



(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 I853396 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 08 月 21 日

(21)申請案號：111150741

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 29 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/30 (2006.01)

C12N15/63 (2006.01)

C12N5/10 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(71)申請人：財團法人生物技術開發中心 (中華民國) DEVELOPMENT CENTER FOR BIOTECHNOLOGY (TW)

臺北市南港區研究院路 1 段 130 巷 107 號 E 棟

長庚醫療財團法人林口長庚紀念醫院 (中華民國) CHANG GUNG MEMORIAL HOSPITAL AT LINKOU (TW)

桃園市龜山區復興街 5 號

(72)發明人：游成州 YU, CHENG-CHOU (TW)；黃紹維 HUANG, SHAO-WEI (TW)；徐銓龍 HSU, CHUAN-LUNG (TW)；陳鈴津 YU, ALICE L. (US)；游正博 YU, JOHN (US)；王雅慧 WANG, YA-HUI (TW)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW I631958B

審查人員：陳婷妤

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：29 共 76 頁

(54)名稱

跨膜和盤繞結構域家族 3 的特異性抗體及其用途

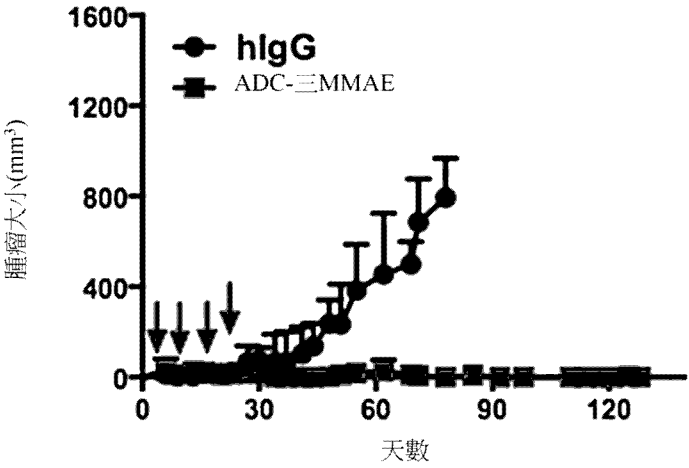
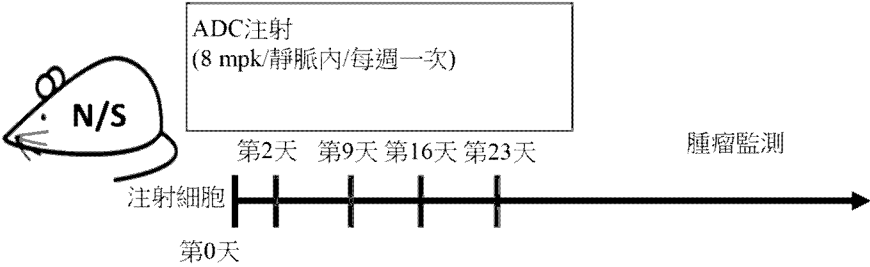
(57)摘要

本發明係關於一種對跨膜及盤繞結構域家族 3 (TMCC3)具有特異性之抗體或其抗原結合片段。本發明亦關於一種用於治療及/或預防有需要之個體的與 TMCC3 介導之信號相關之疾病的醫藥組合物，及一種用於偵測樣品中之 TMCC、癌症幹細胞或癌症之方法。

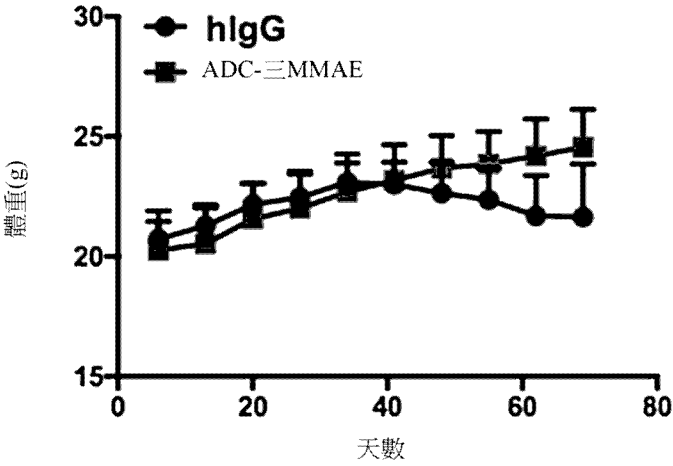
The present disclosure relates to an antibody or antigen-binding fragment thereof that is specific for transmembrane and coiled-coil domain family 3 (TMCC3). The present disclosure also relates to a pharmaceutical composition for treating and/or preventing a disease related to a TMCC3-mediated signal in a subject in need thereof, and a method for detecting TMCC3, a cancer stem cell or a cancer in a sample.

指定代表圖：

符號簡單說明：
無



【圖16A】



【圖16B】



I853396

【發明摘要】

【中文發明名稱】

跨膜和盤繞結構域家族3的特異性抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODIES SPECIFIC TO TRANSMEMBRANE AND COILED-COIL DOMAIN FAMILY 3 AND USES THEREOF

【中文】

本發明係關於一種對跨膜及盤繞結構域家族3 (TMCC3)具有特異性之抗體或其抗原結合片段。本發明亦關於一種用於治療及/或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的醫藥組合物，及一種用於偵測樣品中之TMCC、癌症幹細胞或癌症之方法。

【英文】

The present disclosure relates to an antibody or antigen-binding fragment thereof that is specific for transmembrane and coiled-coil domain family 3 (TMCC3). The present disclosure also relates to a pharmaceutical composition for treating and/or preventing a disease related to a TMCC3-mediated signal in a subject in need thereof, and a method for detecting TMCC3, a cancer stem cell or a cancer in a sample.

【指定代表圖】

圖16A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

跨膜和盤繞結構域家族3的特異性抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODIES SPECIFIC TO TRANSMEMBRANE AND COILED-COIL DOMAIN FAMILY 3 AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種對跨膜及盤繞結構域家族3 (TMCC3)具有特異性之抗體或其抗原結合片段以及其用途。

【先前技術】

【0002】 癌症為全世界死亡之主因及提高預期壽命之重要障礙。大多數癌症死亡係由於復發性或轉移性疾病所致，而非原發腫瘤之影響。愈來愈多的證據顯示，癌症幹細胞(CSC)群落為造成化療抗藥性及癌症復發的主因，因為該細胞群落具有能夠自我更新且分化成癌細胞之特質性。

【0003】 自1994年首次在白血病中鑑別出CSC以來，已證明癌症幹細胞具有癌轉移之特質以及對化學療法與輻射之抗性，此可能導致腫瘤在臨床緩解後的數年復發(Phi LTH, 等人 *Stem Cells Int.* **2018**, 5416923 (2018))。CSC之可塑性亦由大量參與CSC之誘發及維持的訊息傳導路徑而來(Zhang, S., 等人 *Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. Cancer research* **68**, 4311-4320 (2008))。鑒於CSC與正常幹細胞之間的功能相關性，參與正常幹細胞之生理機能的信號傳導路徑特別受到關注(諸如WNT、Notch及Hedgehog (Hh))之作用(Matsui, W.H. *Medicine (Baltimore)* **95**, S8-S19

(2016)；Cochrane, C.R. 等人 *Cancers (Basel)* **7**, 1554-1585 (2015))。事實上，許多CSC標記亦表現於正常幹細胞群體上，在組織平衡及自我更新中扮演重要作用(Yang, W., 等人 *Int J Mol Sci* **22**(2021)；Terraneo, N. 等人 *Front Oncol* **10**, 319 (2020))。

【0004】 因此，鑑定只表現於CSC、不表現於正常細胞之獨特分子標的顯得十分重要，將有助於研發新穎性CSC標靶治療劑。

【發明內容】

【0005】 本發明提供對表現於CSC、不表現於正常細胞之獨特分子標具有特異性的抗體及其用於治療或預防或偵測癌症之用途。

【0006】 因此，本發明提供一種對TMCC3中之抗原決定基具有特異性之抗體或其抗原結合片段；其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區之互補決定區(CDR)及輕鏈可變區之CDR，

其中該重鏈可變區之該等CDR包含：

SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDRH1、SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDRH2及SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDRH3；且

其中該輕鏈可變區之該等CDR包含：

SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDRL1、SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之CDRL2及SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之CDRL3。

【0007】 在一些實施例中，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列或具有至少95%序列一致性之實質上類似的序列；及/或該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或具有至少95%序列一致性之實質上類似的序列。

【0008】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段為

Fab片段、F(ab')₂片段、ScFv片段、單株抗體、嵌合抗體、奈米抗體、人類化抗體或人類抗體。

【0009】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段為多特異性的。在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段連接至對第二抗原決定基具有特異性之第二抗體或其抗原結合片段。

【0010】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段與治療劑結合。該治療劑之實例包括(但不限於)抗代謝物、烷基化劑、類烷基化劑、DNA小溝烷基化劑、蒽環黴素(anthracyclines)、抗生素、卡奇黴素(calicheamicins)、抗有絲分裂劑、拓撲異構酶抑制劑、蛋白酶體抑制劑及放射性同位素。在本發明之一些實施例中，該治療劑係選自DM1、DM3、DM4、單甲基奧瑞他汀E (MMAE)及單甲基奧瑞他汀F (MMAF)。

【0011】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段表現於細胞之表面上。該細胞可為免疫細胞、癌症幹細胞或幹細胞。在本發明之一個實施例中，該免疫細胞為T細胞。

【0012】 本發明提供一種載體，其編碼如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段。

【0013】 本發明提供一種經基因工程改造之細胞，其表現如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或含有如本文所揭示之載體。

【0014】 本發明亦提供一種用於製造如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段之方法，其包含：(a)將一或多個編碼該抗體或抗原結合片段之聚核苷酸引入至宿主細胞中；(b)在有利於表現該一或多個聚核苷酸之條件下培養該宿主細胞；及(c)視情況自該宿主細胞及/或該宿主細胞生長之培養基分離該抗體或抗原結合片段。

【0015】 本發明提供一種醫藥組合物，其包含如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞及醫藥學上可接受之載劑。

【0016】 本發明提供一種容器或注射裝置，其包含如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞。

【0017】 本發明提供一種用於治療或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的方法，其包含投與治療有效量之如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞。替代地，本發明提供一種用於治療或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的醫藥組合物，其包含治療有效量之如本文所用之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞及醫藥學上可接受之載劑。本發明又亦提供一種用於治療、預防性治療及/或預防罹患癌症之個體中之癌症的方法，其包含向該個體投與醫藥組合物。在本發明之一些實施例中，該腫瘤為實體腫瘤。該腫瘤之實例包括(但不限於)肺癌、乳癌、卵巢癌、胰臟癌、膽管癌、膽囊癌、前列腺癌或大腸直腸癌。替代地，本發明提供一種用於治療、預防治療及/或預防罹患癌症之個體中之癌症的醫藥組合物，其包含有效量之如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞。

【0018】 在本發明之一些實施例中，該醫藥組合物呈適用於注射之形式。替代地，本發明提供一種用於向個體身體投與如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段的方法，其包含將該抗體或抗原結合片段注射至該個體身體中。

【0019】 在本發明之一些實施例中，該注射為皮下、靜脈內或肌肉內注射。替代地，將該抗體或抗原結合片段經皮下、靜脈內或肌肉內注射

至該個體身體中。

【0020】 本發明提供一種用於偵測樣品中之TMCC3、癌症幹細胞或癌症之方法，其包含使該樣品與如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段接觸。

【0021】 在本發明之一些實施例中，該方法進一步包含評估該樣品中TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

【0022】 該癌症幹細胞之實例包括(但不限於)造血、表皮、乳房、卵巢、肺、胰臟、前列腺、腦、大腸、骨髓或淋巴癌症幹細胞。

【0023】 本發明提供一種用於偵測樣品中之TMCC3或癌症的套組，其中該套組包含如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段。

【0024】 本發明提供一種用於在個體中偵測癌症傾向性或預測該癌症之可能性、治療反應、預後或復發的方法，其包含

用如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段評估樣品中TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

【0025】 在以下部分中詳細描述本發明。本發明之其他特徵、目的及優點可見於實施方式及申請專利範圍中。

【圖式簡單說明】

【0026】 圖1顯示乳癌患者中腫瘤組織中之TMCC3 mRNA的表現量。TMCC3之高表現與乳癌患者(包括早期患者)之不良臨床結果相關。

【0027】 圖2顯示腫瘤中相較於正常組織之較高TMCC3表現且有助於癌症進展。

【0028】 圖3顯示藉由ELISA分析之抗TMCC3 mAb之結合親和力。

【0029】 圖4顯示過度表現TMCC3之MCF7中抗TMCC3 mAb之結合活性。

【0030】 圖5顯示乳癌、胰臟癌及卵巢癌PDX腫瘤中TMCC3之表現。

【0031】 圖6A顯示使用mAb8D6之FACS分析，其顯示漿液性(OC042)及透明細胞(OC085)卵巢癌PDX之表面上的TMCC3表現。圖6B顯示在此等PDX中亦偵測到之TMCC3表現的IHC分析。

【0032】 圖7A至圖7C顯示原發性卵巢癌檢體中之TMCC3之表現。圖7A顯示IHC分析之結果。圖7B顯示以下3種卵巢癌亞型中之表現量：黏液性、透明細胞及子宮內膜樣類型。圖7C顯示早期(I期-II期)及晚期(III期-IV期)之表現量。

【0033】 圖8A至圖8J顯示卵巢癌患者與TMCC3表現量相關之存活率曲線。

【0034】 圖9A至圖9D顯示，以TMCC3抗體富集PDX中乳癌與卵巢癌癌症幹細胞；藉由活體外球體形成能力(A、C)或活體內腫瘤生長(B、D)來評估。

【0035】 圖10A至圖10E顯示，結合MMAF之ADC-8D6 的活體外及活體內腫瘤抑制能力。

【0036】 圖11顯示三甘露糖基-抗TMCC3 8D6 mAb之折合質量層析分析的結果。

【0037】 圖12A至圖12B顯示抗TMCC3 8D6 mAb-4Az之折合質量層析分析的結果。

【0038】圖13顯示抗TMCC3 8D6 mAb-4(DBCO-vc-MMAE)之折合質量層析分析的結果。

【0039】圖14顯示卵巢癌患者OC085之臨床資訊及其腫瘤之TMCC3表現。

【0040】圖15A至圖15G顯示活體內ADC-三甘露糖基-MMAE (8D6)對抗OC085 PDX之抗癌活性。

【0041】圖16A至圖16B顯示活體內三甘露糖基ADC (8 mpk)對抗OC085 PDX之抗癌活性。

【0042】圖17A至圖17B顯示活體內化學療法及ADC-8D6 (8mg/kg/劑量)對抗OC085 PDX之抗癌活性。

【0043】圖18A至圖18B顯示，50mpk尼拉帕尼(niraparib)未能活體內抑制OC085 PDX之腫瘤生長。

【實施方式】

【0044】應瞭解，本發明不限於本文所述之特定材料及方法。亦應瞭解，本文所用之術語僅出於描述特定實施例之目的且不意欲限制本發明之範疇，本發明之範疇將僅由所附申請專利範圍限制。

【0045】必須注意，除非上下文另外明確指明，否則如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個提及物。

【0046】如本文所用，術語「抗體」係指包含至少一個對特定抗原(TMCC3)具有特異性或與其相互作用之互補決定區(CDR)的任何抗原結合分子或分子複合物。術語「抗體」包括免疫球蛋白分子以及其多聚體(例如IgM)，該等免疫球蛋白分子包含四個多肽鏈，亦即藉由二硫鍵互連的

兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈。各重鏈包含重鏈可變區(本文中縮寫為HCVR或V_H)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個域C_{H1}、C_{H2}及C_{H3}。各輕鏈包含輕鏈可變區(本文中縮寫為LCVR或V_L)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一個域(C_{L1})。V_H及V_L區可進一步再分成高變區，稱為互補決定區(CDR)，穿插稱為構架區(FR)之更保守區。各V_H及V_L由自胺基端至羧基端按以下順序排列之三個CDR及四個FR構成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明之不同實施例中，抗體(或其抗原結合部分)之FR可與人類生殖系序列一致，或可為天然或人工修飾的。胺基酸共有序列可基於兩個或更多個CDR之並列分析來定義。

【0047】如本文所用，術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」及其類似術語包括特異性結合抗原以形成複合物之任何天然存在、以酶方式可獲得、合成或基因工程改造的多肽或糖蛋白。

【0048】如本文所用，術語「對…具有特異性」或「特異性結合」意謂抗體不與其他抗原決定基發生明顯程度的交叉反應。

【0049】如本文所用，術語「抗原決定基」係指抗體結合至抗原之位點。

【0050】如本文所用，術語「互補決定區」(CDR)係指在重鏈及輕鏈多肽之可變區內發現的非連續抗原組合位點。Kabat等人, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)；Kabat等人, U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequences of proteins of immunological interest」(1991)；Chothia等人, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；及MacCallum等人, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)已經描述CDR，其中定義包括彼此

對照比較時胺基酸殘基的重疊或子集。

【0051】 當應用於多肽時，術語「實質上的相似性」或「實質上類似」意謂兩個肽序列在諸如藉由程式GAP或BESTFIT，使用預設空位權重最佳地比對時，共有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。不一致殘基位置之差異較佳為保守性胺基酸取代。「保守性胺基酸取代」為一種胺基酸取代，其中胺基酸殘基經側鏈(R基團)具有類似化學特性(例如電荷或疏水性)之另一胺基酸殘基取代。一般而言，保守性胺基酸取代不實質上改變蛋白質之功能特性。在其中兩個或更多個胺基酸序列彼此間差異為保守性取代的情況下，可上調序列一致性或相似度百分比以根據保守取代性質加以校正。進行此調整之方式為熟習此項技術者所熟知。具有化學特性類似之側鏈的胺基酸群組實例包括(1)脂族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2)脂族羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3)含醯胺側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；(4)芳族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；(6)酸性側鏈：天冬胺酸及麩胺酸；及(7)含硫側鏈為半胱胺酸及甲硫胺酸。較佳的保守性胺基酸取代群組為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸及天冬醯胺-麩醯胺酸。替代地，保守置換為在以引用的方式併入本文中之Gonnet等人(1992) *Science* 256: 1443-1445中所揭示的PAM250對數似然矩陣中具有正值的任何變化。「適度保守」置換為在PAM250對數似然矩陣中具有非負值的任何變化。

【0052】 如本文所用，術語「單株抗體」不限於經由融合瘤技術產生之抗體。單株抗體係藉由任何稱為可用或此項技術中已知的方式衍生自

單一純系，包括任何真核、原核或噬菌體純系。

【0053】如本文所用，術語「嵌合」抗體係指具有衍生自以下之可變序列的抗體：非人類免疫球蛋白及通常選自人類免疫球蛋白模板的人類免疫球蛋白恆定區。

【0054】如本文所用，術語「奈米抗體」係指包含小的單可變域(自駱駝及單峰駝獲得之抗體之VHH)的抗體。自駱駝及單峰駝(雙峰駱駝(*Camelus bactrianus*)及單峰駱駝(*Camelus dromaderius*))家族成員(包括新世界成員，諸如駱馬物種(羊駝(*Lama pacos*)、大羊駝(*Lama glama*)及瘦駝(*Lama vicugna*)))獲得之抗體蛋白已在尺寸、結構複雜性及對人類個體之抗原性方面加以表徵。如自然界中所發現之來自此哺乳動物家族之某些IgG抗體缺少輕鏈，且因此在結構上不同於其他動物抗體之具有兩條重鏈及兩條輕鏈之典型四鏈四級結構。

【0055】非人類抗體之「人類化」形式為含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白。一般而言，人類化抗體將包含基本上所有的至少一個且通常兩個可變域，其中所有或基本上所有的CDR區對應於非人類免疫球蛋白之CDR區且所有或基本上所有的FR區為人類免疫球蛋白序列之FR區。

【0056】如本文所用，術語「奈米抗體」係指包含小的單可變域(自駱駝及單峰駝獲得之抗體之VHH)的抗體。自駱駝及單峰駝(雙峰駱駝及單峰駱駝)家族成員(包括新世界成員，諸如駱馬物種(羊駝、大羊駝及瘦駝))獲得之抗體蛋白已在尺寸、結構複雜性及對人類個體之抗原性方面加以表徵。如自然界中所發現之來自此哺乳動物家族之某些IgG抗體缺少輕鏈，且因此在結構上不同於其他動物抗體之具有兩條重鏈及兩條輕鏈之典型四

鏈四級結構。

【0057】 如本發明中所用，術語「治療劑」係指具有適用於向哺乳動物(例如人類)投與之治療性或藥理學作用的任何化合物、物質、藥物、藥物或活性成分。

【0058】 如本文所用，術語「免疫細胞」係指在免疫反應中起作用之細胞。免疫細胞具有造血來源，且包括淋巴球，諸如B細胞及T細胞；自然殺手細胞；骨髓細胞，諸如單核球、巨噬細胞、嗜伊紅血球、肥大細胞、嗜鹼性球及顆粒球。

【0059】 如本文所用，術語「T細胞」包括CD4⁺ T細胞及CD8⁺ T細胞。術語T細胞亦包括T輔助1型T細胞、T輔助2型T細胞、T輔助17型T細胞及抑制性T細胞。

【0060】 如本文所用，術語「幹細胞」係指呈未分化或部分分化狀態之細胞，其具有自我更新特性且具有自然分化為更分化細胞類型之發育潛能，關於發育潛能無特定隱含含義(亦即，全潛能、富潛能、多潛能等)。自我更新意謂幹細胞能夠增殖且產生更多此類幹細胞，同時維持其發育潛能。因此，術語「幹細胞」係指在特定情況下具有分化為更特定或分化表型之發育潛能，且在某些情況下保留增殖而不實質上分化之能力的任何細胞亞群。

【0061】 如本文所用，術語「免疫結合物」係指抗原結合蛋白，例如抗體或抗原結合片段，其化學或生物學連接至放射性藥劑、細胞介素、干擾素、目標或報導子部分、酶、肽或蛋白質或治療劑。抗原結合蛋白可在沿著分子之任何位置連接至放射性藥劑、細胞介素、干擾素、目標或報導子部分、酶、肽或治療劑，只要其能夠結合其目標(TMCC3)即可。免

疫結合物之實例包括抗體-藥物結合物及抗體-毒素融合蛋白。在本發明之一個實施例中，藥劑可為特異性結合於TMCC3之第二不同的抗體。可與抗TMCC3蛋白(例如抗體或片段)結合的治療部分之類型將考慮待治療病狀及待達成之所需治療效果。

【0062】 如本文所用，術語「載體」意指能夠轉運其已連接之另一種核酸的核酸分子。

【0063】 術語細胞之「經基因工程改造(genetically engineered)」或「基因工程改造(genetic engineering)」係指使用遺傳物質操縱基因以改變細胞中之基因複本及/或基因表現量。遺傳物質可呈DNA或RNA形式。遺傳物質可藉由包括病毒轉導及非病毒轉染之各種方式轉移至細胞中。在經基因工程改造之後，細胞中某些基因之表現量可永久或暫時改變。

【0064】 如本發明中所用，術語「醫藥組合物」係指含有向哺乳動物(例如人類)投與以預防、治療或消除哺乳動物所患之特定疾病或病理性病狀的治療劑的混合物。

【0065】 如本文所用，術語「治療有效量」或「有效量」係指當向哺乳動物或其他個體投與以用於治療疾病時，足以實現對該疾病之該治療的抗體之量。

【0066】 如本文所用，術語「治療(treatment/treating)」及其類似者涵蓋哺乳動物(特定言之人類)之疾病的任何治療，且包括：(a)預防可能易患疾病但尚未診斷為患有該疾病的個體出現該疾病；(b)抑制該疾病，亦即，遏制其發展；及(c)緩解該疾病，亦即，使該疾病消退。

