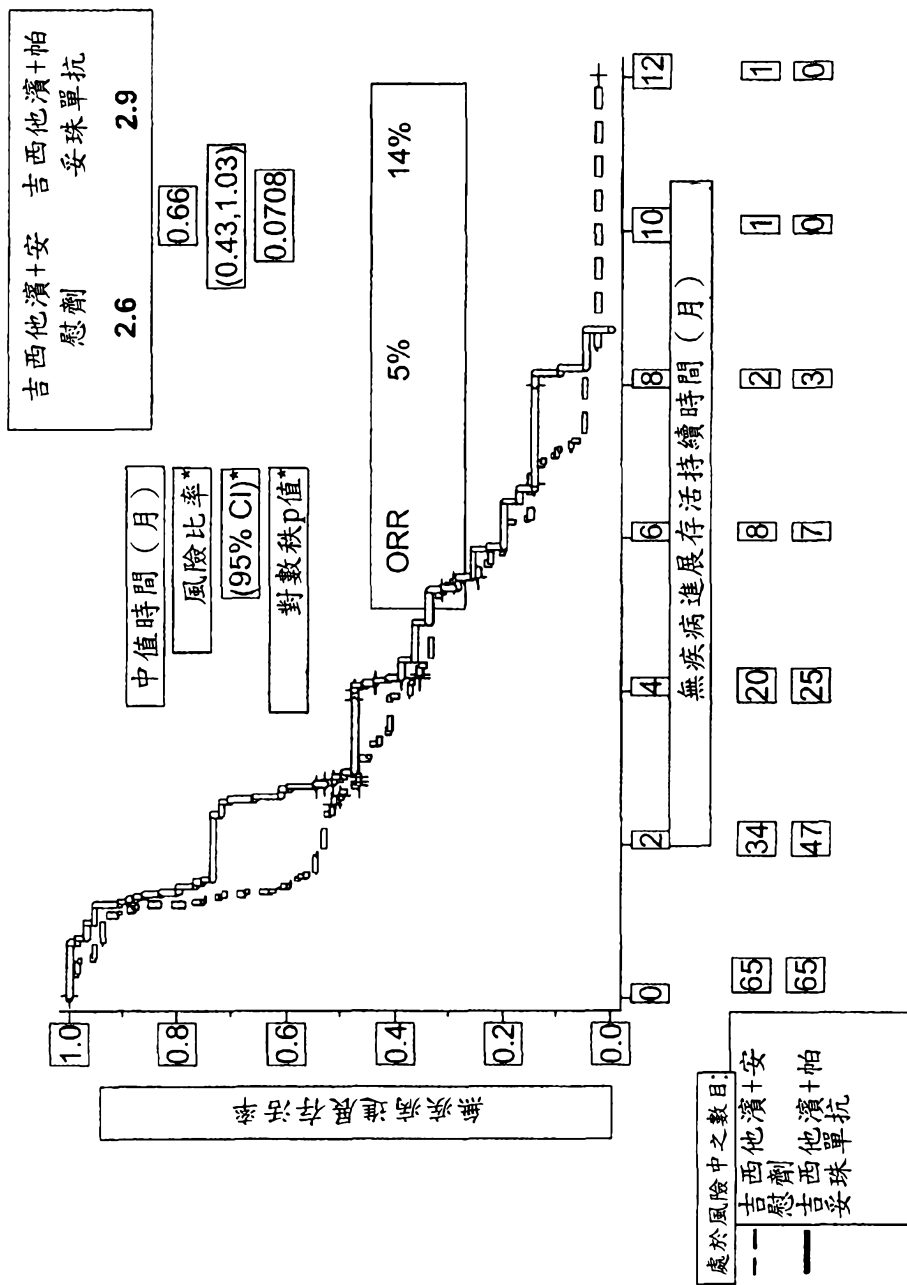


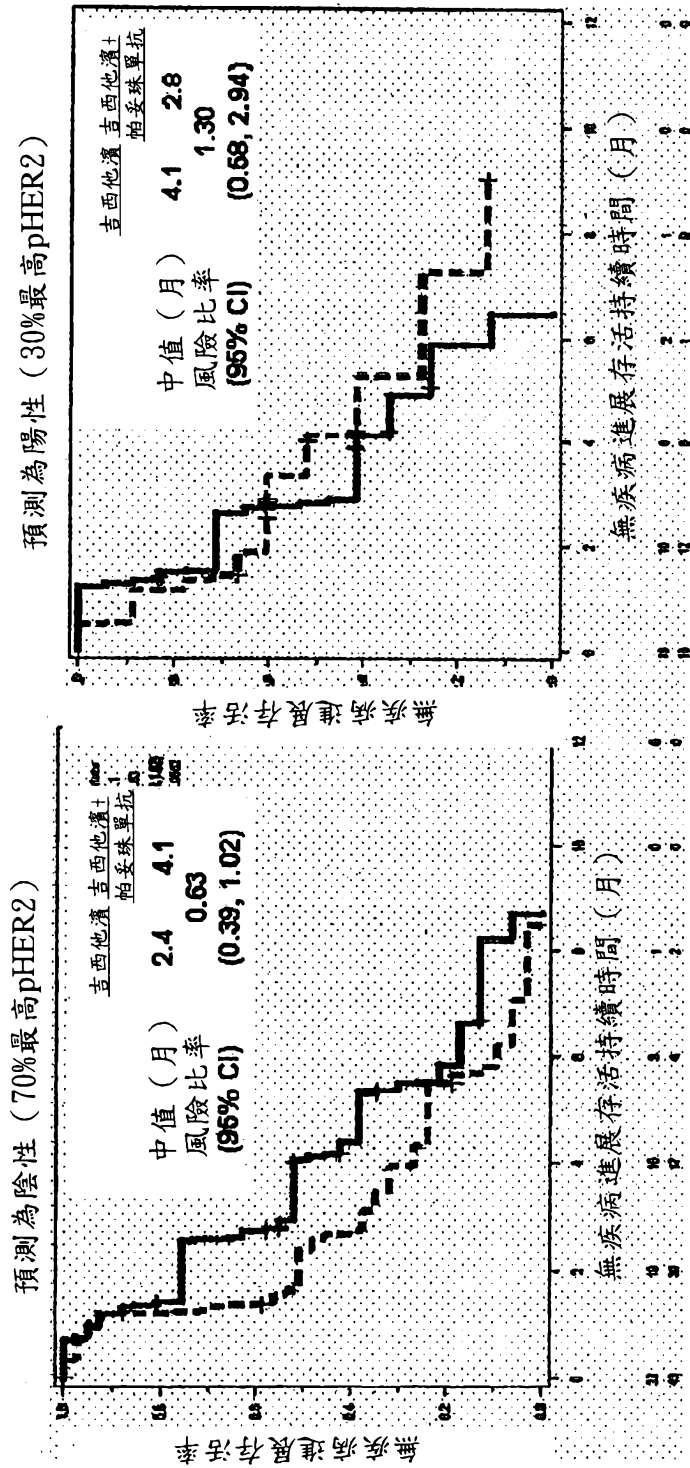
圖10A

無疾病進展存活



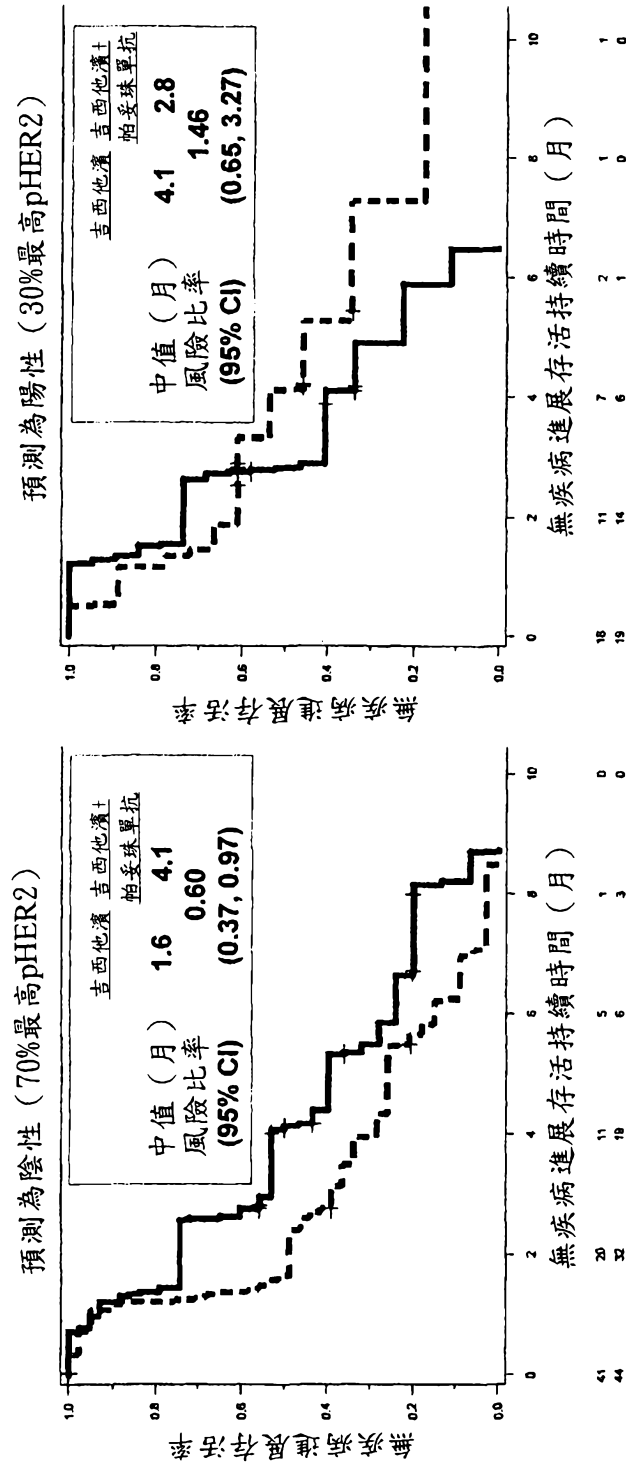
*由隨機分層因子 (ECOG PS、抗鉑型疾病的數目及疾病可量測性) 使用分層Cox模型及分層對數秩檢驗估計。

圖 10B



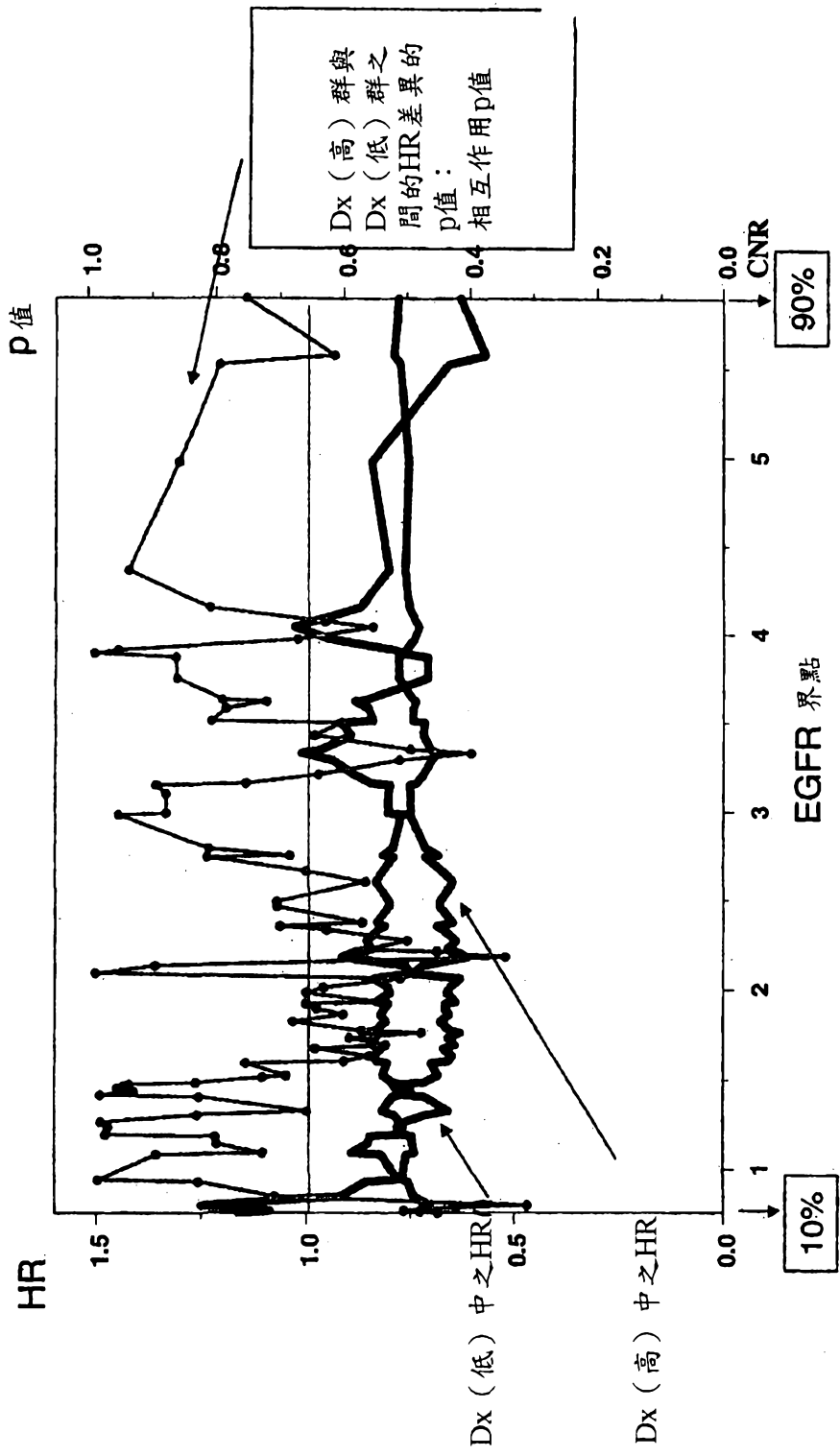
註：Dx(+)：雙性調節素、Her 2、Her3總分 \geq 第70百分位數，Dx(-)：其他

