



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201518728 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：103103881

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 02 月 05 日

(51)Int. Cl.：

G01N33/15 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K31/663 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2013/02/04

美國

61/760,523

(71)申請人：安可美德藥物股份有限公司 (美國) ONCOMED PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：都彭 雅各 DUPONT, JACOB (US)；史塔格 羅伯 STAGG, ROBERT JOSEPH (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：86 項 圖式數：4 共 225 頁

(54)名稱

使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法及對該治療之監測

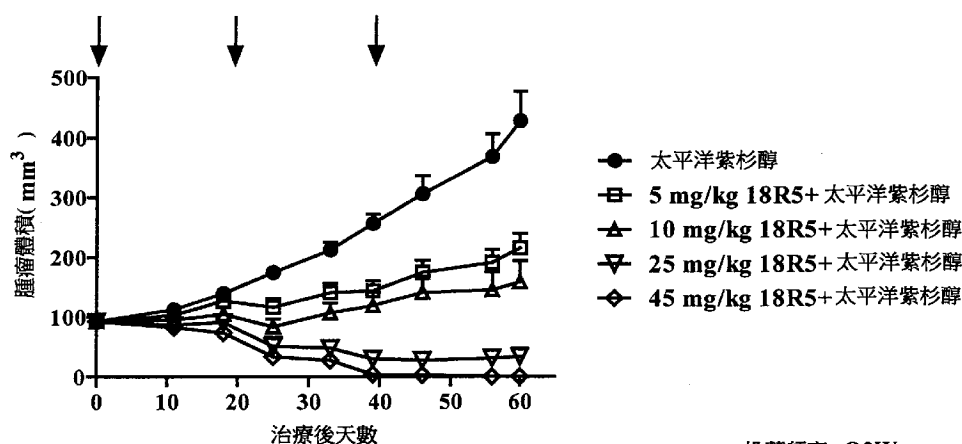
METHODS AND MONITORING OF TREATMENT WITH A WNT PATHWAY INHIBITOR

(57)摘要

本發明關於治療疾病例如癌之方法(其包含單獨投予 Wnt 途徑抑制劑或與其他抗癌劑組合投予)及監測骨骼相關不良反應及/或毒性之方法。本發明亦描述減少及/或預防接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體的骨骼相關不良反應及/或毒性之方法。

The present invention relates to methods for treating diseases such as cancer comprising administering a Wnt pathway inhibitor, either alone or in combination with other anti-cancer agents, and monitoring for skeletal-related side effects and/or toxicity. Also described are methods for reducing and/or preventing skeletal-related side effects and/or toxicity in subjects receiving treatment with a Wnt pathway inhibitor.

圖 1



18R5 投藥頻率：Q3W
Taxol 投藥頻率：Q1W

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)

使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法及對該治療之監測

Methods and monitoring of treatment with a Wnt pathway inhibitor

● 相關申請案的交互參照

[0001] 本申請案主張美國臨時專利申請案 61/760,523 (2013年2月4日提出) 之優先權權益，其以參照方式整體納入本文。

【技術領域】

● [0002] 本發明關於使用 Wnt 途徑抑制劑治療疾病之領域。更特別地，本發明提供治療癌之方法，該方法包含單獨投予 Wnt 途徑抑制劑或與其他抗癌劑組合投予，及監測不良反應及／或毒性之方法。

【先前技術】

[0003] 癌症是已開發國家的主要死因之一，光是在美國每年就有超過一百萬人被診斷出癌症而且有 500,000 例死亡。整體來說，預期每 3 人中超過 1 人會在有生之年發展出某些形式之癌。癌症有超過 200 種不同的種類，其中四種：乳癌、肺癌、結直腸癌及前列腺癌，佔所有新病例

的幾乎一半(Siegel et al., 2011, *CA:ACancer J. Clin.* 61: 212-236)。

[0004] 傳訊途徑通常連接細胞外信號至細胞核，導致表現直接或間接控制細胞生長、分化、存活、及死亡的基因。在許多種類的癌中，傳訊途徑失調且可能與腫瘤起始及／或進展有關。與人癌症發生有關之傳訊途徑包括但不限於Wnt途徑、Ras-Raf-MEK-ERK或MAPK途徑、PI3K-AKT途徑、CDKN2A/CDK4途徑、Bcl-2/TP53途徑、及缺口(Notch)途徑。

[0005] Wnt傳訊途徑已被認為是有效的癌治療標靶。Wnt傳訊途徑是胚胎模式形成、後胚胎組織維持及幹細胞生物學的重要調節因子之一。更特別地，Wnt傳訊在細胞極性的產生和細胞命運決定包括幹細胞族群自我更新扮演重要角色。未受調節的Wnt途徑活化與許多人癌症有關，一般相信該活化可改變細胞之發育命運。活化Wnt途徑可能使腫瘤細胞維持在未分化狀態及／或導致不受控制之增生。因此癌的發生可藉由超越控制正常發育及組織修復之恆定機轉進行（於Reya & Clevers, 2005, *Nature*, 434:843-50; Beachy et al., 2004, *Nature*, 432:324-31中回顧）。

[0006] Wnt傳訊途徑首先在果蠅發育突變無翅(wg)以及小鼠原致癌基因int-1（現稱Wnt1）中闡述(Nusse & Varmus, 1982, *Cell*, 31:99-109; Van Ooyen & Nusse, 1984, *Cell*, 39:233-40; Cabrera et al., 1987, *Cell*, 50:659-63; Rijsewijk et al., 1987, *Cell*, 50:649-57)。Wnt基因編碼分

泌型脂肪修飾糖蛋白，其中19種已在哺乳動物中識別。這些分泌型配體活化由捲曲(FZD)受體家族成員及低密度脂蛋白(LDL)受體相關蛋白5或6 (LRP5/6)組成之受體複合體。該等FZD受體為G蛋白偶合受體(GPCR)超家族之七個跨膜結構域蛋白，且包含具有10個保守性半胱胺酸之大型胞外N端配體結合結構域，稱為多半胱胺酸區(CRD)或Fri結構域。有十種人FZD受體，FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及FZD10。不同的FZD CRD對特定Wnt蛋白有不同的結合親和性(Wu & Nusse, 2002, *J. Biol.Chem.*, 277:41762-9)，FZD受體已被分成活化典型 β -連環蛋白途徑者及活化非典型途徑者(Miller et al., 1999, *Oncogene*, 18:7860-72)。

[0007] Wnt傳訊於癌症的角色，首先是因為識別Wnt1 (原名int1)為藉由鄰近插入小鼠病毒而轉形之乳房腫瘤的致癌基因而被發現(Nusse & Varmus, 1982, *Cell*, 31:99-109)。其他Wnt傳訊在乳癌角色的證據自此開始累積。舉例來說，基因轉殖 β -連環蛋白於乳腺中之過度表現導致增生及腺癌(Imbert et al., 2001, *J. Cell Biol.*, 153:555-68; Michaelson & Leder, 2001, *Oncogene*, 20:5093-9)，然而喪失Wnt傳訊擾亂正常乳腺發育(Tepera et al., 2003, *J. Cell Sci.*, 116:1137-49; Hatsell et al., 2003, *J. Mammary Gland Biol.Neoplasia*, 8:145-58)。在人乳癌中， β -連環蛋白累積表示超過50%的癌中有經活化之Wnt傳訊，雖然特定突變尚未被識別，但已觀察到捲曲受體表現上調(Brennan &

Brown, 2004, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 9:119-31; Malovanovic et al., 2004, *Int. J. Oncol.*, 25:1337-42)。

[0008] Wnt途徑之活化也和結直腸癌有關。大約5至10%的所有結直腸癌為遺傳性，其中一種主要形式為家族性腺瘤息肉症(FAP)，這是一種體染色體顯性疾病，其中大約80%的患者包含大腸腺瘤息肉(APC)基因之種系突變。另外也在其他Wnt途徑成分包括Axin及 β -連環蛋白發現突變。個別腺瘤為包含第二失活等位基因之上皮細胞的種系過度生長，大量FAP腺瘤無可避免地導致腺癌經由致癌基因及／或抑瘤基因之額外突變發生。另外，Wnt傳訊途徑之活化，包括APC之功能喪失突變及 β -連環蛋白之穩定突變，可誘導小鼠模型中之增生發育及腫瘤生長(Oshima et al., 1997, *Cancer Res.*, 57:1644-9; Harada et al., 1999, *EMBO J.*, 18:5931-42)。

[0009] 黑色素瘤和乳癌及結腸癌類似，通常具有Wnt途徑之組成性活化，如細胞核累積 β -連環蛋白所示。一些黑色素瘤及細胞系中的Wnt/ β -連環蛋白途徑活化是因為途徑成分之修飾所致，如APC、ICAT、LEF1及 β -連環蛋白（見例如Larue et al., 2006, *Frontiers Biosci.*, 11:733-742）。然而，文獻中關於Wnt/ β -連環蛋白傳訊於黑色素瘤之確切角色有所衝突。舉例來說，一項研究發現細胞核 β -連環蛋白濃度上升和黑色素瘤存活改善有關，而經活化之Wnt/ β -連環蛋白傳訊卻與細胞增生減少有關(Chien et al., 2009, *PNAS*, 106:1193-1198)。

[0010] 化學治療是發展成熟之治療許多癌症的手段，但其療效可受限於不良反應及／或毒性。此外，標靶療法例如抗 ErbB2 受體 (HER2) 抗體曲妥珠單抗 (trastuzumab) (HERCEPTIN)、酪胺酸激酶抑制劑伊馬替尼 (imatinib) (GLEEVEC)、達沙替尼 (dasatinib) (SPRYCEL)、尼羅替尼 (nilotinib) (TASIGNA)、舒尼替尼 (sunitinib) (SUTENT)、索拉非尼 (sorafenib) (NEXAVAR)、抗 VEGF 抗體貝伐珠單抗 (bevacizumab) (AVASTIN)、及抗血管新生藥物舒尼替尼 (sunitinib) (SUTENT) 及索拉非尼 (sorafenib) (NEXAVAR)，已知會造成或可能造成用藥個體之不良反應及／或毒性。因此，能識別藥物引發之不良反應、監測該等不良反應、及／或減輕該等不良反應，以使有效的癌症療法得以繼續之新穎方法仍有需要。

【發明內容】

[0011] 本發明提供治療疾病之改良方法，該方法包含對個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑。例如，在一態樣中，本發明提供篩選、檢測、識別、監測、減少、預防、減弱、及／或減輕與 Wnt 途徑抑制劑治療有關之骨骼相關不良反應及／或毒性之方法。在一些實施態樣中，該等方法包含測定來自病患之樣本中骨轉換標記之量，該病患已接受、正在接受、將要接受、或考慮接受 Wnt 途徑抑制劑之初次或進一步治療，該 Wnt 途徑抑制劑包括但不限於抗捲曲 (FZD) 抗體或可溶性 FZD 受體。

[0012] 在另一態樣中，本發明提供識別個體為適合使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及若該生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該識別個體為適合使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及若該骨吸收生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係第 1 型膠原蛋白交聯之 C-尾肽 (β -CTX)。

[0013] 在一態樣中，本發明提供監測接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該監測接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中該骨吸收

生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。

[0014] 在另一態樣中，本發明提供對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。

[0015] 在另一態樣中，本發明提供對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些

實施態樣中，該對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。

[0016] 在另一態樣中，本發明提供對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。

[0017] 在本文中所描述之方法的一些態樣及／或實施態樣中，其中若樣本中該骨吸收生物標記之量（例如 β -CTX）相較於預設量增加2倍或更高，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX且該預設量係小於約1000 pg/ml。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0018] 在另一態樣中，本發明提供使接受Wnt途徑抑制劑治療之個體減少骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量、及若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該吸收生物標記增加為該骨吸收生物標記之預設量的約1.5倍或更高、約2倍或更高、約2.5倍或更高、或約3倍或更高。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0019] 在另一態樣中，本發明提供使接受Wnt途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：在使用Wnt途徑抑制劑治療之前，自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量、對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物、及對該個體投予該Wnt途徑抑制劑。在一些實施

態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0020] 在另一態樣中，本發明提供對投予Wnt途徑抑制劑之個體改善骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：測定樣本中骨吸收生物標記之量、及對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0021] 在另一態樣中，本發明提供篩選個體因Wnt途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法，其包含：在使用Wnt途徑抑制劑治療之前，自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨吸收生物標記之量、及比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，若該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險，則在使用該Wnt途徑抑制劑治療之前，對該個體投予治療有效量之針對該骨骼相關不良反應及／或毒性之治療劑。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該針對骨骼相關不良反應之治療劑係雙膦酸鹽。

[0022] 在另一態樣中，本發明提供對個體治療癌症之方法，其包含：對該個體投予治療有效量之Wnt途徑抑制劑、及測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量。

在一些實施態樣中，該治療癌症之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量。在一些實施態樣中，該治療癌症之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，該治療癌症之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0023] 在另一態樣中，本發明提供抑制個體之腫瘤生長之方法，其包含：對該個體投予治療有效量之Wnt途徑抑制劑、及測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量。在一些實施態樣中，該抑制腫瘤生長之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量。在一些實施態樣中，該抑制腫瘤生長之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，該抑制腫瘤生長之方法另包含比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中若該骨吸收生物標記之量係高於該骨吸

收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係雙膦酸鹽。

[0024] 在本文所述之方法的一些態樣及／或實施態樣中，該生物樣本係血液、血清或血漿。在一些實施態樣中，該生物樣本係「空腹樣本」。如本文所使用，「空腹樣本」係指自尚未進食且尚未飲用任何飲料至少9至12個小時之個體所採集之樣本。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約1500 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約1200 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約1000 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約800 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約600 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約400 pg/ml或更低。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨轉換標記）之預設量係該生物標記於稍早日期所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨轉換標記）之預設量係該生物標記於治療前所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨轉換標記）之預設量係該生物標記於最初篩選時所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨轉換標記）之預設量係正常參考量。在一些實施態樣中，該生物標記

之預設量係基準量。在一些實施態樣中，該基準量係在最初篩選時（例如治療前）所測定之該生物標記之量。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，該 β -CTX之預設量係在血液、血清、或血漿中約1000 pg/ml或更低。

[0025] 在本文所述之方法的一些態樣及／或實施態樣中，生物樣本係於約每周、每2周、每3周、每4周、每5周、或每6周獲得。

[0026] 在前述各種態樣之某些實施態樣，以及本文他處所述之其他態樣及實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係與至少一種人Wnt蛋白專一性結合之抗體。抗Wnt抗體之非限制性實例已於例如美國專利公開號2012/0027778及國際專利公開號WO 2011/088127中描述。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係與至少一種人FZD蛋白專一性結合之抗體。抗FZD抗體之非限制性實例已於例如美國專利第7,982,013號中描述。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係可溶性FZD受體。可溶性FZD受體之非限制性實例已於例如美國專利第7,723,477及8,324,361號及美國專利公開號2011/0305695中描述。

[0027] 在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係包含下列之抗體：(a)包含GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1)之重鏈CDR1、包含VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2)之重鏈CDR2、及包含NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3)之重鏈CDR3，及／或(b)包含SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4)之輕

鏈 CDR1、包含DKSNRPSG (SEQ ID NO:5)之輕鏈 CDR2、及包含 QSYANTLSL (SEQ ID NO:6)之輕鏈 CDR3。

[0028] 在前述各種態樣之某些實施態樣，以及本文他處所述之其他態樣及實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含下列之抗體：(a)與 SEQ ID NO:7 具有至少約 90%、至少約 95%、或 100% 序列一致性之重鏈可變區；及／或 (b) 與 SEQ ID NO:8 具有至少約 90%、至少約 95%、或 100% 序列一致性之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。

[0029] 在前述各種態樣之某些實施態樣，以及本文他處所述之其他態樣及／或實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係重組抗體。在一些實施態樣中，該抗體係單株抗體、嵌合抗體、人化抗體、或人抗體。在一些實施態樣中，該抗體係包含抗原結合部位之抗體片段。在某些實施態樣中，該抗體或抗體片段係單價、單專一性、或雙價。在一些實施態樣中，該抗體係雙專一性抗體或多專一性抗體。在一些實施態樣中，該抗體係 IgG1 抗體。在一些實施態樣中，該抗體係 IgG2 抗體。在某些實施態樣中，該抗體係經分離。在其他實施態樣中，該抗體係實質上純的。

[0030] 在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係以約 10nM 至約 0.1nM 之解離常數 (K_D) 與至少一種人 FZD 結合之抗體。

[0031] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑包含與寄存於美國菌種保存中心 (ATCC) 之編號 PTA-9541 之質體

所編碼之抗體相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑包含與寄存於美國菌種保存中心(ATCC)之編號 PTA-9541 之質體所編碼之抗體相同的重鏈可變區及輕鏈可變區胺基酸序列。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係由具有 ATCC 寄存編號 PTA-9541 之質體所編碼，該質體依據布達佩斯條約之規定於 2008 年 9 月 29 日寄存於美國菌種保存中心(ATCC)（地址：10801 University Boulevard, Manassas, VA, 20110）。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑與寄存於美國菌種保存中心(ATCC)之編號 PTA-9541 之質體所編碼之抗體，競爭與人 FZD 之專一性結合。

[0032] 在本文所述之方法的任何態樣及／或實施態樣中，該個體罹患癌症。在一些實施態樣中，該癌症係選自：肺癌、胰癌、乳癌、結腸癌、結直腸癌、黑色素瘤、胰癌、胃腸癌、腎癌(renal cancer)、卵巢癌、肝癌、子宮內膜癌、腎癌(kidney cancer)、前列腺癌、甲狀腺癌、神經胚細胞瘤、神經膠瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、胃癌、膀胱癌、肝腫瘤、肝細胞癌(HCC)、神經內分泌癌、甲狀腺癌、腺癌、及頭頸癌。在一些實施態樣中，該癌係乳癌。在一些實施態樣中，該癌係胰癌。在一些實施態樣中，該癌係肺癌。在一些實施態樣中，該癌係非小細胞肺癌(NSCLC)。在一些實施態樣中，該癌係卵巢癌。在一些實施態樣中，該癌係肝癌。在一些實施態樣中，該癌係 HCC。

[0033] 在本文所述之方法的任何態樣及／或實施態樣中，該個體係經 Wnt 途徑抑制劑與一或多種額外抗癌劑之組合治療。在一些實施態樣中，該一或多種額外抗癌劑係化學治療劑。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係太平洋紫杉醇 (paclitaxel) 或與白蛋白結合之太平洋紫杉醇。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係吉西他濱 (gemcitabine)。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係吉西他濱及與白蛋白結合之太平洋紫杉醇。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係多西紫杉醇 (docetaxel)。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係卡鉑 (carboplatin)。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係卡鉑及太平洋紫杉醇或與白蛋白結合之太平洋紫杉醇。在一些實施態樣中，該額外抗癌劑係索拉非尼 (sorafenib)。

[0034] 本發明之態樣或實施態樣係以馬庫西群組或其他選擇性形式之群組描述，本發明不僅包含被標示為整體之整個群組，但亦包含該群組之個別成員及該主要群組中所有可能之亞群，且亦包含不含其中一或多個群組成員之主要群組。本發明亦設想明確排除該申請專利之發明中任何群組成員之一或多者。

【圖式簡單說明】

[0035] 圖 1：間歇性投予 Wnt 途徑抑制劑對活體內乳房腫瘤生長之抑制。使用下列治療小鼠：太平洋紫杉醇 (-●-)、5mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇之組合 (-■-)、

10mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇之組合 (-▲-)、25mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇之組合 (-▼-)、或 45mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇之組合 (-◆-)。資料以治療後天數之腫瘤體積(mm^3)顯示。OMP-18R5 係經腹膜內投予，每三周一次（如箭頭所示），太平洋紫杉醇係以 10 mg/kg 之劑量每周投予一次。

[0036] 圖 2：間歇性投予 Wnt 途徑抑制劑對活體內乳房腫瘤生長之抑制。使用下列治療小鼠：太平洋紫杉醇 (-■-)、25mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇（每 4 周一次）之組合 (-▼-)、25mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇（每 2 周一次）之組合 (-▲-)、或 25mg/kg OMP-18R5 與太平洋紫杉醇（每周一次）之組合 (-●-)。資料以治療後天數之腫瘤體積(mm^3)顯示。OMP-18R5 係經腹膜內投予，太平洋紫杉醇係以 15 mg/kg 之劑量每周投予一次。

[0037] 圖 3：OMP-18R5 對小鼠骨形成之影響。

[0038] 圖 4：唑來膦酸 (zoledronic acid) 對 OMP-18R5 治療小鼠之骨形成的影響。

【實施方式】

本發明之詳細說明

[0039] 本發明關於使用 Wnt 途徑抑制劑治療疾病。更特別地，本發明提供治療癌之方法，該方法包含單獨投予 Wnt 途徑抑制劑或與其他抗癌劑組合投予，及監測骨骼相關不良反應及／或毒性（包括與 Wnt 途徑抑制劑有關者）

之方法。

[0040] 抗FZD抗體OMP-18R5係於第1a期單劑藥物增量臨床試驗中投予給受試者。此早期試驗之資料以及動物試驗之結果顯示，投予Wnt途徑抑制劑如抗FZD抗體或FZD8-Fc可溶性受體，可能在某些病患導致骨骼相關不良反應及／或毒性。另外，該第1a期試驗顯示 β -CTX之量增加，可能是接受Wnt途徑抑制劑治療之病患，可能發生骨骼相關不良反應及／或毒性之早期指標，因此允許適當藥物之介入治療。

[0041] 這些結果使吾等想針對如本文所述之骨骼相關不良反應及／或毒性發展風險降低及監測策略，以用於接受Wnt途徑抑制劑（例如抗FZD抗體或可溶性FZD受體）作為單一劑治療或與額外抗癌劑組合治療之個體。

I. 定義

[0042] 為了促進對本發明之了解，以下定義一些用語及用詞。

[0043] 本文所使用之用語「拮抗劑」及「拮抗性」，係指部分或完全阻斷、抑制、減少、或中和標靶及／或傳訊途徑（例如Wnt途徑）之生物活性之任何分子。本文所使用之用語「拮抗劑」包括部分或完全阻斷、抑制、減少、或中和蛋白（例如FZD蛋白或Wnt蛋白）之活性的任何分子。適當之拮抗劑分子特別包括但不限於拮抗劑抗體、抗體片段、可溶性受體、或小分子。

[0044] 本文所使用之用語「調節」係指生物活性之改變或變化。調節包括但不限於刺激或抑制活性。調節可為增加或減少活性（例如減少Wnt途徑傳訊）、改變結合特性，或任何其他與蛋白、途徑、或其他生物關注點之活性有關之生物性、功能性、或免疫性性質之改變。

[0045] 本文所使用之用語「抗體」係指免疫球蛋白分子，該免疫球蛋白分子藉由彼之可變區內之至少一個抗原辨認區，辨認標靶（例如蛋白、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂質、或前述之組合）且與之專一性結合。如本文所使用，該用語包含完整多株抗體、完整單株抗體、單鏈抗體、抗體片段（諸如Fab、Fab'、F(ab')₂、及Fv片段）、單鏈Fv (scFv)抗體、多專一性抗體諸如雙專一性抗體、單專一性抗體、單價抗體、嵌合抗體、人化抗體、人抗體、包含抗體之抗原結合部位之融合蛋白，及任何其他包含抗原辨認區（例如抗原結合部位）之經修飾之免疫球蛋白分子，只要該抗體展現所欲之生物活性。抗體可為下列五種主要免疫球蛋白類型中之任一者：IgA、IgD、IgE、IgG、及IgM或彼等之亞型（同型）（例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2），此係根據彼等分別被稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及 μ 之重鏈恆定結構域命名。不同類型之免疫球蛋白具有不同且廣為周知之次單位結構及三維構型。抗體可為未經修飾(naked)或與其他分子共軛，該等其他分子包括但不限於毒素及放射性同位素。

[0046] 用語「抗體片段」係指完整抗體之部分且係

指完整抗體之抗原性決定可變區。抗原片段之實例包括但
不限於 Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 Fv 片段、線性抗體、單鏈抗
體及自抗體片段形成之多專一性抗體。本文所使用之「抗
體片段」包含抗原結合部位或表位結合部位。

[0047] 抗體之「可變區」用語係指抗體輕鏈之可變
區或抗體重鏈之可變區（不論單獨或組合指稱）。重鏈及
輕鏈之可變區各由四個架構區 (FR) 及連接該四個架構區之
三個互補決定區 (CDR) 組成，該三個 CDR 又名「超變異
區」。各鏈中之 CDR 被架構區拉近，並與來自其他鏈中之
CDR 一起形成該抗體之抗原結合部位。至少有兩種技術用
於測定 CDR：(1) 基於跨種序列變異性之方法（即 Kabat et
al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,
5th Edition, National Institutes of Health, Bethesda,
MD）；及 (2) 基於抗原-抗體複合物之結晶學研究之方法
(Al-Lazikani et al., 1997, *J. Mol. Biol.*, 273:927-948)。此
外，有時該領域組合使用這兩種技術以測定 CDR。

[0048] 本文所使用之用語「單株抗體」係指同源性
抗體群，其高度專一性辨認及結合單一抗原性決定簇或表
位。此與多株抗體相反，多株抗體通常包括多種以不同抗
原決定簇為目標之不同抗體之混合。用語「單株抗體」包
含完整及全長單株抗體，也包含抗體片段（例如 Fab、
Fab'、F(ab')₂、Fv）、單鏈 (scFv) 抗體、包含抗體部分之融
合蛋白質、及任何其他包含抗原辨認區（抗原結合部位）
之經修飾之免疫球蛋白分子。另外，「單株抗體」係指由

多種技術包括但不限於雜交瘤產製、噬菌體選擇、重組表現及基因轉殖動物製備之該等抗體。

[0049] 本文所使用之用語「人化抗體」係指非人（例如小鼠）抗體之形式，該形式係包含最少非人序列之特定免疫球蛋白鏈、嵌合性免疫球蛋白或彼等之片段。通常，人化抗體係其中CDR之殘基經非人物種（例如小鼠、大鼠、兔或倉鼠）之CDR殘基取代之人免疫球蛋白，其具有所欲之專一性、親和性及／或結合能力(Jones et al., 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, *Science*, 239:1534-1536)。在一些情況中，人免疫球蛋白之Fv架構區殘基係由具有所欲專一性、親和性及／或結合能力之非人物種之抗體的對應殘基取代。該人化抗體可進一步藉由取代Fv架構區及／或該經取代之非人殘基內之額外殘基加以修飾，以精進優化抗體專一性、親和性及／或結合能力。通常，該人化抗體將包含實質上所有之至少一個且通常兩或三個可變結構域，該可變結構域包含所有或實質上所有之對應該非人免疫球蛋白之CDR，然而所有或實質上所有之架構區係具有人免疫球蛋白共同序列之架構區。該人化抗體亦可包含至少部分之免疫球蛋白恆定區或恆定結構域(Fc)，通常為人免疫球蛋白之該部分。

[0050] 如本文所使用之用語「人抗體」係指由人體產製之抗體或具有對應由人體產製之抗體的胺基酸序列之抗體。人抗體可利用任何該領域已知之技術製備。此人抗

體之定義特別排除包含非人CDR之人化抗體。

[0051] 本文所使用之用語「嵌合抗體」係指其中該免疫球蛋白分子之胺基酸序列係源自二或多個物種之抗體。通常，輕鏈及重鏈之可變區皆對應源自一哺乳動物物種(例如小鼠、大鼠、兔等)之具有所欲專一性、親和性及/或結合能力之抗體的可變區，然而該恆定區對應源自另一物種(通常是人)之抗體中的序列。

[0052] 本文所使用之用詞「親和性成熟抗體」係指在彼之一或多個CDR中具有一或多個改變之抗體，該等改變導致該抗體對抗原之親和性增加，相較於不具有該等改變之母體抗體。該定義亦包括與CDR殘基改變一起發生之非CDR殘基之改變。較佳之親和性成熟抗體將具有奈莫耳或甚至皮莫耳程度之對標靶抗原之親和性。親和性成熟抗體係藉由該領域已知之方法產製。舉例來說，Marks et al., 1992, *Bio/Technology* 10:779-783描述藉由VH及VL結構域替換產生之親和性成熟。CDR及/或架構殘基之隨機突變形成係由Barbas et al., 1994, *PNAS*, 91:3809-3813; Schier et al., 1995, *Gene*, 169:147-155; Yelton et al., 1995, *J. Immunol.* 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, *J. Immunol.*, 154:3310-9; 及Hawkins et al., 1992, *J. Mol. Biol.*, 226:889-896所述。定點突變形成亦可被用來獲得親和性成熟抗體。

[0053] 用語「表位」及「抗原決定簇」在本文可交換使用，係指可被特定抗體辨識且專一性結合之抗原部

分。當抗原係多肽時，表位可自連續胺基酸或藉由蛋白質之三級摺疊並列之非連續胺基酸形成。自連續胺基酸形成之表位（又稱為線性表位）通常在蛋白質變性時仍被保留，然而藉由三級摺疊形成之表位（又稱為構形表位）通常在蛋白質變性時喪失。表位通常包括至少3個及更常地至少5或8至10個呈獨特空間構形之胺基酸。

[0054] 用語「選擇性結合」或「專一性結合」係指結合劑或抗體以更頻繁、更快速、更長時間、更高親和性或上述條件之某些組合與表位、蛋白質或標靶分子反應或結合，相較於可供選擇之物質包括非相關或相關蛋白。在某些實施態樣中，「專一性結合」係指例如抗體以大約0.1mM或更低，但通常低於大約1 μ M之 K_D 與蛋白質結合。在某些實施態樣中，「專一性結合」係指抗體有時以至少約0.1 μ M或更低，有時以至少約0.01 μ M或更低，且有時以至少約1nM或更低之 K_D 與標靶結合。由於不同物種之間的同源性蛋白質具有序列一致性，因此專一性結合可包括辨識超過一個物種之蛋白質之抗體（例如人FZD及小鼠FZD）。同樣地，由於不同蛋白之多肽序列的某些區域內具有同源性，因此專一性結合可包括辨識超過一種蛋白之抗體（或其他多肽或結合劑）。應了解的是，在某些實施態樣中，與第一標靶專一性結合之抗體或結合基團可能或可能不與第二標靶專一性結合。因此，「專一性結合」不一定表示（雖然可包括）排他性結合（即與單一標靶結合）。因此，在某些實施態樣中，抗體與一種以上之標靶

專一性結合。在某些實施態樣中，多重標靶可能由抗體上之相同的抗原結合部位結合。舉例來說，在某些情況下，抗體可能包含二個完全相同之抗原結合部位，該二個抗原結合部位各自與二或多個蛋白上之相同表位專一性結合。在一些實施態樣中，抗體可能為多專一性且包含至少二個具有不同專一性之抗原結合部位。以非限制性實例而言，雙專一性抗體可包含辨識一蛋白上之表位的一抗原結合部位，另包含辨識第二蛋白上之不同表位的第二、不同抗原結合部位。一般來說（但不必然），所謂的結合係指專一性結合。

[0055] 本文使用之用語「可溶性受體」係指受體蛋白在該受體之第一跨膜結構域之前的N端胞外片段（或彼之部分），其可以可溶形式自細胞分泌。

[0056] 本文使用之用語「FZD可溶性受體」或「可溶性FZD受體」係指FZD受體蛋白在該受體之第一跨膜結構域之前的N端胞外片段，其可以可溶形式自細胞分泌。包含整個N端胞外域(ECD)之FZD可溶性受體以及較小片段係由該用語涵蓋。因此，包含Fri結構域之FZD可溶性受體亦包括於此用語中。

[0057] 用語「多肽」和「肽」以及「蛋白」在本文可交換使用，這些用語係指任何長度之胺基酸的聚合物。該聚合物可為線性或分支，其可能包含經修飾之胺基酸，且其可能被非胺基酸中斷。該等用語亦包含經天然或人為干預修飾之胺基酸聚合物；例如雙硫鍵形成、糖基化、脂

化、乙醯化、磷酸化或任何其他操縱或修飾，諸如與標記成份共軛。該定義亦包括例如包含一或多個胺基酸類似物（包括例如非天然胺基酸）之多肽，以及包含該領域習知之其他修飾之多肽。應了解的是，由於本發明之多肽可能以抗體為主，因此在某些實施態樣中，該多肽可能為單鏈或相連之鏈（例如二聚體）。

[0058] 用語「多核苷酸」及「核酸」在本文可交換使用，係指任何長度之核苷酸之聚合物，包括DNA及RNA。該核苷酸可為去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、經修飾之核苷酸或鹼基及／或彼等之類似物，或任何可藉由DNA或RNA聚合酶被納入聚合物中之底物。

[0059] 在提及二或多個核酸或多肽時，用語「一致」或百分比「一致性」係指當二或多個序列或子序列經比較及排比（需要時導入間格）以達最高對應性且不把任何保守性胺基酸取代當作序列一致性之部分時，該二或多個序列或子序列係相同或具有相同之特定百分比之核苷酸或胺基酸殘基。該百分比一致性可利用序列比較軟體或演算法測量，或藉由目視檢查測量。多種可被用於取得胺基酸或核苷酸序列排比之演算法及軟體係該領域所廣為周知。該等演算法及軟體包括但不限於BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin套裝軟體及彼等之變化性產品。在一些實施態樣中，本發明之二個核酸或多肽係實質上一致，表示當彼等經比較或排比以達最高對應性時，利用序列比較演算法或目視檢查得知彼等具有至少

