



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118103401 A

(43) 申请公布日 2024.05.28

(21) 申请号 202280067368.2

(22) 申请日 2022.10.07

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2021/122699 2021.10.08 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.04.03

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2022/123723 2022.10.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/056916 ZH 2023.04.13

(71) 申请人 深圳福沃药业有限公司

地址 518067 广东省深圳市南山区高新南
七道19号B302 518067

(72) 发明人 朱程刚 董洁娴 彭方理 李烨青

杨超铭 徐良亮

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C12P 21/08 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54) 发明名称

ADCC增强型抗FGFR2抗体及其用途

(57) 摘要

本发明提供ADCC增强型抗FGFR2抗体,其中所述抗体是通过增强与Fc γ R的结合实现增强的ADCC。在肿瘤治疗中,所述抗体具有抗肿瘤活性。

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年4月13日 (13.04.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/056916 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01) *C12P 21/08* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/123723

(22) 国际申请日: 2022年10月7日 (07.10.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
PCT/CN2021/122699
2021年10月8日 (08.10.2021) CN

(71) 申请人: 深圳福沃药业有限公司 (SHENZHEN FORWARD PHARMACEUTICALS LIMITED CO.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 朱程刚 (ZHU, Chenggang); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。董洁娴 (DONG, JieXian); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。彭方理 (PENG, Fangli); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。李焯青 (LI, Yeqing); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。杨超铭 (YANG, Chaoming); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。徐良亮 (XU, Liangliang); 中国广东省深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南七道019号清华大学研究院B区406室, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京坤瑞律师事务所 (WU, FENG & ZHANG); 中国北京市海淀区林风二路38号绿地中央广场4号楼3层, Beijing 100089 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告 (条约第21条 (3))。

(54) Title: ANTI-FGFR2 ADCC ENHANCED ANTIBODY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: ADCC增强型抗FGFR2抗体及其用途

(57) Abstract: Provided in the present invention is an anti-FGFR2 ADCC enhanced antibody. The antibody achieves ADCC enhancement by means of enhancing the binding to FcγR. In tumor therapy, the antibody has anti-tumor activity.

(57) 摘要: 本发明提供ADCC增强型抗FGFR2抗体, 其中所述抗体是通过增强与FcγR的结合实现增强的ADCC。在肿瘤治疗中, 所述抗体具有抗肿瘤活性。



WO 2023/056916 A1

ADCC增强型抗FGFR2抗体及其用途

5

发明领域

本发明涉及ADCC增强型抗FGFR2抗体及其用途。

发明背景

在正常细胞中，成纤维细胞生长因子(FGF)受体2(FGFR2)可通过FRS2级
10 联将FGF信号转导至RAS-ERK和PI3K-AKT信号通路，也可通过PLC γ 激活
DAG-PKC和IP3-钙调素信号级联，调节着细胞分化、增殖及凋亡。

FGFR2的编码基因分布在人类染色体10q26上，由于剪接体变化，产生
FGFR2b和FGFR2c异构体。FGFR2b和FGFR2c的免疫球蛋白样结构域和胞内
酪氨酸激酶域几乎相同，差别主要在第三个免疫球蛋白样结构域的后半部
15 分；此外，两者主要表达的细胞以及结合的配体亦有不同，主要表达在上皮
细胞的FGFR2b与配体FGF1、FGF3、FGF7、FGF10和FGF22的结合较强，表
达在间充质细胞的FGFR2c主要结合配体FGF1、FGF2、FGF4、FGF6、FGF9、
FGF16和FGF20。

FGFR2或FGFs的过表达以及基因上的变化，如基因扩增、基因融合和重
20 排、基因点突变及染色体易位，会导致FGFR2信号通路失调，失调的
FGFRs/FGFs信号通路与细胞癌变密切相关。潜在的FGFR2的过表达、错义
突变活化或异常蛋白融合已经报道在多种癌症类型中，其中包括子宫内膜
癌、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、胃癌和胆管癌。因此，FGFR2可成为肿瘤治疗的
潜在靶点。

25 目前，高特异性靶向FGFR2的抗肿瘤药物正在进行临床前和临床试验。
这些药物根据作用机制分为：受体酪氨酸激酶抑制剂、拮抗性抗体或肽抑制
剂。其中，几种靶向FGFR2的单克隆抗体处于临床前或临床开发阶段，比如，
FGFR2IIIb特异性抗体GP369已被证明可以通过放大或激活的FGFR2信号抑
制人类癌细胞系和肿瘤异种移植物的增殖。BAY1187982 (Bayer)采用抗体药
30 物偶联物的治疗策略，在临床前研究中证明了有效性，在FGFR2过表达的胃
癌和乳腺癌异种移植模型中成功抑制肿瘤生长，不幸的是，该药物在临床实

验1期由于安全性问题，于2016年终止实验。靶向FGFR2IIIb的抗体FP144 (Five Prime)被证明可抑制FGF/FGFR2相关的肿瘤信号通路，进而抑制肿瘤生长，II期临床实验数据表明：在FGFR2过表达的胃癌中，FP144与化疗药物联用治疗方案体现了积极疗效。

5 为提高抗体药物的治疗效果，许多制药企业及科研机构做了多种尝试，其中，抗体Fc改造以增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)，从而增强抗肿瘤活性被证实是一种有效的方案，为增强ADCC的Fc改造主要采用Asn297的岩藻糖敲除或Fc点突变。

在免疫癌症治疗中广泛使用的是IgG1亚型抗体，在IgG1亚型抗体的CH2
10 结构域的Asn297有保守的Asn297的N-连接的糖基化位点，研究表明，去除该位点的N-连接聚糖可增强抗体Fc端与NK细胞上FcγR结合，从而提高ADCC活性。1999年Umana, P.等人报道了在中国仓鼠卵巢细胞中敲除β(1,4)-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶III，使用该细胞系生产的抗体Asn297糖基化含量降低，并显著提高了抗体在体外的ADCC活性。迄今为止，多个无岩藻糖的抗体药
15 物获批上市或者处于临床阶段，比如由Roche开发的靶向CD20的Obinutuzumab以及Kyowa Hakko Kirin开发的靶向CCR4的Mogamulizumab已在美国及欧洲获批上市。

除了敲除岩藻糖以外，另一个被证实有效的策略是在Fc端引入点突变，开发与FcγRs高亲和的突变体。Xencor公司基于计算机模拟相互作用分析，
20 发现在IgG1 Fc中引入S239D/I332E或S239D/I332E/A330L，结果表明：与野生型相比，突变体与FcγRs的亲合力提高了100倍，ADCC活性也显著增强。

发明概述

本发明提供ADCC增强型抗FGFR2抗体及其用途。在一个实施方案中，
25 通过增强FcγR结合来增强ADCC。

在一个方面，本发明提供一种ADCC增强型抗FGFR2抗体，其中所述抗体的Fc区与岩藻糖基化的野生型Fc区相比与FcγR的结合增强。

在一个实施方案中，所述抗体的重链可变区包含如SEQ ID NO:5所示的HVR-H1、如SEQ ID NO:6所示的HVR-H2和如SEQ ID NO:7所示的HVR-H3。
30 在一个实施方案中，所述抗体的轻链可变区包含如SEQ ID NO:8所示的HVR-L1、如SEQ ID NO:9所示的HVR-L2和如SEQ ID NO:10所示的HVR-L3。

在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:3所示的重链可变区。在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:4所示的轻链可变区。在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:3所示的重链可变区和如SEQ ID NO:4所示的轻链可变区。在一个实施方案中，所述抗体包含 κ 轻链恒定区。

