

Gecombineerde toepassing van monoklonale antilichamen in de oncologie

L.M. Henricks^{ab*}, J.H.M. Schellens^{cd}, J.H. Beijnen^{bd} en A.D.R. Huitema^b

^a Masterstudent Farmacie, Departement Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht.

^b Apotheek Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam.

^c Afdeling Klinische Farmacologie, Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam.

^d Afdeling Farmaco-epidemiologie en Klinische Farmacologie, Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences, Universiteit Utrecht.

* Thans: Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam. Correspondentie: l.henricks@nki.nl.

Kernpunten

- Door het combineren van monoklonale antilichamen in de oncologie kan een synergistisch effect ontstaan, doordat meerdere signaaltransductieroutes gelijktijdig worden geremd.
- Combinaties van monoklonale antilichamen hebben het voordeel van beperkte overlappende toxiciteit en afwezigheid van (farmacokinetische) interacties.
- Uit de gepubliceerde studies met diverse combinaties komen wisselende effecten naar voren. Het is nog onduidelijk waardoor sommige combinaties juist een antagonistisch effect lijken te geven.

Inleiding

Monoklonale antilichamen spelen een steeds belangrijker rol in de oncologie. Deze antilichamen zijn gemodificeerde eiwitten die ontwikkeld zijn om immunologische processen te beïnvloeden. Binnen de oncologie hebben monoklonale antilichamen als doel om specifiek aan te grijpen op een bepaald onderdeel van ontregelde signaaltransductieroutes in tumoren. Dit biedt een groot voordeel ten opzichte van klassieke chemotherapie, die een veel aspecifieker werkingsmechanisme heeft. Bij diverse tumoren is het gebruik van een monoklonaal antilichaam standaardtherapie geworden. In een recent artikel in het *Pharmaceutisch Weekblad* is een overzicht gegeven van de monoklonale antilichamen die geregistreerd zijn voor de behandeling van kanker [1].

Behalve naar de ontwikkeling van nieuwe monoklonale antilichamen wordt momenteel ook veel onderzoek gedaan naar het combineren van monoklonale antilichamen. Voor zover wij weten is inmiddels gepubliceerd over vijftien verschillende combinaties van antilichamen bij oncologische en hematologische aandoeningen (literatuur geïncludeerd tot en met maart 2014). In dit artikel zal een overzicht gegeven

ABSTRACT

Combined application of monoclonal antibodies in oncology

Monoclonal antibodies are becoming increasingly important in oncology. These antibodies specifically inhibit signalling pathways in tumour growth. By combining monoclonal antibodies several pathways may be blocked simultaneously, leading to potential synergism. Publications on fifteen different combinations of antibodies in oncology are currently available. In this article an overview is given of these published studies. Some of these combinations have proven clinical benefit, for example the combination of trastuzumab and pertuzumab in HER2-positive breast cancer, which shows a synergistic effect on antitumour activity in clinical studies. However, other combinations lead to unfavourable results, such as bevacizumab with cetuximab or panitumumab in advanced colorectal cancer. These combinations result in shorter progression-free survival and increased toxicity compared to therapy with a single antibody. More studies are necessary to unravel the mechanisms behind synergistic or antagonistic effects of combining monoclonal antibodies in oncology.

Henricks LM, Schellens JHM, Beijnen JH, Huitema ADR. Gecombineerde toepassing van monoklonale antilichamen in de oncologie. *PW Wetenschappelijk Platform*. 2015;9:a1506.

worden van het onderzoek naar combinatietherapieën met monoklonale antilichamen in oncologie en hematologie.

Tabel 1 geeft een overzicht van de klinische en preklinische studies die gedaan zijn met combinaties van monoklonale antilichamen.

Argumenten voor combinatietherapieën

In tumoren spelen in het algemeen meerdere ontregelde signaaltransductieroutes een belangrijke rol. Therapie met een monoklonaal antilichaam is doorgaans slechts gericht tegen één bepaalde signaaltransductieroute. Het remmen van één van deze ontregelde routes heeft echter doorgaans een beperkte effectiviteit. Door het combineren van monoklonale antilichamen is het mogelijk meerdere signaaltransductieroutes gelijktijdig te remmen, waardoor een additief of zelfs een synergistisch effect kan ontstaan. Een potentieel nadeel van combinatietherapie is dat er meer bijwerkingen kunnen optreden.

