

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)

用於小細胞肺癌療法之生物標記

Biomarker for small cell lung cancer therapy

【技術領域】

【0001】本發明大致上係有關於識別小細胞肺癌(SCLC)病人是否將對特定療法有反應。更特定言之，本發明係有關於用於治療 SCLC 的 TLR-9 致效劑，較佳地為來非莫德(Lefitolimod)，預測一個體是否將對使用 TLR-9 致效劑之治療有反應的方法，及包含該 TLR-9 致效劑的醫藥組成物。本發明特別地係有關於 TLR-9 致效劑來非莫德。

【先前技術】

【0002】生物標記是出現在血液或其它體液或出現在組織的物質。舉例言之，生物標記為傳訊病況或疾病，例如癌症是否存在的細胞上的受體。生物標記也可以是免疫細胞的存在、不存在或頻率，或病況或疾病的存在或不存在。生物標記的一個實例為預測性生物標記。最常見地，其係用來評比病人是否將對特定治療有反應或從特定治療中獲益的機率。

【0003】使用抗癌藥物治療癌症，特別為化學療法及尤其標靶治療，通常涉及使用極為激越的藥物，因而常造成嚴重副作用。為了避免不必要的治療，恆常需要有評比病人是否將從特定治療中獲益的手段。

【0004】關於療法變得愈來愈靶向專一性的事實，生物標記的

角色甚至將更增高。生物標記將有助於個別化的治療辦法及讓進入個別化腫瘤學的方式變容易。又，區別對特定療法有反應者與無反應者的可能，將有助於防止病人接受不必要的治療。

【0005】為了減低化學治療劑的副作用，已經進行多方面嘗試，例如，藉將化學治療劑與免疫活化劑組合，來將化學治療劑之劑量減至最低。一個辦法係使用免疫活化 DNA(後文中又稱作「聚去氧核糖核苷酸」或簡稱「聚核苷酸」)。

【0006】所謂的未經甲基化的 CG 核苷酸序列(「CG 二核苷酸」)業已顯示為極為有效地活化免疫系統(krieg AM, Yi AK, Matson S, Waldschmidt TJ, Bishop GA, Teasdale R, Koretzky GA, Klinman DM ; “CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation”Nature 1995 Apr 6 374:6522 546-9)。該等序列係衍生自細菌。EP 1 196 178 A1 揭示具有部分地自行互補序列的共價閉合圓形 DNA，導致包含未經甲基化 CG 部分的聚核苷酸，其具有在兩端帶有單股環之一雙股莖(形成啞鈴形結構)。

【0007】EP 1 196 178 A1 的啞鈴形聚核苷酸與化學治療劑組合來治療癌性疾病，已由 EP 1 776 124 A1 提出。其揭示使用此等聚核苷酸治療的病人隨後接受化學治療劑處理。藉此可減少化學治療劑的用量。此等化合物與免疫療法組合，亦即與免疫檢查點抑制劑組合係從 WO2017/042336 A1 為已知。

【0008】小細胞肺癌(SCLC)占支氣管源性癌瘤的約 15%。確診時，約 30%患有 SCLC 之病人具有侷限於半胸來源的腫瘤，亦即胸縱膈，或上鎖骨淋巴結的腫瘤。此等病人被稱作患有侷限期 SCLC。患有已擴散超過上鎖骨區的腫瘤之病人被稱作患有廣泛期 SCLC。

【0009】比較其它細胞類型的肺癌，小細胞肺癌對化學療法及放射療法更具反應性；但難以達成痊癒，原因在於到確診時，SCLC 有更大傾向變成廣泛彌漫性。若未加以治療，則 SCLC 出現任何類型的肺癌中之最激越病程，自確診算起的存活期中位數只有 2 到 4 個月。儘管過去 25 年間診斷與療法所做的改良，但目前患有 SCLC 之病人的預後仍未臻滿意。

【0010】目前，用於 SCLC 病人的治療選項由病人的病史、期別、及一般健康狀況、及共病現象決定。懷疑患有 SCLC 之病人的研究聚焦在確證疾病的診斷及判定疾病的程度。

【0011】用於評比癌症病人是否將對使用 EP 1 196 178 A1 的啞鈴形聚核苷酸之治療起反應之方法，已由國際專利申請案 WO 2014/191222 A1 提出。此種辦法係基於判定欲接受治療的病人體內的活性自然殺手 T (「NKT」) 的頻率。但此文件未曾提及有關使用此項資訊-或任何其它生物標記-評比 SCLC 病人是否將從 TLR-9 致效劑諸如 EP 1 196 178 A1 的聚核苷酸之治療中獲益的可能。

【0012】因此本發明之一目的係提供一種評比患有 SCLC 的病人是否將從使用 TLR-9 致效劑，特別地從使用 EP 1 196 178 A1 的啞鈴形聚去氧核糖核苷酸，又更特別地從使用聚去氧核糖核苷酸來非莫德之治療中獲益的方法。再者，本發明之一目的係提供一種用於治療患有 SCLC 的病人之 TLR-9 致效劑，及包含該 TLR-9 致效劑之醫藥組成物。

【發明內容】

【0013】此目的係藉使用如請求項 1 之 TLR-9 致效劑解決。發明人發現當該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或二者

時，SCLC 病人可從使用 TLR-9 致效劑的治療中獲益，特別地係使用如於 EP 1 196 178 中揭示的聚去氧核糖核苷酸，最佳地為在 INN 下熟諳技藝人士稱作來非莫德(CAS 註冊編號 1548439-51-5；又稱「MGN1703」；參考圖 1)的免疫調節性聚去氧核糖核苷酸：

i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0014】活化 B 細胞可由活化標記之分化群集(CD)86 的表現決定。活化 B 細胞之比值係以相對於 CD19 陽性細胞總數的比值表示。

【0015】因此，依據本發明，如上指定的活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比及/或 SCLC 病人患有 COPD 之事實，能夠用作為生物標記來預測 SCLC 病人是否將對使用 TLR-9 致效劑，特別是使用來非莫德的治療有反應。更明確言之，使用此等標記，能夠評估就其總存活期(OS)而言，病人是否最可能地將從使用 TLR-9 致效劑的治療中獲益。此點特別地適用於當 TLR-9 致效劑(特別來非莫德)係用在與化學療法或放射療法的交換維持療法時。至於化學療法，則以鉑為主的藥劑為特佳。

【0016】此等生物標記也可支援評估病人對使用 TLR-9 致效劑治療的反應品質。因此，於又一態樣中，本發明係有關於一種於患有 SCLC 之個體預測總存活期、部分反應(PR)、或完全反應(CR)之方法，其中該個體係將使用 TLR-9 致效劑治療。藉此本發明也提供一種在患有 SCLC 之個體中鑑別對使用 TLR-9 致效劑之治療有反

應者及無反應者的方法。因而本發明有助於病人避免對病人無臨床效益的治療。

【0017】又復，本發明係有關於使用 TLR-9 致效劑，特別地使用來非莫德治療 SCLC 病人的特別適合投予/施用及/或給藥計畫。也提示一種包含來非莫德且可使用於本發明之方法的醫藥組成物。

【圖式簡單說明】

【0018】

圖 1 來非莫德 (MGN1703)之序列與結構。

圖 2 研究設計。

圖 3 啞鈴形 TLR-9 致效劑來非莫德 (MGN1703)及 dSLIM 2006 之部分序列及完整序列。部分序列係用來合成完整序列。

圖 4A 至 4C 針對具有活化 B 細胞之比 $\leq 15.42\%$ 的病人子群之卡本-麥爾(Kaplan-Meier)作圖(總存活期相較於至事件時間，以日數表示)；4A：第一分析及 4B：第二分析；4C：中位數、四分位數及五分位數之描繪(第二分析)。

圖 5A 及 5B 針對患有確診 COPD 的病人子群之卡本-麥爾作圖(總存活期相較於至事件時間，以日數表示)；5A：第一分析及 5B：第二分析。

【實施方式】

【0019】提供一種 TLR-9 致效劑(較佳地為來非莫德)，用於有需要的個體治療小細胞肺癌(SCLC)，其中該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或多者：

i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小

於或等於 15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0020】活化 B 細胞可由活性標記之分化群集(CD)86 的表現決定。活化 B 細胞之比值係以相對於 CD19 陽性細胞總數的比值表示。如此，於一較佳具體例中，活化 B 細胞為 CD86 陽性。

【0021】個體的此等特徵較佳地係在個體使用 TLR-9 致效劑之治療開始前決定(基線值)。較佳地其可用來作為生物標記，用以預測欲接受治療的個體是否將從使用 TLR-9 致效劑之治療有反應，特別為獲益。

【0022】「類鐸受體」(TLR)乃脊椎動物的先天免疫系統的一部分。TLR 乃一特化免疫受體的家族，當其檢測得高度保留性病原相關分子樣式，諸如蛋白質、脂質結構、醣類結構、及某些核酸時，TLR 誘生保護性免疫反應。數種 TLR，包括 TLR-3、TLR-4、TLR-7、TLR-8、及 TLR-9 的合成致效劑已被發展或正被發展用於癌症的治療，通常意圖用於在腫瘤的存在下活化免疫系統。

【0023】TLR-9 辨識未經甲基化的含 CG DNA 序列的存在，該序列典型地出現於細菌，但實際上未曾出現於人類基因體 DNA。因此，包含未經甲基化的含 CG DNA 序列(「CG 部分」)的聚去氧核糖核苷酸已經被設計成合成 TLR-9 致效劑。特別優異的啞鈴形 TLR-9 致效劑係揭示於 EP 1 196 178 A1。其它較佳的免疫活化聚去氧核糖核苷酸係從 WO 2012/085291 A1 為已知。此等文件其中有關聚去氧核糖核苷酸的最佳揭示係爰以於此並融入本發明之揭示。