5 在一个实施方案中，所述抗体包含IgG1重链恒定区。

在一个实施方案中，所述抗体的Fc区包含消除岩藻糖基化的氨基酸突变，例如N297G或N297A。在一个实施方案中，所述抗体的Fc区包含增强Fc γ R结合的氨基酸突变，例如S239D/I332E或S239D/I332E/A330L。在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:12或14所示的重链。在一个实施方案中，
10 所述抗体包含如SEQ ID NO:11所示的轻链。在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:12所示的重链和如SEQ ID NO:11所示的轻链。在一个实施方案中，所述抗体包含如SEQ ID NO:14所示的重链和如SEQ ID NO:11所示的轻链。

在一个实施方案中，所述抗体是在蛋白质岩藻糖基化缺陷的宿主细胞中
15 生成的。在一个实施方案中，所述宿主细胞是 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)缺陷的，例如基因敲除、表达降低和/或活性降低。在一个实施方案中，所述抗体是在蛋白质岩藻糖基化受到抑制的条件下生成的。在一个实施方案中，所述条件抑制 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)的表达和/或活性。在一个实施方案中，所述宿主细胞是原核细胞或真核细胞。在一个实施方案中，所述宿主
20 细胞是大肠杆菌。在一个实施方案中，所述细胞是哺乳动物细胞。在一个实施方案中，所述宿主细胞是CHO细胞，例如CHOK1细胞。在一个实施方案中，所述条件包括添加 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)的抑制剂。

在另一个方面，本发明提供一种组合物，其包含本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体。在一个实施方案中，所述组合物中至少50%、60%、70%、
25 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或甚至100%的抗FGFR2抗体是无岩藻糖基化的。

在另一个方面，本发明提供一种核酸，其编码本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体。在另一个方面，本发明提供一种载体，其包含本发明的核酸。在一个实施方案中，所述载体是克隆载体或表达载体。在另一个方面，本发
30 明提供一种宿主细胞，其包含本发明的核酸或载体。

在另一个方面，本发明提供一种生成本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗

体或本发明的包含ADCC增强型抗FGFR2抗体的组合物的方法。在一个实施方案中，所述方法包括在蛋白质岩藻糖基化缺陷的宿主细胞中培养本发明的宿主细胞以产生本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体或组合物。在一个实施方案中，所述方法包括在蛋白质岩藻糖基化受到抑制的条件下培养本发明的宿主细胞以产生本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体或组合物。在一个实施方案中，所述方法包括在适合于抗体产生的条件下培养本发明的宿主细胞以产生本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体或组合物，其中所述宿主细胞包含编码消除了岩藻糖基化位点的抗体的核酸。在一个实施方案中，所述宿主细胞是原核细胞或真核细胞。在一个实施方案中，所述宿主细胞是大肠杆菌。

5 在一个实施方案中，所述细胞是哺乳动物细胞。在一个实施方案中，所述宿主细胞是CHO细胞，例如CHOK1细胞。在一个实施方案中，蛋白质岩藻糖基化缺陷的宿主细胞是 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)缺陷的。在一个实施方案中， α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)缺陷通过基因敲除或RNA干扰来实现。

10 在一个实施方案中，蛋白质岩藻糖基化受到抑制的条件是 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)的表达和/或活性受到抑制。在一个实施方案中， α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)的表达和/或活性受到抑制通过添加 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)的抑制剂来实现。

在另一个方面，本发明提供一种药物组合物，其包含本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体或其组合物，以及至少一种可药用载体。

20 在另一个方面，本发明提供本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体、组合物或药物组合物，其用于治疗癌症。在另一个方面，本发明提供本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体、组合物或药物组合物用于治疗癌症的用途。在另一个方面，本发明提供本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体、组合物或药物组合物制备用于治疗癌症的药物的用途。在另一个方面，本发明提供一种

25 治疗癌症的方法，其中所述方法包括施用有效量的本发明的ADCC增强型抗FGFR2抗体、组合物或药物组合物。在一个实施方案中，所述癌症过表达FGFR2。在一个实施方案中，所述癌症是胃癌或乳腺癌。在一个实施方案中，所述药物与别的治疗剂组合施用。

30

附图简述

图1显示本发明的抗体的抗原结合活性。

图2显示本发明的抗体的ADCC活性，利用Jurkat为效应细胞检测。小图A，以KATOIII为靶细胞；小图B，以SUM52PE为靶细胞；小图C，以SNU16为靶细胞。

图3显示本发明的抗体的ADCC活性，利用人源PBMC为效应细胞检测。

5 小图A，以KATOIII为靶细胞；小图B，以SUM52PE为靶细胞；小图C，以SNU16为靶细胞。

发明详述

本发明提供了结合FGFR2IIIb的无岩藻糖基化抗体。在一些实施方案中，
10 还提供了能够形成结合FGFR2IIIb的抗体的无岩藻糖基化抗体重链和轻链。在一些实施方案中，提供了包含一个或多个特定高变区(HVR)的无岩藻糖基化抗体、重链、和轻链。在一些实施方案中，无岩藻糖基化的抗FGFR2IIIb抗体相对于岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体具有增强的ADCC活性。在一些实施方案中，抗体Fc区S239D、I332E和A330L突变的抗FGFR2IIIb抗体相对于岩
15 藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体具有增强的ADCC活性。在一些实施方案中，无岩藻糖基化的并且S239D、I332E和A330L突变的抗FGFR2IIIb抗体相对于岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体具有增强ADCC活性。

提供了编码结合FGFR2IIIb的抗体的多核苷酸。还提供了编码抗体重链或轻链的多核苷酸。提供了表达无岩藻糖基化的抗FGFR2IIIb抗体的宿主细
20 胞。提供了使用针对FGFR2IIIb的无岩藻糖基化的并且S239D、I332E和A330L突变的抗体的治疗方法。这样的方法包括，但不限于治疗癌症，如胃癌，乳腺癌，卵巢癌，子宫内膜癌，胰腺癌和食道癌的方法。

本发明提供了靶向FGFR2的抗体。

本发明还提供了含本发明所述抗体的药物组合，以及所述抗体在制备用
25 于诊断或治疗胃癌特别是FGFR2IIIb基因扩增导致FGFR2IIIb过表达的胃癌的药物中的用途。

具体地说，本发明包含与FGFR2IIIb结合，并在Asn297被寡糖糖基化的抗体，所述抗体特征是所述寡糖链的岩藻糖含量为75%以上。本发明同时也提供了ADCC增强型的抗FGFR2抗体，其包含在抗体Asn297敲除岩藻糖的抗
30 体；或在抗体Fc端引入S239D/I332E/A330L突变；或在无岩藻糖的抗体Fc端引入S239D/I332E/A330L突变，这一组抗体的特征是ADCC活性增强。

在本申请描述的任何实施方案中，所述抗体可结合FGFR2IIIb而不结合FGFR2IIIc。

5 在一些实施方案中，所述抗体是单克隆抗体。在一些实施方案中，所述抗体是嵌合抗体。在一些实施方案中，所述抗体是人源化抗体。在本申请描述的任何实施方案中，所述抗体可包含κ轻链恒定区。在本申请描述的任何实施方案中，所述抗体可包含IgG1重链恒定区。

