(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
25 juin 2020 (25.06.2020)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/127884 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 35/04* (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 17/06* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2019/086545

(22) Date de dépôt international :
20 décembre 2019 (20.12.2019)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
FR1874071 21 décembre 2018 (21.12.2018) FR

(71) Déposants : **UNIVERSITE DE POITIERS** [FR/FR] ; 15 rue de l'Hôtel Dieu, 86000 Poitiers (FR). **BIOALTERNATIVES** [FR/FR] ; 1 Bis rue des Planes, 86160 Gençais (FR). **INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE** [FR/FR] ; 101 rue de Tolbiac, 75013 Paris (FR).

(72) Inventeurs : **BERNARD, François-Xavier** ; 1 Ancienne Cure, 86160 SAINT-MAURICE-LA-CLOUERE (FR). **DANGER, Yannick** ; 1 Impasse du Lavoir, 35190 LA CHAPELLE-AUX-FILTZMÉENS (FR). **FROGER, Josy** ; 25 rue des Guérandais, 49370 SAINT-CLÉMENT DE LA PLACE (FR). **GASCAN, Hugues** ; 28 ter rue Barra, 49100 ANGERS (FR). **JEGOU, Jean-François** ; 4 allée du Clos des Cours, 86000 POITIERS (FR). **LECRON, Jean-Claude** ; 25 chemin de la Vieille Écluse, 86300 BONNES (FR). **MOREL, Franck** ; 196 rue des Roitelets, 86800 SAVIGNY LEVESCAULT (FR).

(74) Mandataire : **IPAZ** ; Parc les Algorithmes, Bâtiment Platon, CS 70003 Saint-Aubin, 91192 Gif-sur-Yvette Cedex (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:
— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

(54) **Title:** SPECIFIC BINDING PROTEIN CAPABLE OF BINDING SPECIFICALLY TO HUMAN ONCOSTATIN M (HOSM)AND USES THEREOF

(54) **Titre :** PROTEINE DE LIAISON SPECIFIQUE CAPABLE DE SE LIER SPECIFIQUEMENT A L'ONCOSTATINE M HUMAINE (hOSM) ET SES UTILISATIONS

(57) **Abstract:** The present invention relates to specific binding proteins, such as antibodies which bind specifically to oncostatin M (OSM), in particular human OSM (hOSM), and which modulate the interaction between oncostatin M and gp130 and/or the LIF receptor. The invention also relates to pharmaceutical compositions and to uses thereof in the prevention and/or treatment of diseases associated with an abnormal level of oncostatin M and in particular inflammatory skin diseases and cancer. The invention also relates to diagnostic compositions and to uses thereof in the detection of diseases associated with an abnormal level of oncostatin M and/or diseases associated with an abnormal level of oncostatin M receptors, and in particular inflammatory skin diseases and cancer.

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne des protéines de liaison spécifiques, telles que des anticorps qui se lient spécifiquement à l'oncostatine M (OSM), notamment l'OSM humaine (hOSM) et modulent l'interaction entre l'oncostatine M et gp130 et/ou le récepteur LIF. L'invention concerne également des compositions pharmaceutiques et leurs utilisations dans la prévention et/ou le traitement des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M et en particulier des maladies inflammatoires cutanées et du cancer. L'invention concerne également des compositions de diagnostic et leurs utilisations dans la détection des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M et/ou des maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à Toncostatine M, et en particulier des maladies inflammatoires cutanées et du cancer.

WO 2020/127884 A1

Protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM) et ses utilisations.

La présente invention concerne des protéines de liaison spécifiques, telles que des anticorps, qui se lient spécifiquement à l'oncostatine M (OSM), notamment l'OSM humaine (hOSM) et modulent l'interaction entre l'oncostatine M et gp130, et/ou le récepteur OSM, et/ou le récepteur LIF. L'invention concerne également des compositions pharmaceutiques et leurs utilisations dans la prévention et/ou le traitement des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M et/ou des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M récepteur (OSMR), et en particulier des maladies inflammatoires cutanées et du cancer et les métastases associées. L'invention concerne également une méthode de diagnostic permettant la détection des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M et/ou des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M récepteur (OSMR). L'invention concerne également une méthode de diagnostic permettant la détection des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M en particulier les maladies inflammatoires cutanées, les cancers et les métastases associées.

L'oncostatine M (OSM) est une cytokine de la famille des cytokines de l'interleukine 6 (IL-6), qui comprend l'IL-11, l'IL-27, le facteur d'inhibition de la leucémie (LIF), le facteur neurotrope ciliaire (CNTF), la cardiotrophine-1, le cardiotrophine-like cytokine facteur (CLCF1) avec qui l'oncostatine M partage le récepteur transmembranaire de la protéine gp130. Son gène, situé sur le chromosome 22, est proche de celui du facteur d'inhibition de la leucémie (LIF). La masse moléculaire de l'oncostatine est de 28 kDa et elle est produite principalement par les macrophages, les neutrophiles polynucléaires, les éosinophiles, les lymphocytes T activés et les cellules dendritiques. On entend par « oncostatine M humaine » au sens de la présente invention, la protéine accessible sous la référence NP_065391 (oncostatin-M isoform 1 preproprotein [Homo sapiens]) et ayant la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No.65 suivante :

ATGGGGGTACTGCTCACACAGAGGACGCTGCTCAGTCTGGTCCTTGCACTCCTGTTT
CCAAGCATGGCGAGCATGGCGGCTATAGGCAGCTGCTCGAAAGAGTACCGCGTGCT
CCTTGGCCAGCTCCAGAAGCAGACAGATCTCATGCAGGACACCAGCAGACTCCTGG
ACCCCTATATACGTATCCAAGGCCTGGATGTTCCTAAACTGAGAGAGCACTGCAGGG
AGCGCCCCGGGGCCTTCCCCAGTGAGGAGACCCTGAGGGGGCTGGGCAGGCGGG
GCTTCCTGCAGACCCTCAATGCCACACTGGGCTGCGTCCTGCACAGACTGGCCGAC
TTAGAGCAGCGCCTCCCCAAGGCCCAGGATTTGGAGAGGTCTGGGCTGAACATCGA
GGACTTGGAGAAGCTGCAGATGGCGAGGCCGAACATCCTCGGGCTCAGGAACAACA
TCTACTGCATGGCCCAGCTGCTGGACAACTCAGACACGGCTGAGCCCACGAAGGCT
GGCCGGGGGGCCTCTCAGCCGCCCACCCCCACCCCTGCCTCGGATGCTTTTCAGC
GCAAGCTGGAGGGCTGCAGGTTCCTGCATGGCTACCATCGCTTCATGCACTCAGTG
GGGCGGGTCTTCAGCAAGTGGGGGGAGAGCCCGAACCGGAGCCGGAGACACAGC

CCCCACCAGGCCCTGAGGAAGGGGGTGCGCAGGACCAGACCCTCCAGGAAAGGCA AGAGACTCATGACCAGGGGACAGCTGCCCCGGTAG (SEQ ID No.65)

Comme d'autres cytokines de la famille des IL-6, l'OSM se lie à la glycoprotéine transmembranaire gp130. L'oncostatine M humaine (hOSM) diffère des autres cytokines de l'IL-6 en ce qu'elle peut former des complexes avec la gp130 et l'un des deux co-récepteurs, le récepteur du facteur d'inhibition de la leucémie (LIFR) et le récepteur de l'oncostatine (OSMR). L'oncostatine M humaine (hOSM) est fortement surexprimée dans les peaux inflammatoires de patients atteints notamment de psoriasis, de dermatite atopique et d'angiodermite nécrotique et de carcinomes cutanés épidermiques, directement responsable de l'apparition des lésions cutanées et créant ainsi une inflammation chronique. Son récepteur fonctionnel (gp130/OSMRβ) est présent sur les kératinocytes, les fibroblastes et les cellules de tumeurs épidermiques. *In vitro et in vivo*, l'OSM exerce des effets pro-inflammatoires importants sur les kératinocytes et induit l'épaississement de l'épiderme. Sur les cellules tumorales épidermiques, l'OSM induit la prolifération et la migration des cellules tumorales, ainsi que l'inhibition de l'apoptose. Il existe actuellement des traitements permettant de traiter les maladies inflammatoires cutanées, telles que le psoriasis, la dermatite atopique et l'angiodermite nécrotique, mais certains patients ne sont pas répondeurs à ces traitements ou encore échappent au traitement. À ce jour, il n'existe actuellement pas de traitements efficaces permettant de traiter en particulier les carcinomes cutanés épidermiques. L'OSM est également surexprimée et joue un rôle pro-inflammatoire dans la fibrose hépatique, l'hépatite chronique, la polyarthrite rhumatoïde, l'inflammation pulmonaire et, tout récemment rapporté, dans les maladies chroniques de l'intestin (MICI).

Ainsi, il existe un besoin de nouvelles formes efficaces de diagnostic ou de traitement des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M humaine, en particulier des traitements pouvant fournir une thérapie contrôlée et soutenue, seule ou en combinaison avec d'autres thérapies. Afin de prévenir, traiter et diagnostiquer une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine et/ou les maladies associées à un niveau anomal du récepteur de l'oncostatine M humaine, et en particulier les maladies inflammatoires cutanées et/ou les cancers, les inventeurs ont mis au point une nouvelle protéine de liaison spécifique qui se lie spécifiquement à l'oncostatine M humaine.

On entend par « maladies inflammatoires cutanées », des maladies telles que le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique et les carcinomes cutanés épidermoïdes.

On entend par « cancer », les foyers de tumeurs primaires mais aussi les migrations et proliférations des cellules cancéreuses et les métastases associées. Au sens de la présente invention, le cancer peut être choisi parmi l'un des cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

La présente invention a donc pour objet une protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM), ladite protéine de liaison spécifique comprenant : un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant : un CDR-H1 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.1, SEQ ID No.17, SEQ ID No. 33, et SEQ ID No. 49, un CDR-H2 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.2, SEQ ID No.18, SEQ ID No. 34, et SEQ ID No. 50 et un CDR-H3 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.3, SEQ ID No.19, SEQ ID No. 35, et SEQ ID No. 51, et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant : un CDR-L1 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.4, SEQ ID No.20, SEQ ID No. 36, et SEQ ID No. 52, un CDR-L2 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.5, SEQ ID No.21, SEQ ID No. 37, et SEQ ID No. 53 et un CDR-L3 choisi parmi les séquences d'acides aminés SEQ ID No.6, SEQ ID No.22, SEQ ID No. 38, et SEQ ID No. 54.

En particulier, les inventeurs ont montré que la protéine de liaison spécifique selon l'invention est capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine. Avantageusement, les inventeurs ont montré que la protéine de liaison spécifique selon l'invention est capable d'inhiber la liaison de l'oncostatine M humaine au récepteur hétérodimérique composé de la protéine gp130 et du récepteur à l'oncostatine M ou de la protéine gp130 et du récepteur LIF, permettant ainsi d'inhiber la phosphorylation des molécules signales impliquées dans le processus inflammatoire, comme par exemple de la protéine STAT-3, de la protéine PI3 Kinase, de la protéine MAP Kinase et d'inhiber la production des protéines de liaison au calcium S100A7-9 et des peptides anti bactériens béta défensines (BD2) dans les kératinocytes humains mais également d'inhiber la synthèse d'haptoglobine induite par l'oncostatine dans les cellules HEPG-2. De plus, les inventeurs ont montré que la protéine de liaison spécifique selon l'invention est capable de lever l'inhibition des marqueurs de différenciation des kératinocytes, tels que les cytokératines 1 et 10 (CK1 et CK10) et la desmocolline 1 (DSC1), permettant ainsi d'éviter l'hyperplasie de la couche de kératinocytes épineux résultante de l'action de l'oncostatine, et ainsi éviter l'augmentation de l'épaisseur de l'épiderme humain. De plus, les inventeurs

ont montré que la protéine de liaison spécifique selon l'invention est capable de lever l'inhibition de l'expression de l'α-actine des fibroblastes (α-SMA). Par ailleurs, les inventeurs ont montré que la protéine de liaison spécifique selon l'invention est capable d'inhiber la synthèse du marqueur S100A7 et de lever l'inhibition de l'expression d'involucrine induite par l'oncostatine M dans des cellules de carcinome épidermique, la surexpression du marqueur S100A7 et l'inhibition de l'involucrine étant liées à l'inflammation, la prolifération des cellules tumorales et de l'inhibition de la différentiation cellulaire.

Au sens de la présente invention, une « protéine de liaison spécifique » est un membre d'une paire de molécules qui ont une spécificité de liaison l'une pour l'autre. Les membres d'une paire de liaison spécifique peuvent être naturellement dérivés ou totalement ou partiellement produits par synthèse. Un membre de la paire de molécules a une région à sa surface, caractérisée par une saillie ou une cavité, qui se lie spécifiquement à et qui est donc complémentaire d'une organisation spatiale et polaire particulière de l'autre membre de la paire de molécules. Ainsi, les membres de la paire ont la propriété de se lier spécifiquement les uns aux autres. Des exemples de types de paires de liaison spécifiques sont l'antigène-anticorps, la biotine-avidine, le récepteur hormonal-hormone, le récepteur-ligand, le substrat enzymatique. La présente invention concerne généralement des réactions de type antigène-anticorps. La protéine de liaison spécifique de la présente invention se lie avec une plus grande affinité à la protéine oncostatine M humaine qu'à d'autres molécules, c'est-à-dire qu'elle se lie spécifiquement à la protéine oncostatine M humaine. Des molécules de liaison spécifiques qui se lient à la protéine oncostatine M humaine comprennent des anticorps anti-protéine d'oncostatine M humaine. Typiquement, la protéine de liaison spécifique se lie avec une affinité (KD) d'approximativement moins de 10^{-7} M, plus particulièrement d'environ moins de 10^{-8} M, ou moins de 10^{-9} M ou moins de 10^{-10} M ou même moins.

Le terme « KD » désigne la constante d'équilibre de dissociation d'une interaction protéine-antigène particulière. Typiquement, la protéine de liaison spécifique de l'invention se lie à son antigène cible avec une constante d'équilibre de dissociation (KD) inférieure à environ 10^{-7} M, plus particulièrement inférieure à environ 10^{-8} M ou inférieure à 10^{-9} M ou inférieure à 10^{-10}M ou même plus bas, tel que déterminé par exemple, à l'aide de Biacore, qui utilise la résonance des plasmons de surface (SPR) ou déterminé à l'aide de la technologie BioLayer Interferometry (BLI) dans un instrument Octet HTX. Avantageusement, la protéine de liaison spécifique selon l'invention se lie à son antigène, l'oncostatine M humaine, avec une affinité (KD) de $7{,}66 \times 10^{-10}$ M.

Au sens de la présente invention, le terme « CDR » signifie « régions déterminantes complémentaires » et est utilisé pour désigner une séquence d'acides aminés d'un domaine variable d'une chaine lourde ou d'une chaine légère. Les CDR sont nécessaires pour la liaison à l'antigène, en particulier à l'oncostatine M humaine, et déterminent la spécificité de la protéine de liaison spécifique. Chaque région variable a généralement trois CDR identifié comme CDR1 (CDR-H1 ou CDR-L1, où « H » indique la chaine lourde CDR1 et « L » la chaine légère CDR1), CDR2 (CDR-H2 ou CDR-L2, où « H » indique la chaine lourde CDR2 et « L » la chaine légère CDR2) et CDR3 (CDR-H3 ou CDR-L3, où « H » indique la chaine lourde CDR3 et « L » la chaine légère CDR3).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM) comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.1, SEQ ID No. 2 et SEQ ID No. 3 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.4, SEQ ID No.5 et SEQ ID No.6.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM) comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.17, SEQ ID No. 18 et SEQ ID No. 19 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.20, SEQ ID No.21 et SEQ ID No.22.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM) comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.33, SEQ ID No. 34 et SEQ ID No. 35 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.36, SEQ ID No.37 et SEQ ID No.38.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM) comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.49, SEQ ID No. 50 et SEQ ID

No. 51 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.52, SEQ ID No.53 et SEQ ID No.54.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique peut être un anticorps ou un fragment d'anticorps.

Au sens de la présente invention, le terme "anticorps" désigne des molécules d'immunoglobuline, quelle que soit la classe de l'immunoglobuline (IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4) et des portions immunologiquement actives de molécules d'immunoglobuline, c'est-à-dire des molécules qui contiennent un site de liaison d'antigène qui lie spécifiquement un antigène, qu'il soit naturel ou partiellement ou entièrement synthétiquement produit. Le terme couvre également tout polypeptide ou protéine ayant un domaine de liaison qui est, ou est homologue à, un domaine de liaison d'anticorps. Ceux-ci peuvent provenir de sources naturelles, ou bien être produits en partie ou en totalité par synthèse.

Un anticorps est une molécule composée de deux chaînes polypeptidiques lourdes et de deux chaînes polypeptidiques légères liées entre elles par des liaisons disulfure. Chaque chaîne lourde est composée d'un domaine variable ("domaine VH") et de 3 domaines constants (domaines "CH1", "CH2" et "CH3"), tandis que chaque chaîne légère est composée d'un domaine variable ("domaine VL") et un domaine constant ("domaine CL"). De plus, chaque domaine variable (domaine VH ou VL) est composé de 4 "régions charpente" (FR1, FR2, FR3 et FR4), qui présentent moins de variabilité de séquence parmi les anticorps et sont impliquées dans la formation de feuillets beta, et de 3 régions hypervariables, communément appelées "régions déterminantes complémentaires" 1, 2 et 3 (CDR1, CDR2, CDR3), qui correspondent à 3 boucles séparant chaque feuillet beta. Les 3 régions CDR, juxtaposées dans l'espace à l'extrémité du domaine variable, sont cruciales pour la détermination d'une spécificité d'anticorps (ou de fragment d'anticorps), puisqu'elles sont la partie du domaine variable principalement au contact de l'antigène, en particulier la région CDR3 de chaque chaîne, correspondant à la région réarrangée des chaînes lourdes et légères, qui est encore plus variable et plus directement au contact de l'antigène spécifique. Des exemples d'anticorps sont les isotypes d'immunoglobuline (par exemple, IgG, IgE, IgM, IgD et IgA) et leurs sous-classes isotypiques. Avantageusement, l'anticorps selon l'invention peut être un anticorps polyclonal ou un anticorps monoclonal. Un anticorps monoclonal peut être désigné ici par "mAb". Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'anticorps de l'invention est un anticorps monoclonal.

Comme les anticorps peuvent être modifiés d'un certain nombre de façons, le terme "anticorps" doit être interprété comme couvrant tout élément de liaison spécifique ou substance ayant un domaine de liaison avec la spécificité requise. Ainsi, ce terme couvre des fragments d'anticorps, des dérivés, des équivalents fonctionnels et des homologues d'anticorps, des anticorps humanisés, y compris tout polypeptide comprenant un domaine de liaison d'immunoglobuline, qu'il soit naturel ou bien totalement ou partiellement synthétique. Des molécules chimériques comprenant un domaine de liaison d'immunoglobuline, ou équivalent, fusionnées à un autre polypeptide sont donc incluses.

Dans un mode de réalisation, les anticorps de l'invention sont des anticorps monoclonaux humanisés. Les anticorps monoclonaux de l'invention peuvent être humanisés en modifiant la séquence d'acides aminés de l'anticorps. Des procédés pour réduire l'immunogénicité des protéines de liaison spécifiques de l'invention comprennent le greffage de CDR sur une structure charpente d'anticorps appropriée ou un remodelage de résidus de surface variable, par ex. par mutagenèse dirigée ou par d'autres techniques de biologie moléculaire couramment utilisées. Un anticorps humanisé peut être un anticorps modifié ayant les régions variables d'un anticorps non-humain, par ex. murine, et la région constante d'un anticorps humain. Dans un mode de réalisation, les anticorps de la présente invention sont des anticorps monoclonaux humanisés.

Dans un autre mode de réalisation avantageux, la protéine de liaison spécifique selon l'invention peut être un fragment d'anticorps. Il a été montré que des fragments d'un anticorps entier peuvent remplir la fonction de liaison à l'antigène.

Des exemples de fragments d'anticorps sont:

(i) le fragment Fab constitué des domaines VL, VH, CL et CH1;
(ii) le fragment Fd constitué des domaines VH et CH1;
(iii) le fragment Fv constitué des domaines VL et VH d'un seul anticorps ou un fragment dsFv;
(iv) le fragment dAb, qui consiste en un domaine VH;
(v) des régions CDR isolées, comme par exemple l'un des CDRs définis précédemment, à savoir le CDR-H1 (SEQ ID No.1 ou SEQ ID No.17 ou SEQ ID No.33 ou SEQ ID No.49) ou le CDR-H2 (SEQ ID No.2 ou SEQ ID No.18 ou SEQ ID No.34 ou SEQ ID No.50) ou le CDR-H3 (SEQ ID No.3 ou SEQ ID No.19 ou SEQ ID No.35 ou SEQ ID No.51) ou le CDR-L1 (SEQ ID No.4 ou SEQ ID No.20 ou SEQ ID No.36 ou SEQ ID No.52) ou le CDR-L2 (SEQ ID No.5 ou SEQ ID

No.21 ou SEQ ID No.37 ou SEQ ID No.53) ou encore le CDR-L3 (SEQ ID No.6 ou SEQ ID No.22 ou SEQ ID No.38 ou SEQ ID No.54);

(vi) le fragment F(ab') obtenu à partir d'un fragment F(ab') 2 par coupure du pont disulfure dans la région charnière ;

(vii) des fragments F(ab') 2, un fragment bivalent comprenant deux fragments Fab liés;

(viii) des fragments variables simple chaîne (scFv), dans lesquels un domaine VH et un domaine VL sont liés par un lieur peptidique qui permet aux deux domaines de s'associer pour former un site de liaison d'antigène;

(ix) dimères Fv monocaténaires bispécifiques ;

(x) "diabodies", fragments multivalents ou multispécifiques construits par fusion de gènes;

(xi) une molécule scFv.

Au sens de la présente invention, le terme "domaine CH1" correspond au premier domaine de région constante de la chaîne lourde d'une immunoglobuline qui s'étend, par exemple, à partir des positions 114-223 dans le système de numérotation de Kabat (positions EU 118-215). Le domaine CH1 est adjacent au domaine VH et à la région N-terminale de la région charnière de la chaîne lourde de l'immunoglobuline, mais ne fait pas partie de la région Fc de la chaîne lourde de l'immunoglobuline.

Au sens de la présente invention, le terme "domaine CL" comprend la région constante d'une chaîne légère d'immunoglobuline qui s'étend, par ex. à partir de la position Kabat 107A-216 (positions de l'UE 108-214 (kappa)). Le domaine CL est adjacent au domaine VL et comprend la région C-terminale de la chaîne légère de l'immunoglobuline.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, l'anticorps selon l'invention peut être une molécule à fragment variable à une seule chaîne (scFv). Dans le contexte de l'invention, le terme "fragment variable monocaténaire" ou "molécule scFv" ou "fragment scFv" ou "anticorps scFv" ou "scFv" désigne un seul polypeptide replié comprenant les domaines VH et VL d'un anticorps lié à travers un lieur peptidique. Dans une telle molécule scFv, les domaines VH et VL peuvent être dans l'ordre VH-linker-VL ou VL-linker-VH. En plus de faciliter sa production, une molécule scFv peut contenir une molécule d'étiquette liée au scFv via un espaceur. Une molécule scFv comprend ainsi les domaines VH et VL impliqués dans la reconnaissance de l'antigène mais pas les domaines constants immunogènes de l'anticorps correspondant.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps ou un fragment d'anticorps qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.1 (GYSITSDYA)
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.2 (ISYSGST), et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.3 (ARDRYEAMDY), et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.4 (QSLLSSGNQKNY),
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.5 (GAS), et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.6 (QNDHSYPLT).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps, avantageusement un anticorps monoclonal humanisé, qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.1,
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.2, et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.3, et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.4,
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.5, et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.6.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.7 et un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.8. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine lourde (VH) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.7, comprend les CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2, et SEQ ID No. 3. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine légère (VL) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.8, comprend les CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 5, et SEQ ID No. 6.

