

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATIA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

07-44445

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO TRATAMIENTO COMBINADO DE ANTICUERPO ANTI CTLA4 E
INHIBIDOR DE AROMATASA PARA EL CANCER DE MAMA

SOLICITANTE PFIZER PRODUCTS INC

DIRECCION EASTERN POINT ROAD GROTON, CONNECTICUT 06340 E U A

APODERADO CARLOS R OLARTE

BOGOTA 4 de mayo de 2007

P2007/000061

F 09 06 2007

P.H.

SC

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL
SOLICITUD DE

1

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capitulo I

☒

Capitulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre PFIZER PRODUCTS INC

Dirección Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340 E U A

Nacionalidad o Domicilio ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución Delaware, Estados
Unidos de America

Teléfono

Fax

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C C

☐

NIT

☐

C E

☐

Otro

☐

Cual

Numero

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre CARLOS R. OLARTE

Dirección World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A 37 Piso 10

Teléfono 601 7700 Fax 601 7799

E-mail office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C C

☒

NIT

☐

C E

☐

Otro

☐

Cual

Numero 79782747Bta
TP 74 295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre JESUS GOMEZ-NAVARRO

Dirección Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340 E U A

Nacionalidad o Domicilio ESPAÑOLA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No PCT/IB2005/003307

Fecha

Octubre 24, 2005

Publicación Internacional No WO 2006/048749

Fecha

Mayo 11, 2006

6

Título (54) TRATAMIENTO COMBINADO DE ANTICUERPO ANTI-CTLA4 E
INHIBIDOR DE AROMATASA PARA EL CANCER DE MAMA

Clasificación Internacional (51) C07K 16/28, A61K 39/395

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Noviembre 4, 2004

(31) Numero de Solicitud

60/624 856

9

Comprobante de pago No 07 - 33 008

Fecha

Abril 24, 2007

10

ANEX S

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica

☒

Poderes si fuere el caso Ver expediente No 06051744 Adjunto copia simple

☒

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante

☐

Declaraciones

☒

Copia de la solicitud Internacional (Resumen descripción reivindicaciones dibujos)

☒

Traducción de la solicitud Internacional al castellano (Resumen descripción reivindicaciones dibujos)

☒

Copia del examen preliminar Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA)

☒

Traducción del examen preliminar Internacional efectuado por la IPEA

☐

De ser el caso copia del contrato de acceso

☐

De ser el caso documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas

☐

De ser el caso certificado de depósito del material biológico

☐

Arte final 12 x 12

☐

De ser el caso Información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud

☐

De ser el caso modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional

☒

Otros Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

FIRMA

C C 79 782 747 Btá T P 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No 07 044446- 00000-0000

Fecha 2007-05-04 16:32:12 Dep. 2020 NUECREACION
Tra 11 PATENTEIYII Eve 379 FASENACIONALII
Act 411 PRESENTACION Folios 185

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA 07 - 33 008
FECHA ABRIL 24 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No PAGO	FECHA PGO	Vr PAGO
OLARTE RAISBECK	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	52331038	23/04/2007	6 666 000 00

***** C O N C E P T O *****

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50003-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL DE PATENTE DE IN	482,000 00
		TOTAL	482 000 00

● CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No _____

4

TRADUCCION OFICIAL No 05-223

Efectuada el día 9 de diciembre de 2005, de un documento escrito en Inglés, al cual para su identificación se le estampa el sello de Sergio Andrés Rueda Iglesias, Traductor e Intérprete Oficial por Resolución No 0138 expedida por el Ministerio de Justicia y del Derecho el 11 de febrero de 2002

Traducción de las Autenticaciones Notariales y subsiguientes correspondientes a un Poder otorgado por PFIZER PRODUCTS, INC , a Carlos R Olarte y/o J Ian Raisbeck y/o Ana Maria Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro, documento este que viene en español, se explica por sí solo y fue firmado por Grover F Fuller, Jr el 17 de noviembre de 2005 en Nueva York, Estados Unidos de America

También en inglés y en español viene Certificación Notarial mediante la cual se confirma el nombre y cargo de Grover F Fuller, Jr, así como la existencia legal de la compañía Dicha certificación notarial esta firmada por Susan Z Killian, Notario Público de Nueva York, cuyo cargo expira el 4 de octubre de 2008, según consta en su correspondiente sello notarial

Suscrito y jurado ante mí el 17 de noviembre de 2005

(Fdo) Susan Z Killian


SERGIO ANDRÉS RUEDA IGLESIAS
C C
TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL
ESPAÑOL AL INGLÉS
RESOLUCION No 0138 11/2/02
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

ESTADO DE NUEVA YORK - CONDADO DE NUEVA YORK No 467518

El suscrito, Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York, tribunal éste provisto de sello por ley, por medio de este documento certifico conforme a la ley ejecutiva del Estado de Nueva York que Susan Z Killian, cuyo nombre aparece suscrito en la declaración jurada o certificado de reconocimiento anexo, desempeñaba en el momento de tomar el mismo, las funciones de Notario Público, en y para el Estado de Nueva York, estando debidamente comisionado bajo juramento y habilitado como tal que conforme a la ley en mi despacho obra un certificado de su nombramiento con su firma autógrafa que conozco bien la letra manuscrita de dicho Notario Público o he comparado la firma que aparece en el instrumento anexo con la que reposa en los archivos de mi oficina, y creo en conciencia que la misma es auténtica

EN FE DE LO CUAL, firmo de mi puño y letra y estampo mi sello oficial, el día 22 de noviembre de 2005

(Fdo) Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York

SERGIO ANDRÉS RIVERA PÉREZ
C. C. 77
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL / INGLÉS / INGLÉS / ESPAÑOL
NÚMERO DE LICENCIA 1130 DE FEBRERO DE 2004
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

- 1 País Estados Unidos de América
- El presente documento público
- 2 Fue firmado por Norman Goodman
- 3 Que actuó en su calidad de Escribano del Condado
- 4 Lleva el sello del Condado de Nueva York
- Se certificó
- 5 En Nueva York, Nueva York
- 6 El 22 de noviembre de 2005
- 7 Por parte del Secretario de Estado, (Encargado) del
- Estado de Nueva York
- 8 Bajo el Número NYC-10404952A
- 9 Aparece Sello del Estado de Nueva York
- 10 Firmado por James Bizzarri, Secretario de Estado
- Especial Encargado

Es traducción fiel y completa efectuada por


Sergio Andrés Rueda Iglesias
c c 80 424 773 de Bogotá

SER-410 AP PRES PUEBLO IGLESIAS

(B)
TAMBIEN EN EL ETE OFICIAL
JUAN IGLESIA F EST MOL
I I JCNAL A S TION H R 2062
IN DE JUSTICIA Y DEL DOR CHO

Apostille

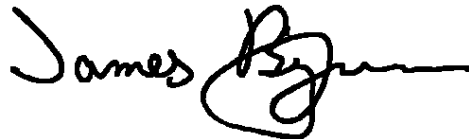
(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

7

- 1 **Country United States of America**
- This public document**
- 2 **has been signed by Norman Goodman**
- 3 **acting in the capacity of County Clerk**
- 4 **bears the seal/stamp of the county of New York**

Certified

- 5 **At New York New York 6 the 22nd day of November 2005**
- 7 **by Special Deputy Secretary of State State of New York**
- 8 **No NYC-10404952A**
- 9 **Seal/Stamp 10 Signature**



James Bizzari
Special Deputy Secretary of State

Power of Attorney

Poder

The undersigned,

El suscrito

PFIZER PRODUCTS INC

domiciled in

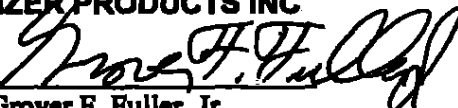
domiciliado en

Eastern Point Road Groton, State of Connecticut 06340 United States of America

by means of these presents hereby grants to Carlos R. Olarte and/or J Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other Intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

por medio del presente otorga a Carlos R. Olarte y/o J Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro poder especial amplio y suficiente para presentar tramitar obtener defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales Denominaciones de Origen Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor Derechos de Autor Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma

PFIZER PRODUCTS INC
By 
Grover F Fuller, Jr

Vice President, Attorney-In Fact

Date/Fecha

17 November 2005

City Country/Ciudad, País New York, NY USA

Notarial Certification

Certificación Notarial

On this date,

En esta fecha,

The undersigned Notary Public certifies

el Notario Público suscrito certifica.

I That

1 Que

Grover F Fuller Jr

of legal age and domiciled in

mayor de edad y domiciliado

Street 150 East 42nd Street

City New York

State New York 10017 5612 USA

signed the foregoing document.

suscribió el documento que antecede.

2 That the grantor has executed the foregoing document as Vice President, Attorney-In-Fact of PFIZER PRODUCTS INC

2 Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de do

3 That PFIZER PRODUCTS INC having its principal place of business located in Groton State of Connecticut 06340 United States of America

4 Que con sede principal ubicada en

is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder y que esta es legítima.

NOTARY PUBLIC (Signature)

Susan E. Kilham



SUSAN E. KILHAM
Notary Public, State of New York
No. 61K6116521
Qualified in New York County
Commission Expires October 4, 2008

State of New York
County of New York
SWORN to and SUBSCRIBED before me
on 11th day of Nov 2005
Susan E. Kilham

Sepase que Yo GREGORY JOHN TAYLOR 37 Meadway, Ashford, Middlesex TW15 2TJ Reino Unido, un Notario Publico debidamente autorizado

Certifico que el documento adjunto a la presente llamado

CESION, firmado por Jesus GOMEZ NAVARRO

Ha sido presentado ante mi en esta fecha por los Servicios Consulares de Blair en nombre de su cliente Pfizer y que los mencionados Servicios Consulares de Blair Limitada han representado ante mi como presentación de dicho cliente ha representado a ellos con base en un documento original con firmas debidamente autenticas

Firmado y sellado en 37 Meadway Ashford, Middlesex, TW15 2TJ
Reino Unido el dia de hoy 27 de Febrero de 2007

[Firmado y sellado]

Gregory John Taylor
Notario Publico
37 Meadway
Ashford Middlesex, TW15 2TJ,
Reino Unido
27 02 2007

Apostille

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

- 1 País Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- 2 Este documento publico ha sido firmado por Gregory John Taylor
- 3 obrando en su condición de Notario Publico
- 4 lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

Certificado

- | | |
|---|----------------------------|
| 5 en Londres | 6 el 28 Febrero de 2007 |
| 7 por Secretario Principal de Estado de su Majestad para Asuntos Extranjeros | |
| 8 No H304416 | |
| 9 Sello / Estampilla | 10 Firma O Williams |
| [Sellado] | [Firmado] |

CESIÓN

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por **PFIZER PRODUCTS INC** una sociedad de responsabilidad limitada constituida y existente bajo las leyes del Estado de Connecticut Estados Unidos de América cuya dirección de correos es Eastern Point Road Groton Connecticut 06340 Estados Unidos de América, por el presente le vendo y le cedo (le vendemos y le cedemos) a la citada **PFIZER PRODUCTS INC** la totalidad de mis (nuestros) derechos, el título y el interés que tengo (tenemos) en mi (nuestro) invento de una cierta mejora nueva y útil, del **TRATAMIENTO COMBINADO DE ANTICUERPO ANTI CTLA4 E INHIBIDOR DE AROMATASA PARA EL CANCER DE MAMA** en la medida en que esta cesión concierna a la República de Colombia tal y como se describe plenamente el mismo en las especificaciones y yo (nosotros) autorizo (autorizamos) y le solicito (solicitamos) por el presente a la Oficina de Patentes de Colombia que le expida dicha patente a la citada **PFIZER PRODUCTS INC**, de conformidad con la presente cesión

En fe de lo cual firmamos el presente el día de hoy

New London, CT, USA, 10 de mayo de 2005 [Firmado] Jesus Gomez Navarro

Lugar fecha y firma – Jesús GOMEZ NAVARRO

BE IT KNOWN that I, **GREGORY JOHN TAYLOR** of 37 Meadway, Ashford, Middlesex TW15 2TJ, United Kingdom, a duly authorised Notary Public

CERTIFY ONLY that the document annexed hereto namely

ASSIGNMENT signed by Jesus GOMEZ-NAVARRO

has thus day been presented to me by Blair Consular Services Limited on behalf of their client Pfizer, and that the said Blair Consular Services Limited have represented to me by such presentation that their said client has represented to them that the said annexed document is an authentic original document.

SIGNED AND SEALED at 37 Meadway, Ashford, Middlesex TW15 2TJ, United Kingdom, on 27th February 2007



Gregory John Taylor
Notary Public



GREGORY JOHN TAYLOR
NOTARY PUBLIC
37 MEADWAY
ASHFORD MIDDLESEX TW15 2TJ
UNITED KINGDOM

27-02-07

14

APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

- 1 Country: **United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland**
Pays: **Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord**

This public document / Le présent acte public

- 2 Has been signed by **Gregory John Taylor**
a été signé par
- 3 Acting in the capacity of **Notary Public**
agissant en qualité de
- 4 Bears the seal/stamp of **The Said Notary Public**
est revêtu du sceau/timbre de

- 5 at London/à Londres
- Certified/Attesté
6. the/le **28 February 2007**
- 7 by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

- 8 Number/sous No **H304416**

- 9 Stamp
timbre:

- 10 Signature: **O Williams**



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961 It should be presented to the consular section of the mission representing that country. An apostille or legalisation certificate only confirms that the signature, seal or stamp on the document is genuine. It does not mean that the contents of the document are correct or that the Foreign & Commonwealth Office approves of the contents.

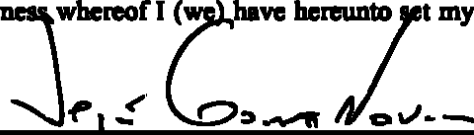
●

ASSIGNMENT

14
15

For valuable consideration paid to me (us) by **PFIZER PRODUCTS INC** a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America whose full post office address is Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, United States of America I (we) do hereby sell and assign to the said **PFIZER PRODUCTS INC** all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in **CTLA-4 ANTIBODY AND AROMATASE INHIBITOR COMBINATION TREATMENT FOR BREAST CANCER** so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said **PFIZER PRODUCTS INC** in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this


Place, date and signature Jesus GOMEZ-NAVARRO NEW LONDON, CT 10/5/05

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
11 May 2006 (11.05.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/048749 A1

- (51) International Patent Classification:
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/IB2005/003307
- (22) International Filing Date: 24 October 2005 (24.10.2005)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60624,856 4 November 2004 (04.11.2004) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): PFIZER
PRODUCTS INC. [US/US] Eastern Point Road, Groton,
CT 06340 (US).
- (72) Inventor and
(75) Inventor/Applicant (for US only): GOMEZ-
NAVARRO, Jesus [ES/US] Pfizer Global Research
and Development, 50 Pequot Avenue, New London CT
06330 (US).
- (74) Agents: FULLER, Grover F., Jr et al Pfizer Inc., 201
Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM

- AT AU AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, HK, HN, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance
Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: CTLA-4 ANTIBODY AND AROMATASE INHIBITOR OR COMBINATION TREATMENT FOR BREAST CAN-
CER

4 1 1 Heavy Chain cDNA (SEQ ID NO:1)

```
atggagcttg ggtgagctg ggttttctc gttgtcttt taagaggtgt ccagtgctag 60
gtgcagcttg tggagctctg agagggctg gtccagctg agaggtccct gagactctcc 120
tgtgtagctt ctggatttcc ctccagtagc catggcatgc actgggtccg ccaggtctcc 180
ggcagggggc tggagtggtt ggcagttata tggatgagc gaagaaataa atactatgac 240
gactcgttga agggcgattt caccctctcc agagacattt ccaagacacg gctgtttctg 300
caattgaaca gcttgagggc agagggacag gctgtgtatt actgtgagag agggaggtcac 360
ttaggtcctt ttgactactg aggcagggga acctctctca cgtctctc agcctctacc 420
aagggccctt ggttttctcc cctgggctcc tctctcagga gcaactccga ggcacagagc 480
gctctgggtt gcttggtcaa ggtactcttc cccagacagg tgacgggtgc gtggactcca 540
gggtcttga ccaggggggt gcaaatcttc cccagctctc tacagctctc aggtctctaa 600
tccctcagca gctgtgtgac cgtgctctcc agcaactctg gaaccagacg ctactactgc 660
aagtgagatc acaagccacg caacaacacg gtggacacga cagttgagag caaatgttgt 720
gtgagtgca cccagtgccc agcccaacct gtggcagga cgtcagttct cctctctccc 780
ccaaaccca agaacacct catgactctc cggacccctg aggtcagctg cgtgggtgtg 840
gaagtgagcc acgaagaccg ccaggtccag ttcaactggt acgtggaagg cgtggaggtg 900
cataatgcca agacaagacc accggggagc cagttcaaca gcaagttccg tctgggtcagc 960
gtctcaccg ttgtgcacca ggtctggctg aacgggaagg agtcaagtg caaggtctcc 1020
aacaagggtc tccagccccc cctcgagaa accatctccc aaaccaagg gcagccccga 1080
gaacccagg tgtacacctt gccccatccc cggggagga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140
ctgacctgac tggtaaaagg cttctacccc agcagctatg cgtggagtg ggaagacat 1200
ggcagccgg agaacacta caagaaacca cctccatgca tggactccga cggctctctc 1260
ttctctaca gaagctcac cgtggacag agcaggtgac agcaggggaa cgtctctcca 1320
tgctcagcga tgcattgggc tctgcacaa caatactcgc agagagctt ctcctgtct 1380
```

(57) Abstract. The invention relates to administration of an anti-CTLA4 antibody, particularly human antibodies to human CTLA4, such as those having amino acid sequences of antibodies 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2, 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 1 and 10D1 (MDX-010), in combination with an aromatase inhibitor for treatment of breast cancer. More particularly the invention relates to administration of an anti-CTLA4 antibody and exemestane for treatment of breast cancer

WO 2006/048749 A1

CTLA4 ANTIBODY AND AROMATASE INHIBITOR
COMBINATION TREATMENT FOR BREAST CANCER

Background of the Invention

Each year more than 180 000 women are diagnosed with breast cancer in the United States. If current breast cancer rates remain constant, each woman born today has a one-in-ten chance of developing breast cancer at a median onset age of about 60 to 65.

Approximately two-thirds of post-menopausal breast cancer patients have estrogen-dependent disease thereby rendering them amenable to antiestrogen therapy. Estrogens promote growth and proliferation of specific target cells, such as breast epithelium and estrogen-dependent breast carcinoma cells (Brueggemeier *Amer J Therapeutics* 8: 333-344 (2001)). Thus, systemic adjuvant treatment therapy administered in addition to primary treatment of localized breast cancer (e.g. breast-conserving surgery and radiation or mastectomy) has focused on agents that block the estrogen receptor on tumor cells. Such antihormonal agents include tamoxifen (NOVALDEX D SOLTAMOX TAMOFEN) which inhibits binding of estrogen with the estrogen receptor, fulvestrant (FASLODEX) which degrades the receptor as well as aromatase inhibitors (e.g. anastrozole (ARIMIDEX), letrozole (FEMARA) and exemestane (AROMASIN)) which block aromatase enzyme catalysis of androgens to estrogens thereby decreasing the amount of hormone ligand available to bind with the receptor.

Despite advances in hormonal or other breast cancer therapies, it is estimated that 40 921 women will die of recurrent or advanced breast cancer in 2004 (American Cancer Society *Cancer Statistics* (2004)). Currently there is no curative treatment available for patients with extensive disease and therapy is essentially palliative. Thus novel therapies such as combining antihormonal agent with immunotherapy are important in the treatment of breast cancer. More specifically one cancer immunotherapy approach targets cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA4 CD152) which is a cell surface receptor expressed on activated T cells. Binding of CTLA4 to its natural ligands B7 1 (CD80) and B7.2 (CD86) delivers a negative regulatory signal to T cells and blocking this negative signal results in enhanced T cell immune function and antitumor activity in animal models (Thompson and Allison *Immunity* 7: 445-450 (1997); McCoy and LeGros *Immunol. & Cell Biol.* 77: 1-10 (1999)). Several studies have demonstrated that CTLA4 blockade using antibodies markedly enhances T cell-mediated killing of tumors and can induce antitumor immunity (Leach et al. *Science* 271: 1734-1736 (1996); Kwon et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 8099-8103 (1997); Kwon et al. *Natl. Acad. Sci. USA* 96: 15074-15079 (1999)).

Although use of anti-CTLA4 antibodies to induce an anti-tumor response holds great promise in the treatment of cancer and despite the promise of antihormonal therapies in the treatment of breast cancer there is a need to develop novel therapies to treat breast cancer. The present invention meets this need.

Summary of the Invention

The invention includes a method for the treatment of breast cancer in a patient in need of such treatment. The method comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of an anti-CTLA4 antibody or antigen-binding portion thereof in combination with a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor.

In one aspect, the aromatase inhibitor is at least one inhibitor selected from the group consisting of anastrozole, letrozole and exemestane. In another aspect, the aromatase inhibitor is exemestane

In one aspect, the therapeutically effective amount of a human anti-CTLA4 antibody amount ranges from about 1 mg/kg to 40 mg/kg

5 In a further aspect, the therapeutically effective amount of a human anti-CTLA4 antibody amount ranges from about 3 mg/kg to 15 mg/kg

In yet another aspect, the therapeutically effective amount of exemestane ranges from about 25 mg per day to 200 mg per day

In a further aspect, the therapeutically effective amount of exemestane is about 25 mg per day

10 In one aspect, the treatment is selected from the group consisting of a neoadjuvant therapy an adjuvant therapy a first line treatment, a second line treatment, and a third line treatment.

In another aspect, the antibody is selected from a group consisting of a non-human mammalian antibody a chimeric antibody and a human antibody

In one aspect, the antibody is a human anti-CTLA4 antibody

15 In another aspect, the anti-CTLA4 antibody or antigen-binding portion thereof is at least one antibody selected from the group consisting of

(a) a human antibody having a binding affinity for CTLA4 of about 10^8 or greater and which inhibits binding between CTLA4 and B7-1 and binding between CTLA4 and B7-2

20 (b) a human antibody having an amino acid sequence comprising at least one human CDR sequence that corresponds to a CDR sequence from an antibody selected from the group consisting of 4.1.1 4.8.1 4.10.2, 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 12.9.1.1 and 10D1

(c) a human antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 12.9.1.1 and 10D1

25 (d) a human antibody having the amino acid sequences of a heavy chain variable region and a light chain variable region of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 12.9.1.1 and 10D1

30 (e) an antibody or antigen-binding portion thereof that competes for binding with CTLA4 with at least one antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1 4.8.1 4.10.2, 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 12.9.1.1 and 10D1 and

(f) an antibody or antigen-binding portion thereof that cross-competes for binding with CTLA4 with at least one antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1 12.9.1 12.9.1.1 and 10D1

In another aspect, the antibody is a human antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of antibody 11.2.1

In yet another aspect, the antibody comprises a heavy chain and a light chain wherein the amino acid sequences of the heavy chain variable region of the heavy chain and the light chain variable region of the light chain are selected from the group consisting of

(a) the amino acid sequence of SEQ ID NO-3 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 9

(b) the amino acid sequence of SEQ ID NO 15 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 21

(c) the amino acid sequence of SEQ ID NO-27 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 33

(d) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO-1 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 7

(e) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 13 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO-19

(f) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO-25 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 31

(g) the amino acid sequence of a heavy chain variable region and a light chain variable region of antibody 10D1

In one aspect, the antibody or antigen-binding portion thereof is an antibody selected from the group consisting of

(a) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-4, SEQ ID NO-5, and SEQ ID NO 6, and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-10, SEQ ID NO-11 and SEQ ID NO-12,

(b) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-16, SEQ ID NO-17, and SEQ ID NO 18, and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-22, SEQ ID NO-23 and SEQ ID NO 24

(c) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-28, SEQ ID NO-29, and SEQ ID NO-30, and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 34, SEQ ID NO-35 and SEQ ID NO-36, and

(d) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences of the heavy chain CDR1, CDR2, and CDR3 of antibody 10D1, further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences of the light chain CDR1, CDR2, and CDR3 of antibody 10D1

In another aspect, the method further comprises administering to the patient at least one agent selected from the group consisting of an alkylating agent, a folate antagonist, a pyrimidine antagonist, an

anthracycline antibiotic, a platinum compound, a taxane, a vinca alkaloid, a camptothecin analog, a toll-like receptor stimulating agent, a heat shock protein-based tumor vaccine, an antigen presenting cell-based therapy, a mammalian target of rapamycin inhibitor, an erbB2 inhibitor, an EGFR inhibitor, a VEGF inhibitor, a VEGFR inhibitor, an angiogenesis inhibitor, an antibody, an immunomodulator, a selective
 5 estrogen receptor modulator, a cytokine, a tumor vaccine, an antiproliferative agent, an immune costimulatory molecule, and a cytokine.

The invention includes a pharmaceutical composition for the treatment of breast cancer comprising a therapeutically effective amount of an anti-CTLA4 antibody, a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor, and a pharmaceutically acceptable carrier.

10 In one aspect, the aromatase inhibitor is at least one aromatase inhibitor selected from the group consisting of anastrozole, letrozole, and exemestane.

In a further aspect, the aromatase inhibitor is exemestane.

The invention includes a use of an amount of an anti-CTLA4 antibody in the preparation of a composition for the treatment of breast cancer in a patient wherein the treatment further comprises
 15 administering to the patient an amount of an aromatase inhibitor.

In one aspect, the aromatase inhibitor is exemestane and further wherein the antibody is a human antibody having the heavy and light chain variable region amino acid sequences of antibody 11.2.1.

Brief Description of the Drawings

20 The foregoing summary as well as the following detailed description of the invention will be better understood when read in conjunction with the appended drawings. For the purpose of illustrating the invention there are shown in the drawings embodiment(s) which are presently preferred. It should be understood, however, that the invention is not limited to the precise arrangements and instrumentalities shown.

25 In the drawings:

Figure 1 comprising Figures 1A-1D shows the nucleotide and amino acid sequences for anti-CTLA4 antibody 4.1.1. Figure 1A shows the full length nucleotide sequence for the 4.1.1 heavy chain (SEQ ID NO 1). Figure 1B shows the full length amino acid sequence for the 4.1.1 heavy chain (SEQ ID NO 2) and the amino acid sequence for the 4.1.1 heavy chain variable region (SEQ ID NO 3) designated between brackets "[]". The amino acid sequence of each 4.1.1 heavy chain CDR is underlined. The CDR sequences are as follows, CDR1: GFTFSSHGMH (SEQ ID NO 4), CDR2: VIWYDGRNKYYADSV (SEQ ID NO 5), and CDR3: GGHFGPFDY (SEQ ID NO 6). Figure 1C shows the nucleotide sequence for the 4.1.1 light chain (SEQ ID NO 7). Figure 1D shows the amino acid sequence of the full length 4.1.1 light chain (SEQ ID NO 8) and the variable region as indicated between brackets "[]" (SEQ ID NO 9).
 30 The amino acid sequence of each CDR is indicated as follows: CDR1: RASQSISSSFLA (SEQ ID NO 10), CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO 11) and CDR3: CQQYGTSPWT (SEQ ID NO 12).

Figure 2 comprising Figures 2A-2D shows the nucleotide and amino acid sequences for anti-CTLA4 antibody 4.13.1. Figure 2A shows the full length nucleotide sequence for the 4.13.1 heavy chain (SEQ ID NO 13). Figure 2B shows the full length amino acid sequence for the 4.13.1 heavy chain (SEQ
 40 ID NO 14) and the amino acid sequence for the 4.13.1 heavy chain variable region (SEQ ID NO 15).

designated between brackets "[]". The amino acid sequence of each 4-13.1 heavy chain CDR is underlined. The CDR sequences are as follows: CDR1: GFTFSSHG (SEQ ID NO:16); CDR2: VIWYDGRN (SEQ ID NO:17); and CDR3: VAPLGPLDY (SEQ ID NO:18). Figure 2C shows the nucleotide sequence for the 4-13.1 light chain (SEQ ID NO:19). Figure 2D shows the amino acid sequence of the full length 4-13.1 light chain (SEQ ID NO:20), and the variable region as indicated between brackets "[]" (SEQ ID NO:21). The amino acid sequence of each CDR is indicated as follows: CDR1: RASQSVSS (SEQ ID NO:22); CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:23); and CDR3: CQQYGRSPFT (SEQ ID NO:24).

Figure 3 comprising Figures 3A-3D shows the nucleotide and amino acid sequences for anti-CTLA4 antibody 11.2.1. Figure 3A shows the full length nucleotide sequence for the 11.2.1 heavy chain (SEQ ID NO:25). Figure 3B shows the full length amino acid sequence for the 11.2.1 heavy chain (SEQ ID NO:26), and the amino acid sequence for the 11.2.1 heavy chain variable region (SEQ ID NO:27) designated between brackets "[]". The amino acid sequence of each 11.2.1 heavy chain CDR is underlined. The CDR sequences are as follows: CDR1: GFTFSSYGMH (SEQ ID NO:28); CDR2: VIWYDGSN (SEQ ID NO:29); and CDR3: DPRGATLYYYYGMDV (SEQ ID NO:30). Figure 3C shows the nucleotide sequence for the 11.2.1 light chain (SEQ ID NO:31). Figure 3D shows the amino acid sequence of the full length 11.2.1 light chain (SEQ ID NO:32) and the variable region as indicated between brackets "[]" (SEQ ID NO:33). The amino acid sequence of each CDR is indicated as follows: CDR1: RASQSINSYLD (SEQ ID NO:34); CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:35); and CDR3: QQYYSTPFT (SEQ ID NO:36).

Detailed Description Of The Invention

The invention relates to anti-CTLA4 antibodies used in combination with at least one aromatase inhibitor e.g. anastrozole, letrozole, and exemestane, to treat breast cancer in a patient in need of such treatment. The invention further relates to treatment of breast cancer by combination of the antibody-aromatase inhibitor combination with another agent or agents.

Unless otherwise defined herein, scientific and technical terms used in connection with the present invention shall have the meanings that are commonly understood by those of ordinary skill in the art. Further, unless otherwise required by context, singular terms shall include pluralities and plural terms shall include the singular. Generally, nomenclatures used in connection with, and techniques of cell and tissue culture, molecular biology, immunology, microbiology, genetics and protein and nucleic acid chemistry and hybridization described herein are those well known and commonly used in the art.

The methods and techniques of the present invention are generally performed according to methods well known in the art and as described in various general and more specific references that are cited and discussed throughout the present specification unless otherwise indicated. Such references include, e.g. Sambrook and Russell, *Molecular Cloning, A Laboratory Approach*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (2002); and Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1990), which are incorporated herein by reference. Enzymatic reactions and purification techniques are performed according to manufacturer's specifications, as

21
22

commonly accomplished in the art or as described herein. The nomenclatures used in connection with and the laboratory procedures and techniques of analytical chemistry, synthetic organic chemistry, and medicinal and pharmaceutical chemistry described herein are those well known and commonly used in the art. Standard techniques are used for chemical syntheses, chemical analyses, pharmaceutical preparation, formulation, and delivery, and treatment of patients.

As used herein, each of the following terms has the meaning associated with it in this section.

The articles "a" and "an" are used herein to refer to one or to more than one (i.e. to at least one) of the grammatical object of the article. By way of example, "an element" means one element or more than one element.

As used herein, the twenty conventional amino acids and their abbreviations follow conventional usage. See *Immunology—A Synthesis* (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds. Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), which is incorporated herein by reference.

A "conservative amino acid substitution" is one in which an amino acid residue is substituted by another amino acid residue having a side chain R group with similar chemical properties (e.g. charge or hydrophobicity). In general, a conservative amino acid substitution will not substantially change the functional properties of a protein. In cases where two or more amino acid sequences differ from each other by conservative substitutions, the percent sequence identity or degree of similarity may be adjusted upwards to correct for the conservative nature of the substitution. Means for making this adjustment are well-known to those of skill in the art. See, e.g. Pearson, *Methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994).

Examples of groups of amino acids that have side chains with similar chemical properties include: 1) aliphatic side chains: glycine, alanine, valine, leucine, and isoleucine; 2) aliphatic-hydroxyl side chains: serine and threonine; 3) amide-containing side chains: asparagine and glutamine; 4) aromatic side chains: phenylalanine, tyrosine, and tryptophan; 5) basic side chains: lysine, arginine, and histidine; 6) acidic side chains: aspartic acid and glutamic acid; and 7) sulfur-containing side chains: cysteine and methionine. Preferred conservative amino acids substitution groups are: valine-leucine-isoleucine, phenylalanine-tyrosine, lysine-arginine, alanine-valine, glutamate-aspartate, and asparagine-glutamine.

Alternatively, a conservative replacement is any change having a positive value in the PAM250 log-likelihood matrix disclosed in Gonnet et al., *Science* 258:1443-45 (1992), herein incorporated by reference. A "moderately conservative" replacement is any change having a nonnegative value in the PAM250 log-likelihood matrix.

Preferred amino acid substitutions are those which: (1) reduce susceptibility to proteolysis, (2) reduce susceptibility to oxidation, (3) alter binding affinity for forming protein complexes, and (4) confer or modify other physicochemical or functional properties of such analogs. Analogs comprising substitutions, deletions, and/or insertions can include various mutants of a sequence other than the specified peptide sequence. For example, single or multiple amino acid substitutions (preferably conservative amino acid substitutions) may be made in the specified sequence (preferably in the portion of the polypeptide outside the domain(s) forming intermolecular contacts, e.g. outside of the CDRs). A conservative amino acid substitution should not substantially change the structural characteristics of the parent sequence (e.g., a replacement amino acid should not tend to break a helix that occurs in the parent sequence, or disrupt other types of secondary structure that characterizes the parent sequence). Examples of art-recognized

22
23

polypeptide secondary and tertiary structures are described in *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed. W. H. Freeman and Company, New York (1984)), *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds. Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)), and Thornton et al. *Nature* 354:105 (1991), which are each incorporated herein by reference.

5 Sequence similarity for polypeptides is typically measured using sequence analysis software. Protein analysis software matches similar sequences using measures of similarity assigned to various substitutions, deletions and other modifications, including conservative amino acid substitutions. For instance, Genetics Computer Group (GCG available from Genetics Computer Group, Inc.) also referred to as the Wisconsin Package, is an integrated software package of over 130 programs for accessing,
10 analyzing and manipulating nucleotide and protein sequences. GCG contains programs such as "Gap" and "Bestfit" which can be used with default parameters to determine sequence similarity, homology and/or sequence identity between closely related polypeptides, such as homologous polypeptides from different species of organisms or between a wild type protein and a mutant thereof. See, e.g., GCG version 6.1, version 9.1, and version 10.0.

15 Polypeptide sequences also can be compared using FASTA using default or recommended parameters. A program in GCG Version 6.1, FASTA (e.g., FASTA2 and FASTA3) provides alignments and percent sequence identity of the regions of the best overlap between the query and search sequences (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000)). Another preferred algorithm when comparing a sequence of the invention to a database
20 containing a large number of sequences from different organisms is the computer program BLAST, especially blastp or tblastn, using default parameters. See, e.g., Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997); herein incorporated by reference.

 An "aromatase," as the term is used herein, refers to an enzyme (e.g., 450_{nm}) that catalyzes the aromatization of the A ring of an androgen substrate (mainly androstenedione) to estrone.

25 "Aromatase inhibitor" means a compound or substance that when contacted with an aromatase, detectably inhibits the formation of the A ring of an androgen substrate compared with the level of such aromatization in the absence of the compound or substance. Any assay for assessing the level of enzymatic activity by an aromatase can be used to assess whether there is inhibition and/or the level thereof. An aromatase inhibitor includes, but is not limited to, a steroidal and a non-steroidal inhibitor
30 such as, *inter alia*, exemestane, anastrozole, letrozole, fadrozole, vorozole, and formestane, and the term encompasses any aromatase inhibitor whether now known or identified in the future.

 An intact "antibody" comprises at least two heavy (H) chains and two light (L) chains interconnected by disulfide bonds. See generally *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed., Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporated by reference in its entirety for all purposes). Each heavy chain is
35 comprised of a heavy chain variable region (HCVR or V_H) and a heavy chain constant region (C_H). The heavy chain constant region is comprised of three domains, CH1, CH2, and CH3. Each light chain is comprised of a light chain variable region (LCVR or V_L) and a light chain constant region. The light chain constant region is comprised of one domain, C_L. The V_H and V_L regions can be further subdivided into regions of hypervariability termed complementarity determining regions (CDR), interspersed with regions
40 that are more conserved, termed framework regions (FR). Each V_H and V_L is composed of three CDRs

23
24

and four FRs arranged from amino-terminus to carboxyl-terminus in the following order FR1 CDR1 FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. The assignment of amino acids to each domain is in accordance with the definitions of Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987 and 1991)) or Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 198 901-917 (1987) Chothia et al. *Nature* 342:878-883 (1989)

The term "antigen-binding portion" of an antibody (or simply "antibody portion") as used herein, refers to one or more fragments of an antibody that retain the ability to specifically bind to an antigen (e.g. CTLA4). It has been shown that the antigen-binding function of an antibody can be performed by fragments of a full-length antibody. Examples of binding fragments encompassed within the term "antigen-binding portion" of an antibody include (i) a Fab fragment, a monovalent fragment consisting of the V_L , V_H , C_L and C_H1 domains, (ii) a $F(ab')_2$ fragment, a bivalent fragment comprising two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region, (iii) a Fd fragment consisting of the V_H and C_H1 domains, (iv) a Fv fragment consisting of the V_L and V_H domains of a single arm of an antibody, (v) a dAb fragment (Ward et al. (1989) *Nature* 341 544-548) which consists of a V_H domain and (vi) an isolated complementarity determining region (CDR). Furthermore, although the two domains of the Fv fragment, V_L and V_H , are coded for by separate genes, they can be joined using recombinant methods, by a synthetic linker that enables them to be made as a single protein chain in which the V_L and V_H regions pair to form monovalent molecules (known as single chain Fv (scFv)); see e.g. Bird et al. *Science* 242:423-426 (1988) and Huston et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988)). Such single chain antibodies are also intended to be encompassed within the term "antigen-binding portion" of an antibody. Other forms of single chain antibodies, such as diabodies are also encompassed. Diabodies are bivalent, bispecific antibodies in which V_H and V_L domains are expressed on a single polypeptide chain, but using a linker that is too short to allow for pairing between the two domains on the same chain, thereby forcing the domains to pair with complementary domains of another chain and creating two antigen binding sites (see e.g. Holliger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993) Poljak et al. *Structure* 2:1121-1123 (1994)).

Still further, an antibody or antigen-binding portion thereof may be part of larger immunoadhesion molecules, formed by covalent or noncovalent association of the antibody or antibody portion with one or more other proteins or peptides. Examples of such immunoadhesion molecules include use of the streptavidin core region to make a tetrameric scFv molecule (Kipriyanov et al. *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101 (1995)) and use of a cysteine residue, a marker peptide and a C-terminal polyhistidine tag to make bivalent and biotinylated scFv molecules (Kipriyanov et al. *Mol. Immunol.* 31:1047-1058 (1994)). Other examples include where one or more CDRs from an antibody are incorporated into a molecule either covalently or noncovalently to make it an immunoadhesin that specifically binds to an antigen of interest, such as CTLA4. In such embodiments, the CDR(s) may be incorporated as part of a larger polypeptide chain, may be covalently linked to another polypeptide chain, or may be incorporated noncovalently. Antibody portions, such as Fab and $F(ab')_2$ fragments, can be prepared from whole antibodies using conventional techniques, such as papain or pepsin digestion, respectively of whole antibodies. Moreover, antibodies, antibody portions and immunoadhesion molecules can be obtained using standard recombinant DNA techniques, as described herein.

24
25

Where an "antibody" is referred to herein with respect to the present invention, it should be understood that an antigen-binding portion thereof may also be used. An antigen-binding portion competes with the intact antibody for specific binding. See generally Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W. ed. 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporated by reference in its entirety for all purposes). Antigen-binding portions may be produced by recombinant DNA techniques or by enzymatic or chemical cleavage of intact antibodies. In some embodiments, antigen-binding portions include Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, dAb, and complementarity determining region (CDR) fragments, single-chain antibodies (scFv), chimeric antibodies, diabodies and polypeptides that contain at least a portion of an antibody that is sufficient to confer specific antigen binding to the polypeptide. In embodiments having one or more binding sites, the binding sites may be identical to one another or may be different.

The terms "human antibody" or "human sequence antibody" as used interchangeably herein, include antibodies having variable and constant regions (if present) derived from human germline immunoglobulin sequences. The human sequence antibodies of the invention may include amino acid residues not encoded by human germline immunoglobulin sequences (e.g., mutations introduced by random or site-specific mutagenesis in vitro or by somatic mutation in vivo). However, the term "human antibody" as used herein, is not intended to include "chimeric" antibodies in which CDR sequences derived from the germline of another mammalian species, such as a mouse, have been grafted onto human framework sequences (i.e., humanized or PRIMATIZED™ antibodies).

The term "chimeric antibody" as used herein means an antibody that comprises regions from two or more different antibodies. In one embodiment, one or more of the CDRs are derived from a human anti-CTLA4 antibody. In another embodiment, all of the CDRs are derived from a human anti-CTLA4 antibody. In another embodiment, the CDRs from more than one human anti-CTLA4 antibodies are combined in a chimeric human antibody. For instance, a chimeric antibody may comprise a CDR1 from the light chain of a first human anti-CD40 antibody, a CDR2 from the light chain of a second human anti-CTLA4 antibody, and a CDR3 and CDR3 from the light chain of a third human anti-CTLA4 antibody, and the CDRs from the heavy chain may be derived from one or more other anti-CD40 antibodies. Further, the framework regions may be derived from one of the same anti-CTLA4 antibodies or from one or more different human(s).

Moreover, as discussed previously herein, chimeric antibody includes an antibody comprising a portion derived from the germline sequences of more than one species.

"Glycoform" refers to a complex oligosaccharide structure comprising linkages of various carbohydrate units. Such structures are described in, e.g., *Essentials of Glycobiology* Varki et al. eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1999) which also provides a review of standard glycobiology nomenclature. Such glycoforms include, but are not limited to, G2, G1, G0, G-1 and G-2 (see e.g., International Patent Publication No. WO 99/22764).

"Glycosylation pattern" is defined as the pattern of carbohydrate units that are covalently attached to a protein (e.g., the glycoform) as well as to the site(s) to which the glycoform(s) are covalently attached to the peptide backbone of a protein, more specifically to an immunoglobulin protein.

It is likely that antibodies expressed by different cell lines or in transgenic animals will have different glycoforms and/or glycosylation patterns compared with each other. However, all antibodies

25
26

encoded by the nucleic acid molecules provided herein, or comprising the amino acid sequences provided herein are part of the instant invention, regardless of the glycosylation of the antibodies.

By the term "effective amount" or "therapeutically effective amount," as used herein, is meant an amount that when administered to a mammal, preferably a human, mediates a detectable therapeutic response compared to the response detected in the absence of the compound. A therapeutic response, such as, but not limited to, inhibition of and/or decreased tumor growth, tumor size, metastasis, and the like, can be readily assessed by a plethora of art-recognized methods, including, e.g., such methods as disclosed herein.

The skilled artisan would understand that the effective amount of the compound or composition administered herein varies and can be readily determined based on a number of factors such as the disease or condition being treated, the stage of the disease, the age and health and physical condition of the mammal being treated, the severity of the disease, the particular compound being administered, and the like.

By the term "compete," as used herein with regard to an antibody, is meant that a first antibody or an antigen-binding portion thereof competes for binding with a second antibody or an antigen-binding portion thereof where binding of the first antibody with its cognate epitope is detectably decreased in the presence of the second antibody compared to the binding of the first antibody in the absence of the second antibody. The alternative, where the binding of the second antibody to its epitope is also detectably decreased in the presence of the first antibody, can, but need not be the case. That is, a first antibody can inhibit the binding of a second antibody to its epitope without that second antibody inhibiting the binding of the first antibody to its respective epitope. However, where each antibody detectably inhibits the binding of the other antibody with its cognate epitope or ligand, whether to the same, greater or lesser extent, the antibodies are said to "cross-compete" with each other for binding of their respective epitope(s). For instance, cross-competing antibodies can bind to the epitope, or portion of the epitope, to which the antibodies used in the invention bind. Use of both competing and cross-competing antibodies is encompassed by the present invention. Regardless of the mechanism by which such competition or cross-competition occurs (e.g., steric hindrance, conformational change, or binding to a common epitope or portion thereof, and the like), the skilled artisan would appreciate, based upon the teachings provided herein, that such competing and/or cross-competing antibodies are encompassed and can be useful for the methods disclosed herein.

The term "epitope" includes any protein determinant capable of specific binding to an immunoglobulin or T-cell receptor. Epitopic determinants usually consist of chemically active surface groupings of molecules such as amino acids or sugar side chains and usually have specific three dimensional structural characteristics, as well as specific charge characteristics. Conformational and nonconformational epitopes are distinguished in that the binding to the former but not the latter is lost in the presence of denaturing solvents.

