



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201326201 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：101142331

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 13 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/71 (2006.01)

C07K19/00 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

C12Q1/68 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2011/11/14 美國

61/559,259

2012/03/28 美國

61/616,761

(71)申請人：戊瑞治療有限公司 (美國) FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：哈汀 湯瑪士 HARDING, THOMAS (GB)；沛藍夏 薩文多 PALENCIA,

SERVANDO (US)；龍 黎 LONG, LI (CA)；海斯德爾 凱文 HESTIR, KEVIN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：71 項 圖式數：22 共 183 頁

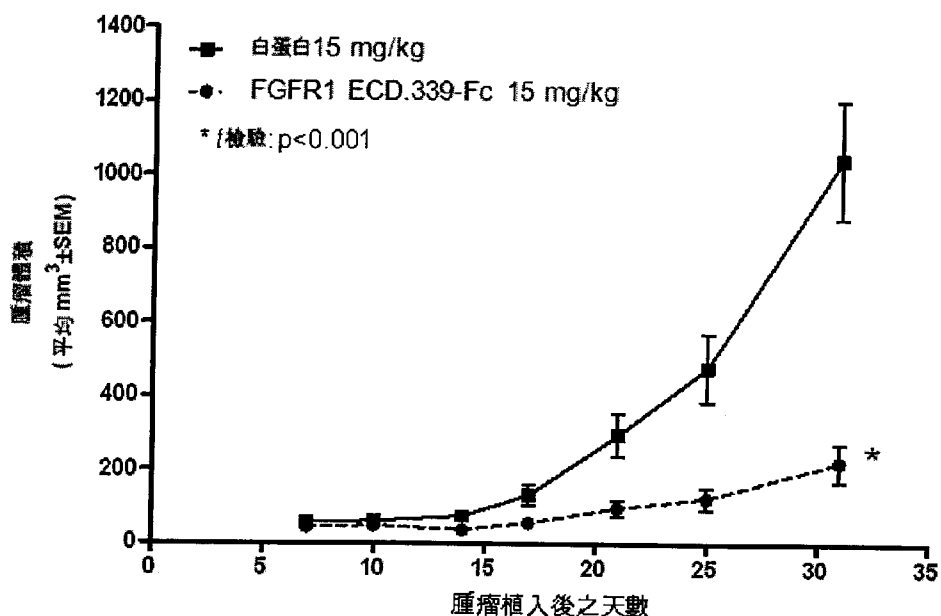
(54)名稱

治療癌症之方法

METHODS OF TREATING CANCER

(57)摘要

本發明提供治療包含 FGFR1 基因擴增之癌症的方法。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子與至少一種其他治療劑之組合。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201326201 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：101142331

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 13 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/71 (2006.01)

C07K19/00 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

C12Q1/68 (2006.01)

G01N33/68 (2006.01)

(30)優先權：2011/11/14 美國

61/559,259

2012/03/28 美國

61/616,761

(71)申請人：戊瑞治療有限公司 (美國) FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：哈汀 湯瑪士 HARDING, THOMAS (GB)；沛藍夏 薩文多 PALENCIA,

SERVANDO (US)；龍 黎 LONG, LI (CA)；海斯德爾 凱文 HESTIR, KEVIN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：71 項 圖式數：22 共 183 頁

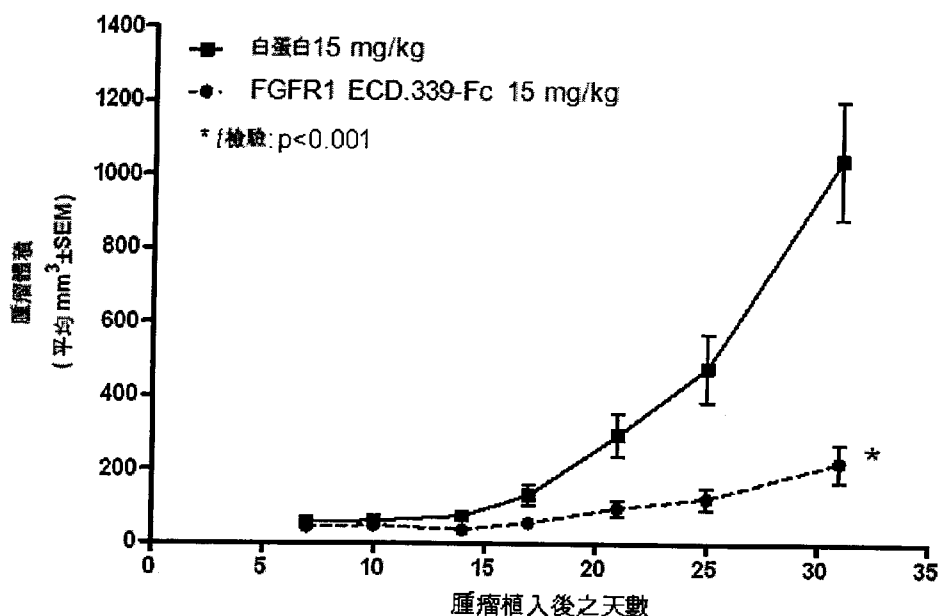
(54)名稱

治療癌症之方法

METHODS OF TREATING CANCER

(57)摘要

本發明提供治療包含 FGFR1 基因擴增之癌症的方法。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子與至少一種其他治療劑之組合。



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫；惟已有申請案號者請填寫)

※申請案號：101142331

※申請日期：101.11.13

※IPC 分類：C07K14/71 (2006.01)
C07K19/00 (2006.01)
A61K38/17 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)
C12Q1/68 (2006.01)
G01N33/68 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

治療癌症之方法/METHODS OF TREATING CANCER

二、中文發明摘要：

本發明提供治療包含 FGFR1 基因擴增之癌症的方法。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子。在一些實施例中，該等方法包括投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)及/或 FGFR1 ECD 融合分子與至少一種其他治療劑之組合。

三、英文發明摘要：

Methods of treating cancers comprising FGFR1 gene amplification are provided. In some embodiments, the methods comprise administering a fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) extracellular domain (ECD) and/or an FGFR1 ECD fusion molecule. In some embodiments, the methods comprise administering a fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) extracellular domain (ECD) and/or an FGFR1 ECD fusion molecule in combination with at least one additional therapeutic agent.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (7) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

本申請案主張 2011 年 11 月 14 日申請之美國臨時申請案第 61/559,259 號；及 2012 年 3 月 28 日申請之美國臨時申請案第 61/616,761 號的權益，該等臨時申請案出於任何目的以全文引用的方式併入本文中。

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於治療癌症之方法。

【先前技術】

纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)之可溶性形式已顯示可在活體外及活體內抑制腫瘤細胞生長。參見例如美國專利第 7,678,890 號。在有些情況下，抗癌療法之功效視所靶向之癌症的遺傳組成而定。

【發明內容】

本發明者已證實在一些實施例中，某些包含 *FGFR1* 基因擴增之癌症對涉及投與纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之療法的反應性大於不包含 *FGFR1* 基因擴增之癌症。在一些實施例中，具有 FGFR1 過度表現之癌症對涉及投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之療法的反應性大於不具有 FGFR1 過度表現之癌症。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。在一些實施例中，具有纖維母細胞生長因子受體 3 同功異型物 IIIc(FGFR3IIIc)過度表現之癌症對涉及投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之療法的反應性

大於不具有 *FGFR3IIIc* 過度表現之癌症。在一些實施例中，具有纖維母細胞生長因子 2(*FGF2*)過度表現之癌症對涉及投與 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子之療法的反應性大於不具有 *FGF2* 過度表現之癌症。在一些實施例中，具有 *dickkopf* 相關蛋白 3(*DKK3*)過度表現之癌症對涉及投與 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子之療法的反應性大於不具有 *DKK3* 過度表現之癌症。在一些實施例中，具有 *ETS* 易位變異體 4(*ETV4*)過度表現之癌症對涉及投與 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子之療法的反應性大於不具有 *ETV4* 過度表現之癌症。在一些實施例中，具有 *FGF18* 過度表現之癌症對涉及投與 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子之療法的反應性大於不具有 *FGF18* 過度表現之癌症。

在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(*ECD*)或 *FGFR1 ECD* 融合分子，其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(*ECD*)或 *FGFR1 ECD* 融合分子，其中在投與 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 *FGFR1* 基因擴增，且其中癌症中之 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 *FGFR1 ECD* 或 *FGFR1 ECD* 融合分子有治療反應性。

在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增之肺癌的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(ECD)或 *FGFR1* ECD 融合分子，其中 *FGFR1* 基因擴增指示該肺癌對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之肺癌的方法包括投與該個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(ECD)或 *FGFR1* ECD 融合分子，其中在投與 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子之前，該肺癌之至少一部分細胞已確定具有 *FGFR1* 基因擴增，且其中癌症中之 *FGFR1* 基因擴增指示該肺癌對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，肺癌為小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為非小細胞肺癌。

在一些實施例中，癌症之至少一部分細胞包含 *FGFR1* 基因之至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少八個或至少十個拷貝。在一些實施例中，癌症之至少一部分細胞所具有的 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 1.5、至少 2、至少 2.5、至少 3、至少 3.5 或至少 4。

在包括上述任何實施例之一些實施例中，癌症可過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記。在一些實施例中，癌症可過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或五種選自 *FGFR1*、

FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之標記。在一些實施例中，癌症可過度表現 ETV4。在包括上述任何實施例之一些實施例中，癌症可過度表現來自下表 10 中之任一行的基因 1 及基因 2 或其任何組合。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。在包括上述任何實施例之一些實施例中，FGFR1 基因可經擴增。

在一些實施例中，提供治療癌症之方法，該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。在一些實施例中，至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記過度表現指示該癌症對纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，方法包括投與患有癌症之個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記，且其中癌症中至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、

FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該癌症亦具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，具有 FGFR1 基因擴增之癌症的至少一部分細胞包含 FGFR1 基因之至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個或至少八個拷貝。在一些實施例中，過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

在一些實施例中，治療具有 FGFR1 過度表現之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGFR1 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 FGFR1 過度表現，且其中癌症中之 FGFR1 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，FGFR1 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，FGFR1 mRNA 過度表現係藉由定量

RT-PCR 來測定。在一些實施例中，FGFR1 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，FGFR1 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

在一些實施例中，治療具有 FGFR3IIIc 過度表現之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGFR3IIIc 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 FGFR3IIIc 過度表現，且其中癌症中之 FGFR3IIIc 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，FGFR3IIIc 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，FGFR3IIIc mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，FGFR3IIIc 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，FGFR3IIIc 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，具有 FGFR3IIIc 過度表現之癌症係選自膀胱癌、腎細胞癌、頭頸部鱗狀癌及結腸直腸癌。

在一些實施例中，治療具有 FGF2 過度表現之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體

1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGF2 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 FGF2 過度表現，且其中癌症中之 FGF2 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，FGF2 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，FGF2 mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，FGF2 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，FGF2 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，具有 FGF2 過度表現之癌症係選自膠質母細胞瘤、腎細胞癌及肝細胞癌。

在一些實施例中，治療具有 DKK3 過度表現之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 DKK3 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 DKK3 過度表現，且其中癌症中之 DKK3 過度表現指示

該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，DKK3 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，DKK3 mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，DKK3 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，DKK3 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，具有 DKK3 過度表現之癌症係選自胰臟癌、前列腺癌、腎細胞癌、肺腺癌、肝細胞癌及結腸直腸癌。

在一些實施例中，治療具有 FGF18 過度表現之癌症的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGF18 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 FGF18 過度表現，且其中癌症中之 FGF18 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，FGF18 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，FGF18 mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，FGF18 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，FGF18 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。

在一些實施例中，治療具有 ETV4 過度表現之癌症的方

法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 ETV4 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 ETV4 過度表現，且其中癌症中之 ETV4 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，ETV4 過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，ETV4 mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，ETV4 過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，ETV4 蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。

在一些實施例中，治療具有 FGFR1 過度表現之肺癌的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGFR1 過度表現指示該肺癌對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之肺癌的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該肺癌之至少一部分細胞已確定具有 FGFR1 過度表現，且其中癌症中之 FGFR1 過度表現指示該肺癌對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反

應性。在一些實施例中，該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，肺癌為小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為非小細胞肺癌。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

在一些實施例中，治療具有 FGF2 過度表現之肺癌的方法包括投與個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGF2 過度表現指示該肺癌對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，治療個體之肺癌的方法包括投與該個體治療有效量之 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該肺癌之至少一部分細胞已確定具有 FGF2 過度表現，且其中癌症中之 FGF2 過度表現指示該肺癌對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。在一些實施例中，肺癌為小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌不具有 FGFR1 基因擴增。

在一些實施例中，治療具有 FGFR1 基因擴增之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子及至少一種其他治療劑。在一些實施例中，治療過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子及至少

一種其他治療劑。在一些實施例中，至少一種其他治療劑係選自多烯紫杉醇 (docetaxel)、太平洋紫杉醇 (paclitaxel)、長春新鹼 (vincristine)、卡鉑 (carboplatin)、順鉑 (cisplatin)、奧沙利鉑 (oxaliplatin)、小紅莓 (doxorubicin)、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、甲醯四氫葉酸 (leucovorin)、培美曲塞 (pemetrexed)、依託泊苷 (etoposide)、拓撲替康 (topotecan)、索拉非尼 (sorafenib)、VEGF 拮抗劑、VEGF 捕捉劑 (VEGF trap)、抗 VEGF 抗體及貝伐單抗 (bevacizumab)。在一些實施例中，至少一種其他治療劑為多烯紫杉醇。在一些實施例中，癌症為非小細胞肺癌。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子及至少兩種其他治療劑。在一些實施例中，治療過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子及至少兩種其他治療劑。在一些實施例中，至少兩種其他治療劑係選自多烯紫杉醇、太平洋紫杉醇、長春新鹼、卡鉑、順鉑、奧沙利鉑、小紅莓、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、甲醯四氫葉酸、培美曲塞、依託泊苷、拓撲替康、索拉非尼、VEGF 拮抗劑、VEGF 捕捉劑、抗 VEGF 抗體及貝伐單抗。在一些實施例中，兩種其他治療劑為太平洋紫杉醇及卡鉑。在一些實施例中，兩種其他治療劑為小紅莓及太平洋紫

杉醇。在一些實施例中，兩種其他治療劑為順鉑及依託泊苷。在一些實施例中，兩種其他治療劑為奧沙利鉑及5-FU。在一些實施例中，兩種其他治療劑為5-FU及甲醯四氫葉酸。在一些實施例中，兩種其他治療劑為5-FU及貝伐單抗。在一些實施例中，兩種其他治療劑為太平洋紫杉醇及貝伐單抗。在一些實施例中，癌症為非小細胞肺癌。

在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症的方法包括投與 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子及至少三種其他治療劑。在一些實施例中，治療過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記之癌症的方法包括投與 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子及至少三種其他治療劑。在一些實施例中，至少三種其他治療劑係選自多烯紫杉醇、太平洋紫杉醇、長春新鹼、卡鉑、順鉑、奧沙利鉑、小紅莓、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲醯四氫葉酸、培美曲塞、依託泊苷、拓撲替康、索拉非尼、VEGF 拮抗劑、VEGF 捕捉劑、抗 VEGF 抗體及貝伐單抗。在一些實施例中，三種其他治療劑為奧沙利鉑、5-FU 及甲醯四氫葉酸。在一些實施例中，三種其他治療劑為貝伐單抗、5-FU 及甲醯四氫葉酸。

在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增及/或過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記

之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD。在一些該等實施例中，FGFR1 ECD 包含選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之胺基酸序列。在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增及/或 *FGFR1* 過度表現及/或 *FGF2* 過度表現及/或 *DKK3* 過度表現及/或 *FGF18* 過度表現及/或 *ETV4* 過度表現之癌症的方法包括投與 FGFR1 ECD 融合分子，其中 FGFR1 ECD 融合分子包含 FGFR1 ECD 及至少一種融合夥伴。在一些實施例中，至少一種融合夥伴係選自 Fc、白蛋白及聚乙二醇。在一些實施例中，至少一種融合夥伴為 Fc。在一些實施例中，Fc 包含選自 SEQ ID NO: 8 至 10 之胺基酸序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子包含選自 SEQ ID NO: 5 及 SEQ ID NO: 6 之序列。在一些實施例中，至少一種融合夥伴為 Fc 及聚乙二醇。在一些實施例中，至少一種融合夥伴為聚乙二醇。在一些實施例中，融合分子在 FGFR1 ECD 與一或多種融合夥伴之間包含連接子。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子為 FGFR1 ECD.339-Fc。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子經糖基化及/或唾液酸化。在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之多肽部分係於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中表現。在一些實施例中，FGFR1 ECD 包含選自 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之量處於每公斤體重約 0.5 mg 至每公斤體重約 30 mg 之範圍內，諸如量處於每公斤體重約 8 至約 16 mg 之範圍內。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之治療有效量為每公斤體重約 8 mg 之劑量。在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之治療有效量為每公斤體重約 16 mg 之劑量。在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之治療有效量為每公斤體重約 20 mg 之劑量。在一些實施例中，劑量可每週兩次、每週一次、每隔一週一次、以介於每週一次與每隔一週一次之間的頻率、每三週一次、每四週一次或每月一次投與。

在某些實施例中，癌症為前列腺癌、乳癌、結腸直腸癌、肺癌、腦癌、卵巢癌、子宮內膜癌、食道癌、頭頸部癌、喉癌、肝癌、腎癌、膠質母細胞瘤或胰臟癌。在某些實施例中，癌症為乳癌、食道癌、腎癌、頭頸部癌或肺癌。在某些實施例中，癌症為肺癌。在一些實施例中，肺癌為非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症為頭頸部癌。在一些實施例中，頭頸部癌為頭頸部之鱗狀細胞癌。

在一些實施例中，提供鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法。在一些實施例中，方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否包含 *FGFR1* 基因擴增，其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，*FGFR1* 基因擴增係藉由選自螢光原位雜交、陣列比較基因組雜交、DNA 微陣

列、光譜核型分析、定量 PCR、南方墨點法或定序的方法來測定。

在一些實施例中，提供鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法。在一些實施例中，方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記，其中過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之標記。在一些實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否過度表現 ETV4。在包括上述任何實施例之一些實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否過度表現來自下表 10 中之任一行的基因 1 及基因 2 或其任何組合。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。在一些實施例中，過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在包括上述任何實施例之一些實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否具有

FGFR1 基因擴增。

在一些實施例中，提供鑒別可受益於投與 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法。在一些實施例中，方法包括確定自個體獲得之樣品中的至少一部分癌細胞是否過度表現 *FGF2*，其中過度表現指示該癌症對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，mRNA 過度表現係藉由定量 RT-PCR 來測定。在一些實施例中，過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，蛋白質過度表現係藉由免疫組織化學來測定。在一些實施例中，該癌症經測定不具有 *FGFR1* 基因擴增。在一些實施例中，癌症為肺癌。在一些實施例中，癌症為非小細胞肺癌或小細胞肺癌。

本文所述之任何實施例或其任何組合適用於本文所述本發明之任何及所有方法。

【實施方式】

本文所用之章節標題僅用於組織目的而不視為限制所述標的物。

定義

除非另外定義，否則結合本發明使用之科學及技術術語應具有為一般技術者通常所瞭解之含義。此外，除非上下文另外要求，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。

結合重組 DNA、寡核苷酸合成、組織培養及轉型(例如電穿孔、脂質體轉染)、酶促反應及純化技術所用之某些技術在此項技術中為已知的。許多此類技術及程序描述於例如 Sambrook 等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)) 中以及其他處。另外, 化學合成、化學分析、醫藥製備、調配及傳遞以及治療患者之某些技術在此項技術中亦為已知的。

在本申請案中, 除非另外說明, 否則「或」之使用意謂「及/或」。在多重附屬項的情況下, 使用「或」僅以擇一方式回引超過一個前述獨立項或附屬項。並且, 除非另外特定說明, 否則諸如「元件」或「組件」之術語涵蓋包含一個單元之元件及組件以及包含超過一個次單元之元件及組件。

如本文所用之所有數字皆為近似值, 且可能因量測誤差及有效數位舍入而改變。在某些所量測之量前使用「約」包括因樣品雜質、量測誤差、人為誤差及統計變異以及有效數位舍入而出現的變化。

除非另外指示, 否則應瞭解如根據本發明所使用之以下術語具有以下含義:

術語「核酸分子」與「聚核苷酸」可互換使用, 且係指核苷酸之聚合物。該等核苷酸聚合物可含有天然及/或非天然核苷酸, 且包括(但不限於)DNA、RNA 及 PNA。

「核酸序列」係指包含核酸分子或聚核苷酸之線性核苷酸序列。

術語「多肽」與「蛋白質」可互換地用以表示胺基酸殘基之聚合物且不限於最小長度。該等胺基酸殘基聚合物可含有天然或非天然胺基酸殘基，且包括(但不限於)肽、寡肽、胺基酸殘基之二聚體、三聚體及多聚體。全長蛋白質及其片段皆由該定義所涵蓋。該術語亦包括多肽之表現後修飾，例如糖基化、唾液酸化、乙醯化、磷酸化及其類似修飾。此外，出於本發明之目的，「多肽」係指如下蛋白質，該蛋白質包括對原生序列之修飾，諸如缺失、添加及取代(性質上一般為保守的)，只要該蛋白質維持所需活性即可。此等修飾可為有意的，如經由定點突變誘發，或可為意外的，諸如經由產生蛋白質之宿主突變或歸因於 PCR 擴增之誤差。當多肽「由特定胺基酸序列組成」時，其可能仍含有轉譯後修飾，諸如糖基化及唾液酸化。

術語「**FGFR1 細胞外域**」(「**FGFR1 ECD**」)包括全長 **FGFR1 ECD**、**FGFR1 ECD** 片段及 **FGFR1 ECD** 變異體。如本文所用之術語「**FGFR1 ECD**」係指缺乏細胞內域及跨膜域且具有或不具有信號肽之 **FGFR1** 多肽。在一些實施例中，**FGFR1 ECD** 為具有選自 SEQ ID NO: 1 及 2 之胺基酸序列的人類全長 **FGFR1 ECD**。如本文所用之術語「全長 **FGFR1 ECD**」係指延伸至細胞外域最後一個胺基酸的 **FGFR1 ECD**，且可能包括或可能不包括 N 端信號肽。如本文所定義，全

長 FGFR1 ECD 之最後一個胺基酸處於位置 353 上。因此，人類全長 FGFR1 ECD 可由對應於 SEQ ID NO.: 2(成熟形式)或對應於 SEQ ID NO.: 1(具有信號肽)之胺基酸序列組成。如本文所用之術語「**FGFR1 ECD 片段**」係指一或多個殘基自全長 ECD 之 N 端及/或 C 端缺失且保留結合 FGF-2 之能力的 FGFR1 ECD。FGFR1 ECD 片段可能包括或可能不包括 N 端信號肽。在一些實施例中，FGFR1 ECD 片段為具有對應於 SEQ ID NO.: 4(成熟形式)或對應於 SEQ ID NO.: 3(具有信號肽)之胺基酸序列的人類 FGFR1 ECD 片段。

如本文所用之術語「**FGFR1 ECD 變異體**」係指含有胺基酸添加、缺失及取代且仍能夠結合 FGF-2 之 FGFR1 ECD。該等變異體可與親本 FGFR1 ECD 至少 90%、92%、95%、97%、98%或 99%一致。兩個多肽之一致性百分比可藉由使用用於測定相似性之具有預設設置的 Bestfit 程式比較兩個多肽之胺基酸序列所測得之相似性得分來量測。Bestfit 使用 Smith 及 Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981)之局部同源算法來找出兩個序列之間具相似性之最佳區段。在一些實施例中，FGFR1 ECD 變異體與序列 SEQ ID NO: 4 至少 95%一致。

胺基酸序列與 FGFR1 ECD 多肽之參考胺基酸序列至少例如 95%一致的多肽為如下多肽，其中該多肽之胺基酸序列與參考序列一致，例外為該多肽序列可能包括該參考多肽之每各 100 個胺基酸至多五處胺基酸改變。換言之，為了獲得胺基酸序列與參考胺基酸序列至少 95%一

致之多肽，參考序列中之至多 5% 胺基酸殘基可缺失或經另一胺基酸取代，或一定數目之胺基酸(參考序列中胺基酸殘基總數之至多 5%)可插入至參考序列中。參考序列之此等改變可存在於參考胺基酸序列之 N 端或 C 端位置上或該等末端位置之間的任何地方，在參考序列中之各殘基間個別地散佈或在參考序列內以一或多個連續群組形式散佈。

實際上，通常可使用已知電腦程式(諸如 Bestfit 程式)來確定任何特定多肽是否與例如由序列表中所述之核酸序列編碼之胺基酸序列或多肽序列至少 70%、80%、90% 或 95% 一致。當使用 Bestfit 或其他序列比對程式來確定特定序列是否與本發明之參考序列例如 95% 一致時，參數當然設定成使得在參考胺基酸序列之全長上計算一致性百分比且允許參考序列中胺基酸殘基總數之至多 5% 的同源性方面之空隙。

如本文所用之術語「hFGFR1-ECD.353」與「hFGFR1.353」可互換地用以表示對應於 SEQ ID NO: 1(具有信號肽)或對應於 SEQ ID NO: 2(無信號肽；成熟形式)之全長人類 FGFR1 ECD。

如本文所用之術語「hFGFR1-ECD.339」與「hFGFR1.339」可互換地用以表示對應於 SEQ ID NO: 3(具有信號肽)或對應於 SEQ ID NO: 4(無信號肽；成熟形式)之人類 FGFR1 ECD。

其他 hFGFR1 ECD 描述於例如美國專利第 7,678,890 號

中，該專利出於任何目的以全文引用之方式併入本文中。

術語「**FGFR1 ECD 融合分子**」係指包含 FGFR1 ECD 及一或多種「**融合夥伴**」之分子。在一些實施例中，FGFR1 ECD 與融合夥伴共價連接（「**融合**」）。若融合夥伴亦為多肽（「**融合夥伴多肽**」），則 FGFR1 ECD 及融合夥伴多肽可為連續胺基酸序列的一部分，且融合夥伴多肽可連接至 FGFR1 ECD 之 N 端或 C 端。在該等狀況下，FGFR1 ECD 及融合夥伴多肽可自編碼 FGFR1 ECD 及融合夥伴多肽兩者之編碼序列轉譯成單個多肽（「**FGFR1 ECD 融合蛋白**」）。在一些實施例中，FGFR1 ECD 與融合夥伴經由其他方式（諸如除肽鍵以外之化學鍵聯）共價連接。可使用將多肽共價連接至其他分子（例如融合夥伴）之多種已知方法。在其他實施例中，FGFR1 ECD 與融合夥伴可經由包含至少一個胺基酸或化學部分之「**連接子**」融合。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 多肽與融合夥伴係非共價連接。在一些該等實施例中，其可例如使用結合對連接。示範性結合對包括（但不限於）生物素與抗生物素蛋白或抗生蛋白鏈菌素、抗體與其抗原等。

示範性融合夥伴包括（但不限於）免疫球蛋白 Fc 域、白蛋白及聚乙二醇。一些示範性 Fc 域之胺基酸序列展示於 SEQ ID NO: 8 至 10 中。在一些實施例中，融合至 Fc 之 FGFR1 ECD 係稱為「**hFGFR1 ECD-Fc**」。在一些實施例中，Fc 域係選自 IgG1 Fc、IgG2 Fc、IgG3 Fc 及 IgG4 Fc。

如本文所用之術語「**hFGFR1-ECD.339-Fc**」與

「hFGFR1.339-Fc」可互換地用以表示選自 SEQ ID NO: 6(無信號肽，成熟形式)及 SEQ ID NO: 5(具有信號肽)之胺基酸序列。可用 hFGFR1-ECD.339-Fc 治療之非限制性示範性癌症包括(但不限於)肺癌、結腸癌、乳癌、胃癌、頭頸部癌、前列腺癌、子宮內膜癌、肉瘤、小細胞肺癌、卵巢癌、卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma)、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、白血病、非霍奇金氏淋巴瘤、神經母細胞瘤(腦癌)、橫紋肌肉瘤、韋爾姆斯氏腫瘤(Wilms' tumor)、急性淋巴母細胞性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、膀胱癌、睪丸癌、淋巴瘤、生殖細胞腫瘤、結腸及直腸癌症、胃腸癌、甲狀腺癌、多發性骨髓瘤、胰臟癌、間皮瘤、惡性胸膜間皮瘤、血癌/淋巴瘤、惡性腹膜間皮瘤、食道癌、腎細胞癌、多形性膠質母細胞瘤及肝癌。

術語「信號肽」係指位於多肽之 N 端上且促進多肽自哺乳動物細胞分泌的胺基酸殘基序列。信號肽可在多肽自哺乳動物細胞中排出時裂解，從而形成成熟蛋白質。信號肽可為天然或合成的，且其可與其所連接之蛋白質異源或同源。示範性信號肽包括(但不限於)FGFR1 信號肽，諸如胺基酸序列 SEQ ID NO: 7。示範性信號肽亦包括來自異源蛋白質之信號肽。「信號序列」係指編碼信號肽之聚核苷酸序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 缺乏信號肽。在一些實施例中，FGFR1 ECD 包括至少一個信號肽，該信號肽可為原生 FGFR1 信號肽或異源信號肽。

術語「載體」用於描述可經工程改造而含有一或多個可在宿主細胞中增殖之選殖聚核苷酸的聚核苷酸。載體可包括以下一或多種元件：複製起點、一或多種調節相關多肽表現之調節序列(諸如啟動子及/或強化子)及/或一或多種可選擇標記基因(諸如抗生素抗性基因及可用於比色分析之基因，例如 β -半乳糖苷酶)。術語「表現載體」係指用於在宿主細胞中表現相關多肽的載體。

「宿主細胞」係指可為或已為載體或分離之聚核苷酸之接受者的細胞。宿主細胞可為原核細胞或真核細胞。示範性真核細胞包括哺乳動物細胞，諸如靈長類動物或非靈長類動物細胞；真菌細胞；植物細胞；及昆蟲細胞。示範性哺乳動物細胞包括(但不限於)293 及 CHO 細胞，及其衍生細胞，分別為諸如 293-6E 及 DG44 細胞。

如本文所用之術語「分離的」係指如下分子，該分子已與在自然界中通常伴隨其一起發現之至少一些組分分離。舉例而言，當多肽與產生其之細胞的至少一些組分分離時，該多肽係稱為「分離的」。在多肽在表現後由細胞分泌的情況下，以物理方式自產生該多肽之細胞分離含有該多肽之上清液係視作「分離」該多肽。同樣，當聚核苷酸不為在自然界中通常於當中發現其之較大聚核苷酸(在 DNA 聚核苷酸之狀況下為諸如基因組 DNA 或粒線體 DNA)的一部分，或例如在 RNA 聚核苷酸之狀況下與產生其之細胞之至少一些組分分離時，該聚核苷酸係稱為「分離的」。因此，在宿主細胞內部載體中所含之 DNA

聚核苷酸可稱為「分離的」，只要在自然界中在該載體中未發現該聚核苷酸即可。

術語「抗贅生性組合物」係指包含至少一種活性治療劑(例如「抗癌劑」)之適用於治療癌症之組合物。治療劑(抗癌劑)之實例包括(但不限於)例如化學治療劑、生長抑制劑、細胞毒性劑、用於放射療法中之藥劑、抗血管生成劑、細胞凋亡劑、抗微管蛋白劑及其他治療癌症之藥劑，諸如抗 VEGF 抗體(例如貝伐單抗、AVASTIN[®])、抗 HER-2 抗體(例如曲妥珠單抗(trastuzumab)、HERCEPTIN[®])、抗 CD20 抗體(例如利妥昔單抗(rituximab)、RITUXAN[®])、表皮生長因子受體(EGFR)拮抗劑(例如酪胺酸激酶抑制劑)、HER1/EGFR 抑制劑(例如埃羅替尼(erlotinib)、TARCEVA[®])、血小板衍生生長因子抑制劑(例如 GLEEVEC[®]、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)))、COX-2 抑制劑(例如塞內昔布(celecoxib))、干擾素、細胞激素、結合以下目標 ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR- β 、BlyS、APRIL、BCMA 或 VEGF 受體中之一或多者的拮抗劑(例如中和抗體)、TRAIL/Apo2，及其他生物活性及有機化學劑等。在本發明中亦包括其組合。

「化學治療劑」係指適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如硫替派(thiotepa)及環磷醯胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN[®])；磺酸烷酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶(aziridine)，諸如苯唑多巴

(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；伸乙基亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺(altretamine)、三伸乙基三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺；乙醯精寧(acetogenin)(尤其為布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))； δ -9-四氫大麻酚(屈大麻酚(dronabinol)、MARINOL®)； β -拉帕醌(beta-lapachone)；拉帕醇(lapachol)；秋水仙鹼(colchicine)；樺木酸；喜樹鹼(camptothecin)(包括合成類似物拓撲替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康(irinotecan)、CAMPTOSAR®)、乙醯基喜樹鹼、莨菪亭(scopolectin)及9-胺基喜樹鹼)；苔蘚蟲素(bryostatin)；卡利斯他汀(callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)及比折來新(bizelesin)合成類似物)；鬼臼毒素(podophyllotoxin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；替尼泊苷(teniposide)；念珠藻環肽(cryptophycin)(尤其為念珠藻環肽 1 及念珠藻環肽 8)；海兔毒素(dolastatin)；多卡黴素(duocarmycin)(包括合成類似物 KW-2189 及 CB1-TM1)；艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；沙考地汀(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥，諸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)、荼氮芥(chlornaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、氧化二氯甲基二乙胺鹽酸鹽、美

法倫 (melphalan)、新恩比興 (novembichin)、芬司特瑞 (phenesterine)、潑尼莫司汀 (prednimustine)、曲洛磷胺 (trofosfamide)、尿嘧啶氮芥 (uracil mustard)；亞硝基脲，諸如卡莫司汀 (carmustine)、氯脲菌素 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、洛莫司汀 (lomustine)、尼莫司汀 (nimustine) 及拉甯司汀 (ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素 (例如刺孢黴素 (calicheamicin)，尤其刺孢黴素 γ 11 及刺孢黴素 ω 11 (參見例如 Nicolaou 等人, *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994))；CDP323、口服 α -4 整合素抑制劑；達內黴素 (dynemicin)，包括達內黴素 A；埃斯培拉黴素 (esperamicin)；以及新製癌菌素 (neocarzinostatin) 發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素 (aclacinomycin)、放線菌素 (actinomycin)、胺苄黴素 (authramycin)、重氮絲胺酸 (azaserine)、博來黴素 (bleomycin)、放線菌素 C (cactinomycin)、卡柔比星 (carabycin)、洋紅黴素 (carminomycin)、嗜癌菌素 (carzinophilin)、色黴素 (chromomycin)、更生黴素 (dactinomycin)、道諾黴素 (daunorubicin)、地托比星 (detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓 (包括 ADRIAMYCIN®、N-嗎啉基-小紅莓、氰基 (N-嗎啉基)-小紅莓、2-(N-吡咯啉基)-小紅莓、鹽酸小紅莓脂質體注射劑 (DOXIL®)、脂質體小紅莓 TLC D-99 (MYOCET®)、聚乙二醇化脂質體小紅莓 (CAELYX® 及去氧小紅莓)、表柔比星 (epirubicin)、依索比星

(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)(諸如絲裂黴素 C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、泊非黴素(porfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)、吉西他濱(gemcitabine)(GEMZAR®)、培美曲塞(ALIMTA®)；喃氟啶(tegafur)(UFTORAL®)、卡培他濱(capecitabine)(XELODA®)、埃博黴素(epothilone)及 5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紫胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺

素，諸如胺魯米特 (aminoglutethimide)、米托坦 (mitotane)、曲洛司坦 (trilostane)；葉酸補充劑，諸如夫羅林酸 (frolinic acid)；醋葡醛內酯 (aceglatone)；醛磷醯胺糖苷 (aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸；乙炔尿嘧啶 (eniluracil)；安吡啶 (amsacrine)；倍思塔布 (bestrabucil)；比生群 (bisantrene)；艾達曲克 (edatraxate)；得弗伐胺 (defofamine)；秋水仙胺 (demecolcine)；地吡醯 (diaziquone)；艾弗利散 (elfornithine)；依利醋銨 (elliptinium acetate)；埃博黴素；依託格魯 (etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；香菇多糖 (lentinan)；羅尼達寧 (lonidainine)；類美登素 (maytansinoid)，諸如美登素及安絲菌素 (ansamitocin)；米托胍脲 (mitoguazone)；米托蒽醯 (mitoxantrone)；莫哌達醇 (mopidanmol)；尼曲吡啶 (nitraerine)；噴司他丁 (pentostatin)；噴那美特 (phenamet)；吡柔比星 (pirarubicin)；洛索蒽醯 (losoxantrone)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼 (procarbazine)；PSK® 多醣複合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR)；雷佐生 (razoxane)；根瘤菌素 (rhizoxin)；西佐喃 (sizofiran)；鍺螺胺 (spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸 (tenuazonic acid)；三亞胺醯 (triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；單端孢黴烯族毒素 (trichothecene)(尤其為 T-2 毒素、黏液黴素 A (verrucarin A)、桿孢菌素 A (roridin A) 及胺癸汀 (anguidine))；烏拉坦 (urethan)；長春地辛 (vindesine)(ELDISINE®、FILDESIN®)；

