



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102458466 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 16

(21) 申请号 201080026974. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 04. 06

A61K 39/395(2006. 01)

A61K 31/517(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/169, 768 2009. 04. 16 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 12. 16

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/030022 2010. 04. 06

(87) PCT申请的公布数据

W02010/120592 EN 2010. 10. 21

(71) 申请人 默沙东公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 S. 萨思亚纳拉亚南

S. 凯西巴特拉 C. 温特

M. 查斯坦

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 李波 刘健

权利要求书 4 页 说明书 52 页

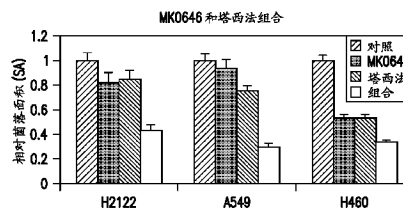
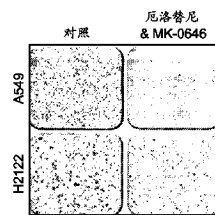
序列表 8 页 附图 9 页

(54) 发明名称

使用抗-EGFR 剂和 IGF-1R 特异性的抑制剂的组合治疗

(57) 摘要

描述了 IGF-1R 拮抗剂(诸如人源化的抗体)和抗增殖药的组合。在一个优选的实施方式中,本发明描述了 IGF-1R 抗体和属于 EGFR-抑制剂类别的抗增殖药的组合,所述抗增殖药优选地是厄洛替尼。根据本发明的组合可用于治疗肿瘤,包括 IGF-1R 和 / 或 EGFR 介导的或依赖性的肿瘤。



1. 一种治疗或预防受试者的医学病症的方法,所述方法包括:给所述受试者施用治疗有效量的包含酪氨酸激酶抑制剂和 IGF-1R 抑制剂的组合治疗剂或其药物组合物,其中相对于 EGFR 抑制剂或 IGF-1R 抑制剂的单独施用,所述组合治疗剂的施用产生增强的治疗效果,其足以治疗所述患者。

2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是厄洛替尼。

3. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述医学病症是厄洛替尼抗性的癌症。

4. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 IGF-1R 抑制剂或它的功能片段之一是特异性地结合人 IGF-1R 的抗体,且其中所述抗体包含至少一个非人起源的重链互补决定区 (CDR) 和至少一个源自非人来源的轻链互补决定区 (CDR),其中所述结合 IGF-1R 的抗体具有至少一种选自下述的性质:a) 结合 IGF-1R,但不结合 IR;(b) 结合包含胰岛素受体和胰岛素生长因子受体的杂合受体 (IR/IGF-1R 杂合 -R),但不结合单独的 IR;(c) 抑制人 IGF-1R 和 IGF-1 和 / 或 IGF-2 之间的结合;(d) 以小于 100 nM 的抑制常数和 / 或 IC<sub>50</sub>,结合杂合 -R 和它的天然配体,优选地在本文中命名为 IGF1 和 / 或 IGF2 和 / 或胰岛素;(e) 特异性地抑制所述 IGF-1R 的酪氨酸激酶活性;(f) 特异性地抑制所述杂合 -R 的酪氨酸激酶活性;(g) 对于所述杂合 -R 具有 10 nM 或更低的结合亲和力;(h) 下调 IGF-1R 表达;(i) 下调杂合 -R 表达;(j) 在体内抑制肿瘤生长。

5. 根据权利要求 4 所述的方法,其中所述 IGF-1R 抗体包含一个重链和一个轻链,其中所述重链包含至少一个含有选自 SEQ ID NO. 4、5 或 6 的氨基酸序列的 CDR,且所述轻链包含至少一个含有选自 SEQ ID NO. 1、2 或 3 的氨基酸序列的 CDR。

6. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述抗 -IGF-1R 抗体选自: dalotuzumab、figitumumab、cixutumumab、SHC 717454、Roche R1507 和 Amgen AMG479。

7. 根据权利要求 3 所述的方法,其中所述人源化的抗体或它的功能片段之一包含:含有选自 SEQ ID NO. 7 或 8 的氨基酸序列的轻链,或含有选自 SEQ ID NO.: 9、10 或 11 的氨基酸序列的重链。

8. 如权利要求 7 所述的方法,其中所述抗 -IGF-1R 抗体是 dalotuzumab。

9. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是厄洛替尼,并以 10 mg 至 400 mg 的剂量施用。

10. 根据权利要求 1 所述的方法,其中所述酪氨酸激酶抑制剂以每周 100 - 300 mg/kg 的剂量施用。

11. 根据权利要求 1 所述的方法,其中如下施用包含所述酪氨酸激酶抑制剂和所述 IGF-1R 抑制剂的组合治疗剂:施用约 150 mg/kg 的酪氨酸激酶抑制剂,并以 10 mg/kg 的剂量施用 IGF-1R 抑制剂,每周施用。

12. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述酪氨酸激酶抑制剂是厄洛替尼,且每周施用 5 次。

13. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述 dalotuzumab 以 10 mg/kg 的剂量静脉内施用。

14. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述 dalotuzumab 每周施用 1 次。

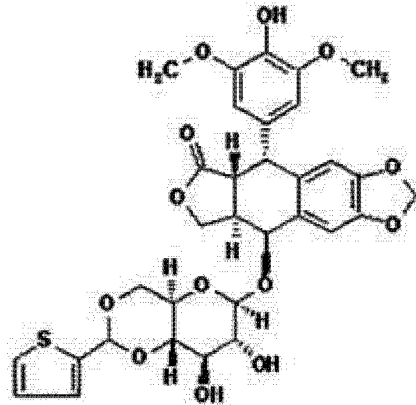
15. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述 dalotuzumab 每 2 周施用 1 次。

16. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述 IGF1R 抑制剂与一种或多种其它化疗剂组合地

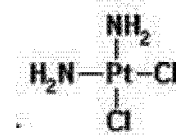
或作为其药物组合物来施用。

17. 如权利要求 16 所述的方法,其中所述其它化疗剂是选自下述的一个或

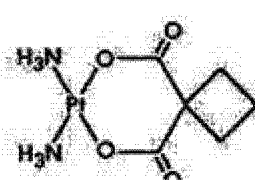
多个成员:替尼泊苷 (



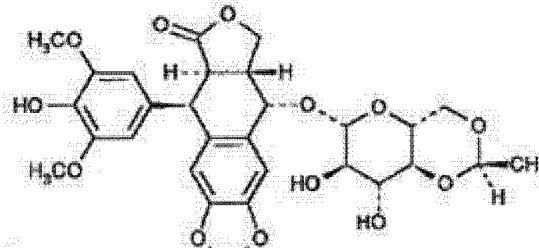
、顺铂 ( )、卡



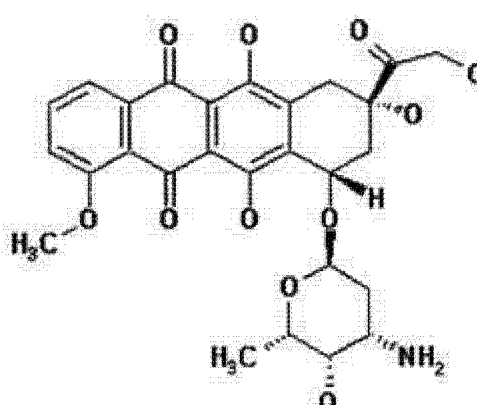
铂 (



)、依托泊苷 (

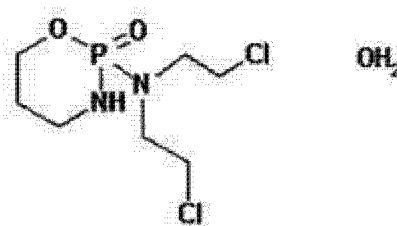


)、多柔比星 (



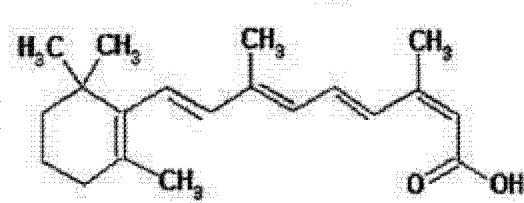
)、它们的任意

脂质体制剂、环磷酰胺 (

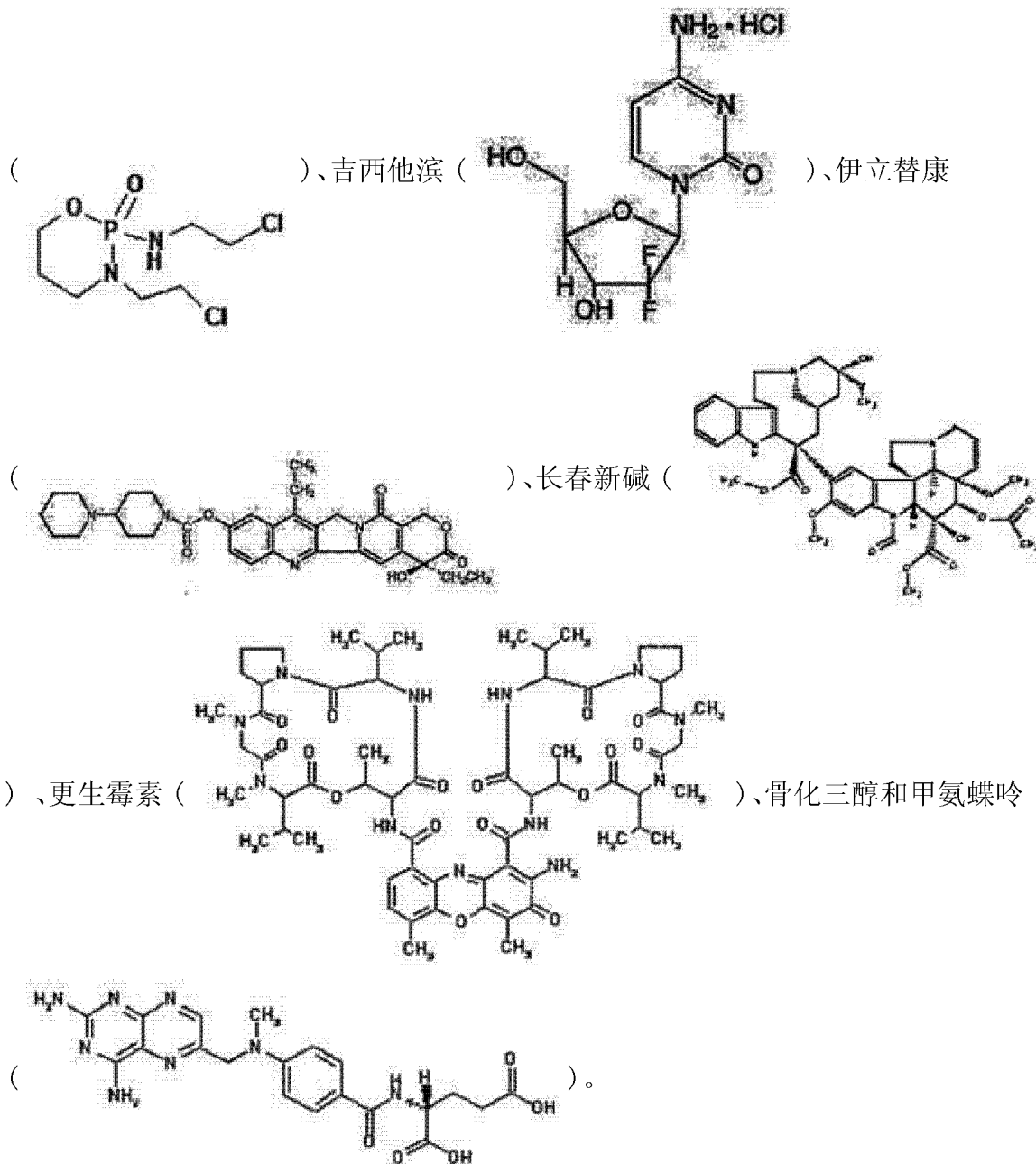


OH2 )、13- 顺

式 - 视黄酸 (



) 异环磷酰胺



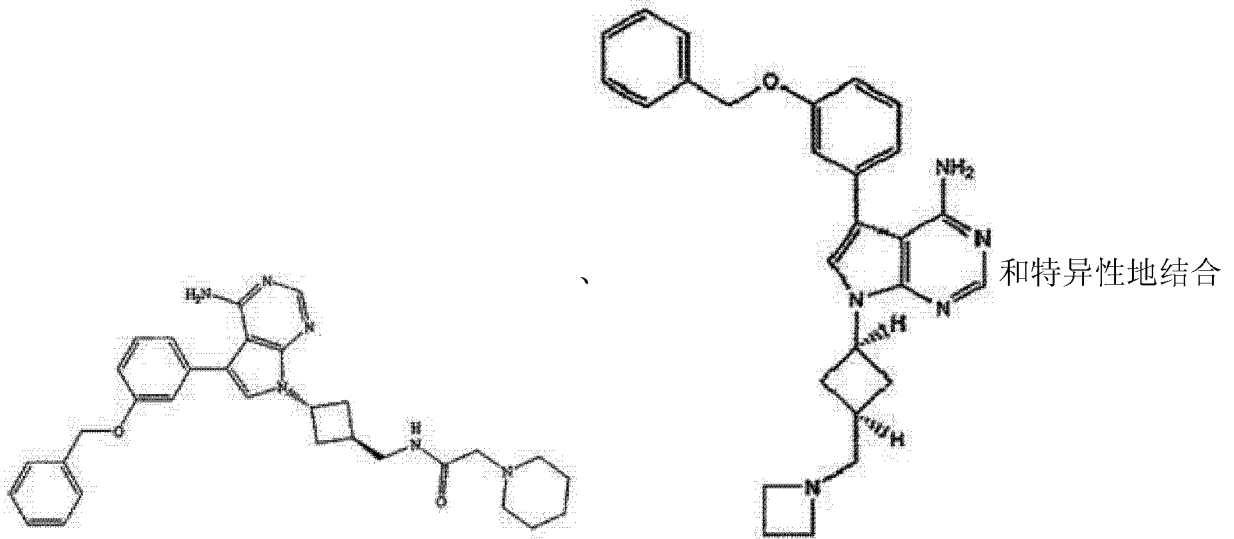
18. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述 IGF1R 抑制剂和所述其它抗癌治疗剂同时施用。

19. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述 IGF1R 抑制剂和所述其它抗癌治疗剂不同时施用。

20. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述 IGF1R 抑制剂与抗癌治疗步骤组合施用。

21. 如权利要求 17 所述的方法，其中所述抗癌治疗步骤是外科肿瘤切除术和 / 或抗癌辐照治疗。

22. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述 IGF1R 抑制剂选自：



人 IGF1R 或其抗原结合片段的分离的抗体。

## 使用抗-EGFR 剂和 IGF-1R 特异性的抑制剂的组合治疗

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于增强哺乳动物的抗肿瘤活性的方法和组合物。更具体地,本发明涉及包含特异性地结合人 IGF-1R 的抗体和受体酪氨酸激酶抑制剂的组合。具体地,本发明涉及通过施用 IGF-1R 抗体和酪氨酸激酶抑制剂,尤其是厄洛替尼,用于治疗非小细胞肺癌和其它癌症(例如,胰腺癌)的组合治疗。与使用每种单独的治疗剂所观察到的效果相比,包含所述组合或药剂的方法和药物组合物可以产生更好的肿瘤细胞增殖抑制,产生比仅施用单独的组分更有效的治疗。一个具体的方面提供了厄洛替尼抗性的肺癌的治疗。

### 背景技术

[0002] 肺癌是男性死于癌症的大多数的原因,且在女性中,正超过乳腺癌成为最常见的癌症死因。肺癌患者的目前预后较差。自 1930 年以来,男性和女性的肺癌死亡的死亡率已经增加了 10 倍,主要是由于吸烟者的增加,而且也是由于暴露于砷、石棉、铬酸盐、氯甲醚、镍、多环芳香烃及其它试剂的增加。参见 Scott, Lung Cancer: A Guide to Diagnosis and Treatment, Addicus Books (2000) 和 Alberg 等, Kane 等(编) Biology of Lung Cancer, 第 11-52 页, Marcel Dekker, Inc. (1998)。美国癌症学会估计在 2004 年将会有超过 173,550 个新肺癌病例。另外,估计在 2004 年将会有 160,440 例死于肺癌。ACS 网址: [www.cancer.org](http://www.cancer.org)。

[0003] 肺癌可以源自发生于肺中的原发肿瘤或者从另一器官(诸如肠或乳房)扩散的继发肿瘤。尽管存在十几个肺癌类型,超过 90% 都属于两个类别:小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)。参见 Scott, 同上。70-80% 被诊断为 NSCLC。术语“NSCLC”包括下述细胞类型:表皮样癌细胞、腺癌细胞和大未分化癌细胞。通常通过组织的活组织检查,证实肺癌的诊断。

[0004] 这两种疾病的治疗方案和自然历史存在差别。在美国,大多数(80%)的肺癌病例是 NSCLC。尽管在过去的 20 年中对 NSCLC 和 SCLC 的重要临床和预后因素的理解已经取得进展,在治疗结果方面取得的改善很小。

[0005] NSCLS 通常分成 3 类:鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌。鳞状细胞癌和腺癌都从衬于气道(line the airways)的细胞产生;但是,腺癌从产生粘液的杯状细胞产生。因为当显微观察时,细胞看起来大且圆,并且通常被认为是相对未分化的,大细胞肺癌由此得名。参见 Yesner, Atlas of Lung Cancer, Lippincott-Raven (1998)。非小细胞癌可以分成 4 个时期。I 期是高度局限性的癌症,淋巴结中没有癌症。II 期癌症已经扩散到受累肺的顶部处的淋巴结。III 期癌症已经扩散到癌症开始处附近。这可以是胸壁、肺的覆盖物(胸膜)、胸部的中间(纵隔)或其它淋巴结。IV 期癌症已经蔓延到身体的另一个部分。I-III 期癌症通常用手术进行治疗,有或没有化疗。IV 期癌症通常用化学疗法和/或姑息疗法进行治疗。

[0006] 已经在肺癌中观察到大量染色体和遗传异常。在 NSCLC 中,染色体畸变已经描述在 3p、9p、11p、15p 和 17p 上,染色体缺失已经发现在染色体 7、11、13 和 19 上。参见 Skarin

(编), *Multimodality Treatment of Lung Cancer*, Marcel Dekker, Inc. (2000); Gemmill 等, 第 465-502 页, Kane, 同上; Bailey- Wilson 等, 第 53-98 页, Kane, 同上。染色体异常已经描述 SCLC 中的 1p、3p、5q、6q、8q、13q 和 17p 上。此外,也已经在大于 90% 的 SCLC 肿瘤以及约 50% 的 NSCLC 肿瘤中发现染色体 3p 的短臂的缺失。

[0007] 大量癌基因和肿瘤抑制基因已经涉入肺癌中。参见 Mabry, 第 391-412 页, Kane, 同上和 Scialfani 等, 第 295-316 页, Kane, 同上。在 SCLC 和 NSCLC 中,在超过 50% 的肺癌中发生 p53 肿瘤抑制基因突变。参见 Yesner, 同上。在染色体 3p 上发现的另一个肿瘤抑制基因 FHIT 由烟草烟雾突变,同上; Skarin, 同上。此外,超过 95% 的 SCLC 和约 20-60% 的 NSCLC 具有缺失的或异常的视网膜母细胞瘤 (Rb) 蛋白,即另一个肿瘤抑制基因。ras 癌基因 (尤其是 K-ras) 在 20-30% 的 NSCLC 样本中突变,并且 c-erbB2 癌基因在 18% 的 2 期 NSCLC 以及 60% 的 4 期 NSCLC 样本中表达。参见 Van Houtte, 同上。在染色体 9 的一个区域(具体地,9p21 区域)中存在的其它肿瘤抑制基因在许多癌细胞中缺失,包括 p16. su p. INK4A 和 p15. sup. INK4B。参见 Bailey- Wilson, 同上; Scialfani 等, 同上。这些肿瘤抑制基因也可能涉及肺癌发病机理。

[0008] 此外,许多肺癌细胞会产生可能以自分泌或旁分泌方式作用于肺癌细胞的生长因子。参见 Siegfried 等, 第 317-336 页, Kane, 同上, Moody, 第 337-370 页, Kane, 同上和 Heasley 等, 371-390, Kane, 同上。许多 NSCLC 肿瘤表达表皮生长因子 (EGF) 受体,使 NSCLC 细胞响应于 EGF 而增殖。胰岛素-样生长因子 (IGF-1) 在大于 80% 的 NSCLC 肿瘤中增加;认为它作为自分泌生长因子起作用。

[0009] 尽管大多数肺癌病例可归因于吸香烟,大多数吸烟者并不发生肺癌。流行病学的证据已经表明,肺癌的易感性可能以孟德尔方式遗传,因此具有遗传性的遗传组分。Bailey- Wilson, 同上。因此,认为某些基因座位的某些等位基因变体可能影响对肺癌的易感性。

[0010] 目前用于肺癌的治疗非常有限。通常,患者的选择包括外科手术、放射疗法和化学疗法。

[0011] 大多数肺癌病例是化学疗法和放射疗法难以治愈的。根据肺癌的类型和时期,可以使用外科手术去除肿瘤与周围的一些肺组织。肺叶切除术是指去除肺的一个叶(部分)。如果去除整个肺,该外科手术称为全肺切除术。仅仅去除部分肺叶,称为肺段切除术或楔形切除术。

[0012] 实际上,NSCLC 患者的唯一治愈选择是,在具有早期疾病(I 和 II 期,此时肿瘤仍然是局限性的)的患者中,进行局部治疗(手术切除或局部辐照)。但是,在确诊时,大多数 NSCLC 患者呈现晚期疾病,这是单独的外科手术所不能治愈的。在疾病的晚期,全身的化学疗法和/或辐照可以产生客观的响应和征状减轻,但是,它们在存活方面仅提供不大的改善。具有不可切除的疾病的患者的生存中值是 6-12 个月。IIIB 和 IV 期 NSCLC 的 2 年存活率分别是 10.8% 和 5.4%。同样地,5 年存活率分别是 3.9% 和 1.3%。

[0013] 如果癌症已经扩散到脑,通过去除脑转移,可以获得益处。这包括颅骨切开术(通过头盖骨中的洞进行外科手术)。

[0014] 放射疗法存在若干方法。外线束放射疗法利用从体外传输的辐射,其聚焦于癌症。此类放射疗法最常用于治疗原发性肺癌或它向其它器官的转移灶。

[0015] 另外,放射疗法可以用作外科手术后的治疗,以杀死在外科手术过程中不能看见或去除的非常小的癌症残余。放射疗法还可以用于缓解(减轻)肺癌的症状,诸如疼痛、出血、吞咽困难、以及由脑转移引起的问题。

[0016] 对于化学疗法而言,顺铂或有关的药物卡铂,是最常用于治疗 NSCLC 的化疗剂。可用于治疗 NSCLC 的其它新的化学实体包括:紫杉醇(泰素, Taxol)、多西他赛(泰索帝, Taxotere)、托泊替康、伊立替康、长春瑞滨和吉西他滨。尽管这些药物是对先前的化疗剂(依托泊苷、顺铂和卡铂)的改进,总治愈率仍然较低。

[0017] 表皮生长因子受体(EGFR)是密切相关的生长因子受体酪氨酸激酶家族的一个成员,所述家族包括 EGFR (ErbB1)、HER2/neu (ErbB2)、HER3 (ErbB3) 和 HER4 (ErbB4)。在配体结合后,这些受体会同型二聚体化或异源二聚体化,导致自磷酸化,并随后活化细胞内信号传递级联,诸如磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)/Akt、MAPK/Erk 和 Jak/Stat 信号传递途径,其在细胞增殖、存活和转化中以及在治疗抗性中起主要作用。

[0018] 在 EGFR 下游的 PI3K 途径在调节细胞存活和增殖中起关键作用。ErbB3 受体在活化 POK 途径中起独特作用。ErbB3 具有弱的酪氨酸激酶活性或没有该活性,但是,在与 EGFR 异源二聚体化以后,它在酪氨酸残基上被磷酸化。酪氨酸-磷酸化的 ErbB3 会直接结合和活化 PI3K。研究已经证实,在 TKI-敏感的 NSCLC 中,PI3K/Akt 信号传递受到 EGFR 的紧密调节,且 EGFR TKI 会在它们也抑制生长的那些 NSCLC 细胞系中排它地下调 PI3K/Akt 途径(Engelman, J. A. 等 Proc. Natl. Acad. Sci. USA102, 3788-3793 (2005))。

[0019] 因为 EGFR 在大多数非小细胞肺癌(NSCLC)中表达,它已经成为治疗剂开发的一个有吸引力的靶标。已经在 NSCLC 患者的临床试验中,评价了小分子 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂(TKI),包括吉非替尼和厄洛替尼。两种药剂在所有 NSCLC 患者的 10% 至 20% 中产生部分响应。具有 EGFR 突变和/或扩增的肺癌最可能响应于 EGFR 抑制剂而收缩。已经在 NSCLC 患者中鉴别出了 EGFR 基因中的活化体细胞突变。这些“功能获得”突变是置换或短的框架内缺失或插入,其簇集在编码受体酪氨酸激酶结构域的 ATP-结合袋的区域附近。在这样的癌症中,EGFR 是关键的生长和存活信号传递途径的主要活化剂,因而这些癌症具有 EGFR 活性。当暴露于 EGFR 抑制剂时,这些关键的生长和存活信号传递途径被中断,导致细胞凋亡和/或细胞周期停止。

[0020] 最近的数据提示,正在研究新的治疗方案,其靶向在细胞增殖、细胞凋亡、血管生成和转移中所涉及的信号传递途径。在许多潜在的目标途径中,表皮生长因子(EGF)受体(EGFR)信号传递途径已经获得最广泛的研究,因为已经在许多实体瘤中观察到了 EGFR 过表达,包括 40% 至 80% 的非小细胞肺癌(NSCLC)。如上面指出的,研究人员已经在测试干扰表皮生长因子受体(EGFR)的药剂。EGFR,部分地因为它以异常高的水平在许多类型的癌细胞表面上表达,包括非小细胞肺癌。这些实验性的 EGFR 抑制剂的实例是吉非替尼(Iressa®)、西妥昔单抗(爱必妥®, Erbitux®) 和厄洛替尼(塔西法®, Tarceva®)。

[0021] 已经在临床中观察到对厄洛替尼或 EGFR 抑制治疗的抗性,这是由于 KRAS 基因中的活化突变(Pao, W. 等 PLoS Med. 2, e73 (2005)),即 MAPK 信号传递途径中的关键下游信号传递组分。在临床中,已经将对厄洛替尼治疗的获得性抗性与 EGFR 外显子 20 中的继发突变(T790M)相关联。最近的研究还已经将 cMET 鉴别为受体酪氨酸激酶(RTK),其磷酸化 ERB3,并赋予对厄洛替尼治疗的抗性。



[0022] 但是,对 EGFR TKI 的总应答率是有限的,介导对该药物的抗性的机理没有得到良好理解。已经在 NSCLC 患者的临床试验中,评价了小分子 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 (TKI),包括吉非替尼和厄洛替尼。两种药剂在所有 NSCLC 患者中的 10% 至 20% 中,产生了部分应答。在 2004 年,进行 II 期试验(涉及以前治疗过的 NSCLC 患者)的研究人员报道,12% 的参与者的肿瘤对厄洛替尼治疗做出响应。但是,不清楚厄洛替尼是否有助于延长患者的寿命。

[0023] 在 2004 年,几个 III 期临床试验(涉及具有非小细胞肺癌 (NSCLC) 的患者)报道,接受标准化学疗法 + EGFR 抑制剂(吉非替尼或厄洛替尼)的患者没有表现得比接受单独的化学疗法的患者更好。但是,同一年,进行 III 期加拿大试验的研究人员报道,厄洛替尼帮助 NSCLC 患者(其癌症对化学疗法不再做出响应)比接受安慰剂的那些患者多活了约 2 个月。

[0024] 厄洛替尼不再能够帮助患者获得更久。与安慰剂组的 10.5 个月相比,接受厄洛替尼的患者的生存中值是 10.6 个月。两组患者也经历了大致相同的“进展时间”(它们的癌症恶化所需的时间):厄洛替尼组是 5.1 个月,安慰剂组是 4.9 个月。尽管上述的抗癌化合物对本领域做出了显著贡献,在本领域仍然继续搜寻提高的抗癌药物。

[0025] 研究人员已经假设,厄洛替尼会诱导细胞膜上的 EGFR/IGF-1R 异源二聚体化,通过 IGF-1R 和它的下游介质 PI3K/Akt 和 p44/42 MAPK 传递存活信号,以刺激雷帕霉素的哺乳动物靶标 (mTOR)-介导的 EGFR 和抗细胞凋亡的存活素蛋白的合成。结果,IGF-1R 的失活、mTOR-介导的蛋白合成的抑制、或存活素蛋白的抑制(knockdown),会赋予过表达 EGFR 的 NSCLC 细胞对厄洛替尼治疗的敏感性。参见 Floriana Morgillo, 等, *Cancer Research* 66, 10100-10111, 2006 年 10 月 15 日。

[0026] 但是,已经在临床中观察到对厄洛替尼或 EGFR 抑制治疗的抗性,这是由于 Kras 基因中的活化突变 (Pao, W. 等 *PLoS Med.* 2, e73 (2005),即 MAPK 信号传递途径中的关键下游信号传递组分。在临床中,已经将对厄洛替尼治疗的获得性抗性与 EGFR 外显子 20 中的继发突变 (T790M) 相关联。最近的研究还已经将 cMET 鉴别为受体酪氨酸激酶 (RTK),其磷酸化 ERB3,并赋予对厄洛替尼治疗的抗性。