Monoklonale antilichamen zijn potentieel geschikt voor combinatietherapie, omdat er weinig tot geen farmacokine-

Tabel 1 Overzicht van gepubliceerde studies naar combinatietherapieën van monoklonale antilichamen voor oncologische indicaties

Combinatie van antilichamen (<i>target waartegen gericht</i>)	Oncologische indicatie	Type onderzoek	Resultaten	Referenties
Bevacizumab (VEGF) en panitumumab (EGFR)	gemetastaseerd colorectaal carcinoom	klinisch (fase III)	Toevoeging van panitumumab aan behandeling met bevacizumab en chemotherapie gaf een slechtere progressievrije overleving en meer toxiciteit.	[7]
	gevorderde solide tumoren	klinisch (fase I)	Dosisescalatie: veilige doseringen voor fase-II-studie zijn 4,8 mg/kg voor panitumumab en 10 mg/kg voor bevacizumab elke twee weken. Effectiviteit: van de 31 patiënten hadden 3 een partiële respons en bij 10 bleef de ziekte stabiel.	[23]
Cetuximab (EGFR) en bevacizumab (VEGF)	gemetastaseerd colorectaal carcinoom	klinisch (fase II en III)	Toevoeging cetuximab aan bevacizumab en chemotherapie in eerstelijnsbehandeling gaf een slechtere progressievrije overleving (10,7 versus 9,4 maanden), meer huidtoxiciteit en een lagere kwaliteit van leven.	[19, 20]
			Ook in twee andere studies gaf toevoeging van cetuximab geen klinische verbetering, maar wel meer toxiciteit.	[5, 6]
			Een vierde studie is voortijdig gestopt, maar de combinatie lijkt een slechter klinisch resultaat te geven.	[24]
	gemetastaseerd plaveiselcel-carcinoom van hoofd en nek	preklinisch, klinisch (fase II)	Als vierdelijnsbehandeling lijkt de combinatie van cetuximab en bevacizumab wel veilig en effectief.	[21]
			Toevoeging van cetuximab aan bevacizumab en cisplatine gaf slechtere resultaten in een muismodel.	[11]
			In een klinische studie gaf de combinatie een <i>overall survival</i> van 7,5 maanden, terwijl dit voor cetuximab alleen (in een andere studie) 5,9 maanden was.	[25]
niet-kleincellig longcarcinoom	klinisch (fase II)	Toevoeging van de twee antilichamen aan paclitaxel en carboplatine gaf een verwachte progressievrije overleving en werd goed verdragen.	[26]	
primair glioblastoma multiforma	klinisch (fase II)	De combinatietherapie plus irinotecan werd goed verdragen (behalve huidtoxiciteit die optrad). De respons lijkt niet superieur aan resultaten van bevacizumab en irinotecan alleen.	[27]	
Cetuximab (EGFR) en dalotuzumab (IGF-1R)	gevorderd colorectaal carcinoom	klinisch (fase I)	De combinatie van de twee antilichamen plus irinotecan werd goed verdragen en er traden geen farmacokinetische interacties op.	[28]
Ganitumab (IGF-1R) en panitumumab (EGFR)	gevorderde solide tumoren	klinisch (fase I)	Toevoeging van ganitumab (tot een dosering van 12 mg/kg) aan panitumumab werd goed verdragen en er traden geen farmacokinetische interacties op.	[29]

Tabel 1 (vervolg)

Combinatie van antilichamen (<i>target waartegen gericht</i>)	Oncologische indicatie	Type onderzoek	Resultaten	Referenties
Ipilimumab (CTLA-4) en nivolumab (PD-1)	gevorderd melanoom	klinisch (fase I)	Het veiligheidsprofiel van de combinatie was handelbaar en de klinische activiteit leek hoger dan die van monotherapie.	[18]
Rituximab (CD20) en alemtuzumab (CD52)	chronische en acute lymfatische leukemie	preklinisch, klinisch (fase I en II)	Bij in-vitro-onderzoek speelden meerdere cytotoxische mechanismen een rol en dit vormde een motief voor combinatietherapie. De combinatie vertoonde een acceptabel veiligheidsprofiel en gaf klinische activiteit bij patiënten met een slechte prognose. In een andere studie vertoonde een deel van de patiënten een respons op de combinatie. In weer een ander onderzoek was de combinatietherapie veilig en gaf een respons bij 90% van de patiënten.	[30-32] [33, 34] [35] [15]
Rituximab (CD20) en bevacizumab (VEGF)	non-hodgkinlymfoom	klinisch (fase II)	De combinatie plus chemotherapie gaf vergelijkbare responsratio's. De combinatie (plus chemotherapie) gaf meer infecties en geen verbetering in overleving. De toevoeging van alemtuzumab subcutaan werd goed verdragen; de responsratio was 61%.	[16] [17] [36]
Rituximab (CD20) en epratuzumab (CD22)	non-hodgkinlymfoom	klinisch (fase I en II)	De combinatie plus chemotherapie werd goed verdragen en beïnvloedde de farmacokinetiek niet. Toevoeging van bevacizumab aan rituximab en chemotherapie leek geen verbetering in progressievrije overleving te geven en gaf ernstige toxiciteit.	[37] [38]
Rituximab (CD20) en etanercept (TNF- α)	chronische lymfatische leukemie/klein lymfocytair lymfoom	klinisch (fase I en II)	De combinatie werd goed verdragen en gaf klinische activiteit, ook op langere termijn. Toevoeging van epratuzumab aan rituximab en chemotherapie leek de <i>event</i> -vrije overleving te verbeteren en had een acceptabele toxiciteit.	[39-42] [43, 44]
Rituximab (CD20) en galiximab (CD80)	non-hodgkinlymfoom (folliculair lymfoom)	klinisch (fase I en II)	De combinatietherapie werd goed verdragen en had geen invloed op de farmacokinetiek.	[45]
Rituximab (CD20) en milatuzumab (CD74)	non-hodgkinlymfoom (mantelcellymfoom)	preklinisch	In cellijnen en een muismodel leek de combinatietherapie een goede antitumoractiviteit te hebben.	[46, 47]
Trastuzumab (HER2) en pertuzumab (HER2)	mammacarcinoom	preklinisch, klinisch (fase II en III)	In cellijnonderzoek werkte de combinatie synergistisch, celdood werd verhoogd in vergelijking met trastuzumab alleen.	[48] [2]