達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二
 溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊
 溴烷(pipobroman)；甲托辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷
 (arabinoside)(「Ara-C」)；噻替派；紫杉烷，例如太平洋
 紫杉醇(TAXOL®)、經白蛋白工程改造之太平洋紫杉醇奈
 米粒子調配物(ABRAXANE™)及多烯紫杉醇(TAXOTERE®)；
 苯丁酸氮芥；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺喋呤；鉑劑，
 諸如順鉑、奧沙利鉑(例如 ELOXATIN®)及卡鉑；長春花，
 其防止微管蛋白聚合形成微管，包括長春鹼
 (vinblastine)(VELBAN®)、長春新鹼(ONCOVIN®)、長春地
 辛 (ELDISINE® 、 FILDESIN®) 及 長 春 瑞 濱
 (vinorelbine)(NAVELBINE®)；依託泊苷(VP-16)；異環磷
 胺；米托蒽醌；甲醯四氫葉酸；諾消靈(novantrone)；依
 達曲沙(edatrexate)；道諾黴素(daunomycin)；胺基喋呤；
 伊班膦酸鹽(ibandronate)；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；
 二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素，諸如視黃酸，包括
 蓓薩羅丁(bexarotene)(TARGRETIN®)；雙膦酸鹽，諸如氯
 屈膦酸鹽(clodronate)(例如 BONEFOS®或 OSTAC®)、依替
 膦酸鹽(etidronate)(DIDROCAL®)、NE-58095、唑來膦酸
 (zoledronic acid)/唑來膦酸鹽(ZOMETA®)、阿倫膦酸鹽
 (alendronate)(FOSAMAX®) 、 帕 米 膦 酸 鹽
 (pamidronate)(AREDIA®) 、 替 魯 膦 酸 鹽
 (tiludronate)(SKELID®) 或 利 塞 膦 酸 鹽
 (risedronate)(ACTONEL®)；曲沙他濱(troxacitabine)(1,3-

二氧雜環戊烷核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其為抑制牽涉異常細胞增殖之信號傳導路徑中之基因(諸如 PKC- α 、Raf、H-Ras 及表皮生長因子受體(EGF-R))表現的反義寡核苷酸；疫苗，諸如 THERATOPE[®]疫苗及基因療法疫苗，例如 ALLOVECTIN[®]疫苗、LEUVECTIN[®]疫苗及 VAXID[®]疫苗；拓撲異構酶 1 抑制劑(例如 LURTOTECAN[®])；rmRH(例如 ABARELIX[®])；BAY439006(索拉非尼、NEXAVAR[®]；Bayer)；SU-11248(舒尼替尼(sunitinib)、SUTENT[®], Pfizer)；哌立福新(perifosine)、COX-2 抑制劑(例如塞內昔布(celecoxib)或依他昔布(etoricoxib))、蛋白酶體抑制劑(例如 PS341)；波普單抗(bortezomib)(VELCADE[®])；CCI-779；替吡法尼(tipifarnib)(R11577)；索拉非尼、ABT510；Bcl-2 抑制劑，諸如奧利默森鈉(GENASENSE[®])；匹克生瓊(pixantrone)；EGFR 抑制劑(參見以下定義)；酪胺酸激酶抑制劑(參見以下定義)；絲胺酸-酰胺酸激酶抑制劑，諸如雷帕黴素(rapamycin)(西羅莫司(sirrolimus)、RAPAMUNE[®])；法呢基轉移酶抑制劑，諸如洛那法尼(lonafarnib)(SCH 6636、SARASARTM)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合，諸如 CHOP(為環磷醯胺、小紅莓、長春新鹼及潑尼龍(prednisolone)之組合療法的縮寫)；及 FOLFOX(為使用奧沙利鉑(ELOXATIN[®])與 5-FU 及甲醯四氫葉酸組合之治療方案的縮寫)。

如本文所定義之化學治療劑包括「抗激素劑」或「內

分泌治療劑」，其用以調節、降低、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素的作用。其可為激素本身，包括(但不限於)：具有混合之促效劑/拮抗劑特徵之抗雌激素劑，包括他莫昔芬(tamoxifen)(NOLVADEX®)、4-羥基他莫昔芬、托瑞米芬(toremifene)(FARESTON®)、艾多昔芬(idoxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、雷洛昔芬(raloxifene)(EVISTA®)、曲沃昔芬(trioxifene)、鹽酸雷洛昔芬(keoxifene)及選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，諸如 SERM3；無促效劑特性之純抗雌激素劑，諸如氟維司群(fulvestrant)(FASLODEX®)及 EM800(該等藥劑可阻斷雌激素受體(ER)二聚化、抑制 DNA 結合、增加 ER 轉換及/或抑制 ER 含量)；芳香酶抑制劑，包括類固醇芳香酶抑制劑，諸如福米斯坦(formestane)及依西美坦(exemestane)(AROMASIN®)，及非類固醇芳香酶抑制劑，諸如安美達錠(anastrozole)(ARIMIDEX®)、來曲唑(letrozole)(FEMARA®)及胺魯米特，及其他芳香酶抑制劑，包括伏氯唑(vorozole)(RIVISOR®)、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)(MEGASE®)、法屈唑(fadrozole)及 4(5)-咪唑；促黃體生成激素釋放激素促效劑，包括亮丙瑞林(leuprolide)(LUPRON® 及 ELIGARD®)、戈舍瑞林(goserelin)、布舍瑞林(buserelin)及曲普瑞林(tripterelin)；性類固醇，包括助孕素，諸如乙酸甲地孕酮及乙酸甲羥孕酮，雌激素，諸如己烯雌酚(diethylstilbestrol)及普雷馬林(premarin)，及雄激素/類

視色素，諸如氟甲睾酮(fluoxymesterone)、所有反式視黃酸及芬維 A 胺(fenretinide)；奧那司酮(onapristone)；抗孕酮劑；雌激素受體下調劑(ERD)；抗雄激素劑，諸如氟他米特(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)及比卡魯胺(bicalutamide)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合。

「血管生成因子或血管生成劑」係指刺激血管產生，例如促進血管生成、內皮細胞生長、血管穩定性及/或血管發生等之生長因子。舉例而言，血管生成因子包括(但不限於)例如 VEGF 及 VEGF 家族之成員(VEGF-B、VEGF-C 及 VEGF-D)、PIGF、PDGF 家族、纖維母細胞生長因子家族(FGF)、TIE 配體(血管生成素)、蝶素(ephhrin)、 δ 樣配體 4(DLL4)、del-1、纖維母細胞生長因子(酸性(aFGF)及鹼性(bFGF)、卵泡抑素、顆粒球群落刺激因子(G-CSF)、肝細胞生長因子(HGF)/離散因子(SF)、介白素-8(IL-8)、瘦素、中期因子(midkine)、神經菌毛素(neuropilin)、胎盤生長因子、血小板衍生內皮細胞生長因子(PD-ECGF)、血小板衍生生長因子(尤其為 PDGF-BB 或 PDGFR- β)、多效蛋白(pleiotrophin, PTN)、顆粒蛋白前體(progranulin)、增殖蛋白、轉型生長因子- α (TGF- α)、轉型生長因子- β (TGF- β)、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)等。其亦包括加速傷口癒合之因子，諸如生長激素、胰島素樣生長因子-I(IGF-I)、VIGF、表皮生長因子(EGF)、CTGF 及其家族成員，及 TGF- α 及 TGF- β 。參見例如 Klagsbrun 及 D'Amore (1991) *Annu. Rev.*

Physiol. 53:217-39 ; Streit 及 Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 ; Ferrara 及 Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364 ; Tonini 等人 , (2003) *Oncogene* 22:6549-6556(例如列出已知血管生成因子之表 1) ; 及 Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 。

「抗血管生成劑」或「血管生成抑制劑」係指直接或間接抑制血管生成、血管發生或不合需要之血管通透性的小分子量物質、聚核苷酸(包括例如抑制性 RNA(RNAi 或 siRNA))、多肽、分離之蛋白質、重組蛋白、抗體或其結合物或融合蛋白。應瞭解抗血管生成劑包括彼等結合且阻斷血管生成因子或其受體之血管生成活性的藥劑。舉例而言，抗血管生成劑為如上文所定義之血管生成劑之抗體或其他拮抗劑，例如結合 VEGF-A 之融合蛋白，諸如 ZALTRAP™(阿柏西普(Aflibercept))；VEGF-A 之抗體，諸如 AVASTIN®(貝伐單抗)或 VEGF-A 受體(例如 KDR 受體或 Flt-1 受體)之抗體；抗 PDGFR 抑制劑，諸如 GLEEVEC®(甲磺酸伊馬替尼)；阻斷 VEGF 受體信號傳導之小分子(例如 PTK787/ZK2284、SU6668、SUTENT®/SU11248(蘋果酸舒尼替尼)、AMG706，或例如國際專利申請案 WO 2004/113304 中所述者)。抗血管生成劑亦包括原生血管生成抑制劑，例如血管生長抑素、內皮抑素等。參見例如 Klagsbrun 及 D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39 ; Streit 及 Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179(例如列出惡性黑素瘤之抗血管生成療法的表 3) ; Ferrara 及 Alitalo (1999)

Nature Medicine 5(12):1359-1364 ; Tonini 等人, (2003) *Oncogene* 22:6549-6556(例如列出已知抗血管生成因子之表 2) ; 及 Sato (2003) *Int. J. Clin. dOncol.* 8:200-206(例如列出用於臨床試驗中之抗血管生成劑的表 1)。

如本文所用之術語「VEGF」或「VEGF-A」係指如由 Leung 等人, (1989) *Science* 246:1306 及 Houck 等人, (1991) *Mol. Endocrin.* 5:1806 所述之具有 165 個胺基酸之人類血管內皮細胞生長因子及相關之具有 121 個、189 個及 206 個胺基酸之人類血管內皮細胞生長因子, 以及其天然存在之對偶基因及加工形式。術語「VEGF」亦指來自非人類物種(諸如小鼠、大鼠或靈長類動物)之 VEGF。有時, 來自特定物種之 VEGF 由諸如 hVEGF(人類 VEGF)、mVEGF(鼠類 VEGF)等之術語指示。術語「VEGF」亦用於表示包含具有 165 個胺基酸之人類血管內皮細胞生長因子之胺基酸 8 至 109 或 1 至 109 的截短形式多肽。對任何該等形式之 VEGF 的提及在本申請案中可標識為例如「VEGF(8-109)」、「VEGF(1-109)」、「VEGF-A₁₀₉」或「VEGF165」。「截短型」原生 VEGF 之胺基酸位置係如原生 VEGF 序列中所示來編號。舉例而言, 截短型原生 VEGF 中之胺基酸位置 17(甲硫胺酸)亦為原生 VEGF 中之位置 17(甲硫胺酸)。截短型原生 VEGF 對 KDR 及 Flt-1 受體之結合親和力類似於原生 VEGF。

「VEGF 拮抗劑」係指能夠中和、阻斷、抑制、消除、降低或干擾 VEGF 活性(包括(但不限於)其與一或多種

VEGF 受體之結合)的分子。VEGF 拮抗劑包括(而不限於)抗 VEGF 抗體及其抗原結合片段、特異性結合 VEGF 從而隔離其與一或多種受體之結合的受體分子及衍生物、抗 VEGF 受體抗體、VEGF 受體拮抗劑(諸如 VEGFR 酪胺酸激酶之小分子抑制劑(例如帕唑帕尼(pazopanib)))，及結合 VEGF 之免疫黏附素，諸如 VEGF 捕捉劑(例如阿柏西普)。如本文所用之術語「VEGF 拮抗劑」尤其包括結合 VEGF 且能夠中和、阻斷、抑制、消除、降低或干擾 VEGF 活性之分子，包括抗體、抗體片段、其他結合多肽、肽及非肽小分子。因此，術語「VEGF 活性」尤其包括 VEGF 之由 VEGF 介導之生物活性。

如本文所用之術語「**VEGF 捕捉劑**」意謂結合 VEGF 且能夠中和、阻斷、抑制、消除、降低或干擾 VEGF 活性之蛋白質，諸如融合分子。VEGF 捕捉劑之實例為阿柏西普。

術語「**抗 VEGF 抗體**」或「**結合 VEGF 之抗體**」係指能夠以足夠親和力及特異性結合 VEGF 之抗體，該抗體適用作靶向 VEGF 之診斷及/或治療劑。抗 VEGF 中和抗體抑制多種人類腫瘤細胞株在裸小鼠體內之生長(Kim 等人, *Nature* 362:841-844 (1993); Warren 等人, *J. Clin. Invest.* 95:1789-1797 (1995); Borgström 等人, *Cancer Res.* 56:4032-4039 (1996); Melnyk 等人, *Cancer Res.* 56:921-924 (1996))且亦抑制缺血性視網膜病症模型之眼內血管生成。Adamis 等人, *Arch. Ophthalmol.* 114:66-71 (1996)。舉例而言，抗 VEGF 抗體可用作靶向及干擾涉及

VEGF 活性之疾病或病狀的治療劑。參見例如美國專利 6,582,959、6,703,020；WO98/45332；WO 96/30046；WO94/10202、WO2005/044853；EP 0666868B1；美國專利申請案 20030206899、20030190317、20030203409、20050112126、20050186208 及 20050112126；Popkov 等人，*Journal of Immunological Methods* 288:149-164 (2004)；及 WO2005012359。所選抗體通常對 VEGF 具有足夠強之結合親和力。舉例而言，抗體可以 100 nM 至 1 pM 之間的 K_d 值結合 hVEGF。抗體親和力可藉由例如基於表面電漿子共振之分析(諸如如 PCT 申請公開案第 WO2005/012359 號中所述之 BIAcore 分析)；酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)；及競爭分析(例如 RIA 競爭分析)來測定。可對抗體進行其他生物活性分析，例如以評估其作為治療劑之有效性。該等分析在此項技術中為已知的且視抗體之目標抗原及預期用途而定。實例包括 HUVEC 抑制分析；腫瘤細胞生長抑制分析(如例如 WO 89/06692 中所述)；抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及補體介導之細胞毒性(CDC)分析(美國專利 5,500,362)；及促效活性或造血分析(參見 WO 95/27062)。抗 VEGF 抗體通常不結合其他 VEGF 同源物，諸如 VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 或 VEGF-E，亦不結合其他生長因子，諸如 PIGF、PDGF 或 bFGF。

在一個實施例中，抗 VEGF 抗體包括與由融合瘤 ATCC HB 10709 產生之單株抗 VEGF 抗體 A4.6.1 結合相同抗原決定基之單株抗體；重組人類化抗 VEGF 單株抗體(參見

Presta 等人, (1997) *Cancer Res.* 57:4593-4599), 包括(但
 不限於)稱為「貝伐單抗」且亦稱為「rhuMAb VEGF」或
 「AVASTIN®」之抗體。AVASTIN®目前可購得。可用貝伐單
 抗治療之非限制性示範性癌症包括非小細胞肺癌、結腸
 直腸癌、乳癌、腎癌、卵巢癌、多形性膠質母細胞瘤、
 兒科骨肉瘤、胃癌及胰臟癌。貝伐單抗包含突變型人類
 IgG₁ 構架區及來自阻斷人類 VEGF 結合其受體之鼠類抗
 體 A.4.6.1 的抗原結合互補決定區。貝伐單抗及其他人類
 化抗 VEGF 抗體進一步描述於美國專利第 6,884,879 號及
 第 7,169,901 號中。其他抗 VEGF 抗體描述於 PCT 申請公
 開案第 WO2005/012359 號及第 WO2009/073160 號；美國
 專利第 7,060,269 號、第 6,582,959 號、第 6,703,020 號；
 第 6,054,297 號；第 WO98/45332 號；第 WO 96/30046 號；
 第 WO94/10202 號；EP 0666868B1；美國專利申請公開案
 第 2006009360 號、第 20050186208 號、第 20030206899
 號、第 20030190317 號、第 20030203409 號及第
 20050112126 號；以及 Popkov 等人, *Journal of*
Immunological Methods 288:149-164 (2004) 中。

術語「個體」與「患者」在本文中可互換地用以表示
 哺乳動物。在一些實施例中，個體或患者為人類。在其
 他實施例中，亦提供治療其他哺乳動物之方法，該等其
 他哺乳動物包括(但不限於)齧齒動物、猿、貓、犬、馬、
 牛、豬、綿羊、山羊、哺乳動物實驗室動物、哺乳動物
 家畜、哺乳動物競技動物及哺乳動物寵物。

如本文所用之術語「樣品」或「患者樣品」係指自相關個體獲得或產生之含有將例如基於物理、生物化學、化學及/或生理特徵加以表徵及/或鑒別之細胞及/或其他分子實體的組合物。舉例而言，片語「疾病樣品」及其變體係指自相關個體獲得之預期或已知含有將表徵之細胞及/或分子實體的任何樣品。「組織或細胞樣品」意謂自個體或患者之組織獲得的類似細胞之集合。組織或細胞樣品之來源可為如來自新鮮、冷凍及/或保藏之器官或組織樣品或活組織檢查或吸出物的實體組織；血液或任何血液成分；體液，諸如腦脊髓液、羊水、腹膜液或間質液；來自個體妊娠或發育之任何時間的細胞。組織樣品亦可為初級或培養細胞或細胞株。視情況，組織或細胞樣品係自疾病組織/器官獲得。組織樣品可能含有在自然界中不與組織天然混雜之化合物，諸如防腐劑、抗凝血劑、緩衝劑、固定劑、營養素、抗生素或其類似物。

如本文所用之「參考樣品」、「參考細胞」或「參考組織」係指自己知或咸信未罹患正使用本發明方法或組合物加以鑒別之疾病或病狀的來源獲得的樣品、細胞或組織。在一些實施例中，參考樣品、參考細胞或參考組織係自正使用本發明組合物或方法鑒別疾病或病狀之同一個體或患者身體之健康部位獲得。在一些實施例中，參考樣品、參考細胞或參考組織係自不為正使用本發明組合物或方法鑒別疾病或病狀之個體或患者的一或多名個體身體之健康部位獲得。

如本文所用之「癌症」與「腫瘤」為可互換之術語且係指動物之任何異常細胞或組織生長或增殖。如本文所用之術語「癌症」與「腫瘤」涵蓋實體及血癌/淋巴癌且亦涵蓋惡性、惡性前期及良性生長，諸如發育不良。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病。更特定而言，該等癌症之非限制性實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、垂體癌、食道癌、星形細胞瘤、軟組織肉瘤、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗狀癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、胰臟癌、膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜或子宮癌、唾液腺癌、腎癌(kidney cancer)、腎癌(renal cancer)、肝癌、前列腺癌、陰門癌、甲狀腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、腦癌、子宮內膜癌、睪丸癌、膽管細胞癌、膽囊癌、胃癌、黑素瘤及各種類型之頭頸部癌。

如本文所用之術語「肺癌」係指小細胞肺癌及非小細胞肺癌。非小細胞肺癌包括(但不限於)鱗狀細胞肺癌、腺癌、大細胞肺癌、肉瘤樣癌瘤、類癌腫瘤、肺部多形態癌瘤及鱗狀腺癌及細支氣管肺泡癌。小細胞肺癌在一些實施例中可稱為「燕麥細胞」癌，且包括(但不限於)複合型小細胞癌，其包含小細胞癌與非小細胞癌之混合物。

「具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞」係指包含超過兩個 *FGFR1* 基因拷貝的細胞。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞係指 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比

率大於 1 之細胞。在一些實施例中，該比率係藉由螢光原位雜交來測定。如本文所用之「具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症」係指至少一部分癌細胞具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症係指至少一部分癌細胞包含 *FGFR1* 基因之至少四個拷貝的癌症。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症係指至少一部分癌細胞的 *FGFR1* 基因:染色體 8 著絲點比率大於 1 的癌症。示範性 *FGFR1* 基因序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 3 月 25 日之 NG_007729.1。

在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞包含 *FGFR1* 基因之至少 3 個拷貝、至少 4 個拷貝、至少 5 個拷貝、至少 6 個拷貝、至少 8 個拷貝或至少 10 個拷貝。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞包含至少 4 個拷貝。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞所具有的 *FGFR1* 基因:染色體 8 著絲點之比率為至少 1.5、至少 2、至少 2.5、至少 3、至少 3.5 或至少 4。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞所具有的 *FGFR1* 基因:染色體 8 著絲點之比率為至少 2。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞中 *FGFR1* 基因之各拷貝不需要為 *FGFR1* 基因之完整拷貝。在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞的 *FGFR1* 含量升高(亦即，在一些實施例中，具有 *FGFR1* 基因擴增之細胞亦為具有 *FGFR1* 過度表現之細胞)。

「具有 *FGFR1* 過度表現之細胞」或「過度表現 *FGFR1*

之細胞」係指 FGFR1 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 FGFR1 過度表現之癌症」或「過度表現 FGFR1 之癌症」係指至少一部分細胞的 FGFR1 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 FGFR1 過度表現之細胞的 FGFR1 mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。FGFR1 mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。示範性人類 FGFR1 蛋白質序列可見於例如 UniProtKB/Swiss-Prot 參考序列：日期為 2012 年 3 月 21 日之 P11362(FGFR1_HUMAN)。示範性人類 FGFR1 mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 3 月 24 日之 NM_023110.2。示範性人類 FGFR1IIIc 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 3 月 24 日之 NP_075598.2。示範性人類 FGFR1IIIc mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 3 月 24 日之 NM_023110.2。

「具有 FGFR3IIIc 過度表現之細胞」或「過度表現 FGFR3IIIc 之細胞」係指 FGFR3IIIc mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 FGFR3IIIc 過度表現之癌症」或「過度表現 FGFR3IIIc 之癌症」係指至少一部分細胞的 FGFR3IIIc mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 FGFR3IIIc 過

度表現之細胞的 FGFR3IIIc mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。FGFR3IIIc mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。示範性人類 FGFR3IIIc 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 2 月 12 日之 NP_000133.1。示範性人類 FGFR3IIIc mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 2 月 12 日之 NM_000142.4。

「具有 FGF2 過度表現之細胞」或「過度表現 FGF2 之細胞」係指 FGF2 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 FGF2 過度表現之癌症」或「過度表現 FGF2 之癌症」係指至少一部分細胞的 FGF2 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 FGF2 過度表現之細胞的 FGF2 mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。FGF2 mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。示範性人類 FGF2 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 2 月 12 日之 NP_001997.5。示範性人類 FGF2 mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 2 月 12 日之 NM_002006.4。

「具有 DKK3 過度表現之細胞」或「過度表現 DKK3 之細胞」係指 DKK3 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 DKK3 過度表現之癌症」或「過度

表現 **DKK3** 之癌症」係指至少一部分細胞的 **DKK3** mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 **DKK3** 過度表現之細胞的 **DKK3** mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。**DKK3** mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。示範性人類 **DKK3** 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 1 月 22 日之 NP_001018067.1。示範性人類 **DKK3** mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 1 月 22 日之 NM_001018057.1。

「具有 **FGF18** 過度表現之細胞」或「過度表現 **FGF18** 之細胞」係指 **FGF18** mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 **FGF18** 過度表現之癌症」或「過度表現 **FGF18** 之癌症」係指至少一部分細胞的 **FGF18** mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 **FGF18** 過度表現之細胞的 **FGF18** mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。**FGF18** mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。示範性人類 **FGF18** 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 6 月 27 日之 NP_003853。示範性人類 **FGF18** mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 6 月 27 日之 NM_003862.2。

「具有 ETV4 過度表現之細胞」或「過度表現 ETV4 之細胞」係指 ETV4 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的細胞。「具有 ETV4 過度表現之癌症」或「過度表現 ETV4 之癌症」係指至少一部分細胞的 ETV4 mRNA 或蛋白質之含量為參考細胞之至少 2 倍的癌症。在一些實施例中，具有 ETV4 過度表現之細胞的 ETV4 mRNA 或蛋白質含量為參考細胞的至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 7 倍或至少 10 倍。ETV4 mRNA 或蛋白質之含量可藉由任何適合方法來測定，包括(但不限於)本文所述之方法。示範性人類 ETV4 蛋白質序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 9 月 08 日之 NP_001977.1。示範性人類 ETV4 mRNA 序列可見於例如 NCBI 參考序列：日期為 2012 年 9 月 08 日之 NM_001986.2。

如本文所用之「治療」包括用於哺乳動物(包括人類)之病狀之治療劑的任何投與或施用，且包括例如藉由引起衰退或恢復或修復喪失、缺少或缺陷之功能；或刺激低效過程來抑制病狀或病狀進展、抑制或減緩病狀或其進展、阻止其發展、部分或完全減輕病狀，或治癒病狀。在一些實施例中，「治療」係指試圖改變所治療之個體或細胞的自然過程的臨床介入，且可進行用於防治性或在臨床病理學過程中進行。合乎需要之治療效果包括防止疾病發生或復發、減輕症狀、減少疾病之任何直接或間接的病理結果、防止轉移、降低疾病進展速率、改善或減輕疾病病況及緩解或改善預後。

分子或分子組合之「有效量」或「治療有效量」意謂當單獨或與其他治療組合給予時足以治療至少一個個體子集之病狀及/或抑制腫瘤細胞生長的量。在某些實施例中，治療有效量係指在必要劑量下且在必要時段內有效達成所需治療或防治結果的量。本發明之 FGFR1 融合蛋白之治療有效量可根據諸如個體之疾病病況、年齡、性別及體重以及 FGFR1 融合蛋白引起個體之所需反應的能力之因素而改變。治療有效量亦為 FGFR1 融合蛋白之治療有益作用勝過其任何毒性或不利作用的量。在癌症之狀況下，有效量之藥物可減少癌細胞數目；減小腫瘤尺寸；抑制(亦即在某種程度上減緩且通常阻止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在某種程度上減緩且通常阻止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；允許對腫瘤進行治療，及/或在某種程度上減輕與病症有關之一或多個症狀。就藥物可阻止現有之癌細胞生長及/或殺死現有之癌細胞而言，其可能具細胞抑制性及/或細胞毒性。

「防治有效量」係指在必要之劑量下且在必要之時段內有效達成所需防治結果的量。通常而非必然，由於防治劑量在疾病之前或疾病早期用於個體，所以防治有效量將小於治療有效量。

術語「抑制作用」或「抑制」係指任何表型特徵減少或停止或該特徵之發生率、程度或可能性降低或停止。非限制性示範性抑制作用包括對腫瘤生長之抑制作用。

如本文在關於受益於投與治療劑或對投與治療劑有反

應的上下文中所用之術語「效益」、「臨床效益」、「反應性」及「治療反應性」可藉由評定各種終點來量測，該等終點為例如在某種程度上抑制疾病進展，包括減緩及完全阻止；減少疾病發作次數及/或症狀；減小病變尺寸；抑制(亦即減少、減緩或完全阻止)疾病細胞浸潤至相鄰周邊器官及/或組織中；抑制(亦即減少、減緩或完全阻止)疾病擴散；減少自體免疫反應，此可能(但並非必然)引起疾病病變衰退或消退；在某種程度上減輕與病症有關之一或多個症狀；延長治療後無病表現之持續時間，例如無進展存活期；延長總體存活期；較高反應率；及/或減少在治療後指定時間點的死亡率。

「與一或多種其他治療劑組合」投與包括並行(包括同時)投與及按任何次序連續(亦即依序)投與。

「醫藥學上可接受之載劑」係指連同治療劑一起使用並共同構成用於投與個體之「醫藥組合物」的無毒固體、半固體或液體填充劑、稀釋劑、囊封物質、調配助劑或此項技術中習知之載劑。醫藥學上可接受之載劑在所用之劑量及濃度下對接受者無毒且與調配物之其他成分相容。醫藥學上可接受之載劑適於所用調配物。舉例而言，若治療劑欲經口投與，則載劑可為凝膠膠囊。若治療劑欲皮下投與，則載劑理想地不可刺激皮膚且不會引起注射部位反應。

治療組合物及方法

使用 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子治療具有

FGFR1 基因擴增之癌症的方法

在一些實施例中，本發明提供治療至少一部分癌細胞具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症的方法。在一些實施例中，已發現該等癌症尤其對使用纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(ECD)或 *FGFR1* ECD 融合分子之治療有反應。因此，在一些實施例中，治療具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症的方法包括投與個體治療有效量之 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子。在一些實施例中，治療個體之癌症的方法包括投與該個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(*FGFR1*)細胞外域(ECD)或 *FGFR1* ECD 融合分子，其中在投與 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 *FGFR1* 基因擴增。在該等方法中，癌症中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。

在一些實施例中，本發明提供治療癌症之方法，在該等癌症中至少一部分癌細胞過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記。在一些實施例中，*FGFR1* 為 *FGFR1IIIc*。在一些實施例中，過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，治療至少過度表現選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記之癌症的方法包括投與個體治療有效量之 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子。在一些實施例中，治療個體之癌症的方

法包括投與該個體治療有效量之纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子，其中在投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定至少過度表現選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。在該等方法中，癌症中 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及/或 ETV4 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

在一些實施例中，在具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症中，至少一部分癌細胞包含 *FGFR1* 基因之至少四個拷貝。在一些實施例中，在具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症中，至少一部分癌細胞包含 *FGFR1* 基因之至少 5 個、至少 6 個、至少 8 個或至少 10 個拷貝。可藉由此項技術中之任何適合方法來對 *FGFR1* 基因拷貝數進行測定。在本文中論述某些非限制性示範性方法。在一些實施例中，在具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症中，至少一部分癌細胞所具有的 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2。在一些實施例中，在具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症中，至少一部分癌細胞所具有的 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2.5、至少 3、至少 3.5 或至少 4。可藉由此項技術中之任何適合方法來對該比率進行測定。在本文中論述某些非限制性示範性方法。

在一些實施例中，癌症係選自前列腺癌、乳癌、結腸

直腸癌、肺癌、腦癌、卵巢癌、子宮內膜癌、頭頸部癌、喉癌、肝癌、腎癌、膠質母細胞瘤及胰臟癌。在某些實施例中，癌症係選自乳癌、食道癌及肺癌。在一些實施例中，癌症為肺癌。在一些實施例中，肺癌係選自非小細胞肺癌及小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌為鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症為頭頸部癌。在一些實施例中，頭頸部癌為頭頸部之鱗狀細胞癌。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 具有選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之胺基酸序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 具有選自 SEQ ID NO: 2 及 4 之胺基酸序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子具有選自 SEQ ID NO: 5 及 6 之胺基酸序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子為具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 6 之 FGFR1 ECD.339-Fc。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子與一或多種其他抗癌療法一起投與。其他抗癌療法之實例包括（而不限於）手術、放射療法（radiation therapy/radiotherapy）、生物療法、免疫療法及化學療法或此等療法之組合。另外，細胞毒性劑、抗血管生成劑及抗增殖劑可與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子組合使用。在任何方法及用途之某些態樣中，本發明提供藉由投與個體治療有效量之 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子及一或多種化學治療劑來治療癌症，在該癌症中至少一部分癌細胞包含 *FGFR1* 基因擴增及/或過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、

FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。在一些實施例中，個體之癌症先前未受治療。多種化學治療劑可用於本發明之組合治療方法及用途中。所涵蓋之示範性及非限制性化學治療劑清單在本文中提供於「定義」下及「發明內容」中。在一些實施例中，本發明提供藉由投與個體治療有效量之 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子及一或多種抗血管生成劑來治療癌症之方法。在一些實施例中，本發明提供藉由投與個體治療有效量之 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子及一或多種 VEGF 拮抗劑來治療癌症。在一些實施例中，本發明提供藉由投與個體治療有效量之 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子及一或多種 VEGF 拮抗劑與一或多種化學治療劑之組合來治療癌症。在一些實施例中，一或多種 VEGF 拮抗劑為抗 VEGF 抗體及/或 VEGF 捕捉劑。

在一些實施例中，提供治療癌症之方法，其包括投與個體 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子與至少一種選自以下之其他治療劑之組合：多烯紫杉醇、太平洋紫杉醇、長春新鹼、卡鉑、順鉑、奧沙利鉑、小紅莓、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲醯四氫葉酸、培美曲塞、索拉非尼、依託泊苷、拓撲替康、VEGF 拮抗劑、抗 VEGF 抗體、VEGF 捕捉劑及貝伐單抗。在另一實例中，提供治療癌症之方法，其包括投與個體 FGFR1-ECD.339-Fc 與至少一種選自以下之其他治療劑之組合：多烯紫杉醇、太平洋紫杉醇、長春新鹼、卡鉑、順鉑、奧沙利鉑、小紅莓、5-氟尿嘧

啖(5-FU)、甲醯四氫葉酸、培美曲塞、索拉非尼、依託泊苷、拓撲替康、VEGF拮抗劑、抗VEGF抗體、VEGF捕捉劑及貝伐單抗。在一些實施例中，提供治療癌症之方法，其包括投與個體FGFR1-ECD.339-Fc及多烯紫杉醇。

針對特定適應症以治療有效量投與包含FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之醫藥組合物。治療有效量通常視所治療之個體的體重、其身體或健康狀況、所治療病狀之嚴重度及/或所治療個體之年齡而定。一般而言，FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之投與量處於每劑每公斤體重約50 µg至每公斤體重約100 mg之範圍內。視情況，FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之投與量可處於每劑每公斤體重約100 µg至每公斤體重約30 mg之範圍內。進一步視情況，FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之投與量可處於每劑每公斤體重約0.5 mg至每公斤體重約20 mg之範圍內。在某些實施例中，FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之投與劑量為每公斤體重約8 mg至每公斤體重約20 mg。在一些實施例中，FGFR1 ECD及/或FGFR1 ECD融合分子(例如FGFR1-ECD.339-Fc)之投與劑量為每公斤體重約8 mg至每公斤體重約16 mg(或當使用1.11 mL/mg*cm之消光係數計算時為每公斤體重約10 mg至每公斤體重約20 mg)。在一些實施例中，FGFR1 ECD

及/或 FGFR1 ECD 融合分子(例如 FGFR1-ECD.339-Fc)之投與劑量為：每公斤體重約 8 mg、每公斤體重約 10 mg、每公斤體重約 11 mg、每公斤體重約 12 mg、每公斤體重約 13 mg、每公斤體重約 14 mg、每公斤體重約 15 mg、每公斤體重約 16 mg、每公斤體重約 17 mg、每公斤體重約 18 mg、每公斤體重約 19 mg 或每公斤體重約 20 mg。在一些實施例中，如使用 1.11 mL/mg*cm 之消光係數所計算，FGFR1 融合蛋白之投與劑量為每公斤體重約 10 mg。在其他實施例中，如使用 1.11 mL/mg*cm 之消光係數所計算，FGFR1 融合蛋白之投與劑量為每公斤體重約 20 mg。亦可投與上述一種劑量至另一劑量之範圍內的 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子。在一些實施例中，劑量可每週兩次、每週一次、每隔一週一次、以介於每週一次與每隔一週一次之間的頻率、每三週一次、每四週一次或每月一次投與。

在某些實施例中，FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子之劑量可以兩種方式計算，視所用消光係數(EC)而定。消光係數視是否考慮蛋白質之糖基化而不同。在一個實施例中，基於 FGFR1-ECD.339-Fc 之胺基酸組成的消光係數例如為 1.42 mL/mg*cm。在另一實施例中，當考慮 FGFR1-ECD.339-Fc 之碳水化合物部分以及胺基酸部分時，消光係數為 1.11 mL/mg*cm。使用 1.11 mL/mg*cm 之 EC 計算 FGFR1-ECD.339-Fc 劑量會使得所計算之劑量增加 28%，如表 1 所示。儘管使用兩種消光係數所計算之劑量

不同，但所投與之藥物的莫耳濃度或實際量相同。除非另作說明，否則本文所揭示之劑量各自使用不考慮糖基化之消光係數來計算。將 FGFR1-ECD.339-Fc 之此等劑量與使用考慮糖基化之消光係數所計算之劑量相比較的方式展示於表 1 中。如可自表 1 中可見，本文中使用 1.42 mL/mg*cm 之 EC 的約 8 mg/kg(例如 7.8 及 8.0 mg/kg)之劑量對應於當使用 1.11 mL/mg*cm 之 EC 計算時約 10 mg/kg(例如 10.0 及 10.2 mg/kg)之劑量。本文中使用 1.42 mL/mg*cm 之 EC 的約 16 mg/kg(例如 15.6 及 16.0 mg/kg)之劑量對應於當使用 1.11 mL/mg*cm 之 EC 計算時約 20 mg/kg(例如 20.0 及 20.5 mg/kg)之劑量。如上文「定義」章節中所表明，本文所提供之量測數字為近似值且涵蓋具有可四捨五入之另外之有效數位的值。舉例而言，8 mg/kg 涵蓋具有兩個有效數位之值，諸如 7.6、7.8、8.0、8.2、8.4 及 8.45，其各自四捨五入為 8。同樣，諸如 16 mg/kg 之值涵蓋具有三個有效數位且四捨五入為 16 之值，諸如 15.6 及 16.0。