L'« identité » est connue de l'homme du métier comme étant la relation entre deux ou plusieurs séquences d'acides aminés ou entre deux ou plusieurs séquences d'acides nucléiques, telle que déterminée en comparant les séquences. L'identité signifie également le degré de relation de séquence de parenté entre des séquences d'acides aminés ou des séquences d'acides nucléiques, selon le cas, tel que déterminé par la correspondance entre les chaînes de ces séquences. Bien qu'il existe un certain nombre de procédés pour mesurer l'identité entre deux séquences d'acides aminés ou entre deux séquences d'acides nucléiques, les procédés couramment utilisés pour déterminer l'identité sont codifiés dans des programmes informatiques. Les programmes informatiques préférés pour déterminer l'identité entre deux séquences incluent, mais ne sont pas limités à EMBOSS (The European Molecular Biology Open Software Suite (2000) - Rice,P. Longden,I. and Bleasby,A., Trends in Genetics 16, (6) pp276—277), Clustal Omega, Needle).

La détermination du pourcentage d'identité entre deux séquences peut être réalisée en utilisant un algorithme mathématique bien connu de l'homme du métier. Un exemple d'algorithme mathématique permettant de comparer deux séquences est l'algorithme de Karlin et Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268, modifié comme dans Karlin et Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877. Les programmes NBLAST et XBLAST d'Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 ont incorporé un tel algorithme.

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.7. Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.7.

EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTS YNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARDRYEAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID No.7)

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.8. Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.8.

DIVMTQTPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLSSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIFGAST RESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPLTFGAGTKLELK (SEQ ID No.8).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps ou un fragment d'anticorps qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.17 (GFTFNTYA)
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.18 (IRSKSDNYAT), et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.19 (VRYDWFAY), et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.20 (KSVSTSVYNY),
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.21 (LAS), et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.22 (QHSRELPWT).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps, avantageusement un anticorps monoclonal humanisé, qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.17,
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.18, et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.19, et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.20,
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.21, et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.22.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.23 et un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.24. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine lourde (VH) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.23, comprend les CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 18, et SEQ ID No. 19. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine légère (VL) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.24, comprend les CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 20, SEQ ID No. 21, et SEQ ID No. 22.

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.23.

Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.23.

EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSDNY ATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRYDWFAYWGQGTLVTVS A (SEQ ID No.23)

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.24 Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.24.

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID No.24).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps ou un fragment d'anticorps qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.33 (GFTFNTYA)
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.34 (IRSKSDNYAT), et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.35 (VRYDWFVY), et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.36 (KSVSSSVYNY),
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.37 (LAS), et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.38 (QHSRELPWT).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps, avantageusement un anticorps monoclonal humanisé, qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.33,
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.34, et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.35, et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.36,
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.37, et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.38.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.39 et un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.40. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine lourde (VH) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.39, comprend les CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 34, et SEQ ID No. 35. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine légère (VL) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.40, comprend les CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 36, SEQ ID No. 37, et SEQ ID No. 38.

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.39.

Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.39.

EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSDNY ATYYADSVKDRFTISRDDSQNMLYLQMNNLKTDDTGMYYCVRYDWFVYWGQGTLVTVS A (SEQ ID No.39)

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.40 Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.40.

DIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWT (SEQ ID No.40).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps ou un fragment d'anticorps qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.49 (GFTFNTYA)
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.50 (IRSKSDNYAT), et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.51 (VRYDWFVY), et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.52 (KSVSSSVYNY),
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.53 (LAS), et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.54 (QHSRELPWT).

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine de liaison spécifique est un anticorps, avantageusement un anticorps monoclonal humanisé, qui se lie spécifique à l'oncostatine M humaine, ledit anticorps comprenant :

- un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant :
  - un CDR-H1 de séquence SEQ ID No.49,
  - un CDR-H2 de séquence SEQ ID No.50, et
  - un CDR-H3 de séquence SEQ ID No.51, et
- un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant :
  - un CDR-L1 de séquence SEQ ID No.52,
  - un CDR-L2 de séquence SEQ ID No.53, et
  - un CDR-L3 de séquence SEQ ID No.54.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.55 et un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides aminés SEQ ID No.55. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine lourde (VH) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.55, comprend les CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 49, SEQ ID No. 50, et SEQ ID No. 51. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, le domaine variable de la chaine légère (VL) de séquence d'acides aminés SEQ ID No.56, comprend les CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, respectivement de séquences d'acides aminés SEQ ID No. 52, SEQ ID No. 53, et SEQ ID No. 54.

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.55.

Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine lourde (VH) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.55.

EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSDNY ATYYADSVKDRFTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRYDWFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID No.55)

Dans un mode de réalisation encore plus avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant une séquence d'acides aminés ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56, avantageusement au moins 100% d'identité avec la séquence SEQ ID No.56 Avantageusement, la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable de la chaine légère (VL) ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID No.56.

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFG (SEQ ID No.56).

Un autre objet de l'invention concerne également un acide nucléique isolé codant pour la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, l'acide nucléique isolé comprend une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde (VH) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.7 et une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère (VL) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.8. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'acide nucléique isolé selon l'invention comprend :

a) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine lourde de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, dans lequel :

- CDR-H1 est SEQ ID No.1 ,
- CDR-H2 est SEQ ID No.2 et
- CDR-H3 est SEQ ID No.3 ; et

b) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine légère de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, dans lequel :
   - CDR-L1 est SEQ ID No.4,
   - CDR-L2 est SEQ ID No.5, et
   - CDR-L3 est SEQ ID No.6.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 9 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 9, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 9.

GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTC
CCTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACTGGAT
CCGGCAGTTTCCAGGAAACAAACTGGAGTGGATGGGCTACATAAGCTACAGTGGTA
GCACTAGCTACAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGACACATCCAA
GAACCAGTTCTTCCTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTAC
TGTGCAAGAGATAGGTACGAGGCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAC
CGTCTCCTCAG (SEQ ID NO. 9)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCC (SEQ ID No. 11) code pour le CDR-H1 de SEQ ID No.1.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques ATAAGCTACAGTGGTAGCACT (SEQ ID No. 12) code pour le CDR-H2 de SEQ ID No.2.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GCAAGAGATAGGTACGAGGCTATGGACTAT (SEQ ID No. 13) code pour le CDR-H3 de SEQ ID No.3.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 10 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 10.

GACATTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCCCTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGT
CACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAAGTAGTGGTAATCAAAAGAACTA
CTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGTTGATCTTCGGGG
CTTCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACC
GATTTCACTCTTACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC
AGAATGATCATAGTTATCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAAC
(SEQ ID No. 10)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CAGAGTCTGTTAAGTAGTGGTAATCAAAAGAACTAC (SEQ ID No. 14) code pour le CDR-L1 de SEQ ID No.4.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GGGGCTTCC (SEQ ID No. 15) code pour le CDR-L2 de SEQ ID No.5.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CAGAATGATCATAGTTATCCGCTCACG (SEQ ID No. 16) code pour le CDR-L3 de SEQ ID No.6.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, l'acide nucléique isolé comprend une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde (VH) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.23 et une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère (VL) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.24. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'acide nucléique isolé selon l'invention comprend :

a) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine lourde de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, dans lequel :
   - CDR-H1 est SEQ ID No.17 ,
   - CDR-H2 est SEQ ID No.18 et
   - CDR-H3 est SEQ ID No.19 ; et
b) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine légère de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, dans lequel :
   - CDR-L1 est SEQ ID No.20,
   - CDR-L2 est SEQ ID No.21, et
   - CDR-L3 est SEQ ID No.22.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 25 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 25, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 25.

GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTGGAGGATTGGTGCAGCCTAAAGGGTCATTGAA
ACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAATACCTACGCCATGAACTGGGTCCG
CCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAATGGGTTGCTCGTATAAGAAGTAAAAGTGATAA
TTATGCAACATATTATGCCGATTCAGTGAAAGACAGGTTCACCATCTCCAGAGATGAT
TCACAAAGCATGCTCTATCTGCAAATGAACAACTTGAAAACTGAGGACACAGCCATGT
ATTACTGTGTGCGTTACGACTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTG
TCTCTGCAG (SEQ ID NO. 25)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GGATTCACCTTCAATACCTACGCC (SEQ ID No. 27) code pour le CDR-H1 de SEQ ID No.17.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCAACA (SEQ ID No. 28) code pour le CDR-H2 de SEQ ID No.18.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GTGCGTTACGACTGGTTTGCTTAC (SEQ ID No. 29) code pour le CDR-H3 de SEQ ID No.19.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 26 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides

nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 26, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 26.

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGGCC ACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTCAGTACATCTGTCTATAATTATTTACACT GGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATCTTGCATCCAACC TAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACC CTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGT AGGGAGCTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAAC (SEQ ID No. 26)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques AAAAGTGTCAGTACATCTGTCTATAATTA (SEQ ID No. 30) code pour le CDR-L1 de SEQ ID No.20.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CTTGCATCC (SEQ ID No. 31) code pour le CDR-L2 de SEQ ID No.21.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG (SEQ ID No. 32) code pour le CDR-L3 de SEQ ID No.22.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, l'acide nucléique isolé comprend une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde (VH) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.39 et une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère (VL) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.40. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'acide nucléique isolé selon l'invention comprend :

a) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine lourde de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, dans lequel :

- CDR-H1 est SEQ ID No.33 ,
- CDR-H2 est SEQ ID No.34 et
- CDR-H3 est SEQ ID No.35 ; et

b) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine légère de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, dans lequel :

- CDR-L1 est SEQ ID No.36,
- CDR-L2 est SEQ ID No.37, et
- CDR-L3 est SEQ ID No.38.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 41 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend séquence ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 41, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 41.

GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTGGAGGATTGGTGCAGCCTAAAGGGTCATTGAA
ACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAATACCTACGCCATGAACTGGGTCCG
CCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAATGGGTTGCTCGCATAAGAAGTAAAAGTGATAA
TTATGCAACATATTATGCCGATTCAGTGAAAGACAGGTTCACCATCTCCAGAGATGAT
TCACAAAACATGCTCTATCTGCAAATGAACAACTTGAAAACTGACGACACAGGCATGT
ATTACTGTGTGCGTTACGACTGGTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTG
TCTCTGCAG (SEQ ID NO. 41)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GGATTCACCTTCAATACCTACGCC (SEQ ID No. 43) code pour le CDR-H1 de SEQ ID No.33.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCAACA (SEQ ID No. 44) code pour le CDR-H2 de SEQ ID No.34.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GTGCGTTACGACTGGTTTGTTTAC (SEQ ID No. 45) code pour le CDR-H3 de SEQ ID No.35.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 42 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 42.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 42, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 42.

GACATTGTGATGACACAGACTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGGCC
ACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTATTTACACT
GGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATCTTGCATCCAACC
TAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACC
CTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGT
AGGGAGCTTCCGTGGACG (SEQ ID No. 42)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques AAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTAT (SEQ ID No. 46) code pour le CDR-L1 de SEQ ID No.36.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CTTGCATCC (SEQ ID No. 47) code pour le CDR-L2 de SEQ ID No.37.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG (SEQ ID No. 48) code pour le CDR-L3 de SEQ ID No.38.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, l'acide nucléique isolé comprend une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde (VH) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.55 et une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère (VL) de la protéine de liaison spécifique de SEQ ID No.56. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'acide nucléique isolé selon l'invention comprend :

a) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine lourde de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3, dans lequel :
   - CDR-H1 est SEQ ID No.49 ,
   - CDR-H2 est SEQ ID No.50 et
   - CDR-H3 est SEQ ID No.51 ; et
b) une séquence d'acides nucléiques codant une chaine légère de la protéine de liaison spécifique, dans laquelle la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend un domaine variable comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3, dans lequel :
   - CDR-L1 est SEQ ID No.52,
   - CDR-L2 est SEQ ID No.53, et
   - CDR-L3 est SEQ ID No.54.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 57 ou une séquence ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 57. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique comprend séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No.

57, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 98% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 57, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 57.

GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTGGAGGATTGGTACAGCCTAAAGGGTCATTGAA
ACTCTCATGTGCGGCCTCTGGATTCACCTTCAATACCTACGCCATGAACTGGGTCCG
CCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAATGGGTTGCTCGCATAAGAAGTAAAAGTGATAA
TTATGCAACATATTATGCCGATTCAGTGAAAGACAGGTTCACCATTTCCAGAGATGAT
TCACAAAGCATCCTCTATCTGCAAATGAACAACTTGAAAACTGAGGACACAGCCATGT
ATTACTGTGTGCGTTACGACTGGTTTGTTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTG
TCTCTGCAG (SEQ ID NO. 57)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GGATTCACCTTCAATACCTACGCC (SEQ ID No. 59) code pour le CDR-H1 de SEQ ID No.49.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCAACA (SEQ ID No. 60) code pour le CDR-H2 de SEQ ID No.50.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques GTGCGTTACGACTGGTTTGTTTAT (SEQ ID No. 61) code pour le CDR-H3 de SEQ ID No.51.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 58 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 58.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique comprend une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 91% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 92% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 93% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 94% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 95% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 96% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 97% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 98%

d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, au moins 99% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 58, en raison de la dégénérescence du code génétique. Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère de la protéine de liaison spécifique est la séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 58.

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGGCC
ACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTATTTACACT
GGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATCTTGCATCCAACC
TAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACC
CTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGT
AGGGAACTTCCGTGGACGTTCGGT (SEQ ID No. 58)

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques AAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTAT (SEQ ID No. 62) code pour le CDR-L1 de SEQ ID No.52.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CTTGCATCC (SEQ ID No. 63) code pour le CDR-L2 de SEQ ID No.53.

Avantageusement, la séquence d'acides nucléiques CAGCACAGTAGGGAACTTCCGTGGACG (SEQ ID No. 64) code pour le CDR-L3 de SEQ ID No.54.

Un autre objet de l'invention concerne un vecteur d'expression, par exemple un vecteur viral ou un plasmide, comprenant l'acide nucléique isolé codant pour la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment.

Au sens de la présente invention, le terme « vecteur » désigne une séquence polynucléotidique contenant une séquence codante souhaitée (l'acide nucléique isolé tel défini précédemment) et des séquences de contrôle en liaison fonctionnelle, de sorte que les hôtes transformés avec ces séquences sont capables de produire les protéines codées, en particulier la protéine de liaison spécifique.

Dans un mode de réalisation particulier, la protéine de liaison spécifique à l'oncostatine M humaine selon l'invention peut être produite par recombinaison dans une cellule hôte, transformée avec un ou des vecteur(s) qui permettent l'expression et/ou la sécrétion des séquences nucléotidiques codant pour la chaîne lourde et/ou la chaîne légère de la protéine de liaison spécifique. Le vecteur comporte généralement un promoteur, des signaux d'initiation et de terminaison de la traduction, ainsi que des régions appropriées de régulation de la transcription. Il est maintenu de façon stable dans la cellule hôte et peut éventuellement posséder des signaux particuliers qui spécifient la sécrétion de la protéine traduite. Ces différents éléments sont choisis et optimisés par l'homme du métier en

fonction de la cellule hôte utilisé. De tels vecteurs sont préparés par des méthodes couramment utilisées par l'homme du métier, et les clones résultant peuvent être introduits dans un hôte approprié par des méthodes standard, telles que la lipofection, l'électroporation, l'utilisation d'agents polycationiques, le choc thermique, ou des méthodes chimiques.

Un autre objet de l'invention concerne une cellule hôte comprenant le vecteur d'expression. La cellule hôte peut être choisi parmi des systèmes procaryotes ou eucaryotes, par exemple des cellules bactériennes telles qu'*E.coli*, mais également des cellules de plante, de levure, d'insecte, des cellules animales, en particulier des cellules de mammifères non-humain ou des cellules humaines, de type HeLa. Les cellules de levure préférées pour la production de la protéine de liaison spécifique sont *Saccharomyces*, *Kluyverimyces* ou *Pichia pastoris*. Les cellules de mammifère préférées pour la production de la protéine de liaison spécifique sont la lignée de rat YB2/0, la lignée de souris, en particulier 3T3 ou C127, la lignée de hamster CHO, en particulier les lignées CHO dhfr- et CHO Lec13, PER.C6™, EB66, HEK293, K562, NS0, SP2/0, BHK5 ou COS. On peut également utiliser des cellules d'insectes telles que les cellules S2, Sf9, Sf21 ou des cellules épithéliales mammaires de mammifère non-humain. Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la cellule hôte est l'hybridome AN-H4-F49.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de production et de purification de la protéine de liaison spécifique capable de se lie spécifiquement à l'oncostatine M (OSM) humaine à partir d'une cellule hôte, et en particulier à partir de l'hybridome AN-H4-F49, comprenant la culture de la cellule hôte telle dans des conditions permettant l'expression et la production de la protéine de liaison spécifique et l'isolation et la purification de la protéine de liaison spécifique du milieu de culture. Avantageusement, le milieu de culture utilisé est composé d'un milieu de culture type RPMI 1640 additionné de 10% de sérum de veau fœtal (SVF), que l'on peut réduire progressivement jusqu'à 0,05% de sérum de veau foetal en vue de la collecte des surnageants pour purification. Avantageusement, le milieu de culture utilisé peut être un milieu sans sérum adapté à la culture des hybridomes.

Dans un autre mode de réalisation, le procédé de production et de purification de la protéine de liaison spécifique capable de se lie spécifiquement à l'oncostatine M (OSM) humaine à partir d'une cellule hôte, et en particulier à partir de l'hybridome AN-H4-F49, peut comprendre la culture de la cellule hôte telle dans des conditions permettant l'expression et la production de la protéine de liaison spécifique et la lyse de la cellule hôte et la purification protéine de liaison spécifique à partir de lysat cellulaire.

L'isolation et la purification de la protéine de liaison spécifique présente dans le milieu de culture ou obtenu à partir de lysat cellulaire peut être réalisée par toute méthode bien connue de l'homme du métier, et par exemple par : précipitation par fractionnement, et notamment par précipitation avec du sulfate d'ammonium, par électrophorèse, par filtration sur gel, par chromatographie d'affinité, etc. La méthode de purification choisie inclura plusieurs étapes dont notamment la précipitation avec du sulfate d'ammonium, suivi d'une étape de couplage à des protéines G, elles-mêmes couplées à un support la purification de la protéine de liaison spécifique présente dans le milieu de culture ou obtenu à partir de lysat cellulaire peut être réalisée par toute méthode bien connue de l'homme du métier.

Un autre objet de l'invention concerne la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation comme médicament. En particulier, la présente invention concerne la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M humaine et/ou les maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine, en particulier les maladies inflammatoires cutanées, notamment le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique et le cancer et les métastases associées. Au sens de la présente invention, le cancer peut être choisi parmi l'un des cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome. Avantageusement, l'invention concerne la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement de maladies inflammatoires cutanées. Avantageusement, la présente invention concerne la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des cancers et des métastases associées.

Au sens de la présente invention, on entend par « niveau anormal d'oncostatine M humaine », un taux d'ARN messager de l'oncostatine M humaine contenu dans un tissu biologique donné provenant d'un sujet qui est supérieur à au moins 5 fois le taux d'ARN messager de l'oncostatine M détecté dans ce même échantillon biologique chez un sujet sain, c'est-à-dire ne présentant pas d'anomalie du niveau d'oncostatine M humaine. Avantageusement, le niveau d'oncostatine M humaine détecté chez un sujet est considéré comme anomal si son taux d'ARN messager de l'oncostatine M humaine contenu dans l'échantillon biologique est supérieur de 5 à 10 fois le taux d'ARN messager de l'oncostatine M détecté dans le même échantillon chez un sujet sain. A titre d'exemple, si le taux d'ARN

messager de l'oncostatine M humaine contenu dans un échantillon de sérum provenant d'un sujet à contrôler est supérieur à au moins 5 fois le taux d'ARN messager de l'oncostatine M détecté dans le tissu d'un sujet sain, alors le niveau d'oncostatine M humaine chez le sujet à contrôler est considéré comme anormal. En d'autres termes, un niveau en oncostatine M est considéré comme anormal si sa concentration dans un échantillon biologique est supérieure à 10 pg/ml.

Au sens de la présente invention, on entend par « niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine », un nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine contenu dans un tissu biologique donné provenant d'un sujet qui est supérieur à au moins 2 fois le nombre de récepteurs de l'oncostatine M détecté dans ce même échantillon biologique chez un sujet sain, c'est-à-dire ne présentant pas d'anomalie du niveau de récepteur de l'oncostatine M humaine. Avantageusement, le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine détecté chez un sujet est considéré comme anomal si le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine contenu dans l'échantillon biologique est supérieur de 2 fois le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine détecté dans le même échantillon chez un sujet sain. A titre d'exemple, si le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine contenu dans un échantillon de tissus provenant d'un sujet à contrôler est supérieur à au moins 2 fois le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine détecté dans le tissu d'un sujet sain, alors le nombre de récepteur de l'oncostatine M humaine chez le sujet à contrôler est considéré comme anormal.

Au sens de la présente invention, le terme « prévention » ou « prophylaxie » ou « traitement préventif » ou « traitement prophylactique » comprend un traitement conduisant à la prévention d'une maladie ainsi qu'un traitement réduisant et/ou retardant l'incidence d'une maladie ou le risque de survenue de la maladie.

Selon la présente invention, la protéine de liaison spécifique est particulièrement efficace pour inhiber la liaison de l'oncostatine M à récepteur hétérodimérique composé de la protéine gp130 et du récepteur OSM ou de la protéine gp130 et du récepteur LIF, permettant ainsi d'inhiber la phosphorylation des molécules signales impliquées dans le processus inflammatoire, comme par exemple de la protéine STAT-3, de la protéine PI3 Kinase, de la protéine MAP Kinase et d'inhiber la production des protéines de liaison au calcium S100A7-9 et des peptides anti bactériens béta défensines (BD2 et protéines de la phase aigüe) impliquées dans le processus inflammatoire et tumorogenèse.

La protéine de liaison spécifique est particulièrement efficace pour lever l'inhibition des marqueurs de différenciation des kératinocytes, tels que les cytokératines 1 et 10 (CK1 et

CK10) et la desmocolline 1 (DSC1), permettant ainsi d'éviter l'hyperplasie de la couche de kératinocytes épineux résultante de l'action de l'oncostatine, et ainsi éviter l'augmentation de l'épaisseur de l'épiderme humain. De plus, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement efficace pour lever l'inhibition de l'expression de l'α-actine des fibroblastes (α-SMA). Par ailleurs, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement efficace pour inhiber la synthèse du marqueur S100A7 et lever l'inhibition de l'expression d'involucrine induite par l'oncostatine M dans des cellules de carcinome épidermique, la surexpression du marqueur S100A7 et l'inhibition de l'involucrine étant responsable de la prolifération des cellules tumorales et de l'inhibition de la différentiation cellulaire.

Au sens de la présente invention, le terme "traitement" ou "traitement curatif" est défini comme un traitement conduisant à une guérison ou un traitement qui allège, améliore et/ou élimine, réduit et/ou stabilise les symptômes d'une maladie ou la souffrance qu'elle provoque.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M humaine et/ou les maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les maladies inflammatoires cutanées, et en particulier le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter le psoriasis.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter la dermatite atopique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter l'angiodermite nécrotique.

Selon un autre mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter

les cancers et les métastases associées. Avantageusement, les cancers sont choisis parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome

Selon un autre mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les cancers et les métastases associées.

Selon un autre mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les carcinomes cutanés épidermiques.

