



(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 I740824 B

(45) 公告日：中華民國 110 (2021) 年 10 月 01 日

(21) 申請案號：105112967

(22) 申請日：中華民國 105 (2016) 年 04 月 26 日

(51) Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

G01N33/53 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30) 優先權：2015/04/27

歐洲專利局

15305642.9

(71) 申請人：法商皮爾法伯製藥公司 (法國) PIERRE FABRE MEDICAMENT (FR)

法國

(72) 發明人：喬安納德 亞歷山卓 JOUHANNEAUD, ALEXANDRA (FR)

(74) 代理人：惲軼群；劉法正

(56) 參考文獻：

US 2013/0084243A1

WO 2007/126876A2

WO 2008/079849A2

WO 2009/032145A1

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：5 共 65 頁

(54) 名稱

新穎的 IGF-1R 抗體及其用於癌症診斷之用途 (一)

(57) 摘要

本發明係有關於一種新穎的抗體，特別是單株抗體，其能結合至 IGF-1R，以及編碼該抗體之胺基酸和核酸序列。

The present invention relates to a novel antibody, in particular a monoclonal antibody, capable of binding to IGF-1R, as well as the amino and nucleic acid sequences coding for said antibody.

發明摘要

I740824

※ 申請案號：105112967

※ 申請日：105.04.26

※IPC 分類：

【發明名稱】(中文/英文)

新穎的IGF-1R抗體及其用於癌症診斷之用途(一)

NOVEL IGF-1R ANTIBODY AND ITS USE FOR THE DIAGNOSIS OF
CANCER

【中文】

本發明係有關於一種新穎的抗體，特別是單株抗體，其能結合至IGF-1R，以及編碼該抗體之胺基酸和核酸序列。

【英文】

The present invention relates to a novel antibody, in particular a monoclonal antibody, capable of binding to IGF-1R, as well as the amino and nucleic acid sequences coding for said antibody.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ ）圖。(無)

【本代表圖之符號簡單說明】：

(無)

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

新穎的IGF-1R抗體及其用於癌症診斷之用途(一)

NOVEL IGF-1R ANTIBODY AND ITS USE FOR THE
DIAGNOSIS OF CANCER

【技術領域】

發明領域

[0001]本發明係有關於一種新穎的抗體，特別是單株抗體，其能結合至IGF-1R，以及編碼該抗體之胺基酸和核酸序列。

【先前技術】

發明背景

[0002]被稱為IGF-1R(或有時為IGF1R)之類胰島素生長因子1受體為一種具有酪胺酸激酶活性之受體，其與胰島素受體IR有70%之同源性。IGF-1R為分子量大約350,000之醣蛋白。其為一種異源四聚體受體，其中利用二硫橋鍵半連接(half-linked)之各者係由細胞外 α -次單元與跨膜 β -次單元構成。IGF-1R以很高的親和力與IGF1及IGF2結合(Kd#1 nM)，惟以小100至1000倍之親和力同樣能與胰島素結合。相反地，IR以很高的親和力與胰島素結合，而IGF僅以低100倍的親和力與胰島素受體結合。IGF-1R與IR之酪胺酸激酶領域具有很高的序列同源性，惟同源性較弱地帶分別與位於 α -次單元及 β -次單元C端部分之富含半胱胺酸區域有關。於 α -次單元看到的序列差異係位於配位體的結合地帶，

因此為IGF-1R與IR分別對IGF與胰島素的相對親和力之原由。 β -次單元C端部分之差異造成該二受體傳訊途徑不同；IGF-1R媒介有絲分裂、分化及抗細胞凋亡作用，而IR之活化原則上涉及代謝途徑層次之作用。

[0003]過去20年來，IGF系統在致癌作用中之角色已成為精深研究的主題。隨著此項關注之後，發現除了其有絲分裂及抗細胞凋亡性質外，IGF-1R似為轉形表現型之建立及維持所必需。實際上，已被建立的事實為，於各式各樣細胞中，IGF-1R之過度表現或持續性活化導致不依賴支撐之細胞在缺乏胎牛血清的培養基中生長，及導使形成腫瘤於裸鼠體內。就其本身而言，此並非獨特性質，因為有太多種過度表現基因之產物可轉形細胞，包括許許多多生長因子之受體。然而，已清楚證明IGF-1R在轉形作用中所扮演的主要任務之重要發現已說明，IGF-1R^{-/-}細胞，其中編碼IGF-1R的基因已失活，會完全抵抗通常能將細胞轉形的不同製劑之轉形作用，例如牛乳頭狀瘤病毒之E5蛋白、EGFR或PDGFR之過度表現、SV 40之T抗原、活化之Ras或此等最後兩個因子之組合。

[0004]於此背景中，IGF-1R業已長期被認為是腫瘤學有興趣的標的。業已開始進行大量靶定(targeting) IGF-1R(擬人化或人類抗體或小分子)之計畫，來發展IGF-1R拮抗劑用於治療癌症，以及對於已經有超過70個臨床試驗執行於各種適應症。然而，在此日期，此等計畫無一者成功且沒有IGF-1R抗體上市。

[0005]本發明旨在提供至少一種試劑，其可以使用來作為偵測及/或監控致癌性障礙之診斷或預後的生物指標，該致癌性障礙尤其為特徵在於IGF-1R的表現之該等或是由異常的IGF-1R表現所媒介之該等。

[0006]已經有報導先前嘗試要發展一種有價值的抗體可以使用作為相關的診斷或預後工具，但是此等中無一者令人滿意。

[0007]如同從下列實例將是顯而易見的，本發明人業已出人意外的證明，於此日普遍使用於計分表現IGF-1R之腫瘤的商業抗體似乎是不相關的，因為其等給出假陽性及/或假陰性。此問題業由於選擇病人而不是IGF-1R抗體之實際的活性，已在某種程度上導致IGF-1R抗體之臨床試驗的失敗。

[0008]並且，使用商業抗體執行的最初的研究顯示出IGF-1R計分與靶定的ADC療法之抗腫瘤活性之間的不一致。

【發明內容】

發明概要

[0009]本發明打算要提供一種新穎的抗體來補救此問題，該抗體與現存的抗體相反，能夠盡力確實地與IGF-1R靶定的療法之藥理學有關聯。

[0010]於第一個態樣中，本發明之主題係一種經單離的抗體或其抗原結合片段，其以高親和性結合IGF-1R，較佳為人類IGF-1R，且因而能有用於診斷由IGF-1R表現所媒介

的病理性過度增殖致癌性障礙。

[0011]本發明的一個具體例係有關於一種抗體或其抗原結合片段，其包含具有序列辨識編號1、2、3、4、5及6的六個CDRs序列。

[0012]於一個特定的具體例中，本發明係有關於一種IGF-1R抗體或其之抗原結合片段，其特徵在於其包含：

i)一重鏈，其具有序列序列辨識編號1之CDR-H1、序列序列辨識編號2之CDR-H2及序列序列辨識編號3之CDR-H3；
以及

ii)一輕鏈，其具有序列序列辨識編號4之CDR-L1、序列序列辨識編號5之CDR-L2及序列序列辨識編號6之CDR-L3。

[0013]術語"抗體(antibody)"、"抗體(antibodies)"、"ab"或"免疫球蛋白"在最廣泛意義而言為可交換地使用的，以及包括單株抗體、經單離的、經工程設計的、化學合成的或重組型抗體(例如，全長或完整的單株抗體)、多株抗體、多價抗體或多專一性抗體(例如，雙專一性抗體)，以及還有抗體片段，只要它們展現出所欲的生物活性。在一具體例中，本發明有關於一種重組型抗體。

[0014]當使用於本說明書中，用語"IGF-1R抗體"應該被解釋為類似"抗-IGF-1R抗體"，以及意指一種能夠結合至IGF-1R的抗體。

[0015]按一種抗體的"IGF-1R結合片段"或是"抗原結合片段"，想要表示任何胜肽、多肽或蛋白，其保留該抗體結

合至IGF-1R標的(通常也稱為抗原)的能力。於一個具體例中，此“抗原結合片段”係選自於以下所構成的群組：Fv、scFv(sc代表單鏈)、Fab、F(ab')₂、Fab'、scFv-Fc片段或雙價抗體(diabodies)，或是已經藉由化學修飾來增加半生期之任何片段，例如添加聚(亞烷基)二醇，例如聚(乙二醇) (“聚乙二醇化”) (聚乙二醇化片段稱為Fv-PEG、scFv-PEG、Fab-PEG、F(ab')₂-PEG或Fab'-PEG) (“PEG”代表聚(乙二醇))，或是藉由併入至脂質體內來增加半生期之任何片段，該等片段擁有如本發明的抗體之至少一個特徵CDRs。較佳地，該等“抗原結合片段”會由衍生出該等抗原結合片段之抗體可變異重鏈或輕鏈之部份序列構成，或是包含衍生出該等“抗原結合片段之抗體可變異重鏈或輕鏈之部份序列，該部份序列足以保留如同該部份序列起源的抗體相同的結合專一性以及足夠的標的親和性，較佳為該部份序列起源的抗體之抗體的標的親和性之至少等於1/100，更佳為至少1/10。

[0016]較佳地，該“IGF-1R結合片段”或是“抗原結合片段”包含至少：

i) 序列序列辨識編號1之CDR-H1、序列序列辨識編號2之CDR-H2及序列序列辨識編號3之CDR-H3；以及

ii) 序列序列辨識編號4之CDR-L1、序列序列辨識編號5之CDR-L2及序列序列辨識編號6之CDR-L3。

[0017]按“結合(binding)”、“結合(binds)”，或類似物，意思是該抗體或其之任一抗原結合片段，與一種抗原於生

理條件下形成一個相對穩定的複合物。專一的結合會特徵在於至少大約 1×10^{-6} M或更小的平衡解離常數。判定二個分子是否結合的方法是本技藝眾所周知的且包括，舉例而言平衡透析、表面電漿子共振等等。為免生疑問，此不表示該抗體於低位準不會與另一個抗原結合或干擾。然而，作為一個具體例，該抗體僅與該抗原結合。

[0018]就CDR區域或CDR(s)來說，意欲指示出如同由IMGT所定義之免疫球蛋白的重鏈和輕鏈之高度可變異區。

[0019]已經定義出IMGT獨特的編號來比較可變異領域，不論抗原受體、鏈類型，或是物種 [Lefranc M.-P., Immunology Today 18, 509 (1997) / Lefranc M.-P., The Immunologist, 7, 132-136 (1999) / Lefranc, M.-P., Pommié, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Contet, V. 以及Lefranc, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003)]。於IMGT獨特的編號方面，恆定性胺基酸總是具有相同的位置，譬如，半胱胺酸23(1st-CYS)、色胺酸41(恆定性-TRP)、疏水性胺基酸89、半胱胺酸104(2nd-CYS)、苯丙胺酸或色胺酸118(J-PHE或J-TRP)。IMGT獨特的編號提供了框架區域(FR1-IMGT:位置1至26，FR2-IMGT:39至55，FR3-IMGT:66至104和FR4-IMGT:118至128)以及互補決定區:CDR1-IMGT:27至38、CDR2-IMGT:56至65和CDR3-IMGT:105至117，的標準化劃界。因間隙表示未被佔用的位置，所以CDR-IMGT的長