【0024】於本發明之較佳具體例中，個體患有廣泛期 SCLC (後文中又稱作「廣泛 SCLC」或「ED」)。ED 係定義為已經擴展超出

鎖骨上區的 SCLC。其分布太過廣泛而無法被涵蓋在可耐受的放射療法埠口以內。有胸膜滲液、大塊肺腫瘤、對側上鎖骨結節、及任何遠處轉移的病人皆係涵括於廣泛期 SCLC 的此定義內。

【0025】然而，本發明也係有關於侷限期 SCLC (後文中又稱作「侷限 SCLC」或「LD」)。LD 乃一種形式的 SCLC，其係侷限於半胸來源、胸縱膈、或上鎖骨淋巴結。

【0026】針對 SCLC 的診斷已存在有確立的指導原則。其包括病理學方法，組織學方法及/或細胞學方法。指導原則例如係由歐洲內科腫瘤學會提供(Früh. M et al. “*Small-cell lung cancer (SCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosos, treatment and follow-up*”. Annals of Oncology 24 (Suppl. 6) vi99-vi105, 2013)。

【0027】慢性阻塞性肺疾(COPD)是一種以長期呼吸氣流量不佳為特徵的阻塞性肺病。主要症狀包括呼吸急促及咳嗽帶有痰液的產生。COPD 為進行性疾病，表示其典型地隨時間之推移而惡化。

【0028】2015 年全球估計有約三百萬個死亡病例係由該病引起(換言之，該年度全球全部死亡病例的 5%)。COPD 為無法治癒，但治療可緩解症狀，改善生活品質，及降低死亡風險。

【0029】有多種方法為熟諳技藝人士已知可用來診斷 COPD。已確立的方法包括肺臟(肺)功能試驗，諸如肺活量測定法。肺活量測定法甚至可在出現症狀之前即可檢測知 COPD。其它肺功能試驗包括肺容積與肺擴散能力的測量。其它可能試驗為胸部 X 光、電腦斷層掃描、脈衝血氧測定法、或動脈血氣體分析。

【0030】於本發明之特定具體例中，在使用 TLR-9 致效劑治療之前，欲接受 TLR-9 致效劑治療的個體接受癌症治療。此種早期癌

症治療可以是使用至少一種化學治療劑或放射療法治療。於一特佳具體例中，第一癌症治療為化學療法。

【0031】較佳地，早期癌症治療為使用以鉑為主的化學治療劑之療法。以鉑為主的化學治療劑為以與鉑的配位錯合物為特徵的物質(又簡稱「platins」)。提示其作用係基於 DNA 的交聯。依據本發明，以鉑為主的化學治療劑較佳地可選自於由順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、四硝酸崔鉑(triplatin)、菲鉑(phenanthriplatin)、吡鉑(picoplatin)及賽特鉑(satraplatin)或其混合物所組成的組群。又更佳的以鉑為主的化學治療劑為順鉑及卡鉑；以順鉑為最佳。又，使用多於一種以鉑為主的化學治療劑的組合之治療亦屬可能。

【0032】於本發明之另一較佳具體例中，欲接受治療的個體已經接受早期以鉑為主的化學治療劑組合另一抗癌劑。此組合療法較佳地包括順鉑或卡鉑作為以鉑為主的化學治療劑。另一抗癌劑較佳地係選自於由滅必治(etoposide)、抗癌妥(irinotecan)、健擇(gemcitabine)、及托普迪肯(topotecan)所組成的組群。最佳地，組合療法為使用滅必治-順鉑、抗癌妥-順鉑、健擇-卡鉑、及托普迪肯-順鉑的治療。一或多種以鉑為主的化學治療劑與至少一種另一抗癌劑的組合也可稱作為「以鉑為主的組合化學治療劑」。

【0033】除非另行載明，否則於本發明之內文中，術語「以鉑為主的化學療法」或「以鉑為主的化學治療劑」包括使用一種或多種以鉑為主的化學治療劑及使用一種或多種以鉑為主的化學治療劑與至少一種另一抗癌劑的組合來治療個體兩者。

【0034】依據本發明之一較佳具體例，欲接受治療的個體已接

受以鉑為主的化學治療劑作為第一線療法。如此表示欲使用依據本發明之 TLR-9 致效劑治療的個體，在以鉑為主的化學療法之前，未曾接受使用抗癌化學療法治療。較佳地，在使用 TLR-9 致效劑治療之前，個體已經完成使用以鉑為主的化學治療劑的至少一個治療週期，較佳地至少四個治療週期。

【0035】「放射療法」係指使用游離輻射的療法。由於其有能力控制細胞生長，故放射療法常見施用至癌性腫瘤。游離輻射藉由損毀癌性組織的 DNA 導致細胞死亡而發揮功效。放射療法的施加又稱照射。顱骨照射係指照射顱骨。

【0036】如上摘述，於本發明之一個較佳具體例中，欲接受治療的個體已經完成第一抗癌療法，特別為以鉑為主的化學療法的至少一個治療週期，較佳地至少四個治療週期，最佳地四個治療週期。治療週期係指在常規時程上重複，但介於其間有休息期的療程。舉例言之，給予治療歷時一週接著休息三週為一個治療週期。取決於化學治療劑或其組合以及欲接受治療的個體情況，治療週期的持續時間可改變。

【0037】也涵括個體於一個週期接受一種以鉑為主的化學治療劑，而於另一個週期接受相同的或另一種以鉑為主的化學治療劑；或於一個週期接受一種以鉑為主的化學治療劑組合，而於另一個週期接受相同的或另一種以鉑為主的化學治療劑組合。

【0038】較佳地，依據本發明之欲接受治療的個體已對早期抗癌治療有反應，更明確言之，在使用 TLR-9 致效劑治療之前，個體對早期抗癌治療，特別地對以鉑為主的化學療法顯示部分反應(PR)或完全反應(CR)。因此，於本發明之此具體例中，第一療法已經導

致 SCLC 病人的 PR 或 CR。對治療已經有反應(PR 或 CR)的個體可稱作「有反應者」。

【0039】有關個體對治療的反應，其可進一步區分成進行性疾病(PD)及穩定性疾病(SD)。

【0040】須瞭解部分反應為體內腫瘤大小的縮小或體內癌症程度的減少。完全反應係指由腫瘤引起的症狀已經消失，較佳地但非必要地腫瘤已經消失。但如此並不表示癌症已經痊癒。

【0041】病人對癌症治療的反應(又稱目標反應)可藉所謂的「RECIST 指導原則」評估，其乃由科學社群團體及立法當局所接受的已明確確立的標準(Eisenhauer *et al.*: “*New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1)*” *European Journal of Cancer* 45 (2009) 228-247)。

【0042】根據 RECIST 指導原則(版本 1.1)，基於影像成像的評估係優於臨床檢查，除非病灶只能藉由臨床檢查加以評估。較佳的基於影像成像的方法為電腦斷層攝影術(CT)及/或磁共振造影(MRI)。CT 掃描及/或 MRI 掃描係對病人的胸部包括上腹部進行。基於 RECIST 評估，及於本發明之較佳具體例中，病人對抗癌治療的反應可定性如下：

完全反應：全部標靶病灶及無標靶病灶的消失。腫瘤標記濃度正常化。任何病理淋巴結(無論為標靶或無標靶)的短軸須已縮小至小於 10 毫米。

部分反應：取直徑和基線值為參考，標靶病灶的直徑和至少減少 30%。

進行性疾病：取研究中的最小直徑和為參考，標靶病灶的直徑

和至少增加 20%。除了相對增加 20%之外，和值也驗證絕對值至少增加 5 毫米。出現一個或多個新病灶也視為進行性。又復，既有無標靶病灶明確地進行也視為進行性。

穩定性疾病：取研究中的最小直徑和為參考，既未充分縮小而符合 PR 的標準，也未充分增加而符合進行性疾病的標準。

【0043】另外，病人對治療的反應也可藉「免疫相關反應標準」(irRC)加以評估。此項評估係在 2009 年發展，基於修正的 WHO 標準，使用標靶病灶的二維腫瘤度量，來捕集額外的反應樣式 (Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al.. *"Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria."* Clin Cancer Res. 2009;15(23):7412-20.)。

【0044】依據本發明，RECIST 指導原則較佳地應用來定性病人對抗癌治療的反應，特別地定性為 PR 或 CR。此等標準也較佳地應用來定性病人對 TLR-9 致效劑，特別地對來非莫德的治療為可能的有反應者或無反應者。

【0045】當欲使用 TLR-9 致效劑治療的個體已經接受第一抗癌治療，特別為以鉑為主的化學療法時，本發明的生物標記-亦即活化 B 細胞與 COPD 的存在與否-較佳地係於第一抗癌治療完成之後而在使用 TLR-9 致效劑治療之前判定；但無論如何係在 TLR-9 致效劑之初次投予之前。

【0046】依據本發明之一個較佳具體例，TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德係用作為單一療法。術語「單一療法」係指藥物用作為單一活性醫藥成分(API)以治療特定病症或疾病。如此，於單一療法中，藥物的投予並未組合另一種藥物。然而，術語單一療法較佳地

包括另一種藥物，較佳地化學治療劑，最佳地以鉑為主的化學治療劑，其可在用於單一療法中的藥物(較佳地 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德)的投予之前或投予之後投予。

【0047】於本發明之又另一較佳具體例中，TLR-9 致效劑，特別地來非莫德係使用於交換維持療法。依據本發明之交換維持表示抗癌劑係在使用不同第一抗癌劑的至少一個治療週期完成後使用之。依據本發明之一較佳具體例，完成以鉑為主的化學療法，較佳地至少四個週期，及然後 TLR-9 致效劑被導入治療計畫中。

【0048】於一特佳具體例中，於患有廣泛期 SCLC 的個體，TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德係每週投予兩次作為交換維持療法，其中該個體於使用以鉑為主的化學治療劑的第一線療法之後至少達成部分反應。