圖11A



註：Dx(+)：雙性調節素、Her 2、Her3總分 \geq 第70百分位數，Dx(-)：其他

圖11B



未調整p值以進行多重比較。

圖12A

探索性分析：

TOC3258g：由qRT-PCR EGFR 界點而得之PFS

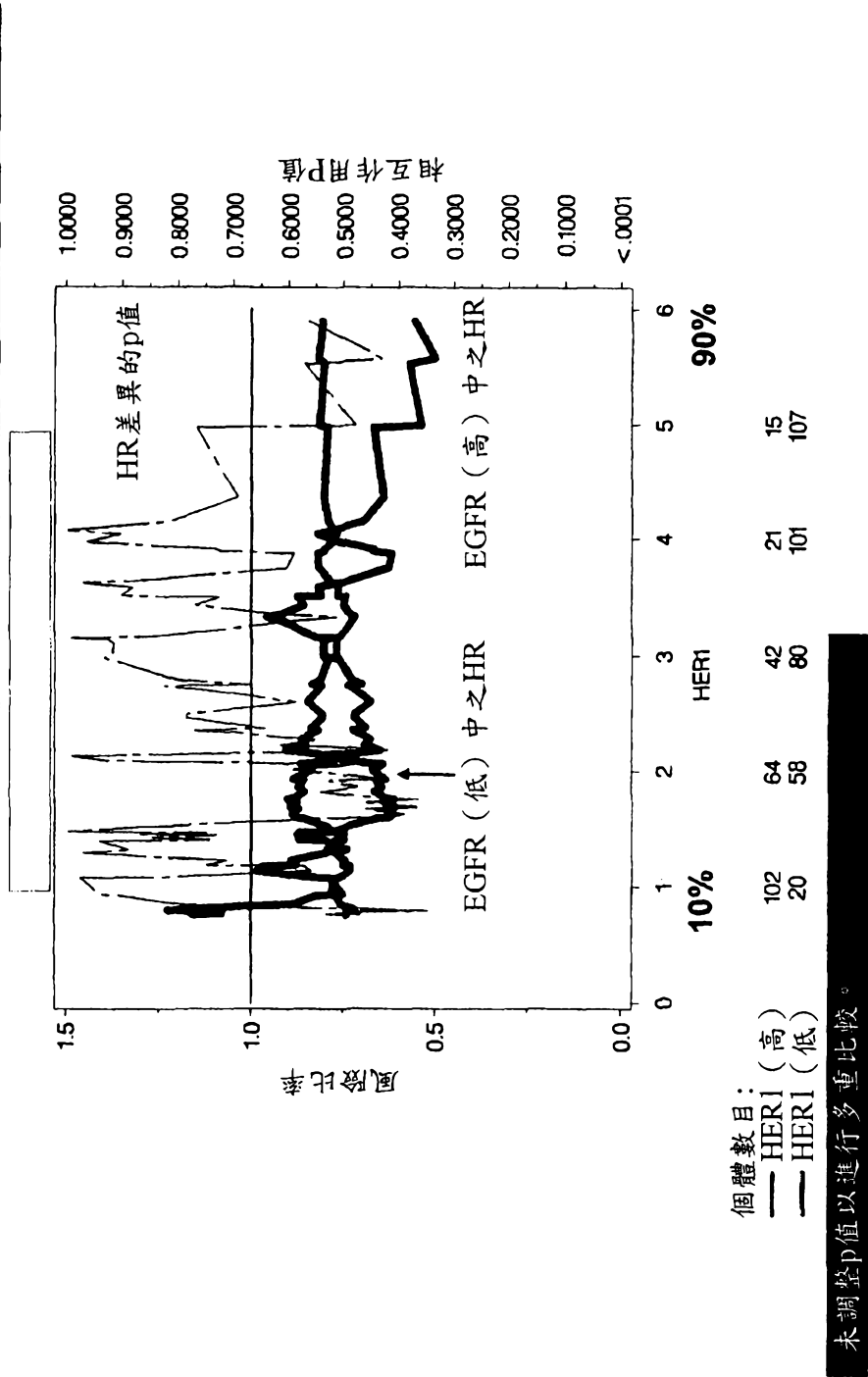
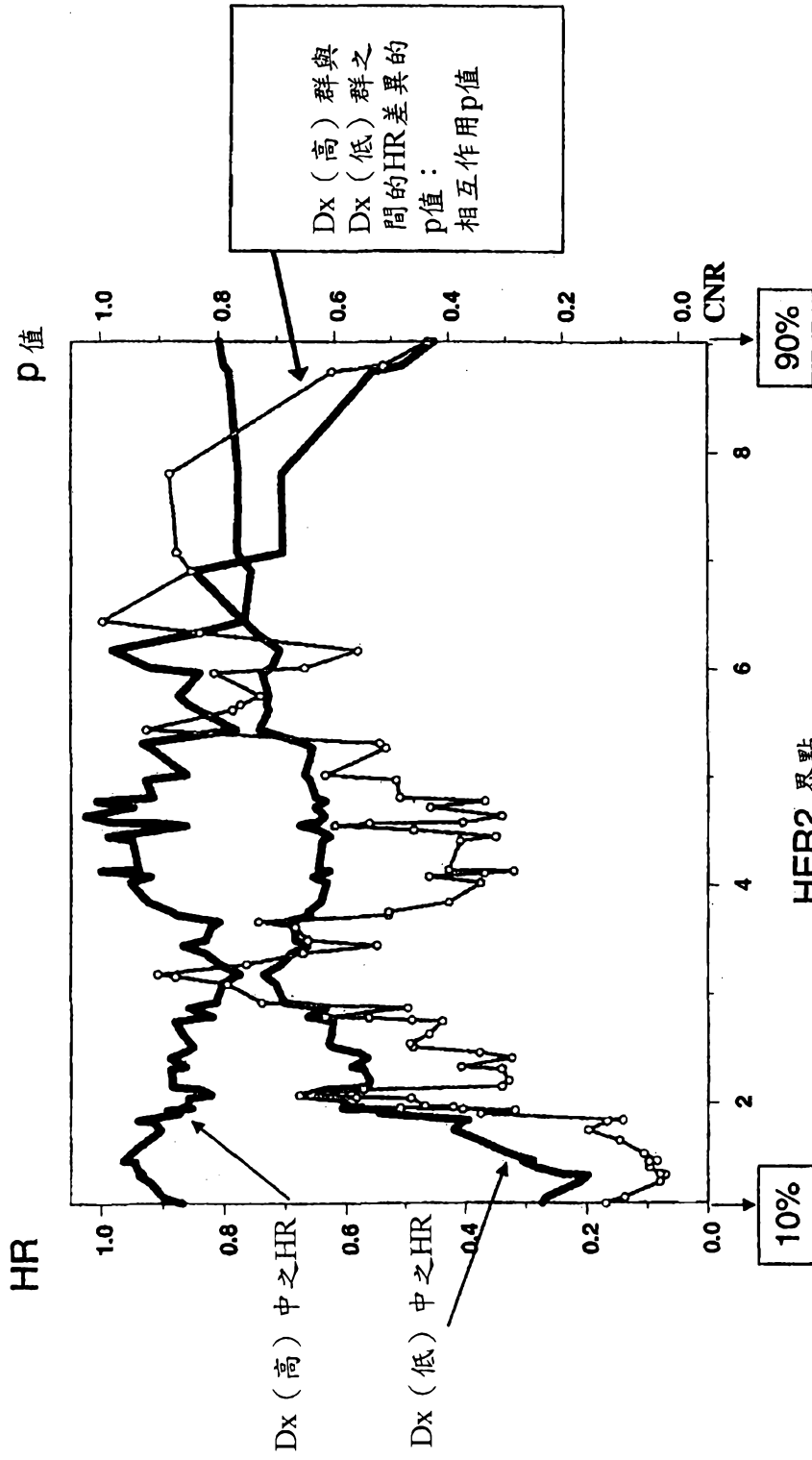


