202027789

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202027789 A

(43)公開日：中華民國 109 (2020) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：108137680　(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 18 日

(51)Int. Cl.：*A61K39/395* *(2006.01)*　*C07K16/28* *(2006.01)*
C07K16/22 *(2006.01)*　*A61K31/4745* *(2006.01)*
A61K31/513 *(2006.01)*　*A61K31/7072* *(2006.01)*
A61K31/519 *(2006.01)*　*A61K33/243* *(2019.01)*
A61K38/17 *(2006.01)*　*A61K31/44* *(2006.01)*
A61P35/00 *(2006.01)*

(30)優先權：2018/10/19　美國　62/748,114

(71)申請人：德商馬克專利公司 (德國) MERCK PATENT GMBH　(DE)
德國

(72)發明人：馬西米尼　喬治歐 MASSIMINI, GIORGIO (IT)；錫利克　艾勒翰 CELIK, ILHAN (DE)；史塔伯　喬瑟夫 STRAUB, JOSEF (DE)；布朗斯　羅夫 BRUNS, ROLF (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：64 項　圖式數：8　共 156 頁

(54)名稱

用於治療大腸直腸癌之阿比特珠單抗(ABITUZUMAB)

(57)摘要

本發明係關於治療大腸直腸癌之方法，該治療包含投與抗 α-v 整合素(受體)抗體阿比特珠單抗(Abituzumab)。較佳地，本發明係關於治療大腸直腸癌、II 至 IV 期大腸直腸癌、轉移性大腸直腸癌、左側大腸直腸癌及/或左側轉移性大腸直腸之方法，其包含向有需要之患者投與該阿比特珠單抗。本發明亦關於阿比特珠單抗用於製造治療大腸直腸癌(較佳如本文所定義之大腸直腸癌)之藥劑的用途，及/或阿比特珠單抗用於製造與適合之靶向療法概念(諸如靶向生長因子或生長因子受體之單株抗體)及/或化學療法組合治療大腸直腸癌之藥劑的用途。

The invention is directed to methods of treatment of colorectal cancer, said treatment comprising the administration of the anti-alpha-v integrin (receptor) antibody Abituzumab. Preferably, the invention relates to methods of treating colorectal cancer, Stage II-IV colorectal cancer, metastatic colorectal cancer, left-sided colorectal cancer and/or left-sided metastatic colorectal comprising the administration of said Abituzumab to patients in need thereof. The instant invention also relates the use of Abituzumab for the manufacture of a medicament for treating colorectal cancer, preferably colorectal cancer as defined herein, and/or use of Abituzumab for the manufacture of a medicament for treating colorectal cancer in combination with suitable targeted therapy concepts, such as growth factor or growth factor receptor targeting monoclonal antibodies, and/or chemotherapy.

202027789

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於治療大腸直腸癌之阿比特珠單抗(ABITUZUMAB)

【英文發明名稱】

ABITUZUMAB FOR THE TREATMENT OF COLORECTAL CANCER

【中文】

本發明係關於治療大腸直腸癌之方法，該治療包含投與抗α-v整合素(受體)抗體阿比特珠單抗(Abituzumab)。較佳地，本發明係關於治療大腸直腸癌、II至IV期大腸直腸癌、轉移性大腸直腸癌、左側大腸直腸癌及/或左側轉移性大腸直腸之方法，其包含向有需要之患者投與該阿比特珠單抗。本發明亦關於阿比特珠單抗用於製造治療大腸直腸癌(較佳如本文所定義之大腸直腸癌)之藥劑的用途，及/或阿比特珠單抗用於製造與適合之靶向療法概念(諸如靶向生長因子或生長因子受體之單株抗體)及/或化學療法組合治療大腸直腸癌之藥劑的用途。

【英文】

The invention is directed to methods of treatment of colorectal cancer, said treatment comprising the administration of the anti-alpha-v integrin (receptor) antibody Abituzumab. Preferably, the invention relates to methods of treating colorectal cancer, Stage II-IV colorectal cancer, metastatic colorectal cancer, left-sided colorectal cancer and/or left-sided metastatic colorectal comprising the administration of said Abituzumab to patients in need thereof. The instant invention also

relates the use of Abituzumab for the manufacture of a medicament for treating colorectal cancer, preferably colorectal cancer as defined herein, and/or use of Abituzumab for the manufacture of a medicament for treating colorectal cancer in combination with suitable targeted therapy concepts, such as growth factor or growth factor receptor targeting monoclonal antibodies, and/or chemotherapy.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療大腸直腸癌之阿比特珠單抗(ABITUZUMAB)

【英文發明名稱】

ABITUZUMAB FOR THE TREATMENT OF COLORECTAL CANCER

【技術領域】

【0001】 本發明係關於治療大腸直腸癌之方法，該治療包含投與抗α-v整合素(受體)抗體阿比特珠單抗(Abituzumab)。較佳地，本發明係關於治療大腸直腸癌、II至IV期大腸直腸癌、轉移性大腸直腸癌、左側大腸直腸癌及/或左側轉移性大腸直腸之方法，其包含向有需要之患者投與該阿比特珠單抗。更佳地，本發明係關於治療大腸直腸癌(較佳上文給定類別或期之大腸直腸癌)的方法，該等方法包含另外向該等類別或期之大腸直腸癌的現有治療或治療方案另外投與抗α-v整合素(受體)抗體阿比特珠單抗。因此，本發明亦係關於阿比特珠單抗在製造供治療大腸直腸癌(較佳如本文所定義之大腸直腸癌)用之藥劑中的用途，及/或阿比特珠單抗與適合之靶向療法概念(諸如靶向生長因子或生長因子受體之單株抗體)及/或化學療法組合在製造供治療大腸直腸癌用之藥劑中的用途。

【先前技術】

【0002】 大腸直腸癌(較佳亦稱為大腸癌、直腸癌及/或腸癌)為癌症發展到大腸或直腸(大腸的部分)中時。由於細胞之異常生長，細胞通常具有侵入或擴散到身體其他部位的能力。

【0003】 迄今為止，用於大腸直腸癌之治療可包括手術、放射療

法、化學療法及靶向療法之某種組合。限於大腸壁內的癌症可通過手術治癒，而已廣泛擴散的癌症則通常無法用專門改善生活品質及症狀的護理治癒。在美國，五年存活期之概率為約65%。然而，此取決於癌症是否為晚期，是否可通過手術移除所有癌症及個人的整體健康狀況。大腸直腸癌為全球第三大常見癌症，其佔所有病例之約10%。2012年，其導致1.4百萬新病例及致使694,000例死亡。在發達國家則更為常見，發生率超過65%。女性較男性少見。

【0004】 在大腸及直腸之癌症兩者中，在某些情況下除手術之外可使用化學療法。在直腸癌中，化學療法可用於新輔助環境中。

【0005】 若癌症已進入淋巴結，則添加化學治療劑氟尿嘧啶或卡培他濱(capecitabine)來延長預期壽命。若癌症未進入淋巴結，則化學療法之益處存疑。若癌症具有廣泛轉移或不可切除性，則迄今為止，治療主要為姑息性的。通常在此環境中，可使用多種不同化學療法藥物。用於此病狀之化學療法藥物可包括卡培他濱、氟尿嘧啶、伊立替康(irinotecan)、甲醯四氫葉酸、奧沙利鉑(oxaliplatin)及UFT。較佳地，氟尿嘧啶可作為其前藥投與，諸如卡培他濱及/或5-氟胞嘧啶。有時所用的另一類藥劑為表皮生長因子受體抑制劑。

【0006】 雖然放射與化學療法之組合可適用於直腸癌，但由於腸道對放射之敏感性，其在大腸癌中的應用為非常規的。正如化學療法，放射療法可用於某期之直腸癌的新輔助及輔助環境中。

【0007】 然而，適應症大腸直腸癌(CRC)為此項技術中已知及廣泛理解的。較佳地，大腸直腸癌為一種異質性適應症疾病，其可較佳由包括(但不限於)病因位置、受感染組織類別及/或疾病發展期之特徵加以區分。

【0008】 對大腸直腸癌之分級為此項技術中廣泛已知及理解的。較佳地，將不同發展期分成四類或五類，較佳為四類。最早期大腸直腸癌較佳歸類為「0期」(極早期癌症)，及隨後為I期(1)至IV期(4)。一般而言，數值愈低，癌症發展、進展及/或擴散愈少。數值愈高(諸如IV期)，較佳意謂癌症已擴散較多。及在一期內，字母愈靠前較佳意謂期愈低。儘管每個人的癌症經歷不同，但類似期的癌症往往具有類似的前景且通常以大致相同之方式治療。

【0009】 最常用於大腸直腸癌之分級系統為美國癌症聯合委員會(AJCC) **TNM**系統，其根據3種關鍵資訊：

- 腫瘤(**T**)之程度(大小)：癌症已生長到大腸或直腸壁中的程度。此等層(自內至外)包括：
  - 內襯壁(黏膜)，其為幾乎所有大腸直腸癌開始之層。此包括薄肌肉層(黏膜肌層)。
  - 纖維組織，其在此肌肉層下方(黏膜下層)
  - 厚肌肉層(固有肌層)
  - 結締組織之最外薄層(漿膜下層及漿膜層)，其覆蓋大部分大腸但不覆蓋直腸
- 擴散到附近淋巴結**(N)**：癌症是否已擴散到附近淋巴結？
- 擴散(癌轉移)至遠距離部位**(M)**：癌症是否已擴散到遠距離淋巴結或諸如肝或肺等遠距離器官？

【0010】 下文所述之系統為最近的AJCC系統，其於2018年1月生效。其使用病理性分級(亦稱為*手術分級*)，所述病理性分級由對操作期間所移除之組織進行檢查來確定。此亦稱為*手術分級*。相較於*臨床分級*，此

可能更為精確，其考慮了物理檢查、活檢及成像測試之結果，較佳在手術之前進行。

【0011】 數值或T、N及M之後的字母提供更多關於此等因素中之每一者的細節。數值愈高意謂癌症愈晚期。一經確定了某人的T、N及M類別，則在稱作分級之過程中對此資訊進行組合來指定整體期。

AJCC 期	分級	期描述*
0	Tis N0 M0	癌症處於其最早期。此期亦稱為原位癌或黏膜內腺癌(Tis)。其尚未生長超出大腸或直腸之內層(黏膜)。
I	T1或T2 N0 M0	癌症已通過黏膜肌層生長到黏膜下層(T1)，及其亦可能已生長到固有肌層(T2)。其未擴散到附近淋巴結(N0)或遠距離部位(M0)。
IIA	T3 N0 M0	癌症已生長到大腸或直腸之最外層，但尚未通過最外層(T3)。其尚未到達附近器官。其未擴散到附近淋巴結(N0)或遠距離部位(M0)。
IIB	T4a N0 M0	癌症已生長通過大腸或直腸壁，但尚未生長到其他附近組織或器官(T4a)。其尚未擴散到附近淋巴結(N0)或遠距離部位(M0)。
IIC	T4b N0 M0	癌症已生長通過大腸或直腸壁，及已附著到或生長到其他附近組織或器官(T4b)。其尚未擴散到附近淋巴結(N0)或遠距離部位(M0)。
IIIA	T1或T2 N1/N1c M0	癌症已通過黏膜生長到黏膜下層(T1)，及其亦可能已生長到固有肌層(T2)。其已擴散到1至3個附近淋巴結(N1)或擴散到淋巴結附近的脂肪區域，但未擴散到結點本身(N1c)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
	或	
	T1 N2a M0	癌症已通過黏膜生長到黏膜下層(T1)。其已擴散到4至6個附近淋巴結(N2a)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。

	T3或 T4a， N1/N1c M0	癌症已生長到大腸或直腸的最外層(T3)或通過腹膜髒層(T4a)，但尚未到達附近器官。其已擴散到1至3個附近淋巴結(N1a或N1b)或擴散到淋巴結附近的脂肪區域，但未擴散到結點本身(N1c)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
IIIB	或	
	T2或T3 N2a M0	癌症已生長到固有肌層(T2)或生長到大腸或直腸之最外層(T3)。其已擴散到4至6個附近淋巴結(N2a)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
	或	
	T1或T2 N2b M0	癌症已通過黏膜生長到黏膜下層(T1)，及其亦可能已生長到固有肌層(T2)。其已擴散到7個或更多個附近淋巴結(N2b)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
IIIC	T4a N2a M0	癌症已生長通過大腸或直腸壁(包括腹膜髒層)，但尚未到達附近器官(T4a)。其已擴散到4至6個附近淋巴結(N2a)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
	或	
	T3或T4a N2b M0	癌症已生長到大腸或直腸的最外層(T3)或通過腹膜髒層(T4a)，但尚未到達附近器官。其已擴散到7個或更多個附近淋巴結(N2b)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
	或	
	T4b N1或N2 M0	癌症已生長通過大腸或直腸壁，及已附著到或生長到其他附近組織或器官(T4b)。其已擴散到至少一個附近淋巴結或擴散到淋巴結附近之脂肪區域(N1或N2)。其尚未擴散到遠距離部位(M0)。
IVA	任何T 任何N M1a	癌症可能生長或未生長通過大腸或直腸壁(任何T)。其可能擴散或未擴散到附近淋巴結。(任何N)。其已擴散到1個遠距離器官(諸如肝或肺)或遠距離淋巴結組，但未擴散到腹膜之遠距離部分(腹腔襯壁)(M1a)。
IVB	任何T 任何N M1b	癌症可能已生長或未生長通過大腸或直腸壁(任何T)。其可能擴散到或未擴散到附近淋巴結(任何N)。其已擴散到超過1個遠距離器官(諸如肝或肺)或遠距離淋巴結組，但未擴散到腹膜之遠距離部分(腹腔襯壁) (M1 b)。
IVC	任何T	癌症可能已生長或未生長通過大腸或直腸壁(任何T)。其可能擴散

	任何N M1c	到或未擴散到附近淋巴結(任何N)。其已擴散到腹膜之遠距離部分(腹腔襯壁)，及可能已擴散到或可能未擴散到遠距離器官或淋巴結(M1c)。

* 以下額外類別未列於上表中：

- **TX**：由於缺乏資訊，無法對主要腫瘤進行評估。
- **T0**：無原發腫瘤之證據。
- **NX**：由於缺乏資訊，無法對局部淋巴結進行評估。

【0012】 更一般而言，可將大腸直腸癌分成四個期：I期、II期、III期及IV期。期愈高，大腸直腸癌愈晚期。較佳地，I期意謂癌症可在特定大腸直腸位置處診斷，但尚未完全開始生長。在II期的大腸直腸癌中，腫瘤已在最初大腸直腸位置生長，但尚未延伸到該位置之外，而在III期，癌症已擴散到最初大腸直腸位置之外(例如經由癌轉移)，但僅限於最小程度。通常，III期之大腸直腸癌將僅擴散到附近組織，諸如鄰近組織及附近淋巴結。最後，在IV期，癌症已擴散到大腸直腸區域的最初位置之外，擴散到其他組織，諸如遠距離淋巴結、骨骼、肝、肺及/或大腦，參見例如Matias Riihimäki、Akseli Hemminki、Jan Sundquist、Kari Hemminki、Scientific Reports | 6:29765 | DOI: 10.1038/srep29765，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。

【0013】 自1996年以來，CRC及/或mCRC之治療選擇已擴增，尤其在引入了化學療法(諸如伊立替康及奧沙利鉑)及靶向劑(諸如西妥昔單抗、帕尼單抗、阿柏西普、瑞戈非尼及貝伐單抗)之情況下。當前，藉助於包含5-FU與伊立替康之組合化學療法方案治療大腸直腸癌及尤其晚期大腸直腸癌為已確立之治療。此等改善了患者結果，但大部分患者仍因其

疾病而死亡。

【0014】 隨著對CRC之分子生物學的理解增加及新發現的副作用對治療結果的影響，靶向腫瘤生長及進展所必需之因子的新穎組合療法為改善患者結果提供了最大希望。基本上，mCRC之現有治療仍基於五種不同作用機制來破壞腫瘤細胞，亦即阻斷胸苷酸合成酶、嵌入DNA(鉑化合物)、靶向拓樸異構酶I (伊立替康)、靶向生長因子或生長因子受體，其包括(但不限於)：EGF(表皮生長因子)、EGFR(表皮生長因子受體)、VEGF(血管內皮生長因子)及/或VEGFR(血管內皮生長因子受體)。

【0015】 假設整合素抑制劑之用途影響癌細胞存活及血管生成兩者，因為整合素由腫瘤細胞以及由內皮細胞表現。儘管難以區分對腫瘤生長之影響與對血管生成之影響，但當靶向整合素由腫瘤及內皮細胞表現時，可預測此等抑制劑之最大反應。

【0016】 骨骼為多種癌症(包括(但不限於)CRC)的常見轉移性位點之一。Bisanz等人(Molecular Therapy 2005; 12, 634-643)闡述了α-v整合素在骨骼中之積極作用，例如前列腺腫瘤存活期。進一步研究(McCabe等人，Oncogene 2007; 26, 6238-6243)表明，腫瘤細胞上之αvβ3整合素活化對於識別關鍵骨骼特異性基質蛋白為至關重要的。此等資料表明αvβ3整合素對遠距離癌轉移中之癌症生長進行調節。

【0017】 由於假設了整合素對腫瘤細胞與骨骼微環境之間的相互作用進行介導且促進骨骼生長，因此整合素抑制劑之用途的潛在應用為預防CRC癌症骨骼病變。此等病變較佳為成骨性及/或溶骨性的，及經常於癌症患者中偵測到。在一些癌症中，超過80%之患者在剖檢時確定了骨骼癌轉移。

【0018】 此外，免疫組織化學分析表明，αv整合素存在於大部分人類CRC癌症組織樣品中。

【0019】 因此，需要提供一種用於治療大腸直腸癌之新型高效治療劑及/或高效治療方案。因此，本發明之較佳目標為向人類，尤其具有大腸直腸癌(CRC)及/或其癌轉移及尤其轉移性大腸直腸癌(mCRC)，較佳不受癌轉移之部位影響的人類患者提供更有效、更耐受之治療，因此較佳提高整體存活期(OS)、無進展存活期(PFS)、生活品質(QOL)及/或提高中值存活期。

【發明內容】

【0020】 根據本發明，提供治療大腸直腸癌之新型高效治療劑的高需求係由提供抗α-v整合素(受體)抗體阿比特珠單抗用於治療具有高整合素表現及尤其具有高αvβ6整合素表現之腫瘤及/或癌轉移的患者之大腸直腸癌的方法來滿足。更佳地，提供治療大腸直腸癌之新型高效治療劑的高需求係由提供抗α-v整合素(受體)抗體阿比特珠單抗用於治療尤其具有高整合素表現及尤其具有高αvβ6整合素表現之腫瘤及/或癌轉移的患者之較佳左側大腸直腸癌、更佳左側轉移性大腸直腸癌的方法來滿足。較佳地，根據本發明，滿足了迄今為止提供一種治療大腸直腸癌之新型高效治療方案的未滿足之高需求。

【0021】 就此而言，已發現阿比特珠單抗在大腸直腸癌中較佳具有直接及間接抗腫瘤活性。

【0022】 阿比特珠單抗為一種針對人類整合素受體之α-β亞單元的重組型人類化單株IgG2抗體拮抗劑。阿比特珠單抗為對αv整合素具有特異性的泛整合素抑制劑，其抑制所有αv雜二聚體：αvβ1、β3、β5、β6及

β8)。具體而言，阿比特珠單抗抑制αvβ6，其在轉移性大腸直腸癌(mCRC)中顯示出活性增強及已論述為疾病之陰性預後因子(Bates RC, Bellovin Dl, Brown C等人，「Transcriptional activation of integrin β6 during the epithelial-mesenchymal transition defines a novel prognostic indicator of aggressive colon carcinoma」. The Journal of Clinical Investigation. 2005; 115 (2):339-347; Niu Z, Wang J, Muhammad S等人，「Protein expression of elF4E and integrin αvβ6 in colon cancer can predict clinical significance, reveal their correlation and imply possible mechanism of interaction」Cell & Bioscience 2014; Yang GY, Guo S, Dong CY等人，「Integrin αvβ6 sustains and promotes tumor invasive growth in colon cancer progression」. World Journal of Gastroenterol. 2015; 21 (24):7457-7467)，其揭示內容較佳以全文引用之方式併入本文中。整合素為細胞黏附分子家族，該等細胞黏附分子在大範圍的細胞-細胞外基質(ECM)及細胞間相互作用中發揮作用Arnaout MA, Goodman SL, Xiong JP. Structure and mechanics of integrin-based cell adhesion. Curr Opin Cell Biol. 2007;19(5):495-507，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。整合素為由α(α)及β(β)亞單元組成之ECM蛋白的雜二聚跨膜受體。其由結合到其對應ECM配位體而活化。在此相互作用後，整合素可觸發細胞內激酶級聯以調節細胞增殖及存活，且與肌動蛋白細胞骨架結合以驅動細胞附著及運動(Goel HL, Languino LR. Integrin signaling in cancer. Cancer Treat Res. 2004; 119:15 31，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中)。

【0023】α-v整合素在血管生成、增殖性腫瘤血管中及某些腫瘤細

胞類型中高度表現。已表明αvβ6整合素家族之成員在腫瘤進展、腫瘤血管生成及癌轉移中起直接作用(Nemeth JA, Nakada MT, Trikha M等人，α-v integrins as therapeutic targets in oncology. Cancer Invest. 2007;25(7):632-646，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中)。

【0024】 根據本發明，在具有高整合素表現，較佳高αvβ6整合素表現之CRC患者中用阿比特珠單抗靶向整合素(包括αvβ6 (但不限於αvβ6))為一種治療CRC及/或mCRC之出人意料地有利的新穎方法，尤其若與在CRC及/或mCRC中展現出功效的其他靶向治療劑及/或化學療法組合。

【0025】 因此，本發明之較佳主題包含以下中之一或多者：

一種治療人類之大腸直腸癌的方法，較佳如上文及/或下文所述，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

一種治療人類之大腸直腸癌的方法，較佳如上文及/或下文所述，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該大腸直腸癌為左側大腸直腸癌。

一種治療左側大腸直腸癌之方法，較佳如上文及/或下文所述，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該左側大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

如上文及/或下文所述之方法，其中該大腸直腸癌為轉移性大腸直腸癌。

如上文及/或下文所述之方法，其中以每兩週約1000 mg之量或每月約2000 mg之量向該等人類投與該阿比特珠單抗。

如上文及/或下文所述之方法，其中該等人類亦接受靶向至少一種生

長因子或生長因子受體之單株抗體，及/或化學療法。

如上文及/或下文所述之方法，其中該等人類在治療如上文及/或下文所述之大腸直腸癌中亦接受當前照護標準(SoC)之一或多種治療選擇。

如上文及/或下文所述之方法，其中

a) 該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌，

b) 該等人類亦接受靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體，其較佳為西妥昔單抗，及

c) 該等人類根據FOLFIRI或FOLFOX方案，較佳根據FOLFIRI方案視情況接受化學療法。

【0026】 下文更詳細地論述本發明之其他態樣。

【圖式簡單說明】

【0027】 圖1展示了人類腸道組織及大腸壁層之一般結構。

【0028】 圖2展示了西妥昔單抗+伊立替康單獨組中之基於αvβ6表現的OS曲線(POSEIDON)，其中αvβ6>中值為24個月時之較低曲線及αvβ6<中值為24個月時之較高曲線。

【0029】 圖3展示了在具有右側及左側腫瘤患者中，基於高αvβ6表現及用阿比特珠單抗+西妥昔單抗+伊立替康相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨(SOC)治療之OS曲線(POSEIDON)，其中SoC為24個月時之最低曲線；阿比特珠單抗500 mg為24個月時之中值曲線；及阿比特珠單抗1000 mg為24個月時之最高曲線。

【0030】 圖4展示了試驗第II期部分之CONSORT圖。

【0031】 圖5A展示了ITT群體中之PFS的卡本-麥爾(Kaplan-Meier)

曲線，其中SoC、阿比特珠單抗500 mg及阿比特珠單抗1000 mg為16個月時均相同的曲線。

【0032】 圖5B展示了ITT群體中之OS的卡本-麥爾曲線，其中SoC為24個月時之中值曲線；阿比特珠單抗500 mg為24個月時之最低曲線；及阿比特珠單抗1000 mg為24個月時之最高曲線。

【0033】 圖6展示了具有高及低αvβ6表現之患者的OS曲線，所述患者接受西妥昔單抗+伊立替康單獨(Poseidon研究)，其中αvβ6>中值為24個月時之較低曲線；αvβ6<中值為24個月時之較高曲線；CI為信賴區間；及HR為風險比。

【0034】 圖7展示了在具有右側及左側腫瘤患者中，用阿比特珠單抗+西妥昔單抗+伊立替康相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨(SOC)治療具有高αvβ6表現之患者的OS曲線(Poseidon研究)，其中SoC為24個月時之最低曲線；阿比特珠單抗500 mg為24個月時之中值曲線；阿比特珠單抗1000 mg為24個月時之最高曲線；CI為信賴區間；HR為風險比；及SoC為照護標準。

【0035】 圖8A展示了具有高αvβ6表現，左側腫瘤患者之OS的回溯性分析(Poseidon研究)，其中SoC為24個月時之最低曲線；阿比特珠單抗500 mg為24個月時之中值曲線；阿比特珠單抗1000 mg為24個月時之最高曲線。

【0036】 圖8B展示了具有高αvβ6表現，右側腫瘤患者之OS的回溯性分析(Poseidon研究)，其中SoC為18個月時之最低曲線；阿比特珠單抗500 mg為18個月時之中值曲線；阿比特珠單抗1000 mg為18個月時之最高曲線。

【實施方式】

【0037】組織化學資料顯示，αv整合素之目標表現於CRC及/或mCRC之腫瘤血管及腫瘤細胞上。特定言之，因為已對700多名mCRC患者進行分析，αvβ6整合素表現亦已論述為CRC中之預後因子(Bates RC, Bellovin Dl, Brown C等人，「Transcriptional activation of integrin p6 during the epithelial-mesenchymal transition defines a novel prognostic indicator of aggressive colon carcinoma」，The Journal of Clinical Investigation. 2005; 115 (2):339-347; Niu Z, Wang J, Muhammad S等人，「Protein expression of elF4E and integrin αvβ6 in colon cancer can predict clinical significance, reveal their correlation and imply possible mechanism of interaction」Cell & Bioscience. 2014; Yang GY, Guo S, Dong CY等人，「Integrin αvβ6 sustains and promotes tumor invasive growth in colon cancer progression」，World Journal of Gastroenterol. 2015; 21 (24):7457-7467)，其揭示內容較佳以全文引用之方式併入本文中。因此，根據本發明，認為大腸及/或直腸癌腫瘤之高αvβ6表現為腫瘤之進展及此等患者存活期較短的指標。

【0038】在由吾等POSEIDON研究所獲得之資料的吾等近期重新評估(Elez E, Kocáková I, Höhler T等人，Abituzumab combined with cetuximab plus irinotecan versus cetuximab plus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: the randomised phase I/II POSEIDON trial. Annals of Oncology. 2015;26: 132-140，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中)中，探究了第2株KRAS WT mCRC中之阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合的活

性，對西妥昔單抗+伊立替康單獨組之分析表明高αvβ6表現與較差結果相關，較佳顯示高αvβ6表現為陰性預後因子。另外，吾等對來自POSEIDON研究之資料的最新重新評估顯示，用阿比特珠單抗治療之具有高αvβ6表現的患者達成了較高PFS，因此較佳顯示高αvβ6表現可預測對阿比特珠單抗的反應。

【0039】此外，在阿比特珠單抗治療之情形下，吾人發現愈來愈多的證據表明CRC及尤其mCRC為一種遺傳異質性疾病，及緣於大腸之不同側(左側相對於右側)的腫瘤具有不同臨床結果(Bever KM, Le DT. An Expanding Role for Immunotherapy in Colorectal Cancers. Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2017; 15(3):401 — 410; Lee MS, Menter DG, Kopets S. Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes. Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2017; 15(3):411-419, Lee B等人，Left versus right sided colorectal cancer: Teasing out drivers of disparity in outcomes in metastatic disease. Journal of Clinical Oncology. 2017;35:4_suppl, 682-682，其揭示內容較佳以全文引用之方式併入本文中)。對具有KRAS野生型(WT)或RAS WT mCRC之患者的不同類別靶向劑之活性進行比較的分析表明，在mCRC之情形下，原發腫瘤位置(側)可能對臨床結果具有預後性及預測性。回溯性分析研究了原發腫瘤之定位對包括於六種隨機化試驗(CRYSTAL、FIRE-3、CALGB 80405、PRIME、PEAK及20050181)中之具有不可切除的RAS WT及/或KRAS WT mCRC之患者的預後性及預測性影響，該等隨機化試驗對化學療法加EGFR抗體療法(實驗組)與化學療法或化學療法及貝伐單抗(對照組)進行了比較。風

險比(HR)及具有左側相對於右側腫瘤患者之整體存活期(OS)及無進展存活期(PFS)的95%信賴區間及目標反應率(ORR)之勝算比(OR)係由對個別研究HR/OR[10]進行合併來估計。

【0040】 由治療作用與腫瘤側之回溯性相關性來評估預測值。此分析之結果揭示，6項試驗中隨機分配的5,760名患者中之2,159名(37.5%)可獲得原發腫瘤位置及RAS突變狀態，在合併對照組及實驗組兩者中觀察到515名左側及1,644名右側患者，相較於具有左側腫瘤患者，具有右側腫瘤患者的預後明顯較差，OS為(HR 2.03 (分別為95% CI：1.69-2.42)及1.38 (1.17-1.63))，PFS為(HR 1.59 (1.34-1.88)及1.25 (1.06-1.47))及ORR為(OR 0.38 (0.28-0.50)及0.56 (0.43- 0.73))。

【0041】 就預測作用而言，分別觀察到相較於具有右側腫瘤患者(HR 1.12(0.87-1.45)及1.12(0.87-1.44))對OS及PFS無明顯益處，具有左側腫瘤患者(HR 0.75 (0.67- 0.84)及0.78 (0.70-0.87))的化學療法加EGFR抗體療法對OS及PFS之明顯益處；P值分別為<0.001及0.002。相較於具有右側腫瘤患者(HR 1.47(0.94-2.29))，具有左側腫瘤患者的化學療法加EGFR抗體療法對ORR具有較大獲益趨勢(P值為0.07) (HR 2.12 (1.77-2.55))。

【0042】 此分析顯示，在具有RAS WT及/或KRAS WT mCRC之患者中，相較於具有左側腫瘤患者，具有右側腫瘤患者的OS、PFS及ORR預後較差及具有腫瘤側的預測作用，相較於化學療法或化學療法及貝伐單抗，化學療法加西妥昔單抗具有較大作用，該作用在具有左側腫瘤患者中最大，但結果基於此等試驗中之患者亞群及分析之回溯性。

【0043】

非臨床研究資料

αv整合素表現於多種腫瘤細胞、腫瘤侵襲性血管及原發腫瘤之腫瘤基質細胞及大量腫瘤適應症的癌轉移上。

【0044】 較佳地，阿比特珠單抗具有藉由抑制血管生成、藉由改變基質及/或藉由直接靶向腫瘤細胞來抑制腫瘤進展的能力。

【0045】 阿比特珠單抗已展現出較佳活體外干擾涉及腫瘤血管生成之若干態樣，諸如內皮細胞附著至EMC、局部接觸之去穩定作用、內皮細胞遷移、血管生成生長因子信號之傳輸及/或內皮細胞活力。阿比特珠單抗之活體內抗血管生成作用可能及較佳已在多種動物模型中得以表明。

【0046】 阿比特珠單抗較佳亦直接影響腫瘤細胞。阿比特珠單抗較佳降低腫瘤細胞黏附至αv整合素配位體。阿比特珠單抗較佳在具有不同αv整合素雜二聚體表現之不同適應症的若干腫瘤異種移植模型中抑制腫瘤生長。除其單治療活性之外，阿比特珠單抗可在多種模型中顯示出增強若干化學治療劑及西妥昔單抗之作用。

【0047】 在對食蟹猴之阿比特珠單抗的反覆劑量毒性研究內之安全性藥理學評估期間，未觀察到諸如心血管及呼吸系統之主要身體系統或臨床行為的相關結果。在6個月IV輸注長期毒性研究中，未觀察到與治療相關的心率減弱、ECG參數(包括QTc時間間隔)。

【0048】 總之，本文所提供之科學證據支持使用阿比特珠單抗作為具有抗血管生成及直接抗腫瘤活性之藥物，其在單獨或與照護標準(SoC)治療選擇組合投與，或較佳與靶向生長因子之單株抗體或靶向生長因子受體之單株抗體(包括(但不限於)西妥昔單抗及/或化學療法)組合投與時，較佳為治療大腸直腸癌及尤其轉移性大腸直腸癌提供出乎意料地有利的治療