【0049】於一特佳具體例中，TLR-9 致效劑，尤其是來非莫德首次係在以鉑為主的化學療法之四個治療週期完成之後投予。以化學療法的第五治療週期為例，TLR-9 致效劑係在化學療法的第五治療週期中使用的化學治療劑投予之後投予。以化學療法的第五及第六治療週期為例，TLR-9 致效劑分別地係在化學療法的第五治療週期中使用的化學治療劑投予之後及在化學療法的第六治療週期中使用的化學治療劑投予之後投予。較佳地係在化學療法中使用的化學治療劑投予之後至少 1 日，較佳地至少 2 日，更佳地至少 3 日，及又更佳地至少 7 日投予 TLR-9 致效劑。最佳地為 TLR-9 致效劑之投予係存第五週期或第五週期及第六週期的該星期，當沒有化學治療劑之投予時進行。較佳地，以化學療法的第五及第六治療週期為例，TLR-9 致效劑的投予係在第六治療週期投藥的該(等)星期暫

停，而在化學療法中使用的化學治療劑投予之後至少 1 日，較佳地至少 2 日，更佳地至少 3 日，及又更佳地至少 7 日恢復。最佳地係在投予化學治療劑的該(等)星期之後的該星期中，重新恢復 TLR-9 致效劑的投予。計畫(研究設計)的一個具體例係描繪於圖 2。

【0050】於本發明之一較佳具體例中，TLR-9 致效劑投予病人至少兩次。兩次投藥間之最小間隔較佳地為 48 小時。其可每週投予至少兩次，較佳地每週投予兩次。

【0051】較佳地，TLR-9 致效劑係以每日 10 至 200 毫克，較佳地 40 至 100 毫克，最佳地 60 毫克之用量投予。每日劑量較佳地平分兩次投予(最佳地各 30 毫克)。如此允許投入病人體的兩個不同部位。較佳地，每日劑量係每週給予兩次。TLR-9 致效劑最佳係藉注射投藥，最佳地係皮下注射。

【0052】優異地 TLR-9 致效劑係投予病人體的不同部位。較佳地，施用計畫包含投予個體的左上臂及右上臂、個體的左臀及右臀、及個體的左臍周區及右臍周區。因此較佳地 TLR-9 致效劑係以至少兩個不同施用部位交錯輪替計畫投予。

【0053】前述較佳投予與給藥計畫特別應用至來非莫德，及較佳地，應用至使用來非莫德治療廣泛期 SCLC。

【0054】依據本發明之治療也可構成組合模式療法的一部分。組合模式療法是當病人使用不同種治療模式中之二或多者治療(諸如手術、放射療法、免疫療法、或任何類型的醫藥(例如，化學治療劑或生物製劑，諸如抗體))時的治療辦法。以鉑為主的化學治療劑組合顱骨照射，及進一步，投予依據本發明之 TLR-9 致效劑可以是特別優異。

【0055】依據本發明之 TLR-9 致效劑較佳地包含一個聚去氧核糖核苷酸，其包含至少一個未經甲基化的 CG 二核苷酸，較佳地，至少兩個 CG，其中 C 為去氧胞苷及 G 為去氧鳥苷。該至少一個 CG 二核苷酸可以是序列 $N^1N^2CGN^3N^4$ 的一部分，其中 N^1N^2 為 AA、TT、GG、GT、GA 或 AT，及 N^3N^4 為 CT、TT、TC、TG 或 GG，及 C 為去氧胞苷，G 為去氧鳥苷，A 為去氧腺苷，及 T 為去氧胸腺苷。

【0056】於一較佳具體例中，TLR-9 致效劑包含呈 L 組態的至少一個核苷酸。此係較佳地位在該聚去氧核糖核苷酸的至少一端的末端五個核苷酸以內。於此具體例中，聚去氧核糖核苷酸較佳地包含至少 20 個核苷酸，更佳地 20 至 25 個核苷酸。

【0057】該聚去氧核糖核苷酸包含一雙股莖及二單股環，及形成啞鈴形。該聚去氧核糖核苷酸為經共價閉合。優異地，至少一個 CG 二核苷酸係位在該等單股環中之一者或各者。

【0058】依據本文揭示之「莖」須瞭解為在相同 DNA 分子內部(其係為部分自體互補)或在不同 DNA 分子內部(其為部分互補或完全互補)藉鹼基配對所形成的 DNA 雙股。分子內鹼基配對表示相同分子內部的鹼基配對，及不同 DNA 分子間的鹼基配對係定名為分子間鹼基配對。

【0059】於本文揭示之定義內部的「環」須瞭解為在莖結構內部或在末端的未經配對的單股區。

【0060】「啞鈴形」描述包含一個雙股莖(在相同聚核苷酸內部的鹼基配對)及在雙股莖兩端的兩個單股環之一種聚核苷酸。

【0061】於此等啞鈴形聚核苷酸中，較佳地，全部核苷酸係呈

D 組態。又復，較佳地，聚去氧核糖核苷酸包含至少 50，較佳地至少 80，最佳地 116 個核苷酸。此類型 TLR-9 致效劑之兩個較佳代表性核苷酸序列係描繪於圖 3。

【0062】依據本發明使用的最佳 TLR-9 致效劑為來非莫德 (SEQ ID NO：3)。

【0063】於本發明之又另一具體例中，提供一種用於預測患有 SCLC (特別為患有廣泛期 SCLC)之個體是否將對使用 TLR-9 致效劑(特別地使用來非莫德)之治療有反應的方法，其係經由在使用 TLR-9 致效劑治療之前判定

- i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比，及/或
- ii. 個體是否已確診患有 COPD。

【0064】活化 B 細胞之頻率及 CD19 陽性細胞總數係於欲接受治療的個體血樣(全血)中測量。

【0065】「預測」表示能够在使用 TLR-9 致效劑治療之前，判定欲接受治療的個體是否對治療有反應，亦即從使用 TLR-9 致效劑的治療中獲益。因此，可避免不必要的治療。

【0066】於較佳預測方法中，其對使用 TLR-9 致效劑(特別地使用來非莫德)之治療有反應的患有 SCLC (特別為患有廣泛期 SCLC)之個體具有

- i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或
- ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0067】於本發明之又另一具體例中，提供一種用於在患有

SCLC (特別為患有廣泛期 SCLC)之個體中鑑別對使用 TLR-9 致效劑(特別地使用來非莫德)之治療有反應者及無反應者的方法，其係經由在使用 TLR-9 致效劑治療之前判定

- i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比，及/或
- ii. 個體是否已確診患有 COPD。

【0068】因此，該鑑別方法允許評估患有 SCLC 之個體是否將對使用 TLR-9 致效劑之治療有反應。因此，可避免不必要的治療。

【0069】於一較佳鑑別方法中，患有 SCLC (特別為患有廣泛期 SCLC)之個體中鑑別對使用 TLR-9 致效劑(特別地使用來非莫德)之治療有反應者具有

- i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或
- ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0070】藉由判定如前述的生物標記，特佳地評估有反應者是否將具有比無反應者更佳的總存活期(OS)。「總存活期」係定義為始於治療及持續直到死亡(=事件)或直到從病人取得最後資訊的日期的時間間隔。

【0071】如此，於又另一較佳具體例中，本發明係有關於活化 B 細胞用作為生物標記用於預測患有癌症(特別為患有 SCLC)之個體對使用 TLR-9 致效劑(較佳地來非莫德)之治療的反應。

【0072】如此，於一較佳具體例中，用於預測患有癌症(特別為患有 SCLC)之個體對使用 TLR-9 致效劑(較佳地來非莫德)之治療反應的生物標記為活化 B 細胞，特別地活化 B 細胞相對於 CD19 陽

性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%。因此，於一個具體例中，決定活化 B 細胞之比值係被用作為生物標記。

【0073】「生物標記」為出現在血液或其它體液或組織的物質。舉例言之，發訊通知病況或疾病(諸如癌症)的存在與否的細胞上的受體。生物標記也可以是免疫細胞的存在、不存在、或頻率，或病況或疾病的存在或不存在。生物標記的一個實例為預測性生物標記。最常見地，其係用來評估病人是否將對特定治療有反應或從中獲益。

【0074】於本發明之又一具體例中，提供一種適合用於 SCLC 之治療的包含來非莫德的醫藥組成物。此組成物包含 1 毫克/毫升至 30 毫克/毫升，較佳地 10 毫克/毫升至 20 毫克/毫升，更佳地 15 毫克/毫升來非莫德於磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)之醫藥組成物，其中該 PBS 具有 pH 6 至 8，特別地 7.0 至 7.5 之 pH，及包含

- 6 毫克/毫升至 12 毫克/毫升，較佳地 8.8 毫克/毫升氯化鈉，
- 0.1 毫克/毫升至 0.3 毫克/毫升，較佳地 0.22 毫克/毫升氯化鉀，
- 0.1 毫克/毫升至 0.3 毫克/毫升，較佳地 0.22 毫克/毫升磷酸二氫鉀，及
- 1.0 毫克/毫升至 1.5 毫克/毫升，較佳地 1.265 毫克/毫升磷酸氫二鈉。

【0075】於一特佳具體例中，該 PBS 具有 7.2 至 7.6 之 pH 及包含

- 8.0 毫克/毫升氯化鈉，

- 0.2 毫克/毫升氯化鉀，
- 0.2 毫克/毫升磷酸二氫鉀，及
- 1.15 毫克/毫升磷酸氫二鈉。

【0076】於又一具體例中，提供一種於個體治療 SCLC 之方法，包含對該個體投予有效量之 TLR-9 致效劑，其中該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或多者：

i. CD86 陽性 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

特定具體例

【0077】

1. 一種用於有需要的個體治療小細胞肺癌(SCLC)的 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德，其中該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或多者：

i. CD86 陽性 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0078】2. 如具體例 1 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該小細胞肺癌為侷限期小細胞肺癌或廣泛期小細胞肺癌，較佳地，廣泛期小細胞肺癌。