Un autre objet de l'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant la protéine de liaison spécifique selon l'invention comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable. Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M humaine et/ou les maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir d'une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est

administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir d'une maladie associée à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les maladies inflammatoires cutanées, et en particulier le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir d'une maladie inflammatoire cutanée. De manière avantageuse, la maladie inflammatoire cutanée est choisie parmi le groupe comprenant le psoriasis, la dermatite atopique et l'angiodermite nécrotique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter le psoriasis.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir de psoriasis.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter la dermatite atopique.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir de dermatite atopique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter l'angiodermite nécrotique.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir d'angiodermite nécrotique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter le cancer et ses métastases associées. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir d'un cancer, notamment d'un cancer cutané. De manière avantageuse, le cancer cutané est un carcinome cutané épidermique.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est particulièrement utile pour prévenir et/ou traiter les carcinomes cutanés épidermiques.

Avantageusement, la composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace de protéine de liaison spécifique comme principe actif et au

moins un excipient pharmaceutiquement acceptable telle que définie ci-dessus est administrée à un patient souffrant ou suspecté de souffrir de carcinomes cutanés épidermiques.

Dans un mode de réalisation, le patient peut être un être humain, homme ou femme, quel que soit l'âge.

Au sens de la présente invention, les termes "thérapeutiquement efficace" ou "quantité efficace à traiter" ou "pharmaceutiquement efficace" désignent la quantité de protéine de liaison spécifique nécessaire pour inhiber ou inverser une maladie, avantageusement une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine, et en particulier pour traiter une maladie inflammatoire cutanée et/ ou un cancer, notamment dans son aspect métastatique. La détermination d'une quantité thérapeutiquement efficace dépend spécifiquement de facteurs tels que la toxicité et l'efficacité du médicament. Ces facteurs différeront en fonction d'autres facteurs tels que l'activité, la biodisponibilité relative, le poids corporel du patient, la sévérité des effets secondaires indésirables et le mode d'administration préféré. La toxicité peut être déterminée en utilisant des méthodes bien connues dans l'art. Il en est de même pour l'efficacité. Une quantité pharmaceutiquement efficace est, par conséquent, une quantité qui est considérée par le clinicien comme tolérable sur le plan toxicologique, mais efficace.

Le dosage peut être ajusté de manière appropriée pour atteindre les niveaux de médicament (par exemple, de protéine de liaison spécifique, en particulier de l'anticorps anti-OSM humaine ou du fragment d'anticorps anti-OSM humaine) souhaités, locaux ou systémiques, en fonction du mode d'administration. Dans le cas où la réponse chez un patient est insuffisante à de telles doses, des doses encore plus élevées (ou des doses plus efficaces par une voie d'administration différente, plus localisée) peuvent être utilisées dans la mesure où la tolérance du patient le permet. Des doses multiples par jour peuvent également être utilisées pour atteindre des niveaux appropriés d'anticorps ou de fragments d'anticorps. "Dose" et "dosage" sont utilisés de manière interchangeable ici.

Dans un mode de réalisation avantageux, la quantité de protéine de liaison spécifique contenue dans la composition pharmaceutique administrée au patient est de 2 mg/kg à environ 20 mg/kg de poids corporel, soit d'environ 110 mg à environ 1,6 g par injection pour une personne de 55 à 80 kg de poids corporel. Dans un mode de réalisation encore plus avantageux, le dosage de la protéine de liaison spécifique et en particulier le dosage de l'anticorps anti-OSM humaine ou du fragment d'anticorps anti-OSM humaine est dans la gamme d'environ 0,5 mg/kg à environ 5 mg/kg de poids corporel, soit d'environ 27,5 mg à

environ 0,4 g par injection. Dans un mode de réalisation encore plus avantageux, le dosage de la protéine de liaison spécifique et en particulier le dosage de l'anticorps anti-OSM humaine ou du fragment d'anticorps anti-OSM humaine est dans la gamme d'environ 0,2 mg/kg à environ 2 mg/kg de poids corporel, soit d'environ 11 mg à environ 0,16 g par injection. La fréquence d'injection étant liée à la demi-vie de l'anticorps.

Dans un mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention est administrée au patient à raison d'une, deux, trois, quatre, fois par mois.

Avantageusement, la composition pharmaceutique selon l'invention est administrée au patient à raison de 2 fois par mois. Avantageusement, la composition pharmaceutique selon l'invention est administrée au patient à raison d'une fois par mois.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique est utilisée pour des applications *in vivo*. En fonction du mode d'administration prévu *in vivo*, la composition pharmaceutique utilisée peut être sous la forme de dosage solide, semi-solide ou liquide comme par exemple des comprimés, des pilules, des poudres, des capsules, des gels, des pommades, des liquides, des suspensions ou similaires. De préférence, les compositions pharmaceutiques sont administrées sous des formes posologiques unitaires appropriées pour une administration unique de quantités posologiques précises. Les compositions pharmaceutiques peuvent également comprendre, en fonction de la formulation souhaitée, au moins un support ou diluant pharmaceutiquement acceptable, qui sont définis comme des véhicules à base aqueuse couramment utilisés pour les formulations destinées à une administration animale ou humaine. Le diluant est choisi de manière à ne pas affecter l'activité biologique des composés actifs présents dans la combinaison pharmaceutique de l'invention. Des exemples de tels diluants sont l'eau distillée, le sérum physiologique, la solution de Ringer, la solution de dextrose et la solution de Hank. Les mêmes diluants peuvent être utilisés pour reconstituer la composition pharmaceutique lyophilisée d'intérêt. En outre, la composition pharmaceutique peut également comprendre d'autres agents médicinaux, agents pharmaceutiques, supports, adjuvants, stabilisants non-toxiques, non-thérapeutiques, non-immunogènes, etc. Des quantités efficaces d'un tel diluant ou support sont des quantités efficaces pour obtenir une formulation pharmaceutiquement acceptable en termes de solubilité des composants, d'activité biologique, etc. Dans certains modes de réalisation, les compositions pharmaceutiques fournies ici sont stériles.

L'administration de la composition pharmaceutique peut se faire par n'importe quelle voie d'administration, y compris par voie orale, topique, parentérale, intramusculaire,

intranasale, sublinguale, intratrachéale, par inhalation, oculaire, vaginale et rectale. Des voies d'administration intracapsulaire, intraveineuse et intrapéritonéale peuvent également être utilisées. L'homme du métier saura choisir la voie d'administration appropriée en fonction du trouble à traiter.

Par exemple, la composition ou la protéine de liaison spécifique selon la présente invention peuvent être administrées à un sujet par administration orale, parentérale ou topique. Dans un mode de réalisation, les compositions ou la protéine de liaison spécifique de la présente invention sont administrées par perfusion intraveineuse.

Les compositions, lorsqu'il est souhaitable de les administrer par voie systémique, peuvent être formulées pour une administration parentérale par injection, par exemple, par injection de bolus ou perfusion continue. Les formulations pour injection peuvent être présentées sous une forme posologique unitaire, par exemple dans des ampoules ou dans des récipients à doses multiples, avec un conservateur ajouté. Les compositions peuvent prendre des formes telles que des suspensions, des solutions ou des émulsions dans des véhicules huileux ou aqueux, et peuvent contenir des agents de formulation tels que des agents de suspension, des stabilisants et / ou des dispersants.

Les formulations pharmaceutiques pour administration parentérale comprennent des solutions aqueuses des compositions actives sous forme soluble dans l'eau. De plus, des suspensions des compositions actives peuvent être préparées sous forme de suspensions pour injection huileuse appropriées. Les solvants ou véhicules lipophiles appropriés comprennent les huiles grasses telles que l'huile de sésame, ou les esters d'acides gras synthétiques, tels que l'oléate d'éthyle ou les triglycérides, ou les liposomes. Les suspensions d'injection aqueuses peuvent contenir des substances qui augmentent la viscosité de la suspension, telles que la carboxyméthylcellulose de sodium, le sorbitol ou le dextrane. De manière optionnelle, la suspension peut également contenir des stabilisants ou agents appropriés qui augmentent la solubilité des compositions pour permettre la préparation de solutions fortement concentrées. En variante, les compositions actives peuvent être sous forme de poudre pour constituer un véhicule approprié, par exemple de l'eau stérile apyrogène, avant utilisation.

Pour l'administration orale, les compositions pharmaceutiques peuvent prendre la forme, par exemple, de comprimés ou de capsules préparés par des moyens classiques avec des excipients pharmaceutiquement acceptables tels que des agents liants (par exemple, amidon de maïs prégélatinisé, polyvinylpyrrolidone ou hydroxypropylméthylcellulose); des charges (par exemple, du lactose, de la cellulose microcristalline ou de

l'hydrogénophosphate de calcium); des lubrifiants (par exemple du stéarate de magnésium, du talc ou de la silice); des délitants (par exemple l'amidon de pomme de terre ou le glycolate d'amidon sodique); ou des agents mouillants (par exemple, le laurylsulfate de sodium). Les comprimés peuvent être enrobés par des procédés bien connus dans la technique. Les préparations liquides pour l'administration orale peuvent prendre la forme, par exemple, de solutions, de sirops ou de suspensions, ou peuvent être présentées sous forme de produit sec pour constitution avec de l'eau ou un autre véhicule approprié avant utilisation. Ces préparations liquides peuvent être préparées par des moyens classiques avec des additifs pharmaceutiquement acceptables tels que des agents de suspension (par exemple, sirop de sorbitol, dérivés de cellulose ou graisses comestibles hydrogénées); des agents émulsifiants (par exemple la lécithine ou la gomme arabique); des véhicules non aqueux (par exemple de l'huile d'amande, des esters huileux, de l'alcool éthylique ou des huiles végétales fractionnées); et des conservateurs (par exemple, méthyl ou propyl-p-hydroxybenzoates ou acide sorbique). Les préparations peuvent également contenir des sels tampons, des arômes, des colorants et des édulcorants, selon le cas. Le composant ou les composants peuvent être modifiés chimiquement de sorte que l'administration orale de la molécule de liaison spécifique ou de l'anticorps anti-OSM humaine soit efficace. Généralement, la modification chimique envisagée est la fixation d'au moins une molécule à la molécule de liaison spécifique ou à l'anticorps anti-OSM humaine, ladite molécule permettant (a) l'inhibition de la protéolyse; et (b) l'absorption dans le flux sanguin de l'estomac ou de l'intestin. On souhaite également augmenter la stabilité globale de la molécule de liaison spécifique ou de l'anticorps anti-OSM humaine et augmenter le temps de circulation dans le corps. Des exemples de telles molécules comprennent: le polyéthylène glycol, les copolymères d'éthylène glycol et de propylène glycol, la carboxyméthyl cellulose, le dextrane, l'alcool polyvinylique, la polyvinyl pyrrolidone et la polyproline. D'autres polymères pouvant être utilisés sont le poly-1,3-dioxolane et le poly-1,3,6-tioxocane. Comme indiqué ci-dessus, les molécules de polyéthylèneglycol sont préférées pour un usage pharmaceutique. Pour les compositions orales, le lieu de libération peut être l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum ou iléon) ou le gros intestin. L'homme du métier dispose de formulations qui ne se dissoudront pas dans l'estomac, mais qui libéreront le matériau dans le duodénum ou ailleurs dans l'intestin. De préférence, la libération évitera les effets délétères de l'environnement gastrique, soit par la protection de l'anticorps, soit par la libération du matériau biologiquement actif au-delà du milieu stomacal, par exemple dans l'intestin.

Pour l'administration buccale, les compositions peuvent prendre la forme de comprimés ou de pastilles formulés de manière classique.

Pour une administration par inhalation, les compositions à utiliser selon la présente invention peuvent être délivrées de manière appropriée sous la forme d'une pulvérisation aérosol à partir d'emballages sous pression ou d'un nébuliseur, en utilisant un agent propulseur approprié, par exemple dichlorodifluorométhane, trichlorofluorométhane, dichlorotétrafluoroéthane dioxyde ou autre gaz approprié. Dans le cas d'un aérosol sous pression, l'unité de dosage peut être déterminée en fournissant une valve pour délivrer une quantité mesurée. Des capsules et des cartouches de la gélatine destinée à être utilisée dans un inhalateur ou un insufflateur peuvent être formulés avec un mélange en poudre des compositions et une base en poudre appropriée telle que le lactose ou l'amidon.

La présente invention concerne également l'administration pulmonaire. Les compositions peuvent être délivrées aux poumons d'un mammifère tout en inspirant et traversant la muqueuse épithéliale du poumon jusqu'au flux sanguin. Une gamme étendue de dispositifs mécaniques conçus pour la délivrance pulmonaire de produits thérapeutiques, comprenant, mais sans s'y limiter, les nébuliseurs, les inhalateurs-doseurs et les inhalateurs de poudre, tous connus des spécialistes de la technique, sont envisagés pour être utilisés dans la présente invention.

L'administration par voie nasale d'une composition pharmaceutique telle définie précédemment est également envisagée. L'administration par voie nasale permet le passage de la composition pharmaceutique selon la présente invention directement dans le flux sanguin directement après l'administration du produit thérapeutique dans le nez du patient, sans qu'il soit nécessaire de déposer le produit dans les poumons. Les formulations pour administration nasale comprennent notamment du dextrane ou du cyclodextrane.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent également être formulées sous forme de compositions rectales ou vaginales telles que des suppositoires ou des lavements de rétention, par exemple contenant des bases de suppositoires classiques tels que le beurre de cacao ou d'autres glycérides.

Pour une application topique, les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent se présenter notamment sous forme de solutions aqueuses, hydroalcooliques ou huileuses, ou de dispersions du type lotion ou sérum, d'émulsions de consistance liquide ou semi-liquide du type lait, obtenues par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (Huile dans Eau) ou inversement (Eau dans Huile), ou de suspensions ou émulsions de consistance molle, semi-solide ou solide du type crème ou gel, de microémulsions, ou encore de microcapsules, de microparticules, ou de dispersions vésiculaires de type ionique et/ou non ionique. Elles peuvent être aussi conditionnées sous forme de

compositions pour aérosol ou spray contenant également un agent propulseur sous pression. Ces compositions sont préparées selon les méthodes usuelles. Elle peut être également utilisée pour le cuir chevelu sous forme de solutions aqueuses, alcooliques ou hydroalcooliques, ou sous forme de crèmes, de gels, d'émulsions, de mousse, ou encore de composition pour aérosol. Avantageusement, lorsque les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont appliquées par voie topique, la protéine de liaison spécifique peut être un anticorps anti-OSM humaine ou un fragment d'anticorps anti-OSM humaine. L'utilisation d''un fragment d'anticorps anti-OSM humaine permettra une meilleure diffusion de la composition pharmaceutique à travers la peau et notamment le derme et l'épiderme.
Les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent également comprendre des supports ou excipients solides ou en phase de gel appropriés. Des exemples de tels supports ou excipients comprennent, sans toutefois être limitatif, le carbonate de calcium, le phosphate de calcium, divers sucres, les amidons, les dérivés de la cellulose, la gélatine et les polymères tels que les polyéthylèneglycols.

Des formes de préparation pharmaceutique liquides ou solides convenables peuvent notamment comprendre des solutions aqueuses ou salines pour inhalation, lesdites solutions aqueuses ou salines pouvant être microencapsulées, encochées, appliquées sur des particules d'or microscopiques, contenues dans des liposomes, nébulisées dans des aérosols, appliquées dans des pastilles pour implantation dans la peau.

Les compositions pharmaceutiques comprennent également des granules, des poudres, des comprimés, des comprimés enrobés, des (micro)capsules, des suppositoires, des sirops, des émulsions, des suspensions, des crèmes, des timbres cutanés ou transdermiques, des gouttes ou des préparations à libération prolongée de compositions actives et/ou des auxiliaires tels que des délitants, des liants, des agents de revêtement, des agents gonflants, des lubrifiants, des arômes, des édulcorants ou des solubilisants habituellement utilisés comme décrit ci-dessus. Les compositions pharmaceutiques selon l'invention conviennent à une utilisation dans tout type de systèmes d'administration de médicaments.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement préventif d'une maladie inflammatoire cutanée, comprenant l'administration au patient d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Avantageusement, la maladie inflammatoire cutanée est le psoriasis, la dermatite atopique ou l'angiodermite nécrotique.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne un procédé de traitement préventif du psoriasis, comprenant l'administration au patient d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne un procédé de traitement préventif de la dermatite atopique, comprenant l'administration au patient d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne un procédé de traitement préventif de l'angiodermite nécrotique, comprenant l'administration au patient d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M humaine.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention des maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement

efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention des maladies inflammatoires cutanées.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention du psoriasis.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de la dermatite atopique.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'angiodermite nécrotique.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement curatif d'une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine chez des patients nécessitant une administration, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement curatif d'une maladie associée à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine chez des patients nécessitant une administration, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement curatif d'une maladie inflammatoire cutanée chez des patients nécessitant une administration, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe active et au moins un excipient pharmaceutiquement

acceptable tel que défini précédemment. Avantageusement, la maladie inflammatoire cutanée est le psoriasis, la dermatite atopique ou l'angiodermite nécrotique.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies inflammatoires cutanées.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement du psoriasis.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement de la dermatite atopique.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement de l'angiodermite nécrotique.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement préventif d'un cancer et les métastases associées chez des patients, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement préventif d'un cancer et les métastases associées, en particulier d'un cancer cutané chez des patients, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement

acceptable tel que défini précédemment. Avantageusement, le cancer cutané est le carcinome cutané épidermique.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention des cancers et les métastases associées. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné à la prévention du carcinome cutané épidermique.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé de traitement curatif d'un cancer et les métastases associées chez des patients nécessitant une administration, comprenant l'administration auxdits patients d'une protéine de liaison spécifique ou d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable tel que défini précédemment. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement des cancers et les métastases associées. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du

foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne l'utilisation d'une composition pharmaceutique comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'une protéine de liaison spécifique en tant que principe actif dans la fabrication d'un médicament destiné au traitement du carcinome cutané épidermique.

Un autre objet de la présente invention concerne une protéine de liaison spécifique telle que définie ci-dessus, destinée à être utilisée comme agent de diagnostic.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, la présente invention concerne une protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation dans une méthode de diagnostic *in vitro* ou *ex-vivo.* Avantageusement, la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment peut être utilisée comme antigène dans une méthode de diagnostic *in vitro* pour détection d'oncostatine M et/ou de son récepteur dans un échantillon biologique. Au sens de la présente invention, l'échantillon biologique peut être un échantillon de sang, un échantillon d'urine, un échantillon de plasma, un échantillon de fluides amniotiques ou un échantillon de biopsie d'organe et/ou de ganglions ou un surnageant de culture. Avantageusement, l'échantillon biologique peut être d'origine humaine ou animale. Avantageusement, la méthode de diagnostic est réalisée par dosage immunologique. Les dosages immunologiques sont des techniques bien connues de l'homme du métier et incluent notamment les dosages par radio-immunologie, les dosages par immunofluorescence, les dosages par électrophorèse, les dosages par western-blot, les dosages par ELISA et les dosages immunologiques en phase solide.

Avantageusement, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement efficace pour détecter des niveaux anormaux d'oncostatine M, et en particulier des niveaux anormalement élevés. Avantageusement, la protéine de liaison spécifique selon l'invention est particulièrement efficace pour détecter des niveaux anormaux de récepteurs à l'oncostatine M, et en particulier des niveaux anormalement élevés.

Par « niveau anormalement élevé en oncostatine M », on entend une concentration en oncostatine M humaine dans un échantillon biologique supérieure à 10 pg/mL.

Par « niveau anormalement élevé de récepteurs de l'oncostatine M », on entend une expression du récepteur de l'oncostatine M humaine dans un échantillon biologique supérieure à 2 fois celle détectée chez un sujet sain.

Un autre objet de la présente invention concerne une méthode de détection et/ou de mesure de la quantité d'oncostatine M présente dans un échantillon biologique, comprenant les étapes suivantes :

- la mise en contact de l'échantillon biologique avec la protéine de liaison spécifique selon l'invention,
- l'incubation du mélange dans des conditions permettant la formation d'un complexe entre l'oncostatine M et la protéine de liaison spécifique selon l'invention, et
- la détection et/ou la mesure des complexes immuns formés.

Un autre objet de la présente invention concerne une méthode de détection et/ou de mesure de la quantité de récepteurs de l'oncostatine M présente dans un échantillon biologique, comprenant les étapes suivantes :

- la mise en contact de l'échantillon biologique avec la protéine de liaison spécifique selon l'invention,
- l'incubation du mélange dans des conditions permettant la formation d'un complexe entre le récepteur de l'oncostatine M et la protéine de liaison spécifique selon l'invention, et
- la détection et/ou la mesure des complexes immuns formés.

Un autre objet de la présente invention concerne une méthode de diagnostic *in vitro ou ex-vivo,* d'une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine chez un patient, comprenant:

- la mise en contact de l'échantillon biologique avec la protéine de liaison spécifique selon l'invention, dans des conditions permettant la formation d'un complexe entre l'oncostatine M humaine et la protéine de liaison spécifique selon l'invention,
- la mesure de la quantité d'oncostatine M humaine présente dans l'échantillon biologique, et
- comparaison à une concentration d'oncostatine M humain de référence obtenue à partir d'un patient sain.

Par « une concentration d'oncostatine M humaine de référence », on entend une concentration d'oncostatine M humaine dans l'échantillon biologique inférieure ou égale à 10 pg/mL.

Avantageusement, la maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine peut être une maladie inflammatoire cutanée, et notamment le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique ou un cancer et les métastases associées. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome Avantageusement, la présente invention concerne une protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment pour son utilisation dans une méthode de diagnostic *in vitro* ou *ex-vivo* des maladies inflammatoires cutanées, et en particulier le psoriasis, la dermatite atopique, l'angiodermite nécrotique ou un cancer et les métastases associées, en particulier les carcinomes cutanés épidermiques.

Avantageusement, une concentration d'oncostatine M humaine anormale par rapport à la concentration d'oncostatine M humaine de référence correspond à une concentration supérieure 10 pg/mL

Un autre objet de la présente invention concerne une méthode de diagnostic *in vitro ou ex-vivo,* d'une maladie associée à un niveau anormal de récepteurs de l''oncostatine M humaine chez un patient, comprenant:

- la mise en contact de l'échantillon biologique avec la protéine de liaison spécifique selon l'invention, dans des conditions permettant la formation d'un complexe entre le récepteur de l'oncostatine M humaine et la protéine de liaison spécifique selon l'invention,
- la mesure de la quantité de récepteur de l''oncostatine M humaine présente dans l'échantillon biologique, et
- comparaison à une concentration de récepteur de l'oncostatine M humain de référence obtenue à partir d'un patient sain.

Avantageusement, par « niveau anormal de récepteurs de l'oncostatine M », on entend une expression du récepteur de l'oncostatine M humaine dans un échantillon biologique supérieure à 2 fois celle détectée chez un sujet sain.

Un autre objet de la présente invention concerne un kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de

souffrir d'une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine, ledit kit comprenant la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment.

Un autre objet de la présente invention concerne un kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de souffrir d'une maladie associée à un niveau anormal de récepteurs à l'oncostatine M humaine, ledit kit comprenant la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne également un kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de souffrir d'une maladie inflammatoire cutanée, ledit kit comprenant la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment.

Dans un mode de réalisation particulièrement avantageux, la présente invention concerne également un kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de souffrir du cancer et les métastases associées, ledit kit comprenant la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment. Avantageusement, le cancer est choisi parmi les cancers suivants : cancer du sein, cancer de la prostate, cancer du poumon, cancer du côlon, cancer épidermoïde cutané, mélanome, cancer du peau , cancer du pancréas, cancers épidermoïdes de l'oropharynx, cancer du foie, leucémie, lymphome, myélome, cancer du estomac, cancer du col utérus, cancer de la vessie, cancer du rein, ostéosarcome et le gliome. Dans un mode de réalisation particulier selon l'invention, le kit de diagnostic comprend les éléments suivants :

- la protéine de liaison spécifique telle que définie précédemment, éventuellement marquée ou éventuellement couplée à un support solide, tel que une plaque de culture tissulaire ou des billes, avantageusement des billes de sépharose ;
- le cas échéant, un réactif pour la constitution du milieu propice à la réalisation de la réaction immunologique ;
- le cas échéant, un réactif permettant la détection des complexes antigène-protéine de liaison spécifique produits par la réaction immunologique, ce réactif pouvant également porter un marqueur, ou être susceptible d'être reconnu à son tour par un réactif marqué, plus particulièrement dans le cas où ladite protéine de liaison spécifique n'est pas marquée ;
- le cas échéant, des réactifs pour effectuer la lyse des cellules de l'échantillon testé.