Instructional material, as that term is used herein, includes a publication, a recording, a diagram, or any other medium of expression which can be used to communicate the usefulness of the compound, combination, and/or composition of the invention in the kit for affecting, alleviating or treating the various diseases or disorders recited herein. Optionally or alternately, the instructional material can describe one

26
27

or more methods of alleviating the diseases or disorders in a cell, a tissue, or a mammal, including as disclosed elsewhere herein

The instructional material of the kit may, for example, be affixed to a container that contains the compound and/or composition of the invention or be shipped together with a container which contains the compound and/or composition. Alternatively, the instructional material may be shipped separately from the container with the intention that the recipient uses the instructional material and the compound cooperatively

Except when noted, the terms "patient" or "subject" are used interchangeably and refer to mammals such as human patients and non-human primates, as well as veterinary subjects such as rabbits, rats, and mice, and other animals. Preferably, patient refers to a human.

Conventional notation is used herein to portray polypeptide sequences: the left-hand end of a polypeptide sequence is the amino-terminus; the right-hand end of a polypeptide sequence is the carboxyl-terminus.

By the phrase "specifically binds," as used herein, is meant a compound, e.g., a protein, a nucleic acid, an antibody, and the like, which recognizes and binds a specific molecule, but does not substantially recognize or bind other molecules in a sample. For instance, an antibody or a peptide inhibitor which recognizes and binds a cognate ligand (e.g., an anti-CTLA4 antibody that binds with its cognate antigen, CTLA4) in a sample, but does not substantially recognize or bind other molecules in the sample. Thus, under designated assay conditions, the specified binding moiety (e.g., an antibody or an antigen-binding portion thereof) binds preferentially to a particular target molecule and does not bind in a significant amount to other components present in a test sample. A variety of assay formats may be used to select an antibody that specifically binds a molecule of interest. For example, solid-phase ELISA, immunoassay, immunoprecipitation, Biacore, and Western blot analysis are used to identify an antibody that specifically reacts with CTLA4. Typically, a specific or selective reaction will be at least twice background signal or noise and more typically more than 10 times background; even more specifically, an antibody is said to "specifically bind" an antigen when the equilibrium dissociation constant (K_D) is $\leq 1 \mu\text{M}$, preferably $\leq 100 \text{ nM}$ and most preferably $\leq 10 \text{ nM}$.

The term " K_D " refers to the equilibrium dissociation constant of a particular antibody-antigen interaction.

As used herein, "substantially pure" means an object species is the predominant species present (i.e., on a molar basis, it is more abundant than any other individual species in the composition) and preferably a substantially purified fraction is a composition wherein the object species (e.g., an anti-CTLA4 antibody) comprises at least about 50 percent (on a molar basis) of all macromolecular species present. Generally, a substantially pure composition will comprise more than about 80 percent of all macromolecular species present in the composition, more preferably more than about 85%, 90%, 95%, and 99%. Most preferably, the object species is purified to essential homogeneity (contaminant species cannot be detected in the composition by conventional detection methods) wherein the composition consists essentially of a single macromolecular species.

As used herein, to "treat" means reducing the frequency with which symptoms of a disease (i.e., tumor growth and/or metastasis, or other effect mediated by the numbers and/or activity of immune cells,

27
28

and the like) are experienced by a patient. The term includes the administration of the compounds or agents of the present invention to prevent or delay the onset of the symptoms, complications, or biochemical indices of a disease (e.g. elevation of PSA level), alleviating the symptoms or arresting or inhibiting further development of the disease, condition, or disorder. Treatment may be prophylactic (to prevent or delay the onset of the disease, or to prevent the manifestation of clinical or subclinical symptoms thereof) or therapeutic suppression or alleviation of symptoms after the manifestation of the disease.

1. Antibody-Aromatase Inhibitor Combination Therapy

The invention relates to methods for the administration of an antibody that binds human CTLA4 or an antigen-binding portion of the antibody in combination with hormonal (e.g. aromatase inhibitor) therapy to treat breast cancer. The combination of CTLA4 blockade with reduction in the level of estrogen in a patient according to a method of the invention may provide a synergistic therapeutic benefit as more fully discussed below.

Although the invention encompasses numerous combination therapies wherein the antibody is administered to the patient in combination with at least one aromatase inhibitor, the present invention is in no way limited to the exemplified agents which are set forth herein for illustrative purposes only.

In one embodiment, a combination of a CTLA4 antibody or an antigen-binding portion thereof and an aromatase inhibitor ("AI") is administered to a breast cancer patient. In one aspect, the aromatase inhibitor is selected from the group consisting of anastrozole, letrozole and exemestane, which are commercially available as ARIMIDEX, FEMARA and AROMASIN respectively. More preferably the aromatase inhibitor is exemestane. This is because a synergistic or additive effect is mediated by administration of a combination comprising an anti-CTLA4 antibody and an AI. Without wishing to be bound by any particular theory of the invention, AI therapy may increase, perhaps by apoptotic or other architectural changes, exposure of breast cancer tumor specific antigen(s) to the immune system, such that the immune response to the tumor cell is increased. That is, hormonal therapy may create or increase a source of tumor-specific antigen mediated by tumor cell death which, in turn, may feed tumor antigen into host antigen presentation pathways. Anti-CTLA4 antibody mediates an increased immune response to the increased levels of tumor-specific antigen in the antigen presentation pathway thereby providing a potential synergistic therapeutic effect when combined with aromatase inhibitor therapy. Other combination therapies that may result in synergy with anti-CTLA4 enhancement of the immune response through cell death release of tumor-specific antigens are radiation, surgery and chemotherapy among others.

Without wishing to be bound by any theory of the invention, the combination of CTLA4 blockade and aromatase inhibition may induce a more robust immunological response to the breast cancer than expected. Therefore, the combination of aromatase blockade using, among others, exemestane, in combination with an anti-CTLA4 antibody can provide a potential synergistic effect thereby providing an important novel therapeutic treatment for breast cancer.

The methods of the invention may be carried out as a neoadjuvant therapy prior to surgery, radiation therapy or any other treatment, localized treatment, in order to sensitize the tumor cells or to

28
29

otherwise confer a therapeutic benefit to the patient. However the invention is not limited to the neoadjuvant setting. Rather the methods of the invention may be used along the entire disease and treatment continuum e.g. but not limited to, adjuvant, first-line, second-line, third-line therapy and the like for breast cancer

5 In one embodiment, the breast cancer is estrogen receptor positive (ER+), such that aromatase inhibition reduces the level of estrogen thereby affecting the tumor. In one aspect, the ER+ tumor is present in a postmenopausal (post-men) woman patient, such that decreasing the level of estrogen mediates a therapeutic anti-tumor effect in the patient. However while it may be preferable to administer AI therapy to a post-men ER+ patient, the present invention is not limited to such patient, but rather
10 comprises administration of anti-CTLA4 antibody-aromatase inhibitor therapy to any patient that may derive a therapeutic benefit from a combination of decreased estrogen level combined with immune enhancement via CTLA4 blockade as determined by the skilled artisan armed with the teachings provided herein.

15 II. Dosage Regimens

Dosage regimens may be adjusted to provide the optimum desired response. For example, a single bolus may be administered, several divided doses may be administered over time or the dose may be proportionally reduced or increased as indicated by the exigencies of the therapeutic situation. It is especially advantageous to formulate parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration
20 and uniformity of dosage. Dosage unit form as used herein refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the mammalian subjects to be treated, each unit containing a predetermined quantity of active compound calculated to produce the desired therapeutic effect in association with the required pharmaceutical carrier. The specification for the dosage unit forms of the invention are dictated by and directly dependent on (a) the unique characteristics of the antibody and the particular therapeutic or prophylactic effect to be achieved, and (b) the limitations inherent in the art of compounding such an active
25 compound for the treatment of sensitivity in individuals.

An exemplary non-limiting range for a therapeutically effective amount of an antibody administered according to the invention is at least about 1 mg/kg, at least about 5 mg/kg, at least about 10 mg/kg, more than about 10 mg/kg, or at least about 15 mg/kg, for example about 1-30 mg/kg, or for example about 1-25
30 mg/kg, or for example about 1-20 mg/kg, or for example about 5-20 mg/kg, or for example about 10-20 mg/kg, or for example about 15-20 mg/kg, or for example, about 15 mg/kg. It is to be noted that dosage values may vary with the type and severity of the condition to be alleviated, and may include single or multiple doses. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person
35 administering or supervising the administration of the compositions, and that dosage ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed composition. Determining appropriate dosages and regimens for administration of the antibody are well-known in the relevant art and would be understood to be encompassed by the skilled artisan once provided the teachings disclosed herein.

29
30

In one embodiment, the antibody is administered in an intravenous formulation as a sterile aqueous solution containing about 5 to 20 mg/ml of antibody in an appropriate buffer system.

In one embodiment, for administration of low doses, part of the dose is administered by an intravenous bolus and the rest by infusion of the antibody formulation. For example, a 0.01 mg/kg intravenous injection of the antibody may be given as a bolus and the rest of a predetermined antibody dose may be administered by intravenous infusion. In another embodiment, the entire low dose is administered as a single bolus injection. For higher doses, e.g. 3 mg/kg, the antibody is not administered as a bolus, but the entire amount is administered by infusion. A predetermined dose of the antibody may be administered for example over a period of about an hour and a half to about five hours.

The present invention relates to administering a combination of an anti-CTLA4 antibody and an aromatase inhibitor. The skilled artisan would appreciate that the combination can be administered simultaneously or the two agents can be administered at different times. For instance, in one embodiment, the antibody is administered as a single injection and/or infusion and the aromatase inhibitor (e.g. exemestane) is administered once per day commencing before, during, or after administration of the antibody. Typically exemestane is administered daily once per day usually at the same time of the day and accompanied with a meal. However the present invention is not limited to any particular dosage or administration regimen for an aromatase inhibitor. Rather the optimal dose, route and regimen for administration of the antibody and the aromatase inhibitor can be readily determined by one of ordinary skill in the relevant art using well-known methods.

For instance, a single dose or multiples doses of the antibody may be administered. Alternatively at least one dose or at least three, six or 12 doses may be administered. The doses may be administered, for example, every two weeks, monthly, every twenty days, every 25 days, every 28 days, every 30 days, every 40 days, every 6 weeks, every 50 days, every two months, every 70 days, every 80 days, every three months, every six months or yearly. In addition, the aromatase inhibitor can be administered daily, several times or once per day, weekly, every other week, every third week, every fourth week, monthly, every three months, every six months, once per year or any other period that provides a therapeutic benefit to the patient as determined by the skilled practitioner.

The antibody can be administered until disease progression or intolerable toxicity or up to 12 consecutive cycles, whichever time is shorter. The antibody can also be administered using a regimen comprising administration of a loading dose followed by a lower dose. Repeat courses of at least one and more preferably several cycles of antibody and an aromatase inhibitor can be administered to a patient that experiences a tumor recurrence who had previously derived benefit from administration of the combination of an anti-CTLA4 antibody and an aromatase inhibitor.

In one embodiment, a single injection comprising the anti-CTLA4 antibody is administered to a patient intravenously at a dose of about 3 mg/kg every twenty-eight days. A dose of approximately 25 mg per day of exemestane is also administered to the patient, either before, during and/or after administration of the antibody. In an embodiment of the invention, a single dose comprising the anti-CTLA4 antibody is administered to a patient intravenously at a dose of about 3 mg/kg, preferably about 6 mg/kg, more preferably about 10 mg/kg, preferably about 15 mg/kg, every three months. A dose of approximately 25 mg per day of exemestane is also administered to the patient, either before, during and/or after

30
31

administration of the antibody. In another embodiment, a bolus injection comprising an anti-CTLA4 antibody is administered to a patient intravenously at a dose higher than 3 mg/kg (e.g. 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35 or 40 mg/kg) every twenty-eight days. The dose can be adjusted as known in the art based on, among other factors, toxicity if any and therapeutic effectiveness. A dose of approximately 25 mg per day of exemestane is also administered to the patient, either before, during and/or after administration of the antibody.

The antibody-aromatase inhibitor combination can be administered as a first line systemic adjuvant therapy or it can be administered to the patient as a neoadjuvant therapy prior to surgery, radiation therapy or any other treatment, in order to sensitize the tumor cells or to otherwise confer a therapeutic benefit to the patient.

Further, the combination can be administered as a second line therapy, such as, but not limited to, once tamoxifen first line therapy has failed. Alternatively, the combination can be administered concurrently with tamoxifen therapy and/or at any point during tamoxifen therapy which typically is administered for about five years following initial treatment. In another embodiment, the combination of anti-CTLA4 antibody and exemestane may be administered to a patient following about two or three years of tamoxifen or other adjuvant therapy. This is because it has been demonstrated that exemestane therapy following about two to three years of tamoxifen therapy provides a therapeutic benefit while reducing the side effects of tamoxifen therapy.

Thus, a combination of an anti-CTLA4 antibody and an aromatase inhibitor, preferably exemestane, can provide a therapeutic benefit once tamoxifen therapy has failed, once systemic adjuvant therapy using another aromatase inhibitor (e.g. anastrozole, letrozole and the like) has failed and/or after tamoxifen administration for about two to three years, among others. Therefore, the invention encompasses administration of an anti-CTLA4 antibody and an aromatase inhibitor in combination with or following additional antihormonal therapy including, but not limited to, tamoxifen, anastrozole, letrozole and fulvestrant as would be appreciated by one skilled in the art based upon the disclosure provided herein.

III. Anti-CTLA4 Antibodies

In one embodiment, the CTLA4 antibody used in the invention comprises a heavy chain wherein the amino acid sequence of the V_H comprises the amino acid sequences set forth in SEQ ID NOs: 3, 15 and 27. In yet another embodiment, the V_L of the CTLA4 antibody comprises the amino acid sequences set forth in SEQ ID NOs: 9, 21 and 33. More preferably, the V_H and V_L regions of the antibody comprise the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO: 3 (V_H 4.1.1) and SEQ ID NO: 9 (V_L 4.1.1), respectively; the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO: 15 (V_H 4.13.1) and SEQ ID NO: 21 (V_L 4.13.1), respectively; and the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO: 27 (V_H 11.2.1) and SEQ ID NO: 33 (V_L 11.2.1), respectively. Most preferably, the antibody is tixilimumab (also known as CP-675,206) which has the heavy and light chain amino acid sequences of antibody 11.2.1.

In yet another embodiment, the amino acid sequence of the heavy chain comprises the amino acid sequence encoded by a nucleic acid comprising the nucleic acid sequences set forth in SEQ ID NOs: 1, 13, and 25. In yet another embodiment, the light chain comprises the amino acid sequence encoded by a nucleic acid comprising the nucleic acid sequences set forth in SEQ ID NOs: 7, 19 and 31.

31
32

More preferably the heavy and light chains comprise the amino acid sequences encoded by nucleic acids comprising the nucleic acid sequences set forth in SEQ ID NO-1 (heavy chain 4 1 1) and SEQ ID NO-7 (light chain 4 1 1) respectively the nucleic acid sequences set forth in SEQ ID NO-13 (heavy chain 4 13 1) and SEQ ID NO-19 (light chain 4 13 1) respectively and the nucleic acid sequences set forth in
5 SEQ ID NO-25 (heavy chain 11 2.1) and SEQ ID NO-31 (light chain 11.2 1) respectively

Furthermore the antibody can comprise a heavy chain amino acid sequence comprising human CDR amino acid sequences derived from the V_H 3-30 or 3-33 gene or conservative substitutions or somatic mutations therein. It is understood that the V_H 3-30 or V_H 3-33 gene encodes from FR1 through FR3 of the heavy chain variable region of an antibody molecule. Thus the invention encompasses an
10 antibody that shares at least 85% more preferably at least 90% yet more preferably at least 91% even more preferably at least 94% yet more preferably at least 95% more preferably at least 97% even more preferably at least 98% yet more preferably at least 99% and most preferably 100% identity with the sequence from FR1 through FR3 of an antibody selected from the group consisting of 3.1 1 4 1 1 4.8 1 4 10.2 4.13 1 4 14.3 6.1 1 11.2 1 11.6 1 11.7 1 12.3.1 1 2.9 1 1 10D1 and DP-50.

The antibody can further comprise CDR regions in its light chain derived from the A27 or the O12 gene or it may comprise the CDR regions of an antibody selected from the group consisting of 3.1 1 4 1 1 4.8 1 4 10.2 4 13.1 4 14.3 6.1 1 11.2 1 11.6 1 11.7 1 12.3.1 1 2.9 1 1 10D1
15

In other embodiments of the invention, the antibody inhibits binding between CTLA4 and B7-1 B7 2, or both. Preferably the antibody can inhibit binding with B7-1 with an IC₅₀ of about 100 nM or lower more preferably about 10 nM or lower for example about 5 nM or lower yet more preferably about 2 nM or lower or even more preferably for example about 1 nM or lower. Likewise the antibody can inhibit binding with B7 2 with an IC₅₀ of about 100 nM or lower more preferably 10 nM or lower for example even more preferably about 5 nM or lower yet more preferably about 2 nM or lower or even more preferably about 1 nM or lower
20

Further in another embodiment, the anti-CTLA4 antibody has a binding affinity for CTLA4 of about 10⁻⁸ or greater affinity more preferably about 10⁻⁹ or greater affinity more preferably about 10⁻¹⁰ or greater affinity and even more preferably about 10⁻¹¹ or greater affinity
25

The anti-CTLA4 antibody includes an antibody that competes for binding with an antibody having heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4 1 1 6.1 1 11.2.1 4 13.1 and 4 14.3. Further the anti-CTLA4 antibody can compete for binding with antibody 10D1
30

In another embodiment, the antibody preferably cross-competes with an antibody having a heavy and light chain sequence, a variable heavy and a variable light chain sequence and/or the heavy and light CDR sequences of antibody 4 1 1 4.13 1 4 14.3 6.1 1 or 11.2.1. For example, the antibody can bind to the epitope to which an antibody that has heavy and light chain amino acid sequences, variable sequences and/or CDR sequences, of an antibody selected from the group consisting of 4 1 1 4 13.1 4 14.3 6.1 1 or 11.2 1 binds. In another embodiment, the antibody cross-competes with an antibody having heavy and light chain sequences or antigen-binding sequences of 10D1 (MDX-D010).
35

In another embodiment, the invention is practiced using an anti-CTLA4 antibody that comprises a heavy chain comprising the amino acid sequences of CDR-1 CDR-2 and CDR-3 and a light chain
40

32
33

comprising the amino acid sequences of CDR-1 CDR-2 and CDR-3, of an antibody selected from the group consisting of 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 and 12.9.1.1 or sequences having changes from the CDR sequences selected from the group consisting of conservative changes wherein the conservative changes are selected from the group consisting of replacement of nonpolar residues by other nonpolar residues replacement of polar charged residues other polar uncharged residues replacement of polar charged residues by other polar charged residues and substitution of structurally similar residues non-conservative substitutions wherein the non-conservative substitutions are selected from the group consisting of substitution of polar charged residue for polar uncharged residues and substitution of nonpolar residues for polar residues, additions and deletions

In a further embodiment of the invention the antibody contains fewer than 10 7 5 or 3 amino acid changes from the germline sequence in the framework or CDR regions. In another embodiment, the antibody contains fewer than 5 amino acid changes in the framework regions and fewer than 10 changes in the CDR regions. In one preferred embodiment, the antibody contains fewer than 3 amino acid changes in the framework regions and fewer than 7 changes in the CDR regions. In a preferred embodiment, the changes in the framework regions are conservative and those in the CDR regions are somatic mutations.

In another embodiment, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 94% preferably at least 95% more preferably at least 99% sequence(e.g. amino acid nucleic acid or both) identity or sequence similarity over the heavy and light chain full-length sequences, or over the heavy or the light chain separately with the sequences of antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 10D1 Even more preferably the antibody shares 100% sequence identity or sequence similarity over the heavy chain and the light chain or with the heavy chain or the light chain separately of an antibody selected from antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 10D1

In another embodiment, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably, at least 90% yet more preferably at least 94% more preferably at least 95% even more preferably at least 99% sequence identity or sequence similarity over the heavy and light chain full-length sequences, or over the heavy or the light chain separately with the sequences of germline V_H A27 germline V_L O12, and germline DP50 (which is an allele of the V_H 3-33 gene locus) Even more preferably the antibody shares 100% sequence identity or sequence similarity over the heavy chain sequence of germline DP50 and/or with the light chain sequence of germline A27, or germline O12

In one embodiment, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 94% preferably at least 95%, more preferably at least 99% sequence(e.g. amino acid nucleic acid or both) identity or sequence similarity over the heavy and light chain variable region sequences, or over the heavy or the light chain variable region sequence separately with the sequences of antibody 3.1.1, 4.1.1 4.8.1, 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 10D1 Even more preferably the antibody shares 100% sequence identity or sequence similarity over the heavy chain and the light chain variable region

23
34

sequences, or with the heavy chain or the light chain sequence separately of an antibody selected from antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1, 10D1

In another embodiment, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 94% more preferably at least 95% even more preferably at least 99% sequence identity or sequence similarity over heavy chain variable region sequence with the heavy chain variable sequence of heavy germline DP50 (which is an allele of the V_H 3-33 gene locus) or with the light chain variable sequence of germline V_L A27 or germline V_L O12. Even more preferably the antibody heavy chain region sequence shares 100% sequence identity or sequence similarity with the sequence of germline DP50 or with the light chain sequence of germline A27 or germline O12.

In one embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95% more preferably at least 99% sequence identity or sequence similarity with the heavy chain the light chain or both sequences from FR1 through FR4 with the FR1 through FR4 region sequences of antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 10D1. Even more preferably the antibody shares 100% sequence identity or sequence similarity over the heavy light, or both sequences from FR1 through FR4 with antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2, 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 and 10D1.

In another embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95% more preferably at least 99% and most preferably about 100% sequence identity or sequence similarity with the heavy chain sequences from FR1 through FR3 with the FR1 through FR3 region sequences of germline DP50.

In yet another embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95% more preferably at least 99% and most preferably about 100%, sequence identity or sequence similarity with the light chain sequences from FR1 through FR4 with the FR1 through FR4 region sequences of germline V_L A27 or germline V_L O12.

In one embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95%, more preferably at least 99% sequence identity or sequence similarity with the heavy chain the light chain, or both CDR-1 CDR-2 and CDR-3 sequences of antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2, 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1, 12.9.1.1, 10D1. Even more preferably the antibody shares 100% sequence identity or sequence similarity over the heavy light, or both CDR 1 CDR-2 and CDR-3 sequences with antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3, 6.1.1 11.2.1 11.6.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1, and 10D1.

In another embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80%, more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95% more preferably at least 99% and most preferably about 100% sequence identity or sequence similarity with the heavy chain CDR-1 and CDR-2 sequences with the CDR-1 and CDR-2 sequences of germline DP50.

34
35

In yet another embodiment of the present invention, the antibody shares at least 80% more preferably at least 85% even more preferably at least 90% yet more preferably at least 95% more preferably at least 99% and most preferably about 100% sequence identity or sequence similarity with the light chain CDR 1 CDR-2 and CDR-3 sequences with the CDR-1 CDR-2 and CDR-3 sequences of germline V_HA27 or germline V_HO12

Examples of antibodies employable in the present invention, and methods of producing them are described in, among others, U.S. Patent Application No. 09/472,087 now issued as U.S. Patent No. 6,682,736 Int. Appl. No. PCT/US00/23366 (published March 1 2001 as WO 01/14424) (e.g. antibody 10D1 also known as MDX-010, Medarex, Princeton, NJ), Int. Appl. No. PCT/US98/28739 (published June 8 2000 as WO 00/32231) U.S. Pat. Nos. 5,811,097 5,855,887 6,061,227 and 6,207,166, each of which is incorporated by reference herein. While information on the amino and nucleic acid sequences relating to these antibodies is provided herein, further information can be found in U.S. Patent No. 6,682,736 as well as WO 00/37504, the sequences set forth in those applications are hereby incorporated herein by reference.

Certain uses for these antibodies to treat various cancers were discussed in U.S. Patent Application No. 10/153,382, now published as U.S. Patent Application Publication No. 2003/0086930 which is incorporated by reference as if set forth in its entirety herein.

Characteristics of human anti-CTLA4 antibodies useful in the methods of the invention are extensively discussed in e.g. U.S. Patent No. 6,682,736, and include antibodies having amino acid sequences of an antibody such as but not limited to antibody 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.8.1 11.7.1 12.3.1.1 12.9.1.1 and 10D1. The invention also relates to methods using antibodies comprising the amino acid sequences of the CDRs of the heavy and light chains of these antibodies as well as those comprising changes in the CDR regions, as described in the above-cited applications and patent. The invention also concerns antibodies comprising the variable regions of the heavy and light chains of those antibodies. In another embodiment, the antibody is selected from an antibody comprising the full length variable region or CDR amino acid sequences of the heavy and light chains of antibodies 3.1.1 4.1.1 4.8.1 4.10.2 4.13.1 4.14.3 6.1.1 11.2.1 11.8.1 11.7.1 12.3.1.1 and 12.9.1.1 and 10D1.

While the anti-CTLA4 antibodies discussed previously herein may be preferred, the skilled artisan, based upon the disclosure provided herein, would appreciate that the invention encompasses a wide variety of anti-CTLA4 antibodies and is not limited to these particular antibodies. More particularly while human antibodies are preferred, the invention is in no way limited to human antibodies; rather the invention encompasses useful antibodies regardless of species origin and includes, among others, chimeric, humanized and/or primatized antibodies. Also, although the antibodies exemplified herein were obtained using a transgenic mammal, e.g. a mouse comprising a human immune repertoire, the skilled artisan, based upon the disclosure provided herein, would understand that the present invention is not limited to an antibody produced by this or by any other particular method. Instead, the invention includes an anti-CTLA4 antibody produced by any method, including, but not limited to, a method known in the art (e.g. screening phage display libraries and the like) or to be developed in the future for producing an anti-CTLA4 antibody of the invention. Based upon the extensive disclosure provided herein and in e.g. U.S. Patent No. 6,682,736 to Hanson et al. and U.S. Pat. App. Pub. No. 2002/0086014, one skilled in the

35
36

art can readily produce and identify an antibody useful for treatment of breast cancer in combination with a hormonal therapeutic agent using the novel methods disclosed herein.

The present invention encompasses human antibodies produced using a transgenic non-human mammal, *i.e.* Xenomouse™ (Abgenix, Inc. Fremont, CA) as disclosed in the U.S. 6,882,736 to Hanson et al.

Another transgenic mouse system for production of "human" antibodies is referred to as HuMAB-Mouse™ (Medarex, Princeton, NJ), which contains human immunoglobulin gene miniloci that encode unrearranged human heavy (mu and gamma) and kappa light chain immunoglobulin sequences, together with targeted mutations that inactivate the endogenous mu and kappa chain loci (Lonberg et al. *Nature* 368:856-859 (1994) and U.S. Pat. No. 5,770,429).

However, the invention uses human anti-CTLA4 antibodies produced using any transgenic mammal such as, but not limited to, the Kiri TC Mouse™ (Kiri Beer Kabushiki Kaisha, Tokyo, Japan) as described in, *e.g.* Tomizuka et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:722 (2000); Kurohwa et al. *Nature Biotechnol* 18:1086 (2000); U.S. Patent Application Publication No. 2004/0120948, to Miyayama et al. and the HuMAB-Mouse™ (Medarex, Princeton, NJ) and Xenomouse™ (Abgenix, Inc. Fremont, CA) *supra*. Thus, the invention encompasses using an anti-CTLA4 antibody produced using any transgenic or other non-human animal.

In another embodiment, the antibodies employed in methods of the invention are not fully human, but "humanized." In particular, murine antibodies or antibodies from other species can be "humanized" or "primalized" using techniques well known in the art. See *e.g.* Winter and Harris *Immunol. Today* 14:43-48 (1993); Wright et al. *Crit. Reviews in Immunol.* 12:125-168 (1992); and US Patent No. 4,816,567 to Capillary et al. and Mage and Lamoyi in *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications* pp. 79-97 Marcel Dekker Inc., New York, NY (1987). Thus, humanized chimeric antibodies, anti-CTLA4 antibodies derived from any species (including single chain antibodies obtained from camelids as described in, *e.g.* U.S. Pat. Nos. 5,759,808 and 6,785,087 to Casterman and Hamers) as well as any human antibody can be combined with a therapeutic agent to practice the novel methods disclosed herein.

As will be appreciated based upon the disclosure provided herein, antibodies for use in the invention can be obtained from a transgenic non-human mammal and hybridomas derived therefrom, but can also be expressed in cell lines other than hybridomas.

Mammalian cell lines available as hosts for expression are well known in the art and include many immortalized cell lines available from the American Type Culture Collection (ATCC) including but not limited to Chinese hamster ovary (CHO) cells, NS0, Sp2, HEK, HeLa cells, baby hamster kidney (BHK) cells, monkey kidney cells (COS) and human hepatocellular carcinoma cells (*e.g.* Hep G2). Non-mammalian prokaryotic and eukaryotic cells can also be employed, including bacterial, yeast, insect, and plant cells.

Various expression systems can be used as well known in the art, such as, but not limited to, those described in, *e.g.*, Sambrook and Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Approach*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2001) and Ausubel et al. *Current Protocols in Molecular Biology* John Wiley & Sons, NY (2002). These expression systems include dihydrofolate reductase (DHFR)-based systems, among many others. The glutamine synthetase system of expression is discussed in whole or part in connection with European Patents No. 0213846B1, No. 0256055B1 and No. 0323997B1 and European

36
37

Patent Application No. EP89303964. In one embodiment, the antibody used is made in NS0 cells using a glutamine synthetase system (GS-NS0). In another embodiment, the antibody is made in CHO cells using a DHFR system. Both systems are well-known in the art and are described in, among others, Barnes et al. *Biotech & Bioengineering* 73:261-270 (2001) and references cited therein.

5 Site directed mutagenesis of the antibody CH2 domain to eliminate glycosylation may be preferred in order to prevent changes in either the immunogenicity, pharmacokinetic, and/or effector functions resulting from non-human glycosylation. Further the antibody can be deglycosylated by enzymatic (see, e.g. Thotakura et al. *Meth. Enzymol.* 138:350 (1987)) and/or chemical methods (see, e.g. Hakimuddin et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 (1987)).

10 Further the invention encompasses using an anti-CTLA4 antibody comprising an altered glycosylation pattern. The skilled artisan would appreciate, based upon the disclosure provided herein, that an anti-CTLA4 antibody can be modified to comprise additional, fewer or different glycosylation sites compared with the naturally-occurring antibody. Such modifications are described in, e.g. U.S. Patent Application Publication Nos. 2003/0207336, and 2003/0157108, and International Patent Publication Nos. WO 01/81405 and 00/24893.

15 Additionally the invention comprises using an anti-CTLA4 antibody regardless of the glycoform if any present on the antibody. Moreover methods for extensively remodeling the glycoform present on a glycoprotein are well-known in the art and include, e.g. those described in International Patent Publication Nos. WO 03/031464, WO 98/58984, and WO 98/22764, and US Patent Application Publication Nos. 2004/0063911, 2004/0132840, 2004/0142856, 2004/0072290, and US Patent No. 6,602,864 to Umasta et al.

20 Further the invention encompasses using an anti-CTLA4 antibody with any art-known covalent and non-covalent modification, including, but not limited to, linking the polypeptide to one of a variety of nonproteinaceous polymers, e.g. polyethylene glycol, polypropylene glycol, or polyoxyalkylenes, in the manner set forth in, for example, U.S. Patent Application Publication Nos. 2003/0207346 and 2004/0132840, and U.S. Pat. Nos. 4,640,835, 4,496,889, 4,301,144, 4,670,417, 4,791,192, 4,179,337.

25 Additionally the invention encompasses using an anti-CTLA4 antibody or antigen-binding portion thereof, chimeric protein comprising, e.g. a human serum albumin polypeptide, or fragment thereof. Whether the chimeric protein is produced using recombinant methods by, e.g. cloning of a chimeric nucleic acid encoding the chimeric protein, or by chemical linkage of the two peptide portions, the skilled artisan would understand once armed with the teachings provided herein that such chimeric proteins are well-known in the art and can confer desirable biological properties such as, but not limited to, increased stability and serum half-life to the antibody of the invention and such molecules are therefore included herein.

30 Antibodies that are generated for use in the invention need not initially possess a particular desired isotype. Rather the antibody as generated can possess any isotype and can be isotype switched thereafter using conventional techniques. These include direct recombinant techniques (see, e.g., U.S. Patent 4,816,397), and cell-cell fusion techniques (see, e.g. U.S. Patent No. 5,916,771).

35 The effector function of the antibodies used in the invention may be changed by isotype switching to an IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, or IgM for various therapeutic uses. Furthermore, dependence on complement for cell killing can be avoided through the use of bispecifics, immunotoxins, or radiolabels, for example.

40

38
30

Although antibody 4.1.1.4.13.1 and 11.2.1 are IgG2 antibodies and the sequences of the variable regions of the antibodies are provided herein (Figures 1-3) and in the applications and patents referenced and incorporated herein. It is understood that the full-length sequences of these antibodies are encompassed herein, as well as the use of any antibody comprising the sequences set forth in SEQ ID
5 NOs. 1-36 and further comprising any constant region regardless of isotype as more fully discussed elsewhere herein. Likewise, any antibody comprising the full-length sequence of 10D1 or any portion thereof, including a sequence encoding an antigen-binding portion of 10D1, can be used according to the methods of the invention.

Thus, the skilled artisan, once provided with the teachings provided herein, would readily
10 appreciate that the anti-CTLA4 antibody-therapeutic agent combination of the invention can comprise a wide plethora of anti-CTLA4 antibodies.

Further, one skilled in the art, based upon the disclosure provided herein, would understand that the invention is not limited to administration of only a single antibody; rather, the invention encompasses administering at least one anti-CTLA4 antibody, e.g., one of 4.1.1.4.13.1, or 11.2.1, in combination with a
15 therapeutic agent. Further, any combination of anti-CTLA4 antibodies can be combined with at least one therapeutic agent and the present invention encompasses any such combination and permutation thereof.

IV. Aromatase Inhibitor

The present invention relates to administering a combination of an anti-CTLA4 antibody and an
20 aromatase inhibitor to a patient for treatment of breast cancer.

Hormone therapy agents for treatment of estrogen receptor-expressing breast cancer tumors are well-known in the art. These hormonal therapy agents include compounds that affect the receptor itself, such as, but not limited to, tamoxifen, which binds with the receptor, thereby inhibiting receptor-ligand interaction, and fulvestrant, which degrades the receptor such that less is available to mediate signaling
25 via receptor-ligand interaction.

Additionally, hormone therapy agents comprise inhibitors of the aromatase enzyme, such as, but not limited to, anastrozole, letrozole, and exemestane. These antihormonal agents, unlike tamoxifen and fulvestrant, *supra*, inhibit receptor-ligand interaction by decreasing the level of ligand available to bind with the receptor. More specifically, an aromatase inhibitor inhibits the aromatization of the A ring of an
30 androgen substrate to form an estrogen, which is a necessary step in the biosynthesis of the receptor ligand, i.e., estrogen. Thus, the aromatase inhibitors mediate decreased serum levels of estrogen, thereby inhibiting growth of tumor cells requiring the hormone for growth.

Non-steroidal aromatase inhibitors ("AI") such as, but not limited to, anastrozole and letrozole, bind reversibly to the heme portion of the aromatase molecule and are associated with an increase in
35 aromatase activity. This may be associated with development of tumor resistance, particularly with long-term use of the inhibitor. Further, the biosynthesis of estrogen in the presence of these inhibitors can occur without the need for synthesis of new aromatase, since the inhibitor is bound reversibly to the enzyme (see Miller, *Clin Breast Cancer* 1:S9-S14 (2000)), thereby also providing another opportunity for tumor cells to avoid the inhibition.

38
39

Steroidal aromatase inhibitors, such as exemestane, differ from the non-steroidal inhibitors (e.g. anastrozole and letrozole) in that the steroidal agents bind irreversibly to the substrate-binding site of the enzyme and are associated with a decrease in aromatase activity. For instance, exemestane is structurally related to the natural substrate androstenedione, and is recognized by the enzyme as a false substrate such that it competes with the natural substrate at the active site. Exemestane is then transformed to an intermediate that binds irreversibly to the enzyme causing its inactivation (i.e. "suicide inhibition"). See e.g. U.S. Patent Application No. 10/611,653, published as U.S. Pat. App. Pub. No. 2004/0082557; U.S. Patent Application No. 10/363,935, published as U.S. Pat. App. Pub. No. 2004/0024044; and U.S. Patent Application No. 10/343,695, published as U.S. Pat. App. Pub. No. 2003/0158168.

Thus, unlike reversible non-steroidal inhibitors, exemestane is a steroidal aromatase inactivator that binds irreversibly to aromatase, causing nearly complete suppression of aromatase activity in peripheral tissues, as well as in the tumor, and mediates substantial lowering of serum estrogen levels without extraneous endocrinologic effects (Kaufmann et al. *J Clin Oncol* 18:1399-1411 (2000)). Exemestane is currently approved in the US, Canada, and Europe for second-line treatment (e.g. where the disease has progressed following tamoxifen first line therapy) of postmenopausal women with metastatic breast cancer. Exemestane produces a response rate of approximately 15% with a median survival of 123.4 weeks and demonstrates a lack of cross-resistance with the non-steroidal agents such that it has been shown to be effective after anastrozole and letrozole treatment (Gelber et al. *Clin Cancer Res* 4:2089-2093 (1998); Lonning *J Clin Oncol* 18:2234-2244 (2000)). More recently, exemestane has been approved in Europe for adjuvant treatment of estrogen receptor positive invasive early breast cancer following two-to-three years of initial adjuvant tamoxifen therapy in post-menopausal women.

Because its intermediate is bound irreversibly, exemestane, unlike the non-steroidal aromatase inhibitors, further prevents the biosynthesis of estrogens in that *de novo* synthesis of aromatase enzyme is required. Moreover, the different mechanism of action of the non-steroidal and steroidal aromatase inhibitors may explain the phenomenon that one aromatase inhibitor can be effective following failure of another. More particularly, treatment of postmenopausal breast cancer patients treated with exemestane following failure of both tamoxifen and a non-steroidal aromatase inhibitor provided a clinical benefit (Lonning et al. *J Clin Oncol* 18:2234-2244 (2000)).

Thus, anti-CTLA4 antibody in combination with any aromatase inhibitor or multiple inhibitors, can be used to treat a breast cancer patient where the tumor expresses estrogen receptor (ER+). Further, although the present invention is exemplified by a combination comprising exemestane, the invention is in no way limited to this inhibitor or its mechanism of inhibition. Indeed, the mechanism by which the aromatase inhibitor inhibits the enzyme need not be known. Thus, any inhibitor that detectably inhibits aromatization of the A ring of a substrate in the biosynthesis of estrogen using any known assay for assessing such activity can be used in the combination of the invention.

V. Additional Agents

The present invention may be further combined with additional agents and therapies, e.g. chemotherapy, surgery, radiotherapy, transplantation, and the like, to treat a patient. That is, the patient

may be subjected to additional chemotherapy with agents well-known such as, but not limited to, growth factor inhibitors, biological response modifiers, alkylating agents, intercalating antibiotics, vinca alkaloids, immunomodulators, taxanes, selective estrogen receptor modulators (SERMs) such as, but not limited to, lasofoxifene, and angiogenesis inhibitors.

Therapeutic agents are numerous and have been described in, for instance U.S. Patent Application Publication No. 2004/0006318, No. 2003/0086930, No. 2002/0086014, and International Publication No. WO 03/086459, all of which are incorporated by reference herein, among many others. Such therapeutic agents include, but are not limited to, topoisomerase I inhibitors, other antibodies (rituximab, bevacizumab, trastuzumab, anti-IGF 1R antibody [e.g. CP-751 871], anti-CD40 antibody [e.g. CP-870 893], and the like), chemotherapeutic agents such as, but not limited to, imatinib (GLEEVEC) SU11248 (SUTENT, sunitinib), SU12662, SU14813, BAY 43-9006, AG-O13736 (axitinib), toll-like receptor stimulating agents (e.g. TLR-9 agonist such as, but not limited to, CPG-7909, also referred to as PF03512676 or PROMUNE), indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) inhibitors, selective estrogen receptor modulators (SERMs, e.g. lasofoxifene), taxanes, vinca alkaloids, temozolomide, angiogenesis inhibitors, EGFR inhibitors, VEGF inhibitors, erbB2 receptor inhibitors, anti-proliferative agents (e.g. farnesyl protein transferase inhibitors and cyp3 inhibitors, cyp5 inhibitors, p53 inhibitors, and the like), immunomodulators, biological response modifiers, cytokines, tumor vaccines, tumor-specific antigens, heat shock protein-based tumor vaccines, dendritic and stem cell therapies, alkylating agents, folate antagonists, pyrimidine antagonists, anthracycline antibiotics, platinum compounds, immune costimulatory molecules (e.g. CD4, CD25, PD-1, B7-H3, 4-1BB, OX40, ICOS, CD30, HLA-DR, MHCII, and LFA) and agonist antibodies thereto, among many others.

In one embodiment, the methods of the invention may be further combined with transplantation, e.g. stem cell transplantation, to provide a therapeutic benefit to a patient afflicted with breast cancer. Stem cell transplantation may be performed according to the methods known in the art and may be allogeneic or autologous stem cell transplantation. Additionally, one skilled in the art would appreciate, based upon the disclosure provided herein, that transplantation encompasses adoptive transfer of lymphocytes, either autologous or obtained from an HLA-matched donor. Where the method comprises stem cell transplant, the first dose of the antibody-AI therapy agent combination can be administered after the immune system of the mammal has recovered from transplantation, for example, in the period of from one to 12 months post transplantation. In certain embodiments, the first dose is administered in the period of from one to three, or one to four months post transplantation. Transplantation methods are described in many treatises, including Appelbaum in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Chapter 14, Braunwald et al., Eds., 15th ed., McGraw-Hill Professional (2001), which is hereby incorporated herein by reference.

As pointed out previously herein, there are many chemotherapeutic agents currently available for the treatment of tumors that are suitable for use in the combination therapy of the present invention. For example, alkylating agents are a class of drugs that alkylate DNA, restricting uncoiling and replication of strands. A preferred alkylating agent for use in the methods of the present invention is cyclophosphamide (CYTOXAN).

40
41

Folate antagonists bind to dihydrofolate reductase (DHFR) and interfere with pyrimidine (thymidine) synthesis. Methotrexate and pemetrexed (ALIMTA) are folate antagonists suitable for use in the methods of the present invention. In addition to DHFR, pemetrexed also inhibits thymidylate synthase and glycylamide ribonucleotide formyl transferase, two other folate-dependant enzymes involved in thymidine synthesis.

Pyrimidine antagonists inhibit enzymes involved in pyrimidine synthesis. As pyrimidine analogs, they also interfere with DNA production by competing with normal nucleotides for incorporation into the DNA molecule. Pyrimidine antagonists suitable for use in the methods of the present invention include 5-fluorouracil (5-FU), capecitabine (XELODA), a prodrug of 5-deoxy-5-fluorouridine (5'-FDUR) which is enzymatically converted to 5-FU *in vivo*; and gemcitabine (GEMZAR).

Anthracycline antibiotics inhibit the uncoiling of DNA by intercalation between DNA strands. Anthracycline antibiotics include doxorubicin hydrochloride (ADRIAMYCIN), epirubicin hydrochloride (ELLENCE, PHARMORUBICIN), daunorubicin (CERUBIDINE, DAUNOXOME), and idarubicin hydrochloride (IDAMYCIN PFS, ZAVEDOS). Preferred anthracyclines for use with the present invention include doxorubicin and epirubicin.

Platinum compounds exert their anti-neoplastic effect by intercalation and intracalation between DNA strands, which inhibits uncoiling of the DNA. Platinum compounds useful in the methods of the present invention include cisplatin (PLATINOL), oxaliplatin (ELOXATIN), and carboplatin (PARAPLATIN).

Taxanes promote assembly of microtubules while inhibiting their disassembly into tubulin, thereby blocking a cell's ability to break down the mitotic spindle during mitosis. They have demonstrated significant activity against many solid tumors as single agent therapy and in combination with other chemotherapy agents. One embodiment of the combination therapy of the present invention includes the use of one or more taxanes in combination with an IGF-1R antibody. Suitable taxanes for use in combination with the IGF-1R antibody include docetaxel (TAXOTERE) and paclitaxel (TAXOL).

Taxane-derivatives, which may be active in cells resistant to doxorubicin, vinblastine, paclitaxel, docetaxel, and the like, include XRP 9981 (Sanofi Aventis) and are encompassed in the invention.

Vinca alkaloids, like taxanes, are "spindle poisons," acting on the microtubules that form the mitotic spindle. They inhibit mitosis by interfering with microtubule assembly, keeping the spindle from being formed. Vinca alkaloids include vindesine (ELDISINE), vinblastine sulfate (VELBAN), vincristine sulfate (ONCOVIN), and vinorelbine tartrate (NAVELBINE). A preferred vinca alkaloid for use in the methods of the present invention is vinorelbine.

BMS-247550 (brabepilone) promotes tubulin polymerization and microtubule stabilization, thereby arresting cells in the G2-M phase and inducing tumor cell apoptosis. This agent demonstrates activity against taxane-resistant cells.

Analogues of rapamycin, which bind and inhibit the mammalian target of rapamycin (mTOR), are also useful and include, among others, CCI-779 (temsirolimus, Wyeth) and RAD-001 (everolimus, CERTICAN, Novartis).