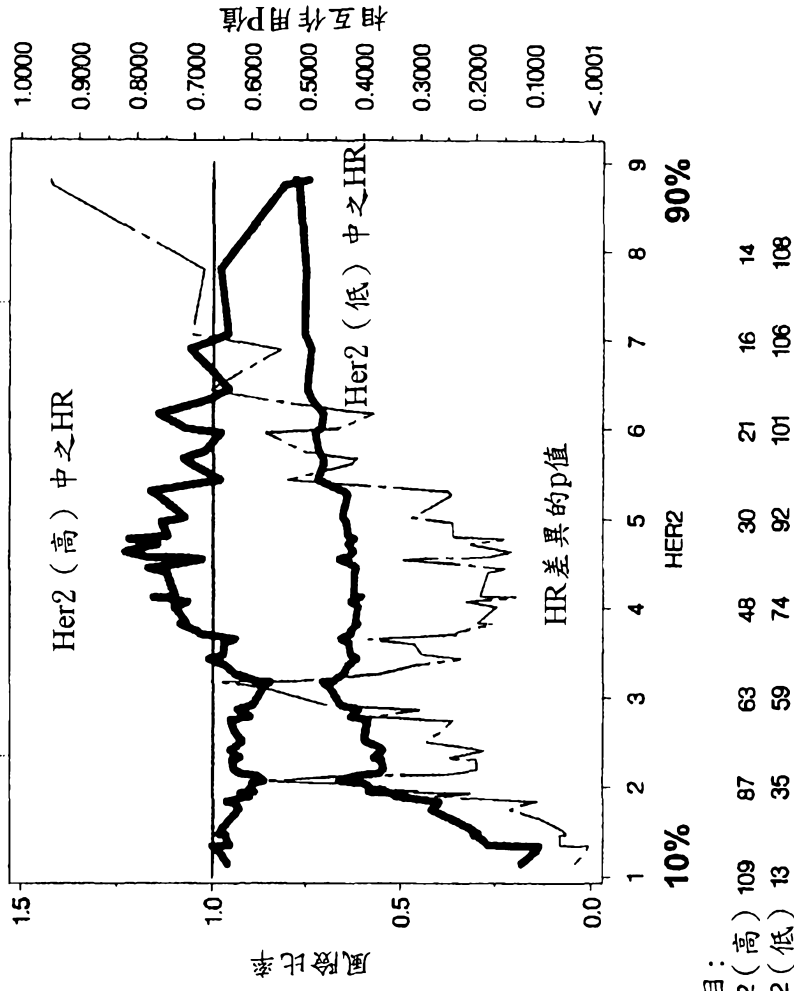
圖12B



未調整p值以進行多重比較。

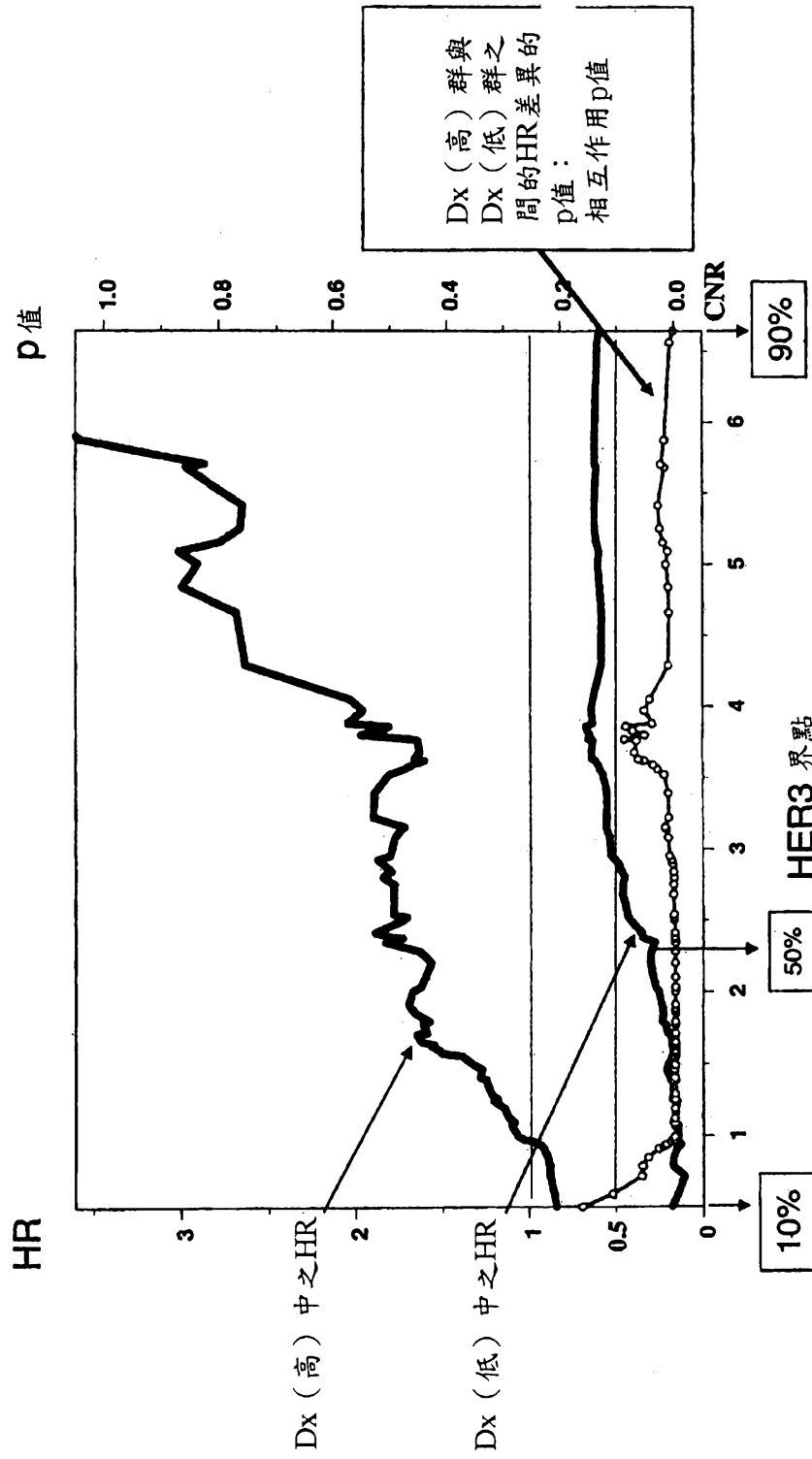
圖13A

TOC3258g : 由qRT-PCR HER2界點而得之PFS



未調整p值以進行多重比較。

圖13B



未調整p值以進行多重比較。

圖14A

TOC3258g : 由qRT-PCR HER3界點而得之PFS

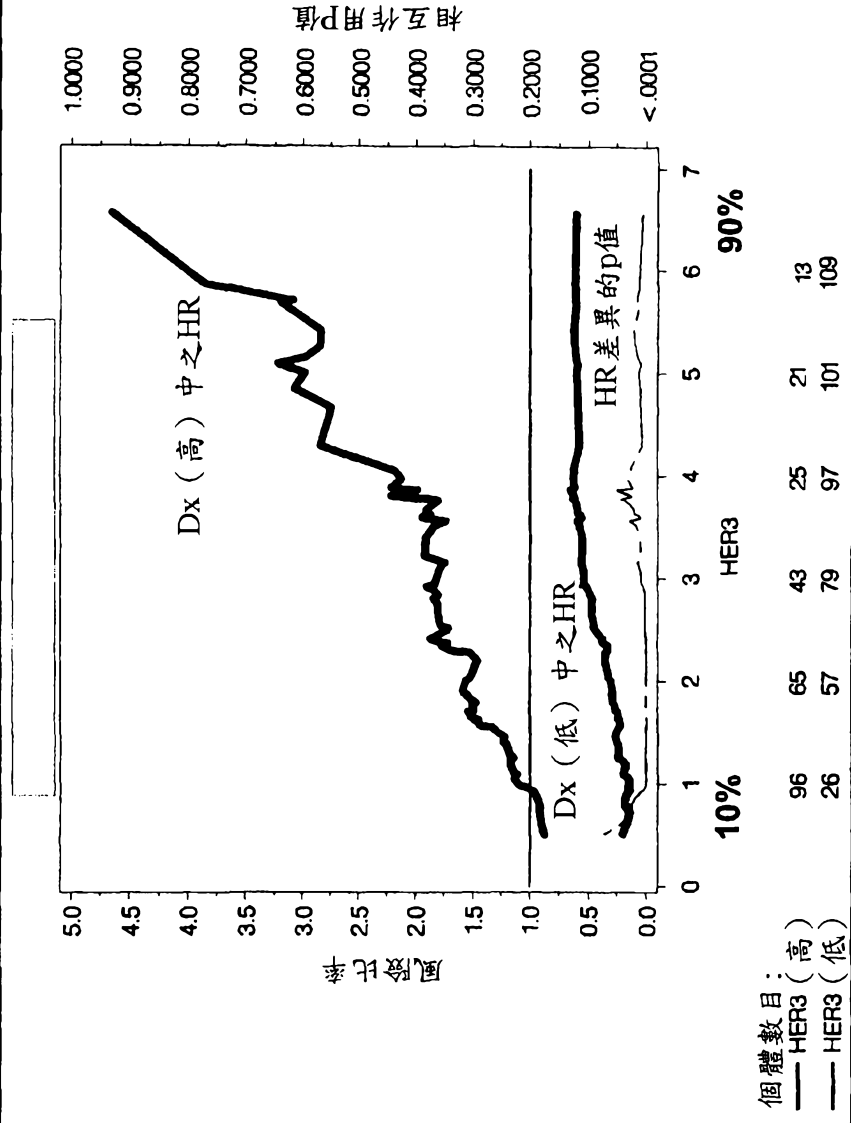


圖14B

由qRT-PCR HER3水平而得之PFS

界點值		高HER3表現				低HER3表現			
百分位數	絕對值	N	事件數目	HR (95%CI)	對數秩 P值	N	事件數目	HR (95%CI)	對數秩 P值
30	1.19	92	74	1.16 (0.73, 1.84)	0.5222	30	23	0.13 (0.04, 0.41)	<.0001
35	1.39	86	68	1.20 (0.74, 1.94)	0.4674	36	29	0.22 (0.09, 0.56)	0.0005
40	1.56	80	64	1.37 (0.83, 2.26)	0.2230	42	33	0.20 (0.09, 0.48)	<.0001
45	1.70	74	59	1.50 (0.88, 2.55)	0.1381	48	38	0.22 (0.10, 0.50)	<.0001
55	1.87	68	55	1.50 (0.87, 2.61)	0.1468	54	42	0.29 (0.14, 0.58)	0.0002
60	2.24	61	49	1.48 (0.83, 2.63)	0.1809	61	48	0.34 (0.18, 0.63)	0.0004
65	2.38	56	44	1.74 (0.93, 3.27)	0.0816	66	53	0.36 (0.20, 0.65)	0.0005
70	2.75	49	38	1.81 (0.90, 3.67)	0.0945	73	59	0.48 (0.28, 0.84)	0.0080
75	3.08	43	32	1.78 (0.82, 3.86)	0.1382	79	65	0.56 (0.34, 0.94)	0.0255
75	3.56	37	26	1.73 (0.75, 3.99)	0.1943	85	71	0.62 (0.38, 1.00)	0.0459
75	3.77	31	21	1.90 (0.73, 4.93)	0.1804	91	76	0.65 (0.41, 1.03)	0.0650

圖17B

qir-PCR HER3	n	事件數目	治療 HR (95% CI)	對數秩P值
0至小於第25百分位數	28	21	0.13 (0.04, 0.45)	0.0002
第25百分位數至小於第50百分位數	31	25	0.42 (0.17, 1.00)	0.0465
第50百分位數至小於第75百分位數	30	29	2.11 (0.94, 4.75)	0.0631
第75百分位數至第100百分位數	30	19	2.00 (0.71, 5.62)	0.1790

未調整p值以進行多重比較。

圖18A

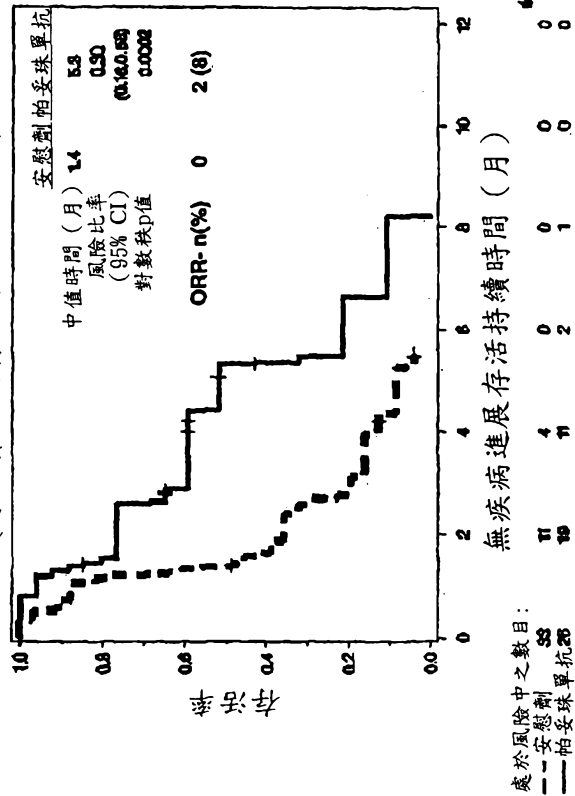
由HER3表現四分位數而得之無疾病進展存活 (PFS) 分析

qRT-PCR HER3	N	事件數目	HR (95%CI)	對數秩P值
0至小於第25百分位數	30	23	0.13 (0.04, 0.41)	<.0001
第25百分位數至小 於第50百分位數	31	25	0.66 (0.29, 1.48)	0.3181
第50百分位數至小 於第75百分位數	30	28	1.59 (0.73, 3.44)	0.2318
第75百分位數至 第100百分位數	31	21	1.90 (0.73, 4.93)	0.1804

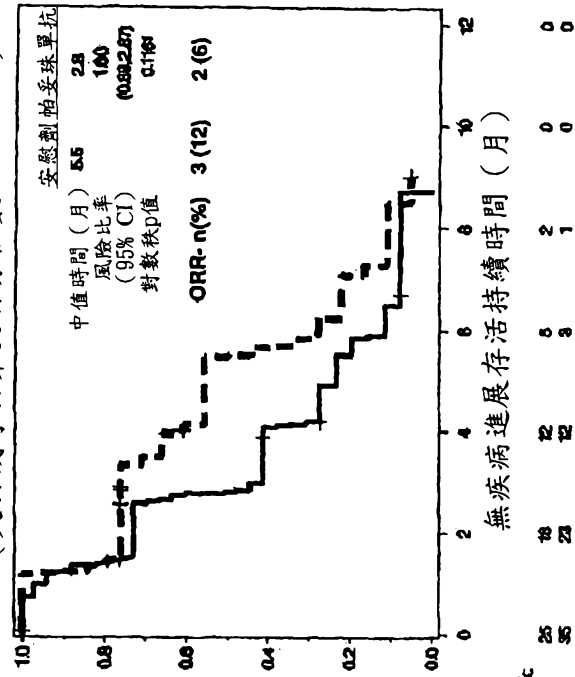
圖18B

所有患者	吉西他濱	吉西他濱+帕妥珠單抗
中值 (月)	2.6	3.0
風險比率 (95% CI)	0.67 (0.43, 1.02)	
P值*	0.0635	
ORR-n(%)	3 (5)	5 (8)

低HER3表現
(小於第50百分位數, N = 59)



高HER3表現
(大於或等於第50百分位數, N = 60)



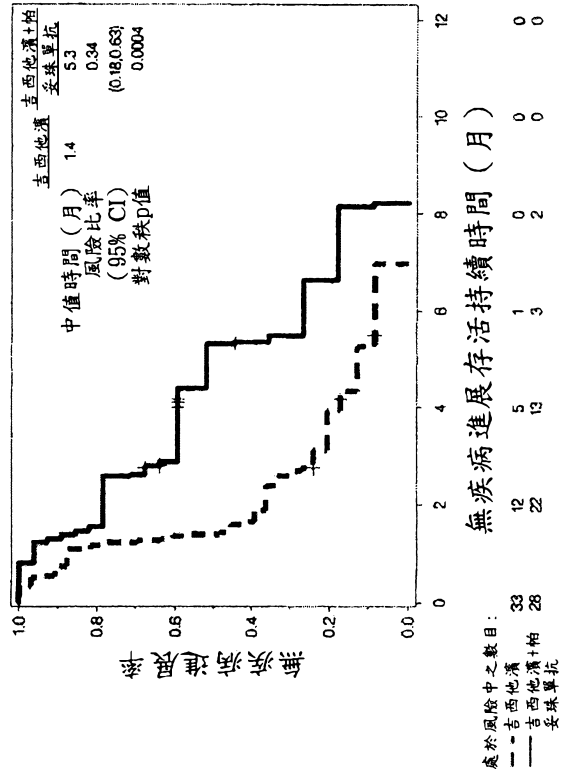
兩個dx亞群之間的HR差異的p值為0.0001
註：第50百分位數 = 2.28 CNR。

圖19A

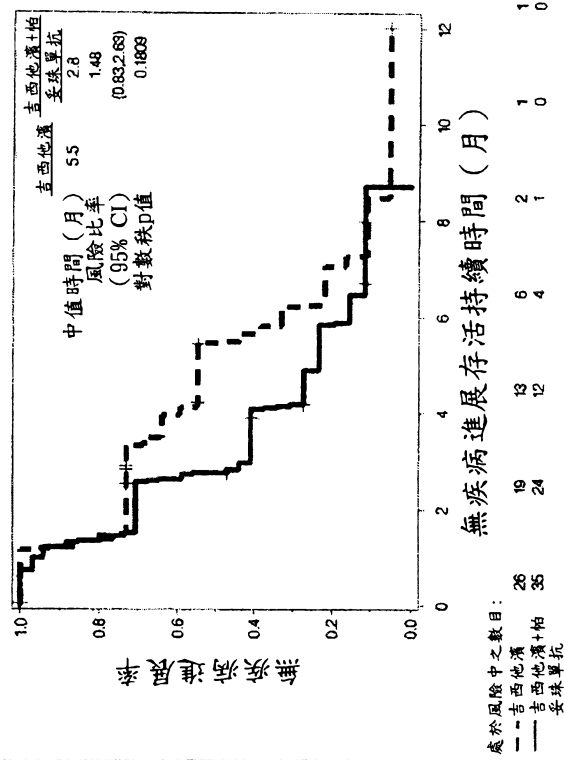
50/50分割下由HER3 qRT-PCR而得之PFS

所有患者	吉西他濱	吉西他濱+帕 妥珠單抗
中值 (月)	2.6	2.9
風險比率 (95% CI)	0.66 (0.43, 1.03)	
P值	0.07	

低HER3表現
(小於第50百分位數, N = 61)



高HER3表現
(大於或等於第50百分位數, N = 61)



兩個dx亞群之間的HR差異的p值為0.0005
註：第50百分位數 = 2.24 CNR。

圖19B

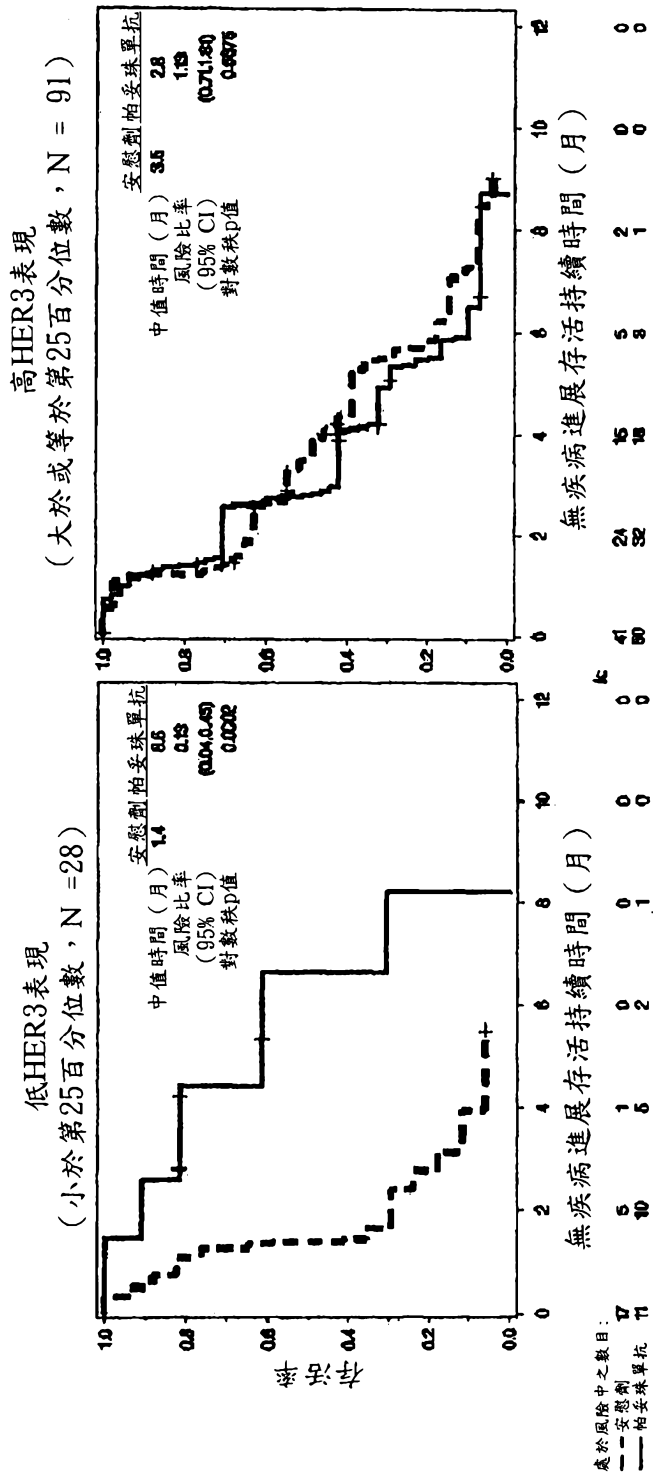
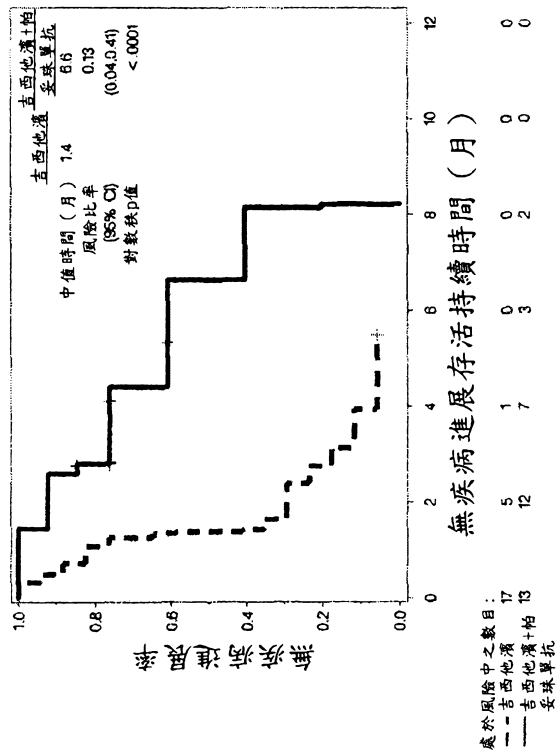