度(顯示於括號之間且由點分開，例如[8.8.13])變成決定性的資訊。IMGT獨特的編號係使用於2D圖形表示法中，稱為IMGT Colliers de Perles [Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., Immunogenetics, 53, 857-883 (2002) / Kaas, Q.以及Lefranc, M.-P., Current Bioinformatics, 2, 21-30 (2007)]，以及使用於IMGT/3D結構-DB之3D結構中[Kaas, Q., Ruiz, M. and Lefranc, M.-P., T cell receptor and MHC structural data. Nucl. Acids. Res., 32, D208-D210 (2004)]。

[0020]必須了解到，在本說明書內沒有對立說明的情況下，互補決定區或是CDR，意指如同根據IMGT編號系統所定義之免疫球蛋白的重鏈和輕鏈之高度可變異區。

[0021]然而，亦可以根據Kabat編號系統來定義CDRs(Kabat等人，Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH, 1991，以及較晚的版本)。有3個重鏈CDRs以及3個輕鏈CDRs。此處，取決於狀況，術語“CDR”和“CDRs”用來指示，含括負責該抗體辨識的抗原或抗原決定位的抗體之結合親和性的多數胺基酸殘基，之該等區域的一個或更多個，或者甚至是該等區域的全部。為了簡化本申請案的閱讀，根據Kabat之CDRs未予以定義。不過，利用根據IMGT定義的CDRs以根據Kabat定義CDRs，對熟悉此藝者將是明顯的。

[0022]於一特定的具體例中，如本發明之IGF-1R抗體係特徵在於其包含一重鏈可變異領域，該重鏈可變異領域具

有序列序列辨識編號7或是與序列序列辨識編號7有至少90%的同源性之任何序列。

[0023]於一特定的具體例中，如本發明之IGF-1R抗體係特徵在於其包含一輕鏈可變異領域，該輕鏈可變異領域具有序列序列辨識編號8或是與序列序列辨識編號8有至少90%的同源性之任何序列。

[0024]依據再另一個具體例，該抗體稱為816C12，其特徵在於其包含一重鏈可變異領域序列，其含有胺基酸序列序列辨識編號7，或是在最佳的排列後與序列序列辨識編號7有至少80%，較佳為85%、90%、95%與98%的同源性之序列；及/或特徵在於其包含一輕鏈可變異領域序列，其含有胺基酸序列序列辨識編號8，或是在最佳的排列後與序列序列辨識編號8有至少80%，較佳為85%、90%、95%與98%的同源性之序列。

[0025]於本發明的意義來說，介於2個核酸或胺基酸的序列之間的“百分比同源性”意指介於待比較的2個序列之間，在最佳的排列後所獲得的同一核苷酸或胺基酸殘基之百分比，此百分比僅僅為統計上的百分比以及介於2個序列之間的差異係沿著其等的長度隨機分佈。2個核酸或胺基酸序列的比較，傳統上係藉由在最佳排列該等序列之後比較其等來進行，該比較能按節段或係藉由使用“排列視窗”予以實施。用於比較的序列之最佳排列除了可以手工比較來進行之外，還可以透過Smith和Waterman之局部同源性演算法(1981) [Ad. App. Math. 2:482]，透過Neddleman和Wunsch

之局部同源性演算法(1970) [J. Mol. Biol. 48:443]，透過 Pearson和Lipman之相似性搜索的方法(1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444]或是透過使用此等演算法的電腦軟體(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI之GAP、BESTFIT、FASTA以及TFASTA，或是藉著比較軟體BLAST NR或BLAST P)來進行。關於與參考胺基酸序列展現出至少80%，較佳為至少85%、90%、95%和98%同源性之胺基酸序列，較佳的實例包括含括參考序列，某些修飾，尤其至少一個胺基酸的刪失、加入或取代，截斷或延伸，的該等胺基酸序列。於一個或更多個連續胺基酸或非連續胺基酸取代的事例中，較佳的取代為經取代的胺基酸係以“均等的”胺基酸來代替。此處，措辭“均等的胺基酸”係意欲表示任何胺基酸，其很可能代替結構性胺基酸的一者，然而，卻不會修改對應的抗體之生物活性以及在以下所界定之該等特定實例之生物活性。

[0026]均等的胺基酸可以憑著其等與其等要取代之胺基酸之結構同源性來決定，或是憑著很可能要產生的各種各樣的抗原結合蛋白之間的生物活性之比較測試的結果來判定。

[0027]作為非限制性實例，以下的表1係總結很可能進行，但不導致對應的經修飾的抗原結合蛋白之生物活性有顯著修飾之可能的取代；於相同的條件下反向取代當然為可能的。

表1

| 原始的殘基 | 取代 |
|---------|-----------------|
| Ala (A) | Val , Gly , Pro |
| Arg (R) | Lys , His |
| Asn (N) | Gln |
| Asp (D) | Glu |
| Cys (C) | Ser |
| Gln (Q) | Asn |
| Glu (E) | Asp |
| Gly (G) | Ala |
| His (H) | Arg |
| Ile (I) | Leu |
| Leu (L) | Ile , Val , Met |
| Lys (K) | Arg |
| Met (M) | Leu |
| Phe (F) | Tyr |
| Pro (P) | Ala |
| Ser (S) | Thr , Cys |
| Thr (T) | Ser |
| Trp (W) | Tyr |
| Tyr (Y) | Phe , Trp |
| Val (V) | Leu , Ala |

[0028]本發明的一個特定的態樣為該抗體或其之任一

抗原結合片段，不會與胰島素受體(IR)結合。

[0029]於另一具體例中，本發明之抗體係由一單株抗體所構成。

[0030]當使用於本文中，術語"單株抗體"或者"Mab"意指由實質同源的抗體族群所獲得的一種抗體，亦即除了可能天然存在的突變之外，該族群之個別的抗體為同一的，該等天然存在的突變可以以最小的量存在。單株抗體為高度專一的，針對一單一的抗原決定位。此單株抗體可以由從一單一純株(single clone)的B細胞或融合瘤來產生。單株抗體亦可以為重組型，亦即透過蛋白質工程(protein engineering)來產生。單株抗體亦可以從噬菌體抗體庫單離。此外，與多株抗體之製備相比，多株抗體典型地包括針對各種各樣的決定位或抗原決定位之各種抗體，各個單株抗體係針對該抗原之單一的抗原決定位。本發明係有關於從天然來源純化而單離或獲得的，或是藉由基因重組或化學合成所單離或獲得的抗體。

[0031]於另一具體例中，本發明之抗體係由一種重組型抗體所構成。術語"重組型抗體"意指由於重組型DNA於活細胞內表現所產生的一種抗體。本發明之重組型抗體係藉由使用本技藝眾所周知的實驗室基因重組方法來獲得，創造生物體內找不到的DNA序列。

[0032]於另一具體例中，本發明之抗體係由一種化學合成的抗體所構成。

[0033]"IGF-1R抗體"包括(於沒有相反說明的情況下)

該IGF-1R抗體之鼠類，但也包括嵌合及擬人化形式。

[0034]爲了更清楚之故，以下的表2總結根據IMGT定義的抗體816C12之序列。

表2

| 抗體 | CDR 編號 | 重鏈 | 輕鏈 | 序列辨識編號 |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| 816C12 | IMGT | CDR-H1 | | 1 |
| | | CDR-H2 | | 2 |
| | | CDR-H3 | | 3 |
| | | | CDR-L1 | 4 |
| | | | CDR-L2 | 5 |
| | | | CDR-L3 | 6 |
| I-4894 | | 可變異領域 | | 7 |
| | | | 可變異領域 | 8 |

[0035]在一具體例中，本文之單株抗體包括鼠類、嵌合及擬人化抗體。該抗體可以衍生自一種提申於法國微生物菌種中心(French collection for microorganism cultures) (法國巴黎巴斯德研究院CNCM)之鼠類來源的融合瘤，該融合瘤係藉由融合Balb/C免疫的小鼠脾細胞/淋巴細胞和骨髓瘤Sp 2/O-Ag 14細胞株的細胞所獲得的。

[0036]依據另一態樣，本發明係有關於一種能夠分泌如本發明的單株抗體之鼠類融合瘤，尤其爲編號I-4894、於2014年9月17日寄存於法國巴黎巴斯德研究院CNCM之鼠類來源的融合瘤。

[0037]由該融合瘤I-4894所分泌之單株抗體，於此稱爲

816C12，或其之任一抗原結合片段，明顯地形成本發明的一部份。

[0038]本發明係有關於一種IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其特徵在於其係由編號I-4894、於2014年9月17日提申於法國巴黎巴斯德研究院CNCM之融合瘤所分泌的。

[0039]本發明亦描述於2014年9月17日提申於法國巴黎巴斯德研究院CNCM、編號I-4894之鼠類融合瘤。

[0040]本發明的一個新穎的態樣是有關於一種經單離的核酸，其特徵在於它是選自於下列核酸：

a)一核酸，其編碼依據本發明的抗體；

b)一核酸，其包含選自於序列序列辨識編號9或10之序列，或是在最佳的排列後與序列序列辨識編號9或10有至少80%，較佳為85%、90%、95%與98%的同源性之序列；以及

e)如同a)或b)之中所定義的該等核酸之互補的核酸。

[0041]以下的表3總結關於本發明的816C12抗體之各種各樣的核苷酸序列。

表3

| 抗體 | 重鏈 | 輕鏈 | 序列辨識編號 |
|--------|-------|-------|--------|
| 816C12 | 可變異領域 | | 9 |
| I-4894 | | 可變異領域 | 10 |

[0042]於本說明中交換地使用的術語“核酸”、“核序列 (nucleic sequence)”、“核酸序列”、“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“多核苷酸序列”以及“核苷酸序列”，意指核苷酸之精確的

經修飾或未修飾的序列，其定義含括非天然的核苷酸或不
含括非天然的核苷酸的核酸之片段或區域，以及一雙股
DNA、一單股DNA或是該等DNAs之轉錄產物。

[0043]也應該包括於此的是，本發明並非有關於處於其
等之天然的染色體環境，亦即天然的狀態，之核苷酸序列。
本發明的序列業已經單離及/或純化，亦即，舉例而言其等
藉由複製而直接地或間接地採樣，其等之環境已經至少部
分地修飾。此處也應該提及經由，藉著舉例而言，宿主細
胞之重組遺傳學所獲得的，或是藉由化學合成所獲得之經
單離的核酸。

[0044]本發明亦有關於一種載體，其包含如同本發明中
所說明的一核酸。

[0045]本發明尤其對準選殖及/或表現含括此一核苷酸
序列之載體。

[0046]本發明的載體較佳含括了允許核苷酸序列於一
假定的宿主細胞中表現及/或分泌之元素。載體因此必須含
括一種啟動子、轉譯起始和終止信號，以及合適的轉錄調
節區域。其必須以穩定的方式維持於宿主細胞中以及可以
選擇性地具有特定的信號，該等信號具體指定經轉譯的蛋
白之分泌。此等各種各樣的元素係由熟悉此藝者依據所使
用的宿主細胞予以選擇以及最佳化。為此目的，核苷酸序
列可以插入至所選擇的宿主內之自我複製的載體中，或是
為所選擇的宿主之整合性的載體。