Tabel 1 (vervolg)

Combinatie van antilichamen (<i>target waartegen gericht</i>)	Oncologische indicatie	Type onderzoek	Resultaten	Referenties
Trastuzumab (HER2) en bevacizumab (VEGF)			In een kleine groep patiënten die waren voorbehandeld met trastuzumab had de combinatie wellicht een beter effect. Wel was de incidentie van cardiale toxiciteit iets verhoogd.	[3, 49]
			In een andere studie bij patiënten met progressie na behandeling met trastuzumab leek de combinatie ook effectief en werd goed verdragen.	[4]
			Ook in een vroeg stadium van borstkanker werd de combinatietherapie goed verdragen en had die een gunstig effect.	[50]
			In een studie naar de effectiviteit als eerstelijnsbehandeling gaf de combinatie (plus chemotherapie) een significante verlenging van de progressievrije overleving, zonder een toename in cardiale bijwerkingen. Ook had de combinatie geen negatieve invloed op de kwaliteit van leven. Deze studie heeft geleid tot goedkeuring door de FDA.	[12-14, 51-53]
	ovariumcarcinoom	preklinisch	In een xenograft-muismodel gaf de combinatie een verhoogde antitumoractiviteit.	[8]
			Analyse van de <i>downstream-pathways</i> van beide antilichamen gaf aan dat verschillende <i>pathways</i> betrokken zijn.	[54]
	endometriumcarcinoom	preklinisch	Pertuzumab verhoogde de celtoxiciteit bij toevoeging aan trastuzumab in cellijnen.	[9]
	maagcarcinoom	preklinisch	In een xenograft-muismodel gaf de combinatie betere resultaten dan trastuzumab alleen.	[10]
	mammacarcinoom	klinisch (fase II en III)	Neoadjuvante combinatietherapie werd goed verdragen, maar verlengde therapie na chirurgie gaf meer toxiciteit.	[55]
			In een ander onderzoek was de combinatietherapie klinisch effectief, met een acceptabel veiligheidsprofiel en geen onverwachte toxiciteit.	[56]
		Uit twee andere studies bleek een minder gunstig effect. De combinatie gaf geen betere resultaten dan monotherapie en verhoogde toxiciteit trad op. In deze studie verbeterde de progressievrije overleving niet door de combinatietherapie.	[57, 58]	

CTLA-4: cytotoxisch T-lymfocyt-geassocieerd antigeen 4; EGFR: epidermale groeifactorreceptor; FDA: Food and Drug Administration; HER2: humane epidermale groeifactorreceptor 2; IGF-1R: receptor voor insulin-like growth factor 1; PD-1: receptor voor geprogrammeerde celdood 1; TNF: tumornecrosefactor; VEGF: vasculaire endotheliale groeifactor.

tische interacties te verwachten zijn. Ook is overlappende toxiciteit van monoklonale antilichamen in het algemeen beperkt. Hierdoor is het combineren van antilichamen eenvoudig en is het vaak mogelijk de doseringen die bij monotherapie gegeven

worden, ook bij combinatietherapie te geven.