The camptothecin analogs act through inhibition of topoisomerase I, an enzyme critical for DNA replication and packaging. Levels of topoisomerase I are higher in tumor cells than in normal tissue. A camptothecin analog useful in the methods of the present invention is irinotecan (CAMPTOSAR).

At
42

In certain embodiments of the invention the above described methods are combined with a cancer vaccine. See e.g. Oh et al. *Cancer Res.* 64:2610-2618 (2004) (TARP epitopes and breast cancer), Kontani et al. *Int J Molec Med* 12:493-502 (2003) (dendritic cell vaccine targeting MUC1 mucin), Holmberg & Sandmaler *Expert Rev Vaccines* 3:269-277 (2004) (vaccination for breast or ovarian cancer).

5 That is, useful vaccines may be without limitation those comprised of breast cancer-associated antigens (e.g. HER 2/neu, mammaglobin prostate and breast tumor-associated protein [TARP], MUC1, CEA, sialyl-Tn and other carbohydrate antigens), other tumor cancer-associated antigens (e.g. p53 telomerase), anti-idiotypic antibodies such as 11D10, as well as vaccines comprising GM-CSF, DNA and cell-based vaccines, dendritic cell vaccines, recombinant viral (e.g. vaccinia virus) vaccines and heat shock protein (HSP) vaccines (e.g. HSPPC-98, Antigenics Inc.). Useful vaccines also include tumor vaccines, such as those formed of breast tumor cells, and may be autologous or allogeneic, and the vaccines may be peptide, DNA or cell-based.

15 Vaccines may be administered prior to, or subsequent to administration of the antibody-aromatase inhibitor combination, and when chemotherapy is part of the regimen, a vaccine may be administered prior to chemotherapy. In certain embodiments, the antibody-aromatase inhibitor combination of the invention may also be administered prior to chemotherapy. In yet other embodiments, the treatment can be combined with stem cell transplant. That is, the antibody-aromatase inhibitor combination can be administered before or after stem cell transplant. Vaccine may also be administered before or after stem cell transplantation and in certain embodiments concomitantly with the antibody.

20 The above described treatments can also be used with signal transduction inhibitors, such as agents that can inhibit EGFR (epidermal growth factor receptor) responses, such as EGFR antibodies, EGF antibodies, and molecules that are EGFR inhibitors, VEGF (vascular endothelial growth factor) inhibitors, such as VEGF receptors and molecules that can inhibit VEGF, and erbB2 receptor (HER2) inhibitors, such as organic molecules or antibodies that bind to the erbB2 receptor, for example, trastuzumab (HERCEPTIN, Genentech Inc., San Francisco, CA) and pertuzumab (2C4, OMNITARG, Genentech) which is a HER dimerization inhibitor (HDI).

30 EGFR inhibitors are described in, for example, in International Patent Publication Nos. WO 95/19970, WO 98/14461, WO 98/02434, and U.S. Patent No. 5,747,498, and such substances can be used in the present invention as described herein. EGFR-inhibiting agents include, but are not limited to, the monoclonal antibodies C226, anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Inc., New York, NY) and ABX-EGF (Abgenix Inc., Remont, CA), the compounds ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDX-447 (Mederex Inc., Annandale, NJ) and OLX-103 (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ), VRCTC-310 (Vertex Research) and EGF fusion toxin (Seragen Inc., Hopkinton, MA). These and other EGFR-inhibiting agents can be used in the present invention.

35 Compounds directed at inhibition of epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase (TK) represent a relatively new class of antineoplastic drugs that are useful in the method of the present invention. Many human cancers express members of the EGFR family on the cell surface. When a ligand binds to EGFR, it sets off a cascade of cellular reactions that result in increased cell division and influence other aspects of cancer development and progression, including angiogenesis, metastatic spread, and inhibition of apoptosis. EGFR TK inhibitors may selectively target one of the members of the

40

42
43

EGFR family (EGFR (also known as HER1 or ErbB-1) HER2/neu (also known as ErbB-2) HER3 (also known as ErbB-3) or HER4 (also known as ErbB-4)) or may target two or more of them. EGFR-TK inhibitors suitable for use in the present invention include gefitinib (IRESSA), erlotinib (TARCEVA), CI-1033 (Pfizer), GW2016 (GlaxoSmithKline), EKB-669 (Wyeth), PKI-166 (Novartis), CP-724,714 (Pfizer), and BIBX 1382 (Boehringer-Ingelheim). Additional EGFR-TK inhibitors are described in U.S. Patent No. 6,890,924.

VEGF inhibitors, for example SU-5416, SU-6668, SU-11248, SU-12662, SU-14813 (Sugen Inc., San Francisco, CA) as well as AG-013736 (Pfizer) can also be employed in combination with the antibody. VEGF inhibitors are described for example in International Patent Application No. PCT/IB99/00797 (filed May 3, 1999), International Patent Publication Nos. WO 98/24440, WO 95/21613, WO 98/61422, WO 98/50356, WO 98/10349, WO 97/32856, WO 97/22586, WO 98/54093, WO 98/02438, WO 98/16755, WO 98/02437, U.S. Patent Nos. 5,834,504, 5,883,113, 5,886,020 and 5,792,783. Other examples of some specific VEGF inhibitors useful in the present invention are IM862 (Cytran Inc., Kirkland, WA), IMC-1C11 monoclonal antibody, anti-VEGF monoclonal antibody of Genentech Inc., San Francisco, CA, and angiozyme, a synthetic ribozyme from Ribozyme (Boulder, CO) and Chiron (Emeryville, CA).

ErbB2 receptor inhibitors, such as GW-282974, GW-572016 (lapatinib) (Glaxo Wellcome plc) and the monoclonal antibodies AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc., Woodlands, TX), trastuzumab (HERCEPTIN, Genentech Inc., San Francisco, CA), pertuzumab (OMNITARG, 2C4, Genentech, a HER2 dimerization inhibitor, HDI), and 2B-1 (Chiron) can be combined with the antibody-aromatase inhibitor combination therapy. Other erbB2 receptor inhibitors are described in, for example, International Patent Publication Nos. WO 98/02434, WO 98/35146, WO 98/35132, WO 98/02437, WO 97/13760, WO 95/19970, U.S. Patent Nos. 5,587,458 and 5,877,305. ErbB2 receptor inhibitors useful in the present invention are also described in EP1029853 (published August 23, 2000) and in International Patent Publication No. WO 00/44728 (published August 3, 2000). The erbB2 receptor inhibitor compounds and substance described in the aforementioned PCT applications, U.S. patents, and U.S. provisional applications, as well as other compounds and substances that inhibit the erbB2 receptor can be used with the antibody and aromatase inhibitor combination in accordance with the present invention.

The treatments of the invention also be used with other agents useful in treating abnormal cell growth or cancer, including, but not limited to other agents capable of enhancing antitumor immune responses, such as additional, different, CTLA4 antibodies, and other agents also capable of blocking CTLA4, and anti-proliferative agents such as farnesyl protein transferase inhibitors, and $\alpha\beta 3$ inhibitors, such as the $\alpha\beta 3$ antibody VITAXIN, $\alpha\beta 5$ inhibitors, p53 inhibitors, and the like.

Where the antibody of the invention is administered in combination with another immunomodulatory agent, the immunomodulatory agent can be selected for example from the group consisting of a dendritic cell activator such as CD40 ligand and anti-CD40 agonist antibodies, as well as enhancers of antigen presentation, enhancers of T-cell trophism, inhibitors of tumor-related immunosuppressive factors, such as TGF- β (transforming growth factor beta) and IL-10. Preferred anti-CD40 agonist antibodies encompass antibodies disclosed in International Patent Application No. PCT/US02/38107 filed November 8, 2002, now published as International Patent Publication No. WO

43
44

-2B-

03/040170 and U.S. Patent Application No. 10/282,088 filed November 8, 2002, now published as U.S. Patent Publication No. US2003/0211100 including, but not limited to, an antibody having the heavy and light chain amino acid sequence of antibody 3.1.1 3.1.1 H-A78T 3.1.1 H-A78T V88A-V97A, 3.1.1 L L4M-L83V 3.1.1 H-A78T V88A-V97A/3.1.1 L L4M-L83V 7.1.2 10.8.3, 15.1.1 21.2.1 21.4.1 22.1.1 22.1.1 H C109A, 23.5.1 23.25.1 23.28.1 23.28.1 H-D16E, 23.28.1 and 24.2.1

The present treatment regimens may also be combined with antibodies or other ligands that inhibit tumor growth by binding to IGF 1R (insulin-like growth factor 1 receptor). Specific anti-IGF 1R antibodies that can be used in the present invention include those described in International Patent Application No. PCT/US01/51113, filed 12/20/01 and published as International Patent Publication No. WO02/053596, International Patent Application No. PCT/IB2004/002555, filed August 3, 2004 and published as International Patent Publication No. WO 2005/016967. Preferred anti-IGFR-1R antibodies encompass an antibody having the heavy and light chain amino acid sequence of e.g. antibody 2.12.1 2.13.2, 2.14.3 3.1.1 4.9.2 and 4.17.3.

The antibody of the invention may also be administered with cytokines such as IL-2, interferon (e.g. IFN- γ , IFN- α , etc.), GM-CSF, IL-12, IL-18, and FLT-3L.

The treatment regimens described herein may be combined with anti-angiogenesis agents such as MMP-2 (matrix-metalloproteinase 2) inhibitors, MMP-9 (matrix-metalloproteinase 9) inhibitors, and COX-II (cyclooxygenase II) inhibitors, can be used in conjunction with the antibody in the method of the invention. Examples of useful COX-II inhibitors include CELEBREX (celecoxib), valdecoxib, and rofecoxib. Examples of useful matrix metalloproteinase inhibitors are described in International Patent Publication Nos. WO 98/33172, WO 98/27583, WO 98/07697, WO 98/03518, WO 98/34918, WO 98/34915, WO 98/33788, WO 98/30588, WO 99/05719, WO 99/52910, WO 99/52889, WO 99/29867, European Patent Application Nos. 780386 (published June 25, 1997), 97304971 (filed July 8, 1997), 98308617 (filed October 29, 1999), 806046 (published July 13, 1994), 831788 (published July 28, 1999), 98302232 (filed March 25, 1999), International Application PCT/IB98/01113 (filed July 21, 1998), Great Britain patent application number 9912961 (filed June 3, 1999), United States Provisional Patent Application No. 60/148,464 (filed August 12, 1999), and U.S. Patent Nos. 5,863,949 and 5,861,510.

Preferred MMP-2 and MMP-9 inhibitors are those that have little or no activity inhibiting MMP-1. More preferred are those that selectively inhibit MMP-2 and/or MMP-9 relative to the other matrix-metalloproteinases (i.e. MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12, and MMP-13).

Some specific examples of MMP inhibitors useful in the present invention are AG-3340, RO 32-3655, RS 13-0830, and the compounds recited in the following list:

3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbonyl-cyclopentyl)-amino]-propionic acid

3-exo-3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic acid hydroxyamide

(2R, 3R) 1-[4-(2-chloro-4-fluoro-benzoyloxy)-benzenesulfonyl]-3-hydroxy-3-methyl-piperidine-2-carboxylic acid hydroxyamide;

4-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-4-carboxylic acid hydroxyamide

44
45

3-[[4-(4-fluoro-phenoxy) benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbamoyl-cyclobutyl)-amino]-propionic acid
 4-[4-(4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-4-carboxylic acid hydroxyamide
 (R) 3-[4-(4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-pyran-3-carboxylic acid
 hydroxyamide:

5 (2R, 3R) 1-[4-(4-fluoro-2 methyl-benzyloxy)-benzenesulfonyl]-3-hydroxy-3-methyl-piperidine-2
 carboxylic acid hydroxyamide:

3-[[4-(4-fluoro-phenoxy) benzenesulfonyl]-(1-hydroxycarbamoyl-1 methyl-ethyl)-amino]-propionic
 acid

10 3-[[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonyl]-(4-hydroxycarbamoyl-tetrahydro-pyran-4-yl)-amino]-
 propionic acid,

3-exo-3-[4 (4-chloro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic
 acid hydroxyamide:

3-endo-3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-8-oxa-bicyclo[3.2.1]octane-3-carboxylic
 acid hydroxyamide: and

15 (R) 3-[4-(4-fluoro-phenoxy)-benzenesulfonylamino]-tetrahydro-furan-3-carboxylic acid
 hydroxyamide:

and pharmaceutically acceptable salts and solvates of said compounds.

20 Radiation therapy can be administered in accordance to well-known radiotherapy methods for
 treatment of breast cancer. The dose and regimen for radiotherapy can be readily determined by one
 skilled in the art and is based on the stage of the disease, and other factors well-known in the art.

25 Co-administration of the antibody with an aromatase inhibitor (combination therapy) encompasses
 administering a pharmaceutical composition comprising both the anti-CTLA4 antibody and one or more
 aromatase inhibitor(s), and administering two or more separate pharmaceutical compositions, one
 comprising the anti-CTLA4 antibody and the other(s) comprising the aromatase inhibitor(s). Further
 although co-administration or combination (conjoint) therapy generally mean that the antibody and
 additional therapeutic agents are administered at the same time as one another, it also encompasses
 simultaneous, sequential or separate dosing of the individual components of the treatment. Additionally
 where an antibody is administered intravenously and the aromatase inhibitor is administered orally (e.g.
 exemestane), it is understood that their combination is preferably administered as two separate
 30 pharmaceutical compositions.

The present invention also encompasses the administration of other therapeutic agents in
 addition to the first and second components, either concurrently with one or more of those components, or
 sequentially before and/or after. Such therapeutic agents include cancer vaccines, anti-vascular agents,
 anti-proliferative agents, and palliative agents to provide supportive care, such as, but not limited to,
 35 analgesics, anti-emetic agents, anti-diarrheal agents, and steroids. Preferred anti-emetic agents include
 ondansetron hydrochloride, granisetron hydrochloride, and metoclopramide. Preferred anti-diarrheal
 agents include diphenoxylate and atropine (LOMOTIL), loperamide (IMMODIUM), octreotide
 (SANDOSTATIN), cisalazine (DIPENTUM), and mesalamine (ASACOL). Preferred steroids include the
 non-absorbable steroid budesonide (ENTOCORT), and the steroids for systemic administration
 40 dexamethasone (DECADRAN) and prednisone (METICORTEN).

45
46

Each administration may vary in its duration from a rapid administration to a continuous perfusion. As a result, for the purposes of the present invention, the combinations are not exclusively limited to those that are obtained by physical association of the constituents, but also to those that permit a separate administration, which can be simultaneous or spaced out over a period of time. The compositions according to the invention are preferably compositions which can be administered parentally. However, these compositions may be administered orally or intraperitoneally in the case of localized regional therapies.

As will be appreciated by one of skill in the art, the choice of therapeutic agents to be used in combination with anti-CTLA4 antibodies and aromatase inhibitor combination therapy and the timing of their use will be determined in part by the type and stage of the cancer that is being treated. For example, in early breast cancer (where the cancer has not spread outside the breast), surgery and radiation are generally followed by adjuvant chemotherapy or adjuvant hormonal therapy, either of which may be combined with the anti-CTLA4 antibody-aromatase inhibitor combination in the methods of the present invention. Typical adjuvant chemotherapy for early breast cancer includes cyclophosphamide, methotrexate and 5-FU ("CMF"); 5-FU, doxorubicin, and cyclophosphamide ("FAC"); docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide ("TAC"); doxorubicin and cyclophosphamide ("AC"); doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel ("AC and T") and 5-FU, epirubicin, and cyclophosphamide ("FEC"). As discussed previously elsewhere herein, tamoxifen is an antihormonal treatment administered at this stage. Thus, the antibody-aromatase inhibitor combination can be administered in combination with additional hormonal therapy (e.g., another aromatase inhibitor, tamoxifen, fulvestrant, or any combination thereof), and such combination can be coadministered in combination with an adjuvant chemotherapy therapy (e.g., CMF, FAC, TAC, AC, AC and T, and/or FEC, or the chemotherapeutic agents can be administered individually in combination with the antibody-aromatase inhibitor combination, among others).

In locally advanced breast cancer, wherein the cancer has spread only to nearby tissues or lymph nodes, the patient is often given chemotherapy prior to surgery and radiation, which are then followed by adjuvant hormonal therapy. Alternatively, surgery/radiation is followed by adjuvant chemotherapy, then adjuvant hormonal therapy. The anti-CTLA4 antibody-aromatase inhibitor combination can be administered in conjunction with the chemotherapeutic or additional hormonal therapy agents (e.g., another aromatase inhibitor, tamoxifen, fulvestrant, or any combination thereof) whether they are used either before or after surgery/radiation. Typical chemotherapy regimens for locally advanced breast cancer include FAC, AC, FEC, and doxorubicin plus docetaxel ("AT").

Metastatic breast cancer has spread to other parts of the body from the breast in which it started. Chemotherapy optionally may be preceded by hormonal therapy. First line hormonal therapy currently includes tamoxifen and anastrozole. First line chemotherapy regimens currently include FAC, TAC, docetaxel plus epirubicin, docetaxel, paclitaxel, capecitabine, vinorelbine, and trastuzumab (HERCEPTIN). Second line treatments include docetaxel, alone or in combination with capecitabine. The methods of the present invention are suitable for use both as first line therapy and second line therapy. Further, the methods of the invention can be combined with radiation therapy and stem cell transplant.

46
42

and any combination of any of the treatments described herein, known in the art, or to be developed in the future.

In one embodiment, the additional therapeutic agent administered with antibody-aromatase inhibitor therapy is an alkylating agent. In one aspect, the alkylating agent is cyclophosphamide.

5 In another embodiment, the additional agent is a folate antagonist. In one aspect, the folate antagonist is selected from the group consisting of methotrexate and pemetrexed.

In one embodiment of the invention, the additional agent is a pyrimidine antagonist. The pyrimidine analog may be selected from the group consisting of 5-FU, capecitabine, and gemcitabine.

10 In another embodiment of the present invention, the additional agent is an anthracycline antibiotic. In one aspect, the anthracycline antibiotic is selected from the group consisting of epirubicin and doxorubicin. In a further aspect, the anthracycline antibiotic is doxorubicin.

In another embodiment of the invention, the additional agent is a platinum compound. The platinum compound may be selected from the group consisting of cisplatin and carboplatin.

15 In yet another embodiment of the invention, the additional agent is a taxane. In one aspect, the taxane is docetaxel. In another aspect, the taxane is paclitaxel.

In an embodiment of the present invention, the anti-CTLA4 antibody and aromatase inhibitor combination is administered with docetaxel in further combination with at least one of capecitabine, cisplatin, gemcitabine, and epirubicin.

20 In an embodiment of the invention, the anti-CTLA4 and aromatase inhibitor combination is administered in further combination with paclitaxel and an additional agent selected from the group consisting of carboplatin, cisplatin, and gemcitabine. In one aspect, the additional agent is carboplatin.

In another embodiment, the anti-CTLA4 and aromatase inhibitor combination is administered with an additional agent where the additional agent is a vinca alkaloid. In one aspect, the vinca alkaloid is vinorelbine.

25 In an embodiment of the invention, the additional agent administered with the antibody-aromatase inhibitor combination is a camptothecin analog. In one aspect, the camptothecin analog is irinotecan.

In another embodiment, the additional agent is an EGFR inhibitor.

30 In an embodiment of the invention, the additional agent is an erbB2 inhibitor. In one aspect, the erbB2 inhibitor is selected from trastuzumab and pertuzumab. In yet another aspect, the erbB2 inhibitor is trastuzumab (HERCEPTIN).

In an embodiment of the invention, the anti-CTLA4 and aromatase inhibitor combination is administered in further combination with a combination comprising 5-FU, doxorubicin, and cyclophosphamide.

36 In another embodiment of the present invention, the anti-CTLA4 and aromatase inhibitor combination is administered in further combination with a combination comprising docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide.

40 The methods of the present invention also relate to the treatment of cancer in a mammal, preferably a human, who has undergone stem cell transplantation, which methods comprise administering to the mammal an amount of a human anti-CTLA4 antibody that is effective in treating the cancer in combination with an aromatase inhibitor in further combination with stem cell transplantation. Stem cell

97
48

transplantation may be allogeneic or autologous stem cell transplantation, and more preferably the aromatase inhibitor is exemestane. Where the method comprises stem cell transplant, the first dose of the antibody-aromatase inhibitor combination can be administered after the immune system of the mammal has recovered from transplantation, for example, in the period of from one to 12 months post transplantation. In certain embodiments, the first dose is administered in the period of from one to three, or one to four months post transplantation. The patient may undergo stem cell transplantation preparatory treatment(s).

VI. Pharmaceutical Compositions

The invention encompasses the preparation and use of pharmaceutical compositions comprising a human anti-CTLA4 antibody of the invention as an active ingredient in combination with an aromatase inhibitor, preferably a steroidal aromatase inhibitor, and even more preferably the aromatase inhibitor is exemestane. Such a pharmaceutical composition may consist of each active ingredient alone, as a combination of at least one active ingredient (e.g., an effective dose of an anti-CTLA4, an effective dose of an aromatase inhibitor) in a form suitable for administration to a subject, or the pharmaceutical composition may comprise the active ingredient and one or more pharmaceutically acceptable carriers, one or more additional (active and/or inactive) ingredients, or some combination of these.

In one embodiment, the antibody is administered parenterally (e.g., intravenously) in an aqueous solution while the aromatase inhibitor (e.g., exemestane) is administered orally in pill/capsule form. However, the skilled artisan would understand, based upon the disclosure provided herein, that the invention is not limited to these, or any other formulations, doses, routes of administration, and the like. Rather, the invention encompasses any formulation or method of administering an antibody in combination with an aromatase inhibitor, including, but not limited to, administering each agent separately in a different formulation via a different route of administration, and administering the antibody and aromatase inhibitor in a single composition (e.g., in an aqueous composition administered *inter alia*, *iv*) among many others. Thus, the following discussion describes various formulations for practicing the methods of the invention comprising administration of any anti-CTLA4 antibody in combination with any aromatase inhibitor, but the invention is not limited to these formulations, but comprises any formulation as can be readily determined by one skilled in the art once armed with the teachings provided herein for use in the methods of the invention.

The antibodies employed in the invention can be incorporated into pharmaceutical compositions suitable for administration to a subject. Typically, the pharmaceutical composition comprises the antibody and a pharmaceutically acceptable carrier. As used herein, "pharmaceutically acceptable carrier" includes any and all solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents, and the like that are physiologically compatible. Examples of pharmaceutically acceptable carriers include one or more of water, saline, phosphate buffered saline, dextrose, glycerol, ethanol, and the like, as well as combinations thereof. In many cases, it will be preferable to include isotonic agents, for example, sugars, polyalcohols such as mannitol, sorbitol, or sodium chloride in the composition. Pharmaceutically acceptable substances such as wetting or minor amounts of auxiliary substances such as

48
49

wetting or emulsifying agents, preservatives or buffers, which enhance the shelf life or effectiveness of the antibody or antibody portion.

The antibodies may be in a variety of forms. These include, for example, liquid, semi solid and solid dosage forms, such as liquid solutions (e.g. injectable and infusible solutions), dispersions or suspensions, tablets, pills, powders, liposomes and suppositories. The preferred form depends on the intended mode of administration and therapeutic application. Typical preferred compositions are in the form of injectable or infusible solutions, such as compositions similar to those used for passive immunization of humans with other antibodies. The preferred mode of administration is parenteral (e.g. intravenous, subcutaneous, intraperitoneal, intramuscular). In a preferred embodiment, the antibody is administered by intravenous infusion or injection. In another preferred embodiment, the antibody is administered by intramuscular or subcutaneous injection.

Therapeutic compositions typically must be sterile and stable under the conditions of manufacture and storage. The composition can be formulated as a solution, microemulsion, dispersion, liposome, or other ordered structure suitable to high drug concentration. Sterile injectable solutions can be prepared by incorporating the antibody in the required amount in an appropriate solvent with one or a combination of ingredients enumerated above, as required, followed by filtered sterilization. Generally, dispersions are prepared by incorporating the active compound into a sterile vehicle that contains a basic dispersion medium and the required other ingredients from those enumerated above. In the case of sterile powders for the preparation of sterile injectable solutions, the preferred methods of preparation are vacuum drying and freeze drying that yields a powder of the active ingredient plus any additional desired ingredient from a previously sterile filtered solution thereof. The proper fluidity of a solution can be maintained, for example, by the use of a coating such as lecithin, by the maintenance of the required particle size in the case of dispersion and by the use of surfactants. Prolonged absorption of injectable compositions can be brought about by including in the composition an agent that delays absorption, for example, monostearate salts and gelatin.

The antibodies can be administered by a variety of methods known in the art, including, without limitation, oral, parenteral, mucosal, by-inhalation, topical, buccal, nasal, and rectal. For many therapeutic applications, the preferred route/mode of administration is subcutaneous, intramuscular, intravenous or infusion. Non-needle injection may be employed, if desired. As will be appreciated by the skilled artisan, the route and/or mode of administration will vary depending upon the desired results.

In certain embodiments, the antibody may be prepared with a carrier that will protect the compound against rapid release, such as a controlled release formulation, including implants, transdermal patches, and microencapsulated delivery systems. Biodegradable, biocompatible polymers can be used, such as ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polylactic acid. Many methods for the preparation of such formulations are patented or generally known to those skilled in the art. See, e.g., *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J. R. Robinson, ed. Marcel Dekker Inc., New York (1978).

Dosage regimens may be adjusted to provide the optimum desired response. For example, a single bolus may be administered, several divided doses may be administered over time or the dose may be proportionally reduced or increased as indicated by the exigencies of the therapeutic situation. It is

49
50

especially advantageous to formulate parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. Dosage unit form as used herein refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the mammalian subjects to be treated, each unit containing a predetermined quantity of active compound calculated to produce the desired therapeutic effect in association with the required pharmaceutical carrier. The specification for the dosage unit forms of the invention are dictated by and directly dependent on (a) the unique characteristics of the antibody and the particular therapeutic or prophylactic effect to be achieved, and (b) the limitations inherent in the art of compounding such an active compound for the treatment of sensitivity in individuals.

It is to be noted that dosage values may vary with the type and severity of the condition to be alleviated, and may include single or multiple doses. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person administering or supervising the administration of the compositions, and that dosage ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed composition.

In one embodiment, the antibody is administered in an intravenous formulation as a sterile aqueous solution containing 5 mg/ml or more preferably about 10 mg/ml, or yet more preferably about 15 mg/ml, or even more preferably about 20 mg/ml of antibody with sodium acetate, polysorbate 80, and sodium chloride at a pH ranging from about 5 to 6. Preferably the intravenous formulation is a sterile aqueous solution containing 5 or 10 mg/ml of antibody with 20 mM sodium acetate, 0.2 mg/ml polysorbate 80, and 140 mM sodium chloride at pH 5.5. Further a solution comprising an anti-CTLA4 antibody can comprise, among many other compounds, histidine, mannitol, sucrose, trehalose, glycine, poly(ethylene) glycol, EDTA, methionine, and any combination thereof and many other compounds known in the relevant art.

In one embodiment, part of the dose is administered by an intravenous bolus and the rest by infusion of the antibody formulation. For example, a 0.01 mg/kg intravenous injection of the antibody may be given as a bolus, and the rest of a predetermined antibody dose may be administered by intravenous injection. A predetermined dose of the antibody may be administered, for example, over a period of an hour and a half to two hours to five hours.

With regard to an aromatase inhibitor, the inhibitor can be present in the pharmaceutical composition in the form of a physiologically acceptable ester or salt, such as in combination with a physiologically acceptable cation or anion, as is well known in the art.

The formulations of the pharmaceutical compositions described herein may be prepared by any method known or hereafter developed in the art of pharmacology. In general, such preparatory methods include the step of bringing the active ingredient into association with a carrier or one or more other accessory ingredients, and then, if necessary or desirable, shaping or packaging the product into a desired single- or multi-dose unit.

Pharmaceutical compositions that are useful in the methods of the invention may be prepared, packaged, or sold in formulations suitable for oral, rectal, vaginal, parenteral, topical, pulmonary, intranasal, buccal, ophthalmic, or another route of administration. Other contemplated formulations include projected nanoparticles, liposomal preparations, resealed erythrocytes containing the active ingredient, and immunologically-based formulations.

50
51

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared packaged, or sold in bulk, as a single unit dose, or as a plurality of single unit doses. As used herein a "unit dose" is discrete amount of the pharmaceutical composition comprising a predetermined amount of the active ingredient. The amount of the active ingredient is generally equal to the dosage of the active ingredient which would be administered to a subject or a convenient fraction of such a dosage such as, for example, one-half or one-third of such a dosage.

The relative amounts of the active ingredient, the pharmaceutically acceptable carrier and any additional ingredients in a pharmaceutical composition of the invention will vary depending upon the identity, size, and condition of the subject treated and further depending upon the route by which the composition is to be administered. By way of example, the composition may comprise between 0.1% and 100% (w/w) active ingredient.

In addition to the active ingredient, a pharmaceutical composition of the invention may further comprise one or more additional pharmaceutically active agents. Particularly contemplated additional agents include anti-emetics, anti-diarrheals, chemotherapeutic agents, cytokines, and the like.

Controlled- or sustained-release formulations of a pharmaceutical composition of the invention may be made using conventional technology.

A formulation of a pharmaceutical composition of the invention suitable for oral administration may be prepared packaged, or sold in the form of a discrete solid dose unit including, but not limited to, a tablet, a hard or soft capsule, a cachet, a troche, or a lozenge, each containing a predetermined amount of the active ingredient. Other formulations suitable for oral administration include, but are not limited to, a powdered or granular formulation, an aqueous or oily suspension, an aqueous or oily solution, or an emulsion.

As used herein, an "oily" liquid is one which comprises a carbon-containing liquid molecule and which exhibits a less polar character than water.

A tablet comprising the active ingredient may, for example, be made by compressing or molding the active ingredient, optionally with one or more additional ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing, in a suitable device, the active ingredient in a free-flowing form such as a powder or granular preparation, optionally mixed with one or more of a binder, a lubricant, an excipient, a surface active agent, and a dispersing agent. Molded tablets may be made by molding, in a suitable device, a mixture of the active ingredient, a pharmaceutically acceptable carrier and at least sufficient liquid to moisten the mixture.

Pharmaceutically acceptable excipients used in the manufacture of tablets include, but are not limited to, inert diluents, granulating and disintegrating agents, binding agents, and lubricating agents. Known dispersing agents include, but are not limited to, potato starch and sodium starch glycolate. Known surface active agents include, but are not limited to, sodium lauryl sulphate. Known diluents include, but are not limited to, calcium carbonate, sodium carbonate, lactose, microcrystalline cellulose, calcium phosphate, calcium hydrogen phosphate, and sodium phosphate. Known granulating and disintegrating agents include, but are not limited to, corn starch and alginic acid. Known binding agents include, but are not limited to, gelatin, acacia, pre-gelatinized maize starch, polyvinylpyrrolidone, and

B1
52

hydroxypropyl methylcellulose. Known lubricating agents include, but are not limited to, magnesium stearate, stearic acid, silica, and talc.

Tablets may be non-coated or they may be coated using known methods to achieve delayed disintegration in the gastrointestinal tract of a subject, thereby providing sustained release and absorption of the active ingredient. By way of example, a material such as glyceryl monostearate or glyceryl distearate may be used to coat tablets. Further by way of example, tablets may be coated using methods described in U.S. Patents numbers 4,256,108, 4,160,452, and 4,285,874 to form osmotically-controlled release tablets. Tablets may further comprise a sweetening agent, a flavoring agent, a coloring agent, a preservative, or some combination of these in order to provide pharmaceutically elegant and palatable preparation.

Hard capsules comprising the active ingredient may be made using a physiologically degradable composition, such as gelatin. Such hard capsules comprise the active ingredient, and may further comprise additional ingredients including, for example, an inert solid diluent such as calcium carbonate, calcium phosphate, or kaolin.

Soft gelatin capsules comprising the active ingredient may be made using a physiologically degradable composition, such as gelatin. Such soft capsules comprise the active ingredient, which may be mixed with water or an oil medium such as peanut oil, liquid paraffin, or olive oil.

Liquid formulations of a pharmaceutical composition of the invention which are suitable for oral administration may be prepared, packaged, and sold either in liquid form or in the form of a dry product intended for reconstitution with water or another suitable vehicle prior to use.

Liquid suspensions may be prepared using conventional methods to achieve suspension of the active ingredient in an aqueous or oily vehicle. Aqueous vehicles include, for example, water and isotonic saline. Oily vehicles include, for example, almond oil, oily esters, ethyl alcohol, vegetable oils such as arachis, olive, sesame, or coconut oil, fractionated vegetable oils, and mineral oils such as liquid paraffin.

Liquid suspensions may further comprise one or more additional ingredients including, but not limited to, suspending agents, dispersing or wetting agents, emulsifying agents, demulcents, preservatives, buffers, salts, flavorings, coloring agents, and sweetening agents. Oily suspensions may further comprise a thickening agent. Known suspending agents include, but are not limited to, sorbitol syrup, hydrogenated edible fats, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth, gum acacia, and cellulose derivatives such as sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose. Known dispersing or wetting agents include, but are not limited to, naturally-occurring phosphatides such as lecithin, condensation products of an alkylene oxide with a fatty acid, with a long chain aliphatic alcohol, with a partial ester derived from a fatty acid and a hexitol, or with a partial ester derived from a fatty acid and a hexitol anhydride (e.g., polyoxyethylene stearate, heptadecaethyleneoxycetanol, polyoxyethylene sorbitol monooleate, and polyoxyethylene sorbitan monooleate, respectively). Known emulsifying agents include, but are not limited to, lecithin and acacia. Known preservatives include, but are not limited to, methyl, ethyl, or n-propyl-p-hydroxybenzoates, ascorbic acid, and sorbic acid. Known sweetening agents include, for example, glycerol, propylene glycol, sorbitol, sucrose, and saccharin. Known thickening agents for oily suspensions include, for example, beeswax, hard paraffin, and cetyl alcohol.

5X
53

Liquid solutions of the active ingredient in aqueous or oily solvents may be prepared in substantially the same manner as liquid suspensions, the primary difference being that the active ingredient is dissolved rather than suspended in the solvent. Liquid solutions of the pharmaceutical composition of the invention may comprise each of the components described with regard to liquid suspensions, it being understood that suspending agents will not necessarily aid dissolution of the active ingredient in the solvent. Aqueous solvents include, for example, water and isotonic saline. Oily solvents include, for example, almond oil, oily esters, ethyl alcohol, vegetable oils such as arachis, olive, sesame, or coconut oil, fractionated vegetable oils, and mineral oils such as liquid paraffin.

Powdered and granular formulations of a pharmaceutical preparation of the invention may be prepared using known methods. Such formulations may be administered directly to a subject, used, for example, to form tablets, to fill capsules, or to prepare an aqueous or oily suspension or solution by addition of an aqueous or oily vehicle thereto. Each of these formulations may further comprise one or more of dispersing or wetting agent, a suspending agent, and a preservative. Additional excipients such as fillers and sweetening, flavoring, or coloring agents, may also be included in these formulations.

A pharmaceutical composition of the invention may also be prepared, packaged, or sold in the form of oil-in-water emulsion or a water-in-oil emulsion. The oily phase may be a vegetable oil such as olive or arachis oil, a mineral oil such as liquid paraffin, or a combination of these. Such compositions may further comprise one or more emulsifying agents such as naturally occurring gums such as gum acacia or gum tragacanth, naturally-occurring phosphatides such as soybean or lecithin phosphatide, esters or partial esters derived from combinations of fatty acids and hexitol anhydrides such as sorbitan monooleate, and condensation products of such partial esters with ethylene oxide such as polyoxyethylene sorbitan monooleate. These emulsions may also contain additional ingredients including, for example, sweetening or flavoring agents.

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared, packaged, or sold in a formulation suitable for rectal administration. Such a composition may be in the form of, for example, a suppository, a retention enema preparation, and a solution for rectal or colonic irrigation.

Suppository formulations may be made by combining the active ingredient with a non-irritating pharmaceutically acceptable excipient which is solid at ordinary room temperature (i.e. about 20°C) and which is liquid at the rectal temperature of the subject (i.e. about 37°C in a healthy human). Suitable pharmaceutically acceptable excipients include, but are not limited to, cocoa butter, polyethylene glycols, and various glycerides. Suppository formulations may further comprise various additional ingredients including, but not limited to, antioxidants and preservatives.

Retention enema preparations or solutions for rectal or colonic irrigation may be made by combining the active ingredient with a pharmaceutically acceptable liquid carrier. As is well known in the art, enema preparations may be administered using, and may be packaged within, a delivery device adapted to the rectal anatomy of the subject. Enema preparations may further comprise various additional ingredients including, but not limited to, antioxidants and preservatives.

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared, packaged, or sold in a formulation suitable for vaginal administration. Such a composition may be in the form of, for example, a

58
54

suppository an impregnated or coated vaginally-insertable material such as a tampon a douche preparation or gel or cream or a solution for vaginal irrigation.

Methods for impregnating or coating a material with a chemical composition are known in the art, and include but are not limited to methods of depositing or binding a chemical composition onto a surface, methods of incorporating a chemical composition into the structure of a material during the synthesis of the material (i.e. such as with a physiologically degradable material), and methods of absorbing an aqueous or oily solution or suspension into an absorbent material with or without subsequent drying.

Douche preparations or solutions for vaginal irrigation may be made by combining the active ingredient with a pharmaceutically acceptable liquid carrier. As is well known in the art, douche preparations may be administered using and may be packaged within, a delivery device adapted to the vaginal anatomy of the subject. Douche preparations may further comprise various additional ingredients including, but not limited to, antioxidants, antibiotics, antifungal agents, and preservatives.

As used herein, "parenteral administration" of a pharmaceutical composition includes any route of administration characterized by physical breaching of a tissue of a subject and administration of the pharmaceutical composition through the breach in the tissue. Parenteral administration thus includes, but is not limited to, administration of a pharmaceutical composition by injection of the composition, by application of the composition through a surgical incision, by application of the composition through a tissue-penetrating non-surgical wound, and the like. In particular, parenteral administration is contemplated to include, but is not limited to, subcutaneous, intraperitoneal, intramuscular, intrasternal injection, and kidney dialytic infusion techniques.

Formulations of a pharmaceutical composition suitable for parenteral administration comprise the active ingredient combined with a pharmaceutically acceptable carrier such as sterile water or sterile isotonic saline. Such formulations may be prepared, packaged or sold in a form suitable for bolus administration or for continuous administration. Injectable formulations may be prepared, packaged or sold in unit dosage form, such as in ampules or in multi-dose containers containing a preservative. Formulations for parenteral administration include, but are not limited to, suspensions, solutions, emulsions in oily or aqueous vehicles, pastes, and implantable sustained-release or biodegradable formulations as discussed below. Such formulations may further comprise one or more additional ingredients including, but not limited to, suspending, stabilizing or dispersing agents. In one embodiment of a formulation for parenteral administration, the active ingredient is provided in dry (i.e. powder or granular) form for reconstitution with a suitable vehicle (e.g. sterile pyrogen-free water) prior to parenteral administration of the reconstituted composition.

A composition of the present invention can be administered by a variety of methods known in the art. The route and/or mode of administration vary depending upon the desired results. The active compounds can be prepared with carriers that protect the compound against rapid release, such as a controlled release formulation, including implants, transdermal patches, and microencapsulated delivery systems. Biodegradable, biocompatible polymers can be used, such as ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polylactic acid. Many methods for the preparation of such formulations are described by e.g. *Sustained and Controlled Release Drug Delivery*

54
55

Systems, J. R. Robinson, ed. Marcel Dekker Inc. New York (1978). Pharmaceutical compositions are preferably manufactured under GMP conditions.

5 The pharmaceutical compositions may be prepared, packaged, or sold in the form of a sterile injectable aqueous or oily suspension or solution. This suspension or solution may be formulated according to the known art, and may comprise, in addition to the active ingredient, additional ingredients such as the dispersing agents, wetting agents, or suspending agents described herein. Such sterile injectable formulations may be prepared using a non-toxic parenterally-acceptable diluent or solvent, such as water or 1,3-butane diol, for example. Other acceptable diluents and solvents include, but are not limited to, Ringer's solution, isotonic sodium chloride solution, and fixed oils such as synthetic mono- or di-
10 glycerides. Other parentally-administrable formulations which are useful include those which comprise the active ingredient in microcrystalline form, in a liposomal preparation, or as a component of a biodegradable polymer system. Compositions for sustained release or implantation may comprise pharmaceutically acceptable polymeric or hydrophobic materials such as an emulsion, an ion exchange resin, a sparingly soluble polymer, or a sparingly soluble salt.

15 Formulations suitable for topical administration include, but are not limited to, liquid or semi-liquid preparations such as liniments, lotions, oil-in-water or water-in-oil emulsions such as creams, ointments, or pastes, and solutions or suspensions. Topically-administrable formulations may, for example, comprise from about 1% to about 10% (w/w) active ingredient, although the concentration of the active ingredient may be as high as the solubility limit of the active ingredient in the solvent. Formulations for topical
20 administration may further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared, packaged, or sold in a formulation suitable for pulmonary administration via the buccal cavity. Such a formulation may comprise dry particles which comprise the active ingredient and which have a diameter in the range from about 0.5 to about 7 nanometers, and preferably from about 1 to about 6 nanometers. Such compositions are
25 conveniently in the form of dry powders for administration using a device comprising a dry powder reservoir to which a stream of propellant may be directed to disperse the powder, or using a self-propelling solvent/powder-dispensing container such as a device comprising the active ingredient dissolved or suspended in a low-boiling propellant in a sealed container. Preferably, such powders comprise particles wherein at least 98% of the particles by weight have a diameter greater than 0.5 nanometers and at least
30 95% of the particles by number have a diameter less than 7 nanometers. More preferably, at least 95% of the particles by weight have a diameter greater than 1 nanometer and at least 90% of the particles by number have a diameter less than 6 nanometers. Dry powder compositions preferably include a solid fine powder diluent such as sugar and are conveniently provided in a unit dose form.

Low boiling propellants generally include liquid propellants having a boiling point of below 65°F at
35 atmospheric pressure. Generally, the propellant may constitute 50 to 99.9% (w/w) of the composition, and the active ingredient may constitute 0.1 to 20% (w/w) of the composition. The propellant may further comprise additional ingredients such as a liquid non-ionic or solid anionic surfactant or a solid diluent (preferably having a particle size of the same order as particles comprising the active ingredient).

Pharmaceutical compositions of the invention formulated for pulmonary delivery may also provide
40 the active ingredient in the form of droplets of a solution or suspension. Such formulations may be

55
56

prepared, packaged or sold as aqueous or dilute alcoholic solutions or suspensions, optionally sterile, comprising the active ingredient, and may conveniently be administered using any nebulization or atomization device. Such formulations may further comprise one or more additional ingredients including but not limited to: a flavoring agent such as saccharin sodium, a volatile oil, a buffering agent, a surface active agent, or a preservative such as methylhydroxybenzoate. The droplets provided by this route of administration preferably have an average diameter in the range from about 0.1 to about 200 nanometers.

The formulations described herein as being useful for pulmonary delivery are also useful for intranasal delivery of a pharmaceutical composition of the invention.

Another formulation suitable for intranasal administration is a coarse powder comprising the active ingredient and having an average particle from about 0.2 to 500 micrometers. Such a formulation is administered in the manner in which snuff is taken, i.e. by rapid inhalation through the nasal passage from a container of the powder held close to the nares.

Formulations suitable for nasal administration may, for example, comprise from about as little as 0.1% (w/w) and as much as 100% (w/w) of the active ingredient, and may further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared, packaged or sold in a formulation suitable for buccal administration. Such formulations may, for example, be in the form of tablets or lozenges made using conventional methods, and may, for example, 0.1 to 20% (w/w) active ingredient, the balance comprising an orally dissolvable or degradable composition and optionally one or more of the additional ingredients described herein. Alternately, formulations suitable for buccal administration may comprise a powder or an aerosolized or atomized solution or suspension comprising the active ingredient. Such powdered, aerosolized or atomized formulations, when dispersed, preferably have an average particle or droplet size in the range from about 0.1 to about 200 nanometers, and may further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

A pharmaceutical composition of the invention may be prepared, packaged or sold in a formulation suitable for ophthalmic administration. Such formulations may, for example, be in the form of eye drops including, for example, a 0.1 to 10% (w/w) solution or suspension of the active ingredient in an aqueous or oily liquid carrier. Such drops may further comprise buffering agents, salts, or one or more other of the additional ingredients described herein. Other ophthalmically-administrable formulations which are useful include those which comprise the active ingredient in microcrystalline form or in a liposomal preparation.

As used herein, "additional ingredients" include, but are not limited to, one or more of the following: excipients, surface active agents, dispersing agents; inert diluents; granulating and disintegrating agents; binding agents; lubricating agents; sweetening agents; flavoring agents; coloring agents; preservatives; physiologically degradable compositions such as gelatin; aqueous vehicles and solvents; oily vehicles and solvents; suspending agents; dispersing or wetting agents; emulsifying agents; demulcents; buffers; salts; thickening agents; fillers; emulsifying agents; antioxidants; antibiotics; antifungal agents; stabilizing agents; and pharmaceutically acceptable polymeric or hydrophobic materials. Other "additional ingredients" which may be included in the pharmaceutical compositions of the

56
57

invention are known in the art and described, for example in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Genaro. ed. Mack Publishing Co. Easton, PA (1985) which is incorporated herein by reference.