圖20A

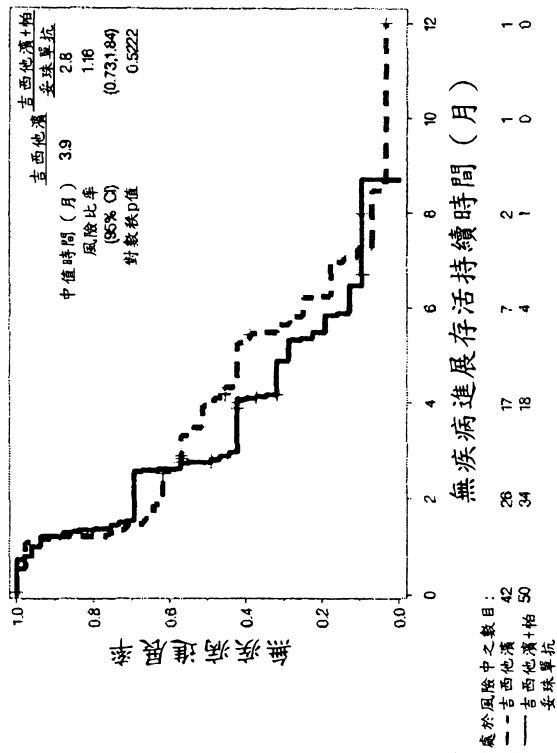
25/75分割下由HER3 qRT-PCR而得之PFS

所有患者	吉西他濱	吉西他濱+帕妥珠單抗
中值 (月)	2.6	2.9
風險比率* (95% CI)	0.66 (0.43, 1.03)	
P值*	0.07	

低HER3表現 (小於第25百分位數, N = 30)



高HER3表現 (大於或等於第25百分位數, N = 92)



兩個dx亞群之間的HR差異的p值為0.0003
註：第25百分位數 = 1.19 CNR。

圖20B

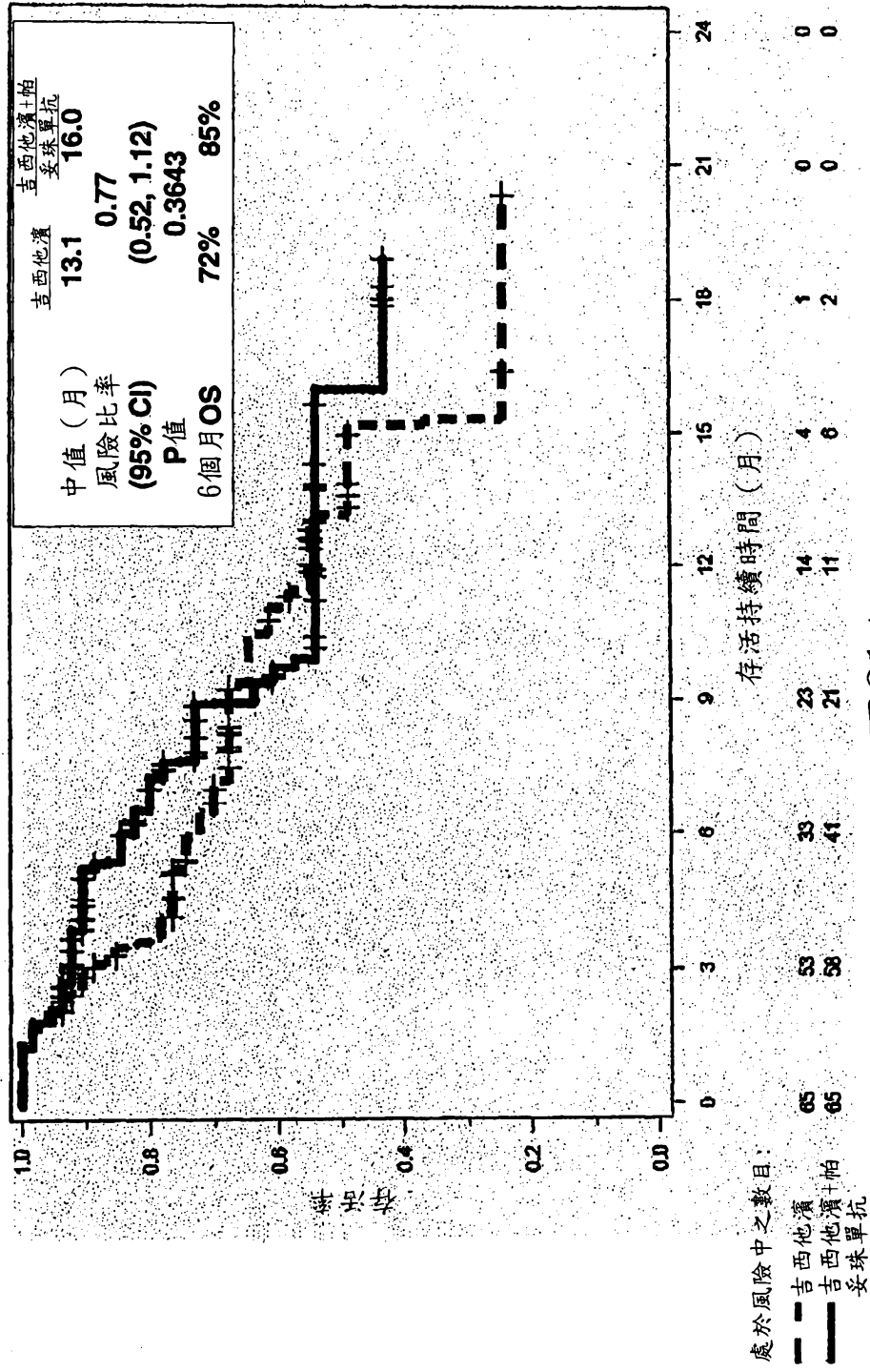
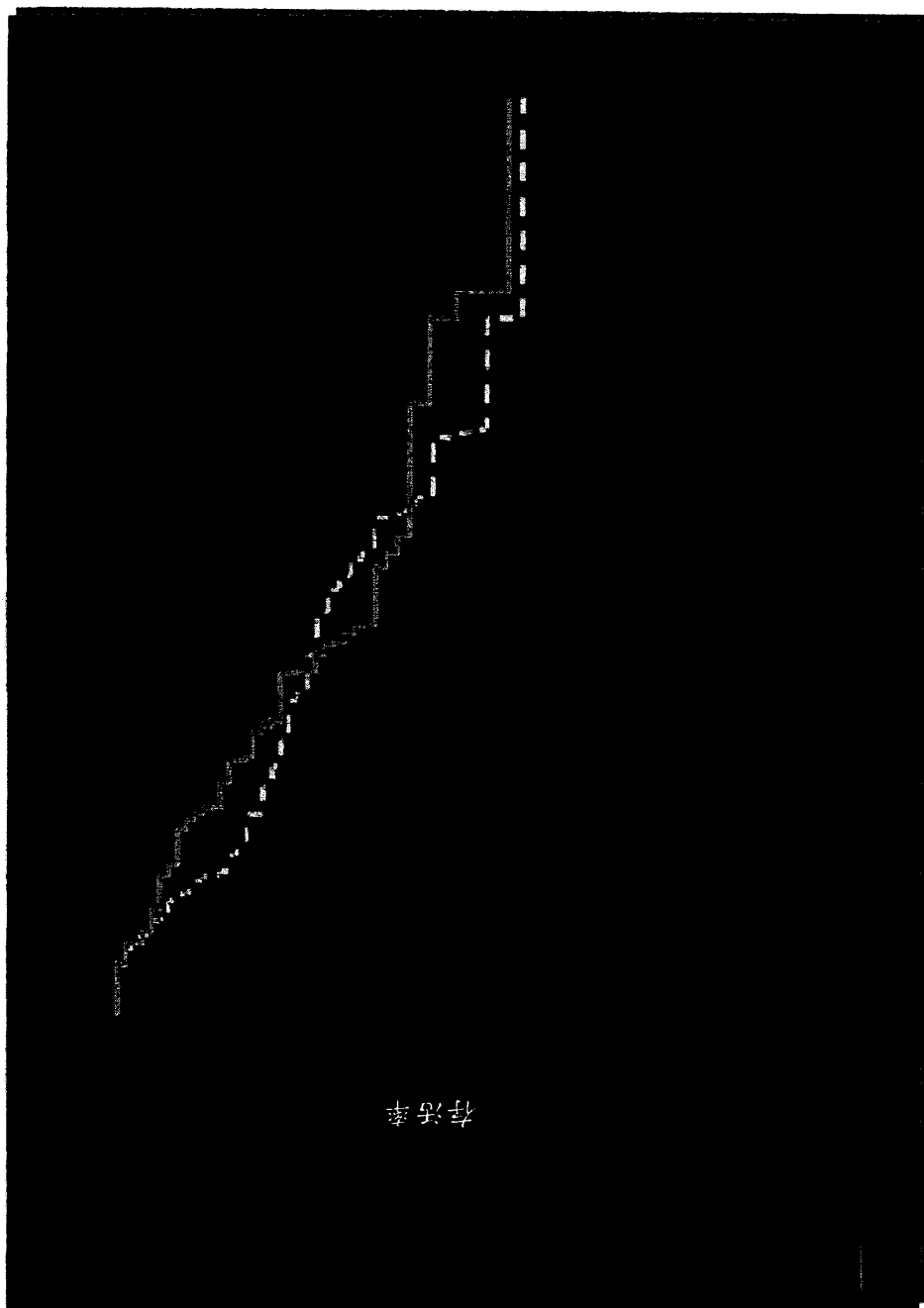


圖21A

初步總存活
(2007年4月20日71例死亡)



*由隨機分層因子 (ECOG PS、抗鉑型疾病之先前方案的數目及疾病可量測性) 使用分層Cox模型及分層對數秩檢驗估計。

圖21B

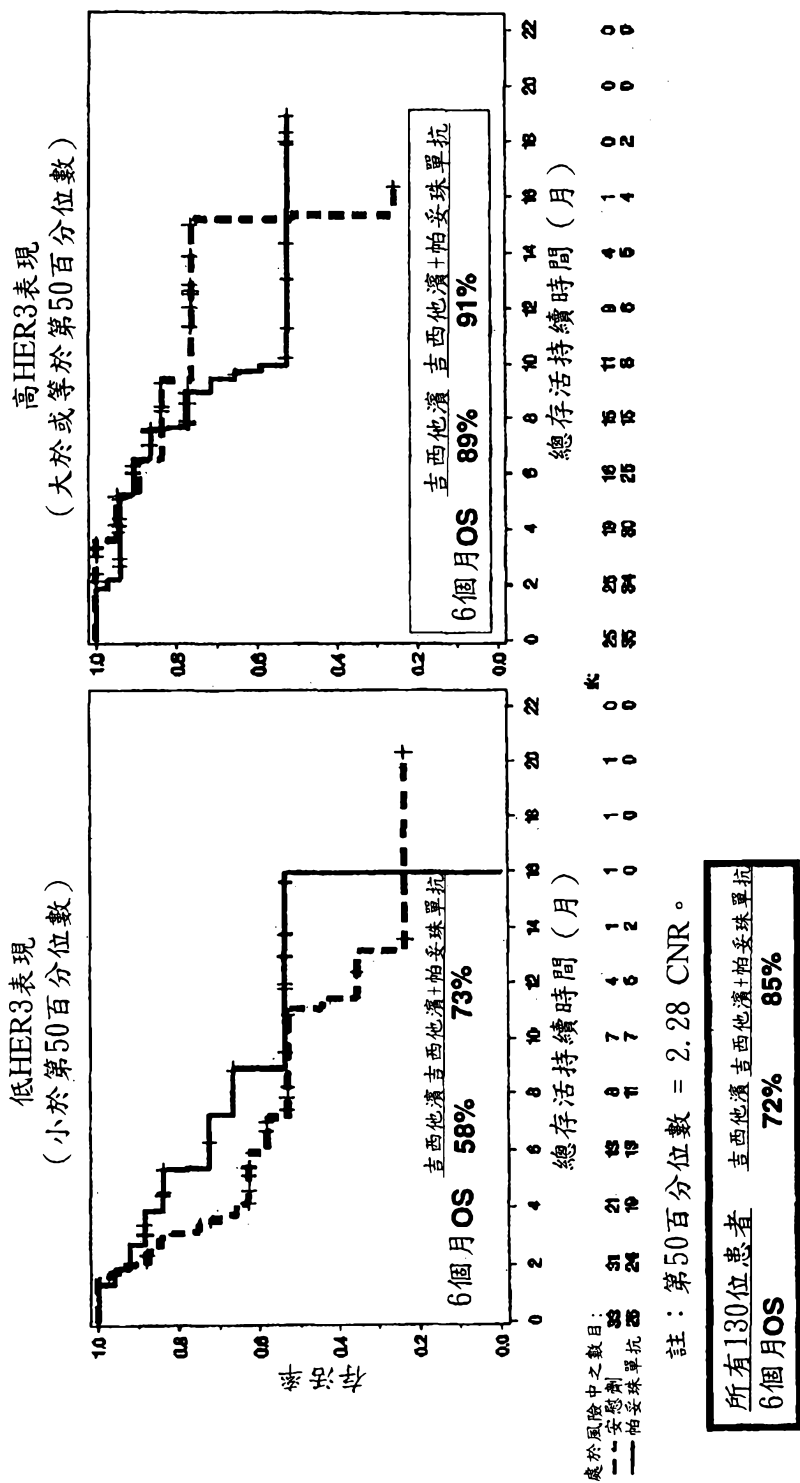
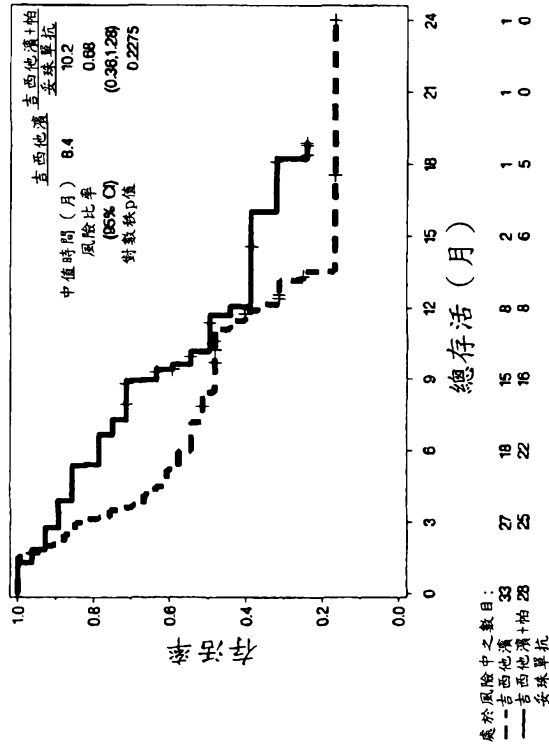


