



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103562226 A

(43) 申请公布日 2014. 02. 05

(21) 申请号 201280012969. X

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所
11256

(22) 申请日 2012. 03. 12

代理人 陈文平

(30) 优先权数据

61/451, 848 2011. 03. 11 US

61/604, 281 2012. 02. 28 US

(51) Int. Cl.

C07K 16/32 (2006. 01)

A61K 39/395 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2013. 09. 11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/028792 2012. 03. 12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/125573 EN 2012. 09. 20

(71) 申请人 梅里麦克制药股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 G · 加西亚 W · 库巴塞科 V · 莫尤
G · 麦克贝思

权利要求书4页 说明书22页 附图2页

(54) 发明名称

使用 EGFR 家族受体的抑制剂来治疗激素难治性乳腺癌

(57) 摘要

本发明提供通过使肿瘤细胞与 ErbB3 抑制剂, 优选地抗 ErbB3 抗体接触来遏制激素难治性乳腺肿瘤的生长方法。本发明还提供通过向患者施用调蛋白与 ErbB3 或与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抑制剂来治疗患者的激素难治性乳腺癌的方法, 所述抑制剂是抗 ErbB3 抗体或抗 ErbB2 抗体。所述治疗方法可进一步包括选择患有激素难治性乳腺癌的患者, 然后向所述患者施用所述抑制剂。所述治疗方法还可包括向所述患者施用雌激素受体拮抗剂或芳香酶抑制剂, 并且可进一步包括向所述患者施用不为 ErbB3 抑制剂、雌激素受体拮抗剂或芳香酶抑制剂的至少一种其它抗癌剂与 ErbB3 抑制剂的组合。

1. 一种 ErbB3 抑制剂,其用于治疗雌激素受体阳性或阴性激素难治性乳腺癌。
2. 一种遏制雌激素受体阳性或阴性激素难治性乳腺癌细胞的生长的方法,所述方法包括使所述细胞与有效量的 ErbB3 抑制剂接触。
3. 一种遏制患者的雌激素受体阳性或阴性激素难治性乳腺癌肿瘤的生长方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。
4. 一种治疗雌激素受体阳性或阴性激素难治性乳腺癌肿瘤的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。
5. 一种治疗患者的乳腺癌肿瘤的方法,所述方法包括
选择患有雌激素受体阳性或阴性激素难治性乳腺癌肿瘤的患者;以及
向所述患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。
6. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法,其中所述 ErbB3 抑制剂是抗 ErbB3 抗体。
7. 如权利要求 6 所述的方法,其中所述抗 ErbB3 抗体包含含有分别在 SEQ ID NO:1 和 2 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区。
8. 如权利要求 6 所述的方法,其中所述抗 ErbB3 抗体包含含有分别在 SEQ ID NO:42 和 43 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区。
9. 如权利要求 6 所述的方法,其中所述抗 ErbB3 抗体以氨基末端至羧基末端的顺序包含分别如在 SEQ ID NO:3-5 中展示的 V_H CDR1、2 和 3 序列,并且以氨基末端至羧基末端的顺序包含分别如在 SEQ ID NO:6-8 中展示的 V_L CDR1、2 和 3 序列。
10. 如权利要求 3 至 5 中任一项所述的方法,其进一步包括向所述患者共同施用有效量的不为 ErbB3 抑制剂的至少一种其它抗癌剂。
11. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述至少一种其它抗癌剂包括至少一种化疗药物。
12. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述至少一种其它抗癌剂选自自由以下组成的组:铂基化疗药物、紫杉烷类、酪氨酸激酶抑制剂、丝氨酸 / 苏氨酸蛋白质激酶抑制剂、抗 EGFR 抗体、抗 ErbB2 抗体和其组合。
13. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述至少一种其它抗癌剂包括 EGFR 抑制剂。
14. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述 EGFR 抑制剂包括抗 EGFR 抗体。
15. 如权利要求 14 所述的方法,其中所述抗 EGFR 抗体包括西妥昔单抗 (cetuximab)。
16. 如权利要求 13 所述的方法,其中所述 EGFR 抑制剂是 EGFR 信号转导的小分子抑制剂。
17. 如权利要求 16 所述的方法,其中所述 EGFR 信号转导的小分子抑制剂选自自由以下组成的组:阿法替尼 (afatinib)、吉非替尼 (gefitinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、卡奈替尼 (canertinib)、培利替尼 (pelitinib)、厄洛替尼 (erlotinib)、PKI-166、PD158780 和 AG1478。
18. 如权利要求 10 所述的方法,其中所述至少一种其它抗癌剂包括 VEGF 抑制剂。
19. 如权利要求 18 所述的方法,其中所述 VEGF 抑制剂包括抗 VEGF 抗体。
20. 如权利要求 19 所述的方法,其中所述抗 VEGF 抗体是贝伐单抗 (bevacizumab)。
21. 如权利要求 1 至 20 中任一项所述的方法,其中所述激素难治性乳腺癌呈雌激素受体阳性 (ER+)。

22. 如权利要求 21 所述的方法,其进一步包括共同施用雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。

23. 如权利要求 22 所述的方法,其中所述雌激素受体拮抗剂选自雷洛昔芬(raloxifene)、他莫西芬(tamoxifen)、阿非昔芬(afimoxifene;4-羟基他莫西芬)、阿佐昔芬(arzoxifene)、拉索昔芬(lasofloxone)、托瑞米芬(toremifene)和氟维司群(fulvestrant);并且所述芳香酶抑制剂选自依西美坦(exemestane)、阿那曲唑(anastrozole)、来曲唑(letrozole)、氨鲁米特(aminoglutethimide)、睾内酯(testolactone)、伏氯唑(vorozole)、福美司坦(formestane)和法倔唑(fadrozole)。

24. 如权利要求 22 所述的方法,其中所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

25. 如权利要求 21 所述的方法,其进一步包括共同施用 mTOR 抑制剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。

26. 如权利要求所述的方法 25,其中所述 mTOR 抑制剂选自坦罗莫司(temsirolimus)、依维莫司(everolimus)、西罗莫司(sirolimus)和地磷莫司(ridaforolimus);并且所述芳香酶抑制剂选自依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。

27. 如权利要求 26 所述的方法,其中所述芳香酶抑制剂是依西美坦。

28. 如权利要求 26 所述的方法,其中所述 mTOR 抑制剂是依维莫司。

29. 一种抑制肿瘤细胞中的由调蛋白(heregulin)介导的雌激素受体活化的方法,所述方法包括 1) 选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者,所述患者患有恶性肿瘤,在所述患者已经变得具有抗性之后对从所述患者获取的肿瘤活检进行的分析表明,所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 HER2,并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化,以及 2) 向以这种方式选择的患者施用可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗体,其中所述抗体以可在所述患者血流中产生一定浓度的所述抗体的剂量来施用,所述浓度是足以在体外使 MCF7 细胞中的调蛋白诱导的雌激素受体磷酸化抑制至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%或至少 70%的浓度,其中所述剂量下的所述施用可有效治疗所述肿瘤。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其中所述恶性肿瘤是乳腺、卵巢、肺或皮肤的肿瘤。

31. 如权利要求 29 所述的方法,其中所述 HER2 的过度表达由所述肿瘤活检测试为 HER2⁺⁺ 或 HER2⁺⁺⁺ 或 HER2FISH 阳性来指示。

32. 如权利要求 29 至 31 中任一项所述的方法,其中所述抗雌激素疗法是用雌激素受体阻断剂来治疗和用芳香酶抑制剂来治疗中的一种或两种。

33. 如权利要求 32 所述的方法,其中所述施用是通过静脉内注射或输注。

34. 如权利要求 31 至 33 中任一项所述的方法,其中所述抗体是抗 ErbB2 抗体。

35. 如权利要求 29 至 33 中任一项所述的方法,其中所述抗体是抗 ErbB3 抗体。

36. 如权利要求 35 所述的方法,其中所述抗体包含含有分别在 SEQ ID NO:1 和 2 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区。

37. 如权利要求 35 所述的方法,其中所述抗 ErbB3 抗体包含含有分别在 SEQ ID NO:42 和 43 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区。

38. 如权利要求 29 至 33 中任一项所述的方法,其中所述抗体是抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 双

特异性抗体。

39. 如权利要求 38 所述的方法,其中所述双特异性抗体选自自由以下组成的组: ALM、A5-HSA-ML3.9、A5-HSA-B1D2、B12-HSA-B1D2、A5-HSA-F5B6H2、H3-HSA-F5B6H2、F4-HSA-F5B6H2 和 H3-HSA-B1D2。

40. 如权利要求 29 至 39 中任一项所述的方法,其中所述抗体的施用抑制所述肿瘤的生长、侵袭性和转移中的一项或多项。

41. 如权利要求 29 至 40 中任一项所述的方法,其进一步包括共同施用雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。

42. 如权利要求 41 所述的方法,其中所述雌激素受体拮抗剂选自雷洛昔芬、他莫西芬、阿非昔芬(4-羟基他莫西芬)、阿佐昔芬、拉索昔芬、托瑞米芬和氟维司群;并且所述芳香酶抑制剂选自依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。

43. 如权利要求 42 所述的方法,其中所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

44. 一种用于抑制调蛋白介导的雌激素受体活化的组合物,所述抑制在选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者之后进行,所述患者患有恶性肿瘤,在所述患者已经变得具有抗性之后对从所述患者获取的肿瘤活检进行的分析表明,所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 ErbB2,并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化,所述组合物包含:抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB3 抗体。

45. 一种用于抑制调蛋白介导的雌激素受体活化的组合物,所述抑制在选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者之后进行,所述患者患有恶性肿瘤,在所述患者已经变得具有抗性之后对从所述患者获取的肿瘤活检进行的分析表明,所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 ErbB2,并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化,所述组合物包含:结合 ErbB2 并且抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 抗体。

46. 如权利要求 45 所述的组合物,其中所述抗 ErbB2 抗体是培妥珠单抗(pertuzumab)。

47. 一种用于抑制调蛋白介导的雌激素受体活化的组合物,所述抑制在选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者之后进行,所述患者患有恶性肿瘤,在所述患者已经变得具有抗性之后对从所述患者获取的肿瘤活检进行的分析表明,所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 ErbB2,并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化,所述组合物包含:抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 双特异性抗体。

48. 一种用于治疗激素难治性雌激素受体阳性癌症的组合物,所述组合物包含抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB3 抗体。

49. 一种用于治疗激素难治性雌激素受体阳性癌症的组合物,所述组合物包含结合 ErbB2 并且抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 抗体。

50. 如权利要求 44 至 49 中任一项所述的组合物,其用于与雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种共同施用。

51. 如权利要求 45 所述的组合物,其中所述抗 ErbB2 抗体是培妥珠单抗。

52. 一种用于治疗激素难治性雌激素受体阳性癌症的组合物,所述组合物包含抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 双特异性抗体。

53. 如权利要求 50 所述的组合物,其中所述雌激素受体拮抗剂选自雷洛昔芬、他莫西芬、阿非昔芬(4-羟基他莫西芬)、阿佐昔芬、拉索昔芬、托瑞米芬和氟维司群;并且所述芳香酶抑制剂选自依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。

54. 如权利要求 53 所述的组合物,其中所述芳香酶抑制剂是来曲唑。

55. 如权利要求 38 所述的方法,其中所述双特异性抗体是包含 SEQ ID NO:44 的抗体。

56. 如权利要求 47 或 52 所述的组合物,其中所述双特异性抗体是包含 SEQ ID NO:44 的抗体。

57. 如权利要求 44 至 59 中任一项所述的组合物,其用于与 mTOR 抑制剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种共同施用。

58. 如权利要求 57 所述的组合物,其中所述 mTOR 抑制剂选自坦罗莫司、依维莫司、西罗莫司和地磷莫司;并且所述芳香酶抑制剂选自依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。