70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%且在一些實施態樣中至少95%、96%、97%、98%、99%之核苷酸或胺基酸殘基一致性。在一些實施態樣中，一致性存在於至少約10、至少約20、至少約40至60殘基、至少約60至80殘基長度或介於之間的任何整數長度之序列區域。在一些實施態樣中，一致性存在於60至80殘基以上之更長區域，諸如至少約80至100殘基，且在一些實施態樣中該等序列係與經比較之全長序列諸如核苷酸序列之編碼區域實質上一致。

[0060] 「保守性胺基酸取代」係指其中一個胺基酸殘基被另一個具有類似側鏈之胺基酸殘基取代之取代。具有類似側鏈之胺基酸殘基群係於該領域中定義，包括鹼性側鏈（例如離胺酸、精胺酸、組胺酸）、酸性側鏈（例如天冬胺酸、麩胺酸）、不帶電極性側鏈（例如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸）、非極性側鏈（例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸）、 β -分支側鏈（例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸）及芳香族側鏈（例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸）。舉例來說，以苯丙胺酸取代酪胺酸係保守性取代。較佳地，本發明之多肽及抗體之序列中的保守性取代不廢除含有該胺基酸序列之多肽或抗體與該多肽或抗體原本所結合之抗原（即該一或多種RSPO蛋白）之結合。識別不消除抗原結合性之核苷酸及胺基酸保守性取代之方法係該領域所廣為

周知。

[0061] 本文所使用之用語「載體」係指建構物，該建構物能在宿主細胞中遞送及通常表現一或多種感興趣之基因或序列。載體之實例包括但不限於病毒性載體、裸DNA或RNA表現載體、質體載體、黏質體載體、噬菌體載體、與陽離子縮合劑有關之DNA或RNA表現載體，及包封於脂質體中之DNA或RNA表現載體。

[0062] 經「分離」之多肽、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物係呈現未見於天然中之形式之多肽、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物。經分離之多肽、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物包括該些經純化至一定程度而使彼等不再以見於天然中之形式存在者。在一些實施態樣中，經純化之多肽、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物係實質上純的。

[0063] 本文所使用之用語「實質上純的」係指其為至少50%純的（即不含污染物）、至少90%純的、至少95%純的、至少98%純的或至少99%純的物質。

[0064] 本文所使用之用語「癌」及「癌性」係指稱或描述哺乳動物之生理狀況，其中細胞群具有未受調節之細胞生長之特徵。癌之實例包括但不限於癌(carcinoma)、胚細胞瘤、肉瘤及血液性癌諸如淋巴瘤及白血病。

[0065] 本文所使用之用語「腫瘤」及「瘤(neoplasm)」係指任何由過度細胞生長或增生所導致之組織團塊，不論是良性（非癌性）或包括癌前性病灶之惡性

（癌性）。

[0066] 本文所使用之用語「轉移」係指癌藉以自原發部位擴散或轉移至身體其他區域且在新位置發展類似癌性病灶之過程。「轉移」或「轉移性」細胞係指與鄰近細胞喪失黏著接觸且（例如經由血流或淋巴）自疾病之原發部位移動以入侵鄰近身體結構之細胞。

[0067] 用語「癌幹細胞」、「CSC」、「腫瘤幹細胞」及「腫瘤起始細胞」在本文可交換使用，係指源自癌或腫瘤且具有下列特性之細胞：(1)具有廣泛增生能力，(2)能進行不對稱細胞分裂以產生一或多種類型之經分化之細胞後代，其中該經分化之細胞具有減少之增生或發育能力，及(3)能進行對稱細胞分裂以自我更新或自我維持。這些特性授予癌幹細胞在連續移植至免疫不全宿主（例如小鼠）時能形成或建立腫瘤或癌之能力，大部分腫瘤細胞無法形成腫瘤。癌幹細胞以混亂方式進行自我更新及分化，以形成具有異常細胞類型之腫瘤，該細胞類型可在將來突變發生時改變。

[0068] 用語「癌細胞」及「腫瘤細胞」係指源自癌或腫瘤或癌前病灶之整體細胞族群，包括非腫瘤發生性細胞（其包含大部分之腫瘤細胞族群）及腫瘤發生性幹細胞（癌幹細胞）。本文使用之用語「癌細胞」或「腫瘤細胞」當僅用於指稱該些缺乏更新及分化能力之細胞時，將由用語「非腫瘤發生性」修飾以區別該些腫瘤細胞與癌幹細胞。

[0069] 本文所使用之用語「腫瘤發生性」係指癌幹細胞之功能特性，包括自我更新（導致額外之腫瘤發生性癌幹細胞）及增生以產生所有其他腫瘤細胞（導致經分化及因此非腫瘤發生性腫瘤細胞）之特性。

[0070] 本文所使用之用語「腫瘤發生性」係指源自腫瘤之隨機細胞樣本在連續移植至免疫不全宿主（例如小鼠）時形成明顯腫瘤之能力。此定義亦包括當連續移植至免疫不全宿主（例如小鼠）時形成明顯腫瘤之經富集及／或經分離之癌幹細胞族群。

[0071] 用語「個體」係指任何動物（例如哺乳動物），包括但不限於人、非人靈長動物、犬、貓、嚙齒動物及該類似動物，該動物將成為特定治療之接受者。通常，關於人個體之用語「個體」及「病患」在本文可交換使用。

[0072] 用語「醫藥上可接受」係指經美國聯邦政府之管理機關或州政府核准（或可核准）或經明列於美國藥典或其他普遍公認之藥典中以用於動物（包括人）之產品或化合物。

[0073] 用語「醫藥上可接受之賦形劑、載劑或佐劑」或「可接受之醫藥載劑」係指可與本發明之至少一種結合劑（例如抗體）一起投予至個體之賦形劑、載劑或佐劑，且該賦形劑、載劑或佐劑不破壞該結合劑之活性。該賦形劑、載劑或佐劑當與足以達到治療效應之劑量之結合劑一起投予時應不具毒性。

[0074] 用語「有效量」或「治療有效量」或「治療效應」係指有效「治療」個體或哺乳動物之疾病或疾患之結合劑、抗體、多肽、多核苷酸、小型有機分子或其他藥物之量。以癌為例，藥物（例如抗體）之治療有效量具有治療效應且因此可減少癌細胞之數量；降低腫瘤發生性、腫瘤發生頻率、或腫瘤發生能力；減少癌幹細胞之數量或頻率；減少腫瘤大小；減少癌細胞群；抑制及／或停止癌細胞浸潤至週邊器官包括例如癌擴散至軟組織及骨；抑制及／或停止腫瘤或癌細胞轉移；抑制及／或停止腫瘤或癌細胞生長；緩解一或多種與癌相關之症狀之嚴重程度；減少發病率及死亡率；促進生活品質；或該等效應之組合。以該劑舉例來說抗體預防現存癌細胞生長及／或殺死現存癌細胞之方面而言，其可被稱為細胞靜止性及／或細胞毒性。

[0075] 用語「治療」或「緩和」係指1)治療性措施，該措施治癒、減緩、減輕經診斷之病理狀況或疾患之症狀及／或停止該經診斷之病理狀況或疾患之進展及2)預防性或防範性措施，該措施預防或減緩標靶病理狀況或疾患之發展。因此該些需要治療者包括該些已罹患該疾患者、該些易於罹患該疾患者，以及該些欲預防該疾患者。在一些實施態樣中，個體係經本發明之方法成功「治療」，若該病患顯示下列一或多項：癌細胞之數量減少或完全消失；腫瘤大小減少；抑制或缺乏癌細胞浸潤至週邊器官包括癌細胞擴散至軟組織及骨；抑制或缺乏腫瘤或癌

細胞轉移；抑制或缺乏癌生長；緩解一或多種與該特定癌相關之症狀；減少發病率及死亡率；改善生活品質；減少腫瘤發生性；減少癌幹細胞之數量或頻率；或一些效應之組合。

[0076] 如本揭示內容及申請專利範圍中所使用者，單數形式之「一」(a, an)及「該」(the)包含複數形式除非上下文另外清楚地說明。

[0077] 應了解的是，只要本文之實施態樣係以用語「包含」描述，其亦提供其他以「由...組成」及／或「實質上由...組成」之用語所描述之類似實施態樣。也應了解的是，只要本文之實施態樣係以用語「實質上由...組成」描述，其亦提供其他以「由...組成」之用語所描述之類似實施態樣。

[0078] 如本文所使用，提及「約」或「大約」某數值或參數時，其包括（且描述）與該數值或參數相關之實施態樣。舉例來說，「約X」之敘述包括「X」之敘述。

[0079] 當使用於本文諸如「A及／或B」之片語中，用語「及／或」係意圖包括A及B兩者、A或B、A（單獨）及B（單獨）。同樣地，使用於片語諸如「A、B及／或C」中之用語「及／或」係意圖包含下列實施態樣中之各者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A（單獨）；B（單獨）；及C（單獨）。

II. Wnt途徑抑制劑

[0080] 本發明提供用於抑制腫瘤生長之方法及／或用於治療癌症之方法中之Wnt途徑抑制劑。

[0081] 在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係與一或多種人捲曲蛋白(FZD)結合之劑。該等劑在本文中被稱為「FZD結合劑」。在一些實施態樣中，該FZD結合劑與一、二、三、四、五、六、七、八、九、或十種FZD蛋白專一性結合。在一些實施態樣中，該FZD結合劑與一或多種選自下列之FZD蛋白結合：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、及FZD10。在一些實施態樣中，FZD結合劑與一或多種FZD蛋白結合，該一或多種FZD蛋白包含FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及／或FZD8。在某些實施態樣中，FZD結合劑與FZD7結合。在某些實施態樣中，FZD結合劑與FZD5及／或FZD8結合。在某些實施態樣中，該FZD結合劑與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8專一性結合。FZD結合劑之非限制性實例可見於美國專利第7,982,013號。

[0082] 在某些實施態樣中，該FZD結合劑係FZD拮抗劑。在某些實施態樣中，該FZD結合劑係Wnt途徑拮抗劑。在某些實施態樣中，該FZD結合劑抑制Wnt傳訊。在一些實施態樣中，該FZD結合劑抑制典型Wnt傳訊。

[0083] 在一些實施態樣中，該FZD結合劑係抗體。在一些實施態樣中，該FZD結合劑係多肽。在某些實施態樣中，該FZD結合劑係包含抗原結合部位之抗體或多肽。在

某些實施態樣中，本文所述之FZD結合抗體或多肽之抗原結合部位能與一、二、三、四、五、或更多種人FZD蛋白結合。在某些實施態樣中，該FZD結合抗體或多肽之抗原結合部位能與選自FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及FZD10之一、二、三、四、或五種人FZD蛋白專一性結合。在一些實施態樣中，當該FZD結合劑係與超過一種FZD蛋白結合之抗體時，其可能被稱為「泛FZD抗體」。

[0084] 在某些實施態樣中，該FZD結合劑（例如抗體）與其所結合之一或多種人FZD蛋白內之胞外域(ECD)專一性結合。在某些實施態樣中，該FZD結合劑在其所結合之人FZD蛋白之Fri結構域（亦稱為多半胱胺酸區(CRD)）內專一性結合。各種人FZD蛋白之Fri結構域的序列係該領域已知，且提供於本文為SEQ ID NO:13 (FZD1)、SEQ ID NO:14 (FZD2)、SEQ ID NO:15 (FZD3)、SEQ ID NO:16 (FZD4)、SEQ ID NO:17 (FZD5)、SEQ ID NO:18 (FZD6)、SEQ ID NO:19 (FZD7)、SEQ ID NO:20 (FZD8)、SEQ ID NO:21 (FZD9)、及SEQ ID NO:22 (FZD10)。

[0085] 在某些實施態樣中，該FZD結合劑與一、二、三、四、五、或多種FZD蛋白結合。在一些實施態樣中，該FZD結合劑與選自FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8中之一、二、三、四、或五種FZD蛋白專一性結合。在一些實施態樣中，該FZD結合劑與至少FZD5及FZD8專

一性結合。

[0086] 在一些實施態樣中，該FZD結合劑以大約 $1\mu\text{M}$ 或更低、大約 100nM 或更低、大約 40nM 或更低、大約 20nM 或更低、大約 10nM 或更低、大約 1nM 或更低、或大約 0.1nM 或更低之解離常數(K_D)與至少一種人FZD蛋白結合。在一些實施態樣中，FZD結合劑以大約 10nM 或更低之 K_D 與至少一種FZD蛋白結合。在一些實施態樣中，FZD結合劑以大約 1nM 或更低之 K_D 與至少一種FZD蛋白結合。在一些實施態樣中，FZD結合劑以大約 0.1nM 或更低之 K_D 與至少一種FZD蛋白結合。在某些實施態樣中，FZD結合劑以約 40nM 或更低之 K_D 與一或多種（例如1、2、3、4、或5種）FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8之各者結合。在某些實施態樣中，該FZD結合劑以約 10nM 或更低之 K_D 與一或多種FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8之各者結合。在某些實施態樣中，該FZD結合劑以約 10nM 之 K_D 與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8之各者結合。在一些實施態樣中，該結合劑（例如抗體）與FZD蛋白之 K_D 係利用固定於Biacore晶片上之FZD-Fc融合蛋白測得之 K_D ，該FZD-Fc融合蛋白包含至少部分之FZD胞外域或FZD-Fri結構域。

[0087] 在某些實施態樣中，該FZD結合劑以約 $1\mu\text{M}$ 或更低、約 100nM 或更低、約 40nM 或更低、約 20nM 或更低、約 10nM 或更低、或約 1nM 或更低之 EC_{50} 與一或多種（例如二或多種、三或多種、或四或多種）人FZD蛋白結

合。在某些實施態樣中，FZD結合劑以約40nM或更低、約20nM或更低、或約10nM或更低之 EC_{50} 與超過一種FZD蛋白結合。在某些實施態樣中，該FZD結合劑對下列一或多種（例如1、2、3、4、或5種）FZD蛋白具有約20nM或更低之 EC_{50} ：FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8。在某些實施態樣中，該FZD結合劑對下列一或多種（例如1、2、3、4、或5種）FZD蛋白具有約10nM或更低之 EC_{50} ：FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8。在某些實施態樣中，該FZD結合劑在與FZD5及／或FZD8結合方面具有約40nM或更低或20nM或更低之 EC_{50} 。

[0088] 在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係FZD結合劑，且該FZD結合劑係抗體。在一些實施態樣中，該抗體係重組抗體。在一些實施態樣中，該抗體係單株抗體。在一些實施態樣中，該抗體係嵌合抗體。在一些實施態樣中，該抗體係人化抗體。在一些實施態樣中，該抗體係人抗體。在某些實施態樣中，該抗體係IgG1抗體。在某些實施態樣中，該抗體係IgG2抗體。在某些實施態樣中，該抗體係包含抗原結合部位之抗體片段。在一些實施態樣中，該抗體係單價、單專一性、或雙價。在一些實施態樣中，該抗體係雙專一性抗體或多專一性抗體。在一些實施態樣中，該抗體係與細胞毒性部分共軛。在一些實施態樣中，該抗體係經分離。在一些實施態樣中，該抗體係實質上純的。

[0089] 本發明之FZD結合劑（例如抗體）之專一性結

合可使用該領域已知之任何方法檢測。可使用之免疫檢測包括但不限於競爭性及非競爭性檢測系統，該等系統利用諸如 Biacore 分析、FACS 分析、免疫螢光、免疫細胞化學、西方墨點分析、放射性免疫測定、ELISA、「三明治式」免疫測定、免疫沉澱分析、沉澱反應、膠體擴散沉澱反應、免疫擴散分析、凝集測定、補體固定測定、免疫放射分析、螢光免疫分析及蛋白質 A 免疫分析之技術。該等檢測係例行性檢測且為該領域中廣為周知（見例如 Ausubel et al., Editors, 1994-present, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., New York, NY）。

[0090] 舉例來說，抗體與人 FZD 蛋白之專一性結合可利用 ELISA 測定。ELISA 測定包含準備抗原，以抗原包覆 96 孔微量板之孔槽，添加與可檢測之化合物諸如酶受質（例如辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶）共軛之 FZD 結合劑（例如抗體）至孔槽，培養一段時間後，檢測與該抗原結合之 FZD 結合劑之存在。在一些實施態樣中，該 FZD 結合抗體或劑不與可檢測之化合物共軛，而是將辨識該 FZD 結合抗體或劑或抗體之第二共軛抗體（例如抗 Fc 抗體）加入孔槽中。在一些實施態樣中，不以抗原包覆孔槽，反而是以 FZD 結合抗體或劑包覆孔槽，並於添加抗原至該經包覆之孔槽後加入與可檢測之化合物共軛之第二抗體。該領域之技藝人士將知道可經修改以增加及／或最佳化檢測信號之參數以及可使用之 ELISA 之其他變數。

[0091] 在另一實例中，抗體與人FZD蛋白之專一性結合可利用FACS測定。FACS篩選測定可包含產製cDNA建構物以表現抗原為融合蛋白，將該建構物轉染至細胞中，使該抗原表現在細胞表面，使該FZD結合抗體或其他FZD結合劑與該經轉染之細胞混合，並培養一段時間。被FZD結合抗體或其他FZD結合劑結合之細胞，可利用與可檢測之化合物共軛之二級抗體（例如PE共軛抗Fc抗體）及流式細胞分析識別。該領域之技藝人士將知道可經修改以最佳化經檢測之信號之參數以及其他可增進篩選（例如篩選阻斷抗體）之FACS變數。

[0092] 抗體或其他結合劑與抗原（例如FZD蛋白）之結合親和性，及抗體-抗原交互反應之解離速率，可藉由競爭性結合測定決定。競爭性結合測定之一實例係放射性免疫測定，其包含在漸增量之未經標記之抗原存在下，培養經標記之抗原（例如 ^3H 或 ^{125}I ）或彼之片段或變異體與感興趣之抗體，之後檢測與該經標記之抗原結合之抗體。該抗體對抗原（例如FZD蛋白）之親和性及結合解離速率可由斯卡查德(Scatchard)圖分析之資料決定。在一些實施態樣中，Biacore動力學分析係用於測定與抗原（例如FZD蛋白）結合之抗體或劑之結合及解離速率。Biacore動力學分析包含分析抗體與晶片表面上經固定之抗原（例如FZD蛋白）之結合及解離。

[0093] 在某些實施態樣中，本發明提供Wnt途徑抑制劑，其係包含重鏈CDR1、重鏈CDR2、及重鏈CDR3之FZD

結合劑（例如抗體），該重鏈 CDR1 包含 GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1)，該重鏈 CDR2 包含 VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2)，且該重鏈 CDR3 包含 NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3)。在一些實施態樣中，該 FZD 結合劑另包含輕鏈 CDR1、輕鏈 CDR2、及輕鏈 CDR3，該輕鏈 CDR1 包含 SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4)，該輕鏈 CDR2 包含 DKSNRPSG (SEQ ID NO:5)，且該輕鏈 CDR3 包含 QSYANTLSL (SEQ ID NO:6)。在一些實施態樣中，該 FZD 結合劑包含：包含 SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4) 之輕鏈 CDR1、包含 DKSNRPSG (SEQ ID NO:5) 之輕鏈 CDR2、及包含 QSYANTLSL (SEQ ID NO:6) 之輕鏈 CDR3。在某些實施態樣中，該 FZD 結合劑包含：(a) 包含 GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1) 之重鏈 CDR1、包含 VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2) 之重鏈 CDR2、及包含 NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3) 之重鏈 CDR3，及 (b) 包含 SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4) 之輕鏈 CDR1、包含 DKSNRPSG (SEQ ID NO:5) 之輕鏈 CDR2、及包含 QSYANTLSL (SEQ ID NO:6) 之輕鏈 CDR3。

[0094] 在某些實施態樣中，本發明提供包含下列之 FZD 結合劑（例如抗體）：(a) 包含 GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1) 之重鏈 CDR1，或彼之包含 1、2、3、或 4 個胺基酸取代之變異體；(b) 包含 VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2) 之重鏈 CDR2，或彼之包含 1、2、3、或 4 個胺基酸取代之變異體；(c) 包含 NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3) 之重鏈

CDR3，或彼之包含1、2、3、或4個胺基酸取代之變異體；(d)包含SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4)之輕鏈CDR1，或彼之包含1、2、3、或4個胺基酸取代之變異體；(e)包含DKSNRPSG (SEQ ID NO:5)之輕鏈CDR2，或彼之包含1、2、3、或4個胺基酸取代之變異體；及(f)包含QSYANTLSL (SEQ ID NO:6)之輕鏈CDR3，或彼之包含1、2、3、或4個胺基酸取代之變異體。在某些實施態樣中，該胺基酸取代係保守性取代。

[0095] 在某些實施態樣中，本發明提供包含重鏈可變區及／或輕鏈可變區之FZD結合劑（例如抗體），該重鏈可變區與SEQ ID NO:7具有至少約80%序列一致性，該輕鏈可變區與SEQ ID NO:8具有至少80%序列一致性。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含與SEQ ID NO:7具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、或至少約99%序列一致性之重鏈可變區。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含與SEQ ID NO:8具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、或至少約99%序列一致性之輕鏈可變區。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含與SEQ ID NO:7具有至少約95%序列一致性之重鏈可變區，及／或與SEQ ID NO:8具有至少約95%序列一致性之輕鏈可變區。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含：包含SEQ ID NO:7之重鏈可變區，及／或包含SEQ ID NO:8之輕鏈可變區。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含：包含SEQ ID NO:7之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:8之輕鏈

可變區。在某些實施態樣中，該FZD結合劑包含：實質上由SEQ ID NO:7組成之重鏈可變區及實質上由SEQ ID NO:8組成之輕鏈可變區。

[0096] 在某些實施態樣中，本發明提供包含下列之FZD結合劑（例如抗體）：(a)與SEQ ID NO:9（有或無信號序列）或SEQ ID NO:11具有至少90%序列一致性之重鏈；及／或(b)與SEQ ID NO:10（有或無信號序列）或SEQ ID NO:12具有至少90%序列一致性之輕鏈。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含：(a)與SEQ ID NO:9（有或無信號序列）或SEQ ID NO:11具有至少95%序列一致性之重鏈；及／或(b)與SEQ ID NO:10（有或無信號序列）或SEQ ID NO:12具有至少95%序列一致性之輕鏈。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含：包含SEQ ID NO:9（有或無信號序列）或SEQ ID NO:11之重鏈，及／或包含SEQ ID NO:10（有或無信號序列）或SEQ ID NO:12之輕鏈。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含：包含SEQ ID NO:11之重鏈及包含SEQ ID NO:12之輕鏈。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含：實質上由SEQ ID NO:9之胺基酸20至463所組成之重鏈及實質上由SEQ ID NO:10之胺基酸20至232所組成之輕鏈。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含：實質上由SEQ ID NO:11組成之重鏈及實質上由SEQ ID NO:12組成之輕鏈。

[0097] 在某些實施態樣中，本發明提供Wnt途徑抑制劑，其係與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7及／或FZD8中之

至少一者專一性結合之FZD結合劑（例如抗體），其中該FZD結合劑（例如抗體）包含抗體OMP-18R5之一、二、三、四、五、及／或六個CDR。抗體OMP-18R5（亦稱為18R5及凡地吐單抗(vantictumab)），以及其他FZD結合劑，已於美國專利第7,982,013號中先行描述。編碼該OMP-18R5 IgG2抗體之重鏈及輕鏈的DNA，依照布達佩斯條約之規定，於2008年9月29日以ATCC編號PTA-9541寄存於美國菌種保存中心。在一些實施態樣中，該FZD結合劑包含OMP-18R5之1或多個CDR、OMP-18R5之2或多個CDR、OMP-18R5之3或多個CDR、OMP-18R5之4或多個CDR、OMP-18R5之5或多個CDR、或OMP-18R5之所有6個CDR。

[0098] 本發明提供其係Wnt途徑抑制劑之多肽。該等多肽包括但不限於與人FZD蛋白專一性結合之抗體。在一些實施態樣中，多肽與一或多種選自下列之FZD蛋白結合：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、及FZD10。在一些實施態樣中，多肽與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及／或FZD8結合。在一些實施態樣中，多肽與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及FZD8結合。

[0099] 在某些實施態樣中，多肽包含抗體OMP-18R5之一、二、三、四、五、及／或六個CDR。在一些實施態樣中，多肽包含其中每個CDR有最多有四個（即0、1、2、3、或4個）胺基酸取代之CDR。在某些實施態樣中，

該重鏈CDR被包含於重鏈可變區之內。在某些實施態樣中，該輕鏈CDR被包含於輕鏈可變區之內。

[0100] 在一些實施態樣中，本發明提供與一或多種人FZD蛋白專一性結合之多肽，其中該多肽包含與SEQ ID NO:7具有至少約80%序列一致性之胺基酸序列，及／或與SEQ ID NO:8具有至少約80%序列一致性之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含與SEQ ID NO:7具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、或至少約99%序列一致性之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含與SEQ ID NO:8具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約97%、或至少約99%序列一致性之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含與SEQ ID NO:7具有至少約95%序列一致性之胺基酸序列，及／或與SEQ ID NO:8具有至少約95%序列一致性之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含：包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列，及／或包含SEQ ID NO:8之胺基酸序列。

[0101] 在一些實施態樣中，FZD結合劑包含多肽，該多肽包含選自下列之序列：SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、及SEQ ID NO:12。

[0102] 在某些實施態樣中，FZD結合劑包含OMP-18R5抗體之重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施態樣中，FZD結合劑包含（有或無前導序列之）OMP-18R5抗體之重鏈及輕鏈。

[0103] 在某些實施態樣中，FZD結合劑包含抗體OMP-18R5、實質上由抗體OMP-18R5組成、或由抗體OMP-18R5組成。

[0104] 在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與包含下列之抗體競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合：包含SEQ ID NO:7之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:8之輕鏈可變區。在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與包含下列之抗體競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合：包含SEQ ID NO:9（有或無信號序列）之重鏈及包含SEQ ID NO:10（有或無信號序列）之輕鏈。在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與包含下列之抗體競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合：包含SEQ ID NO:11之重鏈及包含SEQ ID NO:12之輕鏈。在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與包含下列之抗體競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合：由寄存於ATCC之編號PTA-9541之質體所編碼之重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施態樣中，FZD結合劑與抗體OMP-18R5競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合。在一些實施態樣中，FZD結合劑或抗體於活體外(*in vitro*)競爭性結合測定中競爭與一或多種人FZD蛋白之專一性結合。

[0105] 在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與一或多種人FZD蛋白上由本發明之抗體所結合之相同表位或實質上相同之表位結合。在另一實施態樣中，FZD結合劑係與一或多種人FZD蛋白上之表位結合之抗體，該表

位與由本發明之抗體所結合之FZD蛋白上之表位重疊。在某些實施態樣中，FZD結合劑（例如抗體）與一或多種FZD蛋白上由抗體OMP-18R5所結合之相同表位或實質上相同之表位結合。在另一實施態樣中，該FZD結合劑係與一或多種人FZD蛋白上之表位結合之抗體，該表位與由抗體OMP-18R5所結合之FZD蛋白上之表位重疊。

[0106] 在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係與一或多種人Wnt蛋白結合之劑。該等劑在本文被稱為「Wnt結合劑」。在某些實施態樣中，該等劑與一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、或更多種Wnt蛋白專一性結合。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑與一或多種選自下列之人Wnt蛋白結合：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt9a、Wnt9b、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、及Wnt16。在某些實施態樣中，Wnt結合劑與一或多種（或二或更多種、三或更多種、四或更多種、五或更多種、等）選自下列之Wnt蛋白結合：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及Wnt10b。在某些實施態樣中，該一或多種（或二或更多種、三或更多種、四或更多種、五或更多種、等）Wnt蛋白係選自下列：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及Wnt10b。

[0107] 在某些實施態樣中，該Wnt結合劑係Wnt拮抗

劑。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係 Wnt 途徑拮抗劑。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑抑制 Wnt 傳訊。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑抑制典型 Wnt 傳訊。

[0108] 在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係抗體。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係多肽。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係包含抗原結合部位之抗體或多肽。在某些實施態樣中，本文所述之 Wnt 結合抗體或多肽之抗原結合部位能與一、二、三、四、五、或更多種人 Wnt 蛋白結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合抗體或多肽之抗原結合部位能與一、二、三、四、或五種選自 Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及 Wnt10b 之人 Wnt 蛋白專一性結合。Wnt 結合劑之非限制性實例可見於國際公開號 WO 2011/088127。

[0109] 在某些實施態樣中，Wnt 結合劑與一或多種人 Wnt 蛋白之 C 端多半胱胺酸區結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑與位於該劑或抗體所結合之一或多種 Wnt 蛋白內之結構域結合，該一或多種 Wnt 蛋白係選自下列：SEQ ID NO:46 (Wnt1)、SEQ ID NO:47 (Wnt2)、SEQ ID NO:48 (Wnt2b)、SEQ ID NO:49 (Wnt3)、SEQ ID NO:50 (Wnt3a)、SEQ ID NO:51 (Wnt7a)、SEQ ID NO:52 (Wnt7b)、SEQ ID NO:53 (Wnt8a)、SEQ ID NO:54 (Wnt8b)、SEQ ID NO:55 (Wnt10a)、及 SEQ ID NO:56 (Wnt10b)。

[0110] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑以約 $1\mu\text{M}$ 或更低、約 100nM 或更低、約 40nM 或更低、約 20nM 或更低、或約 10nM 或更低之 K_D 與一或多種（例如二或多種、三或多種、或四或多種）Wnt 蛋白結合。舉例來說，在某些實施態樣中，本文所述之與超過一種 Wnt 蛋白結合之 Wnt 結合劑，以約 100nM 或更低、約 20nM 或更低、或約 10nM 或更低之 K_D 與該些 Wnt 蛋白結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑以約 40nM 或更低之 K_D 與一或多種（例如 1、2、3、4、或 5 種）Wnt 蛋白中之各者結合，其中該等 Wnt 蛋白係選自下列：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a 及 Wnt10b。在一些實施態樣中，該結合劑（例如抗體）與 Wnt 蛋白之 K_D 係利用固定於 Biacore 晶片上之包含至少部分之 Wnt C 端多半胱胺酸區之 Wnt 融合蛋白測得之 K_D 。

[0111] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑以約 $1\mu\text{M}$ 或更低、約 100nM 或更低、約 40nM 或更低、約 20nM 或更低、約 10nM 或更低、或約 1nM 或更低之 EC_{50} 與一或多種（例如二或多種、三或多種、或四或多種）人 Wnt 蛋白結合。在某些實施態樣中，Wnt 結合劑以約 40nM 或更低、約 20nM 或更低、或約 10nM 或更低之 EC_{50} 與超過一種 Wnt 結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑相對於一或多種（例如 1、2、3、4、或 5 種）Wnt 蛋白 Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt9a、Wnt9b、

Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、及／或Wnt16具有約20nM或更低之 EC_{50} 。在某些實施態樣中，該Wnt結合劑相對於一或多種（例如1、2、3、4、或5種）下列Wnt蛋白具有約10nM或更低之 EC_{50} ：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及／或Wnt10b。

[0112] 在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係Wnt結合劑，且該Wnt結合劑係抗體。在一些實施態樣中，該抗體係重組抗體。在一些實施態樣中，該抗體係單株抗體。在一些實施態樣中，該抗體係嵌合抗體。在一些實施態樣中，該抗體係人化抗體。在一些實施態樣中，該抗體係人抗體。在某些實施態樣中，該抗體係IgG1抗體。在某些實施態樣中，該抗體係IgG2抗體。在某些實施態樣中，該抗體係包含抗原結合部位之抗體片段。在一些實施態樣中，該抗體係單價、單專一性、或雙價。在一些實施態樣中，該抗體係雙專一性抗體或多專一性抗體。在一些實施態樣中，該抗體係與細胞毒性部分共軛。在一些實施態樣中，該抗體係經分離。在一些實施態樣中，該抗體係實質上純的。

[0113] 本發明之Wnt結合劑（例如抗體）之專一性結合可使用如本文所述之用於FZD結合劑之該領域已知之任何方法檢測。

[0114] 舉例來說，抗體與人Wnt蛋白之專一性結合可利用ELISA測定。ELISA測定包含準備抗原，以抗原包覆96孔微量板之孔槽，添加與可檢測之化合物諸如酶受質

(例如辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)共軛之Wnt結合劑(例如抗體)至孔槽,培養一段時間後,檢測與該抗原結合之Wnt結合劑之存在。在一些實施態樣中,該Wnt結合抗體或劑不與可檢測之化合物共軛,而是將辨識該Wnt結合抗體或劑或抗體之第二共軛抗體(例如抗Fc抗體)加入孔槽中。在一些實施態樣中,不以抗原包覆孔槽,反而是以Wnt結合抗體或劑包覆孔槽,並於添加抗原至該經包覆之孔槽後加入與可檢測之化合物共軛之第二抗體。該領域之技藝人士將知道可經修改以增加及/或最佳化檢測信號之參數以及可使用之ELISA之其他變數。

