

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3 589 661

"Trattamento adiuvante del cancro mammario positivo a HER2"

Genentech, Inc.,

con sede a South San Francisco, CA (Stati Uniti)

F. Hoffmann-La Roche AG, con sede a Basel (Svizzera)

DESCRIZIONE

Campo dell'invenzione

La presente invenzione riguarda pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per l'uso in un metodo per ridurre il rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o morte per pazienti con diagnosi di cancro mammario in fase precoce (eBC) positivo a HER2 rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab, come definito nelle rivendicazioni.

Contesto dell'invenzione

I membri della famiglia HER dei recettori di tirosin-chinasici sono importanti mediatori di crescita, differenziazione e sopravvivenza cellulare. La famiglia di recettori di include quattro membri distinti tra cui il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR, ErbB1 o HER1), HER2 (ErbB2 o p185^{neu}), HER3 (ErbB3) e HER4 (ErbB4 o tyro2). I membri della famiglia dei recettori di sono stati implicati in vari tipi di neoplasie umane.

Una versione umanizzata ricombinante dell'anticorpo murino anti-HER2 4D5 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, trastuzumab o HERCEPTIN®; Brevetto statunitense n. 5,821,337) è clinicamente attivo in pazienti con cancro mammario metastatico sovraesprime HER2 che hanno ricevuto

Marco Giovanni Mari
USBM-GPI-090

una precedente ampia terapia anticancro (Baselga et al., J. Clin. Oncol. 14:737-744 (1996)).

Trastuzumab ha ricevuto l'approvazione alla commercializzazione da parte della Food and Drug Administration il 25 settembre 1998 per il trattamento di pazienti con cancro mammario metastatico i cui tumori sovraesprimono la proteina HER2. Al momento, trastuzumab è approvato per l'uso come agente singolo o in combinazione con la chemioterapia o la terapia ormonale nel contesto metastatico, e come agente singolo o in combinazione con la chemioterapia come trattamento adiuvante per i pazienti con cancro mammario positivo a HER2 allo stadio iniziale. La terapia a base di trastuzumab è ora il trattamento raccomandato per i pazienti con cancro mammario allo stadio iniziale positivo a HER2 che non hanno controindicazioni per il suo uso (informazioni sulla prescrizione di Herceptin®; Linee guida NCCN, versione 2,2011). Trastuzumab più docetaxel (o paclitaxel) è uno standard di cura registrato nel trattamento del cancro mammario metastatico (MBC) di prima linea (Slamon et al. N Engl J Med. 2001;344(11):783-792.; Marty et al. J Clin Oncol. 2005; 23(19):4265-4274).

I pazienti trattati con l'anticorpo HER2 trastuzumab sono selezionati per la terapia in base all'espressione di HER2. Si vedano, per esempio, WO99/31140 (Paton et al.), US2003/0170234A1 (Hellmann, S.), e US2003/0147884 (Paton et al.); nonché WO01/89566, US2002/0064785 e US2003/0134344 (Mass et al.). Si vedano inoltre il Brevetto statunitense n. 6,573,043, il Brevetto statunitense n.

6,905,830, e US2003/0152987, Cohen et al., in merito all'immunoistochimica (IHC) e all'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) per rilevare la sovraespressione e l'amplificazione di HER2. Pertanto, la gestione ottimale del cancro mammario metastatico ora tiene conto non solo delle condizioni generali, dell'anamnesi e dello stato dei recettori di una paziente, ma anche dello stato di HER2.

Pertuzumab (noto anche come anticorpo monoclonale umanizzato ricombinante 2C4 (rhuMAB 2C4); Genentech, Inc, South San Francisco) rappresenta il primo di una nuova classe di agenti noti come inibitori della dimerizzazione di HER (HDI) e funziona per inibire la capacità di HER2 di formare eterodimeri od omodimeri attivi con altri recettori di HER (come EGFR/HER1, HER2, HER3 e HER4). Si vedano, per esempio, Harari e Yarden *Oncogene* 19:6102-14 (2000); Yarden e Sliwkowski. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:127-37 (2001); Sliwkowski *Nat Struct Biol* 10: 158-9 (2003); Cho et al. *Nature* 421:756-60 (2003); e Malik et al. *Pro Am Soc Cancer Res* 44: 176-7 (2003).

È stato dimostrato che il blocco da parte di pertuzumab della formazione di eterodimeri di HER2-HER3 nelle cellule di cancro inibisce una segnalazione cellulare critica, con conseguente riduzione della proliferazione e della sopravvivenza tumorale (Agus et al. *Cancer Cell* 2: 127-37 (2002)).

Pertuzumab è stato sottoposto a test come singolo agente nella clinica con uno studio di fase Ia in pazienti con tumori avanzati e studi di fase II in pazienti con cancro ovarico e cancro alla mammella, nonché cancro al polmone e alla prostata. In uno studio di

Fase I, i pazienti con tumori solidi incurabili, localmente avanzati, ricorrenti o metastatici che erano progrediti durante o dopo la terapia standard sono stati trattati con pertuzumab somministrato per via endovenosa ogni 3 settimane. Pertuzumab è stato generalmente ben tollerato. La regressione del tumore è stata ottenuta in 3 dei 20 pazienti valutabili per la risposta. Due pazienti hanno avuto risposte parziali confermate. Una malattia stabile di durata superiore a 2,5 mesi è stata osservata in 6 dei 21 pazienti (Agus et al. *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:192 (2003)). A dosi di 2,0-15 mg/kg, la farmacocinetica di pertuzumab era lineare e la eliminazione media variava da 2,69 a 3,74 ml/giorno/kg e l'emivita media di eliminazione terminale variava da 15,3 a 27,6 giorni. Non sono stati rilevati anticorpi contro pertuzumab (Allison et al. *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:197 (2003)).

US 2006/0034842 descrive metodi per trattare un cancro esprime ErbB con combinazioni di anticorpi anti-ErbB2. US 2008/0102069 descrive l'uso di trastuzumab e pertuzumab nel trattamento di un cancro metastatico positivo a HER2, come un cancro mammario. Baselga et al., *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Col. 25, No. 18 S (Supplemento del 20 giugno), 2007: 1004 riportano il trattamento di pazienti con cancro mammario positivo a HER2 pre-trattato, che è progredito durante il trattamento con trastuzumab, con una combinazione di trastuzumab e pertuzumab. Portera et al., *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol. 25, No. 18 S (Supplemento del 20 giugno), 2007: 1028

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

hanno valutato l'efficacia e la sicurezza della terapia di combinazione trastuzumab + pertuzumab in pazienti con cancro mammario positivo a HER2, che avevano una malattia progressiva sotto terapia a base di trastuzumab. Gli autori hanno concluso che era necessaria un'ulteriore valutazione dell'efficacia del trattamento di combinazione per definire il rischio e il beneficio complessivi di questo regime di trattamento.

Pertuzumab è stato valutato in studi di Fase II in combinazione con trastuzumab in pazienti con cancro mammario metastatico positivo a HER2 che avevano precedentemente ricevuto trastuzumab per una malattia metastatica. Uno studio, condotto dal National Cancer Institute (NCI), ha arruolato 11 pazienti con cancro mammario metastatico positivo a HER2 precedentemente trattato. Due degli 11 pazienti hanno mostrato una risposta parziale (PR) (Baselga et al., J Clin Oncol 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings; 25:18 S (supplemento del 20 giugno): 1004).

I risultati di uno studio neoadiuvante di stadio II che valuta l'effetto di un nuovo regime di combinazione di pertuzumab e trastuzumab più chemioterapia (docetaxel) in donne con cancro mammario allo stadio iniziale positivo a HER2, presentati al CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), 8-12 dicembre 2010, ha mostrato che i due anticorpi HER2 più docetaxel somministrati in ambiente neoadiuvante prima dell'intervento chirurgico hanno migliorato significativamente il tasso di scomparsa completa del tumore (tasso di risposta completa patologica, pCR, del 45,8%) nella

mammella più della metà rispetto a trastuzumab più docetaxel (pCR del 29,0%), $p=0,014$.

Lo studio clinico di fase II di valutazione clinica di pertuzumab e trastuzumab (CLEOPATRA) ha valutato l'efficacia e la sicurezza di pertuzumab più trastuzumab più docetaxel, rispetto a placebo più trastuzumab più docetaxel, come trattamento di prima linea per pazienti con cancro mammario positivo a HER2 localmente recidivante, non resecabile o metastatico. La combinazione di pertuzumab più trastuzumab più docetaxel, rispetto al placebo più trastuzumab più docetaxel, quando usata come trattamento di prima linea per il cancro mammario metastatico positivo a HER2, ha prolungato in modo significativo la sopravvivenza priva di progressione, senza alcun aumento degli effetti tossici cardiaci. (Baselga et al., N Eng J Med 2012 366:2, 109-119).

Lo studio clinico di fase II NeoSphere ha valutato l'efficacia e la sicurezza della somministrazione neoadiuvante di pertuzumab e trastuzumab in donne naïve al trattamento (pazienti che non hanno ricevuto alcuna precedente terapia anticancro) con cancro mammario operabile, localmente avanzato e infiammatorio. I pazienti trattati con pertuzumab e trastuzumab più docetaxel hanno mostrato un tasso di risposta patologica completa significativamente migliorato rispetto a quelli trattati con trastuzumab più docetaxel, senza sostanziali differenze di tollerabilità (Gianni et al., Lancet Oncol 2012 13(1):25-32). I risultati del follow-up a 5 anni sono riportati da Gianni et al., Lancet Oncol 2016 17(6):791-800).

La terapia adiuvante, nel senso più ampio, è un trattamento somministrato oltre alla terapia primaria per uccidere eventuali cellule di cancro che possono essersi diffuse, anche se la diffusione non può essere rilevata da esami radiologici o di laboratorio.

Le pubblicazioni o i seminari relativi alla terapia adiuvante includono: Paik et al., J. Natl. Cancer Inst., 92(24):1991-1998 (2000); Paik et al., J. Natl. Cancer Inst., 94:852-854 (2002); Paik et al. Successful quality assurance program for HER2 testing in the NSABP Trial for Herceptin. San Antonio Breast Cancer Symposium, 2002; Roche P C et al., J. Natl. Cancer Inst., 94(11):855-7 (2002); Albain et al., Proceedings of the American Society of Clinical Oncology, trentottesima riunione annuale, 18-21 maggio 2002, Orlando, Fla., Abstract 143; The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) Trialists' Group, Lancet, 359:2131-39 (2002); Geyer et al., 26th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), dicembre 2003, Abstract 12; Perez et al., Proc. ASCO, 2005, Abstract 556.

La pubblicazione di brevetto statunitense n. 2004/0014694 (pubblicata il 22 gennaio 2004) descrive un metodo di terapia adiuvante per il trattamento di un cancro mammario in fase precoce, comprendente la somministrazione di docetaxel, doxorubicina e ciclofosfamida.

Il trattamento adiuvante del cancro mammario mediante somministrazione di HERCEPTIN® è divulgato nel Brevetto statunitense n. 8,591,897.

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

Le pubblicazioni brevettuali correlate agli anticorpi HER2
includono: i Brevetti statunitensi n. 5,677,171; 5,720,937;
5,720,954; 5,725,856; 5,770,195; 5,772,997; 6,165,464; 6,387,371;
6,399,063; 6,015,567; 6,333,169; 4,968,603; 5,821,337; 6,054,297;
6,407,213; 6,639,055; 6,719,971; 6,800,738; 5,648,237; 7,018,809;
6,267,958; 6,695,940; 6,821,515; 7,060,268; 7,682,609; 7,371,376;
6,127,526; 6,333,398; 6,797,814; 6,339,142; 6,417,335; 6,489,447;
7,074,404; 7,531,645; 7,846,441; 7,892,549; 6,573,043; 6,905,830;
7,129,840; 7,344,840; 7,468,252; 7,674,589; 6,949,245; 7,485,302;
7,498,030; 7,501,122; 7,537,931; 7,618,631; 7,862,817; 7,041,292;
6,627,196; 7,371,379; 6,632,979; 7,097,840; 7,575,748; 6,984,494;
7,279,287; 7,811,773; 7,993,834; 7,435,797; 7,850,966; 7,485,704;
7,807,799; 7,560,111; 7,879,325; 7,449,184; 7,700,299; 8,591,897; e
US 2010/0016556; US 2005/0244929; US 2001/0014326; US 2003/0202972;
US 2006/0099201; US 2010/0158899; US 2011/0236383; US 2011/0033460;
US 2005/0063972; US 2006/018739; US 2009/0220492; US 2003/0147884; US
2004/0037823; US 2005/0002928; US 2007/0292419; US 2008/0187533; US
2003/0152987; US 2005/0100944; US 2006/0183150; US2008/0050748; US
2010/0120053; US 2005/0244417; US 2007/0026001; US 2008/0160026; US
2008/0241146; US 2005/0208043; US 2005/0238640; US 2006/0034842; US
2006/0073143; US 2006/0193854; US 2006/0198843; US 2011/0129464; US
2007/0184055; US 2007/0269429; US 2008/0050373; US 2006/0083739; US
2009/0087432; US 2006/0210561; US 2002/0035736; US 2002/0001587; US
2008/0226659; US 2002/0090662; US 2006/0046270; US 2008/0108096; US
007/0166753; US 2008/0112958; US 2009/0239236; US 2004/008204; US

2009/0187007; US 2004/0106161; US 2011/0117096; US 2004/048525; US 2004/0258685; US 2009/0148401; US 2011/0117097; US 2006/0034840; US 2011/0064737; US 2005/0276812; US 2008/0171040; US 2009/0202536; US 2006/0013819; US 2006/0018899; US 2009/0285837; US 2011/0117097; US 2006/0088523; US 2010/0015157; US 2006/0121044; US 2008/0317753; US2006/0165702; US 2009/0081223; US 2006/0188509; US 2009/0155259; US 2011/0165157; US 2006/0204505; US 2006/0212956; US 2006/0275305; US 2007/0009976; US 2007/0020261; US 2007/0037228; US 2010/0112603; US 2006/0067930; US 2007/0224203; US 2008/0038271; US 2008/0050385; 2010/0285010; US 2008/0102069; US 2010/0008975; US 2011/0027190; US 2010/0298156; US 2009/0098135; US 2009/0148435; US 2009/0202546; US 2009/0226455; US 2009/0317387; e US 2011/0044977.

Lo studio clinico di fase III a due bracci randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo (Adjuvant Pertuzumab and Herceptin IN Initial TherapY in Breast Cancer (APHINITY), NCT01358877/BO25126) mirava a valutare la sicurezza e l'efficacia di pertuzumab oltre alla chemioterapia più trastuzumab come terapia adiuvante in pazienti con cancro primario positivo a HER2 operabile.

Il comunicato stampa disponibile su <https://www.gene.com/media/press-releases/14655/2017-03-01/phase-iii-aphinity-study-shows-genentech> descrive che pertuzumab più trastuzumab e la chemioterapia hanno mostrato un miglioramento statisticamente significativo della sopravvivenza priva di malattia invasiva per le persone con cancro mammario in fase precoce positivo a HER2 rispetto a trastuzumab e alla sola chemioterapia.

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

Singh et al., *Oncologist* 2017 22(2): 139-143 studia il ruolo di doxorubicina e ciclofosfamide seguiti da paclitaxel e doppia terapia anti-HER2 con trastuzumab e pertuzumab in pazienti con cancro mammario positivo a HER2 allo stadio iniziale nel contesto neoadiuvante.

Sommario dell'invenzione

Sono necessari nuovi trattamenti attivi per i pazienti con cancro mammario positivo a HER2, che si stima rappresenti circa 6000-8000 decessi all'anno negli Stati Uniti, 12,000-15,000 decessi all'anno in Europa e 60,000-90,000 decessi all'anno a livello globale (in base ai tassi di mortalità per cancro mammario in generale) (Levi et al., *Eur J Cancer Prev* 2005;14:497-502; Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893-917; SEER cancer statistics review, 1975-2008 [Internet]. Bethesda, MD. National Cancer Institute; novembre 2010 [aggiornato, 2011]; Malvezzi et al., *Ann Oncol* 2013; 24:792-800). L'età media dei pazienti che si presentano con cancro mammario positivo a HER2 è a metà dei 50 anni, circa 5 anni più giovane della popolazione generale di cancro mammario (*Breast Cancer Res Treat* 2008;110: 153-9; *Breast Cancer Res* 2009; 11 :R31). In un momento in cui la sopravvivenza attuariale per le donne è >80 anni di età, la perdita media di anni di vita per paziente è di circa due decenni. Migliorare i risultati della terapia iniziale quando la malattia è ancora localizzata al seno e ai linfonodi regionali offre la possibilità di curare

potenzialmente la malattia, nonché di ritardare la recidiva e la morte della malattia in coloro che non sono guariti.

La presente invenzione si basa, almeno in parte, sull'analisi dei risultati di uno studio clinico di fase III a due bracci, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo (Adjuvant Pertuzumab and Herceptin IN Initial TherapY in Breast Cancer (APHINITY), NCT01358877/BO25126) che valuta la sicurezza e l'efficacia di pertuzumab oltre alla chemioterapia più trastuzumab come terapia adiuvante in pazienti con cancro primario positivo a HER2 operabile.

La presente invenzione fornisce pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per l'uso in un metodo per la riduzione del rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o di morte per pazienti con diagnosi di cancro mammario in fase precoce positivo a HER2 (eBC) rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab, comprendente somministrare a detti pazienti, a seguito di un intervento chirurgico per cancro mammario, pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia, in cui i pazienti hanno un cancro mammario in fase precoce positiva a livello di linfonodi, in cui la chemioterapia è selezionata tra

- a) 5-fluorouracile + epirubicina + ciclofosfamide o 5-fluorouracile + doxorubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure

b) doxorubicina + ciclofosfamide o epirubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure

c) docetaxel + carboplatino, come definito dalle rivendicazioni.

In varie forme di realizzazione, i pazienti possono rimanere in vita senza recidiva di cancro mammario invasivo per almeno 2 anni, o per almeno 3 anni dopo la somministrazione.

In una forma di realizzazione, i pazienti sono negativi al recettore ormonale (HR).

In una forma di realizzazione, il rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o di morte è ridotto di almeno circa il 5%, o di almeno circa il 10%, o di almeno circa il 15%, o di almeno circa il 20%, o di almeno circa il 25% rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab, come, per esempio, almeno del 19% rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab.

In una forma di realizzazione, il cancro positivo a HER2 è caratterizzato da un livello di espressione di HER2 di IHC 2+ o 3+.

In una forma di realizzazione, il cancro presenta HER2 amplificato, dove l'amplificazione di HER2, per esempio, può essere determinata mediante ibridazione in situ fluorescente (FISH).

Pertuzumab e/o trastuzumab possono essere somministrati per via endovenosa o per via sottocutanea.

In varie forme di realizzazione, pertuzumab e trastuzumab vengono tipicamente somministrati ogni tre settimane.

Secondo uno schema di somministrazione, pertuzumab viene somministrato come una dose di carico di 840 mg per via endovenosa, seguita da 420 mg, somministrati per via endovenosa ogni 3 settimane.

Secondo uno schema di somministrazione, trastuzumab viene somministrato come dose di carico per via endovenosa (IV) di 8 mg/kg, seguita da 6 mg/kg, somministrata per infusione endovenosa ogni 3 settimane.

Secondo un altro schema di somministrazione, pertuzumab viene somministrato per via sottocutanea con una dose di carico di 1200 mg seguita da 600 mg ogni 3 settimane.

Pertuzumab e trastuzumab possono essere co-somministrati per via sottocutanea come due iniezioni sottocutanee separate, o co-miscelati come una singola iniezione sottocutanea, o somministrati come una singola coformulazione per la somministrazione sottocutanea.

In una forma di realizzazione, pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati per almeno 52 settimane.

In un'altra forma di realizzazione, la somministrazione di pertuzumab e trastuzumab segue la chemioterapia.

In una forma di realizzazione, la chemioterapia comprende la somministrazione di 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide, comprendente inoltre la somministrazione di docetaxel e/o paclitaxel.

In una seconda forma di realizzazione, la chemioterapia comprende la somministrazione di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide, comprendente inoltre la somministrazione di docetaxel e/o paclitaxel.

In un'altra forma di realizzazione, la chemioterapia comprende la somministrazione di docetaxel + carboplatino.

Breve descrizione dei disegni

La Figura 1 fornisce uno schema della struttura della proteina HER2 e di sequenze amminoacidiche per i domini I-IV (rispettivamente SEQ ID NO: 1-4) del relativo dominio extracellulare.

Le figure 2A e 2B rappresentano gli allineamenti di sequenze amminoacidiche dei domini leggero variabile (V_L) (figura 2A) e pesante variabile (V_H) (figura 2B) dell'anticorpo monoclonale murino 2C4 (rispettivamente SEQ ID NO: 5 e 6); domini V_L e V_H della variante 574/pertuzumab (rispettivamente SEQ ID NO: 7 e 8), e cornici di consenso V_L e V_H umane (Hum $\kappa 1$, kappa leggera sottogruppo I; humIII, sottogruppo pesante III) (rispettivamente SEQ ID NO: 9 e 10). Gli asterischi identificano differenze tra i domini variabili di pertuzumab e l'anticorpo monoclonale murino 2C4 o tra i domini variabili di pertuzumab e il quadro umano. Le regioni determinanti la complementarità (CDR) sono tra parentesi.

Le figure 3A e 3B mostrano le sequenze amminoacidiche di catena leggera di pertuzumab (Figura 3A; SEQ ID NO: 11) e catena

pesante (Figura 3B; SEQ ID NO: 12). Le CDR sono mostrate in grassetto. La massa molecolare calcolata della catena leggera e della catena pesante è 23,526,22 Da e 49,216,56 Da (cisteine in forma ridotta). La frazione di carboidrato è legata all'Asn 299 della catena pesante.

Le figure 4A e 4B mostrano le sequenze amminoacidiche rispettivamente di catena leggera di trastuzumab (Figura 4A; SEQ ID NO: 13) e catena pesante (Figura 4B; SEQ ID NO: 14). I confini dei domini leggero variabile e pesante variabile sono indicati dalle frecce.

Le figure 5A e 5B rappresentano rispettivamente una sequenza variante di catena leggera di pertuzumab (Figura 5A; SEQ ID NO: 15) e una variante di sequenza di catena pesante di pertuzumab (figura 5B; SEQ ID NO: 16).

La Figura 6A è lo schema dello studio clinico APHINITY che valuta l'efficacia della terapia adiuvante a base di pertuzumab nel cancro mammario in fase precoce operabile positivo a HER2 (eBC) come descritto nell'Esempio 1. Note: ^atrastuzumab 6 mg/kg IV ogni 3 settimane, pertuzumab 420 mg IV ogni 3 settimane; ^bregime a base di antracicline con un taxano o Taxotere con carboplatino; ^cTerapia con HER2 per 1 anno (52 settimane).
Abbreviazioni: HER: recettore del fattore di crescita epidermico umano; IV: endovena; q3 settimane: ogni 3 settimane.

La Figura 6B mostra il disegno dello studio clinico APHINITY, che usa la chemioterapia a base di antracicline

La Figura 6C mostra il disegno dello studio clinico APHINITY, che usa la chemioterapia non a base di antracicline.