5 The anti-CTLA4/aromatase inhibitor active ingredient combination of the invention, can be administered to an animal, preferably a human. While the precise dosage administered of each active ingredient will vary depending upon any number of factors, including but not limited to: the type of animal and type of disease state being treated, the age of the animal and the route of administration.

10 The anti-CTLA4 antibody may be administered to an animal as frequently as several times daily or it may be administered less frequently such as once a day, once a week, once every two weeks, once a month, or even less frequently such as once every several months or even once a year or less. The frequency of the dose will be readily apparent to the skilled artisan and will depend upon any number of factors, such as, but not limited to: the type and severity of the disease being treated, the type and age of the animal, etc.

15 The aromatase inhibitor, preferably exemestane, may be administered to an animal as frequently as several times daily or it may be administered less frequently such as once a day, once a week, once every two weeks, once a month, or even less frequently such as once every several months or even once a year or less. The frequency of the dose will be readily apparent to the skilled artisan and will depend upon any number of factors, such as, but not limited to, the type and severity of the disease being treated, the type and age of the animal, etc.

20 The antibody and aromatase can be co-administered in that they can be administered separately on different dates or at different times of the day, as well as simultaneously or on the same date. Co-administration thus encompasses any temporal combination of administration of the antibody and the aromatase inhibitor such that administration of the two agents mediates a therapeutic benefit to the patient that is detectably greater than administration of either agent in the absence of the other.

25 An antibody-aromatase inhibitor combination of the invention may be co-administered with numerous other compounds (other antihormonal therapy agents, cytokines, chemotherapeutic and/or antiviral drugs, among many others). Alternatively, the compound(s) may be administered an hour, a day, a week, a month, or even more, in advance of the antibody-aromatase inhibitor combination, or any permutation thereof. Further, the compound(s) may be administered an hour, a day, a week, or even more, after administration of radiation, stem cell transplant, or administration of any therapeutic agent (e.g., cytokine, chemotherapeutic compound, and the like), or any permutation thereof. The frequency and administration regimen will be readily apparent to the skilled artisan and will depend upon any number of factors such as, but not limited to, the type and severity of the disease being treated, the age and health status of the animal, the identity of the compound or compounds being administered, the route of administration of the various compounds, and the like.

35

VII. Kits

40 The invention includes various kits which comprise a therapeutically effective amount of a human anti-CTLA4 antibody of the invention and a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor along with an applicator and instructional materials which describe use of the combination to perform the methods of the invention. Although exemplary kits are described below, the contents of other useful kits

57
58

will be apparent to the skilled artisan in light of the present disclosure. Each of these kits is included within the invention.

The invention includes a kit for treatment of breast cancer in a patient in need thereof. The kit includes a human anti-CTLA4 antibody of the invention and at least one aromatase inhibitor. The inhibitor encompasses, but is not limited to, fulvestrant, anastrozole, letrozole and exemestane. The kit further comprises an applicator including, but not limited to, a syringe, for administration of the components of the kit to a patient. Further, the kit comprises an instructional material setting forth the pertinent information for the use of the kit to treat breast cancer in the patient.

More preferably, the kit comprises at least one anti-CTLA4 antibody selected from an antibody having the heavy and light chain amino acid sequence of antibody 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1, 12.9.1, 1 and 10D1 (MDX-010); even more preferably, the antibody is an antibody having the heavy and light chain amino acid sequence of antibody 4.13.1, 11.2.1 and 10D1 (MDX-010).

In one embodiment, the aromatase inhibitor is at least one inhibitor selected from anastrozole, letrozole, and exemestane. More preferably, the aromatase inhibitor is exemestane.

The kit can comprise any number of additional agents for treatment of breast cancer. Such agents are set forth previously and include chemotherapeutic compounds, cancer vaccines, signal transduction inhibitors, agents useful in treating abnormal cell growth or cancer, antibodies or other ligands that inhibit tumor growth by binding to IGF-1R, and cytokines, among many others.

The invention also relates to an article of manufacture (e.g., dosage form adapted for IV administration) comprising a human anti-CTLA4 antibody in the amount effective to treat cancer (e.g., more than 10 mg/kg, at least 15 mg/kg, or 15 mg/kg) and a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor. In certain embodiments, the article of manufacture comprises a container or containers comprising a human anti-CTLA4 antibody, the aromatase inhibitor, and a label and/or instructions for use to treat cancer.

The invention is further described in detail by reference to the following experimental examples. These examples are provided for purposes of illustration only and are not intended to be limiting unless otherwise specified. Thus, the invention should in no way be construed as being limited to the following examples, but rather should be construed to encompass any and all variations which become evident as a result of the teaching provided herein.

EXAMPLE

Anti-CTLA4 antibody in combination with exemestane in metastatic or locally advanced breast cancer in postmenopausal patient

Patients having metastatic or locally advanced breast cancer with at least one lesion that can be accurately measured in two dimensions and whose size is ≥ 2 cm $\times$ 1 cm by conventional CT scan or ≥ 1 cm $\times$ 1 cm by spiral CT scan were administered an IV infusion (100 mL/hr) of anti-CTLA4 antibodies as described herein. Prophylactic anti-emetics and anti-diarrheals are given as appropriate.

58
59

The treatment is repeated after 28 days. Successive cohorts receive escalating doses of the anti-CTLA4 antibody dose starting at 3 mg/kg and increasing to 6 mg/kg, 10 mg/kg and 15 mg/kg, every 28 days thereafter respectively for maximum of 12 cycles in the absence of intolerable toxicity or disease progression.

5 Preferably the patients are premedicated with antihistamine (H1) at least one half hour prior to infusion of anti-CTLA4. Premedication is recommended but not required.

All patients receive exemestane as continuous oral dose of 25 mg per day of every 28-day cycle. Preferably exemestane is taken at the same time each day.

10 Doses are escalated using an accelerated titration design utilizing a dose-doubling schema with 3-8 subjects per cohort. Within each new cohort there is no required waiting period between subjects. Subsequent cohorts may not be opened until the first subject at the current dose level has been observed for 21 days and subsequent subjects have been observed for 14 days.

15 The antibody is provided in 10 ml clear glass vials with a rubber stopper and an aluminum seal. Each vial contains 5 mg/ml (with a nominal fill of 50 mg/vial) of anti-CTLA4 antibody in a sterile aqueous solution comprising 20 mM sodium acetate, 0.2 mg/ml polysorbate 80, and 140 mM sodium chloride at pH 5.5.

20 For all patients, ECOG performance status, vital signs, and body weight are assessed pre-dose, and vital signs can be repeated post-dose as clinically indicated. A physical examination (including ophthalmologic assessment and signs of autoimmunity) is performed on Day 1. Samples for hematology panel (hematocrit, RBC count, WBC count, differential), chemistry (Alkaline Phosphatase, calcium, chloride, GGT, LDH, magnesium, phosphorus, random glucose, sodium, urea, uric acid), urinalysis (blood, protein), others (activated partial thromboplastin time [APTT], prothrombin time (PT), autoantibody panel, C reactive protein, TSH, T3, T4, amylase, lipase, serum C3, C4, serum Ig level) are obtained.

25 Baseline human anti-human antibody (HAHA) titer is determined and pharmacokinetic (PK) specimen is obtained pre-dose.

The following endpoints are measured: PK parameters, HAHA, response rate and time to progression. Time to progression and overall survival are calculated using the Kaplan-Meier product limit method.

30 Preferably the anti-CTLA4 antibody has the heavy and light chain amino acid sequences of at least one antibody selected from 4.1.1, 4.13.1, 11.2.1 and 10D1. More preferably the antibody has the heavy and light chain amino acid sequences of 11.2.1.

35 Three patients were administered anti-CTLA4 antibody (tixilimumab) at 3 mg/kg. All three patients were administered exemestane at 25 mg daily. One patient received two doses of anti-CTLA4 every twenty-eight days and exemestane daily for 56 days. Cycle 2 staging CT revealed a lung lesion not present at baseline. Also, the patient demonstrated new mild circumferential wall thickening involving the terminal ileum, distal descending colon and sigmoid colon of uncertain etiology, possible infections or inflammatory. The patient did not have a clinical history to explain these changes and the patient felt well and was clinically asymptomatic. No infection was detected. This patient went off-study for progression of disease (PD).

59
66

A second patient was administered two cycles of anti-CTLA4 antibody and had approximately fourteen (14) days of exemestane therapy (25 mg daily). Following initial ticilimumab dose, the patient reported some baseline lymphedema of the right arm that became somewhat worse then subsided. Also, the patient reported transient, mild non-pruritic rash.

5 A third patient received one cycle of ticilimumab and approximately twenty-eight days of daily 25 mg exemestane thus far. On day twenty-eight, routine laboratory studies detected Grade 1 elevated ALP and AST as well as Grade 2 elevated ALT. The patient was asymptomatic. Therapy was placed on-hold pending improvement of these laboratory values.

10 These data suggest that patients treated with the combination of ticilimumab and exemestane demonstrated biological activity.

The disclosures of each and every patent, patent application, and publication cited herein are hereby incorporated herein by reference in their entirety.

15 While the invention has been disclosed with reference to specific embodiments, it is apparent that other embodiments and variations of this invention may be devised by others skilled in the art without departing from the true spirit and scope of the invention. The appended claims are intended to be construed to include all such embodiments and equivalent variations.

60
61**CLAIMS**

1 A method for the treatment of breast cancer in a patient in need of such treatment, said method comprising administering to said patient a therapeutically effective amount of an anti-CTLA4 antibody or antigen-binding portion thereof in combination with a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor

2 The method of claim 1 wherein said aromatase inhibitor is at least one inhibitor selected from the group consisting of anastrozole, letrozole, and exemestane.

3 The method of claim 2 wherein said aromatase inhibitor is exemestane.

4 The method of claim 3 wherein said therapeutically effective amount of a human anti-CTLA4 antibody amount ranges from about 1 mg/kg to 40 mg/kg

5 The method of claim 4 wherein said therapeutically effective amount of a human anti-CTLA4 antibody amount ranges from about 3 mg/kg to 15 mg/kg

6 The method of claim 3 wherein said therapeutically effective amount of exemestane ranges from about 25 mg per day to 200 mg per day

7 The method of claim 6 wherein said therapeutically effective amount of exemestane is about 25 mg per day

8 The method of claim 1 wherein said treatment is selected from the group consisting of a neoadjuvant therapy, an adjuvant therapy, a first line treatment, a second line treatment, and a third line treatment.

9 The method of claim 1 wherein said antibody is selected from a group consisting of a non-human mammalian antibody, a chimeric antibody, and a human antibody

10 The method of claim 9 wherein said antibody is a human antibody

11 The method of claim 1 wherein said anti-CTLA4 antibody or antigen-binding portion thereof is at least one antibody selected from the group consisting of

(a) a human antibody having a binding affinity for CTLA4 of about 10^8 or greater and which inhibits binding between CTLA4 and B7-1 and binding between CTLA4 and B7-2.

(b) a human antibody having an amino acid sequence comprising at least one human CDR sequence that corresponds to a CDR sequence from an antibody selected from the group consisting of 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1, 12.9.1 and 10D1

(c) a human antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1 and 12.9.1

(d) a human antibody having the amino acid sequences of a heavy chain variable region and a light chain variable region of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1, 12.9.1 and 10D1

(e) an antibody or antigen-binding portion thereof that competes for binding with CTLA4 with at least one antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1, 12.9.1 and 10D1 and

61
62

-48-

(f) an antibody or antigen-binding portion thereof that cross-competes for binding with CTLA4 with at least one antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of an antibody selected from the group consisting of 4.1.1, 4.8.1, 4.10.2, 4.13.1, 4.14.3, 6.1.1, 11.2.1, 11.6.1, 11.7.1, 12.3.1, 12.9.1 and 10D1

5

12. The method of claim 1 wherein said antibody is a human antibody having the heavy and light chain amino acid sequences of antibody 11.2.1

10 13. The method of claim 1 wherein said antibody comprises a heavy chain and a light chain wherein the amino acid sequences of the heavy chain variable region of said heavy chain and the light chain variable region of said light chain are selected from the group consisting of

(a) the amino acid sequence of SEQ ID NO 3 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 9

15 (b) the amino acid sequence of SEQ ID NO 15 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 21

(c) the amino acid sequence of SEQ ID NO 27 and the amino acid sequence of SEQ ID NO 33

20 (d) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 1 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 7

(e) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 13 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 19

25 (f) the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 25 and the amino acid sequence encoded by the nucleic acid sequence of SEQ ID NO 31

(g) the amino acid sequence of a heavy chain variable region and a light chain variable region of antibody 10D1

30 14. The method of claim 1 wherein said antibody or antigen-binding portion thereof is an antibody selected from the group consisting of

35 (a) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5, and SEQ ID NO 6 and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11 and SEQ ID NO 12

(b) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 16, SEQ ID NO 17 and SEQ ID NO 18 and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 22, SEQ ID NO 23 and SEQ ID NO 24

62
63

(c) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO-28 SEQ ID NO-29 and SEQ ID NO-30 and further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences set forth in SEQ ID NO 34 SEQ ID NO 35 and SEQ ID NO 36, and

5 (d) an antibody having a heavy chain variable region comprising the amino acid sequences of the heavy chain CDR1 CDR2 and CDR3 of antibody 10D1 further having a light chain variable region comprising the amino acid sequences of the light chain CDR1 CDR2 and CDR3 of antibody 10D1

10

15 The method of claim 1 said method further comprising administering to said patient at least one agent selected from the group consisting of an alkylating agent, a folate antagonist, a pyrimidine antagonist, an anthracycline antibiotic, a platinum compound a taxane a vinca alkaloid, a camptothecin analog a toll-like receptor stimulating agent, a heat shock protein-based tumor vaccine an antigen presenting cell-based therapy a mammalian target of rapamycin inhibitor an erbB2 inhibitor an EGFR inhibitor a VEGF inhibitor a VEGFR inhibitor an angiogenesis inhibitor an antibody an immunomodulator a selective estrogen receptor modulator a cytokine a tumor vaccine an antiproliferative agent, an immune costimulatory molecule, and a cytokine.

20

16. A pharmaceutical composition for the treatment of breast cancer comprising:
a therapeutically effective amount of an anti-CTLA4 antibody
a therapeutically effective amount of an aromatase inhibitor and
a pharmaceutically acceptable carrier

25

17 The pharmaceutical composition of claim 16, wherein said aromatase inhibitor is at least one aromatase inhibitor selected from the group consisting of anastrozole, letrozole, and exemestane.

30

18. The pharmaceutical composition of claim 17 wherein said aromatase inhibitor is exemestane.

19. A use of an amount of an anti-CTLA4 antibody in the preparation of a composition for the treatment of breast cancer in a patient wherein said treatment further comprises administering to said patient an amount of an aromatase inhibitor

35

20. The use of claim 19 wherein said aromatase inhibitor is exemestane and further wherein said antibody is a human antibody having the heavy and light chain variable region amino acid sequences of antibody 11.2.1

63
64

4 1 1 Heavy Chain cDNA (SEQ ID NO 1)

atggagtttg	ggctgagctg	ggttttctct	gttgcctctt	taagaggtgt	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtcttg	gggaggcgtg	gtccagcctg	ggaggtccct	gagactctcc	120
tgtgtagcgt	ctggattcac	cttcagtagc	catggcatgc	actgggtccg	ccaggctcca	180
ggcaaggggc	tggagtgggt	ggcagttata	tggtagatg	gaagaaataa	atactatgca	240
gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtttctg	300
caaatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gctgtgtatt	actgtgcgag	aggaggtcac	360
ttcggctcct	ttgactactg	gggccaggga	accctgggtc	ccgtctcctc	agcctccacc	420
aaggggccat	cggctcttccc	cctggcgccc	tgctccagga	gcacctccga	gagcacagcg	480
gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	ccgaacccg	tgacgggtgc	gtggaactca	540
ggcgtctotga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccagctgtcc	tacagtcttc	aggactctac	600
tccctcagca	gogtgggtgac	cgtgccctcc	agcaacttcg	gcacccagac	ctacaacctgc	660
aacgtagatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	cagttgagcg	caaatgttgt	720
gtogagtggc	caccgtgccc	agcaccacct	gtggcaggac	cgtcagctct	cctcttccc	780
ccaaasacca	aggacacccct	catgatctcc	cggacccctg	aggtcacgtg	cgtgggtggg	840
gacgtgagcc	acgaagaccc	cgaggccag	ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggaggtg	900
cataatgcc	agacaaagcc	acgggaggag	cagttcaaca	gcacgttccg	tgtgggtcagc	960
gtcctcaccg	ttgtgcacca	ggactggctg	aacggcaagg	agtacaagt	caagggtctcc	1020
aacaaaggcc	tcccagcccc	catcgagaaa	accatctcca	aaaccaagg	gcagcccca	1080
gaaccacagg	tgtacacccct	gcccccatcc	cgggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1140
ctgacctggc	tgggtcaaagg	cttctacccc	agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	1200
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccaca	cctcccatgc	tggactccga	cggctccttc	1260
ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	agcaggtggc	agcaggggaa	cgtcttctca	1320
tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1380

FIGURE 1A

4 1 1 Heavy Chain Protein (SEQ ID NO 2)

MEFGLEWVFL	VALLRGVQCQ	VQLVESGG	[GV	VQPGRLRLS	CVASGTFSES	HGMHWVRQAP	60
GKGLEWVAVI	WYDGRNKYYA	DSVKGKPTIS	RDNSKNTLFL	QMSLRAEOT	AVYYCARGGH		120
PGPFDIWQQG	TLVTSSAST	KGPSVFFLAP	CSRSTSESTA	ALGCLVKDYF	PEPVTVSWNS		180
GALTSGVHTF	PAVLQ]SSGLY	SLSEVTVPS	SNFGTQTYTC	NVDHKPENTK	VDKTVRKCC		240
VECPPCPAPP	VAGPSVFLFP	PKPKDTLMIS	RTPEVTCVVV	DVSHEDPEYQ	FNWYVDQVEV		300
ENAKIKPREE	QFNSTFRVVS	VLTVVHQDWL	NGKEYKCKVS	HKGLPAPIEK	TISKTKGQPR		360
EPQVITLPPS	REEMTKQVS	LTCLVKGFPY	SDIAVWESN	GQFENFYKIT	PFMLDSGDSF		420
FLYSKLTVDK	SRWQQGNVFS	CSVMHEALHN	HYTKSLSL	PGK			463

FIGURE 1B

64
65

4 1 1 Light Chain cDNA (SEQ ID NO 7)

atggaacccc	cagcgcagct	tctcttcttc	ctgctactct	ggtcccaga	taccaccgga	60
gaaatttgt	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	120
ctctcctgca	gggccagtc	gagtattagc	agcagcttct	tagcctggta	ccagcagaga	180
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggtgcataca	gcagggccac	tggcatccca	240
gacaggttca	gtggcagtg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	300
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagtatggta	cctcaccctg	gacgttcggc	360
caagggaacca	aggtggaaat	caaacgaact	gtggctgcac	catctgtctt	catcttcccg	420
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggnaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	480
tatcccagag	aggccaaagt	acagtggaaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggttaactcc	540
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcacccctg	600
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	660
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtgttag		708

FIGURE 1C

4 1 1 Light Chain Protein (SEQ ID NO 8)

NETPAQLLFL	LLLNLPTDTG	EIVLT[QSPGT	LSLSPQERAT	LSCRASQGIS	SSFLANTQQR	60
PGQAPRLLIY	GASSRATGIP	DRFSGSGSGT	DFTLTISRLE	PIEDFAVYYCQ	QYGTSPWTFG	120
QGTKEVEIKRT	VAAPSVFIFP	PEDEQLKSGT	ASVVCLLNNF	YPREAK]VQWK	VDNALQSGNS	180
QESVTEQDSK	DSTYLSSTL	TLKADYERK	KVYACEVTHQ	GLSSPVTKSF	NRGEC	235

FIGURE 1D

65
66

4 13 1 Heavy Chain DNA (SEQ ID NO 13)

caggtgcagc	tgggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cgtctggatt	caccttcagt	agtcattggc	tcactgggt	ccgccaggct	120
ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atatggtatg	atggaagaaa	taaagactat	180
gcagactcog	tgaagggccg	attcaccatc	tcagagagac	attccaagaa	cacgctgtat	240
ttgcnaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagtggcc	300
ccactggggc	cacttgacta	ctggggccag	ggaaccctgg	tcaccgtctc	ctcagcctcc	360
accaagggcc	catcggtctt	ccccctggcg	ccctgctcca	ggagcacctc	cgagagcaca	420
gcgccctggg	gctgcctggg	caaggactac	ttccccgaac	cggtgacggg	gtcgtgggac	480
tcaggcgctc	tgaecagcgg	cgtgcacacc	ttccagctg	tcctacagtc	ctcaggactc	540
tactccctca	gcagcgtggg	gaccgtgccc	tcagcaact	tcggcaccca	gacctacacc	600
tgcaacgtag	atcacaagcc	cagcaacacc	aaggtggaca	agacagttga	gcgcaaatgt	660
tgtgtcgagt	gcccaccgtg	cccagcacca	cctgtggcag	gaccgtcagt	cttctctctc	720
cccccaaac	ccaaggacac	cctcatgata	tcctggaccc	ctgaggtcac	gtgctgtgtg	780
gtggacgtga	gccacgaaga	ccccgaggtc	cagtccaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	840
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccacgggag	gagcagttca	acagcacgtt	ccgtgtggtc	900
agcgtcctca	ccgttgtgca	ccaggactgg	ctgaacggca	aggagtacaa	gtgcaaggtc	960
tccaacaaag	gcctcccagc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaaaccac	agggcagccc	1020
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tcctggggag	agatgaccaa	gaaccaggtc	1080
agcctgacct	gcctggtcaa	aggcttctac	cccagcgaca	tcgctgtgga	gtgggagagc	1140
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acacctcccc	tgctggactc	cgacggctcc	1200
ttcttcctct	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggg	ggcagcaggg	gacgtctctc	1260
tcctgctcog	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1320
tctccgggta	aatga					1335

FIGURE 2A

1

4 13 1 Heavy Chain Protein (SEQ ID NO 14)

QVQLVESGGG	VVQ[FQSRSLRL	SCAASGFTFS	SHQIENVROA	FGKGLWVAV	IWYDGRNKDY	60
ADSVKGRFTI	SRDSIGNITLY	LQMSLRARD	TAVYTCARVA	PLGFLDYWGO	QTLVTVSSAS	120
TIQPSVFPPLA	PCSRSTSSST	AALGCLVEDY	FPEFVTVSMN	SGALTS]GVHT	FPAVLQSSGL	180
YSLSSVVTVP	SSNFGITQIT	CNVDHKPSMT	KVDKTVKRC	CVECPFCPAP	FVAGPSVFLF	240
FPKPKDTLKI	SRTPEVTCVY	VDVSEKDPFV	QFMNIVDQVE	VEMAKTKPRE	EQPMSTFEVY	300
SVLTIVVHQDN	LEGKEYKCKY	SNKGLPAPIE	KTISKTKGQP	KEPQVYTLPP	SREMTKNDV	360
SLTCLVKGFY	PSDIAVENES	NGQPMNYKT	TFPMILSDGS	FFLYSKLTVD	KSRNQGNVF	420
SCSVNHEALH	NHYTQKHLSL	SPGK				444

1

FIGURE 2B

66
67

4 13 1 Light Chain DNA (SEQ ID NO 19)

gaaattgtgt	tgaagcagtc	tccagggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgtcagc	agctacttag	cctggtagca	gcagaaacct	120
ggccaggctc	ccaggctcct	catctatggt	gcatecagca	gggccactgg	catcccagac	180
aggttcagtg	gcagtgggtc	tgggacagac	ttcactctca	ccatcagcag	actggagcct	240
gaggattttg	cagtgtatta	ctgtcaacag	tatggtaggt	caccattcac	tttcggccct	300
gggaccaaag	tagatatcaa	gcgaactgtg	gctgcacct	ctgtcttcat	cttcocgcca	360
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaaactgcc	tctgttgtgt	gcctgctgaa	taactttctat	420
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaagggtg	gataacgtcc	tccaatcggg	taactcccag	480
gagagtgtca	cagagcagga	cagcaaggac	agcacctaca	gcctcagcag	cacctgacg	540
ctgagcaaag	cagactacga	gaaacacaaa	gtctacgcct	gcgaagtcac	ccatcagggc	600
ctgagctcgc	ccgtcacaaa	gagcttcaac	aggggagagt	gtag		645

FIGURE 2C

4 13 1 Light Cham Protein (SEQ ID NO 20)

EIVLTQSPGT	L ~~S~~ LSFGERAT	L ~~S~~ CRASQSV ~~S~~	<u>SYLANYQOKP</u>	<u>QOAPRIILITG</u>	<u>ASSRATGI</u> ~~PD~~	60
RFSGSGSGTD	FLTISRLEP	EDFAVYYCQ	<u>YGRSPFTGP</u>	GTKVDIKRTV	AAPSVFIFPP	120
SDRQLKSGTA	SVVCLLNIFY	FREAKVQWKV	D ~~I~~ NALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYLSSTLT	180
LSKADYENHK	VYACEVTHQG	LSSPVTKSFM	RGEC			214

FIGURE 2D

57
68

11 2 1 Heavy Chain DNA (SEQ ID NO 25)

atggagtttg	ggctgagctg	ggttttcttc	gttgetcttt	taagaggtgt	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtcttg	gggaggcgtg	gtccagocctg	ggaggctccct	gagactctcc	120
tgtgcagcgt	ctggattcac	cttcagtagc	tatggcatgc	actgggtccg	ccaggctcca	180
ggcaaggggc	tggagtgggt	ggcagttata	tggatatgat	gaagtaataa	atactatgca	240
gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtatctg	300
caaatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gctgtgtatt	actgtgcgag	agatccgagg	360
ggagctaacc	tttactacta	ctactacggt	atggacgtct	ggggccaagg	gaccacggtc	420
accgtctect	cagcctccac	caagggccca	tgggtcttcc	ccctggcgcc	ctgtccagg	480
agcacctccg	agagcacagc	ggccctgggc	tgcctggtea	aggactactt	ccccgaaccy	540
gtgacggtgt	cgtggaaactc	aggcgtctctg	accagcggcg	tgcacacctt	cccagctgtc	600
ctacagtect	caggactcta	ctccctcagc	agcgtgggtga	cgtgcctctc	cagcaacttc	660
ggcaccacga	cctacacctg	caacgtagat	cacaagccca	gcaacaccaa	ggtggacaag	720
acagttgagc	gcaaatgttg	tgtcgagtgc	ccacogtgcc	cagcaccacc	tgtggcagga	780
ccgtcagctc	tcctcttccc	cccaaaaccc	aaggacaccc	tcattgatctc	ccggaccct	840
gagggtcacgt	gcgtgggtgg	ggacgtgagc	cacgaagacc	ccgagggtcca	gttcaactgg	900
tacgtggacg	gcgtggagggt	gcataatgcc	aagacaaagc	cacggggagg	gcagttcaac	960
agcacgttcc	gtgtggtcag	cgtcttcacc	gttgtgcacc	aggactggct	gaacggcaag	1020
gagtacaagt	gcaaggtctc	caacaaaggc	ctcccagccc	ccatcgagaa	aaccatctcc	1080
aaaaccaaag	ggcagccccc	agaaccacag	gtgtacaccc	tgcctccatc	ccgggaggag	1140
atgaccaaga	accaggtcag	cctgacctgc	ctggtcaaag	gcttctaccc	cagcgacatc	1200
gccgtggagt	gggagagcaa	tgggcagccg	gagaacaact	acaagaccac	acctcccattg	1260
ctggactccg	acggctcctt	cttctcttac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagcaggtgg	1320
cagcagggga	acgtcttctc	atgctccgtg	atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	1380
cagaagagcc	tctccctgtc	tcogggtaaa	tga			1413

FIGURE 3A

11 2 1 Heavy Protein (SEQ ID NO.26)

QVQLVESGGIG	VVQPSRLRL	SCAASGFTFS	SYGMENVRQA	PKKLEWVAV	INVDGSHKYY	60
ADSVKGRFTI	SRDINSKNTLY	LQNSLRARD	TAVYYCARDP	RGATLYYYYY	GNDVWGGGTT	120
VTSSASTKG	PSVFFLAPCS	RSTSESTAL	GCLVKDYFPE	PVTVSWNSQA	LTSGVHITFPA	180
VLQSSGLYSL	SSVVTVPSSN	FGTQTYTCNV	DRKPSNTKVD	KIVERKCCVE	CPPCPAPPVA	240
GPSEVFLPPFK	PKDTLMISRT	PEVTCVVVDV	SRHEDPEVQFN	WYVDGVEVHN	AKTKPREEQF	300
NSITFRVSVL	TVVRQDWLNG	KRYKCKVSNK	GLPAPIEKTI	SKTKGQPREP	QVYTLPPSRE	360
ENTKQVHLT	CLVKGFPYSD	LAVIEWESNQ	PENNYKTPP	MLSDGSFFL	YSKLTVDKER	420
WQQGNVPSCS	VHREALFHHY	TQKLSLSFG	K			451

FIGURE 3B

68
69

11 2 1 Light Chain DNA (SEQ ID NO 31)

atggacatga	gggtccccgc	tcagctcctg	gggtcctctgc	tactctggct	ccgaggtgcc	60
agatgtgaca	tccagatgac	ccagtctcca	tcctcctgt	ctgcctctgt	aggagacaga	120
gtcaccatca	cttgccgggc	aagtcagagc	attaacagct	atttagattg	gtatcagcag	180
aaaccagggg	aagcccctaa	actcctgac	tatgtgcat	ccagtttgca	aagtggggtc	240
ccatcaaggt	tcagtggcag	tggatctggg	acagatttca	ctctcaccat	cagcagctctg	300
caacctgaag	atcttgcaac	ttactactgt	caacagtatt	acagtactcc	attcactttc	360
ggccctggga	ccaaagtggg	aatcaaacga	actgtggctg	caccatctgt	cttcactctc	420
ccgccatctg	atgagcagtt	gaaatctgga	actgcctctg	ttgtgtgcct	gctgaataac	480
ttctatccca	gagagggcaa	agtacagtgg	aaggtggata	acgccctcca	atcgggtaac	540
tcccaggaga	gtgtcacaga	gcaggacagc	aaggacagca	cctacagcct	cagcagcacc	600
ctgacgctga	gcaaagcaga	ctacgagaaa	cacaagctct	acgcctgcga	agtcacccat	660
cagggcctga	gctcgccctg	cacaaagagc	ttcaacaggg	gagagtgtta	gtga	714

FIGURE 3C

11 2 1 Light Chain Protein SEQ ID NO 32

DIQMTQSIPSS	LSASVGDRVT	ITCRASQSIN	SYLDWYQOKP	GKAPKLLIYA	ASSLQSGVPS	60
RFSGSGSGTD	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	YYSTPFTFGP	GTKVSIKRTV	AAPSVFIFPP	120
SDEQLKSGTA	SVVCLINIFY	PREAKVJQNKV	DNALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYSLSTLT	180
LSKADYEIKH	VYACEVTEQG	LSSPVTKSPN	RQEC			214

FIGURE 3D

PC32619A ST25 txt
SEQUENCE LISTING

<110> PFIZER PRODUCTS INC
 Gomez-Navarro, Jesus
 <120> CTLA4 Antibody and Aromatase Inhibitor Combination Treatment For
 Breast Cancer
 <130> PC32619A
 <140> app no to be assigned
 <141> 2005-10-07
 <150> US 60/624,856
 <151> 2004-11-04
 <160> 36
 <170> PatentIn version 3 3
 <210> 1
 <211> 1392
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagaçtctcc 120
 tgtgtagcgt ctggattcac cttcagtagc catggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggatgatg gaagaaataa atactatgca 240
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtttctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgagag aggaggtcac 360
 ttcggtcctt ttgactactg gggccagggg accctggtca ccgtctcttc agcctccacc 420
 aagggcccat cggctctccc cctggcgccc tgcctcagga gcacctccga gagcacagcg 480
 gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540
 ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcctc aggactctac 600
 tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc 660
 aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt 720
 gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagtcct cctcttcccc 780
 ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg 840
 gacgtgagcc acgaagaccc cgaggtccag ttcaactggg acgtggacgg cgtggaggtg 900
 cataatgcc aagacaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc 960
 gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagt caaggtctcc 1020
 aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaagg gcagccccga 1080
 gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1140
 ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200
 gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc 1260
 ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320
 tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ga

1392

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

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

71
72

PC32619A ST25 txt
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460
<210> 3
<211> 167
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 3
Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
1 5 10 15
Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
20 25 30

72
73

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165

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

<400> 4

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

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

<400> 5

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

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

<400> 6

Gly Gly His Phe Gly Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 7
<211> 708

PC32619A ST25 txt

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atggaaaccc cagcgcagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
 ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaga 180
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
 gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta cctcaccctg gacgttcggc 360
 caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccc 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgectgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggttaactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 600
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
 ggcttgagct cgccctcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708

<210> 8

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15
 Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
 20 25 30
 Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
 35 40 45
 Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala
 50 55 60
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
 100 105 110
 Gly Thr Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 115 120 125
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 130 135 140

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

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

<400> 9

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

24
25

PC32619A ST25 txt

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

<210> 13

<211> 1335

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

75
76

26
27

PC32619A ST25 txt

agcctgacct gcctgggtcaa aggccttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1140
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacttcca tgctggactc cgacggctcc 1200
ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1260
tcattgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1320
tctccpggta aatga 1335

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

<400> 14

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Val Ala Pro Leu Gly Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

77
78

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<400> 15

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

78
79

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
145 150

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

<400> 16

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

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

<400> 17

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

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

<400> 18

Val Ala Pro Leu Gly Pro Leu Asp Tyr
1 5

<210> 19
<211> 645

PC32619A ST25 txt

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 19
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgtcagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct 240
gaggattttg cagtgtatta ctgtcaacag tatggtaggt caccattcac tttcggccct 300
gggaccaaag tagatatcaa gcgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtag 645

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

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

79
80

20
81

145 150 PC32619A ST25 txt 160
155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

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

<400> 21

Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu
1 5 10 15
Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln
20 25 30
Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser
35 40 45
Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
50 55 60
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val
65 70 75 80
Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly
85 90 95
Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
100 105 110
Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
115 120 125
Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
130 135 140

Val Asp
145

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

81
82

PC32619A ST25 txt

<400> 22

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

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

<210> 25

<211> 1413

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 25

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggatatgat gaagtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgagag agatccgagg 360
ggagctaccc ttactacta ctactacggt atggacctt ggggcccaagg gaccacggtc 420
accgtctect cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcgcc ctgctccagg 480
agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgccctggtca aggactactt ccccgaaaccg 540
gtgacgggtg cgtggaaactc aggcgtctcg accagcgcg tgcacacctt cccagctgtc 600
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660
ggcaccacga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720
acagttgagc gcaaattgtt tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 840
gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960
agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020
gagtacaagt gcaagggtct caacaaaggc ctccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080
aaaaccaaa ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

82
83

PC32619A ST25 txt

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260
 ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

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

<400> 26

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 130 135 140
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
 195 200 205

85
84

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
 450

<210> 27
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 27

84
85

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165

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

<400> 28

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

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

<400> 29

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

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

PC32619A ST25 txt

<400> 30

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

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

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

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

<400> 32

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

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

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

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

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

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

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

85
86

PC32619A ST25 txt

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

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

<400> 33

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

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

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

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

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

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

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

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

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

87
88

PC32619A ST25 txt

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

<400> 34

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

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

<400> 35

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

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

<400> 36

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

88
89

International application No
.../IB2005/003307

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C07K16/28 A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 262 193 A (PFIZER PRODUCTS INC) 4 December 2002 (2002-12-04) claims	1-20
Y	HURWITZ A A ET AL: "CTLA-4 BLOCKADE SYNERGIZES WITH TUMOR-DERIVED GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR FOR TREATMENT OF AN EXPERIMENTAL MAMMARY CARCINOMA" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 95, no. 17, 1998, pages 10067-10071, XP000882999 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-20

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 March 2006

Date of mailing of the international search report

21/03/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 91 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sommerfeld, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2005/003307

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DEMARIA S ET AL: "Combination of local radiation with CTLA4 blockade: A new approach to the immunotherapy of breast cancer." INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS, vol. 57, no. 2 Supplement, 2003, page S259, XP009062510 & 45TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR THERAPEUTIC RADIOLOGY AND ONCOLOGY; SALT LAKE CITY, UTAH, USA; OCTOBER 19-23, 2003 ISSN: 0360-3016 the whole document	1-20
Y	PHAN GIAO Q ET AL: "Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 100, no. 14, 8 July 2003 (2003-07-08), pages 8372-8377, XP002370107 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-20
Y	LEACH D R ET AL: "ENHANCEMENT OF ANTITUMOR IMMUNITY BY CTLA-4 BLOCKADE" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, vol. 271, 22 March 1996 (1996-03-22), pages 1734-1736, XP000986211 ISSN: 0036-8075 the whole document	1-20
A	KWON EUGENE D ET AL: "Manipulation of T cell costimulatory and inhibitory signals for immunotherapy of prostate cancer" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 94, no. 15, 1997, pages 8099-8103, XP002370108 ISSN: 0027-8424 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2005/003307

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CAMACHO L H ET AL: "Phase 1 clinical trial of anti- CTLA4 human monoclonal antibody CP-675,206 in patients (pts) with advanced solid malignancies." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, SUPPL. (S), vol. 22, no. 14, 15 July 2004 (2004-07-15), pages 164S-164S, XP009062495 ALEXANDRIA, VA 22314 USA abstract -----	
A	MCCOY KATHY D ET AL: "The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses" IMMUNOLOGY AND CELL BIOLOGY, vol. 77, no. 1, February 1999 (1999-02), pages 1-10, XP002370109 ISSN: 0818-9641 the whole document -----	
P,Y	KORMAN A ET AL: "Tumor immunotherapy: Preclinical and clinical activity of anti-CTLA4 antibodies" CURRENT OPINION IN INVESTIGATIONAL DRUGS 2005 UNITED KINGDOM, vol. 6, no. 6, 2005, pages 582-591, XP009062509 ISSN: 1472-4472 the whole document -----	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/182005/003307

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 1-15 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2005/003307

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1262193	A	04-12-2002	
		AU 4242102 A	28-11-2002
		CA 2382443 A1	23-11-2002
		CN 1404876 A	26-03-2003
		CZ 20021760 A3	14-05-2003
		HU 0201737 A2	28-02-2003
		JP 2002371013 A	26-12-2002
		PL 354112 A1	02-12-2002
		SK 7242002 A3	01-07-2003
		ZA 200204020 A	21-11-2003

TRATAMIENTO COMBINADO DE ANTICUERPO ANTI-CTLA4 E INHIBIDOR DE
AROMATASA
PARA EL CÁNCER DE MAMA

5 **Antecedentes de la Invención**

Cada año a más de 180 000 mujeres se les diagnostica cáncer de mama en los Estados Unidos. Si siguen constantes los porcentajes de cáncer de mama actuales cada mujer nacida hoy en día tiene una probabilidad de un décimo de desarrollar cáncer de mama a una edad media de inicio de aproximadamente 60 a 65 años.

10 En aproximadamente dos tercios de las pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama la enfermedad es dependiente de estrógenos por lo cual pueden tratarse con una terapia antiestrogénica. Los estrógenos promueven el crecimiento y la proliferación de células diana específicas tales como el epitelio de la mama y células de carcinoma de mama dependiente de estrógenos (Brueggemeier *Amer J Therapeutics*
15 8 333-344 (2001)). De esta manera la terapia sistémica de tratamiento adyuvante administrada además del tratamiento primario de un cáncer de mama localizado (por ejemplo una cirugía conservativa de mama y radioterapia o mastectomía) se ha centrado en agentes que bloquean el receptor de estrógenos en células tumorales. Estos agentes antihormonales incluyen tamoxifeno (NOVALDEX D SOLTAMOX TAMO
20 FEN) que inhibe la unión de estrógenos al receptor de los estrógenos fulvestrant (FASLODEX) que degrada el receptor así como inhibidores de aromatasa (por ejemplo anastrozol (ARIMIDEX) letrozol (FEMARA) y exemestano (AROMASIN)) que bloquean la catálisis por la enzima aromatasa de la transformación de andrógenos en estrógenos reduciendo de esta manera la cantidad de ligando hormonal disponible
25 para unirse al receptor.

A pesar de los avances en las terapias hormonales o en otras terapias contra el cáncer de mama se estima que 40 921 mujeres morirán por cáncer de mama recurrente o avanzado en 2004 (American Cancer Society Cancer Statistics (2004)). Actualmente no se dispone de ningún tratamiento curativo para los pacientes con la enfermedad extensiva y la terapia es esencialmente paliativa. De esta manera las nuevas terapias tales como la combinación de un agente antihormonal con inmunoterapia son importantes en el tratamiento del cáncer de mama. Más específicamente una estrategia de inmunoterapia contra el cáncer de mama se dirige al antígeno 4 asociado a los linfocitos T citotóxicos (CTLA4 CD152) que es un receptor de la superficie celular
35 expresado en células T activadas. La unión de CTLA4 a sus ligandos naturales B7 1

(CD80) y B7 2 (CD86) libera una señal reguladora negativa a las células T y el bloqueo de esta señal negativa potencia la función inmune de las células T y la actividad antitumoral en modelos animales (Thompson y Allison *Immunity* 7 445-450 (1997) McCoy and LeGros *Immunol & Cell Biol* 77 1 10 (1999)) Varios estudios han demostrado que el bloqueo de CTLA4 usando anticuerpos mejora notablemente la destrucción de tumores mediada por células T y puede inducir inmunidad antitumoral (Leach et al *Science* 271 1734-1736 (1996) Kwon et al *Proc Natl Acad Sci USA* 94 8099-8103 (1997) Kwon et al *Natl Acad Sci USA* 96 15074-15079 (1999))

Aunque el uso de anticuerpos anti-CTLA4 para inducir una respuesta antitumoral es muy prometedor en el tratamiento del cáncer y a pesar de la promesa de terapias antihormonales en el tratamiento del cáncer de mama existe la necesidad de desarrollar nuevas terapias para tratar el cáncer de mama La presente invención satisface esta necesidad

Sumario de la Invención

La invención incluye un método para el tratamiento del cáncer de mama en un paciente que necesite dicho tratamiento El método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 o una porción de unión al antígeno del mismo en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa

En un aspecto el inhibidor de aromatasa es al menos un inhibidor seleccionado entre el grupo consistente en anastrozol letrozol y exemestano En otro aspecto el inhibidor de aromatasa es exemestano

En un aspecto la cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 humano varía de aproximadamente 1 mg/kg a 40 mg/kg

En otro aspecto la cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 humano varía de aproximadamente 3 mg/kg a 15 mg/kg

En otro aspecto más la cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano varía de aproximadamente 25 mg al día a 200 mg al día

En otro aspecto la cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano es de aproximadamente 25 mg al día

En un aspecto el tratamiento se selecciona entre el grupo compuesto por una terapia neoadyuvante una terapia adyuvante un tratamiento de primera línea un tratamiento de segunda línea y un tratamiento de tercera línea

En otro aspecto el anticuerpo se selecciona entre un grupo compuesto por un anticuerpo de mamífero no humano un anticuerpo quimérico y un anticuerpo humano

En un aspecto el anticuerpo es un anticuerpo anti-CTLA4 humano

En otro aspecto el anticuerpo anti-CTLA4 o la porción de unión al antígeno del mismo es al menos un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en

(a) un anticuerpo humano que tiene una afinidad de unión por CTLA4 de aproximadamente 10^{-8} o mayor y que inhibe la unión entre CTLA4 y B7-1 y la unión entre CTLA4 y B7-2

(b) un anticuerpo humano que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una secuencia de CDR humana que corresponde a una secuencia de CDR de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

(c) un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 y 12 9 1 1

(d) un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

(e) un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo que compete por la unión con CTLA4 con al menos un anticuerpo que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1 y

(f) un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo que compete de forma cruzada por la unión con CTLA4 con al menos un anticuerpo que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

En otro aspecto el anticuerpo es un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 11 2 1

En otro aspecto el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera donde las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de la cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la cadena ligera se seleccionan entre el grupo consistente en

- (a) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 3 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 9
- (b) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 15 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 21
- 5 (c) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 27 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 33
- (d) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 1 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 7
- 10 (e) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 13 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 19
- (f) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 25 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 31
- 15 (g) la secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo 10D1

En un aspecto, el anticuerpo o la porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en

- (a) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 4 SEC ID N° 5 y SEC ID N° 6 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 10 SEC ID N° 11 y SEC ID N° 12
- 25 (b) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 16 SEC ID N° 17 y SEC ID N° 18 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 22 SEC ID N° 23 y SEC ID N° 24
- 30 (c) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 28 SEC ID N° 29 y SEC ID N° 30 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 34 SEC ID N° 35 y SEC ID N° 36 y
- 35

(d) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las CDR1 CDR2 y CDR3 de cadena pesada del anticuerpo 10D1 que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las CDR1 CDR2 y CDR3 de cadena ligera del anticuerpo 10D1

En otro aspecto el método también comprende administrar al paciente al menos un agente seleccionado entre el grupo consistente en un agente alquilante un antagonista de folato un antagonista de pirimidina un antibiótico de antraciclina un compuesto de platino un taxano un vinca alcaloide un análogo de camptotecina un agente estimulante de un receptor toll-like una vacuna para tumores basada en la proteína del choque térmico una terapia basada en células presentadoras de antígenos una diana de mamíferos del inhibidor de rapamicina un inhibidor de erbB2 un inhibidor de EGFR un inhibidor de VEGF un inhibidor de VEGFR un inhibidor de la angiogénesis un anticuerpo un inmunomodulador un modulador selectivo del receptor de estrógenos una citoquina una vacuna para tumores un agente antiproliferativo una molécula coestimuladora inmune y una citoquina

La invención incluye una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer de mama que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti CTLA4 una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa y un vehículo farmacéuticamente aceptable

En un aspecto el inhibidor de aromatasa es al menos un inhibidor de aromatasa seleccionado entre el grupo compuesto por anastrozol letrozol y exemestano

En otro aspecto el inhibidor de aromatasa es exemestano

Esta invención incluye el uso de una cantidad de un anticuerpo anti-CTLA4 en la preparación de una composición para el tratamiento del cáncer de mama en un paciente donde el tratamiento comprende además administrar al paciente una cantidad de un inhibidor de aromatasa

En un aspecto el inhibidor de aromatasa es exemestano y además el anticuerpo es un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y ligera del anticuerpo 11 2 1

Breve Descripción de los Dibujos

El compendio anterior así como la siguiente descripción detallada de la invención se entenderán mejor cuando se lean junto con los dibujos adjuntos. Para ilustrar la invención se muestran los dibujos de las realizaciones preferidas actualmente Sin

91
98

embargo debe entenderse que la invención no se limita a las disposiciones precisas ni a los instrumentos mostrados

En los dibujos

La Figura 1 que comprende las Figuras 1A-1D muestra las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos para el anticuerpo anti-CTLA4 4 1 1. La Figura 1A muestra la secuencia de nucleótidos de longitud completa para la cadena pesada de 4 1 1 (SEC ID N° 1). La Figura 1B muestra la secuencia de aminoácidos de longitud completa para la cadena pesada de 4 1 1 (SEC ID N° 2) y la secuencia de aminoácidos para la región variable de cadena pesada de 4 1 1 (SEC ID N° 3) designada entre corchetes []. La secuencia de aminoácidos de cada CDR de cadena pesada de 4 1 1 está subrayada. Las secuencias de las CDR son las siguientes: CDR1 GFTFSSHGMH (SEC ID N° 4), CDR2 VIWYDGRNKYYADSV (SEC ID N° 5) y CDR3 GGHFPGPFDY (SEC ID N° 6). La Figura 1C muestra la secuencia de nucleótidos para la cadena ligera de 4 1 1 (SEC ID N° 7). La Figura 1D muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 4 1 1 de longitud completa (SEC ID N° 8) y la región variable como se indica entre corchetes [] (SEC ID N° 9). Se indica la secuencia de aminoácidos de cada CDR como sigue: CDR1 RASQSISSSFLA (SEC ID N° 10), CDR2 GASSRAT (SEC ID N° 11) y CDR3 CQQYGTSPWT (SEC ID N° 12).