[0115] 在另一實例中,抗體與人Wnt蛋白之專一性結合可利用FACS測定。FACS篩選測定可包含產製cDNA建構物以表現抗原為融合蛋白質,將該建構物轉染至細胞中,使該抗原表現在細胞表面,使該Wnt結合抗體與該經轉染之細胞混合,並培養一段時間。被Wnt結合抗體結合之細胞可利用與可檢測之化合物共軛之二級抗體(例如與PE共軛之抗Fc抗體)及流式細胞分析識別。該領域之技藝人士將了解可經修改以優化經檢測之信號之參數以及其他可增進篩選(例如篩選阻斷抗體)之FACS變數。

[0116] Wnt結合劑與抗原(例如Wnt蛋白)之結合親和性,及抗體-抗原交互反應之解離速率,可藉由競爭性結合測定決定,諸如上述用於FZD結合劑者。

[0117] 在某些實施態樣中,該Wnt結合劑係可溶性受體。在某些實施態樣中,該Wnt結合劑包含FZD受體蛋白

之胞外域。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含 FZD 蛋白之 Fri 結構域。在一些實施態樣中，包含 FZD Fri 結構域之可溶性受體相較於包含該完整 FZD ECD 之可溶性受體可顯示改變之生物活性（例如增加蛋白半衰期）。蛋白半衰期可進一步藉由聚乙二醇(PEG)或聚氧乙烯(PEO)之共價修飾延長。在某些實施態樣中，該 FZD 蛋白係人 FZD 蛋白。在某些實施態樣中，該人 FZD 蛋白係 FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9 或 FZD10。可溶性 FZD 受體之非限制性實例可見於美國專利第 7,723,477 及 7,947,277 號及美國專利公開號 2011/0305695 中。

[0118] 人 FZD1 至 10 蛋白中各者之預測 Fri 結構域係提供為 SEQ ID NO:13 至 22。人 FZD1 至 10 蛋白中各者之預測最小 Fri 結構域係提供為 SEQ ID NO:23 至 32。該領域之技藝人士對於對應各種 Fri 結構域之確切胺基酸的了解可能互異。因此，上述及本文所述之結構域的 N 端及／或 C 端可延長或縮短 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或甚至 10 個胺基酸。

[0119] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含與一或多種人 Wnt 蛋白結合之人 FZD 蛋白之 Fri 結構域，或該 Fri 結構域之片段或變異體。在某些實施態樣中，該人 FZD 蛋白係 FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、或 FZD10。在某些實施態樣中，該人 FZD 蛋白係 FZD4。在某些實施態樣中，該人 FZD 蛋白係

FZD5。在某些實施態樣中，該人FZD蛋白係FZD8。在某些實施態樣中，該人FZD蛋白係FZD10。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD4且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:16。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD5且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:17。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD7且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:19。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD8且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:20。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD10且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:22。在某些實施態樣中，該FZD蛋白係FZD8且該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:33。

[0120] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含Fri結構域，該Fri結構域包含FZD1 (SEQ ID NO:23)之最小Fri結構域、FZD2 (SEQ ID NO:24)之最小Fri結構域、FZD3 (SEQ ID NO:25)之最小Fri結構域、FZD4 (SEQ ID NO:26)之最小Fri結構域、FZD5 (SEQ ID NO:27)之最小Fri結構域、FZD6 (SEQ ID NO:28)之最小Fri結構域、FZD7 (SEQ ID NO:29)之最小Fri結構域、FZD8 (SEQ ID NO:30)之最小Fri結構域、FZD9 (SEQ ID NO:31)之最小Fri結構域、或FZD10 (SEQ ID NO:32)之最小Fri結構域。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含Fri結構域，該Fri結構域包含FZD8 (SEQ ID NO:30)之最小Fri結構域。

[0121] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含Fri結構域，該Fri結構域實質上由FZD1之Fri結構域、FZD2之Fri結構域、FZD3之Fri結構域、FZD4之Fri結構域、FZD5

之 Fri 結構域、FZD6 之 Fri 結構域、FZD7 之 Fri 結構域、FZD8 之 Fri 結構域、FZD9 之 Fri 結構域、或 FZD10 之 Fri 結構域組成。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含實質上由 FZD8 之 Fri 結構域組成之 Fri 結構域。

[0122] 在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含選自下列之序列：SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、及 SEQ ID NO:33。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含實質上由 SEQ ID NO:20 組成之 Fri 結構域。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含實質上由 SEQ ID NO:33 組成之 Fri 結構域。

[0123] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含前述 FZD Fri 結構域序列之任一者的變異體，其包含一或多個（例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十個、等）保守性取代且能與 Wnt 蛋白結合。

[0124] 在某些實施態樣中，Wnt 結合劑（例如包含人 FZD 受體之 Fri 結構域之劑）另包含非 FZD 多肽。在一些實施態樣中，FZD 可溶性受體可包括與其他非 FZD 功能性及結構性多肽連接之 FZD ECD 或 Fri 結構域，該等非 FZD 功能性及結構性多肽包括但不限於人 Fc 區、蛋白標籤（例如

myc、FLAG、GST)、其他內源性蛋白或蛋白片段,或任何其他可用之蛋白序列包括在FZD ECD或Fri結構域與第二多肽之間的任何連接子區。在某些實施態樣中,該非FZD多肽包含人Fc區。該Fc區可自任一類型之免疫球蛋白如IgG、IgA、IgM、IgD及IgE獲得。在一些實施態樣中,該Fc區係人IgG1 Fc區。在一些實施態樣中,該Fc區係人IgG2 Fc區。在一些實施態樣中,該Fc區係野生型Fc區。在一些實施態樣中,該Fc區係成熟型Fc區。在一些實施態樣中,該Fc區之N端係經截短1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸(例如在絞鏈結構域)。在一些實施態樣中,在絞鏈結構域之胺基酸係經改變以阻止非所欲之雙硫鍵形成。在一些實施態樣中,半胱胺酸係經絲胺酸取代以阻礙或阻止非所欲之雙硫鍵形成。在一些實施態樣中,該Fc區之C端係經截短1、2、3、或更多個胺基酸。在一些實施態樣中,該Fc區之C端係經截短1個胺基酸。在某些實施態樣中,該非FZD多肽包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38。在某些實施態樣中,該非FZD多肽實質上由SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38組成。在某些實施態樣中,該非FZD多肽實質上由SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:37組成。

[0125] 在某些實施態樣中,Wnt結合劑係包含FZD受體之至少一最小Fri結構域與一Fc區之融合蛋白。本文所使用之「融合蛋白」係由包含至少二種基因之核苷酸序列

的核酸分子表現之雜合蛋白。在一些實施態樣中，該第一多肽之C端係與該免疫球蛋白Fc區之N端連接。在一些實施態樣中，該第一多肽（例如FZD Fri結構域）係與該Fc區直接相連（即不含中介肽連接子）。在一些實施態樣中，該第一多肽係與該Fc區經由連接子相連。

[0126] 本文使用之用語「連接子」係指插入第一多肽（例如FZD成分）與第二多肽（例如Fc區）之間的連接子。在一些實施態樣中，該連接子係肽連接子。連接子不應不良影響該多肽之表現、分泌或生物活性。連接子應不具抗原性且不應誘發免疫反應。適當之連接子係該領域之技藝人士所知，通常包括甘胺酸及絲胺酸殘基之混合物，且通常包括無空間位阻之胺基酸。其他可被納入於可用連接子之胺基酸包括蘇胺酸及丙胺酸殘基。連接子之長度範圍廣泛，例如1至50個胺基酸長度、1至22個胺基酸長度、1至10個胺基酸長度、1至5個胺基酸長度或1至3個胺基酸長度。連接子可能包括但不限於SerGly、GGSG、GSGS、GGGS、S(GGS)_n 其中n係1至7、GRA、聚(Gly)、聚(Ala)、ESGGGGVT (SEQ ID NO:57)、LESGGGGVT (SEQ ID NO:58)、GRAQVT (SEQ ID NO:59)、WRAQVT (SEQ ID NO:60)及ARGRAQVT (SEQ ID NO:61)。本文所使用之連接子係不包括來自該第一多肽（例如FZD Fri結構域）之C端或該第二多肽（例如Fc區）之N端的胺基酸殘基之中介肽序列。

[0127] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含FZD

Fri結構域、Fc區及連接該FZD Fri結構域與該Fc區之連接子。在一些實施態樣中，該FZD Fri結構域包含SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:30、或SEQ ID NO:33。在一些實施態樣中，該連接子包含ESGGGGVT (SEQ ID NO:57)或LESGGGGGVT (SEQ ID NO:58)。

[0128] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含第一多肽及第二多肽，該第一多肽包含SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、或SEQ ID NO:33，該第二多肽包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38，其中該第一多肽係與該第二多肽直接連接。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID NO:20之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID NO:20之第一多肽及包含SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:37之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：實質上由SEQ ID NO:20組成之第一多肽及實質上由SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:37組成之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID

NO:30之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID NO:30之第一多肽及包含SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:37之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID NO:33之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：包含SEQ ID NO:33之第一多肽及包含SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:35之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：實質上由SEQ ID NO:33組成之第一多肽及實質上由SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:35組成之第二多肽。

[0129] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含第一多肽及第二多肽，該第一多肽包含SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、或SEQ ID NO:33，該第二多肽包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38，其中該第一多肽係藉由連接子

與該第二多肽連接。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：包含 SEQ ID NO:20 之第一多肽及包含 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或 SEQ ID NO:38 之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：包含 SEQ ID NO:20 之第一多肽及包含 SEQ ID NO:36 或 SEQ ID NO:37 之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：實質上由 SEQ ID NO:20 組成之第一多肽及實質上由 SEQ ID NO:36 或 SEQ ID NO:37 組成之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：包含 SEQ ID NO:30 之第一多肽及包含 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或 SEQ ID NO:38 之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：包含 SEQ ID NO:33 之第一多肽及包含 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或 SEQ ID NO:38 之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：包含 SEQ ID NO:33 之第一多肽及包含 SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或 SEQ ID NO:35 之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：實質上由 SEQ ID NO:33 組成之第一多肽及實質上由 SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或 SEQ ID NO:35 組成之第二多肽。

[0130] 在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含第一多肽及第二多肽，該第一多肽與 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID

NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、或SEQ ID NO:33具有至少95%一致性，該第二多肽包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38，其中該第一多肽係與該第二多肽直接連接。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含：與SEQ ID NO:20具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt結合劑包含：與SEQ ID NO:30具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該 Wnt結合劑包含：與SEQ ID NO:33具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。

[0131] 在一些實施態樣中，該 Wnt結合劑包含第一多肽及第二多肽，該第一多肽與SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、

SEQ ID NO:32、或SEQ ID NO:33具有至少95%一致性，該第二多肽包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38，其中該第一多肽係經由連接子與該第二多肽連接。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：與SEQ ID NO:20具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：與SEQ ID NO:30具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含：與SEQ ID NO:33具有至少95%一致性之第一多肽及包含SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、或SEQ ID NO:38之第二多肽。

[0132] FZD蛋白包含引導該蛋白運輸之信號序列。信號序列（又稱信號肽或前導序列）位於新生多肽之N端。它們引導該多肽至內質網且該等蛋白被分類至彼等應該去的地方，例如胞器之內部空間、細胞內部之膜、細胞之外膜或經分泌至細胞外部。大部分信號序列在蛋白被運送至內質網後，藉由信號肽酶與該蛋白切割。自該多肽切割該信號序列通常發生於胺基酸序列的特定位點，且取決於該信號序列內之胺基酸殘基。雖然通常有一個特定的切割位點，但信號肽酶可能識別及／或使用一個以上之切割位點，導致該多肽不相同之N端。舉例來說，使用信號序列

內之不同的切割位點可導致具有不同N端胺基酸之多肽的表現。因此，在一些實施態樣中，本文所述之多肽可能包含具有不同N端之多肽的混合物。在一些實施態樣中，該N端之長度相差1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個胺基酸。在一些實施態樣中，該N端之長度相差1、2、3、4或5個胺基酸。在一些實施態樣中，該多肽為實質上相同，即該多肽具有相同之N端。在一些實施態樣中，該多肽之信號序列包含一或多個（例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、等等）胺基酸取代及／或刪除。在一些實施態樣中，該多肽之信號序列包含讓一個切割位點變成主要切割位點之胺基酸取代及／或刪除，藉此導致具有一種N端之實質上相同之多肽。

[0133] 在一些實施態樣中，該Wnt結合劑包含選自下列之胺基酸序列：SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、及SEQ ID NO:45。

[0134] 在某些實施態樣中，該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:39之序列。在某些實施態樣中，該劑包含SEQ ID NO:39之序列，該序列包含一或多個（例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、等等）保守性取代。在某些實施態樣中，該劑包含與SEQ ID NO:39具有至少約90%、約95%、或約98%序列一致性之序列。在某些實施態樣中，SEQ ID NO:39之變異體維持其與一或多種人Wnt蛋白結合之能力。

[0135] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含 SEQ ID NO:40 之序列。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係 SEQ ID NO:40。在某些替代性實施態樣中，該劑包含 SEQ ID NO:40 之序列，該序列包含一或多個（例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、等等）保守性取代。在某些實施態樣中，該劑包含與 SEQ ID NO:40 具有至少約 90%、約 95%、或約 98% 序列一致性之序列。在某些實施態樣中，SEQ ID NO:40 之變異體維持其與一或多種人 Wnt 蛋白結合之能力。

[0136] 在某些實施態樣中，該 Wnt 結合劑包含 SEQ ID NO:41 之序列。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係 SEQ ID NO:41。在某些替代性實施態樣中，該劑包含 SEQ ID NO:41 之序列，該序列包含一或多個（例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、等等）保守性取代。在某些實施態樣中，該劑包含與 SEQ ID NO:41 具有至少約 90%、約 95%、或約 98% 序列一致性之序列。在某些實施態樣中，SEQ ID NO:41 之變異體維持其與一或多種人 Wnt 蛋白結合之能力。

[0137] 在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑係 OMP-54F28（又稱為 54F28）。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑不是 OMP-54F28。

[0138] 在某些實施態樣中，Wnt 結合劑係多肽，其包含選自 SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、及 SEQ

ID NO:45之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含選自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、及SEQ ID NO:41之胺基酸序列。在一些實施態樣中，多肽實質上由選自下列之胺基酸序列組成：SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40及SEQ ID NO:41。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列。在一些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:40之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:42之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:43之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列。在某些實施態樣中，該多肽包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列。

[0139] 在一些實施態樣中，該多肽係實質上經純化之包含選自SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、及SEQ ID NO:41之胺基酸序列的多肽。在一些實施態樣中，該多肽係實質上經純化之包含SEQ ID NO:41之多肽。在某些實施態樣中，該實質上經純化之多肽係由至少90%之具有ASA之N端序列的多肽所組成。在一些實施態樣中，該新生多肽包含導致實質上具有一N端序列之均質多肽產物的信號序列。

[0140] 在某些實施態樣中，Wnt結合劑包含免疫球蛋白之Fc區。該領域之技藝人士將了解，本發明之某些結合劑將包含融合蛋白，相較於具有大約相同免疫原性之包含天然或未經改變之恆定區之融合蛋白，其中至少部分之Fc

區係經刪除或以其他方式改變，以提供所欲之生化特徵，例如增加癌細胞定位、增加腫瘤穿透、減少血清半衰期、或增加血清半衰期。對Fc區之修飾可能包括添加、刪除或取代一或多個結構域中之一或多個胺基酸。本文所揭示之經改質之融合蛋白可能包含對二個重鏈恆定結構域之一或多者（CH2或CH3）或對絞鏈區之改變或修飾。在其他實施態樣中，整個CH2結構域可被移除（ Δ CH2建構體）。在一些實施態樣中，該遺漏之恆定區結構域係由短胺基酸間隔子（例如10個aa殘基）取代，以提供通常由該遺漏恆定區結構域所授予之一些分子柔韌性。

[0141] 在一些實施態樣中，該經改質之融合蛋白係經建構以直接連接CH3結構域與該絞鏈區。在其他實施態樣中，肽間隔子被插入絞鏈區與經修飾之CH2及／或CH3結構域之間。舉例來說，其中CH2結構域被刪除且剩餘之CH3結構域（經修飾或未經修飾）係以5至20個胺基酸間隔子與絞鏈區連接之建構體可被表現。該間隔子可被添加以確保恆定區之調節元件維持自由及可接近，或該絞鏈區維持可彎折。然而，應注意胺基酸間隔子在一些情況中可能證實具有免疫原性，且誘發拮抗該建構體之非所欲免疫反應。因此，在某些實施態樣中，任何添加至建構體之間隔子將為相對非免疫原性，以維持該融合蛋白之所欲生物性質。

[0142] 在一些實施態樣中，該經改質之融合蛋白可能僅具有恆定結構域之部分刪除或取代少數或甚至單一個

胺基酸。舉例來說，在CH₂結構域之選擇區域中之單一胺基酸突變可能足以實質上減少Fc結合，因此增加癌細胞定位及／或腫瘤穿透。類似地，所欲的是單純刪除該一或多個恆定區結構域中控制特定效應功能（例如補體C1q結合）之部分。該恆定區之部分刪除可增進該結合劑之選擇特性（例如血清半衰期），同時保留其他與該主題恆定區結構域完整有關之所欲功能。另外，如上所述，該揭示融合蛋白之恆定區可經由一或多個胺基酸之突變或取代改質以增進該形成建構物之特性。在這方面可能擾亂由保守性結合位點所提供之活性（例如Fc結合），同時實質上維持該經改質之融合蛋白的構造及免疫原性特性。在某些實施態樣中，該經改質之融合蛋白包含添加一或多個胺基酸至恆定區以增進所欲特徵諸如減少或增加效應功能或提供更多細胞毒素或碳水化合物連接位點。

[0143] 該領域已知的是恆定區媒介數種效應功能。舉例來說，補體之C1成分與（結合至抗原之）IgG或IgM抗體之Fc區結合活化該補體系統。補體活化於細胞病原體之調理作用及溶解中至為重要。補體活化亦刺激發炎反應，且亦與自體免疫超敏性有關。此外，免疫球蛋白之Fc區可與表現Fc受體(FcR)之細胞結合。有一些Fc受體對不同類型之抗體具有專一性，包括IgG（ γ 受體）、IgE（ ϵ 受體）、IgA（ α 受體）及IgM（ μ 受體）。抗體與細胞表面上之Fc受體結合引發多種重要且多變之生物反應，包括吞噬及破壞抗體包覆顆粒、清空免疫複合物、藉由殺手細胞

溶解經抗體包覆之標靶細胞、釋放發炎介質、胚胎轉移及控制免疫球蛋白之產製。

[0144] 在一些實施態樣中，該經改質之融合蛋白提供經改變之效應功能，因而影響該投予劑之生物特性。舉例來說，在一些實施態樣中，刪除或不活化（經由點突變或其他方法）恆定區結構域可能減少循環中經改質之劑與Fc受體結合，因此增加癌細胞定位及／或腫瘤穿透。在其他實施態樣中，恆定區修飾增加或減少劑之血清半衰期。在一些實施態樣中，恆定區係經修飾以消除雙硫鍵或寡糖基團。

[0145] 在某些實施態樣中，經修飾之融合蛋白不具有一或多種通常與Fc區有關之效應功能。在一些實施態樣中，該劑不具抗體依賴性細胞媒介性細胞毒性(ADCC)活性及／或不具補體依賴性細胞毒性(CDC)活性。在某些實施態樣中，該劑不與該Fc受體及／或補體因子結合。在某些實施態樣中，該劑不具效應功能。

[0146] 在一些實施態樣中，本文所述之Wnt結合劑（例如可溶性受體）係經改質以減少免疫原性。通常，當這些蛋白用來作為治療劑時，拮抗完全正常人蛋白之免疫反應很少發生。然而，雖然許多融合蛋白包含與天然中發現之序列相同之多肽序列，數種治療性融合蛋白已顯示在哺乳動物中具有免疫原性。在一些試驗中，包含連接子之融合蛋白已被發現比不包含連接子之融合蛋白更具免疫原性。因此，在一些實施態樣中，本發明之多肽係藉由運算

方法分析以預測免疫原性。在一些實施態樣中，分析該等多肽中T細胞及／或B細胞表位之存在。若任何T細胞或B細胞表位係經辨識及／或預測，可對這些區域進行修飾（例如胺基酸取代）以擾亂或破壞該等表位。各種可用於預測T細胞及／或B細胞表位之演算法及軟體係為該領域所知。例如，軟體程式 SYFPEITHI、HLA Bind、PEPVAC、RANKPEP、DiscoTope、ElliPro、及抗體表位預測(Antibody Epitope Prediction)皆為公眾可取得。

[0147] 在一些實施態樣中，本發明提供一種產生如本文中所述之任何 Wnt 結合劑（例如可溶性受體）或多肽之細胞。在一些實施態樣中，本發明提供包含如本文中所述之任何 Wnt 結合劑（例如可溶性受體）或多肽之組成物。在一些實施態樣中，該組成物包含多肽，其中至少 80%、90%、95%、97%、98%、或 99% 之該多肽具有 ASA 之 N 端序列。在一些實施態樣中，該組成物包含多肽，其中 100% 之該多肽具有 ASA 之 N 端序列。在一些實施態樣中，該組成物包含多肽，其中至少 80% 之該多肽具有 ASA 之 N 端序列。在一些實施態樣中，該組成物包含多肽，其中至少 90% 之該多肽具有 ASA 之 N 端序列。在一些實施態樣中，該組成物包含多肽，其中至少 95% 之該多肽具有 ASA 之 N 端序列。

[0148] 本文中所述之多肽可為重組多肽、天然多肽、或合成多肽。在本領域中咸信本發明的一些胺基酸序列可變化而不會對該蛋白之結構或功能造成顯著影響。若

考慮該等序列上之差異，應記住在蛋白質上將有決定活性之重要區域。因此，本發明另包括多肽之變異體，該變異體顯示實質活性或包括FZD蛋白之區域，例如如本文所討論之蛋白部分。該等突變包括刪除、插入、倒位、重複、及類型取代。

[0149] 當然，技藝人士會採用之胺基酸取代之數量取決於許多因素，包括該些於上述者。在某些實施態樣中，用於任何給定之可溶性受體多肽中之取代的數量不會超過50、40、30、25、20、15、10、5或3個。

[0150] 藉由肽合成，可使用本發明之多肽的片段或部分以產製對應之全長多肽；因此，可使用該片段作為產製該全長多肽之中間體。該多肽的片段或部分亦可稱為“蛋白片段”或“多肽片段”。

[0151] 本發明之“蛋白片段”係能與一或多種人Wnt蛋白或一或多種人FZD蛋白結合之蛋白的部分或整體。於某些實施態樣中，該片段對一或多種人Wnt蛋白具有高度親和性。於某些實施態樣中，該片段對一或多種人FZD蛋白具有高度親和性。本文所描述之Wnt結合劑的某些片段係蛋白片段，其包含與免疫球蛋白之恆定區(例如Fc區)的至少一部分連接之FZD蛋白的胞外區之至少一部分。該蛋白片段之結合親和性可介於約 10^{-11} 至 10^{-12} M，雖然該親和性可依片段之不同大小而廣泛地變化(介於 10^{-7} 至 10^{-13} M)。於某些實施態樣中，該片段之長度為約100至約200胺基酸且包含與免疫球蛋白之恆定區的至少一部分連接之結合結

構域。

[0152] 在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係多株抗體。多株抗體可利用任何已知之方法製備。在一些實施態樣中，多株抗體係藉由以感興趣之抗原（例如經純化之肽片段、全長重組蛋白或融合蛋白）利用多重皮下或腹腔內注射之方式免疫動物（例如兔、大鼠、小鼠、山羊、驢）產製。該抗原可任意選擇地與載劑共軛，諸如鑰孔狀帽貝血藍素 (KLH) 或血清白蛋白。該抗原（不論有無載劑蛋白質）係經無菌鹽水稀釋，且通常與佐劑（例如完全或不完全弗氏 (Freund's) 佐劑）組合以形成穩定乳液。在經過足夠時間後，自該經免疫之動物的血液及／或腹水回收多株抗體。該多株抗體可根據該領域之標準方法自血清或腹水純化，該等方法包括但不限於親和性層析、離子交換層析、膠體電泳及透析。

[0153] 在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係單株抗體。單株抗體可利用該領域之技藝人士已知之雜交瘤方法製備（見例如 Kohler and Milstein, 1975, Nature, 256: 495-497）。在一些實施態樣中，使用雜交瘤方法係將小鼠、倉鼠或其他適當之宿主動物經上述方法免疫，以誘發產製將與該免疫抗原專一性結合之抗體之淋巴細胞。在一些實施態樣中，淋巴細胞可於試管內 (*in vitro*) 免疫。在一些實施態樣中，該免疫抗原可為人蛋白質或彼之部分。在一些實施態樣中，該免疫抗原可為小鼠蛋白質或彼之部分。

[0154] 在免疫後，淋巴細胞係經分離並利用例如聚乙二醇與適當之骨髓瘤細胞系融合，以形成接著可與未融合之淋巴細胞及骨髓瘤細胞分離之雜交瘤細胞。產製專一性拮抗選定抗原之單株抗體之雜交瘤可利用多種方法識別，該等方法包括但不限於免疫沉澱、免疫轉漬及試管內結合試驗（例如流式細胞分析、FACS、ELISA及放射性免疫測定）。該雜交瘤可利用標準方法於試管內(*in vitro*)增殖(J.W.Goding, 1996, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 3rd Edition*, Academic Press, San Diego, CA)，或於動物活體內(*in vivo*)以腹水腫瘤方式增殖。該單株抗體可根據該領域之標準方法自培養基或腹水液體純化，該等方法包括但不限於親和性層析、離子交換層析、膠體電泳及透析。

[0155] 在某些實施態樣中，單株抗體可利用該領域之技藝人士已知之重組DNA技術製備。編碼單株抗體之多核苷酸係自成熟B細胞或雜交瘤細胞分離，像是藉由RT-PCR使用寡核苷酸引子以專一性擴增編碼該抗體之重鏈及輕鏈之基因，該等多核苷酸之序列係利用習知技術測定。該經分離之編碼重鏈及輕鏈之多核苷酸接著被選殖至適當表現載體，該載體在轉染至原本不產製免疫球蛋白之宿主細胞諸如大腸桿菌(*E. coli*)、類人猿COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞後產製單株抗體。在其他實施態樣中，重組單株抗體或彼之片段可自噬菌體展示庫分離（見例如McCafferty et al., 1990, *Nature*, 348:552-554;

Clackson et al., 1991, *Nature*, 352:624-628; and Marks et al., 1991, *J. Mol.Biol.*, 222:581-597) 。

[0156] 編碼單株抗體之多核苷酸可進一步以多種不同方式使用重組DNA技術修飾，以產製可供選擇之抗體。在一些實施態樣中，例如小鼠單株抗體之輕鏈及重鏈之恆定結構域可被例如人抗體之該些區域取代以產製嵌合抗體，或以非免疫球蛋白多肽取代以產製融合抗體。在一些實施態樣中，該等恆定區係經截短或移除以產製所欲之單株抗體之抗體片段。可變區之定點或高密度突變形成可被用於最佳化單株抗體之專一性、親和性等。

[0157] 在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係人化抗體。通常，人化抗體係其中源自CDR之殘基經源自具有所欲專一性、親和性及／或結合能力之非人物種（例如小鼠、大鼠、兔、倉鼠等）之CDR的殘基取代之人免疫球蛋白，該取代係利用該領域之技藝人士已知之方法進行。在一些實施態樣中，人免疫球蛋白之Fv架構區殘基係由具有所欲專一性、親和性及／或結合能力之非人物種之抗體的對應殘基取代。在一些實施態樣中，該人化抗體可進一步藉由取代Fv架構區及／或該經取代之非人殘基內之額外殘基加以修飾，以精進優化抗體專一性、親和性及／或能力。通常，該人化抗體將包含實質上所有之至少一個且通常兩個可變結構域，該可變結構域包含所有或實質上所有之對應該非人免疫球蛋白之CDR，然而所有或實質上所有之架構區係具有人免疫球蛋白共同序列之架構區。在一些

實施態樣中，該人化抗體亦可包含至少部分之免疫球蛋白恆定區或恆定結構域(Fc)，通常為人免疫球蛋白之該部分。在某些實施態樣中，該等人化抗體係用於治療用途，因為當投予至人個體時它們可能減少抗原性及HAMA（人抗小鼠抗體）反應。

[0158] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係人抗體。人抗體可利用該領域已知之多種技術直接製備。在一些實施態樣中，產製拮抗標靶抗原之抗體的永生化人 B 淋巴細胞可於試管內免疫產製，或可自免疫個體分離（見例如 Cole et al., 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77；Boemer et al., 1991, *J. Immunol.*, 147:86-95；及美國專利第 5,750,373、5,567,610、及 5,229,275 號）。在一些實施態樣中，該人抗體可選自噬菌體分子庫，其中該噬菌體分子庫表現人抗體 (Vaughan et al., 1996, *Nature Biotechnology*, 14:309-314; Sheets et al., 1998, *PNAS*, 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581)。或者，噬菌體展示技術可被用來自未經免疫接種之捐贈者的免疫球蛋白可變區結構域基因庫試管內 (*in vitro*) 產製人抗體及抗體片段。產製及使用抗體噬菌體庫之技術係描述於美國專利第 5,969,108、6,172,197、5,885,793、6,521,404、6,544,731、6,555,313、6,582,915、6,593,081、6,300,064、6,653,068、6,706,484 及 7,264,963 號，及 Rothe et al., 2008,

J. Mol.Bio., 376:1182-1200。該領域已知之親和性成熟策略包括但不限於鏈洗牌(chain shuffling) (Marks et al., 1992, *Bio/Technology*, 10:779-783)及定點突變形成可被用於產製高親和性人抗體。

[0159] 在一些實施態樣中，人抗體可於包含人免疫球蛋白基因座之基因轉殖小鼠中製備。經免疫後，這些小鼠可產製整套人抗體而不產製內源性免疫球蛋白。此方法係於美國專利第 5,545,807、5,545,806、5,569,825、5,625,126、5,633,425及5,661,016號中描述。

[0160] 本發明亦包含專一性識別至少一種人FZD蛋白或至少一種Wnt蛋白之雙專一性抗體。雙專一性抗體可專一性辨識及結合至少二種不同表位。該等不同的表位可位於相同分子內（例如二個不同表位位於人FZD5上）或位於不同分子上（例如一表位位於FZD5上，一不同表位位於第二蛋白上）。在一些實施態樣中，該雙專一性抗體係單株人或人化抗體。在一些實施態樣中，該抗體可專一性辨識及結合第一抗原標靶（例如FZD蛋白）及第二抗原標靶像是在淋巴細胞上之效應分子（例如CD2、CD3、CD28、CD80、或CD86）或Fc受體（例如CD64、CD32或CD16）以使細胞性防禦機制集中於表現該第一抗原標靶之細胞。在一些實施態樣中，該等抗體可被用於引導細胞毒性劑至表現特定標靶抗原之細胞。這些抗體具有抗原結合臂及與細胞毒性劑或放射性核種螯合劑諸如EOTUBE、DPTA、DOTA或TETA結合之臂。

[0161] 用於製備雙專一性抗體之技術係該領域之技藝人士所知，見例如 Millstein et al., 1983, *Nature*, 305:537-539；Brennan et al., 1985, *Science*, 229:81；Suresh et al., 1986, *Methods in Enzymol.*, 121:120；Traunecker et al., 1991, *EMBO J.*, 10:3655-3659；Shalaby et al., 1992, *J. Exp. Med.*, 175:217-225；Kostelny et al., 1992, *J. Immunol.*, 148:1547-1553；Gruber et al., 1994, *J. Immunol.*, 152:5368；美國專利第 5,731,168 號及美國專利公開號 2011/0123532。雙專一性抗體可為完整抗體或抗體片段。本發明亦考慮超過兩價之抗體。例如，可製備三專一性抗體 (Tutt et al., 1991, *J. Immunol.*, 147:60)。因此，在某些實施態樣中，該等抗體係多專一性。

[0162] 在某些實施態樣中，本文描述之抗體（或其他多肽）可為單專一性。例如，在某些實施態樣中，抗體所包含之一或多個抗原結合部位之各者係能結合不同蛋白質上之同源性表位。在某些實施態樣中，本文所述之單專一性抗體的抗原結合部位能結合例如 FZD5 及 FZD7（即在 FZD5 及 FZD7 蛋白上皆能發現的相同表位）。

[0163] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含抗原結合部位之抗體片段。抗體片段可具有與完整抗體不同之功能或能力，例如抗體片段可具有增加之腫瘤穿透。已知用於產製抗體片段之各種技術包括但不限於完整抗體之蛋白水解消化。在一些實施態樣中，抗體片段包括由胃蛋白酶消化抗體分子所產製之 F(ab')₂ 片段。在一些實施態

