



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I439285 B

(45) 公告日：中華民國 103 (2014) 年 06 月 01 日

(21) 申請案號：100126443

(22) 申請日：中華民國 93 (2004) 年 03 月 09 日

(51) Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

C07K16/24 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2003/03/10 美國

60/453,672

(71) 申請人：默沙東藥廠(美國) MERCK SHARP &amp; DOHME CORP. (US)

美國

(72) 發明人：歐夫特 馬丁 OFT, MARTIN (DE) ; 麥克拉納漢 泰瑞爾 K MCCLANAHAN,

TERRILL K. (US)

(74) 代理人：陳長文

(56) 參考文獻：

WO 0185790A

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：0 共 0 頁

(54) 名稱

I L - 2 3 激動劑及拮抗劑之用途及相關試劑

USES OF IL-23 AGONISTS AND ANTAGONISTS; RELATED REAGENTS

(57) 摘要

本發明提供治療腫瘤之方法。詳言之，本發明提供用於調節細胞激素分子及其受體之活性之方法。

Provided are methods of treatment for tumors. In particular, methods are provided for modulating activity of a cytokine molecule and its receptor.

發明專利說明書

公告本

分割案

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：100126443

※ 申請日：93.3.9

原申請案號：093106213

※IPC 分類：

A61K39/395 (2006.01)

C07K16/24 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

## 一、發明名稱：(中文/英文)

IL-23激動劑及拮抗劑之用途及相關試劑

USES OF IL-23 AGONISTS AND ANTAGONISTS; RELATED REAGENTS

## 二、中文發明摘要：

本發明提供治療腫瘤之方法。詳言之，本發明提供用於調節細胞激素分子及其受體之活性之方法。

## 三、英文發明摘要：

Provided are methods of treatment for tumors. In particular, methods are provided for modulating activity of a cytokine molecule and its receptor.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於哺乳動物之細胞激素分子之用途及相關試劑。更詳言之，本發明係關於可用於治療增生性病徵之哺乳動物的細胞激素類蛋白質及其抑制劑之識別。

### 【先前技術】

癌症及腫瘤可藉由免疫系統來控制或根除。免疫系統包括幾種類型之淋巴及骨髓細胞，例如單核細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞(DC)、嗜曙紅細胞、T細胞、B細胞及嗜中性白細胞。該等淋巴及骨髓細胞產生分泌性訊號蛋白質，該等蛋白質稱為細胞激素。該等細胞激素包括：(例如)介白素-10 (IL-10)、干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、IL-12及IL-23。免疫反應包括發炎，亦即全身性或身體之特殊部位的免疫細胞之積聚。回應於感染劑或外來物質，免疫細胞會分泌細胞激素，而細胞激素又調節免疫細胞之增生、發展、分化或遷移。免疫反應可產生病理後果，例如在涉及過度發炎時，其如同自身免疫性病徵的情形，而受損的免疫反應會導致癌症。藉由免疫系統之抗腫瘤回應包括：先天免疫，例如藉由巨噬細胞、NK細胞及嗜中性白細胞來調停之免疫；及適應性免疫，例如藉由抗原遞呈細胞(APC)、T細胞及B細胞來調停之免疫(例如，參見Abbas等人(eds.) (2000) *Cellular and Molecular Immunology*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA；Oppenheim及Feldmann (eds.) (2001) *Cytokine Reference*, Academic Press, San Diego, CA；von

Andrian及Mackay (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1020-1034 ;  
Davidson及Diamond (2001) *New Engl. J. Med.* 345:340-350)。

調節免疫反應之方法已用於治療諸如黑素瘤之癌症。該等方法包括以細胞激素或抗細胞激素抗體來進行治療，例如IL-2、IL-12、腫瘤壞死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、IFN- $\gamma$ 、粒細胞巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)及轉化生長因子(TGF)。當癌細胞可產生增強其自身生長或其自身存活之細胞激素時，抗細胞激素抗體可作為適當的治療劑(例如，參見Ramirez-Montagut等人(2003) *Oncogene* 22:3180-3187；Braun等人(2000) *J. Immunol.* 164:4025-4031；Shaw等人(1998) *J. Immunol.* 161:2817-2824；Coussens及Werb (2002) *Nature* 420:860-867；Baxevanis等人(2000) *J. Immunol.* 164:3902-3912；Shimizu等人(1999) *J. Immunol.* 163:5211-5218；Belardelli及Ferrantini (2002) *TRENDS Immunol.* 23:201-208；Seki等人(2002) *J. Immunol.* 168:3484-3492；Casares等人(2003) *J. Immunol.* 171:5931-5939；Oft等人(2002) *Nature Cell Biol.* 4:487-494)。

介白素-23 (IL-23)係由兩個子單元(亦即p19及p40)組成之雜二聚細胞激素。p19子單元在結構上與IL-6、粒細胞集落刺激因子(G-CSF)及IL-12之p35子單元相關。IL-23之p40子單元亦為IL-12之部分，其中IL-12係包含p35及p40之雜二聚細胞激素。IL-23藉由結合至由IL-23R及IL-12 $\beta$ 1所組成之雜二聚受體來調停訊號。IL-12 $\beta$ 1子單元由IL-12受體共享，該IL-12受體由IL-12 $\beta$ 1及IL-12 $\beta$ 2組成。大量早期

研究證實：遺傳性缺乏 p40 之生理後果 (p40 剔除小鼠；p40KO 小鼠；p40<sup>-/-</sup> 小鼠) 不同於 p35KO 小鼠中所發現的生理後果，例如比之更嚴重或更不嚴重。該等結果中有一些結果最終藉由 IL-23 之探索及 p40KO 防止 IL-12 與 IL-23 二者之表現的發現來解釋 (Oppmann 等人 (2000) *Immunity* 13:715-725；Wiekowski 等人 (2001) *J. Immunol.* 166:7563-7570；Parham 等人 (2002) *J. Immunol* 168, 5699-708；Frucht (2002) *Sci STKE* 2002, E1-E3；Elkins 等人 (2002) *Infection immunity* 70:1936-1948；Cua 等人 (2003) *Nature* 421:744-748)。

用於治療癌症之本方法並非完全有效，且諸如 IL-12 或 IFN- $\gamma$  之細胞激素會產生毒副作用 (例如，參見 Naylor 及 Hadden (2003) *Int. Immunopharmacol.* 3:1205-1215；Fernandez 等人 (1999) *J. Immunol.* 162:609-617)。本發明藉由提供使用 IL-23 激動劑及拮抗劑之方法來解決該等問題。

### 【發明內容】

本發明係基於 IL-23 激動劑或拮抗劑可調節腫瘤生長之探索。

本發明提供一種調節腫瘤生長之方法，該方法包含使腫瘤細胞與有效劑量之 IL-23 激動劑或拮抗劑接觸。本發明亦提供其中 IL-23 拮抗劑抑制或防止腫瘤細胞生長之上述方法；及其中腫瘤細胞表現 IL-23 之上述方法。在另一態樣中，本發明提供其中 IL-23 激動劑或拮抗劑包含特定結合 p19 (序列標識號：1、2、3 或 4) 或 IL-23R (序列標識號：

5或6)之多肽或核酸的結合組合物之上述方法；或其中結合組合物包含下列各物之上述方法：抗體之抗原結合點，IL-23R (序列標識號：5或6)之細胞外區域，小分子，反義核酸或小干擾RNA (siRNA)，或可偵測標記；及其中結合組合物包含下列各物之上述方法：多株抗體，單株抗體，人化抗體或其片段，Fab、Fv或F(ab')<sub>2</sub>片段，或抗體之類肽物(peptide mimetic)。

而本發明之另一實施例提供一種調節腫瘤生長之方法，該方法包含使腫瘤細胞與有效劑量之IL-23激動劑或拮抗劑接觸；其中，腫瘤細胞為：結腸癌細胞，卵巢癌細胞，乳腺癌細胞或黑素瘤細胞。

在另一態樣中，本發明提供一種治療罹患癌症或腫瘤之患者的方法，該方法包含向患者投予有效劑量之IL-23激動劑或拮抗劑；及其中IL-23拮抗劑具有以下抑制作用之上述方法：抑制癌症或腫瘤之生長，抑制惡病質，抑制厭食症，或抑制血管生成。本發明亦提供其中IL-23拮抗劑包含特定結合p19 (序列標識號：1、2、3或4)或IL-23R (序列標識號：5或6)之多肽或核酸的結合組合物之上述方法。而本發明之另一實施例提供其中結合組合物包含下列各物之上述方法：抗體之抗原結合點，IL-23R (序列標識號：5或6)之細胞外區域，反義核酸或或小干擾RNA (siRNA)，小分子，或可偵測之標記；及其中結合組合物包含下列各物之上述方法：多株抗體，單株抗體，人化抗體或其片段，Fab、Fv或F(ab')<sub>2</sub>片段，或抗體之類肽物。

在另一實施例中，本發明提供其中癌症或腫瘤係以下各物之癌症或腫瘤的上述方法：胃腸道，呼吸道，生殖系統或內分泌系統；以及其中癌症或腫瘤為以下癌症或腫瘤之上述方法：結腸癌，卵巢癌，黑素瘤，或乳腺癌。

本發明之另一態樣提供以下兩種方法：一種診斷癌症或腫瘤之方法，該方法包含使來自受測者之樣本與上述方法之結合組合物接觸；以及其中結合組合物包含特定結合或雜交至序列標識號為1、2或5之聚核苷酸的核酸探針或底塗劑之上述診斷方法。

而本發明之另一實施例提供一種用於診斷癌症或腫瘤之套組，該套組包含上述方法之結合組合物及隔室或者使用或處置說明。本發明亦提供其中結合組合物包含特定結合至p19 (序列標識號：1、2、3或4)或IL-23R (序列標識號：5或6)之抗體的上述套組。

### 【實施方式】

如本文所使用，包括隨附申請專利範圍，除非上下文明確另行指出，否則諸如"一(a/an)"及"該(the)"等詞之單數形式包括對其相應之複數的提及。本文所引用的所有文獻均以引用的方式併入本文，該引用的程度就如同已特定地及個別地將各個公開案、專利申請案或專利案之揭示內容以引用的方式併入一般。

#### I. 定義

當"活化"、"刺激"及"治療"應用於細胞或受體時，其可具有相同的含義，例如，除非上下文或明確另行指出，否



則可以配位子來活化、刺激或治療細胞或受體。"配位子"涵蓋天然及合成配位子，例如細胞激素、細胞激素變體、同功異質體(analogue)、突變蛋白質及源於抗體之結合組合物。"配位子"亦涵蓋小分子，例如細胞激素之類肽物及抗體之類肽物。"活化"係指藉由內部機制調控及藉由外部或環境因子調控之細胞活化。"回應"，例如細胞、組織或器官之回應，涵蓋生化或生理行為之變化，例如生物隔室內之濃度、密度、黏附力或遷移之變化，基因表現之速率的變化，或分化狀態之變化，其中變化與活化、刺激或治療、或者諸如遺傳程式化之內部機制相關。

分子"活性"可描述或指代：將分子與配位子或受體結合，或催化活性；刺激基因表現或細胞訊號、分化或成熟之能力；抗原活性，對其它分子之活性的調節等。分子"活性"亦可指調節或維持細胞與細胞間的諸如黏附力之相互作用之活性，或維持諸如細胞膜或細胞骨架之細胞結構的活性。"活性"亦可意謂比活性，例如[催化活性]/[毫克蛋白質]，或[免疫活性]/[毫克蛋白質]，生物隔室中之濃度或其類似物。"增生活性"涵蓋：促進(例如)正常細胞分裂及癌症、腫瘤、發育異常、細胞轉化、轉移、血管生成之活性；或其所必需之活性；或與其特定關聯之活性。

當"投藥"及"治療"應用於動物、人類、實驗對象、細胞、組織、器官或生物流體時，其係指使外因性藥劑、治療劑、診斷劑、化合物或組合物與動物、人類、受測者、細胞、組織、器官或生物流體接觸。"投藥"及"治療"可指