Avantageusement, on peut citer comme exemple de réactif permettant la détection des complexes antigène-protéine de liaison spécifique produits par la réaction immunologique, des réactifs de type chromophores, fluorescent, radioactif ou chimio-fluorescent.

Avantageusement, le marquage de la protéine de liaison spécifique peut notamment être réalisé avec une molécule détectable, telles qu'une molécule fluorescente, une molécule radioactive, une sonde radicalaire, appelée également « marqueur de spin » pour la détection par imagerie par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou tout autre type de molécule bien connue de l'homme du métier. À titre exemple de molécule radioactive, on peut notamment citer l'iode 123, l'iode 124, l'indium 111, le rhénium 186, le fluor 19, le carbone 13, l'azote 15, l'oxygène 17, le gadolinium, le manganèse ou le fer, la liste n'étant pas limitative.

Avantageusement, la protéine de liaison spécifique peut également être couplée à une molécule permettant de prolonger son temps de demi-vie dans l'organisme, telle que le polyéthylène glycol.

Avantageusement, l'homme du métier saura choisir les réactifs nécessaires pour effectuer la lyse des cellules de l'échantillon biologique testé.

FIGURES

La Figure 1A est un test de liaison directe à l'oncostatine M humaine par ELISA. Comparaison de la liaison des protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9 à l'oncostatine M humaine.

La Figure 1B est un test de liaison directe à l'interleukine 31 (IL-31) par ELISA (contrôle).

La Figure 2 représente les paramètres cinétiques de la protéine de liaison spécifique selon l'invention (anticorps anti-OSM).

La Figure 3 concerne l'inhibition de la phosphorylation des STAT-3 induite par l'oncostatine M dans les cellules de glioblastomes Go-GUVM par la protéine de liaison spécifique selon l'invention (anticorps anti-OSM H4). Les teneurs en protéines STAT-3 et protéine STAT-3 phosphorylée (STAT-3-P) ont été déterminées par Western blot.

La Figure 4 concerne l'inhibition de la synthèse d'haptoglobine induite par l'oncostatine M dans les cellules HEPG-2 par la protéine de liaison spécifique selon l'invention (anticorps anti-OSM H4). Les teneurs en haptoglobine ont été déterminées par ELISA.

La Figure 5 concerne l'inhibition de la prolifération des cellules BAF/3 transfectées avec le complexe gp130/récepteur OSM, induite par l'oncostatine M par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. L'incorporation de la radioactivité est mesurée par comptage par scintigraphie.

La Figure 6A concerne les capacités des protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9 à lever l'inhibition induite par l'oncostatine M sur l'indicateur inflammatoire CK1 dans les cellules de kératinocytes épidermiques NHEK. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La Figure 6B concerne les capacités des protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9 à lever l'inhibition induite par l'oncostatine M sur l'indicateur inflammatoire CK10 dans les cellules de kératinocytes épidermiques NHEK. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La Figure 6C concerne les capacités des protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9 à lever l'inhibition induite par l'oncostatine M sur l'indicateur inflammatoire DSG1 dans les cellules de kératinocytes épidermiques NHEK. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La Figure 6D concerne l'inhibition de l'indicateur inflammatoire S100A9 induit par l'oncostatine M dans les cellules NHEK par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La Figure 6E concerne l'inhibition de l'indicateur inflammatoire BD2 induit par l'oncostatine M dans les cellules NHEK par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La figure 7A concerne l'inhibition de la synthèse de S100A7 induit par l'oncostatine M dans les cellules de carcinomes épidermiques A431 par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La Figure 7B concerne la levée de l'inhibition de l'involucrine induite par l'oncostatine M dans les cellules de carcinomes épidermiques A431 par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La figure 8 concerne la levée de l'inhibition de l'expression de SMA induite par l'oncostatine M dans les cellules de fibroblastes TGF activés par les protéines de liaison spécifiques selon l'invention, à savoir l'anticorps anti-OSM H4, l'anticorps anti-OSM H6, l'anticorps anti-OSM H7 et l'anticorps anti-OSM H9. Les résultats sont obtenus par la méthode ΔΔCT.

La figure 9A concerne le niveau d'expression de l'OSM dans la moelle osseuse humaine. Les résultats ont été obtenus par des hybridations de puces pan-génomiques Illumina Human HT12 v3. Le niveau d'expression a été mesuré dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une inversion du chromosome 16 (LAM4 à éosinophiles en général) (partie gauche du graphique), dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une translocation t(8;21) (LAM2 avec myélémie en général) (AML-t(8;21)) (partie centrale du graphique) et dans des moelles normales (NBM) (partie droite du graphique). (Données d'expression génique non log transformées).

La figure 9B concerne l'identification des gènes co-exprimés de façon positive ou négative avec la transcription du gène de l'OSM. Les résultats ont été obtenus par des hybridations de puces pan-génomiques Illumina Human HT12 v3. Le niveau d'expression a été mesuré dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une inversion du chromosome 16 (LAM4 à éosinophiles en général), dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une translocation t(8;21) (LAM2 avec myélémie en général) (AML-t(8;21)) et dans des moelles normales (NBM). Le coefficient de corrélation en valeur absolue est > 90%. En colonnes, les échantillons étudiés, en lignes les gènes corrélés à OSM en termes de niveaux d'expression. (Données d'expression génique log transformées).

La figure 9C concerne l'identification des gènes co-exprimés de façon positive ou négative avec la transcription du gène de l'OSM. Les résultats ont été obtenus par des hybridations de puces pan-génomiques Illumina Human HT12 v3. Le niveau d'expression a été mesuré dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une inversion du chromosome 16 (LAM4 à éosinophiles en général), dans des leucémies aigües myéloïdes (LAM) avec une translocation t(8;21) (LAM2 avec myélémie en général) (AML-t(8;21)) et dans des moelles normales (NBM). Le coefficient de corrélation en valeur absolue est > 93%. En colonnes, les échantillons étudiés, en lignes les gènes corrélés à OSM en termes de niveaux d'expression. (Données d'expression génique log transformées).

La figure 10 concerne les niveaux d'expression des récepteurs à l'OSM (mGP130, MIL-6R, mLIF-R et mOSM Rb) dans les lignées tumorales MOC1, MOC2, B16F10, LLC1, PDVC57 et NMEK. L'expression a été normalisée par rapport à deux gènes de référence indépendants (G3PDH et ACTB) et rapportés selon la méthode ΔCT échantillon / ΔCT de référence.

La figure 11 concerne la phosphorylation de STAT-3 en réponse à la stimulation par l'OSM. Les quantités de STAT-3 totale et de STAT-3 phosphorylée ont été déterminées par Western blot.

La figure 12 concerne les modifications transcriptionnelles induites par l'OSM sur les lignées tumorales murines MOC1, MOC2, B16F10 et LLC1. Les ARNs totaux ont été isolés et rétrotranscrits, puis l'expression de gènes cibles analysée par PCR quantitative et exprimés en facteur d'induction selon la méthode ΔΔCT : 2 ΔΔCT échantillon / 2ΔCT de référence.

La figure 13 concerne la migration de la lignée tumorale murine MOC-1 en réponse à une stimulation à l'OSM. La distance de migration a été mesurée et évaluée grâce au logiciel Image J.

La figure 14 concerne la croissance tumorale *in vivo* des lignées B16-F10 (mélanome) et LLC1 (poumon) chez les souris sauvages (WT) ou déficientes en OSM (OSM-/-). Le volume tumoral maximal toléré de 2 cm^3 est représenté par la ligne pointillée.

EXEMPLES

Exemple 1 : Production et caractérisation de l'anticorps murin anti-OSM

Les souris BALB/C ont été immunisées par injection intra-splénique à cinq reprises avec de l'oncostatine M produite et purifiée à partir d'*Escherichia Coli.* À l'issue du processus d'immunisation, les splénocytes ont été fusionnées avec le myélome Sp2/O en suivant les protocoles conventionnels. Entre le $10^{ème}$ et le $15^{ème}$ jour de culture, les surnageants ont été criblés par Elisa en suivant un protocole de routine.

Les propriétés de liaison à l'oncostatine M des anticorps anti-OSM (ci-après dénommés H4, H6, H7 et H9 – Tableaux 1 à 4) ont été testées par ELISA.

SEQ ID No.	Anticorps anti-OSM	Domaine	Séquences
SEQ ID No.7	H4	VH	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSI TSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGS TSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVT TEDTATYYCARDRYEAMDYWGQGTSVTV SS
SEQ ID No.1	H4	CDR-H1	GYSITSDYA
SEQ ID No.2	H4	CDR-H2	ISYSGST
SEQ ID No.3	H4	CDR-H3	ARDRYEAMDY
SEQ ID No.8	H4	VL	DIVMTQTPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSL LSSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIFGAS TRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAE DLAVYYCQNDHSYPLTFGAGTKLELK
SEQ ID No. 4	H4	CDR-L1	QSLLSSGNQKNY
SEQ ID No.5	H4	CDR-L2	GAS
SEQ ID No.6	H4	CDR-L3	QNDHSYPLT
SEQ ID No 9.	H4	VH	GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGACCT GGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGT CCCTCACCTGCACTGTCACTGGCTACTC AATCACCAGTGATTATGCCTGGAACTGG ATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAAACTGG AGTGGATGGGCTACATAAGCTACAGTG GTAGCACTAGCTACAACCCATCTCTCAA AAGTCGAATCTCTATCACTCGAGACACA TCCAAGAACCAGTTCTTCCTGCAGTTGA ATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCAC ATATTACTGTGCAAGAGATAGGTACGAG GCTATGGACTATTGGGGTCAAGGAACCT CAGTCACCGTCTCCTCAG
SEQ ID No. 11	H4	CDR-H1	GGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCC
SEQ ID No. 12	H4	CDR-H2	ATAAGCTACAGTGGTAGCACT
SEQ ID No. 13	H4	CDR-H3	GCAAGAGATAGGTACGAGGCTATGGAC TAT

SEQ ID No. 10	H4	VL	GACATTGTGATGACCCAGACTCCATCCT CCCTGAGTGTGTCAGCAGGAGAGAAGG TCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAG TCTGTTAAGTAGTGGTAATCAAAAGAAC TACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAG GGCAGCCTCCTAAACTGTTGATCTTCGG GGCTTCCACTAGGGAATCTGGGGTCCC TGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGA ACCGATTTCACTCTTACCATCAGCAGTG TGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTA CTGTCAGAATGATCATAGTTATCCGCTC ACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAG CTGAAAC
SEQ ID No. 14	H4	CDR-L1	CAGAGTCTGTTAAGTAGTGGTAATCAAA AGAACTAC
SEQ ID No. 15	H4	CDR-L2	GGGGCTTCC
SEQ ID No.16	H4	CDR-L3	CAGAATGATCATAGTTATCCGCTCACG

Tableau 1 : Séquences de l'anticorps H4.

SEQ ID No.	**Anticorps anti-OSM**	**Domaine**	**Séquences**
SEQ ID No.23	H6	VH	EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFT FNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSD NYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQM NNLKTEDTAMYYCVRYDWFAYWGQGTLV TVSA
SEQ ID No.17	H6	CDR-H1	GFTFNTYA
SEQ ID No.18	H6	CDR-H2	IRSKSDNYAT
SEQ ID No.19	H6	CDR-H3	VRYDWFAY
SEQ ID No.24	H6	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVS TSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE SGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAA TYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID No. 20	H6	CDR-L1	KSVSTSVYNY

SEQ ID No.21	H6	CDR-L2	LAS
SEQ ID No.22	H6	CDR-L3	QHSRELPWT
SEQ ID No 25.	H6	VH	GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTGGA GGATTGGTGCAGCCTAAAGGGTCATTGA AACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCAC CTTCAATACCTACGCCATGAACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAA TGGGTTGCTCGTATAAGAAGTAAAAGTG ATAATTATGCAACATATTATGCCGATTCA GTGAAAGACAGGTTCACCATCTCCAGAG ATGATTCACAAAGCATGCTCTATCTGCA AATGAACAACTTGAAAACTGAGGACACA GCCATGTATTACTGTGTGCGTTACGACT GGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTC TGGTCACTGTCTCTGCAG
SEQ ID No. 27	H6	CDR-H1	GGATTCACCTTCAATACCTACGCC
SEQ ID No. 28	H6	CDR-H2	ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCAAC A
SEQ ID No. 29	H6	CDR-H3	GTGCGTTACGACTGGTTTGCTTAC
SEQ ID No. 26	H6	VL	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTT CCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGG CCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAA GTGTCAGTACATCTGTCTATAATTATTTA CACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAG CCACCCAAACTCCTCATCTATCTTGCAT CCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG ACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGA GGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGT CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG TTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATC AAAC
SEQ ID No. 30	H6	CDR-L1	AAAAGTGTCAGTACATCTGTCTATAATTA
SEQ ID No. 31	H6	CDR-L2	CTTGCATCC
SEQ ID No.32	H6	CDR-L3	CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG

Tableau 2 : Séquences de l'anticorps H6.

SEQ ID No.	Anticorps anti-OSM	Domaine	Séquences
SEQ ID No.39	H7	VH	EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFT FNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSD NYATYYADSVKDRFTISRDDSQNMLYLQM NNLKTDDTGMYYCVRYDWFVYWGQGTL VTVSA
SEQ ID No.33	H7	CDR-H1	GFTFNTYA
SEQ ID No.34	H7	CDR-H2	IRSKSDNYAT
SEQ ID No.35	H7	CDR-H3	VRYDWFVY
SEQ ID No.40	H7	VL	DIVMTQTPASLAVSLGQRATISCRASKSVS SSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLE SGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAA TYYCQHSRELPWT
SEQ ID No. 36	H7	CDR-L1	KSVSSSVYNY
SEQ ID No.37	H7	CDR-L2	LAS
SEQ ID No.38	H7	CDR-L3	QHSRELPWT
SEQ ID No 41.	H7	VH	GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTGGA GGATTGGTGCAGCCTAAAGGGTCATTGA AACTCTCATGTGCAGCCTCTGGATTCAC CTTCAATACCTACGCCATGAACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTGGAA TGGGTTGCTCGCATAAGAAGTAAAAGTG ATAATTATGCAACATATTATGCCGATTCA GTGAAAGACAGGTTCACCATCTCCAGAG ATGATTCACAAAACATGCTCTATCTGCAA ATGAACAACTTGAAAACTGACGACACAG GCATGTATTACTGTGTGCGTTACGACTG GTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCTGCAG
SEQ ID No. 43	H7	CDR-H1	GGATTCACCTTCAATACCTACGCC
SEQ ID No. 44	H7	CDR-H2	ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCAAC A
SEQ ID No. 45	H7	CDR-H3	GTGCGTTACGACTGGTTTGTTTAC

SEQ ID No. 42	H7	VL	GACATTGTGATGACACAGACTCCTGCTT CCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGG CCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAA GTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTATTTA CACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAG CCACCCAAACTCCTCATCTATCTTGCAT CCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCA GGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG ACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGA GGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGT CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG
SEQ ID No. 46	H7	CDR-L1	AAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAATTA T
SEQ ID No. 47	H7	CDR-L2	CTTGCATCC
SEQ ID No.48	H7	CDR-L3	CAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACG

Tableau 3 : Séquences de l'anticorps H7.

SEQ ID No.	**Anticorps anti-OSM**	**Domaine**	**Séquences**
SEQ ID No.55	H9	VH	EVQLQESGGGLVQPKGSLKLSCAASG FTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKSDNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSI LYLQMNNLKTEDTAMYYCVRYDWFVY WGQGTLVTVSA
SEQ ID No.49	H9	CDR-H1	GFTFNTYA
SEQ ID No.50	H9	CDR-H2	IRSKSDNYAT
SEQ ID No.51	H9	CDR-H3	VRYDWFVY
SEQ ID No.56	H9	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKS VSSSVYNYLHWYQQKPGQPPKLLIYLA SNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPV EEEDAATYYCQHSRELPWTFG
SEQ ID No. 52	H9	CDR-L1	KSVSSSVYNY
SEQ ID No.53	H9	CDR-L2	LAS
SEQ ID No.54	H9	CDR-L3	QHSRELPWT

SEQ ID No 57.	H9	VH	GAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGTG GAGGATTGGTACAGCCTAAAGGGTCA TTGAAACTCTCATGTGCGGCCTCTGG ATTCACCTTCAATACCTACGCCATGAA CTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAG GGTTTGGAATGGGTTGCTCGCATAAG AAGTAAAAGTGATAATTATGCAACATA TTATGCCGATTCAGTGAAAGACAGGT TCACCATTTCCAGAGATGATTCACAAA GCATCCTCTATCTGCAAATGAACAAC TTGAAAACTGAGGACACAGCCATGTA TTACTGTGTGCGTTACGACTGGTTTG TTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC ACTGTCTCTGCAG
SEQ ID No. 59	H9	CDR-H1	GGATTCACCTTCAATACCTACGCC
SEQ ID No. 60	H9	CDR-H2	ATAAGAAGTAAAAGTGATAATTATGCA ACA
SEQ ID No. 61	H9	CDR-H3	GTGCGTTACGACTGGTTTGTTTAT
SEQ ID No. 58	H9	VL	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGC TTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGA GGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAG CAAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAA TTATTTACACTGGTACCAACAGAAACC AGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCT ATCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGG GTCCCTGCCAGGTTCAGTGGCAGTG GGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAAC ATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATG CTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGT AGGGAACTTCCGTGGACGTTCGGT
SEQ ID No. 62	H9	CDR-L1	AAAAGTGTCAGTTCATCTGTCTATAAT TAT
SEQ ID No. 63	H9	CDR-L2	CTTGCATCC
SEQ ID No.64	H9	CDR-L3	CAGCACAGTAGGGAACTTCCGTGGA CG

Tableau 4 : Séquences de l'anticorps H9.

Une plaque 96 puits a été recouverte d'oncostatine M recombinante à une concentration de 1 à 10µg/ml dans 10mM de tampon carbonate, à pH 9,5. Une partie des puits a été recouverte avec une protéine non relevante, l'interleukine 31 (IL-31), afin d'être en mesure de déterminer la composante spécifique du signal mesuré. Après une nuit d'incubation, les puits sont lavés trois fois avec une solution de PBS/0,05% polysorbate 20 (Tween20), puis saturés avec une solution à 0,1M de Tris 20%, de sucrose, à un pH de 7,8. Les sérums de souris sont ajoutés en double avec des dilutions en série. Après 6 heures d'incubation, les puits sont lavés trois fois avec une solution de PBS/0,05% polysorbate 20 (Tween20). L'anticorps anti-souris couplé à la peroxydase (Biosource), dilué à 1/5000 dans du PBS, 0,1% BSA, 0,01% Tween 20 est ensuite ajouté dans chaque puit et puis les puits sont incubés pendant 2 heures. La liaison de l'anticorps est révélée en utilisant de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonique) (ABTS) comme substrat et la lecture est réalisée à 405 nm. Les résultats obtenus sont présentés en Figure 1.

Les résultats obtenus montrent que les anticorps anti-OMS (H4, H6, H7 et H9) se lient spécifiquement à l'oncostatine M humaine sans toutefois se lier à l'IL-31.

Les cellules de l'hybridome AN-H4-F49 produisant l'anticorps anti-OSM sont utilisées pour la production d'ascites des anticorps (H4). Les souris sont traitées par injection de 0,5 ml de pristane, huit jours avant l'injection de 10^7 cellules d'hybridome. Deux semaines plus tard, les cinq ascites sont retirées et l'anticorps purifié par précipitation fractionnée à l'acide caprylique. L'acide caprylique précipite les protéines ayant un poids moléculaire inférieur à 100-120 kDa. Les précipités sont soumis à une étape de centrifugation et les anticorps anti-OSM présents dans le surnageant sont précipités en utilisant le sulfate d'ammonium à une concentration finale de 45% (m/v). Ces deux précipitations successives rendent possible d'obtenir, à partir de deux souris, plusieurs milligrammes d'anticorps anti-OSM purifiés. Les anticorps anti-OSM ainsi obtenus satisfont aux caractéristiques conventionnelles des immunoglobulines, avec une chaine lourde de 50 kDa et une chaine légère de 25 kDa, telles que déterminée par SDS page dans des conditions réductrices.

L'anticorps anti-OSM (H4) purifié est une IgG1 kappa.

Exemple 2 : Mesure de l'affinité de l'anticorps murin anti-OSM (H4) pour l'oncostatine M humaine

Pour estimer la constante d'affinité « KD » de l'anticorps et les interactions antigène-anticorps, des mesures de résonance des plasmons de surface (SPR) ont été réalisées par

Biacore 2000. L'oncostatine M humaine a été greffée sur une puce CM5 recouverte de carboxylméthyle-dextran à une concentration de 5µg/ml dans un tampon maléate (pH 6,2) jusqu'au obtenir un signal de réponse de 300RU. Plusieurs concentrations d'anticorps ont été injectées à 4 minutes à une concentration de 60µl/ml et la dissociation a été suivie pendant 12 minutes. La cytokine de surface a été régénérée par injection au bout de 30 secondes d'une solution de glycine à 10 mM, pH 1.8.

Les données ont été analysées avec le logiciel BIAevaluation 3.0.

Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 2. La constante d'affinité de l'anticorps anti-OSM (H4) est de $7,66x10^{-10}$M.

Exemple 3 : Évaluation des propriétés fonctionnelles de l'anticorps anti-OSM

1. Capacité de l'anticorps anti-OSM à inhiber la phosphorylation des STAT-3 induite par l'oncostatine M dans les cellules de glioblastomes Go-G-UVM

Les cellules de glioblastomes Go-G-UVM ont été stimulées pendant 15 minutes en présence ou en l'absence d'oncostatine M à une concentration de 10ng/mL et à différentes concentrations d'anticorps anti-OSM (H4). Les teneurs en protéines STAT-3 et protéine STAT-3 phosphorylée ont été déterminée par Western blot.

Les résultats sont présentés en Figure 3.

On observe que l'ajout de l'anticorps anti-OSM (H4) sur les cellules de glioblastomes Go-G-UVM avant la stimulation par l'oncostatine M permet de réduire la phosphorylation des STAT-3.

2. Capacité de l'anticorps anti-OSM à inhiber la production d'haptoglobine chez les cellules HEPG-2

Les cellules HEPG-2 ont été placées dans une plaque 96 puits en trois exemplaires à une concentration de $50x10^3$ cellules/puit, dans 200µl de milieu RPMI contenant 10% de sérum de veau fétal, 10^{-6}M de dexaméthasone, 10ng/ml d'oncostatine M. Les anticorps anti-OSM (H4 et H7) ont été ajoutés dans chaque puit à des concentrations différentes. Après 20h, les surnageants de culture ont été récoltés et la teneur en haptoglobine a été mesurée par ELISA.

Les résultats sont présentés en Figure 4.

On observe que l'ajout des anticorps anti-OSM (H4 et H7) sur les cellules HEPG-2 avant la stimulation par l'oncostatine M permet d'inhiber la synthèse d'haptoglobine.

3. Neutralisation de la réponse proliférative des cellules BAF/3 par l'anticorps anti-OSM selon l'invention

Les capacités inhibitrices de l'anticorps anti-OSM de l'invention à neutraliser la réponse proliférative ont été étudiées en utilisant une lignée cellulaire hématopoïétique murine BAF/3 transfectée pour exprimer le récepteur humain approprié pour permettre une réponse à l'oncostatine M. Les cellules BAF/3 exprimant de manière stable la protéine gp130 et le récepteur OSM ont été ensemencées dans des plaques 96 puits à une concentration de $5x10^3$ cellules/puit dans un milieu RPMI 1640 contenant 5% de sérum de veau fétal et 10ng/ml d'oncostatine M. Plusieurs dilutions de l'anticorps anti-OSM (H4 (anticorps selon l'invention), H6, H7 et H9) ont été testées en trois exemplaires. Après 72h d'incubation, 0,5µCi de thymidine ([^{3}H]Tdr) ont été ajoutés dans chaque puit pour au moins 4 heures de culture et la radioactivité incorporée a été déterminée par comptage par scintigraphie.