樣中，抗體片段包括藉由減少F(ab')₂片段之雙硫鍵所產製之Fab片段。在其他實施態樣中，抗體片段包括藉由以木瓜酶及還原劑處理抗體分子所產製之Fab片段。在某些實施態樣中，抗體片段係經重組產製。在一些實施態樣中，抗體片段包括Fv或單鏈Fv (scFv)片段。Fab、Fv及scFv抗體片段可在大腸桿菌或其他宿主細胞中表現及分泌，允許大量產製這些片段。在一些實施態樣中，抗體片段係自如本文討論之抗體噬菌體庫分離。舉例來說，可利用方法建構Fab表現庫(Huse et al., 1989, Science, 246:1275-1281)以允許快速有效地識別對FZD或Wnt蛋白或彼之衍生物、片段、類似物或同源物具有所欲專一性之單株Fab片段。在一些實施態樣中，抗體片段係線性抗體片段。在某些實施態樣中，抗體片段係單專一性或雙專一性。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係scFv。各種技術可被用於產製對一或多種人FZD蛋白或一或多種人Wnt蛋白具有專一性之單鏈抗體。

[0164] 另外尤其以抗體片段來說所欲的是，修飾抗體以增加彼之血清半衰期。此可藉由例如使抗體片段中之適當區域發生突變以納入救援受體結合表位至抗體片段中達成，或藉由將該表位納入肽標籤中然後使該肽標籤與抗體片段之末端或中間融合（例如藉由DNA或肽合成）達成。在一些實施態樣中，抗體係經修飾以減少其血清半衰期。

[0165] 異源共軛抗體亦屬於本發明之範圍內。異源

共軛抗體係由二個共價連接之抗體組成。該等抗體被計劃用於例如使免疫細胞以非所欲之細胞為標靶（美國專利第4,676,980號）。亦考慮到該等異源共軛抗體可利用已知之合成蛋白質化學方法於試管內(*in vitro*)製備，包括該些涉及交聯劑之方法。舉例來說，免疫毒素可利用雙硫交換反應或藉由形成硫醚鍵加以建構。為達此目的之適當試劑實例包括亞胺基硫醇鹽及甲基-4-巰基丁亞胺酸酯。

[0166] 就本發明之目的而言，應了解的是經改質之抗體可包含任何類型之提供該抗體與標靶（即人FZD蛋白或人Wnt蛋白）連接之可變區。在這方面，該可變區可包含或衍生自任何種類之可被誘導以啟動體液性反應及產製拮抗該所欲之腫瘤相關抗原之免疫球蛋白之哺乳動物。因此，該經改質之抗體之可變區可為例如人、小鼠、非人靈長動物（例如長尾獼猴(*cynomolgus monkey*)、獼猴等）或兔來源。在一些實施態樣中，該經改質之免疫球蛋白之可變區及恆定區皆為人來源。在其他實施態樣中，相容性抗體之可變區（通常源自非人來源）可經工程化或特別改質以促進該分子之結合特性或減少免疫原性。在這方面，可用於本發明之可變區可經人化或藉由納入輸入胺基酸序列以另行改變。

[0167] 在某些實施態樣中，重鏈及輕鏈之可變結構域係藉由至少部分取代一或多個CDR及（若需要的話）部分取代架構區及序列修飾及／或改變加以改變。雖然CDR可能源自與架構區來源之抗體相同類型或甚至相同亞型之

抗體，一般設想CDR將較佳地源自不同物種之抗體。要轉移一可變結構域之抗原結合能力至另一可變結構域不一定需要將所有CDR取代成捐贈者可變區之所有CDR。相反地，可能只需要轉移該些維持抗原結合部位之活性所需之殘基即可。

[0168] 儘管對可變區進行改變，該領域之技藝人士將了解，本發明之經改質之抗體將包含其中至少部分之一或多個恆定結構域已被刪除或以其他方式改變之抗體（例如全長抗體或彼之免疫反應性片段）以提供所欲之生化特徵，像是相較於包含原始或未經改變之恆定區之大約相同免疫原性之抗體具有增加之腫瘤定位及／或增加之血清半衰期。在一些實施態樣中，該經改質之抗體之恆定區將包含人恆定區。與本發明相容之恆定區修飾包含添加、刪除或取代一或多個結構域中之一或多個胺基酸。本文所揭示之經改質之抗體可能包含對三個重鏈恆定結構域之一或多者（CH1、CH2或CH3）及／或對輕鏈恆定結構域（CL）之改變或修飾。在一些實施態樣中，一或多個結構域係自該經改質之抗體的恆定區部分或全部刪除。在一些實施態樣中，該經改質之抗體將包含其中整個CH2結構域被移除之結構域刪除建構體或變異體（ Δ CH2建構體）。在一些實施態樣中，該缺少之恆定區結構域係由短胺基酸間隔子（例如10個胺基酸殘基）取代，以提供通常由該缺少恆定區授予之一些分子柔韌性。

[0169] 在一些實施態樣中，該經改質之抗體係經工

程化以直接融合CH3結構域與該抗體之絞鏈區。在其他實施態樣中，肽間隔子被插入絞鏈區與經修飾之CH2及／或CH3結構域之間。舉例來說，其中CH2結構域被刪除且剩餘之CH3結構域（經修飾或未經修飾）係以5至20個胺基酸間隔子與絞鏈區連接之建構體可被表現。該間隔子可被添加以確保恆定區之調節元件維持自由及可接近，或該絞鏈區維持可彎折。然而，應注意胺基酸間隔子在一些情況中可能證實具有免疫原性，且誘發拮抗該建構體之非所欲免疫反應。因此，在某些實施態樣中，任何添加至建構體之間隔子將為相對非免疫原性，以維持該經改質之抗體之所欲生物性質。

[0170] 在一些實施態樣中，該經改質之抗體可能僅具有恆定結構域之部分刪除或取代少數或甚至單一個胺基酸。舉例來說，在CH2結構域之選擇區域中之單一個胺基酸突變可能足以實質上減少Fc結合，因此增加癌細胞定位及／或腫瘤穿透。類似地，所欲的是單純刪除該一或多個恆定區結構域中控制特定效應功能（例如補體C1q結合）之部分。該恆定區之部分刪除可增進該抗體之選擇特性（血清半衰期），同時保留其他與該主題恆定區結構域完整有關之所欲功能。另外，如上所述，該揭示抗體之恆定區可經由一或多個胺基酸之突變或取代改質以增進該形成建構物之特性。在這方面可能擾亂由保守性結合位點所提供之活性（例如Fc結合），然而實質上維持該經改質之抗體的構造及免疫原性特性。在某些實施態樣中，該經改質之抗

體包含添加一或多個胺基酸至恆定區以增進所欲特徵諸如減少或增加效應功能或提供更多細胞毒素或碳水化合物連接位點。

[0171] 該領域已知的是恆定區媒介數種效應功能。舉例來說，補體之C1成分與（結合至抗原之）IgG或IgM抗體之Fc區結合活化該補體系統。補體活化於細胞病原體之調理作用及溶解中至為重要。補體活化亦刺激發炎反應，且亦與自體免疫超敏性有關。此外，抗體之Fc區可與表現Fc受體(FcR)之細胞結合。有一些Fc受體對不同類型之抗體具有專一性，包括IgG（ γ 受體）、IgE（ ϵ 受體）、IgA（ α 受體）及IgM（ μ 受體）。抗體與細胞表面上之Fc受體結合引發多種重要且多變之生物反應，包括吞噬及破壞抗體包覆顆粒、清空免疫複合物、藉由殺手細胞溶解經抗體包覆之標靶細胞、釋放發炎介質、胚胎轉移及控制免疫球蛋白之產製。

[0172] 在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係提供經改變之效應功能之抗體。這些經改變之效應功能可能影響該經投予之抗體的生物特性。舉例來說，在一些實施態樣中，刪除或不活化（經由點突變或其他方法）恆定區結構域可能減少循環中經改質之抗體（例如抗FZD抗體）與Fc受體結合，因此增加癌細胞定位及／或腫瘤穿透。在其他實施態樣中，恆定區修飾增加或減少抗體之血清半衰期。在一些實施態樣中，恆定區係經修飾以消除雙硫鍵或寡糖基團。根據本發明對恆定區之修飾可輕易利用該領域

之技藝人士廣為周知之生化或分子工程技術進行。

[0173] 在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑係不具有一或多種效應功能之抗體。例如在一些實施態樣中，該抗體不具ADCC活性及／或CDC活性。在某些實施態樣中，該抗體不與Fc受體及／或補體因子結合。在某些實施態樣中，該抗體不具效應功能。

[0174] 本發明另包含實質上與本文前述之嵌合抗體、人化抗體、人抗體或彼等之抗體片段同源之變異體及相等物。這些可包含例如保守性取代突變，即以類似胺基酸取代一或多個胺基酸。例如，保守性取代係指以同類型之胺基酸取代另一者，像是例如以一酸性胺基酸取代另一酸性胺基酸、以一鹼性胺基酸取代另一鹼性胺基酸或以一中性胺基酸取代另一中性胺基酸。保守性胺基酸取代之目的係該領域廣為周知並於本文描述。

[0175] 因此，本發明提供用於產製抗體之方法。在一些實施態樣中，用於產製抗體之方法包含利用雜交瘤技術。在一些實施態樣中，本發明提供用於產製與人FZD蛋白結合之抗體之方法。在一些實施態樣中，本發明提供用於產製與人Wnt蛋白結合之抗體之方法。在一些實施態樣中，用於產製抗體之方法包含篩選人噬菌體庫。在一些實施態樣中，該抗體係利用包含單一抗原結合部位之膜結合性異二聚體分子識別。在一些非限制性實施態樣中，該抗體係利用美國專利公開號WO 2011/0287979所述之方法及多肽識別。

[0176] 本發明另提供識別與至少一種FZD蛋白結合之抗體之方法。在一些實施態樣中，該抗體係藉由FACS篩選與FZD蛋白或彼之部分之結合加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由利用ELISA篩選與FZD蛋白結合加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由FACS篩選FZD蛋白與人Wnt蛋白結合之阻斷加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由篩選對Wnt途徑傳訊之抑制或阻斷加以識別。

[0177] 本發明另提供識別與至少一種Wnt蛋白結合之抗體之方法。在一些實施態樣中，該抗體係藉由FACS篩選與Wnt蛋白或彼之部分之結合加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由利用ELISA篩選與Wnt蛋白結合加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由FACS篩選Wnt蛋白與人FZD蛋白結合之阻斷加以識別。在一些實施態樣中，該抗體係藉由篩選對Wnt途徑傳訊之抑制或阻斷加以識別。

[0178] 在一些實施態樣中，產製抗至少一種人FZD蛋白之抗體的方法包含在抗體表現庫中篩選與人FZD蛋白結合之抗體。在一些實施態樣中，該抗體表現庫係噬菌體庫。在一些實施態樣中，該抗體表現庫係哺乳動物細胞庫。在一些實施態樣中，該篩選包含篩選(panning)。在一些實施態樣中，在第一次篩選中被識別之抗體，再次利用不同的FZD蛋白篩選，藉以識別與該第一FZD蛋白及第二FZD蛋白結合之抗體。在一些實施態樣中，在篩選中識別

之抗體與該第一FZD蛋白及至少一種其他FZD蛋白結合。在某些實施態樣中，該至少一種其他FZD蛋白係選自：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、及FZD10。在某些實施態樣中，在篩選中識別之該抗體與FZD1、FZD2、FZD5、FZD7及FZD8結合。在一些實施態樣中，在篩選中被識別之抗體係FZD拮抗劑。在一些實施態樣中，由本文所述之方法識別之抗體抑制Wnt途徑。在一些實施態樣中，在該篩選中識別之抗體抑制 β -連環蛋白傳訊。

[0179] 在一些實施態樣中，產製抗至少一種人Wnt蛋白之抗體的方法包含在抗體表現庫中篩選與人Wnt蛋白結合之抗體。在一些實施態樣中，該抗體表現庫係噬菌體庫。在一些實施態樣中，該抗體表現庫係哺乳動物細胞庫。在一些實施態樣中，該篩選包含篩選(panning)。在一些實施態樣中，在第一次篩選中被識別之抗體，再次利用不同的Wnt蛋白篩選，藉以識別與第一Wnt蛋白及第二Wnt蛋白結合之抗體。在一些實施態樣中，在篩選中識別之抗體與第一Wnt蛋白及至少一種其他Wnt蛋白結合。在某些實施態樣中，該至少一種其他FZD蛋白係選自Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及Wnt10b。在一些實施態樣中，在篩選中被識別之抗體係Wnt拮抗劑。在一些實施態樣中，由本文所述之方法識別之抗體抑制Wnt途徑。在一些實施態樣中，在該篩選中識別之抗體抑制 β -連環蛋白傳訊。

[0180] 在某些實施態樣中，本文所述之抗體係經分離。在某些實施態樣中，本文所述之抗體係實質上純的。

[0181] 在本發明之一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係多肽。該多肽可為包含與至少一種人 FZD 蛋白或至少一種 Wnt 蛋白結合之抗體或彼之片段之重組多肽、天然多肽或合成多肽。在本領域中咸信本發明的一些胺基酸序列可變化而不會對該蛋白之結構或功能造成顯著影響。因此，本發明另包括多肽之變異體，該變異體顯示實質活性或包括拮抗人 FZD 蛋白或 Wnt 蛋白之抗體之區域或彼等之片段。在一些實施態樣中，FZD 結合多肽或 Wnt 結合多肽之胺基酸序列變異體包括刪除、插入、倒位、重複及／或其他類型之取代。

[0182] 該多肽、類似物及彼等之變異體可另經改質以包含正常非該多肽之部分的額外化學基團。該等衍生化基團可增進該多肽之溶解性、生物半衰期及／或吸收。該等基團亦可減少或消除該多肽及變異體之任何非所欲之不良反應。有關化學基團之介紹可見 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22st Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London。

[0183] 本文所述之經分離之多肽可藉由該領域已知之任何適當方法產製。該等方法從直接蛋白質合成方法至建構編碼多肽序列之 DNA 序列及在適當宿主中表現該等序列皆可。在一些實施態樣中，DNA 序列係利用重組技術建構，其藉由分離或合成編碼感興趣之野生型蛋白質之 DNA

序列。可任意選擇地，該序列可藉由定點突變形成突變以提供彼之功能性類似物。

[0184] 在一些實施態樣中，編碼感興趣之多肽之DNA序列可藉由化學合成利用寡核苷酸合成器建構。寡核苷酸可根據該所欲多肽之胺基酸序列設計，並選擇該些將產製感興趣重組多肽之宿主細胞所偏好之密碼子。標準方法可被用於合成編碼經分離之感興趣多肽之多核苷酸序列。舉例來說，完全胺基酸序列可被用於建構反轉譯基因。另外，可合成包含編碼經分離之特定多肽之核苷酸序列之DNA寡聚體。例如，多個編碼該所欲多肽之部分的小型寡核苷酸可被合成然後連接。個別寡核苷酸通常包含5'或3'懸端以用於互補組裝。

[0185] 一經組裝（藉由合成、定點突變形成或其他方法），該編碼感興趣之特定多肽之多核苷酸序列可被插入表現載體並可操作性連接適合該蛋白質於所欲宿主內表現之表現控制序列。適當組裝可藉由核苷酸定序、限制酶定位及／或於適當宿主內表現生物活性多肽證實。如該領域所廣為周知，為了在宿主內獲得高表現量之經轉染之基因，該基因必須可操作性連接在選定之表現宿主內具功能性之轉錄及轉譯表現控制序列。

[0186] 在某些實施態樣中，重組表現載體被用於擴增及表現拮抗人FZD蛋白或Wnt蛋白之DNA編碼結合劑（例如抗體或可溶性受體）或彼之片段。舉例來說，重組表現載體可為可複製之DNA建構體，其具有與適當轉錄及

／或轉譯調節元件可操作性連接之編碼FZD結合劑、Wnt結合劑、抗FZD抗體或其片段、抗Wnt抗體或其片段、或FZD-Fc可溶性受體之多肽鏈的合成性或cDNA衍生性DNA片段，該調節元件係源自哺乳動物、微生物、病毒或昆蟲基因。轉錄單位通常包含下列之組合：(1)於基因表現中具有調節作用之基因元件，例如轉錄啟動子或增強子，(2)經轉錄成mRNA然後轉譯成蛋白質之結構或編碼序列，及(3)適當之轉錄及轉譯啟動及終止序列。調節元件可包括操作子序列以控制轉錄。通常由複製起點授予之於宿主內複製之能力及有利轉形物辨識之選擇基因可被額外納入。DNA區係「可操作性連接」當它們彼此之間係功能性相關。舉例來說，信號肽之DNA（分泌前導序列）係可操作性連接多肽之DNA，若其被表現為參與該多肽分泌之前體；啟動子係可操作性連接編碼序列，若其控制該序列之轉錄；或核糖體結合位點係可操作性連接編碼序列，若其位置係為了允許轉譯。在一些實施態樣中，適用於酵母菌表現系統之結構元件包括使宿主細胞得以胞外分泌經轉譯之蛋白質之前導序列。在其他實施態樣中，當重組蛋白質係於無前導或轉運序列存在時表現，其可包括N端甲硫胺酸殘基。此殘基之後可任意選擇地與該經表現之重組蛋白質切開以提供最終產物。

[0187] 表現控制序列及表現載體之選擇取決於宿主選擇。多樣化之表現宿主／載體組合可被採用。可用於真核宿主之表現載體包括例如包含源自SV40、牛乳頭狀瘤

病毒、腺病毒及巨細胞病毒之表現控制序列之載體。可用於細菌宿主之表現載體包括已知之細菌質體，像是源自大腸桿菌之質體（包括pCR1、pBR322、pMB9及彼等之衍生物），及廣泛宿主範圍質體像是M13及其他絲狀單股DNA噬菌體。

[0188] 用於表現FZD結合或Wnt結合劑（或用來作為抗原之蛋白）之適當宿主細胞包括原核生物、酵母菌細胞、昆蟲細胞或在適當啟動子控制下之高級真核細胞。原核生物包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性有機體，例如大腸桿菌(*E. coli*)或桿菌(*Bacillus*)。高級真核細胞包括如下所述之哺乳動物來源之株化細胞系。不含細胞之轉譯系統亦可被採用。用於細菌性、真菌性、酵母菌性及哺乳動物細胞性宿主之適當選殖及表現載體係描述於Pouwels et al.(1985, *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, NY)。有關蛋白質產製（包括抗體產製）方法之額外資訊可見於例如美國專利公開號2008/0187954；美國專利第6,413,746及6,660,501號；及國際專利公開號WO 2004/009823。

[0189] 多種哺乳動物細胞培養系統被用於表現重組多肽。於哺乳動物細胞中表現重組蛋白可為較佳，因為這些蛋白通常經過正確折疊、適當改質且具生物功能性。適當哺乳動物宿主細胞系之實例包括COS-7（猴腎來源）、L-929（小鼠纖維母細胞來源）、C127（小鼠乳房腫瘤來源）、3T3（小鼠纖維母細胞來源）、CHO（中國倉鼠卵

巢來源)、HeLa(人子宮頸癌來源)、BHK(倉鼠腎纖維母細胞來源)、HEK-293(人胚胎腎來源)細胞系及彼等之變異株。哺乳動物表現載體可包含非轉錄元件(諸如複製起點、與所欲表現之基因相連之適當啟動子及增強子,及其他5'或3'側翼非轉錄序列)及5'或3'非轉譯序列(諸如必要之核糖體結合位點、聚腺苷酸化位點、剪接供點及受點,及轉錄終止序列)。

[0190] 於昆蟲細胞培養系統(例如桿狀病毒)中表現重組蛋白質亦提供產製正確摺疊及具生物功能之蛋白質之有效方法。用於在昆蟲細胞中產製異源性蛋白質之桿狀病毒系統係該領域之技藝人士所廣為周知(見例如 Luckow and Summers, 1988, Bio/Technology, 6:47)。

[0191] 因此,本發明提供包含本文所述之FZD結合劑或Wnt結合劑之細胞。在一些實施態樣中,該等細胞產製本文所述之結合劑(例如抗體或可溶性受體)。在某些實施態樣中,該等細胞產製抗體。在某些實施態樣中,該等細胞產製抗體OMP-18R5。在一些實施態樣中,該等細胞產製可溶性受體。在一些實施態樣中,該等細胞產製FZD-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中,該等細胞產製FZD8-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中,該等細胞產製FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28。

[0192] 由經轉形之宿主產製之蛋白質可根據任何適當方法純化。標準方法包括層析(例如離子交換、親和性及尺寸柱層析)、離心、差別溶解或藉由任何其他用於蛋

白質純化之標準技術。親和性標籤諸如六組胺酸、麥芽糖結合結構域、流感外套序列及麩胱甘肽-S-轉移酶可被連接至該蛋白質以允許藉由通過適當親和性管柱之輕易純化。經分離之蛋白亦可經物理特徵化，使用像是蛋白水解、質譜分析(MS)、核磁共振(NMR)、高效液相層析(HPLC)及x光結晶之技術。

[0193] 在一些實施態樣中，源自分泌重組蛋白質至培養基之表現系統的上清液可利用商用蛋白質濃縮過濾器先行濃縮，例如使用阿密康(Amicon)或密里博(Millipore) Pellicon超過濾單位濃縮。在濃縮步驟之後，該濃縮液可被加至適當純化基材。在一些實施態樣中，可採用陰離子交換樹脂，例如具有二乙基胺基乙基(DEAE)懸掛基團之基材或基質。該基材可為丙烯醯胺、洋菜糖、葡聚糖、纖維素或其他常用於蛋白質純化之基材。在一些實施態樣中，可採用陽離子交換步驟。適當之陽離子交換基材包括包含磺丙基或羧甲基之各種不可溶基材。在一些實施態樣中，可採用羥磷灰石基質，包括但不限於陶瓷羥磷灰石(CHT)。在某些實施態樣中，一或多種應用疏水性逆相HPLC基質（例如具有懸掛甲基或其他脂肪族基團之矽膠）之逆相HPLC步驟可被採用以進一步純化結合劑。上述之一些或所有純化步驟之各種組合亦可被應用以提供均質性重組蛋白。

[0194] 在一些實施態樣中，於細菌培養中生產之重組蛋白質可被分離，例如藉由自細胞團塊初步萃取，接著

進行一或多次濃縮、鹽析、水性離子交換或大小排除層析步驟。HPLC可被使用於最終純化步驟。用於表現重組蛋白之微生物細胞可藉由任何方便方法破碎，包括冷凍解凍循環、超音波震盪、機械破碎或使用細胞溶解劑。

[0195] 該領域已知之用於純化抗體及其他蛋白質之方法亦包括例如該些於美國專利公開號2008/0312425、2008/0177048及2009/0187005所述者。

[0196] 在某些實施態樣中，該Wnt結合劑或該FZD結合劑係非抗體之多肽。用於識別及產製以高親和性與蛋白質標靶結合之非抗體多肽之各種方法係該領域所知。見例如Skerra, 2007, *Curr.Opin.Biotechnol.*, 18:295-304；Hosse et al., 2006, *Protein Science*, 15:14-27；Gill et al., 2006, *Curr.Opin.Biotechnol.*, 17:653-658；Nygren, 2008, *FEBS J.*, 275:2668-76；及Skerra, 2008, *FEBS J.*, 275:2677-83。在某些實施態樣中，噬菌體展示技術可被用於生產及／或識別FZD結合或Wnt結合多肽。在某些實施態樣中，該多肽包含選自蛋白A、蛋白G、脂質運載蛋白(lipocalin)、纖維粘連蛋白結構域、錨蛋白(ankyrin)共同重複結構域或硫氧還蛋白類型之蛋白質支架。

[0197] 在某些實施態樣中，該結合劑可以數種共軛（即免疫共軛物或放射共軛物）或非共軛形式之任一者被使用。在某些實施態樣中，抗體可以非共軛形式被使用以駕馭個體之天然防禦機制，包括補體依賴性細胞毒性及抗體依賴性細胞毒性，以消滅該惡性或癌細胞。

[0198] 在一些實施態樣中，該結合劑係與細胞毒性劑共軛。在一些實施態樣中，該細胞毒性劑係化學治療劑，包括但不限於甲胺喋呤(methotrexate)、甲烯土黴素(adriamicin)、多柔比星(doxorubicin)、黴法蘭(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、正定黴素(daunorubicin)或其他插入劑。在一些實施態樣中，該細胞毒性劑係細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素及彼等之片段，包括但不限於白喉毒素A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈、蓖麻毒素A鏈、相思豆毒素(abrin) A鏈、莫迪素(modeccin) A鏈、 α -次黃嘌呤(sarcin)、油桐(Aleurites fordii)蛋白、石竹素(dianthin)蛋白、美洲商陸(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、瀉果素(curcin)、巴豆素(croton)、肥皂草(saponaria officinalis)抑制劑、白樹毒素(gelonin)、絲裂膠素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及新月毒素(trichothecene)。在一些實施態樣中，該細胞毒性劑係放射性同位素以產製放射共軛物或經放射共軛之抗體。多種放射性核種可用於產製經放射共軛之抗體，包括但不限於 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{131}In 、 ^{105}Rh 、 ^{153}Sm 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 及 ^{212}Bi 。在一些實施態樣中，本發明可產製抗體與一或多種小分子毒素之共軛物，該等毒素諸如卡利奇黴素(calicheamicin)、類美坦素

(maytansinoids)、新月毒素(trichothene)、CC1065及具有毒素活性之該些毒素之衍生物。在某些實施態樣中，抗體與細胞毒性劑之共軛物可利用各種雙官能性蛋白偶合劑製備，例如 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶二硫代)丙酸酯(SPDP)、二亞胺環硫丁烷(IT)、亞胺酸酯之雙官能基衍生物（諸如己二亞胺二甲酯HCL）、活性酯之雙官能基衍生物（諸如辛二酸二琥珀醯亞胺）、醛之雙官能基衍生物（諸如戊二醛）、雙疊氮化合物（諸如雙(對-疊氮苯甲醯基)己二胺）、雙重氮衍生物（諸如雙-(對-重氮苯甲醯基)-乙二胺）、二異氰酸酯（諸如 2,6-二異氰酸甲苯酯）及雙活性氟化合物（諸如 1,5-二氟-2,4-二硝苯）。

[0199] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑（例如抗體或可溶性受體）係至少一種 Wnt 蛋白（即 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 種 Wnt 蛋白）的拮抗劑。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制其所結合之 Wnt 蛋白的活性。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 50%、至少約 75%、至少約 90% 或約 100% 之其所結合之人 Wnt 蛋白的活性。

[0200] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑（例如抗體或可溶性受體）抑制至少一種人 Wnt 與適當受體之結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少一種人 Wnt 蛋白與一或多種人 FZD 蛋白之結合。在一些實施態樣中，該至少一種 Wnt 蛋白係選自下列：Wnt1、Wnt2、

Wnt2b/13、Wnt3、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt9a、Wnt9b、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、及Wnt16。在一些實施態樣中，該一或多種人FZD蛋白係選自下列：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及FZD10。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制一或多種Wnt蛋白與FZD1、FZD2、FZD4、FZD5、FZD7、及／或FZD8之結合。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制一或多種Wnt蛋白與FZD8之結合。在某些實施態樣中，由該Wnt途徑抑制劑對特定Wnt與FZD蛋白之結合的抑制係至少約10%、至少約25%、至少約50%、至少約75%、至少約90%或至少約95%。在某些實施態樣中，抑制Wnt與FZD蛋白結合之劑亦抑制Wnt途徑傳訊。在某些實施態樣中，抑制人Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，抑制人Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD-Fc可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制人Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD8-Fc可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制人Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體OMP-54F28。

[0201] 在某些實施態樣中，本文中所述之該Wnt途徑抑制劑（例如抗體或可溶性受體）為至少一種人Wnt蛋白之抑制劑且抑制Wnt活性。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約50%、至少約75%、至少約90%或約100%之Wnt活

性。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制一、二、三、四、五或更多種 Wnt 蛋白之活性。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制選自下列之至少一種人 Wnt 蛋白之活性：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt9a、Wnt9b、Wnt10a、Wnt10b、Wnt11、及 Wnt16。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑與至少一種選自下列之 Wnt 蛋白結合：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及 Wnt10b。在某些實施態樣中，該至少一種 Wnt 蛋白係選自 Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及 Wnt10b。在某些實施態樣中，抑制人 Wnt 活性之 Wnt 途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，抑制人 Wnt 活性之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制人 Wnt 活性之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制人 Wnt 活性之 Wnt 途徑抑制劑係可溶性受體 OMP-54F28。

[0202] 在某些實施態樣中，本文所述之該 Wnt 途徑抑制劑係至少一種人 FZD 蛋白之拮抗劑且抑制 FZD 活性。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 50%、至少約 75%、至少約 90% 或約 100% 之 FZD 活性。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制一、二、三、四、五或更多種 FZD 蛋白之活性。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制選自下列

之至少一種人FZD蛋白之活性：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9及FZD10。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制FZD1、FZD2、FZD4、FZD5、FZD7、及／或FZD8之活性。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制FZD8之活性。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係抗FZD抗體。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係抗FZD抗體OMP-18R5。

[0203] 在某些實施態樣中，本文所述之該Wnt途徑抑制劑係至少一種人Wnt蛋白之拮抗劑且抑制Wnt傳訊。在某些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約50%、至少約75%、至少約90%或約100%之Wnt傳訊。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制一、二、三、四、五或更多種Wnt蛋白之傳訊。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑抑制至少一種選自Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt8a、Wnt8b、Wnt10a、及Wnt10b之Wnt蛋白之傳訊。在某些實施態樣中，抑制Wnt傳訊之Wnt途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，抑制Wnt傳訊之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制Wnt傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD-Fc可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制Wnt傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD8-Fc可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制Wnt傳訊之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體OMP-54F28。

[0204] 在某些實施態樣中，本文中所述之Wnt途徑抑

制劑係 β -連環蛋白傳訊之拮抗劑。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 50%、至少約 75%、至少約 90% 或約 100% 之 β -連環蛋白傳訊。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白傳訊之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。

[0205] 在某些實施態樣中，本文中所述之 Wnt 途徑抑制劑抑制至少一種 Wnt 蛋白與受體之結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少一種人 Wnt 蛋白與一或多種其受體之結合。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑抑制至少一種 Wnt 蛋白與至少一種 FZD 蛋白之結合。在一些實施態樣中，該 Wnt 結合劑抑制至少一種 Wnt 蛋白與 FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FDZ5、FDZ6、FDZ7、FDZ8、FDZ9、及／或 FZD10 之結合。在某些實施態樣中，至少一種 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白之結合係經抑制至少約 10%、至少約 25%、至少約 50%、至少約 75%、至少約 90% 或至少約 95%。在某些實施態樣中，抑制至少一種 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑另抑制 Wnt 途徑

傳訊及／或 β -連環蛋白傳訊。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，抑制至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體 OMP-54F28。

[0206] 在某些實施態樣中，本文中所述之 Wnt 途徑抑制劑阻斷至少一種 Wnt 與受體之結合。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑阻斷至少一種人 Wnt 蛋白與一或多種其受體之結合。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑阻斷至少一種 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白之結合。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑阻斷至少一種 Wnt 蛋白與 FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FDZ5、FDZ6、FDZ7、FDZ8、FDZ9、及／或 FZD10 之結合。在某些實施態樣中，至少一種 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白之結合係經阻斷至少約 10%、至少約 25%、至少約 50%、至少約 75%、至少約

90%或至少約95%。在某些實施態樣中，阻斷至少一種 Wnt 蛋白與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑另抑制 Wnt 途徑傳訊及／或 β -連環蛋白傳訊。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗體。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係可溶性受體。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，阻斷至少一種人 Wnt 與至少一種 FZD 蛋白結合之 Wnt 途徑抑制劑係可溶性受體 OMP-54F28。

[0207] 在某些實施態樣中，本文所述之 Wnt 途徑抑制劑抑制 Wnt 途徑傳訊。應了解的是，抑制 Wnt 途徑傳訊之 Wnt 途徑抑制劑在某些實施態樣中可能抑制 Wnt 傳訊途徑中藉由一或多種受體之傳訊，但不一定抑制藉由所有受體之傳訊。在某些選擇性實施態樣中，所有人受體之 Wnt 途徑傳訊可能皆被抑制。在某些實施態樣中，選自 FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FDZ5、FDZ6、FDZ7、FDZ8、FDZ9、及 FZD10 之一或多種受體的 Wnt 途徑傳訊係經抑

制。在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑對Wnt途徑傳訊之抑制係指減少Wnt途徑傳訊之量至少約10%、至少約25%、至少約50%、至少約75%、至少約90%或至少約95%。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係抗體。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係抗FZD抗體。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係抗體OMP-18R5。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係FZD8-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制Wnt途徑傳訊之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體OMP-54F28。

[0208] 在某些實施態樣中，本文所述之Wnt途徑抑制劑抑制 β -連環蛋白之活化。應了解的是，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑在某些實施態樣中可能抑制藉由一或多種受體之 β -連環蛋白之活化，但不一定抑制藉由所有受體之 β -連環蛋白之活化。在某些選擇性實施態樣中，藉由所有人受體之 β -連環蛋白活化可能皆被抑制。在某些實施態樣中，藉由選自FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FDZ5、FDZ6、FDZ7、FDZ8、FDZ9、及FZD10之一或多種受體的 β -連環蛋白活化係經抑制。在某些實施態樣中，該Wnt結合劑對 β -連環蛋白活化之抑制係指減少 β -連環蛋白活化量至少約10%、至少約25%、至少約50%、至少約