圖22A

50/50分割下由HER3 qRT-PCR而得之初步OS

低HER3表現
(小於第50百分位數, N = 61)



高HER3表現
(大於或等於第50百分位數, N = 61)

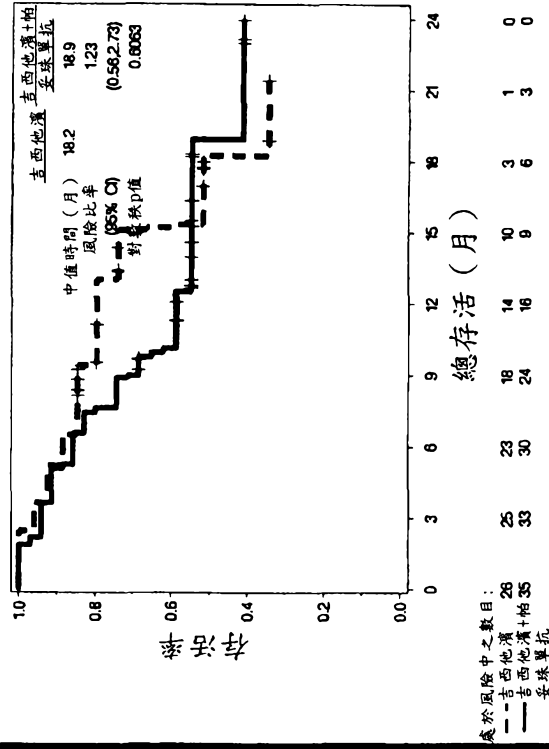


圖22B

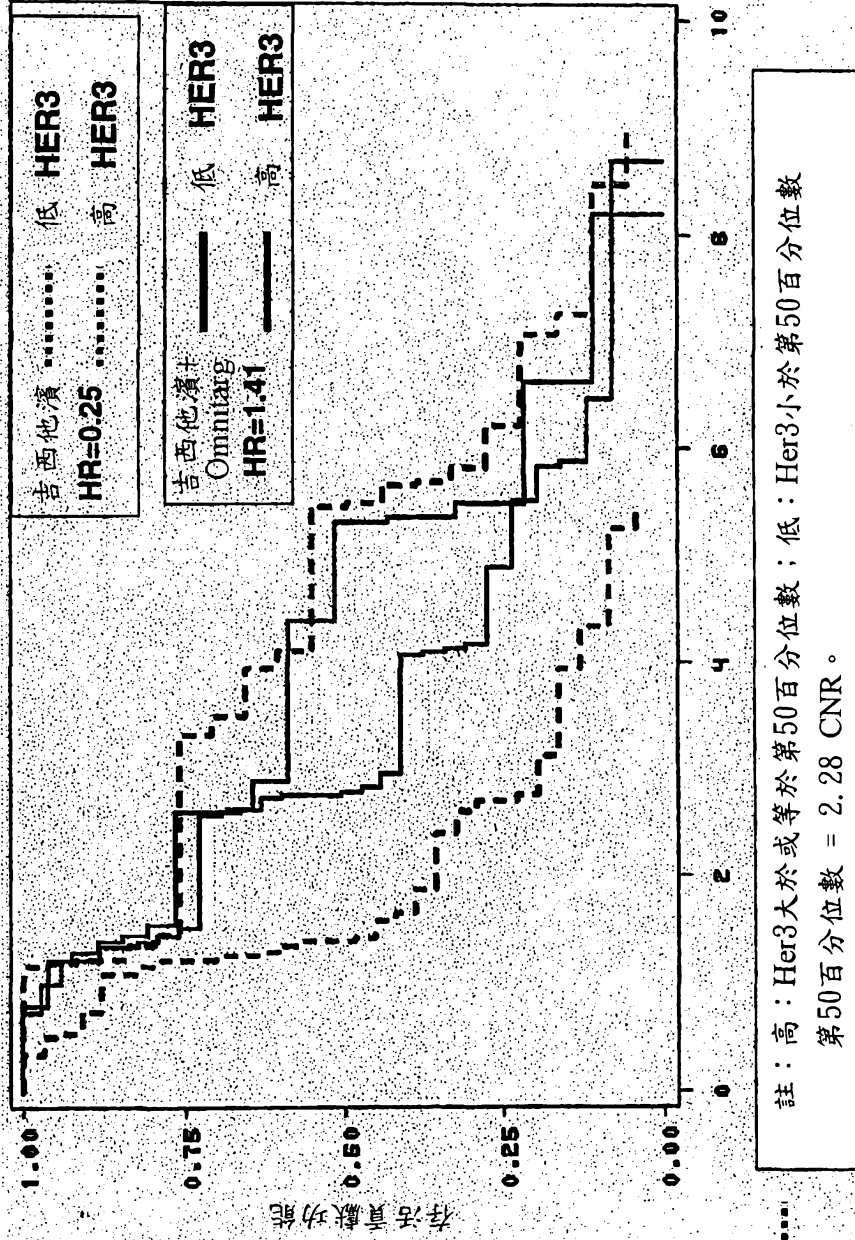


圖23A

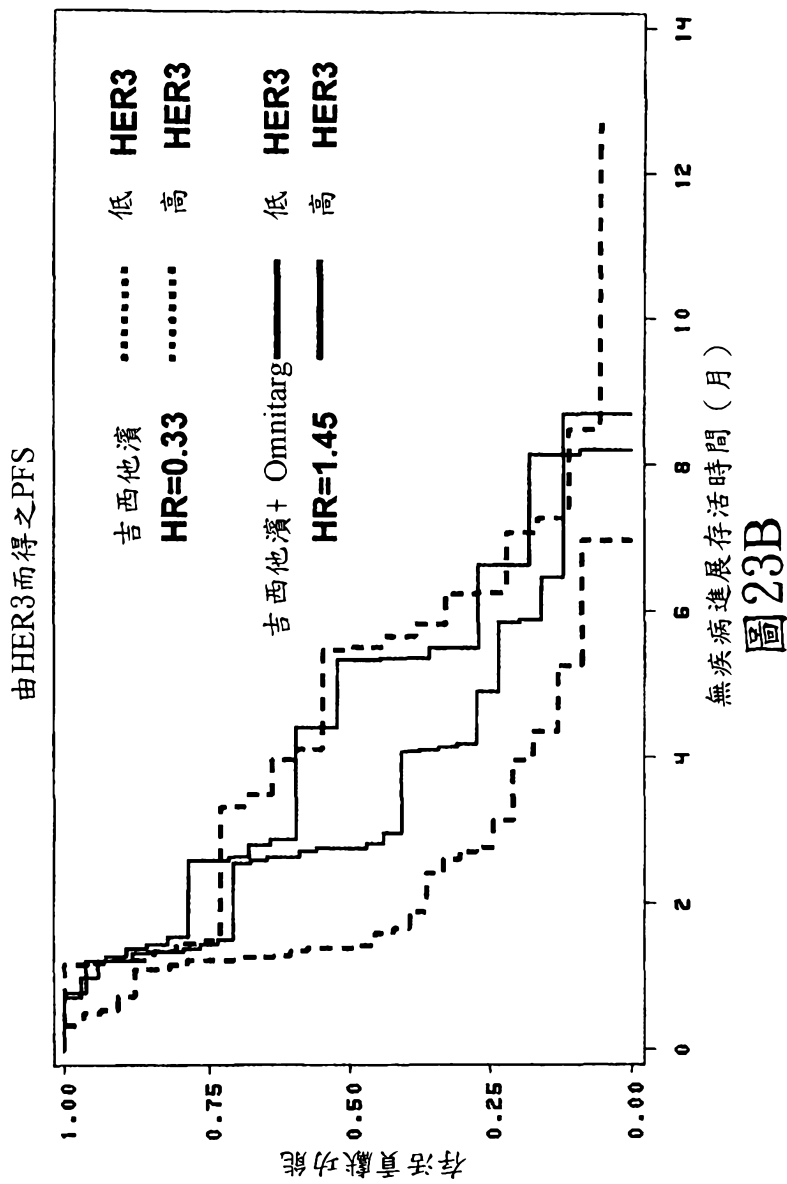


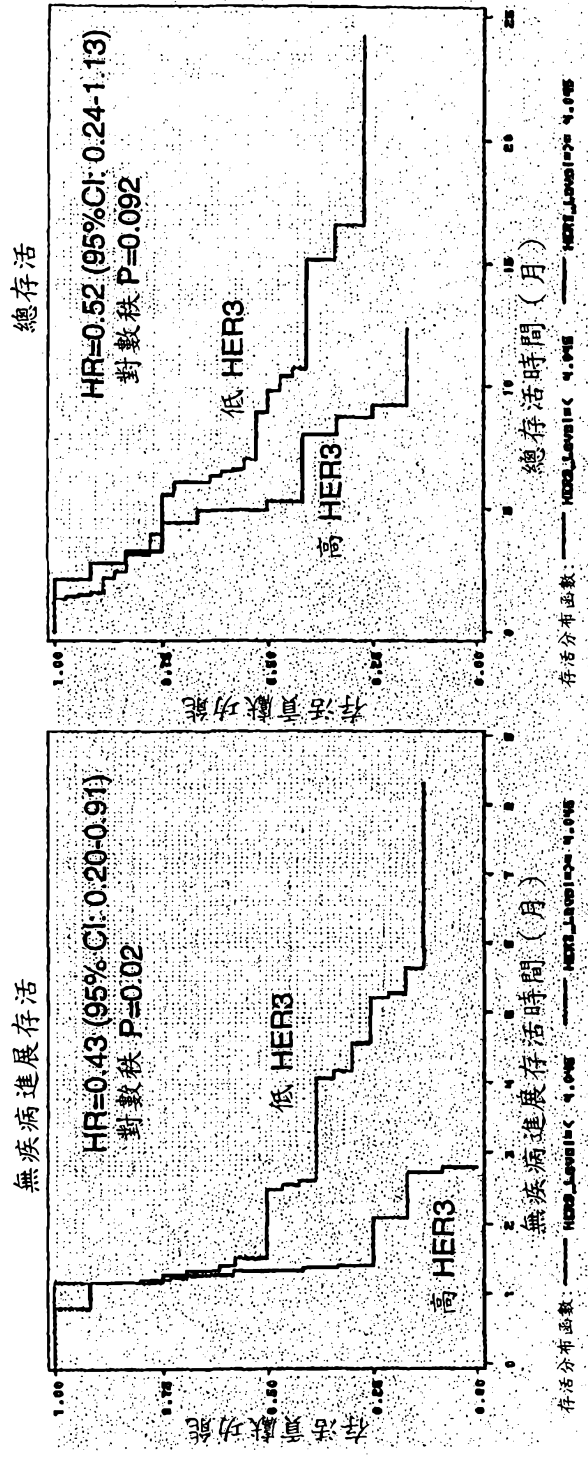
圖23B

抗帕妥珠單抗鉑型卵巢癌：由qRT-PCR HER3而得之PFS

百分位數	Dx(高)群		Dx(低)群		吉西他濱+帕妥珠單抗(n=63)		僅吉西他濱(n=59)	
	事件數目	對數秩 P值	事件數目	對數秩 P值	Dx(高)中之事件數目	對數秩 P值	Dx(低)中之事件數目	對數秩 P值
20	98	1.09 (0.70, 1.70)	24	0.6973	17	0.08 (0.02, 0.37)	38	0.47 (0.24, 0.93)
25	92	1.16 (0.73, 1.84)	30	0.5222	23	0.13 (0.04, 0.41)	34	0.38 (0.20, 0.72)
30	86	1.20 (0.74, 1.94)	36	0.4674	29	0.22 (0.09, 0.56)	29	0.44 (0.24, 0.79)
35	80	1.37 (0.83, 2.26)	42	0.2230	33	0.20 (0.09, 0.48)	26	0.37 (0.21, 0.67)
40	74	1.50 (0.88, 2.55)	48	0.1381	38	0.22 (0.10, 0.50)	22	0.35 (0.19, 0.63)
45	68	1.50 (0.87, 2.61)	54	0.1468	42	0.29 (0.14, 0.58)	21	0.35 (0.19, 0.65)
50	61	1.48 (0.83, 2.63)	61	0.1809	48	0.34 (0.18, 0.63)	20	0.33 (0.18, 0.62)
55	56	1.74 (0.93, 3.27)	66	0.0816	53	0.36 (0.20, 0.65)	15	0.31 (0.16, 0.60)
60	49	1.81 (0.90, 3.67)	73	0.0945	59	0.48 (0.28, 0.84)	11	0.37 (0.19, 0.73)
65	43	1.78 (0.82, 3.86)	79	0.1382	65	0.56 (0.34, 0.94)	9	0.36 (0.18, 0.76)
70	37	1.73 (0.75, 3.99)	85	0.1943	71	0.62 (0.38, 1.00)	8	0.33 (0.15, 0.71)
75	31	1.90 (0.73, 4.93)	91	0.1804	76	0.65 (0.41, 1.03)	6	0.33 (0.14, 0.79)
80	25	2.33 (0.82, 6.64)	97	0.1053	79	0.64 (0.41, 1.00)	5	0.32 (0.13, 0.83)

