

## (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2月16日 (16.02.2023)



(10) 国际公布号  
**WO 2023/016505 A1**

(51) 国际专利分类号:

*C07K 16/24* (2006.01) *A61P 1/16* (2006.01)  
*C12N 15/13* (2006.01) *A61P 11/00* (2006.01)  
*C12N 15/85* (2006.01) *A61P 9/04* (2006.01)  
*C12N 5/10* (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/111608

(22) 国际申请日: 2022年8月11日 (11.08.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202110924318.9 2021年8月12日 (12.08.2021) CN

(71) 申请人: 广东东阳光药业有限公司  
(**SUNSHINE LAKE PHARMA CO., LTD.**) [CN/CN];  
中国广东省东莞市松山湖北部工业园,  
Guangdong 523000 (CN)。

(72) 发明人: 周加滔 (**ZHOU, Jiatao**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (CN)。 陈苍沙 (**CHEN, Cangsha**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (CN)。 王银彩 (**WANG, Yincai**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (CN)。 介淼星 (**JIE, Miaoxing**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (CN)。 董军纪 (**DONG, Junji**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (CN)。 李文佳 (**LI, Wenjia**); 中国广东省东莞市长安镇上沙振安路368号东阳光科技园, Guangdong 523871 (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, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, 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, 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))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(54) Title: IL-11 HUMANIZED ANTIBODY AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: IL-11人源化抗体及其应用

(57) Abstract: Provided is an antibody or an antigen-binding fragment thereof capable of specifically recognizing IL-11. The antibody comprises heavy chain variable region CDRs as shown in SEQ ID NOs: 4-6, light chain variable region CDRs as shown in SEQ ID NOs: 37-39, heavy chain framework regions as shown in SEQ ID NOs: 67-70, and light chain framework regions as shown in SEQ ID NOs: 71-74, respectively. The antibody has low immunogenicity and can specifically target and bind to IL-11, so as to block binding of IL-11 to an IL-11 receptor.

(57) 摘要: 提供了一种能够特异性识别IL-11的抗体或其抗原结合片段。该抗体包括分别如SEQ ID NO:4-6所示的重链可变区CDR, 分别如SEQ ID NO:37-39所示的轻链可变区CDR, 分别如SEQ ID NO:67-70所示的重链框架区, 和分别如SEQ ID NO:71-74所示的轻链框架区。该抗体免疫原性低, 能够特异性的靶向结合IL-11, 阻断IL-11和IL-11受体的结合。



WO 2023/016505 A1

## IL-11 人源化抗体及其应用

### 技术领域

本发明涉及生物技术领域，具体地，本发明涉及 IL-11 的抗体及其应用，更具体地，本发明涉及能够特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段、核酸分子、表达载体、重组细胞、药物组合物、制药用途、检测 IL-11 的试剂盒以及制备检测或诊断试剂盒的用途。

### 背景技术

纤维化是一个重要的过程，是伤口愈合的关键部分。过度纤维化在许多罕见和常见疾病中很常见，并且在疾病发病机制中很重要。以过度纤维化为特征性疾病包括但不限于：系统性硬化症、硬皮病、肥厚性心肌病、扩张型心肌病(DCM)、心房纤维性颤动、心室纤维性颤动、心肌炎、肝硬化、肾脏疾病、眼部疾病、哮喘、囊性纤维化、关节炎和特发性肺纤维化。尽管对人类健康影响很大，但对纤维化的治疗和诊断方法的医疗需求仍然未得到满足。

白细胞介素 11(IL-11)的真正生理作用尚不清楚。IL-11 与造血细胞活化和血小板生成的关系最为密切，但也被发现具有促炎和抗炎、促血管生成的作用，并对瘤形成很重要。已知 TGF $\beta$ 1 或组织损伤可诱导 IL-11 的表达。从已发表的文献来看，IL-11 在纤维化中的作用尚不清楚。IL-11 被认为对肺纤维化和炎症很重要，其表达水平与皮肤和呼吸系统中的胶原水平相关。然而，大多数研究表明 IL-11 在心脏和肾脏中是抗纤维化的，在几种组织和慢性炎症疾病中是抗炎的。一般来说，IL-11 的分子作用模式被认为是通过 STAT3 介导的转录调节 RNA 表达的 mRNA 水平。

能够抑制 IL-11 作用的试剂可以阻止或减少 IL-11 与 IL-11 受体的结合。已有研究表明，施用能够抑制白细胞介素 11(IL-11)作用的试剂来治疗、预防或缓解需要治疗的受试者中的纤维化。因此，研究能够有效结合 IL-11 的抗体对于纤维化疾病的治疗具有极大价值。

### 发明内容

本发明开发一款具有高中和活性人源化的 Anti-IL-11 的抗体，以期用于纤维化相关疾病的治疗或预防。

在本发明的第一方面，本发明提出了一种能够特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段。根据本发明的实施例，所述抗体含有选自下列至少之一的 CDR 序列或与其具有至少 95%同一性的氨基酸序列：重链可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 1~33，轻链可变区 CDR 序列：SEQ IN NO: 34~66，所述抗体或其抗原结合片段具有人源化修饰。需要说明的是，本申请所述的“人源化修饰”是指能够使得所述抗体或其抗原结合片段的免疫原性降低的氨基酸的改变，包括氨基酸的突变、插入、缺失、化学基团的整合等等。

DYTFTNYW (SEQ ID NO:4)。

IYPGGGYT (SEQ ID NO:5)。

ARVRSGNDALDF (SEQ ID NO:6)。

ESVDEYGISF (SEQ ID NO:37)。

SAS (SEQ ID NO:38)。

QQSKEVPWT (SEQ ID NO:39)。

根据本发明实施例的上述人源化抗体的免疫源性降低，抗体能够特异性的靶向结合 IL-11，阻断 IL-11 和 IL-11 受体的结合。

根据本发明的实施例，上述抗体或抗原结合片段还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述抗体包括：分别如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 或者与 SEQ ID NO:4、5 和 6 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列。

根据本发明的实施例，所述抗体包括：分别如 SEQ ID NO: 37、38 和 39 或者与 SEQ ID NO: 37、38 和 39 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段特异性识别 IL-11。

根据本发明的实施例，所述抗体含有重链框架区序列和轻链框架区序列的至少之一，所述重链框架区序列和轻链框架区序列的至少之一的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体或其突变体的至少之一。

根据本发明的实施例，所述重链框架区包括 FL1、FL2、FL3 和 FL4，所述重链框架区 FL1、FL2、FL3 和 FL4 分别具有 SEQ ID NO: 67、68、69 和 70 所示的氨基酸序列，

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAS (SEQ ID NO: 67)，

LGWVRQAPGX1GLEWX2GH (SEQ ID NO: 68)，

NYNEKFKGRX3TX4TX5DTSTSTVYMESSLRSEDVAVYX6C (SEQ ID NO: 69)，

WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 70)，

其中，X1 为 Q 或 H, X2 为 M 或 I, X3 为 V 或 A, X4 为 M 或 L, X5 为 R 或 A, X6 为 Y 或 F。

根据本发明的实施例，所述轻链框架区包括 FL1、FL2、FL3 和 FL4，所述轻链框架区 FL1、FL2、FL3 和 FL4 分别具有 SEQ ID NO: 71、72、73 和 74 所示的氨基酸序列，

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS (SEQ ID NO: 71)，

MNWX7QQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO: 72)，

NQSGIPARFSGSGGTDFTLTSSLEPEDFAX8YX9C (SEQ ID NO: 73)，

FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)，

其中，X7 为 Y 或 F, X8 为 V 或 M, X9 为 Y 或 F。

根据本发明的实施例，所述抗体具有如 SEQ ID NO: 75~78 任一项所示氨基酸序列的重链可变区。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWMGHIYPGGGYTNYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 75)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKFKGRVTMTADTSTSTVYMESSLRSEDVAVYFCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 76)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGHGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 78)。

根据本发明的实施例，所述抗体具有如 SEQ ID NO: 79~82 任一项所示氨基酸序列的轻链可变区。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQSGIPARFSGS  
GSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 79)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQSGIPARFSGS  
GSGTDFLTISLEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 80)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQSGIPARFSGS  
SGTDFLTISLEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 81)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQSGIPARFSGS  
SGTDFLTISLEPEDFAMYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 82)。

根据本发明的实施例，所述抗体含有重链恒定区和轻链恒定区的至少之一，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体或其突变体的至少之一。

根据本发明的实施例，所述抗体恒定区的全长序列如 SEQ ID NO:83 或 84 所示。

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV  
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP  
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:83)。

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS  
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:84)。

其中，上述 SEQ ID NO:83 所示的抗体恒定区的全长序列包括 IgG1 重链恒定区和 Fc 区，其中，IgG1 重链恒定区序列为 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK；上述 SEQ ID NO:84 所示的抗体恒定区的全长序列为 IgG 轻链恒定区。

根据本发明的实施例，所述抗体具有 SEQ ID NO:85~88 任一项所示氨基酸序列的重链和具有 SEQ ID NO:89~92 任一项所示氨基酸序列的轻链。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWMGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN  
HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK  
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ  
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:85)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRVTMTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN  
HKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK  
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ  
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:86)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK  
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH  
KPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP  
REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:87)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASDYFTFTNYWLGWVRQAPGHGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSNDALDFWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK  
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH  
KPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP  
REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:88)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFYQQKPGQAPRLLIYSASNQGGIPARFSGS  
GSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN  
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
KSFNRGEC (SEQ ID NO:89)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFYQQKPGQAPRLLIYSASNQGGIPARFSGS

SGTDFTLTISSELEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
SFNRGEC (SEQ ID NO:90)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIYSASNQSGGIPARFSGSG  
SGTDFTLTISSELEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS  
FNRGEC (SEQ ID NO:91)。

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQQKPGQAPRLLIYSASNQSGGIPARFSGSG  
SGTDFTLTISSELEPEDFAMYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN  
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
SFNRGEC (SEQ ID NO:92)。

根据本发明的实施例，所述抗体为单链抗体、多聚体抗体、CDR 移植抗体或小分子抗体。

根据本发明的实施例，所述小分子抗体包括 Fab 抗体、Fv 抗体、单域抗体以及最小识别单位的至少之一。

在本发明的第二方面，本发明提出了一种核酸分子。根据本发明的实施例，所述核酸分子编码前面所述的抗体或其抗原结合片段。根据本发明实施例的核酸分子所编码的抗体或抗原结合片段免疫源性低，可特异性靶向结合 IL-11，阻断 IL-11 和 IL-11 受体的结合。

根据本发明的实施例，上述核酸分子还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述核酸分子为 DNA。

根据本发明的实施例，所述核酸分子具有如 SEQ ID NO:93~96 任一项所示核苷酸序列或具有 SEQ ID NO:97~100 任一项所示核苷酸序列。

CAAGTGCAGCTGGTTCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTAGCGTGAAGGTGTCT  
TGTAAGCCAGCGACTACACCTTTACCAATTACTGGCTGGGCTGGGTCAGACAGGCCCTGGCCAGG  
GCCTGGAATGGATGGGCCACATCTACCCCGGCGGAGGCTACACAACTACAACGAGAAGTTCAAGGG  
CAGAGTGACAATGACCAGAGATAACAAGCACCAGCACAGTGTATATGGAAGTGTCTAGCCTGCGGAGC  
GAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGCAGTCCGGCAACGACGCCCTGGATTTCTGGGGCC  
AGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCCCCCTC  
CTCTAAATCCACATCTGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCTG  
TGACAGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGAG  
CTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCTCTAGCCTGGGCACACAGACCTATA  
TCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCCTGTG  
ATAAGACACACACCTGCCCCCTTGTCTGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTAGCGTGTTCTGTTT  
CCACCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACACCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG

TGTCTCACGAGGATCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA  
GACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACTCTACATATAGGGTGGTGAAGCGTGTGACCGTGTGCTGCAC  
CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAATAAGGCCCTGCCC GCCCCATCG  
AGAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCTCCATCCA  
GAGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTAGCGATATC  
GCCGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACT  
CCGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG  
TTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCATAATCACTATACTCAGAAATCCCTGTCCCTGTCACCT  
GGAAAGTGATAA (SEQ ID NO:93)。

CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCCGAGGTGAAAAAGCCTGGAGCTAGCGTGAAGGTGTCC  
TGCAAGGCCAGCGACTACACCTTACCAACTATTGGCTGGGCTGGGTGCGGCAGGCCCTGGACAGG  
GCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACCCCGGAGGCGGCTACACCAATTACAACGAGAAGTTCAAGGG  
CAGAGTGACCATGACCGCCGATACAAGCACATCTACAGTGTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGAGAAGC  
GAGGATACAGCTGTTTACTTCTGTGCCAGAGTGGGTCCGGCAACGACGCCCTGGACTTTTGGGGCC  
AGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCCCCCTC  
CTCTAAATCCACATCTGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCTG  
TGACAGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGAG  
CTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCTCTAGCCTGGGCACACAGACCTATA  
TCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTGTG  
ATAAGACACACACCTGCCCCCTTGTCTGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTT  
CCACCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACACCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG  
TGTCTCACGAGGATCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA  
GACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACTCTACATATAGGGTGGTGAAGCGTGTGACCGTGTGCTGCAC  
CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAATAAGGCCCTGCCC GCCCCATCG  
AGAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCTCCATCCA  
GAGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTAGCGATATC  
GCCGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACT  
CCGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG  
TTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCATAATCACTATACTCAGAAATCCCTGTCCCTGTCACCT  
GGAAAGTGATAA (SEQ ID NO:94)。

CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCCGAGGTGAAAAAGCCTGGCGCTTCTGTGAAGGTGTCC  
TGCAAGGCCAGCGACTACACATTTACCAATTATTGGCTGGGCTGGGTGCGGCAGGCCCTGGACAGG  
GCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACCCCGGCGGAGGCTACACAACTACAACGAGAAGTTCAAGGG

CAGAGCCACACTCACCGCTGATACCAGCACAAGCACCGTGTACATGGAAGTGTGAGCAGCCTGAGAAG  
CGAGGACACCGCCGTGTACTTCTGTGCCAGAGTGCAGTCCGGCAACGACGCCCTGGATTTCTGGGGA  
CAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCCCCCT  
CCTCTAAATCCACATCTGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCT  
GTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGA  
GCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTAGCGTGGTGTGACAGTGCCTCCTCTAGCCTGGGCACACAGACCTAT  
ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCCTGT  
GATAAGACACACACCTGCCCCCTTGTCTGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTAGCGTGTTCCTGTT  
TCCACCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACACCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGAC  
GTGTCTCACGAGGATCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCA  
AGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACCTACATATAGGGTGGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGCA  
CCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAATAAGGCCCTGCCCCCCCCATC  
GAGAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCTCCATCC  
AGAGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTAGCGATAT  
CGCCGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGACAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGA  
CTCCGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACG  
TGTTACAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCATAATCACTATACTCAGAAATCCCTGTCCCTGTAC  
CTGGAAAGTGATAA (SEQ ID NO:95)。

CAAGTGCAGCTGGTTCAGAGCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTAGCGTGAAGGTGTCT  
TGTAAGCCAGCGACTACACATTTACCAATTAAGTGGCTGGGATGGGTCCGGCAGGCCCTGGCCACG  
GCCTGGAATGGATCGGCCACATCTACCCCGGCGGAGGATATACAAACGAGAAGTTCAAGGG  
CAGAGCCACCCTGACCGCTGATACATCTACAAGCACCGTGTACATGGAAGTGTGAGCAGCCTGAGAAGC  
GAGGATACCGCCGTGTACTTCTGCGCCAGAGTGCAGTCCGGCAACGACGCCCTGGACTTCTGGGGCC  
AGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCCCCCTC  
CTCTAAATCCACATCTGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCTG  
TGACAGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACATCCGGCGTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGAG  
CTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTAGCGTGGTGTGACAGTGCCTCCTCTAGCCTGGGCACACAGACCTATA  
TCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCCTGTG  
ATAAGACACACACCTGCCCCCTTGTCTGCTCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTT  
CCACCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACACCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG  
TGTCTCACGAGGATCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAA  
GACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACCTACATATAGGGTGGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGAC  
CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAATAAGGCCCTGCCCCCCCCATCG

AGAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCTCCATCCA  
GAGACGAGCTGACAAAGAACCAGGTGTCTCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCTAGCGATATC  
GCCGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCAGAGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGACT  
CCGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG  
TTCAGCTGTTCCGTGATGCACGAAGCCCTGCATAATCACTATACTCAGAAATCCCTGTCCCTGTACCT  
GGAAAGTGATAA (SEQ ID NO:96)。

GAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTACACTCTCCCTGTCCCCAGGGCAGCGGGCCACACTGT  
CTTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTCGACGAGTACGGCATTAGCTTCATGAACTGGTATCAGCAGAAACC  
TGGCCAGGCCCTAGACTGCTGATCTACAGCGCCTCCAACCAGGGCAGCGGCATCCCCGCTAGATTCA  
GCGGCAGCGGATCTGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGATTTTGCCGT  
GTACTACTGCCAGCAATCTAAGGAAGTGCCTTGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG  
AGGACAGTGGCCGCCCAAGCGTGTTTCATCTTTCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCG  
CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAGGCCAAGGTCCAGTGGAAAGGTGGATAA  
CGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCTAAGGATAGCACATATTCCC  
TGTCTAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGCCTGTGAAGTCAC  
CCATCAGGGGCTGTCATCACCCGTCACCTAAGTCATTCAATCGCGGAGAATGCTGATAA (SEQ ID NO:97)。

GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCTGTCCCTGAGCCCTGGCGAGCGGGCTACACTGT  
CTTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTCGACGAGTACGGCATCTCTTTTATGAACTGGTATCAGCAGAAACCT  
GGACAGGCCCTAGACTGCTGATCTACAGCGCCTCCAACCAGGGCAGCGGCATTCTGCTAGATTCA  
GCGGCAGCGGCTCCGGCACAGATTTACCCTCACCATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGT  
GTACTTCTGCCAGCAATCTAAGGAAGTGCATGGACATTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG  
AGGACAGTGGCCGCCCAAGCGTGTTTCATCTTTCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCG  
CCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAGGCCAAGGTCCAGTGGAAAGGTGGATAA  
CGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCTAAGGATAGCACATATTCCC  
TGTCTAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGCCTGTGAAGTCAC  
CCATCAGGGGCTGTCATCACCCGTCACCTAAGTCATTCAATCGCGGAGAATGCTGATAA (SEQ ID NO:98)。

GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGCCACCCTCTCCCTGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACACTGT  
CTTGTAGAGCTAGCGAGAGCGTCGACGAGTACGGCATCTCCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAACC  
TGGCCAGGCCCTAGACTGCTGATCTACAGCGCCAGCAACCAGGGCTCCGGAATTCCTGCTAGATTCA  
GCGGCTCTGGCAGCGGCACAGATTTTACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTTGCCGT  
GTACTTCTGCCAGCAAAGCAAGGAAGTGCCTTGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA  
GAGGACAGTGGCCGCCCAAGCGTGTTTCATCTTTCCCCCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCC  
GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAGGCCAAGGTCCAGTGGAAAGGTGGATA

ACGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCTAAGGATAGCACATATTC  
CCTGTCTAGCACCTGACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGCCTGTGAAGTC  
ACCCATCAGGGGCTGTCATCACCCGTCCTAAGTCATTCAATCGCGGAGAATGCTGATAA ( SEQ ID  
NO:99)。

GAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTACACTCTCCCTGAGCCCCGGCGAGCGGGCCACCCTGT  
CTTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGAGTACGGCATTAGCTTCATGAACTGGTTTCAGCAGAAACC  
TGGCCAGGCCCTAGACTGCTGATCTACAGCGCCTCCAACCAGGGCTCTGGCATCCCCGCTAGATTCA  
GCGGATCTGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGAACCAGAGGATTTTGCCAT  
GTACTTCTGCCAGCAAAGCAAGGAAGTGCCTTGGACCTTCGGCGGAGGCACAAAGCTGGAAATCAA  
GAGGACAGTGGCCGCCCAAGCGTGTTCATCTTTCCCCCTTCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACC  
GCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCTCGGGAGGCCAAGGTCCAGTGGAAAGGTGGATA  
ACGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCTAAGGATAGCACATATTC  
CCTGTCTAGCACCTGACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGCCTGTGAAGTC  
ACCCATCAGGGGCTGTCATCACCCGTCCTAAGTCATTCAATCGCGGAGAATGCTGATAA ( SEQ ID  
NO:100)。

在本发明的第三方面，本发明提出了一种表达载体。根据本发明的实施例，所述表达载体携带前面所述的核酸分子。根据本发明实施例的表达载体导入合适的受体细胞后，可在调控系统的介导下，有效实现前面所述的特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段表达，进而实现所述抗体或抗原结合片段的体外大量获得。

根据本发明的实施例，上述表达载体还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述表达载体为真核表达载体。进而实现前面所述的特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段在真核细胞中的表达，如 CHO 细胞。

在本发明的第四方面，本发明提出了一种重组细胞。根据本发明的实施例，所述重组细胞携带前面所述的核酸分子，或者表达前面所述的抗体或其抗原结合片段。根据本发明实施例的重组细胞可用于前面所述的特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段体外表达和大量获得。

根据本发明的实施例，上述重组细胞还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述重组细胞是通过将前面所述的表达载体引入至宿主细胞中而获得的。

根据本发明的实施例，通过电转导的方法将所述表达载体引入所述宿主细胞中。

根据本发明的实施例，所述重组细胞为真核细胞。

根据本发明的实施例，所述重组细胞为哺乳动物细胞。

在本发明的第五方面，本发明提出了一种药物组合物。根据本发明的实施例，所述药物组合物含有前面所述的抗体，前面所述的核酸分子，前面所述的表达载体或前面所述的重组细胞。根据本发明实施例的药物组合物中所包含的抗体或表达的抗体能够特异性的靶向结合 IL-11，阻断 IL-11 和 IL-11 受体的结合。

在本发明的第六方面，本发明提出了前面所述的抗体、前面所述的核酸分子、前面所述的表达载体或前面所述的重组细胞、前面所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或者肺纤维化 (Pulmonary fibrosis)，非酒精性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)，慢性心力衰竭 (Chronic heart failure, CHF) 或由成纤维细胞向纤维化转化所导致的疾病。

在本发明的第七方面，本发明提出了一种检测 IL-11 的试剂盒。根据本发明的实施例，所述试剂盒包括前面所述的抗体。前面所述的 IL-11 抗体能够特异性靶向结合 IL-11，根据本发明实施例的试剂盒可以实现 IL-11 的特异性检测，如当抗体结合有荧光基团时，可以采用荧光检测装置实现对 IL-11 的定位或实时检测。

在本发明的第八方面，本发明提出了前面所述的抗体、前面所述的核酸分子、前面所述的表达载体或前面所述的重组细胞在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测 IL-11 或者诊断 IL-11 相关的疾病。

本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出，部分将从下面的描述中变得明显，或通过本发明的实践了解到。

## 附图说明

本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：

图 1 是根据本发明实施例的优选抗体竞争性阻断 IL-11 与 IL-11R 结合的结果；

图 2 是根据本发明实施例的优选抗体竞争性阻断活性检测结果；

图 3 是根据本发明实施例的优选抗体株抑制肺成纤维细胞 HFL-1 向纤维化转化的 western 检测结果；

图 4 是根据本发明实施例的优选抗体株抑制肺成纤维细胞 HFL-1 向纤维化转化统计分析结果；

图 5 和图 6 是根据本发明实施例的优选抗体在 C57BL/6 小鼠中抑制肺纤维化结果。

图 7 是根据本发明实施例的优选人源化抗体热稳定性检测结果图；

图 8 是根据本发明实施例的人源化抗体竞争性阻断活性；

图 9 是根据本发明实施例的人源化抗体治疗后 SD 大鼠肺部炎症损伤评分；

图 10 是根据本发明实施例的人源化抗体治疗 SD 大鼠肺部纤维化评分；

图 11 是根据本发明实施例的亲和力成熟抗体结合活性；

图 12 是根据本发明实施例的亲和力成熟抗体竞争阻断活性；以及

图 13 是根据本发明实施例的抑制肝成纤维细胞 LX-2 向纤维化转化结果。

## 具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例，所述实施例的示例在附图中示出，其中自始至终相同或类似的标号表示相同或类似的元件或具有相同或类似功能的元件。

此外，术语“第一”、“第二”仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指

示的技术特征的数量。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括至少一个该特征。在本发明的描述中，“多个”的含义是至少两个，例如两个，三个等，除非另有明确具体的限定。

### 抗体

本文中，术语“抗体”包括完整抗体及其任何抗原结合片段(即，“抗原结合部分”)或单链。完整抗体是能够与特异性抗原结合的免疫球蛋白分子。包括两条分子量较轻的轻链和两条分子量较重的重链，重链(H链)和轻链(L链)由二硫键连接形成一个四肽链分子。其中，肽链的氨基端(N端)氨基酸序列变化很大，称为可变区(V区)，羧基端(C端)相对稳定，变化很小，称为恒定区(C区)。L链和H链的V区分别称为VL和VH。

术语“抗原结合片段”(或简称“抗体片段”)是指由包含一个或多个CDR的抗体的一部分形成的抗体片段。已显示抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段来行使。抗原结合部分的例子包括但不限于，可变区、Fab、Fab<sup>2</sup>、F(ab<sup>2</sup>)<sub>2</sub>、Fv片段、二硫化键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、多特异性抗体、纳米抗体(nanobody)。此外，尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由单独的基因编码，但是它们可以利用重组方法通过合成连接体连接在一起，该连接体使它们能够制成一条蛋白质链，其中VL和VH区配对形成单价分子(称为单链Fv(scFv))。这种单链抗体也预期包括在术语抗体的“抗原结合片段”内。这些抗体片段用本领域技术人员已知的常规技术获得，并用与完整抗体相同的方法对这些片段的实用性进行筛选。抗原结合片段能与亲本抗体结合相同的抗原。在一些实施方案中，抗原结合片段可包含一个或多个CDR嫁接到来自一个或多个不同人源抗体的框架区上。

在可变区中某些区域氨基酸组成和排列顺序具有更高的变化程度，称为高变区(Hypervariable region, HVR)，高变区为抗原和抗体结合的位置，因此也称为决定簇互补区(complementarity-determining region, CDR)。重链可变区和轻链可变区上均有三个CDR区。抗体可变区内高变区之外的氨基酸组成和排列顺序变化相对较小，称为框架区(FR)。VH和VL内各有4个框架区，分别以FR1、FR2、FR3和FR4表示。

本发明利用IL-11抗原，通过免疫获得了高特异性的高亲和力抗IL-11的Fab(antigen-binding fragment)抗体片段。利用该抗体片段能够与IL-11抗原特异性结合，从而可以靶向性治疗肺纤维化等疾病。

需要说明的是，“免疫原性”是指能引起免疫应答的性能，即抗原能刺激特定的免疫细胞，使免疫细胞活化、增殖、分化，最终产生免疫效应物质抗体和致敏淋巴细胞的特性。本申请的发明人进一步对筛选得到的鼠源的全新中和抗体序列进行人源化改造(人源化修饰)，得到人源化抗体，该人源化抗体既能保留亲本鼠单克隆抗体的亲和力和特异性，又大幅降低了其免疫原性，提高了其安全性。

在一些实施方案中，本发明提供了一种能够特异性识别IL-11的人源化抗体或者抗原结合片段，所述抗体含有选自下列至少之一的CDR序列或与其具有至少95%同一性的氨基酸序列：重链可变区CDR序列：SEQ ID NO: 1~33，轻链可变区CDR序列：SEQ IN NO: 34~66，所述抗体或其抗原结合片段具有人源化修饰。在另一些实施方案中，本发明所提供的抗体或者抗原结合片段与上述重链和轻链相比，具有保守氨基酸取代。“抗原结合片段”是指保持特异性结合抗原能力的抗体片段。“保守氨基酸取代”指的是氨基酸被另一氨基酸发生生物学上、化学上或者结构上相似的残基所取代。生物学上相似的指的是该取代不破坏

IL-11 抗体或者与 IL-11 抗原结合的生物学活性。结构上相似指的是氨基酸具有相似长度的侧链，如丙氨酸、甘氨酸或丝氨酸，或具有相似大小的侧链。化学相似性指的是氨基酸具有相同的荷电或者都是亲水或者疏水的。例如疏水残基异亮氨酸、缬氨酸、亮氨酸或者甲硫氨酸相互取代。或者极性氨基酸相互取代，例如用精氨酸取代赖氨酸、谷氨酸取代天冬氨酸、谷氨酰胺取代天冬酰胺，丝氨酸取代苏氨酸等等。

