

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-509889

(P2012-509889A)

(43) 公表日 平成24年4月26日(2012.4.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/7068 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-537663 (P2011-537663)	(71) 出願人	509012625
(86) (22) 出願日	平成21年11月20日 (2009.11.20)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成23年7月19日 (2011.7.19)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウ
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/065381		ス サンフランシスコ ディーエヌエー
(87) 国際公開番号	W02010/059969		ウェイ 1
(87) 国際公開日	平成22年5月27日 (2010.5.27)	(74) 代理人	100109726
(31) 優先権主張番号	61/117, 102		弁理士 園田 吉隆
(32) 優先日	平成20年11月22日 (2008.11.22)	(74) 代理人	100101199
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小林 義教
(31) 優先権主張番号	61/178, 009	(72) 発明者	ファイフ, グウェンドリン
(32) 優先日	平成21年5月13日 (2009.5.13)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 941
(33) 優先権主張国	米国 (US)		33, サン フランシスコ, ラ フェ
(31) 優先権主張番号	61/179, 307		レーラ テラス 20
(32) 優先日	平成21年5月18日 (2009.5.18)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 乳癌の治療のための化学療法と併用した抗 V E G F 抗体の使用

(57) 【要約】

この発明は、一般に、抗 V E G F 抗体を用いた疾患及び病理症状の治療に関する。より詳細には、本発明は、抗 V E G F 抗体を、好ましくは一又は複数の更なる抗腫瘍治療剤と組み合わせて、使用する、乳癌に罹患しやすいか又は乳癌と診断されたヒト被験者の治療に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

局在的に再発性又は転移性の乳癌と診断された被験者を治療する方法において、有効量の少なくとも一種の化学療法及び抗 V E G F 抗体を含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、該被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けておらず、及び/又は最後の投薬から 12ヶ月以内又は 12ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けておらず、治療レジメンは被験者の無増悪生存期間を効果的に延長する方法。

【請求項 2】

化学療法剤が、カペシタピン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、ドキソルピシン、エピルピシン、5 - フルオロウラシル、シクロホスファミド又はそれらの組合せである請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

治療レジメンの化学療法が、F E C : 5 - フルオロウラシル、エピルピシン、及びシクロホスファミド、又は F A C : 5 - フルオロウラシル、ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は A C : ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は E C : エピルピシン及びシクロホスファミドの投与を含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

上記抗 V E G F 抗体が、ハイブリドーマ A T C C H B 1 0 7 0 9 によって産生されるモノクローナル抗 V E G F 抗体 A 4 . 6 . 1 と同じエピトープに結合する請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 5】

抗 V E G F 抗体がヒト化抗体である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

被験者が H E R 2 陰性である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブである請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブであり、化学療法剤がカペシタピンである請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 9】

カペシタピンの投与が各 3 週サイクルの 1 - 14 日の毎日二回の経口 1000 mg / m² であり、ペバシズマブの投与が各 21 日サイクルの 1 日目での 15 mg / kg I V である請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

ペバシズマブの投与が各 21 日サイクルの 1 日目での 15 mg / kg I V であり、化学療法が 75 - 100 mg / m² I V で投与されるドセタキセル又は 3 週毎に 260 mg / m² I V で投与されるパクリタキセルタンパク質結合粒子（アブラキサン（登録商標））、又は F E C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は F A C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、50 mg / m² I V で投与されるドキソルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は A C : 50 - 60 mg / m² I V で投与されるドキソルピシン及び 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド又は E C : 90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 3 週毎に 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミドである請求項 7 に記載の方法。

40

【請求項 11】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少な

50

くとも約 1 ヶ月又はそれ以上、延長される請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少なくとも約 2 . 9 ヶ月、延長される請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

抗 V E G F 抗体は、次のアミノ酸配列：

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T N Y G M N W V
R Q A P G K G L E W V G W

I N T Y T G E P T Y A A D F K R R F T F S L D T S K S T A Y L Q M N S L R
A E D T A V Y Y C A K Y P

H Y Y G S S H W Y F D V W G Q G T L V T V S S (配列番号 1)

を含む重鎖可変領域と、次のアミノ酸配列：

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S Q D I S N Y L N W Y Q
Q K P G K A P K V L I Y F

T S S L H S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y
C Q Q Y S T V P W T F G Q

G T K V E I K R (配列番号 2)

を含む軽鎖可変領域とを有する請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

ヒト被験者における転移性乳癌を治療するためのキットにおいて、抗 V E G F 抗体組成物と、タキサン療法又はアントラサイクリン療法との組合せで抗 V E G F 抗体組成物を使用するための指示書とを含むパッケージを含み、指示書にタキサン療法又はアントラサイクリン療法及びペバシズマブを受ける被験者の無増悪生存期間が 0 . 6 4 4 のハザード比で 9 . 2 ヶ月であることが記載されるキット。

【請求項 1 5】

ヒト被験者における転移性乳癌を治療するためのキットにおいて、抗 V E G F 抗体組成物と、カペシタピン療法との組合せで抗 V E G F 抗体組成物を使用するための指示書とを含むパッケージを含み、指示書にカペシタピン療法及びペバシズマブを受ける被験者の無増悪生存期間が 0 . 6 8 8 のハザード比で 8 . 6 ヶ月であることが記載されるキット。

【請求項 1 6】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブである請求項 1 4 又は 1 5 に記載のキット。

【請求項 1 7】

被験者が過去に治療されていない請求項 1 4 又は 1 5 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 1 8】

被験者が H E R 2 陰性である請求項 1 4 又は 1 5 に記載のキット。

【請求項 1 9】

被験者における局在的に再発性又は転移性の乳癌を治療するための医薬の製造における抗 V E G F 抗体の使用であって、前記被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けておらず、及び / 又は最後の投薬から 1 2 ヶ月以内又は 1 2 ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けておらず、使用は被験者の無増悪生存期間を効果的に延長し、医薬が少なくとも一種の化学療法剤を更に含む使用。

【請求項 2 0】

化学療法剤が、カペシタピン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、ドキソルピシン、エピルピシン、5 - フルオロウラシル、シクロホスファミド又はそれらの組合せである請求項 1 9 に記載の使用。

【請求項 2 1】

化学療法剤が、F E C : 5 - F E C : 5 - フルオロウラシル、エピルピシン、及びシクロホスファミド、又は F A C : 5 - フルオロウラシル、ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は A C : ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は E C : エピルピシン及

10

20

30

40

50

びシクロホスファミドである請求項 19 に記載の使用。

【請求項 22】

抗 V E G F 抗体がヒト化抗体である請求項 19 に記載の使用。

【請求項 23】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブである請求項 19 に記載の使用。

【請求項 24】

被験者が H E R 2 陰性である請求項 19 に記載の使用。

【請求項 25】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブであり、化学療法剤がカペシタピンである請求項 19 に記載の使用。

10

【請求項 26】

カペシタピンが各 3 週サイクルの 1 - 14 日の毎日二回、1000 mg / m² で経口投与され、ペバシズマブが各 21 日サイクルの 1 日目に 15 mg / kg I V で投与される請求項 25 に記載の使用。

【請求項 27】

ペバシズマブの投与が各 21 日サイクルの 1 日目で 15 mg / kg I V であり、化学療法が 75 - 100 mg / m² I V で投与されるドセタキセル又は 3 週毎に 260 mg / m² I V で投与されるパクリタキセルタンパク質結合粒子 (アブラキサン (登録商標)) 、又は F E C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は F A C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、50 mg / m² I V で投与されるドキソルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は A C : 50 - 60 mg / m² I V で投与されるドキソルピシン及び 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド又は E C : 90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 3 週毎に 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミドである請求項 23 に記載の使用。

20

【請求項 28】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少なくとも約 1 ヶ月又はそれ以上、延長される請求項 19 に記載の使用。

30

【請求項 29】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少なくとも約 2 . 9 ヶ月、延長される請求項 19 に記載の使用。

【請求項 30】

被験者における局在的に再発性又は転移性の乳癌を治療する方法に使用される抗 V E G F 抗体であって、該方法が、有効量の少なくとも一種の化学療法及び抗 V E G F 抗体を含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、該被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けておらず、及び / 又は最後の投薬から 12 ヶ月以内又は 12 ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けておらず、治療レジメンは被験者の無増悪生存期間を効果的に延長する抗 V E G F 抗体。

40

【請求項 31】

化学療法剤が、カペシタピン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子 (例えば、アブラキサン (登録商標)) 、ドキソルピシン、エピルピシン、5 - フルオロウラシル、シクロホスファミド又はそれらの組合せである請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 32】

治療レジメンの化学療法が、F E C : 5 - フルオロウラシル、エピルピシン、及びシクロホスファミド、又は F A C : 5 - フルオロウラシル、ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は A C : ドキソルピシン及びシクロホスファミド、又は E C : エピルピシン及びシクロホスファミドの投与を含む請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

50

【請求項 33】

抗 V E G F 抗体がヒト化抗体である請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 34】

抗 V E G F 抗体がベバシズマブである請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 35】

被験者が H E R 2 陰性である請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 36】

抗 V E G F 抗体がベバシズマブであり、化学療法剤がカペシタピンである請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 37】

カペシタピンの投与が各 3 週サイクルの 1 - 14 日の毎日二回の経口 1000 mg / m² であり、ベバシズマブの投与が各 21 日サイクルの 1 日目での 15 mg / kg I V である請求項 36 に記載の抗 V E G F 抗体。

10

【請求項 38】

ベバシズマブの投与が各 21 日サイクルの 1 日目での 15 mg / kg I V であり、化学療法が 75 - 100 mg / m² I V で投与されるドセタキセル又は 3 週毎に 260 mg / m² I V で投与されるパクリタキセルタンパク質結合粒子 (アブラキサン (登録商標))、又は F E C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は F A C : 500 mg / m² I V で投与される 5 - フルオロウラシル、50 mg / m² I V で投与されるドキシソルピシン及び 1 日目に 500 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド、又は A C : 50 - 60 mg / m² I V で投与されるドキシソルピシン及び 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミド又は E C : 90 - 100 mg / m² I V で投与されるエピルピシン及び 3 週毎に 1 日目に 500 - 600 mg / m² I V で投与されるシクロホスファミドである請求項 34 に記載の抗 V E G F 抗体。

20

【請求項 39】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少なくとも約 1 ヶ月又はそれ以上、延長される請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

【請求項 40】

被験者の無増悪生存期間が、化学療法単独で治療される他の被験者と比較したとき少なくとも約 2 . 9 ヶ月、延長される請求項 30 に記載の抗 V E G F 抗体。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

この出願は、その明細書の全体をここに援用する 2009 年 5 月 18 日出願の合衆国仮出願第 61 / 179307 号、2009 年 5 月 13 日出願の合衆国仮出願第 61 / 178009 号、及び 2008 年 11 月 22 日出願の合衆国仮出願第 61 / 117102 号の優先権と利益を主張する。

40

【0002】

(発明の分野)

この発明は一般にヒトの疾患及び病理症状の治療に関する。より詳細には、本発明は、乳癌の治療に対する、単独で又は他の抗癌治療法との併用での抗血管新生療法に関する。

【背景技術】

【0003】

癌はなおもヒトの健康に対して最も死に至る脅威の一つである。合衆国では、およそ 130 万の新しい患者が毎年癌になっており、心臓疾患に次ぐ第二の死因で、4 名の死亡のうちおよそ 1 名を占める。乳癌は第二の最も一般的な癌の形態であり、米国人女性における二番目の癌の死因である。癌は 5 年以内の第一番目の死因として循環器疾患を凌ぐ可能

50

性があることがまた予想される。固形腫瘍がその死亡の殆どの原因である。所定の癌の医療的処置において顕著な進歩があったが、全ての癌に対する全体の5年生存率は過去20年で約10%改善されたに過ぎない。癌又は悪性腫瘍は転移し、制御されない形で急速に増殖し、適時の検出と治療を極めて困難なものにしている。

【0004】

乳癌は合衆国において毎年多くの女性を死亡させる疾病である。米国癌協会によれば、2008年におよそ40000名が死亡する。180000を越える新しい乳癌の症例が毎年診断され、8名に一人の女性が乳癌を発症すると推定される。これらの数値は、乳癌が今日の女性が直面する最も危険な疾病の一つであることを示している。

【0005】

転移性乳癌は一般に治療不能であり、標準的な化学療法後にほんの僅かな患者しか長期の生存を達成しない。Greenberg等, *J. Clin. Oncol.* 14:2197-2205 (1996)。

【0006】

乳癌の基礎生物学の知識はここ三十年で指数関数的に拡大し、あるものは治療に対する影響を有している。HER2過剰発現転移性乳癌の222名の女性の多国籍非盲検第I相試験は、HER2に対して産生された組換えヒト化モノクローナル抗体(ハーセプチン(登録商標)としても知られているトラスツズマブ, Genentech, South San Francisco)を使用し、6の確認された完全寛解を含む15%の奏効率を見出した(Cobleigh等, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 17:97 (1998))。無作為化第III相試験は、パクリタキセルか又はドキソルピシン+シクロホスファミドの組合せでの一次化学療法にハーセプチンを加える場合の安全性及び効果を評価した。化学療法単独と比較して化学療法にハーセプチンを加えることで、全体奏効率及び無増悪期間が有意に改善した(Slamon等, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 17:98 (1998))。より重要なことには、ハーセプチンの添加は全生存率を延長した(Norton等, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 18:127a (1999))。

【0007】

トラスツズマブは、HER2過剰発現癌の乳癌患者の亜集団の治療に対して承認された最初の新規な生物学的ベースの治療剤であるが、幾つかの他のアプローチが見込みがあり、臨床に入っている。新たに転移性乳癌と診断された女性の75パーセントがHER2陰性であるという推定がある。血管新生を阻害する化合物は、更なる乳癌集団に到達するための特定の興味を生じせしめ、合衆国及び海外の双方における臨床試験の主題であったし、主題である。

【0008】

血管新生は、血管内皮細胞が増殖し、その不要部を切り詰め、再組織化して、既存の血管網から新生の血管が生成される重要な細胞性事象である。血管の供給の進行は正常なまた病理学的な増殖過程に必須であるとの有力な証拠がある(Folkman及びKlagsbrun (1987) *Science* 235:442-447)。酸素と栄養分を運搬し、また異化産物を除去することは、多細胞生物で起こる成長過程の大部分での律速段階となる。

【0009】

新血管の誘導は腫瘍血管新生の主要な態様であると考えられるところ、最近のデータは、ある種の腫瘍が既存の宿主血管を同時選択することによって増殖しうること示している。ついで、同時選択された脈管構造が退行し、腫瘍縁部における低酸素誘導血管新生によって結局は逆転される腫瘍退行に至る。Holash等 *Science* 284:1994-1998 (1999)。

【0010】

正常な血管新生と異常な血管新生の双方の重要な正の調節因子の一つは血管内皮増殖因子(VEGF)-Aである。VEGF-Aは、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、及びPlGFを含む遺伝子ファミリーの一部である。VEGF-Aは主として二つの高親和性レセプターチロシンキナーゼVEGFR-1(Flt-1)及びVEGFR-2(Flk-1/KDR)に結合し、後者は、VEGF-Aの血管内皮細胞分裂促進シグナルの主要な伝達物質である。また、ニューロピリン-1は、ヘパリン結合VEGF-Aアイソフォームのレセプターとして同定されており、血管発

10

20

30

40

50

生において所定の役割を担っている可能性がある。

【0011】

血管新生及び脈管形成における血管形成因子であることに加えて、VEGFは多面発現性増殖因子として、内皮細胞生存、血管透過性及び血管拡張、単球化学走性及びカルシウム流入のような他の生理学的プロセスにおいて複数の生物学的効果を示す。上掲のFerrara及びDavis-Smyth (1997)。更に、最近の研究では、数種の非内皮細胞型、例えば網膜色素上皮細胞、膵管細胞及びシュワン細胞に対するVEGFの分裂促進効果が報告されている。Guerrin等 J. Cell Physiol. 164:385-394 (1995) ; Oberg-Welsh等 Mol. Cell. Endocrinol. 126:125-132 (1997) ; Sondell等 J. Neurosci. 19:5731-5740 (1999)。

【0012】

病理症状における血管新生の主要な調節因子としてのVEGFの認識により、病理的血管新生を含む症状においてVEGF活性を阻止する多くの試みがなされた。VEGFの発現が大部分の悪性腫瘍においてアップレギュレートされ、VEGFの過剰発現が、多くの固形腫瘍において、より進行した段階又はより乏しい予後と相関している。従って、VEGFシグナル伝達経路を阻害する分子が、病理的血管新生が着目される比較的進行した固形腫瘍の治療に使用されている。

【0013】

癌はなおも最も致命的な脅威の一つであるので、患者に対する更なる癌治療が必要とされる。特に、MBCの患者に対する治療は、毒性を最小にしながら、症状を防止するために疾患の制御を改善することが必要とされる。本発明は、次の開示を検討すると明らかになるように、これらや他の必要性に取り組むものである。

【発明の概要】

【0014】

本発明は、過去に治療されていない転移性乳癌に対して乳癌患者を効果的に治療するための抗VEGF抗体の使用に関する。特に、本発明は、ヒト被験者における過去に治療されていない転移性乳癌の被験者における化学療法レジメンとの併用でのベバシズマブ(アバチン(登録商標))の無作為第III相臨床試験からのデータを提供すること。そのような化学療法レジメンは、タキサン療法(例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標)))、アントラサイクリン療法(例えば、ドキソルピシン、エピルピシン又はその組合せ)又はカペシタピン療法を含む。幾つかの実施態様では、該治療は、局在的に再発性又は過去に治療されていない転移性乳癌に対する一次治療として使用される。治療の成功は、標準的な化学療法に対する抗VEGF抗体の付加は、統計的に有意で臨床的に意味のある恩恵を乳癌患者にもたらすことを示している。加えて、安全性は先のベバシズマブ治療の結果と一致していた。

【0015】

転移性乳癌のヒト被験者におけるベバシズマブの使用の臨床研究において得られた結果は、無増悪生存期間(PFS)によって評価される効果は、特に化学療法剤単独のPFSデータと比較した場合にポジティブであったことを示している。タキサン療法(例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))) / アントラサイクリン療法(例えば、ドキソルピシン、エピルピシン又はその組合せ)との組合せでベバシズマブを投与された臨床試験の被験者は、タキサン療法(例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))) / アントラサイクリン療法(例えば、ドキソルピシン、エピルピシン又はその組合せ)単独で治療された被験者と比較して無増悪生存期間が増加した。以下に記載されたようにカペシタピン療法との組合せでベバシズマブを投与された臨床試験の被験者は、カペシタピン療法単独で治療された被験者と比較して無増悪生存期間が増加した。差異は顕著に有意であった。

【0016】

従って、ここで提供されるのは、過去に治療されていない転移性の乳癌と診断された被験者を治療する方法であって、有効量の少なくとも一種の化学療法及び抗VEGF抗体を

10

20

30

40

50

含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、該被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けていない方法である。場合によっては、被験者はHER2陰性である。幾つかの実施態様では、被験者はHER2陽性である。場合によっては、被験者は最後の投薬から12ヶ月以内又は12ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けていない。化学療法及び抗VEGFの投与を組み合わせた治療レジメンは被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ある実施態様では、化学療法及び抗VEGF抗体を組み合わせた治療レジメンは、先のペバシズマブ治験の結果と一致している安全性プロファイルを有している。

【0017】

ここで更に提供されるのは、被験者における過去に治療されていない転移性乳癌を治療するための医薬の製造における少なくとも一種の化学療法剤と共に抗VEGF抗体を使用することであり、該被験者は局所的に再発性の又は転移性の乳癌について如何なる化学療法も受けていない。場合によっては、被験者はHER2陰性である。幾つかの実施態様では、被験者はHER2陽性である。場合によっては、被験者は、最後の用量以来12ヶ月又はそれ以内には先のアジュバント化学療法を受けていない。抗VEGF及び化学療法剤の使用は被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ある実施態様では、化学療法及び抗VEGF抗体の使用は、先のペバシズマブ治験の結果と一致している安全性プロファイルを有している。

10

【0018】

ここでまた提供されるのは、被験者における局所的に再発性の又は転移性の乳癌を治療する方法に使用するための抗VEGF抗体であり、該方法は、化学療法剤及び抗VEGF抗体の有効量を含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、ここで、該被験者は局所的に再発性又は転移性の乳癌について如何なる化学療法も受けていない。場合によっては、被験者はHER2陰性である。幾つかの実施態様では、被験者はHER2陽性である。場合によっては、被験者は、最後の用量以来12ヶ月又はそれ以内には先のアジュバント化学療法を受けていない。化学療法と抗VEGFの投与を組み合わせる治療レジメンは被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ある実施態様では、化学療法及び抗VEGF抗体を組み合わせる治療レジメンは、先のペバシズマブ治験の結果と一致している安全性プロファイルを有している。

20

【0019】

ここに提供される方法、使用及び組成物の何れかの所定の実施態様では、PFSは、約1ヶ月、1.2ヶ月、2ヶ月、2.4ヶ月、2.9ヶ月、3ヶ月、3.5ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、1年、約2年、約3年等、延長される。一実施態様では、PFSは(例えばカペシタピンを用いて)約2.9ヶ月から3.5ヶ月、延長される。一実施態様では、PFSは(例えばタキサン/アントラサイクリンを用いて)約1.2ヶ月から2.4ヶ月、延長される。

30

【0020】

抗癌活性を示す任意の化学療法剤を、ここに提供される方法、使用及び組成物の何れかに従って使用することができる。ある実施態様では、化学療法剤は、アルキル化剤、抗代謝産物、葉酸アナログ、ピリミジンアナログ、プリンアナログ及び関連阻害剤、ピンカルカロイド、エピポドフィロトキシン、抗生物質、L-アスパラギナーゼ、トポイソメラーゼ阻害剤、インターフェロン、白金配位化合物、アントラセンジオン置換ウレア、メチルヒドラジン誘導体、副腎皮質抑制薬、副腎皮質ステロイド、プロゲスチン、エストロゲン、抗エストロゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン、及び生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログからなる群から選択される。ある実施態様では、化学療法剤は、例えばカペシタピン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))、ドキシソルピシン、エピルピシン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド又はその組合せからなる群から選択される。二以上の化学療法剤を(例えばカクテルで)使用して、抗VEGF抗体の投与と組み合わせ投与することができる。

40

50

【 0 0 2 1 】

本発明に従ってここに提供された方法、使用及び組成物の何れかの臨床的利益は、例えば、無増悪生存期間（PFS）、治療不成功までの期間、奏効率及び奏効期間によって測定することができる。

【 0 0 2 2 】

従って、本発明は、被験者の無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるように抗VEGF抗体での治療を受けるための指示を提供することによって、例えば乳癌のヒト被験者に指示をする方法の特徴とする。ある実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤での治療を受けるための指示書を提供することを更に含む。抗VEGF抗体での治療は、化学療法剤での治療と同時に又は連続的でありうる。ある実施態様では、被験者は、指示方法によって指示されるように治療される。