表 1. FGFR1-ECD.339-FC 劑量之換算

劑量 ^a EC=1.42 mL/mg*cm	劑量 ^a EC=1.11 mL/mg*cm
0.5	0.6
0.75	1.0
1.0	1.3
2.0	2.6
3.0	3.8
4.0	5.1
5.0	6.4
6.0	7.7

7.0	9.0
7.8	10.0
8.0	10.2
9.0	11.5
10.0	12.8
11.0	14.1
12.0	15.4
13.0	16.6
14.0	17.9
15.0	19.2
15.6	20.0
16.0	20.5
17.0	21.8
18.0	23.0
19.0	24.3
20.0	25.6
30.0	38.4

^a 以 mg/kg 所示之劑量

必要時可向個體投與包含 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 融合分子及/或至少一種其他治療劑之醫藥組合物。在某些實施例中，一或多次投與個體有效劑量之治療性分子。在各種實施例中，至少每兩個月一次、至少每月一次、至少每月兩次、每週一次、每週兩次或每週三次投與個體有效劑量之治療性分子。在各種實施例中，投與個體有效劑量之治療性分子，持續至少一週、至少一個月、至少三個月、至少六個月或至少一年。

在某些實施例中，組合投與 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 融合分子及至少一種其他治療劑包括使用各別調配物或單個醫藥調配物並行投與(包括同時投與)以及按任何次序連續投與。視情況有一段時間兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性。與 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子

(例如 FGFR1-ECD.339-Fc)組合投與之治療劑的治療有效量將經過醫師或獸醫的斟酌。進行劑量投與及調整以達成對所治療病狀之最大程度的管理。劑量另外視諸如所用治療劑之類型、所治療之特定患者、疾病階段及治療方案之所需侵入性之因素而定。

在某些實施例中，用 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子(例如 FGFR1-ECD.339-Fc)與 VEGF 拮抗劑之組合治療患者。在一些實施例中，VEGF 拮抗劑為 VEGF 捕捉劑(例如阿柏西普)。在一些實施例中，VEGF 拮抗劑為酪胺酸激酶抑制劑(例如帕唑帕尼)。在一些實施例中，VEGF 拮抗劑為抗 VEGF 抗體。在一些實施例中，VEGF 抗體為貝伐單抗。貝伐單抗之一種示範性劑量處於約 0.05 mg/kg 至約 20 mg/kg 之範圍內。因此，可投與患者以下一或多種劑量：約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg、7.5 mg/kg、10 mg/kg 或 15 mg/kg(或其任何組合)。該等劑量可間歇地投與，例如每週一次、每兩週一次或每三週一次。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子(例如 FGFR1-ECD.339-Fc)與另一治療劑(諸如化學治療劑或抗血管生成劑)組合以該治療劑之推薦或處方劑量及/或頻率投與。

在一些實施例中，其他治療劑以由負責批准治療性處理之機構(諸如美國食品與藥品管理局(Food and Drug Administration))批准之劑量或以製造商推薦之劑量投與。

投藥途徑與載劑

在一些實施例中，FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子可靜脈內及/或皮下投與。在一些實施例中，FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子可藉由另一途徑投與，諸如動脈內、非經腸、鼻內、肌肉內、心內、心室內、氣管內、經頰、直腸、腹膜內、皮內、局部、經皮或鞘內或者藉由植入或吸入投與。在各種實施例中，至少一種其他治療劑可藉由多種途徑活體內投與，包括靜脈內、動脈內、皮下、非經腸、鼻內、肌肉內、心內、心室內、氣管內、經頰、直腸、腹膜內、皮內、局部、經皮及鞘內或者藉由植入或吸入投與。各本發明組合物可單獨或組合調配成呈固體、半固體、液體或氣體形式之製劑，諸如錠劑、膠囊、散劑、顆粒、軟膏、溶液、栓劑、灌腸劑、注射劑、吸入劑及氣霧劑。

在各種實施例中，包含 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 融合分子及/或至少一種其他治療劑之組合物係以含有醫藥學上可接受之載劑的調配物形式提供，多種醫藥學上可接受之載劑在此項技術中為已知的(參見例如 Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 第 20 版 (2003); Ansel 等人, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 第 7 版, Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe 等人, *Handbook of Pharmaceutical*

Excipients, 第 3 版, Pharmaceutical Press (2000))。包括媒劑、助劑、載劑及稀釋劑之各種醫藥學上可接受之載劑可由公眾得到。此外，諸如 pH 值調節劑及緩衝劑、張力調節劑、穩定劑、濕潤劑及其類似物之各種醫藥學上可接受之助劑物質亦可由公眾得到。某些非限制性示範性載劑包括生理食鹽水、緩衝生理食鹽水、右旋糖、水、甘油、乙醇及其組合。在一些實施例中，治療劑係調配成上文在定義章節中所指示之商標名稱藥物或一般等效物。在一些實施例中，多烯紫杉醇係調配成 Taxotere®(Sanofi Aventis)或一般等效物。

在各種實施例中，包含 FGFR1 ECDs、FGFR1 ECD 融合分子及/或至少一種其他治療劑之組合物可藉由將其溶解、懸浮或乳化於水性或非水性溶劑(諸如植物油或其他油、合成脂族酸甘油酯、高級脂族酸之酯或丙二醇)中；且必要時連同習知添加劑，諸如增溶劑、等張劑、懸浮劑、乳化劑、穩定劑及防腐劑一起調配用於注射。在各種實施例中，組合物可例如使用加壓之可接受之推進劑(諸如二氯二氟甲烷、丙烷、氮氣及其類似物)而調配用於吸入。在各種實施例中，組合物亦可諸如用生物可降解或非生物可降解聚合物調配成持續釋放微膠囊。非限制性示範性生物可降解調配物包括聚乳酸-乙醇酸聚合物。非限制性示範性非生物可降解調配物包括聚甘油脂肪酸酯。製備該等調配物之某些方法描述於例如 EP 1 125 584 A1 中。

亦提供醫藥劑量包裝，其包含一或多個容器，各容器容納一或多個劑量之 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 融合分子及/或至少一種其他治療劑。在某些實施例中，提供單位劑量，其中單位劑量含有預定量之包含 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 融合分子及/或至少一種其他治療劑且具有或不具有一或多種其他藥劑之組合物。在某些實施例中，該單位劑量係提供於用於注射之一次性預裝藥品之注射器中。在各種實施例中，單位劑量中所含之組合物可包含生理食鹽水、蔗糖或其類似物；緩衝劑，諸如磷酸鹽或其類似物；及/或經調配而處於穩定且有效之 pH 值範圍內。或者，在某些實施例中，組合物可以凍乾粉末形式提供，該凍乾粉末可在添加適當液體(例如無菌水)後復原。在某些實施例中，組合物包含一或多種抑制蛋白質聚集之物質，包括(但不限於)蔗糖及精胺酸。在某些實施例中，本發明之組合物包含肝素及/或蛋白聚糖。

在一些實施例中，劑量包裝包含在投與 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子之前確定癌症是否包含 *FGFR1* 基因擴增及/或過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記的說明書。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。在一些該等實施例中，該等說明書指示在至少一部分癌細胞中存在 *FGFR1* 基因擴增及/或至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記過度表現指示對 FGFR1

ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分癌細胞中存在 *FGFR1* 基因之至少四個拷貝指示對 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分癌細胞中存在 *FGFR1* 基因之至少四個、至少六個、至少八個或至少十個拷貝指示對 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2 指示對 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2.5、至少 3、至少 3.5 或至少 4 指示對 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

在一些實施例中，劑量包裝包含在投與 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子之前確定肺癌是否包含 *FGFR1* 基因擴增及/或過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記的說明書。在一些實施例中，*FGFR1* 為 *FGFR1IIIc*。在一些該等實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中存在 *FGFR1* 基因擴增及/或至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記過度表現指示對 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應

性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中存在 *FGFR1* 基因之至少四個拷貝指示對 *FGFR1* ECD 及/或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中存在 *FGFR1* 基因之至少四個、至少六個、至少八個或至少十個拷貝指示對 *FGFR1* ECD 及/或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2 指示對 *FGFR1* ECD 及/或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，該等說明書指示在至少一部分肺癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 2.5、至少 3、至少 3.5 或至少 4 指示對 *FGFR1* ECD 及/或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。

如本文所用之術語「說明書」包括(但不限於)標籤、藥品說明書、可以電子形式諸如在電腦可讀媒體(例如磁片、壓縮光碟或 DVD)上得到之說明書、可諸如在網際網路上遠程得到之說明書等。當劑量包裝提供獲取說明書之途徑、獲取說明書之鏈路(諸如統一資源定位器或 url)或獲得說明書拷貝之其他機構(諸如回函卡、可請求說明書之物理位址、可請求說明書之電子郵件位址、可呼叫以得到說明書之電話號碼等)時，該劑量包裝係視作包括說明書。

FGFR1 ECD及FGFR1 ECD融合分子

非限制性示範性 FGFR1 ECD 包括全長 FGFR1 ECD、FGFR1 ECD 片段及 FGFR1 ECD 變異體。FGFR1 ECD 可包括或缺乏信號肽。示範性 FGFR1 ECD 包括(但不限於)具有選自 SEQ ID NO.: 1、2、3 及 4 之胺基酸序列的 FGFR1 ECD。

非限制性示範性 FGFR1 ECD 片段包括終止於胺基酸 339 之人類 FGFR1 ECD(自成熟形式之第一個胺基酸開始計數，無信號肽)。在一些實施例中，FGFR1 ECD 片段終止於胺基酸 339 與胺基酸 360 之間的胺基酸(自成熟形式之第一個胺基酸開始計數，無信號肽)。示範性 FGFR1 ECD 片段包括(但不限於)具有選自 SEQ ID NO.: 3 及 4 之胺基酸序列的 FGFR1 ECD 片段。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 包含選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 由選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之序列組成。當 FGFR1 ECD「由選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之序列組成」時，FGFR1 ECD 可能含有或可能不含各種轉譯後修飾，諸如糖基化及唾液酸化。換言之，當 FGFR1 ECD 由特定胺基酸序列組成時，其在連續胺基酸序列中不含另外之胺基酸，但可能含有對胺基酸側鏈、N 端胺基及/或 C 端羧基之修飾。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子包含信號肽。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子缺乏信號肽。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子之 FGFR1 ECD 部分包含選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之序列。在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子之 FGFR1 ECD 部分由選自 SEQ ID NO: 1 至 4

之序列組成。當 FGFR1 ECD 融合分子之 FGFR1 ECD 部分「由選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之序列組成」時，FGFR1 ECD 融合分子之 FGFR1 ECD 部分可能含有或可能不含各種轉譯後修飾，諸如糖基化及唾液酸化。換言之，當 FGFR1 ECD 融合分子之 FGFR1 ECD 部分由特定胺基酸序列組成時，其在連續胺基酸序列中不含來自 FGFR1 之另外之胺基酸，但可能含有對胺基酸側鏈、N 端胺基及/或 C 端羧基之修飾。此外，由於 FGFR1 ECD 連接至融合分子，所以在 FGFR1 ECD 之 N 端及/或 C 端上可能存在另外之胺基酸，但彼等胺基酸並非來自 FGFR1 序列，而是可能來自例如連接子序列或融合夥伴序列。

在一些實施例中，FGFR1 ECD 融合分子之融合夥伴部分係選自 Fc、白蛋白及聚乙二醇。非限制性示範性融合夥伴論述於本文中。

本發明者發現投與 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子及至少一種選自以下之其他治療劑可用於治療至少一部分癌細胞具有 *FGFR1* 基因擴增及/或過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記的癌症：多烯紫杉醇、太平洋紫杉醇、長春新鹼、卡鉑、順鉑、奧沙利鉑、小紅莓、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲醯四氫葉酸、培美曲塞、索拉非尼、依託泊苷、拓撲替康、VEGF 拮抗劑、帕唑帕尼、抗 VEGF 抗體、VEGF 捕捉劑及貝伐單抗。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。在一些實施例中，

FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子與多烯紫杉醇一起投與。

融合夥伴及結合物

如本文所論述，FGFR1 ECD 可與至少一種融合夥伴組合，產生 FGFR1 ECD 融合分子。此等融合夥伴可促進純化，且 FGFR1 ECD 融合分子可展示出延長之活體內半衰期。FGFR1 ECD 之適合融合夥伴包括例如聚合物，諸如水溶性聚合物；免疫球蛋白之恆定域；人類血清白蛋白 (HSA) 之全部或一部分；胎球蛋白 A；胎球蛋白 B；白胺酸拉鍊結構域；四連接素三聚化結構域；甘露糖結合蛋白 (亦稱為甘露糖結合凝集素)，例如甘露糖結合蛋白 1；及 Fc 區，如本文所述且如美國專利第 6,686,179 號中進一步所述。非限制性示範性 FGFR1 ECD 融合分子描述於例如美國專利第 7,678,890 號中。

FGFR1 ECD 融合分子可藉由使聚胺基酸或分支點胺基酸連接至 FGFR1 ECD 來製備。舉例而言，聚胺基酸可為用來延長 FGFR1 ECD 之循環半衰期的載體蛋白 (除經由融合分子所達成之優勢之外)。出於本發明之治療目的，該等聚胺基酸理想地應為不具有或不產生中和抗原反應或其他不利反應的聚胺基酸。該等聚胺基酸可選自血清白蛋白 (諸如 HSA)、其他抗體或其部分 (例如 Fc 區)、胎球蛋白 A、胎球蛋白 B、白胺酸拉鍊核因子類紅血球衍生物-2 (NFE2)、神經視網膜白胺酸拉鍊、四連接素或其他聚胺

基酸，例如離胺酸。如本文所述，連接聚胺基酸之位置可處於 N 端或 C 端上，或處於之間的其他位置上，且亦可藉由化學連接子部分連接至所選分子。

聚合物

例如水溶性聚合物之聚合物適用作融合夥伴以減少 FGFR1 ECD 融合分子在水性環境(諸如通常在生理環境中所見)中的沈澱。用於本發明中之聚合物在醫藥學上可接受用於製備治療產品或組合物。

臨床上可接受之適合水溶性聚合物包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、聚乙二醇丙醛、乙二醇/丙二醇之共聚物、單甲氧基-聚乙二醇、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚(β -胺基酸)(均聚物或無規共聚物)、聚(n-乙基吡咯啉酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物(PPG)及其他聚環氧烷、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(POG)(例如甘油)及其他聚氧乙基化多元醇、聚氧乙基化山梨糖醇或聚氧乙基化葡萄糖、莢膜異多糖酸(colonic acid)或其他碳水化合物聚合物、菲科爾(Ficoll)或聚葡萄糖，及其混合物。

如本文所用之聚乙二醇(PEG)意欲涵蓋已用於衍生化其他蛋白質之任何形式，諸如單-(C₁-C₁₀)烷氧基-聚乙二醇或芳氧基-聚乙二醇。聚乙二醇丙醛因其在水中之穩定性而在製造方面具有優勢。

本文所用之聚合物(例如水溶性聚合物)可具有任何分

子量且可為分枝或未分枝聚合物。在一些實施例中，聚合物之平均分子量在約 2 kDa 至約 100 kDa 之間(術語「約」指示在製備聚合物時，一些分子之分子量高於、有些低於規定分子量)。各聚合物之平均分子量可在約 5 kDa 與約 50 kDa 之間，或約 12 kDa 與約 25 kDa 之間。一般而言，分子量愈高或分枝愈多，則聚合物:蛋白質比率愈高。亦可使用其他大小，視所需治療型態；例如持續釋放之持續時間；對生物活性可能存在之影響；處理容易性；抗原性程度或缺乏抗原性；及聚合物對 FGFR1 ECD 之其他已知影響而定。

用於本發明中之聚合物通常在考慮對多肽之功能或抗原性結構域之影響的情況下連接至 FGFR1 ECD。一般而言，可在任何適用於使蛋白質與活化聚合物分子反應的條件下進行化學衍生化。可用於將聚合物連接至活性部分之活化基團包括碘、順丁烯二醯亞胺、氫硫基、硫醇、三氟甲磺酸酯、三氟乙磺酸酯、氮雜環丙烷、環氧乙烷及 5-吡啶基。

本發明之聚合物通常在胺基酸之 α 或 ϵ 胺基或反應性硫醇基上連接至異源多肽，但亦預期聚合物基團可連接至蛋白質之任何具有足夠反應性以便可在適合反應條件下連接至聚合物基團的反應性基團。因此，聚合物可經由反應性基團(諸如游離胺基或羧基)共價結合至 FGFR1 ECD。具有游離胺基之胺基酸殘基可包括離胺酸殘基及 N 端胺基酸殘基。具有游離羧基之胺基酸殘基可包括天冬

胺酸殘基、麩胺酸殘基及 C 端胺基酸殘基。具有反應性硫醇基之殘基包括半胱胺酸殘基。

製備與聚合物(諸如水溶性聚合物)結合之融合分子的方法各自一般涉及(a)使 FGFR1 ECD 與聚合物在可使多肽連接至一或多種聚合物的條件下反應，及(b)獲得反應產物。用於各結合之反應條件可選自任何此項技術中已知之反應條件或後續研發之反應條件中之任一者，但應經選擇以避免或限制對可能使欲修飾之蛋白質失活的反應條件(諸如溫度、溶劑及 pH 值水準)的暴露。一般而言，用於反應之最佳反應條件將基於已知參數及所需結果根據具體狀況來確定。舉例而言，聚合物:多肽結合之比率愈大，則結合產物之百分比愈高。最佳比率(就反應效率而言，因為不存在過量之未反應的多肽或聚合物)可由諸如所需衍生化程度(例如單衍生化、二衍生化、三衍生化等)、所選聚合物之分子量、聚合物為分枝抑或未分枝聚合物及所用反應條件之因素決定。聚合物(例如 PEG)與多肽之比率一般在 1:1 至 100:1 範圍內。一或多種純化之結合物可藉由標準純化技術自各混合物來製備，該等純化技術尤其包括透析、鹽析、超濾、離子交換層析、凝膠過濾層析及電泳。

可能尤其需要 N 端經化學修飾之 FGFR1 ECD。可根據分子量、分枝等、反應混合物中聚合物與 FGFR1 ECD 分子之比例、欲進行之反應的類型及獲得所選擇之 N 端經化學修飾之 FGFR1 ECD 的方法來選擇聚合物。獲得 N 端

經化學修飾之 FGFR1 ECD 製備物之方法(必要時自其他單衍生化部分分離此部分)可藉由自經化學修飾之蛋白質分子群體中純化 N 端經化學修飾之 FGFR1 ECD 物質來達成。

選擇性 N 端化學修飾可藉由還原性烷基化來達成，該還原性烷基化利用特定蛋白質中可用於衍生化之不同類型之一級胺基的反應性有差別(離胺酸相較於 N 端)。在適當反應條件下，可用含有羰基之聚合物在 N 端上達成對蛋白質之實質上選擇性衍生化。舉例而言，可藉由在允許利用蛋白質之離胺酸殘基之 ϵ -胺基與 N 端殘基之 α -胺基之間 pKa 的差異之 pH 值下進行反應來使聚合物選擇性連接至蛋白質之 N 端上。藉由該選擇性衍生化，聚合物與蛋白質之連接得到控制：主要在蛋白質之 N 端上與聚合物進行結合且不存在對其他反應性基團(諸如離胺酸側鏈胺基)的顯著修飾。在使用還原性烷基化的情況下，聚合物可具有上述類型且應具有單個反應性醛用於偶合至蛋白質。亦可使用含有單個反應性醛之聚乙二醇丙醛。

在一個實施例中，本發明涵蓋經化學衍生化以包括單-PEG 或多-(例如 2-4 個)PEG 部分的 FGFR1 ECD。可藉由任何可用之聚乙二醇化反應來進行聚乙二醇化。用於製備聚乙二醇化蛋白質產物之方法一般包括(a)使多肽與聚乙二醇(諸如 PEG 之反應性酯或醛衍生物)在可使蛋白質連接至一或多個 PEG 基團的條件下反應；及(b)獲得反應產

物。一般而言，最佳反應條件將基於已知參數及所需結果根據具體狀況來確定。

存在多種此項技術中已知的 PEG 連接方法。參見例如 EP 0 401 384；Malik 等人, *Exp. Hematol.*, 20:1028-1035 (1992)；Francis, *Focus on Growth Factors*, 3(2):4-10 (1992)；EP 0 154 316；EP 0 401 384；WO 92/16221；WO 95/34326；及本文所引用之與聚乙二醇化有關之其他公開案。

可例如經由與反應性聚乙二醇分子進行醯化反應或烷基化反應來進行聚乙二醇化。因此，本發明之蛋白質產物包括聚乙二醇化蛋白質，其中 PEG 基團經由醯基或烷基連接。該等產物可經單-聚乙二醇化或多-聚乙二醇化(例如，含有 2 至 6 個或 2 至 5 個 PEG 基團之產物)。PEG 基團一般在胺基酸之 α -胺基或 ϵ -胺基上連接至蛋白質，但亦預期 PEG 基團可連接至任何連接至蛋白質且具足夠反應性以可在適合反應條件下連接至 PEG 基團的胺基。

藉由醯化進行之聚乙二醇化一般涉及使聚乙二醇(PEG)之活性酯衍生物與 FGFR1 ECD 反應。對於醯化反應，所選聚合物通常具有單個反應性酯基。可使用任何已知或後續發現之反應性 PEG 分子進行聚乙二醇化反應。適合之活化 PEG 酯之實例為酯化成 N-羥基丁二醯亞胺(NHS)之 PEG。如本文所用，醯化預期包括(而不限於)治療性蛋白質與聚合物(諸如 PEG)之間的以下類型之鍵聯：醯胺、胺基甲酸酯、胺基甲酸乙酯(urethane)及其類似鍵聯，參

見例如 Chamow, *Bioconjugate Chem.*, 5:133-140 (1994)。

反應條件可選自任何當前已知之反應條件或後續研發之反應條件，但應避免可能使欲修飾之多肽失活的條件，諸如溫度、溶劑及 pH 值。

藉由醯化進行聚乙二醇化一般將產生多-聚乙二醇化蛋白質。連接鍵聯可為醯胺。所得產物可實質上僅(例如 >95%)經單-聚乙二醇化、二-聚乙二醇化或三-聚乙二醇化。然而，可能形成聚乙二醇化程度較高之一些物質，其量視所用特定反應條件而定。必要時，可藉由標準純化技術自混合物(尤其為未反應物質)分離出較大程度純化之聚乙二醇化物質，該等純化技術尤其包括透析、鹽析、超濾、離子交換層析、凝膠過濾層析及電泳。

藉由烷基化進行之聚乙二醇化一般涉及使 PEG 之末端醛衍生物與多肽在還原劑存在下反應。對於還原性烷基化反應，所選聚合物應具有單個反應性醛基。示範性反應性 PEG 醛為具有水穩定性之聚乙二醇丙醛，或其單 C₁-C₁₀ 烷氧基或芳氧基衍生物，參見例如美國專利第 5,252,714 號。

標記

此外，本發明之 FGFR1 ECD 可融合至標記序列，諸如促進融合多肽純化的肽。標記胺基酸序列可為六組胺酸肽，諸如 pQE 載體(Qiagen, Mississauga, Ontario, Canada)中所提供之標籤，及其他標記胺基酸序列，其中多者可購得。如 Gentz 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86:821-824

(1989)中所述，例如，六組胺酸使得融合蛋白可便利地純化。另一適用於純化之肽標籤(血球凝集素(HA)標籤)對應於來源於流行性感冒 HA 蛋白之抗原決定基。(Wilson 等人, *Cell* 37:767 (1984))。可使用本文所述之 FGFR1 ECD 對此等上述融合物中之任一者進行工程改造。

寡聚化結構域融合夥伴

在各種實施例中，寡聚化可為融合蛋白提供一些功能優勢，包括(但不限於)多價、結合強度增加及不同結構域之組合功能。因此，在一些實施例中，融合夥伴包含寡聚化結構域，例如二聚化結構域。示範性寡聚化結構域包括(但不限於)捲曲螺旋結構域，包括 α -螺旋式捲曲螺旋結構域；膠原蛋白結構域；膠原蛋白樣結構域；及某些免疫球蛋白結構域。示範性捲曲螺旋多肽融合夥伴包括(但不限於)四連接素捲曲螺旋結構域；軟骨寡聚基質蛋白之捲曲螺旋結構域；血管生成素捲曲螺旋結構域；及白胺酸拉鍊結構域。示範性膠原蛋白或膠原蛋白樣寡聚化結構域包括(但不限於)膠原蛋白、甘露糖結合凝集素、肺界面活性蛋白 A 及 D、脂聯素、纖維膠凝蛋白、黏合素、巨噬細胞清道夫受體(macrophage scavenger receptor)及彈性蛋白微纖維界面蛋白(emilin)中存在之結構域。

抗體 Fc 免疫球蛋白結構域融合夥伴

可用作融合夥伴之多種 Fc 域在此項技術中為已知的。在一些實施例中，融合夥伴為 Fc 免疫球蛋白結構域。Fc 融合夥伴可為天然存在之抗體中存在之野生型 Fc、其變

異體或其片段。非限制性示範性 Fc 融合夥伴包括包含人類 IgG(例如人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4)之鉸鏈及 CH2 及 CH3 恆定域的 Fc。其他示範性 Fc 融合夥伴包括(但不限於)人類 IgA 及 IgM。在一些實施例中，Fc 融合夥伴包含例如 IgG1 中之 C237S 突變(參見例如 SEQ ID NO: 8)。在一些實施例中，Fc 融合夥伴包含具有 P331S 突變之人類 IgG2 之鉸鏈、CH2 及 CH3 域，如美國專利第 6,900,292 號中所述。某些示範性 Fc 域融合夥伴展示於 SEQ ID NO: 8 至 10 中。

白蛋白融合夥伴及白蛋白結合分子融合夥伴

在一些實施例中，融合夥伴為白蛋白。示範性白蛋白包括(但不限於)人類血清白蛋白(HSA)及能夠增加其所融合之多肽的血清半衰期或生物可用性的 HSA 片段。在一些實施例中，融合夥伴為白蛋白結合分子，諸如結合白蛋白之肽或與脂質結合之分子或其他結合白蛋白之分子。在一些實施例中，包含 HSA 之融合分子係如例如美國專利第 6,686,179 號中所述來製備。

融合夥伴之示範性連接

融合夥伴可共價或非共價連接至 FGFR1 ECD 之 N 端或 C 端。亦可在 FGFR1 ECD 內除 N 端或 C 端以外的位置上，例如經由胺基酸側鏈(諸如半胱胺酸、離胺酸、絲胺酸或酰胺酸之側鏈)進行連接。

在共價或非共價連接實施例中，在融合夥伴與 FGFR1 ECD 之間可包括連接子。該等連接子可包含至少一個胺

基酸或化學部分。使融合夥伴共價連接至 FGFR1 ECD 之示範性方法包括(但不限於)使融合夥伴與 FGFR1 ECD 轉譯成單個胺基酸序列以及使融合夥伴與 FGFR1 ECD 進行化學連接。當使融合夥伴與 FGFR1 ECD 轉譯成單個胺基酸序列時，在融合夥伴與 FGFR1 ECD 之間可包括另外之胺基酸作為連接子。在一些實施例中，基於編碼連接子之聚核苷酸序列來選擇連接子，以有助於將融合夥伴及/或 FGFR1 ECD 選殖於單個表現構築體中(例如，含有特定限制性位點之聚核苷酸可位於編碼融合夥伴之聚核苷酸與編碼 FGFR1 ECD 之聚核苷酸之間，其中含有限制性位點之聚核苷酸編碼短胺基酸連接子序列)。當融合夥伴與 FGFR1 ECD 藉由化學方法共價偶合時，在偶合反應期間通常可包括具有各種尺寸之連接子。

使融合夥伴非共價連接至 FGFR1 ECD 之示範性方法包括(但不限於)經由結合對連接。示範性結合對包括(但不限於)生物素與抗生物素蛋白或抗生蛋白鏈菌素、抗體與其抗原等。

共轉譯與轉譯後修飾

本發明涵蓋投與在轉譯期間或轉譯後，例如藉由糖基化、乙醯化、磷酸化、醯胺化、由已知保護/阻隔基團衍生化、蛋白水解裂解或連接至抗體分子或其他細胞配體而經過不同修飾的 FGFR1 ECD 及 FGFR1 ECD 融合分子。可藉由已知技術進行任何多種化學修飾，該等技術包括(但不限於)藉由溴化氰、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、木瓜

蛋白酶、V8 蛋白酶進行特異性化學裂解； NABH_4 ；乙醯化；甲醯化；氧化；還原；及/或在衣黴素(tunicamycin)存在下代謝合成。

本發明所涵蓋之其他轉譯後修飾包括例如 N 連接型或 O 連接型碳水化合物鏈、對 N 端或 C 末端進行加工、使化學部分連接至胺基酸主鏈、N 連接型或 O 連接型碳水化合物鏈之化學修飾，及 N 端甲硫胺酸殘基因原核宿主細胞表現而添加或缺失。對 FGFR1 ECD 及 FGFR1 ECD 融合分子之各種轉譯後修飾的非限制性論述可見於例如美國專利第 7,678,890 號中。

FGFR1 ECD 及 FGFR1 ECD 融合分子表現及生產載體

提供包含編碼 FGFR1 ECD 之聚核苷酸的載體。亦提供包含編碼 FGFR1 ECD 融合分子之聚核苷酸的載體。該等載體包括(但不限於)DNA 載體、噬菌體載體、病毒載體、反轉錄病毒載體等。

在一些實施例中，選擇經最佳化以供多肽在 CHO 細胞或 CHO 衍生細胞中表現的載體。示範性該等載體描述於例如 Running Deer 等人, *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004) 中。

在一些實施例中，載體經選擇以用於在動物(包括人類)體內活體內表現 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子。在一些該等實施例中，多肽表現受到以組織特異性方式起作用之啟動子控制。舉例而言，肝特異性啟動子描述於例如 PCT 公開案第 WO 2006/076288 號中。對各種表現

載體之非限制性論述可見於例如美國專利第 7,678,890 號中。

宿主細胞

在各種實施例中，FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子可表現於原核細胞，諸如細菌細胞；或真核細胞，諸如真菌細胞、植物細胞、昆蟲細胞及哺乳動物細胞中。可例如根據此項技術中已知之程序進行該種表現。可用於表現多肽之示範性真核細胞包括(但不限於)COS 細胞，包括 COS 7 細胞；293 細胞，包括 293-6E 細胞；CHO 細胞，包括 CHO-S 及 DG44 細胞；及 NSO 細胞。在一些實施例中，基於對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子進行某些所需轉譯後修飾之能力來選擇特定真核宿主細胞。舉例而言，在一些實施例中，CHO 細胞所產生之 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子的唾液酸化程度高於在 293 細胞中產生之相同多肽。

可藉由此項技術中已知的任何方法將核酸引入所需宿主細胞中，該方法包括(但不限於)磷酸鈣轉染、DEAE-聚葡萄糖介導之轉染、陽離子脂質介導之轉染、電穿孔、轉導、感染等。非限制性示範性方法描述於例如 Sambrook 等人, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 第 3 版 Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001) 中。可根據此項技術中已知的方法使核酸在所需宿主細胞中短暫或穩定轉染。對宿主細胞及宿主細胞中多肽之方法的非限制性論述可見於例如美國專利第 7,678,890 號中。

在一些實施例中，多肽可在已根據此項技術中已知的方法用編碼多肽之核酸分子工程改造或轉染的動物體內活體內產生。

FGFR1 ECD 多肽之純化

FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子可藉由此項技術中已知的各種方法純化。該等方法包括(但不限於)使用親和基質或疏水性相互作用層析。適合親和配體包括 FGFR1 ECD 或融合夥伴之任何配體。在結合 FGFR1 之抗體的狀況下適合之親和配體包括(但不限於)FGFR1 本身及其片段。此外，可使用蛋白質 A、蛋白質 G、蛋白質 A/G 或抗體親和管柱來結合 Fc 融合夥伴以純化 FGFR1 ECD 融合分子。亦可使用 FGFR1 ECD 之抗體來純化 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子。疏水性相互作用層析(例如丁基或苯基管柱)亦可能適合於純化一些多肽。純化多肽之多種方法在此項技術中為已知的。對各種純化多肽之方法的非限制性論述可見於例如美國專利第 7,678,890 號中。

鑒別將受益於 FGFR1 ECD 及/或 FGFR1 ECD 融合分子之患者的方法

在一些實施例中，提供鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之患者的方法。在一些該等實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞是否包含 *FGFR1* 基因擴增。在一些實施例中，*FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，

樣品係取自患有或懷疑患有癌症之患者。在至少一部分癌細胞中發現 *FGFR1* 基因擴增指示該患有或懷疑患有癌症之患者可受益於 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子療法。在一些實施例中，患者患有或懷疑患有肺癌。

在一些實施例中，該方法包括確定自個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞是否包含至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記的過度表現。在一些實施例中，過度表現為 mRNA 過度表現。在一些實施例中，過度表現為蛋白質過度表現。在一些實施例中，*FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及/或 *ETV4* 過度表現指示該癌症對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。在一些實施例中，樣品係取自患有或懷疑患有癌症之患者。在至少一部分癌細胞中發現 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及/或 *ETV4* 過度表現指示該患有或懷疑患有癌症之患者可受益於 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子療法。在一些實施例中，*FGFR1* 為 *FGFR1IIIc*。在一些實施例中，患者患有或懷疑患有肺癌。

在一些實施例中，*FGFR1* 基因擴增及/或至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、*FGFR3IIIc*、*FGF2*、*DKK3*、*FGF18* 及 *ETV4* 之標記之過度表現係藉由實驗室測定。實驗室可為醫院實驗室或與醫院無關之實驗室。在一些實施例中，在測定 *FGFR1* 基因擴增及/或至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 *FGFR1*、

FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記的過度表現後，將測定結果傳達給醫學專業人員。在一些該等實施例中，傳達該等結果以便確定患者是否會受益於 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子療法或對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子療法有反應。在一些實施例中，醫學專業人員包括(但不限於)醫生、護士、醫院管理機構及工作人員等。在一些實施例中，FGFR1 為 FGFR1IIIc。

可使用測定 *FGFR1* 基因擴增之任何適合方法。非限制性示範性該等方法包括螢光原位雜交(FISH；參見例如 Monni 等人, (2001) *PNAS* 98: 5711-5716)；陣列比較基因組雜交(aCGH)；DNA 微陣列(參見例如 Carter 等人, (2007) *Nat. Genet.* 39: S16-21)；光譜核型分析(SKY；參見例如 Liyanage 等人, (1996) *Nat. Genet.* 14: 312-5)；即時定量 PCR(參見例如 Dhaene 等人, (2010) *Methods* 50: 262-270)；南方墨點法；及定序，包括(但不限於)高通量定序(HTS；參見例如 Medvedev 等人, (2010) *Genome Res.* 20: 1613-22)，及下一代定序技術，諸如 RNA-seq(亦稱為「全轉錄組鳥槍法定序」(Whole Transcriptome Shotgun Sequencing, 「WTSS」))、Applied Biosystems SOLiD™系統、Illumina(Solexa)定序、離子半導體定序、DNA 奈米球定序、Helioscope(TM)單分子定序、單分子 SMRT(TM)定序、單分子即時(RNAP)定序、奈米孔(Nanopore)DNA 定序、VisiGen Biotechnologies 途徑及 454 焦磷酸定序。

螢光原位雜交(FISH)為偵測及定位染色體上特定 DNA

序列存在或不存在的細胞遺傳學技術。在一些實施例中，FISH 使用螢光探針以序列特異性方式偵測染色體之某些區域。因此，在一些實施例中，為使用 FISH 偵測癌症中之基因擴增，在一些實施例中，開發特異性結合相關基因(諸如 *FGFR1* 基因)之螢光探針。在一些該等實施例中，此基因特異性探針與癌症樣品雜交且藉由使用螢光顯微術計數每個細胞呈現之螢光信號的數目來測定拷貝數。對於正常二倍體細胞，大部分基因的拷貝數應為 2(當該基因存在於一個性染色體而非體染色體上或細胞正進行分裂且基因組複製時存在例外)。在某些情況下，若在細胞中偵測到超過兩個信號，則該基因可能擴增。

雙色 FISH 亦可用於評定癌症中之基因擴增。在一些實施例中，可使用結合相關基因所位於之染色體之著絲點區域的參考探針作為對照。在有些情況下，染色體之著絲點(CEN)區域被認為具基因組穩定性且因此假定其代表整個染色體。CEN 拷貝數在一些實施例中因此可協助區分病灶基因擴增與由染色體之多體性(≥ 3 個染色體著絲點拷貝)所引起的基因拷貝數增加。在一些實施例中，可藉由計算來自相關基因探針之信號/來自著絲點探針之信號的比率來區分基因擴增與多體性。對於正常二倍體細胞，在相關基因位於體染色體上的情況下，此比率通常為 1。在一些實施例中，比率 >1 指示基因擴增。在一些實施例中，替代著絲點探針或除著絲點探針之外，亦可使用針對染色體參考基因之探針(參見例如 Tse 等人

