



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110227154 A

(43)申请公布日 2019.09.13

(21)申请号 201910288567.6

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

(22)申请日 2011.02.22

A61P 35/00(2006.01)

(30)优先权数据

G06Q 99/00(2006.01)

61/307,095 2010.02.23 US

A61K 31/337(2006.01)

61/351,231 2010.06.03 US

A61K 31/555(2006.01)

61/360,059 2010.06.30 US

61/439,819 2011.02.04 US

(62)分案原申请数据

201180020417.9 2011.02.22

(71)申请人 霍夫曼-拉罗奇有限公司

权利要求书1页 说明书56页

地址 瑞士巴塞尔

序列表2页 附图10页

(72)发明人 J.杜邦 C.伊尔

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

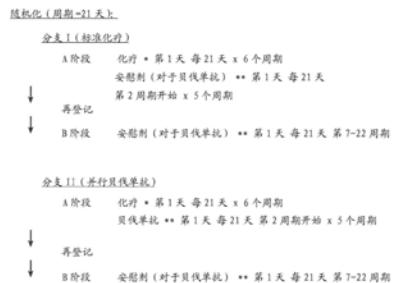
代理人 岚晓东

(54)发明名称

用于治疗卵巢癌的抗血管发生疗法

(57)摘要

本发明关注用于治疗卵巢癌的抗血管发生疗法。一般而言，本发明关注用抗VEGF抗体治疗疾病和病理状况。更具体地，本发明关注使用抗VEGF抗体，优选与一种或多种别的用于治疗卵巢癌的抗肿瘤治疗剂组合，来治疗对癌症易感或诊断有癌症的人类患者。



\* 仅第1-6周期，第1天，3小时里帕利他塞175mg/m<sup>2</sup> IV，接着是30分钟里卡铂AUC 6 IV（注意：帕利他塞可以用1小时里多西他塞75mg/m<sup>2</sup> IV替代。）

\*\* 第2周期开始的每个周期，第1天，贝伐单抗 / 安慰剂 15mg/kg IV

图 1

1. 一种治疗诊断有卵巢癌的患者的方法,包括对患者进行如下的治疗方案,该治疗方案组合化疗与施用有效量的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法,其中该治疗方案的化疗包括施用至少一种化疗剂,且其中该治疗方案有效延长患者的无进展存活。

2. 一种用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒,包括包装,所述包装包括抗VEGF抗体组合物和关于与紫杉烷疗法和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物,接着是抗VEGF维持疗法的说明书,其中所述说明书记载了接受紫杉烷疗法和卡铂疗法和贝伐单抗的患者的无进展存活为14.1个月,危害比为0.717 (p值<0.0001)。

3. 一种指导具有卵巢癌的人受试者的方法,该方法包括提供接受与化疗并行的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法对乳腺癌治疗,从而延长受试者的无进展存活的说明书。

4. 一种宣传方法,包括宣传在人受试者中施用与化疗并行的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法来治疗卵巢癌,从而延长受试者的无进展存活。

5. 一种商业方法,包括销售与化疗并行的抗VEGF抗体疗法,接着是抗VEGF维持疗法,用于在人受试者中治疗卵巢癌,从而延长受试者的无进展存活。

6. 一种用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒,包括包装,所述包装包括抗VEGF抗体组合物和关于与帕利他赛和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物,接着是抗VEGF维持疗法的说明书,其中所述说明书记载了接受帕利他赛、卡铂和抗VEGF抗体的患者的无进展存活为18.3个月,危害比为0.79。

## 用于治疗卵巢癌的抗血管发生疗法

[0001] 本申请是申请日为2011年2月22日、中国申请号为201180020417.9、发明名称为“用于治疗卵巢癌的抗血管发生疗法”的发明专利的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2011年2月4日提交的美国临时申请流水号61/439,819;2010年6月30日提交的美国临时申请流水号61/360,059;2010年6月3日提交的美国临时申请流水号61/351,231;和2010年2月23日提交的美国临时申请流水号61/307,095的优先权和权益,将其说明书完整收入本文。

[0004] 材料保藏

[0005] 以下杂交瘤细胞系已经根据布达佩斯条约的规定保藏于美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection(ATCC),Manassas,VA,USA) :

抗体命名	ATCC编号	保藏日期
A4.6.1	ATCC HB-10709	1991年3月29日

### 发明领域

[0007] 一般而言,本发明涉及人类疾病和病理状况的治疗。更具体地,本发明涉及抗血管发生疗法,或是单独的或是与其它抗癌疗法组合,用于治疗卵巢癌。

[0008] 发明背景

[0009] 癌症仍然是对人类健康的最致命威胁之一。在美国,癌症每年影响近130万新患者,而且是位于心脏病之后的第二位死因,占4例死亡中的大约1例。对于具有卵巢和腹膜癌的女性,在初始外科诊断、分期和细胞减少之后,对具有晚期卵巢上皮癌和腹膜原发癌的女性,标准主要系统性化疗由铂和紫杉烷组合的化疗组成,通常是卡铂和帕利他赛。参见例如 McGuire WP, et al.Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer.N Eng J Med 334:1-6,1996;Piccart MJ,et al.Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer:three-year results.J Natl Cancer Inst 92:699-708, 20003;Alberts DS,et al.Improved therapeutic index of carboplatin plus cyclophosphamide versus cisplatin plus cyclophosphamide:final report by the Southwest Oncology Group of a phase III randomized trial in stages III and IV ovarian cancer.J Clin Oncol10:706-17,1992;du Bois A,et al.A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer.J Natl Cancer Inst Sep.3;95.(17) : 1320.-9.95:1320,2003;Ozols RF,et al.Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer:a Gynecologic Oncology Group study.J Clin Oncol 21:3194-200,2003;以及Swenerton K,et al.Cisplatin-cyclophosphamide

versus carboplatin-cyclophosphamide in advanced ovarian cancer:a randomized phase III study of the National Cancer Institute of Canada Clinical trials Group.J Clin Oncol 10:718-26,1992。虽然在患者管理方面做出了进步,但是这种疾病仍然对在美国诊断的所有妇产科恶性肿瘤具有较高的死亡对病例比。估计2004年会诊断25,580例新病例,而且16,090名女性会死于该疾病。参见例如Jemal A, et al.Cancer statistics,2004.CA Cancer J Clin 54:8-29,2004。需要改进主要治疗策略。

[0010] 血管发生是一个重要的细胞事件,其中血管内皮细胞增殖、消减、和重新组织,从而从现有的血管网络形成新血管。有令人信服的证据表明血管供应的发展对于正常和病理的增殖过程是至关重要的(Folkman and Klagsbrun Science 235:442-447 (1987))。运送氧和养分,以及清除异化产物,代表了多细胞生物体中发生的大多数生长过程的限速步骤。

[0011] 虽然引入新血管被认为是肿瘤血管发生的主要模式,但是最近的数据指示一些肿瘤可通过征用现有的宿主血管来生长。然后被征用的血管系统消退,导致肿瘤消退,最终因肿瘤边缘处缺氧诱导的血管发生而逆转.Holash et al.Science 284:1994-1998 (1999)。

[0012] 正常和异常血管发生二者的关键正调节物之一是血管内皮细胞生长因子(VEGF)-A。VEGF-A是包括VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、和P1GF在内的基因家族的一部分。VEGF-A主要结合两种高亲和力受体酪氨酸激酶,即VEGFR-1 (Flt-1) 和VEGFR-2 (Flk-1/KDR),后者是VEGF-A血管内皮细胞有丝分裂信号的主要递质。另外,神经毡蛋白-1(neuropilin-1)已经被鉴定为肝素结合VEGF-A同种型的受体,而且可在血管发育中发挥作用。

[0013] 在作为血管发生(angiogenesis)和脉管发生(vasculogenesis)中的血管发生因子之外,VEGF,作为多效生长因子,在其它生理过程诸如内皮细胞存活、血管通透性和血管舒张、单核细胞趋化性和钙内流中展现出多种生物学效应.Ferrara and Davis-Smyth (1997),见上文。此外,研究报道了VEGF对少数非内皮细胞类型诸如视网膜色素上皮细胞、胰导管细胞、和许旺(Schwann)细胞的促有丝分裂效应.Guerrin et al.J.Cell Physiol.164:385-394 (1995);Oberg-Welsh et al.Mol.Cell.Endocrinol.126:125-132 (1997);Sondell et al.J.Neurosci.19:5731-5740 (1999)。

[0014] VEGF表达在大多数恶性肿瘤中上调,而且VEGF过表达常常与更晚期的阶段或与许多实体瘤中更差的预后有关。

[0015] 由于卵巢癌仍然是最致命威胁之一,因此患者需要其它的癌症疗法。本发明解决这些和其它需要,正如阅读下述公开后会显而易见的。

[0016] 发明概述

[0017] 提供抗VEGF拮抗剂用于治疗卵巢癌的用途。例如,提供抗VEGF抗体用于有效治疗具有新诊断的、先前未治疗的卵巢、输卵管或原发性腹膜癌或铂敏感性复发性(或先前治疗过的)卵巢癌、原发性、腹膜、或输卵管癌的女性的用途。提供来自具有新诊断的、先前未治疗的III期(亚最佳和宏观上最佳大块切除的)和IV期卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌的受试者(例如女性)中贝伐单抗(AVASTIN®)与化疗方案组合的一项随机化III期临床试验的数据(实施例1)。还提供来自具有新诊断的、高风险I和IIa期(仅仅透明细胞癌或3级)和IIb-IV期卵巢上皮癌、输卵管癌或原发性腹膜癌的受试者(例如女性)(其经历了初始手术且在疾病进展前不会考虑细胞减少手术(cytoreductive surgery)中贝伐单抗

(AVASTIN®)与化疗方案组合的一项随机化III临床试验的数据(实施例2)。还提供来自在具有铂敏感性复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌的女性中评估与卡铂(曲线下面积[AUC]4,第1天,每21天)及吉西他滨(1000mg/m<sup>2</sup>,第1天和第8天,每21天)组合施用贝伐单抗(15mg/kg,第1天,每21天)的功效和安全性的一项有安慰剂对照的、随机化、多中心III期研究的数据(实施例3)。这样的化疗方案包括紫杉烷疗法(例如帕利他赛或多西他赛)、基于铂的化疗(例如卡铂)或吉西他滨、及其组合。所述试验的成功显示了与化疗组合提供抗VEGF抗体(例如贝伐单抗)并作为维持疗法继续提供抗VEGF抗体(例如贝伐单抗)对卵巢癌患者提供统计上显著的且临幊上有意义的好处。在具有先前未治疗的和复发的卵巢癌的人受试者中在并行和维持治疗二者中使用贝伐单抗的临幊研究中获得的结果显示了功效(如通过无进展存活(PFS)评估的)是阳性的,尤其与单独化疗剂治疗的PFS数据相比。所述临幊试验中与紫杉烷疗法(例如帕利他赛或多西他赛)和基于铂的化疗(例如卡铂)或基于铂的化疗(例如卡铂)和吉西他滨组合的并行治疗中接受贝伐单抗并接受贝伐单抗维持疗法的受试者与用单独的紫杉烷疗法(例如帕利他赛或多西他赛)和基于铂的化疗(例如卡铂)或单独的基于铂的化疗(例如卡铂)和吉西他滨治疗的受试者相比具有延长的无进展存活。

[0018] 因而,本发明提供一种治疗诊断有先前未治疗的或复发的卵巢癌的患者的方法,包括对患者进行如下的治疗方案,其组合至少一种化疗与施用有效量的抗VEGF抗体,然后施用抗VEGF抗体进行维持疗法,其中用所述治疗,患者的无进展存活得到延长。组合化疗与施用抗VEGF、然后施用抗VEGF维持疗法的治疗方案有效延长患者的无进展存活(progression free survival,PFS)。

[0019] 在某些实施方案中,PFS与对照相比延长约1个月、1.2个月、2个月、2.9个月、3个月、3.8个月、4个月、6个月、7个月、8个月、9个月、1年、约2年、约3年、等。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长约2.9个月到3.8个月(例如用组合化疗与施用抗VEGF、然后施用抗VEGF维持疗法的治疗方案)。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长至少约3.8个月(例如用组合化疗与施用抗VEGF、然后施用抗VEGF维持疗法的治疗方案)。在另一个实施方案中,PFS与对照相比延长约2.3个月(例如用组合化疗与施用抗VEGF、然后施用抗VEGF维持疗法的治疗方案)。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长约6个月(例如用组合化疗与施用抗VEGF、然后施用抗VEGF维持疗法的治疗方案)。

[0020] 可以依照本发明使用任何展现抗癌活性的化疗剂。在某些实施方案中,化疗剂选自下组:烷化剂、抗代谢物、叶酸类似物、嘧啶类似物、嘌呤类似物及相关抑制剂、长春花生物碱、表鬼臼毒素、抗生素、L-天冬酰胺酶、拓扑异构酶抑制剂、干扰素、铂配位复合物、紫杉烷、蒽二酮取代脲、甲肼衍生物、肾上腺皮质阻抑剂、肾上腺皮质类固醇、妊娠素、雌激素、抗雌激素、雄激素、抗雄激素、吉西他滨和促性腺素释放激素类似物。在某些实施方案中,化疗剂是例如紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、吉西他滨、铂类似物、卡铂、或其组合。可以在要与抗VEGF抗体组合施用的混合物中使用两种或更多种化疗剂,例如紫杉烷和铂类似物或吉西他滨和铂类似物。在一个实施方案中,它是卡铂和帕利他赛。在一个实施方案中,它是卡铂和多西他赛。在另一个实施方案中,它是吉西他滨和卡铂。

[0021] 依照本发明的治疗的临幊好处可以通过例如无进展存活(PFS)的持续时间、治疗

失败的时间、客观响应率和响应的持续时间来测量。

[0022] 本发明还提供了一种试剂盒。在一个实施方案中，提供用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒，包括包装，所述包装包括抗VEGF抗体组合物和关于与紫杉烷疗法和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物，接着是抗VEGF维持疗法的说明书，其中所述说明书记载了接受紫杉烷疗法和卡铂疗法和贝伐单抗的患者的无进展存活为14.1个月，危害比(hazard ratio)为0.717(p值<0.0001)。在另一个实施方案中，提供用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒，包括成套组件(package)，所述成套组件包括抗VEGF抗体组合物和关于与帕利他赛和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物，接着是抗VEGF维持疗法的说明书，其中所述说明书记载了接受帕利他赛、卡铂和抗VEGF抗体的患者的无进展存活为18.3个月，危害比为0.79。在某些实施方案中，试剂盒包含具有重链可变区和轻链可变区的抗VEGF抗体，该重链可变区包含下述氨基酸序列：EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQQGTLVT VSS(SEQ ID No.1)，该轻链可变区包含下述氨基酸序列：DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIFY TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR(SEQ ID No.2)。在某些实施方案中，所述试剂盒中的抗VEGF抗体是贝伐单抗。在某些实施方案中，所述试剂盒用于具有III或IV期卵巢癌的患者。

[0023] 因而，本发明的特征在于一种指导具有癌症(例如卵巢癌)的人受试者的方法，其通过提供说明书来接受抗VEGF抗体的治疗，从而延长受试者的无进展存活、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中，该方法进一步包括提供说明书来接受至少一种化疗剂的治疗。在一些实施方案中，该方法进一步包括提供说明书来接受至少两种化疗剂的治疗。在某些实施方案中，抗VEGF抗体的治疗与化疗剂的治疗并行和序贯进行。在某些实施方案中，如指导方法指导的那样治疗受试者。

[0024] 本发明还提供一种宣传方法(promotion method)，包括宣传施用抗VEGF抗体来在人受试者中治疗癌症(例如卵巢癌)。在一些实施方案中，该方法进一步包括宣传施用至少一种化疗剂。在本发明的某些实施方案中，抗VEGF抗体的施用与化疗剂的施用并行和序贯进行。宣传可以通过任何可得手段来进行。在一些实施方案中，所述宣传通过伴随抗VEGF抗体之商业性制剂的包装插页来进行。所述宣传也可以通过伴随化疗剂之商业性制剂的包装插页来进行。宣传可以通过书面或口头告知内科医师或健康护理提供者来进行。在一些实施方案中，所述宣传通过包装插页来进行，其中包装插页提供说明书来接受抗VEGF抗体的并行疗法和至少一种化疗剂和抗VEGF抗体的维持疗法。在一些实施方案中，所述宣传之后是用抗VEGF抗体及一种或多种化疗剂治疗受试者，随后实施抗VEGF抗体的维持疗法。

[0025] 本发明提供一种商业方法，包括销售抗VEGF抗体，用于与至少一种化疗剂组合在人受试者中治疗癌症(例如卵巢癌)，接着是抗VEGF维持疗法，从而延长无进展存活、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中，销售之后是用抗VEGF抗体及化疗剂治疗受试者，接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中，该方法进一步包括销售两种或更多种化疗剂，用于与抗VEGF抗体组合使用，接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中，销售之后是用抗VEGF抗体及化疗剂治疗受试者，随后实施抗VEGF维持疗法。

[0026] 还提供一种商业方法，包括与抗VEGF抗体组合销售化疗剂，接着是抗VEGF维持疗

法,用于在人受试者中治疗癌症(例如卵巢癌),从而延长无进展存活、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,销售之后用化疗剂和抗VEGF抗体的组合治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。还提供一种商业方法,包括与抗VEGF抗体组合销售两种或更多种化疗剂,接着是抗VEGF维持疗法,用于在人受试者中治疗癌症(例如卵巢癌),从而延长无进展存活、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,销售之后用化疗剂和抗VEGF抗体的组合治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。

[0027] 在本发明的每一种方法中,抗VEGF抗体可替换为VEGF特异性拮抗剂,例如下文所述VEGF受体分子或嵌合VEGF受体分子。在某些实施方案中,抗VEGF抗体是贝伐单抗。抗VEGF抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体、嵌合抗体、完全人的抗体、或人源化抗体。在本发明的方法中有用的例示性抗体包括贝伐单抗(AVASTIN®)、G6抗体、B20抗体、及其片段。在某些实施方案中,抗VEGF抗体具有包含下述氨基酸序列的重链可变区:EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQQGTLVT VSS (SEQ ID No.1) 和包含下述氨基酸序列的轻链可变区:DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID No.2)。

[0028] 所述抗体或其抗原结合片段也可以是缺少Fc部分的抗体、F(ab')2、Fab、或Fv结构。

[0029] 在一个实施方案中,治疗是VEGF特异性拮抗剂(例如抗VEGF抗体)和至少一种化疗剂的组合,接着是VEGF拮抗剂维持疗法。在一个实施方案中,治疗是VEGF特异性拮抗剂(例如抗VEGF抗体)和两种或更多种化疗剂的组合,接着是VEGF拮抗剂维持疗法。

[0030] 可以关于癌症治疗来实践本发明的每一种方法或用途,包括但不限于瘤瘤、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、和白血病。此类癌症的更特别例子包括卵巢癌、卵巢原发性腹膜癌、卵巢输卵管癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌、肺的鳞癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、肝癌、膀胱癌、肝肉瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、肾癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、胃癌、黑素瘤、和各种类型的头颈癌。在一些实施方案中,受试者具有先前未治疗的卵巢癌。在一些实施方案中,受试者具有新诊断的、先前未治疗过的卵巢癌。在一些实施方案中,受试者具有新诊断的、先前未治疗过的III期(亚最佳的(sub optimally)和宏观上最佳大块切除的(macrosopic optimally debulked))或IV期卵巢上皮原发性腹膜癌或输卵管癌。在一些实施方案中,受试者具有铂敏感性复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌。

[0031] 上述每一个方面可进一步包括对受试者监测癌症复发。监测可例如通过评估无进展存活(PFS)或总体存活(OS)或客观响应率(OR)来实现。在一个实施方案中,在治疗启动之后评估PFS。

[0032] 根据疾病的类型和严重性,抗VEGF抗体(例如贝伐单抗)的优选剂量在本文中有描述,而且范围可以为约1μg/kg至约50mg/kg,最优先约5mg/kg至约15mg/kg,包括但不限于5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg或15mg/kg。施药频率会随疾病的类型和严重性而变化。对于几天或更长时间里的重复施用,根据状况,治疗为持续直到癌症得到治疗或实现期望治疗效

果,如通过本文所述或本领域已知方法测量的。在一个例子中,本发明的抗VEGF抗体每周、每两周、或每三周施用一次,剂量范围为约5mg/kg至约15mg/kg,包括但不限于5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg或15mg/kg。然而,其它剂量方案也是可以使用的。本发明疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。在本发明的某些实施方案中,提供抗VEGF疗法作为维持疗法。在别的实施方案中,抗VEGF疗法提供至少14个月(包括与化疗并行的抗VEGF疗法和抗VEGF维持疗法)。在其它实施方案中,抗VEGF疗法提供至少12个月(包括与化疗并行的抗VEGF疗法和抗VEGF维持疗法)。

[0033] 在上述每一个方面别的实施方案中,局部或系统(例如口服或静脉内)施用VEGF特异性拮抗剂(例如抗VEGF抗体)。在其它实施方案中,治疗的一个方面是在单一疗法或VEGF特异性拮抗剂治疗期持续时间的单一疗法(例如在延长治疗期或维持疗法中)中用VEGF特异性拮抗剂,如由临床医师评估或如本文所述的。在某些实施方案中,至少从周期7到22给予抗VEGF维持疗法。在其它实施方案中,至少从周期7到18给予抗VEGF维持疗法。

[0034] 在其它实施方案中,VEGF特异性拮抗剂的治疗与别的抗癌疗法组合,包括但不限于手术、放疗、化疗、分化疗法、生物疗法、免疫疗法、血管发生抑制剂、细胞毒剂和抗增殖化合物。VEGF特异性拮抗剂治疗还可包括上述类型的治疗方案的任何组合。在一些实施方案中,化疗剂和VEGF特异性拮抗剂并行施用,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,两种或更多种化疗剂和VEGF特异性拮抗剂并行施用,接着是抗VEGF维持疗法。

[0035] 在包括别的抗癌疗法的实施方案中,可以在施用VEGF特异性拮抗剂之前、期间(例如同时)、或之后用别的抗癌疗法来进一步治疗受试者。在一个实施方案中,单独或与抗癌疗法一起施用的VEGF特异性拮抗剂可以作为维持疗法来施用。

[0036] 本申请涉及下述实施方案。

[0037] 1.一种治疗诊断有卵巢癌的患者的方法,包括对患者进行如下的治疗方案,该治疗方案组合化疗与施用有效量的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法,其中该治疗方案的化疗包括施用至少一种化疗剂,且其中该治疗方案有效延长患者的无进展存活。

[0038] 2.实施方案1的方法,其中所述化疗剂是紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛的蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、铂类似物、卡铂、吉西他滨、或其组合。

[0039] 3.实施方案1的方法,其中所述治疗方案的化疗包括施用紫杉烷和卡铂。

[0040] 4.实施方案1的方法,其中所述治疗方案的化疗包括施用卡铂和吉西他滨。

[0041] 5.实施方案1的方法,其中所述患者诊断有先前未治疗的卵巢癌。

[0042] 6.实施方案1的方法,其中所述患者诊断有复发性卵巢癌。

[0043] 7.实施方案1的方法,其中所述抗VEGF抗体与由杂交瘤ATCC HB10709生成的单克隆抗VEGF抗体A4.6.1结合相同表位。

[0044] 8.实施方案1的方法,其中所述抗VEGF抗体是人源化抗体。

[0045] 9.实施方案8的方法,其中所述抗VEGF抗体是人源化A4.6.1抗体或其片段。

[0046] 10.实施方案8的方法,其中所述抗VEGF抗体是贝伐单抗。

[0047] 11.实施方案1的方法,其中所述抗VEGF抗体是贝伐单抗且所述治疗方案的化疗包括施用卡培他滨和帕利他赛或多西他赛。

[0048] 12.实施方案1的方法,其中所述抗VEGF抗体是贝伐单抗且所述治疗方案的化疗包括施用卡铂和吉西他滨。

[0049] 13.实施方案1的方法,其中所述患者的无进展存活与不用抗VEGF维持疗法治疗的另一名患者相比延长至少约3.8个月或更多。

[0050] 14.实施方案8的方法,其中所述抗VEGF抗体具有重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含下述氨基酸序列:EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKPvRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWF DVWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO.1),该轻链可变区包含下述氨基酸序列:DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID NO.2)。

[0051] 15.实施方案2的方法,其中帕利他赛如图1或图2所示施用。

[0052] 16.实施方案2的方法,其中卡铂如图1或图2或图11所示施用。

[0053] 17.实施方案2的方法,其中多西他赛如图1所示施用。

[0054] 18.实施方案2的方法,其中吉西他滨如图11所示施用。

[0055] 19.实施方案2的方法,其中抗VEGF如图1或图2分支III所示或如实施例3分支II所述施用。

[0056] 20.一种用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒,包括包装,所述包装包括抗VEGF抗体组合物和关于与紫杉烷疗法和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物,接着是抗VEGF维持疗法的说明书,其中所述说明书记载了接受紫杉烷疗法和卡铂疗法和贝伐单抗的患者的无进展存活为14.1个月,危害比为0.717 (p值<0.0001)。

[0057] 21.实施方案20的试剂盒,其中所述抗VEGF抗体具有重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含下述氨基酸序列:EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWF DVWGQGTLVT VSS (SEQ ID No.1),该轻链可变区包含下述氨基酸序列:DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID No.2)。

[0058] 22.实施方案20的试剂盒,其中所述抗VEGF抗体是贝伐单抗。

[0059] 23.实施方案20的试剂盒,其中所述患者具有III或IV期卵巢癌。

[0060] 24.一种指导具有卵巢癌的人受试者的方法,该方法包括提供接受与化疗并行的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法对卵巢癌治疗,从而延长受试者的无进展存活的说明书。

[0061] 25.实施方案24的方法,其中所述说明书进一步包括提供进行至少两种化疗剂的治疗的说明。

[0062] 26.一种宣传方法,包括宣传在人受试者中施用与化疗并行的抗VEGF抗体,接着是抗VEGF维持疗法来治疗卵巢癌,从而延长受试者的无进展存活。

[0063] 27.实施方案26的方法,其中该方法进一步包括宣传施用至少两种化疗剂。

[0064] 28.实施方案26的方法,其中该宣传是通过包装插页进行,其中该包装插页提供接受抗VEGF抗体来进行癌症治疗的说明书。

[0065] 29.实施方案26的方法,其中该宣传是通过伴随该抗VEGF抗体之商业性制剂的包装插页来进行的。

[0066] 30.实施方案26的方法,其中该宣传是通过伴随该化疗剂之商业性制剂的包装

插页来进行的。

[0067] 31. 实施方案26的方法,其中该宣传是通过书面告知内科医师或健康护理提供者来进行的。

[0068] 32. 实施方案26的方法,其中该宣传是通过口头告知内科医师或健康护理提供者来进行的。

[0069] 33. 实施方案26的方法,其中该宣传之后是用该抗VEGF抗体和该化疗剂治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。

