República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0515735-8 A2**

BRPI0515735A2

(22) Data de Depósito: 24/10/2005
(43) Data da Publicação: 11/10/2011
(RPI 2127)

(51) Int.Cl.:
C07K 16/28
A61K 39/395

(54) Título: TRATAMENTO DE COMBINAÇÃO DE ANTICORPO DE CTLA4 E INIBIDOR DE AROMATASE PARA CÂNCER DE MAMA, SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E RESPECTIVOS USOS

(30) Prioridade Unionista: 04/11/2004 US 60/624,856

(73) Titular(es): PFIZER PRODUCTS INC.

(72) Inventor(es): Jesus Gomez-Navarro

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT IB2005003307 de 24/10/2005

(87) Publicação Internacional: WO 2006/048749de 11/05/2006

(57) Resumo: TRATAMENTO DE COMBINAÇÃO DE ANTICORPO DE CTLA4 E INIBIDOR DE AROMATASE PARA CÂNCER DE MAMA, SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E RESPECTIVOS USOS. A invenção refere-se à administração de um anticorpo anti- CTLA4, particularmente anticorpos humanos para CTLA4 humano, tal como aqueles tendo sequências de aminoácido de anticorpos 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1 (MDX-01O), em combinação com um inibidor de aromatase, para tratamento de câncer de mama. Mais particularmen- te, a invenção refere-se à administração de um anticorpo anti-CTLA4 e exemestano para tratamento de câncer de mama.

4.1.1 cDNA de cadeia pesada (SEQ ID NO:1)