Les résultats sont présentés en Figure 5.

On observe que l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable de neutraliser la réponse proliférative des cellules BAF/3 de manière plus efficace que les anticorps anti-OSM humaine H6, H7 et H9.

Exemple 4 : Propriétés fonctionnelles de l'anticorps anti-OSM selon l'invention sur les kératinocytes épidermiques.

Le test mis en œuvre consiste à démontrer la capacité de l'anticorps anti-OSM à lever l'inhibition de l'expression des facteurs CK1, CK10 et DSG1 induite par l'oncostatine M dans les cellules NHEK et à démontrer la capacité de l'anticorps anti-OSM à inhiber la synthèse des indicateurs inflammatoires S100A9 et BD2 induite par l'oncostatine M dans les cellules NHEK.

Les cellules NHEK sont cultivées en présence ou en l'absence de10ng/ml d'oncostatine M et/ou de 10µg/ml d'anticorps anti-OSM (H4=1 (anticorps anti-OSM selon l'invention), H6=2, H7=3 et H9=4) pendant 24 heures. Les ARNs totaux des cellules NHEK ont été isolés et transcrits à l'inverse. Une PCR quantitative en temps réel (QRT-PCR) a été réalisée en utilisant le kit LightCycler-FastStartDNAMasterPlus SYBR Green I et le LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Meylan, France). Les échantillons ont été normalisés par rapport à

trois gènes de référence indépendants (G3PDH, RPL13A et ACTB) et rapportés selon la méthode ΔΔCT : 2 ΔΔCT= 2ΔCT échantillon / 2ΔCT de référence.

Les résultats sont présentés aux Figures 6A à 6E.

On observe que :

- l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable de lever l'inhibition de l'expression des facteurs CK1, CK10 et DSG1 induite par l'oncostatine M dans les cellules NHEK (voir Figures 6A, 6B et 6C).
- l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable d'inhiber la synthèse de S100A9 et BD2 induite par l'oncostatine M dans les cellules NHEK (voir Figures 6D et 6E).

Exemple 5 : Propriétés fonctionnelles de l'anticorps anti-OSM selon l'invention sur des cellules de carcinomes épidermiques.

Le test mis en œuvre consiste à démontrer la capacité de l'anticorps anti-OSM à inhiber la synthèse des indicateurs inflammatoires S100A7 induite par l'oncostatine M dans les cellules de carcinome épidermique A431 et à lever l'inhibition de l'expression de l'involucrine induite par l'oncostatine M dans les cellules de carcinome épidermique A431.

Les cellules A431 sont cultivées en présence ou en l'absence de10ng/ml d'oncostatine M et/ou de 10µg/ml d'anticorps anti-OSM (H4 (anticorps selon l'invention), H6, H7 et H9) pendant 24 heures. Les ARNs totaux des cellules NHEK ont été isolés et transcrits à l'inverse. Une PCR quantitative en temps réel (QRT-PCR) a été réalisée en utilisant le kit LightCycler-FastStartDNAMasterPlus SYBR Green I et le LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Meylan, France). Les échantillons ont été normalisés par rapport à trois gènes de référence indépendants (G3PDH, RPL13A et ACTB) et rapportés selon la méthode ΔΔCT : 2 ΔΔCT= 2ΔCT échantillon / 2ΔCT de référence.

Les résultats sont présentés en Figure 7A et Figure 7B.

On observe que :

- l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable d'inhiber la synthèse de S100A7 induite par l'oncostatine M dans les cellules de carcinome épidermique A431 (inférieure à 0,2 AU) (voir Figure 7A), et que

- l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable de lever l'inhibition de l'expression de l'involucrine induite par l'oncostatine M dans les cellules de carcinome épidermique A431 (supérieure à 0,001 AU) (voir Figure 7B).

Exemple 6 : Propriétés fonctionnelles de l'anticorps anti-OSM selon l'invention sur des fibroblastes.

Le test mis en œuvre consiste à démontrer la capacité de l'anticorps anti-OSM à lever l'inhibition de l'expression de SMA (alpha-smooth muscle actin) induite par l'oncostatine M dans les fibroblastes activés par TGF.

Les fibroblastes activés par TGF sont cultivées en présence ou en l'absence d e10ng/ml d'oncostatine M et/ou de 10µg/ml d'anticorps anti-OSM (H4) pendant 24 heures. Les ARNs totaux des cellules NHEK ont été isolés et transcrits à l'inverse. Une PCR quantitative en temps réel (QRT-PCR) a été réalisée en utilisant le kit LightCycler-FastStartDNAMasterPlus SYBR Green I et le LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Meylan, France). Les échantillons ont été normalisés par rapport à trois gènes de référence indépendants (G3PDH, RPL13A et ACTB) et rapportés selon la méthode ΔΔCT : 2 ΔΔCT= 2ΔCT échantillon / 2ΔCT de référence.

Les résultats sont présentés en Figure 8.

On observe que l'anticorps anti-OSM selon l'invention (H4) est capable de lever l'inhibition de l'expression de SMA induite par l'oncostatine M dans les cellules de fibroblastes TGF activés, d'un facteur 5.

L'ensemble des résultats obtenus dans les exemples 1 à 6 sont synthétisés dans les tableaux 5 et 6 ci-dessous.

Anticorps anti-OSM	Constante d'affinité KD ($x10^{10}$M)	Inhibition de STAT-3P dans les glioblastomes Go-G-UVM	Inhibition de la production d'haptoglobuline dans les HEPG2	Inhibition de l'inflammation induite par l'oncostatine M chez les kératinocytes
H4	7,66	+++	+++	+++
H6	14,8	+/-	ND	0
H7	4,49	+	++	++
H9	4,39	++	ND	++

Tableau 5 : Synthèse des capacités inhibitrices des anticorps anti-OSM testés (ND : Non déterminé).

Anticorps anti-OSM	Inhibition de la prolifération induite par l'oncostatine M dans les cellules hématopoïétiques transfectées avec les récepteurs appropriés	Restauration de la différentiation des kératinocytes induite par l'oncostatine M	Inhibition des changements transcriptomiques dans les cellules de carcinomes épidermiques	Inhibition de l'expression de SMA induite par l'oncostatine M dans les fibroblastes activés par TGF
H4	+++	+++	+++	+++
H6	+/-	0	0	0
H7	++	++	+/-	0
H9	++	0	+	0

Tableau 6 : Synthèse des capacités inhibitrices des anticorps anti-OSM testés

Exemple 7 : Implication de l'oncostatine M dans les phénomènes métastatiques.

L'oncostatine M est connue pour remodeler fortement la structure des cellules qui expriment, notamment sont récepteur spécifique. Ceci se traduit par des modifications morphologiques, qui vont jouer sur les systèmes d'adhésion cellulaire ou bien sur l'activation de programmes temporaires de différenciation de certains type tumoraux (d'où son nom initial) sans toutefois tuer les cellules contrairement à l'effet du Tumor Necrosis Factor, par exemple.

1. Recherche de gènes co-exprimés à l'oncostatine M dans la moelle osseuse

Les expérimentations ci-après ont été mises en œuvre afin de déterminer si une source riche en cellules myelo-monocytaires (source principale de production naturelle d'OSM), pouvait donner des informations sur des co-expressions avec des molécules connues pour leur implication dans la plasticité cellulaire, et notamment sur leur effet pro-métastatique.

L'analyse a été réalisée par des hybridations de puces pan-génomiques Illumina Human HT12 v3, en partant de moelles osseuses normales (Figure 9A). Les résultats indiquent une expression robuste d'OSM dans ces cellules. Les résultats ont ensuite été criblés en introduisant une contrainte de co-expression positive (ou négative) de 90% de chance d'avoir des évènements co-ségrégés (Figure 9B). Une trentaine de gènes sont co-exprimés de façon positive avec la transcription du gène de l'OSM, et une dizaine présentent un profil symétrique de régulation négative. La contrainte de probabilité a été accrue pour passer de 90à 93%, afin d'obtenir des résultats plus pertinents (Figure 9C).

Résultats obtenus : Seuls deux gènes co-ségrégent, avec une pertinence >93% : CLEC11A, qui a une expression opposée, et PLAUR/uPAR qui se co-exprime fortement avec l'OSM, par rapport à l'ensemble des 23 000 gènes qui composent le génome.

CLEC11A est une glycoprotéine secrétée de la superfamille des lectines de type C, un facteur de croissance pour les cellules souches hématopoïétiques, et dont l'expression est spécifique de la moelle osseuse. L'OSM intervient donc fort probablement pour neutraliser cette cytokine.

PLAUR, qui plus connu sous le nom d'urokinase-type plasminogen activator receptor ou uPAR est donc le seul gène à s'associer pour se co-exprimer très fortement avec l'OSM dans la moëlle osseuse. Le système uPAR s'est révélés être fortement exprimés dans de nombreuses tumeurs malignes, ce qui indique que les tumeurs sont capables de détourner le système et de l'utiliser dans les métastases. uPAR est aussi impliqué dans divers autres processus non protéolytiques liés au cancer, tels que la migration cellulaire, la régulation du cycle cellulaire et l'adhésion cellulaire.

2. Co-expression d'OSM et d'uPAR dans différents types de leucémies

Les fonctions de l'OSM sur la migration cellulaire, et les phénomènes d'adhésions, notamment sur tissus tumoraux, recouvrent largement celles du système uPAR. Leur co-expression avec une probabilité de 93% indiquent qu'il existe selon toute évidence un lien fonctionnel fort, pour que tant l'OSM que l'uPAR soient conjointement impliqués dans les phénomènes de remodelage tissulaire tumoral et le développement de métastases, au travers de leurs capacités à faciliter la migration cellulaire.

La co-expression de ces deux gènes (OSM et uPAR) a ensuite été analysée dans des séries de différents types de leucémies humaines (dont certaines capables de donner des métastases tissulaires solides).

Les résultats obtenus montrent que OSM et uPAr sont co-exprimés, quelques soit le type de leucémies avec un facteur de corrélation de 0.8. Notons aussi que dans les leucémies myeloïdes chroniques, les taux d'expression des deux gènes est accru par rapport au tissu sain. (résultats non présentés)

Ces résultats montrent une implication plus que probable au vu des connaissances in vitro sur l'OSM, dans l'établissement de phénomènes métastatiques conjointement avec uPAR.

Exemple 8 : Implication de l'oncostatine M dans le développement de tumeurs chez la souris.

Les effets biologiques de l'oncostatine M ont été étudiés sur des lignées tumorales murines de carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx (MOC-1, MOC-2), de mélanomes (B16-F10)

et de tumeurs pulmonaires (LLC1). La lignée de carcinome épidermoïde cutané PDVC57 sensible à l'oncostatine M est présentée en contrôle positif (Simonneau et al, 2018).

1. Expression des récepteurs à l'OSM dans différentes lignées tumorales murines.

Pour étudier l'expression des récepteurs à l'OSM, les ARNs totaux des cellules MOC-1, MOC-2, B16-F10 et LLC1, ont été isolés et rétrotranscrits. Puis une PCR quantitative a été réalisée en utilisant le kit LightCycler-FastStartDNAMasterPlus SYBR Green I (Roche Diagnostics, Meylan, France). L'expression a été normalisée par rapport à deux gènes de référence indépendants (G3PDH et ACTB) et rapportés selon la méthode ΔCT échantillon / ΔCT de référence. Les lignées MOC-1, MOC-2, B16-F10 et LLC1 expriment constitutivement de forts niveaux des sous unités gp130 et OSMRβ, constituant le récepteur de type II à l'OSM (figure 10). Ces niveaux sont comparables au contrôle positif constitué de kératinocytes murins normaux (NMEK) et de la lignée PDVC57 préalablement décrits pour exprimer ces récepteurs et répondre fortement à l'OSM (Pohin et al., Eur J Immunol 2016 ; Simonneau et al, Oncotarget 2018).

2. Phosphorylation de STAT-3 en réponse à la stimulation par l'OSM.

Afin d'étudier la capacité de lignées tumorales à répondre à l'OSM, une analyse de la phosphorylation de STAT-3, impliquée dans la signalisation du récepteur de l'OSM, a été réalisée. Les lignées tumorales murines MOC-1, MOC-2, B16-F10, LLC1 et PDVC57 ont été stimulées pendant 15 minutes et 30 minutes en présence ou en l'absence de 10 ng/ml d'Oncostatine M. Les quantités de STAT-3 totale et de STAT-3 phosphorylée ont été déterminées par Western blot. L'ajout d'OSM sur ces lignées tumorales murines actives la phosphorylation de STAT-3 après 15 minutes et cette activation est maintenue après 30 minutes (figure 11), démontrant la fonctionnalité du récepteur à l'OSM exprimé par ces lignées tumorales.

3. Modifications transcriptionnelles de gènes cibles induites par l'OSM sur les lignées tumorales murines.

Les lignées tumorales murines MOC-1, MOC-2, B16-F10 et LLC1 ont été stimulées en présence ou en l'absence de 10 ng/ml d'OSM pendant 24 heures. Les ARNs totaux ont été isolés et rétrotranscrits, puis l'expression de gènes cibles analysée par PCR quantitative et exprimés en facteur d'induction selon la méthode ΔΔCT : 2 ΔΔCT échantillon / 2ΔCT de référence.

Résultats obtenus :

Les résultats sont présentés en Figure 12.

Il a été observé que :

- L'OSM induit la surexpression de la sous unité OSMRβ sur toutes les lignées tumorales murines MOC-1, MOC-2, B16-F10 et LLC1, les rendant ainsi plus sensibles à l'OSM.
- L'OSM induit la surexpression des cytokines IL-6 et IL-10 sur toutes les lignées tumorales murines MOC-1, MOC-2, B16-F10 et LLC1, générant ainsi un microenvironnement tumoral permissif.
- L'OSM induit la surexpression du facteur TGM2 sur les lignées tumorales murines MOC-1, MOC-2 et B16-F10. Ce facteur est impliqué dans la transition épithélio-mésenchymateuse fréquemment activée au cours de la progression tumorale, générant des cellules douées de capacités de motilité et d'invasion cellulaire.

4. L'OSM induit la migration de lignées tumorales murines.

La lignée tumorale murine MOC-1 a été cultivée autour de séparateurs en silicone placés au fond des puits d'une plaque 6 puits. Les inserts en silicone ont été retirés et les cellules stimulées ou non avec 10 ng/ml d'oncostatine M pendant 48 heures. La distance de migration a été mesurée et évaluée grâce au logiciel Image J. On observe que l'ajout de l'OSM sur la lignée tumorale MOC-1 stimule la migration cellulaire (voir Figure 13).

5. L'OSM favorise la croissance tumorale *in vivo*.

Les lignées tumorales murines B16-F10 et LLC1 ont été injectées ($1x10^6$ cellules en sous-cutané) sur le dos de souris sauvages et de souris déficientes en oncostatine M ($OSM^{-/-}$). La croissance tumorale a été suivi pendant quatre semaines en calculant le volume tumoral selon la formule : $\pi/6$ x Longueur x $Largeur^2$ (Tomayko and reynolds, 1989). On observe qu'en absence d'OSM le volume tumoral est réduit de 59% après 14 jours pour les tumeurs B16-F10 et de 26% après 16 jours pour les tumeurs LLC1, démontrant *in vivo* le rôle pro-tumoral de l'OSM pour ces lignées (voir Figure 14).

Ces résultats ont permis d'identifier 4 lignées tumorales exprimant le récepteur de l'OSM et sensibles à l'OSM. Les expériences *in vitro* montrent que l'OSM exerce un rôle pro-tumoral sur ces 4 lignées. Les analyses *in vivo* confirment que l'OSM endogène présente dans le microenvironnement tumoral participe de façon importante à la croissance tumorale. Ces résultats confirment donc que l'OSM est une cible potentielle pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques anti-tumorales des cancers de la peau (épidermoïde et mélanome), de l'oropharynx et du poumon. Il ressort également de ces résultats que les

tumeurs d'autres origines (prostate, sein, foie, pancréas, colon, sang) sont également dépendantes de l'OSM et constituent des cibles thérapeutiques potentielles de notre anticorps anti-OSM.

REVENDICATIONS

1. Protéine de liaison spécifique capable de se lier spécifiquement à l'oncostatine M humaine (hOSM), ladite protéine de liaison spécifique étant un anticorps ou un fragment d'anticorps comprenant :

(a) un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.1, SEQ ID No. 2 et SEQ ID No. 3 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.4, SEQ ID No.5 et SEQ ID No.6 ; ou

(b) un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.17, SEQ ID No. 18 et SEQ ID No. 19 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.20, SEQ ID No.21 et SEQ ID No.22 ; ou

(c) un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.33, SEQ ID No. 34 et SEQ ID No. 35 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.36, SEQ ID No.37 et SEQ ID No.38 ; ou

(d) un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.49, SEQ ID No. 50 et SEQ ID No. 51 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.52, SEQ ID No.53 et SEQ ID No.54.

2. Protéine de liaison spécifique selon la revendication 1, caractérisée en ce que la protéine de liaison spécifique est capable d'inhiber la phosphorylation des molécules signales impliquées dans le processus inflammatoire, ou en ce que la protéine de liaison spécifique est capable d'inhiber la synthèse d'haptoglobine stimulée par l'oncostatine M humaine, ou en ce que la protéine de liaison spécifique est capable d'inhiber l'hyperplasie de la couche de kératinocytes épineux résultante de l'action de l'oncostatine M humaine.

3. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps monoclonal, de préférence un anticorps humanisé.

4. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que le fragment d'anticorps est un fragment Fab, un fragment Fd, un fragment F(ab'), un fragment F(ab')2, un fragment Fv, un fragment dAb, des régions CDR isolées, un fragment dsFv, un dimère Fv monocaténaire bispécifique, un diabodies ou une molécule scFv.

5. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 4, ladite protéine de liaison spécifique comprenant un domaine variable de la chaine lourde (VH) comprenant les CDR-H1, CDR-H2 et CDR-H3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.1, SEQ ID No. 2 et SEQ ID No. 3 et un domaine variable de la chaine légère (VL) comprenant les CDR-L1, CDR-L2 et CDR-L3 ayant respectivement les séquences d'acides aminés SEQ ID No.4, SEQ ID No.5 et SEQ ID No.6.

6. Protéine de liaison spécifique selon la revendication 5, dans laquelle le domaine variable de la chaine lourde (VH) a la séquence d'acides aminés SEQ ID No.7 et le domaine variable de la chaine légère (VL) a la séquence d'acides aminés SEQ ID No.8.

7. Acide nucléique isolé codant pour la protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6.

8. Acide nucléique isolé selon la revendication 7, comprenant une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine lourde (VH) de la protéine de liaison spécifique et une séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine légère (VL) de la protéine de liaison spécifique.

9. Acide nucléique isolé selon l'une des revendications 7 à 8, dans lequel la séquence d'acides nucléiques codant pour la chaine lourde comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 9 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No.9.

10. Acide nucléique isolé selon l'une des revendications 7 à 8, dans lequel la séquence d'acides nucléiques codant pour le domaine variable de la chaine comprend une séquence d'acides nucléiques SEQ ID No. 10 ou une séquence d'acides nucléiques ayant au moins 90% d'identité avec la séquence SEQ ID No. 10.

11. Protéine de liaison selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation comme médicament.

12. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des maladies associées à un niveau anormal d'oncostatine M et/ou des maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l''oncostatine M.

13. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement des maladies inflammatoires cutanées.

14. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement du cancer et les métastases associées.

15. Composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace de protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 comme principe actif et au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable.

16. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation comme agent de diagnostic.

17. Protéine de liaison spécifique selon l'une des revendications 1 à 6 pour son utilisation comme antigène dans une méthode de diagnostic *in vitro* pour la détection d'oncostatine M dans un échantillon biologique.

18. Kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de souffrir d'une maladie associée à un niveau anormal d'oncostatine M humaine et/ou des maladies associées à un niveau anormal de récepteurs à l''oncostatine M, ledit kit comprenant :
- la protéine de liaison spécifique selon les revendications 1 à 6, éventuellement

marquée ou éventuellement couplée à un support solide,
- un réactif pour la constitution du milieu propice à la réalisation de la réaction immunologique
- un réactif permettant la détection des complexes antigène-protéine de liaison spécifique produits par la réaction immunologique, et
- des réactifs pour effectuer la lyse des cellules de l'échantillon testé.

19. Kit de diagnostic pour la détection de l'oncostatine M humaine, de préférence chez des patients souffrants ou susceptibles de souffrir d'une maladie inflammatoire cutanée et/ou d'un cancer et de ses métastases associées, ledit kit comprenant :
- la protéine de liaison spécifique selon les revendications 1 à 6, éventuellement marquée ou éventuellement couplée à un support solide,
- un réactif pour la constitution du milieu propice à la réalisation de la réaction immunologique
- un réactif permettant la détection des complexes antigène-protéine de liaison spécifique produits par la réaction immunologique, et
- des réactifs pour effectuer la lyse des cellules de l'échantillon testé.

