



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I673287 B

(45) 公告日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 01 日

(21) 申請案號：107107455

(22) 申請日：中華民國 107 (2018) 年 03 月 06 日

(51) Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

C12N15/63 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2017/03/06 中國大陸

201710129023.6

(71) 申請人：大陸商江蘇恒瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)

中國大陸

大陸商上海恒瑞醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD (CN)

中國大陸

(72) 發明人：閔樹德 YAN, SHUDE (CN) ; 葛虎 GE, HU (CN) ; 張連山 ZHANG, LIANSHAN (CN) ; 曹國慶 CAO, GUOQING (CN)

(74) 代理人：洪蘭心

(56) 參考文獻：

TW 201249869A

TW 201439120A

審查人員：吳嫻諄

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：3 共 56 頁

(54) 名稱

抗 B7-H3 抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途

(57) 摘要

本發明涉及抗 B7-H3 抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途。進一步地，本發明涉及包含所述抗 B7-H3 抗體 CDR 區的嵌合抗體、人源化抗體，以及包含人抗 B7-H3 抗體及其抗原結合片段的藥物組合物，以及其作為抗癌藥物的用途。尤其地，本發明涉及一種人源化的抗 B7-H3 抗體，在製備用於治療 B7-H3 介導的疾病或病症的藥物中的用途。

The present invention relates to an anti-B7-H3 antibody, the antigen-binding fragment thereof and the pharmaceutical use thereof. Further, the present invention relates to a pharmaceutical composition includes the chimeric antibodies of the anti-B7-H3 antibody CDR regions, the humanized antibodies, and includes the human anti-B7-H3 antibodies and the antigen-binding fragments thereof, and the use as the anti-cancer drug thereof. In particular, the present invention relates to the use of a humanized anti-B7-H3 antibody in the preparation of a medicament for the treatment of a B7-H3 mediated disease or disorder.

指定代表圖：

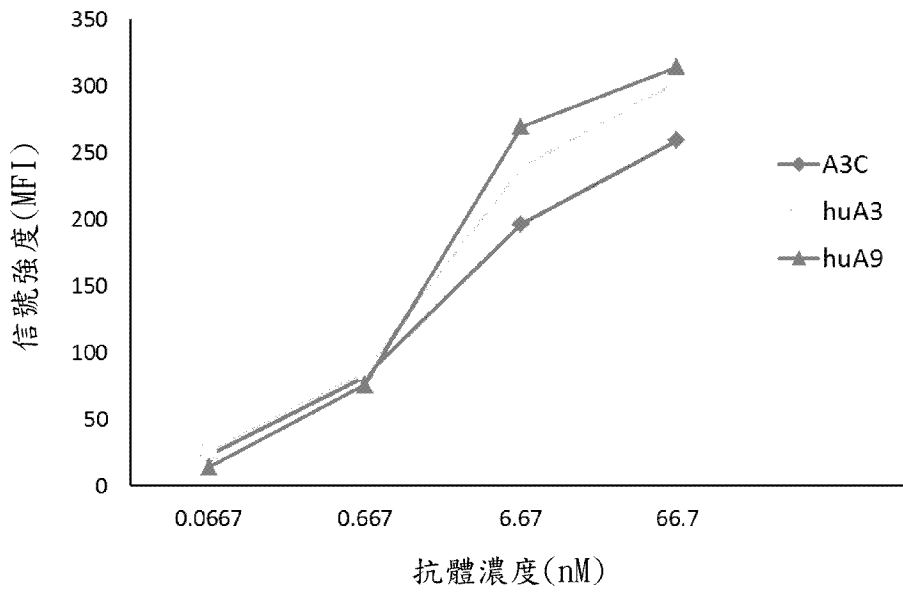


圖3

【序列表】

<110> 江蘇恒瑞醫藥股份有限公司；上海恒瑞醫藥有限公司

<120> 抗B7-H3抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途

<130> P1850028T

<150> CN201710129023.6

<151> 2017-03-06

<160> 38

<170> SIPO序列表 1.0

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 1

```

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

```

<210> 2

<211> 106

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 2

```

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

```

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 3

Arg Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 4

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

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 5

Thr Arg His Tyr Leu Leu Phe Glu Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 6

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 7

Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 8

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Leu Thr
1 5

<210> 9

<211> 124

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 9

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

50					55					60					
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75				80	
Met	Glu	Leu	Ala	Arg	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Pro	Val	Thr	Thr	Met	Val	Pro	Arg	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Asp
			100					105					110		
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser				
		115					120								

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 10

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

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 11

Asp	Tyr	Ala	Met	His
1				5

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 12

Val	Ile	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	
Gly															

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 13

Pro	Val	Thr	Thr	Met	Val	Pro	Arg	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 14

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 15

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 鼠源(Mus musculus)

<400> 16

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 17

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ile Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg His Tyr Leu Leu Phe Glu Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 18
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 18
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asn Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Ala Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Leu Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 19
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 19

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Pro Val Thr Thr Met Val Pro Arg Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 115 120 125
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 130 135 140
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 165 170 175
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 180 185 190
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 195 200 205
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 210 215 220
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 225 230 235 240
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 245 250 255
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 260 265 270
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 275 280 285
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 290 295 300
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 305 310 315 320
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 325 330 335
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 340 345 350
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 355 360 365
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 370 375 380
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 385 390 395 400
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 405 410 415
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 420 425 430
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 435 440 445
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 20

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 20

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 21

<211> 666

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 21

Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr
 1 5 10 15
 Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu
 20 25 30
 Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val
 35 40 45
 His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg
 50 55 60
 Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg
 65 70 75 80
 Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val
 85 90 95
 Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
 115 120 125
 Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
 130 135 140
 Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
 145 150 155 160
 Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val
 165 170 175
 His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
 180 185 190
 Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr
 195 200 205
 Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro

Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr
 1 5 10 15
 Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu
 20 25 30
 Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val
 35 40 45
 His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg
 50 55 60
 Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg
 65 70 75 80
 Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val
 85 90 95
 Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
 115 120 125
 Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
 130 135 140
 Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
 145 150 155 160
 Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val
 165 170 175
 His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
 180 185 190
 Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr
 195 200 205
 Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro
 210 215 220
 Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys
 225 230 235 240
 Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile
 245 250 255
 Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly
 260 265 270
 Arg Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp
 275 280 285
 Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val
 290 295 300
 Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly
 305 310 315 320
 Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser
 325 330 335
 Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr
 340 345 350
 Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp
 355 360 365
 Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln
 370 375 380
 Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val
 385 390 395 400
 Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val
 405 410 415
 Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met
 420 425 430
 Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser His His His His
 435 440 445
 His His
 450

<210> 23
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 23

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

<210> 24

<211> 95

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

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

<210> 25

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

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

<210> 26

<211> 95

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 27

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 27

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

<210> 28

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 28

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

<210> 29

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 29

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

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 30

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

<210> 31

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 31

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

<210> 32

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 32

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

<210> 33

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 33

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

<210> 34

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 34

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

<210> 35

<211> 1347

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 35

gaggtgcagc	tggttgaatc	tggcggcgga	cttgtgaagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
agctgtgccc	cttctggctt	caccttcagc	agatacggca	tgagctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaag	gactggaatg	ggtgtccgcc	atctctagcg	gcggaggctc	tatctactac	180
cccacacag	tgaagggcag	actgaccatc	agcagagaca	acgccaagaa	caccctgtac	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	accgccgtgt	actactgcac	cagacactac	300
ctgctgttcg	agatggacta	ctggggccag	ggcaccaccg	tgacagttag	ctctgctagc	360
acaaagggcc	ccagcgtggt	ccctctggct	cctagcagca	agagcacaag	cggaggaaca	420
gctgctctgg	gctgtctggt	caaggactac	ttccctgagc	ctgtgaccgt	gtcctggaac	480
tctggcgctc	tgacttctgg	cgtgcacaca	ttcccagccg	tgctgcaatc	tagcggcctg	540
tactctctga	gcagcgtggt	cacagtgcc	agctctagcc	tgggcacca	gacctacatc	600
tgcaatgtga	accacaagcc	tagcaacacc	aaggtggaca	agaaggtgga	acccaagagc	660
tgcgacaaga	cccacacctg	tcctccatgt	cctgctccag	aactgctcgg	cggaccttcc	720
gtgtttctgt	tccctccaaa	gcctaaggac	accctgatga	tcagcagaac	ccctgaagtg	780
acctgcgtgg	tgggtggatg	gtctcacgag	gaccccgaag	tgaagttcaa	ttggtacgtg	840
gacggcgtgg	aagtgcacaa	cgctaagacc	aagcctagag	aggaacagta	caacagcacc	900
tatagagtgg	tgtccgtgct	gacagtgtct	caccaggatt	ggctgaacgg	caaagagtac	960
aagtgcgaag	tgtccaacaa	ggccctgcct	gtcctatcgt	aaaagaccat	ctccaaggcc	1020
aagggccagc	ctaggaacc	ccaggtttac	acactgcctc	caagcagggg	cgagctgacc	1080
aagaatcagg	tgtccctgac	ctgcctcgtg	aagggcttct	acccttccga	tatcgccgtg	1140
gaatgggaga	gcaatggcca	gccagagaac	aactacaaga	caaccctcc	tgtgctggac	1200
agcgacggct	cattcttcc	gtacagcaag	ctgaccgtgg	acaagtccag	atggcagcag	1260
ggcaacgtgt	tcagctgcag	cgtgatgcac	gaggccctgc	acaaccacta	caccagaag	1320
tccctgtctc	tgagccccgg	caaatga				1347

