

發明專利說明書

(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：97132504

※申請日期：97.8.16

※IPC 分類：

A61K³⁹/395 (2006.01)

C07K¹⁶/18 (2006.01)

A61K⁵¹/10 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

緩和癌症疾病之抗體

CANCEROUS DISEASE MODIFYING ANTIBODIES

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

艾瑞爾斯研究公司 / ARIUS RESEARCH, INC.

代表人：(中文/英文)

大衛 S.F. 楊 / YOUNG, DAVID S.F.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

加拿大安大略省 M5J 1R7 多倫多市優克街 55 號 15 樓

55 York Street, 15th Floor, Toronto, ON M5J 1R7, CANADA

國 籍：(中文/英文)

加拿大 / CANADA

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 大衛 S.F. 楊 / YOUNG, DAVID S.F.

2. 海倫 P. 芬雷 / FINDLAY, HELEN P.

3. 蘇珊 E. 哈恩 / HAHN, SUSAN E.

4. 麗沙 M. 席雀圖 / CECHETTO, LISA M.

國 籍：(中文/英文)

1.2.3.4. 加拿大 / CANADA

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國、 2007.08.27、 60/968,176

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☒ 主張專利法第三十條生物材料：

☒ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

食品工業發展研究所、97 年 11 月 10 日、BCRC 960379

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

加拿大、International Depository Authority of Canada、2007 年 5 月 29 日、
290507-01

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

合作研究協定聲明

本發明，如由本文中申請專利範圍所定義，為艾瑞爾斯研究公司與武田製藥有限公司雙方所達成之聯合研究協定（“協定”），作為在該協定範圍內所進行之活動的結果。該協定係於本發明發明日之前就是有效的。

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於分離及製造緩和癌症疾病之抗體 (CDMAB)，及此等 CDMAB 用於治療與診斷用方法之用途，可視需要與一或多個化療劑併用。本發明進一步關於利用本發明之 CDMAB 的結合分析。

發明背景

【先前技術】

單株抗體作為癌症療法：每個出現癌症之個體都是獨特的，並具有因個人特性而與其他癌症不同之癌症。儘管如此，現存的療法以相同方式，治療所有罹患相同類型癌症、處於相同階段之患者。此等患者中仍有至少 30% 會於第一線治療時無效，因此導致更多回合的治療並增加了治療失敗、轉移與、最後死亡之可能性。治療的較好方法會是對個別個體的客製化療法。現存唯一能客製化之療法只有手術。不能對患者量身訂做化療和放射線治療，而手術本身在大多數的情況下，都不足以導致治癒。

隨著單株抗體的出現，使得發展客製化療法之方法的可能性變成更實際，因為可使每個抗體可針對單一的抗原

決定位。此外，亦有可能產生抗體之組合，其針對獨特定義一特定個體之腫瘤的一群抗原決定位。

已經辨識出在癌症和正常細胞之間的顯著差異，是癌細胞含有抗原，其對經轉化的細胞是專一的，科學團體已長期支持可設計藉著專一地結合該等癌症抗原而專一地靶定經轉化的細胞的單株抗體；因此相信單株抗體可作為”魔術子彈”以排除癌細胞。然而，現在廣泛地認定沒有單一的單株抗體可適用於所有的癌症情況，且單株抗體可（呈一類）被部署作為靶定性癌症治療。根據立即揭示之本發明教示分離的單株抗體已經顯示以有利於患者之方式（例如藉著降低腫瘤負荷）緩和癌症疾病進展，並將在本文中不同地被稱為緩和癌症疾病之抗體(CDMAB)或”抗-癌”抗體。

現在，癌症患者通常有數個治療選擇。對癌症療法的嚴格管制方法，已經在全面存活和死亡率上產生改良。然而，對於特殊的個體，該等經改良的統計學不一定與在其等個人狀況上的改善有關。

因此，若已經盡力使方法學得以讓醫師能夠獨立地治療在同一群中其他患者的每個腫瘤，這會允許以獨特的方法，為一個人量身訂做療法。該治療過程，確實會增加治癒率，並產生較佳的結果，藉此滿足長期-感覺到的需要。

在歷史上，已經使用多株抗體的用途，在人類癌症之治療上得到有限的成功。已經利用人類血漿治療淋巴瘤和白血病，但僅有少數延長的緩和或反應。此外，缺少再現性，且與化療相比並沒有額外的益處。亦已經利用人類血

液、黑猩猩血清、人類血漿和馬血清治療固體腫瘤，如乳癌、黑色素瘤和腎細胞癌，有相當不可預測和無效的結果。

已經有許多單株抗體治療固體腫瘤的臨床試驗。在 1980 年代，有至少四個人類乳癌的臨床試驗，其使用對抗特定抗原或基於組織專一性的抗體，從至少 47 個患者中僅產生一個反應者。直到 1998 年才有使用與順氯氈鉑 (CISPLATIN) 混合之人類化抗 -Her2/neu 抗體 (賀癌平 (Herceptin)®) 的成功臨床試驗。在該試驗中，針對反應評估 37 個患者，其中大約四分之一有部分反應比例，而另外四分之一有少量或穩定的疾病進行。在反應者中進行的中間時間為 8.4 個月，在 5.3 個月的期間有中間的反應。

在 1998 年核准賀癌平®與紫杉醇(taxol)®併用為第一線。臨床研究的結果顯示與僅接受紫杉醇®的組別相比較 (3.0 個月)，對接受抗體療法加紫杉醇®的該等病人，增加了疾病進行的中間時間 (6.9 個月)。在中間存活上亦稍有增加；賀癌平®加紫杉醇®治療武器對僅有紫杉醇®治療武器為 22 對 18 個月。此外，在比較抗體加紫杉醇®組合組與僅有紫杉醇®，在完全 (8 對 2%) 和部分反應者 (34 對 15%) 兩者的數目上亦有增加。然而，與僅有紫杉醇®治療相比較，以賀癌平®和紫杉醇®治療，導致較高的心臟毒性發生率 (分別為 13 對 1%)。再者，賀癌平®治療僅對過度表現 (經由免疫組織化學 (immunohistochemistry, IHC) 分析測定) 人類上皮生長因子受體 2 (human epidermal growth factor receptor 2, Her2/neu) (一種受體，目前沒有已知功能或生物學重要

性之配體)的患者是有效的；將近 25%患者有轉移的乳癌。因此，對乳癌患者仍有大量未解決的需求。即使是那些受益於賀癌平®治療的患者，仍需要化療，因此至少在某種程度上，仍涉及這類治療的副作用。

研究結直腸癌的臨床試驗，涉及對抗糖蛋白和糖脂目標兩者的抗體。諸如 17-1A 之類的抗體，其對腺癌有一些專一性，在超過 60 個業已接受第 2 期臨床試驗的患者中，只有 1 個患者有部分反應。在其他試驗中，在使用額外環磷醯胺 (cyclophosphamide) 的計劃中，17-1A 的使用僅在 52 個患者中產生 1 個完全反應和 2 個少量的反應。到目前為止，17-1A 的第三期臨床試驗尚未證實有像第三期結腸癌之佐劑療法一樣的經改良效力。為了顯影一開始批准使用人類化之小鼠單株抗體，也沒有產生腫瘤退化。

只有最近，已經從使用單株抗體之結直腸癌的臨床研究中獲得任何陽性的結果。在 2004 年，核准愛必妥 (ERBITUX)®為患有表現 EGFR 之轉移性結直腸癌的患者 (其為基於伊立替康 (irinotecan) 之化療難以醫治的) 的第二線治療。得自雙臂第 II 期臨床研究和單臂研究兩者的結果，顯示愛必妥®與伊立替康之組合，分別有 23 和 15% 的反應率，疾病進行的中間時間分別為 4.1 和 6.5 個月。得自相同的雙臂第 II 期臨床研究和另一單臂研究之結果，顯示僅以愛必妥®治療，結果分別為 11 和 9% 的反應率，且疾病進行的中間時間分別為 1.5 和 4.2 個月。

因此，在瑞士和美國，已經核准愛必妥®治療與伊立替

康之組合，且在美國亦已經核准愛必妥®的單獨治療，作為第一線伊立替康療法業已失敗之結直腸癌患者的第二線治療。因此，就像賀癌平®，在瑞士僅核准為單株抗體和化療之組合的治療。此外，在瑞士和美國兩者中的治療，僅核准作為患者的第二線療法。再者，在 2004 年，已經核准癌思停(AVASTIN)®與基於靜脈內 5-氟尿嘧啶之化療併用，作為轉移性結直腸癌的第一線治療。第 III 期臨床研究的結果，證實與僅以 5-氟尿嘧啶治療之患者相比較，以癌思停®加 5-氟尿嘧啶治療之患者有延長的中間存活(分別為 20 個月對 16 個月)。然而，再度像賀癌平®和愛必妥®一樣，僅核准以單株抗體與化療組合之治療。

對肺、腦、卵巢、胰臟、前列腺和胃癌持續有不充足的結果。最近，非-小細胞肺癌最有希望的結果是來自第 II 期臨床試驗，其中該治療涉及與殺細胞藥物-阿黴素(doxorubicin)結合之單株抗體(SGN-15；dox-BR96、抗-Sialyl-Lex)與化療劑剋癌易(TAXOTERE)®的組合。剋癌易®是唯一由 FDA 核准之肺癌第二線治療的化療劑。最初的數據指出與僅有剋癌易®相比較，改善了整體存活。在研究招募的 62 個患者中，三分之二接受 SGN-15 與剋癌易®之組合，而剩下的三分之一僅接受剋癌易®。關於接受 SGN-15 與剋癌易®之組合的患者，與僅接受剋癌易®之患者的 5.9 個月相比較，有 7.3 個月的中間整體存活。與僅接受剋癌易®之患者（其整體存活 1 年和 18 個月分別為 24 和 8%）相比較，接受 SNG-15 加剋癌易®之患者分別為 29 和 18%。

計畫更多的臨床試驗。

在臨床前，在使用單株抗體治療黑色素瘤方面，有一些有限的成功。該等抗體極少進入臨床試驗，且迄今尚未核准或在第Ⅲ期臨床試驗中證實有利的結果。

由於在可能促成疾病發病之 30,000 個已知基因的產物中，缺少對相關目標的鑑認，阻礙了治療疾病之新藥物的發現。在癌症學研究中，經常因為其等在腫瘤細胞中過度表現的事實，而簡單地選擇可能的藥物目標。如此鑑認出的目標接著針對與眾多化合物之交互作用篩選。在有潛力之抗體療法的情況下，該等候選化合物經常衍生自根據由 Kohler 和 Milstein(1975, Nature, 256, 495-497, Kohler 和 Milstein)主張的基本原則的單株抗體產製的傳統方法。從以抗原(例如整個細胞、細胞碎片、經純化之抗原)免疫的小鼠中收集脾臟細胞，並與永存不朽的融合瘤夥伴融合。針對最渴望與目標結合之抗體的分泌，篩選並選擇所得之融合瘤。使用該等方法，並以其等之親和力為基礎來選擇，已經產生許多針對癌細胞的治療和診斷抗體，包括賀癌平®和美羅華(RITUXIMAB)。該策略之缺點為兩倍。首先，選擇適合治療或診斷抗體結合的目標，其受限於缺少組織專一之致癌過程周邊的知識，而藉著所得的過分簡化之方法(如藉著過度表現來選擇)以鑑認該等目標。其次，假定以最大親和力與受體結合的藥物分子通常有最高的可能性開始或抑制信號，可能並非總是實情。

不管治療乳癌和結腸癌的某些進展，有效抗體療法(單

一製劑或共同-治療)的鑑認和發展，已經不適合所有類型的癌症。

先前專利：

美國專利第 5,750,102 號揭示了其中以 MHC 基因(其可從得自患者之細胞或組織中選殖)轉移感染得自患者腫瘤之細胞的方法。然後使用這些經轉移感染的細胞接種患者。

美國專利第 4,861,581 號揭示了包括下列步驟的方法：獲得對哺乳動物之贅瘤和正常細胞的內在細胞組份專一，但對外在組份則否的單株抗體，標示該單株抗體，使該經標示之抗體與已經接受治療以殺死贅瘤細胞之哺乳動物的組織接觸，並藉著測量該經標示之抗體與退化性贅瘤細胞之內在細胞組份的結合，測定該療法的效力。在製備針對人類細胞內抗原之抗體時，專利權所有人承認惡性細胞代表這類抗原的便利來源。

美國專利第 5,171,665 號提供了新穎抗體及其生產方法。明確地說，該專利教示單株抗體的形成，其具有強有力地結合與人類腫瘤(例如結腸和肺的腫瘤)有關之蛋白質抗原，但以少很多之程度與正常細胞結合的特性。

美國專利第 5,484,596 號提供了癌症治療之方法，其包括以手術從人類癌症患者中移除腫瘤組織，處理該腫瘤組織以獲得腫瘤細胞，照射該腫瘤細胞使其為能生存的但無致腫瘤性，並使用這些細胞以製備患者的疫苗，其能夠抑制原發性腫瘤的復發，同時抑制轉移。該專利教示單株抗體的發展，其與腫瘤細胞的表面抗原反應。如同在第 4 段

第 45 行及以下陳述的，專利權所有人在發展單株抗體時利用自身的腫瘤細胞，在人類贅瘤中表現出主動專一的免疫療法。

美國專利第 5,693,763 號教示人類癌特有的糖蛋白抗原，且與起源的上皮組織無關。

美國專利第 5,783,186 號針對至抗-Her2 抗體（其在表現 Her2 之細胞中誘導細胞凋亡）、產生該抗體之融合瘤細胞株、使用該抗體和包括該抗體之醫藥組合物治療癌症的方法。