La Figura 7A mostra i risultati di efficacia, usando la sopravvivenza priva di malattia invasiva (iDFS) come endpoint clinico primario, in pazienti trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=2400) e placebo + trastuzumab (n=2404), come descritto nell'esempio 1.

La Figura 7B mostra un grafico di Kaplan-Meier dell'intervallo privo di recidiva a distanza (mesi) in pazienti trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=2400) e placebo + trastuzumab (n=2404), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 8A mostra i risultati di efficacia (iDFS) in pazienti con cancro mammario positiva a livello di linfonodi trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=1503) e placebo + trastuzumab (n=1502), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 8B mostra un grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento di IDFS (mesi) per regime di trattamento nella coorte positiva per i linfonodi di pazienti con cancro mammario trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=1503) e placebo + trastuzumab (n=1502), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 8C mostra un grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento di IDFS (mesi) per regime di trattamento nella coorte negativa per i linfonodi di pazienti con cancro mammario trattati rispettivamente con pertuzumab +

trastuzumab (n=987) e placebo + trastuzumab (n=902), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 9A mostra i risultati di efficacia (iDFS) in pazienti con cancro mammario negativo al recettore ormonale centrale trattate rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=864) e placebo + trastuzumab (n=858), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 9B mostra un grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi) per regime di trattamento in pazienti negativi al recettore ormonale centrale trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=864) e placebo + trastuzumab (n=858), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 9C mostra un grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi) per regime di trattamento in pazienti positivi al recettore ormonale centrale trattati rispettivamente con pertuzumab + trastuzumab (n=1536) e placebo + trastuzumab (n=1546), come descritto nell'Esempio 1.

La Figura 10 mostra un grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi), che mostra i pazienti censurati, per regime di trattamento (pazienti trattati rispettivamente con pertuzumab (Ptz) + trastuzumab (H) + chemio (n=2400) e placebo (Pla) + trastuzumab + chemio (n=2404)), popolazione ITT, come descritto nell'Esempio 1.

Descrizione dettagliata delle forme di realizzazione preferite

I. Definizioni

Il termine "chemioterapia" come usato nella presente si riferisce a un trattamento comprendente la somministrazione di una chemioterapia, come definito nella presente.

"Sopravvivenza" si riferisce al paziente che rimane in vita e include sopravvivenza complessiva e sopravvivenza priva di progressione.

"Sopravvivenza complessiva" od "OS" si riferisce al paziente che rimane in vita per un periodo di tempo definito, come 1 anno, 5 anni, eccetera. Dal momento della diagnosi o del trattamento. Ai fini della sperimentazione clinica descritta nell'esempio, la sopravvivenza complessiva (OS) è definita come il tempo dalla data di randomizzazione della popolazione di pazienti alla data di morte per qualsiasi causa.

"Sopravvivenza priva di progressione" o "PFS" si riferisce al paziente che rimane in vita, senza che il cancro progredisca o peggiori. Ai fini della sperimentazione clinica descritta nell'esempio, la sopravvivenza priva di progressione (PFS) è definita come il tempo dalla randomizzazione della popolazione in studio alla prima malattia progressiva documentata, o tossicità non gestibile, o morte per qualsiasi causa, a seconda di quale si verifica per prima. La progressione della malattia può essere documentata da qualsiasi metodo clinicamente accettato, come, per esempio, la malattia progressiva radiografica, come determinato dai criteri di valutazione della risposta in tumori solidi (RECIST, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) (Therasse et al., J Natl Ca Inst 2000; 92(3):205-

216), meningite carcinomatosa diagnosticata mediante valutazione citologica del fluido spinale cerebrale e/o fotografia medica per monitorare le recidive della parete toracica delle lesioni sottocutanee.

"Sopravvivenza priva di malattia" o "DFS" si riferisce al paziente che rimane in vita, senza ritorno del cancro, per un periodo di tempo definito come circa 1 anno, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 4 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, eccetera, dall'inizio del trattamento o dalla diagnosi iniziale. Negli studi alla base della presente invenzione, la DFS è stata analizzata secondo il principio intent-to-treat, vale a dire che i pazienti sono stati valutati in base alla terapia assegnata. Gli eventi usati nell'analisi della DFS includono tipicamente recidiva locale, regionale e distante del cancro, insorgenza di cancro secondario, morte per qualsiasi causa in pazienti senza un evento precedente (recidiva di cancro mammario o secondo cancro primario).

"Sopravvivenza priva di malattia invasiva" di "iDFS", come definito nella presente, è il tempo in cui una paziente vive senza ritorno di cancro mammario invasivo in qualsiasi sito o morte per qualsiasi causa dopo il trattamento adiuvante. In altre parole, iDFS è definito come il paziente che rimane in vita (sopravvive) senza ritorno della malattia invasiva dopo il trattamento adiuvante per un periodo di tempo definito, per esempio, circa 1 anno, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 4 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, eccetera, dall'inizio del trattamento o dalla diagnosi iniziale. In una forma

di realizzazione, l'iDFS è a circa 1 anno, o circa 3 anni, dall'inizio del trattamento.

Con "prolungamento della sopravvivenza" si intende aumentare la sopravvivenza complessiva o priva di progressione in un paziente trattato secondo la presente invenzione rispetto a un paziente non trattato e/o rispetto a un paziente trattato con uno o più agenti antitumorali approvati, ma che non riceve un trattamento secondo la presente invenzione. In un esempio particolare, "prolungare la sopravvivenza" significa prolungare la sopravvivenza priva di progressione (PFS) e/o la sopravvivenza complessiva (OS) dei pazienti oncologici che ricevono la terapia di combinazione definita nella rivendicazione (vale a dire la combinazione di pertuzumab, trastuzumab e chemioterapia) rispetto ai pazienti trattati con trastuzumab e la sola chemioterapia. In un altro esempio particolare, "prolungare la sopravvivenza" significa prolungare la sopravvivenza priva di progressione (PFS) e/o la sopravvivenza complessiva (OS) dei pazienti oncologici che ricevono la terapia di combinazione definita nella rivendicazione (vale a dire la combinazione di pertuzumab, trastuzumab e chemioterapia) rispetto ai pazienti trattati con pertuzumab e la sola chemioterapia.

Una "risposta oggettiva" si riferisce a una risposta misurabile, inclusa la risposta completa (CR) o parziale (PR).

Con "risposta completa" o "CR" si intende la scomparsa di tutti i segni di cancro in risposta al trattamento. Ciò non significa sempre che il cancro sia stato guarito.

"Risposta parziale" o "PR" si riferisce a una diminuzione delle dimensioni di uno o più tumori o lesioni, o nell'estensione del cancro nel corpo, in risposta al trattamento.

Un "recettore di HER" è una proteina recettoriale tirosina chinasi che appartiene alla famiglia dei recettori di HER e include i recettori di EGFR, HER2, HER3 e HER4. Il recettore di HER generalmente comprenderà un dominio extracellulare, che può legare un ligando HER e/o dimerizzare con un'altra molecola recettore di HER; un dominio transmembrana lipofilo; un dominio tirosin chinasi intracellulare conservato; e un dominio di segnalazione carbossiterminale contenente svariati residui di tirosina che possono essere fosforilati. Il recettore di HER può essere una "sequenza nativa" del recettore di HER di o una sua "variante di sequenza amminoacidica". Preferibilmente il recettore di HER è il recettore di HER umano di sequenza nativa.

Le espressioni "ErbB2" e "HER2" sono nella presente usate in modo intercambiabile e si riferiscono alla proteina HER2 umana descritta, per esempio, in Semba et al., PNAS (USA) 82:6497-6501 (1985) e Yamamoto et al. Nature 319:230-234 (1986) (numero di accesso Genbank X03363). Il termine "erbB2" si riferisce al gene codificante ErbB2 umano e "neu" si riferisce al gene codificante p185neu di ratto. HER2 preferito è la sequenza nativa di HER2 umano.

Nella presente, "dominio extracellulare HER2" o "ECD HER2" si riferisce a un dominio di HER2 che si trova all'esterno di una cellula, ancorato a una membrana cellulare, o in circolazione,

inclusi i relativi frammenti. La sequenza amminoacidica di HER2 è mostrata nella Figura 1. Il dominio extracellulare di HER2 può comprendere quattro domini: "Dominio I" (residui amminoacidici da circa 1-195; SEQ ID NO: 1), "Dominio II" (residui amminoacidici da circa 196-319; SEQ ID NO: 2), "Dominio III" (residui amminoacidici da circa 320-488: SEQ ID NO: 3), e "Dominio IV" (residui amminoacidici da circa 489-630; SEQ ID NO: 4) (numerazione dei residui senza peptide segnale). Si vedano Garrett et al. Mol. Cell. 11: 495-505 (2003), Cho et al. Nature 421: 756-760 (2003), Franklin et al. Cancer Cell 5:317-328 (2004), e Plowman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 90:1746-1750 (1993), nonché la Figura 1 nella presente.

"HER3" o "ErbB3" nella presente si riferisce al recettore come divulgato, per esempio, nel Brevetto statunitense n. 5,183,884 e 5,480,968 nonché in Kraus et al. PNAS (USA) 86:9193-9197 (1989).

Un cancro "a HER3 basso" è quello che esprime HER3 a un livello inferiore al livello mediano per l'espressione di HER3 nel tipo di cancro. Il livello di DNA, proteina e/o mRNA di HER3 nel cancro può essere valutato per determinare se il cancro è un cancro a HER3 basso. Si veda, per esempio, il Brevetto statunitense n. 7,981,418 per ulteriori informazioni sul cancro a HER3 basso. Facoltativamente, viene effettuato un saggio di espressione dell'mRNA di HER3 al fine di determinare che il cancro è un cancro a HER3 basso. Il livello di mRNA di HER3 nel cancro può essere valutato, per esempio, usando la reazione a catena della polimerasi (PCR), come la PCR di trascrizione inversa quantitativa (qRT-PCR). Facoltativamente, il cancro esprime

HER3 a un rapporto di concentrazione uguale o inferiore a circa 2,81 come valutato mediante qRT-PCR, per esempio, usando uno strumento COBASz480®.

Un "dimero di HER" nella presente è un dimero associato in modo non covalente comprendente almeno due recettori di HER. Tali complessi possono formarsi quando una cellula esprime due o più recettori di HER di viene esposta a un ligando HER e può essere isolata mediante immunoprecipitazione e analizzata mediante SDS-PAGE come descritto, per esempio, in Sliwkowski et al., J. Biol. Chem., 269(20): 14661-14665 (1994). Altre proteine, come una subunità del recettore delle citochine (per esempio, gp130) possono essere associate al dimero. Preferibilmente, il dimero di HER comprende HER2.

Un "eterodimero di HER" nella presente è un eterodimero associato in modo non covalente comprendente almeno due recettori di HER differenti, come eterodimeri di EGFR-HER2, HER2-HER3 o HER2-HER4.

Un "anticorpo HER" è un anticorpo che si lega a un recettore di HER. Facoltativamente, l'anticorpo HER interferisce ulteriormente con LA SUA attivazione o funzione. Preferibilmente, l'anticorpo HER si lega al recettore di HER2. Gli anticorpi HER2 di interesse nella presente sono pertuzumab e trastuzumab.

"attivazione di HER" si riferisce all'attivazione, o alla fosforilazione, di uno o più recettori di HER. In generale, l'attivazione di HER ha come risultato la trasduzione del segnale (per esempio, quella indotta da un dominio chinasi intracellulare

di un recettore di HER che fosforila i residui di tirosina nel recettore di HER o in un polipeptide substrato). L'attivazione di HER può essere mediata dal legame del ligando HER a un dimerico di HER comprendente il recettore di HER di interesse. Il legame del ligando HER con un dimerico di HER può attivare un dominio chinasi di uno o più dei recettori di HER nel dimerico e di conseguenza avere come risultato la fosforilazione dei residui di tirosina in uno o più dei recettori di HER e/o la fosforilazione dei residui di tirosina in uno o più polipeptidi substrato aggiuntivi, come le chinasi intracellulari Akt o MAPK.

"Fosforilazione" si riferisce all'aggiunta di uno o più gruppi fosfato a una proteina, come un recettore di HER, o un suo substrato.

Un anticorpo che "inibisce la dimerizzazione di HER" è un anticorpo che inibisce, o interferisce con, la formazione di un dimerico di HER. Preferibilmente, tale anticorpo si lega a HER2 in corrispondenza del suo sito di legame eterodimerico. L'anticorpo inibitore della dimerizzazione maggiormente preferito nella presente è pertuzumab o MAb 2C4. Altri esempi di anticorpi che inibiscono la dimerizzazione di HER includono anticorpi che si legano a EGFR e ne inibiscono la dimerizzazione con uno o più altri recettori di HER (per esempio, anticorpo monoclonale EGFR 806, MAb 806, che si lega a EGFR attivato o "non vincolato"; si veda Johns et al., J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004)); anticorpi che si legano a HER3 e ne inibiscono la dimerizzazione con uno o più altri recettori di HER; e

anticorpi che si legano a HER4 e ne inibiscono la dimerizzazione con uno o più altri recettori di HER.

Un "inibitore della dimerizzazione di HER2" è un agente che inibisce la formazione di un dimero o eterodimero comprendente HER2.

Un "sito di legame eterodimerico" su HER2, si riferisce a una regione nel dominio extracellulare di HER2 che entra a contatto, o si interfaccia con, una regione nel dominio extracellulare di EGFR, HER3 o HER4 al momento della formazione di un dimero con essa. La regione si trova nel Dominio II di HER2 (SEQ ID NO: 15). Franklin et al. Cancer Cell 5:317-328 (2004).

Un anticorpo HER2 che "si lega a un sito di legame eterodimerico" di HER2, si lega a residui nel Dominio II (SEQ ID NO: 2) e facoltativamente si lega anche a residui in altri domini del dominio extracellulare di HER2, come i domini I e III, SEQ ID NO: 1 e 3), e può ostacolare stericamente, almeno in una certa misura, la formazione di un eterodimero di HER2-EGFR, HER2-HER3 o HER2-HER4. Franklin et al. Cancer Cell 5:317-328 (2004) caratterizzano la struttura cristallina di HER2-pertuzumab, depositata con la RCSB Protein Data Bank (ID Code 1S78), illustrando un anticorpo esemplificativo che si lega al sito di legame eterodimerico di HER2.

Un anticorpo che "si lega al dominio II" di HER2 si lega ai residui nel dominio II (SEQ ID NO: 2) e facoltativamente ai residui in altri domini di HER2, come i domini I e III (rispettivamente SEQ ID NO: 1 e 3). Preferibilmente l'anticorpo che si lega al dominio II si lega alla giunzione tra i domini I, II e III di HER2.

Per gli scopi nella presente, "pertuzumab" e "rhuMAB 2C4", che sono usati in modo intercambiabile, si riferiscono a un anticorpo comprendente sequenze amminoacidiche leggera variabile e pesante variabile in SEQ ID NO: 7 e 8. Laddove pertuzumab è un anticorpo intatto, preferibilmente comprende un anticorpo IgG1; può comprendere la sequenza amminoacidica di catena leggera in SEQ ID NO: 11 o 15 e la sequenza amminoacidica di catena pesante di SEQ ID NO: 12 o 16. L'anticorpo è facoltativamente prodotto da cellule ovariche di criceto cinese (CHO) ricombinanti. I termini "pertuzumab" e "rhuMAB 2C4" nella presente coprono le versioni biosimilari del farmaco con il nome adottato negli Stati Uniti (USAN) o il nome comune internazionale (INN): pertuzumab.

Per gli scopi nella presente, "trastuzumab" e "rhuMAB4D5", che sono usati in modo intercambiabile, si riferiscono a un anticorpo comprendente sequenze amminoacidiche leggera variabile e pesante variabile all'interno rispettivamente di SEQ ID NO: 13 e 14. Laddove trastuzumab è un anticorpo intatto, preferibilmente comprende un anticorpo IgG1; può comprendere la sequenza amminoacidica di catena leggera di SEQ ID NO: 13 e la sequenza amminoacidica di catena pesante di SEQ ID NO: 14. L'anticorpo è facoltativamente prodotto da cellule ovariche di criceto cinese (CHO). I termini "trastuzumab" e "rhuMAB4D5" nella presente coprono le versioni biosimilari del farmaco con il nome adottato negli Stati Uniti (USAN) o il nome comune internazionale (INN): trastuzumab.

Il termine "anticorpo" nel presente contesto è usato nel senso più ampio e copre specificamente gli anticorpi monoclonali, gli anticorpi policlonali, gli anticorpi multispecifici (per esempio gli anticorpi bispecifici) e i frammenti anticorpali, a condizione che esibiscano l'attività biologica desiderata.

Forme "umanizzate" di anticorpi non umani (per esempio, roditori) sono anticorpi chimerici che contengono una sequenza minima derivata da un'immunoglobulina non umana. Per la maggior parte, gli anticorpi umanizzati sono immunoglobuline umane (anticorpo ricevente) in cui i residui derivanti da una regione ipervariabile del ricevente sono sostituiti con residui derivanti da una regione ipervariabile di una specie non umana (anticorpo donatore) come topo, ratto, coniglio o primate non umano avente la specificità, affinità e capacità desiderate. In alcuni casi, i residui della regione cornice Fv (FR) dell'immunoglobulina umana sono sostituiti con i corrispondenti residui non umani. Inoltre, gli anticorpi umanizzati possono comprendere residui che non si trovano nell'anticorpo ricevente o nell'anticorpo donatore. Queste modifiche sono realizzate per perfezionare ulteriormente la prestazione dell'anticorpo. In generale, l'anticorpo umanizzato comprenderà sostanzialmente tutto il dominio di almeno uno, e tipicamente due, domini variabili, in cui tutte o sostanzialmente tutte le anse ipervariabili corrispondono a quelle di un'immunoglobulina non umana e tutte o sostanzialmente tutte le FR sono quelle di una sequenza di un'immunoglobulina umana. Facoltativamente l'anticorpo umanizzato comprenderà anche almeno una

porzione di una regione costante di immunoglobulina (Fc), tipicamente quella di un'immunoglobulina umana. Per ulteriori dettagli, si vedano Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); e Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992). Anticorpi HER2 umanizzati includono specificamente trastuzumab (HERCEPTIN®) come descritto nella tabella 3 del Brevetto statunitense US 5,821,337 come definito nella presente; e anticorpi 2C4 umanizzati come pertuzumab come descritto e definito nella presente.

Un "anticorpo intatto" nella presente è uno che comprende due regioni leganti l'antigene e una regione Fc. Preferibilmente, l'anticorpo intatto ha una regione Fc funzionale.

I "frammenti di anticorpo" comprendono una porzione di un anticorpo intatto, preferibilmente comprendente la relativa regione legante l'antigene. Esempi di frammenti di anticorpo includono frammenti Fab, Fab', F(ab')₂ e Fv. diabody; anticorpi lineari; molecole di anticorpo di catena singola; e anticorpi multispecifici formati da uno o più frammenti di anticorpo.

Solitamente, gli "anticorpi nativi" sono glicoproteine eterotetrameriche di circa 150.000 dalton, composte da due catene leggere (L) identiche e da due catene pesanti (H) identiche. Ciascuna catena leggera è collegata a una catena pesante mediante un legame disolfuro covalente, mentre il numero di legami disolfuro varia tra le catene pesanti di isotipi immunoglobulinici differenti. Ciascuna catena pesante e leggera ha anche ponti disolfuro distanziati

regolarmente intracatena. Ciascuna catena pesante ha un dominio variabile (VH) in corrispondenza di una estremità seguito da un certo numero di domini costanti. Ciascuna catena leggera ha un dominio variabile in corrispondenza di un'estremità (VL) e un dominio costante in corrispondenza della sua altra estremità. Il dominio costante di catena leggera è allineato al primo dominio costante della catena pesante, e il dominio variabile della catena leggera è allineato al dominio variabile della catena pesante. Si ritiene che particolari residui di amminoacidi formino un'interfaccia tra la catena leggera e i domini variabili della catena pesante.

Il termine "regione ipervariabile," quando usato nella presente, si riferisce ai residui amminoacidici di un anticorpo che sono responsabili del legame all'antigene. La regione ipervariabile generalmente comprende i residui amminoacidici derivanti da una "regione determinante la complementarità" o "CDR" (per esempio, i residui 24-34 (L1), 50-56 (L2) e 89-97 (L3) nel dominio variabile di catena leggera e 31-35 (H1), 50-65 (H2) e 95-102 (H3) nel dominio variabile di catena pesante; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) e/o quei residui provenienti da "un'ansa ipervariabile" (per esempio i residui 26-32 (L1), 50-52 (L2) e 91-96 (L3) nel dominio variabile di catena leggera e 26-32 (H1), 53-55 (H2) e 96-101 (H3) nel dominio variabile di catena pesante; Chothia e Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). I residui della "regione cornice" o "FR" sono quei residui del dominio

variabile diversi dai residui della regione ipervariabile come definiti nel presente documento.

Il termine "regione Fc" nella presente viene usato per definire una regione C-terminale di una catena pesante di immunoglobulina, incluse le regioni Fc a sequenza nativa e le regioni Fc varianti. Sebbene i confini della regione Fc di una catena pesante di immunoglobulina possano variare, la regione Fc di catena pesante di IgG umana solitamente viene definita come estendentesi dal residuo amminoacidico in corrispondenza della posizione Cys226, o da Pro230, al relativo carbossi-terminale. La lisina C-terminale (residuo 447 secondo il sistema di numerazione EU) della regione Fc può essere rimossa, per esempio, durante la produzione o la purificazione dell'anticorpo, oppure ingegnerizzando in modo ricombinante l'acido nucleico codificante una catena pesante dell'anticorpo. Di conseguenza, una composizione di anticorpi intatti può comprendere popolazioni di anticorpi con tutti i residui K447 rimossi, popolazioni di anticorpi senza residui K447 rimossi, e popolazioni di anticorpi aventi una miscela di anticorpi con e senza il residuo K447.

Se non diversamente indicato, nella presente la numerazione dei residui in una catena pesante di immunoglobuline è quella dell'indice UE come in Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). "Indice EU come in Kabat" si riferisce alla numerazione dei residui dell'anticorpo EU IgG 1.

Una "regione Fc funzionale" possiede una "funzione effettrice" di una regione Fc di sequenza nativa. Le "funzioni effettrici" esemplificative includono il legame Clq; citotossicità dipendente da complemento; legame al recettore Fc; citotossicità mediata da cellule dipendente da anticorpo (ADCC); fagocitosi; regolazione negativa dei recettori della superficie cellulare (per esempio, il recettore delle cellule B); BCR), eccetera. Tali funzioni effettrici in generale richiedono che la regione Fc sia combinata con un dominio di legame (per esempio un dominio variabile di anticorpo) e possa essere valutata usando vari saggi come divulgato nella presente, per esempio.

Una "regione Fc a sequenza nativa" comprende una sequenza amminoacidica identica alla sequenza amminoacidica di una regione Fc trovata in natura. Le regioni Fc umane a sequenza nativa includono una regione Fc di IgG1 umana a sequenza nativa (allotipi non A e A); regione Fc di IgG2 umana a sequenza nativa; regione Fc di IgG3 umana a sequenza nativa; e una regione Fc di IgG4 umana a sequenza nativa nonché le relative varianti naturali.