[0027] 最近,已经将 IGF1R 信号传递途径的活化与介导对吉非替尼(一种 EGFR TKI)的抗性相关联 (Guix M 等, *J Clin Invest.* 118(7): 2609-2619 (2008)。发明人分离了吉非替尼-抗性的 (GR) 人鳞状癌 A431 细胞,这通过用递增量的抑制剂长时间温育 A431 细胞来实现。在 GR 细胞中,抑制剂降低了 EGFR、ErbB3 和 Erk 的磷酸化水平,但是没有降低 Akt 的磷酸化水平。该适应性改变伴有 IGF-1 受体 (IGF-1R) 介导的信号传递事件的活化,诸如 IRS-1 的磷酸化以及 IRS-1 与 PBK 的相互作用。发明人继续证实,IGF-1R 的抑制会破坏 IRS-1 与 PI3K 的关联,并恢复吉非替尼的减少 Akt 磷酸化和抑制细胞生长的能力 (图 1A)。其他人已经假设,细胞中的多种受体酪氨酸激酶活化会促成对塔西法的抗药性。实际上,已经在来自塔西法抗性患者的临床样品中,观察到 EGFR 和 cMET 的活化。也参见 *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355 (3): 700-706 (2007 年 4 月)。

[0028] 胰岛素-样生长因子 (IGF)(例如,胰岛素-样生长因子-I 和-II)已经涉入对不同的细胞类型(诸如肿瘤细胞)发挥有丝分裂促进活性。IGF 在结构上类似于胰岛素,且已经治疗手段涉入多种疾病和损伤。胰岛素-样生长因子-I (IGF-1) 是一种 7649-道尔顿多肽,具有 8.4 的等电点,其以高浓度在血浆中循环,且在大多数组织中可检测到 (Rinderknecht

和 Humbel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73: 2365 (1976); Rinderknecht 和 Humbel, J. Biol. Chem., 253: 2769 (1978))。IGF-1 会刺激细胞分化和细胞增殖, 且是大多数哺乳动物细胞类型的持续增殖所需要的。这些细胞类型包括, 人二倍体成纤维细胞、上皮细胞、平滑肌细胞、T 淋巴细胞、神经细胞、骨髓细胞、软骨细胞、成骨细胞和骨髓干细胞, 以及其它。这些生长因子中的每一种通过结合称作胰岛素-样生长因子受体-1 (IGF1R) 的共同受体, 发挥它的促有丝分裂作用 (Sepp-Lorenzino, (1998) Breast Cancer Research and Treatment 47:235)。也参见 Klapper, 等, (1983) Endocrinol. 112:2215 和 Rinderknecht, 等, (1978) Febs. Lett. 89:283。存在大量关于 IGF (IGF-1、IGF-2 和 IGF 变体) 的作用和活性的文献。参见 Van Wyk 等, Recent Prog. Horm. Res., 30: 259 (1974); Binoux, Ann. Endocrinol., 41: 157 (1980); Clemmons 和 Van Wyk, Handbook Exp. Pharmacol., 57: 161 (1981); Baxter, Adv. Clin. Chem., 25:49 (1986); 美国专利号 4,988,675; WO 91/03253; WO 93/23071)。

[0029] IGF 系统由 IGF-1、IGF-2 和胰岛素的膜-结合受体组成。1 类 IGF 受体 (IGF-1R) 在结构上与胰岛素受体 (IR) 密切相关, 且共有它的信号传递途径的一部分 (Jones 和 Clemmons, Endocr. Rev., 16: 3-34 (1995); Ullrich 等, Cell 61: 203-212, 1990), 且在结构上类似于胰岛素受体 (Ullrich 等, EMBO J. 5: 2503-2512, 1986))。IGF-1 受体由 2 类亚基组成:  $\alpha$  亚基 (完全在细胞外并在配体结合中起作用的 130-135 kD 蛋白) 和  $\beta$  亚基 (具有跨膜和细胞质结构域的 95-kD 跨膜蛋白)。IGF-1R 最初作为单链前受体多肽而合成, 所述单链前受体多肽经过糖基化、蛋白水解性裂解和共价键合进行处理, 以装配成成熟的 460-kD 异源四聚体, 其包含 2 个  $\alpha$ -亚基和 2 个  $\beta$ -亚基。所述  $\beta$  亚基具有配体-活化的酪氨酸激酶活性。该活性涉入信号传递途径, 介导涉及  $\beta$ -亚基的自磷酸化和 IGF-1R 底物的磷酸化的配体作用。

[0030] IGF-1R 会以纳摩尔亲和力 (例如,  $1 \times 10^{-9}$  nM 的 Kd) 结合 IGF I 和 IGF II, 但是能够以 1/100 至 1/1000 的亲和力结合胰岛素。代表性的纳摩尔亲和力值可以参见: FEBS Letters, 第 565 卷, 第 19-22 页 (2004), 其整个内容通过引用并入本文。

[0031] 有大量证据表明, IGF-1 和 / 或 IGF-1R 在肿瘤细胞的体外和体内维持中起作用。例如, 与具有在“低正常”范围内的 IGF-1 水平的个体相比, 具有“高正常”水平的 IGF-1 的个体具有增加的普通癌症的风险 (Rosen 等, Trends Endocrinol. Metab. 10: 136 41, 1999)。关于 IGF-1/IGF-1 受体相互作用在多种人肿瘤的生长中所起的作用的综述, 参见 Macaulay, Br. J. Cancer, 65: 311 320, 1992。除了在正常细胞生长和发育中起关键作用以外, 还已经提示, IGF-1R 信号传递在肿瘤细胞生长、细胞转化和肿瘤发生中起关键作用。参见 Baserga, Cancer Res., 55:249-252 (1995); 关于综述, 参见 Khandwala 等, Endocr. Rev. 21: 215-244 (2000)); Daughaday 和 Rotwein, Endocrine Rev., 10:68-91 (1989)。最近的数据得出的结论是, IGF-1R 在多种肿瘤和肿瘤系中表达, 且 IGF 会通过它们与 IGF-1R 的结合, 扩大肿瘤生长。实际上, 已经清楚地证实 IGF-1R 在转化中所起的重要作用的重要发现是, 证实了 R-细胞 (其中编码 IGF-1R 的基因已经被失活) 可以完全耐受不同药剂的转化, 所述药剂通常能够转化所述细胞, 诸如牛乳头状瘤病毒的 E5 蛋白、EGFR 或 PDGFR 的过表达、SV40 的 T 抗原、活化的 ras 或这最后 2 种因子的组合 (Sell C. 等, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 90: 11217-11221, 1993; Sell C. 等, Mol. Cell.

Biol., 14:3604-3612, 1994; Morrione A. J., Virol., 69:5300-5303, 1995; Coppola D. 等, Mol. Cell. Biol., 14:4588-4595, 1994; DeAngelis T 等, J. Cell. Physiol., 164:214-221, 1995)。支持该假设的其它关键实例包括,用 IGF-1R 的反义 RNA 处理导致的鼠癌细胞转移表型的遗失 (Long 等, Cancer Res., 55:1006-1009 (1995))、以及人黑素瘤细胞运动性的体外抑制 (Stracke 等, J. Biol. Chem., 264:21554-21559 (1989)) 和加入 IGF-1R 抗体对人乳腺癌细胞生长的体外抑制 (Rohlik 等, Biochem. Biophys. Res. Commun., 149:276-281 (1987))。

[0032] 支持 IGF-1R 在癌发生中的作用的其它论据,来自使用针对该受体的鼠单克隆抗体或使用 IGF-1R 的负显性体(negative dominant)的研究。实际上,针对 IGF-1R 的鼠单克隆抗体会抑制培养的许多细胞系的增殖和肿瘤细胞在体内的生长 (Arteaga C. 等, Cancer Res., 49:6237-6241, 1989; Li 等, Biochem. Biophys. Res. Com., 196:92-98, 1993; Zia F 等, J. Cell. Biol., 24:269-275, 1996; Scotlandi K 等, Cancer Res., 58:4127-4131, 1998)。在 Jiang 等 (Oncogene, 18:6071-6077, 1999) 的工作中也已经证实,IGF-1R 的负显性体能够抑制肿瘤增殖。

[0033] IGF-1R 水平在肺肿瘤中升高 (Kaiser 等, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 119: 665 668, 1993; Moody 等, Life Sciences 52: 1161 1173, 1993; Macauley 等, Cancer Res., 50: 2511 2517, 1990)。

[0034] 如上所述,许多治疗剂被推荐组合使用,作为一线疗法,或者,仅在其它治疗剂已经失败时,作为二线和三线药剂。虽然有许多化合物处于正在进行的或最近完成的治疗试验中,但是仍然非常需要能够治疗早期和晚期或转移的肺癌的其它治疗化合物。

[0035] 肺癌患者的 5- 年存活率仍然非常低 ( $\leq 15$ ),这突出了对更有效的治疗策略的需要。以前关于开发用于治疗 NSCLC、特别是厄洛替尼抗性的癌症的有效疗法的尝试,尚未见诸报道。本文描述了满足该需要的新颖的组合治疗或组合方案。

[0036] 从下面的详细描述和实施例,会明白本发明的其它特征和优点。

## 发明内容

[0037] 本发明提供了通过施用抗-酪氨酸激酶抑制剂和特异性地结合人胰岛素-样生长因子受体 1 型 (IGF-1R) 的抗体的组合,用于治疗哺乳动物(通常是人)的癌症的改进的组合治疗和方法。

[0038] 在本发明的一个方面,所述酪氨酸激酶抑制剂是厄洛替尼。

[0039] 在本发明的另一个方面,所述 IGF-1R 抗体是 MK-0646,即一种抗-IGF-1R 抗体。

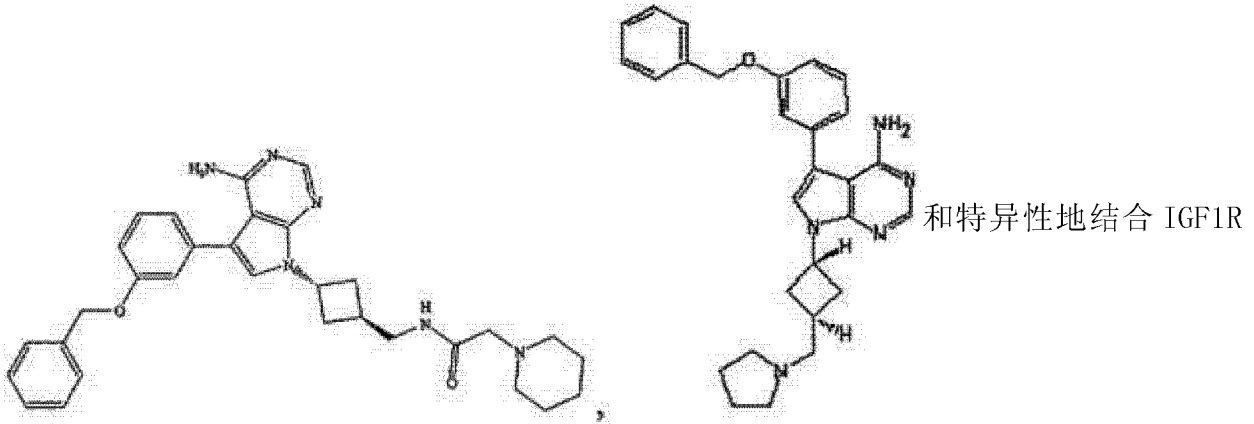
[0040] 在本发明的另一个方面,与酪氨酸激酶抑制剂的单独施用相比,所述组合的施用会产生增强的治疗效果。

[0041] 在本发明的另一个方面,通常在施用 IGF-1R 抗体 (MK-0646) 之前或同时,口服施用所述酪氨酸激酶抑制剂。

[0042] 在本发明的另一个方面,可以在施用酪氨酸激酶抑制剂之前、同时或之后,施用所述抗-IGF-1R 抗体。所述抗-IGF-1R 抗体可以通过肠胃外(例如,皮下、瘤内、静脉内、真皮内、口服、透粘膜或直肠)给药来施用。尽管无意限于特定操作理论,据信,通过施用抗-IGF-1R 抗体来阻断 IGF-1R 介导的信号传递级联会增强抗肿瘤免疫,这通过负调节负责

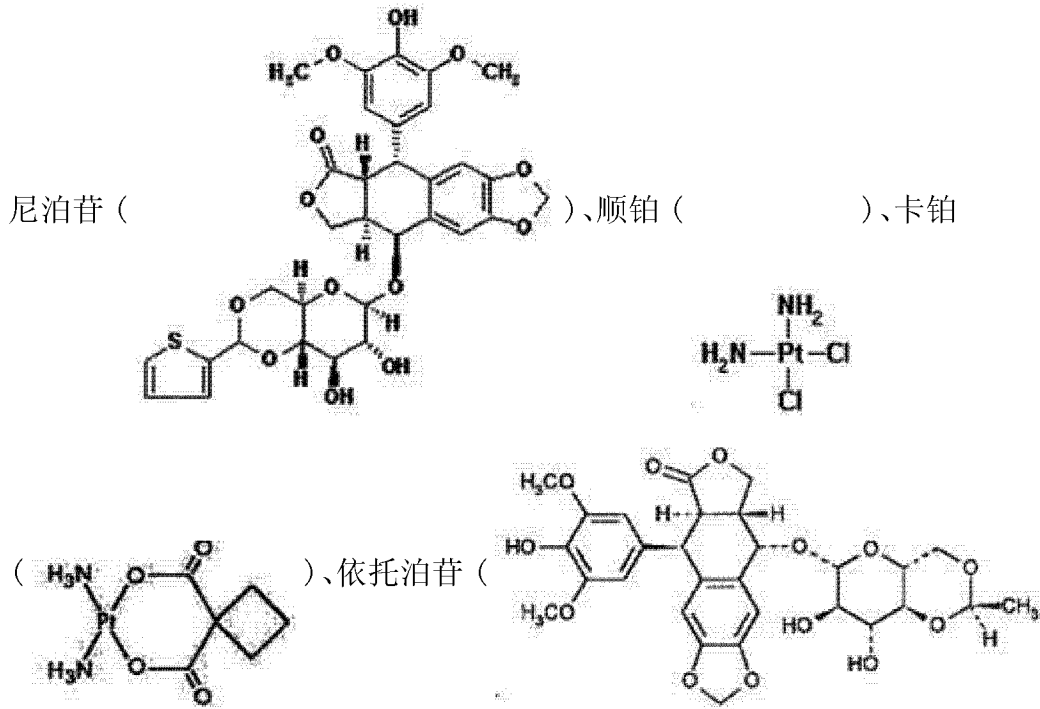
天然 IGF-1R 配体与受体的结合的信号传递级联来实现。

[0043] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种用于治疗或预防受试者的医学病症的方法,所述方法包括:给受试者施用治疗有效量的一种或多种 IGF1R 抑制剂或其药物组合物。在一个实施方案中,所述 IGF1R 抑制剂选自:

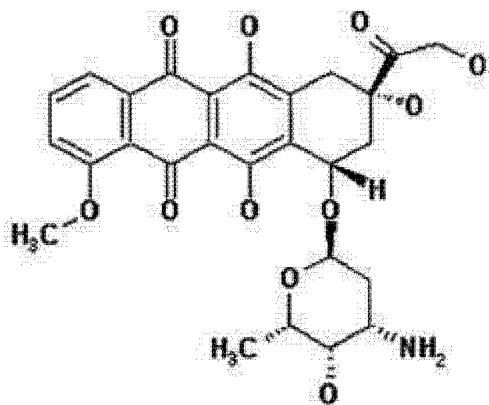


(例如,人 IGF1R) 的分离的抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中,所述抗体包括 Dalotuzumab 或本文(例如,在下面的“IGF1R 抑制剂”部分中)所述的任意其它 IGF1R 抑制剂。在一个实施方案中,所述 IGF1R 抑制剂与一种或多种其它的抗癌化疗剂或其药物组合物联合施用。

[0044] 在一个实施方案中,所述其它抗癌化疗剂是选自下述的成员:替

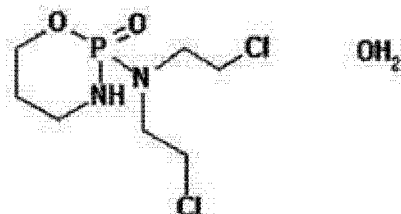


)、多柔比星 (



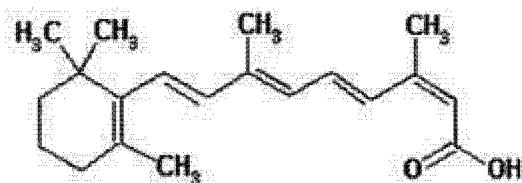
)、它们的任意脂质体

制剂诸如 Caelyx 或 Doxil®、环磷酰胺 (



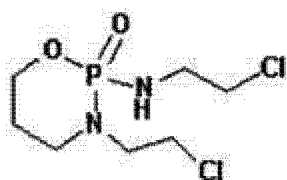
)、

13- 顺式 - 视黄酸 (

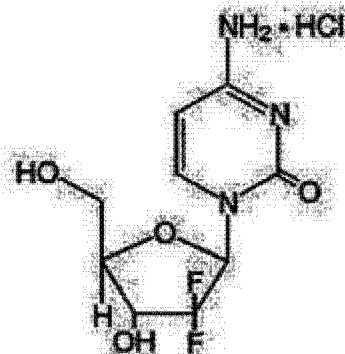


)、异环磷酰胺

(

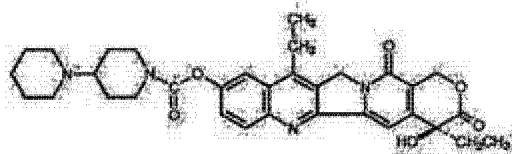


)、吉西他滨 (

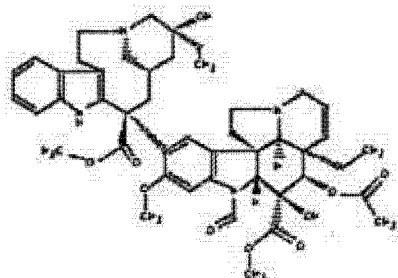


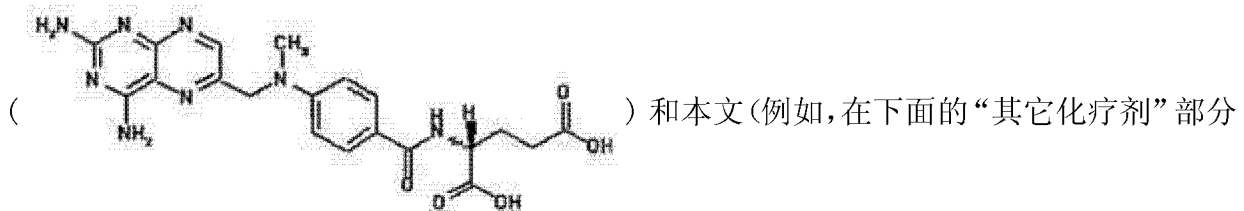
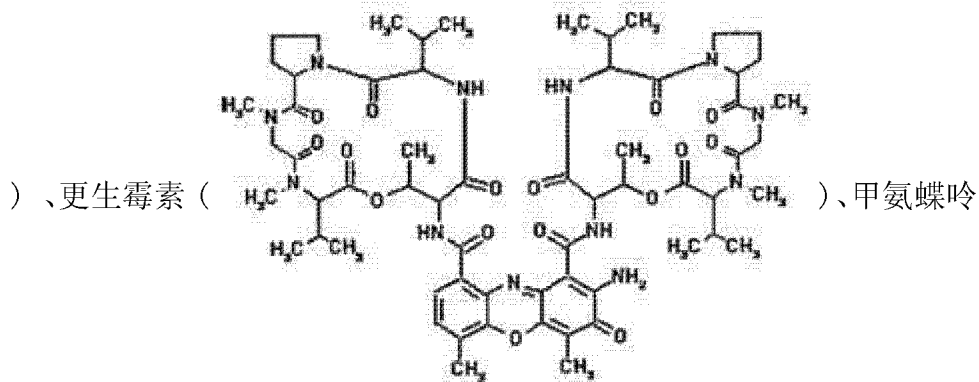
)、伊立替康

(



)、长春新碱 (





中)所述的任意其它化疗剂。在一个实施方案中,本文所述的任意抗-IGF1R 抗体的剂量是在约 1-20 mg/kg 体重或约 40-1000 mg/m<sup>2</sup> 的范围内。在一个实施方案中,所述 IGF1R 抑制剂和所述其它抗癌治疗剂同时施用。在一个实施方案中,所述 IGF1R 抑制剂和所述其它抗癌治疗剂不同时施用。在一个实施方案中,所述抗体包含 IgG 恒定区,在一个实施方案中,所述受试者是人(例如,儿童)。在一个实施方案中,所述 IGF1R 抑制剂与抗癌治疗步骤联合施用。在一个实施方案中,所述抗癌治疗步骤是外科肿瘤切除术和/或抗癌辐照治疗。在本发明的一个实施方案中,所述抗-IGF1R 抗体或其抗原结合片段包含一个或多个本文所述的 2.12.1 fx CDR (例如,3 个轻链 CDR 和/或 3 个重链 CDR)。

[0045] 本发明另外提供了包含 EGFR 抑制剂和抗-IGF-1R 拮抗剂的组合物和试剂盒,其用于根据本文提供的描述的用途。

[0046] 本文使用的术语“抗体”包括单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、单链抗体、双特异性抗体和人源化的抗体或优化的抗体以及 Fab 片段,诸如维持所述抗体与 IGF-1R 蛋白的结合特异性的那些片段,包括它们的表达与本发明抗体所结合的表位相同的表位的片段。

[0047] 从下面描述的实施例和附图中,会明显本发明的其它特征和优点,所述附图的图例如下所示。

### 附图说明

[0048] 图 1 (A) 是显示 EGFR 和 IGF1R 之间的交叉(crosstalk)的示意图(不需要方法)。

[0049] 图 1 (B) 是通过 P-RTK 阵列测得的 EGFR 和 IGF1R 活化的总结(在文件中给出了详细方法或细胞培养、裂解、RTK 阵列方法和图像鉴定)。

[0050] 图 1 (C) 是来自 P-RTK 阵列的代表性图像,在图像中指出了与 P-EGFR 和 P-IGF1R 相对应的位置(方法与在图 1B 中相同)。

### 具体实施方式

[0051] 作为刻苦研究的结果,发明人已经发现,通过使用与酪氨酸激酶抑制剂相组合的

抗-IGF-1R 抗体或其药学上可接受的盐,可以实现协同地更好的抗癌活性。所述 IGF-1R 抗体是 dalotuzumab、figitumumab、cixutumumab、SHC 717454、Roche R1507、EM164 或 Amgen AMG479 之一。

[0052] 本发明的一个广阔方面涉及增强哺乳动物中的抗肿瘤应答的方法。本发明特别适用于治疗选自下述的癌症:非小细胞肺癌、乳腺癌、结直肠癌、软组织或骨肉瘤和子宫内膜癌。但是,本发明可以用于治疗各种其它癌症,诸如脑癌、颅颈癌(cervicocerebral cancer)、食管癌、甲状腺癌、小细胞肺癌、肺癌、胃癌、胆囊/胆管癌、肝癌、胰腺癌、卵巢癌、绒毛膜癌、子宫体癌、宫颈癌、肾盂/输尿管癌、膀胱癌、前列腺癌、阴茎癌、睾丸癌、胎儿癌、维耳姆斯瘤、皮肤癌、恶性黑素瘤、神经母细胞瘤、骨肉瘤、尤因瘤、软器官肉瘤、急性白血病、慢性淋巴性白血病、慢性髓细胞白血病和霍奇金淋巴瘤。更具体地,本发明涉及包含酪氨酸激酶抑制剂和抗-IGF-1R 抗体的组合,和施用该组合来治疗 NSCLC 的方法。

#### [0053] 定义和一般技术

参考工作、专利、专利申请和科学文献(包括本文提及的 GenBank 数据库序列的登录号),确立了本领域技术人员知识,并特此通过引用整体并入,其程度如同具体地且单独地指出各自通过引用并入。在本文引用的任意参考文献与本说明书的具体教导之间的任何冲突,应当以后者为准来解决。同样地,在本领域理解的词语或短语句的定义与本说明书具体教导的词语或短语句的定义之间的任何冲突,应当以后者为准来解决。还应当理解,本文使用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,无意限制本发明的范围,所述范围仅由所附的权利要求书来限定。

[0054] 必须指出,在本文中和在所附的权利要求书中使用的单数形式“一”、“和”和“该”包括复数所指,除非上下文另有清楚指示。因而,例如,提及的“一个遗传改变”包括多个这样的改变,提及的“一个探针”包括一个或多个探针和本领域技术人员已知的它们的等效物,以此类推。

[0055] 在本文中提及的所有出版物都通过引用并入本文,以公开和描述与所引用的出版物有关的方法和/或材料。为了它们在本申请的提交日之前的公开内容,而引用在本文中引用的出版物。这里的内容不应当解释为承认,发明人因为更早的优先权日或在先发明日期而丧失早于所述出版物的资格。另外,实际的公开日期可能不同于列明的那些,需要独立的验证。

[0056] 除非本文另有定义,本发明相关使用的科学和技术术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。而且,除非上下文有其它规定,单数形式的术语应当包括复数,而复数形式的术语应当包括单数。通常,与本文所述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学以及蛋白和核酸化学及杂交相关使用的命名以及技术,是本领域众所周知且普遍使用的那些。本发明的方法和技术通常按照本技术领域众所周知的以及如贯穿本说明书中所引用和讨论的各种一般性的以及更具体的参考文献中所记载的常规方法进行,除非另有说明。参见,例如, Sambrook 等 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); 和 Ausubel 等, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992); Harlow 和 Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), 它们通过引用并入本文。如本领域中通常所

完成的或如本文所述的,根据制造商的说明书,进行酶反应和纯化技术。与本文所述的分析化学、合成有机化学及医学和药物化学相关使用的命名以及实验室操作和技术,是本领域众所周知且普遍使用的那些。将标准技术用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送及患者治疗。

[0057] 除非另有说明,下面的术语应当理解为具有下述含义:

为了本文的目的,组织样品的“部分”是指组织样品的单个部分或块,例如从组织样品切下的组织薄片或细胞。应当理解,根据本发明,可以制作组织样品的多个部分,并进行分析。

[0058] “癌症”或“恶性肿瘤”被用作同义术语,表示具有下述特征的许多疾病中的任一种:失控的、异常的细胞增殖,受累的细胞在局部扩散或者通过血流和淋巴性系统向身体的其它器官扩散(即,转移)的能力,以及许多特有的结构特征和/或分子特征中的任一种。“癌性的”或“恶性的”细胞应当理解为这样的细胞:其具有特定结构性质,缺少分化,且能够侵入和转移。癌症的实例是肾癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌和肝癌(参见 DeVita, V. 等(编), 2001, *Cancer Principles and Practice Of Oncology*, 第6版, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.; 该参考文献为了所有目的通过引用整体并入本文)。更具体地,尽管所述实施例详述了使用本文所述的组合治疗来治疗 NSCLC,术语“癌症”不限于此。它包括 IGF-1R 依赖性的以及 EGFR- 依赖性的任意的和所有的肿瘤。示例性的癌症(如果是这类的话)包括例如胰腺癌。

[0059] 癌细胞的一个特征是以宿主不可控的方式生长的趋势,但是与特定癌细胞有关的病理学可以是任意形式。通过非常确定的病理学技术,尤其是组织学检查,可以将原发性癌细胞(也就是说,从恶性转化部位附近得到的细胞)与非癌性细胞容易地区分开。本文使用的癌细胞的定义不仅包括原发性癌细胞,而且包括源自癌细胞祖先的任意细胞。这包括转移的癌细胞和体外培养物以及源自癌细胞的细胞系。

[0060] 细胞系—“细胞系”或“细胞培养物”表示在体外培养或维持的高等真核细胞。应当理解,细胞的后代可以不与母代细胞完全相同(形态学上、遗传型上或表型上)。描述为“未培养的”细胞是从活生物体直接得到,且从离开生物体已经维持了有限量的时间:不够长,或在细胞经历大量复制的条件下。

[0061] 在本申请中使用的“诊断”疾病意在包括,例如,诊断或检测与 IGF-1R 表达有关或由其介导的病理学过度增生性形成肿瘤的障碍的存在,监测疾病的进展,和鉴别或检测指示与 IGF-1R 表达有关的障碍的细胞或样品。术语“诊断”、“检测”、“鉴别”等在本文中互换使用。

[0062] 本文使用的“病理学”—由宿主内的癌细胞造成的“病理学”是损害宿主的康乐或正常生理学的任意情况。这可能包括、但不限于,癌细胞的异常的或失控的生长、转移、携带 IGF-1R 的细胞的表达水平的增加、或在不当水平的其它产物、对于它的生理学环境而言不适当的功能表现、干扰邻近细胞的正常功能、炎性或免疫学应答的恶化或抑制、或携带不希望的化学试剂或侵入性生物体。

[0063] 个体或细胞的“治疗”是在改变个体或细胞的未治疗的病程的尝试中的任意类型的干预。例如,可以治疗个体,以减少或限制由个体携带的癌症造成的病理学。治疗包括、但不限于:a) 施用组合物或组合治疗,诸如包含 IGF-1R 特异性的 mAb 和酪氨酸激酶抑制剂



的药物组合物。术语“治疗”表示具有治疗效果,和至少部分地减轻或消除生物体中的异常病症。治疗包括抑制肿瘤生长、维持被抑制的肿瘤生长、和诱导减轻。

[0064] 术语“预防”表示降低生物体感染或发展异常状况的可能性。

[0065] 本文使用的术语“约”表示所述值在可接受范围内的近似值。优选地,所述范围是所述值  $\pm 5\%$ 。

[0066] 术语“或”在本文中用于表示术语“和 / 或”,并互换使用,除非上下文另有清楚指示。

[0067] 术语“IGF1R”、“IGFR1”、“胰岛素 - 样生长因子受体 -I”和“胰岛素 - 样生长因子受体 I 型”是本领域众所周知的。尽管 IGF-1R 可以来自任意的生物体,它优选地来自动物,更优选地来自哺乳动物(例如,小鼠、大鼠、兔、绵羊或狗),最优选地来自人。典型的人 IGF-1R 前体的核苷酸和氨基酸序列可在 Genbank 中得到,例如基因 ID 3480 或 NM000875。切割前体(例如,在氨基酸 710 和 711 之间),会产生  $\alpha$  - 亚基和  $\beta$  - 亚基,它们结合形成成熟的受体。