美國專利第 5,849,876 號描述新穎的融合瘤細胞株，用以產生對從腫瘤和非-腫瘤組織來源中純化之黏液素抗原的單株抗體。

美國專利第 5,869,268 號針對至產製人類淋巴細胞（其產生對想要的抗原專一之抗體）的方法、產生單株抗體的方法，以及由該方法產生之單株抗體。該專利特別針對至有助於診斷和治療癌症的抗-HD 人類單株抗體的生產。

美國專利第 5,869,045 號係關於與人類癌細胞反應之抗體、抗體片段、抗體結合物和單-鏈免疫毒素。該等抗體藉以發揮功能的機制是兩-倍，因為該分子與出現在人類癌表面上的細胞膜抗原反應，更因為該抗體有能力內化至癌細胞內，隨後結合，使其等在形成抗體-藥物和抗體-毒素結合物上是特別有用的。以其等未經修改之形式，該抗體亦在特定的濃度下顯示出細胞毒性特性。

美國專利第 5,780,033 號揭示自身抗體對於腫瘤療法和

預防的用途。然而，該抗體是得自老年哺乳動物的抗核自身抗體。在此案例，自身抗體被認為係在免疫系統中發現的一類型天然抗體。因為自身抗體來自”年老的哺乳動物”，並沒有自身抗體實際上來自待治療之患者的需求。該專利除了揭示來自年老哺乳動物的天然和單株抗核自身抗體之外，還有產生單株抗核自身抗體的融合瘤細胞株。

【發明內容】

發明概述

本申請案利用在美國專利第 6,180,357 號中教示之產生患者專一之抗-癌抗體的方法以分離編碼緩和癌症疾病之單株抗體的融合瘤細胞株。可專一地替一腫瘤製造該等抗體，並因此使癌症療法之客製化成為可能的。在本申請案之前後文中，將具有殺死細胞(細胞毒性的)或抑制細胞生長(細胞靜止的)特性之抗-癌抗體，在後文中稱為細胞毒性的。可使用該等抗體協助癌症的分期和診斷，並可用來治療腫瘤轉移。藉著預防性治療，該等抗體亦可用來預防癌症。不像根據傳統藥物發現方式產製的抗體，該方法產製的抗體可靶定先前未顯示對於惡性組織之生長及/或存活是必要的分子和路徑。此外，這些抗體的結合親和力適合細胞毒性事件的啟始需要，其可能並未順從較強的親和力交互作用。再者，在本發明之範圍內，將標準化療模式(例如放射性核素)與本發明之 CDMAB 結合，藉此集中在該化療劑的使用。亦可將 CDMAB 與毒素、細胞毒性部分、酵素(例如經生物素結合之酵素)或血原細胞結合，藉此形成抗體結

合物。

個人化抗-癌治療的希望，會導致病人管理方式的改變。可能的臨床假想情況是在出現時獲得腫瘤試樣並儲存。從該試樣中，可從現存的緩和癌症疾病之抗體的名單中，定出腫瘤的類型。仍按慣例將患者分期，但可使用可利用之抗體將患者進一步分期。可立即以現存的抗體治療患者，並可使用在本文中概述之方法，或經由使用噬菌體展示庫（phage display libraries），連同在本文中揭示之篩選方法，產生對腫瘤專一之抗體的名單。會將所有所產製的抗體加至抗-癌抗體庫中，因為有其他腫瘤可能攜帶一些與正在處理者相同之抗原決定位的可能性。根據該方法產生的抗體，可在任何數目的患有與該等抗體結合之癌症的患者中用來治療癌症疾病。

除了抗-癌抗體之外，患者可選擇接受目前建議的療法，作為治療之多-模式攝生法的一部分。經由目前方法分離之抗體對非-癌症細胞是相對上較無毒性的事實，允許使用高劑量的抗體組合，單獨或與傳統療法結合。高治療指數亦允許以短時間之規模再-治療，其應該減少了出現對治療有抵抗力之細胞的可能性。

若患者是初期療程難醫治的或發展出轉移，可為了再-治療而重複產製對該腫瘤專一之抗體的製程。此外，可將抗-癌抗體與獲自患者的紅血球結合，並為了治療轉移再度-注入。對於轉移性癌症和轉移，已經有少許有效的治療，通常預示很差的結果而導致死亡。然而，轉移性癌症經常

是完全血管化的，而藉由紅血球遞送抗-癌抗體，可能具有使抗體集中在腫瘤位置的效果。即使在轉移之前，大多數的癌細胞都依賴宿主的血液供應以維持其存活，而與紅血球結合的抗-癌抗體也可有效地就地對抗腫瘤。或者，可將抗體與其他血原細胞結合，例如淋巴細胞、巨噬細胞、單核細胞、自然殺手細胞等等。

有五種抗體，並分別與由其重鏈賦予之功能有關。通常認為藉著裸露的抗體殺死癌細胞，是經由抗體依賴性細胞之細胞毒性或補體依賴性細胞毒性介導。例如，小鼠 IgM 和 IgG2a 抗體可藉著結合補體系統的 C-1 組份，而活化人類補體，藉此活化典型的補體活化路徑，其可導致腫瘤溶解。至於人類抗體，大多數有效的補體活化抗體通常是 IgM 和 IgG1。小鼠抗體的 IgG2a 和 IgG3 同型物，有效地招募具有 Fc 受體的細胞毒性細胞，其會導致細胞被單核細胞、巨噬細胞、粒性細胞和某些淋巴細胞殺死。人類抗體的 IgG1 和 IgG3 同型物兩者介導 ADCC。

抗體介導殺死癌症的其他可能機制，可能是經由使用具有催化在細胞膜及其相關糖蛋白或糖脂中的各種化學鍵結水解之功能的抗體，所謂的催化性抗體。

有三種抗體-介導之殺死癌細胞的額外機制。第一種是使用抗體作為疫苗，以誘導身體產生對抗居留在癌細胞上之假定抗原的免疫反應。第二種是使用靶定生長受體並干擾其功能或向下調節該受體的抗體，而得以有效地喪失其功能。第三種是這類抗體對細胞表面部分之直接連接的影

響，其可能導致直接的細胞死亡，如死亡受體的連接，如 TRAIL R1 或 TRAIL R2，或整聯蛋白(integrin)分子，如 $\alpha V \beta 3$ ，以及類似者。

癌症藥物的臨床效用是基於在可接受的風險範圍下，藥物對患者的益處。在癌症療法中，存活通常是最尋求的益處，然而，除了延長壽命之外，還有許多其他已完全認可的益處。該等其他的益處(其中治療對存活並沒有不利的影響)，包括減輕症狀、防止有害事件、延長復發的時間或無疾病存活，以及延長進行的時間。該等判斷標準通常是被採納的，且管理團體，如美國食品與藥物管理局(U.S. Food and Drug Administration, F.D.A.)批准產生該等益處的藥物(Hirschfeld 等人 Critical Reviews in Oncology/Hematology 42:137-143 2002)。除了該等判斷標準之外，咸認為有其他結束點可以預知該等類型之益處。在某種程度上，由 U.S. F.D.A. 授予的加速核准過程，承認有可能會預測患者利益的代用者。到 2003 年底，已經有十六種藥物在該過程下被批准，且其中四種已經繼續至完全批准，即追蹤研究已經證實直接的患者利益，如同由代理人結束點預測的。一個在固體腫瘤中測定藥物效力之重要結束點，是藉著測量對治療之反應，評估腫瘤負荷(Therasse 等人 Journal of the National Cancer Institute 92(3):205-216 2000)。已經由在固體腫瘤研究團體中的反應評估判斷標準(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors Working Group)-一群國際癌症專家，頒布了這類評

估的臨床判斷標準(RECIST 判斷標準)。經證實對腫瘤負荷有影響的藥物(根據 RECIST 判斷標準藉著客觀的反應顯示)，在與適當的對照組相比較時，最後有產生直接之患者利益的傾向。在臨床前環境中，通常較直接地評估和證明腫瘤負荷。因為可將臨床前研究改變成臨床環境，在臨床前模式中產生延長存活的藥物，有最大預期的臨床效用。類似對臨床治療產生的肯定反應，在前臨床環境中降低腫瘤負荷的藥物，亦可能對疾病有重大的直接影響。雖然延長存活是來自癌症藥物治療最尋求的臨床成果，但亦有其他具有臨床效用的利益，且明顯使腫瘤負荷降低，其可能與延遲疾病的進行、延長存活或兩者都有關，亦可能導致直接的利益並具有臨床影響(Eckhardt 等人 發育治療：經靶定化合物之臨床試驗設計的成功和失敗(Developmental Therapeutics: Successes and Failures of Clinical Trial Designs of Targeted Compounds)；ASCO Educational Book, 第 39 次年會, 2003, 第 209-219 頁)。

本發明描述藉著其在細胞毒性測定中以及在人類癌症之動物模式中的效力鑑認之 AR102A256.4 的發展和用途。本發明描述試劑，其專一地與出現在目標分子上之抗原決定位結合，且其亦具有對抗惡性腫瘤細胞(但不對抗正常細胞)的試管內細胞毒性特性(如同裸露的抗體)，且其亦直接介導(如同裸露的抗體)腫瘤生長的抑制。在抗-癌抗體之用途上有更多的進步，如靶定表現同族抗原標記的腫瘤，以達到腫瘤生長之抑制，以及其他癌症治療的陽性結束點。

總之，本發明教示 AR102A256.4 抗原作為治療劑之目標的用途，在投予時可降低在哺乳動物中表現該抗原之癌症的腫瘤負荷。本發明亦教示 CDMAB(AR102A256.4)及其衍生物，及其抗原結合片段的用途，還有誘導其配體的細胞毒性，以靶定其等抗原而降低在哺乳動物中表現該抗原之癌症的腫瘤負荷。此外，本發明亦教示了在癌細胞中檢測 AR102A256.4 抗原的用途，其可用於診斷、療法的預測，以及攜帶表現該抗原之腫瘤之哺乳動物的預後。

因此，本發明之目標是利用產生緩和癌症疾病之抗體 (CDMAB) 的方法，該抗體對衍生自特定個體的癌細胞，或一或多個特定的癌細胞株而升高，該 CDMAB 對癌細胞是細胞毒性的，同時對非-癌症細胞是相對上較無-毒性的，以便分離融合瘤細胞株，以及該融合瘤細胞株編碼之相對應的經分離單株抗體及其抗原結合片段。

本發明額外的目標是教示緩和癌症疾病之抗體、配體及其抗原結合片段。

本發明的另一目標是產生緩和癌症疾病之抗體，係經由抗體依賴性細胞之毒性介導其等的細胞毒性。

本發明的另一目標是產生緩和癌症疾病之抗體，係經由補體依賴性細胞之毒性介導其等的細胞毒性。

本發明的另一目標是產生緩和癌症疾病之抗體，其等之細胞毒性為其等催化細胞之化學鍵結水解的功能。

本發明的另一目標是產生緩和癌症疾病之抗體，其可用在結合測定上，以供癌症的診斷、預後和監視。

從下列的說明中，本發明之其他目標和優點會變得更加清楚，其中藉著解釋和實例陳述本發明的某些具體事實。

【實施方式】

發明之詳細說明

通常，當在概述、說明、實施例和申請專利範圍中使用時，下列的字或片語具有指定之定義。

以最廣泛之意義使用”抗體”一詞，且特別涵蓋，例如單一的單株抗體(包括激動劑、拮抗劑和中和抗體、去-免疫化(de-Immunized)、小鼠、嵌合型或人類化之抗體)、具有多抗原決定位專一性的抗體組合物、單-鏈抗體、免疫結合物和抗體片段(參見下文)。

當在本文中使用的”單株抗體”一詞時，意指獲自實質上均一之抗體族群的抗體，即除了可能天然存在的突變(其可能以最少的量出現)之外，包括相同族群的個別抗體。單株抗體為高度專一的，且係針對單一的抗原位置。此外，與多株抗體製劑(其包括針對不同決定位(抗原決定位)的不同抗體)相反，每個單株抗體均針對在抗原上單一的決定位。除了其等之專一性，單株抗體的優點亦在於可藉著不被其他抗體污染的方式被合成。修飾語”單株的”代表抗體的特徵，為獲自實質上均一的抗體族群，且不應將其解釋為需要藉著任何特殊方法產生抗體族群。例如，欲根據本發明使用之單株抗體，可藉著首先由 Kohler 等人，Nature, 256:495(1975)描述的融合瘤(小鼠或人類)方法來製造，或可藉著重組 DNA 方法(參見，例如美國專利第 4,816,567 號)

來製造。”單株抗體”也可以分離自噬菌體抗體庫，使用例如在 Clackson 等人, *Nature*, 352:624-628(1991)和 Marks 等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597(1991)中描述的技術。

“抗體片段”包括完整抗體的一部分，較佳的是包括其抗原-結合或可變區。抗體片段的實例包括小於全長的抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段；微型雙功能抗體(diabodies)；直線抗體；單-鏈抗體分子；單-鏈抗體、單功能部位抗體分子、融合蛋白、重組蛋白質和從抗體片段形成的多專一性抗體。

“完整”抗體是包括抗原-結合之可變區，以及輕鏈恆定功能部位(C_L)和重鏈恆定功能部位 C_H1、C_H2 和 C_H3 的抗體。恆定功能部位可以是天然的序列恆定功能部位(例如人類天然序列恆定功能部位)或其胺基酸序列變體。較佳的是，完整抗體具有一或多個效應物功能。