Una "regione Fc variante" comprende una sequenza amminoacidica che differisce da quella di una regione Fc a sequenza nativa in virtù di almeno una modifica amminoacidica, preferibilmente di una o più sostituzioni amminoacidiche. Preferibilmente, la regione Fc variante ha almeno una sostituzione amminoacidica rispetto a una regione Fc di sequenza nativa o alla regione Fc di un polipeptide parente, per esempio, da circa una a circa dieci sostituzioni amminoacidiche, e

preferibilmente da circa una a circa cinque amminoacidi sostituzioni acide in una regione Fc di sequenza nativa o nella regione Fc del polipeptide parente. La regione Fc variante nella presente preferibilmente possiederà almeno circa l'80% di omologia con una regione Fc di sequenza nativa e/o con una regione Fc di un polipeptide parente, e più preferibilmente almeno circa il 90% di omologia con essa, più preferibilmente almeno circa 95% di omologia con essa.

In funzione della sequenza amminoacidica del dominio costante delle loro catene pesanti, gli anticorpi intatti possono essere assegnati a differenti "classi". Esistono cinque classi principali di anticorpi intatti: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e molte di queste possono essere ulteriormente suddivise in sottoclassi (isotipi), per esempio, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. I domini costanti di catena pesante che corrispondono alle differenti classi di anticorpi sono denominati rispettivamente α , δ , ϵ , γ , e μ . Le strutture di subunità e le configurazioni tridimensionali delle differenti classi di immunoglobuline sono ben note.

Un "anticorpo nudo" è un anticorpo che non è coniugato a una molecola eterologa, come una frazione citotossica o radiomarcato.

Un anticorpo "maturato per affinità" è un anticorpo con una o più alterazioni in una o più relative regioni ipervariabili che hanno come risultato un miglioramento nell'affinità dell'anticorpo per l'antigene, rispetto a un anticorpo progenitore che non possiede quell'una o più alterazioni. Anticorpi maturati per affinità

preferiti avranno affinità nanomolare o persino picomolare per l'antigene bersaglio. Gli anticorpi maturati per affinità vengono prodotti mediante procedure note nella tecnica. Marks et al. Bio/Technology 10:779-783 (1992) descrive la maturazione per affinità mediante riarrangiamento dei domini VH e VL. La mutagenesi casuale delle CDR e/o dei residui di cornice viene descritta da: 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); e Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

Un anticorpo "deammidato" è uno in cui uno o più suoi residui di asparagina sono stati derivatizzati, per esempio in un acido aspartico, una succinimide o un acido iso-aspartico.

I termini "cancro" e "canceroso" si riferiscono a, o descrivono, la condizione fisiologica nei mammiferi che tipicamente è caratterizzata dalla crescita cellulare non regolata.

"Cancro mammario in stadio iniziale" o "cancro mammario in fase precoce" o "eBC", come usato nella presente, si riferisce al cancro mammario che non si è diffuso oltre la mammella o i linfonodi ascellari. Tale cancro viene generalmente trattato con terapia neoadiuvante o adiuvante.

Un cancro "avanzato" è quello che si è diffuso al di fuori del sito o dell'organo di origine, per invasione locale o metastasi. Di conseguenza, il termine cancro "avanzato" include sia la malattia localmente avanzata che metastatica, come "cancro mammario avanzato".

Un cancro "refrattario" è quello che progredisce anche se un agente anti-tumorale, come una chemioterapia, viene somministrato al paziente affetto da cancro. Un esempio di un cancro refrattario è un cancro refrattario al platino.

Un cancro "ricorrente" è quello che è ricresciuto, nel sito iniziale o in un sito distante, dopo una risposta alla terapia iniziale, come un intervento chirurgico.

Un cancro "localmente ricorrente" è un cancro che ritorna dopo il trattamento nello stesso luogo di un cancro precedentemente trattato.

Un cancro "non resecabile" non può essere rimosso (resecato) chirurgicamente.

"Terapia adiuvante" o "trattamento adiuvante" o "somministrazione adiuvante" si riferisce alla terapia sistemica somministrata dopo l'intervento chirurgico. Il trattamento adiuvante può essere somministrato dopo un intervento chirurgico definitivo, in cui non è possibile rilevare alcuna evidenza di malattia residua, in modo da ridurre il rischio di recidiva della malattia. L'obiettivo della terapia adiuvante è prevenire la recidiva del cancro e quindi ridurre la possibilità di morte correlata al cancro.

"Chirurgia definitiva" si riferisce alla rimozione completa del tumore e del tessuto circostante, nonché di eventuali linfonodi coinvolti. Tale chirurgia include la lumpectomia, la mastectomia, come la mastectomia totale più la dissezione ascellare, la doppia mastectomia, eccetera.

Il cancro mammario "positivo nodale" o "positivo per i linfonodi" è un cancro mammario che si è diffuso ai linfonodi regionali (solitamente quelli sotto il braccio). I soggetti con cancro mammario positivo per i linfonodi nella presente includevano quelli con 1-3 nodi coinvolti; 4-9 nodi coinvolti; e 10 o più nodi coinvolti. I soggetti con 4 o più nodi coinvolti sono a maggior rischio di recidiva rispetto a quelli con meno o nessun nodo coinvolto.

Il cancro "positivo al recettore degli estrogeni (ER)" è un cancro che risulta positivo all'espressione di ER. Per contro, il cancro "negativo a ER" risulta negativo per tale espressione. L'analisi dello stato di ER può essere effettuata con qualsiasi metodo noto nella tecnica. Ai fini degli studi nella presente, i tumori positivi a ER sono definiti come ≥ 10 fmol/mg di proteina citosol mediante il metodo del gradiente di densità di carbone o saccarosio rivestito di destrano, o positivi (usando criteri di laboratorio individuali) mediante il metodo del saggio immunologico enzimatico (EIA), o mediante saggio immunocitochimico.

"Recidiva di cancro" nella presente si riferisce a un ritorno di cancro dopo il trattamento, e include un ritorno di cancro nella mammella, così come una recidiva a distanza, in cui il cancro ritorna al di fuori della mammella.

Un soggetto ad "alto rischio di recidiva del cancro" è uno che ha una maggiore probabilità di sperimentare una recidiva del cancro, per esempio, soggetti relativamente giovani (per esempio, di età

inferiore a circa 50 anni), quelli positivi per i linfonodi, in particolare 4 o più linfonodi coinvolti (inclusi 4-9 linfonodi coinvolti e 10 o più linfonodi coinvolti), quelli con tumori di diametro superiore a 2 cm, quelli con cancro mammario positivo a HER2 e quelli con cancro mammario negativo al recettore ormonale (vale a dire negativo al recettore degli estrogeni (ER) e negativo al recettore del progesterone (PR)). Il livello di rischio di un soggetto può essere determinato da un medico esperto. In generale, tali soggetti ad alto rischio avranno coinvolgimento linfonodale (per esempio, con 4 o più linfonodi coinvolti); tuttavia, anche i soggetti senza coinvolgimento linfonodale sono ad alto rischio, per esempio, se il loro tumore è superiore o uguale a 2 cm.

Il cancro "positivo al recettore del progesterone (PR)" è un cancro che risulta positivo per l'espressione di PR. Per contro, il cancro "negativo a PR" risulta negativo per tale espressione. L'analisi dello stato PR può essere effettuata con qualsiasi metodo noto nella tecnica. Ai fini degli studi nella presente, metodi accettabili includono il carbone rivestito di destrano o metodi di gradiente di densità di saccarosio, tecniche di saggio immunologico enzimatico (EIA) e saggi immunocitochimici.

"Terapia neoadiuvante" o "trattamento neoadiuvante" o "somministrazione neoadiuvante" si riferisce alla terapia sistemica somministrata prima dell'intervento chirurgico.

Nella presente, "inizio del trattamento" si riferisce all'inizio di un regime di trattamento dopo la rimozione chirurgica del tumore.

Questo può riferirsi alla somministrazione di AC a seguito di intervento chirurgico. In alternativa, questo può riferirsi a una somministrazione iniziale dell'anticorpo HER2 e/o dell'agente chemioterapico.

Con "somministrazione iniziale" di un anticorpo HER2 e di un agente chemioterapico si intende una prima dose dell'anticorpo HER2 o di un agente chemioterapico come parte di uno schema di trattamento.

Con "curare" il cancro nella presente si intende l'assenza di recidiva del cancro a circa 4 o circa 5 anni dopo l'inizio della terapia adiuvante.

Il cancro "metastatico" si riferisce al cancro che si è diffuso da una parte del corpo (per esempio, il seno) a un'altra parte del corpo.

Nella presente, un "paziente" o "soggetto" è un paziente umano. Il paziente può essere un "malato di cancro", vale a dire uno che soffre o è a rischio di soffrire di uno o più sintomi di cancro, in particolare cancro mammario.

Una "popolazione di pazienti" si riferisce a un gruppo di malati di cancro. Tali popolazioni possono essere usate per dimostrare l'efficacia e/o la sicurezza statisticamente significativa di un farmaco, come pertuzumab e/o trastuzumab.

Un paziente "recidivante" è colui che presenta segni o sintomi di cancro dopo la remissione. Facoltativamente, il paziente ha avuto una recidiva dopo la terapia adiuvante o neoadiuvante.

Un cancro o un campione biologico che "mostra la sua espressione, amplificazione o attivazione" è quello che, in un test diagnostico, esprime (inclusa la sovraespressione) un recettore HER, ha amplificato il gene HER e/o dimostra in altro modo l'attivazione o la fosforilazione di un HER recettore.

Un cancro o campione biologico che "mostra LA attivazione di HER" è uno che, in un'analisi diagnostica, dimostra attivazione o fosforilazione di un recettore di HER. Tale attivazione può essere determinata direttamente (per esempio misurando LA HER fosforilazione mediante ELISA) o indirettamente (per esempio profilando l'espressione genica o rilevando gli eterodimeri di HER, come descritto nella presente).

Una cellula cancerosa con "HER sovraespressione o amplificazione del recettore" è una che presenta livelli significativamente superiore di una proteina o gene del recettore di HER rispetto a una cellula non cancerosa dello stesso tipo di tessuto. Tale sovraespressione può essere causata dall'amplificazione genica o dalla trascrizione o traslazione aumentata. La sovraespressione o amplificazione del recettore di HER può essere determinata in un saggio diagnostico o prognostico valutando i livelli aumentati della proteina HER presente sulla superficie di una cellula (per esempio tramite un saggio immunoistochimico; IHC). In alternativa, o in aggiunta, è possibile misurare i livelli di acido nucleico codificante HER nella cellula, per esempio tramite ibridazione in situ (ISH), inclusa ibridazione in situ fluorescente (FISH; si veda

WO98/45479 pubblicato nell'ottobre 1998) e ibridazione cromogenica in situ (CISH; si vedano, per esempio, Tanner et al., Am. J. Pathol. 157(5): 1467-1472 (2000); Bella et al., J. Clin. Oncol. 26: (suppl. 20 maggio; astr 22147) (2008)), southern blot, o tecniche basate sulla reazione a catena della polimerasi (PCR), come la PCR quantitativa in tempo reale (qRT-PCR). Si può anche studiare la sovraespressione o amplificazione del recettore di HER misurando un antigene frammentato (per esempio, il dominio extracellulare di HER) in un fluido biologico come il siero (si vedano, per esempio, il Brevetto statunitense n. 4,933,294 rilasciato il 12 giugno 1990; WO91/05264 pubblicato il 18 aprile 1991; il Brevetto statunitense 5,401,638 rilasciato il 28 marzo 1995; e Sias et al. J. Immunol. Methods 132: 73-80 (1990)). Oltre ai saggi di cui sopra, per il professionista qualificato sono disponibili vari saggi in vivo. Per esempio, è possibile esporre cellule all'interno del corpo del paziente a un anticorpo che è facoltativamente marcato con un marcatore rilevabile, per esempio un isotopo radioattivo, ed è possibile valutare il legame dell'anticorpo a cellule nel paziente, per esempio mediante scansione esterna per quanto riguarda la radioattività o analizzando una biopsia prelevata da un paziente esposto in precedenza all'anticorpo.

Un cancro "positivo a HER2" comprende cellule di cancro che hanno livelli più alti del normale di HER2, come il cancro mammario positivo a HER2. Facoltativamente, il cancro positivo a HER2 ha un

punteggio di immunocitochimica (IHC) di 2+ o 3+ e/o un rapporto di amplificazione di ibridazione *in situ* (IHH) $\geq 2,0$.

Nella presente, un "agente antitumorale" si riferisce a un farmaco usato per trattare un cancro. Esempi non limitativi di agenti anti-tumorali nella presente includono agenti chemioterapici, inibitori di dimerizzazione di HER, anticorpi HER, anticorpi diretti contro antigeni associati al tumore, composti anti-ormonali, citochine, farmaci mirati a EGFR, agenti anti-angiogenici, inibitori delle tirosina chinasi, agenti e anticorpi inibitori della crescita, agenti citotossici, anticorpi che inducono apoptosi, inibitori di COX, inibitori delle farnesil transferasi, anticorpi che legano la proteina oncofetale CA 125, vaccini HER2, inibitori di Raf o RAS, doxorubicina liposomiale, topotecan, taxano, inibitori delle tirosina chinasi doppie, TLK286, EMD-7200, pertuzumab, trastuzumab, erlotinib e bevacizumab.

"L'epitopo 2C4" è la regione nel dominio extracellulare di HER2 a cui si lega l'anticorpo 2C4. Al fine di eseguire lo screening degli anticorpi che si legano essenzialmente all'epitopo 2C4, può essere effettuato un saggio di blocco incrociato abituale come quello descritto in *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988). Preferibilmente l'anticorpo blocca il legame di 2C4 a HER2 di circa il 50% o più. In alternativa, è possibile eseguire la mappatura dell'epitopo per valutare se l'anticorpo si lega essenzialmente all'epitopo 2C4 di HER2. L'epitopo 2C4 comprende residui del dominio II (SEQ ID NO: 2)

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

nel dominio extracellulare di HER2. 2C4 e pertuzumab si lega al dominio extracellulare di HER2 alla giunzione dei domini I, II e III (rispettivamente SEQ ID NO: 1, 2 e 3). Franklin et al. Cancer Cell 5:317-328 (2004).

"L'epitopo 4D5" è la regione nel dominio extracellulare di HER2 a cui si legano l'anticorpo 4D5 (ATCC CRL 10463) e trastuzumab. Questo epitopo è vicino al dominio transmembrana di HER2 e all'interno del Dominio IV di HER2 (SEQ ID NO: 4). Per eseguire lo screening degli anticorpi che si legano essenzialmente all'epitopo 4D5, può essere effettuato un saggio di blocco incrociato abituale come quello descritto in Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988). In alternativa, è possibile eseguire la mappatura dell'epitopo per valutare se l'anticorpo si lega essenzialmente all'epitopo 4D5 di HER2 (per esempio uno o più residui nella regione dal residuo 529 circa al residuo 625 circa, incluso l'ECD HER2, numerazione dei residui incluso il peptide segnale).

"Trattamento" si riferisce sia al trattamento terapeutico sia a misure profilattiche o preventive. Coloro che necessitano di un trattamento includono quelli già affetti da cancro nonché quelli in cui occorre prevenire il cancro. Pertanto, nella presente il paziente da trattare può avere ricevuto una diagnosi di cancro o può essere predisposto o incline al cancro.

Il termine "quantità efficace" si riferisce a una quantità di un farmaco efficace per trattare il cancro nel paziente. La quantità

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

efficace del farmaco può ridurre il numero di cellule di cancro; ridurre la dimensione del tumore; inibire (vale a dire rallentare in una certa misura e preferibilmente arrestare) l'infiltrazione di cellule di cancro negli organi periferici; inibire (vale a dire rallentare in una certa misura e preferibilmente arrestare) le metastasi tumorali; inibire, in certa misura, la crescita del tumore; e/o alleviare in una certa misura uno o più dei sintomi associati al cancro. Nella misura in cui il farmaco può prevenire la crescita e/o uccidere le cellule di cancro esistenti, esso può essere citostatico e/o citotossico. La quantità effettiva può estendere la sopravvivenza priva di progressione (per esempio Misurata dai criteri di valutazione della risposta per i tumori solidi, RECIST o modifiche CA-125), provocare una risposta oggettiva (inclusa una risposta parziale, PR o risposta completa, CR), aumentare tempo di sopravvivenza complessiva e/o migliorare uno o più sintomi di cancro (per esempio, come valutato da FOSI).

Il termine "agente citotossico" come usato nel presente documento si riferisce a una sostanza che inibisce o impedisce la funzione delle cellule e/o induce la distruzione delle cellule. Il termine è destinato a includere isotopi radioattivi (per esempio, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32 e isotopi radioattivi di Lu), agenti chemioterapici e tossine come tossine a base di piccole molecole o tossine attive per via enzimatica di origine batterica, fungina, vegetale o animale, inclusi relativi frammenti e/o varianti.

Una "chemioterapia" è l'uso di un composto chimico utile nel trattamento di un cancro. Esempi di agenti chemioterapici, usati nella chemioterapia, includono agenti alchilanti come tiotepa e ciclofosfamide CYTOXAN®; alchil solfonati come busolfano, improsolfano e piposolfano; aziridine come benzodopa, carboquone, meturedopa, e uredopa; etilenimine e metilamelammine incluse altretamina, trietilenemelamina, trietilenefosforammide, trietilene tiofosforammide e trimetilolomelamina; TLK 286 (TELCYTA™); acetogenine (in particolare bullatacina e bullatacinone); delta-9-tetraidrocannabinolo (dronabinolo, MARINOL®); beta-lapachone; lapacolo; colchicine; acido betulinico; una camptotecina (incluso l'analogo sintetico topotecan (HYCANTIN®), CPT-11 (irinotecan, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, scoplectina, e 9-amminocamptotecina); briostatina; callistatina; CC-1065 (inclusi i suoi analoghi sintetici adozelesina, carzelesina e bizelesina); podofillotossina; acido podofillinico; teniposide; criptoficine (in modo particolare criptoficina 1 e criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (inclusi gli analoghi sintetici, KW-2189 e CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; spongistatina; mostarde azotate come clorambucile, clomafazina, colofosfammide, estramustina, ifosfammide, mecloretamina, mecloretamina ossido cloridrato, melfalan, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfammide, mostarda uracilica; nitrosuree come carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, e ranimustina; bifosfonato come clodronato; antibiotici come gli antibiotici di

enediina (per esempio, caliceamicina, in particolare caliceamicina gammaII e caliceamicina omegaII (si veda, per esempio, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)) e antracicline come annamicina, AD 32, alcarubicina, daunorubicina, doxorubicina, dexrazoxano, DX-52-1, epirubicina, GPX-100, idarubicina, valrubicina, KRN5500, menogaril, dinemicina, inclusa la dinemicina A, un'esperamicina, cromoforo neocarzinostatina e cromofori antibiotici correlati cromoproteina ed enediina, aclacinomisine, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicine, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicina, dactinomicina, detorubicina, 6-diazo-5-osso-L-norleucina, ADRIAMICINA® doxorubicina (inclusa morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina, doxorubicina liposomiale, e deossidoxorubicina), esorubicina, marcellomicina, mitomicine come la mitomicina C, acido micofenolico, nogalamicina, olivomicine, peplomicina, potfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorubicina, streptonigrina, streptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, e zorubicina; analoghi dell'acido folico come denopterina, pteropterina e trimetrexato; analoghi della purina come fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina e tioguanina; analoghi della pirimidina come ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideossiuridina, doxifluridina, enocitabina e floxuridina; androgeni come calusterone, dromostanolone propionato, epitiostanolo, mepitioetano e testolattone; anti-surrenali come amminoglutetimide, mitotano e trilostano; un rigeneratore di acido folico come acido folinico (leucovorina); aceglatone; agenti anti-

neoplastici anti-folati come ALIMTA®, LY231514 pemetrexed, inibitori della diidrofolato reductasi come metotressato, anti-metaboliti come 5-fluorouracile (5-FU) e suoi profarmaci come UFT, S-1 e capecitabina, e inibitori della timidilato sintasi e inibitori della glicinammide ribonucleotide formiltransferasi come raltitrexed (TOMUDEXRM, TDX); inibitori della diidropirimidina deidrogenasi come eniluracile; aldofosfammide glicoside; acido aminolevulinico; amsacrina; bestrabucile; bisantrene; edatraxato; defofammina; demecolcina; diazichinone; elfomitina; elliptinio acetato; un eptilone; etoglucide; nitrato di gallio; idrossiurea; lentinano; lonidainina; maitansinoidi come maitansina e ansamitocine; mitoguazone; mitoxantrone; mopidanmolo; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrone; 2-etilidrazide; procarbазina; complesso di polisaccaridi PSK7 (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofiran; spirogermanio; acido tenuazonico; diazichinone; 2,2',2"-triclorotrietilammina; tricoteceni (in particolare tossina T-2, verracurina A, roridina A e anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; mannomustina; mitobronitolo; mitolattolo; pipobroman; gacitosina; arabinoside ("Ara-C"); ciclofosfamina; tiotepa; taxani; clorambucile; gemcitabina (Gemzar®); 6-tioguanina; mercaptopurina; platino; analoghi del platino o analoghi a base di platino come cisplatino, ossaliplatino e carboplatino; vinblastina (Velban®); etoposide (VP-16); ifosfamide; mitoxantrone; vincristina (ONCOVIN®); alcaloide della vinca; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrone; edatrexato; daunomicina;

amminopterina; xeloda; ibandronato; inibitore delle topoisomerasi RFS 2000; difluorometilomitina (DFMO); retinoidi come acido retinoico; sali farmaceuticamente accettabili, acidi o derivati di uno qualsiasi di quanto detto sopra; nonché combinazioni di due o più dei precedenti come CHOP, un'abbreviazione per una terapia combinata di ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina e prednisolone, e FOLFOX, un'abbreviazione per un regime di trattamento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinato con 5-FU e leucovorina.

Sono inclusi anche in questa definizione gli agenti anti-ormonali che agiscono per regolare o inibire l'azione di un ormone su tumori, come gli anti-estrogeni e i modulatori selettivi dei recettori degli estrogeni (SERM), tra cui, per esempio, tamoxifene (incluso NOLVADEX®), raloxifene, droloxifene, 4-idrossitamoxifene, triossifene, keoxifene, LY117018, onapristone e toremifene FARESTON®; inibitori dell'aromatasi; e anti-androgeni come flutammide, nilutammide, bicalutammide, leuprolide, e goserelina; nonché troxacitabina (un analogo del nucleoside citosina 1,3-diossolanico); oligonucleotidi antisenso, in particolare quelli che inibiscono l'espressione dei geni nelle vie di segnalazione implicate nella proliferazione cellulare aberrante, come per esempio PKC-alfa, Raf, H-Ras e recettore del fattore di crescita epidermico (EGF-R); vaccini come vaccini per terapia genica, per esempio, vaccino ALLOVECTIN®, vaccino LEUVECTIN®, e vaccino VAXID®; PROLEUKIN®, rIL-2; inibitore delle topoisomerasi 1 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; e sali, acidi o

derivati farmaceuticamente accettabili di uno qualsiasi di quanto detto sopra.