59. 如权利要求 58 所述的方法,其中所述芳香酶抑制剂是依西美坦。

60. 如权利要求 58 所述的方法,其中所述 mTOR 抑制剂是依维莫司。

使用 EGFR 家族受体的抑制剂来治疗激素难治性乳腺癌

[0001] 背景

[0002] 在女性中,乳腺癌是最常见癌症之一并且是第五大最常见的癌症死因。由于乳腺癌的异质性,10 年无进展存活率可根据阶段和类型而有很大的不同,在 98%至 10%之间。不同形式的乳腺癌可具有显著不同的生物学特性和临床行为。因此,患者乳腺癌的归类已经成为确定治疗方案的关键部分。举例来说,除了组织学类型和等级的归类以外,现在对于乳腺癌的常规评估还涉及激素受体(雌激素受体(ER)和孕酮受体(PR))的表达以及 HER2(ErbB2)的表达,因为当前有许多靶向激素受体或 HER2 的治疗方式可资利用。其它癌症例如子宫或卵巢癌可以类似的方式来表征。ER 和 PR 均为核受体(即,其主要位于细胞核,而非细胞表面),并且已经开发直接或间接地靶向 ER 和 / 或 PR 的小分子抑制剂。HER2 或 2 型人表皮生长因子受体是通常位于细胞表面上的受体,并且已经开发靶向 HER2 的抗体作为治疗剂。HER2 是 EGFR 家族(还包括 HER1(EGFR)、HER3(ErbB3)和 HER4(ErbB4))中唯一的不能够单独结合活化配体的成员。因此,HER2 只有在与另一个 EGFR 家族成员如 HER3 一起合并成异源二聚体受体复合物时才能充当受体。归类为表达雌激素受体的癌症(雌激素受体阳性,“ER+”)可用 ER 拮抗剂如他莫西芬(tamoxifen)来治疗。类似地,归类为表达高水平 HER2 的癌症可用抗 HER2 抗体如曲妥珠单抗(trastuzumab),或用 HER2 活性受体酪氨酸激酶抑制剂如拉帕替尼(lapatinib)(其还抑制 EGFR 酪氨酸激酶)或 AG879 来治疗。

[0003] 他莫西芬几十年来一直用作抗御 ER+ 乳腺癌的疗法,并且现在代表 ER+ 乳腺癌的一线疗法的标准组成部分。他莫西芬是选择性雌激素受体调节剂(例如,雷洛昔芬(raloxifene)、托瑞米芬(toremifene)和氟维司群(fulvestrant))的类别的成员,其中他莫西芬、托瑞米芬和氟维司群是雌激素受体拮抗剂,并且雷洛昔芬在骨骼中具有促效活性,并且在乳腺癌和子宫癌中具有拮抗活性。这些拮抗药物特异性地阻断对于雌激素受体的激素活化并且是用于治疗尚未变得激素难治的 ER+ 乳腺癌的有效治疗剂。举例来说,他莫西芬在初始治疗后在超过一半的 ER+ 乳腺癌患者中引起好转。长期使用激素受体阻断受到以下现象的限制:在长期治疗之后,出现激素难治性肿瘤特性。大多数经过治疗的肿瘤最终变得激素难治是因为其变得具有他莫西芬抗性。

[0004] 因此,用阻断雌激素合成的激素拮抗剂和其它激素调节药物如芳香酶抑制剂(例如,依西美坦(exemestane)、阿那曲唑(anastrozole)、来曲唑(letrozole)、阿那曲唑(anastrozole)、伏氯唑(vorozole)、福美司坦(formestane)和法偈唑(fadrozole))来进行激素阻断可延迟 ER+ 肿瘤的发展,但是由于经常出现对于此类激素调节药物的抗性,因此产生了对于有效抗御激素难治性 ER+ 癌症的抗癌治疗剂的长期需求。本公开满足此需求并且提供其它益处。

[0005] 概述

[0006] 本文提供治疗激素难治性乳腺癌(例如,肿瘤),包括雌激素受体阳性和雌激素受体阴性激素难治性乳腺癌的方法,以及可用于此类方法的药物组合物。所述方法和组合物至少部分地基于以下发现: ErbB3 抑制可遏制激素难治性乳腺癌细胞的生长。具体地说,施用抗 ErbB3 抗体被认为可遏制激素难治性乳腺癌细胞的生长。此外,现在发现调蛋白

(heregulin) 对 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的活化可进而活化 (通过引起雌激素受体的磷酸化) 雌激素受体, 这种现象被认为在 ER+ 肿瘤中出现对于激素调节药物的抗性中起作用。因此, 本文还提供通过抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合来抑制雌激素受体活化的方法和组合物。此类方法可结合如本文描述的一种或多种雌激素受体调节药物的共同施用来有利地实施。

[0007] 因此, 提供 ErbB3 抑制剂用于治疗激素难治性乳腺癌的用途 (例如, 其用于制造药物的用途)。在另一方面, 公开遏制激素难治性乳腺癌肿瘤 (任选地为雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌肿瘤) 生长的方法, 所述方法包括使肿瘤与有效量的 ErbB3 抑制剂接触。在另一方面, 提供遏制患者的激素难治性乳腺癌肿瘤 (任选地为雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌肿瘤) 生长的方法, 所述方法包括向患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。在另一方面, 提供治疗激素难治性乳腺癌肿瘤 (任选地为雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌肿瘤) 的患者的方法, 所述方法包括向患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。在另一方面, 提供治疗患者的乳腺癌肿瘤的方法, 所述方法包括: 选择患有激素难治性乳腺癌肿瘤 (任选地为雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌肿瘤) 的患者; 以及向患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。

[0008] 在示例性实施方案中, ErbB3 抑制剂是抗 ErbB3 抗体。示例性抗 ErbB3 抗体为 Ab#6, 其包含含有分别在 SEQ ID NO: 1 和 2 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区。另一个示例性抗 ErbB3 抗体为如下抗体, 其任选地以氨基末端至羧基末端的顺序包含分别如在 SEQ ID NO: 3-5 中展示的 V_H CDR1、2 和 3 序列, 并且任选地以氨基末端至羧基末端的顺序包含分别如在 SEQ ID NO: 6-8 中展示的 V_L CDR1、2 和 3 序列。在另一个实施方案中, 抗 ErbB3 抗体具有重链和轻链, 其包含分别在 SEQ ID NO 42 和 43 中阐明的氨基酸序列。在其它实施方案中, 抗 ErbB3 抗体为 Ab#3 (其包含分别如在 SEQ ID NO: 9 和 10 中展示的 V_H 和 V_L 序列)、Ab#14 (其包含分别如在 SEQ ID NO: 17 和 18 中展示的 V_H 和 V_L 序列)、Ab#17 (其包含分别如在 SEQ ID NO: 25 和 26 中展示的 V_H 和 V_L 序列) 或 Ab#19 (其包含分别如在 SEQ ID NO: 33 和 34 中展示的 V_H 和 V_L 序列)。在另一个实施方案中, 施用抗 ErbB3 抗体可抑制肿瘤的生长或侵袭性或转移。

[0009] 在另一方面, 本文提供的治疗方法进一步包括向患者共同施用不为 ErbB3 抑制剂的至少一种其它抗癌剂。在一个实施方案中, 至少一种其它抗癌剂包括至少一种化疗药物, 如选自以下组成的组的药物: 铂基化疗药物、紫杉烷类、酪氨酸激酶抑制剂、丝氨酸 / 苏氨酸蛋白质激酶抑制剂、抗 EGFR 抗体、抗 ErbB2 抗体、双特异性抗 ErbB2 / ErbB3 抗体和其组合。

[0010] 在另一个实施方案中, 至少一种其它抗癌剂包括 EGFR 抑制剂, 如抗 EGFR 抗体或 EGFR 信号转导的小分子抑制剂。优选抗 EGFR 抗体包括西妥昔单抗 (cetuximab)。抗 EGFR 抗体的其它实例包括 MM-151、Sym004、马妥珠单抗 (matuzumab)、帕木单抗 (panitumumab)、尼莫珠单抗 (nimotuzumab) 和 mAb806。EGFR 信号转导的示例性小分子抑制剂包括吉非替尼 (gefitinib)。EGFR 信号转导的适用小分子抑制剂的其它实例包括但不限于阿法替尼 (afatinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、卡奈替尼 (canertinib)、厄洛替尼 (erlotinib) HCL、培利替尼 (pelitinib)、PKI-166、PD-158780 和 AG1478。

[0011] 在另一个实施方案中, 至少一种其它抗癌剂包括血管内皮生长因子 (VEGF) 抑制剂。示例性 VEGF 抑制剂包括抗 VEGF 抗体, 如贝伐单抗 (bevacizumab) 抗体。在另一个实

施方案中,至少一种其它抗癌剂包括雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。雌激素受体拮抗剂的实例包括雷洛昔芬、他莫西芬、阿非昔芬 (afimoxifene ;4- 羟基他莫西芬)、阿佐昔芬 (arzoxifene)、拉索昔芬 (lasofoxone)、托瑞米芬和氟维司群。芳香酶抑制剂的实例包括但不限于依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特 (aminoglutethimide)、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。在一个实施方案中,芳香酶抑制剂为来曲唑。在另一个实施方案中,至少一种其它抗癌剂包括丝氨酸 / 苏氨酸蛋白质激酶抑制剂,如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 抑制剂、磷脂酰肌醇-3- 激酶 (PI3K) 抑制剂,或有丝分裂原活化激酶激酶 (MEK) 抑制剂。mTOR 抑制剂的实例包括但不限于坦罗莫司 (temsirolimus)、依维莫司 (everolimus)、西罗莫司 (sirolimus),或地磷莫司 (ridaforolimus)。PI3K 抑制剂的实例包括但不限于 CAL101 和 PX-866,它们当前都在临床试验中进行测试。MEK 抑制剂的实例包括但不限于 XL518、CI-1040、PD035901、司美替尼 (selumetinib) 和 GSK1120212。在一个实施方案中,至少一种其它抗癌剂包括 mTOR 抑制剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。在一个实施方案中,至少一种抗癌剂包括依维莫司和依西美坦。在另一个实施方案中,至少一种其它抗癌剂包括 IGF1R 抑制剂。IGF1R 抑制剂的实例包括达罗珠单抗 (dalotuzumab)、AMG-479、R1507、菲替木单抗 (figitumumab)、IMC-A12、XL228、BMS-754807 和 MM-141。

[0012] 在一个实施方案中,激素难治性乳腺癌为 ER+。

[0013] 在另一个方面,本文提供抑制肿瘤细胞中的由调蛋白介导的雌激素受体活化的方法,所述方法包括 1) 选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者,所述患者患有恶性肿瘤,在患者已经变得具有抗性之后对从患者获取的肿瘤活检进行的分析表明,所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 HER2,并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化,以及 2) 向以这种方式选择的患者施用可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗体,其中所述抗体以可在患者血液中产生一定浓度抗体的剂量来施用,所述浓度是足以在体外使 MCF7 细胞中的调蛋白诱导的雌激素受体磷酸化抑制至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%或至少 70%的浓度,其中所述剂量下的所述施用可有效治疗肿瘤。

[0014] 所述细胞可在肿瘤中,通过活检,所述肿瘤为 ER+ 和 HER2⁺⁺ 或 HER2⁺⁺⁺,或每微克蛋白质中含有至少 0.02pg HRG (例如,通过 ELISA),或为 HER2FISH 阳性。抑制通过向胞外液中引入可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗体来完成。在一个实施方案中,肿瘤为恶性肿瘤。

[0015] 所要治疗的肿瘤的类型非限制实例包括乳腺、卵巢、肺或皮肤 (例如,黑素瘤) 的癌症。

[0016] 肿瘤可在患者体内并且将抗体引入血流中,方法是向患者施用一定量的抗体,从而在血流中有效产生足够浓度的抗体。施用可通过静脉内注射或输注。在一个实施方案中,抗体可为抗 HER3 (抗 ErbB3) 抗体,例如具有包含分别在 SEQ ID NO :1 和 2 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区的抗体。在另一个实施方案中,抗体可为包含含有分别在 SEQ ID NO : 42 和 43 中阐明的氨基酸序列的 V_H 和 / 或 V_L 区的抗 ErbB3 抗体。抗体可为抗 HER2 (抗 ErbB2) 抗体,例如 C6.5、C6.5 双功能抗体,或培妥珠单抗 (pertuzumab)。抗体还可为抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 双特异性抗体。作为 scFv 人血清白蛋白 (HSA) 偶联物的许多双特异性抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 抗体描述于美国专利公布 20110059076 和 PCT 公布号 W02009 / 126920 中,所述公