依據其重鏈之恆定功能部位的胺基酸序列，可將完整抗體指派為不同的”種類”。有五大類完整抗體：IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，有些又可再細分成”亞類”(同型物)，例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA 和 IgA2。分別將與不同種類抗體相對應之重鏈恆定功能部位稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。不同種類免疫球蛋白的次單元結構和三-維構型是已熟知的。

抗體”效應物功能”意指該等可歸因於抗體之 Fc 區(天然序列 Fc 區或胺基酸序列變體 Fc 區)的生物活性。抗體效應物功能的實例包括 C1q 結合；補體依賴性細胞毒性；Fc

受體結合；抗體-依賴性細胞-介導之細胞毒性 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體的向下調節(例如 B 細胞受體；BCR) 等等。

“抗體-依賴性細胞-介導之細胞毒性”和”ADCC”意指細胞-介導之反應，其中非-專一的細胞毒性細胞(其表現 Fc 受體(FcRs))(例如自然殺手(NK)細胞、嗜中性白血球和巨噬細胞)認出已經結合在目標細胞上的抗體，並隨後引起目標細胞的溶解。介導 ADCC 的主要細胞-NK 細胞，僅表現 Fc γ R III，而單核細胞則表現 Fc γ R I、Fc γ R II 和 Fc γ R III。在 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92(1991)第 464 頁的表 3 中，概述了在造血細胞上的 FcR 表現。欲評估感興趣分子的 ADCC 活性，可進行如在美國專利第 5,500,362 號或 5,821,337 號中描述之試管內的 ADCC 測定。對該類測定有用的效應物細胞包括周圍血液單核細胞(PBMC)和自然殺手(NK)細胞。或者或另外，可在活體內，例如在動物模式，如在 Clynes 等人 *PNAS(USA)* 95:652-656(1998)中揭示的動物模式中，評估感興趣分子的 ADCC 活性。

“效應物細胞”是表現一或多個 FcRs 並執行效應物功能的白血球。較佳的是，至少表現 Fc γ R III 並執行 ADCC 效應物功能的細胞。介導 ADCC 之人類白血球的實例，包括周圍血液單核細胞(PBMC)、自然殺手(NK)細胞、單核細胞、細胞毒性 T 細胞和嗜中性白血球；較佳的是 PBMCs 和 NK 細胞。可從其天然來源中分離效應物細胞，例如從血液或

PBMCs，如在本文中的描述。

使用“Fc 受體”或“FcR”一詞來描述與抗體之 Fc 區結合的受體。較佳的 FcR 是天然序列人類 FcR。然而，較佳的 FcR 是與 IgG 抗體結合的 FcR(γ 受體)，並包括 Fc γ R I、Fc γ R II 和 Fc γ R III 亞類的受體，包括對偶基因變體，以及該等受體以供選擇之方式接合的形式。Fc γ R II 受體包括 Fc γ R II A(“活化受體”)和 Fc γ R II B(“抑制受體”)，其具有類似的胺基酸序列，差異主要是在於其細胞質功能部位。活化受體 Fc γ R II A 在其細胞質功能部位中含有免疫受體酪胺酸-為基礎之活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。抑制受體 Fc γ R II B 在其細胞質功能部位中含有免疫受體酪胺酸-為基礎之抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, ITIM)。(參見 M. Daeron 在 *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234(1997)中的回顧)。在 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92(1991)；Capel 等人 *Immunomethods* 4:25-34(1994)；以及 de Haas 等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41(1995)中回顧了 FcRs。將其他的 FcRs (包括在未來鑑認的那些)，係納入在本文中之名詞“FcR”內。該名詞亦包括新生兒受體 FcRn，其負責將母親的 IgGs 轉移至胎兒(Guyer 等人, *J. Immunol.* 117:587(1976)和 Kim 等人, *Eur. J. Immunol.* 24:2429(1994))。

“補體依賴性細胞毒性”或“CDC (complement dependent cytotoxicity)”意指分子在補體存在下溶解目標的能力。由

補體系統的第一個組份(C1q)與同族抗原複合之分子(例如抗體)的結合來啟使補體活化路徑。欲評估補體活化，可進行 CDC 測定，例如像是在 Gazzano-Santoro 等人, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)中描述的。

“可變的”一詞意指可變功能部位的某些部分，在抗體中有廣泛的序列差異，並被用在每個特殊抗體與其特殊抗原之結合和專一性上的事實。然而，變異性並非均勻地分布在抗體的可變功能部位中。其集中在輕鏈和重鏈可變功能部位兩者中之叫做高變區的三段中。將可變功能部位之較高度保留的部分稱為架構區(FRs)。天然重和輕鏈的可變功能部位分別包括四個 FRs，大多採用 β -片構型，由三個高變區連接，其形成環連接 β -片結構，且在某些情況下形成該結構的一部分。在每個鏈中的高變區均藉著 FRs 與得自其他鏈之高變區非常接近地結合在一起，有助於抗體之抗原-結合位置的形成(參見 Kabat 等人，免疫學上感興趣之蛋白質的序列 (Sequences of Proteins of Immunological Interest), 第 5 版 Publish Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. 第 15-17 頁；48-53(1991))。恆定功能部位不直接涉及抗體與抗原的結合，但顯示各種效應物功能，如抗體參與抗體依賴性細胞之細胞毒性(ADCC)。

當在本文中使用“高變區”一詞時，意指抗體中負責抗原-結合的胺基酸殘基。高變區通常包括得自“互補性決定區”或“CDR”的胺基酸殘基(例如在輕鏈可變功能部位中的殘基

24-34(L)、50-56(L2)和 89-97(L3)，以及在重鏈可變功能部位中的殘基 31-35(H1)、50-65(H2)和 95-102(H3)；Kabat 等人，免疫學上感興趣之蛋白質的序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)，第 5 版 Publish Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. 第 15-17 頁；48-53(1991))，及/或得自”高變環”的那些殘基(例如在輕鏈可變功能部位中的殘基 26-32(L1)、50-52(L2)和 91-96(L3)，以及在重鏈可變功能部位中的殘基 26-32(H1)、53-55(H2)和 96-101(H3)；Chothia 和 Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))。 ”架構區”或”FR”殘基是如在本文中定義之高變區殘基以外的那些可變功能部位殘基。抗體的木瓜蛋白酶消化，產生兩個相同的抗原-結合片段，稱為”Fab”片段，分別有單一抗原-結合位置，以及剩餘的”Fc”片段，其名稱反映其迅速結晶化的能力。胃蛋白酶處理產生 $F(ab')_2$ 片段，其具有兩個抗原結合位置，且仍能夠交叉-連接抗原。

“Fv”是最小的抗體片段，其含有完整的抗原-認知和抗原-結合位置。該區由一個重鏈和一個輕鏈可變功能部位的二聚體，以緊密、非-共價結合所組成。在該構型中，每個可變功能部位的三個高變區交互作用，以定義在 V_H - V_L 二聚體之表面上的抗原-結合位置。六個高變區集體賦予抗體之抗原-結合專一性。然而，即使是單一的可變功能部位(或僅包括對抗原專一之三個高變區的半個 Fv)，亦具有認出並與抗原結合的能力，雖然親和力比整個結合位置低。Fab 片

段亦含有輕鏈的恆定功能部位和重鏈的第一個恆定功能部位(CH1)。Fab'片段與 Fab 片段之差異在於在重鏈 CH1 功能部位之羧基端添加了幾個殘基，包括得自抗體鉸鏈區的一或多個半胱胺酸。Fab'-SH 是在本文中對其中恆定功能部位之半胱胺酸殘基攜帶至少一個自由硫醇基團之 Fab'的稱呼。F(ab')₂ 抗體片段一開始是以一對 Fab'片段之形式產生，在其等之間具有鉸鏈半胱胺酸。抗體片段的其他化學偶聯亦是已知的。

可基於其等之恆定功能部位的胺基酸序列，將得自任何脊椎動物物種之抗體的"輕鏈"分派至兩個明顯不同類型之一，叫做卡巴(κ)和蘭達(λ)。

"單-鏈 Fv"或"scFv"抗體片段包括抗體的 V_H和 V_L功能部位，其中該等功能部位以單一多肽鏈出現。較佳的是，Fv 多肽更在 V_H和 V_L功能部位之間包括多肽連接子，其使 scFv 得以形成想要的結構以供抗原結合。關於 scFv 的回顧，參見 Pluckthun 在單株抗體之藥理學(The Pharmacology of Monoclonal Antibodies)，第 113 冊，Rosenburg 和 Moore 編輯，Springer-Verlag, New York, 第 269-315 頁(1994)中。

"微型雙功能抗體"一詞意指小型抗體片段，具有兩個抗原結合位置，該片段包括在相同的多肽鏈(V_H-V_L)中與可變輕功能部位(V_L)連接的可變重功能部位(V_H)。藉著使用太短以致於不允許在相同鏈上兩個功能部位之間配對的連接子，迫使該功能部位與其他鏈之互補功能部位配對，並創造兩個抗原-結合位置。在例如歐洲專利 404,097；WO

93/11161；和 Hollinger 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)中更充分地描述了微型雙功能抗體。

“經分離之”抗體是已經鑑認並分離，及/或從其天然環境之組份中回收的抗體。其天然環境之污染組份是會干擾該抗體之診斷或治療用途的物質，並可能包含酵素、激素及其他蛋白質或非蛋白質的溶質。經分離之抗體包括在重組細胞內在原處的抗體，因為會缺少抗體之天然環境的至少一個組份。然而，例行地會藉著至少一個純化步驟製備經分離之抗體。

“結合”感興趣之抗原的抗體，是能夠以足夠之親和力與抗原結合的抗體，使得該抗體在靶定表現該抗原之細胞時，可用來作為治療或診斷劑。在抗體為與抗原部分結合者之處，其經常會優先結合與其他受體對立的抗原部分，且不包含偶發的結合，如非-專一的 Fc 接觸，或與轉譯後與其他抗原共有的修飾結合，並可能與其他蛋白質沒有顯著的交叉-反應。檢測與感興趣抗原結合之抗體的方法，為在技術領域中已熟知的，並可包含但不限於諸如 FACS、細胞 ELISA 和西方墨點法之類的測定。

當在本文中使用時，可交替使用名詞“細胞”、“細胞株”和“細胞培養物”，且所有的這類稱呼均包含後代。亦瞭解所有的後代可能在 DNA 內含物上實際上不是相同的，因為故意或偶然的突變。具有和在原始經轉化的細胞內篩選者相同的功能或生物活性的突變後代係被納入。從前後文中會清楚在哪裡想要不同的稱呼。

“療法或治療”意指治療性的治療和預防性或預防上的測量，其中目標是防止或減緩(減少)經靶定之病理學疾病或病症。需要治療的那些包括業已罹患病症的那些，以及有患病傾向的那些，或欲在其中預防病症的那些。因此，在本文中欲治療之哺乳動物可能已經診斷出罹患病症，或可能易罹患病症或受病症影響者。

“癌症”或“癌症的”一詞意指或描述在哺乳動物中的病理學疾病，其典型地特徵在於不受調節的細胞生長或死亡。癌症的實例包括，但不限於癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴樣惡性。這類癌症更特殊的實例包括鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)、肺癌，包括小-細胞肺癌、非-小細胞肺癌、肺腺癌和肺的鱗狀細胞癌、腹膜的癌症、肝細胞癌、包括胃腸癌的胃或胃癌、胰臟癌、神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、結腸癌、直腸癌、結直腸癌、子宮內膜或子宮癌、唾液腺癌、腎臟或腎癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌、肛門癌、陰莖癌，以及頭和頸部的癌症。

“化療劑”為可用來治療癌症的化學化合物。化療劑的實例包括烷基化劑，如塞替派(thiotepa)和環磷醯胺(賽托神(CYTOXAN)TM)；烷基磺酸酯，如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；吡丙啶類，如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)和烏瑞替哌(uredopa)；亞乙基亞胺和甲蜜胺類(methylamelamines)，包括六甲蜜胺(altretamine)、曲他胺

(triethylenemelamine) 、 三 亞 乙 基 磷 醯 胺
 (triethylenephosphoramidate) 、 噻 替 派
 (triethylenethiophosphoramidate) 和 三 羥 甲 蜜 胺
 (trimethylolomelamine) ; 氮 芥 類 , 如 苯 丁 酸 氮 芥
 (chlorambucil) 、 萘 氮 芥 (chlornaphazine) 、 克 洛 磷 醯 胺
 (cholophosphamide) 、 雌 莫 司 丁 (estramustine) 、 異 環 磷 醯 胺
 (ifosfamide) 、 氮 芥 (mechlorethamine) 、 氧 氮 芥
 (mechlorethamine oxide) 鹽 酸 鹽 、 美 法 倫 (melphalan) 、 新 氮
 芥 (novembichin) 、 苯 芥 膽 固 醇 (phenesterine) 、 潑 尼 氮 芥
 (prednimustine) 、 曲 磷 胺 (trofosfamide) 、 尿 嘧 啶 氮 芥 (uracil
 mustard) ; 亞 硝 基 脲 類 , 如 卡 莫 司 汀 (carmustine) 、 氯 脲 菌 素
 (chlorozotocin) 、 福 莫 司 汀 (fotemustine) 、 洛 莫 司 汀
 (lomustine) 、 尼 莫 司 汀 (nimustine) 、 雷 莫 司 汀 (ranimustine) ;
 抗 生 素 , 如 阿 克 拉 黴 素 (aclacinomysins) 、 放 線 菌 素 、 奧 色
 拉 黴 素 (authramycin) 、 重 氮 絲 胺 酸 (azaserine) 、 博 萊 黴 素 、
 放 線 菌 素 C (cactinomycin) 、 加 里 剎 黴 素 (calicheamicin) 、 卡
 拉 比 辛 (carabycin) 、 卡 諾 黴 素 (carnomycin) 、 嗜 癌 素
 (carzinophilin) 、 色 黴 素 (chromomycins) 、 更 生 黴 素
 (dactinomycin) 、 道 諾 紅 菌 素 、 地 托 比 星 (detorubicin) 、 6-
 重 氮 -5-氧 基 -L-正 亮 胺 酸 、 阿 黴 素 、 表 柔 比 星 (epirubicin) 、
 依 索 比 星 (esorubicin) 、 伊 達 比 星 (idarubicin) 、 麻 西 羅 黴 素
 (marcellomycin) 、 絲 裂 黴 素 、 黴 酚 酸 (mycophenolic acid) 、
 諾 拉 黴 素 (nogalamycin) 、 橄 欖 黴 素 (olivomycins) 、 培 洛 黴 素
 (peplomycin) 、 波 菲 羅 黴 素 (potfiromycin) 、 嘌 羅 黴 素