概念，較佳如本文所述。

【0049】

臨床研究資料

具有KRAS WT mCRC之患者的I/II期研究

EMR 62242-004「POSEIDON研究[7]」為一種開放、隨機、對照、多中心I/II期試驗，其研究在兩種劑量下(亦即500 mg及1,000 mg IV)阿比特珠單抗與西妥昔單抗+伊立替康組合相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨作為具有KRAS WT，mCRC之患者的二線治療。若具有KRAS WT mCRC之患者在用含奧沙利鉑之治療方案的一線化學療法治療後具有難治性或進行性，則該等患者符合選入條件。

【0050】 研究為I/II期研究劑量發現/安全性研究，以表徵反覆投與不同劑量之阿比特珠單抗與西妥昔單抗+伊立替康組合的安全性及耐受性概況。研究的主要目標為評估兩種阿比特珠單抗劑量對PFS之抗癌活性。

【0051】 次要目標為評估兩種阿比特珠單抗劑量就整體存活期(OS)、腫瘤進展時間(TTP)、腫瘤反應(實體腫瘤反應評估標準[RECIST]版本1.0)及治療失敗時間(TTF)而言之功效。

【0052】 其他目標包括藉由探究血液中循環及/或由腫瘤表現之候選蛋白與功效及安全性終點之間的關係來鑑別用於調查中治療之反應的潛在預測標記物。

【0053】 總計232名患者入選，16名參與研究之隨機化I期部分及216名患者參與II期部分。

【0054】 在II期部分中，將七十三名患者隨機分配到與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg IV劑量組中，71名分配到與西妥昔

單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg IV劑量組中及72名分配到西妥昔單抗+伊立替康單獨組中。符合方案(PP)分析組中之患者數目為197名(與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg組中66名，與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg組中65名，西妥昔單抗+伊立替康單獨組中66名)。具有重大方案偏差之患者的發生率較低及在所有治療組之間通常類似。

【0055】

ITT群體中之功效結果：

主要功效終點為基於研究者之評估的PFS。截至資料截止日期，來自與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg、與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨之個體的Cox比例風險模型的估計HR分別為1.13 (95% CI：0.78，1.64)及1.11 (95% CI：0.77，1.61)，表明該等組之間無差異。與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg、與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg及西妥昔單抗+伊立替康單獨組的中值PFS時間相當(分別為5.4個月[95% CI：4.1，6.0]，5.6個月[95% CI：4.1，6.9]及5.6個月[95% CI：4.2，6.9])。

【0056】 OS分析結果顯示具有對阿比特珠單抗之有利發現的可能趨勢。相較於西妥昔單抗+伊立替康單獨組，與西妥昔單抗+伊立替康組合之阿比特珠單抗組中具有事件(因任何原因死亡)之患者的數目及百分比較低，其中與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg、與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg及西妥昔單抗+伊立替康單獨組之患者分別為39 (53.4%)、35 (49.3%)及45 (62.5%)。與西妥昔單抗+

伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg及(1000 mg)相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨組的HR分別為0.83 (95% CI：0.54，1.28)及0.80 (95% CI：0.52，1.25)，其有利於阿比特珠單抗。中值OS為15.0個月(95% CI：與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗500 mg、與西妥昔單抗+伊立替康組合的阿比特珠單抗1000 mg及西妥昔單抗+伊立替康單獨分別為10，9，19.2)、14.4個 月(95% CI：9.8，19.3)及11.6個 月(95% CI：9.8，15.7)。

【0057】

探索性生物標記物結果：

以下高水準概述概括了主要生物標記物發現：

【0058】 進行基於免疫組織化學目標(αvβ3、αvβ5、αvβ6、αvβ8、pan αvβ)及目標配位體(骨橋蛋白，玻連蛋白)表現分析。

【0059】 高整合素αvβ6表現經鑑別為陰性預後(預測西妥昔單抗+伊立替康單獨組之存活期較短)及預測用阿比特珠單抗治療延長了OS。αvβ6生物標記物亞組由197名患者組成，其佔POSEIDON研究隨機化部分之ITT群體的91%。

【0060】 對包括整合素αvβ3、αvβ5、αvβ8、pan αvβ之候選標記物及骨橋蛋白進行額外免疫組織化學，然而所測試之額外標記物中無一展現出預後或預測相關性。

【0061】 分析含VEGF之第一線治療對具有高αvβ6組織學評分之患者的OS之影響揭示2組間HR無差異。

【0062】

免疫原性結果：

阿比特珠單抗之免疫原性特徵有利地為陽性，因為無測試患者對阿比特珠單抗之中和抗體呈陽性。

【0063】

安全性結果：

研究之所有患者出現1或多次治療引發之AE，但西妥昔單抗+伊立替康單獨組中之1名患者除外。具有視為與3種研究藥物之至少1者相關的TEAE之患者的數目及百分比在3個組中相當；具有視為與阿比特珠單抗相關的TEAE之患者的數目及百分比在阿比特珠單抗500 mg及阿比特珠單抗1000 mg組中分別為35(48.6%)名患者及39(56.5%)名患者。

【0064】 阿比特珠單抗500 mg及阿比特珠單抗1000 mg組相對於西妥昔單抗+伊立替康單獨組所報導的3級或更高之TEAE的發生率較低(分別為52[72.2%]、54[78.3%]及49[67.1%]名患者)。阿比特珠單抗500 mg及阿比特珠單抗1000 mg組中，分別有16名(22.2%)及12名(17.4%)患者報導具有導致阿比特珠單抗停止之TEAE；與劑量無明顯關係。阿比特珠單抗1000 mg治療組相對於其他治療組之嚴重性TEAE的發生率最高：阿比特珠單抗500 mg、阿比特珠單抗1000 mg及西妥昔單抗+伊立替康單獨組分別為26 (36.1%)、34 (49.3%)及29 (39.7%)名患者。9名(12.5%)、7名(10.1%)及6名(8.2%)患者分別出現具有致命結果的TEAE。

【0065】 總之，POSEIDON研究中將阿比特珠單抗劑量自250 mg增加至1000 mg具有良好的耐受性且未觀察到主要安全性問題。

【0066】

生物標記物結果：

POSEIDON研究包括由免疫組織化學對αvβ6表現的預先規劃測試。

高相對於低αvβ6表現似乎為此等患者存活期的預後標記物及具有高αvβ6表現之患者似乎受益於阿比特珠單抗治療(圖3)。

【0067】 為了鑑別將最大程度地受益於阿比特珠單抗之患者群體，進行進一步分析。由於當在腫瘤中表現時，高αvβ6表現暗示為一種存活期的陰性預後因子，西妥昔單抗+伊立替康單獨之治療作用似乎受限。此外，發現高αvβ6表現為對阿比特珠單抗反應之預測因子，假定阿比特珠單抗作為αvβ6整合素抑制劑將在此等患者之亞組中產生較長PFS及OS。

【0068】 具有高αvβ6表現之左側群體的功效結果(POSEIDON)：

吾等對POSEIDON研究之資料的重新評估揭示了在約73%患者中，發現腫瘤位置位於大腸左側上，及阿比特珠單抗與西妥昔單抗+伊立替康組合組與西妥昔單抗+伊立替康單獨組之間均勻分佈。根據國際指南(NCCN，ESMO 2017)對RAS WT及/或KRAS WT mCRC之左側腫瘤的建議，對POSEIDON研究資料進行進一步探索性分析，以探索用阿比特珠單抗在具有高αvβ6表現之左側患者的治療作用(相較於右側CRC)。出人意料地，在左側CRC患者群體中觀察到極有利的治療作用。

PFS月份(n)					
	高組織學評分			低組織學評分	
	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg +西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	6.9 (31)	5.6 (36)	4.2 (26)	4.9 (35)	5.8 (34)
右側CRC	2.6 (11)	2.8(6)	4.2(9)	3.5 (8)	4.2(5)
左側CRC	8.6 (20)	5.6 (30)	4.2 (22)	5.4(27)	6.5 (29)

目標反應率%(n)		
	高組織學評分	低組織學評分

	阿比特珠單抗1000 mg +西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg +西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	35.5 (31)	30.6 (36)	16.1 (31)	20.0 (35)	32.4 (34)
右側CRC	18.2(11)	0(6)	0(9)	12.5 (8)	20.0 (5)
左側CRC	45.0 (20)	36.7 (30)	22.7 (22)	22.2 (27)	34.5 (29)

整體存活月份(n)					
	高組織學評分			低組織學評分	
	阿比特珠單抗1000 mg +西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg +西妥昔單抗+伊立替康	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	20.6 (31)	15.5 (36)	10.2 (31)	12.8 (35)	15.9 (34)
右側CRC	9.8 (11)	5.1(6)	9.5 (9)	8.6 (8)	10.0 (5)
左側CRC	25.6 (20)	17.1 (30)	10.2 (22)	13.6 (27)	15.9 (29)

OS之風險比					
阿比特珠單抗	**群體**	HR	HR. 95CILL	HR.95CIUL	P值
500/1000 mg	左側/αv (36-更高	0.454	0.257	0.805	0.0068
500 mg	左側/αv (36-更高	0.527	0.284	0.976	0.0416
1000 mg	左側/αv (36-更高	0.357	0.171	0.746	0.0061

【0069】

左側大腸直腸癌

術語「左側大腸直腸癌」及「左側大腸癌」為此項技術中已知及理解的，包括癌症或腫瘤之對應位置，且可將其與「右側大腸直腸癌」及「右側大腸癌」區分開。根據本發明，治療「左側大腸直腸癌」及「左側大腸癌」的方法為較佳的。

【0070】 更詳細地說，大腸之近端及遠端段較佳視為具有不同胚胎來源。自盲腸延伸至橫大腸之近端三分之二的段較佳視為源自中腸。包含

橫大腸遠端三分之一至上肛管的段較佳視為源自後腸。若將遠端橫大腸視為右大腸與左大腸之間的邊界，則右大腸較佳包括盲腸、升大腸、肝彎及橫大腸，而左大腸較佳包括脾彎、降大腸及乙狀大腸。基於此等發現，吾人建議可將大腸直腸癌分成三種不同疾病實體：右大腸、左大腸之癌症及直腸癌，參見例如：Michal Mik, Maciej Berut, Lukasz Dziki, Radzislaw Trzcinski, Adam Dziki; Arch Med Sci 2017; 13, 1: 157-162，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。

【0071】 更特定言之，在本發明之情形下，「左側大腸直腸癌」及「左側大腸癌」較佳為大腸之一部分，較佳包括直腸及更佳不包括直腸，其由天然解剖分離線限定，即腸彎。

【0072】 在本發明之情形下，左側大腸直腸癌或左側大腸癌定義為位於該腸彎左側組織中的癌症。因此，在本發明之情形下，將位於腸彎右側(較佳包括橫骨)之癌症視為「右側大腸直腸癌」及「右側大腸癌」。

【0073】 用於對左側癌症或腫瘤的實際診斷及/或定位之方法在此項技術中已知及理解的。較佳地，左側定位係在解剖學、光學或感官上進行，較佳在光學上進行，例如探索性地在手術期間或經由大腸鏡檢。然而，成像方法(包括(但不限於) CT、MRT、MRI、X射線、超音波及醫療超音波)同樣適用於確定人類、人類患者或患者是否具有左側CRC及/或mCRC。關於其他資訊，亦參見針對大腸直腸癌篩選之美國癌症協會指南(American Cancer Society Guideline for Colorectal Cancer Screening)。

【0074】

高αvβ6整合素表現

在CRC及/或mCRC之情形下，用於測定高αvβ6整合素表現之方法為

此項技術中已知及理解的。已知程序包括經由組織學方法(諸如免疫組織化學)，較佳使用腫瘤組織測定αvβ6整合素表現。適合之此類方法為此項技術中已知的，及例如描述於：Simon L. Goodman, Hans Juergen Grote and Claudia Wilm; Biology Open 1, 329-340 (2012)中，其揭示內容較佳地以引用之方式包括於此文獻中。

【0075】整合素αvβ3、αvβ5、αvβ6、αvβ8及泛αv表現及尤其αvβ6整合素表現較佳使用免疫組織化學在經福馬林固定石蠟包埋之腫瘤組織上評定，較佳如先前描述於：Goodman SL, Grote HJ, Wilm C「Matched rabbit monoclonal antibodies against αv-series integrins reveal a novel αvβ3-LIBS epitope, and permit routine staining of archival paraffin samples of human tumors」，Biol Open 2012; 1: 329-340，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。

【0076】使用染色強度及頻率之資料以0-300之連續標度計算組織學評分，其如先前所述：Pirker R, Pereira JR, von Pawel J等人，「EGFR expression as a predictor of survival for first-line chemotherapy plus cetuximab in patients with advanced non-small cell lung cancer: analysis of data from the phase 3 FLEX study」，Lancet Oncol 2012; 13: 33-42，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。

【0077】較佳地，以病理學方式評估因此獲得之經免疫組織化學染色的FFPE樣品。一般而言，病理學家對主要染色強度進行定量，指定染色模式及估計陽性染色腫瘤組織百分比。較佳地，較佳應用根據上文所引用之McCarty KS Jr等人，1985所述的程序對經免疫組織化學染色之腫瘤組織H評分分類進行半定量評估。因此，較佳估計陰性(0)、輕度染色

(1)、中度染色(2)及重度染色(3)區域的腫瘤組織百分比。隨後，較佳如下計算對應的組織學評分(H評分)：

H評分=(輕度)%+(中度)%×2+(重度)%×3

所獲得之組織學評分較佳分成如下：

H評分	分類
0-50	無
51-100	輕度染色
101-200	中度染色
201-300	重度染色

【0078】 在本發明之情形下，若去分類為至少輕度陽性，較佳若其為中度陽性及尤其若其為重度陽性，則將αvβ6整合素表現分成高。

【0079】 或者，較佳亦可將高於中值水準之αvβ6整合素表現視為高αvβ6整合素表現。

【0080】 更佳地，根據本發明之用途，高αvβ6整合素表現特徵為組織學評分(較佳如本文所述及/或關於本中所引用之文獻獲得的組織學評分，或如類似於本文所述及/或本文所引用之方法獲得的組織學評分)高於60(>60)，較佳高於70(>70)，更佳高於80(>70)，甚至更佳高於90(>90)及尤其高於100(>100)。然而，甚至更高之組織學評分同樣較佳，諸如>110、>120、>130、>140、>150、>160、>170、>180、>190或>200。

【0081】 然而，已證實在POSEIDON研究中，組織學評分高於70(>70)為阿比特珠單抗治療之情形下實現「高αvβ6整合素表現」標準之適合的臨限值。

【0082】

RAS野生型及/或KRAS野生型狀態

RAS測試在大腸直腸癌及/或轉移性大腸直腸癌中之重要性及其測定方法(較佳包括(但不限於)測定RAS野生型及/或KRAS野生型狀況)為此項技術中已知及理解的，及例如描述於：J Han JM Van Krieken, Etienne Rouleau, Marjolijn J. L. Ligtenberg, Nicola Normanno,Scott D. Patterson, Andreas Jung, Virchows Arch (2016) 468:383-396。

【0083】用於測定CRC及/或mCRC患者之RAS WT、KRAS WT及/或NRAS WT狀態的適合之測試為全球範圍內可獲得的及在全球各地的醫院中進行，及較佳已獲得EMA及/或FDA批准。用於測定RAS WT、KRAS WT及/或NRAS WT狀態之適合的測試及測試程序描述於本文實驗章節中。

【0084】此外，N. Normanno, R. Esposito Abate, M. Lambiase, L. Forgione, C. Cardone, A. lannaccone, A. Sacco, A. M. Rachiglio, E. Martinelli, D. Rizzi, S. Pisconti, M. Biglietto, R. Bordonaro, T. Troiani, T. P. Latiano, F. Giuliani, S. Leo, A. Rinaldi, E. Maiello, F. Ciardiello; Annals of Oncology 29: 112-118, 2018, J. Vidal等人，Annals of Oncology 28: 1325-1332, 2017, J. Grasselli等人，Annals of Oncology 28: 1294- 1301, 2017，其揭示內容較佳以全文引用之方式併入本文中，描述了用於測定RAS WT、KRAS WT及/或NRAS WT狀態之適合的替代方法。

【0085】在本發明之情形下，RAS較佳包括KRAS及/或NRAS，及較佳包括KRAS及NRAS兩者。尤其較佳地，對於包含西妥昔單抗之根據本發明的治療，RAS較佳由KRAS及NRAS組成。已發現對應的野生型狀態為靶向至少部分生長因子或生長因子受體之單株抗體(包括(但不限於)

西妥昔單抗及帕尼單抗)的重要生物標記物。西妥昔單抗功效在一段時間內主要與KRAS原生型狀態相關，但當前其較佳亦與RAS野生型狀態相關。與此相反，帕尼單抗功效較佳主要與NRAS野生型狀態相關。然而，帕尼單抗功效較佳亦可由RAS及/或野生型測試來評估，參見例如Rafael G. Amado, Michael Wolf, Marc Peeters, Eric Van Cutsem, Salvatore Siena, Daniel J. Freeman, Todd Juan, Robert Sikorski, Sid Suggs, Robert Radinsky, Scott D. Patterson及David D. Chang, Clin Oncol 26:1626-1634 (2008)，其揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

【0086】另外，主要指南建議將西妥昔單抗用於治療一線左側RAS WT mCRC (NCCN Guidelines version 2. 2017 updates colon cancer; Arnold D, Cutsem E. V, Cervantes A等人，Metastatic Colorectal Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. Annals of Oncology. 2014;25 (suppl 3): iii1-iii9.)。

【0087】較佳根據本發明所用之RAS WT狀態的測定較佳不同於KRAS WT狀態的測定(例如進行POSEIDON研究時所進行的)，不同之處在於彼時排除了僅KRAS外顯子2，而未排除外顯子4及NRAS外顯子2-4突變(=RAS突變)。因此，對於根據本發明之治療方法，待治療之患者較佳為RAS WT CRC/mCRC患者，而非KRAS WT CRC/mCRC患者。作為該RAS測試之結果，較佳將自待根據本發明之方法治療的較佳患者亞群中排除具有KRAS外顯子2-4及NRAS外顯子2-4突變(=RAS突變)的患者。

【0088】因此，RAS野生型測試將較佳排除包括KRAS突變型及NRAS突變型患者兩者。

【0089】因此，RAS野生型狀態較佳包含KRAS野生型狀態及

NRAS野生型狀態，及更佳包含KRAS野生型狀態及NRAS野生型狀態。

【0090】 因此，在本發明之情形下，RAS WT測試較佳包括KRAS WT測試及/或NRAS WT測試，及較佳KRAS WT測試及NRAS WT測試兩者。尤其較佳地，對於包含西妥昔單抗之根據本發明的治療，RAS WT測試較佳由KRAS WT測試及NRAS WT測試組成。

【0091】 因此，本發明之較佳主題因此為：

[1] 一種治療人類之大腸直腸癌的方法，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

[2] 一種治療人類之大腸直腸癌的方法，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該大腸直腸癌為左側大腸直腸癌。

[3] 一種治療如本文所述之左側大腸直腸癌的方法，較佳如上文及/或下文所述，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該左側大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

[4] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]、[2]或[3]部分中之一或多者所述，其中該等人類亦接受靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體，及/或化學療法。

[5] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]、[2]、[3]及/或[4]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為II期、III期或IV期大腸直腸癌。

[6] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]、[2]、[3]、[4]及/或[5]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為轉移性大腸直腸癌或左側轉移性

大腸直腸癌。

[7] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]、[2]、[3]、[4]、[5]及/或[6]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為左側大腸直腸癌或左側轉移性大腸直腸癌，其特徵為高αvβ6整合素表現。

[8] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[7]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型大腸直腸癌。

[9] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[8]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌。

[10] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[9]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為II期、III期或IV期RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌，其特徵為高αvβ6整合素表現。

[11] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[10]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌，其特徵為高αvβ6整合素表現。

[12] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[11]部分中之一或多者所

述，其中該左側大腸直腸癌為新診斷出的大腸直腸癌。

[13] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[12]部分中之一或多者所述，其中將該方法應用於第一線治療環境中。

[14] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[13]部分中之一或多者所述，其中將該方法應用於伴隨治療環境中。

[15] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[14]部分中之一或多者所述，其中將該方法應用於輔助治療環境中。

[16] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[15]部分中之一或多者所述，其中將該方法應用於新輔助治療環境中。

[17] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[15]部分中之一或多者所述，其中該等人類接受伴隨該阿比特珠單抗之靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體及/或該視情況化學療法。

[18] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[16]部分中之一或多者所述，其中靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體包含西妥昔單抗、貝伐單抗及/或帕尼單抗。

[19] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[18]部分中之一或多者所

述，其中靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體選自由西妥昔單抗及貝伐單抗組成之群。

[20] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[5]至[18]部分中之一或多者所述，其中該化學療法包含一或多種選自由以下組成之群的化合物：伊立替康、氟尿嘧啶(5-FU)或其前藥，較佳為卡培他濱及/或5-氟胞嘧啶、喃氟啶(tegafur)/尿嘧啶(UFT)、醛葉酸(甲醯四氫葉酸(leucovorin))、奧沙利鉑(Eloxatin)、阿柏西普、瑞戈非尼、卡培他濱及其前藥，及其鹽與溶劑合物。

[21] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[20]部分中之一或多者所述，其中根據FOLFIRI方案投與該化學療法。

[22] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[20]部分中之一或多者所述，其中根據FOLFOX方案投與該化學療法。

[23] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[22]部分中之一或多者所述，其中該化學療法包含：

a) 一或多種選自以下之化合物：伊立替康、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(甲醯四氫葉酸)，及其前藥，

或

b) 一或多種選自以下之化合物：奧沙利鉑(例如eloxatin)、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(例如甲醯四氫葉酸)，及其前藥，及其鹽與溶劑合物。

[24] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上

文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[23]部分中之一或多者所述，其中以每週375 mg至750 mg之量、每兩週750 mg至1500 mg之量或每月1500 mg至3000 mg之量向該等人類投與該阿比特珠單抗。

[25] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[24]部分中之一或多者所述，其中以每週約500 mg之量、每兩週約1000 mg之量或每月約2000 mg之量向該等人類投與該阿比特珠單抗。

[26] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[25]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該阿比特珠單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[27] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[26]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該阿比特珠單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週。

[28] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[27]部分中之一或多者所述，其中以每週75 mg至1000 mg之量、每兩週150 mg至2000 mg之量或每月300 mg至4000 mg之量向該等人類投與靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體。

[29] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]部分中之一或多者所

述，其中以每週約150 mg/m^{2}至550 mg/m^{2}之量、每兩週300 mg/m^{2}至1100 mg/m^{2}之量或每月約600 mg/m^{2}至2200 mg/m^{2}之量向該等人類投與該西妥昔單抗。

[30] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[29]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[31] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[30]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該西妥昔單抗。

[32] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[31]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該西妥昔單抗的量：

a) 在每個週期期間及較佳在每個週期開始時為約500 mg/m^2，

或

b) 在每個週期之第一週開始時為約400 mg/m^2，及在每個週期之第二週開始時為約250 mg/m^2。

[33] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上

文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]部分中之一或多者所述，其中以每週約1 mg/kg至10 mg/kg之量、每兩週3 mg/kg至15 mg/kg之量或每月約6 mg/kg至30 mg/kg之量向該等人類投與該貝伐單抗。

[34] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[33]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[35] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[33]至[34]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該貝伐單抗。

[36] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[33]至[35]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該貝伐單抗的量：

a) 在每個週期期間及較佳在每個週期開始時為3 mg/kg至15 mg/kg或5 mg/kg至10 mg/kg，

或

b) 在每個週期期間及較佳在每個週期開始時為約7.5 mg/kg。

[37] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上

文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]部分中之一或多者所述，其中以每週約1 mg/kg至10 mg/kg之量、每兩週3 mg/kg至15 mg/kg之量或每月約6 mg/kg至30 mg/kg之量向該等人類投與該帕尼單抗。

[38] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[37]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[39] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[37]至[38]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該帕尼單抗。

[40] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[18]至[28]及[33]至[39]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該帕尼單抗的量：

a) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為3 mg/kg至15 mg/kg，或4 mg/kg至10 mg/kg，

或

b) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為約6 mg/kg。

[41] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上

文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[29]至[32]部分及/或編號[37]至[40]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型大腸直腸癌。

[42] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[29]至[32]部分及/或編號[37]至[40]部分中之一或多者所述，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌。

[43] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中在每個週期期間，較佳在每個週期開始時，及/或在每個週期之每週開始時將

a) 該伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

及/或

c) 該氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

投與該等人類。

[44] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[43]部分中之一或多者所述，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週50

mg/m^{2}至150 mg/m^2、每兩週100 mg/m^{2}至300 mg/m^{2}或每月200 mg/m^{2}至600 mg/m^2，

b) 醛葉酸(外消旋)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2，及/或

c) 氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2。

[45] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[44]部分中之一或多者所述，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週50 mg/m^{2}至150 mg/m^2、每兩週100 mg/m^{2}至300 mg/m^{2}或每月200 mg/m^{2}至600 mg/m^2。

b) 醛葉酸(外消旋)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2，及/或

c) 氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週1000 mg/m^{2}至3000 mg/m^2、每兩週2000 mg/m^{2}至6000 mg/m^{2}或每月4000 mg/m^2 至12000 mg/m^2，較佳為每兩週2000 mg/m^{2}至3200 mg/m^2。

[46] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[45]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期、較佳至少8個週期、更

佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[47] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中在每個週期期間及較佳在每個週期開始時將

a) 該奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

及/或

c) 該氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

向該等人類投與。

[48] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]及[47]部分中之一或多者所述，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週20 mg/m^2至120 mg/m^2、每兩週40 mg/m^2至240 mg/m^2或每月80 mg/m^2至480 mg/m^2，

b) 醛葉酸(外消旋)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2或每月600 mg/m^2至1000 mg/m^2，及/或

c) 5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2或每月600 mg/m^2至1000

mg/m^2。

[49] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]及[47]至[48]部分中之一或多者所述，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週20 mg/m^2至120 mg/m^2、每兩週40 mg/m^2至240 mg/m^2或每月80 mg/m^2至480 mg/m^2，

b) 醛葉酸(外消旋)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2或每月600 mg/m^2至1000 mg/m^2，及/或

c) 5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週1000 mg/m^2至3000 mg/m^2、每兩週2000 mg/m^2至6000 mg/m^2或每月4000 mg/m^2 至12000 mg/m^2，較佳為每兩週2000 mg/m^2至3200 mg/m^2。

[50] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]及[47]至[49]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

[51] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[4]至[42]及[47]至[50]部分中之一或多者所述，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期、較佳至少8個週期、更佳至少10個週期及尤其至少12個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中將

a) 該奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

及/或

c) 該5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

在每個週期期間及較佳在每個週期開始時向該等人類投與。

[52] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[51]部分中之一或多者所述，其中原發腫瘤位於大腸中。

[53] 一種如本文所述之方法，較佳如上文及/或下文所述，更佳如上文及/或下文編號部分所述，及尤其如編號[1]至[52]部分中之一或多者所述，其中原發腫瘤位於大腸左側。

[54] 一種用於治療具有高αvβ6整合素表現之患者之RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌(mCRC)的方法，該方法包含向該患者投與阿比特珠單抗，其與西妥昔單抗及/或FOLFIRI組合。

[55] 一種用於治療具有高αvβ6整合素表現之患者之RAS野生型左側轉移性大腸直腸癌(mCRC)的方法，該方法包含向該患者投與阿比特珠單抗，其與西妥昔單抗及FOLFIRI組合。

[56] 一種用於治療具有高αvβ6整合素表現之患者之RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸癌的方法，該方法包含向該患者投與阿比特珠單抗，其與西妥昔單抗及/或FOLFIRI組合。

[57] 一種用於治療具有高αvβ6整合素表現之患者之RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸癌或轉移性大腸直腸癌的方法，該方法包含向該患者投與阿比特珠單抗，其與西妥昔單抗及/或伊立替康組合。

[58] 一種用於治療具有高αvβ6整合素表現之患者之RAS野生型左側轉移性大腸癌或轉移性大腸直腸癌的方法，該方法包含向該患者投與阿比特珠單抗，其與西妥昔單抗及伊立替康組合，較佳與醛葉酸及/或5-FU組合。

[59] 根據編號[54]至[58]部分中之一或多者的方法，其中該治療為第一線治療。

[60] 根據編號[54]至[59]部分中之一或多者的方法，其中待治療之該轉移性大腸癌及/或轉移性大腸直腸癌為III期及/或IV期癌症。

[61] 根據編號[54]至[60]部分中之一或多者的方法，其中將以所投與之阿比特珠單抗的量為每兩週約1000 mg或每月約2000 mg的方式向患者投與該藥劑。

[62] 根據編號[54]至[61]部分中之一或多者的方法，其中具有高αvβ6整合素表現的該等患者特徵為αvβ6整合素組織學評分高於70，較佳高於80，更佳高於90及尤其高於100，高於120或高於150。

[63] 根據編號[54]至[62]部分中之一或多者的方法，其中投與該治療至少6個、至少8個、至少10個或至少12個週期，每個週期由兩週或約兩週組成。

[64] 根據編號[54]至[63]部分中之一或多者的方法，其中將以每兩週，較佳以兩週或約兩週之週期投與該等患者該阿比特珠單抗、該西妥昔單抗及/或該FOLFIRI。

[65] 根據編號[54]至[64]部分中之一或多者的方法，其中該方法經進一步定義為如編號[1]至[53]部分中之一或多者所述。

[65] 根據編號[1]至[64]部分中之一或多者的方法，其中待用阿比特

珠單抗治療之人類或患者特徵為高αvβ6整合素表現，其較佳由αvβ6整合素組織學評分高於70、較佳高於80、更佳高於90及尤其高於100、高於120或高於150來定量，其中該組織學評分由根據Simon L. Goodman, Biology Open 1, 329-340 (2012)進行之免疫組織化學測定，及組織學評分分類根據McCarty Jr KS, Arch Pathol Lab Med 109: 716-721 (1985)進行。

【0092】因此，本發明之較佳主題為阿比特珠單抗在治療大腸直腸癌，較佳在具有高αvβ6表現之左側CRC及/或mCRC患者，較佳接受第一線治療之患者的大腸直腸癌中之用途。尤其較佳為使用阿比特珠單抗與靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體(較佳選自由西妥昔單抗及帕尼單抗組成之群)組合治療RAS野生型(WT)及/或KRAS野生型CRC及/或mCRC患者的大腸直腸癌。

【0093】亦尤其較佳為使用較佳如上文及/下文所述之阿比特珠單抗與針對大腸直腸癌之建議的照護標準(SOC)及尤其建議的照護標準(SOC)治療方案，較佳選自由以下建議的照護標準(SOC)治療方案組成之群的組合

i) 治療RAS WT CRC及/或mCRC，

ii) 治療KRAS WT CRC及/或mCRC，

iii) 治療左側RAS WT CRC及/或mCRC，

iv) 治療左側KRAS WT CRC及/或mCRC，

v) 治療一線左側RAS WT CRC及/或mCRC，及

vi) 治療一線左側KRAS WT CRC及/或mCRC，

其較佳包括西妥昔單抗或帕尼單抗，更佳為西妥昔單抗，其視情況與FOLFIRI或FOLFOX組合，較佳為FOLFIRI。已充分確立此等治療選

擇，尤其在一線RAS WT及/或KRAS WT CRC及/或mCRC中，較佳在一線RAS WT及/或KRAS WT mCRC中確立，及根據最近分析，尤其較佳在左側CRC及/或mCRC中，甚至更佳在左側CRC及/或mCRC中確立。

【0094】另外，主要指南建議此治療，亦即，用於一線左側RAS WT及/或KRAS WT mCRC (參考NCCN指南11，ESMO指南12)。

【0095】針對RAS WT狀態得以證實之人類或人類患者，尤其較佳使用如上文及/或下文所述之阿比特珠單抗及根據本發明之治療方法。此患者組較佳不同於KRAS WT狀態得以證實之人類或人類患者，例如在POSEIDON研究中治療之人類或人類患者中，僅排除了KRAS外顯子2，而未排除外顯子4及NRAS外顯子2-4突變(=RAS突變)。因此，相較於KRAS WT CRC患者，更佳根據本發明對RAS WT CRC患者進行治療。因此，具有KRAS外顯子2-4及NRAS外顯子2-4突變(=RAS突變)之患者不為根據本發明待治療之人類或人類患者之最佳群體的一部分。另外，在CRC中展現出BRAF突變之人類或人類患者較佳視為較佳需要不同治療方法之具有不良結果的CRC患者亞組。然而，BRAF突變視為發生於右側CRC中。