10

【 0 0 2 3 】

本発明はまたヒト被験者における例えば乳癌の治療のために抗VEGF抗体の投与を宣伝することを含むプロモーション法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤の投与を宣伝することを更に含む。抗VEGF抗体の投与は、化学療法剤の投与と同時に又は連続的でありうる。プロモーションは利用可能な任意の手段によって実施されうる。幾つかの実施態様では、プロモーションは、抗VEGF抗体の商業的製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは、化学療法剤の商業的製剤に伴うパッケージ挿入物にまたよる場合がある。プロモーションは、医師又は医療提供者に文書又は口頭伝達による場合がある。幾つかの実施態様では、プロモーションは、パッケージ挿入物が抗VEGF抗体での治療を受ける指示を提供するパッケージ挿入物による。幾つかの実施態様では、プロモーションには、化学療法剤を伴うか又は伴わないで抗VEGF抗体で被験者を治療することが続く。

20

【 0 0 2 4 】

本発明は、無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における例えば乳癌の治療のために抗VEGF抗体をマーケティングすることを含むビジネス方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、抗VEGF抗体と組合せて使用するための化学療法剤をマーケティングすることを更に含む。幾つかの実施態様では、マーケティングには、化学療法剤を伴うか又は伴わないで抗VEGF抗体で被験者を治療することが続く。

30

【 0 0 2 5 】

また提供されるのは、無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における例えば乳癌の治療のために抗VEGF抗体との併用で化学療法剤をマーケティングすることを含むビジネス方法である。幾つかの実施態様では、マーケティングには、化学療法剤と抗VEGF抗体の組合せで被験者を治療することが続く。

【 0 0 2 6 】

ここに提供される方法、使用及び組成物の何れかにおいて、抗VEGF抗体を、VEGF特異的アンタゴニスト、例えばここに記載のVEGFレセプター分子又はキメラVEGFレセプター分子で弛緩することができる。ここに提供される方法、使用及び組成物のある実施態様では、抗VEGF抗体はベパシズマブである。抗VEGF抗体、又はその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、完全なヒト抗体、又はヒト化抗体でありうる。本発明の方法において有用な例示的抗体は、ベパシズマブ（アバスチン（登録商標））、G6抗体、B20抗体、及びその断片を含む。ある実施態様では、抗VEGF抗体は、次のアミノ酸配列：

40

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T N Y G M N W V R
Q A P G K G L E W V G W
I N T Y T G E P T Y A A D F K R R F T F S L D T S K S T A Y L Q M N S L R A
E D T A V Y Y C A K Y P

50

H Y Y G S S H W Y F D V W G Q G T L V T V S S (配列番号1)

を含む重鎖可変領域と、次のアミノ酸配列：

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S Q D I S N Y L N W Y Q Q
K P G K A P K V L I Y F

T S S L H S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C
Q Q Y S T V P W T F G Q

G T K V E I K R (配列番号2)

を含む軽鎖可変領域とを有する。

【0027】

抗体又はその抗原結合断片は、またFc部分、F(ab')₂、Fab、又はFv構造を欠く抗体でありうる。

ここに提供される方法、使用及び組成物の一実施態様では、治療は、VEGF特異的アンタゴニスト、例えば、抗VEGF抗体、及び少なくとも一種の化学療法剤の組合せである。ここに提供される方法、使用及び組成物の他の実施態様では、VEGF特異的アンタゴニストは単剤療法である。

【0028】

ここに提供される方法、使用及び組成物の何れかは、それぞれ、限定しないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病を含む癌の治療に関連して実施することができる。そのような癌のより特定の例は、乳癌、扁平細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、肺の扁平癌腫、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、腎癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌、胃癌、メラノーマ、及び様々なタイプの頭頸部癌を含む。本発明の方法の幾つかの実施態様では、被験者は転移性乳癌を有している。ここに提供される方法、使用及び組成物の幾つかの実施態様では、被験者は過去に治療されていない転移性乳癌を有している。幾つかの実施態様では、被験者はHER2陰性転移性乳癌を有している。

【0029】

上記態様の各々は、癌の再発について被験者をモニターすることを更に含みうる。モニターは、例えば無増悪生存期間(PFS)又は全生存(OS)又は奏効率(ORR)を評価することによって、達成することができる。一実施態様では、PFS又はOS又はORRは治療の開始後に評価される。

【0030】

疾患のタイプ及び重篤度に応じて、例えばベバシズマブのような抗VEGF抗体の好ましい用量はここに記載されており、限定されないが、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg又は15mg/kgを含む約1µg/kgから約50mg/kg、最も好ましくは約5mg/kgから約15mg/kgの範囲であり得る。投与の頻度は疾患のタイプと重篤度に応じて変動する。数日又はそれ以上にわたる繰り返し投与では、症状に応じて、治療は、ここに記載され又は当該分野で知られている方法によって測定して、癌が治療され又は所望の治療効果が達成されるまで維持される。一例では、抗VEGF抗体は、毎週一回、2週毎、又は3週毎に、限定しないが、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg又は15mg/kgを含む約5mg/kgから約15mg/kgの用量範囲で投与される。しかしながら、他の用量レジメンも有用であり得る。本発明の治療の進行は、常套的技術及びアッセイによって容易にモニターされる。

【0031】

上記態様の各々の更なる実施態様では、VEGF特異的アンタゴニスト、例えば、抗VEGF抗体は、局所的に又は全身的に(例えば、経口又は静脈内)投与される。他の実施態様では、治療の一態様は、単独療法においてVEGF特異的アンタゴニストを用いるもので、又は臨床医によりもしくはここに記載されたようにして評価されて、例えば拡張された治療相又は維持療法において、VEGF特異的アンタゴニスト治療期間の間の単独療法である。

10

20

30

40

50

【0032】

ここで提供される方法、使用及び組成物の他の実施態様では、VEGF特異的アンタゴニストを用いた治療、使用又は組成物は、限定しないが、外科手術、放射線療法、化学療法、分化療法、バイオセラピー、免疫療法、血管新生抑制剤、細胞傷害剤及び/又は抗増殖化合物を含む更なる抗癌療法と併用される。VEGF特異的アンタゴニストを用いた治療、使用及び組成物はまた上記タイプの治療レジメンの任意の組み合わせを含みうる。幾つかの実施態様では、化学療法剤及びVEGF特異的アンタゴニストが同時に投与される。

【0033】

更なる抗癌療法を含むここに提供される方法、使用及び組成物の実施態様では、被験者は、VEGF特異的アンタゴニストの投与前、投与中（例えば同時）、又は投与後に更なる抗癌療法を用いて更に治療されうる。一実施態様では、単独で又は抗癌療法と共に投与されるVEGF特異的アンタゴニストは、維持療法として投与されうる。

10

【0034】

本発明の他の特徴及び利点は、次の詳細な説明、図面、及び特許請求の範囲から明らかである。

【図面の簡単な説明】

【0035】

【図1】様々な化学療法と共にベバシズマブ(BV)又はプラセボ(PL)を使用する転移性乳癌の治験のための研究デザインを示す。

20

【図2】治験のカペシタビンアームに対する無増悪生存期間(PFS)曲線を示す。INV(治験責任医師)は治験責任医師によって評価されるPFSであり、IRCは独立審査委員会(IRC)により評価されるPFSであり、ここでプラセボはPL、ベバシズマブはBVである。

【図3】治験のタキサン/アントラサイクリンアームのPFS曲線を示す。INVは治験責任医師によって評価されるPFSであり、IRCは独立審査委員会(IRC)により評価されるPFSであり、ここでプラセボはPL、ベバシズマブはBVである。

【図4】治験のカペシタビン及びタキサン/アントラサイクリン群におけるPFSのサブグループ分析を示す。

【図5】カペシタビン(Cape)及びタキサン/アントラサイクリン(T/Anthra)群に対する奏効率を示す。

30

【図6】タキサン/アントラサイクリン(T/Anthra)コホートに対するPFSのサブグループ分析を示す。

【発明を実施するための形態】

【0036】

I. 定義

「VEGF」又は「VEGF-A」なる用語は、Leung等 Science, 246:1306(1989)、及びHouck等 Mol. Endocrin., 5:1806(1991)によって記載されているように、それらの天然に生じる対立遺伝子型及びプロセシング型と共に、165アミノ酸のヒト血管内皮増殖因子と、関連した121-、145-、189-、及び206-アミノ酸のヒト血管内皮増殖因子を意味する。VEGF-Aは、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、及びPLGFを含む遺伝子ファミリーの一部である。VEGF-Aは主として二つの高親和性レセプターチロシンキナーゼVEGFR-1(Flt-1)及びVEGFR-2(Flk-1/KDR)に結合し、後者は、VEGF-Aの血管内皮細胞分裂促進シグナルの主要な伝達物質である。また、ニューロピリン-1は、ヘパリン結合VEGF-Aアイソフォームのレセプターとして同定されており、血管発生において所定の役割を担っている可能性がある。また、「VEGF」又は「VEGF-A」なる用語は、非ヒト種、例えばマウス、ラット又は霊長類由来のVEGFも意味する。特定の種由来のVEGFは、ヒトVEGFではhVEGF、マウスVEGFではmVEGFなどの用語で表されることが多い。典型的には、VEGFはヒトVEGFを意味する。また、「V

40

50

「VEGF」なる用語は、165-アミノ酸のヒト血管内皮細胞増殖因子のアミノ酸8から109、又は1から109を含むポリペプチドの切断型又は断片を指すためにも使用される。そのようなVEGF型を指すときは、本出願では、例えば、「VEGF(8-109)」、「VEGF(1-109)」又は「VEGF165」と特定されうる。「切断型の」天然VEGFのアミノ酸位置は、天然のVEGF配列に示される数で示す。例えば、切断型の天然VEGFのアミノ酸位置17(メチオニン)は、天然のVEGF中の位置17(メチオニン)でもある。切断型の天然VEGFは天然のVEGFに匹敵するKDR及びFlt-1レセプターへの結合親和性を有する。

【0037】

「抗VEGF抗体」は十分な親和性と特異性をもってVEGFに結合する抗体である。選択される抗体は通常はVEGFに対して結合親和性を有しており、例えば抗体は100nM-1pMの間のKd値でhVEGFに結合しうる。抗体親和性は、表面プラズモン共鳴ベースアッセイ(例えばPCT出願公開番号WO2005/012359に記載されたようなBIACoreアッセイなど); 酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA); 及び競合アッセイ(例えばRIAのもの)によって決定されうる。ある実施態様では、本発明の抗VEGF抗体は、VEGF活性が関与する疾患又は症状を標的とし、それを妨害する際の治療剤として使用することができる。また、例えば治療剤としてのその有効性を評価するために、抗体に他の生物学的な活性アッセイを施してもよい。このようなアッセイは当該分野で知られており、標的抗原と抗体の意図される用途に依存する。例として、HUVEC阻害アッセイ; 腫瘍細胞増殖阻害アッセイ(例えば国際公開第89/06692号に記載のもの); 抗体依存性細胞傷害性(ADCC)及び補体媒介性細胞傷害性(CDC)アッセイ(米国特許第5500362号); 及びアゴニスト活性又は造血アッセイ(国際公開第95/27062号を参照)などがある。抗VEGF抗体は、通常は、VEGF-B、VEGF-Cなどの他のVEGFホモログにも、PLGF、PDGF又はbFGFなどの他の増殖因子にも結合しないであろう。

【0038】

「VEGFアンタゴニスト」は、一又は複数のVEGFレセプターへのその結合を含む、VEGF活性を中和し、遮断し、阻害し、抑止し、低減し又は妨害することが可能な分子を意味する。VEGFアンタゴニストには、抗VEGF抗体とその抗原結合断片、レセプター分子及びVEGFに特異的に結合して一又は複数のレセプターへのその結合を隔絶する誘導体、抗VEGFレセプター抗体及びVEGFレセプターアンタゴニスト、例えばVEGFRチロシンキナーゼの小分子阻害剤が含まれる。

【0039】

「天然配列」ポリペプチドは、天然由来の対応するポリペプチドと同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでなる。よって、天然配列ポリペプチドは任意の哺乳動物からの天然に生じるポリペプチドのアミノ酸配列を有し得る。このような天然配列ポリペプチドは、自然から単離することもできるし、あるいは組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列」ポリペプチドという用語は、特にポリペプチドの天然に生じる切断型又は分泌型(例えば細胞外ドメイン配列)、ポリペプチドの天然に生じる変異体型(例えば、選択的スプライシング型)及び天然に生じる対立遺伝子変異体を包含する。

【0040】

ポリペプチド「変異体」は天然配列ポリペプチドと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのような変異体には、例えば一又は複数のアミノ酸残基が、ポリペプチドのN又はC末端に付加され、又は欠失されたポリペプチドが含まれる。通常は、変異体は天然配列ポリペプチドと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも90%のアミノ酸配列同一性、更により好ましくは少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有する。

【0041】

「抗体」なる用語は、最も広義に使用され、モノクローナル抗体(完全長又は無傷のモノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、多価抗体、多重特異性抗体(例えば二

10

20

30

40

50

重特異性抗体)、及びそれらが所望の生物活性を示す限り抗体断片(以下を参照)も含む。

【0042】

本明細書と特許請求の範囲を通して、免疫グロブリン重鎖中の残基の番号付けは、ここに出典を明示して援用されるKabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)のE Uインデックスのものである。「KabatのE Uインデックス」とはヒトIgG1E U抗体の残基番号付けを意味する。

【0043】

本発明に係る「Kd」又は「Kd値」は、一実施態様では、段階的な力価の非標識VEGFの存在下で、最小濃度の(^{125}I)-標識抗原にてFabを平衡にして、抗Fab抗体コートプレートと結合したVEGFを捕獲することによってVEGFに対するFabの溶液結合親和性を測定する以下のアッセイで示されるような(Chen, 等, (1999) J. Mol Biol 293:865-881)、抗体のFab型とVEGF分子を用いて実行される放射性標識したVEGF結合アッセイ(RIA)で測定される。一例では、アッセイの条件を決めるために、マイクロタイタープレート(Dynex)を5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の捕獲抗Fab抗体(Cappel Labs)を含む50 mM炭酸ナトリウム(pH 9.6)にて一晚コートし、その後2%(w/v)のウシ血清アルブミンを含むPBSにて室温(およそ23)で2から5時間、ブロックする。非吸着プレート(Nunc#269620)に、100 pM又は26 pMの[^{125}I]VEGF(109)を、段階希釈した興味あるFab、例えばFab-12(Presta等, (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599)と混合する。ついで、興味あるFabを一晚インキュベートする;しかし、インキュベーションは確実に平衡状態に達するまで65時間かかるかもしれない。その後、混合物を捕獲プレートに移し、室温で1時間インキュベートする。ついで、溶液を取り除き、プレートを0.1%のTween 20を含むPBSにて8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μl /ウェルの閃光物質(MicroScint-20; Packard)を加え、プレートをTopcount 計測器(Packard)にて10分間計測する。最大結合の20%か又はそれ以下の濃度のFabを選択してそれぞれ競合結合アッセイに用いる。他の実施態様によると、~10反応単位(RU)の固定したhVEGF(8-109)CM5チップを用いて25 のBIAcoreTM-2000又はBIAcoreTM-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)にて表面プラズモン共鳴アッセイを使用してKd又はKd値を測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, BIAcore Inc.)を、供給者の指示書に従ってN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)及びN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)で活性化する。ヒトVEGFを10 mMの酢酸ナトリウム(pH 4.8)で5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (~0.2 μM)に希釈し、結合したタンパク質の反応単位(RU)がおよそ10になるように5 μl /分の流量で注入する。ヒトVEGFの注入後、反応していない群をブロックするために1 Mのエタノールアミンを注入する。動態測定のために、2倍の段階希釈したFab(0.78 nMから500 nM)を25 で、およそ25 μl /分の流量で0.05%のTween 20(PBST)を含むPBSに注入する。会合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一Langmuir結合モデル(simple one-to-one Langmuir binding model) (BIAcore Evaluationソフトウェアバージョン3.2)を用いて、会合速度(K_{on})と解離速度(K_{off})を算出した。平衡解離定数(Kd)を K_{off}/K_{on} 比として算出した。例えば、Chen, Y.等(1999) J. Mol Biol 293:865-881を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる結合速度が $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$ を上回る場合、分光計、例えば、ストップフローを備えた分光光度計(Aviv Instruments)又は攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-Aminco分光光度計(ThermoSpectronic)で測定される、増加濃度のヒトVEGFショート型(8-109)又はマウスVEGFの存在下にて、PBS(pH 7.2)、25 の、20 nMの抗VEGF抗体(Fab型)の蛍光発光強度(励起=295 nm; 発光=340 nm、帯域通過=16 nm)における増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて結合速度を測定することができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 4 】

「ブロッキング」抗体又は抗体「アンタゴニスト」は、それが結合する抗原の生物機能を抑制し又は低減するものである。例えば、VEGF特異的アンタゴニスト抗体はVEGFに結合し、血管新生を誘導し、血管内皮細胞増殖を誘導し、又は血管透過性を誘導するVEGFの能力を阻害する。ある実施態様では、ブロッキング抗体又はアンタゴニスト抗体は、抗原の生物活性を完全に阻害する。

【 0 0 4 5 】

特に断らない限りは、本明細書全体を通して「多価抗体」という表現は3又はそれ以上の抗原結合部位を含む抗体を指すために使用される。例えば、多価抗体は3又はそれ以上の抗原結合部位を持つように遺伝子操作されており、一般には天然配列IgM又はIgA抗体ではない。

【 0 0 4 6 】

「抗体断片」は、一般にはインタクトな抗体の抗原結合部位を含み、よって抗原に結合する能力を保持しているインタクトな抗体の一部のみを含む。本定義に包含される抗体断片の例には、(i) VL、CL、VH及びCH1ドメインを持つFab断片；(ii) CH1ドメインのC末端に一又は複数のシステイン残基を持つFab断片であるFab'断片；(iii) VH及びCH1ドメインを持つFd断片；(iv) CH1ドメインのC末端に一又は複数のシステイン残基とVH及びCH1ドメインを持つFd'断片；(v) 抗体の単一アームのVL及びVHドメインを持つFv断片；(vi) VHドメインからなるdAb断片(Ward等, Nature 341, 544-546 (1989))；(vii) 単離されたCDR領域；(viii) ヒンジ領域がジスルフィド架橋によって結合された2つのFab'断片を含む二価断片であるF(ab')₂断片；(ix) 単鎖抗体分子(例えば単鎖Fv；scFv)(Bird等, Science 242:423-426 (1988)；及びHuston等, PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988))；(x) 同一のポリペプチド鎖中で軽鎖可変ドメイン(VL)に結合した重鎖可変ドメイン(VH)を含む、2つの抗原結合部位を持つ「ダイアボディー(diabodies)」(例えば、欧州特許出願公開第404097号；国際公開第93/11161号；及びHollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照)；(xi) 相補的軽鎖ポリペプチドと共に一对の抗原結合領域を形成する一对のタンデムFdセグメント(VH-CH1-VH-CH1)を含む「線形抗体」(Zapata等, Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995)；及び米国特許第5641870号)が含まれる。

【 0 0 4 7 】

ここで使用される「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味する。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在しうる自然に生じる可能な突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。更に、異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは異なり、各モノクローナル抗体は抗原の単一の決定基に対するものである。「モノクローナル」との修飾語句は、抗体が何か特定の方法で生産しなければならないことを意味するものではない。例えば、本発明において使用されるモノクローナル抗体は、最初にKohler等, Nature, 256:495 (1975)に記載されたハイブリドーマ法によって作ることができ、あるいは組換えDNA法によって作ることができる(例えば米国特許第4816567号を参照)。また「モノクローナル抗体」は、例えば、Clackson等, Nature, 352:624-628 (1991)又はMarks等, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)に記載された技術を使用してファージ抗体ライブラリーから単離することもできる。

【 0 0 4 8 】

「Fv」断片は、完全な抗原認識及び結合部位を含む抗体断片である。この領域は、例えばscFvにおいて、実際は共有結合性でありうる、密接に結合した1本の重鎖と1本の軽鎖の可変ドメインの二量体からなる。この配置において各可変ドメインの3つのCDRが相互作用してV_H-V_L二量体の表面に抗原結合部位を決定する。集合的に、6つのCDRs又はそのサブセットが抗体に対する抗原結合特異性を付与する。しかしながら、

単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含んでなるFvの半分）でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を持つ。

【0049】

ここで使用される場合、「抗体可変ドメイン」は、相補性決定領域(CDRs；すなわち、CDR1、CDR2、及びCDR3)、及びフレームワーク領域(FR)のアミノ酸配列を含む抗体分子の軽鎖及び重鎖の一部を意味する。V_Hは重鎖の可変ドメインを意味する。V_Lは軽鎖の可変ドメインを意味する。この発明に使用される方法に従い、CDR及びFRに割り当てられるアミノ酸位置は、Kabat(Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987及び1991))に従い定めることができる。また、抗体又は抗原結合断片のアミノ酸番号付けも、Kabatに従う。

10

【0050】

ここで使用される場合、「相補性決定領域」(CDRs；すなわち、CDR1、CDR2、及びCDR3)なる用語は、その存在が抗原結合に必要である抗体可変ドメインのアミノ酸残基を意味する。各可変ドメインは、典型的には、CDR1、CDR2及びCDR3として同定される3つのCDR領域を有する。各相補性決定領域は、Kabatらにより定められる「相補性決定領域」(つまり、軽鎖可変ドメイン中の残基24-34(L1)、50-56(L2)及び89-97(L3)と、重鎖可変ドメイン中の残基31-35(H1)、50-65(H2)及び95-102(H3)；Kabatら, Sequences of Polypeptides of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1991))からのアミノ酸残基、及び/又は「高頻度可変ループ」(つまり、軽鎖可変ドメイン中の残基26-32(L1)、50-52(L2)及び91-96(L3)と、重鎖可変ドメイン中の26-32(H1)、53-55(H2)及び96-101(H3)；Chothia及び Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))からの残基を含む。幾つかの例において、相補性決定領域は、Kabatに従い定められたCDR領域と、高頻度可変ループの双方からのアミノ酸を含みうる。例えば、抗体4D5の重鎖のCDRH1は、アミノ酸26から35を含む。

20

【0051】

「フレームワーク領域」(以後FR)は、CDR残基以外の可変ドメイン残基である。各可変ドメインは、典型的にはFR1、FR2、FR3、及びFR4と同定される4つのFRを有する。CDRがKabatに従い定められたとすると、軽鎖FR残基は、ほぼ残基1-23(LCFR1)、35-49(LCFR2)、57-88(LCFR3)、及び98-107(LCFR4)に位置し、重鎖FR残基は、重鎖残基のほぼ残基1-30(HCFR1)、36-49(HCFR2)、66-94(HCFR3)、及び103-113(HCFR4)に位置する。CDRsが高頻度可変ループからのアミノ酸残基を含有しているならば、軽鎖FR残基は、軽鎖のほぼ残基1-25(LCFR1)、33-49(LCFR2)、53-90(LCFR3)、及び97-107(LCFR4)に位置し、重鎖FR残基は、重鎖残基のほぼ残基1-25(HCFR1)、33-52(HCFR2)、56-95(HCFR3)、及び102-113(HCFR4)に位置する。幾つかの例において、CDRが、Kabatにより定められたCDRと高頻度可変ループのもの双方からのアミノ酸を含有しているならば、FR残基はそれに依じて調節されるであろう。例えば、CDRH1がアミノ酸H26-H35を含んでいる場合、重鎖FR1残基は1-25位に存在し、FR2残基は36-49位に存在する。