(例如)治療方法、安慰劑方法、醫藥動力學方法、診斷方法、研究方法及實驗方法。"細胞治療"涵蓋使試劑與細胞接觸及使試劑與流體接觸，其中該流體係與細胞接觸。"投藥"及"治療"亦意謂藉由試劑、診斷劑、結合組合物或藉由另一細胞來試管內(in vitro)及體外(ex vivo)治療(例如)細胞。當"治療"應用於人類、牲畜或研究對象時，其係指對研究及診斷應用的治療處理、預防性或防止性措施(measure)。當"治療"應用於人類、牲畜或研究對象、或者細胞、組織或器官時，其涵蓋使IL-23激動劑或IL-23拮抗劑與人類或動物受測者、細胞、組織、生理隔室或生理流體接觸。"細胞治療"亦涵蓋如下兩種情形：IL-23激動劑或IL-23拮抗劑接觸IL-23受體(IL-23R及IL-12R $\beta$ 1之雜二聚物)，例如在流體相或膠體相中；及激動劑或拮抗劑接觸流體，例如流體接觸細胞或受體，但未證實激動劑或拮抗劑接觸細胞或受體之情形。

"結合組合物"係指能夠與目標結合之分子、小分子、巨型分子、抗體、其片段或同功異質體、或可溶性受體。"結合組合物"亦可指能夠與目標結合之下列物質：分子錯合物，例如非共價錯合物；離子化分子；及共價或非共價改質之分子，例如藉由磷酸化、醯化、交聯、環化或有限裂解來改質之分子。"結合組合物"亦可指與安定劑、賦形劑、鹽、緩衝劑、溶劑或添加劑組合之分子。"結合"可定義為結合組合物與目標之締合(association)，其中若結合組合物可溶解於或懸浮於溶液中，則該締合會導致結合組

合物之正常的布朗運動減少。

"惡病質"係涉及肌肉損耗(肌肉消耗)及脂肪損耗之消耗性綜合症，其由新陳代謝之失調引起。惡病質發生於各種癌症、慢性阻塞性肺病(COPD)、先期(advanced)器官衰竭及AIDS中。"癌症惡病質"為伴隨癌症並發的惡體質。癌症惡體質之特徵在於：例如顯著的體重減輕、厭食、衰弱及貧血。厭食症係由於缺乏進食動機所引起的病症，例如厭惡食物(例如，參見MacDonald等人(2003) *J. Am. Coll. Surg.* 197:143-161；Rubin (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 5384-5389；Tisdale (2002) *Nature Reviews Cancer* 2:862:871；Argiles等人(2003) *Drug Discovery Today* 8:838:844；Lelli等人(2003) *J. Chemother.* 15:220-225；Argiles等人(2003) *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 6:401-406)。

"守恒改質之變體(conservatively modified variant)"適用於胺基酸序列及核酸序列二者。就特殊核酸序列而言，守恒改質之變體係指：編碼相同或基本相同之胺基酸序列的核酸；或當核酸並未編碼胺基酸序列時，其係指基本相同之核酸序列。因為遺傳密碼之簡並，所以大量官能性相同之核酸可編碼任意給定之蛋白質。

關於胺基酸序列，熟悉此項技術者將瞭解：替代守恒胺基酸之編碼序列中的胺基酸或小百分比胺基酸之核酸、肽、多肽或蛋白質序列的個別替代物為"守恒改質之變體"。提供官能性相似之胺基酸的守恒替代物表在此項技術中為吾人所熟知。守恒替代物之一實例為將下列各組之一組中

的一胺基酸交換成同組中之另一胺基酸(頒予Lee等人的美國專利第5,767,063號；Kyte及Doolittle (1982) *J. Mol. Biol.* 157:105-132)：

- (1) 疏水性：己胺酸、Ile、Val、Leu、Phe、Cys或Met；
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 鹼性：Asn、Gln、His、Lys、Arg；
- (5) 影響鏈取向之殘餘物：Gly、Pro；
- (6) 芳香性：Trp、Tyr、Phe；
- (7) 小胺基酸：Gly、Ala、Ser。

"有效劑量"涵蓋足以改善或防止醫學症狀之徵兆或體征之劑量。有效劑量亦意謂足以允許或便於診斷之劑量。特殊患者或牲畜受測者之有效劑量可依各種因素而變化，例如正在治療的症狀、患者之整體健康狀況、投藥方法路徑與劑量及副作用之嚴重程度(例如，參見頒予Netti等人的美國專利第5,888,530號)。有效劑量可為避免顯著副作用或毒性作用之最大劑量或配量方案(dosing protocol)。其效果將導致診斷度量或參數改良至少5%，通常至少10%，更通常至少20%，最通常至少30%，較佳至少40%，更佳至少50%，最佳至少60%，理想上至少70%，更理想至少80%，且最理想至少90%，其中將100%界定為正常受測者所顯示之診斷參數(例如，參見Maynard等人(1996) *A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice*, Interpharm Press, Boca Raton, FL；Dent (2001) *Good Laboratory and*

*Good Clinical Practice*, Urch Publ., London, UK)。

視上下文，"外因性"係指產生於有機體、細胞或人體外之物質。視上下文，"內因性"係指產生於細胞、有機體或人體內之物質。

"免疫性症狀"或"免疫性病症"涵蓋(例如)病理性發炎、發炎性病症及自身免疫性病症或疾病。"免疫性症狀"亦指感染、持續感染及增生性症狀，例如癌症、腫瘤及血管生成，包括藉由免疫系統抵抗根除(irradication)之感染、腫瘤及癌症。"癌性症狀"包括(例如)癌症、癌細胞、腫瘤、血管生成及諸如發育異常之癌症前期症狀。

"發炎性病症"意謂其中病理係完全或部分由(例如)免疫系統之細胞的數目改變、遷移速率改變或活性改變引起的病症或病理性症狀。免疫系統之細胞包括(例如)T細胞、B細胞、單核細胞或巨噬細胞、抗原遞呈細胞(APC)、樹突狀細胞、小膠質細胞、NK細胞、NKT細胞、嗜中性白細胞、嗜曙紅細胞、肥大細胞或其它與免疫學有特定關聯的細胞，例如產生細胞激素之內皮細胞或上皮細胞。

"抑制劑"及"拮抗劑"或"活化劑"及"激動劑"分別指抑制分子或活化分子，例如，其活化(例如)配位子、受體、輔助因子、基因、細胞、組織或器官。(例如)基因、受體、配位子或細胞之調節劑係改變基因、受體、配位子或細胞之活性的分子，其中可活化、抑制或改變其調控性質之活性。調節劑可單獨作用，或可使用輔助因子，例如蛋白質、金屬離子或小分子。抑制劑係減少、阻斷、防止、延

遲活化或滅活、脫敏或向下調控(例如)基因、蛋白質、配位子、受體或細胞之化合物。活化劑係增加、活化、促進、增強活化或敏化或向上調控(例如)基因、蛋白質、配位子、受體或細胞之化合物。抑制劑亦可定義為減少、妨礙或滅活固有活性之組合物。"激動劑"係與目標相互作用以引起或促進目標之活化增加的化合物。"拮抗劑"係與激動劑之作用相反的化合物。拮抗劑防止、降低、抑制或中和激動劑之活性。即使未識別到激動劑，拮抗劑仍可防止、抑制或降低諸如目標受體之目標的固有活性。

例如，為檢查抑制之程度，以勢能(potential)活化劑或抑制劑來處理包含給定(例如)蛋白質、基因、細胞或有機體之樣本或檢定物，並將其與未用抑制劑處理之對照樣本進行比較。對照樣本，亦即不以拮抗劑處理之樣本，被賦予100%的相對活性值。當相對於對照值的活性值為以下值時達成了抑制：約90%或更少，典型為85%或更少，更典型為80%或更少，最典型為75%或更少，一般為70%或更少，更一般為65%或更少，最一般為60%或更少，典型為55%或更少，通常為50%或更少，更通常為45%或更少，最通常為40%或更少，較佳為35%或更少，更佳為30%或更少，再佳為25%或更少，最佳為低於25%。當相對於對照值的活性值為以下值時達成了活化：約110%，一般至少為120%，更一般至少為140%，最一般至少為160%，經常至少為180%，更經常至少為2倍，最經常至少為2.5倍，通常至少為5倍，更通常至少為10倍，較佳至少

為20倍，更佳至少為40倍，且最佳超過40倍。

活化或抑制端點可監控如下。例如，對細胞、生理流體、組織、器官及動物或人類受測者之治療的活化、抑制及回應可由端點來監控。端點可包含預定數目或百分比之(例如)發炎、致瘤或細胞脫粒或分泌之標誌，例如細胞激素、毒性氧或蛋白酶之釋放。端點可包含：(例如)預定數目之離子流或傳輸；細胞遷移；細胞黏附；細胞增生；轉移勢能；細胞分化；及表型改變，例如關於發炎、細胞凋亡、轉化、細胞循環或轉移相關之基因表現的改變(例如，參見Knight (2000) *Ann. Clin. Lab. Sci.* 30:145-158；Hood及Cheresh (2002) *Nature Rev. Cancer* 2:91-100；Timme等人(2003) *Curr. Drug Targets* 4:251-261；Robbins及Itzkowitz (2002) *Med. Clin. North Am.* 86:1467-1495；Grady及Markowitz (2002) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 3:101-128；Bauer等人(2001) *Glia* 36:235-243；Stanimirovic及Sato (2000) *Brain Pathol.* 10:113-126)。

抑制端點一般為對照值之75%或更少，較佳為對照值之50%或更少，更佳為對照值之25%或更少，且最佳為對照值之10%或更少。一般而言，活化端點為對照值之至少150%，較佳為對照值之至少2倍，更佳為對照值之至少4倍，且最佳為對照值之至少10倍。

藉由光譜方法、光化學方法、生物化學方法、免疫化學方法、同位素方法或化學方法，可直接或間接偵測"經標記"之組合物。例如，可用之標記包括<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>35</sup>S、

$^{14}\text{C}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、穩定同位素、螢光染料、高電子試劑、受質、抗原決定部位標籤或酶，例如用於酶連接免疫檢定法，或螢光標記物(例如，參見Rozinov及Nolan (1998) *Chem. Biol.* 5:713-728)。

"配位子"係指(例如)小分子、肽、多肽及膜相關分子或膜結合分子或者其錯合物，其可充當受體之激動劑或拮抗劑。"配位子"亦涵蓋一藥劑，該藥劑並非激動劑或拮抗劑，但其可與受體結合而不會顯著影響其生物學性質(例如訊號或黏附)。此外，"配位子"包括已藉由(例如)化學或重組方法改變為可溶性型式之膜結合配位子的膜結合配位子。按照慣例，當配位子是結合於第一個細胞的膜上時，受體通常出現於另一個細胞上。第二個細胞可具有與第一細胞相同或不同之實體。配位子或受體可完全在細胞內，即其可位於細胞液、細胞核或某些其它細胞內隔室中。配位子或受體可改變其位置，例如，從細胞內隔室改變至原生質膜之外面。配位子與受體之錯合物稱為"配位子受體錯合物"。當配位子及受體包含在訊號通道內時，配位子出現在訊號通道之上游位置，而受體出現在訊號通道之下游位置。

提供"小分子"以治療腫瘤及癌症之生理學及病症。將"小分子"界定為分子量小於10 kD、典型地係小於2 kD，而較佳者小於1 kD之分子。小分子包括(但不限於)無機分子、有機分子、含有無機成分之有機分子、包含放射性原子之分子、合成分子、類肽物及類抗體物。作為治療劑而



言，小分子比大分子更易透過細胞、更不易降解，且更不易於引起免疫反應。業已描述了小分子，例如抗體及細胞激素之類肽物以及小分子毒素(例如，參見 Casset 等人 (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307:198-205；Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74:277-302；Li (2000) *Nat. Biotechnol.* 18:1251-1256；Apostolopoulos 等人 (2002) *Curr. Med. Chem.* 9:411-420；Monfardini 等人 (2002) *Curr. Pharm. Des.* 8:2185-2199；Domingues 等人 (1999) *Nat. Struct. Biol.* 6:652-656；Sato 及 Sone (2003) *Biochem. J.* 371:603-608；頒予 Stewart 等人的美國專利第 6,326,482 號)。

