

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-505279

(P2023-505279A)

(43)公表日 令和5年2月8日(2023.2.8)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A	4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全94頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-533664(P2022-533664)	(71)出願人	517041235		
(86)(22)出願日	令和2年12月4日(2020.12.4)		アレクトル エルエルシー		
(85)翻訳文提出日	令和4年7月27日(2022.7.27)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0		
(86)国際出願番号	PCT/US2020/063339		8 0, サウス サンフランシスコ, オ		
(87)国際公開番号	WO2021/113655		イスター ポイント ブールヴァード 1		
(87)国際公開日	令和3年6月10日(2021.6.10)		3 1, スイート 6 0 0		
(31)優先権主張番号	62/944,298	(74)代理人	110002077		
(32)優先日	令和1年12月5日(2019.12.5)		園田・小林弁理士法人		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	シュワープ, ティナ		
(31)優先権主張番号	63/005,110		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0		
(32)優先日	令和2年4月3日(2020.4.3)		8 0, サウス サンフランシスコ, オ		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		イスター ポイント ブールヴァード 1		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(72)発明者	3 1, スイート 6 0 0, シー/オー		
	最終頁に続く		アレクトル エルエルシー		
			タッシ, イラーリア		最終頁に続く

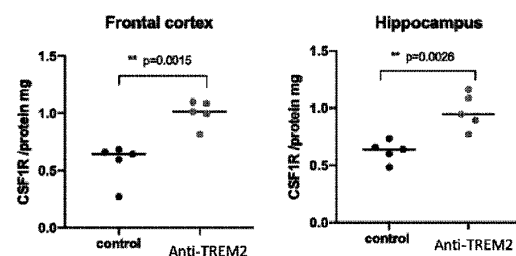
(54)【発明の名称】 抗 T R E M 2 抗体の使用方法

(57)【要約】

本開示は一般に、抗 T R E M 2 抗体の使用であって、それを必要とする個体における疾患の予防、リスクの低下、または処置における、使用に関する。

【選択図】 図 4

FIG. 4



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C S F 1 R 欠損疾患を処置または予防する方法であって、治療的有效量の T R E M 2 タンパク質に結合する抗体をそれを必要とする個体に投与することを含み、前記抗体は、アゴニストであり、前記抗体は、1 つ以上の T R E M 2 活性を誘導する、前記方法。

【請求項 2】

前記抗体は、前記 T R E M 2 タンパク質に対する 1 つ以上の T R E M 2 リガンドの結合によって誘導される 1 つ以上の T R E M 2 活性を向上させる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記抗体は、前記 T R E M 2 タンパク質に対する前記 1 つ以上の T R E M 2 リガンドの結合を阻止せずに前記 1 つ以上の T R E M 2 活性を向上させる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記抗体は、前記 T R E M 2 タンパク質に対する前記 1 つ以上の T R E M 2 リガンドの結合を向上させる、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 つ以上の T R E M 2 リガンドは、E . c o l i 細胞、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、アニオン性脂質、A P O E 、A P O E 2 、A P O E 3 、A P O E 4 、アニオン性 A P O E 、アニオン性 A P O E 2 、アニオン性 A P O E 3 、アニオン性 A P O E 4 、脂質付加 A P O E 、脂質付加 A P O E 2 、脂質付加 A P O E 3 、脂質付加 A P O E 4 、双性イオン性脂質、負に荷電したリン脂質、ホスファチジルセリン、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、膜リン脂質、脂質付加タンパク質、プロテオリピド、脂質付加ペプチド、脂質付加アミロイドベータペプチド、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 3 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体は、T R E M 2 の細胞表面クラスター化の非存在下で前記 1 つ以上の T R E M 2 活性を向上させる、請求項 2 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗体は、T R E M 2 の細胞表面クラスター化を誘導または保持することによって前記 1 つ以上の T R E M 2 活性を向上させる、請求項 2 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記 T R E M 2 タンパク質は、哺乳動物タンパク質またはヒトタンパク質である、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 T R E M 2 タンパク質は、野生型タンパク質、天然に存在するバリエーション、または疾患バリエーションである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記抗体によって誘導または向上する前記 1 つ以上の T R E M 2 活性は、

- a . D A P 1 2 に対する T R E M 2 結合；
- b . D A P 1 2 リン酸化；
- c . S y k キナーゼの活性化；
- d . I F N - β 、I L - 1 α 、I L - 1 β 、T N F - α 、I L - 6 、I L - 8 、C R P 、C D 8 6 、M C P - 1 / C C L 2 、C C L 3 、C C L 4 、C C L 5 、C C R 2 、C X C L - 1 0 、G a t a 3 、I L - 2 0 ファミリーメンバー、I L - 3 3 、L I F 、I F N - γ 、O S M 、C N T F 、C S F - 1 、O P N 、C D 1 1 c 、G M - C S F 、I L - 1 1 、I L - 1 2 、I L - 1 7 、I L - 1 8 、及び I L - 2 3 からなる群から選択される 1 つ以上の炎症誘発性メディエーターの調節であって、任意に前記調節は、マクロファージ、M 1 マクロファージ、活性化 M 1 マクロファージ、M 2 マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞からなる群から選択される 1 つ以上の細胞で生じる、前記調節；
- e . D A P 1 2 / T R E M 2 複合体への S y k の動員；

f. 1つ以上のTREM2依存性遺伝子の活性の上昇であって、任意に前記1つ以上のTREM2依存性遺伝子は、活性化T細胞(NFAT)転写因子の核因子を含む、前記上昇；

g. 樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及びM2ミクログリア、またはそれらの任意の組み合わせの生存性の向上；

h. CD83、CD86MHCクラスII、CD40、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上の刺激性分子の調節された発現であって、任意に前記CD40は、樹状細胞、単球、マクロファージ、またはそれらの任意の組み合わせに発現し、任意に前記樹状細胞は、骨髄由来樹状細胞を含む、前記調節された発現；

i. 記憶力の上昇；ならびに

j. 認知障害の軽減

からなる群から選択される、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記抗体は、CSF1の非存在下で培養されるマクロファージの生存を促進する、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項12】

前記抗体は、*in vivo*で可溶性TREM2の血漿レベルを低下させる、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項13】

前記抗体は、TREM2の切断を阻止する、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記抗体は、処置されていない個体または対照抗体で処置された個体と比較して、前記個体においてCSF1Rの発現を誘導し、またはCSF1Rのレベルを上昇させる、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記CSF1Rの発現の誘導または前記CSF1Rのレベルの上昇は、前記個体の脳で生じる、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記方法は、前記個体からのサンプルにおけるCSF1Rのレベルを測定する工程を含む、請求項1～15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項17】

前記抗体は、ネズミ抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、多価抗体、コンジュゲート抗体、またはキメラ抗体である、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

前記抗体は、配列番号1のアミノ酸残基124～153、または配列番号1のアミノ酸残基124～153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基129～153、または配列番号1のアミノ酸残基129～153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基140～149、または配列番号1のアミノ酸残基140～149に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基149～157、または配列番号1のアミノ酸残基149～157に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；または配列番号1のアミノ酸残基153～162、または配列番号1のアミノ酸残基153～162に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸に結合する、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 20】

前記抗体は、配列番号 1 の D 1 4 0、L 1 4 1、W 1 4 2、F 1 4 3、P 1 4 4、E 1 5 1、D 1 5 2、H 1 5 4、E 1 5 6、及び H 1 5 7 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基、または配列番号 1 の D 1 4 0、L 1 4 1、W 1 4 2、F 1 4 3、P 1 4 4、E 1 5 1、D 1 5 2、H 1 5 4、E 1 5 6、及び H 1 5 7 からなる群から選択されるアミノ酸残基に対応する哺乳動物 T R E M 2 タンパク質上の 1 つ以上のアミノ酸残基に結合する、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

前記抗体は、H V R - H 1、H V R - H 2、及び H V R - H 3 を含む重鎖可変領域ならびに H V R - L 1、H V R - L 2、及び H V R - L 3 を含む軽鎖可変領域を含み、前記 H V R - H 1 は、アミノ酸配列 Y A F S S Q W M N（配列番号 3 4）を含み、前記 H V R - H 2 は、アミノ酸配列 R I Y P G G G D T N Y A G K F Q G（配列番号 3 5）を含み、前記 H V R - H 3 は、アミノ酸配列 A R L L R N Q P G E S Y A M D Y（配列番号 3 1）を含み、前記 H V R - L 1 は、アミノ酸配列 R S S Q S L V H S N R Y T Y L H（配列番号 4 1）を含み、前記 H V R - L 2 は、アミノ酸配列 K V S N R F S（配列番号 3 3）を含み、前記 H V R - L 3 は、アミノ酸配列 S Q S T R V P Y T（配列番号 3 2）を含む、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 22】