[0068] “免疫球蛋白”是四聚体分子。在天然存在的免疫球蛋白中,每个四聚体由两对相同的多肽链组成,每对具有一条“轻链”(约 25kDa)和一条“重链”(约 50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括约 100 至 110 个或更多个氨基酸的可变区,主要负责抗原识别。每条链的羧基末端部分界定恒定区,主要负责效应子功能。人的轻链分为  $\kappa$  轻链和  $\lambda$  轻链。重链分为  $\mu$ 、 $\Delta$ 、 $\gamma$ 、 $\alpha$  或  $\epsilon$ ,且界定抗体的同种型分别为 IgM、IgD、IgG、IgA 及 IgE。在轻链与重链中,可变区和恒定区经由约 12 个或更多个氨基酸的“J”区相连,重链也包括约 10 个以上氨基酸的“D”区。通常参阅:Fundamental Immunology,第 7 章(Paul, W.,编,第 2 版. Raven Press, N. Y. (1989))(为了所有目的,其全文通过引用并入)。每个轻链 / 重链对的可变区形成抗体结合位点,使得完整的免疫球蛋白具有两个结合位点。

[0069] “抗体”表示完整的免疫球蛋白或它的与完整抗体竞争特异性结合的抗原结合部分。通过重组 DNA 技术,或通过完整抗体的酶法或化学裂解,可以生产抗原结合部分。抗原结合部分包括:除了别的以外,Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、dAb 和互补性决定区(CDR)片段、单链抗体(scFv)、嵌合抗体、双特异抗体和多肽,所述多肽含有免疫球蛋白的至少一部分,该部分足以赋予所述多肽特异性的抗原结合。存在几种本领域已知的抗-IGF1R 抗体(参见例如,WO 03/100008; WO 2002/53596; WO 04/71529; WO 03/106621; US2003/235582; WO 04/83248; WO 03/59951; WO 04/87756 或 WO 2005/16970)。其它小分子 IGF1R 抑制剂也是本领域已知的。

[0070] 在本申请中使用的术语“抗-IGF-1R 抗体”泛指在 2003 年 12 月 16 日提交的美国专利号 7,241,444 中公开的抗-IGF-1R 抗体,其整个内容通过引用整体并入本文。其中要求保护的各种 CDR、轻链和重链的氨基酸序列以及编码整个抗体的核苷酸序列,也通过引用整体并入本文中。同样地,系列号 11/801,080 的公开内容也通过引用整体并入本文中。

[0071] 术语“患者”包括人和兽受试者。

[0072] 抗体 - IGF-1R (h7C10)

如本文详述的,本发明的一个方面涉及通过给癌症患者共同施用酪氨酸激酶抑制剂 - EGFR(例如,厄洛替尼)和特异性地结合人胰岛素 - 样生长因子 -1 受体 (IGF-1R)-1 的抗体,提高抗癌剂的抗肿瘤效能的方法。

[0073] 结果,用于提议的组合治疗中的 IGF-1R 抗体是特异性地结合胰岛素-样生长因子 1 受体 (IGF-1R) 的抗体。用于所述组合治疗及其应用方法中的示例性的抗-IGF-1R 抗体,描述在美国专利号 7,241,444 ('444 专利)中,其内容通过引用整体并入本文。参见例如,'444 专利的权利要求 1。“h7C10”或“MK-0646”互换地用于描述人源化的抗体,所述抗体的特征在于,结合 IGF-1R 以及结合 IR/IGF-1 杂合受体。这样的抗体优选地包括例如在 '444 专利中描述的抗体,其中所述抗体是人源化的抗体或其片段,且包括这样的轻链和 / 或重链:其中所述轻链和 / 或重链的骨架段 FR1 至 FR4 各自源自人抗体轻链和 / 或重链的骨架段 FR1 至 FR4。所述人源化的抗体可以包含至少一个轻链和至少一个重链,所述轻链包含至少一个或多个互补决定区,所述互补决定区源自非人来源,且具有选自 SEQ ID NO: 1、2 或 3 的氨基酸序列,所述重链包含至少一个或多个互补决定区,所述互补决定区具有选自 SEQ ID NO: 4、5 或 6 的氨基酸序列。所述轻链可以包含一个或多个在 SEQ ID NO: 7 或 8 之一中所述的氨基酸序列,或在与序列 SEQ ID NO: 7 或 8 最佳比对后具有至少 80% 同一性的序列。同样地,所述重链包含一个或多个在 SEQ ID NO: 9、10 或 11 之一中所述的氨基酸序列,或在与序列 SEQ ID NO: 9、10 或 11 最佳比对后具有至少 80% 同一性的序列。在某些实施方案中,所述治疗方法包括:施用抗体,所述抗体结合与 MK-0646 所结合的表位相同的在 IGF-1R 上的表位。

[0074] 用于表达所述重组抗体 (IGF-1R 特异性的 mAb) 的核酸分子,描述在 '444 专利中,其内容通过引用整体并入本文。

[0075] 本文使用的“核酸”或“核酸分子”表示单链或双链的任意 DNA 或 RNA 分子,如果是单链的,它的互补序列的分子是直线或环状形式。在讨论核酸分子时,根据在 5' 至 3' 方向提供序列的常规约定,可以在本文中描述特定核酸分子的序列或结构。在本发明的有些实施方案中,核酸是“分离的”。当应用于 DNA 时,该术语表示这样的 DNA 分子:其与在它所来源的生物体的天然存在的基因组中紧密相邻的序列分离。例如,“分离的核酸”可以包括插入载体 (诸如质粒或病毒载体) 中或整合进原核细胞或真核细胞或宿主生物体的基因组 DNA 中的 DNA 分子。当应用于 RNA 时,术语“分离的核酸”主要表示由上面定义的分离的 DNA 分子编码的 RNA 分子。或者,该术语可以表示这样的 RNA 分子:其已经与在它的天然状态 (即,在细胞或组织中) 相伴随的其它核酸充分分离。分离的核酸 (DNA 或 RNA) 可以另外表示通过生物学方法或合成方法直接生产的分子,并与在它的生产过程中存在的其它组分分离。

[0076] 本发明的核酸也包括本发明的核酸的片段。“片段”表示这样的核酸序列:其长度优选为至少约 10 个核酸,更优选约 40 个核酸,最优选长度为约 100 个核酸。“片段”也可以表示至少约 100 个连续核苷酸的段,其含有一个或多个缺失、插入或置换。“片段”也可以表示基因的整体编码序列,且可以包括 5' 和 3' 非翻译区。

[0077] 用于本发明中的抗体包括、但不限于:单克隆抗体、合成抗体、多克隆抗体、多特异性的抗体 (包括双特异性的抗体)、人抗体、人源化的抗体、嵌合的抗体、单链 Fv (scfv) (包括双特异性的 scFv)、单链抗体、Fab 片段、F(ab') 片段、二硫键连接的 Fv (sdFv) 和上述任一种的表位结合片段。具体地,用于本发明中的抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫学活性部分,即,含有免疫特异性地结合 IGF-1R 的 IGF-1R 结合位点的分子。用于本发明中的免疫球蛋白分子可以是免疫球蛋白分子的任意类型 (例如 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 和 IgY)、类别 (例如, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2) 或子集。优选地,用

于本发明中的抗体是 IgG, 更优选 IgG1。

[0078] 用于本发明中的抗体可以来自任意动物来源。优选地, 所述抗体是人源化的单克隆抗体。或者, 所述抗体可以是全人的, 只要它们结合在 '444 专利中要求保护的抗体的相同表位。本文使用的“人”抗体包括具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体, 并包括从人免疫球蛋白文库分离出的抗体, 或从表达来自人基因的抗体的小鼠或其它动物分离出的抗体。

[0079] 用于本发明中的抗体可以是单特异性的、双特异性的、三特异性的, 或具有更大的多特异性。多特异性的抗体可以免疫特异性地结合多肽的不同表位, 或可以免疫特异性地结合多肽以及异源表位, 诸如异源多肽或固体支持物。参见, 例如, 国际公开号 WO 93/17715、WO 92/08802、WO 91/00360 和 WO 92/05793; Tutt, 等, 1991, J. Immunol 147:60-69; 美国专利号 4, 474, 893、4, 714, 681、4, 925, 648、5, 573, 920 和 5, 601, 819; 和 Kostelny 等, 1992, J. Immunol. 148:1547-1553。

[0080] 用于本发明中的抗体包括所述抗体的衍生物。可以使用本领域技术人员已知的标准技术, 在编码抗体的核苷酸序列中导入突变, 所述抗体要用于本发明的方法中, 所述标准技术包括, 例如, 定点诱变和 PCR- 介导的诱变, 它们产生氨基酸置换。优选地, 与原始分子相比, 所述衍生物包括小于 25 个氨基酸置换、小于 20 个氨基酸置换、小于 15 个氨基酸置换、小于 10 个氨基酸置换、小于 5 个氨基酸置换、小于 4 个氨基酸置换、小于 3 个氨基酸置换或小于 2 个氨基酸置换。在一个优选的实施方案中, 所述衍生物具有在一个或多个预测的非必需氨基酸残基处产生的保守氨基酸置换。“保守氨基酸置换”是这样的氨基酸置换: 其中氨基酸残基被替换为具有侧链的氨基酸残基, 所述侧链含有类似的电荷。本领域已经定义了具有含有类似电荷的侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括: 具有碱性侧链的氨基酸(例如, 赖氨酸、精氨酸、组氨酸), 具有酸性侧链的氨基酸(例如, 门冬氨酸、谷氨酸), 具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如, 甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸), 具有非极性侧链的氨基酸(例如, 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸), 具有  $\beta$ -分支的侧链的氨基酸(例如, 苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸), 和具有芳族侧链的氨基酸(例如, 酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。或者, 可以沿着全部或部分编码序列, 随机地导入突变, 诸如通过饱和诱变, 且可以筛选得到的突变体的生物活性, 以鉴别保留活性的突变体。在基因诱变以后, 可以表达编码的蛋白, 并可以测定蛋白的活性。

[0081] 用于本发明中的抗体包括衍生物, 其被修饰, 即, 通过向所述抗体共价连接任意类型的分子而被修饰。例如, 但不进行限制, 所述抗体衍生物包括已经被修饰的抗体, 例如, 通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、被已知的保护基/阻断基衍生化、蛋白水解性裂解、连接至细胞配体或其它蛋白上等。通过已知的技术, 可以进行许多化学修饰中的任一种, 所述技术包括, 但不限于: 特异性的化学裂解、乙酰化、甲酰化、在有衣霉素存在下的合成等。另外, 所述衍生物可以含有一种或多种非经典的氨基酸。

[0082] 本发明也提供了用于本发明中的抗体, 其包含本领域技术人员已知的框架区。在某些实施方案中, 要用于本发明的组合物和方法中的抗体的一个或多个框架区(优选地, 所有框架区)是人的。在用于本发明中的某些其它实施方案中, 用于本发明中的抗体的片段区域是人源化的。在某些实施方案中, 要用于本发明的方法中的抗体是合成的抗体、单克隆抗

体、细胞内抗体 (intrabody)、嵌合的抗体、人抗体、人源化的嵌合的抗体、人源化的抗体、糖基化的抗体、多特异性的抗体、人抗体、单链抗体或双特异性的抗体。

[0083] 在某些实施方案中,用于本发明中的抗体对于 IGF-1R 具有高结合亲和力。

[0084] 在某些实施方案中,用于本发明中的抗体在受试者(优选人)中具有下述半衰期:约 12 小时或更久、约 1 天或更久、约 3 天或更久、约 6 天或更久、约 10 天或更久、约 15 天或更久、约 20 天或更久、约 25 天或更久、约 30 天或更久、约 35 天或更久、约 40 天或更久、约 45 天或更久、约 2 个月或更久、约 3 个月或更久、约 4 个月或更久或约 5 个月或更久。通过本领域技术人员已知的技术,可以制备具有增加的体内半衰期的抗体。例如,通过修饰(例如,置换、删除或添加)氨基酸残基,所述氨基酸残基被鉴别为参与 Fc 结构域和 FcRn 受体之间的相互作用,可以制备具有增加的体内半衰期的抗体(参见,例如,国际公开号 WO 97/34631 和 Johnson 等 2001 年 12 月 12 日提交的标题为“Molecules with Extended Half-Lives, Compositions and Uses Thereof”的美国专利申请系列号 10/020,354;和美国公开号 2005/003700 和 2005/0064514,它们通过引用整体并入本文)。使用本领域技术人员已知的方法,例如,通过本文所述的免疫试验,可以测试这样的抗体的结合抗原的活性以及体内效能。

[0085] 另外,通过把聚合物分子诸如高分子量聚乙二醇 (PEG) 连接到抗体上,可以制备具有增加的体内半衰期的抗体。可以如下将 PEG 连接到抗体上:使用或不使用多功能连接物,通过 PEG 向抗体的 N-端或 C-端的位点特异性的缀合,或通过赖氨酸残基上存在的  $\epsilon$ -氨基基团。可以使用直链的或支链的聚合物衍生化,其导致生物活性的最小限度损失。通过 SDS-PAGE 和质谱法,可以密切监测缀合程度,以确保 PEG 分子向抗体的适当缀合。通过例如尺寸排阻或离子交换色谱法,可以使未反应的 PEG 与抗体-PEG 缀合物分离。使用本领域技术人员已知的方法,例如,通过本文所述的免疫试验,可以测试 PEG-衍生的抗体的结合抗原的活性以及体内效能。

[0086] 在某些实施方案中,用于本发明中的抗体包括完整抗体的抗原结合部分,其保留结合 IGF-1R 的能力。实例包括:(i) Fab 片段,即由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub> 片段,即包含由在铰链区处的二硫键连接在一起的 2 个 Fab 片段的二价片段;(iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段;(iv) 由抗体的单臂的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段;(v) dAb 片段 (Ward 等, (1989) Nature 341:544-546),其由 VH 结构域组成;和 (vi) 分离的互补性决定区 (CDR)。此外,尽管 Fv 片段的 2 个结构域 VL 和 VH 都单独的基因编码,可以如下将它们连接在一起:使用重组方法,通过合成的连接物,所述连接物使它们成为单条蛋白链,其中 VL 和 VH 区配对形成单价分子(称作单链 Fv (scFv);参见,例如, Bird 等 (1988) Science 242:423-426;和 Huston 等 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。这样的单链抗体被包括在术语“抗体”内。

[0087] 生产针对 IGF-1R 的抗体的方法是众所周知的。参见例如,'444 专利。

[0088] 抗体特异性的筛选——上面已经描述了用于制备抗体的技术。根据需要,可以进一步选择具有某些生物学特征的抗体。因而,在生产以后,可以筛选抗体对 IGF-1R 的结合亲和力。使用酶联免疫吸附测定 (ELISA),其中用 IGF-1R 包被微孔滴定板,可以筛选特异性地结合 IGF-1R 的抗体。在有些实施方案中,使用用其它 IGF-1R 亚型包被的微孔滴定板,可以在基于 ELISA 的试验中,进一步筛选结合来自阳性反应性克隆的 IGF-1R 的抗体对其它

IGF-1R 亚型(例如, IGF-1R)的反应性。消除生产对 IGF-1R 的另一种亚型反应性的抗体的克隆,可以仅选择生产对 IGF-1R 反应性的抗体的克隆,用于进一步繁殖和开发。可以如下证实抗体对 IGF-1R 的反应性:例如,使用蛋白印迹试验,其中所述蛋白来自卵巢、乳腺、肾、结直肠、肺、子宫内膜或脑癌细胞,并在 SDS-PAGE 凝胶上跑纯化的 IGF-1R 和其它 IGF-1R 亚型,随后印迹到膜上。然后可以用假定的抗-IGF-1R 抗体探测膜。与 IGF-1R 的反应性,且不与另一种胰岛素-样受体亚型的反应性,会证实对 IGF-1R 的反应特异性。

[0089] 用于检测 IGF-1R 或它的衍生物的一般方法——使用本发明的抗体或其结合片段检测 IGF-1R 的测定方法没有特别限制。可以使用任意测定方法,条件是,通过化学或物理方法可以检测在要测试的流体中与抗原的量(例如, IGF-1R 水平)相对应的抗体、抗原或抗体-抗原复合物的量,且从由含有已知量的抗原的标准溶液制备的标准曲线可以计算出抗原的量。本发明包括的代表性的免疫试验包括、但不限于在下述文献中描述的那些:美国专利号 4,367,110(双单克隆抗体夹心试验);Wide 等, Kirkham 和 Hunter 编, Radioimmunoassay Methods, E. 和 S. Livingstone, Edinburgh (1970);美国专利号 4,452,901(蛋白印迹);Brown 等, J. Biol Chem. 255: 4980-4983 (1980)(标记的配体的免疫沉淀);和 Brooks 等, Clin. Exp. Immunol. 39:477 (1980)(免疫细胞化学);采用荧光标记的抗体的免疫荧光技术,其与光学显微镜、流式细胞技术或荧光检测等相偶联。也参见, Immunoassays for the 80's, A. Voller 等, 编, University Park, 1981, Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, 第 147-158 页 (CRC Press, Inc. 1987)。

[0090] (1) 夹心试验包括使用 2 种抗体,各自能够结合待测蛋白的不同的免疫原性部分或表位。在夹心试验中,使实验样品分析物结合固定化在固体支持物上的第一抗体,然后使第二抗体结合分析物,从而形成不溶的三部分复合物。参见,例如,美国专利号 4,376,110。第二抗体自身可以用可检测的部分标记(直接夹心试验),或可以使用由可检测的部分标记的抗免疫球蛋白抗体进行测量(间接夹心试验)。例如,一类夹心试验是 ELISA 试验,在该情况下,可检测的部分是酶。

[0091] 在夹心试验中,使固定化的本发明抗体与实验流体反应(初次反应),然后与标记形式的本发明抗体反应(第二反应),并测量固定化载体上标记剂的活性,由此可以定量实验流体中的 IGF-1R 水平。初次反应和第二反应可以同时进行,或间隔一段时间进行。通过改进上述的那些方法,可以实现标记和固定化方法。在通过夹心试验进行的免疫测定中,针对固定化的或标记的抗体所使用的抗体不一定来自一个物种,可以使用 2 个或更多个抗体物种的混合物,以增加测量灵敏度等。在通过夹心试验测定 IGF-1R 的方法中,例如,当在初次反应中使用的抗体识别在 IGF-1R 的 C-端区域处的部分肽时,在第二反应中使用的抗体优选地是识别除了 C-端区域以外的部分肽(即, N-端区域)的抗体。当在初次反应中使用的抗体识别在 IGF-1R 的 N-端区域处的部分肽时,在第二反应中使用的抗体优选地是识别除了 N-端区域以外的部分肽(即, C-端区域)的抗体。

[0092] 也可以用于检测 IGF-1R 的其它类型的“夹心”试验是所谓的“同时”和“反向”试验。同时试验包括单个温育步骤,其中将结合到固体支持物上的抗体和标记的抗体都同时加入待测样品中。在温育结束后,洗涤固体支持物,以去除流体样品的残余物和未络合的标记的抗体。然后象在常规的“正向”夹心试验中一样,测定与固体支持物结合的标记的抗体

的存在。

[0093] 在“反向”试验中,首先将标记的抗体的溶液逐步加入流体样品中,随后在合适的温育时段以后,加入结合在固体支持物上的未标记的抗体。第二次温育以后,以常规方式洗涤固相,以去除待测样品的残余物和未反应的标记的抗体的溶液。然后象在“同时”和“正向”试验中一样,测定与固体支持物结合的标记的抗体。在一个实施方案中,可以使用对单独的表位特异性的本发明抗体的组合,构建灵敏的三位点免疫放射测定试验。

[0094] 这类试验也可以用于定量 IGF-1R 在它可能存在的任何“样品”中的表达。因而,在某些方面,所述夹心试验包括:

(i) 用于定量实验流体中 IGF-1R 的表达水平的方法,所述方法包括:使与固定化在载体上的 IGF-1R 的 N- 端区域处的部分肽特异性地反应的抗体、与在 C- 端区域处的部分肽特异性地反应的抗体的标记形式和实验流体反应,并测量标记的活性;或

(ii) 用于定量实验流体中 IGF-1R 表达的方法,所述方法包括:使与固定化在载体上的 IGF-1R 的 C- 端区域处的部分肽特异性地反应的抗体、与在标记形式的 IGF-1R 的 N- 端区域处的部分肽特异性地反应的抗体和实验流体反应,并测量标记的活性;等。

[0095] (2) 竞争性结合试验依赖于标记的标准品与实验样品分析物竞争结合有限量的抗体的能力。实验样品中 IGF-1R 蛋白的量与结合在抗体上的标准品的量成反比。为了便于测定结合的标准品的量,通常在竞争之前或之后使抗体不溶解,使得结合抗体的标准品和分析物可以方便地与仍未结合的标准品和分析物分离。

[0096] 为了定量 IGF-1R 表达水平,本领域技术人员可以组合本发明的抗体或其片段、实验流体和标记形式的 IGF-1R,和 / 或使它们进行竞争反应,测量结合的标记的 IGF-1R 与抗体或其片段之比,由此定量实验流体中的 IGF-1R。

[0097] (3) 免疫测定试验

在免疫测定试验中,使在实验流体中的抗原和固相抗原与给定量的标记形式的本发明的抗体竞争性地反应,随后使固相与液相分离;或使实验流体中的抗原和过量的标记形式的本发明的抗体反应,然后加入固相抗原,以使未反应的标记形式的本发明的抗体结合固相,然后从液相分离出固相。此后,测量任一个相的标记的量,以测定实验流体中的抗原水平。

[0098] 典型的且优选的免疫测定试验包括“正向”试验,其中首先使结合在固相上的抗体接触待测样品,通过形成二元固相抗体-IGF-1R 复合物,从样品提取 IGF-1R。在合适的温育时段以后,洗涤固体支持物,以去除流体样品的残余物,包括未反应的 IGF-1R (如果存在的话),然后使其接触含有已知量的标记的抗体(其功能是作为“报道分子”)的溶液。在第二个温育时段(使标记的抗体通过未标记的抗体与结合在固体支持物上的 IGF-1R 形成复合物)以后,第二次洗涤固体支持物,以去除未反应的标记的抗体。这类正向夹心试验可以是简单的“是 / 否”试验,以测定 IGF-1R 是否存在,或可以通过对比标记的抗体的测量值和含有已知量的 IGF-1R 的标准样品所得到的测量值,进行定量。Wide (Radioimmune Assay Method, Kirkham, 编, Livingstone, Edinburgh, 1970, 第 199 - 206 页) 描述了这样的“双位点”或“夹心”试验。

[0099] (4) 比浊法

在比浊法中,测量不溶性沉淀物的量,所述沉淀物作为在凝胶中或在溶液中的抗

原-抗体反应的结果而生成。甚至当实验流体中的抗原的量较小和仅得到小量沉淀物时,可以合适地使用激光比浊法,其采用激光散射。

[0100] 可以用于上述使用标记剂的试验方法(1)至(4)中的标记剂的实例包括:放射性同位素(例如,125I、131I、3H、14C、32P、33P、35S等),荧光物质例如菁染料荧光染料(例如,Cy2、Cy3、Cy5、Cy5.5、Cy7)、荧光胺、异硫氰酸荧光素等,酶(例如, $\beta$ -半乳糖苷酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、碱性磷酸酶、过氧化物酶、苹果酸脱氢酶等),发光物质(例如,鲁米诺、鲁米诺衍生物、萤光素、光泽精等),生物素,镧系元素等。另外,也可以使用生物素-抗生物素蛋白系统,用于使抗体结合标记剂。

[0101] 在抗原或抗体的固定化中,可以使用物理吸附。或者,也可以使用常规地用于固定化蛋白、酶等的化学结合。载体的实例包括:不溶性的多糖诸如琼脂糖、葡聚糖、纤维素等;合成的树脂诸如聚苯乙烯、聚丙烯酰胺、有机硅等;或玻璃;等。

[0102] 在另一个实施方案中,本发明辅助诊断癌症和肿瘤,其中鉴别和测量体液中的IGF-1R水平,所述体液例如血液、血清、血浆、唾液等。如果IGF-1R正常存在,则形成肿瘤的病症的发展归因于异常量的细胞表面受体(IGF-1R),例如,相对于正常而言异常的表达,所述试验应当将生物样品中的IGF-1R水平与在相同细胞类型的正常的未形成肿瘤的组织中预见到的范围进行对比。因而,与对照受试者或受试者的基线相比,在受试者中携带IGF-1R的细胞或IGF-1R表达水平的量的统计上显著的增加,可以是导致确诊处于进展中的形成肿瘤的障碍或处于这种障碍的风险中的因素。同样地,也可以检测高水平的IGF-1R的存在,其指示癌症可能转移。对于表达被本发明的抗体识别的抗原(例如,IGF-1R)的那些癌症,检测所述抗原的能力会提供早期诊断,由此提供早期治疗的机会。对于难以在它们的早期阶段诊断出的癌症而言,早期检测是特别重要的。

[0103] 此外,在体液样品(诸如血液)中检测和测量的抗原水平,会提供监测癌症或肿瘤的治疗进程的方法,包括,但不限于、外科手术、化学疗法、放射疗法、本发明的治疗方法和它们的组合。通过将体液中的抗原水平与疾病的严重性相关联,这样的抗原的水平可以用于指示原发肿瘤、癌症和/或转移灶的成功去除,例如,还指示和/或监测其它疗法随时间的有效性。例如,癌症或肿瘤-特异性的抗原的水平随时间的降低,会指示患者中减小的肿瘤负荷。相反,抗原水平随时间没有变化或增加,指示治疗无效,或者肿瘤或癌症继续生长。

[0104] 使用本领域已知的技术,诸如免疫酶技术(例如,免疫过氧化物酶染色技术)或抗生物素蛋白-生物素技术或免疫荧光技术(参见,例如,Ciocca等,1986,“Immunohistochemical Techniques Using Monoclonal Antibodies”,Meth. Enzymol.,121:562-79和Introduction to Immunology, Kimball编,(第2版),Macmillan Publishing Company,1986,第113-117页),可以检测样本中的抗体。本领域技术人员通过例行试验可以确定操作条件和最佳的试验条件。

[0105] 用于检测IGF-1R的一个典型的体外免疫测定包括:在有本发明的可检测地标记的抗-IGF-1R抗体或其能够选择性地结合IGF-1R的抗原结合片段存在下,温育生物样品,并检测样品中结合的标记的片段或抗体。所述抗体结合到标记上,以有效地允许在抗体与细胞或其部分结合以后,检测细胞或其部分(例如,从增生性的、发育不良的和/或癌性的细胞释放出的IGF-1R或其片段)。通过检测标记,检测生物样品中任意细胞或其部分的存在。

[0106] 可以使生物样品接触固相支持物或载体(诸如硝酸纤维素)或能够固定化细胞、细胞颗粒、膜或可溶性蛋白的其它固体支持物或基质,并固定化在其上面。然后可以用合适的缓冲液洗涤支持物,随后用可检测地标记的抗-IGF-1R 抗体进行处理。然后可以用缓冲液第二次洗涤固相支持物,以去除未结合的抗体。然后通过常规方式,检测在固体支持物上结合的标记的量。因此,在本发明的另一个实施方案中,提供了组合物,其包含结合在诸如本文所述的固相支持物上的单克隆抗体或其结合片段。

[0107] “固相支持物”或“载体”是指能够结合肽、抗原或抗体的任意支持物。众所周知的支持物或载体包括玻璃、聚苯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、葡聚糖、尼龙、淀粉酶、天然的和改性的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和矿石(magnetite)。为了本发明的目的,载体的性质可以是在一定程度上可溶的,或不溶的。支持物材料可以具有基本上任意可能的结构构型,只要偶联的分子能够结合 IGF-1R 或抗-IGF-1R 抗体。因而,支持物构型可以是球形(如珠子)或圆柱形(如试管的内表面或杆的外表面)。或者,所述表面可以是扁平的,诸如薄板、培养皿、测试条等。优选的支持物包括聚苯乙烯珠子。本领域技术人员会知道用于结合抗体、肽或抗原的任意其它合适的载体,或可以通过例行试验来确定它们。

[0108] 根据本发明的体外试验也包括使用从表达重组 IGF-1R 的细胞分离出的膜、包含 IGF-1R 的配体结合部分的可溶性片段、或连接在固相底物上的片段。这些试验允许对结合部分突变和修饰或配体突变和修饰(例如,配体类似物)的作用进行诊断测定。

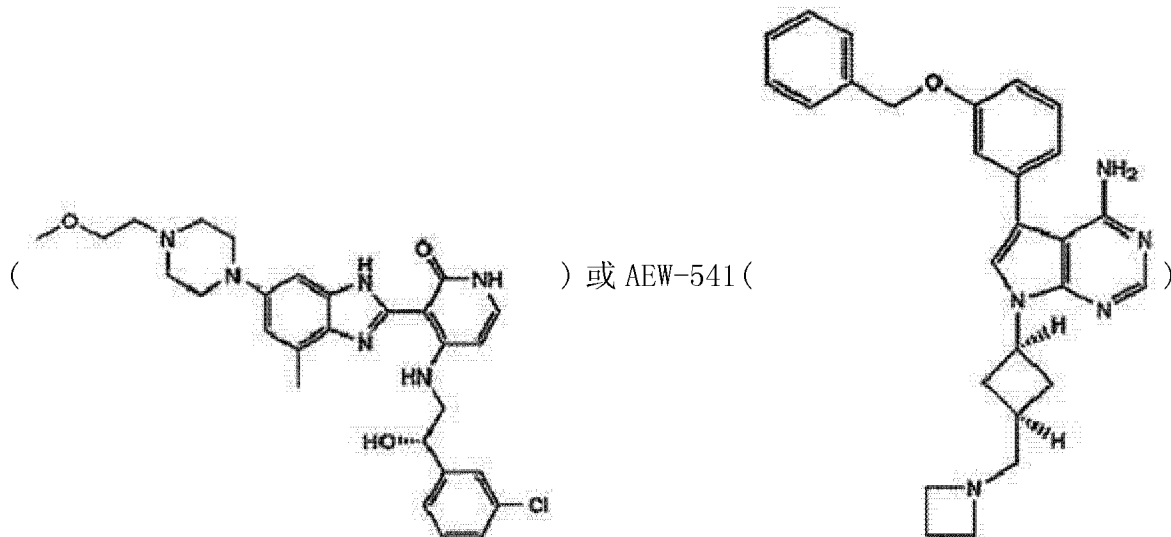
[0109] 在体内模型中测定组合免疫疗法的效能——使用本领域众所周知的技术,在肿瘤挑战以后的不同时间点,可以评估肿瘤负荷。下面描述了用于监测抗肿瘤应答和测定组合免疫疗法的效能的试验。尽管在施用免疫疗法以后的短时间内(例如在 5-10 天内)可以最显著地观察到提高的或增强的抗肿瘤应答,在有些情况下,应答可能延迟,这取决于下述因素:诸如 IGF-1R 的表达水平、抗-IGF-1R 抗体的剂量和给药频率、以及与酪氨酸激酶抑制剂厄洛替尼的施用时机相比抗-IGF-1R-I 抗体的相对施用时机。因而,可以对在治疗或施用所述组合疗法以后的不同时间点收获的生物样品上进行任意众所周知的试验,以便充分地评估在免疫疗法以后的抗肿瘤应答。