[0047]此等載體係藉由熟悉此藝者典型使用的方法來

製備，以及所產生的純株可以藉由標準的方法，例如脂轉染(lipofection)、電穿孔、熱休克或化學的方法，予以導入至一合適的宿主內。

[0048]載體舉例而言，係質體或是病毒來源的載體。其等係使用來轉形宿主細胞俾以選殖或表現本發明的核苷酸序列。

[0049]本發明亦包含宿主細胞，其等係藉由如同本發明中所說明的一載體予以轉形或是包含如同本發明中所說明的一載體。

[0050]宿主細胞可以選自於原核或真核系統之中，例如舉例而言，細菌細胞，而且還有酵母細胞或動物細胞，尤其哺乳動物的細胞。亦可以使用昆蟲或植物細胞。

[0051]本發明亦關於具有依據本發明之轉形細胞的動物，除了人類之外。

[0052]本發明的另一個態樣係有關於一種生產如本發明之抗體，或其之功能性片段之一者的方法，其特徵在於該方法包含下列步驟：

a)於如本發明之宿主細胞的培養基內及適合的培養條件下培養；以及

b)從該培養基或從該等培養的細胞回收以此方式生產的該抗體，或其之功能性片段之一者。

[0053]依據本發明之經轉形的細胞是在製備依據本發明之重組型多肽的方法中使用。本發明亦包含製備依據本發明之重組型形式之多肽的方法，該等方法係特徵在於該

等方法使用依據本發明之一載體及/或由依據本發明之一載體予以轉形的一細胞。較佳地，由依據本發明之一載體予以轉形的一細胞係於允許前述的多肽之表現以及該重組型胜肽的回收之條件下培養。

[0054]如同業已提及的，宿主細胞可以選自於原核或是真核系統之中。尤其是，可鑑別出本發明的核苷酸序列，有助於此原核或真核系統中分泌者。因此，帶有此一序列之依據本發明的載體可以有利地使用來產生待分泌的重組型蛋白。更確切地，事實上在細胞培養上清液中，而不是在宿主細胞內部，更能幫助此等有興趣之重組型蛋白的純化。

[0055]亦揭示本發明之抗體作為生物指標之用途。該等方法可以使用於偵測或診斷與IGF-1R之表現相關之各種各樣的過度增殖致癌性障礙，藉由以下例示之，但是不限於，攝護腺癌、骨肉瘤、肺癌、乳癌、子宮內膜癌、神經膠母細胞瘤、結腸、癌、胃癌、腎癌、胰臟癌、頭頸部癌或是與IGF-1R之表現有關聯之任何其他的癌症。如同熟悉此藝者會承認的，與一特定的障礙關聯的抗體表現之位準會取決於事先存在的病況之本質及/或嚴重性而變化。

[0056]以熟悉此藝者所知道的慣例的方式之任一者(例如，局部的、非經口的、肌肉內的，等等)來投藥本發明的抗體，會提供非常有用的方法以偵測一樣本內發育不良的細胞以及允許一臨床醫生監控一病人的治療攝生法(therapeutic regiment)，該病人接受與IGF-1R表現相關的過

度增殖障礙之治療或是由IGF-1R之表現所媒介的過度增殖障礙之治療。

[0057]本發明的抗體，或其抗原結合片段，會於各種各樣的醫學目的或研究目的中找到用途，包括與IGF-1R之表現有關聯的各種各樣的病理學之偵測、診斷、預後，以及分期。

[0058]本發明的一個具體例係有關於一種IGF-1R抗體或其抗原結合片段，如上所述供使用作為一種用於偵測表現IGF-1R的腫瘤細胞之製劑。

[0059]本發明的另一個具體例係該IGF-1R抗體或其抗原結合片段，如上所述，用於活體外或離體地(*ex vivo*)診斷或預後一種與IGF-1R表現相關的致癌性障礙。

[0060]當使用於本文中“診斷”一疾病係提及鑑別或偵測與IGF-1R表現相關的病理性過度增殖致癌性障礙或由IGF-1R之表現所媒介的病理性過度增殖致癌性障礙之存在，監控該疾病的進展，以及鑑別或偵測指示出與IGF-1R表現相關的障礙之細胞或樣本的方法。

[0061]當使用於本文中“預後”意指由一疾病恢復的可能性或是一疾病之很可能的發展或結果的預測。舉例而言，設若來自一個體的樣本關於用IGF-1R抗體之染色為陰性的，那麼該個體的“預後”係比設若該樣本關於IGF-1R之染色陽性的為更佳的。樣本可以如同在下文會更詳細說明的，以適當的標度關於IGF-1R之表現位準來計分。

[0062]該IGF-1R抗體可以以一免疫複合物或是一經標

定的抗體的形式存在以獲得可偵測的/可以定量的信號。當與合適的標誌或其他適當的可偵測的生物分子或化學品一起使用時，該IGF-1R抗體係特別有用於活體外和活體內診斷及預後應用。

[0063]供使用於免疫分析之標誌為熟悉此藝者所普遍知道的以及包括酵素、放射性同位素，以及螢光的、發光以及顯色物質，包括有顏色的顆粒例如膠質金或是乳膠珠子。合適的免疫分析包括酵素連結免疫測定法(ELISA)。各種各樣類型的標誌以及使標誌接合至IGF-1R抗體的方法，係熟悉此藝者所熟知的，例如在以下提出的該等。

[0064]當使用於本文中，術語“一種與IGF-1R表現相關的致癌性障礙”係意欲包括疾病和其他的障礙，其中高位準的IGF-1R(異常的)存在於一受該障礙之苦的個體內，已經顯示出為該障礙的病理生理學的原因或促成該障礙之惡化的因素或是可疑為該障礙的病理生理學的原因或促成該障礙之惡化的因素。任擇地，可以舉例而言，藉由於一受該障礙之苦的個體之受影響的細胞或組織內之細胞表面上之IGF-1R之位準的增加來證明此等障礙。IGF-1R位準之增加可以使用IGF-1R抗體來偵測。

[0065]於某些具體例中，當“增加的表現”涉及IGF-1R時，係提及蛋白或基因的表現位準，相對於一對照，於表現方面顯示出統計上顯著的增加(如同藉由RNA表現或蛋白表現予以測量的)。

[0066]一個具體例係一種如上所述的IGF-1R抗體或其

抗原結合片段，供用於判定是否帶有一致癌性障礙的病人可能會從靶定IGF-1R途徑的抑制劑之治療得益，優先為單獨、組合或複合的IGF-1R抗體。

[0067]當使用於本說明書中，用語“靶定IGF-1R途徑的抑制劑”意指能夠減少或抑制IGF-1R的酪胺酸激酶活性之任何化合物，不論是結合至IGF-1R的配位體或結合至IGFR自身。此等抑制劑之實例為蛋白、胜肽、抗體或抗體-藥物-共軛物或是任何化學化合物，其作用為IGF-1R拮抗劑、反義寡核苷酸或是siRNA，抑制IGF-1R基因之表現或編碼IGFR配位體中的一者之基因的表現，或是熟悉此藝者已知的任何其他藥物或化合物。

[0068]更特別地，就本說明書的意義來說，靶定IGF-1R途徑的抑制劑打算要包含能結合至IGF-1R且抑制其配位體的結合之任何化合物或分子。

[0069]再更特別地，就本說明書的意義來說，靶定IGF-1R途徑的抑制劑打算要包含結合至IGF-1R的結合之任何單株抗體。

[0070]於另一個較佳具體例中，靶定IGF-1R途徑的該抑制劑係由一種抗體-藥物-共軛物(ADC)所組成，其中該抗體部分靶定IGF-1R，且該藥物部分可以選自於細胞毒性(cytotoxic)、細胞增殖抑制、毒素等等。於一例示性的具體例中，該藥物部分可以由奧瑞他汀(auristatins)、類似物或衍生物所組成。

[0071]本發明的一個目的亦為說明一種活體外或離體

地偵測一個體內表現IGF-1R之腫瘤細胞的存在及/或位置之方法，該方法包含下列步驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如上所述本發明之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及

(b)偵測該IGF-1R抗體或其抗原結合片段與該生物樣本的結合。

[0072]本發明亦針對一種活體外或離體地偵測及/或定量及/或判定一個體，較佳於細胞表面上，的IGF-1R之表現位準之方法，該方法包含下列步驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如上所述本發明之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及

(b)偵測及/或定量及/或判定該生物樣本內之該IGF-1R抗體或其抗原結合片段之結合位準。

[0073]IGF-1R抗體之結合可以藉由如熟悉此藝者可得之各種各樣的分析法來偵測及/或定量及/或判定。雖然本發明含括用於進行分析之任何合適的手段，但可以特別提及螢光活化細胞分選技術(FACS)、ELISA、西方墨點與免疫組織化學(IHC)。較佳的方法包括IHC與FACS。

[0074]本發明亦描述一種活體外或離體地偵測一個體內表現IGF-1R之腫瘤細胞百分比的方法，該方法包含下列步驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如上所述之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及

(b)定量化該生物樣本內表現IGF-1R之細胞百分比。

[0075]本發明之另一個具體例係一種活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞或腫瘤內之IGF-1R之表現位準之方法，該方法包含下列步驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如上所述之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及

(b)定量化該IGF-1R抗體或其之抗原結合片段與該生物樣本內IGF-1R之結合位準。

[0076]如同對熟悉此藝者會是明顯的，結合至IGF-1R的IGF-1R抗體位準可以以熟悉此藝者已知的任何手段予以定量化。較佳的方法涉及使用免疫酵素方法，例如ELISA分析法、免疫螢光法、IHC、放射免疫分析法(RIA)，或是FACS。

[0077]依據本發明的方法，該IGF-1R抗體或其之抗原結合片段與IGF-1R之結合位準係藉由螢光活化細胞分選技術(FACS)或免疫組織化學(IHC)來定量。

[0078]—“生物樣本”可以為從一個體取得的任何樣本。此一樣本必須容許判定本發明的生物指標之表現位準。該樣本的本質因而取決於腫瘤的本質。

[0079]設若癌症為液態腫瘤，則較佳的生物樣本包括，例如血液樣本、血漿樣本，或淋巴樣本之樣本。

[0080]設若癌症為實性腫瘤，則較佳的生物樣本包括，例如一生檢樣本或從外科切除療法取得的樣本。

[0081]較佳地，生物樣本為一生物的流體，例如人類起源的血清、全血細胞，一組織樣本或生檢。樣本舉例而言

可以包括，生檢的組織，其可以合宜地分析一種與IGF-1R表現相關的病理性致癌性障礙之存在。

[0082]一旦判定測試生物樣本內之IGF-1R表現位準，該等結果可以與對照樣本的該等結果比較，對照樣本係以類似於測試生物樣本的方式但是從不具有與IGF-1R表現相關的致癌性障礙之個體所獲得的。設若於該測試生物樣本內之IGF-1R之位準係顯著地提升，可以斷定從該個體衍生之障礙有增加的可能性或是會發展該障礙。

[0083]本發明係有關於一種活體外或離體地診斷或預後一表現IGF-1R的腫瘤之方法，其中該方法包含下列步驟：(i)判定IGF-1R之表現位準，其係藉由依據本發明且如上所說明的一種活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞或腫瘤內之IGF-1R之表現位準之方法，以及(ii)比較步驟(i)之該表現位準與來自正常組織或一非表現IGF-1R組織之IGF-1R之參考表現位準。