(2011) *J. Clin. Oncol.* 29: 4168-74)。在一些實施例中，所選參考基因亦處於染色體 8 上。在一些實施例中，參考基因之定位靠近染色體 8 之著絲點。在一些實施例中，參考序列包含染色體 8 上之非編碼 DNA。

在一些實施例中，FISH 允許測定基因擴增之多個參數，包括(但不限於)具有擴增基因的細胞之分率、各種細胞子群內之擴增程度，以及細胞內之擴增型態(例如叢集信號相較於多個散射信號)。在一些實施例中，測定各癌細胞之相關基因與著絲點參考物之拷貝數的比率。在一些該等實施例中，接著計算特定樣品或樣品中之細胞子集的平均比率。平均比率大於 2 一般視作指示基因擴增，而 1.5 至 2 之信號可指示低度擴增。在一些實施例中，相關基因之拷貝數大於參考對照探針之細胞係視作擴增(參見例如 Kobayashi 等人, (2002) *Hum. Pathol.* 33: 21-8；及 Kunitomo 等人, (2002) *Pathol. Int.* 52: 451-7)。在一些實施例中，使用單色 FISH 測定相關基因之拷貝數而不使用染色體參考探針對照物。在一些該等實施例中，每個核有該基因之四個或四個以上拷貝係視作基因擴增(參見例如 Couturier 等人, (2000) *Mod. Pathol.* 13: 1238-43；Jacobs 等人, (1999) *J. Clin. Oncol.* 17: 1974-82；Wang 等人, (2000) *J. Clin. Pathol.* 53: 374-81)。

可使用測定蛋白質過度表現(FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及/或 ETV4 過度表現)之任何適合方法。在某些實施例中，使用免疫組織化學(「IHC」)及染色方案

來探查樣品中蛋白質之表現。對組織切片進行之免疫組織化學染色已顯示為評定或偵測樣品中蛋白質之存在的可靠方法。免疫組織化學技術利用抗體一般藉由發色或螢光方法來原位探測及觀測細胞抗原。

可藉由習知方法固定(亦即保藏)組織樣品(參見例如「Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology」, 第3版 (1960) Lee G. Luna, HT (ASCP)編, The Blakston Division McGraw-Hill Book Company, New York; The Armed Forces Institute of Pathology Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology (1994) Ulreka V. Mikel 編, Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington, D.C.)。熟習此項技術者應瞭解, 根據將對樣品進行組織學染色或以其他方式分析之目的來確定固定劑之選擇。熟習此項技術者亦應瞭解, 固定之時間長度視組織樣品之大小及所用固定劑而定。舉例而言, 可使用中性緩衝福馬林(formalin)、布安氏固定劑(Bouin's)或三聚甲醛來固定樣品。

一般而言, 首先固定樣品且接著經由一系列遞增之醇進行脫水, 用石蠟或其他切片介質浸潤且包埋以便可將組織樣品切片。或者, 可將組織切片且固定所得切片。舉例而言, 可藉由習知方法將組織樣品在石蠟中包埋及處理(參見例如「Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology」, 同上)。可使

用之石蠟的實例包括(但不限於)Paraplast、Broid 及 Tissuemay。在包埋組織樣品後，可藉由切片機或其類似裝置將樣品切片(參見例如「Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology」，同上)。舉例而言，對於此程序，切片之厚度可在約 3 微米至約 5 微米之範圍內。切片後，可藉由若干標準方法使切片黏著於載片上。載片黏著劑之實例包括(但不限於)甲矽烷、明膠、聚-L-離胺酸及其類似物。舉例而言，可使經石蠟包埋之切片黏著於帶正電荷之載片及/或塗有聚-L-離胺酸之載片上。

若已使用石蠟作為包埋材料，則一般將組織切片去除石蠟且與水再水合。可藉由若干習知標準方法將組織切片去除石蠟。舉例而言，可使用二甲苯及一系列逐漸遞減之醇(參見例如「Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology」，同上)。或者，可使用可購得之用於去除石蠟之非有機試劑，諸如 Hemo-De7(CMS, Houston, Tex.)。

在一些實施例中，在樣品製備之後，可使用 IHC 分析組織切片。IHC 可與其他技術(諸如形態學染色及/或螢光原位雜交)組合進行。IHC 之兩種一般方法可用；直接及間接分析。根據第一個分析，直接測定抗體與目標抗原之結合。此直接分析使用可在無進一步抗體相互作用的情況下觀測的經標記之試劑，諸如螢光標籤或經酶標記之一次抗體。在典型間接分析中，未結合之一次抗體結

合抗原且接著經標記之二次抗體結合一次抗體。在二次抗體結合至酶標記的情況下，添加發色或螢光受質以便觀測抗原。由於若干種二次抗體可與一次抗體上之不同抗原決定基反應，所以出現信號放大。

用於免疫組織化學之一次及/或二次抗體通常經可偵測部分標記。多種標記可用，其可一般分為以下類別：

(a)放射性同位素，諸如 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 及 ^{131}I 。抗體可使用例如 *Current Protocols in Immunology*, 第 1 及 2 卷, Coligen 等人編, Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. (1991)中所述之技術用放射性同位素標記，且放射性可使用閃爍計數來量測。(b)膠態金粒子。(c)螢光標記，包括(但不限於)稀土金屬螯合劑(鎔螯合劑)、德克薩斯紅(Texas Red)、若丹明(rhodamine)、螢光素、丹磺醯基(dansyl)、麗絲胺(Lissamine)、傘酮(umbelliferone)、藻紅蛋白(phycocrytherin)、藻藍蛋白，或可購得之螢光團，諸如 SPECTRUM ORANGE7 及 SPECTRUM GREEN7，及/或上述任一或多者之衍生物。螢光標記可例如使用 *Current Protocols in Immunology*(同上)中所揭示之技術結合至抗體。螢光可使用螢光計來定量。(d)各種酶-受質標記可用且美國專利第 4,275,149 號提供對此等標記中之一些標記的評述。酶一般催化發色受質發生化學改變，此可使用各種技術來量測。舉例而言，酶可催化受質發生顏色改變，此可以分光光度測定方式量測。或者，酶可改變受質之螢光或化學發光。上文描述用於定量螢光之變化

的技術。化學發光受質可藉由化學反應而呈電子激發態且接著可發光，所發射之光可進行量測(例如使用化學發光計)或將能量供至螢光接受體。酶標記之實例包括螢光素酶(例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶；美國專利第4,737,456號)、螢光素、2,3-二氫吡嗪二酮、蘋果酸脫氫酶、尿素酶、過氧化酶(諸如辣根過氧化酶(HRPO))、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶菌酶、醣氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸脫氫酶)、雜環氧化酶(諸如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶)、乳過氧化酶、微過氧化酶及其類似物。用於使酶結合至抗體之技術描述於 O'Sullivan 等人, *Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, Methods in Enzym.* (J. Langone 及 H. Van Vunakis 編), Academic press, New York, 73:147-166 (1981)中。

酶-受質組合之實例包括例如：(i)辣根過氧化酶(HRPO)與過氧化氫酶(作為受質)，其中過氧化氫酶使染料前驅體(例如鄰苯二胺(OPD)或 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺鹽酸鹽(TMB))氧化；(ii)鹼性磷酸酶(AP)與磷酸對硝基苯酯(作為發色受質)；及(iii) β -D-半乳糖苷酶(β -D-Gal)與發色受質(例如對-硝基苯基- β -D-半乳糖苷酶)或螢光受質(例如 4-甲基傘酮醯基- β -D-半乳糖苷酶)。

許多其他酶-受質組合可由熟習此項技術者得到。關於對此等組合之一般評述，參見美國專利第 4,275,149 號及

第 4,318,980 號。有時，標記間接地與抗體結合。熟練技術人員應知曉用於達成此結合之各種技術。舉例而言，可使抗體與生物素結合且可使上述四大類標記中之任一者與抗生物素蛋白結合，或反之亦然。生物素選擇性結合抗生物素蛋白且因此，標記可以此間接方式與抗體結合。或者，為使標記與抗體間接結合，使抗體與小型半抗原結合且使上述不同類型標記中之一者與抗半抗原抗體結合。因此，可達成標記與抗體之間接結合。

除上述樣品製備程序以外，在 IHC 之前、期間或之後可能需要對組織切片進行進一步處理。舉例而言，可進行抗原決定基修復(epitope retrieval)法，諸如在檸檬酸鹽緩衝液中加熱組織樣品(參見例如 Leong 等人, *Appl. Immunohistochem.* 4(3):201 (1996))。

在視情況選用之阻斷步驟後，在足夠時段內且在適合條件下使組織切片暴露於一次抗體，以使得一次抗體結合組織樣品中之目標蛋白質抗原。適用於達成此之條件可藉由常規實驗來確定。藉由使用上述可偵測標記中之任一者來測定抗體與樣品之結合程度。在一些實施例中，標記為酶標記(例如 HRPO)，其催化發色受質(諸如 3,3'-二氨基聯苯胺發色團)發生化學變化。在一個實施例中，酶標記結合至可特異性結合一次抗體之抗體(例如一次抗體為兔多株抗體且二次抗體為山羊抗兔抗體)。

可封埋由此製備之樣本且蓋上蓋玻片。接著例如使用顯微鏡確定載片評估，且可使用此項技術中常規使用之

染色強度準則。

在一些實施例中，當使用 IHC 時，使用分級染色系統來判定細胞或細胞之集合是否過度表現 FGFR1 蛋白質。舉例而言，在一些實施例中，使用四級系統，其中各級為無染色、1+、2+及 3+，其中 1+、2+及 3+分別指示遞增之染色程度。在一些該等實施例中，大於 1+、大於 2+或大於 3+可用於指示 FGFR1 蛋白質過度表現。作為一個非限制性實例，若特定細胞類型在 IHC 分析中通常針對 FGFR1 展示無染色，則在該 IHC 分析中之任何染色(亦即 1+、2+或 3+)可指示為蛋白質過度表現。作為另一非限制性實例，若特定細胞類型在 IHC 分析中通常針對 FGFR1 展示極少染色至無染色，則在該 IHC 分析中任何高於 1+之染色(亦即 2+或 3+)可指示為蛋白質過度表現。熟習此項技術者可確定指示蛋白質過度表現之染色程度，視特定 IHC 分析(包括特定抗體)、細胞類型等而定。

可使用測定 mRNA 過度表現(諸如 FGFR1 過度表現，及/或 FGF2 過度表現，及/或 DKK3 過度表現，及/或 FGF18 過度表現，及/或 ETV4 過度表現)之任何適合方法。用於評估細胞中之 mRNA 的方法為熟知的，且包括例如使用互補 DNA 探針之雜交分析(諸如使用經標記之對 FGFR1、FGF2、DKK3、FGF18 或 ETV4 具特異性之核糖核酸探針的原位雜交、北方墨點法及相關技術)及各種核酸擴增分析(諸如使用對 FGFR1、FGFR1IIIc、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 或 ETV4 具特異性之互補引子的 RT-PCR 及其他擴

增型偵測方法，諸如分枝 DNA、SISBA、TMA 及其類似方法)。

宜使用北方墨點法、點漬墨法或 PCR 分析來分析來自哺乳動物之組織或細胞樣品的 mRNA。舉例而言，諸如定量 PCR 分析之 RT-PCR 分析在此項技術中為熟知的。在一些實施例中，mRNA 表現量為使用即時 qRT-PCR 定量之含量。在本發明之一些實施例中，偵測生物樣品中之目標 mRNA 的方法包括藉由使用至少一種引子進行反轉錄而自該樣品產生 cDNA；使用目標聚核苷酸作為有義及反義引子來使由此產生之 cDNA 擴增以使其中之目標 cDNA 擴增；及偵測擴增之目標 cDNA 的存在。另外，該等方法可包括一或多個允許測定生物樣品中目標 mRNA 之含量的步驟(例如，藉由同時探查「管家(housekeeping)」基因(諸如肌動蛋白家族成員)之比較對照 mRNA 序列的含量)。視情況，可測定擴增之目標 cDNA 的序列。

視情況選用之本發明方法包括藉由微陣列技術探查或偵測組織或細胞樣品中之 mRNA(諸如目標 mRNA)的方案。在使用核酸微陣列的情況下，將來自測試及對照組織樣品之測試及對照 mRNA 樣品反轉錄且標記，以產生 cDNA 探針。接著使探針與固定於固體支撐物上之核酸陣列雜交。該陣列經組態以使得該陣列之各成員之序列及位置為已知的。經標記探針與特定陣列成員雜交則指示該探針所來源之樣品表現該基因。對疾病組織進行不同基因表現分析可提供有價值之資訊。微陣列技術使用核

酸雜交技術及計算技術以在單個實驗中評估數千種基因之 mRNA 表現型態。(關於對陣列製造之論述，參見例如 2001 年 10 月 11 日公開之 WO 01/75166；(參見例如美國專利第 5,700,637 號、美國專利第 5,445,934 號及美國專利第 5,807,522 號；Lockart, *Nature Biotechnology*, 14:1675-1680 (1996)；Cheung, V. G. 等人, *Nature Genetics* 21(增刊):15-19 (1999))。DNA 微陣列為含有直接合成或點樣於玻璃或其他基質上之基因片段的微型陣列。數千種基因通常以單個陣列呈現。典型微陣列實驗涉及以下步驟：1)自由樣品分離之 RNA 製備經螢光標記之目標，2)使經標記之目標與微陣列雜交，3)對陣列進行洗滌、染色及掃描，4)分析掃描之影像，及 5)產生基因表現型態。當前正使用兩種主要類型之 DNA 微陣列：寡核苷酸(通常為二十五至七十聚體)陣列及含有自 cDNA 製備之 PCR 產物的基因表現陣列。在形成陣列時，寡核苷酸可預先製造且點樣至表面或直接合成於表面上(原位)。在一些實施例中，DNA 微陣列為單核苷酸多形現象(SNP)微陣列，例如 Affymetrix® SNP 陣列 6.0。

Affymetrix GeneChip®系統為可購得之微陣列系統，其包含藉由在玻璃表面上直接合成寡核苷酸所製造之陣列。探針/基因陣列：藉由基於半導體之光微影與固相化學合成技術之組合將寡核苷酸(通常為二十五聚體)直接合成於玻璃晶圓上。各陣列含有多達 400,000 種不同寡聚物且各寡聚物以數百萬個拷貝存在。由於寡核苷酸探

針係合成於陣列上已知之位置上，所以可藉由 Affymetrix 微陣列套裝軟體就基因身份及相對表現量來詮釋雜交型態及信號強度。各基因在陣列上由一系列不同寡核苷酸探針代表。各探針對由完全匹配寡核苷酸及錯配寡核苷酸組成。完全匹配探針具有與特定基因精確互補之序列且因此量測基因之表現。錯配探針與完全匹配探針的不同之處在於在中央鹼基位置上有單個鹼基取代，從而妨礙目標基因轉錄物之結合。此有助於確定促成針對完全匹配寡核苷酸所量測到之信號的背景及非特異性雜交。微陣列套裝軟體將錯配探針之雜交強度自完全匹配探針之雜交強度中減去以測定各探針組之絕對或比強度值。基於來自基因庫 (GenBank) 及其他核苷酸庫之當前資訊來選擇探針。咸信該等序列可識別基因之 3' 端之獨特區域。使用基因晶片雜交爐 (GeneChip Hybridization Oven) (「旋轉式 (rotisserie)」雜交爐) 使多達 64 個陣列同時進行雜交。射流台 (fluidics station) 對探針陣列進行洗滌及染色。其為完全自動的且含有四個模組，各模組固持一個探針陣列。經由微陣列套裝軟體，使用預先程式化之射流方案獨立地控制各模組。掃描器為共焦雷射螢光掃描器，其量測由結合於探針陣列之經標記 cRNA 所發射之螢光強度。具有微陣列套裝軟體之電腦工作站控制射流台及掃描器。微陣列套裝軟體可使用預先程式化之用於探針陣列之雜交、洗滌及染色方案控制至多八個射流台。該軟體亦獲取雜交強度資料且使用適當算法將其

轉換成各基因之存在/不存在呼叫信號。最終，該軟體藉由比較分析來偵測各實驗之間的基因表現變化，且將輸出結果之格式變成.txt 檔案，可使用該等檔案以其他軟體程式進行進一步資料分析。

實例

以下論述之實例僅僅意欲例示本發明且不應視作以任何方式限制本發明。該等實例不欲表示以下實驗為所進行之全部或僅有實驗。應瞭解，鑒於上文提供之一般性描述，可實施各種其他實施例。已努力確保所用數字(例如量、溫度等)的準確度，但應考慮到一些實驗誤差及偏差。除非另外指示，否則份數為重量份數，分子量為重量平均分子量，溫度以攝氏度計，且壓力為大氣壓或接近大氣壓。

實例 1：FGFR1-ECD.339-Fc 在組織培養物中抑制 FGFR1 擴增型肺癌細胞株之增殖

使 用
CONAN(<http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/genetics/CGP/conan/search.cgi>) 及
Tumorscape(<http://www.broadinstitute.org/tumorscape/pages/portalHome.jsf>) 鑒別呈現潛在 *FGFR1* 基因擴增之一組肺癌細胞株。CONAN 及 Tumorscape 表示在 SNP6.0 癌症資料集中擷取預定義或使用者定義之基因座的基因拷貝數資訊之公開資料挖掘工具(public data mining tool)。肺癌細胞株 DMS53、DMS114、NCI-H1581 及

NCI-H520 經鑒別具有潛在 *FGFR1* 基因擴增(每個細胞>4個拷貝)且選用於進一步分析。人類小細胞肺癌(SCLC)細胞株 DMS53 及 DMS114 係購自 ATCC(Manassas, VA; 分別為目錄號: CRL-2062; 目錄號: CRL-2066)。在含 5% CO₂ 之加濕氛圍中於 37°C 下在韋氏 MB(Waymouth's MB)752/1 培養基+10% FBS+2 mM L-麩醯胺酸中培養細胞。人類非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株 NCI-H1581 係購自 ATCC(Manassas, VA; 目錄號: CRL-5878)且培養於 ACL-4 培養基(無血清)中。用於 NCI-H1581 之基礎培養基為 DMEM:F12(50/50 混合物), 其中該基礎培養基中含以下組分: 0.02 mg/ml 胰島素、0.01 mg/ml 轉鐵蛋白、25 nM 亞硒酸鈉(最終濃度)、50 nM 氫化可的松(Hydrocortisone)(最終濃度)、1 ng/ml 表皮生長因子(最終濃度)、0.01 mM 乙醇胺(最終濃度)、0.01 mM 磷醯基乙醇胺(最終濃度)、100 pM 三碘甲狀腺胺酸(最終濃度)、0.5%(w/v)牛血清白蛋白(最終濃度)、0.5 mM 丙酮酸鈉(最終濃度)及 4.5 mM L-麩醯胺酸。在含 5% CO₂ 之加濕氛圍中於 37°C 下培養細胞。人類非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株 NCI-H520 係購自 ATCC(Manassas, VA; 目錄號: HTB-182)。在含 5% CO₂ 之加濕氛圍中於 37°C 下在 RPMI-1640 培養基+10% FBS+2 mM L-麩醯胺酸中培養細胞。

藉由 QuantiGene® Plex DNA 分析(Panomics)確認細胞株中 *FGFR1* 基因之擴增狀態。QuantiGene Plex DNA 分析為使用 xMAP® Luminex® 磁性珠粒之基於雜交之分析。對

FGFR1(NM_023110)、*ALB*(NM_000477)及 *DCK*(NM_000788)基因具特異性之個別基於珠粒之寡核苷酸探針組(包括捕捉探針、捕捉擴展探針、阻斷探針及標記探針)設計成防止交叉反應性(Panomics, Affymetrix, Santa Clara, CA)。使用 *ALB* 及 *DCK* 作為用於標準化 *FGFR1* 拷貝數之參考基因。使細胞樣品溶解以釋放 DNA 且與 *FGFR1* 目標特異性探針組一起培育隔夜。第二天，經由預擴增劑(PreAmp)、擴增劑(Amp)及生物素標記之標記探針(LP)之依序雜交建立信號放大譜樹。藉由添加藻紅蛋白抗生蛋白鏈菌素(SAPE)受質來偵測信號。使用 Luminex 200 流式細胞儀(Luminex, Austin, TX)在 575 nm 下偵測各捕捉珠粒之 SAPE 螢光。針對參考基因標準化所有資料且表示為比率(*FGFR1*/*ALB*)。四種細胞株之資料展示於表 2 中。

表 2. 肺癌細胞株中之 *FGFR1* 基因擴增

細胞株 (肺腫瘤亞型)	<i>FGFR1</i> 基因狀態 (拷貝數)	<i>FGFR1</i> -ECD.339-Fc 生長抑制作用	
		活體 外	活體內 (%TGI)*
DMS53(SCLC)	擴增(每個細胞 5 個拷貝)	+	+(64%)
DMS114(SCLC)	擴增(每個細胞 10 個拷貝)	+	+(64%)
NCI-H1581(NSCLC)	擴增(每個細胞 6 個拷貝)	+	+(74%)
NCI-H520(NSCLC)	擴增(每個細胞 8 個拷貝)	+	+(47%)

*TGI=腫瘤生長抑制。

為確定 *FGFR1*-ECD.339-Fc 在組織培養物中對肺癌細胞

株之影響，將細胞以 5×10^3 個細胞/孔之密度於含有 10%、1% 或 0.1% FBS 之培養基中在 15 $\mu\text{g/ml}$ FGFR1-ECD.339-Fc(SEQ ID NO: 6)或無關 ECD-Fc 融合蛋白(作為陰性對照)存在或不存在下接種於 Microtest™ 96 孔組織培養盤(Becton Dickenson, Franklin Lakes, NJ)中。在 37°C 下於 5% CO_2 下培育各培養盤 4 天且接著分析以確定 FGFR1-ECD.339-Fc 對細胞數及增殖之影響。

為測定細胞數，使用 CellTiter-Glo®發光細胞活力分析(Promega, Madison, WI)。CellTiter-Glo®為基於對所存在之 ATP(代謝活性細胞之指標)的定量來測定培養物中活細胞數目之均質方法。簡言之，將 CellTiter-Glo®試劑添加至組織培養盤之各孔中，添加體積等於各孔中所存在之細胞培養基之體積(100 μl)，在回轉式振盪器上混合內容物 2 分鐘以誘導細胞溶解且接著在室溫下培育培養盤 10 分鐘。接著在 EnVision™多標記培養盤讀取器(PerkinElmer, Boston, MA)上測定發光(積分時間為 0.2 秒)。結果表示為相對光單位(RLU)/孔。

來自 CellTiter-Glo®分析之結果表明在具有 FGFR1 擴增之所有四種細胞株中，FGFR1-ECD.339-Fc 培育使得細胞數顯著 ($P > 0.01$) 減少(第 1A 圖 - 第 1D 圖分別圖示 NCI-H1581、NCI-H520、DMS53 及 DMS114)。P 值係使用非配對 t 檢驗來確定。參見 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。

為確定 FGFR1-ECD.339-Fc 對細胞增殖之影響，使用氘化胸苷 ([³H]-TdR) 併入分析。在將肺癌細胞株與 FGFR1-ECD.339-Fc 或無關 ECD-Fc 陰性對照一起培育後，以每孔 1 μ Ci 之活性添加氘化胸苷 ([³H]-TdR ; PerkinElmer, Boston, MA)。暴露 16 小時後，評定氘化胸苷併入。用杜氏磷酸鹽緩衝生理食鹽水 (Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS ; Mediatech, Inc.) 洗滌細胞且藉由與胰蛋白酶-EDTA (Mediatech, Inc.) 一起培育自細胞培養表面移除。接著使用 FilterMate 收集器 (PerkinElmer) 自組織培養盤中移出細胞懸浮液 (200 μ l) 且經由 UniFilter-96 GF/B (PerkinElmer) 盤過濾。使用 95% 乙醇使細胞溶解且每孔添加 40 μ l Microscint 40 (PerkinElmer) 閃爍液。在 Topcount NXT (PerkinElmer) 閃爍計數器上將胸苷併入測定為每分鐘計數 (cpm)。結果表示為每分鐘計數/孔。

在氘化胸苷併入分析中，FGFR1-ECD.339-Fc 使 NCI-H1581、NCI-H520、DMS53 及 DMS114 細胞增殖分別減少 85%、33%、52% 及 81% (分別為第 2A 圖至第 2D 圖)。對照 ECD-Fc 對任何細胞株之細胞增殖均顯示無影響。亦如上所述在氘化胸苷併入分析中，在與 FGFR1-ECD.339-Fc 一起培育後測試另一肺腫瘤細胞株 NCI-H1703 (NSCLC ; *FGFR1* 基因拷貝數：每個細胞 6 個拷貝)。FGFR1-ECD.339-Fc 使 NCI-H1703 增殖減少 15%。

來自氘化胸苷併入分析之結果表明在具有 *FGFR1* 基因

擴增之所有四種細胞株中，FGFR1-ECD.339-Fc 培育使得細胞增殖顯著(*指示 $P > 0.05$)減少(第 2 圖)。P 值係使用非配對 t 檢驗來確定。參見 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。對照 ECD Fc 對任何細胞株之細胞增殖幾乎無影響。

跨越所研究之所有 FBS 濃度算出四種 *FGFR1* 基因擴增型肺癌細胞株中之每一者在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在下 CellTiterGlo 相對光單位(RLU)之降低百分比的平均值且與一組無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株相比較(第 3 圖)。在此實驗中研究之無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株包括 NCI-H838、NCI-H1793、A549、Calu-1、NCI-H226、NCI-H441、NCI-H460、NCI-H522 及 NCI-H2126。非擴增型細胞株係購自 ATTC(Manassas, VA)且根據供應商說明書來培養。如由 CellTiterGlo 所評定，在將添加 FGFR1-ECD.339-Fc 與添加對照 ECD-Fc 相比較的情況下，具有 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株的細胞數平均減少 46.25%。相比而言，如由 CellTiterGlo 所評定，在將添加 FGFR1-ECD.339-Fc 與添加對照 ECD-Fc 相比較時，無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株的細胞數平均減少 9.33%。此 FGFR1-ECD.339-Fc 對 *FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌細胞株在細胞數方面之影響之間的差異具統計顯著性($P=0.0039$)。

亦在 *FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌細胞株之間比較如由氙化胸苷併入所評定之 FGFR1-ECD.339-Fc 對細胞增殖之影響(第 4 圖)。跨越所研究之所有 FBS 濃度確定各

FGFR1 基因擴增型細胞株及上文所示之 *FGFR1* 基因非擴增型細胞株組在添加 *FGFR1*-ECD.339-Fc 的情況下細胞增殖之平均減少百分比。在將添加 *FGFR1*-ECD.339-Fc 與添加對照 ECD-Fc 相比較的情況下，具有 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株的 CPM 平均減少 62.75%。相比而言，在將添加 *FGFR1*-ECD.339-Fc 與添加對照 ECD-Fc 相比較時，無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株的 CPM 平均減少 17.0%。此 *FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌細胞株之間的差異具統計顯著性 ($P=0.0088$)。

實例 2：投與 *FGFR1*-ECD.339-Fc 會抑制 DMS53 小細胞肺癌 (SCLC) 異種移植物模型之腫瘤生長

六週齡雌性 SCID 小鼠係購自 Charles River Laboratories (Wilmington, MA) 且在開始研究之前使其適應 1 週。使用人類小細胞肺癌 (SCLC) 細胞株 DMS53 作為腫瘤模型且其購自 ATCC (Manassas, VA；目錄號：CRL-2062)。在含 5% CO_2 之加濕氛圍中於 37°C 下在韋氏 MB 752/1 培養基 + 10% FBS + 2 mM L-麩醯胺酸中培養細胞，持續三次繼代。當培養之細胞達到 85% 至 90% 匯合度時，收集細胞且將其以每毫升 5×10^7 個細胞再懸浮於含有 50% 基質膠之冷無 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 之磷酸鹽緩衝生理食鹽水 (PBS) 中。將細胞以每只小鼠每 100 μl 5×10^6 個細胞皮下植入於小鼠右側腹上。在細胞植入後次日，分選小鼠且隨機化 ($n=10$)，且開始根據下表 3 進行處理。

在 PBS 中以 3 mg/ml 調配 *FGFR1*-ECD.339-Fc，且以 15

mg/kg(每只小鼠 300 µg/100 µl)每週兩次腹膜內(i.p.)投與，持續四週。人類白蛋白係購自 Grifols USA(Los Angeles, CA；目錄號：NDC 61953-0002-1)，用 0.9%氯化鈉將其稀釋成工作儲液(3 mg/ml)，且用作陰性對照，以每只小鼠 300 µg/100 µl(15 mg/kg)每週兩次投與，持續四週。

表 3.給藥組

組	動物數	測試物品及劑量(每單位小鼠體重測試物品毫克數)	給藥途徑及時程
1	10	白蛋白	腹膜內，2x/週
2	10	FGFR1-ECD.339-Fc， 15 mg/kg	腹膜內，2x/週

在腫瘤細胞接種之日後第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天、第 35 天及第 39 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

當皮下腫瘤體積超過 2000 mm³ 時或當腫瘤變得極度壞死時，對小鼠實施安樂死作為「癌症死亡」。

第 5 圖圖示此實驗之結果。接受 FGFR1-ECD.339-Fc 之小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物減少 64%。FGFR1-ECD.339-Fc 處理組與媒劑處理組在第 37 天之 DMS 53 腫瘤體積的比較指示此結果具統計顯著性($P=0.003$)。 P 值係使用 ANOVA 分析來計算。參見例如 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。此分析表明 FGFR1-ECD.339-Fc 顯著減

少具有編碼 *FGFR1* 受體之基因的擴增之肺癌細胞株 DMS53 之腫瘤生長。

實例 3：投與 *FGFR1*-ECD.339-Fc 會抑制 DMS114 小細胞肺癌 (SCLC) 異種移植模型之腫瘤生長

六週齡雌性 SCID 小鼠係購自 Charles River Laboratories(Wilmington, MA)且在開始研究之前使其適應 1 週。使用人類小細胞肺癌 (SCLC) 細胞株 DMS114 作為腫瘤模型且其購自 ATCC(Manassas, VA；目錄號：CRL-2066)。在含 5% CO₂ 之加濕氛圍中於 37°C 下在韋氏 MB 752/1 培養基+10% FBS+2 mM L-麩醯胺酸中培養細胞，持續三次繼代。當培養之細胞達到 85%至 90%匯合度時，收集細胞且將其以每毫升 5×10^7 個細胞再懸浮於含有 50%基質膠之冷無 Ca²⁺及 Mg²⁺之磷酸鹽緩衝生理食鹽水 (PBS) 中。將細胞以每只小鼠每 100 μ l 5×10^6 個細胞皮下植入於小鼠右側腹上。在細胞植入後次日，分選小鼠且隨機化 (n=10)，且開始如上述實例 2 中所述進行處理。

在腫瘤細胞接種之日後第 3 天、第 10 天、第 16 天、第 19 天、第 24 天、第 27 天及第 31 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

當皮下腫瘤體積超過 2000 mm³ 時或當腫瘤變得極度壞死時，對小鼠實施安樂死作為「癌症死亡」。

第 6 圖圖示此實驗之結果。接受 *FGFR1*-ECD.339-Fc 之

小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物減少 64%。FGFR1-ECD.339-Fc 處理組與媒劑處理組在第 31 天之 DMS 114 腫瘤體積的比較指示此結果具統計顯著性 ($P=0.002$)。P 值係使用 ANOVA 分析來計算。參見例如 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。此分析表明 FGFR1-ECD.339-Fc 顯著減少具有編碼 *FGFR1* 受體之基因的擴增之肺癌細胞株 DMS114 之腫瘤生長。

實例 4：投與 FGFR1-ECD.339-Fc 會抑制 NCI-H1581 非小細胞肺癌 (NSCLC) 異種移植模型之腫瘤生長

六週齡雌性 SCID 小鼠係購自 Charles River Laboratories (Wilmington, MA) 且在開始研究之前使其適應 1 週。使用人類非小細胞肺癌 (NSCLC) 細胞株 NCI-H1581 作為腫瘤模型且其購自 ATCC (Manassas, VA; 目錄號: CRL-5878)。在 ACL-4 培養基 (無血清) 中培養細胞，持續三次繼代。用於此細胞株之基礎培養基為 DMEM:F12 (50/50 混合物)，其中該基礎培養基中含以下組分：0.02 mg/ml 胰島素、0.01 mg/ml 轉鐵蛋白、25 nM 亞硒酸鈉 (最終濃度)、50 nM 氫化可的松 (最終濃度)、1 ng/ml 表皮生長因子 (最終濃度)、0.01 mM 乙醇胺 (最終濃度)、0.01 mM 磷醯基乙醇胺 (最終濃度)、100 pM 三碘甲狀腺胺酸 (最終濃度)、0.5% (w/v) 牛血清白蛋白 (最終濃度)、0.5 mM 丙酮酸鈉 (最終濃度) 及 4.5 mM L-麩醯胺酸。在含 5% CO_2 之加濕氛圍中於 37°C 下培養細胞。當培養之

細胞達到 85%至 90%匯合度時，收集細胞且將其以每毫升 5×10^7 個細胞再懸浮於含有 50%基質膠之冷無 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 之磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)中。將細胞以每只小鼠每 100 μl 5×10^6 個細胞皮下植入於小鼠右側腹上。在細胞植入後次日，分選小鼠且隨機化 ($n=10$)，且開始如上述實例 2 中所述進行處理。

在腫瘤細胞接種之日後第 7 天、第 10 天、第 14 天、第 17 天、第 21 天、第 25 天及第 31 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

當皮下腫瘤體積超過 2000 mm^3 時或當腫瘤變得極度壞死時，對小鼠實施安樂死作為「癌症死亡」。

第 7 圖圖示此實驗之結果。接受 FGFR1-ECD.339-Fc 之小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物減少 74%。FGFR1-ECD.339-Fc 處理組與媒劑處理組在第 31 天之 NCI-H1581 腫瘤體積的比較指示此結果具統計顯著性 ($P < 0.001$)。P 值係使用 ANOVA 分析來計算。參見例如 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。此分析表明 FGFR1-ECD.339-Fc 顯著減少具有編碼 FGFR1 受體之基因的擴增之肺癌細胞株 NCI-H1581 之腫瘤生長。

實例 5：投與 FGFR1-ECD.339-Fc 會抑制 NCI-H520 非小細胞肺癌 (NSCLC) 異種移植模型之腫瘤生長

六週齡雌性 SCID 小鼠係購自 Charles River Laboratories(Wilmington, MA)且在開始研究之前使其適應 1 週。使用人類非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株 NCI-H520 作為腫瘤模型且其購自 ATCC(Manassas, VA; 目錄號: HTB-182)。在含 5% CO₂ 之加濕氛圍中於 37°C 下在 RPMI-1640 培養基+10% FBS+2 mM L-麩醯胺酸中培養細胞，持續三次繼代。當培養之細胞達到 85%至 90%匯合度時，收集細胞且將其以每毫升 5×10^7 個細胞再懸浮於含有 50%基質膠之冷無 Ca²⁺及 Mg²⁺之磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)中。將細胞以每只小鼠每 100 μ l 5×10^6 個細胞皮下植入於小鼠右側腹上。在細胞植入後次日，分選小鼠且隨機化(n=10)，且開始如下所述進行處理。

在 PBS 中以 3 mg/ml 調配 FGFR1-ECD.339-Fc，且以 20 mg/kg(每只小鼠 400 μ g/125 μ l)每週兩次腹膜內(i.p.)投與，持續四週。人類白蛋白係購自 Grifols USA(Los Angeles, CA; 目錄號: NDC 61953-0002-1)，用 0.9%氯化鈉將其稀釋成工作儲液(3 mg/ml)，且用作陰性對照，以每只小鼠 400 μ g/125 μ l(20 mg/kg)每週兩次投與，持續六週。

在腫瘤細胞接種之日後第 11 天、第 18 天、第 25 天、第 32 天、第 39 天及第 46 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

當皮下腫瘤體積超過 2000 mm³ 時或當腫瘤變得極度

壞死時，對小鼠實施安樂死作為「癌症死亡」。

第 8 圖圖示此實驗之結果。接受 FGFR1-ECD.339-Fc 之小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物減少 47%。FGFR1-ECD.339-Fc 處理組與媒劑處理組在第 46 天之 NCI-H520 腫瘤體積的比較指示此結果具統計顯著性 ($P < 0.01$)。P 值係使用 ANOVA 分析來計算。參見例如 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。此分析表明 FGFR1-ECD.339-Fc 顯著減少具有編碼 *FGFR1* 受體之基因的擴增之肺癌細胞株 NCI-H520 之腫瘤生長。