【0067】 術語「預防(preventing/prevention)」在此項技術中為公認

的，且當與病狀結合使用時，其包括相對於未接受藥劑之個體，在病狀發作之前投與藥劑以降低個體中之醫學病狀的發生率或嚴重程度或延遲其症狀之發作。

【0068】 如本文中可互換地所用，術語「個人」、「個體」、「主體」及「患者」係指哺乳動物，其包括(但不限於)鼠類(大鼠、小鼠)、非人類靈長類、人類、犬科動物、貓科動物、有蹄動物(例如，馬科動物、牛科動物、綿羊、豬科動物、山羊)等。特定言之，個體經疫苗接種。

【0069】 如本文所用，術語「需要治療」係指由照護者(例如在人類之情況下，為醫師、護士、護理從業者或個人；在動物(包括非人類哺乳動物)之情況下，為獸醫)作出的判斷，該判斷為個體需要治療或將受益於治療。此判斷係基於照護者之專業知識領域內，且包括以下知識之多種因素而作出：個體由於可由本發明之化合物治療之病狀而患病或將患病。

【0070】 「癌症」、「腫瘤」及類似術語包括癌變前、贅生性、轉型及癌細胞，且可指實體腫瘤，或非實體癌(參見例如Edge等人 AJCC Cancer Staging Manual (第7版 2009)；Cibas and Ducatman Cytology: Diagnostic principles and clinical correlates (第3版 2009))。癌症包括良性贅瘤及惡性贅瘤(異常生長)兩者。「轉型」係指自發的或誘發的表現型變化，例如，細胞之不朽化、形態變化、異常細胞生長、減少的接觸抑制及固著及/或惡性病(參見Freshney, Culture of Animal Cells a Manual of Basic Technique (第3版 1994))。儘管轉型可由經轉型病毒之感染及新基因體DNA之併入或外源DNA之攝入引起，其亦可以自發方式或在暴露於致癌物之後產生。

【0071】 如本文所用，術語「癌症幹細胞」係指能夠自我更新且分

化成包含實體腫瘤及/或血液惡性病之癌細胞譜系的細胞。癌症幹細胞獨特地能夠引發及維持疾病。變異贅生性幹細胞為展現癌症幹細胞之特性的富潛能細胞。

【0072】如本文所用，術語「樣品」涵蓋獲自個人、個體或患者之多種樣品類型，且可用於診斷性或監測分析。該定義涵蓋血液及生物來源之其他液體樣品；實體組織樣品，諸如活組織檢查檢體或組織培養物或源自其之細胞，及其後代。

【0073】本發明研發一種對TMCC3中之抗原決定基具有特異性之抗體或其抗原結合片段。

【0074】特定言之，該抗體或其抗原結合片段對TMCC3中之抗原決定基具有特異性；其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區之CDR及輕鏈可變區之CDR，其中重鏈可變區之CDR包含CDRH1、CDRH2及CDRH3區，且輕鏈可變區之CDR包含CDRL1、CDRL2及CDRL3區，且其中：

該CDRH1區包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列；該CDRH2區包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列；該CDRH3區包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列；且該CDRL1區包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列；該CDRL2區包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列；

該CDRL3區包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列或具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性之實質上類似的序列。

【0075】 在一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段包含：重鏈可變區，其包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列或其實質上類似的序列；及/或輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或其實質上類似的序列。在一些其他實施例中，該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的實質上類似的序列。在一些其他實施例中，該抗體或其抗原結合片段包含輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列一致性的實質上類似的序列。

【0076】 本發明中之序列展示於表1中。

【0077】 表1

	序列	SEQ ID NO.
TMCC3 8D6 VH	EIQLQQSGGELVKPGASVKISCTASGYSFTGYNMNWVKQSHGKSP EWIGNINPYYGSTSYNQKF KGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARWLGLGYAMDYWGQGTSTVTVSS	1
TMCC3 8D6 VL	DIVLTQSPASLVVSLGQGATISCRASKSVSPSGYSSMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIKR	2
HCDR 1	GYSFTGYNMN	3
HCDR 2	NINPYYGSTSYNQKF	4
HCDR 3	WLGLGYAMDY	5
LCDR 1	RASKSVSPSGYSSMH	6
LCDR 2	LASNLES	7
LCDR 3	QHSRELPWT	8

【0078】 在本發明之一些實施例中，注意到bCSC中比非bCSC中在絲胺酸216處之磷酸化TMCC3更高。TMCC3屬於包括TMCC1-3之TMCC家族，且含有N端區之兩個盤繞結構域及C端區之兩個跨膜結構域。在本

發明之一些實施例中，TMCC3表現在肺部轉移性病灶中最強，隨後為轉移性淋巴結，且隨後為乳癌之原發腫瘤。TMCC3之沉默化會減少CSC，如藉由活體外乳腺球體形成及ALDH活性減少以及活體內腫瘤生長降低所反映。在本發明之一些實施例中，在轉移淋巴結中觀測到比卵巢癌之原發腫瘤高的TMCC3 mRNA含量。TMCC3減弱降低活體外球體形成能力(圖3B)及活體內抑制卵巢癌之腫瘤生長。TMCC3過度表現增加卵巢癌細胞中之ALDH活性。

【0079】 根據本發明之抗體可為全長(例如，IgG1或IgG4抗體)或可僅包含抗原結合部分(例如，Fab、F(ab')₂或scFv片段)，且可視需要經修飾以影響功能性。

【0080】 抗體亦包括完整抗體分子之抗原結合片段。抗體之抗原結合片段可使用任何適合之標準技術，諸如蛋白水解消化或涉及編碼抗體可變域及視情況存在之恆定域之DNA之操縱及表現的重組基因工程改造技術，例如自完整抗體分子衍生。此類DNA為已知的及/或可從例如商業來源、DNA庫(包括例如噬菌體-抗體庫)容易地獲得，或可以合成。DNA可以化學方式或藉由使用分子生物學技術定序及操縱，例如將一或多個可變域及/或恆定域佈置成適合組態，或引入密碼子，產生半胱胺酸殘基，修飾、添加或缺失胺基酸等。

【0081】 抗原結合片段之非限制性實例包括：(i) Fab片段；(ii) F(ab')₂片段；(iii) Fd片段；(iv) Fv片段；(v) 單鏈Fv (scFv)分子；(vi) dAb片段；及(vii)由模擬抗體(例如分離的互補決定區(CDR)，諸如CDR3肽)或受限FR3-CDR3-FR4肽之高變區之胺基酸殘基組成的最小識別單位。其他經工程改造之分子，諸如域特異性抗體、單域抗體、域缺失抗

體、嵌合抗體、CDR移植抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、微型抗體、奈米抗體(例如單價奈米抗體、二價奈米抗體等)、小模組免疫藥物(SMIP)及鯊魚可變IgNAR域亦由如本文所用之表述「抗原結合片段」涵蓋。

【0082】 抗體之抗原結合片段典型地包含至少一個可變域。可變域可為任何尺寸或胺基酸組成且一般將包含與一或多個構架序列相鄰或同框之至少一個CDR。在具有與V_L域相關聯的V_H域的抗原結合片段中，V_H及V_L域可以任何適合的佈置相對於彼此定位。舉例而言，可變區可為二聚體且含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚體。替代地，抗體之抗原結合片段可含有單體V_H或V_L域。

【0083】 在某些實施例中，抗體之抗原結合片段可含有與至少一個恆定域共價連接之至少一個可變域。可見於本發明之抗體之抗原結合片段內的可變域及恆定域之非限制性例示性組態包括：(i) V_H-C_{H1}；(ii) V_H-C_{H2}；(iii) V_H-C_{H3}；(iv) V_H-C_{H1}-C_{H2}；(v) V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}，(vi) V_H-C_{H2}-C_{H3}；(vii) V_H-C_L；(viii) V_L-C_{H1}；(ix) V_L-C_{H2}；(x) V_L-C_{H3}；(xi) V_L-C_{H1}-C_{H2}；(xii) V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}；(xiii) V_L-C_{H2}-C_{H3}；及(xiv) V_L-C_L。在可變域及恆定域之任何組態，包括本文所列之例示性組態中之任一者中，可變域及恆定域可直接彼此連接或可藉由完全或部分鉸鏈區或連接區連接。鉸鏈區可由至少2個(例如5個、10個、15個、20個、40個、60個或更多個)胺基酸組成，該等胺基酸在單個多肽分子中之相鄰可變域及/或恆定域之間產生撓性或半撓性鍵此外，本發明抗體之抗原結合片段可包含上文列出之任何可變域及恆定域組態彼此及/或與一或多個單體V_H或V_L域(例如藉由二硫鍵)非共價締合之均二聚體或雜二聚體(或其他多聚體)。

【0084】相較於衍生抗體之對應生殖系序列，本文所揭示之抗TMCC3抗體可在重鏈及輕鏈可變域之構架區及/或CDR區中包含一或多個胺基酸取代、插入及/或缺失。此等突變可容易地藉由比較本文所揭示之胺基酸序列與購自例如公共抗體序列資料庫之生殖系序列來確定。本發明包括一種抗體及其抗原結合片段，其衍生自本文所揭示之胺基酸序列中之任一者，其中一或多個構架區及/或CDR區內之一或多個胺基酸突變為衍生該抗體之生殖系序列的相應殘基，或另一哺乳動物生殖系序列的相應殘基，或相應生殖系殘基之保守胺基酸取代(此類序列變化在本文中統稱為「生殖系突變」)。一般熟習此項技術者以本文中所揭示之重鏈及輕鏈可變區序列為起始物質，可容易地製備許多包含一或多個單獨的生殖系突變或其組合的抗體及抗原結合片段。在某些實施例中， V_H 及/或 V_L 域內的所有構架及/或CDR殘基全部突變回在衍生抗體的原始生殖系序列中發現的殘基。在其他實施例中，僅某些殘基突變回原始生殖系序列，例如僅FR1之前8個胺基酸內或FR4之最後8個胺基酸內發現之突變殘基，或僅CDR1、CDR2或CDR3內發現之突變殘基。在其他實施例中，構架及/或CDR殘基中之一或多者突變成不同生殖系序列(亦即，不同於最初衍生出抗體之生殖系序列的生殖系序列)之對應殘基。此外，本發明之抗體可含有構架區及/或CDR區內兩個或更多個生殖系突變之任何組合，例如其中某些個別殘基突變為特定生殖系序列之相應殘基，而與原始生殖系序列不同之某些其他殘基維持不變或突變為不同生殖系序列之相應殘基。一旦獲得，即可針對一或多種所期望的特性容易地測試含有一或多個生殖系突變之抗體及抗原結合片段，該等特性諸如改良的結合特異性、增加的結合親和力、改良或增強的拮抗或促效生物特性(視具體情況而定)、減小的免疫

原性等。以此一般方式獲得之抗體及抗原結合片段由本發明涵蓋。

【0085】 本發明亦包括一種抗TMCC3抗體，其包含本文中所揭示之V_H、V_L及/或CDR胺基酸序列中之任一者之具有一或多個保守性取代的變異體。舉例而言，本發明包括一種抗TMCC3抗體，其具有V_H、V_L及/或CDR胺基酸序列，該等胺基酸序列相對於本文中所揭示之V_H、V_L及/或CDR胺基酸序列中之任一者具有例如10個或更少、8個或更少、6個或更少、4個或更少等保守性胺基酸取代。

【0086】 在本發明之一些實施例中，根據本發明之抗體為人類化抗體。為改良根據本發明之人類化抗體之結合親和力，人類構架區中之一些胺基酸殘基經CDR之物種(例如嚙齒動物)中的相應胺基酸殘基置換。

【0087】 本發明之抗體可為單特異性、雙特異性或多特異性。多特異性抗體可對一種目標多肽之不同抗原決定基具有特異性或可含有對超過一種目標多肽具有特異性之抗原結合域。在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段為多特異性的。在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段連接至對第二抗原決定基具有特異性之第二抗體或其抗原結合片段。本發明之抗TMCC3抗體可與另一種功能性分子，例如另一種肽或蛋白質連接或共表現。舉例而言，抗體或其片段可與一或多個其他分子實體，諸如另一抗體或抗體片段進行功能連接(例如藉由化學偶合、基因融合、非共價締合或其他方式)，以產生具有第二結合特異性之雙特異性或多特異性抗體。舉例而言，本發明包括雙特異性抗體，其中免疫球蛋白之一個臂對TMCC3或其片段具有特異性，且免疫球蛋白之另一個臂對第二治療目標具有特異性或結合至治療部分。

【0088】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段與治

療劑結合。該治療劑之實例包括(但不限於)抗代謝物、烷基化劑、類烷基化劑、DNA小溝烷基化劑、蔥環黴素、抗生素、卡奇黴素、抗有絲分裂劑、拓撲異構酶抑制劑、蛋白酶體抑制劑及放射性同位素。在本發明之一些實施例中，該治療劑係選自DM1、DM3、DM4、單甲基奧瑞他汀E (MMAE)及單甲基奧瑞他汀F (MMAF)。

【0089】 在本發明之一個實施例中，該抗體或其抗原結合片段表現於細胞之表面上。特定言之，該細胞為免疫細胞(諸如T細胞)、癌症幹細胞或幹細胞。

【0090】 在本發明之一些實施例中，該抗體或其抗原結合片段呈嵌合抗原受體形式。

【0091】 術語「嵌合抗原受體」或替代地「CAR」係指包含至少胞外抗原結合域、跨膜結構域及包含自如下所定義之刺激分子衍生之功能性信號傳導域之細胞質信號傳導域(在本文中亦稱為「胞內信號傳導域」)的重組多肽構築體。在一些實施例中，CAR多肽構築體中之域處於同一多肽鏈中，例如構成嵌合融合蛋白。在一些實施例中，CAR多肽構築體中之域彼此不相鄰，例如處於不同多肽鏈中。CAR之產生及構築由以下概括：Jayarama等人, EBioMedicine 58 (2020) 102931；Zhang等人, Biomarker Research (2017) 5:22；Feins等人, Am J Hematol. (2019) 94:S3-S9；及Roselli等人, J Clin Invest. 2021;131(2):e142030。

【0092】 在另一態樣中，本發明提供一種表現抗體或其抗原結合片段或含有載體之經基因工程改造之細胞。經基因工程改造之細胞可為免疫細胞。

【0093】 在本發明之一個較佳實施例中，該抗體或其抗原結合片段

可使用任何數目之表現系統，包括原核及真核表現系統來產生。在一些實施例中，表現系統為哺乳動物細胞表現(諸如融合瘤)或CHO細胞表現系統。許多此類系統可自商業供應商廣泛購得。在抗體包含V_H及V_L區之實施例中，V_H及V_L區可使用單一載體表現，例如以雙順反子表現單元表現；或在不同啟動子之控制下表現。在其他實施例中，V_H及V_L區可使用單獨載體表現。如本文所述之V_H或V_L區可視情況包含位於N端之甲硫胺酸。

【0094】 編碼所關注之抗體之重鏈及輕鏈的基因可選殖自細胞，例如編碼單株抗體之基因可選殖自融合瘤且用於產生重組單株抗體。編碼單株抗體之重鏈及輕鏈的基因庫亦可由融合瘤或漿細胞製得。重鏈及輕鏈基因產物之隨機組合產生具有不同抗原特異性之大抗體池(參見例如Kuby, Immunology (第3[增補]版 1997))。

【0095】 用於製造抗體或抗原結合片段之方法的實例包含：(a)將編碼該抗體或抗原結合片段之一或多個聚核苷酸引入至宿主細胞中；(b)在有利於表現該一或多種聚核苷酸之條件下培養該宿主細胞；及(c)視情況自該宿主細胞及/或生長該宿主細胞之培養基中分離該抗體或抗原結合片段。

【0096】 載體可用於將編碼本發明之抗體或抗原結合片段的聚核苷酸引入至宿主細胞。在一個實施例中，一種類型之載體為「質體」，其係指可與額外DNA區段接合之環形雙股DNA環。另一類型之載體為病毒載體，其中額外DNA區段可接合至病毒基因體。某些載體能夠在其被引入之宿主細胞中自主複製(例如具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如非游離型哺乳動物載體)在引入至宿主細胞中時可整合至宿主細胞之基因體中，且藉此與宿主基因體一起複製。此外，

某些載體能夠引起其以可操作方式連接的基因之表現。此類載體在本文中被稱作「重組表現載體」(或簡言之,「表現載體」)。一般而言,用於重組DNA技術中之表現載體常常呈質體形式。由於質體為載體之最常用形式,因而在本說明書中,「質體」及「載體」可互換使用。然而,本發明意欲包括發揮相等功能之該等其他形式之表現載體,諸如病毒載體(例如複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。

【0097】 本發明提供包含抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞的醫藥組合物。本發明之醫藥組合物係藉由適合之稀釋劑、載劑、賦形劑及提供改良之轉移、遞送、耐受性及類似性質之其他藥劑調配。該等組合物可以調配用於特定用途,諸如用於獸醫學用途或人類醫藥用途。所用組合物及賦形劑、稀釋劑及/或載劑之形式將視抗體之預期用途及用於治療性用途之投與模式而定。可於所有醫藥化學家已知之處方集中查詢眾多適當調配物: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa。此等調配物包括例如粉劑、糊劑、軟膏、凝膠劑、蠟、油、脂質、含有囊泡之脂質(陽離子型或陰離子型)(諸如LIPOFECTIN.TM., Life Technologies, Carlsbad, Calif.)、DNA結合物、無水吸收糊劑、水包油及油包水乳液、聚乙二醇乳液(具有各種分子量之聚乙二醇)、半固體凝膠及含有聚乙二醇之半固體混合物。亦參見Powell等人「Compendium of excipients for parenteral formulations」PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0098】 向患者投與之抗體的劑量可視患者之年齡及體型、目標疾病、病狀、投與途徑及其類似者而變化。較佳劑量典型地根據體重或體表面積計算。當本發明之抗體用於治療成年患者之與TMCC3相關之病狀或

疾病時，靜脈內投與本發明之抗體可為有利的。視病狀之嚴重程度而定，可調整治療之頻率及持續時間。用於投與抗體之有效劑量及時程可以憑經驗確定；舉例而言，可藉由週期性評估來監測患者進展，且相應地調整劑量。此外，可使用本領域中之熟知方法(例如Mordenti等人，1991, Pharmaceut. Res. 8:1351)進行劑量之種間比例調整。

【0099】 各種遞送系統為吾人所知且可用於投與本發明之醫藥組合物，例如囊封於脂質體中、微粒、微膠囊、能夠表現突變病毒之重組細胞、受體介導之內飲作用(參見例如Wu等人，1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。引入方法包括(但不限於)皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外及經口途徑。組合物可藉由任何便利的途徑投與，例如藉由輸注或推注注射、藉由經由上皮或黏膜皮膚內層(例如口腔黏膜、直腸黏膜及腸黏膜等)吸收且可與其他生物活性劑一起投與。投與可為全身性或局部的。

【0100】 本發明之醫藥組合物可用諸如標準針及注射器之容器或注射裝置皮下或靜脈內遞送。此外，關於皮下遞送，筆式遞送裝置易於在遞送本發明之醫藥組合物時應用。此類筆式遞送裝置可為可再用的或拋棄式的。可再用的筆式遞送裝置通常利用含有醫藥組合物之可替換套筒。在已投與套筒內之所有醫藥組合物且套筒為空的後，可容易地丟棄空套筒且用含有醫藥組合物之新套筒替換。隨後可再使用筆式遞送裝置。在拋棄式筆式遞送裝置中，不存在可替換套筒。實際上，拋棄式筆式遞送裝置用容納在該裝置內之儲集器中的醫藥組合物預填充。一旦清空儲集器之醫藥組合物，即棄去整個裝置。

【0101】 在某些情況中，該醫藥組合物可在受控釋放系統中遞送。

在一個實施例中，可使用泵(參見Langer，見上文；Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另一實施例中，可使用聚合材料；參見Medical Applications of Controlled Release, Langer及Wise (編), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Fla。在又另一實施例中，可將受控釋放系統接近組合物之目標置放，因此僅需要全身性劑量之一部分(參見例如Goodson, 1984, 於Medical Applications of Controlled Release, 見上文, 第2卷, 第115-138頁)。其他受控釋放系統論述於Langer, 1990, Science 249:1527-1533之綜述中。

【0102】 可注射製劑可包括用於靜脈內、皮下、皮內及肌肉內注射、點滴等之劑型。此等可注射製劑可藉由公開已知之方法製備。舉例而言，可注射製劑可例如藉由將本文所述之抗體或其鹽溶解、懸浮或乳化於習知用於注射之無菌水性介質或油性介質中來製備。作為注射用水性介質，存在例如生理鹽水、含有葡萄糖及其他助劑之等滲溶液等，其可與適當增溶劑，諸如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非離子界面活性劑[例如聚山梨醇酯80、HCO-50 (氫化蓖麻油之聚氧乙烯(50 mol)加合物)]等組合使用。採用例如芝麻油、大豆油等作為油性介質，其可與增溶劑(諸如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇等)組合使用。較佳將由此製備之注射液填充於適當安瓿中。

【0103】 上文所述之用於經口或非經腸使用之醫藥組合物宜製備成呈適於配合活性成分之劑量之單位劑量的劑型。此類呈單位劑量之劑型包括例如錠劑、丸劑、膠囊、注射劑(安瓿)、栓劑等。

【0104】 本發明提供一種用於治療或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的方法，其包含投與治療有效量之如本文

所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞。替代地，本發明提供一種用於治療或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的醫藥組合物，其包含治療有效量之如本文所用之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞及醫藥學上可接受之載劑。

【0105】 本發明又亦提供一種用於治療、預防性治療及/或預防罹患癌症之個體中之癌症的方法，其包含向該個體投與醫藥組合物。在本發明之一些實施例中，該腫瘤為實體腫瘤。該腫瘤之實例包括(但不限於)肺癌、乳癌、卵巢癌、胰臟癌、膽管癌、膽囊癌、前列腺癌或大腸直腸癌。替代地，本發明提供一種用於治療、預防治療及/或預防罹患癌症之個體中之癌症的醫藥組合物，其包含有效量之如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段或經基因工程改造之細胞。

【0106】 本發明提供一種用於偵測樣品中之TMCC3、癌症幹細胞或癌症之方法，其包含使該樣品與如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段接觸。

【0107】 在本發明之一些實施例中，該方法進一步包含評估該樣品中TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

【0108】 該癌症幹細胞之實例包括(但不限於)造血、表皮、乳房、卵巢、肺、胰臟、前列腺、腦、大腸、骨髓或淋巴癌症幹細胞。

【0109】 本發明提供一種用於偵測樣品中之TMCC3或癌症的套組，其中該套組包含如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段。

【0110】 本發明之抗TMCC3抗體亦可用於例如出於診斷目的偵測及/或量測樣品中之癌症或表現TMCC3之細胞。舉例而言，抗TMCC3抗

體或其片段可用於診斷由冠狀病毒感染表徵之病狀或疾病。針對冠狀病毒之例示性診斷分析可包含例如使獲自患者之樣品與本發明之抗TMCC3抗體接觸，其中抗TMCC3抗體用可偵測標記或報導分子標記。替代地，未標記的抗TMCC3抗體可與自身以可偵測的方式標記的二級抗體組合用於診斷應用中。可偵測標籤或報導分子可為放射性同位素，諸如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 或 ^{125}I ；螢光或化學發光部分，諸如異硫氰酸螢光素或若丹明；或酶，諸如鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、辣根過氧化酶或螢光素酶。可用於偵測或量測樣品中之冠狀病毒之特定例示性分析包括酶聯免疫吸附分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)及螢光活化細胞分選(FACS)。

【0111】 本發明提供一種用於在個體中偵測癌症傾向性或預測該癌症之可能性、治療反應、預後或復發的方法，其包含

用如本文所揭示之抗體或其抗原結合片段評估樣品中TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

【0112】 提供以下實例以幫助熟習此項技術者實踐本發明。

【0113】 **實例1 癌症組織中TMCC3 mRNA之表現的臨床相關性**

【0114】 為了評估TMCC3表現之臨床相關性，吾等藉由qRT-PCR檢驗202名乳癌患者之腫瘤檢體中TMCC3之mRNA含量。Kaplan-Meier分析及對數秩檢定顯示，在腫瘤中具有低TMCC3表現量之患者的無復發存活期(RFS)及總存活期(OS)顯著大於具有高表現量之患者。此對於161名早期乳癌患者亦成立。多變數分析指示，腫瘤組織中TMCC3之表現量為乳癌患者之RFS及OS的重要且獨立的預測因子(圖1)。使用ONCOMINE網站之線上RNA微陣列資料庫，吾等發現在子宮頸癌、前列腺癌、胰臟癌、