10 在一些实施方案中，提供抗FGFR2IIIb抗体，其中重链可变区包含：(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-H1；(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H2；和(iii)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H3；且轻链可变区包含：(iv)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L1；(v)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L2；(vi)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L3；在一些实施方案中，所述抗体在Asn297缺少岩藻糖。在一些实施方案中，所述抗体Fc端引入S239D/I332E/A330L突变，其Fc序列包含SEQ ID NO:13。在一些实施方案中，提供包含多个抗FGFR2IIIb抗体的组合物，其中
15 该组合物中的每个抗FGFR2IIIb抗体的重链CDR区包含：(i)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HVR-H1；(ii)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H2；和(iii)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H3；且该组合物中的每个抗FGFR2IIIb抗体的轻链CDR区包含：(iv)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-L1；(v)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L2；和(vi)包含SEQ ID
20 NO:10的氨基酸序列的HVR-L3；其中该组合物中至少95%的抗体是无岩藻糖基化的，或者该组合物中的抗体Fc端引入S239D/I332E/A330L突变。在一些实施方案中，所述组合物可以是来自产抗体细胞系的上清液。在一些实施方案中，所述组合物可以是缓冲(buffered)组合物。在一些实施方案中，重链可变域包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些实施方案中，轻链可变域包含
25 SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中，重链可变域包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列且轻链可变域包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中，重链包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列。在一些实施方案中，轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。在一些实施方案中，重链包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列且轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。在一些实施方案中，重链包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列且轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。在一些实施方案中，提供了包含多个无岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗
30

体的组合物，其中所述抗体与包含下述重链可变域与轻链可变域的抗体竞争对FGFR2IIIb的结合：所述重链可变域包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列，所述轻链可变域包含SEQ ID NO:的4氨基酸序列；所述抗体包含重链SEQ ID NO:12的氨基酸序列，所述抗体包含轻链SEQ ID NO:的11氨基酸序列；所述抗体包含重链SEQ ID NO:14的氨基酸序列，所述抗体包含轻链SEQ ID NO:的11氨基酸序列。

10 在一些实施方案中，相比于具有相同氨基酸序列的岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体，所述无岩藻糖基化抗体具有增强的体外ADCC活性。在一些实施方案中，所述无岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解比岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解高至少10，至少15，至少20，至少25，至少30，至少35，至少40，至少45，至少50，至少60，至少65，至少70或至少75个百分点。在一些实施方案中，使用表达FGFR2IIIb的SNU16，KATOIII，SUM52PE细胞作为靶细胞，分离的人PBMC作为效应器细胞，来测定ADCC活性。

15 在一些实施方案中，相比于具有相同氨基酸序列的Fc端引入S239D/I332E/A330L突变抗FGFR2IIIb抗体，所述抗体具有增强的体外ADCC活性。在一些实施方案中，所述Fc端引入S239D/I332E/A330L突变抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解比原始的抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解高至少10，至少15，至少20，至少25，至少30，至少35，至少40，至少45，至少50，至少60，至少65，至少70或至少75个百分点。在一些实施方案中，使用表达FGFR2IIIb的SNU16，KATOIII，SUM52PE细胞作为靶细胞，分离的人PBMC作为效应器细胞，来测定ADCC活性。

25 在一些实施方案中，相比于具有相同氨基酸序列的抗体，所述无岩藻糖基化，并在Fc端引入S239D/I332E/A330L突变的抗FGFR2IIIb抗体，所述抗体具有增强的体外ADCC活性。在一些实施方案中，所述无岩藻糖基化，并在Fc端引入S239D/I332E/A330L突变的抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解比原始的抗FGFR2IIIb抗体导致的特异性裂解高至少10，至少15，至少20，至少25，至少30，至少35，至少40，至少45，至少50，至少60，至少65，至少70或至少75个百分点。在一些实施方案中，使用表达FGFR2IIIb的胃癌SNU16，胃癌KATOIII以及乳腺癌SUM52PE细胞作为靶细胞，分离的人PBMC作为效应器细胞，来测定ADCC活性。

在一些实施方案中，提供宿主细胞，所述细胞包含编码本申请所述的抗FGFR2IIIb抗体的核酸，其中所述宿主细胞缺少功能性 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因(FUT8)基因。在一些实施方案中，所述宿主细胞是CHO细胞。

在一些实施方案中，提供了制造无岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体的方法。

5 在一些实施方案中，一种方法包括在适合于表达编码抗FGFR2IIIb抗体的条件下培养宿主细胞，其中所述宿主细胞缺少功能性 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因(FUT8)基因。在一些实施方案中，制造无岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体的方法包括在适合于产生所述无岩藻糖基化抗FGFR2IIIb抗体的条件下培养所述宿主细胞。在一些实施方案中，所述方法还包括回收由宿主细胞产生的所述抗FGFR2IIIb抗体。在一些实施方案中，由宿主细胞产生的抗FGFR2IIIb抗体的少于5%包含岩藻糖。在一些实施方案中，由宿主细胞产生的抗FGFR2IIIb抗体的至少95%缺少岩藻糖(即是无岩藻糖基化的)。在一些实施方案中，在由宿主细胞产生的抗FGFR2IIIb抗体中无法检测到岩藻糖。在一些实施方案中，通过质谱的方法来确定岩藻糖的存在。

15 在一些实施方案中，提供药物组合物，其中所述药物组合物包含本申请中所述的ADCC增强型抗FGFR2IIIb抗体和可药用载体。

在一些实施方案中，提供治疗癌症的方法。在一些实施方案中，一种方法包括施用有效量的包含本申请所述的ADCC增强型抗FGFR2IIIb抗体及可药用载体的药物组合物。在一些实施方案中，所述癌症选自胃癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、胰腺癌和食道癌。在一些实施方案中，所述癌症是胃癌或乳腺癌。在一些实施方案中，所述癌症包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中，所述癌症过表达FGFR2IIIb。在一些实施方案中，包含FGFR2过表达的癌症过表达FGFR2IIIb的程度高于FGFR2IIIc。在一些实施方案中，所述癌症过表达FGFR2IIIb但不包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中，25 FGFR2IIIb的表达或过表达通过IHC确定。在一些实施方案中，IHC对肿瘤细胞的1+、2+或3+染色表明FGFR2IIIb过表达。在一些实施方案中，肿瘤细胞中IHC的2+或3+染色表明FGFR2IIIb过表达。

在一些实施方案中，治疗癌症的方法还包括联用选自铂剂、帕利他赛、多西他赛、吉西他滨、卡培他滨、伊诺替康、表柔比星、FOLFOX、FOLFIRI、30 亚叶酸钙、氟尿嘧啶、丝裂霉素C、和盐酸多柔比星的至少一种其他治疗剂。在一些实施方案中，所述铂剂选自顺铂，奥沙利铂，和卡铂。在一些实施方

案中，治疗癌症的方法还包括施用紫杉醇。在一些实施方案中，治疗癌症的方法还包括施用顺铂和/或5-FU。

术语

“FGFR2IIIb”或“FGFR2b”可互换使用，指成纤维细胞生长因子受体2IIIb剪接形式。一种非限制性的示例性成熟人FGFR2IIIb氨基酸序列示于SEQ ID NO:1。

“FGFR2IIIc”或“FGFR2c”可互换使用，指成纤维细胞生长因子受体2IIIc剪接形式。一种非限制性的示例性成熟人FGFR2IIIc氨基酸序列示于SEQ ID NO:2。

10 术语“抗体”在本文中以最广义使用，涵盖各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)，以及抗体片段，只要它们显示想要的抗原结合活性。

术语“抗体”包括，但不限于能够结合抗原的片段，诸如Fv，单链Fv(scFv)，Fab，Fab’，和(Fab’)2。用木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同的抗原结合片段，每个片段有一个单独的抗原结合位点，和残余的“Fc”片段，后者的名称反映其容易结晶的能力。胃蛋白酶处理产生一个F(ab’)2片段，该片段具有两个抗原结合位点，并仍然能够交联抗原。术语“抗体”还包括，但不限于嵌合抗体、人源化抗体、以及不同物种如小鼠、人、短尾猴等的抗体。

20 术语“重链可变区”是指包含重链HVR1、框架(FR)2、HVR2、FR3及HVR3的区域。在一些实施方案中，重链可变区还包含FR1的至少一部分和/或FR4的至少一部分。