Un "taxano" è una chemioterapia che inibisce la mitosi e interferisce con i microtubuli. Esempi di taxani includono Paclitaxel (TAXOL®; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ); formulazione di nanoparticelle ingegnerizzate con albumina senza cremophor di paclitaxel o nab-paclitaxel (ABRAXANE™; American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois); e Docetaxel (TAXOTERE®; Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia).

Un "antraciclina" è un tipo di antibiotico che proviene dal fungo Streptococcus peucetius, esempi includono: Daunorubicina, Doxorubicina, Epirubicina e qualsiasi altro agente chemioterapico a base di antracicline, inclusi quelli elencati in precedenza.

Con "chemioterapia a base di antracicline" si intende un regime chemioterapico costituito da o comprendente una o più antracicline. Esempi includono, senza limitazione, 5-FU, epirubicina e ciclofosfamide (FEC); 5-FU, doxorubicina e ciclofosfamide (FAC); doxorubicina e ciclofosfamide (AC); epirubicina e ciclofosfamide (EC); doxorubicina e ciclofosfamide (ddAC), e simili.

Per gli scopi nella presente, "chemioterapia a base di carboplatino" si riferisce a un regime chemioterapico che è costituito da o include uno o più carboplatini. Un esempio è il TCH (Docetaxel/TAXOL®, Carboplatino e trastuzumab/HERCEPTIN®).

Un "inibitore dell'aromatasi" inibisce l'enzima aromatasi, che regola la produzione di estrogeni nelle ghiandole surrenali. Esempi

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

di inibitori dell'aromatasi includono: 4(5)-imidazoli amminoglutetimide, megestrolo acetato MEGASE®, exemestano AROMASIN®, formestano, fadrozolo, vorozolo RIVISOR®, letrozolo FEMARA®, e anastrozolo ARIMIDEX®. L'inibitore dell'aromatasi nella presente può essere letrozolo o anastrozolo.

Una "chemioterapia antimetabolita" è l'uso di un agente che è strutturalmente simile a un metabolita, ma non può essere usato dall'organismo in modo produttivo. Molti chemioterapici antimetaboliti interferiscono con la produzione degli acidi nucleici, dell'RNA e del DNA. Esempi di agenti chemioterapici antimetaboliti includono gemcitabina (GEMZAR®), 5-fluorouracile (5-FU), capecitabina (XELODA™), 6-mercaptopurina, metotressato, 6-tioguanina, pemetrexed, raltitrexed, arabinosilcitosina ARA-C citarabina (CYTOSAR-U®), dacarbazina (DTIC-DOME®), azocitosina, desossicitosina, piridmidene, fludarabina (FLUDARA®), cladribina, 2-deossi-D-glucosio, eccetera.

Con cancro "resistente alla chemioterapia" si intende che il paziente oncologico è progredito durante il trattamento con un regime chemioterapico (vale a dire che il paziente è "refrattario alla chemioterapia"), o il paziente è progredito nell'arco di 12 mesi (per esempio, nell'arco di 6 mesi) dopo aver completato un regime chemioterapico.

Il termine "platino" viene usato nella presente per fare riferimento alla chemioterapia a base di platino, inclusi, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, cisplatino, carboplatino e oxaliplatino.

Il termine "fluoropirimidina" viene usato nella presente per fare riferimento a una chemioterapia antimetabolita, fra cui, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, capecitabina, floxuridina e fluorouracile (5-FU).

Nel contesto della presente invenzione rivendicata, la "chemioterapia" è selezionata tra

- a) 5-fluorouracile + epirubicina + ciclofosfamide o 5-fluorouracile + doxorubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure
- b) doxorubicina + ciclofosfamide o epirubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure
- c) docetaxel + carboplatino, come definito nelle rivendicazioni.

In una forma realizzazione, la chemioterapia comprende la somministrazione di 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide, comprendente inoltre la somministrazione di docetaxel e/o paclitaxel. In un'altra forma di realizzazione, la chemioterapia comprende la somministrazione di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide, comprendente inoltre la somministrazione di docetaxel e/o paclitaxel.

Una dose "fissa" o "piatta" di un agente terapeutico nel presente contesto si riferisce a una dose che viene somministrata a un paziente umano senza riguardo per il peso (WT) o la area

superficiale corporea (BSA) del paziente. La dose fissa o piatta non è quindi fornita come dose mg/kg o mg/m², ma piuttosto come quantità assoluta dell'agente terapeutico.

Una dose "di carico" nel presente contesto comprende generalmente una dose iniziale di un agente terapeutico somministrato a un paziente, ed è seguita da una o più dosi di mantenimento dello stesso. Generalmente, viene somministrata una singola dose di carico, ma nella presente sono contemplate più dosi di caricamento. Solitamente, la quantità dell'una o più dosi di carico somministrata supera la quantità dell'una o più dosi di mantenimento somministrata e/o l'una o più dosi di carico viene somministrata più frequentemente rispetto all'una o più dosi di mantenimento, in modo da ottenere la desiderata concentrazione allo stato stazionario dell'agente terapeutico prima di quanto si possa ottenere con l'una o più dosi di mantenimento.

Una dose di "mantenimento" nel presente contesto si riferisce a una o più dosi di un agente terapeutico somministrato al paziente durante un periodo di trattamento. Solitamente, le dosi di mantenimento vengono somministrate a intervalli di trattamento distanziati, come circa ogni settimana, circa ogni 2 settimane, circa ogni 3 settimane o circa ogni 4 settimane, preferibilmente ogni 3 settimane.

La somministrazione "endovenosa" si riferisce alla somministrazione di un farmaco (per esempio, trastuzumab e/o

pertuzumab e/o chemioterapia) in una vena di un paziente, per esempio, per infusione (lenta introduzione terapeutica in vena).

Per somministrazione "sottocutanea" si intende la somministrazione di un farmaco (es. trastuzumab e/o pertuzumab e/o chemioterapia) sotto la cute del paziente.

"Infusione" o "infusione" si riferisce all'introduzione di una soluzione contenente farmaco nel corpo attraverso una vena per scopi terapeutici. Generalmente, ciò viene ottenuta tramite una sacca per endovena (IV).

Una "sacca per endovena" o "sacca IV" è una sacca che può contenere una soluzione che può essere somministrata attraverso la vena di un paziente. La soluzione può essere una soluzione salina (per esempio, circa lo 0,9% o circa lo 0,45% di NaCl). Facoltativamente, la sacca IV è formata da poliolefina o cloruro di polivinile.

Con "co-somministrazione" si intende la somministrazione endovenosa di due (o più) farmaci durante la stessa somministrazione, piuttosto che infusioni sequenziali dei due o più farmaci. Generalmente, ciò comporterà la combinazione dei due (o più) farmaci nella stessa sacca IV prima della loro co-somministrazione.

"Tossicità cardiaca" si riferisce a qualsiasi effetto collaterale tossico derivante dalla somministrazione di un farmaco o di una combinazione di farmaci. La tossicità cardiaca può essere valutata in base a uno o più di: incidenza di disfunzione sistolica ventricolare sinistra sintomatica (LVSD) o insufficienza cardiaca

congestizia (CHF), o diminuzione della frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF).

La locuzione "senza aumentare la tossicità cardiaca" per una combinazione di farmaci che include pertuzumab si riferisce a un'incidenza di tossicità cardiaca che è uguale o inferiore a quella osservata nei pazienti trattati con farmaci diversi da pertuzumab nella combinazione di farmaci (per esempio, uguale o inferiore a quella risultante dalla somministrazione di trastuzumab e della chemioterapia, per esempio, Docetaxel).

Una "fiala" è un contenitore idoneo per contenere un preparato liquido o liofilizzato.

Un "foglietto illustrativo" è un foglietto illustrativo che, per ordine della Food and Drug Administration (FDA) o di un'altra autorità di regolamentazione, deve essere inserito all'interno della confezione di ogni farmaco soggetto a prescrizione. Il foglietto illustrativo include generalmente il marchio del farmaco, il suo nome generico e il suo meccanismo d'azione; indica le sue indicazioni, controindicazioni, avvertenze, precauzioni, effetti avversi e forme di dosaggio; e include le istruzioni per la dose raccomandata, il tempo e la via di somministrazione.

L'espressione "dati di sicurezza" riguarda i dati ottenuti in una sperimentazione clinica controllata che mostrano la prevalenza e la gravità degli eventi avversi per guidare l'utente per quanto riguarda la sicurezza del farmaco, incluse le indicazioni su come monitorare e prevenire le reazioni avverse al farmaco. La Tabella 3 e

la Tabella 4 nella presente forniscono dati di sicurezza per pertuzumab. I dati di sicurezza comprendono uno o più (per esempio, due, tre, quattro o più) degli eventi avversi (AE) o delle reazioni avverse (ADR) più comuni nelle Tabelle 3 e 4. Per esempio, i dati di sicurezza comprendono informazioni su neutropenia, neutropenia febbrile, diarrea e/o tossicità cardiaca come divulgato nella presente.

"Dati di efficacia" si riferisce ai dati ottenuti in studi clinici controllati che dimostrano che un farmaco tratta efficacemente una malattia, come un cancro.

"Miscela stabile" quando si fa riferimento a una miscela di due o più farmaci, come pertuzumab e trastuzumab," significa che ciascuno dei farmaci nella miscela mantiene essenzialmente la sua stabilità fisica e chimica nella miscela come valutato da uno o più saggi analitici. Saggi analitici esemplificativi per questo scopo includono: colore, aspetto e limpidezza (CAC), saggio di concentrazione e torbidità, saggio del particolato, cromatografia ad esclusione dimensionale (SEC), cromatografia a scambio ionico (IEC), elettroforesi di zona capillare (CZE), focalizzazione isoelettrica capillare di immagine (iCIEF) e saggio di potenza.

Un farmaco somministrato "in concomitanza" con uno o più altri farmaci viene somministrato durante lo stesso ciclo di trattamento, lo stesso giorno di trattamento dell'uno o più altri farmaci e, facoltativamente, contemporaneamente all'uno o più altri farmaci droghe. Per esempio, per le terapie antitumorali somministrate ogni 3

settimane, i farmaci somministrati contemporaneamente vengono somministrati ciascuno il giorno 1 di un ciclo di 3 settimane.

II. Composizioni di anticorpi e chemioterapia

L'antigene HER2 da usare per la produzione di anticorpi può essere, per esempio, una forma solubile del dominio extracellulare di un recettore di HER2 o di una relativa porzione, contenente l'epitopo desiderato. In alternativa, cellule esponenti HER2 sulla loro superficie cellulare (per esempio, cellule NIH-3T3 trasformate per sovraesprimere HER2; o una linea cellulare di carcinoma come le cellule SK-BR-3, si veda Stancovski et al. PNAS (USA) 88:8691-8695 (1991)) possono essere usate per generare anticorpi. Altre forme di recettore di HER2 utili per generare anticorpi saranno evidenti agli esperti nella tecnica.

Vari metodi per produrre anticorpi monoclonali nella presente sono disponibili nella tecnica. Per esempio, gli anticorpi monoclonali possono essere prodotti usando il metodo dell'ibridoma descritto per la prima volta da Kohler et al., Nature, 256:495 (1975), mediante metodi del DNA ricombinante (Brevetto statunitense n. 4,816,567).

Gli anticorpi anti-HER2 usati secondo la presente invenzione, trastuzumab e pertuzumab, sono disponibili in commercio.

(i) Anticorpi umanizzati

Metodi per umanizzare anticorpi non umani sono stati descritti nella tecnica. Preferibilmente, un anticorpo umanizzato ha uno o più residui amminoacidici introdotti in esso da una fonte le quali non è

umana. Questi residui amminoacidici non umani sono indicati come residui di "importazione", i quali tipicamente vengono presi da un dominio variabile di "importazione". Sostanzialmente, l'umanizzazione può essere effettuata seguendo il metodo di Winter e collaboratori (Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science 239: 1534-1536 (1988)), sostituendo sequenze di regione ipervariabile con le corrispondenti sequenze di un anticorpo umano. Di conseguenza, tali anticorpi "umanizzati" sono anticorpi chimerici (Brevetto statunitense n. 4,816,567) in cui sostanzialmente meno di un dominio variabile umano intatto è stato sostituito con la corrispondente sequenza derivata da una specie non umana. In pratica, gli anticorpi umanizzati tipicamente sono anticorpi umani in cui alcuni residui di regione ipervariabile ed eventualmente alcuni residui FR sono sostituiti da residui provenienti da siti analoghi in anticorpi di roditore.

La scelta dei domini variabili umani, sia leggeri sia pesanti, da usare nella realizzazione degli anticorpi umanizzati è molto importante per ridurre l'antigenicità. Secondo il cosiddetto metodo "best-fit", la sequenza del dominio variabile di un anticorpo di roditore è sottoposta a screening contro l'intera libreria di sequenze umane di domini variabili note. Successivamente, la sequenza umana che è più vicina a quella del roditore viene accettata come regione di cornice umane (FR) per l'anticorpo umanizzato (Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)). Un altro metodo usa una regione cornice specifica

derivata dalla sequenza di consenso di anticorpi completamente umani di un sottogruppo specifico di catene leggere e pesanti. La stessa cornice può essere usata per svariati anticorpi umanizzati differenti (Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)).

Inoltre, è importante che gli anticorpi siano umanizzati con la conservazione di affinità elevata per l'antigene e altre proprietà biologiche favorevoli. Per realizzare questo scopo, secondo un metodo preferito, gli anticorpi umanizzati vengono preparati mediante un processo di analisi delle sequenze parentali e di vari prodotti umanizzati concettuali usando modelli tridimensionali delle sequenze parentali e umanizzate. I modelli tridimensionali di immunoglobuline sono comunemente disponibili e sono noti agli esperti nella tecnica. Sono disponibili programmi informatici che illustrano e mostrano strutture conformazionali tridimensionali probabili di sequenze immunoglobuliniche candidate selezionate. L'ispezione di queste visualizzazioni consente l'analisi del probabile ruolo dei residui nel funzionamento della sequenza immunoglobulinica candidata, vale a dire l'analisi dei residui che influenzano la capacità dell'immunoglobulina candidata di legare il suo antigene. In questo modo, i residui FR possono essere selezionati e combinati dal destinatario e dalle sequenze di importazione in modo tale che sia ottenuta la caratteristica dell'anticorpo desiderata, come un'affinità aumentata per l'uno o più antigeni target. In generale, i

residui di regione ipervariabile sono implicati direttamente e più sostanzialmente nell'influenzare il legame all'antigene.

Il Brevetto statunitense n. 6,949,245 descrive la produzione di anticorpi HER2 umanizzati esemplificativi che legano HER2 e bloccano l'attivazione del ligando di un recettore di HER.

Anticorpi HER2 umanizzati includono specificamente trastuzumab come descritto nella tabella 3 del Brevetto statunitense US 5,821,337 come definito nella presente; e anticorpi 2C4 umanizzati come pertuzumab come descritto e definito nella presente.

Gli anticorpi umanizzati nella presente possono, per esempio, comprendere residui di regione ipervariabile non umani incorporati in un dominio pesante variabile umano e possono inoltre comprendere una sostituzione della regione cornice (FR) in una posizione selezionata dal gruppo costituito da 69H, 71 H e 73 H usando il sistema di numerazione del dominio variabile esposto in Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). L'anticorpo umanizzato può comprendere sostituzioni di FR in corrispondenza di due o di tutte le posizioni 69H, 71H e 73H.

Un anticorpo umanizzato esemplificativo di interesse nella presente comprende residui di determinazione della complementarità a dominio pesante variabile GFTFTDYTMX (SEQ ID NO: 17), in cui X è preferibilmente D o S; DVNPNSGGSIYNQRFKG (SEQ ID NO: 18); e/o NLGPSFYFDY (SEQ ID NO: 19), comprendenti facoltativamente modifiche amminoacidiche di tali residui di CDR, per esempio, in cui le

modifiche mantengono o migliorano essenzialmente l'affinità dell'anticorpo. Tali varianti di anticorpo possono essere preparate mediante maturazione per affinità, per esempio, come descritto di seguito.

L'anticorpo umanizzato può comprendere residui di determinazione della complementarità del dominio di leggero variabile KASQDVSIQVA (SEQ ID NO: 20); SASYX1X2X3, in cui X1 è preferibilmente R o L, X2 è preferibilmente Y o E, e X3 è preferibilmente T o S (SEQ ID NO: 21); e/o QQYYIYPYT (SEQ ID NO: 22), per esempio oltre a quei residui di CDR di dominio pesante variabile nel paragrafo precedente. Tali anticorpi umanizzati comprendono facoltativamente modifiche amminoacidiche dei residui di CDR di cui sopra, per esempio dove le modifiche essenzialmente mantengono o migliorano l'affinità dell'anticorpo. Per esempio, la variante anticorpale di interesse può avere da circa una a circa sette o circa cinque sostituzioni amminoacidiche nelle suddette sequenze CDR leggere variabili. Tali varianti di anticorpo possono essere preparate mediante maturazione per affinità, per esempio, come descritto di seguito.

Nella presente sono anche divulgati, ma non rivendicati, anticorpi maturati per affinità che si legano a HER2. L'anticorpo parentale può essere un anticorpo umano o un anticorpo umanizzato, per esempio, uno che comprende le sequenze leggera variabile e/o pesante variabile rispettivamente di SEQ ID NO: 7 e 8 (vale a dire comprendente la VL e/o la VH di pertuzumab). Una variante maturata per affinità di pertuzumab si lega preferibilmente al recettore di

HER2 con un'affinità superiore a quella di 2C4 o pertuzumab murino (per esempio da circa due o circa quattro volte, a circa 100 volte o circa 1000 volte l'affinità migliorata, per esempio come valutato usando un Elisa con dominio extracellulare HER2 (ECD)). Residui CDR pesanti variabili esemplificativi per la sostituzione includono H28, H30, H34, H35, H64, H96, H99, o combinazioni di due o più (per esempio due, tre, quattro, cinque, sei, o sette di questi residui). Esempi di residui di CDR leggeri variabili per alterazione includono L28, L50, L53, L56, L91, L92, L93, L94, L96, L97 o combinazioni di due o più (per esempio da due a tre, quattro, cinque o fino a circa dieci di questi residui).

L'umanizzazione dell'anticorpo 4D5 murino per generare sue varianti umanizzate, incluso trastuzumab, è descritta nei Brevetti statunitensi n. 5,821,337, 6,054,297, 6,407,213, 6,639,055, 6,719,971 e 6,800,738, nonché in Carter et al. PNAS (USA), 89:4285-4289 (1992). HuMab4D5-8 (trastuzumab) legava l'antigene HER2 3 volte più strettamente rispetto all'anticorpo 4D5 di topo e aveva una funzione immunitaria secondaria (ADCC) che consentiva l'attività citotossica diretta dell'anticorpo umanizzato in presenza di cellule effettrici umane. HuMab4D5-8 comprendeva residui di CDR leggeri variabili (VL) incorporati in una cornice di consenso del sottogruppo I κ di VL e residui di CDR pesanti variabili (VH) incorporati in una cornice di consenso del sottogruppo III di VH. L'anticorpo comprendeva inoltre sostituzioni della regione cornice (FR) come posizioni: 71, 73, 78 e 93 del VH (numerazione Kabat dei residui FR; e una sostituzione di FR

in posizione 66 del VL (numerazione di Kabat dei residui di FR).
trastuzumab comprende una regione γ 1 Fc umana di allotipo non A.

Sono contemplate varie forme dell'anticorpo umanizzato o dell'anticorpo maturato per affinità. Per esempio, l'anticorpo umanizzato o l'anticorpo maturato per affinità può essere un frammento di anticorpo. In alternativa, l'anticorpo umanizzato o l'anticorpo maturato per affinità può essere un anticorpo intatto, come un anticorpo IgG1 intatto.

(ii) Composizioni di pertuzumab

Una composizione di anticorpo HER2 descritta nella presente può comprendere una miscela di un anticorpo della specie principale per pertuzumab e una o più varianti dello stesso. Nella presente viene descritto un anticorpo della specie principale di pertuzumab comprendente le sequenze amminoacidiche leggera variabile e pesante variabile di SEQ ID NO: 5 e 6, e più preferibilmente comprendente una sequenza amminoacidica di catena leggera di SEQ ID NO: 11, e una sequenza amminoacidica di catena pesante di SEQ ID NO: 12 (incluse varianti deammidate e/od ossidate di tali sequenze). La composizione può comprendere una miscela dell'anticorpo della specie principale pertuzumab e una sua variante di sequenza amminoacidica comprendente un'estensione leader ammino-terminale. Preferibilmente, l'estensione del leader ammino-terminale è su una catena leggera della variante di anticorpo (per esempio su una o due catene leggere della variante di anticorpo). L'anticorpo HER2 della specie principale o la variante dell'anticorpo può essere un anticorpo a lunghezza intera o un

frammento di anticorpo (per esempio, frammenti Fab o di F(ab=)2), ma preferibilmente entrambi sono anticorpi a lunghezza intera. La variante di anticorpo nel presente contesto può comprendere un'estensione di leader ammino-terminale su una o più delle sue catene pesanti o leggere. Preferibilmente, l'estensione del leader ammino-terminale è su una o due catene leggere dell'anticorpo. L'estensione terminale amminotermine preferibilmente comprende o è costituita da VHS--. La presenza dell'estensione del leader amminotermine nella composizione può essere rilevata mediante varie tecniche analitiche incluse, in via non limitativa, saggio di sequenza N-terminale, saggio dell'eterogeneità di carica (per esempio, cromatografia a scambio cationico o elettroforesi di zona capillare), spettrometria di massa, eccetera. La quantità della variante dell'anticorpo nella composizione varia generalmente da una quantità che costituisce il limite di rilevamento di qualsiasi saggio (preferibilmente il saggio di sequenza N-terminale) usata per rilevare la variante a una quantità inferiore alla quantità dell'anticorpo della specie principale. Generalmente, circa il 20% o meno (per esempio dall'1% circa al 15% circa, per esempio, dal 5% circa al 15% circa) delle molecole di anticorpi nella composizione comprende un'estensione del leader ammino-terminale. Tali quantità percentuali sono preferibilmente determinate usando l'analisi quantitativa della sequenza N-terminale o l'analisi di scambio cationico (preferibilmente usando una colonna di scambio cationico debole ad alta risoluzione, come una colonna di scambio cationico

PROPAC WCX-10™). Oltre alla variante di estensione del leader ammino-terminale, sono contemplate ulteriori alterazioni della sequenza amminoacidica dell'anticorpo e/o della variante della specie principale, incluso ma non limitato a un anticorpo comprendente un residuo di lisina C-terminale su una o entrambe le sue catene pesanti, un variante dell'anticorpo deamidato, eccetera.

Inoltre, l'anticorpo o la variante della specie principale può comprendere ulteriormente variazioni di glicosilazione, esempi non limitativi dei quali includono anticorpi comprendenti una struttura oligosaccaridica G1 o G2 legata alla sua regione Fc, anticorpo comprendente una frazione di carboidrato legata a una sua catena leggera (per esempio o due frazioni di carboidrato, come glucosio o galattosio, legate a una o due catene leggere dell'anticorpo, per esempio, legate a uno o più residui di lisina), anticorpo comprendente una o due catene pesanti non glicosilate, o anticorpo comprendente un oligosaccaride sialidato legato a una o due catene pesanti, eccetera.