【0079】3. 如具體例 2 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該侷限期小細胞肺癌或廣泛期小細胞肺癌係經病理學、組織學及/或細胞學

上識別者。

【0080】 4. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該個體在使用 TLR-9 致效劑治療之前已接受第一癌症治療。

【0081】 5. 如具體例 4 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該第一癌症治療係使用化學治療劑或放射療法。

【0082】 6. 如具體例 5 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該以化學治療劑的治療為使用以鉑為主的化學治療劑，較佳地，使用以鉑為主的組合化學治療劑之第一線療法。

【0083】 7. 如具體例 6 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該個體已經完成了至少一個週期的第一線療法，較佳地，四個週期。

【0084】 8. 如具體例 7 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該週期具有大於一週的長度。

【0085】 9. 如具體例 8 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該第一線療法係在各個週期的第一週以內投予。

【0086】 10. 如具體例 5 至 9 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該以鉑為主的化學療法包含第一抗癌劑及第二抗癌劑，及該第一抗癌劑係選自於由滅必治(etoposide)、抗癌妥(irinotecan)、健擇(gemcitabine)、及托普迪肯(topotecan)所組成的組群，及該第二抗癌劑係選自於由順鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin)所組成的組群。

【0087】 11. 如具體例 10 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該以鉑為主的化學療法係選自於包含滅必治-順鉑、抗癌妥-順鉑、健擇-卡鉑、及托普迪肯-順鉑的組群。

【0088】 12. 如具體例 6 至 10 中任一項所使用的 TLR-9 致效

劑，其中該個體未曾接受其它先前化學療法。

【0089】 13. 如具體例 4 至 12 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該個體在使用 TLR-9 致效劑治療之前已經達成了部分反應 (PR)或完全反應(CR)。

【0090】 14. 如具體例 13 所使用的 TLR-9 致效劑，其中 PR 或 CR 係使用電腦斷層攝影術(CT)及/或磁振造影(MRI)掃描評估。

【0091】 15. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係作為單一療法使用。

【0092】 16. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係被使用於交換維持療法。

【0093】 17. 如具體例 16 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該交換維持療法包含使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法之投予，接著為 TLR-9 致效劑之投予。

【0094】 18. 如具體例 17 之 TLR-9 致效劑，其中該個體已經完成了四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法，及接受使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法的第五週期或使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法的第五週期及第六週期，及該以鉑為主的化學治療劑係只有在各個週期的第一星期期間投予。

【0095】 19. 如具體例 18 之 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑之投予係始於第五週期的一個禮拜當未投予化學治療劑時；或係始於第五週期的一個禮拜當未投予化學治療劑時，暫停於第六週期的一個禮拜當投予化學療法時治療，及重新起始於第六週期的一個禮拜當未投予化學治療劑時。

【0096】 20. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效

劑，其中該 TLR-9 致效劑係使用於組合模式療法。

【0097】 21. 如具體例 20 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該組合模式療法包含選自於由手術、放射療法、及醫藥所組成的組群中之又一治療，其中醫藥為化學治療劑或生物製劑的投予。

【0098】 22. 如具體例 20 或 21 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法係與顱照射組合。

【0099】 23. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係至少投予兩次。

【0100】 24. 如具體例 23 之供使用的 TLR-9 致效劑，其中兩次投予間有 48 小時的最小間隔。

【0101】 25. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係每週投予至少兩次，較佳地，每週投予兩次。

【0102】 26. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中投予 10 至 200 毫克，較佳地 40 至 100 毫克，最佳地 60 毫克之 TLR-9 致效劑。

【0103】 27. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中 60 毫克之 TLR-9 致效劑係每週投予兩次。

【0104】 28. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中 30 毫克之 TLR-9 致效劑係每週兩次在兩個施用部位投予。

【0105】 29. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該個體已經完成了四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法，及接受使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法的第五週期，接著投予 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德，其中於該第

五週期期間，以鉑為主的化學治療劑係在第五週期的第一星期期間投予，而 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德係每週兩次在第五週期的第二星期或第三星期期間投予。

【0106】30. 如具體例 27 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該個體接受使用以鉑為主的化學療法之第一線療法的第五週期及第六週期，接著投予 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德，其中於該第六週期期間，以鉑為主的化學治療劑係在第六週期的第一星期期間投予，而 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德係每週兩次在第六週期的第二星期及第三星期期間投予，及其後繼續投予 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德。

【0107】31. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係藉注射投予，較佳地係皮下注射。

【0108】32. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑，較佳地來非莫德於患有廣泛期小細胞肺癌之個體係每週兩次皮下注射投予，作為交換維持療法，及其中該個體在使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法之後達成至少部分反應。

【0109】33. 如具體例 29 至 32 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中 30 毫克之 TLR-9 致效劑係每週兩次在兩個施用部位投予。

【0110】34. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中各次投予包含在兩個施用部位投予。

【0111】35. 如具體例 34 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該等施用部位包含個體的左上臂及右上臂、個體的左臀及右臀、及個體的左臍周區及右臍周區。

【0112】 36. 如具體例 34 或 35 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該等施用部位係在輪替計畫中交替使用。

【0113】 37. 如前述具體例中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑包含一個聚去氧核糖核苷酸，其包含至少一個未經甲基化的 CG 二核苷酸，其中 C 為去氧胞苷及 G 為去氧鳥苷。

【0114】 38. 如具體例 37 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該至少一個 CG 二核苷酸為序列 $N^1N^2CGN^3N^4$ 的一部分，其中 N^1N^2 為 AA、TT、GG、GT、GA 或 AT，及 N^3N^4 為 CT、TT、TC、TG 或 GG，及 C 為去氧胞苷，G 為去氧鳥苷，A 為去氧腺苷，及 T 為去氧胸腺苷。

【0115】 39. 如具體例 37 或 38 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含呈 L 組態的至少一個核苷酸。

【0116】 40. 如具體例 37 至 39 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含至少 20 個核苷酸，較佳地 20 至 25 個核苷酸。

【0117】 41. 如具體例 39 或 40 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該呈 L 組態的至少一個核苷酸係包含在該聚去氧核糖核苷酸的至少一端的末端五個核苷酸以內。

【0118】 42. 如具體例 39 至 41 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該呈 D 組態的至少三個連續去氧鳥苷係包含位在該聚去氧核糖核苷酸的至少一端的末端六個核苷酸以內。

【0119】 43. 如具體例 37 至 42 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含至少兩個 CG 二核苷酸。

【0120】 44. 如具體例 43 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該至少三個連續聚去氧核糖核苷酸係位在兩個 CG 二核苷酸間。

【0121】 45. 如具體例 43 所使用的 TLR-9 致效劑，其中至少五個核苷酸係位在兩個 CG 二核苷酸間，但去氧鳥苷除外。

【0122】 46. 如具體例 37 至 45 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸為單股及/或部分雙股或全部雙股。

【0123】 47. 如具體例 46 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該至少一個 CG 二核苷酸係位在該聚去氧核糖核苷酸的單股區及/或雙股區內。

【0124】 48. 如具體例 37 至 47 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含一雙股莖及至少一個單股環。

【0125】 49. 如具體例 48 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含兩個單股環及形成啞鈴形狀。

【0126】 50. 如具體例 48 或 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中全部核苷酸係呈 D 組態。

【0127】 51. 如具體例 48 至 50 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含至少 50 個，較佳地至少 80 個，最佳地 116 個核苷酸。

【0128】 52. 如具體例 48 至 51 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含至多 200 個，較佳地至多 150 個，最佳地 116 個核苷酸。

【0129】 53. 如具體例 48 至 52 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該至少一個 CG 二核苷酸係位在

a)該等單股環中之一者或各者，較佳地，位在該等單股環中之

各者，或

b)該雙股莖，或

c)該等單股環中之一者或各者及位在該雙股莖。

【0130】 54. 如具體例 48 至 53 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含一雙股莖及至少一個單股環，及該至少一個 CG 二核苷酸係位在該單股環中。

【0131】 55. 如具體例 48 至 54 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該聚去氧核糖核苷酸包含一雙股莖，二單股環，及形成啞鈴形狀，及至少一個 CG 二核苷酸係位在該等單股環中之各者中。

【0132】 56. 如具體例 55 所使用的 TLR-9 致效劑，其中三個 CG 二核苷酸係位在該等單股環中之各者中。

【0133】 57. 如具體例 48 至 56 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該等單股環中之一者或各者包含至少 20 個核苷酸，較佳地，由 30 個核苷酸組成。

【0134】 58. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該等單股環中之各者係由 30 個核苷酸組成且具有相同的序列。

【0135】 59. 如具體例 48 至 58 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該雙股莖包含至少 15 個鹼基配對，較佳地至少 20 個鹼基配對，最佳地由 28 個鹼基配對組成。

【0136】 60. 如具體例 48 至 59 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中該雙股莖包含至多 90 個鹼基配對，較佳地至多 60 個鹼基配對，最佳地由 28 個鹼基配對組成。

【0137】 61. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該等單股環中之各者由 30 個核苷酸組成，該雙股莖由 28 個鹼基配對組

成，及三個 CG 二核苷酸係位在該等單股環中之各者中。

【0138】 62. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係經共價閉合及由兩倍的 SEQ ID NO：1 之部分雜交序列組成。

【0139】 63. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係經共價閉合及由兩倍的 SEQ ID NO：2 之部分雜交序列組成。

【0140】 64. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係經共價閉合及由 SEQ ID NO：3 之序列組成。

【0141】 65. 如具體例 49 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該 TLR-9 致效劑係經共價閉合及由 SEQ ID NO：4 之序列組成。

【0142】 66. 如具體例 37 至 65 中任一項所使用的 TLR-9 致效劑，其中至少一個核苷酸係經以選自於由下列所組成之組群中之修飾的胰島素類似物官能基修飾：羧基、胺基、醯胺基、醛亞胺基、縮酮基、縮醛基、酯基、醚基、二硫醚基、巯基、及醛基。