註：未調整HR及對數秩p值以進行多重比較。

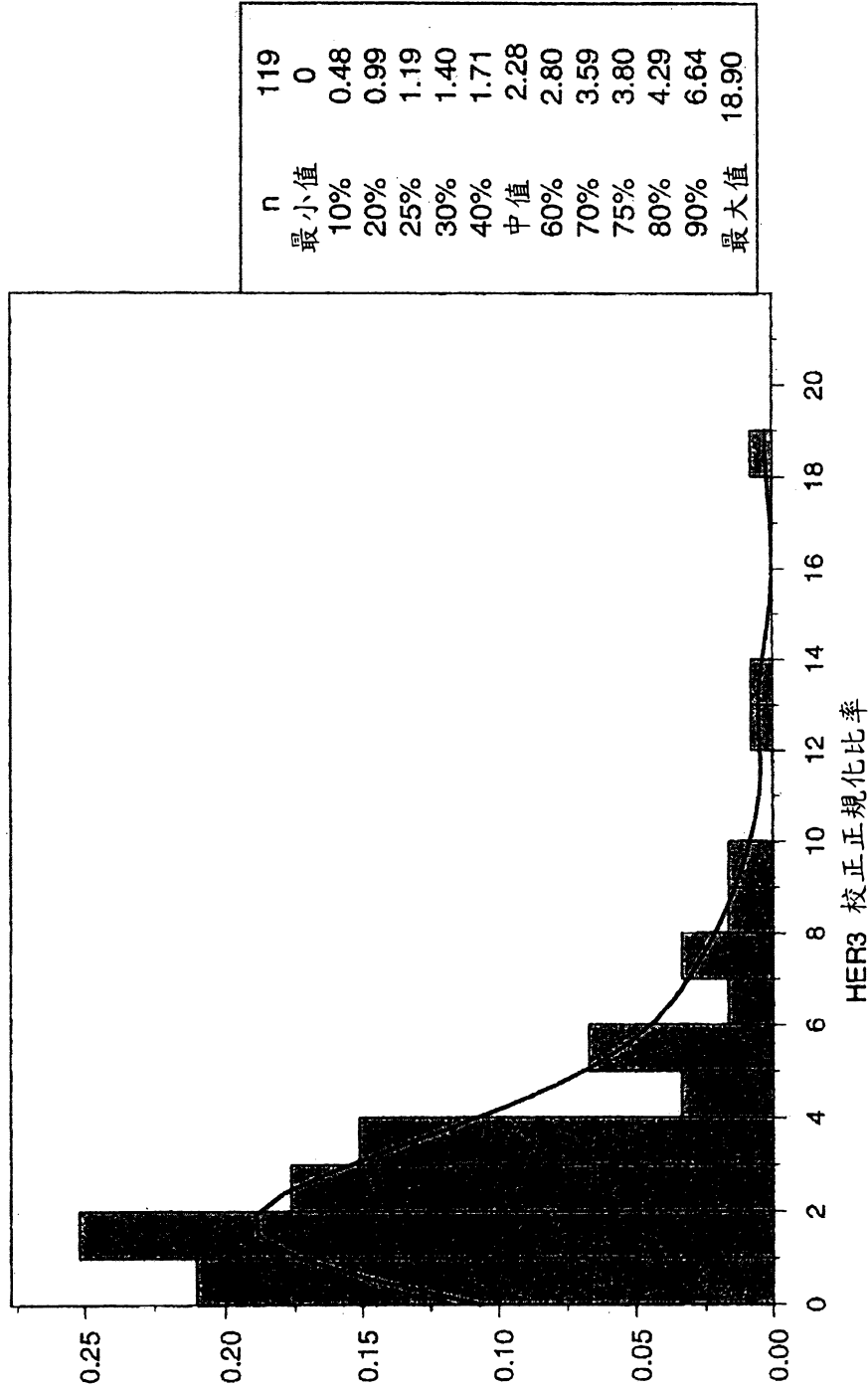
圖24B



高HER3: HER3 大於或等於第75百分位數
低HER3: HER3 小於第75百分位數
第75百分位數 = 4.045

圖25

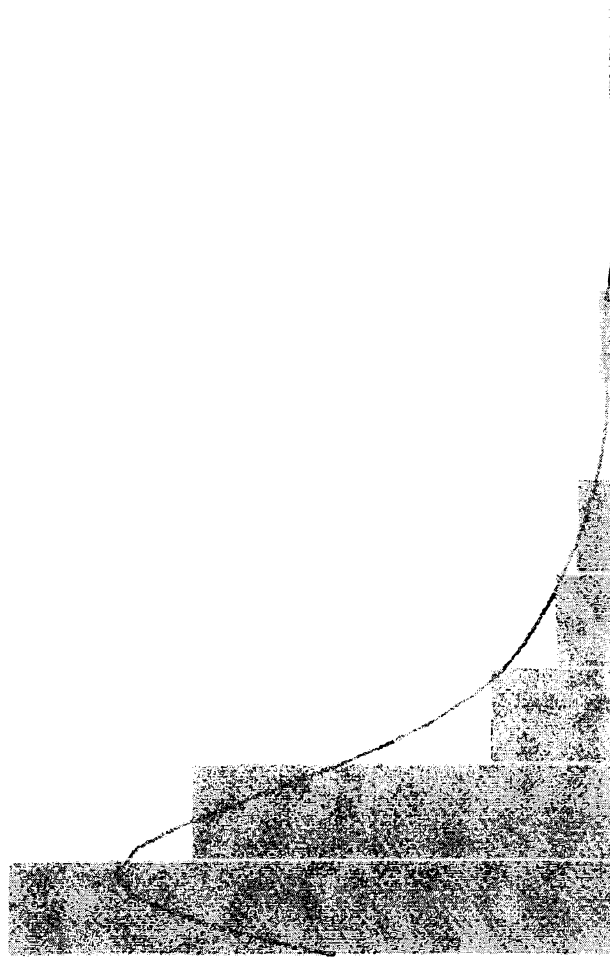
HER3校正正規化比率
表現範圍為約20-80倍



對大多數樣品而言，CP介於約23與30之間

圖26A

HER3校正正規化比率
表現範圍為約20-80倍



n	122
最小值	0
10%	0.50
20%	0.99
25%	1.19
30%	1.39
40%	1.70
中值	2.24
60%	2.75
70%	3.56
75%	3.77
80%	4.05
90%	6.56
最大值	18.90

對大多數樣品而言，CP介於約23與30之間

圖26B

LIGHTCYCLER® 2.0 帕妥珠單抗qRT-PCR活體外診斷檢定

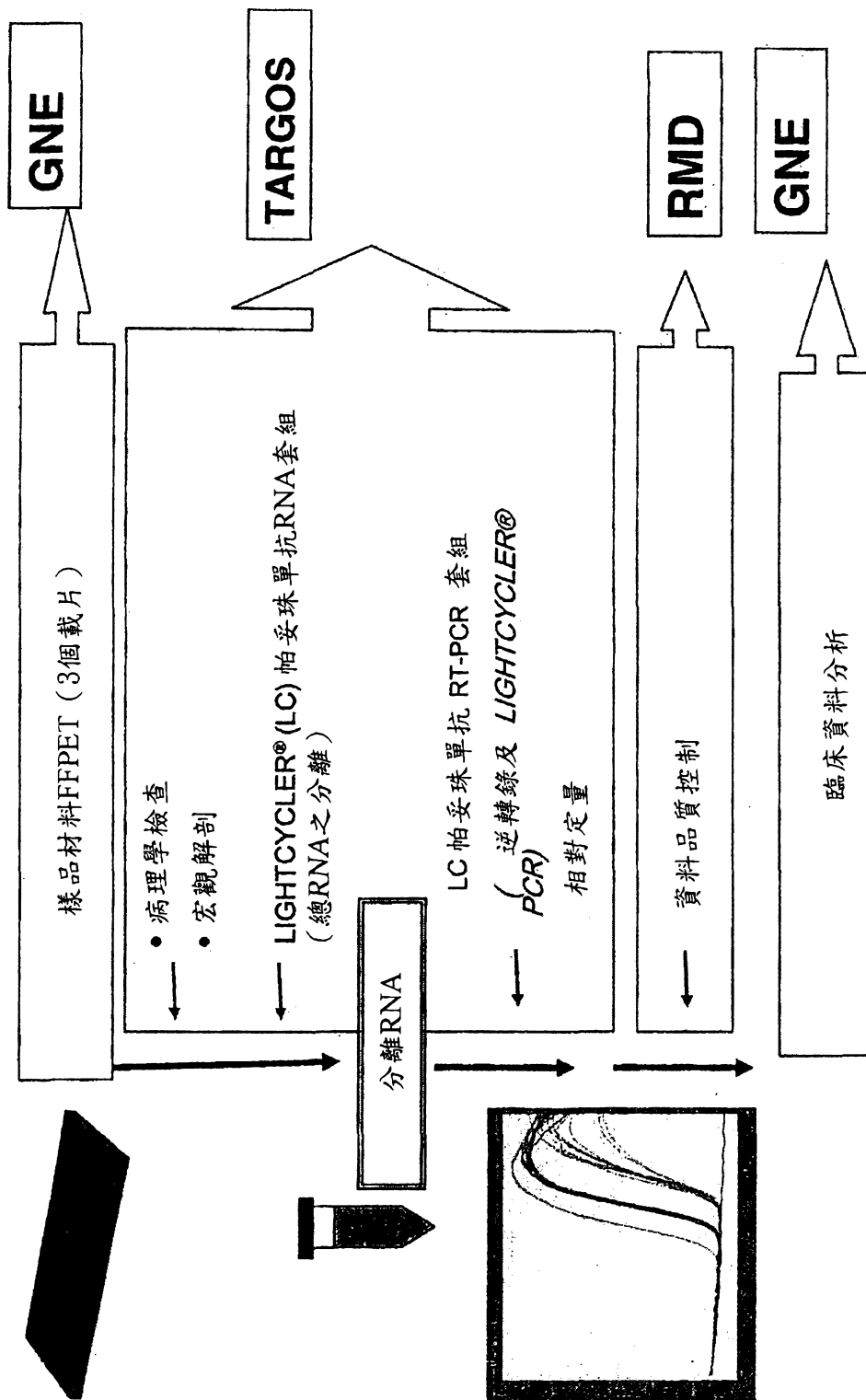


圖27

由qRT-PCR HER2/HER3 (百分位數) 而得之PFS

百分位數	Dx (高) 群				Dx (低) 群				僅吉西他濱 + Omnitarg (n=80)				僅吉西他濱 (n=69)					
	絕對值 N	事件數目	HR (95%CI)	P 值	對數秩 P 值	Dx (高) 中之事件數目	HR (95%CI)	P 值	對數秩 P 值	Dx (低) 中之事件數目	HR (95%CI)	P 值	對數秩 P 值	Dx (高) 中之事件數目	HR (95%CI)	P 值	對數秩 P 值	Dx (低) 中之事件數目
20	0.74	95	72	0.63 (0.39, 1.02)	0.0016	23	21	2.04 (0.68, 7.19)	0.2475	26	18	0.57 (0.31, 1.06)	0.0784	46	3	1.39 (0.43, 4.65)	0.5881	0.1823
25	0.82	89	67	0.46 (0.27, 0.76)	0.0021	29	28	2.85 (1.10, 7.37)	0.0249	24	20	0.53 (0.29, 0.97)	0.0370	43	6	4.07 (1.41, 11.74)	0.0055	0.0005
30	0.90	83	62	0.41 (0.24, 0.69)	0.0007	36	31	2.62 (1.13, 5.62)	0.0187	22	22	0.46 (0.26, 0.84)	0.0104	40	9	3.04 (1.33, 6.94)	0.0058	0.0002
35	1.06	77	60	0.39 (0.22, 0.66)	0.0005	41	33	2.51 (1.14, 5.54)	0.0189	20	24	0.49 (0.29, 0.90)	0.0182	40	9	3.41 (1.50, 7.73)	0.0019	0.0001
40	1.13	71	55	0.39 (0.22, 0.69)	0.0009	47	38	1.91 (0.85, 3.83)	0.0940	18	26	0.52 (0.28, 0.96)	0.0340	37	12	2.76 (1.36, 5.59)	0.0034	0.0004
45	1.26	65	50	0.31 (0.16, 0.61)	0.0003	53	43	1.63 (0.89, 3.77)	0.0482	14	30	0.54 (0.28, 1.09)	0.0584	36	13	3.21 (1.57, 6.56)	0.0007	0.0001
50	1.53	59	47	0.31 (0.16, 0.61)	0.0004	59	46	1.71 (0.91, 3.21)	0.0937	13	31	0.57 (0.30, 1.10)	0.0928	34	15	2.94 (1.50, 5.77)	0.0010	0.0003
55	1.70	54	45	0.34 (0.17, 0.68)	0.0015	64	48	1.44 (0.78, 2.66)	0.2283	13	31	0.66 (0.34, 1.28)	0.2161	32	17	2.55 (1.34, 4.63)	0.0028	0.0022
60	1.88	48	40	0.27 (0.12, 0.57)	0.0003	70	63	1.35 (0.77, 2.37)	0.2886	12	32	0.50 (0.31, 1.18)	0.1348	28	21	2.80 (1.41, 4.81)	0.0015	0.0009
65	2.15	42	34	0.27 (0.12, 0.62)	0.0010	76	69	1.10 (0.65, 1.86)	0.7119	11	33	0.56 (0.28, 1.12)	0.0974	23	28	1.81 (1.00, 3.27)	0.0447	0.0084
70	2.49	36	29	0.21 (0.08, 0.54)	0.0004	82	64	1.13 (0.69, 1.87)	0.6280	8	36	0.52 (0.24, 1.12)	0.0896	21	28	2.07 (1.14, 3.76)	0.0145	0.0032
75	2.62	30	24	0.13 (0.04, 0.46)	0.0003	88	69	1.08 (0.67, 1.75)	0.7634	6	38	0.48 (0.19, 1.10)	0.0766	18	31	2.11 (1.12, 3.98)	0.0167	0.0035
80	2.92	24	20	0.10 (0.02, 0.43)	0.0002	94	73	1.08 (0.67, 1.70)	0.7886	4	40	0.42 (0.15, 1.19)	0.0949	16	33	2.60 (1.36, 4.97)	0.0026	0.0022