[0110] 监测治疗——本领域技术人员会知道监测施用本发明的组合治疗以后的治疗结果和/或全身免疫应答的方法。具体地,通过监测肿瘤生长的减弱和/或肿瘤消退和/或肿瘤特异性标志物的水平,可以评估治疗结果。使用本领域技术人员已知的几个终点中的一个或多个,可以监测治疗引起的肿瘤生长的减弱或肿瘤消退,所述终点包括,例如:肿瘤数目、肿瘤质量或体积、或转移灶的减小/阻止。

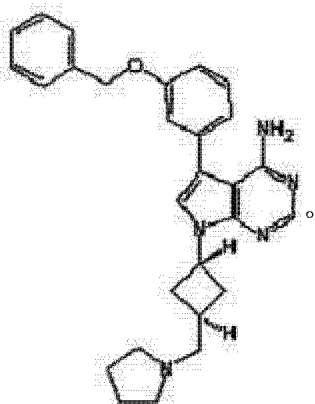
[0111] IGF-1R 抑制剂:

在本发明的一个实施方案中,IGF1R 抑制剂是 BMS-577098

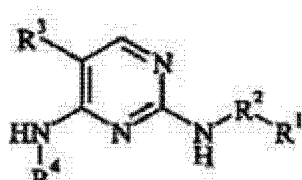




或

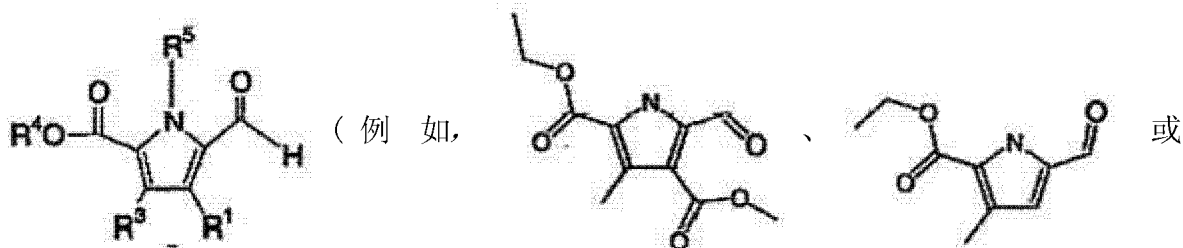


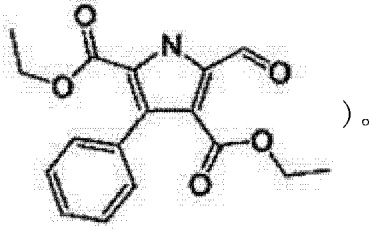
[0112] 在本发明的一个实施方案中，IGF1R 抑制剂是在 WO 03/48133 中所述的任意嘧啶

衍生物，例如其包含核心结构：。通过施用这些药剂来治疗或预防

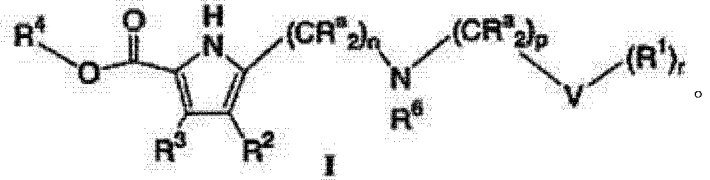
厄洛替尼抗性的癌症或由 IGF-1R 介导的癌症的方法是在本发明范围内。

[0113] 在本发明的一个实施方案中，IGF1R 抑制剂是在 WO 03/35614 中所述的任意酪氨酸激酶抑制剂，例如其包含核心结构：

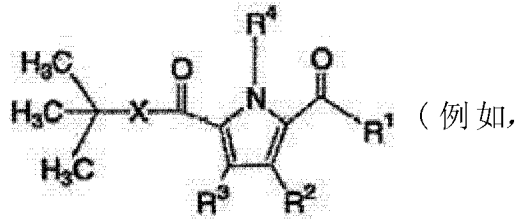




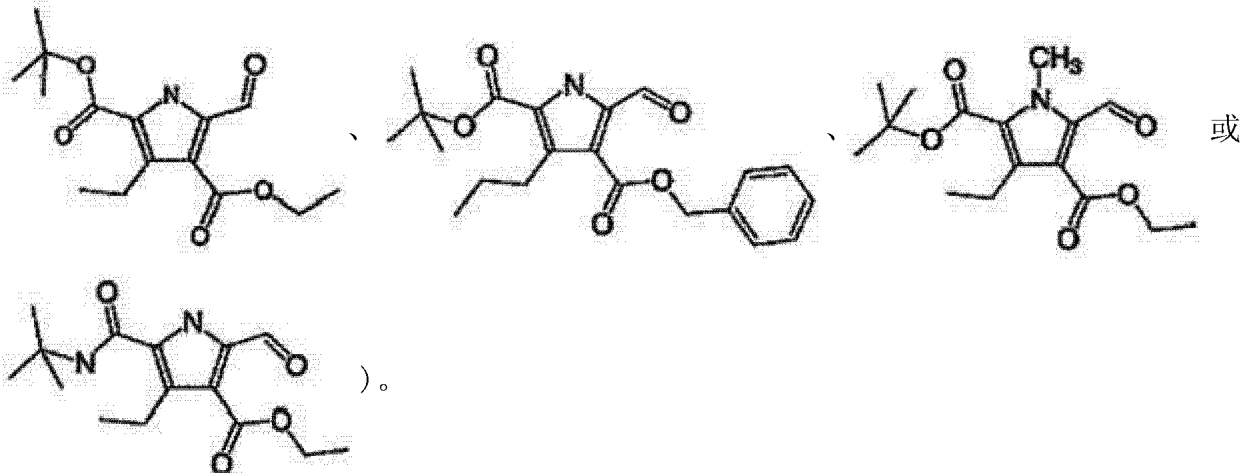
[0114] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 03/35615 中所述的任意酪氨酸激酶抑制剂, 例如其包含核心结构:



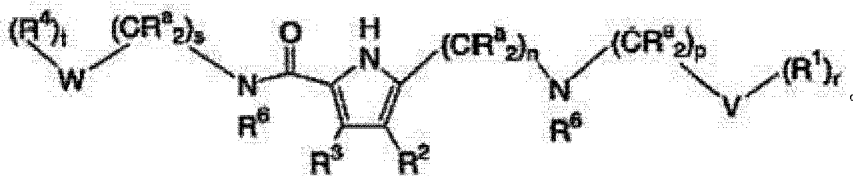
[0115] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 03/35616 中所述的任意酪氨酸激酶抑制剂, 例如其包含核心结构:



例如其包含核心结构:



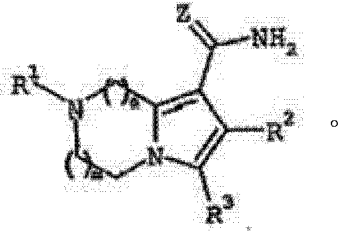
[0116] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 03/35619 中所述的任意酪氨酸激酶抑制剂, 例如其包含核心结构:



[0117] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是多靶向的激酶抑制剂, 其也抑制例如 VEGF-2R、Kit、FLT3 和 / 或 PDGFR, 例如, SU- 11248 (例如, 苹果酸舒尼替尼) 或 Bay43-9006 (索拉非尼)。通过施用这些药剂来治疗或预防厄洛替尼抗性的癌症或由 IGF-1R 介导的癌症的方法是在本发明范围内。

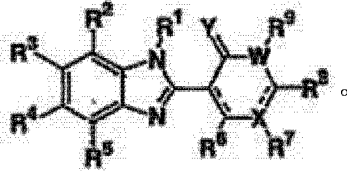
[0118] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 03/24967 中所述的任意化合

物,例如其包含核心结构:



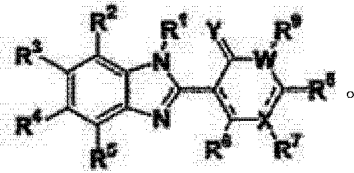
[0119] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 04/30625 中所述的任意化合物,

例如其包含核心结构:



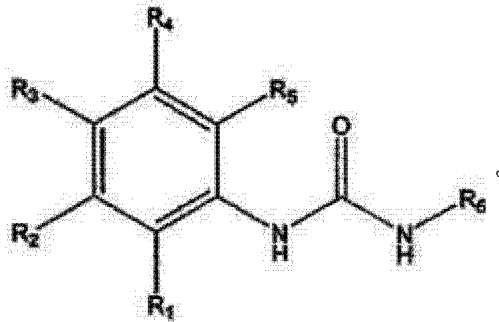
[0120] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 04/30627 中所述的任意化合物,

例如其包含核心结构:



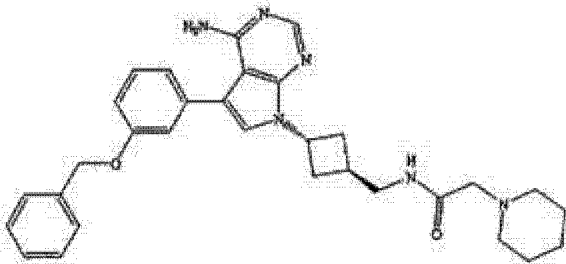
[0121] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 00/35455 中所述的任意杂芳

基-芳基脲,例如其包含核心结构:



[0122] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是在 WO 03/27246 中所述的任意肽。

[0123] 在本发明的一个实施方案中, IGF1R 抑制剂是



,或在PCT 申请公开号 WO 02/92599 中公开的任

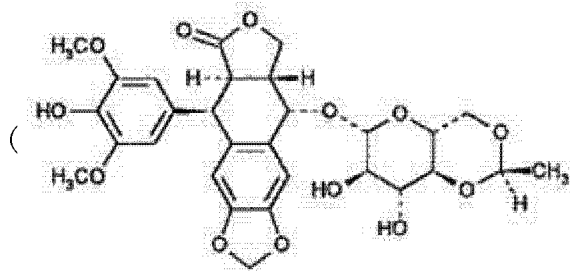
意 4-氨基-5-苯基-7-环丁基-吡咯并[2,3-d]嘧啶衍生物。

[0124] 其它化疗剂

本发明的范围包括:包含与其它化疗剂相组合的本发明的 IGF1R 抑制剂的组合物,以及通过施用与其它化疗剂(例如,其它抗癌化疗剂或止吐剂)相组合的 IGF1R 抑制剂,用于治疗神经母细胞瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、儿科癌症或胰腺癌的方法。其它化疗剂包括在所施用个体中引起有益生理反应的任意药剂;例如,其中所述药剂会减轻或消

除所施用的受试者的疾病症状或病因。其它化疗剂包括任何抗癌化疗剂。抗癌治疗剂是例如缓解或消除所施用的受试者的癌症症状或病因的任何药剂。

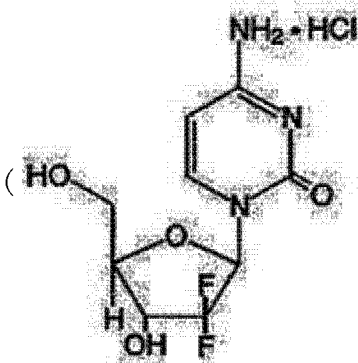
[0125] 在本发明的一个实施方案中,提供了与依托泊苷 (VP-16;



) 组合的 IGF1R 抑制剂。通过施用这些药剂来治

疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0126] 在本发明的一个实施方案中,提供了与吉西他滨 (

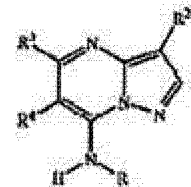


) 组

合的 IGF1R 抑制剂。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

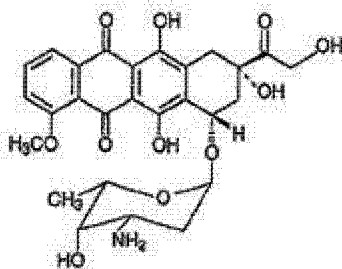
[0127] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:在公开的

美国专利申请号 US 2004/0209878A1 中所披露的任何化合物 (例如,包含



代

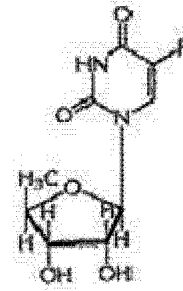
表的核心结构) 或多柔比星 (



), 包括 Caelyx 或 Doxil® (盐酸

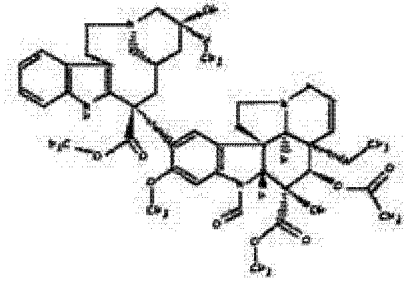
多柔比星脂质体注射剂; Ortho Biotech Products L.P; Raritan, NJ)。Doxil® 包含处于 STEALTH® 脂质体载体中的多柔比星, 该载体由 N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 2000)-1, 2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺钠盐 (MPEG-DSPE)、完全氢化的大豆卵磷脂 (HSPC) 和胆甾醇组成。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0128] 在本发明的一个实施方案中,提供了与5'-脱氧-5-氟尿苷(



组合的 IGF1R 抑制剂。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

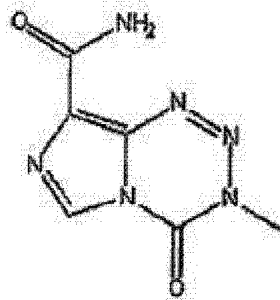
[0129] 在本发明的一个实施方案中,提供了与长春新碱(



) 组合的 IGF1R 抑制剂。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

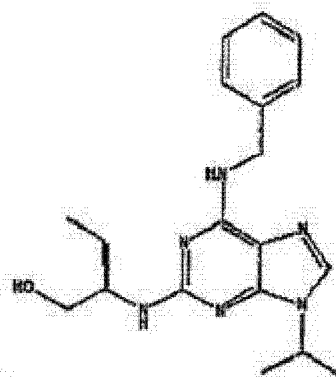
[0130] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑

制剂:替莫唑胺(



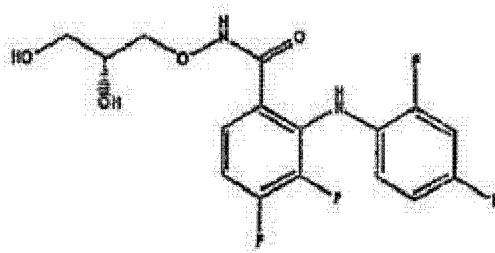
); 任意 CDK 抑制剂例如 ZK-304709、

Seliciclib (R-roscovitine)



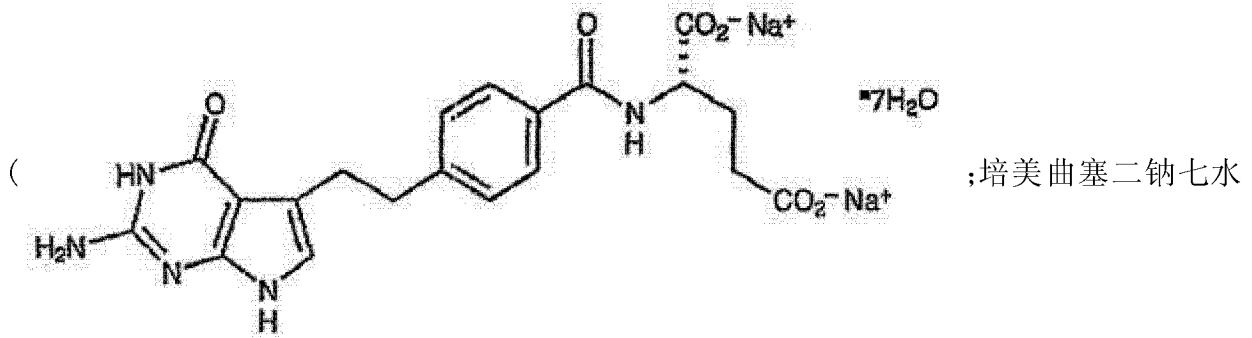
); 任意 MEK 抑制剂例如

PD0325901 (



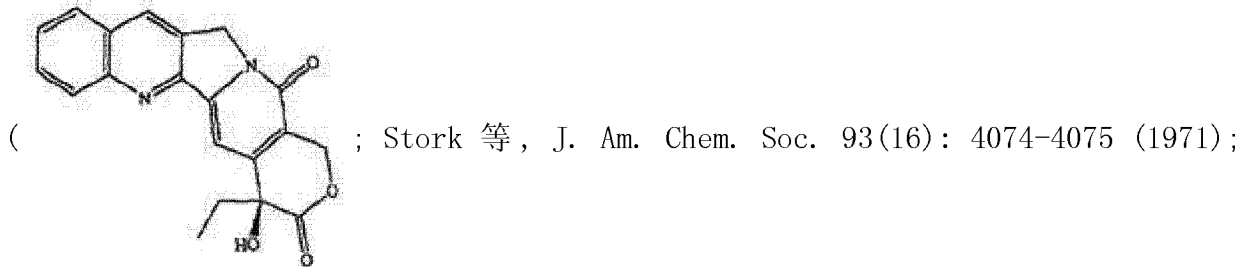
)、AZD-6244; 卡培他滨(5'-脱

氧-5-氟-N-[(戊氧基)羰基]-胞苷);或L-谷氨酸、N-[4-[2-(2-氨基-4,7-二氢-4-氧-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲酰基]-二钠盐七水合物



合物)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0131] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:喜树碱

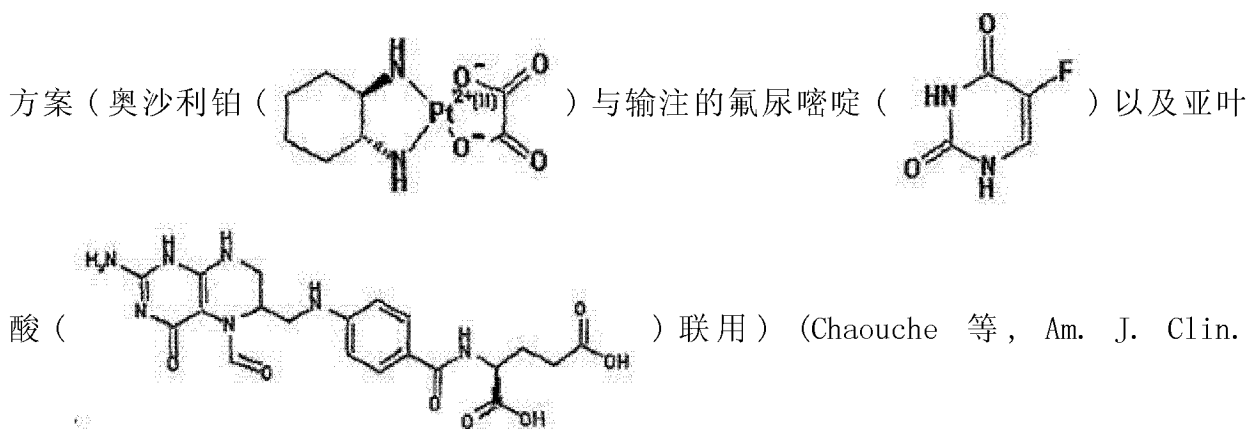


Beisler 等, J. Med. Chem. 14(11): 1116-1117 (1962)) 或伊立替康 (



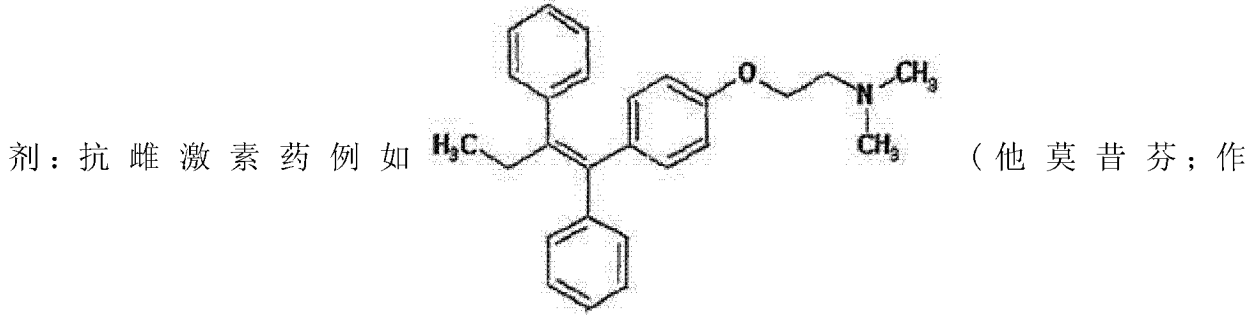
Co.; Kalamazoo, MI)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0132] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:FOLFOX

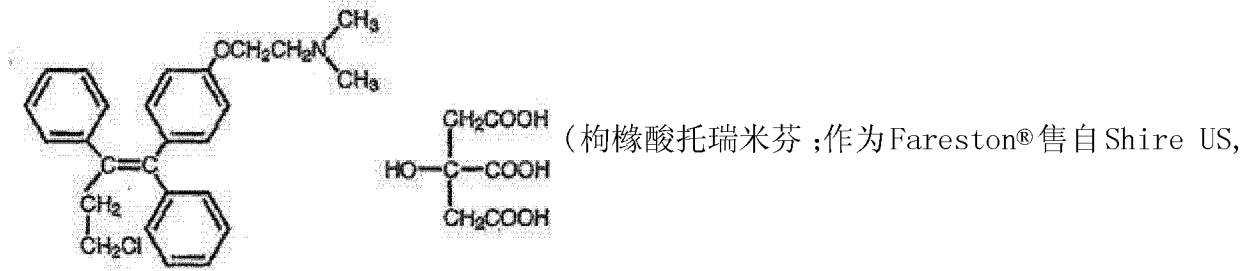


Oncol. 23(3):288-289 (2000); : de Gramont 等, J. Clin. Oncol. 18(16):2938-2947 (2000))。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

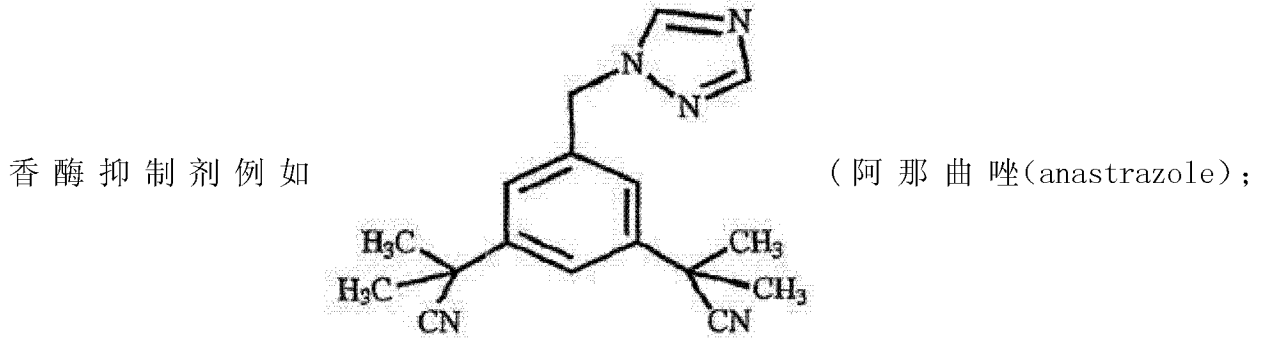
[0133] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制



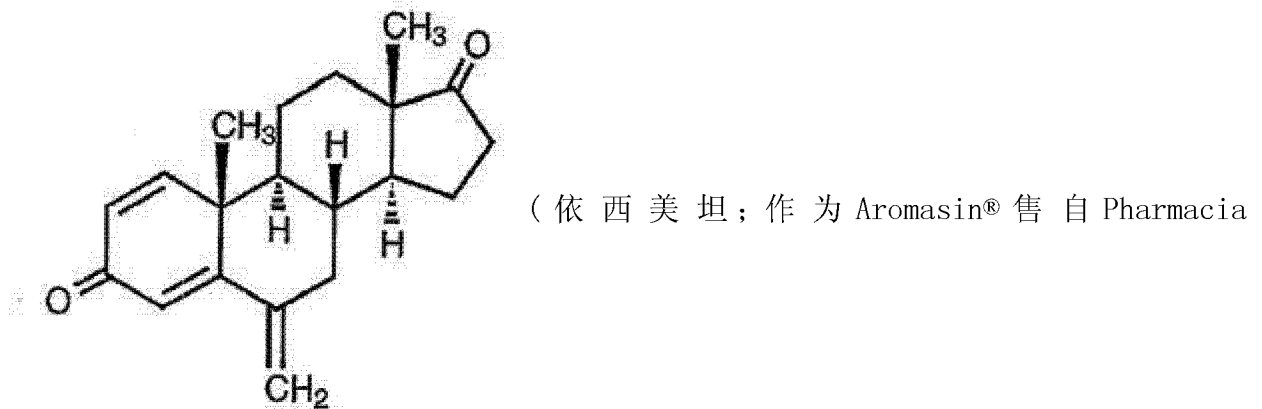
为 Nolvadex® 售自 AstraZeneca Pharmaceuticals LP; Wilmington, DE ) 或



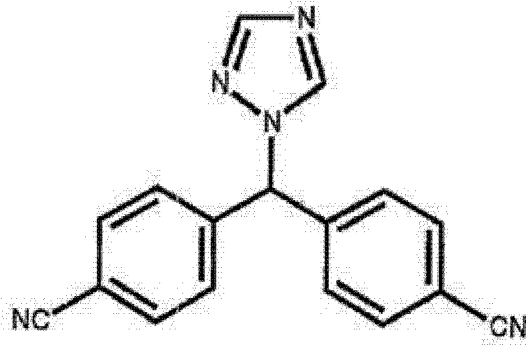
[0134] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂: 芳



作为 Arimidex® 售自 AstraZeneca Pharmaceuticals LP; Wilmington, DE)、



Corporation; Kalamazoo, MI) 或

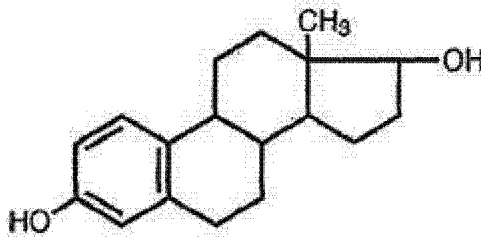


(来曲唑; 作为

Femara® 售自 Novartis Pharmaceuticals Corporation; East Hanover, NJ)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0135] 在本发明的一个实施方案中, 提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂: 雌激素

例如 DES(己烯雌酚)、

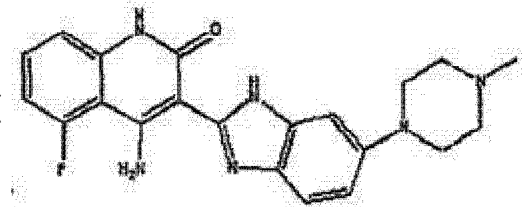


(雌二醇; 作为 Estrol® 售自

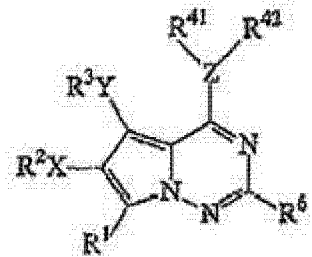
Warner Chilcott, Inc.; Rockaway, NJ) 或缀合的雌激素 (作为 Premarin® 售自 Wyeth Pharmaceuticals Inc.; Philadelphia, PA)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0136] 在本发明的一个实施方案中, 提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂: 抗血管生成剂包括贝伐单抗 (Avastin™; Genentech; San Francisco, CA)、抗-VEGFR-2 抗

体 IMC-1C11、其它 VEGFR 抑制剂例如: CHIR-258 (



), 在 W02004/13145 (例如, 其包含核心结构式:

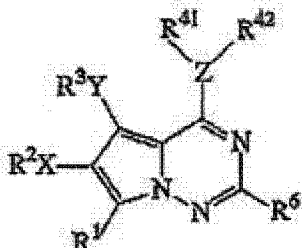


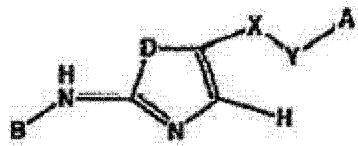
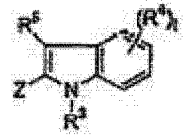
),

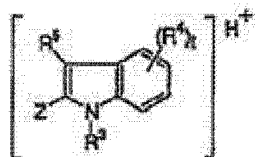


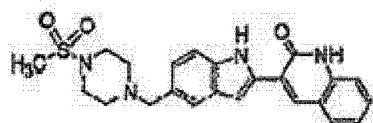
W02004/09542 (例如,其包含核心结构式:  )、W000/71129 (例

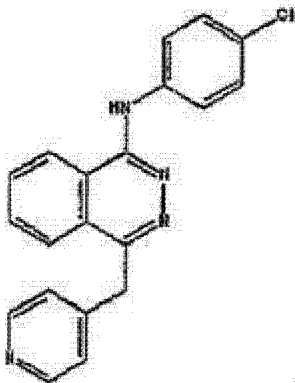
如,其包含核心结构式:  )、W02004/09601 (例如,其包含

核心结构式:  )、W02004/01059 (例如,其包含核心结构式:

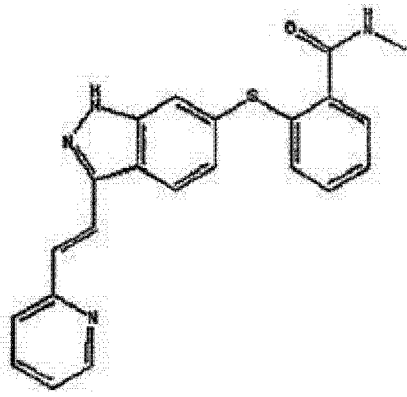
 )、W001/29025 (例如,其包含核心结构式:  )、

W002/32861 (例如,其包含核心结构式:  ) 或 W003/88900 (例如,

其包含核心结构式:  ) 中所述的任一种抑制剂;3-[5-(甲磺酰

哌嗪甲基)-吡啶基]-喹诺酮;Vatalanib (  );PTK/ZK;CPG-79787;

ZK-222584)、AG-013736(

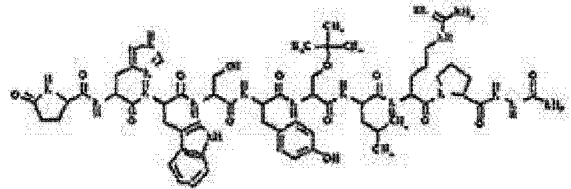


);和 VEGF trap (AVE-0005) (一

种包含 VEGF 受体 1 和 2 的一部分的可溶性诱饵受体)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

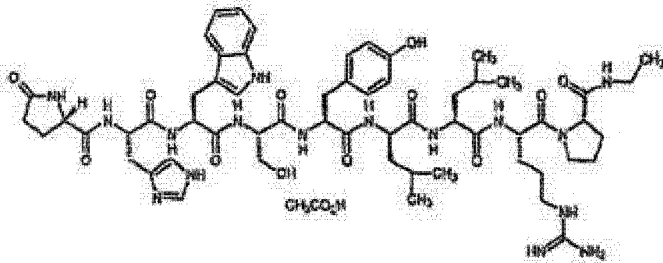
[0137] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂: LHRH (促黄体激素-释放激素)激动剂例如 [D-Ser(But)6, Azgly 10] 的醋酸盐 (焦 -Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(Bu t)-Leu-Arg-Pro-Azgly-NH<sub>2</sub> 醋酸盐

[C<sub>59</sub>H<sub>84</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub> • (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)<sub>x</sub> 其中 x = 1-2.4];



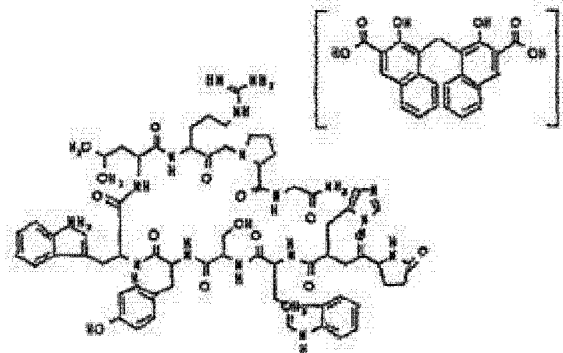
(醋

酸戈舍瑞林;作为 Zoladex® 售自 AstraZeneca UK Limited; Macclesfield, England)、



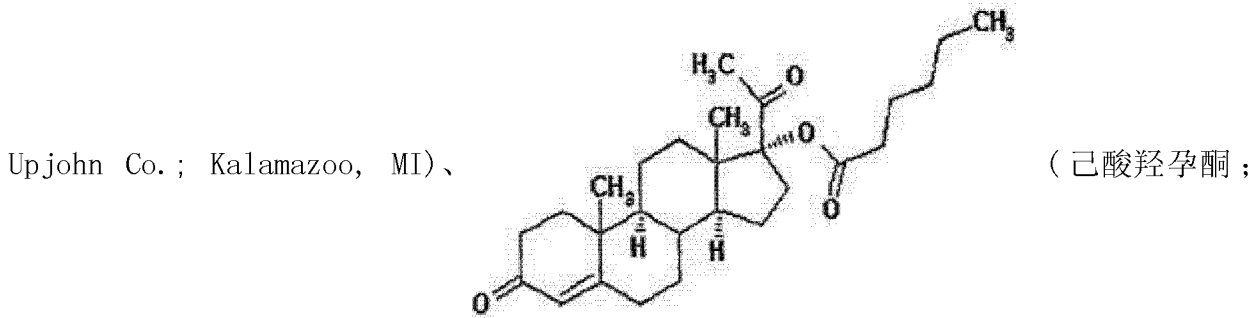
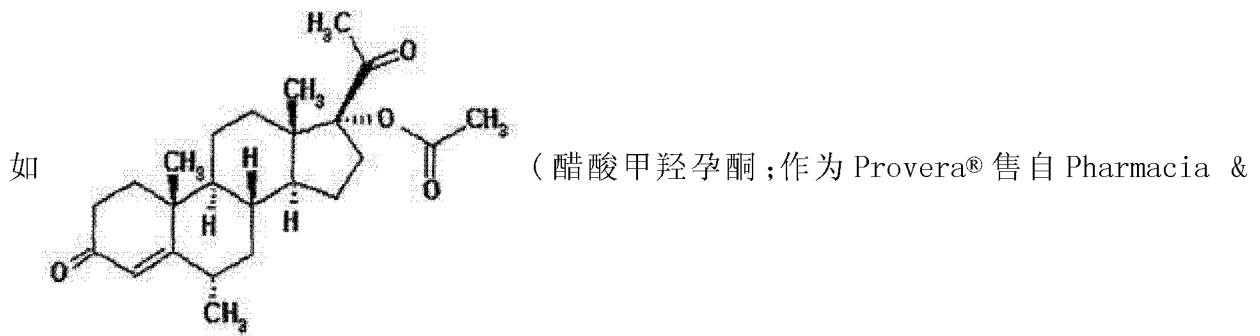
(醋酸亮丙瑞林;作为 Eligard® 售自

Sanofi-Synthelabo Inc.; New York, NY) 或

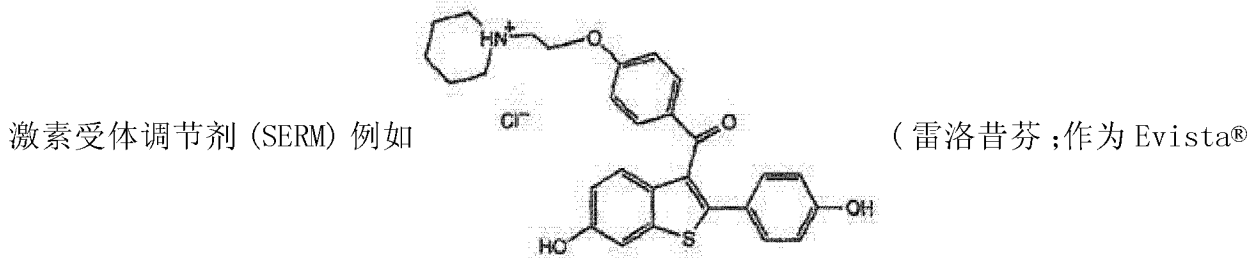


(扑酸曲普瑞林;作为 Trelstar® 售自 Pharmacia Company, Kalamazoo, MI)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

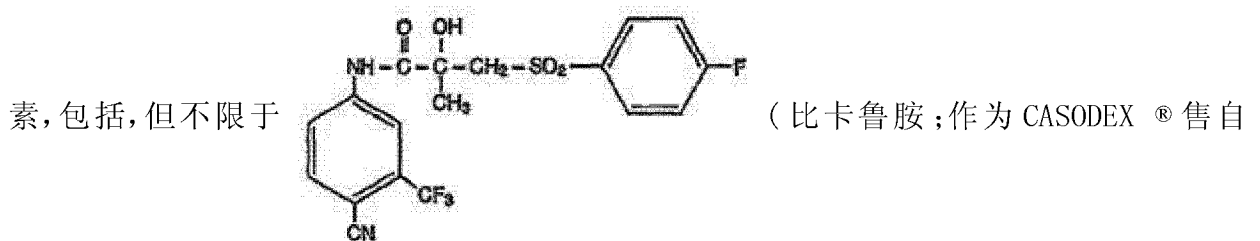
[0138] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:促孕剂例



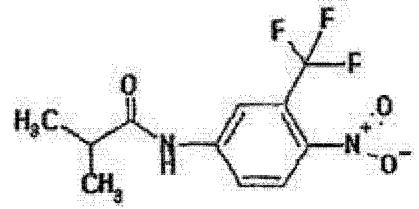
[0139] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:选择性雌



[0140] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:抗-雄激

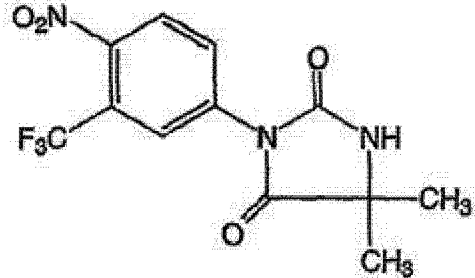


AstraZeneca Pharmaceuticals LP; Wilmington, DE);



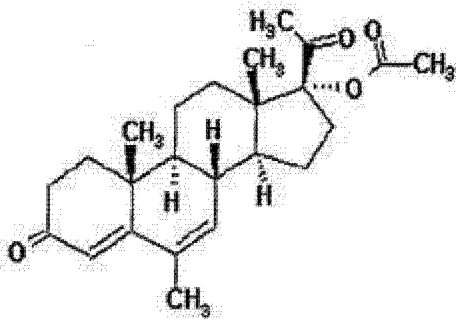
(氟他胺; 2-甲基-N-[4-硝基-3-(三氟甲基)苯基]丙酰胺; 作为 Eulexin® 售自

Schering Corporation; Kenilworth, NJ);



(尼鲁

米特; 作为 Nilandron® 售自 Aventis Pharmaceuticals Inc.; Kansas City, MO) 以及

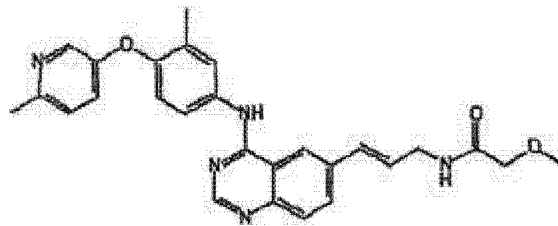


(醋酸甲地孕酮; 作为 Megace® 售自 Bristol-Myers

Squibb)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

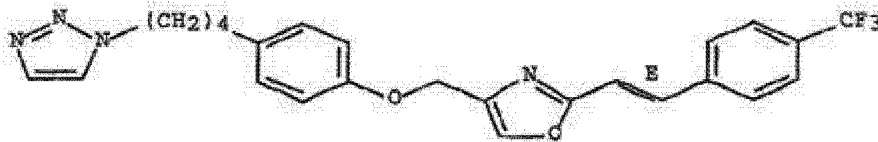
[0141] 在本发明的一个实施方案中, 提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂: 一种或多种拮抗 EGF 受体或 HER2 功能的抑制剂, 包括但不限

于 CP-724714 (

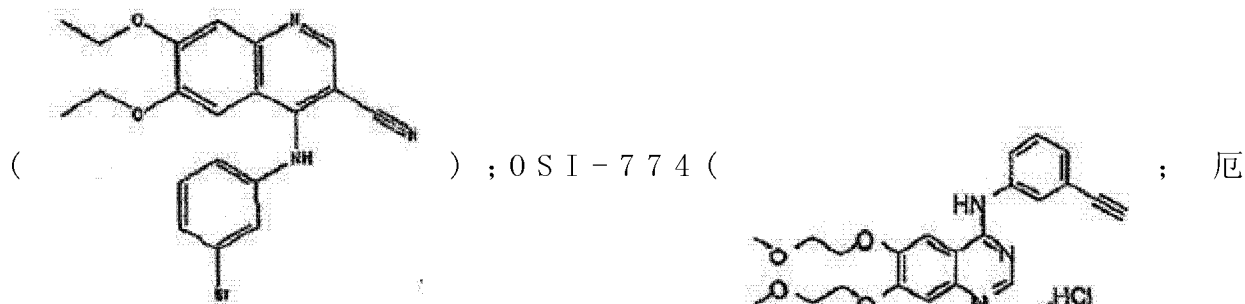


); TAK-165

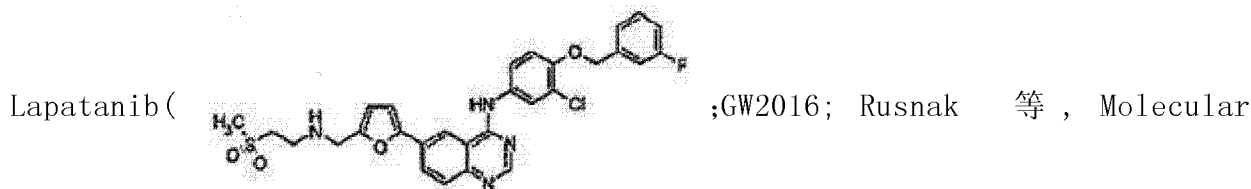
(



); HKI-272



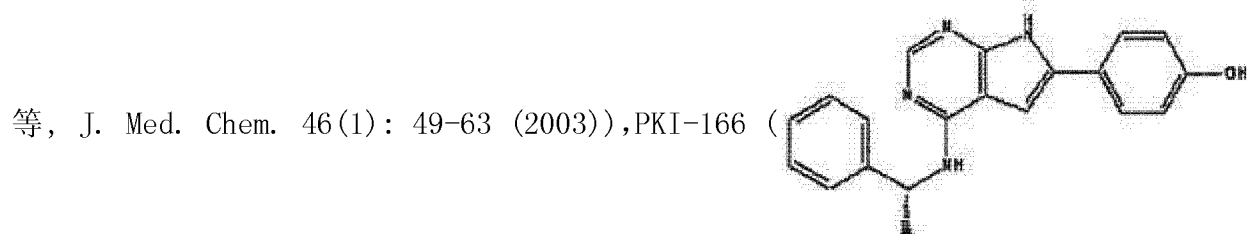
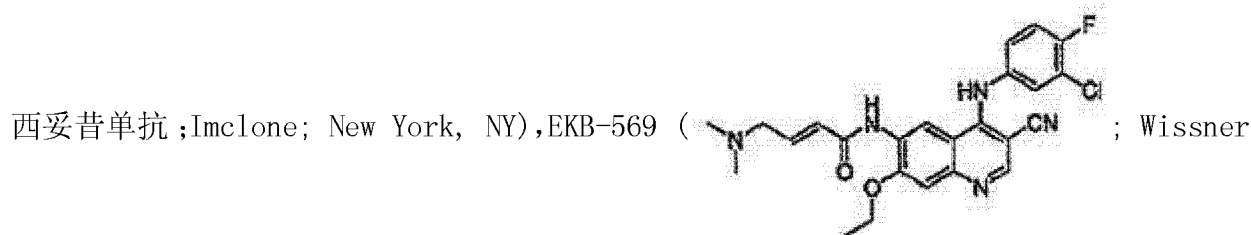
洛替尼, Hidalgo 等, J. Clin. Oncol. 19(13): 3267-3279 (2001),



Cancer Therapeutics 1:85-94 (2001); N-{3-氯-4-[(3-氟苯甲基)氧]苯基}-6-[5-({2-(甲磺酰基)乙基}氨基)甲基]-2-咪喃基]-4-喹唑啉胺; PCT 申请号 W099/35146), Canertinib (CI-1033;

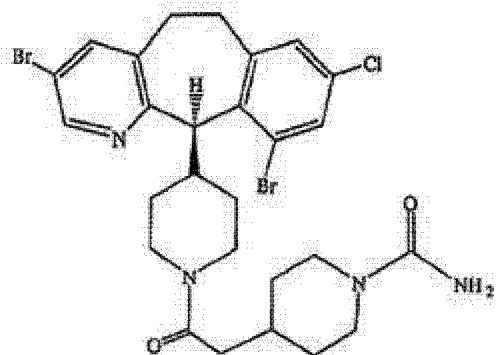


(2001); Smail 等, J. Med. Chem. 43(7):1380-97 (2000), ABX-EGF 抗体 (Abgenix, Inc.; Fremont, CA; Yang 等, Cancer Res. 59(6):1236-43 (1999); Yang 等, Crit Rev Oncol Hematol. 38(1):17-23 (2001), 爱必妥 (美国专利号 6,217,866; IMC-C225,



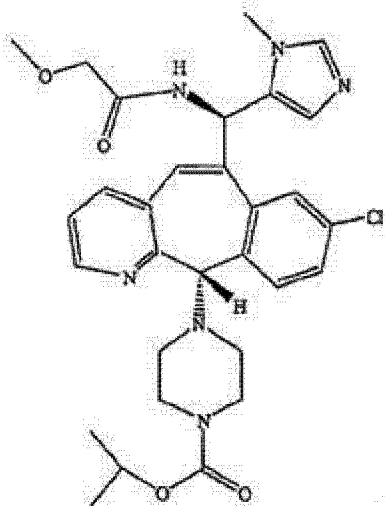
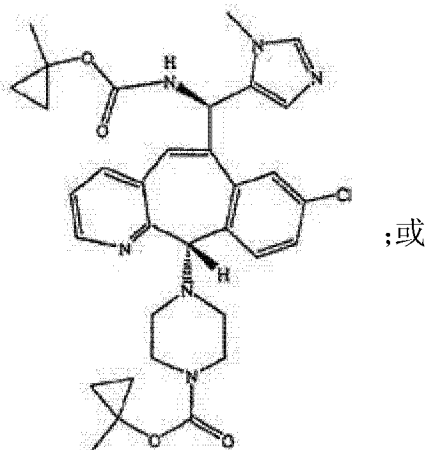
; CGP-75166), GW-572016, 任何抗-EGFR 抗体以及任何抗-HER2 抗体。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0142] 在本发明的一个实施方案中, 提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:



(lonafarnib; Sarasar<sup>™</sup>; Schering-Plough;

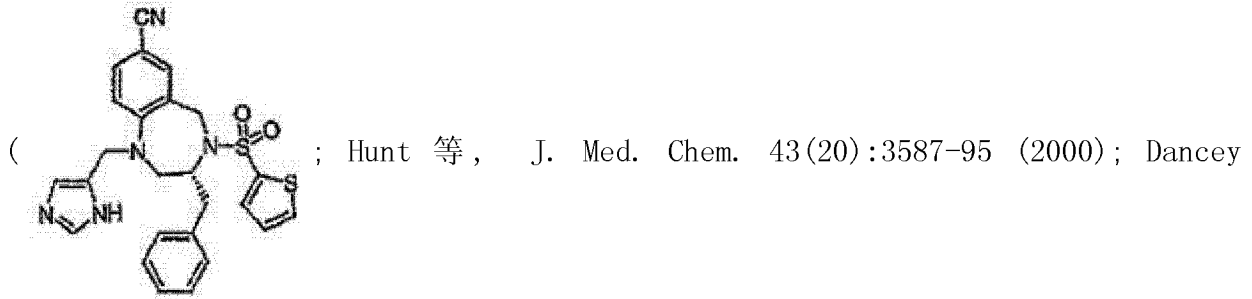
Kenilworth, NJ)。在另一个实施方案中,提供了与 IGF1R 抑制剂组合的一种或多种下述 FPT 抑制剂:



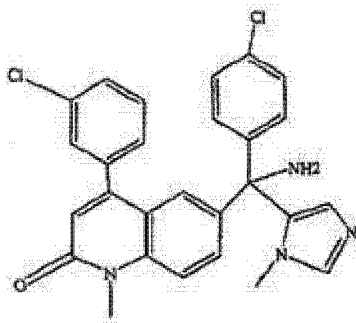
。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯

肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0143] 可与 IGF1R 抑制剂组合提供的其它 FPT 抑制剂包括:BMS-214662



等, Curr. Pharm. Des. 8:2259-2267 (2002); (R)-7-氰基-2,3,4,5-四氢-1-(1H-咪唑-4-基甲基)-3-(苯基甲基)-4-(2-噻吩基磺酰基)-1H-1,4-苯并二氮杂革)) 和 R155777 (tipifarnib; Garner 等, Drug Metab. Dispos. 30(7):823-30 (2002); Dancey 等, Curr. Pharm. Des. 8:2259-2267 (2002); (B)-6-[氨基(4-氯苯基)(1-甲基-1H-咪唑-5-基)-甲基]-4-(3-氯苯基)-1-甲基-2(1H)-喹啉酮);



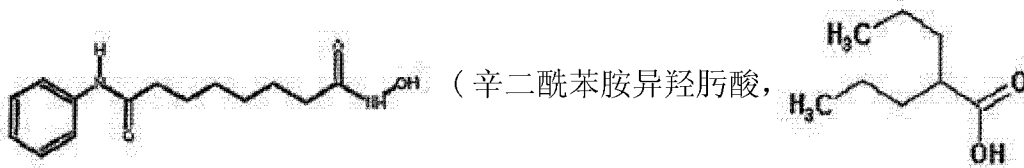
(作为 Zarnestra™ 销售; Johnson & Johnson; New

Brunswick, NJ)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

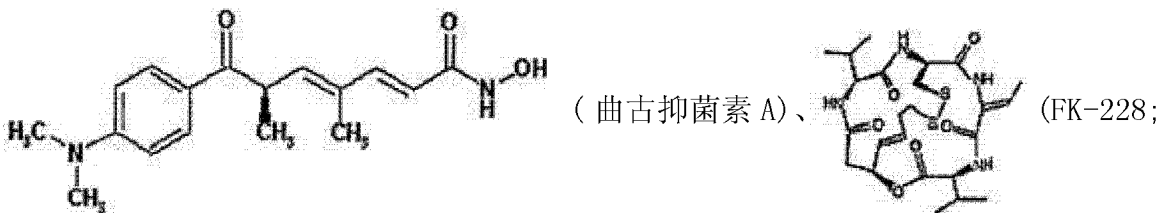
[0144] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述药剂组合的 IGF1R 抑制剂:



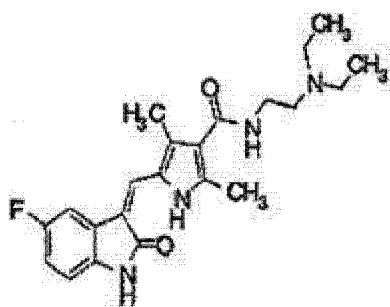
(NVP-LAQ824; Atadja 等, Cancer Research 64: 689-695 (2004))、



) (丙戊酸; Michaelis 等, Mol. Pharmacol. 65:520-527 (2004))、

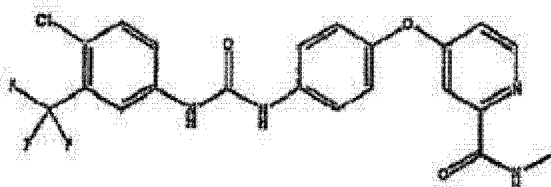


Furumai 等, Cancer Research 62: 4916-4921 (2002))、

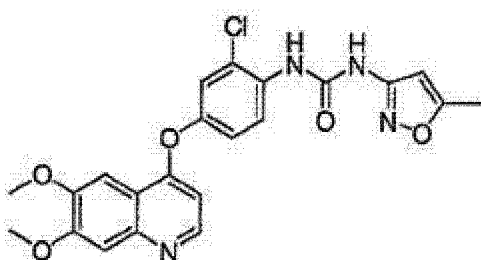


(SU11248; Mendel 等, Clin. Cancer Res.

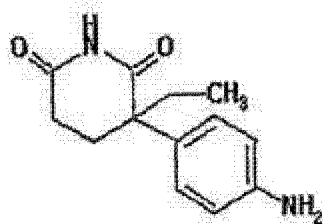
9(1):327-37 (2003))、



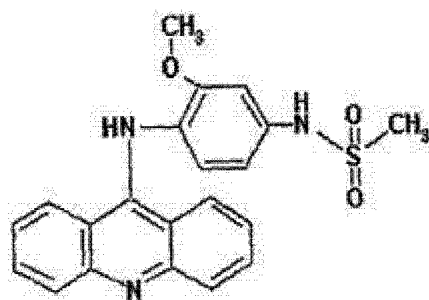
(BAY43-9006)、



(KRN951)、

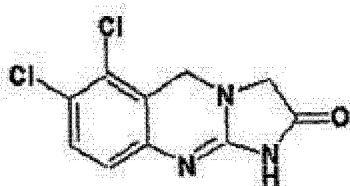


(氨鲁米特)；

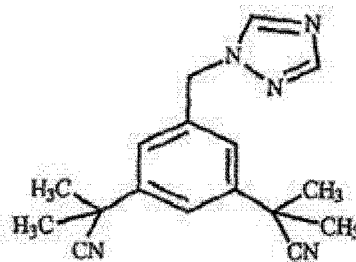


(安吡

啶)；



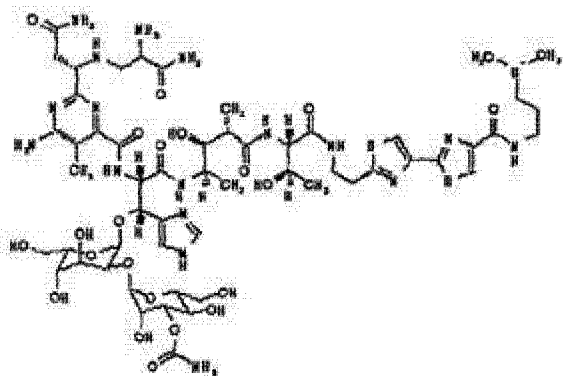
(阿那格雷)；



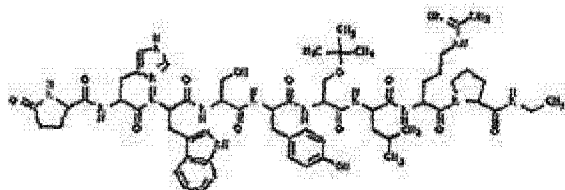
(阿那曲唑；

作为 Arimidex 售自 AstraZeneca Pharmaceuticals LP; Wilmington, DE); 天冬酰胺酶；  
卡介苗 (BCG) 疫苗 (Garrido 等, Cytobios. 90(360):47-65 (1997))；

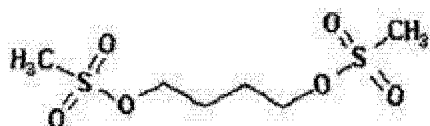




(博来霉素);

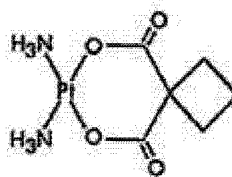


(布舍瑞林);



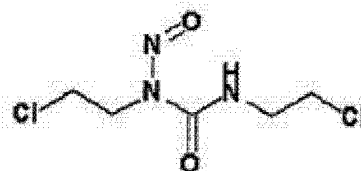
(白消安; 1,4-丁二醇二甲磺酸酯; 作为 Busulfex®

售自 ESP Pharma, Inc.; Edison, New Jersey);

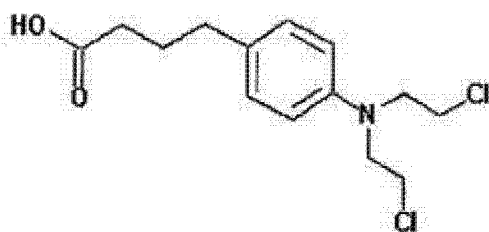


(卡铂; 作为

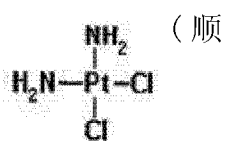
Paraplatin® 售自 Bristol-Myers Squibb; Princeton, NJ);



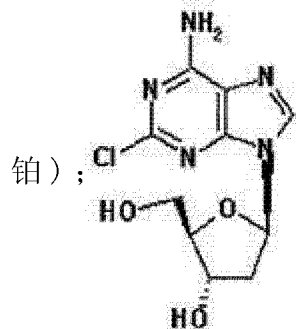
(卡莫司汀);



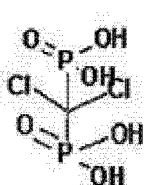
(苯丁酸氮芥);



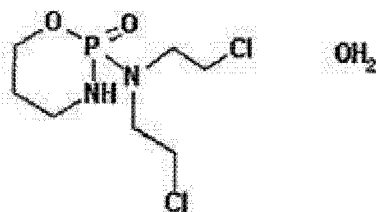
(顺



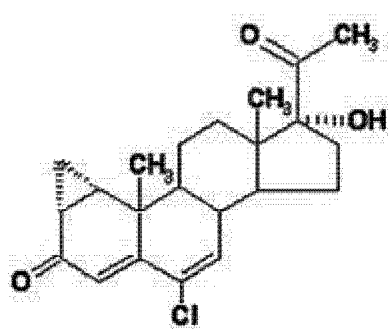
(克拉屈滨);



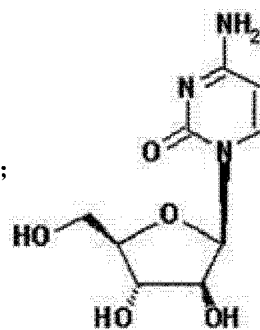
(氯磷酸);



(环磷酰胺)；

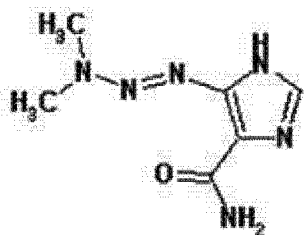


(环丙孕酮)；

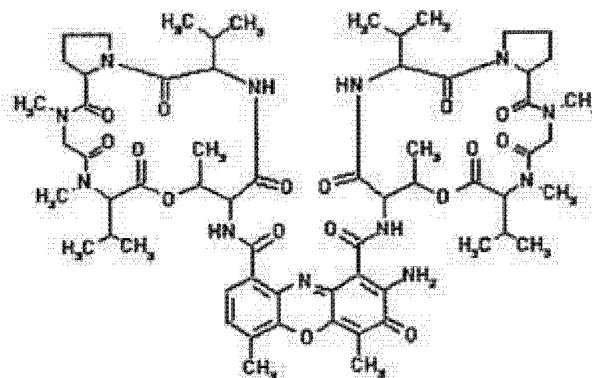


(阿糖胞)