30

40

【0052】

「Fab」断片は、軽鎖の可変及び定常ドメインと重鎖の可変ドメインと第一定常領域(CH1)を有する。F(ab')₂抗体断片は、間のヒンジシステインにより、それらのカルボキシ末端近傍で一般的に共有結合しているFab断片の対を含む。また、抗体断片の他の化学結合も当該分野で知られている。

【0053】

「単鎖Fv」又は「scFv」抗体断片は、抗体のV_H及びV_Lドメインを含み、これ

50

らのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。一般的に、F_vポリペプチドはV_H及びV_Lドメイン間にポリペプチドリンカーを更に含み、それはs c F_vが抗原結合に望まれる構造を形成するのを可能にする。s c F_vの概説については、Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Vol 113, Rosenberg及びMoore編 Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照。

【0054】

「ダイアボディ(diabodies)」なる用語は、二つの抗原結合部位を持つ小さい抗体断片を意味し、その断片は同じポリペプチド鎖(V_H及びV_L)内で軽鎖可変ドメイン(V_L)に結合した重鎖可変ドメイン(V_H)を含む。同じ鎖の二つのドメイン間に対形成するには短すぎるリンカーを用いることにより、ドメインは強制的に他の鎖の相補的ドメインと対形成して二つの抗原結合部位を生成する。ダイアボディは、例えば、欧州特許出願公開第404097号；国際公開第93/11161号；及びHollingerら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993)により十分に記載されている。

【0055】

「線形抗体」なる表現は、Zapata等, *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995)に記載された抗体を意味する。簡潔に述べると、これらの抗体は、相補的軽鎖ポリペプチドと共に、一对の抗原結合領域を形成する一对のタンデム型Fd配列(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1})を含む。線形抗体は二重特異性又は単一特異性でありうる。

【0056】

ここでモノクローナル抗体は、特定の種由来又は特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体において、対応する配列に一致する又は類似する重鎖及び/又は軽鎖の一部であり、残りの鎖は、他の種由来又は他の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体において、対応する配列に一致する又は類似する「キメラ」抗体(免疫グロブリン)、並びに所望の生物学的活性を表す限り、このような抗体の断片を含む(米国特許第4816567号；及びMorrison等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855(1984))。

【0057】

非ヒト(例えばマウス)の抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。大部分において、ヒト化抗体は、レシピエントの高頻度可変領域の残基が、マウス、ラット、ウサギ又は所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト霊長類のような非ヒト種(ドナー抗体)からの高頻度可変領域の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)である。幾つかの例において、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域(FR)残基は、対応する非ヒト残基によって置換される。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、もしくはドナー抗体にも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの修飾は抗体の特性を更に洗練するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいは実質的に全ての高頻度可変ループが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいは実質的に全てのFRが、ヒト免疫グロブリン配列のものである少なくとも一又は典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むであろう。また、ヒト化抗体は、場合によっては免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのもの少なくとも一部も含む。更なる詳細については、Jonesら, *Nature* 321:522-525(1986)；Riechmannら, *Nature* 332:323-329(1988)；及びPresta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596(1992)を参照。

【0058】

「ヒト抗体」は、ヒトによって生産される抗体のアミノ酸配列に相当するアミノ酸配列を有するもの、及び/又はここにおいて開示されたヒト抗体を作製する任意の技術を使用して製造されたものである。ヒト抗体のこの定義は、特に非ヒト抗原結合残基を含んでなるヒト化抗体を除く。ヒト抗体は当該分野で知られている様々な技術を使用して製造することができる。一実施態様では、ヒト抗体はファージライブラリーから選択され、そのファージライブラリーはヒト抗体を発現する(Vaughan等 *Nature Biotechnology* 14:309-314(1996)；Sheets等 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:6157-6162(1998))；Hoogenboom及びWinter, *J. Mol. Biol.*, 227:381(1991)；Marks等, *J. Mol. Biol.*, 222:581(1991))。また

10

20

30

40

50

、ヒト抗体は、その内在性免疫グロブリン遺伝子が部分的又は完全に不活性化されたトランスジェニック動物、例えばマウスに、ヒト免疫グロブリン座位を導入することによっても作製可能である。誘発時、遺伝子の再配列、アセンブリ、及び抗体レパートリーを含む全ての観点において、ヒトに見られるものに非常に類似するヒト抗体産生が観察される。このアプローチは、例えば米国特許第5545807号；同5545806号；同5569825号；同5625126号；同5633425号；同5661016号、及び次の化学文献：Marks等，*Bio/Technology* 10: 779-783(1992)；Lonberg等，*Nature* 368: 856-859(1994)；Morrison，*Nature* 368:812-13(1994)；Fishwild等，*Nature Biotechnology* 14: 845-51(1996)；Neuberger，*Nature Biotechnology* 14: 826(1996)；Lonberg及びHuszar，*Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93(1995)に記載されている。またヒト抗体は、標的抗原に対して産生される抗体を生成するヒトBリンパ球の不活化を介して調製することができる（このようなBリンパ球は個人から回収してもよく、またインビトロで免疫化される）。例えば、Cole等，*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77(1985)；Boerner等，*J. Immunol.*, 147(1):86-95(1991)；及び米国特許第5750373号を参照。

10

【0059】

「親和成熟」抗体とは、変化を有しない親抗体と比較し、抗原に対する抗体の親和性に改善を生じせしめるその一又は複数のCDRにおける一又は複数の変化を伴うものである。好ましい親和成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル又はピコモルの親和性を有する。親和成熟抗体は、当該分野において知られている手順によって産生される。Marks等 *Bio/Technology*, 10: 779-783(1992)は、VH及びVLドメインシャッフリングによる親和成熟について記載している。CDR及び/又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、例えばBarbas等，*Proc Nat Acad. Sci, USA* 91: 3809-3813(1994)；Schier等，*Gene*, 169: 147-155(1995)；Yelton等，*J. Immunol.* 155: 1994-2004(1995)；Jackson等，*J. Immunol.* 154(7): 3310-9(1995)；及びHawkins等，*J. Mol. Biol.* 226: 889-896(1992)に記載されている。

20

【0060】

抗体の「機能的抗原結合部位」は、標的抗原に結合可能なものである。抗原結合部位の抗原結合親和性は、抗原結合部位が誘導される親抗体ほど必ずしも強くはないが、抗原に結合する能力は、抗原への抗体結合性を評価するための様々な既知の方法の何れか一つを使用して測定可能なものでなくてはならない。更に、ここでの多価抗体の各抗原結合部位の抗原結合親和性は、定量的に同じである必要はない。ここでの多量体抗体について、機能的抗原結合部位の数は、米国特許出願公開第20050186208号の実施例2に記載されたように、超遠心分離分析を使用して評価することができる。この分析方法によれば、多量体抗体に対する標的抗原の様々な比率が組合せられ、複合体の平均分子量が、異なる数の機能的結合部位を仮定して、計算される。これらの理論値は、機能的結合部位の数を評価するために、得られた実際の実験値と比較される。

30

【0061】

指定された抗体の「生物学的特徴」を有する抗体は、同じ抗原に結合する他の抗体とは区別される抗体の一又は複数の生物学的特徴を有するものである。

40

【0062】

関心ある抗体が結合した抗原上のエピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、常套的なクロスブロッキングアッセイ、例えばA Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow及びDavid Lane(1988)に記載されたものを実施することができる。

【0063】

「種依存性抗体」は、第2の哺乳動物種からの抗原のホモログに対してよりも、第1の哺乳動物種からの抗原に対して、より強い結合親和性を有するものである。通常、種依存性抗体はヒト抗原に「特異的に結合する」（すなわち、約 1×10^{-7} M以下、好ましくは約 1×10^{-8} M以下、及び最も好ましくは約 1×10^{-9} M以下の結合親和性(Kd)

50

値を有する)が、第2の非ヒト哺乳動物種からの抗原のホモログに対しては、ヒト抗原に対する結合親和性よりも、少なくとも約50倍、又は少なくとも約500倍、又は少なくとも約1000倍弱い結合親和性を有する。種依存性抗体は、上述した様々な種類の抗体の何れであってもよいが、典型的には、ヒト化又はヒト抗体である。

【0064】

ここで使用される場合、「抗体突然変異体」又は「抗体変異体」は、種依存性抗体のアミノ酸配列変異体を意味し、ここで種依存性抗体の一又は複数のアミノ酸残基が修飾されている。このような突然変異体は、種依存性抗体と100%の配列同一性又は類似性を有する必要はない。一実施態様では、抗体突然変異体は、種依存性抗体の重鎖又は軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列と、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、更に好ましくは少なくとも85%、また更に好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%のアミノ酸配列同一性又は類似性を有するアミノ酸配列を含むであろう。この配列に関する同一性又は類似性は、最大パーセント配列同一性を達成するために、必要であるならば、配列を整列させ、間隙を導入した後に、種依存性抗体残基と同一(すなわち同じ残基)又は類似(すなわち、共通の側鎖特性に基づき、同じ群からのアミノ酸残基)である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。可変ドメインの外側の抗体配列への挿入、N末端、C末端、又は内部の伸長、欠失の何れも、配列の同一性又は類似性に影響を与えると解されるべきではない。

【0065】

この発明のアミノ酸配列を含む抗体又はポリペプチドの半減期を増加させるために、例えば米国特許第5739277号に記載されているように、抗体(特に抗体断片)にサルベージレセプター結合エピトープを結合させることができる。例えば、サルベージレセプター結合エピトープをコードする核酸分子を、遺伝子操作された核酸分子により発現される融合タンパク質が、サルベージレセプター結合エピトープと、この発明のポリペプチド配列を有するように、この発明のポリペプチド配列をコードする核酸にインフレームで結合させることができる。ここで使用される場合、「サルベージレセプター結合エピトープ」なる用語は、IgG分子のインビボ血清半減期を増加させる原因であるIgG分子(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、又はIgG₄)のエピトープを意味する(例えば、Ghetie等, Ann. Rev. Immunol. 18:739-766(2000)、表1)。また、そのFc領域で置換され、血清半減期が増加した抗体は、国際公開第00/42072号、国際公開第02/060919号; Shields等, J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Hinton, J. Biol. Chem. 279:6213-6216(2004))に記載されている。他の実施態様では、血清半減期は、例えば他のポリペプチド配列を結合させることによっても増加させることができる。例えば、本発明の方法に有用な抗体又は他のポリペプチドは、血清アルブミン、又はFcRnレセプターに結合する血清アルブミンの一部、又は血清アルブミンが抗体又はポリペプチド、例えば国際公開第01/45746号に開示されているようなポリペプチド配列に結合するように、血清アルブミン結合ペプチドに結合可能である。一実施態様では、結合される血清アルブミンペプチドは、DICLPRLWGC L Wのアミノ酸配列を含む。他の実施態様では、Fabの半減期はこれらの方法によって増加させられる。また、血清アルブミン結合ペプチド配列については、Dennis等 J. Biol. Chem. 277:35035-35043(2002)を参照。

【0066】

「キメラVEGFレセプタータンパク質」は、少なくとも2の異なるタンパク質から誘導されたアミノ酸配列を有するVEGFレセプター分子であり、その少なくとも一方はVEGFレセプタータンパク質である。ある実施態様では、キメラVEGFレセプタータンパク質は、VEGFに結合可能で、その生物活性を阻害することができる。

【0067】

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から同定され分離され及び/又は回収されたものである。その自然環境の汚染成分とは、抗体の診断又は治療への使用に干渉する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる

10

20

30

40

50

。ある実施態様では、抗体は、(1)ローリー法で測定して抗体の95重量%を越え、最も好ましくは99重量%を越えるまで、(2)スピニングカップシークエネーターを使ったN末端又は内在するアミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、又は(3)クーマシーブルー又は銀染色を用いた還元又は非還元条件下でのSDS-PAGEにより均一になるまで、精製される。単離された抗体は、抗体の自然な環境の少なくとも一成分が存在しないことから、組換え細胞内におけるインサイツでの抗体を含む。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも一の精製工程によって調製されるであろう。

【0068】

「断片」は、好ましくは参照核酸分子又はポリペプチドの全長の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又はそれ以上を含むポリペプチド又は核酸分子の一部を意味する。断片は、10、20、30、40、50、60、70、80、90、又は100、200、300、400、500、600、又はそれ以上のヌクレオチドあるいは10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、190、200のアミノ酸又はそれ以上を含みうる。

【0069】

「抗血管新生剤」又は「血管新生阻害剤」は、直接的か間接的かの何れかで、血管新生、脈管形成又は望ましくない血管透過を阻害する小分子量の物質、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、単離されたタンパク質、組換えタンパク質、抗体、又はそれらのコンジュゲート又は融合タンパク質を意味する。抗血管形成剤には、結合して血管形成因子又はそのレセプターの血管形成活性をブロックする作用剤が含まれることが理解されなければならない。例えば、抗血管形成剤は、本明細書を通じて定義され又は当該分野で知られている血管新生剤に対する抗体又は他のアンタゴニスト、例えば、限定しないがVEGF-Aに対するか又はVEGF-Aレセプター(例えばKDRレセプター又はFlt-1レセプター)に対する抗体、VEGF-トラップ、GleevecTM(イマチニブメシレート)などの抗PDGFR阻害剤である。また、抗血管新生剤には、天然の血管新生阻害剤、例えばアンジオスタチン、エンドスタチンなどが含まれる。例えば、Klagsbrun及びD'Amore, *Ann. Rev. Physiol.*, 53:217-39 (1991); Streit及びDetmar, *Oncogene*, 22:3172-3179 (2003) (例えば、悪性メラノーマの抗血管新生療法を列挙している表3); Ferrara及びAlitalo, *Nature Medicine* 5:1359-1364 (1999); Tonini等, *Oncogene*, 22:6549-6556 (2003) (例えば、既知の抗血管新生因子を列挙している表2); 及びSato, *Int. J. Clin. Oncol.*, 8:200-206 (2003) (例えば、表1は臨床試験で使用されている抗血管新生剤を列挙)を参照のこと。

【0070】

ここで、「維持」用量は、治療期間にわたって又は治療期間後に被験者に投与される治療剤の一又は複数の用量を指す。通常、維持用量は、間をおいた治療間隔、例えば、およそ毎週、およそ2週毎、およそ3週毎、又はおよそ4週毎に投与される。

【0071】

「生存」は、生存している被験者を指し、無増悪生存期間(PFS)及び全生存(OS)を含む。生存はカプラン・マイヤー法によって推定され得、生存の違いは層別ロジック検定を使用して計算される。

【0072】

「無増悪生存期間(PFS)」は、治療(又は無作為化)から最初の疾患進行又は死亡までの時間を指す。例えば、被験者が癌の再発なしに生存している時間であり、例えば、約1ヶ月、1.2ヶ月、2ヶ月、2.4ヶ月、2.9ヶ月、3ヶ月、3.5ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、1年、約2年、約3年等のような、治療の開始から又は最初の診断からの定まった期間である。一実施態様では、PFSは約2.9ヶ月から3.5ヶ月まで延長される(例えば、カペシタピンを用いた場合)。一実施態様では、PFSは約1.2ヶ月から約2.4ヶ月まで延長される(例えば、タキサン/アントラサイクリンを用いた場合)。本発明の一態様で

10

20

30

40

50

は、PFSは固形腫瘍の治療効果判定基準(RECIST)によって評価することができる。

【0073】

「全生存」は、治療の開始又は最初の診断から、定まった期間、例えば約1年、約2年、約3年、約4年、約5年、約10年等の間、被験者が生存していることを指す。

【0074】

「生存を延長させる」又は「生存の可能性を増大させる」とは、未治療の患者と比較して(つまり、例えばVEGF抗体のようなVEGF特異的アンタゴニストで治療されていない被験者に対して)、又はコントロール処置プロトコル、例えば化学療法剤のみ、例えばカペシタビン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))、ドキソルビシン、エピルビシン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド又はその組合せのような乳癌の標準治療に使用されるものによる治療と比較して、治療された被験者においてPFS及び/又はOSが増加していることを意味する。生存は、治療開始後又は最初の診断後、少なくとも約1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、又は少なくとも約1年、又は少なくとも約2年、又は少なくとも約3年、又は少なくとも約4年、又は少なくとも約5年、又は少なくとも約10年等の間、モニターされる。

10

【0075】

ハザード比(HR)はイベントの割合に対する統計的定義である。本発明の目的では、ハザード比は、実験的アームにおけるイベントの確率を、任意の特定の時点でのコントロールアームにおけるイベントの確率で割ったものを表すと定義される。無増悪生存期間解析における「ハザード比」は、2つの無増悪生存期間曲線の間差のまとめであり、所定の追跡調査期間にわたるコントロールと比較した治療に対する死亡リスクの減少を表す。

20

【0076】

「同時に」なる用語は、投与の時間の少なくとも一部がオーバーラップしている、2以上の治療剤の投与を意味するためにここで使用される。従って、同時投与には、一又は複数の薬剤の投与が一又は複数の他の薬剤の投与をやめた後に続く場合の投薬計画を含む。

【0077】

「単独療法」は、治療期間の経過中に癌又は腫瘍の治療のために単一の治療剤のみを含む治療的投薬計画を意味する。VEGF特異的アンタゴニストを使用する単独療法は、VEGF特異的アンタゴニストが治療期間の間に更なる抗癌療法がない状態で投与されることを意味する。

30

【0078】

「維持療法」は、疾患再発又は進行の可能性を低減するために施される治療レジメンを意味する。維持療法は、患者の寿命まで延長された期間を含む任意の長さの時間の間、提供されうる。維持療法は、最初の療法の後又は、最初ないしは更なる療法と共に提供されうる。維持療法は、初期療法後に、又は最初のもしくは更なる治療法との関連で提供されうる。維持療法に使用される用量は、変化し得、他のタイプの治療法に使用される用量と比較して、減少した用量を含みうる。ここでの「維持」をまた参照のこと。

【0079】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されない細胞増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか又は記述する。この定義には良性及び悪性癌、並びに休止状態の腫瘍又は微小転移巣である。癌の例には、限定されるものではないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれる。このような癌のより特定の例には、乳癌、扁平細胞癌、肺癌(小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平癌腫(squamous carcinoma)を含む)、腹膜の癌、肝細胞癌、胃(gastric)又は腹部(stomach)癌(胃腸癌を含む)、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓(kidney)又は腎(renal)癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌及び様々なタイプの頭頸部癌、並びにB細胞リンパ腫(低級/濾胞性非ホジキンリンパ腫(NHL);小リンパ球(SL)NHL;中級/濾胞性NHL;中級びまん性NHL;高級免疫芽細胞性NHL;高級リンパ芽球性NHL;高級

40

50

小非分割細胞 NHL ; パルキー疾患 NHL ; 外套細胞リンパ腫 ; エイズ関連リンパ腫 ; 及びワルデンストロームのマクログロブリン病を含む) ; 慢性リンパ性白血病 (CLL) ; 急性リンパ芽球白血病 (ALL) ; ヘアリー細胞白血病 ; 慢性骨髄芽球性白血病 ; 及び移植後リンパ増殖性疾患 (P T L D) 、並びに母斑症に関連した異常な血管増殖、浮腫 (例えば脳腫瘍に関連したもの) 、メイグス症候群を含む。

【 0 0 8 0 】

「転移」は、その原発部位から体の他の場所への癌の広がりを意味する。癌細胞は血流を通して原発性腫瘍から離れ、リンパ及び血管中に浸透し、血流を通して循環し、体の他の場所の正常組織における遠位の病巣で増殖 (転移) しうる。転移は局所的又は遠位でありうる。転移は、原発性腫瘍から別れ、血流を移動し、遠位の部位で止まる腫瘍細胞に随伴性の連続的な過程である。新しい部位で、細胞は血液供給を樹立し、増殖して命を脅かす塊を形成しうる。腫瘍細胞内の刺激性及び阻害性分子経路の双方がこの挙動を調節し、遠位部位での腫瘍細胞と宿主細胞の間の相互作用がまた顕著である。

10

【 0 0 8 1 】

「被験者」とは、限定しないが、ヒト又は非ヒト哺乳動物、例えばウシ、ウマ、イヌ、ヒツジ、又はネコを含む哺乳動物を意味する。好ましくは、被験者はヒトである。患者はまたここでの被験者である。

【 0 0 8 2 】

本発明の方法に対して、被験者に「指示する」という用語は、任意の手段、好ましくはパッケージ挿入物の形態又は他の文書でのプロモーション資料のように文書により、適用可能な治療法、医薬、治療、治療レジメン等に対する指示を提供することを意味する。

20

【 0 0 8 3 】

本発明の方法に対して、「促進する」という用語は、パッケージ挿入物の形態の場合のように文書を含む任意の手段により、特定の薬剤、薬剤の組み合わせ、又は治療様式を提供し、宣伝し、販売し、又は記述することを意味する。ここでの促進は、乳癌の治療のような適応症に対しての、例えば V E G F アンタゴニスト、例えば抗 V E G F 抗体又は化学療法剤のような治療剤のプロモーションを意味し、ここで、促進は、被験者の集団において統計的に有意な治療効果及び許容可能な安全性を伴うことが証明されているとして、食品医薬品局 (F D A) によって許可されている。

【 0 0 8 4 】

「マーケティング」なる用語は、製品 (例えば薬剤) のプロモーション、販売又は流通を記述するためにここで使用される。マーケティングは特に包装、宣伝広告、及び製品を市販する目的での任意のビジネス活動を含む。

30

【 0 0 8 5 】

被験者の「集団」は、臨床試験におけるような、又は乳癌治療のような特定の適応症に対して F D A の承認後に腫瘍学者によって見られるような、癌の被験者のグループを意味する。一実施態様では、集団は少なくとも約 1 2 0 0 名の被験者を含む。

【 0 0 8 6 】

「抗癌療法」なる用語は、癌の治療に有用な治療法を意味する。抗癌治療剤の例は、限定しないが、外科手術、化学療法剤、増殖阻害剤、細胞傷害剤、放射線療法で使用される薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び癌を治療するための他の薬剤、例えば抗 H E R 2 抗体 (例えばハーセプチン (登録商標)) 、抗 C D 2 0 抗体、上皮増殖因子レセプター (E G F R) アンタゴニスト (例えばチロシンキナーゼ阻害剤) 、 H E R 1 / E G F R 阻害剤 (例えば、エルロチニブ (タルセバ (登録商標))) 、血小板由来増殖因子阻害剤 (例えば、 G l e e v e c ^{T M} (イマチニブメシレート)) 、 C O X - 2 阻害剤 (例えば、セレコキシブ) 、インターフェロン、サイトカイン、次の標的 E r b B 2 、 E r b B 3 、 E r b B 4 、 P D G F R - 、 B l y S 、 A P R I L 、 B C M A 又は V E G F レセプターの一又は複数に結合するアンタゴニスト (例えば中和抗体) 、 T R A I L / A p o 2 、 及び他の生理活性及び有機化学薬剤等々を含む。それらの組み合わせもまた本発明に含まれる。