以與上述 SCLC 及 NSCLC 細胞株相似之方式測試 FGFR1-ECD.339-Fc 處理在使用非小細胞肺癌 (NSCLC) 細胞株 NCI-H1703 之另一異種移植物模型中之功效。接受 FGFR1-ECD.339-Fc 之小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物減少 31%。應注意，NCI-H1703 細胞株除 *FGFR1* 擴增之外亦含有藥物敏感性 *PDGFRA/PDGFC* 基因組擴增，此可能是引起所觀測到之適度功效的原因。

實例 6：具有 *FGFR1* 基因擴增之某些肺癌異種移植物模型對 FGFR1-ECD.339-Fc 介導之生長抑制作用的敏感性大於某些非 *FGFR1* 基因擴增型肺癌異種移植物模型

在 *FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌異種移植物模型之間比較 FGFR1-ECD.339-Fc 對腫瘤生長之影響。在此實驗中研究之無 *FGFR1* 擴增之肺癌細胞株如下：A549、NCI-H460、NCI-H226、NCI-H2126、NCI-H441、NCI-H358、

NCI-H522 及 Colo699。非擴增型細胞株係購自 ATTC(Manassas, VA)且根據供應商說明書來培養。實質上如實例 2 中所述使用非 *FGFR1* 基因擴增型細胞株建立肺癌異種移植物模型。

亦研究一組無 *FGFR1* 擴增之肺癌的患者源性異種移植物(PDX)模型對 *FGFR1*-ECD.339-Fc 之敏感性。已將 PDX 異種移植物直接自癌症患者移植至裸小鼠體內而不進行活體外組織培養。腫瘤異種移植物保留親本患者腫瘤之大部分特徵，包括組織學及對抗癌藥之敏感性。所研究之肺 PDX 模型如下：PDX D35087、PDX D37638、PDX D35376、LXFL-430、LXFE-937、LXFE-397、LXFA-737 及 LXFA-629。

在表 4 中概述所研究之肺 PDX 的初步病理學及患者特徵。

表 4：肺癌患者源性異種移植物(PDX)模型之特徵

腫瘤編號	組織類型	來源	分化	患者年齡	性別	階段
LXFE_937	鱗狀	肺	中度分化	37	女性	T3N1M0
LXFE_397	鱗狀	肺	分化不良	56	男性	T1N0Mx
LXFL_430	大細胞	肺	分化不良	53	男性	T2N1M0
LXFA_629	腺癌	肺	分化不良	59	男性	T3N2Mx
LXFA_737	腺癌	肺	中度分化	56	男性	T3N2Mx
PDX D35087	鱗狀	肺	中度分化	-	-	T3N0M0
PDX D37638	鱗狀	肺	分化不良	-	-	T3N2M0

PDX D35376	鱗狀	肺	中度分化	-	-	T2N0M0
------------	----	---	------	---	---	--------

六週齡雌性 SCID 小鼠係購自 Charles River Laboratories(Wilmington, MA)且在開始研究之前使其適應 1 週。自在供體 SCID 小鼠體內連續繼代之異種移植物獲得 PDX 腫瘤碎塊。在自供體小鼠移出腫瘤後，將其切成碎塊(1 至 2 mm 直徑，約 25 mg)且置放於 RPMI 1640 培養基中直至皮下植入為止。藉由吸入異氟烷使接受體小鼠麻醉。用鈍頭鉗形成小型袋囊，且將一塊腫瘤 PDX 置放於該袋囊中。使用多抹棒(dermabond)膠密封傷口且將一滴布比卡因(bupivacaine)置於切口上。在 PDX 植入後次日，分選小鼠且隨機化(n=10)，且開始如下所述進行處理。

在 PBS 中以 3 mg/ml 調配 FGFR1-ECD.339-Fc，且以 15 mg/kg(每只小鼠 300 μ g/100 μ l)每週兩次腹膜內(i.p.)投與，持續四至八週，視所植入之 PDX 腫瘤的生長速率而定。人類白蛋白係購自 Grifols USA(Los Angeles, CA；目錄號：NDC 61953-0002-1)，用 0.9%氯化鈉將其稀釋成工作儲液(3 mg/ml)，且用作陰性對照，以每只小鼠 300 μ g/100 μ l(15 mg/kg)每週兩次投與，持續四至八週，視所植入之 PDX 腫瘤之生長速率而定。

在腫瘤細胞接種之日後第 11 天、第 18 天、第 25 天、第 32 天、第 39 天及第 46 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤

尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

當皮下腫瘤體積超過 2000 mm³ 時或當腫瘤變得極度壞死時，對小鼠實施安樂死作為「癌症死亡」。

FGFR1-ECD.339-Fc 之腫瘤生長抑制百分比係藉由相較於白蛋白對照組，對經 FGFR1-ECD.339-Fc 處理之異種移植植物生長曲線進行曲線下面積(AUC)分析來確定。第 9 圖圖示此分析之結果的散點圖。具有 *FGFR1* 基因擴增之肺癌異種移植物的腫瘤生長在用 FGFR1-ECD.339-Fc 處理的情況下平均減少 56%。比較而言，無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌異種移植物的異種移植植物生長在用 FGFR1-ECD.339-Fc 處理的情況下相較於對照組平均減少 22%。*FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌異種移植植物模型之間由 FGFR1-ECD.339-Fc 介導之異種移植植物抑制作用的差異具統計顯著性($P=0.0333$)。

因此，發現 *FGFR1* 基因擴增型腫瘤細胞對 FGFR1-ECD.339-Fc 投與的敏感性大於具有未擴增 *FGFR1* 基因的腫瘤細胞。

實例 7：FGFR1 基因擴增型與非擴增型肺癌細胞株及異種移植植物中之 FGFR1 過度表現

在 FGFR1 基因擴增型與非擴增型肺癌細胞株、異種移植植物模型及 PDX 模型之間比較 FGFR1 在 RNA 層面上之表現。在此實驗中研究之無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株如下：A549、NCI-H460、NCI-H226、NCI-H2126、NCI-H441、

NCI-H358、NCI-H522、MSTO-211H 及 Colo699。非擴增型細胞株係購自 ATTC(Manassas, VA)且根據供應商說明書來培養。亦研究一組無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌的患者源性異種移植物(PDX)模型的 *FGFR1* mRNA 表現。所研究之肺 PDX 模型如下:PDX D35087、PDX D37638、PDX D35376、LXFL-430、LXFE-937、LXFE-397、LXFA-737 及 LXFA-629。所研究之肺 PDX 的初步病理學及患者特徵概述於上表 4 中。

使用 RNAeasy® 小型套組 (目錄號: 74104, Qiagen, Germany) 自活體外生長之細胞株或活體內生長之腫瘤異種移植物萃取 RNA。用脫氧核糖核酸酶 I 處理萃取之 RNA, 之後使用 QuantiTect 反轉錄套組 (目錄號: 205311, Qiagen, Germany) 用隨機六聚體引子法及反轉錄酶產生 cDNA。使用 *FGFR1* QuantiTect 引子分析 (Hs_FGFR1_1_SG, 目錄號: QT00102837, Qiagen, Germany) 及人類 GUSB 對照參考 QuantiTect 引子分析 (Hs_GUSB_1_SG, 目錄號: QT00046046, Qiagen, Germany) 測定人類 *FGFR1* RNA 表現。使用 QuantiTect SYBR 綠色 PCR 套組 (目錄號: 204145, Qiagen, Germany) 以使用即時 qRT-PCR 及 ABI Prism ViiA™ 7 即時 PCR 系統 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 定量 mRNA 表現量。根據比較性 Ct 方法, 使用人類 GUSB 作為參考物且使用市售 RNA 對照物 (Stratagene, La Jolla, CA) 來計算相對基因表現定量。根據下式確定相對定量:

$$2^{-(\Delta Ct \text{ 樣品} - \Delta Ct \text{ 校準物})}。$$

在具有 *FGFR1* 基因擴增與無 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株(第 10 圖)及異種移植物模型(第 12 圖)之間比較針對 GUSB 標準化之 *FGFR1* RNA 表現。

第 10 圖圖示具有 *FGFR1* 基因擴增及無 *FGFR1* 基因擴增之細胞株之 *FGFR1* RNA 表現的散點圖。具有 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株的 *FGFR1* mRNA 表現相較於無 *FGFR1* 基因擴增之細胞株存在統計顯著性增加($P=0.0114$)。第 10 圖亦表明一個肺癌細胞株子群在不存在 *FGFR1* 基因擴增下具有高 *FGFR1* mRNA 表現。針對 GUSB 標準化之 *FGFR1* 基因表現為 1.48 的 NCI-H226 及針對 GUSB 標準化之 *FGFR1* 基因表現為 1.26 的 NCI-H522 代表非擴增型肺癌細胞株群體中兩個最高之離群點。

NCI-H226 及 NCI-H522 在活體外亦對 *FGFR1*-ECD.339-Fc 具敏感性，使用氙化胸苷 ($[^3\text{H}]\text{-TdR}$) 併入分析及 CellTiter-Glo® 發光細胞活力分析 (Promega, Madison, WI)，分別出現細胞增殖減少及細胞數減少。第 11A 圖圖示 NCI-H226 細胞株之 CellTiter-Glo® 分析結果，表明在不具有 *FGFR1* 擴增之 NCI-H226 細胞株中 *FGFR1*-ECD.339-Fc 培育使得細胞數顯著(*指示 $P \leq 0.05$)減少。 P 值係使用非配對 t 檢驗來確定。參見例如 *Mathematical Statistics and Data Analysis*, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。

第 11B 圖圖示 NCI-H226 細胞株之氙化胸苷併入分析結果，表明在不具有 *FGFR1* 基因擴增之 NCI-H226 細胞株中

FGFR1-ECD.339-Fc 培育使得細胞增殖顯著(*指示 $P=>0.05$) 減少。 P 值係使用非配對 t 檢驗來確定。對照 ECD Fc 對 NCI-H226 細胞增殖幾乎無影響。

因此，某些不具有 *FGFR1* 基因擴增，但具有 *FGFR1* 過度表現之肺癌細胞株對 FGFR1-ECD.339-Fc 處理具敏感性。

第 12 圖圖示比較 *FGFR1* 基因擴增型與非擴增型肺癌異種移植物之 *FGFR1* mRNA 表現的散點圖。具有 *FGFR1* 基因擴增之異種移植物模型的 *FGFR1* RNA 含量相較於非擴增型細胞株存在統計顯著性($P=0.0146$)增加。另外，根據活體外資料，一個肺癌異種移植物模型子群在不存在 *FGFR1* 基因擴增下具有高 *FGFR1* RNA 表現。異種移植物模型 NCI-H226、NCI-H522 及 PDX D35087 代表非擴增型肺模型中 *FGFR1* RNA 表現之 3 個離群點(第 12 圖)，其中針對 *GUSB* 標準化之基因表現含量分別為 3.70、3.75 及 4.30。

NCI-H226、NCI-H522 及 PDX D35087 在活體內亦對 FGFR1-ECD.339-Fc 具敏感性，顯示在用 FGFR1-ECD.339-Fc 處理下其腫瘤生長分別出現 55%、42%及 57%的統計顯著性($P<0.05$)減少。對於 PDX D35087，實質上如實例 6 中所述進行實驗。

在 PDX D35087 植入之日後第 26 天、第 35 天、第 41 天及第 45 天量測各小鼠之腫瘤尺寸。使用測徑規量測各腫瘤之長度及寬度且根據下式計算腫瘤尺寸：

$$\text{腫瘤尺寸 (mm}^3\text{)} = (\text{寬度 (mm)} \times \text{長度 (mm)})^2 / 2$$

第 13 圖圖示此實驗之結果。接受 FGFR1-ECD.339-Fc 之小鼠的腫瘤生長相較於經白蛋白處理之動物而言受到抑制。FGFR1-ECD.339-Fc 處理組與媒劑處理組在第 45 天之 PDX 35087 腫瘤體積的比較指示此結果具統計顯著性 ($P < 0.01$)。P 值係使用 ANOVA 分析來計算。參見例如 Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA。此分析表明在不具有 *FGFR1* 基因擴增，但表現相對高含量之 *FGFR1* mRNA 的 PDX 肺腫瘤模型 D35087 中 FGFR1-ECD.339-Fc 使腫瘤生長顯著減少。

因此，某些不具有 *FGFR1* 基因擴增，但具有 *FGFR1* 過度表現之肺癌異種移植物模型對 FGFR1-ECD.339-Fc 處理具敏感性。

實例 8：FGFR1-ECD.339-Fc 反應之預測因子

使用 qRT-PCR 在一組 35 種腫瘤細胞株及異種移植物中測定一組 *FGFR1* 相關基因(包括 FGF 配體、FGF 受體、FGF 結合蛋白、FGF 信號傳導分子及一組血管生成相關目標)之 RNA 表現。使用 RNAeasy®小型套組(Qiagen, Germany)自活體外生長之細胞株或活體內生長之腫瘤異種移植物萃取 RNA。用脫氧核糖核酸酶 I 處理萃取之 RNA，之後使用 QuantiTect 反轉錄套組(Qiagen, Germany)用隨機六聚體引子法及反轉錄酶產生 cDNA。使用 QuantiTect 引子分析(Qiagen, Germany)，利用人類 GUSB 對照參考

QuantiTect 引子分析 (Qiagen, Germany) 測定人類及小鼠 RNA 表現。使用 QuantiTect SYBR 綠色 PCR 套組 (Qiagen, Germany) 以使用即時 qRT-PCR 及 ABI Prism ViiA™ 7 即時 PCR 系統 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 定量 mRNA 表現量。根據比較性 Ct 方法，使用人類 GUSB 作為參考物且使用市售 RNA 對照物 (Stratagene, La Jolla, CA) 來計算相對基因表現定量。根據下式確定相對定量： $2^{-(\Delta Ct \text{ 樣品} - \Delta Ct \text{ 校準物})}$ 。

此實驗中所用之腫瘤細胞株及異種移植物展示於表 5 中。在表 5 中亦展示小鼠異種移植物模型中之 FGFR1-ECD.339-Fc 給藥時程、腫瘤生長抑制百分比 (TGI(%)) 及腫瘤生長抑制作用之統計顯著性 (P 值)，以及 FGFR1 基因在細胞株中是否擴增。

表 5 : FGFR1-ECD.339-Fc 在一組異種移植物模型中之抗腫瘤活性

腫瘤類型	異種移植物模型	細胞株 / PDX	給藥途徑	劑量	給藥時程	TGI(%)	P 值	FGFR1 擴增狀態
結腸	HCT116	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	Colo205	細胞株	IV	5 mg/kg	BIW	38%	$P < 0.001$	非擴增
	Colo201	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	Colo201	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
腎	G-401	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	36%	$P < 0.05$	非擴增
	A498	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	7%	ns	非擴增
	Caki-1	細胞株	IV	10 mg/kg	BIW	81%	$P < 0.001$	非擴增
	Caki-1	細胞株	IV	10 mg/kg	BIW	81%	$P < 0.001$	非擴增
肺	A549	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	38%	$P < 0.05$	非擴增
	NCI-H460	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	35%	$P < 0.05$	非擴增
	NCI-H226	細胞株	IP	15 mg/kg	3x/w	55%	$P < 0.001$	非擴增
	NCI-H226	細胞株	IP	15 mg/kg	3x/w	55%	$P < 0.001$	非擴增

	NCI-H520	細胞株	IP	20 mg/kg	BIW	47%	$P<0.05$	擴增
	NCI-H1703	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	31%	$P<0.05$	擴增
	NCI-H2126	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	NCI-H441	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	NCI-H358	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	NCI-H522	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	42%	$P<0.05$	非擴增
	NCI-H1581	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	74%	$P=0.002$	擴增
	DMS53	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	64%	0.003	擴增
	DMS114	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	64%	$P<0.001$	擴增
	Calu-1	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	D35087	PDX	IP	15 mg/kg	BIW	57%	$P<0.01$	非擴增
	D37638	PDX	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	D35376	PDX	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	LXFA-737	PDX	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	LXFA-629	PDX	IP	15 mg/kg	BIW	65%	$P=0.007$	非擴增
間皮瘤	MSTO-211H	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	64%	$P<0.0001$	非擴增
膠質母細胞瘤	U-87	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	U-118	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	36%	ns	非擴增
	U-251	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	48%	$P=0.0078$	非擴增
視網膜母細胞瘤	Y79	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
前列腺	Du145	細胞株	IP	0.15 mg/kg	3×/w	31%	ns	非擴增
子宮內膜	MFE-280	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	96%	$P<0.001$	非擴增
	HEC-1B	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	30%	$P<0.05$	非擴增
	MFE-319	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
乳房	MDA-MB-231	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns	非擴增
	JIMT1	細胞株	IP	1 mg/kg	BIW	28%	$P<0.05$	非擴增

示範性異種移植實驗如下。對於 Caki-1 及 MSTO-211H，將五百萬個細胞皮下植入於 SCID 小鼠(每組 N=10)之右側腹上。以表 5 中所示之劑量每週兩次腹膜內投與 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白。第 16 圖圖示 FGFR1-ECD.339-Fc 在所選異種移植物模型中之抗腫瘤活性。圖示腎癌 Caki-1(A)及間皮瘤 MSTO-211H(B)異種移植物癌症模型之代表性腫瘤生長曲線。在腎細胞癌(RCC)Caki-1 模型中，以 10 mg/kg 每週兩次投與 FGFR1-ECD.339-Fc 持續 6 週，引起 81%($P<0.001$)之腫瘤生長抑制作用(TGI；第 16a 圖)。在 MSTO-211H 間皮瘤模型中，投與 FGFR1-ECD.339-Fc 使得腫瘤生長減少 64%(第 16b 圖)($P<0.0001$)。在有反應之腫瘤中，如藉由曲線下面積(AUC)分析所評定，FGFR1-ECD.339-Fc 顯著減小腫瘤體積。在所研究之 35 種模型中於 19 種模型(54%)中觀測到反應，反應之範圍為 25%至 96%抑制(參見表 5)。

為進一步瞭解使得異種移植物模型對以 FGFR1-ECD.339-Fc 進行之處理具敏感性之潛在分子決定因子，使用 qRT-PCR 在表 5 中之某些異種移植物模型中研究一組包括 FGF 配體、FGF 受體、FGF 結合蛋白及 FGF 信號傳導分子在內之基因的 RNA 表現。結果展示於下表 7 中。

接著使基因表現與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應相關聯以確定與抗腫瘤活性正相關及負相關之 RNA 表現特徵。表 8 展示該分析之結果。除 FGF2 之外，FGF18 之 RNA 表現

($P=0.02227$)亦與 FGFR1-ECD.339-Fc 抗腫瘤活性正(6.9 倍)相關。FGF 信號傳導之下游目標基因(*ets* 變異體 4(ETV4))為與 FGFR1-ECD.339-Fc 活性之正(2.897 倍)相關性最顯著($P=0.01639$)之基因。包括 *FGFR1IIIc* 剪接變異體($P=0.01603$)在內之 *FGFR1*($P=0.01276$)之表現為 FGFR1-ECD.339-Fc 反應之正向預測因子。*FGFR1IIIb* 剪接變異體之表現在該實驗中與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應不相關。除 *FGFR1* 之外，*FGFR3IIIc* 受體之表現($P=0.02488$)亦與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應正相關，反映出 FGFR1 與 FGFR3 受體之 IIIc 剪接同功異型物之間在 FGF 配體結合親和力方面存在潛在重疊。在此分析中未發現與 FGFR1-ECD.339-Fc 活性負相關之顯著基因。

表 8：在異種移植物模型中與 FGFR1-ECD.339-Fc 抗腫瘤反應有關之 FGF 相關基因表現之統計分析

基因	比率 [§]	P 值 [†]	基因	比率 [§]	P 值 [†]
<i>ETV4</i>	2.897	0.01639	<i>SPRY3</i>	1.665	0.4944
<i>FGFR1</i>	2.447	0.01669	<i>SPRY1</i>	1.394	0.5008
<i>FGFR3IIIc</i>	9.863	0.01944	<i>DUSP6</i>	0.6418	0.507
<i>FGF18</i>	6.915	0.02227	<i>FGF19</i>	1.203	0.5338
<i>FGF2</i>	247.7	0.03569	<i>FLRT1</i>	1.158	0.5676
<i>FGFR1IIIc</i>	3.647	0.0431	<i>FGF3</i>	1.431	0.5699
<i>DUSP4</i>	0.09578	0.08166	<i>FGFR4</i>	1.347	0.5755
<i>TNC</i>	0.0345	0.1212	<i>FGF9</i>	0.5356	0.6102
<i>VIM</i>	5.155	0.1448	<i>FGFR3</i>	1.767	0.6165
<i>ETV5</i>	1.447	0.1567	<i>SPRY2</i>	0.3142	0.6313
<i>FGFBP3</i>	1.84	0.1592	<i>SERPINE1</i>	0.333	0.6642
<i>PLAU</i>	0.3842	0.1781	<i>FGF21</i>	1.935	0.6744
<i>PLAUR</i>	0.3805	0.2408	<i>FLRT2</i>	0.2276	0.693
<i>FGF7</i>	1.991	0.243	<i>FGFR2b</i>	0.9266	0.7897
<i>FGF5</i>	24.79	0.2691	<i>FGF6</i>	0	0.8316
<i>KDR</i>	0.5892	0.2742	<i>FGFBP1</i>	0.5	0.8372
<i>FGF11</i>	2.153	0.2944	<i>SOX9</i>	1.181	0.8372
<i>MET</i>	0.4225	0.2962	<i>SPRY4</i>	0.9028	0.8372

<i>FGF2</i>	5.48	0.3015		<i>NCAM1</i>	1.661	0.8731
<i>DUSP5</i>	0.4765	0.3238		<i>FGF8</i>	1.052	0.9552
<i>FGF22</i>	1.604	0.3484		<i>ELK4</i>	1.062	0.9815
<i>FGF10</i>	1.91	0.3518		<i>CDH1</i>	0.1158	0.9818
<i>FGFR2</i>	1.402	0.3587		<i>ELK3</i>	1.157	0.9818
<i>FGF1</i>	0.09845	0.398		<i>FGFBP2</i>	0.7737	0.9818
<i>FGFR2IIIc</i>	5.546	0.4195		<i>FGF16</i>	1.076	1
<i>FGF17</i>	1.334	0.4361		<i>FLRT3</i>	0.7523	1
<i>FGFR3IIIb</i>	1.08	0.451				
<i>FGF20</i>	5.967	0.4729				
<i>FGFR1IIIb</i>	0.6493	0.486				

^s藉由 *FGFR1*-ECD.339-Fc 反應者/無反應者中之中值基因表現所確定的基因表現比率

^t*P* 值係藉由在使用表 5 中之所有模型的情況下反應者之各基因的 PCR 基因表現與無反應者之各基因之 PCR 基因表現相比較的曼-懷特尼檢驗 (Mann-Whitney test) 來確定。

為確定哪些 RNA 因子可在不存在 *FGFR1* 基因擴增下決定肺異種移植物反應，在非 *FGFR1* 擴增型肺模型子集中研究 *FGFR1*-ECD.339-Fc 反應之相關性 (N=13)。該分析之結果展示於表 9 中。反應性 *FGFR1* 非擴增型肺模型的 *FGF2* 表現相較於無反應性 *FGFR1* 非擴增型肺模型而言上調 >3,000 倍 (P=0.029)。在此實驗中，在非 *FGFR1* 擴增型肺子集中，*FGFR1IIIc* 及 *FGFR3IIIc* 之表現亦顯示與 *FGFR1*-ECD.339-Fc 反應呈現正向趨勢。

表 9：在非 *FGFR1* 擴增型肺異種移植物模型中與 *FGFR1*-ECD.339-Fc 抗腫瘤反應有關之 FGF 相關基因表現之統計分析

基因	比率 ^s	<i>P</i> 值 ^t	基因	比率 ^s	<i>P</i> 值 ^t
<i>FGF2</i>	3437	0.02857	<i>FGF8</i>	0.3268	0.5338

<i>SPRY2</i>	0.1395	0.05714	<i>FGF20</i>	0.4803	0.6573
<i>FGFR3IIIc</i>	3.765	0.1375	<i>ELK4</i>	1.019	0.6857
<i>DUSP5</i>	0.3241	0.2	<i>FGFBP2</i>	0.6526	0.6857
<i>FGFR1IIIc</i>	3.688	0.2343	<i>FLRT3</i>	0.2211	0.6857
<i>FGF21</i>	6.868	0.2454	<i>FGF11</i>	2.039	0.7308
<i>FGFR2</i>	8.793	0.2949	<i>FGF5</i>	44.05	0.8294
<i>FGFR1</i>	3.72	0.2949	<i>FGFR2IIIc</i>	2.029	0.8357
<i>FGF19</i>	20.79	0.3094	<i>FGF1</i>	1.45	0.8357
<i>FGFR1IIb</i>	0.553	0.3429	<i>FGFR3</i>	1.285	0.8357
<i>ELK3</i>	0.5091	0.3429	<i>FGFR4</i>	0.8265	0.8357
<i>SPRY4</i>	0.3532	0.3429	<i>FGF10</i>	0.4615	0.8357
<i>FGFBP1</i>	0.1836	0.3429	<i>FGF17</i>	0.4268	0.8357
<i>DUSP6</i>	0.1254	0.3429	<i>ETV5</i>	0.8563	0.8857
<i>DKK3</i>	46.5	0.366	<i>FLRT2</i>	0.828	0.8857
<i>FGF18</i>	2.455	0.366	<i>FLRT1</i>	0.8212	0.8857
<i>FGF22</i>	1.373	0.3836	<i>PLAUR</i>	0.716	0.8857
<i>FGF2</i>	30.92	0.4452	<i>FGFR3IIb</i>	0.7137	0.8857
<i>VIM</i>	4.122	0.4452	<i>FGFR2b</i>	0.5752	0.8857
<i>ETV4</i>	1.665	0.4452	<i>FGF16</i>	1.786	0.9452
<i>FGFBP3</i>	4.424	0.4857	<i>SPRY3</i>	1.051	0.9452
<i>SOX9</i>	0.3956	0.4857	<i>FGF9</i>	2.07	1
<i>SERPINE1</i>	0.3155	0.4857	<i>NCAM1</i>	1.391	1
<i>SPRY1</i>	0.1799	0.4857	<i>DUSP4</i>	0.9031	1
			<i>FGF3</i>	0.8571	1
			<i>FGF7</i>	0.738	1

^s藉由 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者之中值基因表現/無反應者之中值基因表現所確定的基因表現比率

[†]P 值係藉由在使用表 5 中之非 FGFR1 擴增型肺模型的情況下反應者之各基因的 PCR 基因表現與無反應者之各基因之 PCR 基因表現相比較的曼-懷特尼檢驗來確定。

研究在所有模型中針對與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應之相關性所鑒別之顯著基因標記之間在基因表現方面是否存在相關性。該分析之結果展示於表 10 中。在此實驗中，大部分經鑒別可預測 FGFR1-ECD.339-Fc 異種移植物反應的個別 RNA 標記之間存在顯著正相關性。舉例而言，異種移植物 FGF2 RNA 表現與 FGFR3IIIc、FGFR1IIIc 及 FGFR1

表現正相關 ($P<0.05$) ; FGFR1 RNA 表現與 FGFR3IIIc、FGF2 及 FGF18 正相關。ETV4 之表現與其他 FGFR1-ECD.339-Fc 反應性基因不相關。

表 10：在異種移植物模型中可預測 FGFR1-ECD.339-Fc 功效之基因表現標記的斯皮爾曼相關性 (Spearman correlation)

基因 1	基因 2	相關性	P 值 ^s
FGF18	FGFR1	0.47	0.0083
FGF18	FGFR1IIIc	0.57	0.0008
FGF2	FGFR3IIIc	0.49	0.0139
FGFR1	FGFR3IIIc	0.41	0.0244
FGF2	FGFR1IIIc	0.43	0.0336
FGF2	FGFR1	0.39	0.0447

^s 用孟特卡羅模擬法 (Monte Carlo simulation) 近似得到之雙側 p 值

第 14 圖圖示 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者及無反應者異種移植物中之 (A) FGF2 mRNA (針對 GUSB 進行標準化) 及 (B) FGF2 蛋白質表現。FGF2 之表現 ($P=0.03569$) 與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應正相關。FGFR1-ECD.339-Fc 反應者與無反應者異種移植物之間的 FGF2 之 mRNA 基因表現呈現高比率 (247.7 倍)。FGF2 蛋白質含量亦經確定與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應相關。

第 17 圖圖示 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者及無反應者異種移植物中之 (A) FGFR1 mRNA 表現 (針對 GUSB 進行標準化) 及 (B) FGFR3IIIc mRNA 表現 (針對 GUSB 進行標準化)。FGFR1 ($P=0.01669$; 第 17a 圖) 及 FGFR1IIIc 剪接變異體

($P=0.0431$ ；表 8)之表現與 FGFR1-ECD.339-Fc 抗腫瘤活性正相關。除 FGFR1 之外，FGFR3IIIc 受體之表現($P=0.01944$ ，表 8)亦與 FGFR1-ECD.339-Fc 抗腫瘤反應正相關(第 5b 圖)，反映出 FGFR1 與 FGFR3 受體之 c 剪接同功異型物之間在 FGF 配體結合特異性方面存在重疊(參見例如 Zhang 等人, *J. Biol. Chem.* 281, 15694-15700 (2006)；Ornitz 等人, *J. Biol. Chem.* 271, 15292-15297 (1996))。

實例 9：FGFR1-ECD.339-Fc 反應之預測因子

使用 qRT-PCR 在一組 25 種異種移植物中測定 DKK3 mRNA 表現。使用 RNeasy®小型套組(Qiagen, Germany)自活體內生長之腫瘤異種移植物萃取 RNA。用脫氧核糖核酸酶 I 處理萃取之 RNA，之後使用 QuantiTect 反轉錄套組(Qiagen, Germany)用隨機六聚體引子法及反轉錄酶產生 cDNA。使用 QuantiTect 引子分析(Qiagen, Germany)，利用人類 GUSB 對照參考 QuantiTect 引子分析(Qiagen, Germany)測定人類 DKK3 RNA 表現。使用 QuantiTect SYBR 綠色 PCR 套組(Qiagen, Germany)以使用即時 qRT-PCR 及 ABI Prism ViiA™ 7 即時 PCR 系統(Applied Biosystems, Foster City, CA)定量 mRNA 表現量。根據比較性 Ct 方法，使用人類 GUSB 作為參考物且使用市售 RNA 對照物(Stratagene, La Jolla, CA)來計算相對基因表現定量。根據下式確定相對定量： $2^{-(\Delta Ct \text{ 樣品} - \Delta Ct \text{ 校準物})}$ 。

此實驗中所用之腫瘤異種移植物展示於表 11 中。在表 11 中亦展示小鼠異種移植物模型中之 FGFR1-ECD.339-Fc

給藥時程、腫瘤生長抑制百分比(TGI(%))及腫瘤生長抑制作用之統計顯著性(P值)。

表 11.異種移植模型組及微陣列資料。

腫瘤類型	異種移植模型	細胞株/PDX	給藥途徑	劑量	給藥時程	TGI(%)	P 值
結腸	HCT116	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	Colo205	細胞株	IV	5 mg/kg	BIW	38%	$P<0.001$
	Colo201	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
腎	A498	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	7%	ns
	Caki-1	細胞株	IV	10 mg/kg	BIW	81%	$P<0.001$
肺	A549	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	38%	$P<0.05$
	NCI-H460	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	35%	$P<0.05$
	NCI-H226	細胞株	IP	15 mg/kg	3x/w	55%	$P<0.001$
	NCI-H520	細胞株	IP	20 mg/kg	BIW	47%	$P<0.05$
	NCI-H1703	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	31%	$P<0.05$
	NCI-H2126	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	NCI-H441	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	NCI-H358	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	NCI-H522	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	42%	$P<0.05$
	NCI-H1581	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	74%	$P=0.002$
	Calu-1	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
間皮瘤	MSTO-211H	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	64%	$P<0.0001$
膠質母細胞瘤	U-87	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	U-118	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	36%	ns
	U-251	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	48%	$P=0.0078$
視網膜母細胞瘤	Y79	細胞株	IP	10 mg/kg	BIW	0%	ns
前列腺	Du145	細胞株	IP	0.15 mg/kg	3x/w	31%	ns
子宮內膜	HEC-1B	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	30%	$P<0.05$
乳房	MDA-MB-231	細胞株	IP	15 mg/kg	BIW	0%	ns
	JIMT1	細胞株	IP	1 mg/kg	BIW	28%	$P<0.05$

接著使基因表現與 FGFR1-ECD.339-Fc 反應相關聯以確定與抗腫瘤活性正相關及負相關之 RNA 表現特徵。對 FGFR1-ECD.339-Fc 敏感之腫瘤中的 DKK3 mRNA 表現高於對 FGFR1-ECD.339-Fc 不敏感之腫瘤 ($P=0.0069$)。

第 15 圖圖示 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者及無反應者異種移植中之 DKK3 mRNA 含量(針對 GUSB 進行標準化)。水平線指示該組之中值表現量。

實例 10：FGFR1-ECD.339-Fc 在高劑量投與後不增加大鼠之血清磷酸鹽

FGFR1-ECD.339-Fc 與促有絲分裂 FGF 結合之親和力為與 FGF-23 結合之親和力的 10 倍至 100 倍。根據 SPR 分析，FGFR1-ECD.339-Fc 對齧齒動物 FGF-23 之結合親和力與對人類 FGF-23 之結合親和力類似(6.0×10^{-8} M 相較於 6.7×10^{-8} M)。對於大鼠，在以 10-200 mg/kg/qwk 之劑量範圍每週四次 FGFR1-ECD.339-Fc 給藥後，研究此相對較弱之 FGFR1-ECD.339-Fc/FGF-23 結合的潛在生物學影響。

在第一實驗中，用媒劑、10 mg/kg/qwk、50 mg/kg/qwk 或 200 mg/kg/qwk 之 FGFR1-ECD.339-Fc 對史泊格多利大鼠(Sprague Dawley rat)(Charles River Labs；每組 N=5)進行給藥，每週給藥四次，且在整個研究中藉由基於 ELISA 之偵測方法來測定 FGFR1-ECD.339-Fc 之血漿濃度。

使用定量 ELISA 來測定血漿中之 FGFR1-ECD.339-Fc 濃度。簡言之，將重組人類 FGF-2(R&D Systems)固定於半孔微量滴定 ELISA 盤上，阻斷且與測試樣品(用阻斷緩衝液/20 μ g/mL 肝素 1:10 稀釋)一起培育。隨後洗滌盤且添加稀山羊抗人類 IgG-Fc HRP 抗體溶液(Sigma)且培育。在最終洗滌步驟後，添加四甲基聯苯胺過氧化酶受質溶液且在環境溫度下在平緩振盪下培育。用磷酸溶液停止反

應。在盤讀取器上(450 nm)讀取盤。在藉由繪製光學密度(OD)對濃度之曲線圖所獲得之標準曲線上確定 FGFR1-ECD.339-Fc 濃度。

在第二實驗中，向史泊格多利大鼠(Charles River Labs；每組 N=5)藉由經口管飼法投與 FGFR 激酶抑制劑 PD173074(Chemdea, Ridgewood, NJ；每天 50 mg/kg)或媒劑對照物，持續 7 天；或藉由靜脈內投藥每週一次投與 FGFR1-ECD.339-Fc(200 mg/kg)或適當媒劑。在指定時間點採集血液樣品且在開始給藥後第 24 小時及第 168 小時測定血清磷酸鹽(Idexx laboratories, Westbrook, MA)。

該等實驗之結果圖示於第 18 圖中。在 200 mg/kg/qwk 劑量下，雌性及雄性大鼠之最大藥物血漿濃度分別為 3.6 mg/ml 及 4.2 mg/ml(第 18A 圖)。儘管藥物持續此等高含量，但任何 FGFR1-ECD.339-Fc 給藥組相較於接受媒劑之動物而言，未觀測到血漿磷酸鹽出現顯著變化(對於媒劑及 200 mg/kg/qwk FGFR1-ECD.339-Fc，分別為 9.61 mg/dL 與 10.19 mg/dL)。相比之下，用小分子 FGFR 激酶抑制劑 PD173043 每日對大鼠進行給藥在每日給藥 24 小時或 1 週時使得血漿磷酸鹽含量顯著升高(第 18B 圖)。另外，對用高劑量 FGFR1-ECD.339-Fc 處理之動物的 55 種組織進行的組織學分析未能揭露出與由 Brown 等人(*Toxicol. Pathol.* 33, 449-455 (2005))所報導之如下變化一致之任何變化，Brown 等人觀測到在投與 FGFR1 激酶活性小分子抑制劑後出現高磷酸鹽血症且在各種器官中存在鈣-

磷沈積。

另外，FGFR1-ECD.339-Fc 已完成以高達 16 mg/kg/qwk 對患有實體腫瘤之患者進行的第 1 期劑量遞增研究 (N=39)。在所研究之任何劑量下均未觀測到 FGFR1-ECD.339-Fc 對血清磷酸鹽有影響 (參見例如 Tolcher 等人, Proceedings of the 22nd EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics (2010))。總之，此等結果支持如下生物物理學資料：FGFR1-ECD.339-Fc 不以高親和力結合 FGF-23 且不會誘發如對於其他 FGFR 路徑廣泛抑制劑所示之高磷酸鹽血症。