La Figura 2 que comprende las Figuras 2A-2D muestra las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos para el anticuerpo anti-CTLA4 4 13 1. La Figura 2A muestra la secuencia de nucleótidos de longitud completa para la cadena pesada de 4 13 1 (SEC ID N° 13). La Figura 2B muestra la secuencia de aminoácidos de longitud completa para la cadena pesada de 4 13 1 (SEC ID N° 14) y la secuencia de aminoácidos para la región variable de cadena pesada de 4 13 1 (SEC ID N° 15) designada entre corchetes []. La secuencia de aminoácidos de cada CDR de cadena pesada de 4 13 1 está subrayada. Las secuencias de las CDR son las siguientes: CDR1 GFTFSSHGIH (SEC ID N° 16), CDR2 VIWYDGRNKDYADSV (SEC ID N° 17) y CDR3 VAPLGPLDY (SEC ID N° 18). La Figura 2C muestra la secuencia de nucleótidos para la cadena ligera de 4 13 1 (SEC ID N° 19). La Figura 2D muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 4 13 1 de longitud completa (SEC ID N° 20) y la región variable como se indica entre corchetes [] (SEC ID N° 21). Se indica la secuencia de aminoácidos de cada CDR como sigue: CDR1 RASQSVSSYLA (SEC ID N° 22), CDR2 GASSRAT (SEC ID N° 23) y CDR3 CQQYGRSPFT (SEC ID N° 24).

La Figura 3 que comprende las Figuras 3A-3D muestra las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos para el anticuerpo anti-CTLA4 11 2 1. La Figura 3A mues-

tra la secuencia de nucleótidos de longitud completa para la cadena pesada de 11 2 1 (SEC ID N° 25) La Figura 3B muestra la secuencia de aminoácidos de longitud completa para la cadena pesada de 11 2 1 (SEC ID N° 26) y la secuencia de aminoácidos para la región variable de cadena pesada de 11 2 1 (SEC ID N° 27) designada entre corchetes [] La secuencia de aminoácidos de cada CDR de cadena pesada de 11 2 1 está subrayada Las secuencias de las CDR son las siguientes CDR1 GFTFSSYGMH (SEC ID N° 28) CDR2 VIWYDGSNKYYADSV (SEC ID N° 29) y CDR3 DPRGATLYYYYGMDV (SEC ID N° 30) La Figura 3C muestra la secuencia de nucleótidos para la cadena ligera de 11 2 1 (SEC ID N° 31) La Figura 3D muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 11 2 1 de longitud completa (SEC ID N° 32) y la región variable como se indica entre corchetes [] (SEC ID N° 33) Se indica la secuencia de aminoácidos de cada CDR como sigue CDR1 RASQSINSYLD (SEC ID N° 34) CDR2 AASSLQS (SEC ID N° 35) y CDR3 QQYYSTPFT (SEC ID N° 36)

15

Descripción Detallada De La Invención

La invención se refiere a anticuerpos anti CTLA4 usados en combinación con al menos un inhibidor de aromatasa por ejemplo anastrozol letrozol y exemestano para tratar el cáncer de mama en un paciente que necesite dicho tratamiento La invención se refiere además al tratamiento del cáncer de mama por combinación de la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa con otro agente o agentes

A menos que se defina de otra manera en este documento los términos científicos y técnicos usados en relación con la presente invención tendrán los significados entendidos comúnmente por los especialistas habituales en la técnica Además a menos que el contexto requiera otra cosa los términos singulares incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán los singulares En general las nomenclaturas usadas en relación con y las técnicas de cultivo de células y tejidos biología molecular inmunología microbiología genética y química de proteínas y de ácidos nucleicos e hibridación descritas en este documento son bien conocidas y se usan comúnmente en la técnica

Los métodos y técnicas de la presente invención generalmente se realizan de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten en varias partes de la presente memoria descriptiva a menos que se indique otra cosa Estas referencias incluyen por ejemplo Sambrook y Russell *Molecular Cloning A Laboratory Approach*

Cold Spring Harbor Press Cold Spring Harbor NY (2001) Ausubel et al *Current Protocols In Molecular Biology* John Wiley & Sons NY (2002) y Harlow y Lane *Antibodies: A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor NY (1990) que se incorporan en este documento como referencia Las reacciones en
5 zimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en este documento Las nomenclaturas usadas en relación con y los procedimientos y técnicas de laboratorio de química analítica química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritos en este documento son bien conocidos y se usan comúnmente en la técnica Se usan técnicas convencionales para las síntesis químicas
10 análisis químicos preparación farmacéutica formulación y liberación y tratamiento de pacientes

Como se usa en este documento cada uno de los siguientes términos tiene el significado asociado con él en esta sección

15 Los artículos un y una se usan en este documento para hacer referencia a uno o más de uno (es decir al menos uno) de los objetos gramaticales del artículo A modo de ejemplo "un elemento" significa un elemento o más de un elemento

Como se usa en este documento los veinte aminoácidos convencionales y sus abreviaturas siguen el uso convencional Véase *Immunology—A Synthesis* (2ª Edición
20 E S Golub y D R Gran Eds Sinauer Associates Sunderland Mass (1991)) que se incorpora en este documento como referencia

Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es una en la que un resto aminoácido se ha sustituido con otro resto aminoácido que tiene un grupo R de cadena lateral con propiedades químicas similares (por ejemplo carga o hidrofobia) En general una sustitución de aminoácidos conservativa no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína En casos en los que dos o más secuencias de aminoácidos difieren entre sí por sustituciones conservativas el porcentaje de identidad de secuencia o grado de similitud puede ajustarse hacia arriba para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución Los medios para realizar este ajuste son bien
25 conocidos para los especialistas en la técnica Véase por ejemplo Pearson *Methods Mol Biol* 243 307-31 (1994)

Los ejemplos de grupos de aminoácidos que tienen cadenas laterales con propiedades químicas similares Incluyen 1) cadenas laterales alifáticas glicina alanina valina leucina e isoleucina 2) cadenas laterales alifáticas hidroxiladas serina y treonina 3) cadenas laterales que contienen amida asparagina y glutamina 4) cadenas la
35

terales aromáticas fenilalanina tirosina y triptófano 5) cadenas laterales básicas lisina arginina e histidina 6) cadenas laterales ácidas ácido aspártico y ácido glutámico y 7) cadenas laterales que contienen azufre cisteína y metionina Los grupos preferidos para las sustituciones conservativas de aminoácidos son valina leucina-
5 isoleucina fenilalanina-tirosina lisina-arginina alanina valina glutamato-aspartato y asparagina-glutamina

Como alternativa una sustitución conservativa es cualquier cambio que tenga un valor positivo en la matriz de log probabilidad PAM250 descrita en Gonnet et al *Science* 256 1443-45 (1992) incorporado en este documento como referencia Una
10 sustitución "moderadamente conservativa" es cualquier cambio que tenga un valor no negativo en la matriz de log-probabilidad PAM250

Las sustituciones de aminoácidos preferidas son aquellas que (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación (3) alteran la afinidad de unión para formar complejos de proteína y (4) confieren o modifican
15 otras propiedades físicoquímicas o funcionales de tales análogos Los análogos que comprenden sustituciones deleciones y/o inserciones pueden incluir diversas mutelas de una secuencia distinta de la secuencia peptídica especificada Por ejemplo pueden realizarse una sola o múltiples sustituciones de aminoácidos (preferiblemente sustituciones de aminoácidos conservativas) en la secuencia especificada (preferible
20 mente en la porción del polipéptido fuera del dominio o dominios que forman contactos intermoleculares por ejemplo fuera de las CDR) Una sustitución conservativa de aminoácidos no debe cambiar de manera sustancial las características estructurales de la secuencia parental (por ejemplo un aminoácido sustituyente no debe tender a romper una hélice que se encuentra en la secuencia parental o alterar otros tipos de
25 estructura secundaria que caracterizan a la secuencia parental) Los ejemplos de estructuras polipeptídicas secundarias y terciarias reconocidas en la técnica están descritos en *Proteins Structures and Molecular Principles* (Creighton Ed W H Freeman and Company New York (1984)) *Introduction to Protein Structure* (C Branden and J Tooze eds Garland Publishing New York NY (1991)) y Thornton et al *Nature*
30 354 105 (1991) que se incorporan en este documento como referencia

La similitud de secuencia para los polipéptidos típicamente se mide usando un software de análisis de secuencia El software de análisis de proteínas compara secuencias similares usando mediciones de la similitud asignada a diversas sustituciones deleciones y otras modificaciones incluyendo sustituciones de aminoácidos conservativas Por ejemplo Genetics Computer Group (GCG disponible en Genetics
35

Computer Group Inc.) también denominado Wisconsin Package es un software integrado de más de 130 programas para el acceso análisis y manipulación de secuencias de nucleótidos y proteínas GCG contiene programas tales como "Gap" y "Bestfit" que pueden usarse con parámetros por defecto para determinar la similitud de secuencia homología y/o identidad de secuencia entre polipéptidos muy relacionados tales como polipéptidos homólogos de diferentes especies de organismos o entre una proteína de tipo silvestre y una mutada de la misma Véase por ejemplo GCG versión 6.1 versión 9.1 y versión 10.0

Las secuencias de polipéptidos también pueden compararse usando FASTA empleando parámetros por defecto o recomendados un programa en GCG Versión 6.1 FASTA (por ejemplo FASTA2 y FASTA3) proporciona alineamientos y porcentajes de identidad de secuencia de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias problema y de búsqueda (Pearson *Methods Enzymol* 183 63-98 (1990) Pearson *Methods Mol Biol* 132 185-219 (2000)) Otro algoritmo preferido cuando se compara una secuencia de la invención con una base de datos que contiene un gran número de secuencias de diferentes organismos es el programa informático BLAST especialmente blastp o tblastn usando parámetros por defecto Véase por ejemplo Altschul et al *J Mol Biol* 215 403-410 (1990) Altschul et al *Nucleic Acids Res.* 25 3389-402 (1997) incorporado en este documento como referencia

Una "aromatasa " como se usa el término en este documento se refiere a una enzima (por ejemplo 450_{arom}) que cataliza la aromatización del anillo A de un andrógeno sustrato (principalmente androstenodiona) para dar estrona

Inhibidor de aromatasa significa un compuesto o sustancia que cuando entra en contacto con una aromatasa inhibe de manera detectable la formación del anillo A de un andrógeno sustrato en comparación con el nivel de dicha aromatización en ausencia del compuesto o sustancia Para evaluar si hay inhibición y/o su nivel puede usarse cualquier ensayo para evaluar el nivel de actividad enzimática por una aromatasa Un inhibidor de aromatasa incluye pero sin limitación un inhibidor esteroideo o no esteroideo tal como entre otros exemestano anastrozol letrozol fadrozol vorozol y formestano y el término incluye cualquier inhibidor de aromatasa tanto si se conoce como si se va a identificar en el futuro

Un "anticuerpo" intacto comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro Véase en general *Fundamental Immunology* Ch 7 (Paul W ed 2nd ed Raven Press N Y (1989)) incorporado como referencia en su totalidad para todos los fines) Cada cadena pesada com-

prende una región variable de cadena pesada (HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada (C_H). La región constante de cadena pesada comprende tres dominios CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio C_L . Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR) intercaladas con regiones que están más conservadas denominadas regiones flanqueantes (FR). Cada V_H y V_L comprende tres CDR y cuatro FR dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. La asignación de los aminoácidos a cada dominio está de acuerdo con las definiciones de Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 y 1991)) o Chothia y Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989).

La expresión "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo") como se usa en este documento se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, CTLA4). Se ha demostrado que la función de unión a antígenos de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión incluidos dentro del término "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente consistente en los dominios V_L , V_H , C_L y C_H1 ; (ii) un fragmento $F(ab)_2$, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un enlace disulfuro en la región de bisagra; (iii) un fragmento Fd consistente en los dominios V_H y C_H1 ; (iv) un fragmento Fv consistente en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546) consistente en un dominio V_H y (vi) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H , se codifican por genes separados, pueden unirse usando métodos recombinantes por un enlazador sintético que permita que se transformen en una sola cadena proteica en la que las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenarias (scFv)) véase por ejemplo Bird et al., *Science* 242:423-426 (1988) y Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988). Estos anticuerpos monocatenarios también pretenden incluirse dentro de la expresión "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo. También se incluyen otras formas de anticuerpos monocatenarios tales como diacuerpos. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes biespecíficos

en los que los dominios V_H y V_L se expresan en una sola cadena polipeptídica pero usando un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena forzando de esta manera a los dominios a emparejarse con dominios de complementariedad de otra cadena y creando dos sitios de unión al antígeno (véase por ejemplo Holliger et al *Proc Natl Acad Sci USA* 90 6444-6448 (1993) Poljak et al *Structure* 2 1121-1123 (1994))

Además un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo puede formar parte de moléculas de Inmuno adhesión mayores formadas por asociación covalente o no covalente del anticuerpo o porción de anticuerpo con una o más proteínas o péptidos distintos. Los ejemplos de estas moléculas de inmuno adhesión incluyen el uso de la región del núcleo de estreptavidina para obtener una molécula de scFv tetramérica (Kipriyanov et al *Human Antibodies and Hybridomas* 6 93-101 (1995)) y el uso de un resto de cisteína un péptido marcador y una señal de polihistidina C-terminal para obtener moléculas de scFv bivalentes y biotiniladas (Kipriyanov et al *Mol Immunol* 31 1047-1058 (1994)) Otros ejemplos incluyen aquellos en los que una o más CDR de un anticuerpo se incorporan en una molécula de manera covalente o no covalente para conseguir una inmuno adhesina que se une específicamente a un antígeno de interés tal como CTLA4. En estas realizaciones las CDR pueden incorporarse como parte de una cadena polipeptídica mayor pueden unirse covalentemente a otra cadena polipeptídica o pueden incorporarse de manera no covalente. Pueden prepararse porciones de anticuerpo tales como fragmentos Fab y $F(ab)_2$ a partir de anticuerpos enteros usando técnicas convencionales tales como digestión con papaína o pepsina respectivamente de anticuerpos enteros. Además pueden obtenerse anticuerpos porciones de anticuerpos y moléculas de inmuno adhesión usando técnicas de ADN recombinante convencionales como se describe en este documento

Cuando en este documento se hace referencia a un "anticuerpo" con respecto a la presente invención debe entenderse que también puede usarse una porción de unión al antígeno del mismo. Una porción de unión al antígeno compete con el anticuerpo intacto por la unión específica. Véase en general Fundamental Immunology, Ch 7 (Paul W ed 2^a ed Raven Press N Y (1989)) incorporado como referencia en su totalidad para todos los fines). Las porciones de unión a antígenos pueden producirse por técnicas de ADN recombinante o por escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. En algunas realizaciones las porciones de unión al antígeno incluyen fragmentos Fab Fab $F(ab)_2$ Fd Fv dAb y fragmentos de regiones determinantes de complementariedad (CDR) anticuerpos monocatenarios (scFv) anticuerpos

químicos díacuerpos y polipéptidos que contienen al menos una porción de un anticuerpo que es suficiente para conferir unión específica de antígeno al polipéptido. En realizaciones que tienen uno o más sitios de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes.

5 Las expresiones "anticuerpo humano" o anticuerpo de secuencia humana como se usan indistintamente en este documento incluyen anticuerpos que tienen regiones variables y constantes (si es el caso) derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos de secuencia humana de la invención pueden incluir restos aminoacídicos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagé-
10 nesis aleatoria o de localización dirigida in vitro o por mutación somática in vivo). Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano" como se usa en este documento no pretende incluir anticuerpos químicos en los que se han injertado secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamífero, tales como ratón, en
15 secuencias flanqueantes humanas (es decir, anticuerpos humanizados o PRIMATIZED™ (primatizados)).

La expresión "anticuerpo químico" como se usa en este documento significa un anticuerpo que comprende regiones de dos o más anticuerpos diferentes. En una realización, una o más de las CDR proceden de un anticuerpo anti-CTLA4 humano.
20 En otra realización, todas las CDR proceden de un anticuerpo anti-CTLA4 humano. En otra realización, las CDR de más de un anticuerpo anti-CTLA4 humano se combinan en un anticuerpo humano químico. Por ejemplo, un anticuerpo químico puede comprender una CRD1 de la cadena ligera de un primer anticuerpo anti-CD40 humano, una CDR2 de la cadena ligera de un segundo anticuerpo anti-CTLA4 humano y
25 una CDR3 de la cadena ligera de un tercer anticuerpo anti-CTLA4 humano, y las CDR de la cadena pesada pueden derivar de uno o más anticuerpos anti-CD40 distintos. Además, las regiones flanqueantes pueden proceder de uno de los mismos anticuerpos anti-CTLA4 o de uno o más humanos diferentes.

Además, como se ha descrito previamente en este documento, el anticuerpo
30 químico incluye un anticuerpo que comprende una porción derivada de las secuencias de la línea germinal de más de una especie.

Glicoforma se refiere a una estructura de oligosacárido compleja que comprende enlaces de diversas unidades de carbohidrato. Estas estructuras se describen por ejemplo en *Essentials of Glycobiology* Varki et al. eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1999) que también proporciona una revisión de
35

la nomenclatura de la glicobiología convencional. Estas glicoformas incluyen, pero sin limitación, G2, G1, G0, G1 y G-2 (véase, por ejemplo, Publicación de Patente Internacional N° WO 99/22764).

5 "Modelo de glicosilación" se define como el modelo de unidades de carbohidrato que están unidas covalentemente a una proteína (por ejemplo, la glicoforma) así como al sitio o sitios en los que la o las glicoformas se unen covalentemente al esqueleto peptídico de una proteína, más específicamente a una molécula de inmunoglobulina.

10 Es probable que los anticuerpos expresados por diferentes líneas celulares o en animales transgénicos tengan diferentes glicoformas y/o patrones de glicosilación en comparación entre ellos. Sin embargo, todos los anticuerpos codificados por las moléculas de ácido nucleico proporcionadas en este documento o que comprenden las secuencias de aminoácidos proporcionadas en este documento forman parte de la presente invención, independientemente de la glicosilación de los anticuerpos.

15 Por la expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en este documento, se entiende una cantidad que cuando se administra a un mamífero, preferiblemente un ser humano, media una respuesta terapéutica detectable en comparación con la respuesta detectada en ausencia del compuesto. Una respuesta terapéutica tal como, pero sin limitación, inhibición de y/o reducción del crecimiento de un tumor, del tamaño del tumor, de la metástasis y similares, puede evaluarse fácilmente por una plétora de métodos reconocidos en la técnica, incluyendo por ejemplo, métodos tales como los descritos en este documento.

20

El especialista en la técnica entenderá que la cantidad eficaz del compuesto o composición administrada en este documento varía y puede determinarse fácilmente basándose en varios factores tales como la enfermedad o afección a tratar, la fase de la enfermedad, la edad y salud y estado físico del mamífero a tratar, la gravedad de la enfermedad, el compuesto particular a administrar y similares.

25

Por la expresión "compite" como se usa en este documento con respecto a un anticuerpo, se entiende que un primer anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo compete por la unión con un segundo anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo, donde la unión del primer anticuerpo con un epítipo afín se reduce de manera detectable en presencia del segundo anticuerpo en comparación con la unión del primer anticuerpo en ausencia del segundo anticuerpo. Puede darse el caso alternativo donde la unión del segundo anticuerpo a su epítipo también se reduzca de manera detectable en presencia del primer anticuerpo, pero no es necesario que ocu-

30

35

rra esto Es decir un primer anticuerpo puede inhibir la unión de un segundo anticuerpo a su epítipo sin que el segundo anticuerpo inhiba la unión del primer anticuerpo a su epítipo respectivo Sin embargo cuando cada anticuerpo inhibe de manera detectable la unión del otro anticuerpo con su epítipo o ligando afín ya sea en la misma medida en mayor o en menor medida se dice que los anticuerpos presentan "competencia cruzada" entre sí por la unión de sus epítopos respectivos Por ejemplo los anticuerpos con competencia cruzada pueden unirse al epítipo o porción del epítipo al que se unen los anticuerpos usados en la invención La presente invención incluye el uso de anticuerpos tanto con competencia como con competencia cruzada Independientemente del mecanismo por medio del cual tiene lugar tal competición o competición cruzada (por ejemplo impedimento estérico cambio conformacional o unión a un epítipo común o a una porción del mismo y similares) el especialista en la técnica debe apreciar que basándose en las enseñanzas proporcionadas en este documento se incluyen estos anticuerpos con competencia y/o con competencia cruzada y pueden ser útiles para los métodos aquí descritos

El término "epítipo" incluye cualquier determinante proteico capaz de unirse de manera específica a una inmunoglobulina o receptor de células T Los determinantes epítópicos consisten normalmente en grupos de moléculas de superficie activos desde un punto de vista químico tales como cadenas laterales de aminoácidos o de azúcares y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas así como características de carga específicas Los epítopos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión al primero pero no al segundo se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes

Material de Instrucciones como se usa dicho término en este documento incluye una publicación una grabación un diagrama o cualquier otro medio de expresión que puede usarse para comunicar la utilidad del compuesto combinación y/o composición de la invención en el kit para afectar aliviar o tratar las diversas enfermedades o trastornos mencionados en este documento Opcionalmente o como alternativa el material de instrucciones puede describir uno o más métodos para aliviar las enfermedades o trastornos en una célula un tejido o un mamífero Incluyendo como se describe en otras partes de este documento

El material de Instrucciones del kit por ejemplo puede fijarse a un recipiente que contenga el compuesto y/o composición de la invención o puede transportarse junto con un recipiente que contiene el compuesto y/o composición Como alternativa el material de instrucciones puede transportarse por separado del recipiente con la in-

tención de que el receptor use el material de instrucciones y el compuesto de manera cooperativa

Excepto cuando se indica los términos "paciente" o "sujeto" se usan indistintamente y se refieren a mamíferos tales como pacientes humanos y primates no humanos así como pacientes de veterinarios tales como conejos ratas y ratones y otros animales Preferiblemente pacientes se refiere a un ser humano

En este documento se usa la notación convencional para representar las secuencias polipeptídicas el extremo izquierdo de una secuencia polipeptídica es el extremo amino el extremo derecho de una secuencia polipeptídica es el extremo carboxi

Por la frase "se une específicamente" como se usa en este documento se entiende un compuesto por ejemplo una proteína un ácido nucleico un anticuerpo y similares que reconoce y se une a una molécula específica pero no reconoce sustancialmente ni se une a otras moléculas en una muestra Por ejemplo un anticuerpo o un inhibidor peptídico que reconoce y se une a un ligando afín (por ejemplo un anticuerpo anti CTLA4 que se une con su antígeno afín CTLA4) en una muestra pero no reconoce sustancialmente ni se une a otras moléculas en la muestra De esta manera en las condiciones de ensayo designadas el resto de unión especificado (por ejemplo un anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo) se une preferentemente a una molécula diana particular y no se une en una cantidad significativa a otros componentes presentes en una muestra de ensayo Para seleccionar un anticuerpo que se una específicamente a una molécula de interés pueden usarse diversos formatos de ensayo Por ejemplo se usan inmunoensayo ELISA en fase sólida inmunoprecipitación BIAcore y análisis de transferencia de Western para identificar un anticuerpo que reacciona específicamente con CTLA4 Típicamente una reacción específica o selectiva será al menos dos veces la señal o interferencia de fondo y más típicamente más de 10 veces la señal de fondo incluso más específicamente se dice que un anticuerpo "se une específicamente" a un antígeno cuando la constante de disociación en equilibrio (K_D) es $\leq 1 \mu\text{M}$ preferiblemente $\leq 100 \text{ nM}$ y más preferiblemente $\leq 10 \text{ nM}$

El término " K_D " se refiere a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno particular

Como se usa en este documento "sustancialmente puro" significa que una especie objeto es la especie predominante presente (es decir en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición) y preferiblemente una fracción sustancialmente purificada es una composición en la que la espe-

cie objeto (por ejemplo un anticuerpo anti-CTLA4) comprende al menos aproximadamente 50 por ciento (en una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. Generalmente una composición sustancialmente pura comprenderá más de aproximadamente 80 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en la composición más preferiblemente más de aproximadamente 85% 90% 95% y 99%. Aún más preferiblemente la especie objeto se purifica hasta esencialmente la homogeneidad (las especies contaminantes no pueden detectarse en la composición por métodos de detección convencionales) donde la composición consiste esencialmente en una sola especie macromolecular.

Como se usa en este documento "tratar" significa reducir la frecuencia con la que se experimentan los síntomas de una enfermedad (es decir crecimiento de un tumor y/o metástasis u otros efectos mediados por el número y/o actividad de células inmunes y similares) por un paciente. El término incluye la administración de los compuestos o agentes de la presente invención para prevenir o retrasar el inicio de los síntomas complicaciones o indicios bioquímicos de una enfermedad (por ejemplo la elevación del nivel de PSA) aliviar los síntomas o detener o inhibir el desarrollo adicional de la enfermedad afección o trastorno. El tratamiento puede ser profiláctico (para prevenir o retrasar el inicio de la enfermedad o para prevenir la manifestación de síntomas clínicos o subclínicos de la misma) o la supresión terapéutica o alivio de los síntomas después de la manifestación de la enfermedad.

I. Terapia de Combinación de Anticuerpo-Inhibidor de Aromatasa

La invención se refiere a métodos para la administración de un anticuerpo que se une a CTLA4 humano o una porción de unión al antígeno del anticuerpo en combinación con una terapia hormonal (por ejemplo un inhibidor de aromatasa) para tratar el cáncer de mama. La combinación del bloqueo de CTLA4 con la reducción en el nivel de estrógenos en un paciente de acuerdo con un método de la invención puede proporcionar un efecto terapéutico beneficioso sinérgico como se describe con más detalle más adelante.

Aunque la invención incluye numerosas terapias de combinación donde el anticuerpo se administra al paciente en combinación con al menos un inhibidor de aromatasa la presente invención no se limita de forma alguna a los agentes ilustrados que se presentan en este documento sólo con fines ilustrativos.

En una realización a un paciente con cáncer de mama se le administra una combinación de un anticuerpo contra CTLA4 o una porción de unión al antígeno del

mismo y un inhibidor de aromatasa ("AI") En un aspecto el inhibición de aromatasa se selecciona entre el grupo consistente en anastrozol letrozol y exemestano que están disponibles en el mercado como ARIMIDEX, FEMARA y AROMASIN respectivamente. Más preferiblemente el inhibidor de aromatasa es exemestano. Esto se debe a que un efecto sinérgico o aditivo está mediado por la administración de una combinación que comprende un anticuerpo anti-CTLA4 y un AI. Sin el deseo de limitarse por ninguna teoría particular de la invención la terapia con AI puede aumentar quizás por cambios apoptóticos u otros cambios arquitecturales la exposición de antígenos específicos de tumores cancerosos de mama al sistema inmune de tal manera que aumente la respuesta inmune a las células tumorales. Es decir la terapia hormonal puede crear o aumentar una fuente de antígenos específicos de tumores por medio de muerte de células tumorales que a su vez, pueden suministrar antígenos tumorales a las rutas de presentación de antígeno del hospedador. El anticuerpo anti-CTLA4 media una mayor respuesta inmune a los mayores niveles de antígeno específico de tumor en la ruta de presentación de antígeno proporcionando de esta manera un efecto terapéutico sinérgico potencial cuando se combina con una terapia de inhibidor de aromatasa. Otras terapias de combinación que pueden ocasionar sinergia con la potenciación por anti-CTLA4 de la respuesta inmune por medio de la liberación por muerte celular de antígenos específicos de tumores son radiación cirugía y quimioterapia. Sin embargo, este no debe limitarse por ninguna teoría de la invención la combinación de bloqueo de CTLA4 e inhibición de aromatasa puede inducir una respuesta inmunológica más potente al cáncer de mama de lo que se esperaba. Por lo tanto la combinación de bloqueo de aromatasa usando entre otros exemestano en combinación con un anticuerpo anti-CLTA4 puede proporcionar un efecto sinérgico potencial proporcionando de esta manera un nuevo tratamiento terapéutico importante para el cáncer de mama.

Los métodos de la invención pueden realizarse como una terapia neoadyuvante antes de la cirugía radioterapia o cualquier otro tratamiento localizado para sensibilizar a las células tumorales o conferir de otra manera un efecto terapéutico beneficioso al paciente. Sin embargo la invención no se limita a la situación neoadyuvante. En su lugar los métodos de la invención pueden usarse a lo largo de la enfermedad y junto con el tratamiento continuo por ejemplo pero sin limitación terapia adyuvante de primera línea de segunda línea de tercera línea y similares para el cáncer de mama.

En una realización el cáncer de mama es positivo para receptores de estrógenos (ER+) de tal manera que la inhibición de la aromatasa reduce el nivel de estróge-

nos afectando de esta manera al tumor. En un aspecto, el tumor ER+ está presente en una mujer postmenopáusica (post-men) de tal manera que la reducción del nivel de estrógenos media un efecto terapéutico antitumoral en el paciente. Sin embargo, aunque puede ser preferible administrar la terapia AI a una paciente post-men ER+, la presente invención no se limita a esta paciente, sino que más bien comprende la administración de una terapia con anticuerpo anti-CTLA4-inhibidor de aromatasas a cualquier paciente que pueda obtener un efecto terapéutico beneficioso por una combinación de la reducción del nivel de estrógenos con un aumento inmune a través del bloqueo de CTLA4, como se determina por el especialista en la técnica equipado con las enseñanzas proporcionadas en el presente documento.

II. Regímenes de Dosificación

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada. Por ejemplo, puede administrarse un bolo único, pueden administrarse varias dosis divididas en el tiempo o la dosis puede reducirse o incrementarse proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Resulta especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en una forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria, como se emplea en esta memoria, se refiere a unidades discretas desde un punto de vista físico adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos que se van a tratar, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitaria de la invención está dictada por y depende directamente de (a) las características del anticuerpo y el efecto terapéutico o profiláctico particular que se quiere conseguir y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de la obtención de compuestos tales como un compuesto activo para el tratamiento de sensibilidad en individuos.

Un intervalo ilustrativo, no limitante, para una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo administrado de acuerdo con la invención es al menos aproximadamente 1 mg/kg, al menos aproximadamente 5 mg/kg, al menos aproximadamente 10 mg/kg, más de aproximadamente 10 mg/kg, o al menos aproximadamente 15 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 1-30 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 1-25 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 1-20 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 5-20 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 10-20 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 15-20 mg/kg, o por ejemplo, aproximadamente 15 mg/kg. Debe indicarse que los valo-

res de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la afección que se quiere mejorar y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Adicionalmente debe entenderse que para cualquier sujeto particular los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse en el tiempo de acuerdo con las necesidades del individuo y con el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los intervalos de dosificación mostrados en esta memoria son sólo ilustrativos y que no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada. Las determinaciones de las dosificaciones apropiadas y los regímenes de administración del anticuerpo son bien conocidas en la técnica relevante y debe entenderse que se incluyen dentro de las capacidades del especialista en la técnica una vez proporcionadas las enseñanzas descritas en el presente documento.

En una realización el anticuerpo se administra en una formulación intravenosa como una solución acuosa estéril que contiene de aproximadamente 5 a 20 mg/ml de anticuerpo en un sistema tampón apropiado.

En una realización para la administración de dosis bajas parte de la dosis se administra por una inyección intravenosa en embolada y el resto por infusión de la formulación de anticuerpo. Por ejemplo puede administrarse una inyección intravenosa de 0.01 mg/kg del anticuerpo como una embolada y el resto de una dosis predeterminada de anticuerpo puede administrarse mediante una inyección intravenosa. En otra realización la dosis baja entera se administra como una sola inyección en embolada. En el caso de dosis mayores por ejemplo 3 mg/kg el anticuerpo no se administra como una embolada sino que la cantidad entera se administra por infusión. Una dosis predeterminada del anticuerpo puede administrarse por ejemplo durante un periodo de aproximadamente una hora y media a aproximadamente cinco horas.

La presente invención se refiere a la administración de una combinación de un anticuerpo anti-CTLA4 y un inhibidor de aromatasa. El especialista en la técnica debe apreciar que la combinación puede administrarse simultáneamente o los dos agentes pueden administrarse en diferentes momentos. Por ejemplo en una realización el anticuerpo se administra como una sola inyección y/o infusión y el inhibidor de aromatasa (por ejemplo exemestato) se administra una vez al día empezando antes durante o después de la administración del anticuerpo. Típicamente el exemestano se administra diariamente una vez al día normalmente a la misma hora del día y acompañado por una comida. Sin embargo la presente invención no se limita a ninguna dosificación o régimen de administración particular para un inhibidor de aromatasa. En su lugar la dosis óptima la vía y el régimen de administración del anticuerpo y el inhibidor de aroma-

tasa pueden determinarse fácilmente por un especialista habitual en la técnica pertinente usando métodos bien conocidos

Por ejemplo pueden administrarse una sola dosis o múltiples dosis del anticuerpo. Como alternativa puede administrarse al menos una dosis o al menos tres
5 sels ó 12 dosis. Las dosis pueden administrarse por ejemplo cada dos semanas una vez al mes cada veinte días cada 25 días cada 28 días cada 30 días cada 40 días cada 6 semanas cada 50 días cada dos meses cada 70 días cada 80 días cada tres meses cada seis meses o una vez al año. Además el inhibidor de aromatasa puede administrarse diariamente varias veces o una vez al día una vez por semana
10 una semana sí y otra no una semana sí y dos no una semana sí y tres no una vez al mes cada tres meses cada seis meses una vez al año o cualquier periodo que proporcione un efecto terapéutico beneficioso al paciente determinado por el especialista en la técnica.

El anticuerpo puede administrarse hasta que se observe la progresión de la enfermedad una toxicidad intolerable o hasta 12 ciclos consecutivos lo que ocurra antes. El anticuerpo también puede administrarse usando un régimen que comprende la
15 administración de una dosis de carga seguida de una dosis menor. Pueden administrarse cursos repetidos de al menos uno y más preferiblemente varios ciclos de anticuerpo y un inhibidor de aromatasa a un paciente que experimenta recurrencia de un tumor que previamente se ha beneficiado por la administración de la combinación de un anticuerpo anti-CTLA4 y un inhibidor de aromatasa
20

En una realización a un paciente se le administra por vía intravenosa una sola inyección que comprende el anticuerpo anti-CTLA4 a una dosis de aproximadamente 3 mg/kg cada veintiocho días. Al paciente también se le administra una dosis de aproximadamente 25 mg por día de exemestano antes durante y/o después de la administración del anticuerpo. En una realización de la invención a un paciente se le administra por vía intravenosa una sola dosis que comprende el anticuerpo anti-CTLA4 a una dosis de aproximadamente 3 mg/kg preferiblemente aproximadamente 6 mg/kg más preferiblemente aproximadamente 10 mg/kg preferiblemente aproximadamente 15 mg/kg cada
25 tres meses. Al paciente también se le administra una dosis de aproximadamente 25 mg por día de exemestano antes durante y/o después de la administración del anticuerpo. En otra realización a un paciente se le administra por vía intravenosa una inyección en embolada que comprende un anticuerpo anti-CTLA4 a una dosis mayor de 3 mg/kg (por ejemplo 6 10 15 20 25 30 35 o 40 mg/kg) cada veintiocho días. La dosis
30 puede ajustarse como se conoce en la técnica basándose entre otros factores en la

toxicidad si es el caso y la eficacia terapéutica. Al paciente también se le administra una dosis de aproximadamente 25 mg por día de exemestano antes durante y/o después de la administración del anticuerpo.

La combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa puede administrarse como una terapia adyuvante sistémica de primera línea o puede administrarse al paciente como una terapia neoadyuvante antes de la cirugía radioterapia o cualquier otro tratamiento para sensibilizar a las células tumorales o para conferir de otra manera un efecto terapéutico beneficioso al paciente.

Además la combinación puede administrarse como una terapia de segunda línea tal como pero sin limitación una vez que ha fallado la terapia de primera línea con tamoxifeno. Como alternativa la combinación puede administrarse conjuntamente con la terapia con tamoxifeno y/o en cualquier momento durante la terapia con tamoxifeno que típicamente se administra durante aproximadamente cinco años después del tratamiento inicial. En otra realización la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 y exemestano puede administrarse a un paciente después de aproximadamente dos o tres años de terapia con tamoxifeno u otra terapia adyuvante. Esto se debe a que se ha demostrado que la terapia con exemestano después de aproximadamente dos a tres años de terapia con tamoxifeno proporciona un efecto terapéutico beneficioso mientras que reduce los efectos secundarios de la terapia de tamoxifeno.

De esta manera una combinación de un anticuerpo anti-CTLA4 y un inhibidor de aromatasa preferiblemente exemestano puede proporcionar un efecto terapéutico beneficioso una vez que ha fallado la terapia de tamoxifeno una vez que ha fallado la terapia adyuvante sistémica usando otro inhibidor de aromatasa (por ejemplo anastrozol letrozol y similares) y/o después de la administración de tamoxifeno durante aproximadamente dos a tres años entre otras cosas. Por lo tanto la invención incluye la administración de un anticuerpo anti-CTLA4 y un inhibidor de aromatasa en combinación con o después de una terapia antihormonal adicional incluyendo pero sin limitación tamoxifeno anastrozol letrozol y fulvestrant como apreciará un especialista en la técnica basándose en la descripción proporcionada en este documento.

III. Anticuerpos Anti CTLA4

En una realización el anticuerpo contra CTLA4 usado en la invención comprende una cadena pesada donde la secuencia de aminoácidos de la V_H comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 3 15 y 27 En otra realización la V_L del anticuerpo contra CTLA4 comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 9 21 y 33 Más preferiblemente las regiones V_H y V_L del anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 3 (V_H 4 1 1) y en la SEC ID N° 9 (V_L 4 1 1) respectivamente las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 15 (V_H 4 13 1) y en la SEC ID N° 21 (V_L 4 13 1) respectivamente y las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 27 (V_H 11 2 1) y en la SEC ID N° 33 (V_L 11 2 1) respectivamente Aún más preferiblemente el anticuerpo es ticilimumab (también conocido como CP-675 206) que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 11 2 1

En otra realización la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos codificada por un ácido nucleico que comprende las secuencias de ácido nucleico indicadas en las SEC ID N° 1 13 y 25 En otra realización la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos codificada por un ácido nucleico que comprende las secuencias de ácido nucleico indicadas en las SEC ID N° 7 19 y 31 Más preferiblemente las cadenas pesada y ligera comprenden las secuencias de aminoácidos codificadas por ácidos nucleicos que comprenden las secuencias de ácido nucleico indicadas en la SEC ID N° 1 (cadena pesada 4 1 1) y en la SEC ID N° 7 (cadena ligera 4 1 1) respectivamente las secuencias de ácido nucleico indicadas en la SEC ID N° 13 (cadena pesada 4 13 1) y en la SEC ID N° 19 (cadena ligera 4 13 1) respectivamente y las secuencias de ácido nucleico indicadas en la SEC ID N° 25 (cadena pesada 11 2 1) y en la SEC ID N° 31 (cadena ligera 11 2 1) respectivamente

Además el anticuerpo puede comprender una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende secuencias de aminoácidos de CDR humana procedentes del gen V_H 3-30 ó 3-33 o sustituciones conservativas o mutaciones somáticas de éste Se entenderá que el gen V_H 3-30 o V_H 3-33 codifica de FR1 a FR3 de la región variable de cadena pesada de una molécula de anticuerpo De esta manera la invención comprende un anticuerpo que comparte una identidad de al menos 85% más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 91% incluso más preferiblemente al menos 94% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 97% incluso más preferiblemente al menos 98% incluso

117
46

más preferiblemente al menos 99% y aún más preferiblemente 100% con la secuencia de FR1 a FR3 de un anticuerpo seleccionado entre el grupo compuesto por 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 2 9 1 1 10D1 y DP-50

- 5 El anticuerpo además puede comprender regiones CDR en su cadena ligera derivada del gen A27 o el gen O12 o puede comprender las regiones CDR de un anticuerpo seleccionado entre el grupo compuesto por 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 2 9 1 1 10D1

- En otras realizaciones de la invención el anticuerpo inhibe la unión entre
10 CTLA4 y B7-1 B7 2 o ambos Preferiblemente el anticuerpo puede inhibir la unión con B7 1 con una Cl_{50} de aproximadamente 100 nM o menor más preferiblemente aproximadamente 10 nM o menor por ejemplo aproximadamente 5 nM o menor aún más preferiblemente aproximadamente 2 nM o menor o incluso más preferiblemente por ejemplo aproximadamente 1 nM o menor De manera similar el anticuerpo puede
15 Inhibir la unión con B7 2 con una Cl_{50} de aproximadamente 100 nM o menor más preferiblemente 10 nM o menor por ejemplo incluso más preferiblemente aproximadamente 5 nM o menor aún más preferiblemente aproximadamente 2 nM o menor o incluso más preferiblemente por ejemplo aproximadamente 1 nM o menor

- Además en otra realización el anticuerpo anti CTLA4 tiene una afinidad de
20 unión por CTLA4 de aproximadamente 10^{-8} o mayor más preferiblemente una afinidad de aproximadamente 10^{-9} o mayor más preferiblemente una afinidad de aproximadamente 10^{-10} o mayor e incluso más preferiblemente una afinidad de aproximadamente 10^{-11} o mayor

- El anticuerpo anti-CTLA4 incluye un anticuerpo que compite por la unión con
25 un anticuerpo que tiene secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 6 1 1 11 2 1 4 13 1 y 4 14 3 Además el anticuerpo anti-CTLA4 puede competir por la unión con el anticuerpo 10D1

- En otra realización el anticuerpo preferiblemente compite de manera cruzada
30 con un anticuerpo que tiene una secuencia de cadena pesada y ligera una secuencia de cadena pesada variable y ligera variable y/o las secuencias CDR de cadena pesada y ligera del anticuerpo 4 1 1 4 13 1 4 14 3 6 1 1 ó 11 2 1 Por ejemplo el anticuerpo se puede unir al epítipo al que se une un anticuerpo que tiene secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera secuencias variables y/o secuencias CDR de
35 un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 13 1 4 14 3 6 1 1 ó

11 2 1 En otra realización el anticuerpo comparte de manera cruzada con un anticuerpo que tiene secuencias de cadena ligera y pesada o secuencias de unión al antígeno de 10D1 (MDX-D010)

En otra realización la invención se lleva a la práctica utilizando un anticuerpo anti-CTLA4 que comprende una cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-1 CDR-2 y CDR-3 y una cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de CDR-1 CDR 2 y CDR-3 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 y 12 9 1 1 o secuencias que tienen cambios respecto a las secuencias de CDR seleccionados del grupo que consiste en cambios conservativos donde los cambios conservativos se seleccionan del grupo que consiste en sustitución de restos no polares por otros restos no polares sustitución de restos polares cargados distintos de los restos polares no cargados sustitución de restos polares cargados por otros restos polares cargados y sustitución de restos similares estructuralmente sustituciones no conservativas donde las sustituciones no conservativas se seleccionan del grupo que consiste en sustitución de restos polares cargados por restos polares no cargados y sustitución de restos no polares por restos polares adiciones y deleciones

En una realización adicional de la invención el anticuerpo contiene menos de 10 7 5 ó 3 cambios de aminoácidos respecto a la secuencia de la línea germinal en las regiones flanqueantes o CDR. En otra realización el anticuerpo contiene menos de 5 cambios de aminoácidos en las regiones flanqueantes y menos de 10 cambios en las regiones CDR. En una realización preferida el anticuerpo contiene menos de 3 cambios de aminoácidos en las regiones flanqueantes y menos de 7 cambios en las regiones CDR. En una realización preferida los cambios en las regiones flanqueantes son conservativos y los de las regiones CDR son mutaciones somáticas.