[0084]關於靶定的抗腫瘤療法之發展，用免疫組織技術之診斷提供了有關受體的表現位準之原位資訊，以及因而能夠選擇對治療敏感的病人接著選擇需要此治療之受體的表現位準。

[0085]時期的判定具有潛在的預後價值以及可提供設計最佳的療法之準則。Simpson等人，*J. Clin. Oncology* 18:2059 (2000)。舉例而言，實性腫瘤的治療選擇係基於腫瘤分期，其通常使用來自美國癌症聯合委員會(AJCC)之腫瘤/結節/轉移(TNM)來執行。一般承認，雖然此測試與分期

系統提供一些關於病人體內已經診斷出的實性腫瘤之有價值的時期資訊，但其不準確且不夠充分。特別地，其不能鑑別腫瘤進程之最早的時期。

[0086]一種活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞之IGF-1R計分或腫瘤之IGF-1R計分的方法構成另一個具體例，該方法包含下列步驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如上所述之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；

(b)藉由螢光活化細胞分選技術(FACS)或免疫組織化學(IHC)，來定量化該IGF-1R抗體或其之抗原結合片段與該生物樣本內IGF-1R之結合位準；以及

(c)藉由比較步驟(b)中獲得的經定量的位準，與基於染色的強度以及陽性細胞百分比之二個參數之適當的標度，來計分該腫瘤細胞或該腫瘤。

[0087]於一具體例中，當組織樣本為福馬林固定的、甲醛取代固定的、Glyco-fixx固定的(Glyco-fixx fixed-)、石蠟包封及/或冷凍者時，IGF-1R抗體能夠結合IGF-1R。

[0088]可以使用任何慣例的危險分析方法來估計IGF-1R之預後價值。代表性的分析方法包括Cox的回歸分析，其為一種用於模型化在審查的事例中之存活或時間點至事件數據的半參數方法(Hosmer and Lemeshow, 1999; Cox, 1972)。與其他的存活分析相比，例如Life Tables或Kaplan-Meyer，Cox允許包含預測變數(共變量)於模型中。使用一慣例的分析方法，例如，Cox，一個人可以測試關於

一種原發腫瘤之IGF-1R之表現狀態對於疾病的復發之開始時間(time-to-onset) (無疾病的存活時間，或是變成轉移性疾病的時間)，或是由該疾病的直到死亡的時間(全部的存活時間)之相關性之假說。Cox的回歸分析亦已知為Cox比例危險分析。此方法為用於測試一腫瘤指標有關於病人的存活時間的預測價值之標準。當以多變數模式使用時，數個共變量的作用係平行地測試以至於可以鑑別出具有獨立的預測價值之個別的共變量，亦即最有用的指標。術語陰性或陽性“IGF-1R狀態”亦可提及為[IGF-1R (-)]或是[IGF-1R (+)]。

[0089]一樣本可以在癌症診斷或監控的整個期間予以“計分”。以其最簡單的形式，當藉由透過免疫組織化學之樣本的目視檢驗而判斷時，計分可以屬於陰性的或陽性的類別。更多的定量計分牽涉判斷染色的強度以及被採樣之經染色的(“陽性”)細胞之比例的2個參數。

[0090]於本發明的意義中，“IGF-1R狀態”係有關於根據IGF-1R的表現位準之判定而將腫瘤的分類成一種IGF-1R陽性[IGF-1R (+)]或是IGF-1R陰性[IGF-1R (-)]類別，IGF-1R之表現位準如同藉由任何的方法來測量，例如免疫組織化學(IHC)、螢光活化細胞分選技術FACS，或熟悉此藝者所知道的其他方法。

[0091]於一具體例中，為了確保標準化，樣本可以以不同的標度來計分IGF-1R的表現位準，其等之多數係根據反應產物之強度與陽性細胞的百分比之評估(Payne等人，

Predictive markers in breast cancer – the present, *Histopathology* 2008, 52, 82-90)。

[0092]於另一具體例中，該計分，特別是於本發明之方法的步驟(c)中，包含使用基於染色的強度以及陽性細胞百分比之適當的標度。

[0093]作為第一個實例，透過雌激素受體與黃體激素受體之IHC評估之Quick Allred計分，樣本可以就IGF-1R之表現位準方面關於反應性強度及經染色的細胞比例之0至8的組合的分數之總體標度予以計分(Harvey JM, Clarck GM, Osborne CK, Allred DC; *J. Clin. Oncol.* 1999; 17; 1474-1481)。

更特別地，第一個反應性強度之準則係以由0至3的標度予以計分，0對應於“無反應性”且3對應於“強反應性”。第二個反應的比例之準則係以由0至5的標度予以計分，0對應於“無反應性”且5對應於“67-100%反應的比例”。接而計算反應性強度的分數及反應的比例的分數之總和而產生0至8的總分。0-2的總分視為陰性而3-8的總分視為陽性。

[0094]依據此標度，本說明中使用之術語腫瘤或腫瘤細胞之陰性或陽性“IGF-1R狀態”係提及分別對應於奧爾雷德的標度(Allred's scale)之0-2或3-8之IGF-1R的表現位準。

[0095]下文之表4闡明用於詮釋依據奧爾雷德法的IHC結果之指導方針。

表4

| 免疫反應性強度 | 分數 1 | 反應的比例 | 分數 2 |
|----------------|------|---------|------|
| 無反應性 | 0 | 無反應性 | 0 |
| 弱反應性 | 1 | <1% | 1 |
| 中度反應性 | 2 | 1-10% | 2 |
| 強反應性 | 3 | 11-33% | 3 |
| | - | 34-66% | 4 |
| | - | 67-100% | 5 |
| 總分(分數 1 +分數 2) | | 詮釋 | |
| 0-2 | | 陰性 | |
| 3-8 | | 陽性 | |

[0096] 依據本發明，該方法係特徵在於該適當的標度為0至8的標度，其中無反應性得分為0，以及於67-100%的比例反應性之比例之強反應性得分為8。

[0097] 因而，於一個較佳具體例中，依據本發明之活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞或腫瘤之IGF-1R計分或腫瘤之IGF-1R計分的方法，係特徵在於步驟(c)中，該適當的標度為0至8的標度，其中無反應性得分為0，以及於67-100%的比例反應性之比例之強反應性得分為8。

[0098] 換言之，說明並且主張一種活體外或離體地判定來自一個體之一腫瘤或腫瘤細胞之狀態的方法，其中該方法包含下列步驟：

(a) 依據奧爾雷德的標度來計分來自一個體之腫瘤或腫瘤細胞；以及

(b) - i) 判定具有3至8的奧爾雷德分數之該腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R(+)]；或是

-ii) 判定具有0至2的奧爾雷德分數之該腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R(-)]。

[0099]於本發明的一特定態樣中，具有3的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0100]於本發明的一特定態樣中，具有4的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0101]於本發明的一特定態樣中，具有5的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0102]於本發明的一特定態樣中，具有6的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0103]於本發明的一特定態樣中，具有7的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0104]於本發明的一特定態樣中，具有8的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0105]於本發明的另一特定態樣中，具有3至8的奧爾雷德分數之腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R (+)]。

[0106]本文所述之另一特定的活體外或離體地判定一個體之腫瘤細胞或腫瘤之IGF-1R狀態的方法，係特徵在於其包含下列步驟：

(a)依據請求項18之方法來計分來自該個體之IGF-1R腫瘤細胞或腫瘤；以及

(b)判定具有3至8的分數之腫瘤細胞或腫瘤的IGF-1R狀

態為[IGF-1R(+)]；或是

(c)判定具有0至2的分數之腫瘤細胞或腫瘤的IGF-1R狀態為[IGF-1R(-)]。

[0107]作為第二個實例，透過類推例如HER-2受體之IHC評估之慣用的計分，樣本可以以一種稍微更簡單的計分方法就IGF-1R之表現位準方面予以計分，該計分方法合併了染色的強度(優先為膜染色)以及顯示出染色的細胞比率成為由0至3⁺之組合的標度。

[0108]於此提及為簡化的標度之標度內，0與1⁺為陰性的而2⁺與3⁺表示為陽性染色。不過，可記錄分數1⁺-3⁺為陽性，因為當與分數0(陰性的)比較時，各個陽性的分數可能與復發和致命的疾病之顯著更高的風險有關聯，但是在陽性的分數之中增加的強度可以提供額外的風險減低。

[0109]一般說來，本說明中使用之術語腫瘤或腫瘤細胞之陰性或陽性“IGF-1R狀態”提及分別地對應於簡化的標度中0-1⁺或2⁺-3⁺的分數之IGF-1R之表現位準。應只考慮侵入性的腫瘤之完全的周圍膜性的反應性且通常類似一“小孔線網”的外表。於現行的指導方針下，IGF-1R之計分為邊界(2⁺或3⁺的分數)的樣本必須接受進一步的評估。設若，作為非限制性實例，對照不如預期，大多數的樣本牽涉到人為效應以及樣本具有正常的乳房管道(內部對照)之強的膜性陽性、暗示著過度的抗原修復，則應該否決IHC分析，並且透過FISH或任何其他的方法來重做或測試。

[0110]為了更清楚之故，在下文的表5之內總結此等參

數。

表5

| IGF-1R 狀態 | IHC 說明 |
|----------------|--|
| 0 | 於少於 10%的腫瘤細胞中無反應性或膜性的反應性 |
| 1 ⁺ | 於超過 10%的腫瘤細胞之中偵測到微弱的/勉強可感知的膜性反應性。該等細胞只有於膜的部份為免疫反應性的。 |
| 2 ⁺ | 於超過 10%的腫瘤細胞中見到弱至中度完全的膜性反應性。 |
| 3 ⁺ | 於超過 10%的腫瘤細胞中見到強的完全反應性。 |

[0111]本發明的方法係特徵在於，該適當的標度為0至3+的標度，其中腫瘤細胞沒有膜性的反應性者得分為0，以及於超過10%的腫瘤細胞之中為強的完全反應性者得分為3⁺。

[0112]更詳細地，如上所說明的，該適當的標度為0至3的標度，其中腫瘤細胞沒有膜性的反應性得分為0；於超過10%的腫瘤細胞之中有微弱可感知的膜性的反應性得分為1⁺；於超過10%的腫瘤細胞之中有弱的至中度完全的膜性反應性得分為2⁺；以及於超過10%的腫瘤細胞之有中強的完全反應性得分為3⁺。

[0113]換言之，說明並且主張一種活體外或離體地判定來自一個體之一腫瘤或腫瘤細胞之狀態的方法，其中該方

法包含下列步驟：(a)依據如上說明之簡化的標度來計分來自個體之腫瘤或腫瘤細胞；以及(b)判定具有2+或是3+的分數之該腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R(+)]；或是(c)判定具有0或1+的分數之該腫瘤或腫瘤細胞的狀態為[IGF-1R(-)]。