當"特定"或"選擇性"結合係指配位子/受體、抗體/抗原或其它結合對時，其表示對蛋白質與其它生物製劑之異類群體中之蛋白質的存在具有決定作用之結合反應。因此，在指定條件下，特定之配位子與特殊受體結合，而不與該樣本中存在之其它蛋白質大量結合。所涵蓋的方法中，抗體或自抗體之抗原結合點衍生的結合組合物與其抗原或變體或突變蛋白質藉由親合力結合，相較於任何其它抗體或自其衍生的結合組合物之親合力，該親合力至少為其 2 倍，較佳為至少 10 倍，更佳為至少 20 倍，且最佳為至少 100 倍。在一較佳實施例中，(例如)藉由 Scatchard 分析所測定的抗體之親合力將約大於  $10^9$  公升/莫耳 (Munsen 等人 (1980) *Analyt. Biochem.* 107:220-239)。

## II. 總則

本發明提供IL-23雜二聚物、p19子單元、p40子單元、IL-23受體雜二聚物、IL-23R子單元或IL-12R $\beta$ 1子單元之多肽、核酸、變體、突變蛋白質及擬態物(mimetic)之使用方法。本發明亦提供超細胞素(意即包含(例如)連接至p40子單元之p19子單元的融合蛋白質)及編碼超細胞素之核酸(例如，參見序列標識號：10或11)的使用方法(Oppmann等人*supra*；Fischer等人(1997) *Nature Biotechnol.* 15:142-145；Rakemann等人(1999) *J. Biol. Chem.* 274:1257-1266；及Peters等人(1998) *J. Immunol.* 161:3575-3581)。

介白素-23(IL-23，又名IL-B30)係由IL-12之新穎p19子單元(序列標識號：2或4)及p40子單元(序列標識號：8或9)組成之雜二聚細胞激素。如同p35，為了生物活性，p19要求p40之共同表現(Wiekowski等人*supra*)。IL-23受體包含結合p19之新穎受體子單元(IL-23R；序列標識號：6)及結合p40之IL-12R $\beta$ 1(序列標識號：7)(例如，參見Parham等人(2002) *J. Immunol.* 168:5699-5708)。該等兩種受體子單元形成功能性訊號錯合物，且其表現在CD4<sup>+</sup>CD45Rb<sup>lo</sup>記憶T細胞及IFN- $\gamma$ 活化骨髓巨噬細胞上(Parham等人*supra*)。

抗體可培養(raise)為自然存在(全長)形態或其重組形態(例如，參見序列標識號：2、4、10或11)之各種細胞激素蛋白質，包括單獨、多形態、等位、菌株或種變體及其片段。此外，抗體可培養為天然(或活性)形態或非活性形態(例如，變性形態)之受體蛋白質(例如，參見序列標識號：6)。亦可使用抗個體基因型抗體(anti-idiotypic antibodies)。

投予 IL-23 激動劑 (亦即 IL-23 或 IL-23 超細胞素) 可誘發 (例如) 記憶 T 細胞、PHA 胚細胞、CD45RO T 細胞、CD45RO T 細胞之增生；藉由 PHA 胚細胞或 CD45RO T 細胞增強干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 之產生。與 IL-12 相比，IL-23 較優地刺激記憶，此與人類及小鼠中之天然 T 細胞群相反。IL-23 活化大量細胞內細胞訊號分子，例如 Jak2、Tyk2、Stat1、Stat2、Stat3 及 Stat4。IL-12 活化同組分子，但 Stat4 對 IL-23 之回應相對較弱，而 Stat4 對 IL-12 之回應較強 (Oppmann 等人，*supra*；Parham 等人 (2002) *J. Immunol.* 168:5699-5708)。

IL-12 及 IL-23 涉及 (engage) 類似的訊號轉導機制。銜接 (engage) 其受體錯合物之 IL-23 活化 Jak2、Tyk2 及 Stat-1、-3、-4 及 -5，IL-12 亦如此。然而，Stat-4 之活化對 IL-23 之回應顯著地弱於對 IL-12 之回應。同樣地，與 IL-12 相比，由 IL-23 所引起之最突出的 Stat 為 Stat-3 (例如，參見 Parham 等人 *supra*)。

投予 IL-23 之 p19 子單元可導致：(例如) 動物的矮化生長、不育及死亡，以及諸如胃腸道、肺部、皮膚及肝臟之發炎性浸潤 (infiltrate)，及上皮細胞之超常增生、小紅細胞性貧血、嗜中性白細胞計數增加、血清 TNF $\alpha$  增加；及肝臟中之急性相基因表現增加；(Wiekowski 等人 *supra*)。增強之 IL-23 表現出現在永生性非轉化之上皮細胞系中。因此，IL-23 可提供活體內潛在腫瘤之早期訊號。

其它研究已證實 IL-23 調節對感染之免疫反應 (例如，參見 Pirhonen 等人 (2002) *J. Immunol.* 169:5673-5678；Broberg

等人(2002) *J. Interferon Cytokine Res.* 22:641-651 ; Elkins 等人(2002) *Infection Immunity* 70:1936-1948 ; Cooper 等人 (2002) *J. Immunol.* 168:1322-1327)。

關於癌症，來自一個體之活體檢視組織中之相對較高量的轉錄產物之存在表明了疾病發展的素因 (predisposition)，或可提供在出現實際臨床徵兆之前偵測疾病之方法。基因表現資料係在疾病及病理症狀之診斷及治療中之有用工具(例如，參見Li及Wong (2001) *Genome Informatics* 12:3-13 ; Lockhart 等人(1996) *Nature Biotechnol.* 14:1675-1680 ; Homey 等人(2000) *J. Immunol.* 164:3465-3470 ; Debets 等人(2000) *J. Immunol.* 165:4950-4956)。

### III. 激動劑、拮抗劑及結合組合物

本發明提供IL-23激動劑及拮抗劑之使用方法。IL-23激動劑涵蓋：(例如)IL-23、IL-23變體、突變蛋白質、超細胞素、或類肽物、IL-23R之激動抗體，及將該等激動劑編碼之核酸。IL-23之拮抗劑包括：(例如)IL-23之抗體、IL-23R之阻斷抗體，基於IL-23R之子單元的細胞外區域之可溶性受體、其類肽物，及將該等拮抗劑編碼之核酸。

本發明提供p19、p19與p40之錯合物、IL-23R、及IL-23R與IL-12R $\beta$ 1之錯合物的激動劑及拮抗劑之使用方法，包括特定結合至p19、p19與p40之錯合物、IL-23R、及IL-23R與IL-12R $\beta$ 1之錯合物的蛋白質及蛋白質錯合物之結合組合物之使用方法。

IL-23超細胞素涵蓋(例如)包含p19及p40之多肽序列之融

合蛋白質，其中p19及p40出現在連續多肽鏈中。p19及p40之序列可為任何順序。融合蛋白質可含有連接序列(like sequence)，該連接序列位於一連續多肽鏈中之p19與p40序列之間。

增加抗原性之區域可用於抗體產生。人體p19之增加抗原性區域出現在：(例如) GenBank AAQ89442 (gi : 37183284) 之胺基酸 16-28 ; 57-87、110-114、136-154及182-186處。人體IL-23R之增加抗原性區域出現在(例如) GenBank AAM44229 (gi : 21239252) 之胺基酸 22-33、57-63、68-74、101-112、117-133、164-177、244-264、294-302、315-326、347-354、444-473、510-530及554-558處。藉由使用 Vector NTI® Suite (Informax, Inc., Bethesda, MD) 之 Parker圖來進行分析。本發明亦提供IL-23拮抗劑，其為可溶性受體，意即包含IL-23R之細胞外區域(例如 GenBank AAM44229之胺基酸1-353)或其片段，其中細胞外區域或其片段特定結合至IL-23。小鼠IL-23R係 GenBank NP\_653131 (gi : 21362353)。涵蓋突變蛋白質及變體，例如聚乙二醇化(pegylation)或突變誘發(mutagenesis)以移除或取代脫醯胺基之天冬醯胺(deamidating Asn)殘餘物。

可製備單株、多株及人化抗體(例如，參見 Sheperd及 Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY ; Kontermann及 Dubel (eds.)(2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York ; Harlow及 Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring

Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 第139-243頁；Carpenter等人(2000) *J. Immunol.* 165:6205；He等人(1998) *J. Immunol.* 160:1029；Tang等人(1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378；Baca等人(1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684；Chothia等人(1989) *Nature* 342:877-883；Foote及Winter(1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499；頒予Vasquez等人的美國專利第6,329,511號)。

對於抗體之產生而言，並非必須純化抗原。可藉由DNA媒介免疫來執行免疫，例如，參見Wang等人(1997) *Virology* 228:278-284。或者，以攜帶相關抗原之細胞來使動物免疫。於是，脾細胞可自免疫動物單離，且脾細胞可隨骨髓瘤細胞系融合以產生雜種細胞(Meyaard等人(1997) *Immunity* 7:283-290；Wright等人(2000) *Immunity* 13:233-242；Preston等人(1997) *Eur. J. Immunol.* 27:1911-1918)。可藉由官能性檢定或生物檢定，即不取決於是否具有純化抗原之檢定，來篩選所得雜種細胞以產生所要抗體。可證明：對於抗體之產生而言，藉由細胞之免疫優於藉由純化抗原之免疫(Kaithamana等人(1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164)。

抗體對抗原及配位子對受體之結合性質可藉由諸如表面細胞質基因共振(Karlsson等人(1991) *J. Immunol. Methods* 145:229-240；Neri等人(1997) *Nat. Biotechnol.* 15:1271-1275；Jonsson等人(1991) *Biotechniques* 11:620-627)或藉由競爭ELISA (Friguet等人(1985) *J. Immunol. Methods*

77:305-319 ; Hubble (1997) *Immunol. Today* 18:305-306)來量測。抗體可用於親合力純化以單離抗體之目標抗原及關聯結合之蛋白質 (associated bound protein)，例如，參見 Wilchek 等人 (1984) *Meth. Enzymol.* 104:3-55。

抗體通常結合至少約  $10^{-3}$ M 之  $K_D$ ，更通常至少  $10^{-6}$ M，典型至少  $10^{-7}$ M，更典型至少  $10^{-8}$ M，較佳至少約  $10^{-9}$ M，且更佳至少約  $10^{-10}$ M，且最佳至少  $10^{-11}$ M (例如，參見 Presta 等人 (2001) *Thromb. Haemost.* 85:379-389 ; Yang 等人 (2001) *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 38:17-23 ; Carnahan 等人 (2003) *Clin. Cancer Res. (Suppl.)* 9:3982s-3990s)。

提供包含 IL-23 或 IL-12R $\beta$ 1 受體多肽之細胞外域的可溶性受體。可溶性受體可根據標準方法來製備及使用 (例如，參見 Jones 等人 (2002) *Biochim. Biophys. Acta* 1592:251-263 ; Prudhomme 等人 (2001) *Expert Opinion Biol. Ther.* 1:359-373 ; Fernandez-Botran (1999) *Crit. Rev. Clin. Lab Sci.* 36:165-224)。

#### IV. 治療組合物，方法

本發明提供 IL-23 及抗 IL-23R，其用於 (例如) 治療增生性症狀及病症，包括癌症、腫瘤、血管生成、惡病質、癌症惡病質、厭食症及癌症前期病症，例如發育異常。亦提供核酸以用於該等治療用途，例如編碼 IL-23 或 IL-23R 之核酸、或其抗原片段、相應反義核酸、及其雜種產物。本發明亦提供用於 siRNA 干擾之組合物 (例如，參見 Arenz 及 Schepers (2003) *Naturwissenschaften* 90:345-359 ; Sazani