En otra realización el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia (por ejemplo de aminoácidos de ácido nucleico o ambos) de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 94% preferiblemente al menos 95% y más preferiblemente al menos 99% en las secuencias de longitud completa de cadena pesada y ligera o en la cadena pesada o la cadena ligera por separado con las secuencias del anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1. Incluso más preferiblemente el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de 100% sobre la cadena pesada y la cadena ligera.

o con la cadena pesada o la cadena ligera por separado de un anticuerpo seleccionado entre el anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1

En otra realización el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 94% más preferiblemente al menos 95% incluso más preferiblemente al menos 99% sobre las secuencias de longitud completa de cadena pesada y ligera o sobre la cadena pesada o la cadena ligera por separado con las secuencias de la línea germinal V_κ A27 la línea germinal V_κ O12 y la línea germinal DP50 (que es un alelo del locus del gen V_H 3-33). Incluso más preferiblemente el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de 100% sobre la secuencia de cadena pesada de la línea germinal DP50 y/o con la secuencia de cadena ligera de la línea germinal A27 o la línea germinal O12

En una realización el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia (por ejemplo de aminoácidos de ácido nucleico o ambos) de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 94% preferiblemente al menos 95% y más preferiblemente al menos 99% sobre las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera o sobre la región variable de cadena pesada o cadena ligera por separado con las secuencias del anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1 Incluso más preferiblemente el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de 100% sobre las secuencias de región variable de la cadena pesada y la cadena ligera o con la secuencia de la cadena pesada o la cadena ligera por separado de un anticuerpo seleccionado entre el anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1

En otra realización el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 94% más preferiblemente al menos 95% incluso más preferiblemente al menos 99% sobre la secuencia de la región variable de cadena pesada con la secuencia variable de cadena pesada de la línea germinal DP50 (que es un alelo del locus del gen V_H 3-33) o con la secuencia variable de cadena ligera de la línea germinal V_κ A27 o la línea germinal V_κ O12 Incluso más preferiblemente la secuencia de la región de cadena pesada del anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de 100% con la secuencia de

120
144

la línea germinal DP50 o con la secuencia de cadena ligera de la línea germinal A27 o la línea germinal O12

En una realización de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al menos 85%
5 incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% con las secuencias de la cadena pesada la cadena ligera o ambas de FR1 a FR4 con las secuencias de la región FR1 a FR4 del anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1 Incluso más preferiblemente el anticuerpo comparte una
10 identidad de secuencia o similitud de secuencia de 100% sobre las secuencias de cadena pesada ligera o ambas de FR1 a FR4 con el anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

En otra realización de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al
15 menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% y aún más preferiblemente aproximadamente 100% con las secuencias de cadena pesada de FR1 a FR3 con las secuencias de las regiones FR1 a FR3 de la línea germinal DP50

En otra realización de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al
20 menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% y aún más preferiblemente aproximadamente 100% con las secuencias de cadena ligera de FR1 a FR4 con las secuencias de la región FR1 a FR4 de la línea germinal V_H A27 o de la línea germinal V_H
25 O12

En una realización de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al
menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% con las secuencias CDR-1 CDR-2 y
30 CDR-3 de la cadena pesada la cadena ligera o ambas del anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 10D1 Incluso más preferiblemente el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de 100% sobre las secuencias CDR 1 CDR-2 y CDR-3 de cadena pesada ligera o ambas con el anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3
35 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

721
120

En otra realización de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% y aún más preferiblemente aproximadamente 100% con las secuencias CDR-1 y CDR-2 de la cadena pesada con las secuencias CDR 1 y CDR-2 de la línea germinal DP50

En otra realización más de la presente invención el anticuerpo comparte una identidad de secuencia o similitud de secuencia de al menos 80% más preferiblemente al menos 85% incluso más preferiblemente al menos 90% aún más preferiblemente al menos 95% más preferiblemente al menos 99% y aún más preferiblemente aproximadamente 100% con las secuencias CDR-1 CDR-2 y CDR-3 de la cadena ligera con las secuencias CDR-1 CDR-2 y CDR 3 de la línea germinal V_κ A27 o la línea germinal V_κ O12

Se describen ejemplos de anticuerpos que pueden emplearse en la presente invención y métodos para su producción entre otras fuentes en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 09/472 087 ahora expedida como Patente de Estados Unidos N° 6 682 736 Solicitud Internacional N° PCT/US00/23356 (publicada el 1 de marzo de 2001 como documento WO 01/14424) (por ejemplo el anticuerpo 10D1 también conocido como MDX-010 Medarex Princeton NJ) Solicitud Internacional N° PCT/US99/28739 (publicada el 8 de Junio de 2000 como documento WO 00/32231) Patente de Estados Unidos N° 5 811 097 5 855 887 6 051 227 y 6 207 156 cada una de las cuales se incorpora en este documento como referencia Aunque en este documento se proporciona información sobre las secuencias de aminoácidos y de ácido nucleico en relación con esos anticuerpos puede encontrarse más información en la Patente de Estados Unidos N° 6 682 736 así como en el documento WO 00/37504 las secuencias incluidas en esas solicitudes se incorporan en el presente documento como referencia

En la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 10/153 382 ahora publicada como Publicación de la Solicitud de Patente N° 2003/0086930 que se incorpora como referencia como si se explicara con detalle en este documento se describieron ciertos usos para estos anticuerpos para tratar diversos cánceres

Se describen con detalle características de anticuerpos anti-CTLA4 humanos útiles en los métodos de la invención por ejemplo en la Patente de Estados Unidos N° 6 682 736 e incluyen anticuerpos que tienen secuencias de aminoácidos de un anticuerpo tal como pero sin limitación el anticuerpo 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1

122
121

4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1 La invención también se refiere a métodos que usan anticuerpos que comprenden las secuencias de aminoácidos de las CDR de las cadenas pesadas y ligeras de estos anticuerpos así como las que comprenden cambios en las regiones CDR como se describe en las solicitudes y patentes citadas anteriormente. La invención también se refiere a anticuerpos que comprenden las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de estos anticuerpos. En otra realización el anticuerpo se selecciona entre un anticuerpo que comprende la región variable de longitud completa o las secuencias de aminoácidos de CDR de las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos 3 1 1 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 y 12 9 1 1 y 10D1

Aunque pueden preferirse los anticuerpos anti CTLA4 descritos anteriormente en este documento el especialista en la técnica basándose en la descripción proporcionada en este documento debe apreciar que la invención incluye una amplia diversidad de anticuerpos anti-CTLA4 y no se limita a esos anticuerpos particulares. Más particularmente aunque se prefieren los anticuerpos humanos la invención no se limita de forma alguna a los anticuerpos humanos en su lugar la invención incluye anticuerpos útiles independientemente de la especie de la que proceden e incluye entre otros anticuerpos quiméricos humanizados y/o primatizados. Además aunque los anticuerpos ilustrados en este documento se obtuvieron usando un mamífero transgénico por ejemplo un ratón que comprendía un repertorio inmune humano el especialista en la técnica basándose en la descripción proporcionada en este documento debe entender que la presente invención no se limita a un anticuerpo producido por este u otro método particular. En su lugar la invención incluye un anticuerpo anti CTLA4 producido por cualquier método incluyendo pero sin limitación un método conocido en la técnica (por ejemplo selección de bibliotecas de presentación de fagos y similares) o que se desarrollará en el futuro para producir un anticuerpo anti-CTLA4 de la invención. Basándose en la descripción extensiva proporcionada en este documento y por ejemplo en la Patente de Estados Unidos N° 6 682 736 de Hanson et al y la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2002/0088014 un especialista en la técnica puede producir e identificar fácilmente un anticuerpo útil para el tratamiento del cáncer de mama en combinación con un agente terapéutico hormonal usando los nuevos métodos descritos en este documento.

La presente invención incluye anticuerpos humanos producidos usando un mamífero transgénico no humano es decir XenoMouse™ (Abgenix Inc. Fremont CA) como se describe en el documento U S 6 682 736 de Hanson et al

123
122

Otro sistema de ratón transgénico para la producción de anticuerpos "humanos" se denomina "HuMAb-MouseTM" (Medarex, Princeton NJ) que contiene miniloci de genes de inmunoglobulina humana que codifican secuencias de inmunoglobulina reordenada de cadena pesada humana (mu y gamma) y cadena ligera kappa junto con mutaciones dirigidas que inactivan los loci endógenos de cadena mu y kappa (Lonberg et al *Nature* 368 856-859 (1994) y Patente de Estados Unidos N° 5 770 429)

Sin embargo la invención usa anticuerpos anti-CTLA4 humanos producidos usando cualquier mamífero transgénico tal como pero sin limitación el Kirin TC MouseTM (Kirin Beer Kabushiki Kaisha Tokyo Japan) como se describe por ejemplo en Tomizuka et al *Proc Natl Acad Sci USA* 97 722 (2000) Kuroiwa et al *Nature Biotechnol* 18 1086 (2000) Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2004/0120948 de Mikayama et al y HuMAb-MouseTM (Medarex, Princeton NJ) y XenoMouseTM (Abgenix, Inc. Fremont CA) supra De esta manera la invención incluye el uso de un anticuerpo anti-CTLA4 producido usando cualquier animal transgénico u otro animal no humano

En otra realización los anticuerpos utilizados en métodos de la invención no son completamente humanos sino "humanizados" En particular los anticuerpos murinos o los anticuerpos de otras especies pueden "humanizarse" o "primatizarse" utilizando técnicas que son muy conocidas en la técnica Véase por ejemplo Winter y Harris *Immunol Today* 14 43-46 (1993) Wright et al *Crit Reviews in Immunol* 12 125-168 (1992) y la Patente de Estados Unidos N° 4 816 567 de Cabilly et al y Mage y Lamoyl in *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications* pp 79-97 Marcel Dekker Inc. New York NY (1987) De esta manera los anticuerpos humanizados quiméricos anticuerpos anti CTLA4 procedentes de cualquier especie (incluyendo anticuerpos monocatenarios obtenidos a partir de camélidos como se describe por ejemplo en las Patentes de Estados Unidos N° 5 759 808 y 6 765 087 de Casterman y Hamers) así como cualquier otro anticuerpo humano pueden combinarse con un agente terapéutico para poner en práctica los nuevos métodos descritos en este documento

Como se apreciará basándose en la descripción proporcionada en este documento pueden obtenerse anticuerpos para uso en la invención a partir de un mamífero transgénico no humano e hibridomas derivados de los mismos pero también pueden expresarse en líneas celulares distintas de hibridomas

Las líneas celulares de mamífero disponibles como hospedadores para la expresión son muy conocidas en la técnica e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas de la American Type Culture Collection (ATCC) que incluyen pero no están limitadas a

124
123

células de ovario de hámster Chino (CHO) NSO Sp2 HEK, células HeLa células de riñón de hamster (BHK) células de riñón de mono (COS) y células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo Hep G2) También pueden emplearse células procaróticas y eucarióticas no procedentes de mamífero Incluyendo células bacterianas de levadura de insectos y vegetales

Pueden usarse diversos sistemas de expresión bien conocidos en la técnica tales como pero sin limitación los descritos por ejemplo en Sambrook y Russell *Molecular Cloning A Laboratory Approach* Cold Spring Harbor Press Cold Spring Harbor NY (2001) y Ausubel et al *Current Protocols in Molecular Biology* John Wiley & Sons NY (2002) Estos sistemas de expresión incluyen sistemas basados en la dihidrofolato reductasa (DHFR) entre otros muchos El sistema de expresión de glutamina sintetasa se describe en su totalidad o en parte en relación con las Patentes Europeas N° 0216846B1 N° 0256055B1 y N° 0323997B1 y la Solicitud de Patente Europea N° EP89303964 En una realización el anticuerpo usado se obtiene en células NSO usando un sistema de glutamina sintetasa (GS-NSO) En otra realización el anticuerpo se obtiene en células CHO usando un sistema DHFR Los dos sistemas son bien conocidos en la técnica y se describen entre otros en Barnes et al *Biotech & Bioengineering* 73 261 270 (2001) y las referencias citadas en este documento

La mutagénesis dirigida del dominio CH2 del anticuerpo para eliminar la glicosilación puede ser preferida con el fin de evitar cambios bien en la inmunogenicidad farmacocinética y/o en las funciones del efector que resultan de la glicosilación que no es humana Además el anticuerpo puede desglicosilarse por métodos enzimáticos (véase por ejemplo Thotakura et al *Meth Enzymol* 138 350 (1987)) y/o químicos (véase por ejemplo Hakimuddin et al *Arch Biochem Biophys* 250 52 (1987))

Además la invención incluye el uso de un anticuerpo anti-CTLA4 que comprende un patrón de glicosilación alterado El especialista en la técnica basándose en la descripción proporcionada en este documento apreciará que un anticuerpo anti-CTLA4 puede modificarse para comprender más sitios de glicosilación menos sitios de glicosilación o sitios de glicosilación diferentes en comparación con el anticuerpo natural Estas modificaciones se describen por ejemplo en las Publicaciones de Solicitudes de Patente de Estados Unidos N° 2003/0207336 y 2003/0157108 y en las Publicaciones de Patente Internacionales N° WO 01/81405 y 00/24893

Además la invención comprende el uso de un anticuerpo anti-CTLA4 independientemente de la glicoforma si es el caso presente en el anticuerpo Además en la técnica se conocen bien los métodos para remodelar extensivamente la glicoforma pre-

125
20

sente en una glicoproteína e incluyen por ejemplo los descritos en las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional N° WO 03/031464 WO 98/58964 y WO 99/22764 y en las Publicaciones de las Solicitudes de Patente de Estados Unidos N° 2004/0063911 2004/0132640 2004/0142856 2004/0072290 y en la Patente de Estados Unidos N° 6 802 684 de Umaña et al

Además la invención incluye el uso de un anticuerpo anti-CTLA4 con cualquier modificación covalente y no covalente conocida en la técnica incluyendo pero sin limitación la unión del polipéptido a uno de una diversidad de polímeros no proteicos por ejemplo polietilenglicol polipropilenglicol o poloxialquilenos de la manera indicada por ejemplo en las Publicaciones de las Solicitudes de Patente de Estados Unidos N° 2003/0207346 y 2004/0132640 y en las Patentes de Estados Unidos N° 4 640 835 4 496 689 4 301 144 4 670 417 4 791 192 4 179 337

Además la invención incluye el uso de un anticuerpo anti-CTLA4 o una porción de unión al antígeno del mismo una proteína quimérica que comprende por ejemplo un polipéptido de albúmina de suero humano o un fragmento de la misma Si la proteína quimérica se produce usando métodos recombinantes por ejemplo por clonación de un ácido nucleico quimérico que codifica la proteína quimérica o por unión química de las dos porciones peptídicas el especialista en la técnica entenderá una vez equipado con las enseñanzas proporcionadas en este documento que tales proteínas quiméricas son bien conocidas en la técnica y pueden conferir propiedades biológicas deseables tales como pero sin limitación una mayor estabilidad y vida media en suero para el anticuerpo de la invención y por lo tanto estas moléculas se incluyen en este documento

No es necesario que los anticuerpos que se generan para utilizarse en la invención tengan inicialmente un isotipo deseado particular En lugar de esto el anticuerpo generado puede tener cualquier isotipo y puede cambiarse el isotipo posteriormente utilizando técnicas convencionales Éstas incluyen técnicas recombinantes directas (véase por ejemplo la Patente de Estados Unidos 4 816 397) y técnicas de fusión célula-célula (véase por ejemplo la Patente de Estados Unidos N° 5 916 771

La función efectora de los anticuerpos usados en la invención puede cambiarse por el isotipo cambiando a IgG1 IgG2 IgG3 IgG4 IgD IgA, IgE o IgM para diferentes utilidades terapéuticas Es más puede evitarse la dependencia del complemento para destruir las células mediante la utilización por ejemplo de bispecíficos inmunotoxinas o marcadores radiactivos

Aunque los anticuerpos 4 1 1 4 13 1 y 11 2 1 son anticuerpos IgG2 y las secuencias de las regiones variables de los anticuerpos se proporcionan en este docu

mento (Figuras 1-3) y en las solicitudes y patentes mencionadas e incorporadas en este documento debe entenderse que en la presente invención se incluyen las secuencias de longitud completa de estos anticuerpos así como el uso de cualquier anticuerpo que comprenda las secuencias indicadas en las SEC ID N° 1-36 y que comprenda además cualquier región constante independientemente del isotipo como se describe con más detalle en otras partes de este documento. De manera similar de acuerdo con los métodos de la invención puede usarse cualquier anticuerpo que comprenda la secuencia de longitud completa de 10D1 o cualquier porción de la misma incluyendo una secuencia que codifique una porción de unión al antígeno de 10D1

De esta manera el especialista en la técnica una vez que ha recibido las enseñanzas proporcionadas en este documento apreciará fácilmente que la combinación de anticuerpo anti-CTLA4-agente terapéutico de la invención puede comprender una amplia plétora de anticuerpos anti-CTLA4

Además un especialista en la técnica basándose en la descripción proporcionada en este documento entenderá que la invención no se limita a la administración de un solo anticuerpo en su lugar la invención incluye la administración de al menos un anticuerpo anti-CTLA4 por ejemplo uno de 4 1 1 4 13 1 o 11 2 1 en combinación con un agente terapéutico. Además cualquier combinación de anticuerpos anti-CTLA4 puede combinarse con al menos un agente terapéutico y la presente invención incluye cualquiera de estas combinaciones y permutaciones de las mismas

IV. Inhibidor de Aromatasa

La presente invención se refiere a la administración de una combinación de un anticuerpo anti CTLA4 y un inhibidor de aromatasa a un paciente para el tratamiento del cáncer de mama

En la técnica son bien conocidos los agentes de terapia hormonal para el tratamiento de tumores de cáncer de mama que expresan el receptor de estrógenos. Estos agentes de terapia hormonal incluyen compuestos que afectan al propio receptor tales como pero sin limitación tamoxifeno que se une al receptor inhibiendo de esta manera la interacción de receptor-ligando y fulvestrant que degrada al receptor de tal manera que esté menos disponible para mediar la señalización a través de la interacción receptor-ligando

Además los agentes de terapia hormonal comprenden inhibidores de la enzima aromatasa tales como pero sin limitación anastrozol letrozol y exemestano. Es-

727
125

tos agentes antihormonales a diferencia del tamoxifeno y fulvestrant, presentados anteriormente. Inhiben la interacción receptor-ligando reduciendo el nivel de ligando disponible para unirse con el receptor. Más específicamente, un inhibidor de aromatasa inhibe la aromatización del anillo A de un andrógeno sustrato para formar un estrógeno que es una etapa necesaria en la biosíntesis del ligando del receptor, es decir los estrógenos. De esta manera, los inhibidores de la aromatasa median la reducción de los niveles en suero de los estrógenos, inhibiendo de esta manera el crecimiento de células tumorales que necesitan la hormona para el crecimiento.

Los inhibidores de aromatasa ("AI") no esteroideos tales como, pero sin limitación, anastrozol y letrozol, se unen reversiblemente a la porción hemo de la molécula de aromatasa y están asociados con un aumento de la actividad aromatasa. Esto puede asociarse con el desarrollo de resistencia tumoral, particularmente con el uso a largo plazo del inhibidor. Además, la biosíntesis de estrógenos en presencia de estos inhibidores puede tener lugar sin la necesidad de síntesis de nueva aromatasa, ya que el inhibidor se une reversiblemente a la enzima (véase Miller *Clin Breast Cancer* 1 S9-S14 (2000)) proporcionando también de esta manera otra oportunidad para que las células tumorales eviten la inhibición.

Los inhibidores de aromatasa esteroideos tales como exemestano difieren de los inhibidores no esteroideos (por ejemplo, anastrozol y letrozol) en que se unen irreversiblemente al sitio de unión al sustrato de la enzima y están asociados con una reducción de la actividad aromatasa. Por ejemplo, el exemestano está relacionado estructuralmente con el sustrato natural androstenodiona y se reconoce por la enzima como un falso sustrato de tal forma que compete con el sustrato natural en el sitio activo. El exemestano después se transforma en un intermedio que se une irreversiblemente a la enzima provocando su inactivación (es decir, inhibición suicida). Véase por ejemplo la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 10/611 653, publicada como Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2004/0082557, Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 10/363 935, publicada como Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2004/0024044, y Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 10/343 595, publicada como Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2003/0158168.

De esta manera, a diferencia de los inhibidores no esteroideos reversibles, el exemestano es un inactivador esteroideo de aromatasa que se une irreversiblemente a la aromatasa, ocasionando una supresión casi completa de la actividad aromatasa en tejidos periféricos, así como en el tumor, y media la reducción sustancial de los niveles

de estrógenos en suero sin efectos endocrinológicos extraños (Kaufmann et al *J Clin Oncol* 18 1399-1411 (2000)) El exemestano actualmente está aprobado en los Estados Unidos Canadá y Europa para el tratamiento de segunda línea (por ejemplo cuando la enfermedad ha progresado después de la terapia de primera línea con tamoxifeno) de mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama metastásico El exemestano produce una proporción de respuesta de aproximadamente 15% con una supervivencia media de 123 4 semanas y demuestra una ausencia de resistencia cruzada con los agentes no esteroideos de tal manera que se ha demostrado que son eficaces después del tratamiento con anastrozol y letrozol (Geisler et al *Clin Cancer Res* 4 2089-2093 (1998) Lonning *J Clin Oncol* 18 2234-2244 (2000)) Más recientemente el exemestano se ha aprobado en Europa para el tratamiento adyuvante del cáncer de mama temprano invasivo y positivo al receptor de estrógenos después de dos a tres años de terapia adyuvante inicial con tamoxifeno en mujeres postmenopáusicas

Como su Intermedio se une irreversiblemente el exemestano a diferencia de los inhibidores de aromatasa no esteroideos previene adicionalmente la biosíntesis de estrógenos ya que se requiere la síntesis *de novo* de la enzima aromatasa Además el diferente mecanismo de acción de los inhibidores de aromatasa no esteroideos y esteroideos puede explicar el fenómeno de que un inhibidor de aromatasa puede ser eficaz después de que falle otro Más particularmente el tratamiento de pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama tratadas con exemestano después del fallo del tamoxifeno y de un inhibidor de aromatasa no esteroideo proporcionó un efecto clínico beneficioso (Lonning et al *J Clin Oncol* 18 2234-2244 (2000))

De esta manera puede usarse un anticuerpo anti CTLA4 en combinación con cualquier inhibidor de aromatasa o múltiples inhibidores para tratar a un paciente con cáncer de mama cuando el tumor expresa el receptor de estrógenos (ER+) Además aunque la presente invención se ilustra por una combinación que comprende exemestano la invención no se limita de forma alguna a este inhibidor o su mecanismo de inhibición De hecho no es necesario conocer el mecanismo por medio del cual el inhibidor de aromatasa inhibe la enzima De esta manera en la combinación de la invención puede usarse cualquier inhibidor que inhiba de manera detectable la aromatización del anillo A de un sustrato en la biosíntesis de estrógenos usando cualquier ensayo conocido para ensayar dicha actividad

v. Otros Agentes

La presente invención puede combinarse adicionalmente con otros agentes y terapias por ejemplo quimioterapia cirugía radioterapia trasplante y similares para tratar a un paciente. Es decir el paciente puede someterse a una quimioterapia adicional con agentes bien conocidos tales como pero sin limitación inhibidores de factores del crecimiento modificadores de la respuesta biológica agentes alquilantes antibióticos intercalantes vinca alcaloides inmunomoduladores taxanos moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM) tales como pero sin limitación lasofoxfeno e inhibidores de angiotensina

Los agentes terapéuticos son numerosos y se han descrito por ejemplo en la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2004/0005318 N° 2003/0086930 N° 2002/0086014 y en la Publicación Internacional N° WO 03/086459 todas incorporadas en este documento como referencia entre muchas otras. Estos agentes terapéuticos incluyen pero sin limitación inhibidores de la topoisomerasa I otros anticuerpos (rituximab bevacizumab trastuzumab anticuerpo anti IGF 1R [por ejemplo CP 751 871] anticuerpo anti-CD40 [por ejemplo CP-870 893] y similares) agentes quimioterapéuticos tales como pero sin limitación imatinib (GLEEVEC) SU11248 (SUTENT sunitinib) SU12662 SU14813 BAY 43-9006 AG-013736 (axitinib) agentes estimuladores de receptores toll like (por ejemplo agonistas de TLR-9 tales como pero sin limitación CPG-7909 también denominado PF03512676 o PROMUNE) inhibidores de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO) moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM por ejemplo lasofoxfeno) taxano vinca alcaloides temozolomida inhibidores de la angiogénesis inhibidores de EGFR inhibidores de VEGF inhibidores del receptor erbB2 agentes anti proliferativos (por ejemplo inhibidores de la farnesil proteína transferasa e inhibidores de $\alpha\beta 3$ inhibitors inhibidores de $\alpha\beta 5$ inhibidores de p53 y similares) inmunomoduladores modificadores de la respuesta biológica citoquinas vacunas de tumores antígenos específicos de tumores vacunas de tumores basadas en la proteína del choque térmico terapias de células dendríticas y de células madre agentes alquilantes antagonistas de folato antagonistas de pirimidina antibióticos de antraciclina compuestos de platino moléculas coestimuladoras inmunes (por ejemplo CD4 CD25 PD 1 B7-H3 4-1BB OX40 ICOS CD30 HLA-DR MHCII y LFA) y anticuerpos agonistas a las mismas entre muchos otros

En una realización los métodos de la invención pueden combinarse adicionalmente con el trasplante por ejemplo el trasplante de células madre para proporcionar un efecto terapéutico beneficioso a un paciente afligido con cáncer de mama. El tras-

plante de células madre puede realizarse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica y puede ser un trasplante de células madre alogénico o autólogo. Además un especialista en la técnica apreciará basándose en la descripción proporcionada en este documento que el trasplante incluye la transferencia adoptiva de linfocitos autó-
5 logos u obtenidos a partir de un donante HLA compatible. Cuando el método comprende el trasplante de células madre la primera dosis de la combinación de anticuerpo-agente de terapia A1 puede administrarse después de que el sistema inmune del mamífero se haya recuperado del trasplante por ejemplo en el periodo de uno a 12 meses después del trasplante. En determinadas realizaciones la primera dosis se
10 administra en el periodo de uno a tres o de uno a cuatro meses después del trasplante. Se describen métodos de trasplante en muchos tratados incluyendo Appelbaum *en Harrison's Principles of Internal Medicine* Capítulo 14 Braunwald *et al* Eds 15th ed McGraw-Hill Professional (2001) que se incorpora en este documento como referencia.

15 Como se ha indicado previamente en este documento hay muchos agentes quimioterapéuticos disponibles actualmente para el tratamiento de tumores que son adecuados para uso en la terapia de combinación de la presente invención. Por ejemplo los agentes alquilantes son una clase de fármacos que alquilan el ADN restringiendo el desenrollamiento y la replicación de las cadenas. Un agente alquilante pre-
20 ferido para uso en los métodos de la presente invención es ciclofosfamida (CYTOXAN).

Los antagonistas de folato se unen a la dihidrofolato reductasa (DHFR) e interfieren con la síntesis de pirimidina (timidina). El metotrexato y el pemetrexed (ALIMTA) son antagonistas de folato adecuados para uso en los métodos de la presente in-
25 vención. Además de la DHFR, pemetrexed también inhibe la timidilato sintasa y la glicinamida ribonucleótido formil transferasa, dos enzimas distintas dependientes de folato implicadas en la síntesis de timidina.

Los antagonistas de pirimidina inhiben las enzimas implicadas en la síntesis de pirimidina. Como análogos de pirimidina también interfieren con la producción de
30 ADN compitiendo con nucleótidos normales por la incorporación en la molécula de ADN. Los antagonistas de pirimidina adecuados para uso en los métodos de la presente invención incluyen 5-fluorouracilo (5-FU), capecitabina (XELODA), un profármaco de 5'-desoxi 5-fluorouridina (5-FDUR) que se convierte enzimáticamente en 5-FU *in vivo* y gemcitabina (GEMZAR).

Los antibióticos de antraciclina inhiben el desenrollamiento del ADN por intercalación entre cadenas de ADN. Los antibióticos de antraciclina incluyen hidroclicloruro de doxorubicina (ADRIAMYCIN), hidroclicloruro de epirubicina (ELLENCE PHARMORUBICIN), daunorubicina (CERUBIDINE, DAUNOXOME) e hidroclicloruro de idarrubicina (IDAMYCIN PFS, ZAVEDOS). Las antraciclinas preferidas para uso con la presente invención incluyen doxorubicina y epirubicina.

Los compuestos de platino ejercen su efecto antineoplásico por intercalación entre cadenas de ADN, inhibiendo el desenrollamiento del ADN. Los compuestos de platino útiles en los métodos de la presente invención incluyen cisplatino (PLATINOL), oxaliplatino (ELOXATIN) y carboplatino (PARAPLATIN).

Los taxanos promueven el ensamblaje de microtúbulos mientras inhiben su desmontaje en tubulina, bloqueando de esta manera la capacidad de una célula de descomponer el huso mitótico durante la mitosis. Han demostrado una actividad significativa contra muchos tumores sólidos como terapia de un solo agente y en combinación con otros agentes de quimioterapia. Una realización de la terapia de combinación de la presente invención incluye el uso de uno o más taxanos en combinación con un anticuerpo IGF-1R. Los taxanos adecuados para uso en combinación con el anticuerpo IGF-1R incluyen docetaxel (TAXOTERE) y paclitaxel (TAXOL).

Los derivados de taxano que pueden ser activos en células resistentes a doxorubicina, vinblastina, paclitaxel, docetaxel y similares incluyen XRP-9981 (Sanofi Aventis) y se incluyen en la invención.

Los vinca alcaloides, tales como taxanos, son "venenos del huso mitótico" que actúan sobre los microtúbulos que forman el huso mitótico, inhibiendo la mitosis por interferencia con el montaje de los microtúbulos, impidiendo la formación del huso mitótico. Los vinca alcaloides incluyen vindesina (ELDISINE), sulfato de vinblastina (VELBAN), sulfato de vincristina (ONCOVIN) y tartrato de vinorelbina (NAVELBINE). Un vinca alcaloide preferido para uso en los métodos de la presente invención es vinorelbina.

BMS-247550 (ixabepilona) promueve la polimerización de tubulina y la estabilización de los microtúbulos, deteniendo las células en la fase G2-M e induciendo la apoptosis de las células tumorales. Este agente demuestra actividad contra las células resistentes al taxano.

También son útiles los análogos de rapamicina que se unen e inhiben la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR) e incluyen, entre otros, CCI-779 (temsirolimus, Wyeth) y RAD-001 (everolimus, CERTICAN, Novartis).

132
131

Los análogos de camptotecina actúan por medio de la inhibición de la topoisomerasa I una enzima crítica para la replicación y empaquetamiento del ADN. Los niveles de topoisomerasa I son mayores en células tumorales que en tejidos normales. Un análogo de camptotecina útil en los métodos de la presente invención es irinotecan (CAMPTOSAR).

En determinadas realizaciones de la invención, los métodos descritos más arriba se combinan con una vacuna frente al cáncer. Véase por ejemplo Oh et al *Cancer Res* 64 2610-2618 (2004) (TARP epitopes and breast cancer), Kontani et al *Int J Molec Med* 12 493-502 (2003) (dendritic cell vaccine targeting MUC1 mucin), Holmberg & Sandmaier *Expert Rev Vaccines* 3 269-277 (2004) (vaccination for breast or ovarian cancer). Es decir, las vacunas útiles pueden ser sin limitación las compuestas por antígenos asociados a cáncer de mama (por ejemplo HER-2/neu, mamaglobina, proteína asociada a los tumores de próstata y mama [TARP], MUC1, CEA, sialil-Tn y otros antígenos compuestos por carbohidratos), otros antígenos tumorales asociados con cáncer (por ejemplo p53, telomerasa), anticuerpos anti-idiotipo tales como 11D10 así como vacunas que comprenden GM-CSF, ADN y vacunas basadas en células, vacunas de células dendríticas, vacunas de virus recombinantes (por ejemplo vaccinia virus) y vacunas de la proteína de choque térmico (HSP) (por ejemplo HSPPC-96, Antigenics Inc.). Las vacunas útiles también incluyen vacunas de tumores tales como las formadas por células de tumor de mama, y pueden ser autólogas o alogénicas, y las vacunas pueden estar basadas en péptidos, ADN o células.

Las vacunas pueden administrarse antes o después de la administración de la combinación anticuerpo-inhibidor de aromatasa, y cuando la terapia forma parte del régimen, la vacuna puede administrarse antes de la quimioterapia. En ciertas realizaciones, la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa de la invención también puede administrarse antes de la quimioterapia. En otras realizaciones, el tratamiento puede combinarse con el trasplante de células madre. Es decir, la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa puede administrarse antes o después del trasplante de células madre. La vacuna también puede administrarse antes o después del trasplante de células madre y en determinadas realizaciones de manera concomitante con el anticuerpo.

Los tratamientos descritos más arriba también pueden utilizarse con inhibidores de la transducción de la señal tales como agentes que pueden inhibir las respuestas de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) tales como anticuerpos EGFR, anticuerpos EGF y moléculas que son inhibidores de EGFR, inhibidores de

VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular) tales como receptores de VEGF y moléculas que pueden inhibir VEGF e inhibidores del receptor erbB2 (HER2) tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor erbB2 por ejemplo trastuzumab (HERCEPTIN Genentech Inc. San Francisco CA) y pertuzumab (2C4
5 OMNITARG Genentech) que es un inhibidor de la dimerización de HER (HDI)

Se describen inhibidores de EGFR por ejemplo en las Publicaciones de Patente Internacional N° WO 95/19970 WO 98/14451 WO 98/02434 y en la Patente de Estados Unidos N° 5 747 498 y estas sustancias pueden usarse en la presente invención como se describe en este documento. Los agentes inhibidores de EGFR incluyen
10 aunque sin limitación los anticuerpos monoclonales C225 anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Inc. New York NY) y ABX EGF (Abgenix Inc. Remont, CA) los compuestos ZD-1839 (AstraZeneca) BIBX 1382 (Boehringer Ingelheim) MDX-447 (Medarex, Inc. Annandale NJ) y OLX 103 (Merck & Co. Whitehouse Station NJ) VRCTC-310 (Ventech Research) la toxina de fusión a EGF (Seragen Inc. Hopkinton MA) Éstos y otros
15 agentes que inhiben EGFR pueden utilizarse en la presente invención

Los compuestos dirigidos a la inhibición de la tirosina quinasa (TK) del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) representan una clase relativamente nueva de fármacos antineoplásicos que son útiles en el método de la presente invención. Muchos cánceres humanos expresan miembros de la familia de EGFR en la su-
20 perficie celular. Cuando un ligando se une a EGFR provoca una cascada de reacciones celulares que producen un aumento de la división celular e influyen sobre otros aspectos del desarrollo y la progresión del cáncer incluyendo la angiogénesis la diseminación metastásica y la inhibición de la apoptosis. Los inhibidores de EGFR-TK pueden dirigirse selectivamente a uno de los miembros de la familia EGFR (EGFR
25 (también conocido como HER1 o ErbB-1) HER2/neu (también conocido como ErbB-2) HER3 (también conocido como ErbB-3) o HER4 (también conocido como ErbB-4)) o pueden dirigirse a dos o más de ellos. Los inhibidores de EGFR TK adecuados para uso en la presente invención incluyen gefitinib (IRESSA) erlotinib (TARCEVA) CI-1033 (Pfizer) GW2016 (GlaxoSmithKline) EKB-569 (WuXi) PKI-166 (Novartis) CP-
30 724 714 (Pfizer) y BIBX 1382 (Boehringer-Ingelheim). Se describen otros inhibidores de EGFR-TK en la Patente de Estados Unidos N° 6 890 924

También pueden emplearse inhibidores de VEGF por ejemplo SU 5416 SU-6668 SU 11248 SU 12662 SU 14813 (Sugen Inc. San Francisco CA) así como AG-013736 (Pfizer) en combinación con el anticuerpo. Se describen inhibidores de
35 VEGF por ejemplo en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/IB99/00797 (pre-

sentada el 3 de mayo de 1999) Publicaciones de Patente Internacional N° WO 99/24440 WO 95/21613 WO 99/61422 WO 98/50356 WO 99/10349 WO 97/32856 WO 97/22596 WO 98/54093 WO 98/02438 WO 99/16755 WO 98/02437 Patentes de Estados Unidos N° 5 834 504 5 883 113 5 886 020 y 5 792 783 Otros ejemplos de

5 algunos inhibidores de VEGF específicos útiles en la presente invención son IM862 (Cytran Inc. de Kirkland WA) anticuerpo IMC-1C11 Imclone anticuerpo monoclonal anti-VEGF de Genentech Inc. San Francisco CA y angiozima una ribozima sintética de Ribozyme (Boulder CO) y Chiron (Emeryville CA)

Con la terapia de combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa pueden

10 combinarse inhibidores del receptor ErbB2 tales como GW-282974 GW-572016 (lapatinib) (Glaxo Wellcome plc) y los anticuerpos monoclonales AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc. Woodlands TX) trastuzumab (HERCEPTIN Genentech Inc. San Francisco CA) pertuzumab (OMNITARG 2C4 Genentech un inhibidor de la dimerización de HER2 (HDI)) y 2B-1 (Chiron) Se describen otros inhibidores del receptor erbB2 por

15 ejemplo en las Publicaciones de Patente Internacionales N° WO 98/02434 WO 99/35146 WO 99/35132 WO 98/02437 WO 97/13760 WO 95/19970 Patentes de Estados Unidos N° 5 587 458 y 5 877 305 También se describen inhibidores de ErbB2 útiles en la presente invención en el documento EP1029853 (publicado el 23 de agosto de 2000) y en la Publicación de Patente Internacional N° WO 00/44728 (publicada el 3

20 de agosto de 2000) Los compuestos y las sustancias que inhiben el receptor erbB2 descritos en las anteriormente mencionadas solicitudes PCT patentes de EEUU y solicitudes provisionales de EEUU así como otros compuestos y sustancias que inhiben el receptor erbB2 pueden utilizarse con la combinación de anticuerpo e inhibidor de aromatasa de acuerdo con la presente invención

25 Los tratamientos de la invención también pueden utilizarse con otros agentes útiles para tratar el crecimiento celular anormal o el cáncer que incluyen pero que no están limitados a otros agentes capaces de incrementar respuestas inmunes antitumorales tales como anticuerpos CTLA4 adicionales diferentes y otros agentes que también son capaces de bloquear CTLA4 y agentes antiproliferativos tales como inhibidores

30 res de la farnesil transferasa e inhibidores de $\alpha\beta 3$ tales como el anticuerpo contra $\alpha\beta 3$ Vitaxin inhibidores de $\alpha\beta 5$ inhibidores de p53 y similares

Cuando el anticuerpo de la invención se administra en combinación con otro agente inmunomodulador el agente inmunomodulador puede seleccionarse por ejemplo del grupo que consiste en un activador de las células dendríticas tales como

35 ligando CD40 y anticuerpos anti-CD40 agonistas así como amplificadores de la pre-

735
1234

sentación del antígeno amplificadores del tropismo de las células T inhibidores de factores inmunosupresores relacionados con tumores tales como TGF- β (factor de crecimiento transformante beta) e IL-10 Los anticuerpos agonistas anti-CD40 preferidos incluyen los anticuerpos descritos en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US02/38107 presentada el 8 de noviembre 2002 publicada actualmente como Publicación de Patente Internacional N° WO 03/040170 y Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 10/292 088 presentada el 8 de noviembre de 2002 publicada actualmente como Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2003/0211100 incluyendo pero sin limitación un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 3 1 1 3 1 1 H A78T 3 1 1H-A78T-V88A-V97A 3 1 1L-L4M L83V 3 1 1H-A78T-V88A-V97A/3 1 1L-L4M L83V 7 1 2 10 8 3 15 1 1 21 2 1 21 4 1 22 1 1 22 1 1H-C109A 23 5 1 23 25 1 23 28 1 23 28 1H D16E 23 29 1 y 24 2 1

Los regímenes de tratamiento presentes también pueden combinarse con anticuerpos o con otros ligandos que inhiben el crecimiento tumoral mediante su unión a IGF 1 R (receptor del factor de crecimiento semejante a la insulina 1) Los anticuerpos anti-IGF 1R específicos que pueden usarse en la presente invención incluyen los descritos en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US01/51113 presentada 20-12-01 y publicada como Publicación de Patente de Internacional N° WO02/053596 Solicitud de Patente Internacional N° PCT/IB2004/002555 presentada el 3 de agosto de 2004 y publicada como Publicación de Patente Internacional N° WO 2005/016967 Los anticuerpos anti-IGFR 1R preferidos incluyen un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cadena pesada y ligera por ejemplo del anticuerpo 2 12 1 2 13 2 2 14 3 3 1 1 4 9 2 y 4 17 3

El anticuerpo de la invención también puede administrarse con citoquinas tales como IL 2 interferón (por ejemplo IFN y IFN- α etc) GM CSF IL 12 IL-18 y FLT 3L

Los regímenes de tratamiento descritos en esta memoria pueden combinarse con agentes anti-angiogénesis tales como inhibidores de MMP-2 (metaloproteínasa de matriz 2) inhibidores de MMP-9 (metaloproteínasa de matriz 9) e inhibidores de COX-II (ciclooxigenasa II) que pueden utilizarse junto al anticuerpo en el método de la invención Los ejemplos de inhibidores de COX-II útiles incluyen CELEBREX (celecoxib) valdecoxib y rofecoxib Se describen ejemplos de inhibidores de la metaloproteínasa de matriz útiles en las Publicaciones de Patente Internacional N° WO 96/33172 WO 96/27583 WO 98/07697 WO 98/03516 WO 98/34918 WO 98/34915 WO 98/33768 WO 98/30566 WO 90/05719 WO 99/52910 WO 99/52889 WO

136
135

99/29667 Solicitudes de Patente Europeas N° 780386 (publicada el 25 de junio de 1997) 97304971 (presentada el 8 de julio de 1997) 99308617 (presentada el 29 de octubre de 1999) 808046 (publicada el 13 de julio de 1994) 931788 (publicada el 28 de julio de 1999) 99302232 (presentada el 25 de marzo de 1999) Solicitud Internacional
5 PCT/IB98/01113 (presentada el 21 de julio de 1998) solicitud de patente británica número 9912961 (presentada el 3 de junio de 1999) Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos N° 60/148.464 (presentada el 12 de agosto de 1999) y Patentes de Estados Unidos N° 5.863.949 y 5.861.510

Los inhibidores de MMP-2 y MMP-9 preferidos son aquellos que no tienen o tienen poca actividad inhibidora frente a MMP 1. Más preferidos son los que inhiben selectivamente MMP 2 y/o MMP-9 respecto a las otras metaloproteinasas de matriz (es decir MMP 1 MMP-3 MMP-4 MMP-5 MMP-6 MMP-7 MMP-8 MMP 10 MMP 11 MMP 12 y MMP-13)

Algunos ejemplos específicos de inhibidores de MMP útiles en la presente invención son AG-3340 RO 32-3555 RS 13-0830 y los compuestos referidos en la lista siguiente:

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil] (1-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiónico

hidroxiamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa bíciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico

hidroxiamida del ácido (2R, 3R)-1-[4-(2-cloro-4-fluoro-benciloxi)-bencenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-piperidina-2-carboxílico

hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino] tetrahidropiran-4-carboxílico

25 ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclobutil)-amino] propínico

hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidropiran-4-carboxílico

30 hidroxiamida del ácido (R)-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidropiran-3-carboxílico

hidroxiamida del ácido (2R, 3R)-1-[4-(4-fluoro-2-metil-benciloxi)-bencenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-piperidina-2-carboxílico

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-1-metil-etil)-amino]-propiónico

ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(4-hidroxicarbamoil-tetrahidro-
piran-4-il)-amino] propiónico

hidroxamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-
bicyclo[3.2.1]octano-3-carboxílico

5 hidroxamida del ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-
oxa-bicyclo[3.2.1]octano-3-carboxílico y

hidroxamida del ácido (R) 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]
tetrahidro-furan-3-carboxílico

y sales y solvatos de dichos compuestos aceptables desde un punto de vista
10 farmacéutico

La radioterapia puede administrarse de acuerdo con métodos de radioterapia
bien conocidos para el tratamiento del cáncer de mama. La dosis y el régimen para la
radioterapia pueden determinarse fácilmente por un especialista en la técnica y se ba-
san en la fase de la enfermedad y otros factores bien conocidos en la técnica.