前記抗体は、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記抗体は、H V R - H 1、H V R - H 2、及び H V R - H 3 を含む重鎖可変領域ならびに H V R - L 1、H V R - L 2、及び H V R - L 3 を含む軽鎖可変領域を含み、前記 H V R - H 1 は、アミノ酸配列 Y A F S S D W M N（配列番号 3 6）を含み、前記 H V R - H 2 は、アミノ酸配列 R I Y P G E G D T N Y A R K F H G（配列番号 3 7）を含み、前記 H V R - H 3 は、アミノ酸配列 A R L L R N K P G E S Y A M D Y（配列番号 3 8）を含み、前記 H V R - L 1 は、アミノ酸配列 R T S Q S L V H S N A Y T Y L H（配列番号 3 9）を含み、前記 H V R - L 2 は、アミノ酸配列 K V S N R V S（配列番号 4 0）を含み、前記 H V R - L 3 は、アミノ酸配列 S Q S T R V P Y T（配列番号 3 2）を含む、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 24】

前記抗体は、配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 2 0 または 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記抗体は、断片であり、前記断片は、F a b、F a b'、F a b' - S H、F（a b'）₂、F v または s c F v 断片である、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記抗体は、I g G クラス、I g M クラス、または I g A クラスのものである、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記抗体は、I g G クラスのものであり、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 アイソタイプを有する、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗体は、ヒト I g G 1 アイソタイプを有し、F c 領域において残基位置 P 3 3 1 S 及び E 4 3 0 G でアミノ酸置換を含み、前記残基のナンバリングは、E U ナンバリングに従う、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗体は、
a. 配列番号 4 3 のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む軽鎖；

50

または

b. 配列番号 44 のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号 47 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記抗体は、

a. 配列番号 45 のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号 48 のアミノ酸配列を含む軽鎖；または

b. 配列番号 46 のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号 48 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1～20 または 23～24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

前記個体は、ヒトである、請求項 1～30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

前記 CSF1R 欠損疾患は、軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症 (ALSP) である、請求項 1～31 のいずれかに記載の方法。

【請求項 33】

前記 CSF1R 欠損疾患は、小児発症白質脳症である、請求項 1～31 のいずれかに記載の方法。

【請求項 34】

前記個体は、CSF1R 遺伝子における変異を有する、請求項 1～33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

前記変異は、細胞内タンパク質チロシンキナーゼドメインをコードする前記 CSFR1 遺伝子の部分にある、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記変異は、前記 CSFR1 遺伝子のエクソン 11～21 のいずれか 1 つにある、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 37】

前記個体は、前記 CSFR1 遺伝子における前記変異についてヘテロ接合性である、請求項 34～36 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 38】

前記個体は、前記 CSFR1 遺伝子における前記変異についてホモ接合性である、請求項 34～36 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 39】

前記個体は、白質脳症、軸索損傷、軸索スフェロイド、ミエリン損傷、髄鞘の喪失、グリオシス、自家蛍光脂質搭載マクロファージ、及び軸索破壊からなる群から選択される疾患特性を有し、またはそのリスクがある、請求項 1～38 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 40】

前記個体は、大脳白質の異常、行動変化、認知症、パーキンソン病、発作、運動性失語症、失書症、計算不能症、失行症、動作緩慢、緩慢な動作、中枢神経系脱髄、抑鬱、鬱病、前頭葉型認知症、グリオシス、過反射、反射亢進、伸展性足底反応、片側不全まひ、四肢不全まひ、白質脳症、記憶障害、健忘症、記憶喪失、記憶困難、不十分な記憶力、無言症、会話不能、非発話、中枢神経系におけるニューロン喪失、脳細胞の喪失、姿勢の不安定、平衡障害、急速前進、こわばり、筋肉こわばり、小股歩行、引きずり歩行、錐体路兆候、痙縮、不随意筋硬直、不随意筋収縮、不随意筋痙攣、人格上の問題、実行機能不全からなる群から選択される症状を有し、またはそのリスクがある、請求項 1～39 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 41】

前記個体は、前頭側頭型認知症 (FTD)、大脳皮質基底核症候群 (CBS)、大脳皮質基底核変性症 (CBD)、アルツハイマー病 (AD)、多発性硬化症 (MS)、皮質下

10

20

30

40

50

梗塞及び白質脳症を伴う非定型常染色体優性脳動脈症（C A D A S I L）、及びパーキンソン病（P D）からなる群から選択される疾患を有する、請求項 1 ～ 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 2】

抗 T R E M 2 抗体が投与されている個体の処置をモニタリングする方法であって、前記個体が抗 T R E M 2 抗体の 1 つ以上の用量を摂取する前及び後に前記個体からのサンプルにおける C S F 1 R のレベルを測定することを含む、前記方法。

【請求項 4 3】

前記サンプルにおける前記 C S F 1 R のレベルに基づいて前記個体における前記抗 T R E M 2 抗体の活性を評価する工程を更に含む、請求項 4 2 に記載の方法。

10

【請求項 4 4】

前記サンプルは、前記個体の脳脊髄液または前記個体の血液からのものである、請求項 4 2 または 4 3 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 9 年 1 2 月 5 日に出願された米国仮出願番号 6 2 / 9 4 4 , 2 9 8 、及び 2 0 2 0 年 4 月 3 日に出願された米国仮出願番号 6 3 / 0 0 5 , 1 1 0 の利益を主張し、その各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0 0 0 2】

A S C I I テキストファイルでの配列表の提出

A S C I I テキストファイルでの以下の提出の内容は、その全体が参照により本明細書に援用される：コンピュータ可読形式（C R F）の配列表（ファイル名：7 3 5 0 2 2 0 0 3 2 4 0 S E Q L I S T . T X T、記録日：2 0 2 0 年 1 2 月 2 日、サイズ：8 8 K B）。

【0 0 0 3】

本開示は、抗 T R E M 2 抗体の治療的使用に関する。

【背景技術】

【0 0 0 4】

軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（A L S P）、小児発症白質脳症は、罹患した個体における中枢神経系の「白質」を変化させる稀な致命的神経疾患である（Freeman et al. (2009) “Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids: Clinical, neuroimaging and neuropathologic observations.” Brain Pathol. 19 (1): 39–47. PMID: 18422757; Rademakers et al. (2011) “Mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) gene cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.” Nat Genet. 44 (2): 200–205. PMID: 22197934; Oosterhof et al. (2019) “Homozygous Mutations in CSF1R Cause a Pediatric-Onset Leukoencephalopathy and Can Result in Congenital Absence of Microglia.” Am J Hum Genet. 104 (5): 936–947. PMID: 30982608）。以前は、A L S P は、2 つの別の病態、すなわち、軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（H D L S）及び家族性色素性正染性白質脳症（P O L D）と考えられていた。しかしながら、H D L S 及び P O L D を有する患者はいずれとも、色素性グリア細胞及びスフェロイドを有し得ることを考慮すると、H D L S 及び P O L D は、A L S P に包含される同じ

30

40

50

範囲の疾患の一部と考えられる (Nicholson et al. (2013) “CSF1R mutations link POLD and HDLS as a single disease entity.” *Neurology* 80 (11): 1033–1040. PMID: 23408870)。

【0005】

ALSP及び小児発症白質脳症を有する患者は、スフェロイドと呼ばれる、脳の軸索における腫れを特徴的に有する。最近の研究は、CSF1R遺伝子における変異をALSP及び小児発症白質脳症と関連付けた (Rademakers et al. (2011); Nicholson et al. (2013); Oosterhof et al. (2019); Guo et al. (2019) “Bi-allelic CSF1R Mutations Cause Skeletal Dysplasia of Dysosteosclerosis–Pyle Disease Spectrum and Degenerative Encephalopathy with Brain Malformation.” *Am J Hum Genet.* 104 (5): 925–935. PMID: 30982609)。

10

【0006】

ヒトCSF1R遺伝子は、コロニー刺激因子1受容体 (CSF1R) と呼ばれるタンパク質をコードする。ホモ二量体糖タンパク質であるコロニー刺激因子1 (CSF-1) は、CSF1Rに対する主要なリガンドである (Sherr et al. (1988) “Colony-stimulating factor-1 receptor (c-fms).” *J Cell Biochem* 38 (3): 179–187. PMID: 2852667)。CSF1Rは、PDGF受容体ファミリーに属するIII型チロシンキナーゼ成長因子受容体である。その受容体ファミリーのメンバーは、免疫グロブリン様ドメイン、膜貫通ドメイン、及びプロテインキナーゼドメインからなるタンパク質構造を有する。特に、CSF1Rは、高度にグリコシル化された細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内タンパク質チロシンキナーゼドメインから構成される。CSF1Rは、マクロファージを含む様々な細胞タイプの外膜に見られ、コロニー刺激因子1 (CSF-1) の成長因子受容体として機能する (Pridans et al. (2013) “CSF1R mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids are loss of function.” *Sci Rep* 3: 3012. PMID: 24145216; Ridge et al. (1990) “FMS mutations in myelodysplastic, leukemic, and normal subjects.” 87 (4): 1377–1380. PMID: 2406720; Oosterhof et al.; Rademaker et al.)。CSF1Rを介するシグナル伝達は、ミクログリア細胞を含むマクロファージの増殖及び発達を制御することが示されている。特に、CSF1Rシグナル伝達は、脳のミクログリアを含む成熟マクロファージの大部分の生成に貢献し得る。CSF1R欠損は、脳におけるミクログリアの発達に負の影響を及ぼす (Swerdlow et al. (2009) “Autosomal dominant subcortical gliosis presenting as frontotemporal dementia.” *Neurology* 72 (3): 260–267. PMID: 19153373; Baba et al. (2006) “Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids: clinical, pathologic and genetic studies of a new kindred.” *Acta Neuropathol.* 111 (4): 300–311. PMID: 16523341; Oosterhof et al.; Rademaker et al.; Guo et al., 2019)。