肺癌、神經膠母細胞瘤、皮膚癌、肝癌及甲狀腺乳頭狀癌中，癌症部分中 *TMCC3* 之 mRNA 含量高於正常組織。使用 Kaplan-Meier Plotter 網站評估 *TMCC3* 在癌症中之臨床意義，吾等發現 *TMCC3* 之較高表現與卵巢癌、肺癌及胃癌患者之較差總存活期相關(圖2)。此等發現進一步支持 *TMCC3* 在卵巢癌進展中之關鍵作用，且支持開發靶向 *TMCC3* 以用於癌症療法之策略。

【0115】 實例2 抗*TMCC3*單株抗體之產生

【0116】 吾人之努力成果已支持以下觀點：*TMCC3* 為臨床預後及根除 CSC 之潛在治療診斷目標。為了產生適合的 mAb 以進一步深入研究此新穎蛋白質，用 *TMCC3* 之胞外域使小鼠免疫。使用 ELISA 及 FACS 分析驗證抗 *TMCC3* mAb 之結合活性及特異性。產生 *TMCC3* 蛋白之螺旋1及螺旋2域用於 ELISA 分析。吾人發現純系 BA5 識別螺旋1域且純系 8D6 及 5G1 識別 *TMCC3* 蛋白之螺旋2域， K_D 值分別為 1×10^{-11} M 及 $< 1 \times 10^{-11}$ M (圖3)。此外，製備新鮮及福馬林固定的過度表現 *TMCC3* 之 MCF7 細胞用於 FACS 分析，以驗證 mAb 對細胞表面或胞內 *TMCC3* 的結合活性。在許多所產生的 mAb 純系中，與其他純系相比，純系 8D6 對過度表現 *TMCC3* 之 MCF7 細胞中的表面及胞內 *TMCC3* 具有最高結合親和力(分別為 4.36% 及 63.1%) (圖4)。

【0117】 實例3 小鼠抗*TMCC3* 8D6單株抗體之序列

【0118】 一種獲得小鼠抗 *TMCC3* 抗體之方法如下。首先，產生抗 *TMCC3* 之融合瘤。此類融合瘤可藉由用於產生單株抗體之標準方案產生。接著例如使用 TRIZOL® 試劑分離融合瘤之總 RNA。接著例如使用第一股 cDNA 合成套組(Superscript III)及寡聚(dT₂₀)引子或 Ig-3' 恆定區引

子，由總RNA合成cDNA。

【0119】 接著自cDNA選殖免疫球蛋白基因之重鏈及輕鏈可變區。舉例而言，藉由PCR使用小鼠Ig-5'引子組，自小鼠TMCC3融合瘤cDNA擴增抗TMCC3 mAb之VH及VL可變區。PCR產物可使用CLONEJET™ PCR選殖套組直接選殖至適合載體(例如，pJET1.2載體)中。pJET1.2載體含有致死性插入，且僅當所需基因選殖至此致死性區域中時才能在選擇條件下存活。此有助於重組菌落之選擇。最後，針對所需純系篩選重組菌落，分離彼等純系之DNA且定序。可在國際免疫遺傳學資訊系統(international ImMunoGeneTics information system) (IGMT)網站上分析免疫球蛋白(IG)核苷酸序列。

【0120】 實例4 對PDX腫瘤中之TMCC3蛋白表現的FACS及IHC分析

【0121】 乳癌(BC0145、BC0350R1及BC0634)、胰臟癌(PC001、PC025及PC038)及卵巢癌(OC042及OC057) PDX中之TMCC3蛋白表現可使用mAb8D6偵測(圖5)。使用mAb8D6之FACS分析顯示漿液性(OC042)及透明細胞(OC085)卵巢癌PDX之表面上之TMCC3表現(圖6A)。在此等PDX中亦藉由IHC分析偵測到TMCC3表現(圖6B)。

【0122】 實例5 原發性卵巢癌檢體中之TMCC3表現

【0123】 為了解決TMCC3在卵巢癌中之臨床相關性，吾等藉由IHC分析檢驗125個原發性卵巢癌檢體中之TMCC3蛋白表現及其與臨床特徵及患者結果之相關性。吾等之結果顯示，TMCC3高度表現於黏液、透明細胞及子宮內膜樣類型之卵巢癌組織之腫瘤上皮細胞中(圖7A)。相較於卵巢癌之其他亞型，漿液性類型之卵巢癌組織表現較低TMCC3蛋白(圖7B)。在TMCC3陽性檢體中，主要在腫瘤細胞之細胞質及膜中偵測到TMCC3

(圖7A)。特定言之，與其他亞型相比，透明細胞癌顯示較高TMCC3表現(圖7A)。如圖7C中所示，發現早期(I-II期)卵巢癌組織中TMCC3之表現高於晚期(III-IV期)卵巢癌組織($P < 0.05$)。

【0124】 實例6 高表現量之TMCC3與卵巢癌中之不良臨床結果相關

【0125】 吾等研究TMCC3之高表現是否為卵巢癌之預後之重要預測因子。吾等之結果顯示，與具有高表現量之患者相比，腫瘤中具有低表現量之TMCC3的患者具有顯著較大OS ($P < 0.0001$)及RFS ($P < 0.0001$) (圖8A及圖8B)。吾等接著分析患有不同亞型之患者中之TMCC3表現的潛在預後值。如圖8H及圖8J中所示，患有子宮內膜或黏液亞型之患者，其腫瘤表現低量之TMCC3，比具有高量之患者具有更大的RFS (分別為 $P = 0.1336$ 及 $P = 0.01$)。對患有透明細胞癌之患者而言，TMCC3表現較低之患者的存活期益處甚至更加驚人(OS及RFS，分別為 $P < 0.0001$ 及 $P < 0.0001$) (圖8E及圖8F)。此等結果證實TMCC3之高表現對卵巢癌之臨床結果、尤其對透明細胞癌情況下之臨床結果的不利影響。

【0126】 實例7 利用抗TMCC3 mAb之乳癌及卵巢癌PDX之CSC富集

【0127】 如圖9A中所示，mAb8D6可結合於BC0145 PDX腫瘤中之BCSC群體($CD44^+$ 、 $H2k^d$ 、 $7AAD^-$)且自BC0145 PDX腫瘤富集BCSC群體，如由與 $8D6^-$ BCSC相比 $8D6^+$ BCSC的更大活體外乳腺球形成能力所反映。另外，與 $CD44^+/TMCC3^-/H2k^d/7AAD^-$ 細胞相比， $CD44^+/TMCC3^+/H2k^d/7AAD^-$ 細胞產生生長更快且更大的腫瘤(圖9B)。類似地，mAb8D6可自卵巢癌PDX腫瘤OC057及OC085富集CSC群體。如圖9C及圖9D中所示， $8D6^+$ 細胞具有比OC057及OC085 PDX之 $8D6^-$ 細胞更大的球體形成能力。此等發現表明mAb8D6可自PDX腫瘤富集乳房及卵

巢CSC。

【0128】 實例8 原型抗TMCC3抗體-藥物結合物(ADC)之抗癌功效

【0129】 在活體外，發現mAb 8D6在與表面TMCC3結合之後內化至TMCC3⁺細胞中(圖10A)。此發現表明，mAb 8D6可適用於設計靶向TMCC3⁺癌細胞之抗體-藥物結合物(ADC)。因此，產生嵌合mAb8D6且與抗微管蛋白劑MMAF以3.8之藥物與抗體比率(DAR)結合(圖10B)。ADC-8D6結合之MMAF在活體外以10 μM (IC₅₀=102.6 nM)引起BC0145 PDX腫瘤細胞之60%細胞死亡(圖10C)。吾等已評估此第一代ADC-8D6在兩種乳癌PDX中之抗腫瘤功效。當腫瘤達到~50 mm³時開始每週兩次向BC0145或BC0634 PDX帶有腫瘤之小鼠投與與MMAF結合之ADC-8D6 (4mg/kg)。如圖10D及圖10E中所示，與經人類IgG (hIgG)處理之小鼠相比，ADC-8D6顯著抑制腫瘤生長(*P* <0.0001)。另外，與hIgG對照組相比，用ADC-8D6處理減少向淋巴結及重要器官之癌轉移(表2)。此等發現顯示，與MMAF結合之ADC-8D6可抑制BC0145及BC0634乳癌PDX之腫瘤生長且活體內抑制癌轉移。然而，DAR在此原型ADC中係異質的，此係用於研發第一代ADC之習知化學物質結合的固有挑戰。

【0130】 表2：活體內ADC-MMAF (8D6)之抑制的腫瘤轉移

BC0145 PDX			
(癌轉移)	hIgG	8D6	ADC-8D6
LN	6/10 (60%)	3/10 (30%)	3/10 (30%)
肝臟	1/10 (10%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)
肺	1/10 (10%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)
BC0634 PDX			
(癌轉移)	hIgG	ADC-8D6	
同側LN	6/7 (86%)	1/9 (11%)	
對側LN	6/7 (86%)	0/9 (0%)	

【0131】 實例9 三甘露糖基抗TMCC3 8D6 mAb之製備

【0132】 為了產生具有均質DAR與特異性藥物結合位點之ADC，吾等執行高效醣工程改造技術平台以結合三甘露糖基核心抗體用於新穎ADC。此平台將三甘露糖基抗體轉化為三甘露糖基-4GlcNAz抗體且接著藉由應變促進之疊氮炔點擊化學(SPAAC)反應將有效負載在抗體之特異性位點處連接至末端GlcNAz基團。將抗TMCC3 8D6 mAb在37°C下用 β 1,4-半乳糖苷酶及 α 2-3,6,8神經胺糖酸苷酶在1×醣緩衝液中處理24小時，以自抗TMCC3 8D6 mAb移除半乳糖及N-聚糖之唾液酸部分。進一步向反應物中添加 β 1,4-半乳糖苷酶且使反應在37°C下再進行24小時以獲得G0F/G0抗體樣品。純化抗體樣品且進行折合質量層析分析。如圖11中所示，樣品中主要量之抗體係G0F (具有分子量為50,019 Da之重鏈)且僅少量係G0 (無岩藻糖；具有分子量為49,875 Da之重鏈)。

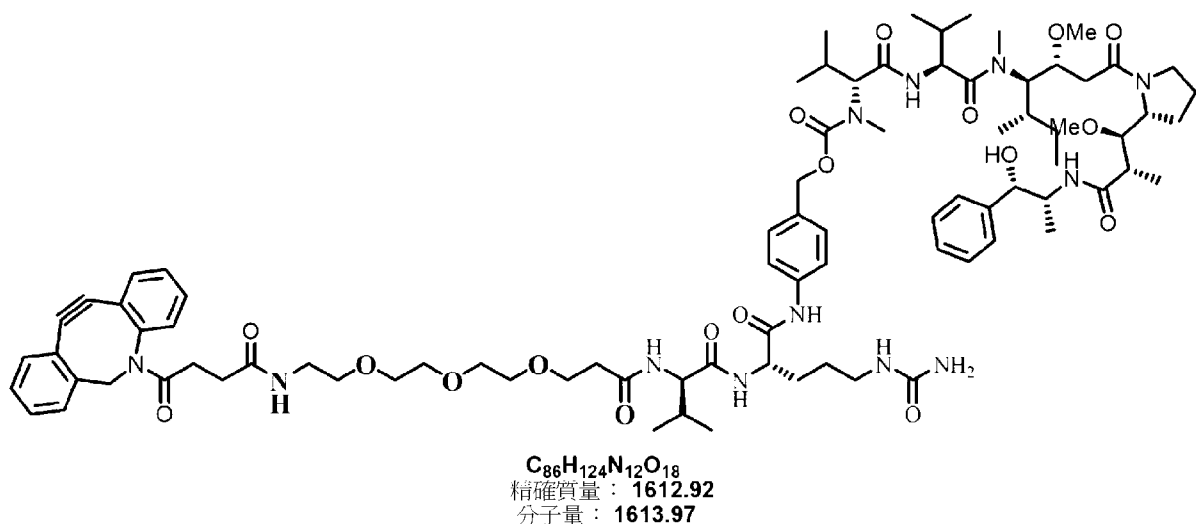
【0133】 實例10 抗TMCC3 8D6 mAb-4Az之製備

【0134】 將於1×緩衝液SP中之三甘露糖基抗TMCC3 8D6 mAb及UDP-GlcNAz在兔MGAT-1及大鼠MGAT-2存在下在37°C下培育16小時。在培育之後，對抗TMCC3 8D6 mAb-4Az進行折合質量層析分析及完整質量層析分析。如圖12A中所示，獲得三甘露糖基-抗TMCC3 8D6 mAb-4GlcNAz抗體產物，其中重鏈含有兩個GlcNAz分子(分子量為 $219 \text{ Da} \times 2 = 438$)且各重鏈具有50,457 Da之分子量。此結果表明，GlcNAz經由MGAT-1及MGAT-2與三甘露糖基核心抗TMCC3 8D6 mAb之各重鏈之 α -3甘露糖及 α -6甘露糖結合。藉由完整質量層析進一步確認此結果。如圖12B中所示，與分子量為147,355 Da之完整三甘露糖基核心抗TMCC3 8D6 mAb相比，獲得G0F三甘露糖抗TMCC3 8D6 mAb-4GlcNAz抗體產

物，其含有四個GlcNAz分子(分子量為 $244 \text{ Da} \times 4 = 976 \text{ Da}$)且具有分子量 $148,331 \text{ Da}$ 。

【0135】 實例11 抗TMCC3 8D6 mAb-4(DBCO-vc-MMAE)之製備

【0136】 在 37°C 下，將DBCO-vc-MMAE (10 mM 於DMSO中)緩慢添加至三甘露糖基抗TMCC3 8D6 mAb-4GlcNAz抗體產物於MES緩衝液($\text{pH } 6.5$)中之溶液中持續18小時。藉由在檸檬酸鈉 $\text{pH } 6.5$ 緩衝液中使用具有 30 kDa NMWL之Amicon Ultra-15離心過濾裝置對抗體製劑進行脫鹽及濃縮，得到抗TMCC3 8D6 mAb-4(DBCO-vc-MMAE)。如圖13中所示，獲得含有四個DBCO-(PEG)4-MMAE分子(分子量為 $1,614 \text{ Da} \times 4 = 6,456 \text{ Da}$) (式I)之三甘露糖基抗TMCC3 8D6 mAb-4(GlcNAc-三唑-DBCO-(PEG)4-MMAE) ADC產物。ADC之分子量為 $154,788 \text{ Da}$ 且藥物與抗體比率(DAR)為3.78。



式I

【0137】 實例12 三甘露糖基-MMAE 8D6-ADC之抗癌功效

【0138】 為了評估三甘露糖基ADC-8D6對卵巢癌之功效，吾等使用卵巢癌之OC085 PDX腫瘤進行四組動物研究。OC085患者之臨床資訊及藥物治療史概述於圖14中。簡言之，在診斷為4期卵巢癌之後，她接受減

積手術，之後為使用卡鉑(carboplatin) + 太平洋紫杉醇(paclitaxel)之一線化學療法。患者具有極短暫的疾病穩定期(2.5M)且移至二線化學療法(卡鉑+力得(lipodox))，之後添加納武單抗(Nivolumab)且同時進行DC-CIK細胞療法，其皆未能阻止疾病進展。吾等發現TMCC3高度表現於患者原發腫瘤及PDX腫瘤中，如圖14中所示。因此，來源於此患有晚期卵巢癌、對一線/二線療法反應不良的患者的PDX OC085為吾等目標患者群體的理想模型。

【0139】在一項研究中，在腫瘤接種後同一天開始，每週投與4mg/kg三甘露糖基ADC-8D6結合之MMAE兩次。腫瘤接種後同一天開始之ADC治療模擬高危卵巢癌患者之微量殘存疾病(MRD)狀態，例如化學療法及/或手術切除後的完全反應。如圖15B中所示，腫瘤生長完全消除，與用人類IgG處理之對照小鼠中之進行性腫瘤生長形成對比。在第二項研究中，4mg/kg三甘露糖基ADC-8D6結合之MMAE在腫瘤達到~100 mm³時才開始。經ADC處理之小鼠的腫瘤生長比用人類IgG處理之對照小鼠慢(圖15D) ($p < 0.001$)。如圖15C及圖15E中所示，帶有腫瘤之小鼠的體重不受4mg/kg/劑量×2/週之ADC處理的影響。另外，吾等分析在處死後經ADC處理之腫瘤中的ki67表現及CSC頻率。如圖15F中所示，注意到經ADC處理之腫瘤中ki67之表現低於經hIgG處理之腫瘤。如與hIgG對照組相比，在經ADC處理之腫瘤中球體形成能力較低(圖15G)。在第三個實驗中，自腫瘤接種次日開始，在帶有OC085卵巢PDX腫瘤之小鼠中，吾等增加三甘露糖基ADC-8D6結合之MMAE之劑量至每週8mg/kg/劑量(靜脈內注射)，持續4週。如圖16A中所示，與用hIgG處理之對照小鼠相比，經ADC處理之小鼠的腫瘤生長完全消除。用三甘露糖基ADC-8D6處理在帶

有OC085 PDX之小鼠中誘導持續的腫瘤抑制，直至第128天之處死時間(圖16A)。在人類IgG處理組中注意到體重減輕，而在經ADC處理之小鼠中沒有(圖16B)。

【0140】 為了探索作為單一藥劑或與尼拉帕尼(niraparib) (PARP抑制劑)組合之三甘露糖基ADC-8D6之抗癌能力，當腫瘤達到 $\sim 100\text{mm}^3$ 時用每週8 mg/kg/劑量之單獨的三甘露糖基ADC-8D6 (靜脈內注射)、單獨或呈組合形式之25mg/kg/天尼拉帕尼(經口管飼，5天/週)處理帶有OC085 PDX腫瘤之小鼠。如圖17A中所示，與經人類IgG處理之小鼠中之穩固性腫瘤生長相比，經三甘露糖基ADC-8D6處理之小鼠之腫瘤生長為可忽略的($p < 0.001$)。25mpk尼拉帕尼之劑量係基於報告選擇的，此為帶有卵巢腫瘤及膽管癌瘤之小鼠中的治療劑量(Bezrookove, V.,等人 *Cancers* **13**, 4405 (2021); Meng, J.,等 人. *Journal of Translational Medicine* **19**(2021))。然而，在帶有OC085 PDX之小鼠中，用25mpk尼拉帕尼處理僅稍微減少腫瘤生長，但未達到統計顯著性。ADC-8D6及尼拉帕尼之組合消除腫瘤生長，類似於單獨用ADC-8D6處理之小鼠(圖17A)。在此實驗中，在用ADC-8D6單獨或與尼拉帕尼組合處理之小鼠中未觀測到體重減輕(圖17B)。進一步測試更高劑量之尼拉帕尼。如圖18中所示，投與50mg/kg/天之尼拉帕尼在帶有OC085 PDX腫瘤之小鼠中不遏制腫瘤生長，但造成虛弱狀態，體重顯著減輕。此等結果顯示三甘露糖基ADC-8D6在活體內具有比尼拉帕尼更高的抗癌活性及更少的副作用。

【0141】 TMCC3已顯示對乳癌及卵巢癌之CSC至關重要，且mAb8D6已顯示為具有治療診斷潛力之抗TMCC3特異性單株抗體。在吾等上文所描述之六個動物實驗中，吾等已證明ADC-8D6不僅在乳癌PDX

(BC0145及BC0634)及卵巢PDX (OC085)腫瘤中展現抗癌活性，且亦展現活體內CSC靶向能力。在ADC-8D6與治療劑量之尼拉帕尼的比較實驗中，ADC-8D6在卵巢PDX (OC085)腫瘤中清楚地顯示比尼拉帕尼更好的抗腫瘤功效。此等結果為進一步將抗TMCC3/ADC研發成靶向卵巢癌幹細胞之抗癌劑提供動力。

【0142】 雖然已結合所闡述之特定實施例來描述本發明，但其許多替代方案及其修改及變化對於一般技術者而言將顯而易見。所有此類替代方案、修改及變化被視為屬於本發明之範疇內。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="C252696SEQA.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2023-06-28">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>111150741</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-12-29</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>D07585/252696</ApplicantFileReference>
  <ApplicantName languageCode="zh">財團法人生物技術開發中心(DEVELOPMENT CENTER
FOR BIOTECHNOLOGY)</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>DEVELOPMENT CENTER FOR BIOTECHNOLOGY</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">游成州</InventorName>
  <InventorNameLatin>YU, CHENG-CHOU</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">跨膜和盤繞結構域家族3的特異性抗體及其用途
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>8</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIQLQQSGGELVKPGASVKISCTASGYSFTGYNMNWVKQSHGKSPIEWIGNINPYYGSTSYNQ
KFKGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARWLGLGYAMDYWGQGTSTVTVSS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q2">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIVLTQSPASLVVSLGQGATISCRASKSVSPSGYSSMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGV
    PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIKR</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q3">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GYSFTGYNMN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>

```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NINPYYGSTSYNQKF</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WLGLGYAMDY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>

```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q6">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASKSVSPSGYSSMH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LASNLES</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mouse</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QHSRELPWT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種對跨膜及盤繞結構域家族3 (TMCC3)中之抗原決定基具有特異性之抗體或其抗原結合片段；其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區之互補決定區(CDR)及輕鏈可變區之CDR，

其中該重鏈可變區之該等CDR包含：

SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之CDRH1、SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之CDRH2及SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之CDRH3；且

其中該輕鏈可變區之該等CDR包含：

SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之CDRL1、SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之CDRL2及SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之CDRL3。

【請求項2】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列或具有至少95%序列一致性之實質上類似的序列；及/或該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列或具有至少95%序列一致性之實質上類似的序列。

【請求項3】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為Fab片段、F(ab')₂片段、ScFv片段、單株抗體、嵌合抗體、人類化抗體或人類抗體。

【請求項4】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為多特異性的。

【請求項5】

如請求項4之抗體或其抗原結合片段，其連接至對第二抗原決定基具有特異性之第二抗體或其抗原結合片段。

【請求項6】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其與治療劑結合。

【請求項7】

如請求項6之抗體或其抗原結合片段，其中該治療劑係選自抗代謝物、烷基化劑、類烷基化劑、DNA小溝烷基化劑、抗生素、抗有絲分裂劑、拓撲異構酶抑制劑、蛋白酶體抑制劑及放射性同位素。

【請求項8】

如請求項7之抗體或其抗原結合片段，其中該治療劑係選自DM1、DM3、DM4、單甲基奧瑞他汀E (MMAE)、單甲基奧瑞他汀F (MMAF)、蒽環黴素(anthracyclines)及卡奇黴素(calicheamicins)。

【請求項9】

如請求項1之抗體或其抗原結合片段，其表現於細胞之表面上。

【請求項10】

如請求項9之抗體或其抗原結合片段，其中該細胞為免疫細胞、癌症幹細胞或幹細胞。

【請求項11】

如請求項10之抗體或其抗原結合片段，其中該細胞為T細胞。

【請求項12】

一種載體，其編碼如請求項1之抗體或其抗原結合片段。

【請求項13】

一種經基因工程改造之細胞，其表現如請求項1之抗體或其抗原結合片段或含有如請求項12之載體。

【請求項14】

一種用於製造如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段之方法，其包含：(a)將一或多個編碼該抗體或抗原結合片段之聚核苷酸引入至宿主細胞中；(b)在有利於表現該一或多個聚核苷酸之條件下培養該宿主細胞；及(c)視情況自該宿主細胞及/或該宿主細胞生長之培養基分離該抗體或抗原結合片段。