及 Kole (2003) *J. Clin. Invest.* 112:481-486 ; Pirollo 等人 (2003) *Pharmacol. Therapeutics* 99:55-77 ; Wang 等人 (2003) *Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* 13:169-189)。

為製備包括 IL-23 激動劑或拮抗劑之醫藥組合物或無菌組合物，將細胞激素類似物或突變蛋白質、其抗體、或其核酸與醫藥上可接受之載體或賦形劑混合，例如，參見 Remington's Pharmaceutical Sciences and *U.S. Pharmacopeia: National Formulary*, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)。治療劑及診斷劑之調配物可藉由將其與生理學上可接受之諸如凍乾粉末、漿料、水溶液或懸浮液形式之載體、賦形劑或安定劑混合來製備(例如，參見 Hardman 等人 (2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY ; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY ; Avis 等人 (eds.)(1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY ; Lieberman 等人 (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY ; Lieberman 等人 (eds.)(1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY ; Weiner 及 Kotkoskie (2000) *Excipient Toxicity and Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY)。

投藥路徑係藉由(例如)局部或皮膚施用，皮下注射，藉由靜脈內、腹膜內、腦內、肌肉內、眼內、動脈內、腦脊



髓內、患處內或肺部路徑之注射或灌輸，或藉由持續釋放系統或植入物。對(例如)中央神經系統之基因轉移媒介已有描述(例如，參見Cua等人(2001) *J. Immunol.* 166:602-608；Sidman等人(1983) *Biopolymers* 22:547-556；Langer等人(1981) *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277；Langer(1982) *Chem. Tech.* 12:98-105；Epstein等人(1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688-3692；Hwang等人(1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030-4034；美國專利第6,350,466號及第6,316,024號)。

治療劑之投藥方式之選擇取決於若干因素，包括疾病單元(entity)之血清或組織周轉率、症狀程度、疾病單元之免疫原性、生物母質中之目標細胞之可接近性(accessibility)。投藥方式較佳使傳遞給患者的符合可接受程度之副作用的治療劑劑量最大化。因此，所傳遞的生物量部分取決於特殊疾病單元及正在治療之症狀的嚴重程度。可以獲得選擇抗體、細胞激素及小分子之適當劑量方面的指導(例如，參見Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK；Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY；Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY；Baert等人(2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608；Milgrom等人(1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973；Slamon等人

(2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792 ; Beniaminovitz等人  
(2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619 ; Ghosh等人(2003)  
*New Engl. J. Med.* 348:24-32 ; Lipsky等人(2000) *New Engl.  
J. Med.* 343:1594-1602)。

抗體、抗體片段及細胞激素可藉由連續灌輸或藉由間隔劑量(例如，1天、1週或每週1-7次)來提供。可靜脈內、皮下、局部、經口、經鼻、直腸、肌肉內、腦內、脊髓內或藉由吸入來提供劑量。較佳的劑量方案為包括避免明顯不良副作用之最大劑量或劑量頻率的方案。每週總劑量一般為至少0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 體重，更一般為至少0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，最一般為至少0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，典型為至少1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，更典型為至少10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，最典型為至少100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，較佳為至少0.2  $\text{mg}/\text{kg}$ ，更佳為至少1.0  $\text{mg}/\text{kg}$ ，最佳為至少2.0  $\text{mg}/\text{kg}$ ，較理想為至少10  $\text{mg}/\text{kg}$ ，更理想為至少25  $\text{mg}/\text{kg}$ ，且最理想為至少50  $\text{mg}/\text{kg}$  (例如，參見Yang等人(2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434 ; Herold等人(2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698 ; Liu等人(1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456 ; Portielji等人(2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144)。諸如類肽物、天然產品或有機化學品之小分子治療劑的所要劑量約與抗體或多肽相同，其以莫耳/公斤為基礎。

特殊患者之有效劑量可視多個因素而變化，例如正在治療之症狀、患者的整體健康狀況、投藥方法路徑與劑量及副作用之嚴重程度(例如，參見Maynard等人(1996) *A*

*Handbook of SOPs for Good Clinical Practice*, Interpharm Press, Boca Raton, FL ; Dent (2001) *Good Laboratory and Good Clinical Practice*, Urch Publ., London, UK)。

典型牲畜、實驗或研究對象包括猴子、狗、貓、大鼠、小鼠、兔子、天竺鼠 (guinea pig)、馬及人類。

適當劑量係藉由臨床醫師(例如)利用此項技術中已知或懷疑會影響治療或預測會影響治療之參數或因素來決定。一般而言，劑量以稍微少於理想劑量的量來開始，且其後增加小增量直至達成相對於任何消極副作用之所要或理想效果。重要的診斷量測包括(例如)發炎之徵兆的量測或所產生的炎性細胞激素之量的量測。即將使用之生物劑較佳源於與治療目標動物相同之物種，藉此最小化對試劑之體液回應。

用於藉由第二治療劑(例如，細胞激素、類固醇、化學治療劑、抗生素或輻射)來共同投藥或治療之方法在此項技術中已為吾人所熟知(例如，參見 Hardman 等人 (eds.) (2001) *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*，第 10 版，McGraw-Hill, New York, NY ; Poole 及 Peterson (eds.) (2001) *Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach*, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA ; Chabner 及 Longo (eds.) (2001) *Cancer Chemotherapy and Biotherapy*, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA)。治療劑之有效劑量會使徵兆降低：典型為至少 10%，通常為至少 20%，較佳為至少 30%，更

佳為至少40%，且最佳為至少50%。

#### V. 套組及診斷試劑

本發明提供在一診斷套組中之IL-23蛋白質及其片段、核酸及其片段。本發明亦提供用於偵測IL-23與IL-23受體及其代謝物與分解產物之結合組合物，包括抗體或抗體片段。該套組一般具有一隔室，該隔室含有p19多肽或其抗原片段、其結合組合物、或核酸(例如，核酸探針或底塗劑)。核酸探針或底塗劑在緊急情況下會特定地雜交至編碼p19或IL-23R之核酸。

該套組可包含(例如)試劑及隔室，試劑及使用說明，或具有隔室之試劑與使用說明。試劑可包含p19、p19與p40之錯合物、IL-23R、IL-23R與IL-12R $\beta$ 1之錯合物、或其抗原片段、結合組合物或核酸。用於測定測試化合物(例如，自生物樣本或化學實驗室取得)之結合的套組可包含對照化合物、標記化合物及用於將無標記化合物與經結合之標記化合物分離之方法。

可藉由諸如活細胞、細胞提取物、細胞溶離物、固定細胞、細胞培養物、體液或法醫樣本之生物母質來使用診斷檢定。可用於診斷或套組之目的之共軛抗體包括偶合至染料、同位素、酶及金屬之抗體(例如，參見Le Doussal等人(1991) *New Engl. J. Med.* 146:169-175；Gibellini等人(1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898；Hsing及Bishop (1999) *New Engl. J. Med.* 162:2804-2811；Everts等人(2002) *New Engl. J. Med.* 168:883-889)。存在各種檢定形式，例如放

射性免疫檢定(RIA)、ELISA及在碎片上實驗(美國專利第6,176,962號及第6,517,234號)。

本發明提供在一診斷套組中之IL-23及IL-23R之多肽及核酸、及其片段，例如用於增生性症狀、癌症、腫瘤及癌症前期病症(例如發育異常)之診斷。

本發明亦提供用於偵測p19、p19與p40之錯合物、IL-23R、IL-23R與IL-23R $\beta$ 1之錯合物、及其代謝物與分解產物之結合組合物，包括抗體或抗體片段。該套組一般具有一隔室，該隔室含有IL-23或IL-23R多肽、或其抗原片段、其結合組合物、或核酸(例如，核酸探針、底塗劑，或分子信標)(例如，參見Rajendran等人(2003) *Nucleic Acids Res.* 31:5700-5713；Cockerill(2003) *Arch. Pathol. Lab. Med.* 127:1112-1120；Zammatteo等人(2002) *Biotech. Annu. Rev.* 8:85-101；Klein(2002) *Trends Mol. Med.* 8:257-260)。

診斷方法可包含使來自受測者(例如，測試受測者)之樣本與一結合組合物接觸，其中該結合組合物特定結合至p19、p19與p40之錯合物、IL-23R、及IL-23R與IL-12R $\beta$ 1之錯合物的多肽或核酸。該方法可進一步包含使來自對照受測者、正常受測者之樣本或來自測試受測者之正常組織或流體與該結合組合物接觸。此外，該方法可額外包含：將該組合物同測試受測者之特定結合與該組合物同正常受測者、對照受測者或來自測試受測者之正常組織或流體之特定結合進行比較。測試樣本或測試受測者之表現或活性

可與來自對照樣本或對照受測者之表現或活性進行比較。對照樣本可包含(例如)罹患免疫病症之患者的非感染性或非發炎性組織之樣本。所提供之來自對照受測者或對照樣本之表現或活性可作為一預定值，例如自統計學上適當的組群之對照受測者取得的值。

## VI. 用途

本發明提供使用 IL-23 激動劑及拮抗劑之方法，其係藉由調控免疫反應以治療及診斷發炎性病變及症狀，其中發炎性病變及症狀為(例如)腫瘤性疾病、癌症、腫瘤、血管生成、諸如發育異常之癌症前期症狀、厭食症、惡病質及癌症惡病質。

本發明提供之方法係用以治療或診斷增生性症狀或病症，例如子宮癌、子宮頸癌、乳腺癌、前列腺癌、睪丸癌、陰莖癌、胃腸道癌(例如，食道、口咽、胃、小腸或大腸、結腸或直腸)、腎、腎細胞、膀胱、骨、骨髓、皮膚、頭或頸、皮膚、肝臟、膽囊、心臟、肺、胰腺、唾腺、腎上腺、甲狀腺、腦、神經中樞、中樞神經系統(CNS)及週邊神經系統(PNS)、及免疫系統(例如，脾與胸腺)。本發明提供用於治療以下症狀或病症之方法：例如免疫原腫瘤、非免疫原腫瘤、休眠腫瘤、病毒誘發之癌症，例如上皮細胞癌、內皮細胞癌、鱗狀細胞惡瘤、乳頭狀瘤病毒、腺癌、淋巴瘤、惡瘤、黑素瘤、白血病、骨髓瘤、肉瘤、畸胎瘤、化學誘發之癌症、轉移性病竈及血管生成。本發明亦期望(例如)藉由對調控 T 細胞(Treg)之活性

的調節來降低腫瘤細胞或癌細胞抗原之耐受性(例如，參見 Ramirez-Montagut 等人(2003) *Oncogene* 22:3180-3187； Sawaya 等人(2003) *New Engl. J. Med.* 349:1501-1509； Farrar 等人(1999) *J. Immunol.* 162:2842-2849； Le 等人(2001) *J. Immunol* 167:6765-6772； Cannistra 及 Niloff (1996) *New Engl. J. Med.* 334:1030-1038； Osborne (1998) *New Engl. J. Med.* 339:1609-1618； Lynch 及 Chappelle (2003) *New Engl J. Med.* 348:919-932； Enzinger 及 Mayer (2003) *New Engl J. Med.* 349:2241-2252； Forastiere 等人(2001) *New Engl. J. Med.* 345:1890-1900； Izbicki 等人(1997) *New Engl. J. Med.* 337:1188-1194； Holland 等人(eds.) (1996) *Cancer Medicine Encyclopedia of Cancer*. 第4版， Academic Press, San Diego, CA)。

本發明提供用於藉由 IL-23 激動劑或拮抗劑及至少一額外治療劑或診斷劑來治療增生性症狀、癌症、腫瘤或諸如發育異常之癌症前期症狀之方法。該至少一額外治療劑或診斷劑可為(例如)細胞激素或細胞激素拮抗劑(例如，IL-12、干擾素- $\alpha$  或抗外皮生長因子受體)、阿黴素(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、抗葉酸物(例如氨甲喋呤(methotrexate)或氟尿嘧啶(floururacil))、伊立替康(irinotecan)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、放射線療法、激素或抗激素治療(例如雄性激素、雌性激素、抗雌性激素、氟他米特(flutamide)或己烯雌酚(diethylstilbestrol))、外科手術、他莫西芬(tamoxifen)、異環磷醯胺