20

30

40

【0007】

現在、ALSP、小児発症白質脳症、及び関連する疾患に罹患している患者のための有

50

効な処置オプションは存在しない。利用可能な処置は、疾患を処置するのではなく、疾患症状を管理する。よって、治療オプションを提供し、ALSP、小児発症白質脳症、及び関連する疾患に罹患した患者についてのアウトカムを改善するための新たな処置が当該技術分野で必要とされている。

【0008】

特許出願及び公報を含む本明細書で引用される全ての参考文献は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0009】

本開示は一般に、CSF1R欠損疾患を有する個体を処置する方法であって、TREM2タンパク質に結合する抗体を個体に投与することを含み、抗体は、アゴニストである、方法に関する。

【0010】

本開示の特定の態様は、アゴニスト抗TREM2抗体が、CSF1R阻害剤及び対照IgGの存在下で成長したヒトマクロファージと比較して、CSF1R阻害剤の存在下で成長したヒトマクロファージの生存率を有意に改善したという発見に少なくとも部分的に基づく（例えば、実施例2を参照されたい）。

【0011】

したがって、一態様では、本開示は、CSF1R欠損疾患を処置または予防する方法であって、治療的有効量のTREM2タンパク質に結合する抗体をそれを必要とする個体に投与することを含み、抗体は、アゴニストであり、抗体は、1つ以上のTREM2活性を誘導する、方法を提供する。

【0012】

いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合によって誘導される1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合を阻止することなく、1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合を向上させる。いくつかの実施形態において、1つ以上のTREM2リガンドは、E. coli細胞、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、アニオン性脂質、APOE、APOE2、APOE3、APOE4、アニオン性APOE、アニオン性APOE2、アニオン性APOE3、アニオン性APOE4、脂質付加APOE、脂質付加APOE2、脂質付加APOE3、脂質付加APOE4、双性イオン性脂質、負に荷電したリン脂質、ホスファチジルセリン、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、膜リン脂質、脂質付加タンパク質、プロテオリピド、脂質付加ペプチド、脂質付加アミロイドベータペプチド、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2の細胞表面クラスター化の非存在下で1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2の細胞表面クラスター化を誘導または保持することによって1つ以上のTREM2活性を向上させる。

【0013】

いくつかの実施形態において、TREM2タンパク質は、哺乳動物タンパク質またはヒトタンパク質である。いくつかの実施形態において、TREM2タンパク質は、野生型タンパク質、天然に存在するバリエーション、または疾患バリエーションである。

【0014】

いくつかの実施形態において、抗体によって誘導され、または向上する1つ以上のTREM2活性は、(a) DAP12に対するTREM2結合；(b) DAP12リン酸化；(c) Sykキナーゼの活性化；(d) IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、IL-20ファミリーメンバー

、IL-33、LIF、IFN-γ、OSM、CNTF、CSF-1、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、及びIL-23からなる群から選択される1つ以上の炎症誘発性メディエーターの調節であって、任意に調節は、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞からなる群から選択される1つ以上の細胞で生じる、調節；(e) DAP12/TREM2複合体へのSykの動員；(f) 1つ以上のTREM2依存性遺伝子の活性の上昇であって、任意に1つ以上のTREM2依存性遺伝子は、活性化T細胞(NFAT)転写因子の核因子を含む、上昇；(g) 樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及びM2ミクログリア、またはそれらの任意の組み合わせの生存性の向上；(h) CD83、CD86 MHCクラスII、CD40、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される1つ以上の刺激性分子の調節された発現であって、任意にCD40は、樹状細胞、単球、マクロファージ、またはそれらの任意の組み合わせに発現し、任意に樹状細胞は、骨髄由来樹状細胞を含む、調節された発現；(i) 記憶力の上昇；ならびに(j) 認知障害の軽減からなる群から選択される。

10

【0015】

いくつかの実施形態において、抗体は、CSF1の非存在下で培養されるマクロファージの生存を促進する。いくつかの実施形態において、抗体は、*in vivo*で可溶性TREM2の血漿レベルを低下させる。いくつかの実施形態において、抗体は、TREM2の切断を阻止する。いくつかの実施形態において、抗体は、処置されていない個体または対照抗体で処置された個体と比較して、個体においてCSF1Rの発現を誘導し、またはCSF1Rのレベルを上昇させる。いくつかの実施形態において、CSF1Rの発現の誘導またはCSF1Rのレベルの上昇は、個体の脳で生じる。いくつかの実施形態において、方法は、個体からのサンプルにおけるCSF1Rのレベルを測定する工程を含む。

20

【0016】

いくつかの実施形態において、抗体は、ネズミ抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、多価抗体、コンジュゲート抗体、またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体である。

30

【0017】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号1のアミノ酸残基124~153、または配列番号1のアミノ酸残基124~153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基129~153、または配列番号1のアミノ酸残基129~153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基140~149、または配列番号1のアミノ酸残基140~149に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基149~157、または配列番号1のアミノ酸残基149~157に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内；または配列番号1のアミノ酸残基153~162、または配列番号1のアミノ酸残基153~162に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸に結合する。

40

【0018】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号1のD140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基、または配列番号1のD140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157からなる群から選択されるアミノ酸残基に対応する哺乳動物TREM2タンパク質上の1つ以上のアミノ酸残基に結合する。

【0019】

いくつかの実施形態において、抗体は、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H

50

3を含む重鎖可変領域ならびにHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3を含む軽鎖可変領域を含み、HVR-H1は、アミノ酸配列YAFSSQWMN（配列番号34）を含み、HVR-H2は、アミノ酸配列RIYPGGDTNYAGKFQG（配列番号35）を含み、HVR-H3は、アミノ酸配列ARLLRNQPGESYAMDY（配列番号31）を含み、HVR-L1は、アミノ酸配列RSSQSLVHSNRYTYLH（配列番号41）を含み、HVR-L2は、アミノ酸配列KVS NRFS（配列番号33）を含み、HVR-L3は、アミノ酸配列SQSTRVPYT（配列番号32）を含む。

【0020】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号27のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号30のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【0021】

いくつかの実施形態において、抗体は、HVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3を含む重鎖可変領域ならびにHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3を含む軽鎖可変領域を含み、HVR-H1は、アミノ酸配列YAFSSDWMN（配列番号36）を含み、HVR-H2は、アミノ酸配列RIYPGE GDTNYARKFHG（配列番号37）を含み、HVR-H3は、アミノ酸配列ARLLRNKPGESYAMDY（配列番号38）を含み、HVR-L1は、アミノ酸配列RTSQSLVHSNAYTYLH（配列番号39）を含み、HVR-L2は、アミノ酸配列KVS NRVS（配列番号40）を含み、HVR-L3は、アミノ酸配列SQSTRVPYT（配列番号32）を含む。

【0022】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号28のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号29のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

20

【0023】

いくつかの実施形態において、抗体は、断片であり、断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、FvまたはscFv断片である。いくつかの実施形態において、抗体は、IgGクラス、IgMクラス、またはIgAクラスのものである。いくつかの実施形態において、抗体は、IgGクラスのものであり、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG1アイソタイプを有し、Fc領域において残基位置P331S及びE430Gでアミノ酸置換を含み、残基のナンバリングは、EUNナンバリングに従う。

30

【0024】

いくつかの実施形態において、抗体は、（a）配列番号43のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖；または（b）配列番号44のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0025】

いくつかの実施形態において、抗体は、（a）配列番号45のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖；または（b）配列番号46のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0026】

いくつかの実施形態において、個体は、ヒトである。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患は、軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）である。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患は、小児発症白質脳症である。

40

【0027】

いくつかの実施形態において、個体は、CSF1R遺伝子における変異を有する。いくつかの実施形態において、変異は、細胞内タンパク質チロシンキナーゼドメインをコードするCSFR1遺伝子の部分にある。変異は、CSFR1遺伝子のエクソン11～21のいずれか1つにある。いくつかの実施形態において、個体は、CSFR1遺伝子における変異についてヘテロ接合性である。いくつかの実施形態において、個体は、CSFR1遺伝子における変異についてホモ接合性である。

50

【0028】

いくつかの実施形態において、個体は、白質脳症、軸索損傷、軸索スフェロイド、ミエリン損傷、髄鞘の喪失、グリオーシス、自家蛍光脂質搭載マクロファージ、及び軸索破壊からなる群から選択される疾患特性を有し、またはそのリスクがある。いくつかの実施形態において、個体は、大脳白質の異常、行動変化、認知症、パーキンソン病、発作、運動性失語症、失書症、計算不能症、失行症、動作緩慢、緩慢な動作、中枢神経系脱髄、抑鬱、鬱病、前頭葉型認知症、グリオーシス、過反射、反射亢進、伸展性足底反応、片側不全まひ、四肢不全まひ、白質脳症、記憶障害、健忘症、記憶喪失、記憶困難、不十分な記憶力、無言症、会話不能、非発話、中枢神経系におけるニューロン喪失、脳細胞の喪失、姿勢の不安定、平衡障害、急速前進、こわばり、筋肉こわばり、小股歩行、引きずり歩行、錐体路兆候、痙縮、不随意筋硬直、不随意筋収縮、不随意筋痙攣、人格上の問題、実行機能不全からなる群から選択される症状を有し、またはそのリスクがある。