【請求項15】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項13之經基因工程改造之細胞及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項16】

一種容器或注射裝置，其包含如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段或如請求項13之經基因工程改造之細胞。

【請求項17】

一種如請求項15之醫藥組合物之用途，其係用以製備用於治療、預防性治療及/或預防有需要之個體的與TMCC3介導之信號相關之疾病的藥物。

【請求項18】

如請求項17之用途，其中該疾病為癌症。

【請求項19】

如請求項18之用途，其中該癌症為實體癌症。

【請求項20】

如請求項18之用途，其中該癌症為肺癌、乳癌、卵巢癌、胰臟癌、膽管癌、膽囊癌、前列腺癌或大腸直腸癌。

【請求項21】

如請求項17之用途，其中該醫藥組合物呈適用於注射之形式。

【請求項22】

如請求項21之用途，其中該注射為皮下、靜脈內或肌肉內注射。

【請求項23】

一種用於偵測樣品中之TMCC3、癌症幹細胞或癌症的方法，其包含使該樣品與如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段接觸。

【請求項24】

如請求項23之方法，其進一步包含：

用該抗體或其抗原結合片段評估樣品中TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

【請求項25】

如請求項24之方法，其中該癌症幹細胞為造血、表皮、乳房、卵巢、肺、胰臟、前列腺、腦、大腸、骨髓或淋巴癌之癌症幹細胞。

【請求項26】

一種用於偵測樣品中之TMCC3或癌症的套組，其中該套組包含如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段。

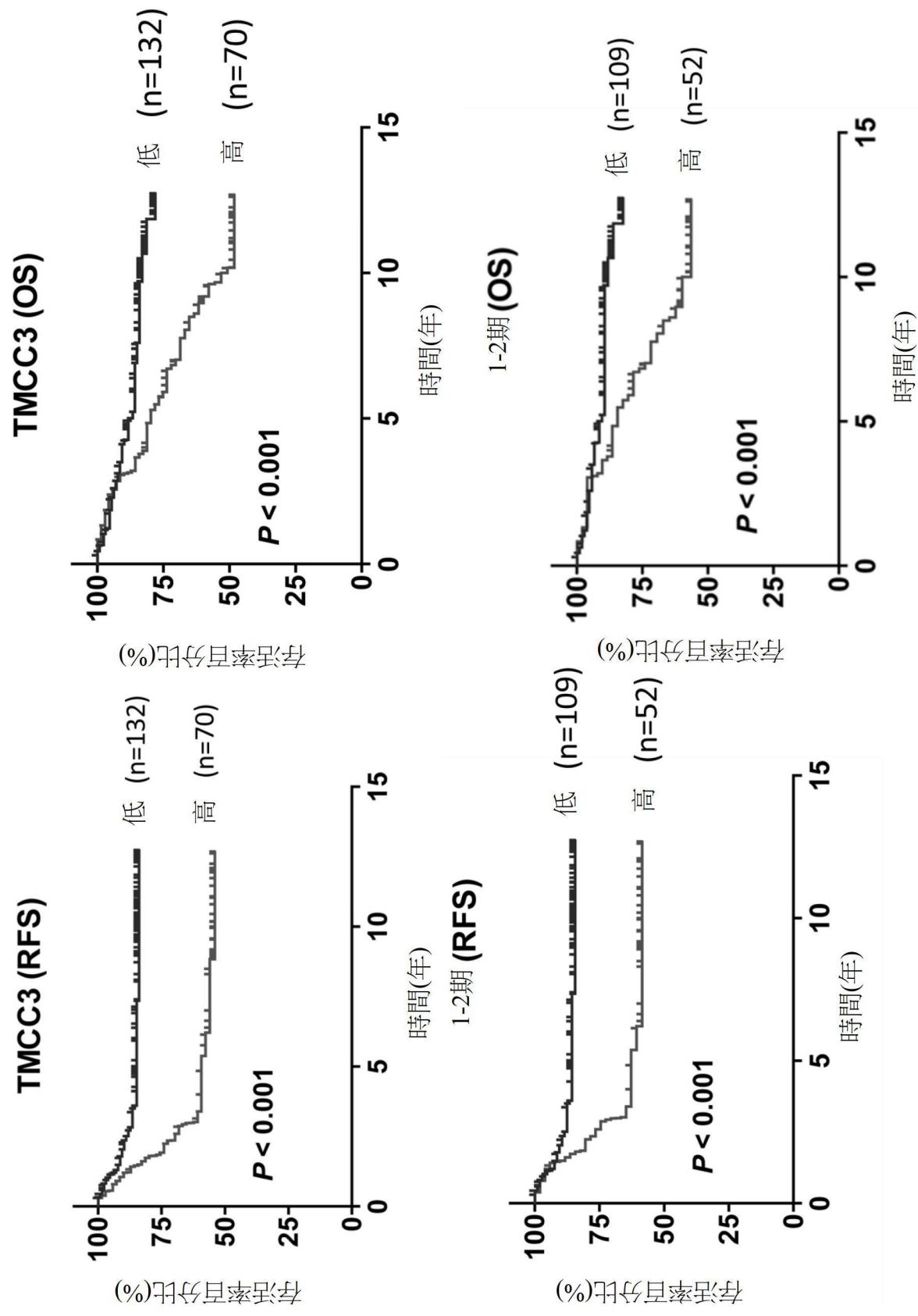
【請求項27】

一種用於活體外在個體中偵測癌症傾向性或預測該癌症之可能性、治療反應、預後或復發的方法，其包含

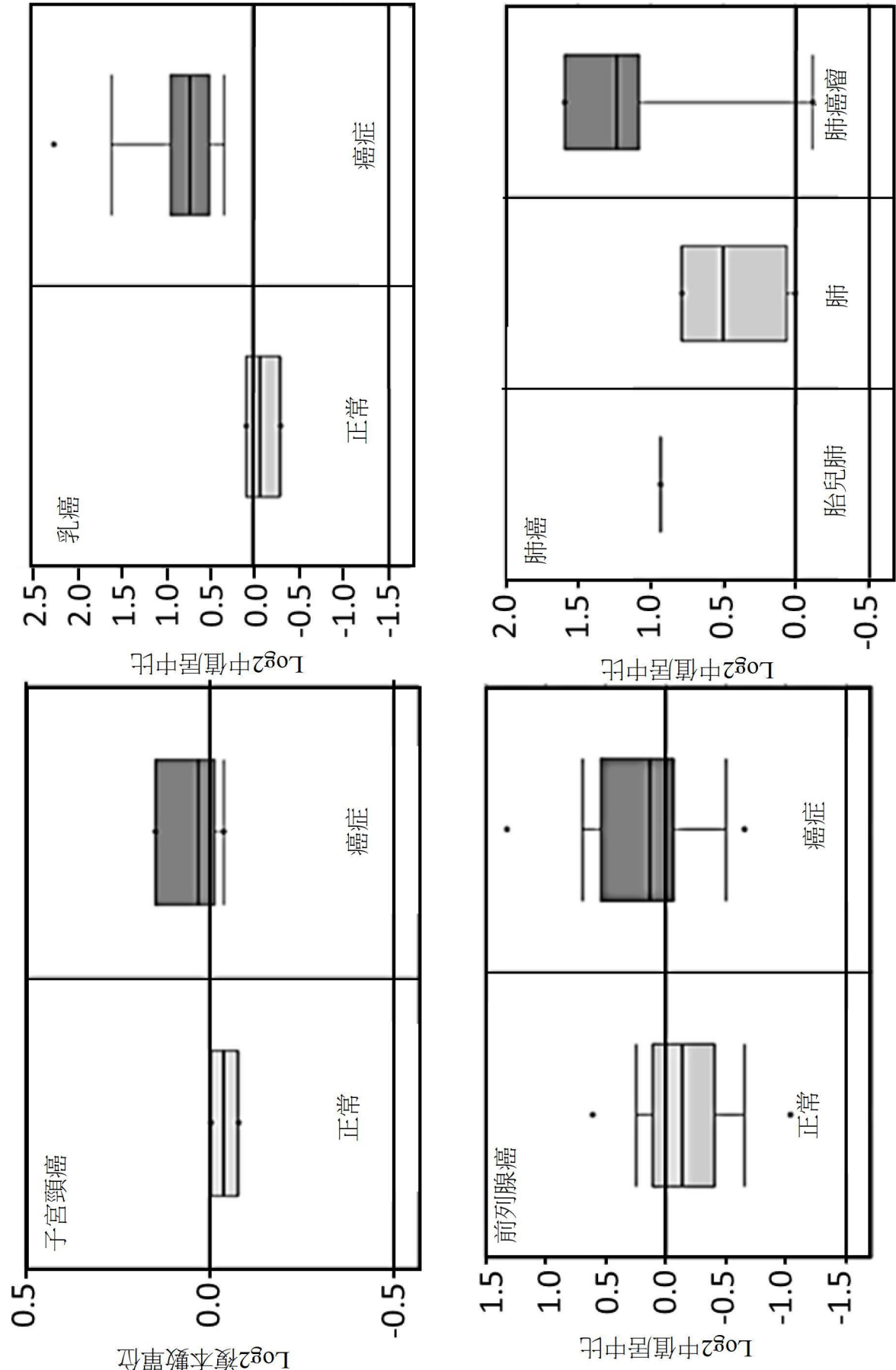
用如請求項1至11中任一項之抗體或其抗原結合片段評估樣品中

TMCC3之表現量，其中TMCC3之該表現量相較於標準之增加指示該樣品中存在癌症幹細胞。

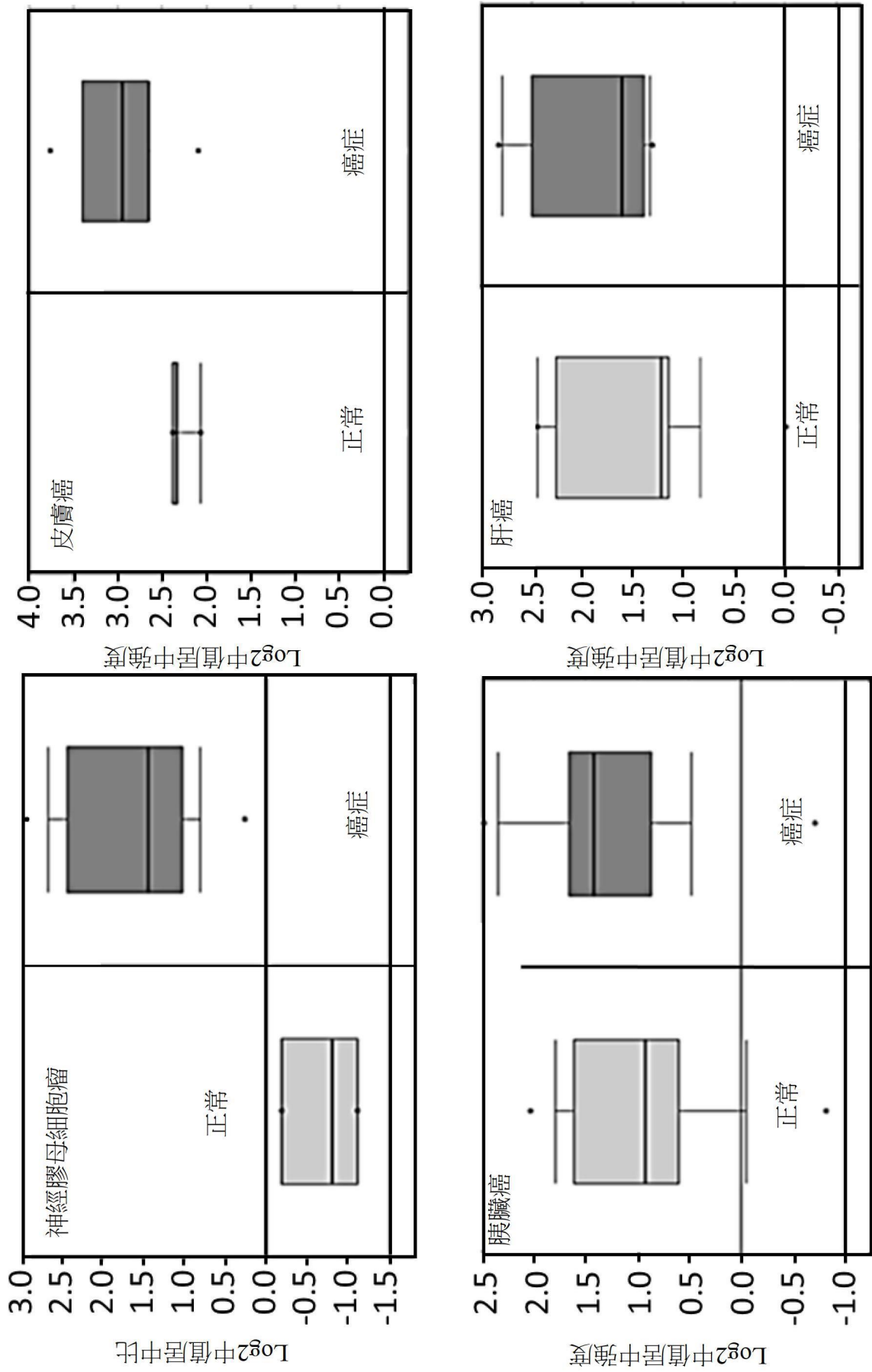
【發明圖式】



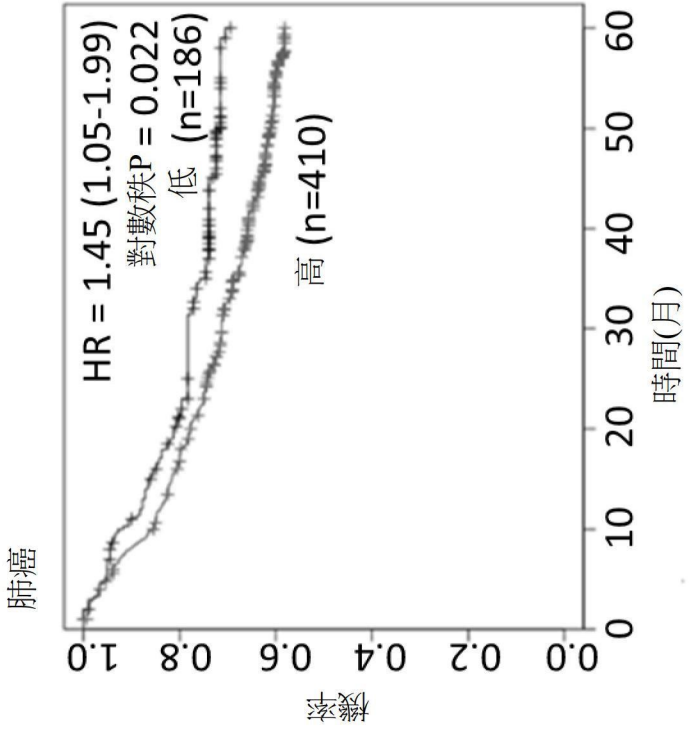
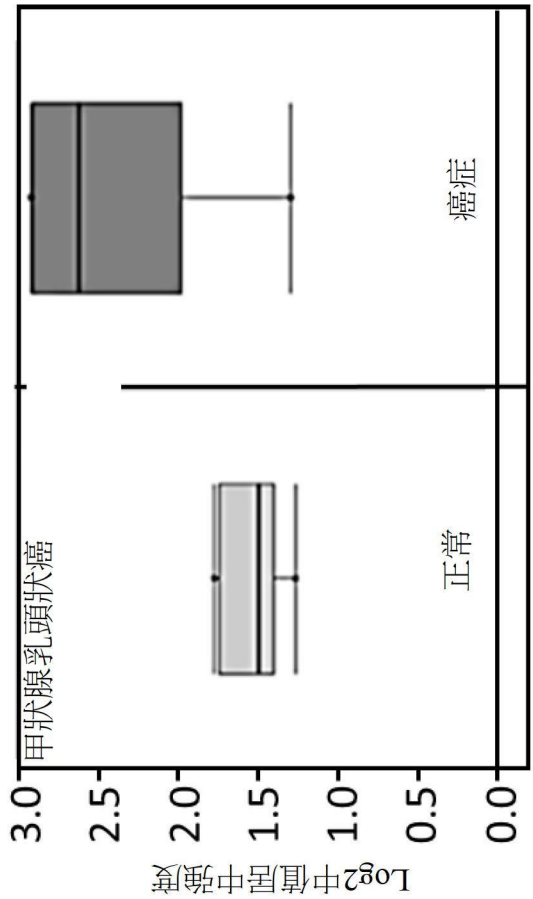
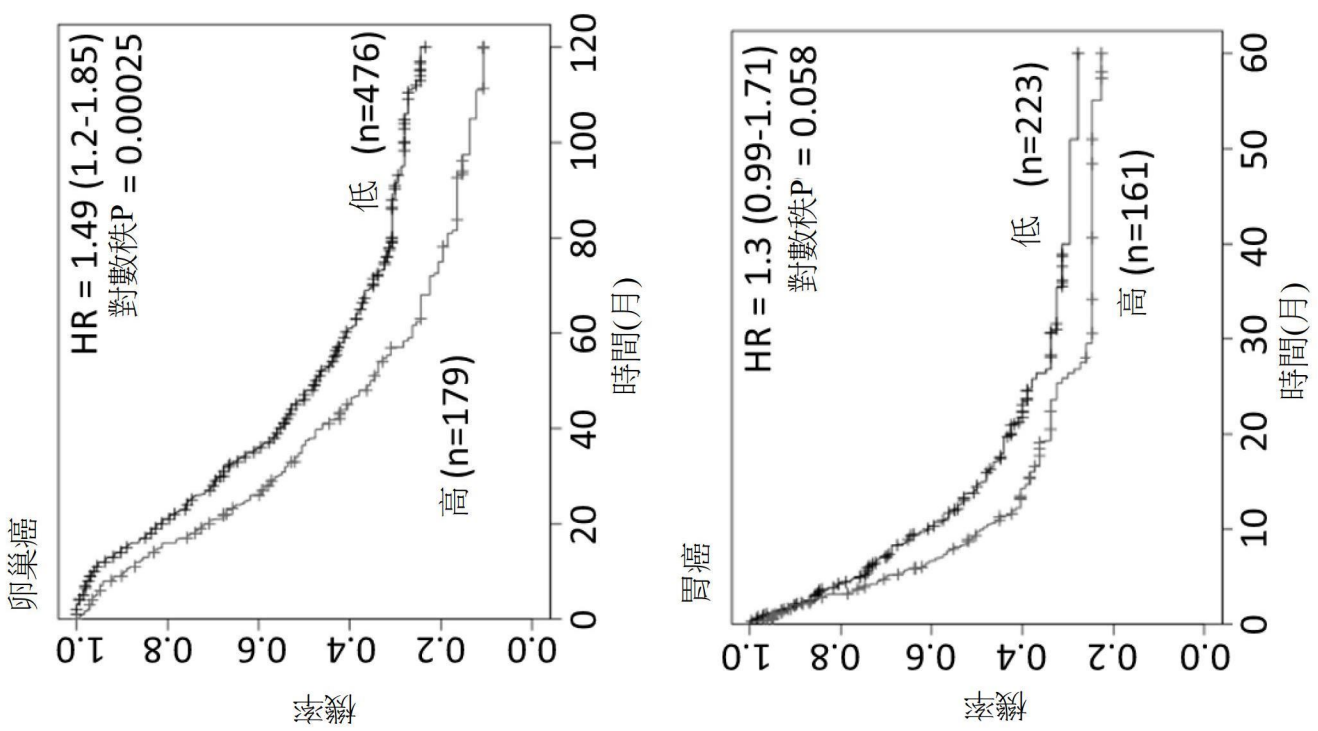
【圖1】



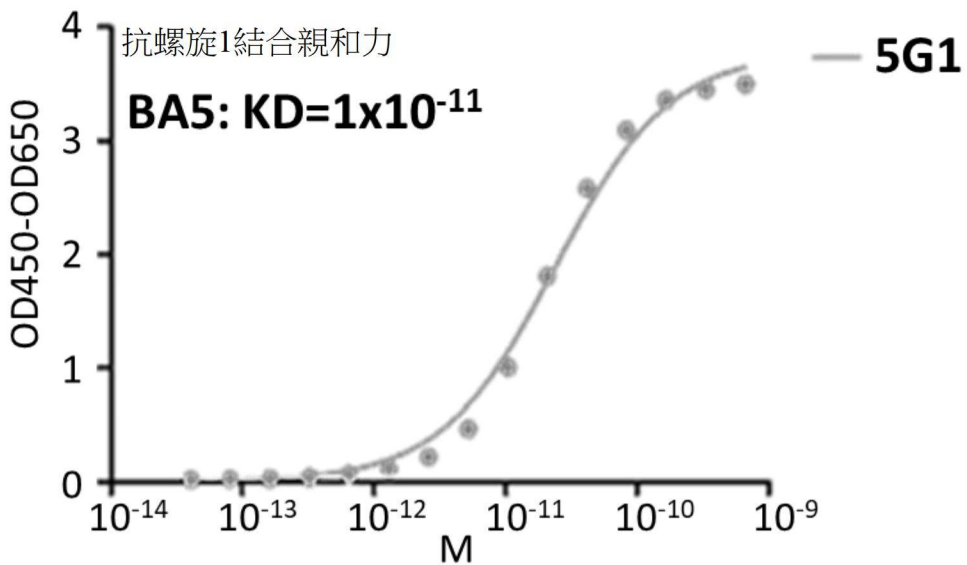
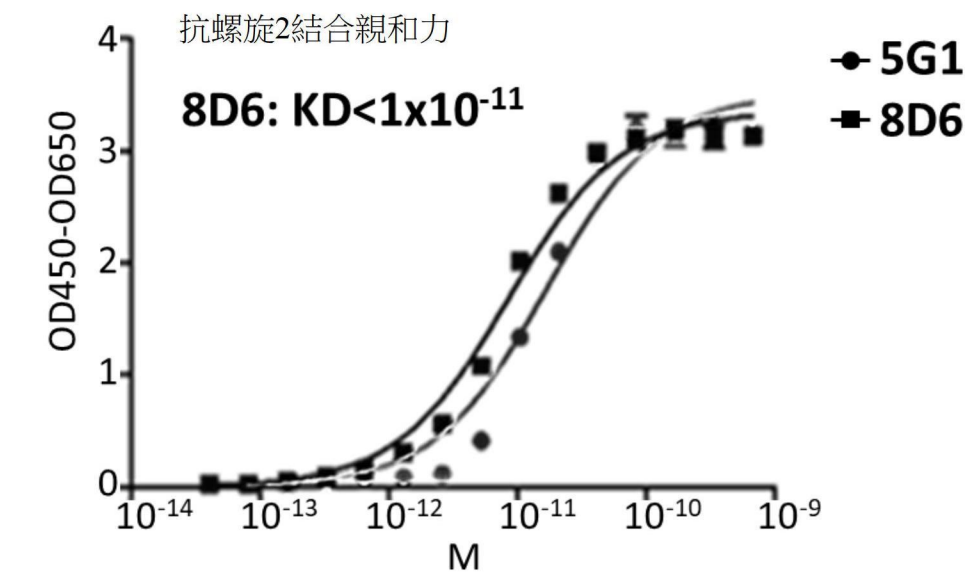
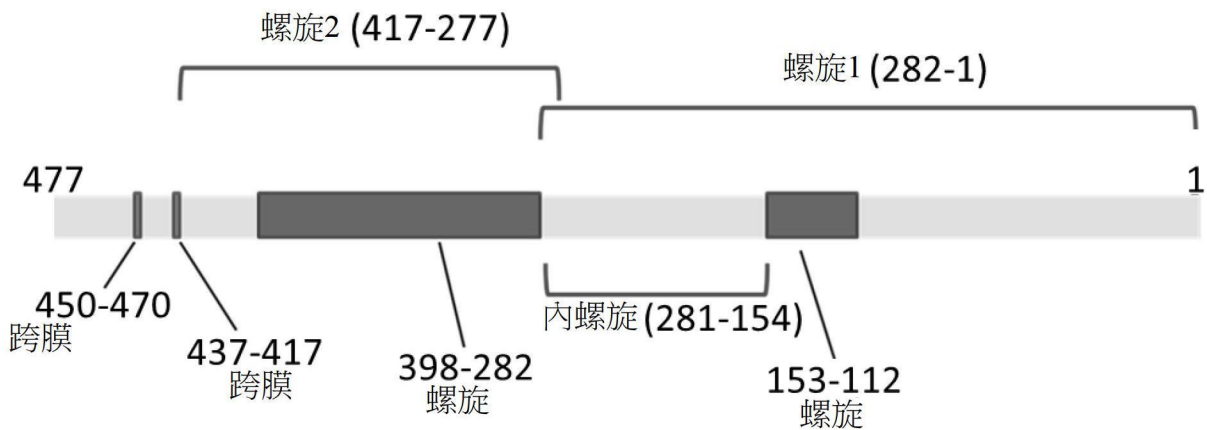
【圖2】