【0096】因此，較佳認為已確立了根據本發明之方法的協同性，尤其關於根據本發明之包含阿比特珠單抗+西妥昔單抗+伊立替康的方法，尤其為具有高αvβ6整合素表現之人類或人類患者。

【0097】因此，根據本發明尤其較佳為治療CRC及/或mCRC，較佳為mCRC之方法，較佳如本文所述，其中骨幹治療之選擇為基於伊立替康之化學療法，較佳為FOLFIRI，尤其用於第一線治療。此外，針對CRC及/或mCRC之國際指南建議將西妥昔單抗+FOLFIRI作為SOC，及尤其建議

作為治療左側RAS WT mCRC之SOC。較佳地，骨幹治療之選擇由腫瘤生物學驅動，尤其在此等一線患者中。根據本發明尤其較佳為治療CRC及/或mCRC，較佳為mCRC之方法，如本文中所述，其包含將5-FU添加至治療方案中。因此，在本發明之情形下，尤其較佳為包含將阿比特珠單抗添加至西妥昔單抗及FOLFIRI (較佳包括5-FU)的治療方案。

【0098】 包含西妥昔單抗及/或FOLFOX之骨幹治療或包含貝伐單抗之骨幹治療視情況與FOLFIRI或FOLFOX組合亦為較佳的。

【0099】 在本文所述之治療或用於本文所述之治療的方法中，較佳以每週至少250 mg之量、每兩週至少500 mg之量或每月至少1000 mg之量向該等人類、人類患者或患者投與阿比特珠單抗。較佳以每週1000 mg或更低之最大量、每兩週2000 mg或更低之最大量或每月4000 mg或更低之最大量向該等人類、人類患者或患者投與阿比特珠單抗。較佳地，根據所謂的「單一給藥」流程投與阿比特珠單抗，其意謂每個人類、人類患者或僅患者接受定義量或劑量之阿比特珠單抗，而與體重或體表等無關。

【0100】 若未另外明確定義，則投與阿比特珠單抗較佳意謂將阿比特珠單抗投與至人類、人類患者或僅患者，及關於其給定之量較佳為每人類、每人類患者或僅每患者的量。在本文所述之根據本發明的治療方法、醫學用途及/或治療方案之情形下，其較佳適用於所有活性成分、活性原理或藥劑。

【0101】 更佳地，以每週375 mg至750 mg之量、每兩週750 mg至1500 mg之量或每月1500 mg至3000 mg之量投與阿比特珠單抗。

【0102】 甚至更佳地，以每週450 mg至550 mg之量、每兩週900 mg至1100 mg之量或每月1800 mg至2200 mg之量投與阿比特珠單抗。

【0103】 通常，在限定時間間隔內重複腫瘤治療，該等間隔較佳稱為「週期」。術語「週期(cycle/cycles)」為此項技術中已知及理解的。通常，週期為一或多週之時間間隔，較佳為一週、兩週、三週或四週，其後對特定人類、人類患者或僅患者大體上重複相同之治療。根據本發明，尤其關於投與阿比特珠單抗，週期之持續時間較佳為兩週或約兩週。

【0104】 甚至更佳地，以每週期900 mg至1100 mg之量投與阿比特珠單抗，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，在每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳每個週期之第1天投與該阿比特珠單抗。

【0105】 尤其較佳地，以每週期約1000 mg之量投與阿比特珠單抗，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，在每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳每個週期之第1天投與該阿比特珠單抗。

【0106】 尤其較佳地，以每週期約1000 mg之量(單一給藥)向患者投與阿比特珠單抗，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，在每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳每個週期之第1天投與該阿比特珠單抗。

【0107】 較佳地，與靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體及/或化學療法組合投與阿比特珠單抗。靶向生長因子或生長因子受體之單株抗體為此項技術中已知的。較佳的靶向生長因子或生長因子受體之單株抗體包含西妥昔單抗、貝伐單抗及/或帕尼單抗。較佳地，靶向該生長因子或生長因子受體之單株抗體選自西妥昔單抗、貝伐單抗及/或帕尼單抗之群，其中西妥昔單抗為尤其較佳的。

【0108】照此之西妥昔單抗及投與西妥昔單抗之適合的給藥方案為此項技術中已知的。較佳地，以每週約150 mg/m^{2}至550 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至1100 mg/m^{2}之量或每月約600 mg/m^{2}至2200 mg/m^{2}之量投與西妥昔單抗。

【0109】更佳地，以每週約200 mg/m^{2}至350 mg/m^2、每兩週400 mg/m^{2}至700 mg/m^{2}之量或每月約800 mg/m^{2}至1400 mg/m^{2}之量投與西妥昔單抗。

【0110】甚至更佳地，以每週期450 mg/m^{2}至750 mg/m^{2}之量投與西妥昔單抗，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。

【0111】較佳地，在兩週之每個週期開始時，較佳在每個週期(由兩週或約兩週組成)之第1天或第2天，更佳在每個週期之第1天投與該西妥昔單抗，或可替代地，將待投與西妥昔單抗之量分成兩份，一份在每個週期之第一週開始時給予，及第二份在每個週期之第二週開始時給予。較佳地，將該等份以約1:1之比率或2:1與4:1之間的比率，及尤其較佳以約3:2之比率劃分。尤其較佳地，以每週期(由兩週或約兩週組成)約500 mg/m^{2}之量，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳每個週期之第1天投與該西妥昔單抗，或以每週期約650 mg/m^{2}之量，較佳在每個週期之第一週開始時首先約400 mg/m^2，及在每個週期之第二週(及最後一週)開始時剩餘約250 mg/m^{2}投與。

【0112】較佳地，與FOLFIRI組合投與該阿比特珠單抗。甚至更佳地，與該西妥昔單抗及FOLFIRI組合投與該阿比特珠單抗。FOLFIRI包含醛葉酸(甲醯四氫葉酸)、氟尿嘧啶(5-FU)及伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，或更佳由醛葉酸(甲醯四氫葉酸)、氟尿嘧啶(5-FU)及伊立替

康及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物組成。

【0113】 照此之FOLFIRI及其投與為此項技術中已知及理解的。較佳地，根據FOLFIRI方案投與FOLFIRI。甚至更佳地，如下所述投與FOLFIRI：

【0114】 照此之醛葉酸(較佳為外消旋葉酸)及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物及適合之給藥為此項技術中已知之方案。較佳地，將其以每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2之量或每月600 mg/m^2至1000 mg/m^2之量投與。更佳地，將其以每週期300 mg/m^2至500 mg/m^2之量投與，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。甚至更佳地，將其以每週期約400 mg/m^2之量投與，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，將其在每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳在每個週期之第一天投與，該週期由兩週或約兩週組成。

【0115】 照此之氟尿嘧啶(5-FU)及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物及用於投與其之適合的給藥方案為此項技術中已知的。較佳地，將其以每週1000 mg/m^2至3000 mg/m^2之量、每兩週2000 mg/m^2至6000 mg/m^2之量、或每月4000 mg/m^2至12000 mg/m^2之量、更佳每週2000 mg/m^2至3200 mg/m^2之量投與。甚至更佳地，將其以每週1200 mg/m^2至1500 mg/m^2之量、每兩週2400 mg/m^2至3000 mg/m^2之量或每月4800 mg/m^2至6000 mg/m^2之量投與，更佳每兩週2000 mg/m^2至3000 mg/m^2之量，甚至更佳地，將其以每週期約2000 mg/m^2或約2800 mg/m^2之量投與，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，將其在兩週之每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天及/或第2天投與。更佳地，將其在第1天以靜脈內注射約400 mg/m^2及在第1天及/或第2天以一或多種額外靜脈內輸注總計約2400

mg/m^2，或可替代地，在第1天及第2天連續輸注2400 mg/m^{2}形式投與。

【0116】照此之伊立替康及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物及用於投與其之適合的給藥方案為此項技術中已知的。較佳地，將其以每週50 mg/m^{2}至150 mg/m^2、每兩週100 mg/m^{2}至300 mg/m^{2}之量或每月200 mg/m^{2}至600 mg/m^{2}之量，更佳以每週80 mg/m^{2}至100 mg/m^{2}之量、每兩週160 mg/m^{2}至200 mg/m^{2}之量或每月320 mg/m^{2}至400 mg/m^{2}之量投與。甚至更佳地，將其以每週期160 mg/m^{2}至200 mg/m^{2}之量投與，每個週期較佳由兩週或約兩週組成。較佳地，將其在每個週期開始時，較佳在每個週期之第1天或第2天，更佳在每個週期之第1天投與，該週期由兩週或約兩週組成。

【0117】基於最新觀察到的阿比特珠單抗1000 mg劑量之功效無顯著毒性增加，及測試患者數目最多，1000 mg劑量為最佳劑量，較佳以2週投與時間間隔給予，較佳亦稱為兩週或約兩週之週期。另外，以穩定狀態下給藥該1000 mg，在2週投與時間間隔期間阿比特珠單抗之血清最低濃度恆定地高於非線性清除路徑之IC99。

【0118】較佳地，向具有具有高αvβ6整合素表現之RAS WT，左側mCRC患者，更佳向具有高αvβ6整合素表現之RAS WT，左側mCRC之新診斷出的患者，及尤其符合第一線治療條件的患者給予該1000 mg阿比特珠單抗劑量(較佳靜脈內投與)，其與西妥昔單抗+FOLFIRI組合(較佳亦靜脈內投與)。

【0119】在投與西妥昔單抗之情形下，強烈建議在投與西妥昔單抗之前，先由當地實驗室證實RAS WT或KRAS WT mCRC。尤其較佳由中央實驗室測定高αvβ6整合素表現，及較佳在篩選時進行。

【0120】較佳地，根據就此方面之照護標準方案，將對具有得以證實高αvβ6整合素表現及RAS WT或KRAS WT狀態之患者用1000 mg阿比特珠單抗(每兩週為1個週期)加西妥昔單抗+FOLFIRI治療。

【0121】較佳地，治療持續至少6個週期，更佳至少8個週期及尤其至少10個週期。通常，投與不低於6或8個週期。通常，進行最大約20個週期，較佳約18個週期、約16個週期、約14個週期或約12個週期。然而，向每個患者投與之週期數目由負責的腫瘤學家單獨確定。

【0122】較佳地，根據本發明之添加至SoC及更佳添加至西妥昔單抗+FOLFIRI的阿比特珠單抗治療就無進展存活期(PFS)，較佳地由研究者進行之無進展存活期(PFS)而言優於SoC，及更佳優於西妥昔單抗+FOLFIRI單獨。

【0123】較佳地，根據本發明之治療方法就選自由以下組成之群的標準中之一或多者而言優於根據先前技術之治療方案：由研究者進行之整體存活期(OS)、目標反應率(ORR)、反應深度(DPR)及早期腫瘤縮小(ETS)。

【0124】更佳地，根據本發明之治療方法就安全性及耐受性而言與根據先前技術之治療方案相當，較佳甚至功效更高。

【0125】因此，根據本發明之治療方法較佳在一或多種以下給定特徵方面展現出有利結果：

- 整體存活期(OS)更高，
- 目標反應率(ORR)更高，
- 反應深度(DPR)更高，及
- 早期腫瘤縮小(ETS)。

• 具有潛在治癒性意向之二次切除率可能性更高

•有利的總體安全性概況，及例如至少一或多種以下合理結果：AE頻率、嚴重程度及嚴重性(包括具有致命結果之AE)、導致停止之AE頻率及性質、臨床上顯著之異常實驗室參數及生命體徵的頻率及性質、抗藥物抗體之頻率(結合及/或中和)。

【0126】 為了達成根據本發明之治療及尤其根據本發明之較佳治療的益處，人類、人類患者或患者較佳應滿足以下標準中之一或多者，較佳滿足兩者或更多者及尤其三者或更多者：

• 轉移性大腸直腸癌之證據，較佳為IV期轉移性大腸直腸癌，更佳為新診斷出的轉移性大腸直腸癌或新診斷出的IV期轉移性大腸直腸癌；

• 位於大腸(包括左脾彎)或直腸左側之原發腫瘤；或較佳位於大腸左側(包括左脾彎)但不包括直腸之原發腫瘤；

• 由當地評估表明腫瘤(原發腫瘤或癌轉移)的野生型RAS突變狀態；或較佳由當地評估表明腫瘤(原發腫瘤或癌轉移)的野生型KRAS突變狀態；

• 由中央實驗室評估測定的腫瘤組織樣本展現出高αvβ6整合素表現；或較佳為腫瘤組織樣本(經福馬林固定石蠟包埋的塊)，較佳來自原發切除術及/或若可由來自轉移性部位之手術樣本獲得；

為了達成根據本發明之治療及尤其較佳根據本發明之治療的益處，人類、人類患者或患者應較佳不具有任何RAS或BRAF突變及尤其任何已表明的RAS或BRAF突變。

【0127】 下文直接描述了根據本發明之尤其較佳的給藥方案及該等給藥方案包含以下或較佳由以下組成：

治療將以2週週期進行IV投與，每個週期(2週)由以下組成：

西妥昔單抗：

400 mg/m^2 (較佳由IV輸注經120分鐘)，

接著每週250 mg/m^2 (較佳由IV輸注經60分鐘)

或

每兩週500 mg/m^2，(較佳由IV輸注，先經120分鐘，接著60-90分鐘)

+ (60分鐘[± 5分鐘]在完成西妥昔單抗輸注後)：

阿比特珠單抗：

1000 mg：每2週(較佳由IV輸注經60分鐘)

+ (60分鐘[± 5分鐘]在完成阿比特珠單抗輸注後)

FOLFIRI：

每2週

伊立替康180 mg/m^2 IV，30-90分鐘(第1天)

醛葉酸(較佳為外消旋) 400 mg/m^2 IV，120分鐘(第1天)

5-FU 400 mg/m^{2}注射(第1天)

5-FU 2400 mg/m^2 IV，較佳經46小時的時間段(第1天至第2天)。

【0128】然而，根據當地標準及符合國際指南(諸如NCCN，ESMO)之建議，較佳投與西妥昔單抗及FOLFIRI。西妥昔單抗及FOLFIRI之劑量調節較佳由研究者根據標記或當地公認之慣例確定。

【0129】通常，投與時程將為：西妥昔單抗，接著分別為阿比特珠單抗(或靶向其他生長因子或生長因子受體之單株抗體)及FOLFOX (或其他化學治療，較佳為FOLFOX)。

【0130】較佳地，西妥昔單抗(或靶向其他生長因子或生長因子受體

之單株抗體)輸注結束與阿比特珠單抗輸注開始之間應始終留有一小時。較佳地，阿比特珠單抗輸注結束與FOLFIRI (或其他化學療法，較佳為FOLFOX)輸注開始之間應始終留有一小時，以便分別評估任何與藥物相關的副作用。

【0131】 根據本發明之治療方案應較佳施加持續最少6個週期，及更佳最少8個週期及尤其最少10個週期。除非出現不可接受之毒性，否則較佳持續根據本發明之治療方案，直至疾病消退或疾病進展。

【0132】 阿比特珠單抗(EMD 525797) (mAb DI-17E6)當前較佳可作為用於IV輸注之無菌溶液獲得。阿比特珠單抗較佳經調配為含有穩定劑及作為等滲劑之氯化鈉的25 mg/mL緩衝鹽水溶液。

【0133】 通常，以1小時(±5分鐘) IV輸注形式投與阿比特珠單抗1000 mg。恆定的輸注速率可較佳由使用經微處理器控制的輸注泵達成。

【0134】 通常，在第1天(較佳在西妥昔單抗(或靶向其他生長因子或生長因子受體之單株抗體)輸注完成後60分鐘[±5分鐘])及隨後每2週(亦即較佳在兩週或約兩週之每個週期的第1天)投與阿比特珠單抗。

【0135】 在治療及/或篩選之前，較佳需要由當地實驗室證實RAS WT mCRC。在治療之前及/或在篩選階段時，較佳需要由中央實驗室測定高αvβ6整合素表現。

【0136】 篩選較佳包含以下項目中之一或多者：

原發腫瘤位置及疾病程度	原發腫瘤分級及/或較佳TNM分級 (左)側腫瘤之測定及記錄
生物標記物評估	可由局部原發腫瘤(野生型)獲得之RAS或KRAS突變分析 用於評估αvβ6整合素表現(高表現)之FFPE腫瘤塊

【0137】 待由根據本發明之治療方法實現之較佳目標較佳包括無進展存活期(PFS)、整體存活期(OS)、目標反應率(ORR)、反應深度(DPR)、早期腫瘤縮小(ETS)及/或具有潛在治癒性意向的二次切除率。

【0138】 反應深度(DPR)較佳確定為治療期間腫瘤縮小的最大百分比。

【0139】 早期腫瘤縮小(ETS)較佳確定為達成最長腫瘤直徑之總和自基線下降20%之患者的比例。

【0140】 具有潛在治癒性意向之二次切除率較佳如下確定，對於在研究療法期間癌轉移之可切除性明顯的患者應進行癌轉移之手術切除。

【0141】 在此臨床研究方案之範疇內，進行具有治癒性意向之癌轉移的二次切除需要先前表明目標緩解(CR或PR)。

【0142】 具有已登記及建議之國際非專屬名稱(INN) 「阿比特珠單抗」的已知單株抗α-v抗體有時亦稱為DI-17E6、DI17E6、EMR62242或EMD 525797。

【0143】 阿比特珠單抗為針對α-v整合素(受體)之經工程改造的特異性定製IgG2雜交單株抗體。此抗體詳細描述於WO 2009/010290中，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

【0144】 其高變區(CDR)源自鼠類mAb 17E6 (EMD 73034)。此親本小鼠IgG1抗體描述於例如Mitjans等人(1995; J .Cell Sci. 108, 2825)及專利US 5,985,278及EP 719 859。小鼠mAb 17E6由融合瘤細胞株272-17E6產生及以寄存編號DSM ACC2160寄存。

【0145】 其輕鏈結構域源自人類化單株抗EGFR抗體425(馬妥珠單

抗(matuzumab))。此抗體詳細描述於例如EP 0 531 472B1中，及源自其鼠類對應體425 (小鼠MAb 425，ATCC HB9629)，產生針對人類A431癌細胞株之抗體及發現結合至人類表皮生長因子受體(EGFR)之外部結構域上的多肽抗原決定基。馬妥珠單抗在臨床試驗中已展現出高功效。

【0146】 一般而言，如根據本發明所用之抗αv整合素抗體阿比特珠單抗/DI17E6包含：

(i) 源自小鼠單株抗αv整合素抗體17E6之CDR輕鏈及重鏈區

(ii) 獲自人類化單株抗EGFR抗體425之輕鏈構架區，

(iii) 源自小鼠單株抗αv整合素抗體17E6之重鏈構架區，其視情況包含特定位置處之一或多種胺基酸突變，及

(iv) 源自人類IgG2之重鏈恆定區及人類恆定κ輕鏈區，其中在該IgG2結構域中，IgG2鉸鏈區由人類IgG1鉸鏈結構域置換，及其中視情況已進行IgG2內之一或多種突變。

【0147】 具體言之，如所主張之治療及如上文及下文所述之臨床試驗中使用的阿比特珠單抗/DI17E6 (亦表示為「DI17E6γ2h(N297Q)」或「EMD 525797」)具有以下胺基酸序列：

(i)可變及恆定輕鏈序列(SEQ ID No. 1)：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDISNYLA**WYQQKPGKAPKLLIY**YTSKIHS**
GVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYC**QQGNTFPYT**FGQGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 及

(ii)可變及恆定重鏈序列(SEQ ID No. 2)：

QVQLQQSGGELAKPGASVKVSCKASGYTFS**SFWMH**WVRQAPGQGLEWIG**YINP**
RSGYTEYNEIFRDKATMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAS**FLGRGAMDY**
WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV
EPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ**AQ**STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK，

其中帶下劃線的序列表示具有CDR之可變區(粗體表示與親本小鼠抗體相同)。經修飾之IgG1鉸鏈區由EPKSSDKTFITCPPCP (SEQ ID No. 3)表示，及AQ為IgG2結構域內之取代。

【0148】 然而，如WO 2009/010290中所示，亦可根據本發明之教示使用DI17E6之變異體。因此，重鏈構架區內包含一或多種經修飾的DI17E6變異體

FR1：QVQLQQSG**A**ELA**E**PGASVK**M**SCKASGYTFS (SEQ ID No. 4)

FR2：WV**K**Q**R**PGQGLEWIG (SEQ ID No. 5)

FR3：KATMT**A**DTS**S**STAYM**Q**LS**G**L**T**SED**S**AVYYCAS (SEQ ID No. 6)

FR4：WGQGT**S**VTVSS (SEQ ID No. 7)，

其中粗體及帶下劃線的位置之一或多者進行突變，可用於治療所述之前列腺癌患者。更詳細而言，以下位置重鏈構架區在以下位置中之一者、多者或所有處進行突變：A9、E13、M20、K38、R40、A72、S76、Q82、G85、T87、S91及S113。相較於由上文序列定義之DI17E6，此等變異體展現出相同或極類似的生物活性及功效。

【0149】 一般而言，所述之本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾的DI17E6相同或類似，及其中

CDR區及重鏈及輕鏈可變區在其胺基酸序列中與對應DI17E6可變區具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的一致性。另外，本發明較佳亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾之DI17E6相同或類似，及其中該等恆定區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應恆定區具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的一致性。抗體之IgG鏈之恆定區的變化可改善如免疫原性、ADCC等的特定特性。

【0150】 較佳地，所述之本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與(未經修飾之) DI17E6或阿比特珠單抗相同或類似，及其中重鏈及輕鏈可變區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應重鏈及輕鏈可變區具有至少95%、至少98%或至少99%、至少99.5%或至少99.9%的一致性。另外，本發明較佳亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾之DI17E6相同或類似，較佳如上文在此段落中所述，其中該等恆定區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應恆定區具有至少90%、至少95%、至少99%或至少99.5%、或至少99.9%的一致性。抗體之IgG鏈之恆定區的變化可改善如免疫原性、ADCC等的特定特性。

【0151】 甚至更佳地，所述之本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與(未經修飾之) DI17E6或阿比特珠單抗相同或類似，及其中重鏈及輕鏈可變區上的對應CDR區在其胺基酸序列中與DI17E6之重鏈及輕鏈可變區上的對應CDR區具有至少90%、至少92%或至少94%、至少96%、至少98%或至少99%的一致性。另外，本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾之DI17E6相同或類似，較佳如上文在此段落中所述，其中該等恆定區在

其胺基酸序列中與DI17E6之對應恆定區具有至少90%、至少95%、至少99%或至少99.5%、或至少99.9%的一致性。

【0152】 尤其較佳地，所述之本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與(未經修飾之)DI17E6或阿比特珠單抗相同或類似，其中重鏈及輕鏈CDR區與(未經修飾之) DI17E6或阿比特珠單抗具有100%的一致性，但其中除該等CDR區之外的重鏈及輕鏈可變區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應重鏈及輕鏈可變區具有至少95%、至少98%、或至少99%或至少99.5%的一致性。另外，本發明較佳亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾之DI17E6相同或類似，較佳如上文在此段落中所述，其中該等恆定區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應恆定區具有至少90%、至少95%、至少99%或至少99.5%、或至少99.9%的一致性。

【0153】 尤其較佳地，所述之本發明亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與(未經修飾之) DI17E6或阿比特珠單抗相同或類似，其中可變重鏈及/或輕鏈上之CDR區在其胺基酸序列中與DI17E6之重鏈及/或輕鏈可變區上的對應CDR區具有至少90%、至少92%、至少94%、至少96%或至少98的一致性，及其中除該等CDR區之外的重鏈及輕鏈可變區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應重鏈及輕鏈可變區具有至少95%、至少98%、至少99%或至少99.5%的一致性。另外，本發明較佳亦包括DI17E6抗體之修飾及變異體，其在功能上及/或醫藥學上與未經修飾之DI17E6相同或類似，較佳如上文在此段落中所述，其中該等恆定區在其胺基酸序列中與DI17E6之對應恆定區具有至少90%、或至少95%、或至少99%或至少99.5%、或至少99.9%的一致性。

【0154】 尤其較佳地，DI17E6抗體或阿比特珠單抗為如上文及下文所述之IgG2亞類的重組型去免疫單株抗體，其靶向及抑制配位體結合至人類αv整合素。尤其較佳地，已藉由遺傳變異通常用作提供去糖基化分子之附著點的胺基酸殘基來移除通常存在於該DI17E6抗體或阿比特珠單抗之Fc區中的碳水化合物結構。抗體尤其較佳由4條多肽鏈構成，2條相同重鏈各自由447個胺基酸組成而2條相同輕鏈各自由214個胺基酸組成。通常，4條鏈藉由共價(二硫)鍵及非共價鍵之組合而結合在一起。分子之大致分子量為145 kDa。

【0155】 然而，對於所有方法、用途及治療最佳的為具有登記之國際非專屬名稱(INN) 阿比特珠單抗的抗體。

【0156】 在單次及多次劑量阿比特珠單抗之後的PK評估較佳表明，根據由受體介導之清除模型，其有如針對靶向與膜相關受體之其他抗體所述般表現。與健康志願者之早期研究的發現一致，mCRPC患者之阿比特珠單抗的PK與主要由未結合受體之可用性測定之清除呈劑量依賴性。在較佳所用之阿比特珠單抗劑量下，可假定在1000 mg或更高之劑量下，較佳幾乎所有受體將會是飽和的，及較佳不促成藥物清除或僅較小程度地促成藥物清除。

【0157】 如本文中所用，術語「化學療法」為此項技術中理解的。較佳地，其應理解為一類癌症治療，其使用一或多種抗癌藥物(化學治療劑)作為化學療法方案之一部分。

【0158】 較佳根據本發明之理解將術語「化學治療」或「化學治療劑」或「抗腫瘤劑」作為「細胞毒性劑」及/或「細胞生長抑制劑」類之成員，及包括發揮抗腫瘤作用之化學劑，亦即直接預防腫瘤細胞發展、成

熟或擴散到腫瘤細胞上，而非間接經由諸如生物反應修飾之機制。根據本發明之適合的化學治療劑較佳為天然或合成化學化合物，但較佳非表現性地排除蛋白質、多肽以外的生物分子。化學治療劑之實例包括烷基化劑，例如氮芥、伸乙亞胺化合物、烷基磺酸酯及具有烷基化作用之其他化合物(諸如亞硝基脲、順鉑及達卡巴嗪(dacarbazine))；抗代謝物，例如葉酸、嘌呤或嘧啶拮抗劑；有絲分裂抑制劑，例如長春花生物鹼(vinca alkaloids)及鬼臼毒素之衍生物；細胞毒性抗生素及喜樹鹼衍生物。其他化學治療劑為阿米福汀(amifostine)(ethyol)、順鉑、達卡巴嗪(DTIC)、放線菌素d (dactinomycin)、多烯紫杉醇、氮芥、鏈脲菌素(streptozocin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、卡莫司汀(carrnustine)(BCNU)、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、小紅莓(doxorubicin)(adriamycin)、小紅莓脂體(doxil)、吉西他濱(gemcitabine)(gemzar)、道諾黴素(daunorubicin)、道諾黴素脂體(daunoxome)、丙卡巴肼(procarbazine)、絲裂黴素(mitomycin)、阿糖胞苷(cytarabine)、依託泊苷(etoposide)、甲胺喋呤(methotrexate)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、長春鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、博萊黴素(bleomycin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(taxol)、多烯紫杉醇(docetaxel)(taxotere)、阿地介白素(aldesleukin)、天冬醯胺酶(asparaginase)、白消安(busulfan)、卡鉑(carboplatin)、克拉屈濱(cladribine)、喜樹鹼(camptothecin)、CPT-11、10-羥基-7-乙基-喜樹鹼(SN38)、達卡巴嗪、氟尿苷(floxuridine)、氟達拉賓(fludarabine)、羥基脲(hydroxyurea)、異環磷醯胺(ifosfamide)、伊達比星(idarubicin)、美司鈉(mesna)、干擾素α、干擾素β、伊立替康(irinotecan)、米托蒽醌(mitoxantrone)、拓朴替康(topotecan)、亮丙立德(leuprolide)、甲地孕

酮(megestrol)、美法侖(melphalan)、巰基嘌呤(mercaptopurine)、普卡黴素(plicamycin)、米托坦(mitotane)、培門冬酶(pegaspargase)、噴司他丁(pentostatin)、哌泊溴烷(pipobroman)、普卡黴素(plicamycin)、鏈脲菌素(streptozocin)、他莫昔芬(tamoxifen)、替尼泊甙(teniposide)、睾內酯(testolactone)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、噻替派(thiotepa)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)、長春瑞賓(vinorelbine)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、芳香酶抑制劑以及其組合。根據本發明之與阿比特珠單抗組合的更佳化學治療劑為卡巴利他索(cabazitaxel)、順鉑、多烯紫杉醇、吉西他濱、小紅莓、太平洋紫杉醇(紫杉醇)、伊立替康及博萊黴素。

【0159】根據本發明之與阿比特珠單抗組合的甚至更佳化學治療劑較佳選自由以下組成之群：伊立替康、氟尿嘧啶(5-FU)、喃氟啶/尿嘧啶(UFT)、醛葉酸(甲醯四氫葉酸)、奧沙利鉑(Eloxatin)、阿柏西普、瑞戈非尼、卡培他濱及其前藥，及其鹽與溶劑合物。根據本發明之與阿比特珠單抗組合的最佳化學治療劑較佳選自由伊立替康、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(甲醯四氫葉酸)及其前藥組成之群，或選自由奧沙利鉑、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(甲醯四氫葉酸)及其前藥，及其鹽與溶劑合物組成之群。

【0160】通常藉由靜脈內注射投與阿比特珠單抗，然而，在此項技術中用於抗體/蛋白質藥物之方便的其他投與形式為可適用的。所有標準輸注溶液及調配物均為可適用的，諸如WO 2005/077414或WO 2003/053465中所述，包括脂質體調配物。另外，提供負載有DI17E6及視情況(以增大細胞毒性)化學治療藥物之人類血清白蛋白奈米粒子為有利的

(Biomaterials 2010, 8, 2388-98; Wagner等人)。

【0161】若未另外明確定義，則活性成分之命名、活性原理(API)、藥劑或其國際非專屬名稱(INN)較佳包括所有前藥、其鹽及溶劑合物，尤其在功能上等效及/或自臨床角度看來適合的取代物。

【0162】若未另外明確定義，則術語人類、人類、人類患者或患者較佳在本文中可互換使用或作為同義詞。

【0163】若未另外明確定義，則術語人類、人類患者或(僅)患者較佳在本文中可互換使用或作為同義詞。

【0164】根據本發明之尤其較佳的為如本文中所述之主題，其中對兩個或更多個較佳、更佳及/或尤其較佳實施例、態樣及/或主題之特性組合至一個實施例、態樣及/或主題中。較佳地，根據本發明，較佳主題或實施例可與其他較佳主題或實施例組合；更佳主題或實施例可與其他次佳或甚至更佳主題或實施例組合；尤其較佳主題或實施例可與其他恰好較佳或恰好甚至更佳主題或實施例及其類似者組合。

【0165】如本文中所用，關於數字、圖、範圍及/或量之術語「約(about)」較佳意謂「大約(circa)」及/或「大致(approximately)」。彼等術語之含義在此項技術中熟知，及較佳地包括加/減15%及尤其加/減10%的對應數字、圖、範圍及/或量之差異、偏差及/或變化。

【0166】在任何情況下，如本文中所用，關於數值、圖、範圍及/或量之術語「約」較佳意謂「大約」及/或「大致」。彼等術語之含義在此項技術中熟知，及較佳地包括至少加/減5%的對應數字、圖、範圍及/或量之差異、偏差及/或變化。

【0167】如本文中所用，術語「病症」及「疾病」為此項技術中熟

知及理解的。在本發明之情形下，除非在本文中使用該等術語之情形強有力地暗示，否則該等術語較佳地用作同義詞及由此較佳地可互換。因此，如本文中所用，術語「纖維化病症」及「纖維化疾病」亦為此項技術中熟知及理解。在本發明之情形下，除非在本文中使用該等術語之情形強有力地暗示，否則該等術語較佳地用作同義詞及由此較佳地可互換。

【0168】 在包括(但不限於)治療療程、給藥時程及臨床試驗設計之醫學情形下，為患者、醫學工作人員及/或醫生之方便及/或易用性以及結果的可靠性及/或可再生性等起見，術語「週(week/a week)」、「月(month/a month)」及/或「年(year/a year)」可在與公曆(gregorian calendar)之定義有輕微偏差的情況下使用。舉例而言，在該醫學情形下，月通常係指28天，及年通常係指48週。