FIGURE 1A

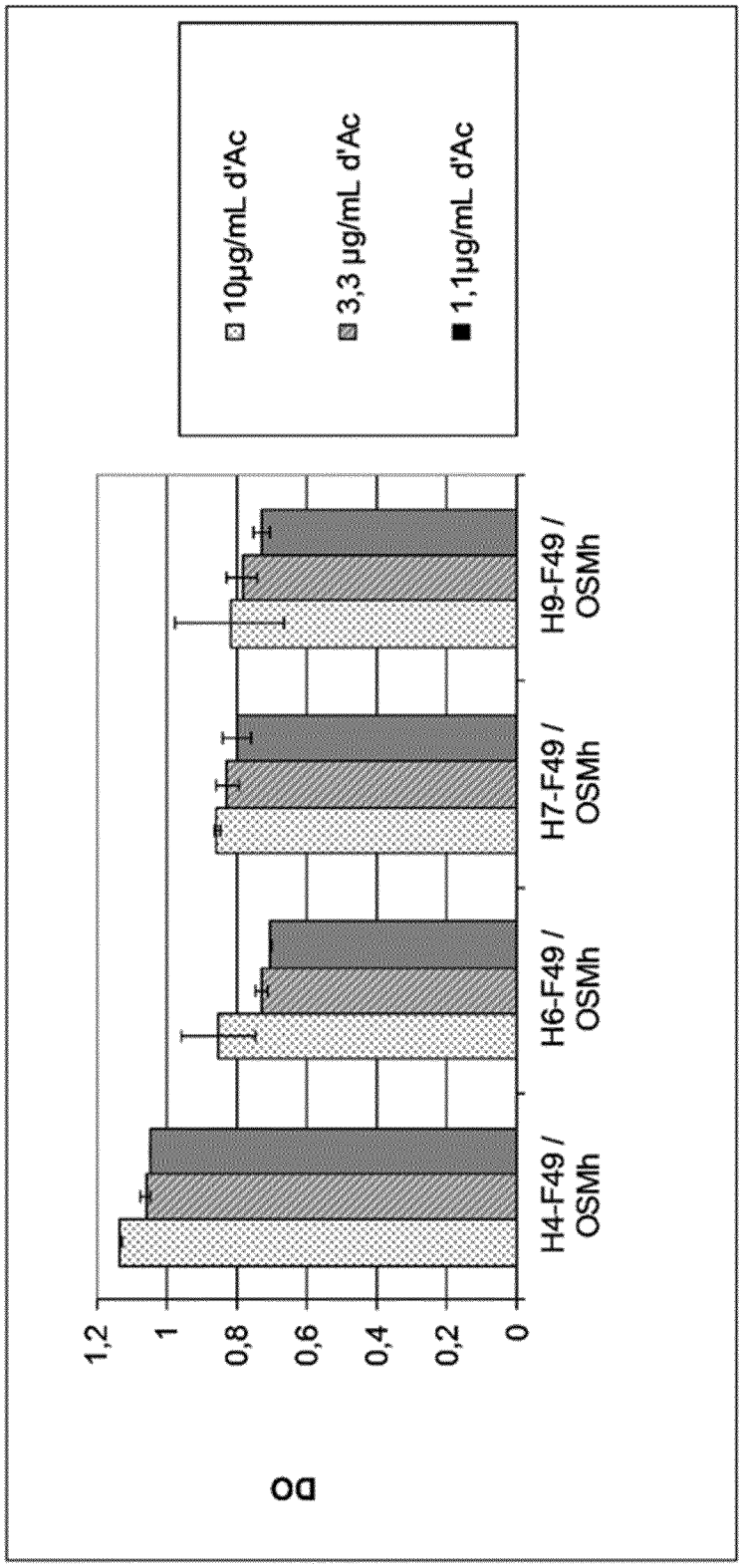

10µg/mL d'Ac
3,3 µg/mL d'Ac
1,1µg/mL d'Ac
H9-F49 / OSMh
H7-F49 / OSMh
H6-F49 / OSMh
H4-F49 / OSMh
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
DO

FIGURE 1B

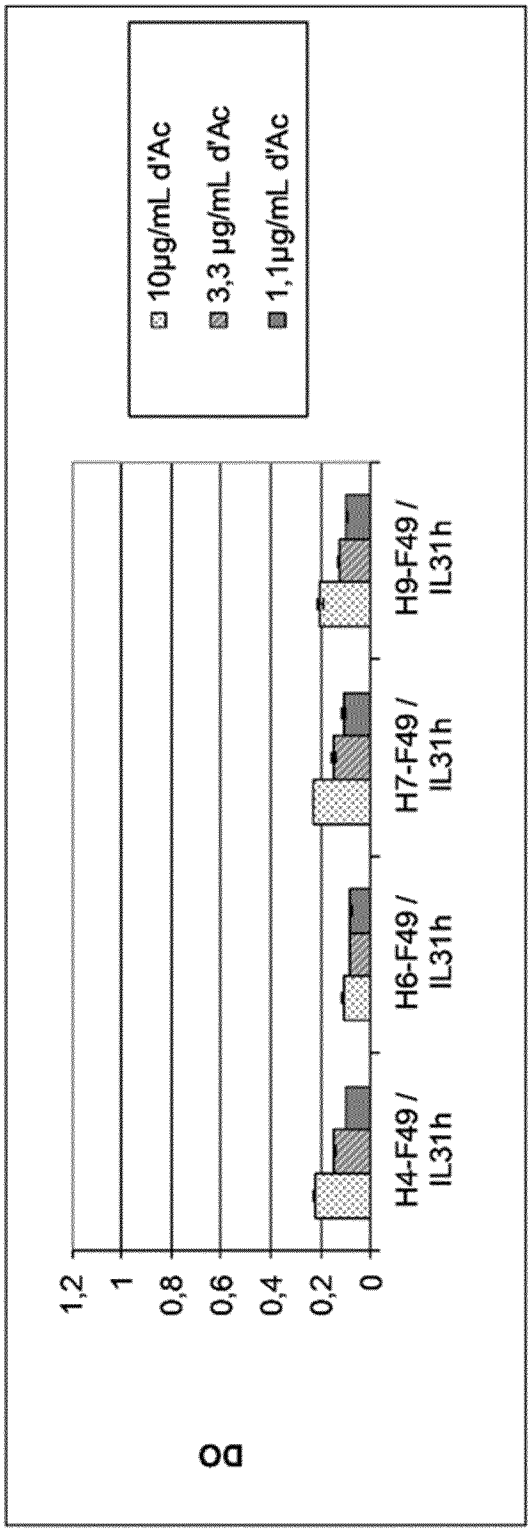
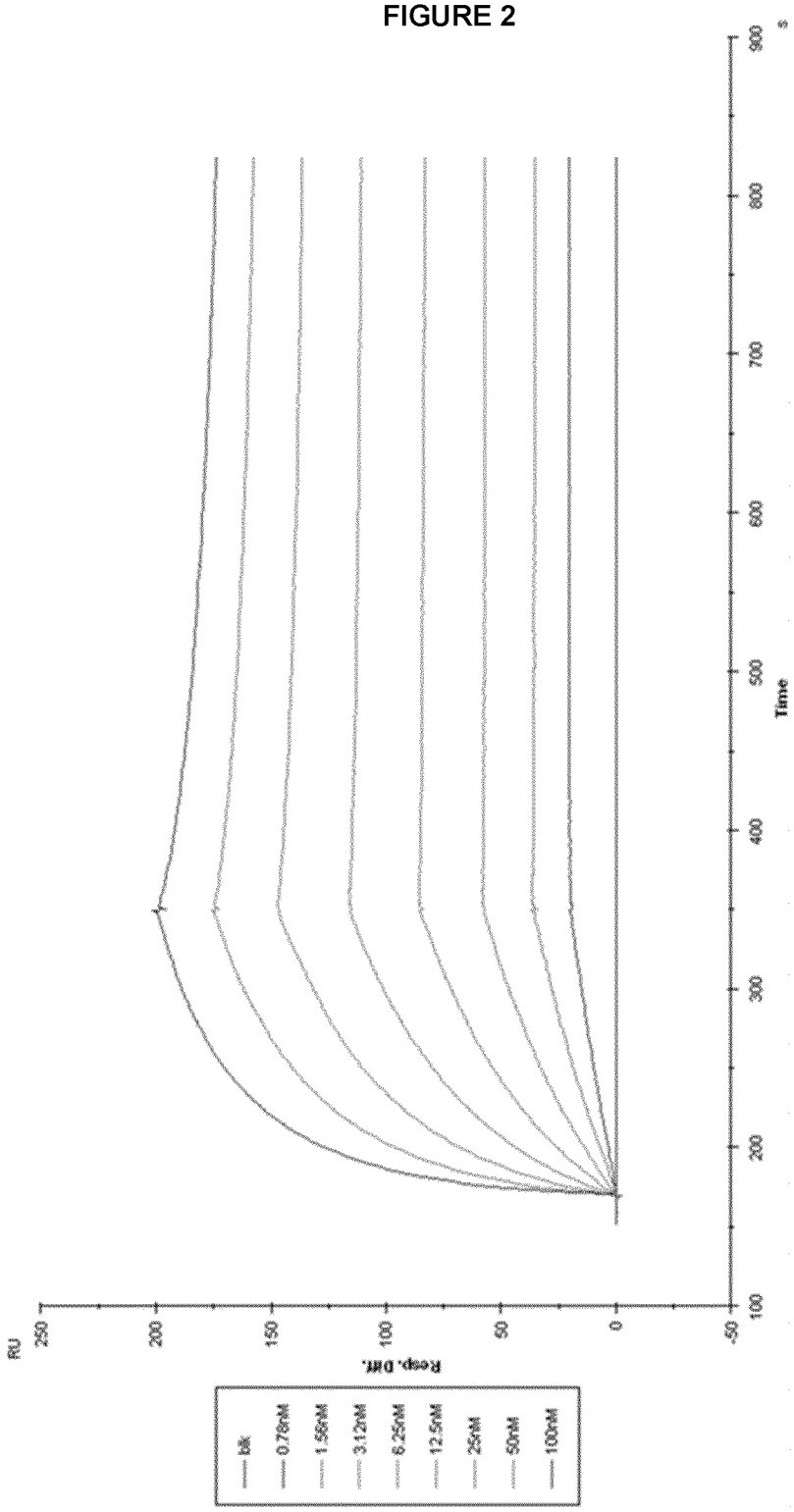

10µg/mL d'Ac
3,3 µg/mL d'Ac
1,1µg/mL d'Ac
DO
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
H4-F49 / IL31h
H6-F49 / IL31h
H7-F49 / IL31h
H9-F49 / IL31h

FIGURE 2



ka (1/Ms)	kd1 (1/s)	Rmax (RU)	KD (M)	Chi2
3,34E+05	2,56E-04	211	7,66E-10	3,58

FIGURE 3

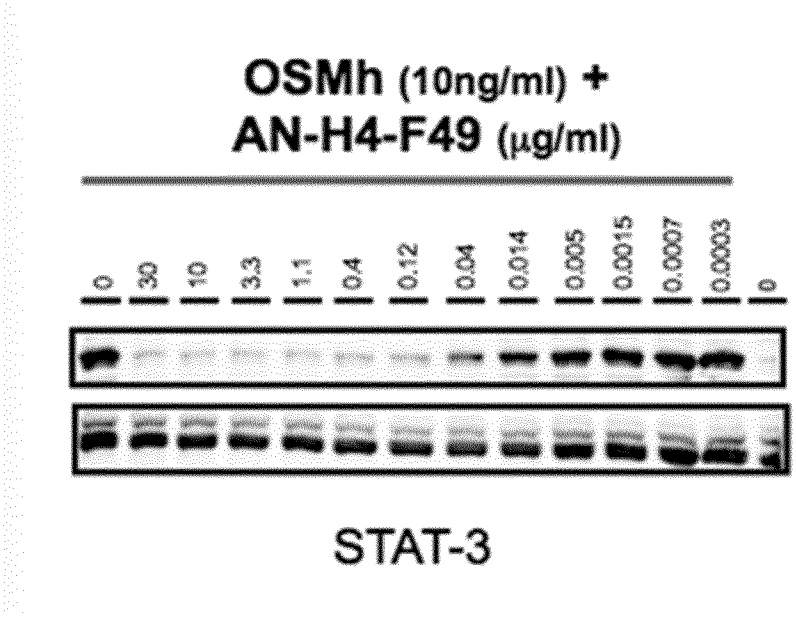


FIGURE 4

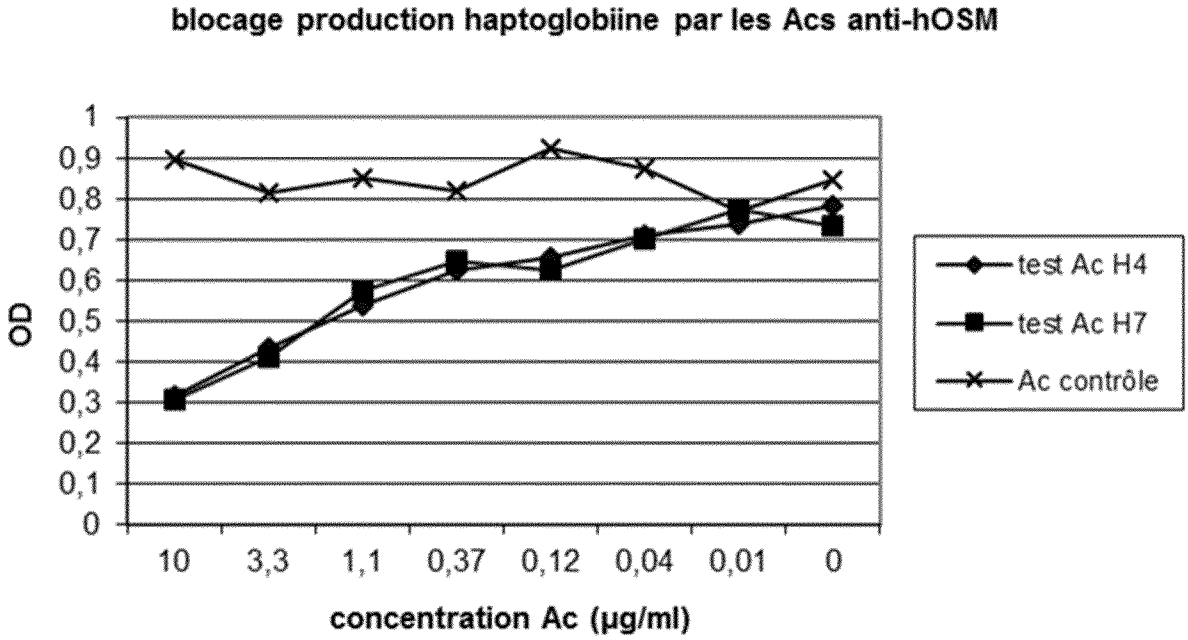


FIGURE 5

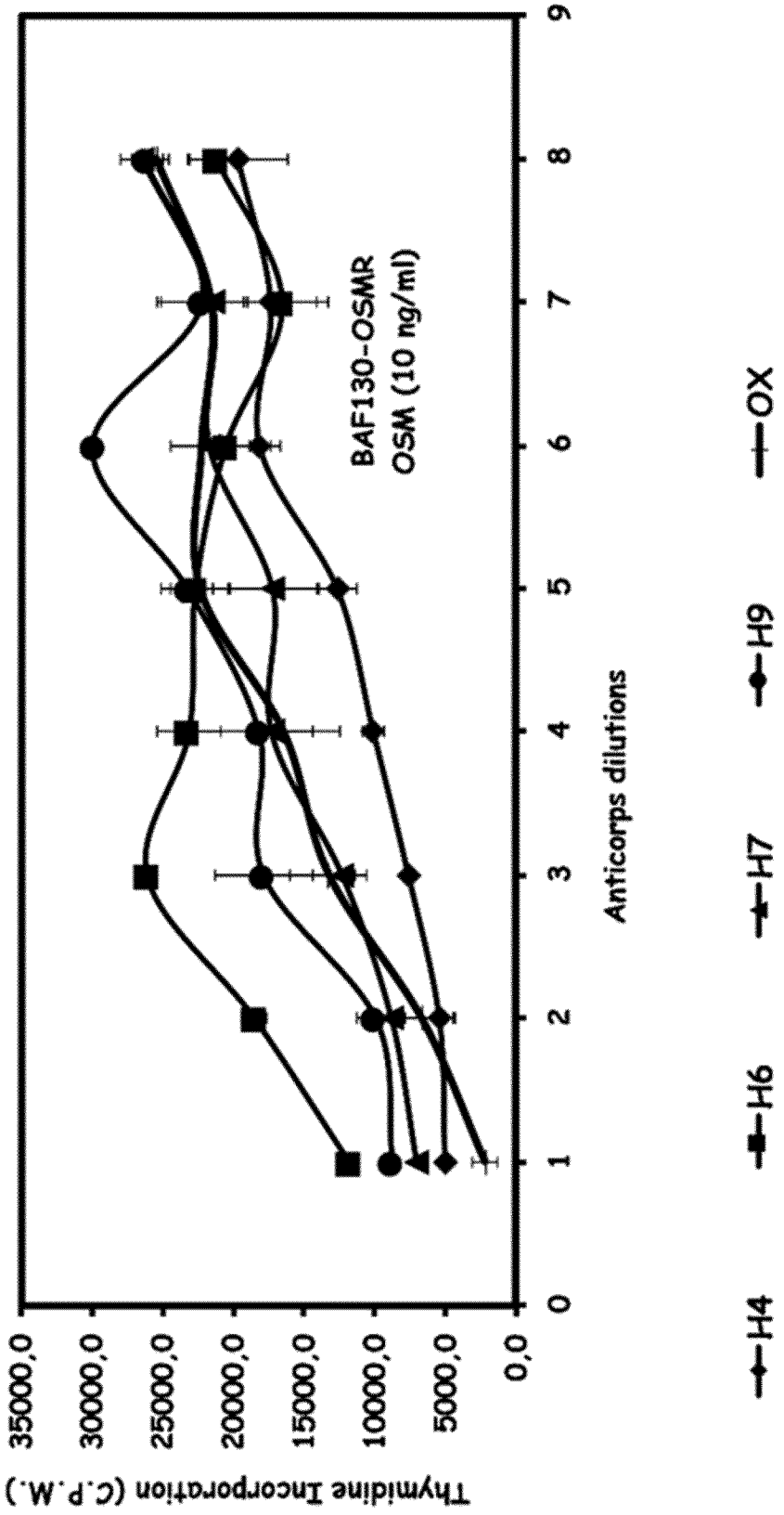

Thymidine Incorporation (C.P.M.)
35000,0
30000,0
25000,0
20000,0
15000,0
10000,0
5000,0
0,0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
Anticorps dilutions
BAF130-OSMR
OSM (10 ng/ml)
H4
H6
H7
H9
OX