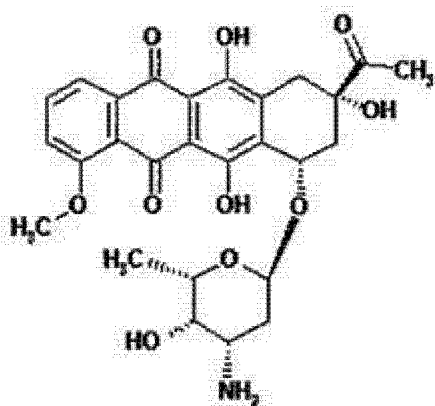
昔)；



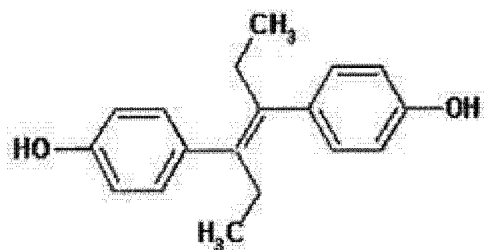
(达卡巴嗪)；



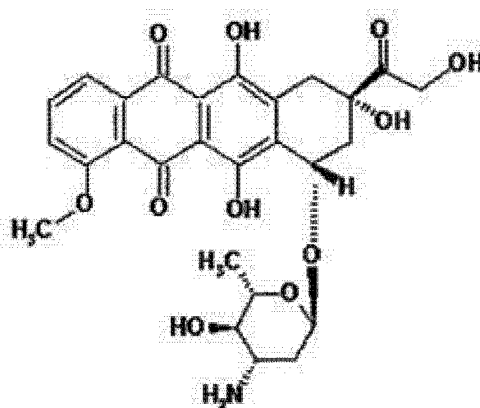
(Dactinomycin)；

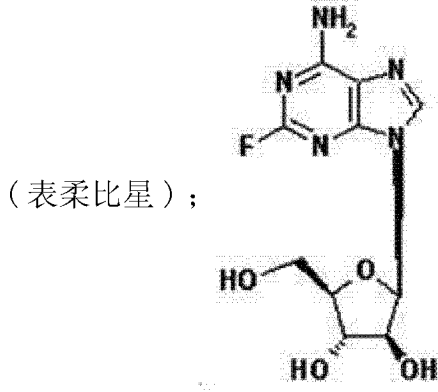


(柔红霉素)；

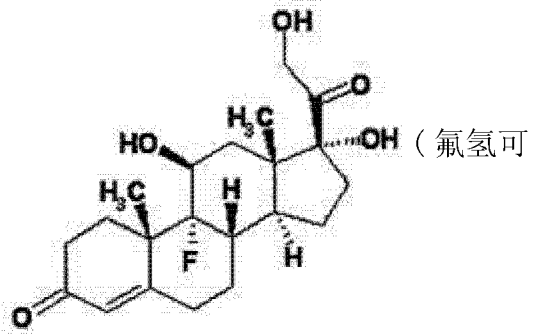


(己烯雌酚)；

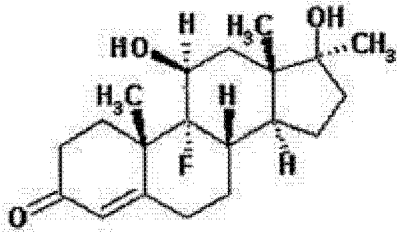




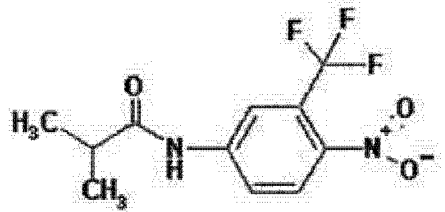
(氟达拉滨);



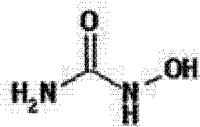
的松);



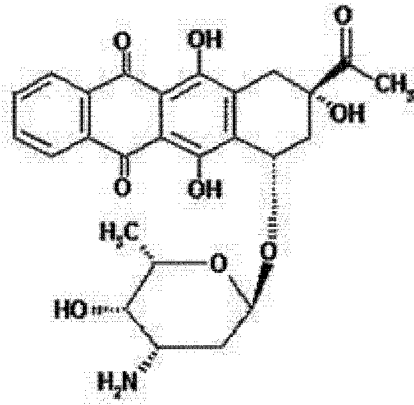
(氟羟甲睾酮);



(氟他胺);

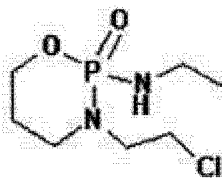


(羟基脲);

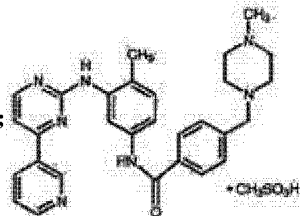


(伊)

达比星);



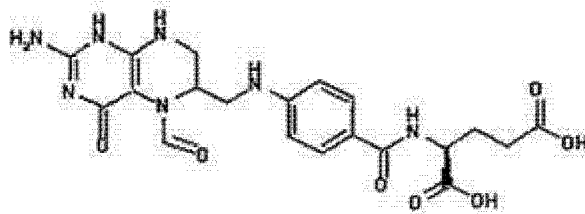
(异环磷酰胺);



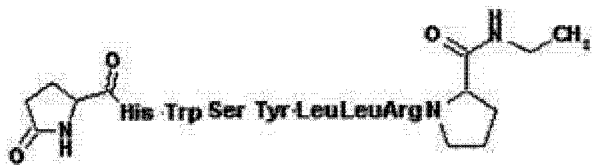
(伊)

马替尼;作为 Gleevec® 售自 Novartis Pharmaceuticals Corporation;

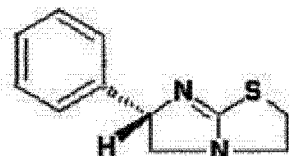
East Hanover, NJ);

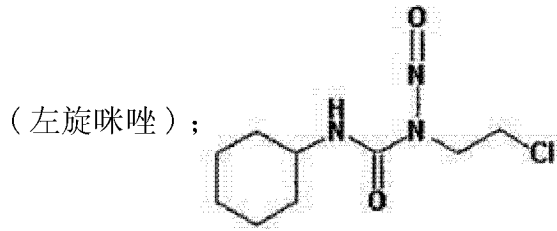


(亚叶酸);

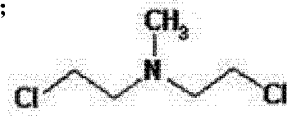


(亮丙瑞林);

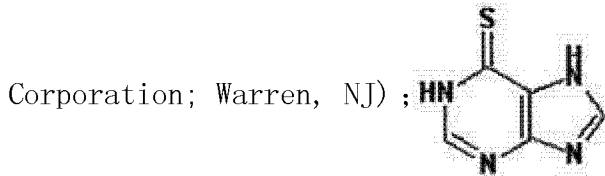
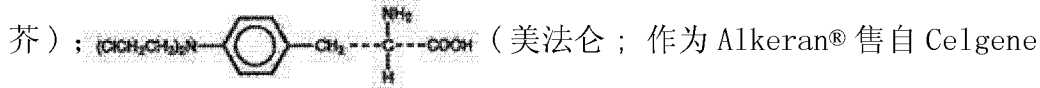




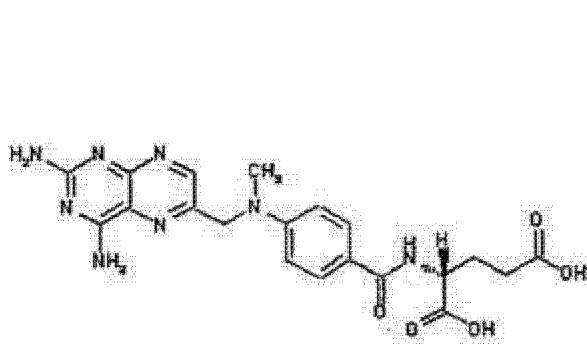
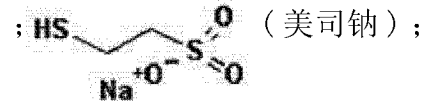
(洛莫司汀) ;



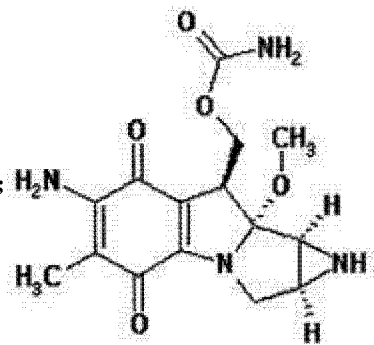
(氮



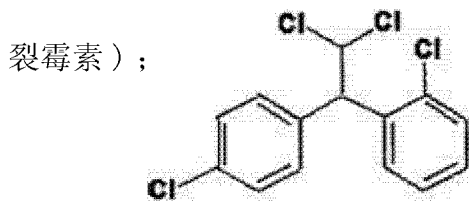
(巯嘌呤) ;



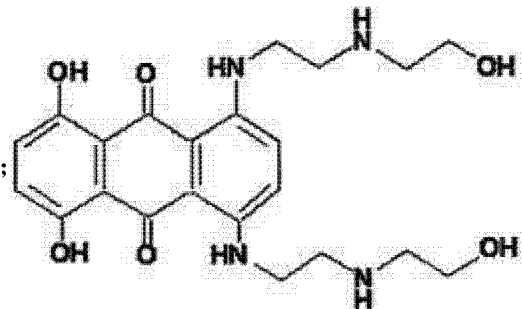
(甲氨蝶呤) ;



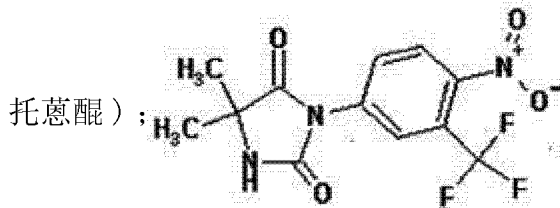
(丝



(米托坦) ;



(米

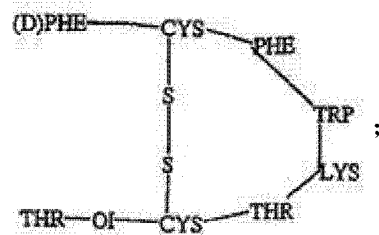


(尼鲁米特) ;

奥曲肽 (L- 半胱氨酸胺, D- 苯丙

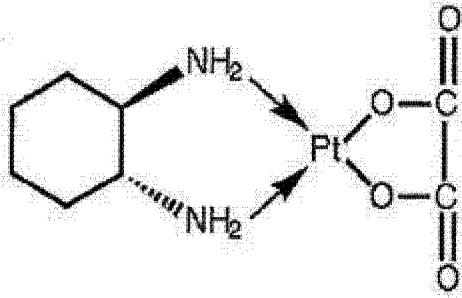
氨酸 - L- 半胱氨酸 -L- 苯丙氨酸 -D- 色氨酸 -L- 赖氨酸 -L- 苏氨酸 -N-[2- 羟基 -1-( 羟

甲基) 丙基]-, 环 (2\_7)- 二硫化物 ; [RR\*, R\*]) ;



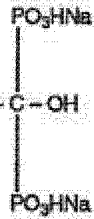
Katz 等, Clin Pharm. 8(4):255-73 (1989) ; 作为 Sandostatin LAR® Depot 销售 ;

Novartis Pharm. Corp; E. Hanover, NJ); 奥沙利铂 (

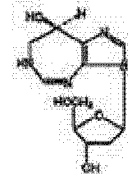


; 作为 Eloxatin™ 售自 Sanofi-Synthelabo Inc. ;

New York, NY);  $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH})_2-\text{PO}_3\text{HNa}$  •  $5\text{H}_2\text{O}$  ( 氨基二磷酸二钠 ; 作为 Aredia® 售自

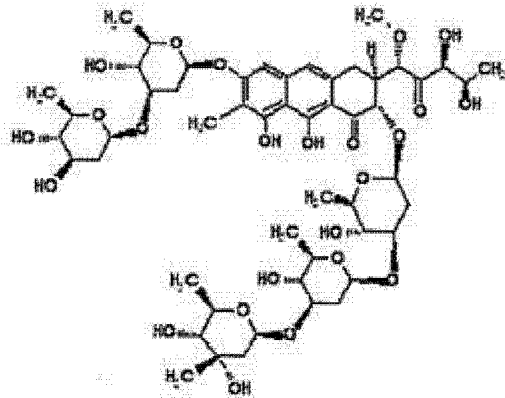


Novartis Pharmaceuticals Corporation; East Hanover, NJ);



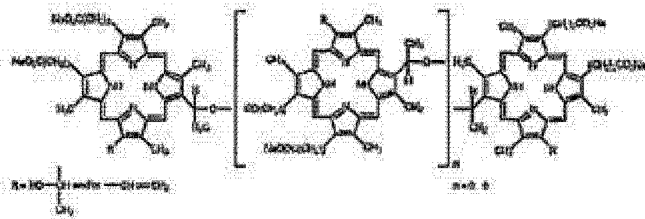
( 喷司他丁 ;

作为 Nipent® 售自 Supergen; Dublin, CA);



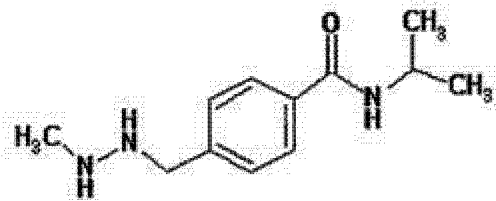
( 普卡

霉素);

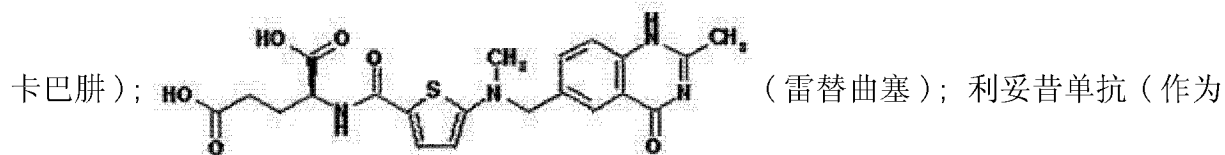


( 卟菲尔钠 ; 作为 Photofrin® 售

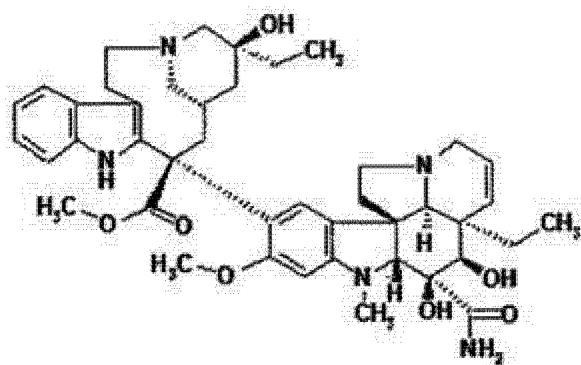
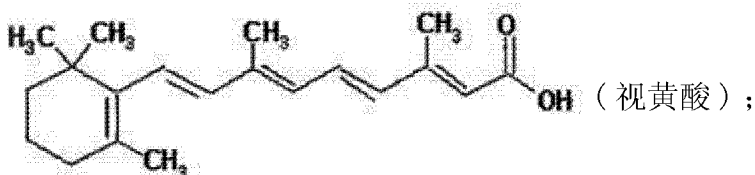
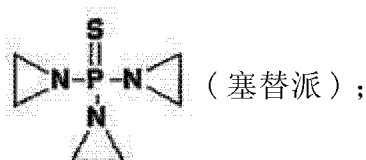
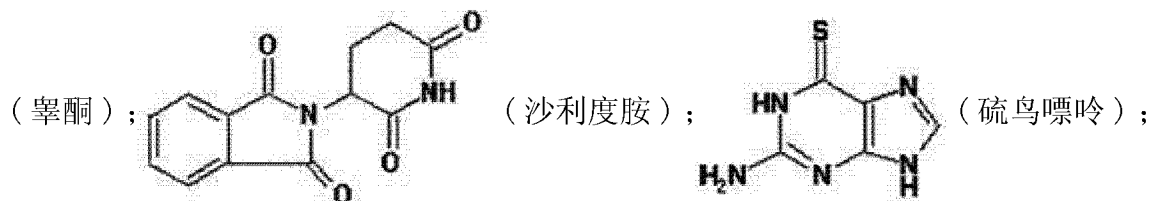
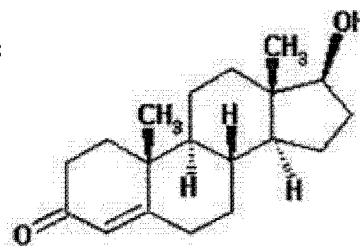
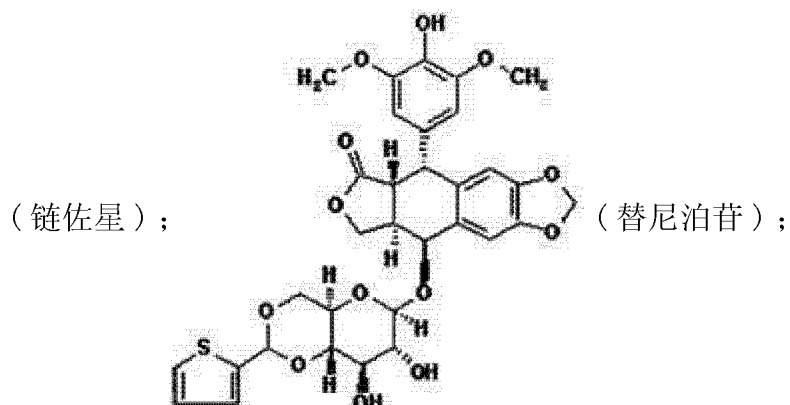
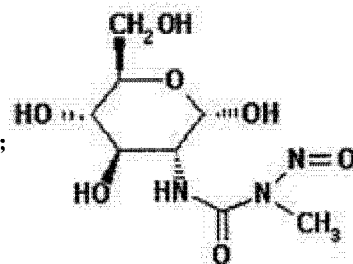
自 Axcan Scandipharm Inc.; Birmingham, AL);



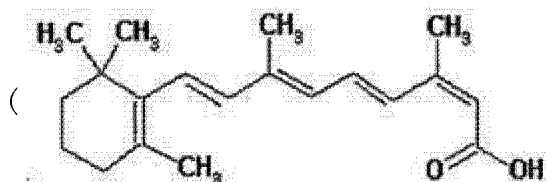
( 丙



Rituxan®售自Genentech, Inc.; South San Francisco, CA);



(长春地辛) 或 13- 顺式 - 视黄酸



( )。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、

维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0145] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述任意一种或多种组合的 IGF1R 抑制剂:苯丙氨酸氮芥、尿嘧啶氮芥、雌莫司汀、六甲蜜胺、5-氟脱氧尿苷(floxuridine)、5-脱氧尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、喷司他丁、骨化三醇、戊柔比星、普卡霉素、长春碱、长春瑞滨、托泊替康、丙亚胺、马立马司他、COL-3、新伐司他、BMS-275291、角鲨胺、内皮他丁、SU5416、SU6668、EMD121974、白介素-12、IM862、血管他丁、vitaxin、屈洛昔芬、idoxyfene、螺内酯、非那雄胺、西咪替丁、曲妥单抗、地尼白介素、difitox、吉非替尼、bortezimib、紫杉醇、多西他赛、埃博霉素 B、BMS-247550 (参见例如 Lee 等, Clin. Cancer Res. 7:1429-1437 (2001))、BMS-310705、屈洛昔芬(3-羟基他莫昔芬)、4-羟基他莫昔芬、pipendoxifene、ERA-923、阿佐昔芬、氟维司群、阿考比芬、拉索昔芬(CP-336156)、艾多昔芬、TSE-424、HMR-3339、ZK186619、托泊替康、PTK787/ZK 222584 (Thomas 等, Semin Oncol. 30(3 Suppl 6):32-8 (2003))、人源化的抗-VEGF 抗体贝伐单抗、VX-745 (Haddad, Curr Opin. Investig. Drugs 2(8):1070-6 (2001))、PD 184352 (Sebolt-Leopold, 等 Nature Med. 5: 810-816 (1999))、雷帕霉素、CCI-779 (Sehgal 等, Med. Res. Rev., 14:1-22 (1994); Elit, Curr. Opin. Investig. Drugs 3(8):1249-53 (2002))、LY294002、LY292223、LY292696、LY293684、LY293646 (Vlahos 等, J. Biol. Chem. 269(7): 5241-5248 (1994))、渥曼青霉素、BAY-43-9006 (Wilhelm 等, Curr. Pharm. Des. 8:2255-2257 (2002))、ZM336372、L-779,450、在 Lowinger 等, Curr. Pharm Des. 8:2269-2278 (2002) 中披露的任何 Raf 抑制剂;flavopiridol (L86-8275/HMR 1275; Senderowicz, Oncogene 19(56): 6600-6606 (2000)) 或 UCN-01 (7-羟基星状孢子素; Senderowicz, Oncogene 19(56): 6600-6606 (2000))。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0146] 在本发明的一个实施方案中,提供了与在下述参考文献中所述的任意一种或多种化合物组合的 IGF1R 抑制剂:美国专利 5,656,655,其披露了苯乙烯基取代的杂芳基 EGFR 抑制剂;美国专利 5,646,153,其披露了双单环和/或二环芳基杂芳基碳环和杂碳环 EGFR 及 PDGFR 抑制剂;美国专利 5,679,683,其披露了抑制 EGFR 的三环嘧啶化合物;美国专利 5,616,582,其披露了具有受体酪氨酸激酶抑制活性的喹唑啉衍生物;Fry 等, Science 265 1093-1095 (1994),其披露了具有抑制 EGFR 的结构化合物(参见 Fry 等的图 1);美国专利 5,196,446,其披露了抑制 EGFR 的杂芳基乙烯二基或杂芳基乙烯二基芳基化合物;Panek, 等, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 283: 1433-1444 (1997),其披露了鉴别为 PD166285 的化合物,其抑制 EGFR、PDGFR 和 FGFR 家族的受体,PD166285 被鉴别为 6-(2,6-二氯苯基)-2-(4-(2-二乙氨基乙氧基)苯基氨基)-8-甲基-8H-吡啶并(2,3-d)嘧啶-7-酮)。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范

围内。

[0147] 在本发明的一个实施方案中,提供了与下述任意一种或多种组合的 IGF1R 抑制剂:聚乙二醇化的或未聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -2a、聚乙二醇化的或未聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -2b、聚乙二醇化的或未聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -2c、聚乙二醇化的或未聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -n-1、聚乙二醇化的或未聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -n-3 以及聚乙二醇化、未聚乙二醇化的复合干扰素或白蛋白-干扰素- $\alpha$ 。通过施用这些药剂来治疗或预防横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法是在本发明范围内。

[0148] 本文使用的术语“干扰素  $\alpha$ ”意指抑制细胞增殖和调节免疫应答的高度同源的物种特异性的蛋白家族。典型的合适的干扰素- $\alpha$  包括、但不限于:重组干扰素  $\alpha$ -2b、重组干扰素  $\alpha$ -2a、重组干扰素  $\alpha$ -2c、 $\alpha$  2 干扰素、干扰素  $\alpha$ -n1 (INS)、纯化的天然  $\alpha$  干扰素的混合物、复合  $\alpha$  干扰素例如在美国专利号 4, 897, 471 和 4, 695, 623 (尤其是其实施例 7、8 或 9) 中描述的那些、或干扰素  $\alpha$ -n3、天然  $\alpha$  干扰素的混合物。

[0149] 干扰素  $\alpha$ -2a 作为 ROFERON-A® 售自 Hoffmann-La Roche (Nutley, N. J)。

[0150] 干扰素  $\alpha$ -2b 作为 INTRON-A® 售自 Schering Corporation (Kenilworth, NJ)。干扰素  $\alpha$ -2b 的制造描述于例如美国专利号 4, 530, 901 中。

[0151] 干扰素  $\alpha$ -n3 是天然干扰素的混合物,作为 ALFERON N INJECTION® 售自 Hemispherx Biopharma, Inc. (Philadelphia, PA)。

[0152] 干扰素  $\alpha$ -n1 (INS) 是天然干扰素的混合物,作为 WELLFERON® 售自 Glaxo-Smith-Kline (Research Triangle Park, NC)。

[0153] 复合干扰素作为 INFERGEN® 售自 Intermune, Inc. (Brisbane, CA)。

[0154] 干扰素  $\alpha$ -2c 作为 BEROFOR® 售自 Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc. (Ridgefield, CT)。

[0155] 纯化的天然干扰素的混合物作为 SUMIFERON® 售自 Sumitomo; Tokyo, Japan。

[0156] 本文使用的术语“聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ ”意指干扰素  $\alpha$  (优选干扰素  $\alpha$ -2a 和  $\alpha$ -2b) 的聚乙二醇修饰的缀合物。优选的聚乙二醇-干扰素  $\alpha$ -2b 缀合物为 PEG 12000-干扰素  $\alpha$ -2b。本文使用的短语“12,000 分子量聚乙二醇缀合的干扰素  $\alpha$ ”和“PEG 12000-IFN  $\alpha$ ”包括这样的缀合物:例如,其根据国际申请号 WO 95/13090 的方法制备,并含有在干扰素  $\alpha$ -2a 或  $\alpha$ -2b 的氨基和具有 12000 平均分子量的聚乙二醇之间的尿烷键。聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$  (PEG 12000-IFN- $\alpha$ -2b) 可从 Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, N. J 获得。

[0157] 通过将 PEG 聚合物连接到干扰素  $\alpha$ -2b 分子的赖氨酸残基的  $\epsilon$  氨基上,可以制备优选的 PEG 12000-干扰素  $\alpha$ -2b。通过尿烷键,可以将单个 PEG 12000 分子缀合到 IFN  $\alpha$ -2b 分子的游离氨基上。该缀合物的特征在于,连接有分子量 12000 的 PEG。可以将 PEG 12000-IFN  $\alpha$ -2b 缀合物制备为用于注射的低压冻干的粉末。

[0158] 聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -2b 作为 PEG-INTRON® 售自 Schering Corporation (Kenilworth, NJ)。

[0159] 聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$ -2a 作为 PEGASYS® 售自 Hoffmann-La Roche (Nutley, N. J)。

[0160] 通过将干扰素  $\alpha$  偶联至水溶性聚合物上,可以制备其它干扰素  $\alpha$  缀合物。这



样的聚合物的非限制性列表包括其它聚环氧烷均聚物,例如聚丙二醇、聚氧乙烯化的多元醇、它们的共聚物以及嵌段共聚物。作为基于聚环氧烷的聚合物的替代物,可有效地使用非抗原性物质,例如葡聚糖、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、基于碳水化合物的聚合物等。这样的干扰素  $\alpha$  聚合物缀合物描述在:例如,美国专利号 4,766,106、美国专利号 4,917,888、欧洲专利申请号 0 236 987 或 0 593 868 或国际申请号 WO 95/13090。

[0161] 可以在无菌的注射用水中,使用适当的缓冲液(诸如 Tris-HCl、醋酸盐或磷酸盐例如磷酸氢二钠 / 磷酸二氢钠缓冲液)和药学上可接受的赋形剂(如蔗糖)、载体(如人血浆白蛋白)、毒性剂(toxicity agents)(如 NaCl)、防腐剂(如 thimerosal、甲酚或苯甲醇)以及表面活性剂(如吐温或聚山梨醇酯),配制适合肠胃外给药的聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$  的药物组合物。聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$  可作为冻干粉末在 2° -8° C 冷冻储存。当在 2° -8° C 之间储存并在重建的 24 小时内使用时,重建的水溶液是稳定的。参见例如美国专利号 4,492,537; 5,762,923 和 5,766,582。重建的水溶液还可以储存在预装填的多剂量注射器中,例如用于递送诸如胰岛素等药物的那些注射器。典型的合适的注射器包括:包含连接至笔型注射器上的预装填的管形瓶的系统,例如 NOVOLET® Novo Pen (可从 Novo Nordisk 获得)或 REDIPEN® (可从 Schering Corporation, Kenilworth, NJ 获得)。其它注射器系统包括:包含玻璃药筒的笔型注射器,所述玻璃药筒含有稀释剂和低压冻干的聚乙二醇化的干扰素  $\alpha$  粉末,它们处于分开的隔室中。

[0162] 本发明的范围还包括这样的组合物:其包含与一种或多种其它抗癌化疗剂(如在本文中所述的)组合、并任选地(即有或没有)与一种或多种止吐剂组合的 IGF1R 抑制剂,所述止吐剂包括但不限于帕洛诺司琼(作为 Aloxi 售自 MGI Pharma)、阿瑞匹坦(作为 Emend 售自 Merck and Co.; Rahway, NJ)、苯海拉明(作为 Benadryl® 售自 Pfizer; New York, NY)、羟嗪(作为 Atarax® 售自 Pfizer; New York, NY)、甲氧氯普胺(作为 Reglan® 售自 AH Robins Co.; Richmond, VA)、劳拉西洋(作为 Ativan® 售自 Wyeth; Madison, NJ)、阿普唑仑(作为 Xanax® 售自 Pfizer; New York, NY)、氟哌啶醇(作为 Haldol® 售自 Ortho-McNeil; Raritan, NJ)、氟哌利多(Inapsine®)、屈大麻酚(作为 Marinol® 售自 Solvay Pharmaceuticals, Inc.; Marietta, GA)、地塞米松(作为 Decadron® 售自 Merck and Co.; Rahway, NJ)、甲泼尼龙(作为 Medrol® 售自 Pfizer; New York, NY)、丙氯拉嗪(作为 Compazine® 售自 Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC)、格拉司琼(作为 Kytril® 售自 Hoffmann-La Roche Inc.; Nutley, NJ)、昂丹司琼(作为 Zofran® 售自 Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC)、多拉司琼(作为 Anzemet® 售自 Sanofi-Aventis; New York, NY)、托烷司琼(作为 Navoban® 售自 Novartis; East Hanover, NJ)。

[0163] 包含止吐剂的组合物可用于预防或治疗恶心,即抗癌化学疗法的一种常见的副作用。因此,本发明还包括用于治疗或预防受试者的癌症的方法,其中任选地与一种或多种其它化疗剂(如在本文中所述的)组合地以及任选地与一种或多种止吐剂组合地,施用 IGF1R 抑制剂。