布各自公开 B2B3-1 和其它双特异性抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 抗体, 其为 scFv HSA 偶联物并且适用于本文提供的方法和组合物中, 包括 ALM、A5-HSA-ML3. 9、A5-HSA-B1D2、B12-HSA-B1D2、A5-HSA-F5B6H2、H3-HSA-F5B6H2、F4-HSA-F5B6H2 和 H3-HSA-B1D2。在一个实施方案中, 双特异性抗体包括 SEQ ID NO:44。其它合适双特异性抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 抗体在美国专利号 7, 332, 580 和 7, 332, 585 中公开并且要求保护。优选地, 施用抗体可抑制肿瘤的生长或侵袭性或转移。

[0017] 因此, 提供 ErbB3 抑制剂 (例如, 抗 ErbB3 抗体) 或抗 ErbB2 抗体或双特异性抗 ErbB2 / ErbB3 抗体 (例如, 其用于制造药物的用途), 其用于抑制调蛋白介导的雌激素受体活化, 并且另外或替代地用于治疗激素难治性乳腺癌 (或另一种激素难治性癌症如卵巢癌、子宫癌或宫颈癌) 或芳香酶抗性雌激素受体阳性癌症如乳腺癌、卵巢癌、子宫癌或宫颈癌得到公开。在另一个实施方案中, 提供 ErbB3 抑制剂, 例如, 抗 ErbB3 抗体或抗 ErbB2 抗体或双特异性抗 ErbB2 / ErbB3 抗体 (例如, 其用于制造药物的用途), 其用于在与芳香酶抑制剂的组合疗法中治疗雌激素受体阳性癌症 (例如, 乳腺癌、卵巢癌、子宫癌或宫颈癌)。此类组合在用此类组合治疗的癌症中阻止或预防激素抗性的出现。在其它实施方案中, 所述方法进一步包括共同施用雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或两种。在其它方面, 本文提供用于抑制调蛋白介导的雌激素受体活化的组合物, 所述抑制在选择已经用抗雌激素疗法治疗恶性疾病并且已经变得对于此疗法具有抗性的人患者之后进行, 所述患者患有恶性肿瘤, 在患者已经变得具有抗性之后对从患者获取的肿瘤活检进行的分析表明, 所述肿瘤为雌激素受体阳性的并且过度表达 ErbB2, 并且所述活化包括雌激素受体的磷酸化, 所述组合物包含: 抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB3 抗体; 结合 ErbB2 并且抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 抗体 (例如, 培妥珠单抗); 或包含抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的抗 ErbB2 / 抗 ErbB3 双特异性抗体 (例如, 包含 SEQ ID NO:44 的抗体 (在美国专利公布号 20110059076 中也称为 SEQ ID NO:16)。在一些实施方案中, 癌症为激素难治性雌激素受体阳性癌症。

[0018] 在一个实施方案中, 这些组合物各自任选地包含雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂中的一种或多种。雌激素受体拮抗剂的实例包括雷洛昔芬、他莫西芬、阿非昔芬 (4- 羟基他莫西芬)、阿佐昔芬、拉索昔芬、托瑞米芬和氟维司群。芳香酶抑制剂的实例包括依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。在示例性实施方案中, 芳香酶抑制剂为来曲唑。

[0019] 在另一个实施方案中, 这些组合物各自任选地包含 mTOR 抑制剂和芳香酶抑制剂中的一种或多种。mTOR 抑制剂的实例包括坦罗莫司、依维莫司、西罗莫司或地磷莫司。在示例性实施方案中, mTOR 抑制剂为依维莫司。芳香酶抑制剂的实例包括依西美坦、阿那曲唑、来曲唑、氨鲁米特、睾内酯、伏氯唑、福美司坦和法倔唑。在示例性实施方案中, 芳香酶抑制剂为依西美坦。

[0020] 在另一个实施方案中, 这些组合物各自任选地包含 MEK 抑制剂、PI3K 抑制剂和 IGF-1R 抑制剂中的一种或多种。

[0021] 附图简述

[0022] 图 1 包括溶胞物的凝胶的蛋白质印迹的图像, 所述溶胞物是来自未处理的对照细胞 (“C”)、用 (“MM121”) 预处理或未用 MM-121 预处理的细胞, 所述细胞以调蛋白

β 1 (“HRG”)、乙胞素 (betacellulin) (“BTC”) 或雌激素 (“E2”) 刺激。上图展示来自用于磷酸化 ErbB3 (pErbB3) 具有特异性的抗体探测的印迹的结果, 中图展示用于磷酸化 (ser167 和 ser118) 雌激素受体 α (pER) 具有特异性的抗体探测的印迹, 并且下图展示作为加载对照的用于甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 具有特异性的抗体探测的印迹。

[0023] 图2为来自图1中的对照 (“Con.”)、调蛋白 (“HRG”)、乙胞素 (“BTC”)、调蛋白加 MM-121 (“HRG+MM121”) 和乙胞素加 MM-121 (“BTC+MM121”) 泳道各自中的相关 (pER) 条带的密度测量结果的图。条带密度相对于 GAPDH 密度进行标准化, 并且对于如 X 轴所指示的对照和经过刺激的细胞 (在加以和未加以 MM-121 预处理的两种情况下) 来展示标准化的密度 (Y 轴)。HRG 与 BTC 泳道之间的箭头指示 HRG 泳道中的 pER 条带。

[0024] 图3为显示在来曲唑抗性小鼠异种移植模型中随着时间的推移 (以周为单位, x 轴) 的肿瘤体积 (y 轴) 的图。展示用以下物质处理的小鼠的数据: 作为对照的 PBS (正方形)、单独 MM-121 (“MM”, 三角形)、单独来曲唑 (“Let”, 倒三角形), 和 MM-121 与来曲唑的组合 (MM+Let, 菱形)。在 14 周标记处, 来曲唑小鼠被划分成三组: 单独来曲唑 (“Let”, 倒三角形)、单独 MM-121 (“Let $\rightarrow$ MM”, 圆圈) 和 MM-121 与来曲唑的组合 (“Let $\rightarrow$ MM+Let”, 星形)。

[0025] 详细说明

[0026] 本文提供治疗激素难治性乳腺癌和其它 ER+ 癌症, 尤其过度表达 HER2 的那些癌症的方法。还提供用于此治疗的药物组合物, 和其用于此治疗的用途。如实施例中进一步描述, 认为 ErbB3 抑制剂, 例如抗 ErbB3 抗体, 或可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的其它抗体能够遏制激素难治性乳腺癌细胞在体内的生长、侵袭性和转移中的一种或多种过程。因此, 提供遏制激素难治性乳腺癌 (例如, 雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌) 的生长侵袭性或转移的方法和组合物以及所述方法和组合物用于进行上述遏制的用途, 以及例如以 ErbB3 抑制剂来治疗患者的此类乳腺癌的方法和组合物。

[0027] ER+ 癌症例示用于包括抗雌激素剂的治疗方案的候选者。此类癌症可包括但不限于某些乳腺、卵巢、子宫、子宫内膜、肺、骨骼、脑、膀胱、肝脏和泌尿生殖系统癌症。

[0028] 癌症可为 ErbB2 基因扩增性癌症和 / 或表达 (HER2+) 或过度表达 (HER2++, HER2+++) ErbB2 的癌症。ErbB2, 也称为 HER2 或 Neu, 是经由其细胞内酪氨酸激酶活性来产生细胞内信号 (例如, 在配体活化时) 的细胞表面跨膜受体蛋白。在过量状态下, 此类信号可例如通过触发细胞分裂来促进肿瘤发生。ErbB2 基因在许多类型的人恶性疾病中扩增和 / 或过度表达, 所述恶性疾病包括但不限于乳腺、卵巢、子宫内膜、胰脏、结直肠、前列腺、唾液腺、皮肤、肾脏和肺。取决于 ErbB2 过度表达的水平, 过度表达 ErbB2 的癌症被标示为 HER2+++ 或 HER2++, 其中 HER2+++ 指示最高水平的 HER2 表达。HER2+++ 和 HER2++ 状态通常通过免疫测定如免疫组织化学 (IHC), 例如, **Herceptest**[®] 来确定。根据美国病理学家学会 (College of American Pathologists; CAP) 和美国临床肿瘤学会 (American Society of Clinical Oncology; ASCO) 提供的准则, 标示为 HER2 阴性的肿瘤是 IHC 测试展示无染色或在 <30% 的肿瘤细胞中具有膜染色的肿瘤; 如果 IHC 测试导致在 >30% 的肿瘤细胞中有淡淡的膜染色, 那么肿瘤就标示为 “HER2”+, 其中仅仅一部分膜被染色; 如果 IHC 检测导致在 >30% 的肿瘤细胞中有微弱或中度 (完全) 膜染色, 那么肿瘤就标示为 “HER2++”; 并且如果 IHC 测试导致在 >30% 的肿瘤细胞中有均一、强烈的染色, 那么肿瘤就标示为 “HER2+++”。

ErbB2 基因扩增可通过例如 FISH(荧光原位杂交法) 来确定, 其中 HER2 扩增型癌细胞是超过两个 HER2 基因拷贝为 HER2 扩增型的那些癌细胞, 并且包含 HER2 扩增型癌细胞的细胞和 / 或肿瘤被称为 “FISH 阳性”。

[0029] 定义:

[0030] 如本文所使用, 术语 “激素难治性乳腺癌” 是指对于抗激素疗法的作用具有抗性的乳腺癌。激素难治性乳腺癌是从一开始就对内分泌疗法具有抗性或在治疗时获得抗性的雌激素受体阳性乳腺癌。约 25-50% 的激素受体阳性乳腺癌从一开始就对内分泌疗法具有抗性, 并且基本上所有转移性乳腺癌发展出获得性抗性。

[0031] 如本文所使用, 术语 “雌激素受体阳性” (ER+) 是指肿瘤细胞关于雌激素受体 (ER) 的得分为阳性 (即, 使用常规组织病理学方法) 的肿瘤 (例如, 癌瘤), 通常为乳腺肿瘤。根据 CAP 和 ASCO 提供的建议, 如果至少 1% 的所测试肿瘤细胞 (例如, 通过免疫组织化学所测试) 的得分为 ER 阳性, 那么肿瘤为 ER+。

[0032] 如在本文中可互换使用的术语 “ErbB3” 和 “HER3” 是指人 ErbB3 蛋白质, 如美国专利号 5, 480, 968 中所描述。

[0033] 如在本文中可互换使用的术语 “ErbB2”、“HER2” 和 “HER2 受体” 是指人 neu 致癌基因的蛋白质产物, 所述致癌基因也被称为 ErbB2 致癌基因或 HER2 致癌基因。

[0034] 如本文所使用, 术语 “ErbB3 抑制剂” 意图包括抑制、向下调节、遏制或下调 ErbB3 活性的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂, 和生物剂如抗体、干扰 RNA (shRNA, siRNA)、可溶性受体等。示例性 ErbB3 抑制剂为抗 ErbB3 抗体。

[0035] 如本文所使用的 “抗体” 是由一个或多个多肽组成的蛋白质, 所述多肽包含大致上由免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因片段编码的结合结构域, 其中所述蛋白质免疫特异性地结合抗原。公认的免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因, 以及无数免疫球蛋白可变区基因。轻链分类为 κ 或 λ 。重链分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ , 其进而分别定义免疫球蛋白类别 IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE。典型免疫球蛋白结构单元包括四聚体, 其主要由两对相同的多肽链构成, 每一对具有一个 “轻” 链 (约 25kD) 和一个 “重” 链 (约 50-70kD)。“V_L” 和 “V_H” 分别指这些轻链和重链的可变区。

[0036] 抗体包括完整免疫球蛋白以及其抗原结合片段, 所述片段可通过用各种肽酶消化来产生, 或以化学方法从头合成或使用重组 DNA 表达技术合成。此类片段包括例如 F(ab)₂ 二聚体和 Fab 单体。有用的抗体包括单链抗体 (以单一多肽链形式存在的抗体), 例如, 单链 Fv 抗体 (scFv), 其中 V_H 和 V_L 链接合在一起 (直接或经由肽连接子) 以形成连续多肽。