FIGURE 6A

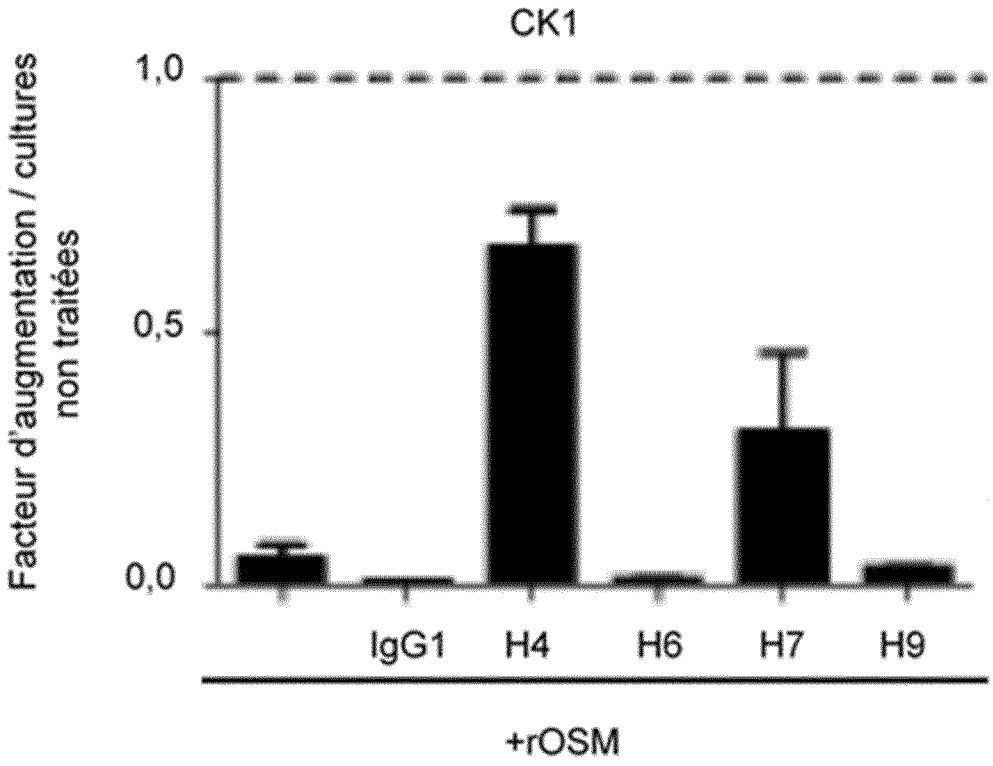


FIGURE 6B

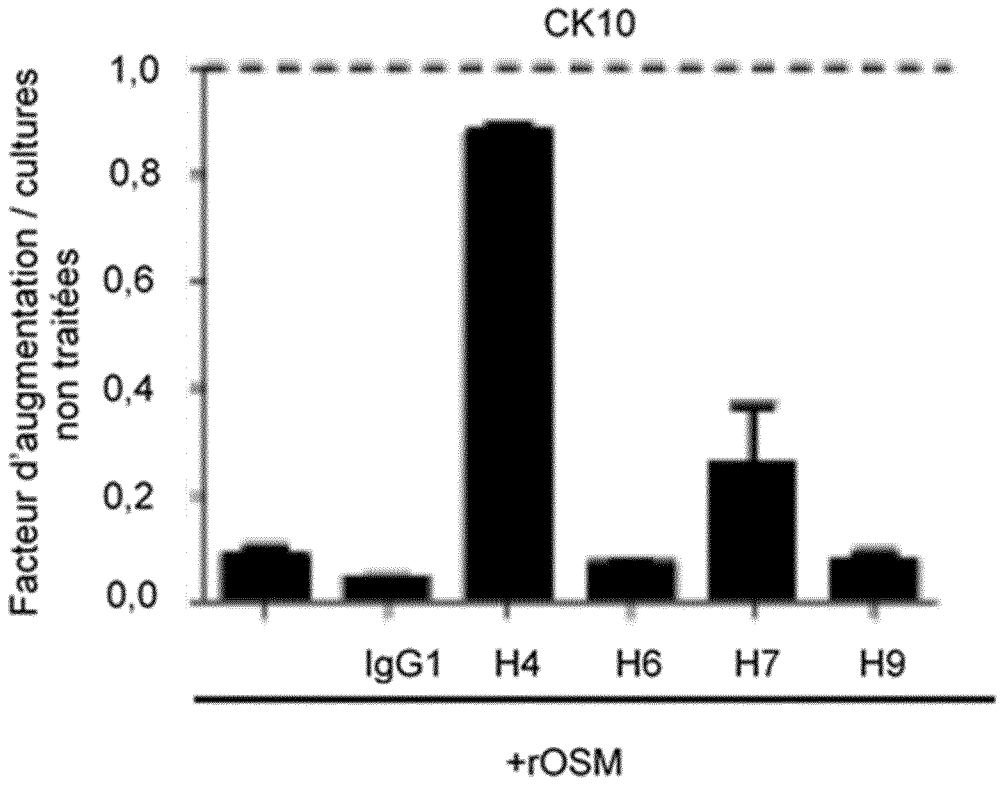


FIGURE 6C

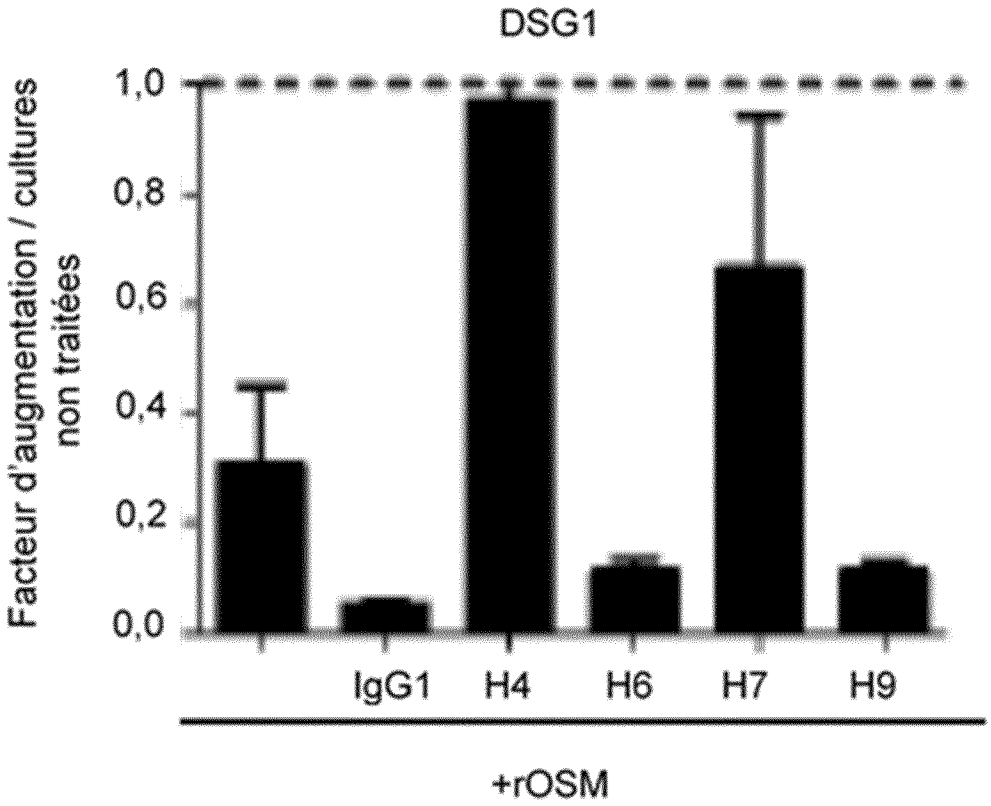


FIGURE 6D

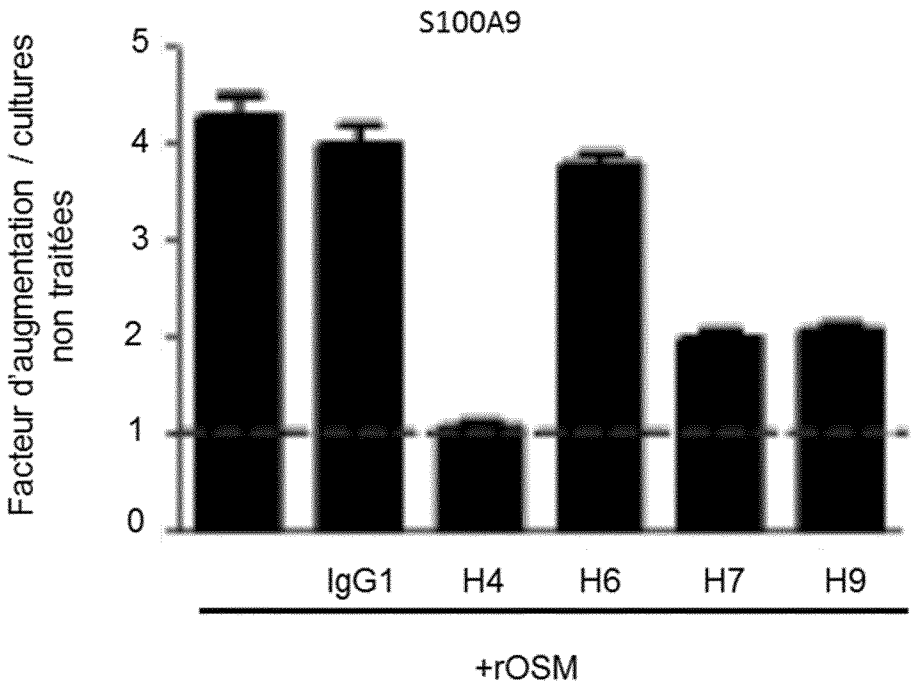


FIGURE 6E

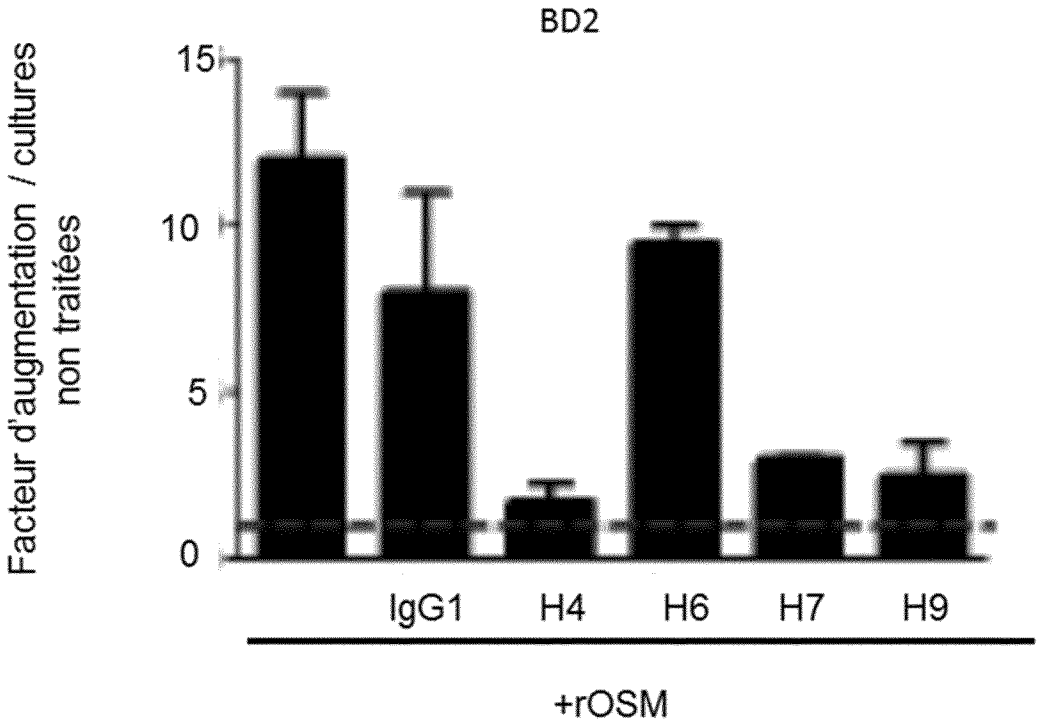


FIGURE 7A

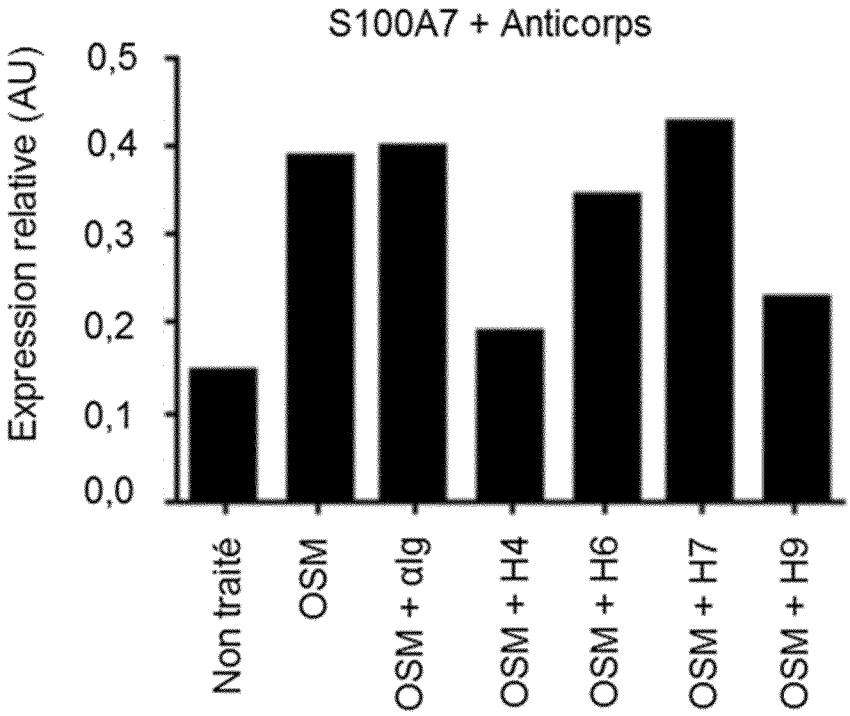


FIGURE 7B

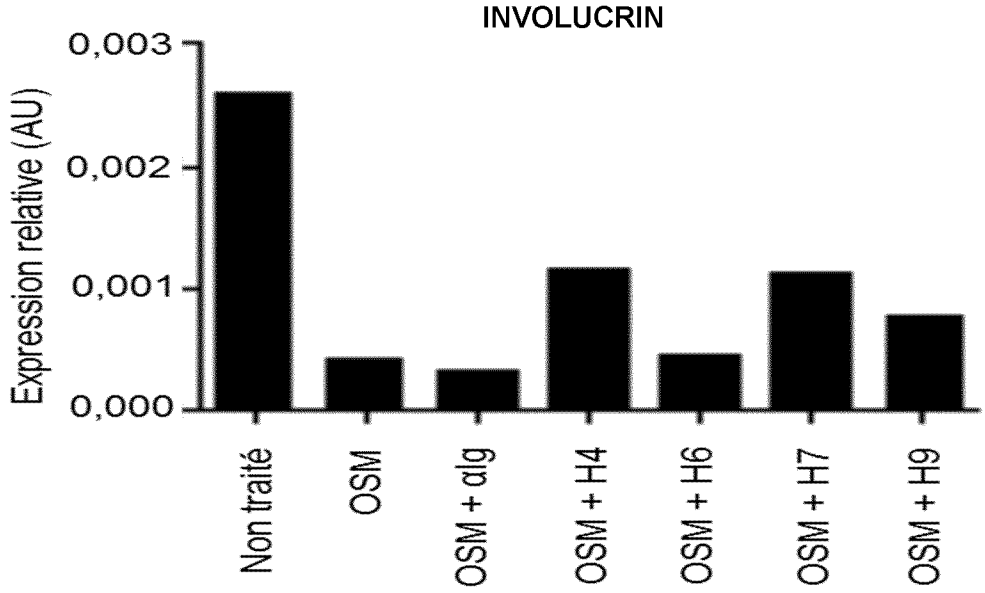


FIGURE 8

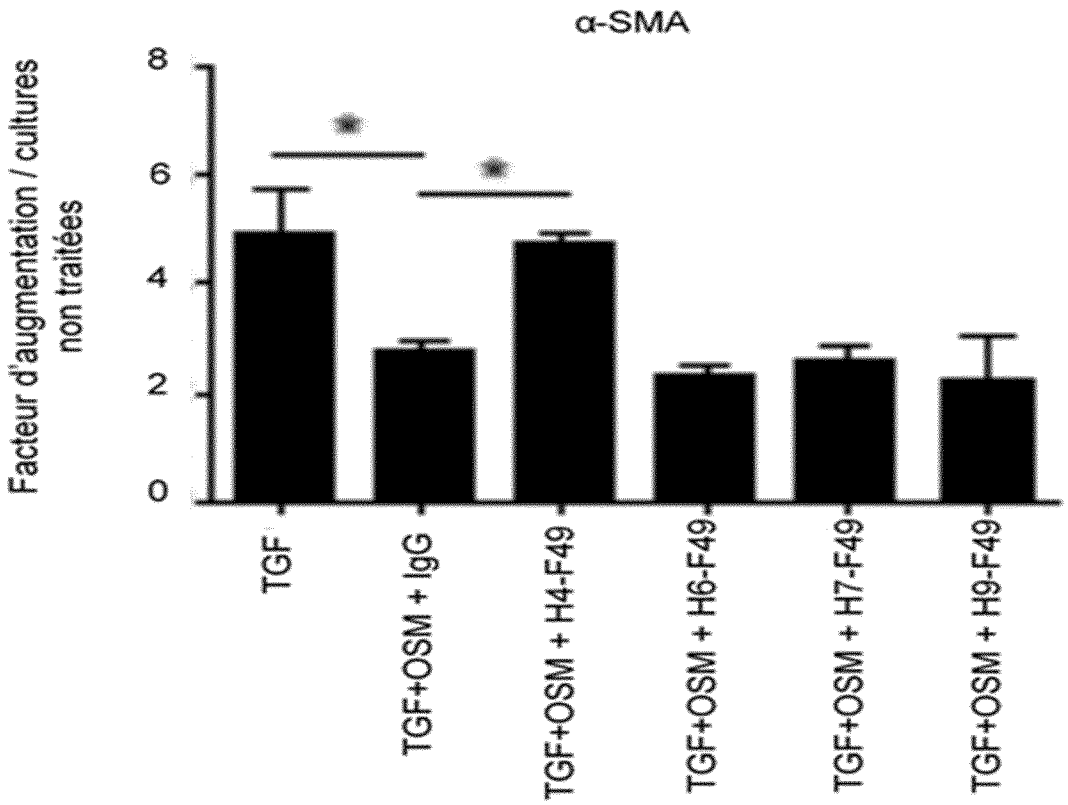


FIGURE 9A

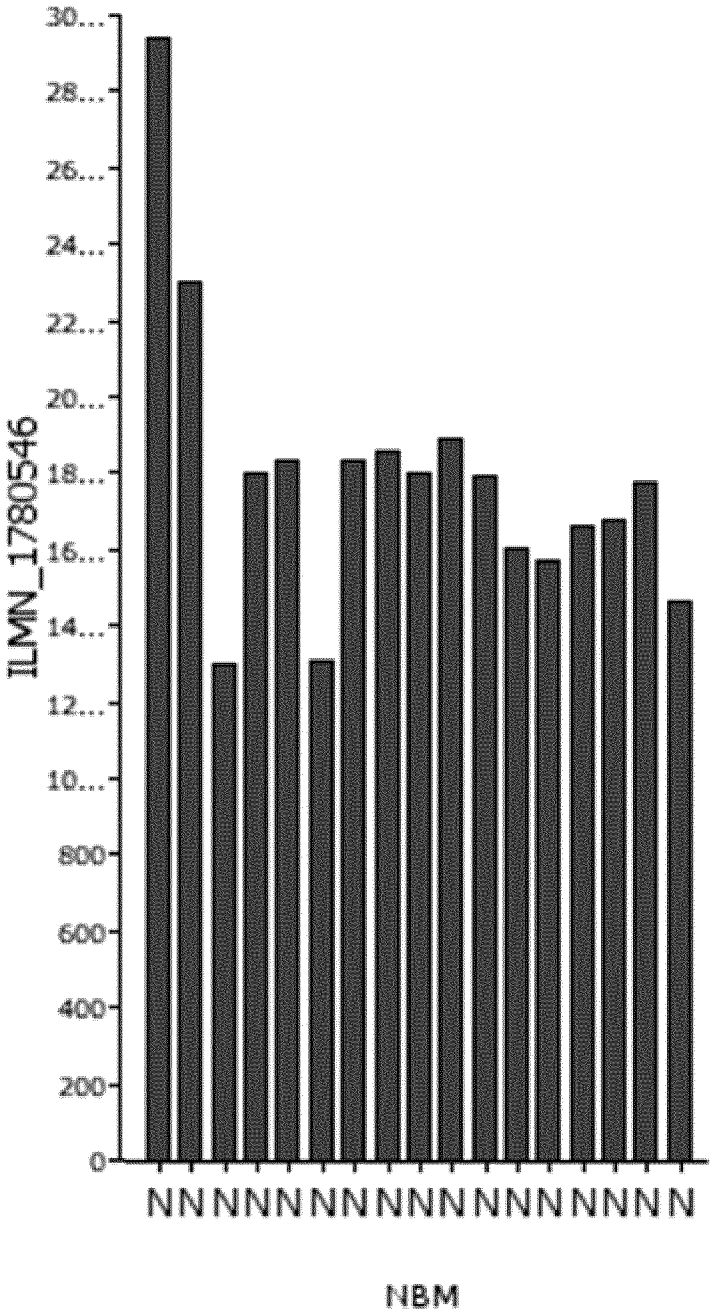

ILMN_1780546
30...
28...
26...
24...
22...
20...
18...
16...
14...
12...
10...
800
600
400
200
0
NN NNN NN NNN NNN NN N
NBM

FIGURE 9B

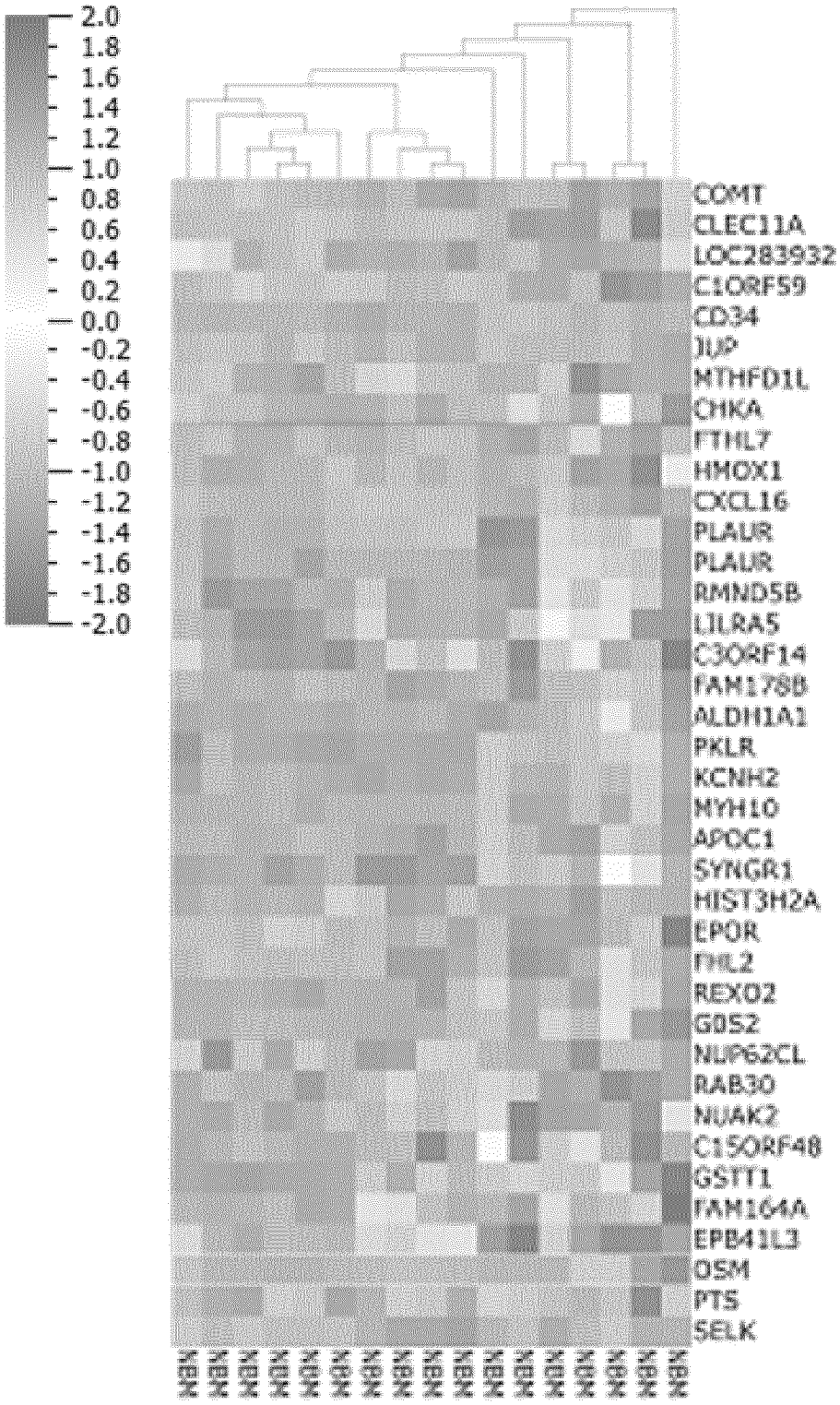

2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
-1.0
-1.2
-1.4
-1.6
-1.8
-2.0
COMT
CLEC11A
LOC283932
C1ORF59
CD34
JUP
MTHFD1L
CHKA
FTHL7
HMOX1
CXCL16
PLAUR
PLAUR
RMND5B
LILRA5
C3ORF14
FAM178B
ALDH1A1
PKLR
KCNH2
MYH10
APOC1
SYNGR1
HIST3H2A
EPOR
THL2
REXO2
G0S2
NUP62CL
RAB30
NUAK2
C15ORF48
GSTT1
FAM164A
EPB41L3
OSM
PTS
SELK

FIGURE 9C

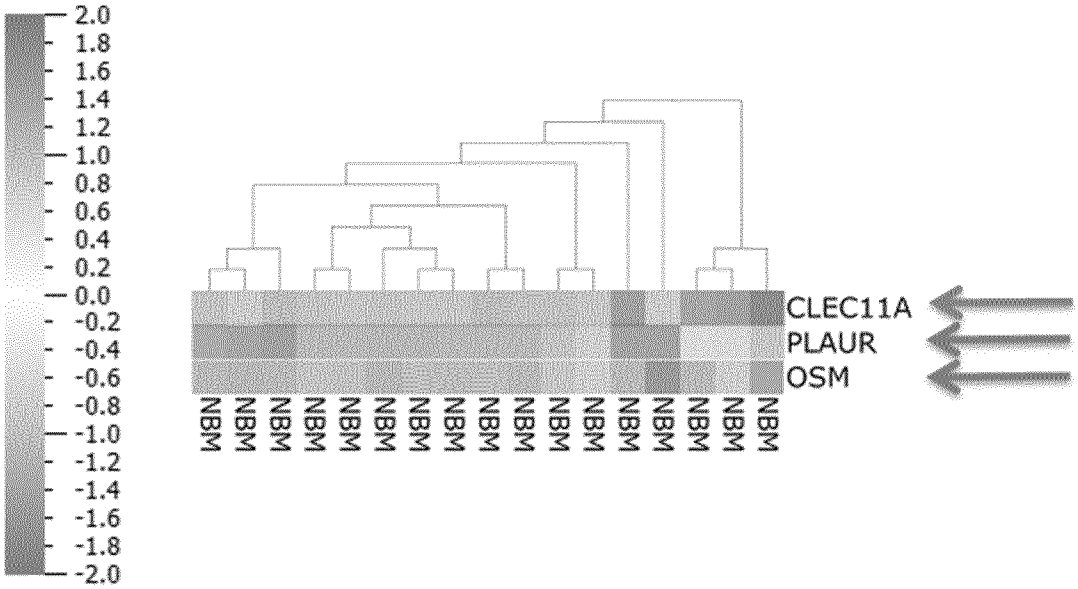


FIGURE 10

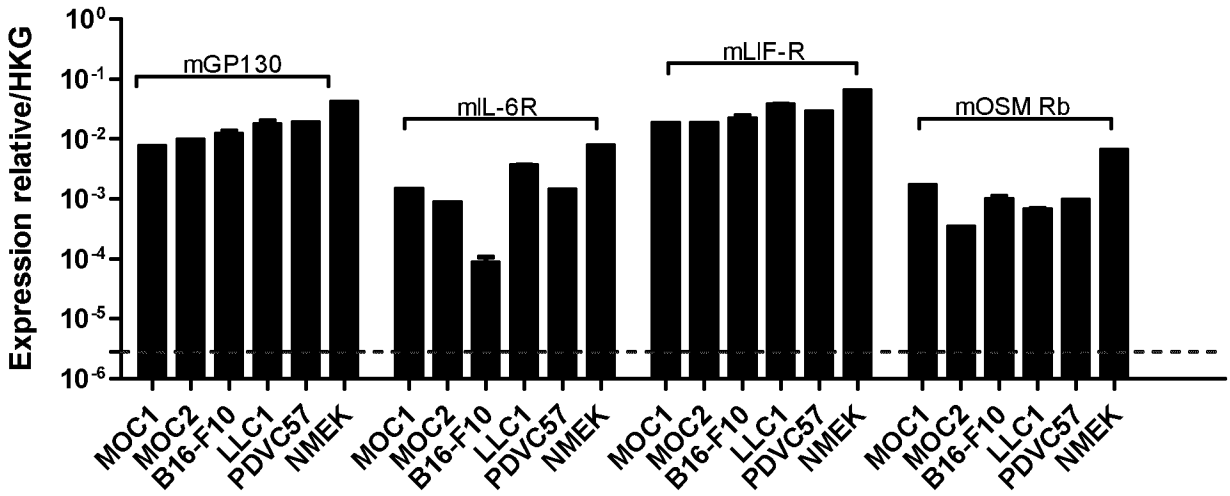


FIGURE 11

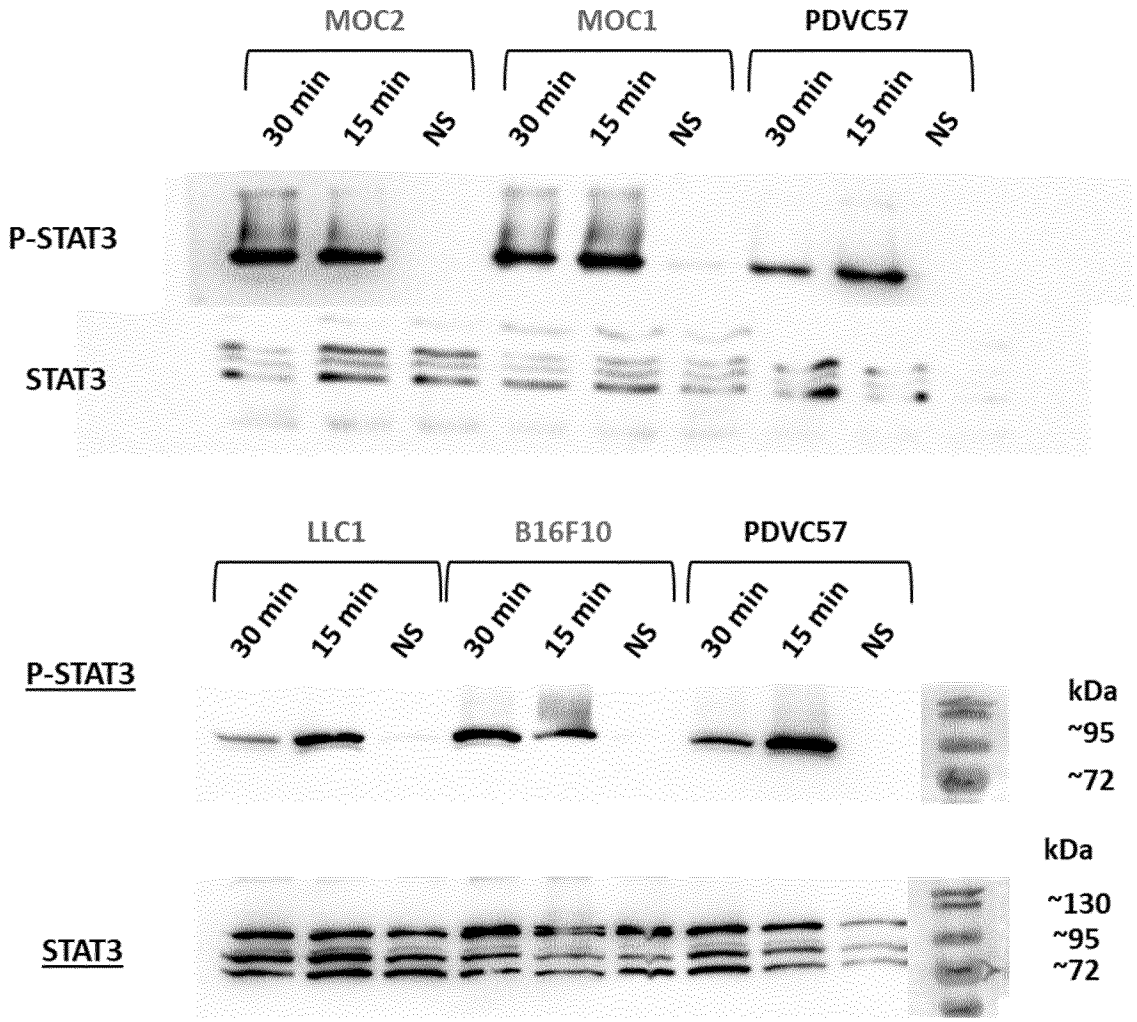

MOC2
MOC1
PDVC57
30 min
15 min
NS
P-STAT3
STAT3
LLC1
B16F10
PDVC57
kDa
~95
~72
~130