(ifosfamide)、二溴衛矛醇(mitolactol)、煙化劑(例如，米爾法蘭(melphalan)或順鉑(cis-platin))、足葉乙甙(etoposide)、溫諾平(vinorelbine)、長春鹼(vinblastine)、去乙醯長春醯胺(vindesine)、腎上腺糖皮質激素、組胺受體拮抗劑、血管生成抑制劑、輻射、輻射敏化劑、小紅莓(anthracycline)、長春花屬生物鹼、紫杉烷(taxane)(例如，太平洋紫杉醇(paclitaxel)及歐洲紫杉醇(docetaxel))，細胞循環抑制劑(例如，週期素依賴性激酶抑制劑(cyclin-dependent kinase inhibitor))、單株抗體、單株抗體與毒素之錯合物、T細胞輔助劑、骨髓移植、或抗原遞呈細胞(例如，樹突狀細胞治療)。可提供疫苗作為(例如)可溶性蛋白質或編碼蛋白質之核酸(例如，參見Le等人*supra*；Greco及Zellefsky (eds.) (2000) *Radiotherapy of Prostate Cancer*, Harwood Academic, Amsterdam；Shapiro及Recht (2001) *New Engl. J. Med.* 344:1997-2008；Hortobagyi (1998) *New Engl. J. Med.* 339:974-984；Catalona (1994) *New Engl. J. Med.* 331:996-1004；Naylor及Hadden (2003) *Int. Immunopharmacol.* 3:1205-1215；The Int. Adjuvant Lung Cancer Trial Collaborative Group (2004) *New Engl. J. Med.* 350:351-360；Slamon等人 (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792；Kudelka等人(1998) *New Engl. J. Med.* 338:991-992；van Netten等人(1996) *New Engl. J. Med.* 334:920-921)。

本發明提供用於治療及診斷厭食症及惡病質(包括癌症惡病質)之方法。惡病質係一種消耗性綜合症，其發生在



大量疾病中，包括癌症，例如肺癌及上胃腸道癌。所有癌症患者中約有一半出現惡病質。惡病質之診斷係根據大量體重減輕、胃口減少及深度虛弱(以上係針對先期疾病而言)及肌肉消耗(瘦體重(lean body mass)損耗)之病史。已將細胞激素，例如IL-6、IL-1、TNF- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ ，與惡病質相聯繫(例如，參見MacDonald等人，*supra*；Rubin，*supra*；Tisdale，*supra*；Lelli等人，*supra*；Argiles等人，*supra*)。

本發明亦提供治療癌症之髓外造血(EMH)之方法。EMH已有描述(例如，參見Rao等人(2003) *Leuk. Lymphoma* 44:715-718；Lane等人(2002) *J Cutan. Pathol.* 29:608-612)。

胃腸道包含(例如)嘴唇、口腔、食道、胃、小腸、闌尾、大腸、結腸、肛門及直腸。呼吸道包含(例如)氣管、細支氣管、支氣管、肺、肺泡。生殖系統包括(例如)睪丸、陰莖、卵巢、子宮、輸卵管。內分泌系統包括(例如)垂體、視丘下部、松果腺、甲狀腺、副甲狀腺、內分泌腺、胰島、生殖腺及腎上腺。

參考以下實例可最好地理解本發明之廣闊範圍，該等實例並無意將本發明限制為具體實施例。

本文所有引證均以引用的方式併入本文，該引用的程度就如同以特定地及個別地將各個公開案或專利申請案之揭示內容以引用的方式併入一般。

本發明之許多修正及變體可在未脫離其精髓及範疇的情況下作出，此對於熟悉此項技術者而言將顯而易見。本文

所描述之具體實施例僅作為實例呈現，且本發明受限於隨附申請專利範圍之條款及授權給該等申請專利範圍之等效物的全部範疇；且本發明不限於本文中作為實例展現之具體實施例。

## 實例

### I. 一般方法

分子生物學之標準方法已有描述 (Maniatis 等人 (1982) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY ; Sambrook 及 Russell (2001) *Molecular Cloning*, 第三版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY ; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA)。標準方法亦發表在 Ausbel 等人 (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols.1-4, John Wiley 及 Sons, Inc. New York, NY, 其描述了細菌細胞之克隆技術 (cloning) 及 DNA 之突變誘發 (Vol.1), 哺乳動物細胞及酵母之克隆技術 (Vol.2), 結合糖 (glycoconjugate) 及蛋白質表現 (Vol.3), 及生物資訊學 (Vol.4)。

蛋白質純化方法已有描述，包括免疫沈澱反應 (immunoprecipitation)、層析法 (chromatography)、電泳法、離心法及結晶法 (Coligan 等人 (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 1*, John Wiley and Sons, Inc., New York)。化學分析、化學修飾、轉移後修飾、融合蛋白質之產生、蛋白質之糖基化已有描述 (例如，參見 Coligan 等

人(2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 2*, John Wiley and Sons, Inc., New York ; Ausubel 等人(2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3*, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17 ; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO ; pp.45-89 ; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp.384-391)。多株及單株抗體之產生、純化及分裂已有描述(Coligan 等人(2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 1*, John Wiley and Sons, Inc., New York ; Harlow及Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY ; Harlow及Lane, *supra*)。可以獲得用於表徵配位子/受體相互作用之標準技術(例如，參見Coligan 等人(2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 4*, John Wiley, Inc., New York)。

可以獲得流式細胞量測方法，包括螢光活化細胞分類法(FACS)(例如，參見Owens 等人(1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley及Sons, Hoboken, NJ ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 第二版，Wiley-Liss, Hoboken, NJ ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ)。可以獲得適於修飾核酸(包括核酸底塗劑及探針)、多肽及抗體之螢光試劑以用作(例如)診斷試劑(Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR ;

Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO)。

免疫系統組織學之標準方法已有描述(例如, 參見 Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt 等人 (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis 等人 (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY)。

用於治療及診斷癌症之方法已有描述(例如, 參見 Alison (ed.) (2001) *The Cancer Handbook*, Grove's Dictionaries, Inc., St. Louis, MO; Oldham (ed.) (1998) *Principles of Cancer Biotherapy*, 第三版, Kluwer Academic Publ., Hingham, MA; Thompson 等人 (eds.) (2001) *Textbook of Melanoma*, Martin Dunitz, Ltd., London, UK; Devita 等人 (eds.) (2001) *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 第六版, Lippincott, Phila, PA; Holland 等人 (eds.) (2000) *Holland-Frei Cancer Medicine*, BC Decker, Phila., PA; Garrett 及 Sell (eds.) (1995) *Cellular Cancer Markers*, Humana Press, Totowa, NJ; MacKie (1996) *Skin Cancer*, 第二版, Mosby, St. Louis; Moertel (1994) *New Engl. J. Med.* 330: 1136-1142; Engleman (2003) *Semin. Oncol.* 30(3 Suppl. 8): 23-29; Mohr 等人 (2003) *Onkologie* 26:227-233)。

可以獲得用於測定(例如)抗原片段、前導序列、蛋白質褶皺、功能域、糖基化點及序列排列之軟體包及資料庫(例如, 參見 GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc,

Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA): DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne 等人 (2000) *Bioinformatics* 16:741-742; Menne 等人 (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren 等人 (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690)。

## II. 小鼠及腫瘤誘發

如 Cua 等人在 *supra* 中所述地產生缺乏 IL-23 p19 之小鼠。特別缺乏 IL-23 之小鼠 (p19KO 小鼠, p19 剔除小鼠, p19<sup>-/-</sup> 小鼠)、p19<sup>+/-</sup> 小鼠及 p19<sup>+/+</sup> 野生類對照小鼠具有 B6/129 F2 背景。

以化學方法誘發野生類小鼠 (wt) 或缺乏 IL-23 之小鼠 (p19KO 小鼠) 之皮膚瘤。使用 50 微克 7,12 二甲基苯并蔥 (DMBA) 引發腫瘤, 隨後進行由兩次處理組成之促進步驟, 其中每一處理各為每週 30 微克 TPA 處理 (例如, 參見 Oft 等人 (2002) *Nat. Cell. Biol.* 4:487-494)。

就對 Ep2XB1-nu/nu 小鼠所作的腫瘤研究而言, 腫瘤轉移, 同時並未出現惡病質。小鼠死於 (例如) 髓外造血 (EMH)。就對 Ep2XB1-Balb/c 小鼠所作的腫瘤研究而言, 未出現腫瘤轉移, 此顯然是因為該等小鼠之完整的免疫系統。

## III. p19 及 IL-23R 子單元的表現

IL-23之p19子單元及IL-23受體之IL-23R子單元的表現在大量癌症、腫瘤及細胞系中提高，例如胃腸道癌、生殖道癌、皮膚癌及乳腺癌(表1)。

表1.藉由Taqman®分析，p19及IL-23R子單元相對於泛激素(1.0)之表現。所示值係來自患病組織及鄰近正常組織。

人體p19之表現			
鄰近之正常結腸	4.8	結腸腺癌I期	30.5
鄰近之正常結腸	2.0	結腸腺癌II期	73.4
鄰近之正常結腸	0.8	結腸腺癌II期	18.1
鄰近之正常結腸	0.21	結腸腺癌III期	34.0
鄰近之正常皮膚	2.2	人體皮膚II黑素瘤	21.8
鄰近之正常皮膚	6.7	人體皮膚II節狀黑素瘤	16.4
鄰近之正常皮膚	8.4	人體皮膚II節狀黑素瘤	26.8
鄰近之正常皮膚	9.3	人體皮膚II淺表擴散型黑素瘤	75.1
鄰近子宮	1.6	卵巢漿液性乳頭狀囊腺癌	55.0
鄰近卵巢	1.9	卵巢乳頭狀漿液性囊腺癌	17.7
鄰近乳腺	8.2	乳腺IIB惡瘤，脊髓	32.0
鄰近乳腺	0.6	乳腺IIA惡瘤，浸潤管	3.1
鄰近乳腺	0.2	乳腺IIA惡瘤，浸潤管	3.9
人體IL-23R之表現			
單核細胞/PBMC休眠			10.0
白血球白血病 SR 細胞系			415.8
白血球白血病 K562 細胞系			396.7
白血球白血病 MOLT-4 細胞系			0.0
白血球白血病 HL60 TB 細胞系			374.1

使用RNeasy®管柱(Qiagen, Valencia)萃取來自組織或細胞顆粒物(pellet)之RNA，並以Dnase I (Promega, Madison, WI)對其進行處理。製備cDNA，且將其用作供定量實時

PCR用之模板。使用 GeneAmp®5700 序列偵測系統 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 來分析 cDNA (25 ng) 之一定範圍之基因的表現。將對來自正常及腫瘤結腸及卵巢組織之 cDNA 樣本的分析標準化為管家基因 (housekeeping gene) 泛激素之表現。

#### IV. p19 拮抗劑防止或減輕腫瘤

(例如) 藉由以抗 p19 之抗體進行治療或藉由 p19 子單元 (p19KO) 之基因切除，根除或減輕了以 IL-23 拮抗劑治療之小鼠中由所注射之腫瘤細胞或由化學致癌作用所誘發之腫瘤。p19 僅為 IL-23 之子單元，而 p40 同為 IL-23 及 IL-12 之子單元。相比之下，在某些情況下，以 IL-12 進行治療會使腫瘤惡化，意即導致腫瘤體積相對於對照小鼠而增加。

小鼠中之腫瘤導致癌症、癌症惡病質、髓外造血及死亡。以抗 p19 抗體治療攜帶腫瘤之 Balb/c 小鼠會導致停止增加腫瘤體積，而以抗 p40 抗體進行治療會激起動物體重增加 (此可能是惡病質之逆轉)，但腫瘤體積增加 (表 2)。