【0169】 因此，在本發明之情形下，術語「週(week/a week)」較佳係指約5、約6或約7天、更佳約7天之時間段。

【0170】 在醫學情形下，術語「月(month/a month)」較佳係指約28、約29、約30或約31天，更佳地約28、約30或約31天之時間段。

【0171】 在醫學情形下，術語「年(year/a year)」較佳係指約12個月之時間段或約48、約50或約52週、更佳地12個月、或約48或約52週的時間段。

【0172】 下文藉助於實例更詳細地解釋本發明。本發明較佳地可貫穿所主張之範圍來實施及並不受限於此處所給定的實例。

【0173】 此外，給定以下實例以便藉助於例證幫助熟習此項技術者更好理解本發明。實例並不意欲限制由申請專利範圍所賦予之保護範疇。針對實例中所定義之方法、化合物、組合物及/或用途所例示的特徵、屬

性及優勢可指派至未在實例中專門描述及/或定義的其他方法、化合物、組合物及/或用途，但屬於申請專利範圍中所定義的範疇。

【0174】 因此，以下實例更詳細地描述本發明但不限制本發明及所主張之其範疇。

【0175】 以下實例更詳細地描述本發明，但不限制本發明及所主張之其範疇。

【0176】

實例

實例1：

對具有KRAS野生型轉移性大腸直腸癌之患者，阿比特珠單抗與西妥昔單抗加伊立替康組合相對於西妥昔單抗加伊立替康單獨：隨機化I/II期POSEIDON試驗

亦參見：Annals of Oncology 26: 132-140, 2015

背景：整合素涉及腫瘤進展及癌轉移，及差異性地表現於大腸直腸癌(CRC)細胞上。阿比特珠單抗(EMD 525797) (一種靶向整合素αv雜二聚體之人類化單株抗體)已表明臨床前活性。此試驗經設計以評估不同劑量阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合的耐受性(I期)，及探索具有轉移性CRC (mCRC)患者中組合之功效及耐受性相對於西妥昔單抗及伊立替康之功效及耐受性(II期部分)。

【0177】 **方法：**符合條件的患者具有KRAS (外顯子2)野生型mCRC且已接受含奧沙利鉑之先前療法。試驗包含使用高達1000 mg之阿比特珠單抗與照護標準(SoC：西妥昔單抗加伊立替康)組合的初步安全性運作，及II期部分(其中將患者以1:1:1隨機分成以每2週接受與SoC組合之阿比特

珠單抗500 mg (A組)或阿比特珠單抗1000 mg (B組)，或單獨SoC (C組))。主要終點為由研究者評估之無進展存活期(PFS)。次要終點包括整體存活期(OS)、反應率(RR)及耐受性。亦評估腫瘤整合素表現與結果之間的關聯。

【0178】 **結果：**I期顯示，高達1000 mg之阿比特珠單抗與SoC組合具有良好耐受性。七十三名(A組)、71名(B組)及72名(C組)患者隨機分配到II期部分。對基線特徵進行平衡。三個組的PFS類似：A組相對於SoC，風險比(HR)為1.13[95%信賴區間(CI) 0.78-1.64]；B組相對於SoC，HR為1.11 (95% CI 0.77-1.61)。RR亦類似。觀察到OS改善的趨勢：A組相對於SoC，HR為0.83 (95% CI 0.54至1.28)；B組相對於SoC，HR 0.80 (95% CI 0.52-1.25)。72%、78%及67%患者觀察到≥3級治療引發之不良事件。A組[HR 0.55 (0.30-1.00)]及B[HR 0.41 (0.21-0.81)]中之高腫瘤整合素αvβ6表現與OS更長相關，相較於C組。

【0179】 **結論：**不滿足主要PFS終點，但預先定義的探索性生物標記物分析鑑別了阿比特珠單抗可能具有益處之患者的亞群。阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合的耐受性為可接受的。有必要進一步研究。

臨床試驗管理鑑別：NCT01008475

關鍵詞：阿比特珠單抗、大腸直腸癌、整合素、生物標記物、單株抗體、I/II期

【0180】

簡介

在過去20年間，轉移性大腸直腸癌(mCRC)之治療選擇已增加，尤其在引入諸如伊立替康及奧沙利鉑之化學治療劑及諸如西妥昔單抗、帕尼單

抗、阿柏西普、瑞戈非尼及貝伐單抗之靶向劑的情況下[1]。此改善了患者結果，但大部分患者因其疾病而死亡。隨著對CRC之分子生物學的理解增加，靶向腫瘤生長及進展所必需之因子的新穎療法為改善患者結果提供了最大希望[2]。整合素構成雜二聚跨膜糖蛋白(包含α及β亞單元)之家族，其介導正常細胞與腫瘤細胞中之多種細胞間及細胞至細胞外基質(ECM)相互作用[3]。整合素促進腫瘤細胞存活、癌轉移及血管生成[4]。研究已經表明，整合素αvβ5及αvβ6表現於CRC細胞上，且整合素αvβ3及αvβ5表現於與腫瘤相關的血管上[5，6]。整合素αvβ6之過度表現與具有早期mCRC之患者的中值整體存活期(OS)顯著降低相關[7]。因此，αv整合素及尤其αvβ6表示mCRC之療法的合理目標。人類化單株IgG2抗體阿比特珠單抗(EMD 525797)特異性結合至αv整合素亞單元，抑制與ECM中之配位體的相互作用。此可防止細胞附著及活動且誘導細胞凋亡[3，8]。在臨床前研究中，已在人類腫瘤異種移植模型中觀察到阿比特珠單抗之抗腫瘤活性，當將阿比特珠單抗與西妥昔單抗或伊立替康組合時觀察到比任一單獨藥劑更大的活性[Merck KGaA，檔案資料]。此外，阿比特珠單抗單一療法之臨床研究已表明其耐受性[9，10]。吾人在具有KRAS外顯子2野生型mCRC之患者中進行了I/II期試驗，以表徵不同劑量之阿比特珠單抗與伊立替康及西妥昔單抗(一種用於mCRC之照護標準(SoC)選擇)組合的耐受性，該等患者已接受使用含奧沙利鉑之方案的先前療法。試驗第II期部分在此等患者中對阿比特珠單抗與伊立替康及西妥昔單抗組合之功效與伊立替康加西妥昔單抗之功效進行比較，

【0181】

患者及方法

研究設計及治療

此開放標籤、多中心I/II期研究(ClinicalTrials.gov標識：NCT01008475)由各機構的機構審查委員會批准。所有患者在入選之前提供知情同意書。研究根據赫爾辛基聲明(Declaration of Helsinki)之原理進行。在第I期劑量遞增部分中，使用經典『3+3』設計，其中使符合條件的患者每2週接受靜脈內阿比特珠單抗250、500、750或1000 mg與SoC的組合。基於可能活性劑量範圍之藥物動力學(PK)模型化，參考目標飽和度來選擇阿比特珠單抗劑量。患者在1個週期之第1天接受400 mg/m^{2}及其後每週接受250 mg/m^{2}西妥昔單抗。在完成西妥昔單抗輸注之後≥60 min投與阿比特珠單抗，且在完成阿比特珠單抗輸注之後≥60 min投與180 mg/m^2(最大體表面積2.0 m^2)伊立替康，以評估與輸注相關的副作用。治療持續，直至疾病進展或不可接受之毒性。劑量限制性毒性(DLT)經定義為：治療前2週與治療相關的死亡；或任何3/4級非血液學毒性或與研究治療相關的4級血液學毒性。DLT中不包括在無充分支持性照護之情況下西妥昔單抗及伊立替康之預期毒性，諸如4級嗜中性白血球減少症或無發熱及持續≤5天的白血球減少症及3/4級腹瀉[11]。在試驗之隨機化第II期部分，將患者以1:1:1隨機分成以每2週接受與SoC組合之阿比特珠單抗500 mg或阿比特珠單抗1000 mg，或SoC (每週西妥昔單抗及每2週伊立替康)治療 (圖可於Annals of Oncology在線獲得)。選擇兩個阿比特珠單抗劑量用於該第II期部分係由於來自第I期部分之資料的可用性不足以選擇一個劑量及主要經PK導引以達成不同目標飽和量；每2週投與阿比特珠單抗500 mg很可能提供已觀察到臨床前活性之血清濃度；選擇每2週阿比特珠單抗1000 mg，以提供恆定地高於各劑量之間非線性清除路徑之IC99的穩態血清最

低濃度。基於先前是否投與抗血管內皮生長因子(VEGF)療法對患者進行分層。治療持續，直至由研究者評估之以放射照相方式記錄的疾病進展、不可接受之毒性、治癒性切除之合格性(研究者之評估)或退出同意書。

【0182】

患者

年齡≥18歲，經組織學證實為KRAS外顯子2野生型mCRC，記錄有遠距離癌轉移及至少一種以放射照相方式記錄的先前未經照射區域之可量測病灶的成人為符合條件的。所有患者必須經歷含奧沙利鉑/氟嘧啶之先前療法失敗，其定義為在最後劑量6個月內之疾病進展或不耐受性。患者之東部合作腫瘤學組(ECOG)效能狀態為0或1，或卡諾夫斯基效能狀態≥80%，及可接受實驗室參數(包括絕對嗜中性白血球計數≥1.5×10^9/l、血小板≥100×10^9/l、血球蛋白≥9 g/dl及膽紅素≥1.5×正常值上限)。關鍵排除標準包括先前用任何表皮生長因子受體抑制劑治療、已知腦癌轉移、臨床上相關冠狀動脈疾病、不受控制之高血壓及過去12個月內心肌梗塞病史。

【0183】

評估

需要所有患者為KRAS突變分析提供腫瘤塊及在篩選期間評估整合素表現。如先前所述使用免疫組織化學在經福馬林固定石蠟包埋之腫瘤組織上評估整合素αvβ3、αvβ5、αvβ6、αvβ8及泛αv表現[5]，如先前所述使用染色強度及頻率之資料以0-300之連續標度計算組織學評分[12]。自研究起始之時間監測患者的治療引發之不良事件(TEAE)，直至研究藥物之最終劑量之後31天。由研究者評估研究藥物與TEAE之間的因果關係。使用電腦斷層掃描(CT)成像或磁共振成像(MRI)掃描基線處及自隨機化日期每

6週，直至疾病進展或死亡來評估腫瘤。RECIST用於目標性評估反應[13]。完全及部分反應(CR或PR)必須由初始掃描之後≥6週掃描證實。在試驗之隨機化II期部分期間，由獨立審查委員會審查所有掃描。初始篩選後，所有因除死亡之外的任何原因退出試驗及不具有腫瘤評估的患者均接受了包括CT或MRI掃描在內的最終治療評估，使用統計考慮因子描述性統計對經方案定義之DLT的I期主要終點及各劑量之其他資料進行概述。試驗之隨機化II期部分的主要終點為無進展存活期(PFS)，其經定義為隨機化至疾病進展或在最後腫瘤評估後12週內因任何原因死亡之時間。樣品大小規劃為213名患者(每組71名)，觀察到假設無藥物活性之虛無假設所需的173個PFS事件，其中85%假設風險比(HR)相對於SoC為0.67，中值PFS自SoC為4.0個月增加至基於阿比特珠單抗療法之6.0個月，及顯著性水準(α)為25%(兩側)。II期部分之次要終點包括OS、進展時間、治療失敗時間、反應及疾病控制率及安全性。預先定義的探索性終點包括腫瘤整合素表現與功效之關聯。用於意向性治療(ITT)群體之功效的主要分析包含所有隨機化的患者。安全性分析群體包括接受至少一種劑量之任何研究藥物的所有患者。使用描述性統計對資料進行概述。使用由先前抗癌治療分層之對數秩測試(抗VEGF是/否)來分析時間至事件終點。使用作為共變量之具有治療及先前抗癌治療(抗VEGF是/否)的Cox比例風險模型來估計HR。使用SAS®系統(8.2版或之後)進行統計分析。

【0184】為了評估腫瘤整合素表現與患者結果之關聯的探索性終點，中值組織學評分最初用作高表現與低表現之間的截止值。截止值隨後在中值附近變化，以評估中值是否適合試驗中的患者群體。

【0185】

結果

I期劑量遞增研究

十六名患者於2009年10月與2010年10月之間入選I期劑量遞增研究。未在任何劑量下觀察到DLT (補充表S1，可於Annals of Oncology在線獲得)。然而，另外三名患者入選750 mg劑量，因為前三名患者中之一者在DLT觀察期之後因與阿比特珠單抗無關的原因死亡。選取第四名額外患者，因為一名患者接受阿比特珠單抗(250 mg)而非規劃之750 mg劑量。與阿比特珠單抗相關的TEAE為不常見的及包括3級低血鉀症(一名患者250 mg)及3級快速性心律不齊(一名患者1000 mg) (補充表S1，可於Annals of Oncology在線獲得)。未觀察到4級嗜中性白血球減少症、3/4級血小板減少症或3/4級血球蛋白減少；研究方案未使腎、肝或肺功能惡化，亦無心輸出量。阿比特珠單抗劑量持續時間通常隨著劑量增大而增加；所有劑量之中值相對劑量強度>96%。維持西妥昔單抗及伊立替康之相對劑量強度。在所有劑量下觀察到抗腫瘤活性之證據，具有一個CR及四個PR，以及七名患者疾病穩定 (補充表S1，可於Annals of Oncology在線獲得)。總之，此等資料證明對阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合的進一步評估。

【0186】

隨機化II期研究

患者

總計216名患者入選及在2011年4月與2013年10月之間隨機分組。圖4展示了CONSORT圖。

【0187】 阿比特珠單抗500 mg、阿比特珠單抗1000 mg及SoC組試

驗的中值(範圍)時間分別為13.6 (0.1-26.2)、12.3 (0.5-27.3+)及11.6 (0.6-28.8+)個月(知情同意死亡、停止或最後試驗評估)。98%之中值相對劑量強度下的阿比特珠單抗治療之整體中值持續時間為4.1個月。通常對三個治療組之患者的基線特徵進行充分平衡(表1)。安全性。阿比特珠單抗組中之所有患者及SoC組中除一名患者外之所有患者(99%)經歷了TEAE(表2)；觀察到阿比特珠單抗500 mg、阿比特珠單抗1000 mg及SoC組之患者中≥3級TEAE分別為72%、78%及67%。此等資料表明，阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合具有可接受之安全性概況。然而，基於研究者評估，阿比特珠單抗組之50%的TEAE (包括阿比特珠單抗500 mg及阿比特珠單抗1000 mg組之17%及29%患者≥3級TEAE)疑似與阿比特珠單抗相關；與阿比特珠單抗相關的嚴重TEAE包括發熱性嗜中性白血球減少症、大腸炎、直腸膿腫、周邊神經病變及急性腎衰竭，各自出現在阿比特珠單抗500 mg治療之患者中；及嗜中性球減少症、胃腸感染及深層靜脈栓塞，各自出現在阿比特珠單抗1000 mg治療之患者中。在資料截止時，阿比特珠單抗500 mg、阿比特珠單抗1000 mg及SoC組中分別有39名(54%)、35名(51%)及45名(62%)患者死亡。認為因敗血症而死亡的兩名患者與伊立替康相關，一名在阿比特珠單抗1000 mg組中及一名在SoC組中；32/39、30/35及38/45例死亡係因疾病進展、功效所致。ITT群體之功效資料展示於表3以及圖5A至B中。此等表明治療組之間的PFS及反應率(RR)均無差異。阿比特珠單抗500 mg [HR 0.83 (95% CI 0.54-1.28)相對於SoC]、阿比特珠單抗1000 mg [HR 0.80 (95% CI 0.52-1.25)相對於SoC]及SoC的中值OS分別為15.0 [95%信賴區間(CI) 10.9-19.2]個月、14.4 (95% CI 9.8-19.3)個月及11.6 (95% CI 9.8- 15.7)個月(圖5B)。

表3 ITT群體之功效資料及藉由整合素αvβ6表現量

結果	ITT群體			高整合素αvβ6表現			低整合素ccvp6表現		
	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康 (N- 73}	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康 (N -73}	西妥昔單抗+伊立替康 (N-72}	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康 (N-36}	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康(N-31}	西妥昔單抗+伊立替康(N-31}	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康 (N-30}	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康(N-35}	西妥昔單抗+伊立替康 (N- 34}
中值PFS (月}	5.4	5.6	5.6	5.6	6.9	42	4.2	4.9	5.8
95% CI	4.1 6.0	4.1 6.9	4.2 6.9	2.8 8.3	2.7 9.7	2.6 6.9	2.8 6.0	2.8 6.9	42 9.9
HR	1.13	1.11		0.84	0.71		1.50	1.74	
95% CI	0.78 1.64	0.77 1.61		0.49 1.45	0.40 1.26		0.84 2.65	1.02 3.00	
ρ值				0.535	0.245		0.168	0.044	
中值OS (月)	15.0	14.4	11.6	15.0	NR	10.2	13.4	12.8	13.8
95% CI	10.9 19.2	9.8 19.3	9.5 15.7	10.5 23.2	9.7 NR	5.8 13.1	6.2 21.7	7.9 17.5	10.0 NR
HR	0.83	0.80		0.55	0.41		1.48	1.58	
95% CI	0.54 1.28	0.52 1.25		0.30 1.00	0.21 0.81		0.74 2.97	0.82 3.06	
ρ值				0.048	0.010		0.271	0.172	
反應率(%}	27	25	26	30.6	32.3	16.1	27	23	32
95% CI	18 39	16 37	17 38	16.3 48.1	16.7 51.4	5.5 33.7	12 46	10 40	17 51
或	1.05	0.95		2.29	2.45		0.76	0.62	
95% CI	0.51 2.19	0.45 2.00		0.70 7.53	0.73 8.37		0.26 2.24	0.21 1.80	

NR：未達到，OR：勝算比。

【0188】

生物標記物分析

進行預先規劃的探索性生物標記物分析以更好地理解αv整合素表現與結果之間的關係，表明高整合素αvβ6表現[高於所研究群體之中值(n=197)；中值組織學評分=70] (圖可於Annals of Oncology在線獲得)可能為SoC組中之OS的陰性預後及預測阿比特珠單抗治療延長OS (圖5及表3)。分析亦表明在具有高整合素αvβ6表現之腫瘤患者中可改善RR。相比之下，具有低整合素αvβ6表現(低於中值)之腫瘤患者似乎未受益於阿比特珠單抗療法(表3)。包括極少腫瘤整合素αvβ6組織學評分為0之患者(n=24)，以對此群體進行分析。整合素泛αv之量的預測及預後值(中值組織學評分=230)似乎與整合素αvβ6之量類似，而整合素αvβ5之量似乎不能作為預測或預後及整合素αvβ3及αvβ8未表現(資料未展示)。

【0189】 **討論：**此為在具有CRC之患者中首次報導的整合素抑制劑之臨床試驗。將阿比特珠單抗添加至西妥昔單抗加伊立替康中在已接受先前奧沙利鉑療法之未經選擇的mCRC群體中之活性有限；然而，預先指定之探索性生物標記物分析表明，阿比特珠單抗可在顯示高整合素αvβ6表現之腫瘤患者中產生OS益處。OS表示癌症之臨床試驗的黃金標準(gold standard)終點[14，15]，及儘管OS為此試驗中之次要終點，但探索性生物標記物資料表明，有必要在具有主要OS終點之高腫瘤αvβ6表現的患者群體中進行進一步研究。研發伴隨診斷測試以選擇適當患者群體對於進一步試驗將為重要的。預先規劃之探索性分析表明，整合素αvβ6表現可為陰性預後因子，其中高表現量患者比低表現量患者的中值OS短約4個月[HR 1.95 (95% CI 1.04-3.67)]，其與先前研究一致，該研究顯示具有高

腫瘤整合素αvβ6表現之早期mCRC患者的OS顯著較差[7]。然而，在阿比特珠單抗治療下，分析表明相較於對照組，具有高腫瘤整合素αvβ6表現之患者的死亡風險可降低達59%。在此具有不良預後之生物標記物選擇的群體中，PFS及RR亦顯示隨著阿比特珠單抗療法而增加。相比之下，吾人未證明整合素αvβ5量與臨床結果之間的任何關聯；先前研究未報導整合素αvβ5在CRC中的預後或預測作用。早期癌症研究表明，整合素αvβ6涉及上皮-間質轉移(EMT)，其增強上皮腫瘤(諸如CRC)之侵襲行為[16]。EMT過程亦可促成轉移性疾病，及在肝及淋巴轉移中發現之高量整合素αvβ6表明整合素αvβ6在mCRC之侵襲性中的作用[7，16]。此外，整合素αvβ6為潛在轉型生長因子-β (TGF-β)之已知活化劑，其在大腸癌進展期間刺激腫瘤生長及侵襲[16]。因此，抑制整合素αvβ6之療法有可能靶向侵入及轉移的腫瘤細胞，可解釋在此試驗中使用阿比特珠單抗在具有高αvβ6表現之腫瘤患者中所觀察到的OS及PFS改善。TGF-β在調節免疫功能方面亦具有關鍵作用，及整合素對於此過程為關鍵的[17]。腫瘤整合素αvβ6由阿比特珠單抗抑制以降低TGF-β對於抗腫瘤免疫反應之抑制活性之潛能可解釋阿比特珠單抗對於OS較PFS及RR具有更明顯的作用。當解釋資料時，需要考慮此研究有若干限制。關鍵限制為試驗為II期試驗，及生物標記物資料雖然假設產生，但其係基於預先規劃之探索性分析。將需要進行進一步試驗，以確認在用阿比特珠單抗治療mCRC患者中αv整合素的預後及預測值。總之，吾等資料指示，靶向整合素之療法可能在治療所選擇之具有mCRC的患者中具有作用。探索性分析指示，基於阿比特珠單抗的療法可對於具有高整合素αvβ6表現腫瘤而又具有不良預後的患者有效。有必要在此群體中進一步試驗及可能發展伴隨診斷測試，以進一步評估阿比

特珠單抗於mCRC的活性。

【0190】

文獻

1. Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B等人. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2014; 25(suppl 3): iii1-iii9。

2. Ciombor KK, Berlin J. Targeting metastatic colorectal cancer-present and emerging treatment options. Pharmgenomics Pers Med 2014; 7: 137-144。

3. Goodman SL, Picard M. Integrins as therapeutic targets. Trends Pharmacol Sci 2012; 33: 405-412。

4. Nemeth JA, Nakada MT, Trikha M等人 Alpha-v integrins as therapeutic targets in oncology. Cancer Invest 2007; 25: 632-646。

5. Goodman SL, Grote HJ, Wilm C. Matched rabbit monoclonal antibodies against av-series integrins reveal a novel αv(33-LIBS epitope, and permit routine staining of archival paraffin samples of human tumors. Biol Open 2012; 1: 329-340。

6. Agrez MV, Bates RC, Mitchell D等人. Multiplicity of fibronectin-binding alpha V integrin receptors in colorectal cancer. Br J Cancer 1996; 73: 887-892。

7. Bates RC, Bellovin Dl, Brown C等人. Transcriptional activation of integrin (36 during the epithelial-mesenchymal transition defines a novel prognostic indicator of aggressive colon carcinoma. J Clin Invest

2005; 115: 339-347。

8. Mitjans F, Sander D, Adan J等人. An anti-alpha v-integrin antibody that blocks integrin function inhibits the development of a human melanoma in nude mice. J Cell Sci 1995; 108(Pt 8): 2825-2838。

9. Uhl W, Zuhlsdorf M, Koernicke T等人. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of the novel alphav-integrin antibody EMD 525797 (DI17E6) in healthy subjects after ascending single intravenous doses. Invest New Drugs 2014; 32: 347-354。

10. Wirth M, Heidenreich A, Gschwend JE等人. A multicenter phase 1 study of EMD 525797 (DI17E6), a novel humanized monoclonal antibody targeting alphav integrins, in progressive castration-resistant prostate cancer with bone metastases after chemotherapy. Eur Urol 2014; 65: 897-904。

11. Elez E, Kocáková I, Hohler T等人. Phase I study of EMD 525797 (DI17E6), an antibody targeting αvβ integrins, in combination with cetuximab and irinotecan, as a second-line treatment for patients with k-ras wild-type metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2012; 30(suppl): abstract 3539。

12. Pirker R, Pereira JR, von Pawel J等人. EGFR expression as a predictor of survival for first-line chemotherapy plus cetuximab in patients with advanced non-smallcell lung cancer: analysis of data from the phase 3 FLEX study. Lancet Oncol 2012; 13: 33-42。

13. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA等人. New guidelines to

evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. J Natl Cancer Inst 2000; 92: 205-216。

14. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of anticancer medicinal products in man. In Committee for Medicinal Products for Human Use (ed), London, UK: European Medicines Agency 2013。

15. Food and Drug Administration. Guidance for industry: clinical trial endpoints for the approval of cancer drugs and biologies. In Services USDoHaH (ed), Rockville, MD, USA: Food and Drug Administration 2007。

16. Bates RC. Colorectal cancer progression: integrin alphavbeta6 and the epithelialmesenchymal transition (EMT). Cell Cycle 2005; 4: 1350-1352。

17. Travis MA, Sheppard D. TGF-beta activation and function in immunity. Annu Rev Immunol 2014; 32: 51-82。

【0191】

實例2：

選擇在具有轉移性大腸直腸癌(mCRC)之患者中用阿比特珠單抗靶向整合素的患者。隨機化I/II期Poseidon研究之回溯性分析。

【0192】

簡介

靶向整合素(特定言之αvβ6為治療mCRC之新穎方法。組織化學資料顯示，阿比特珠單抗之目標(αv整合素)表現於CRC之腫瘤血管及腫瘤細胞上。

【0193】 特定言之，亦建議αvβ6整合素表現為CRC之預後因子，如在超過700 mCRC患者中進行的分析。[1-4]大腸癌腫瘤之高αvβ6表現為腫瘤之進展及此等患者存活期較短的指標。

【0194】 愈來愈多的證據表明，mCRC為一種遺傳異質性疾病及由大腸之不同側(左側相對於右側)產生的腫瘤具有不同臨床結果。[5]對具有k-RAS野生型(WT)或RAS WT mCRC之患者的不同類別靶向劑之活性進行比較的先前分析表明，原發腫瘤位置(側)可能對臨床結果具有預後性及預測性。

【0195】 αvβ6之此回溯性資料分析研究了基於來自Poseidon研究之探索性資料的右側與左側k-RAS WT CRC之間的差異，及具有右側相對於左側mCRC之患者與阿比特珠單抗治療結果之間是否存在差異。

【0196】

背景

在Poseidon研 究(NCT01008475)[4]中 ， 探 究 了 第2株k-RAS WT mCRC中阿比特珠單抗與西妥昔單抗及伊立替康組合的活性，對西妥昔單抗+伊立替康組單獨組之分析表明高αvβ6表現與較差結果相關，表明高αvβ6表現為陰性預後因子(圖6)。

【0197】 意向性治療群體中之主要終點，無進展存活期(PFS)未能表 明 先 前Poseidon研 究[4]中 之 第2株k-RAS WT (k-RAS WT外 顯 子2) mCRC在I/II期的統計學顯著益處。

【0198】 預先規劃之探索性生物標記物分析表明，高整合素αvβ6表現可能為對照組中之整體存活期(OS)的陰性預後，及預測阿比特珠單抗治療延長OS[4]。

【0199】 Poseidon研究之先前探索性資料分析顯示，阿比特珠單抗治療之具有高αvβ6表現之患者(組織學評分>70)達成較高的PFS、OS及目標反應率(ORR)，其表明高αvβ6表現(組織學評分>70)可預測對阿比特珠單抗的反應(圖7)。

【0200】

方法

回溯性分析Poseidon研究

對經福馬林固定石蠟包埋之腫瘤組織的整合素αvβ6表現之分析為Poseidon研究之一部分；對患者資料進行預先規劃的回溯性分析(n=98名高αvβ6表現患者及n=99之低表現患者)。

【0201】 進行Poseidon研究資料之回溯性分析，以關聯腫瘤位置之影響(n=152名左側對n=44名右側，一名患者同時具有右側及左側大腸直腸癌)與整合素αvβ6表現(低相對於高)；分析將阿比特珠單抗添加至伊立替康+西妥昔單抗的OS、PFS及ORR(表1，圖8A、8B)。

表1

表1.回溯性分析Poseidon研究：PFS、ORR及OS					
PFS，月份(n)					
	高組織學評分			低組織學評分	
	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	6.9 (31)	5.6 (36)	4.2 (26)	4.9 (35)	5.8 (34)
右側CRC	2.6 (11)	2.8 (6)	4.2 (9)	3.5 (8)	4.2 (5)
左側CRC	8.6 (20)	5.6 (30)	4.2 (22)	5.4 (27)	6.5 (29)

ORR，% (n)					
	高組織學評分			低組織學評分	
	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	35.5 (31)	30.6 (36)	16.1 (26)	20.0 (35)	32.4 (34)
右側CRC	18.2(11)	0(6)	0(9)	12.5 (8)	20.0 (5)
左側CRC	45.0 (20)	36.7 (30)	22.7 (22)	22.2 (27)	34.5 (29)

OS，(n)					
	高組織學評分			低組織學評分	
	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	阿比特珠單抗500 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康	阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康組	西妥昔單抗+伊立替康
所有患者	20.6 (31)	15.5 (36)	10.2 (31)	12.8 (35)	15.9 (34)
右側CRC	9.8 (11)	5.1 (6)	9.5 (9)	8.6 (8)	10.0 (5)
左側CRC	25.6 (20)	17.1 (30)	10.2 (22)	13.6 (27)	15.9 (29)

CRC：大腸直腸癌；ORR：目標反應率，OS：整體存活期，PFS：無進展存活期

表2

表2.回溯性分析Poseidon研究：OS的HR				
阿比特珠單抗	群體	HR	HR 95%信賴區間	P值
500/1000 mg	左側/αvβ6-更高	0.454	0.257-0.805	0.0068
500 mg	左側/αvβ6-更高	0.527	0.284-0.976	0.0416
1000 mg	左側/αvβ6-更高	0.357	0.171-0.746	0.0061

HR：風險比；OS：整體存活期

【0202】

結論

儘管樣品大小較小，但相較於伊立替康+西妥昔單抗單獨，將阿比特珠單抗添加至伊立替康+西妥昔單抗似乎最受益於具有左側k-RAS WT mCRC及在其腫瘤中αvβ6整合素之高5表現的患者。

【0203】 在低組織學評分之患者中未發現益處。

【0204】 在Poseidon研究[5]中，高達1000 mg之阿比特珠單抗劑量與伊立替康+西妥昔單抗組合具有良好耐受性。

【0205】 此第2株之回溯性數據分析Poseidon研究證實，在已接受1線轉移性疾病之EGFR抑制劑(如西妥昔單抗或帕尼單抗)患者中，觀察到k-RAS WT mCRC之左側與右側之間的治療效果差異[5]。

【0206】 αvβ6整合素表現可獨立地充當mCRC之新的生物標記物。

【0207】

文獻

1. Bates RC等人，J Clin Invest. 2005;115(2):339-347。
2. Niu Z等人，Cell Biosci; 2014;4:23。
3. Yang GY等人，World J Gastroenterol. 2015;21 (24):7457-7467
4. Elez E等人，Ann Oncol. 2015;26:132-140。

5. Arnold D等人，Ann Oncol. 2017;28:1713-1729。

【0208】

實例3：

RAS野生型、KRAS野生型及/或NRAS野生型

測試程序Therascreen® KRAS RGQ PCR套組及方法

I.通用資訊

裝置通用名稱：	即時PCR測試
裝置商標名稱：	therascreen® KRAS RGQ PCR套組
裝置代碼：	OWD
申請人名稱及位址：	QIAGEN Manchester Ltd. Skelton House, Lloyd Street North Manchester, UK Ml5 6SH
小組建議日期：	無

上市前核可申請(Premarket Approval Application；PMA)編號：P110027

FDA批准通知日期：	2014年5月23日
快捷：	不適用

【0209】*therascreen*® KRAS RGQ PCR套組之最初PMA (P110030)於2012年7月6日批准，及指示幫助鑑別Erbitux®(西妥昔單抗)治療之CRC患者，其基於未偵測到KRAS突變的測試結果。可在CDRH網站上獲得支持該指示的SSED及將其以引用之方式併入本文中。提交當前PMA (P110027)以擴展用於*therascreen*® KRAS RGQ PCR套組之指示。

【0210】

II.使用指示

therascreen® KRAS RGQ PCR套組為一種用於Rotor-Gene Q MDx儀器上以偵測人類KRAS致癌基因之七個體細胞突變的即時定性PCR檢定，其使用由經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)，大腸直腸癌(CRC)組織提取

的DNA。*therascreen*® KRAS RGQ PCR套組欲幫助鑑別Erbitux® (西妥昔單抗)及Vectibix® (帕尼單抗)治療的CRC患者，其基於未偵測到KRAS突變的測試結果。