(puromycin)、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、絳色黴素(streptonigrin)、鏈佐星(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗-代謝產物，如胺甲碟呤和5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，如二甲葉酸(denopterin)、胺甲碟呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫代鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，如環胞苷(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷(azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二脫氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU；雄激素，如卡魯甾酮(calusterone)、屈他雄酮丙酸鹽(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄醇(mepitiostanol)、甾內酯(testolactone)；抗-腎上腺藥物，如氮魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，如弗林尼酸(frolinic acid)；醋葡萄糖內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸(aminolevulinic acid)；安吖啶(amsacrine)；百垂布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；芥磷胺(defosfamide)；地美可辛(demecolcine)；地吖醌(diaziquone)；艾福米辛(elformithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；依托格魯

(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；蘑菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidamine)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；二胺硝吡啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；非那麥特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®；雷佐生(razoxane)；西佐喃(sizofiran)；鍺螺胺(spirogermanium)；細格孢氮雜酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；胺基甲酸酯；長春地辛(vindesine)；甲噻咪唑胺(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加胞苷(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside)(“Ara-C”)；環磷醯胺；塞替派；紫杉烷(taxane)，例如紫杉醇(paclitaxel)(紫杉醇®，Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)和多舍他昔(docetaxel)(剋癌易®，Aventis, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)；苯丁酸氮芥；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫代鳥嘌呤；巯基嘌呤；胺甲碟呤；鉑類似物，如順氯氮鉑和卡鉑(carboplatin)；長春花鹼(vinblastine)；鉑；依托泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺；絲裂黴素 C；米托蒽醌；長春新鹼；長春瑞賓(vinorelbine)；溫諾平(navelbine)；諾凡蒽醌(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；道諾黴素；胺基蝶呤；截瘤達(xeloda)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT-11；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；視黃酸；埃

斯培拉黴素(esperamicins)；卡培他濱(capecitabine)；以及任何上述者在藥學上可接受之鹽類、酸類或衍生物。在該定義中亦包括抗-激素劑，其作用為調節或抑制對腫瘤的激素作用，如抗-雌激素藥，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制 4(5)-咪唑的芳香化酶(aromatase)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)和托瑞米芬(toremifene)(法樂通(Fareston))；以及抗雄激素藥，如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯米(bicalutamide)、亮丙里德(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin)；以及任何上述者在藥學上可接受之鹽類、酸類或衍生物。

為了治療，“哺乳動物”意指任何分類為哺乳動物的動物，包括人類、小鼠、SCID 或裸鼠或小鼠品系、家畜和農場動物，以及動物園、競賽用或同伴動物，如綿羊、狗、馬、貓、牛等等。較佳的是，在本文中的哺乳動物是人類。

“寡核苷酸”是長度短、單-或雙-股的聚脫氧核苷酸，其藉著已知的方法以化學方式合成(如磷酸三酯、亞磷酸鹽或亞磷醯胺化學，使用如在 1988 年 5 月 4 日發表之歐洲專利 266,032 中描述的固相技術，或經由脫氧核苷 H-膦酸酯中間物，如同由 Froehler 等人, Nucl. Acids Res., 14:5399-5407, 1986 描述的)。然後在聚丙稀醯胺凝膠上純化其等。

根據本發明，非-人類(例如小鼠)免疫球蛋白之“人類化”及/或“嵌合型”形式，意指含有特定的嵌合型免疫球蛋

白、免疫球蛋白鏈或其片段(如 Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或抗體之其他抗原-結合亞序列)的抗體，與原始抗體相比較，結果降低了人類抗-小鼠抗體(HAMA)、人類抗-嵌合型抗體(HACA)或人類抗-人類抗體(HAHA)反應，並含有衍生自該非-人類免疫球蛋白，使想要效果再現所需的必要部分(例如 CDR、抗原結合區、可變功能部位等等)，同時仍保留結合特徵(其可與該非-人類免疫球蛋白相比擬)。大抵來說，人類化抗體是人類的免疫球蛋白(接受者抗體)，其中藉著得自非-人類物種(捐贈者抗體)，如小鼠、大鼠或兔子之 CDRs 的殘基(其具有想要的專一性、親和力和性能)，置換得自接受者抗體之互補性決定區(CDRs)的殘基。在某些情況下，藉著相對應的非-人類 FR 殘基置換人類免疫球蛋白的 Fv 架構區(FR)殘基。此外，人類化抗體可包括不是在接受者抗體中，也不是在所輸入之 CDR 或 FR 序列中找到的殘基。可進行這些修飾，以便更進一步琢磨並使抗體效能最適化。通常，人類化抗體實質上會包括所有的至少一個，且典型地兩個可變功能部位，其中全部或實質上全部的 CDR 區與非-人類免疫球蛋白的那些相符，且全部或實質上全部的 FR 殘基與人類免疫球蛋白一致序列的那些相符。人類化抗體亦可視需要包括至少一部分的免疫球蛋白恆定區(Fc)，典型地是人類免疫球蛋白的恆定區。

“去-免疫化”抗體是對一特定物種為非-免疫原性或較低免疫原性的免疫球蛋白。可經由使抗體的結構改變，而達成去-免疫化。可使用任何熟諳此藝者已知的去-免疫化技

術。在例如 2000 年 6 月 15 日發表之 WO 00/34317 中描述了一使抗體去免疫化的適當技術。

誘導”細胞凋亡”的抗體是藉著任何方法誘導程式化細胞死亡的抗體，例如但不限於膜聯蛋白(annexin)V 的結合、卡斯蛋白酶(caspase)活性、DNA 的碎裂、細胞收縮、內質網的膨脹、細胞碎裂，及/或膜囊(叫做細胞凋亡體)的形成。

當在本文中使用时，瞭解”抗體誘導之細胞毒性”意指衍生自融合瘤上清液或由以登錄編號 290507-01 寄存在 IDAC 之融合瘤產生的抗體的細胞毒性影響，其影響不一定與結合的程度有關。

在本說明書中，融合瘤細胞株，以及從其中產生的經分離之單株抗體，可另行藉著其等的內部名稱 AR102A256.4 或寄存名稱 IDAC 290507-01 來稱呼它。

當在本文中使用时，”抗體-配體”包含對目標抗原之至少一個抗原決定位展現出結合專一性的部分，且其可能是完整的抗體分子、抗體片段，以及具有至少一個抗原結合區或其一部分(即抗體分子之可變部分)的任何分子，例如 Fv 分子、Fab 分子、Fab'分子、F(ab')₂ 分子、雙專一性抗體、融合蛋白或任何以遺傳方式設計的分分子，其專一地認出並與抗原的至少一個抗原決定位結合，該抗原係與由稱為 IDAC 290507-01 之融合瘤細胞株產生的經分離之單株抗體結合(IDAC 290507-01 抗原)。

當在本文中使用时，”緩和癌症疾病之抗體”(CDMAB)

意指單株抗體，其以有利於患者之方式修改癌症疾病過程，例如藉著降低腫瘤負荷，或延長攜帶腫瘤之個體的存活，及其抗體-配體。

當在本文中使用时，”抗原-結合區”意指認出目標抗原之分子的一部分。

當在本文中使用时，”競爭性抑制”意指使用傳統的交互抗體競爭測定指出能夠認出並與決定位位置結合，該決定位係藉著叫做 IDAC 290507-01 的融合瘤細胞株對其產生單株抗體(IDAC 290507-01 抗體)。(Belanger L., Sylvestre C. 和 Dufour D.(1973), 藉著競爭性和三明治程序進行 α 胎兒蛋白的酵素連接免疫測定(Enzyme linked immunoassay for alpha fetoprotein by competitive and sandwich procedures.) Clinica Chimica Acta 48, 15)。

當在本文中使用时，”目標抗原”為 IDAC 290507-01 抗原或其一部分。

當在本文中使用时，”免疫結合物”意指任何分子或 CDMAB，如以化學或生物學方式與細胞毒性素、放射性製劑、酵素、毒素、抗-腫瘤藥或治療劑連接的抗體。可使抗體或 CDMAB 在分子中的任何地方與細胞毒性素、放射性製劑、抗-腫瘤藥或治療劑連接，只要其能夠與其目標結合即可。免疫結合物的實例包括抗體毒素化學結合物和抗體-毒素融合蛋白。

當在本文中使用时，”融合蛋白”意指任何嵌合型蛋白質，其中抗原結合區與具有生物活性之分子，例如毒素、

酵素或蛋白質藥物連接。

為了可更充分地瞭解在本文中描述的本發明，陳述以下的說明。

本發明提供 CDMABs(即 IDAC 290507-01 CDMAB)，其專一地認出並與 IDAC 290507-01 抗原結合。

藉著以登錄編號 290507-01 寄存在 IDAC 之融合瘤產生的經分離單株抗體之 CDMAB，可以是任何形式，只要其具有競爭性地抑制由融合瘤 IDAC 290507-01 產生之經分離單株抗體對其目標抗原的免疫專一性結合的抗原-結合區即可。因此，任何重組蛋白質(例如融合蛋白，其中該抗體與第二個蛋白質，如淋巴細胞活素或腫瘤抑制生長因子結合)，具有像 IDAC 290507-01 抗體一樣的結合專一性，便落在本發明之範圍內。

在本發明之一具體事實中，CDMAB 是 IDAC 290507-01 抗體。

在其他的具體事實中，CDMAB 是抗原結合片段，其可以是 Fv 分子(如單鏈 Fv 分子)、Fab 分子、Fab'分子、F(ab')₂ 分子、融合蛋白、雙專一性抗體、異種抗體或任何具有 IDAC 290507-01 抗體之抗原-結合區的重組分子。本發明之 CDMAB 針對 IDAC 290507-01 單株抗體所針對的抗原決定位。

本發明之 CDMAB 可能是經修飾的，即藉著在分子內的胺基酸修飾，而得以產生衍生物分子。化學修飾亦是可能的。

衍生物分子會保留多肽的功能特性，也就是說具有如此取代的分子仍會允許該多肽與 IDAC 290507-01 抗原或其一部分的結合。

這些胺基酸取代包括，但不限於在技術領域中已知為”保留性的”胺基酸取代。

例如，已經完全確立蛋白質化學的原則，可經常在蛋白質中進行某些胺基酸取代，名叫”保留性胺基酸置換”，不改變蛋白質之構象或功能。

這類改變包括以任何其他的這些疏水性胺基酸取代任何的異亮胺酸(I)、纈胺酸(V)和亮胺酸(L)；天冬胺酸(D)取代穀胺酸(E)反之亦然；穀胺醯胺(Q)取代天冬醯胺(N)反之亦然；以及絲胺酸(S)取代蘇胺酸(T)反之亦然。亦認為其他的取代是保留性的，視特定胺基酸的環境及其在蛋白質之三維結構中的角色而定。例如，甘胺酸(G)和丙胺酸(A)經常是可交換的，如同丙胺酸和纈胺酸(V)。甲硫胺酸(M)，其為相對上較疏水的，經常可與亮胺酸和異亮胺酸交換，且有時可與纈胺酸交換。離胺酸(K)和精胺酸(R)在其中胺基酸殘基之明顯特徵為其電荷，而且這兩個胺基酸殘基不同的 pK's 是不重要的位置，經常是可交換的。在特殊的環境中仍可將其他改變視為”保留性的”。

實施例 1

融合瘤的產生 - 融合瘤細胞株 AR102A256.4

於 2007 年 5 月 29 日，根據布達佩斯條約，將融合瘤細胞株 AR102A256.4 以登錄編號 290507-01 寄存於加拿大

衛生署，微生物處，國際寄存機構 (International Depository Authority of Canada, IDAC, Bureau of Microbiology, Health Canada)，1015 Arlington Street, Winnipeg, Manitoba, Canada, R3E 3R2。根據 37 CFR 1.808，寄存者確保所有強加在對大眾利用所寄存之物質上的限制，會在專利獲准後以不可取消之方式移除。若寄存處不能分配可存活之試樣，便會替換寄存物。

為了生產產生抗-癌抗體 AR102A256.4 的融合瘤，在 PBS 中製備和從冷凍人類腹水分離的轉移性卵巢癌一致的惡性細胞（患者捐贈係經過告知和同意）。IMMUNEASY™(Qiagen, Venlo, Netherlands)佐劑係藉著溫地和混合來製備以供使用。藉著皮下注射在 50 微升抗原-佐劑中的 2 百萬個細胞，免疫五到七週齡的 BALB/c 小鼠。在開始免疫之後 2 和 5 週，使用新近製備的抗原-佐劑，以在 50 微升中的 2 百萬個細胞腹腔內補強免疫小鼠。在最後一次免疫之後三天，使用脾臟進行融合。藉著將經分離之脾臟細胞與 NSO-1 骨髓瘤夥伴融合，製備融合瘤。從融合瘤之繼代純種系，測試得自融合的上清液。