在一些实施方案中，本发明提供了一种抗体或抗原结合片段，所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 75~78 任一项所示氨基酸序列的重链可变区和具有如 SEQ ID NO: 79~82 任一项所示氨基酸序列的轻链可变区。发明人通过抗体序列比对数据库 (NCBI、IMGT) 可得到上述抗重链可变区序列的 CDR 区 (如 SEQ ID NO: 4~6 所示) 和轻链可变区序列的 CDR 区 (如 SEQ ID NO: 37~39 所示)。在另一些实施方案中，所述抗体或抗原结合片段的重链可变区序列与 SEQ ID NO: 75~78 所示氨基酸序列相比，具有保守氨基酸取代。在一些实施方案中，所述抗体或抗原结合片段的轻链可变区序列与 SEQ ID NO: 79~82 任一项所示氨基酸序列相比，具有保守氨基酸取代。当然，这些保守氨基酸取代不会对抗体或者抗原结合片段的生物学功能带来改变。在一些具体方式中，这些保守氨基酸取代可以发生在重链可变区和轻链可变区中除了 CDR 区之外的氨基酸上。

在一些优选方案中，本发明提供了一种抗 IL-11 抗体，该抗体具有 SEQ ID NO: 85~88 任一项所示氨基酸序列的重链和具有 SEQ ID NO: 89~92 任一项所示氨基酸序列的轻链。

在一些优选方案中，本发明提供了一种抗 IL-11 单链抗体。

#### 核酸分子、表达载体、重组细胞

在制备或者获取这些抗体的过程中，可以利用表达所述抗体的核酸分子，与不同的载体连接，然后在不同细胞中表达，来获得相应抗体。

为此，本发明还提供了一种分离的核酸分子，所述核酸分子编码上述所述的抗体或抗原结合片段。

在一些实施方案中，所述分离核酸分子具有如 SEQ ID NO: 93~96 任一项所示核苷酸序列或具有 SEQ ID NO: 97~100 任一项所示核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述分离的核酸分子与上述 SEQ ID NO: 93~96 所示的核苷酸序列至少具有 90% 以上的同源性，优选具有 95% 以上的同源性，更优选具有 98%、99% 以上的同源性。在至少一些实施方案中，所述分离的多核苷酸与上述 SEQ ID NO: 97~100 所示的核苷酸序列至少具有 90% 以上的同源性，优选具有 95% 以上的同源性，更优选具有 98%、99% 以上的同源性。这些与 SEQ ID NO: 93~96 或者 SEQ ID NO: 97~100 所示核苷酸序列具有同源性的序列，能够表达与 SEQ ID NO: 85~88 和 SEQ ID NO: 89~92 相似的氨基酸，从而能够与 IL-11 抗原特异性结合，实现抗体的靶向性功能。

在一些优选实施方式中，所述分离的核酸分子具有 SEQ ID NO: 93~96 所示的重链核苷酸序列和 SEQ ID NO: 97~100 所示的轻链核苷酸序列。这些核苷酸序列经过种属优化，更易在哺乳动物细胞中表达。

本发明还提供了一种表达载体，所述表达载体包含上述分离的核酸分子。在将上述分离的多核苷酸连接到载体上时，可以将多核苷酸与载体上的控制元件直接或者间接相连，只要这些控制元件能够控制多核苷酸的翻译和表达等即可。当然这些控制元件可以直接来自于载体本身，也可以是外源性的，即并非来自

于载体本身。当然，多核苷酸与控制元件进行可操作地连接即可。本文中“可操作地连接”是指将外源基因连接到载体上，使得载体内的控制元件，例如转录控制序列和翻译控制序列等等，能够发挥其预期的调节外源基因的转录和翻译的功能。当然用来编码抗体重链和轻链的多核苷酸，可以分别独立的插入到不同的载体上，常见的是插入到同一载体上。常用的载体例如可以为质粒、噬菌体等等。例如 Plasmid-X 质粒。

本发明还提供了一种重组细胞，该重组细胞中包含有该表达载体。可以将表达载体导入到哺乳动物细胞中，构建获得重组细胞，然后利用这些重组细胞表达本发明提供的抗体或者抗原结合片段。通过该重组细胞进行培养，即可以获得相应抗体。这些可用的哺乳动物细胞例如可以为 CHO 细胞等。

#### 药物组合物、试剂盒及制药用途和在制备试剂盒中的用途。

本发明还提供了一种药物组合物，所述药物组合物包括上述抗体或者抗原结合片段和药学可接受的载体。

本文提供的抗 IL-11 抗体可以掺入适合受试者施用的药物组合物中。通常，这些药物组合物包括本文提供的抗 IL-11 抗体以及药学上可接受的载体。

“药学上可接受的载体”可以包括生理学上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和延迟吸收剂等等。具体实例可以是水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、葡萄糖、甘油、乙醇等以及它们的组合物中的一种或多种。有许多情况下，药物组合物中包括等渗剂，例如糖类、多元醇(如甘露醇、山梨醇)或氯化钠等。当然药学上可接受的载体还可包括微量的辅助物质，例如润湿剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂，用来延长抗体的保存限期或效力。

例如，本发明的抗体可掺入适用于胃肠外施用(例如静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内)的药物组合物中。这些药物组合物可以被制备成各种形式。例如液体、半固体和固体剂型等，包括但不限于液体溶液(例如，注射溶液和输注溶液)、分散剂或悬浮剂、片剂、丸剂、粉末、脂质体和栓剂。典型的药物组合物为注射溶液或输注溶液形式。所述抗体可通过静脉输注或注射或肌肉内或皮下注射来施用。

当然，本文中的抗 IL-11 抗体还可以根据需要被制成试剂盒或者其他诊断性试剂的一部分。根据本发明的实施例，本发明还提供了一种试剂盒，所述试剂盒包括上述 IL-11 抗体。应用本发明提供的试剂盒，例如可以用于免疫印迹、免疫沉淀等涉及到利用 IL-11 抗原和抗体特异性结合性能，来检测的试剂盒等。这些试剂盒可包含下列中的任意一种或多种：拮抗剂、抗 IL-11 抗体或者药物参照材料；蛋白纯化柱；免疫球蛋白亲和纯化缓冲剂；细胞的测定稀释剂；说明书或者文献等。抗 IL-11 抗体可被用于不同类型的诊断测试，例如可以在体外或者体内检测各种各样的疾病或者药物、毒素或者其他蛋白等的存在。例如可以通过对受试者的血清或者血液进行检测，用来测试相关疾病。这种相关疾病可包括 IL-11 相关疾病，例如肺纤维化等等。当然本文提供的抗体也可以用于上述疾病的放射免疫检测和放射免疫治疗等等。

在利用本发明所提供的抗 IL-11 抗体治疗上述疾病时，可以将本发明提供的抗 IL-11 抗体提供给受试者即可。为此，本发明提供了一种用于治疗 and/or 预防上述疾病的方法，包括向有需要的受试者施用本发明所提供的所述抗体或其抗原结合片段、核酸分子、表达载体、重组细胞或药物组合物。

下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解，下面的实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的，按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

### 实施例 1 重组人源蛋白抗原 hu-IL-11-His tag 的生产

载体的构建：人源 IL-11 氨基酸序列通过全球公共数据库 UniProt (P20809: 124294) 获得。采用分子克隆的方法，构建了含人源 IL-11 基因序列的 pcDNA3.4 表达载体（购自 Thermo Fisher Scientific）。采用电转染的方法，将编码人源 IL-11 的载体转染至哺乳动物细胞 CHO 进行表达 14 天。待表达完成收获细胞上清液，采用 HisTrap HP（镍柱）（GE healthcare, Cat: 17524801）进行初步纯化，然后再采用 Superdex75（GE healthcare, Cat: 29148721）进行精细纯化，最终获得可以用于免疫动物的重组蛋白抗原 hu-IL-11-His tag。

### 实施例 2 动物免疫

为了得到能分泌针对 hu-IL-11 抗体的小鼠，发明人对雌性 Balb/c 小鼠进行免疫。雌性 Balb/c 购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司 (Hunan SJA Laboratory Animal Co., Ltd)。将实施例 1 获得的所述重组蛋白抗原 hu-IL-11-His tag 与免疫佐剂经充分乳化后进行动物免疫，免疫流程见表 1。

表 1：免疫动物安排表

免疫时间点 (Day)	免疫原剂量	免疫方式
0	50 $\mu$ g hu-IL-11-His tag 与 CFA 等体积混合	腹腔多点注射
14	50 $\mu$ g hu-IL-11-His tag 与 IFA 等体积混合	腹腔多点注射
28	50 $\mu$ g hu-IL-11-His tag 与 IFA 等体积混合	腹腔多点注射
35	无	眼眶采血
38	50 $\mu$ g hu-IL-11-His tag	尾静脉注射
41	无	小鼠处死取脾脏

第 35 天收获少量的小鼠眼眶血，采用常规的 Elisa 方法进行抗体效价检测。

### 实施例 3 抗体分泌细胞融合与筛选

分离的小鼠脾细胞与永生化的小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0 融合，并使用含  $10^{-4}$  M Hypoxanthine,  $4 \times 10^{-7}$  M Aminopterin,  $1.6 \times 10^{-5}$  M Thymidine 的 RPMI-1640 完全培养基静置培养约 14 天，待融合细胞长出克隆团后进行抗体亲和力的检测筛选。选取与 IL-11 结合的抗体克隆株，取其上清，再进行流式细胞术测定抗原抗

体的竞争结合, 选出高分泌特异性抗体细胞株进行扩大培养及冻存, 结果见表 2。具体方法是首先通过 Elisa 筛选获得与 IL-11 具有高亲和力的抗体株 (OD450nm 即为测定的亲和力值), 其中 P.C.为采用购买的 IL-11 抗体 (Abcam, ab130083) 与 IL-11 蛋白之间的结合作为阳性对照。其次, 通过构建稳定表达 IL-11R 的细胞株, 并用适量的 IL-11 蛋白与杂交瘤上清混合后, 与稳定表达有 IL-11R 的细胞株进行共孵育, 最终通过流式检测杂交瘤上清对 IL-11/IL-11R 之间的阻断效果 (FITC-A mean 值), 其中 N.C.是未加杂交瘤上清检测的值, 可以视其为完全没有阻断下的值 (Negative control)。表 2 中下划线表示选定的克隆株, 经过多轮亚克隆化, 最终得到单个抗体分泌细胞来源的单克隆抗体, 其单克隆抗体所检测的亲和力 (OD450nm) 与流式阻断结果见表 3。

表 2: Elisa 亲和实验及流式竞争实验检测结果

Clone(No.)	OD(450nm) value	FITC-A mean	Clone(No.)	OD(450nm) value	FITC-A mean	Clone(No.)	OD(450nm) value	FITC-A mean
3-1A2	2.243	12538	3-12F10	0.628	17067	5-5F5	2.768	4564
3-2A12	1.781	13334	3-13F11	1.915	15967	5-5F8	2.532	9436
3-2B2	1.084	13285	3-13G12	2.732	15312	5-5F11	2.627	12273
<u>3-2B5</u>	3.432	13837	3-13H1	1.41	13551	5-6F1	2.677	11496
3-3B9	1.777	13049	3-13H8	2.066	14323	5-6G5	2.679	10201
3-3G9	3.078	11577	3-15A11	1.214	16661	5-7B4	2.751	6587
3-3G11	2.943	13959	3-15C4	1.318	15017	5-9E12	2.049	10707
3-4G12	2.991	14418	<u>3-15D5</u>	2.894	11919	5-9D7	2.129	10127
3-4H1	2.876	12658	3-15D10	2.402	15064	5-9G8	3.591	6747
3-4H4	2.736	14459	3-17D12	2.48	15572	5-8G1	3.714	10460
3-4H12	3.33	13876	3-17E7	2.372	13301	5-10D3	3.201	10041
<u>3-5B2</u>	3.264	11001	3-18C11	2.566	14884	5-10F6	2.311	10472
3-5D11	1.068	13000	3-18C12	3.504	16114	5-12B1	2.351	9782
3-5G12	1.907	14267	3-19E8	3.412	15279	5-14B10	2.54	11385
<u>3-6A4</u>	2.656	750	3-20F12	3.496	14504	5-14C3	3.654	7672
3-7C1	2.661	13349	5-1A2	2.765	6217	5-17C11	3.462	11718
3-7C6	2.589	11605	5-1B12	2.865	4613	<u>5-20E11</u>	3.649	4330

<u>3-7C9</u>	2.722	11406	5-1E9	2.531	4638	<u>5-21G2</u>	3.545	4946
3-7G12	2.959	12412	5-2E11	2.921	5218	5-21H7	3.25	11385
3-7H5	1.995	13161	5-2F11	2.275	5625	5-22C4	3.561	6019
3-8H12	2.926	13360	5-2G11	2.948	5045	5-24F6	3.571	9954
3-9C12	1.915	14499	5-3E8	2.775	4897	5-25D3	1.87	3713
3-9D12	2.732	13833	5-3G12	2.77	8573	P.C.(Eli sa)	3.62	N/A
<u>3-9E1</u>	2.894	13822	5-4C9	2.034	5933	N.C.( 流式)	N/A	24596

注：表 2 中的 N/A 表示：无数据

表 3：Elisa 亲和实验及流式竞争实验检测结果

样品编号	OD450	FITC Mean	样品编号	OD450	FITC Mean
3-6A4	1.584	3036	3-5B2-2G4	1.65	19751
5-20E11-5F2	1.596	3109	5-21G12-1D3	1.528	3362
5-20E11-1A2	1.634	3635	3-5B2-7A4	1.636	20958
3-15D5-3A6	1.688	10944	3-9E1-3A2	1.544	9067
3-7C9-1A6	1.601	3148	3-15D5-6A1	1.511	13639
3-2B5-3D2	1.614	15289	N.C.(流式)	N/A	18433

注：表 3 中的 N/A 表示：无数据；因 3-6A4 在亚克隆化后的细胞经测序与亚克隆化前的序列一致，故其编号与表 2 中的编号相同。

#### 实施例 4 单克隆抗体序列测定

取  $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  个杂交瘤细胞，用 Takara MiniBEST Universal RNA Extraction Kit 试剂盒提取总 RNA，用 PrimeScript RT Reagent Kit (Takara 公司) 试剂盒反转录出 cDNA。以上步骤按照厂家提供的说明书进行。抗体重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL) 基因扩增引物设计主要参考 Ig-Primer Sets (Novagen 公司，货号：69831-3) 中的引物对，由华大基因公司合成。从 cDNA 第一链中扩增重链可变区和轻链可变区基因，克隆到 pMD18-T 载体中，转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  后，挑取克隆由华大基因公司测序获得重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL) 基因序列。测序得到的抗体序列如下 SEQ ID NO:101-122 所示。