III. 禁忌

無

IV. 警告及注意事項

警告及注意事項可見於*therascreen*® KRAS RGQ PCR套組標記。

V. 裝置描述

以下組件組成了裝置整體：

- QIAGEN QIAamp® DSP DNA FFPE組織套組
- QIAGEN *therascreen*® KRAS RGQ PCR套組
- QIAGEN Rotor-Gene Q MDx，軟體版本2.1.0及KRAS檢定包

【0211】

樣本製備

將經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)之塊切到載玻片上。使用染色載片來證實腫瘤含量超過組織之20%及可獲得最小腫瘤面積為4mm^2。自載片刮下單一非染色組織切片以提取DNA。若切片之腫瘤含量低於20%，則應對切片進行宏觀剖析。使用QIAGEN QIAamp® DSP DNA FFPE組織套組及修改方案，手動提取DNA及自由大腸直腸癌患者之FFPE組織獲得的5 μm經玻璃固定之切片純化。用二甲苯對腫瘤組織去石蠟及用乙醇提取二甲苯。將樣品在變性條件下用蛋白酶K溶解一小時。將樣品在90℃下加熱，以逆轉基因組DNA之福馬林交聯。樣品穿過基於矽之膜，使得基因組DNA結合至膜及移除污染物。將經純化之基因組DNA自膜溶離至200

μL溶離緩衝液中。將所提取的DNA儲存在-20℃下。

【0212】

PCR擴增及偵測

QIAGEN *therascreen*® KRAS RGQ PCR套組含有八個獨立反應之試劑；七個突變特異性反應(以擴增及偵測KRAS致癌基因之外顯子2中的密碼子12及13中之突變)及一個對照反應(其擴增及偵測KRAS致癌基因之外顯子4的區域)。KRAS RGQ套組中之每種反應利用擴增難治性突變系統(ARMS®)對偶基因特異性聚合酶鏈反應(PCR)，以選擇性擴增螢光團標記之Scorpion®引子組合的非突變型基因組DNA (突變陰性；野生型)背景下的突變型基因組DNA模板(突變陽性)，以偵測任何所得到的擴增產物。ARMS技術利用Taq聚合酶在PCR引子之3'端處區分匹配與失配的能力。蠍形探針為含有共價連接至探針之PCR引子的雙官能分子。探針將螢光團[羧基螢光素(FAM™)]與淬滅螢光團之螢光的淬滅劑合併。PCR期間，當探針結合至ARMS擴增子時，螢光團與淬滅劑分開，致使螢光之可偵測增加。

【0213】 用對照反應測定DNA之品質及數量是否足夠及適合於檢定之工作範圍。使用對照反應Ct值來評估樣品中之可擴增的總DNA及必須落入每種樣品之預先指定的範圍內。

【0214】 由對照反應獲得之結果的解釋如下：

對照Ct值	解釋	作用
>32.00	可擴增DNA之數量不足以進行突變分析。	應提取及測試額外樣品。
<21.92	進行突變分析之可擴增DNA的數量過高。	用套組中提供之樣品稀釋水來稀釋
21.92 ≤ 對照 Ct ≥ 32.00	可擴增DNA之數量適用於突變分析。	---

【0215】 用對照反應混合物評估DNA樣品所用的運作參數為使用突變反應混合物之突變分析的相同運作參數。運作參數為：(1)在95℃下保持15分鐘，以活化Taq聚合酶；(2) PCR在95℃下進行40個週期持續30秒以變性，及60℃下持續1分鐘以退火/延伸。將來自特定反應之預先定義臨限值兩端的螢光PCR週期定義為Ct值。下表列出由*therascreen*® KRAS RGQ套組偵測之KRAS致癌基因的密碼子12及13中之七個突變：

突變	鹼基變化
GLY12ALA (G12A)	GGT>GCT
GLY12ASP (G12D)	GGT>GAT
GLY12ARG (G12R)	GGT>C'GT
GLY12CYS (G12C)	GGT>TGT
GLY12SER (G12S)	GGT>AGT
GLY12VAL (G12V)	GGT>GTT
GLY13ASP (G13D)	GGC>GAC

【0216】

測試對照

每個測試運作必須含有內部對照、陽性對照及陰性對照。若陰性對照表示測試運作已受到污染(Ct值高於FAM通道之設定值)或若陽性對照Ct值處於設定範圍(FAM及HEX通道兩者)外，則將測試運作視為無效的。

運作有效性標準

反應混合物	樣品	RGQ通道	有效Ct值*
對照	陽性對照	FAM	23.50至29.50
對照	無模板對照	FAM	無擴增
對照	無模板對照	HEX	31.91至35.16
突變	陽性對照	FAM	23.50至29.50
突變	無模板對照	FAM	無擴增
突變	無模板對照	HEX	31.91至35.16

*包括範圍

【0217】

內部對照：

八種反應均含有額外ARMS引子及標記有HEX之Scorpion引子，以擴增及偵測用作內部對照之合成非KRAS相關的寡核苷酸模板。將Scorpion引子用HEX標記，以與對照及突變反應中之經FAM標記的Scoipion區分。在每種反應中，內部對照反應經設計為兩種反應中之較弱者。此經由使用極低濃度之內部對照模板達成。內部對照反應經設計以獨立於突變特異性擴增作用，但若FAM反應「勝出」，則其可能在強擴增存在下失敗。在七種突變反應中之任一者中，具有失敗的內部對照反應之突變陰性結果將報導為無效結果。使用內部對照來偵測抑制劑或總體反應失敗。

【0218】

陽性對照：

陽性對照包含合成寡核苷酸之混合物，該等合成寡核苷酸表示由*therascreen*® KRAS RGQ套組偵測之突變中的每一者。陽性對照之偵測證實，套組中之反應混合物中的每一者之功能正常。

【0219】

陰性對照：

therascreen® KRAS RGQ套組含有待用作無模板對照(NTC)反應之無核酸的水。NTC充當陰性對照及在檢定建立期間評估潛在污染。

【0220】

儀器及軟體

Rotor-Gene Q (RGQ) MDx儀器為設計用於熱循環及擴增DNA之即

時偵測的即時PCR分析儀。RGQ MDx儀器控制及監測PCR反應及包括基於PCR結果測定突變狀態之軟體。其併入用於PCR反應期間(其中每個管在流動的空氣腔室中旋轉)熱循環之離心轉子設計。

【0221】根據確定週期之軟體在低質量空氣烘箱中加熱及冷卻樣品，該週期起始PCR週期之不同階段，每個PCR運作總計40個週期。在RGQ MDx儀器中，由發光二極體自腔室之底部激發樣品。能量通過管之底部處的薄壁傳輸。發出的螢光穿過腔室側面的發射過濾器及由光電倍增管偵測。當每個管與偵測光學器件對準時進行偵測；管以每150毫秒旋轉通過激發/偵測光學器件。螢光信號監測PCR反應之進展。儀器能夠支持多達六個光學通道(六個激發源及六個偵測過濾器)，然而此等通道中之僅兩者(FAM及HEX通道)與therascreen® KRAS RGQ套組一起使用。

【0222】*therascreen® KRAS*檢定包由兩種模板組成：「therascreen® KRAS QC鎖定模板」(用於DNA樣品評估)及「therascreen® KRAS鎖定模板」(用於偵測KRAS突變)。此等模板含有PCR運作參數及對結果進行計算。使用相同運作參數來評估對照反應混合物之DNA樣品及使用突變反應混合物偵測KRAS突變。

【0223】RGQ MDx儀器軟體支持即時分析程序。軟體測定Ct值，對ΔCt值進行計算，及將此等值與如上所述的併入軟體中之突變特異性截至值進行比較。軟體內包含標記/警告系統，以便告知使用者潛在的檢定問題，及指示測試運作無效或有效測試內之無效樣品(DNA含量不當內部對照失敗)。對於無效運作或對於無效樣品，未報導結果。KRAS RGQ套組之使用者無法主觀性確定突變狀態，因為其無法得到Ct或ΔCt值及僅見由軟體報導之突變狀態識別。

【0224】

對結果之解釋

對照反應之Ct反映樣品中之可擴增KRAS模板的總量，而對偶基因特異性反應之Ct反映樣品內KRAS突變的量。對照反應與對偶基因特異性反應之間的Ct值(ΔCt)差異表示樣品內突變之比例。樣品中之突變體DNA比例愈大，ΔCt值愈接近0。樣品中之突變體DNA的比例愈小，ΔCt值愈大(接近陽性與陰性識別之臨限值)。當ΔCt量度超過突變體反應之ΔCt截止值時，檢定報導了偵測到的突變(例如7個陰性突變)。

【0225】 對於每種樣品，由RGQ MDx儀器軟體進行計算，以確定7個突變特異性反應中之每一者的ΔCt值(FAM通道)：

[突變反應Ct值]-[對照反應Ct值]=ΔCt

【0226】 基於預先確定的分析Ct及ΔCt值，Rotor-Gene Q軟體定性確定了DNA樣品之突變狀態及報導了何種樣品含有何種突變。每種樣品將具有七種可能的ΔCt值(每個突變一種)。將此等值與併入RGQ MDx儀器軟體中的預先確定的設定值(截至值)進行比較，以確定樣品是否為突變陽性或陰性及存在何種突變(若存在)。當突變反應ΔCt值低於或等於反應之截止值時，樣品為KRAS突變陽性。分析結果將顯示為「突變陽性」、「未偵測到突變」、「無效」，或若運作對照失敗，則「運作對照失敗」。對於突變陽性樣品，報導為特異性突變。

突變檢定	12 ALA	12ASP	12ARG	12CYS	12SER	12VAL	13ASP
截至(ΔCt)	≤8.0	≤6.6	≤8.0	≤8.0	≤8.0	≤7.5	≤7.5

【0227】

VI. 替代操作及步驟

存在用於校正大腸直腸癌之若干其他替代方法：手術、射頻燒灼

術、冷凍治療、化學療法、放射療法及靶向療法。每種替代方法具有其自身優勢及劣勢。患者應與他/她的醫師充分討論此等替代方法，以選擇最能符合期望及生活方式的方法。

【0228】對於選擇可能受益於Vectibix (帕尼單抗)靶向療法之患者，不存在用於大腸直腸癌組織測試之其他經FDA清除或批准的替代方法，以偵測KRAS致癌基因中的突變。

【0229】

cobas® KRAS突變測試

I.通用資訊

裝置通用名稱：	即時PCR測試
裝置商標名稱：	**cobas**® KRAS突變測試
裝置代碼：	OWD
申請人名稱及位址：	Roche Molecular Systems, Inc. (RMS) 4300 Hacienda Drive Pleasanton, CA 94588-2722
小組建議日期：	無
上市前核可申請(PMA)編號：P140023	
批准通知日期：	2015年5月7日
快捷：	不適用

【0230】

II.使用指示

供與**cobas**® 4800系統一起使用之**cobas**® KRAS突變測試為一種即時PCR測試，其用於偵測源自經福馬林固定石蠟包埋的人類大腸直腸癌(CRC)腫瘤組織之DNA中KRAS基因的密碼子12及13中之七種體細胞突變。該測試意欲幫助鑑別Erbitux® (西妥昔單抗)或Vectibix® (帕尼單抗)治療的CRC患者，其可能基於未偵測到突變的測試結果。

【0231】使用用於手動樣品製備之**cobas**® DNA樣品製備套組及用

於自動化擴增及偵測的**cobas z** 480分析儀對樣本進行處理。

【0232】

III.禁忌

此測試不具有已知禁忌。

【0233】

IV.警告及注意事項

警告及注意事項可見於**cobas**® KRAS突變測試產物標記。

【0234】

V.裝置描述

cobas® KRAS突變測試由兩個試劑套組及一個系統平台組成。**cobas**® 4800系統平台之細節描述於下文「儀器使用及軟體」中。試劑套組提供必需的試劑，以進行兩種主要測試過程：

1. cobas® DNA樣品製備套組提供用於手動樣本製備之試劑，以自經福馬林固定石蠟包埋之組織(FFPET)獲得基因組DNA。

2. cobas® KRAS突變測試套組提供用於自動化即時PCR擴增及KRAS突變之偵測的試劑。

【0235】

樣本製備

對FFPET樣本進行處理及使用**cobas**® DNA樣品製備套組(一種基於結合至玻璃纖維之核酸的手動樣本製備)分離基因組DNA。將FFPET樣本之去石蠟5 μm切片藉由在高溫下與蛋白酶及離液性溶解/結合緩衝液一起培育來溶解，該緩衝液釋放核酸及保護所釋放之基因組DNA免於DNases。隨後，將異丙醇添加至溶解混合物中，該混合物隨後通過具有

玻璃纖維過濾器插件之管柱離心。在離心期間，基因組DNA結合至玻璃纖維過濾器之表面。藉由離心移除未結合之物質，諸如鹽、蛋白質及其他細胞雜質。洗滌所吸附之核酸及隨後用水溶液溶離。以分光光度法測定基因組DNA量及將其調節至2 ng/μL之固定濃度。在96孔盤中，將含有50 ng基因組DNA之二十五(25) μL溶離液與來自**cobas**® KRAS突變測試套組之每種25 μL活化的主體混合物試劑組合。對照及樣品一經添加至96孔培養盤中，則將培養盤轉移至**cobas z** 480分析儀中用於自動化擴增及偵測。

【0236】

PCR擴增

目標選擇及擴增

cobas® KRAS突變測試套組使用引子，該等引子定義了人類基因組DNA中含有KRAS密碼子12及13的外顯子2之85個鹼基對序列。擴增僅發生在引子之間的KRAS基因區域中；整個KRAS基因未擴增。預期目標突變提供於下表1中。

表1：cobas® KRAS突變測試之預期目標突變的清單

密碼子	突變ID	核苷酸變化	AA變化	COSMIC ID
12	c.34G>T	GGT>TGT	G12C	516
	c.34G>A	GGT>AGT	G12S	517
	c.34G>C	GGT>CGT	G12R	518
	c.35G>T	GGT>GTT	G12V	520
	c.35G>A	GGT>GAT	G12D	521
	c.35G>C	GGT>GCT	G12A	522
13	c.38G>A	GGC>GAC	G13D	532

【0237】 將棲熱菌屬物種Z05 DNA聚合酶之衍生物用於目標擴增。首先，加熱PCR反應混合物，以使基因組DNA變性及使引子目標序列暴

露。隨著混合物冷卻，上游引子及下游引子退火至目標DNA序列。Z05 DNA聚合酶在二價金屬離子及過量dNTP存在下延伸每個退火引子，因此合成第二DNA股。此完成了PCR之第一週期，得到包括KRAS基因之靶向85個鹼基對區域的雙股DNA複本。重複此過程持續多個週期，其中每個週期有效地使擴增子DNA之量加倍。

【0238】 在**cobas**® KRAS突變測試中，由使用AmpErase (尿嘧啶-N-醣苷酶)酶及脫氧尿苷三磷酸(dUTP)達成自樣本選擇性擴增目標核酸。AmpErase酶催化了對含有脫氧尿苷之DNA股而非含有胸苷之DNA股的破壞。脫氧尿苷不存在於天然存在之DNA中，但由於使用dUTP代替作為反應混合物試劑中之核苷酸三磷酸酯中之一者的三磷酸胸苷，因此僅擴增子含有脫氧尿苷。脫氧尿苷使得污染性擴增子在擴增目標DNA之前易於被AmpErase酶破壞。AmpErase酶在高於55℃之溫度下(亦即，在熱循環步驟中)為非活性的，及因此不破壞目標擴增子。

【0239】

自動化即時突變偵測

cobas z 480分析儀即時量測了由特定PCR產物生成的螢光量。擴增後，使用**cobas**® KRAS突變測試使生成的每個擴增子經受熔融程式，其中將溫度自40℃升至95℃ (TaqMelt)。野生型特異性探針在低溫下結合至野生型及突變體擴增子兩者。在結合狀態下，探針之5'端上的螢光素報導染料與3'端淬滅劑染料相距足夠遠，使得螢光染料發出特定波長的光。隨著溫度上升，探針與擴增子分離，使得淬滅劑染料緊靠螢光染料，從而降低了可量測的螢光量。具有完美匹配至探針之擴增子(野生型)在高於具有一或多個錯配之擴增子(突變體)的溫度下熔融。量測在每種溫度增量下之

螢光量及計算熔融溫度。當熔融溫度在指定範圍內時，可偵測密碼子12及13中所存在的突變體KRAS序列。為了避免偵測到密碼子12及密碼子13靜默突變(無胺基酸變化)，經修飾之鹼基充當通用鹼基及產生在野生型範圍內之熔融溫度。

【0240】

儀器使用及軟體

cobas® 4800系統由提供核心軟體引擎及使用者介面的**cobas® 4800**系統SR2.1軟體控制。此核心系統軟體經設計以允許使用分析物特異性分析包軟體(ASAP)對系統進行多種檢定。測試系統之**cobas z** 480分析儀組件亦具有由核心軟體驅動之其自身內部儀器控制軟體。在設計控制程序及相關軟體標準下研發所有此等軟體組件。

【0241】 專屬控制單元電腦運作**cobas®** 4800 SR2.1系統軟體及提供**cobas z** 480之介面及實驗室諮詢系統(LIS)。電腦亦用ASAP對螢光信號進行處理及將測試結果儲存於對照資料庫中。完整系統允許使用者手動地為每個樣本創建測試工作次序。軟體嚮導經由必需步驟引導使用者進行運作，該運作包括**cobas z** 480維持操作、測試選擇、樣本ID登錄、試劑及微孔板條碼登錄、微孔板負載及mil起點。

【0242】 **cobas®** 4800系統在**cobas z** 480分析儀之處理及分析期間追蹤每個樣本。熱運作一經完成，ASAP使用資料分析演算法處理螢光資料，評估對照之有效性及使用檢定特異性結果解釋邏輯確定結果。軟體接著以三種格式向使用者提供結果：可印刷的PDF結果報告、基於圖形使用者介面(GUI)之結果檢視器及輸出到LIS之結果。**cobas®** 4800系統軟體包含經驗證之KRAS資料分析演算法，以確定樣品結果及運作有效性。

【0243】

對結果之解釋

由分析軟體計算熔融曲線之熔融溫度(Tm)及峰高度(PH)，及使用來自所有突變體對照、陰性對照及檢定器反應之值來確定該運作是否有效。若運作為有效的，則分析軟體將藉由相對於Tm及PH之可接受範圍評估Tm及PH，以確定樣本有效性及突變狀態。

【0244】 觀察到的突變體Tm之樣本報導為「偵測到突變」及對突變體反應進行報導(表2)。由於可能之突變數目及熔融技術之性質，不指定密碼子內之特異性突變。

【0245】 未觀察到的突變體Tm之樣本報導為「未偵測到突變」(表2)。無效的密碼子12/13充分反應之樣本報導為「無效」的。觀察到的Tm範圍外(既非野生型亦非突變體範圍)的樣本報導為「無效」的。所有有效樣本將具有至少一個熔融峰(突變體、野生型或兩者)。不具有熔融峰之樣品為無效的。

表2：對cobas® KRAS突變測試之結果解釋

cobas® KRAS突變測試結果		**解釋**
測試結果	**突變測試**	
偵測到突變	密碼子12/13	在KRAS密碼子12或密碼子13中偵測到突變
未偵測到突變	N/A	在KRAS密碼子12或密碼子13中未偵測到突變
無效	N/A	結果為無效的。遵循藥品說明書中所概述之說明，對具有無效結果之樣本進行重複測試
失敗	N/A	因硬體或軟體失敗導致運作失敗

【0246】

測試對照及檢定器

使一種KRAS突變體對照(MC)及一種KRAS陰性對照充當外部運作對

照。藉由探針偵測野生型密碼子12及13充當內部全過程對照。

1. *KRAS突變體對照：*突變體對照為雙重突變體線性化DNA質體與來自野生型細胞株之基因組DNA的摻合物。質體含有KRAS密碼子12 (Asp，GAT)及KRAS密碼子61 (His，CAC)的突變體序列。突變體對照包括於每次運作中及充當除樣品製備之外的每個步驟之過程對照。突變體對照反應必須具有KRAS野生型及KRAS密碼子12/13。運作之對應可接受範圍內的突變體熔融溫度視為有效的。

2. *KRAS陰性對照：*陰性對照為一種全過程對照及用以鑑別**cobas** DNA樣品製備套組及**cobas**® KRAS突變套組之潛在試劑或過程污染。熔融峰高度值必須低於預先確立的截止值視為有效的。無用作陰性對照的試劑。DNA樣本稀釋劑(DNA SD)用作陰性對照。

3. *KRAS*檢定器：KRAS檢定器由野生型基因組DNA組成及充當熔融溫度(Tm)檢定器，以補償運作間及儀器間的溫度變化。藉由分析軟體使用野生型Tm峰調節突變體對照及所有樣本的Tm值，隨後分析突變狀態。

【0247】

VI.替代操作及步驟

當前，在選擇符合西妥昔單抗(Erbitux)或帕尼單抗(Vectibix)治療條件的患者中，存在用於測試經福馬林固定石蠟包埋之CRC組織的KRAS突變狀態之經FDA批准的替代方法。亦即，QIAGEN *therascreen* KRAS RGQ PCR套組係在PMA P110030及P110027下批准。

【0248】

I.通用資訊

裝置通用名稱：	即時PCR測試
裝置商標名稱：	**cobas**® KRAS突變測試
裝置代碼：	OWD
申請人名稱及位址：	Roche Molecular Systems, Inc. (RMS) 4300 Hacienda Drive Pleasanton, CA 94588-2722
小組建議日期：	無
上市前核可申請(PMA)編號：P140023	
批准通知日期：	2015年5月7日
快捷：	不適用

【0249】

II.使用指示

供與**cobas**® 4800系統一起使用之**cobas**® KRAS突變測試為一種即時PCR測試，其用於偵測源自經福馬林固定石蠟包埋的人類大腸直腸癌(CRC)腫瘤組織之DNA中KRAS基因的密碼子12及13中之七種體細胞突變。該測試意欲幫助鑑別Erbitux® (西妥昔單抗)或Vectibix® (帕尼單抗)治療的CRC患者，其可能基於未偵測到突變的測試結果。

【0250】 使用用於手動樣品製備之**cobas**® DNA樣品製備套組及用於自動化擴增及偵測的**cobas z** 480分析儀對樣本進行處理。

【0251】

III.禁忌

此測試不具有已知禁忌。

【0252】

IV.警告及注意事項

警告及注意事項可見於**cobas**® KRAS突變測試產物標記。

【0253】

V.裝置描述

cobas® KRAS突變測試由兩個試劑套組及一個系統平台組成。**cobas**® 4800系統平台之細節描述於下文「儀器使用及軟體」中。試劑套組提供必需的試劑，以進行兩種主要測試過程：

1. **cobas**® DNA樣品製備套組提供用於手動樣本製備之試劑，以自經福馬林固定石蠟包埋之組織(FFPET)獲得基因組DNA。

2. **cobas**® KRAS突變測試套組提供用於自動化即時PCR擴增及KRAS突變之偵測的試劑。

【0254】

樣本製備

對FFPET樣本進行處理及使用**cobas**® DNA樣品製備套組(一種基於結合至玻璃纖維之核酸的手動樣本製備)分離基因組DNA。將FFPET樣本之去石蠟5 μm切片藉由在高溫下與蛋白酶及離液性溶解/結合緩衝液一起培育來溶解，該緩衝液釋放核酸及保護所釋放之基因組DNA免於DNases。隨後，將異丙醇添加至溶解混合物中，該混合物隨後通過具有玻璃纖維過濾器插件之管柱離心。在離心期間，基因組DNA結合至玻璃纖維過濾器之表面。藉由離心移除未結合之物質，諸如鹽、蛋白質及其他細胞雜質。洗滌所吸附之核酸及隨後用水溶液溶離。以分光光度法測定基因組DNA量及將其調節至2 ng/μL之固定濃度。在96孔盤中，將含有50 ng基因組DNA之二十五(25) μL溶離液與來自**cobas**® KRAS突變測試套組之每種25 μL活化的主體混合物試劑組合。對照及樣品一經添加至96孔培養盤中，則將培養盤轉移至**cobas z** 480分析儀中用於自動化擴增及偵測。

【0255】

PCR擴增

目標選擇及擴增

cobas® KRAS突變測試套組使用引子，該等引子定義了人類基因組DNA中含有KRAS密碼子12及13的外顯子2之85個鹼基對序列。擴增僅發生在引子之間的KRAS基因區域中；整個KRAS基因未擴增。預期目標突變提供於下表1中。

表1： cobas® KRAS突變測試之預期目標突變的清單

密碼子	突變ID	核苷酸變化	AA變化	COSMIC ID
12	c.34G>T	GGT>TGT	G12C	516
	c.34G>A	GGT>AGT	G12S	517
	c.34G>C	GGT>CGT	G12R	518
	c.35G>T	GGT>GTT	G12V	520
	c.35G>A	GGT>GAT	G12D	521
	c.35G>C	GGT>GCT	G12A	522
13	c.38G>A	GGC>GAC	G13D	532

【0256】 將棲熱菌屬物種Z05 DNA聚合酶之衍生物用於目標擴增。首先，加熱PCR反應混合物，以使基因組DNA變性及使引子目標序列暴露。隨著混合物冷卻，上游引子及下游引子退火至目標DNA序列。Z05 DNA聚合酶在二價金屬離子及過量dNTP存在下延伸每個退火引子，因此合成第二DNA股。此完成了PCR之第一週期，得到包括KRAS基因之靶向85個鹼基對區域的雙股DNA複本。重複此過程持續多個週期，其中每個週期有效地使擴增子DNA之量加倍。

【0257】 在**cobas®** KRAS突變測試中，由使用AmpErase (尿嘧啶-N-醣苷酶)酶及脫氧尿苷三磷酸(dUTP)達成自樣本選擇性擴增目標核酸。AmpErase酶催化了對含有脫氧尿苷之DNA股而非含有胸苷之DNA股的破壞。脫氧尿苷不存在於天然存在之DNA中，但由於使用dUTP代替作為反

應混合物試劑中之核苷酸三磷酸酯中之一者的三磷酸胸苷，因此僅擴增子含有脫氧尿苷。脫氧尿苷使得污染性擴增子在擴增目標DNA之前易於被AmpErase酶破壞。AmpErase酶在高於55℃之溫度下(亦即，在熱循環步驟中)為非活性的，及因此不破壞目標擴增子。

【0258】

自動化即時突變偵測

cobas z 480分析儀即時量測了由特定PCR產物生成的螢光量。擴增後，使用**cobas**® KRAS突變測試使生成的每個擴增子經受熔融程式，其中將溫度自40℃升至95℃ (TaqMelt)。野生型特異性探針在低溫下結合至野生型及突變體擴增子兩者。在結合狀態下，探針之5'端上的螢光素報導染料與3'端淬滅劑染料相距足夠遠，使得螢光染料發出特定波長的光。隨著溫度上升，探針與擴增子分離，使得淬滅劑染料緊靠螢光染料，從而降低了可量測的螢光量。具有完美匹配至探針之擴增子(野生型)在高於具有一或多個錯配之擴增子(突變體)的溫度下熔融。量測在每種溫度增量下之螢光量及計算熔融溫度。當熔融溫度在指定範圍內時，可偵測密碼子12及13中所存在的突變體KRAS序列。為了避免偵測到密碼子12及密碼子13靜默突變(無胺基酸變化)，經修飾之鹼基充當通用鹼基及產生在野生型範圍內之熔融溫度。

【0259】

儀器使用及軟體

cobas® 4800系統由提供核心軟體引擎及使用者介面的**cobas**® 4800系統SR2.1軟體控制。此核心系統軟體經設計以允許使用分析物特異性分析包軟體(ASAP)對系統進行多種檢定。測試系統之**cobas z** 480分析儀組

件亦具有由核心軟體驅動之其自身內部儀器控制軟體。在設計控制程序及相關軟體標準下研發所有此等軟體組件。

【0260】 專屬控制單元電腦運作**cobas®** 4800 SR2.1系統軟體及提供**cobas z 480**之介面及實驗室諮詢系統(LIS)。電腦亦用ASAP對螢光信號進行處理及將測試結果儲存於對照資料庫中。完整系統允許使用者手動地為每個樣本創建測試工作次序。軟體嚮導經由必需步驟引導使用者進行運作，運作包括**cobas z 480**維持操作、測試選擇、樣本ID登錄、試劑及微孔板條碼登錄、微孔板負載及運作起點。

【0261】 **cobas® 4800**系統在**cobas z 480**分析儀之處理及分析期間追蹤每個樣本。熱運作一經完成，ASAP使用資料分析演算法處理螢光資料，評估對照之有效性及使用檢定特異性結果解釋邏輯確定結果。軟體接著以三種格式向使用者提供結果：可印刷的PDF結果報告、基於圖形使用者介面(GUI)之結果檢視器及輸出到LIS之結果。**cobas® 4800**系統軟體包含經驗證之KRAS資料分析演算法，以確定樣品結果及運作有效性。

【0262】

對結果之解釋

由分析軟體計算熔融曲線之熔融溫度(Tm)及峰高度(PH)，及使用來自所有突變體對照、陰性對照及檢定器反應之值來確定該運作是否有效。若運作為有效的，則分析軟體將藉由相對於Tm及PH之可接受範圍評估Tm及PH，以確定樣本有效性及突變狀態。

【0263】 觀察到的突變體Tm之樣本報導為「偵測到突變」及對突變體反應進行報導(表2)。由於可能之突變數目及熔融技術之性質，不指定密碼子內之特異性突變。

【0264】 未觀察到的突變體Tm之樣本報導為「未偵測到突變」(表2)。無效的密碼子12/13充分反應之樣本報導為「無效」的。觀察到的Tm範圍外(既非野生型亦非突變體範圍)的樣本報導為「無效」的。所有有效樣本將具有至少一個熔融峰(突變體、野生型或兩者)。不具有熔融峰之樣品為無效的。

表2：對cobas® KRAS突變測試之結果解釋

cobas® KRAS突變測試結果		**解釋**
測試結果	**突變結果**	
偵測到突變	密碼子12/13	在KRAS密碼子12或密碼子13中偵測到突變
未偵測到突變	N/A	在KRAS密碼子12或密碼子13中未偵測到突變
無效	N/A	結果為無效的。遵循藥品說明書中所概述之說明[1]，對具有無效結果之樣本進行重複測試
失敗	N/A	因硬體或軟體失敗導致運作失敗

【0265】

測試對照及檢定器

使一種KRAS突變體對照(MC)及一種KRAS陰性對照充當外部運作對照。藉由探針偵測野生型密碼子12及13充當內部全過程對照。

1. *KRAS突變體對照：*突變體對照為雙重突變體線性化DNA質體與來自野生型細胞株之基因組DNA的摻合物。質體含有KRAS密碼子12 (Asp，GAT)及KRAS密碼子61 (His，CAC)的突變體序列。突變體對照包括於每次運作中及充當除樣品製備之外的每個步驟之過程對照。突變體對照反應必須具有KRAS野生型及KRAS密碼子12/13。運作之對應可接受範圍內的突變體熔融溫度視為有效的。

2. *KRAS陰性對照：*陰性對照為一種全過程對照及用以鑑別**cobas®** DNA樣品製備套組及**cobas®** KRAS突變套組之潛在試劑或過程污染。將

熔融峰高度值必須低於預先建立的運作截至值視為有效的。無用作陰性對照的試劑。DNA樣本稀釋劑(DNA SD)用作陰性對照。

3. *KRAS*檢定器：KRAS檢定器由野生型基因組DNA組成及充當熔融溫度(Tm)檢定器，以補償運作間及儀器間的溫度變化。藉由分析軟體使用野生型Tm峰調節突變體對照及所有樣本的Tm值，隨後分析突變狀態。

【0266】

VI.替代操作及步驟

當前，在選擇符合西妥昔單抗(Erbitux)或帕尼單抗(Vectibix)治療條件的患者中，存在用於測試經福馬林固定石蠟包埋之CRC組織的KRAS突變狀態之經FDA批准的替代方法。亦即，QIAGEN *therascreen* KRAS RGQ PCR套組係在PMA P110030及P110027下批准。

【0267】

FoundationOne CDx™

I.通用資訊

裝置通用名稱：	下一代測序腫瘤學組、體細胞或生殖系變異體偵測系統
裝置商標名稱：	FoundationOne CDx™
裝置代碼：	PQP
申請人名稱及位址：	Foundation Medicine, Inc. 150 Second Street Cambridge, MA 02141
小組建議日期：	無
上市前核可申請(PMA)編號：	P170019
FDA批准通知日期：	2017年11月30日

【0268】 突破性裝置：在2016年6月15日授權之突破裝置狀態[先前快速通道(EAP)]，此係因為裝置(1)意欲診斷威脅生命或不可逆使人衰弱的疾病或病況(2)表示突破性技術，其相較於現有的合法出售技術具有臨床意義的優勢，及(3)裝置之可用性為患者之最大關注點。