[0037] “免疫特异性 (immunospecific)” 或 “免疫特异性地 (immunospecifically)” 涉及经由大致上由免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因片段编码的结构域来结合相关蛋白质的一个或多个表位的抗体, 但是其大致上不识别和结合含有抗原分子的混合群体的样品中的其它分子。典型地, 抗体以不大于 50nM 的 K_d 值免疫特异性地结合同源抗原, 如通过表面等离子体共振测定或细胞结合测定所测量。此类测定的使用在本领域中是熟知的, 并且描述于以下实施例 3 中。

[0038] “抗 ErbB3 抗体” 是免疫特异性地结合 ErbB3 胞外结构域的抗体, 并且 “抗 ErbB2 抗体” 是免疫特异性地结合 ErbB2 胞外结构域的抗体。抗体可为分离的抗体。与 ErbB3 或 ErbB2 的此结合展现不大于 50nM 的 K_d 值, 如通过表面等离子体共振测定或细胞结合测定所

测量。示例性抗 ErbB3 抗体抑制 EGF 样配体介导的 ErbB3 磷酸化,例如抗 ErbB2 抗体抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合。EGF 样配体包括 EGF、TGF α 、乙胞素、肝素结合表皮生长因子、biregulin、epigen、外调蛋白(epiregulin)和双调蛋白(amphiregulin),其通常结合 ErbB1 并且诱导 ErbB1 与 ErbB3 的异源二聚化。

[0039] 如本文所使用的术语“双特异性抗体”是指包含两个抗原结合位点的蛋白质,第一结合位点展现与第一抗原或表位的免疫特异性结合并且第二结合位点展现与不同于第一抗原或表位的第二抗原或表位的免疫特异性结合。抗 ErbB3 / 抗 ErbB2 双特异性抗体是包含两个结合位点的抗体,一个结合位点免疫特异性地结合 ErbB3 胞外结构域并且另一个结合位点免疫特异性地结合 ErbB2 胞外结构域。

[0040] 如本文所使用,术语“EGFR 抑制剂”或“EGFR 信号转导的抑制剂”意图包括抑制、向下调节、遏制或下调 EGFR 信号转导活性的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂(例如小分子酪氨酸激酶抑制剂),和生物剂如抗体、干扰 RNA(shRNA, siRNA)、可溶性受体等。

[0041] 如本文所使用,术语“VEGF 抑制剂”意图包括抑制、向下调节、遏制或下调 VEGF 信号转导活性的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂(例如小分子酪氨酸激酶抑制剂),和生物剂如抗体、干扰 RNA(shRNA, siRNA)、可溶性受体等。

[0042] 如本文所使用,术语“mTOR 抑制剂”意图包括抑制、向下调节、遏制或下调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂(例如小分子丝氨酸 / 苏氨酸激酶抑制剂),和生物剂如抗体、干扰 RNA(shRNA, siRNA)、可溶性受体等。

[0043] 如本文所使用,术语“MEK 抑制剂”意图包括抑制、向下调节、遏制或下调有丝分裂原活化蛋白质激酶激酶(MEK)的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂(例如小分子丝氨酸 / 苏氨酸激酶抑制剂),和生物剂如抗体、干扰 RNA(shRNA, siRNA)、可溶性受体等。

[0044] 如本文所使用,术语“PI3K 抑制剂”意图包括抑制、向下调节、遏制或下调磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)的治疗剂。此术语意图包括化合物如小分子抑制剂(例如小分子丝氨酸 / 苏氨酸激酶抑制剂),和生物剂如抗体、干扰 RNA(shRNA, siRNA)、可溶性受体等。

[0045] 如在本文中可互换使用的术语“遏制”和“抑制”是指生物活性(例如,肿瘤细胞生长)的任何统计上显著的降低,包括活性的完全阻断。举例来说,“抑制”可指生物活性降低约 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。

[0046] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人或其它哺乳动物。

[0047] 如本文所使用的术语“治疗”是指本文描述的治疗性或预防性措施。“治疗”方法采用向患者例如患有激素难治性乳腺癌肿瘤的患者施用 ErbB3 抑制剂如本文描述的那些 ErbB3 抑制剂,以便治愈、延迟疾病或病症或复发性疾病或病症、降低其严重程度,或改善其一个或多个症状,或延长患者的存活期超过在没有此治疗的情况下的预期存活期。

[0048] 如本文所使用的术语“有效量”是指药剂的在施用至患者时足以实现激素难治性乳腺癌的治疗、预后或诊断的量,所述药剂如 ErbB3 抑制剂,例如抗 ErbB3 抗体。治疗有效量取决于所治疗的患者和疾病状况、患者的体重和年龄、疾病状况的严重程度、施用方式而变化,其可容易地由本领域的普通技术人员来确定。施用剂量的范围可为例如约 1ng 至约 10,000mg、约 5ng 至约 9,500mg、约 10ng 至约 9,000mg、约 20ng 至约 8,500mg、约 30ng 至

约 7,500mg、约 40ng 至约 7,000mg、约 50ng 至约 6,500mg、约 100ng 至约 6,000mg、约 200ng 至约 5,500mg、约 300ng 至约 5,000mg、约 400ng 至约 4,500mg、约 500ng 至约 4,000mg、约 1 μ g 至约 3,500mg、约 5 μ g 至约 3,000mg、约 10 μ g 至约 2,600mg、约 20 μ g 至约 2,575mg、约 30 μ g 至约 2,550mg、约 40 μ g 至约 2,500mg、约 50 μ g 至约 2,475mg、约 100 μ g 至约 2,450mg、约 200 μ g 至约 2,425mg、约 300 μ g 至约 2,000、约 400 μ g 至约 1,175mg、约 500 μ g 至约 1,150mg、约 0.5mg 至约 1,125mg、约 1mg 至约 1,100mg、约 1.25mg 至约 1,075mg、约 1.5mg 至约 1,050mg、约 2.0mg 至约 1,025mg、约 2.5mg 至约 1,000mg、约 3.0mg 至约 975mg、约 3.5mg 至约 950mg、约 4.0mg 至约 925mg、约 4.5mg 至约 900mg、约 5mg 至约 875mg、约 10mg 至约 850mg、约 20mg 至约 825mg、约 30mg 至约 800mg、约 40mg 至约 775mg、约 50mg 至约 750mg、约 100mg 至约 725mg、约 200mg 至约 700mg、约 300mg 至约 675mg、约 400mg 至约 650mg、约 500mg 或约 525mg 至约 625mg 的如本文所提供的抗体或其抗原结合部分。给药可为例如每周一次、每 10 天一次、每 2 周一次、每 18 天一次、每三周一次、每 4 周一次、每 5 周一次或每 6 周一次。剂量方案可进行调整以便提供最佳治疗反应。有效量也是使 ErbB3 抑制剂的任何毒性或有害影响（副作用）变得最小和 / 或被有利作用超过的量。对于 MM-121,施用可在恰好或约 6mg / kg 或 12mg / kg 每周一次,或 12mg / kg 或 24mg / kg 两周一次下静脉内施用。对于 MM-111,给药可在恰好或约每 x 天一次下静脉内给药,其中初始负荷剂量为恰好或约 y mg / kg 并且后续维持剂量为恰好或约 z mg / kg,其中 x、y 和 z 为 :7、25 和 20,或 10、40 和 30,或 14、60 和 44,或 18、90 和 75,或 21、120 和 105。其它优选给药方案于下文描述。

[0049] 术语“抗癌剂”和“抗肿瘤剂”是指用于治疗恶性疾病,如癌性生长的药物。药物治疗法可单独使用,或结合其它治疗如手术或辐射疗法来使用。

[0050] “治疗协同作用”是指如下现象,其中用治疗剂的组合来治疗患者,与以其最佳剂量使用的组合的每一种个别组成部分所实现的结果相比,表现出治疗上更好的结果(T. H. Corbett 等,1982,Cancer Treatment Reports(癌症治疗报告),66,1187)。在这种情况下,治疗上更好的结果是如下结果,其中患者 a) 展现更少的不良事件发生率,同时所收到的治疗效益等于或大于在组合的个别成分各自作为单一疗法以与组合中的剂量相同的剂量来施用时的治疗效益,或 b) 不展现剂量限制性毒性,同时所收到的治疗效益大于当每一种成分以与在组合中作为个别组分施用时的剂量相同的剂量施用时的组合的每一种个别成分来治疗的治疗效益。在异种移植模型中,在以其最大耐受剂量使用的组合的施用所获得的肿瘤生长减少大于在单独施用成分时最佳成分的肿瘤生长的减少值时,所述组合表现出治疗协同作用,其中每一种成分以总体上不超过其个别最大耐受剂量的剂量存在。

[0051] 因此,与使用抗 ErbB3 抗体的单一疗法或在没有抗体疗法时使用化疗剂的治疗相比,在组合中,此类组合的组分对于遏制胰脏肿瘤生长具有相加或超相加效应。“相加”是指结果在程度(例如,肿瘤有丝分裂指数或肿瘤生长减少程度或肿瘤收缩程度或无症状或症状减少期的频率和 / 或持续时间)上大于使用每一种个别组分的单一疗法所获得的最佳单独结果,而“超相加”用于指示结果在程度上超过此类单独结果的总和。在一个实施方案中,相加效应测量为减缓或终止胰脏肿瘤生长。相加效应还可通过以下指标来测量,例如胰脏肿瘤尺寸的降低、肿瘤有丝分裂指数的减少、转移性病灶的数量随着时间的减少、总反应率的增加,或中值或总体存活期的增加。

[0052] 治疗性治疗的有效性可借以量化的指标的一个非限制性实例是计算 $\log_{10}$ 细胞杀灭,其根据以下方程来确定:

[0053] $\log_{10}$ 细胞杀灭 = T_C (天) / $3.32 \times T_d$

[0054] 其中 T_C 代表细胞生长的延迟,其为治疗组 (T) 的肿瘤和对照组 (C) 的肿瘤达到预定值 (例如 1g, 或 10mL) 的以天为单位的平均时间,并且 T_d 代表对照动物中的肿瘤体积加倍所需要的以天为单位的时间。当采用此指标时,如果 $\log_{10}$ 细胞杀灭大于或等于 0.7, 那么产品被认为具有活性,并且如果 $\log_{10}$ 细胞杀灭大于 2.8, 那么产品被认为非常具有活性。使用此指标,以其自己的最大耐受剂量使用的组合在 $\log_{10}$ 细胞杀灭大于单独施用的最佳成分的 $\log_{10}$ 细胞杀灭值时展现治疗协同作用,在所述组合中每一种成分以总体上小于或等于其最大耐受剂量的剂量存在。在示例性情况下,组合的 $\log_{10}$ 细胞杀灭超过组合的最佳成分的 $\log_{10}$ 细胞杀灭值至少 0.1 细胞杀灭对数、至少 0.5 细胞杀灭对数,或至少 1.0 细胞杀灭对数。各种方面和实施方案在以下小节中进一步详细描述。