Een voorbeeld waarbij blokkade van meerdere signaaltransductieroutes effectief zou kunnen zijn, is HER2-positieve borstkanker. Als de humane epidermale groeifactorreceptor

2 (HER2) geactiveerd wordt, treedt dimerisatie op. Deze dimerisatie kan plaatsvinden met andere HER2-receptoren (homodimerisatie) maar ook met een ander soort HER-receptoren, zoals HER3 (heterodimerisatie). Trastuzumab is een monokonaal antilichaam dat aangrijpt op HER2 en hierdoor de signaaltransductie remt. Heterodimerisatie van HER2 met HER3 is echter nog steeds mogelijk, waardoor groeistimulerende signalen van de tumor niet volledig geremd worden. Hierdoor treedt tijdens behandeling met trastuzumab vaak alsnog progressie van de ziekte op. Het toevoegen van pertuzumab, een monokonaal antilichaam dat de heterodimerisatie van HER2 en HER3 voorkomt door blokkade van het aangrijpingspunt van HER3 op HER2, zou daarom zinvol kunnen zijn [2-4].

Ook bij de behandeling van het coloncarcinoom zou een combinatietherapie op theoretische gronden mogelijk effectiever zijn dan de beschikbare monotherapieën. Twee signaaltransductieroutes die betrokken zijn bij deze vorm van kanker, betreffen de vasculaire endotheliale groeifactor (VEGF) en de epidermale groeifactorreceptor (EGFR). Deze twee signaalroutes zijn sterk met elkaar verbonden en beïnvloeden elkaar [5-7]. Door de antilichamen bevacizumab (gericht tegen VEGF) en cetuximab of panitumumab (gericht tegen EGFR) te combineren, worden beide routes geremd en dit geeft theoretisch een synergistisch effect.

Preklinisch onderzoek

Naar diverse combinatietherapieën van monoklonale antilichamen is preklinisch onderzoek verricht. Zo zijn er diverse studies uitgevoerd naar de effecten van de hierboven genoemde combinatie van trastuzumab en pertuzumab. Nahta e.a. toonden aan dat trastuzumab en pertuzumab een synergistisch effect hebben op de celdood van een borstkankercellijn met HER2-overexpressie, door het tegelijkertijd remmen van meerdere signaaltransductieroutes [2]. Ook bij andere indicaties waarbij HER2 een rol speelt, lijkt het combineren van pertuzumab en trastuzumab een gunstig effect te geven. Zo werd een verhoogde antitumoractiviteit gevonden bij ovariumcarcinoom [8], endometriumcarcinoom [9] en maagcarcinoom [10].

Ook naar de combinatie van cetuximab en bevacizumab is onderzoek gedaan. Wang e.a. onderzochten deze combinatie samen met cisplatine in een muismodel voor gemetastaseerd plaveiselcelcarcinoom van hoofd en nek. Hieruit bleek dat niet de tripeltherapie (cetuximab, bevacizumab en cisplatine) de grootste vertraging in tumorgroei gaf en de beste toename in overleving, maar juist de therapie met alleen bevacizumab en cisplatine [11]. Dit onderzoek pleit dus juist tegen de combinatie van twee monoklonale antilichamen.

Klinisch onderzoek

De combinatie van trastuzumab en pertuzumab bij patiënten met mammacarcinoom is in diverse klinische studies onderzocht en is de enige combinatie die momenteel geregistreerd is. De grootste uitgevoerde studie is de CLEOPA-

TRA-studie. Dit is een gerandomiseerde fase-III-studie bij HER2-positieve gemetastaseerde borstkanker waarbij één groep trastuzumab, pertuzumab en docetaxel kreeg en de andere groep trastuzumab, placebo en docetaxel. De groep met de combinatie van antilichamen had een progressievrije overleving van 18,5 maanden, terwijl dit in de groep met placebo 12,4 maanden was. Toevoeging van pertuzumab gaf dus een duidelijke verlenging van de progressievrije overleving [12]. Het veiligheidsprofiel, waaronder ook de cardiale bijwerkingen, was voor beide groepen vergelijkbaar. Dit toont aan dat de combinatietherapie met monoklonale antilichamen veilig gebruikt kan worden [12, 13]. De succesvolle resultaten van deze studie hebben geresulteerd in de registratie van pertuzumab in combinatie met trastuzumab voor HER2-positief gemetastaseerd mammacarcinoom [14].

Ook de combinatie van rituximab en alemtuzumab lijkt veelbelovend. Rituximab is gericht tegen CD20 op B-lymfocyten en alemtuzumab tegen het eiwit CD52. Beide middelen zijn effectief bij chronische lymfatische leukemie en ook het combineren van deze twee antilichamen lijkt in twee fase-II-studies veilig en effectief te zijn [15, 16]. In één andere fase-II-studie werd er bij de combinatietherapie wel een toename van infecties gezien en geen effect op de overleving, al was de respons bij de combinatietherapie wel hoger [17].