表 2. 以 Ep2 (又名 XTb 細胞) 癌細胞 (ras 轉化小鼠乳腺細胞) 接種之 Balb/c 小鼠的腫瘤生長

抗體治療	腫瘤大小 (mm <sup>3</sup> )		
	第1天	第11天	第21天
同型抗體 (8D5)	0 mm <sup>3</sup>	225 mm <sup>3</sup>	500 mm <sup>3</sup>
抗p19抗體(29A2)	0	200	250
抗p40抗體(C17.8)	0	250	1150

誘發小鼠中之癌症致死及癌症惡病質，其中藉由抗 p40 抗體來防止死亡及體重減輕。對小鼠注射  $1 \times 10^6$  EpXT 腫瘤

細胞(s.c.)。攜帶腫瘤之裸小鼠(Ep2XB1 nu/nu)死於致命性肺部轉移性病竈，其中死亡發生於注射後22-42天。攜帶腫瘤之Exp2XB1 Balb/c小鼠死於注射後22-49天，該等死亡的BalbC/c小鼠並無肺部轉移性病竈。惡病質係藉由體重出現下降(死亡前)來預示。體重逐漸減輕在約第16天開始發生。第1天的初始體重為22-23克，而死亡時的體重在16-18克範圍內。

以C17.8大鼠抗p40抗體(1毫克/週)進行抗體治療。藉由抗體治療，Ep2XB1-Balb/C小鼠(免疫活性小鼠)存活至約第64天，之後直至第85天才死亡。抗p40抗體治療亦導致一半的小鼠體重保持不變(大約17克)，其餘小鼠在實驗期間內體重逐漸增加至22-23克的最大值。因此，根據存活時間及體重恢復，抗p40抗體會導致健康改善，但抗p40抗體亦可導致健康下降，如腫瘤大小增加所示(表2)。

藉由每週以DMBA(50微克)及2×30微克十四烷醯佛波醇-13-乙酸酯(tetradecanoylphorbol-13-acetate)(TPA)處理來化學誘發癌症(Gschwendt等人(1991) *Trends Biochem Sci.* 16: 167-169)。將化學致癌治療施用於B6/129野生類小鼠及p19KO小鼠。野生類小鼠較易發展腫瘤，但p19KO小鼠並不會得腫瘤(表3)。

表3. p19KO小鼠抵抗化學致癌

以DMBA (50微克)引發；以TPA (2 × 30 微克/週，13週)促進		以DMBA (50微克)引發；以TPA (2 × 30 微克/週，20週)促進	
出現第一個腫瘤 (TPA之後)	每只小鼠之腫瘤數	出現第一個腫瘤 (TPA之後)	每只小鼠之腫瘤數



B2/129 野生類 小鼠	8週	11	8週	8
p19KO 小鼠	在檢查期間內未有 發現	0	在檢查期間內未有 發現	0

獨立研究證實：p19KO防止腫瘤形成，而p35KO加劇腫瘤形成(表4)。

表4. p19KO與p35KO對化學致癌之影響

	每只小鼠之平均腫瘤數
C57/129野生類	10.0
p19KO (C57/129)	0.0
C57B/6野生類	4.5
p35KO (C57/129)	11.0

在致癌物處理後測定IL-23之子單元及IL-12之子單元的組織及細胞表現。單獨的DMBA、單獨的TPA、及DMBA與TPA誘發IL-23之p19子單元的表現，將該等化學物質施加至小鼠後背。舉例而言，以DMBA處理2天後，導致p19表現自1.5(未處理)增加至6.3(第2天)。P40表現增加，但在該時間間隔內相對較低(未處理時為0.1，第2天為0.4)。以TPA處理5小時後，導致p19表現增加(對照值為2.5，以TPA處理值為15.5)，但p40表現相對變化較小(對照值為2.0，以TPA處理值為3.5)。以DMBA加TPA處理5小時後，導致p19表現有較大增加(對照值為6.0，DMBA+TPA值為32.0)，但p40表現僅有中等程度的增加(對照值為2.0，DMBA+TPA值為4.0)。

亦測定人體角化細胞對(例如)DMBA、TPA及脂多糖

(LPS)之回應(表5)。TPA具體誘發p19，且極少或沒有誘發p40(其為IL-23及IL-12之共同子單元)。LPS誘發p19，此表示先天回應中IL-23中之作用。結合LPS之類鍾受體(toll-like receptor)出現在角化細胞上(例如，參見Song等人(2002) *J. Invest. Dermatol.* 119:424-432)。足葉乙甙係抑制局部異構酶(topoisomerase)II及誘發細胞凋亡之抗癌劑(例如，參見Robertson等人(2000) *J. Biol. Chem.* 275:32438-32443；Karpinich等人(2000) *J. Biol. Chem.* 277:16547-16552)。

表5.人體角化細胞對各種添加劑之回應。N.D.意謂未偵測。

添加劑	p19	p40	p35	IL-27之EBI3子單元 (p28 + EBI3)
對照	1.1	N.D.	0.4	0.01
DMBA	1.0	N.D.	N.D.	N.D.
TPA	1.9	N.D.	0.2	1.25
LPS	4.45	0.05	0.35	0.25
足葉乙甙	2.5	0.4	1.75	0.6

測試抗p19抗體對4T1小鼠乳腺癌細胞模型之影響。以對照mIgG1(27F11)抗體或以抗p19抗體(29A2)處理小鼠。在第1、3、4、5、6、7、8、9、10及11天監控腫瘤生長。在第2、5、8及10天投予抗體(1毫克/劑)。在第4天，以對照抗體治療之小鼠的腫瘤大小為約175 mm<sup>3</sup>，而以抗p19抗體治療之小鼠的腫瘤大小為約135 mm<sup>3</sup>。因此，抗p19抗體可有效地治療乳腺癌模型。4天後，兩組腫瘤以大約相同的速

率生長，此表示在以後的時期內抗體劑量不足以及時抵消腫瘤所表現的IL-23。

Ep2小鼠之乳腺癌模型的組織學證實了IL-23R與NK細胞之共定位，如藉由將存在於結合至IL-23R位置的p19著色及藉由將CD49B(其為NK細胞之標記)著色所測定。該共定位發生在腫瘤之中心部位，意即在壞死區域。Ep2小鼠之乳腺癌組織學亦證實了p19及T細胞之共定位。T細胞位置係藉由將CD3著色來測定。該共定位發生在腫瘤之外周部位。

#### V. 序列標識符列表

- 序列標識號：1係人體IL-23 p19核酸序列；
- 序列標識號：2係人體IL-23 p19胺基酸序列；
- 序列標識號：3係小鼠IL-23 p19核酸序列；
- 序列標識號：4係小鼠IL-23 p19胺基酸序列；
- 序列標識號：5係人體IL-23受體核酸序列；
- 序列標識號：6係人體IL-23受體胺基酸序列；
- 序列標識號：7係人體IL-12R $\beta$ 1胺基酸序列；
- 序列標識號：8係人體IL-12 p40胺基酸序列；
- 序列標識號：9係小鼠IL-12 p40胺基酸序列；
- 序列標識號：10係小鼠IL-23超細胞素；
- 序列標識號：11係人體IL-23超細胞素。

本文所有引證均以引用的方式併入本文，該引用的程度就如同以特定地及個別地將各個公開案或專利申請案之揭示內容以引用的方式併入一般。

本發明之許多修正及變體可在未脫離其精髓及範疇的情況下作出，此對於熟悉此項技術者而言將顯而易見。本文所描述之具體實施例僅作為實例呈現，且本發明受限於隨附申請專利範圍之條款及授權給該等申請專利範圍之等效物的全部範疇；且本發明不限於本文中作為實例展現之具體實施例。

## 序列表

<110> Schering Corporation

<120> IL-23 激動劑及拮抗劑之用途及相關試劑

<130> DX06022W001

<140> 093106213

<141> 2004-03-09

<150> U.S. 60/453,672

<151> 2003-03-10

<160> 11

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 570

<212> DNA

<213> 人類

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(567)

<223>

<220>

<221> mat\_peptide

<222> (64)..(567)

<223>

<400> 1

atg ctg ggg agc aga gct gta atg ctg ctg ttg ctg ctg ccc tgg aca 48  
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr  
-20 -15 -10

gct cag ggc aga gct gtg cct ggg ggc agc agc cct gcc tgg act cag 96  
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln  
-5 -1 1 5 10

tgc cag cag ctt tca cag aag ctc tgc aca ctg gcc tgg agt gca cat 144  
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His  
15 20 25

cca cta gtg gga cac atg gat cta aga gaa gag gga gat gaa gag act 192  
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr  
30 35 40

aca aat gat gtt ccc cat atc cag tgt gga gat ggc tgt gac ccc caa 240  
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln  
45 50 55

gga ctc agg gac aac agt cag ttc tgc ttg caa agg atc cac cag ggt 288  
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly  
60 65 70 75

ctg att ttt tat gag aag ctg cta gga tgc gat att ttc aca ggg gag 336  
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu  
80 85 90

cct tct ctg ctc cct gat agc cct gtg gcg cag ctt cat gcc tcc cta 384  
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu  
95 100 105



140

145

150

155

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro  
 160 165

<210> 3  
 <211> 1203  
 <212> DNA  
 <213> 小家鼠

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (113)..(700)  
 <223>

<220>  
 <221> mat\_peptide  
 <222> (176)..(700)  
 <223>

<400> 3  
 cgcttagaag tcggactaca gagttagact cagaaccaa ggaggtggat aggggggtcca 60  
 caggcctggt gcagatcaca gagccagcca gatctgagaa gcaggaaca ag atg ctg 118  
 Met Leu  
 -20  
 gat tgc aga gca gta ata atg cta tgg ctg ttg ccc tgg gtc act cag 166  
 Asp Cys Arg Ala Val Ile Met Leu Trp Leu Leu Pro Trp Val Thr Gln  
 -15 -10 -5  
 ggc ctg gct gtg cct agg agt agc agt cct gac tgg gct cag tgc cag 214  
 Gly Leu Ala Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln Cys Gln  
 -1 1 5 10  
 cag ctc tct cgg aat ctc tgc atg cta gcc tgg aac gca cat gca cca 262  
 Gln Leu Ser Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His Ala Pro  
 15 20 25  
 gcg gga cat atg aat cta cta aga gaa gaa gag gat gaa gag act aaa 310  
 Ala Gly His Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu Thr Lys  
 30 35 40 45  
 aat aat gtg ccc cgt atc cag tgt gaa gat ggt tgt gac cca caa gga 358  
 Asn Asn Val Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly  
 50 55 60  
 ctc aag gac aac agc cag ttc tgc ttg caa agg atc cgc caa ggt ctg 406  
 Leu Lys Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln Gly Leu  
 65 70 75  
 gct ttt tat aag cac ctg ctt gac tct gac atc ttc aaa ggg gag cct 454  
 Ala Phe Tyr Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly Glu Pro  
 80 85 90  
 gct cta ctc cct gat agc ccc atg gag caa ctt cac acc tcc cta cta 502  
 Ala Leu Leu Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser Leu Leu  
 95 100 105  
 gga ctc agc caa ctc ctc cag cca gag gat cac ccc cgg gag acc caa 550  
 Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu Thr Gln