[0055] I. ErbB3 抑制剂

[0056] 如本文进一步详细描述,本文提供的方法和组合物涉及使用一种或多种 ErbB3 抑制剂。

[0057] 在一个实施方案中,ErbB3 抑制剂为抗 ErbB3 抗体,例如单克隆抗体。适用抗 ErbB3 抗体 (或从其中得到的 VH / VL 结构域) 可使用本领域中熟知的方法来制得。或者,可使用业内公认的抗 ErbB3 抗体。举例来说,可使用 U. S. 7, 846, 440 中描述的 Ab#3、Ab#14、Ab#17、Ab#19。也可使用与这些抗体中的任何一个来竞争与 ErbB3 的结合的抗体。可使用的其它的业内公认的抗 ErbB3 抗体包括在 US7, 285, 649、US20200310557、US20100255010 中公开的那些抗体,以及抗体 IB4C3 和 2D1D12 (U3Pharma Ag), 这两种抗体都描述于例如 US20040197332 中并且由杂交瘤细胞系 DSM ACC2527 或 DSM ACC2517 (保藏于 DSMZ) 产生;被称为 AMG888 的抗 ErbB3 抗体 (U3-1287-U3Pharma Ag 和 Amgen), 其描述于美国专利号 7, 705, 130 中;以及单克隆抗体 8B8 (ATCC[®] HB-12070[™]), 其描述于 US5, 968, 511 中, 以及被称为 AV-203 的抗 ErbB3 抗体 (Aveo Pharmaceuticals), 其描述于美国专利公布号 20110256154 中。其它适用抗 ErbB3 抗体在双特异性抗体的情况下公开于本领域中 (参见例如 WO / 2009126920 中的 B2B3-1 或 B2B3-2 和描述于 US7, 846, 440、US20090291085、US20100056761 和 US20100266584 中的那些抗体。示例性抗 ErbB3 单克隆抗体包括 MM-121, 其为当前正进行 II 期临床试验的完全人抗 ErbB3 抗体。MM-121 进一步描述于 PCT 公布号 WO2008 / 100624 和美国专利号 7, 846, 440 中, 并且包含分别如在 SEQ ID NO :1 和 2 中展示的 V_H 和 V_L 序列。MM-121 在 US7, 846, 440 中被称为“Ab#6”。或者,抗 ErbB3 单克隆抗体是与 MM-121 竞争与 ErbB3 的结合的抗体。在另一个实施方案中,抗 ErbB3 抗体是包含 MM-121 的 V_H 和 V_L CDR 序列的抗体,所述序列分别展示于 SEQ ID NO :3-5 (V_H CDR1、2、3) 和 6-8 (V_L CDR1、2、3) 中。在另一个实施方案中,抗 ErbB3 抗体具有包含分别在 SEQ ID NO42 和 43 中阐明的氨基酸序列的重链和轻链。抗 ErbB3 抗体的其它实例包括 Ab#3、Ab#14、Ab#17 和 Ab#19, 其还进一步描述于 WO2008 / 100624 并且具有如分别在 SEQ ID NO :9 和 10、17 和 18、25 和 26 以及 33 和 34 中展示的 V_H 和 V_L 序列。在另一个实施方案中,抗 ErbB3 抗体是包含 Ab#3 的 V_H 和 V_L CDR 序列 (分别展示于 SEQ ID NO :11-13 和 14-18 中) 的抗体或包含 Ab#14 的 V_H 和 V_L CDR 序列 (分别展示于 SEQ ID NO :19-21 和 22-24 中) 的抗体或包含 Ab#17 的 V_H

和 V_L CDR 序列（分别展示于 SEQ ID NO:27-29 和 30-32 中）的抗体或包含 Ab#19 的 V_H 和 V_L CDR 序列（分别展示于 SEQ ID NO:35-37 和 38-40 中）的抗体。

[0058] 或者,抗 ErbB3 抗体是结合包含 SEQ ID NO:41 的残基 92-104 的人 ErbB3 的表位并且特征在于抑制表达 ErbB3 的癌细胞的增殖的单克隆抗体或其抗原结合部分。癌细胞可为 MALME-3M 细胞、AdrR 细胞或 ACHN 细胞并且增殖可相对于对照减少至少 10%。在另一个实施方案中,此分离的单克隆抗体或其抗原结合部分结合包含 SEQ ID NO:41 的残基 92-104 和 129 的表位。

[0059] 在另一个实施方案中,抗 ErbB3 抗体可包含两种或更多种抗 ErbB3 抗体的混合物或混配物,其中每一种抗体各自结合 ErbB3 上的不同表位。在一个实施方案中,混合物或混配物包含三种抗 ErbB3 抗体,其中每一种抗体各自结合 ErbB3 上的不同表位。

[0060] 在另一个实施方案中,ErbB3 抑制剂包含抑制 ErbB3 的表达或活性的核酸分子,如 RNA 分子。ErbB3 的 RNA 拮抗剂已在本领域中描述（参见例如美国专利申请公布号 20080318894）。此外,对于 ErbB3 具有特异性的干扰 RNA,如特异性地抑制 ErbB3 的表达和 / 或活性的 shRNA 或 siRNA 已在本领域中描述。

[0061] 在另一个实施方案中,ErbB3 抑制剂包含可溶性形式的 ErbB3,其抑制经由 ErbB3 途径的信号转导。此类可溶性 ErbB3 分子已在本领域中描述（参见例如分别授予 Maihle 等的美国专利号 7,390,632、美国专利号 7,638,303 和美国专利号 7,638,302,和 Zhou 的美国专利号 7,919,098）。

[0062] II. 抗 ErbB2 抗体

[0063] 本文提供的方法和组合物可涉及使用一种或多种抗 ErbB2 抗体,其可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合。合适抗 ErbB2 抗体包括描述于美国专利号 5,977,322 中的 C6.5（和其许多衍生物）,以及如描述于美国专利号 6,054,297 中的曲妥珠单抗,或如描述于美国专利号 6,949,245 中的培妥珠单抗。

[0064] III. 双特异性抗体

[0065] 本文提供的方法和组合物可涉及使用一种或多种双特异性抗体,优选为可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合的双特异性抗体。此类双特异性抗体包括如描述于美国专利 7,332,580 中的 ALM,以及如描述于美国专利申请公布号 20110059076 和 PCT 公布号 W02009 / 126920 中的 A5-HSA-ML3.9、A5-HSA-B1D2、B12-HSA-B1D2、A5-HSA-F5B6H2、H3-HSA-F5B6H2、F4-HSA-F5B6H2 和 H3-HSA-B1D2,如其中所描述,每一种双特异性抗体各自具有变体形式,如包含 mHSA 的那些变体形式。在一个实施方案中,双特异性抗体包括 SEQ ID NO:44。

[0066] IV. 方法

[0067] 在一方面,提供 ErbB3 抑制剂用于制造供治疗激素难治性乳腺癌的药物的用途,在某些实施方案中乳腺癌是雌激素受体阳性激素难治性乳腺癌。

[0068] 在另一方面,提供遏制激素难治性乳腺癌细胞（任选地为 ER+ 激素难治性乳腺癌细胞）生长的方法,所述方法包括使细胞与有效量的 ErbB3 抑制剂接触。

[0069] 在另一方面,提供遏制患者的激素难治性乳腺癌肿瘤（任选地为 ER+ 激素难治性乳腺癌肿瘤）生长的方法,所述方法包括向患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。

[0070] 在另一个方面,提供治疗患者的乳腺癌肿瘤（任选地为雌激素受体阳性激素难治

性乳腺癌肿瘤)的方法,所述方法包括:

[0071] 选择患有激素难治性乳腺癌肿瘤的患者;以及

[0072] 向患者施用有效量的 ErbB3 抑制剂。

[0073] 在另一方面,患有激素难治性乳腺癌肿瘤的患者是进一步使用申请中的国际申请 PCT / US2009 / 054051 中公开的选择方法选择出的患者。

[0074] 将要用 ErbB3 抑制剂治疗的激素难治性乳腺癌可共表达 ErbB1 (EGFR)、ErbB3 和调蛋白 (HRG)。EGFR 和 HRG 的表达可通过 RT-PCR 或使用抗 EGFR 抗体、抗 ErbB3 抗体或抗 HRG 抗体通过标准免疫测定技术如 ELISA 测定、对经过福尔马林固定、以石蜡包埋的组织(例如常规处理用于组织学评估的乳腺癌组织)进行免疫组织化学染色来识别。根据本文中的公开用于治疗的优选肿瘤的其它特性阐明于申请中的美国专利公布号 20110027291 中,所述公布要求 PCT 申请号 PCT / US2009 / 054051 的优先权。

[0075] 在一个实施方案中,施用至患者的 ErbB3 抑制剂是抗 ErbB3 抗体。示例性抗 ErbB3 抗体是 MM-121,其包含分别如在 SEQ ID NO :1 和 2 中展示的 V_H 和 V_L 序列,或包含分别如在 SEQ ID NO :3-5 中展示的 V_H CDR1、2 和 3 序列和分别如在 SEQ ID NO :6-8 中展示的 V_L CDR1、2 和 3 序列(即,MM-121 的 V_H 和 V_L CDR)的抗体。其它非限制性示例性抗 ErbB3 抗体和其它形式的 ErbB3 抑制剂详细描述于以上小节 I 中。

[0076] ErbB3 抑制剂可通过适合于将抑制剂有效递送至患者的任何途径来施用至患者。举例来说,许多小分子抑制剂适合于口服施用。抗体和其它生物试剂通常肠胃外施用,例如静脉内、腹膜内、皮下或肌肉内施用。适用于本文提供的方法中的各种施用途径、剂量和药物制剂在下文进一步详细描述。

[0077] 在其它方面,本文所述的方法包括抑制(例如,至少部分阻断)调蛋白介导的雌激素受体活化磷酸化的方法。这些方法涉及使用一种或多种可抑制调蛋白与 ErbB2 / ErbB3 异源二聚体的结合从而抑制此磷酸化的抗体。在某些实施方案中,此类方法进一步包括任选地共同施用激素调节药物,包括雌激素受体拮抗剂和芳香酶抑制剂。

[0078] V. 药物组合物

[0079] 在另一方面,提供可用于本文公开的方法中的药物组合物,即,用于治疗激素难治性乳腺癌肿瘤的药物组合物。

[0080] 在一个实施方案中,用于治疗激素难治性乳腺癌的药物组合物包含 ErbB3 抑制剂和药物载体。ErbB3 抑制剂可与药物载体一起配制成药物组合物。另外,药物组合物可包括例如使用组合物来治疗患者的激素难治性乳腺癌肿瘤的说明书。

[0081] 在一个实施方案中,组合物中的 ErbB3 抑制剂是抗 ErbB3 抗体,例如,MM-121 或如下抗体,所述抗体包含的 MM-121 的 V_H 和 V_L CDR 以与其存在于 MM-121 中的顺序相同的相对顺序定位于抗体中以便提供 ErbB3 的免疫特异性结合。其它非限制性示例性抗 ErbB3 抗体和其它形式的 ErbB3 抑制剂详细描述于以上小节 I 中。

[0082] 如本文所使用,“药学上可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂、缓冲剂,和生理上相容的其它赋形剂。优选地,载体适合于肠胃外、口服或局部体表施用。取决于施用途径,活性化合物例如小分子或生物试剂可以保护化合物免受酸和可使化合物失效的其它自然条件的作用的材料包覆。

[0083] 药学上可接受的载体包括无菌水性溶液或分散液和用于临时制备无菌可注射溶

液或分散液的无菌粉末,以及用于制备片剂、丸剂、胶囊等的常规赋形剂。使用这些介质和试剂用于配制药学活性物质在本领域中是已知的。除非任何常规介质或试剂与活性化合物不相容,否则涵盖其在本文提供的药物组合物中的使用。辅助活性化合物也可并入组合物中。

[0084] 药学上可接受的载剂可包括药学上可接受的抗氧化剂。药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1) 水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、半胱氨酸盐酸盐、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2) 油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸盐、丁羟茴醚(BHA)、丁羟甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;和(3) 金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸等。

[0085] 可用于本文提供的药物组合物中的合适水性和非水性载剂的实例包括水、乙醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等),和其合适混合物,和可注射有机酯,如油酸乙酯。在需要时,适当流动性可例如通过使用包衣材料如卵磷脂、在分散液的情况下通过维持所需粒度,以及通过使用表面活性剂来维持。在许多情况下,优选在组合物中包含等渗剂,所述等渗剂例如糖、多元醇如甘露糖醇、山梨糖醇或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中纳入延迟吸收的试剂来达成,所述试剂例如单硬脂酸盐和明胶。

[0086] 这些组合物还可含有功能性赋形剂如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。

[0087] 治疗组合物通常在制造和存储条件下必须为无菌、无热原质和稳定的。组合物可配制为溶液、微乳液、脂质体,或适合于高药物浓度的其它有序结构。

[0088] 可制备无菌可注射溶液,方法是将所需量的活性化合物与以上列举的成分中的一种或成分的组合一起并入合适溶剂中,需要时随后例如通过微细过滤来灭菌。总体上,分散液通过将活性化合物并入无菌媒剂中来制备,所述媒剂含有基本分散介质和来自以上列举的那些成分的所需其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选制备方法是真空干燥和冷冻干燥(冻干),从而产生活性成分加上来自其先前无菌过滤溶液的任何其它所需成分的粉末。活性剂可在无菌条件下与其它药学上可接受的载剂,以及可能与需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂一起混合。

[0089] 可通过以下两种方法来确保不存在微生物:上述灭菌程序,以及纳入各种抗细菌和抗真菌剂,例如对羟苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚山梨酸等。也可能需要在组合物中纳入等渗剂,如糖、氯化钠等。另外,可注射药物形式的延长吸收可通过纳入延迟吸收的试剂如单硬脂酸铝和明胶来达成。