<210> 36

<211> 642

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 36

gacatcgtgc	tgactcagag	cccagcttc	ctgtctgcta	gcgtgggcca	cagagtgacc	60
atcacatgca	aggccagcca	gaacgtgaac	acagccgtgg	cctggatca	gcagaagcct	120
ggcaaggctc	ccaagctgct	gatcttcagc	gccagcaaca	gatacaccgg	cgtgccctct	180
agattcagcg	gctctggctc	tggcaccgac	ttcacctga	caatctctag	cctgcagcct	240
gaggatgtgg	ccgcctactt	ctgtcagcag	tacagcagct	ccctgacctt	cggcggaggc	300
accaagctgg	aatcaagag	aacagtggcc	gtccttagcg	tgttcatctt	cccaccatct	360
gacgagcagc	tgaagtccgg	cacagcctct	gttgtgtgcc	tgctgaacaa	cttctacccc	420
agagaagcca	aggtgcagtg	gaaggtggac	aacgctctgc	agtccggcaa	ctccaagag	480
agcgtgacag	agcaggacag	caaggactcc	acctacagcc	tgagcagcac	actgacactg	540
agcaaggccg	actacgaaaa	gcacaaggtg	tacgcctgcg	aagtgacca	ccagggactg	600
tctagccctg	tgaccaagag	cttcaacagg	ggcagatggt	ga		642

<210> 37

<211> 1365

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 37

caggttcagc	tggttcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggcgcctc	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ctagcggcta	cacattcacc	gactacgcca	tgactgggt	caagcaggct	120
ccaggacagg	gactcgaatg	gatgggcgtg	atcagcacct	actacggcaa	caccaactac	180
aaccagaaat	tcaagggccg	cgtgaccatg	accgtggaca	agagcatcag	caccgcctac	240
atggaactga	gcagactgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgtgc	cagacctgtg	300
accacaatgg	tgcccagagg	cggctactac	ttcgactact	ggggccaggg	aaccaccgtg	360
acagtgtcta	gcgcttccac	aaagggcccc	agcgttttcc	cactggctcc	tagcagcaag	420
agcacatctg	gcggaacagc	tgctctgggc	tgtctggtca	aggactactt	ccctgagcct	480
gtgaccgtgt	cctggaactc	tggcgctctg	acaagcggcg	tgcacacatt	tccagccgtg	540
ctgcaaaagca	gcggcctgta	ctctctgagc	agcgtggtca	ccgtgcctag	ctctagtctg	600

ggcacacaga	cctacatctg	caatgtgaac	cacaagcctt	ccaacaccaa	ggtggacaaa	660
aaggtggaac	ccaagagctg	cgacaagacc	cacacctgtc	ctccatgtcc	tgctccagaa	720
ctgctcggcg	gaccttccgt	gtttctgttc	cctccaaagc	ctaaggacac	cctgatgadc	780
agcagaacct	ctgaagtgac	ctgcgtgggtg	gtggatgtgt	ctcacgagga	cccagaagtg	840
aagttcaatt	ggtacgtgga	cggcgtggaa	gtgcacaacg	ccaagaccaa	gcctagagag	900
gaacagtaca	actccaccta	cagagtgggtg	tccgtgctga	cagtgtctgca	ccaggattgg	960
ctgaacggca	aagagtacaa	gtgcaaggtg	tccaacaagg	ccctgcctgc	tcctatcgaa	1020
aagaccatca	gcaaggccaa	gggccagcct	agggaaaccc	aggtttacac	actgccacca	1080
agcagggacg	agctgaccaa	gaatcaggtg	tccctgacct	gcctcgtgaa	gggcttctac	1140
ccttccgata	tcgccgtgga	atgggagagc	aacggccagc	ctgagaacaa	ctacaagaca	1200
acccctcctg	tgctggacag	cgacggctca	ttcttctgtg	acagcaagct	gactgtggat	1260
aagtccagat	ggcagcaggg	caacgtgttc	agctgcagcg	tgatgcacga	ggccctgcac	1320
aaccactaca	cacagaagtc	tctgtctctg	agccccggca	aatga		1365

<210> 38

<211> 645

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 38

atgtctgtgc	ctacacaggt	tctgggactg	ctgctgctgt	ggctgacaga	cgccagatgt	60
gacatccagc	tgactcagag	ccccagcttc	ctgtctgcta	gcgtgggcca	cagagtgacc	120
atcacctgta	gagccagcaa	gagcatcaac	aagtacctgg	cctggtatca	gcagaagccc	180
ggcaaggctc	ctaagctgct	gatctacagc	ggcagcacac	tgacagcggg	agtgccttct	240
agattcagcg	gctctggcag	cggcaccgag	ttcacactga	caatctctag	cctgcagcct	300
gaggacttcg	ccacctacta	ctgccagcag	cacaacgagt	accctctgac	attcggccag	360
ggcaccaagc	tggaaatcaa	gagaacagtg	gccgctccta	gcgtgttcat	cttcccacca	420
tctgacgagc	agctgaagtc	tggcacagcc	agcgttgtgt	gcctgctgaa	caacttctac	480
cccagagaag	ccaaggtgca	gtggaaggtg	gacaacgccc	tgacgtccgg	caacagccaa	540
gagtctgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	caccctgaca	600
ctgagcaagg	ccgactacga	aaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaagtgac	ccaccagggg	660
ctgtctagcc	ctgtgaccaa	gtccttcaac	agagggcagt	gctga		705



I673287

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗B7-H3抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途

【英文發明名稱】 ANTI-B7-H3 ANTIBODY, ANTIGEN-BINDING FRAGMENT

THEREOF AND PHARMACEUTICAL USE THEREOF

【中文】

本發明涉及抗 B7-H3 抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途。進一步地，本發明涉及包含所述抗 B7-H3 抗體 CDR 區的嵌合抗體、人源化抗體，以及包含人抗 B7-H3 抗體及其抗原結合片段的藥物組合物，以及其作為抗癌藥物的用途。尤其地，本發明涉及一種人源化的抗 B7-H3 抗體，在製備用於治療 B7-H3 介導的疾病或病症的藥物中的用途。

【英文】

The present invention relates to an anti-B7-H3 antibody, the antigen-binding fragment thereof and the pharmaceutical use thereof. Further, the present invention relates to a pharmaceutical composition includes the chimeric antibodies of the anti-B7-H3 antibody CDR regions, the humanized antibodies, and includes the human anti-B7-H3 antibodies and the antigen-binding fragments thereof, and the use as the anti-cancer drug thereof. In particular, the present invention relates to the use of a humanized anti-B7-H3 antibody in the preparation of a medicament for the treatment of a B7-H3 mediated disease or disorder.

【指定代表圖】 圖3

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗B7-H3抗體、其抗原結合片段及其醫藥用途

【英文發明名稱】 ANTI-B7-H3 ANTIBODY, ANTIGEN-BINDING FRAGMENT THEREOF AND PHARMACEUTICAL USE THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明涉及一種對人B7-H3受體具有免疫反應性的抗B7-H3抗體，以及其抗原結合片段，包含所述抗B7-H3抗體CDR區的嵌合抗體、人源化抗體（humanized antibody），以及包含人抗B7-H3抗體及其抗原結合片段的藥物組合物，以及其作為抗癌藥物的用途。

【先前技術】

【0002】腫瘤免疫治療是腫瘤治療領域的長期焦點，其中T細胞腫瘤免疫治療又處於核心位置。腫瘤逃逸（Tumor escape）是腫瘤免疫治療面臨的一個巨大障礙，大部分腫瘤表現可不同程度地被宿主免疫系統識別的抗原，但在許多情況下，由於作用T細胞低效活化而引發不充分的免疫反應，因此腫瘤細胞利用其自身對免疫系統的抑制作用促進了腫瘤的瘋狂生長。腫瘤免疫治療即是充分利用、調動了腫瘤患者體內的胞殺T細胞，對腫瘤進行胞殺作用。

【0003】對CD28受體及其配體的研究已促成對稱為B7超家族的相關分子的表徵。B7家族成員包括B7.1（CD80）、B7.2（CD86）、可誘導的共刺激因子的配體（ICOS-L/B7-H2）、程序性死亡-1配體（PD-L1/B7-H1）、程序性死亡-2配體（PD-L2/B7-DC）、B7-H3和B7-H4等，是具有免疫球蛋白V樣結構域（IgV）和免疫球蛋白C樣結構域（IgC）的免疫球蛋白超家族成

第1頁，共35頁（發明說明書）

員，分別由單一外顯子編碼而成，並被預測為在細胞表面形成背靠背、非共價的同二聚體。

【0004】近年來研究顯示，B7-H3可能通過NFAT（用於活化的T細胞的核因子）、NF- κ B（核因子 κ B）和AP-1（激活蛋白1）因子來抑制T細胞活化（Yi. K.H.等，*Immunol.Rev.* 229:145-151），並被認為在體內抑制Th1、Th2或Th17（Fukushima, A.等，*Immunol. Lett.* 113:52-57；Yi. K.H. 等，*Immunol. Rev.* 229:145-151）。多個研究已表明人惡性腫瘤細胞在B7-H3蛋白表現方面表現出顯著增加，且這種表現增加與疾病嚴重度增加有關，表明B7-H3被腫瘤作為免疫逃避通路利用（Hofmeyer, K.等，*Proc. Natl. Acad. Sci.* 105:10277-10278）。