[0070] 34. 一种商业方法,包括销售与化疗并行的抗VEGF抗体疗法,接着是抗VEGF维持疗法,用于在人受试者中治疗卵巢癌,从而延长受试者的无进展存活。

[0071] 35. 实施方案34的方法,其中该销售之后用与化疗并行的抗VEGF抗体治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。

[0072] 36. 实施方案24、26或34任一项的方法,其中所述化疗剂是紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛的蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、铂类似物、卡铂、吉西他滨、或其组合疗法。

[0073] 37. 实施方案24、26或36任一项的方法,其中所述抗VEGF抗体是贝伐单抗。

[0074] 38. 实施方案1的方法,其中所述治疗方案的化疗包括施用帕利他赛和卡铂。

[0075] 39. 实施方案1的方法,其中所述所述抗VEGF抗体是贝伐单抗且所述治疗方案的化疗包括施用帕利他赛和卡铂。

[0076] 40. 实施方案1的方法,其中所述患者的无进展存活与不用抗VEGF抗体治疗的另一名患者相比延长至少约2.3个月或更多。

[0077] 41. 实施方案2的方法,其中帕利他赛如图8所示施用。

[0078] 42. 实施方案2的方法,其中卡铂如图8所示施用。

[0079] 43. 实施方案2的方法,其中抗VEGF抗体如图8分支B所示施用。

[0080] 44. 一种用于在人患者中治疗先前未治疗的卵巢癌的试剂盒,包括包装,所述包装包括抗VEGF抗体组合物和关于与帕利他赛和卡铂组合使用该抗VEGF抗体组合物,接着是抗VEGF维持疗法的说明书,其中所述说明书记载了接受帕利他赛、卡铂和抗VEGF抗体的患者的无进展存活为18.3个月,危害比为0.79。

[0081] 根据详述、附图、和权利要求,本发明的其它特征和优点会是显而易见的。

[0082] 附图简述

[0083] 图1描绘实施例1中描述的卵巢癌的研究设计。

[0084] 图2描绘使用贝伐单抗(BEV)或安慰剂及各种化疗的卵巢癌试验的研究设计图。

[0085] 图3描绘来自图2所示试验的选定不利事件。

[0086] 图4描绘来自图2所示试验的处理期所致选定不利事件。

[0087] 图5描绘由调查人员评估的图2所示试验分支I、分支II和分支III的无进展存活(PFS)。

[0088] 图6描绘图2所示试验分支I和分支III的PFS值及使用CA-125标志物作为进展确定物(determinant of progression)的结果。

[0089] 图7描绘图2所示试验的分支III与分支I中患者的亚组分析。

[0090] 图8描绘实施例2中描述的卵巢癌试验的研究设计。

[0091] 图9描绘图8所示试验的无进展存活(PFS)分析的汇总。“CP”对应于图8中的分支A。“CPB7.5+”对应于图8中的分支B。

[0092] 图10描绘来自图8所示试验的PFS结果的图。“CP”对应于图8中的分支A。“CPB7.5+”对应于图8中的分支B。

[0093] 图11描绘实施例3中描述的卵巢癌试验的研究设计。

[0094] 发明详述

[0095] I. 定义

[0096] 术语“VEGF”或“VEGF-A”用于指165个氨基酸的人血管内皮细胞生长因子及相关的121个、145个、189个和206个氨基酸的人血管内皮细胞生长因子,如例如Leung et al. Science, 246:1306 (1989); 及 Houck et al. Mol. Endocrin., 5:1806 (1991) 所述, 及其天然存在的等位基因形式和加工形式。VEGF-A是包括VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和P1GF在内的基因家族的一部分。VEGF-A主要结合两种高亲和力受体酪氨酸激酶, 即VEGFR-1 (Flt-1) 和VEGFR-2 (Flk-1/KDR), 后者是VEGF-A血管内皮细胞有丝分裂信号的主要递质。另外, 神经毡蛋白-1已经被鉴定为肝素结合VEGF-A同种型(isoform)的受体, 而且可在血管发育中发挥作用。术语“VEGF”或“VEGF-A”还指来自非人物种诸如小鼠、大鼠或灵长类动物的VEGF。有时, 来自特定物种的VEGF表示如下, hVEGF表示人VEGF, mVEGF表示鼠VEGF。术语“VEGF”还用于指包含165个氨基酸的人血管内皮细胞生长因子的氨基酸第8-109位或第1-109位的截短形式多肽。本申请中可能通过例如“VEGF (8-109)”、“VEGF (1-109)”或“VEGF<sub>165</sub>”来鉴别任何此类形式VEGF。“截短的”天然VEGF的氨基酸位置如天然VEGF序列中所示编号。例如, 截短的天然VEGF中的第17位氨基酸(甲硫氨酸)也是天然VEGF中的第17位(甲硫氨酸)。截短的天然VEGF具有与天然VEGF相当的对KDR和Flt-1受体的结合亲和力。

[0097] “抗VEGF抗体”指以足够亲和力和特异性结合VEGF的抗体。所选择的抗体通常会具有对VEGF的结合亲和力, 例如, 该抗体可以以介于100nM-1pM之间的K<sub>d</sub>值结合hVEGF。抗体亲和力可通过例如基于表面等离振子共振的测定法(诸如PCT申请公开文本No. WO2005/012359中所记载的BIACore测定法); 酶联免疫吸附测定法(ELISA); 和竞争测定法(例如RIA)来测定。在某些实施方案中, 本发明的抗VEGF抗体可用作治疗剂, 用于靶向和干扰其中涉及VEGF活性的疾病或疾患。还有, 可对该抗体进行其它生物学活性测定法, 例如为了评估其作为治疗剂的效力所进行的生物学活性测定法。此类测定法是本领域已知的, 而且取决于抗体的靶抗原和预定用途。例子包括HUVEC抑制测定法; 肿瘤细胞生长抑制测定法(如例如WO 89/06692中所记载的); 抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)和补体介导的细胞毒性(CDC)测定法(美国专利5,500,362); 及激动活性或造血测定法(参见WO 95/27062)。抗VEGF抗体通常不会结合其它VEGF同系物, 诸如VEGF-B或VEGF-C, 也不会结合其它生长因子, 诸如P1GF、PDGF或bFGF。

[0098] “VEGF拮抗剂”指能够中和、阻断、抑制、消除、降低或干扰VEGF活性(包括其与一种或多种VEGF受体的结合)的分子。VEGF拮抗剂包括抗VEGF抗体及其抗原结合片段、特异性结合VEGF由此使其隔绝与一种或多种受体结合的受体分子及衍生物、抗VEGF受体抗体和VEGF受体拮抗剂诸如VEGFR酪氨酸激酶的小分子抑制剂。

[0099] “天然序列”多肽包括与衍生自自然界的多肽具有相同氨基酸序列的多肽。如此, 天然序列多肽可以具有来自任何哺乳动物的天然存在多肽的氨基酸序列。此类天然序列多

肽可以从自然界分离,或者可以通过重组或合成手段来生产。术语“天然序列”多肽明确涵盖该多肽的天然存在的截短或分泌形式(例如胞外结构域序列)、天然存在的变体形式(例如可变剪接形式)、及天然存在的等位变体。

[0100] 多肽“变体”意指与天然序列多肽具有至少约80%氨基酸序列同一性的生物学活性多肽。此类变体包括例如在多肽的N-末端或C-末端添加或删除一个或多个氨基酸残基的多肽。通常,变体与天然序列多肽将具有至少约80%的氨基酸序列同一性,更优选的是,至少约90%的氨基酸序列同一性,和甚至更优选的是,至少约95%的氨基酸序列同一性。

[0101] 术语“抗体”在本文中以最广义使用,包括单克隆抗体(包括全长或完整单克隆抗体)、多克隆抗体、多价抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、及抗体片段(见下文),只要它们展现出期望的生物学活性。

[0102] 贯穿本说明书和权利要求书,本文中免疫球蛋白重链残基的编号方式是如Kabat等,《Sequences of Proteins of Immunological Interest》,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991)中的EU索引的编号方式,明确收入本文作为参考。“如Kabat中的EU索引”指人IgG1EU抗体的残基编号方式。

[0103] 在一个实施方案中,依照本发明的“ $K_d$ ”或“ $K_d$ 值”是通过如下测定法所述使用Fab型式的抗体和VEGF分子进行的放射性标记VEGF结合测定法(RIA)来测量的:通过在存在未标记VEGF的滴定系列的条件下,用最小浓度的 $^{125}\text{I}$ 标记VEGF(109)平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被的平板捕捉结合的VEGF来测量Fab对VEGF的溶液结合亲和力(Chen, et al., J Mol Biol 293:865-881 (1999))。在一个例子中,为了确定测定条件,用50mM碳酸钠(pH 9.6)中的5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 捕捉用抗Fab抗体(Cappel Labs)包被微量滴定板(Dynex)过夜,随后用PBS中的2% (w/v)牛血清清蛋白在室温(约23°C)封闭2-5小时。在非吸附平板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM [ $^{125}\text{I}$ ]-VEGF(109)与连续稀释的目的Fab(例如如Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)中的Fab-12)混合。然后将目的Fab保温过夜;不过,保温可持续65个小时以保证达到平衡。此后,将混合物转移至捕捉板以进行室温保温1小时。然后除去溶液,并用含0.1% Tween® 20的PBS洗板8次。平板干燥后,加入150 $\mu\text{l}/\text{孔}$ 闪烁液(MicroScint-20;Packard),然后在Topcount伽马计数器(Packard)上对平板计数10分钟。选择各Fab给出小于或等于最大结合之20%的浓度用于竞争性结合测定法。依照另一实施方案, $K_d$ 或 $K_d$ 值是通过表面等离振子共振测定法使用BIAcore™-2000或BIAcore™-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)在25°C使用固定化hVEGF(8-109) CM5芯片在约10个响应单位(RU)测量的。简而言之,依照供应商的说明书用盐酸N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化右旋糖昔生物传感器芯片(CM5, BIAcore Inc.)。用10mM乙酸钠pH 4.8将人VEGF稀释至5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (约0.2 $\mu\text{M}$ ),然后以5 $\mu\text{l}/\text{分钟}$ 的流速注入至获得约10个响应单位(RU)的偶联蛋白质。注入人VEGF后,注入1M乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量,在25°C以约25 $\mu\text{l}/\text{分钟}$ 的流速注入在含0.05% Tween® 20的PBS(PBST)中两倍连续稀释的Fab(0.78nM至500nM)。使用简单一对一朗格缪尔(Langmuir)结合模型(BIAcore Evaluation Software version 3.2)通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率( $k_{on}$ )和解离速率( $k_{off}$ )。平衡解离常数( $K_d$ )以比率 $k_{off}/k_{on}$ 计算。参见例如Chen, Y., et al., J Mol Biol 293:865-881 (1999)。如果根据上文表面等离振子共振测定法,结合速率超过 $10^6\text{M}^{-1}\text{S}^{-1}$ ,那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定,即根据分

光计诸如配备了断流装置的分光光度计(a stop-flow equipped spectrophotometer) (Aviv Instruments) 或8000系列SLM-Aminco<sup>TM</sup>分光光度计(ThermoSpectronic) 中用搅拌比色杯的测量,在存在浓度渐增的人VEGF短形式(8-109)或小鼠VEGF的条件下,测量PBS,pH 7.2中的20nM抗VEGF抗体(Fab形式)在25℃的荧光发射强度(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通(band pass))的升高或降低。

[0104] “阻断性”抗体或抗体“拮抗剂”指抑制或降低其所结合的抗原的生物学活性的抗体。例如,VEGF特异性拮抗性抗体结合VEGF并抑制VEGF诱导血管内皮细胞增殖或诱导血管通透性的能力。在某些实施方案中,阻断性抗体或拮抗性抗体完全或基本上抑制抗原的生物学活性。

[0105] 除非另有说明,表述“多价抗体”贯穿本说明书用于指包含三个或更多抗原结合位点的抗体。例如,多价抗体改造成具有三个或更多个抗原结合位点,而且一般不是天然序列IgM或IgA抗体。

[0106] “抗体片段”只包含完整抗体的一部分,一般包括完整抗体的抗原结合位点,因此保留了与抗原结合的能力。此定义所涵盖的抗体片段的例子包括:(i) Fab片段,其具有VL、CL、VH和CH1结构域;(ii) Fab'片段,其是在CH1结构域的C-末端具有一个或多个半胱氨酸残基的Fab片段;(iii) Fd片段,其具有VH和CH1结构域;(iv) Fd'片段,其具有VH和CH1结构域及CH1结构域C-末端的一个或多个半胱氨酸残基;(v) Fv片段,其具有抗体单臂的VL和VH结构域;(vi) dAb片段(Ward et al., Nature 341:544-546 (1989)),其由VH结构域组成;(vii) 分离的CDR区;(viii) F(ab')<sub>2</sub>片段,包含通过铰链区的二硫键相连的两个Fab'片段的二价片段;(ix) 单链抗体分子(例如单链Fv;scFv)(Bird et al., Science 242:423-426 (1988) 和 Huston et al., PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988));(x)“双抗体”,其具有两个抗原结合位点,包含在同一条多肽链中相连的重链可变域(VH)和轻链可变域(VL)(参见例如EP 404,097;W093/11161;和Hollinger et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448 (1993));(xi)“线性抗体”,其包含一对串联的Fd区段(VH-CH1-VH-CH1),与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区(Zapata et al., Protein Eng.8 (10):1057-1062 (1995) 和美国专利5,641,870)。

[0107] 术语“单克隆抗体”在用于本文时指从一群基本上同质的抗体获得的抗体,即构成群体的各抗体个体是相同的,除了可以以极少量存在的可能的天然存在突变形式外。单克隆抗体是高度特异性的,针对单一抗原。此外,与典型的包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。修饰语“单克隆”不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如,将依照本发明使用的单克隆抗体可通过最初由Kohler等Nature 256:495, (1975) 记载的杂交瘤方法来制备,或者可通过重组DNA方法来制备(参见例如美国专利No. 4,816,567)。“单克隆抗体”还可使用例如Clackson等Nature 352:624-628, (1991) 或Marks等J.Mol.Biol.222:581-597, (1991) 中记载的技术从噬菌体抗体库分离。

[0108] “Fv”片段是包含完整抗原识别和结合位点的抗体片段。该区域由紧密结合(该结合的本质可以是共价的,例如在scFv中)的一个重链可变域(区)和一个轻链可变域(区)的二聚体组成。正是在这种构造中,每个可变域(区)的三个CDR相互作用而在V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>二聚体表面上限定了一个抗原结合位点。六个CDR或其子集(subset)一起赋予抗体以抗原结合特异性。

然而,即使是单个可变域(区)(或是只包含对抗原特异性的三个CDR的半个Fv)也具有识别和结合抗原的能力,只是通常亲和力低于完整结合位点。

[0109] 在用于本文时,“抗体可变域(区)”指抗体分子的轻链和重链中包含互补决定区(CDR;即CDR1、CDR2、和CDR3)和框架区(FR)氨基酸序列的那部分。 $V_H$ 指重链可变域(区)。 $V_L$ 指轻链可变域(区)。依照本发明所使用的方法,归为CDR和FR的氨基酸位置可以依照Kabat(*Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987和1991))来限定。抗体或抗原结合片段的氨基酸编号方式也依照Kabat的氨基酸编号。

[0110] 在用于本文时,术语“互补决定区(CDR;即CDR1、CDR2、和CDR3)指抗体可变域(区)中其存在是抗原结合所必需的氨基酸残基。每个可变域通常具有三个CDR,鉴定为CDR1、CDR2和CDR3。每个互补决定区可以包含来自如Kabat定义的“互补决定区”的氨基酸残基(即大约是轻链可变域的残基24–34(L1)、50–56(L2)和89–97(L3)及重链可变域的残基31–35(H1)、50–65(H2)和95–102(H3);Kabat等,*Sequences of Proteins of Immunological Interest*,5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))和/或来自“高变环”的残基(即大约是轻链可变域的残基26–32(L1)、50–52(L2)和91–96(L3)及重链可变域的残基26–32(H1)、53–55(H2)和96–101(H3);Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901–917 (1987))。在有些情况下,互补决定区可以包含来自Kabat定义的CDR区和高变环二者的氨基酸。例如,抗体4D5重链的CDRH1包含氨基酸26–35。

[0111] “框架区”(以下的FR)指可变域中CDR残基以外的残基。每个可变域通常具有四个FR,鉴定为FR1、FR2、FR3和FR4。如果CDR是依照Kabat定义的,那么轻链FR残基位于大约轻链残基1–23(LCFR1)、35–49(LCFR2)、57–88(LCFR3)、和98–107(LCFR4),而重链FR残基位于大约重链残基1–30(HCFR1)、36–49(HCFR2)、66–94(HCFR3)、和103–113(HCFR4)。如果CDR包含来自高变环的氨基酸残基,那么轻链FR残基位于大约轻链残基1–25(LCFR1)、33–49(LCFR2)、53–90(LCFR3)、和97–107(LCFR4),而重链FR残基位于大约重链残基1–25(HCFR1)、33–52(HCFR2)、56–95(HCFR3)、和102–113(HCFR4)。在有些情况下,在CDR包含来自Kabat定义的CDR和高变环二者的氨基酸时,FR残基将做相应的调整。例如,当CDRH1包含氨基酸H26–H35时,重链FR1残基位于1–25位,而FR2残基位于36–49位。

[0112] “Fab”片段包含轻链的可变域和恒定域及重链的可变域和第一恒定域(CH1)。 $F(ab')_2$ 抗体片段包含一对Fab片段,它们一般在它们羧基末端附近通过它们之间的铰链半胱氨酸共价连接。本领域还知道抗体片段的其它化学偶联形式。

[0113] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 结构域,其中这些结构域存在于一条多肽链上。一般而言,Fv多肽在 $V_H$ 与 $V_L$ 结构域之间进一步包含多肽接头,其使得scFv能够形成结合抗原的期望结构。关于scFv的综述参见Pluckthun,于《The Pharmacology of Monoclonal Antibodies》,第113卷,Rosenburg和Moore编,Springer-Verlag,New York,第269–315页,1994。

[0114] 术语“双抗体(diabody)”指具有两个抗原结合位点的小型抗体片段,该片段在同一条多肽链( $V_H$ 及 $V_L$ )中包含相连的重链可变域( $V_H$ )和轻链可变域( $V_L$ )。通过使用过短的接头使得同一条链上的两个结构域之间不能配对,迫使这些结构域与另一条链的互补结构域配对,从而产生两个抗原结合位点。双抗体更完整的记载于例如EP 404,097; WO 93/11161;

Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448 (1993)。

[0115] 表述“线性抗体”指Zapata等,Protein Eng,8(10):1057-1062 (1995) 中所描述的抗体。简言之,这些抗体包含一对串联的Fd区段 ( $V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}$ ) ,该区段与互补的轻链多肽一起形成抗原结合区对。线性抗体可以是双特异性的,或者是单特异性的。

[0116] 单克隆抗体在本文中明确包括“嵌合”抗体(免疫球蛋白),其中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的剩余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,以及此类抗体的片段,只要它们展现出期望的生物学活性(美国专利No.4,816,567; Morrison等Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855),(1984)。

[0117] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式指最低限度包含衍生自非人免疫球蛋白的序列的嵌合抗体。在极大程度上,人源化抗体指人免疫球蛋白(受体抗体)中的高变区残基用具有期望特异性、亲和力和能力的非人物种(供体抗体)诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类的高变区残基替换的免疫球蛋白。在有些情况下,将人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基用相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中没有发现的残基。进行这些修饰是为了进一步改进抗体的性能。通常,人源化抗体包含至少一个、通常两个基本上整个如下可变区,其中所有或基本上所有高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,且所有或基本上所有FR区是人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体任选还包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人免疫球蛋白的恒定区。更多细节参见Jones et al.,Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al.,Nature 332:323-329 (1988); Presta, Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596 (1992)。

[0118] “人抗体”指拥有与由人生成的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列和/或使用本文所公开的用于生成人抗体的任何技术生成的抗体。人抗体的这种定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。人抗体可使用本领域已知的多种技术来生成。在一个实施方案中,人抗体是从噬菌体文库选择的,该噬菌体文库表达人抗体(Vaughan et al.,Nature Biotechnology 14:309-314 (1996); Sheets et al., Proc.Natl.Acad.Sci.95:6157-6162 (1998); Hoogenboom and Winter, J.Mol.Biol.227:381 (1991); Marks et al., J.Mol.Biol.222:581 (1991))。人抗体还可通过将人免疫球蛋白基因座导入内源免疫球蛋白基因已经部分或完全灭活的转基因动物(例如小鼠)来生成。在受到攻击时,观察到人抗体生成,它在所有方面与在人体中看到的极其相似,包括基因重排、装配和抗体全集。这种方法记载于例如美国专利No.5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;5,661,016,及以下科学出版物:Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368:856-859 (1994); Morrison, Nature 368:812-13 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14:826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern.Rev.Immunol.13:65-93 (1995)。或者,人抗体可通过生成针对靶抗原的抗体的人B淋巴细胞的永生化来制备(此类B淋巴细胞可从个体回收,或者可在体外免疫)。参见例如Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R.Liss,p.77 (1985); Boerner et al., J.Immunol.147(1):86-95 (1991); 及美国专利No.5,750,373。

[0119] “亲和力成熟的”抗体指在抗体的一个或多个CDR中具有一处或多处改变、导致该

抗体对抗原的亲和力与没有这些改变的亲本抗体相比有所改进的抗体。优选的亲和力成熟的抗体具有纳摩尔或甚至皮摩尔量级的对靶抗原的亲和力。亲和力成熟的抗体可通过本领域已知规程来生成。Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992) 记载了通过VH和VL结构域改组进行的亲和力成熟。以下文献记载了CDR和/或框架残基的随机诱变:Barbas et al., Proc.Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al., Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al., J.Immunol.155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J.Immunol.154 (7):3310-9 (1995); Hawkins et al., J.Mol.Biol.226:889-896 (1992)。

[0120] 抗体的“功能性抗原结合位点”指能够结合靶抗原的位点。抗原结合位点的抗原结合亲和力不必像衍生该抗原结合位点的亲本抗体那样强,但是结合抗原的能力必须是使用已知用于评估抗体对抗原结合的多种方法之任一可测量到的。此外,本文中多价抗体的每个抗原结合位点的抗原结合亲和力不必在量上相同。对于本文中的多聚体抗体,功能性抗原结合位点的数目可以使用超速离心分析来评估,如美国专利申请公开文本No.20050186208中所记载的。依照这种分析方法,将靶抗原与多聚体抗体以不同比例混合,并计算复合物的平均分子量,其中假设不同数目的功能性结合位点。将这些理论值与得到的实际实验值进行比较以评估功能性结合位点的数目。

[0121] 具有指定抗体的“生物学特征”的抗体指拥有该指定抗体区别于其它结合相同抗原的抗体的一项或多项生物学特征的抗体。

[0122] 为了筛选结合抗原上感兴趣抗体所结合的表位的抗体,可以实施常规交叉阻断测定法,诸如Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988) 中所记载的。

[0123] “物种依赖性抗体”指这样一种抗体,其对来自第一哺乳动物物种的抗原具有强于对来自第二哺乳动物物种的该抗原同系物的结合亲和力。通常,物种依赖性抗体“特异性结合”人类抗原(即具有不超过约 $1 \times 10^{-7} M$ ,优选不超过约 $1 \times 10^{-8} M$ ,最优选不超过约 $1 \times 10^{-9} M$ 的结合亲和力( $K_d$ )),但对来自第二非人哺乳动物物种的该抗原同系物具有比其对人类抗原的结合亲和力弱至少约50倍,或至少约500倍,或至少约1000倍的结合亲和力。物种依赖性抗体可以是如上定义的各种类型的抗体,但典型的是人源化抗体或人抗体。

[0124] 在用于本文时,“抗体突变体”或“抗体变体”指物种依赖性抗体的氨基酸序列变体,其中物种依赖性抗体的一个或多个氨基酸残基发生了修饰。此类突变体与物种依赖性抗体必然具有小于100%的序列同一性或相似性。在一个的实施方案中,抗体突变体所具有的氨基酸序列与物种依赖性抗体的重链或轻链可变域的氨基酸序列具有至少75%、更优选至少80%、更优选至少85%、更优选至少90%、最优选至少95%的氨基酸序列同一性或相似性。关于此序列的同一性或相似性在本文中定义为在比对序列并在必要时引入缺口以实现最大百分比序列同一性后,候选序列中与物种依赖性抗体残基相同(即相同残基)或相似(即根据共同侧链特性来自同一组的氨基酸残基,见下文)的氨基酸残基的百分比。N-末端、C-末端、或对可变域(区)之外的抗体序列内部的延伸、删除、或插入都不应视为影响序列同一性或相似性。

[0125] 为了延长包含本发明氨基酸序列的抗体或多肽的半衰期,可如例如美国专利No.5,739,277中所记载的将补救受体结合表位附着于抗体(尤其是抗体片段)。例如,可以将编码补救受体结合表位的核酸分子与编码本发明多肽序列的核酸在同一读码框内相连

接,使得由改造后的核酸分子编码的融合蛋白包含补救受体结合表位和本发明的多肽序列。在用于本文时,术语“补救受体结合表位”指IgG分子(例如IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>或IgG<sub>4</sub>)的Fc区中负责延长IgG分子体内血清半衰期的表位(例如Ghetie et al., Ann. Rev. Immunol. 18: 739-766 (2000), 表1)。其Fc区中有替代且血清半衰期延长的抗体还记载于W000/42072; WO 02/060919; Shields et al., J. Biol. Chem. 276: 6591-6604 (2001); Hinton, J. Biol. Chem. 279: 6213-6216 (2004))。在另一个实施方案中,还可以通过例如附着其它多肽序列来延长血清半衰期。例如,可以将在本发明的方法中有用的抗体或其它多肽附着于血清清蛋白或血清清蛋白中结合FcRn受体或血清清蛋白结合肽的那部分,使得血清清蛋白结合该抗体或多肽,例如此类多肽序列披露于W001/45746。在一个实施方案中,待附着的血清清蛋白肽包含氨基酸序列DICLPRWGCLW。在另一个实施方案中,Fab的半衰期通过这些方法得到了延长。血清清蛋白结合肽序列还可参见Dennis et al., J. Biol. Chem. 277: 35035-35043 (2002)。

[0126] “嵌合VEGF受体蛋白”指具有衍生自至少两种不同蛋白质(其中至少一种是VEGF受体蛋白)的氨基酸序列的VEGF受体分子。在某些实施方案中,嵌合VEGF受体蛋白能够结合VEGF并抑制VEGF的生物学活性。