[0114]於本發明的一特定態樣中，具有2+的分數之腫瘤或腫瘤細胞為[IGF-1R (+)]。

[0115]於本發明的一特定態樣中，具有3+的分數之腫瘤或腫瘤細胞為[IGF-1R (+)]。

[0116]於本發明的另一特定態樣中，具有2+或3+的分數之腫瘤或腫瘤細胞為[IGF-1R (+)]。

[0117]於另一具體例中，本發明係有關於一種活體外或離體地判定一個體之腫瘤細胞或腫瘤之IGF-1R狀態的方法，該方法包含下列步驟：

(a)依據如前所述本發明之方法來計分來自該個體之IGF-1R腫瘤細胞或腫瘤；以及

(b)-i) 判定具有2⁺或3⁺的分數之腫瘤細胞或腫瘤的IGF-1R狀態為[IGF-1R(+)]；或是

-ii) 判定具有0或1⁺的分數之腫瘤細胞的IGF-1R狀態為[IGF-1R(-)]。

[0118]大體而言，一測試或分析的結果可以以各種各樣的格式之任一者來呈現。結果可以以定性的方式來呈現。舉例而言，測試報告可以僅指示出是否偵測到一特定的多肽，或許也伴隨指示出偵測的限制。結果可以顯示為半定

量的。舉例而言，可以定義各種各樣的範圍，以及該等範圍可以被指定提供某些程度的定量資訊之分數(例如，取決於所使用的標度而為0至3+或0至8)。此一分數可以反映各種各樣的因子，例如，偵測到IGF-1R之細胞的數量，信號的強度(其可以指示出IGF-1R之表現位準或具有IGF-1R的細胞)，等等。結果可以以定量的方式，例如，顯示為偵測到IGF-1R之細胞的百分比，蛋白的濃度，等等。

[0119]如同熟悉此藝者會了解的，由一測試所提供之輸出資料的類型會取決於測試之技術限制以及與該多肽的偵測有關聯之生物的顯著性而變化。舉例而言，於某些多肽的事例中，一僅僅定性的輸出資料(例如，是否偵測到某些偵測位準之多肽)提供了顯著的資訊。於其他的事例中，更多的定量輸出資料(例如，於被測試的樣本內之多肽的表現位準相對於正常的位準之比率)為必需的。

[0120]於另一態樣中，說明一種診斷一個體內與IGF-1R之表現有關之病理性過度增殖致癌性障礙或是對與IGF-1R之表現有關之病理性病況之感受性的方法，該方法包含下列步驟：

(a)藉由依據本發明之偵測表現IGF-1R的細胞及/或判定IGF-1R之表現位準的方法，來判定一樣本內帶有IGF-1R的細胞之存在或缺乏，以及

(b)根據該具有IGF-1R的細胞之存在或缺乏來診斷一病理性病況或是對一病理性病況之感受性。

[0121]於本文所述的方法中，偵測到表現IGF-1R的細胞

或是IGF-1R之位準的增加一般指示出一病人帶有或是懷疑呈現一種IGF-1R媒介的障礙。

[0122]本發明亦提供一種預測一個體發展出一癌症的風險之方法，該方法包含偵測一組織樣本內的IGF-1R之表現位準，其係藉由依據本發明之偵測表現IGF-1R的細胞及/或判定IGF-1R之表現位準的方法，其中IGF-1R之高表現位準係表示發展出一癌症的高風險。

[0123]本發明亦有關於一種評估腫瘤侵犯性的方法。

[0124]當使用於本文中“腫瘤侵犯性”係提及一種快速生長且易於迅速擴散的腫瘤。

[0125]於一具體例中，該評估腫瘤侵犯性的方法包含下列步驟：

(a)藉由依據本發明之偵測表現IGF-1R的細胞及/或判定IGF-1R之表現位準的方法，來判定一腫瘤樣本內由細胞所表現的該IGF-1R之位準，

(b)藉由依據本發明之偵測表現IGF-1R的細胞及/或判定IGF-1R之表現位準的方法，來判定在較晚的時間從相同的個體取得之均等的組織樣本內所表現的該IGF-1R之位準，以及

(c)判定步驟(a)中獲得的表現位準與步驟(b)中獲得的比率之間的比率

其中在時間期間內該腫瘤樣本內IGF-1R之表現比率提供癌症進展風險之資訊。

[0126]於一較佳具體例中，於步驟(a)中獲得的位準對

步驟(b)中獲得的位準之比率超過1指示出侵犯性。於另一具體例中，低於或等於1之比率指示出非侵犯性。

[0127]本發明之另一個態樣為監測IGF-1R表現對靶定IGF-1R途徑的療法之投藥的反應，其涉及依據本發明之偵測及/或定量IGF-1R及/或判定表現位準之方法。此一監測在該療法觸發IGF-1R之向下調節及/或降解作用時是非常有用的。

[0128]本發明的一個目的亦為說明一種判定是否一致癌性障礙係對用一靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療為敏感性的方法，該方法包含下列步驟：

(a)依據如上所述本發明之計分方法，來活體外或離體地判定一個體之腫瘤的腫瘤細胞之IGF-1R狀態，以及

(b)設若腫瘤細胞或腫瘤的IGF-1R狀態為IGF-1R(+)，判定該致癌性障礙對用一靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療為敏感性的。

[0129]特別地，監測細胞表面上之IGF-1R表現可以為一種評估在臨床試驗及“個別化的”療法的整個期間之治療功效之關鍵性的工具。

[0130]本申請案因而提供判定一個體適合的治療攝生法之方法。

[0131]IGF-1R位準之增加或減少，此可以藉由依據本發明之偵測及/或判定表現位準的方法來決定，指示出與IGF-1R相關的癌症之演化。因而，藉由測量表現IGF-1R的細胞數量的增加或是存在於各種各樣的組織或細胞內的

IGF-1R的濃度之改變，來判定一種旨在改良與IGF-1R相關的惡性之特定的治療攝生法是否為有效是可能的。

[0132]本發明的另一個目的亦為一種活體外或離體地判定治療攝生法的功效的方法，該治療攝生法係經設計來減輕受與IGF-1R相關的致癌性障礙之苦的個體內之該障礙，該方法包含下列步驟：

(a)如上所述，藉由依據本發明之偵測及/或判定表現位準的方法，來判定第一個生物樣本內之IGF-1R之第一個表現位準，該第一個生物樣本係對應於該治療之第一個時間點；

(b)如上所述，藉由依據本發明之偵測及/或判定表現位準的方法，來判定第二個生物樣本內之IGF-1R之第二個表現位準，該第二個生物樣本係對應於該治療之第二個、較晚的時間點；

(c)計算步驟(a)中獲得的該第一個表現位準對步驟(b)中獲得的該第二個表現位準之比率；以及

(d)在步驟(c)之該比率大於1時，判定該治療攝生法的功效為高的；或是在步驟(c)之該比率低於或等於1時，判定該治療攝生法的功效為低的。

[0133]於一較佳具體例中，該經設計來減輕受與IGF-1R相關的致癌性障礙之苦的個體內與該IGF-1R相關的致癌性障礙之治療攝生法，包括投藥靶定IGF-1R途徑的療法至該個體。

[0134]本發明的一個目的亦為提供一種活體內成像與

IGF-1R表現相關的致癌性障礙的方法，其係使用依據本發明之偵測及/或判定表現位準的方法。此一方法有用於活體內定位該腫瘤細胞，以及監測其等之侵襲性。同樣地，該方法有用於監測病人體內之進展及/或對治療的反應，該病人先前診斷為具有IGF-1R媒介的癌症。

[0135]一個具體例為一種偵測個體內表現IGF-1R的腫瘤細胞位置的方法，該方法包含下列步驟：

a)投藥依據本發明之IGF-1R抗體或其之抗原結合片段至該個體；以及

b)偵測該IGF-1R抗體的結合作用，

其中該結合作用表示該腫瘤細胞的存在。

[0136]關於一種表現的腫瘤存在之偵測法，可以使用許多熟悉此藝者已知的技術。然而，較佳的手段為IHC與FACS。

[0137]於另一個態樣中，本發明提供一種活體內的成像試劑，該成像試劑包含依據本發明之IGF-1R抗體或其之抗原結合片段，該IGF-1R抗體較佳為經標定的，更佳為經放射性標定的。

[0138]本發明亦預期該試劑於受IGF-1R媒介的癌症之苦的病人體內之醫學成像的用途。

[0139]本發明的方法包含下列步驟：

(a)投藥一成像有效量之本發明的成像試劑至該病人以及

(b)偵測該試劑。

[0140]於一較佳具體例中，該成像劑包含依據本發明之IGF-1R抗體或其之抗原結合片段，和一活性部分。

[0141]當使用於本文中，“活性部分”為允許活體內偵測該成像試劑的製劑。依據本發明之活性部分尤其為包括放射元素例如鎝-99m(99mTc)、銅-67(Cu-67)、釷-47(Sc-47)、鐳(Lutetium)-77 (Lu-177) 銅-64(Cu-64)、釷-86(Y-86)或是碘-124(I-124)。

[0142]該成像劑係以用於哺乳動物，例如一人類，體內的診斷用途之有效量予以投藥，以及繼而偵測該成像劑之定位和累積。該成像劑之定位和累積可以藉由放射核酸化物成像、放射性閃爍攝影術、核磁共振成像、電腦斷層攝影、正子放射斷層造影術、電腦化斷層掃描、X-射線或是磁共振成像的方法、螢光偵測，以及化學發光偵測予以偵測。

[0143]關於靶定的抗腫瘤療法之發展，用免疫組織技術之診斷提供了有關受體的表現位準之原位資訊，例如，關於腫瘤的大小及/或位置。該診斷因而能夠選擇對治療敏感的病人接著選擇需要此治療之受體的表現位準。

[0144]本發明之特別感興趣的態樣是，一種選擇經預測為會從投藥治療量的靶定IGF-1R途徑之抗體藥物得益，或不會得益之癌症病人的方法，該方法包含下列步驟：

(a)依據如上所述本發明的方法，來判定IGF-1R之表現位準；

(b)比較先前的步驟(a)之表現位準與參考表現位準；以

及

(c)設若(a)中獲得的該表現位準對該參考表現位準之比率大於1，就選擇該病人為經預測為會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益者；或是

(d)設若(a)中獲得的該表現位準對該參考表現位準之比率低於或等於1，就選擇該病人為非預測會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益者。

[0145]IGF-1R之表現位準有利地與一對照細胞或樣本內的位準比較，或是相較於一對照細胞或樣本內的位準而進行測量，一對照細胞或樣本內的位準也稱為“參考位準”或“參考表現位準”。“參考位準”、“參考表現位準”、“對照位準”以及“對照”於本說明書之內係交換地使用。一“對照位準”意指於通常無疾病或癌症、可比較的對照細胞內所測量之獨立的基線位準。該對照細胞可以來自相同的個體，因為即便於罹癌病人體內，位於腫瘤位置的組織仍然包含非腫瘤的健康組織。其亦可以來自於取得不健全的樣本或測試樣本之正常的或未呈現同樣的疾病之另一個個體。於本發明的上下文內，術語“參考位準”提及IGF-1R之表現的“對照位準”，其係使用來評估一病人的含癌症細胞樣本內之IGF-1R之表現的測試位準。舉例而言，當一病人的生物樣本內之IGF-1R之位準比IGF-1R之參考位準為更高時，該等細胞會視為有IGF-1R之高表現位準，或是IGF-1R之過度表現。參考位準可以藉由數種方法來決定。表現位準因而可以定義具有IGF-1R的細胞，或任擇地IGF-1R之表現位準