10

【0029】

いくつかの実施形態において、個体は、前頭側頭型認知症（FTD）、大脳皮質基底核症候群（CBS）、大脳皮質基底核変性症（CBD）、アルツハイマー病（AD）、多発性硬化症（MS）、皮質下梗塞及び白質脳症を伴う非定型常染色体優性脳動脈症（CADASIL）、及びパーキンソン病（PD）からなる群から選択される疾患を有する。

【0030】

一態様では、本開示は、抗TREM2抗体が投与されている個体の処置をモニタリングする方法であって、個体が抗TREM2抗体の1つ以上の用量を摂取する前及び後に個体からのサンプルにおけるCSF1Rのレベルを測定することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、方法は、サンプルにおけるCSF1Rのレベルに基づいて個体における抗TREM2抗体の活性を評価する工程を含む。いくつかの実施形態において、サンプルは、個体の脳脊髄液または個体の血液からのものである。

20

【0031】

本明細書に記載される様々な実施形態の特性うちの1つ、いくつか、または全てを組み合わせ、本発明の他の実施形態を形成し得ることが理解される。本発明のこれらの及び他の態様は、当業者に明らかになる。本発明のこれらの及び他の実施形態は、以下の詳細な説明によって更に説明される。

【図面の簡単な説明】

30

【0032】

【図1】M-CSFの離脱後のヒトマクロファージ生存率に対する抗TREM2アゴニスト抗体の効果を示している。特に、図1は、M-CSFの離脱後のヒトマクロファージに対する細胞生存率の倍数変化を示している。中実三角は、M-CSF（50 ng/mL）のみで処置されたヒトマクロファージを表し、中空三角は、IgG1（10 µg/mL）で処置されたヒトマクロファージを表し、中空丸は、AL2p-58 huIgG1 PSEG（1 µg/mL）で処置されたヒトマクロファージを表し、中実丸は、AL2p-58 huIgG1 PSEG（10 µg/mL）で処置されたヒトマクロファージを表す。各処置についてN=3のドナー；エラーバーは平均の標準誤差（SEM）を表す。

【図2】CSF1-受容体（CSF1R）の阻害後のヒトマクロファージ生存率に対する抗TREM2アゴニスト抗体の効果を示している。特に、図2は、CSF1R阻害剤（PLX3397）で処置されたヒトマクロファージに対する細胞生存率の倍数変化を示している。中実三角は、IgG1（10 µg/mL）のみで処置されたヒトマクロファージを表し、中空三角は、PLX3397（30 nM）のみで処置されたヒトマクロファージを表し、中空丸は、AL2p-58 huIgG1 PSEG（10 µg/mL）のみで処置されたヒトマクロファージを表し、中実丸は、PLX3397（30 nM）及びAL2p-58 huIgG1 PSEG（10 µg/mL）の両方で処置されたヒトマクロファージを表す。各処置についてN=3のドナー；エラーバーは平均の標準誤差（SEM）を表す。

40

【図3】非ヒト霊長類におけるCSF1Rタンパク質の発現に対する抗TREM2アゴニ

50

スト抗体の効果を示している。対照 I g G でのまたは上昇する濃度の A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G での処置後の前頭皮質からのサンプルにおける C S F 1 R タンパク質発現の変化が示されている；p 値は、スチューデントの t 検定を用いて計算した。

【図 4】A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 または対照が投与された非ヒト霊長類の前頭皮質及び海馬における C S F 1 R タンパク質の濃度を示している。非ヒト霊長類に对照または A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 を静脈内に合計で 5 用量について週 1 回投与した（1 群当たり N = 5）。A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 または対照の 5 回目の投与から 4 8 時間後の前頭皮質（左パネル）及び海馬（右パネル）における C S F 1 R タンパク質（C S F 1 R タンパク質（n g）／総タンパク質（m g））の濃度が提供されている。

【発明を実施するための形態】

【0033】

本明細書では、T R E M 2 のアゴニストを投与することによって C S F 1 R シグナル伝達における欠損または他の欠陥に関連する障害及び疾患を処置する方法が提供される。そのような疾患または障害には、C S F 1 R における変異に関連する疾患、例えば、小児発症白質脳症；軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（A L S P）；スフェロイドを伴うびまん性遺伝性白質脳症；神経軸索スフェロイドを伴う成人発症白質萎縮症；神経軸索スフェロイドを伴う常染色体優性白質脳症；軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（H D L S）；神経軸索白質萎縮症；色素性正染性白質萎縮症；ならびに家族性色素性正染性白質脳症（P O L D）が含まれるがこれらに限定されない。T R E M 2 のアゴニストには、1 つ以上の T R E M 2 活性を誘導し、及び／または T R E M 2 に対する 1 つ以上のリガンドの結合によって誘導される 1 つ以上の活性を向上させる抗 T R E M 2 抗体が含まれる。例えば、アゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、可溶性 T R E M 2 を減少させ、脾臓チロシンキナーゼ（S y k）リン酸化を誘導し、D A P 1 2 に対する T R E M 2 の結合を誘導し、D A P 1 2 リン酸化を誘導し、樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞（ミクログリア）の増殖、生存、及び／または機能を増加させ、または T R E M 2 依存性遺伝子の活性及び／または発現を増加させ得る。

【0034】

定義

本明細書で使用されるとき、「予防する」という用語は、個体における特定の疾患、障害、または病態の開始を遅らせることを含む、特定の疾患、障害、または病態の発生または再発に対する予防を提供することを含み、個体は、そのような疾患、障害または病態にかかりやすく、感受性であり、またはそれを発症するリスクがあり得るが、まだ疾患、障害、または病態であると診断されていない。

【0035】

本明細書で使用されるとき、特定の疾患、障害または病態を発症する「リスクがある」個体は、検出可能な疾患または疾患の症状を有していてもいなくてもよく、本明細書に記載される処置方法の前に、検出可能な疾患または疾患の症状を呈していてもいなくてもよい。「リスクがある」は、個体が、当該技術分野で知られているように、特定の疾患、障害、または病態の発症と関連する測定可能なパラメータである、1 つ以上のリスク因子を有することを意味する。これらのリスク因子のうちの 1 つ以上を有する個体は、これらのリスク因子のうちの 1 つ以上を有さない個体よりも特定の疾患、障害、または病態を発症する可能性が高い。

【0036】

本明細書で使用されるとき、「処置」という用語は、臨床病理の過程で処置される個体の自然経過を変化させるように設計された臨床的介入を指す。処置の望ましい効果には、進行の速度の減少、病理学的状態の改善または緩和、及び特定の疾患、障害、または病態の寛解または改善した予後が含まれる。個体は、例えば、特定の疾患、障害、または病態に関連する 1 つ以上の症状が軽減または排除された場合、成功裏に「処置される」。

【0037】

「有効量」は、少なくとも、所望の治療結果または予防結果を達成するために必要な投薬量及び期間での有効な量を指す。有効量は、1回以上の投与で提供され得る。本明細書における有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、ならびに個体において所望の反応を引き起こすための処置の能力などの要因に応じて変わり得る。有効量はまた、処置の任意の毒性または有害効果に治療的に有益な効果が上回るものである。予防的使用の場合、有益なまたは所望の結果には、疾患の生化学的、組織学的、及び／または挙動的症状、その合併症ならびに疾患の発症中に現れる中間病理学的表現型を含む、疾患のリスクの排除もしくは低下、疾患の重症度の軽減、または疾患の発生の遅延が含まれる。治療的使用の場合、有益なまたは所望の結果には、疾患に起因する1つ以上の症状の減少、疾患に罹患している者の生活の質の向上、疾患の処置に必要な他の薬剤の用量の減少、別の薬剤の効果の増強、例えば、疾患の進行の遅延、及び／または生存期間の延長などの臨床結果が含まれる。薬物、化合物、または薬学的組成物の有効量は、直接的または間接的のいずれかで予防的または治療的処置を達成するのに十分な量である。臨床状況において理解されるように、薬物、化合物または医薬組成物の有効量は、別の薬物、化合物または薬学的組成物と併せて達成されてもよいし、そうでなくてもよい。したがって、「有効量」は、1つ以上の治療薬の投与に関連して考慮される場合があり、単一の薬剤は、1つ以上の他の薬剤と併せると望ましい結果が達成され得るか、または達成される場合、有効量で与えられるとみなされ得る。

10

【0038】

処置、予防またはリスク低下の目的のための「個体」は、ヒト、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、競技用または愛玩動物、例えば、イヌ、ウマ、ウサギ、ウシ、ブタ、ハムスター、アレチネズミ、マウス、フェレット、ラット、ネコなどを含む、哺乳動物に分類される任意の動物を指す。いくつかの実施形態において、個体は、ヒトである。

20

【0039】

本明細書で使用されるとき、別の化合物または組成物との「併用」投与は、同時投与及び／または異なる時点での投与を含む。併用投与はまた、合剤としての投与または別個の組成物としての投与を包含し、異なる投与頻度または間隔で、かつ同じ投与経路または異なる投与経路を使用することを含む。