La composizione può essere recuperata da una linea cellulare geneticamente modificata, per esempio una linea cellulare di ovaio di criceto cinese (CHO) che esprime l'anticorpo HER2, oppure può essere preparata mediante sintesi peptidica.

Per ulteriori informazioni sulle composizioni esemplificative di pertuzumab, si vedano i Brevetti statunitensi n. 7,560,111 e 7,879,325 nonché US 2009/0202546A1.

(iii) Composizioni di trastuzumab

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

La composizione di trastuzumab comprende generalmente una miscela di un anticorpo di specie principale (comprendente sequenze di catena leggera e pesante rispettivamente di SEQ ID NO: 13 e 14) e loro forme varianti, in particolare varianti acide (incluse varianti deammidate). Preferibilmente, la quantità di tali varianti acide nella composizione è inferiore a circa il 25%, o inferiore a circa il 20%, o inferiore a circa il 15%. Si veda il Brevetto statunitense n. 6,339,142. Si veda anche Harris et al., J. Chromatography, B 752:233-245 (2001) riguardante forme di trastuzumab risolubili mediante cromatografia a scambio cationico, che includono Picco A (Asn30 deammidato ad Asp in entrambe le catene leggere); Picco B (Asn55 deammidato a isoAsp in una catena pesante); Picco 1 (Asn30 deammidato ad Asp in una catena leggera); Picco 2 (Asn30 deammidato in Asp in una catena leggera e Asp102 isomerizzato in isoAsp in una catena pesante); Picco 3 (forma di picco principale o anticorpo della specie principale); Picco 4 (Asp102 isomerizzato in isoAsp in una catena pesante); e Picco C (Asp 102 succinimide (Asu) in una catena pesante). Tali forme e composizioni varianti sono incluse nella presente invenzione.

(iv) Chemioterapia

La chemioterapia standard per il trattamento del cancro mammario in fase precoce positivo a HER2 (eBC) include, senza limitazione, chemioterapie contenenti antracicline e non contenenti antracicline, come il trattamento con una o più tra doxorubicina, epirubicina, 5-fluorouracile + epirubicina, doxorubicina + ciclofosfamide e taxani

(per esempio, docetaxel o paclitaxel). La chemioterapia usata secondo la presente invenzione è definita nelle rivendicazioni e include specificamente 1) 3-4 cicli (q3w) di 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel. 2) 4 cicli (q3w) di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel, e 3) (chemioterapia senza antracicline) 6 cicli (q3w) di docetaxel + carboplatino, come descritto nell'esempio 1. I farmaci usati nei vari regimi chemioterapici standard sono disponibili in commercio e somministrati secondo le informazioni di prescrizione locali e come descritto nell'Esempio 1.

III. Selezione dei pazienti per la terapia

Il rilevamento di HER2 può essere usato per selezionare pazienti per il trattamento secondo la presente invenzione. Sono disponibili svariati saggi commerciali approvati dalla FDA per identificare i pazienti affetti da cancro positivo a HER2. Questi metodi includono HERCEPTEST® (Dako) e PATHWAY® HER2 (saggi di immunoistochimica (IHC)) e PathVysion® e HER2 FISH pharmDx™ (saggi FISH). Gli utenti devono fare riferimento ai foglietti illustrativi di kit di saggi specifici per informazioni sulla convalida e l'esecuzione di ciascun saggio.

Per esempio, la sovraespressione di HER2 può essere analizzata mediante IHC, per esempio, usando HERCEPTEST® (Dako). Sezioni di tessuto integrate in paraffina derivanti da una biopsia tumorale

possono essere sottoposte al saggio IHC e ricevere criteri di intensità di colorazione della proteina HER2 come segue:

Punteggio 0 non è osservata colorazione o è osservata una colorazione della membrana in meno del 10% delle cellule tumorali.

Punteggio 1+ è rilevata una colorazione della membrana debolmente/appena percettibile in più del 10% delle cellule tumorali. Le cellule sono colorate soltanto in parte della loro membrana.

Punteggio 2+ è osservata una colorazione della membrana completa da debole a moderata in più del 10% delle cellule tumorali.

Punteggio 3+ è osservata una colorazione della membrana completa da moderata a forte in più del 10% delle cellule tumorali.

I tumori con punteggi 0 o 1+ per quanto riguarda la valutazione della sovraespressione di HER2 possono essere caratterizzati come HER2-negativi, mentre i tumori con punteggi 2+ o 3+ possono essere caratterizzati come positivi a HER2.

I tumori sovraesprimenti HER2 possono essere classificati mediante i punteggi immunostochimici che corrispondono al numero di copie di molecole di HER2 espresse per cellula, e possono essere determinati biochimicamente:

0 = 0-10.000 copie/cellula,

1+ = almeno circa 200.000 copie/cellula

Marco Giovanni Mari
USBM-GPI-090

2+ = almeno circa 500.000 copie/cellula

3+ = almeno circa 2.000.000 copie/cellula

La sovraespressione di HER2 a livello 3+, che porta all'attivazione indipendente dal ligando della tirosina chinasi (Hudziak et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 7159-7163(1987)), si verifica in circa il 30% dei cancri mammari e, in questi pazienti, la sopravvivenza priva di recidiva e la sopravvivenza complessiva sono diminuite (Slamon et al., Science, 244:707-712 (1989); Slamon et al., Science, 235: 177-182 (1987)).

La presenza di sovraespressione della proteina HER2 e l'amplificazione genica sono altamente correlate, pertanto, in alternativa, o in aggiunta, per la selezione di pazienti appropriati per il trattamento secondo la presente invenzione si può anche impiegare l'uso di ibridazione in situ (ISH), per esempio, ibridazione in situ fluorescente (FISH), saggi per rilevare l'amplificazione genica. È possibile eseguire saggi FISH come INFORM™ (venduto da Ventana, Arizona) o PathVysion® (Vysis, Illinois) su un tessuto tumorale fissato con formalina, integrato in paraffina per determinare l'entità (se presente) di amplificazione di HER2 nel tumore.

Più comunemente, lo stato positivo a HER2 viene confermato usando tessuto tumorale incorporato in paraffina d'archivio, usando uno qualsiasi dei metodi precedenti.

Preferibilmente, i pazienti positivi a HER2 con un punteggio IHC 2+ o 3+ o che sono positivi a FISH o ISH sono selezionati per il trattamento secondo la presente invenzione.

Si vedano anche il Brevetto statunitense n. 7,981,418 per saggi alternativi per lo screening di pazienti per la terapia con pertuzumab, e gli esempi.

IV. Formulazioni farmaceutiche

Formulazioni terapeutiche degli anticorpi HER2 usati secondo la presente invenzione vengono preparate per la conservazione miscelando un anticorpo avente il grado di purezza desiderato con carrier, eccipienti o stabilizzanti farmaceuticamente accettabili facoltativi (Remington's Pharmaceutical Sciences 16a edizione, Osol, A. Ed. (1980)), generalmente sotto forma di formulazioni liofilizzate o soluzioni acquose. Sono anche contemplati cristalli di anticorpi (di veda la domanda di brevetto statunitense 2002/0136719). Carrier, eccipienti o stabilizzanti accettabili sono atossici per i riceventi ai dosaggi e alle concentrazioni impiegati, e comprendono tamponi come fosfato, citrato e altri acidi organici; antiossidanti incluso acido ascorbico e metionina; conservanti (come cloruro di ottadecildimetilbenzil ammonio; cloruro di esametonio; cloruro di benzalconio, cloruro di benzetonio; fenolo, alcol butilico o benzile; alchil parabeni come metil o propil parabene; catecolo; resorcinolo; cicloesanololo; 3-pentanololo; e m-cresolo); polipeptidi a basso peso molecolare (con meno di circa 10 residui). proteine, come albumina del siero, gelatina o immunoglobuline; polimeri idrofili come il

polivinilpirrolidone. amminoacidi come glicina, glutammina, asparagina, istidina, arginina, o lisina; monosaccaridi, disaccaridi e altri carboidrati inclusi glucosio, mannosio, o destrine; agenti chelanti come EDTA; zuccheri come saccarosio, mannitolo, trealosio o sorbitolo; controioni formanti sali come sodio; complessi metallici (per esempio, complessi Zn-proteina); e/o tensioattivi non ionici come TWEEN™, Pluronic™ o polietilenglicole (PEG). Le formulazioni anticorpali liofilizzate sono descritte in WO 97/04801.

Le formulazioni di anticorpi liofilizzati sono descritte nei Brevetti statunitensi n. 6,267,958, 6,685,940 e 6,821,515.

In una forma di realizzazione, la formulazione di trastuzumab è una polvere liofilizzata sterile, da bianca a giallo pallido, priva di conservanti per somministrazione endovenosa (IV), comprendente 440 mg di trastuzumab, 400 mg di alfa, α -trealosio disidrato, 9,9 mg di L-istidina-HCl, 6,4 mg di L-istidina e 1,8 mg di polisorbato 20, USP. La ricostituzione di 20 ml di acqua batteriostatica per iniezione (BWHI), contenente l'1,1% di alcol benzilico come conservante, produce una soluzione multidose contenente 21 mg/ml di trastuzumab, a pH di circa 6,0. Per ulteriori dettagli, si vedano le informazioni sulla prescrizione di trastuzumab.

In un'altra forma di realizzazione, una formulazione di trastuzumab, per esempio, idonea per la somministrazione sottocutanea, è divulgata nel Brevetto statunitense n. 9,345,661. Questa formulazione comprende

(a) da circa 100 a circa 150 mg/ml di trastuzumab;

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

(b) da circa 1 a circa 50 mM di un agente tamponante che fornisce un pH di 5,5.+-.2,0;

(c) da circa 150 a circa 250 mM di α,α -trealosio diidrato o saccarosio come primo stabilizzante e da circa 5 a circa 15 mM di metionina come secondo stabilizzante;

(d) da circa lo 0,01 a circa lo 0,08% di un tensioattivo non ionico; e

(e) da circa 1.000 a 16.000 U/ml di almeno un enzima ialuronidasi.

In una forma di realizzazione, la formulazione di pertuzumab per uso terapeutico comprende 30 mg/ml di pertuzumab in 20 mM di istidina acetato, 120 mM di saccarosio, 0,02% di polisorbato 20, a pH 6,0. Una formulazione alternativa di pertuzumab comprende 25 mg/ml di pertuzumab, tampone istidina-HCl 10 mM, saccarosio 240 mM, polisorbato 20 0,02%, pH 6,0.

In un'altra forma di realizzazione, la formulazione di pertuzumab per uso terapeutico è idonea per la somministrazione sottocutanea e comprende 600 mg di pertuzumab a una concentrazione di 60 mg/ml, 600 mg di trastuzumab a una concentrazione di 60 mg/ml, 1.000 U/ml di rHuPH20, His-HCl 20 mM a pH 5,5, trealosio 105 mM, saccarosio 100 mM, polisorbato 20 allo 0,04%, metionina 10 mM e acqua sterile per preparazioni iniettabili fino a un volume totale di 10 ml, che può essere contenuto in una fiala da 15 ml.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la formulazione di pertuzumab per uso terapeutico è idonea per la somministrazione

sottocutanea e comprende 1.200 mg di pertuzumab a una concentrazione di 80 mg/ml, 600 mg di trastuzumab a una concentrazione di 40 mg/ml, 1.000 U/ml di rHuPH20, His-HCl 20 mM a pH 5,5, trealosio 70 mM, saccarosio 133 mM, polisorbato 20 allo 0,04%, metionina 10 mM e acqua sterile per preparazioni iniettabili fino a un volume totale di 15 ml, che può essere contenuto in una fiala da 20 ml.

In ancora un'ulteriore forma di realizzazione, una co-formulazione di pertuzumab e trastuzumab, per esempio, idonea per la somministrazione sottocutanea comprende una singola dose fissa di circa 600 mg di pertuzumab e una singola dose fissa di circa 600 mg di trastuzumab, o una singola dose fissa di circa 1200 mg di pertuzumab e una singola dose fissa di circa 600 mg di trastuzumab, e un enzima ialuronidasi, come la ialuronidasi umana ricombinante (rHuPH20), in una quantità sufficiente a determinare un aumento della dispersione di pertuzumab e trastuzumab contenuti nella stessa formulazione liquida durante la somministrazione sottocutanea, come a una concentrazione di almeno circa 600 U/ml, o a una concentrazione tra circa 600 U/ml e circa 2,000 U/ml, per esempio, a una concentrazione di circa 1.000 U/ml.

In ulteriori forme di realizzazione, una coformulazione di pertuzumab e trastuzumab, per esempio, idonea per la somministrazione sottocutanea, comprende:

600 mg di pertuzumab a una concentrazione di 60 mg/ml, 600 mg di trastuzumab a una concentrazione di 60 mg/ml, 1.000 U/ml di rHuPH20, His-HCl 20 mM pH 5,5, trealosio 105 mM, saccarosio 100

mM, polisorbato 20 0,04%, metionina 10 mM e acqua sterile per preparazioni iniettabili fino a un volume totale di 10 ml, o 1,200 mg di pertuzumab a una concentrazione di 80 mg/ml, 600 mg di trastuzumab a una concentrazione di 40 mg/ml, 1.000 U/ml di rHuPH20, His-HCl 20 mM a pH 5,5, trealosio 70 mM, saccarosio 133 mM, polisorbato 20 0,04%, metionina 10 mM e acqua sterile per preparazioni iniettabili fino a un volume totale di 15 ml.

La formulazione del placebo usato negli studi clinici descritti negli esempi è equivalente a pertuzumab, senza il principio attivo.

La formulazione nella presente può anche contenere più di un principio attivo come necessario per l'indicazione specifica che viene trattata, preferibilmente quelli con attività complementare che non si influenzano negativamente tra loro. Vari farmaci che possono essere combinati con l'inibitore della dimerizzazione HER sono descritti nella Sezione Metodo di seguito. Convenientemente, tali molecole sono presenti in combinazione in quantità che sono efficaci per lo scopo previsto.

Le formulazioni da usare per la somministrazione in vivo devono essere sterili. Questo viene ottenuta facilmente mediante filtrazione con membrane di filtrazione sterile.

V. Usi medici

L'invenzione riguarda pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per l'uso in un metodo per ridurre il rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o morte per pazienti con diagnosi di cancro mammario in fase precoce (eBC) positivo a HER2

rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab, come definito nelle rivendicazioni.

In una forma di realizzazione, ai pazienti trattati secondo la presente invenzione è stato diagnosticato un cancro mammario positivo a HER2, negativo per i recettori di ormonali.

In una forma di realizzazione, pertuzumab, trastuzumab e chemioterapia vengono somministrati seguendo uno dei seguenti schemi: pertuzumab IV e trastuzumab IV q3 w in combinazione con chemioterapia secondo uno dei seguenti schemi (a discrezione del medico curante): 1) 3-4 cicli (q3w) o 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel; 2) 4 cicli (q3w) di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) o docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel; 3) (terapia non antraciclina) 6 cicli (q3w) di docetaxel + carboplatino.

In una forma di realizzazione, trastuzumab e/o pertuzumab vengono somministrati per via endovenosa. In un'altra forma di realizzazione, trastuzumab e/o pertuzumab vengono somministrati per via sottocutanea (per esempio, tramite una coformulazione comprendente sia trastuzumab che pertuzumab che è idonea per la somministrazione sottocutanea).

In una forma di realizzazione, pertuzumab IV viene somministrato con una dose di carico di 840 mg seguita da 420 mg ogni 3 settimane.

In una forma di realizzazione, trastuzumab viene somministrato per via endovenosa con una dose di carico di 8 mg/mg seguita da 6 mg/kg ogni 3 settimane.

In una forma di realizzazione, pertuzumab sc viene somministrato con una dose di carico di 1200 mg seguita da 600 mg ogni 3 settimane.

In una forma di realizzazione, trastuzumab sc viene somministrato con una dose di carico di 600 mg seguita da 600 mg ogni 3 settimane.

Negli esempi di seguito sono divulgati ulteriori dosaggi e schemi per la chemioterapia usata per trattare il cancro mammario in fase precoce positivo a HER2, ma altri dosaggi e schemi sono noti e contemplati secondo l'invenzione nella presente.

VI. Deposito di materiali biologici

Le seguenti linee cellulari di ibridoma sono state depositate presso l'American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA (ATCC):

Designazione degli anticorpi	ATCC n.	Data di deposito
4D5	ATCC CRL 10463	24 Maggio 1990
2C4	ATCC HB-12697	8 Aprile 1999

TABELLA 1

TABELLE DELLE SEQUENZE		
descrizione	SEQ ID NO	Figura
Dominio HER2 I	1	1
Dominio HER2 II	2	1
Dominio HER2 III	3	1
Dominio HER2 IV	4	1
leggera variabile di 2C4	5	2A
pesante variabile di 2C4	6	2B
574/leggero variabile di pertuzumab	7	2A
574/pesante variabile di pertuzumab	8	2B
cornice di consenso V _L umana	9	2A

Marco Giovanni Mari
USBM-CP1-090

Cornice di consenso V _L umana	10	2B
catena leggera di pertuzumab	11	3A
catena pesante di pertuzumab	12	3B
catena leggera di trastuzumab	13	4A
catena pesante di trastuzumab	14	4B
Catena leggera variante di pertuzumab	15	5A
Catena pesante variante di pertuzumab	16	5B
GFTFTDYTMX	17	
DVNPNSGGSIYNQRFKG	18	
NLGPSFYFDY	19	
KASQDVSIGVA	20	
SASYX' X ² X ³	21	
QQYYIYPYT	22	

Ulteriori dettagli dell'invenzione sono illustrati mediante il seguente esempio non limitativo.

Nella seguente Tabella 2 è fornito un elenco di abbreviazioni e definizione di termini, come usato in tutta la descrizione particolareggiata, inclusi gli Esempi.

Abbreviazione	Definizione
AC	doxorubicina (Adriamycin®) più ciclofosfamide
ADCC	citotossicità mediata da cellule dipendente da anticorpo
AE	evento avverso
ARDS	sindrome da distress respiratorio acuto
ATA	anticorpo anti-agente terapeutico
BCS	chirurgia conservativa della mammella
bpCR	risposta patologica completa della mammella
BSA	area superficiale corporea
CALGB	Cancro e leucemia del gruppo B
CBE	visita clinica mammaria
CHF	insufficienza cardiaca congestizia
CISH	ibridazione cromogenica in situ
CR	risposta completa
CSR	Report dello studio clinico
CT	tomografia computerizzata
CTCAE	Criteri comuni di terminologia per gli eventi avversi
D	Docetaxel
DCarbH	docetaxel, carboplatino e trastuzumab (Herceptin®) (noto anche come TCH)
DCIS	carcinoma duttale in situ
dd	a dose densa
ddAC	doxorubicina (Adriamycin®) più ciclofosfamide a dose densa

Abbreviazione	Definizione
DFS	sopravvivenza priva di malattia
EBC o eBC	cancro mammario in fase precoce
EBCTCG	Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group
ECG	elettrocardiogramma
ECO	ecocardiogramma
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
eCRF	scheda raccolta dati elettronica
EdC	cattura elettronica dei dati
EFS	sopravvivenza priva di eventi
EGFR	recettore del fattore di crescita epidermico
ER	recettore degli estrogeni
ESMO	European Society for Medical Oncology
FFPE	incorporato in paraffina fissato con formalina
FISH	ibridazione in situ fluorescente
GCG	Gruppo mammario tedesco
G-CSF	fattore stimolante le colonie di granulociti
H	<i>Herceptin</i>
HER2	recettore del fattore di crescita epidermico umano 2
HR	rapporto di rischio
IB	Brochure dell'esaminatore
IBC	cancro mammario infiammatorio
ICH	International Conference on Harmonisation
iDFS	sopravvivenza priva di malattia invasiva
IMP	prodotto medicinale sperimentale
IND	nuovo farmaco sperimentale
ISH	ibridazione in situ
ITT	intent-to-treat
EV	Endovenosa
IUD	dispositivo intrauterino
IxRS	sistema interattivo di risposta vocale/web
LABC	cancro mammario localmente avanzato
LCIS	carcinoma lobulare in situ
LPLV	ultimo paziente, ultima visita
LVEF	frazione di eiezione ventricolare sinistra
LVSD	disfunzione sistolica ventricolare sinistra
MAPK	protein chinasi attivata da mitogeni
MBC	cancro mammario metastatico
IRM	risonanza magnetica
mRNA	RNA messaggero
MUGA	scansione di acquisizione a filtri multipli
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NCCTG	North Central Cancer Treatment Group
NCI	National Cancer Institute
NSABP	National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project
NYHA	New York Heart Association
OS	sopravvivenza complessiva
P	Paclitaxel
pCR	risposta patologica completa
PET	tomografia ad emissione di positroni

Abbreviazione	Definizione
PFS	sopravvivenza priva di progressione
PgR	recettore del progesterone
PH	<i>Perjeta® ed Herceptin®</i>
PI3K	fosfoinositolo 3-chinasi
Pla	Placebo
RP	risposta parziale
PVC	polivinilcloruro
RCB	Carico residuo di cancro
RCR	Roche Clinical Repository
RECIST	Criteri di valutazione della risposta nei tumori solidi
TA	radioterapia
SD	malattia stabile
SISH	ibridazione in situ con argento
SLN	linfonodo sentinella
SLNB	biopsia linfonodo sentinella
SWFI	acqua sterile per preparazioni iniettabili
T	paclitaxel (Taxol®)
TCH	docetaxel (Taxotere®), ciclofosfamide e trastuzumab (Herceptin®) (abbreviato in DCarbH in questo documento)
TH	paclitaxel più <i>Herceptin®</i>
tpCR	risposta patologica completa totale
ULN	limite superiore del normale

ESEMPIO 1

Uno studio di fase III su Pertuzumab oltre alla chemioterapia e trastuzumab come terapia adiuvante in partecipanti con cancro mammario primario positivo a HER2.

Scopo

Questo studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a due bracci di fase III (Adjuvant Pertuzumab and Perception In Initial Therapy of Breast Cancer, APHINITY, NCT01358877) sta attualmente arruolando 4806 pazienti, per valutare la sicurezza e l'efficacia di pertuzumab oltre alla chemioterapia più trastuzumab come terapia adiuvante in partecipanti con cancro mammario primario positivo a HER2 operabile. Questo studio viene condotto in collaborazione con il Breast International Group (BIG).