[0127] “分离的”抗体指已经鉴定且自其天然环境的一种成分分开和/或回收的多肽或抗体。其天然环境的污染性成分指将会干扰该抗体的诊断或治疗用途的物质,可包括酶、激素、和其它蛋白质性质或非蛋白质性质的溶质。在某些实施方案中,将抗体纯化至(1)根据Lowry法的测定,抗体重量超过95%,最优选重量超过99%, (2)足以通过使用转杯式测序仪获得至少15个残基的N-末端或内部氨基酸序列的程度,或(3)根据还原性或非还原性条件下的SDS-PAGE及使用考马斯蓝或银染色,达到同质。既然抗体天然环境的至少一种成分不会存在,那么分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体。然而,分离的抗体通常将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0128] “片段”指多肽和核酸分子的一部分,其优选含有参比核酸分子或多肽全长的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、或更多。所述片段可含有10、20、30、40、50、60、70、80、90、或100、200、300、400、500、600、或更多个核苷酸,或者10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、190、200或更多个氨基酸。

[0129] “抗血管发生剂”或“血管发生抑制剂”指或直接或间接抑制血管发生(angiogenesis)、血管生成(vasculogenesis)、或不想要的血管通透性的小分子量物质、多核苷酸、多肽、分离的蛋白质、重组蛋白、抗体、或其偶联物或融合蛋白。应当理解,抗血管发生剂包括那些结合并阻断血管发生因子或其受体的血管发生活性的药剂。例如,抗血管发生剂是整篇说明书定义的或本领域已知的血管发生剂的抗体或其它拮抗剂,例如但不限于VEGF-A的抗体、VEGF-A受体(例如KDR受体或Flt-1受体)的抗体、VEGF-trap、抗PDGFR抑制剂诸如Gleevec<sup>TM</sup>(Imatinib Mesylate)。抗血管发生剂还包括天然血管发生抑制剂,例如血管他丁(angiotensin)、内皮他丁(endostatin)等。参见例如Klagsbrun and D'Amore, Annu. Rev. Physiol. 53: 217-39 (1991); Streit and Detmar, Oncogene 22: 3172-3179 (2003) (例如列举恶性黑素瘤中抗血管发生疗法的表3); Ferrara & Alitalo, Nature Medicine 5 (12): 1359-1364 (1999); Tonini et al., Oncogene 22: 6549-6556 (2003) (例如列举已知抗血管发生因子的表2); Sato, Int. J. Clin. Oncol. 8: 200-206 (2003) (例如列举临床试

验中所使用的抗血管发生剂的表1)。

[0130] “维持”(maintenance)剂量在本文中指在治疗期间或之后施用于患者的一个或多个剂量的治疗剂。通常,维持剂量以一定的治疗间隔施用,例如以大约每周,大约每两周,大约每三周,或大约每四周的间隔施用。

[0131] 在一个实施方案中,维持剂量如描绘于本文中图1(延长疗法)、图2或图8或图11的。

[0132] “存活”(survival)指患者保持存活,包括无进展存活(progression free survival)(PFS)和总体存活(overall survival)(OS)。存活可通过Kaplan-Meier法来评估,而且存活的任何差异可使用分层时序检验(stratified log-rank test)来计算。

[0133] “无进展存活(Progression free survival)(PFS)”指自治疗(或随机化)至第一次疾病进展或死亡的时间。在本发明的一个方面,PFS可通过实体瘤响应评价标准(RECIST)来评估。在本发明的一个方面,PFS可通过作为进展决定子的CA-125水平来评估。

[0134] “总体存活(overall survival)”指患者自治疗启动或自初始诊断起保持一定时期活着,诸如约1年、约1.5年、约2年、约3年、约4年、约5年、约10年、等。在本发明基础的研究中,用于存活分析的事件是任何原因的死亡。

[0135] “延长存活(extending survival)”或“提高存活可能性”意味着使接受治疗的患者的PFS和/或OS相对于未接受治疗的患者(即相对于未用VEGF特异性拮抗剂,例如VEGF抗体治疗的患者)或相对于对照治疗方案(诸如只用化疗剂的治疗,诸如卵巢癌的标准治疗中使用的那些)有延长或提高。例如,延长的PFS指与对照(例如未用相同VEGF特异性拮抗剂治疗的患者)相比,患者自治疗启动或自初始诊断起,保持一定时期活着且癌症没有复发的时间,例如诸如约1个月、2个月、2.3个月、2.9个月、3个月、3.8个月、4个月、6个月、7个月、8个月、9个月、1年、约2年、约3年、等。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长约2.9个月到约3.8个月。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长至少约3.8个月。在另一个实施方案中,PFS延长约2.3个月。在一个实施方案中,PFS与对照相比延长约6个月。在某些实施方案中,存活在治疗启动之后或在初始诊断之后监测至少约1个月、2个月、4个月、6个月、9个月、或至少约1年、或至少约2年、或至少约3年、或至少约4年、或至少约5年、或至少约10年、等。

[0136] 危害比(Hazard ratio,HR)是事件比率的统计定义。为了本发明的目的,危害比定义为代表任何特定时间点时实验分部中的事件概率除以对照分部中的事件概率。

[0137] 无进展存活分析中的“危害比(hazard ratio)”是两条无进展存活曲线之间的差异的汇总,代表随访期里与对照相比治疗的死亡风险降低。

[0138] 术语“并行”在本文中用于指使用两种或更多种治疗剂,其中至少部分施用在时间上交叠。因而,并行施用包括如下的剂量给药方案,一种或多种药剂的施用中断后施用一种或多种其它药剂。

[0139] “单一疗法”意指如下的治疗方案,其在治疗期的过程期间只包括单一治疗剂来治疗癌症或肿瘤。使用VEGF特异性拮抗剂的单一疗法意味着在治疗期期间在没有别的抗癌疗法的情况下施用所述VEGF特异性拮抗剂。

[0140] “维持疗法”意指为了降低疾病复发或进展的可能性而给予的治疗方案。维持疗法可提供任意长度的时间,包括长至受试者终身的延长的时段。维持疗法可在初始疗法之后或与初始或别的疗法联合提供。用于维持疗法的剂量可变化,而且可包括与其它类型的疗

法使用的剂量相比降低的剂量。

[0141] 在本发明的某些实施方案中,在完成与5个周期的抗VEGF疗法并行的化疗后提供至少16个周期的维持疗法。在其它实施方案中,在完成与6个周期的抗VEGF疗法并行的化疗后提供至少12个周期的维持疗法。在一个实施方案中,维持疗法如图1、图2、图8或图11中描绘的。

[0142] 术语“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长不受调控的生理疾患。此定义中包括良性和恶性癌症以及休眠肿瘤或微转移。癌症的例子包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤、和白血病。此类癌症的更具体例子包括卵巢癌、卵巢原发性腹膜癌、卵巢输卵管癌、铂敏感性复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌、鳞状细胞癌、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌、和肺的鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(gastric or stomach cancer)(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、肝癌(liver cancer or hepatic carcinoma)、膀胱癌、肝瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌(kidney or renal cancer)、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、及各种类型的头和颈癌,以及B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞性(SL)NHL、中级/滤泡性NHL、中级弥漫性NHL、高级成免疫细胞性NHL、高级成淋巴细胞性NHL、高级小无核裂细胞性NHL、贮积病(bulky disease)NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤、和瓦尔登斯特伦氏(Waldenstrom)巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、毛细胞性白血病、慢性成髓细胞性白血病、和移植后淋巴增殖性病症(PTLD)、以及与瘢痕病(phakomatoses)、水肿(诸如与脑瘤有关的)和梅格斯氏(Meigs)综合征有关的异常血管增殖。

[0143] “转移”指癌自其原发部位传播至身体中的其它位置。癌细胞能脱离原发性肿瘤,渗透入淋巴和血管,经由血流而循环,和在身体中其它地方的正常组织中的远端病灶(转移)中生长。转移可以是当地的或远端的。转移是一个连续过程,视肿瘤细胞自原发性肿瘤脱落、经由血流而传播、并在远端部位停止而定。在新的部位,该细胞建立血供且能生长至形成危及生命的团块。肿瘤细胞内的刺激性和抑制性分子途径调节这种行为,而且肿瘤细胞与远端部位中的宿主细胞之间的相互作用也是重要的。

[0144] “受试者”指哺乳动物,包括但不限于人或非人哺乳动物,诸如牛、马、犬、绵羊、或猫。优选地,受试者指人。在本文中,患者也是受试者。通常,受试者为女性/雌性。

[0145] 对于本发明的方法,术语“指导”受试者意味着通过任何手段,但是优选书面地,诸如以包装插页或其它书面推广材料的形式提供关于可应用疗法、药疗、处理、处理方案、等等的指导。

[0146] 对于本发明的方法,术语“宣传(promoting)”意味着通过任何手段,包括书面地,诸如以包装插页的形式提供、登广告、出售、或描述特定药物、药物组合、或治疗模态。宣传在本文中指治疗剂,诸如VEGF拮抗剂,例如抗VEGF抗体或化疗剂用于适应证,诸如卵巢癌治疗的宣传,其中此类宣传得到食品和药品管理局(FDA)批准,认为已证明与受试者群体中统计上显著的治疗功效和可接受的安全性有关。

[0147] 术语“销售”在本文中用于描述产品(例如药物)的宣传、出售或分发。销售具体包括目的在于包装、登广告、和任何使产品商业化的商业活动。

[0148] 受试者“群体”指一组癌症受试者,诸如临床试验中的,或对特定适应证诸如卵巢

癌疗法FDA批准之后肿瘤学家看到的。

[0149] 术语“抗癌疗法”指在治疗癌症中有用的疗法。抗癌治疗剂的例子包括但不限于例如外科手术、化疗剂、生长抑制剂、细胞毒剂、放射疗法中所使用的药剂、抗血管发生剂、凋亡剂、抗微管蛋白剂、和其它治疗癌症的药剂，诸如抗HER-2抗体、抗CD20抗体、表皮生长因子受体(EGFR)拮抗剂(例如酪氨酸激酶抑制剂)、HER1/EGFR抑制剂(例如erlotinib(Tarceva®))、血小板衍生生长因子抑制剂(例如Gleevec™(Imatinib Mesylate))、COX-2抑制剂(例如celecoxib)、干扰素、细胞因子、结合一种或多种以下靶物的拮抗剂(例如中性抗体)(ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR-β、BlyS、APRIL、BCMA或VEGF受体、TRAIL/Apo2)、和其它生物活性和有机化学剂，等。本发明还包括它们的组合。

[0150] 术语“细胞毒剂”在用于本文时指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞破坏的物质。该术语意图包括放射性同位素(例如At<sup>211</sup>、I<sup>131</sup>、I<sup>125</sup>、Y<sup>90</sup>、Re<sup>186</sup>、Re<sup>188</sup>、Sm<sup>153</sup>、Bi<sup>212</sup>、P<sup>32</sup>和Lu的放射性同位素)、化疗剂、和毒素诸如小分子毒素或细菌、真菌、植物或动物起源的酶活毒素，包括其片段和/或变体。

[0151] “化疗剂”指可用于治疗癌症的化学化合物。化疗剂的例子包括可用于治疗癌症的化学化合物。化疗剂的例子包括烷化剂类(alkylating agents)，诸如塞替派(thiotepa)和CYTOXAN®环磷酰胺(cyclophosphamide)；磺酸烷基酯类(alkyl sulfonates)，诸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶类(aziridines)，诸如苯佐替派(benzodepa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedepa)和乌瑞替派(uredepa)；乙撑亚胺类(ethylenimines)和甲基蜜胺类(methylamelamines)，包括六甲蜜胺(alretamine)、三乙撑蜜胺(triethylenemelamine)、三乙撑磷酰胺(triethylenephosphoramide)、三乙撑硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramide)和三羟甲蜜胺(trimethylololomelamine)；番荔枝内酯类(acetogenins)(尤其是布拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮(bullatacinone))；喜树碱(camptothecin)(包括合成类似物托泊替康(topotecan))；苔藓抑素(bryostatin)；callystatin；CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物)；隐藻素类(cryptophycins)(特别是隐藻素1和隐藻素8)；多拉司他汀(dolastatin)；duocarmycin(包括合成类似物，KW-2189和CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；pancratistatin；sarcodictyin；海绵抑素(spongistatin)；氮芥类(nitrogen mustards)，诸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、氯氮芥(chlornaphazine)、胆磷酰胺(cholophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亚硝脲类(nitrosoureas)，诸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)和雷莫司汀(ranimustine)；抗生素类，诸如烯二炔类抗生素(enediyne)(例如加利车霉素(calicheamicin)，尤其是加利车霉素γ1I和加利车霉素ω1I(参见例如Agnew(1994)Chem.Intl.Ed.Engl.33:183-186)；蒽环类抗生素(dynemicin)，包括dynemicin A；二膦酸盐类(bisphosphonates)，诸如氯膦酸盐(clodronate)；埃斯波霉素(esperamicin)；以及新制癌素(neocarzinostatin)发色团和相

关色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(anthramycin)、偶氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素(bleomycin)、放线菌素C(cactinomycin)、carabacin、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸、ADRIAMYCIN®多柔比星(多柔比星)(包括吗啉代多柔比星、氰基吗啉代多柔比星、2-吡咯代多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素类(mitomycins)诸如丝裂霉素C、霉酚酸(mycohenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodoxorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链佐星(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢物类,诸如甲氨蝶呤(methotrexate)和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,诸如二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,诸如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤(mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprime)、硫鸟嘌呤(thioguanine);嘧啶类似物,诸如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine);雄激素类,诸如卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、表硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺类,诸如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,诸如亚叶酸(folinic acid);醋葡萄糖内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside);氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid);恩尿嘧啶(eniluracil);安吖啶(amsacrine);bestrabucil;比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defosfamide);地美可辛(demecolcine);地吖醒(diaziquone);elfornithine;依利醋铵(elliptinium acetate);埃坡霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟脲(hydroxyurea);香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidamine);美登木素生物碱类(maytansinoids),诸如美登素(maytansine)和安丝菌素(ansamitocin);米托胍腙(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone);莫哌达醇(mopidamol);二胺硝吖啶(nitracrine);喷司他丁(pentostatin);蛋氨氮芥(phenaemet);吡柔比星(pirarubicin);洛索蒽醌(losoxantrone);鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基酰肼(ethylhydrazide);丙卡巴肼(procarbazine);PSK®多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,OR);雷佐生(razoxane);根霉素(rhizoxin);西佐喃(sizofiran);螺旋锗(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziqone);2,2',2"-三氯三乙胺;单端孢菌素类(trichothecenes)(尤其是T-2毒素、疣孢菌素(verrucarin)A、杆孢菌素(roridin)A和蛇行菌素(anguidin));乌拉坦(urethan);长春地辛(vindesine);达卡巴嗪(dacarbazine);甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);gacytosine;阿糖胞苷(arabinoside)(“Ara-C”);环磷酰胺

(cyclophosphamide)；塞替派(thiotepa)；类紫杉醇类(taxoids)，例如TAXOL®帕利他塞(paclitaxel)(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、ABRAXANE®不含克列莫佛(Cremophor)、清蛋白改造纳米颗粒剂型帕利他塞(American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Illinois)和TAXOTERE®多西他塞(doxetaxel)(Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France)；苯丁酸氮芥(chlorambucil)；GEMZAR®吉西他滨(gemcitabine)；6-硫鸟嘌呤(thioguanine)；巯基嘌呤(mercaptopurine)；甲氨蝶呤(methotrexate)；铂类似物，诸如顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)和卡铂(carboplatin)；长春碱(vinblastine)；铂(platinum)；依托泊苷(etoposide)(VP-16)；异环磷酰胺(ifosfamide)；米托蒽醌(mitoxantrone)；长春新碱(vincristine)；NAVELBINE®长春瑞滨(vinorelbine)；能灭瘤(novantrone)；替尼泊昔(teniposide)；依达曲沙(edatrexate)；道诺霉素(daunomycin)；氨基蝶呤(aminopterin)；希罗达(xeloda)；伊本膦酸盐(ibandronate)；伊立替康(irinotecan)(Camptosar, CPT-11)(包括伊立替康及5-FU和亚叶酸的治疗方案)；拓扑异构酶抑制剂RFS 2000；二氟甲基鸟氨酸(DMFO)；类视黄酸类(retinoids)，诸如视黄酸(retinoic acid)；卡培他滨(capecitabine)；考布他汀(combretastatin)；亚叶酸(leucovorin)(LV)；奥沙利铂(oxaliplatin)，包括奥沙利铂治疗方案(FOLFOX)；lapatinib(Tykerb®)、PKC- $\alpha$ 、Raf、H-Ras、EGFR(例如erlotinib(Tarceva®))和VEGF-A的、降低细胞增殖的抑制剂；及任何上述物质的药剂学可接受的盐、酸或衍生物。

[0152] 该定义还包括作用于调节或抑制激素对肿瘤作用的抗激素剂诸如抗雌激素类和选择性雌激素受体调控物类(SERM)，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)(包括NOLVADEX®他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)和FARESTON®托瑞米芬(toremifene)；抑制在肾上腺中调节雌激素生成的芳香酶的芳香酶抑制剂，诸如例如4(5)-咪唑、氨鲁米特(aminoglutethimide)、MEGASE®醋酸甲地孕酮(megestrol acetate)、AROMASIN®依西美坦(exemestane)、福美坦(formestane)、法伲唑(fadrozole)、RIVISOR®伏罗唑(vorozole)、FEMARA®来曲唑(letrozole)和ARIMIDEX®阿那曲唑(anastrozole)；抗雄激素类，诸如氟他米特(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡米特(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、和戈舍瑞林(goserelin)；以及曲沙他滨(troxacitabine)(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物)；反义寡核苷酸，特别是抑制涉及异常(abherent)细胞增殖的信号途径中的基因表达的反义寡核苷酸，诸如例如PKC- $\alpha$ 、Raf和H-Ras；核酶，诸如VEGF表达抑制剂(例如ANGIOZYME®核酸)和HER2表达抑制剂；疫苗，诸如基因疗法疫苗，例如ALLOVECTIN®疫苗、LEUVECTIN®疫苗和VAXID®疫苗；PROLEUKIN®rIL-2；LURTOTECAN®拓扑异构酶1抑制剂；ABARELIX®rmRH；及任何上述物质的药剂学可接受的盐、酸或衍生物。

[0153] 术语“细胞因子”是由一种细胞群释放，作为细胞间介质作用于另一细胞的蛋白质

的通称。此类细胞因子的例子有淋巴因子、单核因子和传统的多肽激素。细胞因子中包括生长激素,诸如人生长激素、N-甲硫氨酰人生长激素和牛生长激素;甲状腺素;甲状腺素;胰岛素;胰岛素原;松弛素;松弛素原;糖蛋白激素类,诸如促卵泡激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)和促黄体激素(LH);表皮生长因子;肝生长因子;成纤维细胞生长因子;促乳素;胎盘催乳激素;肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和- $\beta$ ;穆勒氏(Mullerian)抑制性物质;小鼠促性腺激素相关肽;抑制素;激活素;血管内皮生长因子;整联蛋白;血小板生成素(TPO);神经生长因子,诸如NGF- $\alpha$ ;血小板生长因子;转化生长因子(TGF),诸如TGF- $\alpha$ 和TGF- $\beta$ ;胰岛素样生长因子-I和-II;红细胞生成素(EPO);骨诱导因子(osteoinductive factor);干扰素,诸如干扰素- $\alpha$ 、- $\beta$ 和- $\gamma$ ;集落刺激因子(CSF),诸如巨噬细胞CSF(M-CSF)、粒细胞-巨噬细胞CSF(GM-CSF)和粒细胞CSF(G-CSF);白介素(IL),诸如IL-1、IL-1 $\alpha$ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12;肿瘤坏死因子,诸如TNF- $\alpha$ 或TNF- $\beta$ ;及其它多肽因子,包括LIF和kit配体(KL)。在用于本文时,术语细胞因子包括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质及天然序列细胞因子的生物学活性等效物。

[0154] “生长抑制剂”在用于本文时指在体外和/或在体内抑制细胞生长的化合物或组合物。如此,生长抑制剂可以是显著降低处于S期的细胞百分比的药剂。生长抑制剂的例子包括阻断细胞周期行进(处于S期以外的位置)的药剂,诸如诱导G1停滞和M期停滞的药剂。经典的M期阻断剂包括长春药类(vincas)(长春新碱(vincristine)和长春碱(vinblastine))、TAXOL®、和拓扑异构酶II抑制剂诸如多柔比星(多柔比星)、表柔比星(epirubicin)、柔红霉素(daunorubicin)、依托泊苷(etoposide)和博来霉素(bleomycin)。那些阻滞G1的药剂也溢出进入S期停滞,例如DNA烷化剂类诸如他莫昔芬(tamoxifen)、泼尼松(prednisone)、达卡巴嗪(dacarbazine)、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、顺铂(cisplatin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)和ara-C。更多信息可参见The Molecular Basis of Cancer,Mendelsohn and Israel编,第1章,题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs”,Murakami et al.,WB Saunders,Philadelphia(1995),尤其是第13页。

[0155] 术语“前体药物”在用于本申请时指与母药(parent drug)相比对肿瘤细胞的细胞毒性较小并能够酶促活化或转变为更具活性母药形式的药用活性物质的前体或衍生物形式。参见例如Wilman,“Prodrugs in Cancer Chemotherapy”,Biochemical Society Transactions,14,pp.375-382,615th Meeting Belfast(1986)和Stella等,“Prodrugs:A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery”,Directed Drug Delivery,Borchardt等,编,pp.247-267,Human Press(1985)。本发明的前体药物包括但不限于含磷酸盐/酯前体药物、含硫代磷酸盐/酯前体药物、含硫酸盐/酯前体药物、含肽前体药物、D-氨基酸修饰前体药物、糖基化前体药物、含 $\beta$ -内酰胺前体药物、含任选取代苯氧基乙酰胺的前体药物或含任选取代苯乙酰胺的前体药物、可转化为更具活性而无细胞毒性的药物的5-氟胞嘧啶和其它5-氟尿苷前体药物。可衍生为本发明使用的前体药物形式的细胞毒性药物的例子包括但不限于上文描述的那些化疗剂。

[0156] “放射疗法”或“放疗”指使用定向伽马射线或贝塔射线来诱发对细胞的足够损伤,以限制细胞正常发挥功能的能力或全然破坏细胞。应当领会,本领域知道许多方式来确定治疗的剂量和持续时间。典型的治疗作为一次施用来给予,而典型的剂量范围为每天10-

200个单位(戈瑞(Gray))。

[0157] “降低或抑制”指引起优选20%或更多、更优选50%或更多、且最优选75%、85%、90%、95%、或更多的总体降低的能力。降低或抑制可以指所治疗的病症的症状、转移或微转移的存在或大小、原发性肿瘤的大小、肿瘤的存在或大小、或血管发生性病症中血管的大小或数目。

[0158] 术语“静脉内输注”指以超过约5分钟的一段时间，优选30-90分钟，将药物导入动物或人患者的静脉，尽管依照本发明，静脉内输注或可施用10小时或更短。

[0159] 术语“静脉内推注”或“静脉内快速注射”指在约15分钟内或更短，优选5分钟或更短，将药物施用到动物或人的静脉中使得机体接受药物。

[0160] 术语“皮下施用”指通过自药物容器的相对较慢的、持续投递，将药物导入动物或人患者的皮肤下，优选在皮肤和皮下组织间的袋内。所述袋可通过夹起或拉起皮肤并远离皮下组织来创建。

[0161] 术语“皮下输注”指以一段时间，包括但不限于30分钟或更短，或者90分钟或更短，通过自药物容器的相对较慢的、持续投递，将药物导入动物或人患者的皮肤下，优选在皮肤和皮下组织间的袋内。任选的是，输注可通过植入动物或人患者皮肤下的药物投递泵的皮下植入来进行，其中所述泵以预定的一段时间，诸如30分钟、90分钟、或跨越治疗方案持续时间的一段时间，投递预定量的药物。

[0162] 术语“皮下推注”指将药物施用至动物或人患者的皮肤下，其中推注药物投递优选短于约15分钟，更优选短于5分钟，最优选短于60秒。施用优选在皮肤和皮下组织间的袋内，其中所述袋可通过例如夹起或拉起皮肤并远离皮下组织来创建。

[0163] “病症”指任何会受益于使用抗体的治疗的疾患。这包括慢性病和急性病症或疾病，包括那些使哺乳动物倾向于所讨论病症的病理状况。本文中待治疗的病症的非限制性例子包括癌症；良性和恶性肿瘤；白血病和淋巴样恶性肿瘤；神经元、神经胶质、星形胶质细胞、下丘脑和其它腺体、巨噬细胞、上皮、基质和囊胚腔病症；及炎性、血管发生性和免疫学病症。

[0164] 术语“治疗有效量”指在哺乳动物中有效治疗疾病或病症的药物量。在癌症的情况下，治疗有效量的药物可减少癌细胞的数目；缩小肿瘤的尺寸；抑制(即一定程度的减缓，优选阻止)癌细胞浸润入周围器官；抑制(即一定程度的减缓，优选阻止)肿瘤转移；一定程度的抑制肿瘤生长；和/或一定程度的减轻一种或多种与病症有关的症状。根据药物可阻止现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度，它可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症疗法，可以例如通过评价存活持续时间、无进展存活(PFS)持续时间、无进展存活(PFS)的延长、响应率(RR)、响应持续时间、和/或生活质量来测量体内功效。

[0165] “治疗”或“处理”指对于需要治疗的受试者(包括早就患有病症的受试者)的治疗性处理。

[0166] “预防性或防范性措施”指要预防病症中的那些。

[0167] 术语“标记物”在用于本文时指与多肽直接或间接偶联的可检测化合物或组合物。标记物自身可以是通过自身就可检测的(例如放射性同位素标记物或荧光标记物)，或者在酶标记物的情况下，可催化可检测的底物化合物或组合物的化学改变。

[0168] II.抗VEGF抗体和拮抗剂

[0169] 本文中提供了抗VEGF拮抗剂用于治疗卵巢癌的用途。血管发生是导致实体瘤侵入和转移的主要过程之一。血管发生性促进剂诸如血管内皮生长因子(VEGF)从肿瘤细胞释放到局部微环境中可触发血管发生性信号传导途径。有越来越多的证据表明血管发生在卵巢癌疾病预后和可能进展和预后中发挥作用。参见例如Yoneda J, et al., Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 90:447-54, 1998; Nakanishi Y, et al. The expression of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta associates with angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 16:256-62, 1997; Gasparini G, et al. Prognostic and predictive value of tumour angiogenesis in ovarian carcinomas. *Int J Cancer* 69:205-11, 1996; Hollingsworth HC, et al. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 147:33-41, 1995; Paley PJ, et al. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 80:98-106, 1997; Alvarez AA, et al. The prognostic significance of angiogenesis in epithelial ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 5:587-91, 1999; Gasparini G. The rationale and future potential of angiogenesis inhibitors in neoplasia. *Drugs* 58:17-38, 1999; van Hinsbergh VW, et al. Angiogenesis and anti-angiogenesis: perspectives for the treatment of solid tumors. *Ann Oncol* 10 Suppl 4:60-3, 1999; Malonne H, et al. Mechanisms of tumor angiogenesis and therapeutic implications: angiogenesis inhibitors. *Clin Exp Metastasis* 17:1-14, 1999; Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Eng J Med* 285:1182-6, 1971; Kim KJ, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362:841-4, 1993; 及Luo JC, et al., Differential inhibition of fluid accumulation and tumor growth in two mouse ascites tumors by an anti vascular endothelial growth factor/permeability factor neutralizing antibody. *Cancer Res* 58:2594-600, 1998.