Een derde veelbelovende combinatie is het gebruik van nivolumab (gericht tegen cytotoxisch T-lymfocytgeassocieerd antigeen 4 [CTLA-4]) en ipilimumab (grijpt aan op de receptor voor geprogrammeerde celdood 1 [PD-1]). Deze twee antilichamen die de immuunrespons remmen, zijn werkzaam bij gevorderd melanoom. In een fase-I-studie werden deze antilichamen gecombineerd en dit gaf een objectieve respons van 53% bij de maximaal tolereerbare dosis, waarbij bij al deze patiënten een tumorreductie van minstens 80% optrad. Dit lijkt een stuk effectiever te zijn dan monotherapie met één van de middelen. Het veiligheidsprofiel was vergelijkbaar met monotherapie van beide middelen, al werd er in beperkte mate meer levertoxiciteit gezien [18].

Niet alle klinische studies naar combinatietherapieën met monoklonale antilichamen laten echter een positief resultaat zien. De CAIRO2-studie is een fase-III-studie waarin 755 patiënten met gemetastaseerd colorectaal carcinoom gerandomiseerd werden tussen een behandeling met capecitabine, oxaliplatine, bevacizumab en cetuximab of een behandeling met capecitabine, oxaliplatine en bevacizumab. De toevoeging van cetuximab gaf een afname van progressievrije overleving, een verhoging van cetuximabgerelateerde huidtoxiciteit en een slechtere kwaliteit van leven [19, 20]. Deze resultaten pleiten dus tegen het combineren van deze twee middelen. In een andere studie gaf de combinatie van cetuximab en bevacizumab overigens wel positieve resultaten [21]. Een belangrijk verschil tussen deze studie en de CAIRO2-studie is echter dat het hier om een vierdelijns therapie ging, terwijl de behandeling in de CAIRO2-studie een eerstelijns therapie betrof.

Een mogelijke verklaring voor deze verschillen is dat monoklonale antilichamen wellicht een andere werking hebben bij patiënten die al een voorbehandeling hebben ondergaan. Eerdere chemotherapie zou bijvoorbeeld veranderingen in tumorcellen teweeg kunnen brengen, waardoor de gevoeligheid voor antilichamen toeneemt [21].

Ook een studie met de combinatie van bevacizumab en panitumumab bij gemetastaseerd coloncarcinoom had een negatief resultaat. Het toevoegen van panitumumab aan een behandeling met bevacizumab en chemotherapie (oxaliplatine en irinotecan) gaf een gemiddelde progressievrije overleving van 10,0 maanden, terwijl dit in de controlegroep 11,4 maanden was. Ook de toxiciteit was verhoogd in de groep met panitumumab. Deze studie is daarom voortijdig gestopt [7].

Een duidelijke verklaring waarom het combineren van bevacizumab met cetuximab of panitumumab een slechtere overleving geeft, is nog niet gevonden. Wel zijn er diverse hypothesen. Zo kan er door de combinatietherapie overmatige toxiciteit ontstaan, waardoor de dosis van de geneesmiddelen verlaagd wordt om verdere toxiciteit te voorkomen. Door verlaging van de dosis zal de therapie minder effectief worden. In de klinische studies die hierboven beschreven zijn, was de dosisintensiteit echter in beide groepen vergelijkbaar, dus deze verklaring is niet heel waarschijnlijk [22]. Een ander mogelijk mechanisme is dat er een negatieve interactie ontstaat tussen de verschillende signaaltransductieroutes, waardoor de monoklonale antilichamen minder effectief worden. Zo zouden er EGFR-gemedieerde veranderingen van *downstream-target*-eiwitten kunnen plaatsvinden. Een argument voor een negatieve interactie is dat de bijwerking hypertensie, een veelvoorkomende bijwerking van bevacizumab, bij de combinatiegroep in de CAIRO2-studie relatief weinig voorkwam [7, 20, 22]. Ook zou een farmacokinetische interactie tussen de antilichamen en de gebruikte chemotherapie mogelijk zijn. In de studies die hierboven beschreven zijn, werd ook oxaliplatine toegediend aan de patiënten. Dit chemotherapeutikum bindt sterk aan serumeiwitten en wellicht wordt de biologische beschikbaarheid verlaagd door gelijktijdig gebruik van een grote hoeveelheid monoklonale antilichamen. Dit is echter niet in metingen bevestigd [22].