【0005】目前已知人B7-H3表現在胃癌、卵巢癌、非小細胞肺癌、神經母細胞瘤等多種癌症細胞上，並已在腫瘤細胞系中通過免疫組織化學檢測到了B7-H3蛋白的表現。在心臟、腎、睪丸、肺、肝、胰臟、前列腺、結腸和造骨細胞中發現B7-H3 mRNA的表現，蛋白質的量上，在人的肝、肺、膀胱、睪丸、前列腺、乳房、胎盤和淋巴器官中已發現了B7-H3表現。

【0006】目前有多家跨國製藥公司在研發針對B7-H3的單株抗體，提高患者自身對腫瘤的免疫系統反應，從而達到對腫瘤細胞進行胞殺的目的，相關專利如WO2011109400、WO2008116219、WO2012147713、WO2014160627、WO2016044383等。Macrogenics公司的抗B7-H3單株抗體目前已完成I期臨床試驗，在前列腺癌、膀胱癌和黑色素瘤患者中顯示出了較好的安全性和抗腫瘤活性，可單用或與抗PD-1抗體聯用。

【0007】本發明提供有著高親和力、高選擇性、高生物活性的抗B7-H3抗體，用於腫瘤的單株抗體免疫療法及其相關應用。用於B7-H3陽性腫瘤治療的藥物、組合物以及方法。

【發明內容】

【0008】 本發明提供一種抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其包含：
抗體輕鏈可變區，所述的抗體輕鏈可變區包含至少1個選自如以下序列所示的LCDR：SEQ ID NO:6，SEQ ID NO:7，SEQ ID NO: 8；SEQ ID NO:14，SEQ ID NO:15或SEQ ID NO: 16；和
抗體重鏈可變區，所述的抗體重鏈可變區包含至少1個選自如以下序列所述的HCDR：SEQ ID NO:3，SEQ ID NO:4，SEQ ID NO:5，SEQ ID NO:11，SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13。

【0009】所述的LCDR優選包括LCDR1、LCDR2和LCDR3中的一種或多種，所述的LCDR1的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO: 6或者SEQ ID NO:14所示；所述的LCDR2的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO:7或者SEQ ID NO:15；所述的LCDR3的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO:8或者SEQ ID NO: 16所示。

【0010】所述的HCDR優選包括HCDR1、HCDR2和HCDR3中的一種或多種，所述HCDR1的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO:3或者SEQ ID NO:11所示；所述HCDR2的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO:4或者SEQ ID NO:12所示；所述HCDR3的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO:5或者SEQ ID NO:13所示。

【0011】 在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其所述的抗體輕鏈可變區包含序列分別如SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO: 8所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

【0012】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其所述的抗體輕鏈可變區包含序列分別如SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO: 16所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

【0013】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其所述的抗體重鏈可變區包含序列分別如SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3。

【0014】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其所述的抗體重鏈可變區包含序列分別如SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3。

【0015】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述的抗體輕鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO: 8所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3；或SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO: 16所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

【0016】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述的抗體重鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3；或SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3。

【0017】特別優選地，所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段可選自下述任一種：

(1) 抗體輕鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO: 8所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3；抗體重鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5所示的HCDR1、HCDR2和HCDR3。

(2) 抗體輕鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO: 16所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3；抗體重鏈可變區包含序列分別如：SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12和SEQ ID NO: 13所示的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

【0018】上述抗B7-H3抗體或其抗原結合片段優選為鼠源抗體、嵌合抗體、人源化抗體或者人抗體。

【0019】較佳地，所述的鼠源抗體的抗體輕鏈可變區進一步包含鼠源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈FR區。

【0020】較佳地，所述的鼠源抗體進一步包含鼠源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區。

【0021】較佳地，所述的B7-H3嵌合抗體進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區。

【0022】較佳地，所述的B7-H3嵌合抗體進一步包含人源IgG1, IgG2, IgG3或IgG4或其變體的重鏈恆定區。

【0023】在本發明一個優選的實施方案中，所述的鼠源抗體或所述的嵌合抗體的重鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 1所示，輕鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 2所示；或其中所述鼠源抗體或所述嵌合抗體的重鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 9所示，輕鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 10所示。

【0024】較佳地，所述的人源化抗體的抗體輕鏈可變區進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈FR區。所述的人源化抗體的輕鏈可變區上的輕鏈FR區序列，優選來源於如SEQ ID NO: 24所示的人種系輕鏈IGKV1-33序列；或來源於如SEQ ID NO: 26所示的人種系輕鏈IGKV1-9序列。

【0025】較佳地，所述的人源化抗體的輕鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO: 30或者SEQ ID NO: 33所示。更佳地，所述的人源化抗體進一步包含人源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區。進一步更佳地，所述人源化抗體的輕鏈序列為如SEQ ID NO: 18或SEQ ID NO: 20所示的序列或其變體；所述的變體優選在輕鏈可變區有0-10的胺基酸變化，優選為胺基酸位點在4和9的突變，第4位突變後的胺基酸為甲硫胺酸（M）。

【0026】較佳地，所述的人源化抗體的重鏈可變區進一步包含人源IgG1, IgG2, IgG3或IgG4或其變體的重鏈FR區，優選包含人源IgG1、IgG2或IgG4重鏈FR區，更優選使用胺基酸突變後增強ADCC（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，抗體依賴的細胞介導的細胞毒性作用）毒性的IgG1。所述的人源化抗體的重鏈可變區上的重鏈FR區序列，優選來源於如SEQ ID NO: 23所示的人種系重鏈IGHV3-23序列；或來源於如SEQ ID NO: 25所示的人種系重鏈IGHV1-2序列。

【0027】較佳地，所述的人源化抗體的重鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO: 27或者SEQ ID NO: 31所示。更佳地，所述的人源化抗體進一步包含人源IgG1, IgG2, IgG3或IgG4或其變體的重鏈恆定區。進一步更佳地，所述的人源化抗體的重鏈序列為如SEQ ID NO: 17或SEQ ID NO: 19所示的序列或其變體；所述變體優選在重鏈可變區有0-10的胺基酸變化，優選為胺基酸位點在9、13和49的突變，第9位突變後的胺基酸為脯胺酸（P），

第13位突變後的胺基酸為穀胺醯胺（Q），第49位突變後的胺基酸為丙胺酸（A）。

【0028】在本發明一個優選的實施方案中，所述的人源化抗體為人源化抗體huA9或人源化抗體huA3；所述的人源化抗體huA9的重鏈可變區序列如SEQ ID NO：31所示，輕鏈可變區序列如SEQ ID NO：33所示；所述的人源化抗體huA3的重鏈可變區序列如SEQ ID NO：27所示，輕鏈可變區序列如SEQ ID NO：30所示。更佳地，所述的人源化抗體huA9包含重鏈抗體序列SEQ ID NO:19，和輕鏈抗體序列SEQ ID NO:20；其中所述人源化抗體huA3包含重鏈抗體序列SEQ ID NO:17，和輕鏈抗體序列SEQ ID NO:18。

【0029】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述的抗原結合片段為Fab、Fv、sFv、F(ab')₂、線性抗體、單鏈抗體、納米抗體、結構域抗體和多特異性抗體。

【0030】本發明進一步提供一種編碼如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段的DNA序列。

【0031】本發明進一步提供一種含有如上所述的DNA序列的表現載體。

【0032】本發明進一步提供一種用如上所述的表現載體轉化的宿主細胞。

【0033】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的宿主細胞，所述的宿主細胞為細菌，優選為大腸桿菌（*Escherichia coli*）。

【0034】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的宿主細胞為酵母菌，優選為畢赤酵母（*Pichia pastoris*）。

【0035】在本發明一個優選的實施方案中，一種如上所述的宿主細胞為哺乳動物細胞，優選為中國倉鼠卵巢（Chinese hamster ovary, CHO）細胞或人胚腎（Human Embryonic Kidney, HEK）293細胞。

【0036】本發明還提供了一種多特異性抗體，含有如前所述的輕鏈可變區和重鏈可變區。

【0037】本發明還提供了一種單鏈抗體，含有如前所述的輕鏈可變區和重鏈可變區。

【0038】本發明進一步提供一種藥物組合物，其含有如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段和可藥用的賦形劑、稀釋劑或載體。

【0039】本發明進一步提供一種如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段在製備用於治療B7-H3介導的疾病或病症的藥物中的用途；其中所述的疾病優選為癌症；更優選為表現B7-H3的癌症；所述的癌症最優選為乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、腎癌、肺癌、肝癌、胃癌、結腸癌、膀胱癌、食道癌、子宮頸癌、膽囊癌、膠質母細胞瘤和黑色素瘤。

【0040】本發明進一步提供一種治療和預防B7-H3介導的疾病或病症的方法，該方法包括給予所需患者治療有效量的如上所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段、或包含其的藥物組合物；其中所述的疾病優選為癌症；更優選為表現B7-H3的癌症；所述的癌症最優選為乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、腎癌、肺癌、肝癌、胃癌、結腸癌、膀胱癌、食道癌、子宮頸癌、膽囊癌、膠質母細胞瘤和黑色素瘤。

【圖式簡單說明】

【0041】

圖1為抗體的ELISA體外結合實驗，顯示鼠源抗體A3和A9均對純化h-B7H3-Fc抗原有結合活性，EC50約在0.03ug/mL。

圖2為嵌合抗體與高表現B7-H3的CHO細胞體外結合活性實驗。鼠源抗體A3和A9、嵌合抗體A3C和A9C均在奈米莫耳（nM）濃度級對標靶細胞有明顯結合活性。

圖3為人源化抗體與高表現B7-H3的MDA-MB-231細胞體外結合活性實驗。huA3和huA9均在奈米莫耳濃度級對標靶細胞有明顯結合活性。

【實施方式】

【0042】一、術語

【0043】為了更容易理解本發明，以下具體定義了某些技術和科學術語。除顯而易見在本文件中的它處另有明確定義，否則本文使用的所有其它技術和科學術語都具有本發明所屬領域的一般技術人員通常理解的含義。