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTNGINWVKQAAGKGLKWMGWINTNTGPEPTNAEELKG  
RFAFSLETSASTAYLQINNLIKNEAAIYFCAREGAFGLDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG  
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN

TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY  
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:101)。

QVQLQQSGAELVRPGTSAKISCKASDYFTFTNYWLGWLKQRPGHGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKFK  
GKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARVRSNDALDFWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS  
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK  
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN  
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS  
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:102)。

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTNTGEPTYAEEIK  
GRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCSREGIYGMDSWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG  
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN  
TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY  
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:103)。

QVQLKESGPGLVAPSQSLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGIWAGGRTDYNALVSRL  
NISKDNSKSQVFLKMHSQTDDTAMYICAREGGYDYDGLWTTGVKEPQSPSQASTKGPSVFPLAPSS  
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN  
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK  
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ  
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV  
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:104)。

QVQLKQSGPGLVLPQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWFRQSPGTGLEWLGIWSSGITDYNATFI.PRLSI  
SKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCARNFDGYYSIDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG  
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN  
TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY  
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:105)。

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGAIWRRGGSTDYNAAFMSR

LSITKDNSKSQVFFKMNSLQPDDTAIYYCAKNLYGPAAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST  
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP  
 SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN  
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS  
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:106)。

QIQLVQSGPELKKPGETVNISCRASGDTFTNYAVNWVKQAPGKGLKWMGWIDTYTGDPTYADDLK  
 GRFAFSLETSATTAYLQINNKNEDTATYFCAGDTWFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG  
 TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT  
 KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV  
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV  
 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:107)。

QVTLKESGPILQPSQTLSTCSFSGFSLSSGMSVWIRQPSGKGLEWLAHIWWSDDKSYNPALKSR  
 LTISKDTSNNQVFLKIASVVTADTATYYCAREGLGYGLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS  
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS  
 NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW  
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
 QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:108)。

EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFRRYWMSWVRQAPGKLEWIGQINPDSSMINYTPSLKD  
 KFIISRDNAKNTLYLQMSVRS EDTALYYCATYGHATDSWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG  
 GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN  
 TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY  
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ  
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ  
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:109)。

QVQLQQPGAELVRPGTSVKMSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSDSTNYHEKFK  
 SKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCALDSSGYGFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST  
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP  
 SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN  
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS

RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:110)。

EVQLVESGGGLVQPGEESLKLSCDSNDYEFPSHDMSWVRKTPEKRLELVAAINSDDGGNTYYPDTMER  
RFIISRDNTKRTLYLQMSLRSEDALHYCARPRPTIGTTATGSSMSGAGQPRASSTKGPSVFPLAPSSKSTS  
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS  
NTKVDKKEVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW  
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:111)。

SIVMTQSPKFLVLSAGDRVIITCKASQSVSNDVVWYQQKPGQSPKLLIYYGSHRNTGVPTRFTGSGY  
GTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDFSPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS  
FNRGEC (SEQ ID NO:112)。

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDEYGISFMNWFQQKPGQPPRLLIYSASNQGGVPARFTGS  
GSGTDFSLNILPMEEDDTAMYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL  
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV  
TKSFNRGEC (SEQ ID NO:113)。

SIVMTQTPKFLVLSAGDRVTITCKASQSVSNDVVWYRQKPGQSPKLLIYYASNRYIGVPDRFTGSGY  
GTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS  
FNRGEC (SEQ ID NO:114)。

DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNSGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRF  
SGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPPDVRWRHQAGNQRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLS  
SPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:115)。

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNSLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFTGSGSG  
TDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY  
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN  
RGEC (SEQ ID NO:116)。

DIQMNQSPSSLSASLGDITITCHANQNIYVWLSWYQQKPGNIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSG  
TGFTLTISLQPEDATYYCQQGQSYPTYTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY  
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN  
RGEC (SEQ ID NO:117)。

DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLLYSRNQKNRLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDR

FTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQQYYSYPRTFGGGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLS  
 SPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:118)。

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHTDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFS  
 GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPVWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC  
 LLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSS  
 PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:119)。

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGS  
 GSRTDFTLINPVEADDVATYYCQSNEDPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN  
 NFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
 KSFNRGEC (SEQ ID NO:120)。

NIVMTQTPKFLVLSAGDRVTITRKASQSVSNDVVWYQQKPGQSPKLLMYASYRYTGVPDRFTGSG  
 YGTDFTFTISNVQAEDLAVYFCQQDYSSPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN  
 FYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
 KSFNRGEC (SEQ ID NO:121)。

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSTYNYMHWYQQKPGQPPKLLIYASNLESGVPARFSG  
 SSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN  
 NFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVT  
 KSFNRGEC (SEQ ID NO:122)。

上述 SEQ ID NO:101 和 112 所组成的抗体被称为 3-6A4，上述 SEQ ID NO:102 和 113 所组成的抗体被  
 称为 5-20E11-5F2，上述 SEQ ID NO:103 和 114 所组成的抗体被称为 3-5B2-2G4，上述 SEQ ID NO:104 和  
 115 所组成的抗体被称为 3-5B2-7A4，上述 SEQ ID NO:105 和 116 所组成的抗体被称为 3-2B5-3D2，上述  
 SEQ ID NO:106 和 SEQ ID NO:117 所组成的抗体被称为 3-7C9-1A6，上述 SEQ ID NO:107 和 SEQ ID NO:118  
 所组成的抗体被称为 3-9E1-3A2，上述 SEQ ID NO:108 和 SEQ ID NO:119 所组成的抗体被称为 3-15D5-  
 3A6，上述 SEQ ID NO:109 和 SEQ ID NO:120 所组成的抗体被称为 3-15D5-6A1，上述 SEQ ID NO:110 和  
 SEQ ID NO:121 所组成的抗体被称为 5-20E11-1A2，上述 SEQ ID NO:111 和 SEQ ID NO:122 所组成的抗体  
 被称为 5-21G2-1D3。

#### 实施例 5 抗体亚型鉴定

将优选抗体株对应的单克隆杂交瘤细胞株采用常规方法注射到 Balb/C 小鼠中进行腹水抗体的生产及  
 纯化。利用纯化的抗体进行抗体亚型分析，抗体亚型检测方法采用成熟的试剂盒进行检测 (Proteintech,  
 KMIM-2)，结果如下表 4 所示。

表 4:

抗体 亚型 OD值	3-5B2- 2G4	3-5B2- 7A4	3-2B5- 3D2	3-6A4	3-7C9- 1A6	3-9E1- 3A2	3-15D5- 3A6	3-15D5- 6A1	5- 20E11- 1A2	5-21G2- 1D3	5- 20E11- 5F2
IgG1	0.307	1.207	0.113	3.098	0.475	0.501	0.241	0.402	1.853	1.231	2.457
IgG2a	0.055	0.071	0.063	0.095	0.081	0.072	0.096	0.074	0.265	0.075	0.293
IgG2b	0.051	0.307	0.823	0.071	0.086	0.075	0.474	0.075	0.088	0.053	0.285
IgG3	0.091	0.091	0.057	0.057	0.106	0.074	0.097	0.065	0.177	0.055	0.155

### 实施例 6 单克隆抗体表达纯化

发明人将优选的单克隆抗体株 3-6A4 及 5-20E11-5F2 序列采用基因工程的方法构建至常规的表达载体中，然后在 CHO 细胞中进行表达。表达完成后采用 Protein G 层析柱(EzFast Protein G 4FF, 博格隆)对收集的细胞培养液进行纯化，平衡液为 20mM PBS, 0.15M NaCl, pH7.4, 洗脱液为 0.1M 甘氨酸 pH3.0±0.2, 收集目标吸收峰下蛋白洗脱液，用 PBS 缓冲液超滤后，取部分样品进行 SDS-PAGE 电泳检测，并采用 SEC-HPLC 方法测定多聚体含量。抗体的多聚体含量均在 3%以内。

### 实施例 7 抗体竞争性阻断 IL-11 与 IL-11R 结合

为了检测优选抗体 3-6A4 及 5-20E11-5F2 的竞争结合情况，发明人通过在 Elisa 检测板中包被适量的 IL-11R-His 蛋白，过夜孵育。然后通过加入适量的 IL-11-Fc 蛋白，并与不同浓度梯度的抗体进行共孵育。最后采用 HRP 耦联的 Goat anti IgG-Fc 二抗 (ThermoFisher, 31413) 及 TMB 显色底物进行检测。发明人检测到优选抗体及 6D9A1 (Abcam, ab130083)均能不同程度的抑制 IL-11 与 IL-11R 的结合，结果如图 1 所示。

### 实施例 8 抗体的交叉反应

IL-6 细胞因子家族成员包括 IL-6, IL-11, CNTF, CLC, LIF, CT-1, OSM, IL-27, IL-31。IL-11 属于 IL-6 细胞因子家族成员。发明人采用常规 Elisa 方法包被重组 IL-6 (Sinobiological-10395-HNAE), IL-27 (R&D systems, 2526-IL-010), LIF (Peprotech, 300-05), CLC (R&D systems, 962-CL-050), IL-11 (LSBio, LS-G132887-10), OSM (Genscript-z03132), IL-31 (Peprotech, 200-31), CNTF (R&D systems, 257-NT-010), CT-1 (R&D systems, 612-CD-010)蛋白，并检测了优选抗体 3-6A4 及 5-20E11-5F2 与 IL-6 细胞因子家族成员的结合情况。结果表明优选抗体除与 IL-11 细胞因子结合外，不与 IL-6 细胞因子家族其他成员发生交叉反应，Elisa 结果(OD450 nm)如下表 5 所示。

表 5: 抗体株 3-6A4 及 5-20E11-5F2 与 IL-6 细胞因子家族不同成员的结合检测

	IL-6	IL-27	OSM	CLC	LIF	IL-31	CNTF	CT-1	IL-11
3-6A4	0.039	0.035	0.102	0.042	0.084	0.088	0.064	0.041	1.884
5-20E11- 5F2	0.049	0.048	0.045	0.033	0.037	0.036	0.036	0.034	1.926

### 实施例 9 IL-11 单克隆抗体与抗原结合的亲和力测定

应用生物膜干涉技术 (BLI) 测定, 采用 Ni-NTA 传感器捕获抗原 IL-11 (His tag), 优选抗体株 3-6A4 及 5-20E11-5F2 作为分析物, 分析物稀释 7 个浓度梯度, 结合时间为 60s, 解离时间为 1000s。缓冲液为 20mM PBS, 0.15M NaCl, 0.1% BSA, 0.05% Tween 20, pH7.4。BLI 动力学/亲和力软件分析, 获得优选抗体与对应 hu-IL-11 配体的解离常数 (kdis) 及亲和力常数(KD), 具体结果见下表 6, 其中, 本实施例采用 Pall ForteBio (Octet QKe) 仪器测定抗体对抗原的亲和力。

表 6:

样品 ID	Conc. (nM)	Response	KD (M)	kon(1/Ms)	kon Error	kdis(1/ s)	kdis Error	Full X <sup>2</sup>	Full R <sup>2</sup>
3-6A4	41.7	1.0442	3.93E-11	1.06E+06	2.08E+ 04	4.16E- 05	2.39E- 06	0.01799 2	0.9994 88
5- 20E11- 5F2	166.7	1.2727	6.90E-11	1.75E+05	3.19E+ 03	1.21E- 05	2.94E- 06	0.05136 3	0.9991 71

### 实施例 10 抗体竞争性阻断活性检测

为了评估优选 Anti-huIL-11 抗体 3-6A4 及 5-20E11-5F2 与 IL-11 的结合, 以及能否阻断配体与受体间的结合, 发明人构建了稳定表达全长 IL-11R 的细胞株 membrane-IL-11R CHO, 利用流式方法检测候选抗体及商业化抗体 6D9A1 (Abcam, ab130083) 对 IL-11 与 IL-11R 的阻断活性。首选适量的带有 Fc 标签的 IL-11 重组蛋白与不同梯度的抗体共孵育 15mins, 然后再与 1 E+05 个 membrane-IL-11R CHO 细胞孵育。检测采用的二抗为耦联有 FITC 荧光基团的二抗 (Goat-anti-Fc-FITC) (Abcam, ab98529), 竞争结合结果表明 3-6A4 抗体中和活性 IC50 约为 7 $\mu$ g/mL; 5-20E11-5F2 抗体中和活性 IC50 约为 21 $\mu$ g/mL, 并且候选抗体的阻断活性明显优于 6D9A1 克隆株抗体的阻断活性, 结果如图 2 所示。

### 实施例 11 抗体株抑制肺成纤维细胞 HFL-1 向纤维化转化

HFL-1 细胞作为肺成纤维细胞, 当被促纤维化因子如 TGF-beta1 (TGF $\beta$ ) 诱导后会大量表达 IL-11 细胞因子, 最终向纤维化转化。当 HFL-1 细胞向纤维化转化过程中, 标志物 ACTA2 蛋白会不断累积。在此实例中, 发明人采用 TGF-beta1 细胞因子诱导 HFL-1 细胞向纤维化转化的同时加入优选 3-6-A4 及 5-20E11-5F2 抗体株时, 培养 48h 后, 收取细胞进行 western 检测分析, 可以看到, 相较于同时加入 IgG (Mouse anti IgG control, Invitrogen, Catalog# 02-6502) 组, 不同浓度的优选抗体均能够抑制 HFL-1 细胞向纤维化转化 (ACTA2 蛋白表达量降低), 如图 3 及对应的统计分析图 4。

### 实施例 12 抗体在 C57BL/6 小鼠中抑制肺纤维化

在由博来霉素诱导 C57BL/6 小鼠肺纤维化的动物模型中，具体来说，将 10 周龄的 C57BL/6 进行戊巴比妥麻醉剂全身麻醉后，经手术曝露出小鼠肺的主气管，然后采用滴注或雾化的方式向气管内注入适量的博来霉素。小鼠经过七天的博来霉素诱导后，肺部纤维化基本呈现。在第八天时，发明人按每隔一天的方式进行注射优选抗体 5-20E11-5F2 或同型对照抗体 IgG。连续注射 14 天后，将小鼠处死取其肺，进行肺部的炎症损伤检测以及纤维化评分检测。此药效模型下，可以看到候选抗体株可以减缓小鼠肺纤维化，结果如图 5 和图 6 所示。