實例 11：在基質膠塞分析中 FGFR1-ECD.339-Fc 介導之對由 FGF-2 及 VEGF-A 誘導之血管生成的抑制作用

將重組人類 FGF-2(最終濃度：250 ng/ml；Peprtech) 及/或重組人類 VEGF-A(最終濃度：100 ng/ml；Peprtech) 連同肝素鈉(2 單位/毫升；Sigma)一起添加至基質膠(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)中。將含有 FGF-2 及/或 VEGF-A 之基質膠塞(每只動物一個)皮下植入於 C57BL/6 小鼠(Charles River, Wilmington, MA)之腹部區域中。在基質膠植入後第 1 天、第 4 天及第 7 天藉由尾靜脈注射投與 FGFR1-ECD.339-Fc。第 9 天，切除各塞且處理用於蘇木精及曙紅(H&E)染色。使用 Retiga 2000R 數位攝影機(QImaging, Burnaby, BC)產生經染色之基質膠切片的數位影像。使用 Image-Pro Plus 5.1(Media Cybernetics Inc.,

Silver Spring, MD)進行影像分析。新血管生成定義為基質膠塞中之細胞反應，由新形成之血管及遷移之細胞組成。

該實驗之結果圖示於第 19 圖中。投與 5 mg/kg 或 5 mg/kg 以上之 FGFR1-ECD.339-Fc 可完全阻斷由注有 FGF-2 之基質膠塞所誘導的活體內血管生成。投與 15 mg/kg 或 45 mg/kg FGFR1-ECD.339-Fc 亦可完全阻斷回應於僅注有 VEGF-A 或注有 FGF-2 加 VEGF-A 之基質膠塞的活體內血管生成。在此模型系統中針對 VEGF 誘導之血管生成的抗血管生成活性可能反映出對塞中之 VEGF 與鼠類源性基質 FGF 之間的協同活性的抑制作用，因為 SPR 分析展示 FGFR1-ECD.339-Fc 不直接與 VEGF-A 相互作用。

為確定 FGFR1-ECD.339-Fc 是否阻斷 VEGF 誘導之內皮細胞增殖，將 HUVEC 細胞 (Life Technologies, Grand Island, NY) 以 4×10^3 個細胞/孔之密度於基礎培養基 (培養基 200 (Life Technologies)，含 2% 熱滅活 FBS) 中接種，且用 10 ng/ml FGF2 (R&D Systems, Minneapolis, MN) 或 15 ng/ml VEGF-A165 (R&D Systems, Minneapolis, MN) 在 10 μ g/ml FGFR1-ECD.339-Fc 存在或不存在下刺激。刺激後第 3 天，使用 CellTiter-Glo® 發光細胞活力分析測定 HUVEC 細胞增殖。

該實驗之結果圖示於第 20 圖中。FGFR1-ECD.339-Fc 雖然能夠阻斷 FGF-2 誘導之 HUVEC 增殖，但其不阻斷 VEGF 誘導之 HUVEC 增殖。

實例 12：FGFR1-ECD.339-Fc 抑制 Caki-1 腎細胞癌異種

移植物模型之腫瘤血管生成

將人類腎癌 Caki-1 細胞(1.5×10^7 個細胞/小鼠)細胞皮下植入於 CB17-SCID 小鼠之右側腹中。腫瘤植入後次日，將小鼠隨機化且用媒劑或 FGFR1-ECD.339-Fc(5 mg/kg)每週兩次靜脈內處理。在研究結束時(第 57 天)，切除腫瘤(每組 N=3)且用於組織學分析。用抗小鼠 CD31 單株抗體(BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)探測冷凍切片且使用結合 HRP 之二次抗體聯同二胺基聯苯胺染色(棕色)觀測。用蘇木精對載片進行對比染色以鑒別細胞核(藍色)。展示代表性切片(5x放大率)。

該實驗之結果圖示於第 21 圖中。在用 FGFR1-ECD.339-Fc 處理後，觀測到 CD31 染色減少，指示在此實驗中，投與 FGFR1-ECD.339-Fc 可抑制腫瘤血管生成。

實例 13：FGFR1-ECD.339-Fc 介導之對 JIMT-1 乳癌異種移植物模型之 FGFR1 信號傳導的抑制作用

向具有已建立(200mm^3)之人類乳癌 JIMT-1 腫瘤之動物每週一次(第 24 小時及第 72 小時時間點)或三次(多次劑量)腹膜內投與 15 mg/kg 劑量之 FGFR1-ECD.339-Fc。對於單次劑量組在給藥後第 24 小時及第 72 小時收集腫瘤樣品，且對於多次劑量組在最後一次給藥後第 48 小時收集腫瘤樣品，在液氮中速凍且在 RIPA 緩衝液(Sigma Aldrich, St Luis, MO)中溶解。藉由 SDS-PAGE 分離腫瘤溶胞物且使用單株抗體 FGFR1、pFGFR1、FRS2 α 、pFRS2 α 、Akt、pAkt

及β肌動蛋白(Cell Signaling Technology, Inc)進行西方墨點法。使用抗人類 Fc 單株抗體(Jackson Immuno Research)偵測 FGFR1-ECD.339-Fc。

該實驗之結果圖示於第 22 圖中。FGFR1-ECD.339-Fc 在給藥後第 24 小時減少磷酸化 FGFR1 之含量且在給藥後第 72 小時完全消除 FGFR1 磷酸化。在給藥後第 24 小時磷酸化 FRS 及 Akt 之含量減少且在兩天後進一步減少。因此，FGFR1-ECD.339-Fc 抑制 JIMT-1 乳癌異種移植物模型之 FGFR1 信號傳導。

序列表

表 6 列出本文所論述之某些序列。除非另外指示，否則所示 FGFR1 序列無信號肽。

表 6：序列及描述

SEQ ID NO	描述	序列
1	全長人類 FGFR1 ECD(具有信號肽)； SP-hFGFR1-ECD.353	MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EERPAVMTSP LYLE
2	全長人類 FGFR1 ECD(無信號肽)； hFGFR1-ECD.353	RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EERPAVMTSP LYLE
3	SP-hFGFR1-ECD.339	MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK

		NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL
4	hFGFR1-ECD.339	RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSNVNSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL
5	SP-hFGFR1-ECD.339-Fc	MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSNVNSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKVSN KALPAIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
6	hFGFR1-ECD.339-Fc	RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSNVNSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPLYQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKVSN KALPAIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
7	hFGFR1 信號肽	MWSWKCLLFWAVLVTATLCTA
8	Fc C237S	EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYCKVSN KALPAIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
9	示範性 Fc 1	ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISK KQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV

		KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
10	示範性 Fc 2	ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK

表 7.表 5 中之某些異種移植植物模型之基因表現值。

基因	A498	A549	Caki-1	Calu-1	Colo201	Colo205	D35087
AREG	0.007391	0.188156	1.24833	0.141611	1.1487	0.5	5.41702
CA12	6.49802	1.46409	1.00696	0.064257	0.003826	0.011924	NA
CDH1	0.001253	1.79005	0.269807	0.071298	3.94493	11.7942	NA
DKK3	0.128514	0.028557	1.01396	2	0.000157	0	3.50594
DUSP4	0.000171	0.066064	0.007977	0.028956	0.085378	0.171943	NA
DUSP5	0.026645	0.102238	0.68302	0.697372	0.125869	0.07966	NA
DUSP6	0.083043	0.203063	3.27161	1.18921	3.11666	0.570382	NA
EGF	0.004072	0.010525	0.036398	0.065607	0.000162	4.11E-05	NA
EGFR	0.646176	0.353553	0.450625	0.97942	0.558644	0.438303	NA
ELK3	0.04095	0.307786	0.76313	1.44393	0.085378	0.065607	NA
ELK4	0.000015	6.28E-05	0.000265	7.67E-05	0.000513	0.000322	NA
ERBB2	0.096723	0.185565	0.712025	0.271684	0.528509	0.566442	NA
ERBB3	0.456916	0.50698	0.22688	0.001677	1.23114	0.757858	2.53696
EREG	0	0.080772	2.11404	0.673617	1.03526	0.129408	0.03438
ETV4	0.010672	0.697372	0.346277	0.351111	0.297302	0.624165	3.77951
ETV5	0.034674	0.200267	0.784584	0.528509	0.303549	0.389582	NA
FGF1	0.037421	0.00357	0.001186	0.043889	0.04095	0.021051	0.681223
FGF10	0	1.17E-05	3.73E-05	0.000147	2.69E-05	2.19E-05	1.73E-05
FGF11	0.076947	0.003173	0.01937	0.000644	0.003696	0.002182	0.753929
FGF16	0	0.000348	0.000804	0.000649	0.002372	0.00143	0.011209
FGF17	4.72E-05	0.000148	4.14E-05	0.000156	0.001391	0.00093	0.000251
FGF18	0.000735	0.00194	0.004129	0.107321	0.006801	0.015303	0.012216
FGF19	0	0.000207	0	0	0.358489	0.721965	NA
FGF2	0.035158	0.166086	0.524858	0.000581	0	0	NA
FGF20	0.000159	0.000246	0.018841	0.005799	0.000115	0	NA
FGF21	4.29E-05	3.58E-05	0	2.55E-05	0.000918	0.000561	NA

FGF22	0.003002	0.004581	0.002879	0.004581	0.003285	0.002244	NA
FGF3	1.09E-05	0	0	0	0.021945	0.036147	NA
FGF4	0	0	0	0	0	0	NA
FGF5	0.020054	1.01E-05	0.033262	0.248273	0	2.83E-05	0.005164
FGF6	0	0	0	0	0	0	NA
FGF7	4.23E-05	0	9.3E-06	0.000143	0	3.01E-05	0
FGF8	0.000116	3.12E-05	0.000338	3.63E-05	0.00296	0.000918	0.000517
FGF9	0.000672	0.000735	0.001994	0.003545	0.037682	0.035649	NA
FGFBP1	0.001245	0.111878	2.01391	0.002405	0.006434	0.0017	NA
FGFBP2	7.46E-05	0.001253	0.005839	0.002137	0.00148	0.000355	NA

基因	A498	A549	Caki-1	Calu-1	Colo201	Colo205	D35087
FGFBP3	0.000203	0.001861	0.003217	0.000868	0.001642	0.002438	NA
FGFR1	0.356012	0.535887	1.1487	1.53688	0.664343	0.126745	4.30765
FGFR1IIlb	0.000152	0.000309	0.000288	0.000282	0.000963	0.000456	NA
FGFR1IIlc	0.119908	0.131215	0.193446	0.646176	0.114229	0.009753	0.381142
FGFR2	0.166086	0.001186	0.00072	0.001554	0.092142	0.003401	2.3227
FGFR2IIlb	0.009163	0.000334	8.63E-05	0.000169	0.045753	0.001797	NA
FGFR2IIlc	0.196146	0.000175	0.000133	0.000804	0.000275	8.51E-05	0.00162
FGFR3	0.327598	0.044811	0.456916	0.033493	0.148651	0.038741	4.50554
FGFR3IIlb	0.006661	0.006003	0.006524	0.00014	0.023036	0.010167	NA
FGFR3IIlc	0.039555	0.001576	0.063813	0.005048	0	0	0.001059
FGFR4	0.167241	0.111105	0.558644	0.000399	0.184284	0.107321	0.041146
FLRT1	0.002489	0.02352	0.01209	0.007867	0.040107	0.076415	NA
FLRT2	4.03E-05	0.042986	0.003879	1.12506	0	5.24E-05	NA
FLRT3	0.001586	0.051474	0.042986	0.000052	0.000186	0.001773	NA
HGF	0	0.007977	0.033961	0.000725	0	0	0
IGF1	0.000405	0.002613	0	0.000381	3.25E-05	0	NA
IGF1R	0.02977	0.598739	0.071794	0.469761	1.10957	1.01396	NA

IGF2	0.004129	0.05954	0.060371	0.043285	0.002438	0.000299	NA
KDR	0.000502	8.34E-05	0.000238	0.01418	0.000478	0.000122	0.000281
MET	1.28343	0.503478	7.26015	1.50525	0.790041	0.366021	NA
MMP1	2.51E-05	0.018841	0.007599	0.303549	0.000413	0.000899	NA
MMP2	1.54E-05	0.030186	0.888843	2.39496	0	0	12.3138
NCAM1	0.05366	5.85E-05	0.000485	0.000394	0.000159	2.44E-05	NA
PDGFRa	0.000627	0.00095	0.173139	0.219151	0	0	0.023016
PDGFRb	0.001887	0.000735	0.021793	0.952638	0.002405	0.001114	NA
PLAU	0.013888	0.267943	5.20537	0.456916	0.271684	0.289172	NA
PLAUR	0.228458	0.97942	0.920188	1.94531	0.582367	0.248273	NA
SERPINE1	0.61132	0.230047	1.94531	9.00047	0.077482	0.105843	NA
SOX9	0.602904	1.26576	2.82843	1.72907	1.87905	4.85678	NA
SPRY1	0.013415	0.022718	0.160428	0.198884	0.119908	0.186856	NA
SPRY2	0.028756	0.136787	0.5	0.301452	0.395021	0.50698	NA
SPRY3	0.002668	0.003086	0.014579	0.001491	0.002668	0.003521	0.003134
SPRY4	0.002372	0.001565	0.005336	0.022876	0.009163	0.020905	NA
TGFa	0.456916	0.051833	0.258816	0.009552	0.271684	0.127626	NA
TNC	0.002542	0.007139	0.222211	1.67018	0.50698	0.123279	NA
VIM	27.0958	13.8326	122.786	60.9688	0.336808	0.166086	43.9259

基因	D35376	D37638	DMS114	DMS53	Du145	G-401	HCT116
AREG	0.004051	1.51362	0.000292	0.008144	0.166086	0.0019	2.18859
CA12	NA	NA	NA	NA	0.015303	0.02936	0.026278
CDH1	NA	NA	NA	NA	0.933033	0.003262	1.09429
DKK3	0.000737	3.12315	NA	NA	0.010237	0.018073	5.43E-05
DUSP4	NA	NA	NA	NA	0.01468	0.000155	0.052193
DUSP5	NA	NA	NA	NA	0.028956	0.011281	0.316439
DUSP6	NA	NA	NA	NA	0.692555	2.63902	4.08405
EGF	NA	NA	0	0.000918	0.065607	1.09E-05	0.008609

EGFR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.594604	0.000399	1.42405
ELK3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.041521	0.156041	0.234881
ELK4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.000023	6.28E-05	0.000104
ERBB2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.389582	0.121582	0.217638
ERBB3	0.000903	0.108909	0.001913	0.012691	0.012691	0.012691	0.260616	0.031686	0.231647
EREG	0	0.002591	0	9.93E-06	9.93E-06	9.93E-06	0.034197	0.003853	5.65685
ETV4	0.151082	1.54928	NA	NA	NA	NA	0.014579	1.20581	0.15822
ETV5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.046071	0.426317	0.371131
FGF1	0.000328	0.050036	NA	NA	NA	NA	0.001631	0.000176	0.034674
FGF10	0.000157	0.00023	NA	NA	NA	NA	3.39E-05	0.5	0.000192
FGF11	0.012728	0.101173	NA	NA	NA	NA	0.008669	0.251739	0.022876
FGF16	0.026669	0.026479	NA	NA	NA	NA	0.000585	0.000311	0.000918
FGF17	0.000632	0.006306	NA	NA	NA	NA	0.006801	0.000681	0.011359
FGF18	0.000445	0.002484	NA	NA	NA	NA	0.00286	0.003826	0.03082
FGF19	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.000128	0.000937	0.035897
FGF2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.107321	0.008373	0.10083
FGF20	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.00145	0.30566	0.00613
FGF21	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.000193	4.59E-05	0.000231
FGF22	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.008373	0.002668	0.01937
FGF3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	6.23E-05	0.000331
FGF4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0
FGF5	5.91E-05	0.000808	NA	NA	NA	NA	0	1.84E-05	0
FGF6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.000052	0	0.00015
FGF7	0	0	NA	NA	NA	NA	7.11E-05	0.000233	0.000045
FGF8	0.000961	0.001714	NA	NA	NA	NA	0.000301	0.01541	0.006003
FGF9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.003065	0.001137	0.009227
FGFBP1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.050067	0	0.248273
FGFBP2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.001211	0.00029	0.005048

基因	D35376	D37638	DMS114	DMS53	Du145	G-401	HCT116
FGFBP3	NA	NA	NA	NA	0.000618	0.060371	0.00588
FGFR1	0.581641	0.709808	0.678302	0.078563	0.220676	1.32869	0.517632
FGFR1IIIb	NA	NA	0	0	0.001665	5.62E-05	0.085378
FGFR1IIIc	0.069464	0.386462	0.027585	0.01698	0.057512	0.473029	0.063373
FGFR2	0.000917	1.05416	0.008974	0.001084	0.033032	1.22264	0.137738
FGFR2IIIb	NA	NA	NA	NA	0.023036	0.049721	0.118257
FGFR2IIIc	0.000498	0.012137	NA	NA	0.00075	0.972655	0.000294
FGFR3	0.009346	0.580312	0.009163	0.002093	0.033262	0.025559	0.329877
FGFR3IIIb	NA	NA	NA	NA	0.005799	0.000844	0.030607
FGFR3IIIc	9.87E-05	0.00035	NA	NA	0.000135	0.003747	6.36E-05
FGFR4	0.000564	0.009061	0.002879	0.000168	0.004395	0.015953	0.042394
FLRT1	NA	NA	NA	NA	0.01698	0.005839	0.034197
FLRT2	NA	NA	NA	NA	0.009889	0.010027	0
FLRT3	NA	NA	NA	NA	0.007867	0.000886	0.002372
HGF	0.044508	0.009057	NA	NA	6.2E-06	2.23457	0
IGF1	NA	NA	NA	NA	0.002036	0.000294	0
IGF1R	NA	NA	NA	NA	0.297302	0.065154	0.088388
IGF2	NA	NA	NA	NA	0.006754	0.104386	0.20166
KDR	0.000377	0.009784	NA	NA	0.00294	0.000142	0.000557
MET	NA	NA	NA	NA	0.119908	0.003747	1.1487
MMP1	NA	NA	NA	NA	0.044502	0.000184	0.002339
MMP2	0.000158	0.138658	NA	NA	0	0.325336	0
NCAM1	NA	NA	NA	NA	0.000061	0.562529	0.003401
PDGFRa	0.005323	0.038353	NA	NA	0.000208	0.001748	0
PDGFRb	NA	NA	NA	NA	0.001381	0.007443	0.00294
PLAU	NA	NA	NA	NA	0.289172	0.00324	0.297302
PLAUR	NA	NA	NA	NA	0.194791	0.035403	0.429283
SERPINE1	NA	NA	NA	NA	0.03983	0.001153	0.45376
SOX9	NA	NA	NA	NA	0.063813	0.012174	1.94531
SPRY1	NA	NA	NA	NA	0.004876	0.088388	0.030396
SPRY2	NA	NA	NA	NA	0.027017	0.721965	0.055553
SPRY3	0.00269	0.006099	7.89E-05	0.000644	0.007599	0.007922	0.020054
SPRY4	NA	NA	NA	NA	0.000162	0.00162	0.003773
TGFa	NA	NA	NA	NA	0.05954	0.000428	0.121582
TNC	NA	NA	NA	NA	0.014579	0.000162	0.000118
VIM	16.4293	3.26549	NA	NA	2.15846	38.5858	0.051119

基因	HEC-1B	JIMT1	LXFA-629	LXFA-737	MDA-MB-231	MFE-280	MFE-319
AREG	0.000804	0.0625	0.794269	0.941087	1.37554	0.001511	0.001271
CA12	2.8481	0.010672	NA	NA	0.119908	0.02683	0.035403
CDH1	0.033493	3.20428	NA	NA	0.000139	0.602904	0.895025
DKK3	0.646176	0.118257	0.039949	0.067093	0.000516	0.188156	0.000761

DUSP4	0.000446	0.023683	NA	NA	0.070805	0.001511	6.87E-05
DUSP5	0.203063	0.050067	NA	NA	0.432269	0.039282	0.02936
DUSP6	2.36199	0.183011	NA	NA	3.68075	1.3566	0.084202
EGF	0.00588	0.023196	NA	NA	0.011125	0.001061	0.00362
EGFR	0.432269	3.03143	NA	NA	1.86607	0.092783	0.307786
ELK3	0.628507	0.154963	NA	NA	0.539614	0.03983	0.037163
ELK4	0.000032	0.00143	NA	NA	8.28E-05	0	8.3E-06
ERBB2	0.535887	5.06303	NA	NA	0.11744	1.31039	0.48971
ERBB3	0.072293	0.271684	0.152936	1.94598	0.046071	0.309927	0.080214
EREG	2.08E-05	0.06164	0.067803	0.041083	0.25349	1.78E-05	0.000119
ETV4	0.528509	0.493116	0.185141	0.889459	0.210224	0.888843	0.011598
ETV5	0.371131	0.179244	NA	NA	0.248273	0.05672	0.017824
FGF1	0.003354	0.036398	0.0984	0.004799	0.077482	0.000462	0.001032
FGF10	3.03E-05	0	3.2E-05	2.51E-05	3.23E-05	0.000168	4.9E-06
FGF11	0.009552	0.017948	0.173307	0.554631	0.003086	0.057115	0.009037
FGF16	9.78E-05	0.002137	0.016327	0.025879	0.000341	0.000485	0.000147
FGF17	0.000821	0.024349	0.000633	0.003234	0.000391	0.034197	0.013139
FGF18	1.45397	0.057115	0.00032	0.001085	0.001362	0.049378	0.043586
FGF19	0	0	NA	NA	7.26E-05	0.008432	7.3E-06
FGF2	0.021793	0	NA	NA	0	0.009889	0.001598
FGF20	0.006896	0	NA	NA	0.001785	0.001004	0.000016
FGF21	2.66E-05	0.000452	NA	NA	1.25E-05	0.000084	7.1E-06
FGF22	0.00519	0.019237	NA	NA	0.003401	0.012691	0.049037
FGF3	0.000011	0.001289	NA	NA	0	0.000735	0
FGF4	0	0	NA	NA	0	0.000437	0
FGF5	0.001011	0.004364	0.006428	5.47E-05	0.181747	2.23E-05	7.8E-06
FGF6	0	0	NA	NA	9.5E-06	0	3.09E-05
FGF7	2.14E-05	0	0	0	4.14E-05	9.85E-05	0.003173
FGF8	0.001325	0.00064	7.08E-05	0.000522	8.11E-05	0.000331	0.000368
FGF9	0.001011	0.008549	NA	NA	0.000495	0.001245	0.013697
FGFBP1	0.20733	0.664343	NA	NA	0.002244	0.002355	0.002065
FGFBP2	0.003195	0.000428	NA	NA	0.000127	0.001887	0.003961

基因	HEC-1B	JIMT1	LXFA-629	LXFA-737	MDA-MB-231	MFE-280	MFE-319
FGFBP3	0.000267	0.003065	NA	NA	0.00734	0.001047	0.00162
FGFR1	0.479632	5.89708	0.6208	0.448755	0.524858	1.22264	0.554785
FGFR1IIb	0.000475	0.204476	NA	NA	0.00097	0.00734	0.000509
FGFR1IIc	0.236514	1.86607	0.114633	0.108525	0.204476	1.02101	0.267943
FGFR2	0.050067	1.21419	0.121945	0.001513	0.003065	0.027394	0.211686
FGFR2IIb	0.012344	0.602904	NA	NA	0.001169	0.014279	0.160428
FGFR2IIc	0.016289	0.005448	2.79E-05	0.000266	0.000137	0.001178	0.009486
FGFR3	0.200267	0.840896	1.05256	1.51215	0.005154	0.094732	0.062935
FGFR3IIb	0.023196	0.148651	NA	NA	0.00147	0.007391	0.005486
FGFR3IIc	0.013139	0.000194	0.000669	0.000864	0.000132	0.000144	0.000152
FGFR4	0.225313	0.094732	0.005931	0.111491	0.000523	0.013985	0.004581

FLRT1	0.00362	0.018711	NA	NA	0.031034	0.041521	0.040667
FLRT2	0.001677	0	NA	NA	0.069348	0.00362	0.089003
FLRT3	0.041521	0	NA	NA	2.87E-05	0.002228	0.034197
HGF	2.62E-05	0	4.75E-05	0	0	5.13E-05	2.36E-05
IGF1	0	0.000581	NA	NA	0.000045	0.030186	0.000653
IGF1R	0.125869	0.61132	NA	NA	0.200267	0.063373	0.004743
IGF2	0.137738	0.196146	NA	NA	0.034197	0.0625	0.11744
KDR	0.000375	0.000233	0.000274	0.000304	0.01038	0.000686	0.001532
MET	4.46915	0.920188	NA	NA	0.450625	0.019915	0.057115
MMP1	0.021642	0.00162	NA	NA	0.45376	0.00093	0.002981
MMP2	0.162668	0.038741	0.67301	0.009119	0.000419	0.001381	0.000509
NCAM1	0.000104	9.58E-05	NA	NA	9.7E-06	0.039555	0.010027
PDGFRa	8.51E-05	0.001011	4.55E-06	0.001835	0.004016	0.018581	0.001253
PDGFRb	0.000862	0.002559	NA	NA	0.019915	0.003521	0.001025
PLAU	1.34723	1.40444	NA	NA	2.32947	0.007139	0.004581
PLAUR	0.316439	0.632878	NA	NA	0.757858	0.080772	0.008201
SERPINE1	0.096723	7.51618	NA	NA	2.82843	0.008432	0.001069
SOX9	0.858565	0.000145	NA	NA	0.429283	0.149685	0.004395
SPRY1	0.234881	0.00982	NA	NA	0.061214	0.039282	0.014989
SPRY2	0.271684	0.035403	NA	NA	0.297302	0.017098	0.029157
SPRY3	0.008432	0.012604	0.001365	0.045286	0.004518	0.006087	0.015843
SPRY4	0.020334	0.002981	NA	NA	0.018581	0.001861	0.000821
TGFa	0.118257	0.120742	NA	NA	0.034915	0.027776	0.087172
TNC	0.01541	0.737135	NA	NA	0.146604	0.020617	0.00613
VIM	69.551	5.54044	0.091157	0.065954	44.3235	2.39496	0.463294

基因	MSTO-211H	NCI-H1581	NCI-H1703	NCI-H2126	NCI-H226	NCI-H358	NCI-H441
AREG	0.0017	0.000868	1.87E-05	0.064704	0.013048	5.73582	2.44528
CA12	0.084788	0.084202	0.000012	0.003645	0.015734	0	0
CDH1	0.009618	0.073302	0.000772	1.81504	0.042986	12.7286	9.84916
DKK3	4.11246	0.127626	0.094732	0.000255	0.161544	0	3.71E-05
DUSP4	0.000309	0.000219	0.0007	0.045123	0.003496	0.040386	0.013508
DUSP5	0.186856	0.02797	0.02977	0.02836	0.174343	0.223756	0.190782
DUSP6	0.255253	1.47427	0.149685	0.062935	0.063813	4.34694	2.86791
EGF	0.003595	0.000997	0.00011	0.000542	0.00982	0.07966	0.049721
EGFR	1.56917	0.108819	0.34151	0.460094	3.05252	0.628507	0.895025
ELK3	0.473029	0.214641	0.376312	0.063813	0.435275	0.463294	0.329877
ELK4	3.97E-05	3.55E-05	0.000788	2.85E-05	4.44E-05	2.64E-05	0.00181
ERBB2	0.189465	0.368567	0.246558	0.20733	0.156041	0.641713	0.482968
ERBB3	0.011125	0.208772	0.00942	0.099442	0.073812	0.721965	0.447513
EREG	0	0.000157	1.41E-05	2.93E-05	0.000145	0.907519	1.18099
ETV4	0.063813	0.408951	0.466516	0.019641	0.166086	0.230047	0.148651
ETV5	0.15932	0.271684	0.907519	0.03125	0.293209	0.183011	0.20733
FGF1	0.007813	0.00564	0.002668	0.000158	0.016289	0.0819	0.006849
FGF10	0.000194	0.000546	9.58E-05	1.35E-05	0.000343	7.31E-05	3.58E-05

FGF11	0.022876	0.301452	0.001543	0.00282	0.005486	0.042394	0.019641
FGF16	0.002079	0.000523	7.46E-05	0.000239	0.002372	0.00029	0.001099
FGF17	4.32E-05	0.00879	0.001887	0.000117	0.001091	0.002307	1.46E-05
FGF18	0.005373	0.119908	0.005154	0.000549	0.619854	0.000686	0.000816
FGF19	9.25E-05	0.01038	2.25E-05	5.7E-06	3.63E-05	0.000804	0
FGF2	3.07375	0.528509	0.069348	7.26E-05	2.12874	0.000273	4.63E-05
FGF20	0.008432	0.121582	0.000174	0	0	0.000478	3.36E-05
FGF21	0	2.01E-05	6.28E-05	0.000003	7.94E-05	0	9.9E-06
FGF22	0.004158	0.009685	0.003173	0.00162	0.014082	0.00292	0.004843
FGF3	0	0.000109	0	1.12E-05	6.28E-05	3.48E-05	0
FGF4	0	0	0	0	0	0	0
FGF5	0.939523	0.00181	0.514057	0	0.148651	0.002595	0
FGF6	0	1.11E-05	2.68E-05	4.1E-06	3.03E-05	0	0
FGF7	0.013322	0.001609	0.000378	2.87E-05	4.11E-05	0.000112	2.08E-05
FGF8	0.000472	0.10083	0.000495	1.39E-05	0.000193	0.000397	0.000695
FGF9	0.002008	0.001253	0.000146	0.000234	0.028164	0.070316	0.010599
FGFBP1	0.111105	0.000782	2.77E-05	0.007239	0.469761	2.88786	0.607097
FGFBP2	0.000109	0.000478	4.03E-05	0.002743	0.000318	0.00128	0.000296

基因	MSTO-211H	NCI-H1581	NCI-H1703	NCI-H2126	NCI-H226	NCI-H358	NCI-H441
FGFBP3	0.004187	3.20428	0.001797	0.000597	0.00012	0.002405	0.001773
FGFR1	3.75809	2.05623	1.76541	0.146604	3.70635	0.607097	0.397768
FGFR1IIIb	0.000593	5.54E-05	0.000228	0.000589	0.00141	0.000362	0.001654
FGFR1IIIc	1.33793	1.17283	0.521233	0.011842	1.12506	0.045437	0.048027
FGFR2	0.002152	4.85678	0.02936	0.00071	0.023196	0.033726	0.001861
FGFR2IIIb	0.000644	0.303549	0.001773	0.000277	0.009355	0.020054	0.001106
FGFR2IIIc	0.000345	3.78423	0.008974	4.35E-05	0.006302	0.000531	0.000173
FGFR3	0.008315	0.043586	0.277392	0.051119	0.086569	0.156041	0.00367
FGFR3IIIb	7.57E-05	0.001835	0.01278	0.00849	0.005719	0.009889	2.23E-05
FGFR3IIIc	0.00088	0.006615	0.035403	0.000026	0.003377	0.000443	0
FGFR4	0.001343	0.004645	0.010309	0.005048	0.001642	0.004581	0.004334
FLRT1	0.004044	0.029564	0.036906	0.027017	0.002743	0.016863	0.033961
FLRT2	0.028164	0.008729	0.41466	0.013048	0.11908	0.118257	0.077482
FLRT3	2.77E-05	0.002559	0.001114	0.190782	0.001665	0.005226	0.005563
HGF	6.59E-05	0.005524	2.44E-05	0.00013	0	0	0
IGF1	0	0.006801	9.71E-05	0.000005	3.97E-05	0.030186	0.008729
IGF1R	0.275476	0.965936	0.021793	0.179244	0.840896	0.737135	0.211686
IGF2	2.36199	0.047366	0.005448	0.048361	0.023357	0.214641	3.94E-05
KDR	0.001253	0.004044	4.03E-05	8.63E-05	0.036398	0.5	0.271684
MET	1.75321	0.017337	0.128514	0.173139	2.53151	0.558644	4.82323
MMP1	0.035403	0.022718	0.307786	0.002542	0.058315	0.503478	0.001797
MMP2	3.11666	0.004809	0.003906	0.001099	0.078563	0	0
NCAM1	0.002524	0.000174	5.13E-05	0.000413	0.000856	0.000264	0.000169
PDGFRa	0.005962	0.486327	6.45313	0.000142	0.001926	0.001253	6.73E-05
PDGFRb	0.392292	0.178006	0.000627	0	0.267943	0.004518	0.001654

PLAU	1.6358	0.641713	0.00471	0.054788	0.021793	1.43396	3.53081
PLAUR	0.646176	0.11908	0.143587	0.447513	2.23457	0.773782	0.732043
SERPINE1	37.7918	0.275476	1.07923	0.06983	18.1261	0.316439	0.554785
SOX9	0.417544	0.450625	0.006087	0.214641	0.124137	1.45397	0.103665
SPRY1	0.012344	0.50698	0.185565	0.010525	0.00879	0.119908	0.0625
SPRY2	0.044502	0.030186	0.021642	0.062068	0.019641	0.186856	0.161544
SPRY3	0.001522	0.007289	0.01278	0.004016	0.003472	0.00296	0.001797
SPRY4	0.002323	0.009291	0.015093	0.000288	0.001091	0.004843	0.00471
TGFa	0.001161	0.008088	0.000581	0.01937	0.010097	0.320857	0.521233
TNC	0.02352	0.003262	3.76E-05	0.007546	0.100134	2.14355	1.07923
VIM	78.249	21.8566	32.6724	0.110338	19.8353	5.38893	0.479632

基因	NCI-H460	NCI-H520	NCI-H522	U-118	U-251	U-87	Y79
AREG	0.052556	0.05329	0.111878	0.000605	0.000065	4.3E-06	9.9E-06
CA12	0.082469	0.003906	0.010237	0.659754	0.087172	1.02811	0.358489
CDH1	0.004809	0.111105	0.005839	6.02E-05	0.007867	0.000181	0.000121
DKK3	0.017824	0.091505	0.017098	5.20537	1.51572	0.089003	0.00026
DUSP4	0.059129	0.002668	3.73E-05	0.000343	0.005448	0.01468	0.001785
DUSP5	0.032129	0.013697	0.016863	0.021642	0.094732	0.06164	0.046391
DUSP6	0.30566	1.49485	0.946058	0.273573	0.63728	0.476319	0.001491
EGF	0.07966	0.01176	5.35E-05	0.014885	0.15822	0.005083	2.14E-05
EGFR	0.11344	0.017948	0.473029	0.673617	0.993092	0.48971	0
ELK3	0.055169	0.006302	0.096055	0.368567	0.25349	0.084788	0.008669
ELK4	7.62E-05	7.41E-05	0	1.49E-05	4.89E-05	0.000129	4.1E-06
ERBB2	0.04181	0.049378	0.348686	0.169575	0.111878	0.005013	0.005962
ERBB3	0.001773	0.018841	0.011518	0.002275	0.019641	0.000416	0.001913
EREG	0.01698	3.03E-05	0.089622	0.034435	0.004216	0.395021	1.44E-05
ETV4	0.5	0.312083	0.266093	0.003424	0.085971	0.026278	0.00015
ETV5	0.133972	0.858565	0.056328	0.156041	1.09429	0.271684	0.003065
FGF1	0.000192	0.002137	0.001511	0.035649	0.120742	NA	0.000388
FGF10	3.55E-05	0.000233	0.02683	0.000236	0.000482	NA	0
FGF11	0.007289	0.010672	0.072796	0.00176	0.025033	0.003401	0.005759
FGF16	0.001554	0.00176	0.000383	0.000163	0.000225	NA	0.000112
FGF17	0.000176	0.006615	0.000288	4.14E-05	0.002421	NA	0.000681
FGF18	0.001665	0.055939	0.002065	0.039282	0.014378	NA	0.004487
FGF19	8.22E-05	0.447513	2.79E-05	0	0.000167	NA	0.000231
FGF2	0.162668	0.125	1.02101	0.325336	0.456916	NA	0.021493
FGF20	0	0.070805	0.000892	0.000104	0.001362	NA	1.27E-05
FGF21	5.28E-05	0.002022	0	6.28E-05	0.00012	NA	0.00002
FGF22	0.001913	0.028164	0.005719	0.001848	0.006708	NA	0.018073
FGF3	0	3.29436	9.6E-06	0	0	NA	7.2E-06
FGF4	0	0.000147	0	0	0	NA	0
FGF5	0	0.00052	0.000042	0.230047	0.032577	NA	5.7E-06
FGF6	4.5E-06	4.32E-05	0	4.4E-06	1.81E-05	NA	6.9E-06
FGF7	0.00143	0.001106	3.07E-05	0.00294	0.001554	NA	7.5E-06