【0044】本發明所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如J. Biol. Chem, 243, p3558（1968）中所述。

【0045】本發明所述的術語「抗體」指免疫球蛋白，是由兩條相同的重鏈和兩條相同的輕鏈通過鏈間二硫鍵連接而成的四肽鏈結構。免疫球蛋白重鏈恆定區的胺基酸組成和排列順序不同，故其抗原性也不同。據此，可將免疫球蛋白分為五類，或稱為免疫球蛋白的同種型，即IgM，IgD，IgG，IgA和IgE，其相應的重鏈分別為 μ 鏈， δ 鏈， γ 鏈， α 鏈和 ϵ 鏈。同一類Ig根據其鉸鏈區胺基酸組成和重鏈二硫鍵的數目和位置的差別，又可分為不同的亞類，如IgG可分為IgG1，IgG2，IgG3，IgG4。輕鏈通過恆定區的不同分為 κ 鏈或 λ 鏈。五類Ig中第每類Ig都可以有 κ 鏈或 λ 鏈。

【0046】在本發明中，本發明所述的抗體輕鏈可變區可進一步包含輕鏈恆定區，所述的輕鏈恆定區包含人源或鼠源的 κ 、 λ 鏈或其變體。

【0047】在本發明中，本發明所述的抗體重鏈可變區可進一步包含重鏈恆定區，所述的重鏈恆定區包含人源或鼠源的IgG1, 2, 3, 4或其變體。

【0048】抗體重鏈和輕鏈靠近N端的約110個胺基酸的序列變化很大，為可變區（V區）；靠近C端的其餘胺基酸序列相對穩定，為恆定區（C區）。可變區包括3個高變區（HVR）和4個序列相對保守的骨架區（FR）。3個高變區決定抗體的特異性，又稱為互補性決定區（CDR）。每條輕鏈可變區（VL）和重鏈可變區（VH）由3個CDR區4個FR區組成，從胺基端到羧基端依次排列的順序為：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。輕鏈的3個CDR區指LCDR1，LCDR2，和LCDR3；重鏈的3個CDR區指HCDR1，HCDR2和HCDR3。本發明所述的抗體或抗原結合片段的VL區和VH區的CDR胺基酸殘基在數量和位置符合已知的Kabat編號規則

（LCDR1-3，HCDR2-3），或者符合Kabat和Chothia編號規則（HCDR1）。

【0049】術語「抗原呈現細胞」或「APC」是在其表面上展示與MHC複合的外來抗原的細胞。T細胞利用T細胞受體（TCR）識別這種複合物。APC的實例包括但不限於樹突細胞（DC）、外用血單個核細胞（PBMC）、單核細胞、B淋巴母細胞和單核細胞衍生的樹突細胞（DC）。術語「抗原呈現」是指APC捕獲抗原和使它們能夠被T細胞識別的過程，例如作為MHC-I/MHC-II偶聯物的組分。

【0050】術語「B7-H3」指人B7蛋白質家族的成員，也稱為CD276，是具有四個Ig樣胞外結構域的I型跨膜蛋白。B7-H3是抗原呈現細胞或癌細胞表面表現的免疫檢查點蛋白之一，對T細胞的功能活化有抑制作用。術語「B7-H3」包括由細胞自然表現的B7-H3的任何變體或同種型。本發明的抗體可與得自非人物種的B7-H3交叉反應。作為另一種選擇，該抗體也可以是人B7-H3特異性的，可不表現出與其他物種的交叉反應性。B7-H3或其任

第 10 頁，共 35 頁（發明說明書）

何變體或同種型可從自然表現它們的細胞或組織中分離而得，或使用本領域通用以及本文所述的那些技術通過重組技術產生。優選地，抗B7-H3抗體靶向具有正常糖基化模式的人源B7-H3。

【0051】術語「重組人抗體」包括通過重組方法製備、表現、創建或分離的人抗體，所涉及的技術和方法在本領域中是熟知的，諸如（1）從人免疫球蛋白基因的轉基因、轉染色體動物（例如小鼠）或由其製備的融合瘤中分離的抗體；（2）從經轉化以表現抗體的宿主細胞如轉染瘤中分離的抗體；（3）從重組組合人抗體庫中分離的抗體；以及（4）通過將人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列等方法製備、表現、創建或分離的抗體。此類重組人抗體包含可變區和恆定區，這些區域利用特定的由種系基因編碼的人種系免疫球蛋白序列，但也包括隨後諸如在抗體成熟過程中發生的重排和突變。

【0052】術語「鼠源抗體」在本發明中為根據本領域知識和技能製備的對人B7-H3的單株抗體。製備時用B7-H3抗原注射試驗對象，然後分離表現具有所需序列或功能特性的抗體的融合瘤。在本發明一個優選的實施方案中，所述的鼠源B7-H3抗體或其抗原結合片段，可進一步包含鼠源 κ 、 λ 鏈或其變體的輕鏈恆定區，或進一步包含鼠源IgG1, IgG2, IgG3或IgG4或其變體的重鏈恆定區。

【0053】術語「人抗體」包括具有人種系免疫球蛋白序列的可變和恆定區的抗體。本發明的人抗體可包括不由人種系免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基（如通過體外隨機或位點特異性誘變或通過體內體細胞突變所引入的突變）。然而，術語「人抗體」不包括這樣的抗體，即其中已將衍生自另一種哺乳動物物種（諸如小鼠）種系的CDR序列移植到人骨架序列上（即「人源化抗體」）。

【0054】術語「人源化抗體」，也稱為CDR移植抗體(CDR-grafted antibody)，是指將小鼠的CDR序列移植到人的抗體可變區框架中產生的抗體。可以克服嵌合抗體由於攜帶大量小鼠蛋白成分，從而誘導的強烈的免疫反應反應。為避免在免疫原性下降的同時引起活性的下降，可對所述的人抗體可變區可進行最少反向突變，以保持活性。

【0055】術語「嵌合抗體(chimeric antibody)」，是將鼠源性抗體的可變區與人抗體的恆定區融合而成的抗體，可以減輕鼠源性抗體誘發的免疫反應反應。建立嵌合抗體，要選建立分泌鼠源性特異性單抗的融合瘤，然後從小鼠融合瘤細胞中複製可變區基因，再根據需要複製人抗體的可變區基因，將小鼠可變區基因與人恆定區基因連接成嵌合基因後插入人載體中，最後在真核工業系統或原核工業系統中表現嵌合抗體分子。人抗體的可變區可選自人源IgG1, IgG2, IgG3或IgG4或其變體的重鏈恆定區，優選包含人源IgG2或IgG4重鏈恆定區，或者使用胺基酸突變後無ADCC

(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, 抗體依賴的細胞介導的細胞毒性作用) 毒性的IgG1。

【0056】術語「抗原結合片段」是指抗體的抗原結合片段及抗體類似物，其通常包括至少部分母體抗體(parental antibody)的抗原結合區或可變區(例如一個或多個CDR)。抗體片段保留母體抗體的至少某些結合特異性。通常，當基於莫耳來表示活性時，抗體片段保留至少10%的母體結合活性。優選地，抗體片段保留至少20%、50%、70%、80%、90%、95%或100%或更多的母體抗體對標靶的結合親和力。抗原結合片段實例包括但不限於：Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、線性抗體(linear antibody)、單鏈抗體、奈米抗體、結構域抗體和多特異性抗體。工程改造的抗體變體綜述於Holliger和Hudson(2005) Nat.Biotechnol.23: 1126-1136中。

【0057】「Fab片段」由一條輕鏈和一條重鏈的CH1及可變區組成。Fab分子的重鏈不能與另一個重鏈分子形成二硫鍵。

【0058】「Fc」區含有包含抗體的CH1和CH2結構域的兩個重鏈片段。兩個重鏈片段由兩個或多個二硫鍵並通過CH3結構域的疏水作用保持在一起。

【0059】「Fab'片段」含有一條輕鏈和包含VH結構域和CH1結構域以及CH1和CH2結構域之間區域的一條重鏈的部分，由此可在兩個Fab'片段的兩條重鏈之間形成鏈間二硫鍵以形成F(ab')₂分子。

【0060】「F(ab')₂片段」含有兩條輕鏈和兩條包含CH1和CH2結構域之間的恆定區的部分的重鏈，由此在兩條重鏈間形成鏈間二硫鍵。因此，F(ab')₂片段由通過兩條重鏈間的二硫鍵保持在一起的兩個Fab'片段組成。

【0061】「Fv區」包含來自重鏈和輕鏈二者的可變區，但缺少恆定區。

【0062】術語「多特異性抗體」按其最廣義使用，涵蓋具有多表位特異性的抗體。這些多特異性抗體包括但不限於：包含重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）的抗體，其中該VH-VL單元具有多表位特異性；具有兩個或多個VL和VH區的抗體，每個VH-VL單元與不同的靶點或同一個靶點的不同表位結合；具有兩個或更多個單可變區的抗體，每個單可變區與不同的靶點或同一個靶點的不同表位結合；全長抗體、抗體片段、雙抗體（diabodies）、雙特異性雙抗體和三抗體（triabodies）、已共價或非共價連接在一起的抗體片段等。

【0063】術語「單鏈抗體」是由抗體的重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）通過一段連接肽連接而成的單鏈重組蛋白，它是具有完全抗原結合位點的最小抗體片段。