Beschouwing

Het combineren van geneesmiddelen die aangrijpen op verschillende punten in belangrijke signaaltransductieroutes van tumoren, is een belangrijke nieuwe ontwikkeling in de oncologie. Monoklonale antilichamen zijn hier theoretisch voor geschikt, aangezien er in het algemeen weinig overlappende toxiciteit is en er geen farmacokinetische interacties te verwachten zijn. De gepubliceerde studies geven wisselende resultaten, afhankelijk van combinatie, indicatie en patiëntenpopulatie. Opvallend is dat het combineren van monoklonale antilichamen meestal niet tot excessieve toxiciteit leidt in de doseringen die ook in mono-

therapie gebruikt worden. Het verwachte additieve of synergistische effect werd echter niet altijd waargenomen en zelfs een antagonistisch effect is aangetoond bij het combineren. Deze effecten blijken niet altijd voorspelbaar en een afdoende verklaring voor gebrek aan effect ontbreekt vaak. Daarom zal per indicatie in preklinisch en klinisch onderzoek gekeken moeten worden of het combineren van antilichamen een toegevoegde waarde heeft boven de huidige behandelstrategieën. Momenteel is alleen de combinatie van pertuzumab en trastuzumab geregistreerd en bevindt veel onderzoek zich nog in een vroeg stadium (preklinisch of fase I/II). Wellicht zullen met het verschijnen van nieuwe studieresultaten in de nabije toekomst meer combinaties van monoklonale antilichamen tot standaardbehandeling gaan behoren.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

Literatuur

- Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Monokonaal antilichaam geleidt cytotoxische stof naar tumor. Nieuwe toepassingen helpen oncologie vooruit. Pharm Weekbl. 2014 jan 10;149(1/2):26-9.
- Nahta R, Hung MC, Esteva FJ. The HER-2-targeting antibodies trastuzumab and pertuzumab synergistically inhibit the survival of breast cancer cells. Cancer Res. 2004 apr 1;64(7):2343-6.
- Portera CC, Walshe JM, Rosing DR, et al. Cardiac toxicity and efficacy of trastuzumab combined with pertuzumab in patients with [corrected] human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. Clin Cancer Res. 2008 mei 1;14(9):2710-6.
- Baselga J, Gelmon KA, Verma S, et al. Phase II trial of pertuzumab and trastuzumab in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer that progressed during prior trastuzumab therapy. J Clin Oncol. 2010 mrt 1;28(7):1138-44.
- Wong NS, Fernando NH, Bendell JC, et al. A phase II study of oxaliplatin, dose-intense capecitabine, and high-dose bevacizumab in the treatment of metastatic colorectal cancer. Clin Colorectal Cancer. 2011 sep;10(3):210-6.
- Ocean AJ, Polite B, Christos P, et al. Cetuximab is associated with excessive toxicity when combined with bevacizumab plus mFOLFOX6 in metastatic colorectal carcinoma. Clin Colorectal Cancer. 2010 dec;9(5):290-6.
- Hecht JR, Mitchell E, Chidiac T, et al. A randomized phase III trial of chemotherapy, bevacizumab, and panitumumab compared with chemotherapy and bevacizumab alone for metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2009 feb 10;27(5):672-80.
- Faratian D, Zweemer AJ, Nagumo Y, et al. Trastuzumab and pertuzumab produce changes in morphology and estrogen receptor signaling in ovarian cancer xenografts revealing new treatment strategies. Clin Cancer Res. 2011 jul 1;17(13):4451-61.
- El-Sahwi K, Bellone S, Cocco E, et al. In vitro activity of pertuzumab in combination with trastuzumab in uterine serous papillary adenocarcinoma. Br J Cancer. 2010 jan 5;102(1):134-43.
- Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yoroza K, et al. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor

- activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res.* 2011 aug 1;17(15):5060-70.
- 11 Wang Y, Dong L, Bi Q, et al. Investigation of the efficacy of a bevacizumab-cetuximab-cisplatin regimen in treating head and neck squamous cell carcinoma in mice. *Target Oncol.* 2010 dec;5(4):237-43.
 - 12 Baselga J, Cortés J, Kim SB, et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2012 jan 12;366(2):109-19.
 - 13 Swain SM, Ewer MS, Cortés J, et al. Cardiac tolerability of pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel in patients with HER2-positive metastatic breast cancer in CLEOPATRA: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Oncologist.* 2013;18(3):257-64.
 - 14 Blumenthal GM, Scher NS, Cortazar P, et al. First FDA approval of dual anti-HER2 regimen: pertuzumab in combination with trastuzumab and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2013 sep 15;19(18):4911-6.
 - 15 Zent CS, Call TG, Shanafelt TD, et al. Early treatment of high-risk chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab and rituximab. *Cancer.* 2008 okt 15;113(8):2110-8.
 - 16 Parikh SA, Keating MJ, O'Brien S, et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, alemtuzumab, and rituximab for high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011 aug 25;118(8):2062-8.
 - 17 Badoux XC, Keating MJ, Wang X, et al. Cyclophosphamide, fludarabine, alemtuzumab, and rituximab as salvage therapy for heavily pretreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011 aug 25;118(8):2085-93.
 - 18 Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med.* 2013 jul 11;369(2):122-33.
 - 19 Tol J, Koopman M, Rodenburg CJ, et al. A randomised phase III study on capecitabine, oxaliplatin and bevacizumab with or without cetuximab in first-line advanced colorectal cancer, the CAIRO2 study of the Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG). An interim analysis of toxicity. *Ann Oncol.* 2008 apr;19(4):734-8.
 - 20 Tol J, Koopman M, Cats A, et al. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009 feb 5;360(6):563-72.
 - 21 Larsen FO, Pfeiffer P, Nielsen D, et al. Bevacizumab in combination with cetuximab and irinotecan after failure of cetuximab and irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *Acta Oncol.* 2011 mei;50(4):574-7.
 - 22 Punt CJ, Tol J. More is less – combining targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2009 dec;6(12):731-3.
 - 23 Vlahovic G, Meadows KL, Uronis HE, et al. A phase I study of bevacizumab, everolimus and panitumumab in advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012 jul;70(1):95-102.
 - 24 Dotan E, Meropol NJ, Burtneiss B, et al. A phase II study of capecitabine, oxaliplatin, and cetuximab with or without bevacizumab as frontline therapy for metastatic colorectal cancer. A Fox Chase extramural research study. *J Gastrointest Cancer.* 2012 dec;43(4):562-9.
 - 25 Argiris A, Kotsakis AP, Hoang T, et al. Cetuximab and bevacizumab: preclinical data and phase II trial in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol.* 2013 jan;24(1):220-5.
 - 26 Bonomi PD, Mace J, Mandanas RA, et al. Randomized phase II study of cetuximab and bevacizumab in combination with two regimens of paclitaxel and carboplatin in chemo-naïve patients with stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2013 mrt;8(3):338-45.
 - 27 Hasselbalch B, Lassen U, Hansen S, et al. Cetuximab, bevacizumab, and irinotecan for patients with primary glioblastoma and progression after radiation therapy and temozolomide: a phase II trial. *Neuro Oncol.* 2010 mei;12(5):508-16.
 - 28 Doi T, Muro K, Yoshino T, et al. Phase 1 pharmacokinetic study of MK-0646 (dalotuzumab), an anti-insulin-like growth factor-1 receptor monoclonal antibody, in combination with cetuximab and irinotecan in Japanese patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013 sep;72(3):643-52.
 - 29 Rosen LS, Puzanov I, Friberg G, et al. Safety and pharmacokinetics of ganitumab (AMG 479) combined with sorafenib, panitumumab, erlotinib, or gemcitabine in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2012 jun 15;18(12):3414-27.
 - 30 Zent CS, Secreto CR, LaPlant BR, et al. Direct and complement dependent cytotoxicity in CLL cells from patients with high-risk early-intermediate stage chronic lymphocytic leukemia (CLL) treated with alemtuzumab and rituximab. *Leuk Res.* 2008 dec;32(12):1849-56.
 - 31 Stanglmaier M, Reis S, Hallek M. Rituximab and alemtuzumab induce a nonclassical, caspase-independent apoptotic pathway in B-lymphoid cell lines and in chronic lymphocytic leukemia cells. *Ann Hematol.* 2004 okt;83(10):634-45.
 - 32 Nijmeijer BA, van Schie ML, Halkes CJ, Griffioen M, Willemze R, Falkenburg JH. A mechanistic rationale for combining alemtuzumab and rituximab in the treatment of ALL. *Blood.* 2010 dec 23;116(26):5930-40.
 - 33 Faderl S, Thomas DA, O'Brien S, et al. Experience with alemtuzumab plus rituximab in patients with relapsed and refractory lymphoid malignancies. *Blood.* 2003 mei 1;101(9):3413-5.
 - 34 Nabhan C, Patton D, Gordon LI, et al. A pilot trial of rituximab and alemtuzumab combination therapy in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leuk Lymphoma.* 2004 nov;45(11):2269-73.
 - 35 Faderl S, Ferrajoli A, Wierda W, O'Brien S, Lerner S, Keating MJ. Alemtuzumab by continuous intravenous infusion followed by subcutaneous injection plus rituximab in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia recurrence. *Cancer.* 2010 mei 15;116(10):2360-5.
 - 36 Brown JR, Messmer B, Werner L, et al. A phase I study of escalated dose subcutaneous alemtuzumab given weekly with rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Haematologica.* 2013 jun;98(6):964-70.
 - 37 Ganjoo KN, An CS, Robertson MJ, et al. Rituximab, bevacizumab and CHOP (RA-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma: safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymphoma.* 2006 jun;47(6):998-1005.
 - 38 Stopeck AT, Unger JM, Rimsza LM, et al. A phase 2 trial of standard-dose cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone (CHOP) and rituximab plus bevacizumab for patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: SWOG 0515. *Blood.* 2012 aug 9;120(6):1210-7.
 - 39 Leonard JP, Coleman M, Ketas J, et al. Combination antibody therapy with epratuzumab and rituximab in relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005 aug 1;23(22):5044-51.