40

50

【 0 0 8 7 】

ここで用いられる「細胞傷害剤」なる用語は、細胞の機能を阻害又は抑制し、及び/又は細胞の破壊を生じせしめる物質を意味する。該用語は、放射性同位体（例えば、 $A t^{211}$ 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 及びLuの放射性同位体）、化学療法剤、及び毒素、例えばその断片及び/又は変異体を含む、小分子毒素又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素的に活性な毒素を含むことが意図されている。

【 0 0 8 8 】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化学化合物である。化学療法剤の例には、癌の治療に有用な化学化合物が含まれる。化学療法剤の例には、チオテパ及びCYTOXAN(登録商標)シクロスホスファミドのようなアルキル化剤；プスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンのようなスルホン酸アルキル類；ベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)、及びウレドーパ(uredopa)のようなアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド(triethylenethiophosphaoramid)及びトリメチローロメラミン(trimethylolomelamine)を含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン(acetogenins)(特にブラタシン(bullatacin)及びブラタシノン(bullatacinone))；カンプトセシン(合成類似体トポテカン(topotecan)を含む)；プリオスタチン；カリスタチン(callystatin)；CC-1065(そのアドゼレシン(adozelesin)、カルゼレシン(carzelesin)及びバイゼレシン(bizelesin)合成アナログを含む)；クリプトフィシン(cryptophycin)(特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；ドラスタチン(dolastatin)；デュオカルマイシン(duocarmycin)(合成アナログ、KW-2189及びCBI-TM1を含む)；エリュテロピン(eleutherobin)；パンクラチスタチン(pancratistatin)；サルコディクチン(sarcodictyin)；スポンジスタチン(spongistatin)；ナイトロジェンマスタード、例えばクロランブシル、クロルナファジン(chlornaphazine)、クロロホスファミド(chlorophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンピチン(novembichin)、フェネステリン(phenesterine)、プレドニムスチン(prednimustine)、トロフォスファミド(trofosfamide)、ウラシルマスタード；ニトロスレア(nitrosureas)、例えばカルムスチン(carmustine)、クロロゾトシン(chlorozotocin)、フォテムスチン(fotemustine)、ロムスチン(lomustine)、ニムスチン、及びラニムスチン；エネジイン(enediyne)抗生物質等の抗生物質(例えば、カリケアマイシン(calicheamicin)、特にカリケアマイシンガンマ1I及びカリケアマイシンオメガI1、例えば、Agnew Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994)を参照；ダイネミシンA(dynemicinA)を含むダイネミシン(dynemicin)；クロドロネート(clodronate)などのビスホスホネート(bisphosphonates)；エスペラマイシン(esperamicin)；並びにネオカルチノスタチン発光団及び関連色素蛋白エネジイン(enediyne)抗生物質発光団)、アクラシノマイシン(aclacinomysins)、アクチノマイシン、オースラマイシン(authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン(bleomycins)、カクチノマイシン(cactinomycin)、カラビシン(carabycin)、カルミノマイシン(carminomycin)、カルジノフィリン(carzinophilin)、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN(登録商標)ドキシソルピシン(モルフォリノ-ドキシソルピシン、シアノモルフォリノ-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシン及びデオキシドキシソルピシンを含む)、エシルピシン、エソルピシン(esorubicin)、イダルピシン、マセロマイシン(marcellomycin)、マイトマイシンCなどのマイトマイシン(mitomycins)、ミコフェノール酸(mycophenolic acid)、ノガラマイシン(nogalamycin)、オリボマイシン(olivomycins)、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン(potfiromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン(quelamycin)、ロドルピシン(rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン(tubercidin)、ウベニメクス、ジノスタチン(zinostatin)、ゾルピシン(zorubicin)；メトトレキセート及び5-フルオウラシル(5-FU)のような抗代謝産物；デノプテリン(denopterin)、メトトレキセート、

10

20

30

40

50

プテロプテリン(pteropterin)、トリメトレキセート(trimetrexate)のような葉酸アナログ；フルダラビン(fludarabine)、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンのようなプリンアナログ；アンシタピン、アザシチジン(azacitidine)、6-アザウリジン(azauridine)、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン(enocitabine)、フロキシウリジン(floxuridine)のようなピリミジンアナログ；カルステロン(calusterone)、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン(testolactone)のようなアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンのような抗副腎剤；フロリン酸(frolinic acid)のような葉酸リプレニッシャー(replenisher)；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル(eniluracil)；アムサクリン(amsacrine)；ベストラブシル(bestrabucil)；ピサントレン(bisantrene)；エダトラキセート(edatraxate)；デフォファミン(defofamine)；デメコルシン(demecolcine)；ジアジコン(diaziquone)；エルフォルニチン(elfornithine)；酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate)；エポチロン(epothilone)；エトグルシド(etoglucid)；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン(lonidamine)；メイタンシン(maytansine)及びアンサマイトシン(ansamitocin)のようなメイタンシノイド(maytansinoid)；ミトグアゾン(mitoguazone)；ミトキサントロン；モピダモール(mopidamol)；ニトラクリン(nitracrine)；ペントスタチン；フェナメット(phenamet)；ピラルピシン；ラソキサントロン；ポドフィリン酸(podophyllinic acid)；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K (登録商標)多糖類複合体(JHS Natural Products, Eugene, OR)；ラゾキサン(razoxane)；リゾキシン(rhizoxin)；シゾフィラン；スピロゲルマニウム(spirogermanium)；テニユアゾン酸(tenuazonic acid)；トリアジコン(triaziquone)；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン(trichothecenes)(特に、T-2トキシン、ベラキュリンA(verracurin A)、ロリデンA(rolidid A)及びアングイジン(anguidine))；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン(mannomustine)；ミトプロニトール；ミトラクトール(mitolactol)；ピポブロマン(pipobroman)；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド(「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えばタキソール(登録商標)パクリタキセル、(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ)、ABRAXANE(登録商標)クレモフォール(Cremophor)を含まない、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois)及びタキソテア(登録商標)ドキセタキセル、(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)；クロランブシル；GEMZAR(登録商標)ゲンシタピン(gemcitabine)；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；シスプラチン、オキサリプラチン及びカルボプラチンのようなプラチナアナログ；ピンブラスチン；プラチナ；エトポシド(V P - 1 6)；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE(登録商標)ピノレルピン；ノバントロン(novantrone)；テニポシド；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノプテリン；キセローダ(xeloda)；イバンドロネート(ibandronate)；イリノテカン(Camptosar、CPT-11)(5-FUとロイコボリンを用いたイリノテカンの治療レジメを含む)；トポイソメラーゼインヒビターR F S 2 0 0 0 ；ジフルオロメチロールニチン(D M F O)；レチノイン酸などのレチノイド類；カペシタビン(capecitabine)；コンプレタスタチン；ロイコボリン(L V)；オキサリプラチン治療レジメン(FOLFOX)を含むオキサリプラチン；ラパチニブ(Tykerb(登録商標))；例えばP K C - 、 R a f、 H - R a s、 E G F R (例えば、エルロチニブ(タルセバ(登録商標))及び細胞増殖を低減するV E G F - A 及び上述したものの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体が含まれる。

【 0 0 8 9 】

また、この定義に含まれるものは、腫瘍に対するホルモン作用を調節し又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節物質(S E R M)であり、例えば、タモキシフェン(N O L V A D E X (登録商標)タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン(raloxifene)、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン(trioxifene)、ケオキシフェン(keoxifene)、L Y 1 1 7

10

20

30

40

50

018、オナプリストン(onapristone)、及びFARESTON・トレミフェン；副腎のエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE(登録商標)酢酸メゲストロール、AROMASIN(登録商標)エキセメスタン、フォルメスタン、ファドロゾール、RIVISOR(登録商標)ポロゾール、FEMARA(登録商標)レトロゾール、及びARIMIDEX(登録商標)アナストロゾール；及び抗アンドロゲン、例えばフルタミド(flutamide)、ニルタミド(nilutamide)、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；並びにトロキサシタピン(troxacitabine)(1,3-ジオキソランヌクレオシドシトシンアナログ)；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖に関連したシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えばPKC-、Ral f、及びH-Ras；リボザイム、例えばVEGF発現阻害剤(例えば、ANZIOZYME(登録商標)リボザイム)及びHER2発現阻害剤；遺伝子治療ワクチン等のワクチン、例えばALLOVECTIN(登録商標)ワクチン、LEUVECTIN(登録商標)ワクチン、及びVAXID(商品名)ワクチン；PROLEUKIN(登録商標)rIL-2；LURTOTECAN(登録商標)トポイソメラーゼI阻害剤；ABARELIX(登録商標)rmRH；及び上記のものの何れかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体である。

10

【0090】

「サイトカイン」なる用語は、一つの細胞集団から放出されるタンパク質であって、他の細胞に対して細胞間メディエータとして作用するものの包括的な用語である。そのようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、及び伝統的なポリペプチドホルモンである。サイトカインに含まれるものは、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、及びウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；リラクシン；プロリラクシン；卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、及び黄体形成ホルモン(LH)のような糖タンパク質ホルモン；上皮増殖因子；肝増殖因子；線維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子-及び-；ミューラー阻害物質；マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒピン；アクチピン；血管内皮増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン(TPO)；神経成長因子、例えばNGF-；血小板増殖因子；TGF-及びTGF-のようなトランスフォーミング増殖因子(TGF)；インスリン様成長因子I及びII；エリスロポイエチン(EPO)；オステオインダクティブ因子；インターフェロン、例えばインターフェロン-、-、-；コロニー刺激因子(CSF)、例えばマクロファージ-CSF(M-CSF)；顆粒球-マクロファージ-CSF(GM-CSF)；及び顆粒球-CSF(G-CSF)；IL-1、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12のようなインターロイキン(IL)；TNF-又はTNF-のような腫瘍壊死因子；及びLIF及びキットリガンド(KL)を含む他のポリペプチド因子である。ここで使用される場合は、サイトカインなる用語は天然源由来あるいは組換え細胞培養由来のタンパク質及び天然配列サイトカインの生物的に活性な等価物を含む。

20

30

【0091】

ここで用いられる際の「増殖阻害剤」は、細胞の増殖をインビトロ及び/又はインビボで阻害する化合物又は組成物を意味する。よって、増殖阻害剤は、S期における細胞の割合を有意に減少させるものでありうる。増殖阻害剤の例は、細胞周期の進行を(S期以外の位置で)阻害する薬剤、例えばG1停止又はM期停止を誘導する薬剤を含む。古典的なM期ブロッカーは、ピнкаス(ピンクリスチン及びピンブラスチン)、タキソール(登録商標)、及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えばドキソルピシン、エビルピシン、ダウノルピシン、エトポシド、及びブレオマイシンを含む。またG1を停止させる薬剤は、S期停止にも波及し、例えば、DNAアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキセート、5-フルオロウラシル、及びアラ-Cである。更なる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn及びIsrael編, Chapter 1, 表題「Cell cycle regulation, oncogene, and antineoplast

40

50

ic drugs」, Murakami等, (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特に13頁に見出すことができる。

【0092】

この出願において使用される「プロドラッグ」なる用語は、親薬剤と比較して腫瘍細胞にそれほど細胞傷害性でなく、酵素的に活性化され得るか又はより活性化親形態に変換され得る薬学的に活性な物質の前駆体又は誘導体形態を意味する。例えば、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986)及びStella等, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt等(編.), pp. 247-267, Humana Press (1985)を参照のこと。本発明のプロドラッグとしては、限定しないが、ホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、サルフェート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D-アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、 β -ラクタム含有プロドラッグ、置換されていてもよいフェノキシアセトアミド含有プロドラッグ又は置換されていてもよいフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、より活性化細胞傷害性の遊離薬物に転換され得る5-フルオロシトシン及び他の5-フルオロウリジンプロドラッグが挙げられる。本発明において使用されるプロドラッグ形態に誘導体化され得る細胞傷害性薬物の例としては、上述の化学療法剤が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0093】

「放射線療法」とは、正常に機能するその能力を制限するように又は細胞と一緒に破壊するように細胞に十分な損傷を誘導する有向性の線又は線の使用を意味する。治療の用量及び継続期間を決定するためには当該分野で知られている多くの方法があることが理解される。典型的な治療は、1回の投与として与えられ、典型的な用量は、1日当たり10から200単位(グレイ)の範囲である。

20

【0094】

「低減又は阻害する」とは、好ましくは20%又はそれ以上、より好ましくは50%又はそれ以上、最も好ましくは75%、85%、90%、95%、又はそれ以上の全体的な減少を生じる能力を意味する。低減又は阻害は、治療されている疾患の症状、転移又は微小転移巣の存在又はサイズ、原発性腫瘍のサイズ、又は休止腫瘍のサイズ、又は血管新生疾患における血管のサイズ又は数を意味する。

30

【0095】

「静脈内注入」なる用語は、およそ5分以上、好ましくはおよそ30~90分の時間をかけて動物又はヒト被験者の静脈への薬剤の導入を意味するものであるが、本発明では静脈内注入があるいは10時間未満かけて投与されることもある。

「静脈内ポース」又は「静脈内圧力(intravenous push)」なる用語は、動物又はヒトの静脈に薬剤を投与して、およそ15分以下、好ましくは5分以下に身体が薬剤を受け入れることを意味する。

【0096】

「皮下投与」なる用語は、比較的ゆっくりと、薬剤容器からの送達が維持されることによって、動物又はヒト被験者の皮膚の下に、好ましくは皮膚及び皮下組織の間のポケット内に薬剤を投入することを意味する。ポケットは、皮膚を上につまむか又は引き上げ、皮下組織から離すことによりつくり出される。

40

【0097】

「皮下注入」なる用語は、動物又はヒト被験者の皮下、好ましくは皮膚と皮下組織の間の嚢内に、限定するものではないが30分以下ないし90分以下の時間をかけて、薬剤貯蔵物から相対的にゆっくりと、持続的に運搬されることによる薬剤の導入を意味する。場合によって、動物又はヒト被験者の皮下にインプラントされる薬剤運搬ポンプを皮下移植することによって注入されてもよく、この場合のポンプは予め決まった量の薬剤を30分、90分又は治療レジメンの長さにあたる治療期間などの予め決まった期間の間運搬するものである。

50

【0098】

「皮下ポラス」なる用語は、動物又はヒト被験者の皮下への薬剤の投与であって、ポラス薬剤運搬(ドラッグデリバリー)は好ましくはおよそ15分未満、より好ましくは5分未満、最も好ましくは60秒未満である。好ましくは、投与は皮膚と皮下組織の間の嚢内であり、その嚢は例えば皮膚をつまんだり引き上げたりして皮下組織を除去することによって作ったものである。

【0099】

「疾患」とは、抗体での治療が有益である任意の症状である。これには、慢性及び急性の疾患、又は対象疾患に哺乳動物がかかりやすい病的状態を含む疾病が含まれる。ここで治療される疾患の非限定的例には、癌；良性及び悪性腫瘍；白血病及びリンパ系悪性腫瘍；神経細胞、膠細胞、アストロサイト、視床下部及び他の腺性、マクロファージ、上皮、間質及び胞胚腔疾患；及び炎症性、血管新生及び免疫疾患が含まれる。

10

【0100】

「治療的有効量」という用語は、哺乳類の疾病や疾患を治療するために有効な薬剤の量を意味する。癌の場合は、治療的有効量の薬剤は、癌細胞の数を減少させ；腫瘍の大きさを小さくし；癌細胞の周辺器官への浸潤を阻害(すなわち、ある程度に遅く、好ましくは止める)し；腫瘍の転移を阻害(すなわち、ある程度に遅く、好ましくは止める)し；腫瘍の増殖をある程度阻害し；及び/又は疾患に付随する一又は複数の症状をある程度和らげることが可能である。ある程度、薬剤が増殖を妨げ及び/又は既存の癌細胞を殺しうる程度で、それは細胞分裂停止性及び/又は細胞傷害性である。癌治療の場合、インビボでの効力は、例えば、生存期間、無増悪生存期間(PFS)、奏効率(RR)、奏効期間、及び/又は生活の質を評価することによ、り測定されうる。

20

【0101】

「治療」とは、治療的治療及び予防又は防止手段の両方を意味する。治療の必要がある者には、既に疾患に罹患している者、並びに疾患が防止されなければならない者が含まれる。

【0102】

ここで使用される「標識」なる語句は、ポリペプチドに直接又は間節的にコンジュゲートされる検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識は、それ自体検出可能(例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識)であっても、あるいは酵素標識の場合には、検出可能な基質化合物又は組成物の化学変換を触媒してもよい。

30

【0103】

II. 抗VEGF抗体及びアンタゴニスト

(i) VEGF抗原

抗体の産生に使用されるVEGF抗原は例えばVEGF₁₆₅分子並びにVEGFの他のアイソフォーム又は所望のエピトープを含むその断片でありうる。本発明の抗VEGF抗体を産生するために有用なVEGFの他の形態は当業者には明らかであろう。

【0104】

ヒトVEGFはハイブリダイゼーションプローブとしてウシVEGF cDNAを使用して、ヒト細胞から調製されたcDNAライブラリーを最初にスクリーニングすることによって得られた。Leung等(1989) Science, 246:1306。それによって同定されたcDNAの一つはウシVEGFに対して95%を越える相同性を有する165アミノ酸のタンパク質をコードしている；この165アミノ酸のタンパク質は典型的にはヒトVEGF(hVEGF)又はVEGF₁₆₅と呼ばれる。ヒトVEGFの分裂促進活性は、哺乳動物宿主細胞中でヒトVEGF cDNAを発現させることによって確認された。ヒトVEGF cDNAが形質移入された細胞によって条件化された培地は毛細血管内皮細胞の増殖を促進する一方、コントロール細胞は促進しなかった。上掲のLeung等(1989) Science。組換えDNA技術を介してVEGFをクローニングし、発現させるために更なる努力がなされた(例えばFerrara, Laboratory Investigation 72:615-618 (1995)とそこに引用された文献を参照のこと)。

40

50

【0105】

VEGFは選択的RNAスプライシングから生じる複数のホモ二量体型(単量体当たり121、145、165、189及び206個のアミノ酸)として様々な組織中に発現される。VEGF₁₂₁はヘパリンに結合しない可溶性マイトジェンである; VEGFのより長い型は漸次的により高い親和性でヘパリンに結合する。VEGFのヘパリン結合型はプラスミンによってカルボキシ末端を切断してVEGFの拡散性形態を放出することができる。プラスミンでの切断後に同定されるカルボキシ末端ペプチドのアミノ酸配列決定はArg₁₁₀-Ala₁₁₁である。ホモ二量体として同定されたVEGF(1-110)のアミノ末端「コア」タンパク質は、中和モノクローナル抗体(例えば4.6.1及び3.2E3.1.1と呼ばれる抗体)と、インタクトなVEGF₁₆₅ホモ二量体と比較して同様の親和性を持つVEGFレセプターの可溶性に結合する。

10

【0106】

胎盤増殖因子(PIGF)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D及びVEGF-Eを含む、VEGFと構造的に関連する幾つかの分子がまた最近同定されている。上掲のFerrara及びDavis-Smyth(1987) *Endocr. Rev.*; Ogawa等 *J. Biological Chem.* 273:31273-31281(1998); Meyer等 *EMBO J.*, 18:363-374(1999)。レセプターチロシンキナーゼFlt-4(VEGFR-3)はVEGF-C及びVEGF-Dのレセプターとして同定された。Jukov等 *EMBO J.* 15:1751(1996); Lee等 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:1988-1992(1996); Achen等(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:548-553。VEGF-Cはリンパ性血管新生の調節に関与していることが最近示されている。Jeltsch等 *Science* 276:1423-1425(1997)。

20

【0107】

Flt-1(VEGFR-1とも呼ぶ)とKDR(VEGFR-2とも呼ぶ)の二つのVEGFレセプターが同定されている。Shibuya等(1990) *Oncogene* 8:519-527; de Vries等(1992) *Science* 255:989-991; Terman等(1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187:1579-1586。ニューロピリン-1はヘパリン結合VEGFアイソフォームに結合可能な選択的VEGFレセプターであることが示されている(Soker等(1998) *Cell* 92:735-45)。

【0108】

(ii) 抗VEGF抗体

本発明の方法において有用である抗VEGF抗体は、VEGFに十分な親和性と特異性をもって結合し、VEGFの生物学的活性を低減させ又は阻害することができる任意の抗体、又はその抗原結合断片を含む。抗VEGF抗体は通常は他のVEGFホモログ、例えばVEGF-B又はVEGF-Cに結合せず、PIGF、PDGF、又はbFGFのような他の増殖因子にも結合しない。

30

【0109】

本発明のある実施態様では、抗VEGF抗体は、限定しないが、ハイブリドーマATCC HB 10709により産生されるモノクローナル抗VEGF抗体A4.6.1と同じエピトープに結合するモノクローナル抗体; Presta等(1997) *Cancer Res.* 57:4593-4599に従って産生された組換えヒト化抗VEGFモノクローナル抗体が含まれる。一実施態様では、抗VEGF抗体は、「rhUMA b VEGF」又は「アバスチン(登録商標)」としても知られている「ベバシズマブ(BV)」である。それは、そのレセプターへのヒトVEGFの結合をブロックするマウス抗hVEGFモノクローナル抗体A.4.6.1からの、抗原結合相補性決定領域及び変異したヒトIgG1フレームワーク領域を含む。フレームワーク領域の殆どを含む、ベバシズマブのアミノ酸配列のおよそ93%が、ヒトIgG1から誘導され、配列の約7%がマウス抗体A4.6.1から誘導される。

40

【0110】

ベバシズマブ(アバスチン(登録商標))はFDAによって承認された最初の抗血管新生治療剤であり、転移性結腸直腸癌(静脈内5-FUベース化学療法との併用での一次及び二次治療法)、進行した非扁平、非小細胞肺癌(NSCLC)(カルボプラチン及びパクリタキセルとの併用での切除不能な局在的に進行した、再発性又は転移性NSCLCの

50

一次治療法)及び転移性HER2陰性乳癌(パクリタキセルとの併用での過去に治療されていない転移性HER2陰性乳癌)の治療に対して承認されている。

【0111】

ベバシズマブ及び他のヒト化抗VEGF抗体は、2005年2月26日に発行された米国特許第6884879号に更に記載されている。更なる抗体は、これらの特許出願の内容が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT公開番号WO2005/012359号、PCT公開番号WO2005/044853号、及び米国特許出願第60/991302号に記載されたような、G6又はB20シリーズ抗体(例えば、G6-31、B20-4.1)が含まれる。更なる抗体については、米国特許第7060269号、同6582959号、同6703020号;同6054297号;国際公開第98/45332号;国際公開第96/30046号;国際公開第94/10202号;欧州特許第0666868B1号;米国特許出願公開第2006009360号、同20050186208号、同20030206899号、同20030190317号、同20030203409号、及び同20050112126号;及びPopkov等, Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004)を参照のこと。他の抗体は、残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103、及びC104を含むか、又は残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83及びQ89を含む、ヒトVEGF上の機能的エピトープに結合するものを含む。