欲測定由融合瘤細胞分泌的抗體是否屬於 IgG 或 IgM 同型物，使用 ELISA 測定。在 4°C 下，將在塗覆緩衝溶液 (0.1M 碳酸鹽/碳酸氫鹽緩衝溶液，pH9.2-9.6) 中濃度為 2.4 微克/毫升的 100 微升/孔山羊抗-小鼠 IgG+IgM(H+L) 加至 ELISA 培養盤中過夜。以沖洗緩衝溶液 (PBS+0.05%吐溫) 沖洗培養盤三次。將 100 微升/孔的阻斷緩衝溶液 (在沖洗緩衝

溶液中 5%牛奶)加至培養盤中，在室溫下持續 1 小時，然後以沖洗緩衝溶液沖洗三次。加入 100 微升/孔的融合瘤上清液，並在室溫下培養該盤 1 小時。以沖洗緩衝溶液沖洗該盤三次，並以 100 微升/孔加入 1/100,000 稀釋的山羊抗-小鼠 IgG 或 IgM 辣根過氧化酶結合物(以含有 5%牛奶之 PBS 稀釋)。在室溫下培養該盤 1 小時之後，以沖洗緩衝溶液沖洗培養盤三次。在室溫下，與 100 微升/孔的 TMB 溶液培養 1-3 分鐘。藉著加入 50 微升/孔的 2M H_2SO_4 使顏色反應終止，並以 Perkin-Elmer HTS7000 培養盤判讀儀在 450 奈米處判讀該盤。如同在圖 1 中所示，AR102A256.4 融合瘤主要分泌 IgG 同型物的抗體。

欲判定由融合瘤細胞分泌之抗體的亞類，使用小鼠單株抗體同型物定型套組(HyCult Biotechnology, Frontstraat, Netherlands)進行同型物定型實驗。將 500 微升緩衝溶液加至含有大鼠抗-小鼠亞類之專一抗體的測試條上。將 500 微升融合瘤上清液加至試管內，並藉著溫和地搖動將其淹沒。藉著與膠體顆粒偶聯的二級大鼠單株抗體，直接檢測所捕捉到的小鼠免疫球蛋白。這兩種蛋白質的組合，產生用以分析同型物的視覺信號。抗-癌抗體 AR102A256.4 是屬於 IgG1, κ 同型物。

在一輪限制稀釋之後，在細胞 ELISA 測定中，針對與目標細胞結合的抗體來測試融合瘤上清液。分別測試一種人類結腸癌細胞株、一種人類乳癌細胞株、兩種人類卵巢癌細胞株與一種人類非癌症皮膚細胞株，分別為：Lovo、

MDA-MB-231、OCC-1、OVCAR-3 與 CCD-27sk。所有細胞株除了其中一種卵巢癌細胞株之外，皆得自美國典型組織收集中心 (American Type Tissue Collection(ATCC)，Manassas, VA)。OCC-1 卵巢癌細胞株得自歐他瓦地區癌症中心 (Ottawa, ON)。在使用之前，先固定經平鋪的細胞。在室溫下以含有 $MgCl_2$ 和 $CaCl_2$ 的 PBS 沖洗培養盤三次。在每孔中加入 100 微升以 PBS 稀釋之 2% 仲甲醛，在室溫下 10 分鐘，然後拋棄。再度在室溫下以含有 $MgCl_2$ 和 $CaCl_2$ 的 PBS 沖洗培養盤三次。在室溫下，以 100 微升/孔，在沖洗緩衝溶液 (PBS+0.05% 吐溫) 中之 5% 牛奶進行阻斷 1 小時。以沖洗緩衝溶液沖洗培養盤三次，並在室溫下以 75 微升/孔加入融合瘤上清液 1 小時。以沖洗緩衝溶液沖洗該盤三次，並以 100 微升/孔加入 1/25,000 稀釋的與辣根過氧化酶之山羊抗-小鼠 IgG 或 IgM 抗體 (以含有 5% 牛奶之 PBS 稀釋)。在室溫下培養 1 小時之後，以沖洗緩衝溶液沖洗該盤三次，並在室溫下與 100 微升/孔的 TMB 受質一起培養 1-3 分鐘。利用 50 微升/孔的 2M H_2SO_4 使該反應終止，並以 Perkin-Elmer HTS7000 培養盤判讀儀在 450 奈米處判讀該盤。如圖 1 之表所示的結果係以和已先前顯示不與受測試細胞株結合之內部組織 IgG 同種型對照組相較，高出背景值之倍數的方式表示。得自融合瘤 AR102A256.4 之抗體，顯示其與受測試細胞株有可偵測之結合，其中對 Lovo 結腸癌細胞株有最高的可偵測結合。

連同對抗體結合的測試，在細胞株中測試融合瘤上清

液的細胞毒性影響(抗體誘導之細胞毒性): Lovo、MDA-MB-231、OCC-1、OVCAR-3 與 CCD-27sk。從 Molecular Probes (Eugene, OR)獲得鈣黃綠素(calcein)AM,並如下文概述進行該測定。在測定之前,以預定之適當密度將細胞平鋪。在2天之後,將75微升的上清液從融合瘤微量滴定盤移至該細胞培養盤,並在5%CO₂恆溫箱中培養5天。對作為陽性對照組的孔送氣直到排空,並加入100微升溶解於培養基中的疊氮化鈉(NaN₃, 0.1%, Sigma, Oakville, ON)或環己亞胺(CHX, 0.5微莫耳濃度, Sigma, Oakville, ON)。在處理5天之後,藉著倒轉並吸乾,將培養盤排空。從多通道擠壓瓶中,將含有MgCl₂和CaCl₂的室溫DPBS(杜貝可氏(Dulbecco's)磷酸緩衝之生理鹽水)分配到每孔內,輕敲三次,藉著倒轉排空,然後吸乾。在每孔中加入50微升以含有MgCl₂和CaCl₂之DPBS稀釋的螢光鈣黃綠素染料,並在37°C下在5%CO₂恆溫箱中培養30分鐘。在Perkin-Elmer HTS7000 螢光盤判讀器中判讀該培養盤,並在Microsoft Excel 中分析數據。在圖1中將結果作成表。得自融合瘤AR102A256.4之上清液對於Lovo細胞產生比細胞毒性為12%,對於MDA-MB-231細胞為10%,對於OCC-1細胞為14%,且對於OVCAR-3細胞為20%。此對於Lovo分別為以陽性對照組疊氮化鈉及環己亞醯胺所獲得之細胞毒性的600及43%;對於MDA-MB-231分別為以疊氮化鈉及環己亞醯胺所獲得之細胞毒性的45及71%;對於OCC-1分別為以疊氮化鈉及環己亞醯胺所獲得之細胞毒性的42及

31%；且同樣地，對於 OVCAR-3 分別為以疊氮化鈉及環己亞醯胺所獲得之細胞毒性的 111 及 181%。對於非癌症皮膚細胞株 CCD-27sk，無可偵測之細胞毒性（高於閾值）。已知之非專一性細胞毒性劑環己亞醯胺與 NaN_3 一般產生如預期的細胞毒性。

圖 1 之結果證實 AR102A256.4 的細胞毒性影響，與對癌細胞類型的結合無關。雖然最高結合程度係對於 Lovo 結腸癌細胞株，但最高細胞毒性程度係針對對抗 OVCAR-3 卵巢癌細胞株。AR102A256.4 在 CCD-27sk 非癌症皮膚細胞株中不產生細胞毒性，雖然亦不與其結合。因此，抗體顯示出功能專一性，其不一定與結合程度有關。

實施例 2

在試管內的結合

藉著在 CL-1000 燒瓶 (BD Biosciences, Oakville, ON) 中培養融合瘤，每週兩次收集和再播種，生產 AR102A256.4 單株抗體。依據標準抗體純化程序，利用蛋白質 G 瓊脂糖 4 速流 (Amersham Biosciences, Baie d'Urfe, QC)。利用為人類化、去-免疫化、嵌合型或小鼠的單株抗體，亦在本發明之範圍內。

藉著流式細胞技術 (FACS)，評估 AR102A256.4 對於卵巢癌 (ES-2、OV2008、OVCAR-3 與 SK-OV-3)、乳癌 (MDA-MB-231 與 SK-BR-3)、肺癌 (A549)、胰臟癌 (BxPC-3)、結腸癌 (Lovo) 與前列腺癌 (PC-3) 細胞株及得自皮膚之非癌症細胞株 (CCD-27sk) 的結合。所有細

胞株（除了兩種卵巢癌細胞株之外），皆得自美國典型組織收集中心（ATCC，Manassas，VA）。OV2008 與 ES-2 卵巢癌細胞株得自歐他瓦地區癌症中心（Ottawa，ON）。

為了 FACS，藉著一開始以 DPBS(不含 Ca^{++} 和 Mg^{++}) 沖洗細胞單層來製備細胞。然後在 37°C 下，使用細胞解離緩衝溶液(Invitrogen, Burlington, ON)，將細胞從其等之細胞培養盤中移出。在離心和收集之後，將細胞再懸浮於在 4°C 下，含有 MgCl_2 、 CaCl_2 和 2% 胎牛血清的 DPBS(染色介質)中並計數，等分成適當的細胞密度，旋轉下降使細胞形成小球，並在受試抗體(AR102A256.4)或對照組抗體(同型物對照組，抗-EGFR(c225, IgG1, κ , Cedarlane, Hornby ON))的存在下，再懸浮於 4°C 的染色介質中。以 20 微克/毫升評估同型物對照組和受試抗體，而在冰上以 5 微克/毫升評估抗-EGFR，持續 30 分鐘。在加入與 Alexa 螢光 546-結合之二級抗體之前，先以染色介質沖洗細胞一次。然後在 4°C 下加入在染色介質中與 Alexa 螢光 546-結合之抗體 30 分鐘。然後沖洗細胞最後一次，並再懸浮於固定介質(含有 1.5% 仲甲醛的染色介質)中。藉著在 FACSarray™ 上跑試樣，使用 FACSarray™ 系統軟體(BD Biosciences, Oakville, ON)，評估流式細胞技術獲得的細胞。藉著調整在 FSC 和 SSC 偵測器上的電壓和振幅增益，設定細胞的前面(FSC)和側面散射(SSC)。藉著跑未經染色之細胞(如具有均一高峰，大約 1-5 單位之中間螢光強度的細胞)，調整螢光(Alexa-546)通道的偵測器。對於每個試樣，獲得大約 10,000 個有機會進行分

析的事件(經染色固定之細胞)，並在圖 2 中提交結果

圖 2 提交增加超過同型物對照組的平均螢光強度倍率。圖 3 編輯 AR102A256.4 抗體的代表性分布函數圖。AR102A256.4 證實對受試細胞株的結合。有結合至卵巢癌 ES-2 (10.1-倍)、OV-2008 (10.2-倍)、OVCAR-3 (7.2-倍) 與 SK-OV-3 (15.6-倍)、乳癌 MDA-MB-231 (8.7-倍) 與 SK-BR-3 (6.3-倍)、肺癌 A549 (2.7-倍)、胰臟癌 BxPC-3 (5.9-倍)、結腸癌 Lovo (7.9-倍) 與前列腺癌 PC-3 (1.5-倍) 細胞株及非癌症皮膚細胞株 CCD-27sk (3.0-倍)。此等數據證明 AR102A256.4 與數個不同的細胞株結合，其具有各種程度的抗原表現。

實施例 3

在活體內利用 BxPC-3 細胞的腫瘤實驗

實施例 1 證明 AR102A256.4 具有對抗人類癌細胞株之抗癌特性。為證實於胰臟癌模式中之功效，將 AR102A256.4 於 BxPC-3 胰臟癌異種移植模式中進行測試。參照圖 4 與 5，將 6 至 8 週齡雌性 SCID 小鼠經皮下注射於右側腹，植入 5 百萬個存於 100 微升 PBS 溶液之人類胰臟癌細胞 (BxPC-3)。將小鼠隨機分成 2 處理組，每組 8 隻。於植入後當天，將 20 mg/kg 之 AR102A256.4 受試抗體或緩衝液對照組，以體積 300 微升之於從原料濃度以含有 2.7 mM KCl、1 mM KH_2PO_4 、137 mM NaCl 與 20 mM Na_2HPO_4 之稀釋劑稀釋後，經腹膜內投予各組。然後在研究期間，每週一次投予抗體和對照組試樣。大約每 7 天利用測徑器測量腫瘤生

長。在 8 劑抗體之後完成研究。在研究期間，每週一次記錄動物的體重。在研究結束時，根據 CCAC 指導方針，將所有的動物安樂死。

AR102A256.4 於人類胰臟癌之 BxPC-3 活體內預防模式中減低腫瘤生長。以 Arius 抗體 AR102A256.4 處理，於第 56 天（抗體之最後劑量後 6 天）測定時，相較於緩衝劑處理組，減少 BxPC-3 腫瘤生長達 55.4% ($p=0.0012$, t-檢定)（圖 4）。

在整個研究過程中無毒性之臨床症狀。於每週間隔所測得之體重為健康良好及發育不良的鑑定參考（圖 5）。於處理期結束時，各組間的平均體重並無顯著差異。從研究開始至研究結束，各組內之平均體重並無顯著差異。