不受表現IGF-1R之細胞的數量之支配。因此各病人的參考位準可以由IGF-1R之參考的比率來開藥方，其中該參考的比率可以藉由本文中所說明之決定參考位準的方法之任一者來決定。

[0146]舉例而言，對照可以為一預定值，其可以採取各種各樣的形式。其可以為一單一的截止值，例如一中位數或平均數。“參考位準”可以為一單一的數字，同時可個別地適用至每個病人，或是參考位準可以依據病人之特定的亞族群而變化。因此，舉例而言，較老的人關於相同的癌症可以與較年輕的人有不同的參考位準，以及女人關於相同的癌症可以具有與男人不同的參考位準。任擇地，“參考位準”可以藉由測量來自如同待測試的贅生細胞之組織之同樣的組織內，非致癌的癌症細胞內的IGF-1R之表現位準來決定。同樣地，“參考位準”可以為一病人的贅生細胞內IGF-1R、相關於同樣的病人體內之非腫瘤細胞內的IGF-1R之位準的某比率。“參考位準”亦可以為活體外培養細胞之IGF-1R之位準，活體外培養細胞可以予以操控來模擬腫瘤細胞，或是可以以產生表現位準之任何其他的方式予以操控，其準確地決定參考位準。另一方面，“參考位準”可以根據比較組來建立，例如不具有提升的IGF-1R位準的組別以及具有提升的IGF-1R位準的組別。比較組之另一實例可以為具有一特定的疾病、病況或症狀的組別以及沒有該疾病的組別。該預定值可以被安排，舉例而言，當一測試的族群被平均地(或不平均地)劃分成組別，例如低風險的組別、

中間風險的組別和高風險的組別。

[0147]該參考位準亦可以藉由比較具有相同的癌症之病人族群中之IGF-1R位準來決定。此可以，舉例而言，藉由直方圖分析來完成，於直方圖分析中整個同屬性群的病人係通過圖表來呈現，其中第一個軸表示IGF-1R之位準，以及第二個軸表示同屬性群中的病人數量，其等之腫瘤細胞表現一假定的位準之IGF-1R。可以藉由具有相同的或類似的IGF-1R之位準之同屬性群的子集合族群之鑑定，來決定二個或更多個獨立的組別的病人。參考位準之判定繼而可以根據最佳區別此等獨立的群組之一位準而估算。一參考位準亦可以表示二個或更多個指標的位準，其等之一者為IGF-1R。二個或更多個指標可以，舉例而言，藉由各指標位準數值之比率來表示。

[0148]同樣地，一明顯健康的族群，比起已知具有與IGF-1R之表現有關之一病況的族群，會具有不同的‘正常’範圍。於是，經選擇之預定值可以考慮到一個體所屬的種類。熟悉此藝者可以用不超過例行的實驗來選擇適當的範圍和種類。按“提升的”、“增加的”，其係意指相關於經選擇的對照為高的。典型地，對照會以適當的年齡層中明顯健康的正常個體為基礎。

[0149]亦了解到依據本發明之對照，除預定值之外，還可以為與實驗材料平行測試之材料的樣本。實例包括從相同的個體、於相同時間所獲得之組織或細胞，舉例而言，從該個體之單一的生檢之一部份，或是單一的細胞樣本之

一部份。

[0150]於另一個具體例中，本發明係有關於一種用於活體內成像與IGF-1R表現相關的致癌性障礙之藥學組成物，其包含如上所述依據本發明之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，或是其抗原結合片段，其係經標定的，以及一藥學上可接受的載劑。

[0151]於另一個態樣中，亦描述一種用於偵測一病人體內表現IGF-1R的腫瘤細胞之套組，其係特徵在於該套組包含至少如上所述至少IGF-1R抗體或其抗原結合片段，且優先為抗體816C12。

[0152]含有以預定量的試劑組合加上執行診斷分析的指示之經包裝的材料，例如套組，亦落在本發明的範圍之內。該套組含括用於活體外，例如於ELISA中，偵測與定量IGF-1R之IGF-1R抗體。該處IGF-1R係用一酵素予以標定，該套組會包括基質以及酵素所需要的輔因子(例如，提供可偵測的發色團或螢光團之基質的前驅物)。此外，可以含括其他的添加劑，例如安定劑、緩衝液(例如，一封阻緩衝液或溶解緩衝液)及類似物。此一套組可以包含一插座，其被區分以接受一個或更多個容器，例如小玻璃瓶、管子及類似物，此等容器容納本發明個別的元素。舉例而言，一個容器可以含括結合不可溶的或部分可溶的載體之第一抗體。第二個容器可以含括以冷凍乾燥的形式或配於溶液內之可溶的、可偵測-經標定的第二抗體。插座亦可以含括第三個容器，其容納以冷凍乾燥的形式或配於溶液內之可偵測經

標定的第三抗體。此本質之套組可以使用於本發明的三明治分析中。標示或包裝插入件可以提供組成物的說明以及意欲的活體外或診斷用途之指示。

[0153]各種各樣的試劑之相對量可以廣泛地變化以提供使分析的靈敏度實質最佳化之試劑的溶液濃度。特別地，該等試劑可以提供為乾燥的粉末，通常為冷凍乾燥的，其包括在溶解的時候會提供具有適當的濃度之試劑溶液的賦形劑。

[0154]於又另外的態樣中，提供了依據本發明、如同於此詳細說明之用可偵測的部分予以標定之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，以使得其等可以被包裝且使用，舉例而言，於套組內，來診斷或鑑別具有前述的抗原之細胞。此等標誌之非限制性實例包括螢光團，例如螢光異硫氰酸鹽；發色團、放射性核種、生物素(biotine)或是酵素。此等經標定的IGF-1R抗體可以使用於抗原之組織定位、ELISA、細胞分選，以及其他的免疫學技術用於，舉例而言偵測或量化IGF-1R，及具有此抗原的細胞。

[0155]本發明亦針對一種套組，其中該套組係特徵在於其包含依據本發明之IGF-1R抗體或其抗原結合片段。

[0156]本發明亦針對一種套組，其中該套組係特徵在於其包含一種嵌合或是擬人化IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其可得自於6個CDRs，該等CDRs具有依據本發明之IGF-1R抗體或是其抗原結合片段之序列序列辨識編號1至6。

[0157]也提供了套組，其等有用於作為從細胞純化或免

疫沈澱IGF-1R之陽性的對照。在單離和純化IGF-1R方面，該套組可以包括耦合至珠粒(例如，瓊脂糖凝膠(sepharose)珠粒)之依據本發明、如同於此詳細說明之IGF-1R抗體或其抗原結合片段。可以提供套組，其等包括用於活體外，例如於ELISA中，偵測與定量IGF-1R的抗體。該套組包含一容器以及於該容器上或與該容器在一起的標誌或包裝插入件。可以包括額外的容器，其等含有，舉例而言稀釋液和緩衝液，對照抗體。標誌或包裝插入件可以提供該組成物的說明以及想要意欲的活體外指示或診斷用途。

[0158]更特別地，本發明關於一種供用於藉由本文所述的方法，於活體外或離體地判定一個體的腫瘤之腫瘤細胞之IGF-1R狀態的套組。於一較佳具體例中，如同於實施例中會說明的，本發明係有關於一種供用於透過IHC及/或FACS方法、來判定一腫瘤或腫瘤細胞之IGF-1R狀態的套組。

[0159]於一特定的具體例中，本發明在於一套組，其包含至少如上所說明之本發明的IGF-1R抗體或其抗原結合片段，該抗體係經標定的。

[0160]於一較佳具體例中，依據本發明之套組進一步包含一種有用於偵測該IGF-1R抗體和IGF-1R之間的結合程度之試劑。

[0161]於另一個較佳的具體例中，本發明之有用於活體外或離體地判定表現IGF-1R之腫瘤內的IGF-1R之表現位準的套組，進一步包含一種有用於定量化介於該經標定的

IGF-1R抗體和IGF-1R之間的結合位準之試劑。

[0162]於再另一個具體例中，依據本發明之套組進一步包含：i)一種有用於偵測介於該經標定的IGF-1R抗體和IGF-1R之間的結合程度之試劑；以及ii)有用於計分該IGF-1R表現位準之陽性對照樣本和陰性對照樣本。

[0163]該套組可以進一步包含對小鼠抗體或對人類/擬人化抗體專一的多株抗體，該對小鼠、擬人化或人類抗體專一的多株抗體較佳為經標定的。

[0164]依據本發明之一特定具體例，該用於選擇經預測為會從靶定IGF-1R途徑的抑制劑的治療性投藥得益，或不會得益之癌症病人的套組可以包含：i)一種有用於偵測介於該IGF-1R抗體和IGF-1R之間的結合程度之試劑；ii)與對IGF-1R抑制劑的敏感性已經有關聯的對照位準，及/或iii)與對IGF-1R抑制劑的抗性已經有關聯的對照位準。

[0165]本發明亦有關於一種用於判定是否帶有一致癌性障礙的病人可能會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益之套組，其係特徵在於該套組包含至少如上所述本發明之至少IGF-1R抗體或其抗原結合片段。

[0166]於另一個具體例中，依據之該套組係特徵在於其進一步包含

i)一種試劑，用於偵測介於該IGF-1R抗體和腫瘤細胞表面上的IGF-1R之間的結合程度；及/或

ii)一種試劑，用於定量化介於該IGF-1R抗體和腫瘤細胞表面上的IGF-1R之間的結合位準。

[0167] 本發明之其他的特徵和優點顯露於本說明續編部分及實施例和圖示中，以下表示其之說明。

【圖式簡單說明】

[0168] 圖1：以816C12抗體於rhIGF1R ELISA獲得的OD值之圖示。資料配適與EC₅₀判定係使用Prism應用程式來判定。

[0169] 圖2A-2C：用816C12(圖2A)、用G11抗-IGF-1R抗體(Roche Ventana) (圖2B)或AF-305(R&D系統)抗-IGF-1R抗體(圖2C)進行的石蠟包封的腫瘤MCF-7辨識之免疫組織化學(IHC)圖案。

[0170] 圖3：抗-IGF-1R ADC於MCF-7異種移植模型之活體內活性。

[0171] 圖4A-4C：用816C12、用G11抗-IGF-1R抗體(Roche Ventana) (圖4B)或AF-305(R&D系統)抗-IGF-1R抗體(圖4C)進行的石蠟包封的腫瘤SBC-5辨識之免疫組織化學(IHC)圖案。

[0172] 圖5：抗-IGF-1R ADC於SBC-5異種移植模型之活體內活性。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

實施例1：816C12的產生及選擇

[0173] 對抗IGF-1R的Mabs係以以下所述方式來生產及選擇。

[0174] 雌性BALB/c小鼠係藉由皮下注射10 μg的重組

型人類IGF-1R蛋白(R and D Systems, 391-GR)加上佛恩得佐劑(Freund adjuvant)來予以免疫。以二週的間隔重複免疫三次。第四次注射係於佐劑存在的情況下藉由腹膜內注射來進行。

[0175]3天後，脾細胞係以PEG 50 %與SP2OAg14骨髓瘤細胞融合。HAT代謝選擇法14天之後，藉由使用人類MCF7乳癌細胞之FACS來測試融合瘤上清液。只保留結合MCF7抗體。

