

(21) 申請案號：099141756

(22) 申請日：中華民國 96 (2007) 年 08 月 20 日

(51) Int. Cl. : C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2006/08/21 歐洲專利局 06017330.9

(71) 申請人：赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72) 發明人：佛瑞斯 湯瑪士 FRIESS, THOMAS (DE) ; 海斯曼 麥克斯 HASMANN, MAX (DE) ; 舒爾 瓦納 SCHEUER, WERNER (DE)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：2 共 41 頁

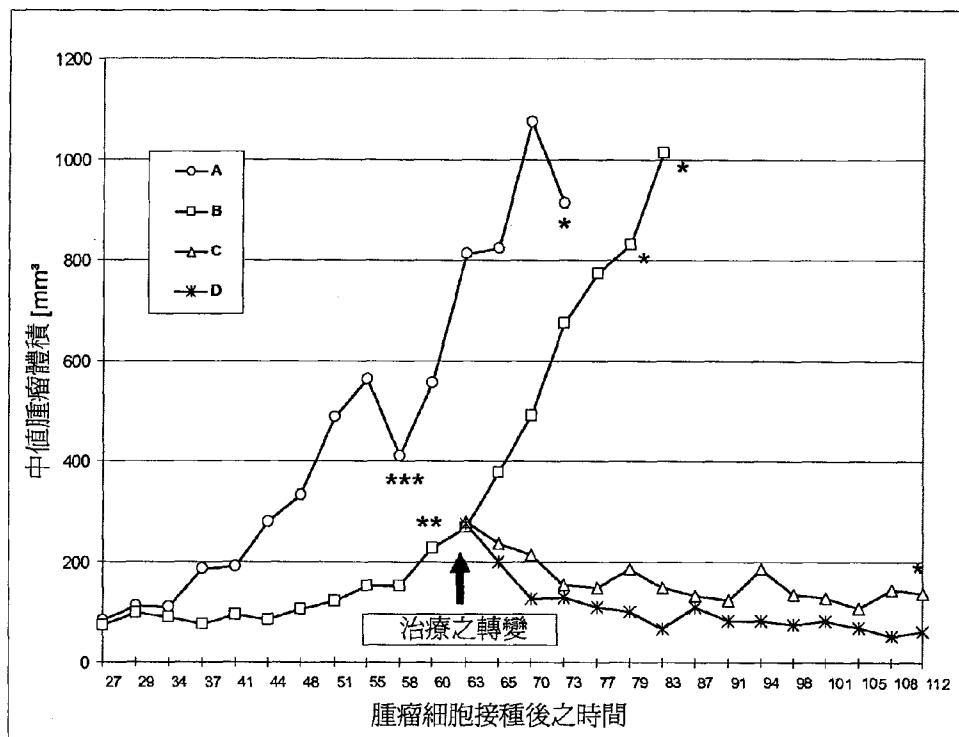
(54) 名稱

抗 - V E G F 抗體之腫瘤治療

TUMOR THERAPY WITH AN ANTI-VEGF ANTIBODY

(57) 摘要

本發明提供一種在以抗-HER2 抗體治療期間或之後使用抗-VEGF 抗體治療患有復發性 HER2 陽性癌症之患者的方法。本發明亦提供相應製品。



(21) 申請案號：099141756

(22) 申請日：中華民國 96 (2007) 年 08 月 20 日

(51) Int. Cl. : C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2006/08/21 歐洲專利局 06017330.9

(71) 申請人：赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72) 發明人：佛瑞斯 湯瑪士 FRIESS, THOMAS (DE) ; 海斯曼 麥克斯 HASMANN, MAX (DE) ; 舒爾 瓦納 SCHEUER, WERNER (DE)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：2 共 41 頁

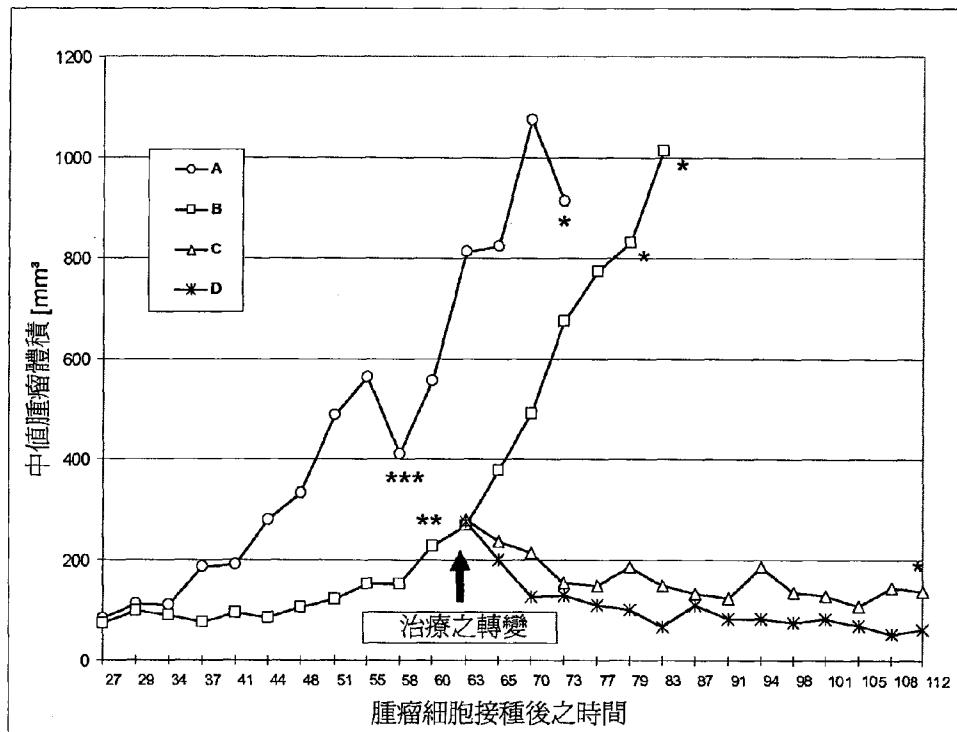
(54) 名稱

抗 - V E G F 抗體之腫瘤治療

TUMOR THERAPY WITH AN ANTI-VEGF ANTIBODY

(57) 摘要

本發明提供一種在以抗-HER2 抗體治療期間或之後使用抗-VEGF 抗體治療患有復發性 HER2 陽性癌症之患者的方法。本發明亦提供相應製品。



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於在以抗-HER2抗體治療期間或之後使用抗-VEGF抗體對患有復發性HER2陽性癌症之患者之治療。

【先前技術】

血管生成涉及於多種病症之發病機制中，該等病症包括實體腫瘤；眼內新生血管症候群，諸如增殖性視網膜病變或年齡相關之黃斑部變性(AMD)；類風濕性關節炎；及牛皮癬(Folkman等人，J. Biol. Chem. 267 (1992) 10931-10934；Klagsbrun等人，Annu. Rev. Physiol. 53 (1991) 217-239；及Garner, A., Vascular diseases，於Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach中，Garner, A.及Klintworth, G. K. (編)，第2版，Marcel Dekker, New York (1994)，第1625-1710頁)。在實體腫瘤之情況下，新血管生成使得腫瘤細胞可獲得相較於正常細胞而言之生長優勢及增殖自主性。因此，已觀察到腫瘤切片之微脈管密度與乳癌以及其他腫瘤中之患者成活率之間的相互關係(Weidner等人，N. Engl. J. Med. 324 (1991) 1-8；Horak等人，Lancet 340 (1992) 1120-1124；及Macchiarini等人，Lancet 340 (1992) 145-146)。

血管內皮生長因子(VEGF)涉及於與腫瘤及眼內病症相關聯之正常及異常血管生成及新血管生成的調節(Ferrara等人，Endocr. Rev. 18 (1997) 4-25；Berkman等人，J. Clin. Invest. 91 (1993) 153-159；Brown等人，Human

Pathol. 26 (1995) 86-91；Brown等人，Cancer Res. 53 (1993) 4727-4735；Mattern等人，Brit. J. Cancer. 73 (1996) 931-934；及Dvorak等人，Am. J. Pathol. 146 (1995) 1029-1039。抗-VEGF中和抗體抑制各種人類腫瘤細胞株在小鼠體內之生長(Kim等人，Nature 362 (1993) 841-844；Warren等人，J. Clin. Invest. 95 (1995) 1789-1797；Borgstrom等人，Cancer Res. 56 (1996) 4032-4039；及Melnyk等人，Cancer Res. 56 (1996) 921-924)。WO 94/10202、WO 98/45332、WO 2005/00900 及 WO 00/35956 提及抗 VEGF之抗體。人化單株抗體貝伐單抗(bevacizumab)(以商標名Avastin®銷售)為用於腫瘤治療之抗-VEGF抗體，且為唯一經認可用於治療癌症之抗血管生成劑(WO 98/45331)。