10

【0112】

本発明の一実施態様では、抗VEGF抗体は、次のアミノ酸配列:

20

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVR
QAPGKGLEWVGW

INTYTGPTYAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRA
EDTAVYYCAKYP

HYYGSSHWFYDVGWQGTLVTVSS(配列番号1)

を含む重鎖可変領域と、次のアミノ酸配列:

DIQMTQSPSSLASVGDRTITCSASQDISNYLNWYQQ
KPGKAPKVLIFY

TSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQYSTVPWTFGQ

30

GTKVEIKR(配列番号2)

を含む軽鎖可変領域とを有する。

【0113】

この発明の「G6シリーズ抗体」は、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/012359の、図7、24-26、及び34-35の何れか一つのG6抗体又はG6-誘導抗体の配列から誘導された抗VEGF抗体である。更に、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/044853を参照。一実施態様では、G6シリーズ抗体は、残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83及びQ89を含むヒトVEGF上の機能的エピトープに結合する。

40

【0114】

この発明の「B20シリーズ抗体」は、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/012359の、図27-29の何れか一つのB20抗体又はB20誘導抗体の配列から誘導された抗VEGF抗体である。更に、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/044853及び米国特許出願第60/991302号を参照。一実施態様では、B20シリーズ抗体は、残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103、及びC104を含むヒトVEGF上の機能的エピトープに結合する。

【0115】

この発明の「機能的エピトープ」は、抗体の結合性にエネルギー的に寄与する抗原のア

50

ミノ酸残基を意味する。抗原のエネルギー的に寄与する残基の任意の一つが変異することにより（例えば、アラニンによる野生型 VEGF の変異又はホモログ変異）、抗体の相対的親和性比（IC50 変異 VEGF / IC50 野生型 VEGF）が 5 より大となるように、抗体の結合性が乱れるであろう（国際公開第 2005/012359 号の実施例 2 を参照）。一実施態様では、相対的親和性比は、溶液結合性ファージディスプレイ ELISA により測定される。簡潔に述べると、96-ウェル Maxisorp 免疫プレート (NUNC) を、4 で一晚、抗体の Fab 型で被覆し、PBS 中 2 μ g/ml の濃度で試験し、室温で 2 時間、PBS、0.5% の BSA、及び 0.05% のツイーン 20 (PBT) でブロックする。PBT において、ファージディスプレイ hVEGF アラニン点変異 (残基 8 - 109 型) 又は野生型 hVEGF (8 - 109) の連続希釈物を、室温で 15 分、Fab-コーティングされたプレート上で最初にインキュベートし、プレートを PBS、0.05% のツイーン 20 (PBST) で洗浄する。結合したファージを、PBT において 1 : 5000 に希釈された抗 M13 モノクローナル抗体西洋ワサビペルオキシダーゼ (Amersham Pharmacia) コンジュゲートで検出し、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン (TMB, Kirkegaard & Perry Labs, Gaithersburg, MD) 基質で、約 5 分発現させ、1.0 M の H₃PO₄ でクエンチし、450 nm で分光光度的に読み取る。IC50 値の比率 (IC50, a1a / IC50, wt) は、結合親和性における低減倍数 (相対的結合親和性) を表す。

【0116】

(iii) VEGF レセプター分子

2 つの最も特徴的な VEGF レセプターは、VEGFR1 (Flt-1 としても知られている) 及び VEGFR2 (マウスホモログについては KDR 及び FLK-1 としても知られている) である。各 VEGF ファミリーメンバーについて、各レセプターの特異性は変化するが、VEGF-A は Flt-1 及び KDR の双方に結合する。Flt-1 及び KDR は両方ともレセプターチロシンキナーゼ (RTKs) のファミリーに属している。RTKs は多様な生物学的活性を持つ膜貫通レセプターの大きなファミリーを含んでなる。少なくとも 19 の区別できる RTK サブファミリーが同定されている。レセプターチロシンキナーゼ (RTK) ファミリーには、様々な細胞型の増殖と分化に重要なレセプターが含まれる (Yarden 及び Ullrich (1988), Ann. Rev. Biochem. 57:433-478; Ullrich 及び Schlessinger (1990), Cell 61:243-254)。RTKs の本来の機能はリガンド結合の際に活性化され、レセプター及び複数の細胞基質のリン酸化を生じ、続いて様々な細胞応答を生じる (Ullrich 及び Schlessinger (1990) Cell 61:203-212)。よって、レセプターチロシンキナーゼ媒介シグナル伝達が、特異的増殖因子 (リガンド) との細胞外相互作用によって開始され、それに典型的にはレセプターの二量体化、本来的なプロテインチロシンキナーゼ活性の刺激及びレセプタートランス-リン酸化が続く。それによって結合部位が細胞内シグナル伝達分子のために作り出され、適切な細胞応答を容易にするある範囲の細胞質シグナル伝達分子と複合体を形成する。(例えば細胞分裂、分化、代謝効果、細胞外微小環境の変化) Schlessinger 及び Ullrich (1992) Neuron 9:1-20 を参照。構造的には、Flt-1 と KDR の両方共、細胞外ドメインに 7 の免疫グロブリン様ドメイン、単一の膜貫通領域、及びキナーゼインサートドメインによって中断されているコンセンサスチロシンキナーゼ配列を有している。Matthews 等 (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9026-9030; Terman 等 (1991) Oncogene 6:1677-1683。細胞外ドメインは、VEGF の結合に関与し、細胞内ドメインはシグナル伝達に関与している。

【0117】

VEGF に特異的に結合する VEGF レセプター分子又はその断片を、VEGF タンパク質に結合して封鎖させ、よってシグナル伝達を防止させるために、本発明の方法において使用することができる。ある実施態様では、VEGF レセプター分子、又は VEGF 結合断片は可溶化形態、例えば sFlt-1 である。可溶化形態のレセプターは、VEGF に結合することにより VEGF タンパク質の生物活性に阻害効果を及ぼし、よって、標的細胞の表面に存在するその天然レセプターへの結合が防止される。また、その実施例が以下に記載される VEGF レセプター融合タンパク質が含まれる。

【0118】

キメラVEGFレセプタータンパク質は、少なくとも2の異なるタンパク質から誘導されたアミノ酸配列を有するレセプター分子であり、その少なくとも一は、VEGFに結合し、その生物活性を阻害可能なVEGFレセプタータンパク質（例えば、flt-1又はKDRレセプター）である。ある実施態様では、本発明のキメラVEGFレセプタータンパク質は、2のみの異なるVEGFレセプタータンパク質から誘導されたアミノ酸配列からなる；しかしながら、flt-1及び/又はKDRレセプターの細胞外リガンド結合領域からの、1、2、3、4、5、6又は7つ全てのIg様ドメインを含むアミノ酸配列は、他の関連しないタンパク質、例えば免疫グロブリン配列からのアミノ酸配列に結合可能である。Ig様ドメインが組合せられた他のアミノ酸配列は、当業者には容易に明らかであろう。キメラVEGFレセプタータンパク質の例には、例えば可溶性flt-1/Fc、KDR/Fc、又はflt-1/KDR/Fc(VEGFトラップとしても知られている)が含まれる。(例えば、PCT出願第97/44453号を参照)。

10

【0119】

本発明の可溶性VEGFレセプタータンパク質又はキメラVEGFレセプタータンパク質には、膜貫通ドメインを介して細胞表面に固定されないVEGFレセプターが含まれる。しかして、キメラレセプタータンパク質を含むが、VEGFに結合して不活性にする、可溶化型のVEGFレセプターは膜貫通ドメインを含まず、よって一般的に、分子が発現される細胞の細胞膜に結合しない。

20

【0120】

III. 抗VEGF抗体の治療的用途と組成物

本発明は、腫瘍増殖を支援するための栄養を提供するのに必要とされる腫瘍血管の発生を阻害することを目標とする新規な癌治療方策である抗血管新生治療法を包含する。血管新生は原発性腫瘍増殖及び転移の双方に関連しているので、本発明によって提供される抗血管新生治療法は、原発部位における腫瘍の新生物増殖を阻害することができ、また続発性部位における腫瘍の転移を防止でき、よって他の治療剤による腫瘍の攻撃を可能にする。

【0121】

すなわち、ここに提供されるものは、過去に治療されていない転移性乳癌と診断された被験者を治療する方法であって、有効量の少なくとも一種の化学療法剤及び抗VEGF抗体を含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、該被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けていない方法である。場合によっては、被験者は、最後の投薬から12ヶ月以内又は12ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けていない。化学療法と抗VEGFの投与を組み合わせる治療レジメンは被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ここで更に提供されるものは、被験者における過去に治療されていない転移性乳癌を治療するための医薬の製造における少なくとも一種の化学療法剤と共に抗VEGF抗体を使用することであり、該被験者は局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けていない。場合によっては、被験者は、最後の投薬から12ヶ月以内又は12ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けていない。抗VEGFと化学療法剤の使用は被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ここでまた提供されるものは、被験者における局在的に再発性又は転移性の乳癌を治療する方法に使用される抗VEGF抗体であり、該方法は、有効量の少なくとも一種の化学療法剤及び抗VEGF抗体を含む治療レジメンを被験者に投与することを含み、該被験者は、局在的に再発性又は転移性の乳癌に対して如何なる化学療法も受けていない。場合によっては、被験者は、最後の投薬から12ヶ月以内又は12ヶ月には再発について先のアジュバント化学療法を受けていない。抗VEGFと化学療法剤の使用は被験者の無増悪生存期間(PFS)を効果的に延長する。ある実施態様では、本発明の方法、使用、及び組成物の何れかにおいて、化学療法及び抗VEGF抗体の投与は、先のペバシズマブ治験の結果と一致する安全性プロファイルを有している(例えば、ペバシズマブ製品挿入物を参照)。

30

40

50

【 0 1 2 2 】

本発明の幾つかの実施態様では、被験者はHER2陰性である。本発明の幾つかの実施態様では、被験者はHER2陽性である。HER2はある種の乳癌において重要な予測及び予後因子として認識されている。例えば、Slamon DJ等 Science. 1989;244:707-712; 及びSjogren S等 J Clin Oncol. 1998;16:462-469を参照。HER2 遺伝子増幅は、HER2 レセプター (HER2 タンパク質) の連続的な過剰発現を生じる永久的な遺伝子変化である。例えば、Simon R等 J Natl Cancer Inst. 2001;93:1141-11465; 及びSliwkowski MX等 Semin Oncol. 1999;26(suppl 12):60-70を参照。幾つかの研究は、HER2 過剰発現 (遺伝子自体の余分のコピーか又は過剰量の遺伝子のタンパク質産物) が減少した全生存に関連していることを示している。例えば、Slamon DJ等 Science. 1987;235:177-182; 及びPaik S等 J Clin Oncol. 1990;8:103-112を参照。HER2 状態を決定するために幾つかの市販のアッセイが利用でき、例えば、タンパク質のためのHercept Test (登録商標) 及びPathwayTMと、遺伝子改変のためのPathVision (登録商標) 及びHER2 FISH pharmDxTMである。

10

【 0 1 2 3 】

併用療法

本発明は、一又は複数の更なる抗癌療法との少なくとも一種のVEGF特異的アンタゴニストの組み合わせの使用又は組成物を特徴とする。抗癌療法の例は、限定しないが、外科手術、放射線療法 (照射療法)、バイオセラピー、免疫療法、化学療法、又はこれらの療法の組み合わせを含む。また、細胞傷害剤及び抗増殖剤を、VEGF特異的アンタゴニストと組み合わせて使用することができる。

20

【 0 1 2 4 】

方法及び使用の何れかのある態様では、発明は、局在的に再発性の又は過去に治療されていない転移性の癌と診断された被験者に有効量の抗VEGF抗体と一又は複数の化学療法剤を投与することによって、乳癌を治療することを提供する。様々な化学療法剤を本発明の併用療法及び使用において使用することができる。考えられる化学療法剤の例示的及び非限定的リストは、「定義」の項でここに提供され、又はここに記載される。

【 0 1 2 5 】

一例では、本発明は、一又は複数の化学療法剤 (例えばカクテル) 又はその任意の組み合わせを伴うVEGF特異的アンタゴニストの方法及び使用を特徴とする。ある実施態様では、化学療法剤は、例えば、カペシタビン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子 (例えば、アブラキサン (登録商標))、ドキシソルピシン、エピルピシン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド又はその組合せ治療法である。ある実施態様では、VEGFアンタゴニスト (例えば、抗VEGF抗体) はラパチニブ (Tykerb (登録商標)) と組み合わせられる。併用投与は、別個の製剤又は単一の薬学的製剤を使用する同時投与、及び双方 (又は全ての) 活性薬剤がその生物学的活性を同時に作用させる時間が好ましくは存在する何れかの順での連続投与を含む。かかる化学療法剤に対する調製及び投薬計画は、製造者の指示書に従って又は熟練した医師が経験的に決定したようにして使用されうる。化学療法のための調製及び投薬計画はまたChemotherapy Service Ed., M. C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992)に記載されている。化学療法剤はVEGF特異的アンタゴニストの投与より前か又は後に続き、あるいはそれと同時に投与されうる。

30

40

【 0 1 2 6 】

方法及び使用の何れかの所定の他の態様では、本発明の抗体を用いた併用腫瘍療法に有用な他の治療剤は、腫瘍増殖に関する他の因子、例えばEGFR、ErbB2 (Her2としても知られている)、ErbB3、ErbB4、又はTNFのアンタゴニストを含む。しばしば、一又は複数のサイトカインを被験者に投与することもまた有益な場合がある。一実施態様では、VEGF抗体は増殖阻害剤と同時に投与される。例えば、増殖阻害剤が最初に投与され、続いてVEGF抗体が投与されうる。しかしながら、同時投与又はVEGF抗体の最初の投与もまた考えられる。増殖阻害剤に対する適した用量は、現在使

50

用されているものであり、増殖阻害剤と抗VEGF抗体の併用作用（相乗作用）のために低下させうる。

【0127】

ここでの製剤はまた治療される特定の適応症に必要な一を越える活性化化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含みうる。例えば、一製剤中に、EGFR、VEGF（例えばVEGFと異なったエピトープ又は同じエピトープに結合する抗体）、VEGFR、又はErbB2（例えば、ハーセプチン（登録商標））に結合する抗体を更に提供することが望ましい場合がある。あるいは、又は加えて、組成物は細胞傷害剤、サイトカイン、増殖阻害剤及び/又はVEGFRアンタゴニストを含みうる。そのような分子は、好適には、意図される目的に対して効果的である量で併用されて存在する。

10

【0128】

方法及び使用の何れかのある態様では、本発明の抗体との併用療法に有用な他の治療剤は他の抗血管新生剤を含む。Carmeliet及びJain(2000)によって列挙されたものを含む多くの抗血管新生剤が同定されており、当該分野で知られている。一実施態様では、本発明の抗VEGF抗体は、他のVEGFアンタゴニスト又はVEGFレセプターアンタゴニスト、例えばVEGF変異体、可溶性VEGFレセプター断片、VEGF又はVEGFRをブロックすることができるアプタマー、中和抗VEGFR抗体、VEGFRチロシナーゼの低分子量インヒビター及びその任意の組み合わせと組み合わせで使用される。あるいは、又は加えて、2以上の抗VEGF抗体を被験者に同時投与してもよい。

20

【0129】

疾患の予防又は治療では、VEGF特異的アンタゴニストの適切な投薬量は、上述のように、治療される疾患のタイプ、疾患の重篤度及び過程、VEGF特異的アンタゴニストが予防目的か又は治療目的で投与されるかどうか、過去の療法、被験者の臨床履歴及びVEGF特異的アンタゴニストに対する応答、及び主治医の裁量に依存する。VEGF特異的アンタゴニストは一度に又は一連の治療にわたって被験者に適切に投与される。併用療法レジメンでは、本発明のVEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の抗癌治療剤は、治療的に有効な又は相乗的な量で投与される。ここで使用される場合、治療的に有効な量は、VEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤の同時投与、又は本発明の組成物の投与が、上述の癌の低減又は阻害を生じるようなものである。治療的に相乗

30

【0130】

VEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤は、腫瘍、休止腫瘍、又は微小転移巣の発生又は再発を低減させ又は除去するのに十分な量と時間、同時に又は連続して投与されうる。VEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤は、腫瘍の再発を防止し又はその可能性を低減するために維持療法として投与されうる。

【0131】

当業者によって理解されるように、化学療法剤又は他の抗癌剤の適切な用量は、例えば化学療法剤が単独で又は他の化学療法剤との併用で投与される場合のように、臨床治療において既に用いられているものと略同量である。投薬量における変動は治療される症状に応じて生じる可能性がある。治療を管理する医師が個々の被験者に対して適した用量を決定することができるであろう。

40

【0132】

上記治療計画に加えて、被験者に放射線療法を施すことができる。

【0133】

方法、使用及び組成物の何れかのある実施態様では、投与されるVEGF抗体はインタクトなネイキッド抗体である。しかしながら、VEGF抗体に細胞傷害剤をコンジュゲートさせてもよい。方法、使用及び組成物の何れかのある実施態様では、コンジュゲート抗体及び/又はそれが結合する抗原は、細胞に内部移行し、それが結合する癌細胞の死滅化

50

におけるコンジュゲートの治療効果を増加させる。一実施態様では、細胞傷害剤は癌細胞中の核酸を標的とし又はそれを妨害する。そのような細胞傷害剤の例は、メイタンシノイド、カリケアマイシン、リボヌクレアーゼ及びDNAエンドヌクレアーゼを含む。

【0134】

本発明は、無増悪生存期間を増加させ、被験者の癌再発のリスクを低減し又は被験者の生存の可能性を増加させるように抗VEGF抗体での治療を受けさせる指示を提供することによる、乳癌のヒト被験者又は医療提供者に指示する方法をまた特徴とする。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤での治療を受けさせる指示を提供することを更に含む。抗VEGF抗体での治療は、化学療法剤での治療と同時であるか又は連続的でありうる。ある実施態様では、被験者は、指示方法によって指示されるように治療される。化学療法を伴うか伴わない抗VEGF抗体の投与による乳癌の治療は、癌再発又は死亡まで継続されうる。

10

【0135】

本発明は、ヒト被験者における乳癌の治療のために抗VEGF抗体の投与を促進することを含むプロモーション方法を更に提供する。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤の投与を促進することを更に含む。抗VEGF抗体の投与は、化学療法剤の投与と同時であるか又は連続的でありうる。促進は利用できる任意の手段により実施されうる。幾つかの実施態様では、プロモーションは、抗VEGF抗体の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは、また化学療法剤の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは医師又は医療提供者への文書又は口頭による伝達によりうる。幾つかの実施態様では、プロモーションはパッケージ挿入物により、パッケージ挿入物が、抗VEGF抗体での乳癌治療を受けるための指示を提供する。更なる実施態様では、パッケージ挿入物は、実施例1の結果の幾つか又は全てを含む。幾つかの実施態様では、プロモーションには、化学療法剤を伴うか又は伴わない抗VEGF抗体での被験者の治療が続く。

20

【0136】

本発明は、被験者の無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における乳癌の治療のために抗VEGF抗体をマーケティングすることを含むビジネス方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、抗VEGF抗体と組合せて使用するための化学療法剤をマーケティングすることを更に含む。幾つかの実施態様では、マーケティングには、化学療法剤を伴うか又は伴わないで抗VEGF抗体で被験者を治療することが続く。

30

【0137】

また提供されるのは、被験者の無増悪生存期間を増加させ、被験者の癌再発のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における乳癌の治療のために抗VEGF抗体との併用で化学療法剤をマーケティングすることを含むビジネス方法である。幾つかの実施態様では、マーケティングには、化学療法剤と抗VEGF抗体の組合せで被験者を治療することが続く。

【0138】

IV. 投薬量及び期間

VEGF特異的アンタゴニスト組成物は、良好な医療実務に合致した形で製剤化され、用量決定され、投与される。この点で考慮される要因には、治療されている特定の疾患、治療されている特定の被験者、個々の被験者の臨床状態、疾患の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療実務家に既知の他の要因が含まれる。投与されるVEGF特異的アンタゴニストの「治療的に効果的な量」はこのような考慮によって支配され、癌を予防し、寛解し、又は治療し、又は安定化させ；進行までの時間（無増悪生存期間）を増加させ又は腫瘍、休止腫瘍、又は微小転移巣の発生又は再発を治療し又は予防するのに必要な最小量である。VEGF特異的アンタゴニストは、必要ではないが、場合によっては、癌を予防又は治療し、又は癌の発症のリスクを低減するために現在使用されている一又は複数の薬剤と共に製剤される。そのような他の薬剤の有効量は製剤中に存在

40

50

する V E G F 特異的アンタゴニストの量、疾患又は治療のタイプ、及び上で検討した他の要因に依存する。これらは一般に上述のものと同じ用量及び投与経路で、あるいはこれまで用いられた用量の約 1 から 99 % で使用される。

【 0 1 3 9 】

疾患の種類及び重症度に応じて、例えば一又は複数の別個の投与又は連続注入の何れであれ、約 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ から $100 \text{mg} / \text{kg}$ (例えば $0.1 - 20 \text{mg} / \text{kg}$) の V E G F 特異的アンタゴニストが被験者への最初の候補投与量である。上述した因子に応じて、典型的な一日の投与量は約 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ から約 $100 \text{mg} / \text{kg}$ あるいはそれ以上の範囲であるかもしれない。特に望ましい投薬量は、例えば、 $5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $7.5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 、及び $15 \text{mg} / \text{kg}$ を含む。数日間又はそれ以上の繰り返し投与の場合、状態によっては、上述の又は当該分野で知られている方法によって測定して、癌が治療されるまで治療が維持される。しかしながら、他の投与計画が有用でありうる。一例では、V E G F 特異的アンタゴニストが抗体である場合、発明の抗体は、毎週一回、2 週毎、又は 3 週毎に、限定しないが、 $5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $7.5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 又は $15 \text{mg} / \text{kg}$ を含む約 $5 \text{mg} / \text{kg}$ から約 $15 \text{mg} / \text{kg}$ の範囲の用量で投与される。本発明の治療の経過は、常套的な技術及びアッセイによって、容易にモニターされる。他の実施態様では、そのような投薬レジメンは、局所的に再発性の又は転移性の乳癌を治療するための一次療法として化学療法レジメンと組み合わせて使用される。適切な投薬量についての更なる情報は以下の実施例に提供される。

10

【 0 1 4 0 】

治療期間は、医療的に示されている限り、又は所望の治療効果 (例えばここに記載のもの) が達成されるまで、継続される。ある実施態様では、V E G F 特異的アンタゴニスト療法は、1 ヶ月、2 ヶ月、4 ヶ月、6 ヶ月、8 ヶ月、10 ヶ月、1 年、2 年、3 年、4 年、5 年、又は被験者の寿命までの何年かの期間、継続される。