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag     60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc    120
tgtgtagcgt ctggattcac cttcagtagc catggcatgc actgggtccg ccaggctcca    180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagaaataa atactatgca    240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtttctg    300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggaggtcac    360
ttcggtcctt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc agcctccacc    420
aagggcccat cggtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcg    480
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca    540
ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac    600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc    660
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt    720
gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc    780
ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg    840
gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg    900
cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc    960
gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc   1020
aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga   1080
gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc   1140
ctgacctgcc tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat   1200
gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc   1260
ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtctttctca  1320
tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct   1380
```

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"TRATAMENTO DE COMBINAÇÃO DE ANTICORPO DE CTLA4 E INIBIDOR DE AROMATASE PARA CÂNCER DE MAMA, SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E RESPECTIVOS USOS".**

Antecedentes da Invenção

A cada ano, mais do que 180.000 mulheres são diagnosticadas com câncer de mama nos Estados Unidos. Se as taxas de câncer de mama atuais permanecem constantes, cada mulher nascida hoje tem uma em dez chances de câncer de mama em desenvolvimento em uma idade de início mediana de cerca de 60 a 65.

Aproximadamente dois terços de pacientes com câncer de mama pós-menopáusico têm doença dependente de estrogênio desse modo tornando-às tratáveis por terapia de antiestrogênio. Os estrogênios promovem crescimento e proliferação de células alvo específicas, tal como as células de carcinoma da mama dependente de estrogênio e epitélio da mama (Brueggemeier Amer J Therapeutics 8:333-344 (2001)). Desse modo, a terapia de tratamento adjuvante sistêmica, administrada além do tratamento principal de câncer de mama localizado (por exemplo, cirurgia de conservação da mama e radiação ou mastectomia) focou em agentes que bloqueiam o receptor de estrogênio em células de tumor. Tais agentes anti-hormonais incluem tamoxifen (NOVALDEX D, SOLTAMOX, TAMOFEN) que inibe a ligação de estrogênio com o receptor de estrogênio, fulvestrant (FASLODEX), que degrada o receptor, bem como inibidores de aromatase (por exemplo, anastrozol (ARIMIDEX), letrozol (FEMARA), e exemestano (AROMASIN)), que bloqueia a catálise de enzima de aromatase de andrógenos aos estrogênios, desse modo diminuindo a quantidade de ligando de hormônio disponível para ligar-se com o receptor.

Apesar de avanços em terapias hormonais ou outras terapias de câncer de mama, é estimado que 40.921 mulheres morrerão de câncer de mama avançado ou recorrente em 2004 (American Cancer Society, Cancer Statistic (2004)). Atualmente, não há nenhum tratamento curativo disponível para pacientes com doença duradoura e a terapia é essencialmente paliativa. Desse modo, novas terapias, tal como combinação de agente anti-

hormonal com imunoterapia, são importantes no tratamento de câncer de mama. Mais especificamente, uma abordagem de imunoterapia de câncer alveja antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA4; CD152), que é um receptor de superfície de célula expresso em células T ativadas. A ligação de CTLA4 aos seus ligandos naturais, B7.1 (CD80) e B7.2 (CD86), libera um sinal regulador negativo para as células T, e bloqueando este sinal negativo resulta em função imune da célula T realçada e atividade antitumor em modelos de animal (Thompson e Allison *Immunity* **7**:445-450 (1997); McCoy e LeGros Immunol. & Cell *Biol.* **77**:1-10 (1999)). Vários estudos demonstraram que o bloqueio de CTLA4 empregando anticorpos acentuadamente realça a morte mediada por célula T de tumores e pode induzir a imunidade do antitumor (Leach e similares, *Science 271:1734-1736 (1996); Kwon e similares Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A. 94:8099-8103 (1997); Kwon e similares, Natl. Acad. Sci. E.U.A. 96:15074-15079 (1999)).*

Embora o uso de anticorpos anti-CTLA4 para induzir uma resposta antitumor possua grande promessa no tratamento de câncer, e apesar da promessa de terapias anti-hormonais no tratamento de câncer de mama, há uma necessidade de desenvolver novas terapias para tratar câncer de mama. A presente invenção satisfaz esta necessidade.

Sumário da Invenção

A invenção inclui um método para o tratamento de câncer de mama em um paciente em necessidade de tal tratamento. O método compreende administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CTLA4, ou porção de ligação de antígeno deste, em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase.

Em um aspecto, o inibidor de aromatase é pelo menos um inibidor selecionado do grupo que consiste em anastrozol, letrozol e exemestano. Em outro aspecto, o inibidor de aromatase é exemestano.

Em um aspecto, a quantidade terapeuticamente eficaz de uma quantidade de anticorpo anti-CTLA4 humano varia de cerca de 1 mg/kg a 40 mg/kg.

Em um outro aspecto, a quantidade terapeuticamente eficaz de uma quantidade de anticorpo anti-CTLA4 humano varia de cerca de 3 mg/kg a 15 mg/kg.

Em ainda outro aspecto, a quantidade terapeuticamente eficaz de exemestano varia de cerca de 25 mg por dia a 200 mg por dia.

Em um outro aspecto, a quantidade terapeuticamente eficaz de exemestano é cerca de 25 mg por dia.

Em um aspecto, o tratamento é selecionado do grupo que consiste em uma terapia de neoadjuvante, uma terapia de adjuvante, um primeiro tratamento em linha, um segundo tratamento em linha, e um terceiro tratamento em linha.

Em outro aspecto, o anticorpo é selecionado de um grupo que consiste em um anticorpo de mamífero não-humano, um anticorpo quimérico, e um anticorpo humano.

Em um aspecto, o anticorpo é um anticorpo anti-CTLA4 humano.

Em outro aspecto, o anticorpo anti-CTLA4, ou porção de ligação de antígeno deste, é pelo menos um anticorpo selecionado do grupo que consiste em:

(a) um anticorpo humano que tem uma afinidade de ligação com CTLA4 de cerca de 10^{-8} ou mais, e que inibe a ligação entre CTLA4 e B7-1, e ligação entre CTLA4 e B7-2;

(b) um anticorpo humano que tem uma seqüência de aminoácido que compreende pelo menos uma seqüência de CDR humano que corresponde a uma seqüência de CDR de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1;

(c) um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, e 12.9.1.1;

(d) um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de ca-

deia leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1;

(e) um anticorpo, ou uma porção de ligação de antígeno deste, que compete para ligação com CTLA4 com pelo menos um anticorpo que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1; e

(f) um anticorpo, ou porção de ligação de antígeno deste, que interage para ligação com CTLA4 com pelo menos um anticorpo que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1.

Em outro aspecto, o anticorpo é um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 11.2.1.

Em ainda outro aspecto, o anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve onde as seqüências de aminoácido da região variável de cadeia pesada da cadeia pesada e da região variável de cadeia leve da cadeia leve são selecionadas do grupo que consiste em:

(a) a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:3 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:9;

(b) a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:15 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:21;

(c) a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:27 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:33;

(d) a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:1 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:7;

(e) a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:13 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:19;

(f) a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido

nucléico de SEQ ID NO:25 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:31;

(g) a seqüência de aminoácido de uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de cadeia leve de anticorpo 10D1.

Em um aspecto, o anticorpo, ou porção de ligação de antígeno deste, é um anticorpo selecionado do grupo que consiste em:

(a) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas na SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, e SEQ ID NO:6, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11 e SEQ ID NO:12;

(b) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, e SEQ ID NO:18, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23 e SEQ ID NO:24;

(c) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, e SEQ ID NO:30, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35 e SEQ ID NO:36; e

(d) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido de cadeia pesada CDR1, CDR2, e CDR3 de anticorpo 10D1, também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido da cadeia leve CDR1, CDR2, e CDR3 de anticorpo 10D1.

Em outro aspecto, o método também compreende administrar ao paciente pelo menos um agente selecionado do grupo que consiste em um agente de alquilação, um antagonista de folato, antagonista de pirimidina, um antibiótico de antraciclina, uma combinação de platina, um taxano, uma vinca alcalóide, um análogo de camptotecina, um agente estimulante de receptor tipo pedágio, uma vacina de tumor com base em proteína de choque

térmico, uma terapia com base em célula que apresenta antígeno, um mamífero alvo de inibidor de rapamicina, um inibidor de erbB2, um inibidor de EGFR, um inibidor de VEGF, um inibidor de VEGFR, um inibidor de angiogênese, um anticorpo, um imunomodulador, um modulador de receptor de estrogênio seletivo, uma citocina, uma vacina de tumor, agente de antiproliferativo, uma molécula de co-estimuladora imune, e uma citocina.

A invenção inclui uma composição farmacêutica para o tratamento de câncer de mama que compreende: uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CTLA4; uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase; e um portador farmaceuticamente o aceitável.

Em um aspecto, o inibidor de aromatase é pelo menos um inibidor de aromatase selecionado do grupo que consiste em anastrozol, letrozol, e exemestano.

Em um outro aspecto, o inibidor de aromatase é exemestano.

A invenção inclui um uso de uma quantidade de um anticorpo anti-CTLA4 na preparação de uma composição para o tratamento de câncer de mama em um paciente onde o tratamento também compreende administrar ao paciente uma quantidade de um inibidor de aromatase.

Em um aspecto, o inibidor de aromatase é exemestano e também onde o anticorpo é um anticorpo humano que tem seqüências de aminoácido de região variável de cadeia pesada e leve de anticorpo 11.2.1.

Breve Descrição dos Desenhos

O resumo anterior, bem como a seguinte descrição detalhada da invenção, serão entendidos melhor quando lidos em conjunto com os desenhos anexos. Com a finalidade de ilustrar a invenção, são mostradas nos desenhos as modalidades que são atualmente preferidas. Deveria ser entendido, entretanto, que a invenção não está limitada às disposições e instrumentalidades precisas mostradas.

Nos desenhos:

Figura 1, compreendendo Figuras 1A-1D, mostra o nucleotídeo e seqüências de aminoácido para anticorpo anti-CTLA4 4.1.1. Figura 1A

mostra a seqüência de nucleotídeo de tamanho natural para a cadeia pesada 4.1.1 (SEQ ID NO:1). Figura 1B mostra a seqüência de aminoácido de tamanho natural para a cadeia pesada 4.1.1 (SEQ ID NO:2), e a seqüência de aminoácido para a região variável de cadeia pesada 4.1.1 (SEQ ID NO:3) designada entre colchetes "[ ]". A seqüência de aminoácido de cada CDR de cadeia pesada 4.1.1 é sublinhada. As seqüências de CDR são como seguem: CDR1: GFTFSSHGMH (SEQ ID NO:4); CDR2: VIWYDGRNKYYADSV (SEQ ID NO:5); e CDR3: GGHFGPFDY (SEQ ID NO:6). Figura 1C mostra a seqüência de nucleotídeo para a cadeia leve 4.1.1 (SEQ ID NO:7). Figura 1D mostra a seqüência de aminoácido da cadeia leve de tamanho natural 4.1.1 (SEQ ID NO:8), e a região variável como indicado entre colchetes "[ ]" (SEQ ID NO: 9). A seqüência de aminoácido de cada CDR é indicada como segue: CDR1: RASQSISSSFLA (SEQ ID NO:10); CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:11); e CDR3: CQQYGTSPWT (SEQ ID NO:12).

Figura 2, compreendendo as Figuras 2A-2D, mostra as seqüências de nucleotídeo e aminoácido para anticorpo anti-CTLA4 4.13.1. Figura 2A mostra a seqüência de nucleotídeo de tamanho natural para a cadeia pesada 4.13.1 (SEQ ID NO:13). Figura 2B mostra a seqüência de aminoácido de tamanho natural para a cadeia pesada 4.13.1 (SEQ ID NO:14), e a seqüência de aminoácido para a região variável de cadeia pesada 4.13.1 (SEQ ID NO:15) designada entre os colchetes "[ ]". A seqüência de aminoácido de cada CDR de cadeia pesada 4.13.1 é sublinhada. As seqüências de CDR são como segue: CDR1: GFTFSSHGIH (SEQ ID NO:16); CDR2: VIWYDGRNKDYADSV (SEQ ID NO:12); e CDR3: VAPLGPLDY (SEQ ID NO:18). Figura 2C mostra a seqüência de nucleotídeo para a cadeia leve 4.13.1 (SEQ ID NO:19). Figura 2D mostra a seqüência de aminoácido da cadeia leve de tamanho natural 4.13.1 (SEQ ID NO:20), e a região variável como indicado entre colchetes "[ ]" (SEQ ID NO:21). A seqüência de aminoácido de cada CDR é indicada como segue: CDR1: RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:22); CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:23); e CDR3: CQQYGRSPFT (SEQ ID NO:24).

Figura 3, compreendendo as Figuras 3A-3D, mostra o nucleotí-

deo e seqüências de aminoácido para anticorpo anti-CTLA4 11.2.1. Figura 3A mostra a seqüência de nucleotídeo de tamanho natural para a cadeia pesada 11.2.1 (SEQ ID NO:25). Figura 3B mostra a seqüência de aminoácido de tamanho natural para a cadeia pesada 11.2.1 (SEQ ID NO:26), e a seqüência de aminoácido para a região variável de cadeia pesada 11.2.1 (SEQ ID NO:27) designada entre os colchetes "[ ]". A seqüência de aminoácido de cada CDR de cadeia pesada 11.2.1 é sublinhada. As seqüências de CDR são como segue: CDR1: GFTFSSYGMH (SEQ ID NO:28); CDR2: VIWYDGSNKYYADSV (SEQ ID NO:29); e CDR3: DPRGATLYYYYYGMDV (SEQ ID NO:30). Figura 3C mostra a seqüência de nucleotídeo para a cadeia leve 11.2.1 (SEQ ID NO:31). Figura 3D mostra a seqüência de aminoácido da cadeia leve de tamanho natural 11.2.1 (SEQ ID NO:32), e a região variável como indicado entre colchetes "[ ]" (SEQ ID NO:33). A seqüência de aminoácido de cada CDR é indicada como segue: CDR1: RASQSINSYLD (SEQ ID NO:34); CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:35); e CDR3: QQYYSTPFT (SEQ ID NO:36).

Descrição Detalhada da Invenção

A invenção refere-se aos anticorpos anti-CTLA4 empregados em combinação com pelo menos um inibidor de aromatase, por exemplo, anastrozol, letrozol, e exemestano, para tratar câncer de mama em um paciente em necessidade de tal tratamento. A invenção também refere-se ao tratamento de câncer de mama através de combinação da combinação de anticorpo-inibidor de aromatase com outro agente ou agentes.

A menos que de outro modo definido aqui, os termos científicos e técnicos empregados com relação à presente invenção terão os significados que são geralmente entendidos por aqueles de versados na técnica. Além disso, a menos que de outro modo requerido pelo contexto, os termos singulares incluirão pluralidades e termos plurais incluirão o singular. Geralmente, a nomenclaturas empregadas com relação a, e técnicas de, cultura de tecido e célula, biologia molecular, imunologia, microbiologia, genéticas e hibridação e substância química de ácido nucléico e proteína, descritas aqui são aquelas bem-conhecidas e geralmente empregadas na técnica.

Os métodos e técnicas da invenção presente são geralmente realizados de acordo com os métodos bem-conhecidos na técnica e como descrito em várias referências gerais e mais específicas que são citadas e descritas em toda a presente especificação a menos que de outro modo indicado. Tais referências incluem, por exemplo, Sambrook e Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Approach, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2001), Ausubel e similares, *Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002), e Harlow e Lane Antibodies: A Laboratory Manual,*Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1990), que estão incorporados aqui por referência. As reações enzimáticas e técnicas de purificação são realizadas de acordo com as especificações do fabricante, como geralmente realizado na técnica ou como descrito aqui. As nomenclaturas empregadas com relação a, e os procedimentos e técnicas de laboratório de, química analítica, química orgânica sintética, e química medicinal e farmacêutica descritos aqui são aqueles bem-conhecidos e geralmente empregados na técnica. As técnicas padrões são empregadas para sínteses químicas, análises químicas, preparação farmacêutica, formulação, e liberação, e tratamento de pacientes.

Como empregado aqui, cada dos seguintes termos tem o significado associado a ele nesta seção.

Os artigos "um" e "uma" são empregados aqui para referir-se a um ou a mais do que um (isto é, a pelo menos um) do objeto gramatical do artigo. Através de exemplo, "um elemento" significa um elemento ou mais do que um elemento.

Como empregado aqui, os vinte aminoácidos convencionais e as suas abreviações seguem o uso convencional. Vide *Immunology-- A Synthesis* (2ª Edição, E., S. Golub e D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Massa. (1991)) que está incorporado aqui por referência.

Uma "substituição de aminoácido conservativa" é uma na qual um resíduo de aminoácido é substituído por outro resíduo de aminoácido que tem um grupo R da cadeia com propriedades químicas similares (por exemplo, carga ou hidrofobicidade). Em geral, uma substituição de aminoá-

cido conservativa substancialmente não mudará as propriedades funcionais de uma proteína. Em casos onde duas ou mais seqüências de aminoácido diferem de cada outra por substituições conservativas, o percentual de identidade de seqüência ou grau de similaridade podem ser ajustados para cima para corrigir quanto à natureza conservativa da substituição. Meios para fazer este ajuste são bem-conhecidos por aqueles de experiência na técnica. Vide, por exemplo, Pearson, Methods Mol. Biol. **243**:307-31 (1994).

Os exemplos de grupos de aminoácidos que têm cadeias laterais com propriedades químicas similares incluem 1) cadeias laterais alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina, e isoleucina; 2) cadeias laterais de hidroxila alifática: serina e treonina; 3) cadeias laterais contendo amida: asparagina e glutamina; 4) cadeias laterais aromáticas: fenilalanina, tirosina, e triptofano; 5) cadeias laterais básicas: lisina, arginina, e histidina; 6) cadeias laterais ácidas: ácido aspártico e ácido glutâmico; e 7) cadeias laterais contendo enxofre: cisteína e metionina. Os grupos de substituição de aminoácidos conservativos preferidos são: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato, e asparagina-glutamina.

Alternativamente, uma substituição conservativa é qualquer alteração que tem um valor positivo na matriz log-probabilidade PAM250 descrita em Gonnet e similares, *Science* ***256****:1443-45 (1992),* aqui incorporado por referência. Uma substituição "moderadamente conservativa" é qualquer alteração tendo um valor não-negativo na matriz log-probabilidade PAM250.

A substituições de aminoácido preferidas são aquelas que: (1) reduzem a suscetibilidade à proteólise, (2) reduzem a suscetibilidade à oxidação, (3) alteram a afinidade de ligação para formação de complexos de proteína, e (4) conferem ou modificam outras propriedades funcionais ou fisicoquímicas de tais análogos. Os análogos que compreendem as substituições, deleções, e/ou inserções podem incluir várias muteínas de uma seqüência exceto a seqüência de peptídeo especificada. Por exemplo, as únicas ou múltiplas substituições de aminoácido (preferivelmente substituições de aminoácido conservativas) podem ser feitas na seqüência especificada

(preferivelmente na porção do polipeptídeo fora do domínio(s) formando contatos intermoleculares, por exemplo, fora dos CDRs). Uma substituição de aminoácido conservativa não deveria substancialmente alterar as características estruturais da seqüência parente (por exemplo, um aminoácido de substituição não deveria servir para quebrar uma hélice que ocorra na seqüência parente, ou romper outros tipos de estrutura secundária que caracteriza a seqüência parente). Os exemplos de estruturas secundárias e terciárias de polipeptídeo reconhecido pela técnica são descritos em *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman e Company, Nova York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden e J. Tooze, eds., Garland Publishing, Nova York, N.Y. (1991)); e Thornton e similares, *Nature* **354**:105 (1991), que estão cada incorporado aqui por referência.

A similaridade de seqüência para polipeptídeos é tipicamente medida empregando software de análise de seqüência. O software de análise de proteína combina as seqüências similares empregando medidas de similaridade designadas para várias substituições, deleções e outras modificações, incluindo substituições de aminoácido conservativas. Por exemplo, Genetics Computer Group (GCG disponível de Genetics Computer Group, Inc.), também referido como chamado Wisconsin Package, é um pacote de software integrado de mais de 130 programas para acessar, analisar e manipular as seqüências de proteína e nucleotídeo. O GCG contém programas tal como "Gap" e "Bestfit" que podem ser empregados com parâmetros *default* para determinar a similaridade de seqüência, homologia e/ou identidade de seqüência entre os polipeptídeos estritamente relacionados, tal como polipeptídeos homólogo de espécies diferentes de organismos ou entre uma proteína de tipo silvestre e uma muteína deste. Vide, por exemplo, GCG versão 6.1, versão 9.1, e versão 10.0.

As seqüências de polipeptídeo também podem ser comparadas empregando FASTA empregando os parâmetros recomendados ou *default*, um programa em GCG Versão 6.1. FASTA (por exemplo, FASTA2 e FASTA3) fornece alinhamentos e percentual de identidade de seqüência das re-

giões da melhor sobreposição entre as seqüências de pesquisa e questionamento e (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* **132**:185-219 (2000)). Outro algoritmo preferido quando comparando uma seqüência da invenção com um banco de dados que contém um grande número de seqüências de organismos diferentes é o programa de computação BLAST, especialmente blastp ou tblastn, empregando parâmetros *default*. Vide, por exemplo, Altschul e similares, *J. Mol. Biol.* **215**:403-410 (1990); Altschul e similares, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997); aqui incorporados por referência.

Uma "aromatase", quando o termo é empregado aqui, refere-se a uma enzima (por exemplo, 450_{arom}) que catalisa a aromatização do anel A de um substrato de andrógeno (principalmente androstenodiona) para estrona.

"Inibidor de aromatase" significa um composto ou substância que quando contatado com uma aromatase, detectavelmente inibe a formação do anel A de um substrato de andrógeno comparado com o nível de tal aromatização na ausência do composto ou substância. Qualquer ensaio para avaliar o nível de atividade enzimática por uma aromatase pode ser empregado para avaliar se há inibição e/ou o nível deste. Um inibidor de aromatase inclui, mas não está limitado a, um esteróide e um inibidor não-esteroidal, entre outras coisas, exemestano, anastrozol, letrozol, fadrozol, vorozol, e formestano, e o termo abrange qualquer inibidor de aromatase quer agora conhecido ou identificado no futuro.

Um "anticorpo" intacto compreende pelo menos duas cadeias pesadas (H) e duas cadeias leves (L) interconectadas por ligações de dissulfeto. Geralmente vide, Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2ª ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referência em sua totalidade para todos os propósitos). Cada cadeia pesada é compreendida de uma região variável de cadeia pesada (HCVR ou V_H) e uma região constante de cadeia pesada (C_H). A região constante de cadeia pesada é compreendida de três domínios, CH1, CH2 e CH3. Cada cadeia leve é compreendida de uma região variável de cadeia leve (LCVR ou V_L) e uma região constante de cadeia

leve. A região constante de cadeia leve é compreendida de um domínio, C_L. As regiões de V_H e V_L podem ser também subdivididas em regiões de hipervariabilidade, chamadas regiões de determinação de complementaridade (CDR), entremeadas com regiões que são mais conservadas, chamadas regiões de estrutura (FR). Cada V_H e V_L é composta de três CDRs e quatro FRs, dispostos de terminação de amino a terminação de carboxila na seguinte ordem: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. A designação de aminoácidos para cada domínio é de acordo com as definições de Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987 e 1991)), ou Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* **196**:901-917 (1987); Chothia e similares, *Nature* **342**:878-883 (1989).

O termo "porção de ligação de antígeno" de um anticorpo (ou simplesmente "porção de anticorpo"), como empregado aqui, refere-se a um ou mais fragmentos de um anticorpo que retém a capacidade de especificamente ligar-se a um antígeno (por exemplo, CTLA4). Foi mostrado que a função de ligação de antígeno de um anticorpo pode ser realizada por fragmentos de um anticorpo de tamanho natural. Os exemplos de fragmentos de ligação abrangidos no termo "porção de ligação de antígeno" de um anticorpo incluem (i) um fragmento de Fab, um fragmento monovalente que consiste nos domínios V_L, V_H, C_L e C_H1; (ii) um fragmento $F(ab')_2$, um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de dissulfeto na região da dobradiça; (iii) um fragmento Fd que consiste nos domínios V_H e C_H1; (iv) um fragmento Fv que consiste nos domínios V_H e V_L de um único braço de um anticorpo, (v) um fragmento dAb (Ward e similares, (1989) Nature 341:544-546), que consiste em um domínio V_H; e (vi) uma região de determinação de complementaridade isolada (CDR). Além disso, embora os dois domínios do fragmento Fv, V_L e V_H, sejam codificados para genes separados, eles podem ser unidos, empregando método recombinantes, por um ligador sintético que os possibilita serem feitos como uma única cadeia de proteína na qual as regiões de V_L e V_H unem-se para formar moléculas monovalentes (conhecidas como cadeia Fv única (scFv)); vide por exemplo, Bird e similares *Science* 242:423-426 (1988) e Huston e similares

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)). Tais anticorpos de cadeia única também são pretendidos ser abrangido no termo "porção de ligação de antígeno" de um anticorpo. Outras formas de anticorpos de cadeia única, tal como diacorpos são também abrangidas. Os diacorpos são anticorpos bi-específicos bivalentes nos quais os domínios V_H e V_L são expressos em uma cadeia de polipeptídeo única, mas empregando um ligador que é muito curto para permitir a união entre os dois domínios na mesma cadeia, desse modo forçando os domínios a unirem-se com os domínios complementares de outra cadeia e criando dois sítios de ligação de antígeno (vide, por exemplo, Holliger e similares *Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A.* 90:6444-6448 (1993); Poljak e similares *Estruture 2:1121-1123 (1994)).*

Além disso, um anticorpo ou porção de ligação de antígeno deste pode ser parte de moléculas de imunoadesão maiores, formadas por associação covalente ou não-covalente do anticorpo ou porção de anticorpo com uma ou mais outras proteínas ou peptídeos. Os exemplos de tais moléculas de imunoadesão incluem o uso da região de núcleo de estreptavidina para preparar uma molécula scFv tetramérica (Kipriyanov e similares *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101 (1995)) e uso de um resíduo de cisteína, um peptídeo marcador e um rótulo de poliistidina C-terminal para preparar moléculas scFv bivalentes biotiniladas (Kipriyanov e similares *Mol. Immunol.* 31:1047-1058 (1994)). Outros exemplos incluem onde um ou mais CDRs de um anticorpo são incorporados em uma molécula ou covalentemente ou não-covalentemente para torná-la uma imunoadesina que especificamente se liga a um antígeno de interesse, tal como CTLA4. Em tais modalidades, o CDR(s) pode ser incorporado como parte de uma cadeia de polipeptídeo maior, pode ser covalentemente ligado à outra cadeia de polipeptídeo, ou pode ser incorporado não-covalentemente. As porções de anticorpo, tal como os fragmentos Fab e $F(ab)_2$, podem ser preparadas de anticorpos inteiros que empregam técnicas convencionais, tal como digestão de pepsina ou papaína, respectivamente, de anticorpos inteiros. Além disso, os anticorpos, porções de anticorpos e moléculas de imunoadesão podem ser obtidos empregando técnicas de DNA recombinante padrão, como descrito

aqui.

Onde um "anticorpo" é referido aqui com respeito à presente invenção, deveria ser entendido que uma porção de ligação de antígeno deste pode ser empregada aqui também. Uma porção de ligação de antígeno compete com o anticorpo intacto para ligação específica. Geralmente vide, Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2ª ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referência em sua totalidade para todos os propósitos). As porções de ligação de antígeno podem ser produzidas por técnicas de DNA recombinante ou por clivagem química ou enzimática de anticorpos intactos. Em algumas modalidades, as porções de ligação de antígeno incluem os fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, Fv, dAb, e de região de determinação de complementaridade (CDR), anticorpos de cadeia única (scFv), anticorpos quiméricos, diacorpos e polipeptídeos que contêm pelo menos uma porção de um anticorpo que é suficiente para conceder ligação de antígeno específico ao polipeptídeo. Em modalidades que têm um ou mais sítios de ligação, os sítios de ligação podem ser idênticos a um outro ou podem ser diferentes.