[0164] 本发明另外包括用于治疗或预防任何病期或类型的神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤、维耳姆斯肿瘤、骨肉瘤、胰腺癌或任意儿科癌症的方法,其中与治疗手术(诸如外科肿瘤切除术或抗癌辐照治疗)组合地、并任选地与其它化疗剂和 / 或止吐剂(例如,如上所述的)

组合地,施用 IGFR 抑制剂。

#### [0165] 厄洛替尼

本发明的一个宽广方面提供了有效地治疗癌症的方法,而对进行治疗的人患者没有显著的不良作用。根据本发明的治疗的临床结果在一定程度上是意料之外的,因为认为包含抗-IGF-1R 抗体和厄洛替尼的组合治疗可以更有效地治疗厄洛替尼抗性的癌症。同样,认为组合治疗(MK-0646 和厄洛替尼的组合)比单独的厄洛替尼会更有效地治疗不同的癌症。应当理解,其它酪氨酸激酶抑制剂可以与 IGF-1R 抗体相组合。或者,所述组合治疗可以包含超过一种酪氨酸激酶抑制剂,因而包含与化学治疗混合物相组合的抗-IGF-1R 抗体,所述化学治疗混合物包含至少 2 种或更多种化疗剂,其与单独的化疗剂相比,不会显著增加不利事件事故的发生。

[0166] 受体酪氨酸激酶是较大的酶,它们跨细胞膜,并具有生长因子(诸如表皮生长因子)的胞外结合域、跨膜结构域和细胞内部分,所述细胞内部分起激酶的功能,以磷酸化蛋白中的特定酪氨酸残基,并从而影响细胞增殖。已知这样的激酶在普通的人癌症中经常异常地表达,所述人癌症例如肺癌、乳腺癌、胃肠道癌(诸如结肠癌、直肠癌或胃癌)、白血病和卵巢癌、支气管癌或胰腺癌。还已经证实,具有酪氨酸激酶活性的表皮生长因子受体(EGFR)在许多人癌症中突变和/或过表达,所述人癌症例如脑、肺、鳞状上皮细胞、膀胱、胃、乳腺、头颈部、食管、妇科和甲状腺肿瘤。

[0167] 因此,已经认识到,受体酪氨酸激酶的抑制剂可用作哺乳动物癌细胞生长的选择性抑制剂。例如,erbstatin(一种酪氨酸激酶抑制剂)会选择性地减弱移植进无胸腺的裸鼠中的表达表皮生长因子受体酪氨酸激酶(EGFR)的人乳腺癌的生长,但是对不表达 EGF 受体的另一种癌症的生长没有影响。

[0168] 还已经证实,不同的其它化合物(诸如苯乙烯衍生物)具有酪氨酸激酶抑制性质。更近的 5 个欧洲专利公开(即 EP 0 566 226 A1、EP 0 602 851 A1、EP 0 635 507 A1、EP 0 635 498 A1 和 EP 0 520 722 A1)已经披露,某些喹唑啉衍生物具有抗癌性质,所述抗癌性质源自它们的酪氨酸激酶抑制性质。PCT 公开 WO 92/20642 也披露了双-单环和双环芳基和杂芳基化合物作为酪氨酸激酶抑制剂。

[0169] 在 1996 年 5 月 28 日提交的美国专利号 5,747,498 中描述了并要求保护制备和使用厄洛替尼的方法,该专利目前被转让给 Pfizer Inc.,其整个内容通过引用并入本文。

#### [0170] 给药剂量和途径

根据已知的方法,将本发明的包含 IGF-1R 特异性的抗体和化疗剂的组合治疗剂施用给人患者,所述方法例如:作为推注进行静脉内给药,或通过一段时间内的连续输注,通过肌肉内的、腹膜内的、脑脊髓内的、皮下的、关节内的、滑膜内的、鞘内的、口服的、局部的或吸入的途径。抗体的静脉内或皮下给药是优选的。预见到,3 种不同的递送方案可用于递送根据本发明的抗体。常规的静脉内递送可能是大多数肿瘤的标准递送技术。但是,对于有些肿瘤,诸如以卵巢、胆管、其它管等的肿瘤为代表的、在腹腔中的那些肿瘤,腹膜内给药可能被证实是有用的,可用于在肿瘤处获得高剂量的抗体,并使抗体清除最小化。以类似的方式,某些实体肿瘤具有适合局部灌注的脉管系统。局部灌注允许在肿瘤部位处获得高剂量的抗体,并使抗体的短期清除最小化。

[0171] 与基于任意蛋白或抗体输注的治疗一样,安全性问题主要涉及:(i) 细胞因子释

放综合征,即,低血压、发热、震颤、寒冷,(ii) 对物质的免疫原性应答的发展(即,患者的针对抗体治疗剂的人抗体的发展,或 HAHA 或 HACA 应答),和 (iii) 对表达 EGF 受体的正常细胞(例如,表达 EGFR 和 / 或 IGF-1R 的肝细胞)的毒性。可以利用标准试验和随访来监测这些安全性问题中的每一种。具体地,在临床试验的过程中,经常监测肝功能,以便评估对肝脏的损伤(如果存在的话)。

[0172] 为了预防或治疗疾病,抗体的适当剂量取决于要治疗的疾病的类型(如上面所定义)、疾病的严重性和病程、为了预防还是治疗目的而施用抗体、以前的治疗、患者的临床史和对抗体的应答、以及主治医师的考虑。合适地,将抗体一次性地或在一系列治疗中施用给患者。在组合治疗方案中,以治疗上有效的或协同的量,施用本发明的组合物。本文使用的“治疗有效量”是抗-IGF-1R 抗体和一种或多种其它治疗剂的共同施用,或本发明组合物的施用,会导致靶向的疾病或病症的减轻或抑制。治疗上协同的量是,协同地或显著地减轻或消除与特定疾病有关的病症或征状所必需的抗-IGF-1R 抗体和一种或多种其它治疗剂的量。

[0173] 在一个宽广的实施方案中,本发明的治疗包括:组合施用抗-IGF-1R 抗体和一种或多种化疗剂。所述组合施用包括共同施用、使用单独的制剂或单个药物制剂、和以任意次序连续施用,其中优选地存在两种(或所有)活性剂同时发挥它们的生物学活性的时间段。根据生产商的说明书,或由熟练的从业人员以经验为主地确定,可以使用这样的化疗剂的制剂和给药方案。用于化学疗法的制剂和给药方案,也描述在:Chemotherapy Service, M. C. Perry 编, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992)。化疗剂可以在施用抗体之前或之后,或可以与其同时给药。本发明的治疗组合的临床剂量可能受到不良反应皮疹的限制,如目前在临床中使用的单克隆抗-IGF-1R 抗体和酪氨酸激酶抑制剂(TKI)(厄洛替尼和吉非替尼)所观察到的。

[0174] 术语“治疗有效量”或“治疗上有效的剂量”意指,会引起组织、系统、受试者或宿主的生物学或医学应答的本发明组合物(例如,IGF1R 抑制剂,诸如抗-IGF1R 抗体)的量或剂量,所述应答是施用人员(例如研究人员、医生或兽医)所寻求的,包括癌症(诸如非小细胞肺癌或任意其它厄洛替尼或 IGF-1R 抗性的癌症)的病征、征状和 / 或临床标记的任何可测量的减轻(例如,肿瘤生长),和 / 或任何程度的癌症进展或转移的阻止、减缓或中断。

[0175] 合适的剂量是医学从业人员已知的,且当然地取决于具体疾病状态、施用的组合物的比活、和接受治疗的具体患者。在有些情况下,为了达到希望的治疗量,可能必须提供重复给药,即,重复单独施用的特定监测的或剂量的剂量,其中重复单独施用直到达到希望的日剂量或效果。在下面的实施例中,提供了关于合适的剂量的其它信息。

[0176] 例如,在一个实施方案中,任意抗-IGF1R 抗体(例如,与 Dolutuzumab 相对应的抗体或其抗原结合片段或本文所述的任意其它抗-IGF1R 抗体)的“治疗上有效的剂量”是:约 40 至约 1000 mg/m<sup>2</sup>(例如,约 50 mg/m<sup>2</sup>、60 mg/m<sup>2</sup>、70 mg/m<sup>2</sup>、80 mg/m<sup>2</sup>、90 mg/m<sup>2</sup>、100 mg/m<sup>2</sup>、约 200 mg/m<sup>2</sup>、约 300 mg/m<sup>2</sup>、约 400 mg/m<sup>2</sup>、约 500 mg/m<sup>2</sup>、约 600 mg/m<sup>2</sup> 或约 700 mg/m<sup>2</sup>) 或 1-20 mg/kg 体重(例如,约 1 mg/kg 体重、约 2 mg/kg 体重、约 3 mg/kg 体重、约 4 mg/kg 体重、约 5 mg/kg 体重、约 6 mg/kg 体重、约 7 mg/kg 体重、约 8 mg/kg 体重、约 9 mg/kg 体重、约 10 mg/kg 体重、约 11 mg/kg 体重、约 12 mg/kg 体重、约 13 mg/kg 体重、约 14 mg/kg 体重、约 15 mg/kg 体重、约 16 mg/kg 体重、约 17 mg/kg 体重、约 18 mg/kg 体重、约 19 mg/

kg 体重、约 20 mg/kg 体重),每周一次。

[0177] 可以调节剂量方案,以提供所期望的最佳应答(如治疗应答)。例如,可以施用单次剂量,或者可以在一段时间内施用几个分份剂量,或者根据治疗情况的紧急程度按比例地减小或增加剂量。例如,根据患者的年龄、体重、身高、既往病史、现在的用药以及可能的交叉反应、变态反应、敏感性和不利的副作用,本领域普通技术水平的从业人员(如医生或兽医)可以决定或调节剂量。尤其有益的是,将肠胃外组合物配制为剂量单位形式,以易于施用并使剂量一致。

[0178] 具有本领域普通技术水平的医生或兽医可容易地决定并开出所需药物组合物的有效量。例如,医生和兽医可从低于达到期望的治疗效果所需的剂量水平开始,开出在药物组合物中所使用的本发明的抗体或抗原结合片段的剂量,并逐步提高剂量,直到获得期望的效果。例如,通过测定受试者中正接受处理的肿瘤是否缩小或停止生长,可以确定本发明抗体或组合的给定剂量或治疗方案的有效性。可以容易地测定肿瘤大小,例如,通过 X-射线、磁共振成像(MRI)或在外科手术中目视观察。还可通过利用胸苷 PET 扫描,测定肿瘤大小和增殖(参见例如, Wells 等, Clin. Oncol. 8: 7-14 (1996))。一般而言,胸苷 PET 扫描包括:注射放射性示踪剂,例如 [2-<sup>11</sup>C]-胸苷,然后对患者身体进行 PET 扫描(Vander Borgh 等, Gastroenterology 101: 794-799, 1991; Vander Borgh 等, J. Radiat. Appl. Instrum. Part A, 42: 103-104 (1991))。其它可使用的示踪剂包括:[<sup>18</sup>F]-FDG (18-氟去氧葡萄糖)、[<sup>124</sup>I]IUdR (5-[<sup>124</sup>I]碘-2'-脱氧尿苷)、[<sup>76</sup>Br]BrdUrd (溴脱氧尿苷)、[<sup>18</sup>F]FLT (3'-脱氧-3'-氟胸苷)或 [<sup>11</sup>C]FMAU (2'-氟-5-甲基-1-β-D-阿拉伯呋喃糖尿嘧啶)。

[0179] 例如,医生或兽医可通过多种方法监测 NSCLC 进展,并相应地改变给药方案。监测进展的方法包括,例如,CT 扫描(如监测肿瘤大小)、MRI 扫描(如监测肿瘤大小)、胸部 X-射线检查(如监测肿瘤大小)、骨扫描、骨髓活组织检查、激素试验、全血检查(CBC)、测试尿或血液中的 NSCLC 肿瘤标志物。

[0180] 根据疾病的类型和严重性,约 1 μg/kg-50 mg/kg(例如 0.1-20 mg/kg)的抗体是施用给患者的初始候选剂量,例如,通过一次或多次分开的给药,或通过连续输注。典型的日剂量范围可以是约 1 μg/kg 至约 100 mg/kg 或更多,取决于上述因素。对于几天或更长的重复给药,根据病症,持续治疗直到发生希望的疾病症状抑制。但是,其它剂量方案可能是有用的。

[0181] 在一个方面,每周施用本发明的抗体,或可以每 2-3 周施用,剂量范围为约 5 mg/kg 至约 15 mg/kg。

[0182] 更优选地,这样的给药方案与化学治疗方案组合使用,用于治疗厄洛替尼抗性的癌症诸如 NSCLC。在有些方面,所述化学治疗方案包括传统的高剂量间歇给药。在有些其它方面,使用更低和更高频率的剂量,没有计划中的中断(“节拍化学疗法”),施用所述化疗剂。通过常规技术和试验,可以容易地监测本发明的治疗的进展。

[0183] 在一个实施方案中,给药次序包括:与 IGF-1R 抗体同时施用厄洛替尼(口服)——每天施用厄洛替尼,同时每周施用 IGF-1R 抗体(MK-0646)。具体地,以 10 mg/kg 的剂量,每周静脉内施用 MK-0646 (IGF-1RmAb),同时每天施用 150 mg 的厄洛替尼。

[0184] IGF-1R 抗体的替代给药方案如下:

- (i) 15 mg/kg 起始, 随后每周 7.5 mg/kg
- (ii) 每 2 周 20 mg/kg
- (iii) 每 3 周 30 mg/kg。

[0185] 对于肠胃外给药, 可以将抗体配制为溶液、混悬液、乳剂或低压冻干的粉末, 其与药学上可接受的肠胃外媒介物相组合, 或分别提供。这样的媒介物的实例是水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液和 1-10% 人血清白蛋白。也可以使用脂质体和非水性的媒介物, 诸如不挥发性油。媒介物或低压冻干的粉末可以含有添加剂, 所述添加剂维持等渗性 (例如, 氯化钠、甘露醇) 和化学稳定性 (例如, 缓冲剂和防腐剂)。通过已知的或合适的技术, 将制剂灭菌。所述组合治疗的施用可以持续, 直到疾病进展。

[0186] 尽管已经用一般术语描述了本发明, 在下面的实施例中将进一步公开本发明的实施方案。

#### [0187] 制品

在本发明的另一个实施方案中, 提供了制品, 其包含对于治疗上述障碍有用的材料。该制品包括容器、标签和包装说明书。适当的容器包括, 例如瓶、管形瓶、注射器等。该容器可以由各种材料 (例如玻璃或塑料) 制成。该容器包含对治疗病症有效的组合物, 并可具有无菌入口 (例如, 该容器可以是静脉注射溶液袋或具有塞子的管形瓶, 所述塞子可被皮下注射针头刺穿)。在组合物中的至少一种活性剂是抗 -IGF-1R 抗体。在容器上或与容器相联的标签标明, 该组合物可用于治疗所选择的病症。该制品可以另外包括第二个容器, 所述第二个容器包含药学上可接受的缓冲液, 例如磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。它可以另外包括从商业和用户立场来说需要的其它材料, 包括其它缓冲液、稀释剂、过滤器、针和注射器。此外, 该制品可以包括包装说明书和使用说明书, 包括例如指示该组合物的用户给患者施用抗 -IGF-1R 抗体组合物和 EGFR- 抑制剂例如厄洛替尼组合物。

[0188] 在本文中提及的所有出版物都通过引用并入本文, 用于描述和公开例如在所述出版物中描述的构造和方法的目的, 所述构造和方法可能与本文所述的发明关联性地使用。在上面和贯穿本文所讨论的出版物, 仅为了它们在本申请的提交日之前的公开内容而提供。本文中的内容都不应解释为承认, 发明人由于在先发明而丧失早于这些公开内容的资格。

[0189] 实施例 1 - EGFR 和 IGF1R 的活化与 MK-0646/ 厄洛替尼组合的效能之间的关联:

概要: 细胞中的多种受体酪氨酸激酶活化会促成对厄洛替尼的抗药性。实际上, 已经在来自厄洛替尼抗性的患者的临床样品中, 观察到 EGFR 和 cMET 的活化。

[0190] 方法: 为了鉴别对 MK-0646/ 厄洛替尼组合做出响应的肿瘤, 评价了一组肺癌细胞系中不同的 RTK 的磷酸化状态。如图 1 所示, 定量了在一组 10 个肺癌细胞系中的活化的 EGFR 和 IGF1R 水平。以 NCI-H2122 和 NCI-H322M 为代表的少数细胞系表现出高水平的 P-IGF1R 和 P-EGFR, 而 EGFR 突变细胞系 HCC827 表现出高水平的 P-EGFR, 几乎不具有或根本不具有 IGF1R 活化。

[0191] 简而言之, 所有 NSCLC 细胞系都从 ATCC 得到, 并按照 ATCC 的指示, 维持在含有 10% FBS 的 DMEM 或 RPMI 中。在 10cm 平板中培养约 200 万细胞, 并从亚汇合的培养物制备蛋白裂解物, 按照生产商所述, 印迹到 P-RTK 阵列 (R&D bioscience) 上。用 HRP- 缀合的 P-Tyr 抗体探测阵列, 然后用 SuperSignal 化学发光底物 (Pierce) 温育, 再将印迹暴露于 Kodak

Biomax Light 胶片。扫描胶片,并比对适当的 RTK 斑点的位置(一式两份地),使用光密度测定法测定强度,并定量(Alpha Ease)。通过用点样(spotted)在膜上的阳性对照(P-Tyr 肽)标准化(双份斑点在膜的4个角上),估测 P-RTK 的相对水平。

**[0192] 实施例 2 - MK-0646/ 厄洛替尼组合对 PI3K 和 RAS-MAPK 信号传递的抑制**

**概要:**为了测试这些 RTK 对 PI3K 和 RAS-MAPK 途径活性的抑制作用,测量了途径中关键节点的磷酸化状态。如图 2 所示,EGFR 和 IGF1R 的组合抑制可以更有效地阻断 PI3K 途径,如通过 NCI-H2122 和 NCI-H322M 细胞系中 P-S6RP 和 P-S6K 的大幅降低所测得的,所述细胞系表达高水平的两种受体。在具有低水平的 P-EGFR 和 P-IGF1R 的细胞系中,没有观察到 PI3K 信号传递的这种协同抑制(A427 显示为实例)。在其它细胞系中,得到了类似的结果(数据未显示)。

**[0193] 方法:**对于蛋白印迹分析,将来自细胞( $\sim 30$ 万)的总蛋白裂解物收获到 SDS 凝胶装载染料(Invitrogen)中,所述细胞在 6 孔平板中培养,并用 Deforolimus (10nM) 或 MK-0646 (10ng/ml) 或二者的组合处理 4 小时。用指定的总抗体或磷酸特异性的抗体、随后用第二抗体(Cell Signaling Technology, CST),对样品进行蛋白印迹,然后用 SuperSignal 化学发光底物(Pierce)进行温育。然后将印迹暴露于 Kodak Biomax Light 胶片。针对 ERK、p-ERK (Thr202/Tyr204)、AKT 和 p-AKT (Ser473)、IGF1R T S6K & P-S6K (T389)、IRS1 & P-IRS1 (S302) 和肌动蛋白的抗体获自 CST。

**[0194] 实施例 3 - 抑制 EGFR 和 IGF-1R 信号传递的功能效果**

**概要:**为了测试抑制 EGFR 和 IGF1R 信号传递的功能效果,评价了在粘附(2D)和非粘附(3D)条件下的生长抑制。在粘附生长条件下,在 MK-0646 处理的细胞系中,没有观察到显著的生长抑制。这与以前的实验相一致(数据未显示)。为了测试该组合在 3D 非粘附条件下的作用,发明人开发了基于超低粘附平板的增殖试验。当在非粘附条件下培养时,仅 7/10 的细胞系可测量地生长,并被用于敏感性评估。在非粘附条件下,NCI-H2122 细胞表现出对厄洛替尼 /MK-0646 组合的敏感性的大幅增加。另一方面,具有低水平的 P-IGF1R 和 EGFR 的 A427 细胞在 2D 或 3D 生长条件下没有表现出显著的生长抑制。

**[0195] 方法:**将细胞( $\sim 3 \times 10^3$ )接种进粘附的或非粘附的(超低粘附平板; Corning) 96 孔平板中。在第 1 天,用指示浓度的厄洛替尼或 MK-0646 或其组合温育细胞,并收获一组细胞,用于 DNA 含量测量(第 1 天)。每 3 天慢慢地更换培养基和药物,在试验结束时(如指示的),收获平板,按照生产商的描述,使用 Cyquant 试验测量 DNA 含量。基于从第 1 天至试验结束时 DNA 含量的增加,计算原有生长(intrinsic growth)。

**[0196] 实施例 4 - 为了证实上述结果,发明人利用了高通量软琼脂菌落形成试验。使用荧光活细胞染料(Lava Cell),定量锚着非依赖性的生长。MK-0646 和厄洛替尼组合显著地抑制 NCI-H2122 和 A549 细胞系的软琼脂菌落形成(图 4:与对照相比,  $P > 0.0001$ )。在有该组合存在下, H460 细胞也表现出增加的生长抑制。因而, 体外分析鉴别出 3/10 的细胞系(30%)对 MK-0646 和厄洛替尼的组合更好地做出应答。这与两种 RTK (EGFR 和 IGF1R) 的活化有关。**

**[0197] 方法:**在 96 孔玻璃底平板(MatriCal)中进行软琼脂试验。以 3,000-9,000 细胞/孔的浓度,将细胞接种进 100  $\mu$ l 的补充了 14% FBS 和 0.3% (w/v) SeaPlaque 琼脂糖(Lonza Rockland, Inc)的 RMPI 1640 中,所述 RMPI 1640 是在由补充了 0.8% 琼脂糖的相

同培养基组成的底层的上面。在琼脂糖已经固化以后,将化合物加入 100  $\mu$ l 的被补充的培养基中。将细胞温育 7-14 天,然后用 LavaCell (Active Motif) 染色过夜。使用 Isocyte™ 激光扫描细胞计数器,定量菌落。在软琼脂菌落形成试验中,评价了单独的或与标准治疗剂相组合的 MK-0646 抑制锚着非依赖性的生长的能力。按照生产商的描述,使用 P-RTK 阵列 (R&D biosciences),在总蛋白裂解物中评价了 RTK 状态。从公开的癌症基因组数据库 (Sanger),鉴别出 KRAS 中的活化突变。

[0198] 实施例 5 - 在 KRAS 突变型肺肿瘤异种移植模型中评价厄洛替尼和 MK-0646 效能

以前,来自 k-RAS 突变型 NCI-H2122 异种移植 (在体外高 p-IGF1R 和 p-EGF1R) 的体内数据证实了肿瘤生长的良好抑制,其与 IGF1R 受体下调相关联。在 MK-0646 治疗以后,也观察到 PI3K 途径抑制。使用该异种移植模型,发明人评价了与厄洛替尼相组合的 MK-0646 在厄洛替尼抗性的 KRAS 突变型患者群体中的作用。如图 5 所示, MK-0646 (2mpk; 每周给药 1 次) 和厄洛替尼 (50mpk) 的组合导致显著的肿瘤生长抑制和甚至异种移植物的消退,因而为 MK-0646 和厄洛替尼的组合用于治疗特征在于 KRAS 突变型肺肿瘤的病理学的基础理论提供了其它证据。

[0199] 方法:将  $2.5 \times 10^6$  个 NCI-H2122 人 NSCLC 细胞皮下地注射进 4-6 周龄 nu/nu 小鼠 (Charles River Laboratories) 的右侧腹。当肿瘤达到约  $300 \text{ mm}^3$  (长度 \* 宽度 \* 宽度 \* 0.5) 的大小时,将小鼠随机分入处理组。给小鼠 (n=8/组) 施用媒介物,每周 1 次持续 3 周 (qw x 3) (20 mM L-组氨酸, 150mM NaCl, 0.5% PS80 pH= 6),或者每周 1 次腹膜内施用 2 mpk MK-0646,或者每天施用厄洛替尼 (50 mg/kg, 经口管饲法) 或与 MK-0646 的组合持续 3 周。在研究过程中和结束时,将动物称重,用测径器测定肿瘤体积,每周 2 次。在结束时,测定肿瘤重量。在第 21 天,通过 CO<sub>2</sub> 窒息,处死动物。在最终剂量以后 24 小时,处死小鼠。在处死时,收集组织样品,并处理。

[0200] 实施例 6 - 效能和总蛋白水平的降低之间的关联。

[0201] 概要:作为靶标结合的度量,通过蛋白印迹 ELISA,测定总 IGF1R 水平 (数据未显示)。数据显示出效能和总蛋白水平的降低之间的美好关联。如图 6 所示,在每组中,与媒介物或单独的厄洛替尼处理相比, MK-0646 能够降低总 IGF1R 水平。这些数据提示,总 IGF1R 水平可以用作靶标结合、以及单独的 MK-0646 或其它靶向剂的组合在长期慢性治疗中的效能的良好生物标志物。而且,在用该组合处理的肿瘤中,观察到显著的 PI3K 途径抑制,这通过 P-AKT、PS6K 和 PS6RP 的降低测得。该组合也会抑制 RAS-MAPK 途径。这些数据提示,与单独施用的每种药剂相比, IGF1R 和 EGFR 的组合抑制会导致增强的生长因子信号传递抑制,产生抗肿瘤效能。参照图 7,在另一个 KRAS 突变型厄洛替尼抗性的 NSCLC 模型中,也观察到厄洛替尼和 MK-0646 组合的类似的抗肿瘤效能。

[0202] 方法:在效能研究结束时 (在指示的剂量以后 4 周),从异种移植样品分离出总蛋白 (500 微克)。分析来自 6 个独立肿瘤样品,用于 east 处理。如以前所述,对蛋白进行蛋白印迹,并显影 (参见图 2)。

[0203] 序列列表

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln – SEQ. ID.

NO. 1

Lys Val Ser Asn Arg Leu Tyr – SEQ. ID. NO. 2

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr – SEQ. ID. NO. 3

Gly Gly Tyr Leu Trp Asn – SEQ. ID. NO. 4

Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Lys Pro Ser Leu Lys Asp – SEQ. ID.