[0170] (i) VEGF抗原

[0171] 要用于生成抗体的VEGF抗原可以是例如VEGF165分子以及VEGF的其它同等型或其含有期望表位的片段。可用于生成本发明的抗VEGF抗体的其它形式的VEGF对于本领域技术人员会是显而易见的。

[0172] 人VEGF首先是使用牛VEGF cDNA作为杂交探针筛选自人细胞制备的cDNA文库而获得的。Leung et al. (1989) *Science*, 246:1306。一种由此鉴定出的cDNA编码一种165个氨基酸的蛋白质, 其与牛VEGF具有超过95%的同源性; 此165个氨基酸的蛋白质通常称作人VEGF(hVEGF)或VEGF165。人VEGF的促有丝分裂活性通过在哺乳动物宿主细胞中表达人VEGF得到了验证。由经人VEGF cDNA转染的细胞条件化的培养基促进毛细血管内皮细胞增殖, 而对照细胞不然。Leung et al. (1989) *Science*, 见上文。

[0173] 虽然可以自天然来源分离和纯化血管内皮细胞生长因子, 随后用于治疗用途, 但是该蛋白质在滤泡细胞中相对低的浓度和回收VEGF在努力和费用两个方面高的成本证明在商业上是无效的。因而, 进行进一步努力来经重组DNA技术克隆和表达VEGF。(参见例如

Ferrara, Laboratory Investigation 72:615-618 (1995) 及其中引用的参考文献)。

[0174] 源自可变RNA剪接,VEGF在多种组织中作为多种同二聚体形式(每个单体121、145、165、189、和206个氨基酸)表达。VEGF121是一种可溶性丝裂原,不结合肝素;更长形式的VEGF以越来越高的亲和力结合肝素。肝素结合形式的VEGF可以在羧基末端被纤溶酶切割以释放可扩散形式的VEGF。纤溶酶切割后鉴定出的羧基末端肽的氨基酸测序是Arg110-Ala111。作为同二聚体分离到的氨基末端“核心”蛋白,VEGF(1-110)以与完整VEGF165同二聚体相比相似的亲和力结合中和性单克隆抗体(诸如称作4.6.1和3.2E3.1.1的抗体)和可溶性形式的VEGF受体。

[0175] 还鉴定出数种在结构上与VEGF有关的分子,包括胎盘生长因子(PIGF)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D和VEGF-E。Ferrara和Davis-Smyth (1987) Endocr. Rev., 见上文; Ogawa et al. J. Biological Chem. 273:31273-31281 (1998); Meyer et al. EMBO J., 18:363-374 (1999)。受体酪氨酸激酶Flt-4 (VEGFR-3) 鉴定为VEGF-C和VEGF-D的受体。Joukov et al. EMBO J. 15:1751 (1996); Lee et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:1988-1992 (1996); Achen et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:548-553。VEGF-C显示出涉及对淋巴管发生的调节。Jeltsch et al. Science 276:1423-1425 (1997)。

[0176] (i) 抗VEGF抗体

[0177] 在本发明治疗卵巢癌的方法中有用的抗VEGF抗体包括任何抗体或其抗原结合片段,它们以足够亲和力和特异性结合VEGF且能降低或抑制VEGF的生物学活性。抗VEGF抗体通常不会结合其它VEGF同源物,诸如VEGF-B或VEGF-C,也不会结合其它生长因子,诸如P1GF、PDGF、或bFGF。

[0178] 在本发明的某些实施方案中,抗VEGF抗体包括但不限于与由杂交瘤ATCC HB 10709生成的单克隆抗VEGF抗体A4.6.1;依照Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599生成的重组人源化抗VEGF单克隆抗体结合相同表位的单克隆抗体。在一个实施方案中,抗VEGF抗体是“贝伐单抗(BV)”,也称作“rhuMAb VEGF”或“AVASTIN®”。它包含经过突变的人IgG1框架区和来自小鼠抗hVEGF单克隆抗体A.4.6.1的抗原结合互补决定区,阻断人VEGF结合其受体。贝伐单抗大约93%的氨基酸序列(包括大部分框架区)是自人IgG1衍生,而且约7%的序列是自小鼠抗体A4.6.1衍生的。

[0179] 贝伐单抗和其它人源化抗VEGF抗体进一步记载于2005年2月26日公告的美国专利No. 6,884,879。别的抗体包括G6或B20系列抗体(例如G6-31、B20-4.1),如记载于PCT公开号W02005/012359、PCT公开号W02005/044853、和美国专利申请60/991,302,通过述及明确将这些专利申请的内容收入本文。对于别的抗体,参见美国专利No. 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020; 6,054,297; WO98/45332; WO 96/30046; WO94/10202; EP0666868B1; 美国专利申请公开文本No. 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409, 和20050112126; 和Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004)。其它抗体包括那些结合人VEGF上包含残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103、和C104或者包含残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83和Q89的功能性表位的。

[0180] 在本发明的一个实施方案中,抗VEGF抗体具有重链可变区,其包含下述氨基酸序列:

[0181] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY

AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWF DVWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:1)

[0182] 和轻链可变区,其包含下述氨基酸序列:

[0183] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIFY TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLLTSSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID NO:2)。

[0184] 依照本发明的“G6系列抗体”指自G6抗体的序列衍生的抗VEGF抗体或依照PCT公开文本No.W02005/012359的图7、24-26、和34-35之任一的G6衍生抗体,通过述及将其整个公开内容收入本文。还可参见PCT公开文本No.W02005/044853,通过述及将这些专利申请的内容明确收入本文。在一个实施方案中,G6系列抗体结合人VEGF上的功能性表位,其包含残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83和Q89。

[0185] 依照本发明的“B20系列抗体”指自B20抗体的序列衍生的抗VEGF抗体或依照PCT公开文本No.W02005/012359的图27-29之任一的B20衍生抗体,通过述及将其整个公开内容收入本文。还可参见PCT公开文本No.W02005/044853和美国专利申请60/991,302,通过述及将这些专利申请的内容明确收入本文。在一个实施方案中,B20系列抗体结合人VEGF上的功能性表位,其包含残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103、和C104。

[0186] 依照本发明的“功能性表位”指抗原中有力地促进抗体结合的氨基酸残基。抗原中贡献巨大的残基中任一个的突变(例如,丙氨酸或同系物突变对野生型VEGF的突变)会破坏抗体的结合,使得抗体的相对亲和力比(IC50突变型VEGF/IC50野生型VEGF)会大于5(参见W02005/012359的实施例2)。在一个实施方案中,相对亲和力比是通过溶液结合噬菌体展示ELISA测定的。简言之,将96孔Maxisorp免疫板(NUNC)用Fab形式的待测试抗体以PBS中2ug/ml的浓度于4℃包被过夜,并用PBS、0.5%BSA、和0.05%Tween20(PBT)于室温封闭2小时。首先将展示hVEGF丙氨酸点突变体(残基8-109形式)或野生型hVEGF(8-109)的噬菌体在PBT中的连续稀释液在Fab包被的板上于室温温育15分钟,并用PBS、0.05%Tween20(PBST)清洗板。用在PBT中1:5000稀释的抗M13单克隆抗体辣根过氧化物酶(Amersham Pharmacia)偶联物检测所结合的噬菌体,用3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB,Kirkegaard&Perry Labs, Gaithersburg, MD)底物显色大约5分钟,用1.0M H3PO4淬灭,并以分光光度法于450nm读数。IC50值的比(IC50,ala/IC50,wt)代表了结合亲和力的降低倍数(相对结合亲和力)。

[0187] (iii) VEGF受体分子

[0188] 已经鉴定出两种VEGF受体,即Flt-1(也称作VEGFR-1)和KDR(也称作VEGFR-2)。Shibuya et al. (1990) Oncogene 8:519-527; de Vries et al. (1992) Science 255:989-991; Terman et al. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:1579-1586。每一种受体对每一种VEGF家族成员的特异性有所不同,但是VEGF-A结合Flt-1和KDR二者。神经毡蛋白-1显示为选择性VEGF受体,能够结合肝素结合性VEGF同等型(Soker et al. (1998) Cell 92:735-45)。Flt-1和KDR都属于受体酪氨酸激酶(RTK)家族。RTK包含具有多样生物学活性的跨膜受体的大家族。目前,鉴定出至少十九(19)个独特RTK亚家族。受体酪氨酸激酶(RTK)家族包括对于多种细胞类型的生长和分化至关重要的受体(Yarden和Ullrich(1988) Ann. Rev. Biochem. 57:433-478; Ullrich和Schlessinger(1990) Cell 61:243-254)。RTK的内在功能在配体结合后被活化,导致受体和多种细胞底物磷酸化,随后导致多种细胞应答(Ullrich&Schlessinger(1990) Cell 61:203-212)。如此,受体酪氨酸激酶介导的信号转导

通过与特定生长因子(配体)的细胞外相互作用而启动,通常接着是受体二聚化、刺激内在蛋白质酪氨酸激酶活性和受体转磷酸。由此为细胞内信号转导分子创建结合位点,并导致与一系列细胞质信号传导分子的复合物形成,推动适宜细胞应答。(例如细胞分裂、分化、代谢影响、细胞外微环境的变化)参见Schlessinger和Ullrich (1992) *Neuron* 9:1-20。在结构上,Flt-1和KDR都具有胞外域中的七个免疫球蛋白样结构域、单个跨膜区、和被激酶插入域中断的共有酪氨酸激酶序列。Matthews et al. (1991) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 88:9026-9030; Terman et al. (1991) *Oncogene* 6:1677-1683。

[0189] 特异性结合VEGF的VEGF受体分子或其片段可以在本发明的方法中用于结合和隔绝VEGF蛋白,由此阻止它发信号。在某些实施方案中,VEGF受体分子或其VEGF结合片段是可溶性形式,诸如sFlt-1。受体的可溶性形式发挥对VEGF蛋白生物学活性的抑制效应,其通过结合VEGF,由此阻止它结合其在靶细胞表面上存在的天然受体来实现。还包括VEGF受体融合蛋白,下文描述了它们的例子。

[0190] 嵌合VEGF受体蛋白指具有自至少两种不同蛋白质(其中至少一种是VEGF受体蛋白,例如f1t-1或KDR受体)衍生的氨基酸序列且能够结合并抑制VEGF生物学活性的受体分子。在某些实施方案中,本发明的嵌合VEGF受体蛋白由自只有两种不同VEGF受体分子衍生的氨基酸序列组成;然而,可以将包含一个、两个、三个、四个、五个、六个、或所有七个来自f1t-1和/或KDR受体胞外配体结合区的Ig样结构域的氨基酸序列连接至来自其它无关蛋白的氨基酸序列,例如免疫球蛋白序列。与Ig样结构域组合的其它氨基酸序列对于本领域普通技术人员会是显而易见的。嵌合VEGF受体蛋白的例子包括例如可溶性F1t-1/Fc、KDR/Fc、或FLt 1/KDR/Fc(也称作VEGF Trap)(参见例如PCT申请公开文本No.W097/44453)。

[0191] 本发明的可溶性VEGF受体蛋白或嵌合VEGF受体蛋白包括没有经跨膜结构域而固定至细胞表面的VEGF受体蛋白。因此,VEGF受体(包括嵌合受体蛋白)的可溶性形式,虽然能够结合并灭活VEGF,但是不包含跨膜结构域,并如此一般不会变成与该分子在其中表达的细胞的细胞膜相结合。

### [0192] III. 抗VEGF抗体的治疗用途

[0193] 本发明涵盖抗血管发生疗法,一种致力于抑制为支持肿瘤生长而提供营养所需要的肿瘤血管发育的新型癌症治疗策略。因为血管发生涉及原发性肿瘤生长和转移二者,所以本发明提供的抗血管发生治疗不但能够在原发性位点抑制肿瘤的赘生性生长,而且能够预防肿瘤在继发性位点的转移,从而容许由其它治疗剂攻击肿瘤。另外,卵巢癌与高水平的循环血管内皮生长因子(VEGF)(一种与肿瘤生长和扩散有关的蛋白质)有关。对具有卵巢癌的女性的研究显示了高水平的VEGF与较差的预后之间的关联(Alvarez A et al. 1999 *Clin Cancer Res.*; 5:587-591; Yamamoto S et al. 1997 *Br J Cancer*; 76:1221-1227)。

[0194] 具体地,在一个实施方案中,本发明提供一种治疗诊断有(任选新诊断的)先前未治疗过的卵巢癌的患者的方法,包括对患者进行如下的治疗方案,其至少组合与施用有效量抗VEGF抗体并行的化疗,接着是抗VEGF维持疗法。在本发明的某些实施方案中,患者具有III期(亚最佳的和宏观上最佳大块切除的(sub optimally and macroscopic optimally debulked))或IV期卵巢上皮原发性腹膜癌或输卵管癌。在其它实施方案中,患者具有I和IIa期(仅仅透明细胞癌或3级)或IIb-IV期卵巢上皮癌、输卵管癌或原发性腹膜癌。在另一个实施方案中,本发明提供了一种治疗诊断有复发性或先前治疗过的卵巢癌的患者的方法,包

括对患者进行如下的治疗方案,其至少组合与施用有效量的抗VEGF抗体并行的化疗,接着是抗VEGF维持疗法。

[0195] 组合疗法

[0196] 本发明的特征在于至少一种VEGF特异性拮抗剂与一种或多种别的抗癌疗法的组合的用途,接着是抗VEGF维持疗法。抗癌疗法的例子包括但不限于手术、放射疗法(放疗)、生物疗法、免疫疗法、化疗、或这些疗法的组合。另外,细胞毒剂、抗血管发生剂和抗增殖剂可以与VEGF特异性拮抗剂组合使用。

[0197] 在某些方面,本发明提供一种治疗卵巢癌的方法,其通过将有效量的抗VEGF抗体和一种或多种化疗剂施用于对先前未治疗过的卵巢癌或复发性卵巢癌易感或诊断有先前未治疗过的卵巢癌或复发性卵巢癌的患者。多种化疗剂可用于本发明的组合治疗方法。本文中在“定义”下提供或本文中描述所涵盖的化疗剂的例示性和非限制性列表。

[0198] 在一个例子中,本发明的特征在于VEGF特异性拮抗剂与一种或多种化疗剂(例如混合物)或其任意组合的用途。在某些实施方案中,化疗剂是例如紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛的蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、铂类似物、卡铂、吉西他滨、或其组合疗法。在一个实施方案中,化疗剂是卡铂和帕利他赛或多西他赛。在另一个实施方案中,化疗剂是卡铂和吉西他滨。组合施用包括同时施用、使用分开的配制剂或单一药物配制剂,及任一次序的序贯施用,其中优选的是有一段时间所有活性剂同时发挥它们的生物学活性,接着是VEGF特异性拮抗剂的维持疗法,例如如图1、图2、或图8或图11中概述的。此类化疗剂的制备和剂量给药方案可依照制造商的使用说明来使用或由熟练从业人员凭经验确定。化疗的制备和剂量给药方案还记载于Chemotherapy Service Ed., M.C.Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992)。化疗剂可以在施用VEGF特异性拮抗剂之前或之后施用,或者可以与它同时给予。在本发明的某些实施方案中,剂量给药时间表和量如图1、图2或图8或图11中列出的。

[0199] 在一些其它方面,对于本发明抗体的组合肿瘤疗法有用的其它治疗剂包括涉及肿瘤生长的其它因子诸如EGFR、ErbB2(也称作Her2)、ErbB3、ErbB4、或TNF的拮抗剂。有时,还对患者施用一种或多种细胞因子可能是有益的。在一个实施方案中,与生长抑制剂一起共施用抗VEGF抗体。例如,可以先施用生长抑制剂,接着是VEGF抗体。然而,也涵盖同时施用或先施用VEGF抗体。生长抑制剂的合适剂量就是当前所用的那些,而且可以由于生长抑制剂与抗VEGF抗体的联合作用(协同)而降低。

[0200] 本文中的配制剂还可含有所治疗具体适应证所必需的超过一种活性化合物,优选活性互补且彼此没有不利影响的。例如,可能希望在一种配制剂中进一步提供结合EGFR、VEGF(例如结合VEGF上不同表位的抗体)、VEGFR、或ErbB2(例如Herceptin®)的抗体或肿瘤学适应证中使用的另一种抗体。或者/另外,所述组合物可包含细胞毒剂、细胞因子、生长抑制剂和/或小分子VEGFR拮抗剂。合适的是,此类分子以对于预定目的有效的量组合存在。

[0201] 在某些实施方案中,VEGF拮抗剂(例如抗VEGF抗体)是用于治疗卵巢癌。在某些实施方案中,VEGF拮抗剂(例如抗VEGF抗体)与卡铂和帕利他赛组合,接着是抗VEGF维持疗法。在某些实施方案中,VEGF拮抗剂(例如抗VEGF抗体)与顺铂和帕利他赛组合,接着是抗VEGF维持疗法。在某些实施方案中,VEGF拮抗剂(例如抗VEGF抗体)与卡铂和多西他赛组合,接着是抗VEGF维持疗法。在某些实施方案中,VEGF拮抗剂(例如抗VEGF抗体)与卡铂和吉西他滨

组合,接着是抗VEGF维持疗法。

[0202] 在某些方面,对于本发明抗体的组合癌症疗法有用的其它治疗剂包括其它抗血管发生剂。已经鉴定了许多抗血管发生剂,而且是本领域已知的,包括Carmeliet和Jain (2000)列出的那些。在一个实施方案中,本发明的抗VEGF抗体与另一种VEGF拮抗剂或VEGF受体拮抗剂诸如VEGF变体、可溶性VEGF受体片段、能够阻断VEGF或VEGFR的适体、中和性抗VEGFR抗体、VEGFR酪氨酸激酶的低分子量抑制剂及其任意组合联合使用。或者/另外,可以对患者共施用两种或更多种抗VEGF抗体。

[0203] 对于疾病的预防或治疗,VEGF特异性拮抗剂的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型(如上文定义的)、疾病的严重程度和过程、施用VEGF特异性拮抗剂是为了预防还是治疗目的、在先疗法、患者的临床史和对VEGF特异性拮抗剂的响应、及主治内科医师的判断。可以将VEGF特异性拮抗剂一次性或者在一系列治疗中适当地施用于患者。在组合治疗方案中,本发明的VEGF特异性拮抗剂和一种或多种抗癌治疗剂以治疗有效量或协同量施用。如本文中使用的,治疗有效量指导致如上所述癌症得到减轻或抑制的本发明组合物的施用量,或VEGF特异性拮抗剂和一种或多种其它治疗剂的共施用量。治疗协同量指协同地或显著地减轻或消除与特定疾病有关的状况或症状或延长无进展存活所必需的VEGF特异性拮抗剂和一种或多种其它治疗剂的量。

[0204] VEGF特异性拮抗剂和一种或多种其它治疗剂可同时或序贯施用,量和时间足以减少或消除肿瘤、休眠肿瘤、或微转移的发生或复发。VEGF特异性拮抗剂可作为维持疗法来施用,以预防或降低肿瘤复发可能性或延长患者的无进展存活。

[0205] 正如本领域普通技术人员会理解的,化疗剂或其它抗癌剂的适宜剂量一般大约会是临床疗法(例如单独地或与其它化疗剂组合地施用化疗剂的)中早就采用的剂量。剂量变化有可能会随所治疗的状况而发生。施用治疗的内科医师会能够确定对受试者个体适宜的剂量。

[0206] 在上述治疗方案之外,患者可经受放射疗法。

[0207] 在某些实施方案中,施用的VEGF抗体是完整裸抗体。然而,VEGF抗体可以偶联细胞毒剂。在某些实施方案中,偶联的抗体和/或它结合的抗原被细胞内化,导致偶联物杀伤它结合的癌细胞方面的治疗功效升高。在一个实施方案中,细胞毒剂靶向或干扰癌细胞中的核酸。此类细胞毒剂的例子包括美登木素生物碱、加利车霉素、核糖核酸酶和DNA内切核酸酶。

[0208] 本发明的特征还在于一种指导具有卵巢癌的人受试者的方法,其通过提供说明书来接受抗VEGF抗体的治疗,从而延长无进展存活的时间、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,该方法进一步包括提供说明书来接受至少一种化疗剂的治疗,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,该方法进一步包括提供说明书来接受两种或更多种化疗剂,接着是抗VEGF维持疗法。抗VEGF抗体的治疗可以与化疗剂的治疗并行进行。在某些实施方案中,如指导方法指导的那样治疗受试者。通过在有或无化疗的情况下施用抗VEGF抗体对卵巢癌的治疗可以持续至癌症复发或死亡。

[0209] 在本发明的某些实施方案中,在化疗剂的并行疗法后用至少16个周期的抗VEGF疗法来治疗患者。在本发明的其它实施方案中,在化疗剂的并行疗法后用至少12个周期的抗VEGF疗法来治疗患者。

[0210] 本发明进一步提供一种宣传方法,包括宣传施用抗VEGF抗体来在人受试者中治疗卵巢癌。在一些实施方案中,该方法进一步包括宣传施用至少一种化疗剂,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,该方法进一步包括宣传施用两种或更多种化疗剂,接着是抗VEGF维持疗法。抗VEGF抗体的施用可以与化疗剂的施用并行进行。宣传可以通过任何可得手段来进行。在一些实施方案中,宣传通过伴随抗VEGF抗体之商业性制剂的包装插页来进行。宣传也可以通过伴随化疗剂之商业性制剂的包装插页来进行。宣传可以通过书面或口头告知内科医师或健康护理提供者来进行。在一些实施方案中,宣传通过包装插页来进行,其中包装插页提供说明书来接受抗VEGF抗体的卵巢癌疗法。在又一个实施方案中,包装插页包括实施例1或实施例2或实施例3下的一些或所有结果。在一些实施方案中,宣传之后是在有或无化疗剂的情况下用抗VEGF抗体治疗受试者。

[0211] 本发明提供一种商业方法,包括销售抗VEGF抗体,用于在人受试者中治疗卵巢癌,从而延长受试者无进展存活的时间、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,该方法进一步包括销售一种化疗剂,用于与抗VEGF抗体组合使用,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,销售之后是在有或无化疗剂的情况下用抗VEGF抗体治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,该方法进一步包括销售两种或更多种化疗剂,用于与抗VEGF抗体组合使用,接着是抗VEGF维持疗法。在一些实施方案中,销售之后是在有或无化疗剂的情况下用抗VEGF抗体治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。

[0212] 还提供一种商业方法,包括与抗VEGF抗体组合销售一种化疗剂,用于在人受试者中治疗卵巢癌,从而延长受试者无进展存活的时间、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,销售之后是用化疗剂和抗VEGF抗体的组合治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。还提供一种商业方法,包括与抗VEGF抗体组合销售两种或更多种化疗剂,接着是抗VEGF维持疗法,用于在人受试者中治疗卵巢癌,从而延长受试者无进展存活的时间、降低受试者癌症复发的可能性、或提高受试者存活的可能性。在一些实施方案中,销售之后是用化疗剂和抗VEGF抗体的组合治疗受试者,接着是抗VEGF维持疗法。

#### [0213] IV. 剂量和持续时间

[0214] VEGF特异性拮抗剂组合物会以一种符合良好的医学实践的方式配制、确定剂量及施用。在此内容中考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体受试者、患者个体的临床状况、病症的起因、投递药剂的部位、施药的方法、施药的日程安排、和医学从业人员知道的其它因素。要施用的VEGF特异性拮抗剂的“治疗有效量”会由此类考虑事项来决定,而且是预防、改善、或治疗、或稳定癌症;延长进展前时间(无进展存活持续时间);或者治疗或预防肿瘤、休眠的肿瘤、或微转移发生或复发所必需的最小量。VEGF特异性拮抗剂不是必须的但任选可以与一种或多种当前用于预防或治疗癌症或发生癌症的风险的药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于制剂中存在的VEGF特异性拮抗剂的量、病症或治疗的类型、及上文讨论的其它因素。这些一般以与以前所用相同的剂量和施用路径来使用,或者以以前所采用剂量的约1-99%施用。

[0215] 根据疾病的类型和严重程度,约1 $\mu$ g/kg至100mg/kg(例如0.1mg/kg-20mg/kg)VEGF特异性拮抗剂作为初始候选剂量施用于患者,无论例如通过一次或多次分开的施用或通过持续输注。一个典型的日剂量范围可以是约1 $\mu$ g/kg至约100mg/kg或更多,这取决于上文所

述因素。特别想要的剂量包括例如5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、和15mg/kg。对于几天或更长时间里的重复施用,根据状况,治疗为持续直到癌症得到治疗,如通过上文所述或本领域已知方法测量的。然而,其它剂量方案可以是有用的。在一个例子中,如果VEGF特异性拮抗剂是抗体的话,本发明的抗体每周、每两周、或每三周施用一次,剂量范围为约5mg/kg至约15mg/kg,包括但不限于5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg或15mg/kg。本发明疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。

[0216] 在其它实施方案中,此类剂量给药方案与化疗方案(包括但不限于一种或多种化疗剂)组合使用,作为用于治疗先前未治疗过的卵巢癌的一线疗法,接着有维持疗法。在其它实施方案中,此类剂量给药方案与化疗方案(包括但不限于一种或多种化疗剂)组合使用,作为用于治疗复发性卵巢癌的二线疗法,接着有维持疗法。下文实施例中提供关于合适剂量的进一步信息。

[0217] 治疗的持续时间会持续像医嘱指示的那样长时间或直到实现想要的治疗效果(例如本文所述那些)。在某些实施方案中,VEGF特异性拮抗剂疗法持续1个月、2个月、4个月、6个月、8个月、10个月、1年、2年、3年、4年、5年或长至受试者终身的时段。在某些实施方案中,抗VEGF疗法在与化疗剂并行的抗VEGF治疗之后继续至少16个周期。在其它实施方案中,抗VEGF疗法在与化疗剂并行的抗VEGF治疗之后继续至少12个周期。

[0218] 依照已知方法给受试者(例如人类患者)施用本发明的VEGF特异性拮抗剂,诸如静脉内施用(像推注或通过一段时间里的连续输注),通过肌肉内、腹膜内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、口服、表面、或吸入路径。如果VEGF拮抗作用与广泛的副作用或毒性有关,那么局部施用是特别想要的。回体(*ex vivo*)策略也可用于治疗性应用。回体策略涉及用编码VEGF拮抗剂的多核苷酸转染或转导自受试者获得的细胞。然后将经过转染或转导的细胞返回受试者。细胞可以是极其多种类型之任一,包括但不限于造血细胞(例如,骨髓细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突细胞、T细胞、或B细胞)、成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞、角质形成细胞、或肌肉细胞。