FIGURE 12

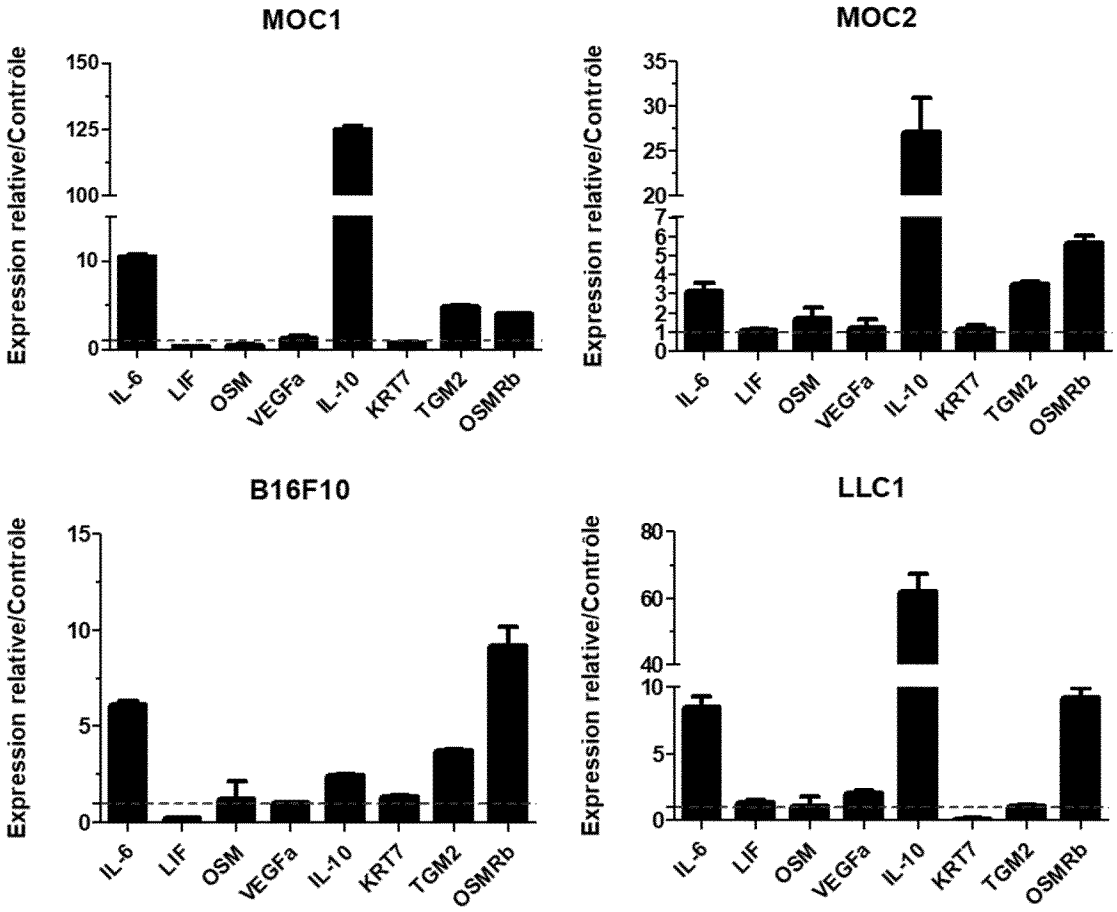


FIGURE 13

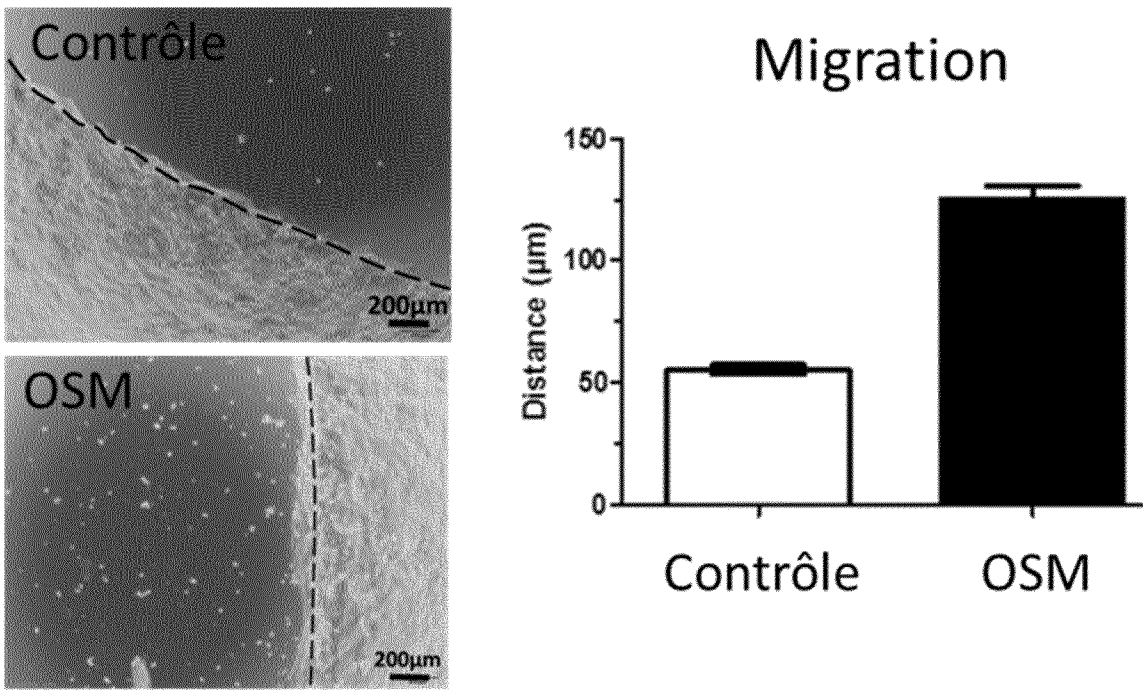
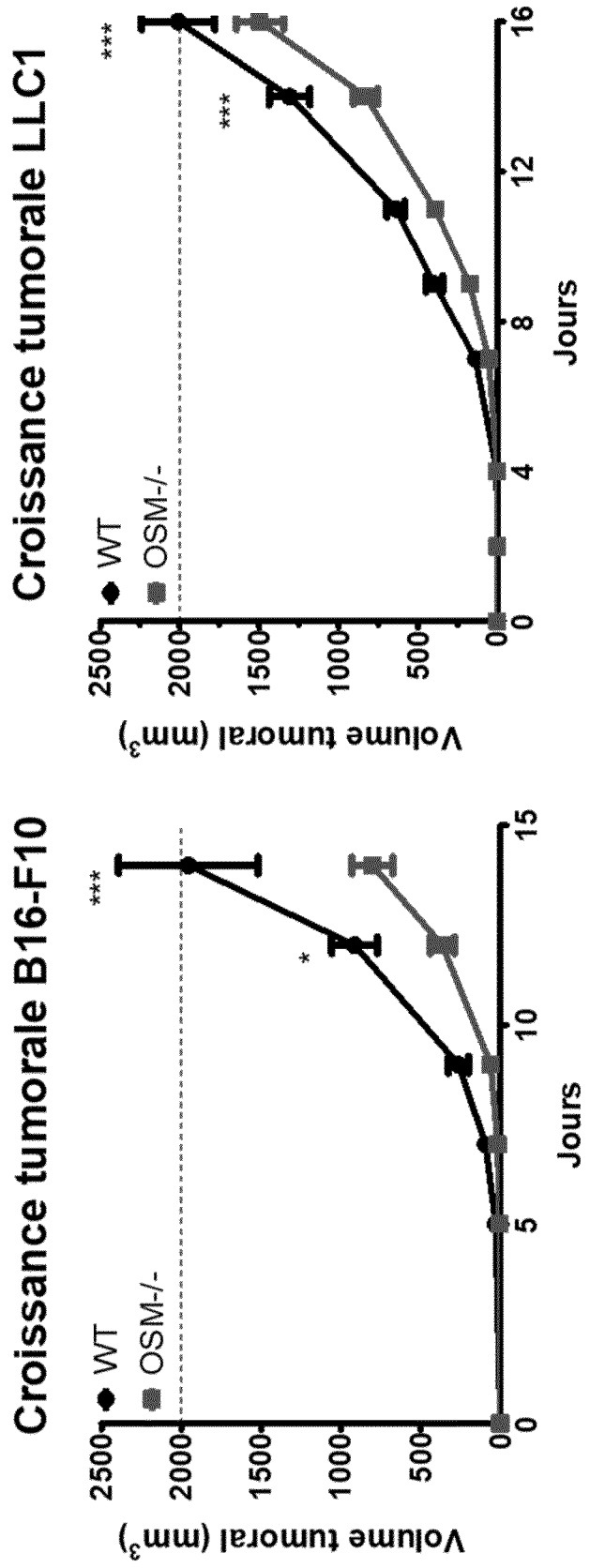


FIGURE 14


Croissance tumorale LLC1
WT
OSM-/-
***
***
Volume tumoral (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
4
8
12
16
Jours
Croissance tumorale B16-F10
WT
OSM-/-
***
*
Volume tumoral (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
Jours

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2019/086545

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395(2006.01)i; ***C07K 16/24***(2006.01)i; ***A61P 35/00***(2006.01)i; ***A61P 35/04***(2006.01)i; ***A61P 29/00***(2006.01)i; ***A61P 17/06***(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; C07K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 7858753 B2 (GLAXO GROUP LTD [GB]) 28 December 2010 (2010-12-28) abstract, column 6 line 35 - column 9 line 56, column 31 line 66 - column 36 line 45, example 1-16 and claims	1-19
X	WO 2012069433 A2 (GLAXO GROUP LTD [GB]; BEMBRIDGE GARY PETER [GB] ET AL.) 31 May 2012 (2012-05-31) abstract, p. 4 line 34 - p. 5 line 2, p. 8 line 17 - p. 10 line 2, p. 24 line 26 - p. 27 line 5, examples 1 and 2, and claims	1-19
X	US 2015093391 A1 (JORCYK CHERYL [US] ET AL) 02 April 2015 (2015-04-02) abstract, [0010]-[0015], [0070]-[0084], examples and claims	1-19
X	US 2012093833 A1 (ALMAGRO JUAN CARLOS [US] ET AL) 19 April 2012 (2012-04-19) abstract, [0006]-[0008], examples 1-8 and claims	1-19

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 February 2020	**25 February 2020**

Name and mailing address of the ISA/EP	Authorized officer
European Patent Office **p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk** **Netherlands** Telephone No. **(+31-70)340-2040** Facsimile No. **(+31-70)340-3016**	**Hermann, Patrice** Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chiara Zecchin ET AL. "Quantitative modelling to assess target engagement and pharmacology in early clinical development of an anti-OSM humanised mAb" *Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe,* 01 January 2017 (2017-01-01), page 26, Retrieved from the Internet: https://www.page-meeting.org/pdf_assets/6538-Zecchin_Zamuner_PAGE2017_2portrait_v2.pdf [retrieved on 2019-10-17] XP055633541 the whole document	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2019/086545

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US 7858753 B2	28 December 2010	AR 048516 A1	03 May 2006
		AT 515515 T	15 July 2011
		AU 2005229457 A1	13 October 2005
		BR PI0509367 A	11 September 2007
		CA 2562953 A1	13 October 2005
		CY 1112192 T1	09 December 2015
		DK 1730191 T3	17 October 2011
		EP 1730191 A2	13 December 2006
		EP 2404935 A1	11 January 2012
		HK 1103747 A1	02 December 2011
		HR P20110657 T1	31 October 2011
		JP 4809828 B2	09 November 2011
		JP 2007530068 A	01 November 2007
		KR 20060135049 A	28 December 2006
		MA 28541 B1	03 April 2007
		NZ 550225 A	26 November 2010
		PE 20060287 A1	16 May 2006
		PL 1730191 T3	30 December 2011
		PT 1730191 E	04 October 2011
		RU 2009108147 A	20 September 2010
		RU 2009108148 A	20 September 2010
		RU 2009108149 A	20 September 2010
		RU 2011121419 A	10 December 2012
		SG 151292 A1	30 April 2009
		SI 1730191 T1	30 November 2011
		TW 200602079 A	16 January 2006
		US 2007286861 A1	13 December 2007
		US 2011245470 A1	06 October 2011
		WO 2005095457 A2	13 October 2005
WO 2012069433 A2	31 May 2012	AR 083937 A1	10 April 2013
		AU 2011333878 A1	09 May 2013
		BR 112013012627 A2	04 October 2016
		CA 2818534 A1	31 May 2012
		CL 2013001466 A1	27 June 2014
		CN 103328508 A	25 September 2013
		CO 6801627 A2	29 November 2013
		CY 1120448 T1	10 July 2019
		DK 2643352 T3	30 July 2018
		DO P2013000113 A	15 December 2013
		EA 201390537 A1	30 January 2014
		EP 2643352 A2	02 October 2013
		EP 3211009 A1	30 August 2017
		EP 3369744 A1	05 September 2018
		ES 2681949 T3	17 September 2018
		HR P20181092 T1	21 September 2018
		HU E039412 T2	28 December 2018
		JP 6351973 B2	04 July 2018
		JP 2014507373 A	27 March 2014
		JP 2017078072 A	27 April 2017
		KR 20130119948 A	01 November 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/EP2019/086545

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		KR 20180110199 A	08 October 2018
		LT 2643352 T	10 August 2018
		MA 34742 B1	03 December 2013
		ME 03069 B	20 January 2019
		MX 351887 B	01 November 2017
		NZ 610464 A	27 February 2015
		PE 20140519 A1	30 April 2014
		PL 2643352 T3	31 October 2018
		PT 2643352 T	01 August 2018
		SG 190232 A1	28 June 2013
		SG 10201500388P A	30 March 2015
		SI 2643352 T1	31 December 2018
		TR 201810773 T4	27 August 2018
		TW 201235358 A	01 September 2012
		UA 111954 C2	11 July 2016
		US 2013251724 A1	26 September 2013
		US 2015064201 A1	05 March 2015
		US 2017152312 A1	01 June 2017
		UY 33743 A	29 June 2012
		WO 2012069433 A2	31 May 2012
		ZA 201303541 B	26 November 2014
US 2015093391 A1	02 April 2015	US 2015093391 A1	02 April 2015
		US 2017196973 A1	13 July 2017
US 2012093833 A1	19 April 2012	AR 083418 A1	21 February 2013
		AU 2011313847 A1	02 May 2013
		BR 112013009083 A2	13 September 2016
		CA 2814652 A1	19 April 2012
		CN 103261223 A	21 August 2013
		EA 201390493 A1	28 February 2014
		EP 2627356 A2	21 August 2013
		JP 6216917 B2	25 October 2017
		JP 6490036 B2	27 March 2019
		JP 2013544076 A	12 December 2013
		JP 2017200465 A	09 November 2017
		JP 2019037239 A	14 March 2019
		KR 20130099989 A	06 September 2013
		MX 354095 B	12 February 2018
		RU 2013119957 A	20 November 2014
		SG 189322 A1	31 May 2013
		SG 10201600263Q A	26 February 2016
		TW 201239094 A	01 October 2012
		UA 118646 C2	25 February 2019
		US 2012093833 A1	19 April 2012
		US 2014099315 A1	10 April 2014
		US 2016009798 A1	14 January 2016
		US 2017145090 A1	25 May 2017
		US 2019092856 A1	28 March 2019
		UY 33670 A	31 May 2012
		WO 2012051111 A2	19 April 2012
		ZA 201303429 B	27 January 2016

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2019/086545

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. A61K39/395 C07K16/24 A61P35/00 A61P35/04 A61P29/00 A61P17/06
ADD.
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
A61K C07K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 7 858 753 B2 (GLAXO GROUP LTD [GB]) 28 décembre 2010 (2010-12-28) résumé, colonne 6 ligne 35 - colonne 9 ligne 56, colonne 31 ligne 66 - colonne 36 ligne 45, exemple 1-16 et revendications	1-19
X	WO 2012/069433 A2 (GLAXO GROUP LTD [GB]; BEMBRIDGE GARY PETER [GB] ET AL.) 31 mai 2012 (2012-05-31) résumé, p. 4 ligne 34 - p. 5 ligne 2, p. 8 ligne 17 - p. 10 ligne 2, p. 24 ligne 26 - p. 27 ligne 5, exemples 1 et 2, et revendications	1-19
X	US 2015/093391 A1 (JORCYK CHERYL [US] ET AL) 2 avril 2015 (2015-04-02) résumé, [0010]-[0015], [0070]-[0084], exemples et revendications	1-19

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
10 février 2020	25/02/2020

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Hermann, Patrice

1

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 2012/093833 A1 (ALMAGRO JUAN CARLOS [US] ET AL) 19 avril 2012 (2012-04-19) résumé, [0006]-[0008], exemples 1-8 et revendications -----	1-19
X	Chiara Zecchin ET AL: "Quantitative modelling to assess target engagement and pharmacology in early clinical development of an anti-OSM humanised mAb", Abstracts of the Annual Meeting of the Population Approach Group in Europe, 1 janvier 2017 (2017-01-01), page 26, XP055633541, Extrait de l'Internet: URL:https://www.page-meeting.org/pdf_assets/6538-Zecchin_Zamuner_PAGE2017_2portrait_v2.pdf [extrait le 2019-10-17] le document en entier -----	1-19

1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/EP2019/086545

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 7858753 B2	28-12-2010	AR 048516 A1	03-05-2006
		AT 515515 T	15-07-2011
		AU 2005229457 A1	13-10-2005
		BR PI0509367 A	11-09-2007
		CA 2562953 A1	13-10-2005
		CY 1112192 T1	09-12-2015
		DK 1730191 T3	17-10-2011
		EP 1730191 A2	13-12-2006
		EP 2404935 A1	11-01-2012
		HK 1103747 A1	02-12-2011
		HR P20110657 T1	31-10-2011
		JP 4809828 B2	09-11-2011
		JP 2007530068 A	01-11-2007
		KR 20060135049 A	28-12-2006
		MA 28541 B1	03-04-2007
		NZ 550225 A	26-11-2010
		PE 20060287 A1	16-05-2006
		PL 1730191 T3	30-12-2011
		PT 1730191 E	04-10-2011
		RU 2009108147 A	20-09-2010
		RU 2009108148 A	20-09-2010
		RU 2009108149 A	20-09-2010
		RU 2011121419 A	10-12-2012
		SG 151292 A1	30-04-2009
		SI 1730191 T1	30-11-2011
		TW 200602079 A	16-01-2006
		US 2007286861 A1	13-12-2007
		US 2011245470 A1	06-10-2011
		WO 2005095457 A2	13-10-2005
WO 2012069433 A2	31-05-2012	AR 083937 A1	10-04-2013
		AU 2011333878 A1	09-05-2013
		BR 112013012627 A2	04-10-2016
		CA 2818534 A1	31-05-2012
		CL 2013001466 A1	27-06-2014
		CN 103328508 A	25-09-2013
		CO 6801627 A2	29-11-2013
		CY 1120448 T1	10-07-2019
		DK 2643352 T3	30-07-2018
		DO P2013000113 A	15-12-2013
		EA 201390537 A1	30-01-2014
		EP 2643352 A2	02-10-2013
		EP 3211009 A1	30-08-2017
		EP 3369744 A1	05-09-2018
		ES 2681949 T3	17-09-2018
		HR P20181092 T1	21-09-2018
		HU E039412 T2	28-12-2018
		JP 6351973 B2	04-07-2018
		JP 2014507373 A	27-03-2014
		JP 2017078072 A	27-04-2017
		KR 20130119948 A	01-11-2013
		KR 20180110199 A	08-10-2018
		LT 2643352 T	10-08-2018
		MA 34742 B1	03-12-2013
		ME 03069 B	20-01-2019
		MX 351887 B	01-11-2017
		NZ 610464 A	27-02-2015
		PE 20140519 A1	30-04-2014

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
		PL 2643352 T3	31-10-2018
		PT 2643352 T	01-08-2018
		SG 190232 A1	28-06-2013
		SG 10201500388P A	30-03-2015
		SI 2643352 T1	31-12-2018
		TR 201810773 T4	27-08-2018
		TW 201235358 A	01-09-2012
		UA 111954 C2	11-07-2016
		US 2013251724 A1	26-09-2013
		US 2015064201 A1	05-03-2015
		US 2017152312 A1	01-06-2017
		UY 33743 A	29-06-2012
		WO 2012069433 A2	31-05-2012
		ZA 201303541 B	26-11-2014
US 2015093391 A1	02-04-2015	US 2015093391 A1	02-04-2015
		US 2017196973 A1	13-07-2017
US 2012093833 A1	19-04-2012	AR 083418 A1	21-02-2013
		AU 2011313847 A1	02-05-2013
		BR 112013009083 A2	13-09-2016
		CA 2814652 A1	19-04-2012
		CN 103261223 A	21-08-2013
		EA 201390493 A1	28-02-2014
		EP 2627356 A2	21-08-2013
		JP 6216917 B2	25-10-2017
		JP 6490036 B2	27-03-2019
		JP 2013544076 A	12-12-2013
		JP 2017200465 A	09-11-2017
		JP 2019037239 A	14-03-2019
		KR 20130099989 A	06-09-2013
		MX 354095 B	12-02-2018
		RU 2013119957 A	20-11-2014
		SG 189322 A1	31-05-2013
		SG 10201600263Q A	26-02-2016
		TW 201239094 A	01-10-2012
		UA 118646 C2	25-02-2019
		US 2012093833 A1	19-04-2012
		US 2014099315 A1	10-04-2014
		US 2016009798 A1	14-01-2016
		US 2017145090 A1	25-05-2017
		US 2019092856 A1	28-03-2019
		UY 33670 A	31-05-2012
		WO 2012051111 A2	19-04-2012
		ZA 201303429 B	27-01-2016