NO. 5

Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr – SEQ. ID. NO. 6

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Leu  
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Leu Tyr Gly Val Pro  
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp  
Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu  
Ile Lys – SEQ. ID. NO. 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Leu  
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Leu Tyr Gly Val Pro Asp  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val  
Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
Lys – SEQ. ID. NO. 8

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser  
Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly Tyr Leu Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro  
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Lys Pro Ser Leu Lys  
Asp Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala  
Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser – SEQ. ID. NO. 9

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser  
Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly Tyr Leu Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro  
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Lys Pro Ser Leu Lys  
Asp Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala  
Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser – SEQ. ID. NO. 10

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser  
Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Gly Gly Tyr Leu Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro  
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Lys Pro Ser Leu Lys



Asp Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala  
Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser – SEQ. ID. NO. 11

Asp Val Leu Met Thr Gln Ile Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala  
Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Leu  
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Leu Tyr Gly Val Pro Asp  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Leu  
Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
Lys – SEQ. ID. NO. 12

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Ser Leu Ser  
Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Gly Gly Tyr Leu Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro  
Gly Asn Lys Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Lys Pro Ser Leu  
Lys Asp Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr  
Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser – SEQ. ID. NO. 13

## 序列表

<110> Merck Sharp & Dohme Corp.  
Sathyanarayanan, Sriram  
Kasibhatla, Shailaja  
Winter, Christopher  
Chastain, Michael

<120> 使用抗 -EGFR 剂和 IGF-1R 特异性的抑制剂的组合治疗

<130> MRL-ONC-00013

<150> 61/169, 768

<151> 2009-04-16

<160> 13

<170> 用于 Windows 4.0 版的 FastSEQ

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 1

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Gln

1

5

10

15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 2

Lys Val Ser Asn Arg Leu Tyr

1

5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 3

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr

1

5

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 4

Gly Gly Tyr Leu Trp Asn

1

5

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 5

Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Thr	Asn	Asn	Tyr	Lys	Pro	Ser	Leu	Lys	Asp
1				5					10					15	

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 6

Tyr	Gly	Arg	Val	Phe	Phe	Asp	Tyr
1				5			

<210> 7

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 7

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5				10						15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Ile	Val	His	Ser
			20					25					30		
Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Gln	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35				40					45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Leu	Tyr	Gly	Val	Pro
		50				55					60				



<223> 完全合成的氨基酸

<400> 9

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

<210> 10

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 10

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Thr	Gly	Gly
				20					25					30	
Tyr	Leu	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
			35				40						45		
Ile	Gly	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Thr	Asn	Asn	Tyr	Lys	Pro	Ser	Leu
			50				55					60			
Lys	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser

65	70	75	80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Tyr Gly Arg Val Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
	100	105	110
Val Thr Val Ser Ser			
	115		

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 11

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

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 12

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

<210> 13

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 完全合成的氨基酸

<400> 13

Asp	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Ser	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ser	Val	Thr	Gly	Tyr	Ser	Ile	Thr	Gly	Gly
			20					25					30		
Tyr	Leu	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Phe	Pro	Gly	Asn	Lys	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			
Met	Gly	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Thr	Asn	Asn	Tyr	Lys	Pro	Ser	Leu
	50						55					60			



---

Lys	Asp	Arg	Ile	Ser	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Phe	
65					70					75					80	
Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Asn	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90					95	
Ala	Arg	Tyr	Gly	Arg	Val	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	
				100						105					110	
Leu	Thr	Val	Ser	Ser												
				115												

EGFR和IGF1R信号传递途径之间的交叉

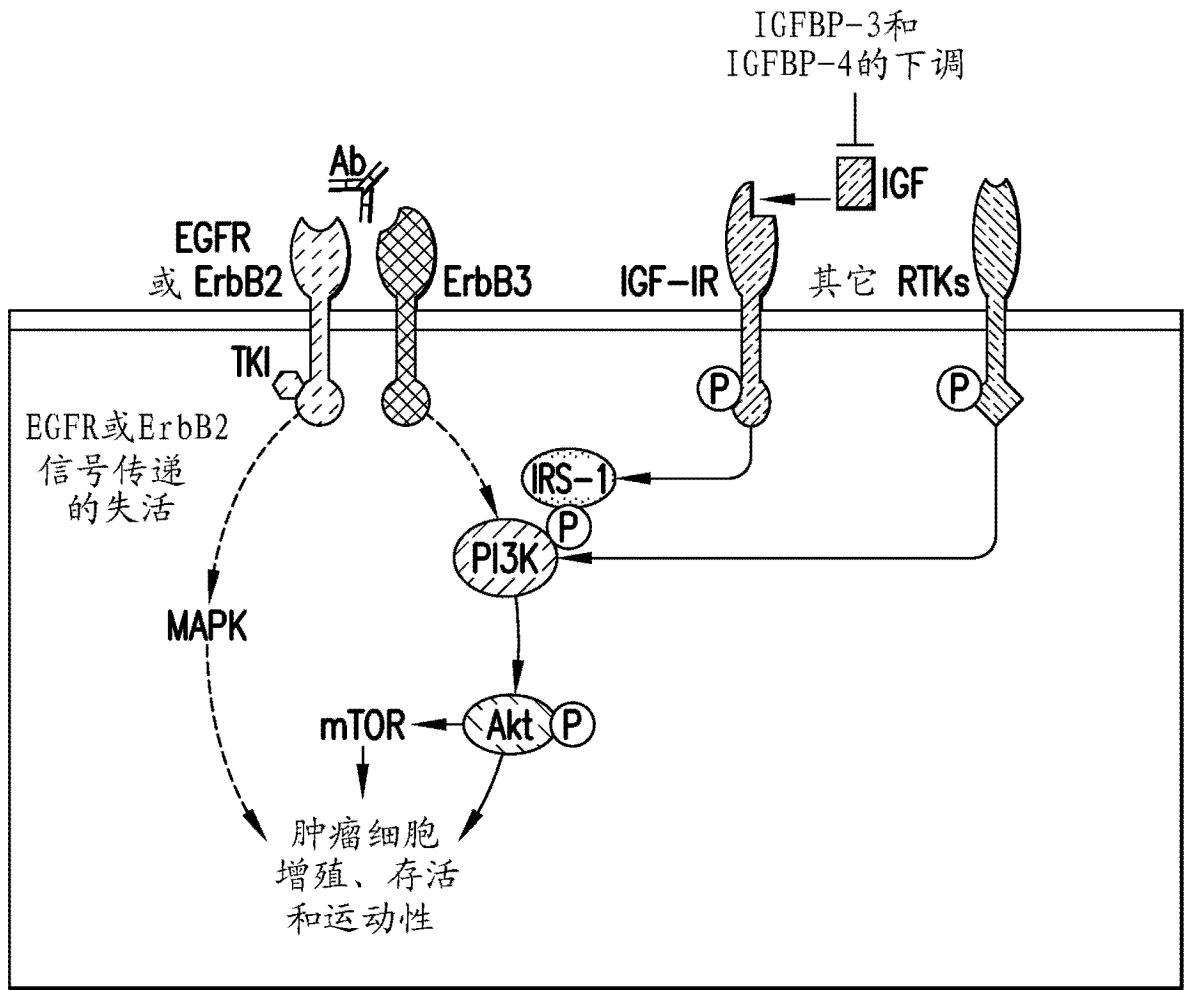


图 1A

肺细胞系集合中IGF和EGF受体的活化的多样性

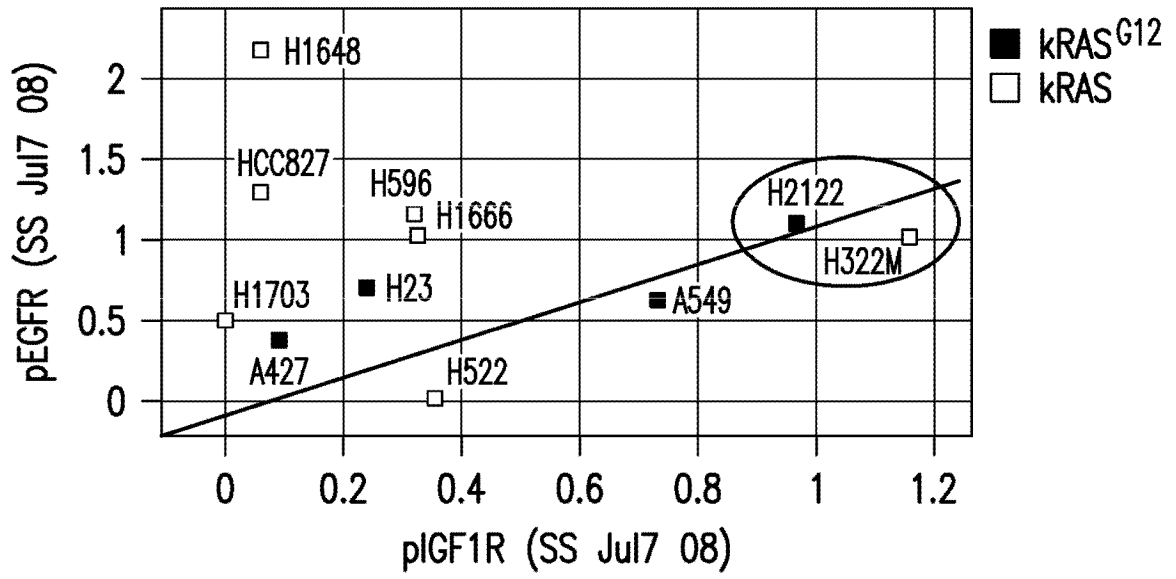


图 1B

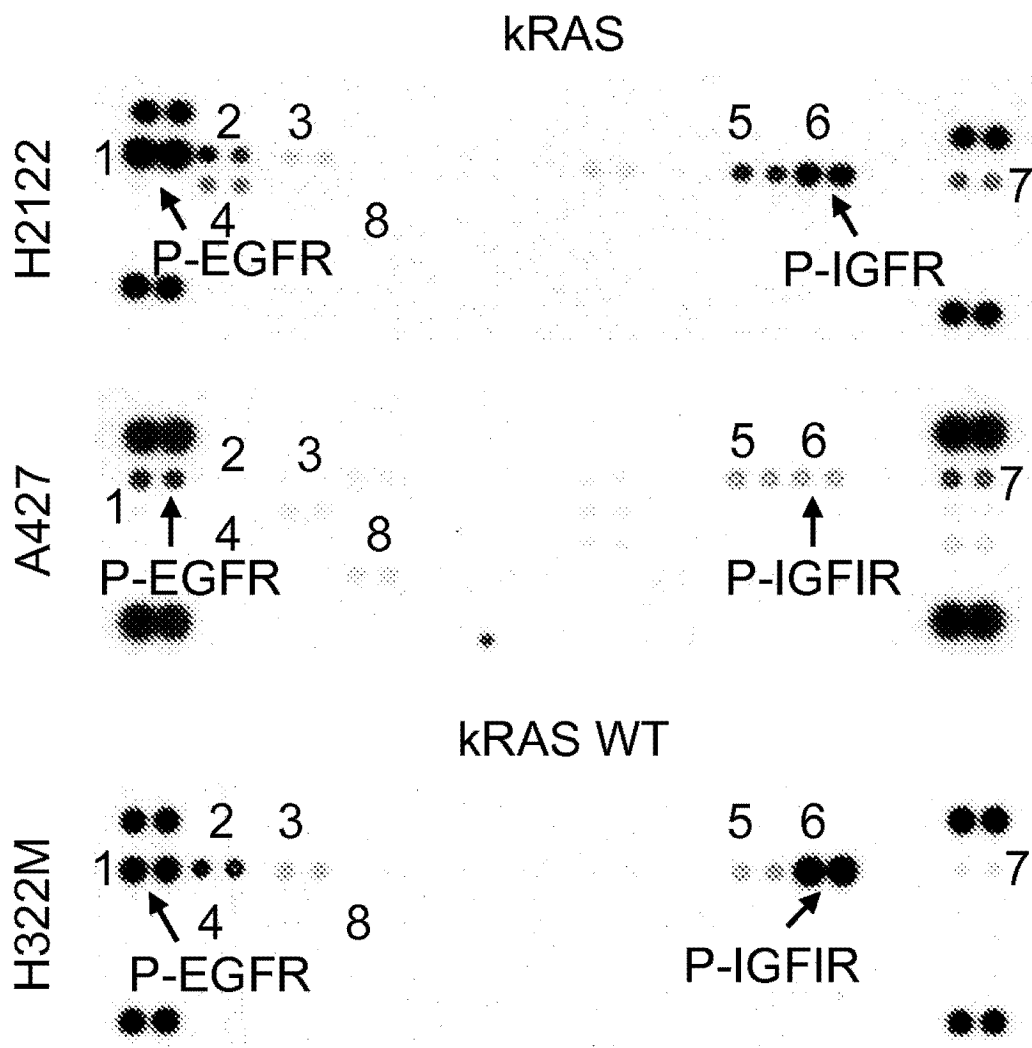


图 1C

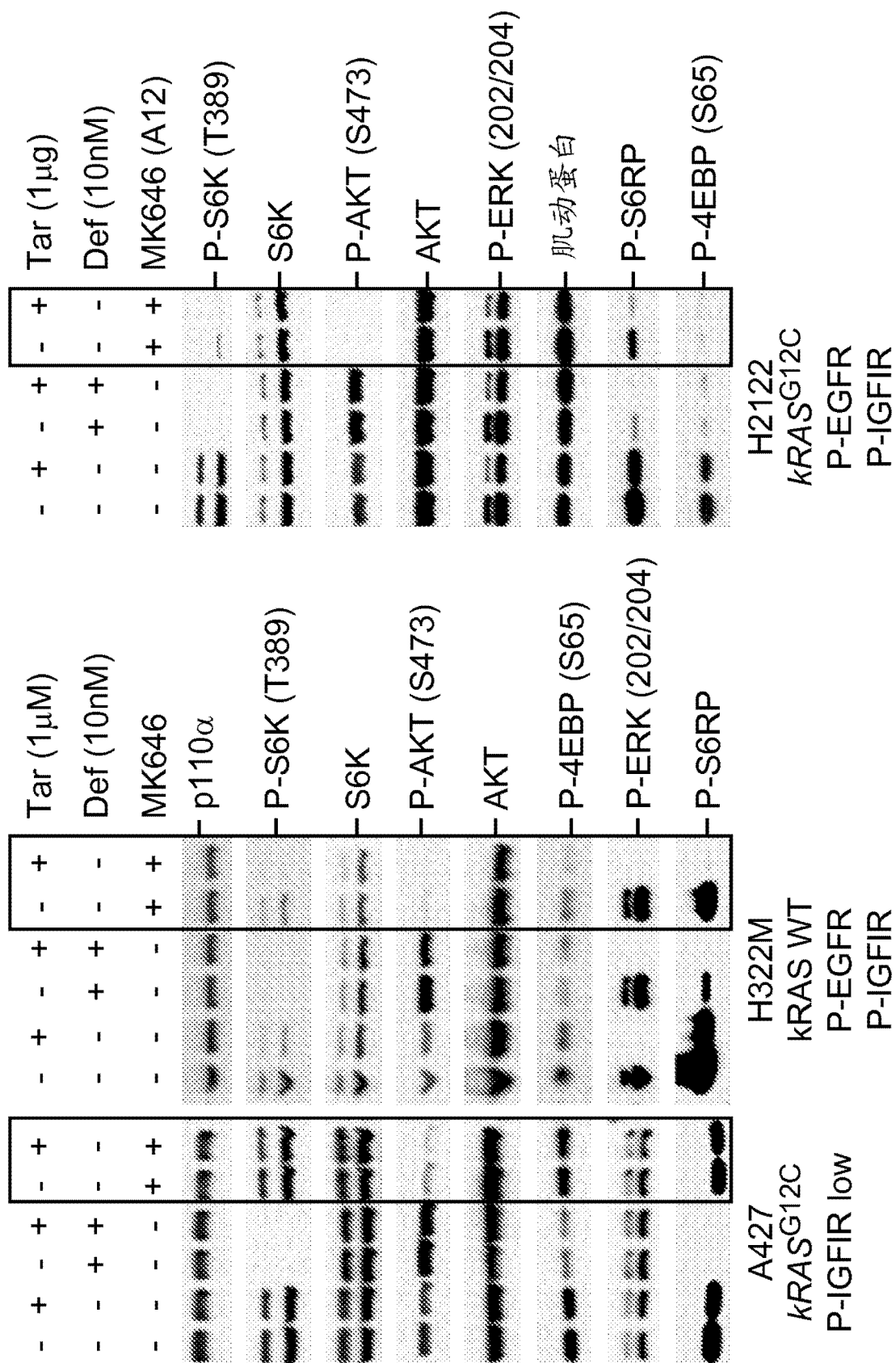


图 2

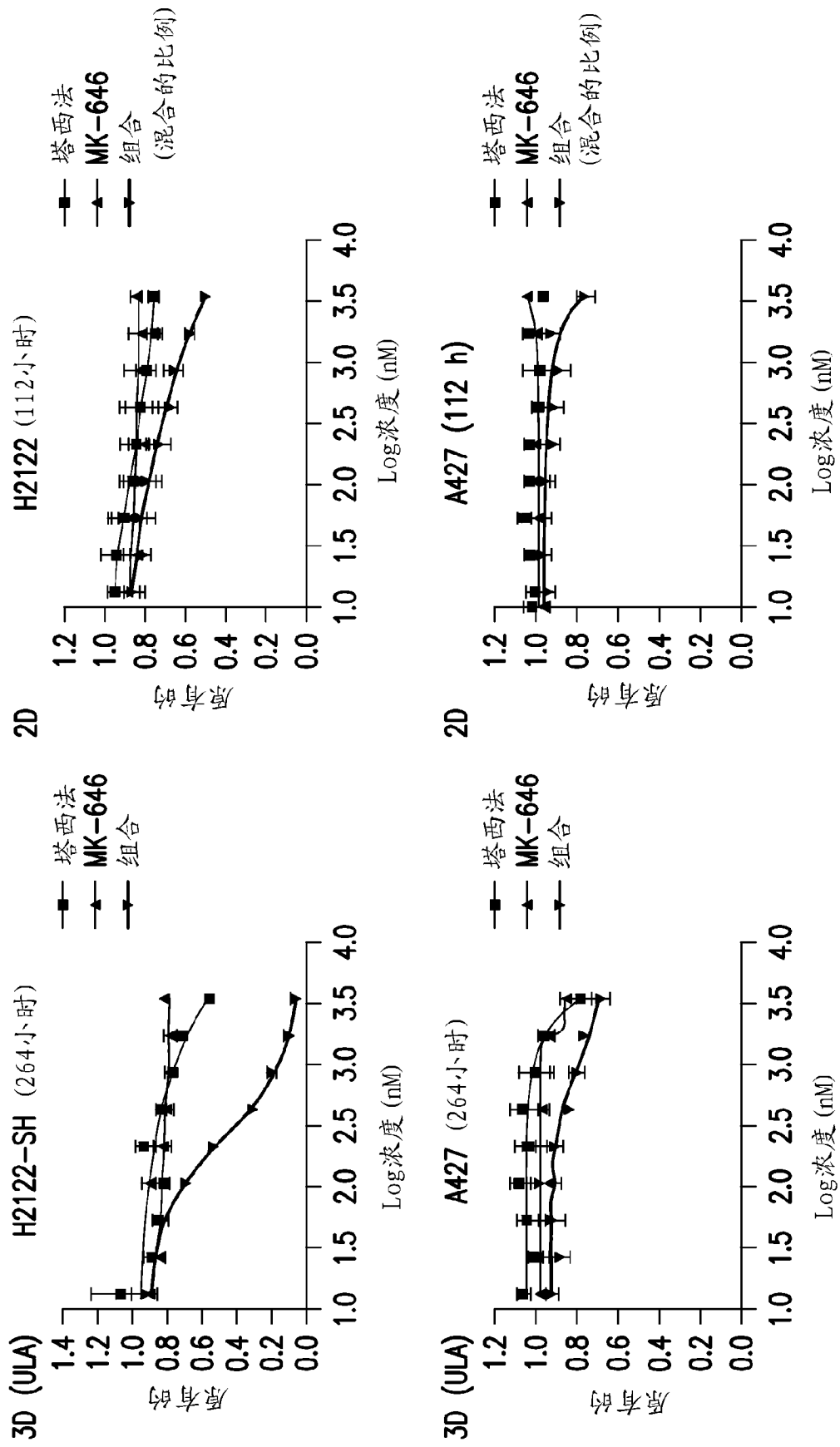


图 3

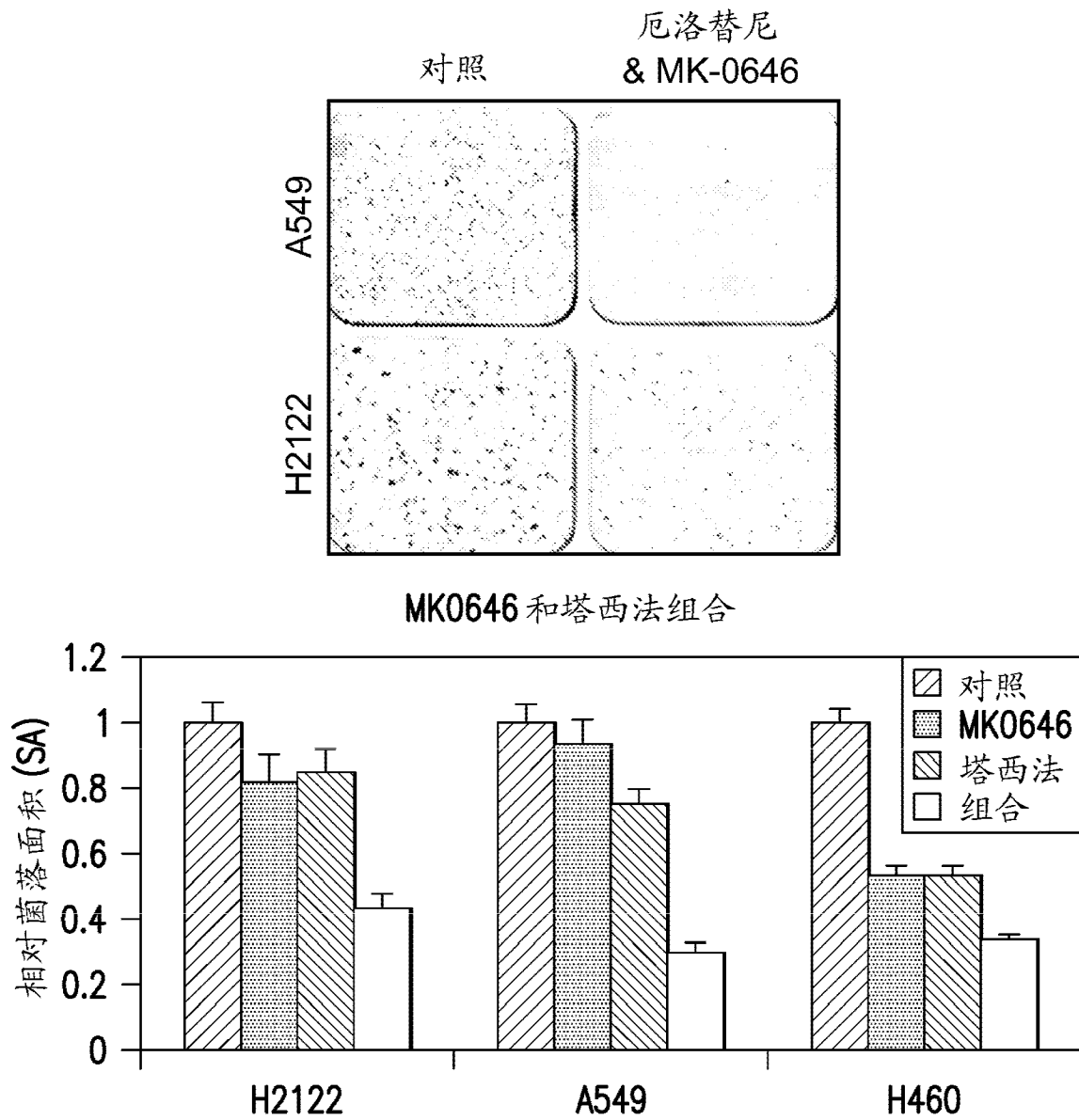


图 4

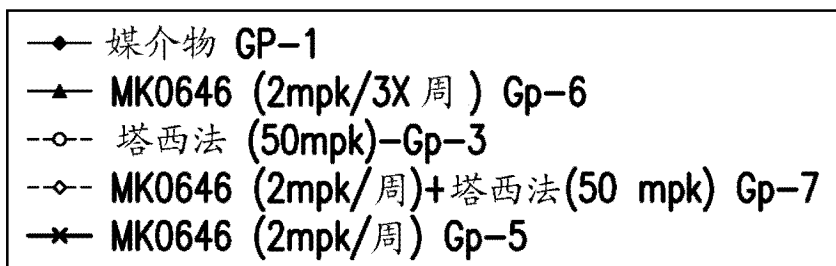
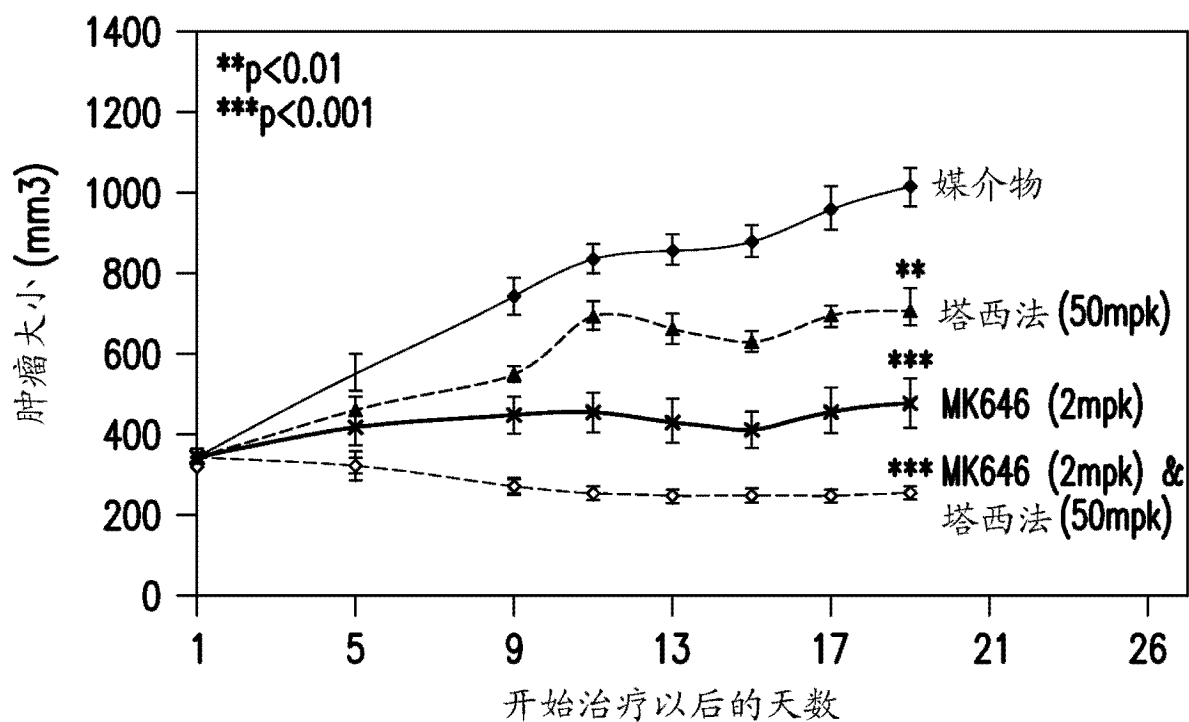


图 5



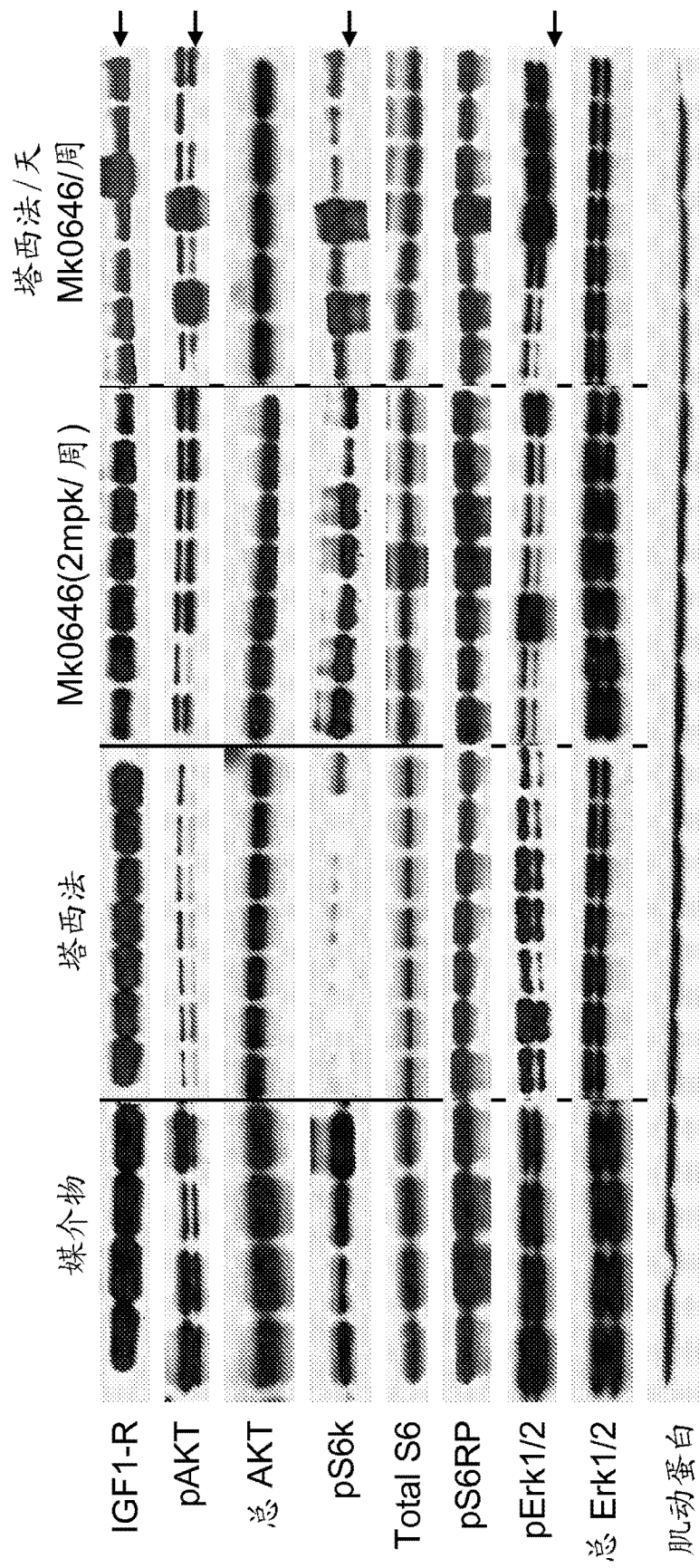


图 6

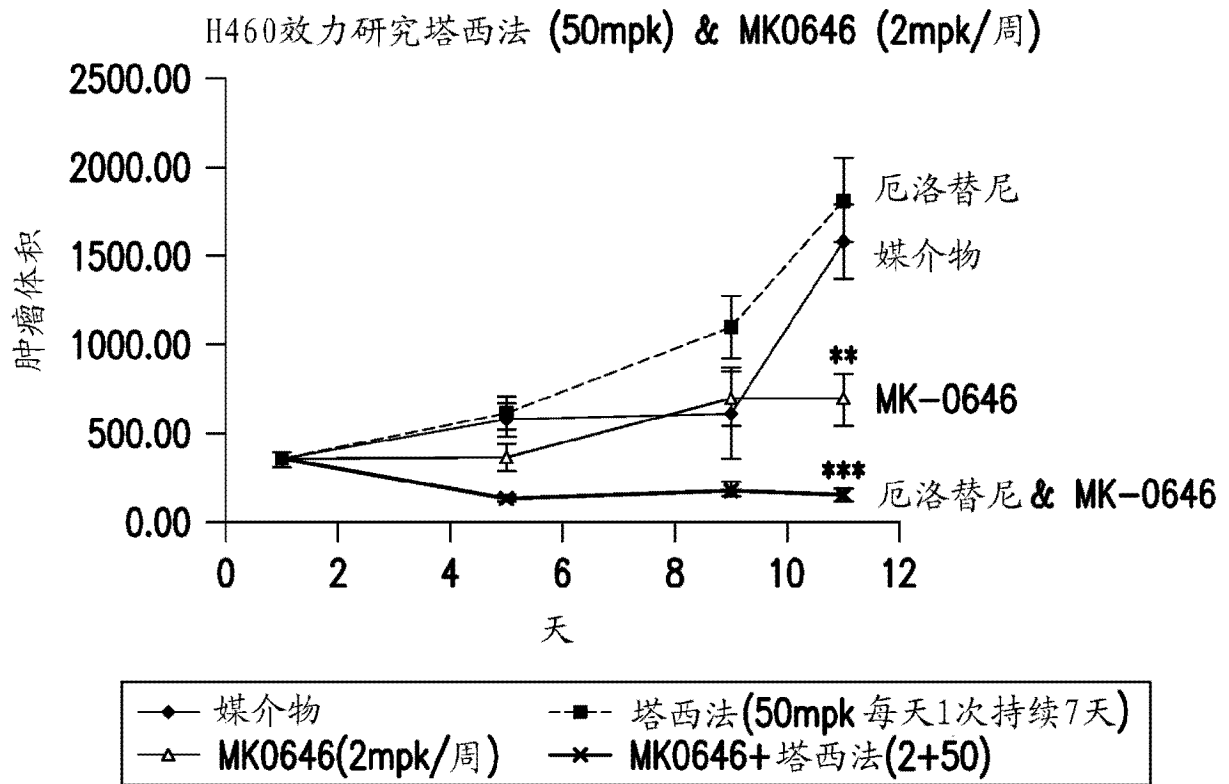


图 7