[0176]感興趣的抗體繼而藉由有限稀釋法予以選殖。選殖8天之後，再一次藉由使用人類MCF7細胞之FACS來選擇上清液。保留三個陽性純株。分泌的抗體之同型鑑定(Isotyping)係使用來自Southern Biotechnologies之SBA純株鑑定(clonotyping)系統-HRP套組(Cat: 5300-05)來判定。最後，擴充一個純株以及予以冷凍。

[0177]接而使用融合瘤上清液來執行進一步特徵化816C12抗體，例如rhIGF-1R或rmIGF-1R或rhIR ELISA。於所有直接的ELISA方面，使感興趣的蛋白固定化(1 μ g/ml)至各井的底部。飽和之後，將融合瘤上清液添加至井內。在1小時孵育期間和清洗步驟之後，使用山羊抗-小鼠IgG-HRP經標定的多株抗體溶液來偵測，然後添加TMB受質。以1M H₂SO₄溶液來停止反應，然後以分光光度計、於450 nm波長讀取OD。數據呈現於表6中。

表6

| 藉由 ELISA 以 5 µg/ml 獲得的 OD 值 | | | |
|-----------------------------|-------------|-------------|---------|
| | rhIGF-1R 塗層 | rmIGF-1R 塗層 | rhIR 塗層 |
| 816C12 | 2.622 | 0.065 | 0.055 |
| 陽性 CTRL | 2.338 | 1.293 | 1.077 |
| 陰性 CTRL | 0.055 | 0.065 | 0.048 |

[0178] 816C12 抗體對於 rhIGF-1R 塗層之劑量反應曲線係呈現於圖 1 內。使用 Prism 應用程式來判定 EC₅₀ 數值。

[0179] 數據顯示出 816C12 抗體僅辨識 EC₅₀ 為 0.41 nM 之 rh IGF-1R。其不會與小鼠形式的 IGF-1R 或人類 IR 結合。

實施例 2：本發明的抗體與分期的相關性之評估以及靶定 IGF-1R 的 ADC 於 MCF-7 異種移植模型之活性

[0180] 爲了要找出腫瘤分級與藥理學的相關性，已經將腫瘤分級(2.1節)，並且 MCF-7 異種移植模型之活體內實驗，業已用一種 ADC 來進行，該 ADC 含有已知會被內化的靶定 IGF-1R 之抗體部分以及由奧瑞他汀(auristatin)所組成的藥物部分(2.2節)。

2.1：MCF-7 異種移植模型上的 IGF-1R 表現之免疫組織化學偵測。

[0181] 將來自 MCF-7 異種移植之組織切片除石蠟、再水合，以及放置於 98°C 預熱的沸水浴中的標靶檢索緩衝液 1X (Dako S1699) 內，於 98°C 用於熱-誘導的抗原決定位檢索歷時 40 分鐘，接而於標靶檢索緩衝液內額外的 20 分鐘。於 Tris 緩衝液食鹽水-0.05% 妥文(tween)20 (TBS-T) (Dako S3006)

內3次清洗之後，內源性過氧化酶活性係使用過氧化酶封阻試劑(Dako K4007)封阻歷時5分鐘。切片係用TBS-T清洗以及於封阻試劑(UltraV block-TA-125UB- LabVision)內孵育歷時5分鐘，然後以816C12單株抗體(以5 $\mu\text{g/ml}$)或是作為陰性對照之小鼠IgG1/ κ (5 $\mu\text{g/ml}$ ，X0931，Dako)於室溫下孵育歷時1小時。切片係用TBS-T清洗以及以Envision (Dako)孵育歷時30分鐘。使用二胺聯苯胺來顯影棕色的反應產物(Dako K3468)。將載玻片浸沒於蘇木精內歷時2分鐘以對比染色(Dako S3309)。

[0182]本發明的抗-IGF-1R單株抗體816C12之鑑別性地染色MCF-7之細胞膜。於此IHC程序中，棕色的反應產物相關於細胞膜之陽性染色，以及缺乏棕色的反應產物相關於陰性染色且無細胞膜之顯像。使用膜質演算法(membranous algorithm)，MCF-7腫瘤細胞之染色計分為3+(圖2A)。使用G11抗體(Roche Ventana)或AF-305(R&D系統)抗-IGF-1R抗體，相同腫瘤之切片計分為2+(分別為圖2B及2C)。

2.2:抗-IGF-1R ADC於MCF-7異種移植模型之活體內活性.

[0183]抗-IGF-1R ADC業已於MCF-7異種移植模型內進行活體內評估。

[0184]全部動物的程序係依據科學研究動物保護指令2010/63/UE之指導方針來執行。該協定係由皮爾法伯協會動物倫理委員會許可。將五百萬個MCF-7細胞皮下注射至7週大瑞士/裸鼠內。細胞注射之前，將雌激素小丸(Innovative Research of America)植入小鼠左脅腹，以便釋放MCF-7腫瘤

活體內生長需要的雌激素。

[0185] MCF-7細胞植入20天之後，當腫瘤達到120-150 mm³之平均尺寸時，根據腫瘤尺寸及態樣將動物分配成6隻小鼠一組。每四天藉由腹膜內注射來接種抗-IGF-1R ADC達6個注射週期(Q4d4)。每天監控動物的健康狀態。腫瘤體積係用電子雙腳規測量二次/週直到研究終止為止。以下式來計算腫瘤體積： $\pi / 6 \times \text{長度} \times \text{寬度} \times \text{高度}$ 。每週評估動物的重量三次之後，評估毒性。各個測量之統計分析係使用曼-懷特尼檢定來執行。

[0186] 如同預期，對於分級3+的腫瘤，抗-IGF-1R ADC的注射顯著地抑制並且甚至誘發完全的腫瘤生長退化(圖3)，但是對於分級2+的腫瘤沒有此情形。

實施例3：本發明的抗體與分期的相關性之評估以及靶定IGF-1R的ADC於SBC-5異種移植模型之活性

[0187] 爲了要找出腫瘤分級與藥理學的相關性，已經將腫瘤分級(3.1節)，並且SBC-5異種移植模型之活體內實驗，業已用一種ADC來進行，該ADC含有靶定IGF-1R之抗體部分以及由奧瑞他汀(auristatin)所組成的藥物部分(3.2節)。

3.1：SBC-5異種移植模型上的IGF-1R表現之免疫組織化學偵測。

[0188] IGF-1R之位準係使用之前實施例2的2.1節中所述的協定來分析。

[0189] 當用816C12來偵測IGF-1R時，偵測到低位準(1+)。(圖4A)。當用G11抗體(Roche Ventana)或AF-305(R&D系統)

抗-IGF-1R抗體來偵測IGF-1R時，來自相同腫瘤之切片計分為3+(分別為圖4B及4C)。

[0190] 3.2: 抗-IGF-1R ADC於SBC-5異種移植模型之活體內活性。

[0191] 抗-IGF-1R ADC業已於SBC-5異種移植模型內進行活體內評估。

[0192] 全部動物的程序係依據科學研究動物保護指令2010/63/UE之指導方針來執行。該協定係由皮爾法伯協會動物倫理委員會許可。將五百萬個SBC-5細胞皮下注射至7週大無胸腺小鼠內。細胞植入12天之後，當腫瘤達到150 mm³之平均尺寸時，根據腫瘤尺寸及態樣將動物分配成6隻小鼠一組。每四天藉由腹膜內注射來接種抗-IGF-1R ADC達6個注射週期(Q4d6)。每天監控動物的健康狀態。腫瘤體積係用電子雙腳規測量二次/週直到研究終止為止。以下式來計算腫瘤體積： $\pi / 6 \times \text{長度} \times \text{寬度} \times \text{高度}$ 。每週評估動物的重量三次之後，評估毒性。各個測量之統計分析係使用曼-懷特尼檢定來執行。

[0193] 如同預期，對於分級1+的腫瘤，抗-IGF-1R ADC的注射不影響SBC-5腫瘤細胞之腫瘤進程(圖5)，但是對於分級3+的腫瘤沒有此情形。

【符號說明】

(無)

【序列表】

<110> 法商皮爾法伯製藥公司 (PIERRE FABRE MEDICAMENT)

<120> 新穎的 IGF-1R 抗體及其用於癌症診斷之用途(一)

<140> TW 105112967

<141> 2016-04-26

<150> EP 15305642.9

<151> 2015-04-27

<160> 10

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 816C12 I-4894, 重鏈, CDR-H1

<400> 1

Gly His Thr Phe Thr Ser Tyr Val

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 816C12 I-4894, 重鏈, CDR-H2

<400> 2

Ile Asn Pro His Asn Asp Val Thr

1 5

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 816C12 I-4894, 重鏈, CDR-H3

<400> 3

Val Ser Thr Ala Tyr Tyr Gly Asn Gly Arg Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 4
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 輕鏈, CDR-L1

<400> 4

Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
 1 5

<210> 5
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 輕鏈, CDR-L2

<400> 5

Tyr Thr Ser
 1

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 輕鏈, CDR-L3

<400> 6

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
 1 5

<210> 7
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 重鏈, 可變異領域

<400> 7

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Val Leu His Trp Met Lys Arg Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro His Asn Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Tyr Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Val Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Ser Thr Ala Tyr Tyr Gly Asn Gly Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 816C12 I-4894, 輕鏈, 可變異領域

<400> 8

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 9
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 重鏈, 可變異領域

<400> 9
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggaca cacattcact agctatgttt tgcactggat gaagcggag 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctc acaatgatgt tactaagtac 180
 aatgagaatt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatactccag cacagtctac 240
 atggaggtca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtgt attactgtgt aagtaccgcc 300
 tactatggta acggccggta cttcgatgtc tggggcgcag ggaccacggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 10
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> 人工的

<220>
 <223> 816C12 I-4894, 輕鏈, 可變異領域

<400> 10
 gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
 atcagttgca gggcaagtca ggacattaac aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
 gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtctcatca 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
 gaagatattg ccacttattt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtgga 300
 ggcaccaagc tggaatcaa a 321

申請專利範圍

1. 一種類胰島素生長因子1受體(IGF-1R)抗體或其抗原結合片段，其特徵在於其包含：
 - i)一重鏈，其具有序列序列辨識編號1之CDR-H1、序列序列辨識編號2之CDR-H2及序列序列辨識編號3之CDR-H3；以及
 - ii)一輕鏈，其具有序列序列辨識編號4之CDR-L1、序列序列辨識編號5之CDR-L2及序列序列辨識編號6之CDR-L3。
2. 如請求項1之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其係特徵在於其包含一重鏈可變異領域，該重鏈可變異領域具有序列序列辨識編號7或是與序列序列辨識編號7有至少90%的同源性之任何序列；及/或一輕鏈可變異領域，該輕鏈可變異領域具有序列序列辨識編號8或是與序列序列辨識編號8有至少90%的同源性之任何序列。
3. 如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其係供使用作為用於偵測表現IGF-1R的腫瘤細胞之製劑，或是供用於判定表現IGF-1R的腫瘤細胞之表現位準。
4. 如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其係供使用於活體外或離體地(*ex vivo*)診斷或預後與IGF-1R表現相關的致癌性病變。
5. 如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其係供用於判定是否帶有一致癌性病變的病人可能會從靶定