Os termos "anticorpo humano" ou "anticorpo de seqüência humana", quando empregado alternadamente aqui, inclui anticorpos que têm regiões constantes e variáveis (se presente) derivadas de seqüências de imunoglobulina de linha germinativa humana. Os anticorpos de seqüência humana da invenção podem incluir resíduos de aminoácido não codificados por seqüências de imunoglobulina de linha germinativa humana (por exemplo, mutações introduzidas por mutagênese de sítio específico ou aleatória *in vitro* ou por mutação somática *in vivo*). Entretanto, o termo "anticorpo humano", como empregado aqui, não é pretendido incluir anticorpos "quiméricos" nos quais as seqüências de CDR derivadas da linha germinativa de outra espécie de mamífero, tal como um camundongo, foram enxertadas em seqüências de estrutura humanas (isto é, anticorpos "humanizados" ou PRIMATIZED™).

O termo "anticorpo quimérico" como empregado aqui significa um anticorpo que compreende regiões de dois ou mais anticorpos diferentes.

Em uma modalidade, um ou mais dos CDRs são derivados de um anticorpo anti-CTLA4 humano. Em outra modalidade, todos os CDRs são derivados de um anticorpo anti-CTLA4 humano. Em outra modalidade, os CDRs de mais do que um anticorpo anti-CTLA4 humano são combinados em um anticorpo humano quimérico. Por exemplo, um anticorpo quimérico pode incluir um CDR1 da cadeia leve de um primeiro anticorpo anti-CD40 humano, um CDR2 da cadeia leve de um segundo anticorpo anti-CTLA4 humano e um CDR3 e CDR3 da cadeia leve de um terceiro anticorpo anti-CTLA4 humano, e o CDRs da cadeia pesada podem ser derivados de um ou mais outros anticorpos anti-CD40. Além disso, as regiões de estrutura podem ser derivadas de um dos mesmos anticorpos anti-CTLA4 ou de um ou mais humanos diferentes.

Além disso, como descrito anteriormente aqui, o anticorpo quimérico inclui um anticorpo que compreende uma porção derivada das seqüências de linha germinativa de mais do que uma espécie.

"Glicoforma" refere-se a uma estrutura de oligossacarídeo complexa que compreende ligações de várias unidades de carboidrato. Tais estruturas são descritas em, por exemplo, Essentials of Glycobiology Varki e similares, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1999), que também fornece uma revisão de nomenclatura de glicobiologia padrão. Tais glicoformas incluem, porém não estão limitadas a, G2, G1, G0, G-1, e G-2 (vide, por exemplo, Publicação de Patente Internacional nº WO 99/22764).

"Padrão de glicosilação" é definido como o padrão de unidades de carboidrato que são covalentemente ligadas a uma proteína (por exemplo, a glicoforma) bem como aos sítios aos quais a glicoforma(s) está covalentemente ligada à cadeia principal de peptídeo de uma proteína, mais especificamente a uma proteína de imunoglobulina.

É provável que os anticorpos expressados por linhagens de célula diferentes ou em animais transgênicos tenham padrões de glicosilação e/ou glicoformas diferentes comparados com cada outro. Entretanto, todos os anticorpos codificados pelas moléculas de ácido nucléico fornecidas aqui,

ou compreendendo as seqüências de aminoácido fornecidas aqui são parte da presente invenção, independente da glicosilação dos anticorpos.

Pelo termo "quantidade eficaz", ou "quantidade terapeuticamente eficaz," como empregado aqui, é entendida uma quantidade que quando administrado a um mamífero, preferivelmente um humano, media uma resposta terapêutica detectável comparada com a resposta detectada na ausência do composto. Uma resposta terapêutica, tal como, porém não-limitada a, inibição de e/ou diminuição do crescimento de tumor, tamanho de tumor, metástase, e similares, pode ser facilmente avaliada por uma pletora de métodos reconhecidos pela técnica, incluindo, por exemplo, tais métodos como descrito aqui.

O técnico versado entenderia que a quantidade eficaz do composto ou composição administrado aqui varia e pode ser facilmente determinada com base em vários fatores tal como a doença ou condição sendo tratada, o estágio da doença, a idade e saúde e condição física do mamífero sendo tratado, a severidade da doença, o composto particular sendo administrado, e similares.

Pelo termo "compete", como empregado aqui com respeito a um anticorpo, é entendido que um primeiro anticorpo, ou uma porção de ligação de antígeno deste, compete para ligação com um segundo anticorpo, ou uma porção de ligação de antígeno deste, onde a ligação do primeiro anticorpo com seu epítopo cognato é detectavelmente diminuída na presença do segundo anticorpo comparado com a ligação do primeiro anticorpo na ausência do segundo anticorpo. A alternativa, onde a ligação do segundo anticorpo ao seu epítopo é também detectavelmente diminuída na presença do primeiro anticorpo, pode, porém não necessário ser o caso. Isto é, um primeiro anticorpo pode inibir a ligação de um segundo anticorpo ao seu epítopo sem que o segundo anticorpo iniba a ligação do primeiro anticorpo ao seu epítopo respectivo. Entretanto, quando cada anticorpo detectavelmente inibe a ligação do outro anticorpo com seu epítopo ou ligando cognato, quer em extensão igual, maior, ou menor, diz-se que os anticorpos "competem de forma cruzada com cada outro para ligação de seus respectivos epítopos.

Por exemplo, os anticorpos que competem de forma cruzada podem ligar-se ao epítopo, ou poção do epítopo, aos quais os anticorpos empregados na invenção se ligam. O uso de ambos anticorpos de competição e de competição cruzada é abrangido pela presente invenção. Independente do mecanismo pelo qual tal competição ou competição cruzada ocorra (por exemplo, impedimento estérico, alteração conformacional, ou ligação a um epítopo comum, ou porção deste, e similares), o técnico versado apreciaria, com base nos ensinamentos fornecidos aqui, que tais anticorpos de competição e de interação fossem abrangidos e pudessem ser úteis para os métodos descritos aqui.

O termo "epítopo" inclui qualquer determinante de proteína capaz de ligação específica a um receptor de célula T ou imunoglobulina. Os determinantes epitópicos normalmente consistem em agrupamentos de superfície quimicamente ativos de moléculas tal como cadeias laterais de açúcar ou aminoácidos e normalmente têm três características estruturais dimensionais específicas, bem como as características de carga específicas. Os epítopos conformacionais e não-conformacionais são distintos pelo fato de que a ligação ao anterior porém não ao último é perdida na presença de solventes de desnaturação.

"Material instrutivo," quando tal termo é aqui empregado, inclui uma publicação, um registro, um diagrama, ou qualquer outro meio de expressão que possa ser empregado para comunicar a utilidade do composto, combinação e/ou composição da invenção no *kit* para afetar, aliviar ou tratar as várias doenças ou distúrbios recitados aqui. Opcionalmente, ou alternadamente, o material instrutivo pode descrever um ou mais métodos para aliviar as doenças ou distúrbios em uma célula, um tecido, ou um mamífero, incluindo como descrito em outro lugar aqui.

O material instrutivo do *kit* pode, por exemplo, ser anexado a um recipiente que contenha o composto e/ou composição da invenção ou ser transportado junto com um recipiente que contenha o composto e/ou composição. Alternativamente, o material instrutivo pode ser transportado separadamente do recipiente com a intenção de que o recipiente use o material

instrutivo e o composto cooperativamente.

Exceto quando notado, os termos "paciente" ou "indivíduo" são alternadamente empregados e referem-se aos mamíferos tal como os pacientes humanos e primatas não-humanos, bem como indivíduos veterinários tal como coelhos, ratos, e camundongos, e similares animais. Preferivelmente, paciente refere-se a um humano.

Observação convencional é empregada aqui para retratar as seqüências de polipeptídeo: a extremidade esquerda de uma seqüência de polipeptídeo é a terminação de amino; a extremidade direita de uma seqüência de polipeptídeo é a terminação de carboxila.

Pela frase "especificamente liga-se," como empregado aqui, é entendido um composto, por exemplo, uma proteína, um ácido nucléico, um anticorpo, e similares que reconhece e liga uma molécula específica, porém não-substancialmente reconhece ou liga outras moléculas em uma amostra. Por exemplo, um anticorpo ou um inibidor de peptídeo que reconhece e liga um ligando cognato (por exemplo, um anticorpo anti-CTLA4 que se liga com seu antígeno cognato, CTLA4) em uma amostra, porém não reconhece substancialmente ou liga outras moléculas na amostra. Desse modo, sob as condições de ensaio designadas, a porção de ligação especificada (por exemplo, um anticorpo ou uma porção de ligação de antígeno deste) liga-se preferencialmente a uma molécula alvo particular e não se liga em uma quantidade significante a outros componentes presentes em uma amostra de teste. Uma variedade de formatos de ensaio pode ser empregada para selecionar um anticorpo que especificamente liga uma molécula de interesse. Por exemplo, imunoensaio de ELISA de fase sólida, imunoprecipitação, análise de manchamento do Oeste e BIAcore, são empregados para identificar um anticorpo que especificamente reage com CTLA4. Tipicamente uma reação específica ou seletiva será pelo menos duas vezes o sinal e ruído de base e mais tipicamente mais de 10 vezes a base, ainda mais especificamente, um anticorpo é dito "especificamente ligar" um antígeno quando a constante de dissociação de equilíbrio (K_D) é $\leq$ 1 μM, preferivelmente $\leq$ 100 nM e preferivelmente $\leq$ 10 nM.

O termo "K_D" refere-se a uma constante de dissociação de equilíbrio de uma interação de anticorpo-antígeno particular.

Como empregado aqui, "substancialmente puro" significa uma espécie objeto que é a espécie predominante presente (isto é, em uma base molar é mais abundante do que qualquer outra espécie individual na composição), e preferivelmente uma fração substancialmente purificada é uma composição onde a espécie objeto (por exemplo, um anticorpo anti-CTLA4) compreende pelo menos cerca de 50 por cento (em uma base molar) de todas as espécies macromoleculares presentes. Geralmente, uma composição substancialmente pura compreenderá mais do que cerca de 80 por cento de todas as espécies macromoleculares presentes na composição, mais preferivelmente mais do que cerca de 85%, 90%, 95%, e 99%. Mais preferivelmente, a espécie objeto é purificada para homogeneidade essencial (as espécies contaminantes não podem ser detectadas na composição por métodos de detecção convencionais) onde a composição consiste essencialmente em uma única espécie macromolecular.

Como empregado aqui, "tratar" significa reduzir a freqüência com a qual os sintomas de uma doença (isto é, metástase e/ou crescimento de tumor, ou outro efeito mediado pela atividade e/ou números de células imunes, e similares) são experimentados por um paciente. O termo inclui a administração dos compostos ou agentes da presente invenção para prevenir ou retardar o começo dos sintomas, complicações, ou indícios bioquímicos de uma doença (por exemplo, elevação do nível de PSA), aliviar os sintomas ou deter ou inibir também o desenvolvimento da doença, condição, ou distúrbio. O tratamento pode ser profilático (para prevenir ou retardar o começo da doença, ou para prevenir a manifestação de sintomas clínicos ou subclínicos destes) ou supressão terapêutica ou alívio de sintomas após a manifestação da doença.

I. Terapia de Combinação de Anticorpo-Inibidor de Aromatase

A invenção refere-se a métodos para a administração de um anticorpo que liga CTLA4 humano, ou uma porção de ligação de antígeno do anticorpo, em combinação com terapia hormonal (por exemplo, inibidor de

aromatase) para tratar câncer de mama. A combinação de bloqueio de C-TLA4 com redução no nível de estrogênio em um paciente de acordo com um método da invenção pode fornecer um benefício terapêutico sinérgico como mais completamente descrito abaixo.

Embora a invenção abranja numerosas terapias de combinação onde o anticorpo é administrado ao paciente em combinação com pelo menos um inibidor de aromatase, a presente invenção não está limitada de modo algum aos agentes exemplificados, que são apresentados aqui para propósitos ilustrativos somente.

Em uma modalidade, uma combinação de um anticorpo de C-TLA4, ou uma porção de ligação de antígeno deste, e um inibidor de aromatase ("AI") é administrada a um paciente de câncer de mama. Em um aspecto, o inibidor de aromatase é selecionado do grupo que consiste em anastrozol, letrozol e exemestano que estão comercialmente disponíveis como A-RIMIDEX, FEMARA e AROMASIN respectivamente. Mais preferivelmente, o inibidor de aromatase é exemestano. Isto é porque um efeito sinérgico ou aditivo é mediado por administração de uma combinação que compreende um anticorpo anti-CTLA4 e um AI. Sem desejar estar ligada a qualquer teoria particular da invenção, a terapia de AI pode aumentar, talvez por alterações apoptóticas ou outras alterações arquitetônicas, exposição do antígeno(s) de tumor específico de câncer de mama ao sistema imune tal que a resposta imune para a célula de tumor seja aumentada. Isto é, a terapia hormonal pode criar ou aumentar uma fonte de antígeno de tumor específico mediado por morte de célula de tumor que, sucessivamente, pode alimentar o antígeno de tumor em vias de apresentação de antígeno hospedeiro. O anticorpo anti-CTLA4 media uma resposta imune aumentada aos níveis aumentados de antígeno de tumor específico na via apresentação de antígeno desse modo fornecendo um efeito terapêutico sinérgico potencial quando combinado com a terapia de inibidor de aromatase. Outras terapias de combinação que podem resultar em sinergia com realce de anti-CTLA4 da resposta imune através da liberação de morte de célula de antígenos de tumor específico são radiação, cirurgia, e quimioterapia, entre outras.

Sem desejar estar ligada por qualquer teoria da invenção, a combinação de bloqueio de CTLA4 e inibição de aromatase pode induzir uma resposta imunológica mais robusta ao câncer de mama do que o esperado. Portanto, a combinação de bloqueio de aromatase empregando, entre similares, exemestano, em combinação com um anticorpo anti-CLTA4, pode fornecer um efeito sinérgico potencial desse modo fornecendo um tratamento terapêutico novo importante para o câncer de mama.

Os métodos da invenção podem ser realizados como uma terapia neoadjuvante antes da cirurgia, terapia de radiação, ou qualquer outro tratamento localizado, a fim de sensibilizar as células de tumor ou de outro modo conceder um benefício terapêutico ao paciente. Entretanto, a invenção não está limitada à composição de neoadjuvante. De preferência, os métodos da invenção podem ser empregados ao longo da doença inteira e tratamento *continuum*, por exemplo, porém não-limitado a, terapia adjuvante, de primeira linha, segunda linha, terceira linha, e similares, para câncer de mama.

Em uma modalidade, o câncer de mama é receptor de estrogênio positivo (ER+), tal que a inibição de aromatase reduza o nível de estrogênio desse modo afetando o tumor. Em um aspecto, o tumor ER+ está presente em uma paciente mulher pós-menopáusica (pós-men) o, tal que a diminuição do nível de estrogênio medeie um efeito antitumor terapêutico no paciente. Entretanto, ao mesmo tem em que pode ser preferível administrar a terapia AI a um paciente ER+ pós-menopáusico, a presente invenção não está limitada a tal paciente, porém de preferência, compreende a administração de terapia de inibidor de aromatase- anticorpo anti-CTLA4 a qualquer paciente que possa derivar um benefício terapêutico de uma combinação de nível de estrogênio diminuído combinado com realce imune por bloqueio de CTLA4, como determinado pelo técnico versado equipado com os ensinamentos fornecidos aqui.

II. Regimes de dosagem

Os regimes de dosagem podem ser ajustados para fornecer a resposta desejada ideal. Por exemplo, um bolo único pode ser administrado,

várias doses divididas podem ser administradas com o passar do tempo ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular composições parenterais na forma de unidade de dosagem para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de unidade de dosagem como empregado aqui refere-se às unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos mamíferos a serem tratados; cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de composto ativo calculado para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o portador farmacêutico requerido. A especificação para as formas de dosagem de unidade da invenção é ditada por, e diretamente dependente (a) das características únicas do anticorpo e do efeito terapêutico ou profilático particular a ser obtido, e (b) das limitações inerentes na técnica de composição de um tal composto ativo para o tratamento de sensibilidade em indivíduos.

Umas faixas não limitantes, exemplares para uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo, administrado de acordo com a invenção, é pelo menos cerca de 1 mg/kg, pelo menos cerca de 5 mg/kg, pelo menos cerca de 10 mg/kg, mais do que cerca de 10 mg/kg, ou pelo menos cerca de 15 mg/kg, por exemplo, cerca de 1-30 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 1-25 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 1-20 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 5-20 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 10-20 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 15-20 mg/kg, ou, por exemplo, cerca de 15 mg/kg. Deverá ser observado que os valores de dosagem podem variar com o tipo e severidade da condição a ser aliviado, e pode incluir doses únicas ou múltiplas. Deve ser também entendido que para qualquer indivíduo particular, os regimes de dosagem específicos deveriam ser ajustados com o passar do tempo de acordo com a necessidade do indivíduo e com o julgamento profissional da pessoa administrando ou supervisionando a administração das composições, e que as faixas de dosagem apresentadas aqui são exemplares somente e não é pretendido limitar o escopo ou prática da composição reivindicada. As dosagens e regimes apropriados determinantes para administra-

ção do anticorpo são bem-conhecidos na técnica pertinente e seria entendido serem abrangidos pelo técnico uma vez que fornecido os ensinamentos descritos aqui.

Em uma modalidade, o anticorpo é administrado em uma formulação intravenosa como uma solução aquosa estéril que contém cerca de 5 a 20 mg/ml de anticorpo, em um sistema de tampão apropriado.

Em uma modalidade, para administração de doses baixas, parte da dose é administrada por um bolo intravenoso e o resto por infusão da formulação de anticorpo. Por exemplo, uma injeção intravenosa de 0,01 mg/kg do anticorpo pode ser dada como um bolo, e o resto de uma dose de anticorpo predeterminada pode ser administrado através de injeção intravenosa. Em outra modalidade, a dose baixa inteira é administrada como uma injeção de bolo única. Para doses mais altas, por exemplo, 3 mg/kg, o anticorpo não é administrado como um bolo, porém a quantidade total é administrada através de infusão. Uma dose predeterminada do anticorpo pode ser administrada, por exemplo, durante um período de cerca de uma hora e meia a cerca de cinco horas.

A presente invenção refere-se à administração de uma combinação de um anticorpo anti-CTLA4 e um inibidor de aromatase. O técnico versado apreciaria que a combinação pudesse ser administrada simultaneamente ou os dois agentes pudessem ser administrados em tempos diferentes. Por exemplo, em uma modalidade, o anticorpo é administrado como uma infusão e/ou injeção única e o inibidor de aromatase (por exemplo, exemestato) é administrado uma vez por dia que começa antes, durante, ou depois da administração do anticorpo. Tipicamente, exemestano é administrado diariamente, uma vez por dia, normalmente na mesma hora do dia e acompanhado com uma refeição. Entretanto, a presente invenção não está limitada a qualquer dosagem ou regime de administração particular para um inibidor de aromatase. De preferência, a dose, rotina e regime ideal, para administração do anticorpo e do inibidor de aromatase, podem ser facilmente determinados por alguém de experiência ordinária técnica pertinente que usa métodos bem-conhecidos.

Por exemplo, uma dose única ou doses múltiplas do anticorpo podem ser administradas. Alternativamente, pelo menos uma dose, ou pelo menos três, seis ou 12 doses podem ser administradas. As doses podem ser administradas, por exemplo, a cada duas semanas, mensalmente, a cada vinte dias, a cada 25 dias, a cada 28 dias, a cada 30 dias, a cada 40 dias, a cada 6 semanas, a cada 50 dias, a cada dois meses, a cada 70 dias, a cada 80 dias, a cada três meses, a cada seis meses ou anualmente. Além disso, o inibidor de aromatase pode ser administrado diariamente, várias vezes ou uma vez por dia, semanalmente, a cada duas semanas, em cada terceira semana, cada quarta semana, mensalmente, cada três meses, cada seis meses, uma vez por ano, ou qualquer outro período que forneça um benefício terapêutico ao paciente determinado pelo médico qualificado.

O anticorpo pode ser administrado até a progressão da doença, ou toxicidade intolerável, ou até 12 ciclos sucessivos, qualquer que seja o tempo mais curto. O anticorpo pode também ser administrado empregando um regime que compreende a administração de uma dose de carregamento seguido por uma mais baixa. Os cursos repetidos de pelo menos um, e mais preferivelmente vários ciclos de anticorpo e um inibidor de aromatase podem ser administrados a um paciente que experimenta uma recorrência de tumor o qual teve benefício previamente derivado da administração da combinação de um anticorpo anti-CTLA4 e um inibidor de aromatase.

Em uma modalidade, uma única injeção que compreende o anticorpo anti-CTLA4 é administrada a um paciente intravenosamente em uma dose de cerca de 3 mg/kg a cada vinte e oito dias. Uma dose de aproximadamente 25 mg por dia de exemestano também é administrada ao paciente, ou antes de, durante e/ou depois da administração do anticorpo. Em uma modalidade da invenção, uma dose única que compreende o anticorpo anti-CTLA4 é administrada a um paciente intravenosamente em uma dose de cerca de 3 mg/kg, preferivelmente, cerca de 6 mg/kg, mais preferivelmente, cerca de 10 mg/kg, preferivelmente, cerca de 15 mg/kg, a cada três meses. Uma dose de aproximadamente 25 mg por dia de exemestano também é administrada ao paciente, ou antes de, durante e/ou depois da administração

do anticorpo. Em outra modalidade, uma injeção de bolo que compreende um anticorpo anti-CTLA4 é administrada a um paciente intravenosamente em uma dose mais alta do que 3 mg/kg (por exemplo, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ou 40 mg/kg) a cada vinte e oito dias. A dose pode ser ajustada como conhecido na técnica baseado em, entre similares fatores, toxicidade, se alguma, e eficácia terapêutica. Uma dose de aproximadamente 25 mg por dia de exemestano também é administrada ao paciente, ou antes de, durante e/ou depois da administração do anticorpo.

A combinação de inibidor de aromatase-anticorpo pode ser administrada como uma terapia adjuvante sistêmica de primeira linha, ou pode ser administrada ao paciente como uma terapia neoadjuvante antes da cirurgia, terapia de radiação, ou qualquer outro tratamento, a fim de sensibilizar as células de tumor ou de outro modo conceder um benefício terapêutico ao paciente.

Além disso, a combinação pode ser administrada como uma terapia de segunda linha, tal como, mas não-limitado a, uma vez que a terapia de tamoxifen de primeira linha tenha falhado. Alternativamente, a combinação pode ser administrada simultaneamente com terapia de tamoxifen, e ou a qualquer momento durante a terapia de tamoxifen, que tipicamente é administrada durante cerca de cinco anos seguinte o tratamento inicial. Em outra modalidade, a combinação de anticorpo anti-CTLA4 e exemestano pode ser administrada a um paciente seguinte cerca de dois ou três anos de tamoxifen ou outra terapia adjuvante. Isto é porque foi demonstrado que a terapia de exemestano seguinte cerca de dois a três anos de terapia de tamoxifen fornece um benefício terapêutico ao mesmo tempo em que reduzindo os efeitos colaterais de terapia de tamoxifen.

Desse modo, uma combinação de um anticorpo anti-CLTA4 e um inibidor de aromatase, preferivelmente, exemestano, pode fornecer um benefício terapêutico uma vez que a terapia de tamoxifen tenha falhado, uma vez que a terapia adjuvante sistêmica empregando outro inibidor de aromatase (por exemplo, anastrozol, letrozol, e similares) tenha falhado, e/ou depois de administração de tamoxifen durante cerca de dois a três anos, en-

tre similares. Portanto, a invenção abrange a administração de um anticorpo anti-CTLA4 e um inibidor de aromatase em combinação com ou seguinte à terapia anti-hormonal adicional, incluindo, porém não-limitado a, tamoxifen, anastrozol, letrozol e fulvestrant como seria apreciado por alguém versado na técnica com base na descrição fornecida aqui.

III. Anticorpos Anti-CTLA4

Em uma modalidade, o anticorpo de CTLA4 empregado na invenção compreende uma cadeia pesada onde a seqüência de aminoácido do V_H compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NOs: 3, 15 e 27. Em ainda outra modalidade, o V_L do anticorpo de CTLA4 compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NOs:9, 21 e 33. Mais preferivelmente, as regiões de V_H e V_L do anticorpo compreendem as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:3 (V_H 4.1.1) e SEQ ID NO:9 (V_L 4.1.1), respectivamente; as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:15 (V_H 4.13.1) e SEQ ID NO:21 (V_L 4.13.1), respectivamente; e as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:27 (V_H 11.2.1) e SEQ ID NO:33 (V_L 11.2.1), respectivamente. Mais preferivelmente, o anticorpo é ticilimumab (também conhecido como CP-675,206) que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 11.2.1.

Em ainda outra modalidade, a seqüência de aminoácido da cadeia pesada compreende a seqüência de aminoácido codificada por um ácido nucléico que compreende as seqüências de ácido nucléico apresentadas em SEQ ID NOs:1, 13, e 25. Em ainda outra modalidade, a cadeia leve compreende a seqüência de aminoácido codificada por um ácido nucléico que compreende as seqüências de ácido nucléico apresentadas em SEQ ID NOs: 7, 19 e 31. Mais preferivelmente, as cadeias pesada e leve compreendem as seqüências de aminoácido codificadas por ácidos nucléico que compreendem as seqüências de ácido nucléico apresentadas em SEQ ID NO:1 (cadeia pesada 4.1.1) e SEQ ID NO:7 (cadeia leve 4.1.1), respectivamente; as seqüências de ácido nucléico, apresentadas em SEQ ID NO:13 (cadeia pesada 4.13.1) e SEQ ID NO:19 (cadeia leve 4.13.1), respectivamente; e as

seqüências de ácido nucléico, apresentadas em SEQ ID NO:25 (cadeia pesada 11.2.1) e SEQ ID NO:31 (cadeia leve 11.2.1), respectivamente.

Além disso, o anticorpo pode compreender uma seqüência de aminoácido de cadeia pesada que compreende seqüências aminoácido de CDR humano derivadas do gene de V_H 3-30 ou 3-33, ou substituições conservativas ou mutações somáticas aqui. É entendido que o gene de V_H 3-30 ou V_H 3-33 codifica de FR1 até FR3 da região variável de cadeia pesada de uma molécula de anticorpo. Desse modo, a invenção abrange um anticorpo que compartilha pelo menos 85%, mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 91%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 94%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 97%, ainda mesmo mais preferivelmente, pelo menos 98%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 99%, e preferivelmente, 100% de identidade, com a seqüência de FR1 até FR3 de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 2.9.1.1, 10D1, e DP-50.

O anticorpo pode também compreender as regiões de CDR em sua cadeia leve derivada do gene de A27 ou O12 ou pode compreender as regiões de CDR de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 2.9.1.1, 10D1.

Em outras modalidades da invenção, o anticorpo inibe a ligação entre CTLA4 e B7-1, B7-2, ou ambos. Preferivelmente, o anticorpo pode inibir a ligação com B7-1 com um IC_{50} de cerca de 100 nM ou menos, mais preferivelmente, cerca de 10 nM ou menos, por exemplo cerca de 5 nM ou menos, ainda mais preferivelmente, cerca de 2 nM ou menos, ou ainda mais preferivelmente, por exemplo, cerca de 1 nM ou menos. Do mesmo modo, o anticorpo pode inibir a ligação com B7-2 com um IC_{50} de cerca de 100 nM ou menos, mais preferivelmente, 10 nM ou menos, por exemplo, ainda mais preferivelmente, cerca de 5 nM ou menos, ainda mais preferivelmente, cerca de 2 nM ou menos, ou ainda mais preferivelmente, cerca de 1 nM ou menos.

Além disso, em outra modalidade, o anticorpo anti-CTLA4 tem

uma afinidade de ligação para CTLA4 de cerca de 10^{-8}, ou maior afinidade, mais preferivelmente, cerca de 10^{-9} ou maior afinidade, mais preferivelmente, cerca de 10^{-10} ou maior afinidade, e ainda mais preferivelmente, cerca de 10^{-11} ou maior afinidade.

O anticorpo anti-CTLA4 inclui um anticorpo que compete para ligação com um anticorpo que tem seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 6.1.1, 11.2.1, 4.13.1 e 4.14.3. Além disso, o anticorpo anti-CTLA4 pode competir para ligação com anticorpo 10D1.

Em outra modalidade, o anticorpo preferivelmente interage com um anticorpo que tem uma seqüência de cadeia pesada e leve, uma seqüência de cadeia leve variável e uma pesada variável, e/ou as seqüências de CDR pesadas e leves de anticorpo 4.1.1, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1. ou 11.2.1. Por exemplo, o anticorpo pode ligar-se ao epítopo ao qual um anticorpo que tenha seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve, seqüências variáveis e /ou seqüências de CDR, de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, ou 11.2.1 se ligue. Em outra modalidade, o anticorpo interage com um anticorpo que tem seqüências de cadeia pesada e leve, ou seqüências de ligação de antígeno, de 10D1 (MDX-D010).