15 La coadministración del anticuerpo con un inhibidor de aromatasa (terapia de
combinación) incluye la administración de una composición farmacéutica que com-
prende tanto el anticuerpo anti-CTLA4 como uno o más inhibidores de aromatasa y la
administración de dos o más composiciones farmacéuticas separadas comprendiendo
una el anticuerpo anti-CTLA4 y comprendiendo la otra o las otras el o los inhibidores
20 de aromatasa. Además, aunque la coadministración o la terapia de combinación (con-
junta) generalmente significa que el anticuerpo y los agentes terapéuticos adicionales
se administran al mismo tiempo, también incluye la dosificación simultánea, secuencial
o separada de los componentes individuales del tratamiento. Además, cuando un an-
ticuerpo se administra por vía intravenosa y el inhibidor de aromatasa se administra
25 por vía oral (por ejemplo, exemestano) se entiende que su combinación preferible-
mente se administra como dos composiciones farmacéuticas separadas.

La presente invención también incluye la administración de otros agentes tera-
péuticos además del primer y segundo componentes conjuntamente con uno o más
de esos componentes o secuencialmente antes y/o después. Estos agentes terapéu-
30 ticos incluyen vacunas para el cáncer, agentes anti-vasculares, agentes anti-
proliferativos y agentes paliativos para proporcionar cuidado de apoyo tal como, pero
sin limitación, analgésicos, agentes anti-eméticos, agentes antidiarreicos y esteroides.
Los agentes antieméticos preferidos incluyen hidrocloreuro de ondansetron, hidrocloreuro
de granisetron y metoclopramida. Los agentes antidiarreicos preferidos incluyen dife-
35 noxilato y atropina (LOMOTIL), loperamida (IMMODIUM), octreótido (SANDOSTATIN)

138
137

olsalazina (DIPENTUM) y mesalamina (ASACOL) Los esteroides preferidos incluyen el esteroide no absorbible budesonida (ENTOCORT) y los esteroides para administración sistémica dexametasona (DECADRAN) y prednisona (METICORTEN)

Cada administración puede variar en su duración desde una administración rápida a una perfusión continua Como resultado para los fines de la presente invención las combinaciones no se limitan exclusivamente a las que se obtienen por asociación física de los constituyentes sino también a las que permiten una administración separada que puede ser simultánea o estar espaciada en un periodo de tiempo Las composiciones de acuerdo con la invención preferiblemente son composiciones que pueden administrarse por vía parenteral Sin embargo estas composiciones pueden administrarse por vía oral o intrapertoneal en el caso de terapias regionales localizadas

Como apreciará un especialista en la técnica la elección de los agentes terapéuticos a usar en combinación con la terapia de combinación de anticuerpos anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa y el momento de su uso se determinarán en parte por el tipo y fase del cáncer que se está tratando Por ejemplo en el cáncer de mama detectado precozmente (cuando el cáncer de mama no se ha extendido fuera de la mama) la cirugía y la radiación generalmente van seguidas de una quimioterapia adyuvante o terapia hormonal adyuvante pudiendo estar combinadas cualquiera de ellas con la combinación de anticuerpo anti-CTLA4-inhibidor de aromatasa en los métodos de la presente invención La quimioterapia adyuvante típica para el cáncer de mama detectado precozmente incluye ciclofosfamida metotrexato y 5-FU ("CMF") 5 FU doxorubicina y ciclofosfamida ("FAC") docetaxel doxorubicina y ciclofosfamida ("TAC") doxorubicina y ciclofosfamida ("AC") doxorubicina y ciclofosfamida seguido de paclitaxel ("AC y T") y 5-FU epirubicina y ciclofosfamida ("FEC") Como se ha descrito anteriormente en otras partes de este documento el tamoxifeno es un tratamiento antihormonal administrado en esta fase De esta manera la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa puede administrarse en combinación con una terapia hormonal adicional (por ejemplo otro inhibidor de aromatasa tamoxifeno fulvestrant o cualquier combinación de los mismos) y tal combinación puede coadministrarse en combinación con una quimioterapia adyuvante (por ejemplo CMF FAC TAC AC AC y T y/o FEC o los agentes quimioterapéuticos pueden administrarse individualmente o en combinación con la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa entre otros)

139
138

En el cáncer de mama avanzado localmente donde el cáncer se ha extendido sólo a tejidos próximos o a ganglios linfáticos el paciente a menudo recibe quimioterapia antes de la cirugía y radiación que después se continúan por una terapia hormonal adyuvante. Como alternativa la cirugía/radiación va seguida de una quimioterapia adyuvante y después de una terapia hormonal adyuvante. La combinación de anticuerpo anti-CTLA4-inhibidor de aromatasa puede administrarse junto con agentes quimioterapéuticos o agentes de terapia hormonal adicionales (por ejemplo otro inhibidor de aromatasa tamoxifeno fulvestrant o cualquier combinación de los mismos) tanto si se usan antes como si se usan después de cirugía/radiación. Los regímenes quimioterapéuticos típicos para el cáncer de mama avanzado localmente incluyen FAC AC FEC y doxorubicina más docetaxel ("AT").

El cáncer de mama metastásico se ha extendido a otras partes del cuerpo desde la mama en la que se inició. La quimioterapia opcionalmente puede ir precedida de una terapia hormonal. La terapia hormonal de primera línea actualmente incluye tamoxifeno y anastrozol. Los regímenes de quimioterapia de primera línea actualmente incluyen FAC TAC docetaxel más epirubicina docetaxel paclitaxel capecitabina vinorelbina y trastuzumab (HERCEPTIN). Los tratamientos de segunda línea incluyen docetaxel solo o en combinación con capecitabina. Los métodos de la presente invención son adecuados para uso tanto como terapia de primera línea como terapia de segunda línea. Además los métodos de la invención pueden combinarse con radioterapia y trasplante de células madre y cualquier combinación de cualquiera de los tratamientos descritos en este documento conocidos en la técnica o a desarrollar en el futuro.

En una realización el agente terapéutico adicional administrado con una terapia de anticuerpo-inhibidor de aromatasa es un agente alquilante. En un aspecto el agente alquilante es ciclofosfamida.

En otra realización el agente adicional es un antagonista de folato. En un aspecto el antagonista de folato se selecciona entre el grupo compuesto por metotrexato y pemetrexed.

En una realización de la invención el agente adicional es un antagonista de pirimidina. El análogo de pirimidina puede seleccionarse entre el grupo compuesto por 5-FU capecitabina y gemcitabina.

En otra realización de la presente invención el agente adicional es un antibiótico de antraciclina. En un aspecto el antibiótico de antraciclina se selecciona entre el

grupo compuesto por epirubicina y doxorubicina. En un aspecto adicional, el antibiótico de antraciclina es doxorubicina.

En otra realización de la invención, el agente adicional es un compuesto de platino. El compuesto de platino puede seleccionarse entre el grupo compuesto por cisplatino y carboplatino.

En otra realización más de la invención, el agente adicional es un taxano. En un aspecto, el taxano es docetaxel. En otro aspecto, el taxano es paclitaxel.

En una realización de la presente invención, la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa se administra con docetaxel en combinación adicional con al menos uno de capecitabina, cisplatino, gemcitabina y epirubicina.

En una realización de la invención, la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa se administra en combinación adicional con paclitaxel y un agente adicional seleccionado entre el grupo compuesto por carboplatino, cisplatino y gemcitabina. En un aspecto, el agente adicional es carboplatino.

En otra realización, la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa se administra con un agente adicional donde el agente adicional es un vinca alcaloide. En un aspecto, el vinca alcaloide es vinorelbina.

En una realización de la invención, el agente adicional administrado con la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa es un análogo de camptotecina. En un aspecto, el análogo de camptotecina es irinotecan.

En otra realización, el agente adicional es un inhibidor de EGFR.

En una realización de la invención, el agente adicional es un inhibidor de erbB2. En un aspecto, el inhibidor de erbB2 se selecciona entre trastuzumab y pertuzumab. En otro aspecto, el inhibidor de erbB2 es trastuzumab (HERCEPTIN).

En una realización de la invención, la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa se administra en combinación además con una combinación que comprende 5-FU, doxorubicina y ciclofosfamida.

En otra realización de la presente invención, la combinación de anticuerpo anti-CTLA4 e inhibidor de aromatasa se administra en combinación además con una combinación que comprende docetaxel, doxorubicina y ciclofosfamida.

Los métodos de la presente invención también se refieren al tratamiento del cáncer en un mamífero, preferiblemente un ser humano, que se ha sometido a un trasplante de células madre, comprendiendo dichos métodos administrar al mamífero una cantidad de un anticuerpo anti-CTLA4 humano que es eficaz en el tratamiento del cáncer en combinación con un inhibidor de aromatasa y en combinación además con

el trasplante de células madre. El trasplante de células madre puede ser un trasplante de células madre alogénico o autólogo y más preferiblemente el inhibidor de aromatasa es exemestano. Cuando el método comprende el trasplante de células madre, la primera dosis de la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa puede administrarse después de que el sistema inmune del mamífero se haya recuperado del trasplante, por ejemplo, en el periodo de uno a 12 meses después del trasplante. En determinadas realizaciones, la primera dosis se administra en el periodo de uno a tres o de uno a cuatro meses después del trasplante. El paciente puede someterse a uno o más tratamientos preparatorios para el trasplante de células madre.

10

VI. Composiciones farmacéuticas

La invención incluye la preparación y uso de composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano anti-CTLA4 de la invención como ingrediente activo en combinación con un inhibidor de aromatasa, preferiblemente un inhibidor de aromatasa esteroideo, e incluso más preferiblemente el inhibidor de aromatasa es exemestano. Tal composición farmacéutica puede constar de cada ingrediente activo solo, como una combinación de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, una dosis eficaz de un anti-CTLA4 y una dosis eficaz de un inhibidor de aromatasa) en una forma adecuada para administración a un sujeto, o la composición farmacéutica puede comprender el ingrediente activo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, uno o más ingredientes adicionales (activos y/o inactivos) o alguna combinación de éstos.

En una realización, el anticuerpo se administra por vía parenteral (por ejemplo por vía intravenosa) en una solución acuosa mientras que el inhibidor de aromatasa (por ejemplo, exemestano) se administra por vía oral en forma de píldora/cápsula. Sin embargo, el especialista en la técnica entenderá basándose en la descripción proporcionada en este documento que la invención no se limita a estas o a ninguna otra formulación, dosis, vía de administración y similares. En su lugar, la invención incluye cualquier formulación o método de administración de un anticuerpo en combinación con un inhibidor de aromatasa incluyendo, pero sin limitación, la administración de cada agente por separado en una formulación diferente a través de una vía de administración diferente y la administración del anticuerpo y el inhibidor de aromatasa en una sola composición (por ejemplo, en una composición acuosa administrada entre otras vías por vía intravenosa) entre muchas otras. De esta manera, la siguiente descripción describe diversas formulaciones para poner en práctica los métodos de la inven-

35

ción que comprenden la administración de cualquier anticuerpo anti-CTLA4 en combinación con cualquier inhibidor de aromatasa pero la invención no se limita a estas formulaciones sino que comprende cualquier formulación como la que puede determinarse fácilmente por un especialista en la técnica una vez que dispone de las enseñanzas proporcionadas en este documento para uso en los métodos de la invención

Los anticuerpos utilizados en la invención pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para administrarse a un sujeto. Típicamente la composición farmacéutica comprende el anticuerpo y un vehículo aceptable desde un punto de vista farmacéutico. Como se emplea en esta memoria, "vehículo aceptable desde un punto de vista farmacéutico" incluye cualquier disolvente, medio de dispersión, recubrimiento, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y semejantes que son compatibles desde un punto de vista fisiológico. Los ejemplos de vehículos aceptables desde un punto de vista farmacéutico incluyen uno o más de agua, disolución salina, disolución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y semejantes, así como combinaciones de éstos. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol, o cloruro sódico. Las sustancias aceptables desde un punto de vista farmacéutico, tales como humectantes o cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones incrementan la duración a temperatura ambiente o la eficacia del anticuerpo o de la parte del anticuerpo.

Los anticuerpos pueden estar en diferentes formas. Éstas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquida, semisólida y sólida, tales como disoluciones líquidas (por ejemplo, disoluciones inyectables y para infusión), dispersiones o suspensiones, pastillas, comprimidos, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo que se pretende de administración y de la aplicación terapéutica. Las composiciones típicas preferidas están en la forma de disoluciones inyectables o para infusión, tales como composiciones similares a las utilizadas en la inmunización pasiva de seres humanos con otros anticuerpos. El modo preferido de administración es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular). En una realización preferida, el anticuerpo se administra mediante infusión o inyección intravenosa. En otra realización preferida, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse

como una disolución microemulsión dispersión liposoma u otra estructura adecuada para una concentración de medicamento alta. Las disoluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del anticuerpo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados más arriba según se requiera seguido de esterilización por filtración. Generalmente las dispersiones se preparan mediante la incorporación del componente activo en un vehículo estéril que contiene un medio básico de dispersión y los demás ingredientes requeridos de los que se han enumerado más arriba. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles los métodos preferidos para la preparación son secado en vacío y liofilización que rinden un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una disolución de éste esterilizada previamente por filtración. La fluidez adecuada de una disolución puede mantenerse por ejemplo mediante la utilización de un recubrimiento como lecitina mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante la utilización de tensioactivos. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede conseguirse mediante la inclusión en la composición de un agente que retrase la absorción por ejemplo sales monoestearato y gelatina.

Los anticuerpos pueden administrarse mediante diferentes métodos conocidos en la técnica que incluyen sin limitación oral parenteral mucosa por inhalación tópico bucal nasal y rectal. En el caso de muchas aplicaciones terapéuticas la vía/modo de administración preferido es subcutáneo intramuscular intravenoso o infusión. Puede utilizarse una inyección sin aguja si se desea. Como apreciará un experto en la técnica la vía y/o el modo de administración variará dependiendo de los resultados deseados.

En determinadas realizaciones el anticuerpo puede prepararse con un vehículo que proteja al compuesto frente a una liberación rápida tal como una formulación de liberación controlada que incluye implantes parches transdérmicos y sistemas microencapsulados de administración. Pueden utilizarse polímeros biodegradables biocompatibles tales como etileno/acetato de vinilo polianhidridos ácido poliglicólico colágeno poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de dichas formulaciones están patentados o son conocidos por los expertos en la técnica. Véase por ejemplo *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J. R. Robinson ed. Marcel Dekker Inc. New York (1978).

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada. Por ejemplo puede administrarse un bolo único pueden administrarse dosis divididas en el tiempo o la dosis puede reducirse o incrementarse proporcional-

mente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Resulta especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en una forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de administración de dosificación unitaria como se emplea en esta memoria se refiere a unidades discretas desde un punto de vista físico adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos que se van a tratar conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitaria de la invención está dictada por y depende directamente de (a) las características del anticuerpo y el efecto terapéutico o profiláctico particular que se quiere conseguir y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de la obtención de compuestos como un compuesto activo para el tratamiento de sensibilidad a los antígenos. Los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la condición que se quiere mejorar y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Adicionalmente, debe entenderse que para cualquier sujeto particular los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse en el tiempo de acuerdo con las necesidades del individuo y con el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los intervalos de dosificación mostrados en esta memoria son sólo ilustrativos y que no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

En una realización, el anticuerpo se administra en una formulación intravenosa como una solución acuosa estéril que contiene 5 mg/ml o más preferiblemente aproximadamente 10 mg/ml o aún más preferiblemente aproximadamente 15 mg/ml o incluso más preferiblemente aproximadamente 20 mg/ml de anticuerpo con acetato sódico, polisorbato 80 y cloruro sódico a un pH que varía de aproximadamente 5 a 6. Preferiblemente, la formulación intravenosa es una solución acuosa estéril que contiene 5 ó 10 mg/ml de anticuerpo con acetato sódico 20 mM, polisorbato 80 a 0.2 mg/ml y cloruro sódico 140 mM a pH 5.5. Además, una solución que comprende un anticuerpo anti-CTLA4 puede comprender entre muchos otros compuestos: histidina, manitol, sacarosa, trehalosa, glicina, polietilenglicol, EDTA, metionina y cualquier combinación de los mismos y muchos otros compuestos conocidos en la técnica relevante.

En una realización, parte de la dosis se administra como una embolada intravenosa y el resto mediante infusión de la formulación del anticuerpo. Por ejemplo, puede administrarse una inyección intravenosa de 0.01 mg/kg del anticuerpo como una embolada y el resto de una dosis predeterminada de anticuerpo puede administrarse median-

145
144

te una inyección intravenosa. Una dosis predeterminada del anticuerpo puede administrarse por ejemplo durante un periodo de una hora y media a dos horas y a cinco horas.

En relación con el inhibidor de aromatasa, el inhibidor puede estar presente en la composición farmacéutica en forma de un éster o sal fisiológicamente aceptable tal como en combinación con un catión o anión fisiológicamente aceptable como es bien conocido en la técnica.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden prepararse por cualquier método conocido o desarrollado posteriormente en la técnica de la farmacología. En general, estos métodos de preparación incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con un vehículo o uno o más de otros ingredientes accesorios y después, si es necesario o deseable, dar forma o empaquetar el producto en una unidad de una sola dosis o de múltiples dosis deseada.

Las composiciones farmacéuticas que son útiles en los métodos de la invención pueden prepararse, envasarse o venderse en formulaciones adecuadas para la administración la vía oral, rectal, vaginal, parenteral, tópica, pulmonar, intranasal, bucal, oftálmica u otra vía de administración. Otras formulaciones contempladas incluyen nanopartículas proyectadas, preparaciones liposomales, eritrocitos resellados que contienen el ingrediente activo y formulaciones con base inmunológica.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse, envasarse o venderse a granel como una sola dosis unitaria o como una pluralidad de dosis unitarias individuales. Como se usa en este documento, una "dosis unitaria" es una cantidad discreta de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad del ingrediente activo generalmente es igual a la dosificación del ingrediente activo que se administraría a un sujeto o una fracción conveniente de tal dosificación tal como, por ejemplo, una mitad o un tercio de tal dosificación.

Las cantidades relativas del ingrediente activo, el vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier ingrediente adicional en una composición farmacéutica de la invención variará dependiendo de la identidad, tamaño y estado del sujeto tratado y dependiendo además de la vía por medio de la cual se va a administrar la composición. A modo de ejemplo, la composición puede comprender entre 0.1% y 100% (p/p) de ingrediente activo.

Además del ingrediente activo, la composición farmacéutica de la invención puede comprender uno o más agentes farmacéuticamente activos adicionales. Los

agentes adicionales contemplados particularmente incluyen antieméticos antidiarreicos agentes quimioterapéuticos citoquinas y similares

Pueden prepararse formulaciones de liberación controlada o sostenida de una composición farmacéutica de la invención usando la tecnología convencional

- 5 Una formulación de una composición farmacéutica de la invención adecuada para administración oral puede prepararse envasarse o venderse en forma de una unidad de dosificación sólida discreta incluyendo pero sin limitación un comprimido una cápsula dura o blanda una oblea un trocisco o una gragea conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo Otras formulaciones adecuadas para administración oral incluyen pero sin limitación una formulación en polvo o
- 10 granulada una suspensión acuosa u oleosa una solución acuosa u oleosa o una emulsión

- Como se usa en este documento un líquido "oleoso" es uno que comprende una molécula líquida que contiene carbono y que presenta un carácter menos polar que el agua
- 15

- Un comprimido que comprende el ingrediente activo puede prepararse por ejemplo por compresión o moldeo del ingrediente activo opcionalmente con uno o más ingredientes adicionales Los comprimidos de compresión pueden prepararse por compresión en un dispositivo adecuado del ingrediente activo en forma fluida tal como una preparación en polvo o granulada opcionalmente mezclada con uno o más de un aglutinante un lubricante un excipiente un agente tensioactivo y un agente de dispersión Los comprimidos moldeados pueden obtenerse por moldeo en un dispositivo adecuado de una mezcla del ingrediente activo un vehículo farmacéuticamente aceptable y al menos suficiente líquido para humedecer la mezcla
- 20

- Los excipientes farmacéuticamente aceptables usados en la fabricación de comprimidos incluyen pero sin limitación diluyentes inertes agentes de granulación y disgregación agentes aglutinantes y agentes lubricantes Los agentes dispersantes conocidos incluyen pero sin limitación almidón de patata y almidón glicolato sódico Los agentes tensioactivos conocidos incluyen pero sin limitación lauril sulfato sódico
- 25
- Los diluyentes conocidos incluyen pero sin limitación carbonato cálcico carbonato sódico lactosa celulosa microcristalina fosfato cálcico hidrógeno fosfato cálcico y fosfato sódico Los agentes de granulación y disgregantes conocidos incluyen pero sin limitación almidón de maíz y ácido algínico Los agentes aglutinantes conocidos incluyen pero sin limitación gelatina goma arábiga almidón de maíz pregelatinizado
- 30

747
126

polivinilpirrolidona e hidroxipropilmetilcelulosa Los agentes lubricantes conocidos incluyen pero sin limitación estearato de magnesio ácido esteárico sílice y talco

Los comprimidos pueden estar no recubiertos o pueden recubrirse usando métodos conocidos para conseguir una disgregación retardada en el tracto gastrointestinal de un sujeto proporcionando de esta manera la liberación y la absorción sostenida del Ingrediente activo A modo de ejemplo para recubrir comprimidos puede usarse un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo Además a modo de ejemplo los comprimidos pueden recubrirse usando métodos descritos en las Patentes de Estados Unidos números 4 256 108 4 160 452 y 4 265 874 para formar comprimidos de liberación controlada osmóticamente Los comprimidos pueden comprender además un agente edulcorante un agente aromatizante un agente colorante un conservante o alguna combinación de éstos para proporcionar una preparación farmacéuticamente elegante y agradable para el paladar

Pueden prepararse cápsulas duras que comprenden el ingrediente activo usando una composición degradable fisiológicamente tal como gelatina Estas cápsulas duras comprenden el Ingrediente activo y además pueden comprender otros ingredientes incluyendo por ejemplo un diluyente sólido inerte tal como carbonato cálcico fosfato cálcico o caolín

Pueden prepararse cápsulas blandas que comprenden el ingrediente activo usando una composición degradable fisiológicamente tal como gelatina Estas cápsulas blandas comprenden el Ingrediente activo que puede mezclarse con agua o un medio oleoso tal como aceite de cacahuete parafina líquida o aceite de oliva

Las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica de la invención que son adecuadas para administración oral pueden prepararse empaquetarse o venderse en forma líquida o en forma de un producto seco destinado a la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso

Las suspensiones líquidas pueden prepararse usando métodos convencionales para conseguir la suspensión del Ingrediente activo en un vehículo acuoso u oleoso Los vehículos acuosos incluyen por ejemplo agua y solución salina isotónica Los vehículos oleosos incluyen por ejemplo aceite de almendras ésteres oleosos alcohol etílico aceites vegetales tales como aceite de cacahuete oliva sésamo o coco aceites vegetales fraccionados y aceites minerales tales como parafina líquida Las suspensiones líquidas además pueden comprender uno o más Ingredientes adicionales incluyendo pero sin limitación agentes de suspensión agentes dispersantes o humectantes agentes emulsionantes demulcentes conservantes tampones sales

aromatizantes, agentes colorantes y agentes edulcorantes. Las suspensiones oleosas además pueden comprender un agente espesante. Los agentes de suspensión conocidos incluyen, pero sin limitación, jarabe de sorbitol, grasas comestibles hidrogenadas, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto, goma arábiga y derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Los agentes dispersantes o humectantes conocidos incluyen, aunque sin limitación, fosfátidos naturales tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileño con un ácido graso, con un alcohol alifático de cadena larga, con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, o con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, estearato de polioxietileno, heptadecaetilenoxietanol, monooleato de polioxietileno, sorbitol y monooleato de polioxietileno sorbitano, respectivamente). Los agentes emulsionantes conocidos incluyen, aunque sin limitación, lecitina y goma arábiga. Los conservantes conocidos incluyen, aunque sin limitación, metilo, etilo o n-propil-para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico y ácido sórbico. Los agentes edulcorantes conocidos incluyen, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa y sacarina. Los agentes espesantes conocidos para suspensiones oleosas incluyen, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura y alcohol cetílico.

Las soluciones líquidas del ingrediente activo en disolventes acuosos u oleosos pueden prepararse sustancialmente de la misma manera que las suspensiones líquidas, siendo la diferencia principal que el ingrediente activo se disuelve en lugar de suspenderse en el disolvente. Las soluciones líquidas de la composición farmacéutica de la invención pueden comprender cada uno de los componentes descritos con respecto a las suspensiones líquidas, entendiéndose que los agentes de suspensión no necesariamente ayudarán a la disolución del ingrediente activo en el disolvente. Los disolventes acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica. Los disolventes oleosos incluyen, por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico, aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, oliva, sésamo o coco, aceites vegetales fraccionados y aceites minerales tales como parafina líquida.

Las formulaciones en polvo y granuladas de una preparación farmacéutica de la invención pueden prepararse usando métodos conocidos. Estas formulaciones pueden administrarse directamente a un sujeto, usarse, por ejemplo, para formar comprimidos, para rellenar cápsulas, o para preparar una suspensión o solución acuosa u oleosa por la adición de un vehículo acuoso u oleoso a la misma. Cada una de estas formulaciones además puede comprender uno o más agentes dispersantes o humec-

tantes un agente de suspensión y un conservante. En estas formulaciones también pueden incluirse excipientes adicionales tales como cargas y agentes edulcorantes aromatizantes o colorantes.

Una composición farmacéutica de la invención también puede prepararse envasarse o venderse en forma de una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal tal como aceite de oliva o aceite de caca hueta, un aceite mineral tal como parafina líquida o una combinación de éstos. Estas composiciones además pueden comprender uno o más agentes emulsionantes tales como gomas naturales tales como goma arábiga o goma de tragacanto, fosfátidos naturales tales como fosfátido de soja o de lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de combinaciones de ácidos grasos y anhídridos de hexitol tales como monooleato de sorbitano y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno tales como monooleato de polioxietileno sorbitano. Estas emulsiones también pueden contener ingredientes adicionales incluyendo por ejemplo agentes edulcorantes o aromatizantes.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse envasarse o venderse en una formulación adecuada para administración rectal. Esta composición puede estar en forma de, por ejemplo, un supositorio, una preparación de enema de retención y una solución para irrigación rectal o colónica.

Pueden obtenerse formulaciones de supositorio combinando el ingrediente activo con un excipiente farmacéuticamente aceptable no irritante que es sólido a la temperatura ambiente habitual (es decir, aproximadamente 20°C) y que es líquido a la temperatura rectal del sujeto (es decir, aproximadamente 37°C en un ser humano sano). Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, aunque sin limitación, manteca de cacao, polietilenglicoles y diversos glicéridos. Las formulaciones de supositorios pueden comprender además diversos ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitación, antioxidantes y conservantes.

Las preparaciones de enema de retención o soluciones para irrigación rectal o colónica pueden prepararse combinando el ingrediente activo con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. Como es bien conocido en la técnica, las preparaciones de enema pueden administrarse usando y pueden envasarse dentro de un dispositivo de liberación adaptado a la anatomía rectal del sujeto. Las preparaciones de enema pueden comprender además diversos ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitación, antioxidantes y conservantes.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse envasarse o venderse en una formulación adecuada para administración vaginal. Esta composición puede estar en forma de, por ejemplo, un supositorio, un material impregnado o recubierto insertable en la vagina tal como un tampón, una preparación de ducha o un gel, crema o solución para irrigación vaginal.

Los métodos para impregnar o aplicar como un recubrimiento un material con una composición química son conocidos en la técnica e incluyen, aunque sin limitación, métodos de deposición o unión de una composición química sobre una superficie, métodos de incorporación de una composición química en la estructura de un material durante la síntesis del material (es decir, tal como con un material fisiológicamente degradable) y métodos de absorción de una solución acuosa u oleosa o suspensión en un material absorbente con o sin secado posterior.

Las preparaciones o soluciones de ducha para irrigación vaginal pueden prepararse combinando el ingrediente activo con un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. Como es bien conocido en la técnica, las preparaciones de ducha pueden administrarse usando y pueden envasarse dentro de un dispositivo de liberación adaptado a la anatomía vaginal del sujeto. Las preparaciones de ducha pueden comprender además diversos ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitación, antioxidantes, antibióticos, agentes antifúngicos y conservantes.

Como se usa en este documento, "administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por la ruptura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la ruptura en el tejido. De esta manera, la administración parenteral incluye, pero sin limitación, la administración de una composición farmacéutica por inyección de la composición, por aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, por aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en tejidos y similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluye, pero sin limitación, técnicas de infusión subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal y técnicas de infusión dialítica renal.

Las formulaciones de una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral comprenden el ingrediente activo combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril o solución isotónica salina estéril. Estas formulaciones pueden prepararse, envasarse o venderse en una forma adecuada para la administración en embolada o para la administración continua. Las formulaciones inyectables pueden prepararse, envasarse o venderse en una forma de dosificación

unitaria tal como en ampollas o en recipientes de múltiples dosis que contienen un conservante. Las formulaciones para administración parenteral incluyen aunque sin limitación suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y formulaciones biodegradables o de liberación sostenida implantables como se describe más adelante. Estas formulaciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo pero sin limitación agentes de suspensión, estabilizantes o dispersantes. En una realización de una formulación para administración parenteral, el ingrediente activo se proporciona en forma seca (es decir, en forma de polvo o granulada) para reconstituirse con un vehículo adecuado (por ejemplo, agua estéril sin pirógenos) antes de la administración parenteral de la composición reconstituida.

Una composición de la presente invención puede administrarse por una diversidad de métodos conocidos en la técnica. La vía y/o modo de administración varían dependiendo de los resultados deseados. Los compuestos activos pueden prepararse con vehículos que protegen al compuesto contra la liberación rápida tal como en formulaciones de liberación controlada incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de liberación microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables, biocompatibles tales como etileno/acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Se describen muchos métodos para la preparación de estas formulaciones, por ejemplo, en *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems* J. R. Robinson, ed. Marcel Dekker Inc. New York (1978). Las composiciones farmacéuticas preferiblemente se fabrican según las condiciones de las GMP.

Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse, envasarse o venderse en forma de una suspensión o solución acuosa u oleosa inyectable estéril. Esta suspensión o solución puede formularse de acuerdo con la técnica conocida y puede comprender además del ingrediente activo, otros ingredientes tales como los agentes dispersantes, agentes humectantes o agentes de suspensión descritos en este documento. Estas formulaciones inyectables pueden prepararse usando un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable tal como agua o 1,3-butanodiol, por ejemplo. Otros diluyentes y disolventes aceptables incluyen aunque sin limitación solución de Ringer, solución isotónica de cloruro sódico y aceites fijos tales como mono y diglicéridos sintéticos. Otras formulaciones administrables por vía parenteral que son útiles incluyen las que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina en una preparación liposomal o como un componente de sistemas de polímeros bio-

degradables Las composiciones para la liberación sostenida o implantación pueden comprender materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables tales como una emulsión una resina de intercambio iónico un polímero poco soluble o una sal poco soluble

5 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen pero sin limitación preparaciones líquidas o semilíquidas tales como linimentos lociones emulsiones de aceite en agua o agua en aceite tales como cremas pomadas o pastas y soluciones o suspensiones Las formulaciones administrables por vía tópica pueden comprender por ejemplo de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (p/p) de
10 Ingrediente activo aunque la concentración del ingrediente activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del Ingrediente activo en el disolvente Las formulaciones para administración tópica pueden comprender además uno o más de los Ingredientes adicionales descritos en este documento

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse envasarse o
15 venderse en una formulación adecuada para administración pulmonar a través de la cavidad bucal Esta formulación puede comprender partículas secas que comprenden el ingrediente activo y que tienen un diámetro en el intervalo de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 7 nanómetros y preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 nanómetros Estas composiciones convenientemente están en
20 forma de polvos secos para administración usando un dispositivo que comprende un depósito de polvo seco al que puede dirigirse un chorro de propulsor para dispersar el polvo o usando un recipiente distribuidor de disolvente autopropulsor/polvo tal como un dispositivo que comprende el Ingrediente activo disuelto o suspendido en un propulsor de bajo punto de ebullición en un recipiente cerrado herméticamente Preferiblemente
25 estos polvos comprenden partículas en las que al menos 98% en peso de las partículas tienen un diámetro mayor de 0.5 nanómetros y al menos 95% en número de las partículas tienen un diámetro menor de 7 nanómetros Más preferiblemente al menos 95% en peso de las partículas tienen un diámetro mayor de 1 nanómetro y al menos 90% en número de las partículas tienen un diámetro menor de 6 nanómetros Las
30 composiciones en polvo seco preferiblemente incluyen un diluyente en polvo fino sólido tal como azúcar y convenientemente se proporcionan en una forma de dosificación unitaria

Los propulsores de bajo punto de ebullición generalmente incluyen propulsores líquidos que tienen un punto de ebullición por debajo de 65°F (18.33°C) a presión at-
35 mosférica Generalmente el propulsor puede constituir de 50 a 99.9% (p/p) de la

153
152

composición y el ingrediente activo puede constituir de 0.1 a 20% (p/p) de la composición. El propulsor además puede comprender otros ingredientes tales como un tensioactivo líquido no iónico o sólido aniónico o un diluyente sólido (preferiblemente con un tamaño de partículas del mismo orden que las partículas que constituyen el ingrediente activo)

Las composiciones farmacéuticas de la invención formuladas para liberación pulmonar también pueden proporcionar el ingrediente activo en forma de gotitas de una solución o suspensión. Estas formulaciones pueden prepararse envasarse o venderse como soluciones o suspensiones acuosas o alcohólicas diluidas opcionalmente estériles que comprenden el ingrediente activo y convenientemente pueden administrarse usando cualquier dispositivo de nebulización o atomización. Estas formulaciones además pueden comprender uno o más ingredientes adicionales que incluyen pero sin limitación un agente aromatizante tal como sacarina sódica, un aceite volátil, un agente tamponante, un agente tensioactivo o un conservante tal como hidroxibenzoato de metilo. Las gotitas proporcionadas por esta vía de administración preferiblemente tienen un diámetro medio en el intervalo de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 200 nanómetros.

Las formulaciones descritas en este documento como útiles para la liberación pulmonar también son útiles para la liberación intranasal de una composición farmacéutica de la invención.

Otra formulación adecuada para administración intranasal es un polvo grueso que comprende el ingrediente activo y que tiene un tamaño medio de partículas de aproximadamente 0.2 a 500 micrómetros. Esta formulación se administra de la manera en la que se toma rápe, es decir por inhalación rápida a través de los conductos nasales desde un recipiente del polvo que se mantiene cerca de las fosas nasales.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal pueden comprender por ejemplo de aproximadamente una cantidad tan pequeña como de 0.1% (p/p) hasta una cantidad tan grande como de 100% (p/p) del ingrediente activo y además pueden comprender uno o más de los ingredientes adicionales descritos en este documento.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse envasarse o venderse en una formulación adecuada para administración bucal. Estas formulaciones pueden estar por ejemplo en forma de comprimidos o grageas preparadas usando métodos convencionales y pueden contener por ejemplo de 0.1 a 20% (p/p) de ingrediente activo comprendiendo el resto una composición que puede degradarse o

154
153

disolverse y opcionalmente uno o más de los ingredientes adicionales descritos en este documento. Como alternativa, las formulaciones adecuadas para administración bucal pueden comprender un polvo o una solución o suspensión aerosolizada o atomizada que comprende el ingrediente activo. Estas formulaciones en polvo o aerosolizadas cuando se dispersan preferiblemente tienen un tamaño medio de partículas o gotitas en el intervalo de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 200 nanómetros y además pueden comprender uno o más de los ingredientes adicionales descritos en este documento.

Una composición farmacéutica de la invención puede prepararse, envasarse o venderse en una formulación adecuada para administración oftálmica. Estas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de gotas oftálmicas incluyendo, por ejemplo, una solución o suspensión de 0.1-10% (p/p) del ingrediente activo en un vehículo líquido acuoso u oleoso. Estas gotas pueden comprender además agentes tamponantes, sales o uno o más de los otros ingredientes adicionales descritos en este documento. Otras formulaciones administrables en el ojo que son útiles incluyen las que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina o en una preparación liposomal.

Como se usa en este documento, los "Ingredientes adicionales" incluyen, aunque sin limitación, uno o más de los siguientes: excipientes, agentes tensioactivos, agentes dispersantes, diluyentes inertes, agentes de granulación y disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, conservantes, composiciones fisiológicamente degradables tales como gelatina, vehículos y disolventes acuosos, vehículos y disolventes oleosos, agentes de suspensión, agentes dispersantes o humectantes, agentes emulsionantes, demulcentes, tampones, sales, agentes espesantes, cargas, agentes emulsionantes, antioxidantes, antibióticos, agentes antifúngicos, agentes estabilizantes y materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables. Otros "ingredientes adicionales" que pueden incluirse en las composiciones farmacéuticas de la invención se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Genaro ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1985), que se incorpora en este documento como referencia.

La combinación de anti-CTLA4/ingrediente activo inhibidor de aromatasa de la invención puede administrarse a un animal, preferiblemente un ser humano. Sin embargo, la dosificación precisa administrada de cada ingrediente activo variará depen-

155
139

diendo de varios factores que incluyen pero sin limitación el tipo de animal y el tipo de estado de enfermedad a tratar la edad del animal y la vía de administración

El anticuerpo anti-CTLA4 puede administrarse a un animal con una frecuencia de varias veces al día o puede administrarse con menos frecuencia tal como una vez
5 al día una vez por semana una vez cada dos semanas una vez al mes o incluso con menos frecuencia tal como una vez cada varios meses o incluso una vez al año o menos La frecuencia de la dosis será fácilmente evidente para el especialista en la técnica y dependerá de varios factores tales como pero sin limitación el tipo y gravedad de la enfermedad a tratar el tipo y edad del animal etc.

10 El inhibidor de aromatasa preferiblemente exemestano puede administrarse a un animal con una frecuencia de varias veces al día o puede administrarse con menos frecuencia tal como una vez al día una vez por semana una vez cada dos semanas una vez al mes o incluso con menos frecuencia tal como una vez cada varios meses o incluso una vez al año o menos La frecuencia de la dosis será fácilmente evidente
15 para el especialista en la técnica y dependerá de varios factores tales como pero sin limitación el tipo y gravedad de la enfermedad a tratar el tipo y edad del animal etc.

El anticuerpo y el inhibidor de aromatasa pueden co-administrarse ya que pueden administrarse por separado en diferentes fechas o en diferentes momentos del día así como administrarse de manera simultánea o en la misma fecha De esta
20 manera la coadministración incluye cualquier combinación temporal de la administración del anticuerpo y el inhibidor de aromatasa de tal manera que la administración de los dos agentes medie un efecto terapéutico beneficioso para el paciente que es detectablemente mayor que la administración de un agente en ausencia del otro

Una combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa de la invención puede
25 coadministrarse con otros muchos compuestos (otros agentes de terapia antihormonal citoquinas agentes quimioterapéuticos y/o fármacos antivirales entre otros muchos) Como alternativa el compuesto o los compuestos pueden administrarse una hora un día una semana un mes o incluso más antes de la combinación de anticuerpo-inhibidor de aromatasa o cualquier permutación de los mismos Además el o los
30 compuestos pueden administrarse una hora un día una semana o incluso más después de la administración de radiación trasplante de células madre o administración de cualquier agente terapéutico (por ejemplo citoquina compuesto quimioterapéutico y similares) o cualquier permutación de los mismos La frecuencia y el régimen de administración serán fácilmente evidentes para el especialista en la técnica y dependerán de varios factores tales como pero sin limitación el tipo y gravedad del estado de
35

756
165

enfermedad a tratar la edad y el estado de salud del animal la identidad del compuesto o compuestos a administrar la vía de administración de los diversos compuestos y similares

5 VII. Kits

La invención incluye diversos kits que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 humano de la invención y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa junto con un aplicador y material de instrucciones que describe el uso de la combinación para realizar los métodos de la invención Aunque más adelante se describen kits ilustrativos para el especialista en la técnica será evidente el contenido de otros kits útiles a la luz de la presente descripción Cada uno de estos kits se incluye dentro de la invención

La invención incluye un kit para el tratamiento del cáncer de mama en un paciente que lo necesite El kit incluye un anticuerpo anti CTLA4 humano de la invención y al menos un inhibidor de aromatasa El inhibidor incluye pero sin limitación fulvestrant anastrozol letrozol y exemestano El kit además comprende un aplicador incluyendo pero sin limitación una jeringa para la administración de los componentes del kit a un paciente Además el kit comprende un material de instrucciones que proporciona información pertinente para el uso del kit para tratar un cáncer de mama en un paciente

Más preferiblemente el kit comprende al menos un anticuerpo anti CTLA4 seleccionado entre un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1 (MDX 010) incluso más preferiblemente el anticuerpo es un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 4 13 1 11 2 1 y 10D1 (MDX-010)

En una realización el inhibidor de aromatasa es al menos un inhibidor seleccionado entre anastrozol letrozol y exemestano Más preferiblemente el inhibidor de aromatasa es exemestano

El kit puede comprender cualquier número de agentes adicionales para el tratamiento del cáncer de mama Estos agentes se han indicado previamente e incluyen compuestos quimioterapéuticos vacunas para el cáncer inhibidores de la transducción de señales agentes útiles para tratar el crecimiento celular anormal o un cáncer anticuerpos u otros ligandos que inhiben el crecimiento tumoral por unión a IGF-1R y citoquinas entre muchos otros

La invención también se refiere a un artículo de fabricación (por ejemplo una forma de dosificación adaptada para la administración *l v*) que comprende un anticuerpo anti-CTLA4 humano en una cantidad eficaz para tratar un cáncer (por ejemplo más de 10 mg/kg al menos 15 mg/kg o 15 mg/kg) y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa. En ciertas realizaciones el artículo de fabricación comprende un recipiente o recipientes que comprenden un anticuerpo anti-CTLA4 humano el inhibidor de aromatasa y una etiqueta y/o instrucciones para uso para tratar el cáncer.

La invención se describe adicionalmente con detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos experimentales. Estos ejemplos se proporcionan sólo con fines ilustrativos y no pretenden ser limitantes a menos que se especifique otra cosa. De esta manera la invención no debe considerarse limitada a los siguientes ejemplos sino más bien debe considerarse que la invención incluye todas y cada una de las variaciones que serán evidentes como resultado de las enseñanzas proporcionadas en este documento.

EJEMPLO

Anticuerpo anti CLTA4 en combinación con exemestano en cáncer de mama metastásico o avanzado localmente en pacientes postmenopáusicas

A pacientes que tienen cáncer de mama metastásico o avanzado localmente con al menos una lesión que puede medirse de manera precisa en dos dimensiones y cuyo tamaño es ≥ 2 cm x 1 cm por exploración CT convencional o ≥ 1 cm x 1 cm por exploración CT espiral se les administra una infusión IV (100 ml/h) de anticuerpos anti-CTLA4 como se describe en este documento. Cuando es apropiado se proporcionan antieméticos y antidiarreicos profilácticos.

El tratamiento se repite después de 28 días. Los grupos sucesivos reciben dosis crecientes del anticuerpo anti-CTLA4 empezando a 3 mg/kg y aumentando a 6 mg/kg 10 mg/kg y 15 mg/kg cada 28 días posteriormente respectivamente hasta un máximo de 12 ciclos en ausencia de toxicidad intolerable o progresión de la enfermedad.

Preferiblemente las pacientes se premedican con antihistamina (H1) al menos media hora antes de la infusión de anti-CTLA4. Se recomienda la premedicación pero no es necesaria.

758
157

Todas las pacientes reciben exemestano como una dosis oral continua de 25 mg al día de cada ciclo de 28 días. Preferiblemente el exemestano se toma a la misma hora todos los días.

Las dosis se aumentan usando un diseño de valoración acelerada utilizando un esquema de duplicación de la dosis con 3-6 sujetos por grupo. Dentro de cada nuevo grupo no se requiere un periodo de espera entre sujetos. Los grupos posteriores no pueden abrirse hasta que el primer sujeto al nivel de dosificación actual se haya observado durante 21 días y los sujetos posteriores se hayan observado durante 14 días.

El anticuerpo se proporciona en viales de vidrio transparentes de 10 ml con un tapón de goma y un precinto de aluminio. Cada vial contiene 5 mg/ml (con un relleno nominal de 50 mg/vial) de anticuerpo anti CTLA4 en una solución acuosa estéril que comprende acetato sódico 20 mM, polisorbato 80 a 0.2 mg/ml y cloruro sódico 140 mM a pH 5.5.