IGF-1R途徑的抑制劑之治療得益。

6. 如請求項5之IGF-1R抗體或其抗原結合片段，其中該靶定IGF-1R途徑的抑制劑為單獨、組合或複合的IGF-1R抗體。
7. 一種活體外或離體地偵測一個體內表現IGF-1R之腫瘤細胞的存在及/或位置之方法，該方法包含下列步驟：
 - (a)使來自該個體的一生物樣本接觸如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及
 - (b)偵測該IGF-1R抗體或其抗原結合片段與該生物樣本的結合。
8. 一種活體外或離體地偵測一個體內表現IGF-1R之腫瘤細胞百分比的方法，該方法包含下列步驟：
 - (a)使來自該個體的一生物樣本接觸如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及
 - (b)定量化該生物樣本內表現IGF-1R之細胞百分比。
9. 一種活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞內之IGF-1R表現位準之方法，該方法包含下列步驟：
 - (a)使來自該個體的一生物樣本接觸如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；以及
 - (b)定量化該IGF-1R抗體或其抗原結合片段與該生物樣本內IGF-1R之結合位準。
10. 一種活體外或離體地判定一個體的腫瘤細胞之IGF-1R計分或腫瘤之IGF-1R計分的方法，該方法包含下列步

驟：

(a)使來自該個體的一生物樣本接觸如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段；

(b)藉由螢光活化細胞分選技術(FACS)或免疫組織化學(IHC)，來定量化該IGF-1R抗體或其抗原結合片段與該生物樣本內IGF-1R之結合位準；以及

(c)藉由比較步驟(b)中獲得的經定量的位準，與基於染色的強度以及陽性細胞百分比之二個參數之適當的標度，來計分該腫瘤細胞或該腫瘤。

11. 一種判定是否一致癌性病變係對用一靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療為敏感性的方法，該方法包含下列步驟：

(a)依據請求項10之方法，以於活體外或離體地判定一個體之腫瘤細胞或腫瘤之IGF-1R狀態，以及

(b)設若腫瘤細胞或腫瘤的IGF-1R狀態為IGF-1R(+)，判定該致癌性病變對用靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療為敏感性的。

12. 一種活體外或離體地判定治療攝生法(therapeutic regimen)的功效的方法，該治療攝生法係經設計來減輕受與IGF-1R相關的致癌性病變之苦的個體內之該病變，該方法包含下列步驟：

(a)依據請求項9之方法，來判定第一個生物樣本內之IGF-1R之第一個表現位準，該第一個生物樣本對應於該治療之第一個時間點；

(b)依據請求項9之方法，來判定第二個生物樣本內之IGF-1R之第二個表現位準，該第二個生物樣本對應於該治療之第二個、較晚的時間點；

(c)計算步驟(a)中獲得的該第一個表現位準對步驟(b)中獲得的該第二個表現位準之比率；以及

(d)在步驟(c)之該比率大於1時，判定該治療攝生法的功效為高的；或是在步驟(c)之該比率低於或等於1時，判定該治療攝生法的功效為低的。

13. 一種選擇經預測為會從投藥治療量的靶定IGF-1R途徑之抗體藥物得益或不會得益之癌症病人的方法，該方法包含下列步驟：

(a)依據請求項9之方法，來判定IGF-1R之表現位準；

(b)比較先前的步驟(a)之表現位準與參考表現位準；以及

(c)設若(a)中獲得的該表現位準對該參考表現位準之比率大於1，就選擇該病人為經預測為會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益者；或是

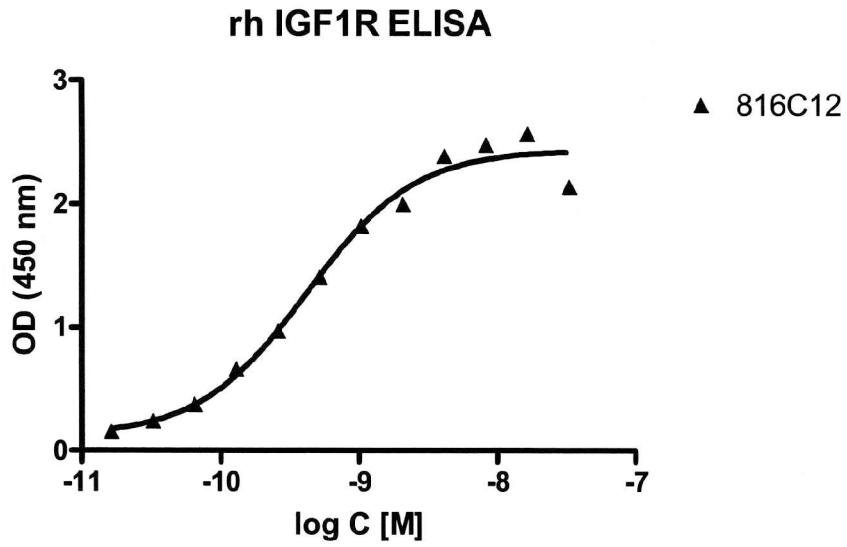
(d)設若(a)中獲得的該表現位準對該參考表現位準之比率低於或等於1，就選擇該病人為非預測會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益者。

14. 一種用於偵測一病人體內表現IGF-1R的腫瘤細胞或用於判定是否帶有一致癌性病變的病人可能會從靶定IGF-1R途徑的抗體藥物之治療得益之套組，其係特徵在

於該套組包含至少如請求項1或2之IGF-1R抗體或其抗原結合片段。

圖式

1 / 5



| | 816C12 |
|---------------|------------|
| S形的劑量反應(可變斜率) | |
| 最佳配適值 | |
| 底部 | 0.1163 |
| 頂部 | 2.438 |
| LOGEC50 | -9.380 |
| 坡面 | 1.116 |
| EC50 | 4.173e-010 |

圖1

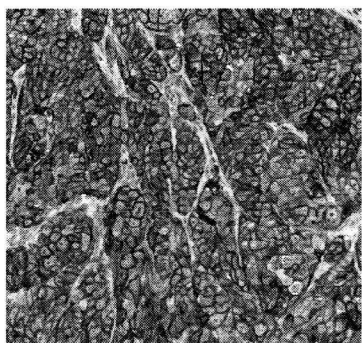


圖2A

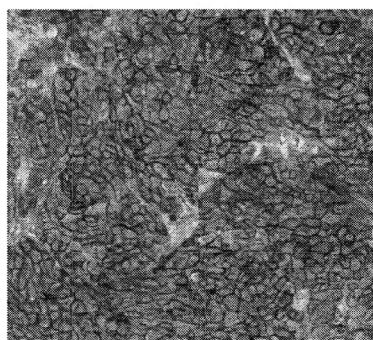


圖2B

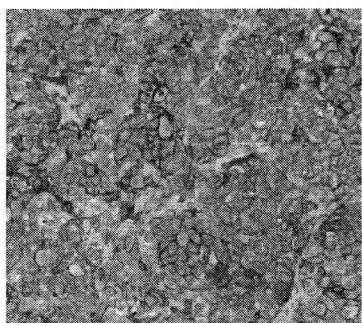


圖2C

圖2A-C

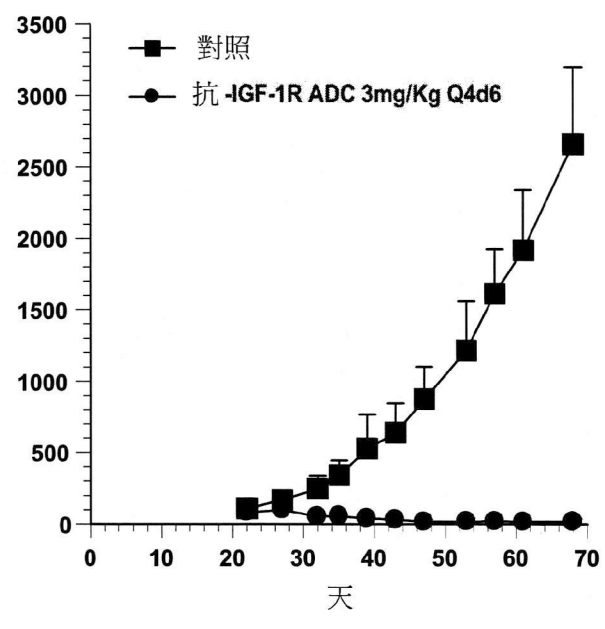


圖3

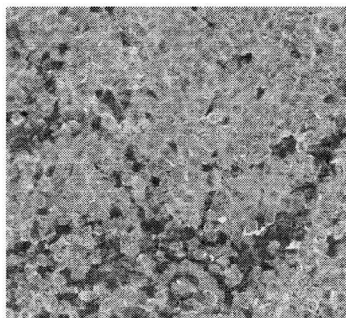


圖4A

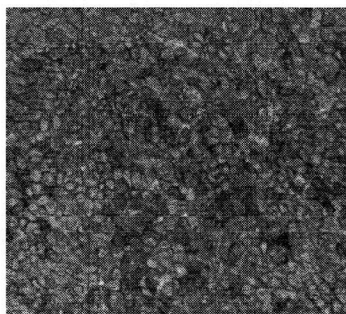


圖4B

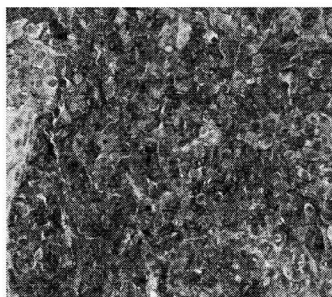


圖4C

圖4A-C

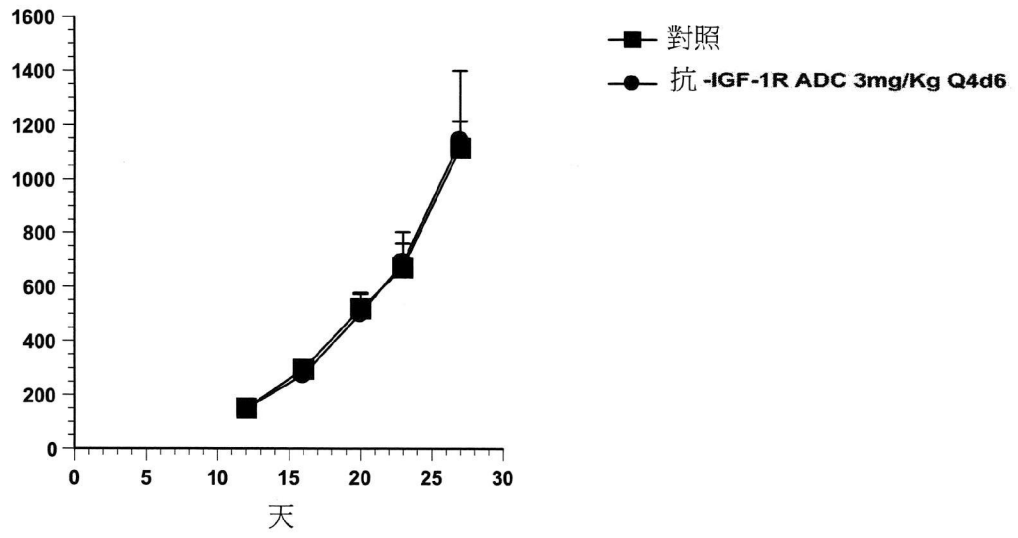


圖5