110	115	120	125	
cag atg ccc agc ctg agt tct agt cag cag tgg cag cgc ccc ctt ctc				598
Gln Met Pro Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro Leu Leu	130	135	140	
cgt tcc aag atc ctt cga agc ctc cag gcc ttt ttg gcc ata gct gcc				646
Arg Ser Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile Ala Ala	145	150	155	
cgg gtc ttt gcc cac gga gca gca act ctg act gag ccc tta gtg cca				694
Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu Val Pro	160	165	170	
aca gct taaggatgcc caggttccca tggctaccat gataagacta atctatcagc				750
Thr Ala	175			
ccagacatct accagttaat taaccatta ggacttgtgc tgttcttgtt tcgtttgttt				810
tgcgtgaagg gcaaggacac cattattaa gagaaaagaa acaaacccca gagcaggcag				870
ctggctagag aaaggagctg gagaagaaga ataaagtctc gagcccttgg ccttgaagc				930
gggcaagcag ctgcgtggcc tgaggggaag ggggcggtgg catcgagaaa ctgtgagaaa				990
accagagca tcagaaaaag tgagcccagg ctttggccat tatctgtaag aaaaacaaga				1050
aaaggggaac attatacttt cctgggtggc tcagggaaat gtgcagatgc acagtactcc				1110
agacagcagc tctgtacctg cctgctctgt ccctcagttc taacagaatc tagtcactaa				1170
gaactaacag gactaccaat acgaactgac aaa				1203
<210> 4				
<211> 196				
<212> PRT				
<213> 小家鼠				
<400> 4				
Met Leu Asp Cys Arg Ala Val Ile Met Leu Trp Leu Leu Pro Trp Val	-20	-15	-10	
Thr Gln Gly Leu Ala Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln	-5	-1 1	5	10
Cys Gln Gln Leu Ser Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His	15		20	25
Ala Pro Ala Gly His Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu	30		35	40
Thr Lys Asn Asn Val Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro	45		50	55
Gln Gly Leu Lys Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln	60		65	70
				75



Gly Leu Ala Phe Tyr Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly  
 80 85 90

Glu Pro Ala Leu Leu Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser  
 95 100 105

Leu Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu  
 110 115 120

Thr Gln Gln Met Pro Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro  
 125 130 135

Leu Leu Arg Ser Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile  
 140 145 150 155

Ala Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu  
 160 165 170

Val Pro Thr Ala  
 175

<210> 5  
 <211> 2859  
 <212> DNA  
 <213> 人類

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (119)..(2005)  
 <223>

<220>  
 <221> mat\_peptide  
 <222> (188)..(2005)  
 <223>

<400> 5  
 gtggtacggg aattccattg tgttgggcag ccaacaaggg tggcagcctg gctctgaagt 60  
 ggaattatgt gcttcaaaca gggtgaaaga gggaaacagt cttttcctgc ttccagac 118  
 atg aat cak gtc act att caa tgg gat gca gta ata gcc ctt tac ata 166  
 Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile  
 -20 -15 -10  
 ctc ttc agc tgg tgt cat gga gga att aca aat ata aac tgc tct ggc 214  
 Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly  
 -5 -1 1 5  
 cac atc tgg gta gaa cca gcc aca att ttt aag atg ggt atg aat atc 262  
 His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile  
 10 15 20 25  
 tct ata tat tgc caa gca gca att aag aac tgc caa cca agg aaa ctt 310  
 Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu



cag gtc aca tca aaa gca ttc caa cat gac aca tgg aat tct ggg cta Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu 300 305 310	1126
aca gtt gct tcc atc tct aca ggg cac ctt act tct gac aac aga gga Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly 315 320 325	1174
gac att gga ctt tta ttg gga atg atc gtc ttt gct gtt atg ttg tca Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser 330 335 340 345	1222
att ctt tct ttg att ggg ata ttt aac aga tca ttc cga act ggg att Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile 350 355 360	1270
aaa aga agg atc tta ttg tta ata cca aag tgg ctt tat gaa gat att Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile 365 370 375	1318
cct aat atg aaa aac agc aat gtt gtg aaa atg cta cag gaa aat agt Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser 380 385 390	1366
gaa ctt atg aat aat aat tcc agt gag cag gtc cta tat gtt gat ccc Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro 395 400 405	1414
atg att aca gag ata aaa gaa atc ttc atc cca gaa cac aag cct aca Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr 410 415 420 425	1462
gac tac aag aag gag aat aca gga ccc ctg gag aca aga gac tac ccg Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro 430 435 440	1510
caa aac tcg cta ttc gac aat act aca gtt gta tat att cct gat ctc Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu 445 450 455	1558
aac act gga tat aaa ccc caa att tca aat ttt ctg cct gag gga agc Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser 460 465 470	1606
cat ctc agc aat aat aat gaa att act tcc tta aca ctt aaa cca cca His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro 475 480 485	1654
gtt gat tcc tta gac tca gga aat aat ccc agg tta caa aag cat cct Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro 490 495 500 505	1702
aat ttt gct ttt tct gtt tca agt gtg aat tca cta agc aac aca ata Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile 510 515 520	1750
ttt ctt gga gaa tta agc ctc ata tta aat caa gga gaa tgc agt tct Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser 525 530 535	1798
cct gac ata caa aac tca gta gag gag gaa acc acc atg ctt ttg gaa Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu 540 545 550	1846

```

aat gat tca ccc agt gaa act att cca gaa cag acc ctg ctt cct gat      1894
Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp
  555                               560                               565

gaa ttt gtc tcc tgt ttg ggg atc gtg aat gag gag ttg cca tct att      1942
Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile
  570                               575                               580                               585

aat act tat ttt cca caa aat att ttg gaa agc cac ttc aat agg att      1990
Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile
                590                               595                               600

tca ctc ttg gaa aag tagagctgtg tggcctcaaat caatatgaga aagctgcctt      2045
Ser Leu Leu Glu Lys
                605

gcaatctgaa cttgggtttt ccctgcaata gaaattgaat tctgcctctt tttgaaaaaa      2105

atgtattcac atacaaatct tcacatggac acatgttttc atttcccttg gataaatacc      2165

taggtagggg attgctgggc catatgataa gcatatgttt cagttctacc aatcttgttt      2225

ccagagtagt gacatttctg tgctcctacc atcaccatgt aagaattccc gggagctcca      2285

tgccttttta attttagcca ttcttctgcc tmatttctta aaattagaga attaaggtcc      2345

cgaaggtgga acatgcttca tggtcacaca tacaggcaca aaaacagcat tatgtggacg      2405

cctcatgtat tttttataga gtcaactatt tcctctttat tttccctcat tgaaagatgc      2465

aaaacagctc tctatttgtt acagaaaggg taaataatgc aaaatacctg gtagtaaaat      2525

aaatgctgaa aattttcctt taaaatagaa tcattaggcc aggcgtggtg gctcatgctt      2585

gtaatccag cactttggta ggctgaggtr ggtggatcac ctgaggtcag gagttcgagt      2645

ccagcctggc caatatgctg aaaccctgtc tctactaaaa ttacaaaaat tagccggcca      2705

tgggtggcagg tgcttgtaat ccagctact tgggaggctg aggcaggaga atcacttgaa      2765

ccaggaaggc agaggttgca ctgagctgag attgtgccac tgcactccag cctgggcaac      2825

aagagcaaaa ctctgtctgg aaaaaaaaaa aaaa                                2859

```

```

<210> 6
<211> 629
<212> PRT
<213> 人類

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (-21)..(-21)
<223> -21 位置處的 'Xaa' 代表 Gln 或 His。

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (126)..(126)
<223> 126 位置處的 'Xaa' 代表 Gly 或 Arg。

```

```

<400> 6

```

```

Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile
      -20                               -15                               -10

```

Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly  
           -5                          -1 1                          5

His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile  
 10                          15                          20                          25

Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu  
                           30                          35                          40

His Phe Tyr Lys Asn Gly Ile Lys Glu Arg Phe Gln Ile Thr Arg Ile  
                           45                          50                          55

Asn Lys Thr Thr Ala Arg Leu Trp Tyr Lys Asn Phe Leu Glu Pro His  
                           60                          65                          70

Ala Ser Met Tyr Cys Thr Ala Glu Cys Pro Lys His Phe Gln Glu Thr  
                           75                          80                          85

Leu Ile Cys Gly Lys Asp Ile Ser Ser Gly Tyr Pro Pro Asp Ile Pro  
 90                          95                          100                          105

Asp Glu Val Thr Cys Val Ile Tyr Glu Tyr Ser Gly Asn Met Thr Cys  
                           110                          115                          120

Thr Trp Asn Ala Xaa Lys Leu Thr Tyr Ile Asp Thr Lys Tyr Val Val  
                           125                          130                          135

His Val Lys Ser Leu Glu Thr Glu Glu Glu Gln Gln Tyr Leu Thr Ser  
                           140                          145                          150

Ser Tyr Ile Asn Ile Ser Thr Asp Ser Leu Gln Gly Gly Lys Lys Tyr  
                           155                          160                          165

Leu Val Trp Val Gln Ala Ala Asn Ala Leu Gly Met Glu Glu Ser Lys  
 170                          175                          180                          185

Gln Leu Gln Ile His Leu Asp Asp Ile Val Ile Pro Ser Ala Ala Val  
                           190                          195                          200

Ile Ser Arg Ala Glu Thr Ile Asn Ala Thr Val Pro Lys Thr Ile Ile  
                           205                          210                          215

Tyr Trp Asp Ser Gln Thr Thr Ile Glu Lys Val Ser Cys Glu Met Arg  
                           220                          225                          230

Tyr Lys Ala Thr Thr Asn Gln Thr Trp Asn Val Lys Glu Phe Asp Thr  
                           235                          240                          245

Asn Phe Thr Tyr Val Gln Gln Ser Glu Phe Tyr Leu Glu Pro Asn Ile  
 250 255 260 265

Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp  
 270 275 280

Gln Pro Trp Ser Ser Pro Phe Phe His Lys Thr Pro Glu Thr Val Pro  
 285 290 295

Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu  
 300 305 310

Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly  
 315 320 325

Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser  
 330 335 340 345

Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile  
 350 355 360

Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile  
 365 370 375

Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser  
 380 385 390

Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro  
 395 400 405

Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr  
 410 415 420 425

Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro  
 430 435 440

Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu  
 445 450 455

Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser  
 460 465 470

His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro  
 475 480 485

Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro  
 490 495 500 505

Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile

510

515

520

Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser  
 525 530 535

Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu  
 540 545 550

Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp  
 555 560 565

Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile  
 570 575 580 585

Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile  
 590 595 600

Ser Leu Leu Glu Lys  
 605

<210> 7  
 <211> 862  
 <212> PRT  
 <213> 人類

<400> 7

Met Ala His Thr Phe Arg Gly Cys Ser Leu Ala Phe Met Phe Ile Ile  
 1 5 10 15

Thr Trp Leu Leu Ile Lys Ala Lys Ile Asp Ala Cys Lys Arg Gly Asp  
 20 25 30

Val Thr Val Lys Pro Ser His Val Ile Leu Leu Gly Ser Thr Val Asn  
 35 40 45

Ile Thr Cys Ser Leu Lys Pro Arg Gln Gly Cys Phe His Tyr Ser Arg  
 50 55 60

Arg Asn Lys Leu Ile Leu Tyr Lys Phe Asp Arg Arg Ile Asn Phe His  
 65 70 75 80

His Gly His Ser Leu Asn Ser Gln Val Thr Gly Leu Pro Leu Gly Thr  
 85 90 95

Thr Leu Phe Val Cys Lys Leu Ala Cys Ile Asn Ser Asp Glu Ile Gln  
 100 105 110

Ile Cys Gly Ala Glu Ile Phe Val Gly Val Ala Pro Glu Gln Pro Gln  
 115 120 125

Asn Leu Ser Cys Ile Gln Lys Gly Glu Gln Gly Thr Val Ala Cys Thr  
 130 135 140

Trp Glu Arg Gly Arg Asp Thr His Leu Tyr Thr Glu Tyr Thr Leu Gln  
 145 150 155 160

Leu Ser Gly Pro Lys Asn Leu Thr Trp Gln Lys Gln Cys Lys Asp Ile  
 165 170 175

Tyr Cys Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Ile Asn Leu Thr Pro Glu Ser Pro  
 180 185 190

Glu Ser Asn Phe Thr Ala Lys Val Thr Ala Val Asn Ser Leu Gly Ser  
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Pro Ser Thr Phe Thr Phe Leu Asp Ile Val Arg Pro  
 210 215 220

Leu Pro Pro Trp Asp Ile Arg Ile Lys Phe Gln Lys Ala Ser Val Ser  
 225 230 235 240