HER2為人類表皮生長因子受體家族之一成員，且在其細胞質域中具有蛋白激酶活性。HER2在腫瘤細胞中過度表現且與不良之預後及成活率相關。因此，HER2為乳癌治療之一重要目標。抗 HER2 抗體係自 Takai N. 等人，Cancer 104 (2005) 2701-2708；Yeon, C. H.，等人，Invest New Drugs. 23 (2005) 391-409；Wong, W. M. 等人，Cancer Pract. 7 (1999) 48-50；Albanell, J. 等人，Drugs Today (Barc). 35 (1999) 931-46已知。

曲妥珠單抗(Trastuzumab)(以商標名Herceptin®銷售)為用於治療HER2過度表現/HER2基因擴增之轉移性乳癌之重組人化抗-HER2單株抗體。臨床前研究證明該抗體在活體

內及活體外具有抗癌活性。此外，在小鼠模型中觀察到曲妥珠單抗與各種抗癌劑組合之抗癌活性的附加或協同增強。在臨床研究中，在HER2過度表現轉移性乳癌患者中觀察到成活率之擴展。

WO 2005/012531描述在結腸直腸癌、轉移性乳癌及腎癌之治療中可與抗-ErbB抗體(例如Herceptin®，亦稱為曲妥珠單抗)及/或抗-VEGF抗體(例如Avastin®，亦稱為貝伐單抗)組合之抗體。根據WO 2005/063816，抗-VEGF抗體在轉移性乳癌之治療中可與抗-ErbB抗體組合。根據WO 98/45331，可藉由將抗-VEGF抗體連續投與或與對於彼等目的有效之另一試劑(諸如能夠與HER2受體結合之抗體)組合投與來改良該抗體預防或治療疾病之有效性。WO 2005/00090及WO 2003/077841亦揭示用於腫瘤治療之抗-VEGF抗體與抗-ErbB2抗體之組合。Pegram, M.D.等人，Seminars in Oncology 29 (2002) 29-37係關於抗-ErbB2抗體與抗-VEGF抗體在乳癌治療中之組合。

臨床腫瘤學家一致認為，癌症治療之失敗未必係由原發性腫瘤之生長(其通常使用手術來處理)導致，而係因為轉移性擴散至不同器官中。由不同細胞毒素藥物導致之原發性腫瘤的消退本身並不總表示抗癌轉移活性。相反，已觀察到對若干種抗癌藥物起反應之增強癌轉移(Geldof等人，Anticancer Res 8 (1988) 1335-40, Murphy, J., Clin. Oncol. 11 (1993) 199-201，及De Larco等人，Cancer Res. 61 (2001) 2857-61)。明確需要研發不僅靶向原發性腫瘤，亦

抑制癌轉移之治療療法。舉例而言，該等抗癌轉移活性可藉由根據 Schneider, T. 等人，Clin. Exp. Metas. 19 (2002) 571-582 之方法來評估。

【發明內容】

本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。

另一實施例為抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。

該抗-HER2抗體之治療較佳為使用該抗-HER2抗體之一線單藥治療。

該抗-VEGF抗體較佳與貝伐單抗一樣結合至相同之抗原決定基。

該抗-VEGF抗體較佳為貝伐單抗。

該抗-HER2抗體較佳為曲妥珠單抗。

在一較佳實施例中，本發明包含將該抗-VEGF抗體及該抗-HER2抗體共同投與至患者。

本發明進一步提供一種製品，其包含一容器、一處於該容器內之包含抗-VEGF抗體之組合物及一指示該組合物之使用者在以抗-HER2抗體治療期間或之後對患有復發性HER2陽性癌症之患者投與該抗-VEGF抗體之封裝插頁。

【實施方式】

根據本發明之術語 "VEGF" 係指血管內皮細胞生長因子

(Swiss-Prot 第 P 15692 號)、替代性拼接形式(參見例如 Leung 等人，Science, 246 (1989) 1306-1309 及 Houck 等人，Mol. Endocrin., 5 (1991) 1806-14)及活性片段，較佳為其 N 末端片段。

根據本發明之術語 "抗-VEGF 抗體" 為與 VEGF 特異性結合且展現抗血管生成活性之抗體。本文中較佳之人化抗-VEGF 抗體或變異抗-VEGF 抗體以不高於約 1×10^{-8} M 且較佳不高於約 5×10^{-9} M 之 Kd 值與人類 VEGF 結合。抗-VEGF 抗體較佳為與根據 Presta 等人，Cancer Res. 57 (1997) 4593-4599 而生成之重組人化抗-VEGF 單株抗體(貝伐單抗)一樣結合至相同抗原決定基之單株抗體。較佳之抗體為貝伐單抗。抗-VEGF 抗體及其製造方法(例如)在 US 6,054,297、US 2003/0190317、US 6,632,926、US 6,884,879 及 US 2005/0112126 中描述。

貝伐單抗包含源自阻斷人類 VEGF 與其受體結合之鼠類抗-hVEGF 單株抗體的突變人類 IgG1 構架區及抗原結合互補判定區。貝伐單抗之約 93% 之胺基酸序列(包括大部分構架區)係源自人類 IgG1，且約 7% 之該序列係源自鼠類抗體 A4.6.1。貝伐單抗具有約 149,000 道爾頓之分子質量且經糖基化。貝伐單抗及其製備方法係在 EP 1325932 中描述。

根據本發明之術語 "HER2" 係指 185-kDa 生長因子受體，亦稱為 neu 及 c-erbB-2(Slamon 等人，Science 235 (1987) 177-182；Swiss-Prot P04626)，其功能係關於人類乳癌細胞中之瘤性轉形。已在 20% 至 30% 之乳癌患者中識別該蛋

白之過度表現，其中該過度表現係與局部晚期疾病、增加之腫瘤復發可能性及減少之患者成活率相關。多達30%至40%之患有胃癌、子宮內膜癌、唾液腺癌、非小細胞肺癌、胰腺癌、卵巢癌、腹膜癌、前列腺癌或結腸直腸癌之患者亦可展現該蛋白之過度表現。

根據本發明之術語"抗-HER2抗體"為與Hudziak等人，Mol. Cell. Biol. 9 (1989) 1165-1172中所述之鼠類抗-HER2抗體4D5一樣特異性地結合至相同HER2抗原決定基之抗體。與"HER2之4D5抗原決定基"結合之抗-HER2抗體(包括抗-HER2抗體4D5自身)及其製造方法(例如)係在US 6,054,297、WO 89/06692、US 6,399,063、US 6,165,464、US 6,054,297、US 5,772,997、WO 2003/087131、WO 01/00245、WO 01/00238、WO 00/69460、WO 99/31140及WO 98/17797中描述。在本發明之一較佳實施例中，抗-HER2抗體為曲妥珠單抗，其為一種重組人化抗-HER2單株抗體(鼠類抗-HER2抗體4D5之人化變型，稱為rhuMAb HER2或曲妥珠單抗)，其已在臨牀上對於已接受廣泛先前抗癌治療之患有HER2過度表現轉移性乳癌之患者具有活性。(Baselga等人，J Clin. Oncol. 14 (1996) 737-744)。曲妥珠單抗及其製備方法係在EP 590058中描述。

"抗原決定基4D5"為ErbB2之細胞外域中與抗體4D5(ATCC CRL 10463)結合之區域。該抗原決定基靠近ErbB2之跨膜區。為篩選與4D5抗原決定基結合之抗體，可進行諸如Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring

Harbor Laboratory, Harlow及David Lane編(1988)中所述之常規交叉阻斷檢定。或者，可進行抗原決定基定位以評估抗體是否結合至ErbB2之4D5抗原決定基。

如本申請案中所用之術語"抗原決定基"表示能夠與抗體特異性結合之蛋白質決定子。抗原決定基通常係由諸如胺基酸或糖側鏈之分子的化學活性表面分組組成，且通常具有特異性三維結構特徵以及特異性電荷特徵。構形抗原決定基及非構形抗原決定基係根據以下方法區分：在變性溶劑存在下喪失與前者之結合，而未喪失與後者之結合。視抗原決定基所屬之抗原大小而定，每種抗原可有一個以上之抗原決定基，此同樣導致每種抗原具有一個以上抗體結合位點(=抗原決定基)之可能性。