En todas las pacientes se evalúan el estado clínico ECOG, los signos vitales y el peso corporal antes de administrar la dosis, y puede repetirse la evaluación de los signos vitales después de administrar la dosis cuando esté indicado clínicamente. El día 1 se realiza un examen físico (incluyendo evaluación oftalmológica y los signos de autoinmunidad). Se obtienen muestras para el panel de hematología (hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos diferencial), química (Fosfatasa Alcalina, cloruro cálcico, GGT, LDH, magnesio, fósforo, glucosa aleatoria, sodio, urea, ácido úrico), urinálisis (sangre, proteínas), otros (tiempo de tromboplastina parcial activada [APTT], tiempo de protrombina [PT], panel de autoanticuerpos, proteína C reactiva, TSH, T3, T4, amilasa, lipasa, C3, C4 en suero, nivel sérico de Ig).

Se determina la titulación inicial de anticuerpo humano anti humano (HAHA) y se obtiene la muestra farmacocinética (PK) antes de administrar la dosis.

Se miden los siguientes parámetros: parámetros PK, HAHA, proporción de respuesta y tiempo hasta la progresión. El tiempo hasta la progresión y la supervivencia total se calculan usando el método del producto límite de Kaplan-Meier.

Preferiblemente el anticuerpo anti-CTLA4 tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de al menos un anticuerpo seleccionado entre 4-1-1, 4-13-1, 11-2-1 y 10D1. Más preferiblemente el anticuerpo tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de 11-2-1.

A tres pacientes se les administró anticuerpo anti CTLA4 (ticilimumab) a 3 mg/kg. A las tres pacientes se les administró exemestano a 25 mg al día. Una paciente recibió dos dosis de anti CTLA4 cada veintiocho días y exemestano diariamente du-

159
158

5 rante 56 días La CT de estadificación de ciclo 2 reveló una lesión pulmonar no presente inicialmente Además la paciente demostró un nuevo espesamiento de la pared circunferencial que implicaba al íleon terminal colon descendente distal y colon sigmoideo de etiología dudosa posibles infecciones o inflamación La paciente no tenía una historia clínica que explicara estos cambios se encontraba bien y carecía de síntomas clínicos No se detectó ninguna infección En esta paciente no se siguió la progresión de la enfermedad (PD)

10 A una segunda paciente se le administraron dos ciclos de anticuerpo anti-CTLA4 y se sometió a una terapia de aproximadamente catorce (14) días de exemestano (25 mg al día) Después de la dosis inicial de ticilimumab la paciente presentó algún linfedema inicial en el brazo derecho que empeoró algo y después desapareció Además la paciente presentó exantema no prurítico leve y transitorio

15 Una tercera paciente recibió un ciclo de ticilimumab y aproximadamente veintiocho días de 25 mg de exemestano al día hasta ahora El día veintiocho los estudios de laboratorio rutinarios detectaron elevaciones de grado 1 de ALP y AST así como elevaciones de grado 2 de ALT La paciente carecía de síntomas La terapia se puso en espera de la mejora pendiente de esos valores de laboratorio

20 Estos datos sugieren que los pacientes tratados con la combinación de ticilimumab y exemestano demostraron actividad biológica

Las descripciones de todas y cada una de las patentes solicitudes de patente y publicaciones citadas en este documento se incorporan como referencia en su totalidad

25 Aunque la invención se ha descrito en referencia a realizaciones específicas resulta aparente que pueden imaginarse otras realizaciones y variaciones de esta invención por expertos en la técnica sin alejarse del espíritu y del alcance de la invención Se pretende que las reivindicaciones adjuntas incluyan todas estas realizaciones y las variaciones equivalentes

REIVINDICACIONES

1 Un método para el tratamiento de cáncer de mama en un paciente que necesita dicho tratamiento comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 o una porción de unión al antígeno del mismo en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa

2 El método de la reivindicación 1 donde dicho inhibidor de aromatasa es al menos un inhibidor seleccionado entre el grupo compuesto por anastrozol letrozol y exemestano

10 3 El método de la reivindicación 2 donde dicho inhibidor de aromatasa es exemestano

4 El método de la reivindicación 3 donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti CTLA4 varía de aproximadamente 1 mg/kg a 40 mg/kg

15 5 El método de la reivindicación 4 donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CTLA4 varía de aproximadamente 3 mg/kg a 15 mg/kg

6 El método de la reivindicación 3 donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano varía de aproximadamente 25 mg al día a 200 mg al día

7 El método de la reivindicación 6 donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano es de aproximadamente 25 mg al día

20 8 El método de la reivindicación 1 donde dicho tratamiento se selecciona entre el grupo compuesto por una terapia neoadyuvante una terapia adyuvante un tratamiento de primera línea un tratamiento de segunda línea y un tratamiento de tercera línea

25 9 El método de la reivindicación 1 donde dicho anticuerpo se selecciona entre el grupo compuesto por un anticuerpo de mamífero no humano un anticuerpo quimérico y un anticuerpo humano

10 10 El método de la reivindicación 9 donde dicho anticuerpo es un anticuerpo humano

30 11 El método de la reivindicación 1 donde dicho anticuerpo anti-CTLA4 o la porción de unión al antígeno del mismo es al menos un anticuerpo seleccionado entre el grupo compuesto por

(a) un anticuerpo humano que tiene una afinidad de unión por CTLA4 de aproximadamente 10^{-8} o mayor y que inhibe la unión entre CTLA4 y B7-1 y la unión entre CTLA4 y B7-2

761
160

(b) un anticuerpo humano que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una secuencia de CDR humana que corresponde a una secuencia de CDR de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

5 (c) un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 y 12 9 1 1

(d) un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

(e) un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo que compete por la unión con CTLA4 con al menos un anticuerpo que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1 y

(f) un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo que compete de forma cruzada por la unión con CTLA4 con al menos un anticuerpo que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de un anticuerpo seleccionado entre el grupo consistente en 4 1 1 4 8 1 4 10 2 4 13 1 4 14 3 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1

12 El método de la reivindicación 1 donde dicho anticuerpo es un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera del anticuerpo 11 2 1

13 El método de la reivindicación 1 donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera donde las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de dicha cadena pesada y la región variable de la cadena ligera de dicha cadena ligera se seleccionan entre el grupo compuesto por

(a) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 3 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 9

(b) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 15 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 21

162
161

- (c) la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 27 y la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 33
- (d) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 1 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 7
- (e) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 13 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 19
- (f) la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 25 y la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID N° 31
- (g) la secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo 10D1
- 14 El método de la reivindicación 1 donde dicho anticuerpo o la porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo seleccionado entre el grupo compuesto por
- (a) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 4 SEC ID N° 5 y SEC ID N° 6 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 10 SEC ID N° 11 y SEC ID N° 12
- (b) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 16 SEC ID N° 17 y SEC ID N° 18 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 22 SEC ID N° 23 y SEC ID N° 24
- (c) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en la SEC ID N° 28 SEC ID N° 29 y SEC ID N° 30 y que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEC ID N° 34 SEC ID N° 35 y SEC ID N° 36 y
- (d) un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las CDR1 CDR2 y CDR3 de

cadena pesada del anticuerpo 10D1 que tiene además una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las CDR1 CDR2 y CDR3 de cadena ligera del anticuerpo 10D1

5

15 El método de la reivindicación 1 comprendiendo también dicho método administrar a dicho paciente al menos un agente seleccionado entre el grupo consistente en un agente alquilante un antagonista de folato un antagonista de pirimidina un antibiótico de antraciclina un compuesto de platino un taxano un vinca alcaloide un análogo de camptotecina un agente estimulante de un receptor una vacuna para tumores basada en la proteína del choque térmico una terapia basada en células presentadoras de antígenos una diana de mamíferos del inhibidor de rapamicina un inhibidor de erbB2 un inhibidor de EGFR un inhibidor de VEGF un inhibidor de VEGFR, un inhibidor de la angiogénesis un anticuerpo un inmunomodulador un modulador selectivo del receptor de estrógenos una citoquina una vacuna para tumores un agente antiproliferativo una molécula coestimuladora inmune y una citoquina

16 Una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer de mama que comprende

20 una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti CTLA4
una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de aromatasa y
un vehículo farmacéuticamente aceptable

17 La composición farmacéutica de la reivindicación 16 donde dicho inhibidor de aromatasa es al menos un inhibidor de aromatasa seleccionado entre el grupo consistente en anastrozol letrozol y exemestano

18 La composición farmacéutica de la reivindicación 17 donde dicho inhibidor de aromatasa es exemestano

30

19 Un uso de una cantidad de un anticuerpo anti CTLA4 en la preparación de una composición para el tratamiento del cáncer de mama en un paciente donde el tratamiento comprende además administrar al paciente una cantidad de un inhibidor de aromatasa

35

20 El uso de la reivindicación 19 donde dicho inhibidor de aromatasa es exemestano y además donde dicho anticuerpo es un anticuerpo humano que tiene las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y ligera del anticuerpo 11 2 1

765
16A

Resumen de la Descripción

La invención se refiere a la administración de un anticuerpo anti-CTLA4 particularmente anticuerpos humanos contra CTLA4 humano tal como los que tienen secuencias de aminoácidos de los anticuerpos 3 1 1 4 1 1 4 8 1, 4 10 2 4 13 1 4 14 3
5 6 1 1 11 2 1 11 6 1 11 7 1 12 3 1 1 12 9 1 1 y 10D1 (MDX-010) en combinación con un inhibidor de aromatasa para el tratamiento del cáncer de mama. Más particularmente la invención se refiere a la administración de un anticuerpo anti-CTLA4 y exemestano para el tratamiento del cáncer de mama.

166
165

4 1 1 ADNc de Cadena Pesada (SEC ID N° 1)

atggagtttg	ggctgagctg	ggtttttcctc	gttgctcttt	taagaggtgt	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtctgg	gggaggcgtg	gtccagcctg	ggaggtccct	gagactctcc	120
tgtgtagcgt	ctggattcac	cttcagtagc	catggcatgc	actgggtccg	ccaggctcca	180
ggcaaggggc	tggagtgggt	ggcagttata	tggatgatg	gaagaaataa	atactatgca	240
gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtttctg	300
caaataaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gctgtgtatt	actgtgcgag	aggaggtcac	360
ttcggtcctt	ttgactactg	gggccaggga	accctgggtca	ccgtctcctc	agcctccacc	420
aagggcccat	cggctcttccc	cctggcgccc	tgtctcagga	gcacctccga	gagcacagcg	480
gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacgggtgtc	gtggaactca	540
ggcgctctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccagctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	600
tccctcagca	gcgtgggtgac	cgtgccctcc	agcaacttcg	gcacccagac	ctacacctgc	660
aacgtagatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	cagttgagcg	caaagtgtgt	720
gtcgagtgcc	caccgtgccc	agcaccacct	gtggcaggac	cgtcagtcct	cctcttcccc	780
ccaaaaccca	aggacaccct	catgatctcc	cggacccctg	aggtcacgtg	cgtggtggtg	840
gacgtgagcc	acgaagaccc	cgaggtccag	ttcaactggg	acgtggacgg	cgtggagggtg	900
cataatgcca	agacaaagcc	acgggaggag	cagttcaaca	gcacgttccg	tgtggtcagc	960
gtcctcaccg	ttgtgcacca	ggactggctg	aacggcaagg	agtacaagtg	caaggctctcc	1020
aacaaaggcc	tcccagcccc	catcgagaaa	accatctcca	aaaccaaagg	gcagccccga	1080
gaaccacagg	tgtacaccct	gccccatcc	cgggaggaga	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1140
ctgacctgcc	tgggtcaaagg	cttctacccc	agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	1200
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccaca	cctcccatgc	tggactccga	cggctccttc	1260
ttcctctaca	gcaagctcac	cgtggacaag	agcagggtggc	agcaggggaa	cgtcttctca	1320
tgtccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1380

FIGURA 1A

4 1 1 Proteína de Cadena Pesada (SEC ID N° 2)

MEFGLSWVFL	VALLRGVQCQ	VQLVESGG	(GV	VQGRSLRLS	CVASGFTFSS	HGMHWVRQAP	60
GKGLEWVAVI	WYDGRNKYYA	DSVKGRFTIS	RDNSKNTLFL	QMNSLRAEDT	AVYYCARGGH		120
FGPFDYWGQG	TLVTVSSAST	KGPSVFPLAP	CSRSTSESTA	ALGCLVKDYF	PEPVTWSWNS		180
GALTSGVHTF	PAVLQ]ESGLY	SLSSVTVTPS	SNFGTQTYTC	NVDHKPENTK	VDKTVRKCC		240
VECPPCPAPP	VAGPSVFLFP	PKPKDTLMIS	RTPEVTCVVV	DVSHEDPEVQ	FNWYVDGVEV		300
HNAKTKPREE	QFNSTFRVVS	VLTVVHQDWL	NGKEYKCKVS	NKGLPAPIEK	TISKTKGQPR		360
EPQVYTLPPS	REEMTKNQVS	LTCLVKGFYP	SDIAVEWESN	GQPENNYKTT	PPMLDSGGSF		420
FLYSKLTVDK	SRWQQGNVFS	CSVMHEALHN	HYTQKSLSL	PGK			463

FIGURA 1B

162
~~166~~

4 1 1 ADNc de Cadena Ligera (SEC ID N° 7)

atggaaaccc cagcgagct tctcttcctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga	60
gaaatttgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	120
ctctcctgca gggccagtc gagtattagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaga	180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca	240
gacagggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	300
cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta cctcaccttg gacgttcggc	360
caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttccc	420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	480
tatcccagag aggccaaagt acagtggag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg	600
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	660
ggcctgagct cgcccgctcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag	708

FIGURA 1C

4 1 1 Proteína de Cadena Ligera (SEC ID N° 8)

METPAQLLFL LLLWL PDTTG EIVLT[QSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSI ~~S~~ SSFLAWYQQR	60
PGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIP DRFSGSGSGT DPTLTISRLE PEDFAVYYCQ <u>QYGTSPWTF</u> G	120
QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPBREAK]VQWK VDNALQSGNS	180
QESVTEQDSK DSTYLSSTL TLSKADYEKH KVIACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC	235

FIGURA 1D

768
167

4 13 1 ADN de Cadena Pesada (SEC ID N° 13)

caggtgcagc	tgggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cgtctggatt	caccttcagt	agtcatggca	tccactgggt	ccgccaggct	120
ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atatggtatg	atggaagaaa	taaagactat	180
gcagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ttgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagtggcc	300
ccactggggc	cacttgacta	ctggggccag	ggaaccctgg	tcaccgtctc	ctcagcctcc	360
accaagggcc	catcggctct	ccccctggcg	ccctgtctca	ggagcacctc	cgagagcaca	420
gcggccctgg	gctgcctggg	caaggactac	ttccccgaac	cggtagcggg	gtcgtggaac	480
tcaggcgctc	tgaccagcgg	cgtgcacacc	ttcccagctg	tcctacagtc	ctcaggactc	540
tactccctca	gcagcgtggg	gaccgtgccc	tccagcaact	tcggcaccca	gacctacacc	600
tgcaacgtag	atcacaagcc	cagcaacacc	aagggtggaca	agacagttga	gcgcaaatgt	660
tgtgtcgagt	gcccaccgtg	cccagcacca	cctgtggcag	gaccgtcagt	cttcctcttc	720
ccccaaaaac	ccaaggacac	cctcatgata	tcccgagccc	ctgaggtcac	gtgcgtgggtg	780
gtggacgtga	gccacgaaga	ccccgaggtc	cagttcaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	840
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccacgggag	gagcagttca	acagcacggt	ccgtgtgggtc	900
agcgtcctca	ccgttgtgca	ccaggactgg	ctgaacggca	aggagtacaa	gtgcaagggtc	960
tccaacaaaag	gcctcccagc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaaaccaa	agggcagccc	1020
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tcccgggagg	agatgaccaa	gaaccagggtc	1080
agcctgacct	gcctgggtcaa	aggcttctac	cccagcgaca	tcgccgtgga	gtgggagagc	1140
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acacctccca	tgctggactc	cgacgggtccc	1200
ttcttcctct	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggt	ggcagcaggg	gaacgtcttc	1260
tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1320
tctccgggta	aatga					1335

FIGURA 2A

4 13 1 Proteína de Cadena Pesada (SEC ID N° 14)

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

FIGURA 2B

169
168

4 13 1 ADN de Cadena Ligera (SEC ID N° 19)

gaaattgtgt	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtca	gagtgtcagc	agctacttag	cctggtacca	gcagaaacct	120
ggccaggctc	ccaggctcct	catctatggg	gcatccagca	gggccactgg	catcccagac	180
agggttcagt	gcagtgggtc	tgggacagac	ttcactctca	ccatcagcag	actgggagcct	240
gaggattttg	cagtgtatta	ctgtcaacag	tatggtaggt	caccattcac	tttcggccct	300
gggaccaaag	tagatatcaa	gcgaactgtg	gctgcaccat	ctgtcttcat	cttcccgccca	360
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaaactgcc	tctgtttgtgt	gcctgctgaa	taactttctat	420
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaagggtg	gataacgccc	tccaatcggg	taactcccag	480
gagagtgtca	cagagcagga	cagcaaggac	agcacctaca	gcctcagcag	caccctgacg	540
ctgagcaaag	cagactacga	gaaacacaaa	gtctacgcct	gcgaagtcac	ccatcagggc	600
ctgagctcgc	ccgtcacaaa	gagcttcaac	aggggagagt	gtag		645

FIGURA 2C

4 13 1 Proteína de Cadena Ligera (SEC ID N° 20)

EIVLT[QSPGT	LSLSPGERAT	<u>LSCRASQSVS</u>	<u>SYLAWYQQKP</u>	<u>GOAPRLLIYG</u>	<u>ASSRATGIPD</u>	60
RFSGSGSGTD	FTLTISRLEP	EDFAVYYCQQ	<u>YGRSPFTFGP</u>	GTKVDIKRTV	AAPSVFIFPP	120
SDEQLKSGTA	SVVCLLNIFY	PREAKVQWKV	D]NALQSGNSQ	ESVTEQDSKD	STYSLSTLT	180
LSKADYEKHK	VYACEVTHQG	LSSPVTKSFN	RGEC			214

FIGURA 2D

170
169

11 2 1 ADN de Cadena Pesada (SEC ID N° 25)

atggagtttg	ggctgagctg	ggttttcttc	gttgetcttt	taagaggtgt	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtctgg	gggaggcgtg	gtccagcctg	ggaggtccct	gagactctcc	120
tgtgcagcgt	ctggattcac	cttcagtagc	tatggcatgc	actgggtccg	ccaggctcca	180
ggcaaggggc	tggagtgggt	ggcagttata	tggatatgatg	gaagtaataa	atactatgca	240
gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtatctg	300
caaatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gctgtgtatt	actgtgcgag	agatccgagg	360
ggagctaccc	tttactacta	ctactacggt	atggacgtct	ggggccaagg	gaccacgggtc	420
accgtctcct	cagcctccac	caagggccca	tgggtcttcc	ccctggcgcc	ctgctccagg	480
agcacctccg	agagcacagc	ggccctgggc	tgccctggta	aggactactt	ccccgaaccg	540
gtgacgggtg	cgtggaactc	aggcgctctg	accagcgggc	tgcacacctt	cccagctgtc	600
ctacagtccct	caggactcta	ctccctcagc	agcgtgggtga	ccgtgccctc	cagcaacttc	660
ggcaccacaga	cctacacctg	caacgtagat	cacaagccca	gcaacaccaa	ggtggacaag	720
acagttgagc	gcaaatgttg	tgtcgagtgc	ccaccgtgcc	cagcaccacc	tgtggcagga	780
ccgtcagtct	tcctcttccc	cccaaaaccc	aaggacaccc	tcattgatctc	ccggacccct	840
gaggtcacgt	gcgtgggtgg	ggacgtgagc	cacgaagacc	ccgaggtcca	gttcaactgg	900
tacgtggacg	gcgtggaggt	gcataatgcc	aagacaaagc	cacgggagga	gcagttcaac	960
agcacgttcc	gtgtgggtcag	cgtectcacc	gttgtgcacc	aggactggct	gaacggcaag	1020
gagtacaagt	gcaagggtctc	caacaaaggc	ctcccagccc	ccatcgagaa	aaccatctcc	1080
aaaaccaaag	ggcagccccc	agaaccacag	gtgtacaccc	tgcccccatc	ccgggaggag	1140
atgaccaaga	accaggtcag	cctgacctgc	ctggtcaaag	gcttctaccc	cagcgacatc	1200
gccgtggagt	gggagagcaa	tgggcagccg	gagaacaact	acaagaccac	acctcccatg	1260
ctggactccg	acggctcctt	cttcctctac	agcaagctca	ccgtggacaa	gagcaggtgg	1320
cagcagggga	acgtcttctc	atgctccgtg	atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	1380
cagaagagcc	tctccctgtc	tccgggtaaa	tga			1413

FIGURA 3A

11 2 1 Proteína Pesada (SEC ID N° 26)

<u>QVQLVESGGIG</u>	<u>VVQPGRLRL</u>	<u>SCAASGFTFS</u>	<u>SYQMHWVRQA</u>	<u>PGKGLEWVAV</u>	<u>IWYDGSNKYY</u>	60
<u>ADSVKGRFTI</u>	<u>SRDINSKNTLY</u>	<u>LQMNSLRAED</u>	<u>TAVYYCARDP</u>	<u>RGATLYYYYY</u>	<u>GMDVMQGQTT</u>	120
<u>VTVSSASTKG</u>	<u>PSVFLAPCS</u>	<u>RSTSESTAAL</u>	<u>GCLVKDYFPE</u>	<u>PVTVSWNSGA</u>	<u>LTSGVHITFPA</u>	180
<u>VLQSSGLYSL</u>	<u>SSVVTVPSSN</u>	<u>FGTQTYTCNV</u>	<u>DHKPSNTKVD</u>	<u>KTVERKCCVE</u>	<u>CPPCPAPPVA</u>	240
<u>GPSVFLFPPK</u>	<u>PKDTLMISRT</u>	<u>PEVTCVVVDV</u>	<u>SHEDPEVQFN</u>	<u>WYVDGVEVHN</u>	<u>AKTKPREEQF</u>	300
<u>NSTFRVSVL</u>	<u>TVVHQDWLNG</u>	<u>KEYKCKVSNK</u>	<u>GLPAPIEKTI</u>	<u>SKTKGQPREP</u>	<u>QVYTLPPSRE</u>	360
<u>EMTKNQVSLT</u>	<u>CLVKGFYPSD</u>	<u>IAVEWESNGQ</u>	<u>PENNYKTIPT</u>	<u>MLDSGDSFFL</u>	<u>YSKLTVDKSR</u>	420
<u>WQQGNVFS</u>	<u>VMKHALHNHY</u>	<u>TQKSLSLSPG</u>	<u>K</u>			451

171
70

FIGURA 3B

11 2 1 ADN de Cadena Ligera (SEC ID N° 31)					
atggacatga	gggtccccgc	tcagctcctg	gggctcctgc	tactctggct	ccgaggtgcc 60
agatgtgaca	tccagatgac	ccagtctcca	tcctccctgt	ctgcatctgt	aggagacaga 120
gtcaccatca	cttgccgggc	aagtcagagc	attaacagct	atttagattg	gtatcagcag 180
aaaccaggga	aagcccctaa	actcctgac	tatgctgcat	ccagtttgca	aagtggggtc 240
ccatcaaggt	tcagtggcag	tggatctggg	acagatttca	ctctcaccat	cagcagtctg 300
caacctgaag	atlttgcaac	ttactactgt	caacagtatt	acagtactcc	attcactttc 360
ggccctggga	ccaaagtgga	aatcaaacga	actgtggctg	caccatctgt	cttcatcttc 420
ccgccatctg	atgagcagtt	gaaatctgga	actgcctctg	ttgtgtgcct	gctgaataac 480
ttctatccca	gagaggccaa	agtacagtgg	aaggaggata	acgccctcca	atcgggtaac 540
tcccaggaga	gtgtcacaga	gcaggacagc	aaggacagca	cctacagcct	cagcagcacc 600
ctgacgctga	gcaaagcaga	ctacgagaaa	cacaaagtct	acgcctgcga	agtcacccat 660
cagggcctga	gctcgcccgt	cacaaagagc	ttcaacaggg	gagagtgtta	gtga 714

FIGURA 3C

11 2 1 Proteína de Cadena Ligera SEC ID N° 32			
DIQNTQS[PSS	LSASVGDRVT	ITCRASQSIN	SYLDWYQQKP GKAPKLLIYA ASSLQSGVPS 60
RPSGSGSGTD	FTLTISSLQP	EDFATYYCQQ	YYSTPFTFGP GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
SDEQLKSGTA	SVVCLLNIFY	PREAKV]QWKV	DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSLT 180
LSKADYEKHK	VYACEVTHQG	LSSPVTKSFN	RGEC 214

FIGURA 3D

772
171

**TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL REPORTE DE EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Regla 71 1)
De AUTORIDAD DE REVISION PRELIMINAR INTERNACIONAL**

Para
FULLER, Grover F
Pfizer Inc
201 Tabor Road
Morris Plains NJ 07950
Estados Unidos de America

Sello de recibido de fecha 13 de octubre de 2006

Fecha de expedición 05 10 2006
Referencia del expediente del solicitante o mandatario PC32619A
Solicitud Internacional No PCT/IB2005/003307
Fecha de presentación internacional 24 10 2005
Fecha de prioridad 04 11 2004
Solicitante PFIZER PRODUCTS INC et al

- 1 Se notifica al solicitante que la Administración Encargada del Examen Preliminar Internacional ha emitido el informe de examen preliminar internacional para la solicitud internacional y se lo transmite adjunto acompañado si procede de sus anexos
- 2 Se transmite una copia del presente informe y si procede de sus anexos, a la Oficina Internacional para comunicación a todas las Oficinas elegidas
- 3 Si alguna Oficina elegida lo exige la Oficina Internacional realizará una traducción en inglés del informe (con exclusión de sus anexos) y la transmitirá a las Oficinas interesadas

4 RECORDATORIO

Para iniciar la fase nacional ante cada Oficina elegida, el solicitante debe cumplir ciertos actos (presentación de la traducción y pago de las tasas nacionales) en el plazo de 30 meses desde la fecha de prioridad (o más tarde por lo que respecta a ciertas oficinas) (Artículo 39 (1)) (vease también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional en el formulario PCT/IB/301)

Cuando deba entregarse una traducción de la solicitud internacional o una oficina elegida, se incluirá la traducción de cualquier anexo de

informe de Examen Preliminar Internacional Corresponde al
solicitante preparar la traducción en cuestión y entregarla
directamente a cada Oficina elegida interesada

Para más amplios detalles en lo relativo a los plazos aplicables y las
exigencias de las oficinas elegidas vease el Volumen II de la guía del
solicitante PCT

Se llama la atención del solicitante sobre el Artículo 33(5) que preve
que los criterios de novedad actividad inventiva y de aplicación
industrial definidos en el Artículo 33(2) a (4) solo servirán a los
efectos del examen preliminar internacional y que todo Estado
contratante puede aplicar criterios adicionales o diferentes al objeto
de decidir, en ese Estado si la invención es patentable o no (vease
también el Artículo 27(5)) Tales criterios adicionales pueden afectar
por ejemplo a las excepciones de patentabilidad requisitos
específicos relativos a la divulgación la claridad de las
reivindicaciones

Nombre y dirección postal de la Administración encargada del Examen
Preliminar Internacional
Oficina de Patentes Europea
D 80298 - Munich
Tel +49 89 2399 0 Tx 523656 epmu d
Fax +49 89 2399 - 4465

Funcionario Autorizado Moreno Ramon
Tel + 49 89 2399 2658

174
173

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes)
(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Referencia del expediente del solicitante o mandatario PC32619A
Solicitud Internacional No PCT/IB2005/003307
Fecha de presentación internacional 24 10 2005
Fecha de prioridad 04 11 2004
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o la vez clasificación
nacional e IPC INV C07K 6/28 A61K 39/395
Solicitante PFIZER PRODUCTS INC et al

1 El presente informe preliminar internacional sobre patentabilidad se establece por esta Administración encargada del examen preliminar internacional según el Artículo 35 y se transmite al solicitante conforme el Artículo 36

2 Este INFORME consta de un total de 7 hojas, incluida la presente hoja de portada

3 Este informe también contiene ANEXOS que comprenden

a ☐ (remitido al solicitante y a la oficina internacional) un total de hojas descritas a continuación

☐ hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos que han sido modificadas y que sirven de base al presente informe y/o de hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Administración (vease la Regla 70 16 y la Instrucción Administrativa 607 del PCT)

☐ hojas que reemplazan a otras hojas anteriores pero que esta Administración considera que contienen modificaciones que se extienden más allá de la divulgación de la invención tal como fue originalmente presentada según se indica en el punto 4 del Reglamento I y en el Recuadro Suplementario

b ☐ (remitido únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y soporte(s) electrónico(s)) , que contienen una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s) solo en formato legible por ordenador como se indica en el Recuadro Suplementario relativo a Listas de Secuencias (ver Instrucción Administrativa 802)

175
179

4 El presente informe contiene indicaciones relativas a los siguientes puntos

- | | | |
|-------------------------------------|---------------|---|
| ☒ | Recuadro I | Base de este informe |
| ☐ | Recuadro II | Prioridad |
| ☒ | Recuadro III | Ninguna formulacion de opinion sobre la novedad la actividad inventiva y la aplicacion industrial |
| ☐ | Recuadro IV | Falta de unidad de Invencion |
| ☒ | Recuadro V | Declaración motivada según el Artículo 35(2) sobre la novedad la actividad inventiva y la aplicacion industrial, citas y explicaciones en apoyo de esta declaración |
| ☐ | Recuadro VI | Ciertos documentos citados |
| ☐ | Recuadro VII | Defectos en la Solicitud Internacional |
| ☐ | Recuadro VIII | Observaciones relativas a la solicitud internacional |

Fecha de radicacion de la demanda 19 12 2005
Fecha de elaboracion de este reporte 05 10 2006

Nombre y direccion postal de la Administracion encargada del Examen Preliminar Internacional
Oficina de Patentes Europea
D 80298 - Munich
Tel +49 89 2399 0 Tx 523656 epmu d
Fax +49 89 2399 - 4465

Funcionario Autorizado Sommerfeld Teresa
Tel + 49 89 2399 7197

176
175

Recuadro I Base de este informe

1 Por lo que respecta al **idioma**, este informe se ha establecido sobre la base de la solicitud internacional en el idioma en el cual se deposito salvo indicación en contra señalada a continuación

- ☐ Este informe esta basado en una traduccion del idioma original al siguiente idioma que es el de una traduccion proporcionada a los fines de
- ☐ busqueda internacional (segun Reglas 12 3 y 23 1 (b))
 - ☐ publicacion de la solicitud internacional (segun Regla 12 4)
 - ☐ examen preliminar internacional (segun Reglas 55 2 y/o 55 3)

2 Por lo que respecta a los **elementos*** de la solicitud internacional, esta opinion se ha establecido sobre la base de *(las hojas de reemplazo que hayan sido enviadas a la Oficina receptora en respuesta a un requerimiento segun el Articulo 14 se las denomina en este informe como "inicialmente presentadas" y no se anexan al informe)*

Descripción, Páginas

1 - 44 tal como se presentaron inicialmente

Lista de secuencias que hacen parte de la descripción, paginas,

1 - 19 tal como se presentaron inicialmente

Reivindicaciones, Numeros

1 20 tal como se presentaron inicialmente

Dibujos, Figuras

1/6 6/6 tal como se presentaron inicialmente

☒ una lista de secuencias y/o tabla(s) relativa(s) - ver Recuadro Suplementario relativo a Listas de Secuencias

3 Las modificaciones ha ocasionado la cancelación de

- ☐ la descripción páginas
- ☐ las reivindicaciones, Nos
- ☐ los dibujos, hojas/fig
- ☐ la lista de secuencias (especificar)
- ☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (especificar)

- 4 ☐ El presente informe ha sido establecido como si no se hubiesen presentado (algunas de) las modificaciones anexadas a este informe y listadas abajo ya que se ha considerado que iban mas alla de la divulgacion de la invencion tal como fue presentada como se indica en el Recuadro Suplementario (Regla 70 2(c))

- ☐ la descripción, páginas
- ☐ las reivindicaciones Nos
- ☐ los dibujos hojas/fig
- ☐ la lista de secuencias (especificar)
- ☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias (especificar)

* Si se utiliza el punto 4 algunas o todas estas paginas pueden llevar el sello de "sustituida"

Recuadro No III Ninguna formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial

1 Las preguntas con respecto a si el invento reivindicado parece ser novedoso implica una actividad inventiva (no ser evidente) o ser susceptible de aplicación industrial por lo que respecta

- ☐ al conjunto de la solicitud internacional
- ☒ a las reivindicaciones Nos 1 15

debido a que

- ☒ la solicitud internacional, o las reivindicaciones Nos 1 15 en cuestion se refieren al objeto respecto del cual no requiere examen preliminar internacional (especifique)

ver hoja separada

- ☐ a descripción reivindicaciones, o los dibujos (indíquese cuales a continuación) o tales reivindicaciones Nos en cuestion no son claras de manera que no es posible formular una opinion significativa (especifique)
- ☐ las reivindicaciones o las reivindicaciones Nos en cuestion no son claras de manera que no es posible formular una opinión significativa
- ☐ no se ha emitido informe de busqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos

178

177

☐ la lista de de secuencias nucleotidas y/o de aminoacidos no cumplen la norma estandar prevista en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas por que

La lista en papel ☐ no se presento
☐ no cumple con la norma estandar

La lista en formato legible por ordenador
☐ no se presento
☐ no cumple con la norma estandar

☐ las tablas relativas a las listas de secuencias de nucleotidas y/o de aminoacidos si unicamente se han presentado en formato legible por ordenador no cumplen con los requisitos técnicos previstos en el Anexo C bis de las Instrucciones Administrativas

☒ Ver recuadro suplementario para más detalles

Recuadro No V Declaración razonada según el Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial
anterioridades y explicaciones que soportan tal declaración

1 Declaración

Novedad (N)	Si	Reivindicaciones	1	20
	No	Reivindicaciones		
Nivel Inventivo (NI)	Si	Reivindicaciones		
	No	Reivindicaciones	1	20
Aplicacion Industrial (AI)	Si	Reivindicaciones	16	20
	No	Reivindicaciones		

2 Citas y explicaciones (Regla 70 7)

ver hoja separada

Recuadro suplementario relativo a listas de secuencias

Continuacion del Recuadro 1, punto 2

1 En lo que se refiere a las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos divulgadas en la solicitud internacional y necesarias para la invención reivindicada esta opinión se ha establecido sobre la base de

a tipo de material

- ☒ una lista de secuencias
- ☐ tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias

b formato del material

- ☒ por escrito
- ☒ en soporte legible por ordenador

c fecha de presentación/entrega

- ☒ contenido en la solicitud internacional tal y como se presentó
- ☒ presentado junto con la solicitud internacional en formato legible por ordenador
- ☐ presentado posteriormente a esta Administración a los fines de búsqueda y/o examen
- ☐ recibido como modificación, por esta Administración en fecha _____

2 ☐ Además en caso de que se haya presentado más de una versión o copia de una lista de secuencias y/o tabla(s) relacionada(s) con ella se ha entregado la declaración requerida de que la información contenida en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a la de la solicitud tal y como se presentó o no va más allá de lo presentado inicialmente

3 Comentarios adicionales

Se citan los siguientes documentos

- D1 EP A 1 262 193 (PFIZER PRODUCTS INC) 4 de diciembre de 2002
- D2 HURWITZ A A ET AL CTLA-4 BLOCKADE SYNERGIZES WITH TUMOR DERIVED GRANULOCYTE MACROPHAGE COLONY – STIMULATING FACTOR FOR TREATMENT OF AN EXPERIMENTAL MAMMARY CARCINOMA PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE WASHINGTON DC US vol 95 no 17 1998 páginas 10067 10071 XP000882999 ISSN 0027 8424
- D3 DEMARIA S ET AL “Combination of local radiation with CTLA4 blockade A new approach to the immunotherapy of breast cancer INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS vol 57 no 2 Supplement 2003 página S259 XP009062510 & 45TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR THERAPEUTIC RADIOLOGY AND ONCOLOGY SALT LAKE CITY UTAH USA octubre 19 23 2003 ISSN 0360 3016
- D4 PHAN GIAO Q ET AL Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA vol 100 no 14 8 de julio de 2003 páginas 8372 8377 XP002370107 ISSN 0027 8424

Introducción

La presente solicitud divulga métodos de terapia de combinación con anticuerpos anti CTLA4 e inhibidores de la aromatasa para el tratamiento del cáncer de seno

Ítem III

No formulación de opinión con respecto a novedad, nivel inventivo, y aplicación industrial

Las reivindicaciones 1 15 se relacionan con materia considerada cubierta por esta Autoridad mediante provisiones establecidas en la Regla 67 I(iv) del PCT De manera que ningún concepto se formulará con respecto a la aplicación industrial de la materia de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(I) del PCT)

Ítem V

Declaración razonada bajo la Regla 66 2(a)(ii) con respecto a novedad, nivel inventivo, y aplicación industrial, citas y explicaciones soportando cada declaración

I La reivindicación 1 se relaciona con un método para el tratamiento de cáncer de seno el cual comprende administrar un anticuerpo anti CTLA4 en combinación con un inhibidor de aromatasa El uso de inhibidores de aromatasa para el tratamiento de

cáncer de seno es bastante conocido en el estado de la técnica anterior (ver por ejemplo la solicitud en la página 1 líneas 13-17). También se ha divulgado el uso de anticuerpos anti-CTLA4 para el tratamiento de cáncer de seno en el estado de la técnica anterior por ejemplo D2 y D3. Adicionalmente ya se había sugerido de manera general en D1 la terapia de combinación con anti-CTLA con anti-hormonas en el contexto del cáncer. Por lo tanto parece ser que la mera combinación de estas dos terapias no pueden considerarse inventivas a menos que resultara en un efecto técnico sorprendente que no habría podido anticiparse con base en las enseñanzas del estado de la técnica anterior. Sin embargo, la solicitud no proporciona

181
180

PATENT COOPERATION TREATY

CCT 13 2005

782

Sm

181

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

FULLER Grover F Jr
Pfizer Inc
201 Tabor Road
Morris Plains, NJ 07950
ETATS UNIS D AMERIQUE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

05.10.2006

Applicant's or agent's file reference
PC32619A

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/IB2005/003307

International filing date (day/month/year)
24.10.2005

Priority date (day/month/year)
04.11.2004

Applicant
PFIZER PRODUCTS INC. et al.

- 1 The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
- 2 A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.

- 3 Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4 REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB501).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed invention is patentable or not (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80269 Munich
Tel. +49 89 2369 D.T.: 523056 opmu d
Fax: +49 89 2369 4465

Authorized Officer

Moreno Ramon

Tel. +49 89 2369-2656



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

783
782

Applicant's or agent's file reference PC32818A	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/PEA/418	
International application No. PCT/IB2005/003307	International filing date (day/month/year) 24 10 2005	Priority date (day/month/year) 04 11 2004
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV C07K16/28 A61K39/395		
Applicant PFIZER PRODUCTS INC. et al		
1 This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2 This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet. 3 This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☐ sent to the applicant and to the International Bureau a total of sheets, as follows: ☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 807 of the Administrative Instructions) ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in Item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic form only as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).		
4 This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty inventive step or industrial applicability citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application		
Date of submission of the demand 19 12 2005	Date of completion of this report 05 10 2006	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority  European Patent Office D-80289 Munich Tel. +49 89 2339-0 Tx. 523656 epmu d Fax: +49 89 2339-4465	Authorized officer Sommerfeld Teresa Telephone No. +49 89 2339-7497 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IB2005/003307

784
183

Box No. 1 Basis of the report

- 1 With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed unless otherwise indicated under this item
- ☐ This report is based on translations from the original language into the following language which is the language of a translation furnished for the purposes of
- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)
- 2 With regard to the elements of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*

Description, Pages

1-44 as originally filed

Sequence listings part of the description, Pages

1-19 as originally filed

Claims, Numbers

1-20 as originally filed

Drawings, Sheets

1/8-6/8 as originally filed

☒ a sequence listing and/or any related table(s) see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (specify):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (specify):
 - ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):

* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No
PCT/IB2005/003307

785
184

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1 The questions whether the claimed invention appears to be novel to involve an inventive step (to be non-obvious) or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 1-15

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-15 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed

☐ no international search report has been established for the said claims Nos.

☐ the nucleotide and/or amino acid sequence listing does not comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions in that:

the written form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

the computer readable form

☐ has not been furnished

☐ does not comply with the standard

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in computer readable form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☒ See separate sheet for further details

786
185

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IB2005/003307

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability citations and explanations supporting such statement

1 Statement

Novelty (N)	Yes	Claims	1-20
	No	Claims	
Inventive step (IS)	Yes	Claims	
	No	Claims	1-20
Industrial applicability (IA)	Yes	Claims	16-20
	No	Claims	

2 Citations and explanations (Rule 70.7)

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/IB2005/003307

787
186

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, Item 2.

- 1 With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report has been established on the basis of
 - a. type of material
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☒ in written format
 - ☒ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☒ filed together with the international application in computer readable form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ received by this Authority as an amendment on
- 2 ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished
3. Additional observations, if necessary

788
187

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2005/003307

The following documents are cited

- D1 EP A-1 262 193 (PFIZER PRODUCTS INC) 4 December 2002 (2002 12-04)**
- D2 HURWITZ A A ET AL 'CTLA-4 BLOCKADE SYNERGIZES WITH TUMOR-
DERIVED GRANULOCYTE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING
FACTOR FOR TREATMENT OF AN EXPERIMENTAL MAMMARY
CARCINOMA' PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF
SCIENCES OF USA NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON,
DC, US vol 95, no 17, 1998, pages 10067-10071 XP000882999 ISSN 0027-
8424**
- D3 DEMARIA S ET AL 'Combination of local radiation with CTLA4 blockade A
new approach to the immunotherapy of breast cancer INTERNATIONAL
JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS vol 57, no 2
Supplement, 2003, page S259, XP009062510 & 45TH ANNUAL MEETING OF
THE AMERICAN SOCIETY FOR THERAPEUTIC RADIOLOGY AND
ONCOLOGY SALT LAKE CITY UTAH, USA, OCTOBER 19-23 2003 ISSN
0360-3016**
- D4 PHAN GIAO Q ET AL 'Cancer regression and autoimmunity induced by
cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with
metastatic melanoma PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF
SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol 100 no 14, 8 July
2003 (2003-07-08), pages 8372-8377 XP002370107 ISSN 0027-8424**

Introduction

The present application discloses methods of combination therapy with anti-CTLA4 antibodies and aromatase inhibitors for treatment of breast cancer

Section III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

789
188

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IB2005/003307

Claims 1-15 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67 1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT)

Section V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

- 1 Claim 1 is directed to a method for the treatment of breast cancer comprising administering an anti-CTLA4 antibody in combination with an aromatase inhibitor. Use of aromatase inhibitors for treatment of breast cancer was well known in the prior art (see e.g. application page 1 lines 13-17). Use of anti-CTLA4 antibodies for treatment of breast cancer had also been disclosed in the prior art, e.g. D2 and D3. Moreover, combination therapy with anti-CTLA with anti-hormones in the context of cancer had already been generally suggested in D1. It thus appears that the mere combination of these two therapies cannot be considered inventive unless it would result in a surprising technical effect that could not have been anticipated based on the teachings of the prior art. The application, however, does not provide any teaching that this is the case. Claim 1 is thus considered to lack an inventive step (Art. 33(3) PCT).
- 2 The same applies to claims 2-10, which either further define the aromatase inhibitor to be used, or the therapeutical dosages, or the type of treatment, or the antibody species. The same applies to claims 16-19 which are directed to pharmaceutical compositions or to the medical use.
- 3 Claims 10-14 and 20 further specify on the antibodies to be used. These antibodies, however, are known antibodies of the prior art, which had already been used in the context of cancer therapy (e.g. D1, D4). Thus, the use of these particular antibodies cannot be considered to involve an inventive step (Art. 33(3) PCT).



No 07-044445 -00000-0000

Fecha 2007-05-04 16:32:12 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra 11 PATENTEIYII Evs 379 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 188

SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Descripción de la invención []
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable _____

Fecha _____

Carrera 13 No 27-00 Piso 5 7 y 10
Conmutador 3 82 08 40
Fax 350 52 20
E mail info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá D C Colombia

197

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Folio 190

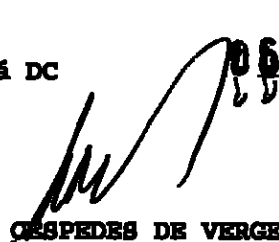
2020
Bogotá D C ,

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
PFIZER PRODUCTS INC

REFERENCIA	Radicación No	7 44445
	Solicitud internacional	PCT/IB2005/003307
	Fecha inicio fase nacional	04/06/2007
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No	3495
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT) el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial

Cúmplase
Dado en Bogotá DC


ALIX CARMONA OROPIDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

adpa11