[0090] 包含 ErbB3 抑制剂的药物组合物可单独施用或以组合疗法施用。举例来说,组合疗法可包括本文提供的包含 ErbB3 抑制剂和至少一种或多种其它治疗剂的组合物,所述一种或多种其它治疗剂如在本领域中已知的一种或多种化疗剂,其在以下小节 IV 中进一步详细讨论。药物组合物还可结合辐射疗法和/或手术来施用。

[0091] 对剂量方案进行调整以便提供最佳所需反应(例如,治疗反应)。举例来说,可施用单次快速注射,可随着时间的推移施用若干分次剂量,或如治疗情况的紧急性所指示,可按比例减少或增加剂量。

[0092] 抗体施用的示例性剂量范围包括:10-1000mg(抗体)/kg(患者体重)、10-800mg/kg、10-600mg/kg、10-400mg/kg、10-200mg/kg、30-1000mg/kg、30-800mg/kg、30-600mg/kg、30-400mg/kg、30-200mg/kg、50-1000mg/kg、

50-800mg / kg、50-600mg / kg、50-400mg / kg、50-200mg / kg、100-1000mg / kg、100-900mg / kg、100-800mg / kg、100-700mg / kg、100-600mg / kg、100-500mg / kg、100-400mg / kg、100-300mg / kg 和 100-200mg / kg。示例性剂量时程包括每三天一次、每五天一次、每七天一次（即每周一次）、每 10 天一次、每 14 天一次（即每两周一次）、每 21 天一次（即每三周一次）、每 28 天一次（即每四周一次）和每月一次。

[0093] 为了便于施用和剂量均一性，宜将肠胃外组合物配制成单位剂型。如本文所使用的单位剂型是指适合作为单一剂量用于所要治疗的患者的物理离散单元；每个单元含有经过计算结合任何所需药物载剂可产生所需治疗效果的预定量的活性剂。单元剂型的规格由以下因素决定并且直接取决于这些因素：(a) 活性化合物的独特特性和所要达成的特定治疗效果，和 (b) 在混配此种活性化合物用于治疗个体敏感性的领域中固有的限制。

[0094] 本文公开的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可改变以便获得对于特定患者、组合物以及施用模式可有效达成所需治疗反应，而对患者无毒的活性成分的量。如本文在施用的情况下所使用的“肠胃外”是指除肠内和局部体表施用以外的施用模式，通常通过注射，并且包括而不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心脏内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、包膜下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜上和胸骨内注射和输注。

[0095] 如本文所使用的短语“肠胃外施用”是指除肠内（即，经由消化道）和局部体表施用以外的施用模式，通常通过注射或输注，并且包括而不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心脏内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、包膜下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜上和胸骨内注射和输注。静脉内注射和输注经常（但是并非独占地）用于抗体施用。

[0096] 当本文提供的试剂作为药物施用至人或动物时，其可单独给予或以药物组合物形式给予，所述药物组合物含有例如 0.001 至 90%（更优选地 0.005 至 70%，如 0.01 至 30%）的活性成分与药学上可接受的载剂的组合。

[0097] VI. 组合法

[0098] 在某些实施方案中，本文提供的用于遏制激素难治性乳腺癌细胞生长或治疗患有激素难治性乳腺肿瘤的患者的方法和用途或者可包括施用 ErbB3 抑制剂和不为 ErbB3 抑制剂的至少一种其它抗癌剂。

[0099] 在一个实施方案中，至少一种其它抗癌剂包括至少一种化疗药物。此类化疗药物的非限制实例包括铂基化疗药物（例如，顺铂、卡铂）、紫杉烷类（例如，紫杉醇(Taxol[®])、多西紫杉醇(Taxotere[®])、EndoTAG-1[™]（囊封于带正电荷的基于脂质的复合物中的紫杉醇制剂；MediGene[®])、Abraxane[®]（结合至白蛋白的紫杉醇的制剂）、酪氨酸激酶抑制剂（例如，伊马替尼(imatinib) / Gleevec[®]、舒尼替尼(sunitinib) / Sutent[®]、达沙替尼(dasatinib) / Sprycel[®])，和其组合。

[0100] 在另一个实施方案中，至少一种其它抗癌剂包括 EGFR 抑制剂，如抗 EGFR 抗体或 EGFR 信号转导的小分子抑制剂。示例性抗 EGFR 抗体是西妥昔单抗(Erbitux[®], ImClone Systems)。抗 EGFR 抗体的其它实例包括 MM-151（进一步描述于 2011 年 7 月 5 日提交的 Bukhalid 等的共申请中的共同让与的美国专利申请序列号 61 / 504,633 中）、Sym004(Symphogen, Pederson 等, Cancer Research(癌症研究)2010 年 1 月 15 日 70；

588, 还参见美国专利序列号 7, 887, 805)、马妥珠单抗 (EMD72000)、帕木单抗 (Vectibix®; Amgen)、尼莫珠单抗 (TheraCIM™) 和 mAb806。EGFR 信号转导途径的示例性小分子抑制剂是吉非替尼(Iressa®), 其可从 AstraZeneca 和 Teva 商购获得。EGFR 信号转导的小分子抑制剂的其它实例包括厄洛替尼 HCL (OSI-774; Tarceva®; OSI Pharma), 拉帕替尼 (Tykerb®, Glaxo SmithKline), 卡奈替尼 (卡奈替尼盐酸盐, Pfizer), 培利替尼 (Pfizer); PKI-166 (Novartis); PD158780; 阿法替尼 (Tomtovok®, Boehringer Ingelheim); 和 AG1478 (4-(3-氯苯氨基)-6, 7-二甲氧基喹啉)。

[0101] 在另一个实施方案中, 至少一种其它抗癌剂包括 VEGF 抑制剂。示例性 VEGF 抑制剂包括抗 VEGF 抗体, 如贝伐单抗 (Avastatin®; Genentech)。

[0102] 在另一个实施方案中, 至少一种其它抗癌剂包括 IGF1R 抑制剂, 如抗 EGFR 抗体或 EGFR 信号转导的小分子抑制剂。抗 IGF1R 抑制剂的实例包括达罗珠单抗 (Merck, 也称为 MK-0646)、AMG-479 (Amgen)、R1507 (Roche)、菲替木单抗 (Pfizer)、IMC-A12 (Imclone / Lilly) 和 MM-141, 其为一种双特异性 ErbB3 / IGF1R 抑制剂 (进一步描述于 2011 年 11 月 10 日提交的 Lugovskoy 等的共申请中的共同让与的美国专利申请序列号 61 / 558, 192 中)。小分子 IGF1R 抑制剂的实例包括 XL228 (Exelixis) 和 BMS-754807 (BMS)。

实施例

[0103] 实施例 1: 用 MM-121 治疗 ER+ 激素难治性乳腺肿瘤

[0104] 使用 MCF7 人乳腺癌细胞的他莫西芬抗性变体的异种移植物对用 MM-121 治疗带有 ER+ 激素难治性乳腺肿瘤的小鼠的抗肿瘤功效和耐受性进行分析。他莫西芬抗性人乳腺癌细胞系 TAMR-1、TAMR-7 和 TAMR-8 细胞是从 A. E. Lykkesfeldt 的实验室 (丹麦癌症协会癌症生物学部肿瘤内分泌学部 (Department of Tumor Endocrinology, Division for Cancer Biology, Danish Cancer Society, Strandboulevarden 49, DK-2100 Copenhagen 0, 丹麦) 获得。这些细胞作为异种移植物生长于从 Charles River Laboratories International 获得的雌性无胸腺 nu+ / nu+ 裸小鼠体内。从亚利桑那州的图森市 (Tucson, AZ) 的亚利桑那癌症中心 (Arizona Cancer Center) 繁殖群获得的 SCID 小鼠 (C. B. -17 / IcrACCscid) 也为合适的。将小鼠在设置于有空调的房间中的 Tecniplast® 个别通风聚碳酸酯 (Makrolon®) 笼 (IVC) 中豢养并且可自由获取食物和酸化水。小鼠在全身麻醉状态下被皮下注射 ~ (约) 10^7 个 TAMR-1、TAMR-7 或 TAMR-8 细胞至侧腹或注射至乳腺脂肪垫中。

[0105] 为了研究单一疗法的抗肿瘤功效, 对带有肿瘤的小鼠 (即, 在注射细胞之后, 肿瘤生长 14 天之后) 每三天通过 IP 注射给予每只小鼠 600 μ g (MM-121 呈 PBS 中的 6mg / mL 溶液形式) 的 MM-121 或媒剂对照 (100 μ L)。对照小鼠仅接收 PBS 媒剂。功效通过将抗体治疗小鼠与媒剂对照小鼠之间的肿瘤生长进行比较来确定并且表达为中值相对肿瘤体积的实验与对照比 (T / C 值)。低于 50% 的最小 T / C 值是将治疗评定为有效的先决条件。对照和实验组各自含有 10 只分别带有一个肿瘤的小鼠。为了获得 30 只带有类似尺寸的肿瘤的小鼠以供随机化, 每种肿瘤单侧植入 40 只小鼠。

[0106] 将小鼠随机化并且当足够数量的个别肿瘤已生长至约 200mm³ 的体积时开始治疗。通过数字卡尺测量来测量肿瘤 (L x W) 并且使用公式 $\pi / 6 (W^2 \times L)$ 来计算肿瘤体积。第

一次剂量在第 0 天（随机化之日）或一天后施用。

[0107] 施用最终剂量之后约 24 小时，将所有小鼠放血以制备血清；另外，从同一小鼠收集肿瘤进行快速冷冻和石蜡包埋（FFPE）（各自 1 / 2 肿瘤）。

[0108] 根据动物实验规则，如果肿瘤体积超过 1800mm³（每只小鼠一个肿瘤），就将小鼠处死。对小鼠进行监测和给药直到其肿瘤已生长至此尺寸为止但是不超过 60 天。其后，将其处死以便收集样品。

[0109] 在研究结束时，施用最终剂量之后约 24 小时，将研究的所有小鼠进行舌下放血以获得大量的血液用于制备血清。将血清分装于 2 个试管中，每个试管中约 250 μ L。

[0110] 另外，不延迟立即切除所有小鼠的肿瘤用于在液氮中快速冷冻（1 / 2 肿瘤，提供用于存储样品的 COVARIS 袋）和固定于 10% 缓冲福尔马林中 <24 小时，随后脱水并且进行石蜡包埋（1 / 2 肿瘤）。

[0111] 每周两次测量动物体重和肿瘤直径（W 和 L）并且使用公式 $\pi / 6(W^2 \times L)$ 计算肿瘤体积。将肿瘤生长曲线作图。计算持续 2 个和 4 个倍增时间的肿瘤抑制和绝对生长延迟。

[0112] 大致上如所描述执行的实验的结果证明 MM-121 治疗抑制或停止肿瘤生长，并且在一些情况下减小肿瘤尺寸。

[0113] **实施例 2：**MM-121 在体外抑制 HRG 诱导的 ER 磷酸化

[0114] 将 MCF7 细胞不进行处理或以 MM-121 (250nM) 预处理 1 小时。然后，将细胞以调蛋白 β 1 (EGF 结构域, 10nM R&D systems)、乙胞素 (20nM, R&D systems) 或雌激素 (β 雌二醇 -100nM, Sigma) 刺激 30 分钟，或保持未刺激。利用探测 pER 和 pErbB3 的蛋白质印迹对细胞的溶胞物进行分析。

[0115] 为了证明 MM-121 减少调蛋白诱导的雌激素受体活化的能力，在 ER⁺、PR⁺、ErbB2⁺ 癌细胞系 MCF7 中使用如上所述的方法或其平常变化形式来对处理进行测试。将细胞不进行处理或以 MM-121 预处理。未处理和预处理的细胞以调蛋白、乙胞素或雌激素刺激。通过蛋白质印迹来分析细胞溶胞物中 ErbB3 和雌激素受体的磷酸化形式。

[0116] 如图 1（蛋白质印迹）和图 2（图 1 中的数据密度测量）中所示，未处理的经过调蛋白刺激的细胞，并且在较小程度上（约 2 / 3 更小）未处理的经过乙胞素刺激的细胞显示雌激素受体和 ErbB3 两者都被磷酸化。相比之下，以 MM-121 预处理的经过调蛋白刺激的细胞显示 pErbB3 和 pER 的量实质性（约 2 / 3）减少。结果证明调蛋白诱导的雌激素受体活化由 ErbB3 介导并且 MM-121 可抑制此雌激素受体活化模式。意外地，与雌激素相比，调蛋白刺激诱导显著（至少四倍）更高水平的 ER 磷酸化。