Em outra modalidade, a invenção é praticada empregando um anticorpo anti-CTLA4 que compreende uma cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido de CDR-1, CDR-2, e CDR-3, e uma cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido de CDR-1, CDR-2, e CDR-3, de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, e 12.9.1.1, ou seqüências tendo alterações das seqüências de CDR selecionadas do grupo que consiste em alterações conservativas, onde as alterações conservativas são selecionadas do grupo que consiste em substituição de resíduos não-polares por outros resíduos não-polares, substituição de resíduos carregados polares por outros resíduos não carregados polares, substituição de resíduos carregados polares por outros resíduos carregados polares, e substituição de resíduos estruturalmente similares; substituições

não conservativas, onde as substituições não conservativas são selecionadas do grupo que consiste em substituição de resíduo carregado polar para resíduos não carregados polares e substituição de resíduos não-polares para resíduos polares, adições e deleções.

Em uma outra modalidade da invenção, o anticorpo contém menos do que 10, 7, 5, ou 3 alterações de aminoácido da seqüência de linha germinativa na estrutura ou regiões de CDR. Em outra modalidade, o anticorpo contém menos do que 5 alterações de aminoácido nas regiões de estrutura e menos do que 10 alterações nas regiões de CDR. Em uma modalidade preferida, o anticorpo contém menos do que 3 alterações de aminoácido nas regiões de estrutura e menos do que 7 alterações nas regiões de CDR. Em uma modalidade preferida, as alterações nas regiões de estrutura são conservativas e aquelas nas regiões de CDR são mutações somáticas.

Em outra modalidade, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 94%, preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência (por exemplo, aminoácido, ácido nucléico, ou ambos) ou similaridade de seqüência sobre as seqüências de tamanho natural de cadeia pesada e leve, ou sobre a cadeia pesada ou a leve, separadamente, com as seqüências de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1. Ainda mais preferivelmente, o anticorpo compartilha 100% de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre a cadeia pesada e a cadeia leve, ou com a cadeia pesada ou a cadeia leve, separadamente, de um anticorpo selecionado de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1.

Em outra modalidade, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 94%, mais preferivelmente, pelo menos 95%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre as seqüências

de tamanho natural de cadeia pesada e leve, ou sobre a cadeia leve ou pesada, separadamente, com as seqüências de linha germinativa V_K A27, linha germinativa V_K O12, e linha germinativa DP50 (que é um alelo do loco de gene de V_H 3-33). Ainda mais preferivelmente, o anticorpo compartilha 100% de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre a seqüência de cadeia pesada de linha germinativa DP50 e/ou com a seqüência de cadeia leve de linha germinativa A27, ou linha germinativa O12.

Em uma modalidade, o anticorpo compartilha 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 94%, preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência (por exemplo, aminoácido, ácido nucléico, ou ambos) ou similaridade de seqüência sobre as seqüências de região variável de cadeia pesada e leve, ou sobre a seqüência de região variável de cadeia leve ou pesada, separadamente, com as seqüências de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1. Ainda mais preferivelmente, o anticorpo compartilha 100% de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre as seqüências de região variável de cadeia pesada e cadeia leve, ou com a seqüência de cadeia leve ou cadeia pesada, separadamente, de um anticorpo selecionado de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1.

Em outra modalidade, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 94%, mais preferivelmente, pelo menos 95%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre a seqüência de região variável de cadeia pesada com a seqüência variável de cadeia pesada de linha germinativa pesada DP50 (que é um alelo do loco de gene de V_H 3-33) ou com a seqüência variável de cadeia leve de linha germinativa V_K A27, ou linha germinativa V_K O12. Ainda mais preferivelmente, a seqüência de região de cadeia pesada de anticorpo compartilha 100% de identidade de

seqüência ou similaridade de seqüência com a seqüência de linha germinativa DP50 ou com a seqüência de cadeia leve de linha germinativa A27, ou linha germinativa O12.

Em uma modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com a cadeia pesada, a cadeia leve, ou ambas, seqüências FR1 até FR4 com as seqüências de região FR1 até FR4 de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1. Ainda mais preferivelmente, o anticorpo compartilha 100% de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre as seqüências pesadas, leves, ou ambas, seqüências FR1 até FR4 com anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1.

Em outra modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, e preferivelmente, cerca de 100%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com as seqüências de cadeia pesada FR1 até FR3 com as seqüências de região FR1 até FR3 de linha germinativa DP50.

Em ainda outra modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, e preferivelmente, cerca de 100%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com as seqüências de cadeia leve FR1 até FR4 com as seqüências de região FR1 até FR4 de linha germinativa V_K A27, ou linha germinativa V_K O12.

Em uma modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos

95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com as seqüências de CDR-1, CDR-2 e CDR-3 de cadeia pesada, cadeia leve, ou ambas, de anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1. Ainda mais preferivelmente, o anticorpo compartilha 100% de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência sobre as seqüências de CDR-1, CDR-2 e CDR-3 pesadas, leves, ou ambas, com anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1.

Em outra modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, e mais preferivelmente, cerca de 100%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com as seqüências de CDR-1 e CDR-2 de cadeia pesada com as seqüências de CDR-1 e CDR-2 de linha germinativa DP50.

Em ainda outra modalidade da presente invenção, o anticorpo compartilha pelo menos 80%, mais preferivelmente, pelo menos 85%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 90%, ainda mais preferivelmente, pelo menos 95%, mais preferivelmente, pelo menos 99%, e preferivelmente, cerca de 100%, de identidade de seqüência ou similaridade de seqüência com as e seqüências de CDR-1, CDR-2 CDR-3 de cadeia leve com as seqüências de CDR-1, CDR-2 e CDR-3 de linha germinativa V_K A27, ou linha germinativa V_K O12.

Os exemplos de anticorpos empregáveis na presente invenção, e métodos para produzi-los, são descritos, entre similares, no Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 09/472.087, agora emitidos como Patente dos Estados Unidos nº 6.682.736; Pedido Internacional nº PCT/US00/23356 (publicado em 1 de março de 2001, como WO 01/14424) (por exemplo, anticorpo 10D1, também conhecido como MDX-010, Medarex, Princeton, NJ); Pedido Internacional nº PCT/US99/28739 (publicado em 8 de junho de 2000, como WO 00/32231); a Patente U.S. Nº 5.811.097, 5.855.887, 6.051.227, e

6.207.156; cada um dos quais está aqui incorporado por referência. Ao mesmo tempo em que a informação sobre as seqüências de ácido nucléico e aminoácido referindo-se a estes anticorpos é fornecida aqui, outra informação pode ser constatada na Patente dos Estados Unidos nº 6.682.736, bem como WO 00/37504; as seqüências apresentadas nestes pedidos estão desse modo incorporadas aqui por referência.

Certos usos para estes anticorpos, para tratar vários cânceres foram descritos no Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 10/153.382, agora publicado como Publicação do Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2003/0086930, que está incorporado por referência como se apresentado em sua totalidade aqui.

As características de anticorpos anti-CTLA4 humanos úteis nos métodos da invenção são descritas extensivamente em, por exemplo, Patente dos Estados Unidos nº 6.682.736, e inclui anticorpos que têm seqüências de aminoácido de um anticorpo tal como, porém não-limitado a, anticorpo 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1. A invenção também refere-se aos métodos empregando anticorpos que compreendem as seqüências de aminoácido dos CDRs das cadeias pesadas e leves destes anticorpos, bem como aquelas compreendendo alterações nas regiões de CDR, como descrito nos pedidos e patentes citados acima. A invenção também trata de anticorpos que compreendem as regiões variáveis das cadeias pesadas e leves destes anticorpos. Em outra modalidade, o anticorpo é selecionado de um anticorpo que compreende as seqüências de aminoácido de tamanho natural, região variável, ou CDR das cadeias pesadas e leves de anticorpos 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, e 12.9.1.1, e 10D1.

Ao mesmo tempo em que os anticorpos anti-CTLA4 descritos previamente aqui podem ser preferidos, o técnico versado, com base na descrição fornecida aqui, apreciaria que a invenção abrangesse uma ampla variedade de anticorpos anti-CTLA4 e que não estivesse limitada a estes anticorpos particulares. Mais particularmente, ao mesmo tempo em que os an-

ticorpos humanos são preferidos, a invenção está de modo algum limitada a anticorpos humanos; de preferência, a invenção abrange anticorpos úteis, independente da origem da espécie, e inclui, entre similares, anticorpos quiméricos, primatizados e/ou humanizados. Além disso, embora os anticorpos exemplificados aqui tenham sido obtidos empregando um mamífero transgênico, por exemplo, um camundongo que compreende um repertório imune humano, o técnico versado, com base na descrição fornecida aqui, entenderia que a presente invenção não está limitada a um anticorpo produzido por este ou por qualquer outro método particular. Ao contrário, a invenção inclui um anticorpo anti-CTLA4 produzido por qualquer método, incluindo, porém não-limitado a, um método conhecido na técnica (por exemplo, avaliação de bibliotecas de exibição de fago, e similares) ou a ser desenvolvido no futuro para a produção de um anticorpo anti-CTLA4 da invenção. Com base na descrição extensa fornecida aqui e, por exemplo, na Patente dos Estados Unidos nº 6.682.736, por Hanson e similares, e Publicação do Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2002/0088014, alguém versado na técnica pode facilmente produzir e identificar um anticorpo útil para o tratamento de câncer de mama em combinação com um agente terapêutico hormonal empregando os novos métodos descritos aqui.

A presente invenção abrange anticorpos humanos produzidos empregando um mamífero não-humano transgênico, isto é, XenoMouse® (Abgenix, Inc., Fremont, CA) como descrito na U.S. 6.682.736, por Hanson e similares.

Outro sistema de camundongo transgênico para produção de anticorpos "humanos" é referido como "HuMAb-Mouse®" (Medarex, Princeton, NJ), que contém minilocos de gene de imunoglobulina humana que codifica as seqüências de imunoglobulina de cadeia leve capa e pesada (mu e gama) humana não redispostas, junto com as mutações alvos que desativam o loco de cadeia capa ou um endógeno (Lonberg e similares *Nature* **368**:856-859 (1994), e Patente U.S. nº 5.770.429).

Entretanto, a invenção usa anticorpos anti-CTLA4 humanos produzidos empregando qualquer mamífero transgênico tal como, porém não-

limitado a, o Kirin TC Mouse® (Kirin Beer Kabushiki Kaisha, Tóquio, Japão) como descrito em, por exemplo, Tomizuka e similares, *Proc Natl Acad Sci USA* **97**:722 (2000); Kuroiwa e similares, Nature Biotechnol **18**:1086 (2000); Publicação de Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2004/0120948, por Mikayama e similares; e o HuMAb-Mouse® (Medarex, Princeton, NJ) e XenoMouse® (Abgenix, Inc., Fremont, CA), supra. Desse modo, a invenção abrange empregar um anticorpo anti-CTLA4 produzido empregando qualquer animal transgênico ou outro animal não-humano.

Em outra modalidade, os anticorpos empregados nos métodos da invenção não são completamente humanos, mas "humanizados". Em particular, os anticorpos de camundongo ou anticorpos de outras espécies podem ser "humanizados" ou "primatizados" empregando técnicas bem-conhecidas na técnica. Vide, por exemplo, Winter e Harris *Immunol.* Today **14**:43-46 (1993), Wright e similares Crit. Reviews em Immunol. **12**:125-168 (1992), e Patente dos Estados Unidos nº 4.816.567, por Cabilly e similares, e Mage e Lamoyi em *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications.* pp 79-97, Marcel Dekker, Inc., Nova Iorque, NY (1987). Desse modo, os anticorpos quiméricos humanizados, anticorpos anti-CTLA4 derivados de qualquer espécie (incluindo anticorpos de cadeia única obtidos de camelídeos como descrito em, por exemplo, Patente U.S. Nos. 5.759.808 e 6.765.087, por Casterman e Hamers), bem como qualquer anticorpo humano, pode ser combinado com um agente terapêutico para praticar os novos métodos descritos aqui.

Como será apreciado com base na descrição fornecida aqui, os anticorpos para uso na invenção podem ser obtidos de um mamífero não-humano transgênico, e hibridomas derivados destes, porém podem também ser expressos em linhagens de célula exceto hibridomas.

As linhagens de célula de mamífero disponíveis como hospedeiros para expressão são bem-conhecidas na técnica e incluem muitas linhagens de célula imortalizadas disponíveis da American Type Culture Collection (ATCC), incluindo porém não-limitado a células de ovário de *hamster* chinês (CHO), células NS0, Sp2, HEK, e HeLa, células de rim de *hamster* bebê

(BHK), células de rim de macaco (COS), e células de carcinoma hepatocelular humano (por exemplo, Hep G2). As células eucarióticas e procarióticas de não-mamífero também podem ser empregadas, incluindo células bacterianas, de levedura, inseto, e planta.

Vários sistemas de expressão podem ser empregados quando bem-conhecidos na técnica, tal como, porém não-limitado àqueles descritos em, por exemplo, Sambrook e Russell, *Molecular Cloning, A Laboratory Approach*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2001), e Ausubel e similares, *Current Protocols in Molecular Biology,* John Wiley & Sons, NY (2002). Estes sistemas de expressão incluem sistemas com base em diidrofolato reductase (DHFR), entre muitos outros. O sistema de glutamina sintetase de expressão é descrito em todo ou parte com relação às Patentes Européias nº 0216846B1, nº 0256055B1, e nº 0323997B1, e Pedido de Patente Europeu nº EP89303964. Em uma modalidade, o anticorpo empregado é feito em células NS0 empregando um sistema de glutamina sintetase (GS-NS0). Em outra modalidade, o anticorpo é feito em células CHO empregando um sistema de DHFR. Ambos os sistemas são bem-conhecidos na técnica e são descritos em, entre similares, Barnes e similares *Biotech & Bioengineering* **73**:261-270 (2001), e referências citadas aqui.

A mutagênese dirigida ao sítio do domínio de CH2 de anticorpo para eliminar a glicosilação pode ser preferida a fim de prevenir as alterações em quaisquer das funções de imunogenicidade, farmacocinéticos e/ou efetoras resultante da glicosilação não-humana. Além disso, o anticorpo pode ser desglicosilado por métodos enzimáticos (vide, por exemplo, Thotakura e similares *Meth. Enzymol.* 138:350 (1987)) e/ou químicos (vide, por exemplo, Hakimuddin e similares, *Arco. Biochem. Biophys.* **259**:52 (1987)).

Além disso, a invenção abrange empregar um anticorpo anti-CTLA4 que compreende um padrão de glicosilação alterado. O técnico versado apreciaria, com base na descrição fornecida aqui, que um anticorpo anti-CTLA4 pudesse ser modificado para compreender sítios de glicosilação adicionais, menores ou diferentes comparados com o anticorpo de ocorrência natural. Tais modificações são descritas em, por exemplo, Publicações

de Pedido de Patente dos Estados Unidos Nos. 2003/0207336, e 2003/0157108, e Publicações de Patente Internacional Nos. WO 01/81405 e 00/24893.

Adicionalmente, a invenção compreende empregar um anticorpo anti-CTLA4 independente da glicoforma, se alguma, presente no anticorpo. Além disso, os métodos para extensivamente remodelar a glicoforma presente em uma glicoproteína são bem-conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, aqueles descritos nas Publicações de Patente Internacional Nos. WO 03/031464, WO 98/58964, e WO 99/22764, e Publicações do Pedido de Patente Nos. 2004/0063911, 2004/0132640, 2004/0142856, 2004/0072290, e Patente dos Estados Unidos nº 6.602.684 por Umaña e similares.

Além disso, a invenção abrange empregar um anticorpo anti-CTLA4 com qualquer modificação não-covalente e covalente conhecida na técnica, incluindo, porém não-limitado a, ligar o polipeptídeo a um de uma variedade de polímeros não-proteináceos, por exemplo, polietileno glicol, polipropileno glicol, ou polioxialquilenos, da maneira apresentada, por exemplo, nas Publicações de Pedido de Patente dos Estados Unidos Nos. 2003/0207346 e 2004/0132640, e Patente U.S. Nos. 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192; 4.179.337.

Adicionalmente, a invenção abrange empregar um anticorpo anti-CTLA4, ou porção de ligação de antígeno deste, proteína quimérica compreendendo, por exemplo, um polipeptídeo de albumina de soro humano, ou fragmento do mesmo. Se a proteína quimérica for produzida empregando métodos recombinantes por, por exemplo, clonagem de um ácido nucléico quimérico que codifica a proteína quimérica, ou por ligação química das duas porções de peptídeo, o técnico versado entenderia uma vez armado com os ensinamentos fornecidos aqui que tais proteínas quiméricas são bem-conhecidas na técnica e poderão conceder propriedades biológicas desejáveis tal como, porém não-limitado a, estabilidade aumentada e meia vida de soro para o anticorpo da invenção e tais moléculas serão portanto incluídas aqui.

Os anticorpos que são gerados para uso na invenção, não ne-

cessitam inicialmente possuir um isótipo particular desejado. De preferência, o anticorpo quando gerado pode possuir qualquer isótipo e pode ser isótipo comutado por conseguinte empregando técnicas convencionais. Estes incluem técnicas recombinantes diretas (vide, por exemplo, Patente dos Estados Unidos 4.816.397), e técnicas de fusão de célula-célula (vide, por exemplo, Patente dos Estados Unidos nº 5.916.771).

A função efetora dos anticorpos empregados na invenção pode ser alterada por comutação do isótipo para um IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, ou IgM para vários usos terapêuticos. Além disso, a dependência do complemento para morte de célula pode ser evitada através do uso de bi-específicos, imunotoxinas, ou radiorrótulos, por exemplo.

Embora o anticorpo 4.1.1, 4.13.1 e 11.2.1 sejam anticorpos de IgG2 e as seqüências das regiões variáveis dos anticorpos sejam fornecidas aqui (figuras 1-3), e nos pedidos e patentes referenciados e incorporados aqui, é entendido que as seqüências de tamanho natural destes anticorpos são abrangidas aqui, bem como o uso de qualquer anticorpo que compreende as seqüências apresentadas nas SEQ ID NOs:1-36, e também compreendendo quaisquer regiões constante, independente do isótipo como mais completamente descrito em outro lugar aqui. Do mesmo modo, qualquer anticorpo que compreende a seqüência de tamanho natural de 10D1, ou qualquer porção do mesmo, incluindo uma seqüência que codifica uma porção de ligação de antígeno de 10D1, pode ser empregado de acordo com os métodos da invenção.

Desse modo, o técnico versado, uma vez suprido com os ensinamentos fornecidos aqui, facilmente apreciaria que a combinação de anticorpo anti-CTLA4- agente terapêutico da invenção pudesse compreender uma ampla pletora de anticorpos anti-CTLA4.

Além disso, alguém versado na técnica, com base na descrição fornecida aqui, entenderia que a invenção não está limitada a administração de somente um único anticorpo; de preferência, a invenção abrange a administração de pelo menos um anticorpo anti-CTLA4, por exemplo, um dos 4.1.1, 4.13.1, ou 11.2.1, em combinação com um agente terapêutico. Além

disso, qualquer combinação de anticorpos anti-CLTA4 pode ser combinada com pelo menos um agente terapêutico e a presente invenção abrange qualquer tal combinação e permutação deste.

IV. Inibidor de Aromatase

A invenção presente refere-se a administração de uma combinação de um anticorpo anti-CTLA4 e um inibidor de aromatase a um paciente para tratamento de câncer de mama.

Os agentes de terapia de hormônio para tratamento de tumores de câncer de mama de expressão de receptor de estrogênio são bem-conhecidos na técnica. Estes agentes de terapia hormonal incluem compostos que afetam o próprio receptor, tal como, porém não-limitado a, tamoxifen que se liga com o receptor desse modo inibindo a interação de receptor:ligando, e fulvestrant que degrada o receptor tal que menos esteja disponível para mediar a sinalização por interação de receptor:ligando.

Adicionalmente, os agentes de terapia de hormônio compreendem inibidores da enzima aromatase tal como, porém não-limitado a, anastrozol, letrozol, e exemestano. Estes agentes anti-hormonais, ao contrário de tamoxifen e fulvestrant, supra, inibem a interação de receptor:ligando diminuindo-se o nível de ligando disponível para ligar-se com o receptor. Mais especificamente, um inibidor de aromatase inibe a aromatização do anel A de um substrato de andrógeno para formar um estrogênio, que é uma etapa necessária na biossíntese do ligando receptor, isto é, estrogênio. Desse modo, os inibidores de aromatase mediam os níveis de soro diminuídos de estrogênio desse modo inibindo o crescimento de células de tumor que requerem o hormônio para crescimento.

Os inibidores de aromatase não-esteroidais ("AI") tal como, porém não-limitado a, anastrozol e letrozol, se ligam reversivelmente à porção de heme da molécula de aromatase e são associados com um aumento na atividade de aromatase. Isto pode estar associado com o desenvolvimento de resistência de tumor, particularmente com uso em longo prazo do inibidor. Além disso, a biossíntese de estrogênio na presença destes inibidores pode ocorrer sem a necessidade de síntese de nova aromatase desde que o inibi-

dor esteja reversivelmente ligado à enzima (vide, Miller Clin Breast Cancer 1:S9-S14 (2000)), desse modo também fornecendo outra oportunidade para as células de tumor evitarem a inibição.

Os inibidores de aromatase esteroidais, como, exemestano, diferem dos inibidores não-esteroidais (por exemplo, anastrozol e letrozol) pelo fato de que os agentes esteroidais ligam-se irreversivelmente ao sítio de ligação de substrato da enzima e estão associados com uma diminuição na atividade de aromatase. Por exemplo, exemestano está estruturalmente relacionado com a androstenodiona de substrato natural, e é reconhecido pela enzima como um substrato falso tal que ele compete com o substrato natural no sítio ativo. O exemestano é então transformado para um intermediário que liga-se irreversivelmente à enzima que causa sua desativação (isto é, "inibição de suicídio"). Vide, por exemplo, Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 10/611.653, publicado como Publicação do Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2004/0082557, Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 10/363.935, publicados como Publicação do Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2004/0024044, e Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 10/343.595, publicados como Publicação do Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2003/0158168.

Desse modo, diferente dos inibidores não-esteroidais reversíveis, o exemestano é um desativador de aromatase esteroidal que se liga irreversivelmente a aromatase, causando supressão quase completa de atividade de aromatase em tecidos periféricos, bem como no tumor, e medeia a redução substancial de níveis de estrogênio de soro sem efeitos endocrinológicos estranhos (Kaufmann e similares *J Clin Oncol* ***18****:1399-1411 (2000))*. Exemestano é atualmente aprovado nos EUA, Canadá e Europa para tratamento de segunda linha (por exemplo, onde a doença progrediu seguinte à terapia de primeira linha de tamoxifen) de mulheres pós-menopausa com câncer de mama metastático. O exemestano produz uma taxa de resposta de aproximadamente 15% com uma sobrevivência média de 123.4 semanas e demonstra uma falta de inter-resistência com os agentes não-esteroidais tal que foi mostrado ser eficaz após o tratamento com anastrozol

e letrozol (Geisler e similares *Clin Cancer Res* **4**:2089-2093 (1998); Lonning *J* Clin Oncol **18**:2234-2244 (2000)). Mais recentemente, o exemestano foi aprovado na Europa para tratamento adjuvante de câncer de mama precoce invasivo positivo de receptor de estrogênio seguinte dois a três anos da terapia de tamoxifen adjuvante inicial em mulheres pós- menopausa.

Devido ao fato de que seu intermediário está ligado irreversivelmente, exemestano, diferente dos inibidores de aromatase não-esteroidais, também previne a biossíntese de estrogênios pelo fato de que a síntese *de novo* de enzima de aromatase é requerida. Além disso, o mecanismo diferente de ação dos inibidores de aromatase não-esteroidal e esteroidal pode explicar o fenômeno que um inibidor de aromatase pode ser eficaz seguinte à falha do outro. Mais particularmente, o tratamento de pacientes de câncer de mama pós-menopáusico tratados com exemestato seguinte a falha de ambos tamoxifen e um inibidor de aromatase não-esteroidal forneceu um benefício clínico (Lonning e similares *J Clin Oncol* **18**:2234-2244 (2000)).

Desse modo, o anticorpo anti-CTLA4 em combinação com qualquer inibidor de aromatase, ou inibidores múltiplos, pode ser empregado para tratar um paciente de câncer de mama onde o tumor expressa receptor de estrogênio (ER+). Além disso, embora a presente invenção seja exemplificada por uma combinação que compreende exemestano, a invenção não está de modo algum limitada a este inibidor ou seu mecanismo de inibição. Realmente, o mecanismo pelo qual o inibidor de aromatase inibe a enzima não necessita ser conhecido. Desse modo, qualquer inibidor que detectavelmente inibe a aromatização do anel A de um substrato na biossíntese de estrogênio empregando qualquer ensaio conhecido para avaliar tal atividade pode ser empregado na combinação da invenção.

V. Agentes Adicionais

A presente invenção pode ser também combinada com os agentes e terapias adicionais, por exemplo, quimioterapia, cirurgia, radioterapia, transplantação, e similares, para tratar um paciente. Isto é, o paciente pode ser submetido a quimioterapia adicional com agentes bem-conhecidos, tal como, porém não-limitado a, inibidores de fator de crescimento, modificado-

res de resposta biológica, agentes de alquilação, antibióticos de intercalação, vinca alcalóides, imunomoduladores, taxanos, moduladores de receptor de estrogênio seletivos (SERMs), tal como, porém não-limitado a, lasofoxifeno, e inibidores de angiogênese.

Os agentes terapêuticos são numerosos e foram descritos, por exemplo, na Publicação de Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2004/0005318, nº 2003/0086930, nº 2002/0086014, e Publicação Internacional nº WO 03/086459, todos dos quais estão aqui incorporados por referência aqui, entre muitos outros. Tais agentes terapêuticos incluem, porém não estão limitados a, inibidores de topoisomerase I; outros anticorpos (rituximab, bevacizumab, trastuzumab, anticorpo anti-IGF 1R [por exemplo, CP-751,871], anticorpo anti-CD40 [por exemplo, CP-870,893], e similares); os agentes quimioterapêuticos tal como, porém não-limitado a, imatinib (GLEEVEC), SU11248 (SUTENT; sunitinib), SU12662, SU14813; BAY 43-9006, AG-013736 (axitinib), agentes de estimulação de receptor tipo pedágio (por exemplo, agonista de TLR-9; tal como, porém não-limitado a, CPG-7909, também referido como PF03512676 ou PROMUNE), inibidores de indoleamina-2,3,-dioxigenase (IDO); moduladores de receptor de estrogênio seletivos (SERMs; por exemplo, lasofoxifeno); taxanos; vinca alcalóides; temozolomida; inibidores de angiogênese; inibidores de EGFR; inibidores de VEGF; inibidores de receptor de erbB2; os agentes antiproliferativos (por exemplo, inibidores de farnesil proteína transferase, e inibidores de $\alpha v\beta 3$, inibidores de $\alpha v\beta 5$, inibidores de p53, e similares); imunomoduladores; modificadores de resposta biológica; citocinas; vacinas de tumor; antígenos de tumor específico; vacinas de tumor com base em proteína de choque térmica; terapias de célula-tronco e dendríticas; agentes de alquilação; antagonistas de folato; antagonistas de pirimidina; antibióticos de antraciclina; compostos de platina; moléculas co-estimuladoras imunes (por exemplo, CD4, CD25, PD-1, B7-H3, 4-1BB, OX40, ICOS, CD30, HLA-DR, MHCII, e LFA), e anticorpos agonistas também; entre muitos outros.

Em uma modalidade, os métodos da invenção podem ser também combinados com transplantação, por exemplo, transplantação de célu-

la-tronco, para fornecer um benefício terapêutico a um paciente aflito com câncer de mama. A transplantação de célula-tronco pode ser realizada de acordo com os métodos conhecidos na técnica e pode ser transplantação de célula-tronco alogenéica ou autóloga. Adicionalmente, alguém versado na técnica apreciaria, com base na descrição fornecida aqui, que a transplantação abrangesse transferência adotiva de linfócitos, ou autólogos ou obtidos de um doador combinado com HLA. Onde o método compreende o transplante de célula-tronco, a primeira dose da combinação de agente de terapia do anticorpo-AI pode ser administrada após o sistema imune do mamífero ter se recuperado da transplantação, por exemplo, no período de um a 12 meses pós-transplantação. Em certas modalidades, a primeira dose é administrada no período de um a três, ou um a quatro meses pós-transplantação. Os métodos de transplante descrevem muitos tratados, incluindo Appelbaum em *Harrison's Principles of Internal Medicine* , Capítulo 14, Braunwald e similares, Eds., 15º ed., McGraw-Hill Professional (2001), que está desse modo incorporado aqui por referência.

Como apontado previamente aqui, há muitos agentes quimioterapêuticos atualmente disponíveis para o tratamento de tumores que são adequados para uso na terapia de combinação da presente invenção. Por exemplo, os agentes de alquilação são uma classe de fármacos que alquilam o DNA, restringindo o desenrolamento e replicação das cepas. O agente de alquilação para uso nos métodos da presente invenção é ciclofosfamida (CYTOXAN).