抗體可針對(例如)人類、小鼠或大鼠多肽而生成。本發明涵蓋特異性識別靶抗原之抗體(多株或單株)。該等抗體係使用熟習此項技術者所知之標準免疫學技術來培養。抗體可為多株或單株，或可重組產生(諸如對於人化抗體而言)。在競爭性測試系統中可容易地判定抗體是否不與已知治療抗體一樣結合至相同抗原決定基。

藉助於競爭性測試系統，可偵測與相同靶抗原結合之兩種抗體的可能抗原決定基重疊。為此，例如藉助於酶免疫檢定測試新抗體與已知抗體競爭結合至固定靶抗原之程度。為此，將適當固定靶抗原與經標記形式之已知抗體及過量之所述抗體一起培養。藉由偵測結合標記，可容易地確定所述抗體可置換來自結合位點(=抗原決定基)之已知

抗體的程度。若在相同濃度或較高濃度下(較佳在相對於已知抗體 10^5 倍過量之所述抗體的情況下)存在大於10%、較佳大於20%之置換，則存在抗原決定基重疊。其意謂所述抗體與已知抗體一樣結合至相同抗原決定基。

術語"靶抗原"係關於藉由其相應治療性抗體而結合之生物分子。舉例而言，抗HER2(=ErbB2或p 185 ^{neu})治療性抗體(如Herceptin®或Omnitarg®)之靶抗原為HER2，抗EGFr治療性抗體(如Erbitux®)之靶抗原為EGFr，抗VEGF治療性抗體(如Avastin®)之靶抗原為VEGF。靶抗原可為可溶性(亦即分泌或排出)之靶抗原或(細胞)膜結合之靶抗原。

免疫檢定為熟習此項技術者所熟知。在相關教科書中概述用於進行該等檢定之方法以及實踐應用及程序。相關教科書之實例為Tijssen, P., Practice and theory of enzyme immunoassays中之Preparation of enzyme-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates，Burdon, R.H. 及 v. Knippenberg, P.H. (編), Elsevier, Amsterdam (1990)，第221-278頁；及Colowick, S.P.及Caplan, N.O. (編), Methods in Enzymology, Academic Press, dealing with immunological detection methods之各卷，尤其為第70、73、74、84、92及121卷。

術語HER2受體蛋白之"過度表現"意欲表示相對於源自患者之特定組織或器官之正常細胞中的表現水平而言，HER2受體蛋白在源自該組織或器官內之腫瘤細胞中之異常表現水平。藉由此項技術中已知之標準檢定可確定患有

特徵在於HER2受體過度表現之癌症的患者。較佳使用免疫組織化學(IHC)偵測在冷凍或石蠟包埋組織切片之固定細胞中量測過度表現。當外加組織染色時，可確定靶蛋白之定位且可定性地且半定量地量測其在腫瘤中之表現程度。該等IHC偵測檢定在此項技術中為已知的，且包括臨床試驗檢定(CTA)、市售LabCorp 4D5測試及市售DAKO HercepTest®(DAKO，Carpinteria，Calif.)。後者檢定使用0至3+細胞染色(0為正常表現，3+表示最強陽性表現)之特定範圍以識別具有HER2蛋白過度表現之癌症(參見Herceptin®(曲妥珠單抗)完整處方資訊；1998年9月；Genentech, Inc., San Francisco, Calif.)。因此，具有特徵為1+、2+或3+，較佳為2+或3+，更佳為3+範圍內之HER2蛋白過度表現之癌症的患者將自本發明之治療方法獲益。

術語"HER2陽性癌症"係指諸如以下之癌症：乳癌、胃癌、子宮內膜癌、唾液腺癌、非小細胞肺癌、胰腺癌、卵巢癌、腹膜癌、前列腺癌或結腸直腸癌，其特徵在於HER2蛋白之過度表現。

HER2陽性癌症可為(例如)肺癌、非小細胞肺(NSCL)癌、細支氣管肺泡細胞肺癌、骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭部或頸部癌症、皮膚或眼內黑素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區域癌症、胃癌(stomach cancer, gastric cancer)、結腸癌、乳癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、陰門癌、霍奇金病(Hodgkin's Disease)、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、

副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、前列腺癌、膀胱癌、腎癌或尿道癌、腎細胞癌、腎盂癌、間皮瘤、肝細胞癌、膽管癌、慢性或急性白血病、淋巴細胞性淋巴瘤、中樞神經系統(CNS)之贅瘤、脊椎神經軸腫瘤、腦幹神經膠質瘤、多形性膠質母細胞瘤、星形細胞瘤、神經鞘瘤、室管膜瘤、神經管胚細胞瘤、脊膜瘤、鱗狀細胞癌、垂體腺瘤，其包括以上癌症中任一者之難治癌變型或以上癌症中一或多者之組合。癌前病狀或病變包括(例如)由下列各病症組成之群：口腔白斑症、光化性角化病(日光性角化病)、結腸或直腸之癌前息肉、胃上皮異型增生、腺瘤異型增生、遺傳性非息肉性結腸癌症候群(HNPCC)、巴瑞特氏食道症(Barrett's esophagus)、膀胱異型增生及癌前頸部病狀。在一較佳實施例中，癌症為復發性HER2陽性乳癌，其較佳在抗-HER2抗體之一線單藥治療期間或之後經治療，其中該抗-HER2抗體較佳為曲妥珠單抗。

術語"乳癌"係指異常乳腺細胞之非受控生長。其包括乳腺管原位癌、侵襲性乳腺管癌、小葉原位癌、侵襲性小葉癌、髓質癌、佩吉特氏乳頭病(Paget's disease of the nipple)及轉移性乳癌。

術語"復發性癌症"係指初始對於先前治療作出反應但該治療反應未在其體內維持之腫瘤患者體內之異常細胞的非受控生長。術語"復發性HER2陽性癌症"係指異常細胞之非受控生長，其特徵在於初始對於抗-HER2抗體(較佳為曲

妥珠單抗)之先前治療作出反應但該治療反應於以該抗-HER2抗體治療期間未在其體內維持之腫瘤患者體內的HER2蛋白過度表現。將初始對於以抗-HER2抗體(較佳為曲妥珠單抗)之先前治療作出反應但該治療反應未在其體內維持之腫瘤患者稱為"復發者"。

根據從業者藉由源自此項技術中一般已知之臨床及實驗室資料的結果而確定之醫學判斷來確立治療反應(RE)，從而評估患者治療。舉例而言，該等資料可自臨床檢查、細胞學及組織學技術、內窺鏡檢查法及腹腔鏡檢查法、超音、CT及MRI掃描、胸部X射線及乳腺成像以及量測腫瘤標記(諸如CEA、Cyfra、CA15-3、介白素8及可溶性HER2)之濃度而獲得。較佳可使用RECIST標準來測定腫瘤反應(RE)。(Therasse等人，J. Nat. Cancer Institute. 92 (2000) 205-216)。

根據該等RECIST標準，視腫瘤之體積發展或消退(例如經由CT測定)而定，將實體腫瘤之腫瘤反應(Therasse等人，J. Nat. Cancer Institute. 92 (2000) 205-216)分類為四個水平：完全反應(CR)或部分反應(PR)、穩定疾病(SD)及進行性疾病(PD)(參見表1)。此外，歐洲癌症研究與治療組織(EORTC)提出視經由 $2-[^{18}\text{F}]\text{-氟-2-去氧葡萄糖正電子放射斷層攝影法(FDG-PET)}$ (Young H.，等人，Eur J Canc 35 (1999) 1773-1782及Kellof, G. J.等人，Clin Canc Res 11 (2005) 2785- 2808)量測之腫瘤代謝而定分類為四個水平：完全代謝反應(CMR)或部分代謝反應(PMR)、穩定代謝疾

病(SMD)及進行性代謝疾病(PMD)(參見表2)。

表1：CT標準(根據RECIST)標準

CT量測：	RECIST
最長直徑變化總和	
消失；(治療開始後)4週時確認	CR
30%減少；4週時確認	PR
既不滿足PR標準亦不滿足PD標準	SD
20%增加，在疾病增加之前未記載CR、PR、SD	PD

表2：建議FDG-PET(根據EORTC，參見Young H.等人，Eur J Canc 35 (1999) 1773-1782)