【0040】

「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書において、「抗体」と同じ意味で使用される。本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2つのインタクト抗体から形成された多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片（ただし、所望の生物活性を呈する場合に限る）を具体的に包含する。

30

【0041】

基本的な4本鎖の抗体単位は、2本の同一の軽鎖（L）と2本の同一の重鎖（H）とから構成されるヘテロ四量体糖タンパク質である。V_HとV_Lとが一緒に対合することにより、単一の抗原結合部位が形成される。異なる抗体クラスの構造及び特性については、例えば、Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6を参照されたい。

40

【0042】

任意の脊椎動物種に由来するL鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、 kappa（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる2つの明確に異なる種類のうちの1つに割り振ることができる。免疫グロブリンは、その重鎖の定常ドメイン（CH）のアミノ酸配列に応じて、異なるクラスまたはアイソタイプに割り振ることができる。免疫グロブリンには、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMの5つのクラスがあり、それぞれ、アルファ（「α」）、デルタ（「δ」）、イプシロン（「ε」）、ガンマ（「γ」）及びミュー（「μ」）と表記される重鎖を有する。γ及びαのクラスは、CH配列及び機能の

50

相対的にわずかな相違に基づいて、サブクラス（アイソタイプ）に更に分類され、例えば、ヒトは、以下のサブクラス：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2を発現する。異なる免疫グロブリンクラスのサブユニット構造及び三次元構成は既知であり、例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W. B. Saunders Co., 2000) に大まかに記載されている。

【0043】

「天然抗体」は、通常、2つの同一の軽鎖（L）及び2つの同一の重鎖（H）から構成される約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つのジスルフィド共有結合により重鎖に結合しているが、ジスルフィド結合の数は、種々の免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で異なる。各重鎖及び軽鎖は、規則的な間隔を置いた鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一端に可変ドメイン（V_H）を有し、これにいくつかの定常ドメインが続く。各軽鎖は、一方の端に可変ドメイン（V_L）を有し、その他方の端に定常ドメインを有し、軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第1の定常ドメインと整列し、軽鎖の可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列している。特定のアミノ酸残基が軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられている。

【0044】

「単離された」抗体、例えば、本開示の単離された抗TREM2抗体は、その生成環境（例えば、天然または組み換え）の成分から同定、分離及び／または回収されたものである。好ましくは、単離されたポリペプチドは、その生成環境に由来する実質的に全ての他の夾雑成分との会合がない。その生成環境に由来する夾雑成分、例えば、組み換えトランスフェクション細胞に起因するものなどは、典型的に、抗体の研究上、診断上または治療上での使用を妨げる物質であり、これらには、酵素、ホルモン及び他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質が含まれ得る。好ましい実施形態において、ポリペプチドは、（1）抗体が、例えば、ローリー法によって決定したときに、95重量%超、いくつかの実施形態では99重量%超になるまで、（2）スピニングカップ配列決定装置の使用により、少なくとも15個のN末端もしくは内部アミノ酸配列の残基を得るのに十分な程度になるまで、または（3）クマシーブルー染色もしくは好ましくはシルバー染色を使用して、非還元条件もしくは還元条件下でSDS-PAGEによって均質性が得られるまで、精製される。

【0045】

本開示の抗TREM2抗体などの抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、それぞれ、「V_H」及び「V_L」と呼ぶことができる。これらのドメインは、一般に、可変性の最も高い抗体部分であり（同じクラスの他の抗体と比べて）、抗原結合部位を含有する。

【0046】

「可変」という用語は、可変ドメインの特定のセグメントが、本開示の抗TREM2抗体などの抗体間で配列が大幅に異なるという事実を指す。可変ドメインは、抗原結合を媒介し、その特定の抗原に対する、特定の抗体の特異性を定義する。しかしながら、可変性は、可変ドメイン全体に均一に分布しているわけではない。むしろ、それは、軽鎖及び重鎖の両方の可変ドメインにおいて、超可変領域（HVR）と呼ばれる3つのセグメントに集中している。可変ドメインのうち、より保存された部分は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、各々、3つのHVRによって接続されたベータシート立体配置を主とする4つのFR領域を含み、これらのHVRは、ベータシート構造を接続し、場合により、ベータシート構造の一部を形成するループを形成する。各鎖中のHVRは、FR領域によって極めて近接して一緒に保持され、他方の鎖からのHVRと共に、その抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Kabata et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991) 参照）。定常ドメインは、抗原への抗体の結合に直

接関与しないが、抗体依存性細胞傷害における抗体の関与等の種々のエフェクター機能を示す。

【0047】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体集団から得られる抗体、例えば、本開示の抗TREM2モノクローナル抗体を指す。すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、微量で存在し得る可能性のある天然に存在する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除き、同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位を対象としている。異なる決定基（エピトープ）を対象とする異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基を対象としている。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、他の免疫グロブリンが実質的に混入されていないハイブリドーマ培養物によって合成され得るという点で有利である。「モノクローナル」という修飾語句は、実質的に同種の抗体集団から得られる抗体の特性を示し、任意の特定の方法による抗体の作製を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Kohler and Milstein, Nature, 256:495-97 (1975); Hongo et al., Hybridoma, 14(3):253-260 (1995), Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N. Y., 1981))、リコンビナントDNA法（例えば、米国特許番号4,816,567参照）、ファージディスプレイ技術（例えば、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 101(34):12467-472 (2004); 及びLee et al., J. Immunol Methods 284(1-2):119-132 (2004)参照）、酵母提示技術（例えば、WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568、及びXu et al., Protein Eng. Des. Sel., 26(10):663-70 (2013)参照）、及びヒト免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子座または遺伝子の一部または全部を有する動物においてヒトまたはヒト様抗体を生成するための技術（例えば、WO1998/24893; WO1996/34096; WO1996/33735; WO1991/10741; Jakobovits et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993); 米国特許番号5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 及び5,661,016; Marks et al., Bio/Techonology 10:779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368:856-859 (1994); Morrison, Nature 368:812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14:845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnol. 14:826 (1996); 及びLonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995)参照)を含む多様な技術によって生成され得る。

【0048】

「全長抗体」、「インタクト抗体」または「全抗体」という用語は、抗体断片とは対照的に、その実質的にインタクトな形態にある抗体（例えば、本開示の抗 T R E M 2 抗体）を指すために互換的に使用される。具体的には、全抗体は、F c 領域を含む重鎖及び軽鎖を有するものを含む。定常ドメインは、天然配列の定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列の定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列変異形であり得る。いくつかの場合において、インタクト抗体は、1つ以上のエフェクター機能を有し得る。

【0049】

「抗体断片」は、インタクト抗体の部分、好ましくはインタクト抗体の抗原結合領域及び／または可変領域を含む。抗体断片の例には、F a b、F a b'、F (a b')₂ 及び F v 断片；ダイアボディ；線状抗体（米国特許第 5,641,870 号、実施例 2；Z a p a t a e t a l., P r o t e i n E n g. 8 (10): 1057-1062 (1995) 参照）；一本鎖抗体分子、及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる。

10

【0050】

抗体（例えば、本開示の抗 T R E M 2 抗体）をパパイン消化すると、「F a b」断片と呼ばれる2つの同一の抗原結合断片と、容易に結晶化する能力を反映した名称を持つ1つの残留「F c」断片とが生成される。F a b 断片は、L 鎖全体に加えて、H 鎖の可変領域ドメイン (V_H) 及び一方の重鎖の第1の定常ドメイン (C_{H1}) からなる。各 F a b 断片は、抗原結合に関しては一価であり、すなわち、単一の抗原結合部位を有する。抗体のペプシン処理は、単一の大型 F (a b')₂ 断片をもたらし、これは、2つのジスルフィド結合した F a b 断片にほぼ対応し、依然として抗原と結合し、抗原を架橋することができる。F a b' 断片は、C_{H1} ドメインのカルボキシ末端に、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む、いくつかの更なる残基を有することにより、F a b 断片とは異なる。F a b' -S H とは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を持つ F a b' の本明細書における呼称である。F (a b')₂ 抗体断片は、間にヒンジシステインを有する F a b' 断片の対として生成され得る。抗体断片の他の化学的カップリングも既知である。

20

【0051】

F c 断片は、ジスルフィドによって一緒に保持された、両方の H 鎖のカルボキシ末端部分を含む。抗体のエフェクター機能は、特定の細胞型にみられる F c 受容体 (F c R) によって認識される F c 領域の配列によって決定される。

30

【0052】

「F v」は、完全な抗原認識部位及び抗原結合部位を含有する最小の抗体断片である。この断片は、1つの重鎖可変領域ドメインと1つの軽鎖可変領域ドメインが非共有結合で緊密に結合した二量体からなる。これらの2つのドメインの折り畳みにより、抗原結合のためのアミノ酸残基を提供し、抗原結合特異性を抗体に与える、6つの超可変ループ（H 鎖及び L 鎖からそれぞれ3つのループ）が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的な H V R を3つしか含まない半分の F v）であっても、全結合部位よりも低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を有し得る。