【0269】

II.使用指示

FoundationOne CDx™ (FICDx)為基於下一代測序之活體外診斷裝置，其用於偵測324個基因之取代、插入及缺失變異及複本數變化(CNA)，及選擇基因重排以及包括微衛星不穩定性(MSI)及腫瘤突變負荷(TMB)之基因組標記，其使用由經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)之腫瘤組織樣本分離的DNA。測試意欲作為伴隨診斷，根據經批准之治療產物標記，鑑別可能受益於表1中所列之靶向療法治療的患者。另外，F1CDx意欲提供待由合格健康護理專業人士根據腫瘤學中之專業指導原則所用的用於具有實體惡性贅瘤之癌症患者的腫瘤突變資料庫。F1CDx測試為在Foundation Medicine, Inc進行之單位點檢定。

表1. 伴隨診斷適應症

適應症	**生物標記物**	**療法**
非小細胞肺癌(NSCLC)	*EGFR*外顯子19缺失及EGFR外顯子21 LS58R變異	Gilotrif® (阿法替尼)， Iressa® (gefitinib)或 Tarceva (埃羅替尼(erlotinib))
	*EGFR*外顯子20 T790M變異	Tagrisso® (奧希替尼(osimertinib))
	*ALK*重排	Alecensa® (艾樂替尼(alectinib))， Xalkori®(克卓替尼(crizotinib))，或 Zykadia® (色瑞替尼)
	BRAF V600E	Tafinlar® (達拉菲尼)與Mekinist® (曲美替尼)組合
Mel anoma	*BRAF* V600E	Tafinlar® (達拉菲尼)或 Zelboraf® (維羅非尼)
	*BRAF V600E*及V600K	Mekinist® (曲美替尼)或 Cotellic® (考比替尼)與 Zelboraf®(維羅非尼)組合

乳癌	*ERB B2* (HER2)擴增	Herceptin® (曲妥珠單抗)， Kadcyla® (阿多曲妥珠單抗-恩他新)或 Perjeta® (帕妥珠單抗)
大腸直腸癌	*KRAS*野生型(缺失密碼子12及13中之突變)	Erbitux® (西妥昔單抗)
	KRAS (外顯子2、3及4)及NRAS (外顯子2、3及4)	Vectibix® (帕尼單抗)
卵巢癌	*BRCA 1/2*變異	Rubraca® (如卡帕瑞)

【0270】

III.禁忌

無已知禁忌。

【0271】

IV.警告/注意事項及限制

警告/注意事項及限制包括於FoundationOne CDx檢定標記中。

【0272】

V.裝置描述

FoundationOne CDx (F1CDx)為在Foundation Medicine, Inc進行之單位點檢定。檢定包括用於由經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)之腫瘤樣品提取之用於測試DNA的試劑、軟體、儀器及程序。檢定採用來自常規FFPE活檢或手術切除樣本之單DNA提取方法，其中50至1000 ng經歷了全基因組鳥槍庫建構及基於雜交捕獲了來自309種與癌症相關的基因，1個啟動子區，1個非編碼RNA (ncRNA)，及自34種共同重排型基因選擇內含子區，其中21種亦包括編碼外顯子(F1CDx中包括的基因之完整列表參見下表2及表3)。總體而言，檢定因此偵測了總計324種基因變異。使用Illumina® HiSeq4000平台，所選擇之雜交捕獲庫將定序至較高均勻深度(靶向>500倍中值覆蓋，其中>100倍處之外顯子覆蓋>99%)。使用定製分

析管線對進行序列資料處理，該定製分析管線經設計以偵測所有類別之基因組變異，包括鹼基取代、插入及缺失、複本數變化(擴增及同型接合缺失)及所選基因組重排(例如基因融合)。另外，將報導包括微衛星不穩定性(MSI)及腫瘤突變負荷(TMB)之基因組標記。

表2.具有全編碼外顯子區域之基因包括於FICDx中，用於偵測取代、插入及缺失及複本數變化(CNA)

ABL1	*BRAF*	*CDKN1A*	*EPHA3*	*FGFR4*	*IKZF1*	*MCL1*	*NKX2-1*	*PMS2*	*RNF43*	*TET2*
ACVR1B	*BRCA1*	*CDKN1B*	*EPHB1*	*FH*	*INPP4B*	*MDM2*	*NOTCH1*	*POLD1*	*ROS1*	*TGFBR2*
AKT1	*BRCA2*	*CDKN2A*	*EPHB4*	*FLCN*	*IRF2*	*MDM4*	*NOTCH2*	*POLE*	*RPTOR*	*TIPARP*
AKT2	*BRD4*	*CDKN2B*	*ERBB2*	*FLT1*	*IRF4*	*MED12*	*NOTCH3*	*PPARG*	*SDHA*	*TNFAIP3*
AKT3	*BRIP1*	*CDKN2C*	*ERBB3*	*FLT3*	*IRS2*	*MEF2B*	*NPM1*	*PPP2R1A*	*SDHB*	*TNFRSF14*
ALK	*BTG1*	*CEBPA*	*ERBB4*	*FOXL2*	*JAK1*	*MEN1*	*NRAS*	*PPP2R2A*	*SDHC*	*TP53*
ALOX12B	*BTG2*	*CHEK1*	*ERCC4*	*FUBP1*	*JAK2*	*MERTK*	*NT5C2*	*PRDM1*	*SDHD*	*TSC1*
AMER1	*BTK*	*CHEK2*	*ERG*	*GABRA6*	*JAK3*	*MET*	*NTRK1*	*PRKAR1A*	*SETD2*	*TSC2*
APC	*C11orf30*	*CIC*	*ERRFI1*	*GATA3*	*JUN*	*MITF*	*NTRK2*	*PRKCI*	*SF3B1*	*TYRO3*
AR	*CALR*	*CREBBP*	*ESR1*	*GATA4*	*KDM5A*	*MKNK1*	*NTRK3*	*PTCH1*	*SGK1*	*U2AF1*
ARAF	*CARD11*	*CRKL*	*EZH2*	*GATA6*	*KDM5C*	*MLH1*	*P2RY8*	*PTEN*	*SMAD2*	*VEGFA*
ARFRP1	*CASP8*	*CSF1R*	*FAM46C*	*GID4 (C17orf39)*	*KDM6A*	*MPL*	*PALB2*	*PTPN11*	*SMAD4*	*VHL*
ARID1A	*CBFB*	*CSF3R*	*FANCA*	*GNA11*	*KDR*	*MRE11A*	*PARK2*	*PTPRO*	*SMARCA4*	*WHSC1*
ASXL1	*CBL*	*CTCF*	*FANCC*	*GNA13*	*KEAP1*	*MSH2*	*PARP1*	*QKI*	*SMARCB1*	*WHSC1L1*
ATM	*CCND1*	*CTNNA1*	*FANCG*	*GNAQ*	*KEL*	*MSH3*	*PARP2*	*RAC1*	*SMO*	*WT1*
ATR	*CCND2*	*CTNNB1*	*FANCL*	*GNAS*	*KIT*	*MSH6*	*PARP3*	*RAD21*	*SNCAIP*	*XPO1*
ATRX	*CCND3*	*CUL3*	*FAS*	*GRM3*	*KLHL6*	*MST1R*	*PAX5*	*RAD51*	*SOCS1*	*XRCC2*
AURKA	*CCNE1*	*CUL4A*	*FBXW7*	*GSK3B*	*KMT2A (MLL)*	*MTAP*	*PBRM1*	*RAD51B*	*SOX2*	*ZNF217*
AURKB	*CD22*	*CXCR4*	*FGF10*	*H3F3A*	*KMT2D (MLL2)*	*MTOR*	*PDCD1*	*RAD51C*	*SOX9*	*ZNF703*
AXIN1	*CD274*	*CYP17A1*	*FGF12*	*HDAC1*	*KRAS*	*MUTYH*	*PDCD1LG2*	*RAD51D*	*SPEN*	
AXL	*CD70*	*DAXX*	*FGF14*	*HGF*	*LTK*	*MYC*	*PDGFRA*	*RAD52*	*SPOP*	
BAP1	*CD79A*	*DDR1*	*FGF19*	*HNF1A*	*LYN*	*MYCL*	*PDGFRB*	*RAD54L*	*SRC*	

BARD1	*CD79B*	*DDR2*	*FGF23*	*HRAS*	*MAF*	*MYCN*	*PDK1*	*RAF1*	*STAG2*	
BCL2	*CDC73*	*DIS3*	*FGF3*	*HSD3B1*	*MAP2K1*	*MYD88*	*PIK3C2B*	*RARA*	*STAT3*	
BCL2L1	*CDH1*	*DNMT3A*	*FGF4*	*ID3*	*MAP2K2*	*NBN*	*PIK3C2G*	*RB1*	*STK11*	
BCL2L2	*CDK12*	*DOT1L*	*FGF6*	*IDH1*	*MAP2K4*	*NF1*	*PIK3CA*	*RBM10*	*SUFU*	
BCL6	*CDK4*	*EED*	*FGFR1*	*IDH2*	*MAP3K1*	*NF2*	*PIK3CB*	*REL*	*SYK*	
BCOR	*CDK6*	*EGFR*	*FGFR2*	*IGF1R*	*MAP3K13*	*NFE2L2*	*PIK3R1*	*RET*	*TBX3*	
BCORL1	*CDK8*	*EP300*	*FGFR3*	*IKBKE*	*MAPK1*	*NFKBIA*	*PIM1*	*RICTOR*	*TEK*	

表3.具有選擇內含子區域的基因用於偵測基因重排、啟動子區域及ncRNA基因。

ALK 內含子18，19	*BRCA1 內含子2，7，8，12，16，19，20*	*ETV4內含子5，6*	*EZR 內含子9-11*	*KIT 內含子16*	*MYC內含子1*	*NUTM1內含子1*	*RET 內含子7- 11*	*SLC34A2內含子4*
BCL2 3'UTR	*BRCA2內含子2*	*ETV5內含子6，7*	*FGFR1內含子1，5，17*	*KMT2A (MLL)內含子6-11*	*NOTCH2內含子26*	*PDGFRA內含子7，9，11*	*ROS1內含子31- 35*	*TERC ncRNA*
BCR內含子8，13，14	*CD74內含子6-8*	*ETV6內含子5，6*	*FGFR2內含子1，17*	*MSH2內含子5*	*NTRK1內含子8-10*	*RAF1內含子4-8*	*RSPO2內含子1*	*TERT 啟動子*
BRAF內含子7-10	*EGFR內含子7，15，24-27*	*EWSR1內含子7-13*	*FGFR3內含子17*	*MYB內含子14*	*NTRK2內含子12*	*RARA內含子2*	*SDC4內含子2*	*TMPRSS2內含子1- 3*

【0273】

測試結果

測試結果包括：

1類：表1中註明的預期用途之CDx闡述

2類：具有臨床意義證據之癌症突變

3類：有潛在臨床意義之癌症突變

【0274】 除預期用途說明之表1中所列的基因組發現之外的基因組發現(亦即2類及3類)對於任何特定治療產物之標記用途並非規定性或結論性的。

【0275】

測試套組內容

該測試包括樣品運送套組，其將樣品傳送至訂購之實驗室。運送套組含有以下組分：

- 樣品製備說明
- 運送說明
- 返回運送標記

【0276】

儀器

如下表4中所指示，F1CDx檢定意欲用系列編號控制之儀器進行。所有儀器均由Foundation Medicine, Inc. (FMI)在FMP品質系統下限定。

表4.供與F1 CDx檢定一起使用之儀器

儀器
Illumina HiSeq 4000
Illumina cBot
Beckman Biomek NXP Span-8 Liquid Handler
Thermo Scientific Kingfisher Flex DW 96

【0277】

測試過程

包括於F1CDx檢定過程中之所有檢定試劑均由FMI限定及與輪胎醫療裝置品質系統調節(QSR)相容。

【0278】

A.樣本收集及製備

根據標準病理學操作收集及製備經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)之腫瘤樣本。FFPE樣本可作為未染色載片或作為FFPE塊接受。

【0279】 檢定開始之前，製備蘇木精及曙紅(H&E)染色載片，及隨後由委員會認證之病理學家審查以證實疾病發生學及確保有足夠組織(0.6 mm^3)、腫瘤含量(≥20%腫瘤)及存在足夠的成核細胞以繼續檢定。

【0280】

B. DNA提取

使通過病理學審查之樣本排隊進行DNA提取，首先藉由用蛋白酶K緩衝液消化自FFPE組織溶解細胞，接著使用96孔KingFisher™ FLEX磁性粒子處理器進行自動化純化。

【0281】 DNA提取完成後，使用在庫建構(LC)之前提供的λ DNA標準(Invitrogen)，藉由Quant-iT™ Pico Green®螢光檢定對雙股DNA (dsDNA)進行定量。樣品必須得到最少55 ng的基因組DNA，以確保足夠的DNA進行品質對照(QC)及繼續進行LC。

【0282】

C. 庫建構

庫建構(LC)開始於使DNA標準化至50-1000 ng。將標準化DNA樣品

在純化之前使用Covaris LE220藉由自適應聚焦聲波處理以隨機剪切(片段化)至約200 bp，其使用1.8倍體積之AMPure® XP珠粒(Agencourt®)。利用具有NEBNext®試劑(藉由NEB之定製填充套組)之固相可逆固定(SPRI)純化及後續庫構造(包括用於末端修復、dA加成及接合之混合)在Bravo Benchbot (Agilent)上之96孔培養盤(Eppendorf)中使用「具有珠粒」的方案[1]，以最大化再現性及庫產量。索引(6 bp條碼)測序庫用HiFi™ (Kapa)進行PCR擴增10個週期，及隨後經1.8×SPRI純化。對QC進行純化及稀釋。

【0283】 LC後，QC程序藉由使用在分子裝置多模式SpectraMax M2板讀取器上讀取之Quant-iT™ OliGreen® ssDNA檢定套組(Life Technologies)定量來自純化庫之單股DNA (ssDNA)來進行。得到不足測序庫的庫為失敗的。

【0284】

D. 雜交捕獲

雜交捕獲(HC)開始於將每個庫標準化至500-2000 ng。標準化樣品隨後經歷溶液雜交，其使用超過單獨合成的5'生物素標記之DNA 120 bp寡核苷酸庫中的>50倍分子進行。誘餌目標為約1.8 Mb之人類基因組，其包括309種與癌症相關之基因的全部編碼外顯子、內含子或非編碼區之35種基因，加上位於整個基因組中之>3,500個單核苷酸多態性(SNP)。誘餌係藉由平鋪重疊120 bp DNA序列時間間隔來設計，從而覆蓋目標外顯子(60 bp重疊)及內含子(20 bp重疊)，每個目標最少三個誘餌；每個SNP目標分配一個誘餌。如由UCSC基因組重複主體系統追蹤定義，對內含子誘餌進行重複元素[2]過濾。

【0285】雜交後，在順磁性MyOne™抗生蛋白鏈菌素珠粒(Invitrogen)上捕獲庫誘餌雙螺旋體，及藉由在25℃下用1X SSC洗滌一次及在55℃下用0.25×SSC洗滌四次移除目標外物質。添加PCR主體混合物以直接擴增(12個週期)來自洗滌珠粒的捕獲庫[3]。在擴增12個週期之後，對樣品進行1.8×SPRI純化。對QC進行純化及稀釋。

【0286】雜交捕獲之品質對照藉由使用在分子裝置多模式SpectraMax M2板讀取器上讀取之Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA檢定套組(Life Technologies)量測dsDNA產量來進行。得到低於140 ng之測序庫的捕獲庫為失敗的。

【0287】

E.測序

在具有圖案化流量槽技術之氧化鋁cBot上使用外部控制集群技術，以生成來自單DNA模板之單株群集進行定序，接著在氧化鋁HiSeq4000上使用合成定序(SBS)化學進行定序。螢光標記之3'阻斷的dNTP連同聚合酶經由流量槽併入，以創建由雷射激發之生長核苷酸鏈。攝影機捕獲併入的鹼基多發出的色彩，隨後將其切出。隨後移除終止子，以允許核苷酸恢復至其天然形式及允許聚合酶將另一鹼基添加至生長鏈。在每個新定序週期下添加螢光標記之3'阻斷的新dNTP庫。每個新週期之顏色隨著將新鹼基添加至生長鏈而變化。此方法允許數百萬個離散的DNA純系複本之群集並行定序。

【0288】

F. 序列分析

使用由FMI研發之專用軟體對序列資料進行分析。使用Burrows-

Wheeler Aligner (BWA)v0.5.9.[4] PCR重複讀取移除將序列資料映射至人類基因組(hg19)，及使用Picard 1.47 (http://picard.sourceforge.net)及SAMtools 0.1.12a.[5]進行序列度量收集。使用基因組分析工具套組(GATK)1.0.4705.[16]進行局部比對最佳化。僅在由測試靶向之基因組區域中進行有效識別。

【0289】 使用貝氏方法進行鹼基取代偵測，其允許在低突變體對偶基因頻率(MAF)下偵測新穎的體細胞變異及經由併入組織特異性先前預期[7]對熱點部位變化之敏感性增加。捨棄具有低映射(映射品質<25)或鹼基識別品質(鹼基識別品質≤2)之讀數。在MAF≥5%下進行最終識別(熱點處之MAF≥1%)。

【0290】 為了偵測插入及缺失，使用de-Bruijn approach[8]進行每種靶向外顯子中之重新局部組裝。關鍵步驟為：

• 收集至少一個映射至目標區之讀數的所有讀數對。

• 將每個讀數分解成構成κ單體及建構所存在之所有候選非參考單體型的可枚舉之圖形表示(de-Bruijn)。

• 就原始讀取資料評估每種替代單倍型之支持，以產生突變候選。經由無間隙比對將所有讀數與候選單倍型中之每一者進行比較，及將每種讀數之讀數「投票」指定到具有最佳匹配之候選。藉由拆分由已支持每個單倍型之讀數數目加權的讀數投票來解析候選之間的聯繫。重複此過程，直至選擇「獲勝」之單倍型。

• 根據參考基因組比對候選，以報導變異識別。

【0291】 以類似於鹼基取代之方式過濾插入及缺失候選，其中重複序列及鄰接序列品質度量下之憑經驗增加的對偶基因頻率臨限值如實施於

GATK中：相鄰鹼基錯配%<25%，平均相鄰鹼基品質>25，支持讀取錯配之平均數≤2。在MAF≥5%下進行最終識別(熱點處之MAF≥3%)。

【0292】複本數變化(CNA)使用比較基因組雜交(CGH)類方法偵測。首先，樣品之類似比概況藉由將所有外顯子及全基因組SNP (約3,500)處得到的序列覆蓋相對於過程匹配之正常對照標準化來達成。將概況分段及使用定序SNP之對偶基因頻率來解釋，以估計腫瘤純度及每個片段之複本數。在腫瘤純度≥20%之樣品中，在≥6個複本(或對於三倍體腫瘤≥7個/對於四倍體腫瘤≥8個)之片段處識別到擴增及0個複本處之純合缺失。對於二倍體腫瘤，具有≥5個複本之片段處之ERBB2的擴增識別為陽性。

【0293】藉由分析嵌合讀數對鑑別基因組重排。嵌合讀數對經定義為將讀數映射至單獨染色體或在超過10兆鹼基(Mb)之距離處的讀數對。藉由該等對之基因組座標群集對，及將含有至少五(5)個嵌合對[三(3)個用於已知融合]之集群鑑別為重排候選。藉由映射品質(集群中之平均讀取映射品質必須為30或更高)及對準位置之分佈來過濾候選。對重排的預測功能進行標註(例如創建融合基因)。

【0294】為了測定微衛星不穩定性(MSI)狀態，分析F1CDx檢定上具有足夠覆蓋之95個內含子均聚物重複基因座(人類參考基因組中之長度為10至20 bp)之長度變化，及經由主要組件分析編譯成MSI總評分。使用95個基因座，對於各樣品，計算跨越基因座之每個讀數中的重複長度。記錄重複長度的平均值及方差。使用主要組件分析(PCA)將190維度資料投射至單維度上(第一主要組件)，以使資料分離最大化，得到MSI評分。對每種樣品指定MSI-高(MSI-H)或MSI-穩定(MSS)之定性狀態；MSI評分之

範圍由手動無監督集群技術指定為MSI-H或MSS。具有低覆蓋之樣品(OX中值<250X)指定為MSI未知狀態。

【0295】 腫瘤突變負荷(TMB)藉由對以5%對偶基因頻率或更高存在之所有同義及非同義變異體進行計數，及根據已知生殖系多態性之公開資料庫(包括單核苷酸多態性資料庫(dbSNP)及外顯子集合共生物種(ExAC))濾出潛在的生殖系驗證子來量測。對在資料庫查詢之後仍存在之其他生殖系變異的潛在生殖系狀態進行評估，及使用體細胞生殖系/接合子型式(SGZ)演算法濾出。此外，濾出已知及可能的驅動突變，以排除資料集之偏差。隨後將所得到之突變數目除以對應於計數的總驗證子數或793 kb的編碼區。將所得到的數目表示為每Mb單位之突變(mut/Mb)。

【0296】 在完成分析管線之後，變異體資料展示於具有序列品質控制度量之FMI定製研發的CATi軟體應用程式中。作為每種樣品之資料分析QC部分，F1CDx檢定經由使用SNP概況演算法評估交叉污染，降低未預期污染事件結果而出現之錯誤的陽性識別之風險。序列資料由經過訓練的生物資訊人員審查。未通過任何QC度量之樣品將自動保存及不釋放。

【0297】

G. 報導生成

批准之結果由具有CDx相關資訊之自動化軟體標註，及在實驗室導引器或指定人員批准及釋放之前與患者人口統計資訊及由FMI提供之作為專業服務的任何額外資訊合併。

【0298】

H. 關於系統之內部過程對照

陽性對照

每次檢定運作包括重複地運作對照樣品。對照樣品含有一組十個HapMap細胞株及將其用作陽性突變偵測對照。需要藉由分析管線偵測整個靶向區域兩端存在的一百種(100)不同的生殖系SNP。若未偵測到預期SNP，則此致使QC失敗，因為其表示潛在的處理誤差。

【0299】

敏感性對照

製備用作陽性對照之HapMap對照組，以含有5%至10% MAF之變異體，其必須由分析管線偵測以確保每次運作之預期敏感性。

【0300】

陰性對照

樣品在LC階段以分子形式裸露。僅將具有完美分子條碼序列之讀數併入分析中。分析管線包括分析每種樣本之SNP概況的演算法，以鑑別可能在分子條碼之前發生的潛在污染及可偵測低於1%之污染。

【0301】

VI.替代操作及步驟

存在經FDA批准之用於偵測基因變異的伴隨診斷(CDx)替代方法，其使用FFPE腫瘤樣本，如表1中所陳述之F1CDx預期用途陳述。經批准之Cx測試陳述於下表5中；額外細節參見以下之經清除或批准的伴隨診斷裝置之FDA清單：

https://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/InVitroDi agnostics/ucm3 01431.htm? source=govdelivery。

表5. 針對由F1 CDx靶向之基因的FDA批准之CDx檢定的清單

	裝置	公司	技術	療法	適應症
HER2-擴增	PathVysion HER-2 DNA Probe套組	Abbott Molecular, Inc.	FISH	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	路徑抗HER-2/neu (4B5) 兔類單株初級抗體	Ventana Medical Systems, Inc.	IHC	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	Insite HER-2/neu套組	Biogenex Laboratories, Inc.	IHC	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	Spot-Light HER2 CISH套組	Life Technologies, Inc.	CISH	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	Bond Oracle Her2 IHC系統	Leica Biosystems	IHC	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	HER2 CISH pharmDx套組	Dako Denmark A/S	CISH	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	INFORM HER2 DUAL ISH DNA Probe Cocktail	Ventana Medical Systems, Inc.	Dual ISH	Herceptin (曲妥珠單抗)	乳癌
	HercepTest	Dako Denmark A/S	IHC	Herceptin (曲妥珠單抗) Perjeta (帕妥珠單抗)Kadcyla (阿多曲妥珠單抗emtansine)	乳癌 胃或胃食道結合部腺癌

	裝置	公司	技術	療法	適應症
	HER2 FISH pharmDx套組	Dako Denmark A/S	FISH	Herceptin (曲妥珠單抗) Perjeta (帕妥珠單抗) Kadcyla (阿多曲妥珠單抗 emtansine)	乳癌胃或胃食道結合部腺癌
BRAF-V600	THxID BRAF套組	bioMerieux	PCR	Mekinist (tramatemb)	黑素瘤
	cobas BRAF V600突變測試	Roche Molecular Systems, Inc.	PCR	Zelboraf (維羅非尼)	黑素瘤
BRAF-V600	THxID BRAF套組	bioMerieux	PCR	Tafinlar (dabrafemib)	黑素瘤
	Oncomine Dx目標測試	Life Technologies, Inc.	NGS	Tafinlar (dabrafemib) Mekinist (曲美替尼)	非小細胞肺癌
NRAS	Praxis Extended Ras Panel	Illumina	NGS	Vectibix (帕尼單抗)	大腸直腸癌
KRAS	cobas KRAS突變測試	Roche Molecular Systems, Inc.	PCR	Erbitux (西妥昔單抗) Vectibix (帕尼單抗)	大腸直腸癌
	therascreen KRAS RGQ PCR套組	QIAGEN	PCR	Erbitux (西妥昔單抗)	大腸直腸癌

	裝置	公司	技術	療法	適應症
				Vectibix (帕尼單抗)	
	Praxis Extended Ras Panel	Illumina	NGS	Vectibix (帕尼單抗)	大腸直腸癌
ALK-融合	Vysis ALK Break Apart FISH Probe套組	Abbott Molecular, Inc.	FISH	Xalkori (crizotinib)	非小細胞肺癌
	ALK (D5F3) CDx Assay	Ventana Medical Systems, Inc.	IHC	Xalkori (crizotinib)	非小細胞肺癌
EGFR-外顯子19缺失及 L858R	cobas EGFR突變測試v2	Roche Molecular Systems, Inc.	PCR	Tarceva (erlotinib)	非小細胞肺癌
	therascreen EGFR RGQ PCR套組.	QIAGEN	PCR	Gilotrif (afatinib) Iressa (gefitinib)	非小細胞肺癌
	Oncomine Dx目標測試	Life Technologies, Inc.	NGS	Iressa (gefitinib	非小細胞肺癌
EGFR T790M	cobas EGFR突變測試v 2	Roche Molecular Systems, Inc.	PCR	Tagrisso (osimertinib)	非小細胞肺癌
BRCA1/2	FoundationFocus CDx*BRCA*	Foundation Medicine, Inc.	NGS	Rubraca (rucaparib)	晚期卵巢癌

縮寫：FISH：螢光原位雜交；IHC：免疫組織化學；CISH：顯色原位雜交；ISH：原位雜交；PCR：聚合酶鏈反應；NGS：下一代測序。

【0302】

VIII.市售史

Foundation Medicine, Inc最初設計及研發了FoundationOne®實驗室研發測試(F1 LDT)，及在2012年測試第一商用樣本。使用F1 LDT來偵測所存在的FFPE腫瘤組織樣本之基因組變異。F1 LDT為未經FDA清除或批准。

【0303】 在美國或任何外來國家尚未出售F1 CDx檢定。

【0304】

therascreen® KRAS RGQ PCR套組(2012)

I.通用資訊

裝置通用名稱：	即時PCR測試
裝置商標名稱：	therascreen® KRAS RGQ PC'R套組
裝置代碼：	OWD
申請人名稱及位址：	QIAGEN Manchester Ltd. Skelton House. Lloyd Street North Manchester. UK Ml5 6SH
小組建議日期：	無
上市前核可申請(PMA)編號：P110030	
FDA批准通知日期：	2012年7月5日
快捷：	不適用

【0305】

II.使用指示

therascreen KRAS RGQ PCR套組為一種用於Rotor-Gene Q MDx儀器上以偵測人類KRAS癌基因之七種體細胞突變的即時定性PCR檢定，其使用由經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)，大腸直腸癌(CRC)組織提取的DNA。*therascreen* KRAS RGQ PCR套組欲幫助鑑別Erbitux® (西妥昔單抗)治療的CRC患者，其基於偵測到的KRAS無突變之測試結果。

【0306】

III.禁忌

無

【0307】

IV.警告及注意事項

警告及注意事項可見於*therascreen*® KRAS RGQ PCR套組標記。

【0308】

V.裝置描述

以下組件組成了裝置整體：

- QIAGEN QIAamp® DSP DNA FFPE 組織套組
- QIAGEN *therascreen*® KRAS RGQ PCR套組
- QIAGEN Rotor-Gene Q MDx. 軟體版本2.1.0及KRAS檢定包

【0309】

樣本製備

將經福馬林固定石蠟包埋(FFPE)之塊切到載玻片上。使用染色載片來證實腫瘤含量超過組織之20%及可獲得最小腫瘤面積為4mm^2。自載片刮下單一非染色組織切片來提取DNA。若切片之腫瘤含量低於20%，則應對切片進行宏觀剖析。使用QIAGEN QIAamp® DSP DNA FFPE組織套組及修改方案，手動提取DNA及自由大腸直腸癌患者之FFPE組織獲得的安裝到5 μm玻璃切片純化。用二甲苯對腫瘤組織去石蠟及用乙醇提取二甲苯。將樣品在變性條件下用蛋白酶K溶解一小時。將樣品在90℃下加熱，以逆轉基因組DNA之福馬林交聯。樣品穿過基於矽之膜，使得基因組DNA結合至膜及移除污染物。將經純化之基因組DNA自膜溶離至200

μL溶離緩衝液中。將所提取的DNA儲存在-20℃下。

【0310】

PCR擴增及偵測

QIAGEN *therascreen*® KRAS RGQ PCR套組含有八個獨立反應之試劑；七個突變特異性反應(以擴增及偵測K-Ras致癌基因之外顯子2中的密碼子12及13中之突變)及一個對照反應(其擴增及偵測K-Ras致癌基因之外顯子4的區域)。KRAS RGQ套組中之每種反應利用擴增難治性突變系統(ARMS®)對偶基因特異性聚合酶鏈反應(PCR)，以選擇性擴增與螢光團標記之Scorpion®引子組合的非突變型基因組DNA (突變陰性；野生型)背景下的突變型基因組DNA模板(突變陽性)，以偵測任何所得到的擴增產物。ARMS技術利用了Taq聚合酶在PCR引子之3'端處區分匹配與失配的能力。蠍形探針為含有共價連接至探針之PCR引子的雙官能分子。探針將螢光團[羧基螢光素(FAM™)]與淬滅螢光團之螢光的淬滅劑合併。PCR期間，當探針結合至ARMS擴增子時，螢光團與淬滅劑分開，致使螢光之可偵測增加。

【0311】 在用突變特異性測試反應測試之前，各DNA樣品必須用對照反應測定DNA之品質及數量是否足夠及適合於檢定之工作範圍。使用對照反應Ct值來評估樣品中之可擴增的總DNA及必須落入每種樣品之預先指定的範圍內。

由對照反應獲得之結果的解釋如下：

對照Ct值	解釋	作用
> 32.00	可擴增DNA之數量不足以進行突變分析。	應提取及測試額外樣品。
<21.92	進行突變分析之可擴增DNA的數量過高。	用套組中提供之樣品稀釋水來稀釋
21.92 ≤對照Ct≥ 32.00	可擴增DNA之數量適用於突變分析。	---

【0312】 用對照反應混合物評估DNA樣品所用的運作參數為使用突變反應混合物之突變分析的相同運作參數。運作參數為：(1)在95℃下保持15分鐘，以活化Taq聚合酶；(2) PCR在95℃下進行40個週期持續30秒以變性，及60℃下持續1分鐘以退火/延伸。將來自特定反應之預先定義臨限值兩端的螢光PCR週期定義為Ct值。下表列出由套組偵測之K-RAS致癌基因的密碼子12及13中之七個突變：

突變	鹼基變化
GLY12ALA (G12A)	GGT>GCT
GLY12ASP (G12D)	GGT>GAT
GLY12ARG (G12R)	GGT>CGT
GLY12CYS (G12C)	GGT>TGT
GLY12SER (G12S)	GGT>AGT
GLY12VAL (G12V)	GGT>GTT
GLY13ASP (G13D)	GGC>GAC

【0313】

測試對照

每個測試運作必須含有內部對照、陽性對照及陰性對照。若陰性對照表示測試運作已受到污染(Ct值高於FAM通道之設定值)或若陽性對照Ct值處於設定範圍(FAM及HEX通道兩者)外，則將測試運作視為無效的。