【圖2】(續)

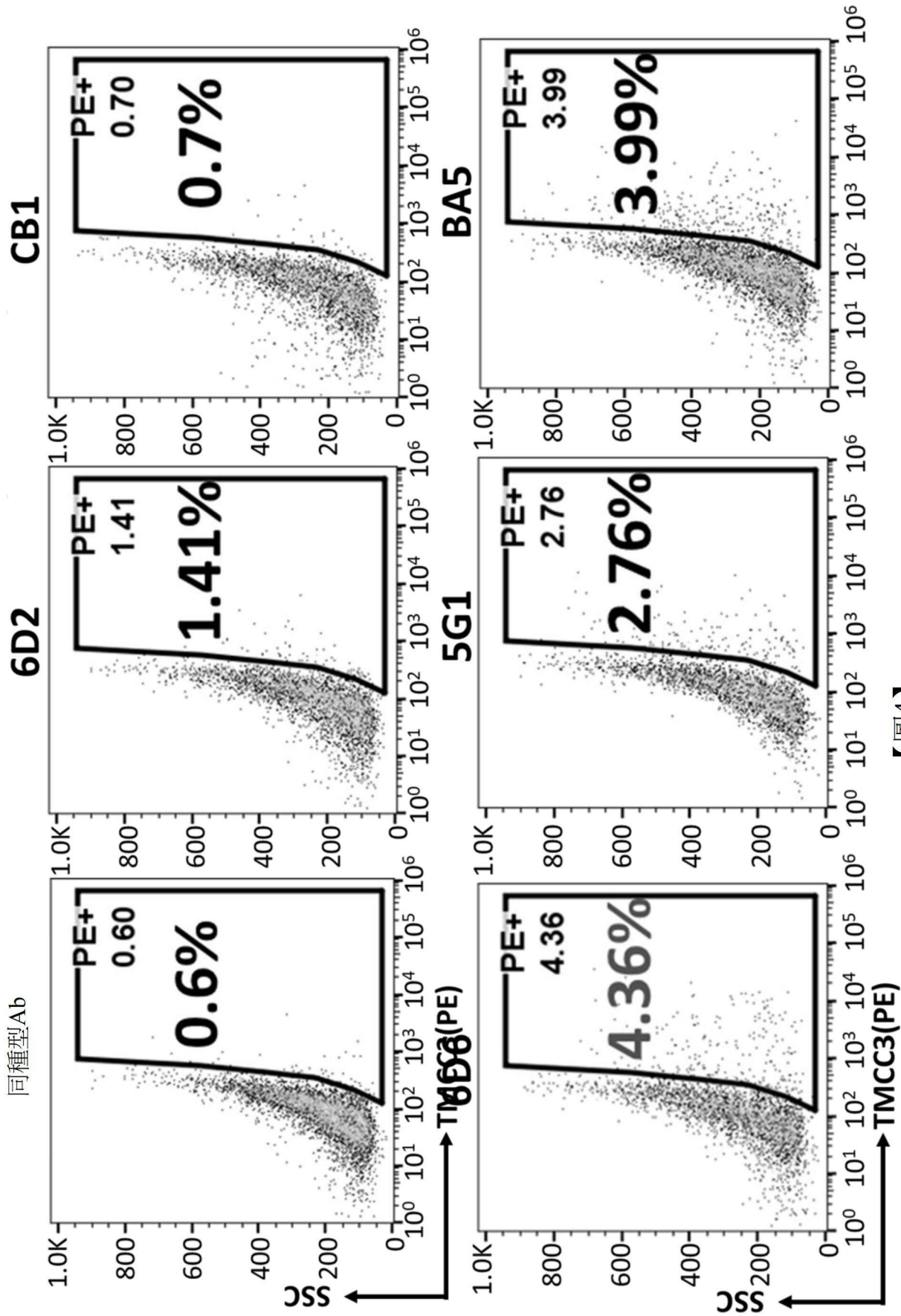


【圖2】(續)



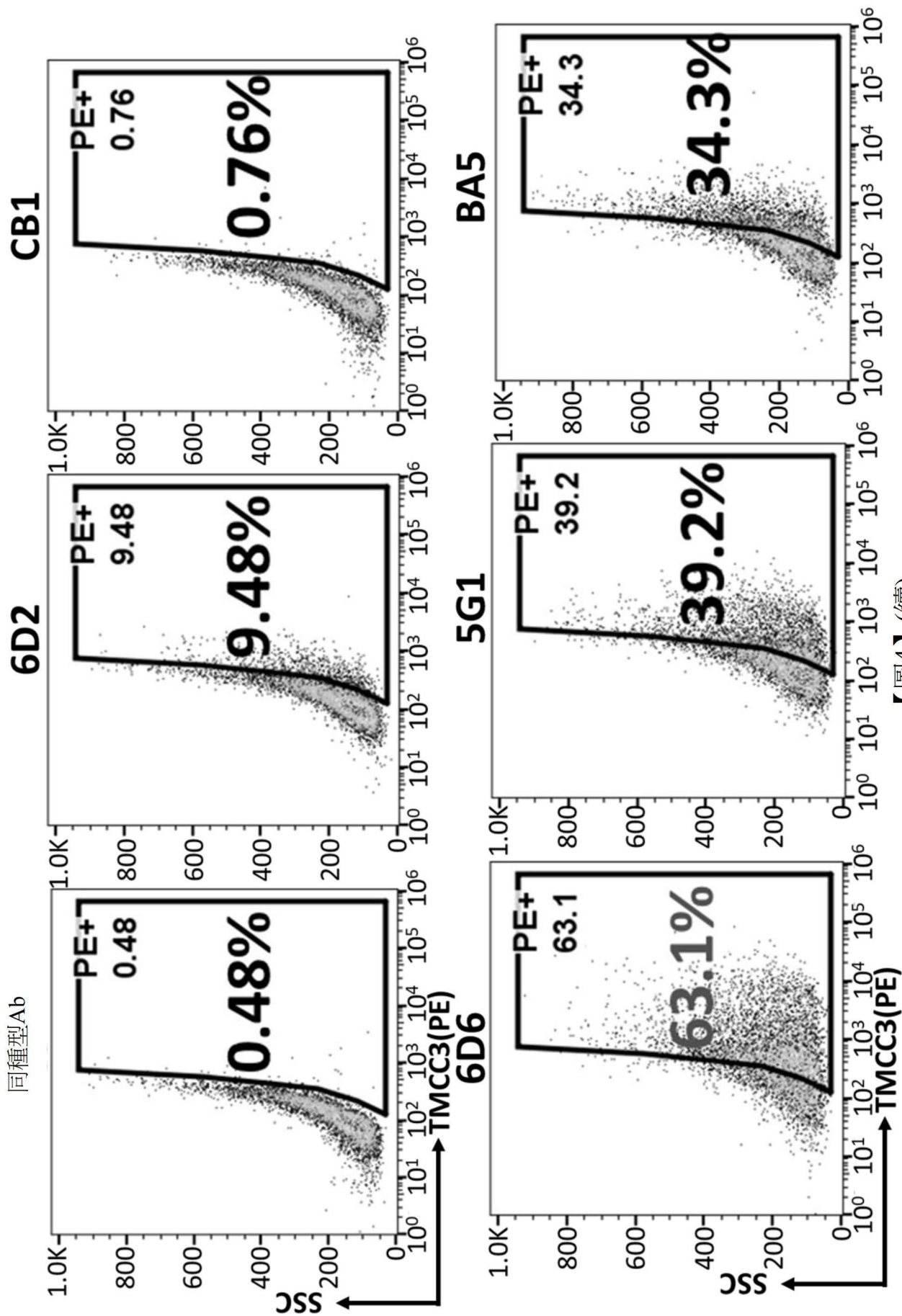
【圖3】

表面偵測(完整細胞)

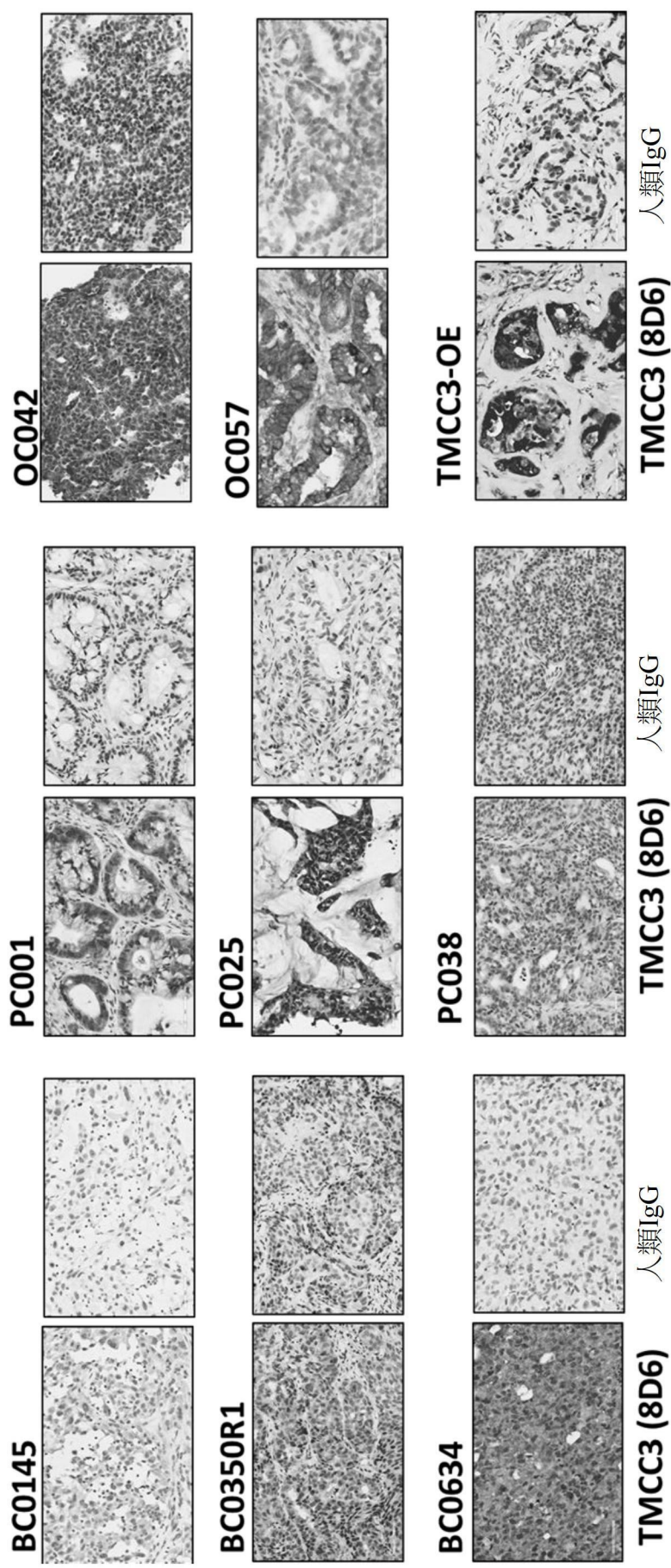


【圖4】

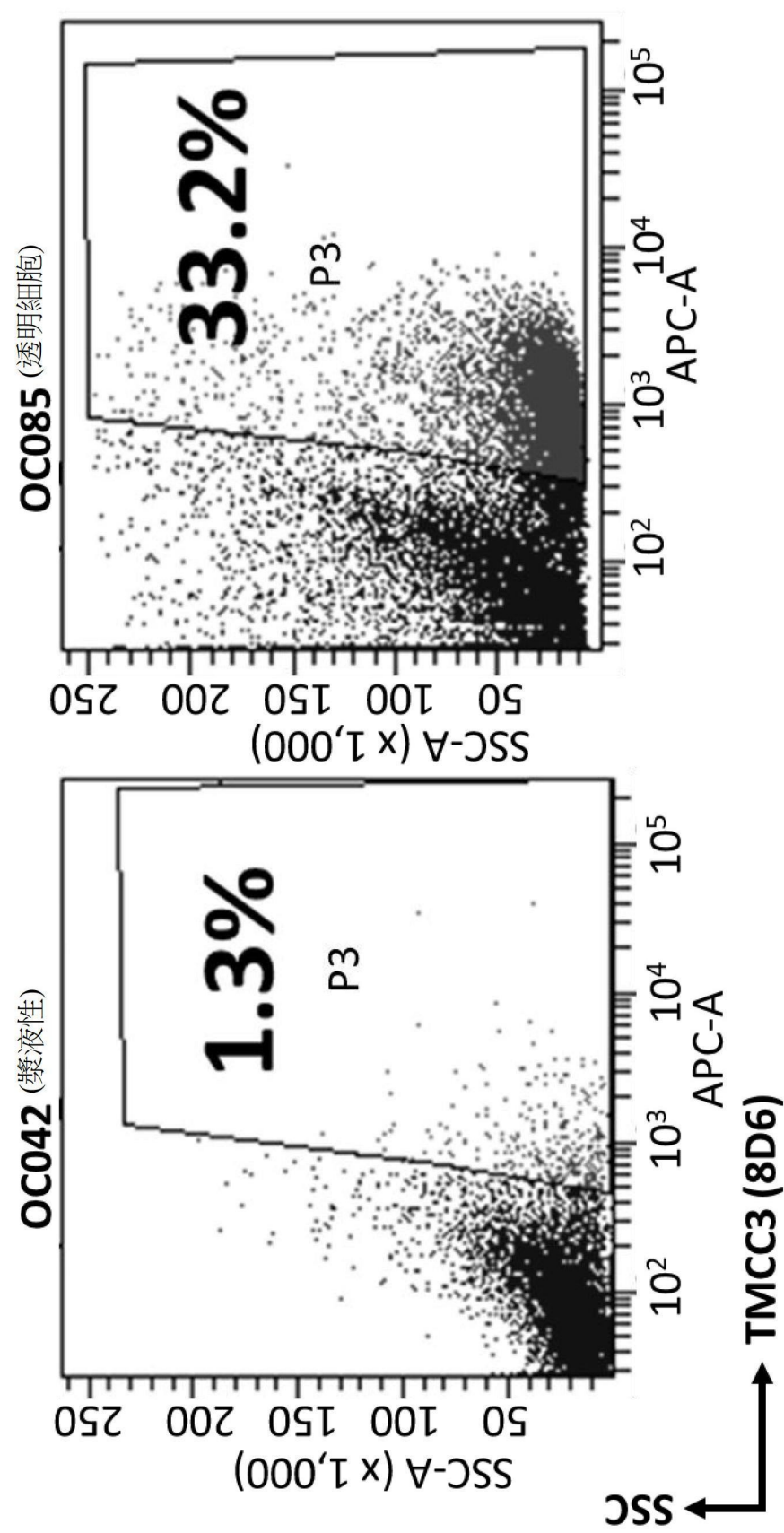
總偵測(固定細胞)



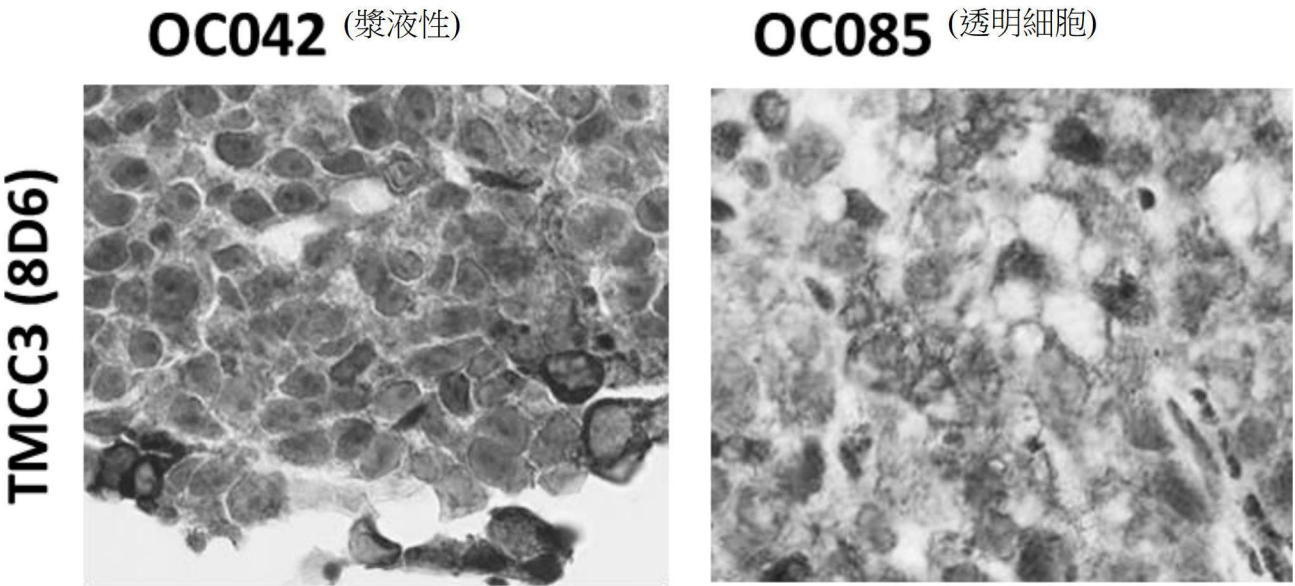
【圖4】(續)