Os antagonistas de folato ligam-se a diidrofolato reductase (DHFR) e interferem com a síntese de pirimidina (timidina). Metotrexato e pemetrexed (ALIMTA) são antagonistas de folato adequados para uso nos métodos da presente invenção. Além de DHFR, pemetrexed também inibe a timidilato sintase e formila de ribonucleotídeo de glicinamida transferase, duas outras enzimas dependentes de folato envolvidas em síntese de timidina.

Os antagonistas de pirimidina inibem as enzimas envolvidas em síntese de pirimidina. Como análogos de pirimidina, eles também interferem com a produção de DNA competindo-se com os nucleotídeos normais para

incorporação na molécula de DNA. Os antagonistas de pirimidina adequados para uso nos métodos da presente invenção incluem 5-fluorouracila (5-FU); capecitabina (XELODA), um pró-fármaco de 5'-deóxi-5-fluorouridina (5'-FDUR) que é enzimaticamente convertido para 5-FU *in vivo*; e gencitabina (GEMZAR).

Os antibióticos de antraciclina inibem o desenrolamento de DNA por intercalação entre as cepas de DNA. Os antibióticos de antraciclina incluem cloridrato de doxorubicina (ADRIAMYCIN), cloridrato de epirubicina (ELLENCE, PHARMORUBICIN), daunorubicina (CERUBIDINE, DAUNOXOME), e cloridrato de idarubicina (IDAMYCIN PFS, ZAVEDOS). As antraciclinas preferidas para uso com a presente invenção incluem doxorubicina e epirubicina.

Os compostos de platina exercem seu efeito antineoplásico por intercalação entre as cepas de DNA, o que inibe o desenrolamento do DNA. Os compostos de platina úteis nos métodos da presente invenção incluem cisplatina (PLATINOL), oxaliplatina (ELOXATIN), e carboplatina (PARAPLATIN).

Os taxanos promovem a montagem de microtúbulos ao mesmo tempo em que inibindo sua desmontagem em tubulina, desse modo bloqueando uma capacidade da célula de decompor o fuso mitótico durante a mitose. Eles demonstraram atividade significante contra muitos tumores sólidos como terapia de agente único e em combinação com outros agentes de quimioterapia. Uma modalidade da terapia de combinação da presente invenção inclui o uso de um ou mais taxanos em combinação com um anticorpo de IGF-1R. Os taxanos adequados para uso em combinação com o anticorpo de IGF-1R incluem docetaxel (TAXOTERE) e paclitaxel (TAXOL).

Os derivados de taxano que podem ser ativos em células resistentes a doxorubicina, vinblastina, paclitaxel, docetaxel, e similares, incluem XRP-9981 (Sanofi Aventis), e são abrangidos na invenção.

Os vinca alcalóides, tipo taxanos, são "venenos fuso," atuando nos microtúbulos que formam o fuso mitótico. Eles inibem a mitose interferindo-se com a montagem de microtúbulo, impedindo o fuso de ser formado.

Os vinca alcalóides incluem vindesina (ELDISINE), sulfato de vinblastina (VELBAN), sulfato de vincristina (ONCOVIN) e tartarato de vinorelbina (NAVELBINE). Um vinca alcalóide preferido para uso nos métodos da presente invenção é vinorelbina.

BMS-247550 (ixabepilona) promove a polimerização de tubulina e estabilização de microtúbulo, desse modo detendo as células na fase G2-M e induzindo a apoptose de célula de tumor. Este agente demonstra atividade contra as células resistentes ao taxano.

Os análogos de rapamicina, que ligam e inibem o mamífero-alvo de rapamicina (mTOR), são também úteis e incluem, entre similares, CCI-779 (temsirolimus; Wyeth) e RAD-001 (everolimus, CERTICAN; Novartis).

Os análogos de camptotecina agem através da inibição de topoisomerase I, uma enzima crítica para replicação e empacotamento de DNA. Os níveis de topoisomerase I são mais altos em células de tumor do que em tecido normal. Um análogo de camptotecina útil nos métodos da presente invenção é irinotecan (CAMPTOSAR).

Em certas modalidades da invenção, os métodos descritos acima são combinados com uma vacina de câncer. Vide, por exemplo, Oh e similares, *Cancer Res.* **64**:2610-2618 (2004) (epítopos de TARP e câncer de mama); Kontani e similares, *Int J Molec Med* **12**:493-502 (2003) (vacina de célula dendrítica alvejando mucina de MUC1); Holmberg & Sandmaier *Expert Rev Vaccines* **3**:269-277 (2004) (vacinação para câncer de mama ou de ovário). Isto é, as vacinas úteis podem ser, sem limitação, aquelas compreendidas de antígenos associados ao câncer de mama (por exemplo, HER-2/neu, gamaglobina, proteína associada ao tumor de próstata e mama [TARP], MUC1, CEA, sialil-Tn e similares antígenos de carboidrato), outros antígenos associados ao câncer de tumor (por exemplo, p53, telomerase), anticorpos antiidiótipo tal como 11D10, bem como vacinas que compreendem GM-CSF, o DNA e vacinas com base em célula, vacinas de células dendríticas, vacinas viróticas recombinantes (por exemplo, vírus de vacínia), e vacinas de proteína de choque térmico (HSP) (por exemplo, HSPPC-96; Antigenics Inc.). As vacinas úteis também incluem vacinas de tumor, tal co-

mo aquelas formadas de células de tumor da mama; e podem ser autólogas ou alogênicas, e as vacinas podem ser com base em célula, peptídeo, ou DNA.

As vacinas podem ser administradas antes, ou subseqüente a administração da combinação de anticorpo- inibidor de aromatase, e quando a quimioterapia é parte do regime, uma vacina pode ser administrada antes da quimioterapia. Em certas modalidades, a combinação de anticorpo- inibidor de aromatase da invenção também pode ser administrada antes da quimioterapia. Em ainda outras modalidades, o tratamento pode ser combinado com transplante de célula-tronco. Isto é, a combinação de anticorpo- inibidor de aromatase pode ser administrada antes ou depois do transplante de célula-tronco. A vacina também pode ser administrada antes ou depois da transplantação de célula-tronco e, em certas modalidades, concomitantemente com o anticorpo.

Os tratamentos descritos acima também podem ser empregados com inibidores de transdução de sinal, tal como agentes que podem inibir respostas de EGFR (receptor de fator de crescimento epidérmico), tal como anticorpos de EGFR, anticorpos de EGF, e moléculas que são inibidores de EGFR; inibidores de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), tal como receptores de VEGF e moléculas que podem inibir VEGF; e inibidores de receptor de erbB2 (HER2), tal como moléculas ou anticorpos orgânicos que se ligam ao receptor de erbB2, por exemplo, trastuzumab (HERCEPTIN, Genentech, Inc., São Francisco, CA), e pertuzumab (2C4, OMNITARG; Genentech) que é um o inibidor de dimerização HER (HDI).

Os inibidores de EGFR são descritos, por exemplo, nas Publicações de Patente Internacional Nos. WO 95/19970, WO 98/14451, WO 98/02434, e Patente dos Estados Unidos nº 5.747.498, e tais substâncias podem ser empregadas na presente invenção como descrito aqui. Os agentes de inibição de EGFR incluem, porém não estão limitados, aos anticorpos monoclonais C225, anti-EGFR 22Mab (ImClone System Inc., Nova Iorque, NY), e ABX-EGF (Abgenix Inc., remont, CA), os compostos ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDX-447 (Medarex,Inc., An-

nandale, NJ), e OLX-103 (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ), VRCTC-310 (Ventech Research) e toxina de fusão de EGF (Seragen Inc., Hopkinton, MA). Estes e similares agentes de inibição de EGFR podem ser empregados na presente invenção.

Os compostos voltados à inibição de tirosina cinase (TK) de receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR) representam uma classe relativamente nova de fármacos antineoplásicos que são úteis no método da presente invenção. Muitos cânceres humanos expressam membros da família de EGFR na superfície de célula. Quando um ligando liga-se ao EGFR, ele provoca uma cascata de reações celulares que resultam em divisão de célula aumentada e influencia outros aspectos do desenvolvimento e progressão de câncer, incluindo angiogênese, expansão metastática, e inibição de apoptose. Os inibidores de EGFR-TK podem seletivamente alvejar um dos membros da família de EGFR (EGFR (também conhecido como HER1 ou ErbB-1), HER2/neu (também conhecido como ErbB-2), HER3 (também conhecido como ErbB-3), ou HER4 (também conhecido como ErbB-4)), ou pode alvejar dois ou mais deles. Os inibidores de EGFR-TK adequados para uso na presente invenção incluem gefitinib (IRESSA), erlotinib (TARCEVA), CI-1033 (Pfizer), GW2016 (GlaxoSmithKline), EKB-569 (Wyeth), PKI-166 (Novartis), CP-724,714 (Pfizer), e BIBX-1382 (Boeringer-Ingelheim). Os inibidores de EGFR-TK adicionais são descritos na Patente dos Estados Unidos nº 6.890.924.

Os inibidores de VEGF, por exemplo, SU-5416, SU-6668, SU-11248, SU-12662, SU-14813 (Sugen Inc., São Francisco, CA), bem como AG-013736 (Pfizer) também podem ser empregados em combinação com o anticorpo. Os inibidores de VEGF são descritos, por exemplo, no Pedido de Patente Internacional nº PCT/IB99/00797 (depositado em 3 de maio de 1999), Publicações de Patente Internacional Nos. WO 99/24440; WO 95/21613; WO 99/61422; WO 98/50356; WO 99/10349; WO 97/32856; WO 97/22596; WO 98/54093; WO 98/02438; WO 99/16755; WO 98/02437; Patente dos Estados Unidos Nos. 5.834.504; 5.883.113; 5.886.020; e 5.792.783. Outros exemplos de alguns inibidores de VEGF específicos úteis

na presente invenção são IM862 (o Cytran Inc., Kirkland, WA); anticorpo de IMC-1C11 Imclone, anticorpo monoclonal anti-VEGF de Genentech, Inc., São Francisco, CA; e angiozima, uma ribozima sintética de Ribozima (Boulder, CO) e Chiron (Emeryville, CA).

Os inibidores de receptor ErbB2, tal como GW-282974, GW-572016 (lapatinib) (Glaxo plc de Wellcome), e os anticorpos monoclonais AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc., Woodlands, TX), trastuzumab (HERCEPTIN; Genentech, Inc., São Francisco, CA), pertuzumab (OMNITARG; 2C4; Genentech, um inibidor de dimerização de HER2 HDI), e 2B-1 (Chiron), podem ser combinados com a terapia de combinação de anticorpo- inibidor de aromatase. Outros inibidores de receptor de erbB2 são descritos, por exemplo, nas Publicações de Patente Internacional Nos. WO 98/02434; WO 99/35146; WO 99/35132; WO 98/02437; WO 97/13760; WO 95/19970; as Patente U.S. Nos. 5.587.458, e 5.877.305. Os inibidores de receptor de ErbB2 úteis na presente invenção também são descritos em EP1029853 (publicado em 23 de agosto de 2000) e na Publicação de Patente Internacional nº WO 00/44728, (publicada em 3 de agosto de 2000). Os compostos de inibidor de receptor de erbB2 e substância descrita nos pedidos PCT acima mencionados, Patente U.S., e pedidos provisionais dos estados Unidos, bem como outros compostos e substâncias que inibem o receptor de erbB2, podem ser empregados com a combinação de inibidor de aromatase e anticorpo de acordo com a presente invenção.

Os tratamentos da invenção também são empregados com outros agentes úteis no tratamento de câncer ou crescimento de célula anormal, incluindo, porém não-limitado a outros agentes capazes de realçar as respostas imunes antitumor, tal como anticorpos de CTLA4 adicionais, diferentes, e similares agentes também capazes de bloquear CTLA4; e agentes anti-proliferativos tal como inibidores de farnesil proteína transferase, e inibidores de αvβ3, tal como anticorpo de αvβ3 VITAXIN, inibidores de αvβ5, inibidores de p53, e similares.

Onde o anticorpo da invenção é administrado em combinação com outro agente imunomodulador, o agente imunomodulador pode ser se-

lecionado, por exemplo, do grupo que consiste em um ativador de célula dendrítica tal como ligando de CD40 e anticorpos agonistas anti-CD40, bem como realçadores de apresentação de antígeno, realçadores de tropismo de célula T, inibidores de fatores imunossupressores relacionados com tumor, tal como TGF-β (fator de crescimento de transformação beta), e IL-10. Os anticorpos de agonista anti-CD40 preferidos abrangem os anticorpos descritos no Pedido de Patente Internacional nº PCT/US02/36107, depositado em 8 de novembro de 2002, publicado agora como Publicação de Patente Internacional nº WO 03/040170, e Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 10/292.088, depositado em 8 de novembro de 2002, publicado agora como Publicação de Patente dos Estados Unidos nº US2003/0211100, incluindo, porém não-limitado a, um anticorpo que tem a seqüência de aminoácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 3.1.1, 3.1.1.H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A/3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.2.1, 21.4.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1, e 24.2.1.

Os presentes regimes de tratamento também podem ser combinados com anticorpos ou outro ligandos que inibem o crescimento de tumor ligando-se ao IGF-1R (receptor de fator de crescimento 1 tipo insulina). Os anticorpos anti-IGF-1R específicos que podem ser empregados na presente invenção incluem aqueles descritos no Pedido de Patente Internacional nº PCT/US01/51113, depositado em 20/12/01, e publicado como Publicação de Patente Internacional nº WO02/053596, Pedido de Patente Internacional nº PCT/IB2004/002555, depositado em 3 de agosto de 2004, e publicado como Publicação de Patente Internacional nº WO 2005/016967. Os anticorpos anti-IGFR-1R preferidos abrangem um anticorpo que tem a seqüência de aminoácido de cadeia pesada e leve de, por exemplo, anticorpo 2.12.1, 2.13.2, 2.14.3, 3.1.1, 4.9.2 e 4.17.3.

O anticorpo da invenção também pode ser administrado com citocinas tal como IL-2, interferon (por exemplo, IFN –γ, IFN- α, etc.), GM-CSF, IL-12, IL-18, e FLT-3L.

Os regimes de tratamento descritos aqui podem ser combinados

com agentes de antiangiogênese, tal como inibidores de MMP-2 (metaloproteinase matriz 2), inibidores de MMP-9 (metaloproteinase matriz 9), e inibidores de COX-II (ciclooxigenase II), podem ser empregados juntos com o anticorpo no método da invenção. Os exemplos de inibidores de COX-II úteis incluem CELEBREX (celecoxib), valdecoxib, e rofecoxib. Os exemplos de inibidores de metaloproteinase matriz úteis estão descritos nas Publicações de Patente Internacional Nos. WO 96/33172; WO 96/27583; WO 98/07697, WO 98/03516, WO 98/34918, WO 98/34915, WO 98/33768, WO 98/30566, WO 90/05719, WO 99/52910, WO 99/52889, WO 99/29667, Pedidos de Patente Europeu Nos. 780386 (publicado em 25 de junho de 1997), 97304971 (depositado em 8 de julho de 1997), 99308617 (depositado em 29 de outubro de 1999), 606046 (publicado em 13 de julho de 1994), 931788 (publicado em 28 de julho de 1999), 99302232 (depositado em 25 de março de 1999), Pedido Internacional PCT/IB98/01113 (depositado em 21 de julho de 1998), pedido de patente da Grã-Bretanha número 9912961 (depositado em 3 de junho de 1999), Pedido de patente Provisional dos Estados Unidos nº 60/148.464 (depositado em 12 de agosto de 1999), e Patente U.S. Nos. 5.863.949, e 5.861.510.

Os inibidores de MMP-2 e MMP-9 preferidos são aqueles que têm pouca ou nenhuma atividade de inibição de MMP-1. Mais preferidos são aqueles que seletivamente inibem MMP-2 e/ou MMP-9 relativo a outra metaloproteinases matriz (isto é, MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12, e MMP-13).

Alguns exemplos específicos de inibidores de MMP úteis na presente invenção são AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830, e as combinações recitadas na seguinte lista:

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiônico;

hidroxiamida de ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico;

hidroxiamida de ácido (2R, 3R) 1-[4-(2-cloro-4-fluoro-benzilóxi)-benzenossulfonil]-3-hidróxi-3-metil-piperidina-2-carboxílico;

hidroxiamida de ácido 4-[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-tetraidro-piran-4-carboxílico;

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbomoil-ciclobutil)-amino]-propiônico;

hidroxiamida de ácido 4-[4-(4-cloro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-tetraidro-piran-4-carboxílico;

hidroxiamida de ácido (R) 3-[4-(4-cloro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-tetraidro-piran-3-carboxílico;

hidroxiamida de ácido (2R, 3R) 1-[4-(4-fluoro-2-metil-benzilóxi)-benzenossulfonil]-3-hidróxi-3-metil-piperidina-2-carboxílico;

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonil]-(1-hidroxicarbomoil-1-metil-etil)-amino]-propiônico;

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonil]-(4-hidroxicarbomoil-tetraidro-piran-4-il)-amino]-propiônico;

hidroxiamida de ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico;

hidroxiamida de ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico;e

hidroxiamida de ácido (R) 3-[4-(4-fluoro-fenóxi)-benzenossulfonilamino]-tetraidro-furan-3-carboxílico;

e sais e solvatos farmaceuticamente aceitáveis dos referidos compostos.

A terapia de radiação pode ser administrada de acordo com os métodos de radioterapia bem-conhecidos para tratamento de câncer de mama. A dose e regime para radioterapia podem ser facilmente determinados por alguém versado na técnica e é com base no estágio da doença, e similares fatores bem-conhecidos na técnica.

A co-administração do anticorpo com um inibidor de aromatase (terapia de combinação) abrange a administração de uma composição farmacêutica compreendendo igualmente o anticorpo anti-CTLA4 e um ou mais inibidor(es) de aromatase, e administração de duas ou mais composições farmacêuticas separadas, uma compreendendo o anticorpo anti-CTLA4 e a

outra(s) compreendendo o(s) inibidor(es) de aromatase. Além disso, embora a terapia de co-administração ou combinação (conjunto) geralmente signifique que o anticorpo e agentes terapêuticos adicionais são administrados ao mesmo tempo como um outro, ela também abrange dosagens simultâneas, separadas ou seqüenciais dos componentes individuais do tratamento. Adicionalmente, onde um anticorpo é administrado intravenosamente e o inibidor de aromatase é administrado oralmente (por exemplo, exemestano), é entendido que sua combinação é preferivelmente administrada como duas composições farmacêuticas separadas.

A presente invenção também abrange a administração de similares agentes terapêuticos além do primeiro e segundo componente, ou concorrentemente com um ou mais desses componentes, ou seqüencialmente antes e/ou depois. Tais agentes terapêuticos incluem vacinas de câncer, agentes antivasculares, agentes antiproliferativos, e os agentes paliativos para fornecer cuidado de suporte, tal como, porém não-limitado a, analgésicos, agentes antieméticos, agentes antidiarréicos, e esteróides. Os agentes antieméticos preferidos incluem cloridrato de ondansetron, cloridrato de granisetron, e metoclopramida. O agentes antidiarréicos preferidos incluem difenoxilato e atropina (LOMOTIL), loperamida (IMMODIUM), octreotida (SANDOSTATIN), olsalazina (DIPENTUM), e mesalamina (ASACOL). Os esteróides preferidos incluem a budesonida de esteróide não-absorvível (ENTOCORT), e os esteróides para dexametasona (DECADRAN) e prednisona (METICORTEN) de administração sistêmica.

Cada administração pode variar em sua duração de uma administração rápida a uma perfusão contínua. Como um resultado, para o propósito da presente invenção, as combinações não estão exclusivamente limitadas àquelas que são obtidas por associação física dos constituintes, porém também àquelas que permitem uma administração separada, que pode ser simultânea ou espaçada durante um período de tempo. As composições de acordo com a invenção são preferivelmente composições que podem ser administradas parentalmente. Entretanto, estas composições podem ser administradas oralmente ou intraperitonealmente no caso de terapias regio-

nais localizadas.

Como será apreciado por alguém de experiência na técnica, a escolha de agentes terapêuticos a serem empregados, em combinação com terapia de combinação de inibidor de aromatase e anticorpos anti-CTLA4, e a duração do seu uso, serão determinados em parte pelo tipo e estágio do câncer que está sendo tratado. Por exemplo, em câncer de mama precoce (onde o câncer não se propagou para fora da mama), a cirurgia e radiação são geralmente seguidas por quimioterapia adjuvante ou terapia hormonal adjuvante, qualquer das quais pode ser combinado com a combinação de inibidor de aromatase- anticorpo anti-CTLA4 nos métodos da presente invenção. A quimioterapia adjuvante típica para o câncer de mama precoce inclui ciclofosfamida, metotrexato e 5-FU ("CMF"); 5-FU, doxorrubicina, e ciclofosfamida ("FAC"); docetaxel, doxorrubicina, e ciclofosfamida ("TAC"); doxorrubicina e ciclofosfamida ("AC"); doxorrubicina e ciclofosfamida seguidos por paclitaxel ("AC e T"); e 5-FU, epirrubicina, e ciclofosfamida ("FEC"). Como descrito previamente em outro lugar aqui, tamoxifeno é um tratamento anti-hormonal administrado neste estágio. Desse modo, a combinação de anticorpo- inibidor de aromatase pode ser administrada em combinação com terapia hormonal adicional (por exemplo, outro inibidor de aromatase, tamoxifen, fulvestrant, ou qualquer combinação dos mesmos), e tal combinação pode ser co-administrada em combinação com uma terapia de quimioterapia adjuvante (por exemplo, CMF, FAC, TAC, AC, AC e T, e/ou FEC, ou os agentes quimioterapêuticos podem ser administrados individualmente em combinação com a combinação de anticorpo -inibidor de aromatase, entre similares).

No câncer de mama localmente avançado, onde o câncer se propagou somente para os linfonodos ou tecidos próximos, ao paciente é freqüentemente dada quimioterapia antes da cirurgia e radiação, que são então seguidos por terapia hormonal adjuvante. Alternativamente, cirurgia/radiação é seguida por quimioterapia adjuvante, em seguida terapia hormonal adjuvante. A combinação de anticorpo anti-CTLA4- inibidor de aromatase pode ser administrada em conjunto com os agentes de terapia hormo-

nal quimioterapêuticos ou adicionais (por exemplo, outro inibidor de aromatase, tamoxifen, fulvestrant, ou qualquer combinação destes) se eles forem empregados ou antes ou depois da cirurgia/radiação. Os regimes de quimioterapia típicos para o câncer de mama localmente avançado incluem FAC, AC, FEC, e doxorrubicina mais docetaxel ("AT").

O câncer de mama metastático se propagou para outras partes do corpo a partir da mama na qual ele começou. A quimioterapia opcionalmente pode ser precedida por terapia hormonal. A terapia hormonal de primeira linha correntemente inclui tamoxifen e anastrozol. Os regimes de quimioterapia de primeira linha incluem FAC, TAC, docetaxel mais epirrubicina, docetaxel, paclitaxel, capecitabina, vinorelbina, e trastuzumab (HERCEPTIN). Os tratamentos de segunda linha incluem docetaxel, sozinho ou em combinação com capecitabina. Os métodos da presente invenção são adequados para usar ambos como terapia de primeira linha e terapia de segunda linha. Além disso, os métodos da invenção podem ser combinados com terapia de radiação e transplante de célula-tronco, e qualquer combinação de qualquer dos tratamentos descritos aqui, conhecidos na técnica, ou a serem desenvolvidos no futuro.

Em uma modalidade, o agente terapêutico adicional administrado com terapia de anticorpo- inibidor aromatase é um agente de alquilação. Em um aspecto, o agente de alquilação é ciclofosfamida.

Em outra modalidade, o agente adicional é um antagonista de folato. Em um aspecto, o antagonista de folato é selecionado do grupo consistindo em metotrexato e pemetrexed.

Em uma modalidade da invenção, o agente adicional é um antagonista de pirimidina. O análogo de pirimidina pode ser selecionado do grupo consistindo em 5-FU, capecitabina, e gencitabina.

Em outra modalidade da presente invenção, o agente adicional é um antibiótico de antraciclina. Em um aspecto, o antibiótico de antraciclina é selecionado do grupo consistido em epirrubicina e doxorrubicina. Em um outro aspecto, o antibiótico de antracilina é doxorrubicina.

Em outra modalidade da invenção, o agente adicional é um

composto de platina. O composto de platina pode ser selecionado do grupo consistindo em cisplatina e carboplatina.

Em ainda outra modalidade da invenção, o agente adicional é um taxano. Em um aspecto, o taxano é docetaxel. Em outro aspecto, o taxano é paclitaxel.

Em uma modalidade da presente invenção, a combinação de anticorpo anti-CTLA4 e inibidor de aromatase é administrada com docetaxel em combinação adicional com pelo menos um dos capecitabina, cisplatina, gencitabina, e epirrubicina.

Em uma modalidade da invenção, a combinação de anti-CTLA4 e inibidor de aromatase é administrada em combinação adicional com paclitaxel e um agente adicional selecionado do grupo consistindo em carboplatina, cisplatina, e gencitabina. Em um aspecto, o agente adicional é carboplatina.

Em outra modalidade, a combinação de anti-CTLA4 e inibidor de aromatase é administrada com um agente adicional onde o agente adicional é um vinca alcalóide. Em um aspecto, o vinca alcalóide é vinorelbina.

Em uma modalidade da invenção, o agente adicional administrado com a combinação de anticorpo- inibidor de aromatase é um análogo de camptotecina. Em um aspecto, o análogo de camptotecina é irinotecan.

Em outra modalidade, o agente adicional é um inibidor de EGFR.

Em uma modalidade da invenção, o agente adicional é um inibidor de erbB2. Em um aspecto, o inibidor de erbB2 é selecionado de trastuzumab e pertuzumab. Em ainda outro aspecto, o inibidor de erbB2 é trastuzumab (HERCEPTIN).

Em uma modalidade da invenção, a combinação de anti-CTLA4 e inibidor de aromatase é administrada em combinação adicional com uma combinação compreendendo 5-FU, doxorrubicina, e ciclofosfamida.

Em outra modalidade da presente invenção, a combinação de anti-CTLA4 e inibidor de aromatase é administrada em combinação adicional com uma combinação compreendendo docetaxel, doxorrubicina, e ciclofosfamida.

Os métodos da presente invenção também referem-se ao tratamento de câncer em um mamífero, preferivelmente um humano, o qual tenha passado por transplantação de células-tronco, cujos métodos compreendem administrar ao mamífero uma quantidade de um anticorpo anti-CTLA4 humano que é eficaz no tratamento de câncer em combinação com um inibidor de aromatase em combinação adicional com transplantação de célula-tronco. A transplantação de célula pode ser transplantação de célula-tronco alogênica ou autóloga, e mais preferivelmente, o inibidor de aromatase é exemestano. Onde o método compreende transplante de célula-tronco, a primeira dose da combinação de anticorpo- inibidor aromatase pode ser administrada depois que o sistema imune do mamífero tenha se recuperado da transplantação, por exemplo, no período de um a 12 meses pós-transplantação. Em certas modalidades, a primeira dose é administrada no período de um a três, ou um a quatro meses pós-transplantação. O paciente pode passar por tratamento(s) preparatório(s) de transplantação de célula-tronco.

VI. Composições Farmacêuticas

A invenção abrange a preparação e uso de composições farmacêuticas compreendendo um anticorpo anti-CTLA4 humano da invenção como um ingrediente ativo em combinação com um inibidor de aromatase, preferivelmente, um inibidor de aromatase esteroidal, e ainda mais preferivelmente, o inibidor de aromatase é exemestano. Uma tal composição farmacêutica pode consistir em cada ingrediente ativo somente, como uma combinação de pelo menos um ingrediente ativo (por exemplo, uma dose eficaz de um anti-CTLA4, uma dose eficaz de um inibidor de aromatase) de uma forma adequada para administração a um indivíduo, ou a composição farmacêutica pode compreender o ingrediente ativo e um ou mais veículos farmaceuticamente aceitáveis, um ou mais ingredientes adicionais (ativo e/ou inativo), ou algumas combinações destes.

Em uma modalidade, o anticorpo é administrado parenteralmente (por exemplo, intravenosamente) em uma solução aquosa ao mesmo tempo em que o inibidor de aromatase (por exemplo, exemestano) é admi-

nistrado oralmente na forma de pílula/cápsula. Entretanto, o técnico versado entenderia, com base na descrição fornecida aqui, que a invenção não está limitada a estas, ou qualquer outra, formulações, doses, rotinas de administração, e similares. De preferência, a invenção abrange qualquer formulação ou método de administrar um anticorpo em combinação com um inibidor de aromatase, incluindo, porém não-limitado a, administração de cada agente separadamente em uma formulação diferente por uma rotina diferente de administração, e administração do anticorpo e inibidor de aromatase em uma composição única (por exemplo, em uma composição aquosa administrada, *inter alia,* i.v.), entre muitos outros. Desse modo, a seguinte descrição descreve várias formulações para praticar os métodos da invenção compreendendo a administração de qualquer anticorpo anti-CTLA4 em combinação com qualquer inibidor de aromatase, porém a invenção não está limitada a estas formulações, porém compreende qualquer formulação como pode ser facilmente determinado por alguém versado na técnica uma vez que equipado com os ensinamentos fornecidos aqui para uso nos métodos da invenção.

Os anticorpos empregados na invenção podem ser incorporados em composições farmacêuticas adequadas para administração a um indivíduo. Tipicamente, a composição farmacêutica compreende o anticorpo e um portador farmaceuticamente aceitável. Como empregado aqui, "portador farmaceuticamente aceitável" inclui qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes de retardamento de absorção e isotônicos, e similares que são fisiologicamente compatíveis. Os exemplos de veículos farmaceuticamente aceitáveis incluem um ou mais de água, solução salina, salina tamponada de fosfato, dextrose, glicerol, etanol e similares, bem como combinações destes. Em muitos casos, será preferível incluir os agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois tal como manitol, sorbitol, ou cloreto de sódio na composição. As substâncias farmaceuticamente aceitáveis tal como quantidades menores ou umidificantes de substâncias auxiliares tal como agentes emulsificantes ou umidificantes, conservantes ou tampões, que realçam a vida de prateleira ou

eficácia do anticorpo ou porção de anticorpo.

Os anticorpos podem estar em uma variedade de formas. Estes incluem, por exemplo, as formas de dosagem líquida, sólidas e semi-sólidas, tal como soluções líquidas (por exemplo, soluções injetáveis e infusíveis), dispersões ou suspensões, comprimido, pílulas, pó, lipossomas e supositórios. A forma preferida depende do modo pretendido de administração e aplicação terapêutica. As composições preferidas típicas estão na forma de soluções infusíveis ou injetáveis, tal como composições similares àquelas empregadas para imunização passiva de humanos com outros anticorpos. O modo preferido de administração é parenteral (por exemplo, intravenoso, subcutâneo, intraperitoneal, intramuscular). Em uma modalidade preferida, o anticorpo é administrado por infusão ou injeção intravenosa. Em outra modalidade preferida, o anticorpo é administrado por injeção intramuscular ou subcutânea.