FGF8	0.000148	0.002197	0.001236	8.94E-05	0	NA	0.006172
FGF9	0.001106	0.217638	0.03983	0.000886	0.001289	NA	0.000341
FGFBP1	0.000943	0.02352	6.32E-05	0.000113	0.000475	7.78E-05	0.000019
FGFBP2	0.002307	0.000943	0.000977	0.001271	0.002079	0.000502	0.000411

基因	NCI-H460	NCI-H520	NCI-H522	U-118	U-251	U-87	Y79
FGFBP3	0.017824	0.008549	0.00982	0.00639	0.007239	0.005263	0.00128
FGFR1	0.101531	7.46426	4.16986	1.25701	1.81504	NA	0.10083
FGFR1IIIb	1.47E-05	0.11744	0.000217	0.000104	0.000527	NA	1.02E-05
FGFR1IIIc	0.020054	2.17347	3.83706	0.952638	0.231647	NA	0.032804
FGFR2	0.001631	0.006003	0.004129	0.00088	0.082469	NA	0.044502
FGFR2IIIb	7.57E-05	0.001848	0.000462	0.000103	0.007189	NA	0.004876
FGFR2IIIc	0.000402	0.000109	0.003853	0.000488	0.023036	NA	0.016516
FGFR3	0.004016	0.291183	0.01937	0.002291	0.373712	NA	0.029977
FGFR3IIIb	5.35E-05	0.049378	0.00044	1.12E-05	0.010672	NA	0.000756
FGFR3IIIc	0.000136	0.000299	0.002981	1.55E-05	0.021051	NA	0.000899
FGFR4	0.000715	0.007041	0.001047	7.16E-05	0.001748	NA	0.006003
FLRT1	0.0625	0.020475	0.012517	0.001848	0.016747	0.006434	0.015625
FLRT2	0.395021	0.001381	0.006944	0.329877	0.033262	0.084788	0.007239
FLRT3	0.000618	0.00074	0.00072	0.000108	0	0.002108	0.000223
HGF	2.87E-05	0.007391	0.011679	1.19748	0.000411	1.32869	2.01E-05
IGF1	0	5.02805	0.001689	0.070805	0.015303	0.00471	0.000226
IGF1R	0.368567	0.028956	1.34723	0.041521	0.668964	0.052193	0.142595
IGF2	0.008258	0.00357	0.05872	0.097396	0.000459	0.000197	0.035649
KDR	0.007705	0.001145	0.000196	0.001228	0.003308	0.000108	0.00004
MET	0.262429	0.066064	0.089622	1.3566	0.366021	0.697372	0.00088
MMP1	0.00639	0.000125	0.033493	0.104386	0.003906	0.049378	5.4E-06
MMP2	0.006708	0.139661	0.003545	5.61778	2.37841	10.9283	0.001289
NCAM1	0.022251	0.02836	8.7E-06	0.000446	0.125	0.004016	0.030186
PDGFRa	0	0.001325	0.005759	1.07177	0.650671	0.120742	0.000121
PDGFRb	0.021945	0.00148	0.002152	3.50642	0	1.28343	0.000338
PLAU	0.011598	0.000226	0.021493	1.46409	0.933033	2.56685	8.57E-05
PLAUR	0.098755	0.022718	0.003826	0.190782	0.939523	0.933033	0.041235
SERPINE1	0.044811	0.010027	0.003002	1.54756	3.53081	2.2974	2.46E-05
SOX9	0.535887	0.496546	0.02797	0.119908	3.34035	0.30566	0.000983
SPRY1	0.010097	0.001532	0.334482	0.070316	0.092783	0.003496	0.019505
SPRY2	0.028956	0.115024	0.008851	0.092783	0.432269	0.351111	0.017458
SPRY3	0.046391	0.015517	0.001785	0.001598	0.009291	0.007813	0.004425
SPRY4	0.00181	0.007239	0.002668	0.002065	0.002879	0.002197	0.00012
TGFa	0.001665	0.099442	0.021793	0.002259	0.266093	0.024689	0.000296
TNC	0	0.000531	0.001609	2.62079	2.32947	4.02782	0.000341
VIM	13.0864	2.71321	5.1337	31.3414	48.1679	22.4711	0.790041

【圖式簡單說明】

第 1 圖圖示如實例 1 中所述在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在或不存在下，在改變血清量的情況下培養之 (A)NCI-H1581、(B)NCI-H520、(C)DMS53 及 (D)DMS114 腫瘤細胞培養物中的細胞數目。

第 2 圖圖示如實例 1 中所述在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在或不存在下，在改變血清量之情況下培養之 (A)NCI-H1581、(B)NCI-H520、(C)DMS53 及 (D)DMS114 腫瘤細胞的胸苷併入。

第 3 圖圖示如實例 1 中所述在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在下培養之各種 *FGFR1* 基因擴增型肺癌細胞株及各種 *FGFR1* 基因非擴增型肺癌細胞株的細胞數目之平均減少百分比的圖。

第 4 圖圖示如實例 1 中所述在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在下培養之各種 *FGFR1* 基因擴增型肺癌細胞株及各種 *FGFR1* 基因非擴增型肺癌細胞株的 3H-胸苷併入之平均減少百分比的圖。

第 5 圖圖示如實例 2 中所述植入有 DMS53 細胞且用 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白處理之小鼠在各個時間點的平均腫瘤體積。

第 6 圖圖示如實例 3 中所述植入有 DMS114 細胞且用 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白處理之小鼠在各個時間點的平均腫瘤體積。

第 7 圖圖示如實例 4 中所述植入有 NCI-H1581 細胞且用 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白處理之小鼠在各個時間點

的平均腫瘤體積。

第 8 圖圖示如實例 5 中所述植入有 NCI-H520 細胞且用 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白處理之小鼠在各個時間點的平均腫瘤體積。

第 9 圖圖示如實例 6 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 對具有 *FGFR1* 基因擴增之腫瘤細胞及具有未擴增 *FGFR1* 基因之腫瘤細胞之小鼠異種移植物的腫瘤生長抑制百分比。

第 10 圖圖示如實例 7 中所述存在及不存在 *FGFR1* 基因擴增之肺癌細胞株中 *FGFR1* mRNA 表現之散點圖。

第 11 圖圖示如實例 7 中所述對在改變血清量的情況下且在 FGFR1-ECD.339-Fc 存在或不存在下培養之 NCI-H226 細胞進行的 (A)CellTiterGlo®分析中之平均發光及 (B)氚化胸苷併入分析中的每分鐘計數之圖。

第 12 圖圖示如實例 7 中所述存在及不存在 *FGFR1* 基因擴增之肺癌異種移植物中 *FGFR1* mRNA 表現之散點圖。

第 13 圖圖示如實例 7 中所述植入有 PDX D35087 細胞且用 FGFR1-ECD.339-Fc 或白蛋白處理之小鼠在各個時間點的平均腫瘤體積。

第 14 圖圖示如實例 8 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者及無反應者異種移植物中之 (A)FGF2 mRNA(針對 GUSB 進行標準化)及 (B)FGF2 蛋白質表現(針對總蛋白質進行標準化)。

第 15 圖圖示如實例 9 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 反應者及無反應者異種移植物中之 DKK3 mRNA 表現(針對 GUSB

進行標準化)。

第 16 圖圖示如實例 8 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 在 (A)Caki-1 腎細胞癌異種移植物模型及 (B)MSTO-211H 間皮瘤異種移植物模型中之抗腫瘤活性。

第 17 圖圖示如實例 8 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 反應性及無反應性異種移植物模型中之 (A)FGFR1 及 (B)FGFR3IIIc mRNA 表現。

第 18 圖圖示如實例 10 中所述 (A)投與每週一次劑量 FGFR1-ECD.339-Fc 之大鼠隨時間推移之血漿 FGFR1-ECD.339-Fc 含量，及 (B)投與 FGFR1-ECD.339-Fc 或 FGFR 激酶抑制劑 PD173074 之大鼠在 24 小時及 168 小時後之血清磷酸鹽含量。

第 19 圖圖示如實例 11 中所述在基質膠塞分析中 FGFR1-ECD.339-Fc 介導之對由 FGF-2 及 VEGF-A 誘導之血管生成的抑制作用。

第 20 圖圖示如實例 11 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 不抑制由 VEGF-A 誘導之人類臍靜脈內皮細胞(HUVEC)增殖。

第 21 圖圖示如實例 12 中所述對投與 FGFR1-ECD.339-Fc 之 Caki-1 腎細胞癌異種移植物模型小鼠之腫瘤血管生成(如由 CD31 免疫染色所評定)的抑制作用。

第 22 圖圖示如實例 13 中所述 FGFR1-ECD.339-Fc 介導之對 JIMT-1 乳癌異種移植物中之 FGFR1 信號傳導的抑制作用。

序 列 表

<110> 美商戊瑞治療有限公司

<120> 治療癌症之方法

<130> FPT-32399/TW-1/ORD

<140> 101142331

<141> 2012-11-13

<150> US 61/559, 259

<151> 2011-11-14

<150> US 61/616, 761

<151> 2012-03-28

<160> 10

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 374

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala
1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln
20 25 30

Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly
35 40 45

Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile
50 55 60

Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg
65 70 75 80

Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
100 105 110

Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
115 120 125

Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
 130 135 140

Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu
 145 150 155 160

Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys
 165 170 175

Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr
 195 200 205

Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr
 225 230 235 240

Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu
 260 265 270

Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro
 290 295 300

Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val Met Thr
 355 360 365

Ser Pro Leu Tyr Leu Glu
 370

<210> 2

<211> 353

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln Pro Trp Gly Ala Pro
1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu
20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp
35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu
50 55 60

Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Phe Ser Val Asn
85 90 95

Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
100 105 110

Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val
115 120 125

Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu Lys Lys Leu His Ala
130 135 140

Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr
145 150 155 160

Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro
165 170 175

Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile
180 185 190

Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile
195 200 205

Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val
210 215 220

Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala
225 230 235 240

Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val
245 250 255

Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val
260 265 270

Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu
275 280 285

Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His
290 295 300

Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala
305 310 315 320

Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu
325 330 335

Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu
340 345 350

Glu

<210> 3
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala
1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln
20 25 30

Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly
35 40 45

Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile
50 55 60

Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg
65 70 75 80

Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
100 105 110

Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
 115 120 125

Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
 130 135 140

Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu
 145 150 155 160

Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys
 165 170 175

Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr
 195 200 205

Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr
 225 230 235 240

Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu
 260 265 270

Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro
 290 295 300

Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu
 355 360

<210> 4

<211> 339

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 4

Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln Pro Trp Gly Ala Pro
1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu
20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp
35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu
50 55 60

Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Phe Ser Val Asn
85 90 95

Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
100 105 110

Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val
115 120 125

Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu Lys Lys Leu His Ala
130 135 140

Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr
145 150 155 160

Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro
165 170 175

Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile
180 185 190

Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile
195 200 205

Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val
210 215 220

Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala
225 230 235 240

Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val
245 250 255

Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val
260 265 270

Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu
275 280 285

Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His
290 295 300

Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala
305 310 315 320

Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu
325 330 335

Glu Ala Leu

<210> 5
<211> 592
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala
1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln
20 25 30

Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly
35 40 45

Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile
50 55 60

Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg
65 70 75 80

Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
85 90 95

Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
100 105 110

Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
 115 120 125

Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
 130 135 140

Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu
 145 150 155 160

Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys
 165 170 175

Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr
 195 200 205

Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr
 225 230 235 240

Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu
 260 265 270

Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro
 290 295 300

Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
 355 360 365

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 370 375 380

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
385 390 395 400

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
405 410 415

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
420 425 430

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
435 440 445

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
450 455 460

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
465 470 475 480

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
485 490 495

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
500 505 510

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
515 520 525

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
530 535 540

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
545 550 555 560

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
565 570 575

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
580 585 590

- <210> 6
- <211> 571
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

<400> 6

Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln Pro Trp Gly Ala Pro
1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu
20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp
35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu
50 55 60

Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Phe Ser Val Asn
85 90 95

Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
100 105 110

Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val
115 120 125

Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu Lys Lys Leu His Ala
130 135 140

Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr
145 150 155 160

Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro
165 170 175

Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile
180 185 190

Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile
195 200 205

Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val
210 215 220

Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala
225 230 235 240

Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val
245 250 255

Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val
260 265 270

Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu
275 280 285

Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His
290 295 300

Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala
305 310 315 320

Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu
325 330 335

Glu Ala Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
340 345 350

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
355 360 365

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
370 375 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385 390 395 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
405 410 415

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
420 425 430

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
435 440 445

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
450 455 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
465 470 475 480

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
485 490 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
500 505 510

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
515 520 525

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
530 535 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545 550 555 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565 570

<210> 7
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala
1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala
20

<210> 8
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 9
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
225

<210> 10
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 10

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
225

七、申請專利範圍：

1. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療個體之具有 *FGFR1* 基因擴增之癌症之藥物，其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
2. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療個體之癌症之藥物，
其中，在投與該 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定具有 *FGFR1* 基因擴增，且
其中癌症中之 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少三個拷貝。
4. 如申請專利範圍第 3 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少四個拷貝。
5. 如申請專利範圍第 3 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少五個拷貝。
6. 如申請專利範圍第 3 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴

增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少六個拷貝。

7. 如申請專利範圍第 3 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少八個拷貝。
8. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞所具有的 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率為至少 1.5。
9. 如申請專利範圍第 8 項之用途，其中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之該比率為至少 2。
10. 如申請專利範圍第 8 項之用途，其中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之該比率為至少 2.5。
11. 如申請專利範圍第 8 項之用途，其中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之該比率為至少 3。
12. 如申請專利範圍第 8 項之用途，其中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之該比率為至少 3.5。
13. 如申請專利範圍第 8 項之用途，其中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之該比率為至少 4。
14. 如申請專利範圍第 2 項之用途，其中 *FGFR1* 基因擴增係藉由選自螢光原位雜交、陣列比較基因組雜交、DNA 微陣列、光譜核型分析、定量 PCR、南方墨點法或定序的方法來測定。
15. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之用途，其中該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至

少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。

16. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之用途，其中該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之標記。

17. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之用途，其中該癌症過度表現 ETV4。

18. 如申請專利範圍第 15 項之用途，其中該癌症過度表現至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。

19. 如申請專利範圍第 15 項之用途，其中 FGFR1 為 FGFR1IIIc。

20. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療個體之癌症之藥物，該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記，其中至少一種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

21. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療個體之癌症之藥物，

其中，在投與該 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之

前，該癌症之至少一部分細胞已確定過度表現至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記，且其中癌症中至少一種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

22. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該癌症過度表現至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之標記。
23. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該癌症過度表現 ETV4。
24. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該癌症過度表現至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之標記。
25. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療過度表現 FGF2 之癌症之藥物，其中 FGF2 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
26. 一種纖維母細胞生長因子受體 1(FGFR1)細胞外域(ECD)或 FGFR1 ECD 融合分子之用途，其係用於製備治療個體之癌症之藥物，

其中，在投與該 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之前，該癌症之至少一部分細胞已確定過度表現 FGF2，且

其中 FGF2 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

27. 如申請專利範圍第 25 項或第 26 項之用途，其中該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。
28. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該過度表現為蛋白質過度表現。
29. 如申請專利範圍第 28 項之用途，其中蛋白質過度表現係使用免疫組織化學來測定。
30. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該過度表現為 mRNA 過度表現。
31. 如申請專利範圍第 30 項之用途，其中 mRNA 過度表現係使用定量 RT-PCR 來測定。
32. 如申請專利範圍第 20 項或第 21 項之用途，其中該癌症具有 FGFR1 基因擴增。
33. 如申請專利範圍第 32 項之用途，其中具有 *FGFR1* 基因擴增之該癌症的至少一部分細胞包含該 *FGFR1* 基因之至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個或至少八個拷貝。
34. 如申請專利範圍第 1、2、20 及 21 中任一項之用途，其中該方法進一步包括投與至少一種其他治療劑。
35. 如申請專利範圍第 34 項之用途，其中至少一種其他治療劑係選自多烯紫杉醇 (docetaxel)、太平洋紫杉醇 (paclitaxel)、長春新鹼 (vincristine)、卡鉑 (carboplatin)、順鉑 (cisplatin)、奧沙利鉑 (oxaliplatin)、小紅莓

(doxorubicin)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、甲醯四氫葉酸(leucovorin)、培美曲塞(pemetrexed)、依託泊苷(etoposide)、拓撲替康(topotecan)、索拉非尼(sorafenib)、VEGF拮抗劑、VEGF捕捉劑(VEGF trap)、抗VEGF抗體及貝伐單抗(bevacizumab)。

36. 如申請專利範圍第1、2、20及21中任一項之用途，其中該方法包括投與FGFR1 ECD。

37. 如申請專利範圍第36項之用途，其中該FGFR1 ECD包含選自SEQ ID NO: 1至4之胺基酸序列。

38. 如申請專利範圍第1、2、20及21中任一項之用途，其中該方法包括投與FGFR1 ECD融合分子。

39. 如申請專利範圍第38項之用途，其中該FGFR1 ECD融合分子包含FGFR1 ECD及融合夥伴，且其中該融合夥伴為Fc。

40. 如申請專利範圍第39項之用途，其中該FGFR1 ECD融合分子包含選自SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 6之序列。

41. 如申請專利範圍第1、2、20及21中任一項之用途，其中該癌症係選自肺癌、腎癌、結腸癌、肝癌、乳癌、卵巢癌、子宮內膜癌、食道癌、頭頸部癌、膠質母細胞瘤及前列腺癌。

42. 如申請專利範圍第41項之用途，其中該癌症為肺癌、乳癌、頭頸部癌、腎癌或食道癌。

43. 如申請專利範圍第42項之用途，其中該癌症為肺癌。

44. 如申請專利範圍第43項之用途，其中該肺癌為非小細

胞肺癌。

45. 如申請專利範圍第 44 項之用途，其中該肺癌為小細胞肺癌。
46. 一種鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法，該方法包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中 *FGFR1* 基因之拷貝數，其中細胞中該 *FGFR1* 基因之拷貝超過 2 個指示該細胞具有 *FGFR1* 基因擴增，且其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
47. 一種鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法，該方法包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率，細胞中比率大於 1 指示該細胞具有 *FGFR1* 基因擴增，且其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
48. 如申請專利範圍第 46 項或第 47 項之方法，其中該 *FGFR1* 基因拷貝數或該 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率係藉由選自螢光原位雜交、陣列比較基因組雜交、DNA 微陣列、光譜核型分析、定量 PCR、南方墨點法或定序之方法來測定。
49. 如申請專利範圍第 46 項或第 47 項之方法，其進一步包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選

自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之蛋白質或 mRNA 的含量，其中至少一種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之蛋白質或 mRNA 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

50. 如申請專利範圍第 49 項之方法，其中該方法進一步包括測定至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之蛋白質或 mRNA 之含量。

51. 如申請專利範圍第 49 項之方法，其中該方法進一步包括測定 ETV4 之含量。

52. 一種鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法，該方法包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之蛋白質或 mRNA 的含量，其中至少一種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3、FGF18 及 ETV4 之蛋白質或 mRNA 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。

53. 如申請專利範圍第 52 項之方法，其中該方法包括測定至少一種、至少兩種、至少三種或至少四種選自 FGFR1、FGFR3IIIc、FGF2、DKK3 及 FGF18 之蛋白質或 mRNA 之含量。

54. 如申請專利範圍第 52 項之方法，其中該方法包括測定 ETV4 之含量。
55. 如申請專利範圍第 52 項或第 53 項之方法，其中 FGFR1 為 FGFR1IIIc。
56. 一種鑒別可受益於投與 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子之患有癌症之個體的方法，該方法包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中 FGF2 之含量，其中 FGF2 過度表現指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD 融合分子有治療反應性。
57. 如申請專利範圍第 56 項之方法，其進一步包括確定該癌症不具有 FGFR1 基因擴增。
58. 如申請專利範圍第 52 項或第 56 項之方法，其中測定一或多種蛋白質之含量。
59. 如申請專利範圍第 58 項之方法，其中該蛋白質含量係使用免疫組織化學來測定。
60. 如申請專利範圍第 52 項或第 56 項之方法，其中測定一或多種 mRNA 之含量。
61. 如申請專利範圍第 60 項之方法，其中該 mRNA 含量係使用定量 RT-PCR 來測定。
62. 如申請專利範圍第 52 項或第 56 項之方法，其進一步包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中 FGFR1 基因之拷貝數，其中細胞中該 FGFR1 基因之拷貝超過 2 個指示該細胞具有 FGFR1 基因擴增，且其中 FGFR1 基因擴增指示該癌症對 FGFR1 ECD 或 FGFR1 ECD

融合分子有治療反應性。

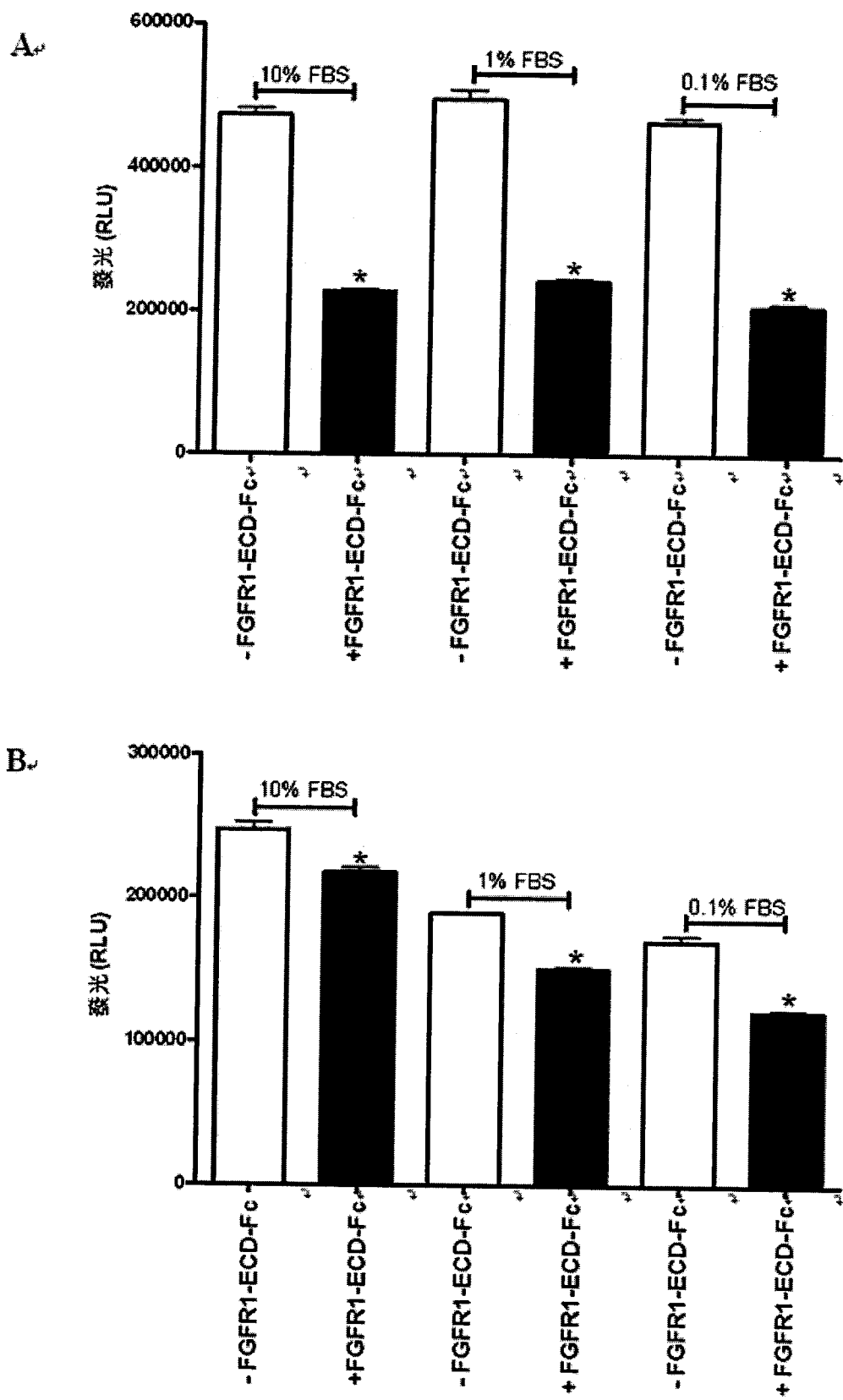
63. 如申請專利範圍第 52 項或第 56 項之方法，其進一步包括測定自該個體獲得之樣品中至少一部分癌細胞中 *FGFR1* 基因與染色體 8 著絲點之比率，細胞中比率大於 1 指示該細胞具有 *FGFR1* 基因擴增，且其中 *FGFR1* 基因擴增指示該癌症對 *FGFR1* ECD 或 *FGFR1* ECD 融合分子有治療反應性。
64. 如申請專利範圍第 46、47、52 及 56 項中任一項之方法，其中該 *FGFR1* ECD 包含選自 SEQ ID NO: 1 至 4 之胺基酸序列。
65. 如申請專利範圍第 46、47、52 及 56 項中任一項之方法，其中該 *FGFR1* ECD 融合分子包含 *FGFR1* ECD 及融合夥伴，且其中該融合夥伴為 Fc。
66. 如申請專利範圍第 65 項之方法，其中該 *FGFR1* ECD 融合分子包含選自 SEQ ID NO: 5 及 SEQ ID NO: 6 之序列。
67. 如申請專利範圍第 46、47、52 及 56 項中任一項之方法，其中該癌症係選自肺癌、腎癌、結腸癌、肝癌、乳癌、卵巢癌、子宮內膜癌、食道癌、頭頸部癌、膠質母細胞瘤及前列腺癌。
68. 如申請專利範圍第 67 項之方法，其中該癌症為肺癌、乳癌、腎癌、頭頸部癌或食道癌。
69. 如申請專利範圍第 68 項之方法，其中該癌症為肺癌。
70. 如申請專利範圍第 69 項之方法，其中該肺癌為非小細胞肺癌。

71. 如申請專利範圍第 69 項之方法，其中該肺癌為小細胞肺癌。

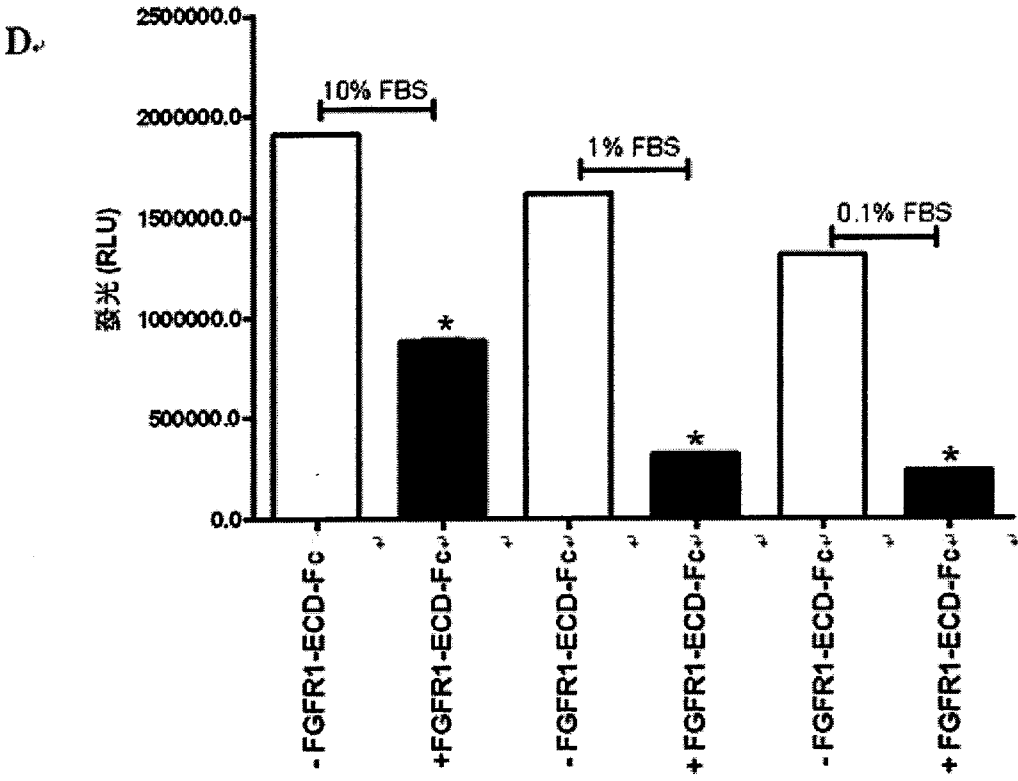
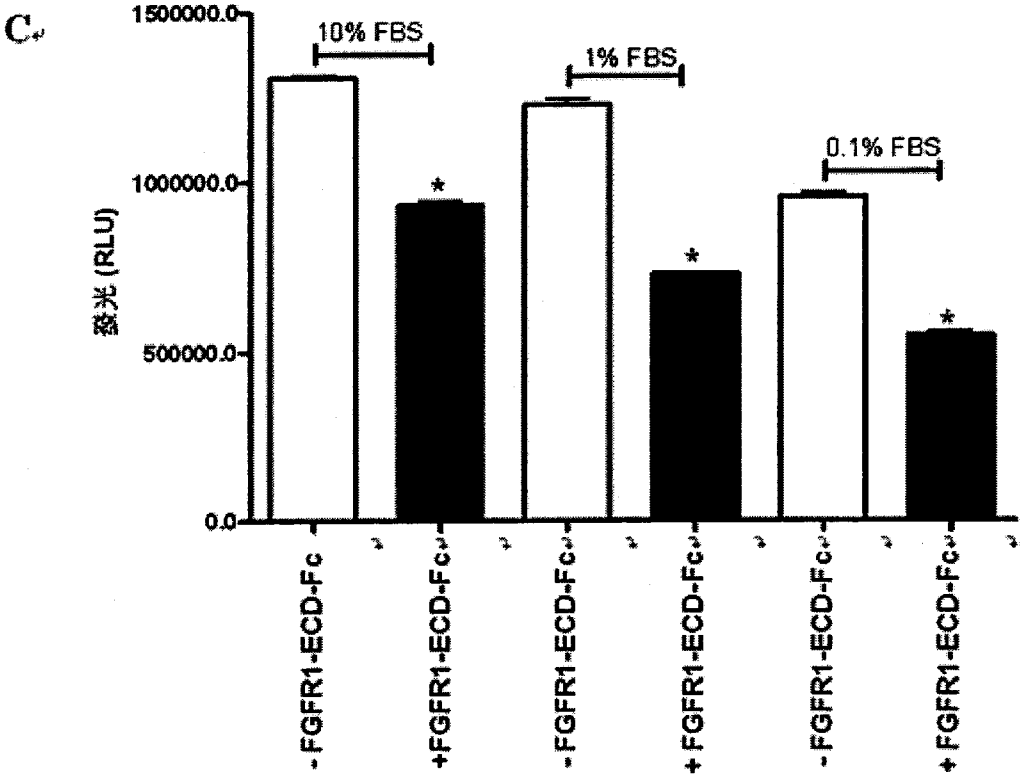
O

O

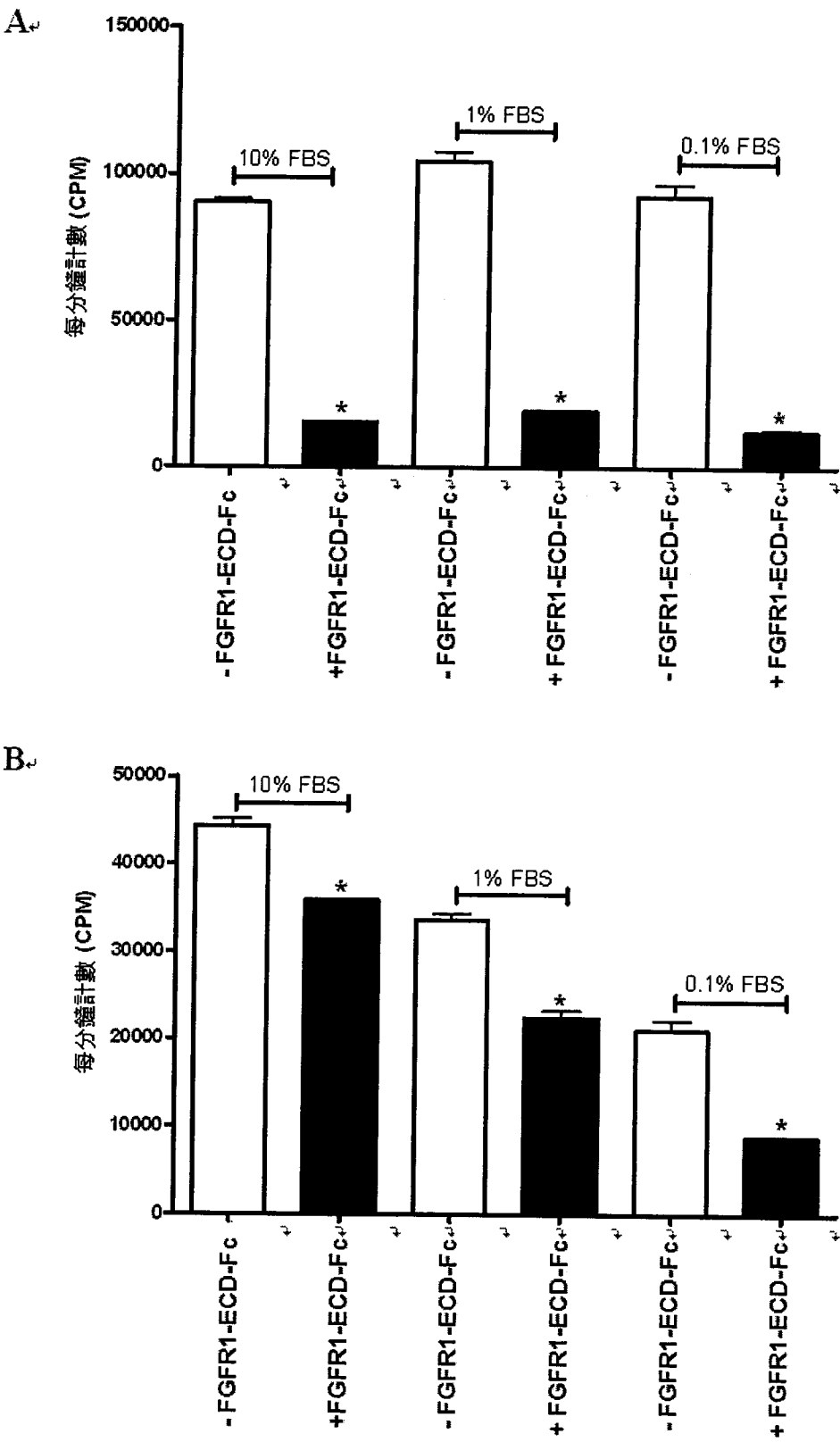
八、圖式：



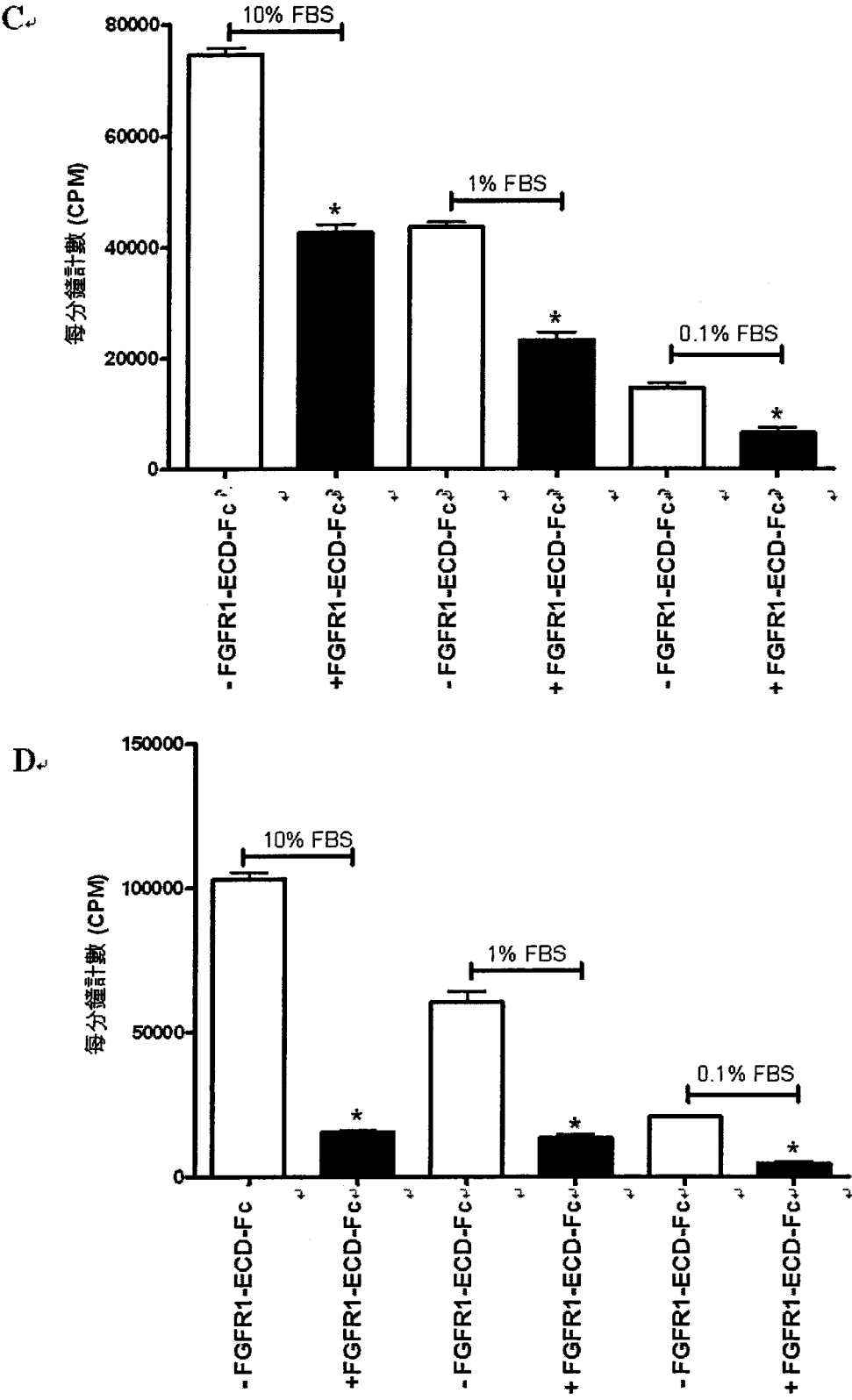
第 1 圖



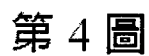
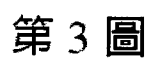
第 1 圖