PET量測	建議FDG-PET標準
2-[¹⁸ F]-氟-2-去氧葡萄糖(FDG)腫瘤攝取之完全解析	CMR
在一個治療循環後最少15%至25%之標準化攝取值(SUV)減少，且在一個以上治療循環後最少25%以上之標準化攝取值(SUV)減少	PMR
標準化攝取值(SUV)增加<25%或SUV減少<15% FDG腫瘤(>20%之最長尺寸)攝取程度無可視增加	SMD
SUV增加>25% FDG腫瘤攝取(>20%之最長尺寸)之可視增加 在轉移性病變中出現新FDG攝取	PMD

因此，根據本發明之"反應(RE)"及"無反應(NR)"最佳係根據藉由電腦斷層攝影法(CT)與2-[¹⁸F]-氟-2-去氧葡萄糖正電子放射斷層攝影法(FDG-PET)(Kellof, G. J.等人，Clin Canc Res 11 (2005) 2785- 2808及Young H.等人，Eur J Canc 35 (1999) 1773-82)之組合所獲得之資料，使用如上文所述之RECIST及FDG-PET標準兩者來建立。因此，如

下測定根據本發明之反應(RE)及無反應(NR)：

反應 (RE)：經由 CT-RECIST 標準建立 CR 或 PR(表 1)且同時經由 FDG-PET 建立 CMR 或 PMR(表 2)。因此，反應 (RE) 意謂對於組合 CT 及 PET 量測之以下四種情況中之一者：CR 及 CMR、PR 及 PMR、CR 及 PMR 以及 PR 及 CMR。

無反應 (NR)：經由 CT-RECIST 標準建立 SD 或 PD(表 1)且同時經由 FDG-PET 建立 SMD 或 PMD(表 2)。因此，對於組合 CT 及 PET 量測之以下四種情況表示無反應 (NR)：SD 及 SMD、SD 及 PMD、PD 及 SMD 以及 PD 及 PMD。

通常在治療開始後約 3 至 8 週，較佳約 6 週時測定反應。該反應測定通常以 4 至 8 週，較佳 6 至 8 週之時間間隔重複進行。當在第一次測定時識別顯著之反應 (RE)，則最早可在第二次反應測定時測定復發(其意謂在第一次測定後無反應 (NR))。抗 -VEGF 抗體之治療最早開始於 HER2 陽性癌症之復發的測定之後。對於患有復發性 HER2 陽性癌症之患者之抗 -VEGF 抗體治療較佳最早開始於自以該抗 -HER2 抗體之治療開始之時間點計 12 週後，更佳為 15 週後且進一步更佳為 18 週後。在一較佳實施例中，欲經治療之癌症為復發性 HER2 陽性癌症，較佳為復發性 HER2 陽性乳癌。

術語 "患有復發性 HER2 陽性癌症之患者" 係指在其體內於第一次反應測定之後建立為反應 (RE)，且於第二次或其後之反應測定中建立為無反應 (NR) 之患者。

如本文所用之術語 "患者" 較佳係指需要治療癌症或癌前病狀或病變之治療的人類。然而，術語 "患者" 亦可係指需

要治療之非人類動物，較佳為哺乳動物，尤其諸如狗、貓、馬、牛、豬、羊及非人類靈長類動物。

術語 "群" 係指患者之群以及患者之子群。

本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。此係指抗-VEGF抗體用於製造用於治療患有復發性HER2陽性癌症之患者之藥物的用途，其包含在HER2陽性癌症復發之後將該抗-VEGF抗體及該抗-HER2抗體共同投與至患者。因此，較佳在以該抗-HER2抗體治療期間將該藥物投與至患者。在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在抗-HER2抗體之一線單藥治療期間治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。因此，較佳在該抗-HER2抗體之一線單藥治療期間將該藥物投與至患者。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。此係指抗-VEGF抗體用於製造用於治療患有復發性HER2陽性癌症之患者之藥物的用途，其包含在HER2陽性癌症復發之後將該抗-VEGF抗體單獨投與至患者。因此，較佳在以該抗-HER2抗體治療之後將該藥物投與至患者。在一較佳實施例中，本發明

包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在抗-HER2抗體之一線單藥治療之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。因此，較佳在該抗-HER2抗體之一線單藥治療之後將該藥物投與至患者。

該抗-VEGF抗體較佳與貝伐單抗一樣結合至相同之抗原決定基。

該抗-VEGF抗體較佳為貝伐單抗。

該抗-HER2抗體較佳為曲妥珠單抗。

如本文所用之術語"一線治療"係指對於癌症或癌轉移之治療所指定之第一種類型的藥物治療。此可為在診斷及/或手術後初始提供之輔助或新型輔助化學治療或免疫治療。如本文所用之術語"輔助化學治療或免疫治療"係指手術之後旨在防止癌症復發之治療，如本文所用之術語"新型輔助化學治療或免疫治療"係指手術之前意圖減小腫瘤大小所給定之治療。如本文所用之術語"化學治療"係指利用化學物質或生物化學物質(如細胞毒素藥物，諸如5-氟尿嘧啶)之癌症化學治療，或使用諸如曲妥珠單抗之單株抗體或使用諸如埃羅替尼(erlotinib)之激酶抑制劑來治療癌症之靶向治療。

如本文所用之術語"一線單藥治療"係指使用單一化學物質或生物化學物質之如上文所述之一線治療(不同於術語"一線組合治療"，其係指使用兩種或兩種以上化學物質或生物化學物質之一線治療)。

在一較佳實施例中，本發明包含將該抗-VEGF抗體及該

抗-HER2抗體共同投與至患者。

一般而言，術語"用於製造藥物之方法"係關於製造用於如本文所指定之適應症且特定言之用於治療腫瘤、腫瘤轉移或癌症之藥物。

本發明進一步包含一種在以抗-HER2抗體治療期間或之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的方法，其包含將治療有效量之抗-VEGF抗體投與至患者。

在一較佳實施例中，本發明包含一種在以抗-HER2抗體治療期間治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的方法，其包含在HER2陽性癌症復發之後將治療有效量之抗-VEGF抗體及該抗-HER2共同投與至患者。

在一較佳實施例中，本發明包含一種在以抗-HER2抗體治療之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的方法，其包含在HER2陽性癌症復發之後將治療有效量之抗-VEGF抗體單獨投與至患者。

除非另外指出，否則如本文所用之術語"治療"意謂逆轉、減輕、抑制進展或預防(部分地或完全地)腫瘤、腫瘤轉移或其他致癌或贅生性細胞在患者體內之生長。除非另外指出，否則如本文所用之術語"治療"係指治療之行為。

短語"治療方法"或其等效物在應用於(例如)癌症時係指經設計用於減少或消除患者體內之癌細胞數量或減輕癌症症狀之行為程序或方案。對於癌症或另一增殖性病症之"治療方法"未必意謂癌細胞或其他病症實際上將消除，細胞或病症之數量實際上將減少，或癌症或其他病症之症狀

實際上將減輕。通常，即使在成功可能性較低之情況下亦將進行治療癌症之方法，但鑑於患者之病史及預期存活率，該方法仍被視為總體上有益之行為方案。

不言而喻地，以治療有效量將抗體投與至患者，該治療有效量為將引發研究者、獸醫、醫師或其他臨床醫師所追尋之組織、系統、動物或人類之生物或醫學反應之主題化合物或組合的量。

抗-VEGF抗體投藥之量或抗-VEGF抗體及抗-HER2抗體共同投藥之量及投藥之時序將視所治療患者之類型(物種、性別、年齡、體重等)及病狀以及所治療疾病或病狀之嚴重程度而定。通常使用抗-VEG抗體及抗-HER2抗體(如貝伐單抗及曲妥珠單抗)之典型劑量。舉例而言，根據本發明，藉由一或多次獨立投藥或藉由連續輸注之抗體之投藥劑量可為約 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 至 50 mg/kg (例如 0.1 至 20 mg/kg)抗體。典型每日劑量可在約 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 至約 100 mg/kg 之範圍內。在一較佳態樣中，每2至3週以約 1 mg/kg 至約 15 mg/kg 範圍內之劑量投與抗體。曲妥珠單抗之較佳劑量在以連續輸注形式投與時為 4 mg/kg 之速效劑量，及隨後以連續輸注形式投藥每3週輸注 2 mg/kg 至 6 mg/kg ，較佳為 2 mg/kg ，直至偵測到疾病進展。貝伐單抗之較佳劑量為每14天一次靜脈內輸注形式之 5 mg/kg 至 15 mg/kg ，較佳為 5 mg/kg 至 10 mg/kg ，且更佳為 5 mg/kg 。