术语“重链恒定区”是指包含至少三个重链恒定域：CH1，CH2，和CH3的区域。非限制性的示例重链恒定区包括 γ 、 δ 和 α 。限制性的示例重链恒定区还包括 ϵ 和 μ 。每种重链恒定区对应一种抗体同种型。例如，包含 γ 恒定区的抗体是IgG抗体，包含 δ 恒定区的抗体是IgD抗体，且包含 α 恒定区的抗体是IgA抗体。此外，包含 μ 恒定区的抗体是IgM抗体，且包含 ϵ 恒定区的抗体是IgE抗体。特定同种型可进一步分成亚类。例如IgG抗体包括，但不限于IgG1(包含 γ 1恒定区)、IgG2(包含 γ 2恒定区)、IgG3(包含 γ 3恒定区)、和IgG4(包含 γ 4恒定区)抗体；IgA抗体包括，但不限于IgA1(包含 α 1恒定区)和IgA2(包含 α 2恒定区)抗体；IgM抗体包括，但不限于IgM1和IgM2。

术语“重链”是指包含至少一个重链可变区，有或没有前导序列的多肽。

在一些实施方案中，重链包含重链可变区的至少一部分。术语“全长重链”是指包含重链可变区和重链恒定区，有或没有前导序列的多肽。

术语“轻链可变区”是指包含轻链HVR1、框架(FR)2、HVR2、FR3及HVR3的区域。在一些实施方案中，轻链可变区还包含FR1和/或FR4。

5 术语“轻链恒定区”是指包含轻链恒定域，CL的区域。非限制性的示例轻链恒定区包括 λ 和 κ 。

术语“轻链”是指至少包含轻链可变区，有或没有前导序列的多肽。在一些实施方案中，轻链包含轻链恒定区的至少一部分。术语“全长轻链”知识包含轻链可变区和轻链恒定区，有或没有前导序列的多肽。

10 术语“高变区”或“HVR”是指每个在序列上高度可变、并且/或者形成结构上限定的环(“高变环”)的抗体可变域。一般而言，天然的四链抗体包含六个HVR；三个在VH中(H1, H2, H3)，三个在VL中(L1, L2, L3)。HVR一般包含来自高变环和/或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基，后者的序列可变性最高并且/或者参与抗原识别。

15 术语“抗体片段”包含全长抗体的一部分，一般至少为抗原结合部分或其可变区。抗体片段的实例包括双抗体、单链抗体分子、缀合物例如免疫毒素和包含抗体片段的多特异性抗体。

术语“人源化抗体”指其框架区(FRs)和/或“互补决定区”(CDRs)被修饰以包含和亲本免疫球蛋白相比具不同特异性的免疫球蛋白CDR的抗体。

20 术语“表位”表示能够与抗体特异结合的蛋白质决定簇。表位通常由化学活性的表面分子基团例如氨基酸或糖侧链组成，并通常具有特异的三维结构特征和特异的电荷特征。构象和非构象表位的区别是抗体与前者而不是后者的结合在变性剂的存在下消失。

25 术语“抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)”表示具有杀伤性的细胞如NK细胞通过其表达的Fc受体识别包被于靶抗原上的抗体Fc段，直接杀死靶细胞。

30 术语“岩藻糖”在本发明中是指在抗体Asn297糖链中的岩藻糖。“岩藻糖含量”在本发明是指相对于和Asn297连接的所有糖残基的总和，使用质谱测量，并以平均值结算。“岩藻糖相对量”是指包含岩藻糖的结构相对所有糖结构的百分比，在用IdeS处理的样品中使用质谱鉴定。

术语“无岩藻糖抗体”，所述抗体是IgG1单克隆抗体，其糖型核心结构以

无岩藻糖化糖型为主，岩藻糖量不超过5%。

术语“人效应器细胞”是表达一种或多种FcR并执行效应器功能的白细胞。在特定实施方案中，所述细胞至少表达FcγRIII并执行ADCC效应器功能。可介导ADCC的人白细胞的例子包括外周血单个核细胞(PBMC)、天然杀伤(NK)细胞、单核细胞、巨噬细胞、细胞毒T细胞、以及嗜中性粒细胞。效应器细胞可分离自天然来源，例如来自血液。

术语“组合疗法”是指本发明的FGFR2IIIb抗体和化疗药物或免疫抑制剂以一种单一制剂或两种分开的制剂联合施用。

10

实施例

实施例1: ADCC增强型抗FGFR2b抗体的设计及制备

根据下文表5所示的重链 (SEQ ID NO:12或14) 和轻链 (SEQ ID NO:11) 氨基酸序列合成基因序列 (通用生物, 安徽滁州), 并克隆至表达载体 pcDNA™ 3.1 (Invitrogen, V79020), 分别制备重链和轻链表达的质粒, 双质粒依照下文表1分别共转染至CHOK1以及Fut8KO CHOK1细胞, 使转化的细胞在20% BM024H + 80% BM022H中以37°C、6% CO₂、120 rpm摇床培养一周后, 收集上清 (药明生物, 中国上海)。使用蛋白A亲和层析柱 (GE Healthcare) 纯化, 纯化后分别使用SDS-PAGE (Thermo Fisher Scientific, NP0335BOX) 和SEC-HPLC (Thermo, UltiMate3000) 检测方法对抗体纯度进行检测, 所有抗体纯度均达到95%以上。

表1: 抗体多肽链表达

样品批号	宿主细胞	重链	轻链
FWB1914	CHOK1	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:11
FWB19142	CHOK1	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:11
FWB19143	Fut8KO CHOK1	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:11
FWB19144	Fut8KO CHOK1	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:11

将抗体与IdeS酶 (Genovis, A0-FR1-020) 混合孵育, 酶切获得Fc/2和F(ab')₂片段, 使用ACQUITY UPLC I-Class/Acquity RDa系统 (Waters) 检测糖型, 并根据相应糖基的质谱峰面积分析该种糖型的相对含量。

25

表2: 糖型分析结果

	FWB1914	FWB19143	FWB19142	FWB19144
--	---------	----------	----------	----------

Man5	5.04%	4.28%	1.67%	ND
G0-GN	ND	3.69%	ND	ND
G0F-GN	8.06%	ND	1.4%	ND
G0	1.81%	88.49%	ND	87.98%
G0F	63.98%	ND	68.69%	ND
G1	13.15%	3.54%	13.91%	12.02%
G1F	7.97%	ND	10.52%	ND
G0F+GN	ND	ND	3.81%	ND

ND: 不可检测到

如表2所示, 经质谱分析, 与FWB1914序列相同的在岩藻糖基化缺陷的宿主细胞中生成的FWB19143非岩藻糖化达到了95.77%, 同理, 与FWB19142序列相同的在岩藻糖基化缺陷的宿主细胞中生成的FWB19144非岩藻糖化达到100%。

5

实施例2: 通过ELISA鉴定抗FGFR2b抗体的抗原结合活性

首先将96孔ELISA板 (Coring, 3590) 用100 μ L的2 μ g/mL rhFGFR2b-Fc (Sinobiological, 16485-H02H) 4 $^{\circ}$ C包被过夜, 并用250 μ L封闭液 (含3% BSA的PBST) 37 $^{\circ}$ C孵育2小时, 之后用PBST洗板3次。将待测抗体从15 μ g/mL进行5倍系列稀释, 共8个浓度点 (包括空白对照), 并将系列稀释的抗体每孔100 μ L加入到ELISA孔中, 37 $^{\circ}$ C孵育1小时, 随后用PBST洗板3遍。加入二抗小鼠抗人Fab-HRP偶联物 (金斯瑞, A01855-200) 并37 $^{\circ}$ C孵育1小时, 最后用PBST洗板3次并加入100 μ L TMB (博奥龙, BF06007) 反应15分钟。显色反应用2 N硫酸 (50 μ L) 进行终止, 并在读板仪 (PerkinElmer, EnVision2104) 上检测450 nm的吸光度值, 以此来计算各个抗体对人FGFR2b的结合活性 (EC50, nM)。