### 实施例 13 IL-11 抗体的人源化改造

采用互补决定区嫁接法 (CDR grafting) 来进行上述实施例 IL-11 抗体的人源化。首先寻找与鼠源抗体的轻、重链可变区同源性最高的人胚系抗体 (germline antibody) 序列，抗体重链可变区人源化选取的胚系为 IGHV1-46\*01，轻链可变区人源化选取 IGKV3-11\*01。保留鼠源抗体的 CDR 区，将鼠源抗体的框架区 (framework) 序列用人胚系抗体的框架区序列替换。其次，建立鼠源抗体 Fv 片段结构模型，在 PDB 抗体数据库中进行 BLAST，选定结构 INQB 作为模板进行同源建模。逐个对比人源抗体与相应鼠源抗体结构模型中的每个不同氨基酸位点，选择不符合 FR 结构规范的氨基酸、位于 FR 内核的氨基酸、位于 VH-VL 界面的氨基酸，回复突变为鼠源序列。

获得的 IL-11 人源化抗体的重链可变区和轻链可变区的序列如 SEQ ID NO: 75~78 所示和 SEQ ID NO: 79~82 所示。

IL-11 人源化抗体重链可变区序列 (VH1) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWMGHIYPGGGYTNYNEK  
FKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 75)。

IL-11 人源化抗体重链可变区序列 (VH2) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRVTMTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 76)。

IL-11 人源化抗体重链可变区序列 (VH3) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGQGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77)。

IL-11 人源化抗体重链可变区序列 (VH4) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTNYWLGWVRQAPGHGLEWIGHIYPGGGYTNYNEKF  
KGRATLTADTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYFCARVRSGNDALDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 78)。

IL-11 人源化抗体轻链可变区序列 (VL1) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFYQQKPGQAPRLLIYSASNQSGIPARFSGS  
GSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 79)。

IL-11 人源化抗体轻链可变区序列 (VL2) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQGSIGIPARFSGS  
GSGTDFTLTISSELEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 80)。

IL-11 人源化抗体轻链可变区序列 (VL3) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQGSIGIPARFSGS  
SGTDFTLTISSELEPEDFAVYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 81)。

IL-11 人源化抗体轻链可变区序列 (VL4) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDEYGISFMNWFQKPGQAPRLLIYSASNQGSIGIPARFSGS  
SGTDFTLTISSELEPEDFAMYFCQQSKEVPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 82)。

合成编码 IL-11 人源化抗体的轻链和重链的核酸序列, 并插入到真核表达载体 pcDNA3.4 中, 将 4 个重链序列的载体分别与 4 个轻链序列的载体配对, 共转染至哺乳动物细胞 CHO 中进行表达, 得到 scFv 形式的单链抗体。一周后收集包含有 scFv 抗体的上清液进行亲和力检测。

#### 实施例 14 IL-11 人源化单链抗体(scFv)亲和力排序

用 Biacore 测定实施例 13 获得的各人源化单链抗体表达上清 scFv 与 IL-11 的结合, 其中, 所述人源化单链抗体中的连接肽为 GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:123), 根据解离常数  $k_d$  (1/s) 进行排序, 优选出 3 个解离常数  $k_d$  (1/s) 最小的人源化抗体。测定方法包括如下步骤: 以  $10\mu\text{L}/\text{min}$  的流速捕获人源化单链抗体。切换流速到  $30\mu\text{L}/\text{min}$ , 将  $400\text{nM}$  的 IL-11 抗原流经样品通道, 结合时间为 180s, 解离时间为 600s。最后用  $10\text{mM}$  甘氨酸缓冲液再生芯片。结果如表 7 所示, 人源化单链抗体“VH1+VL2”-scFv、“VH1+VL3”-scFv、“VH1+VL4”-scFv 与 IL-11 解离的速度比其他的人源化单链抗体慢。

表 7: IL-11 人源化抗体与 IL-11 抗原的亲和力

Ligand	Analyte	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi <sup>2</sup> (RU <sup>2</sup> )
BLANK(PBS)	IL-11	NA	NA	NA	NA	NA
NC(culture medium)	IL-11	NA	NA	NA	NA	NA
“VH1+VL1”-scFv	IL-11	3.51E+04	7.58E-04	2.16E-08	257.1	8.24E-01
“VH1+VL2”-scFv	IL-11	4.13E+04	4.61E-04	1.12E-08	247.2	5.66E-01
“VH1+VL3”-scFv	IL-11	3.55E+04	4.36E-04	1.23E-08	239.7	4.35E-01
“VH1+VL4”-scFv	IL-11	3.31E+04	3.87E-04	1.17E-08	268.7	3.92E-01
“VH2+VL1”-scFv	IL-11	5.34E+04	8.90E-04	1.67E-08	142.3	7.35E-01
“VH2+VL2”-scFv	IL-11	4.57E+04	8.12E-04	1.78E-08	208.9	7.67E-01

“VH2+VL3”-scFv	IL-11	4.56E+04	5.41E-04	1.19E-08	185.7	4.06E-01
“VH2+VL4”-scFv	IL-11	4.88E+04	5.28E-04	1.08E-08	174.5	4.64E-01
“VH3+VL1”-scFv	IL-11	4.45E+04	1.00E-03	2.25E-08	184.8	8.66E-01
“VH3+VL2”-scFv	IL-11	4.65E+04	6.80E-04	1.46E-08	184.4	4.71E-01
“VH3+VL3”-scFv	IL-11	4.76E+04	4.64E-04	9.76E-09	181.4	4.14E-01
“VH3+VL4”-scFv	IL-11	4.18E+04	5.56E-04	1.33E-08	219.5	5.76E-01
“VH4+VL1”-scFv	IL-11	4.89E+04	8.40E-04	1.72E-08	128.4	4.84E-01
“VH4+VL2”-scFv	IL-11	5.52E+04	6.14E-04	1.11E-08	135.9	4.22E-01
“VH4+VL3”-scFv	IL-11	4.61E+04	5.16E-04	1.12E-08	181.7	3.90E-01
“VH4+VL4”-scFv	IL-11	4.79E+04	4.81E-04	1.00E-08	147.6	2.54E-01

### 实施例 15 优选 IL-11 人源化抗体的表达纯化

将优选的 IL-11 人源化抗体“VH1+VL2”、“VH1+VL3”、“VH1+VL4”、以及 5-20E11-5F2 分别进行全长序列的构建（含鼠源野生型 IgG1 的 Fc 片段），获得包含抗体全长的 pxC17.4 & pxC18.4 表达载体并转染至哺乳动物细胞 CHO 中进行表达。表达完成后采用 Protein A 层析柱对收集的细胞培养液进行纯化，平衡液为 20mM PBS, pH7.4，洗脱液为 0.1M 甘氨酸 pH3.0±0.2，收集目标吸收峰下蛋白洗脱液，用 PBS 缓冲液超滤后，取部分样品用 HPLC 测定浓度及进行 SDS-PAGE 电泳检测。

### 实施例 16 优选 IL-11 人源化抗体的亲和力检测

本实验使用表面等离子共振 (SPR) 生物传感器 Biacore T200 (GE Healthcare) 测定实施例 15 获得的所述各优选人源化全长 (IgG 形式) 抗体样品与 IL-11 的结合。测定方法包括如下步骤：以 10 $\mu$ L/min 的流速捕获所述全长人源化抗体。切换流速到 30 $\mu$ L/min，将不同浓度的 IL-11 抗原（400nM, 200nM, 100nM, 50nM, 25nM, 12.5nM, 6.25nM）流经样品通道和参比通道，结合时间为 180s，解离时间为 600s。最后用 10mM 甘氨酸缓冲液再生芯片。如表 8 所示，“VH1+VL3”构建的全长人源化抗体的亲和力优于另外两个全长人源化抗体，与 5-20E11-5F2 构建的全长嵌合抗体相比亲和力略有降低。

表 8：优选人源化抗体与 IL-11 抗原的亲和力

抗体	Analyte	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi <sup>2</sup> (RU <sup>2</sup> )
VH1+VL2	IL-11	4.98E+04	5.97E-04	1.20E-08	114.1	4.03E-01
VH1+VL3	IL-11	5.26E+04	4.74E-04	9.03E-09	105.6	3.71E-01
VH1+VL4	IL-11	5.43E+04	5.45E-04	1.00E-08	63.26	1.25E-01
5-20E11-5F2	IL-11	6.76E+04	4.33E-04	6.41E-09	72.58	6.99E-02

其中，表 8 中“VH1+VL2”、“VH1+VL3”和“VH1+VL4”均为人源化全长 (IgG 形式) 抗体。

“VH1+VL2”全长人源化抗体序列的重链为 SEQ ID NO:85，轻链为 SEQ ID NO:90；“VH1+VL3”全长人源化抗体序列的重链为 SEQ ID NO:85，轻链为 SEQ ID NO:91；“VH1+VL4”全长人源化抗体序列的重链为 SEQ ID NO:85，轻链为 SEQ ID NO:92。

### 实施例 17 优选人源化抗体的热稳定性实验

通过 MicroCal™ VP-Capillary DSC 系统对实施例 15 获得的所述各全长的人源化或嵌合抗体进行热稳定性分析测定。用 PBS 缓冲液将抗体稀释至 0.4mg/mL，测定条件为：升温速率 90°C/h，温度范围 25-110°C。结果如表 9 和图 7 所示，人源化抗体“VH1+VL3”与 5-20E11-5F2 相比，T<sub>m</sub> 值提高了 4.5°C。

表 9：优选人源化抗体 T<sub>m</sub> 值

抗体	Thalf	DH	TmOnset	Tm1	Tm2
5-20E11-5F2	5.61	949000	63.38	72.99	84.46
VH1+VL2	4.54	981000	65.51	71.91	85.52
VH1+VL3	4.54	819000	67.6	77.49	85.23
VH1+VL4	4.54	809000	68.25	77.34	85.08

其中，表 9 和图 7 中“VH1+VL2”、“VH1+VL3”和“VH1+VL4”均为人源化全长（IgG 形式）抗体；图 7 中“VH+VL”为 5-20E11-5F2 全长抗体。

### 实施例 18 优选人源化抗体竞争性阻断 IL-11 与 IL-11R 结合

为了评估优选人源化抗体能否阻断 IL-11 与 IL-11R 的结合。发明人构建了稳定表达 IL-11R 的细胞株 membrane-IL-11R CHO。测定方法包括如下步骤：取浓度为 100 μg/mL 的 IL-11-Fc 蛋白 10 μL/孔加入到 96 孔 U 型板，与 90 μL 梯度稀释的实施例 15 获得的所述全长嵌合抗体 5-20E11-5F2 和“VH1+VL2”、“VH1+VL3”和“VH1+VL4”构建的全长的人源化抗体（100 μg/mL、10 μg/mL、1 μg/mL、0.1 μg/mL、0.01 μg/mL、0.001 μg/mL）室温孵育 1h。然后与 1.5\*10<sup>5</sup> 个 membrane-IL-11R CHO 细胞（100 μL/孔）室温孵育 1h 后，1500rpm 离心 5min，用 PBS 清洗 3 次，加入 1:400 稀释的流式二抗 Goat-anti-Fc-FITC（Abcam, ab98529），200 μL/孔，4°C 孵育 1h，1500rpm 离心 5min，用 PBS 清洗 3 次，重悬细胞于 180 μL PBS 中，流式上机检测。结果绘制 S 曲线见图 8，结果表明人源化抗体的阻断活性与鼠源抗体基本一致。

表 10：人源化抗体竞争性阻断 IL-11 与 IL-11R 结合的 EC<sub>50</sub>

抗体编号	5-20E11-5F2	VH1+VL2	VH1+VL3	VH1+VL4
EC <sub>50</sub> (μg/mL)	7.537	11.57	10.46	12.48

其中，表 10 和图 8 中“VH1+VL2”、“VH1+VL3”和“VH1+VL4”均为人源化全长（IgG 形式）抗体。

### 实施例 19 优选人源化抗体抑制肝成纤维细胞 LX-2 向纤维化转化

LX-2 细胞是人肝星状细胞，当被促纤维化因子如 TGF-beta1（TGF-β）诱导后会大量表达 IL-11 细胞

因子，最终向纤维化转化。当 LX-2 细胞向纤维化转化的过程中，标志物 ACTA2 蛋白会不断累积。在此实施例中，发明人以  $3 \times 10^5$  个细胞/孔的密度将 LX-2 细胞铺于 6 孔板培养 10h 至细胞贴壁。用无血清 DMEM 培养基饥饿培养 12h 后，加入 5ng/mL 的 TGF-beta1 细胞因子进行刺激，同时分别加入梯度稀释的实施例 15 获得的“VH1+VL3”构建的全长的人源化抗体（“VH1+VL3” mAb 5 $\mu$ g/mL 或 10 $\mu$ g/mL）。培养 24h 后，吸出培养基，每孔加入 200 $\mu$ L RIPA 裂解液（碧云天，P0013B），进行进行 western blot 检测分析。结果如图 13 所示，不同浓度的人源化抗体均能抑制 LX-2 细胞向纤维化转化（Collagen IA 蛋白表达量降低），表明优选人源化抗体能很好抑制 LX-2 细胞向纤维化转化。

### 实施例 20 优选抗体在 SD 大鼠中抑制肺纤维化

本实施例将化药（HEC585（盐酸伊啡尼酮）、BIBF1120）以及实施例 15 获得的 5-20E11-5F2 构建的全长嵌合抗体（CPD-1）、“VH1+VL3”构建的全长人源化抗体（CPD-2，即所述“VH1+VL3” mAb）进行动物实验，其中，以 IgG 抗体作为对照。具体实验操作如下：

采用 2.5%异氟烷将大鼠进行麻醉，手术打开主气管后，注射适量的溶媒或博来霉素进行造模，其中，采用博来霉素（Bleomycin）诱导以构建 SD 大鼠单侧肺纤维化的动物模型，手术完成后观察大鼠恢复情况。手术后的第 8 天进行灌胃或腹腔给药进行治疗 14 天，具体动物分组及给药剂量汇总如下表 11 所示。当给予人源化抗体治疗后，可以明显观察到人源化抗体减缓大鼠肺的炎症反应及纤维化进程。

表 11：5-20E11-5F2 与人源化抗体（VH1+VL3）大鼠药效实验方案

组别	动物数量	建模	药物信息	药物组	给药剂量
G1	3	No	-	Sham	N/A
G2	8	Yes	-	IgG	27mg/kg
G3	8	Yes	自制	盐酸伊啡尼酮	5mg/kg
G4	8	Yes	尼达尼布	BIBF1120	100mg/kg
G5	8	Yes	5-20E11-5F2	CPD-1	9mg/kg
G6	8	Yes		CPD-1	27mg/kg
G7	8	Yes		CPD-1	54 mg/kg
G8	8	Yes	VH1+VL3	CPD-2	9mg/kg
G9	8	Yes		CPD-2	27mg/kg
G10	8	Yes		CPD-2	54 mg/kg