【0064】術語「結構域抗體片段」是僅含有重鏈可變區或輕鏈可變區鏈的具有免疫學功能的免疫球蛋白片段。在某些情況下，兩個或多個VH區與肽接頭共價連接以形成二價結構域抗體片段。二價結構域抗體片段的兩個VH區可靶向相同或不同抗原。

【0065】本發明的術語「與B7-H3結合」，指能與人B7-H3相互作用。本發明的術語「抗原結合位點」指抗原上不連續的，由本發明抗體或抗原結合片段識別的三維空間位點。

【0066】術語「表位」是指抗原上與免疫球蛋白或抗體特異性結合的位點。表位可以由相鄰的胺基酸、或通過蛋白質的三級折疊而並列的不相鄰的胺基酸形成。由相鄰的胺基酸形成的表位通常在暴露於變性溶劑後保持，而通過三級折疊形成的表位通常在變性溶劑處理後喪失。表位通常以獨特的空間構像包括至少3-15個胺基酸。確定什麼表位由給定的抗體結合的方法在本領域中是熟知的，包括免疫印跡和免疫沉澱檢測分析等。確定表位的空間構象的方法包括本領域中的技術和本文所述的技術，例如X射線晶體分析法和二維核磁共振等。

【0067】本發明所用的術語「特異性結合」、「選擇性結合」是指抗體與預定的抗原上的表位結合。通常，當使用重組人B7-H3作為分析物並使用抗體作為配體，在儀器中通過表面等離子體共振（SPR）技術測定時，抗體以大約低於 $10^{-7}M$ 或甚至更小的平衡解離常數（KD）與預定的抗原結合，並且其與預定抗原結合的親和力是其與預定抗原或緊密相關的抗原之外的非特異性抗原（如BSA等）結合的親和力的至少兩倍。術語「識別抗原的抗體」在本文中可以与術語「特異性結合的抗體」互換使用。

【0068】術語「交叉反應」是指本發明的抗體與來自不同物種的B7-H3結合的能力。例如，結合人B7-H3的本發明的抗體也可以結合另一物種的

B7-H3。交叉反應性是通過在結合測定（例如SPR和ELISA）中檢測與純化抗原的特異性反應性，或與生理表現B7-H3的細胞的結合或功能性相互作用來測量。確定交叉反應性的方法包括如本文所述的標準結合測定，例如表面等離子體共振（SPR）分析，或流式細胞術。

【0069】術語「抑制」或「阻斷」可互換使用，並涵蓋部分和完全抑制/阻斷這兩者。配體的抑制/阻斷優選地降低或改變無抑制或阻斷的情況下發生配體結合時出現活性的正常水平或類型。抑制和阻斷也旨在包括與抗B7-H3抗體接觸時，與未與抗B7-H3抗體接觸的配體相比，任何可測量的配體結合親和力降低。

【0070】術語「抑制生長」（例如涉及細胞）旨在包括細胞生長任何可測量的降低。

【0071】術語「誘導免疫反應」和「增強免疫反應」可互換使用，並指免疫反應對特定抗原的刺激（即，被動或適應性的）。針對誘導CDC或ADCC的術語「誘導」是指刺激特定的直接細胞殺傷機制。

【0072】本發明中所述的「ADCC」，即antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，抗體依賴的細胞介導的細胞毒性作用，是指表現Fc受體的細胞通過識別抗體的Fc段直接胞殺被抗體包覆的靶細胞。可通過對IgG上Fc段的修飾，增強或降低降低或消除抗體的ADCC作用功能。所述的修飾指在抗體的重鏈恆定區進行突變。

【0073】生產和純化抗體和抗原結合片段的方法在現有技術中熟知和能找到，如冷泉港的抗體實驗技術指南，5-8章和15章。如，老鼠可以用人B7-H3或其片段免疫，所得到的抗體能被覆性，純化，並且可以用常規的方法進行胺基酸測序。抗原結合片段同樣可以用常規方法製備。發明所述的抗體或抗原結合片段用基因工程方法在非人源的CDR區加上一個或多個人FR

區。人FR種系序列可以從ImMunoGeneTics(IMGT)的網站<http://imgt.cines.fr>得到，或者從免疫球蛋白雜誌，2001ISBN012441351上獲得。

【0074】本發明工程化的抗體或抗原結合片段可用常規方法製備和純化。相應抗體的cDNA序列可以複製並重組至GS表現載體。重組的免疫球蛋白表現載體可以穩定地轉染CHO細胞。作為一種更推薦的現有技術，哺乳動物類表現系統會導致抗體的糖基化，特別是在FC區的高度保守N端。通過表現與人源抗原特異性結合的抗體得到穩定的複製。陽性的複製在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產抗體。分泌了抗體的培養液可以用常規技術純化、收集。抗體可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩，離子交換。得到的產物需立即冷凍，如-70°C，或者凍乾。

【0075】本發明的抗體指單株抗體。本發明所述的單株抗體（mAb），指由單一的複製細胞株得到的抗體，所述的細胞株不限於真核的，原核的或噬菌體的複製細胞株。單株抗體或抗原結合片段可以用如融合瘤技術、重組技術、噬菌體展示技術，合成技術（如CDR-grafting），或其它現有技術進行重組得到。

【0076】「給予」和「處理」當應用於動物、人、實驗受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指外源性藥物、治療劑、診斷劑或組合物與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體的接觸。「給予」和「處理」可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中所述流體與細胞接觸。「給予」和「處理」還意指通過試劑、診斷、結合組合物或通過另一種細胞體外和離體處理例如細胞。「處理」當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施，研究和診斷應用。

【0077】「治療」意指給予患者內用或外用治療劑，諸如包含本發明的任一種結合化合物的組合物，所述患者具有一種或多種疾病症狀，而已知所述治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療患者或群體中以有效緩解一種或多種疾病症狀的量給予治療劑，無論是通過誘導這類症狀退化還是抑制這類症狀發展到任何臨床可測量的程度。有效緩解任何具體疾病症狀的治療劑的量（也稱作「治療有效量」）可根據多種因素變化，例如患者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在患者產生需要療效的能力。通過醫生或其它專業衛生保健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。盡本發明的實施方案（例如治療方法或製品）在緩解每個患者都有的目標疾病症狀方面可能無效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如Student t檢驗、卡方檢驗、依據Mann和Whitney的U檢驗、Kruskal-Wallis檢驗（H檢驗）、Jonckheere-Terpstra檢驗和Wilcoxon檢驗確定，其在統計學顯著數目的患者中應當減輕目標疾病症狀。

【0078】整個說明書和申請專利範圍中使用的術語「基本上由……組成」或其變形表示包括所有所述元件或元件組，並且任選包括與所述元件類似或不同性質的其它元件，所述其它元件非顯著改變指定給藥方案、方法或組合物的基本性質或新性質。作為非限制性例子，基本上由所提及的胺基酸序列組成的結合化合物還可以包括一種或多種胺基酸，其不顯著影響結合化合物的性質。

【0079】本發明所述的應用於某個對象的術語「自然存在的」是指這樣的事實，即該對象可在自然界中發現。例如存在於可從自然界來源分離得到的生物體（包括病毒）、且未經人工在實驗室中有意修飾的多肽序列或多核苷酸序列即是自然存在的。

【0080】「有效量」包含足以改善或預防醫學病症的症狀或病症的量。有效量還意指足以允許或促進診斷的量。用於特定患者或獸醫學受試者的有效量可依據以下因素而變化：如待治療的病症、患者的總體健康情況、給藥的方法途徑和劑量以及副作用嚴重性。有效量可以是避免顯著副作用或毒性作用的最大劑量或給藥方案。

【0081】「外源性」指根據背景在生物、細胞或人體外產生的物質。「內源性」指根據背景在細胞、生物或人體內產生的物質。

【0082】「同源性」是指兩個多核苷酸序列之間或兩個多肽之間的序列相似性。當兩個比較序列中的位置均被相同鹼基或胺基酸單體亞基佔據時，例如如果兩個DNA分子的每一個位置都被腺嘌呤佔據時，那麼所述分子在該位置是同源的。兩個序列之間的同源性百分率是兩個序列共有的匹配或同源位置數除以比較的位置數 $\times 100\%$ 的函數。例如，在序列最佳比對時，如果兩個序列中的10個位置有6個匹配或同源，那麼兩個序列為60%同源。一般而言，當比對兩個序列而得到最大的同源性百分率時進行比較。

【0083】本文使用的表述「細胞」、「細胞系」和「細胞培養物」可互換使用，並且所有這類名稱都包括其後代。因此，單詞「轉化體」和「轉化細胞」包括原代受試細胞和由其衍生的培養物，而不考慮轉移數目。還應當理解的是，由於故意或非有意的突變，所有後代在DNA含量方面不可能精確相同。包括具有與最初轉化細胞中篩選的相同的功能或生物學活性的突變後代。在意指不同名稱的情況下，其由上下文清楚可見。

【0084】「任選」或「任選地」意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生地場合。例如，「任選包含1-3個抗體重鏈可變區」意味著特定序列的抗體重鏈可變區可以但不必須存在。

【0085】「藥物組合物」表示含有一種或多種本文所述化合物或其生理學上/可藥用的鹽或前驅藥物與其他化學組分的混合物，以及其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。藥物組合物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0086】以下結合實施例用於進一步描述本發明，但這些實施例並非限制著本發明的範圍。本發明實施例中未註明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，如冷泉港的抗體技術實驗手冊，分子複製手冊；或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。未註明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