20

【 0 1 4 1 】

本発明の V E G F 特異的アンタゴニストは、既知の方法に従って、例えば静脈内投与、例えばボラス又は一定期間中の連続注入、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑膜内、クモ膜下腔内、経口、局所、又は吸入経路により、被験者、例えばヒト被験者に投与される。広範な副作用又は毒性が V E G F アンタゴニストに伴う場合は局所投与が特に望ましい。エキソピボ方策がまた治療的用途に使用されうる。エキソピボ方策は、V E G F アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドを用いて、被験者から得られた細胞をトランスフェクト又は形質導入することを含む。ついで、トランスフェクトされ又は形質導入された細胞を被験者に戻す。細胞は、限定するものではないが、造血細胞 (例えば、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、T 細胞又は B 細胞)、線維芽細胞、上皮細胞、内皮細胞、ケラチノサイト、又は筋細胞を含む広範囲のタイプの何れかでありうる。

30

【 0 1 4 2 】

例えば、V E G F 特異的アンタゴニストが抗体である場合、抗体は、非経口、皮下、腹腔内、肺内、及び鼻腔内、及び局所的免疫抑制治療が望まれるならば、病巣内投与を含む任意の適切な手段によって投与される。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与を含む。また、抗体は、パルス注入によって、特に減少用量の抗体で適切

40

【 0 1 4 3 】

他の例では、V E G F 特異的アンタゴニスト化合物は、局所的に、例えば疾患又は腫瘍の位置が許容する場合は、直接の注射によって投与され、注射は定期的に繰り返されうる。V E G F 特異的アンタゴニストはまた例えば休止腫瘍又は微小転移巣の局所的再発又は転移を防止又は減少させるために、腫瘍の外科的切除後に腫瘍又は腫瘍床まで、被験者に全身的に又は腫瘍細胞に直接的に送達されうる。

【 0 1 4 4 】

あるいは、V E G F 特異的アンタゴニストをコードする核酸配列を含む阻害性核酸分子

50

又はポリヌクレオチドは、被験者の適切な細胞に送達されうる。ある実施態様では、核酸が腫瘍自体に向けられうる。

【0145】

核酸は用いられるベクターに適した任意の手段によって細胞中に導入されうる。多くのそのような方法が当該分野でよく知られている（上掲のSambrook等、及びWatson等、Recombinant DNA, Chapter 12, 2版, Scientific American Books, 1992）。遺伝子デリバリーの方法の例は、リボソーム媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム/D E A Eデキストラン法、遺伝子銃、及びマイクロインジェクションを含む。

【0146】

V. 薬学的製剤

本発明に従って使用される薬剤（例えば抗体）の治療製剤は、任意成分の薬学的に許容可能な担体、賦形剤又は安定剤と所望の純度を有する抗体を混合することによって（Remington's Pharmaceutical Sciences, 16版, Osol, A編 (1980)）、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で保存用に調製される。許容できる担体、賦形剤又は安定剤は、用いる投与量及び濃度では細胞に対して無毒性であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；保存料（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパラベン類、例えばメチル又はプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（残基数約10未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性重合体；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジン等のアミノ酸；グルコース、マンノース又はデキストリンを含む単糖類、二糖類及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体（例えばZn-タンパク質錯体）；及び/又はTWEENTM、PLURONICSTM又はポリエチレングリコール（PEG）等の非イオン性界面活性剤を含む。凍結乾燥抗VEGF抗体製剤は、出典明示によりここに援用される国際公開第97/04801号に記載されている。

【0147】

場合によっては、しかし好ましくは、製剤は、薬学的に許容可能な塩、典型的には例えば塩化ナトリウムを、好ましくはおおよそ生理的な濃度で含む。場合によっては、本発明の製剤は薬学的に許容可能な保存料を含みうる。幾つかの実施態様では、保存料の濃度は0.1から2.0%、典型的にはv/vの範囲である。好適な保存料は薬学の分野で知られているものを含む。ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、メチルパラベン、及びプロピルパラベンが保存料の例である。場合によっては、本発明の製剤は、0.005から0.02%の濃度で薬学的に許容可能な界面活性剤を含みうる。

【0148】

典型的には、ベバシズマブは、4ml又は16mlのベバシズマブ（25mg/ml）を送達させるために100mg及び400mgの保存料無添加で一回使用のバイアルで治療的用途に対して供給される。100mgの製品は、240mgの、-トレハロース無水物、23.2mgのリン酸ナトリウム（一塩基、一水和物）、4.8mgのリン酸ナトリウム（二塩基、無水物）、1.6mgのポリソルベート20、及び注射用水、USPで処方されている。400mgの製品は、960mgの、-トレハロース無水物、92.8mgのリン酸ナトリウム（一塩基、一水和物）、19.2mgのリン酸ナトリウム（二塩基、無水物）、6.4mgのポリソルベート20、及び注射用水、USPで処方されている。ベバシズマブのレベルをまた参照のこと。

【0149】

また、製剤は、治療される特定の適応症に必要な一を越える活性化化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含有しうる。例えば、一製剤中にEG

10

20

30

40

50

FR、VEGF（例えばVEGF上の異なったエピトープに結合する抗体）、VEGFR、又はErbb2（例えばハーセプチン（登録商標））に結合する抗体を更に提供することが望ましい場合がある。あるいは、又は加えて、組成物は、細胞傷害剤、サイトカイン、増殖阻害剤及び/又はVEGFRアンタゴニストを含有しうる。このような分子は、好適には、意図した目的に有効な量で組合せて存在する。

【0150】

また活性成分は、例えばコアセルベーション法又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセルに、コロイド状薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロエマルジョンに捕捉することができる。このような技術はRemington's Pharmaceutical Sciences, 16版, Oslo, A. 編(1980)に開示されている。

10

【0151】

徐放性調製物を調製してもよい。徐放性調製物の適切な例には、抗体を含む固体疎水性重合体の半透性マトリックスが含まれ、このマトリックスはフィルム又はマイクロカプセル等の成形品の形態である。徐放性マトリックスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル(例えばポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)、又はポリ(ビニルアルコール))、ポリラクチド(米国特許第3773919号)、L-グルタミン酸とD-エチル-L-グルタマートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、分解性の乳酸-グリコール酸コポリマー、例えばLUPRON DEPOSITTM(乳酸-グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドからなる注入可能なミクロスフィア)、及びポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。エチレン-酢酸ビニルや乳酸-グリコール酸等のポリマーは100日以上分子を放出できるが、ある種のヒドロゲルはより短い時間タンパク質を放出する。カプセル化された抗体は体内に長い間残る場合、37℃での水分に暴露される結果、変性し又は凝集して、生物活性を消失させ、免疫原性を変化させる可能性がある。関与する機構に応じて安定化のための合理的な方策を案出することができる。例えば、関連するメカニズムに応じて安定性を得るための合理的な処置が案出できる。例えば、凝集機構がチオ-ジスルフィド交換による分子間S-S結合の形成であることが分かれば、スルフヒドリル残基を改変し、酸性溶液から凍結乾燥し、水分量を調整し、適当な添加物を使用し、特定の重合体マトリックス組成物を開発することで、安定化を達成することができる。

20

30

【0152】

インビボ投与に使用される製剤は無菌でありうる。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

【0153】

VI. 治療の効果

ここに提供される方法、使用及び組成物の何れかの主な効果は、被験者が治療全体から恩恵を受けるように、有意な毒性又は副作用を生じることなくヒト被験者に顕著な抗癌効果を生じせしめる能力である。方法、使用及び組成物の何れかの一実施態様では、安全性プロファイルは過去のベパシズマブ第III相試験に匹敵する。本発明の治療の効果は、限定するものではないが、腫瘍退縮、腫瘍重さ又はサイズの縮み、腫瘍増殖停止時間、生存期間、無増悪生存期間、奏効率、奏効期間、及び生活の質を含む、癌治療の評価に一般的に使用される様々なエンドポイントによって測定されうる。本発明の抗血管新生剤は腫瘍脈管構造を標的とし、必ずしも腫瘍細胞自体を標的としないので、それらは抗癌薬の独特のクラスを表し、よって薬剤に対する臨床応答の独特の尺度及び定義を必要とする場合がある。例えば、2次元解析で50%を越える腫瘍の縮みは応答を宣言するための標準的なカットオフである。しかしながら、本発明の抗VEGF抗体は、原発性腫瘍の縮みを伴わないで転移性広がり阻害を生じる場合があり、又は腫瘍抑制(tumouristatic)効果を単に生じる場合がある。従って、血管新生の血漿又は尿マーカーの測定及び放射線学的造影を通した応答の測定を含む例えば抗血管新生療法の効果を決断するために新規なアプローチ法が用いられなければならない。

40

50

【 0 1 5 4 】

他の実施態様では、本発明は、癌に罹りやすいか又は癌と診断されたヒト被験者の無増悪生存期間を増加させる方法を提供する。無増悪期間は薬剤の投与から疾患の進行又は死亡までの時間として定義される。好ましい実施態様では、抗 V E G F 抗体及び一又は複数の化学療法剤を使用する本発明の併用治療は、化学療法単独での治療と比較した場合、少なくとも約 1 ヶ月、1 . 2 ヶ月、2 ヶ月、2 . 4 ヶ月、2 . 9 ヶ月、3 . 5 ヶ月、好ましくは約 1 から約 5 ヶ月、無増悪生存期間を有意に増加させる。一実施態様では、月数での PFS 中央値 (95% CI) は、ベパシズマブ及びタキサン療法 (例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子 (例えば、アブラキサン (登録商標))) / アントラサイクリン療法 (例えば、ドキシソルピシン, エピルピシン又はその組合せ) で治療された被験者において、ベパシズマブを用いないタキサン / アントラサイクリン療法の 8.0 ヶ月 (6.7, 8.4) と比較して、9.2 ヶ月 (8.6, 10.1) であり、HR (95% CI) 0.644 (0.522, 0.795)、p-値 (ログランク) 0.0001 未満である。一実施態様では、ベパシズマブ及びタキサン / アントラサイクリンで治療された被験者における P F S は、プラセボ及びタキサン / アントラサイクリンで治療された被験者における 8 . 3 と比較して、1 0 . 7 ヶ月である。一実施態様では、月数での PFS 中央値 (95% CI) は、ベパシズマブ及びカペシタピンで治療された被験者において、ベパシズマブを用いないカペシタピン療法の 5 . 7 ヶ月 (4 . 3, 6 . 2) と比較して、8 . 6 ヶ月 (8 . 1, 6 . 2) であり、HR (95% CI) 0.688 (0.564, 0.840)、p-値 (ログランク) 0.0002 である。一実施態様では、ベパシズマブ及びカペシタピンで治療された被験者における P F S は、プラセボ及びカペシタピンで治療された被験者における 6 . 2 と比較して、9 . 7 ヶ月である。

10

20

【 0 1 5 5 】

更に他の実施態様では、本発明の治療は、様々な治療剤で治療されている癌に罹患しやすいか又は診断されたヒト被験者群における奏効率を有意に増加させる。奏効率は、治療に应答した治療された被験者の割合として定義される。一態様では、抗 V E G F 抗体及び一又は複数の化学療法剤を使用する本発明の併用療法は、化学療法単独で治療された群と比較して治療された被験者群における奏効率を有意に増加させる。

【 0 1 5 6 】

一態様では、本発明は、癌に罹患しやすいか又は診断されたヒト被験者群における奏効期間を増加させる方法を提供する。奏効期間は最初の应答から疾患進行までの時間として定義される。

30

【 0 1 5 7 】

一実施態様では、本発明は、癌に罹患しやすいか又は癌と診断されたヒト被験者の生存期間を増加させるために使用することができる。

【 0 1 5 8 】

V I I . 抗体生産

(i) ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好ましくは、関連する抗原とアジュバントを複数回皮下 (s c) 又は腹腔内 (i p) 注射することにより動物において産生される。免疫化される種において免疫原性であるタンパク質、例えばキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、又は大豆トリプシンインヒビターに関連抗原を、二官能性又は誘導体形成剤、例えばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル (システイン残基によるコンジュゲーション)、N-ヒドロキシスクシンイミド (リジン残基による)、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、S O C l₂、又は R と R¹ が異なったアルキル基である R¹ N = C = N R によりコンジュゲートさせることが有用である。

40

【 0 1 5 9 】

動物を、例えばタンパク質又はコンジュゲート 1 0 0 µ g 又は 5 µ g (それぞれウサギ又はマウスの場合) を完全フロイントアジュバント 3 容量と混合し、その溶液を複数部位に皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲート、又は誘導体に対して免疫化する。1 ヶ月後、その動物を、完全フロイントアジュバントに入れた初回量の 1 / 5 な

50

いし 1 / 10 のペプチド又はコンジュゲートを用いて複数部位に皮下注射することにより、追加免疫する。7 から 14 日後に動物を採血し、抗体価について血清を検定する。動物は、力価がプラトーに達するまで追加免疫する。好ましくは、動物は、同じ抗原のコンジュゲートであるが、異なったタンパク質にコンジュゲートさせた、及び / 又は異なった架橋剤によってコンジュゲートさせたコンジュゲートで追加免疫する。コンジュゲートはまたタンパク融合体として組換え細胞培養中で調製することもできる。また、ミョウバンのような凝集化剤が、免疫反応の増強のために好適に使用される。

【 0 1 6 0 】

(i i) モノクローナル抗体

ここでのモノクローナル抗体を作製するための様々な方法は当該分野で利用できる。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler 等, Nature, 256:495 (1975) により最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して、又は組換え DNA 法(米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号)によって作製することができる。

10

【 0 1 6 1 】

ハイブリドーマ法においては、マウス又はその他の適当な宿主動物、例えばハムスター又はマカクザルを上記したようにして免疫し、免疫化に用いられるタンパク質と特異的に結合する抗体を生産するか又は生産することのできるリンパ球を誘発する。別法として、リンパ球をインビトロで免疫することもできる。次に、リンパ球を、ポリエチレングリコールのような適当な融剤を用いて骨髄腫細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103 頁(Academic Press, 1986))。

20

【 0 1 6 2 】

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない親の骨髄腫細胞の増殖又は生存を阻害する一又は複数の物質を好ましくは含む適当な培地に蒔き、増殖させる。例えば、親の骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチンデアニジンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRT 又は HPR T)を欠失するならば、ハイブリドーマのための培地は、典型的には、HGPRT 欠失細胞の増殖を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミジンを含むであろう(HAT 培地)。

【 0 1 6 3 】

好ましい骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な高レベルの生産を支援し、HAT 培地のような培地に対して感受性である細胞である。これらの中でも、好ましい骨髄腫細胞株は、マウス骨髄腫株、例えば、ソーク・インスティテュート・セル・ディストリビューション・センター、サンディエゴ、カリフォルニア、USA から入手し得る MOPC-21 及び MPC-11 マウス腫瘍、及びアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、ロックヴィル、メリーランド、USA から入手し得る SP-2 又は X63-Ag8-653 細胞から誘導されたものである。ヒト骨髄腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もまたヒトモノクローナル抗体の産生のために開示されている(Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur 等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 51-63 頁(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

30

【 0 1 6 4 】

ハイブリドーマ細胞が増殖している培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降又はインビトロ結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)又は酵素結合免疫吸着検定(ELISA)によって測定する。

40

【 0 1 6 5 】

所望の特異性、親和性、及び / 又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、該クローンを限界希釈法によりサブクローニングし、標準的な方法により増殖させることができる(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103 頁(Academic Press, 1986))。この目的に対して好適な培地には、例えば、D-MEM 又は RPMI-1640 培地が含まれる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹

50

水腫瘍としてインビボで増殖させることができる。

【0166】

サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテインA-セファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティークロマトグラフィーのような常套的な免疫グロブリン精製法により、培地、腹水、又は血清から適切に分離される。

【0167】

モノクローナル抗体をコードしているDNAは、常法を用いて(例えば、モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖をコードしている遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより)直ぐに単離され配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、このようなDNAの好ましい供給源となる。ひとたび単離されたならば、DNAを発現ベクター中に入れ、ついでこれを、そうしないと免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルコス細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、又は骨髓腫細胞のような宿主細胞中にトランスフェクトし、組換え宿主細胞中でモノクローナル抗体の合成を達成することができる。抗体の組換え生産は以下に更に詳細に記載する。

10

【0168】

更なる実施態様では、抗体又は抗体断片は、McCafferty等, Nature, 348:552-554 (1990)に記載された技術を使用して産生される抗体ファージライブラリーから単離することができる。Clackson等, Nature, 352:624-628 (1991)及び Marks等, J.Mol.Biol., 222:581-597 (1991)は、ファージライブラリーを使用したマウス及びヒト抗体の単離を記述している。続く刊行物は、鎖シャッフリングによる高親和性(nM範囲)のヒト抗体の生産(Marks等, Bio/Technology, 10:779-783(1992))、並びに非常に大きなファージライブラリーを構築するための方策としてコンビナトリアル感染とインビボ組換え(Waterhouse等, Nuc.Acids.Res., 21:2265-2266(1993))を記述している。従って、これらの技術はモノクローナル抗体の分離に対する伝統的なモノクローナル抗体ハイブリドーマ法に対する実行可能な代替法である。

20

【0169】

DNAはまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード化配列を、相同的マウス配列に代えて置換することにより(米国特許第4816567号; Morrison等, Proc.Natl.Acad.Sci., USA, 81:6851(1984))、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部又は一部を共有結合させることで修飾できる。

30

【0170】

典型的には、このような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインに置換され、又は抗体の一抗原結合部位の可変ドメインに置換されて、抗原に対する特異性を有する一つの抗原結合部位と異なる抗原に対する特異性を有するもう一つの抗原結合部位を含むキメラ二価抗体を作り出す。

【0171】

(iii) ヒト化及びヒト抗体

ヒト化抗体には非ヒトである由来の一又は複数のアミノ酸残基が導入されている。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と呼ばれる。ヒト化は、本質的にはヒト抗体の対応する配列に齧歯類CDRs又はCDR配列を置換することによりウィンターと共同研究者の方法(Jones等, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann等, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen等, Science, 239:1534-1536(1988))を使用して実施することができる。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第4816567号)である。実際には、ヒト化抗体は、典型的には幾らかの高頻度可変領域残基及び場合によっては幾らかのFR残基が齧歯類抗体の類似部位からの残基によって置換されているヒト抗体である。

40

【0172】

抗原性を低減するには、ヒト化抗体を作製する際に使用されるヒトの軽重両方の可変ド

50

メインの選択が非常に重要である。いわゆる「ベストフィット法」では、齧歯動物抗体の可変ドメインの配列を既知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングする。次に齧歯動物のものに最も近いヒト配列をヒト化抗体のヒトフレームワーク領域(FR)として受け入れる(Sims等, *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia等, *J. Mol. Biol.*, 196:901(1987))。他の方法では、軽又は重鎖の特定のサブグループのヒト抗体全てのコンセンサス配列から誘導される特定のフレームワーク領域を使用する。同じフレームワークを幾つかの異なるヒト化抗体に使用できる(Carter等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta等, *J. Immunol.*, 151:2623(1993))。

【0173】

更に、抗体を、抗原に対する高親和性や他の好ましい生物学的性質を保持してヒト化することが重要である。この目標を達成するべく、好ましい方法では、親及びヒト化配列の三次元モデルを使用して、親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析工程を経てヒト化抗体を調製する。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に入手可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推測三次元立体配座構造を図解し、表示するコンピュータプログラムが購入可能である。これら表示を調べることで、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能な役割の分析、すなわち候補免疫グロブリンの抗原との結合能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このようにして、例えば標的抗原に対する親和性が高まるといった、望ましい抗体特性が達成されるように、FR残基をレシピエント及び移入配列から選択し、組み合わせることができる。一般的に、CDR残基は、直接的かつ最も実質的に抗原結合性に影響を及ぼしている。

【0174】

ヒト化抗VEGF抗体及びその親和性成熟変異体は、例えば2005年2月26日発行の米国特許第6884879号に記載されている。

【0175】

内因性の免疫グロブリン産生がなくともヒト抗体の全レパートリーを免疫化することで産生することのできるトランスジェニック動物(例えば、マウス)を作ることが今は可能である。例えば、キメラ及び生殖系列突然変異体マウスにおける抗体重鎖結合領域(J_H)遺伝子の同型接合除去が内因性抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記載されている。このような生殖系列突然変異体マウスにおけるヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子列の転移は、抗原投与時にヒト抗体の産生をもたらす。例えばJakobovits等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits等, *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggerman等, *Year in Immunol.*, 7:33 (1993); 及びDuchosal等 *Nature* 355:258 (1992)を参照のこと。

【0176】

別法として、ファージディスプレイ技術(McCafferty等, *Nature* 348:552-553 (1990))を使用して、非免疫化ドナーの免疫グロブリン可変(V)ドメイン遺伝子レパートリーから、インビトロでヒト抗体及び抗体断片を産出させることができる。この技術によれば、抗体Vドメイン遺伝子を、糸状バクテリオファージ、例えばM13又はfdの主要又は微量コートタンパク質遺伝子の何れかにインフレームでクローニングし、ファージ粒子の表面に機能的抗体断片として表示させる。糸状粒子がファージゲノムの一本鎖DNAコピーを含むので、抗体の機能的特性に基づく選別を行ってもそれらの性質を表す抗体をコードする遺伝子が選別される。よって、ファージはB細胞の性質の幾つかを模倣している。ファージディスプレイは多様な形式で行うことができる; 例えばJohnson, Kevin S. 及びChiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993)を参照のこと。V-遺伝子セグメントの幾つかの供給源を、ファージディスプレイのために使用できる。Clackson等, *Nature*, 352:624-628 (1991)は、免疫化したマウス脾臓由来のV遺伝子の小さいランダムなコンビナトリアルライブラリーから、抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。非免疫化ヒトドナーのV遺伝子のレパートリーを構築することができ、抗原(自己抗原を含む)の多様なアレイに対する抗体は、Marks等, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991)、又はGriffith等, *EMBO J.* 12:725-734 (1993)に記載の技術にそのまま従うことで単離することができる。また、米国特許第5565332号及び同55739

10

20

30

40

50

05号を参照のこと。

【0177】

上で検討されているように、ヒト抗体はまたインビトロで活性化されたB細胞によって産生されうる(米国特許第5567610号及び同第5229275号を参照)。

ヒトモノクローナル抗VEGF抗体は、1998年3月24日に発行された米国特許第5730977号に記載されている。

【0178】

(iv) 抗体断片

抗体断片を生産するために様々な技術が開発されている。伝統的には、これらの断片は、インタクトな抗体のタンパク分解性消化を介して誘導されていた(例えば、Morimoto等, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992)及びBrennan等, *Science*, 229:81(1985)を参照)。しかし、これらの断片は今は組換え宿主細胞により直接生産することができる。例えば、抗体断片は上において検討した抗体ファージライブラリーから分離することができる。別法として、Fab'-SH断片は大腸菌から直接回収し、化学的に結合させてF(ab')₂断片を形成することができる(Carter等, *Bio/Technology* 10:163-167(1992))。他のアプローチ法では、F(ab')₂断片を組換え宿主細胞培養から直接分離することができる。抗体断片の生産のための他の方法は当業者には明らかであろう。他の実施態様では、選択抗体は単鎖Fv断片(scFv)である。国際公開第93/16185号を参照。

10

【0179】

(v) 他のアミノ酸配列修飾

ここに記載の抗体のアミノ酸配列の修飾を考える。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望まれうる。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体核酸中に適当なヌクレオチド変化を導入することにより、又はペプチド合成により調製される。そのような修飾は、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の欠失及び/又は挿入及び/又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特徴を有するとするならば、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせは、その最終コンストラクトに達するまでなされる。また、アミノ酸変化は、グリコシル化部位の数又は位置の変化などの、抗体の翻訳後プロセスを変更しうる。

20

【0180】

突然変異誘発の好ましい位置である抗体の所定の残基又は領域の特定のために有用な方法は、Cunningham及びWells, *Science* 244: 1081-1085 (1989)に記載されているように「アラニンスキャンニング突然変異誘発」と呼ばれる。ここで、標的残基の残基又は基が同定され(例えば、arg、asp、his、lys、及びglu等の荷電残基)、中性又は負荷電アミノ酸(最も好ましくはアラニン又はポリアラニン)に置換され、アミノ酸と抗原との相互作用に影響を及ぼす。ついで、置換に対する機能的感受性を示すこれらのアミノ酸の位置は、置換部位において又はそれに対して更なる又は他の変異体を導入することにより精製される。しかして、アミノ酸配列変異を導入する部位は予め決定されるが、変異自体の性質は予め決める必要はない。例えば、与えられた部位における変異の性能を分析するために、alaスキャンニング又はランダム突然変異誘発を標的コドン又は領域

30

40

【0181】

アミノ酸配列挿入は、1残基から100以上の残基を含むポリペプチドの長さの範囲のアミノ-及び/又はカルボキシル末端融合物、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入物を含む。末端挿入物の例には、N末端メチオニル残基を持つ抗体又は細胞傷害性ポリペプチドに融合した抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、抗体の血清半減期を増加させる酵素(例えばADEPT)又はポリペプチドへの抗体のN又はC末端への融合物を含む。

【0182】

他のタイプの変異体はアミノ酸置換変異体である。これらの変異体は、抗体中に異なっ

50

た残基により置換される少なくとも一のアミノ酸残基を有する。置換突然変異について関心ある部位は高度可変領域を含むが、FR改変もまた考慮される。

【0183】

抗体の生物学的性質における実質的な修飾は、(a)置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又は螺旋配置、(b)標的部位の分子の電荷又は疎水性、又は(c)側鎖の嵩の維持についてのその効果が有意に異なる置換を選択することにより達成される。アミノ酸は、その側鎖の特性の類似性に従ってグループ化することができる(A. L. Lehninger, in Biochemistry, 2版, pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)):

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

10

(2) 無電荷極性: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)

(3) 酸性: Asp (D), Glu (E)

(4) 塩基性: Lys (K), Arg (R), His (H)

【0184】

別法では、天然に生じる残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる:

(1) 疎水性: Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) 中性の親水性: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) 酸性: Asp, Glu;

20

(4) 塩基性: His, Lys, Arg;

(5) 鎖配向に影響する残基: Gly, Pro;

(6) 芳香族: Trp, Tyr, Phe.