[0117] **实施例 3：**通过与 MM-121 共同施用来恢复敏感性和 / 或预防对芳香酶抑制剂的抗性

[0118] 患者可良好耐受芳香酶抑制剂 (AI) 治疗，并且治疗在相对较长时期内为有效的。然而，最初对 AI 治疗有反应的患者可变得对于药物具有抗性。为了研究 AI 抗性的机制，开发对应于 ER⁺ 停经后乳腺癌的异种移植模型。用于此瘤内芳香酶异种移植模型的肿瘤是从如下 MCF7 人乳腺癌细胞生长而来，即所述细胞已经用人胎盘芳香酶基因稳定转染以便在卵巢切除的无胸腺小鼠中提供雌激素产生的非卵巢来源 (MCF-7CA, 参见例如 Brodie 等, Clinical Cancer Research (临床癌症研究) 884s 第 11 卷, 884s-888s, 2005 年 1 月 15 日 (增刊))。MCF7-CA 细胞产生足够雌激素（通过使所注射的雄烯二酮发生芳香化）以便

刺激其增殖和肿瘤形成。这是患有表达芳香酶并且不含促性腺激素反馈调节的肿瘤的停经后乳腺癌患者的模型。

[0119] MCF-7CA 肿瘤:将 MCF-7CA 细胞在含有 5% 胎牛血清和新霉素的伊格尔氏最低基本必需培养基 (Eagle's minimum essential medium) 中培养。培养基每周更换两次。将亚汇合的 MCF-7CA 细胞刮到汉克氏溶液 (Hank's solution) 中并且在 4℃ 下以 1,000rpm 离心 2 分钟。然后将细胞重新悬浮于 Matrigel™ (10mg / ml) 中以制备 $2-5 \times 10^7$ 个细胞 / 毫升的细胞悬浮液。将 4-6 周龄的卵巢切除的雌性 BALB / c 无胸腺小鼠 (20-22g 体重) 在受控光照和湿度条件下豢养于无病原体环境中并且自由取用食物和水。每只小鼠皮下 (s. c.) 接种 0.1ml 细胞悬浮液。然后,对动物每日 s. c. 注射每只小鼠 0.1mg 雄烯二酮。通过每周用卡尺测量肿瘤来确定生长速率。根据球体公式 ($4 / 3 \pi r^2$) 计算肿瘤体积。当肿瘤达到可测量尺寸时,将小鼠分组,每组中 10 只具有相等肿瘤体积 (300mm^3) 的动物。将小鼠用 0.3% 羟丙基纤维素 (HPC) 中的 0.1ml 化合物治疗 6 周。

[0120] 来曲唑抗性模型中的来曲唑与来曲唑 +MM121

[0121] 为了证明 MM-121 与来曲唑的组合在来曲唑抗性异种移植物模型中的功效,如上所述制备带有肿瘤的小鼠并且随机化至各自具有 10 只小鼠的 3 个组和具有 30 只小鼠的一个组,每个组包含的小鼠具有类似的肿瘤尺寸分布。对于预期出现抗性的时期期间的最初治疗,一个组用 PBS 进行 Q3D、i. p. 治疗作为对照;一个组用单独 MM-121 进行治疗 (每 3 天每只小鼠 i. p. 施用 .2ml PBS 中的 $600 \mu\text{g}$ MM121);30 只小鼠组用单独来曲唑进行治疗 (10 微克 / 小鼠 / 天);并且最后一个组用来曲唑和 MM-121 两者进行治疗。每周测量肿瘤并且计算肿瘤体积。如果肿瘤继续生长至大于约 $1400-1700\text{mm}^3$ 的体积,那么就将小鼠处死。当用单独来曲唑治疗的小鼠组中的肿瘤变得具有抗性并且体积超过约 600mm^3 时,将所述组细分成各自具有十只小鼠的 3 个组。为了研究 MM-121 组合疗法对于这些抗性肿瘤的作用,这三个组的治疗如下继续进行:一个组继续接受单独来曲唑 (10 微克 / 小鼠 / 天),一个组停止接受每日来曲唑并且以单独 MM-121 ($600 \mu\text{g}$ Q3D, i. p.) 治疗,并且一个组以来曲唑 (10 微克 / 小鼠 / 天) 与 MM-121 ($600 \mu\text{g}$ Q3D, i. p.) 的组合进行治疗。

[0122] 结果展示于图 3 中。如其中指示,MM-121 治疗 (三角形) 和仅 PBS 对照 (正方形) 小鼠体内的肿瘤在 5 周过程中快速生长,其为这些组的最后测量。在接受单独来曲唑治疗的三个组 (颠倒箭头) 和接受 MM-121 与来曲唑的组合治疗的组 (菱形) 中,肿瘤生长进展较慢。

[0123] 接受来曲唑治疗的小鼠组中的来曲唑抗性定义为其中肿瘤体积增加至 600mm^3 的点。在接受单独来曲唑的组中在约 14 周每日来曲唑治疗之后,达到这一肿瘤体积。虽然接受单独来曲唑或单独 MM-121 的小鼠中的肿瘤的体积随着时间的推移而继续增加,但是接受 MM-121 与来曲唑的组合的小鼠的肿瘤降低至完全低于 600mm^3 抗性阈值并且在研究的整个其余部分 (19 周) 中保持减少的体积,因而证明组合治疗克服所获得的来曲唑抗性。

[0124] 与接受单独来曲唑的小鼠相比,从治疗一开始就接受来曲唑和 MM-121 两者的组 (菱形) 未发展来曲唑抗性肿瘤 (即肿瘤从未达到 600mm^3 的体积),由此证明用组合来治疗可防止出现来曲唑抗性。

[0125] 实施例 4 :与 mTOR 抑制剂和芳香酶抑制剂一起共同施用 MM-121

[0126] 为了证明是否在治疗 ER+ 乳腺癌方面,MM-121+ 依西美坦 + 依维莫司的三重组合比

单独依西美坦或依维莫司与依西美坦的组合更有效,向患者给予单独 MM-121、单独依西美坦、单独依维莫司、依维莫司与依西美坦的组合,以及 MM-121、依维莫司与依西美坦的组合。MM-121 例如在第 1 周以 40mg / kg 的负荷剂量来给予,随后每周一次以静脉内输注形式在 60 分钟内施用 20mg / kg 的每周维持剂量;依西美坦以每天一次口服施用 25mg 来给予;依维莫司以每天一次口服施用 10mg 来给予。治疗患者直到记录到其疾病的辐射学或临床进展为止。结果证明在治疗 ER+ 乳腺癌患者方面,MM-121+ 依西美坦 + 依维莫司的三重组合比单独依西美坦或依维莫司与依西美坦的组合更有效。

[0127] 等同物

[0128] 本领域的技术人员应认识到或仅仅使用常规实验即能够确定本文所述的具体实施方案的许多等同物。此类等同物意图由以下权利要求书来涵盖。附属权利要求中公开的实施方案的任何组合涵盖于本发明范围内。

[0129] 通过引用并入

[0130] 本文提到的每一和每个授权专利、专利申请和公布由此全部以引用的方式并入本文。

[0131] 序列表概述

[0132]

MM-121 V_H 氨基酸序列 (SEQ ID NO:1)

EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAAS G FTFSHYVMAWVRQAPGKGLEWV
SSISSSGGWTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGLK
MATIFDYWGQGTLVTVSS

MM-121 V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO:2)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVVS WYQQHPGKAPKLIY
EVSQRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGT
KVTVL

MM-121 V_H CDR1 (SEQ ID NO:3)

HYVMA

MM-121 V_H CDR2 (SEQ ID NO:4)

SISSSGGWTLYADSVKG

MM-121 V_H CDR3 (SEQ ID NO:5)

GLKMATIFDY

MM-121 V_L CDR1 (SEQ ID NO:6)

TGTSSDVGSYNVVS

MM-121 V_L CDR2 (SEQ ID NO:7)

EVSQRPS

MM-121 V_L CDR3 (SEQ ID NO:8)

CSYAGSSIFVI

[0133]

[0134]

Ab # 3 V_H 氨基酸序列 (SEQ ID NO:9)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYNMRWVRQAPGKGLEWV
SVIYPSGGATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYY
YYGMDVWGQGT LTVSS

Ab # 3 V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO:10)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSDSNIGRNYIYWYQQFPGTAPKLLIYR
NNQRPSGVPDRISGSKSGTSASLAISGLRSEDEAEYHCGTWDDSLSGPVFGGG
TKLTVL

Ab # 3 V_H CDR1 (SEQ ID NO:11)

AYNMR

Ab # 3 V_H CDR2 (SEQ ID NO:12)

VIYPSGGATRYADSVKG

Ab # 3 V_H CDR3 (SEQ ID NO:13)

GYYYYGMDV

Ab # 3 V_L CDR1 (SEQ ID NO:14)

SGSDSNIGRNYIY

Ab # 3 V_L CDR2 (SEQ ID NO:15)

RNNQRPS

Ab # 3 V_L CDR3 (SEQ ID NO:16)

GTWDDSLSGPV

Ab # 14 V_H 氨基酸序列 (SEQ ID NO:17)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGMGWVRQAPGKGLEWV
SYISPSGGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLE

[0135]

[0136]

TGLLVDAFDIWGQGTMTVSS

Ab # 14 V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO: 18)

QYELTQPPSVSVYPGQTASITCSGDQLGSKFVSWYQQRPGQSPVLVMYK
DKRRPSEIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAIDEADYYCQAWDSSTYVFGTGTKV
TVL

Ab # 14 V_H CDR1 (SEQ ID NO:19)

AYGMG

Ab # 14 V_H CDR2 (SEQ ID NO:20)

YISPSGGHTKYADSVKG

Ab # 14 V_H CDR3 (SEQ ID NO:21)

VLETGLLVDAFDI

Ab # 14 V_L CDR1 (SEQ ID NO:22)

SGDQLGSKFVS

Ab # 14 V_L CDR2 (SEQ ID NO:23)

YKDKRRPS

Ab # 14 V_L CDR3 (SEQ ID NO:24)

QAWDSSTYV

Ab # 17 V_H 氨基酸序列 (SEQ ID NO:25)

EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYGMGWVRQAPGKGLEW
VSYISPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLN
YYYGLDVWGQGTTVTVSS

Ab # 17 V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO:26)

QDIQMTQSPSSLSASVGDRITITCQASQDIGDSL N WYQQKPGKAPRLLIY
DASNLETGVPPRFSGSGSGTDF T FTRSLQPEDIATYFCQQSANAPFTFGPGTK
VDIK

Ab # 17 V_H CDR1 (SEQ ID NO:27)

WYGMG

Ab # 17 V_H CDR2 (SEQ ID NO:28)

YISPSGGITVYADSVKG

Ab # 17 V_H CDR3 (SEQ ID NO:29)

LNYYYGLDV

Ab # 17 V_L CDR1 (SEQ ID NO:30)

[0138]

QASQDIGDSLN

Ab # 17 V_L CDR2 (SEQ ID NO:31)

DASNLET

Ab # 17 V_L CDR3 (SEQ ID NO:32)

QQSANAPFT

Ab # 19 V_H 氨基酸序列 (SEQ ID NO:33)EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMWWVRQAPGKGLEWV
SYIGSSGGPTYYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGR
GTPYYFDSWGQGTLVTVSSAb # 19 V_L 氨基酸序列 (SEQ ID NO:34)QYELTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGRWNIVSWYQQHPGKAPKLMY
DVSNRPSGVSNRF

SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTWVFGGGTKLTVL

Ab # 19 V_H CDR1 (SEQ ID NO:35)

RYGMW

Ab # 19 V_H CDR2 (SEQ ID NO:36)

YIGSSGGPTYYYVDSVKG

Ab # 19 V_H CDR3 (SEQ ID NO:37)

GRGTPYYFDS

Ab # 19 V_L CDR1 (SEQ ID NO:38)

TGTSSDIGRWNIVS

Ab # 19 V_L CDR2 (SEQ ID NO:39)