[0219] 例如,如果VEGF特异性拮抗剂是抗体的话,通过任何合适手段来施用抗体,包括胃肠外、皮下、腹膜内、肺内、和鼻内,及(如果想要局部免疫抑制治疗的话)病灶内施用。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内、或皮下施用。另外,合适的是,通过脉冲输注来施用抗体,特别是使用递减剂量的抗体。优选的是,通过注射给予剂量给药,最优选的是,通过静脉内或皮下注射给予剂量给药,这部分取决于施药是短期的还是长期的。

[0220] 在另一个例子中,在病症或肿瘤位置允许时,局部施用VEGF特异性拮抗剂化合物,例如通过直接注射,而且可以周期性重复注射。也可以在手术切除肿瘤后系统地/全身地将VEGF特异性拮抗剂投递至受试者或直接投递至肿瘤细胞,例如肿瘤或肿瘤床,用以预防或降低局部复发或转移(例如休眠肿瘤或微转移的)。

[0221] 或者,可以将含有编码VEGF特异性拮抗剂的核酸序列的抑制性核酸分子或多核苷酸投递至受试者中的适宜细胞。在某些实施方案中,可以将所述核酸导向肿瘤自身。

[0222] 可以通过对于所采用的载体而言适宜的任何手段将核酸导入细胞中。许多此类方法是本领域公知的(Sambrook et al.,*supra*,和Watson et al.,*Recombinant DNA, Chapter 12, 2d edition, Scientific American Books, 1992*)。基因投递方法的例子包括脂质体介导的转染、电穿孔、磷酸钙/DEAE右旋糖苷法、基因枪、和显微注射。

[0223] V. 药物制剂

[0224] 依照本发明使用的抗体的治疗用制剂以冻干制剂或水溶液的形式,通过将具有期望纯度的抗体与任选的药学可接受载体、赋形剂或稳定剂( Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A.Ed. (1980) )混合来制备供贮存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度对受者是无毒的,而且包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐、和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯化己烷双胺;苯扎氯铵、苯索氯铵;酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烃基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清清蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖类,诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐相反离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。优选的冻干抗VEGF抗体制剂记载于W0 97/04801,通过述及明确收入本文。任选的是,制剂含有药学可接受盐,典型的是例如氯化钠,且优选大约为生理浓度。任选的是,本发明的制剂可含有药学可接受防腐剂。在一些实施方案中,防腐剂的浓度范围为0.1-2.0%,典型的v/v。合适的防腐剂包括药学领域已知的那些。苯甲醇、酚、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、和对羟基苯甲酸丙酯是防腐剂的例子。任选的是,本发明的制剂可包括药学可接受表面活性剂,其浓度为0.005-0.02%。

[0225] 通常,在100mg和400mg不含防腐剂的、单次使用管形瓶中供应贝伐单抗来投递4ml或16ml贝伐单抗(25mg/ml),用于治疗用途。在240mg脱水 $\alpha$ , $\alpha$ -海藻糖(dehydrate)、23.2mg磷酸钠(单碱的,单水合物)、4.8mg磷酸钠(二碱的,无水的)、1.6mg聚山梨酯20、和注射用水,USP中配制100mg产物。在960mg脱水 $\alpha$ , $\alpha$ -海藻糖、92.8mg磷酸钠(单碱的,单水合物)、19.2mg磷酸钠(二碱的,无水的)、6.4mg聚山梨酯20、和注射用水,USP中配制400mg产物。

[0226] 还可见贝伐单抗的标签。

[0227] 本文中的制剂还可含有所治疗具体适应症所必需的超过一种活性化合物,优选活性互补且彼此没有不利影响的。例如,可能希望在一种制剂中进一步提供结合EGFR、VEGF(例如结合VEGF上不同表位的抗体)、VEGFR、或ErbB2(例如Herceptin®)的抗体。或者/另外,组合物可包含细胞毒剂、细胞因子、生长抑制剂和/或小分子VEGFR拮抗剂。合适的是,此类分子以对于预定目的有效的量组合存在。

[0228] 活性成分还可包载入例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)、胶状药物投递系统(例如脂质体、清蛋白微球体、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊)、或粗滴乳状液。此类技术披露于例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A.编(1980)。

[0229] 可制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有抗体的固体疏水性聚合物半透性基质,该基质以定型产品的形式存在,例如薄膜或微胶囊。持续释放基质的例子包括聚酯、水凝胶(例如聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美国专利No. 3,773,919)、L-谷氨酸和 $\gamma$ -乙基-L-谷氨酸酯的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的

可注射微球体)及聚-D-(-)-3-羟基丁酸。虽然诸如乙烯-乙酸乙烯和乳酸-乙醇酸等聚合物能够释放分子100天以上,但是某些水凝胶释放蛋白质的时间较短。当封装的抗体在体内长时间维持时,它们可能由于暴露于37°C的潮湿环境而变性或聚集,导致生物学活性损失和免疫原性可能改变。可根据相关机制来设计合理的稳定化策略。例如,如果发现聚集机制是经由硫醇-二硫化物互换而形成分子间S-S键,那么可通过修饰巯基、由酸性溶液冻干、控制湿度、采用适宜添加剂和开发特定的聚合物基质组合物来实现稳定化。

[0230] 用于体内施用的配制剂应当是无菌的。这可容易地通过使用无菌滤膜过滤来实现。

[0231] VI. 治疗功效

[0232] 本发明的治疗的主要优点是在人患者中产生显著的抗癌效果,不引起显著毒性或不利作用,使得患者总体受益于治疗的能力。本发明的治疗的功效可通过评估癌症治疗中常用的各种终点来测量,包括但不限于肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸缩小、距进展的时间、存活的持续时间、无进展存活、总体响应率、响应的持续时间、和生活质量。因为本发明的抗血管发生剂靶向肿瘤血管系统且不必然靶向赘生性细胞自身,所以它们代表了一类独特的抗癌药,并因此可采用对药物的临床响应的独特测量和定义。例如,二维分析中大于50%的肿瘤缩小是宣告响应的标准截留。然而,本发明的抗VEGF抗体可引起对转移性扩散的抑制,没有原发性肿瘤的缩小,或者可仅仅发挥抑制肿瘤的效果。因而,任选采用测定抗血管发生疗法的功效的其它办法,包括例如测量血管发生的血浆或尿标志物及经由放射学成像测量响应。

[0233] 在另一个实施方案中,本发明提供用于延长对癌症易感或诊断有癌症的人患者的无进展存活的方法。距疾病进展时间定义为自施用药物至疾病进展或死亡的时间。在一个优选实施方案中,本发明使用抗VEGF抗体和一种或多种化疗剂的组合治疗,接着是抗VEGF维持疗法将无进展存活与没有抗VEGF抗体维持疗法的治疗相比显著延长至少约1个月、2个月、2.3个月、2.9个月、3个月、3.8个月,优选约1至约6.1个月。在一个实施方案中,与对照相比,用贝伐单抗和紫杉烷疗法(例如多西他赛或帕利他赛)和卡铂,接着是抗VEGF维持疗法治疗的患者中以月计的PFS中值(95%CI)延长了3.8个月(0.717(0.625, 0.824), 单侧p值(时序)为<0.001))。在另一个实施方案中,仅仅接受帕利他赛和卡铂的患者与接受帕利他赛、卡铂和抗VEGF抗体,接着接受抗VEGF维持疗法的患者之间以月计的PFS中值差异(95%CI)为2.3个月,HR=0.79,p值(时序检验)为0.0010。

[0234] VII. 抗体生成

[0235] (i) 多克隆抗体

[0236] 多克隆抗体优选在动物中生成,通过多次皮下(sc)或腹膜内(ip)注射相关抗原和佐剂。使用双功能或衍生化试剂,例如马来酰亚氨基苯甲酰基磺基琥珀酰亚胺酯(通过半胱氨酸残基偶联)、N-羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOC<sub>12</sub>或R<sub>1</sub>N=C=NR(其中R和R<sub>1</sub>是不同的烃基),将相关抗原与在待免疫物种中有免疫原性的蛋白质偶联可能是有用的,例如匙孔虫戚血蓝蛋白、血清清蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂。

[0237] 通过将例如100μg或5μg蛋白质或偶联物(分别用于兔或小鼠)与3倍体积的弗氏完全佐剂混和并将该溶液皮内注射于多个部位,将动物针对抗原、免疫原性偶联物或衍生物

进行免疫。1个月后,通过多个部位的皮下注射,用弗氏完全佐剂中初始量1/5-1/10的肽或偶联物对动物进行加强免疫。7-14天后,采集动物的血液并测定血清的抗体滴度。对动物进行加强免疫直到滴度达到平台(plateau)。优选的是,将动物用相同抗原但与不同蛋白质和/或通过不同交联剂偶联得到的偶联物进行加强免疫。偶联物还可在重组细胞培养中作为蛋白质融合物来制备。同样,适当使用凝聚剂诸如明矾来增强免疫应答。

[0238] (ii) 单克隆抗体

[0239] 本领域有多种方法可用于制备本文中的单克隆抗体。例如,单克隆抗体可以使用最初由Kohler等,Nature,256:495(1975)记载的杂交瘤方法来生成,或者可以通过DNA重组方法(美国专利No.4,816,567)来生成。

[0240] 在杂交瘤方法中,如上所述免疫小鼠或其它适宜的宿主动物,诸如仓鼠或猕猴,以引发生成或能够生成如下抗体的淋巴细胞,所述抗体将特异性结合用于免疫的蛋白质。或者,可以在体外免疫淋巴细胞。然后使用合适的融合剂诸如聚乙二醇将淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,以形成杂交瘤细胞(Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,pp.59-103,Academic Press,1986)。

[0241] 将如此制备的杂交瘤细胞在合适的培养基中接种和培养,所述培养基优选含有抑制未融合的亲本骨髓瘤细胞生长或存活的一种或多种物质。例如,若亲本骨髓瘤细胞缺少次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT或HPRT),则用于杂交瘤的培养基典型的将含有次黄嘌呤、氨基喋呤和胸苷(HAT培养基),这些物质阻止HGPRT缺陷细胞生长。

[0242] 优选的骨髓瘤细胞是那些高效融合、支持所选择的抗体生产细胞稳定且高水平地生成抗体、且对培养基诸如HAT培养基敏感的骨髓瘤细胞。其中,优选的骨髓瘤细胞系是鼠骨髓瘤系,诸如那些自可从索尔克研究所细胞分配中心(Salk Institute Cell Distribution Center,San Diego,California USA)获得的MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤和可从美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection,Rockville,Maryland USA)获得的SP-2或X63-Ag8-653细胞。人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系也可用于生成人单克隆抗体(Kozbor,J. Immunol.,133:3001(1984);Brodeur等,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,pp.51-63,Marcel Dekker,Inc.,New York,1987)。

[0243] 可对杂交瘤细胞正在其中生长的培养基测定针对抗原的单克隆抗体的生成。优选的是,通过免疫沉淀或通过体外结合测定法,诸如放射性免疫测定法(RIA)或酶联免疫吸附测定法(ELISA),测定由杂交瘤细胞生成的单克隆抗体的结合特异性。

[0244] 在鉴定出生成具有期望特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞后,所述克隆就可通过有限稀释操作程序进行亚克隆,并通过标准方法进行培养(Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice,pp.59-103,Academic Press,1986)。适于这一目的的培养基包括例如D-MEM或RPMI-1640培养基。另外,杂交瘤细胞可在动物中作为腹水瘤进行体内培养。

[0245] 可通过常规免疫球蛋白纯化操作程序,诸如例如蛋白A-Sepharose、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析、或亲和层析,将由亚克隆分泌的单克隆抗体与培养基、腹水或血清适当分开。

[0246] 编码单克隆抗体的DNA易于使用常规操作程序分离和测序(例如通过使用能够特

异性结合编码单克隆抗体重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)。杂交瘤细胞是此类DNA的优选来源。一旦分离,就可将DNA置于表达载体中,然后将该表达载体转染到不另外生成免疫球蛋白蛋白质的宿主细胞中,诸如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞,以在重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。抗体的重组生产在下文中有更详细描述。

[0247] 在另一个实施方案中,可从使用McCafferty等,Nature,348:552-554(1990)中记载的技术构建的噬菌体抗体库中分离抗体或抗体片段。Clackson等,Nature,352:624-628(1991)及Marks等,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991)分别记载了使用噬菌体文库进行的鼠和人抗体的分离。后续出版物记载了通过链改组生成高亲和力(nM范围)的人抗体(Marks等,Bio/Technology 10:779-783(1992)),以及组合感染和体内重组作为构建非常大的噬菌体文库的策略(Waterhouse等,Nuc.Acids Res.21:2265-2266(1993))。如此,这些技术是用于分离单克隆抗体的传统单克隆抗体杂交瘤技术的可行替代方法。

[0248] 也可以修饰DNA,例如通过用人重链和轻链恒定域的编码序列替代同源鼠序列(美国专利No.4,816,567;Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851(1984)),或通过将免疫球蛋白编码序列与非免疫球蛋白多肽的整个或部分编码序列共价连接。

[0249] 典型地,用此类非免疫球蛋白多肽替代抗体的恒定域,或者用它们替代抗体的一个抗原结合位点的可变域,以产生嵌合二价抗体,它包含对一种抗原具有特异性的一个抗原结合位点和对不同抗原具有特异性的另一个抗原结合位点。

[0250] (iii) 人源化抗体和人抗体

[0251] 人源化抗体具有一个或多个导入其中的来自非人来源的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基常常称作“输入”残基,它们通常取自“输入”可变域。人源化可基本上遵循Winter及其同事的方法进行(Jones等,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等,Science,239:1534-1536(1988)),即用啮齿类CDR或CDR序列替代人抗体的相应序列。因此,此类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利4,816,567),其中基本上小于整个人可变域的区域用来自非人物种的相应序列替代。在实践中,人源化抗体通常是其中一些CDR残基以及可能一些FR残基用来自啮齿类抗体中类似位点的残基替代的人抗体。

[0252] 用于制备人源化抗体的人可变域的选择,包括轻链和重链,对于降低抗原性非常重要。依照所谓的“最适”(best-fit)法,用啮齿类抗体的可变域序列对已知的人可变域序列的整个文库进行筛选。然后选择与啮齿类序列最接近的人序列作为人源化抗体的人框架(FR)(Sims等,J.Immunol.,151:2296(1993);Chothia等,J.Mol.Biol.,196:901(1987))。另一种方法使用由特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列衍生的特定框架。同一框架可被用于数种不同的人源化抗体(Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);Presta等,J.Immunol.,151:2623(1993))。

[0253] 更为重要的是,抗体在人源化后保持对抗原的高亲和力及其它有利的生物学特性。为了实现这一目的,依照一种优选的方法,通过使用亲本和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的方法来制备人源化抗体。三维免疫球蛋白模型通常是可以获得的,且为本领域技术人员所熟悉。还可获得图解和显示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序。检查这些显示图像能够分析残基在候选免疫球蛋白序列

行使功能中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。这样,可从受体和输入序列中选出FR残基并进行组合,从而获得期望抗体特征,诸如对靶抗原的亲和力提高。通常,CDR残基直接且最实质地涉及对抗原结合的影响。

[0254] 人源化抗VEGF抗体及其亲和力成熟变体记载于例如2005年2月26日公告的美国专利No.6,884,879。

[0255] 现在有可能生成在缺乏内源免疫球蛋白生成的情况下能够在免疫时生成人抗体完整全集的转基因动物(例如小鼠)。例如,已经描述了嵌合和种系突变小鼠中抗体重链连接区(JH)基因的纯合删除导致内源抗体生成的完全抑制。在此类种系突变小鼠中转移人种系免疫球蛋白基因阵列将导致在抗原攻击时生成人抗体。参见例如Jakobovits等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:2551(1993);Jakobovits等,Nature,362:255-258(1993);Bruggermann等,Year in Immuno.,7:33(1993);及Duchosal等,Nature,355:258(1992)。

[0256] 或者,噬菌体展示技术(McCafferty等,Nature 348:552-553(1990))可用于在体外从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变域(V)基因全集生成人抗体和抗体片段。依照这种技术,将抗体可变域基因以符合读码框的方式克隆入丝状噬菌体诸如M13或fd的主要或次要外壳蛋白基因,并在噬菌体颗粒表面上展示为功能性抗体片段。因为丝状噬菌体颗粒包含噬菌体基因组的单链DNA拷贝,以抗体的功能特性为基础进行的选择也导致编码展示那些特性的抗体的基因得到选择。如此,噬菌体模拟B细胞的一些特性。噬菌体展示可以以多种形式进行,综述参见例如Johnson,Kevin S.和Chiswell,David J.,Current Opinion in Structural Biology 3:564-571(1993)。V基因区段的数种来源可用于噬菌体展示。Clackson等,Nature 352:624-628(1991)从衍生自经免疫小鼠脾的小型V基因随机组合文库中分离出大量不同的抗口恶唑酮抗体。可基本上遵循Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597(1991)或Griffith等,EMBO J.12:725-734(1993)所记载的技术,自未免疫人供体构建V基因全集和分离针对大量不同抗原(包括自身抗原)的抗体。还可参见美国专利No.5,565,332和5,573,905。

[0257] 如上所述,还可通过体外活化B细胞来生成人抗体(参见美国专利No.5,567,610和5,229,275)。

[0258] 人单克隆抗VEGF抗体记载于1998年3月24日公告的美国专利No.5,730,977。

[0259] (iv) 抗体片段

[0260] 已经开发了用于生成抗体片段的多种技术。传统上,通过蛋白水解消化完整抗体来衍生这些片段(参见例如Morimoto等,Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117(1992);及Brennan等,Science,229:81(1985))。然而,现在可直接由重组宿主细胞生成这些片段。例如,可以从上文讨论的噬菌体抗体库分离抗体片段。或者,可直接从大肠杆菌回收Fab'-SH片段并化学偶联以形成F(ab')<sub>2</sub>片段(Carter等,Bio/Technology 10:163-167(1992))。依照另一种方法,可直接从重组宿主细胞培养物分离F(ab')<sub>2</sub>片段。用于生成抗体片段的其它技术对熟练从业人员将是显而易见的。在其它实施方案中,所选抗体是单链Fv片段(scFv)。参见WO 93/16185。

[0261] (vi) 其它氨基酸序列修饰

[0262] 设想了本文所述抗体的氨基酸序列修饰。例如,可能希望改进抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。通过将适宜的核苷酸变化引入抗体核酸或者通过肽合成来制备抗

体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内的残基删除和/或插入和/或替代。只要最终的构建物具有期望的特性,可进行删除、插入和替代的任意组合以获得最终的构建物。氨基酸变化还可改变抗体的翻译后加工,诸如改变糖基化位点的数目或位置。

[0263] 可用于鉴定抗体中作为优选诱变位置的某些残基或区域的一种方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085 (1989) 所记载的。这里,鉴定了一个残基或一组靶残基(例如带电荷的残基,诸如精氨酸、天冬氨酸、组氨酸、赖氨酸和谷氨酸),并用中性或带负电荷的氨基酸(最优选丙氨酸或聚丙氨酸)替换,以影响氨基酸与抗原的相互作用。然后通过在或对替代位点引入更多或其它变体,推敲那些对替代展现出功能敏感性的氨基酸位置。如此,虽然引入氨基酸序列变异的位点是预先决定的,但是突变本身的性质不需要预先决定。例如,为了分析给定位点处的突变的后果,在靶密码子或区域进行丙氨酸扫描诱变或随机诱变,并对所表达的抗体变体筛选期望活性。

[0264] 氨基酸序列插入包括氨基和/或羧基末端的融合,长度范围从一个残基至包含上百个或更多残基的多肽,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N-末端甲硫氨酸残基的抗体或与细胞毒性多肽融合的抗体。抗体分子的其它插入变体包括在抗体的N-或C-末端融合酶(例如用于ADEPT)或延长抗体血清半衰期的多肽。

[0265] 另一类变体是氨基酸替代变体。这些变体在抗体分子中有至少一个氨基酸残基用不同残基替换。最感兴趣进行替代诱变的位点包括高变区,但也设想了FR改变。

[0266] 对抗体生物学特性的实质性修饰通过选择在保持以下方面效果上显著不同的替代来完成:(a) 替代区域的多肽主链的结构,例如作为折叠片或螺旋构象,(b) 靶位点处分子的电荷或疏水性,或(c) 侧链的体积。根据其侧链特性的相似性,可以将氨基酸如下分组(A.L. Lehninger, Biochemistry, 第2版, pp. 73-75, Worth Publishers, New York, (1975)):

[0267] (1) 非极性的:Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)

[0268] (2) 不带电荷的、极性的:Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)

[0269] (3) 酸性的:Asp (D)、Glu (E)

[0270] (4) 碱性的:Lys (K)、Arg (R)、His (H)

[0271] 或者,基于共同的侧链特性,可以将天然存在残基如下分组:

[0272] (1) 疏水性的:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0273] (2) 中性、亲水性的:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0274] (3) 酸性的:Asp、Glu;

[0275] (4) 碱性的:His、Lys、Arg;

[0276] (5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0277] (6) 芳香族的:Trp、Tyr、Phe。

[0278] 非保守替代将需要用这些类别之一的一个成员替换另一个类别的。

[0279] 任何不牵涉保持抗体正确构象的半胱氨酸残基也可替代,一般用丝氨酸,以改进分子的氧化稳定性和防止异常交联。相反,可以向抗体中添加半胱氨酸键以改进其稳定性(特别是当抗体是抗体片段诸如Fv片段时)。

[0280] 特别优选的一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般而言,选择用于进一步开发的所得变体相对于产生它们的亲本抗体将具有改良的生物学特性。用于产生此类替代变体的一种便利方法涉及使用噬菌体展示的亲

和力成熟。简而言之，将数个高变区位点(例如6-7个位点)突变，在每个位点产生所有可能的氨基酸替代。如此产生的抗体变体以单价形式展示在丝状噬菌体颗粒上，作为与每个颗粒内包装的M13基因III产物的融合物。然后如本文所公开的对噬菌体展示的变体筛选其生物学活性(例如结合亲和力)。为了鉴定用于修饰的候选高变区位点，可进行丙氨酸扫描诱变以鉴定对抗原结合具有重要贡献的高变区残基。或者/另外，分析抗原-抗体复合物的晶体结构，以鉴定抗体与人VEGF之间的接触点可能是有益的。此类接触残基及邻近残基是依照本文详述的技术进行替代的候选位点。一旦产生此类变体，就如本文所述对该组变体进行筛选，可选择在一种或多种相关测定法中具有优良特性的抗体用于进一步的开发。

[0281] 抗体的另一类氨基酸变体改变了抗体的原始糖基化样式。改变意味着删除在抗体中发现的一个或多个碳水化合物模块，和/或添加抗体中不存在的一个或多个糖基化位点。

[0282] 抗体的糖基化典型的或是N-连接的或是O-连接的。N-连接指碳水化合物模块附着于天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X是除脯氨酸外的任何氨基酸)是将碳水化合物模块酶促附着于天冬酰胺侧链的识别序列。如此，多肽中这两种三肽序列任一的存在产生了潜在的糖基化位点。O-连接的糖基化指将糖类N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖之一附着于羟基氨基酸，最常见的是丝氨酸或苏氨酸，但也可使用5-羟脯氨酸或5-羟赖氨酸。

[0283] 对抗体添加糖基化位点可通过改变氨基酸序列使其包含一个或多个上述三肽序列而便利的完成(用于N-连接的糖基化位点)。该改变还可通过向原始抗体的序列中添加或替代一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基来进行(用于O-连接的糖基化位点)。

[0284] 若抗体包含Fc区，则可改变附着其上的碳水化合物。例如，美国专利申请US 2003/0157108 A1 (Presta, L.) 中记载了有缺少岩藻糖的成熟碳水化合物结构附着于抗体Fc区的抗体。还可参见US 2004/0093621A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.)。WO 03/011878 (Jean-Mairet et al.) 和美国专利No. 6,602,684 (Umana et al.) 中提到了在附着于抗体Fc区的碳水化合物中有等分N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)的抗体。WO 97/30087 (Patel et al.) 中报告了在附着于抗体Fc区的寡糖中有至少一个半乳糖残基的抗体。关于有更改碳水化合物附着于其Fc区的抗体还可参见WO 98/58964 (Raju, S.) 和WO 99/22764 (Raju, S.)。

[0285] 可能希望在效应器功能方面修饰本发明的抗体，例如增强抗体的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。这可通过在抗体Fc区中引入一处或多处氨基酸替代来实现。或者/另外，可以在Fc区中引入半胱氨酸残基，从而容许在该区中形成链间二硫键。如此产生的同二聚体抗体可具有改良的内在化能力和/或提高的补体介导的细胞杀伤和抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)。参见Caron et al., J.Exp.Med.176:1191-1195 (1992) 和Shopes, B., J.Immunol.148:2918-2922 (1992)。具有增强的抗肿瘤活性的同二聚体抗体还可使用如Wolff et al., Cancer Research53:2560-2565 (1993) 中记载的异双功能交联剂来制备。或者，抗体可改造成具有双重Fc区，由此可具有增强的补体溶胞和ADCC能力。参见Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)。

[0286] WO 00/42072 (Presta, L.) 记载了在存在人效应细胞时具有改良的ADCC功能的抗体，其中所述抗体在其Fc区中包含氨基酸替代。优选的是，具有改良的ADCC的抗体在Fc区的第298、333和/或334位(Eu残基编号方式)包含替代。优选的是，改变的Fc区是在这些位置中

的一个、两个或三个处包含替代或由其组成的人IgG1Fc区。此类替代任选联合提高C1q结合和/或CDC的替代。

[0287] WO 99/51642、美国专利No.6,194,551B1、美国专利No.6,242,195B1、美国专利No.6,528,624B1和美国专利No.6,538,124 (Idusogie et al.) 中记载了具有改变的C1q结合和/和补体依赖性细胞毒性(CDC)的抗体。所述抗体在其Fc区的第270、322、326、327、329、313、333和/或334位(Eu残基编号方式)氨基酸中的一个或多个处包含氨基酸替代。

[0288] 为了延长抗体的血清半衰期,可以将补救受体结合表位掺入抗体(尤其是抗体片段),如例如美国专利No.5,739,277中所记载的。在用于本文时,术语“补救受体结合表位”指IgG分子(例如IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>或IgG<sub>4</sub>)的Fc区中负责延长IgG分子体内血清半衰期的表位。

[0289] WO 00/42072 (Presta, L.) 和US 2005/0014934A1 (Hinton et al.) 中记载了具有改良的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合和延长的半衰期的抗体。这些抗体包含其中具有一处或多处改进Fc区对FcRn结合的替代的Fc区。例如,Fc区可以在第238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428或434位(Eu残基编号方式)中的一个或多个处具有替代。优选的具有改良的FcRn结合的含Fc区抗体变体在其Fc区的第307、380和434位(Eu残基编号方式)中的一个、两个或三个处包含氨基酸替代。在一个实施方案中,抗体具有307/434突变。