術語"在以抗-HER2抗體治療期間"係指除抗-HER2抗體之外投與之抗-VEGF抗體之"共同投藥"或"共同投與"。"共

同投藥"意謂除抗-HER2抗體之外同時或連續地投與抗-VEGF抗體。共同投藥可為同時或以任意次序連續，其中較佳存在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性之時段。當同時投與兩種抗體時，在同一天於一次投藥中(例如在一次連續輸注期間)投與該劑量。當連續投與兩種抗體時，在同一天於兩次獨立投藥(例如兩次獨立連續輸注)中投與該劑量，或在第1天投與抗體中之一種且在第2天至第7天，較佳在第2天至第4天投與第二種抗體。關於抗-VEGF抗體及抗-HER2抗體之維持劑量的術語"共同投藥"或"共同投與"意謂若治療循環適合於兩種抗體，則可同時(例如在一次連續輸注期間)投與該等維持劑量。或可在一天或數天內連續投與該等維持劑量，例如每隔3週投與抗-HER2抗體之維持劑量，且每隔2週投與抗-VEGF抗體之維持劑量。其他治療循環(通常為1至4週，較佳為2至3週)亦可用於兩種抗體。

術語"在以抗-HER2抗體治療之後"係指在停止抗-HER2抗體治療之後投與抗-VEGF抗體之投藥。

在一較佳實施例中，藥物適用於減少該患者體內之癌轉移，增加該患者之存活持續時間，增加該患者之無進展存活期，增加反應之持續時間，導致如由存活持續時間、無進展存活期、反應速率或反應持續時間所量測之對經治療患者統計學上顯著且臨床上有意義之改良。在一較佳實施例中，藥物適用於增加患者群中之反應速率。

在一較佳實施例中，藥物適用於在以抗-HER2抗體治療

期間藉由將該抗-VEGF抗體(較佳為貝伐單抗)及該抗-HER2抗體(較佳為曲妥珠單抗)共同投與至患有復發性HER2陽性癌症之患者，從而減少該患者體內之癌轉移。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。因此，較佳在以該抗-HER2抗體治療期間投與該藥物。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在抗-HER2抗體之一線單藥治療期間預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。因此，較佳在該抗-HER2抗體之一線單藥治療期間投與該藥物。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療之後預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。因此，較佳在以該抗-HER2抗體治療之後投與該藥物。

在一較佳實施例中，本發明包含抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在抗-HER2抗體之一線單藥治療之後預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。因此，較佳在該抗-HER2抗體之一線單藥治療之

後投與該藥物。

根據本發明之術語"癌轉移"係指癌細胞自原發性腫瘤至患者體內其他一或多個位點之傳輸。用於判定癌症是否已轉移之方法在此項技術中已知，且包括骨骼掃描、胸部X射線、CAT掃描、MRI掃描及腫瘤標記測試。

如本文所用之術語"用於預防癌轉移之藥物"或"用於減少癌轉移之藥物"係指用作對抗患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移之預防劑的藥物，其以此方式抑制或減少癌細胞自原發性腫瘤至患者體內其他一或多個位點之進一步傳輸。此意謂對原發性、轉移性腫瘤或癌症之轉移進行預防、延遲或抑制。較佳預防或減少肝臟之癌轉移，其意謂預防或減少癌細胞自原發性腫瘤至肝臟之轉移性傳輸。

在本發明之上下文中，額外之其他細胞毒素劑、化療劑或抗癌劑，或增強該等藥劑之效應的化合物可在抗-HER2抗體之先前治療(較佳為先前一線單藥治療)失敗後(亦即在一線曲妥珠單抗單藥治療之治療後於患有復發性HER2陽性癌症之患者體內)用於抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療，或用於抗-VEGF抗體治療。較佳在無該等額外細胞毒素劑、化療劑或抗癌劑，或增強該等藥劑之效應之化合物的情況下使用抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療。

例如，該等藥劑包括：烷基化劑或具有烷基化作用之藥劑，諸如環磷醯胺(CTX；例如cytoxan®)、苯丁酸氮芥

(chlorambucil)(CHL；例如 leukeran®)、順鉑(cisplatin)(CisP；例如 platinol®)、白消安(busulfan)(例如 myleran®)、美法侖(melphalan)、卡莫司汀(carmustine)(BCNU)、鏈脲佐菌素(streptozotocin)、曲他胺(triethylenemelamine)(TEM)、絲裂黴素C(mitomycin C)及其類似物；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)(MTX)、依託泊昔(etoposide)(VP16；例如 vepesid®)、6-巯基嘌呤(6MP)、6-硫鳥嘌呤(6TG)、阿糖胞昔(cytarabine)(Ara-C)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、卡西他濱(capecitabine)(例如 Xeloda®)、達卡巴嗪(dacarbazine)(DTIC)及其類似物；抗生素，諸如放線菌素D(actinomycin D)、經道諾紅黴素(doxorubicin)(DXR；例如 adriamycin®)、道諾黴素(daunorubicin)(柔紅黴素(daunomycin))、博萊黴素(bleomycin)、米拉黴素(mithramycin)及其類似物；生物鹼類，諸如長春花屬生物鹼類，如長春新鹼(vincristine)(VCR)、長春鹼(vinblastine)及其類似物；及其他抗腫瘤劑，諸如紫杉醇(paclitaxel)(例如 taxol®)及紫杉醇衍生物；細胞抑制劑；糖皮質激素，諸如地塞米松(dexamethasone)(DEX；例如 decadron®)；及皮質類固醇，諸如潑尼松(prednisone)；核苷酶抑制劑，諸如羥基脲；氨基酸消耗酶，諸如天冬醯胺酶；甲醯四氫葉酸及其他葉酸衍生物；及類似各種抗腫瘤劑。以下藥劑亦可用作額外藥劑：胺磷汀(arnifostine)(例如 ethyol®)、放線菌素(dactinomycin)、氮芥(mechlorethamine，nitrogen mustard)、鏈脲佐菌素(streptozocin)、環磷醯胺、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、

羥道諾紅黴素脂(doxorubicin lipo)(例如 doxil®)、吉西他濱(gemcitabine)(例如 gemzar®)、道諾黴素脂(daunorubicin lipo)(例如 daunoxome®)、丙卡巴肼(procabazine)、絲裂黴素、多烯紫杉醇(docetaxel)(例如 taxotere®)、阿地白介素(aldesleukin)、卡鉑(carboplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、克拉屈濱(cladribine)、喜樹鹼(camptothecin)、CPT 11(伊立替康(irinotecan))、10-羥基7-乙基-喜樹鹼(SN38)、氟脲昔(floxuridine)、氟達拉濱(fludarabine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、伊達比星(idarubicin)、美司鈉(mesna)、干擾素β、干擾素α、米托蒽醌(mitoxantrone)、拓朴替康(topotecan)、亮丙立德(leuprolide)、甲地孕酮(megestrol)、美法侖、巯基嘌呤(mercaptopurine)、普卡黴素(plicamycin)、米托撫(mitotane)、培門冬酶(pegaspargase)、噴司他丁(pentostatin)、哌泊溴烷(pipobroman)、普卡黴素(plicamycin)、他莫西芬(tamoxifen)、替尼泊昔(teniposide)、睾內酯(testolactone)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、噻替派(thiotepa)、烏拉莫司汀(uracil mustard)、長春瑞賓(vinorelbine)、苯丁酸氮芥。較佳在無該等額外藥劑之情況下使用抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療。

在本發明之上下文中，抗激素劑可在抗-HER2抗體之先前治療(較佳為先前一線單藥治療)失敗後(亦即在患有復發性HER2陽性癌症之患者體內)用於抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療中，或用於抗-VEGF抗體治療中。如本文所