【0053】

「s F v」または「s c F v」と短縮されることもある「一本鎖 F v」は、単一のポリペプチド鎖の状態に連結された、V_H 及び V_L 抗体ドメインを含む、抗体断片である。好ましくは、s F v ポリペプチドは、V_H ドメインと V_L ドメインとの間にポリペプチドリinker を更に含み、このリンカーにより、s F v が抗原結合に望ましい構造を形成することが可能となっている。s F v の概説については、P l u c k t h u n i n T h e P h a r m a c o l o g y o f M o n o c l o n a l A n t i b o d i e s, v o l. 113, R o s e n b u r g a n d M o o r e e d s., S p r i n g e r - V e r l a g - 3, N e w Y o r k, p p. 269-315 (1994) を参照されたい。

40

【0054】

50

抗体（例えば、本開示の抗 T R E M 2 抗体）の「機能性断片」は、インタクト抗体の部分を含み、概して、インタクト抗体の抗原結合領域もしくは可変領域、または F c R 結合能力を保持するか、改変された F c R 結合能力を有する抗体の F c 領域を含む。

【0055】

「ダイアボディ」という用語は、鎖内ではなく鎖間の可変ドメイン対合を達成し、それによって二価断片、すなわち、2つの抗原結合部位を有する断片が得られるように、V_HドメインとV_Lドメインとの間に短いリンカー（約5～10個の残基）を用いてsFv断片（前述の段落を参照）を構築することによって作製された小さな抗体断片を指す。ダイアボディは、例えば、欧州特許第404,097号、WO93/11161; Hollinger et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:6444-48 (1993) に更に詳細に記載されている。

【0056】

本明細書で使用されるとき、「キメラ抗体」は、抗体（例えば、本開示のキメラ抗 T R E M 2 抗体）であって、重鎖及び／または軽鎖の部分が、特定の種に由来する抗体または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同であり、かつ、その鎖（複数可）の残りが、別の種に由来する抗体または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一または相同である抗体、ならびにそのような抗体の断片（ただし、所望の生物活性を呈する場合に限る）を指す（米国特許第4,816,567号; Morrison et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 81:6851-55 (1984)）。キメラ抗体には、抗体の可変領域がネズミ抗体に由来し、定常領域がヒト抗体に由来する抗体が含まれる。本明細書で使用されるとき、「ヒト化抗体」は、「キメラ抗体」のサブセットである。

【0057】

非ヒト（例えば、ネズミ）抗体の「ヒト化」形態（例えば、本開示の抗 T R E M 2 抗体のヒト化形態）は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小配列を含有するキメラ抗体である。一実施形態において、ヒト化抗体は、レシピエントのHVRに由来する残基が、所望される特異性、親和性及び／または能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のHVRに由来する残基で置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。場合によって、ヒト免疫グロブリンのFR残基を、対応する非ヒト残基で置き換える。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にもみられない残基を含み得る。これらの改変は、結合親和性などの抗体性能を更に改良するために行われ得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリン配列の超可変ループに対応し、FR領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のFR領域に対応するが、そのFR領域は、結合親和性、異性体化、免疫原性などの抗体性能を改善する1つ以上の個々のFR残基置換を含み得る。FR領域におけるこれらのアミノ酸置換の数は、典型的に、H鎖で6個以下であり、L鎖で3個以下である。ヒト化抗体はまた、任意選択により、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部分、典型的にはヒト免疫グロブリンの少なくとも一部分を含む。更なる詳細については、例えば、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al. 332:323-329 (1988); 及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)を参照されたい。また、例えば、Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurler and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994); ならびに米国特許第6,982,321号及び同第7,087,409号を参照されたい。

【0058】

「ヒト抗体」は、本明細書に開示されるまたはそうでなければ当該技術分野で知られて

いるヒト抗体を作製するための技術のいずれかを使用して作製された抗体（例えば、本開示の抗TREM2抗体）のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に排除する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリを含む、当該技術分野において既知の様々な技術を使用して作製することができる。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991). ヒトモノクローナル抗体の作製には、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147 (1): 86-95 (1991)に記載されている方法も使用できる。van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5:368-74 (2001)も参照されたい。ヒト抗体は、そのような抗体を抗原刺激に应答して生成するように改変され、その内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物（例えば、免疫化異種マウス）に抗原を投与することによって作製することができる（XENOMOUSE（商標）技術については、例えば、米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号参照）。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体については、例えば、Li et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)も参照されたい。代替的には、ヒト抗体はまた、例えば、WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; 及びXu et al., Protein Eng. Des. Sel., 26 (10): 663-70 (2013)に開示される酵母ライブラリ及び方法を用いることによって調製され得る。

10

20

30

40

50

【0059】

本明細書で使用されるとき、「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列が超可変性であり、及び／または構造的に定義されたループを形成する、抗体可変ドメインの領域（例えば、本開示の抗TREM2抗体の抗体可変ドメインの領域）を指す。一般に、抗体は、6つのHVRを含み、3つがVH（H1、H2、H3）にあり、3つがVL（L1、L2、L3）にある。天然抗体において、H3及びL3が6つのHVRのうちで最も高い多様性を呈し、特にH3が抗体に優れた特異性を与える上で特有の役割を果たすと考えられる。例えば、Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000); Johnson and Wu in Methods in Molecular Biology 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)を参照されたい。事実、重鎖のみからなる天然に存在するラクダ抗体は、軽鎖がない状態で、機能的であり、安定している。例えば、Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993)及びSheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996)を参照されたい。

【0060】

多くのHVR記述が本明細書で使用され、本明細書に包含される。いくつかの実施形態において、HVRは、配列可変性に基づくKabatによる相補性決定領域（CDR）であり得、最も一般的に使用されている（Kabatら、上掲）。いくつかの実施形態において、HVRは、Chothia CDRであり得る。Chothiaは、むしろ、構造的ループの位置に言及するものである（Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)）。いくつかの実施形態において、HVRは、AbM HVRであり得る。AbM HVRは、Kabat CDRとChothia構造的ループとの間の妥協案を示し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されている。いくつかの実施形態において、HVRは、「接触」HVRであり得る。「接触」HVRは、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づくものである。これらのHVRの各々由来の残基が以下に記載される。

ループ	K a b a t	A b M	C h o t h i a	接 触
L 1	L 2 4 - L 3 4	L 2 4 - L 3 4	L 2 6 - L 3 2	L 3 0 - L 3 6
L 2	L 5 0 - L 5 6	L 5 0 - L 5 6	L 5 0 - L 5 2	L 4 6 - L 5 5
L 3	L 8 9 - L 9 7	L 8 9 - L 9 7	L 9 1 - L 9 6	L 8 9 - L 9 6
H 1	H 3 1 - H 3 5 B	H 2 6 - H 3 5 B	H 2 6 - H 3 2	H 3 0 - H 3 5 B (K a b a t ナンバリング)
H 1	H 3 1 - H 3 5	H 2 6 - H 3 5	H 2 6 - H 3 2	H 3 0 - H 3 5 (C h o t h i a ナンバリング)
H 2	H 5 0 - H 6 5	H 5 0 - H 5 8	H 5 3 - H 5 5	H 4 7 - H 5 8
H 3	H 9 5 - H 1 0 2	H 9 5 - H 1 0 2	H 9 6 - H 1 0 1	H 9 3 - H 1 0 1
	【 0 0 6 1 】			

10

H V R は、次の「伸長 H V R」を含み得る：V L 中、2 4 ～ 3 6 または 2 4 ～ 3 4 (L 1)、4 6 ～ 5 6 または 5 0 ～ 5 6 (L 2) 及び 8 9 ～ 9 7 または 8 9 ～ 9 6 (L 3)、ならびに V H 中、2 6 ～ 3 5 (H 1)、5 0 ～ 6 5 または 4 9 ～ 6 5 (好ましい実施形態) (H 2) 及び 9 3 ～ 1 0 2、9 4 ～ 1 0 2 または 9 5 ～ 1 0 2 (H 3)。可変ドメイン残基は、これらの伸長 H V R 定義の各々に対して、K a b a t ら (上掲) に従ってナンバリングされる。

【 0 0 6 2 】

「フレームワーク」または「F R」残基は、本明細書で定義される H V R 残基以外の可変ドメイン残基である。

20

【 0 0 6 3 】

「K a b a t に従う可変ドメイン残基ナンバリング」または「K a b a t に従うアミノ酸位置ナンバリング」という語句及びそれらの変形形態は、K a b a t ら (上掲) において、抗体編成の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに対して使用されるナンバリングシステムを指す。このナンバリングシステムを使用する場合、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインの F R もしくは H V R の短縮、または F R もしくは H V R への挿入に対応する、より少ないアミノ酸または追加のアミノ酸を含有することがある。例えば、重鎖可変ドメインは、H 2 の残基 5 2 の後に 1 つのアミノ酸挿入 (K a b a t に従うと残基 5 2 a) を含み得、また重鎖 F R 残基 8 2 の後に複数の挿入された残基 (例えば、K a b a t に従うと残基 8 2 a、8 2 b 及び 8 2 c など) を含み得る。所与の抗体に対する残基の K a b a t ナンバリングは、その抗体の配列と「標準の」K a b a t によってナンバリングされた配列との相同領域での整列によって決定され得る。