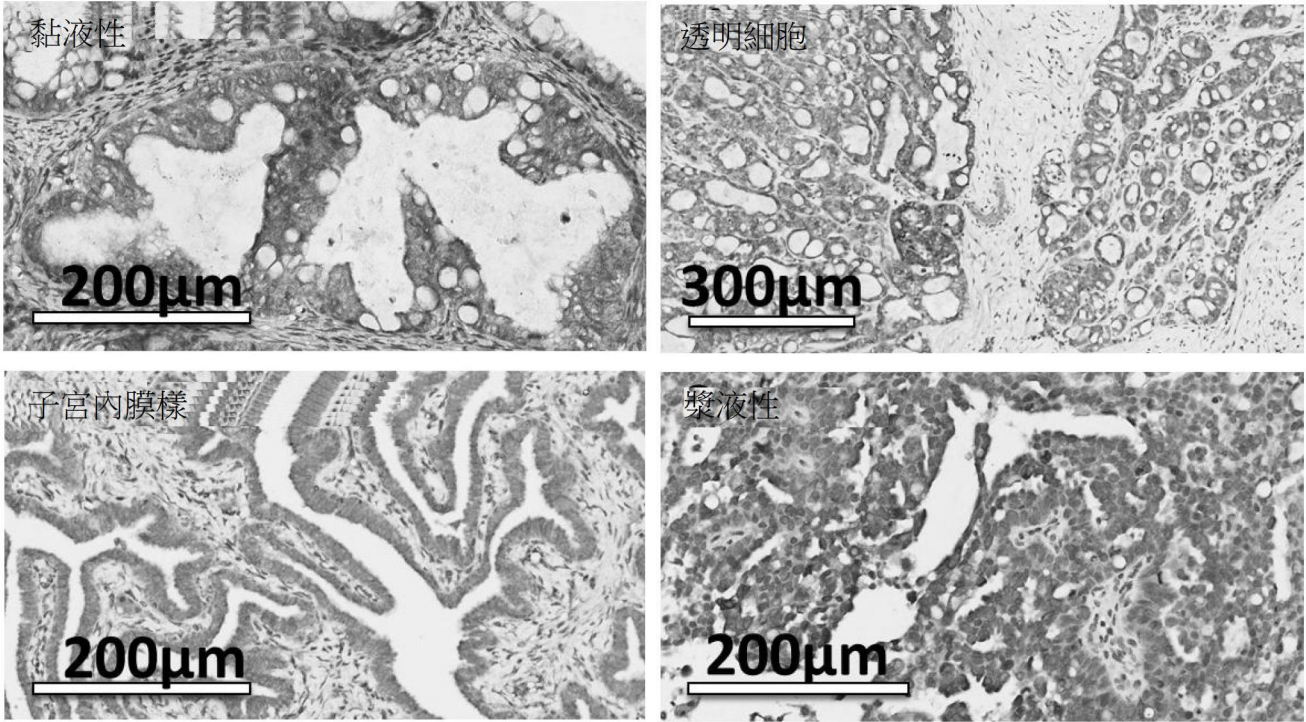
【圖5】



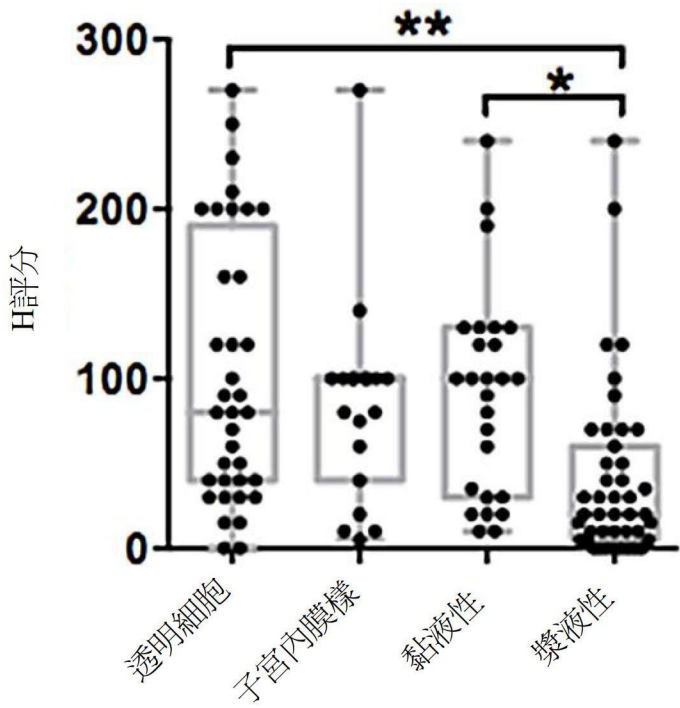
【圖6A】



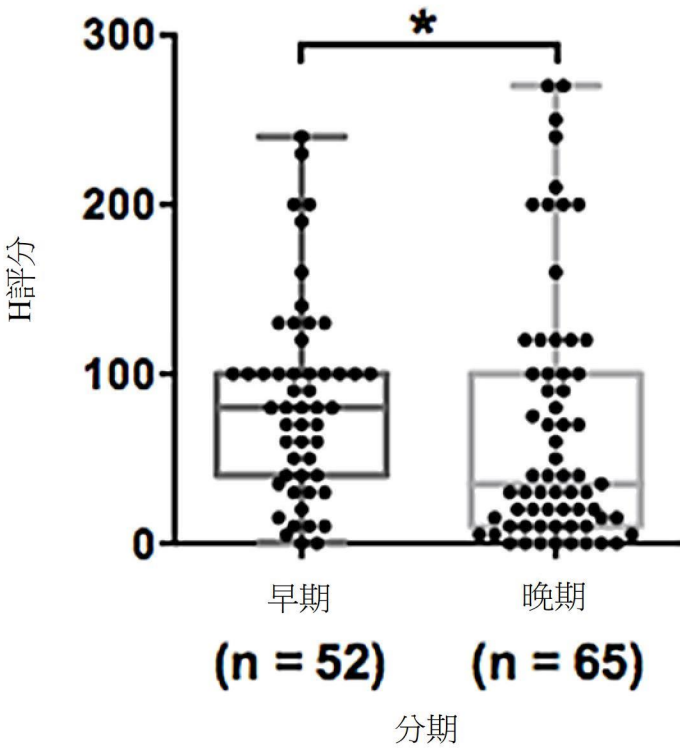
【圖6B】



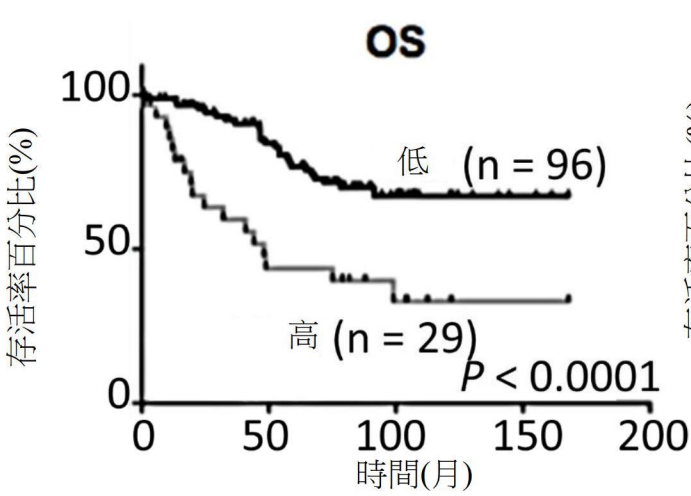
【圖7A】



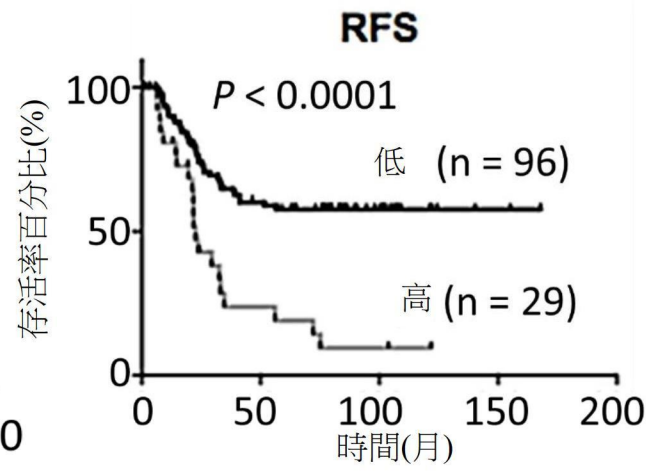
【圖7B】



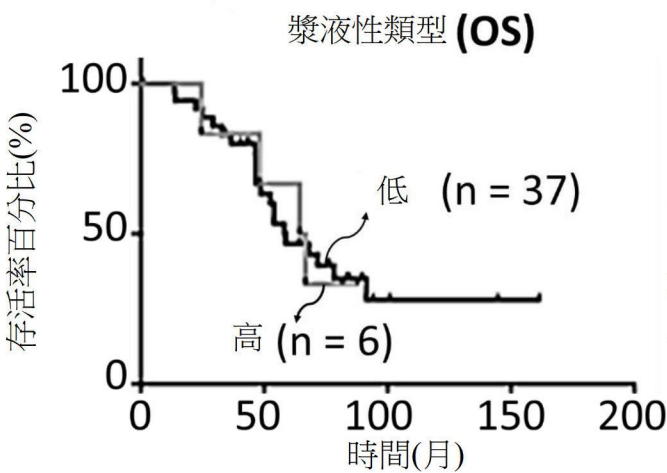
【圖7C】



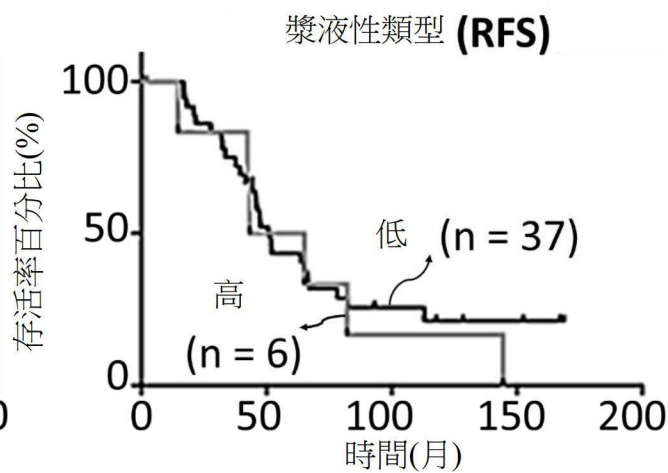
【圖8A】



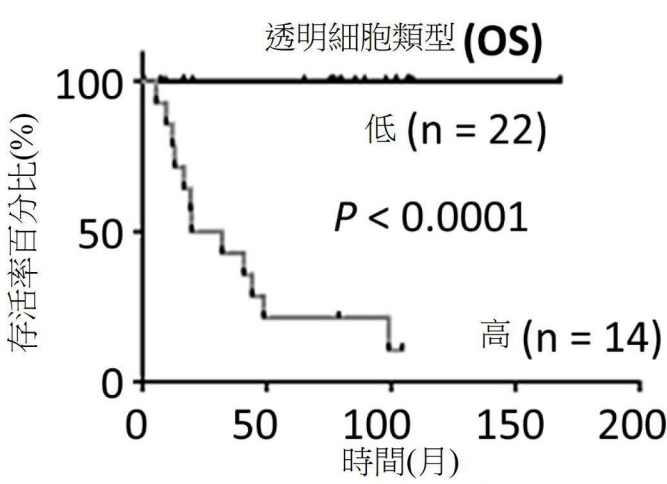
【圖8B】



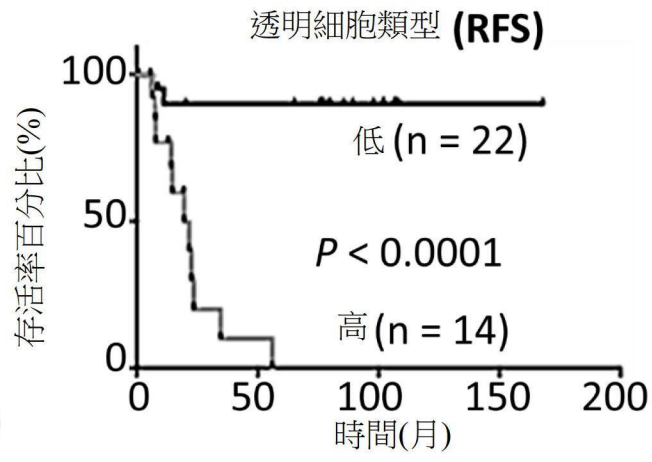
【圖8C】



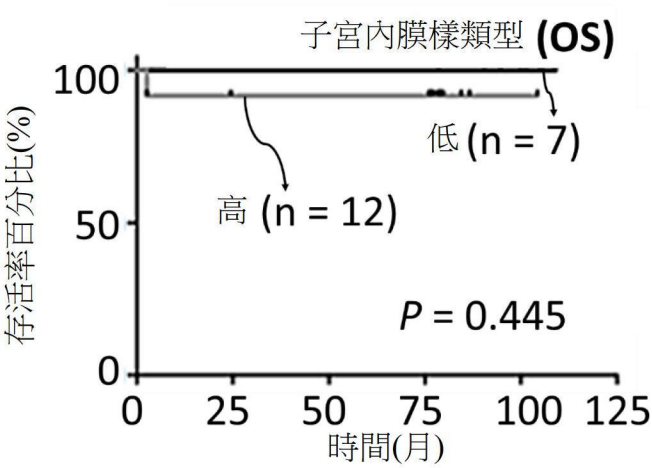
【圖8D】



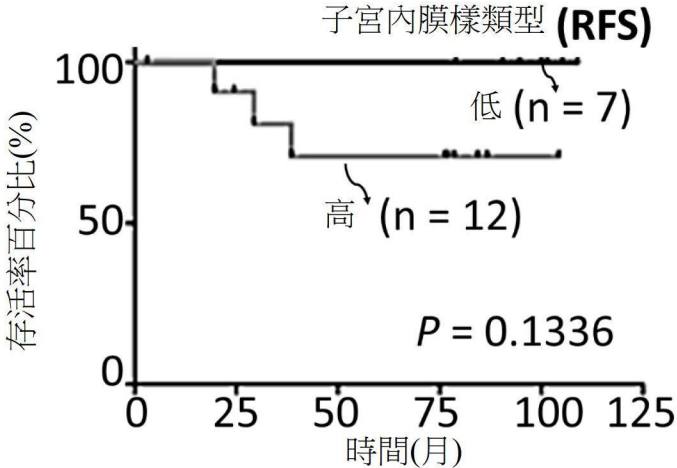
【圖8E】



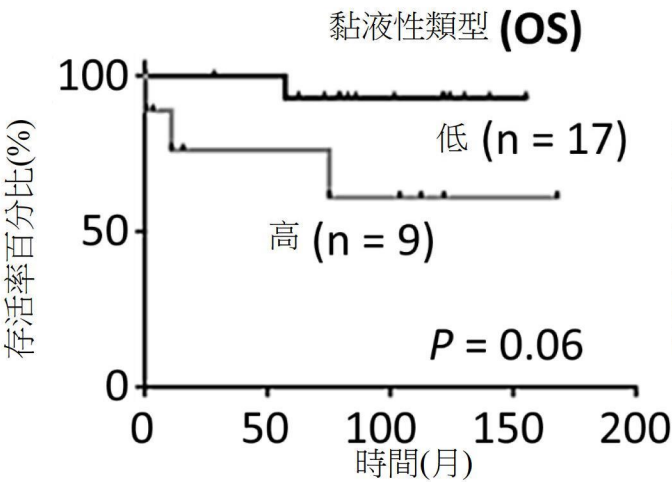
【圖8F】



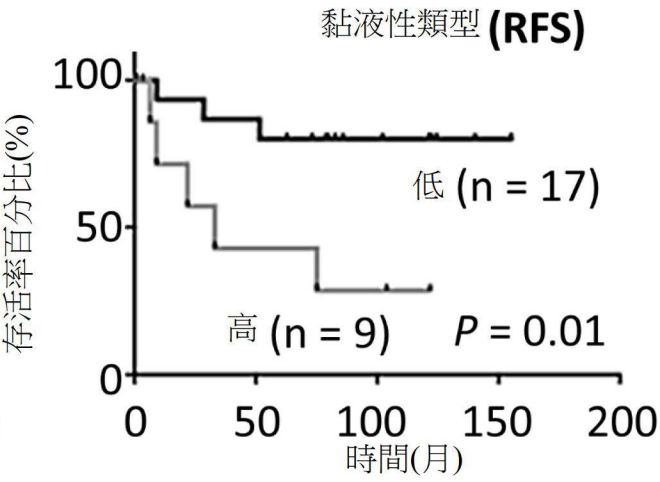
【圖8G】



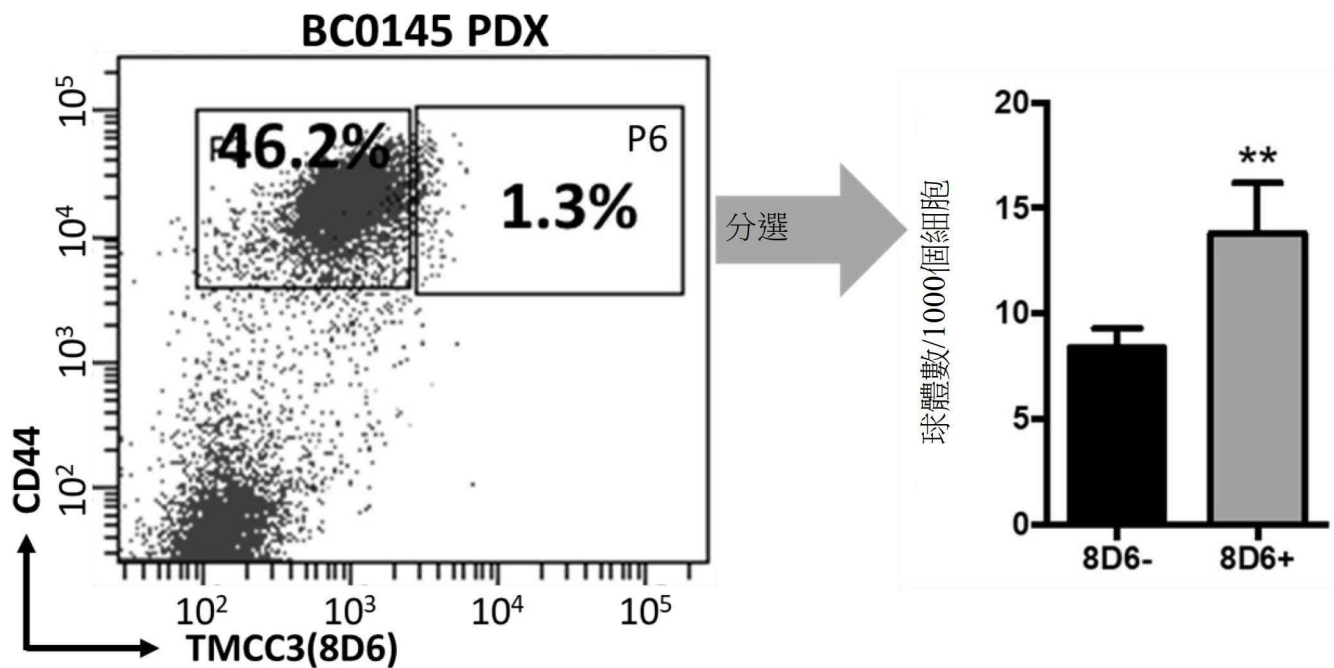