【0143】 67. 如具體例 66 所使用的 TLR-9 致效劑，其中該經修飾的核苷酸係連結至選自於包含下列之組群中之化合物：肽類、蛋白質類、碳水化合物類、抗體類、脂質類、膠束類、囊泡類、合成分子類、聚合物類、微投射體類、金屬粒子類、奈米粒子類、及固相。

【0144】 68. 於一個體治療小細胞肺癌(SCLC)之方法，該方法包含對該個體投予有效量之 TLR-9 致效劑，較佳地如具體例 1 至 67 中任一項 TLR-9 致效劑，其中該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或多者：

i. CD86 陽性 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比為小於或等於 20%，較佳地小於或等於 18%，更佳地小於或等於 17%，最佳地小於或等於 15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【0145】 69. 一種用於預測患有 SCLC 之個體是否將對使用 TLR-9 致效劑，較佳地如具體例 1 至 67 中任一項 TLR-9 致效劑之治療有反應的方法，其係經由在使用 TLR-9 致效劑治療之前判定

i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比，及/或

ii. 個體是否已確診患有 COPD。

【0146】 70. 一種在患有 SCLC 之個體中鑑別對使用 TLR-9 致效劑，較佳地如具體例 1 至 67 中任一項 TLR-9 致效劑之治療有反應者及無反應者的方法，其係經由在使用 TLR-9 致效劑治療之前判定

i. 活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞總數之比，及/或

ii. 個體是否已確診患有 COPD。

【0147】 71. 如具體例 70 之方法，其中該有反應者具有比該無反應者更佳的總存活期(OS)。

【0148】 72. 一種用於治療 SCLC 的包含 1 毫克/毫升至 30 毫克/毫升，較佳地 10 毫克/毫升至 20 毫克/毫升，更佳地 15 毫克/毫升來非莫德於 PBS 之醫藥組成物，其中該 PBS 具有 pH 6 至 8，特別地 7.2 至 7.6 之 pH，及包含

- 6 毫克/毫升至 12 毫克/毫升，較佳地 8.0 毫克/毫升氯化鈉，
- 0.1 毫克/毫升至 0.3 毫克/毫升，較佳地 0.2 毫克/毫升氯化鉀，
- 0.1 毫克/毫升至 0.3 毫克/毫升，較佳地 0.2 毫克/毫升磷酸二

氫鉀，及

● 1.0 毫克/毫升至 1.5 毫克/毫升，較佳地 1.15 毫克/毫升磷酸氫二鈉。

【0149】 73. 一種用作為生物標記的活化 B 細胞，其係用於患有癌症特別為患有 SCLC 之個體預測對使用 TLR-9 致效劑，較佳地，如具體例 1 至 67 中任一項 TLR-9 致效劑，更佳地來非莫德之治療反應。

針對 MGN1703 (來非莫德)顯示 TLR-9 致效劑之合成

【0150】 具 有 序 列 CCTAGGGGTT ACCACCTTCA TTGGAAAACG TTCTTCGGGG CGTTCTTAGG TGGTAACC (TIB-Molbiol, 柏林)，如於 SEQ ID NO: 1 中顯示的 5'-磷酸化寡核苷酸加熱至 90°C 之溫度歷時 5 分鐘，及隨後於冰上冷卻，而使其能發展出莖-環結構。此等寡核苷酸之自行互補旁出物與終濃度 1 微克/微升之 DNA 於 T4 DNA 接合酶(0.1 U/微克寡核苷酸)之存在下，於 37°C 接合 24 小時。於酚萃取及隨後以氯仿萃取，以及於 MgCl₂ (終濃度 10 mM)及 NaAc (終濃度 300 mM)之存在下異丙醇沈澱後，及於離心與懸浮於水中之後獲得產物。

【0151】 為了去除內毒素的污染，接合產物隨後接受陰離子交換層析術(載劑物質：LiChrospher DMAE, Merck Darmstadt; 0-1 M NaCl 於 50 mM Na₃PO₄)，及藉異丙醇沈澱濃縮。用於活體內實驗，此方法係於無菌條件下進行，及終產物係懸浮於無菌 PBS。

【0152】 圖 1 顯示 MGN1703 (亦即來非莫德)序列(SEQ ID NO: 3)的結構，其為由磷酸二酯鍵連結的 116 個核苷酸之共價閉合啞鈴形聚去氧核糖核苷酸。其係由各 30 個鹼基的兩個單股環，及

28 個鹼基配對的雙股莖組成。序列為無編碼，但共含 6 個 CG 二核苷酸，各個環中有 3 個 CG 二核苷酸。

【0153】圖 3 顯示來非莫德 (MGN1703) 的部分序列(SEQ ID NO：1)及全部序列(SEQ ID NO：3)，以及交錯啞鈴形 TLR-9 致效劑(dSLIM 2006)的部分序列(SEQ ID NO：2)及全部序列(SEQ ID NO：4)。

實施例：臨床研究「脈衝」

1.綱要

【0154】依據本發明之資料係來自於患有廣泛期 SCLC 之病人，他已接受四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法，使用免疫調節劑 MGN1703 (同義字：來非莫德)的交換維持療法之開放標籤隨機分配的臨床研究。

【0155】由病理學家基於 SCLC 的組織學或 SCLC 的混合組織學確證的患有廣泛期 SCLC 之病人，若其已接受四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法，且在第四週期結束時已經確證部分反應(縮寫：PR)或完全反應(縮寫：CR)，則其合格用於進行研究。若因任何理由故無法獲得組織學，則由病理學家藉細胞學確診為 SCLC 也可接受。東方合作腫瘤學小組(縮寫：ECOG)效能狀態須為 0 或 1(Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. (1982). "Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group". Am. J. Clin. Oncol. 5 (6): 649-55)。篩檢在第四週期以鉑為主的化學療法中之末次施用之後已經開始。

【0156】合格病人已被隨機分配(以 3:2 之比)成接受第五週期的化學療法接著使用 MGN1703 治療(分支 A)，或第五週期的化學

療法接著局部標準照護(分支 B；此等病人沒有通用標準治療選項)。隨機分配之後，病人將留在研究中直到死亡為止或為期至多兩年。

【0157】隨機分配之後開始治療期。在此期期間，病人已接受第五週期的化學療法(排程符合地方性照護)。其後，被隨機分配至分支 A (實驗分支)的病人已接受每週兩次，在兩個施用部位皮下注射投予 MGN1703，其始於第五週期未投予化學療法的該星期。分支 B (對照分支)中之病人已經根據地方臨床實務接受任何標準照護，其可包括例如，繼續相同的以鉑為主的化學治療劑，開始新的維持計畫，或無化學療法的最佳支持照護。

【0158】依據地方實務，研究者可選擇：

- 一旦病人已經完成四個週期之以鉑為主的化學療法，停止使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法；於此種情況下，分支 A 的病人只接受 MGN1703，及分支 B 的病人已接受地方標準照護。

- 給予額外第六週期的以鉑為主的化學治療劑。類似於第五週期，如此接著每週兩次，在兩個施用部位皮下注射投予 MGN1703 (分支 A (實驗分支))，或接著地方標準照護(分支 B (對照分支))。

治療期至多兩年。在中止治療期之後，全部病人進入後處理監控期，其於隨機分配後至多兩年時中止。於此期期間，每 12 週評估一次存活狀態及癌症療法。

【0159】為了合乎參與研究資格，病人特別地須滿足以下標準：

由病理學家基於 SCLC 的組織學或 SCLC 的混合組織學，確證為患有廣泛期 SCLC 之病人，或若無法獲得組織學，則藉細胞學確

診；

完成四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法及未曾接受其它先前化學療法；

於第四個週期之使用以鉑為主的化學治療劑之第一線療法結束時，由研究者使用 CT 或 MRI 掃描評估，經文獻記載的腫瘤反應證據(PR 或 CR)。

【0160】 總共選擇先前已經使用以鉑為主的化學治療劑之標準第一線療法治療四個週期的 102 位患有 SCLC 之病人(第二分析: 103 位病人)進行研究。

【0161】 進行病人的隨機分配之後，62 位病人接受

i)MGN1703 維持療法(每週兩次皮下注射每劑 60 毫克 TLR-9 致效劑 MGN1703 (亦即來非莫德))或

ii)第五週期之以鉑為主的化學療法，接著 MGN1703 維持療法(每週兩次皮下注射每劑 60 毫克 TLR-9 致效劑 MGN1703 (亦即來非莫德))，其中該 MGN1703 維持療法係始於以鉑為主的化學治療劑之投予後的一週或兩週，或

iii)第五週期及第六週期之以鉑為主的化學療法，接著 MGN1703 維持療法(每週兩次皮下注射每劑 60 毫克 TLR-9 致效劑 MGN1703 (亦即來非莫德))，其中該 MGN1703 維持療法係始於第五週期之以鉑為主的化學治療劑之投予後的一週或兩週，在投予化學治療劑的第六治療週期的該星期暫停，而在第六週期之以鉑為主的化學治療劑之後的該星期重新恢復。

【0162】 40 位病人(第二分析:41 位病人)接受第五週期之以鉑為主的化學療法、或第五週期及第六週期之以鉑為主的化學療法，

接著為依據地方臨床實務的任何標準照護。

【0163】因此，62 位病人接受至少四個週期之以鉑為主的化學治療劑，接著為 MGN1703 維持療法(每週兩次皮下注射每劑 60 毫克 TLR-9 致效劑 MGN1703 (亦即來非莫德))。