其中，表 11 中“VH1+VL3”为人源化全长（IgG 形式）抗体。

治疗结束后，取大鼠的肺进行石蜡包埋后切片，并进行 HE 染色及 Masson 三染色。其中 HE 染色主要指示肺组织中炎症的浸润水平。Masson 三染色主要用于评价肺组织纤维化的水平。结果图 9 与图 10 均表明优选人源化抗体能很好的降低博来霉素所引起的大鼠肺炎症损伤及纤维化。此外在高剂量组下，人源化抗体对大鼠肺炎症损伤效果明显优于 5-20E11-5F2 抗体。

### 实施例 21 优选人源化抗体的亲和力成熟

利用噬菌体展示技术进行抗体亲和力成熟。将优选人源化抗体 VH1+VH3 构建成 VH-Linker-VL 形式的 ScFv，以此为模板进行噬菌体建库并进行多轮淘选，经过 ELISA 及流式检测挑选出亲和力优于原始序列的候选物。构建 CDR 突变库和随机突变库，两种库分别构建，在淘选时将噬菌体混合。(1) 设计引物构建 4 个 CDR 突变子库：分别为 (VH-CDR3、VL-CDR3、VH-CDR1)；(VH-CDR3、VL-CDR3、VH-CDR2)；(VH-CDR3、VL-CDR3、VL-CDR1)；(VH-CDR3、VL-CDR3、VL-CDR2)，四个子库在酶切前进行等比例混合。同时构建随机突变库，通过易错酶经过多轮 PCR 得到含有随机突变位点的 ScFv 序列，将这些序列构建到噬菌粒载体上即为随机突变库。验证库的质量及抗体多样性分析。(2) 抗体淘选：对 CDR 突变库和随机突变库使用不同浓度的 IL-11 抗原，进行多轮液相筛选能结合 IL-11 的噬菌体，并通过噬菌体 ELISA 检测和流式检测其亲和特性，然后经测序获得亲和活性较好的克隆共有 14 个。流式检测以及测序结果见表 12。(3) 优选出 3 个克隆 (1E12、2E2、1F12)，利用编码该 3 个克隆以及野生型 IgG1 Fc 片段的核酸构建全长抗体 PXC17.4 & PXC18.4 表达载体，转染 CHO 细胞，经 protein A 纯化得到抗体。

表 12: 亲和力成熟测序结果

菌株号	ELISA	流式 (Mean)	氨基酸突变位置	氨基酸突变情况
1A10	2.058	2199	100,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR3(V232Q)
1B1	1.46	3501	10,72,87,158	VH-FR1(E10V),VH-FR2(R72S,R87S), VL-CDR1(R158H)
1E12	2.197	6317	100,108,189,192,227	VH-CDR3(R100S,F108L), VL-CDR2(A189G,Q192E),VL-CDR3(Q227N)
1F7	2.378	1859	35,155,183,192	VH-CDR1(G35A),VL-FR1(L155V), VL-FR2(R183T),VL-CDR2(Q192L)
1F9	2.589	3825	30,100,232	VH-FR1(T30H),VH-CDR3(R100S), VL-CDR3(V232L)
1F10	2.599	2637	108,194,231	VH-CDR3(F108I),VL-CDR2(S194D), VL-CDR3(E231D)
1F12	2.589	4141	100,193,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR2(G193A), VL-CDR3(V232L)
1G9	2.813	2245	13,131,192,214	VH-FR1(K13Q),连接区(G131D), VL-CDR2(Q192R), VL-FR3(S214N)
1G11	2.582	2897	100,193,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR2(G193A), VL-CDR3(V232L)
2E2	2.579	2098	100,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR3(V232L)
2E7	2.192	1988	54,100,232	VH-CDR2(G54S),VH-CDR3(R100S), VL-CDR3(V232L)
2F1	2.104	2388	100,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR3(V232L)
2F2	2.647	2004	100,108,122	VH-CDR3(R100S,F108L), 连接区(G122E)
2G9	2.086	1913	100,188,232	VH-CDR3(R100S),VL-CDR2(S188G), VL-CDR3(V232L)
原始序列 (1H9)	1.156	450		

### 实施例 22 亲和力成熟后抗体的亲和力检测

用 Fortebio 测定实施例 21 获得的各亲和力成熟的 1E12、2E2、1F12 全长抗体样品（编号分别 MIL-11 mab-01、MIL-11 mab-02、MIL-11 mab-03）与 IL-11 的结合。测定方法包括如下步骤：用 AHC 传感器捕获人源化抗体。分析物为不同浓度的 IL-11 抗原（125nM，62.5nM，31.3nM，15.6nM，7.81nM，3.91nM，），结合时间为 200s，解离时间为 1000s。最后用 10mM 甘氨酸（pH1.7）缓冲液再生传感器。如表 13 所示，亲和力成熟后的抗体 MIL-11 mab-02、MIL-11 mab-03 亲和力比人源化抗体提高了 10 倍，与“VH1+VH3”和野生型 IgG1 Fc 片段构建的全长人源化抗体亲和力相当。

表 13：亲和力成熟抗体亲和力结果

Ligand	Analyte	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
VH1+VH3	IL-11	2.14E+05	6.09E-04	2.84E-09
MIL-11 mab-01	IL-11	5.01E+05	5.84E-04	1.17E-09
MIL-11 mab-02	IL-11	5.35E+05	1.30E-04	2.42E-10
MIL-11 mab-03	IL-11	5.80E+05	1.52E-04	2.62E-10

其中，表 13 中“VH1+VH3”为人源化全长（IgG 形式）抗体。

### 实施例 23 亲和力成熟抗体流式细胞术体外结合活性鉴定

发明人构建了稳定表达 IL-11 的细胞株 membrane-IL-11 CHO。取梯度稀释的实施例 21 获得的亲和力成熟抗体（100 $\mu$ g/mL、10 $\mu$ g/mL、1 $\mu$ g/mL、0.1 $\mu$ g/mL、0.01 $\mu$ g/mL、0.001 $\mu$ g/mL）与 1.5\*10<sup>5</sup> 个 membrane-IL-11 CHO 细胞室温孵育 1h 后，用 PBS 清洗 3 次，加入流式二抗 Goat-anti-Fc-FITC（Abcam, ab98529），流式上机检测。结果绘制 S 曲线见图 11，图中 Hu-IL11 mab 是指“VH1+VH3”构建的人源化抗体，结果表明亲和力成熟抗体的结合活性与人源化抗体基本一致。

### 实施例 24 亲和力成熟抗体流式细胞术体外阻断活性鉴定

为了评估优选人源化抗体以及亲和力成熟抗体阻断 IL-11 与 IL-11R 的结合之间的差异，发明人使用稳定表达 IL-11R 的细胞株 membrane-IL-11R CHO。测定方法包括如下步骤：取浓度为 10  $\mu$ g/mL 的 IL-11-His 蛋白 10 $\mu$ L/孔加入到 96 孔 U 型板，与 90 $\mu$ L 梯度稀释的优选人源化抗体（100 $\mu$ g/mL、10 $\mu$ g/mL、1 $\mu$ g/mL、0.1 $\mu$ g/mL、0.01 $\mu$ g/mL、0.001 $\mu$ g/mL）室温孵育 1h。然后与 1.5\*10<sup>5</sup> 个 membrane-IL-11R CHO 细胞（100 $\mu$ L/孔）室温孵育 1h 后，1500rpm 离心 5min，用 PBS 清洗 3 次，加入 1:200 稀释的流式二抗 PE-anti-His Tag（Biogend, 362603），200 $\mu$ L/孔，4 $^{\circ}$ C 孵育 1h，1500rpm 离心 5min，用 PBS 清洗 3 次，重悬细胞于 180 $\mu$ L PBS 中，流式上机检测。结果绘制 S 曲线见图 12，图中 Ch-IL11 mab 表示“VH1+VH3”构建的嵌合型抗体，结果表明亲和力成熟抗体的阻断活性与人源化抗体基本一致。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等

的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

## 权利要求书

1、一种能够特异性识别 IL-11 的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体包括：

分别如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 或者与 SEQ ID NO:4、5 和 6 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列；和

分别如 SEQ ID NO: 37、38 和 39 或者与 SEQ ID NO: 37、38 和 39 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列；和

重链框架区包括 FL1、FL2、FL3 和 FL4，所述重链框架区 FL1、FL2、FL3 和 FL4 分别具有 SEQ ID NO: 67、68、69 和 70 所示的氨基酸序列，

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS (SEQ ID NO: 67)，

LGWVRQAPGX1GLEWX2GH (SEQ ID NO: 68)，

NYNEKFKGRX3TX4TX5DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYX6C (SEQ ID NO: 69)，

WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 70)，

其中，X1 为 Q 或 H，X2 为 M 或 I，X3 为 V 或 A，X4 为 M 或 L，X5 为 R 或 A，X6 为 Y 或 F；和轻链框架区包括 FL1、FL2、FL3 和 FL4，所述轻链框架区 FL1、FL2、FL3 和 FL4 分别具有 SEQ ID NO: 71、72、73 和 74 所示的氨基酸序列，

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS (SEQ ID NO: 71)，

MNWX7QQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO: 72)，

NQSGIPARFSGSGTDFLTISSLEPEDFAX8YX9C (SEQ ID NO: 73)，

FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 74)，

其中，X7 为 Y 或 F，X8 为 V 或 M，X9 为 Y 或 F。

2、根据权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体具有如 SEQ ID NO: 75~78 任一项所示氨基酸序列的重链可变区。

3、根据权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体具有如 SEQ ID NO: 79~82 任一项所示氨基酸序列的轻链可变区。

4、根据权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体含有重链恒定区和轻链恒定区的至少之一，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体或其突变体的至少之一。

5、根据权利要求 4 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体恒定区的全长序列如 SEQ ID NO:83 或 84 所示。

6、根据权利要求 5 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体具有 SEQ ID NO:85~88 任一项所示氨基酸序列的重链和具有 SEQ ID NO:89~92 任一项所示氨基酸序列的轻链。

7、一种核酸分子，其特征在于，所述核酸分子编码权利要求 1~6 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

8、一种表达载体，其特征在于，携带权利要求 7 所述的核酸分子。

9、一种重组细胞，其特征在于，所述重组细胞携带权利要求 7 所述的核酸分子，或者表达权利要求 1~6 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

10、一种药物组合物，其特征在于，含有权利要求 1~6 任一项所述的抗体，权利要求 7 所述的核酸分子，权利要求 8 所述的表达载体或权利要求 9 所述的重组细胞。

11、权利要求 1~6 任一项所述的抗体、权利要求 7 所述的核酸分子、权利要求 8 所述的表达载体或权利要求 9 所述的重组细胞、权利要求 10 所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或者预防肺纤维化，非酒精性脂肪肝炎，慢性心力衰竭或由成纤维细胞向纤维化转化所导致的疾病。

12、一种检测 IL-11 的试剂盒，其特征在于，包括权利要求 1~6 所述的抗体。

13、权利要求 1~6 任一项所述的抗体、权利要求 7 所述的核酸分子、权利要求 8 所述的表达载体或权利要求 9 所述的重组细胞在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测 IL-11 或者诊断 IL-11 相关的疾病。