【0087】實施例1免疫抗原、篩選抗原的序列及製備

【0088】編碼帶His標籤的人B7-H3 (h-B7H3-his) 序列、編碼帶huFc標籤的人B7-H3 (h-B7H3-Fc) 序列由Integrated DNA Technology (IDT) 公司合成(以上B7-H3重組蛋白均由本發明設計模版序列)，分別複製到pTT5載體上(Biovector)。重組的B7-H3蛋白在293T細胞表現後，通過實施例2進行純化。純化的蛋白可用於下述各實施例實驗中。

【0089】h-B7H3-Fc以及h-B7H3-his的胺基酸序列分別如序列表中SEQ ID NO. 21和22所示。

【0090】實施例2B7-H3重組蛋白製備

【0091】1、帶His標籤的B7H3重組蛋白的純化步驟：

【0092】將HEK293細胞(購自美國模式菌種保藏中心，American type culture collection，ATCC)表現的上清樣品高速離心去除雜質，並將緩衝液換置換為PBS，加入咪唑至終濃度為5mM。用含有5mM咪唑的PBS溶液平衡鎳柱，沖洗2-5倍柱體積。將置換後的上清樣品上柱。用含有5mM咪唑的PBS溶液沖洗柱子，至A280讀數降至基線。後用PBS+10mM咪唑沖洗層析柱，除去

第 19 頁，共 35 頁 (發明說明書)

非特異結合的雜蛋白，並收集流出液。再用含有300mM咪唑的PBS溶液洗脫目的蛋白，並收集洗脫峰。

【0093】收集的洗脫液用離子交換（SP柱）進一步純化。配置A液：0.01M PB，pH8.0。配置B液：A液+1M NaCl。先將咪唑的PBS溶液洗脫目的蛋白置換到A液，並使用A液平衡SP柱，上樣，B液濃度梯度0-100%，10倍柱體積洗脫，收集各洗脫峰。所得到的蛋白經電泳，肽圖，LC-MS鑑定正確後分裝備用。

【0094】2、帶Fc標籤的B7H3重組蛋白（h-B7H3-Fc）的純化步驟：

【0095】將HEK293細胞表現的上清樣品高速離心去除雜質，並將緩衝液換置為PBS。用含有10mM磷酸緩衝液平衡Protein A親和力柱，沖洗2-5倍柱體積。將置換後的上清樣品上柱。用含有25倍柱體積緩衝液沖洗柱子，至A280讀數降至基線。再用pH 3.5的0.8%醋酸緩衝液洗脫目的蛋白，並收集洗脫峰，分裝後立刻加入1M Tris-Cl pH8.0緩衝液中中和，然後使用Millipore's Amico-15濾柱置換溶液為PBS。所得到的蛋白經電泳，肽圖，LC-MS鑑定正確後分裝備用。

【0096】3、表現人或猴B7-H3抗原的CHO穩轉細胞株製備：

【0097】編碼人或食蟹猴（*Macaca fascicularis*）B7-H3蛋白（huB7H3或cyB7H3）的全長序列由Integrated DNA Technology（IDT）公司合成（以上B7-H3重組蛋白均由本發明設計模版序列），分別複製到pcDNA3.1/puro（Invitrogen #V79020）。CHO-S（ATCC）細胞於CD-CHO培養基（Life Technologies, #10743029）內培養至 0.5×10^6 /ml。將10 μ g編碼huB7H3或cyB7H3基因的載體與50ul LF-LTX（Life Technologies, #A12621）在1ml Opti-MEM培養基（Life Technologies, #31985088）中混合，室溫孵育20分鐘後，加入CHO細胞培養液中並放入二氧化碳培養箱培養。24小時後更換

新培養基並加入10 μ g/ml嘌呤黴素。之後每2-3天更換一次新培養液，經過10-12天篩選後得到穩定CHO-S細胞池。

【0098】 實施例3 抗體的製備

【0099】 抗人B7H3單複製抗體通過免疫小鼠產生。實驗用Swiss Webster白小鼠，雌性，6周齡（Charles River公司）。飼養環境：SPF級。小鼠購入後，實驗室環境飼養1周，12/12小時光/暗週期調節，溫度20-25 $^{\circ}$ C；濕度40-60%。免疫抗原為帶Fc標籤的人B7H3重組蛋白（huB7H3-Fc）。用Titermax（sigma Lot Num：T2684）為佐劑。抗原與佐劑（titermax）比例為1:1，抗原乳化後進行接種，時間為第0、21、35、49、63天。第0天腹膜內（IP）注射15 μ g+爪墊（footpad）25/隻的乳化後抗原。21,35,49,63天腹膜內（IP）注射15 μ g+爪墊（footpad）15/隻的乳化後抗原, 在進行脾細胞融合前3天加強免疫，腹膜內（IP）注射15 μ g+爪墊（footpad）15/隻的生理鹽水配製的抗原溶液。於第42、56、70天進行血檢，用ELISA及FACS方法檢測小鼠血清，確定小鼠血清中的抗體滴度。在第5次免疫以後，選擇血清中抗體滴度高並且滴度趨於平臺的小鼠進行脾細胞融合，採用優化的電融合步驟將脾淋巴細胞與骨髓瘤細胞Sp2/0細胞（ATCC $\text{\textcircled{R}}$ CRL-8287 TM ）進行融合得到融合瘤細胞。

【0100】 融合後的融合瘤細胞培養7-14天後，取培養基上清，使用B7-H3重組蛋白huB7H3-Fc，ELISA實驗對融合瘤上清進行抗體篩選，得到的陽性抗體株進一步使用穩轉表現B7-H3的CHO-S細胞，對比空白CHO-S細胞以排除非特異性結合抗體融合瘤株，用流式分選方法進行篩選，從而選定兩株結合重組蛋白且也結合細胞表現抗原的融合瘤。收集對數生長期融合瘤細胞，用Trizol（Invitrogen,15596-018）提取RNA並反轉錄（PrimeScript TM Reverse Transcriptase，Takara #2680A）。將反轉錄得到的cDNA採用mouse

第 21 頁，共 35 頁（發明說明書）

Ig-Primer Set (Novagen, TB326 Rev.B 0503) 進行PCR擴增後測序，最終得到兩株鼠源抗體A3和A9的序列。

【0101】鼠單抗A3的重鏈和輕鏈可變區序列如下：

A3 HCVR

EVQLVESGGGLVKS GGS LKLS CAASGFTFSRYGMSWVRQTPEKRLEWV
AAISSGGGSIYYPDTVKGRLTISRDN AKNTLYLQMISLRSEDTALYFCTR
HYLLFEMDYWGRGTSVTVSS

SEQ ID NO : 1

A3 LCVR

DIVMTQSQEFMSTTVGDRVYITCKASQNVNTAVAWYQQKPGQSPKLLI
FSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAA YFCQQYSSSLTFG
AGTKLELK

SEQ ID NO : 2

表1 鼠單抗A3的重鏈和輕鏈可變區含有的CDR

名稱	序列	編號
HCDR1	RYGMS	SEQ ID NO : 3
HCDR2	ISSGGGSIYYPDTVKG	SEQ ID NO : 4
HCDR3	TRHYLLFEMDY	SEQ ID NO : 5
LCDR1	KASQNVNTAVA	SEQ ID NO : 6
LCDR2	SASNRYT	SEQ ID NO : 7
LCDR3	QQYSSSLT	SEQ ID NO : 8

【0102】A9的重鏈和輕鏈可變區序列如下：

A9 HCVR

QVQLQQSGPELVRPGVSVKISCKGSGYTFTDYAMHWVKQSHAKSLEWI
GVISTYYGNTNYNQKFKGKATMTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAIYYC
ARPVTTMVPRGGYYFDYWGQGTTTLTVSS

SEQ ID NO : 9

A9 LCVR

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSINKYLAWYQEKPGKTNKLLIYS
 GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAMYHCQQHNEYPLTFGA
 GTKLELK

SEQ ID NO : 10

表2 鼠單抗A9的重鏈和輕鏈可變區含有的CDR

名稱	序列	編號
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO : 11
HCDR2	VISTYYGNTNYNQKFKG	SEQ ID NO : 12
HCDR3	PVTTMVPRGGYYFDY	SEQ ID NO : 13
LCDR1	RASKSINKYLA	SEQ ID NO : 14
LCDR2	SGSTLQS	SEQ ID NO : 15
LCDR3	QQHNEYPLT	SEQ ID NO : 16

【0103】將每株鼠抗的重鏈和輕鏈可變區分別複製進入含人IgG1重鏈恆定區和κ輕鏈恆定區的pTT載體質粒（Biovector），然後瞬轉轉染入HEK293細胞，得到了抗B7-H3的嵌合抗體A3C和A9C，按實施例2（帶Fc標籤蛋白純化）所描述的方法純化、鑑定，並如下所述進行活性檢測。

【0104】實施例4 抗體的體外結合活性測定

【0105】用PBS緩衝液將用於和生物素結合的中和親和素稀釋至1μg/ml，以100μl/孔的體積加於96孔板中，於4°C放置16h-20h。用PBST（pH7.4 PBS含0.05% Tween-20）緩衝液洗板1次後，加入120μl/孔 PBST/1% milk，室溫孵育1h進行封閉。PBST緩衝液洗板1次後，加入用PBST/1% milk稀釋的1μg/ml的生物素標記h-B7H3-Fc，置室溫孵育1h。PBST緩衝液洗板3次後，加入用PBST/1% milk稀釋至合適濃度的待測B7-H3抗體，置室溫孵育1.5h。移去反應體系，用PBST洗板3次後，以100μl/孔加入用 PBST/1% milk 稀釋辣根過

氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP) 標記的抗鼠抗體二抗 (The Jackson Laboratory)，室溫孵育1h。PBST洗板3次後，加入100 μ l/孔TMB，於室溫孵育5-10min。加入100 μ l/孔1M H₂SO₄終止反應，在450nm處讀取吸收值，計算ELISA結合EC₅₀值。結果如圖1所示，抗體A3和A9的EC₅₀均約為0.03 μ g/mL，鼠源抗體A3和A9均對純化h-B7H3-Fc抗原有結合活性。

【0106】將高表現huB7-H3的CHO-S細胞以1000 rpm的轉速離心5分鐘，收集沉澱並用10-15 ml的預冷的流式緩衝液懸浮，細胞計數。用50ml的離心管中以1000 rpm的轉速離心5分鐘收集細胞，丟掉上清，沉澱用預冷封閉緩衝液重懸，密度為0.5-1.0 \times 10⁷細胞/毫升。4 $^{\circ}$ C 孵育30分鐘後，重懸以每孔100 μ l加入到96孔板。96孔板在1500rpm的轉速下離心5分鐘後，棄上清。向每個孔加入100 μ l待測抗體，濃度梯度為0.01nM至 670nM，將細胞重懸，4 $^{\circ}$ C 避光孵育60分鐘。離心棄上清，加入100 μ l的1:400稀釋的FITC標記二抗 (BD Biosciences)。將細胞重懸，4 $^{\circ}$ C 避光孵育60分鐘。用流式緩衝液洗兩次細胞，並用1%的多聚甲醛重懸細胞進行固定，進行流式檢測。檢測結果如圖2所示，A3、A9及其對應的嵌合抗體均在奈米莫耳 (nM) 濃度級對huB7H3高表現細胞有明顯結合，且其結合強於Macrogenics公司的參照抗體BRCA84D。

【0107】同樣的方法，使用高表現cyB7-H3的CHO-S細胞，在10nM單點濃度下檢測各抗體與食蟹猴B7-H3的結合，結果數據如下表3所示，A3C與猴抗原有明顯結合信號，而A9C和參照抗體BRCA84D均無結合。

表3

抗體名稱	A3C	A9C	BRCA84D	陰性對照
信號強度 (MFI)	54.5	4.59	5.25	3.98

【0108】實施例5 體外結合親和力和動力學實驗

【0109】本實驗採用表面等離子共振（SPR）方法測定。利用由 Biacore 提供的試劑盒，採用標準胺基偶聯法將抗鼠IgG多複製抗體共價連接至CM5（GE）芯片上，然後用此抗體將本發明待測的純化鼠源抗體捕捉至固定相。將稀釋於同樣緩衝液中的12.5-800nM濃度梯度的h-B7H3-Fc或h-B7H3-His蛋白（實施例1）於前後各個循環進樣，進樣後均以試劑盒內配再生試劑再生。追蹤抗原-抗體結合動力學3分鐘並追蹤解離動力學10分鐘。使用 GE 的 BIAevaluation軟件以1:1（Langmuir）結合模型分析所得數據，以此法測定的ka（kon）、kd（koff）和KD值顯示如下表4。

表4

抗體	抗原	結合速率 ka(1/M*s)	解離速率 kd (1/s)	親和力 KD
A3	h-B7H3-Fc	1.10E+05	1.40E-04	1.3nM
A9	h-B7H3-Fc	6.10E+04	1.60E-04	2.6nM
A3C	h-B7H3-his	9.97E+04	2.57E-07	2.58pM
A9C	h-B7H3-his	4.39E+04	1.36E-05	310pM

【0110】實施例6 小鼠抗體人源化實驗

【0111】鼠源抗人B7-H3單複製抗體人源化如本領域許多文獻公開的方法進行。簡言之，使用人恆定結構域替代親本（鼠源抗體）恆定結構域，根據鼠源抗體和人抗體的同源性選擇人種抗體序列，本發明將候選分子A3和A9進行人源化。

【0112】在所獲得的鼠源抗體VH/VL CDR典型結構的基礎上，將重、輕鏈可變區序列與人源抗體種系數據庫比較，獲得同源性高的人種系模板。其中人類種系輕鏈框架區來自人κ輕鏈基因，人類種系重鏈框架區來自人重鏈，本發明抗體優選以下所示的人種系抗體模版。

【0113】 A3優選人種系重鏈模版IGHV3-23 (SEQ ID NO: 23) :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW
VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
AK

【0114】 A3優選人種系輕鏈模板IGkV1-33 (SEQ ID NO: 24) :

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY
DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLNLP

【0115】 A9優選人種系重鏈模版IGHV1-2 (SEQ ID NO: 25) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQAPGQGLE
WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAV
YYCAR

【0116】 A9優選人種系輕鏈模板IGkV1-9 (SEQ ID NO: 26) :

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYP

【0117】 將鼠源抗體A3和A9的CDR區移植到選擇好的相應人源化模板上，替換人源化可變區，再與IgG恆定區（優選重鏈為IgG1，輕鏈為 κ ）重組。然後，以鼠源抗體的三維結構為基礎，對包埋殘基、與CDR區有直接相互作用的殘基，以及對VL和VH的構像有重要影響的殘基進行回復突變，並對CDR區化學不穩定胺基酸殘基優化，設計並檢測了由如下人源化輕重鏈可變區序列組合而成的抗體。

【0118】 huA3H1 (SEQ ID NO: 27) :

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLEW
VSAISSGGGSIYYPDVTVKGRILTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
TRHYLLFEMDYWGQGTTVTVSS

第 26 頁，共 35 頁（發明說明書）

【0119】 huA3H2 (SEQ ID NO: 28) :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLEW
VAAISSGGGSIYYPDTVKGRLTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFC
TRHYLLFEMDYWGQGTTVTVSS

【0120】 huA3L1 (SEQ ID NO: 29) :

DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI
YSASNRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYFCQQYSSSLT
FGQGTKLEIK

【0121】 huA3L2 (SEQ ID NO: 30) :

DIVLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIF
SASNRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAAYFCQQYSSSLTFGG
GTKLEIK

【0122】 huA9H1 (SEQ ID NO: 31) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVKQAPGQGLE
WMGVISTYYGNTNYNQKFKGRVTMTVDKSISTAYMELSRRLRSDDTAV
YYCARPVTTMVPRGGYYFDYWGQGTTVTVSS

【0123】 huA9H2 (SEQ ID NO: 32) :

QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKGSGYTFTDYAMHWVKQAPGQRLE
WIGVISTYYGNTNYNQKFKGRVTMTRDKSASTAYMELSSLRSEDNAVY
YCARPVTTMVPRGGYYFDYWGQGTTTLTVSS

【0124】 huA9L1 (SEQ ID NO: 33) :

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYS
GSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPLTFGQ
GTKLEIK

【0125】 huA9L2 (SEQ ID NO: 34) :

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYS
GSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPLTFGA
GTKLELK

【0126】 經表現測試和回復突變數量對比，選擇出最終的人源化huA3（使用H1重鏈和L2輕鏈）和huA9抗體分子（使用H1重鏈和L1輕鏈），其各自序列如SEQ ID NO: 17-20所示。

【0127】 下述基因序列SEQ ID NO: 35~38的最後三位核苷酸「TGA」為終止密碼子，不編碼任何胺基酸。

【0128】 huA3抗體重鏈序列：

EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSRYGMSWVRQAPGKGLEW
VSAISSGGGSIYYPDTVKGRLTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
TRHYLLFEMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 17

【0129】 huA3抗體重鏈序列編碼基因序列：

GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGCGGACTTGTGAAGCCTGGCG
GATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCTTCTGGCTTCACCTTCAGCAGA

第 28 頁，共 35 頁（發明說明書）

TACGGCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGACTGGAAT
GGGTGTCCGCCATCTCTAGCGGCGGAGGCTCTATCTACTACCCCGAC
ACAGTGAAGGGCAGACTGACCATCAGCAGAGACAACGCCAAGAAC
ACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCG
TGTACTACTGCACCAGACACTACCTGCTGTTTCGAGATGGACTACTGG
GGCCAGGGCACCACCGTGACAGTTAGCTCTGCTAGCACAAAGGGCC
CCAGCGTGTTCCCTCTGGCTCCTAGCAGCAAGAGCACAAAGCGGAGG
AACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCTGAGCCTG
TGACCGTGTCCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACTTCTGGCGTGCACACA
TTCCAGCCGTGCTGCAATCTAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGT
GGTCACAGTGCCAAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA
ATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA
ACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTC
CAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAAGCCT
AAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGAAGTGACCTGCGTGG
TGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGG
AACAGTACAACAGCACCTATAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCT
GCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC
ACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCA
AGGGCCAGCCTAGGGAACCCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCAG
GGACGAGCTGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAG
GGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCA
GCCAGAGAACAACACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACAGCGAC

GGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATG
GCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTG
CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCCCGGCAAATG
A

SEQ ID NO : 35

【0130】 huA3抗體輕鏈序列：

DIVLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIF
SASNRYSYGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDVAAYFCQQYSSSLTFGG
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 18