【0164】每治療 8 ± 2 週，檢查全部病人腫瘤的進程。

【0165】對各個病人持續治療直到腫瘤的進行停止為止。

【0166】在首次施用 MGN1703 (訪視 1 的對照組(於基線值))之前，收集全部病人的血樣。

【0167】研究設計之若干態樣的綜論顯示於圖 2。

2.樣本處置

【0168】用於螢光活性細胞篩檢(FACS)分析的全血(10 毫升)被收集在 Streck Cyto-Chex® BCT 試管內。採樣後兩小時以內，血樣被運送至分析檢驗室。樣本係在抽血後的 24 小時以內分析。根據已確立的方案，在分析之前，樣本於室溫被運送與儲存。

3.分析方法-FACS 分析

【0169】活化 B 細胞相對於 CD19 陽性細胞之比值評估。針對各個病人的各個樣本登錄比值。

【0170】B 細胞係藉如下分化(CD)分子叢集的組合加以識別：CD45+/CD19+。

【0171】活化 B 細胞係藉如下 CD 分子的組合加以識別：CD45+/CD19+/CD86+。

【0172】FACS 係根據熟諳技藝人士已確立的方案進行。全血血樣經溶解，及以螢光標記抗體染色。表 1 顯示用於流式細胞儀的試劑。

特異性	標記	供應商	參考
CD169	PE	eBioscience	12-1699
CD86 (PC5.5)	PC5.5/PC5	Beckman Coulter	B30647
CD14	APC	Beckman Coulter	IM2580U
CD19	PacBlue	Beckman Coulter	A86355
CD45	KrOrange	Beckman Coulter	A96416

表 1：流式細胞儀的試劑之清單

【0173】放射性同位素對照用於每個實驗來區別特異性結合與非特異性結合。CD45 使用作為白血球標記。

【0174】樣本係在 10 色 Navios 流式細胞儀上跑，及使用 Navios 軟體(全部皆係得自 Beckman Coulter)分析。

【0175】染色方案細節如下：

細胞係使用如下單株抗體的組合染色：抗 CD169-PE、抗 CD86-PC5.5、抗 CD14-APC、抗 CD19-PacBlue、抗 CD45-KrOrange。

【0176】B 細胞被閘控為 CD19 陽性細胞。在 B 細胞族群內部，使用 CD86 作為活性標記。

4.結果

【0177】下列參數係經測定與評比。已經分析使用在基準線測得的參數之處理結果的校正(總存活期，OS)。

活化 B 細胞之比

COPD 之確診

【0178】參數係在第一時間點及第二時間點評比，其導致第一及第二分析。第二分析讓病人可獲得較長時間的追蹤。

【0179】於第一步驟中，已使用單變量考克斯回歸模型來識別可能對結果(OS)有影響的參數，因而也可使用單變量考克斯回歸模

型以外的其它方法。其後步驟中欲考慮的參數之顯著水準為 0.2。於此步驟中識別的參數之校正已經經過分析，來提供下列多變量分析的額外解譯資訊。

【0180】多變量考克斯回歸模型已被使用於分析作為先前步驟中識別為參數的包括「活化 B 細胞之比」及「COPD 的確診」。後向選擇(backward selections)已被施用來消除於多變量分析中對結果(OS)有影響的參數。用於自該模型去除參數的顯著水準為 0.1。

【0181】考克斯回歸允許能估計參數的影響而未考慮風險函數。由此計算所得的風險比須小於 1，且與小於 0.05 的顯著 p 值有關。否則觀察得的影響將不與施用的 TLR-9 致效劑有關。該等標準應用至「活化 B 細胞之比」及「COPD 的確診」兩者。

活化 B 細胞

【0182】用於活化 B 細胞之比，「推導截取值」計算如下：

- a.針對病人各個可能的二分法，分析用於 OS 的考克斯比例風險模型，及計算具有 95% CIs 的個別風險比。
- b.「推導截取值」係定義為在模型中觀察得子群與 OS 的最顯著校正或最相關校正之該值。

【0183】15.42%活化 B 細胞之「推導截取值」係藉單變量考克斯回歸模型測定。

【0184】針對活化 B 細胞之比獲得下列結果(表 2)：

分析	推導截取值	MGN1703 中位數(日)	對照中 位數(日)	風險比	95% Wald CI
第一	≤15.42%	284.0	231.5	0.5894	0.29-1.21
第二	≤15.42%	300	231.5	0.53	0.26-1.08

表 2：針對活化 B 細胞之比≤15.42%的結果

【0185】卡本-麥爾作圖顯示於圖 4 (以 MGN1703 處理的病人：實線；以對照處理的病人：虛線)。圖 4A 顯示第一分析，及圖 4B 顯示第二分析。如於作圖中及表 2 中可知，具有小於或等於 15.42%之活化 B 細胞之比的病人子群可從使用 MGN1703 之治療中獲益(中位數 284 日(第一分析)/300 日(第二分析)相較於 231.5 日(+52.5 日(第一分析)/+68.5 日(第二分析))；HR 0.5894(第一分析)/0.53(第二分析))。因此，具有小於或等於 15.42%之活化 B 細胞之比的病人子群的較佳存活期機率係與 MGN1703 的施用有關。具有>15.42%之活化 B 細胞之比的病人無法從使用 MGN1703 之治療中獲益。此信號的穩健度係使用針對檢測得低 B 細胞數目的病人之一致地獲益，使用不同的截取值諸如中位數、四分位數、及五分位數獲得確證(第二分析；圖 4C)。

COPD 之確診

【0186】針對已經確診患有 COPD 的病人獲得下列結果(表 3)：

分析	子群	MGN1703 中位數(日)	對照中 位數(日)	風險比	95% Wald CI
第一	COPD 之確診	316.0	246.0	0.5419	0.21-1.38
第二	COPD 之確診	316.0	246.0	0.48	0.20-1.17

表 3：確診患有 COPD 的病人的結果

【0187】卡本-麥爾作圖顯示於圖 5 (以 MGN1703 處理的病人：實線；以對照處理的病人：虛線)。圖 5A 顯示第一分析，及圖 5B 顯示第二分析。如於作圖中及表 3 中可知，確診患有 COPD 的病人子群可從使用 MGN1703 之治療中獲益(中位數 316 日相較於 246 日(+70 日)；HR 0.5419 (第一分析)/0.48 (第二分析))。因此，患有確診 COPD 的病人子群的較佳存活期機率係與 MGN1703 的施用

有關。未患 COPD 的病人無法從使用 MGN1703 之治療中獲益。

【0188】本發明提供於患有癌症，特別地患有 SCLC 之個體用於預測對使用 TLR-9 致效劑，特別地來非莫德的治療之反應的新穎生物標記。活化 B 細胞之比的測定以及病人是否已經確診患有 COPD，使其能評比病人是否為對使用 TLR-9 致效劑的治療的有反應者的機率。

【符號說明】

【0189】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

<110> 摩洛基公司

<120> 用於小細胞肺癌療法之生物標記

<130> 58 276 K

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 58

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 來非莫德(Lefitolimod)的部分序列

<400> 1

cctaggggtt accaccttca ttggaaaacg ttctcgggg cggtcttagg tggttaacc 58

<210> 2

<211> 58

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> dSLIM 2006的部分序列

<400> 2

aggtaggtaac ccctaggggt taccaccttc atcgctgttt tgctgtttg tcgttctt 58

<210> 3

<211> 116
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 來非莫德的全部序列

<400> 3
aaaacgttct tcggggcggt cttaggtggt aaccctagg ggttaccacc tcattggaa 60

aacgttcttc ggggcgttct taggtggtaa cccctagggg ttaccacctt cattgg 116

<210> 4
<211> 116
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> dSLIM 2006的全部序列

<400> 4
tcatcgtcgt tttgtcggtt tgtcgttctt aggtggtaac ccctaggggt taccaccttc 60

atcgtcggtt tgtcgttttg tcgttcttag gtggtaaccc ctaggggtta ccacct 116

201843451

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

用於小細胞肺癌療法之生物標記

Biomarker for small cell lung cancer therapy

【中文】

TLR-9致效劑被提供使用於有需要的個體治療小細胞肺癌(SCLC)，其中該欲接受治療的個體帶有低濃度的活化B細胞及/或被確診為患有慢性阻塞性肺疾(COPD)。

【英文】

A TLR-9 agonist provided for use in treating small cell lung cancer (SCLC) in a subject in need thereof, wherein the subject to be treated has a low level of activated B cells and/or is diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 4B ）圖。

【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

申請專利範圍

1. 一種用於有需要的個體治療小細胞肺癌(SCLC)的TLR-9致效劑，較佳地來非莫德(Lefitolimod)，其中該欲接受治療的個體具有下列特徵中之一者或多者：

i. 活化B細胞相對於CD19陽性細胞總數之比為小於或等於20%，較佳地小於或等於18%，更佳地小於或等於17%，最佳地小於或等於15.4%，及/或

ii. 確診為慢性阻塞性肺疾(COPD)。

2. 如請求項1所使用的TLR-9致效劑，其中，該等活化B細胞為CD86陽性。

3. 如請求項1或2所使用的TLR-9致效劑，其中，該SCLC為侷限期SCLC或廣泛期SCLC，較佳地為廣泛期SCLC。

4. 如前述請求項中任一項所使用的TLR-9致效劑，其中，該個體在使用TLR-9致效劑治療之前已接受第一癌症治療，特別為以鉑為主的化學治療劑。

5. 如前述請求項中任一項所使用的TLR-9致效劑，其中，該TLR-9致效劑係使用於交換維持療法。

6. 如前述請求項中任一項所使用的TLR-9致效劑，其中，該TLR-9致效劑，較佳地來非莫德，係用於患有廣泛期SCLC的個體每週投藥兩次作為交換維持療法，及其中於使用以鉑為主的化學治療劑的第一線療法之後，該個體達成至少部分反應。

7. 如前述請求項中任一項所使用的TLR-9致效劑，其中，該TLR-9致效劑含有包含至少一個未經甲基化的CG二核苷酸的聚去氧核糖核苷酸，及其中該至少一個CG二核苷酸為序列 $N^1N^2CGN^3N^4$ 的一部