運作有效性標準

反應混合物	樣品	RGQ通道	有效Ct值*
對照	陽性對照	FAM	23.50至29.50
對照	無模板對照	FAM	無擴增
對照	無模板對照	HEX	31.91至35.16
突變	陽性對照	FAM	23.50至29.50
突變	無模板對照	FAM	無擴增
突變	無模板對照	HEX	31.91至35.16

**包括範圍*

【0314】

內部對照：

八種反應均含有額外ARMS引子及HEX標記之Scorpion引子，以擴增及偵測用作內部對照之合成非K-Ras相關的寡核苷酸模板。將Scorpion引子用HEX標記，以與對照及突變反應中之經FAM標記的Scorpion區分。在每種反應中，內部對照反應經設計為兩種反應中之較弱者。此經由使用極低濃度之內部對照模板達成。內部對照反應經設計以獨立於突變特異性擴增作用，但若FAM反應「勝出」，則其可能在強擴增存在下失敗。在七種突變反應中之任一者中，具有失敗的內部對照反應之突變陰性結果將報導為無效結果。使用內部對照來偵測抑制劑或總體反應失敗。

【0315】

陽性對照：

陽性對照包含合成寡核苷酸之混合物，該等合成寡核苷酸表示由KRAS套組偵測之突變中的每一者。陽性對照之偵測證實，套組中之反應混合物中的每一者之功能正常。

【0316】

陰性對照：

KRAS RGQ套組含有待用作無模板對照(NTC)反應之無核酸的水。NTC充當陰性對照及在檢定建立期間評估潛在污染。

【0317】

儀器及軟體

Rotor-Gene Q (RGQ) MDx儀器為設計用於熱循環及擴增DNA之即時偵測的即時PCR分析儀。RGQ MDx儀器控制及監測PCR反應及包括基於PCR結果測定突變狀態之軟體。其併入用於PCR反應期間(其中每個管

在流動的空氣腔室中旋轉)熱循環之離心轉子設計。

【0318】 根據確定週期之軟體在低質量空氣烘箱中加熱及冷卻樣品，該週期起始PCR週期之不同階段，每個PCR總計40個週期。在RGQ MDx儀器中，由發光二極體自腔室之底部激發樣品。能量通過管之底部處的薄壁傳輸。發出的螢光穿過腔室側面的發射過濾器及由光電倍增管偵測。當每個管與偵測光學器件對準時進行偵測；管以每150毫秒旋轉通過激發/偵測光學器件。螢光信號監測PCR反應之進展。儀器能夠支持多達六個光學通道(六個激發源及六個偵測過濾器)，然而此等通道中之僅兩者(FAM及HEX通道)與KRAS套組一起使用。

【0319】 therascreen KRAS檢定包由兩種模板組成：「therascreen KRAS QC鎖定模板」(用於DNA樣品評估)及「therascreen® KRAS鎖定模板」(用於偵測KRAS突變)。此等模板含有PCR運作參數及對結果進行計算。使用相同運作參數來評估對照反應混合物之DNA樣品及使用突變反應混合物偵測KRAS突變。

【0320】 RGQ MDx儀器軟體支持即時分析程序。軟體測定Ct值，對ΔCt值進行計算，及將此等值與如上所述的併入軟體中之突變特異性截至值進行比較。軟體內包含標記/警告系統，以便告知使用者潛在的檢定問題，及指示測試運作無效或有效測試運作內之無效樣品(DNA含量不當或內部對照失敗)。對於無效運作或對於無效樣品，未報導結果。KRAS RGQ套組之使用者無法主觀性確定突變狀態，因為其無法得到Ct或ΔCt值及僅見軟體報導之突變狀態識別。

【0321】

對結果之解釋

對照反應之Ct反映樣品中之可擴增K-Ras模板的總量，而對偶基因特異性反應之Ct反映樣品內K-Ras突變的量。對照反應與對偶基因特異性反應之間的Ct值(ΔCt)差異表示樣品內突變之比例。樣品中之突變體DNA比例愈大，ΔCt值愈接近0。樣品中之突變體DNA的比例愈小，ΔCt值愈大(接近陽性與陰性識別之臨限值)。當ΔCt量度超過突變體反應之ΔCt截止值時，檢定報導了未偵測到的突變(例如7個陰性突變)。

【0322】 對於每種樣品，由RGQ MDx儀器軟體進行計算，以確定7個突變特異性反應中之每一者的ΔCt值(FAM通道)：

[突變反應Ct值]-[對照反應Ct值] = ΔCt

【0323】 基於預先確定的分析Ct及ΔCt值，Rotor-Gene Q軟體定性確定了DNA樣品之突變狀態及報導了何種樣品含有何種突變。每種樣品將具有七種可能的ΔCt值(每個突變一種)。將此等值與併入RGQ MDx儀器軟體中的預先確定的設定值(截至值)進行比較，以確定樣品是否為突變陽性或陰性及存在何種突變(若存在)。當突變反應ΔCt值低於或等於反應之截止值時，樣品為K-Ras突變陽性。分析結果將顯示為「突變陽性」、「未偵測到突變」、「無效」，或若運作對照失敗，則「運作對照失敗」。對於突變陽性樣品，報導為特異性突變。

突變檢定	12 ALA	12ASP	12ARG	12CYS	12SER	12VAL	13ASP
截至(ΔCt)	≤ 8.0	≤ 6.6	≤ 8.0	≤ 8.0	≤ 8.0	≤ 7.5	≤ 7.5

【0324】

VI.替代操作及步驟

對於選擇可能受益於Erbitux® (西妥昔單抗)靶向療法之患者，無其他經FDA清除或批准之替代方法進行大腸直腸癌組織測試，以偵測K-Ras致癌基因中的突變。

【0325】

實例4：測定高αvβ6整合素表現狀態

4.方法

4.1 免疫組織化學

使用針對整合素αvβ5、αvβ3、αv、αvβ6、αvβ8及β3以及玻連蛋白、骨橋蛋白、Ki67及CD31之抗體進行FFPE組織的免疫組織化學。所有抗整合素抗體及相關染色方案均由Merck Serono提供。在Indivumed實驗室中進一步將方案調節至染色儀器。偵測玻連蛋白、骨橋蛋白、Ki67及CD31之免疫組織化學方案先前已在Indivumed確立及由Merck Serono批准。作為品質對照，在每次運作中進行細胞株及組織的IHC (運作對照)。此外，針對每次運作對照製備同型對照。

【0326】對於IHC染色，藉由Merck Serono/Covance提供FFPE組織。將用作運作對照及同型對照之FFPE陽性對照樣品(細胞株或組織)切成3 μm切片及安放在帶正電的Super Frost® Ultra Plus玻璃載片上(Roth，Karlsruhe)。將IHC實施於Discovery® XT染色儀器(Roche / Ventana Medical Systems Inc.)上。將FFPE載片在染色器具內去石蠟，及使用ChromoMap偵測套組(Roche Diagnostics Deutschland GmbH)在Discovery® XT上免疫染色。詳細染色程序例如描述於以下中：Goodman SL，Grote HJ Wilm C Matched rabbit monoclonal antibodies against av-series integrins reveal a novel αv(33-LIBS epitope, and permit routine staining of archival paraffin samples of human tumors. Biol Open 2012; 1: 329-340。隨後將載片使用熱水加清潔劑手動洗滌，接著在最終步驟中由僅自來水及dH2O洗滌。脫水時，將載玻片轉移至遞升乙醇

系列(2×80%，2×96%，2×ab EtOH)及分別培育1至3分鐘。脫水後，將載片轉移至二甲苯(3×2 min)及最終自動嵌入於Pertex中。

【0327】

4.1.1抗整合素αvβ6

4.1.1.1抗整合素αvβ6抗體及其為一類對照

名稱	純系	提供者	宿主物種	儲備液濃度	工作稀釋
抗整合素αvβ6	EM05201	Merck Serono	兔類	1.0 mg/ml	1:2000
兔類IgG	DA1E	Cell Signaling Technology	兔類	2.5 mg/ml	1:5000

【0328】

4.2. 自動化程序/方案

程式步驟(DiscoveryXT)：

程序：Res IHC Omni-UltraMap HRP XT (方案概述)

Discovery XT染色模塊

Indivumed，Falkenried 88 20251 Hamburg

	方案無方案名稱	創建日期
	307 A-αvb6 (107)	2013年10月5日
1	組織樣品[所選擇的]	
2	石蠟[所選擇的]	
3	去石蠟[所選擇的]	
4	酶[所選擇的]	
5	施加一滴[PROTEASE 2] (酶)。施加蓋片，及培育[12分鐘]	
6	抗體[所選擇的]	
7	抗體自動分散[所選擇的]	
8	標準Ab培育[所選擇的]	
9	施加一滴[ANTIBODY23] (抗體)，及培育32分鐘]	
10	施加一滴[OMap 抗Rb HRP] (Multimer HRP)，施加蓋片，及培育[16分鐘]	
11	複染色[所選擇的]	
12	標準[所選擇的]	
13	施加一滴[HEMATOXYLIN II] (複染色後)。施加蓋片，及培育[8分鐘]	
14	複染色後[所選擇的]	
15	施加一滴[BLUING REAGENT] (複染色後)，施加蓋片，及培育[4分鐘]	
16	清除載片 [所選擇的]	

【0329】

4.2. 組織病理學評估

由Indivumed之病理學家評估免疫組織化學染色的FFPE樣品。一般而言，病理學家對主要染色強度進行定量，指定染色模式且估計陽性染色腫瘤組織百分比。使用經H&E染色的切片測定腫瘤含量以及組織類型。用於半定量評估之評分系統描述於下文中。此外，定義免疫組織化學染色亞細胞區室。因此，病理學家在膜(m)、核(n)及細胞質(c)之間進行區分。視需要，在評述中提及染色圖案之更詳細的描述。為了分析腫瘤組織抗Ki67 之增生性速率，執行IHC。病理學家藉由評估100個腫瘤細胞來測定Ki67陽性腫瘤細胞百分比。

【0330】

4.2.1 組織學評分(H評分)：評估腫瘤細胞

對於免疫組織化學染色腫瘤組織之半定量評估，如以下文獻中所述應用H評分分類：McCarty Jr KS, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty Sr KS「Estrogen receptor analyses: Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies」，Arch Pathol Lab Med 109: 716-721 (1985)，其揭示內容較佳以全文引用的方式併入本文中。因此，以腫瘤組織百分比形式估計陰性(0)、輕度染色(1)、中度染色(2)及重度染色(3)區域。隨後，如下計算H評分。

H評分=(輕度)% + (中度)%×2 + (重度)% ×3

H評分	分類
0-50	陰性
51-100	弱陽性
101-200	中度陽性
201-300	強陽性

【0331】較佳認為相應獲得之高於70 (>70)的組織學評分為在阿比特珠單抗治療之情形下滿足「高αvβ6整合素表現」之標準的適合臨限值。

【序列表】

<110> 德商馬克專利公司(Merck Patent GmbH)

<120> 用於治療大腸直腸癌之阿比特珠單抗(ABITUZUMAB)

<150> US62/748,114
<151> 2018-10-19

<160> 7

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DI17E6輕鏈

<400> 1

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 2
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DI17E6重鏈