As composições terapêuticas tipicamente devem ser estéreis e estáveis sob as condições de fabricação e armazenamento. A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, dispersão, lipossoma, ou outra estrutura ordenada adequada para concentração de fármaco alta. As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas por incorporação de anticorpo na quantidade requerida em um solvente apropriado com um ou uma combinação de ingredientes enumerados acima, como requerido, seguido por esterilização filtrada. Geralmente, as dispersões são preparadas por incorporação do composto ativo em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes requeridos desses enumerados acima. No caso de pó estéril para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são secagem à vácuo e liofilização que produz um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente desejado adicional de uma solução filtrada previamente estéril. A fluidez apropriada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento tal como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula requerido no caso de dispersão e pelo uso do tensoativos. A absorção prolongada de composições injetáveis pode ser realizada incluindo-se na composi-

ção um agente que retarda a absorção, por exemplo, sais de monoestearato e gelatina.

Os anticorpos podem ser administrados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica, incluindo, sem limitação, oral, parenteral, mucosal, por inalação, tópico, bucal, nasal, e retal. Para muitas aplicações terapêuticas, a rotina / modo preferido de administração é subcutâneo, intramuscular, intravenoso ou infusão. A injeção sem agulha pode ser empregada, se desejou. Como será apreciado pelo técnico versado, o modo e/ou de rotina de administração variará, dependendo dos resultados desejados.

Em certas modalidades, o anticorpo pode ser preparado com um portador que protegerá o composto contra liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes, emplastros transdérmicos, e sistemas de liberação de microencapsulado. Os polímeros biodegradáveis, biocompativeis podem ser empregados, tal como acetato de vinila de etileno, polianidretos, ácido de poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, e ácido polilático. Muitos métodos para a preparação de tais formulações são patenteados ou geralmente conhecidos por aqueles versados na técnica. Vide,, por exemplo, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.,* R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nova York (1978).

Os regimes de dosagem podem ser ajustados para fornecer a resposta desejada ideal. Por exemplo, um bolo único pode ser administrado, várias doses divididas podem ser administradas com o passar do tempo ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular as composições parenterais na forma de unidade de dosagem para facilitar a administração e uniformidade da dosagem. A forma de unidade de dosagem como empregado aqui refere-se às unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos mamíferos a serem tratados; cada unidade contém uma quantidade predeterminada de composto ativo calculado para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o portador farmacêutico requerido. A especificação para as formas de unidade de dosagem da invenção é ditada por e diretamente dependente (a)

das características únicas do anticorpo e do efeito terapêutico ou profilático particular a ser obtido, e (b) das limitações inerentes na técnica de técnica de composição de um tal composto ativo para o tratamento de sensibilidade em indivíduos.

Será observado que os valores de dosagem podem variar com o tipo e severidade da condição a ser aliviada, e pode incluir doses únicas ou múltiplas. É para ser também entendido que para qualquer indivíduo particular, os regimes de dosagem específicos devem ser ajustados com o passar do tempo de acordo com a necessidade individual e o julgamento profissional da pessoa administrando ou supervisionando a administração das composições, e que as faixas de dosagem apresentadas aqui são exemplares somente e não é pretendido para limitar o escopo ou prática da composição reivindicada.

Em uma modalidade, o anticorpo é administrado em uma formulação intravenosa como uma solução aquosa estéril contendo 5 mg/m, ou mais preferivelmente, cerca de 10 mg/ml, ou ainda mais preferivelmente, cerca de 15 mg/ml, ou ainda mais preferivelmente, cerca de 20 mg/ml de anticorpo, com acetato de sódio, polissorbato 80, e cloreto de sódio em um pH variando de cerca de 5 a 6. Preferivelmente, a formulação intravenosa é uma solução aquosa estéril contendo 5 ou 10 mg/ml de anticorpo, com 20 mM de acetato de sódio, 0,2 mg/ml de polissorbato 80, e 140 mM de cloreto de sódio a pH 5,5. Além disso, uma solução compreendendo um anticorpo anti-CTLA4 pode compreender, entre muitos outros compostos, histidina, manitol, sacarose, trealose, glicina, poli(etileno) glicol, EDTA, metionina, e qualquer combinação destes, e muitos outros compostos conhecidos na técnica relevante.

Em uma modalidade, parte da dose é administrada por um bolo intravenoso e o resto por infusão da formulação de anticorpo. Por exemplo, uma injeção intravenosa de 0,01 mg/kg do anticorpo podem ser dada como um bolo, e o resto de uma dose de anticorpo predeterminada pode ser administrado por injeção intravenosa. Uma dose predeterminada do anticorpo pode ser administrada, por exemplo, durante um período de uma hora e

meia a duas horas a cinco horas.

Com respeito a um inibidor de aromatase, o inibidor pode estar presente na composição farmacêutica na forma de um éster ou sal fisiologicamente aceitável, tal com em combinação com um cátion ou ânion fisiologicamente aceitável, como é bem-conhecido na técnica.

As formulações das composições farmacêuticas descritas aqui podem ser preparadas por qualquer método conhecido ou desenvolvido mais adiante na técnica de farmacologia. Em geral, tais métodos preparatórios incluem a etapa de levar o ingrediente ativo em associação com um portador ou um ou mais outros ingredientes acessórios, e então, se necessário ou desejável, moldar ou empacotar o produto em uma unidade de dose múltipla ou única desejada.

As composições farmacêuticas que são úteis nos métodos da invenção podem ser preparadas, empacotadas, ou vendidas em formulações adequadas para administração oral, retal, vaginal, parenteral, tópica, pulmonar, intranasal, bucal, oftálmica, ou outra rotina de administração. Outras formulações contempladas incluem nanopartículas projetadas, preparações lipossômicas, eritrócitos re-selados contendo o ingrediente ativo, e formulações imunologicamente baseadas.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, empacotada, ou vendida em volume, como uma dose de unidade única, ou como uma pluralidade de doses de unidade única. Como empregado aqui, uma "dose de unidade" é quantidade discreta da composição farmacêutica compreendendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo. A quantidade do ingrediente ativo é geralmente igual à dosagem do ingrediente ativo que seria administrada a um indivíduo ou uma fração conveniente de uma tal dosagem, por exemplo, uma metade ou um terço de uma tal dosagem.

As quantidades relativas do ingrediente ativo, o portador farmaceuticamente aceitável, e qualquer ingrediente adicional em uma composição farmacêutica da invenção variarão, dependendo da identidade, tamanho, e condição do indivíduo tratado e também dependendo da rotina pela

qual a composição deve ser administrada. Através de exemplo, a composição pode compreender entre 0,1% e 100% (peso/peso) de ingrediente ativo.

Além disso do ingrediente ativo, uma composição farmacêutica da invenção pode também compreender um ou mais agentes farmaceuticamente ativos adicionais. Os agentes adicionais particularmente contemplados incluem agentes antieméticos, antidiarréicos, quimioterapêuticos, citocinas, e similares.

As formulações de liberação controlada ou prolongada de uma composição farmacêutica da invenção podem ser feitas empregando tecnologia convencional.

Uma formulação de uma composição farmacêutica da invenção adequada para administração oral pode ser preparada, empacotada, ou vendida na forma de uma unidade de dose sólida discreta incluindo, porém não-limitada a, um comprimido, uma cápsula dura ou macia, um selo, um trocisco, ou uma pastilha, cada contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo. As outras formulações adequadas para administração oral incluem, porem não estão limitadas a, uma formulação em pó ou granular, uma suspensão aquosa ou oleosa, uma solução aquosa ou oleosa, ou uma emulsão.

Como empregado aqui, um líquido "oleoso" é um que compreende uma molécula líquida contendo carbono e que exibe um caráter menos polar do que a água.

Um comprimido compreendendo o ingrediente ativo pode, por exemplo, ser feito por prensagem ou moldagem do ingrediente ativo, opcionalmente com um ou mais ingredientes adicionais. Os comprimidos prensados podem ser preparados por prensagem, em um dispositivo adequado, o ingrediente ativo em uma forma de fluxo livre tal como uma preparação em pó ou granular, opcionalmente misturado com um ou mais de um aglutinante, um lubrificante, um excipiente, um agente tensoativo, e um agente de dispersão. Os comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem, em um dispositivo adequado, uma mistura do ingrediente ativo, um portador farmaceuticamente aceitável, e pelo menos líquido suficiente para umedecer

a mistura.

Os excipientes farmaceuticamente aceitáveis empregados na fabricação de comprimidos incluem, porém não estão limitados a, diluentes inertes, agentes de granulação e desintegração, agentes aglutinantes, e agentes lubrificantes. Os agentes de dispersão conhecidos incluem, porém não estão limitados a, amido de batata e glicolato de amido de sódio. Os agentes tensoativos conhecidos incluem, porém não estão limitados a, sulfato de laurila de sódio. Os diluentes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, carbonato de cálcio, carbonato de sódio, lactose, celulose microcristalina, fosfato de cálcio, fosfato de hidrogênio de cálcio, e fosfato de sódio. Os agentes de granulação e desintegrantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, amido de milho e ácido algínico. Os agentes aglutinantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, gelatina, acácia, amido de milho pré-gelatinizado, polivinilpirrolidona, e metilcelulose de hidroxipropila. Os agentes lubrificantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, estearato de magnésio, ácido esteárico, sílica, e talco.

Os comprimidos podem ser não revestidos ou eles podem ser revestidos empregando métodos conhecidos para obter desintegração retardada no trato gastrointestinal de um indivíduo desse modo fornecendo liberação prolongada e absorção do ingrediente ativo. Através de exemplo, um material tal como monoestearato de glicerila ou diestearato de glicerila pode ser empregado para revestir os comprimidos. Também através de exemplo, os comprimidos podem ser revestidos empregando métodos descritos nas Patente U.S. Nos. 4.256.108; 4.160.452; e 4.265.874 para formar comprimidos de liberação osmoticalmente controlada. Os comprimidos podem também compreender um agente adoçante, agente flavorizante, agente de coloração, um conservante, ou algumas combinações destes a fim de fornecer preparação farmaceuticamente elegante e saborosa.

As cápsulas duras compreendendo o ingrediente ativo podem ser feitas empregando uma composição fisiologicamente degradável, tal como gelatina. Tais cápsulas duras compreendem o ingrediente ativo, e podem também compreender os ingredientes adicionais incluindo, por exemplo, um

diluente sólido inerte tal como carbonato de cálcio, fosfato de cálcio, ou caulim.

As cápsulas de gelatina macias compreendendo o ingrediente ativo podem ser feitas empregando uma composição fisiologicamente degradável, tal como gelatina. Tais cápsulas macias compreendem o ingrediente ativo, que pode ser misturado com água ou um meio de óleo tal como óleo de amendoim, parafina líquida, ou azeite de oliva.

As formulações líquidas de uma composição farmacêutica da invenção que são adequados para administração oral podem ser preparadas, empacotadas, e vendidas ou na forma líquida ou na forma de um produto seco pretendido para reconstituição com água ou outro veículo adequado antes do uso.

As suspensões líquidas podem ser preparadas empregando métodos convencionais para obter suspensão do ingrediente ativo em um veículo aquoso ou oleoso. Os veículos aquosos incluem, por exemplo, solução salina isotônica e água. Os veículos oleosos incluem, por exemplo, óleo de amêndoa, ésteres oleosos, álcool etílico, óleos vegetais tal como óleo de amendoim, oliva, gergelim, ou coco, óleos vegetais fracionados, e óleos minerais tal como parafina líquida. As suspensões líquidas podem também compreender um ou mais ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitado aos agentes de suspensão, agentes umectantes ou dispersantes, agentes emulsificantes, demulcentes, conservantes, tampão, sais, flavorizantes, agentes de coloração, e agentes adoçantes. As suspensões oleosas podem também compreender um agente espessante. Os agentes de suspensão conhecidos incluem, porém não estão limitados a, xarope de sorbitol, gorduras comestíveis hidrogenadas, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto, goma acácia, e derivados de celulose tal como carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, metilcelulose de hidroxipropila. Os agentes umectantes ou dispersantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, fosfatídeos de ocorrência natural tal como lecitina, produtos de condensação de um óxido de alquileno com um ácido graxo, com um álcool alifático de cadeia longa, com um éster parcial derivado de um ácido graxo e

um hexitol, ou com um éster parcial derivado de um ácido graxo e um anidreto de hexitol (por exemplo, estearato de polioxietileno, heptadecaetilenooxicetanol, monooleato de sorbitol de polioxietileno, e monooleato de sorbitan de polioxietileno, respectivamente). Os agentes emulsificantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, lecitina e acácia. Os conservantes conhecidos incluem, porém não estão limitados a, metila, etila, ou n-propil-para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico, e ácido sórbico. Os agentes adoçantes conhecidos incluem, por exemplo, glicerol, propileno glicol, sorbitol, sacarose, e sacarina. Os agentes espessantes conhecidos para suspensões oleosas incluem, por exemplo, cera de abelha, parafina dura, e álcool cetílico.

As soluções líquidas do ingrediente ativo em solventes aquosos ou oleosos podem ser preparadas substancialmente da mesma maneira como suspensões líquidas, a diferença principal sendo que o ingrediente ativo é dissolvido, e não suspenso no solvente. As soluções líquidas da composição farmacêutica da invenção podem compreender cada dos componentes descritos com respeito às suspensões líquidas, sendo entendido que os agentes de suspensão não necessariamente auxiliarão na dissolução do ingrediente ativo no solvente. Os solventes aquosos incluem, por exemplo, solução salina isotônica e água. Os solventes oleosos incluem, por exemplo, óleo de amêndoa, ésteres oleosos, álcool etílico, óleos vegetais tal como óleo de amendoim, azeitona, gergelim, ou coco, óleos vegetais fracionado, e óleos minerais tal como parafina liquida.

As formulações em pó e granulares de uma preparação farmacêutica da invenção podem ser preparadas empregando métodos conhecidos. Tais formulações podem ser administradas diretamente a um indivíduo, empregadas, por exemplo, para formar comprimidos, carregar cápsulas, ou preparar uma suspensão aquosa ou oleosa ou solução por adição de um veículo aquoso ou oleoso a isto. Cada destas formulações pode também compreender um ou mais de agente umectante e dispersante, agente de suspensão, e um conservante. Os excipientes adicionais, tal como agentes de carga e umectantes, flavorizantes, ou corantes, podem também ser incluídos nestas formulações.

Uma composição farmacêutica da invenção pode também ser preparada, empacotada, ou vendida na forma de emulsão de água em óleo ou uma emulsão de óleo em água. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal tal como óleo de azeitona ou amendoim, um óleo mineral tal como parafina líquida, ou uma combinação destes. Tais composições podem também compreender um ou mais agentes emulsificantes tal como gomas de ocorrência natural tal como goma acácia ou goma de tragacanto, fosfatídeos de ocorrência natural tal como fosfatídeo de lecitina ou soja, ésteres ou ésteres parciais derivados de combinações de ácidos graxos e anidretos de hexitol tal como monooleato de sorbitan, e produtos de condensação de tais ésteres parciais com óxido de etileno tal como monooleato de sorbitan de polioxietileno. Estas emulsões podem também conter ingredientes adicionais incluindo, por exemplo, agentes adoçantes ou flavorizantes.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, empacotada, ou vendida em uma formulação adequada para administração retal. Uma tal composição pode estar na forma de, por exemplo, um supositório, uma preparação de enema de retenção, e uma solução para irrigação colônica ou retal.

As formulações de supositório podem ser feitas por combinação do ingrediente ativo com um excipiente farmaceuticamente aceitável não irritante que é sólido em temperatura ambiente ordinária (isto é, cerca de 20°C) e que é líquido na temperatura retal do indivíduo (isto é, cerca de 37°C em um ser humano saudável). Os excipientes farmaceuticamente aceitáveis adequados incluem, porém não estão limitados a, manteiga de cacau, polietileno glicóis, e vários glicerídeos. As formulações de supositório podem também compreender vários ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitados a, antioxidantes e conservantes.

As preparações de enema de retenção ou soluções para irrigação retal ou colônica podem ser feitas por combinação do ingrediente ativo com um portador líquido farmaceuticamente aceitável. Como é bem-conhecido na técnica, as preparações de enema podem ser administradas empregando, e podem ser empacotadas dentro de, um dispositivo de libera-

ção adaptado à anatomia retal do indivíduo. As preparações de enema podem também compreender vários ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitados a, antioxidantes e conservantes.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, empacotada, ou vendida em uma formulação adequada para administração vaginal. Uma tal composição pode estar na forma de, por exemplo, um supositório, um material vaginalmente inserível revestido ou impregnado tal como um tampão, uma preparação de ducha, ou gel ou creme ou uma solução para irrigação vaginal.

Os métodos para impregnação ou revestido de um material com uma composição química são conhecidos na técnica, e incluem, porém não estão limitados aos métodos de depósito ou ligação de uma composição química sobre uma superfície, métodos de incorporação de uma composição química na estrutura de um material durante a síntese do material (isto é, tal como com um material fisiologicamente degradável), e métodos de absorção de uma solução ou suspensão aquosa ou oleosa em um material absorvente, com ou sem secagem subseqüente.

As preparações de ducha ou soluções para irrigação vaginal podem ser feitas por combinação do ingrediente ativo com um portador líquido farmaceuticamente aceitável. Como são bem-conhecidas na técnica, as preparações de ducha podem ser administradas empregando, e podem ser empacotadas dentro de, um dispositivo de liberação adaptado à anatomia vaginal do indivíduo. As preparações de ducha podem também compreender vários ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitados a, antioxidantes, antibióticos, agentes antifúngicos, e conservantes.

Como empregado aqui, "administração parenteral" de uma composição farmacêutica inclui qualquer rotina de administração caracterizada por abertura física de um tecido de um indivíduo e administração da composição farmacêutica através da abertura no tecido. A administração parenteral desse modo inclui, porém não está limitada a, administração de uma composição farmacêutica por injeção da composição, por aplicação da composição através de uma incisão cirúrgica, por aplicação da composição através de

uma ferida não cirúrgica de penetração de tecido, e similares. Em particular, a administração parenteral é contemplada incluir, porém não está limitada a, técnicas subcutâneas, intraperitoneais, intramusculares, injeção intra-esternais, e de infusão dialítica do rim.

As formulações de uma composição farmacêutica adequada para administração parenteral compreendem o ingrediente ativo combinado com um portador farmaceuticamente aceitável, tal como água estéril ou solução salina isotônica estéril. Tais formulações podem ser preparadas, empacotadas, ou vendidas de uma forma adequada para administração de bolo ou para administração contínua. As formulações injetáveis podem ser preparadas, empacotadas, ou vendidas na forma de dosagem de unidade, tal como em ampolas ou em recipiente de dose múltipla contendo um conservante. As formulações para administração parenteral incluem, porém não estão limitadas a, suspensões, soluções, emulsões em veículos oleosos ou aquosos, pastas, e formulações biodegradáveis ou de liberação prolongada implantável como descrito abaixo. Tais formulações podem também compreender um ou mais ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitados a, agentes de suspensão, estabilizantes ou dispersantes. Em uma modalidade de uma formulação para administração parenteral, o ingrediente ativo é fornecido na forma seca (isto é, pó ou granular) para reconstituição com um veículo adequado (por exemplo, água livre de pirogênio estéril) antes da administração parenteral da composição reconstituída.

Uma composição da presente invenção pode ser administrada por uma variedade de métodos conhecidos na técnica. O modo e/ou rotina de administração variam dependendo dos resultados desejados. Os compostos ativos podem ser preparados com veículos que protegem o composto contra liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes, emplastos transdérmicos, e sistemas de liberação de microencapsulado. Os polímeros biodegradáveis, biocompatíveis podem ser empregados, tal como acetato de vinila de etileno, polianidretos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, e ácido de polilático. Muitos métodos para a preparação de tais formulações são descritos por, por exemplo, *Sustai-*

ned and Controlled Release Drug Delivery Systems, J., R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nova York, (1978). As composições farmacêuticas são preferivelmente fabricadas sob condições de GMP.

As composições farmacêuticas podem ser preparadas, empacotadas, ou vendidas na forma de uma suspensão ou solução aquosa ou oleosa injetável estéril. Esta suspensão ou solução pode ser formulada de acordo com a técnica conhecida, e pode compreender, além do ingrediente ativo, ingredientes adicionais tal como os agentes de dispersão, agentes umectantes, ou agentes de suspensão descritos aqui. Tais formulações injetáveis estéreis podem ser preparadas empregando um diluente ou solvente não tóxico parenteralmente aceitável, tal como água ou 1,3-butano de diol, por exemplo. Os outros diluentes e solventes aceitáveis incluem, porém não estão limitados a, a solução de Ringer, solução de cloreto de sódio isotônica, e óleos fixos tal como mono- ou di-glicerídeos sintéticos. As outras formulações administráveis parentalmente que são úteis incluem aquelas que compreendem o ingrediente ativo na forma microcristalina, em uma preparação lipossômica, ou como um componente de um sistema de polímero biodegradável. As composições para liberação prolongada ou implantação podem compreender materiais hidrofóbicos ou poliméricos farmaceuticamente aceitáveis tal como uma emulsão, uma resina de permuta de íons, um polímero raramente solúvel, ou um sal raramente solúvel.

As formulações adequadas para administração tópica incluem, porém não estão limitadas a, preparações líquidas ou semi líquidas tal como linimentos, loções, emulsões de óleo em água ou água em óleo tal como cremes, ungüentos ou pastas, e soluções ou suspensões. As formulações topicamente administráveis podem, por exemplo, compreender de cerca de 1% a cerca de 10% (peso/peso) do ingrediente ativo, embora a concentração do ingrediente ativo possa ser tão alta quanto o limite de solubilidade do ingrediente ativo no solvente. As formulações para administração tópica podem também compreender um ou mais dos ingredientes adicionais descritos aqui.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada,

empacotada, ou vendida em uma formulação adequada para administração pulmonar pela cavidade bucal. Uma tal formulação pode compreende partículas secas que compreendem o ingrediente ativo e que têm um diâmetro na faixa de cerca de 0,5 a cerca de 7 nanômetros, e preferivelmente de cerca de 1 a cerca de 6 nanômetros. Tais composições estão convenientemente na forma de pó seco para administração que emprega um dispositivo compreendendo um reservatório de pó seco para que uma corrente de propulsor possa estar direcionada para dispersar o pó ou empregando um recipiente de dispersão de pó/ solvente de auto-propulsão tal como um dispositivo compreendendo o ingrediente ativo dissolvido ou suspenso em um propulsor de baixa ebulição em um recipiente selado. Preferivelmente, tal pó compreende partículas onde pelo menos 98% das partículas em peso têm um diâmetro maior do que 0,5 nanômetros e pelo menos 95% das partículas por número têm um diâmetro menor do que 7 nanômetros. Mais preferivelmente, pelo menos 95% das partículas em peso têm um diâmetro maior do que 1 nanômetro e pelo menos 90% das partículas por número, têm um diâmetro menor do que 6 nanômetros. As composições de pó seco preferivelmente incluem um diluente em pó fino sólido tal como açúcar e são convenientemente fornecidas em uma forma de dose de unidade.

Os propulsores de baixa ebulição geralmente incluem propulsores líquidos tendo um ponto de ebulição abaixo de 18,33°C (65°F) em pressão atmosférica. Geralmente o propulsor pode constituir 50 a 99,9% (peso/peso) da composição, e o ingrediente ativo pode constituir 0,1 a 20% (peso/peso) da composição. O propulsor pode também compreender os ingredientes adicionais tal como um tensoativo líquido não iônico ou aniônico sólido ou um diluente sólido (preferivelmente tendo um tamanho de partícula da mesma ordem como partículas compreendendo o ingrediente ativo).

As composições farmacêuticas da invenção formuladas para liberação pulmonar podem também fornecer o ingrediente ativo na forma de gotículas de uma solução ou suspensão. Tais formulações podem ser preparadas, empacotadas, ou vendidas como soluções alcoólicas aquosas ou diluídas ou suspensões, opcionalmente estéreis, compreendendo o ingrediente

ativo, e podem convenientemente ser administradas empregando qualquer dispositivo de nebulização ou atomização. Tais formulações podem também compreender um ou mais ingredientes adicionais incluindo, porém não-limitados ao agente flavorizante tal como sódio de sacarina, um óleo volátil, um agente tamponado, um agente tensoativo, ou um conservante tal como metilidroxibenzoato. As gotículas fornecidas por esta rotina de administração preferivelmente têm um diâmetro médio na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 200 nanômetros.

As formulações descritas aqui como sendo úteis para liberação pulmonar são também úteis para liberação intranasal de uma composição farmacêutica da invenção.

Outra formulação adequada para administração intranasal é um pó grosso compreendendo o ingrediente ativo e tendo uma partícula média de cerca de 0,2 a 500 micrômetros. Uma tal formulação é administrada de maneira na qual a inalação é tomada, isto é, por inalação rápida através da passagem nasal de um recipiente do pó mantido próximo às narinas.

As formulações adequadas para administração nasal podem, por exemplo, compreender de cerca de tão pouco quanto 0,1% (peso/peso) e tanto quanto 100% (peso/peso) do ingrediente ativo, e podem também compreender um ou mais dos ingredientes adicionais descritos aqui.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, empacotada, ou vendida em uma formulação adequada para administração bucal. Tais formulações podem, por exemplo, estar na forma de comprimido ou pastilhas feitas empregando métodos convencionais, e podem, por exemplo, 0,1 a 20% (peso/peso) do ingrediente ativo, o equilíbrio compreendendo uma composição oralmente dissolvível ou degradável e, opcionalmente, um ou mais dos ingredientes adicionais descritos aqui. Alternadamente, as formulações adequadas para administração bucal podem compreender um pó ou uma suspensão ou solução atomizada ou aerossolizada compreendendo o ingrediente ativo. Tais formulações em pó, aerossolizadas ou aerossolizadas quando dispersas, preferivelmente têm uma partícula média ou tamanho de gotícula na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 200 nanômetros, e

pode também compreender um ou mais dos ingredientes adicionais descritos aqui.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, empacotada, ou vendida em uma formulação adequada para administração oftálmica. Tais formulações podem, por exemplo, estar na forma de colírios incluindo, por exemplo, uma solução ou suspensão de 0,1 -1,0% (peso/peso) do ingrediente ativo em um portador líquido aquoso ou oleoso. Tais gotas podem também compreender agentes tamponados, sais, ou um ou mais outros dos ingredientes adicionais descritos aqui. As outras formulações oftalmicalmente administrável que são úteis incluem aquelas que compreendem o ingrediente ativo na forma microcristalina ou em uma preparação lipossômica.

Como empregado aqui, "ingredientes adicionais" incluem, porém não estão limitados a, um ou mais dos seguintes: excipientes; os agentes tensoativos; os agentes de dispersão; diluentes inertes; agentes de granulação e desintegrantes; agentes aglutinantes; agentes lubrificantes; agentes adoçantes; agentes flavorizantes; agentes de coloração; conservantes; composições fisiologicamente degradáveis tal como gelatina; veículos e solventes aquosos; veículos e solventes oleosos; agentes de suspensão; agentes umectantes ou dispersantes; agentes emulsificantes, demulcentes; tampão; sais; agentes espessantes; cargas; agentes emulsificantes; antioxidantes; antibióticos; agentes antifúngicos; agentes estabilizantes; e materiais hidrofóbicos ou poliméricos farmaceuticamente aceitáveis. Os outros "ingredientes adicionais" que podem ser incluídos nas composições farmacêuticas da invenção são conhecidos na técnica e descritos, por exemplo, em *Remington's, Pharmaceutical Siciences* Genaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1985), que é incorporado aqui por referência.