10

15

如图1所示, FWB1914、FWB19142、FWB19143、FWB19144抗体的EC50为0.57-0.71 nM, 证明Fc区的改造并未影响抗体对FGFR2b的结合活性。

实施例3: 使用Jurkat细胞作为效应细胞, 检测抗体的ADCC活性

20

分别以高表达FGFR2的KATOIII (胃癌, 中国科学院细胞库, SCSP-573)、SNU16 (胃癌, 中源合聚, CRL-5974) 或SUM52PE (乳腺癌, BIOIVT, HUMANSUM-0003018) 为靶细胞, 用含10% FBS无酚红RPMI1640培养基调整靶细胞密度至 0.75×10^6 个细胞/mL, 每孔100 μ L加入白色96孔板白板

(Thermo, 136101) 中, 细胞培养箱中37°C、5% CO₂培养过夜; 次日, 移除培养上清, 每孔加入25 μL无血清无酚红RPMI1640, 加入起始浓度1-5 μg/mL以5倍浓度梯度稀释的抗体25 μL, 阴性孔加等体积无血清无酚红RPMI1640或阴性样本; 细胞培养箱37°C、5% CO₂孵育60分钟; 将Jurkat (苏州瑞安生物科技, RA-CK01) 效应细胞以无血清无酚红RPMI1640调整浓度至1x10⁶个细胞/mL, 每孔加入25 μL细胞悬液, 培养箱37°C、5% CO₂孵育6小时; 待测板复温至室温, 加入萤火虫荧光素酶检测试剂 (Vazyme, DD1204-01), 室温避光孵育5分钟后检测发光值。

如图2所示, 以Jurkat细胞为效应细胞, 以FGFR2b高表达性KATOIII、SUM52PE或SNU16细胞为靶细胞, 无岩藻糖基化或者DLE突变的抗FGFR2b抗体显示比未改造的野生型抗FGFR2b抗体FWB1914更强的ADCC活性, 各个Fc改造的抗体其ADCC活性与野生型抗FGFR2b抗体FWB1914相比增强倍数 (基于EC₅₀ (ng/mL)计算) 如表3所示。

表3: Fc区改造的抗体对野生型抗体的ADCC效力倍数增加

靶细胞	FWB19142	FWB19143	FWB19144
KATOIII	14	12	18
SUM52PE	16	12	22
SNU16	3	3	8

15 实施例4: 使用人源PBMC为效应细胞, 检测抗体的ADCC活性

分别以KATOIII、SNU16或SUM52PE为靶细胞, 用含10% FBS无酚红RPMI1640培养基调整靶细胞密度至0.2x10⁶个细胞/mL, 每孔50 μL加入96孔板 (Corning, 3599) 中, 细胞培养箱中37°C、5% CO₂培养过夜; 次日, 移除培养上清, 每孔加入50 μL含1% FBS的无酚红RPMI1640培养基, 加入起始浓度1-100 μg/mL以5倍浓度梯度稀释的抗体50 μL, 阴性孔加等体积无血清无酚红RPMI1640或阴性样本; 细胞培养箱37°C、5% CO₂孵育60分钟; 人源PBMC (上海赛笠生物科技, XFBHP025B) 效应细胞用10% FBS的无酚红RPMI1640培养基含终浓度300 IU/mL的IL-2复苏并培养过夜, 然后300 g离心10分钟, 用1% FBS的无酚红RPMI1640重悬并计数, 调整浓度至5x10⁶个细胞/mL, 每孔加入50 μL细胞悬液, 细胞培养箱37°C、5% CO₂孵育6小时; 吸出待测孔上清50 μL, 加入50 μL的LDH检测试剂 (Promega, G1781), 室温避光孵育30分钟, 加入50 μL终止液后, 于1小时内完成OD492的检测。

如图3所示，以人PBMC细胞为效应细胞，以FGFR2b高表达性KATOIII、SUM52PE或SNU16细胞为靶细胞，无岩藻糖基化或者DLE突变的抗FGFR2b抗体显示比未改造的野生型抗FGFR2b抗体FWB1914更强的ADCC活性，其中各个Fc改造的抗体其ADCC活性与野生型抗FGFR2b抗体FWB1914相比增强倍数（基于EC50 (ng/mL)计算）如表4所示。

表4: Fc区改造的抗体对野生型抗体的ADCC效力倍数增加

靶细胞	FWB19142	FWB19143	FWB19144
KATOIII	2.3	1.7	3.4
SUM52PE	2.7	3.8	13.57
SNU16	2.3	1.8	4.3

表5: 序列

10 SEQ ID NO:1, FGFR2b

MVSWGRFICLVVVTMATLSLARPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYV
 AAPGESLEVRCLLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPRD
 SGLYACTASRTVDSETWYFMVNVTDAISSGDDDDTDGAEDFVSENSNN
 KRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGNPMPPTMRWLKNGKE
 15 FKQEHRIGGYKVRNQHWLSLIMESVVP SDKGNYTCV VENEYGSINHTYHL
 DVVERSPHRPILQAGLPANASTVVG GDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVE
 KNGSKYGPDGLPYLKV LKHSGINSSNAEVLALFNVTEADAGEYICKVSN
 YIGQANQSAWLTVLPKQQAPGREKEITASPDYLEIAIYCIGVFLIACMVVT
 VILCRMKNTTKKPDFSSQPAVHKLTKRIPLRRQVTVSAESSSSMNSNTPL
 20 VRITTRLSSSTADTPMLAGVSEYELPEDPKWEFPRDKLTLGKPLGEGCFGQ
 VVMAEAVGIDKDKPKEAVTVAVKMLKDDATEKDLSDLVSEMEMMKMI
 GKHKNINLLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLREYLRARRPPGMEYSYDIN
 RVPEEQMTFKDLVSCTYQLARGMEYLASQKCIHRDLAARNVLVTENNV
 MKIADFGLARDINNIDYYKKT TNGRLPVK WMAPEALFDRVYTHQSDVW
 25 SFGVLMWEIFTLGGSPYPGIPVEELFKLLKEGHRMDK PANCTNELYMMM
 RDCWHAVPSQRPTFKQLVEDLDRILTLTTNEEYLDLSQPLEQYSPSYPDT
 RSSCSSGDDSVFSPDPMPYEPCLPQYPHINGSVKT

SEQ ID NO:2, FGFR2c

MVSWGRFICLVVVTMATLSLARPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYV
AAPGESLEVRCLLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPRD
5 SGLYACTASRTVDSETWYFMVNVTDAISSGDEDDTDGAEDFVSENSNN
KRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGNPMPPTMRWLKNGKE
FKQEHRIGGYKVRNQHWLIMESVVP SDKGN YTCV VENEYGSINHTYHL
DVVERSPHRPILQAGLPANASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVE
KNGSKYGPDGLPYLKVLKAAGVNTTDKEIEVL YIRNVTFEDAGEYTCLA
10 GNSIGISFHSAWLTVLPAPGREKEITASPDYLEIAIYCIGVFLIACMVVTVIL
CRMKNNTTKKPDFSSQPAVHKLTKRIPLRRQVTVSAESSSSMNSNTPLVRIT
TRLSSTADTPMLAGVSEYELPEDPKWEFPRDKLTLGKPLGEGCFGQVVM
AEA VGIDKDKPKEAVTVAVKMLKDDATEKDLSDLVSEMEMMKMIGKH
KNIINLLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLREYLRARRPPGMEYSYDINRVP
15 EEQMTFKDLVSCTYQLARGMEYLASQKCIHRDLAARNVLVTENNVMI
ADFGLARDINNIDYYKKTNGRLPVK WMAPEALFDRVYTHQSDVWSFG
VLMWEIFTLGGSPYPGIPVEELFKLLKEGHRMDKPANCTNELYMMMRD
CWHAVPSQRPTFKQLVEDLDRILTLTTNEEYLDLSQPLEQYSPSYDTRSS
CSSGDDSVFSPDPMPEPCLPQYPHINGSVKT