30

【 0 0 6 4 】

K a b a t ナンバリングシステムは、一般に、可変ドメイン中の残基 (大体、軽鎖の残基 1 ～ 1 0 7 及び重鎖の残基 1 ～ 1 1 3) について言及する際に使用される (例えば、K a b a t e t a l . , S e q u e n c e s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t . 5 t h E d . P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M d . (1 9 9 1))。 「E U ナンバリングシステム」、 「E U ナンバリング」または「E U インデックス」は、一般に、免疫グロブリン重鎖定常領域中の残基について言及する際に使用される (例えば、K a b a t ら (上掲) で報告される E U インデックス)。 「K a b a t に従う E U インデックス」は、ヒト I g G 1 E U 抗体の残基ナンバリングを指す。抗体の可変ドメインにおける残基番号の参照は、K a b a t ナンバリングシステムによる残基ナンバリングを意味する。抗体の定常ドメインにおける残基番号の参照は、E U ナンバリングシステムによる残基ナンバリングを意味する (例えば、米国特許出願公開第 2 0 1 0 - 2 8 0 2 2 7 号参照)。

40

【 0 0 6 5 】

本明細書で使用される「アクセプターヒトフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する V L フレームワークまたは V H フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリ

50

ンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに「由来する」アクセプターヒトフレームワークは、当該フレームワークと同じアミノ酸配列を含んでもよいし、既存のアミノ酸配列変化を含有してもよい。いくつかの実施形態において、既存のアミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下または2以下である。既存のアミノ酸変化がVHに存在する場合、好ましくはそれらの変化が位置71H、73H及び78Hのうちの3つ、2つ、または1つにのみ生じる場合、例えば、それらの位置のアミノ酸残基は、71A、73T、及び／または78Aであり得る。一実施形態において、VLアクセプターヒトフレームワークは、配列において、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

10

【0066】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンのVLフレームワーク配列またはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を代表する、フレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンのVL配列またはVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからなされる。一般に、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)などのサブグループである。VLの場合、サブグループは、例えば、Kabatら(上掲)でサブグループI、II、III、IVまたはVであり得る。また、VHの場合、サブグループは、Kabatら(上掲)でサブグループI、IIまたはIIIであり得る。

20

【0067】

指定位置における「アミノ酸改変」(例えば、本開示の抗TREM2抗体のアミノ酸改変)は、指定残基の置換もしくは欠失、または少なくとも1つのアミノ酸残基の指定残基に隣接する挿入を指す。指定残基に「隣接する」挿入とは、その1~2つの残基内への挿入を意味する。挿入は、指定された残基のN末端側またはC末端側であり得る。本明細書における好ましいアミノ酸改変は、置換である。

【0068】

「親和性成熟」抗体(例えば、本開示の親和性成熟抗TREM2抗体)は、変化(複数可)を有さない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性の改善をもたらすそれらの1つ以上のHVRにおける1つ以上の変化を有するものである。一実施形態において、親和性成熟抗体は、標的抗原に対して、ナノモルまたは更にはピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該技術分野において既知の手順によって作製され得る。例えば、Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)は、VHドメインとVLドメインのシャッフリングによる親和性成熟について記載している。HVR及び／またはフレームワーク残基のランダム変異誘発は、例えば、Barbas et al. Proc Natl Acad Sci USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 及びHawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)に記載されている。

30

40

【0069】

本明細書で使用されるとき、「特異的に結合する」という用語は、生物学的分子などの分子の異種集団内の標的の存在を決定する、抗TREM2抗体とTREM2との間などの標的と抗体との間の測定可能な及び再生可能な結合相互作用を指す。例えば、標的または標的のエピトープに特異的に結合する抗体(例えば、本開示の抗TREM2抗体)は、例えば、他の関連しない標的またはエピトープに結合するよりも高い親和性またはアビディティで、この標的またはエピトープに優先的に結合する抗体である。第1の標的に特異的

50

に結合する抗体は、第2の標的に特異的に結合してもしなくてもよいことも理解される。このように、「特異的結合」は、排他的な結合を必ずしも必要とするものではない（ただし、包含する場合もある）。標的に特異的に結合する抗体は、少なくとも約 10^3 M^{-1} または 10^4 M^{-1} 、場合により、約 10^5 M^{-1} または 10^6 M^{-1} 、他の場合、約 10^6 M^{-1} または 10^7 M^{-1} 、約 $10^8 \text{ M}^{-1} \sim 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、または約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \sim 10^{11} \text{ M}^{-1}$ またはそれ以上の会合定数を有し得る。種々のイムノアッセイフォーマットを使用して、特定タンパク質と特異的に免疫反応性である抗体を選択することができる。例えば、固相ELISAイムノアッセイを常法により使用して、タンパク質と特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体を選択する。例えば、特定の免疫反応性を決定するために使用され得るイムノアッセイ形式及び条件の説明については、Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York、またはVashist and Luong (2018) Handbook of Immunoassay Technologies, Approaches, Performances, and Applications, Academic Pressを参照されたい。

10

【0070】

本明細書で使用されるとき、抗体が2つのタンパク質の一方に結合することによって2つのタンパク質間の相互作用を中断、低減、または完全に排除するとき、抗体は2つのタンパク質間の「相互作用を阻害する」。

20

【0071】

「アゴニスト」抗体は、標的に結合すると標的の1つ以上の活性または機能を誘導する（例えば、増加させる）抗体である。

【0072】

「アンタゴニスト」抗体または「ブロック」抗体は、抗体が抗原に結合した後に1つ以上の結合パートナーに結合する抗原を低減または排除する（例えば、減少させる）、及び／または抗体が抗原に結合した後に抗原の1つ以上の活性または機能を低減または排除する（例えば、減少させる）抗体である。いくつかの実施形態において、アンタゴニスト抗体、またはブロック抗体は、1つ以上の結合パートナーへの抗原結合及び／または抗原の1つ以上の活性もしくは機能を実質的または完全に阻害する。

30

【0073】

抗体の「エフェクター機能」は、抗体のFc領域（天然配列Fc領域またはアミノ酸配列バリエーションFc領域）に帰属する生物活性を指し、抗体のアイソタイプに応じて様々である。

【0074】

本明細書における「Fc領域」という用語は、天然配列Fc領域及びバリエーションFc領域を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は様々であり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、アミノ酸残基の位置Cys226またはPro230から、そのカルボキシル末端まで及ぶものと定義される。Fc領域のC末端リジン（EUNアンバリングシステムによると残基447）は、例えば、抗体の生成もしくは精製の際に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することによって、除去されてもよい。したがって、インタクト抗体の組成は、全てのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、及びK447残基を有する抗体と有しない抗体との混合物を有する抗体集団を含み得る。本開示の抗体において使用するための好適な天然配列Fc領域には、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4が含まれる。

40

【0075】

「天然配列Fc領域」は、天然にみられるFc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域には、天然配列ヒトIgG1 Fc領域（非A及びAアロタイプ）、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然配列ヒトIgG3 Fc領域、及び

50

天然配列ヒトIgG4 Fc領域、ならびにそれらの天然に存在する変異型が含まれる。

【0076】

「バリエントFc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸改変、好ましくは1つ以上のアミノ酸置換（複数可）により、天然配列Fc領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、バリエントFc領域は、天然配列Fc領域と比較して、少なくとも1つのアミノ酸置換を有し、例えば、天然配列Fc領域中に、約1～約10のアミノ酸置換、好ましくは約1～約5のアミノ酸置換を有する。本明細書におけるバリエントFc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域と少なくとも約80%の相同性、最も好ましくは、それらと少なくとも約90%の相同性、より好ましくは、それらと少なくとも約95%の相同性を保有する。

【0077】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を表す。好ましいFcRは、天然配列のヒトFcRである。更に、好ましいFcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）と結合するものであり、FcγRI、FcγRII及びFcγRIIIのサブクラスの受容体（これらの受容体のアレルバリエント及び選択的スプライシング形態を含む）が含まれる。FcγRII受容体には、同様のアミノ酸配列を有し、主にその細胞質ドメインが異なる、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「抑制性受容体」）が含まれる。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（「ITAM」）を含有する。抑制性受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシン系抑制性モチーフ（「ITIM」）を含有する（例えば、M. Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997) 参照）。FcRについては、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); 及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995) に概説されている。他のFcRは、本明細書における用語「FcR」に包含される。FcRはまた、抗体の血清中半減期を延長し得る。

【0078】

ヒトFcR高親和性結合ポリペプチドのFcRへのin vivo結合及び血清中半減期は、例えば、ヒトFcRを発現するトランスジェニックマウスもしくはヒトトランスフェクション細胞株において、またはバリエントFc領域を有するポリペプチドが投与される霊長類においてアッセイされ得る。WO2004/42072 (Presta) は、FcRへの結合が改善または低減された抗体バリエントについて記載している。例えば、Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001) も参照されたい。

【0079】

本明細書で使用されるとき、ペプチド、ポリペプチドまたは抗体配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」及び「アミノ酸配列相同性パーセント(%)」は、配列を整列させ、必要に応じて最大配列同一性パーセントを達成するためにギャップを導入した後の、配列同一性の一部としてあらゆる保存的置換を考慮しない、指定のペプチドまたはポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である、候補配列中のアミノ酸残基の割合を指す。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、当該技術分野の技術範囲内である種々の方法、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMEGALIGN（商標）(DNASTAR) ソフトウェアなどの一般に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者であれば、比較する配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要とされる当該技術分野において既知の任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを評価するための適切なパラメータを決定することができる。