分，其中 N^1N^2 為AA、TT、GG、GT、GA或AT，及 N^3N^4 為CT、TT、TC、TG或GG，及C為去氧胞苷，G為去氧鳥苷，A為去氧腺苷，及T為去氧胸腺苷。

8. 如請求項7所使用的TLR-9致效劑，其中，該聚去氧核糖核苷酸包含呈L組態的至少一個核苷酸。

9. 如請求項7或8所使用的TLR-9致效劑，其中，該聚去氧核糖核苷酸包含一雙股莖及二單股環及形成啞鈴形。

10. 如請求項9所使用的TLR-9致效劑，其中，該聚去氧核糖核苷酸為經共價閉合。

11. 如請求項9或10所使用的TLR-9致效劑，其中，至少一個CG二核苷酸係位在該等單股環中之一者或各者。

12. 如請求項9至11中任一項所使用的TLR-9致效劑，其中，該TLR-9致效劑係由SEQ ID NO：3之序列組成。

13. 一種用於預測患有SCLC之個體是否將對使用TLR-9致效劑之治療有反應的方法，其係經由在使用TLR-9致效劑治療之前判定

- i. 活化B細胞相對於CD19陽性細胞總數之比，及/或
- ii. 個體是否已確診患有COPD。

14. 一種在患有SCLC之個體中鑑別對使用TLR-9致效劑之治療有反應者及無反應者的方法，其係經由在使用TLR-9致效劑治療之前判定

- i. 活化B細胞相對於CD19陽性細胞總數之比，及/或
- ii. 個體是否已確診患有COPD。

15. 如請求項14之方法，其中，該有反應者具有比該無反應者更佳的總存活期(OS)。

16. 一種用於治療SCLC之醫藥組成物，其包含1毫克/毫升至30毫克/毫升，較佳地10毫克/毫升至20毫克/毫升，更佳地15毫克/毫升來非莫德於磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)溶液，其中該PBS具有pH 6至8，特別地7.2至7.6之pH，及包含

- 6毫克/毫升至12毫克/毫升，較佳地8.0毫克/毫升氯化鈉，
- 0.1毫克/毫升至0.3毫克/毫升，較佳地0.2毫克/毫升氯化鉀，
- 0.1毫克/毫升至0.3毫克/毫升，較佳地0.2毫克/毫升磷酸二氫鉀，及
- 1.0毫克/毫升至1.5毫克/毫升，較佳地1.15毫克/毫升磷酸氫二鈉。

17. 一種使用作為生物標記的活化B細胞，其係用於患有癌症，特別地患有SCLC的個體預測對使用TLR-9致效劑，較佳地來非莫德的治療反應。

圖式

圖 1

	TTGGGGGGCTTCTT		TCATTGGAAAACGT
C		AGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACT	T
T		TCCACCATTTGGGGAATCCCAATGGTGGA	C
	TGCAAAAGGTTACT		TTCTTGCGGGGCTT

圖 2

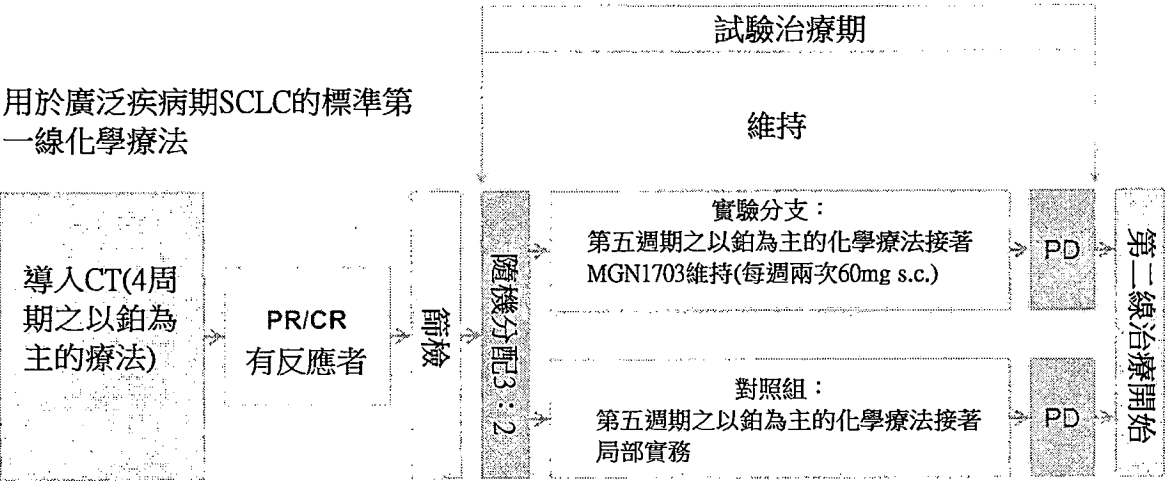


圖 3

來非莫德之部分序列 (SEQ ID NO: 1)
CCTAGGGGTTACCACCTTCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGTTCTTAGGTGGTAACC

dSLIM 2006之部分序列 (SEQ ID NO: 2)
AGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACCTTCATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTCTT

來非莫德之全部序列 (SEQ ID NO: 3)
AAAACGTTCTTCGGGGCGTTCTTAGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACCTTCATTGGA
AAACGTTCTTCGGGGCGTTCTTAGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACCTTCATTGG

dSLIM 2006之全部序列 (SEQ ID NO: 4)
TCATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTCTTAGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACCTTC
ATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTCTTAGGTGGTAACCCCTAGGGGTTACCACCT