<400> 2

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

```
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Ala Gln Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾的IgG1鉸鏈區

<400> 3
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1   5   10   15

<210> 4
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈構架區

<400> 4
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Glu Pro Gly Ala
1   5   10   15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser
            20   25   30

<210> 5

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈構架區

<400> 5
Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 6
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈構架區

<400> 6
Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15
Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser
20 25 30

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈構架區

<400> 7
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種治療人類大腸直腸癌的方法，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗(Abituzumab)，其中該大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

【第2項】

一種治療人類大腸直腸癌的方法，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該大腸直腸癌為左側大腸直腸癌。

【第3項】

一種治療左側大腸直腸癌之方法，該方法包含向該等人類投與阿比特珠單抗，其中該左側大腸直腸癌特徵為高αvβ6整合素表現。

【第4項】

如請求項1、2或3之方法，其中該等人類亦接受靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體，及/或化學療法。

【第5項】

如請求項1、2、3及/或4之方法，其中該大腸直腸癌為II期、III期或IV期大腸直腸癌。

【第6項】

如請求項1、2、3、4及/或5中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為轉移性大腸直腸癌或左側轉移性大腸直腸癌。

【第7項】

如請求項1、2、3、4、5及/或6中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為左側大腸直腸癌或左側轉移性大腸直腸癌，其中αvβ6整合素表現高。

【第8項】

如請求項1至7中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型大腸直腸癌。

【第9項】

如請求項1至8中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌。

【第10項】

如請求項1至9中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為II期、III期或IV期RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌，其中αvβ6整合素表現高。

【第11項】

如請求項1至10中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌，其中αvβ6整合素表現高。

【第12項】

如請求項1至11中一或多項之方法，其中該左側大腸直腸癌為新診斷的大腸直腸癌。

【第13項】

如請求項1至12中一或多項之方法，其中將該方法應用於第一線治療環境(setting)中。

【第14項】

如請求項4至13中一或多項之方法，其中將該方法應用於伴隨治療環境中。

【第15項】

如請求項4至14中一或多項之方法，其中將該方法應用於輔助治療環境中。

【第16項】

如請求項4至15中一或多項之方法，其中將該方法應用於新輔助治療環境中。

【第17項】

如請求項4至15中一或多項之方法，其中該等人類接受靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體及/或該化學療法伴隨該阿比特珠單抗。

【第18項】

如請求項4至16中一或多項之方法，其中靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體包含西妥昔單抗(cetuximab)、貝伐單抗(bevacizumab)及/或帕尼單抗(panitumumab)。

【第19項】

如請求項4至18中一或多項之方法，其中靶向該至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體選自由西妥昔單抗及貝伐單抗組成之群。

【第20項】

如請求項5至18中一或多項之方法，其中該化學療法包含一或多種選自由以下組成之群的化合物：伊立替康(irinotecan)、氟尿嘧啶(fluorouracil)、喃氟啶(tegafur)/尿嘧啶(UFT)、醛葉酸、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、阿柏西普(aflibercept)、瑞戈非尼(regorafenib)、卡培他濱(capecitabine)，及其前藥，及其鹽與溶劑合物。

【第21項】

如請求項4至20中一或多項之方法，其中根據FOLFIRI方案投與該化學療法。

【第22項】

如請求項4至20中一或多項之方法，其中根據FOLFOX方案投與該化學療法。

【第23項】

如請求項4至22中一或多項之方法，其中該化學療法包含：

a) 一或多種選自以下之化合物：伊立替康、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(甲醯四氫葉酸)，及其前藥，

或

b) 一或多種選自以下之化合物：奧沙利鉑、氟尿嘧啶(5-FU)及醛葉酸(甲醯四氫葉酸)，及其前藥，

及其鹽與溶劑合物。

【第24項】

如請求項1至23中一或多項之方法，其中以每週375 mg至750 mg之量、每兩週750 mg至1500 mg之量或每月1500 mg至3000 mg之量向該等人類投與該阿比特珠單抗。

【第25項】

如請求項1至24中一或多項之方法，其中以每週約500 mg之量、每兩週約1000 mg之量或每月約2000 mg之量向該等人類投與該阿比特珠單抗。

【第26項】

如請求項1至25中一或多項之方法，其中向該等人類投與該阿比特珠單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第27項】

如請求項1至26中一或多項之方法，其中向該等人類投與該阿比特珠單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週。

【第28項】

如請求項4至27中一或多項之方法，其中以每週75 mg至1000 mg之量、每兩週150 mg至2000 mg之量或每月300 mg至4000 mg之量向該等人類投與該靶向至少一種生長因子或生長因子受體之單株抗體。

【第29項】

如請求項18至28中一或多項之方法，其中以每週約150 mg/m^2至550 mg/m^2之量、每兩週300 mg/m^2至1100 mg/m^2之量或每月約600 mg/m^2至2200 mg/m^2之量向該等人類投與該西妥昔單抗。

【第30項】

如請求項18至29中一或多項之方法，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第31項】

如請求項18至30中一或多項之方法，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該西妥昔單抗。

【第32項】

如請求項18至31中一或多項之方法，其中向該等人類投與該西妥昔單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該西妥昔單抗之量：

a) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為約500 mg/m^2，或

b) 在每個週期之第一週開始時為約400 mg/m^2，及在每個週期之第二週開始時為約250 mg/m^2。

【第33項】

如請求項18至28中一或多項之方法，其中以每週約1 mg/kg至10 mg/kg之量、每兩週3 mg/kg至15 mg/kg之量或每月約6 mg/kg至30 mg/kg之量向該等人類投與該貝伐單抗。

【第34項】

如請求項18至28及33中一或多項之方法，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第35項】

如請求項18至28及33至34中一或多項之方法，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該貝伐單抗。

【第36項】

如請求項18至28及33至35中一或多項之方法，其中向該等人類投與該貝伐單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該貝伐單抗的量：

a) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為3 mg/kg至15 mg/kg，或5 mg/kg至10 mg/kg，

或

b) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為約7.5 mg/kg。

【第37項】

如請求項18至28中一或多項之方法，其中以每週約1 mg/kg至10 mg/kg之量、每兩週3 mg/kg至15 mg/kg之量或每月約6 mg/kg至30 mg/kg之量向該等人類投與該帕尼單抗。

【第38項】

如請求項18至28及37中一或多項之方法，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第39項】

如請求項18至28及37至38中一或多項之方法，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中每週或每兩週向該等人類投與該帕尼單抗。

【第40項】

如請求項18至28及37至39中一或多項之方法，其中向該等人類投與該帕尼單抗至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中向該等人類投與該帕尼單抗的量：

a) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為3 mg/kg至15 mg/kg，或4 mg/kg至10 mg/kg，

或

b) 在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時，為約6 mg/kg。

【第41項】

如請求項29至32及/或請求項37至40中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型大腸直腸癌。

【第42項】

如請求項29至32及/或請求項37至40中一或多項之方法，其中該大腸直腸癌為RAS野生型及/或KRAS野生型左側大腸直腸癌或RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌。

【第43項】

如請求項4至42中一或多項之方法，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中

a) 該伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，及/或

c) 該氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

在每個週期期間，較佳在每個週期開始時，及/或在每個週期之每週開始時投與該等人類。

【第44項】

如請求項4至43中一或多項之方法，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週50 mg/m^2至150 mg/m^2、每兩週100 mg/m^2至300 mg/m^2或每月200 mg/m^2至600 mg/m^2，

b) 醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150

mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2，及/或

c) 氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2。

【第45項】

如請求項4至44中一或多項之方法，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 伊立替康，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週50 mg/m^{2}至150 mg/m^2、每兩週100 mg/m^{2}至300 mg/m^{2}或每月200 mg/m^{2}至600 mg/m^2，

b) 醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2，及/或

c) 氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週1000 mg/m^{2}至3000 mg/m^2、每兩週2000 mg/m^{2}至6000 mg/m^{2}或每月4000 mg/m^{2}至12000 mg/m^2，較佳為每兩週2000 mg/m^{2}至3200 mg/m^2。

【第46項】

如請求項4至45中一或多項之方法，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第47項】

如請求項4至42中一或多項之方法，其中向該等人類投與該化學療法

至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中

a) 該奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，及/或

c) 該氟尿嘧啶(5-FU)，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時向該等人類投與。

【第48項】

如請求項4至42及47中一或多項之方法，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週20 mg/m^2至120 mg/m^2、每兩週40 mg/m^2至240 mg/m^2或每月80 mg/m^2至480 mg/m^2，

b) 醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2或每月600 mg/m^2至1000 mg/m^2，及/或

c) 5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^2至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^2至500 mg/m^2或每月600 mg/m^2至1000 mg/m^2。

【第49項】

如請求項4至42及47至48中一或多項之方法，其中該等人類亦接受化學療法，該化學療法包含：

a) 奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週20 mg/m^2至120 mg/m^2、每兩週40 mg/m^2至240 mg/m^2或每月80 mg/m^2至480 mg/m^2，

b) 醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週150 mg/m^{2}至250 mg/m^2、每兩週300 mg/m^{2}至500 mg/m^{2}或每月600 mg/m^{2}至1000 mg/m^2，及/或

c) 5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，其量為每週1000 mg/m^{2}至3000 mg/m^2、每兩週2000 mg/m^{2}至6000 mg/m^{2}或每月4000 mg/m^{2}至12000 mg/m^2，較佳為每兩週2000 mg/m^{2}至3200 mg/m^2。

【第50項】

如請求項4至42及47至49中一或多項之方法，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期，每個週期的持續時間為約1週、約2週、約4週或約一個月。

【第51項】

如請求項4至42及47至50中一或多項之方法，其中向該等人類投與該化學療法至少6個週期，每個週期的持續時間為約2週，其中

a) 該奧沙利鉑，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

b) 該醛葉酸，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，及/或

c) 該5-FU，及/或其前藥、鹽及/或溶劑合物，

在每個週期期間，及較佳在每個週期開始時向該等人類投與。

【第52項】

如請求項1至51中一或多項之方法，其中原發腫瘤位於大腸中。

【第53項】

如請求項1至52中一或多項之方法，其中該原發腫瘤位於大腸左側。

【第54項】

一種阿比特珠單抗用於製造治療具有高αvβ6整合素表現之患者的

RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸直腸癌(mCRC)之藥劑的用途，其與西妥昔單抗及/或FOLFIRI組合。

【第55項】

一種阿比特珠單抗用於製造治療具有高αvβ6整合素表現之患者的RAS野生型左側轉移性大腸直腸癌(mCRC)之藥劑的用途，其與西妥昔單抗及FOLFIRI組合。

【第56項】

一種阿比特珠單抗用於製造治療具有高αvβ6整合素表現之患者的RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸癌之藥劑的用途，其與西妥昔單抗及/或FOLFIRI組合。

【第57項】

一種阿比特珠單抗用於製造治療具有高αvβ6整合素表現之患者的RAS野生型及/或KRAS野生型左側轉移性大腸癌或轉移性大腸直腸癌之藥劑的用途，其與西妥昔單抗及/或伊立替康組合。

【第58項】

一種阿比特珠單抗用於製造治療具有高αvβ6整合素表現之患者的RAS野生型左側轉移性大腸癌或轉移性大腸直腸癌之藥劑的用途，其與西妥昔單抗及伊立替康組合，較佳與醛葉酸及/或5-FU組合。

【第59項】

如請求項54至58中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中該治療為第一線治療。

【第60項】

如請求項54至59中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中欲治療之

轉移性大腸癌及/或轉移性大腸直腸癌為III期及/或IV期癌症。

【第61項】

如請求項54至60中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中該藥劑將以投與阿比特珠單抗的量為每兩週約1000 mg或每月約2000 mg的方式向患者投與。

【第62項】

如請求項54至61中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中該等具有高αvβ6整合素表現的患者的αvβ6整合素組織學評分(Histoscore)高於70。

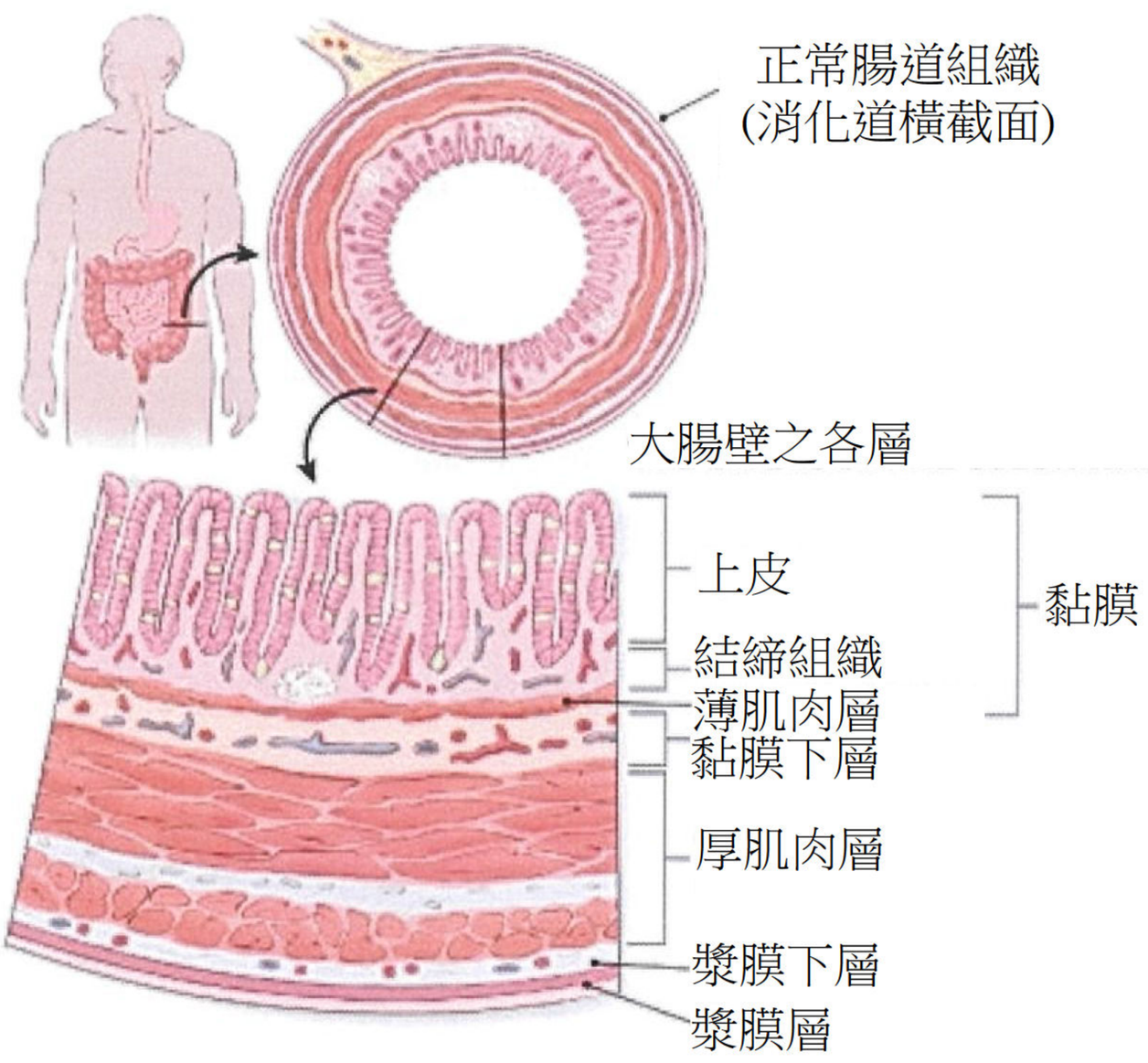
【第63項】

如請求項54至62中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中該治療係投與至少6個、至少8個、至少10個或至少12個週期，每個週期由兩週或約兩週組成。

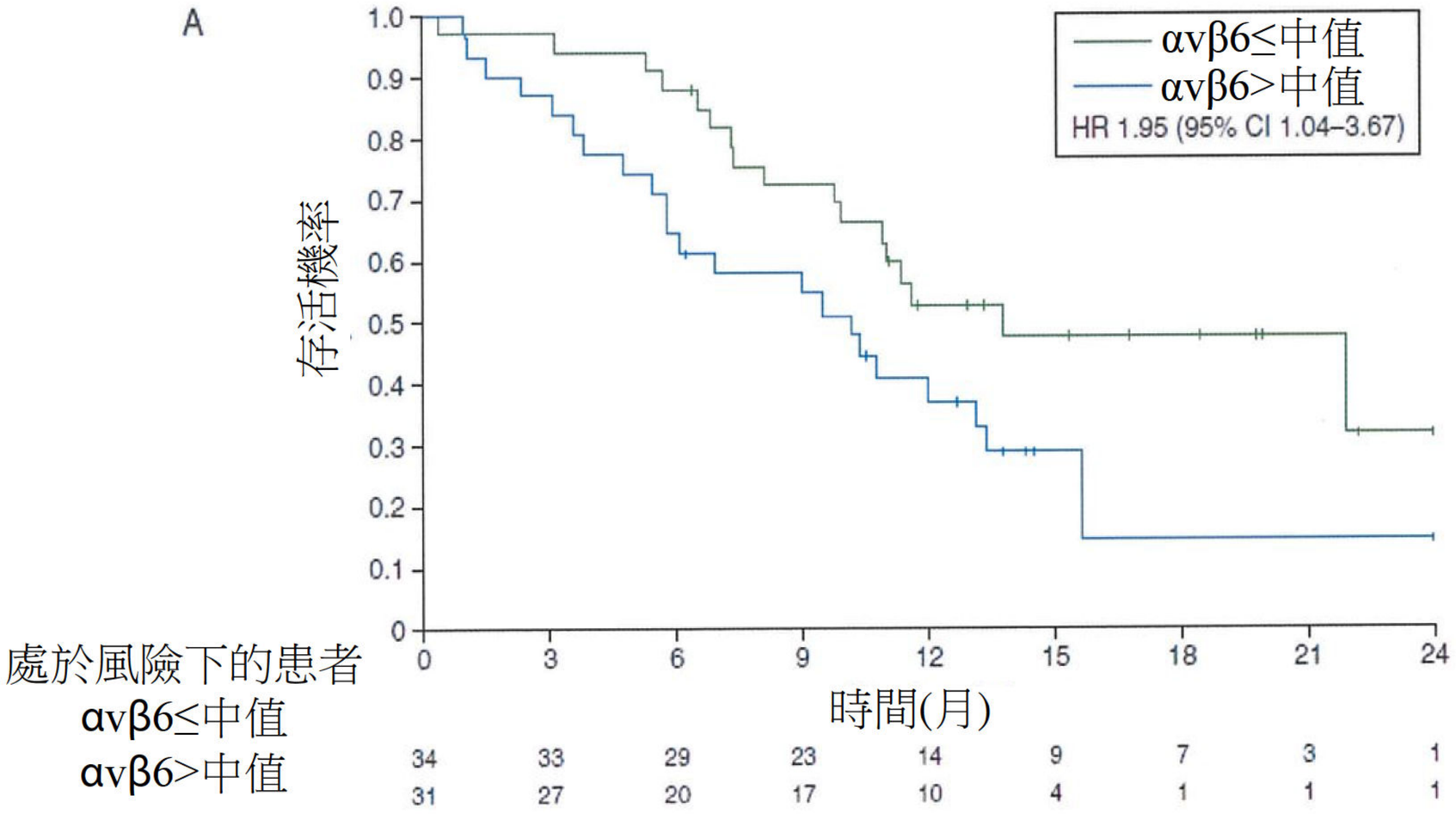
【第64項】

如請求項54至62中一或多項之阿比特珠單抗的用途，其中該阿比特珠單抗、該西妥昔單抗及/或該FOLFIRI將以每兩週，較佳以兩週或約兩週之週期向該等患者投與。

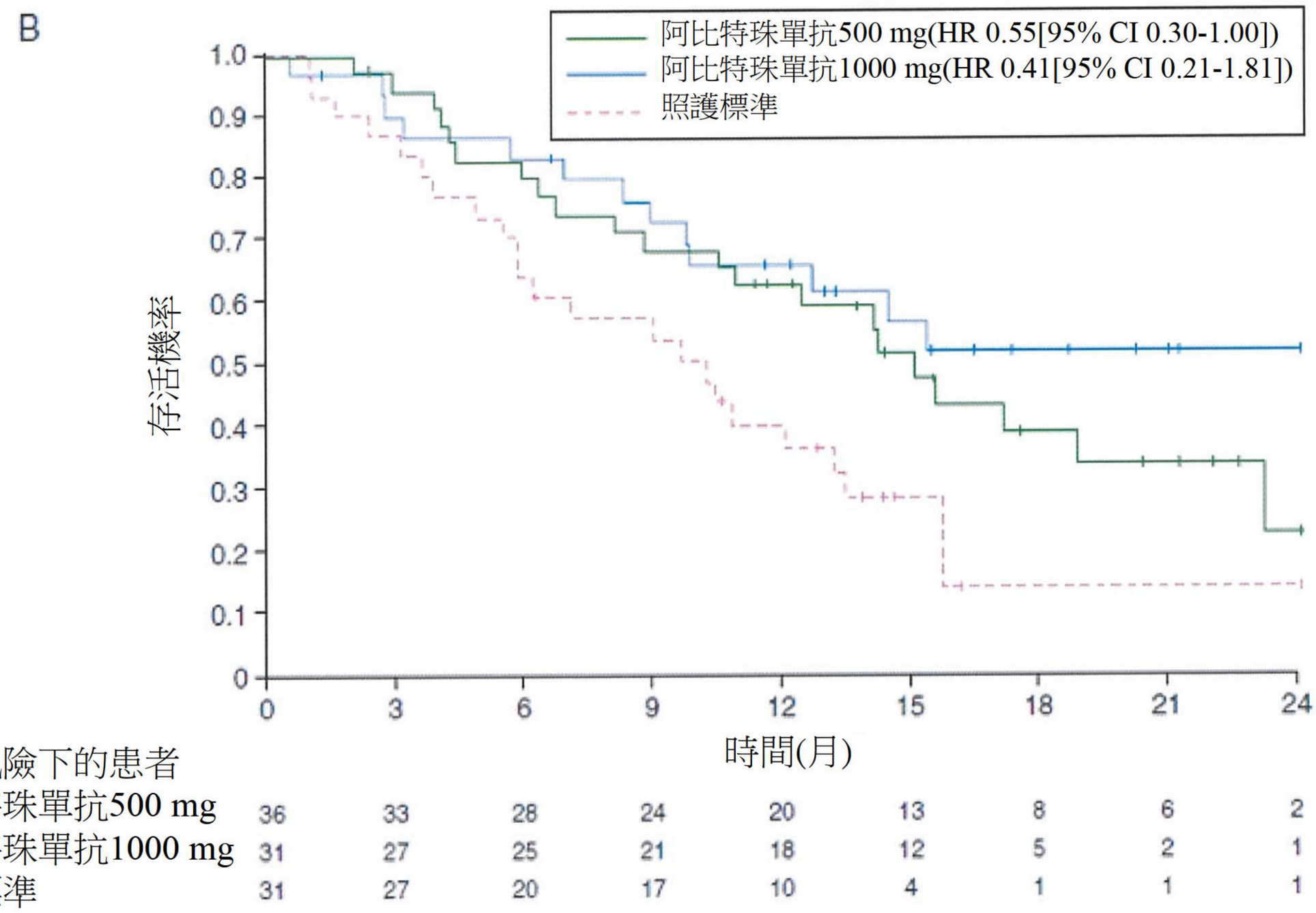
【發明圖式】



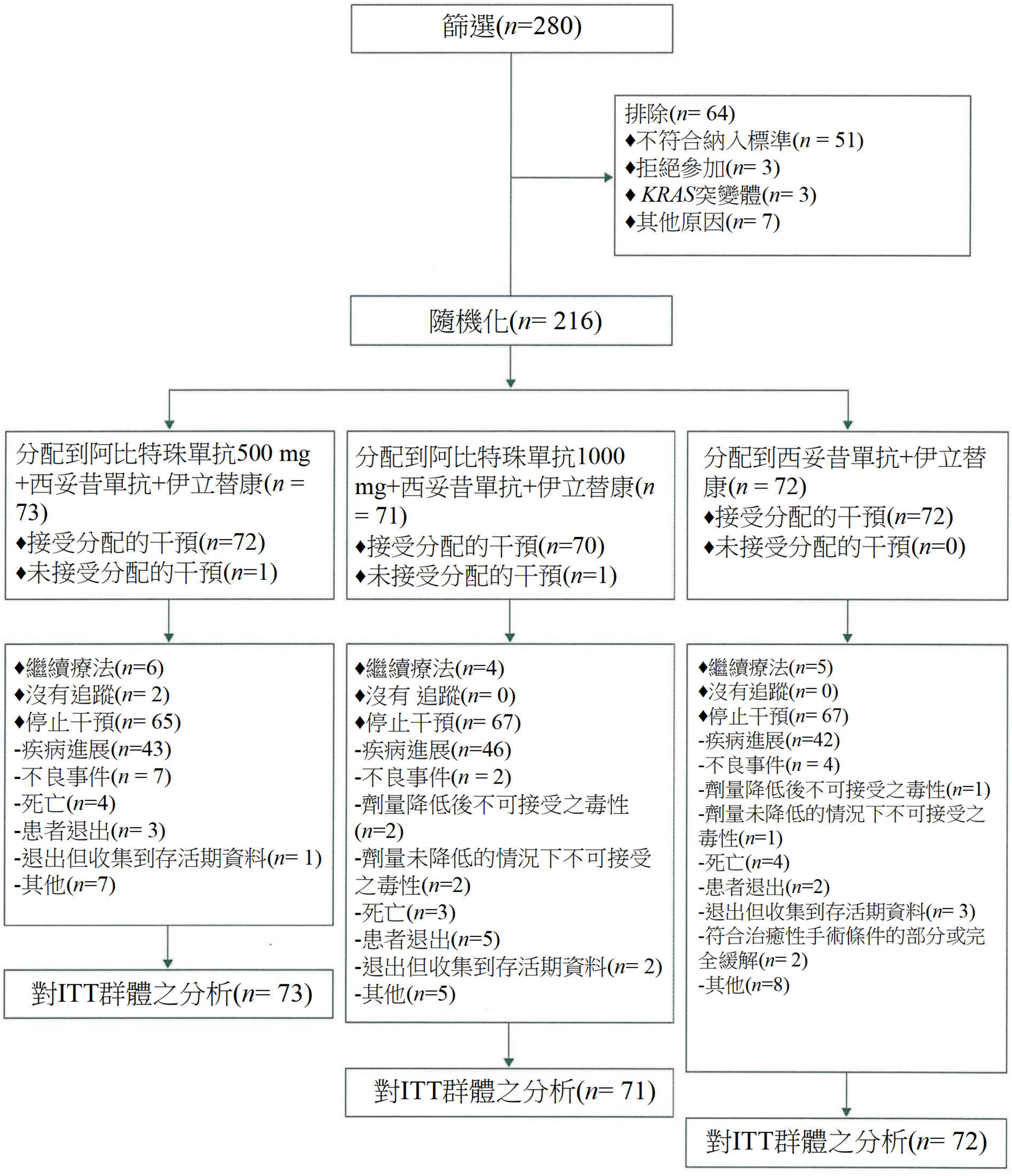
【圖1】


A
αvβ6≤中值
αvβ6>中值
HR 1.95 (95% CI 1.04–3.67)
存活機率
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
時間(月)
處於風險下的患者
αvβ6≤中值 34 33 29 23 14 9 7 3 1
αvβ6>中值 31 27 20 17 10 4 1 1 1

【圖2】

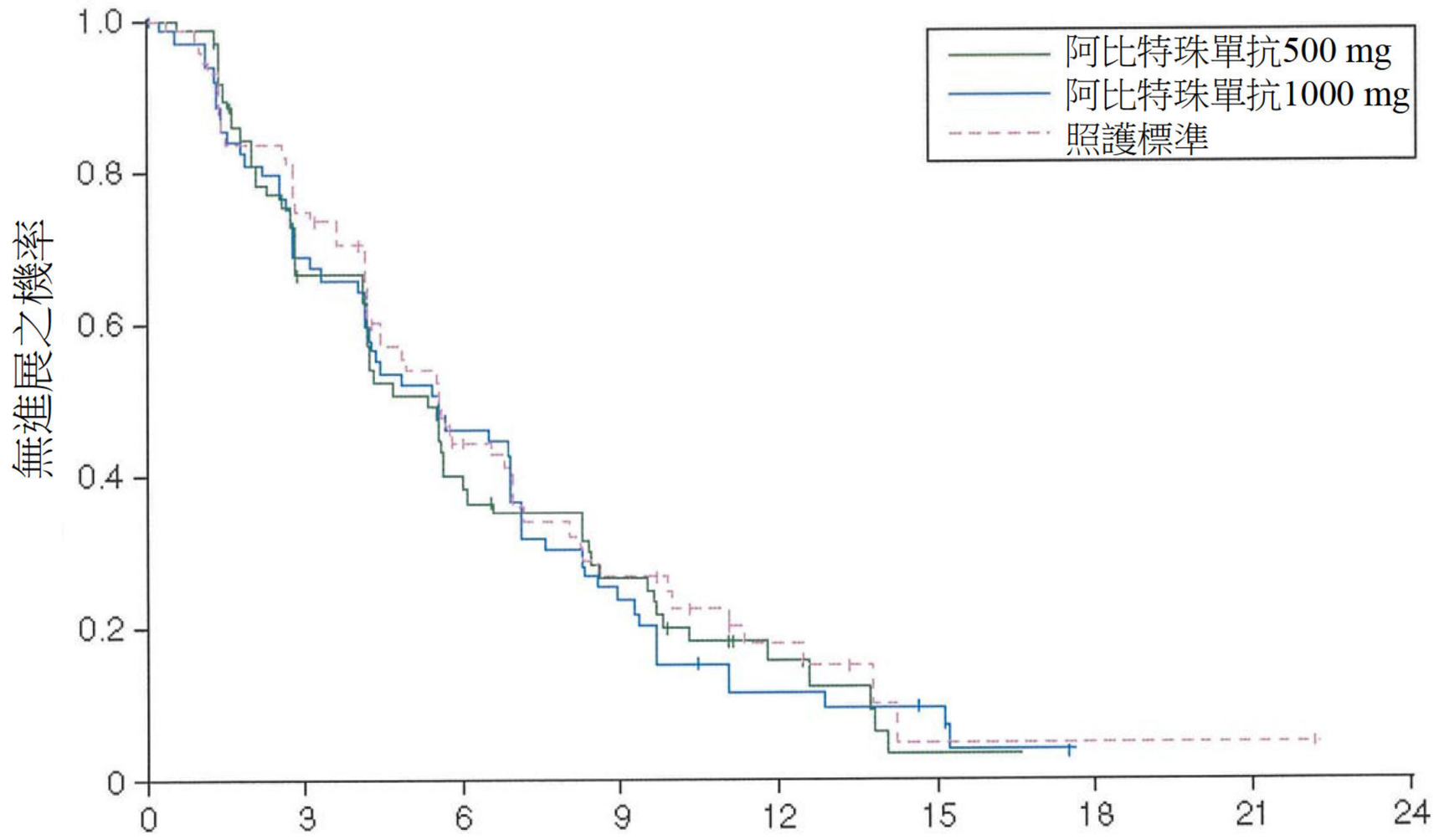

B
阿比特珠單抗500 mg(HR 0.55[95% CI 0.30-1.00])
阿比特珠單抗1000 mg(HR 0.41[95% CI 0.21-1.81])
照護標準
存活機率
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
時間(月)
處於風險下的患者
阿比特珠單抗500 mg 36 33 28 24 20 13 8 6 2
阿比特珠單抗1000 mg 31 27 25 21 18 12 5 2 1
照護標準 31 27 20 17 10 4 1 1 1

【圖3】


篩選(n=280)
排除(n= 64)
♦不符合納入標準(n = 51)
♦拒絕參加(n= 3)
♦ KRAS突變體(n= 3)
♦其他原因(n= 7)
隨機化(n= 216)
分配到阿比特珠單抗500 mg +西妥昔單抗+伊立替康(n = 73)
♦接受分配的干預(n=72)
♦未接受分配的干預(n=1)
分配到阿比特珠單抗1000 mg+西妥昔單抗+伊立替康(n = 71)
♦接受分配的干預(n=70)
♦未接受分配的干預(n=1)
分配到西妥昔單抗+伊立替康(n = 72)
♦接受分配的干預(n=72)
♦未接受分配的干預(n=0)
♦繼續療法(n=6)
♦沒有追蹤(n= 2)
♦停止干預(n= 65)
-疾病進展(n=43)
-不良事件(n = 7)
-死亡(n=4)
-患者退出(n= 3)
-退出但收集到存活期資料(n= 1)
-其他(n=7)
♦繼續療法(n=4)
♦沒有 追蹤(n= 0)
♦停止干預(n= 67)
-疾病進展(n=46)
-不良事件(n = 2)
-劑量降低後不可接受之毒性(n=2)
-劑量未降低的情況下不可接受之毒性(n=2)
-死亡(n=3)
-患者退出(n=5)
-退出但收集到存活期資料(n= 2)
-其他(n=5)
♦繼續療法(n=5)
♦沒有追蹤(n= 0)
♦停止干預(n= 67)
-疾病進展(n=42)
-不良事件(n = 4)
-劑量降低後不可接受之毒性(n=1)
-劑量未降低的情況下不可接受之毒性(n=1)
-死亡(n=4)
-患者退出(n=2)
-退出但收集到存活期資料(n= 3)
-符合治癒性手術條件的部分或完全緩解(n= 2)
-其他(n=8)
對ITT群體之分析(n= 73)
對ITT群體之分析(n= 71)
對ITT群體之分析(n= 72)

【圖4】

A

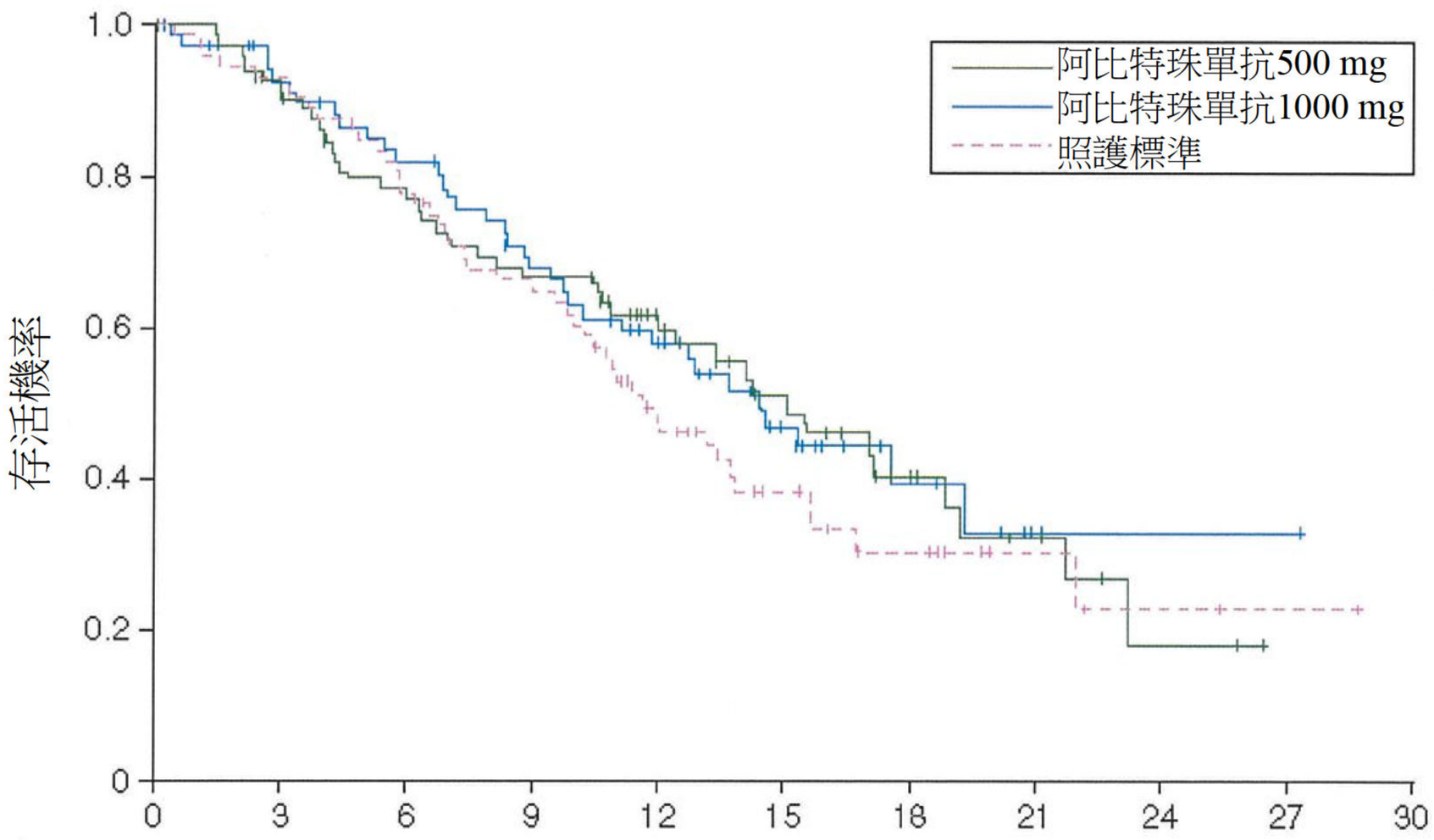


處於風險下的患者

照護標準	72	52	25	14	7	1	1	1	0
阿比特珠單抗500 mg	73	42	24	16	6	1	0	0	0
阿比特珠單抗1000 mg	71	45	29	14	6	4	0	0	0

【圖5A】

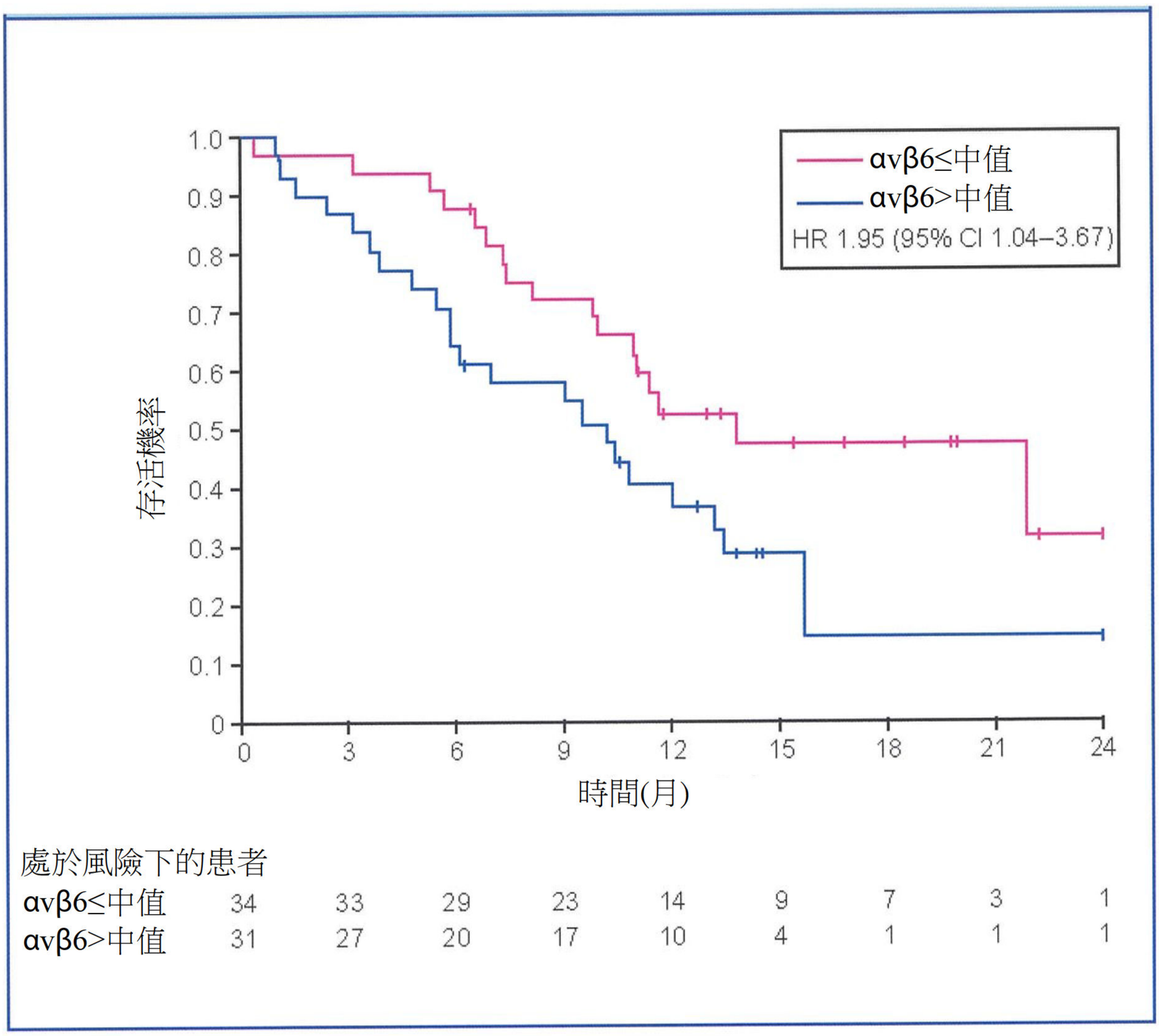
B



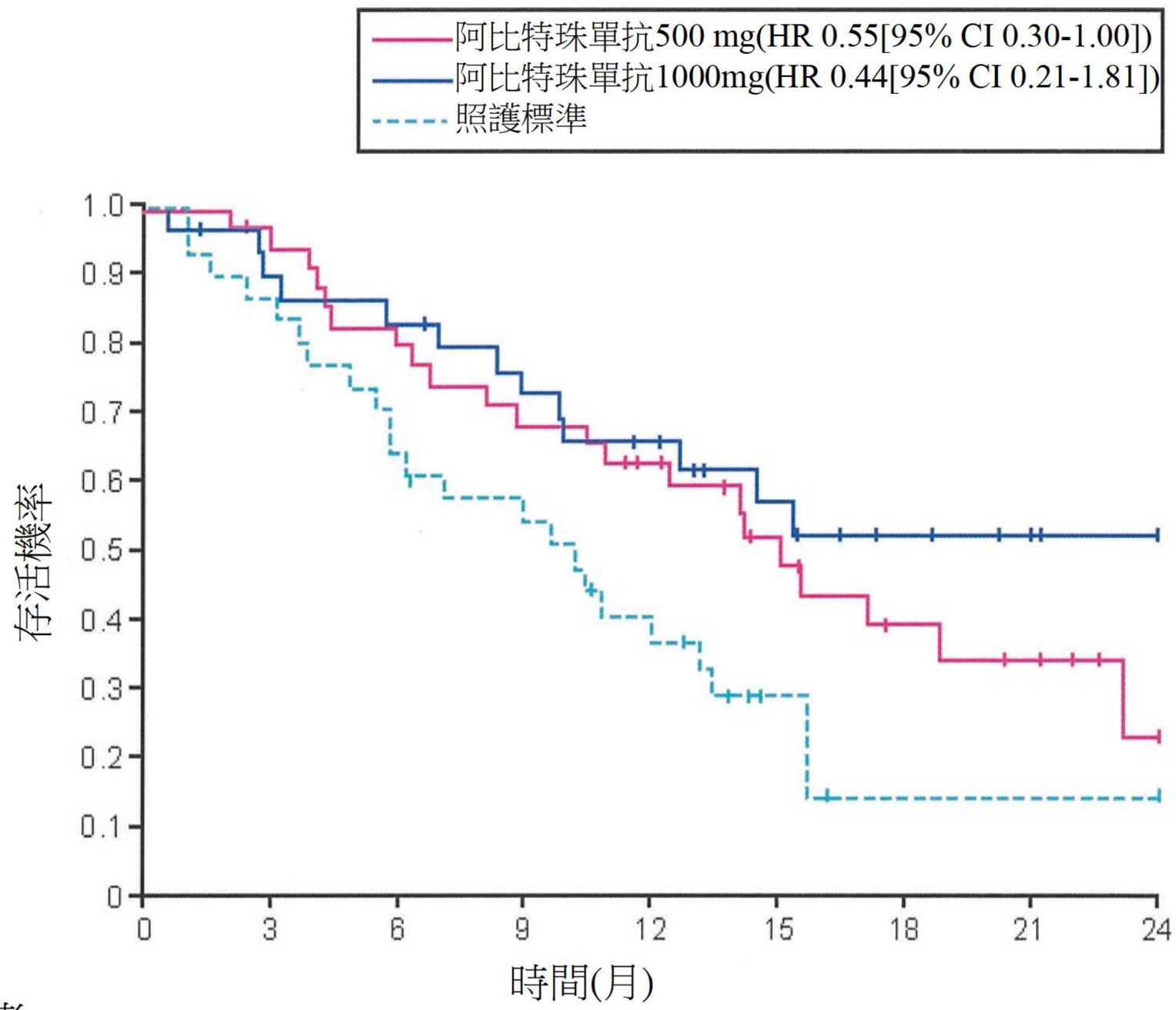
處於風險下的患者

照護標準	72	67	55	45	28	16	10	4	2	1	0
阿比特珠單抗500 mg	73	63	51	44	31	21	12	7	2	0	0
阿比特珠單抗1000 mg	71	61	53	42	32	18	8	2	1	1	0

【圖5B】


αvβ6≤中值
αvβ6>中值
HR 1.95 (95% CI 1.04–3.67)
存活機率
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24
時間(月)
處於風險下的患者
αvβ6≤中值 34 33 29 23 14 9 7 3 1
αvβ6>中值 31 27 20 17 10 4 1 1 1

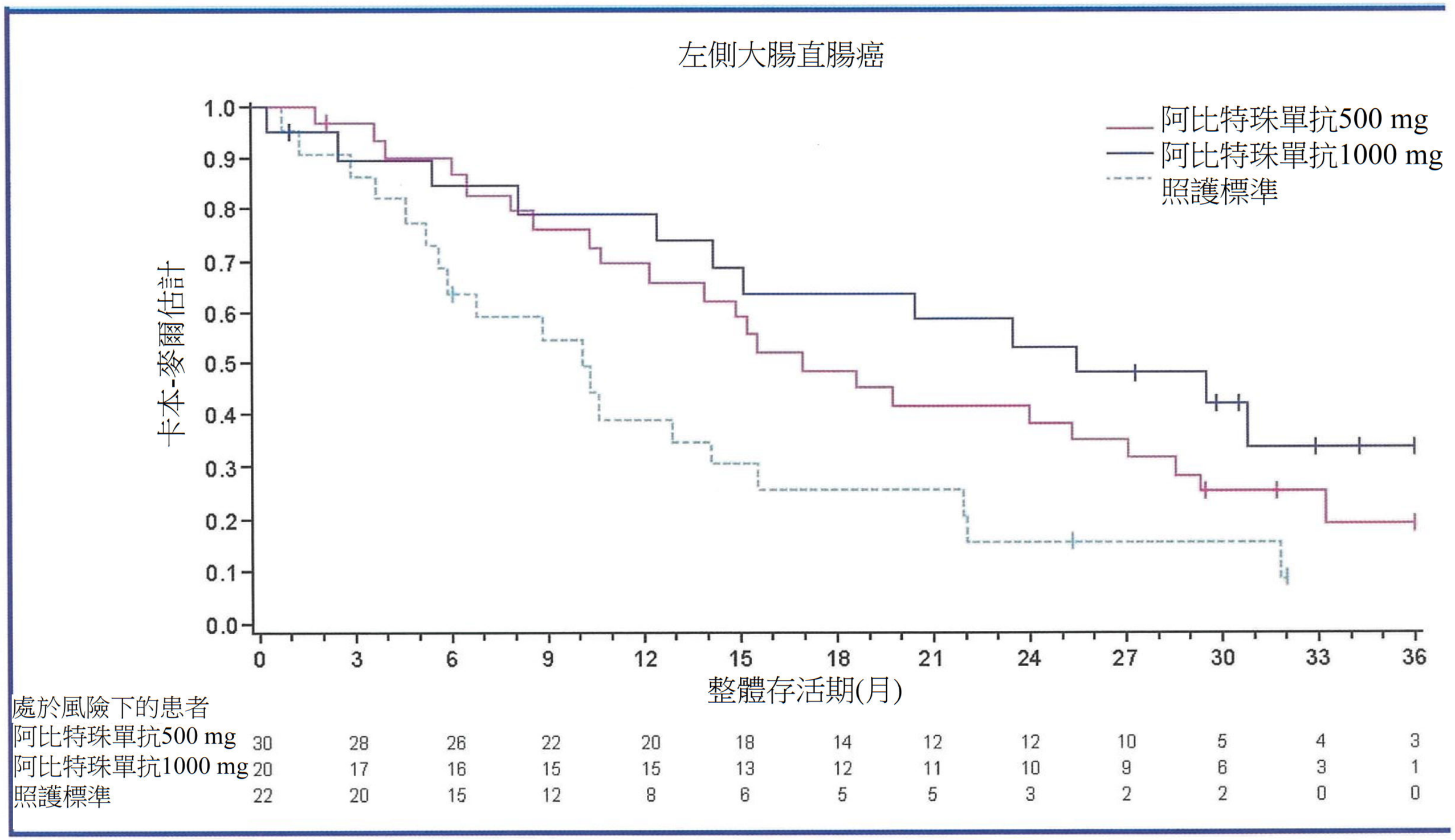
【圖6】



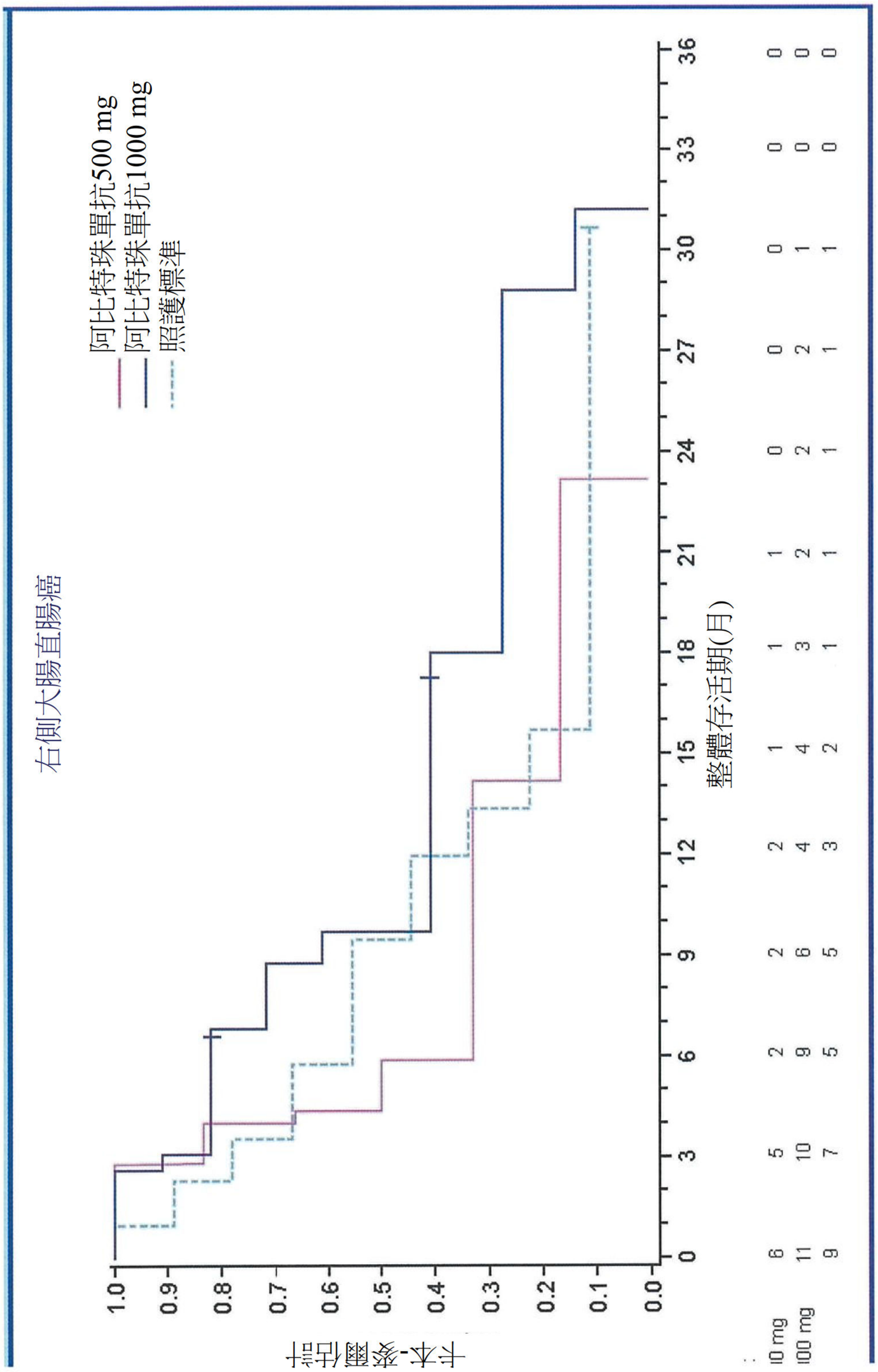
處於風險下的患者

阿比特珠單抗500 mg	36	33	28	24	20	13	8	6	2
阿比特珠單抗1000 mg	31	27	25	21	18	12	5	2	1
照護標準	31	27	20	17	10	4	1	1	1

【圖7】


左側大腸直腸癌
阿比特珠單抗500 mg
阿比特珠單抗1000 mg
照護標準
卡本-麥爾估計
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
整體存活期(月)
處於風險下的患者
阿比特珠單抗500 mg 30 28 26 22 20 18 14 12 12 10 5 4 3
阿比特珠單抗1000 mg 20 17 16 15 15 13 12 11 10 9 6 3 1
照護標準 22 20 15 12 8 6 5 5 3 2 2 0 0

【圖8A】


右側大腸直腸癌
阿比特珠單抗500 mg
阿比特珠單抗1000 mg
照護標準
整體存活期(月)
卡本-麥爾佔計
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
1 1 1 0 0 0
4 3 2 2 2 0
2 1 1 1 0 0
6 5 2 2 2 0
11 10 9 6 4 1
9 7 5 5 3 1
10 mg
100 mg

【圖8B】