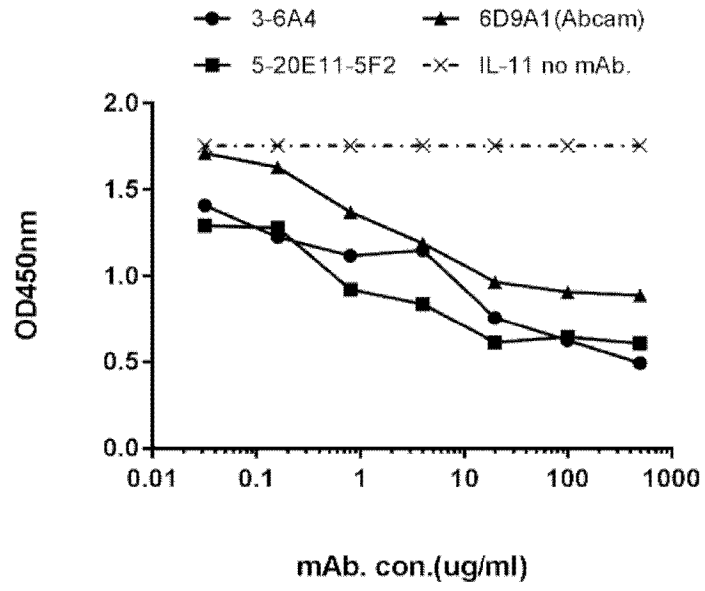


图 1

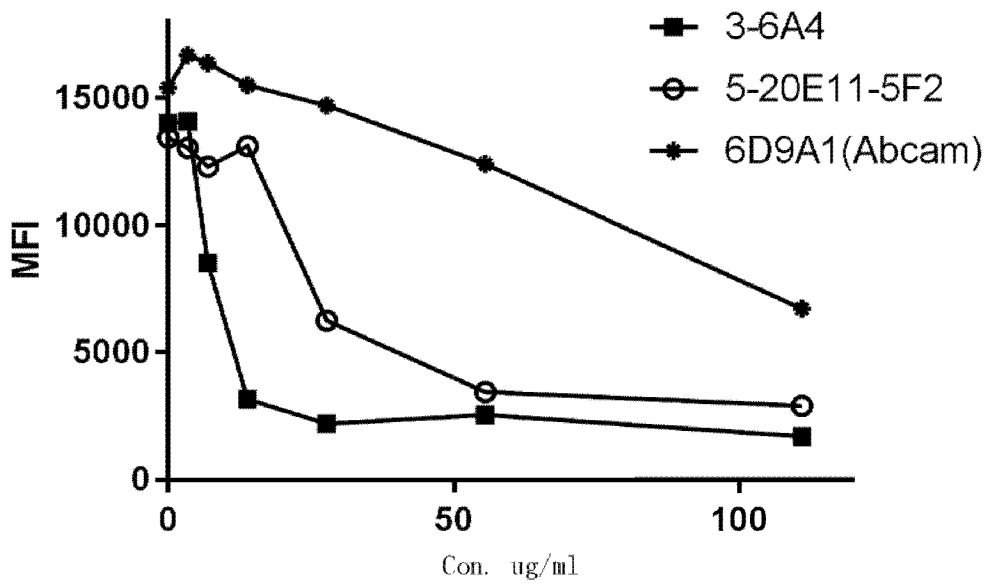


图 2

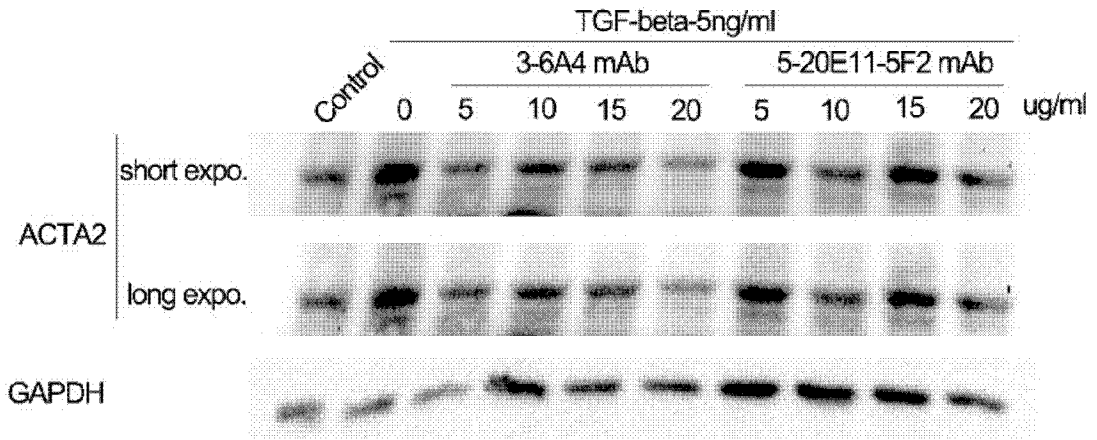


图 3

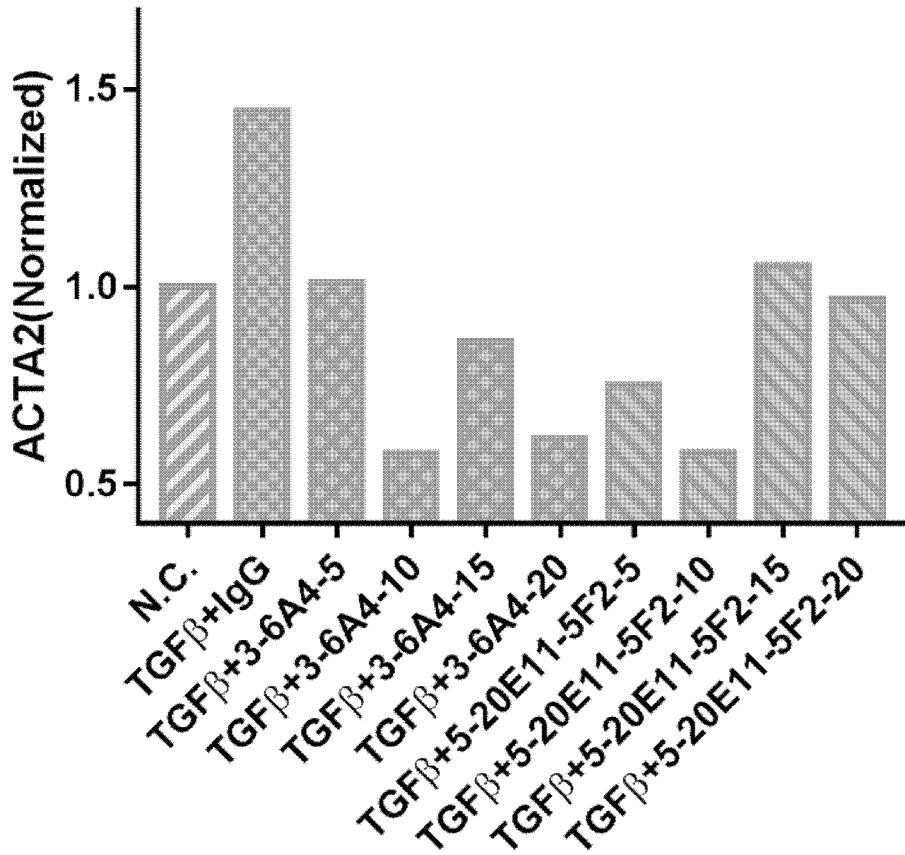


图 4

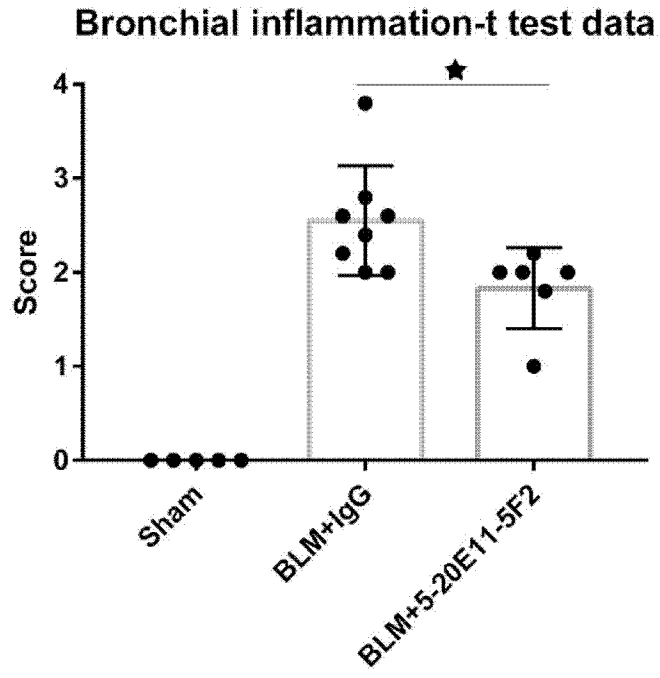


图 5

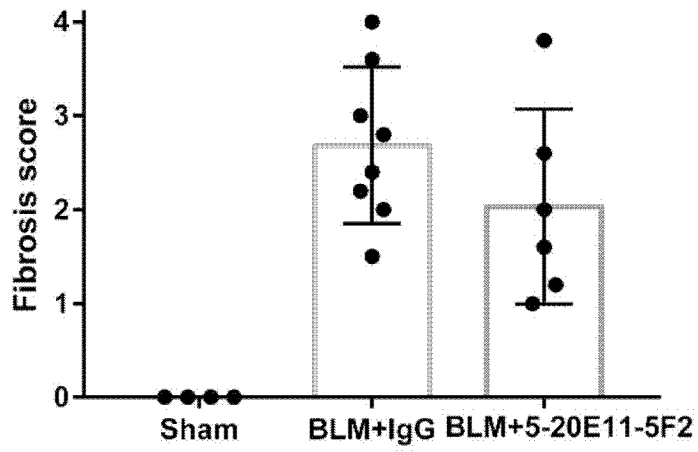


图 6

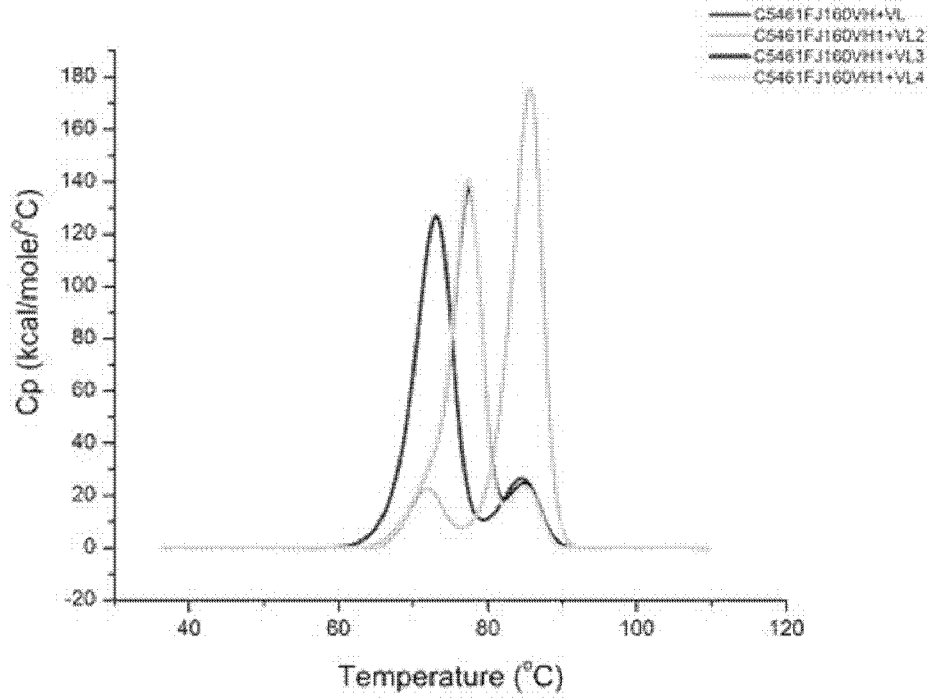


图 7

### Different mAb inhibition plot-Merge

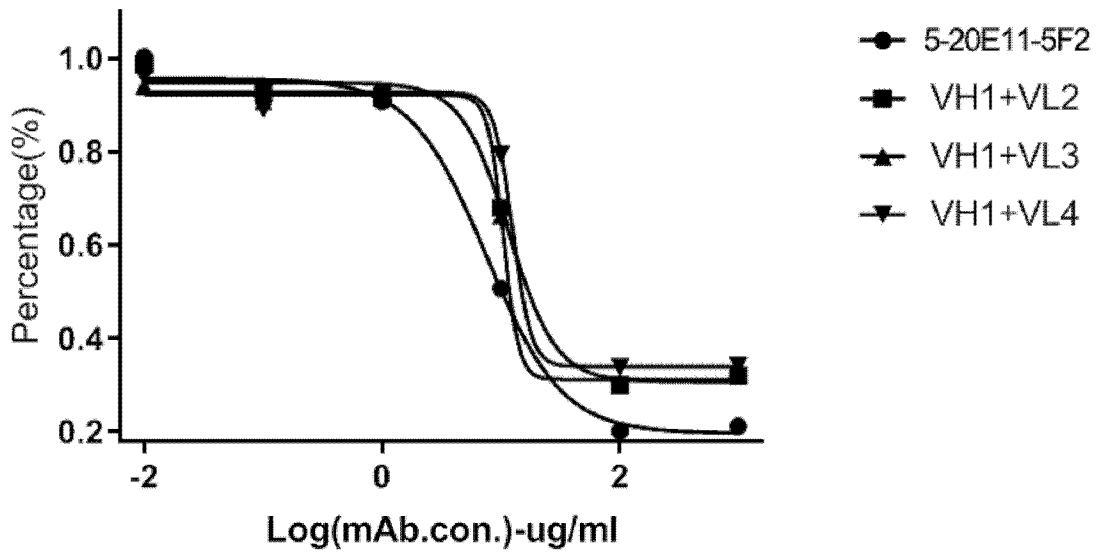


图 8

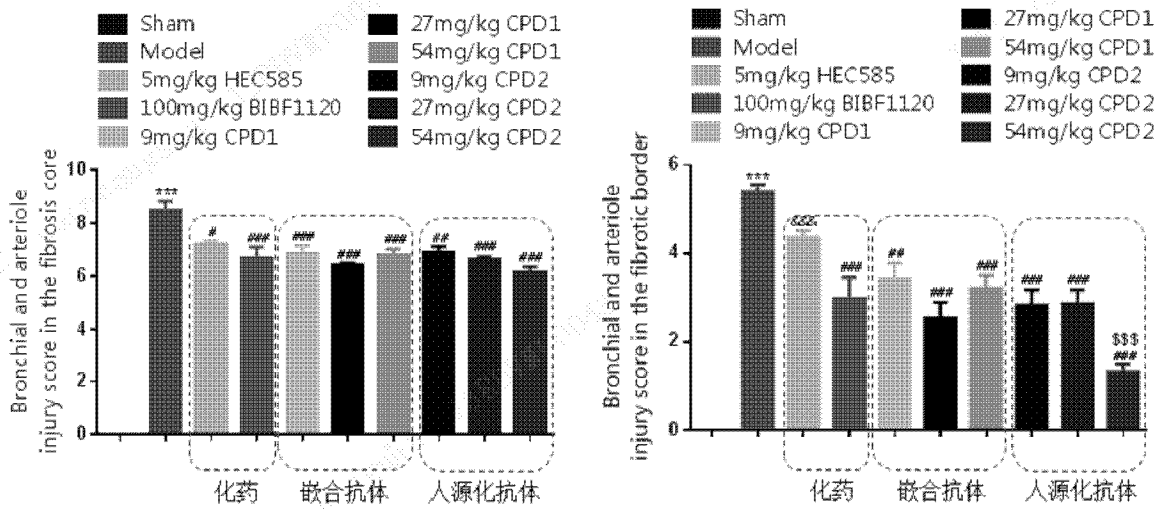


图 9

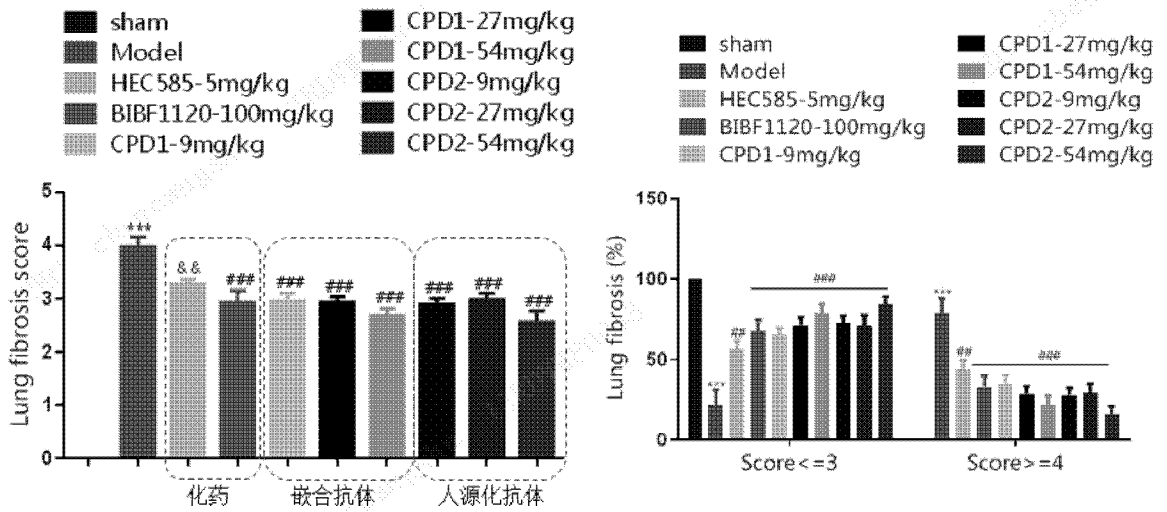


图 10

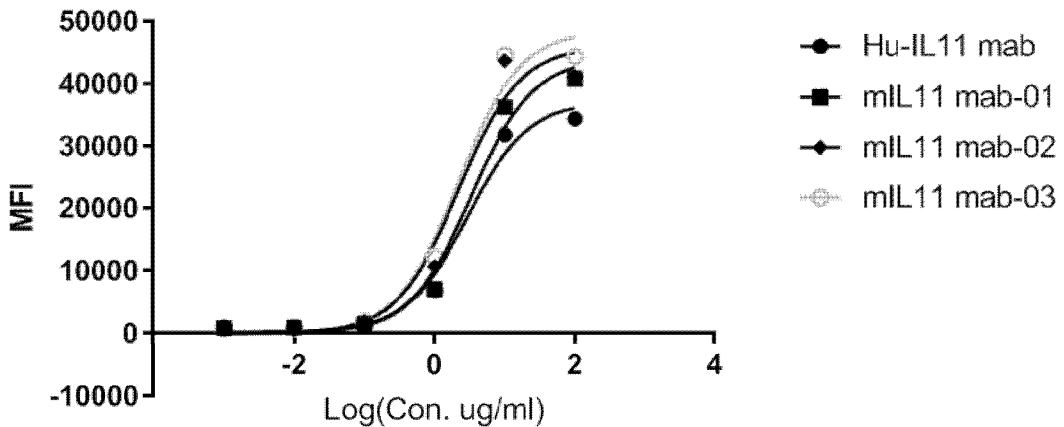


图 11

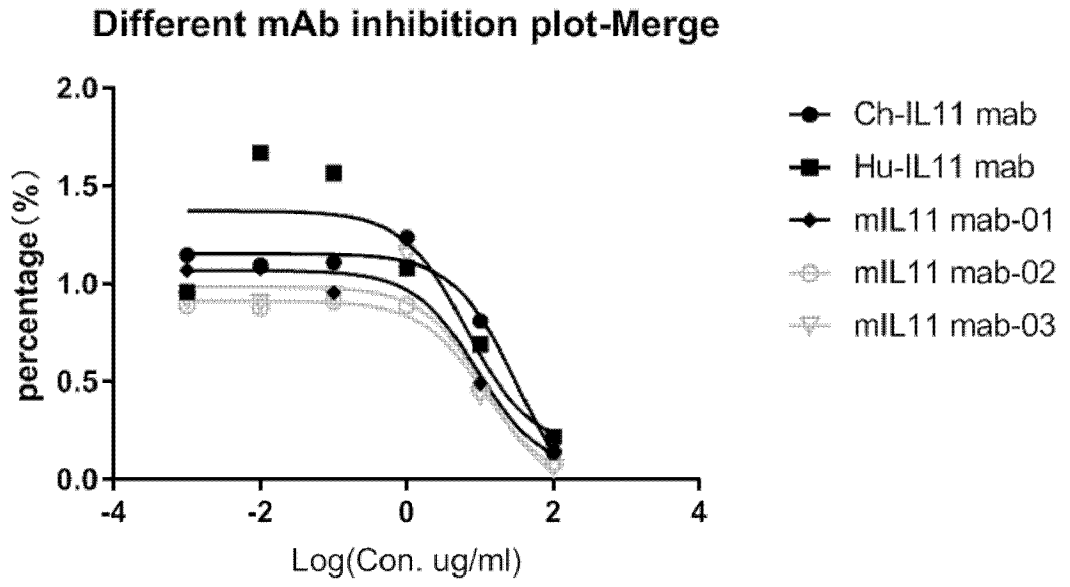


图 12

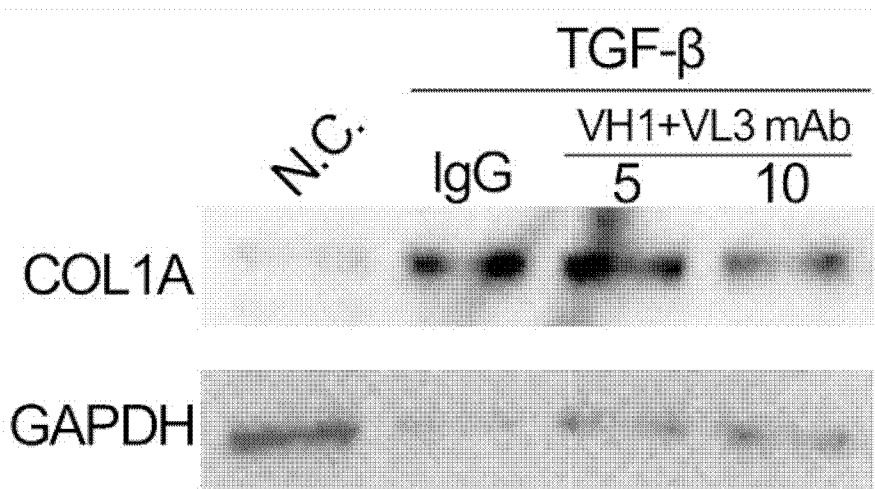


图 13

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/111608

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07K 16/24(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/85(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 9/04(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K C12N A61K A61P G01N		
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, DWPL, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT, JPTXT, CNKI, Web of Science, 万方数据检索系统, WANFANG, pubmed, patentics, 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System, GENBANK, STN: SEQ ID NOs: 4-6, 37-39, 67-92, IL-11, interleukin-11, 白介素11, 白细胞介素11, 抗体, antibody, CDR, 可变区, VH, VL, 肺纤维化, 非酒精性脂肪肝, 慢性心力衰竭		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 113651888 A (GUANGDONG HEC PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 16 November 2021 (2021-11-16) claims 1-28, and description, sequence table sequences 4-6, 37-39 and 67-92	1-13
A	CN 113056481 A (SINGAPORE HEALTH SERVICES PTE. LTD. et al.) 29 June 2021 (2021-06-29) entire document	1-13
A	KORTEKAAS, R. K. et al. "Therapeutic Targeting of IL-11 for Chronic Lung Disease" <i>Trends in Pharmacological Sciences</i> , Vol. 42, No. 5, 31 May 2021 (2021-05-31), pp. 354-366	1-13
A	CN 110382531 A (SINGAPORE HEALTH SERVICES PTE. LTD. et al.) 25 October 2019 (2019-10-25) entire document	1-13
A	CN 105497893 A (INSTITUTE OF ADVANCED TECHNOLOGY OF HEILONGJIANG ACADEMY OF SCIENCES) 20 April 2016 (2016-04-20) entire document	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>20 October 2022</b>		Date of mailing of the international search report <b>11 November 2022</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China</b> Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer  Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2022/111608**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010183544 A1 (CSL LIMITED) 22 July 2010 (2010-07-22) entire document	1-13
A	CN 101063124 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 31 October 2007 (2007-10-31) entire document	1-13

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
    - on paper or in the form of an image file.
  - b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
    - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
    - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

[1] the sequence table actually submitted is an XML document of a ST.26 standard

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2022/111608**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	113651888	A	16 November 2021	WO	2022033538	A1	17 February 2022
CN	113056481	A	29 June 2021	JO	P20200309	A1	13 December 2019
				EP	3807314	A1	21 April 2021
				BR	112020025443	A2	16 March 2021
				KR	20210031690	A	22 March 2021
				CR	20210009	A	21 June 2021
				SG	11202011782 X	A	30 December 2020
				CO	2020015383	A2	19 April 2021
				US	2020031918	A1	30 January 2020
				JP	2021535733	A	23 December 2021
				CL	2020003223	A1	30 July 2021
				EC	SP21000695	A	31 March 2021
				PE	20211498	A1	11 August 2021
				AU	2019286795	A1	28 January 2021
				EA	202092668	A1	18 May 2021
				US	2021230266	A1	29 July 2021
				WO	2019238882	A1	19 December 2019
				PH	12020552232	A1	28 June 2021
				CA	3102483	A1	19 December 2019
				TW	202003560	A	16 January 2020
				MA	52884	A	21 April 2021
				GB	201809699	D0	01 August 2018
				IL	279356	A	31 January 2021
				DO	P2020000245	A	31 October 2021
CN	110382531	A	25 October 2019	EP	3555131	A2	23 October 2019
				US	2020199218	A1	25 June 2020
				WO	2018109174	A2	21 June 2018
				US	2018186871	A1	05 July 2018
				KR	20190096390	A	19 August 2019
				AU	2017378111	A1	13 June 2019
				TW	201829460	A	16 August 2018
				JP	2020511414	A	16 April 2020
				CA	3045871	A1	21 June 2018
				MX	2019007020	A	21 October 2019
				BR	112019012342	A2	26 November 2019
CN	105497893	A	20 April 2016	None			
US	2010183544	A1	22 July 2010	US	2013302277	A1	14 November 2013
CN	101063124	A	31 October 2007	None			

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>C07K 16/24(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/85(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i; A61P 9/04(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i</p> <p>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</p>																							