圖 4A

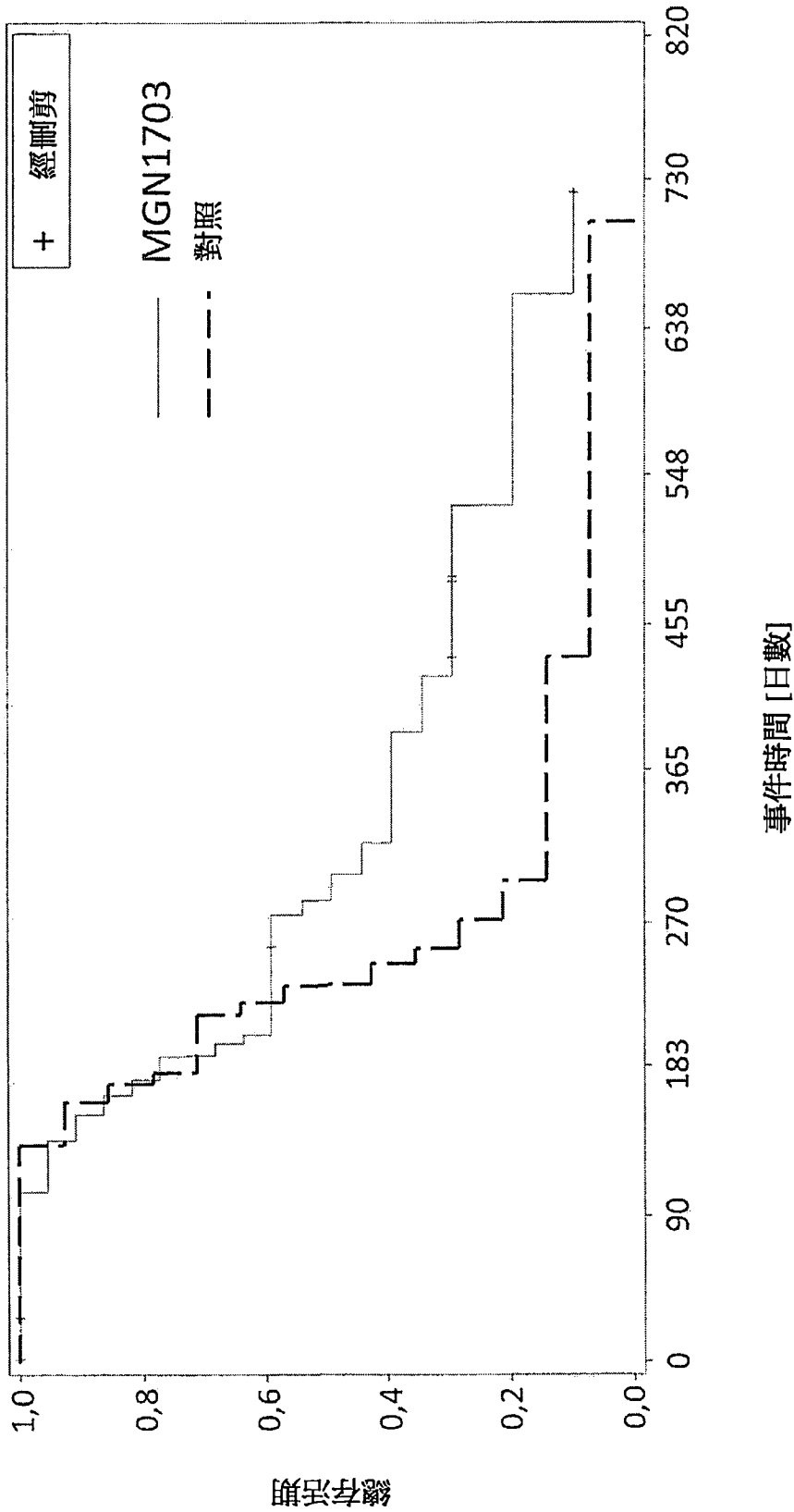


圖 4B

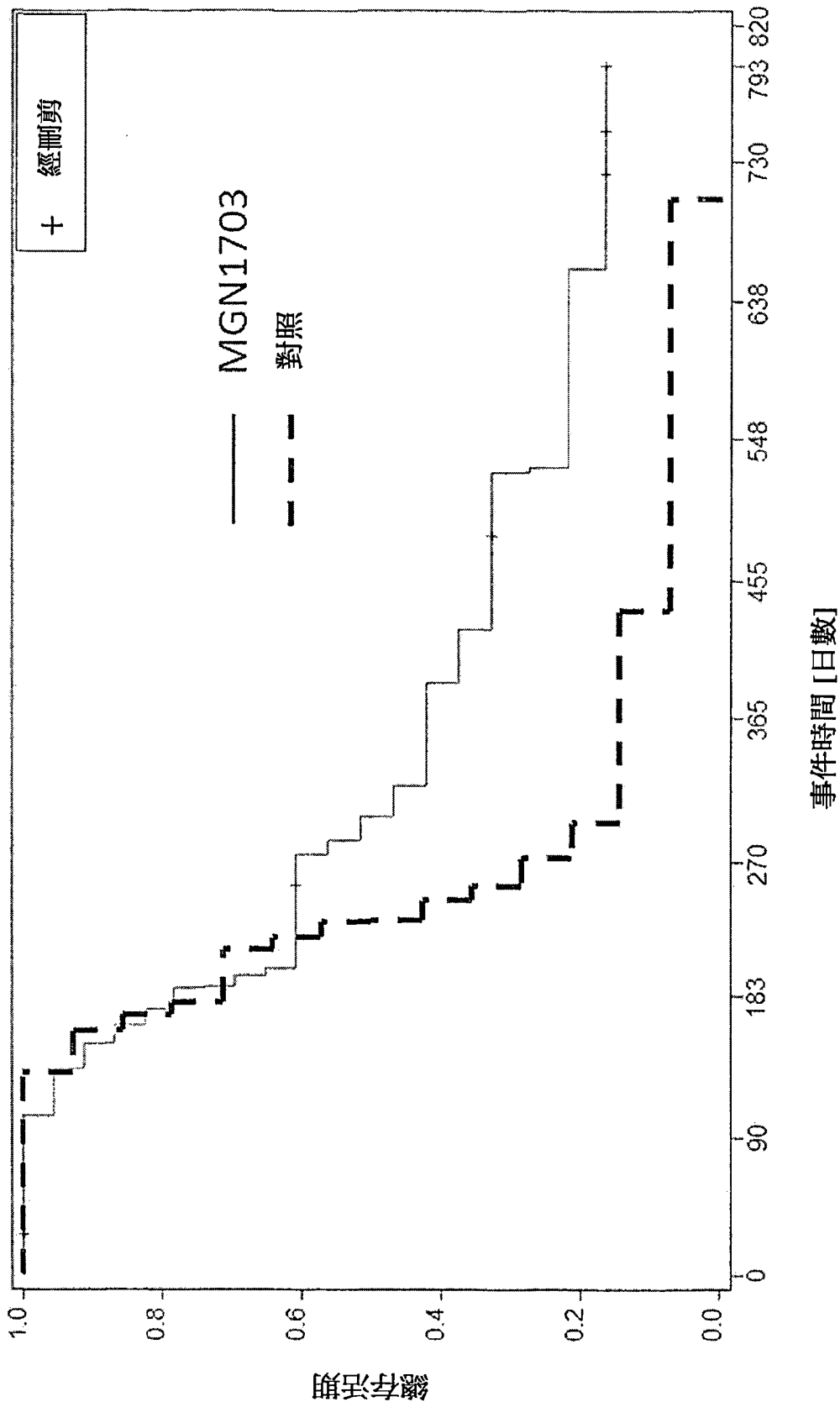


圖 4C

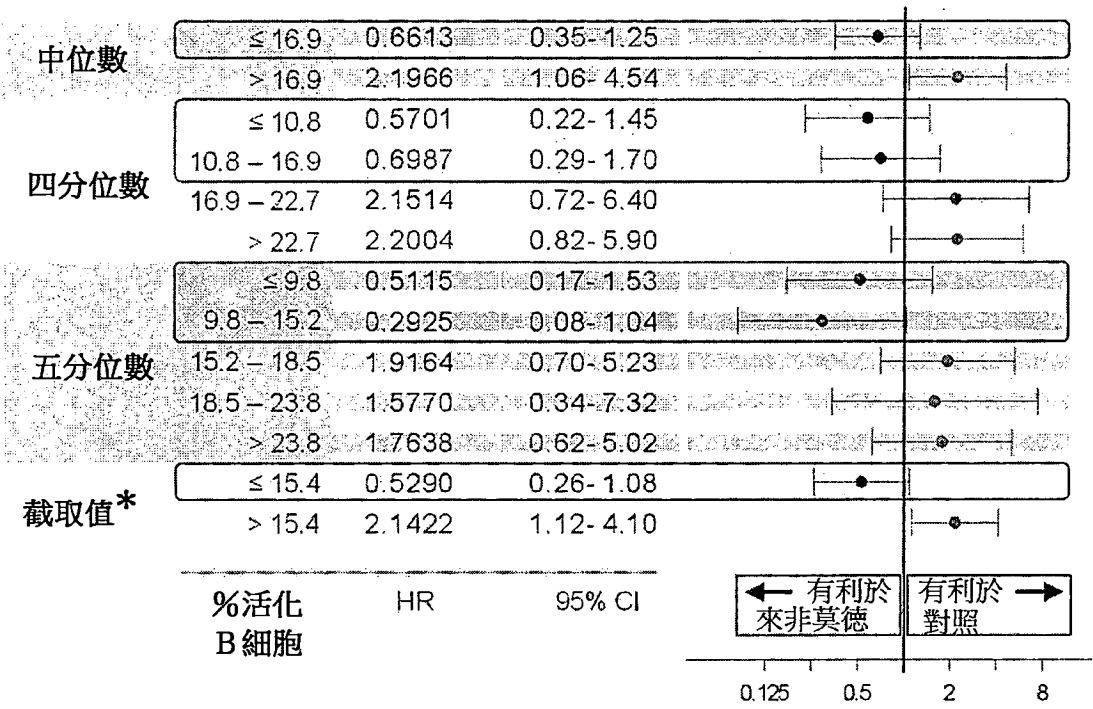


圖 5A

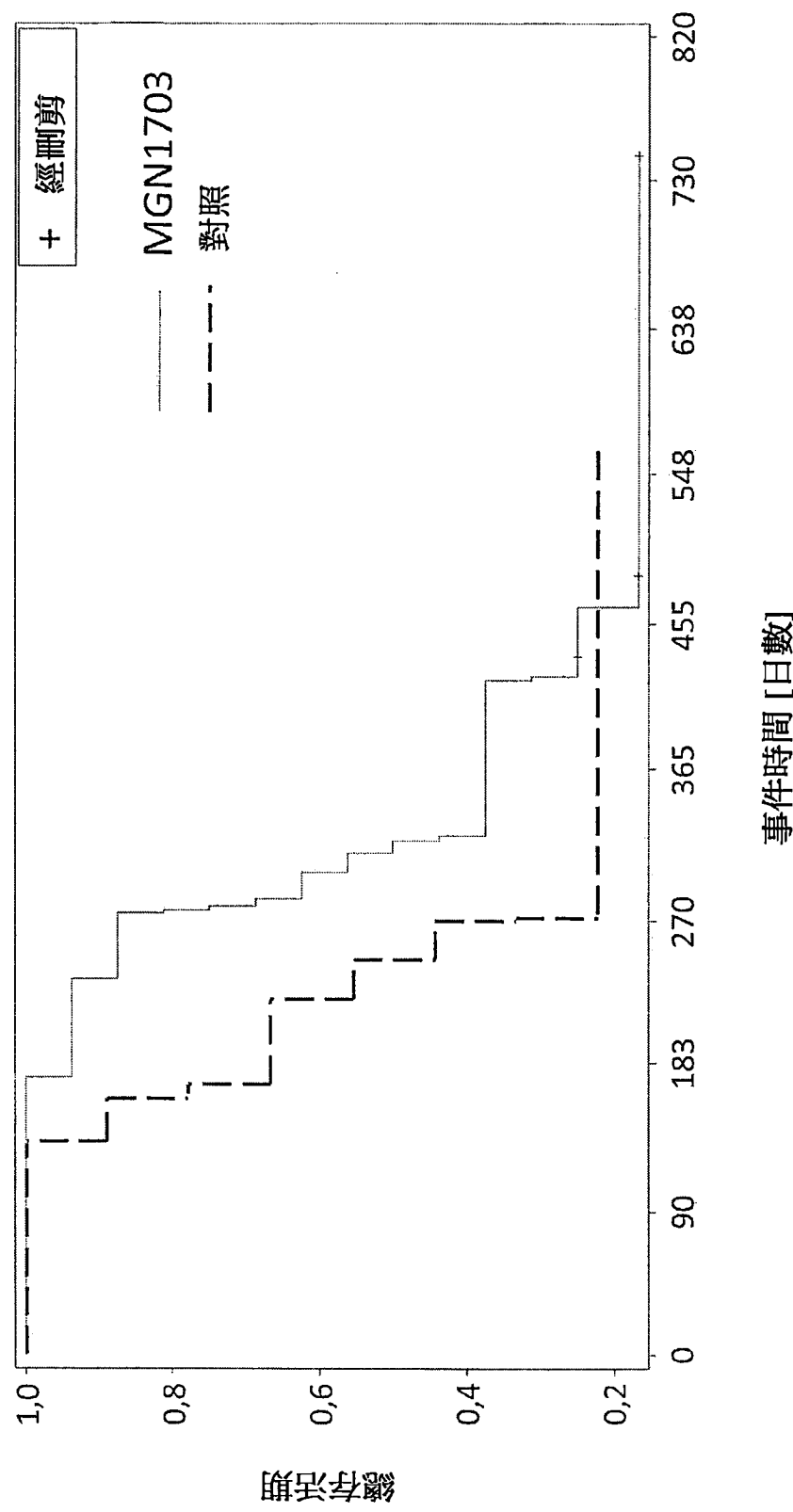


圖 5B