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【0185】

抗体の適切な高次構造を維持することに関与していない任意のシステイン残基も、一般的には、セリンと置換して、分子の酸化安定性を改善し、異常な架橋を防ぐ。逆に、システイン結合をその抗体に付加して、その安定性を改善してもよい(特に抗体がFv断片などの抗体断片である場合)。

30

【0186】

特に好ましい型の置換変異体は、親抗体(例えばヒト化又はヒト抗体)の一又は複数の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的に、更なる発展のために選択され、得られた変異体は、それらが作製された親抗体と比較して改善された生物学的特性を有している。そのような置換変異体を作製する簡便な方法は、ファージディスプレイを使用する親和性成熟を含む。簡潔に言えば、幾つかの高頻度可変領域部位(例えば6-7部位)を変異させて各部位においてあらゆる可能なアミノ酸置換を生成させる。このようにして生成された抗体変異体は、糸状ファージ粒子から、各粒子内に充填されたM13の遺伝子III産物への融合物としてディスプレイされる。ファージディスプレイ変異体は、ついで、ここに開示されるようなそれらの生物学的活性(例えば、結合親和性)についてスクリーニングされる。修飾のための候補となる高頻度可変領域部位を同定するために、アラニンスキャンニング突然変異誘発を実施し、抗原結合に有意に寄与する高頻度可変領域残基を同定することができる。別法として、又はそれに加えて、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して抗体とヒトVEGFの間の接点を特定するのが有利である場合もある。このような接触残基及び隣接残基は、ここに述べた技術に従う置換の候補である。そのような変異体がひとたび生成されると、変異体のパネルにここに記載するようなスクリーニングを施し、一又は複数の関連アッセイにおいて優れた特性を持つ抗体を更なる開発のために選択することができる。

40

【0187】

抗体のアミノ酸変異体の他の型は、抗体の元のグリコシル化パターンを変更する。変更

50

とは、抗体に見い出される一又は複数の糖鎖部分の欠失、及び/又は抗体に存在しない一又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。

【0188】

抗体のグリコシル化は、典型的には、N結合又はO結合の何れかである。N結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を意味する。アスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニン(ここでXはプロリンを除く任意のアミノ酸)のトリペプチド配列は、アスパラギン側鎖への糖鎖部分の酵素的結合のための認識配列である。従って、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列の何れかが存在すると、潜在的なグリコシル化部位が作出される。O結合グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリン又はスレオニンに、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、又はキシロースの糖類のうち一つが結合することを意味するが、5-ヒドロキシプロリン又は5-ヒドロキシリジンもまた用いることができる。

10

【0189】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列を、上述のトリペプチド配列(N結合グリコシル化部位のもの)の一又は複数をそれが含むように変化させることによって簡便に達成される。該変化はまた元の抗体の配列への一又は複数のセリン又はスレオニン残基の付加、欠失、又は置換によってなされる(O-結合グリコシル化部位の場合)。

【0190】

抗体がFc領域を含む場合、それに結合する炭水化物を変更してもよい。例えば、抗体のFc領域に結合したフコースを欠く成熟炭水化物構造を持つ抗体は、Presta, L.の米国特許出願公開第2003/0157108A1号に記載されている。また米国特許出願公開第2004/0093621 A1号(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)を参照のこと。抗体のFc領域に結合した炭水化物中に二分岐N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)を有する抗体は、Jean-Mairet等の国際公開第03/011878号、及びUmana等の米国特許第6602684号が参照される。抗体のFc領域に結合したオリゴ糖中に少なくとも一つのガラクトース残基を有する抗体は、Patel等の国際公開第97/30087号に報告されている。またそのFc領域に結合した改変された炭水化物を有する抗体に関しては、国際公開第98/58964号(Raju, S.)及び国際公開第99/22764号(Raju, S.)を参照のこと。

20

【0191】

エフェクター機能、例えば抗体の細胞依存性細胞媒介性細胞障害(ADCC)及び/又は補体依存性細胞障害(CDC)を向上させるように、本発明の抗体を修飾することが望ましい場合がある。このことは、抗体のFc領域に一又は複数のアミノ酸置換を導入することにより達成されうる。あるいは、又は付加的にシステイン残基をFc領域に導入し、それにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合を形成させるようにしてもよい。そのようにして産生されたホモ二量体抗体は、改善された内部移行能力及び/又は増加した補体媒介性細胞殺傷及び抗体-依存性細胞性細胞障害(ADCC)を有しうる。Caron等, J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992)及びShopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992)を参照のこと。向上した抗腫瘍活性を持つホモ二量体抗体はまたWolff等, Cancer Research 53: 2560-2565 (1993)に記載されたようなヘテロ二官能性架橋剤を用いても調製されうる。あるいは、抗体は、2つのFc領域を有するように加工して、それにより補体溶解及びADCC能力を向上させることもできる。Stevenson等, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)を参照のこと。

30

40

【0192】

国際公開第00/42072号(Presta, L.)は、抗体がそのFc領域内にアミノ酸置換を含む場合のヒトエフェクター細胞の存在下で改善されたADCC機能を有する抗体を開示している。好ましくは、改善されたADCCを有する抗体はFc領域の位置298、333及び/又は334に置換を含む(残基のEu番号付け)。好ましくは、変更されたFc領域は、それらの位置のうち1、2又は3つに置換を含むか又はそれらからなるヒトIgG1Fc領域である。そのような置換は、C1q結合及び/又はCDCを増加させる

50

置換と場合によっては組み合わせられる。

【0193】

変更したC1q結合及び/又は補体依存性細胞障害(CDC)を有する抗体は、国際公開第99/51642号、米国特許第6194551B1号、米国特許第6242195B1号、米国特許第6528624B1号及び米国特許第6538124号(Idsogie等)に記載されている。抗体は、そのFc領域の一又は複数のアミノ酸位置270、322、326、327、329、313、333及び/又は334にアミノ酸置換を含む(残基のEu番号付け)。

【0194】

抗体の血清半減期を増加させるために、例として米国特許第5739277号に記載されているように抗体(特に抗体断片)内にサルベージレセプター結合エピトープを組み込んでもよい。ここで使用される場合、「サルベージレセプター結合エピトープ」なる用語は、IgG分子のインビボ血清半減期の増加の原因であるIgG分子(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃又はIgG₄)のFc領域のエピトープを表す。

10

【0195】

新生児Fcレセプター(FcRn)への結合が向上し、半減期が増加している抗体は、国際公開第00/42072号(Presta, L.)及び米国公開特許第2005/0014934号A1(Hinton等)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を向上させる一又は複数の置換をそこに有するFc領域を含んでなる。例えば、Fc領域は、一又は複数の位置238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428又は434(残基のEu番号付け)に置換を有しうる。改善したFcRn結合を有する好適なFc領域含有抗体変異体は、そのFc領域の位置307、380及び434(残基のEu番号付け)のうちの1、2又は3にアミノ酸置換を含んでなる。一実施態様では、抗体は307/434変異を有する。

20

【0196】

3以上(好ましくは4)の機能的抗原結合部位を有する操作抗体がまた考えられる(Miller等の米国特許出願公開番号US2002/0004587A1)。

【0197】

抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当該分野で知られている様々な方法によって調製される。これらの方法は、限定するものではないが、天然源からの単離(天然に生じるアミノ酸配列変異体の場合)又はオリグヌクレオチド媒介(又は部位特異的)突然変異誘発、PCR突然変異誘発、及び抗体の先に調製された変異体又は非変異体型のカセット突然変異誘発による調製を含む。

30

【0198】

(vi) 免疫複合体

また、本発明は、化学療法剤、毒素(例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片)などの細胞傷害剤、あるいは放射性同位体(つまり、放射性コンジュゲート)とコンジュゲートしたここに記載の抗体を含む免疫複合体に関する。

【0199】

そのような免疫複合体の産生に有用な化学療法剤は上に記載した。使用可能な酵素活性毒及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖(シュードモナス・アエルギノーサ(*Pseudomonas aeruginosa*)由来)、リシンA鎖、アプリンA鎖、モデシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン(sarcin)、アレウライツ・フォルディイ(*Aleurites fordii*)プロテイン、ジアンシン(dianthin)プロテイン、フィトラッカ・アメリカーナ(*Phytolacca americana*)プロテイン(PAPI、PAPII及びPAP-S)、モモルディカ・キャランティア(*Momordica charantia*)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン、サパオナリア(*Saponaaria*)オフィシナリスインヒビター、ゲロニン(gelonin)、マイトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコセセンス(tricothecenes)が含まれる。様々な放射性核種が放射性

40

50

コンジュゲート抗体の生産に利用できる。例には、²¹²Bi、¹³¹I、¹³¹In、⁹⁰Y及び¹⁸⁶Reが含まれる。

【0200】

抗体と細胞傷害剤のコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート(SPD P)、イミノチオラン(IT)、イミドエステル類の二官能性誘導体(例えばジメチルアジピミダートHCL)、活性エステル類(例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル)、アルデヒド類(例えば、グルタルアルデヒド)、ビス-アジド化合物(例えば、ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミン)、ビス-ジアゾニウム誘導体(例えば、ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えば、トリエン-2,6-ジイソシアネート)、及びビス活性フッ素化合物(例えば1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等、Science 238:1098(1987)に記載されているようにして調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレン-トリアミン五酢酸(MX-DTPA)は抗体に放射性ヌクレオチドをコンジュゲートするためのキレート剤の例である。国際公開第94/11026号を参照。

10

【0201】

他の実施態様では、腫瘍の事前ターゲティングに利用するために、「レセプター」(例えばストレプトアビジン)に抗体をコンジュゲートすることができ、ここで抗体-レセプター-コンジュゲートを被験者に投与し、続いて清澄剤を使用し、循環から未結合コンジュゲートを除去し、細胞傷害剤(例えば放射性ヌクレオチド)にコンジュゲートする「リガンド」(例えばアビジン)を投与する。

20

【0202】

(vii) 免疫リポソーム

ここに開示されている抗体はまた免疫リポソームとして製剤化することもできる。抗体を含むリポソームは、例えばEpstein等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688(1985); Hwang等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030(1980); 及び米国特許第4485045号及び同4544545号に記載されているような、当該分野で知られている方法により調製される。循環時間が改善されたリポソームは米国特許第5013556号に開示されている。

30

【0203】

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含有する脂質組成物を用いた逆相蒸発法により作製することができる。リポソームは孔径が定められたフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームが得られる。本発明の抗体のFab'断片は、ジスルフィド交換反応を介して、Martin等、J. Biol. Chem. 257:286-288(1982)に記載されているようにしてリポソームにコンジュゲートすることができる。場合によっては、化学療法剤はリポソーム内に収容される。Gabizon等、J. National Cancer Inst. 81(19)1484(1989)を参照。

【0204】

VIII. 製造品

本発明の他の実施態様では、前述した疾患の治療に有用な物質を含む製造品が提供される。製造品は、容器、ラベル及びパッケージ挿入物を含んでなる。適切な容器には、例えばボトル、バイアル、シリンジ等が含まれる。容器はガラス又はプラスチックのような様々な材料で形成することができる。容器は症状の治療に有効な組成物を収容しており、滅菌したアクセスポートを有している(例えば、容器は皮下注射針により貫通可能なストッパーを具備する静脈溶液用のバック又はバイアルであってよい)。組成物中の少なくとも一種の活性剤は抗VEGF抗体である。容器上の又は容器に伴うラベルには、組成物が、選択された症状の治療に使用されることが示されている。製造品は、製薬的に許容可能なバッファー、例えばリン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びブドウ糖液を収容する第2の

40

50

容器を更に含む。更に、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、シリンジを含む、市販及び使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。加えて、製造品は、例えば抗VEGF抗体組成物と化学療法剤、例えばカペシタビン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、ドキソルビシン、エピルビシン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド又はその組合せを投与することを組成物の使用者に指示することを含む、使用のための指示書を伴うパッケージ挿入物を含む。パッケージ挿入物は場合によっては実施例1に見出される結果の幾つか又は全てを含んでもよい。

【0205】

VEGF特異的アンタゴニストは、単独で、又は他の抗癌治療化合物と組み合わせてキットとして包装されうる。キットは、被験者に対する単位用量の投与を補助する任意の構成要素、例えば粉末形態を再構成するためのバイアル、注射のためのシリンジ、カスタマイズされた静脈内デリバリー系、インヘラー等を含む。加えて、単位投薬キットは、組成物の調製及び投与のための指示書を含む。ある実施態様では、指示書は、抗VEGF抗体組成物及び科学療法剤、例えば、カペシタビン、タキサン、アントラサイクリン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、ドキソルビシン、エピルビシン、5-フルオロウラシル、シクロホスファミド又はその組合せを被験者に投与することを組成物の使用者に例えば指示することを含む、使用のために指示を含む。指示書は実施例1に見出される結果の幾らか又は全てを場合によっては含んでもよい。キットは、ある被験者に対しては一回使用の単位用量、特定の被験者に対しては複数回使用（一定用量で又は個々の化合物が治療の進行に応じて作用強度が変化しうる）として製造することができ；又はキットは、複数の被験者への投与に適した複数の用量を含む（「パルクパッケージング」）。キット構成成分は、カートン、プリスターパック、ビン、チューブ等に組み込むことができる。

【0206】

材料の寄託

次のハイブリドーマ細胞株を合衆国バージニア州マナッサスのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ATCC）にブタペスト条約の規定に従って寄託した：

抗体標記	ATCC番号	寄託日
A.4.6.1	ATCC HB-10709	1991年3月29日

【0207】

以下の実施例は本発明の実施を例示するためにのみ提供されるものであって、限定するものではない。ここで引用した全ての特許と科学文献を、その全体について出典明示によりここに援用する。

【実施例】

【0208】

実施例1．過去に治療されていない転移性乳癌の患者における化学療法レジメンとの併用のベパシズマブ

転移性乳癌（MBC）は不治の疾病であり、患者の大部分は診断の2年以内にその疾患で死んでいる（Greenberg等，1996，*J. Clin. Oncol.* 14:2197-205；Dawood等，2008，*J. Clin. Oncol.* 26:4891-8；及びChia等，*Cancer*，2007，110:973-9）。MBCを呈する患者のうち、およそ60%が、過去に再発した局在化した疾患を呈しており；患者のおよそ40%が新規に転移性疾患を呈する。

【0209】

MBCにおける2つの先の無作為第III相試験で、タキサン類を用いた初期の化学療法にベパシズマブを加えることからの恩恵が証明された。中心的な第III相のE2100試験では、無増悪生存期間（PFS）は、パクリタキセル単独で治療された者におけるよりも毎週パクリタキセル+ベパシズマブで治療された患者において有意に長かった（Miller at al., *N. Engl. J. Med.*, 2007, 357:2666-76）。同様に、ドセタキセルとのベパシズマブ（7.5及び15mg/kg q3w）の組合せを調査したAVADO治験は、

ドセタキセル + ベバシズマブで治療された患者は、ドセタキセル単独で治療された者におけるよりも長い無増悪生存期間 (P F S) を有していることを見出した (Miles等, 2008 ASCO Annual Meeting Chicago, IL)。過去において、カペシタピンとのベバシズマブの組合せを評価した過去に治療された M B C に対する無作為化第 I I I 相試験 (AVF2119g) では、カペシタピン単独よりもカペシタピン + ベバシズマブで治療された者において奏効率 (O R R) が高いことが証明されたが、 P F S を改善するというその主目的に合致することはできなかった (Miller等, J. Clin. Oncol. 2005, 23:792-9)。

【 0 2 1 0 】

この実施例は、タキサン類及び非タキサン化学療法を使用する R I B B O N 1 臨床試験において治療された過去に治療されていない転移性乳癌の被験者で得られた結果の分析に関する。該試験の主要目的は、治験責任医師の腫瘍評価に基づく P F S によって評価して、過去に治療されていない転移性乳癌に対する標準的な化学療法レジメンにベバシズマブを加えることの臨床的利益を決定することであった。例えば、O' Shaughnessy及びBrufsky, (2008), *Clinical Breast Cancer*, 8(4): 370-373を参照。治験は、その進行した H E R 2 陰性乳癌に対して過去に化学療法を受けていなかった女性における異なったタイプの化学療法とのアバスチン (登録商標) を評価した2つの試験群から構成された。第一の試験群では、女性は、タキサン又はアントラサイクリンベースの化学療法と組み合わせてアバスチン又はプラセボの何れかの投与を受けた。第二の試験群では、女性は、カペシタピン化学療法と組み合わせてアバスチン又はプラセボの何れかの投与を受けた。この実施例の分析は、1237名の患者からの情報に基づく。これらの治験は、過去に治療されていない転移性乳癌の患者に対する治療法としてのベバシズマブ (アバスチン (登録商標)) の効果を評価した。

【 0 2 1 1 】

試験デザイン

R I B B O N 1 試験のデザインを図1に示す。

R I B B O N 1 治験では、次の治療プロトコルを使用した：

アーム A： 各21日サイクルの1日目にベバシズマブを $15 \text{ mg} / \text{kg}$ I V 及びコホート1、コホート2又はコホート3；

アーム B： 各21日サイクルの1日目にプラセボを I V 及びコホート1、コホート2又はコホート3。

コホート1： 次のタキサン類の何れかを3週毎に投与した

ドセタキセル $75 - 100 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

パクリタキセルタンパク質結合粒子 (アブラキサン (登録商標)) $260 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

コホート2： 過去にアントラサイクリンで治療されていない被験者に対して3週毎に次のアントラサイクリンベースの併用化学療法剤の何れかを投与：

F E C： 1日目に5 - フルオロウラシル $500 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V、エピルピシン $90 - 100 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V 及びシクロホスファミド $500 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

F A C： 1日目に5 - フルオロウラシル $500 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V、ドキシソルピシン $50 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V 及びシクロホスファミド $500 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

A C： 1日目にドキシソルピシン $50 - 60 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V 及びシクロホスファミド $500 - 600 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

E C： 1日目にエピルピシン $90 - 100 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V 及びシクロホスファミド $500 - 600 \text{ mg} / \text{m}^2$ I V

コホート3： 各3週サイクルの1 - 14日に一日2回経口でカペシタピンを $1000 \text{ mg} / \text{m}^2$ 投与。

【 0 2 1 2 】

また、盲検治療相後に、一部の被験者にベバシズマブを、3週毎に $15 \text{ mg} / \text{kg}$ I Vか、又は2週毎に $10 \text{ mg} / \text{ml}$ I V投与した；化学療法剤を同時に投与した。

【 0 2 1 3 】

ベバシズマブ (アバスチン (登録商標)) は I V 注入溶液のための透明から僅かに乳白色

、無色から淡褐色の滅菌濃縮液として供給された。ペバシズマブは、それぞれ4 mL又は16 mLのペバシズマブを含む5 mL (100 mg)又は20 mL (400 mg)の何れかのガラスバイアル(何れのバイアルでも25 mg/mL)で供給された。バイアルは、ペバシズマブをホスフェート、トレハロース、ポリソルベート20、及び注射用滅菌水(SWFI)、USPと共に含んでいる。バイアルは保存料を含んでいなかった。アバステン(登録商標)は、連続静脈内投与前に100 mLの全体積まで0.9%の塩化ナトリウム注、USPで希釈した。

【0214】

方法

適格な被験者/患者は次の重要な適格性基準を有していた：年齢>18歳、ECOG 0又は1(ECOG Performance Status Scale)、局在的に再発性の又は転移性の乳癌に対する先の化学療法はなし、Her2陰性(Her2陽性及びトラスツマブ禁忌又は利用不可でないならば)及び/又は再発が最後の投薬から12ヶ月より大(又は等しいか)場合、先のアジュバント化学療法が許容。全ての被験者は組織学的に又は細胞学的に確認された乳房腺癌を有しており、被験者は測定可能か(固形腫瘍における効果判定基準(RECIST)による)又は測定可能ではない局在的に再発性の又は転移性の疾患を有する場合があった。局在的に再発性の疾患は、治癒的意図の切除を受け入れられなかった。