20

SEQ ID NO:3, VH (粗体为HVR)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYIFTSY**YNVHWVRQAPGQGLEWI**
GSYIPDNGDSSYNNNYKGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCA
R**GDFAYWGQGT**LVTVSS

25

SEQ ID NO:4, VL (粗体为HVR)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK**KASNGVSN**DIAWYQQKPGKAPKLLIYS
ASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAITYY**CQQHSTTPY**TFGQG
TKLEIK

30

SEQ ID NO:5, HVR-H1

SYNVH

SEQ ID NO:6, HVR-H2

SIYPDNGDSSYNNNYKG

5

SEQ ID NO:7, HVR-H3

GDFAY

SEQ ID NO:8, HVR-L1

10 KASNGVSNDIA

SEQ ID NO:9, HVR-L2

SASYRYS

15 SEQ ID NO:10, HVR-L3

QQHSTTPYT

SEQ ID NO:11, 轻链 (下划线为可变域)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASNGVSNDIAWYQQKPGKAPKLLIYS

20 ASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLPEDIATYYCQQHSTTPYTFGQG

TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKADYEKHKVYACEVTHQG

LSSPVTKSFNRGEC

25 SEQ ID NO:12, 重链 (下划线为可变域)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYIFTSYNVHWVRQAPGQGLEWI

GSIYPDNGDSSYNNNYKGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCA

RGDFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY

FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC

30 NVNHNKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDT

LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
 K

5

SEQ ID NO:13, Fc (DLE突变) (粗体为点突变)

PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD**V**FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKAL**PLPEE**KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
 10 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:14, 重链 (DLE突变) (单下划线为可变域, 双下划线为Fc区)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYFTS**YNVHW**VRQAPGQGLEWI
 15 **GS**IYPDNGDSSYNNNY**K**GRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA
RGDFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
 NVNHNKPSNTKVDKRV**EPK**SCDKTHTCPPCPAPELLGGPD**V**FLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
 20 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL**PLPEE**KTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

权利要求书

1. 一种ADCC增强型抗FGFR2抗体，其包含重链可变区、轻链可变区和Fc区，其中所述重链可变区包含：

- (i) 由SEQ ID NO:5的氨基酸序列组成的HVR-H1；
 - (ii) 由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成的HVR-H2；和
 - (iii) 由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成的HVR-H3，
- 所述轻链可变区包含：
- (iv) 由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成的HVR-L1；
 - (v) 由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成的HVR-L2；和
 - (vi) 由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成的HVR-L3，

且所述Fc区与岩藻糖基化的野生型Fc区相比与Fc γ R的结合增强。

2. 根据权利要求1所述的抗体，其中所述重链可变区由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成，和/或，所述轻链可变区由SEQ ID NO:4的氨基酸序列组成。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体，其中所述抗体包含 κ 轻链恒定区和/或IgG1重链恒定区。

4. 根据权利要求1所述的抗体，其中所述抗体的重链由SEQ ID NO:12的氨基酸序列组成，且，所述抗体的轻链由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗体，其中所述Fc区包含增强Fc γ R结合的突变，例如依照Kabat的EU索引的S239D/I332E或S239D/I332E/A330L突变。

6. 根据权利要求1所述的抗体，其中所述抗体的重链由SEQ ID NO:14的氨基酸序列组成，且，所述抗体的轻链由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的抗体，其中所述Fc区是无岩藻糖基化的。

8. 根据权利要求7所述的抗体，其中所述抗体是在蛋白质岩藻糖基化缺陷的宿主细胞中生成的。

9. 根据权利要求8所述的抗体，其中所述宿主细胞是 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)缺陷的。

10. 根据权利要求7所述的抗体，其中所述抗体是在蛋白质岩藻糖基化

受到抑制的条件下生成的。

11. 根据权利要求10所述的抗体，其中所述条件抑制 α -1,6-岩藻糖基转移酶(FUT8)。

12. 根据权利要求7所述的抗体，其中所述Fc区包含消除N297处岩藻糖基化的突变，例如依照Kabat的EU索引的N297G或N297A突变。

13. 一种组合物，其包含根据权利要求1至12中任一项所述的抗体。

14. 根据权利要求13所述的组合物，其中所述组合物中至少95%的抗FGFR2抗体是无岩藻糖基化的。

15. 一种宿主细胞，其包含编码根据权利要求1-6中任一项所述的抗体的核酸。

16. 根据权利要求15所述的宿主细胞，其中所述宿主细胞是蛋白质岩藻糖基化缺陷的。

17. 根据权利要求16所述的宿主细胞，其中所述宿主细胞是FUT8缺陷。

18. 一种宿主细胞，其包含编码根据权利要求12所述的抗体的核酸。

19. 一种生成ADCC增强型抗FGFR2抗体的方法，其包括在抑制蛋白质岩藻糖基化的条件下培养根据权利要求15所述的宿主细胞。

20. 一种生成ADCC增强型抗FGFR2抗体的方法，其包括在适合产生抗体的条件下培养根据权利要求16或17所述的宿主细胞。

21. 一种生成ADCC增强型抗FGFR2抗体的方法，其包括在适合产生抗体的条件下培养根据权利要求18所述的宿主细胞。

22. 一种药物组合物，包含权利要求1至12中任一项的抗体或权利要求13或14的组合物，以及可药用载体。

23. 权利要求1至12中任一项的抗体、权利要求13或14的组合物或权利要求22的药物组合物在制备用于治疗个体中的癌症的药物中的用途。

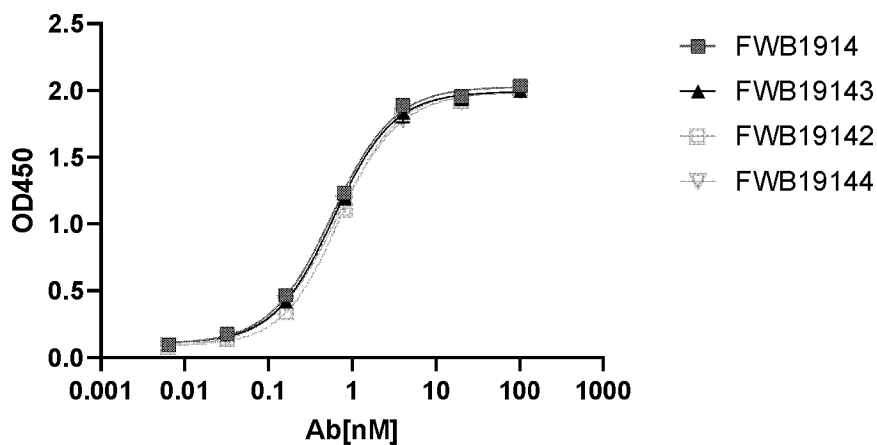
24. 权利要求23的用途，其中所述癌症过表达FGFR2。

25. 权利要求23或24的用途，其中所述癌症是胃癌或乳腺癌。

26. 一种用于治疗个体中的癌症的方法，其包括对所述个体施用有效量的权利要求1-12中任一项的抗体、权利要求13或14的组合物或权利要求22的药物组合物。

27. 权利要求26的方法，其中所述癌症过表达FGFR2。

28. 权利要求26或27的方法，其中所述癌症是胃癌或乳腺癌。

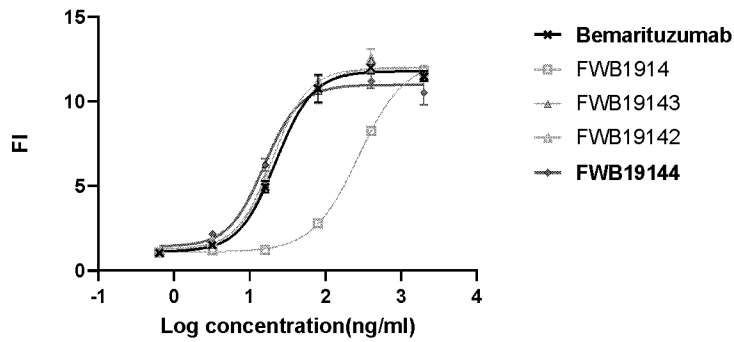


	FWB1914	FWB19143	FWB19142	FWB19144
HillSlope	1.172	1.217	1.271	1.120
EC50	0.5696	0.5967	0.7057	0.6428