75%、至少約90%或至少約95%。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑係抗體。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑係抗FZD抗體。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑係抗體OMP-18R5。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑係可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白之活化的Wnt途徑抑制劑係FZD-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白活化之Wnt途徑抑制劑係FZD8-Fc可溶性受體。在一些實施態樣中，抑制 β -連環蛋白活化之Wnt途徑抑制劑係可溶性受體OMP-54F28。

[0209] 用於測定Wnt途徑抑制劑是否抑制 β -連環蛋白傳訊之活體內(*In vivo*)及試管內(*in vitro*)測定係該領域所知。舉例來說，可使用以細胞為基底之螢光素酶報告試驗測量試管內之 β -連環蛋白傳訊量，其利用含有多份TCF結合結構域與下游螢火蟲螢光素酶報告基因之TCF/Luc報告載體(Gazit et al., 1999, *Oncogene*, 18; 5959-66; TOPflash, Millipore, Billerica MA)。在一或多種Wnt蛋白(例如由轉染細胞表現或由Wnt條件培養基提供之Wnt)存在下，結合劑存在時之 β -連環蛋白傳訊量係與無結合劑存在時之傳訊量比較。除了TCF/Luc報告子測定之外，結合劑(或候選劑)對 β -連環蛋白傳訊之影響可於試管內或活體內藉由測量該劑對 β -連環蛋白調節基因表現量之影響加以測定，如c-myc (He et al., 1998, *Science*, 281:1509-12)、細胞週

期素 D1 (Tetsu et al., 1999, *Nature*, 398:422-6)及／或纖維粘連蛋白(Gradl et al.1999, *Mol.Cell Biol.*, 19:5576-87)。在某些實施態樣中，結合劑對 β -連環蛋白傳訊之影響亦可能藉由測量該劑對 Dishevelled-1、Dishevelled-2、Dishevelled-3、LRP5、LRP6及／或 β -連環蛋白之磷酸化狀態的影響檢測。

[0210] 在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑具有一或多種下列影響：抑制腫瘤細胞增生、抑制腫瘤生長、減少癌幹細胞於腫瘤中之頻率、減少腫瘤之腫瘤發生性、藉由減少癌幹細胞於腫瘤中之頻率以減少腫瘤之腫瘤發生性、刺激腫瘤細胞之細胞死亡、誘導腫瘤中之細胞分化、使致癌細胞分化成非致癌狀態、誘導腫瘤細胞分化標誌之表現、防止腫瘤細胞轉移、或減少腫瘤細胞之存活。

[0211] 在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑可抑制腫瘤生長。在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑可抑制活體內（例如異種移植小鼠模型及／或於罹患癌之人）之腫瘤生長。在一些實施態樣中，該腫瘤係選自結直腸腫瘤、結腸腫瘤、胰腫瘤、肺腫瘤、卵巢腫瘤、肝腫瘤、肝細胞腫瘤、甲狀腺腫瘤、乳房腫瘤、腎腫瘤、前列腺腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、神經內分泌腫瘤、膀胱腫瘤、神經膠母細胞瘤或頭頸腫瘤之腫瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係黑色素瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係結直腸腫瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係胰腫瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係乳房腫瘤。在某些實施態樣中，

該腫瘤係肺腫瘤。在一些實施態樣中，該腫瘤係卵巢腫瘤。在一些實施態樣中，該腫瘤係肝腫瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係神經內分泌腫瘤。在某些實施態樣中，該腫瘤係 Wnt 依賴性腫瘤。

[0212] 在某些實施態樣中，Wnt 途徑抑制劑可減少腫瘤之腫瘤發生性。在某些實施態樣中，Wnt 途徑抑制劑可於動物模型諸如小鼠異種移植模型中減少包含癌幹細胞之腫瘤的腫瘤發生性。在某些實施態樣中，腫瘤中癌幹細胞之數量或頻率係減少至少約二倍、約三倍、約五倍、約十倍、約 50 倍、約 100 倍、或約 1000 倍。在某些實施態樣中，癌幹細胞之數量或頻率減少係藉由使用動物模型之限制稀釋試驗測定。有關使用限制稀釋試驗以測定腫瘤中癌幹細胞之數量或頻率減少之其他實例及指南可見例如國際公開號 WO 2008/042236、及美國專利公開號 2008/0064049 及 2008/0178305。

[0213] 在某些實施態樣中，本文描述之 Wnt 途徑抑制劑於活體內具有至少 1 小時、至少約 2 小時、至少約 5 小時、至少約 10 小時、至少約 24 小時、至少約 2 天、至少約 3 天、至少約 1 週、或至少約 2 週之活性。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 IgG（例如 IgG1 或 IgG2）抗體，其於活體內具有至少 1 小時、至少約 2 小時、至少約 5 小時、至少約 10 小時、至少約 24 小時、至少約 2 天、至少約 3 天、至少約 1 週、或至少約 2 週之活性。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係融合蛋白，其於活體內具有至少 1

小時、至少約2小時、至少約5小時、至少約10小時、至少約24小時、至少約2天、至少約3天、至少約1週、或至少約2週之活性。

[0214] 在某些實施態樣中，本文描述之 Wnt 途徑抑制劑於小鼠、長尾獼猴(*cynomolgus monkey*)或人體內具有至少約5小時、至少約10小時、至少約24小時、至少約2天、至少約3天、至少約1週、或至少約2週之循環半衰期。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係於小鼠、長尾獼猴或人體內具有至少約5小時、至少約10小時、至少約24小時、至少約2天、至少約3天、至少約1週、或至少約2週之循環半衰期的 IgG（例如 IgG1 或 IgG2）抗體。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係融合蛋白，其於小鼠、長尾獼猴(*cynomolgus monkey*)或人體內具有至少約5小時、至少約10小時、至少約24小時、至少約2天、至少約3天、至少約1週、或至少約2週之循環半衰期。增加（或減少）劑諸如多肽及抗體之半衰期之方法係該領域所知。舉例來說，增加 IgG 抗體循環半衰期之已知方法包括導入突變至 Fc 區，此增加 pH 6.0 時抗體對新生兒 Fc 受體 (FcRn) 之 pH 依賴性結合（見例如美國專利公開號 2005/0276799、2007/0148164 及 2007/0122403）。增加缺乏 Fc 區之抗體片段的循環半衰期之已知方法包括像是 PEG 化之技術。

III. 使用方法及醫藥組成物

[0215] 本發明提供使用 Wnt 途徑抑制劑治療疾病諸如

癌，同時篩選、監測、減少、預防、減弱、及／或減輕不良反應及／或毒性之方法，該等不良反應及／或毒性包括但不限於與該 Wnt 途徑抑制劑治療有關之骨骼相關不良反應及／或毒性。與癌症治療有關之不良反應及／或毒性可包括但不限於疲倦、嘔吐、噁心、腹瀉、疼痛、掉髮、嗜中性球低下、貧血、血小板低下、心血管相關併發症、骨骼相關併發症、及任何彼等之組合。如本文中所使用之「骨骼相關併發症」（例如骨骼相關不良反應及／或毒性）包括但不限於骨量減少、骨質疏鬆症、骨折（包括無症狀骨折）、及彼等之組合。因此，在本文所述之方法的一些態樣及／或實施態樣中，篩選、監測、減少、預防、減弱、及／或減輕骨骼相關不良反應及／或毒性，係篩選、監測、減少、預防、減弱、及／或減輕骨密度流失及／或骨折風險。骨密度流失通常無徵狀及／或骨骼相關不良反應之早期徵候在例如骨密度篩選時並不明顯。

[0216] 骨代謝係骨形成與骨破壞的連續性雙重過程。骨破壞係指骨吸收，其係由破骨細胞進行，然而骨形成係由成骨細胞進行。在成人中，骨形成與骨破壞之雙重過程處於平衡狀態，維持固定、恆定控制量之骨。骨代謝可藉由測量在骨形成及骨吸收期間釋出之生物標記（例如酶、蛋白、及／或降解產物）評估及／或監測。這些生物標記通常被稱為「骨轉換標記」且包括骨形成標記及骨吸收標記。骨形成生物標記包括血清總鹼性磷酸酶、血清骨骼專一性鹼性磷酸酶、血清骨鈣化素、血清第1型前膠原

胺基端前肽 (P1NP) 及血清第 1 型前膠原羧基端前肽 (P1CP)。骨吸收生物標記包括尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉 (PYD)、尿中游離去氧吡啶啉 (DPD)、尿中第 1 型膠原蛋白交聯之 N-尾肽 (NTX)、尿中或血清第 1 型膠原蛋白交聯之 C-尾肽 (CTX)、骨涎蛋白 (BSP)、及抗酒石酸酸性磷酸酶 5b。

[0217] 骨之有機基質中約 90% 係第 1 型膠原，即一種螺旋蛋白，其中該分子之 N 端和 C 端交聯。於骨吸收期間，破骨細胞分泌酸性蛋白酶和中性蛋白酶之混合物，其能使膠原原纖維降解成包括 C-尾肽 (CTX) 之分子片段。當骨老化時，存在於 CTX 之 α 型天冬胺酸轉化為 β 型 (β -CTX)。於骨吸收期間， β -CTX 被釋出至血流且作為成熟第 1 型膠原之降解的特定標記。

[0218] 業已使用骨代謝標記以監測停經後婦女和診斷患有骨質稀少之個體的抗吸收治療 (例如激素取代性治療和雙磷酸鹽治療)。此外，可使用骨代謝標記以評估因使用激素藥物和非激素藥物進行治療所導致之因藥物引起的骨質疏鬆。該等藥物可包括但不限於糖皮質激素、甲狀腺激素、芳香酶抑制劑、卵巢抑制劑、雄激素剝奪治療、四氫噻唑二酮、選擇性血清素再攝取抑制劑、抗痙攣劑、肝素、口服抗凝血劑、環利尿劑、鈣調神經磷酸酶抑制劑、抗逆轉錄病毒治療及質子泵抑制劑。先前尚未使用骨代謝標記以評估 Wnt 途徑抑制劑之功效。於是，於某些實施態樣中，本發明提供使用骨代謝標記以監測經 Wnt 途徑

抑制劑治療之個體的骨骼相關副作用及/或毒性之方法。於某些實施態樣中，該方法使用骨生成生物標記以監測及/或偵測骨生成之減少程度。於某些實施態樣中，該方法使用骨吸收生物標記以監測及/或偵測骨吸收之增加程度。於某些實施態樣中，監測骨生成生物標記之量給予骨生成之減少程度及/或骨折之增加風險、骨質稀少及/或骨質疏鬆之早期指標。於某些實施態樣中，監測骨吸收生物標記之量給予骨吸收之增加程度及/或骨折之增加風險、骨質稀少及/或骨質疏鬆之早期指標。於某些實施態樣中，於骨骼功能不良之任何事件發生之前，藉由骨密度掃描，該方法偵測骨骼相關副作用及/或毒性。

[0219] 在某些實施態樣中，該經檢測、識別、監測、減少、預防、減弱、及/或篩選之骨骼相關不良反應及/或毒性，係由於投予 Wnt 途徑抑制劑或使用 Wnt 途徑抑制劑治療所造成、所關聯及/或有關。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及/或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及/或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑之活性。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及/或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑，該 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及/或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑，該 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體 OMP-18R5。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及/或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD 可溶性受體。在某些實施態

樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。在某些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係關於 Wnt 途徑抑制劑，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體 OMP-54F28。

[0220] 本發明提供選擇個體以使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量，及若該生物標記之量係低於預設量，則選擇該個體以使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該選擇個體以使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及若該生物標記之量係低於預設量則選擇該個體以使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該骨轉換標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。

[0221] 在一些實施態樣中，該選擇個體以使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中骨轉換標記之量、及若該骨轉換標記之量係低於預設量則選擇該個體以使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該生物樣本係尿液、血液、血清、或血漿。在一些實施態樣中，該骨轉換標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉 (PYD)、尿中游離去氧吡啶啉 (DPD)、尿中第 1 型膠原蛋白交聯之 N-尾肽 (NTX)、尿中或

血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽(CTX)、骨涎蛋白(BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係CTX或 β -CTX。因此，在一些實施態樣中，該選擇個體以使用Wnt途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX之量、及若該 β -CTX之量係低於預設量則選擇該個體以使用該Wnt途徑抑制劑進行治療。

[0222] 本發明提供識別個體為適合使用Wnt途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量，及若該生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該Wnt途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，識別個體為適合使用Wnt途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及若該生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該Wnt途徑抑制劑進行治療。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉(PYD)、尿中游離去氧吡啶啉(DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽(NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽(CTX)、骨涎蛋白(BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，識別個體為適合使用Wnt途徑抑制劑進行治療之方法包含：自該個體獲得

生物樣本、測定該樣本中 β -CTX之量、及若該 β -CTX之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該Wnt途徑抑制劑進行治療。

[0223] 本發明亦提供監測接受Wnt途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，監測接受Wnt途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉(PYD)、尿中游離去氧吡啶啉(DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽(NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽(CTX)、骨涎蛋白(BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，監測接受Wnt途

徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX之量、及比較該樣本中 β -CTX之量與該 β -CTX之預設量，其中 β -CTX之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

[0224] 本發明亦提供對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中該生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉(PYD)、尿中游離去氧吡啶啉(DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽(NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽(CTX)、骨涎蛋白(BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶5b。在一些實施態樣中，

該骨吸收生物標記係CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX之量、及比較該樣本中 β -CTX之量與 β -CTX之預設量，其中該 β -CTX之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

[0225] 本發明亦提供對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉(PYD)、尿中游離去

氧吡啉 (DPD)、尿中第 1 型膠原蛋白交聯之 N-尾肽 (NTX)、尿中或血清第 1 型膠原蛋白交聯之 C-尾肽 (CTX)、骨涎蛋白 (BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶 5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX 之量、及比較該樣本中 β -CTX 之量與 β -CTX 之預設量，其中若該樣本中 β -CTX 之量係高於 β -CTX 之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

[0226] 本發明亦提供對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：測定樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該

生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉(PYD)、尿中游離去氧吡啶啉(DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽(NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽(CTX)、骨涎蛋白(BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體監測心臟毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX之量、及比較該樣本中 β -CTX之量與 β -CTX之預設量，其中若該樣本中 β -CTX之量係高於 β -CTX之預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

[0227] 本發明亦提供減少接受Wnt途徑抑制劑治療之個體發生骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：測定來自個體之樣本中生物標記之量、比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，以及若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物諸如雙膦酸鹽。在一些實施態樣中，減少接受Wnt途徑抑制劑治療之個體發生骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，以及若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則對該個體投予治

療有效量之抗吸收藥物諸如雙膦酸鹽。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉 (PYD)、尿中游離去氧吡啶啉 (DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽 (NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽 (CTX)、骨涎蛋白 (BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶 5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，減少接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體發生骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX 之量、比較該樣本中 β -CTX 之量與 β -CTX 之預設量、及若該樣本中 β -CTX 之量係高於 β -CTX 之預設量則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物係雙膦酸鹽。

[0228] 本發明亦提供使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：測定來自個體之樣本中生物標記之量、比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量、對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物、及對該個體投予 Wnt 途徑抑制劑。在一些實施態樣中，使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個

體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量、對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物、及對該個體投予該 Wnt 途徑抑制劑。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉 (PYD)、尿中游離去氧吡啶啉 (DPD)、尿中第 1 型膠原蛋白交聯之 N-尾肽 (NTX)、尿中或血清第 1 型膠原蛋白交聯之 C-尾肽 (CTX)、骨涎蛋白 (BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶 5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法包含：在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該接受治療之個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX 之量、比較該樣本中 β -CTX 之量與 β -CTX 之預設量；若該樣本中 β -CTX 之量係高於 β -CTX 之預設量則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物；及對該個體投予該 Wnt 途徑抑制劑。

[0229] 在本文所述之方法的一些實施態樣中，該預

設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 1500 pg/ml 或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 1200 pg/ml 或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 1000 pg/ml 或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 800 pg/ml 或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 600 pg/ml 或更低。在一些實施態樣中，該預設量係在血液、血清、或血漿樣本中約 400 pg/ml 或更低。在 β -CTX 之預設量的上下文中，用語「約」係指指稱量加或減該指稱量之 10%。

[0230] 在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係該生物標記於稍早日期所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係該生物標記於最初篩選時所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係該生物標記於治療前所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係該生物標記於最初篩選時所獲得之樣本中的量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係正常參考量。在一些實施態樣中，該生物標記（例如骨吸收生物標記或 β -CTX）之預設量係基準量。在一些實施態樣中，該基準量係在最初篩選時所測定之該生物標記之量。在一些實施態樣中，該基準量係在治

療前所測定之該生物標記之量。

[0231] 在一些實施態樣中，若該 β -CTX於該樣本中之量比預設量增加2倍或更高（即變為2倍或更高），則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。在一些實施態樣中，若該 β -CTX於該樣本中之量比基準量增加2倍或更高（即變為2倍或更高），則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

[0232] 在本文所述之任何方法中，生物樣本係於約每周、每2周、每3周、每4周、每5周、或每6周獲得。

[0233] 在本文所述之任何方法的一些實施態樣中，個體係利用雙能量X光吸收儀(DEXA)骨密度掃描儀評估。此技術係測量骨礦物密度(BMD)最常用的測試。DEXA輸出包括T得分（比較個體與30至35歲成人之骨密度），以及Z得分（比較個體之骨密度與相符年齡性別族群之平均骨密度）。T得分係用於根據標準評分決定個體是否具有骨量減少或骨質疏鬆症。大於-1的T得分被認為是正常的骨密度；介於-1至-2.5之間的T得分被認為是骨量減少；小於-2.5的T得分被認為是骨質疏鬆症；小於-2.5之T得分且發生1次以上骨質疏鬆性骨折被認為是嚴重（已成立之）骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，若總股骨或脊椎L1至L4之T得分降低至小於-2.5，表示具有骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，若總股骨或脊椎L1至L4之T得分降低至小於-2.0，表示具有骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，若總股骨或脊椎L1至L4之T

得分降低至小於 -1.5，表示具有骨骼相關不良反應及／或毒性。在一些實施態樣中，若總股骨或脊椎 L1 至 L4 之 T 得分降低至小於 -1.0，表示具有骨骼相關不良反應及／或毒性。

[0234] 本發明亦提供使投予 Wnt 途徑抑制劑之個體改善骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

● [0235] 本發明亦提供篩選個體因 Wnt 途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法，其包含：測定來自該個體之樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則該個體具有發生骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，篩選個體因 Wnt 途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法包含：在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中生物標記之量、及比較該樣本中生物標記之量與該生物標記之預設量，其中若該樣本中生物標記之量係高於該生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折風險。在一些實施態樣中，該骨骼相關不良反應及／或毒性係骨量減少或骨質疏鬆症。在一些實施態樣中，該生物標記係骨轉換標記。在一些實施態樣中，該生物標記係骨吸收生物標記。在一些實施態樣中，

該骨吸收生物標記係尿中羥基脯胺酸、尿中總吡啶啉 (PYD)、尿中游離去氧吡啶啉 (DPD)、尿中第1型膠原蛋白交聯之N-尾肽 (NTX)、尿中或血清第1型膠原蛋白交聯之C-尾肽 (CTX)、骨涎蛋白 (BSP)、或抗酒石酸酸性磷酸酶 5b。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 CTX。在一些實施態樣中，該骨吸收生物標記係 β -CTX。在一些實施態樣中，篩選個體因 Wnt 途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法包含：在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該個體獲得生物樣本、測定該樣本中 β -CTX 之量、及比較該樣本中 β -CTX 之量與 β -CTX 之預設量，其中若該樣本中 β -CTX 之量係高於 β -CTX 之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，該 β -CTX 之預設量係在最初篩選時所測定之值。在一些實施態樣中， β -CTX 之預設量係約 400 至 1200 pg/ml。在一些實施態樣中，若該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險，則在使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療之前，對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

[0236] 在本文所述之方法的一些實施態樣中，該抗吸收藥物係雙膦酸鹽。咸信雙膦酸鹽藉由「誘導」破骨細胞經歷細胞凋亡，從而抑制骨消化，以預防骨質流失。在一些實施態樣中，該雙膦酸鹽係選自：羥乙膦酸鹽 (etidronate)、氯屈膦酸鹽 (clodronate)、替魯膦酸鹽 (tiludronate)、帕米膦酸鹽 (pamidronate)、奈立膦酸鹽 (neridronate)、奧帕膦酸鹽 (olpadronate)、阿崙膦酸鹽

(alendronate) (FOSAMAX)、伊班膦酸鹽 (ibandronate) (BONIVA)、利塞膦酸鹽 (risedronate) (ACTONEL) 及唑來膦酸 (zoledronic acid) (RECLAST)。在一些實施態樣中，該雙膦酸鹽係唑來膦酸 (zoledronic acid)。在一些實施態樣中，該抗吸收藥物劑係抗 RANKL 抗體迪諾單抗 (denosumab) (PROLIA)。

[0237] 在本文所述之任何方法中，該 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體。在本文所述之任何方法中，該 Wnt 途徑抑制劑係抗 Wnt 抗體。在本文所述之任何方法中，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD 可溶性受體。

[0238] 在本文所述之任何方法的某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係抗體，該抗體包含：(a) 包含 GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1) 之重鏈 CDR1、包含 VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2) 之重鏈 CDR2、及包含 NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3) 之重鏈 CDR3，及 (b) 包含 SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4) 之輕鏈 CDR1、包含 DKSNRPSG (SEQ ID NO:5) 之輕鏈 CDR2、及包含 QSYANTLSL (SEQ ID NO:6) 之輕鏈 CDR3。

[0239] 在本文所述之任何方法的某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO:7，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO:8。

[0240] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑包含和 OMP-18R5 相同的重鏈可變區及相同的輕鏈可變區序列。

在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。OMP-18R5 係一種與人 FZD1、FZD2、FZD5、FZD7、及 FZD8 受體結合之 IgG2 人單株抗體，先前已於美國專利第 7,982,013 號中描述。

[0241] 在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑包含與寄存於美國菌種保存中心(ATCC)之編號 PTA-9541 之質體所編碼之抗體相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係由具有 ATCC 寄存編號 PTA-9541 之質體所編碼，該質體依據布達佩斯條約之規定於 2008 年 9 月 29 日寄存於美國菌種保存中心(ATCC)（地址：10801 University Boulevard, Manassas, VA, 20110）。在某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑與寄存於美國菌種保存中心(ATCC)之編號 PTA-9541 之質體所編碼之抗體，競爭與人 FZD 之專一性結合。

[0242] 在本文所述之任何方法的某些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8 可溶性受體，其包含 SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:30、或 SEQ ID NO:33。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:20 之 FZD8 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:30 之 FZD8 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:33 之 FZD8 可溶性受體。

[0243] 在本文所述之任何方法的某些實施態樣中，

該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD-Fc 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 FZD8-Fc 可溶性受體，其包含 SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、或 SEQ ID NO:41。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:39 之 FZD8-Fc 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:40 之 FZD8-Fc 可溶性受體。● 在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係包含 SEQ ID NO:41 之 FZD8-Fc 可溶性受體。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係 OMP-54F28。在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑不是 OMP-54F28。

[0244] 在一些實施態樣中，該個體罹患癌症。在一些實施態樣中，該癌症係選自：肺癌、乳癌、結腸癌、結直腸癌、黑色素瘤、胰癌、胃腸癌、腎癌 (renal cancer)、● 卵巢癌、肝癌、肝細胞癌 (HCC)、子宮內膜癌、腎癌 (kidney cancer)、前列腺癌、甲狀腺癌、神經內分泌癌、神經胚細胞瘤、神經膠瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、胃癌、膀胱癌、肝腫瘤、及頭頸癌。如本文中所使用之「肺癌」係指所有肺癌，包括非小細胞肺癌 (NSCLC) 及小細胞肺癌 (SCLC)。在某些實施態樣中，該癌係血癌諸如淋巴瘤或白血病。在一些實施態樣中，該癌係乳癌。在某些實施態樣中，該癌係 NSCLC。在某些實施態樣中，該癌係卵巢癌。在某些實施態樣中，該癌係胰癌。在一些實施態樣中，該癌係肝癌。在某些實施態樣中，該

癌不是神經內分泌癌。

[0245] 因此，本發明亦提供治療癌症之方法。在一些實施態樣中，該等方法包含一種對有需要治療之個體治療癌症之方法，其包含：(a)對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；及 (b)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量。在一些實施態樣中，治療癌症之方法包含 (a) 對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量。在一些實施態樣中，治療癌症之方法包含 (a)對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，治療癌症之方法包含 (a)對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

[0246] 本發明亦提供抑制腫瘤生長之方法。在一些實施態樣中，該等方法包含一種對有需要抑制腫瘤生長之個體抑制腫瘤生長之方法，其包含：(a)對該個體投予治療

有效量之 Wnt 途徑抑制劑；及 (b) 測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含 (a) 對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b) 測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c) 比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含 (a) 對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b) 測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c) 比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含 (a) 對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；(b) 測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及 (c) 比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

[0247] 在一些實施態樣中，該生物樣本係體液。在一些實施態樣中，該生物樣本係血液、血漿、血清、或尿液。在一些實施態樣中，該生物樣本係靜脈全血樣本。在一些實施態樣中，該生物樣本係使用 EDTA 或肝素作為抗凝劑之靜脈全血樣本。在一些實施態樣中，該生物樣本係血漿樣本。在一些實施態樣中，該生物樣本係使用 EDTA 或肝素作為抗凝劑之血漿樣本。體液樣本可利用該領域習

知之任何方法取得。在一些實施態樣中，該生物樣本係冷凍組織樣本或新鮮組織樣本。

[0248] 用於測量或測定樣本中骨吸收生物標記(例如 β -CTX)之量的檢測係為此技藝之人士所習知。例如，於某些實施態樣中，使用能定量測量全血或血漿樣本中 β -CTX量之免疫檢測。於某些實施態樣中，該樣本含有作為抗凝血劑之EDTA。於某些實施態樣中，該樣本含有作為抗凝血劑之肝素。於某些實施態樣中，該免疫檢測包含針對 β -CTX之EKAHD- β -GGR的胺基酸序列之2種高度專一性單株抗體，其中天冬胺酸殘基係經 β 異構化。為得到免疫檢測之特定訊號，EKAHD- β -GGR之2個鏈必須交聯。於某些實施態樣中，將樣本和適當對照組置於經鏈黴抗生物素蛋白塗覆之微滴定孔槽中，隨後加入含有針對 β -CTX之EKAHD- β -GGR的胺基酸序列之生物素化單株抗體的溶液。經培育和沖洗後，將發色受質溶液加入至微滴定孔槽中。經培育後，令反應中止。讀取該微滴定孔槽之吸光度並測定 β -CTX濃度。

[0249] 在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係以約0.5 mg/kg之起始劑量投予。例如，抗體OMP-18R5係以5%葡萄糖水(USP)稀釋至總體積250mL。OMP-18R5係經由0.22微米濾器在30分鐘內以靜脈輸注給予。在一些實施態樣中，之後的劑量係以類似之方式投予。

[0250] 在本發明之另一態樣中，本文中所述之方法可進一步包含投予一或多種額外之治療劑。額外之治療劑

可於投予該 Wnt 途徑抑制劑之前、之同時及/或之後投予。本發明亦提供包含 Wnt 途徑抑制劑與額外治療劑之醫藥組成物。在一些實施態樣中，該一或多種額外治療劑包含 1、2、3 或更多種額外之治療劑。

[0251] 含有至少二種治療劑之組合療法通常使用具有不同作用機轉之劑，雖然並非必要。使用不同作用機轉之劑的組合療法可能導致加成或協同效應。組合療法可能允許相較於單一療法使用較低劑量之各劑，藉以減少不良反應及/或毒性。組合療法可能增加一或兩種治療劑之治療指數。組合療法可能減少抗藥性癌細胞發生之可能性。在一些實施態樣中，組合療法包含主要影響(例如抑制或殺滅)非腫瘤發生性細胞之治療劑及主要影響(例如抑制或殺滅)腫瘤發生性 CSC 之治療劑。因此，在一些實施態樣中，該 Wnt 途徑抑制劑係與至少一種額外之治療劑組合投予。在一些實施態樣中，抗 FZD 抗體係與至少一種額外之治療劑組合投予。在一些實施態樣中，該抗 FZD 抗體 OMP-18R5 係與至少一種額外之治療劑組合投予。在一些實施態樣中，FZD 可溶性受體係與至少一種額外之治療劑組合投予。在一些實施態樣中，該 FZD8-Fc 可溶性受體係與至少一種額外之治療劑組合投予。

[0252] 可與該 Wnt 途徑抑制劑組合投予之治療劑包括化學治療劑。因此，在一些實施態樣中，該方法或治療牽涉投予本發明之 Wnt 途徑抑制劑與化學治療劑或多種不同化學治療劑之雞尾酒組合之組合。Wnt 途徑抑制劑(例如

抗體或可溶性受體)之治療可發生於投予化學治療之前、之同時或之後。組合投予可包括於單一醫藥調製劑中共投或利用分開之調製劑共投，或以任何順序連續投予但通常在一段期間內以使所有活性劑可同步展現彼等之生物活性。該等化學治療劑之準備及投予計畫可根據製造商之說明使用或由經驗豐富之醫生憑經驗決定。該等化學治療之準備及投予計畫亦描述於 *The Chemotherapy Source Book, 4th Edition*, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA。

[0253] 可用於本發明之化學治療劑包括但不限於：烷化劑諸如噻替派 (thiotepa) 及環磷醯胺 (cyclophosphamide) (CYTOXAN)；烷基磺酸鹽諸如白消安 (busulfan)、英丙舒凡 (improsulfan) 及哌泊舒凡 (piposulfan)；氮丙啶諸如苯多巴 (benzodopa)、卡波醌 (carboquone)、甲基優瑞多巴 (meturedopa) 及優瑞多巴 (uredopa)；伸乙亞胺 (ethylenimines) 及甲基三聚氰胺 (methylmelamines) 包括阿草特胺 (altretamine)、三亞乙基三聚氰胺 (triethylenemelamine)、三乙烯磷醯胺 (triethylenephosphoramidate)、三乙烯硫磷醯胺 (triethylenethiophosphoramidate) 及三羥甲基三聚氰胺 (trimethylolmelamine)；氮芥子氣諸如氯芥苯丁酸 (chlorambucil)、氮芥 (chlornaphazine)、cholophosphamide、雌二醇氮芥 (estramustine)、異環磷酰胺 (ifosfamide)、雙氯乙基甲胺 (mechlorethamine)、鹽酸氧

氮芥 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、黴法蘭 (melphalan)、新氮芥 (novembichin)、膽甾醇苯乙酸氮芥 (phenesterine)、松龍苯芥 (prednimustine)、氯乙環磷醯胺 (trofosfamide)、尿嘧啶芥 (uracil mustard)；亞硝基脲 (nitrosourea) 諸如卡氮芥 (carmustine)、吡葡亞硝脲 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、羅氮芥 (lomustine)、尼氮芥 (nimustine)、雷諾氮芥 (ranimustine)；抗生素諸如阿克拉黴素 (aclacinomycin)、放線菌素 (actinomycin)、安曲黴素 (anthramycin)、氮絲胺酸 (azaserine)、博來黴素 (bleomycin)、放線菌素 C (cactinomycin)、卡利奇黴素 (calicheamicin)、卡拉比辛 (carabycin)、洋紅黴素 (carminomycin)、嗜癌素 (carzinophilin)、色黴素 (chromomycin)、達克黴素 (dactinomycin)、正定黴素 (daunorubicin)、地托比星 (detorubicin)、6-重氮-5-羰基-L-正白胺酸、多柔比星 (doxorubicin)、表阿黴素 (epirubicin)、依索比星 (esorubicin)、伊達比星 (idarubicin)、麻西羅黴素 (marcellomycin)、絲裂黴素 (mitomycins)、黴酚酸、諾加黴素 (nogalamycin)、橄欖黴素 (olivomycin)、培洛黴素 (peplomycin)、波弗黴素 (porfiromycin)、嘌呤黴素 (puromycin)、三鐵阿黴素 (quelamycin)、羅多比星 (rodorubicin)、鏈黴黑素 (streptonigrin)、鏈脲佐菌素 (streptozocin)、殺結核菌素 (tubercidin)、烏苯美司 (ubenimex)、新制癌菌素 (zinostatin)、佐柔比星

(zorubicin)；抗代謝劑諸如甲胺喋呤(methotrexate)及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物諸如二甲葉酸(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲蝶呤(trimetrexate)；嘌呤類似物諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物諸如安西他濱(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-硫唑脲嘧啶(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、二去氧尿苷、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU；雄性素諸如卡魯甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、硫雄甾醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酮(testolactone)；抗腎上腺劑諸如胺魯米特(aminogluthetamide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑諸如亞葉酸；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基酮戊酸(aminolevulinic acid)；安吡啶(amsacrine)；貝斯特氮芥(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatrexate)；defofamine；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醌(diaziquone)；elformithine；依利醋鉍(elliptinium acetate)；依托格魯(etoglucid)；硝酸鎂(gallium nitrate)；羥基脲；香菇糖(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)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK；雷佐生(razoxane)；西佐喃(sizofuran)；鍺螺胺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺(2,2',2''-trichlorotriethylamine)；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；gacytosine；阿拉伯糖苷(Ara-C)；類紫杉醇(taxoids)例如太平洋紫杉醇(TAXOL)及多西紫杉醇(TAXOTERE)；苯丁酸氮芥(chlorambucil)；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巯嘌呤(mercaptopurine)；鉑類似物諸如順鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin)；長春鹼(vinblastine)；鉑(platinum)；依托泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺(ifosfamide)；絲裂黴素C；米托蒽醌(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；溫諾平(navelbine)；米托蒽醌(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；道諾黴素(daunomycin)；胺喋呤(aminopterin)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT11；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(esperamicin)；卡培他濱(capecitabine)(XELODA)及上述任一劑之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生