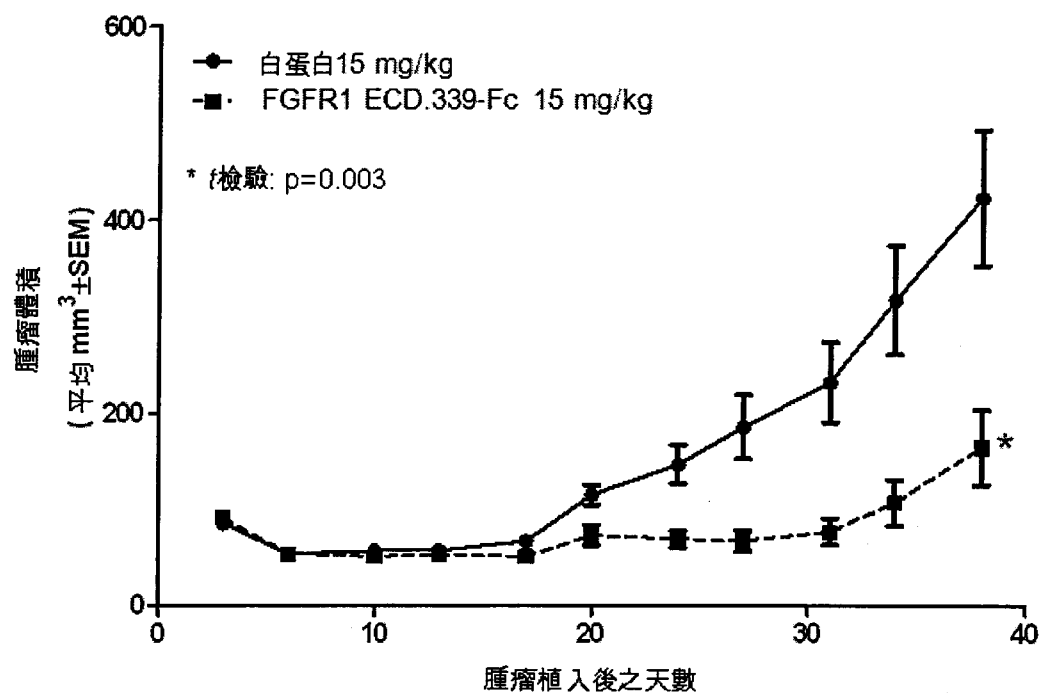


第 2 圖

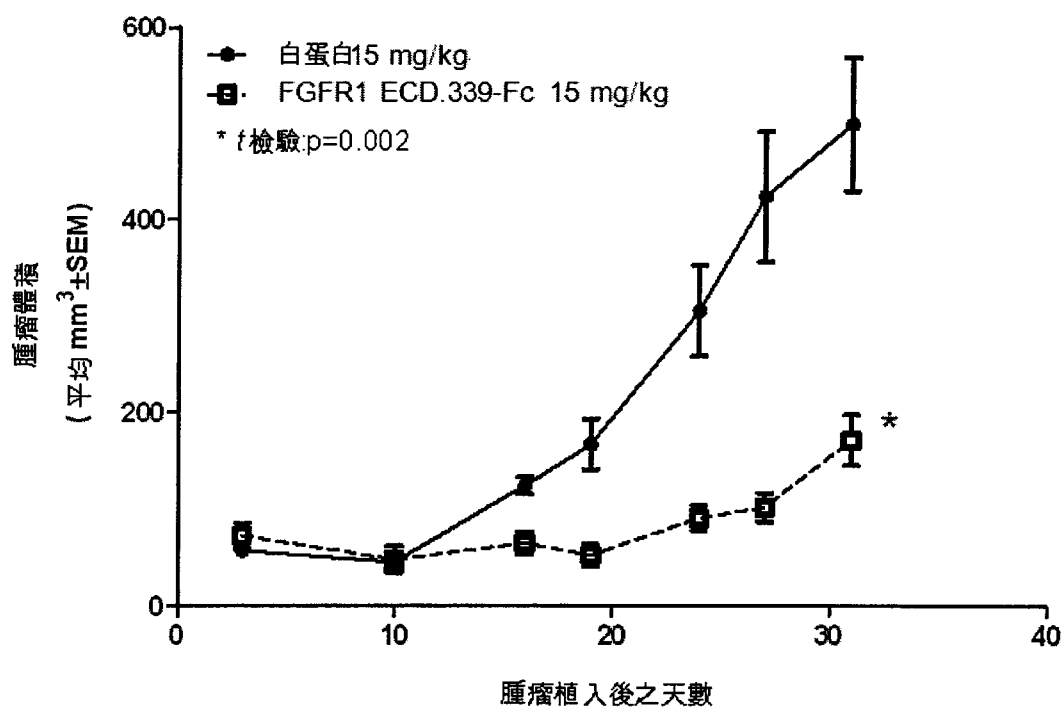


第 2 圖

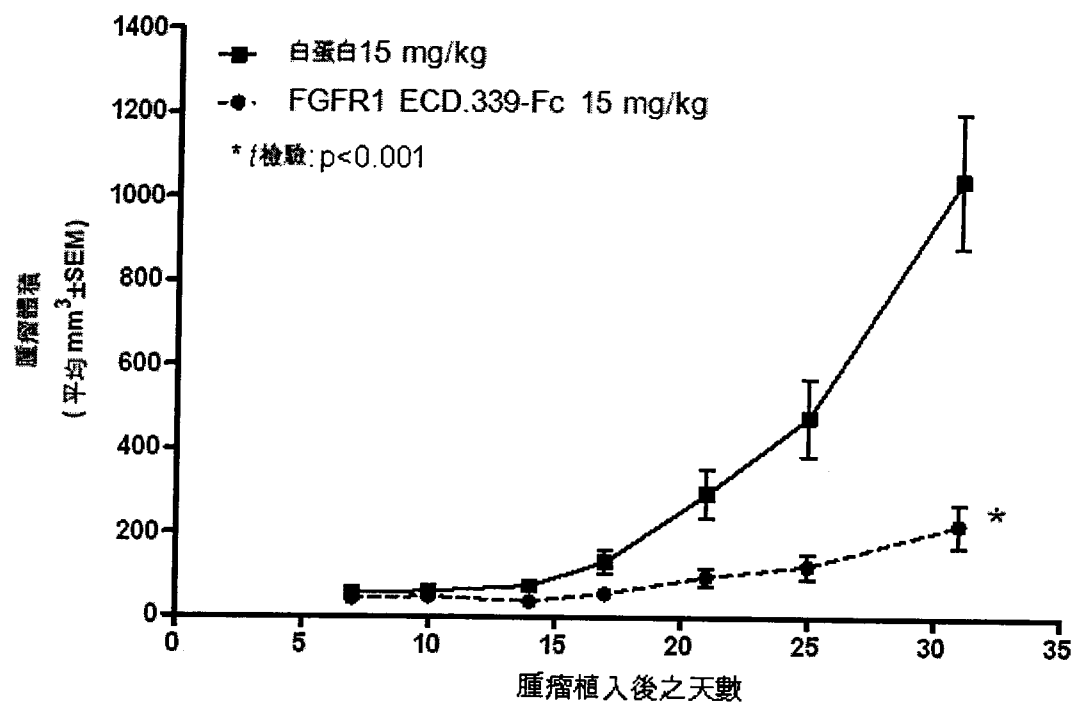




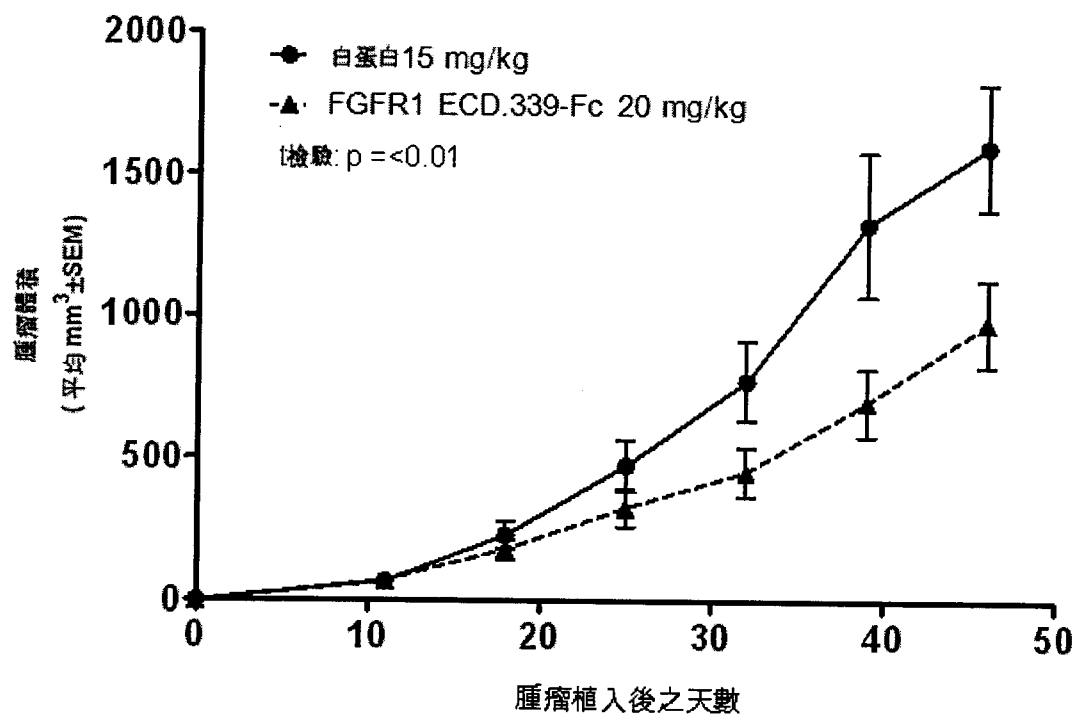
第 5 圖



第 6 圖



第 7 圖



第 8 圖

第 9 圖

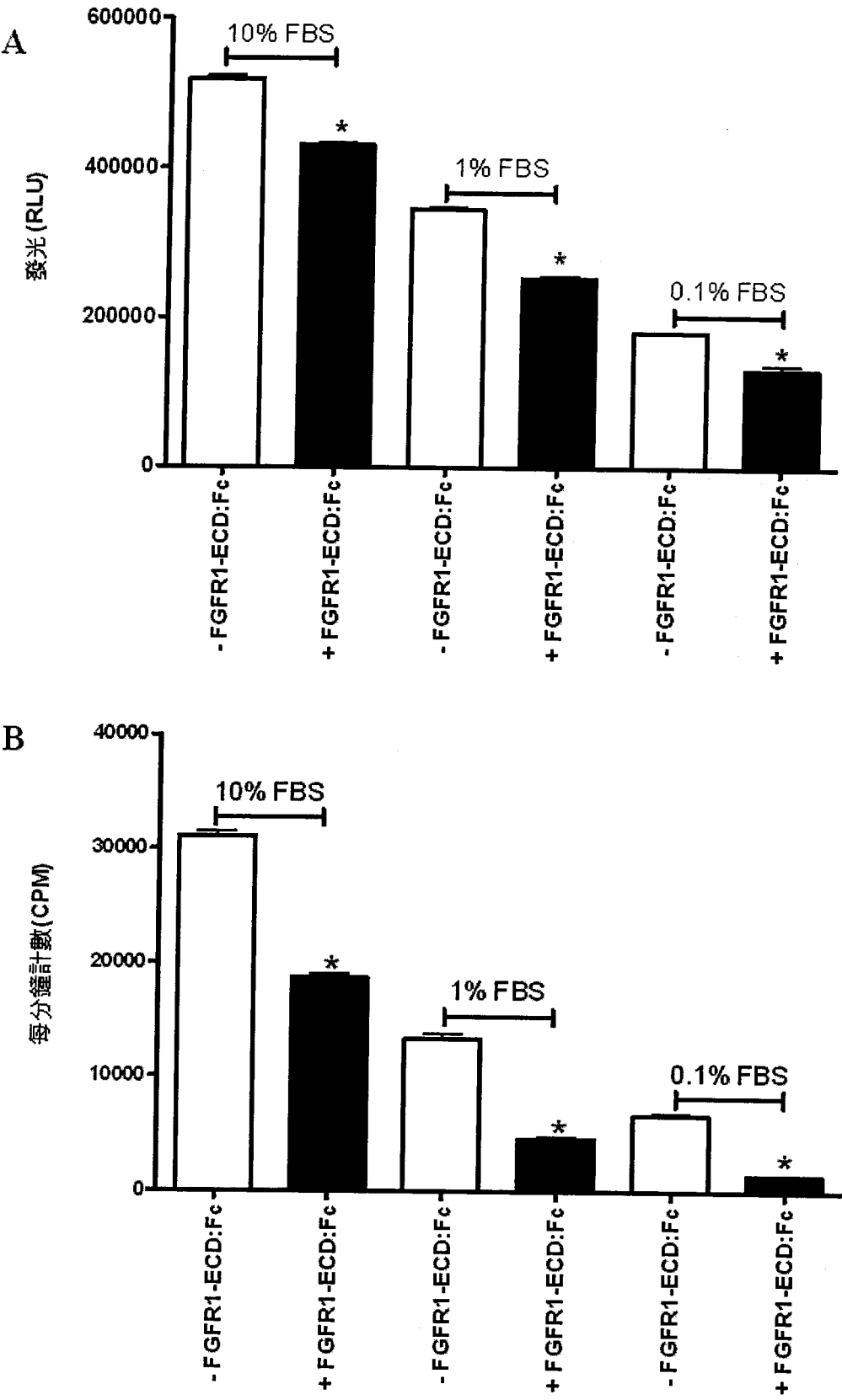
FGFR1 RNA 表現
(GUSB 進行標準化)

$P = 0.0114$

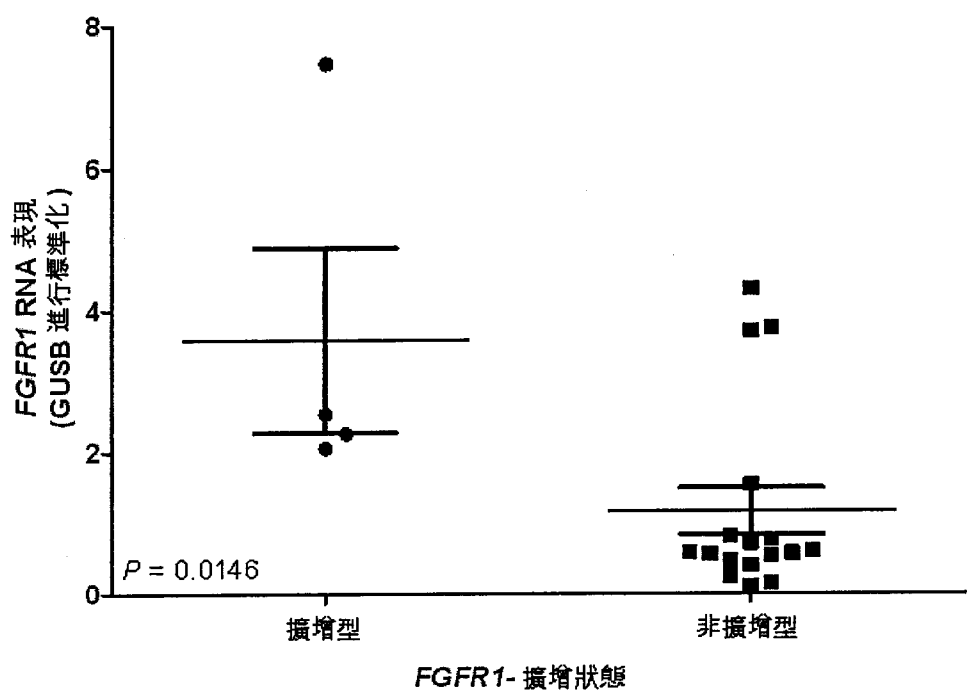
FGFR1-扩增状态

非FGFR1-扩增状态

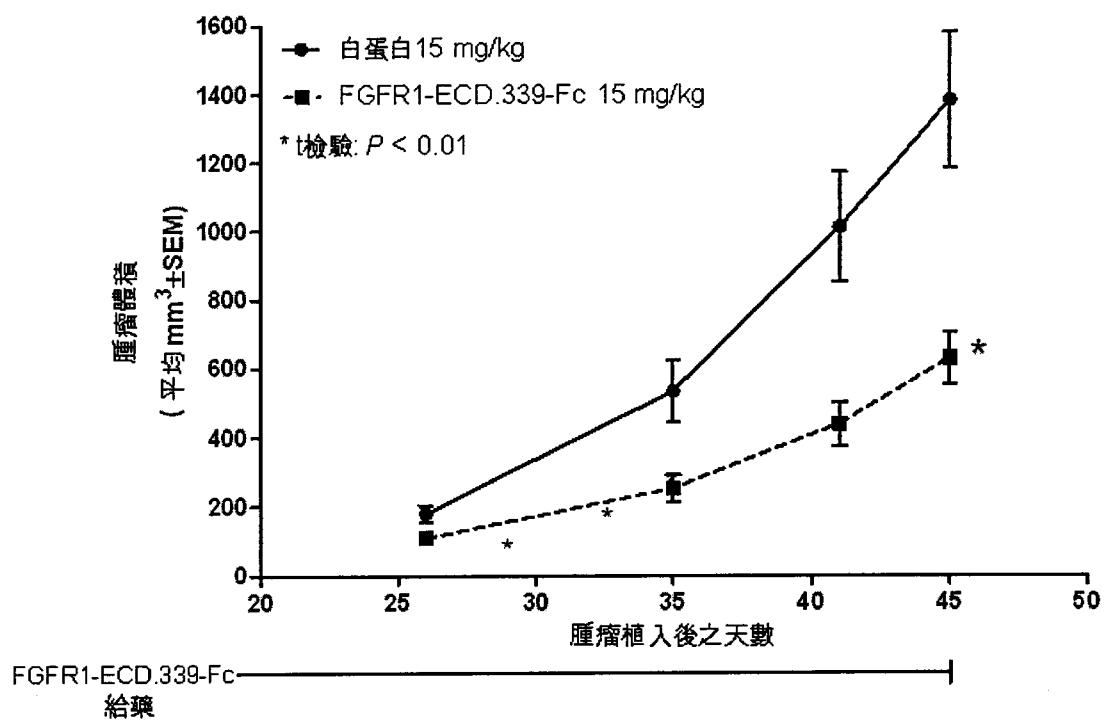
C168484DA.doc



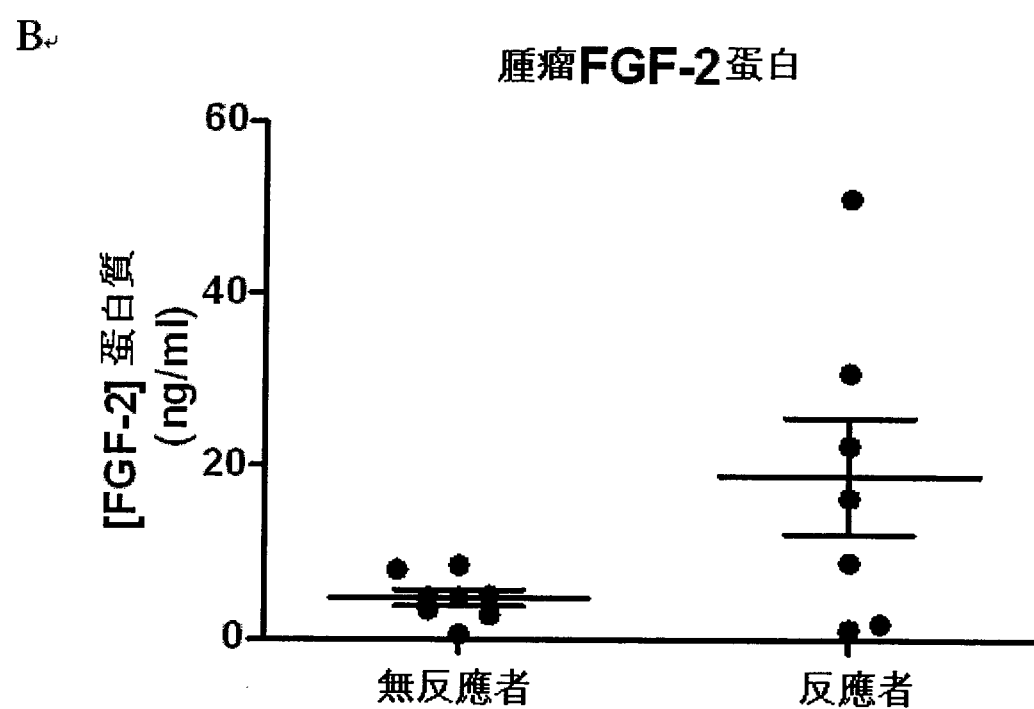
第 11 圖



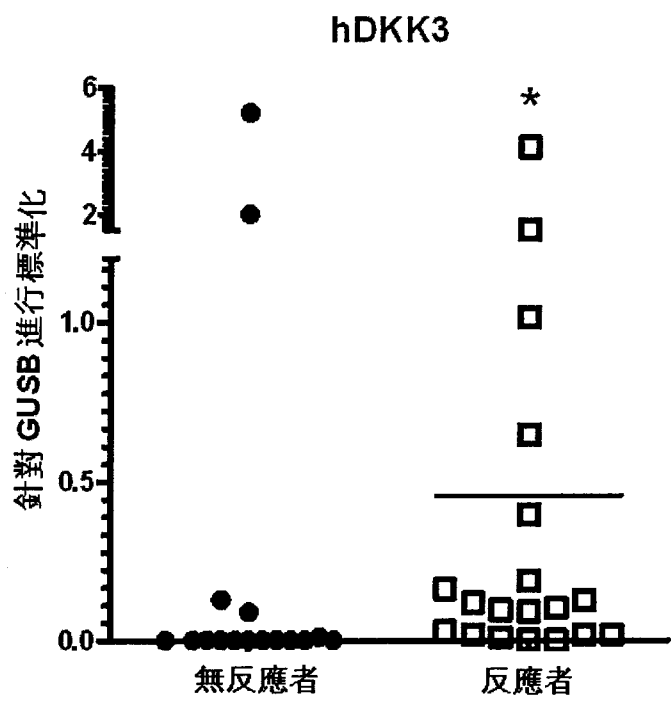
第 12 圖



第 13 圖

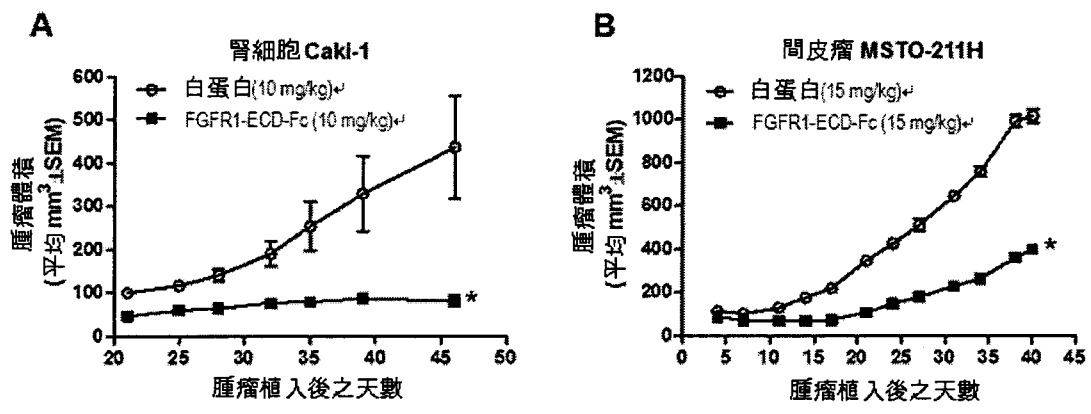


C168484DA.doc

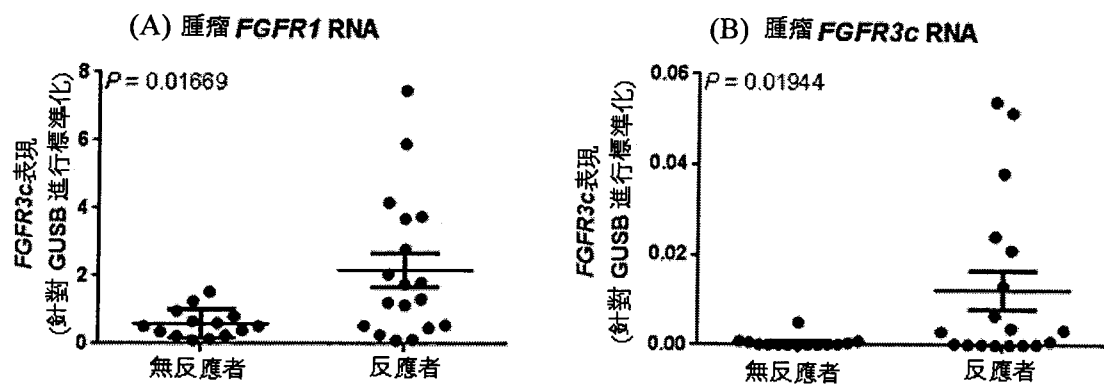


* $p = 0.0069$, 曼-懷特尼 t 檢驗

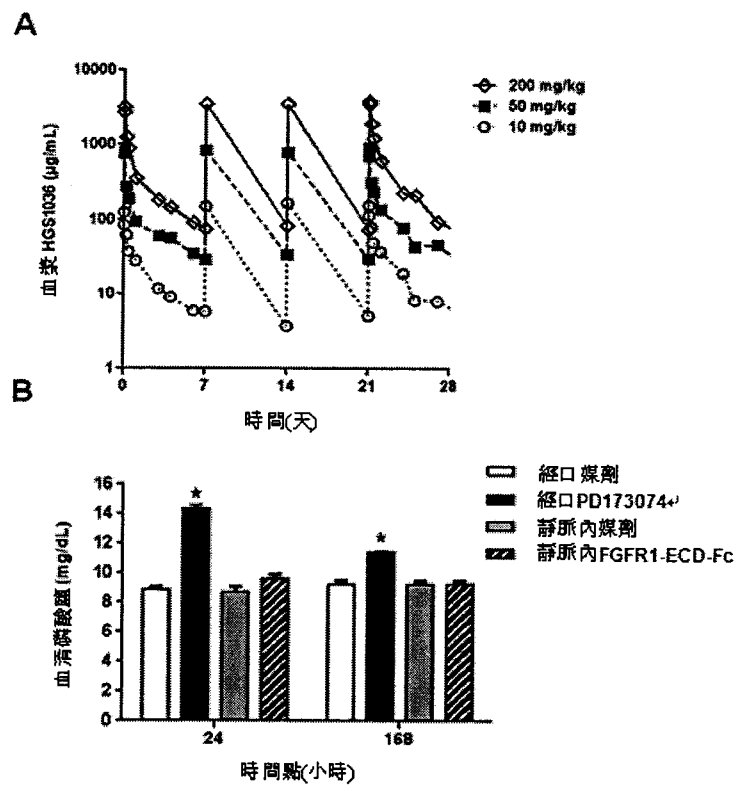
第 15 圖



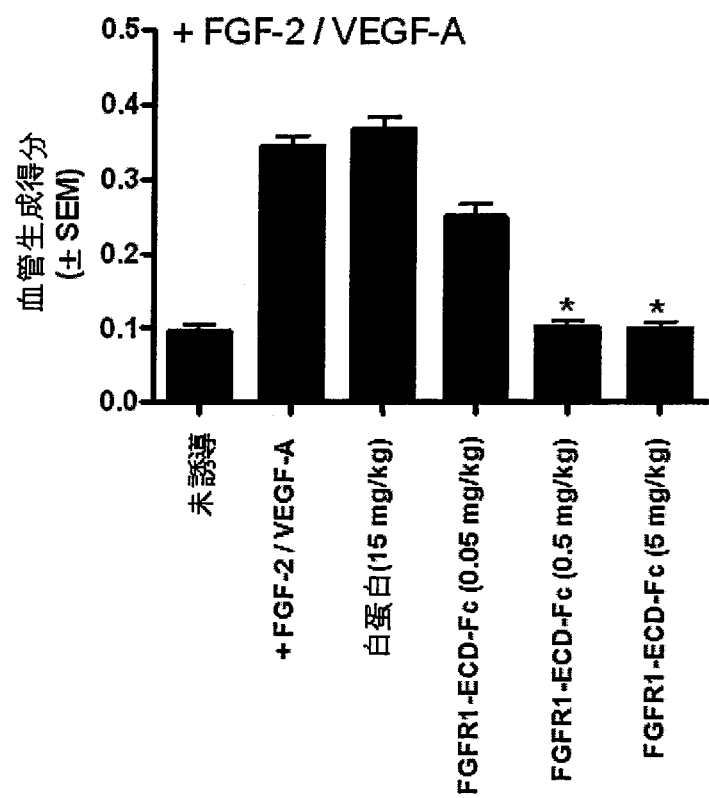
第 16 圖



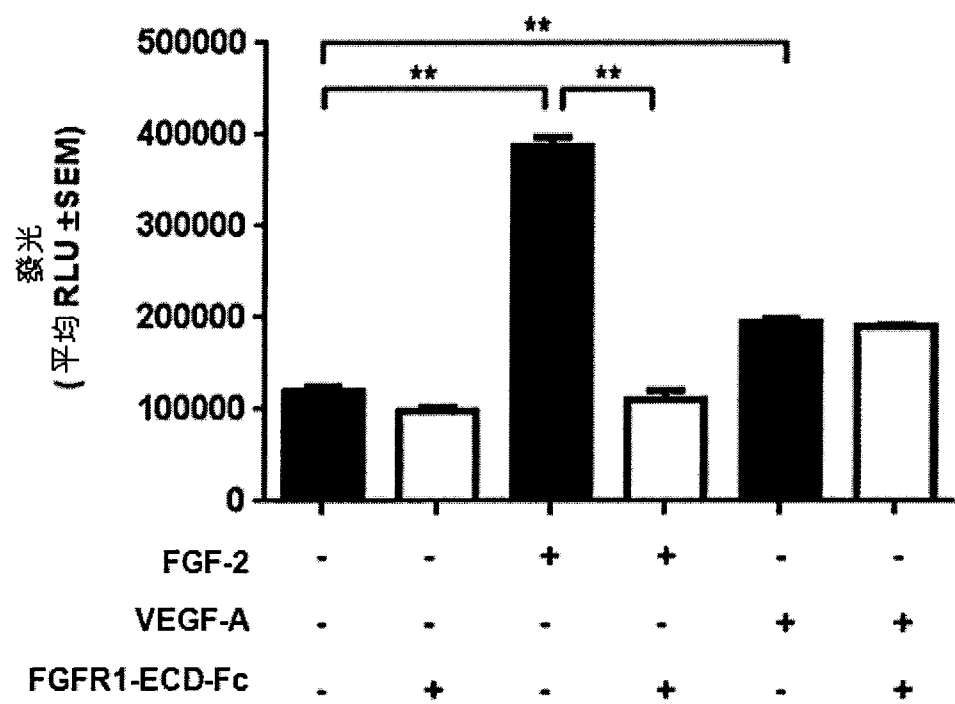
第 17 圖



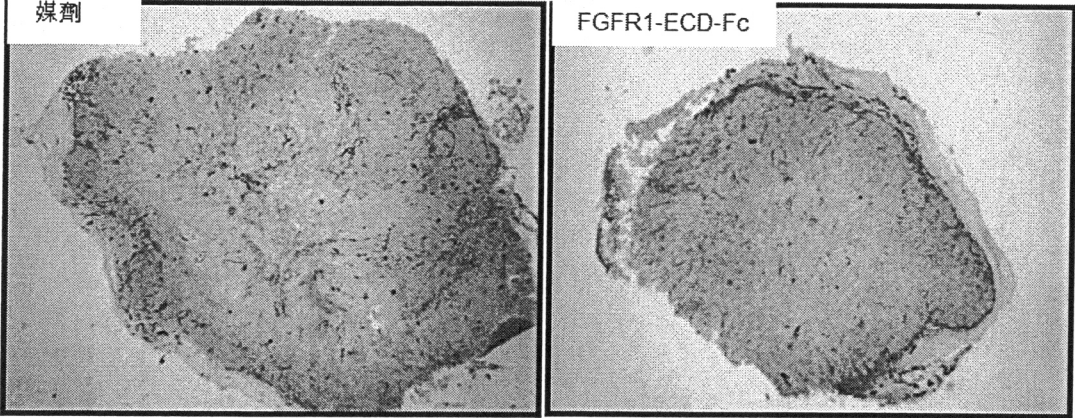
第 18 圖



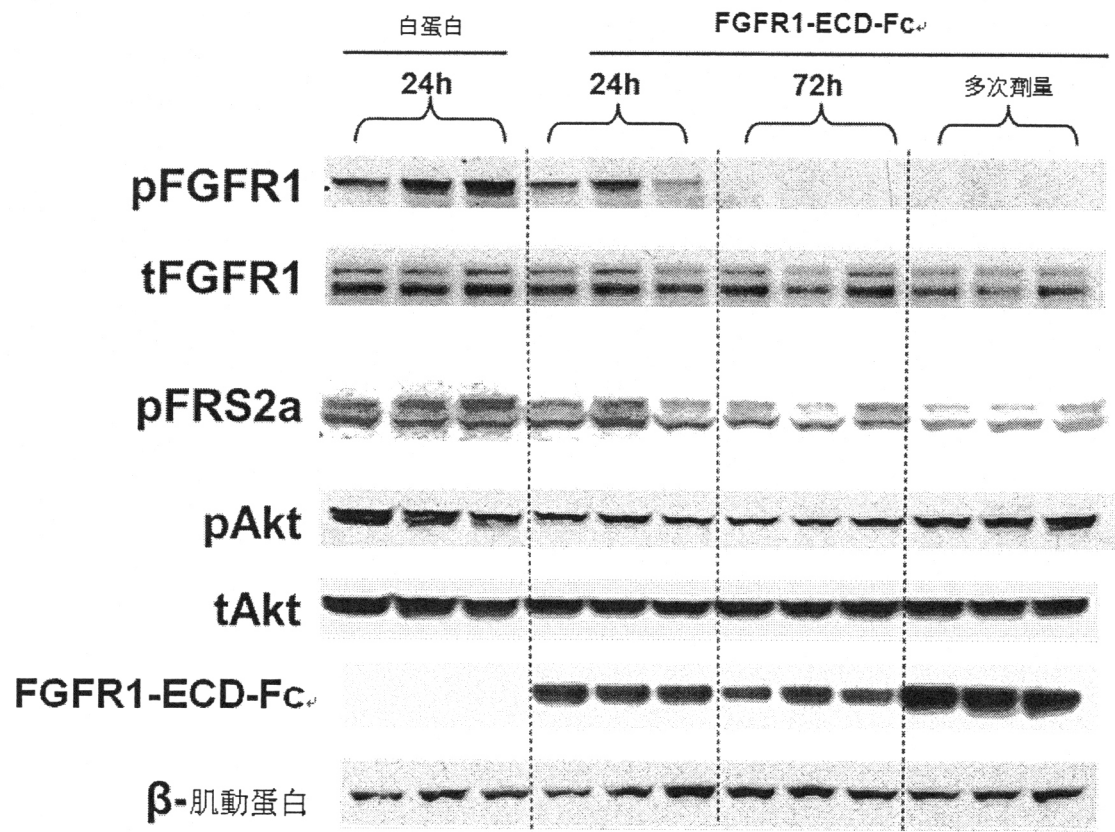
第 19 圖



第 20 圖



第 21 圖



第 22 圖