图 1

A

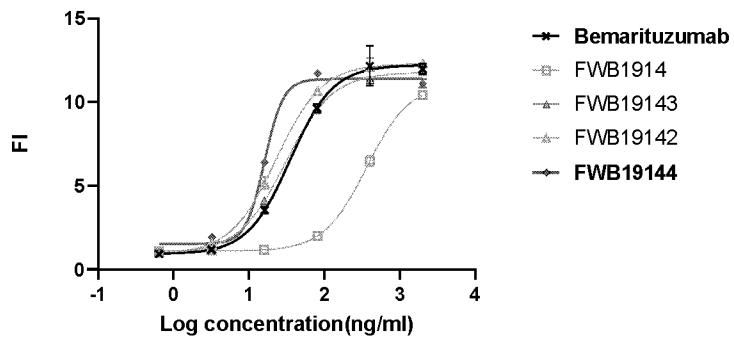
KATO III



	Bemarituzumab	FWB1914	FWB19143	FWB19142	FWB19144
EC50	22.14	273.5	22.47	20.00	15.45

B

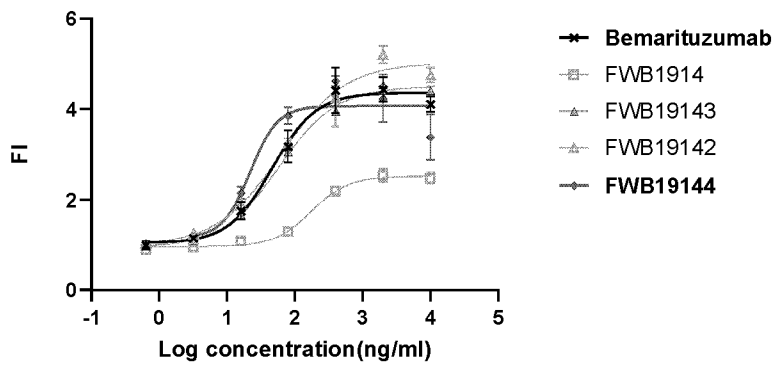
SUM52PE



	Bemarituzumab	FWB1914	FWB19143	FWB19142	FWB19144
EC50	35.16	361.6	30.30	23.10	16.04

C

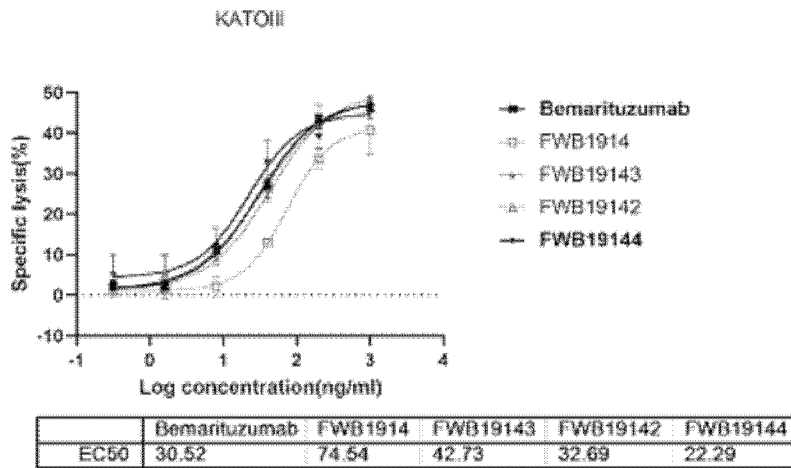
SNU16



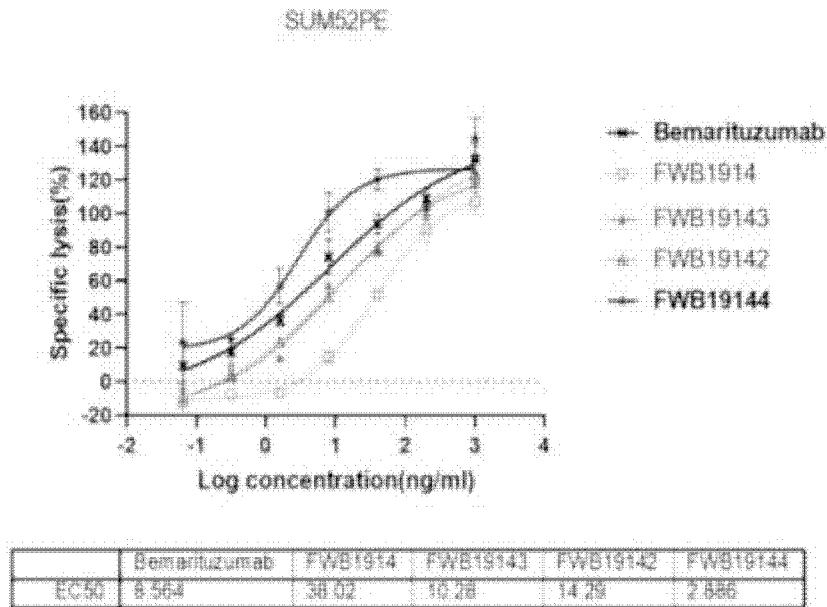
	Bemarituzumab	FWB1914	FWB19143	FWB19142	FWB19144
EC50	46.19	172.1	58.14	62.21	21.92