Disegno dello studio:

Una rappresentazione schematica del disegno dello studio è mostrata nelle Figure 6A, 6B e 6C. I pazienti arruolati nello studio sono stati sottoposti a intervento chirurgico e sono stati randomizzati a uno di due gruppi di trattamento (1:1) per ricevere:

- PERJETA® e Herceptin con sei-otto cicli di chemioterapia (regime contenente antraciclina o non contenente antraciclina), seguiti da PERJETA® e HERCEPTIN® ogni tre settimane per un totale di un anno (52 settimane) di trattamento. In particolare, in questo braccio sperimentale, i partecipanti ricevono pertuzumab IV e trastuzumab IV q3 w per 1 anno di trattamento in combinazione con la chemioterapia secondo uno dei seguenti programmi (a discrezione dello sperimentatore): 1) 3-4 cicli (q3w) di 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel. 2) 4 cicli (q3w) di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel. 3) (terapia non antraciclina) 6 cicli (q3w) di docetaxel + carboplatino.
- Placebo ed HERCEPTIN® con sei-otto cicli di chemioterapia (regime contenente antraciclina o non contenente antraciclina), seguiti da placebo ed Herceptin ogni tre settimane per un totale di un anno (52 settimane) di trattamento. In particolare, in questo braccio di confronto con placebo i partecipanti ricevono placebo IV e trastuzumab IV q3 w per 1 anno di trattamento in

combinazione con chemioterapia secondo uno dei seguenti schemi (a discrezione dello sperimentatore): 1) 3-4 cicli (q3w) di 5-fluorouracile + epirubicina o doxorubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel. 2) 4 cicli (q3w) di doxorubicina o epirubicina + ciclofosfamide seguiti da 4 cicli (q3w) di docetaxel o 12 cicli settimanali di paclitaxel. 3) (terapia non antraciclina) 6 cicli (q3w) di docetaxel + carboplatino.

- Pertuzumab: I partecipanti hanno ricevuto una dose di carico di pertuzumab di 840 mg per via endovenosa nel Ciclo 1, seguita da 420 mg per via endovenosa ogni 3 settimane.
- Farmaco Trastuzumab: I partecipanti hanno ricevuto trastuzumab a una dose di carico di 8 milligrammi per chilogrammo (mg/kg) seguita da 6 mg/kg IV q3w.
- Farmaco: 5-Fluorouracile: I partecipanti possono ricevere 5-fluorouracile 500-600 milligrammi per metro quadro (mg/m²) IV q3w.
- Farmaco: Carboplatino: I partecipanti possono ricevere una dose di carboplatino di 6 volte l'area sotto la curva del tempo di concentrazione (AUC) (dose massima di 900 mg) per via endovenosa q3w.
- Farmaco: Ciclofosfamina: I partecipanti possono ricevere ciclofosfamide 500-600 mg/m² IV q3w.
- Farmaco: Docetaxel: I partecipanti possono ricevere docetaxel o 75 mg/m² per via endovenosa q3w, o 100 mg/m² per via endovenosa

q3w, o 75 mg/m² per via endovenosa q3 w per il primo ciclo seguito da 100 mg/m² per via endovenosa q3w.

- Farmaco: Doxorubicina: I partecipanti possono ricevere doxorubicina 50 mg/m² IV q3w.
- Farmaco: Epirubicina: I partecipanti possono ricevere epirubicina 90-120 mg/m² IV q3w.
- Farmaco: Paclitaxel I partecipanti possono ricevere paclitaxel 80 mg/m² IV una volta alla settimana.

La radioterapia e/o la terapia endocrina potrebbero essere iniziate al termine della terapia adiuvante. Lo studio APHINITY ha consentito l'uso di regimi chemioterapici adiuvanti standard. Entrambi i partecipanti positivi per i linfonodi e negativi per i linfonodi erano eleggibili per l'arruolamento (si veda di seguito).

Idoneità

Età ammissibile per lo studio: da 18 anni in su (adulto, anziano)

Sessi ammissibili per lo studio: Tutti

Accetta volontari sani: No

Criteri di inclusione

- Carcinoma primitivo invasivo positivo a HER2 della mammella non metastatico operabile, istologicamente confermato e adeguatamente asportato
- Malattia positiva per linfonodi, o malattia negativa per i linfonodi (pN0) e una dimensione del tumore >1,0 cm. I pazienti con tumori pN0 e una dimensione del tumore compresa tra 0,5-1,0

cm erano inizialmente idonei se era presente almeno una delle seguenti caratteristiche: grado 3, entrambi i recettori di ormonali negativi o età <35 anni. I pazienti con pN0 non erano più eleggibili in base a un emendamento al protocollo dopo che 3655 pazienti erano stati randomizzati.

- Stato delle prestazioni dell'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) inferiore o uguale a (\leq) 1
- L'intervallo tra l'intervento chirurgico definitivo per cancro mammario e la prima dose di chemioterapia non deve essere superiore a 8 settimane (56 giorni). Il primo ciclo di chemioterapia deve essere somministrato entro 7 giorni dalla randomizzazione o il Giorno 56, a seconda di quale si verifica per primo
- Stato del recettore degli ormoni noto (recettore degli estrogeni e recettore del progesterone)
- LVEF basale superiore o uguale a (\geq) 55 percento (%) misurato mediante ecocardiogramma (ECHO) o scansione di acquisizione a filtri multipli (MUGA)
- Stato positivo a HER2 confermato, che richiede la conferma che il cancro mammario della paziente ha un punteggio immunohistochimico 3+ in >10% di cellule immunoreattive o amplificazione del gene c-erbB2 mediante ibridazione in situ (rapporto tra i segnali del gene c-erbB2 e i segnali del centromero 17 \geq 2).

- Le donne in età fertile e i partecipanti di sesso maschile con partner in età fertile devono accettare di usare un metodo contraccettivo efficace (come definito dal protocollo) da parte della partecipante e/o del partner per la durata del trattamento in studio e per almeno 7 mesi dopo l'ultima dose del farmaco in studio.

Criteria di esclusione

- Anamnesi di qualsiasi precedente cancro mammario invasivo (ipsi- e/o controlaterale)
- Anamnesi di neoplasie non mammarie nei 5 anni precedenti l'ingresso nello studio, ad eccezione di carcinoma in situ della cervice, carcinoma in situ del colon, melanoma in situ e carcinomi basocellulari e a cellule squamose della pelle
- Qualsiasi tumore T4 "clinico" come definito da tumore primario/linfonodi regionali/metastasi a distanza (TNM), incluso cancro mammario infiammatorio
- Qualsiasi precedente chemioterapia sistemica per il cancro o radioterapia per il cancro
- Uso precedente di terapia anti-HER2 per qualsiasi motivo o altro precedente biologico o immunoterapia per il cancro
- Trattamento anti-cancro concomitante in un altro studio sperimentale
- Grave malattia o condizione cardiaca o cardiovascolare

- Altre malattie gravi concomitanti che possono interferire con il trattamento pianificato, incluse le condizioni/malattie polmonari gravi
- Test di laboratorio anomali immediatamente prima della randomizzazione
- Donne in gravidanza o allattamento
- Sensibilità a uno qualsiasi dei farmaci dello studio o a uno qualsiasi degli ingredienti o eccipienti di questi farmaci

Misure dell'effetto

Un elenco completo delle misure dell'effetto primario e secondario dello studio è fornito di seguito.

Un punto finale primario di efficacia dello studio APHINITY è iDFS, che è il tempo in cui una paziente vive senza ritorno di cancro mammario invasivo in qualsiasi sito o morte per qualsiasi causa dopo il trattamento adiuvante.

Il test dei ranghi logaritmici stratificato è stato usato per confrontare l'iDFS tra i due gruppi di trattamento. L'approccio Kaplan-Meier è stato usato per stimare le percentuali di iDFS a 3 anni per ciascun gruppo di trattamento. Il modello di rischi proporzionali di Cox stratificato è stato usato per stimare il rapporto di rischio (HR) tra i due gruppi di trattamento e il suo intervallo di confidenza (CI) del 95%. L'analisi primaria è stata basata sulla popolazione intent-to-treat (ITT). Lo studio è stato disegnato per avere l'80% di potenza per rilevare un rapporto di rischio di 0,75 a un livello di significatività bilaterale del 5%.

Una percentuale di IDFS a 3 anni dell'89,2% è stata ipotizzata per il gruppo placebo in base ai risultati dello studio BCIRG 006 (NCT00021255). In base a questi presupposti sono richiesti circa 379 eventi IDFS per l'analisi primaria di IDFS.

I punti finali secondari di efficacia includono la sicurezza cardiaca e generale, la sopravvivenza complessiva, la sopravvivenza priva di malattia e la qualità della vita correlata alla salute.

L'intervallo privo di recidiva a distanza (DRFI è definito come il tempo tra la randomizzazione e la data di recidiva di cancro mammario a distanza. I pazienti senza recidiva di malattia a distanza al momento dell'analisi saranno censurati alla data del decesso o dell'ultima data di vita nota. L'analisi OS definitiva (guidata dagli eventi finali) è pianificata quando si sono verificati 640 decessi. La prima analisi ad interim di OS è resa disponibile al momento dell'analisi primaria di IDFS, con informazioni limitate rispetto all'analisi definitiva. Saranno effettuate due successive analisi intermedie. Ai fini normativi, il livello alfa complessivo sarà controllato a 0,05 per le quattro analisi OS. Il livello di significatività bilaterale regolato alla prima analisi ad interim della OS è $<0,00001$.

I pazienti che ricevono una qualsiasi quantità di trattamento in studio (chemioterapia o terapia mirata) sono stati inclusi nelle analisi di sicurezza dai pazienti del trattamento effettivamente ricevuti. I pazienti che hanno ricevuto pertuzumab adiuvante sono nel braccio di analisi della sicurezza di pertuzumab. I pazienti che

hanno ricevuto il farmaco in studio ma nessun pertuzumab sono nel braccio di analisi della sicurezza del placebo.

Il punto finale cardiaco primario era l'insufficienza cardiaca congestizia grave (CHF), definita come: insufficienza cardiaca di classe NYHA III o IV e un calo della LVEF di almeno 10 punti EF dal basale e inferiore al 50% o morte cardiaca. La morte cardiaca è stata identificata dall'APHINITY Cardiac Advisory Board (CAB).

Un punto finale cardiaco secondario è stato definito come un calo significativo asintomatico o lievemente sintomatico (NYHA Classe II) della LVEF mediante scansione MUGA o ECHO, confermato da una seconda valutazione della LVEF entro circa 3 settimane che mostra anche un calo significativo o come confermato dall'APHINITY CAB.

Misure dell'effetto primario

- Durata della sopravvivenza priva di malattia invasiva (iDFS) (esclusi i secondi cancri primari non mammari come evento IDFS), valutata usando esami radiologici, istologici o risultati di laboratorio [intervallo di tempo: Randomizzazione fino all'evento IDFS definito dal protocollo (esclusi i secondi cancri primari non mammari) (fino a 12 anni complessivi)]
- Percentuale di partecipanti con insufficienza cardiaca di classe III o IV della New York Heart Association (NYHA) e un calo della frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) di almeno 10 punti dal basale e al di sotto del 50% (%) [Lasso temporale: Basale fino a 12 anni (valutato ogni 12 settimane fino ai primi

12 mesi; mesi 18, 24, 30, 36, 48, 60 e successivamente ogni 12 mesi fino a 12 anni complessivi)]

Misure dell'effetto secondario

- Durata IDFS (inclusi i secondi cancri primari non mammari come evento IDFS), valutata usando esami radiologici, istologici o risultati di laboratorio [intervallo di tempo: Randomizzazione fino all'evento IDFS definito dal protocollo (inclusi i secondi cancri primari non mammari) (fino a 12 anni complessivi)]
- Durata della sopravvivenza priva di malattia (DFS) (inclusi i secondi cancri primari non mammari o il carcinoma duttale controlaterale od omolaterale in situ come evento), valutata usando esami radiologici, istologici o risultati di laboratorio [intervallo di tempo: Randomizzazione fino all'evento DFS definito dal protocollo (inclusi secondi cancri primari non mammari o carcinoma duttale controlaterale od omolaterale in situ) (fino a 12 anni complessivi)]
- Sopravvivenza complessiva (OS) [intervallo di tempo: Randomizzazione fino al decesso per qualsiasi causa (fino a 12 anni complessivi)]
- Intervallo privo di recidiva (RFI), valutato usando esami radiologici, istologici o risultati di laboratorio [Lasso di tempo: Randomizzazione fino a recidiva di cancro mammario locale, regionale o a distanza (fino a 12 anni complessivi)]
- Intervallo privo di recidiva a distanza (DRFI), valutato usando esami radiologici, istologici o risultati di laboratorio [Lasso

di tempo: Randomizzazione fino a recidiva di cancro mammario a distanza (fino a 12 anni complessivi)]

- Percentuale di partecipanti con eventi avversi [intervallo di tempo: Basale fino a 12 anni]
- Percentuale di partecipanti con calo asintomatico o lievemente sintomatico (classe NYHA II) nella frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) di almeno 10 punti dal basale e al di sotto del 50% [intervallo di tempo: Basale fino a 12 anni (valutato ogni 12 settimane fino ai primi 12 mesi; mesi 18, 24, 30, 36, 48, 60 e successivamente ogni 12 mesi fino a 12 anni complessivi)]
- Misurazioni LVEF nel corso dello studio [intervallo temporale: Basale fino a 12 anni (valutato ogni 12 settimane fino ai primi 12 mesi; mesi 18, 24, 30, 36, 48, 60 e successivamente ogni 12 mesi fino a 12 anni complessivi)]
- European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire - Core 30 (EORTC QLQ-C30) Punteggio [Lasso temporale: Basale, Settimane 10, 13, 19 e 25; 28 giorni dopo l'ultima dose del farmaco di studio (settimana 56); e Mesi 18, 24 e 36]
- European Organization for Research and Treatment of Cancer Breast Cancer Module Quality of Life (EORTC QLQ BR23) Functional Scale Score [Lasso di tempo: Basale, Settimane 10, 13, 19 e 25; 28 giorni dopo l'ultima dose del farmaco di studio (settimana 56); e Mesi 18, 24 e 36]

- Punteggio del questionario European Quality of Life-5 Dimensions (EQ-5D) [Lasso temporale: Basale, Settimane 10, 13, 19 e 25; 28 giorni dopo l'ultima dose del farmaco di studio (settimana 56); e Mesi 18, 24 e 36]

Formulazione, confezionamento e manipolazione

PERJETA® è fornito come formulazione monouso contenente 30 mg/ml di pertuzumab formulato in L-istidina 20 mM (pH 6,0), saccarosio 120 mM e polisorbato-20 0,02%. Ciascuna fiala da 20 cc contiene circa 420 mg di pertuzumab (14,0 ml/fiala). Per ulteriori dettagli, fare riferimento all'IB PERJETA® o alle informazioni di prescrizione locali per PERJETA®.

Etichettatura di PERJETA®

PERJETA® sarà etichettato in base ai requisiti normativi di ciascun paese, nonché in conformità con la Buona Pratica Clinica della Conferenza Internazionale di Armonizzazione (ICH). Lo Sponsor dello studio fornirà PERJETA® a tutti i centri dello studio etichettati soltanto per l'uso sperimentale.

Conservazione di PERJETA®

Le fiale di PERJETA® vengono spedite a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C (36 °F-46 °F) e devono essere collocate in frigorifero (stesso intervallo di temperatura) immediatamente dopo il ricevimento per garantire una conservazione ottimale dell'integrità fisica e biochimica e devono rimanere refrigerate fino a immediatamente prima dell'uso. I registri di temperatura devono essere mantenuti (in conformità con la pratica della farmacia locale)

sul frigorifero per garantire condizioni di conservazione adeguate. Se durante la spedizione o lo stoccaggio viene rilevata una deviazione della temperatura rispetto ai 2 °C-8 °C consentiti, contattare lo Sponsor per determinare se il farmaco è ancora appropriato per l'uso.

Le fiale di PERJETA® non possono essere agitate. Tutti le fiale devono essere conservate all'interno dell'imballaggio esterno e protetti dalla luce. Il farmaco non deve essere usato oltre le informazioni sulla data di scadenza fornite sull'etichetta del kit IMP.

Preparazione di PERJETA®

Poiché la formulazione PERJETA® non contiene conservanti, il sigillo della fiala può essere forato una sola volta. L'eventuale soluzione rimanente deve essere scartata.

Il volume indicato di soluzione di PERJETA® deve essere prelevato dalle fiale e aggiunto a una sacca per endovena da 250 cc con iniezione di cloruro di sodio allo 0,9%. La sacca deve essere capovolta delicatamente per miscelare la soluzione, ma non deve essere agitata vigorosamente. La soluzione deve essere ispezionata visivamente per verificare la presenza di particelle e scolorimento prima della somministrazione. L'intero volume all'interno della sacca deve essere somministrato come infusione endovenosa continua. Il volume contenuto nel tubo di somministrazione deve essere completamente lavato usando un'iniezione di cloruro di sodio allo 0,9%.

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

La soluzione di PERJETA® per infusione, diluita in sacchetti di polivinil cloruro (PVC) o poliolefina non PVC contenenti l'iniezione di cloruro di sodio allo 0,9%, può essere conservata a 2 °C-8 °C (36 °F-46 °F) fino a 24 ore prima dell'uso. È stato mostrato che PERJETA® diluito è stabile fino a 24 ore a temperatura ambiente (2 °C-25 °C). Tuttavia, poiché PERJETA® diluito non contiene conservanti, la soluzione diluita asetticamente deve essere conservata in frigorifero (2 °C-8 °C) per non più di 24 ore.

Un dispositivo di regolazione della velocità può essere usato per tutte le infusioni del farmaco in studio. Quando la sacca per infusione endovenosa del farmaco in studio è vuota, 50 ml di iniezione di cloruro di sodio allo 0,9% possono essere aggiunti alla sacca per infusione endovenosa o una sacca aggiuntiva può essere appesa e l'infusione può essere portata avanti per un volume pari a quello del tubo per garantire la distribuzione completa del farmaco in studio.

Se si verifica uno stravasamento dell'infusione del farmaco in studio, devono essere adottate le seguenti misure:

Interrompere l'infusione.

Trattare lo stravasamento secondo le linee guida istituzionali per lo stravasamento di un agente non caustico.

Se rimane un volume significativo di infusione del farmaco in studio, riavviare l'infusione in un sito più prossimale nello stesso arto o sull'altro lato.

Formulazione di HERCEPTIN®

Marco Giovanni Mari
USBM-CPI-090

HERCEPTIN® (formulazione liofilizzata) per l'uso in questo studio sarà fornito dal Promotore, come preparazione liofilizzata. Tutto HERCEPTIN® è fornito per la somministrazione parenterale IV; HERCEPTIN® per via sottocutanea non è consentito in questo studio. HERCEPTIN® è formulata in istidina, trealosio e polisorbato 20. HERCEPTIN® per l'uso in questo studio sarà fornito dallo Sponsor in fiale contenenti una preparazione liofilizzata per la somministrazione parenterale. Per la somministrazione endovenosa, ogni fiala di HERCEPTIN® viene ricostituito con acqua sterile per iniezione (SWFI) in base alle dimensioni della fiala, come segue:

La fiala di HERCEPTIN® da 440 mg viene miscelata con 20,0 ml di SWFI (non fornito)

La fiala di HERCEPTIN® da 150 mg viene miscelata con 7,2 ml di SWFI (non fornito)

Non è consentito l'uso di altri solventi di ricostituzione. La soluzione ricostituita contiene 21 mg/ml di trastuzumab e sarà aggiunta a 250 ml di soluzione iniettabile di cloruro di sodio allo 0,9% per la somministrazione al paziente. Nessuna delle formulazioni di HERCEPTIN® contiene conservanti. Il prodotto non deve essere conservato dopo la ricostituzione e la diluizione a meno che ciò non sia avvenuto in condizioni asettiche. Pertanto, una volta preparata, l'infusione è esclusivamente monouso e deve essere somministrata tempestivamente. La dose deve essere infusa entro 8 ore dalla ricostituzione, a meno che non sia preparata in modo asettico e conservata a 2 °C-8 °C (il tempo massimo di conservazione in

frigorifero è di 24 ore). Ogni fiala di HERCEPTIN® fornito per questo studio deve essere usato SOLTANTO COME FIALA MONODOSE. Ogni fiala non deve essere usata per più di una somministrazione di Herceptin e non per più di 1 paziente alla volta. NON CONGELARE HERCEPTIN RICOSTITUITO.

Etichettatura di HERCEPTIN®

HERCEPTIN® sarà etichettato in base ai requisiti normativi di ciascun paese, nonché in conformità con la Buona Pratica Clinica ICH. Il Promotore dello studio fornirà HERCEPTIN® a tutti i centri dello studio etichettati soltanto per l'uso sperimentale.

Conservazione di HERCEPTIN®

Le fiale di HERCEPTIN® vengono spedite con confezioni refrigerate a una temperatura che varia da 2 °C a 8 °C (da 36 °F a 46 °F) e devono essere collocate in frigorifero (stesso intervallo di temperatura) immediatamente dopo il ricevimento per garantire una conservazione ottimale dell'integrità fisica e biochimica. I registri di temperatura devono essere mantenuti (in conformità con la pratica della farmacia locale) sul frigorifero per garantire condizioni di conservazione adeguate. Non usare oltre la data di scadenza stampata sulla fiala. NON CONGELARE.

HERCEPTIN® può essere sensibile allo stress indotto dal taglio (per esempio, agitazione o rapida espulsione da una siringa). NON AGITARE. La manipolazione vigorosa delle soluzioni di HERCEPTIN® determina l'aggregazione della proteina e può creare soluzioni torbide. HERCEPTIN® deve essere maneggiata con attenzione durante la

ricostituzione. Causare un'eccessiva formazione di schiuma durante la ricostituzione o scuotimento, HERCEPTIN® ricostituito può causare problemi con la quantità di HERCEPTIN® che può essere estratta dalla fiala.

Preparazione di HERCEPTIN®

Durante la preparazione del farmaco in studio deve essere usata una tecnica asettica appropriata. Ciascuna fiala di HERCEPTIN® viene ricostituita con SWFI come descritto sopra. HERCEPTIN® deve essere maneggiata con attenzione durante la ricostituzione. Causare un'eccessiva formazione di schiuma durante la ricostituzione o scuotimento, HERCEPTIN® ricostituito può causare problemi con la quantità di HERCEPTIN® che può essere estratta dalla fiala.

Devono essere seguite le seguenti istruzioni:

1. Usando una siringa sterile, iniettare lentamente l'acqua sterile per iniezione nella fiala contenente HERCEPTIN® liofilizzato, indirizzando il flusso nel pannello liofilizzato.
2. Ruotare delicatamente la fiala per favorire la ricostituzione. NON AGITARE!

Una leggera formazione di schiuma del prodotto dopo la ricostituzione non è inusuale. Lasciare riposare la fiala indisturbato per circa 5 minuti. HERCEPTIN® ricostituito si traduce in una soluzione trasparente da incolore a giallo pallido e deve essere essenzialmente priva di particelle visibili.

Non refrigerare o congelare HERCEPTIN® ricostituito.

Preparazione del farmaco: diluizione

La soluzione ricostituita sarà aggiunta a una sacca per infusione contenente 250 ml di cloruro di sodio allo 0,9% iniettabile, farmacopea degli Stati Uniti. Una volta preparata, l'infusione deve essere somministrata immediatamente. Se diluito in modo asettico, può essere conservato per un massimo di 24 ore dalla ricostituzione (non conservare a temperatura superiore a 30 °C).