物。化學治療劑亦包括用來調節或抑制荷爾蒙對腫瘤之作用的抗荷爾蒙劑，諸如抗雌激素劑包括例如它莫西芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、芳香酶抑制劑4(5)-咪唑、4-羥基它莫西芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及托瑞米芬(toremifene) (FARESTON)；及抗雄性素劑諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、柳普林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；及上述任一劑之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。在某些實施態樣中，該額外治療劑係順鉑。在某些實施態樣中，該額外治療劑係卡鉑。在某些實施態樣中，該額外治療劑係太平洋紫杉醇(paclitaxel)。在某些實施態樣中，當該與Wnt途徑抑制劑組合投予之化學治療劑係卡鉑(carboplatin)時，該經治療之癌或腫瘤係肺癌或肺腫瘤。

[0254] 在某些實施態樣中，該化學治療劑係拓撲異構酶抑制劑。拓撲異構酶抑制劑係干擾拓撲異構酶(例如拓撲異構酶I或II)之活性的化學治療劑。拓撲異構酶抑制劑包括但不限於鹽酸多柔比星(doxorubicin HCl)、檸檬酸正定黴素(daunorubicin citrate)、鹽酸米托蒽醌(mitoxantrone HCl)、放線菌素D、依托泊苷(etoposide)、鹽酸拓撲替康(topotecan HCl)、替尼泊苷(teniposide) (VM-26)及伊立替康(irinotecan)，以及這些任一劑之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。在某些實施態樣中，該額外

治療劑係伊立替康(irinotecan)。

[0255] 在某些實施態樣中，該化學治療劑係抗代謝劑。抗代謝劑係一化學物質，其結構類似正常生化反應所需之代謝物，但仍有足夠之不同處以干擾一或多種細胞正常功能，諸如細胞分裂。抗代謝劑包括但不限於吉西他濱(gemcitabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、卡培他濱(capecitabine)、甲胺喋呤鈉、雷替曲塞(ralitrexed)、培美曲塞(pemetrexed)、替加氟(tegafur)、胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosine arabinoside)、硫鳥嘌呤、5-氮雜胞苷、6-巰基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鳥嘌呤、噴司他丁(pentostatin)、磷酸氟達拉濱(fludarabine phosphate)及克拉屈濱(cladribine)，以及這些任一劑之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。在某些實施態樣中，該額外治療劑係吉西他濱。在一些實施態樣中，該額外治療劑係培美曲塞。在某些實施態樣中，當該與Wnt途徑抑制劑組合投予之化學治療劑係吉西他濱時，該經治療之癌或腫瘤係胰癌或胰腫瘤。在某些實施態樣中，當該與Wnt途徑抑制劑組合投予之化學治療劑係培美曲塞時，該經治療之癌或腫瘤係肺癌或肺腫瘤。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係與培美曲塞和卡鉑組合投予。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與吉西他濱組合投予以治療胰癌。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或該FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與吉西他濱組合投予以治療胰癌。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與吉西他濱

和經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療胰癌。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與吉西他濱和經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療胰癌。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與卡鉑和太平洋紫杉醇或經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療卵巢癌。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與卡鉑和太平洋紫杉醇或經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療卵巢癌。

[0256] 在某些實施態樣中，該化學治療劑係抗有絲分裂劑，包括但不限於與微管蛋白結合之劑。在一些實施態樣中，該劑係紫杉烷。在某些實施態樣中，該劑係太平洋紫杉醇(paclitaxel)或多西紫杉醇(docetaxel)，或太平洋紫杉醇或多西紫杉醇之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。在某些實施態樣中，該劑係太平洋紫杉醇(TAXOL)、多西紫杉醇(TAXOTERE)、白蛋白結合型太平洋紫杉醇(ABRAXANE)、DHA-太平洋紫杉醇或PG-太平洋紫杉醇。在某些替代性實施態樣中，該抗有絲分裂劑包含長春花生物鹼，諸如長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、長春瑞濱(vinorelbine)或長春地辛(vindesine)或彼等之醫藥上可接受之鹽、酸或衍生物。在一些實施態樣中，該抗有絲分裂劑係驅動蛋白(kinesin) Eg5之抑制劑或有絲分裂激酶諸如Aurora A或Plk1之抑制劑。在某些實施態樣中，當該與Wnt途徑抑制劑組合投予之化學治療劑係抗有絲分

裂劑時，該經治療之癌或腫瘤係乳癌或乳房腫瘤。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與太平洋紫杉醇或經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療乳癌。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與太平洋紫杉醇或經白蛋白結合之太平洋紫杉醇組合投予以治療乳癌。在某些實施態樣中，當該與Wnt途徑抑制劑組合投予之化學治療劑係抗有絲分裂劑時，該經治療之癌或腫瘤係肺癌。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與多西紫杉醇組合投予以治療肺癌。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與多西紫杉醇組合投予以治療肺癌。

[0257] 在一些實施態樣中，額外治療劑包含諸如小分子之劑。舉例來說，治療可涉及組合投予本發明之Wnt途徑抑制劑（例如抗體）與作為其他腫瘤相關性蛋白質之抑制劑的小分子，其他腫瘤相關性蛋白質包括但不限於EGFR、ErbB2、HER2及/或VEGF。在某些實施態樣中，該額外治療劑係抑制蛋白激酶之小分子。在某些實施態樣中，該額外治療劑係抑制酪胺酸蛋白激酶之小分子。在一些實施態樣中，抗FZD抗體或FZD可溶性受體係與蛋白激酶抑制劑（例如索拉非尼(sorafenib)）組合投予以治療肝癌（例如HCC）。在一些實施態樣中，該抗FZD抗體OMP-18R5或該FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28係與蛋白激酶抑制劑（例如索拉非尼）組合投予以治療肝癌（例如

HCC)。在某些實施態樣中，該額外治療劑係抑制癌幹細胞途徑之小分子。在一些實施態樣中，該額外治療劑係缺口途徑之小分子抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係Wnt途徑之小分子抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係BMP途徑之小分子抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係抑制 β -連環蛋白傳訊之小分子。

[0258] 在一些實施態樣中，額外治療劑包含生物性分子像是抗體。舉例來說，治療可涉及組合投予本發明之Wnt途徑抑制劑（例如抗體）與拮抗其他腫瘤相關性蛋白質之其他抗體，包括但不限於與EGFR、ErbB2、HER2及／或VEGF結合之抗體。在某些實施態樣中，該額外治療劑係抗癌幹細胞標記抗體之抗體。在一些實施態樣中，該額外治療劑係與缺口途徑之成份結合之抗體。在一些實施態樣中，該額外治療劑係與Wnt途徑之成份結合之抗體。在某些實施態樣中，該額外治療劑係抑制癌幹細胞途徑之抗體。在一些實施態樣中，該額外治療劑係缺口途徑之抗體抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係Wnt途徑之抗體抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係BMP途徑之抗體抑制劑。在一些實施態樣中，該額外治療劑係抑制 β -連環蛋白傳訊之抗體。在某些實施態樣中，該額外治療劑係血管生成抑制劑或調節劑之抗體（例如抗VEGF或VEGF受體抗體）。在某些實施態樣中，該額外治療劑係貝伐珠單抗（bevacizumab）（AVASTIN）、曲妥珠單抗（trastuzumab）（HERCEPTIN）、帕尼單抗（panitumumab）

(VECTIBIX)或西妥昔單抗(cetuximab) (ERBITUX)。組合投予可包括於單一醫藥調製劑中共投或利用分開之調製劑共投，或以任何順序連續投予但通常在一段期間內以使所有活性劑可同步展現彼等之生物活性。

[0259] 另外，以本文所述之Wnt途徑抑制劑治療可包括與其他生物分子組合治療，像是一或多種細胞介素（例如淋巴介質、介白素、腫瘤壞死因子及／或生長因子），或可伴隨手術移除腫瘤、癌細胞或任何其他醫師認為必要之治療。

[0260] 將了解的是，Wnt途徑抑制劑與額外治療劑之組合可以任何順序投予或同時投予。在一些實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑係經投予至已先接受第二治療劑治療之個體。在某些其他實施態樣中，該Wnt途徑抑制劑與第二治療劑係經實質上同步或同時投予。舉例來說，個體可能在接受第二治療劑（例如化學治療）之療程時被給予Wnt途徑抑制劑（例如抗體）。在某些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑係於接受第二治療劑治療之一年內被投予。在某些替代性實施態樣中，Wnt途徑抑制劑係於接受第二治療劑之任何治療的10、8、6、4或2個月內被投予。在某些其他實施態樣中，Wnt途徑抑制劑係於接受第二治療劑之任何治療的4、3、2、或1周內被投予。在一些實施態樣中，Wnt途徑抑制劑係於接受第二治療劑之任何治療的5、4、3、2或1天內被投予。將另外了解的是，該二（或多）種劑或治療可在數小時或數分鐘內（即實質上同步）被投予

至個體。

[0261] 如該領域之技藝人士所知，投予任何治療劑可能導致不良反應及／或毒性。在一些情況中，不良反應及／或毒性非常嚴重以至於無法投予治療有效劑量之特定劑。在一些情況中，藥物治療必須中斷，並嘗試其他劑。然而，許多相同治療類別之劑通常展現類似之不良反應及／或毒性，表示個體必須停止治療，或可能的話忍受與該治療劑有關之不適不良反應。

[0262] 治療劑之不良反應可能包括但不限於麻疹、皮膚紅疹、發癢、噁心、嘔吐、食慾減低、下痢、畏寒、發燒、疲倦、肌肉痛、頭痛、低血壓、高血壓、低血鉀、低血球數、出血及心臟問題。

[0263] 因此，在一些實施態樣中，本文所述之方法包括使用間歇性給藥方案，其可能減少與投予 Wnt 途徑抑制劑有關之不良反應及／或毒性。如本文中所使用之「間歇性投藥」係指投藥間隔超過每周一次的投藥方案，例如每 2 周投藥一次、每 3 周一次、每 4 周一次、等。在一些實施態樣中，治療個體之方法包含根據間歇性投藥方案對該個體投予有效劑量之 Wnt 途徑抑制劑（例如抗 FZD 抗體或 FZD 可溶性受體）。在一些實施態樣中，該方法包含根據間歇性投藥方案對該個體投予有效劑量之 Wnt 途徑抑制劑（例如抗 FZD 抗體或 FZD 可溶性受體），並增加該 Wnt 途徑抑制劑之治療指數。在一些實施態樣中，該間歇性投藥方案包含對該個體投予初始劑量之 Wnt 途徑抑制劑，接著

以大約每2周一次投予該 Wnt途徑抑制劑之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥方案包含對該個體投予初始劑量之 Wnt途徑抑制劑，接著以大約每3周一次投予該 Wnt途徑抑制劑之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥方案包含對該個體投予初始劑量之 Wnt途徑抑制劑，接著以大約每4周一次投予該 Wnt途徑抑制劑之後續劑量。

[0264] 在一些實施態樣中，間歇性投藥計畫中之後續劑量係大約與初始劑量相同或少於之量。在其他實施態樣中，該後續劑量之量係高於該初始劑量。如該領域之技藝人士所知，使用之劑量將視所欲達成之臨床目標而異。在一些實施態樣中，該初始劑量係約 0.25 mg/kg 至約 20 mg/kg。在一些實施態樣中，該初始劑量係約 0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 0.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 1 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 2.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 5 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 7.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 10 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 12.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 15 mg/kg。在某些實施態樣中，該初始劑量係約 20 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約 0.25 mg/kg 至約 20 mg/kg。在某些實施態樣中，該後續劑量係約 0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、

14、15、16、17、18、19或20 mg/kg。在某些實施態樣中，該後續劑量係約0.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該後續劑量係約1 mg/kg。在某些實施態樣中，該後續劑量係約2.5 mg/kg。在某些實施態樣中，該後續劑量係約5 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約7.5 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約10 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約12.5 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約15 mg/kg。在一些實施態樣中，該後續劑量係約20 mg/kg。

[0265] 在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約2.5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每2周投予一次約2.5 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每2周投予一次約5 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約2.5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每3周投予一次約2.5 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每3周投予一次約5 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約10 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每3周投予一次約10 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約15 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每3

周投予一次約15 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約20 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每3周投予一次約20 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約2.5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每4周投予一次約2.5 mg/kg之後續劑量。在一些實施態樣中，該間歇性投藥計畫包含：(a)對個體投予約5 mg/kg之Wnt途徑抑制劑之初始劑量及(b)每4周投予一次約5 mg/kg之後續劑量。在某些實施態樣中，該初始劑量與維持劑量不同，例如初始劑量係約5 mg/kg，後續劑量係約2.5 mg/kg。在某些實施態樣中，間歇性投藥計畫可能包含負荷劑量，例如初始劑量係約20 mg/kg，後續劑量係每2周、每3周或每4周投予一次約2.5 mg/kg或約5 mg/kg。

[0266] 在本文所述之方法的一些實施態樣中，治療癌之方法包含對需要治療之個體投予治療有效量之OMP-18R5，劑量為(a)約每一至二周至少約0.5 mg/kg，或(b)約每三周至少約1.0 mg/kg。在一些實施態樣中，治療癌之方法包含對需要治療之個體投予治療有效量之OMP-18R5，劑量為約每一至二周約0.5 mg/kg至約1.0 mg/kg。在一些實施態樣中，治療癌之方法包含對需要治療之個體投予治療有效量之OMP-18R5，劑量為約每三周約1.0 mg/kg至約10.0 mg/kg。在一些實施態樣中，治療癌之方法包含對需要治療之個體投予治療有效量之OMP-18R5，劑量為約每三周約10 mg/kg至約20.0 mg/kg。

[0267] 在某些實施態樣中，治療人病患之癌症的方法包含每3周一次對該病患投予一劑量之 Wnt 途徑抑制劑，且重複此投藥總共 3、4、5、6、7、8、或更多個循環。在某些實施態樣中，治療人病患之癌症的方法包含每3周一次對該病患投予一約 10 mg/kg 劑量之 Wnt 途徑抑制劑，且重複此投藥總共 3、4、5、6、7、8、或更多個循環。在某些實施態樣中，治療人病患之癌症的方法包含每3周一次對該病患投予一約 15 mg/kg 劑量之 Wnt 途徑抑制劑，且重複此投藥總共 3、4、5、6、7、8、或更多個循環。在某些實施態樣中，治療人病患之癌症的方法包含每3周一次對該病患投予一約 20 mg/kg 劑量之 Wnt 途徑抑制劑，且重複此投藥總共 3、4、5、6、7、8、或更多個循環。在一些實施態樣中，該投予係重複 4 個循環。在一些實施態樣中，該投予係重複 5 個循環。在一些實施態樣中，該投予係重複 6 個循環。在一些實施態樣中，該投予係重複 7 個循環。在一些實施態樣中，該投予係重複 8 個循環。

[0268] 本發明之另一態樣關於減少 Wnt 途徑抑制劑於人個體之毒性之方法，該方法包含利用間歇性投藥方案對該個體投予 Wnt 途徑抑制劑。本發明之另一態樣關於減少 Wnt 途徑抑制劑於人個體之不良反應之方法，該方法包含利用間歇性投藥方案對該個體投予 Wnt 途徑抑制劑。本發明之另一態樣關於增加 Wnt 途徑抑制劑於人個體之治療指數之方法，該方法包含利用間歇性投藥方案對該個體投予 Wnt 途徑抑制劑。

[0269] 選擇初始及後續劑量之遞送方法係根據個體耐受 Wnt 途徑抑制劑導入體內之能力而定。因此，在本文所述之任何態樣／或實施態樣中，Wnt 途徑抑制劑之投予可能藉由靜脈注射或經靜脈投予。在一些實施態樣中，該投予係藉由靜脈輸注。在本文所述之任何態樣／或實施態樣中，Wnt 途徑抑制劑之投予可能藉由非靜脈途徑投予。

[0270] 在某些實施態樣中，該治療涉及投予本發明之 Wnt 途徑抑制劑（例如抗體）與放射治療之組合。使用 Wnt 途徑抑制劑治療可發生於投予放射治療之前、之同時或之後。該放射治療之投予計畫可由經驗豐富之醫生決定。

[0271] 本揭示內容之實施態樣可進一步參照下列非限制性實例定義，其敘述使用 Wnt 途徑抑制劑以治療癌症。該領域之技藝人士將顯而易見的是，許多在材料及方法上之調整可加以實施而不背離本發明之範圍。

實施例 1

於乳房異種移植模式中間歇性投予抗 FZD 抗體 OMP-18R5 及對腫瘤生長之功效

[0272] 將 UM-PE13 乳房腫瘤細胞 (20,000 細胞) 經皮下注射至 6 至 8 週大 NOD/SCID 小鼠。將動物隨機分組 (n=10 隻/組) 並經抗 FZD 抗體 OMP-18R5 與紫杉醇 (Taxol) 之組合處理及單獨經紫杉醇處理。每周投予紫杉醇 (10 mg/kg) 且每 3 周投予 OMP-18R5 劑量 5、10、25 或 45 mg/kg 一次。該等藥劑

經腹膜內投予。於指定日期使用電子測徑器測量腫瘤體積。

[0273] 如圖1所示，每3周投予OMP-18R5與紫杉醇之組合於如此低劑量5 mg/kg或10 mg/kg下能有效地降低PE-13腫瘤生長。該腫瘤生長抑制作用大於每周單獨投予紫杉醇所觀察到之腫瘤生長抑制作用。較高劑量之OMP-18R5 (25 mg/kg和45 mg/kg)與紫杉醇之組合更能較大地抑制腫瘤生長且於後期時點觀察到腫瘤消退。此等結果證實使用間歇性給藥攝取方式能維持抗FZD抗體與化學治療劑(諸如紫杉醇)組合治療之功效。

實施例2

間歇性投予抗FZD抗體OMP-18R5對骨生成之功效

[0274] 將UM-PE13乳房腫瘤細胞(20,000細胞)經皮下注射至6至8週大NOD/SCID小鼠。將動物隨機分組(n=10隻/組)並經抗FZD抗體OMP-18R5與紫杉醇(Taxol)之組合處理及單獨經紫杉醇處理。每周投予紫杉醇(15 mg/kg)一次且每4周、每2周或每周投予OMP-18R5 (25 mg/kg)一次。該等藥劑經腹膜內投予。於指定日期使用電子測徑器測量腫瘤體積。

[0275] 如圖2所示，每周一次、每2周一次及每4周一次投予OMP-18R5 (25 mg/kg)與紫杉醇之組合能有效地降低PE-13腫瘤生長。投予OMP-18R5與紫杉醇之組合的腫瘤生長抑制作用大於單獨投予紫杉醇所觀察到之腫瘤生長抑

制作用。

[0276] 於第77天給藥結束時，對經OMP-18R5處理之小鼠和經紫杉醇單獨處理之對照組小鼠比較評估小樑骨生成。

[0277] 自對照組小鼠和經OMP-18R5處理之小鼠的脛骨製備組織切片並經蘇木素和伊紅(H&E)染色。白色箭頭所標記之淡粉紅色染色區對應小樑骨。

● [0278] 如圖3所示，每2周一次投予OMP-18R5 (25 mg/kg)比每周一次投予OMP-18R5 (25 mg/kg)更能減少骨流失。重要地，每4周一次投予OMP-18R5 (25 mg/kg)於骨生成上並未顯現可觀察到之功效。

實施例3

卓骨弛(zoledronic acid)於降低OMP-18R5對骨生成之功效的效果

● [0279] 將NOD/SCID小鼠隨機分組(n=5隻/組)並經抗FZD抗體OMP-18R5處理或經OMP-18R5與卓骨弛之組合處理。小鼠僅於第1和15天經OMP-18R5 (20 mg/kg)處理或於第1和15天經OMP-18R5 (20 mg/kg)和於第1天經卓骨弛(單一第IV劑量100 ug/kg)組合處理。於第29天給藥結束時，比較經單獨OMP-18R5處理之小鼠的股骨和脛骨與經OMP-18R5與卓骨弛組合處理之小鼠和經對照組抗體處理之小鼠的股骨和脛骨。

[0280] 如實施例2所描述之方式，製備股骨和脛骨之

組織切片。

[0281] 如圖4所示，與經對照組抗體處理之小鼠相比較，對經OMP-18R5處理之小鼠投予單一第IV劑量之卓骨襖導致軟骨下骨生成。額外之研究已證實共同投予卓骨襖並不影響OMP-18R5之抗腫瘤功效。此等數據支持該假設：投予雙磷酸鹽可保護性對抗Wnt抑制作用之分解代謝作用，提供能維持骨完整性並能標靶Wnt路徑之益處的途徑。

實施例4

OMP-18R5對罹患實體腫瘤之病患的第1a期研究

[0282] 本研究係OMP-18R5對罹患實體腫瘤之病患的開放標記性第1a期劑量累增性研究，其中不繼續存在標準治癒性治療且不存在經證實具有存活益處之治療。本研究之主要目標係測定OMP-18R5之安全性和最大容忍劑量。第2目標係測定OMP-18R5之致免疫速率、初期功效及藥效動力學。

[0283] 令該試驗之起初階段的病患經OMP-18R5之給藥攝取處理：每周0.5 mg/kg (n=3)和每周1.0 mg/kg (n=5)。於接受研究藥物達約100天之後，接受每周一次0.5 mg/kg之一位病患的前肋骨和腰椎發生骨折。因此，於此試驗之現行階段(研究持續進行且病患依然登錄)中，使用較不頻繁給藥。特定地，劑量為每2周一次0.5 mg/kg (n=3)和每3周一次1 mg/kg (n=4)、2.5 mg/kg (n=3)、5

mg/kg (n=3)、10 mg/kg (n=3)、15 mg/kg (n=5)及20 mg/kg (n=5)(2014年1月10日)。至第28天，3個體之多個群經處理並評估劑量限制性毒性(DLT)。若3個個體中無病患顯現DLT，則進行累增至下一個劑量群。若3個個體中1位病患顯現DLT，則3個額外之個體經處理。若2或多個個體顯現DLT，則無其他個體接受該劑量且3個額外之個體加入前一劑量群，除非6個個體業已經該劑量處理。於第56天進行腫瘤評估且隨後每隔56天進行腫瘤評估。於第56天罹患穩定疾病或產生反應之病患將被允許持續接受OMP-18R5直至疾病進展。

[0284] 在一位病患歷經骨骼相關(骨折)事件後，使用得自首8位病患之樣本以測量4種骨代謝指標：骨特异性鹼性磷酸酶、原膠原第1型N端前肽(P1NP)、骨鈣化素及膠原第1型交聯性C-尾肽(β -CTX)。雖然於治療期間未發現骨特异性鹼性磷酸酶、P1NP及骨鈣化素發生變化，但是具有至少一個隨後值之所有7個個體皆觀察到 β -CTX增加(表1；增加之 β -CTX值係標記底線)。

表1

病患	腫瘤類型	劑量(mg/kg)	天數	β-CTX
1	直腸	0.5 QW	第0天	570
2	直腸	0.5 QW	第0天 第28天 處理終止	196 308 217
3	神經內分泌 (類癌)	0.5 QW	第0天 第28天 第56天 處理終止	219 <u>825</u> <u>896</u> <u>708</u>
4	平滑肌肉瘤	1 QW	第0天 處理終止	298 <u>401</u>
5	乳房	1 QW	第0天 第28天 處理終止	229 <u>681</u> 370
6	直腸	1 QW	第0天 第28天	162 <u>598</u>
7	結腸	1 QW	第0天 第28天 處理終止	144 <u>301</u>
8	胰	1 QW	第0天 第28天	406 <u>551</u>

[0285] 因此，β-CTX似乎是OMP-18R5對骨之功效的早期敏感性生物標記。

[0286] 基於起初之第1a期研究結果，修改研究計畫書以包括經由DEXA骨密度掃描、骨掃描及測量骨代謝生物標記骨特異性鹼性磷酸酶、P1NP、骨鈣化素及β-CTX以監測骨骼相關副作用及/或毒性。經修改之計畫書亦包括處理骨骼相關副作用及/或毒性之策略。顯現至少掃描值β-CTX值倍增或於全股骨或L1-L4 DEXA掃描測量之T分數

下降至低於 -2.5的任何病患將被投予抗吸收藥劑，特別是該雙磷酸鹽卓骨祉。於該β-CTX值倍增或T分數下降之時點，經靜脈內投予卓骨祉(劑量 5 mg)。

[0287] 表2顯示26位病患之結果(2014年1月10日)，該等病患隨後登錄並經較低頻率投予(即間歇性給藥)OMP-18R5處理(至少為2倍基礎值之β-CTX值係經底線標記且星號表示投予卓骨祉時)。

表2

病患	腫瘤類型	劑量(mg/kg)	天數	β-CTX	T分數
9	黑色素瘤	0.5 Q2W	第0天	203	-0.7
			第28天	195	
			第56天	287	-0.9
10	神經內分泌(胰臟)	0.5 Q2W	第0天	306	-1.4
			第28天	286	
			第56天	304	-1.0
			第84天*	<u>664</u>	
			第112天	270	-0.9
			第140天	288	
			第168天	413	-1.0
			第196天	372	
			第224天	377	-0.9
			第252天	363	
			第280天	424	-1.0
			第308天	505	
			第336天	499	-1.2
			第364天	420	
			第392天	430	-1.3
			第420天	402	
			第448天	461	
				374	-1.5

11	直腸	0.5 Q2W	第0天 第42天 處理終止	308 358 327	0.9 0.9
12	神經內分泌 (類癌)	1 Q3W	第0天 第28天 第56天 第84天 第112天 第140天 第168天 第196天 第224天 第252天 第280天 第308天 第336天 第364天 第392天* 第420天 第448天 第476天 第504天 第532天 第560天	689 846 707 350 759 526 967 688 1216 1174 1223 1045 890 <u>1380</u> 1332 218 274 246 214 510 341	-1.4 -1.3 -1.4 -1.8 -1.7 -1.7 -1.9 -2.0 -2.3 -2.1
13	膀胱	1 Q3W	第0天 處理終止	618 876	-0.9 -1.2
14	結腸	1 Q3W	第0天 第28天 處理終止	471 760 688	+2.4 +2.2
15	結腸	1 Q3W	第0天 第28天 第56天 處理終止	340 469 586 156	-0.7 -0.8

16	乳房	2.5 Q3W	第0天 第28天* 處理終止	386 <u>805</u> 345	-0.7 -0.8
17	胸腺	2.5 Q3W	第0天 第28天	232 309	-1
18	硬纖維	2.5 Q3W	第0天 第28天 處理終止	607 555 824	-0.9 -1.0
19	食道	5 Q3W	第0天 第28天 處理終止*	648 811 <u>1336</u>	+0.1 -0.1
20	甲狀腺髓質	5 Q3W	第0天 第28天 第56天	561 665 1111	-1.0 -1.0
21	直腸	5 Q3W	第0天	629	-0.1
22	子宮頸	10 Q3W	第0天 第28天	367 697	-1.2
23	軟骨肉瘤	10 Q3W	第0天 第28天* 處理終止	568 <u>1449</u> 199	-1.3 -1.6
24	闌尾	10 Q3W	第0天 第28天* 第56天	114 <u>652</u> 172	-1.3
25	神經內分泌	15 Q3W	第0天 第28天	927 ND	-0.7
26	肛門小細胞瘤	15 Q3W	第0天 第28天 第56天*	596 1171 <u>1278</u>	-1.3 -1.5
27	乳房	15 Q3W	第0天 第28天	492 ND	-1.9
28	直腸	15 Q3W	第0天 第28天 第56天* 第84天	385 667 <u>898</u> 259	+0.6 +0.4

29	直腸	15 Q3W	第0天 第28天 處理終止	964 905 907	-1.6
30	腺樣囊狀腺癌	20 Q3W	第0天 第28天 第56天	290 306 375	+1.5
31	直腸	20 Q3W	第0天 第28天 第56天	434 ND 848	
32	腺樣囊狀腺癌	20 Q3W	第0天 第28天	550 148	-2.3
33	HCC	20 Q3W	第0天 第28天	473 <u>979</u>	+0.8
34	小腸腺癌	20 Q3W	第0天	596	

[0288] 於2013年1月時點，首10位額外病患(病患9至18)中僅有2位顯現 β -CTX值倍增(病患10自基礎值306至第84天之664且病患16自基礎值386至第28天之805)。於2014年1月10日時點，26位額外病患(病患9至34)中有9位顯現 β -CTX值倍增。此等數據建議：於所研究之劑量下，較低頻率投予OMP-18R5導致 β -CTX值較少上升和較低之骨毒性。依據經修改之計畫書，對病患10經靜脈內投予卓骨祉(劑量5 mg)。經投予卓骨祉後，該 β -CTX值返回至約基礎值，第112天為270且於隨後之測量維持於約該值。因 β -CTX值倍增，病患16亦接受卓骨祉且經治療後彼之 β -CTX值亦返回至基礎值。因 β -CTX值倍增，病患12接受卓骨祉且隨後彼之 β -CTX值返回至基礎值的約1/3。病患16、19、23、24、26及28皆經卓骨祉處理且隨後彼等之 β -CTX值下降。此等數據建議：卓骨祉阻斷及/或抑制OMP-18R5之骨

吸收性且可用於減輕此骨骼相關副作用。

[0289] 於2013年1月時點，本研究所登錄之所有病患於經OMP-18R5治療時皆未顯現經DEXA掃描(T分數)之骨礦物質密度(BMD)的顯著變化(表3)。於2014年1月10日時點，本研究所登錄之所有病患於經OMP-18R5治療時皆未顯現經DEXA掃描(T分數)之BMD的顯著變化(表2)。

表3

病患	DEXA時點	位置	T分數
1	篩選	AP脊柱L1-L4	-1.6
	終止	AP脊柱L1-L4	-1.9
	篩選	AP脊柱L3	-2.0
	終止	AP脊柱L3-L4	-2.1
	篩選	雙重股骨頸左側	-1.8
	終止	雙重股骨頸右側	-1.7
	篩選	雙重股骨全部平均	-1.7
	終止	雙重股骨全部平均	-2.2
3	篩選	AP脊柱L1-L2	-0.1
	篩選	AP脊柱L1-L4	+0.2
	終止	AP脊柱L1-L4	+0.7
	終止	AP脊柱L3-L4	+0.5
	篩選	雙重股骨頸左側	-0.1
	終止	雙重股骨頸右側	+0.2
	篩選	雙重股骨全部平均	+1.0
	終止	雙重股骨全部平均	+0.7
5	篩選	股骨	-1.2
	終止	股骨	-1.0
	篩選	腰椎	-0.6
	終止	腰椎	-0.5

7	篩選	股骨	+1.2
	終止	股骨	+0.7
	篩選	腰椎	+0.9
	終止	腰椎	+0.9
9	篩選	腰椎	-0.7
	終止	腰椎	-0.9
	篩選	髌	+0.2
	終止	髌	+0.2
10	篩選	AP脊柱L1-L2	-0.9
	篩選	AP脊柱L1-L4	-0.4
	篩選	雙重股骨頸左側	-1.4
	篩選	雙重股骨全部平均	-0.9
	第56天	腰椎	-0.3
	第56天	髌	-0.8
11	篩選	股骨	+1.0
	終止	髌	+0.9
	篩選	腰椎	+0.9
	終止	腰椎	+1.1
13	篩選	腰椎	+0.1
	終止	腰椎	+0.3
	篩選	髌	-0.9
	終止	髌	-1.2
14	篩選	腰椎	+3.6
	終止	腰椎	+3.9
	篩選	髌	+2.4
	終止	髌	+2.2
16	篩選	腰椎	+0.7
	終止	腰椎	+0.8

[0290] 此等數據建議：骨質疏鬆病患可經 OMP-18R5 治療且未有發生骨礦物質密度進一步下降之顯著風險。再者，證實 β -CTX 似乎是因使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療所導致之骨骼相關副作用及/或毒性的早期敏感性生物標

記。最後，本研究已顯示伴隨 OMP-18R5 治療之骨骼相關副作用似乎是可管理且可逆轉的。

實施例 5

OMP-54F28 對罹患實體腫瘤之病患的第 1a 期研究

[0291] 本研究係 OMP-54F28 對罹患實體腫瘤之病患的開放標記性第 1a 期劑量累增性研究，其中不繼續存在標準治癒性治療。本研究之主要目標係測定 OMP-54F28 之安全性和最大容忍劑量。第 2 目標係測定 OMP-54F28 之致免疫速率、初期功效及藥效動力學。