【0215】

被験者は、0日目の1週間又はそれ以上前に中止されるならばアジュバント又は転移設定、あるいは0日目の12ヶ月又はそれ以上前に中止されるならばアジュバント化学療法の何れかで、先のホルモン療法を受けている場合がある。

【0216】

除外基準には、知られているHER2陽性状態(トラスツマブ療法で患者が進行していない場合、又はトラスツマブ療法が禁忌か又は利用不可でない場合)；12ヶ月以内の先のアジュバント又はネオアジュバント療法；知られている中枢神経系転移；血圧>150/100 mmHg；安定狭心症；New York Heart Association Grade II又はそれ以上の鬱血性心不全(CHF)；6ヶ月以内の心筋梗塞の病歴；6ヶ月以内の卒中又は一過性脳虚血発作の病歴；臨床的に顕著な末梢血管疾患；出血性素因又は凝固障害の証拠；6ヶ月以内の腹部瘻孔、胃腸管(GI)穿孔、又は腹腔内膿瘍；前投薬では制御されないモノクローナル抗体療法に対するアナフィラキシー反応の病歴；重篤な非治癒創傷；不十分な臓器機能；治癒的意図での切除を受けられない局在的に再発性の疾患；5年以内の他の悪性腫瘍の病歴を含めた。化学療法としてアントラサイクリンが選択される場合、患者にはまた50%の左駆出率を有し、アントラサイクリン治療の先の履歴がないことが要求された。

【0217】

治験は世界的な規模で実施し(少なくとも22カ国)、1237名の被験者/患者(タキサン(T)：307；アントラサイクリン(Anthra)：315；及びカペシタピン(Cap)：615)に達した。試験の一次エンドポイントは、治験責任医師の評価に基づく、無作為化から疾患進行又は死亡までの時間として定義される無増悪生存期間(PFS)であった。カプラン・マイヤー法を使用して各治療アームに対する中央値PFSを推定することができる。ある実施態様では、PFSのハザード比は、層別ロジック検定で使用されるものと同じ層別化因子と共に層別化Cox回帰モデルを使用して推定する。各コホートにおけるPFSの分析は両側性 $\alpha=0.05$ レベルで実施する。時間事象データを、層別化ロジック検定を使用して治療アーム間で比較する。カプラン・マイヤー法を使用して、時間事象データの期間を推定する。中央値時間事象に対する95%信頼区間を、Brookmeyer-Crowley法を使用して計算する。時間事象データに対するHRを、層別化Cox回帰モデルを使用して推定する。

【0218】

副次エンドポイントには、IRC評価及び安全性に基づく全奏効率(ORR)、一年生存率、全生存(OS)、及びPFSを含めた。OSは、無作為化から任意の原因の死亡ま

10

20

30

40

50

での時間として定義される。O R R は、最初の奏効の文書化後 28 日が確認された著効又は部分応答を達成した患者の割合として定義される。一年生存率は、正規近似法を使用して治療アーム間で評価される。ベースラインに測定可能な疾患を有する患者における O R R を、層別化マンテル・ヘンツェル 2 検定を使用して比較する。無作為化層別化因子を全ての層別化解析において含める。

【0219】

結果

R I B B O N 1 は、転移性疾患に対して化学療法を受けていなかった局在的に再発性の又は転移性の H E R 2 陰性乳癌を持つ 1237 名の被験者 / 患者を登録した国際的な多施設無作為化二重盲検プラセボ対照臨床試験であった。治験での被験者 / 患者特性については表 1 を参照のこと。これらの治験の一次エンドポイントは、治験責任医師評価に基づく、無作為化から疾患進行又は死亡までの時間として定義される無増悪生存期間 (P F S) であった。治験からの結果は、化学療法単独と比較して、無増悪生存 (P F S) の一次エンドポイントとして定義される、一次治療転移性 H E R 2 陰性乳癌に対して次の使用した化学療法剤と組み合わせたのアバスチン (登録商標) は、女性がその疾患の進行がない状態で生存した時間を増加させたことを示している。

【0220】

表1: 被験者/患者の特徴

	Cap		T/Anthra	
	PL (n=206)	BV (n=409)	PL (n=207)	BV (n=415)
平均年齢(歳)	57	56	55	55
ECOG PS 0	53	52	53	52
HR 陽性	71	76	74	74
トリプルネガティブ	24	21	22	23
無発症期間 ≤12ヶ月	22	27	41	37
アジュバント 化学療法	76	70	47	45
タキサン	41	39	15	15
アントラサイクリン	69	60	30	30
≥ 3 転移部位	45	43	45	45
測定可能な dx	78	80	86	83

【0221】

この第 I I I 相試験の結果は、過去に治療されていない乳癌の患者に対して一次治療法として抗血管新生剤を使用することに対して直接のサポートを提供する。タキサン療法 (例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子 (例えば、アブラキサン (登録商標))) / アントラサイクリン療法 (例えば、ドキシソルビシン、エピルビシン又はその組合せ) 又はカペシタピン化学療法剤治療に対するベバシズマブ、抗 V E G F 抗体の追加は、例えば無増悪生存によって測定して、乳癌患者において臨床的に意味があり統計的に有意な改善をもたらした。月数での P F S 中央値 (95% C I) は、ベバシズマブを含まないタキサン / アントラサイクリン療法での 8.0 ヶ月 (6.7, 8.4) と比較して、ベバシズマブ及びタキサン療法 (例えば、ドセタキセル又はパクリタキセルタンパク質結合粒子 (例えば、アブラキサン (登録商標))) / アントラサイクリン療法 (例えば、ドキシソルビシン, エピルビシン又はその組合せ) で治療した患者において 9.2 ヶ月 (

8.6, 10.1)であり、HR(95%CI)0.644(0.522, 0.795)、p値(ログランク)0.0001未満である。表2を参照のこと。図3を参照し、治験責任医師(INV)が決定するPFS値と独立審査委員会(IRC)が決定するPFS値を参照のこと。月数でのPFS中央値(95%CI)は、ベバシズマブを含まないカペシタピンでの5.7ヶ月(4.3, 6.2)と比較して、ベバシズマブ及びカペシタピンで治療した患者において8.6ヶ月(8.1, 9.5)であり、HR(95%CI)0.688(0.564, 0.840)、p値(ログランク)0.0002である。表2を参照のこと。図2を参照し、治験責任医師(INV)が決定するPFS値と独立審査委員会(IRC)が決定するPFS値を参照のこと。副次エンドポイントについては表3(ここでは、PFSは化学療法サブグループで分けられている)を参照のこと。例えば、図4ではカペシタピン及びT/アントラサイクリン、図6ではT/アントラサイクリンのように、様々なコホート毎のPFSのサブグループ解析については図4及び6を参照のこと。全奏効率(ORR)については図5を、また表2を参照のこと。レスポナーの中で、奏効期間中央値は双方のコホートに対してベバシズマブアームにおいてより長かった:カペシタピンコホート, 9.2ヶ月(95%CI: 8.5 - 10.4)対7.2ヶ月(95%CI: 5.1 - 9.3); 及びタキサン/アントラサイクリンコホートに対して、8.3ヶ月(95%CI: 7.2 - 10.7)対7.1ヶ月(95%CI: 6.2 - 8.8)。全生存の詳細については表4を参照のこと。予測できなかった安全性シグナルはない。安全性は先のベバシズマブ治験の結果と一致していた。安全性のまとめについては表5を参照のこと。この改善は臨床的に意味がある。

10
20
30
40

【0222】

表 2 PFS及びOS

	T/Anthr n=622		Cap n=615	
	pl n=207	B n=415	pl n=206	B N=409
PFS (HR, 95% CI)	0.644 (0.522, 0.795)		0.688 (0.564, 0.840)	
p値 (ログランク)	<0.0001		0.0002	
中央値 (月数)	8.0	9.2	5.7	8.6
ORR (%)	67 (37.9%)	177 (51.3%)	38 (23.6%)	115 (35.4%)
p値	0.0054		0.0097	
OS (HR, 95% CI)	1.032 (0.774, 1.376)		0.847 (0.631, 1.138)	
p値 (ログランク)	0.8298		0.2706	
中央値 (月数)	23.8	25.2	21.2	29.0

HR=ハザード比

表3 副次エンドポイント:化学療法サブグループ毎のPFS (mPFS= 中央値PFS)

	タキサン		アントラセン	
	PL(n=104)	BV(n=203)	PL(n=103)	BV(n=212)
mPFS, 月	8.2	9.2	7.9	9.2
HR (95% CI)	0.75 (0.56-1.01)		0.55 (0.40-0.74)	
p値	0.0547		<0.0001	

10

表4 : 全生存

	Cap		T/Anthra	
	PL(n=206)	BV(n=409)	PL(n=207)	BV(n=415)
死亡率%	35	30	35	34
中央値 OS, 月	21.2	29.0	23.8	25.2
HR (95% CI)	0.85 (0.63-1.14)		1.03 (0.77-1.38)	
p値	0.27		0.83	
1年生存率 (%)	74	81	83	81
p値	0.076		0.44	

20

表5： 安全性のまとめ

事象 (%)	Cape		タキサン		Anthra	
	PL(n=201)	BV(n=404)	PL(n=102)	BV(n=203)	PL(n=100)	BV(n=210)
選択された AEs*	9.0	22.0	22.5	43.8	16.0	28.1
SAEs	18.9	24.3	26.5	41.4	16.0	22.4
薬剤 (PL又はBV) 投与中止に至った AEs	11.9	11.9	7.8	24.1	4.0	14.3
死に至った AEs **	2.5	2.0	2.9	3.4	3.0	1.4

*ベバシズマブに伴うことが過去に示された有害事象 (AEs)。

** 転移性乳癌の進行に関係するAEsを除外。

SAE—重篤な有害事象

【 0 2 2 3 】

転移性乳癌の1次治療に使用されるカペシタピン、タキサン又はアントラサイクリンベースの化学療法レジメンへのベバシズマブの追加は、前の第III相試験と匹敵する安全性プロファイルをもって、統計的に有意なPFSの改善を生じた。

10

20

【 図 1 】

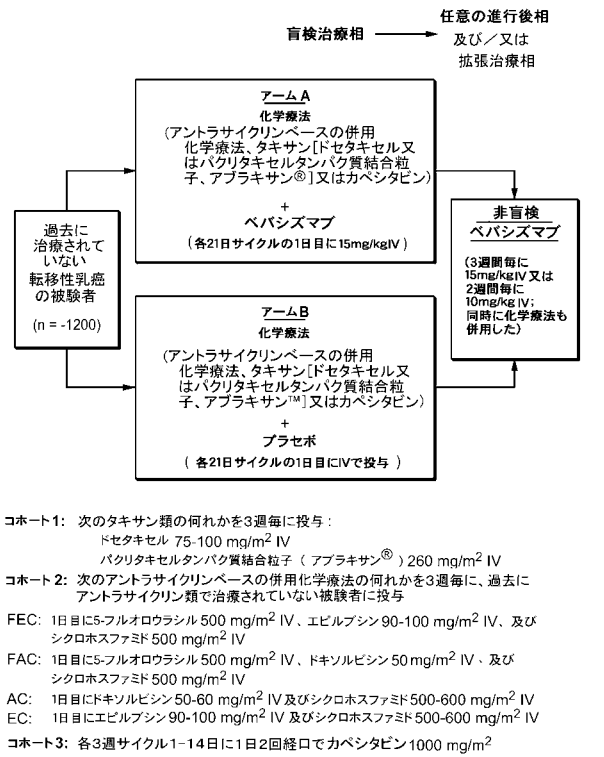


FIG. 1

【 図 2 】

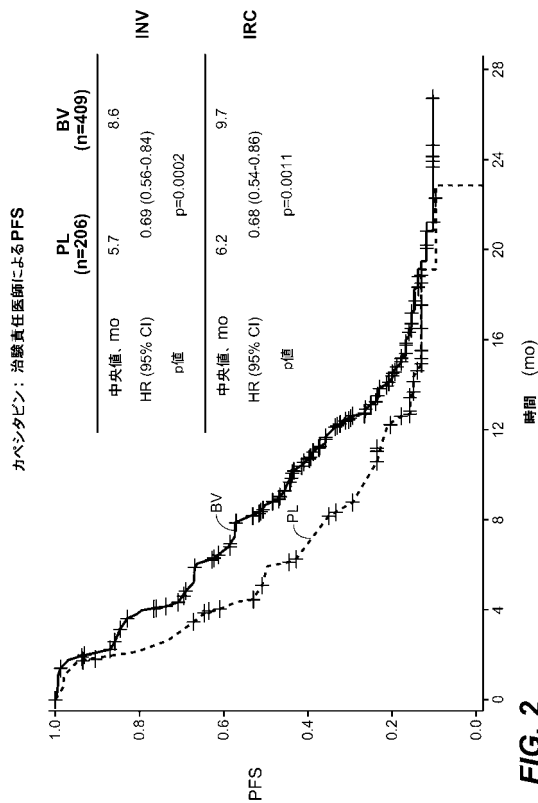


FIG. 2

【 図 3 】

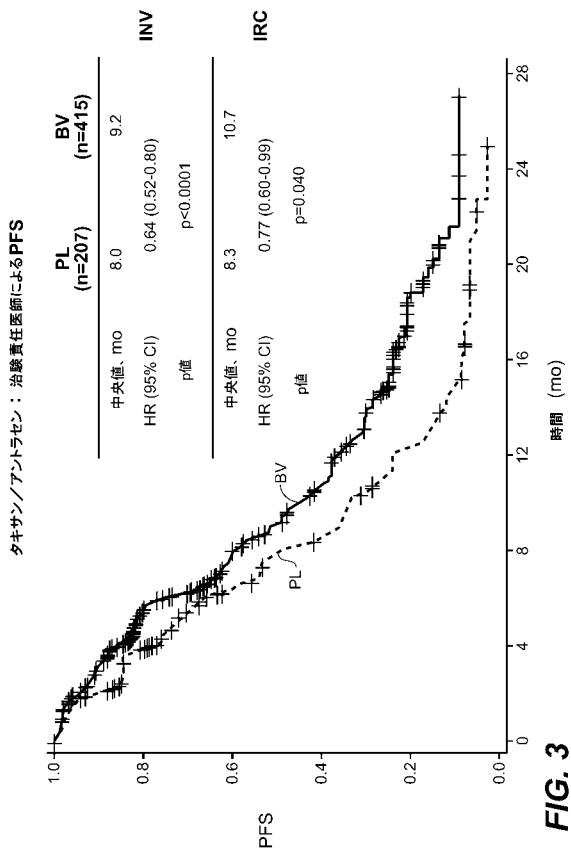


FIG. 3

【 図 4 】

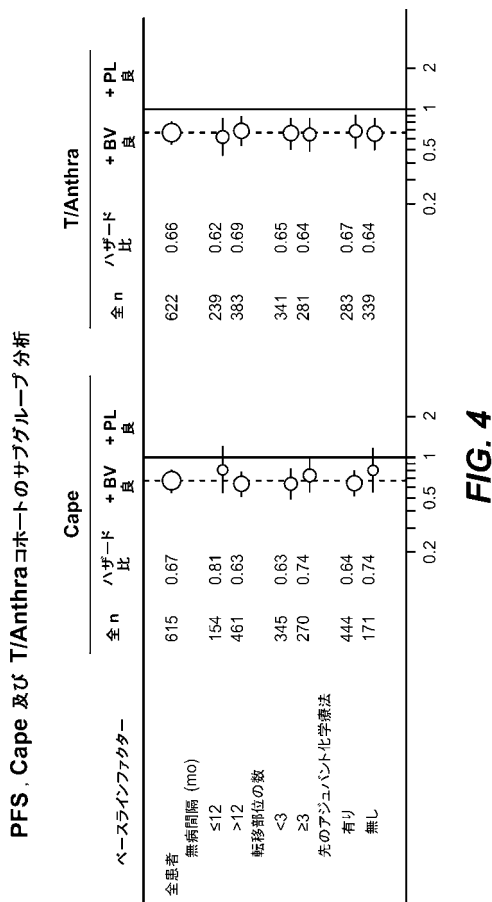
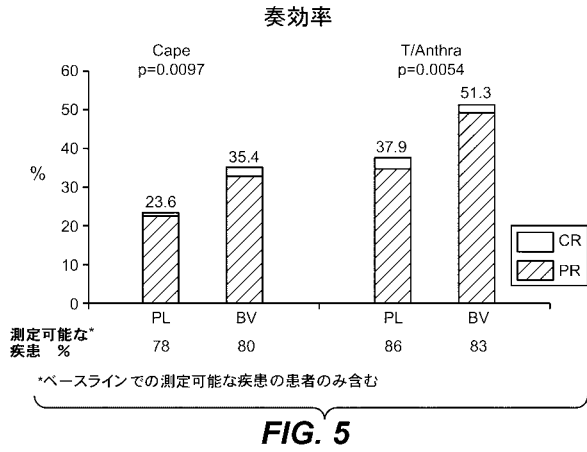
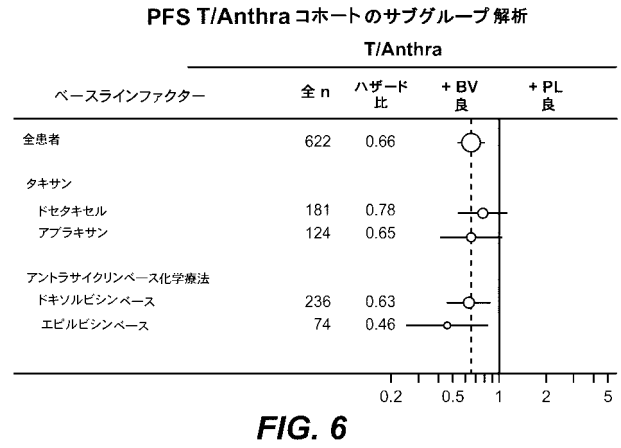


FIG. 4

【 図 5 】



【 図 6 】



【 配列表 】

2012509889000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2009/065381

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A61K31/00 A61K39/395 A61P35/04 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CAMERON ET AL: "Bevacizumab in the first-line treatment of metastatic breast cancer" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER. SUPPLEMENT, PERGAMON, OXFORD, GB LNKD-DOI:10.1016/S1359-6349(08)70289-1, vol. 6, no. 6, 1 March 2008 (2008-03-01), pages 21-28, XP022621256 ISSN: 1359-6349 [retrieved on 2008-03-01] see abstract, pages 22-23 and page 27 conclusions: -/-	1, 2, 4-7, 10-20, 22-24, 27-31, 33-35, 38-40
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 May 2010	Date of mailing of the international search report 18/06/2010	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlean 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3018	Authorized officer Merckling-Ruiz, V	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2006)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2009/065381

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>& CAMERON ET AL: "Corrigendum to 'Bevacizumab in the first-line treatment of metastatic breast cancer' [EJC Suppl. 6(6) (2008) 21-28]" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB LNKD- DOI:10.1016/J.EJCA.2008.07.025, vol. 44, no. 15, 1 October 2008 (2008-10-01), page 2331, XP025608952 ISSN: 0959-8049 [retrieved on 2008-08-15]</p>	
X	<p>MILLER K. ET AL.: "Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer." N. ENGL. J. MED., vol. 357, 27 December 2007 (2007-12-27), pages 2666-2676, XP002583172 see abstract and page 2667</p>	1,2,4-7, 10-20, 22-24, 27-31, 33-35, 38-40
X	<p>HURVITZ S ET AL: "Final results of a phase II study of bevacizumab plus docetaxel for the first-line treatment of metastatic breast cancer (TORI-B01)" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER. SUPPLEMENT, PERGAMON, OXFORD, GB LNKD- DOI:10.1016/S1359-6349(08)70883-8, vol. 6, no. 7, 1 April 2008 (2008-04-01), page 217, XP022672581 ISSN: 1359-6349 [retrieved on 2008-04-01] abstract</p>	1,2,4-7, 10-20, 22-24, 27-31, 33-35, 38-40
X	<p>SEIDMAN A.D. ET AL.: "Nanoparticle albumin-bound paclitaxel in 3 dosing schedules with bevacizumab as first line therapy for HER2-negative metastatic breast cancer : an interim safety analysis." EJC SUPPLEMENTS, vol. 6, no. 7, 573, April 2008 (2008-04), pages 219-219, XP002583173 abstract</p>	1,2,4-7, 10-20, 22-24, 27-31, 33-35, 38-40
Y	<p>HEINEMANN V.: "Review of bevacizumab in the treatment of metastatic breast cancer." EJC SUPPLEMENTS, vol. 6, no. 8, October 2008 (2008-10), pages 13-18, XP002583174 see abstract, pages 15-17</p>	1-40
	-/--	

4

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/065381

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SLEDGE G. ET AL.: "Safety and efficacy of capecitabine (C) plus bevacizumab (B) as first-line in metastatic breast cancer." J. CLIN. ONCOL., vol. 25, no. 185, 20 June 2007 (2007-06-20), pages 1013-1013, XP002583175 abstract	1,2, 4-20, 22-31, 33-40
Y	CAMERON D ET AL: "Future use of bevacizumab and other anti-angiogenic agents in breast cancer" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER. SUPPLEMENT, PERGAMON, OXFORD, GB LNKD-DOI:10.1016/S1359-6349(08)70291-X, vol. 6, no. 6, 1 March 2008 (2008-03-01), pages 40-50, XP022621258 ISSN: 1359-6349 [retrieved on 2008-03-01] see abstract, apges 41-44, tables 1-2 and figures 2-3	1-40
A,P	US 2009/163699 A1 (CHAMBERLAIN AARON KEITH [US] ET AL) 25 June 2009 (2009-06-25) see [0189], figure 4 and Seq. No.13-14	1-40
X	DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; October 2008 (2008-10), GARCIA-SAENZ J A ET AL: "Bevacizumab in Combination with Metronomic Chemotherapy in Patients with Anthracycline- and Taxane-Refractory Breast Cancer" XP002583176 Database accession no. PREV200900032146 abstract & JOURNAL OF CHEMOTHERAPY, vol. 20, no. 5, October 2008 (2008-10), pages 632-639, ISSN: 1120-009X	3,21,32

4

Form PCT/ISA210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/065381

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009163699	A1	NONE	25-06-2009

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/7068	
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
	C 0 7 K 16/18 Z N A	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ファン, シー チュン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5, メンロ パーク, サンタ クルーズ アヴェ
 ニュー 2 1 5 3

(72) 発明者 シュウ, シーアン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, スターン レーン 1
 0 1 2

Fターム(参考) 4C084 AA19 NA05 NA10 ZB261 ZC751
 4C085 AA13 BB07 EE03
 4C086 AA01 AA02 BA02 EA10 EA17 MA02 MA04 NA05 NA10 ZB26
 ZC75
 4H045 DA75 EA20