總結，AR102A256.4 為耐受性良好，且可於此人類胰臟癌異種移植模式中減低腫瘤負荷。

實施例 4

在活體內利用 MDA-MB-231 細胞的腫瘤實驗

實施例 1 及 3 證明 AR102A256.4 具有對抗人類結腸、乳、卵巢及胰臟癌指標物之抗癌特性。為證實於乳癌模式中之功效，將 AR102A256.4 於 MDA-MB-231 癌異種移植模式中進行測試。參照圖 6 與 7，將 6 至 8 週齡雌性 SCID 小鼠經皮下注射於右側腹，植入 5 百萬個存於 100 微升 PBS 溶液之人類乳癌細胞(MDA-MB-231)。將小鼠隨機分成 2 處理組，每組 8 隻。於植入後當天，將 20 mg/kg 之 AR102A256.4 測試抗體或緩衝液對照組，以體積 300 微升之於從原料濃

度以含有 2.7 mM KCl、1 mM KH_2PO_4 、137 mM NaCl 與 20 mM Na_2HPO_4 之稀釋劑稀釋後，經腹膜內投予各組。然後在研究期間，每週一次投予抗體和對照組試樣。大約每 7 天利用測徑器測量腫瘤生長。在 8 劑抗體之後完成研究。在研究期間，每週一次記錄動物的體重。在研究結束時，根據 CCAC 指導方針，將所有的動物安樂死。

在活體內人類乳癌的預防模式中，AR102A256.4 於 MDA-MB-231 中減低腫瘤生長。於第 76 天（抗體之最後劑量後 26 天）時判定，以 Arius 抗體 AR102A256.4 處理，相較於緩衝劑處理組，減少 MDA-MB-231 腫瘤生長達 90.7%（ $p=0.0004$ ，t-檢定）（圖 6）。

在整個研究過程中無毒性之臨床症狀。於每週間隔所測得之體重為健康良好及發育不良之鑑定參考（圖 7）。於處理期結束時，各組間的平均體重並無顯著差異。從研究開始至研究結束，各組內之平均體重並無減少。

總結，AR102A256.4 為耐受性良好，且可於此人類乳癌異種移植模式中減低腫瘤負荷。AR102A256.4 已證實有對抗四種不同人類癌症指標：結腸、卵巢、胰臟及乳癌之功效。於兩種已知人類癌症疾病模式中所觀察到之治療助益，暗示此抗體用於其他哺乳類動物療法之製藥學及醫藥學上的益處。總之，此數據證明 AR102A256.4 抗原為癌症關聯抗原，且經表現於人類癌細胞上，且係一種病理學上適當的癌症目標物。

實施例 5

競爭性結合劑之分離

給與某一種抗體，所屬技術領域中具有通常知識者可產製競爭抑制性 CDMAB，例如競爭性抗體，其為認得相同抗原決定位的抗體 (Belanger L 等人, *Clinica Chimica Acta* 48:15-18 (1973))。一種方法需要以表現被抗體認出之抗原的免疫原來免疫。試樣可包括但不限於組織、經分離之蛋白質或細胞株。可使用競爭測定篩選所得的融合瘤，其為鑑認抑制受試抗體結合之抗體的測定，如 ELISA、FACS 或西方墨點法。其他方法可使用噬菌體展示抗體庫，並挑選認出該抗原之至少一個抗原決定位的抗體 (Rubinstein JL 等人 *Anal Biochem* 314:294-300 (2003))。在任一情況下，基於其等取代原始經標示抗體與其目標抗原之至少一個抗原決定位結合的能力來選擇抗體。因此，這類抗體會像原始抗體一樣，擁有認出該抗原之至少一個抗原決定位的特徵。

實施例 6

選殖 AR102A256.4 單株抗體之可變區

可測定源自由 AR102A256.4 融合瘤細胞株所產生之單株抗體的重 (V_H) 與輕 (V_L) 鏈之可變區序列。可使用涉及以異硫氰酸胍溶解細胞之標準方法，將編碼免疫球蛋白重與輕鏈之 RNA 從標的融合瘤萃取出 (Chirgwin 等人, *Biochem.* 18:5294-5299 (1979))。mRNA 可用於藉由所屬技術領域已知之 PCR 方法，製備供後續分離 V_H 與 V_L 基因的 cDNA (Sambrook 等人, 編著, 分子選殖 (Molecular Cloning), 第 14 章, 冷泉港實驗室出版 (Cold Spring Harbor laboratories

Press), N.Y. (1989))。重與輕鏈之 N-端胺基酸序列可獨立地藉由自動 Edman 定序決定。亦可藉著 V_H 和 V_L 片段的胺基酸定序測定 CDRs 和位在側面之 FRs 的進一步延伸。然後可設計合成引子用於從 AR102A256.4 單株抗體分離出 V_H 與 V_L 基因，且可將所分離得之基因連接入用於定序之適當載體中。為產生嵌合型及人類化 IgG，可將可變輕與可變重功能域次選殖入供表現之適當載體中。

(i) 單株抗體

使用傳統的程序(例如，藉著使用寡核苷酸探針，其能夠專一地結合編碼該單株抗體之重和輕鏈的基因)迅速地分離並定序編碼單株抗體(如在實施例 1 中概述)的 DNA。融合瘤細胞成為這類 DNA 的較佳來源。一旦分離，便可將 DNA 放到表現載體內，然後將其轉移感染到宿主細胞內，如大腸桿菌細胞、猿 COS 細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或不另行產生免疫球蛋白的骨髓瘤細胞，以便在重組宿主細胞中獲得單株抗體的合成。亦可修改 DNA，例如藉著以人類重和輕鏈恆定功能部位之密碼序列取代同種的小鼠序列。亦可在試管內使用在合成蛋白質化學中已知的方法，包括涉及交聯劑的那些，來製備嵌合型或雜種抗體。例如，可使用二硫交換反應或藉著形成硫醚鍵結，建構免疫毒素。為了該目的，適當試劑之實例包括亞胺硫醇鹽和甲基-4-巰基丁基亞胺酸酯。

(ii) 人類化抗體

人類化抗體具有一或多個經導入其中，來自非-人類來

源的胺基酸殘基。經常將這些非-人類胺基酸殘基稱為”輸入”殘基，其典型地取自”輸入”可變功能部位。可藉著 Winter 及同事的方法，以人類抗體的相對應序列取代啮齒類 CDRs 或 CDR 序列，進行人類化 (Jones 等人，Nature 321:522-525(1986)；Riechmann 等人，Nature 332:323-327 (1988)；Verhoeyen 等人，Science 239:1534-1536(1988)；在 Clark, Immunol. Today 21:397-402(2000)中回顧)。

可藉著使用親代和人類化序列的三-維模式，分析親代序列和各種概念上之人類化產物的過程，製備人類化抗體。三維的免疫球蛋白模式通常是可獲得的，並為熟諳此藝者所熟悉的。可利用電腦程式，其解釋並展示所選出之候選免疫球蛋白序列可能的三-維構象結構。檢查這些展示允許分析殘基在候選免疫球蛋白序列之功能上的可能角色，即分析影響候選免疫球蛋白與其抗原結合之能力的殘基。這樣子，可選出 FR 殘基，並與一致和輸入序列混合，而得以達到想要的抗體特徵，如增加對目標抗原的親和力。通常，CDR 殘基直接且大多數實質上涉及影響抗原結合。

(iii) 抗體片段

已經發展各種技術來生產抗體片段。可藉著重組宿主細胞產生這些片段 (在 Hudson, Curr. Opin. Immunol. 11:548-557(1999)；Little 等人，Immunol. Today 21:364-370(2000)中回顧)。例如，可直接從大腸桿菌中回收 Fab'-SH 片段，並以化學方式偶聯，以形成 F(ab')₂ 片段

(Carter 等人, Biotechnology 10:163-167(1992))。在另一具體事實中，使用亮胺酸拉鍊 GCN4 形成 $F(ab')_2$ ，以促進 $F(ab')_2$ 分子的組裝。根據其他的途徑，可從重組宿主細胞培養物中直接分離 Fv、Fab 或 $F(ab')_2$ 片段。

實施例 7

包括本發明之抗體的組合物

可使用本發明之抗體，作為預防/治療癌症的組合物。用以預防/治療癌症的組合物，其包括本發明之抗體，其為低-毒性的，並可以液體製劑之形式，或以適當製劑之醫藥組合物，以口服或非經腸(脈管內、腹腔內、皮下等等)方式將其投予人類或哺乳動物(例如大鼠、兔子、綿羊、豬、牛、貓、狗、猿等等)。可投予本發明之抗體本身，或可以適當之組合物投予。用以投予的組合物可含有在藥學上可接受之載劑，連同本發明之抗體或其鹽、稀釋劑或賦形劑。以適合口服或非經腸投予之藥學製劑的形式提供這類組合物。

非經腸投予之組合物的實例為注射用製劑、栓劑等等。注射用製劑可包含如靜脈內、皮下、皮內和肌肉內注射、滴注輸液、關節內注射等等的劑型。可藉著公開已知的方法製備這些注射用製劑。例如，可藉著在注射慣用之無菌含水介質或含油介質中，溶解、懸浮或乳化本發明之抗體或其鹽，來製備注射用製劑。作為注射用之含水介質的有，例如生理鹽水、含有葡萄糖及其他輔助劑的等張溶液等等，其可與適當的促溶劑併用，如醇(例如乙醇)、多元

醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非離子性表面活性劑(例如聚山梨糖醇酯 80、HCO-50(氫化蓖麻油的聚環氧乙烷(50 莫耳)加合物)等等。作為含油介質，使用例如芝麻油、大豆油等等，其可用來與促溶劑混合，如苯甲酸苄酯、苯甲醇等等。通常將如此製備的注射劑裝在適當的安瓿中。可藉著將本發明之抗體或其鹽與傳統的栓劑基底混合，來製備直腸投予用的栓劑。口服投予的組合物包括固體或液體製劑，特別是錠劑(包含糖衣錠和塗膜錠劑)、藥丸、顆粒、粉狀製劑、膠囊(包含軟膠囊)、糖漿、乳劑、懸浮劑等等。藉著公開已知的方法製造這類組合物，並可含有在藥物製備之領域中慣用的媒劑、稀釋劑或賦形劑。錠劑用之媒劑或賦形劑的實例為乳糖、澱粉、蔗糖、硬脂酸鎂等等。

有利的是，將上述之口服或非經腸使用的組合物製備成具有單位劑量的藥學製劑，與一劑量的活性成分一致。這類單位劑量製劑包括，例如錠劑、藥丸、膠囊、注射劑(安瓿)、栓劑等等。所含有之前述化合物的量，通常每個單位劑型為 5 到 500 毫克；較佳的是，特別是在注射劑形式中，含有大約 5 到大約 100 毫克的上述抗體，且對於其他的形式，含有 10 到 250 毫克。

前述包括本發明抗體之預防/治療劑或調節劑的劑量，可視欲投予之個體、目標疾病、病症、投予路徑等等而改變。例如，當用於治療/預防之目的時，例如成人的乳癌，以大約 0.01 到大約 20 毫克/公斤體重，較佳的是大約 0.1 到大約 10 毫克/公斤體重，且更佳的是大約 0.1 到大約 5 毫

克/公斤體重之劑量，大約 1 到 5 次/天，較佳的是大約 1 到 3 次/天，靜脈內投予本發明之抗體是有利的。在其他的非經腸和口服投予中，可以與上文提供之劑量相當的劑量投予製劑。當病症特別嚴重時，可根據病症增加劑量。

本發明之抗體可以其現狀或以適當組合物之形式來投予。用以投予之組合物可含有在藥學上可接受之載劑，連同前述之抗體或其鹽類、稀釋劑或賦形劑。以適合口服或非經腸投予(例如脈管內注射、皮下注射等等)之藥學製劑的形式提供這類組合物。上述的每種組合物均可進一步含有其他的活性成分。此外，本發明之抗體亦可與其他藥物併用，例如烷基化劑(例如環磷醯胺、異環磷醯胺等等)、代謝產物拮抗劑(例如胺甲喋呤、5-氟尿嘧啶等等)、抗-腫瘤抗生素(例如絲裂黴素、亞德里亞黴素等等)、植物-衍生之抗-腫瘤劑(例如長春新鹼、長春地辛、紫杉醇等等)、順氯氨鉑、卡鉑、依托泊苷、伊立替康等等。可同時或以錯開的時間，將本發明之抗體和上述藥物投予患者。

有優勢證據，顯示 AR102A256.4 經由連接出現在癌細胞株上之抗原決定位，而介導抗-癌影響。更進一步顯示可使用 AR102A256.4 抗體，來檢測表現與其專一結合之抗原決定位的細胞；利用技術，例如但不限於 FACS、細胞 ELISA 或 IHC。

所有在本說明書中提及的專利和公開案，代表熟諳本發明所屬之技藝者的層面。在本文中所有的專利和公開案，係以引用的方式納入本文中，該引用的程度就如同已

特定地及個別地將各個公開案以引用的方式納入一般。

應瞭解雖然解釋了本發明的某些形式，但無意限制在本文中描述和出示之部分的特殊形式或排列。熟諳此藝者應知曉可進行各種不違背本發明之範圍的改變，且不應將本發明視為受限於在說明書中出示和描述的那些。

熟諳此藝者會迅速地知曉本發明非常適合用以實現目的，並獲得所提及之結果和益處，以及其中固有的那些。任何在本文中描述之的寡核苷酸、肽、多肽、生物學相關之化合物、方法、程序和技術，目前代表較佳的具體事實，打算將其當做範例，且無意作為對範圍之限制。對熟諳此藝者而言其中會出現的改變及其他用途，亦包括在本發明之精神內，並藉著附錄之申請專利範圍來定義。雖然已關於特定之較佳具體事實來描述本發明，應瞭解如所申請之本發明不應不當地受限於這類特定的具體事實。確實，為了實行本發明而對經描述之模式的各種修改，對熟諳此藝者而言是明顯的，並打算納入下列之申請專利範圍的範圍內。