DVSNRPS

Ab # 19 V_L CDR3 (SEQ ID NO:40)

SSYTSSSTWV

[0139]

[0140]

ErbB3 (SEQ ID NO:41)

SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLYKLYERCEVVMGNLEIVLT
GHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVM
LNYNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAE
IVVKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGSEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGPNNPQ
CCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQPLVYNKLTFLQLEPNPH
TKYQYGGVCVASCPHNFVVDQTSVVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCP
KACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIPALDPE
KLNVFRTVREITGYLNIQSWPPMHNFVSFNSLTTIGGRSLYNRGFSLLIMKNL
NVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLRGPTEERLDIKHNRPR
RDCVAEGKVCDPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVTHCNFLNGEPR
EFAHEAECFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGPCHVSSCPHGV
LGAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKTHLTMA
LTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEKANK
VLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGWVWIPEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQS
FQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRG
ALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFG
VADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIHFGKYTHQSDVWSYGVTVWELM
TFGAEPYAGLRLAEVPDLLEKGERLAQPQICTIDVYMMVMKVCWMIDENIRPT
FKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKLEEVELEPELDL
DLDEAEEDNLATTTLGSALSLPVGTNLNRPRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGE
SCQESAVSGSSERCPRPVSLHPMPRGCLASESSEGHVTGSEAELEKVSMSRS
RSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLLTPTPLSPPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTP
SSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEMNRRRRHSPPHPPRPSSLEELGYEY
MDVGSDLSASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDEYEMNRQRDGGGPGGDY
AAMGACPASEQGYEEMRAFQGPGHQAPHVHYARLKTLSLEATDSAFDNP
YWH SRLFPKANAQRT

[0141]

[0142]

MM-121 重链氨基酸序列(SEQ ID NO:42)

1 EVQLLES GGG LVQP GGS LRL SCAAS GFTFS HYVMAWVRQA PGKGLEWVSS
51 ISSSGGW TLY ADSVKGRFTI SRD NSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRGL
101 KMATIFDYWG QGTLTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
151 YFPEPVT VSW NSGALTSGVH TFP AVLQSSG LYSLSVVTV PSSNFGTQTY
201 TCNVDHKPSN TKVDKTV ERK CCVECP PCA PPVAGPSVFL FPPKPKDTLM
251 ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV
301 VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP
351 PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSGD
401 SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK

MM-121 轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:43)

1 QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG SYNVVSWYQQ HPGKAPKLII
51 YEVSQRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QTEDEADYYC CSYAGSSIFV
101 IFGGGTKVTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL VSDFYPGA VT
151 VAWKADGSPV KGVETTKPS KQSN NKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSCR V
201 THEGSTVEKT VAPAECS

[0143]

[0144]

在美国专利公布 20110059076 中描述为 SEQ ID NO:16 的双特异性抗体(SEQ ID NO:44)

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWV
ANINRDGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDR
GVGYFDLWGRGTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQ
SITISCTGTSSDVG GYNFVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSDRPSGVSDRFSGSKS
GNTASLIISGLQADDEADYYCSSYGSSSTHVIFGGGTKVTVLGAASDAHKSEV

AHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AE
NCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NL
PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AF
TECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV
ARLSQRFPAEFAEVSKLVTD LTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAE
AKDVFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVE
VSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KC
CTESLVNRRPCFSALEVD ETYVPKEFQAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALV
ELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKKLVAA SQA
ALGLAAALQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQMPGK
GLEYMGLIYPGDS DTKYSPSFQGGQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVYFC
ARHDVGYCTDRTC AKWPEWLGVWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQS
VLTQPPSVSAAPGQKV TISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLP GTAPKLLIYDHTNRP
AGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCASWDYTL SGWVFGGGTKLT
VLG

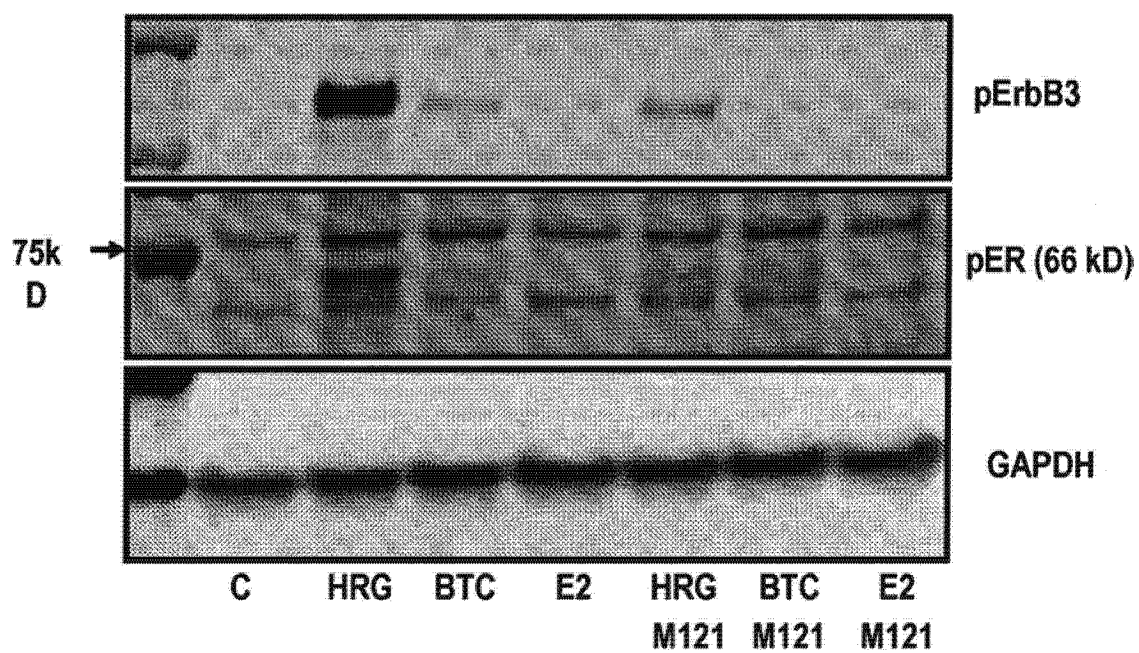


图 1

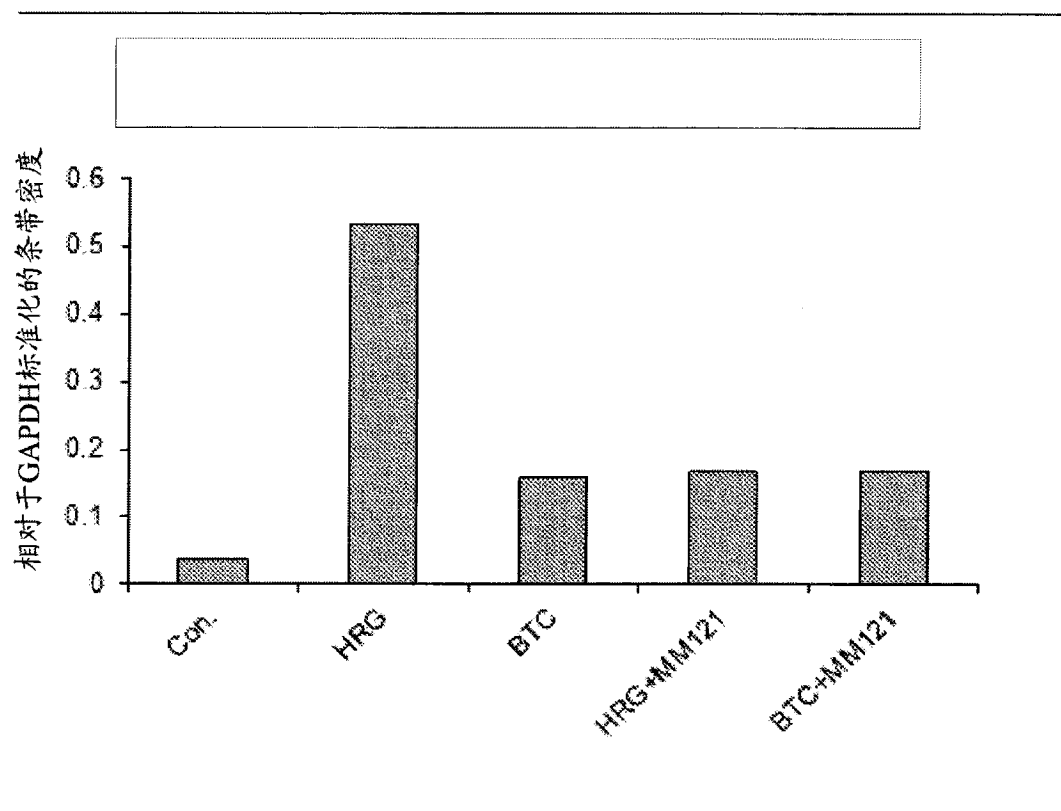


图 2

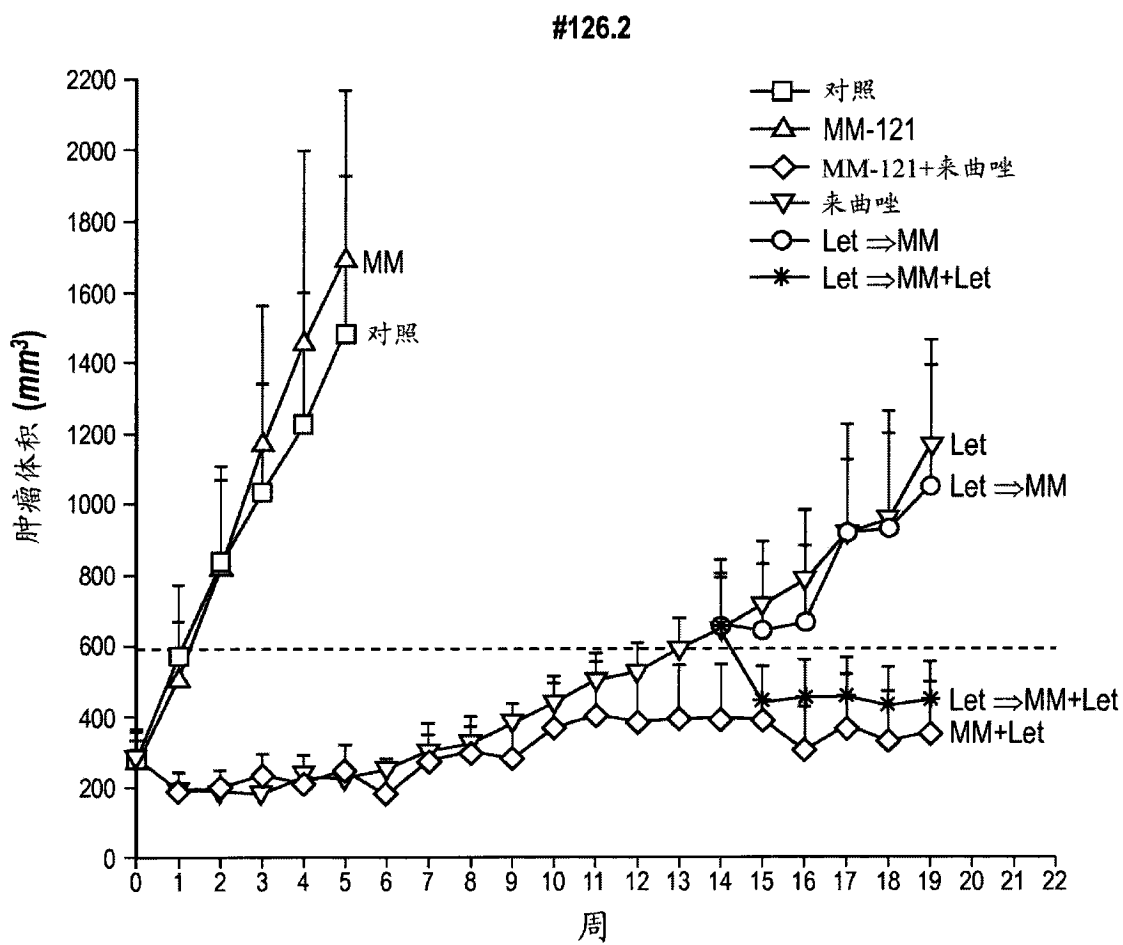


图 3