A combinação de ingrediente ativo do inibidor de aromatase/ anti-CTLA4 da invenção, pode ser administrada a um animal, preferivelmente um humano. Ao mesmo tempo em que a dosagem exata administrada de cada ingrediente ativo variará dependendo de qualquer número de fatores, incluindo porém não-limitado a, o tipo de animal e tipo de estado da doença

sendo tratada, a idade do animal e a rotina de administração.

O anticorpo anti-CTLA4 pode ser administrado a um animal tão freqüentemente quanto várias vezes diariamente, ou pode ser administrado menos freqüentemente, tal como uma vez por dia, uma vez na semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez por mês, ou ainda menos freqüentemente, tal como uma vez a cada vários meses ou ainda uma vez por ano ou menos. A freqüência da dose será facilmente evidente ao técnico versado e dependerá de qualquer número de fatores, tal como, porém não-limitado, ao tipo e severidade da doença tratada, o tipo e idade do animal, etc.

O inibidor de aromatase, preferivelmente, exemestano, pode ser administrado a um animal, tão freqüentemente quanto várias vezes ao dia, ou pode ser administrado menos freqüentemente, tal como uma vez por dia, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez por mês, ou ainda menos freqüentemente, tal como uma vez a cada vários meses ou ainda uma vez por ano ou menos. A freqüência da dose será facilmente evidente para o técnico versado e dependerá de qualquer número de fatores, tal como, porém não-limitado, ao tipo e severidade da doença sendo tratada, do tipo e idade do animal, etc.

O anticorpo e aromatase podem ser co-administrados pelo fato de que eles podem ser administrados separadamente, em datas diferentes ou em horas diferentes do dia, bem como simultaneamente ou na mesma data. A co-administração desse modo abrange qualquer combinação temporal de administração do anticorpo e o inibidor de aromatase tal que a administração dos dois agentes medeie um benefício terapêutico ao paciente que é detectavelmente maior do que a administração de qualquer dos agentes na ausência do outro.

Uma combinação de anticorpo-inibidor de aromatase da invenção pode ser co-administrada com numerosas outras combinações (outros agentes de terapia de anti-hormonal, citocinas, fármacos antiviróticos e/ou quimioterapêuticas, entre muitos outros). Alternativamente, o composto(s) pode ser administrado uma hora, um dia, uma semana, um mês, ou ainda mais, com antecedência da combinação de inibidor de aromatase- anticorpo,

ou qualquer permutação deste. Além disso, o composto(s) pode ser administrado uma hora, um dia, uma semana, ou ainda mais, após a administração de radiação, transplante de célula-tronco, ou administração de qualquer agente terapêutico (por exemplo, citocina, composto quimioterapêutico, e similares), ou qualquer permutação destes. A freqüência e regime de administração serão facilmente evidentes ao técnico versado e dependerão de qualquer número de fatores tal como, porém não-limitado ao tipo e severidade da doença sendo tratada, da idade e estado da saúde do animal, da identidade do composto ou compostos sendo administrados, da rotina de administração dos vários compostos, e similares.

VII. *Kits*

A invenção inclui vários kits que compreendem uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CTLA4 humano da invenção e uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase, junto com um aplicador e materiais instrutivos que descrevem o uso da combinação para realizar os métodos da invenção. Embora os kits exemplares sejam descritos abaixo, os conteúdos de similares kits úteis serão evidentes ao técnico versado na luz da presente descrição. Cada destes kits é incluído na invenção.

A invenção inclui um *kit* para tratamento de câncer de mama em um paciente em necessidade deste. O *kit* inclui um anticorpo anti-CTLA4 humano da invenção e pelo menos um inibidor de aromatase. O inibidor abrange, porém não está limitado a, fulvestrant, anastrozol, letrozol e exemestano. O *kit* também compreende um aplicador, incluindo, porém não-limitado a, uma seringa, para administração dos componentes do *kit* a um paciente. Além disso, o kit compreende um material instrutivo apresentando a informação pertinente para o uso do *kit* para tratar câncer de mama no paciente.

Mais preferivelmente, o *kit* compreende pelo menos um anticorpo anti-CTLA4 selecionado de um anticorpo tendo a seqüência de aminoácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1 (MDX-010), ainda mais preferivelmente, o anticorpo é um anticorpo tendo a seqüência de ami-

noácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 4.13.1, 11.2.1, e 10D1 (MDX-010).

Em uma modalidade, o inibidor de aromatase é pelo menos um inibidor selecionado de anastrozol, letrozol, e exemestano. Mais preferivelmente, o inibidor de aromatase é exemestano.

O *kit* pode compreender qualquer número de agentes adicionais para o tratamento do câncer de mama. Tais agentes são apresentados previamente e incluem compostos quimioterapêuticos, vacinas de câncer, inibidores de transdução de sinal, os agentes úteis no tratamento de câncer ou crescimento de célula anormal, anticorpos ou outros ligados que inibem o crescimento de tumor por ligação a IGF-1R, e citocinas, entre muitos outros.

A invenção também refere-se a um artigo de fabricação (por exemplo, forma de dosagem adaptada para administração i.v.) compreendendo um anticorpo anti-CTLA4 humano na quantidade eficaz de tratar o câncer (por exemplo, mais do que 10 mg/kg, pelo menos 15 mg/kg, ou 15 mg/kg) e uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase. Em certas modalidades, o artigo de fabricação compreende um recipiente ou recipientes compreendendo um anticorpo anti-CTLA4 humano, o inibidor de aromatase, e um rótulo e/ou instruções para uso para tratar câncer.

A invenção é também descrita em detalhes em referência aos seguintes exemplos experimentais. Estes exemplos são fornecidos para propósitos de ilustração somente, e não são pretendidos para serem limitantes a menos que de outra maneira especificado. Desse modo, a invenção de modo algum seria considerada com estando limitada aos seguintes exemplos, porém de preferência, deve ser considerada abranger qualquer e todas as variações que torne evidente com um resultado do ensinamento fornecido aqui.

EXEMPLO

Anticorpo Anti-CLTA4 em combinação com exemestano em câncer de mama metastático ou localmente avançado em paciente de pós-menopáusico

Os pacientes tendo câncer de mama metastático ou localmente

avançado com pelo menos uma lesão que pode ser medida exatamente em duas dimensões e cujo tamanho é ≥ 2 cm x 1 cm por varredura CT convencional ou ≥ 1 cm x 1 cm por varredura CT espiral foram administrados uma infusão IV (100 mL/hr) de anticorpos anti-CTLA4 como descrito aqui. Os antieméticos profiláticos e antidiarréicos são determinados quando apropriado.

O tratamento é repetido após 28 dias. As coortes sucessivas recebem doses progressivas da dose de anticorpo anti-CTLA4, começando em 3 mg/kg e aumentando para 6 mg/kg, 10 mg/kg e 15 mg/kg, a cada 28 dias por conseguinte, respectivamente, até o máximo de 12 ciclos na ausência de toxicidade intolerável ou progressão da doença.

Preferivelmente, os pacientes são pré-medicados com anti-histamina (H1) pelo menos meia hora antes da infusão de anti-CTLA4. A pré-medicação é recomendada porém não é requerida.

Todos os pacientes recebem exemestano, como dose oral contínua de 25 mg por dia de cada ciclo de 28-dias. Preferivelmente, exemestano é tomado ao mesmo tempo cada dia.

As doses são progressivas empregando uma designação de titulação acelerada utilizando um esquema de duplicação da dose com 3-6 indivíduos por coorte. Em cada novo coorte não há nenhum período de espera requerido entre os indivíduos. Os coortes subseqüentes não podem ser abertos até que o primeiro indivíduo no nível de dose atual tenha sido observado durante 21 dias e os indivíduos subseqüentes tenham sido observados durante 14 dias.

O anticorpo é fornecido em frascos de vidro claros de 10 ml com uma tampa de borracha e um selo de alumínio. Cada frasco contém 5 mg/ml (com uma carga nominal de 50 mg/frasco) de anticorpo anti-CTLA4, em uma solução aquosa estéril compreendendo 20 mM de acetato de sódio, 0,2 mg/ml de polissorbato 80, e 140 mM de cloreto de sódio em pH 5,5.

Para todos os pacientes, o estado do desempenho de ECOG, sinais vitais, e peso do corpo são avaliados pré-dose, e os sinais vitais podem ser repetidos pós-dose, quando indicado clinicamente. Um exame físico (incluindo avaliação de oftalmológica e sinais de autoimunidade) é realizado

no Dia 1. As amostras para painel de hematologia (hematócrito, contagem de RBC, contagem de WBC, diferencial), substância química (fosfatase alcalina, cálcio, cloreto, GGT, LDH, magnésio, fósforo, glicose aleatória, sódio, uréia, ácido úrico), urinálise (sangue, proteína), outros (tempo de tromboplastina parcial ativada [APTT], tempo de protrombina (PT), painel de autoanticorpo, proteína reativa C, TSH, T3, T4, amilase, lipase, soro C3, C4, nível Ig do soro), são obtidos.

O título de anticorpo anti-humano humano de valor de referência (HAHA) é determinado e o espécime farmacocinético (PK) é obtido pré-dose.

Os seguintes pontos finais são medidos: parâmetros de PK, HAHA, taxa de resposta e tempo para progressão. O tempo para progressão e a sobrevivência total são calculados empregando o método de limite do produto Kaplan-Meier.

Preferivelmente, o anticorpo anti-CTLA4 tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de pelo menos um anticorpo selecionado de 4.1.1, 4.13.1, 11.2.1, e 10D1. Mais preferivelmente, o anticorpo tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de 11,2,1.

Três pacientes foram administrados com anticorpo anti-CTLA4 (ticilimumab) em 3 mg/kg. Todos os três pacientes foram administrados com exemestano em 25 mg diariamente. Um paciente recebeu duas doses de anti-CTLA4 a cada vinte e oito dias e exemestano diariamente durante 56 dias. O CT de estágio de ciclo 2 revelou uma lesão no pulmão não presente no valor de referência. Além disso, o paciente demonstrou novo engrossamento da parede circunferencial moderado envolvendo o íleo terminal, o cólon descendente distal, e cólon de sigmóide de etiologia incerta, possíveis infecções ou inflamatório. O paciente não teve nenhuma história clínica que explicasse estas mudanças e o paciente sentiu-se bem e foi clinicamente assintomático. Nenhuma infecção foi detectada. Este paciente ficou fora do estudo para progressão da doença (PD).

Um segundo paciente foi administrado com dois ciclos de anticorpo anti-CTLA4, e teve aproximadamente quatorze (14) dias de terapia de exemestano (25 mg diariamente). Seguinte a dose de ticilimumab inicial, o

paciente reportou alguma linfedema de valor de referência do braço direito o que o deixou um pouco pior, em seguida caído. Além disso, o paciente reportou erupção não prurítica moderada transitória.

Um terceiro paciente recebeu um ciclo de ticilimumab e aproximadamente vinte e oito dias de 25 mg de exemestano diariamente até agora. No dia vinte e oito, os estudos de laboratório de rotina detectaram ALP e AST elevado de Grau 1 bem como ALT elevado de Grau 2. O paciente foi assintomático. A terapia foi colocada em suspenso até a melhora destes valores de laboratório.

Estes dados sugerem que os pacientes tratados com a combinação de ticilimumab e exemestano demonstraram atividade biológica.

As descrições de cada e todas as patentes, pedidos de patente, e publicações citadas aqui estão desse modo incorporadas aqui por referência em sua totalidade.

Ao mesmo tempo em que a invenção foi descrita com referência às modalidades específicas, é evidente que outras modalidades e variações desta invenção podem ser planejadas por outros versados na técnica sem afastar-se do verdadeiro espírito e escopo da invenção. As reivindicações anexas são pretendidas serem consideradas incluir todas tais modalidades e variações equivalentes.

Listagem de Seqüência

<110> PFIZER PRODUCTS INC.
Gomez-Navarro, Jesus

<120> TRATAMENTO DE COMBINAÇÃO DE ANTICORPO DE CTLA4 E INIBIDOR DE AROMATASE PARA CÂNCER DE MAMA

<130> PC32619A

<140> Nº de Pedido a ser fornecido
<141> 2005-10-07

<150> US 60/624,856
<151> 2004-11-04

<160> 36

<170> PatentIn versão 3.3

<210> 1
<211> 1392
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 1
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgtagcgt ctggattcac cttcagtagc catggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagaaataa atactatgca 240

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtttctg 300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggaggtcac 360

ttcggtcctt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc agcctccacc 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc 660

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt 720

gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc 780

ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg 840

gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc 960

gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020

aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgacctgcc tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ga 139

<210> 2
<211> 463
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly His Phe Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225 230 235 240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 3
<211> 167
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
1 5 10 15

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
20 25 30

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn
35 40 45

Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
50 55 60

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
65 70 75 80

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly His Phe Gly Pro Phe
85 90 95

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
115 120 125

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His
1 5 10

<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Gly Gly His Phe Gly Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 7
<211> 708

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaga 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta cctcaccctg gacgttcggc 360
caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 708

<210> 8
<211> 235
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala
50 55 60

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110

Gly Thr Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 9
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu
1 5 10 15

Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp Tyr
20 25 30

Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser
35 40 45

Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
50 55 60

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
65 70 75 80

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln
85 90 95

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
100 105 110

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
115 120 125

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

<210> 10
<211> 12
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 13
<211> 1335
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agtcatggca tccactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaagactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagtggcc 300
ccactggggc cacttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcagcctcc 360
accaagggcc catcggtctt cccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca 420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tcctacagtc ctcaggactc 540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 600
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt 660
tgtgtcgagt gcccaccgtg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt cttcctcttc 720
cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 780
gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 840
gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc 900
agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960
tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc 1020
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1080

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 114

aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctccca tgctggactc cgacggctcc 120

ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 126

tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 132

tctccgggta aatga 133

<210> 14
<211> 444
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Ala Pro Leu Gly Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 15
<211> 153
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
1 5 10 15

Ser Ser His Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
20 25 30

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Asp Tyr Ala
35 40 45

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
50 55 60

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Ala Pro Leu Gly Pro Leu Asp Tyr Trp Gly
85 90 95

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
100 105 110

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
115 120 125

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
130 135 140

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
145 150

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Ile His
1 5 10

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Val Ala Pro Leu Gly Pro Leu Asp Tyr
1 5

<210> 19
<211> 645

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 19
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgtcagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct 240

gaggattttg cagtgtatta ctgtcaacag tatggtaggt caccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tagatatcaa gcgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 20
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 21
<211> 146
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu
1 5 10 15

Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln
20 25 30

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser
35 40 45

Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
50 55 60

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val
65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly
85 90 95

Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
100 105 110

Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
115 120 125

Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
130 135 140

Val Asp
145

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Phe Thr
1 5 10

<210> 25
<211> 1413
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagtaataa atactatgca 240

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatccgagg 360

ggagctaccc tttactacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420

accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480

agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg 540

gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 600

ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660

ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720

acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960

agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

<210> 26
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
210 215 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 27
<211> 167
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
1 5 10 15

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
20 25 30

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
35 40 45

Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
50 55 60

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
65 70 75 80

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu
85 90 95

Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165

<210> 28
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5 10

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

<210> 30
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 31
<211> 714
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga 120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc attaacagct atttagattg gtatcagcag 180
aaaccaggga aagcccctaa actcctgatc tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc 240
ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagtctg 300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagtatt acagtactcc attcactttc 360
ggccctggga ccaaagtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660
cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta gtga 714

<210> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 33
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
1 5 10 15

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys
20 25 30

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
50 55 60

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
65 70 75 80

Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys
85 90 95

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
100 105 110

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
115 120 125

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
130 135

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp
1 5 10

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

REIVINDICAÇÕES

1. Método para o tratamento de câncer de mama em um paciente em necessidade de tal tratamento, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao referido paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CTLA4, ou porção de ligação de antígeno deste, em combinação com uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido inibidor de aromatase é pelo menos um inibidor selecionado do grupo consistindo em anastrozol, letrozol, e exemestano.

3. Método de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o referido inibidor de aromatase é exemestano.

4. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a referida quantidade terapeuticamente eficaz de uma quantidade de anticorpo anti-CTLA4 humano varia de cerca de 1 mg/kg a 40 mg/kg.

5. Método de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a referida quantidade terapeuticamente eficaz de uma quantidade de anticorpo anti-CTLA4 humano varia de cerca de 3 mg/kg a 15 mg/kg.

6. Método de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a referida quantidade terapeuticamente eficaz de exemestano varia de cerca de 25 mg por dia a 200 mg por dia.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a referida quantidade terapeuticamente eficaz de exemestano é cerca de 25 mg por dia.

8. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido tratamento é selecionado do grupo consistindo em uma terapia neo-adjuvante, uma terapia adjuvante, um tratamento de primeira linha, um tratamento de segunda linha, e um tratamento de terceira linha.

9. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo é selecionado do grupo consistindo em um anticorpo de mamífero não-humano, um anticorpo quimérico, e um anticorpo humano.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo é um anticorpo humano.

11. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo anti-CTLA4, ou porção de ligação de antígeno deste, é pelo menos um anticorpo selecionado do grupo consistindo em:

(a) um anticorpo humano que tem uma afinidade de ligação com CTLA4 de cerca de 10^{-8} ou mais, e que inibe a ligação entre CTLA4 e B7-1, e ligação entre CTLA4 e B7-2;

(b) um anticorpo humano que tem uma seqüência de aminoácido que compreende pelo menos uma seqüência de CDR humano que corresponde a uma seqüência de CDR de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1;

(c) um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, e 12.9.1.1;

(d) um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de cadeia leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1;

(e) um anticorpo, ou uma porção de ligação de antígeno deste, que compete para ligação com CTLA4 com pelo menos um anticorpo que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1; e

(f) um anticorpo, ou porção de ligação de antígeno deste, que inte-

rage para ligação com CTLA4 com pelo menos um anticorpo que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de um anticorpo selecionado do grupo que consiste em 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1., 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1.

12. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo é um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de cadeia pesada e leve de anticorpo 11.2.1.

13. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo compreende uma cadeia pesada e uma cadeia leve onde as seqüências de aminoácido da região variável de cadeia pesada da referida cadeia pesada e da região variável de cadeia leve da referida cadeia leve são selecionadas do grupo consistindo:

(a) na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:3 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:9;

(b) na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:15 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:21;

(c) na seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:27 e a seqüência de aminoácido de SEQ ID NO:33;

(d) na seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:1 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:7;

(e) na seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:13 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:19;

(f) na seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:25 e a seqüência de aminoácido codificada pela seqüência de ácido nucléico de SEQ ID NO:31;

(g) na seqüência de aminoácido de uma região variável de cadeia pesada e uma região variável de cadeia leve de anticorpo 10D1.

14. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido anticorpo, ou porção de ligação de antígeno deste, é um anticorpo selecionado do grupo consistindo em:

(a) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas na SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, e SEQ ID NO:6, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11 e SEQ ID NO:12;

(b) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, e SEQ ID NO:18, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23 e SEQ ID NO:24;

(c) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, e SEQ ID NO:30, e também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido apresentadas em SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35 e SEQ ID NO:36; e

(d) um anticorpo que tem uma região variável de cadeia pesada que compreende as seqüências de aminoácido de cadeia pesada CDR1, CDR2, e CDR3 de anticorpo 10D1, também tendo uma região variável de cadeia leve que compreende as seqüências de aminoácido da cadeia leve CDR1, CDR2, e CDR3 de anticorpo 10D1.

15. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende ainda administrar ao referido paciente pelo menos um agente selecionado do grupo consistido em um agente de alquilação, um antagonista de folato, antagonista de pirimidina, um antibiótico de antracilina, um composto de platina, um taxano, um vinca alcalóide, um análogo de camptotecina, um agente de estimulação de receptor tipo pedágio, uma vacina de tumor com base em proteína de choque térmico, uma terapia com base em célula de apresentação de antígeno, um alvo de mamífero de inibidor de rapamicina, um inibidor de erbB2, um inibidor de EGFR, um inibidor de VEGF, um inibidor de VEGFR, um inibidor de angiogênese, um anticorpo, um imunomodulador, um modulador de receptor de estrogênio seletivo, uma citocina, uma vacina de tumor, um agente antiproliferativo, uma molécula co-

estimuladora imune, e uma citocina.

16. Composição farmacêutica para o tratamento de câncer de mama, caracterizada pelo fato de que compreende:

uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo anti-CTLA4;

uma quantidade terapeuticamente eficaz de um inibidor de aromatase; e

um veículo farmaceuticamente aceitável.

17. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que o referido inibidor de aromatase é pelo menos um inibidor de aromatase selecionado do grupo consistindo em anastrozol, letrozol, e exemestano.

18. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o referido inibidor de aromatase é exemestano.

19. Uso de uma quantidade de um anticorpo anti-CTLA4, caracterizado pelo fato de que é na preparação de uma composição para o tratamento de câncer de mama em um paciente onde o referido tratamento compreende ainda administrar ao referido paciente uma quantidade de um inibidor de aromatase.

20. Uso de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o referido inibidor de aromatase é exemestano e também onde o referido anticorpo é um anticorpo humano que tem as seqüências de aminoácido de região variável de cadeia pesada e leve de anticorpo 11.2.1.

4.1.1 cDNA de cadeia pesada (SEQ ID NO:1)

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag     60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc    120
tgtgtagcgt ctggattcac cttcagtagc catggcatgc actgggtccg ccaggctcca    180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagaaataa atactatgca    240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtttctg    300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggaggtcac    360
ttcggtcctt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc agcctccacc    420
aagggcccat cggtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcg    480
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca    540
ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac    600
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc    660
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt    720
gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc    780
ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg    840
gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg    900
cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc    960
gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc   1020
aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga   1080
gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc   1140
ctgacctgcc tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat   1200
gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc   1260
ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca   1320
tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct   1380
```