[0290] 还设想了具有三个或更多(优选四个)功能性抗原结合位点的工程化抗体(美国专利申请US 2002/0004587A1, Miller et al.)。

[0291] 编码抗体的氨基酸序列变体的核酸分子可通过本领域知道的多种方法来制备。这些方法包括但不限于从天然来源分离(在天然存在氨基酸序列变体的情况下),或者通过对早期制备的抗体变体或非变体型式进行寡核苷酸介导的(或定点)诱变、PCR诱变和盒式诱变来制备。

[0292] (v) 免疫偶联物

[0293] 本发明还关于包含偶联有细胞毒剂的本文所述抗体的免疫偶联物,所述细胞毒剂诸如化疗剂、毒素(例如细菌、真菌、植物或动物起源的酶活性毒素或其片段)或放射性同位素(即放射偶联物)。

[0294] 上文已经描述了可用于生成此类免疫偶联物的化疗剂。可使用的酶活性毒素及其片段包括白喉毒素A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒蛋白(ricin)A链、相思豆毒蛋白(abrin)A链、蓖麻根毒蛋白(modeccin)A链、α-帚曲霉素(sarcin)、油桐(Aleutites fordii)毒蛋白、香石竹(dianthin)毒蛋白、美洲商陆(Phytolaca americana)毒蛋白(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜(Momordica charantia)抑制物、麻疯树毒蛋白(curcin)、巴豆毒蛋白(crotin)、肥皂草(sapindaria officinalis)抑制物、白树毒蛋白(gelonin)、丝林霉素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenomycin)、依诺霉素(enomycin)和单端孢菌素(trichothecenes)。多种放射性核素可用于生成放射偶联抗体。例子包括<sup>212</sup>Bi、<sup>131</sup>I、<sup>131</sup>In、<sup>90</sup>Y和<sup>186</sup>Re。

[0295] 抗体和细胞毒剂的偶联物可使用多种双功能蛋白质偶联剂来制备,诸如N-琥珀酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP),亚氨基硫烷(IT),亚氨酸酯(诸如盐酸己二酰

亚氨酸二甲酯)、活性酯类(诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯)、醛类(诸如戊二醛)、双叠氮化合物(诸如双(对-叠氮苯甲酰基)己二胺)、双重氮衍生物(诸如双(对-重氮苯甲酰基)乙二胺)、二异氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯)、和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)的双功能衍生物。例如,可如Vitetta等Science 238:1098 (1987) 中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14标记的1-异硫氰酸苯甲基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸与抗体偶联的例示性螯合剂。参见WO 94/11026。

[0296] 在另一个实施方案中,可将抗体与“受体”(诸如链霉亲合素)偶联从而用于肿瘤预先靶向,其中对患者施用抗体-受体偶联物,接着使用清除剂由循环中清除未结合的偶联物,然后施用与细胞毒剂(例如放射性核苷酸)偶联的“配体”(例如亲合素)。

[0297] (vi) 免疫脂质体

[0298] 本文中所公开的抗体还可配制成免疫脂质体。含有抗体的脂质体可通过本领域已知方法来制备,诸如参见Epstein等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688 (1985);Hwang等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030 (1980);及美国专利No.4,485,045和4,544,545。循环时间延长的脂质体披露于美国专利No.5,013,556。

[0299] 可用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物通过反相蒸发法生成特别有用的脂质体。将脂质体挤过具有设定孔径的滤器,产生具有期望直径的脂质体。可如Martin等,J.Biol.Chem.257:286-288 (1982) 中所述,将本发明抗体的Fab'片段经二硫化物交换反应与脂质体偶联。任选在脂质体中包含化疗剂(诸如多柔比星(多柔比星))。参见Gabizon等,J.National Cancer Inst.81 (19) :1484 (1989)。

[0300] VIII. 制品和试剂盒

[0301] 在本发明的另一个实施方案中,提供了包含可用于治疗上文所述病症的物质的制品。制品包括容器、标签和包装插页。合适的容器包括例如瓶子、小管、注射器等。容器可用各种材料制成,诸如玻璃或塑料。容器中装有有效治疗疾患的组合物,而且可具有无菌存取口(例如容器可以是具有皮下注射针头可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小管)。所述组合物中的至少一种活性剂是抗VEGF抗体。贴在所述容器上或与其相连的标签指示该组合物用于治疗选择的疾患。制品可进一步包括第二容器,其中装有制药学可接受的缓冲剂,诸如磷酸盐缓冲盐水、林格氏(Ringer)溶液和右旋糖溶液。它还可包括商业和用户立场上所需的其它物质,包括其它缓冲剂、稀释剂、滤器、针头和注射器。另外,制品包含印有使用说明的包装插页,包括例如指示组合物的使用者对患者施用抗VEGF抗体组合物和化疗剂,例如紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛的蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、铂类似物、卡铂、吉西他滨、或其组合,接着是抗VEGF维持疗法。包装插页可任选含有在实施例1或实施例2或实施例3中找到的一些或所有结果。

[0302] VEGF特异性拮抗剂可单独地或与其它抗癌治疗性化合物组合地包装成试剂盒。所述试剂盒可包括帮助对患者施用单位剂量的任选成分,诸如用于重建粉剂形式的管形瓶、用于注射的注射器、定制IV投递系统、吸入器、等。另外,单位剂量试剂盒可含有关于制备和施用组合物的使用说明。在某些实施方案中,说明包含使用说明,包括例如指示组合物的使用者对患者施用抗VEGF抗体组合物和化疗剂,例如紫杉烷、帕利他赛、多西他赛、帕利他赛的蛋白质结合颗粒(例如Abraxane®)、铂类似物、卡铂、吉西他滨、或其组合,接着是抗VEGF维持疗法。说明书可任选含有在实施例1或实施例2或实施例3中找到的一些或所有结

果。试剂盒可制造成用于一名患者的一次使用单位剂量、用于一名特定患者的多次使用(以恒定的剂量或其中各种化合物的效力可随治疗进展而变化);或者,所述试剂盒可含有适合于对多名患者施用的多剂(“大量包装”)。试剂盒成分可在纸盒、泡罩包、瓶、管、等等中装配。

[0303] 下面的实施例仅仅意图例示本发明的实践,不是作为限制而提供的。通过述及明确地收录本文中引用的所有专利和科学文献的全部公开内容。

## 实施例

[0304] 实施例1:卡铂和帕利他赛加安慰剂对卡铂和帕利他赛加并行的贝伐单抗,接着是安慰剂,相对于卡铂和帕利他赛加并行的和延长的贝伐单抗,在具有新诊断的、先前未治疗的、III期(亚最佳和宏观上最佳大块切除的)或IV期卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌的女性中的III期试验

[0305] 呈现了来自III期随机化研究的结果,以对具有妇产科肿瘤学国际联合会(FIGO)III和IV期卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌(epithelial ovarian, peritoneal primary or fallopian tube cancer)的患者评估新治疗程序。主要目的包括确定在具有新诊断的III期(具有任何总体残留疾病)和IV期卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌的女性中将5个并行周期的贝伐单抗添加至6个周期的标准疗法(卡铂和帕利他赛)[分支II]与单独的6个周期的标准疗法[分支I]相比是否延长无进展存活(PFS)的持续时间;及确定在具有新诊断的III期(具有任何总体残留疾病)和IV期卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌的女性中在6个周期的标准疗法(卡铂和帕利他赛)之上添加5个并行周期的贝伐单抗加延长贝伐单抗16个周期[分支III]与6个周期的标准疗法[分支I]相比是否延长无进展存活。

[0306] GOG-0182-ICON5是一项5-分支随机化临床试验,包括标准疗法(卡铂和帕利他赛)及四个掺入吉西他滨(gemcitabine)、拓扑替康(topotecan)和脂质体多柔比星(liposomal doxorubicin)(或是与帕利他赛和卡铂组合使用或是与帕利他赛和卡铂序贯使用)的调查分支。全世界的主要卵巢癌临床试验小组参与了这项研究。这项国际合作提供了一个独特的机会来以及时的方式积累大量的患者,这便于在前瞻性随机化试验中同时评估多种药剂。凭借国际参与,每年积累超过1,200名患者,而且该试验在启动四年内达到其靶定积累目标。

[0307] 虽然GOG-0182-ICON5的结果有助于为具有晚期卵巢和腹膜原发性癌症的先前未治疗的患者建立最佳化疗,但是下一代临床试验会探索与化疗联合的分子靶向疗法的影响。特别地,生长因子信号转导抑制剂和抗血管发生剂(作为单一药剂和与化疗药物组合)当前正在具有这些肿瘤的女性中进行试验。许多这些药剂显示出具有细胞抑制效应,而且在人类癌症的实验模型中显示出与化疗的协同性。在这项III期试验中,在具有晚期疾病的患者中评价与标准化疗疗法组合,加或减延长的单一药剂施用的活性生物学药剂对结果的影响,与单独的标准化疗疗法进行比较。

[0308] 贝伐单抗是一种重组人源化形式的鼠抗人VEGF单克隆抗体,称作rhuMAb VEGF。贝伐单抗已经进入临床开发,作为单一药剂用于在具有实体瘤的患者中诱导肿瘤生长抑制及与细胞毒性化疗组合用于在具有转移性实体瘤的患者中延长疾病进展前时间。参见例如

Presta LG, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. Cancer Res 57:4593-9, 1997。已经发表了贝伐单抗用于具有复发性卵巢上皮和腹膜原发性癌症的患者的两项单一药剂试验的结果。参见例如Burger RA, et al, Phase II trial of bevacizumab in persistent or recurrent epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer:a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 25 (33) :5165-171, 2007; 及Cannistra SA, et al., Phase II Study of Bevacizumab in Patients with Platinum Resistant Ovarian Cancer or Primary Peritoneal Serous Cancer. J Clin Oncol 25 (33) :5180-86. 2007。GOG (GOG-0170-D) 利用两项共同主要功效终点 (co-primary efficacy endpoint) : NCI RECIST标准的临床响应和无进展存活至少6个月的比例。62名参与者每21天接受15mg/kg 贝伐单抗, 直至临床或射线照相术证据证明疾病进展或发生不可接受的毒性。原发性疾病特征是具有复发性卵巢癌的患者典型的, 而且大约43%的患者认为是原发性铂抗性的。观察到21%的响应率, 而40%至少6个月无进展, 中值PFS为4.7个月, 与基于先前细胞毒剂在具有相似临床特征的群体中的阴性II期试验的历史对照的1.8个月进行比较。Genentech AVF 2949检查了在疾病进展和不利事件的潜力方面具有更高风险状况的患者, 只容许认为是原发性或继发性铂抗性的和接受了2或3个先前细胞毒性方案的患者。入选条件的这些差异最终转变成AVF群体中更高水平的铂抗性、更大数目的在先方案和略微更差的性能状态。44名患者以与GOG 170-D中所用相同的贝伐单抗剂量和时间表来治疗。记录到7例(16%)响应, 而且12例(27%)至少6个月无进展。

[0309] 在这项研究中, 选择两个实验分支来与帕利他赛和卡铂的标准细胞毒性化疗进行比较:一个掺入5个周期的贝伐单抗(并行的贝伐单抗), 而另一个在完成帕利他赛和卡铂的化疗后另有16个周期的贝伐单抗(延长的贝伐单抗)。

[0310] 施用和剂量如图1和2所示。卡铂(AUC)剂量给药的Calvert方程:

[0311] 总剂量(mg) = 靶AUC(以mg/mL/min计) \* [GFR(以mL/min计) + 25]。

[0312] 主要终点研究的统计设计基于90%效力(power) 来检测PFS危害比(HR) ≤ 0.77(中值PFS变动:14.0个月(历史上)→18.2个月。主要分析对每一个贝伐单抗分支与对照(分析1-通过RECIST(参见例如Therasse et al, J Natl. Cancer Inst., 92:205-16, 2000)、整体临床恶化(global clinical deterioration)、或CA-125; 或通过分析2-RECIST或整体临床恶化, 检查CA-125) 比较调查人员评估的PFS。患者的基线临床特征见表1。患者的基线手术-病理学特征见表2。

[0313] 入选患者:患者具有卵巢上皮癌(epithelial ovarian cancer)、腹膜原发癌(peritoneal primary carcinoma)或输卵管癌的组织学诊断;的FIGO III期(具有任何总体(宏观的或可触知的)残余疾病)或FIGO IV期, 在初始腹部手术完成时从手术上定义且有适当的组织可供组织学评估用。要求的最低限度手术是为组织学评估及建立和记录原发性部位和阶段提供组织的腹部手术, 以及肿瘤大块切除的最大努力。如果实施过别的手术, 那么它应当符合GOG手术规程手册(<https://www.gog.fccc.edu/manuals/pdf/surgman.pdf>)中记载的用于卵巢或腹膜癌的适当手术。然而, 不要求外科医师实施GOG手术规程手册的这一小节中包含的所有项目。具有III期癌症的患者中任何残余肿瘤植入物在这项初始手术完成时的最大直径最大值不大于1cm的患者会定义为“最佳的”;所有其它情况会定义为“亚

最佳”。入选不要求手术后成像研究中的可检测疾病。

[0314] 具有下述组织学上皮细胞类型的患者入选：浆液性腺癌，子宫内膜样腺癌，粘液性腺癌，未分化的癌，透明细胞腺癌，混合型上皮癌，移行细胞癌，恶性Brenner氏肿瘤，或其它方面未规定的腺癌(N.O.S.)。然而，肿瘤的组织学特征必须与原发性Mullerian上皮腺癌一致。患者可以具有共存的原位输卵管癌，只要侵入性肿瘤的原发起源是卵巢、腹膜或输卵管。

[0315] 患者必须具有适当的：

[0316] (1) 骨髓功能：绝对嗜中性粒细胞计数(ANC)大于或等于 $1,500/\mu\text{l}$ ，等同于不利事件共同毒性标准(Common Toxicity Criteria for Adverse Events) v3.0 (CTCAE) 1级。这种ANC不能是由粒细胞集落刺激因子诱导或抑制。

[0317] (2) 血小板大于或等于 $100,000/\mu\text{l}$ 。(CTCAE 0-1级)。

[0318] (3) 肾功能：肌酸酐 $<1.5 \times$ 惯例正常上限(ULN)，CTCAE 1级。

[0319] (4) 肝功能：

[0320] (a) 胆红素小于或等于 $1.5 \times$  ULN (CTCAE 1级)。

[0321] (b) SGOT和碱性磷酸酶小于或等于 $2.5 \times$  ULN (CTCAE 1级)。

[0322] (c) 神经功能：神经病(感觉和运动) 小于等于CTCAE 1级。

[0323] (5) 凝血参数：使得国际标准化比(INR)为 $<1.5$ (或范围内INR,通常在2和3之间,如果患者为了控制静脉血栓形成(包括肺部血栓栓塞)而服用稳定剂量的治疗性华法林的话)且PTT $<1.2 \times$ 正常上限的PT。

[0324] (6) GOG性能状态为0、1、或2的患者。

[0325] (7) 患者必须在为了诊断、分期和细胞减少的组合目的而实施的初始手术后1和12周之间进入。

[0326] (8) 具有可检测的和不可检测的疾病的患者入选。患者可以具有或不具有癌症相关症状。

[0327] (9) 达到7.0小节中规定的进入前要求的患者。

[0328] (10) 患者或监护人必须签署个人健康信息的批准知情同意和授权许可证书。

[0329] (11) 这项试验中的患者卡可以在任何时间为了控制绝经症状而接受最低有效剂量的卵巢雌激素+/-孕激素替补疗法(如指示的),但是在方案指导的疗法时或在疾病进展之前没有为了管理食欲缺乏而服用孕激素。

[0330] 不入选患者：当前诊断交界性卵巢上皮肿瘤(以前称作“低恶性潜力的肿瘤”)或复发性侵入性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌(仅用手术治疗)的患者(诸如具有1a级或1b低级卵巢上皮癌或输卵管癌的患者)不入选。在先诊断交界性肿瘤(手术切除且随后形成无关的、新的侵入性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌或输卵管癌)的患者入选,前提是她们没有为任何卵巢肿瘤接受过在先化疗。

[0331] 排除接受过对骨盆或腹腔任何部分的在先放疗的患者。允许对乳房、头和颈、或皮肤的局限性癌症的在先放射,前提是它在登记前完成超过三年,而且患者仍然没有复发性或转移性疾病。

[0332] 排除为任何腹部或骨盆肿瘤而接受过在先化疗(包括对她们的卵巢、原发性腹膜或输卵管癌的新辅助化疗)的患者。患者可以为局限性乳腺癌而接受过在先辅助化疗,前提

是它在登记前完成超过三年,而且患者仍然没有复发性或转移性疾病。

[0333] 为处置她们的卵巢上皮癌或腹膜原发癌而接受过任何靶向疗法(包括但不限于疫苗、抗体、酪氨酸激酶抑制剂)或激素疗法的患者。

[0334] 排除具有同步原发性子宫内膜癌或原发性子宫内膜癌既往史的患者,除非达到所有下述条件:不大于I-B的阶段;不超过浅表子宫肌膜侵入,没有血管或淋巴侵入;没有分化较差的亚型,包括乳头状浆液性、透明细胞或其它FIGO 3级损害。

[0335] 排除具有其它侵入性恶性肿瘤,有过(或有)最近5年内存在其它癌症的任何证据或先前的癌症治疗禁止使用这种方案疗法的患者,非黑素瘤皮肤癌和上文所述其它特定恶性肿瘤除外。

[0336] 具有需要胃肠外抗生素的急性肝炎或活动性感染的患者。

[0337] 具有严重的不愈合伤口、溃疡、或骨折的患者。这包括28天内腹痛、胃肠穿孔或腹内脓肿的历史。具有第二期愈合的粒化切口,没有表面开裂或感染的证据的患者入选,但是需要每周一次的伤口检查。

[0338] 具有活动性出血或带有高出血风险的病理状况(诸如已知的出血病症、凝血病、或涉及主要血管的肿瘤)的患者。

[0339] 患者在体检时具有CNS疾病的历史或证据,包括原发性脑瘤、不受标准医学疗法控制的癫痫发作、任何脑转移、或这项研究治疗第一天六个月内脑血管意外(CVA,中风)、短暂性缺血发作(TIA)或蛛网膜下出血的历史。

[0340] 具有临床显著的心血管疾病的患者。这包括:不受控制的高血压,定义为收缩压>150mm Hg或舒张压>90mm Hg;登记前<6个月的心肌梗死或不稳定心绞痛;纽约心脏联合会(NYHA) II级或更大的充血性心力衰竭;需要药疗的严重心率失常。这不包括无症状的、心室率受控制的心房纤维颤动;CTCAE 2级或更大的外周血管病(没有手术处置、且没有永久缺损的短暂缺血(至少<24小时));六个月内CVA历史。

[0341] 具有已知的对中国仓鼠卵巢细胞产品或其它重组人或人源化抗体的超敏感性的患者。

[0342] 具有临床显著的蛋白尿的患者。应当通过尿蛋白质-肌酸酐比(UPCR)来筛选尿蛋白质。已经发现UPCR与24小时尿收集中排泄的蛋白质量直接相关。参见例如Ginsberg JM, et al., Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. N Engl J Med 309:1543-6, 1983; Rodby RA, et al., The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. Am J Kidney Dis 26:904-9, 1995; Schwab SJ, et al., Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. Arch Intern Med 147:943-4, 1987; Steinhauslin F, & Wauters JP. Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. Clin Nephrol 43:110-5, 1995; Wilson DM, & Anderson RL. Protein-osmolality ratio for the quantitative assessment of proteinuria from a random urinalysis sample. Am J Clin Pathol 100:419-24, 1993; 以及 Zelmanovitz T, et al., Proteinuria is still useful for the screening and diagnosis of overt diabetic nephropathy. Diabetes Care 26:101-5, 2003.

Care 21:1076-9, 1998。具体而言, 1.0的UPCR等同于24小时尿液收集中的1.0克蛋白质。患者必须具有UPCR<1.0以容许参与研究。

[0343] 具有或预期具有下文定义的侵入性规程的患者: 贝伐单抗/安慰剂疗法(第2周期)第1天之前28天内有大手术、开放式活检或重大外伤。研究过程期间预期的大手术。这包括但不限于疾病进展前的腹部手术(剖腹术或腹腔镜检查), 诸如结肠造口术或肠造口术逆转、同期或二次细胞减少性手术、或再研究手术(second look surgery)。贝伐单抗/安慰剂疗法(第2周期)第1天之前7天内有取芯活检(core biopsy)。

[0344] 具有3或4级GOG性能的患者。

[0345] 怀孕或哺乳的患者。

[0346] 年龄在18岁以下的患者。

[0347] 接受过任何抗VEGF药物(包括贝伐单抗)的在先疗法的患者。

[0348] 具有胃肠梗阻的临床症状或体征及需要胃肠外补水和/或营养的患者。

[0349] 具有医生看来要排除在研究参与之外的其它医学史或状况的患者。

[0350] 在这项研究中会使用实体瘤响应评估标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)委员会建议的国际标准来评估响应和进展。参见例如Therasse P, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. J Natl Cancer Inst 92:205-16, 2000。在RECIST标准中只使用肿瘤损害的最大直径(一维测量)的变化。

[0351] CA-125作为渐进性疾病的生物学标志物: CA-125(一种肿瘤相关糖蛋白抗原)的血清水平在80%的具有卵巢上皮癌的患者中升高。参见例如Bast et al, N Engl J Med. 309: 883-07, 1983。常常频繁地监测CA-125以检验对治疗的响应、残余疾病的存在、及作为复发的早期证据。然而, CA-125并非完全是肿瘤特异性的, 它可以在多种良性状况中升高, 诸如子宫内膜异位、子宫纤维瘤、和骨盆炎症; 绝经前女性特别是这样的。另外, CA-125的水平可以与肿瘤响应不一致, 假阳性和假阴性趋势都有; 不清楚生物学药剂对这些不准确性的影响。无论如何, 它已经成为患者的标准实践, 而且医师认为治疗之后CA-125的逐渐升高是复发或渐进性疾病的证据, 而且会基于CA-125做出治疗决定。当前的随机化试验会采用一种保守的公式, (在实体瘤处置中的其它标准定义之外) 基于CA-125的连续升高来定义渐进性疾病, 但是只是在完成初始化疗之后。参见例如Guppy et al., Oncologists, 7:437043, 2002; Rustin et al, J Clin Oncol. 19:4054-7, 2001; Rustin, J. Clin. Oncol., 21:187-93, 2003; Rustin et al, Clin. Cancer Res. 10:3919-26, 2004; 及Rustin et al, J Natl. Cancer Inst., 96:487-8, 2004。在一个例子中, 只能在完成细胞毒性化疗之后的时段期间确定基于血清CA-125的进展, 如果达到三个条件之一的话: 1) 处理前具有升高的CA-125且CA-125正常化的患者必须在两个相隔至少一周的时刻显示CA-125大于或等于正常上限的两倍的证据; 或2) 处理前具有升高的CA-125但从未正常化的患者必须在两个相隔至少一周的时刻显示CA-125大于或等于最低值的两倍的证据; 或3) 处理前具有正常范围中的CA-125的患者必须在两个相隔至少一周的时刻显示CA-125大于或等于正常上限的两倍的证据。

[0352] 结果

[0353] 研究的结果证明贝伐单抗作为一线卵巢癌与化疗组合且继续作为维持疗法时是有效的。这种组合在延长PFS方面是有效的。安全性初步评估鉴定先前的研究中记录的贝伐单抗相关不利事件(AE)。PFS的主要分析展示无进展存活(月)中值为10.3(图2分支I),与图2分支3的14.1个月比较。图2分支I的单侧p值(时序检验为0.08)的HR(95%CI)为0.908(0.795,1.04),与图2分支III的单侧p值(时序为<0.001)的0.717(0.625,0.824)比较。见图5。差异是统计学显著的。治疗方案一般得到较好的耐受,而且不利事件(包括GI穿孔)与先前的贝伐单抗研究相似。见图3和图4。这是在这个群体中展现出好处的第一种抗血管发生疗法。图6图示使用CA-125作为进展确定物的分枝式。CA-125是使用卵巢癌细胞系作为免疫原生成的单克隆抗体(OC-125)识别的高分子量糖蛋白上的抗原决定簇。作为血清标志物评估CA125来监测具有卵巢上皮癌和其它癌症的患者。参见例如参考文献Gyn Oncol 38:373, 1990; Gyn Oncol 38:181, 1990; Amer J Ob Gyn 160:667, 1989; Amer J Ob Gyn 159:873, 1988; Amer J Ob Gyn 159:341, 1988; Ob Gyn 72:159, 1988; 及Gyn Oncol 36:299, 1990及本文中的描述。图7图示分支I相对于分支III的亚组分析。

[0354] 表1:基线临床特征

[0355]

特征	分支I	分支II	分支III
	CP (n=625)	CP + BEV (n=625)	CP + BEV → BEV (n=623)
中值年龄, 岁(范围)	60 (25-86)	60 (24-88)	60 (22-89)
种族, n (%)			
非拉丁美洲白人	526 (84)	519 (83)	521 (84)
亚洲人	41 (7)	37 (6)	39 (6)
非拉丁美洲黑人	25 (4)	28 (5)	27 (4)
拉丁美洲人	21 (3)	28 (5)	25 (4)
其他的, 指定的	8 (1)	5 (<1)	4 (<1)
GOC PS, n (%)			
0	311 (50)	315 (50)	305 (49)
1	272 (44)	270 (43)	267 (43)

[0356]

2	42 (7)	40 (6)	51 (8)
---	--------	--------	--------

[0357] 表2:基线手术-病理特征

[0358]

特征, n (%)	分支I	分支II	分支III
	CP (n=625)	CP + BEV (n=625)	CP + BEV → BEV (n=623)
阶段/残余大小			
III最佳 (宏观的)	218 (35)	205 (33)	216 (35)
III亚最佳的	254 (41)	256 (41)	242 (39)
IV	153 (25)	164 (26)	165 (27)
组织学			
浆液性	543 (87)	523 (84)	525 (84)
内膜样	20 (3)	15 (2)	25 (4)
透明细胞	11 (2)	23 (4)	18 (3)
粘液性	8 (1)	5 (<1)	8 (1)
肿瘤等级			
3a	412 (66)	435 (70)	430 (69)
2	94 (15)	77 (12)	92 (15)
1	33 (5)	28 (4)	16 (3)
未指定/待定	86 (14)	85 (14)	85 (14)