Arg Cys Thr Leu Tyr Trp Arg Asp Glu Gly Leu Val Leu Leu Asn Arg  
 245 250 255

Leu Arg Tyr Arg Pro Ser Asn Ser Arg Leu Trp Asn Met Val Asn Val  
 260 265 270

Thr Lys Ala Lys Gly Arg His Asp Leu Leu Asp Leu Lys Pro Phe Thr  
 275 280 285

Glu Tyr Glu Phe Gln Ile Ser Ser Lys Leu His Leu Tyr Lys Gly Ser  
 290 295 300

Trp Ser Asp Trp Ser Glu Ser Leu Arg Ala Gln Thr Pro Glu Glu Glu  
 305 310 315 320

Pro Thr Gly Met Leu Asp Val Trp Tyr Met Lys Arg His Ile Asp Tyr  
 325 330 335

Ser Arg Gln Gln Ile Ser Leu Phe Trp Lys Asn Leu Ser Val Ser Glu  
 340 345 350

Ala Arg Gly Lys Ile Leu His Tyr Gln Val Thr Leu Gln Glu Leu Thr  
 355 360 365

Gly Gly Lys Ala Met Thr Gln Asn Ile Thr Gly His Thr Ser Trp Thr  
 370 375 380



Thr Val Ile Pro Arg Thr Gly Asn Trp Ala Val Ala Val Ser Ala Ala  
 385 390 395 400  
 Asn Ser Lys Gly Ser Ser Leu Pro Thr Arg Ile Asn Ile Met Asn Leu  
 405 410 415  
 Cys Glu Ala Gly Leu Leu Ala Pro Arg Gln Val Ser Ala Asn Ser Glu  
 420 425 430  
 Gly Met Asp Asn Ile Leu Val Thr Trp Gln Pro Pro Arg Lys Asp Pro  
 435 440 445  
 Ser Ala Val Gln Glu Tyr Val Val Glu Trp Arg Glu Leu His Pro Gly  
 450 455 460  
 Gly Asp Thr Gln Val Pro Leu Asn Trp Leu Arg Ser Arg Pro Tyr Asn  
 465 470 475 480  
 Val Ser Ala Leu Ile Ser Glu Asn Ile Lys Ser Tyr Ile Cys Tyr Glu  
 485 490 495  
 Ile Arg Val Tyr Ala Leu Ser Gly Asp Gln Gly Gly Cys Ser Ser Ile  
 500 505 510  
 Leu Gly Asn Ser Lys His Lys Ala Pro Leu Ser Gly Pro His Ile Asn  
 515 520 525  
 Ala Ile Thr Glu Glu Lys Gly Ser Ile Leu Ile Ser Trp Asn Ser Ile  
 530 535 540  
 Pro Val Gln Glu Gln Met Gly Cys Leu Leu His Tyr Arg Ile Tyr Trp  
 545 550 555 560  
 Lys Glu Arg Asp Ser Asn Ser Gln Pro Gln Leu Cys Glu Ile Pro Tyr  
 565 570 575  
 Arg Val Ser Gln Asn Ser His Pro Ile Asn Ser Leu Gln Pro Arg Val  
 580 585 590  
 Thr Tyr Val Leu Trp Met Thr Ala Leu Thr Ala Ala Gly Glu Ser Ser  
 595 600 605  
 His Gly Asn Glu Arg Glu Phe Cys Leu Gln Gly Lys Ala Asn Trp Met  
 610 615 620  
 Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile  
 625 630 635 640  
 Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala

				645						650						655
Leu	Arg	Pro	Gln	Trp	Cys	Ser	Arg	Glu	Ile	Pro	Asp	Pro	Ala	Asn	Ser	
			660					665					670			
Thr	Cys	Ala	Lys	Lys	Tyr	Pro	Ile	Ala	Glu	Glu	Lys	Thr	Gln	Leu	Pro	
		675					680					685				
Leu	Asp	Arg	Leu	Leu	Ile	Asp	Trp	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Pro	Glu	Pro	
	690					695					700					
Leu	Val	Ile	Ser	Glu	Val	Leu	His	Gln	Val	Thr	Pro	Val	Phe	Arg	His	
705					710					715					720	
Pro	Pro	Cys	Ser	Asn	Trp	Pro	Gln	Arg	Glu	Lys	Gly	Ile	Gln	Gly	His	
				725					730					735		
Gln	Ala	Ser	Glu	Lys	Asp	Met	Met	His	Ser	Ala	Ser	Ser	Pro	Pro	Pro	
			740					745					750			
Pro	Arg	Ala	Leu	Gln	Ala	Glu	Ser	Arg	Gln	Leu	Val	Asp	Leu	Tyr	Lys	
		755					760					765				
Val	Leu	Glu	Ser	Arg	Gly	Ser	Asp	Pro	Lys	Pro	Glu	Asn	Pro	Ala	Cys	
	770					775					780					
Pro	Trp	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Gly	Asp	Leu	Pro	Thr	His	Asp	Gly	Tyr	
785				790						795					800	
Leu	Pro	Ser	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Pro	Ser	His	Glu	Ala	Pro	Leu	Ala	
			805						810					815		
Asp	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Glu	Pro	Gln	His	Ile	Ser	Leu	Ser	Val	Phe	
			820					825					830			
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	His	Pro	Leu	Thr	Phe	Ser	Cys	Gly	Asp	Lys	Leu	
		835					840					845				
Thr	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Met	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Met	Leu			
	850					855					860					
<210>	8															
<211>	328															
<212>	PRT															
<213>	人類															
<400>	8															
Met	Cys	His	Gln	Gln	Leu	Val	Ile	Ser	Trp	Phe	Ser	Leu	Val	Phe	Leu	
1			5						10					15		

Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val  
 20 25 30

Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu  
 35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln  
 50 55 60

Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys  
 65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val  
 85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp  
 100 105 110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe  
 115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp  
 130 135 140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg  
 145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser  
 165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu  
 180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile  
 195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr  
 210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn  
 225 230 235 240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp  
 245 250 255

Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr  
 260 265 270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg  
 275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala  
 290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser  
 305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser  
 325

<210> 9  
 <211> 335  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<400> 9

Met Cys Pro Gln Lys Leu Thr Ile Ser Trp Phe Ala Ile Val Leu Leu  
 1 5 10 15

Val Ser Pro Leu Met Ala Met Trp Glu Leu Glu Lys Asp Val Tyr Val  
 20 25 30

Val Glu Val Asp Trp Thr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Thr Val Asn Leu  
 35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile Thr Trp Thr Ser Asp Gln  
 50 55 60

Arg His Gly Val Ile Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Thr Val Lys  
 65 70 75 80

Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Thr  
 85 90 95

Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asn Gly Ile Trp  
 100 105 110

Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn Lys Thr Phe Leu Lys Cys  
 115 120 125

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

Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys Ser Ser Ser Ser Ser Pro  
 145 150 155 160

Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala Ser Leu Ser Ala Glu Lys  
 165 170 175

Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys Tyr Ser Val Ser Cys Gln  
 180 185 190

Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu Thr Leu Pro Ile Glu Leu  
 195 200 205

Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr Glu Asn Tyr Ser Thr Ser  
 210 215 220

Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn Leu Gln  
 225 230 235 240

Met Lys Pro Leu Lys Asn Ser Gln Val Glu Val Ser Trp Glu Tyr Pro  
 245 250 255

Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Lys Phe Phe Val  
 260 265 270

Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys Glu Thr Glu Glu Gly Cys  
 275 280 285

Asn Gln Lys Gly Ala Phe Leu Val Glu Lys Thr Ser Thr Glu Val Gln  
 290 295 300

Cys Lys Gly Gly Asn Val Cys Val Gln Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Asn  
 305 310 315 320

Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro Cys Arg Val Arg Ser  
 325 330 335

<210> 10  
 <211> 531  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<400> 10

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

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Met Trp Glu Leu Glu Lys Asp Val  
 20 25 30

Tyr Val Val Glu Val Asp Trp Thr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Thr Val  
 35 40 45

Asn Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile Thr Trp Thr Ser  
 50 55 60

Asp Gln Arg His Gly Val Ile Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Thr  
 65 70 75 80

Val Lys Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly  
 85 90 95

Glu Thr Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asn Gly  
 100 105 110

Ile Trp Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn Lys Thr Phe Leu  
 115 120 125

Lys Cys Glu Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Ser Trp Leu  
 130 135 140

Val Gln Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys Ser Ser Ser Ser  
 145 150 155 160

Ser Pro Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala Ser Leu Ser Ala  
 165 170 175

Glu Lys Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys Tyr Ser Val Ser  
 180 185 190

Cys Gln Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu Thr Leu Pro Ile  
 195 200 205

Glu Leu Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr Glu Asn Tyr Ser  
 210 215 220

Thr Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn  
 225 230 235 240

Leu Gln Met Lys Pro Leu Lys Asn Ser Gln Val Glu Val Ser Trp Glu  
 245 250 255

Tyr Pro Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Lys Phe  
 260 265 270

Phe Val Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys Glu Thr Glu Glu  
 275 280 285

Gly Cys Asn Gln Lys Gly Ala Phe Leu Val Glu Lys Thr Ser Thr Glu  
 290 295 300

Val Gln Cys Lys Gly Gly Asn Val Cys Val Gln Ala Gln Asp Arg Tyr  
 305 310 315 320

Tyr Asn Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro Cys Arg Val Arg



Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val  
 20 25 30

Tyr Val Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val  
 35 40 45

Val Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu  
 50 55 60

Asp Gln Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln  
 65 70 75 80

Val Lys Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly  
 85 90 95

Glu Val Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly  
 100 105 110

Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys  
 115 120 125

Thr Phe Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys  
 130 135 140

Trp Trp Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser  
 145 150 155 160

Ser Arg Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr  
 165 170 175

Leu Ser Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser  
 180 185 190

Val Glu Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu  
 195 200 205

Pro Ile Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn  
 210 215 220

Tyr Thr Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro  
 225 230 235 240

Asn Asn Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val  
 245 250 255

Ser Trp Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser  
 260 265 270



Leu Thr Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys  
 275 280 285

Asp Arg Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys  
 290 295 300

Asn Ala Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser  
 305 310 315 320

Trp Ser Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser Gly Ser Gly Ser Ser Arg  
 325 330 335

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Leu Arg  
 340 345 350

Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln Cys Gln Gln Leu  
 355 360 365

Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His Pro Leu Val Gly  
 370 375 380

His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr Asn Asp Val  
 385 390 395 400

Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Arg Asp  
 405 410 415

Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly Leu Ile Phe Tyr  
 420 425 430

Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu Pro Ser Leu Leu  
 435 440 445

Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly Leu Ser  
 450 455 460

Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr Gln Gln Ile Pro  
 465 470 475 480

Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu Leu Arg Phe Lys  
 485 490 495

Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala Ala Arg Val Phe  
 500 505 510

Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro  
 515 520

## 七、申請專利範圍：

103年1月15日  
修正

1. 一種與人類 IL-23 R (SEQ ID NO: 6) 專一性鍵結之抗體或其抗原鍵結片段用於製造治療腫瘤或癌症之藥劑之用途。
2. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該抗體或其片段可抑制或防止腫瘤生長。
3. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該腫瘤表現 IL-23。
4. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該抗體或其片段包含：
  - a) 多株抗體；
  - b) 單株抗體；
  - c) 人源化抗體，或其片段；或
  - d) Fab、Fv 或 F(ab')<sub>2</sub> 片段。
5. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該腫瘤為：
  - a) 結腸腫瘤；
  - b) 卵巢腫瘤；
  - c) 乳腺腫瘤；或
  - d) 黑素瘤。
6. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該抗體或其片段可抑制：
  - a) 該癌症或腫瘤之生長；
  - b) 惡病質；
  - c) 厭食症；或
  - d) 血管生成。

7. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該癌症或腫瘤係下列之癌症或腫瘤：

- a) 胃腸道；
- b) 呼吸道；
- c) 生殖系統；或
- d) 內分泌系統。