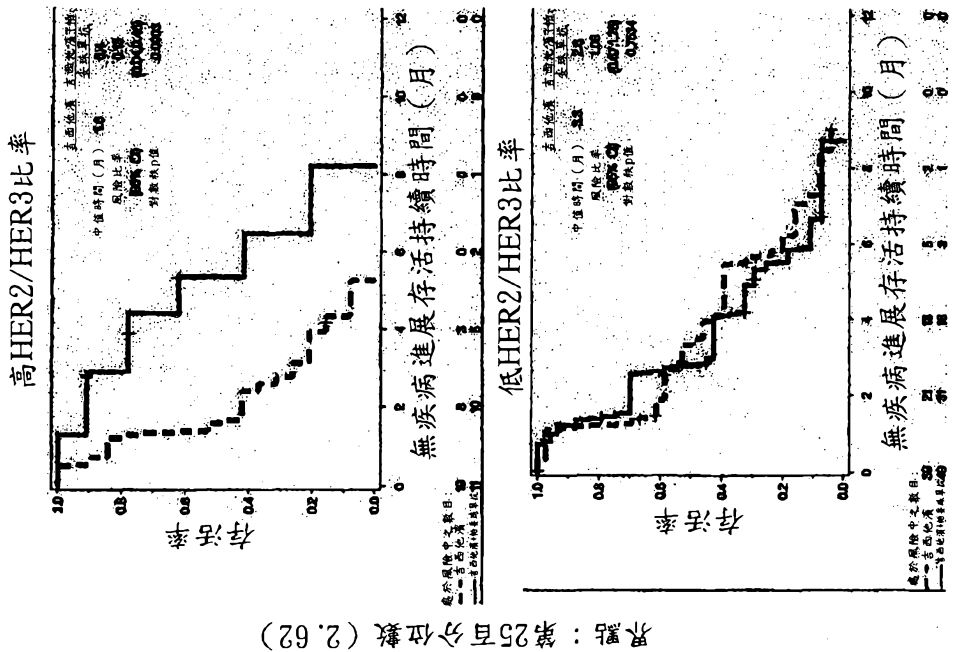
圖 29A

抗鉛型卵巢癌：由qRT-PCR HER2/HER3比率而得之PFS

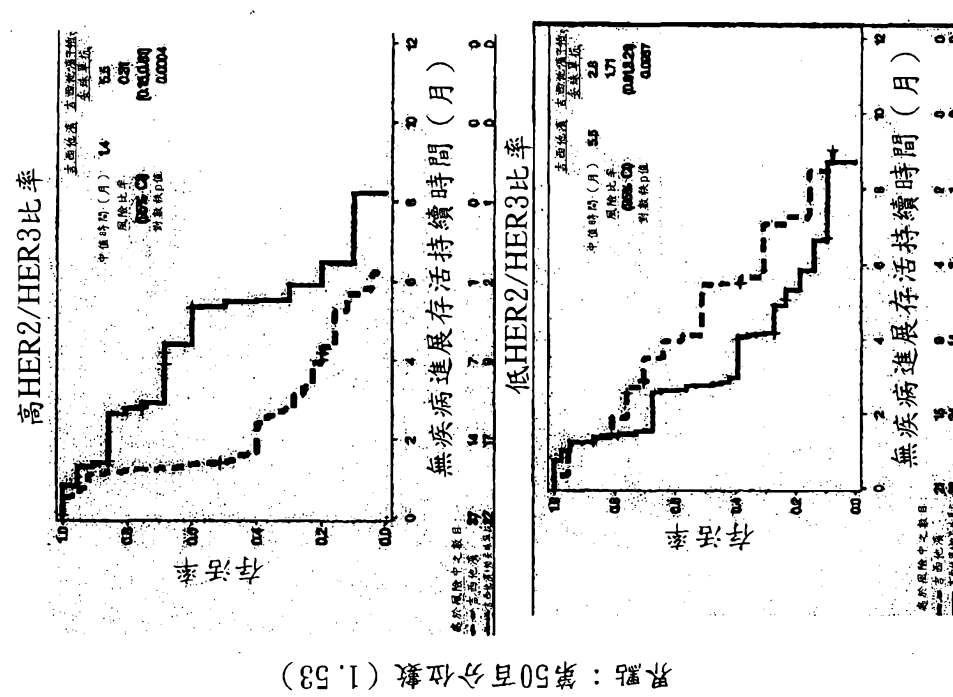
百分位數	Dx (高) 群			Dx (低) 群			吉西他濱+帕妥珠單抗(n=63)			僅吉西他濱(n=59)		
	事件數目	對數秩 P值	HR (95%CI)	事件數目	對數秩 P值	HR (95%CI)	Dx (高) 中之事件數目	對數秩 P值	HR (95%CI)	Dx (低) 中之事件數目	對數秩 P值	HR (95%CI)
20	75	0.67 (0.42, 1.06)	0.0884	24	21	1.70 (0.56, 5.19)	29	0.3418	0.74 (0.40, 1.37)	46	0.3323	1.73 (0.62, 4.87)
25	83	0.91	0.71	0.50 (0.31, 0.82)	0.0050	2.53 (0.99, 6.49)	27	0.0452	0.68 (0.37, 1.24)	44	0.2026	4.34 (1.51, 12.43)
30	85	0.91	66	0.48 (0.29, 0.80)	0.0042	3.0	0.0876	25	0.65 (0.36, 1.17)	41	0.1529	2.92 (1.28, 6.66)
35	1.06	79	63	0.45 (0.26, 0.77)	0.0026	42	0.0691	23	0.63 (0.35, 1.13)	40	0.1204	2.96 (1.37, 6.42)
40	1.13	73	58	0.40 (0.23, 0.71)	0.0011	48	0.0979	21	0.65 (0.36, 1.17)	37	0.1512	2.87 (1.44, 5.71)
45	1.26	67	53	0.35 (0.19, 0.65)	0.0006	54	0.0780	17	0.66 (0.36, 1.21)	36	0.1782	3.49 (1.70, 7.14)
50	1.54	61	49	0.32 (0.17, 0.63)	0.0005	60	0.1154	15	0.64 (0.34, 1.19)	34	0.1566	3.15 (1.60, 6.19)
55	1.73	55	46	0.36 (0.18, 0.70)	0.0018	66	0.2828	15	0.72 (0.39, 1.35)	31	0.3116	2.84 (1.41, 4.94)
60	2.04	49	41	0.29 (0.14, 0.60)	0.0005	72	0.2830	13	0.62 (0.33, 1.20)	28	0.1585	2.69 (1.47, 4.93)
65	2.17	43	35	0.28 (0.12, 0.61)	0.0007	78	0.6512	13	0.62 (0.33, 1.20)	22	0.1585	2.16 (1.18, 3.96)
70	2.50	37	30	0.19 (0.07, 0.48)	0.0001	84	0.5512	10	0.58 (0.28, 1.18)	20	0.1290	2.64 (1.40, 4.96)
75	2.65	31	25	0.10 (0.03, 0.37)	<0.0001	90	0.6370	7	0.42 (0.18, 0.94)	18	0.0314	2.23 (1.19, 4.21)
80	2.99	25	21	0.11 (0.03, 0.40)	<0.0001	96	0.8088	6	0.45 (0.19, 1.08)	15	0.0694	2.46 (1.28, 4.74)

註：未調整HR及對數秩P值以進行多重比較。

圖 29B



界點：第25百分位數 (2.62)



界點：第50百分位數 (1.53)