【圖8H】



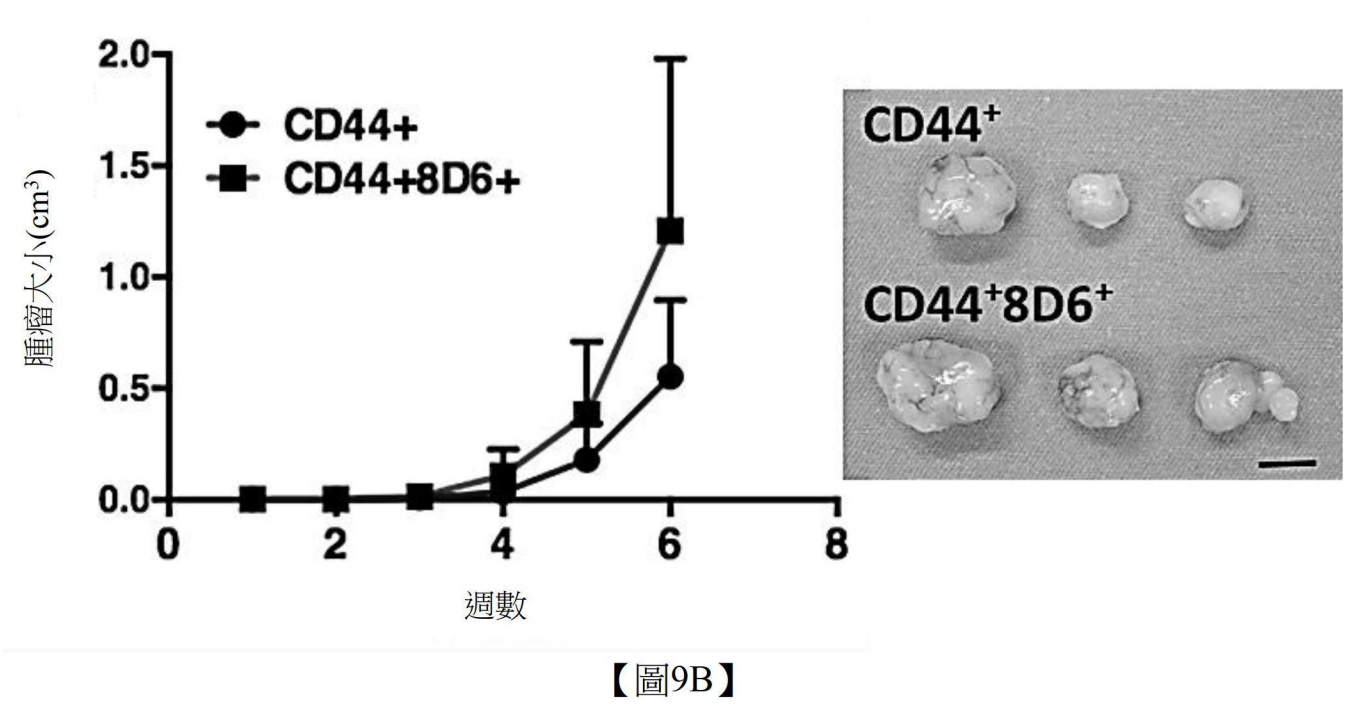
【圖8I】

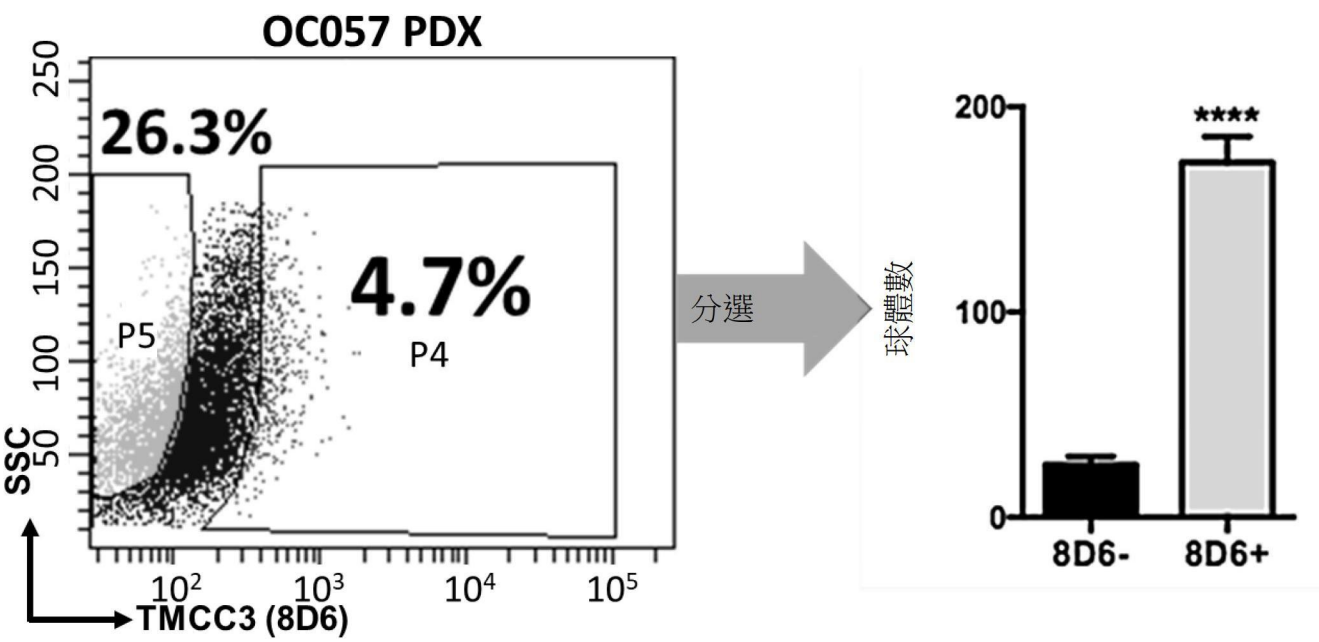


【圖8J】

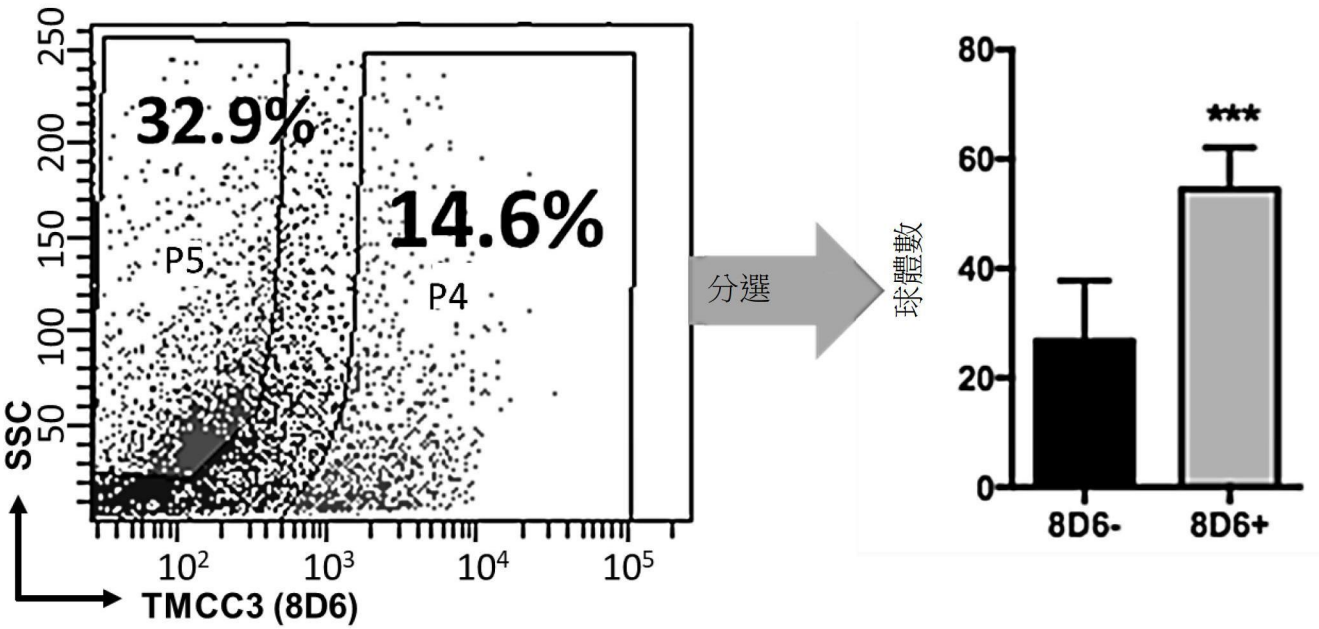


【圖9A】

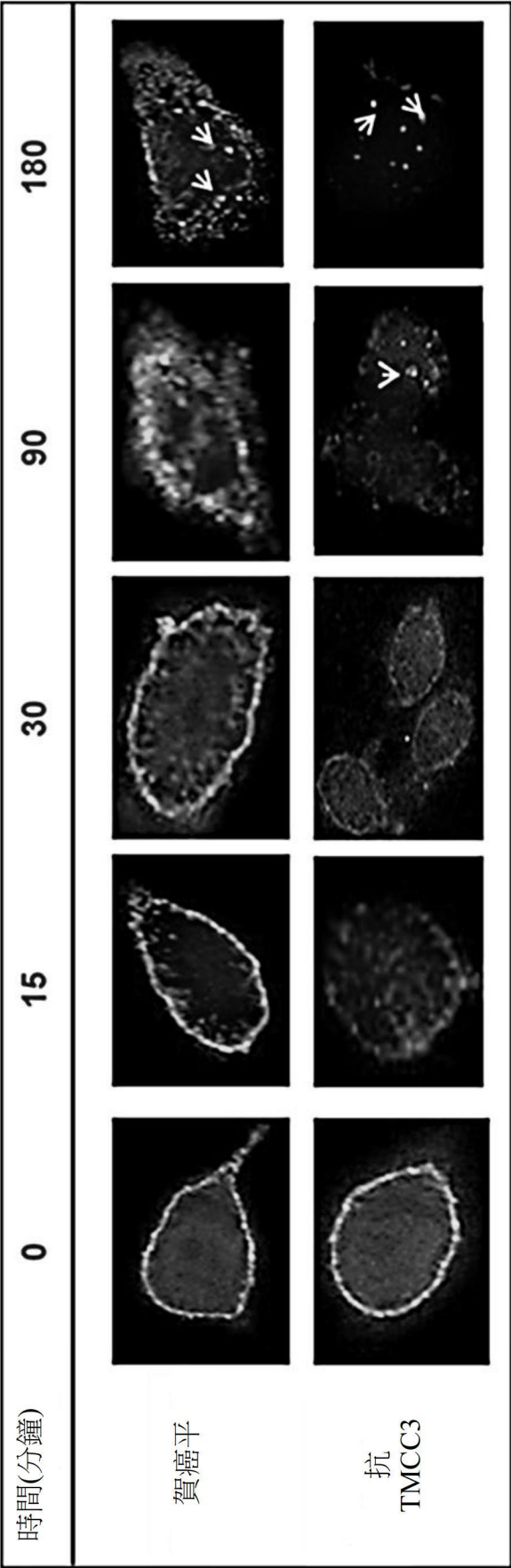




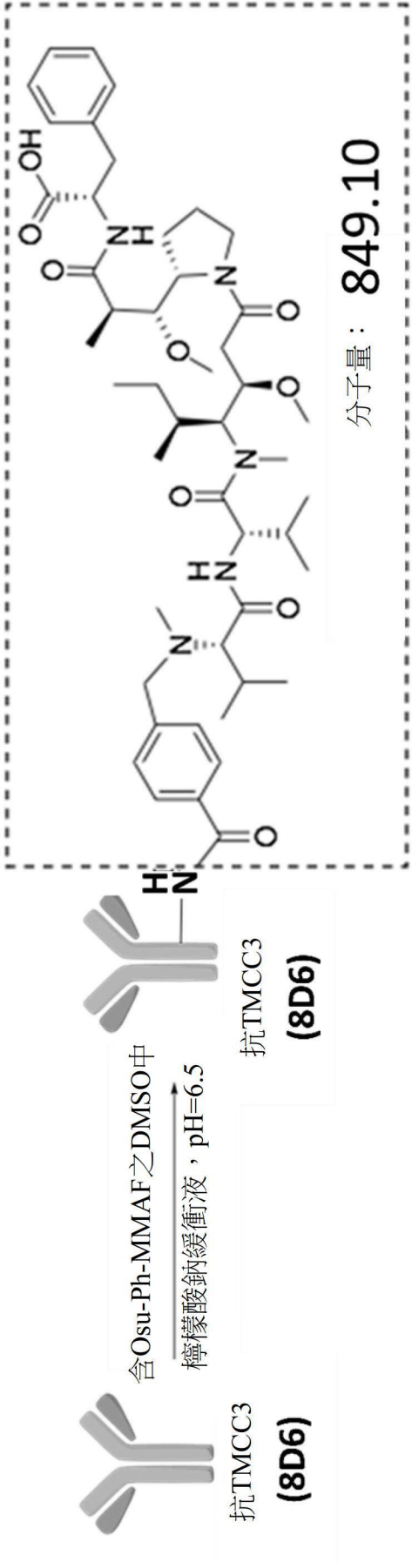
【圖9C】



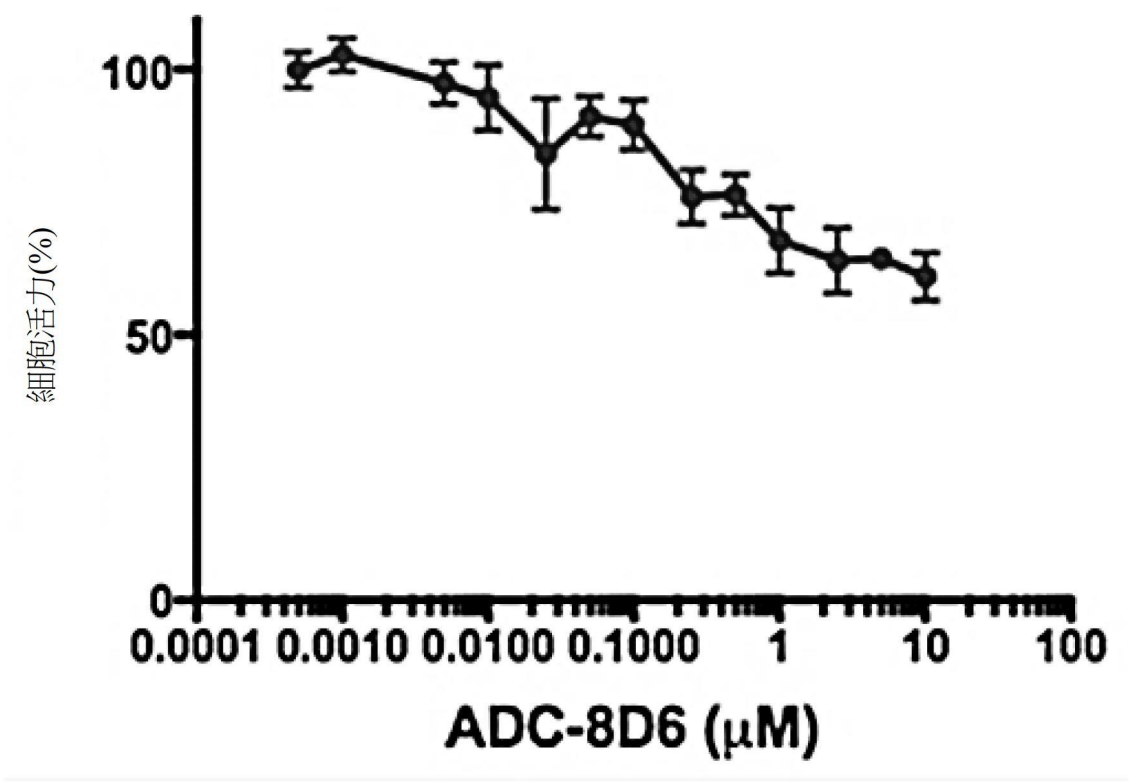
【圖9D】



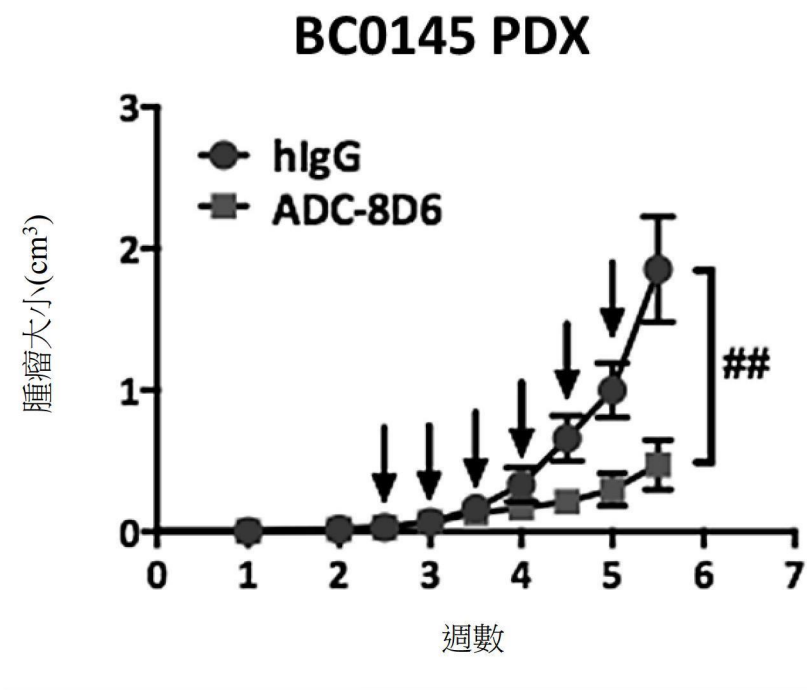
【圖10A】



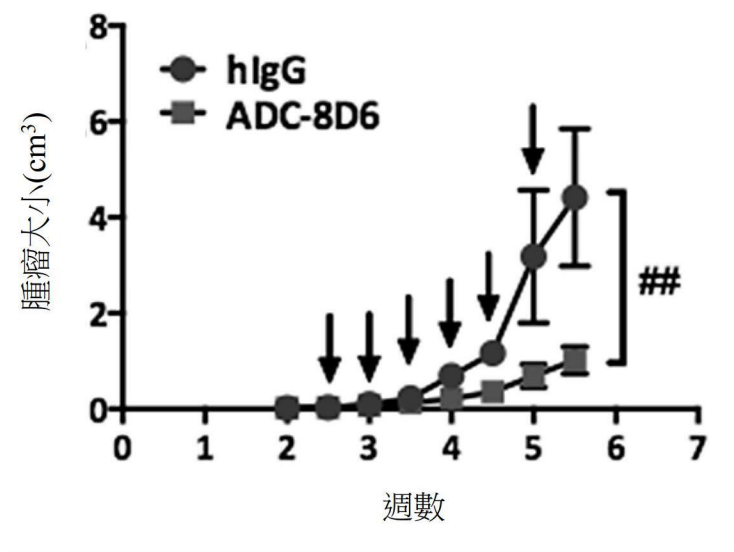
【圖10B】



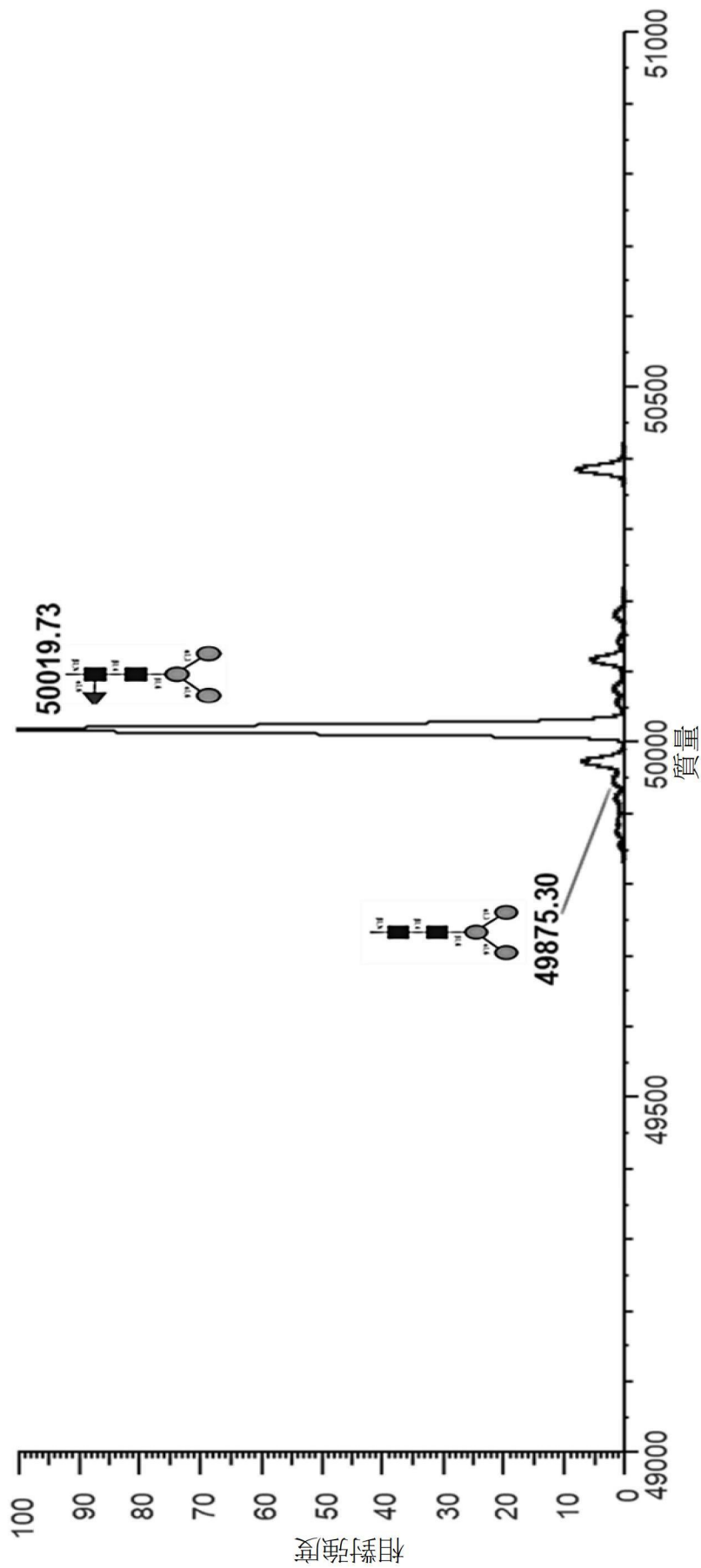
【圖10C】



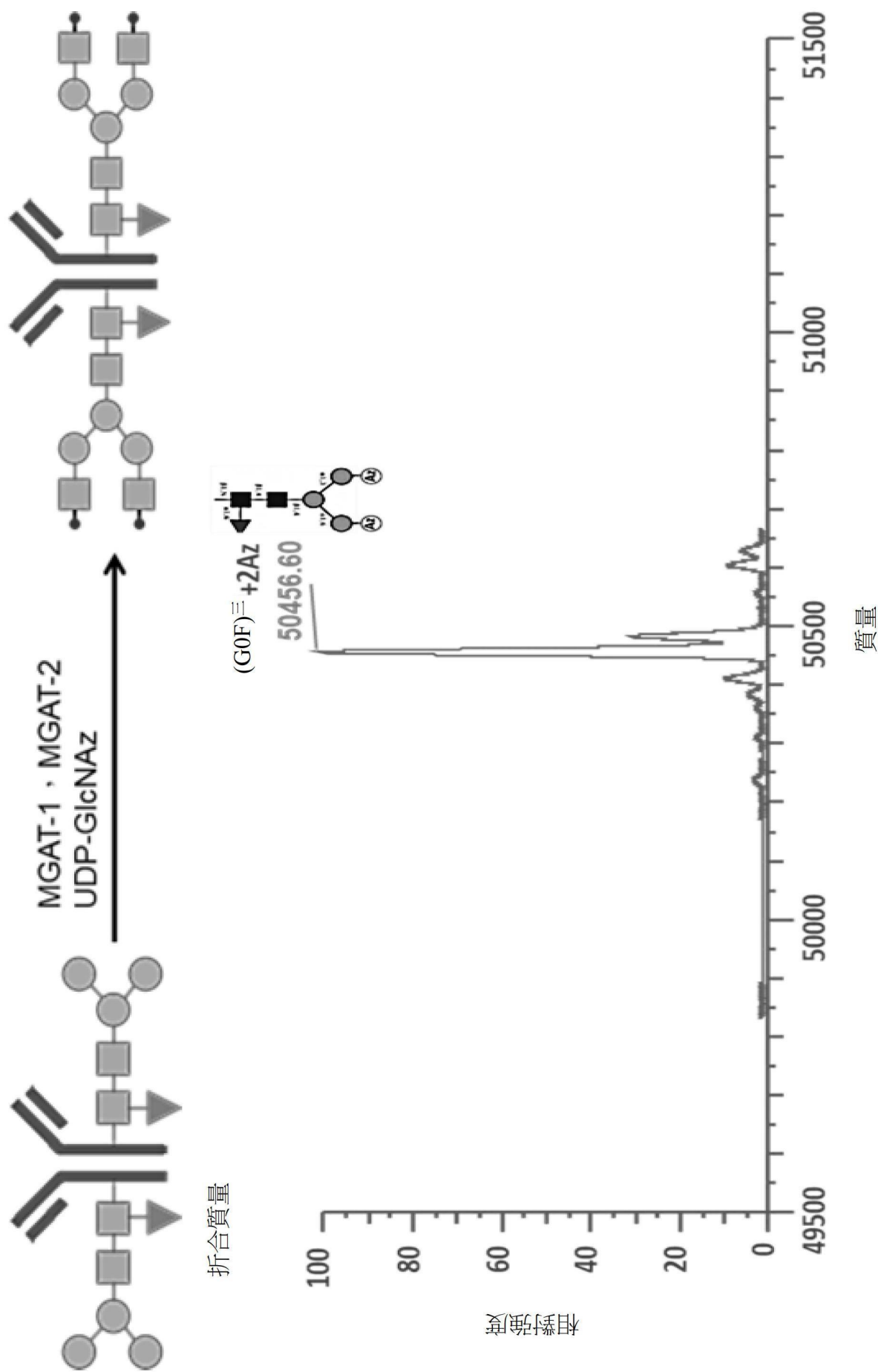
【圖10D】



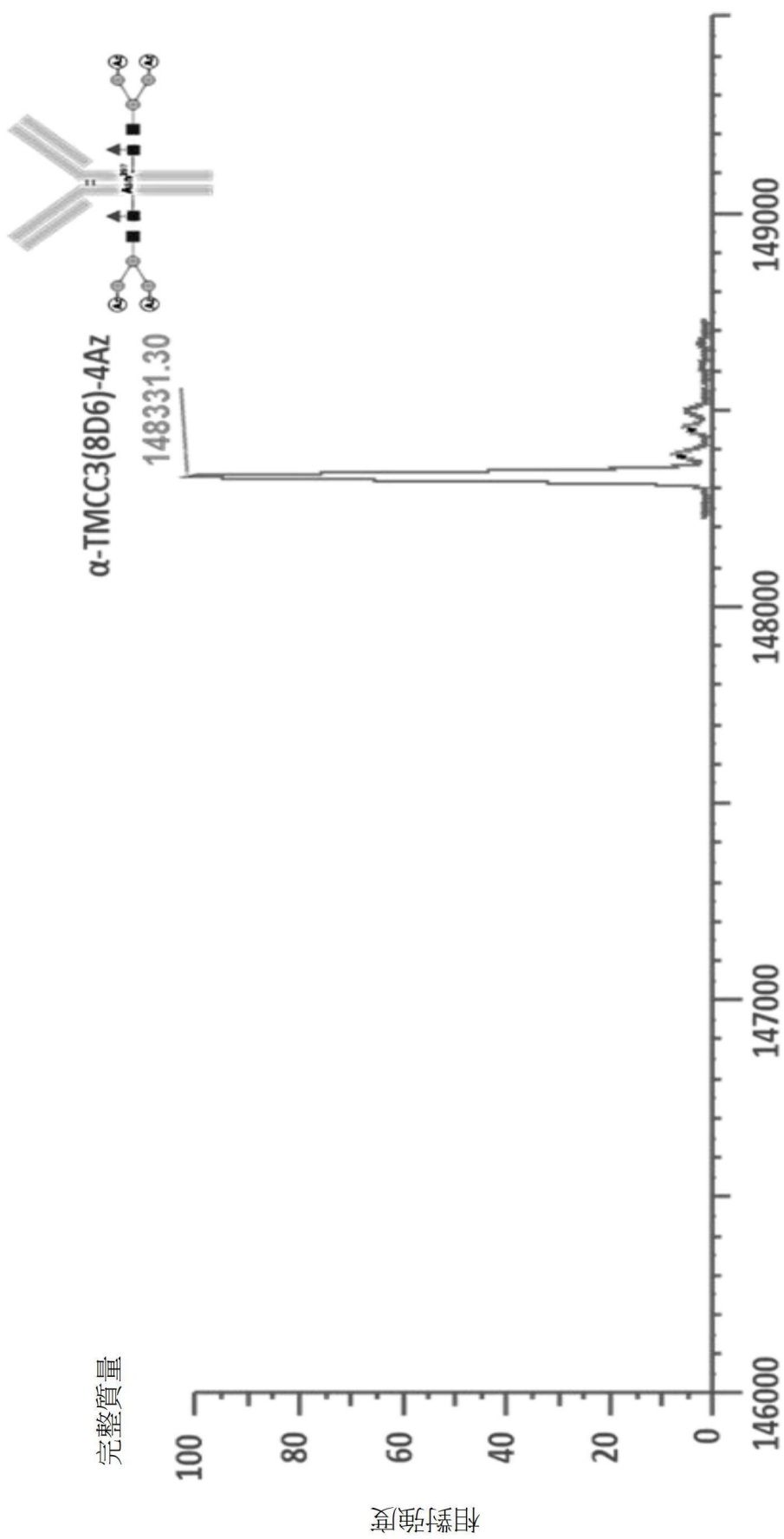
【圖10E】



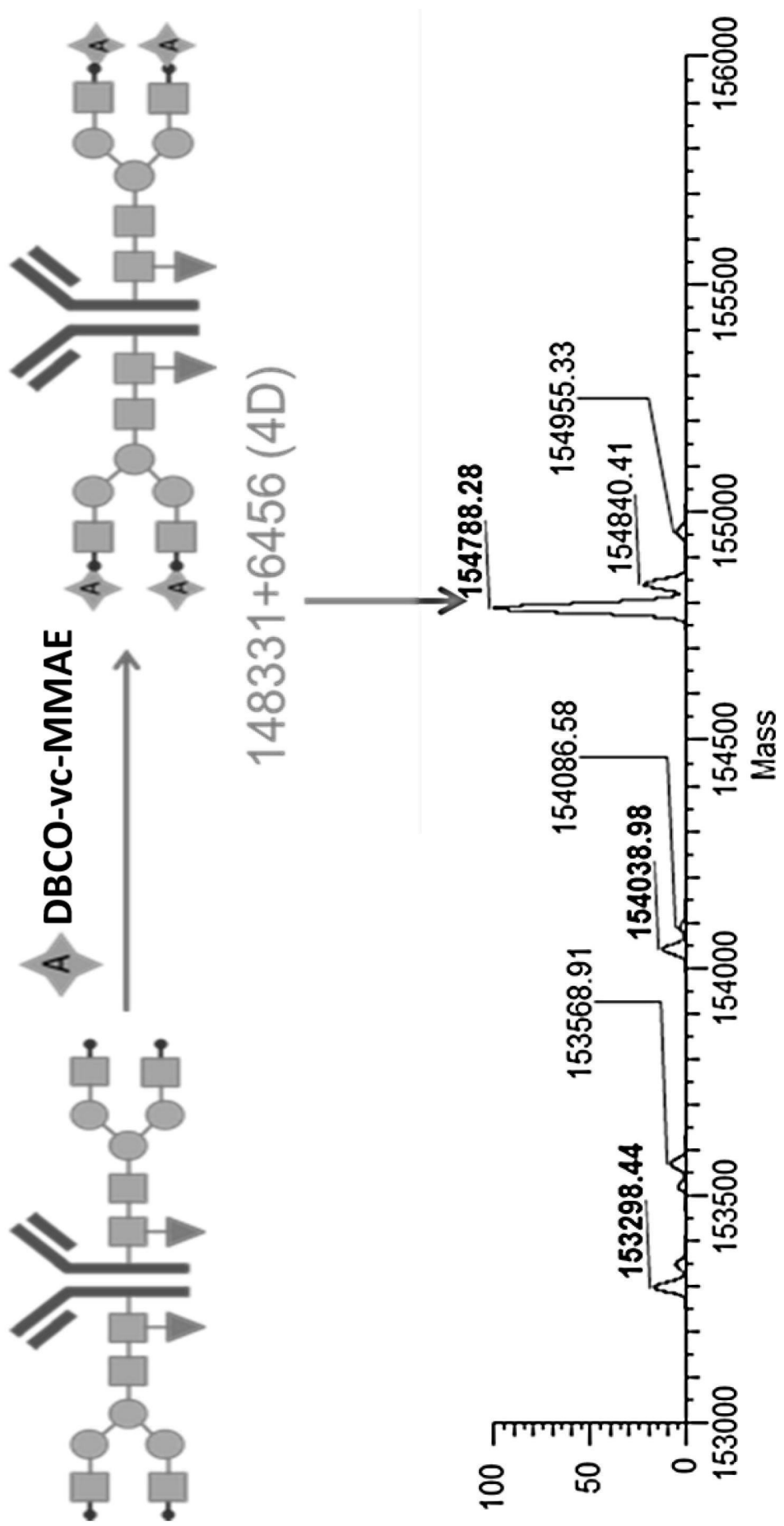
【圖11】



【圖12A】



【圖12B】



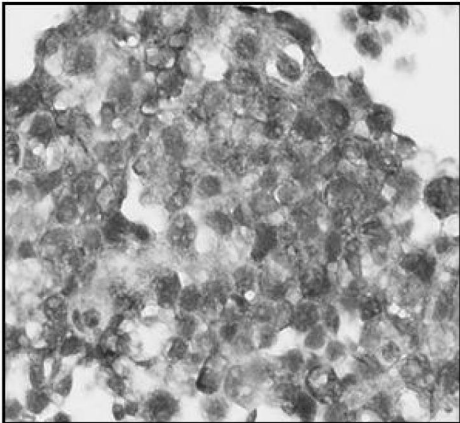
148331+6456 (4D)