用之術語 "抗激素劑" 包括用於調節或抑制激素對於腫瘤之作用的天然或合成有機化合物或肽化合物。例如，抗激素劑包括：類固醇受體拮抗劑、抗雌激素，諸如他莫西芬、雷洛西芬(raloxifene)、芳香酶抑制性4(5)-咪唑、其他芳香酶抑制劑、42-羥基他莫西芬、曲沃西芬(trioxifene)、克洛西芬(keoxifene)、LY 117018、奧那司酮(onapristone)及托瑞米芬(toremifene)(例如Fareston®)；抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德及戈舍瑞林(goserelin)；及以上任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；糖蛋白激素之促效劑及/或拮抗劑，諸如促濾泡素(FSH)、促甲狀腺素(TSH)及促黃體素(LH)及LHRH(促黃體素釋放激素)；以Zoladex®(AstraZeneca)市售之LHRH促效劑戈舍瑞林乙酸鹽；LHRH拮抗劑D-丙胺醯胺N-乙醯基-3-(2-荼基)-D-丙胺醯基-4-氯-D-苯基丙胺醯基-3-(3-吡啶基)-D-丙胺醯基-L-絲胺醯基-N6-(3-吡啶基羰基)-L-離胺醯基-N6-(3-吡啶基-羰基)-D-離胺醯基-L-白胺醯基-N6-(1-甲基乙基)-L-離胺醯基-L-脯氨酸(例如Antide®, Ares-Serono)；LHRH拮抗劑加尼瑞克(ganirelix)乙酸鹽；類固醇抗雄激素環丙孕酮(cyproterone)乙酸鹽(CPA)及甲地孕酮乙酸鹽，以Megace®(Bristol-Myers Oncology)市售；非類固醇抗雄激素氟他胺(2-甲基-N-[4,20-硝基-3-(三氟甲基)苯丙醯胺)，以Eulexin®(Schering Corp.)市售；非類固醇抗雄激素尼魯胺(5,5-二甲基-3-[4-硝基-3-(三氟甲基)-4'-硝基苯基]-4,4-二甲基-咪唑啶-二酮)；

及其他非許可受體之拮抗劑，諸如RAR(視黃酸受體)、RXR(類視色素X受體)、TR(甲狀腺受體)、VDR(維生素D受體)及其類似受體之拮抗劑。該抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療較佳係在無該等額外抗激素劑之情況下使用。

上文所述之細胞毒素劑及其他抗癌劑在化療方案中之用途一般充分表徵於癌症治療技術中，且其用途在本文中伴以一些調整而歸入相同考慮中，以監控容許度及有效性以及控制投藥途徑及劑量之。舉例而言，細胞毒素劑之實際劑量可視藉由使用組織培養方法所測定之患者之培養細胞反應而變化。一般而言，與不存在額外其他藥劑之情況下所用之量相比，劑量將減少。

有效細胞毒素劑之典型劑量可介於製造商所推薦之範圍內，且其中在由活體外反應或動物模型中之反應表示時，可減少至多約一個數量級之濃度或量。因此，實際劑量將視醫師之判斷、患者之病狀及治療方法之有效性(基於經原發培養之惡性細胞或經組織培養之組織樣本的活體外反應性，或在合適動物模型中所觀察到之反應)而定。

在本發明之上下文中，額外抗增殖劑可在抗-HER2抗體之先前治療(較佳為先前一線單藥治療)失敗後用於抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療中或用於抗-VEGF抗體治療中，該等抗增殖劑包括(例如)：酶法呢基蛋白轉移酶之抑制劑及受體酪胺酸激酶PDGFR之抑制劑，其包括在以下專利案中揭示及主張之化合物：美國專利第6,080,769號、第

6,194,438號、第6,258,824號、第6,586,447號、第6,071,935號、第6,495,564號、第6,150,377號、第6,596,735號及第6,479,513號，及國際專利公開案WO 01/40217。該抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療較佳係在無該等額外抗增殖劑之情況下使用。

在本發明之上下文中，在抗-HER2抗體之先前治療(較佳為先前一線單藥治療)失敗後(亦即在患有復發性HER2陽性癌症之患者體內)除抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療之外，可進行有效量之離子化放射及/或使用放射性藥品。放射源可位於經治療患者之體外或體內。當該源位於患者體外時，將該治療稱為體外放射治療(EBRT)。當放射源位於患者體內時，將該治療稱為近距治療(BT)。在本發明之上下文中所用之放射性原子可選自包括(但不限於)下列各原子之群：鐳、銫-137、鋨-192、鎇-241、金-198、鈷-57、銅-67、锝-99、碘-123、碘-131及銦-111。當本發明之EGFR激酶抑制劑為抗體時，亦可能使用該等放射性同位素來標記該抗體。較佳在無該等離子化放射之情況下使用抗-VEGF抗體加抗-HER2抗體組合治療或抗-VEGF抗體治療。

放射性治療為用於控制不可切除或不可動手術之腫瘤及/或腫瘤轉移之標準治療。在將放射治療與化學治療組合時，已可見改良之結果。放射治療係基於此原理：傳遞至靶區域之高劑量放射將導致腫瘤及正常組織中之生殖細胞死亡。放射給藥方案一般係根據放射吸收劑量(Gy)、時間

及分級來定義，且必須由腫瘤學家小心地定義。患者接受之放射量將視各種考慮因素而定，但最重要之兩個考慮因素為腫瘤相對於身體其他重要結構或器官之位置，及腫瘤已擴散之程度。對於經受放射治療之患者而言，典型治療過程將為歷時1至6週時期之治療時程，將10與80 Gy之間的總劑量按照每週5天約1.8至2.0 Gy之單一每日分量投與至患者。在本發明之一較佳實施例中，當使用本發明之組合治療及放射來治療人類患者體內之腫瘤時，存在協同效應。換言之，當與放射組合時，視情況與額外化療劑或抗癌劑組合時，藉助於包含本發明之組合或單一治療之藥劑對腫瘤生長之抑制作用得以增強。舉例而言，輔助放射治療之參數包含於國際專利公開案WO 99/60023中。

根據已知方法，藉由靜脈內投藥以大丸劑形式或藉由歷時一段時期之連續輸注，藉由肌肉內、腹膜內、腦脊內、皮下、關節內、滑液內或鞘內途徑將抗體投與至患者。抗體之靜脈內或皮下投藥為較佳的。

本發明進一步提供一種製品，其包含一容器、一處於該容器內之包含抗-VEGF抗體之組合物及一指示該組合物之使用者在以抗-HER2抗體治療期間或之後對患有復發性HER2陽性癌症之患者投與該抗-VEGF抗體之封裝插頁。

術語"封裝插頁"係指通常包括於治療產品之商業封裝中之說明書，其可包括關於適應症、用法、劑量、投藥、禁忌及/或涉及該等治療產品用途之警告的資訊。

在一較佳實施例中，製品容器可進一步包括醫藥學上可

接受之載劑。該製品可進一步包括無菌稀釋劑，其較佳儲存於一獨立額外容器中。

如本文所用之"醫藥學上可接受之載劑"意欲包括與醫藥投藥相容之任何及所有材料，其包括溶劑、分散介質、塗層、抗菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑以及其他與醫藥投藥相容之材料及化合物。除非任何習知介質或藥劑均不與活性化合物相容，否則將涵蓋其在本發明之組合物中之用途。亦可將補充活性化合物併入組合物中。

○ 提供以下實例及圖式以助於瞭解本發明，本發明之真實範疇係在隨附申請專利範圍中陳述。應瞭解，在不偏離本發明之精神的情況下，可在所陳述之程序中進行修改。

實驗程序

引言

○ 目前研究檢查在單獨曲妥珠單抗治療失敗後，a)曲妥珠單抗與貝伐單抗之組合及b)單獨貝伐單抗治療在人類乳房異種移植物模型中之抗腫瘤活性。該研究之其他目標在於檢查治療對於癌轉移之效應。

測試劑

提供於組胺酸-HCl、 α - α 海藻糖(60 mM)、0.01% Polysorb中之25 mg/ml儲備溶液形式之曲妥珠單抗，pH 6.0(Herceptin®)。提供於磷酸鈉、 α - α 海藻糖(60 mM)、0.01% Polysorb中之25 mg/ml儲備溶液形式之貝伐單抗，pH 6.0(Avastin®)。兩種溶液均在PBS中經適當稀釋以用於注射。

細胞株及培養條件

人類乳癌細胞株KPL-4已自患有發炎性皮膚癌轉移之乳癌患者的惡性胸膜滲出液形成，且過度表現ErbB家族受體。(Kurebayashi等人，Br. J. Cancer 79 (1999) 707-17)通常在37°C下於5% CO₂之水飽和氣氛中，將腫瘤細胞培養於補充有10%胎牛血清(PAA)及2 mM L-麴醯胺酸(Gibco)之DMEM介質(PAA Laboratories，Austria)中。使用胰蛋白酶/EDTA 1×(PAA)分裂每週兩次進行培養繼代。細胞繼代P6用於活體內研究。

動物

將SCID beige(C.B.-17)小鼠；年齡10至12週；體重18至20 g(Charles River，Sulzfeld，Germany)根據國際準則(GV-Solas；Felasa；TierschG)以12 h明/12 h暗之每日循環飼養在無特異性病原體之條件下。到達後，將動物收容於動物設施之隔離區中歷時一週，以使其習慣新環境且用於觀察。以常規方式進行連續健康監控。隨意提供食物(Alltromin)及水(經酸化pH值2.5至3)。