[0359] 实施例2。将贝伐单抗添加至标准化疗(卡铂和帕利他赛)在具有卵巢上皮癌的患者中的一项随机化、两分支、多中心妇科癌症组间试验

[0360] 呈现了来自一项III期随机化研究(ICON7)的结果以评估将贝伐单抗添加至卡铂和帕利他赛的标准化疗的安全性和功效。主要终点是确定在具有新诊断的、经组织学确认的、高风险国际妇科和产科联合会(FIGO) I和IIa期(3级或仅仅透明细胞癌)和FIGO IIb-IV期(所有等级和所有组织学类型)卵巢上皮癌、输卵管癌或原发性腹膜癌,经历过初始手术(大块切除细胞减少性手术或活检,如果患者具有FIGO IV期疾病的话),且不会在疾病进展前考虑细胞减少性手术的女性中将贝伐单抗添加至标准化疗与单独的标准化疗相比是否改善无进展存活(PFS)。次要终点包括总体存活(OS)、响应率、响应持续时间、无生物学进展间隔(定义为提高CA 125或PFIBio)、安全性和生活质量。ICON7是一项2分支随机化临床试验,比较标准疗法(卡铂和帕利他赛)与掺入贝伐单抗,与帕利他赛和卡铂组合的一个调查分支(见图8)。总共1528名入选的女性参与了这项试验。

[0361] 贝伐单抗是鼠抗人VEGF单克隆抗体的重组人源化形式,称作rhuMAb VEGF。贝伐单抗已经进入在具有实体瘤的患者中作为单一药剂用于诱导肿瘤生长抑制及在具有转移性

实体瘤的患者中与细胞毒性化疗组合用于延长疾病进展前时间的临床开发。参见例如 Presta LG, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. Cancer Res 57:4593-9, 1997。

[0362] 患者选择

[0363] ICON7包括具有新诊断的、经组织学确认的、高风险FIGO I和IIa期(3级或仅仅透明细胞癌)和FIGO IIb-IV期(所有等级和所有组织学类型)卵巢上皮癌、输卵管癌或原发性腹膜癌,经历过初始手术(大块切除细胞减少性手术或活检,如果患者具有FIGO IV期疾病的话),且不会在疾病进展前考虑细胞减少性手术的患者。具有可测量的和不可测量的疾病的患者入选。如果患者满足所有下文所述准入标准和无一排除标准,那么认为她们入选,在这项试验中登记:

[0364] 患者准入标准:

[0365] • 年龄≥18岁的女性

[0366] • 经组织学确认,有来自疾病部分的芯活检作为最低要求(单独的细胞学不足以做出诊断)

[0367] ○卵巢上皮癌

[0368] ○原发性腹膜癌(必须是乳头状-浆液性组织学类型的)或

[0369] ○输卵管癌

[0370] • 且达到表3中的标准

[0371] 具有任何阶段的透明细胞癌的患者是入选的,原因在于与这种亚型有关的较差预后。具有先前单独用手术治疗的早期卵巢上皮或输卵管癌的患者在诊断出腹部-骨盆复发时是入选的,只要在疾病进展前没有计划进一步的间隔性细胞减少性疗法。

[0372] 为了这项试验的目的,透明细胞癌定义为>50%的透明细胞成分存在或当地病理学家报告为透明细胞癌。

[0373] 表3:组织学入选标准

[0374]

FIGO 阶段	入选		
	1级	2级	3级
Ia	否 <sup>E</sup>	否 <sup>E</sup>	是
Ib	否 <sup>E</sup>	否 <sup>E</sup>	是
Ic	否 <sup>E</sup>	否 <sup>E</sup>	是
IIa	否 <sup>E</sup>	否 <sup>E</sup>	是
IIb	是	是	是
IIc	是	是	是
III	是	是	是
IV	是	是	是

- [0375] 级别指1(充分分化)、2(中等分化)和3(较差分化)
- [0376] E=不管FIGO阶段,入选的具有透明细胞癌的患者除外。
- [0377] • 患者应当已经经历手术大块切除,由在卵巢癌管理方面有经验的外科医生进行,目的是依照GCIG学会共同宣言的最大手术细胞减少。在疾病进展前不得有计划的手术大块切除。
- [0378] ○具有III和IV期疾病,其中初始手术大块切除不当的患者仍然入选的前提是
- [0379] ■患者具有组织学诊断且
- [0380] ■没有预见到疾病进展前的大块切除手术
- [0381] ○患者应当能够在细胞减少性手术的8周内开始系统疗法。如果患者被随机分入研究分支,那么必须省略第一剂贝伐单抗,如果调查人员决定在手术4周内开始化疗的话。
- [0382] ○如果患者具有两项手术,例如初始手术(切除认为是良性囊肿的东西)和接着的第二妇科-肿瘤学手术(形式上分期和最大程度大块切除卵巢肿瘤),那么记录第二项手术日期作为手术日期;第一次系统治疗在此日期8周内开始。在诊断出卵巢癌的情况下,记录诊断的日期作为初始手术的日期。
- [0383] • ECOG性能状态(PS)0-2
- [0384] • 寿命预期>12周
- [0385] • 适当的骨髓功能(对术后血液检查/计算所有参数)(在随机化前28天内)
- [0386] ○绝对嗜中性粒细胞计数(ANC)  $\geq 1.5 \times 10^9 / \text{L}$
- [0387] ○血小板(PLT)  $> 100 \times 10^9 / \text{L}$
- [0388] ○血红蛋白(Hb)  $> 9 \text{ g/dL}$ (可以是输血后代)
- [0389] • 适当的凝血功能(对术后血液检查/计算所有参数)(在随机化前28天内)
- [0390] ○活化的促凝血酶原时间(APTT)  $\leq 1.5 \times \text{ULN}$ ;或
- [0391] ○国际标准化比(INR)  $\leq 1.5$ (INR的测量是强制性的,如果患者正在接受华法林治疗的话)
- [0392] • 适当的肝功能(对术后血液检查/计算所有参数)(在随机化前28天内)
- [0393] ○血清胆红素(BR)  $\leq 1.5 \times \text{ULN}$
- [0394] ○血清转氨酶  $\leq 2.5 \times \text{ULN}$
- [0395] • 蛋白尿的尿试纸 $< 2+$ 。如果尿试纸 $\geq 2+$ ,那么24小时尿液必须证明24小时中 $\leq 1 \text{ g}$ 蛋白质
- [0396] • 适当的肾功能,定义为血清肌酸酐 $\leq 2.0 \text{ mg/dL}$ 或 $\leq 177 \mu\text{mol/L}$ 患者排除标准:
- [0397] • 非卵巢上皮癌,包括恶性混合型Mullerian肿瘤
- [0398] • 交界性肿瘤(低恶性潜力的肿瘤)
- [0399] • 计划腹膜内细胞毒性化疗
- [0400] • 针对卵巢癌的在先系统抗癌疗法(例如化疗、单克隆抗体疗法、酪氨酸激酶抑制剂疗法或激素疗法)
- [0401] • 在预期的第一剂贝伐单抗之前4周内有手术(包括开放式活检)(允许化疗的第一个周期可以省略贝伐单抗的情况)
- [0402] • 自研究治疗开始的58周时段期间有任何计划的手术(54周治疗另加允许贝伐单抗清除的4周)

- [0403] • 不受控制的高血压(记录患者休息5分钟后和坐姿的血压测量)( $BP > 150/100\text{mmHg}$ 的持久升高,尽管有抗高血压疗法)
- [0404] • 任何先前针对腹部或骨盆的放射疗法
- [0405] • 潜在第一剂贝伐单抗之前4周内有重大外伤损伤
- [0406] • 脑转移或脊髓压缩的历史或临床怀疑。在怀疑脑转移的情况下,脑部CT/MRI是强制性的(在随机化之前4周内)。在怀疑脊髓压缩的情况下,脊髓MRI是强制性的(在随机化之前4周内)
- [0407] • 中枢神经系统(CNS)疾病的历史或证据(神经学检查时),除非用标准医学疗法治疗不当,例如不受控制的癫痫发作
- [0408] • 随机化之前6个月内先前的脑血管意外(CVA)、短暂性缺血发作(TIA)或蛛网膜下出血(SAH)
- [0409] • 研究持续时间及之后至少6个月不愿意使用适当避孕(口服避孕药、宫内避孕器或屏障避孕法联合杀精子啫喱或手术不育)的具有怀孕潜力的能育女性
- [0410] • 怀孕或哺乳的女性
- [0411] • 先前暴露于小鼠CA 125抗体
- [0412] • 在进入这项试验之前30天内参与另一项临床试验,或用任何其它调查药剂治疗
- [0413] • 随机化之前5年内除卵巢癌以外的恶性肿瘤,下文规定的适当治疗的宫颈原位癌和/或基细胞皮肤癌和/或早期子宫内膜癌除外。患者可以为了其它恶性肿瘤例如乳腺或结肠直肠癌接受过先前的辅助化疗,如果在5年前诊断且没有后续复发的证据的话
- [0414] • 排除具有同步原发性子宫内膜癌或过去原发性子宫内膜癌历史的患者,除非达到所有下述描述子宫内膜癌的标准
- [0415] ○阶段<Ib
- [0416] ○不超过浅表子宫肌膜侵入
- [0417] ○无淋巴血管侵入
- [0418] ○不是分化较差的(即不是3级或乳头状浆液性或透明细胞)
- [0419] • 已知对贝伐单抗及其赋形剂或化疗(包括克列莫佛)的超敏感性
- [0420] • 不愈合伤口、溃疡或骨折。具有第二期愈合的粒化切口,没有表面开裂或感染的证据的患者入选,但是需要每三周一次的伤口检查
- [0421] • 血栓形成或出血病症的历史或证据
- [0422] • 临床显著的心血管疾病,包括
- [0423] ○随机化6个月内心肌梗死或不稳定的心绞痛
- [0424] ○纽约心脏联合会(NYHA)  $\geq 2$ 级充血性心力衰竭(CHF)
- [0425] ○控制较差的心律失常,尽管有药疗(具有心率控制的心房纤维颤动的患者入选)
- [0426] ○级别 $\geq 3$ 外周血管病(即有症状且干扰日常活动[ADL]需要修复或修正)
- [0427] • 当前或最近(在第1周期治疗之前10天内)长期使用阿司匹林 $> 325\text{mg}/\text{天}$ (在与贝伐单抗加化疗一起使用时,低剂量阿司匹林( $< 325\text{mg}/\text{天}$ )没有表现出提高3-4级出血的风险,因此这个试验方案中不禁止预防性低剂量阿司匹林在处于动脉血栓栓塞事件风险的患者中的使用)
- [0428] • 当前或最近(在第1周期治疗之前10天内)为治疗目的使用全剂量口服或胃肠外

抗凝剂或溶栓剂(线性开放(line patency)除外,在这种情况下INR必须维持在1.5以下)

[0429] • 事先存在≥2级感觉或运动神经病

[0430] • 给出禁止使用调查药物或使得患者处于治疗相关并发症高风险的疾病或状况的合理怀疑的任何其它疾病、代谢功能障碍、体检发现、或临床实验室发现的证据

[0431] 在3和6个周期的化疗后,及在第1年中的9个月和12个月左右,或者在第12个周期或第18个周期的治疗之后对研究分支的患者通过CT或MRI扫描实施肿瘤评估,其中使用RECIST标准进行测量。在试验的第2年和第3年中,每6个月重复肿瘤评估,此后根据临床指示进行。实施这些扫描,不管患者是否最佳或亚最佳地大块切除,而且不管在极限扫描时是否有可测量的疾病。

[0432] 在每一个化疗周期开始时及然后在试验第1年期间每6周对患者进行临床评估和CA 125测量。在试验第2年和第3年中每3个月对患者进行评估和CA125测量。在第4年和第5年中每6个月对患者进行临床评估和CA125测量。此后,每年重复评估。用CT扫描验证单独基于CA 125标准的进展。如果这是阴性的,那么在怀疑临床进展时重复。

[0433] 在方案限定的疾病进展的证据之后,在患者随访头5年期间每6个月及此后每年跟踪患者的存活和后续卵巢癌治疗。

[0434] 治疗期间实施定期的体检和例行的血检以监测患者安全性。在每一个化疗周期开始时、第1年结束前每6周及然后针对进展的治疗开始前或到第2年结束前每3个月使用EORTC QLQ C-30+OV-28和EQ-5D问卷表评估生活质量(QoL)。由随机化后3年仍然活着的所有患者完成另一份QoL表。研究治疗和随访期间记录不利事件和医疗资源使用。

#### [0435] 结果

[0436] 研究的结果证明贝伐单抗与化疗组合且作为维持疗法继续12个月的总持续时间对于一线卵巢癌是有效的。这种组合在延长无进展存活(PFS)方面是有效的。PFS的主要分析展示化疗分支(CP)中的PFS中值为16.0个月,与化疗加贝伐单抗分支(CPB7.5+)的18.3个月比较,p值(时序检验)为0.0010。危害比(HR)(95%CI)为0.79(0.68;0.91)。差异是显著的。PFS分析汇总于图9和10。

[0437] 基线特征如下:

[0438] 表4:基线特征-人口统计学

[0439]

	CP ( N=764 )	CPB7.5+ ( N=764 )
以岁计的年龄: 均值 ( SD )	56.7 (10.6)	56.5 (10.4)
种族: 白人 (%)	737 (96%)	730 (96%)
性能状态 (ECOG)		
0 (%)	333 (44%)	307 (41%)
1 (%)	375 (49)	391 (52%)
2 (%)	54 (7)	55 (7%)

[0440] 表5: 基线特征-卵巢癌历史

[0441]

	CP ( N=764 )	CPB7.5+ ( N=764 )
癌症起源		
卵巢 ( 上皮 ) ( % )	667 ( 87% )	673 ( 88% )
输卵管 ( % )	29 ( 4% )	27 ( 4% )
原发性腹膜 ( % )	56 ( 7% )	50 ( 7% )
多个位置 ( % )	12 ( 2% )	14 ( 2% )
FIGO分期		

[0442]

I ( % )	65 ( 8% )	54 ( 7% )
II ( % )	80 ( 11% )	83 ( 11% )
III ( % )	522 ( 68% )	523 ( 68% )
IV ( % )	97 ( 13% )	104 ( 14% )

[0443] 表6: 基线特征-卵巢癌历史

[0444]

	CP ( N=764 )	CPB7.5+ ( N=764 )
分化程度		
1级 ( % )	56 ( 7% )	41 ( 5% )
2级 ( % )	142 ( 19% )	175 ( 23% )
3级 ( % )	556 ( 74% )	538 ( 71% )
组织学亚型		
浆液性 ( % )	529 ( 69% )	525 ( 69% )
粘液性 ( % )	15 ( 2% )	19 ( 2% )
内膜样 ( % )	57 ( 7% )	60 ( 8% )
透明细胞 ( % )	60 ( 8% )	67 ( 9% )
其它 ( % )	55 ( 7% )	53 ( 7% )
混合 ( % )	48 ( 6% )	40 ( 5% )

[0445] 表7:基线特征-卵巢癌手术

[0446]

	CP ( N=764 )	CPB7.5+ ( N=764 )
实施大块切除手术: 是 (%)	747 (98%)	751 (98%)
大块切除手术结果: 最佳 (%)	552 (74%)	559 (74%)
手术与第一次试验治疗之间的时间[天]: 均值 (SD)	35.6 (10.2)	35.9 (9.9)

[0447] 贝伐单抗的不利事件的初步评估与先前的研究一致。

[0448] 表8:不利事件(AE)总览

[0449]

	CP ( N=763 )	CPB7.5+ ( N=746 )
具有严重AE的患者	154 (20.2)	279 (37.4%)

[0450]

具有3/4/5级AE的患者	385 (50.5%)	479 (64.2%)
中止任何治疗的患者	98 (12.8%)	293 (39.3%)
因AE而中止任何治疗的患者	68 (8.9%)	162 (21.7%)
所有死亡	131 (17.2%)	107 (14.3%)
所有相关死亡	1 (0.1%)	5 (0.7%)
并非进展所致死亡	16 (2.1%)	19 (2.5%)

[0451] 实施例3。卡铂和吉西他滨加贝伐单抗在具有铂敏感性复发性卵巢、原发性腹膜、或输卵管癌的患者中的一项III期、多中心、随机化、盲试的、安慰剂对照试验

[0452] 卵巢上皮癌(epithelial ovarian carcinoma, EOC)及其组织学和临床等同情况即原发性腹膜癌(PPC)和输卵管癌在美国以每年大约25,000例的发生率发生,而且每年导致大约14,000例死亡。因为该疾病趋于在早期无症状,所以大多数患者最初会呈现晚期(III或IV期)疾病。尽管EOC、PPC、和输卵管癌对多种化疗剂,特别是紫杉烷和铂化合物敏感,但是只有20%>-30%>呈现III或IV期疾病的患者会在5年时活着。具有铂敏感性复发性癌症(定义为自基于铂的化疗方案完成起超过6个月疾病复发)的患者对化疗具有更高的初始响应率;然而,这些患者不认为是可治愈的。最近,美国食品和药品管理局(FDA)批准吉西他滨化疗与卡铂组合用于复发性铂敏感性疾病。卡铂和吉西他滨在具有铂敏感性疾病的患者中导致与单独的卡铂相比统计学显著的无进展存活(PFS)。参见例如Pfisterer, Plante M, Vergote I, et al. Gemcitabine plus Carboplatin compared with carboplatin in

patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer:an intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG.J.Clin Oncol 2006;24:4699707.

[0453] 血管发生表现为EOC的发生和随后进展二者中的一项重要因素。Yoneda及其同事(1998)在EOC的异种移植植物模型中证明了肿瘤生长速率与血管密度成正比,而且恶性腹水(EOC中与较差的结果有关的一个特征)的发生与血管内皮生长因子(VEGF)的表达有关。参见例如Yoneda J,Kuniyasu H,Crispens MA,et al.Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice.J Natl Cancer Inst.1998 Mar 18;90:44754。其它研究证明了EOC中的VEGF表达与微血管密度的关联。此外,研究显示了EOC中通过免疫组织化学检测得到的CD31(血管内皮的一种标志物)表达密度与存活逆相关。

[0454] 这个实施例描述一项安慰剂对照、随机化、多中心III期研究,评估在具有铂敏感性复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌的女性中与卡铂(曲线下面积[AUC]4,第1天,每21天)及吉西他滨( $1000\text{mg}/\text{m}^2$ ,第1天和第8天,每21天)组合施用贝伐单抗( $15\text{mg}/\text{kg}$ ,第1天,每21天)的功效和安全性。在大约2.5年的时段里登记了约480名患者。将患者随机化入卡铂和吉西他滨及安慰剂或卡铂和吉西他滨及贝伐单抗。另外,在随机化时,将患者通过铂敏感性疾病(自最后一次基于铂的治疗起6-12个月复发对自最后一次基于铂的治疗起>12个月复发)和针对复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌的细胞减少手术(实施手术的相对于不实施手术的)分层。

[0455]

<b>患 者</b>	484名1:1随机分入两个治疗分支之一		
		阶段A(周期1-6;一个周期=3周)	阶段B(直至疾病进展=3周)
	分 支 1	化疗+ 安慰剂	安慰剂
	分 支 2	Avastin + 化疗	Avastin

[0456] 研究由下文所示两个分支组成。还可见图11。

[0457] 分支1:卡铂(AUC 4IV)和吉西他滨( $1000\text{mg}/\text{m}^2$ )化疗(6个周期直至20个周期),接着是安慰剂

[0458] 分支2:Avastin( $15\text{mg}/\text{kg}$ ,6个周期直至10个周期),与卡铂和吉西他滨化疗(6个周期直至10个周期)组合,接着是继续单独使用Avastin( $15\text{mg}/\text{kg}$ )直至疾病进展。

[0459] 依照使用估算肾小球过滤速率(GFR)的Calvert公式,卡铂剂量计算为达到浓度 $x$ 时间的靶AUC;例如为了此处的目的,认为GFR等同于肌酸酐清除。卡铂(AUC)剂量给药的Calvert公式总剂量(mg)=靶AUC(以 $\text{mg}/\text{mL}/\text{min}$ 计) $\times$ [GFR(以 $\text{mL}/\text{min}$ 计)25]肌酸酐清除可依照常规指导方针来计算。

[0460] 患者选择

[0461] 具有自基于铂的化疗起>6个月复发(第一次复发)的卵巢上皮癌、PPC、或输卵管癌

的患者会入选这项研究。下文列出了别的具体准入和排除标准。患者准入标准：

- [0462] 患者必须达到下述标准才能入选研究进入：
- [0463] • 签署知情同意表
- [0464] • 年龄 $\geqslant$ 18岁
- [0465] • 组织学记录基于铂的化疗后 $>6$ 个月复发的卵巢癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌
- [0466] • 患者必须具有复发性卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌。这必须是卵巢上皮癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌的第一次复发。
- [0467] ●入选组织学细胞类型的例子包括：浆液性腺癌，子宫内膜样腺癌，粘液性腺癌，未分化的癌，透明细胞腺癌，移行细胞癌，恶性Brenner氏肿瘤，或其它方面未规定的腺癌
- [0468] • 没有复发性背景中的在先化疗
- [0469] • 依照改良RECIST的可测量疾病，有至少一处在至少一个维度上可精确测量的损伤(记录最长维度)
- [0470] • 每处可测量损害必须在通过常规技术、CT和磁共振成像(MRI)测量时是20mm或在通过螺旋CT测量时是10mm。
- [0471] • 自在先放射疗法或手术大于28天且自在先放射疗法或手术恢复
- [0472] • ECOG性能状态0或1
- [0473] • 使用有效避孕手段(对于有怀孕潜力的女性)
- [0474] • 有能力遵照研究和随访规程
- [0475] 患者排除标准
- [0476] 达到任何下述标准的患者会排除在研究进入之外。
- [0477] ●疾病特异性排除
- [0478] ○复发性卵巢癌、原发性腹膜癌、或输卵管癌的在先化疗治疗：激素疗法(即孕酮、雌激素、抗雌激素、芳香酶抑制剂)不会认为是在先化疗方案。参与研究治疗的患者不允许有伴随的抗新生物抗激素疗法(包括他莫昔芬、芳香酶抑制剂、等)。可给予低剂量(生理性)雌激素激素替换疗法(HRT)。
- [0479] ○腹痛、胃肠穿孔、或腹内脓肿的历史
- [0480] ○具有GI阻塞的临床症状或体征或需要胃肠外补水、胃肠外营养、或管喂养的患者
- [0481] ○具有不能由穿刺术或新进的手术规程解释的腹部自由空气的证据的患者
- [0482] ●一般医学排除
- [0483] ○寿命预期 $<12$ 周
- [0484] ○当前、最近(距第1周期第1天4周内)、或计划参与实验药物研究
- [0485] ○筛选临床实验室值
- [0486] ■粒细胞计数 $<1500/\mu\text{L}$
- [0487] ■血小板计数 $<100,000/\mu\text{L}$
- [0488] ■血红蛋白 $<8.5\text{g/dL}$ (血红蛋白可通过输血或促红细胞生成素或其它批准的造血生长因子来支持)
- [0489] ■血清胆红素 $>2.0\times$ 正常上限(ULN)
- [0490] ■碱性磷酸酶、天冬氨酸转氨酶(AST)、和/或丙氨酸转氨酶(ALT) $>2.5\times$ ULN(对于

具有肝转移的患者,AST、ALT>5x ULN)

[0491] ■ 血清肌酸酐 $\geq 1.6$

[0492] ■ 国际标准化比 (INR)  $>1.5$  和/或活化的部分促凝血酶原激酶时间 (aPTT)  $>1.5 \times$  ULN (接受抗凝疗法的患者除外)

[0493] ■ 对于服用全剂量华法林的患者,INR在范围内 (通常在2和3之间) 且aPTT $<1.2 \times$  ULN

[0494] ○ 距第1周期第1天5年内有其它恶性肿瘤的历史,转移或死亡风险可忽略的肿瘤除外,诸如不当控制的皮肤鳞状细胞癌或基细胞癌或宫颈原位癌

[0495] ○ 给出禁止使用调查药物或可能影响结果解读或使得患者处于治疗并发症高风险的疾病或状况的合理怀疑的任何其它疾病、代谢功能障碍、体检发现、或临床实验室发现

[0496] ● 贝伐单抗特异性排除

[0497] ○ 系统贝伐单抗 (Avastin®) 或其它VEGF或VEGF受体靶向剂使用的历史

[0498] ○ 不当控制的高血压 (定义为服用抗高血压药物时收缩血压 $>150\text{mmHg}$ 和/或舒张血压 $>100\text{mmHg}$ )

[0499] ○ 高血压危象或高血压脑病的在先历史

[0500] ○ 纽约心脏联合会II类或更大CHF

[0501] ○ 第1周期第1天 (第一次贝伐单抗/安慰剂输注的日子) 之前6个月内心肌梗死或不稳定心绞痛的历史

[0502] ○ 在研究登记之前6个月内中风或TIA的历史

[0503] ○ 已知的CNS疾病,治疗好的脑转移除外

[0504] ■ 治疗好的脑转移定义为治疗后没有进展或出血的证据且当时不需要地塞米松,如筛选期间通过临床检查和脑成像 (MRI或CT) 确认的。这些转移不得位于脑干、中脑、脑桥、延髓、或软脑膜中。脑转移的治疗可包括全脑放射疗法 (WBRT) 、放射手术 (伽马刀、LINAC、或等同的) 或主治医师认为适当的组合。具有通过在第1天之前3个月内实施的神经手术切除或脑活检来治疗的CNS转移的患者会被排除。

[0505] ○ 重大血管病 (例如主动脉瘤、主动脉解剖) 的历史

[0506] ○ 在第1周期第1天之前6个月内有最近的外周动脉血栓

[0507] ○ 在第1周期第1天之前1个月内有咯血的历史 (每次发作 $\geq 1/2$ 茶匙的鲜红色血液)

[0508] ○ (在治疗性抗凝缺失下) 出血素质或重大凝血病的证据

[0509] ○ 在第1周期第1天之前28天内有大手术、开放式活检、或重大外伤或研究过程期间预期需要大手术

[0510] ○ 在第1周期第1天之前7天内有取芯活检或其它小手术规程,排除血管通道装置放置

[0511] ○ 严重的不愈合伤口;活动性溃疡;或未治疗的骨折

[0512] ○ 筛选时有蛋白尿,如通过筛选时UPCR $\geq 1.0$ 所证明的

[0513] ○ 已知对贝伐单抗的任何成分有超敏感性

[0514] ○ 妊娠 (阳性妊娠测试) 或哺乳

[0515] ● 具有怀孕潜力的患者必须使用有效的避孕手段。

[0516] 这项研究,OCEANS,登记了与实施例1(GOG 0218)和实施例2(ICON7)不同的患者群体;先前治疗过的铂敏感性卵巢癌的女性入选这项试验。具有卵巢癌的女性可接受基于铂的化疗作为一线治疗。使用接受最后一剂基于铂的化疗与疾病重现(复发)之间的时间来帮助确定下一线治疗中使用的化疗选项。如果疾病在完成初始基于铂的化疗后六个月以后重现,那么女性具有“铂敏感性”卵巢癌。如果在完成初始基于铂的化疗六个月内重现,认为卵巢癌是“铂抗性”的。