質量 : Int-TMCC3-8D6-4Az-MMAE-C	強度 : Int-TMCC3-8D6-4Az-MMAE-C	面積%
154788.28	1.22E+07	77.6
153298.44	2.03E+06	12.9
154038.98	1.48E+06	9.4
平均DAR		3.78

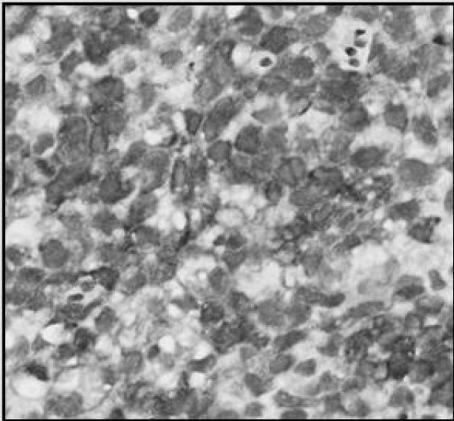
【圖13】

年齡	63
分期	IVB
TNM	pT3cN1M1
組織學	透明細胞癌

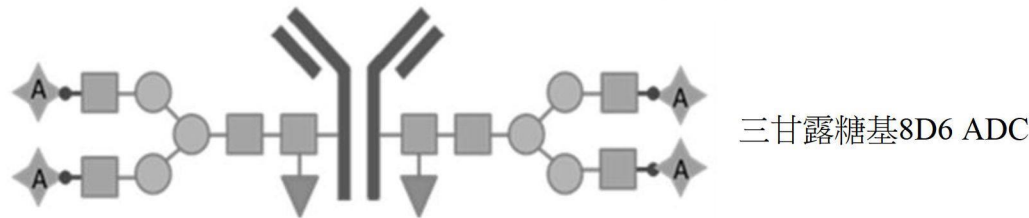
P't腫瘤
(TMCC3)



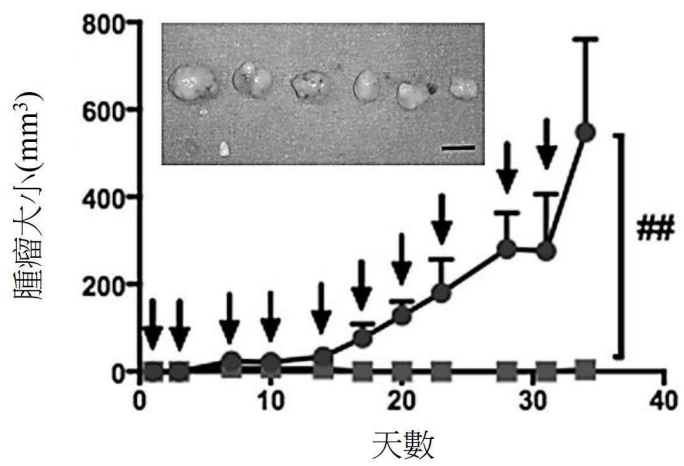
PDX
(TMCC3)



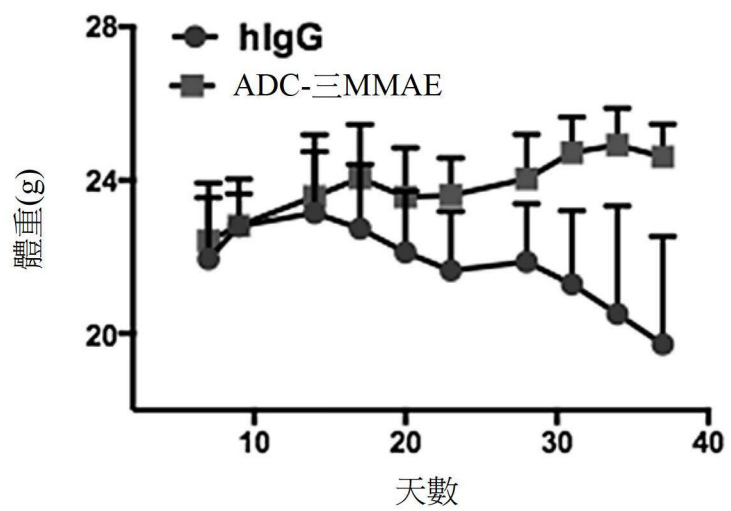
【圖14】



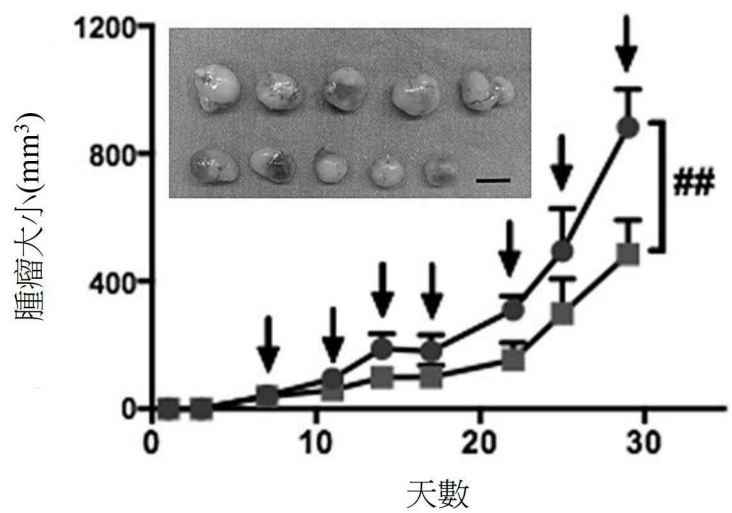
【圖15A】



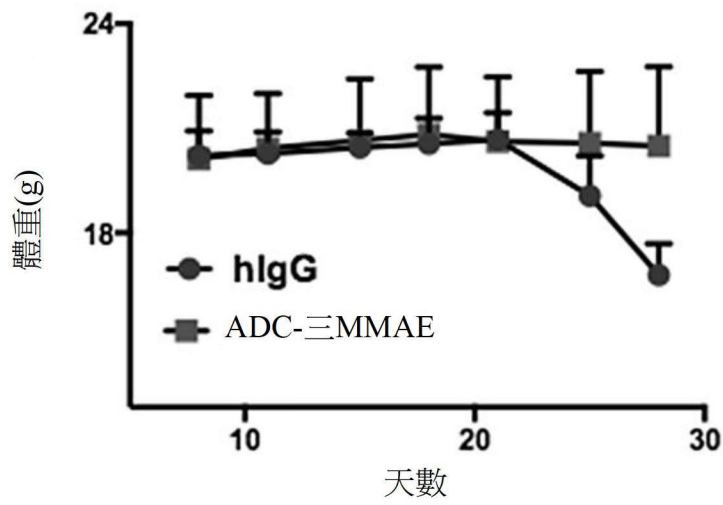
【圖15B】



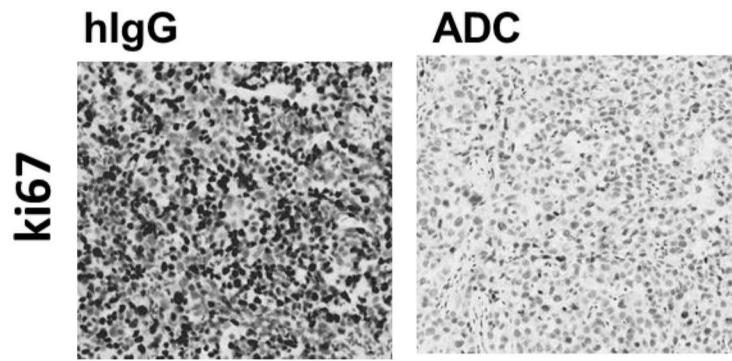
【圖15C】



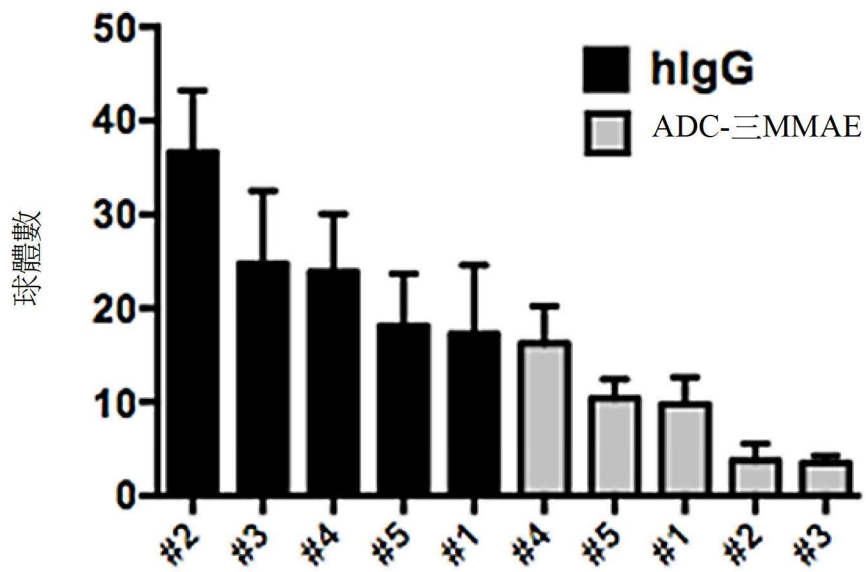
【圖15D】



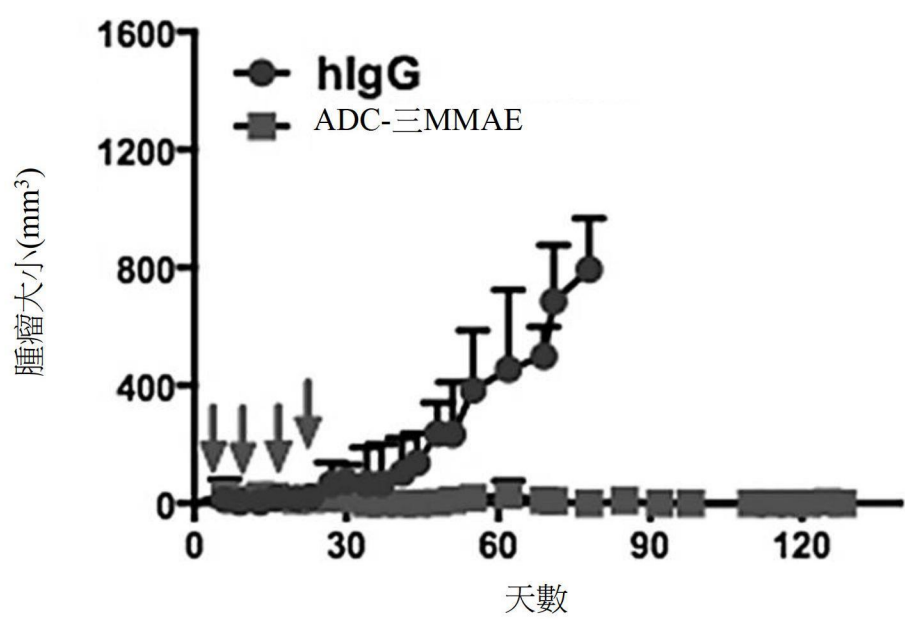
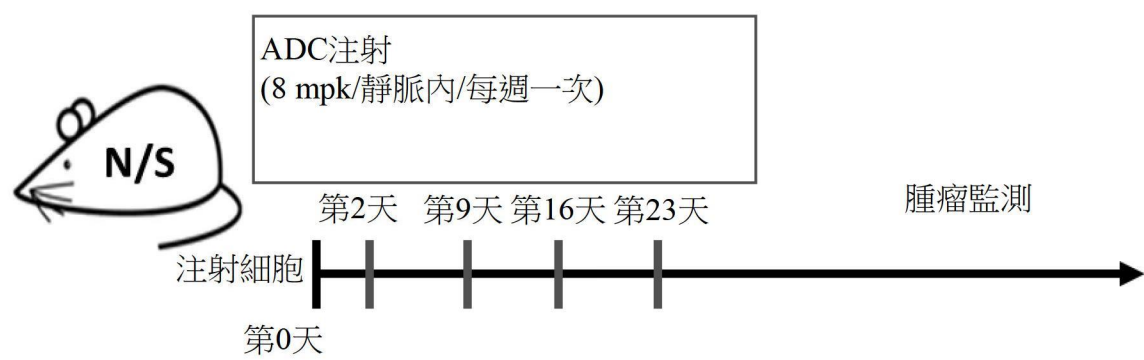
【圖15E】



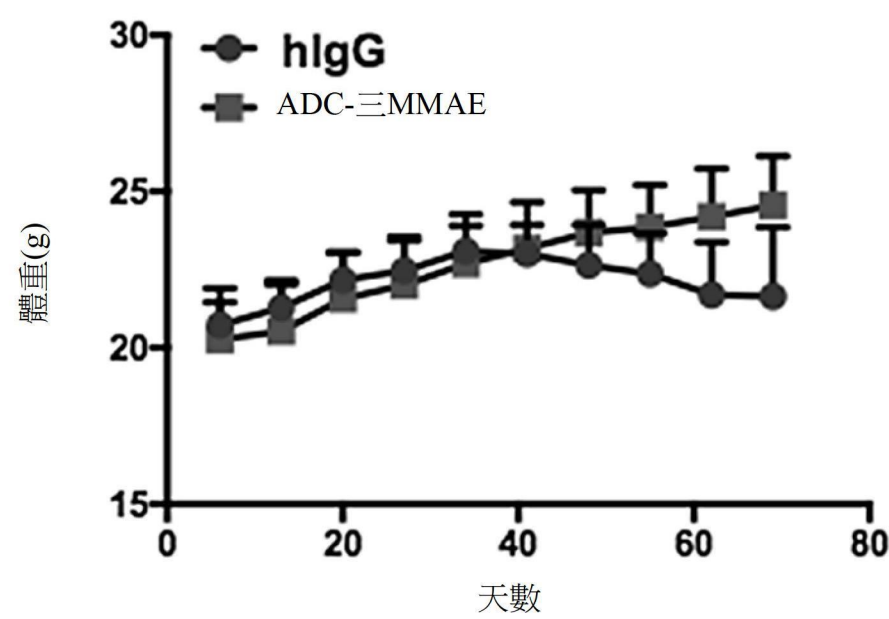
【圖15F】



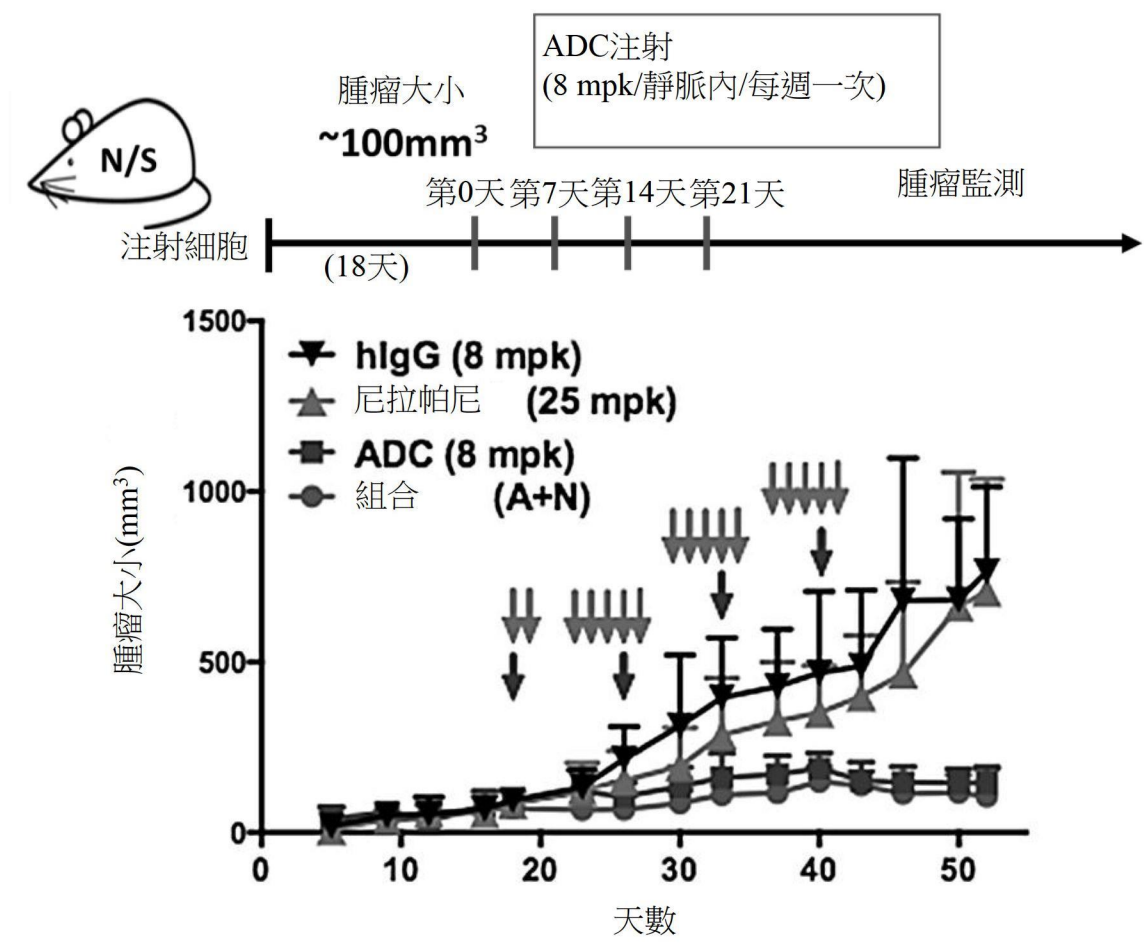
【圖15G】



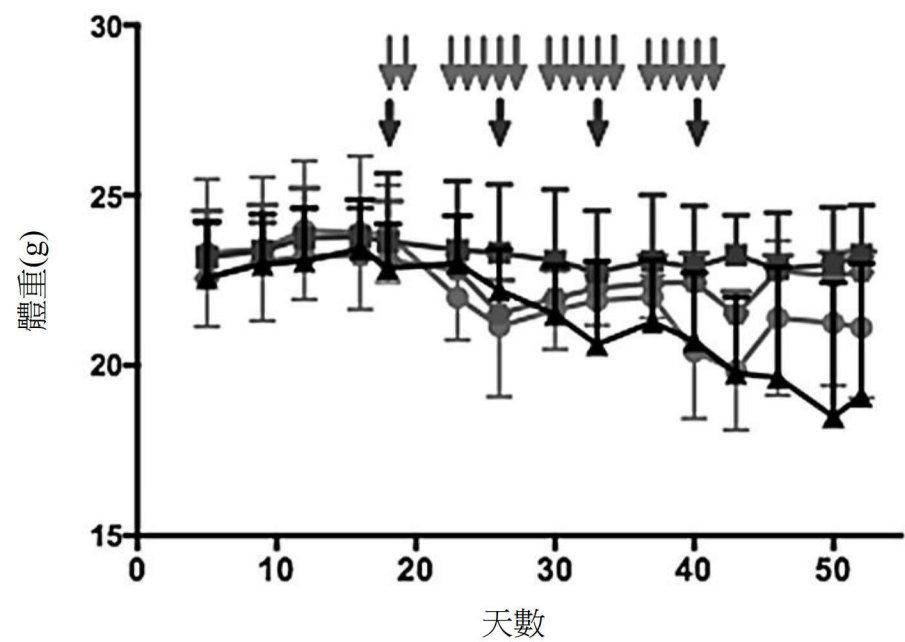
【圖16A】



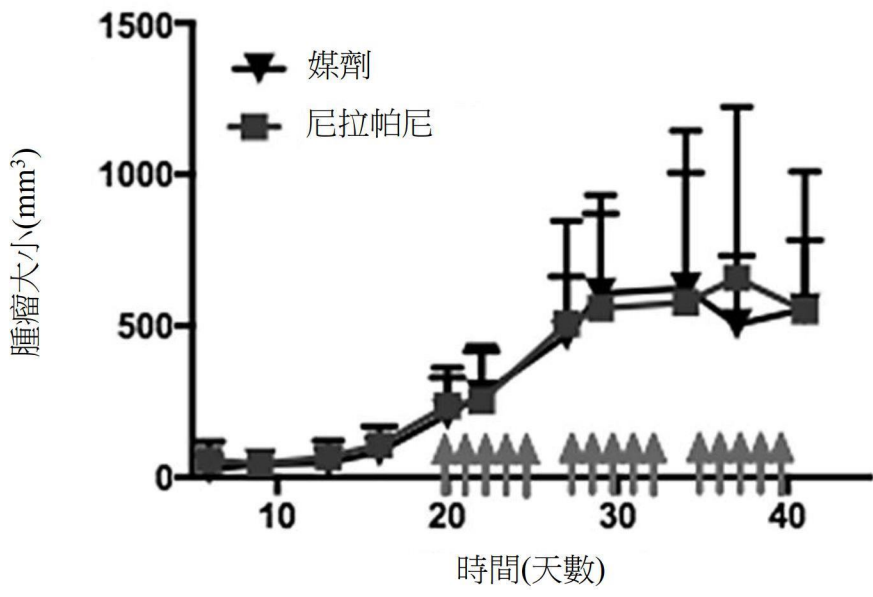
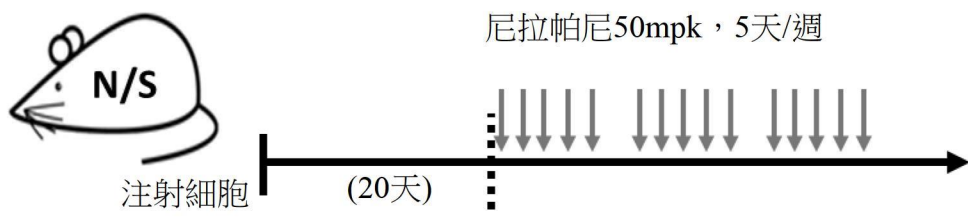
【圖16B】



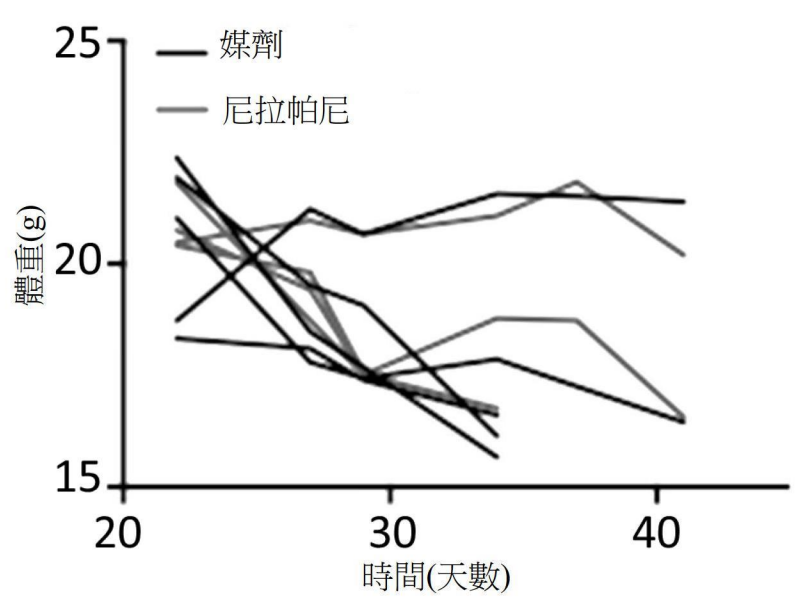
【圖17A】



【圖17B】



【圖18A】



【圖18B】