[0292] 令該試驗之起初階段的病患經 OMP-54F28 之給藥攝取處理：每 3 周一次 0.5 mg/kg (n=3)、1.0 mg/kg (n=3)、2.5 mg/kg (n=3)、5 mg/kg (n=5)、10 mg/kg (n=3)、15 mg/kg (n=3) 及 20 mg/kg (n=5)。本研究持續進行且病患依然登錄。至第 28 天，3 個體之多個群經處理並評估劑量限制性毒性 (DLT)。若 3 個個體中無病患顯現 DLT，則進行累增至下一個劑量群。若 3 個個體中 1 位病患顯現 DLT，則 3 個額外之個體經處理。若 2 或多個個體顯現 DLT，則無其他個體接受該劑量且 3 個額外之個體加入前一劑量群，除非 6 個個體業已經該劑量處理。於第 56 天進行腫瘤評估且隨後每隔 56 天進行腫瘤評估。於第 56 天罹患穩定疾病或產生反應之病患將被允許持續接受 OMP-54F28 直至疾病進展。

[0293] 基於第 1 期 OMP-18R5 研究所獲得之結果，顯

現至少掃描值β-CTX值倍增或於全股骨或L1-L4 DEXA掃描測量之T分數下降至低於-2.5的任何病患將被投予卓骨弛。於該β-CTX值倍增或T分數下降之時點，經靜脈內投予卓骨弛(劑量5 mg)。

[0294] 表4顯示首6位病患之結果(2013年1月)，該等病患經登錄並經每3周一次OMP-54F28處理(至少為2倍基礎值之β-CTX值係經底線標記)。

表4

病患	腫瘤類型	劑量(mg/kg)	天數	β-CTX
1	卵巢	0.5 Q3W	第0天	215
			第28天	144
			第56天	119
			處理終止	104
2	直腸	0.5 Q3W	第0天	538
			第28天	604
			處理終止	<u>1122</u>
3	胰	0.5 Q3W	第0天	497
			第28天	360
			第56天	414
			第84天	614
4	腺囊狀	1 Q3W	第0天	346
			第28天	289
5	腎細胞	1 Q3W	第0天	657
			第28天	346
6	神經內分泌 (子宮頸)	1 Q3W	第0天	262
			第28天	238

[0295] 表5顯示首25位病患之結果(2014年1月9日)，該等病患經登錄並經每3周一次OMP-54F28處理(至少為2



倍基礎值之β-CTX值係經底線標記且星號表示投予卓骨弛時)。

表5

病患	腫瘤類型	劑量(mg/kg)	天數	β-CTX	T分數
1	卵巢	0.5 Q3W	第0天	215	+0.1
			第28天	144	
			第56天	119	+0.5
			處理終止	104	
2	直腸	0.5 Q3W	第0天	538	+0.5
			第28天	604	
			處理終止	<u>1122</u>	
3	胰	0.5 Q3W	第0天	497	-0.1
			第28天	360	
			第56天	414	+2.4
			第84天	614	
			第112天	605	+2.1
			第140天	605	
			第168天*	<u>1009</u>	+1.7
4	腺囊狀	1 Q3W	第0天	346	+1.2
			第28天	289	
			第56天	277	+0.6
5	腎細胞	1 Q3W	第0天	657	+0.5
			第28天	346	
			第56天	344	+0.5
			第84天	359	
			第112天	359	+0.5
6	大細胞 神經內分泌 (子宮頸)	1 Q3W	第0天	262	+0.1
			第28天	238	
			第56天	245	+0.1

7	直腸	2.5 Q3W	第0天 第28天 處理終止	890 1450 972	-1.2 -1.4
8	NSCLC	2.5 Q3W	第0天 第28天 處理終止	396 378 497	-0.1 -0.4
9	膽管癌	2.5 Q3W	第0天 第28天	725 485	-0.5 -0.5
10	尿道上皮癌	5 Q3W	第0天 第28天 第56天	634 570 484	+3.0 +2.2
11	直腸	5 Q3W	第0天 第28天 處理終止	563 852 744	-1.3 -0.8
12	子宮頸	5 Q3W	第0天 第28天 第56天	605 479 558	-0.9 -0.5
13	腎細胞	5 Q3W	第0天 第28天 第56天	250 387 378	0.0 +0.6
14	硬纖維	5 Q3W	第0天 第28天 第56天 第84天 第112天 第140天 第168天 第196天 第224天	354 167 362 242 233 245 114 296 276	-1.3 -1.0 -1.3 -1.4
15	平滑肌肉瘤	10 Q3W	第0天 第28天	386 300	-1.8



16	硬纖維	10 Q3W	第0天	355	-0.6
			第28天	435	
			第56天*	<u>806</u>	-0.9
			第84天	180	
			第112天	182	-0.8
			第140天	192	
			第175天	319	
			第196天	222	
17	HCC	10 Q3W	第0天	207	+1.2
			第28天	148	
			第56天	114	+1.1
18	直腸	15 Q3W	第0天	796	-0.5
			第28天	864	
			處理終止	529	-0.5
19	胰	15 Q3W	第0天	770	-1.2
			第28天	824	
			處理終止	610	
20	骨癌	15 Q3W	第0天	518	-0.8
			第28天	512	
			處理終止	476	-0.3
21	睪丸	20 Q3W	第0天	191	-0.1
			第28天	239	
			第56天	309	-0.2
			第84天*	<u>482</u>	
22	NSCLC	20 Q3W	第0天	648	-0.2
			第28天	851	
			第56天	698	-0.2
			第84天	402	
23	甲狀腺	20 Q3W	第0天	262	+0.1
			第28天*	<u>731</u>	
			第56天	251	
24	基底細胞	20 Q3W	第0天	660	-0.6
			第28天	670	
25	胰	20 Q3W	第0天	511	
			第28天	882	

[0296] 於2013年1月時點，病患2顯現 β -CTX值倍增(自基礎值538至第42天之1122。該病患之疾病進展且中止使用OMP-54F28進行治療。於2014年1月9日時點，25位病患中有5位顯現 β -CTX值倍增。病患3、16、21及28經卓骨弛處理且隨後彼等之 β -CTX值降低至基礎值或低於基礎值。如同經OMP-18R5處理所觀察到之結果，此等初期數據建議：每3周一次經劑量0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg及20 mg/kg之OMP-54F28處理能導致 β -CTX值較少上升和較低之骨毒性。此等經OMP-54F28處理之早期結果進一步證實：伴隨使用Wnt途徑抑制劑進行治療之骨骼相關副作用似乎是可管理且為合理的緩和策略。

[0297] 應了解此處所描述之實施例及實施態樣僅供說明示範之目的，各種對於彼等之修飾或改變將由該領域之技藝人士建議且將被納入本申請案之精神與範圍內。

[0298] 本說明書所引用之所有文獻、專利及專利申請案係為相同內容之所有目的全部併入本文作為參考，如同每一各別文獻、專利或專利申請案被特定且個別地指明併入作為參考。

[0299] 下述係本申請案所揭露之序列：

OMP-18R5重鏈CDR1 (SEQ ID NO:1)

GFTFSHYTLS

OMP-18R5重鏈CDR2 (SEQ ID NO:2)

VISGDGSYTTYADSVKG

OMP-18R5重鏈 CDR3 (SEQ ID NO:3)

NFIKYVFAN

OMP-18R5輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:4)

SGDNIGSFYVH

OMP-18R5輕鏈 CDR2 (SEQ ID NO:5)

DKSNRPSG

OMP-18R5輕鏈 CDR3 (SEQ ID NO:6)

QSYANTLSL

OMP-18R5重鏈可變區胺基酸序列(SEQ ID NO:7)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVSVISGDGSYTTY
ADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTSLTVSS

OMP-18R5輕鏈可變區胺基酸序列(SEQ ID NO:8)

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG

OMP-18R5具有底線劃記之預測的訊號序列之重鏈胺基酸
序列(SEQ ID NO:9)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAP
GKGLEWVSVISGDGSYTTYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFI
KYVFANWGQGTSLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCC
VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTIVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

OMP-18R5具有底線劃記之預測的訊號序列之輕鏈胺基酸
序列(SEQ ID NO:10)

MAWALLLTLLTQGTGSWADIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGG
TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE
TTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

OMP-18R5不具有預測的訊號序列之重鏈胺基酸序列(SEQ
ID NO:11)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLNLSWVRQAPGKGLEWVSVISGDGSYTTY
ADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTTLTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVV
SVLTQVHVDWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

OMP-18R5不具有預測的訊號序列之輕鏈胺基酸序列 (SEQ ID NO:12)

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLIYDKSNRPSGIPER
FSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPP
PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVKAGVETTTPSKQSNKNYAASSYLS
LTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

不具有預測的訊號序列之人FZD1 Fri結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO:13)

QQPPPPPQQQSGQQYNGERGISVPDHGYCQPISIPLCTDIAYNQTIMPNLLGHTNQEDA
GLEVHQFYPLVKVQCSAELKFFLCSMYAPVCTVLEQALPPCRSLCERARQGCEALMNKFG
FQWPDTLKCEKFPVHGAGELCVGQNTSDKGT

不具有預測的訊號序列之人FZD2 Fri結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO:14)

QFHGEKGISIPDHGFCQPISIPLCTDIAYNQTIMPNLLGHTNQEDAGLEVHQFYPLVKVQ
CSPELRFLLCSMYAPVCTVLEQAIPCRSLCERARQGCEALMNKFGFQWPERLRCEHFPR
HGAEQICVGQNHSEHG

不具有預測的訊號序列之人FZD3 Fri結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO:15)

HSLFSCPEITLRMCQDLPYNTTFMPNLLNHYDQQTAAALAMEPFHMPVNLDCSRDF
RPFLCALYAPICMEYGRVTLPCLRLCQRAYSECSKLMEMFGVPWPEDMECSRFPDCDEPY
PRLVDL

不具有預測的訊號序列之人FZD4 Fri結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO:16)

FGDEEERRCDPIRISMCQNLGYNVTKMPNVLGHELQTDALQLTTFTPLIQYGCSSQLQF
FLCSVYVPMCTEKINIPGPGGMCLSVKRRCEPVLKEFGFAWPESLNCSEKFPQNDHNH
MCMGPGDEEV

不具有預測的訊號序列之人FZD5 Fri結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO:17)

ASKAPVCQEITVPMCRGIGYNLTHMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQSPDLRFFL
CSMYTPICLPDYHKPLPPCRSVCERAKAGCSPLMRQYGFAPWPERMSCDRLPVLGRDAEVL
CMDYNRSEATT



不具有預測的訊號序列之人FZD6 Fri結構域胺基酸序列
(SEQ ID NO:18)

HSLFTCEPITVPRCMKMAYNMTFFPNLMGHYDQSIAAVEMEHFLPLANLECSPIETFLC
KAFVPTCIEQIHVVPPCRKLCEKVYSDCKKLIDTFGIRWPPEELEDRLQYCDETVPVTFD
PHTEFLG

不具有預測的訊號序列之人FZD7 Fri結構域胺基酸序列
(SEQ ID NO:19)

QPYHGEKGISVPDHGFCQPISIPCLCTDIAYNQITLPNLLGHTNQEDAGLEVHQFYPLVKV
QCSPELRFFLCSEMYAPVCTVLDQAIPPCRSLCERARQGCEALMNKFGFQWPERLRCEFP
VHGAGEICVGQNTSDGSG

不具有預測的訊號序列之人FZD8 Fri結構域胺基酸序列
(SEQ ID NO:20)

ASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCSPLDKFF
LCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSV CERAKAGCAPLMRQYGFQWPDRLPEQGNPDTL
CMDYNRTDLTT

不具有預測的訊號序列之人FZD9 Fri結構域胺基酸序列
(SEQ ID NO:21)

LEIGRFDPERGRGAAPCQAVEIPMCRGIGYNLTRMPNLLGHTSQGEAAAEAEFAPLVQY
GCHSHLRFFLCSELYAPMCTDQVSTPI PACRPMCEQARLRCAPI MEQFNFGWPDSLDCARL
PTRNDPHALCMEAPENA

不具有預測的訊號序列之人FZD10 Fri結構域胺基酸序列
(SEQ ID NO:22)

ISSMDMERPGDGKCQPIEIPMCKDIGYNMTRMPNLMGHENQREAAIQLHEFAPLVEYGCH
GHLRFFLCSELYAPMCTEQVSTPI PACRVMCEQARLKCSPI MEQFNFKWPDSLDCRKLPNK
NDPNYLCMEAPNNG

人FZD1胺基酸116-227 (SEQ ID NO:23)

CQPISIPCLCTDIAYNQITIMPNNLLGHTNQEDAGLEVHQFYPLVKVQCSAELKFFLCSEMYAP
VCTVLEQALPPCRSLCERARQGCEALMNKFGFQWPDTLKCEKFPVHGAGELC

人FZD2胺基酸39-150 (SEQ ID NO:24)

CQPISIPCLCTDIAYNQITIMPNNLLGHTNQEDAGLEVHQFYPLVKVQCSPELRFFLCSEMYAP
VCTVLEQAIPPCRSICERARQGCEALMNKFGFQWPERLRCEHFPRHGAEQIC

人FZD3胺基酸28-133 (SEQ ID NO:25)

CEPITLRMCQDLPTYNTTFMPNNLLNHYDQQTAAALAMEPFHMPVNLDCSRDFRPFLCALYAP
ICMEYGRVTLP RRLCQRAYSECSKLMEMFGVPWPEDMECSRFPDC

人 FZD4 胺基酸 48-161 (SEQ ID NO:26)

CDPIRISM CQN LGYNVTKMPNLVGH ELQTDAELQLTFTPLIQYGCSSQLQFFLC SVYVP
MCTEKINIPIGPCGGMCLSVKRRCEPVLKEFGFAWPESLNC SKFPPQNDHNHMC

人 FZD5 胺基酸 33-147 (SEQ ID NO:27)

CQEITVPMCRGIGYNLTHMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQ CSPDLRFFLC SMYTP
ICLPDYHKPLPPCRSVCERAKAGCSPLMRQYGFAPWPERMSCDRLPVLGRDAEVL C

人 FZD6 胺基酸 24-129 (SEQ ID NO:28)

CEPITVPRCMKMAYNMTFFPNLMGHYDQSIAAVEMEHFLPLANLECS PN IETFLCKAFVP
TCIEQIHVVPPCRKLCEKVYS DCKKLIDTFGIRWPEELECDRLQYC

人 FZD7 胺基酸 49-160 (SEQ ID NO:28)

CQPISIP LCTDIAYNQ TILPNLLGHTNQEDAGLEVHQFYPLVKVQCSPELRFFLC SMYAP
VCTVLDQAIPPCRS LCERARQGCEALMNKFGFQWPERLR CENFPVHGAGEIC

人 FZD8 胺基酸 35-148 (SEQ ID NO:30)

CQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQ CSPDLKFFLC SMYTP
ICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAPLMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPD TLC

人 FZD9 胺基酸 39-152 (SEQ ID NO:31)

CQAVEIPMCRGIGYNLTRMPNLLGH TSQGEAAELAEFAPLVQY GCHSHLRFFLC SLYAP
MCTDQVSTPI PACRPMCEQARLRCAPI MEQFNFGWPD SLDCARLPTRND PHALC

人 FZD10 胺基酸 34-147 (SEQ ID NO:32)

CQPIEIPMCKDIGYNMTRMPNLMGHENQREAAIQLHEFAPLVEY GCHGHLRFFLC SLYAP
MCTEQVSTPI PACRVMCEQARLKCSPI MEQFNFKWPD SLDCRKLPNKND PNYLC

不具有預測的訊號序列之人 FZD8 Fri 結構域胺基酸序列
(變體)(SEQ ID NO:33)

ASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQ CSPDLKFF
LCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAPLMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPD TL
CMDYNRTDL

人 IgG₁ Fc 區 (SEQ ID NO:34)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD S
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人 IgG₁ Fc 區 (變體)(SEQ ID NO:35)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人 IgG₁ Fc區 (SEQ ID NO:36)

KSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人 IgG₁ Fc區 (SEQ ID NO:37)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人 IgG₂ Fc區 (SEQ ID NO:38)

CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK

FZD8-Fc 變體 54F03 胺基酸序列 (不具有預測的訊號序 列)(SEQ ID NO:39)

ASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCSPLDKFF
LCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSV CERAKAGCAPLMRQYGFAPDRMRCDRLPEQGNPDTL
CMDYNRTDLTTGRADKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

FZD8-Fc 變體 54F16 、 54F17 、 54F18 、 54F23 、 54F25 、 54F27 、 54F29 、 54F31 及 54F34 胺基酸序列 (不具有預測的 訊號序列)(SEQ ID NO:40)

ASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCSPLDKFF
LCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSV CERAKAGCAPLMRQYGFAPDRMRCDRLPEQGNPDTL
CMDYNRTDLTTKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

FZD8-Fc 變體 54F19 、 54F20 、 54F24 、 54F26 、 54F28 、 54F30 、 54F32 、 54F34 及 54F35 胺基酸序列 (不具有預測的

訊號序列)(SEQ ID NO:41)

ASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNHDTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCS PDLKFF
LCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAPLMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPDTL
CMDYNRTDLTTEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

具有訊號序列之 FZD8-Fc 變體 54F03 胺基酸序列 (SEQ ID NO:42)

MEWGYLLEVTSLLAALALLQRSSGAAAASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNH
DTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCS PDLKFFLCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAP
LMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPDTLCMDYNRTDLTTGRADKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有訊號序列之 FZD8-Fc 變體 54F16 胺基酸序列 (SEQ ID NO:43)

MEWGYLLEVTSLLAALALLQRSSGAAAASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNH
DTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCS PDLKFFLCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAP
LMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPDTLCMDYNRTDLTTKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有訊號序列之 FZD8-Fc 變體 54F26 (SEQ ID NO:44)

MEWGYLLEVTSLLAALFLLQRSPIVHAASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNH
DTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCS PDLKFFLCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAP
LMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPDTLCMDYNRTDLTTEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有訊號序列之 FZD8-Fc 變體 54F28 (SEQ ID NO:45)

MEWGYLLEVTSLLAALLLLQRSPFVHAASAKELACQEITVPLCKGIGYNYTYMPNQFNH
DTQDEAGLEVHQFWPLVEIQCS PDLKFFLCSMYTPICLEDYKKPLPPCRSVCERAKAGCAP
LMRQYGFAPWDRMRCDRLPEQGNPDTLCMDYNRTDLTTEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

人 Wnt1 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 288-370) (SEQ ID



NO:46)

DLVYFEKSPNFCTYSGRLGTAGTAGRACNSSSPALDGCELLCCGRGHRTRTQRVTERCNC
TFHWCCHVSCRNCTHTRVLHECL

人 Wnt2 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 267-360) (SEQ ID NO:47)

DLVYFENSPDYCIRDREAGSLGTAGRVCNLTSGMDSCEVMCCGRGYDTSHVTRMTKCGC
KFHWCCAVRCQDCLEALDVHTCKAPKNADWTTAT

人 Wnt2b 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 298-391) (SEQ ID NO:48)

DLVYFDNSPDYCVLDKAAGSLGTAGRVCSKTSKGTGCEIMCCGRGYDTTRVTRVTQCEC
KFHWCCAVRCKECRNTVDVHTCKAPKKAEWLDQT

人 Wnt3 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 273-355) (SEQ ID NO:49)

DLVYYENSPNFCEPNPETGSFGTRDRTCNVTSHGIDGCDLLCCGRGHNTRTEKRKEKCHC
IFHWCCYVSCQECIRIYDVHTCK

人 Wnt3a 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 270-352) (SEQ ID NO:50)

DLVYYEASPNFCEPNPETGSFGTRDRTCNVSSHGIDGCDLLCCGRGHNARAERRREKCR
VFHWCCYVSCQECTRVYDVHTCK

人 Wnt7a 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 267-359) (SEQ ID NO:51)

DLVYIEKSPNYCEEDPVTGSGTQGRACNKTAPQASGCDLMCCGRGYNTHQYARVWQCNC
KFHWCCYVKCNTCSERTEMYTCK

人 Wnt7b 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 267-349) (SEQ ID NO:52)

DLVYIEKSPNYCEEDAATGSGTQGRLCNRTSPGADGCDTMCCGRGYNTHQYTKVWQCNC
KFHWCCFVKCNTCSERTEVFTCK

人 Wnt8a 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 248-355) (SEQ ID NO:53)

ELIFLEESPDYCTCNSSLGIYGTEGRECLQNSHNTSRWERRSCGRLCTECGLQVEERKTE
VISSCNCKFQWCCTVKCDQCRHVVSKEYCARSPGSAQSLGRVWFGVYI

人 Wnt8b 的 C 端富含半胱胺酸之結構域 (aa 245-351) (SEQ ID NO:54)

ELVHLEDSPDYCLENKTLGLLGTEGRECLRRGRALGRWELRSCRRLCGDCGLAVEERRAE
TVSSCNCKFWCCAVRCEQCRRRVTKYFCSRAERPRGGAAHKPGRKP

人 Wnt10a 的 C 端 富含 半胱氨酸 之 結構域 (aa 335-417) (SEQ ID NO:55)

DLVYFEKSPDFCEREPRLD SAGTVGRLCNKSSAGSDGCGSMCCGRGHNILRQTRSERCHC
RFHWCCFVVCEE CRIT EWVSVCK

人 Wnt10b 的 C 端 富含 半胱氨酸 之 結構域 (aa 307-389) (SEQ ID NO:56)

ELVYFEKSPDFCERDPTMGSPGTRGRACNKTSRLLDGCGSLCCGRGHNVLRQTRVERCHC
RFHWCCYVLCDECKVTEWVNVCK

連接子 (SEQ ID NO:57)

ESGGGGVT

連接子 (SEQ ID NO:58)

LESGGGGVT

連接子 (SEQ ID NO:59)

GRAQVT

連接子 (SEQ ID NO:60)

WRAQVT

連接子 (SEQ ID NO:61)

ARGRAQVT

序列表

<110> 安可美德藥物股份有限公司(OncoMed Pharmaceuticals, Inc.)

<120> 使用Wnt途徑抑制劑進行治療之方法及對該治療之監測

<140> TW 103103881

<141> 2014-02-05

<150> US 61/760,523

<151> 2013-02-04

<160> 61

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> OMP-18R5 重鏈 CDR1

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Thr Leu Ser
1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> OMP-18R5 重鏈 CDR2

<400> 2

Val Ile Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> OMP-18R5 重鏈 CDR3

<400> 3

Asn Phe Ile Lys Tyr Val Phe Ala Asn
1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> OMP-18R5 輕鏈 CDR1

<400> 4

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser Phe Tyr Val His
1 5 10

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 輕鏈 CDR2

<400> 5

Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 輕鏈 CDR3

<400> 6

Gln Ser Tyr Ala Asn Thr Leu Ser Leu
1 5

<210> 7
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 重鏈可變區氨基酸序列

<400> 7

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Thr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Phe Ile Lys Tyr Val Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 輕鏈可變區胺基酸序列

<400> 8

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

<210> 9
<211> 463
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 重鏈胺基酸序列

<400> 9

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Phe Ile Lys Tyr Val Phe Ala Asn Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225 230 235 240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 10
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 輕鏈氨基酸序列

<400> 10

Met Ala Trp Ala Leu Leu Leu Thr Leu Leu Thr Gln Gly Thr Gly
1 5 10 15

Ser Trp Ala Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala
20 25 30

Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Ser
35 40 45

Phe Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu
50 55 60

Val Ile Tyr Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr
85 90 95

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Ala Asn Thr
100 105 110

Leu Ser Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
115 120 125

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
130 135 140

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
165 170 175

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
180 185 190

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
195 200 205

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
210 215 220

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230

<210> 11
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 重鏈氨基酸序列

<400> 11

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Thr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Asp Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Phe Ile Lys Tyr Val Phe Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 12
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> OMP-18R5 輕鏈胺基酸序列

<400> 12

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Asp Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Ala Asn Thr Leu Ser Leu
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 13
<211> 151
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 13

Gln Gln Pro Pro Pro Pro Pro Gln Gln Gln Gln Ser Gly Gln Gln Tyr
1 5 10 15

Asn Gly Glu Arg Gly Ile Ser Val Pro Asp His Gly Tyr Cys Gln Pro
20 25 30

Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln Thr Ile Met
35 40 45

Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly Leu Glu Val
50 55 60

His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser Ala Glu Leu Lys
65 70 75 80

Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys Thr Val Leu Glu Gln

85 90 95

Ala Leu Pro Pro Cys Arg Ser Leu Cys Glu Arg Ala Arg Gln Gly Cys
100 105 110

Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe Gln Trp Pro Asp Thr Leu Lys
115 120 125

Cys Glu Lys Phe Pro Val His Gly Ala Gly Glu Leu Cys Val Gly Gln
130 135 140

Asn Thr Ser Asp Lys Gly Thr
145 150

<210> 14
<211> 136
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 14

Gln Phe His Gly Glu Lys Gly Ile Ser Ile Pro Asp His Gly Phe Cys
1 5 10 15

Gln Pro Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln Thr
20 25 30

Ile Met Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly Leu
35 40 45

Glu Val His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser Pro Glu
50 55 60

Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys Thr Val Leu
65 70 75 80

Glu Gln Ala Ile Pro Pro Cys Arg Ser Ile Cys Glu Arg Ala Arg Gln
85 90 95

Gly Cys Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe Gln Trp Pro Glu Arg
100 105 110

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

Gly Gln Asn His Ser Glu Asp Gly
130 135

<210> 15
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 15

His Ser Leu Phe Ser Cys Glu Pro Ile Thr Leu Arg Met Cys Gln Asp
1 5 10 15

Leu Pro Tyr Asn Thr Thr Phe Met Pro Asn Leu Leu Asn His Tyr Asp
20 25 30

Gln Gln Thr Ala Ala Leu Ala Met Glu Pro Phe His Pro Met Val Asn
35 40 45

Leu Asp Cys Ser Arg Asp Phe Arg Pro Phe Leu Cys Ala Leu Tyr Ala
50 55 60

Pro Ile Cys Met Glu Tyr Gly Arg Val Thr Leu Pro Cys Arg Arg Leu
65 70 75 80

Cys Gln Arg Ala Tyr Ser Glu Cys Ser Lys Leu Met Glu Met Phe Gly
85 90 95

Val Pro Trp Pro Glu Asp Met Glu Cys Ser Arg Phe Pro Asp Cys Asp
100 105 110

Glu Pro Tyr Pro Arg Leu Val Asp Leu
115 120

<210> 16
<211> 131
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 16

Phe Gly Asp Glu Glu Glu Arg Arg Cys Asp Pro Ile Arg Ile Ser Met
1 5 10 15

Cys Gln Asn Leu Gly Tyr Asn Val Thr Lys Met Pro Asn Leu Val Gly
20 25 30

His Glu Leu Gln Thr Asp Ala Glu Leu Gln Leu Thr Thr Phe Thr Pro
35 40 45

Leu Ile Gln Tyr Gly Cys Ser Ser Gln Leu Gln Phe Phe Leu Cys Ser
50 55 60

Val Tyr Val Pro Met Cys Thr Glu Lys Ile Asn Ile Pro Ile Gly Pro
65 70 75 80

Cys Gly Gly Met Cys Leu Ser Val Lys Arg Arg Cys Glu Pro Val Leu
85 90 95

Lys Glu Phe Gly Phe Ala Trp Pro Glu Ser Leu Asn Cys Ser Lys Phe
100 105 110

Pro Pro Gln Asn Asp His Asn His Met Cys Met Glu Gly Pro Gly Asp
115 120 125

Glu Glu Val
130

<210> 17
<211> 131
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 17



Ala Ser Lys Ala Pro Val Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Met Cys Arg
1 5 10 15
Gly Ile Gly Tyr Asn Leu Thr His Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp
20 25 30
Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val
35 40 45
Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr
50 55 60
Thr Pro Ile Cys Leu Pro Asp Tyr His Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg
65 70 75 80
Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ser Pro Leu Met Arg Gln
85 90 95
Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Glu Arg Met Ser Cys Asp Arg Leu Pro Val
100 105 110
Leu Gly Arg Asp Ala Glu Val Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Ser Glu
115 120 125
Ala Thr Thr
130
<210> 18
<211> 127
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 18
His Ser Leu Phe Thr Cys Glu Pro Ile Thr Val Pro Arg Cys Met Lys
1 5 10 15
Met Ala Tyr Asn Met Thr Phe Phe Pro Asn Leu Met Gly His Tyr Asp
20 25 30
Gln Ser Ile Ala Ala Val Glu Met Glu His Phe Leu Pro Leu Ala Asn
35 40 45
Leu Glu Cys Ser Pro Asn Ile Glu Thr Phe Leu Cys Lys Ala Phe Val
50 55 60
Pro Thr Cys Ile Glu Gln Ile His Val Val Pro Pro Cys Arg Lys Leu
65 70 75 80
Cys Glu Lys Val Tyr Ser Asp Cys Lys Lys Leu Ile Asp Thr Phe Gly
85 90 95
Ile Arg Trp Pro Glu Glu Leu Glu Cys Asp Arg Leu Gln Tyr Cys Asp
100 105 110
Glu Thr Val Pro Val Thr Phe Asp Pro His Thr Glu Phe Leu Gly
115 120 125

<210> 19
<211> 138
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 19
Gln Pro Tyr His Gly Glu Lys Gly Ile Ser Val Pro Asp His Gly Phe
1 5 10 15
Cys Gln Pro Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln
20 25 30
Thr Ile Leu Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly
35 40 45
Leu Glu Val His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser Pro
50 55 60
Glu Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys Thr Val
65 70 75 80
Leu Asp Gln Ala Ile Pro Pro Cys Arg Ser Leu Cys Glu Arg Ala Arg
85 90 95
Gln Gly Cys Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe Gln Trp Pro Glu
100 105 110
Arg Leu Arg Cys Glu Asn Phe Pro Val His Gly Ala Gly Glu Ile Cys
115 120 125
Val Gly Gln Asn Thr Ser Asp Gly Ser Gly
130 135

<210> 20
<211> 131
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 20
Ala Ser Ala Lys Glu Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys
1 5 10 15
Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His
20 25 30
Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu
35 40 45
Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met
50 55 60
Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys
65 70 75 80
Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg
85 90 95



Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro
100 105 110

Glu Gln Gly Asn Pro Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp
115 120 125

Leu Thr Thr
130

<210> 21
<211> 137
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 21

Leu Glu Ile Gly Arg Phe Asp Pro Glu Arg Gly Arg Gly Ala Ala Pro
1 5 10 15

Cys Gln Ala Val Glu Ile Pro Met Cys Arg Gly Ile Gly Tyr Asn Leu
20 25 30

Thr Arg Met Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Ser Gln Gly Glu Ala Ala
35 40 45

Ala Glu Leu Ala Glu Phe Ala Pro Leu Val Gln Tyr Gly Cys His Ser
50 55 60

His Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Leu Tyr Ala Pro Met Cys Thr Asp
65 70 75 80

Gln Val Ser Thr Pro Ile Pro Ala Cys Arg Pro Met Cys Glu Gln Ala
85 90 95

Arg Leu Arg Cys Ala Pro Ile Met Glu Gln Phe Asn Phe Gly Trp Pro
100 105 110

Asp Ser Leu Asp Cys Ala Arg Leu Pro Thr Arg Asn Asp Pro His Ala
115 120 125

Leu Cys Met Glu Ala Pro Glu Asn Ala
130 135

<210> 22
<211> 134
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 22

Ile Ser Ser Met Asp Met Glu Arg Pro Gly Asp Gly Lys Cys Gln Pro
1 5 10 15

Ile Glu Ile Pro Met Cys Lys Asp Ile Gly Tyr Asn Met Thr Arg Met
20 25 30

Pro Asn Leu Met Gly His Glu Asn Gln Arg Glu Ala Ala Ile Gln Leu
35 40 45

His Glu Phe Ala Pro Leu Val Glu Tyr Gly Cys His Gly His Leu Arg

<210> 24
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

Cys Gln Pro Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln
1 5 10 15

Thr Ile Met Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly
20 25 30

Leu Glu Val His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser Pro
35 40 45

Glu Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys Thr Val
50 55 60

Leu Glu Gln Ala Ile Pro Pro Cys Arg Ser Ile Cys Glu Arg Ala Arg
65 70 75 80

Gln Gly Cys Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe Gln Trp Pro Glu
85 90 95

Arg Leu Arg Cys Glu His Phe Pro Arg His Gly Ala Glu Gln Ile Cys
100 105 110

<210> 25
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

Cys Glu Pro Ile Thr Leu Arg Met Cys Gln Asp Leu Pro Tyr Asn Thr
1 5 10 15

Thr Phe Met Pro Asn Leu Leu Asn His Tyr Asp Gln Gln Thr Ala Ala
20 25 30

Leu Ala Met Glu Pro Phe His Pro Met Val Asn Leu Asp Cys Ser Arg
35 40 45

Asp Phe Arg Pro Phe Leu Cys Ala Leu Tyr Ala Pro Ile Cys Met Glu
50 55 60

Tyr Gly Arg Val Thr Leu Pro Cys Arg Arg Leu Cys Gln Arg Ala Tyr
65 70 75 80

Ser Glu Cys Ser Lys Leu Met Glu Met Phe Gly Val Pro Trp Pro Glu
85 90 95

Asp Met Glu Cys Ser Arg Phe Pro Asp Cys
100 105

<210> 26
<211> 114
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

Cys Asp Pro Ile Arg Ile Ser Met Cys Gln Asn Leu Gly Tyr Asn Val
1 5 10 15

Thr Lys Met Pro Asn Leu Val Gly His Glu Leu Gln Thr Asp Ala Glu
20 25 30

Leu Gln Leu Thr Thr Phe Thr Pro Leu Ile Gln Tyr Gly Cys Ser Ser
35 40 45

Gln Leu Gln Phe Phe Leu Cys Ser Val Tyr Val Pro Met Cys Thr Glu
50 55 60

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

Met Cys

<210> 27
<211> 115
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 27

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

Val Leu Cys
115

<210> 28
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 28

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

Asn Ile Glu Thr Phe Leu Cys Lys Ala Phe Val Pro Thr Cys Ile Glu
50 55 60

Gln Ile His Val Val Pro Pro Cys Arg Lys Leu Cys Glu Lys Val Tyr
65 70 75 80

Ser Asp Cys Lys Lys Leu Ile Asp Thr Phe Gly Ile Arg Trp Pro Glu
85 90 95

Glu Leu Glu Cys Asp Arg Leu Gln Tyr Cys
100 105

<210> 29
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 29

Cys Gln Pro Ile Ser Ile Pro Leu Cys Thr Asp Ile Ala Tyr Asn Gln
1 5 10 15

Thr Ile Leu Pro Asn Leu Leu Gly His Thr Asn Gln Glu Asp Ala Gly
20 25 30

Leu Glu Val His Gln Phe Tyr Pro Leu Val Lys Val Gln Cys Ser Pro
35 40 45

Glu Leu Arg Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Ala Pro Val Cys Thr Val
50 55 60