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K C12N A61K A61P G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNABS, DWPI, CNTXT, USTXT, EPTXT, WOTXT, JPTXT, CNKI, Web of Science, 万方数据检索系统, pubmed, patents, 中国专利生物序列检索系统, GENBANK, STN: SEQ ID NOs: 4-6, 37-39, 67-92, IL-11, interleukin-11, 白介素11, 白细胞介素11, 抗体, antibody, CDR, 可变区, VH, VL, 肺纤维化, 非酒精性脂肪肝, 慢性心力衰竭</p>																							
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 113651888 A (广东东阳光药业有限公司) 2021年11月16日 (2021 - 11 - 16) 权利要求1-28, 说明书序列表序列4-6, 37-39, 67-92</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 113056481 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2021年6月29日 (2021 - 06 - 29) 全文</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KORTEKAAS, R. K. 等. "Therapeutic Targeting of IL-11 for Chronic Lung Disease" Trends in Pharmacological Sciences, 第42卷, 第5期, 2021年5月31日 (2021 - 05 - 31), 第354-366页</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110382531 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 全文</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105497893 A (黑龙江省科学院高技术研究院) 2016年4月20日 (2016 - 04 - 20) 全文</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2010183544 A1 (CSL LIMITED) 2010年7月22日 (2010 - 07 - 22) 全文</td> <td>1-13</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 113651888 A (广东东阳光药业有限公司) 2021年11月16日 (2021 - 11 - 16) 权利要求1-28, 说明书序列表序列4-6, 37-39, 67-92	1-13	A	CN 113056481 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2021年6月29日 (2021 - 06 - 29) 全文	1-13	A	KORTEKAAS, R. K. 等. "Therapeutic Targeting of IL-11 for Chronic Lung Disease" Trends in Pharmacological Sciences, 第42卷, 第5期, 2021年5月31日 (2021 - 05 - 31), 第354-366页	1-13	A	CN 110382531 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 全文	1-13	A	CN 105497893 A (黑龙江省科学院高技术研究院) 2016年4月20日 (2016 - 04 - 20) 全文	1-13	A	US 2010183544 A1 (CSL LIMITED) 2010年7月22日 (2010 - 07 - 22) 全文	1-13
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
PX	CN 113651888 A (广东东阳光药业有限公司) 2021年11月16日 (2021 - 11 - 16) 权利要求1-28, 说明书序列表序列4-6, 37-39, 67-92	1-13																					
A	CN 113056481 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2021年6月29日 (2021 - 06 - 29) 全文	1-13																					
A	KORTEKAAS, R. K. 等. "Therapeutic Targeting of IL-11 for Chronic Lung Disease" Trends in Pharmacological Sciences, 第42卷, 第5期, 2021年5月31日 (2021 - 05 - 31), 第354-366页	1-13																					
A	CN 110382531 A (新加坡保健服务集团有限公司 等) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 全文	1-13																					
A	CN 105497893 A (黑龙江省科学院高技术研究院) 2016年4月20日 (2016 - 04 - 20) 全文	1-13																					
A	US 2010183544 A1 (CSL LIMITED) 2010年7月22日 (2010 - 07 - 22) 全文	1-13																					
<p><input checked="" 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。</p> <p>* 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                  "&amp;" 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年10月20日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年11月11日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>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</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>李宁</p> <p>电话号码 86-(10)-53961932</p>																					

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 101063124 A (江南大学) 2007年10月31日 (2007 - 10 - 31) 全文	1-13

## 第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a.  作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
  - 纸件或图形文件形式
- b.  根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c.  仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
  - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2.  另外,在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下,提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:
- [1] 实际提交的序列列表是ST. 26标准的XML文件。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/111608

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	113651888	A	2021年11月16日	WO	2022033538	A1	2022年2月17日
CN	113056481	A	2021年6月29日	JO	P20200309	A1	2019年12月13日
				EP	3807314	A1	2021年4月21日
				BR	112020025443	A2	2021年3月16日
				KR	20210031690	A	2021年3月22日
				CR	20210009	A	2021年6月21日
				SG	11202011782X	A	2020年12月30日
				CO	2020015383	A2	2021年4月19日
				US	2020031918	A1	2020年1月30日
				JP	2021535733	A	2021年12月23日
				CL	2020003223	A1	2021年7月30日
				EC	SP21000695	A	2021年3月31日
				PE	20211498	A1	2021年8月11日
				AU	2019286795	A1	2021年1月28日
				EA	202092668	A1	2021年5月18日
				US	2021230266	A1	2021年7月29日
				WO	2019238882	A1	2019年12月19日
				PH	12020552232	A1	2021年6月28日
				CA	3102483	A1	2019年12月19日
				TW	202003560	A	2020年1月16日
				MA	52884	A	2021年4月21日
				GB	201809699	D0	2018年8月1日
				IL	279356	A	2021年1月31日
				DO	P2020000245	A	2021年10月31日
CN	110382531	A	2019年10月25日	EP	3555131	A2	2019年10月23日
				US	2020199218	A1	2020年6月25日
				WO	2018109174	A2	2018年6月21日
				US	2018186871	A1	2018年7月5日
				KR	20190096390	A	2019年8月19日
				AU	2017378111	A1	2019年6月13日
				TW	201829460	A	2018年8月16日
				JP	2020511414	A	2020年4月16日
				CA	3045871	A1	2018年6月21日
				MX	2019007020	A	2019年10月21日
				BR	112019012342	A2	2019年11月26日
CN	105497893	A	2016年4月20日		无		
US	2010183544	A1	2010年7月22日	US	2013302277	A1	2013年11月14日
CN	101063124	A	2007年10月31日		无		