- 40 Leonard JP, Schuster SJ, Emmanouilides C, et al. Durable complete responses from therapy with combined epratuzumab and rituximab: final results from an international multicenter, phase 2 study in recurrent, indolent, non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2008 nov 15;113(10):2714-23.
- 41 Strauss SJ, Morschhauser F, Rech J, et al. Multicenter phase II trial of immunotherapy with the humanized anti-CD22 antibody, epratuzumab, in combination with rituximab, in refractory or recurrent non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006 aug 20;24(24):3880-6.
- 42 Grant BW, Jung SH, Johnson JL, et al. A phase 2 trial of extended induction epratuzumab and rituximab for previously untreated follicular lymphoma: CALGB 50701. *Cancer*. 2013 nov 1;119(21):3797-804.
- 43 Micallef IN, Kahl BS, Maurer MJ, et al. A pilot study of epratuzumab and rituximab in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy in patients with previously untreated, diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2006 dec 15;107(12):2826-32.
- 44 Micallef IN, Maurer MJ, Wiseman GA, et al. Epratuzumab with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2011 okt 13;118(15):4053-61.
- 45 Woyach JA, Lin TS, Lucas MS, et al. A phase I/II study of rituximab and etanercept in patients with chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma. *Leukemia*. 2009 mei;23(5):912-8.
- 46 Leonard JP, Friedberg JW, Younes A, et al. A phase I/II study of galiximab (an anti-CD80 monoclonal antibody) in combination with rituximab for relapsed or refractory, follicular lymphoma. *Ann Oncol*. 2007 jul;18(7):1216-23.
- 47 Czuczman MS, Leonard JP, Jung S, et al. Phase II trial of galiximab (anti-CD80 monoclonal antibody) plus rituximab (CALGB 50402): Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) score is predictive of upfront immunotherapy responsiveness. *Ann Oncol*. 2012 sep;23(9):2356-62.
- 48 Alinari L, Yu B, Christian BA, et al. Combination anti-CD74 (milatuzumab) and anti-CD20 (rituximab) monoclonal antibody therapy has in vitro and in vivo activity in mantle cell lymphoma. *Blood*. 2011 apr 28;117(17):4530-41.
- 49 Walshe JM, Denduluri N, Berman AW, Rosing DR, Swain SM. A phase II trial with trastuzumab and pertuzumab in patients with HER2-overexpressed locally advanced and metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2006 feb;6(6):535-9.
- 50 Gianni L, Pienkowski T, Im YH, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2012 jan;13(1):25-32.
- 51 Baselga J, Swain SM. CLEOPATRA: a phase III evaluation of pertuzumab and trastuzumab for HER2-positive metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2010 dec 1;10(6):489-91.
- 52 Swain SM, Kim SB, Cortés J, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2013 mei;14(6):461-71.
- 53 Cortés J, Baselga J, Im YH, et al. Health-related quality-of-life assessment in CLEOPATRA, a phase III study combining pertuzumab with trastuzumab and docetaxel in metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2013 okt;24(10):2630-5.
- 54 Sims AH, Zweemer AJ, Nagumo Y, et al. Defining the molecular response to trastuzumab, pertuzumab and combination therapy in ovarian cancer. *Br J Cancer*. 2012 mei 22;106(11):1779-89.
- 55 Yardley DA, Raefsky E, Castillo R, et al. Phase II study of neoadjuvant weekly nab-paclitaxel and carboplatin, with bevacizumab and trastuzumab, as treatment for women with locally advanced HER2+ breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2011 okt;11(5):297-305.
- 56 Martín M, Makhson A, Gligorov J, et al. Phase II study of bevacizumab in combination with trastuzumab and capecitabine as first-line treatment for HER-2-positive locally recurrent or metastatic breast cancer. *Oncologist*. 2012;17(4):469-75.
- 57 Lin NU, Seah DS, Gelman R, et al. A phase II study of bevacizumab in combination with vinorelbine and trastuzumab in HER2-positive metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 jun;139(2):403-10.
- 58 Gianni L, Romieu GH, Lichinitser M, et al. AVEREL: a randomized phase III trial evaluating bevacizumab in combination with docetaxel and trastuzumab as first-line therapy for HER2-positive locally recurrent/metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 mei 10;31(14):1719-25.