[0517] 结果

[0518] 贝伐单抗加化疗在具有卵巢癌的女性中的这项III期研究达到了它的主要终点(primary endpoint)。研究的目的是在先前治疗过的具有卵巢癌的女性中评估将贝伐单抗加入标准化疗中,接着是延长的单独使用贝伐单抗直至疾病进展的功效和安全性,与单独的化疗进行比较。研究显示了贝伐单抗加化疗,接着是继续使用单独的贝伐单抗直至疾病进展与单独的化疗相比延长具有先前治疗过的(复发性)铂敏感性卵巢癌的女性没有疾病恶化而活着的时间(无进展存活或PFS)。PFS定义为从随机化到由调查人员确定的疾病进展或任何原因所致死亡(以先发生者为准)的时间。PFS的主要终点由研究调查人员来评估。可测量疾病由调查人员使用改良RECIST(Therasse et al.2000)来评估,例如整个研究过程中每9周评估。参见例如Therasse P,Arbuck SG,Eisenhauser EA,et al.New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors.J Natl Cancer Inst 2000;92:205-1。次要终点包括总体存活(OS)、响应率、响应持续时间和安全性。没有观察到新的安全性发现,而且不利事件与在贝伐单抗的先前的重要试验中观察到的一致。

## 序列表

<110> 霍夫曼-拉罗奇有限公司

<120> 用于治疗卵巢癌的抗血管发生疗法

<130> P4411R1-W0

<141> 2011-02-22

<150> US 61/439,819

<151> 2011-02-04

<150> US 61/360,059

<151> 2010-06-30

<150> US 61/351,231

<151> 2010-06-03

<150> US 61/307,095

<151> 2010-02-23

<160> 2

<210> 1

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列是合成的

<400> 1

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

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列是合成的

<400> 2

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

随机化 (周期=21 天):分支 I (标准化疗)

- A 阶段      化疗 \* 第 1 天 每 21 天 x 6 个周期  
                 安慰剂 (对于贝伐单抗) \*\* 第 1 天 每 21 天  
                 第 2 周期开始 x 5 个周期
- ↓  
再登记
- ↓  
B 阶段      安慰剂 (对于贝伐单抗) \*\* 第 1 天 每 21 天 第 7-22 周期

分支 II (并行贝伐单抗)

- A 阶段      化疗 \* 第 1 天 每 21 天 x 6 个周期  
                 贝伐单抗 \*\* 第 1 天 每 21 天 第 2 周期开始 x 5 个周期
- ↓  
再登记
- ↓  
B 阶段      安慰剂 (对于贝伐单抗) \*\* 第 1 天 每 21 天 第 7-22 周期

分支 III (延长贝伐单抗)

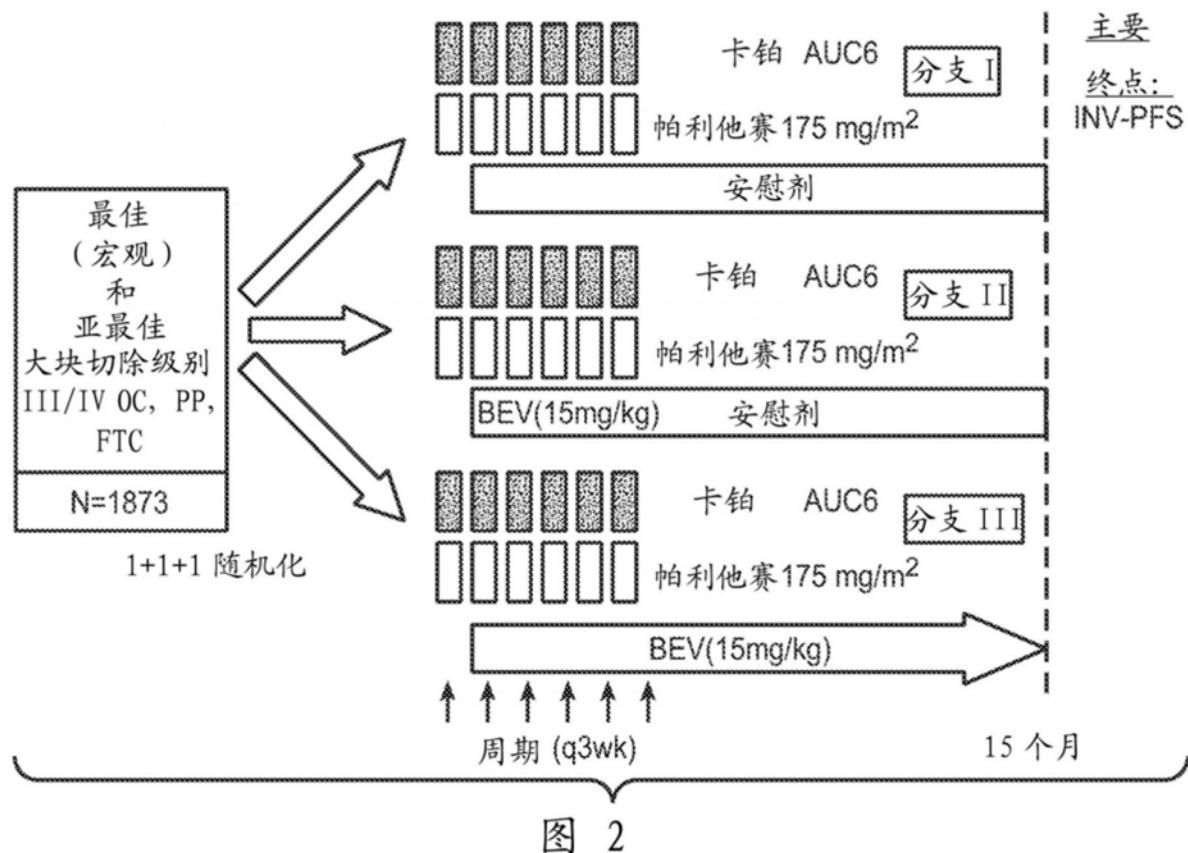
- A 阶段      化疗 \* 第 1 天 每 21 天 x 6 个周期  
                 贝伐单抗 \*\* 第 1 天 每 21 天 第 2 周期开始 x 5 个周期
- ↓  
再登记
- ↓  
B 阶段      贝伐单抗 \*\* 第 1 天 每 21 天 第 7-22 周期

\* 仅第 1-6 周期, 第 1 天, 3 小时里帕利他赛  $175\text{mg}/\text{m}^2$  IV, 接着是 30 分钟里卡铂 AUC 6 IV (注意: 帕利他赛可以用 1 小时里多西他赛  $75\text{mg}/\text{m}^2$  IV 替代。)

\*\* 第 2 周期开始的每个周期, 第 1 天, 贝伐单抗 / 安慰剂  $15\text{mg}/\text{kg}$  IV

图 1

图1



## 选择不利事件

在第 2 周期和最后一次治疗的日子之后 30 天之间发作

不利事件 (有限制时的级别), n (%)	分支 I CP (n=601)	分支 II CP + BEV (n=607)	分支 III CP + BEV → BEV (n=608)
GI 事件 <sup>a</sup> (级别 ≥ 2)	7 (1.2)	17 (2.8)	16 (2.6)
高血压 (级别 ≥ 3)	10 (1.7) <sup>b</sup>	36 (5.9) <sup>b</sup>	63 (10.4) <sup>b</sup>
蛋白尿 (级别 ≥ 3)	4 (0.7)	4 (0.7)	10 (1.6)
疼痛 (级别 ≥ 3)	55 (9.2) <sup>b</sup>	73 (12.0) <sup>b</sup>	83 (13.7) <sup>b</sup>
嗜中性粒细胞减少 (级别 ≥ 4)	347 (57.7)	384 (63.3)	385 (63.3)
热性嗜中性粒细胞减少	21 (3.5)	30 (4.9)	26 (4.3)
静脉血栓栓塞事件	35 (5.8)	32 (5.3)	41 (6.7)
动脉血栓栓塞事件	5 (0.8)	4 (0.7)	4 (0.7)
CNS 出血	0	0	2 (0.3)
非 CNS 出血 (级别 ≥ 3)	5 (0.8)	8 (1.3)	13 (2.1)
RPLS	0	1 (0.2)	1 (0.2)

RPLS= 可逆性后部脑白质病综合征

<sup>a</sup>穿孔 / 瘢 / 坏死 / 漏<sup>b</sup>p<0.05

图 3

图3

治疗阶段的选择不利事件

选择不利事件，n (有限制时的级别) 患者，n 周期，n	分支 I CP			分支 II CP + BEV			分支 III CP + BEV → BEV		
	(n=601)	(n=483)	(n=607)	(n=457)	(n=608)	(n=464)			
治疗阶段 <sup>a</sup>							细胞毒性 (Cycles 2-6)	维持 (Cycles ≥7)	细胞毒性 (Cycles 2-6)
GI 事件 <sup>b</sup> ( 级别 ≥ 2 )	6	1	16	1	15	1			
高血压 ( 级别 ≥ 3 )	3	7	24	12	25	38			
蛋白尿 ( 级别 ≥ 3 )	2	2	4	0	0	10			
疼痛 ( 级别 ≥ 3 )	28	23	42	31	46	37			
嗜中性粒细胞减少 ( 级别 ≥ 4 )	345	2	382	2	385	0			
热性嗜中性粒细胞减少	21	0	30	0	26	0			
静脉血栓栓塞事件	26	9	27	5	27	14			
动脉血栓栓塞事件	4	1	1	3	3	1			
CNS 出血	0	0	0	0	0	2			
非 CNS 出血 ( 级别 ≥ 3 )	3	2	8	0	10	3			
RPLS	0	0	1	0	0	1			

a 在最后一次治疗 30 天之内发作  
b 穿孔 / 塌 / 坏死 / 漏

图 4

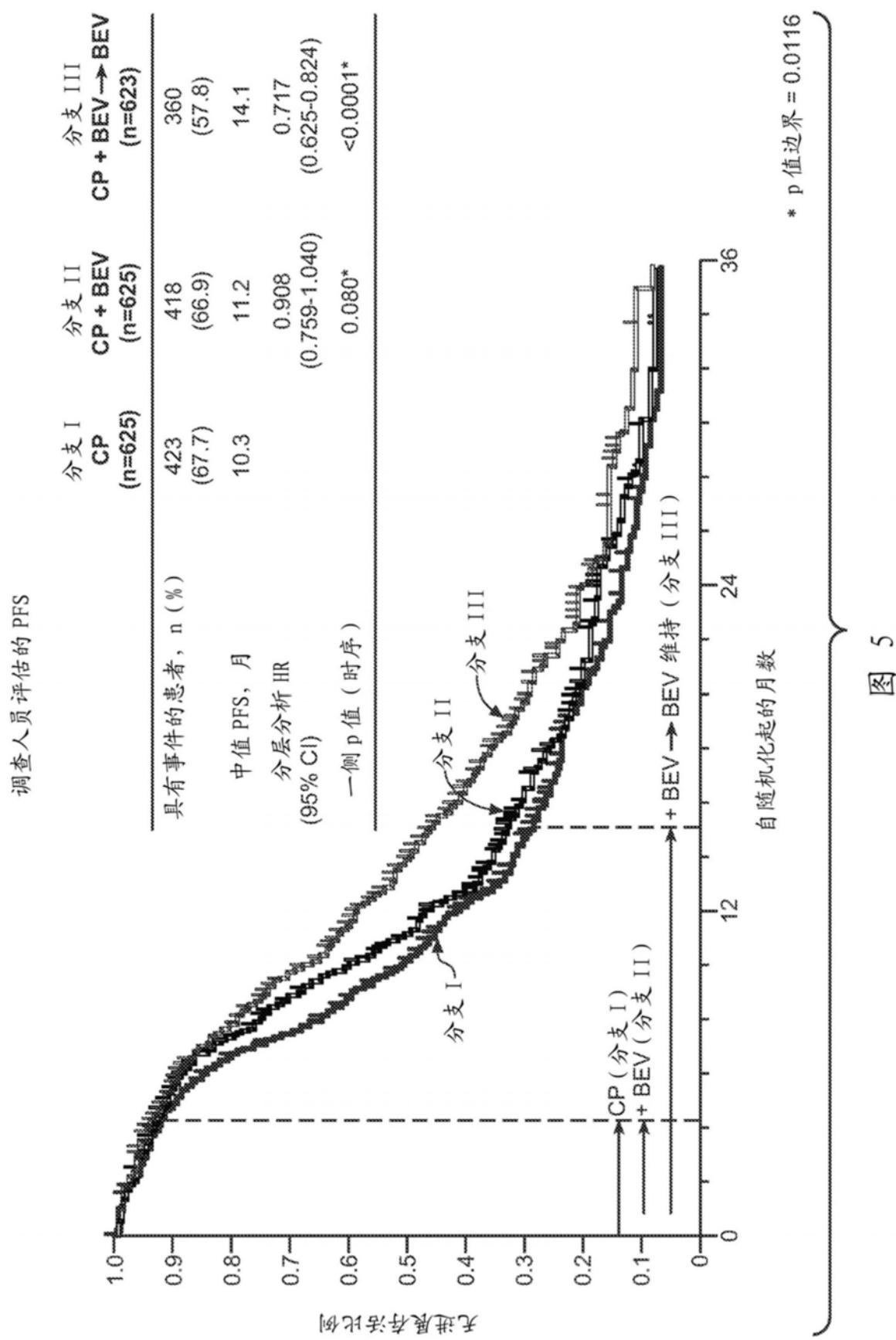


图 5

图5

使用 CA-125 作为进展确定物的结果

方案限定的 PFS 分析 CA-125 审查的 PFS 分析

中值 PFS, 月

CP (分支 I)	10.3	12.0
CP + BEV → BEV (分支 III)	14.1	18.0

中值 PFS 的绝对差异 (月)

3.8 6.0

危害比

0.717 0.645

对 CA-125 审查的, %

CP (分支 I)	0	20
CP + BEV → BEV (分支 III)	0	29

图 6

图6

## 亚组分析

CP + BEV → BEV (分支 III) 对 CP (分支 I)

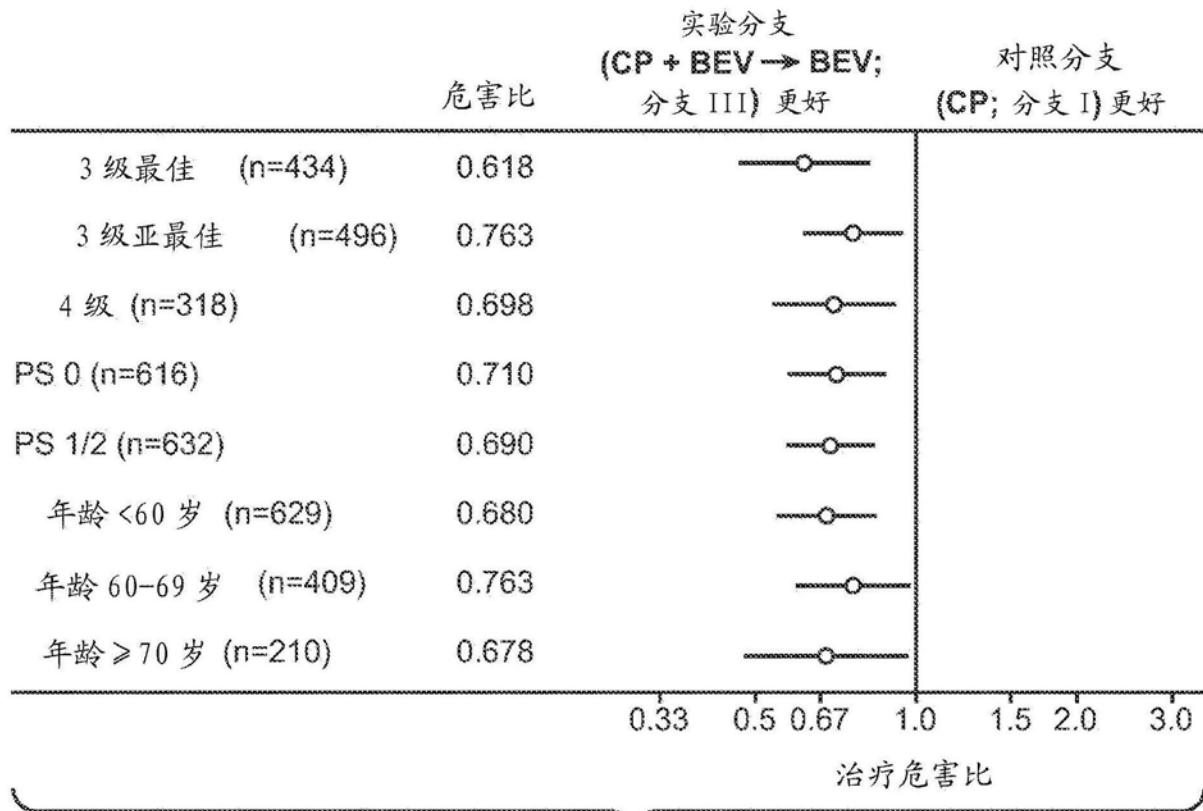
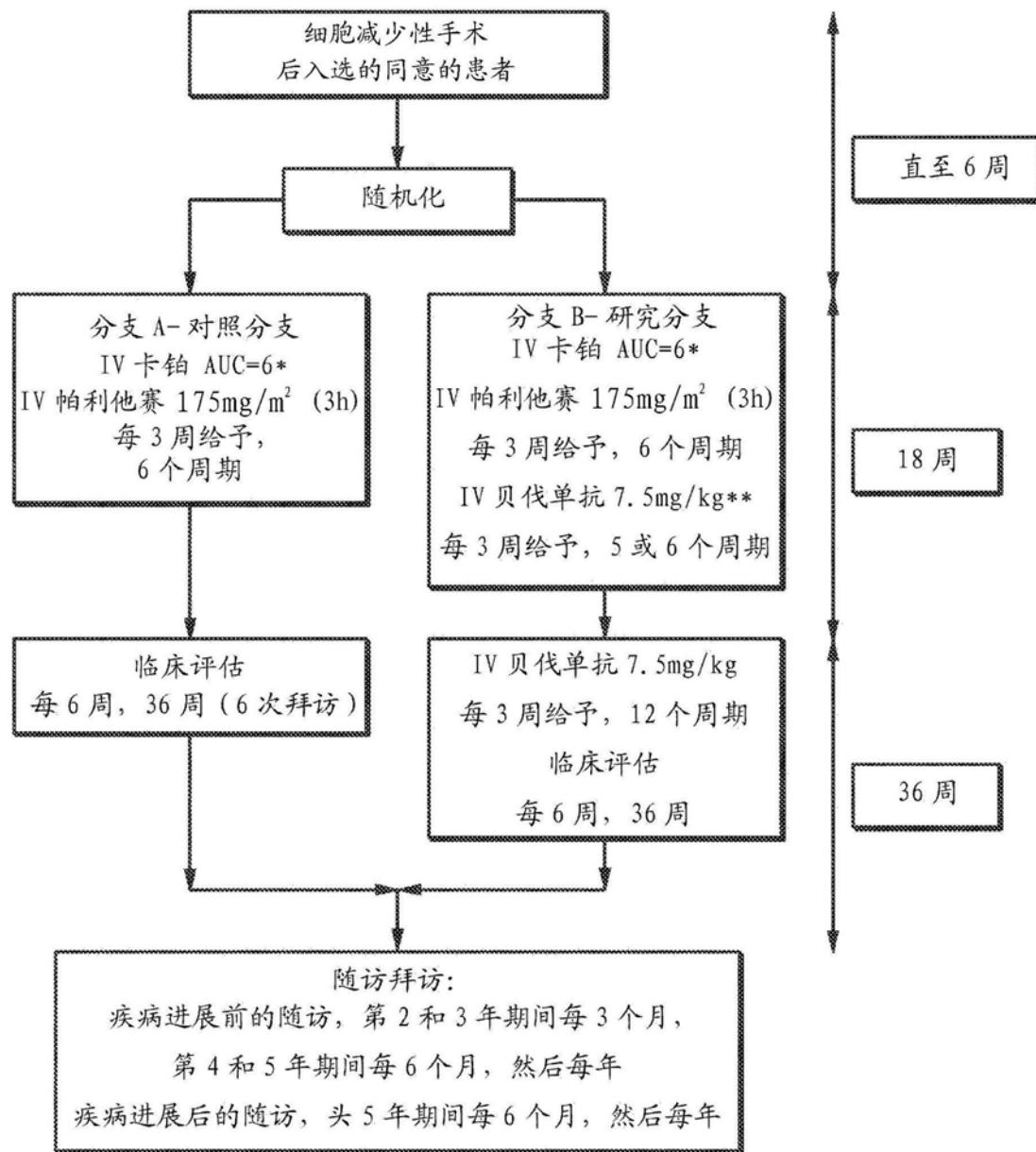


图 7

图7

## 1. 试验图式

ICON7 试验图式



\* 为 ICON7 推荐的卡铂剂量是 AUC6 (除非由个别 GCIG 小组预先确定为不同，

\*\* 第 1 周期可省略贝伐单抗，如果细胞毒性化疗必须在手术 4 周内开始的话。

图 8

图8

## ICON7 试验的 PFS 分析

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
有事件的患者	392 ( 51.3 %)	367 ( 48.0 %)
无事件的患者	372 ( 48.7 %)	397 ( 52.0 %)
距事件的时间 (月)		
中值 #	16.0	18.3
中值的 95% CI #	[14.3;17.3]	[17.8;19.1]
范围 ##	0.0 to 32.9	0.0 to 32.9
p 值 (时序检验)	0.0010*	
危害比	0.79	
95% CI	[0.68;0.91]	

图 9

图9

## 研究图式

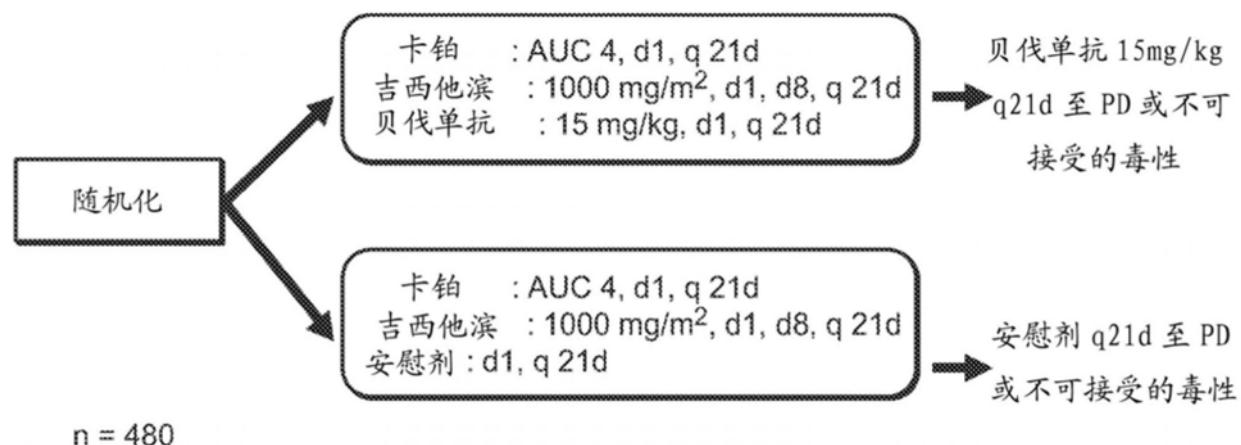


图 11

图11

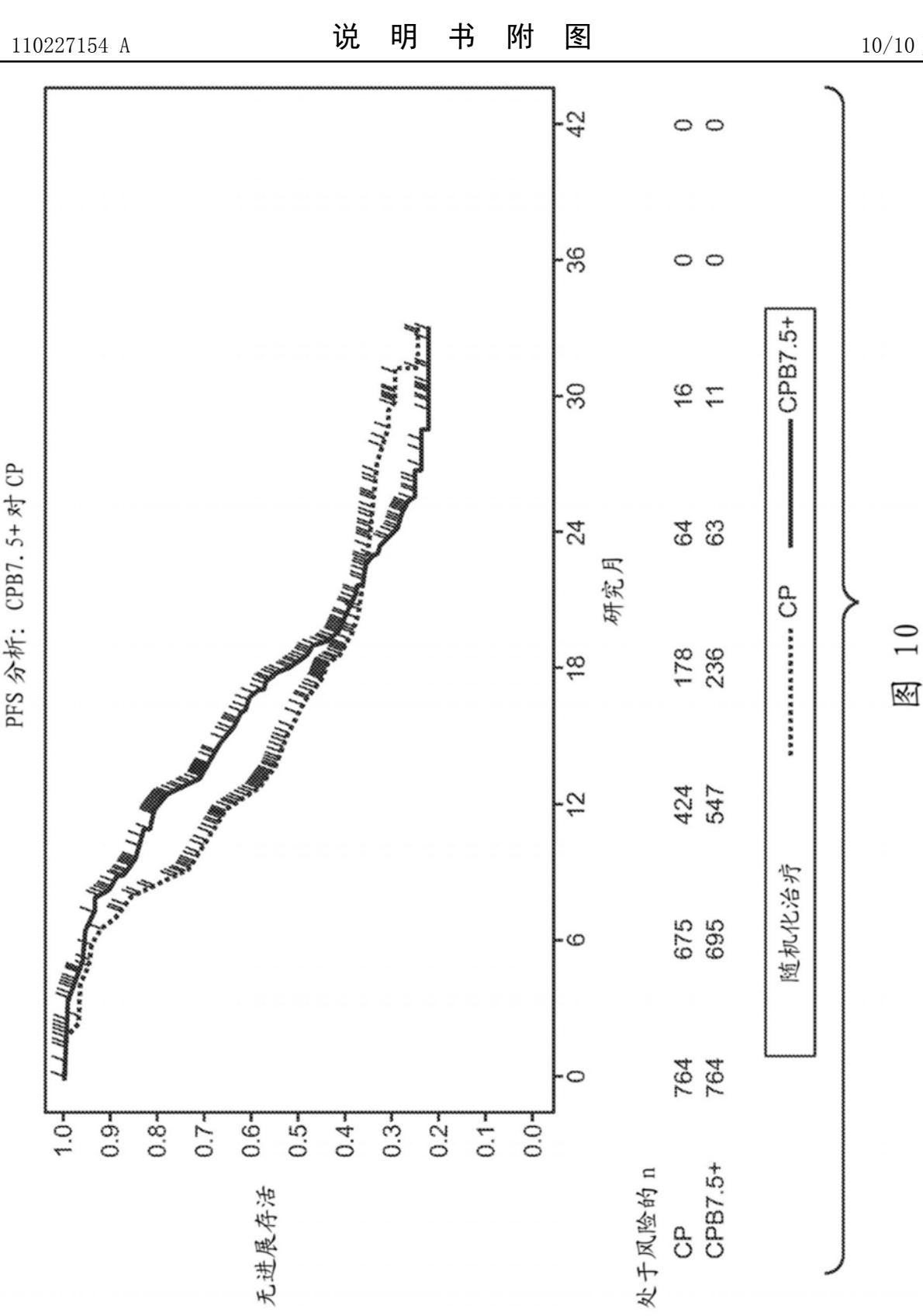


图 10