Leu Asp Gln Ala Ile Pro Pro Cys Arg Ser Leu Cys Glu Arg Ala Arg
65 70 75 80

Gln Gly Cys Glu Ala Leu Met Asn Lys Phe Gly Phe Gln Trp Pro Glu
85 90 95

Arg Leu Arg Cys Glu Asn Phe Pro Val His Gly Ala Gly Glu Ile Cys
100 105 110

<210> 30
<211> 114
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 30

Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10 15

Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly
20 25 30

Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro
35 40 45

Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu
50 55 60

Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala



S

Gln Val Ser Thr Pro Ile Pro Ala Cys Arg Val Met Cys Glu Gln Ala
65 70 75 80

Arg Leu Lys Cys Ser Pro Ile Met Glu Gln Phe Asn Phe Lys Trp Pro
85 90 95

Asp Ser Leu Asp Cys Arg Lys Leu Pro Asn Lys Asn Asp Pro Asn Tyr
100 105 110

Leu Cys

<210> 33
<211> 129
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 33

Ala Ser Ala Lys Glu Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His
20 25 30

Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu
35 40 45

Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met
50 55 60

Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys
65 70 75 80

Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg
85 90 95

Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro
100 105 110

Glu Gln Gly Asn Pro Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp
115 120 125

Leu

<210> 34
<211> 227
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 34

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

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

Pro Gly Lys
225

<210> 35
<211> 227
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 35

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

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

Pro Gly Lys
225

<210> 36
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 36

Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
1 5 10 15

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
20 25 30

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
35 40 45

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
50 55 60

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
65 70 75 80

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
85 90 95

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
100 105 110

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
115 120 125

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
130 135 140

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
145 150 155 160

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
165 170 175

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
180 185 190

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
195 200 205

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

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 37
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 37

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125



Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 38
<211> 224
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 38

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 39
<211> 361
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F03 胺基酸序列

<400> 39

Ala Ser Ala Lys Glu Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His
20 25 30

Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu
35 40 45

Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met
50 55 60

Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys
65 70 75 80

Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg
85 90 95

Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro
100 105 110

Glu Gln Gly Asn Pro Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp
115 120 125

Leu Thr Thr Gly Arg Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
130 135 140

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
145 150 155 160

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
165 170 175

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
180 185 190



Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
195 200 205

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
210 215 220

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
225 230 235 240

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
245 250 255

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
260 265 270

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
275 280 285

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
290 295 300

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
305 310 315 320

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
325 330 335

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
340 345 350

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 40
<211> 361
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F16, 54F17, 54F18, 54F23, 54F25, 54F27, 54F29,
54F31, 及 54F34 胺基酸序列

<400> 40

Ala Ser Ala Lys Glu Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His
20 25 30

Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu
35 40 45

Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met
50 55 60

Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys
65 70 75 80

Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg
85 90 95

Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro
100 105 110

Glu Gln Gly Asn Pro Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp
115 120 125

Leu Thr Thr Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
130 135 140

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
145 150 155 160

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
165 170 175

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
180 185 190

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
195 200 205

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
210 215 220

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
225 230 235 240

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
245 250 255

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
260 265 270

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
275 280 285

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
290 295 300

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
305 310 315 320

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
325 330 335

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
340 345 350

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 41
<211> 363
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FZD8-Fc 變異體 54F19, 54F20, 54F24, 54F26, 54F28, 54F30, 54F32, 54F34 及 54F35 胺基酸序列

<400> 41

Ala Ser Ala Lys Glu Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys
1 5 10 15

Lys Gly Ile Gly Tyr Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His
20 25 30

Asp Thr Gln Asp Glu Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu
35 40 45

Val Glu Ile Gln Cys Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met
50 55 60

Tyr Thr Pro Ile Cys Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys
65 70 75 80

Arg Ser Val Cys Glu Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg
85 90 95

Gln Tyr Gly Phe Ala Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro
100 105 110

Glu Gln Gly Asn Pro Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp
115 120 125

Leu Thr Thr Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
130 135 140

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
145 150 155 160

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
165 170 175

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
180 185 190

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
195 200 205

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
210 215 220

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
225 230 235 240

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
245 250 255

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
260 265 270

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
275 280 285
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
290 295 300
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
305 310 315 320
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
325 330 335
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
340 345 350
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 42
<211> 388
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F03 胺基酸序列含信號序列
<400> 42

Met Glu Trp Gly Tyr Leu Leu Glu Val Thr Ser Leu Leu Ala Ala Leu
1 5 10 15
Ala Leu Leu Gln Arg Ser Ser Gly Ala Ala Ala Ala Ser Ala Lys Glu
20 25 30
Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys Lys Gly Ile Gly Tyr
35 40 45
Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu
50 55 60
Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys
65 70 75 80
Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys
85 90 95
Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu
100 105 110
Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg Gln Tyr Gly Phe Ala
115 120 125
Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro Glu Gln Gly Asn Pro
130 135 140
Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp Leu Thr Thr Gly Arg
145 150 155 160

Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
165 170 175

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
180 185 190

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
195 200 205

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
210 215 220

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
225 230 235 240

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
245 250 255

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
260 265 270

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
275 280 285

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
290 295 300

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
305 310 315 320

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
325 330 335

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
340 345 350

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
355 360 365

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
370 375 380

Ser Pro Gly Lys
385

<210> 43
<211> 388
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F16 胺基酸序列含信號序列

<400> 43

Met Glu Trp Gly Tyr Leu Leu Glu Val Thr Ser Leu Leu Ala Ala Leu
1 5 10 15

Ala Leu Leu Gln Arg Ser Ser Gly Ala Ala Ala Ala Ser Ala Lys Glu

20	25	30
Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys Lys Gly Ile Gly Tyr		
35	40	45
Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu		
50	55	60
Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys		
65	70	75
Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys		
85	90	95
Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu		
100	105	110
Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg Gln Tyr Gly Phe Ala		
115	120	125
Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro Glu Gln Gly Asn Pro		
130	135	140
Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp Leu Thr Thr Lys Ser		
145	150	155
Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu		
165	170	175
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
180	185	190
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
195	200	205
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
210	215	220
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
225	230	235
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
245	250	255
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
260	265	270
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
275	280	285
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
290	295	300
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
305	310	315
		320

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
325 330 335

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
340 345 350

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
355 360 365

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
370 375 380

Ser Pro Gly Lys
385

<210> 44
<211> 390
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F26 含信號序列

<400> 44

Met Glu Trp Gly Tyr Leu Leu Glu Val Thr Ser Leu Leu Ala Ala Leu
1 5 10 15

Phe Leu Leu Gln Arg Ser Pro Ile Val His Ala Ala Ser Ala Lys Glu
20 25 30

Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys Lys Gly Ile Gly Tyr
35 40 45

Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu
50 55 60

Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys
65 70 75 80

Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys
85 90 95

Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu
100 105 110

Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg Gln Tyr Gly Phe Ala
115 120 125

Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro Glu Gln Gly Asn Pro
130 135 140

Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp Leu Thr Thr Glu Pro
145 150 155 160

Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
165 170 175

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

180 185 190

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
195 200 205

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
210 215 220

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
225 230 235 240

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
245 250 255

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
260 265 270

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
275 280 285

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
290 295 300

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
305 310 315 320

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
325 330 335

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
340 345 350

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
355 360 365

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
370 375 380

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
385 390

<210> 45
<211> 390
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FZD8-Fc 變異體 54F28 含信號序列

<400> 45

Met Glu Trp Gly Tyr Leu Leu Glu Val Thr Ser Leu Leu Ala Ala Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Gln Arg Ser Pro Phe Val His Ala Ala Ser Ala Lys Glu
20 25 30

Leu Ala Cys Gln Glu Ile Thr Val Pro Leu Cys Lys Gly Ile Gly Tyr
35 40 45

Asn Tyr Thr Tyr Met Pro Asn Gln Phe Asn His Asp Thr Gln Asp Glu
50 55 60

Ala Gly Leu Glu Val His Gln Phe Trp Pro Leu Val Glu Ile Gln Cys
65 70 75 80

Ser Pro Asp Leu Lys Phe Phe Leu Cys Ser Met Tyr Thr Pro Ile Cys
85 90 95

Leu Glu Asp Tyr Lys Lys Pro Leu Pro Pro Cys Arg Ser Val Cys Glu
100 105 110

Arg Ala Lys Ala Gly Cys Ala Pro Leu Met Arg Gln Tyr Gly Phe Ala
115 120 125

Trp Pro Asp Arg Met Arg Cys Asp Arg Leu Pro Glu Gln Gly Asn Pro
130 135 140

Asp Thr Leu Cys Met Asp Tyr Asn Arg Thr Asp Leu Thr Thr Glu Pro
145 150 155 160

Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
165 170 175

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
180 185 190

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
195 200 205

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
210 215 220

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
225 230 235 240

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
245 250 255

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
260 265 270

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
275 280 285

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
290 295 300

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
305 310 315 320

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
325 330 335

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

340 345 350

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
355 360 365

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
370 375 380

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
385 390

<210> 46
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 46

Asp Leu Val Tyr Phe Glu Lys Ser Pro Asn Phe Cys Thr Tyr Ser Gly
1 5 10 15

Arg Leu Gly Thr Ala Gly Thr Ala Gly Arg Ala Cys Asn Ser Ser Ser
20 25 30

Pro Ala Leu Asp Gly Cys Glu Leu Leu Cys Cys Gly Arg Gly His Arg
35 40 45

Thr Arg Thr Gln Arg Val Thr Glu Arg Cys Asn Cys Thr Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys His Val Ser Cys Arg Asn Cys Thr His Thr Arg Val Leu His
65 70 75 80

Glu Cys Leu

<210> 47
<211> 94
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 47

Asp Leu Val Tyr Phe Glu Asn Ser Pro Asp Tyr Cys Ile Arg Asp Arg
1 5 10 15

Glu Ala Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Arg Val Cys Asn Leu Thr Ser
20 25 30

Arg Gly Met Asp Ser Cys Glu Val Met Cys Cys Gly Arg Gly Tyr Asp
35 40 45

Thr Ser His Val Thr Arg Met Thr Lys Cys Gly Cys Lys Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Ala Val Arg Cys Gln Asp Cys Leu Glu Ala Leu Asp Val His
65 70 75 80

Thr Cys Lys Ala Pro Lys Asn Ala Asp Trp Thr Thr Ala Thr
85 90

<210> 48
<211> 94
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 48

Asp Leu Val Tyr Phe Asp Asn Ser Pro Asp Tyr Cys Val Leu Asp Lys
1 5 10 15

Ala Ala Gly Ser Leu Gly Thr Ala Gly Arg Val Cys Ser Lys Thr Ser
20 25 30

Lys Gly Thr Asp Gly Cys Glu Ile Met Cys Cys Gly Arg Gly Tyr Asp
35 40 45

Thr Thr Arg Val Thr Arg Val Thr Gln Cys Glu Cys Lys Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Ala Val Arg Cys Lys Glu Cys Arg Asn Thr Val Asp Val His
65 70 75 80

Thr Cys Lys Ala Pro Lys Lys Ala Glu Trp Leu Asp Gln Thr
85 90

<210> 49
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 49

Asp Leu Val Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Asn Phe Cys Glu Pro Asn Pro
1 5 10 15

Glu Thr Gly Ser Phe Gly Thr Arg Asp Arg Thr Cys Asn Val Thr Ser
20 25 30

His Gly Ile Asp Gly Cys Asp Leu Leu Cys Cys Gly Arg Gly His Asn
35 40 45

Thr Arg Thr Glu Lys Arg Lys Glu Lys Cys His Cys Ile Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Tyr Val Ser Cys Gln Glu Cys Ile Arg Ile Tyr Asp Val His
65 70 75 80

Thr Cys Lys

<210> 50
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 50

Asp Leu Val Tyr Tyr Glu Ala Ser Pro Asn Phe Cys Glu Pro Asn Pro
1 5 10 15

Glu Thr Gly Ser Phe Gly Thr Arg Asp Arg Thr Cys Asn Val Ser Ser
20 25 30

His Gly Ile Asp Gly Cys Asp Leu Leu Cys Cys Gly Arg Gly His Asn
35 40 45

Ala Arg Ala Glu Arg Arg Arg Glu Lys Cys Arg Cys Val Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Tyr Val Ser Cys Gln Glu Cys Thr Arg Val Tyr Asp Val His
65 70 75 80

Thr Cys Lys

<210> 51
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 51

Asp Leu Val Tyr Ile Glu Lys Ser Pro Asn Tyr Cys Glu Glu Asp Pro
1 5 10 15

Val Thr Gly Ser Val Gly Thr Gln Gly Arg Ala Cys Asn Lys Thr Ala
20 25 30

Pro Gln Ala Ser Gly Cys Asp Leu Met Cys Cys Gly Arg Gly Tyr Asn
35 40 45

Thr His Gln Tyr Ala Arg Val Trp Gln Cys Asn Cys Lys Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Tyr Val Lys Cys Asn Thr Cys Ser Glu Arg Thr Glu Met Tyr
65 70 75 80

Thr Cys Lys

<210> 52
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 52

Asp Leu Val Tyr Ile Glu Lys Ser Pro Asn Tyr Cys Glu Glu Asp Ala
1 5 10 15

Ala Thr Gly Ser Val Gly Thr Gln Gly Arg Leu Cys Asn Arg Thr Ser
20 25 30

Pro Gly Ala Asp Gly Cys Asp Thr Met Cys Cys Gly Arg Gly Tyr Asn
35 40 45

Thr His Gln Tyr Thr Lys Val Trp Gln Cys Asn Cys Lys Phe His Trp
50 55 60

Cys Cys Phe Val Lys Cys Asn Thr Cys Ser Glu Arg Thr Glu Val Phe

Gly Gly Ala Ala His Lys Pro Gly Arg Lys Pro
100 105

<210> 55
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 55
Asp Leu Val Tyr Phe Glu Lys Ser Pro Asp Phe Cys Glu Arg Glu Pro
1 5 10 15
Arg Leu Asp Ser Ala Gly Thr Val Gly Arg Leu Cys Asn Lys Ser Ser
20 25 30
Ala Gly Ser Asp Gly Cys Gly Ser Met Cys Cys Gly Arg Gly His Asn
35 40 45
Ile Leu Arg Gln Thr Arg Ser Glu Arg Cys His Cys Arg Phe His Trp
50 55 60
Cys Cys Phe Val Val Cys Glu Glu Cys Arg Ile Thr Glu Trp Val Ser
65 70 75 80
Val Cys Lys

<210> 56
<211> 83
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 56
Glu Leu Val Tyr Phe Glu Lys Ser Pro Asp Phe Cys Glu Arg Asp Pro
1 5 10 15
Thr Met Gly Ser Pro Gly Thr Arg Gly Arg Ala Cys Asn Lys Thr Ser
20 25 30
Arg Leu Leu Asp Gly Cys Gly Ser Leu Cys Cys Gly Arg Gly His Asn
35 40 45
Val Leu Arg Gln Thr Arg Val Glu Arg Cys His Cys Arg Phe His Trp
50 55 60
Cys Cys Tyr Val Leu Cys Asp Glu Cys Lys Val Thr Glu Trp Val Asn
65 70 75 80
Val Cys Lys

<210> 57
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 連接子
<400> 57
Glu Ser Gly Gly Gly Gly Val Thr

1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 58

Leu Glu Ser Gly Gly Gly Gly Val Thr
1 5

<210> 59
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 59

Gly Arg Ala Gln Val Thr
1 5

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 60

Trp Arg Ala Gln Val Thr
1 5

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 61

Ala Arg Gly Arg Ala Gln Val Thr
1 5

發明摘要

※申請案號：103103881

G01N33/15 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

※申請日：103 年 02 月 05 日

※IPC 分類：

A61K39/395 (2006.01)

A61K31/663 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法及對該治療之監測

Methods and monitoring of treatment with a Wnt pathway inhibitor

【中文】

本發明關於治療疾病例如癌之方法（其包含單獨投予 Wnt 途徑抑制劑或與其他抗癌劑組合投予）及監測骨骼相關不良反應及／或毒性之方法。本發明亦描述減少及／或預防接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體的骨骼相關不良反應及／或毒性之方法。

【英文】

The present invention relates to methods for treating diseases such as cancer comprising administering a Wnt pathway inhibitor, either alone or in combination with other anti-cancer agents, and monitoring for skeletal-related side effects and/or toxicity. Also described are methods for reducing and/or preventing skeletal-related side effects and/or toxicity in subjects receiving treatment with a Wnt pathway inhibitor.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(1)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

1.一種選擇個體以使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：

(a)自該個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)若該骨吸收生物標記之量係低於預設量，則選擇該個體以使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。

2.一種識別個體為適合使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：

(a)自該個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)若該骨吸收生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。

3.一種選擇個體以使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：

(a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及

(b)若該骨吸收生物標記之量係低於預設量，則選擇該個體以使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。

4.一種識別個體為適合使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之方法，其包含：

(a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及

(b)若該骨吸收生物標記之量係低於預設量，則識別該個體為適合使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療。

5.如申請專利範圍第1至4項中任一項之方法，其中該

生物樣本係血液、血清或血漿。

6.如申請專利範圍第1至5項中任一項之方法，其中該骨吸收生物標記係 β -CTX。

7.如申請專利範圍第6項之方法，其中該 β -CTX於血液、血清或血漿中之預設量係於稍早時間點或在初次篩選時測定之 β -CTX之量。

8.如申請專利範圍第6項之方法，其中該 β -CTX於血液、血清或血漿中之預設量係約1000 pg/ml或更低。

9.如申請專利範圍第1至8項中任一項之方法，其另包含對該個體投予該Wnt途徑抑制劑，若該骨吸收生物標記之量係低於該預設量。

10.一種監測接受Wnt途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)自該接受治療之個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

11.一種對接受Wnt途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：

(a)自該接受治療之個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標

記之預設量；

其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

12.一種對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)自該接受治療之個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

13.一種對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)自該接受治療之個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中若來自該個體之生物樣本中骨吸收生物標記之量係高於該預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

14.一種監測接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體是否發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及

(b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

15.一種對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體檢測骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：

- (a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及
- (b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

16.一種對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體識別骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

- (a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及
- (b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

17.一種對接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體監測骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

- (a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及
- (b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該預設量，則顯示骨骼相關不良反應及／或毒性。

18.如申請專利範圍第10至17項中任一項之方法，其

中該樣本係血液、血清或血漿。

19.如申請專利範圍第10至18項中任一項之方法，其中該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折、骨量減少或骨質疏鬆症之風險。

20.如申請專利範圍第10至19項中任一項之方法，其中該骨吸收生物標記之預設量係在較早日期自該個體獲得之樣本中骨吸收生物標記之量。

21.如申請專利範圍第10至20項中任一項之方法，其中該骨吸收生物標記之預設量係在治療前自該個體獲得之樣本中骨吸收生物標記之量。

22.如申請專利範圍第10至21項中任一項之方法，其中該骨吸收生物標記之預設量係基準量。

23.如申請專利範圍第10至22項中任一項之方法，其中若任一樣本之該骨吸收生物標記量係高於預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

24.如申請專利範圍第10至22項中任一項之方法，其中若該骨吸收生物標記量係為預設量之2倍或更多，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

25.如申請專利範圍第10至24項之方法，其中該骨吸收生物標記係 β -CTX。

26.一種使接受Wnt途徑抑制劑治療之個體減少骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)自該接受治療之個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；及

(d)若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

27.一種使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：

(a)在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

(d)對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物；及

(e)對該個體投予該 Wnt 途徑抑制劑。

28.一種篩選個體因 Wnt 途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法，其包含：

(a)在使用 Wnt 途徑抑制劑治療之前，自該個體獲得生物樣本；

(b)測定該樣本中骨吸收生物標記之量；及

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。

29.一種使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體減少骨骼相

關不良反應及／或毒性之方法，其包含：

(a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；

(b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；及

(c)若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

30.一種使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含：

(a)在使用 Wnt 途徑抑制劑進行治療之前，測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；

(b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與骨吸收生物標記之預設量；

(c)對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物；及

(d)對該個體投予該 Wnt 途徑抑制劑。

31.一種篩選個體因 Wnt 途徑抑制劑治療所致之骨骼相關不良反應及／或毒性之風險之方法，其包含：

(a)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量；及

(b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。

32.一種對有需要治療之個體治療癌症之方法，其包含：

- (a)對該個體投予治療有效量之 Wnt 途徑抑制劑；及
- (b)測定來自該個體之樣本中骨吸收生物標記之量。

33.如申請專利範圍第32項之方法，其另包含：

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險。

34.如申請專利範圍第32項之方法，其另包含：

(c)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量；其中若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

35.如申請專利範圍第26至34項中任一項之方法，其中該生物樣本係血液、血清或血漿。

36.如申請專利範圍第26至35項中任一項之方法，其中該骨吸收生物標記係 β -CTX。

37.如申請專利範圍第36項之方法，其中若該 β -CTX之量係為預設量之2倍或更多，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

38.如申請專利範圍第28或31項之方法，其中若該個體具有骨骼相關不良反應及／或毒性之風險，則在使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療之前，對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

39.一種使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體減少骨骼相

關不良反應及／或毒性之方法之方法，其包含對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

40.一種使接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體預防或減弱骨骼相關不良反應及／或毒性發展之方法，其包含對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

41.如申請專利範圍第 26 至 40 項中任一項之方法，其中該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折、骨量減少或骨質疏鬆症之風險。

42.如申請專利範圍第 1 至 41 項中任一項之方法，其中該 Wnt 途徑抑制劑係與至少一種捲曲 (FZD) 蛋白或彼之部分專一性結合之抗體。

43.如申請專利範圍第 42 項之方法，其中該抗體與選自下列之至少一種 FZD 蛋白專一性結合：FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9 及 FZD10。

44.如申請專利範圍第 1 至 41 項中任一項之方法，其中該 Wnt 途徑抑制劑係抗體，其包含：

(a)重鏈 CDR1、重鏈 CDR2 及重鏈 CDR3，該重鏈 CDR1 包含 GFTFSHYTLS (SEQ ID NO:1)，該重鏈 CDR2 包含 VISGDGSYTTYADSVKG (SEQ ID NO:2) 且該重鏈 CDR3 包含 NFIKYVFAN (SEQ ID NO:3)，及

(b)輕鏈 CDR1、輕鏈 CDR2 及輕鏈 CDR3，該輕鏈 CDR1 包含 SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO:4)，該輕鏈 CDR2 包含 DKSNRPSG (SEQ ID NO:5) 且該輕鏈 CDR3 包含

QSYANTLSL (SEQ ID NO:6)。

45.如申請專利範圍第1至41項中任一項之方法，其中該 Wnt途徑抑制劑係抗體，其包含：

包含 SEQ ID NO:7之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO:8之輕鏈可變區。

46.如申請專利範圍第1至45項中任一項之方法，其中該 Wnt途徑抑制劑係抗體 OMP-18R5。

47.如申請專利範圍第46項之方法，其中 OMP-18R5係經靜脈投予至需要該劑之個體，劑量為(a)約每一至二周至少約 0.5 mg/kg，或(b)約每三周至少約 1.0 mg/kg。

48.如申請專利範圍第46項之方法，其中 OMP-18R5係以約每一至二周約 0.5 mg/kg至約 1.0 mg/kg之劑量投予。

49.如申請專利範圍第46項之方法，其中 OMP-18R5係以約每三周約 1.0 mg/kg至約 10.0 mg/kg之劑量投予。

50.如申請專利範圍第1至41項中任一項之方法，其中該 Wnt途徑抑制劑係 Wnt結合劑。

51.如申請專利範圍第50項之方法，其中該 Wnt結合劑係抗體。

52.如申請專利範圍第1至41、50及51項中任一項之方法，其中該 Wnt途徑抑制劑係與至少一種 Wnt蛋白專一性結合之抗體。

53.如申請專利範圍第52項之方法，其中該抗體與選自下列之至少一種 Wnt蛋白專一性結合：Wnt1、Wnt2、Wnt2b、Wnt3、Wnt3a、Wnt7a、Wnt7b、Wnt8a、Wnt8b、

Wnt10a及Wnt10b。

54.如申請專利範圍第42至45及51至53項中任一項之方法，其中該抗體係單株抗體、重組抗體、嵌合抗體、人化抗體、人抗體或包含抗原結合部位之抗體片段。

55.如申請專利範圍第42至54項中任一項之方法，其中該抗體係單專一性抗體或雙專一性抗體。

56.如申請專利範圍第42至45及51至55項中任一項之方法，其中該抗體係IgG1抗體或IgG2抗體。

57.如申請專利範圍第1至41項中任一項之方法，其中該Wnt途徑抑制劑係可溶性受體。

58.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑係可溶性受體。

59.如申請專利範圍第57或58項之方法，其中該可溶性受體包含人FZD蛋白之Fri結構域。

60.如申請專利範圍第59項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域實質上由FZD1之Fri結構域、FZD2之Fri結構域、FZD3之Fri結構域、FZD4之Fri結構域、FZD5之Fri結構域、FZD6之Fri結構域、FZD7之Fri結構域、FZD8之Fri結構域、FZD9之Fri結構域、或FZD10之Fri結構域組成。

61.如申請專利範圍第59項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域實質上由FZD8之Fri結構域組成。

62.如申請專利範圍第59項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域包含選自下列之序列：SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID

NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32及SEQ ID NO:33。

63.如申請專利範圍第62項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域實質上由SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:30組成。

64.如申請專利範圍第59至63項中任一項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域係與非FZD多肽直接連接。

65.如申請專利範圍第59至63項中任一項之方法，其中該人FZD蛋白之Fri結構域係藉由連接子與非FZD多肽連接。

66.如申請專利範圍第64或65項之方法，其中該非FZD多肽包含人Fc區。

67.如申請專利範圍第64至66項中任一項之方法，其中該非FZD多肽實質上由SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38組成。

68.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑包含：

(a)第一多肽，其實質上由SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、

SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33組成；及

(b)第二多肽，其實質上由SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38組成；

其中該第一多肽係與該第二多肽直接連接。

69.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑包含：

(a)第一多肽，其實質上由SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33組成；及

(b)第二多肽，其實質上由SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:38組成；

其中該第一多肽係藉由連接子與該第二多肽直接連接。

70.如申請專利範圍第68或69項之方法，其中該第一多肽實質上由SEQ ID NO: 20組成。

71.如申請專利範圍第68或69之方法，其中該第一多

肽實質上由SEQ ID NO:20組成，且其中該第二多肽實質上由SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:35組成。

72.如申請專利範圍第68或69項之方法，其中該第一多肽實質上由SEQ ID NO: 30組成。

73.如申請專利範圍第68或69之方法，其中該第一多肽實質上由SEQ ID NO:58組成，且其中該第二多肽實質上由SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37或SEQ ID NO:35組成。

74.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:41。

75.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑包含SEQ ID NO:41。

76.如申請專利範圍第57項之方法，其中該Wnt結合劑係FZD8-Fc可溶性受體OMP-54F28。

77.如申請專利範圍第27至29、30及35至76項中任一項之方法，其中該抗吸收藥物係雙膦酸鹽或迪諾單抗(denosumab)。

78.如申請專利範圍第77項之方法，其中該雙膦酸鹽係選自：羥乙膦酸鹽(etidronate)、氯屈膦酸鹽(clodronate)、替魯膦酸鹽(tiludronate)、帕米膦酸鹽(pamidronate)、奈立膦酸鹽(neridronate)、奧帕膦酸鹽(olpadronate)、阿崙膦酸鹽(alendronate)、伊班膦酸鹽(ibandronate)、利塞膦酸鹽(risedronate)及唑來膦酸(zoledronic acid)。

79.如申請專利範圍第77或78項之方法，其中該雙膦

酸鹽係唑來膦酸。

80.如申請專利範圍第1至79項中任一項之方法，其中該個體罹患癌症。

81.如申請專利範圍第80項之方法，其中該癌症係選自：肺癌、乳癌、結腸癌、結直腸癌、黑色素瘤、胰癌、胃腸癌、腎癌(renal cancer)、卵巢癌、神經內分泌癌、肝癌、子宮內膜癌、腎癌(kidney cancer)、前列腺癌、甲狀腺癌、神經胚細胞瘤、神經膠瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、胃癌、膀胱癌、肝腫瘤及頭頸癌。

82.如申請專利範圍第1至81項中任一項之方法，其中該個體係經Wnt途徑抑制劑與一或多種額外抗癌劑之組合治療。

83.如申請專利範圍第1至81項中任一項之方法，其中該骨骼相關不良反應及／或毒性係與該Wnt途徑抑制劑有關。

84.如申請專利範圍第1至81項中任一項之方法，其中該骨骼相關不良反應及／或毒性係增加骨折、骨量減少或骨質疏鬆症之風險。

85.一種監測接受Wnt途徑抑制劑治療之個體發展骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其中該Wnt途徑抑制劑係抗FZD抗體或FZD可溶性受體，該方法包含：

(a)測定自該個體獲得之樣本中骨吸收生物標記之量；
及

(b)比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生

物標記之預設量，其中該預設量係於使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療之前測量之量；

其中該骨吸收生物標記之量增加顯示發展骨骼相關不良反應及／或毒性。

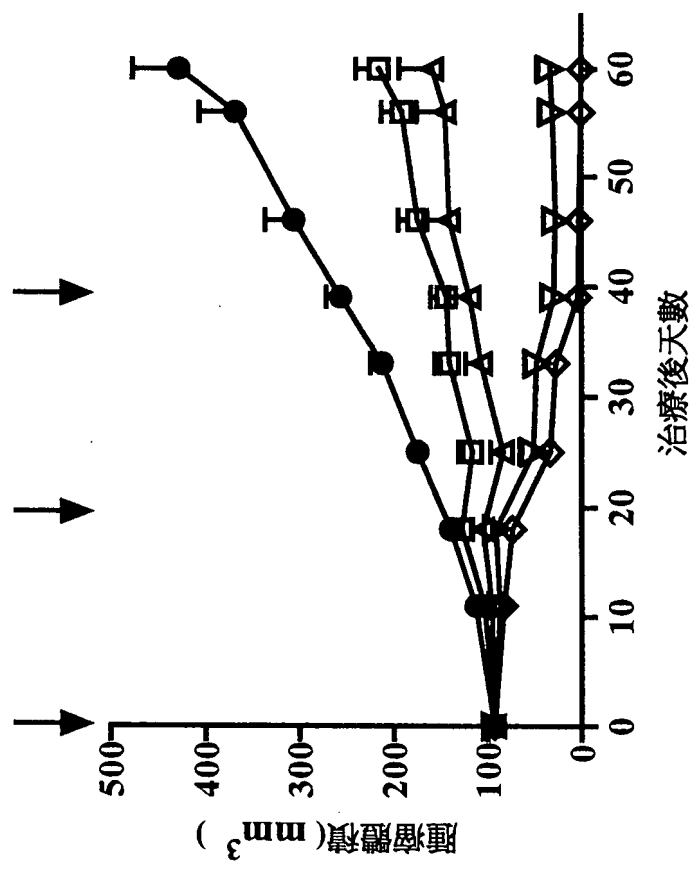
86. 一種減少接受 Wnt 途徑抑制劑治療之個體之骨骼相關不良反應及／或毒性之方法，其中該 Wnt 途徑抑制劑係抗 FZD 抗體或 FZD 可溶性受體，該方法包含：

(a) 測定自該個體獲得之樣本中骨吸收生物標記之量；

(b) 比較該樣本中骨吸收生物標記之量與該骨吸收生物標記之預設量，其中該預設量係於使用該 Wnt 途徑抑制劑進行治療之前測量之量；及

(c) 若該樣本中骨吸收生物標記之量係高於該骨吸收生物標記之預設量，則對該個體投予治療有效量之抗吸收藥物。

圖 1



- 太平洋紫杉醇
- 5 mg/kg 18R5 + 太平洋紫杉醇
- ▲ 10 mg/kg 18R5 + 太平洋紫杉醇
- ▽ 25 mg/kg 18R5 + 太平洋紫杉醇
- ◇ 45 mg/kg 18R5 + 太平洋紫杉醇

18R5 投藥頻率: Q3W
Taxol 投藥頻率: Q1W

圖 式

圖 2

PE13