【0131】 huA3抗體輕鏈序列編碼基因序列：

GACATCGTGCTGACTCAGAGCCCCAGCTTCCTGTCTGCTAGCGTGGG
CGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCAGAACGTGAACACA
GCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGC
TGATCTTCAGCGCCAGCAACAGATAACCGGCGTGCCCTCTAGATTC
AGCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATCTCTAGCCT
GCAGCCTGAGGATGTGGCCGCCTACTTCTGTCAGCAGTACAGCAGCT
CCCTGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAACAGT
GGCCGCTCCTAGCGTGTTTCATCTTCCCACCATCTGACGAGCAGCTGA
AGTCCGGCACAGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCC
AGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCTCTGCAGTCCG
GCAACTCCCAAGAGAGCGTGACAGAGCAGGACAGCAAGGACTCCAC

第 30 頁，共 35 頁（發明說明書）

CTACAGCCTGAGCAGCACACTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAA
AAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGACTGTCTA
GCCCTGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGGCGAGTGTTGA

SEQ ID NO : 36

【0132】 huA9抗體重鏈序列：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYAMHWVKQAPGQGLE
WMGVISTYYGNTNYNQKFKGRVTMTVDKSISTAYMELSRRLSDDTAV
YYCARPVTTMVPRGGYYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 19

【0133】 huA9抗體重鏈序列編碼基因序列：

CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCG
CCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTAGCGGCTACACATTCACCGAC
TACGCCATGCACTGGGTCAAGCAGGCTCCAGGACAGGGACTCGAAT
GGATGGGCGTGATCAGCACCTACTACGGCAACACCAACTACAACCA
GAAATTCAAGGGCCGCGTGACCATGACCGTGGACAAGAGCATCAGC
ACCGCCTACATGGAAGTACTGAGCAGACTGAGAAGCGACGACACCGCCG
TGTACTACTGTGCCAGACCTGTGACCACAATGGTGCCCAGAGGCGGC

第 31 頁，共 35 頁（發明說明書）

TACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACAGTGTCTAG
CGCTTCCACAAAGGGCCCCAGCGTTTTCCCACTGGCTCCTAGCAGCA
AGAGCACATCTGGCGGAACAGCTGCTCTGGGCTGTCTGGTCAAGGA
CTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCTCTGA
CAAGCGGCGTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAAAGCAGCGGCCT
GTACTCTCTGAGCAGCGTGGTCACCGTGCCTAGCTCTAGTCTGGGCA
CACAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAA
GGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACC
TGTCCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTT
CTGTTCCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCC
TGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAA
GTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCA
AGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACAGAGTGGT
GTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAG
TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAA
GACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTAC
AACTGCCACCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAATCAGGTGTCCC
TGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAA
TGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTC
CTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGCAAGCTGACT
GTGGATAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCTCTGTCT
CTGAGCCCCGGCAAATGA

SEQ ID NO : 37

第 32 頁，共 35 頁（發明說明書）

【0134】 huA9抗體輕鏈序列：

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYS
GSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPLTFGQ
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 20

【0135】 huA9抗體輕鏈序列編碼基因序列（其中下述序列的前60位核苷酸不參與最終huA9抗體輕鏈的編碼）：

ATGTCTGTGCCTACACAGGTTCTGGGACTGCTGCTGCTGTGGCTGAC
AGACGCCAGATGTGACATCCAGCTGACTCAGAGCCCCAGCTTCCTGT
CTGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCAA
GAGCATCAACAAGTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAG
GCTCCTAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGCACACTGCAGAGCGGAG
TGCCTTCTAGATTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGAGTTCACACTG
ACAATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA
GCAGCACAACGAGTACCCTCTGACATTCGGCCAGGGCACCAAGCTG
GAAATCAAGAGAACAGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTTCATCTTCCCACC
ATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACAGCCAGCGTTGTGTGCCTGC
TGAACAACCTTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGA
CAACGCCCTGCAGTCCGGCAACAGCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAG
GACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGCACTGA
GCAAGGCCGACTACGAAAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGAC

CCACCAGGGACTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCCTTCAACAGAGGCG
AGTGCTGA

SEQ ID NO : 38

【0136】根據以上各人源化抗體輕鏈和重鏈的基因序列合成cDNA片段，插入到pcDNA3.1表現載體（Life Technologies Cat. No. V790-20）中。將表現載體和轉染試劑PEI（Polysciences, Inc. Cat. No. 23966）以1:2的比例轉染HEK293細胞（Life Technologies Cat. No. 11625019），並置於CO₂孵育箱中孵育4-5天。表現的抗體通過離心回收後，按實施例2方法（帶Fc標籤蛋白純化）進行抗體純化，得到本發明的人源化抗體蛋白。

【0137】實施例7 人源化抗體活性測定

【0138】對huA3和huA9及其它衍生的人源化抗體在體外進行了以下實驗測定：

【0139】1、細胞結合實驗（方法步驟同實施例4），結果如圖3所示，人源化抗體huA3和huA9均與高表現B7-H3的MDA-MB-231細胞陽性結合，且結合能力與嵌合抗體A3C相當。

【0140】2、親和力動力學實驗（方法步驟同實施例5），結果如下表所示，最終優選的人源化抗體huA3和huA9對人B7-H3抗原蛋白的KD均在1nM以下，顯示出很強的親和力。

表5

抗體	抗原	結合速度 k_a (1/M*s)	解離速度 k_d (1/s)	親和力 K_D
huA3	h-B7H3-his	8.60E+04	2.72E-07	3.16pM
huA9	h-B7H3-his	1.26E+05	3.61E-05	286pM
huA3H1/L1	h-B7H3-his	1.51E+05	7.89E-07	5.22pM
huA3H2/L1	h-B7H3-his	1.11E+05	3.54E-07	3.19pM
huA9H2/L2	h-B7H3-his	6.07E+04	2.34E-04	3.85nM

第 34 頁，共 35 頁（發明說明書）

huA9H2/L1	h-B7H3-his	1.09E+05	7.92E-05	730pM
-----------	------------	----------	----------	-------

【0141】雖然以上描述了本發明的具體實施方式，但是本領域的技術人員應當理解，這些僅是舉例說明，在不背離本發明的原理和實質的前提下，可以對這些實施方式做出多種變更或修改。因此，本發明的保護範圍由所附申請專利範圍限定。

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其包含：

抗體輕鏈可變區，所述的抗體輕鏈可變區包含如以下序列所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3：SEQ ID NO:6，SEQ ID NO:7，SEQ ID NO: 8和

抗體重鏈可變區，所述的抗體重鏈可變區包含如以下序列所述的HCDR1、HCDR2、HCDR3：SEQ ID NO:3，SEQ ID NO:4，SEQ ID NO:5。

【第2項】如請求項1所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述的抗體為鼠源抗體、嵌合抗體、人源化抗體或者人抗體。

【第3項】如請求項2所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述鼠源抗體或所述嵌合抗體的重鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 1所示，輕鏈可變區的胺基酸序列如序列表中SEQ ID NO. 2所示。

【第4項】如請求項2所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述人源化抗體輕鏈可變區上的輕鏈FR區序列，來源於如SEQ ID NO: 24所示的人種系輕鏈IGKV1-33序列；和/或，所述人源化抗體重鏈可變區上的重鏈FR區序列，來源於如SEQ ID NO: 23所示的人種系重鏈IGHV3-23序列。

【第5項】如請求項2所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述人源化抗體輕鏈序列為如SEQ ID NO: 18所示的序列；和/或，所述人源化抗體重鏈序列為如SEQ ID NO: 17所示的序列。

【第6項】如請求項2所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述人源化抗體重鏈可變區進一步包含人源IgG1, IgG2, IgG3或 IgG4或其變體的重鏈FR區。

【第7項】如請求項6所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述人源化抗體重鏈可變區包含胺基酸突變後增強ADCC毒性的IgG1的重鏈FR區。

【第8項】如請求項2所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，其中所述的人源化抗體為人源化抗體huA3；

所述的人源化抗體huA3的重鏈可變區序列如SEQ ID NO：27或SEQ ID NO：28所示；和/或，輕鏈可變區序列如SEQ ID NO：29或SEQ ID NO：30所示。

【第9項】如請求項8所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段，所述的人源化抗體huA3的重鏈可變區序列如SEQ ID NO：27所示，輕鏈可變區序列如SEQ ID NO：30所示。

【第10項】一種編碼如請求項1-9任一項所述的抗B7-H3抗體或抗原結合片段的DNA序列。

【第11項】如請求項10所述的編碼抗B7-H3抗體或抗原結合片段的DNA序列，抗體重鏈編碼序列如SEQ ID NO:35所示，和/或，抗體輕鏈編碼序列如SEQ ID NO:36所示。

【第12項】一種含有如請求項11所述的DNA序列的表現載體。

【第13項】一種含有如請求項12所述的表現載體的宿主細胞。

【第14項】如請求項13所述的宿主細胞，所述的宿主細胞為細菌、酵母菌或者哺乳動物細胞。

【第15項】如請求項14所述的宿主細胞，所述的宿主細胞為大腸桿菌、畢赤酵母、中國倉鼠卵巢細胞或人胚腎293細胞。

【第16項】一種藥物組合物，其含有如請求項1-9任一項所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段以及可藥用的賦形劑、稀釋劑或載體。

【第17項】 一種如請求項1-9任一項所述的抗B7-H3抗體或其抗原結合片段在製備用於治療或預防B7-H3介導的疾病或病症的藥物中的用途。

【第18項】 如請求項17所述的用途，其中所述的疾病為癌症。

【第19項】 如請求項18所述的用途，其中所述的癌症為表現B7-H3的癌症。

【第20項】 如請求項18或19所述的用途，其中所述的癌症為乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、胰腺癌、腎癌、肺癌、肝癌、胃癌、結腸癌、膀胱癌、食道癌、子宮頸癌、膽囊癌、膠質母細胞瘤和黑色素瘤。