FIG 1A

4.1.1 Proteína de cadeia pesada (SEQ ID NO:2)

```
MEFGLSWVFL VALLRGVQCQ VQLVESGG[GV VQPGRSLRLS CVASGFTFSS HGMHWVRQAP     60
GKGLEWVAVI WYDGRNKYYA DSVKGRFTIS RDNSKNTLFL QMNSLRAEDT AVYYCARGGH    120
FGPFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS    180
GALTSGVHTF PAVLQ]SSGLY SLSSVVTVPS SNFGTQTYTC NVDHKPSNTK VDKTVERKCC   240
VECPPCPAPP VAGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVQ FNWYVDGVEV    300
HNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLTVVHQDWL NGKEYKCKVS NKGLPAPIEK TISKTKGQPR    360
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPMLDSDGSF    420
FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK                       463
```

FIG 1B

4.1.1 cDNA de cadeia leve (SEQ ID NO:7)

```
atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga     60
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc    120
ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaga    180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca    240
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag    300
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta cctcaccctg gacgttcggc    360
caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg    420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc    480
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc    540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg    600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag    660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag                 708
```

FIG 1C

4.1.1 Proteína de cadeia leve (SEQ ID NO:8)

```
METPAQLLFL LLLWLPDTTG EIVLT[QSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSIS SSFLAWYQQR    60
PGQAPRLLIY GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGTSPWTFG    120
QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAK]VQWK VDNALQSGNS    180
QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC         235
```

FIG 1D

4.13.1 DNA de cadeia pesada (SEQ ID NO:13)

```
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc     60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agtcatggca tccactgggt ccgccaggct    120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaagactat    180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat    240
ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagtggcc    300
ccactggggc cacttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcagcctcc    360
accaagggcc catcggtctt ccccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca    420
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac    480
tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tcctacagtc ctcaggactc    540
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc    600
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt    660
tgtgtcgagt gcccaccgtg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt cttcctcttc    720
cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg    780
gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag    840
gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc    900
agcgtcctca ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc    960
tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc   1020
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc   1080
agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc   1140
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctccca tgctggactc cgacggctcc   1200
ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc   1260
tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg   1320
tctccgggta aatga                                                    1335
```

FIG 2A

4.13.1 Proteína de cadeia pesada (SEQ ID NO:14)

```
QVQLVESGGG VVQ[PGRSLRL SCAASGFTFS SHGIHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGRNKDY      60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARVA PLGPLDYWGQ GTLVTVSSAS     120
TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTS]GVHT FPAVLQSSGL     180
YSLSSVVTVP SSNFGTQTYT CNVDHKPSNT KVDKTVERKC CVECPPCPAP PVAGPSVFLF     240
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTFRVV     300
SVLTVVHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPAPIE KTISKTKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV     360
SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPMLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF     420
SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK                                            444
```

FIG 2B

4.13.1 DNA de cadeia leve (SEQ ID NO:19)

```
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc    60
ctctcctgca gggccagtca gagtgtcagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct   120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac   180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct   240
gaggattttg cagtgtatta ctgtcaacag tatggtaggt caccattcac tttcggccct   300
gggaccaaag tagatatcaa gcgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca   360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat   420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag   480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg   540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc   600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag                   645
```

FIG 2C

4.13.1 Proteína de cadeia leve (SEQ ID NO:20)

```
EIVLT[QSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASSRATGIPD    60
RFSGSGSGTD FTLTISRLEP EDFAVYYCQQ YGRSPFTFGP GTKVDIKRTV AAPSVFIFPP   120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV D]NALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT   180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC                               214
```

FIG 2D

11.2.1 DNA de cadeia pesada (SEQ ID NO:25)

```
atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag   60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc  120
tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca  180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagtaataa atactatgca  240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg  300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatccgagg  360
ggagctaccc tttactacta ctactacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc  420
accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg  480
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg  54
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc  6
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc    J
ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag    20
acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga   780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct   840
gaggtcacgt gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactg   900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcg     960
agcacgttcc gtgtggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggg  .g 1020
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aacca  .cc 1080
aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgg  ,gag 1140
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cag  .catc 1200
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac ac  .ccatg 1260
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa g  :aggtgg 1320
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa  ,ctacacg 1380
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga                              1413
```

FIG 3A

11.2.1 Proteína pesada (SEQ NO:26)

```
QVQLVESGG[G VVQPGRSLRL SCAASGFTFS SYGMHWV  . PGKGLEWVAV IWYDGSNKYY   60
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYC   RGATLYYYYY GMDVWGQGTT   120
VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVK  :E PVTVSWNSGA LTSGVH]TFPA  180
VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKF  .VD KTVERKCCVE CPPCPAPPVA   240
GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHF  VQFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQF   300
NSTFRVVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GF  IEKTI SKTKGQPREP QVYTLPPSRE   360
EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ P  YKTTPP MLDSDGSFFL YSKLTVDKSR   420
WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG                                   451
```

FIG 3B

11.2.1 DNA de cadeia leve (SEQ ID NO:31)

```
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc   60
agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga  120
gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc attaacagct atttagattg gtatcagcag  180
aaaccaggga aagcccctaa actcctgatc tatgctgcat ccagtttgca aagtggggtc  240
ccatcaaggt tcagtggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat cagcagtctg  300
caacctgaag attttgcaac ttactactgt caacagtatt acagtactcc attcactttc  360
ggccctggga ccaaagtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc  420
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac  480
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac  540
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc  600
ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat  660
cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta gtga         714
```

FIG 3C

11.2.1 Proteína de cadeia leve SEQ ID NO:32

```
DIQMTQS[PSS LSASVGDRVT ITCRASQSIN SYLDWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS   60
RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYSTPFTFGP GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP  120
SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKV]QWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT  180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC                               214
```

FIG 3D

RESUMO

Patente de Invenção: **"TRATAMENTO DE COMBINAÇÃO DE ANTICORPO DE CTLA4 E INIBIDOR DE AROMATASE PARA CÂNCER DE MAMA, SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E RESPECTIVOS USOS".**

A invenção refere-se à administração de um anticorpo anti-CTLA4, particularmente anticorpos humanos para CTLA4 humano, tal como aqueles tendo seqüências de aminoácido de anticorpos 3.1.1, 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1.1, 12.9.1.1, e 10D1 (MDX-010), em combinação com um inibidor de aromatase, para tratamento de câncer de mama. Mais particularmente, a invenção refere-se à administração de um anticorpo anti-CTLA4 e exemestano para tratamento de câncer de mama.