图2

A



B



C

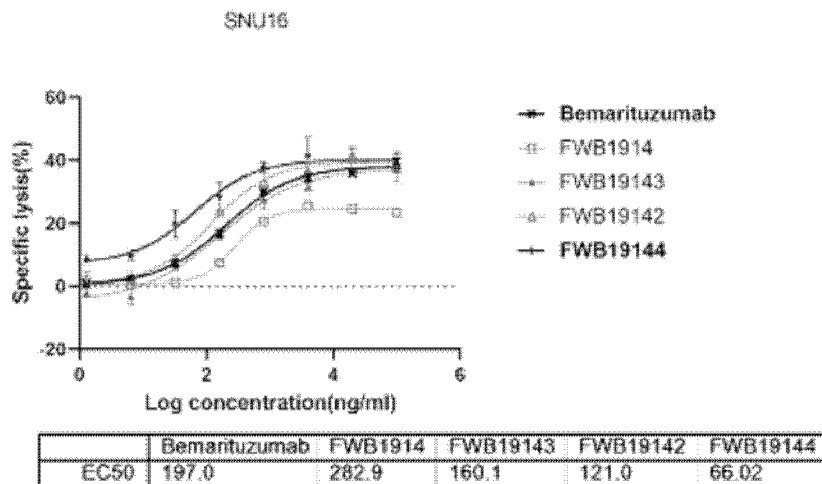


图3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/123723

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; C07K 16/00(2006.01)i; A61K 39/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; C12P 21/08(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; A61K; C12P; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNTXT; CJFD; VCN; WPABS; WPABSC; ENTXTC; ENTXT; DWPI; CNKI; 万方, WANFANG; ISI Web of Science; NCBI; STN; 中国专利生物序列检索数据库, China Patents Biological Sequence Search Database; 深圳福沃药业有限公司, 朱程刚, 董洁娴, 彭方理, 李焯青, 杨超铭, 徐良亮, 成纤维细胞生长因子受体2, 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用, SHENZHEN FORWARD PHARMACEUTICALS, ZHU Chenggang, DONG Jiexian, PENG Fangli, LI Yeqing, YANG Chaoming, XU Liangliang, FGFR2, FGFR2b, FGFR2IIIb, ADCC, 序列3-14		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 102131524 A (GALAXY BIOTECH LLC) 20 July 2011 (2011-07-20) description, figure 13	1-25
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 05 December 2022		Date of mailing of the international search report 15 December 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **26-28**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 26-28 relate to a method for treating cancer in an individual, and the technical solution is a treatment method implemented on a human body or animal body, and belongs to the subject matter as defined in PCT Rule 39.1(iv) that does not warrant a search conducted by the international searching authority
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/123723

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 102131524 A	20 July 2011	CA 2733668 A1	14 May 2010
		WO 2010054265 A2	14 May 2010
		US 2010196364 A1	05 August 2010
		WO 2010054265 A3	16 September 2010
		AU 2009313357 A1	03 February 2011
		MX 2011000455 A1	28 February 2011
		IN 201005059 P2	04 March 2011
		KR 20110081141 A	13 July 2011
		EP 2365828 A2	21 September 2011
		US 8101723 B2	24 January 2012
		JP 2012508184 A	05 April 2012
		US 2012134994 A1	31 May 2012
		HK 1160012 A1	10 August 2012
		RU 2011141890 A	27 April 2013
		MX 316091 B	04 December 2013
		US 8603987 B2	10 December 2013
		CN 102131524 B	14 May 2014
		US 2014193899 A1	10 July 2014
		EP 2365828 B1	15 October 2014
		JP 5627591 B2	19 November 2014
		ES 2523740 T3	01 December 2014
		JP 2014240385 A	25 December 2014
		EP 2842573 A1	04 March 2015
		RU 2546254 C2	10 April 2015
		AU 2009313357 B2	11 June 2015
		RU 2546254 C9	10 July 2015
		BR 200917315 A2	17 November 2015
		HK 1207974 A	19 February 2016
		US 9382324 B2	05 July 2016
		US 2016362496 A1	15 December 2016
		KR 101699432 B1	24 January 2017
		JP 2017019807 A	26 January 2017
		EP 2842573 B1	27 September 2017
		US 9834609 B2	05 December 2017
		ES 2646168 T3	12 December 2017
		EP 3290052 A1	07 March 2018
		US 2018094063 A1	05 April 2018
		JP 6342223 B2	13 June 2018
		HK 1249053 A1	26 October 2018
		US 10138301 B2	27 November 2018
		JP 6445496 B2	26 December 2018
		IN 304913 B	28 December 2018
		JP 2019052165 A	04 April 2019
		US 2019153105 A1	23 May 2019
		EP 3290052 B1	25 December 2019
		JP 6661734 B2	11 March 2020
		US 10689448 B2	23 June 2020
		JP 2020096615 A	25 June 2020
		ES 2770134 T3	30 June 2020
		US 2020347141 A1	05 November 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/123723

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		BR PI0917315 B1	08 December 2020
		EP 3783024 A1	24 February 2021
		JP 6960485 B2	05 November 2021
		JP 2022008996 A	14 January 2022
		EP 2365828 A4	06 June 2012

A. 主题的分类 C07K 16/28(2006.01)i; C07K 16/00(2006.01)i; A61K 39/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; C12P 21/08(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K; A61K; C12P; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS; CNTXT; CJFD; VCN; WPABS; WPABSC; ENTXTC; ENTXT; DWPI; CNKI; 万方; ISI Web of Science; NCBI; STN; 中国专利生物序列检索数据库; 深圳福沃药业有限公司, 朱程刚, 董洁娴, 彭方理, 李焯青, 杨超铭, 徐良亮, 成纤维细胞生长因子受体2, 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用, SHENZHEN FORWARD PHARMACEUTICALS, ZHU Chenggang, DONG Jiexian, PENG Fangli, LI Yeqing, YANG Chaoming, XU Liangliang, FGFR2, FGFR2b, FGFR2IIIb, ADCC, 序列3-14		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 102131524 A (星系生物科技责任有限公司) 2011年7月20日 (2011 - 07 - 20) 说明书附图13	1-25
.....		
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		
<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2022年12月5日	国际检索报告邮寄日期 2022年12月15日	
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	授权官员 曹梦超 电话号码 (86-512) 88995236	

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 26-28
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求26-28涉及治疗个体中的癌症的方法，该技术方案为在人体或动物体上实施的治疗方法，属于PCT细则39.1(iv)定义的不要求检索单位检索的主题。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/123723

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 102131524 A	2011年7月20日	CA 2733668 A1	2010年5月14日
		WO 2010054265 A2	2010年5月14日
		US 2010196364 A1	2010年8月5日
		WO 2010054265 A3	2010年9月16日
		AU 2009313357 A1	2011年2月3日
		MX 2011000455 A1	2011年2月28日
		IN 201005059 P2	2011年3月4日
		KR 20110081141 A	2011年7月13日
		EP 2365828 A2	2011年9月21日
		US 8101723 B2	2012年1月24日
		JP 2012508184 A	2012年4月5日
		US 2012134994 A1	2012年5月31日
		HK 1160012 A1	2012年8月10日
		RU 2011141890 A	2013年4月27日
		MX 316091 B	2013年12月4日
		US 8603987 B2	2013年12月10日
		CN 102131524 B	2014年5月14日
		US 2014193899 A1	2014年7月10日
		EP 2365828 B1	2014年10月15日
		JP 5627591 B2	2014年11月19日
		ES 2523740 T3	2014年12月1日
		JP 2014240385 A	2014年12月25日
		EP 2842573 A1	2015年3月4日
		RU 2546254 C2	2015年4月10日
		AU 2009313357 B2	2015年6月11日
		RU 2546254 C9	2015年7月10日
		BR 200917315 A2	2015年11月17日
		HK 1207974 A	2016年2月19日
		US 9382324 B2	2016年7月5日
		US 2016362496 A1	2016年12月15日
		KR 101699432 B1	2017年1月24日
		JP 2017019807 A	2017年1月26日
		EP 2842573 B1	2017年9月27日
		US 9834609 B2	2017年12月5日
		ES 2646168 T3	2017年12月12日
		EP 3290052 A1	2018年3月7日
		US 2018094063 A1	2018年4月5日
		JP 6342223 B2	2018年6月13日
		HK 1249053 A1	2018年10月26日
		US 10138301 B2	2018年11月27日
		JP 6445496 B2	2018年12月26日
		IN 304913 B	2018年12月28日
		JP 2019052165 A	2019年4月4日
		US 2019153105 A1	2019年5月23日
		EP 3290052 B1	2019年12月25日
		JP 6661734 B2	2020年3月11日
		US 10689448 B2	2020年6月23日
		JP 2020096615 A	2020年6月25日
		ES 2770134 T3	2020年6月30日
		US 2020347141 A1	2020年11月5日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/123723

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
		BR	PI0917315	B1	2020年12月8日
		EP	3783024	A1	2021年2月24日
		JP	6960485	B2	2021年11月5日
		JP	2022008996	A	2022年1月14日
		EP	2365828	A4	2012年6月6日