活體內之腫瘤生長抑制研究

自培養燒瓶(Greiner TriFlask)收集腫瘤細胞(胰蛋白酶-EDTA)，且將其轉移至50 ml培養基中，洗滌一次且重新懸浮於PBS中。在使用PBS之額外洗滌步驟及過濾(細胞濾器；Falcon 100 μm)後，將最終細胞力價調整為0.75×10⁸/ml。用移液管小心地將腫瘤細胞懸浮液混合，以免細胞凝集。在封閉循環系統中使用具有預培養室(膠質玻璃)、個別小

鼠鼻罩(矽)及異氟烷(Pharmacia-Upjohn, Germany)之小動物用斯提芬(Stephens)吸入裝置進行麻醉。在注射前兩天將動物之毛剃去。對於乳腺內脂肪墊(i.m.f.p.)注射而言，在正位上將體積為 $20\text{ }\mu\text{l}$ 之細胞注射至各經麻醉小鼠之右側次末腹股溝乳腺脂肪墊中。對於正位植入而言，經由皮膚在乳頭下注射細胞懸浮液。腫瘤細胞注射對應於實驗之第1天。

監控

每日對動物進行控制以偵測反作用之臨床症狀。對於監控整個實驗而言，每週記錄2次動物之體重且藉由測徑規每週量測2次腫瘤體積。根據NCI方案($TV=1/2 ab^2$ ，其中a及b為腫瘤大小之長徑及短徑，單位為mm，Teicher, B., Anticancer drug development guide, Humana Press, 5, (1997) 92)計算原發性腫瘤體積。將計算值記錄為平均值及標準偏差。

動物之治療

當腫瘤體積約為 100 mm^3 時，將帶有腫瘤之小鼠隨機分組(各組n=10)。在開始於腫瘤細胞注射27天後之治療之前各組精密匹配。A組：媒劑組-每週一次腹膜內(i.p.)接受10 ml/kg PBS緩衝液。B組：以30 mg/kg之速效劑量腹膜內投與曲妥珠單抗，繼而每週一次投與15 mg/kg之劑量(維持劑量)。在第60天將B組之動物分為另外三組：B'、C及D。僅對B'組使用每週一次15 mg/kg之劑量(維持劑量)來維持單獨曲妥珠單抗之治療。C組：在第61天，將對於C組之治

療轉換為曲妥珠單抗(每週一次15 mg/kg腹膜內)與貝伐單抗(每週兩次5 mg/kg腹膜內)之組合治療。D組：在第61天，將對於D組之治療轉換為貝伐單抗(每週兩次5 mg/kg腹膜內)之單藥治療，同時停止曲妥珠單抗之治療。

癌轉移之評估

在死亡動物中測定腫瘤細胞至肺部之擴散。根據 Schneider, T. 等人，Clin. Exp. Metas. 19 (2002) 571-582量測癌轉移。簡言之，收集肺組織且藉由即時PCR定量人類Alu序列。較高之人類DNA水平(藉由即時PCR定量)對應於較高之癌轉移水平。

結果

在圖1及表1中展示對於原發性腫瘤生長之治療效應。媒劑組(A組)中之腫瘤快速生長且小鼠在注射腫瘤細胞73天後由於腫瘤之潰瘍及臨床症狀之發展而死亡。曲妥珠單抗之治療(B組)顯著地抑制腫瘤生長；然而在第50天左右腫瘤開始重新生長。在第61天開始轉變為曲妥珠單抗與貝伐單抗之組合治療(C組)以及轉換為貝伐單抗單藥治療(D組)，二者均導致在實驗期間(112天)對於腫瘤生長之完全抑制，且治療良好耐受。

表 1 :

在曲妥珠單抗治療失敗後，a)組合曲妥珠單抗與貝伐單抗治療及 b)單獨貝伐單抗治療對於腫瘤生長之抗癌活性(圖1之資料)。報導平均腫瘤體積(單位為 mm³)及標準偏差(SD)。

天數	媒劑 (A)	SD	曲妥珠 單抗 (B+B')	SD	自曲妥珠單抗 變為曲妥珠單抗+貝伐單抗 (C)	SD	自曲妥珠 單抗變為 貝伐單抗 單藥治療 (D)	SD
27	85	27	81	29				
29	115	42	106	36				
34	136	66	100	49				
37	193	108	97	70				
41	235	163	133	100				
44	335	220	139	128				
48	406	309	172	181				
51	591	463	201	203				
55	690	479	263	286				
58	565	333	315	383				
60	729	402	393	426				
63	911	391	493	531	407	263	427	365
65	898	313	585	582	350	210	306	220
70	1213	440	798	776	190	45	180	142
73	1015	330	961	841	149	44	154	112
77			861	418	146	45	129	78
79			896	434	159	92	127	84
83			1034	485	158	148	97	80
87					193	228	95	57
91					159	166	100	82
94					225	292	120	106
98					242	340	112	95
101					154	160	120	108
105					119	109	92	85
108					175	157	104	105
112					122	68	110	103

在圖2及表2中展示對於肝臟癌轉移之治療效應。在曲妥珠單抗治療失敗後曲妥珠單抗與貝伐單抗之組合導致癌轉移銳減。與死於第73天之經媒劑治療動物相比，自第61天

開始經組合治療治療31天之動物中之人類Alu序列之含量(與癌細胞侵入次生組織相關)顯著降低。在經曲妥珠單抗或貝伐單抗單藥治療治療之分別死於第83或112天之動物體內，癌轉移亦受到抑制。對於癌轉移之該令人驚訝之效應與使用細胞毒素藥物所見之效應相反(Geldof等人，Anticancer Res. 8 (1988) 1335-40, Murphy, J., Clin. Oncol. 11 (1993) 199-201及De Larco等人，Cancer Res. 61 (2001) 2857-61)。

表2：

對於肝臟癌轉移之治療效應。藉由即時PCR定量Alu DNA且對各動物進行報導。

	媒劑(A) (第73天)	曲妥珠單抗 (B+B') (第83天)	貝伐單抗(D) (第112天)	曲妥珠單抗+ 貝伐單抗(C) (第112天)
人類DNA [pg/ml]	41.750	21.000	12.250	7.155
	51.400	10.550	7.405	6.785
	54.500	26.600	45.600	15.500
	19.300	12.250	29.200	8.040
	6.545	37.900	7.640	8.305
	48.550	25.050	22.900	
			7.740	
平均值	37.008	22.225	18.962	9.157

【圖式簡單說明】

圖1在曲妥珠單抗治療失敗後，a)組合曲妥珠單抗及貝伐單抗治療及b)單獨貝伐單抗治療對於腫瘤生長之抗腫瘤活性。在y軸上繪出腫瘤體積之平均值(mm^3)；在x軸上繪出注射腫瘤細胞後之天數。A)媒劑(圓形)，B)30 mg/kg速效劑量及每週一次15 mg/kg維持劑量之曲妥珠單抗(方

形)。在第 60 天，將 B 組之動物分為另外三組：B'(60 天後之方形)、C 及 D。僅對 B' 組以每週一次 15 mg/kg 之劑量(維持劑量)來維持單獨曲妥珠單抗之治療。C)自第 61 天起，每週一次 15 mg/kg 之曲妥珠單抗維持劑量與每週兩次 5 mg/kg 之額外貝伐單抗治療劑量組合(三角形)；及 D)自第 61 天起，當停止曲妥珠單抗之治療時，每週兩次 5 mg/kg 之貝伐單抗(十字形)。藉由一或多個星號(*)表示基於終止標準之一(*)或多(***)隻小鼠死亡之時間點。

○ 圖 2 (A)無治療媒劑組、(B)單獨曲妥珠單抗治療(直至第 83 天)、(C)單獨曲妥珠單抗治療(第 27 天至第 60 天)後之組合曲妥珠單抗及貝伐單抗治療(第 61 天至第 112 天)及(D)單獨曲妥珠單抗治療(第 27 天至第 60 天)後之單獨貝伐單抗治療(第 61 天至第 112 天)對於肝臟癌轉移之效應。使用即時 PCR 自肝臟組織定量人類 Alu DNA 序列之平均值(pg/ml)，且繪製於 y 軸上。

201107346

發明專利說明書

分割案

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 99141756

C07K 16/30 (2006.01)

※申請日： 96.8.20 ※IPC 分類： A61K 39/395 (2006.01)

原申請案號： 096130765

A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抗-VEGF抗體之腫瘤治療

TUMOR THERAPY WITH AN ANTI-VEGF ANTIBODY

二、中文發明摘要：

本發明提供一種在以抗-HER2抗體治療期間或之後使用抗-VEGF抗體治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的方法。本發明亦提供相應製品。

三、英文發明摘要：

The present invention provides a method of treating a patient suffering from relapsed HER2 positive cancer with an anti-VEGF antibody during or after treatment with an anti-HER2 antibody.