Risultati

Lo studio ha raggiunto il suo punto finale primario e ha dimostrato che il trattamento adiuvante (dopo l'intervento chirurgico) con la combinazione PERJETA®-HERCEPTIN® ha ridotto significativamente il rischio di recidiva di malattia invasiva o di morte (sopravvivenza in assenza di malattia invasiva; iDFS) nelle persone con eBC positivo a HER2 rispetto a HERCEPTIN® e alla sola chemioterapia. I risultati presentati in 7 A&B, 8 A-C, 9 A-C esaminati di seguito rappresentano i risultati dell'analisi primaria dello studio sull'iDFS (basata sui dati raccolti sul modulo elettronico del case report "eCRF").

Punto finale primario:

- Come mostrato nella Figura 7A, il rapporto di rischio (HR) per iDFS era 0,81; [95% IC 0,66-1,00; p = 0,0446], che rappresenta una riduzione del 19% del rischio di recidiva di un cancro mammario invasivo o di morte per i pazienti nel braccio PERJETA®-HERCEPTIN® rispetto al braccio di controllo HERCEPTIN®. Si veda anche il grafico di Kaplan-Meier mostrato nella Figura 7B.

Le stime corrispondenti dei tassi di iDFS a tre anni erano:

- Braccio PERJETA®, HERCEPTIN® e chemioterapia = 94,06%
- Braccio placebo, HERCEPTIN® e chemioterapia (controllo) = 93,24%

Efficacia

Lo studio ha raggiunto il suo punto finale primario con un miglioramento statisticamente significativo della sopravvivenza priva di malattia invasiva (iDFS) con un rapporto di rischio di 0,81 (IC 95%, da 0,66 a 1,00; P=0,0446) a favore del gruppo pertuzumab. Dopo un follow-up mediano di 45,4 mesi, sono stati riportati 171 (7,1%) eventi di iDFS nei pazienti randomizzati al gruppo pertuzumab e 210 (8,7%) eventi nei pazienti randomizzati al gruppo di controllo. La stima di iDFS a 3 anni era del 94,1% nel gruppo pertuzumab e del 93,2% nel gruppo placebo. La recidiva a distanza si è verificata come prima iDFS anche in 112 (4,7%) pazienti e 139 (5,8%) pazienti, rispettivamente nel gruppo pertuzumab e nel gruppo di controllo, mentre i numeri di pazienti con recidive locali erano rispettivamente 16 (1,1%) e 34 (1,4%). Le metastasi del sistema nervoso centrale (SNC) si sono verificate come primo evento di iDFS nell'1,9% e nell'1,8% dei pazienti rispettivamente nel gruppo pertuzumab e nel gruppo di controllo. Un sito viscerale o del SNC di prima recidiva a distanza era più comune dell'osso.

In un'analisi secondaria, anche i secondi eventi primari di cancro non mammario sono stati considerati eventi di iDFS. Il numero di eventi è aumentato rispettivamente a 189 e 230 nel gruppo pertuzumab e nel gruppo di controllo, determinando un rapporto di

rischio statisticamente significativo di 0,82 (IC al 95%, da 0,68 a 0,99; P=0,043).

Il profilo di sicurezza cardiaca e generale della combinazione PERJETA®-HERCEPTIN® era in linea con gli studi precedenti su PERJETA® e non sono stati identificati nuovi segnali di sicurezza.

Sebbene gli effetti positivi dell'inclusione di pertuzumab nel regime di trattamento siano stati osservati in modo omogeneo in vari sottogruppi di pazienti, le analisi dei sottogruppi per iDFS hanno rivelato che l'effetto del trattamento era il più pronunciato nei pazienti positivi per i linfonodi (Figure 8A e 8B) e negativi ai recettori di ormonali (HR) (Figure 9A e 9B). Come mostrato nella Figura 8A, nei pazienti con malattia positiva per i linfonodi, vi sono stati 139 (9,2%) eventi di iDFS nel gruppo pertuzumab e 181 (12,1%) eventi di iDFS nel gruppo placebo. Le percentuali di iDFS a 3 anni erano del 92,0% nel gruppo pertuzumab e del 90,2% nel gruppo placebo. Il rapporto di rischio era 0,77 (IC 95% 0,62-0,96; P=0,0188). Le curve del grafico di Kaplan-Meier hanno iniziato a separarsi 2 anni dopo la randomizzazione (figura 8B). Per contro, i pazienti con malattia negativa per i linfonodi hanno mostrato un numero molto basso di eventi di iDFS (32 [3,6%] con pertuzumab e 29 [3,2%] con placebo) e nessun effetto del trattamento era rilevabile (rapporto di rischio 1,13 (95% IC 0,68-1,86; P=0,6436) (figura 8C).

Nei pazienti con tumori negativi per i recettori di ormonali, vi sono stati 71 (8,2%) eventi di iDFS nel gruppo per pertuzumab 91 (10,6%) nel gruppo per placebo, portando a un rapporto di rischio di

0,76 (0,56-1,04; $P=0,0847$). Le percentuali di IDFS a 3 anni sono state del 92,8% nel gruppo pertuzumab e del 91,2% nel gruppo placebo (Figure 9A e 9B). Il numero di eventi era molto basso nei pazienti con tumori positivi per i recettori di ormonali (100 [6,5%] nel gruppo pertuzumab e 119 [7,7%] nel gruppo placebo), con un rapporto di rischio di 0,86 (0,66-1,13) ($P=0,2771$). Le percentuali di IDFS a 3 anni erano del 94,8% nel gruppo pertuzumab e del 94,4% nel gruppo placebo (Figura 9C).

Al momento di questa analisi del punto finale primario è stata effettuata una prima analisi ad interim per la sopravvivenza complessiva, con 80 decessi nel braccio pertuzumab e 89 decessi nel braccio placebo. Non vi è stato alcun effetto significativo del trattamento in questo momento iniziale (rapporto di rischio 0,89; IC 95% 0,66-1,21; $P=0,4673$).

La Figura 10 e le Tabelle 3 e 4 di seguito presentano i risultati dell'analisi di sensibilità pre-specificata dello studio APHINITY del punto finale primario di IDFS, in base ai dati dei fattori di stratificazione raccolti dal sistema interattivo di risposta web/vocale "IxRS".

Tabella 3 Risultati di efficacia dello studio clinico APHINITY

	PERJETA + trastuzumab + chemioterapia N=2400	Placebo + trastuzumab + chemioterapia N=2404
Sopravvivenza priva di malattia invasiva (IDFS) Numero (%) di pazienti con evento HR [IC del 95%] ¹ valore p (test dei ranghi logaritmici, stratificato ¹) Tasso privo di eventi a 3 anni ² , % [IC al 95%]	171 (7,1%) 0,82 [0,67, 1,00] 0,047 94,1 [93,1, 95,0]	210 (8,7%) 93,2 [92,2, 94,3]
IDFS incluso secondo cancro non mammario primario Numero (%) di pazienti con evento HR [IC del 95%] ¹ Tasso privo di eventi a 3 anni ² , % [IC al 95%]	189 (7,9%) 0,83 [0,68, 1,00] 93,5 [92,5, 94,5]	230 (9,6%) 92,5 [91,4, 93,6]
Sopravvivenza priva di malattia (DFS) Numero (%) di pazienti con evento HR [IC del 95%] ¹ Tasso privo di eventi a 3 anni ² , % [IC al 95%]	192 (8,0%) 0,82 [0,68, 0,99] 93,4 [92,4, 94,4]	236 (9,8%) 92,3 [91,2, 93,4]
Sopravvivenza complessiva (SG)³ Numero (%) di pazienti con evento HR [IC del 95%] ¹ Tasso privo di eventi a 3 anni ² , % [IC al 95%]	80 (3,3%) 0,89 [0,66, 1,21] 97,7 [97,0, 98,3]	89 (3,7%) 97,7 [97,1, 98,3]
HR= rapporto di rischio, CI= intervallo di confidenza ¹ Tutte le analisi sono stratificate per stato nodale, versione del protocollo, stato dei recettori di ormonali centrali e regime chemioterapico adiuvante. I fattori di stratificazione sono definiti secondo i dati di randomizzazione per IDFS. ² Tasso privo di eventi a 3 anni derivato dalle stime di Kaplan-Meier ³ Dati dalla prima analisi intermedia		

Tabella 4 Risultati di efficacia per caratteristiche della malattia al basale e chemioterapia adiuvante dallo studio clinico APHINITY¹

Popolazione	Numero di eventi/Totale N(%)	IDFS a 3 anni				Non stratificato
				(%, 95%CI)		HR (ICa195%)
		PERJETA + Trastuzumab + chemioterapia	Placebo + Trastuzumab + chemioterapia	PERJETA + Trastuzumab + chemioterapia	Placebo + Trastuzumab + chemioterapia	
Stato del recettore ormonale						
	Negativo	91/864 (8,2%)	91/858 (10,6%)	92,8 (90,8, 94,3)	91,2 (89,0, 92,9)	0,76 (0,56, 1,04)
	Positivo	100/1536 (6,5%)	119/1546 (7,7%)	94,8 (93,5, 95,8)	94,4 (93,1, 95,4)	0,86 (0,66, 1,13)
Stato nodale						
	Negativo	32/897 (3,6%)	29/902 (3,2%)	97,5 (96,3, 98,4)	98,4 (97,3, 99,0)	1,13 (0,68,
	Positivo	139/1503 (9,2%)	181/1502 (12,1%)	92,0 (90,5, 93,3)	90,2 (88,5, 91,6)	90,2 (88,5,
Regime chemioterapico adiuvante						
	Antraciclina	139/1865 (7,4%)	171/1877 (91%)	93,8 (92,6, 94,8)	93,0 (91,8, 94,1)	0,82 (0,66, 1,03)
	Non antiraciclina	32/535 (6,0%)	39/527 (7,4%)	94,9 (92,6, 96,6)	94,9 (92,6, 96,6)	0,82 (0,51, 1,31)
¹ Analisi esplorative senza regolare i confronti multipli, pertanto i risultati sono considerati descrittivi.						

Tabella 4

Sicurezza

Nei pazienti con tumori ormone-recettore negativi, vi sono stati 71 (8,2%) eventi di IDFS nel braccio per pertuzumab e 91 (10,6%) nel braccio per placebo, portando a un rapporto di rischio di 0,76 (0,56-1,04; P=0,0847). Le percentuali di IDFS a 3 anni sono state del 92,8% nel braccio pertuzumab e del 91,2% nel braccio placebo. Il numero di eventi era molto basso nei pazienti con tumori positivi ai recettori di ormonali (100 [6,5%] nel braccio pertuzumab e 119 [7,7%] nel braccio placebo), con un rapporto di rischio di 0,86 (0,66-1,13) (P=0,2771). Le percentuali di IDFS a 3 anni erano del 94,8% nel braccio pertuzumab e del 94,4% nel braccio placebo.

Al momento di questa analisi del punto finale primario è stata effettuata una prima analisi ad interim per la sopravvivenza complessiva, con 80 decessi nel braccio pertuzumab e 89 decessi nel braccio placebo. Non vi è stato alcun effetto significativo del trattamento in questo momento iniziale (rapporto di rischio 0,89; IC 95% 0,66-1,21; P=0,4673).

Sicurezza cardiaca

I pazienti che hanno ricevuto almeno una dose di trattamento di studio (chemioterapia o terapia mirata) sono stati inclusi nelle analisi di sicurezza dai pazienti di trattamento effettivamente ricevuti. I pazienti che hanno ricevuto pertuzumab per il trattamento adiuvante sono nel gruppo di popolazione dell'analisi di sicurezza di pertuzumab. I pazienti che hanno ricevuto il farmaco in studio ma

nessun pertuzumab fanno parte del gruppo di controllo sottoposto ad analisi di sicurezza.

Il punto finale cardiaco primario era l'insufficienza cardiaca congestizia grave (CHF), definita come: insufficienza cardiaca di classe NYHA III o IV e un calo della LVEF di almeno 10 punti EF dal basale e inferiore al 50% o morte cardiaca. La morte cardiaca è stata definita in prospettiva dall'APHINITY Cardiac Advisory Board (CAB).

Un punto finale cardiaco secondario è stato definito come un calo significativo asintomatico o lievemente sintomatico (NYHA Classe II) della LVEF mediante scansione MUGA o ECHO, confermato da una seconda valutazione della LVEF entro circa 3 settimane che mostra anche un calo significativo 0 come confermato dall'APHINITY CAB.

Disamina

Lo studio APHINITY è un ampio studio clinico di fase III adeguatamente potenziato, controllato con placebo. L'effetto del trattamento è stato omogeneo in tutti i sottogruppi; tuttavia, in questo punto temporale iniziale dell'analisi è apparso meglio rilevabile in pazienti a più alto rischio di recidiva a causa del coinvolgimento dei linfonodi o dello stato negativo dei recettori di ormonali. Il profilo di sicurezza di pertuzumab somministrato per un anno in questa combinazione era favorevole e non è stato osservato alcun nuovo riporte di sicurezza rispetto alla sicurezza riportata nel contesto metastatico o neoadiuvante.

La valutazione del beneficio per il paziente deve sempre mettere in relazione la dimensione dell'effetto con i potenziali rischi

derivanti dagli effetti collaterali. Una diarrea di grado ≥ 3 si è verificata in un eccesso del 6,2% con l'aggiunta di pertuzumab e potrebbe non essere sufficientemente curabile con farmaci antidiarroici e portare quindi all'interruzione del trattamento. Tuttavia, il tasso complessivo di interruzione del trattamento era soltanto del 2,9% superiore con pertuzumab rispetto al placebo. Ancora più importante, non è stata rilevata alcuna differenza statistica per quanto riguarda la tossicità cardiaca nonostante il gran numero di pazienti. Supponendo che il tipo di tossicità cardiaca di pertuzumab sia paragonabile al tipo indotto da trastuzumab, la maggior parte degli eventi cardiaci sarà osservata già al momento attuale dell'analisi e gli eventi cardiaci tardivi saranno infrequenti. La sicurezza cardiaca di pertuzumab era già stata dimostrata in precedenti studi in ambito metastatico (Swain et al., *Oncologist*. 2013; 18(3):257-64) e anche per l'applicazione simultanea con trastuzumab ed epirubicina in ambito neoadiuvante (Schneeweiss et al., *Ann. Oncol.* 2013 24(9);278-84).

L'importanza del risultato dello studio APHINITY va oltre l'applicazione di pertuzumab come trattamento adiuvante. Questo studio adiuvante è stato anche considerato un proof-of-concept per la surrogazione della risposta completa patologica (pCR) osservata negli studi neoadiuvanti per l'esito a lungo termine. Lo studio NeoSphere ha riportato un aumento del tasso di pCR dal 29,0% dopo un trattamento di 12 settimane con docetaxel e trastuzumab al 45,8% dopo lo stesso trattamento ma con l'aggiunta di pertuzumab (Gianni et al.,

Lancet Oncol. 2012 13(1):25-32). I corrispondenti tassi di sopravvivenza priva di progressione a 5 anni sono stati dell'81% (IC 95% 71%-87%) senza e dell'86% (IC 95% 77%-91%) con pertuzumab; ma lo studio non è stato sufficientemente potenziato per mostrare differenze statisticamente significative. Tenendo conto della chemioterapia più forte che include un taxano e un'antraciclina (o carboplatino), la dimensione dell'effetto osservata nello studio APHINITY corrisponde bene all'effetto neoadiuvante riportato sul raggiungimento di una pCR.

In conclusione, lo studio APHINITY dimostra che pertuzumab migliora significativamente la IDFS in pazienti con cancro mammario positivo a HER2 operabile quando aggiunto a chemioterapia e trastuzumab e non sono stati identificati nuovi segnali di sicurezza. Sebbene ulteriori aspetti, come l'efficacia o la durata più o meno estesa del trattamento, dovranno essere ulteriormente esplorati, questo studio rappresenta un punto di riferimento per il trattamento di pazienti con EBC positivo a HER2.

Il documento completo includente tabella(e) di riferimento e la(e) Lista(e) delle Sequenze può essere scaricato dal sito dell'EPO.

* * * * *

Marco Giovanni Mari
USBM-GPI-090

RIVENDICAZIONI

1. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo per la riduzione del rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o di morte per pazienti con diagnosi di cancro mammario in fase precoce positivo a HER2 (eBC) rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab, comprendente somministrare a detti pazienti, a seguito di un intervento chirurgico per cancro mammario, pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia, in cui i pazienti hanno un cancro mammario in fase precoce positiva a livello di linfonodi, in cui la chemioterapia è selezionata da

- a) 5-fluorouracile + epirubicina + ciclofosfamide o 5-fluorouracile + doxorubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure
- b) doxorubicina + ciclofosfamide o epirubicina + ciclofosfamide, in cui la chemioterapia comprende inoltre la somministrazione di docetaxel o paclitaxel; oppure
- c) docetaxel + carboplatino.

2. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 1, in cui i pazienti rimangono in vita senza recidiva di cancro mammario invasivo per almeno un anno, almeno 2 anni, o per almeno 3 anni dopo detta somministrazione.

3. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 o 2, in cui il cancro mammario dei pazienti è negativo per un recettore ormonale (HR).

4. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui il rischio di recidiva di cancro mammario invasivo o di morte è ridotto di almeno circa 5%, o di almeno circa 10%, o di almeno circa 15%, o di almeno circa 20%, o di almeno circa 25% rispetto alla somministrazione di trastuzumab e chemioterapia, senza pertuzumab.

5. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4, in cui il cancro positivo a HER2 è caratterizzato da un livello di espressione di HER2 di IHC 2+ o 3+.

6. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui il cancro presenta HER2 amplificato, facoltativamente in cui l'amplificazione di HER2 viene determinata mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH).

7. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6, in cui pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati per via endovenosa.

8. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7, in cui pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati ogni tre settimane.

9. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 8, in cui pertuzumab viene somministrato come una dose di carico di 840 mg per via endovenosa, seguita da 420 mg, somministrati per via endovenosa ogni 3 settimane.

10. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 8 o 9, in cui trastuzumab viene somministrato come dose di carico per via endovenosa (IV) di 8 mg/kg, seguita da 6 mg/kg, somministrata per infusione endovenosa ogni 3 settimane.

11. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6, in cui almeno uno tra pertuzumab e trastuzumab viene somministrato per via sottocutanea.

12. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 11, in cui pertuzumab viene somministrato per via sottocutanea con una dose di carico di 1200 mg seguita da 600 mg ogni 3 settimane.

13. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 11 o 12, in cui

pertuzumab e trastuzumab sono co-somministrati per via sottocutanea come due iniezioni sottocutanee separate.

14. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo la rivendicazione 11 o 12, in cui pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati come singola iniezione sottocutanea, facoltativamente in cui pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati come singola coformulazione per la somministrazione sottocutanea.

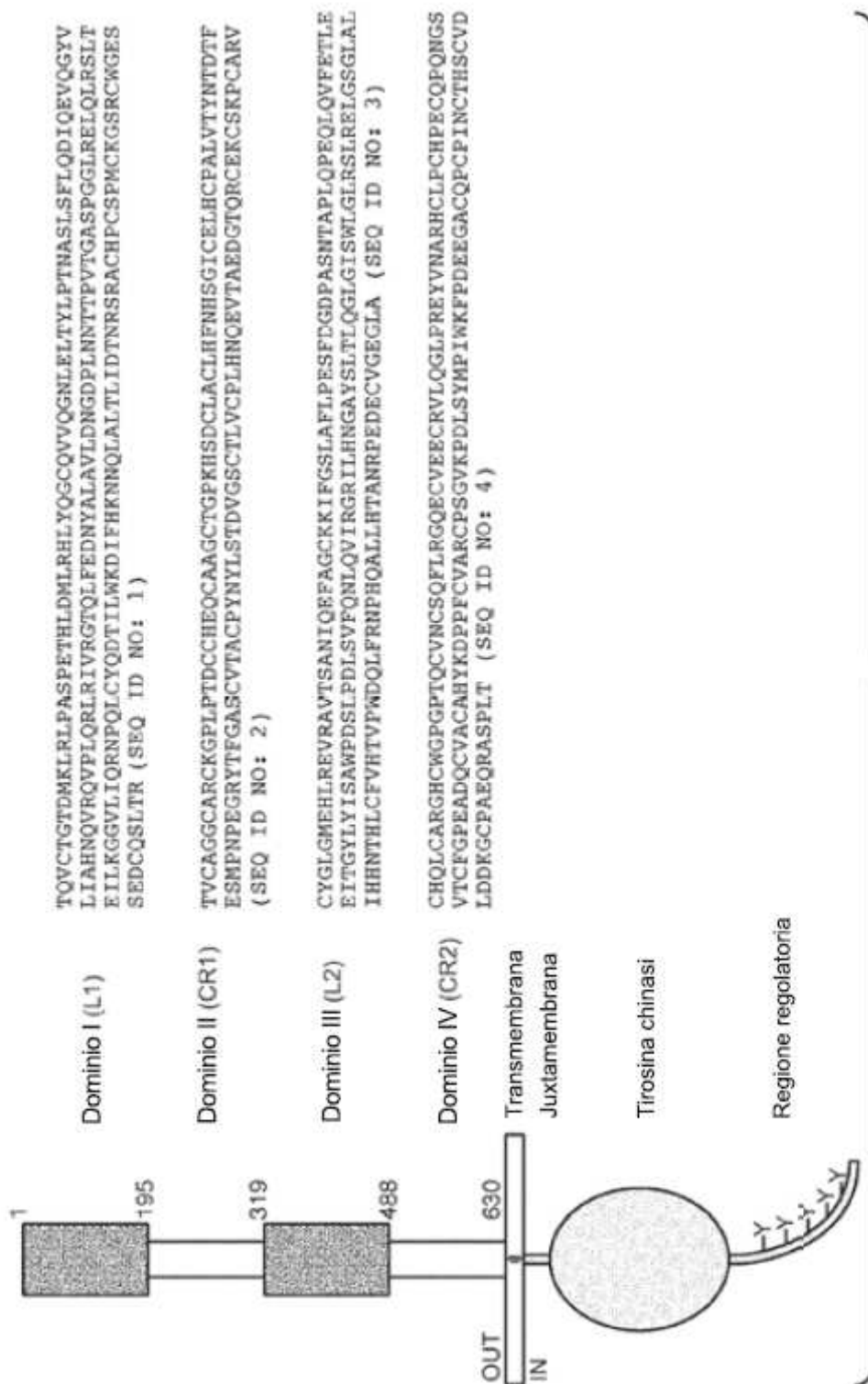
15. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, in cui pertuzumab e trastuzumab vengono somministrati per almeno 52 settimane.

16. Pertuzumab in combinazione con trastuzumab e chemioterapia per uso in un metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 15, in cui la somministrazione di pertuzumab e trastuzumab segue la chemioterapia.

Si certifica la conformità della traduzione.