【圖式簡單說明】

圖 1 比較融合瘤上清液對細胞株 Lovo、MDA-MB-231、OCC-1、OVCAR-3 與 CCD-27sk 之細胞毒性百分比及結合程度。

圖 2 表示 AR102A256.4 與癌症及正常細胞株之結合。將數據作成表，以增加超過同型物對照組之倍率來表示平均螢光強度。

圖 3 包括 AR102A256.4 與抗-EGFR 抗體針對數個癌症和非-癌症細胞株的代表性 FACS 分布函數圖。

圖 4 證明 AR102A256.4 於預防性 BxPC-3 胰臟癌模式中對於腫瘤生長之影響。垂直的虛線代表投予抗體的期間。數據點代表平均值 $\pm$ SEM。

圖 5 證明 AR102A256.4 於預防性 BxPC-3 胰臟癌模式中對於體重之影響。數據點代表平均值 $\pm$ SEM。

圖 6 證明 AR102A256.4 於預防性 MDA-MB-231 乳癌模式中對於腫瘤生長之功效。縱軸虛線間指示抗體所投予之期間。數據點代表平均值 $\pm$ SEM。

圖 7 證明 AR102A256.4 於預防性 MDA-MB-231 乳癌模式中對於體重之影響。數據點代表平均值 $\pm$ SEM。

【主要元件符號說明】

無

五、中文發明摘要：

本發明係關於使用新穎的篩選方式，產生緩和癌症疾病之抗體的方法。藉由使用癌細胞毒性作為結束點，來分離出抗癌抗體，該方法使產生適合治療與診斷目的之抗癌抗體成為可能。可使用該抗體協助癌症的分期和診斷，且可用於治療原發性腫瘤與腫瘤轉移。可將該抗癌抗體與毒素、酵素、放射性化合物、和血原細胞結合。

六、英文發明摘要：

The present invention relates to a method for producing cancerous disease modifying antibodies using a novel paradigm of screening. By segregating the anti-cancer antibodies using cancer cell cytotoxicity as an end point, the process makes possible the production of anti-cancer antibodies for therapeutic and diagnostic purposes. The antibodies can be used in aid of staging and diagnosis of a cancer, and can be used to treat primary tumors and tumor metastases. The anti-cancer antibodies can be conjugated to toxins, enzymes, radioactive compounds, and hematogenous cells.

十、申請專利範圍：

1.一種由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生的經分離之單株抗體。

2.根據申請專利範圍第 1 項之經分離的單株抗體，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員結合。

3.一種由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生的經分離之單株抗體的人類化抗體或從該人類化抗體產生之抗原結合片段。

4.根據申請專利範圍第 3 項之人類化抗體，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員結合。

5.一種由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生的經分離之單株抗體的嵌合型抗體或從該嵌合型抗體產生之抗原結合片段。

6.根據申請專利範圍第 5 項之嵌合型抗體，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員結合。

7.一種經分離之融合瘤細胞株，其以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC。

8.一種在選自人類腫瘤之組織試樣中開始癌細胞之抗體誘導之胞毒性的方法，包含：

提供得自該人類腫瘤之組織試樣；

提供由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產

生的經分離之單株抗體，由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體的人類化抗體、由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體的嵌合型抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力；及

將該經分離之單株抗體、該人類化抗體、該嵌合型抗體或其 CDMAB 與該組織試樣接觸；

其中該經分離之單株抗體、該人類化抗體、該嵌合型抗體或其 CDMAB 與該組織試樣之結合誘導了胞毒性。

9.一種根據申請專利範圍第 1 項之經分離之單株抗體的 CDMAB。

10.根據申請專利範圍第 9 項之 CDMAB，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員結合。

11.一種根據申請專利範圍第 3 項之人類化抗體的 CDMAB。

12.根據申請專利範圍第 11 項之 CDMAB，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員結合。

13.一種根據申請專利範圍第 5 項之嵌合型抗體的 CDMAB。

14.根據申請專利範圍第 13 項之 CDMAB，其與選自由胞毒性部分、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之

組群的成員結合。

15.一種抗體在製造用於治療哺乳類動物中易受抗體誘導之胞毒性影響的人類腫瘤之醫藥品的用途，其中該抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該抗體的抗原之至少一個抗原決定位。

16.根據申請專利範圍第 15 項之用途，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

17.根據申請專利範圍第 16 項之用途，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

18.根據申請專利範圍第 15 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

19.根據申請專利範圍第 15 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

20.根據申請專利範圍第 15 項之用途，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

21.根據申請專利範圍第 15 項之用途，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

22.一種單株抗體，其能夠與由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生的經分離之單株抗體專一地結合至相同的抗原決定位。

23.一種抗體在製造用於在哺乳類動物中治療人類腫瘤

之醫藥品的用途，其中該抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該抗體的抗原之至少一個抗原決定位。

24.根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

25.根據申請專利範圍第 24 項之用途，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

26.根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

27.根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

28.根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該經分離之單株抗體是經人類化。

29.根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該經分離之單株抗體是嵌合型。

30.一種抗體在製造用於在哺乳類動物中治療人類腫瘤之醫藥品的用途，其中該抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該抗體的抗原之至少一個抗原決定位，其中該醫藥品與至少一種化療劑一起投予。

31.根據申請專利範圍第 30 項之用途，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

32.根據申請專利範圍第 31 項之用途，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

33.根據申請專利範圍第 30 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

34.根據申請專利範圍第 30 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

35.根據申請專利範圍第 30 項之用途，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

36.根據申請專利範圍第 30 項之用途，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

37.一種用於在選自人類腫瘤之組織試樣中測定癌細胞的存在的結合測定，該癌細胞專一地被由具有 IDAC 登錄編號 290507-01 之融合瘤細胞株 AR102A256.4 產生之經分離之單株抗體、由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體的人類化抗體或是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體的嵌合型抗體結合，包含：

提供得自該人類腫瘤之組織試樣；

提供至少一種該經分離之單株抗體、該人類化抗體、該嵌合型抗體或其 CDMAB，其辨認與被由具有 IDAC 登錄編號 290507-01 之融合瘤細胞株 AR102A256.4 產生之經分離之單株抗體所辨認者相同的一個或多個抗原決定位；

將該至少一種所提供之抗體或其 CDMAB 與該組織試樣接觸；及

測定該至少一種所提供之抗體或其 CDMAB 與該組織試樣之結合；

藉此指出該癌細胞於該組織試樣中的存在。

38.一種單株抗體在製造用於減輕人類腫瘤負荷之醫藥品的用途，其中該抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該抗體的抗原之至少一個抗原決定位。

39.根據申請專利範圍第 38 項之用途，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

40.根據申請專利範圍第 39 項之用途，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

41.根據申請專利範圍第 38 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

42.根據申請專利範圍第 38 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

43.根據申請專利範圍第 38 項之用途，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

44.根據申請專利範圍第 38 項之用途，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

45.一種單株抗體在製造用於減輕人類腫瘤負荷之醫藥

品的用途，其中該抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生之經分離之單株抗體或其 CDMAB，該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該抗體的抗原之至少一個抗原決定位，其中該醫藥品與至少一種化療劑一起投予。

46.根據申請專利範圍第 45 項之用途，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

47.根據申請專利範圍第 46 項之用途，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

48.根據申請專利範圍第 45 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

49.根據申請專利範圍第 45 項之用途，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

50.根據申請專利範圍第 45 項之用途，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

51.根據申請專利範圍第 45 項之用途，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

52.一種有效於治療人類癌性腫瘤之組成物，其包含呈組合之下列者：

根據申請專利範圍第 1、3、5、9、11、13 或 22 項中任一項之抗體或 CDMAB；

該抗體或其抗原結合片段與選自由胞毒性部份、酵素、放射性化合物、和血原細胞所組成之組群的成員之結

合物；以及

需要量的在醫藥上可接受之載劑；

其中該組成物對於治療該人類癌症腫瘤係有效的。

53.一種用於治療在哺乳類動物中易受抗體誘導之胞毒性影響的人類腫瘤之醫藥組成物，其包含治療上有效量之經分離之單株抗體或其 CDMAB 以導致減輕該哺乳類動物之腫瘤負荷，其中該經分離之單株抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生的經分離之單株抗體且該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該經分離之單株抗體或 CDMAB 的抗原之至少一個抗原決定位。

54.根據申請專利範圍第 53 項之組成物，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

55.根據申請專利範圍第 54 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

56.根據申請專利範圍第 53 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

57.根據申請專利範圍第 53 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

58.根據申請專利範圍第 53 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

59.根據申請專利範圍第 53 項之組成物，其中該經分離

之單株抗體為嵌合型。

60.一種用於治療在哺乳類動物中人類腫瘤之醫藥組成物，其包含治療上有效量之經分離之單株抗體或其 CDMAB 以導致減輕該哺乳類動物之腫瘤負荷，其中該經分離之單株抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生，且該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該經分離之單株抗體或 CDMAB 的抗原之至少一個抗原決定位。

61.根據申請專利範圍第 60 項之組成物，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

62.根據申請專利範圍第 61 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

63.根據申請專利範圍第 60 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

64.根據申請專利範圍第 60 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

65.根據申請專利範圍第 60 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

66.根據申請專利範圍第 60 項之組成物，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

67.一種用於治療在哺乳類動物中人類腫瘤之醫藥組成物，其包含治療上有效量之經分離之單株抗體或其 CDMAB

以導致減輕該哺乳類動物之腫瘤負荷，其中該經分離之單株抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生，且該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該經分離之單株抗體或 CDMAB 的抗原之至少一個抗原決定位，其中該組成物與至少一種化療劑一起投予。

68.根據申請專利範圍第 67 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係與胞毒性部份結合。

69.根據申請專利範圍第 68 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

70.根據申請專利範圍第 67 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

71.根據申請專利範圍第 67 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞胞毒性。

72.根據申請專利範圍第 67 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

73.根據申請專利範圍第 67 項之組成物，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

74.一種用於減輕人類腫瘤負荷之醫藥組成物，其包含治療上有效量之經分離之單株抗體或其 CDMAB 以導致減輕該哺乳類動物之腫瘤負荷，其中該經分離之單株抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生，且該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其

目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該經分離之單株抗體或 CDMAB 的抗原之至少一個抗原決定位。

75.根據申請專利範圍第 74 項之組成物，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

76.根據申請專利範圍第 75 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

77.根據申請專利範圍第 74 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

78.根據申請專利範圍第 74 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞毒性。

79.根據申請專利範圍第 74 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

80.根據申請專利範圍第 74 項之組成物，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

81.一種用於減輕人類腫瘤負荷之醫藥組成物，其包含治療上有效量之經分離之單株抗體或其 CDMAB 以導致減輕該哺乳類動物之腫瘤負荷，其中該經分離之單株抗體是由以登錄編號 290507-01 寄存於 IDAC 之融合瘤產生，且該 CDMAB 之特徵在於競爭性抑制該經分離之單株抗體與其目標抗原結合的能力，其中該人類腫瘤表現專一地結合至該經分離之單株抗體或 CDMAB 的抗原之至少一個抗原決定位，其中該組成物與至少一種化療劑一起投予。

82.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

83.根據申請專利範圍第 82 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

84.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

85.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞毒性。

86.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

87.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

十一、圖式：

如次頁

82.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體與胞毒性部份結合。

83.根據申請專利範圍第 82 項之組成物，其中該胞毒性部份為放射性同位素。

84.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 激活補體。

85.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體或其 CDMAB 介導抗體依賴性細胞的細胞毒性。

86.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體係經人類化。

87.根據申請專利範圍第 81 項之組成物，其中該經分離之單株抗體為嵌合型。

十一、圖式：

如次頁

圖2

	IgG 結合										
	ES-2	OV2008	OVCAR-3	SK-OV-3	MDA-MB-231	SK-BR-3	A549	BxPC-3	LoVo	PC-3	CCD-27sk
	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數	倍數
AR102A256.4	10.1	10.2	7.2	15.6	8.7	6.3	2.7	5.9	7.9	1.5	3.0