The invention also provides corresponding articles of manufacture.

七、申請專利範圍：

1. 一種抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後治療患有復發性HER2陽性癌症之患者的藥物。
2. 如請求項1之用途，其特徵在於其係在以抗-HER2抗體治療期間將該藥物投與至該患者。
3. 如請求項2之用途，其特徵在於其係在抗-HER2抗體之一線單藥治療期間投與該藥物。
4. 如請求項1之用途，其特徵在於其係在以抗-HER2抗體治療之後投與該藥物。
5. 如請求項4之用途，其特徵在於其係在抗-HER2抗體之一線單藥治療之後投與該藥物。
6. 一種抗-VEGF抗體之用途，其係用於製造用於在以抗-HER2抗體治療期間或之後預防或減少患有復發性HER2陽性癌症之患者體內之癌轉移的藥物。
7. 如請求項6之用途，其特徵在於其係在以抗-HER2抗體治療期間投與該藥物。
8. 如請求項7之用途，其特徵在於其係在抗-HER2抗體之一線單藥治療期間投與該藥物。
9. 如請求項6之用途，其特徵在於其係在以抗-HER2抗體治療之後投與該藥物。
10. 如請求項9之用途，其特徵在於其係在抗-HER2抗體之一線單藥治療之後投與該藥物。
11. 如請求項1至10中任一項之用途，其特徵在於該抗-VEGF

為貝伐單抗(bevacizumab)。

12. 如請求項1至10中任一項之用途，其特徵在於該抗-HER2
抗體為曲妥珠單抗(trastuzumab)。

13. 一種製品，其特徵在於包含一容器、一處於該容器內之
包含抗-VEGF抗體之組合物及一指示該組合物之使用者
在以抗-HER2抗體治療期間或之後對患有復發性HER2陽
性癌症之患者投與該抗-VEGF抗體之封裝插頁。

201107346

八、圖式：

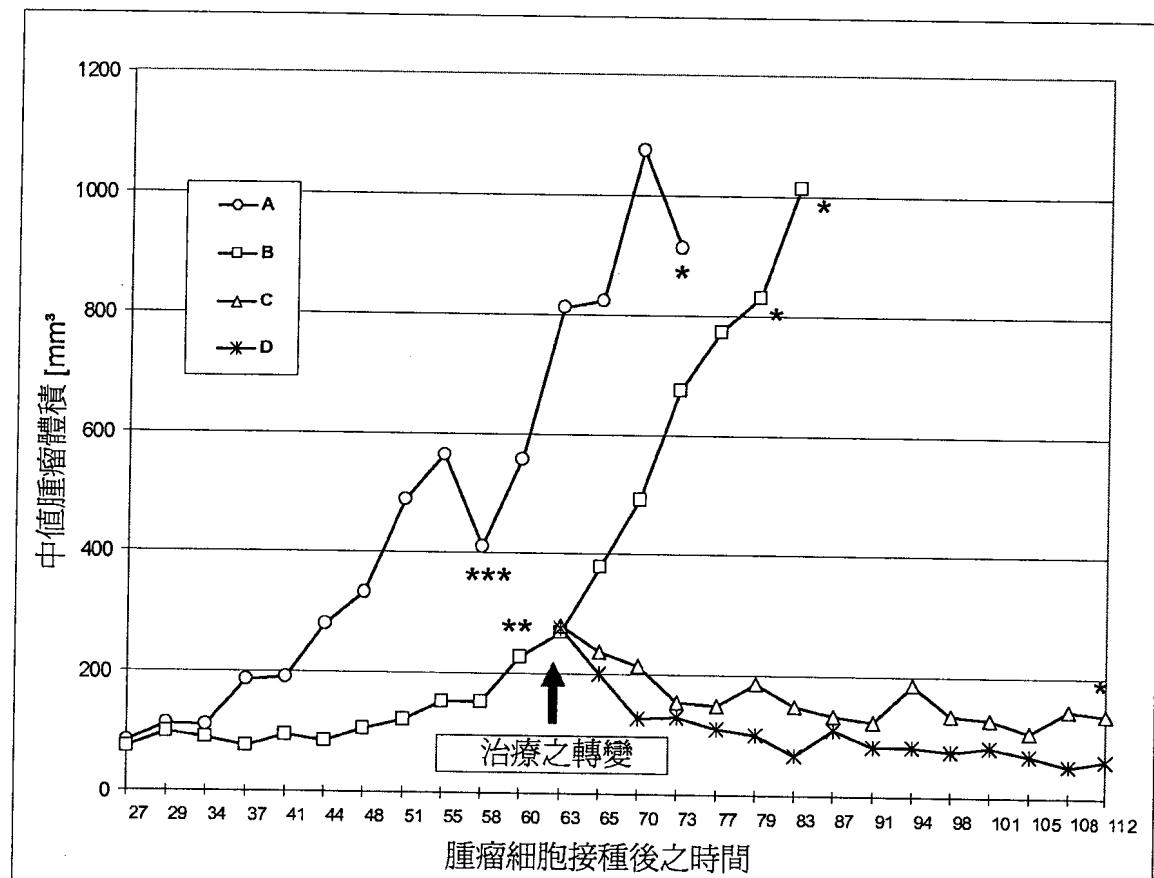


圖 1

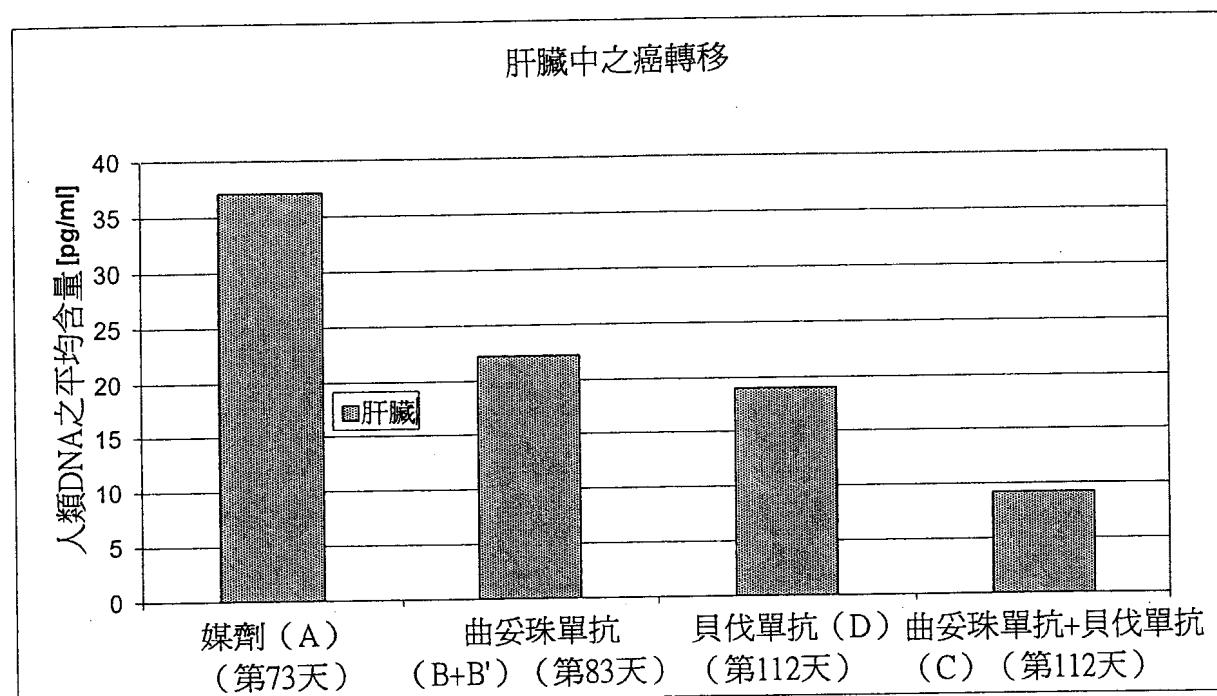


圖2

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（1）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)