Marco Giovanni Mari
USBM - CPI-090


Marco Giovanni Mari
USBM - CPI-090



TQVCTGDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIOEVQGYV
LIAHNQVHQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLMNTTFVTGASPGGLRELQRLSLT
EILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNQALALTLIDTNSRACHPCSPMCKGSRCWGES
SEDCQSLTR (SEQ ID NO: 1)

TVCAGGCARCKGPLPTDCCHEOCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTF
ESMPNPEGRYTFGASCVTACPNYLYLSTDVGSCTLVCPLHNOEVTAEEDGTQRCCKSKPCARV
(SEQ ID NO: 2)

CYGLGMEHLREVRAVTSANIOEFFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLOPELOVFFETLE
EITGYLYISAMPDLSLDL SVFQNLQVIRGRILHNGAYSFLQGLGISWLGLRSLRELGSGLAL
IHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHOALLHTANRPEDECVGEGLA (SEQ ID NO: 3)

CHQLCARGHCWGPQTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNAHCLFCHPECQPQNGS
VTCFGPEADQCVACAHYKDPFCVARCPSGVKPDLSYMPINRPFDEEGACQPCPINCTHSCVD
LDDKGCFAEQRASPLT (SEQ ID NO: 4)

FIG. 1

Variabile leggera

	10	20	30	40
2C4	DTVMTQSHKLMSTSVGDRVSIIC	[KASQDVSIGVA]	WYQQRP	
	** **** *	*		
574	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIC	[KASQDVSIGVA]	WYQQKP	
		* ** ***		
hum κI	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTIC	[RASQISNYLA]	WYQQKP	

	50	60	70	80
2C4	GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRPTGSGSGIDFTFTISSVOA		
	**	* *	* *	*
574	GKAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSRPSGSGSGIDFTLTISSLQP		
	* *****			
hum κI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSRPSGSGSGIDFILTISSLQP		

	90	100	
2C4	EDLAVYYC [QYYIYPYT]	FGGKLEIK (SEQ ID NO:5)	
	**	* *	
574	EDFATYYC [QYYIYPYT]	FGQKVEIK (SEQ ID NO:7)	
	*** *		
hum κI	EDFATYYC [QYNSLPWT]	FGQKVEIK (SEQ ID NO:9)	

FIG. 2A

Variabile pesante

	10	20	30	40
2C4	EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS	[GFTFTOYTMQ]	WVRQS	
	** ** * * *** *		*	
574	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFTDYTMD]	WVRQA	
		** * *		
hum III	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	[GFTFSSYAMS]	WVRQA	

	50 a	60	70	80
2C4	HGKSLEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	KASLTVDRSSRIYVM		
	* * **	*** *	**** *	
574	PGKLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG]	RPTLSVDRSKNTLYL		
	***** ** *	* * *		
hum III	PGKLEWVA [VISGDDGSTYYADSVKG]	RFTISRDNKNTLYL		

	abc	90	100ab	110
2C4	ELRSLTPEDTAVYYCAR	[NLGSPYFDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:6)	
	*** **		**	
574	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[NLGSPYFDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:8)	

hum III	QMNSLRAEDTAVYYCAR	[GRVGYSLYDY]	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:10)	

FIG. 2B

Sequenza amminoacidica della catena leggera di Pertuzumab

1 10 20 30 40 50 60
DIQMTQSPSSLSASVGVDRVITTCASQDVSIGVAWYQKPKGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
70 80 90 100 110 120
RFGSGSGCTDFTLTISLQFEDPATYYCQQYYIYPYTFCCQTRVEIKRTVAAPSVPIPF
130 140 150 160 170 180
SDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWQVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTIT
190 200 210
LSYADYRKRHKVYACEVTHQGLSSPVTKSPNRGEC (SEQ ID NO: 11)

FIG. 3A

Sequenza amminoacidica della catena pesante di Pertuzumab

1 10 20 30 40 50 60
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDITMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNGGSIY
70 80 90 100 110 120
NQRPFKGRPTLSVDRSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARNLGPSPYFDYWGQGTLVTVSSA
130 140 150 160 170 180
STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSG
190 200 210 220 230 240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNRPKSNMKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
250 260 270 280 290 300
SVFLPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINS
310 320 330 340 350 360
TYRVVSVLTVQLHQLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SAKAGQPREPQVYITLPPSREEM
370 380 390 400 410 420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
430 440 448
QGNVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 12)

FIG. 3B

Catena leggera di Trastuzumab

1	15	30	45
↓ DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK			
46	60	75	90
LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ			
91	105	120	135
HYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVPFIPPPSDEQLKSGTASVVCL			
136	150	165	180
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGMSQESVTEQDSKSTYLSSTLT			
181	195	210	214
LSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)			

FIG. 4A

Catena pesante di Trastuzumab

1	15	30	45
↓ EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGL			
46	60	75	90
EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED			
91	105	120	135
TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPPLAPSS			
136	150	165	180
KSTSGGTAALGCLVDEYFPEPVTVSNWNSGALTSGVHTFPAVLQSS			
181	195	210	225
GLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHEKPSNTRKVDKKEPKSCDK			
226	240	255	270
THTCPPCFAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVS			
271	285	300	315
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNARTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD			
316	330	345	360
WLNKGEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE			
361	375	390	405
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG			
406	420	435	449
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPG			
(SEQ ID NO: 14)			

FIG. 4B

Catena leggera variante di Pertuzumab

1 15 30 45
VHSDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQDVSIGVAWYQQKPKGK
46 60 75 90
APKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY
91 105 120 135
CQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
136 150 165 180
VCLLNNEYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
181 195 210 217
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSPNRGEC (SEQ ID NO: 15)

FIG. 5A

Catena pesante variante di Pertuzumab

1 15 30 45
EVQLVRESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGL
46 60 75 90
EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRFD
91 105 120 135
TAVYYCARNLCPSFYFDYWCQGTLVTVSSASTKCPSEVPLAPESK
136 150 165 180
SPSGGTAALGCLVKDYFPEFVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
181 195 210 225
LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVMHKPSNTKVDKKEPKSCKT
226 240 255 270
HTCPCPCAPPELLGGPSVFLFPPKPEDTLMISRTPPEVTCVVVDLASH
271 285 300 315
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHCDW
316 330 345 360
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
361 375 390 405
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSELS
406 420 435 449
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPCK
(SEQ ID NO: 16)

FIG. 5B

Schema del trial clinico APHINITY

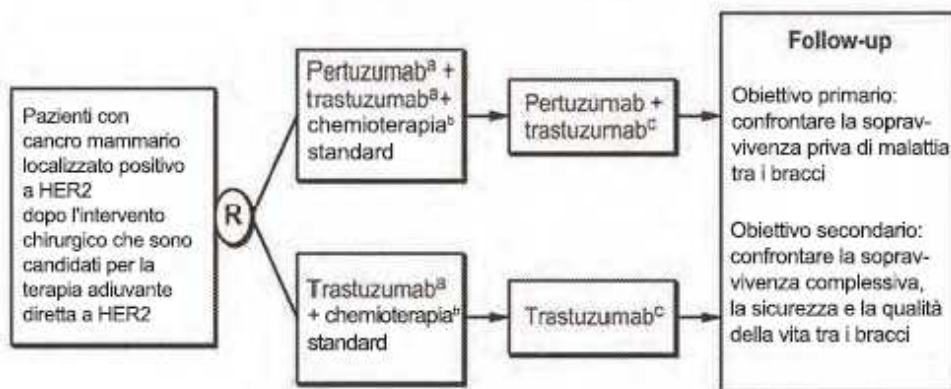
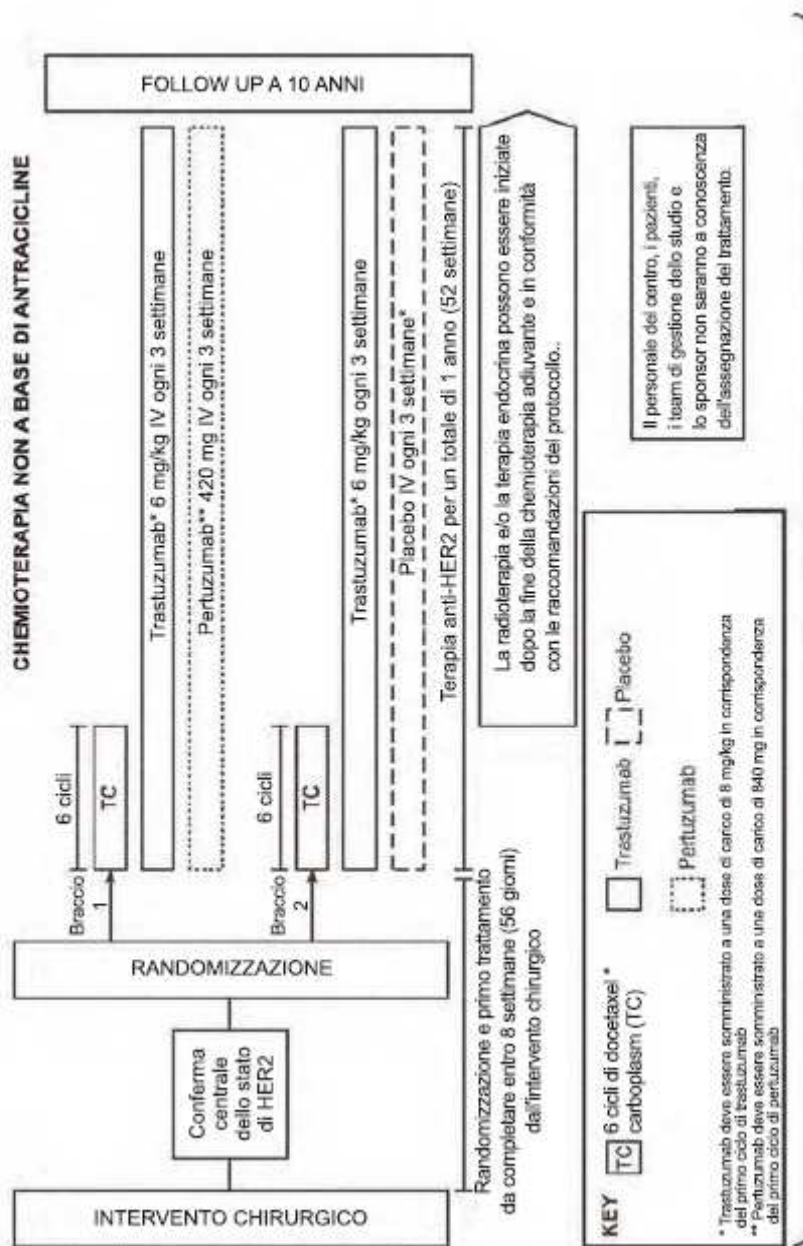


FIG. 6A



Efficacia IDFS (ITT)

	HR	Valore P	IDFS a 3 anni		
			Ptz+Tras n=2400	Pla+Tras n=2404	Δ 3 Yr IDFS
IDFS del punto finale primario	0.81 (CI: 0.66, 1.00)	0.0446*	94.06% (CI: 93.01, 95.03)	93.24% (CI: 92.21, 94.26)	0.82%
Paz. con evento			171 eventi	210 eventi	

* Il valore p mostrato in questa tabella si basa sui dati del fattore di stratificazione presi dall'eCRF. In un'analisi di sensibilità basata sui dati del fattore strat del sistema IxRS (analisi FDA), il valore p del test dei ranghi logaritmici stratificato era 0,0471.

FIG. 7A

Grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi) per regime di trattamento, popolazione ITT
 Protocollo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

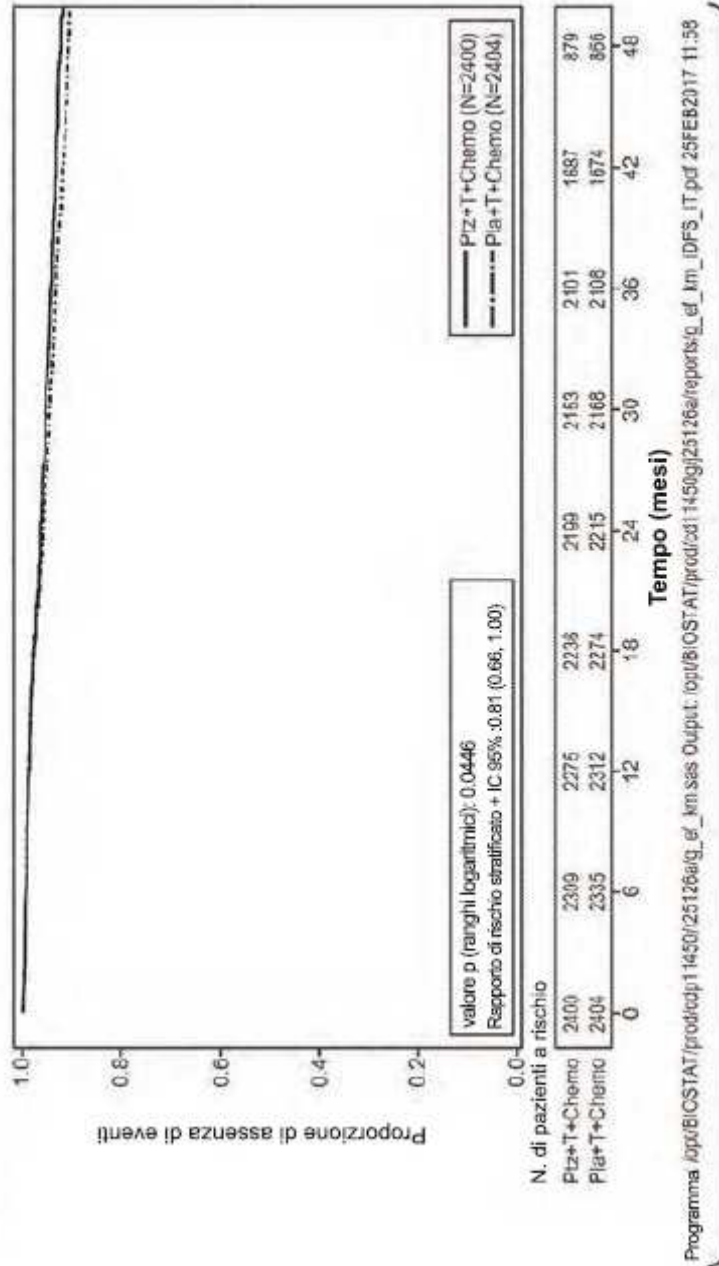


FIG. 7B

Efficacia IDFS (Stato nodale)

	HR	Valore P	IDFS a 3 anni		
			Ptz+Tras n=1503	Pla+Tras n=1502	Δ 3 Yr IDFS
Positivo per i linfonodi	0.77 (CI: 0.62, 0.96)	0.0188	91.99% (CI: 90.05, 93.29)	90.15% (CI: 89.62, 91.69)	1.84%
Paz. con evento			139 Eventi	181 Eventi	

FIG. 8A

Grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi) per regime di trattamento, popolazione ITT
 Protocollo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

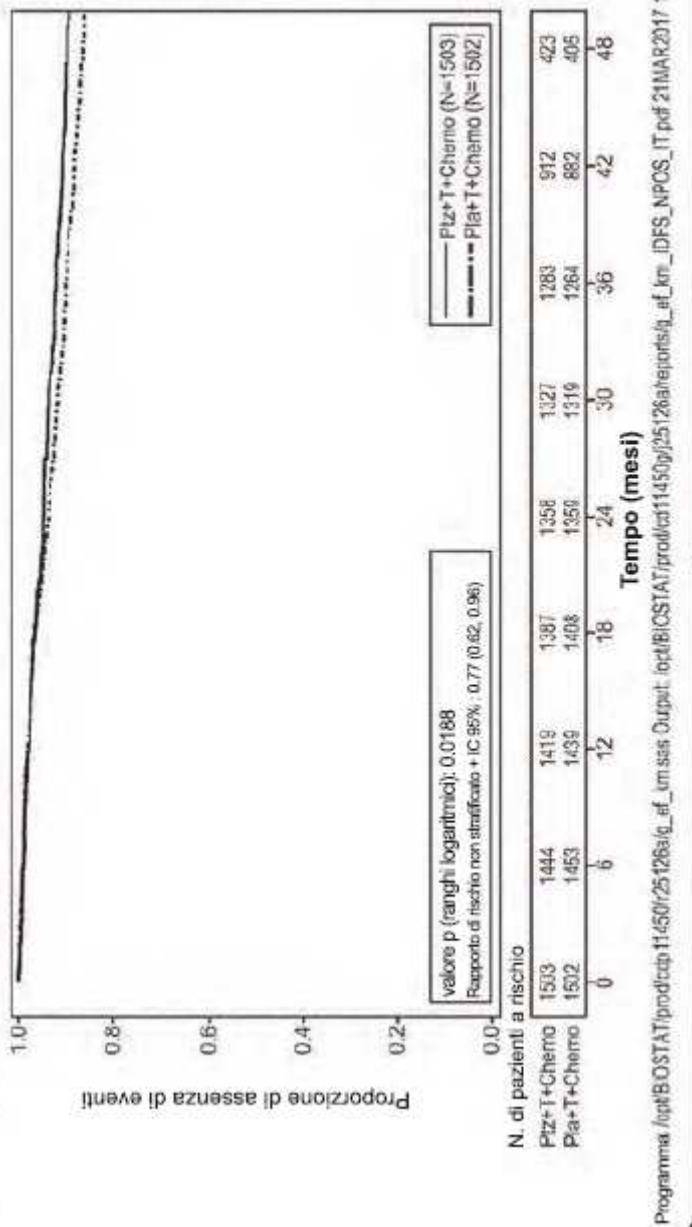


FIG. 8B

Grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento DFS (mesi) per regime di trattamento, coorte negativa per l'infezione, popolazione ITT
 Protocollo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G

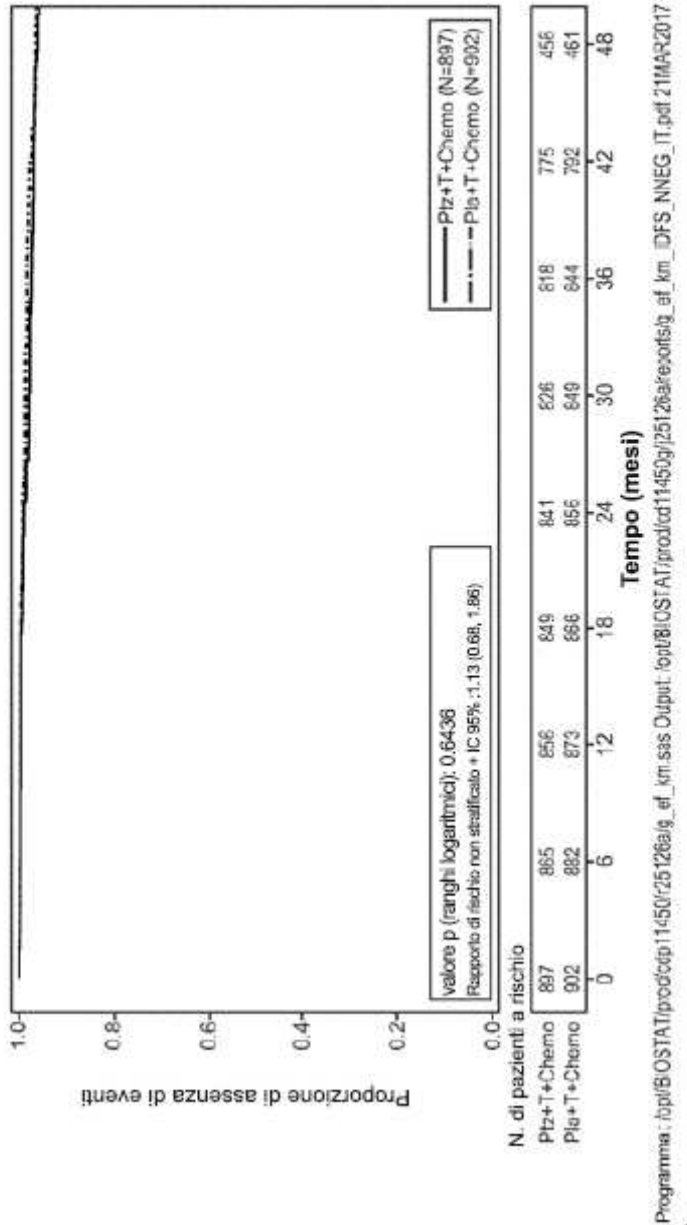


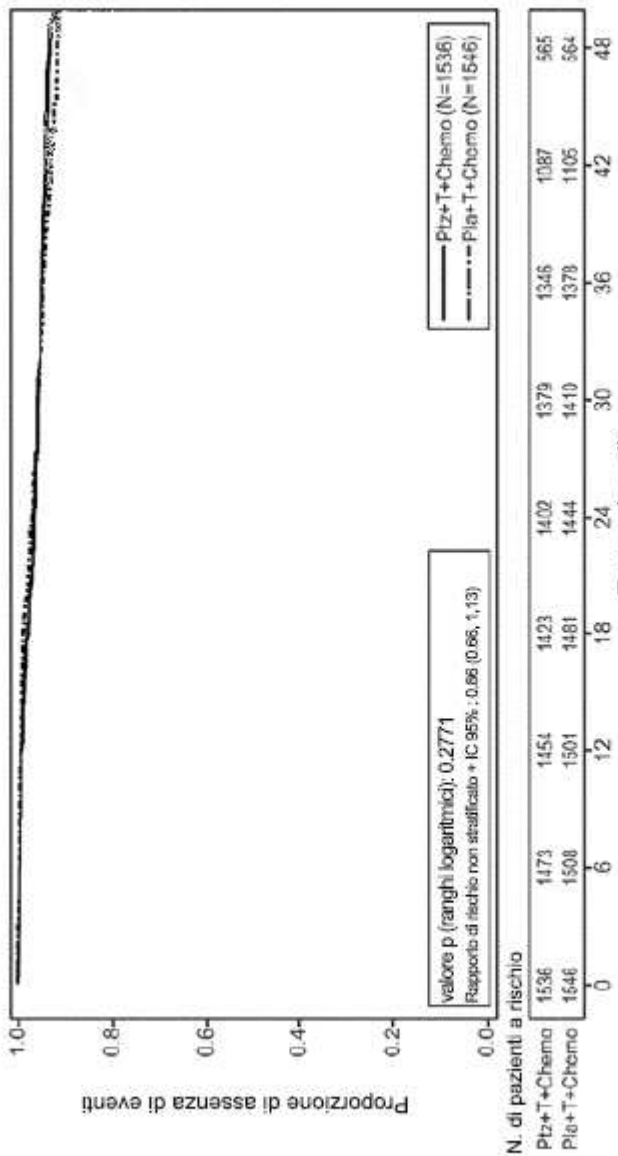
FIG. 8C

Efficacia IDFS (Stato HR)

	HR	Valore P	IDFS a 3 anni		
			Ptz+Tras n=864	Pla+Tras n=858	Δ 3 Yr IDFS
HR negativo	0.76 (CI: 0.56, 1.04)	0.0847	92.71% (CI: 91.01, 94.53)	91.2% (CI: 89.24, 93.12)	1.51%
Paz. con evento			71 Eventi	91 Eventi	

FIG. 9A

Grafico di Kaplan-Meier del tempo rispetto al primo evento IDFS (mesi) per regime di trattamento ormonale, comparato placebo al recettore ormonale centrale, popolazione ITT
 Protocollo: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



Programma: /opt/BIOSTAT/prod/ccp11450/r25126alg_ef_km.sas Output: /opt/BIOSTAT/prod/ccd11450g/j25126areports/ef_km_IDFS_CHRP_IT.pdf 25FEB2017 12:00

FIG. 9C