圖3

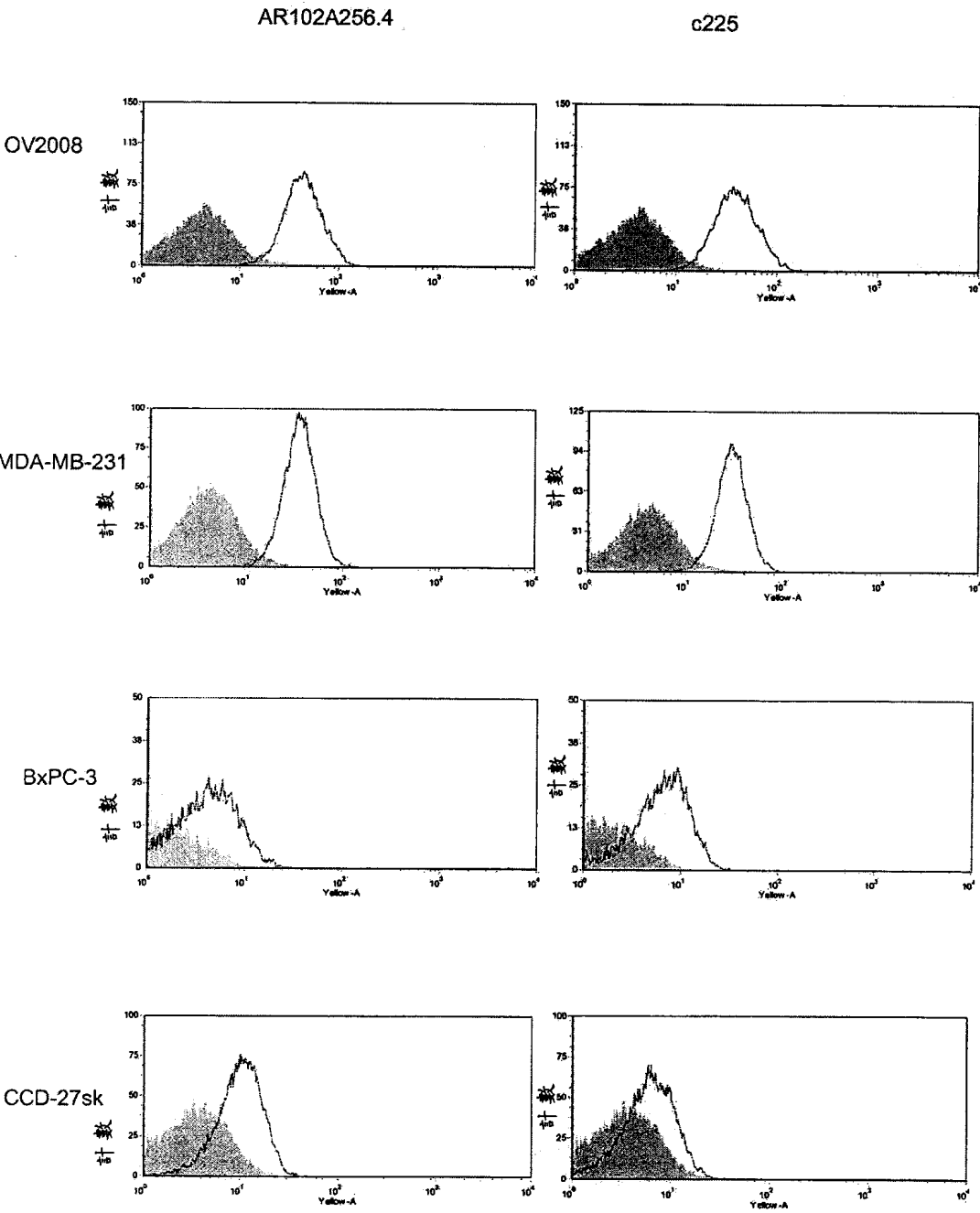


圖4

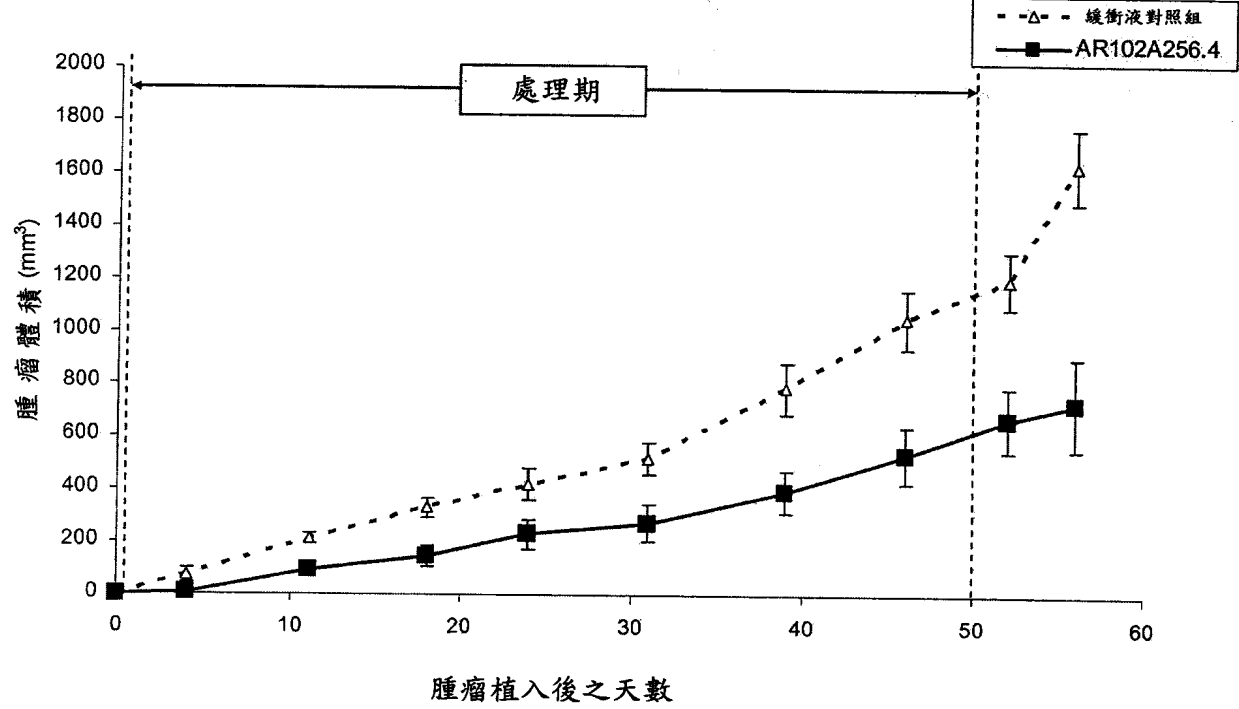


圖5

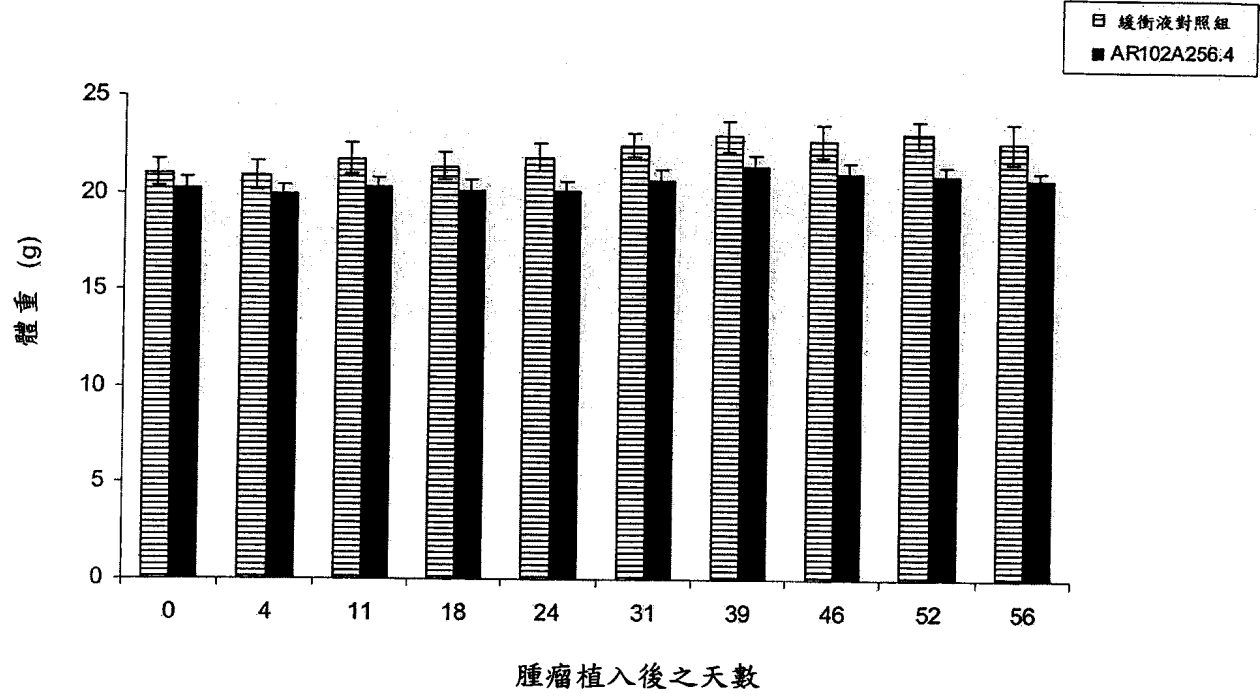


圖6

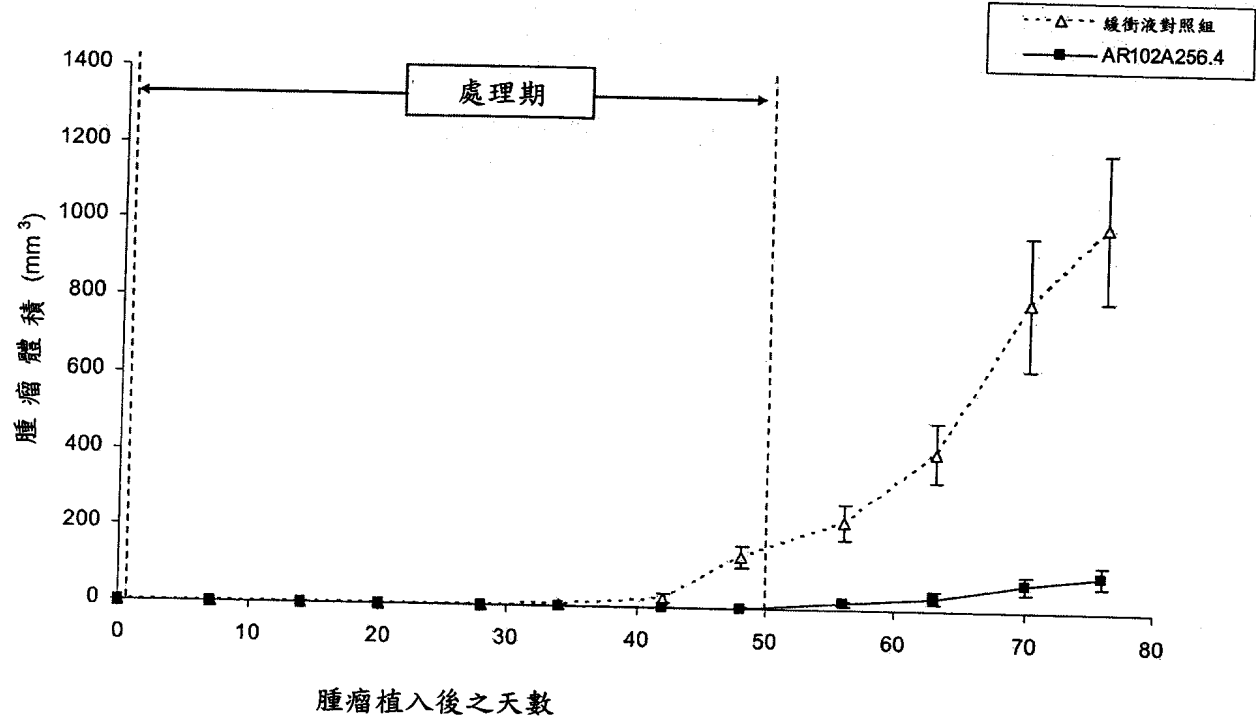
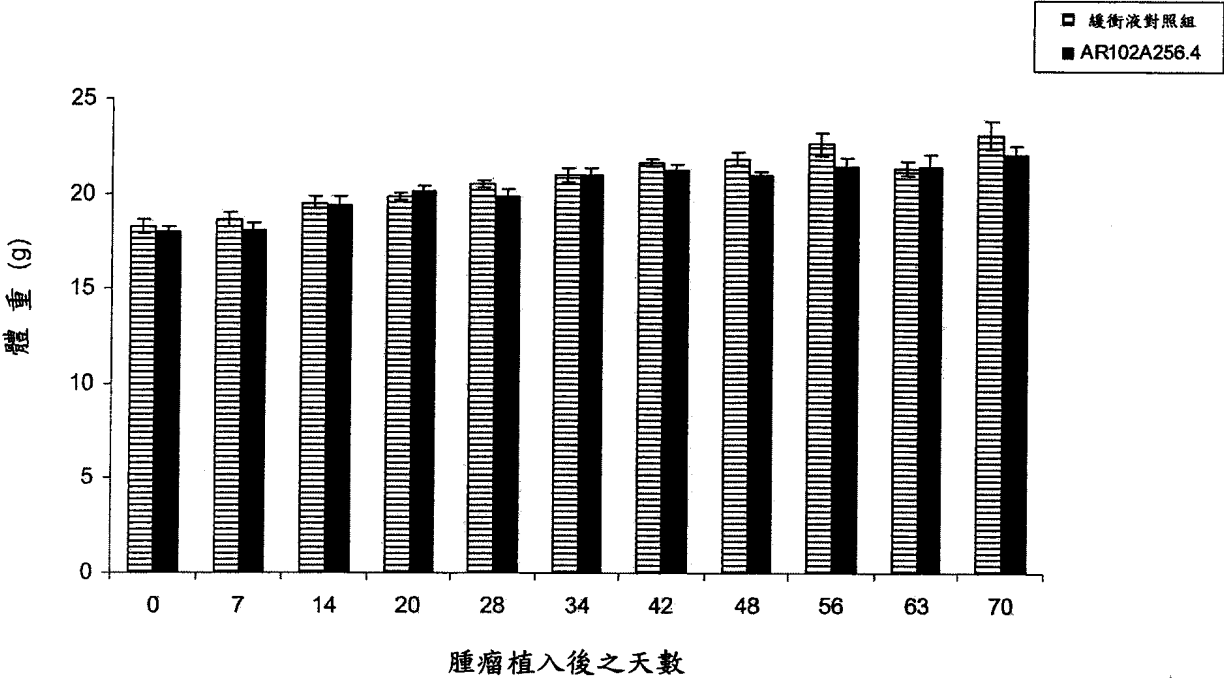


圖7



七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無