圖30A

TOC3258g: 由HER2/HER3比率而得之PFS

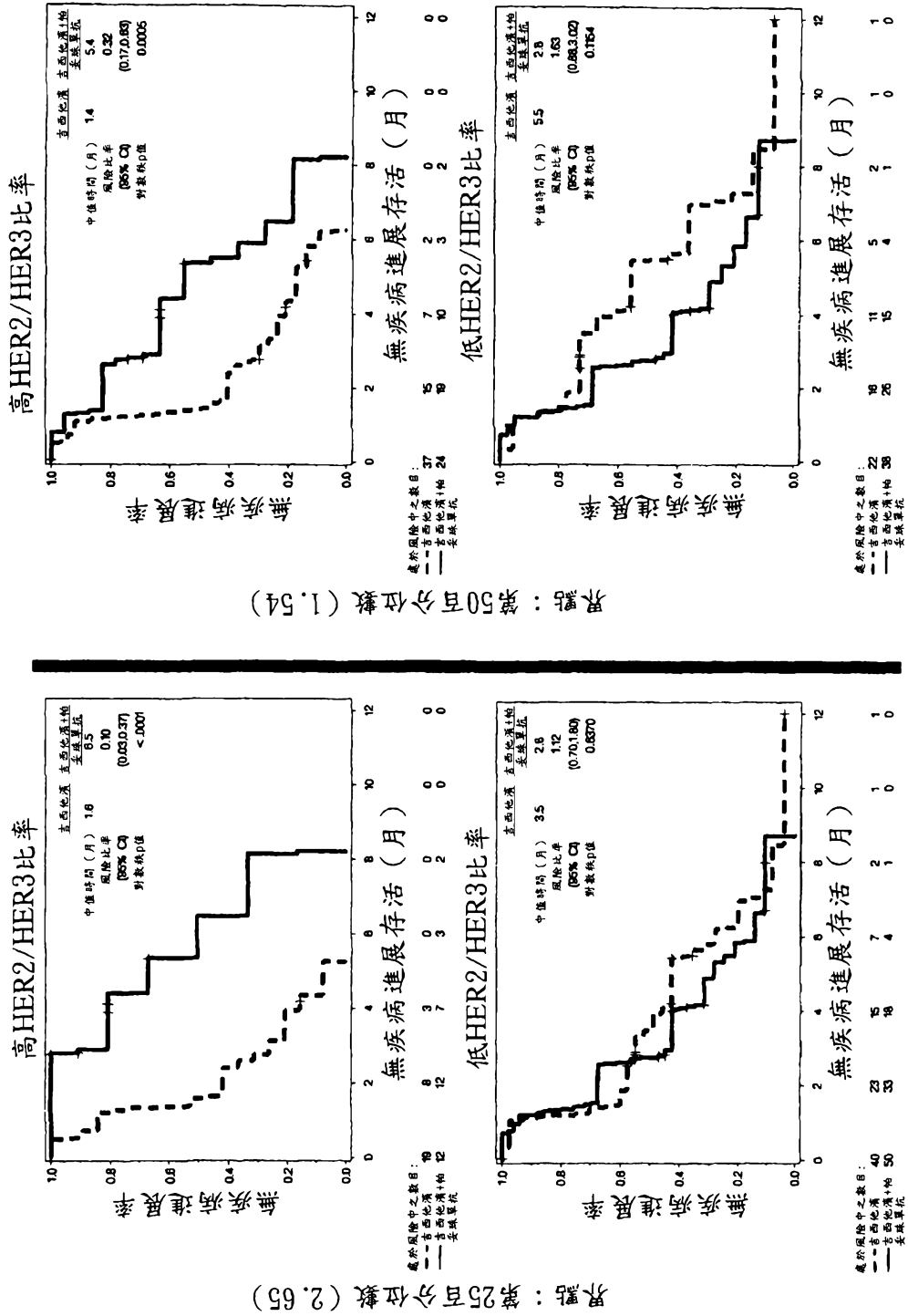


圖30B

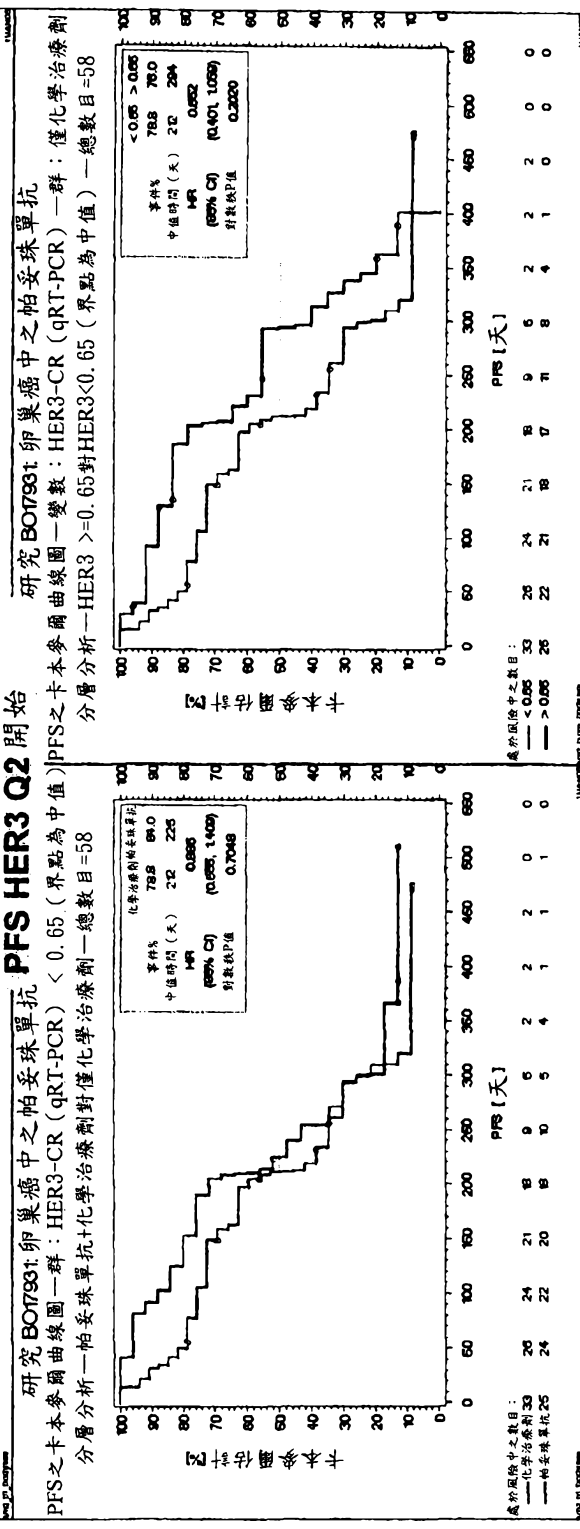
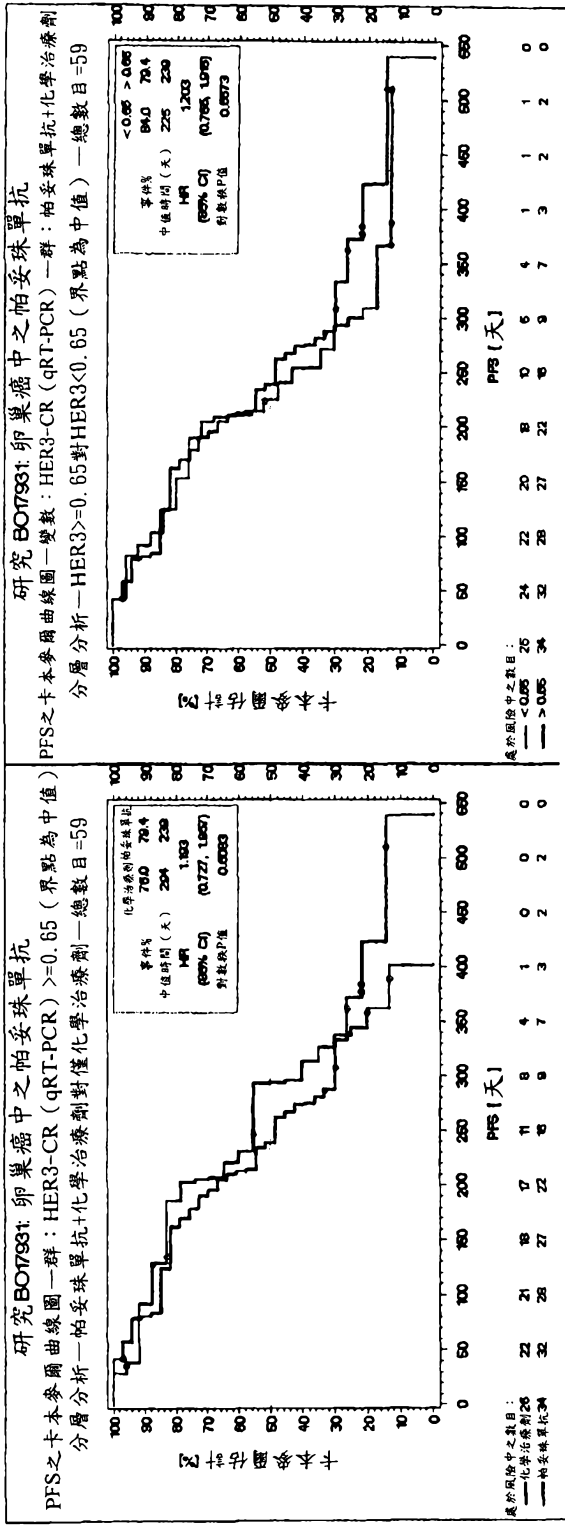
qRT-PCR HER2/HER3 比率	總計		僅吉西他濱			吉西他濱+ Omnitarg			HR (95%CI)	對數秩P值
	N	事件 數目	N	事件 數目	中值 (月)	N	事件 數目	中值 (月)		
0至小於第25 百分位數	29	26	7	6	5.5	22	20	2.6	2.85 (1.10, 7.37)	0.0249
第25百分位數 至小於第50百 分位數	30	20	14	9	3.7	16	11	4.2	1.02 (0.41, 2.54)	0.9649
第50百分位數 至小於第75百 分位數	29	23	18	16	1.3	11	7	5.5	0.61 (0.25, 1.52)	0.2978
第75百分位 數至第100 百分位數	30	24	19	18	1.6	11	6	5.4	0.13 (0.04, 0.46)	0.0003

圖31A

由HER2/HER3四分位數而一得之無疾病進展存活 (PFS)

qRT-PCR HER2/HER3	N	事件數目	HR (95%CI)	對數秩P值
0至小於第25百分位數	30	25	2.53 (0.99, 6.49)	0.0452
第25百分位數至小於第50百分位數	30	22	1.28 (0.52, 3.15)	0.5952
第50百分位數至小於第75百分位數	30	24	0.76 (0.32, 1.83)	0.5618
第75百分位數至第100百分位數	31	25	0.10 (0.03, 0.37)	<.0001

圖31B



PFS HER3 Q2 開始

圖32

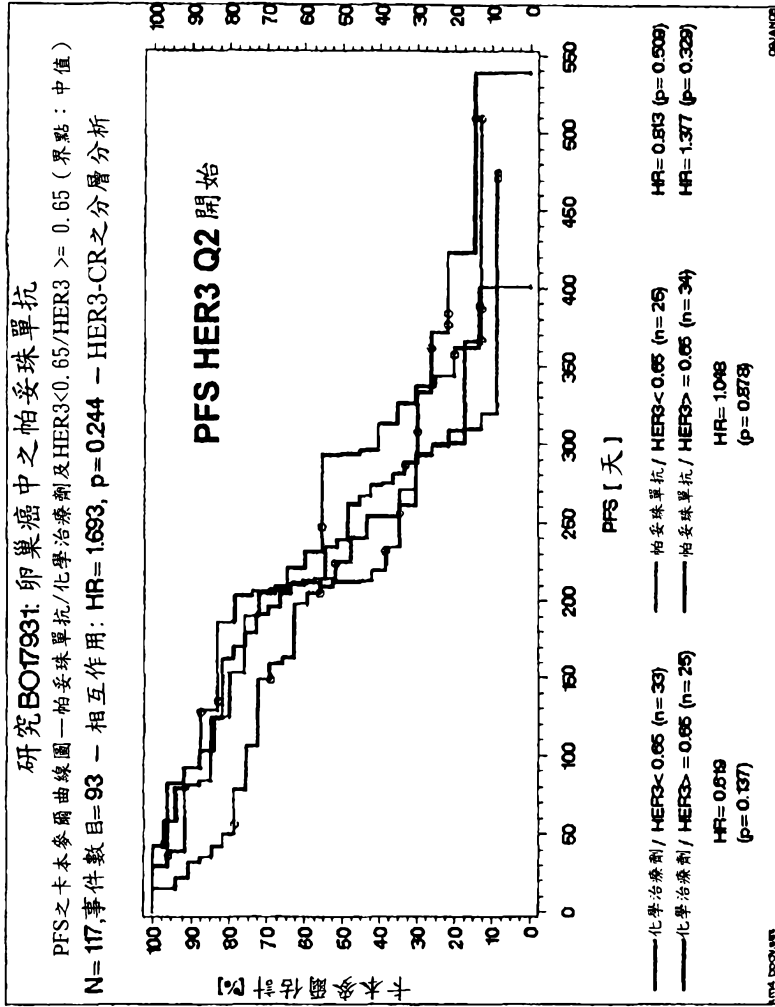


圖 33

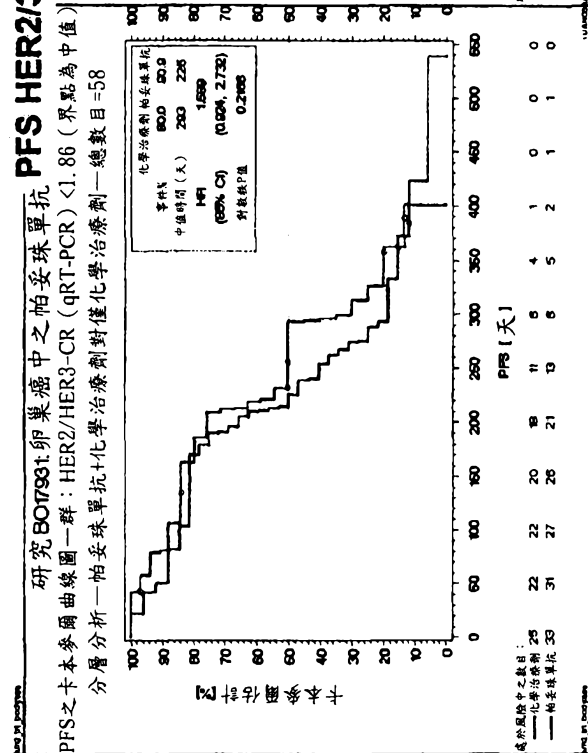
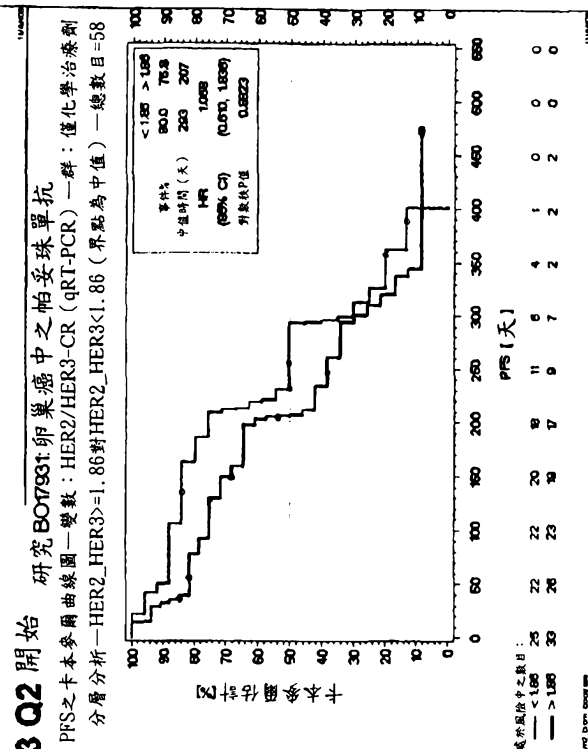
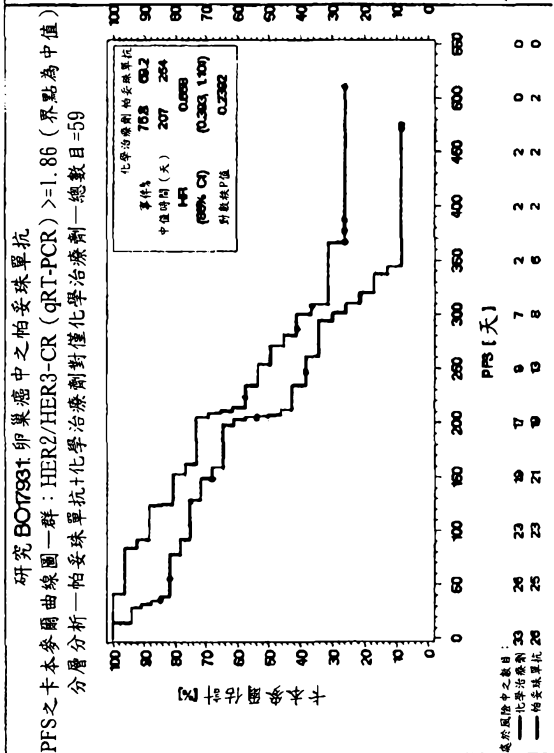
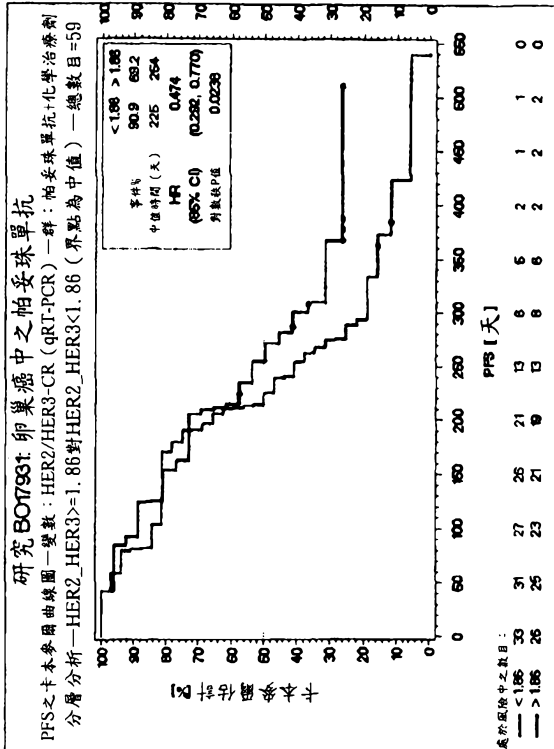


圖34

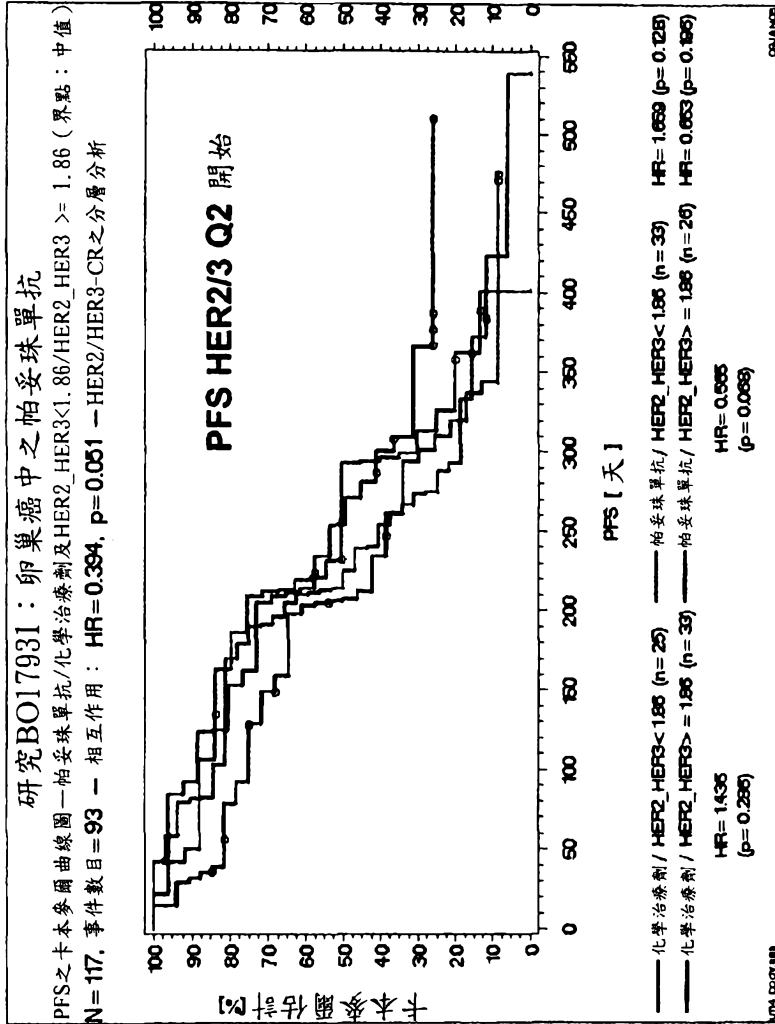


圖35

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(9)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)