【0080】

例えば、抗体（例えば、本開示の抗TREM2抗体）をコードする「単離された」核酸

10

20

30

40

50

分子は、その核酸分子が生成された環境において通常会合している少なくとも1つの夾雑核酸分子から同定及び分離された核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、その生成環境に伴う実質的に全ての成分との会合がない。本明細書のポリペプチド及び抗体をコードする単離された核酸分子は、細胞中に天然に存在する核酸とは区別される。

【0081】

「ベクター」という用語は、本明細書で使用されるとき、当該ベクターに結合された別の核酸を輸送することができる核酸分子を指す。1つの種類のベクターは「プラスミド」であり、これは、追加のDNAセグメントがライゲートされ得る環状二本鎖DNAを指す。別の種類のベクターは、ファージベクターである。別の種類のベクターは、ウイルスベクターであり、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムにライゲートされ得る。ある特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞における自己複製が可能である（例えば、細菌起源の複製を有する細菌ベクター及びエピソード性哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソード性哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、それにより、宿主ゲノムと共に複製される。更に、あるベクターは、それらが作動可能に連結された遺伝子の発現を司ることができる。そのようなベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」または単に「発現ベクター」と称される。一般に、組み換えDNA技術における利用される発現ベクターは、プラスミドの形態である場合が多い。本明細書において、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用されるベクターの形態であるため、同じ意味で使用され得る。

【0082】

本明細書で区別なく使用される「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドの重合体を指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、改変ヌクレオチドもしくは塩基及び／またはそれらの類似体、あるいはDNAもしくはRNAポリメラーゼによりまたは合成反応により重合体中に組み込まれ得る任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びその類似体などの改変ヌクレオチドを含み得る。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する改変は、重合体の組み立て前または後に付与され得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分により中断されてもよい。ポリヌクレオチドは、標識へのコンジュゲーションなど、合成後になされた改変（複数可）を含み得る。他のタイプの改変には、例えば、「キャップ」、類似体による天然に存在するヌクレオチドのうちの1つ以上の置換；ならびにヌクレオチド間改変、例えば、非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど）による改変及び荷電結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）による改変、ペンダント部分、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリーリジンなど）を含有する改変、インターカレータ（例えば、アクリジン、ソラレンなど）による改変、キレート化剤（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）を含有する改変、アルキル化剤を含有する改変、改変結合による改変（例えば、 α アノマー核酸など）、ならびにポリヌクレオチド（複数可）の未改変形態が含まれる。更に、糖内に通常存在するヒドロキシル基のうちのいずれかを、例えば、ホスホン酸基、リン酸基により置換してもよいし、標準的な保護基により保護してもよいし、活性化して追加のヌクレオチドへの更なる結合を生成してもよいし、固体または半固体支持体にコンジュゲートしてもよい。5'末端及び3'末端のOHを、リン酸化してもよいし、アミンもしくは1~20個の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換してもよい。他のヒドロキシルも、標準的な保護基に誘導体化してもよい。ポリヌクレオチドはまた、当該技術分野において一般的に知られているリボース糖またはデオキシリボース糖の類似形態も含み得、例えば、2'-O-メチル、2'-O-アリル、2'-フルオロまたは2'-アジド-リボース、炭素環糖類似体、 α -アノマー糖、アラビノース、キシロースまたはリキソースなどのエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体及びメチルリボシドなどの塩基性ヌクレオシド類似体を含む。1つ以上のホスホジエステル結合は、代替連結基に置き換えられてもよい。これらの代替連結基には、限定されないが、リン酸が

、 $P(O)S$ （「チオエート」）、 $P(S)S$ （「ジチオエート」）、 $(O)NR_2$ （「アミデート」）、 $P(O)R$ 、 $P(O)OR'$ 、 CO または CH_2 （「ホルムアセタール」）に置き換えられる実施形態が含まれ、式中、各 R または R' は、独立して、 H 、置換もしくは無置換アルキル（ $1 \sim 20C$ ）（任意にエーテル（ $-O-$ ）結合を含有する）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたはアラルジルである。ポリヌクレオチド内の全ての結合が同一である必要はない。前述の説明は、 RNA 及び DNA を含む、本明細書において言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

【0083】

「宿主細胞」には、例えば、ポリヌクレオチドインサート（複数可）を組み込んでいるベクター（複数可）または他の外因性核酸を含有し得る個々の細胞または細胞培養物が含まれる。いくつかの実施形態において、ベクターまたは他の外因性核酸は、宿主細胞のゲノムに組み込まれる。宿主細胞には、単一の宿主細胞の子孫が含まれ、子孫は、天然、突然、または意図的変異のため、必ずしも元の親細胞と（形態においてまたはゲノム DNA 相補体において）完全に同一である必要はない場合がある。宿主細胞には、本発明のポリヌクレオチド（複数可）で*in vivo*でトランスフェクションされた細胞が含まれる。

【0084】

本明細書で使用される「担体」には、使用される投薬量及び濃度で、その担体に曝露される細胞または哺乳動物に対して無毒である、薬学的に許容可能な担体、賦形剤または安定剤が含まれる。多くの場合、生理学的に許容可能な担体は、 pH 緩衝水溶液である。生理学的に許容可能な担体の例には、リン酸、クエン酸及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（約 10 残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンもしくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースもしくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類及び他の炭水化物； $EDTA$ などのキレート化剤；マンニトールもしくはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；及び／または $TWEEN$ （商標）、ポリエチレングリコール（ PEG ）及び $PLURONICS$ （商標）などの非イオン性界面活性剤が含まれる。

【0085】

本明細書で使用される「約」という用語は、本技術分野の当業者に容易に理解される、各値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」を付した値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象にした実施形態を含む（かつ記載する）ものである。

【0086】

本明細書及び添付の特許請求の範囲に使用される場合、単数形「 a 」、「 an 」、及び「 the 」は、文脈がそうでないことを明確に示さない限り、複数形を含む。例えば、「抗体」への言及は、モル量等の 1 つ～多数の抗体への言及であり、当業者に既知のその等価物を含むといった具合である。

【0087】

本明細書に記載される本開示の態様及び実施形態は、態様及び実施形態を「含む」、態様及び実施形態「からなる」、ならびに態様及び実施形態「から本質的になる」を含むことを理解されたい。

【0088】

本開示の方法

本開示は、 $CSF1R$ 欠損疾患を有する個体において処置し、予防し、またはリスクを低下させる方法であって、治療的有効量の $TREM2$ タンパク質に結合する抗体をそれを必要とする個体に投与することを含み、抗体は、アゴニストである。

【0089】

「 $CSF1R$ 欠損疾患」は、本明細書で使用されるとき、 $CSF1R$ シグナル伝達における欠損または他の欠陥に起因する任意の疾患、障害または病態を指す。特定の実施形態

10

20

30

40

50

において、疾患、障害または病態は、「野生型」機能を有すると考えられるまたは正常な範囲内であると考えられる機能を有するCSF1Rタンパク質と比較して低下した機能を有するCSF1Rタンパク質を伴う。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患は、罹患した個体におけるCSF1R遺伝子の変異によって特性化される。変異は典型的には、罹患した個体におけるCSF1Rの機能の低下をもたらす。変異は、例えば、ミスセンス変異、インデル、または切断型タンパク質生成物を生成する変異を含む任意のタイプのものであり得る。

【0090】

理論に縛られることを望むものではなく、TREM2を作動させることは、CSF1R欠損疾患を有する個々においてCSF1R欠損の作用を改善すると考えられる。特定の10
実施形態において、本明細書に記載されるTREM2抗体は、CSF1Rの下流のシグナル伝達を活性化または増加させて、CSF1R欠損を補い、またはそうでなければ救済し得る。特定の実施形態において、本明細書に記載されるTREM2抗体は、シグナル伝達が欠損しているCSF1Rの発現を誘導または増加させ得、そのようなCSF1Rの量の増加は、十分な量のシグナル伝達をもたらす。

【0091】

CSF1R欠損疾患には、限定するものではないが、小児発症白質脳症ならびに軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）が含まれる。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患は、ALSPである。いくつかの実施形態にお10
いて、CSF1R欠損疾患は、小児発症白質脳症である。

【0092】

軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）

いくつかの実施形態において、本開示は、ALSPを有する個体において処置し、予防し、またはリスクを低下させる方法であって、治療的有効量のTREM2タンパク質に結合する抗体をそれを必要とする個体に投与することを含み、抗体は、アゴニストである、方法を提供する。

【0093】

軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）は、脳の特定の領域の変化によって特性化される常染色体優性神経学的病態である。ALSPは、CSF1Rをコードする遺伝子における変異によって引き起こされる。脳の白質に対する損傷30
である「白質脳症」は、ALSPの古典的な特性である。また、スフェロイドと呼ばれる腫れによって引き起こされる軸索損傷は、ALSPの別の一般的な特性である。追加的な一般的なALSP疾患特性には、ミエリン損傷、髄鞘の喪失、グリオーシス、自家蛍光脂質搭載マクロファージ、及び軸索破壊が含まれる。更に、ミエリン及び軸索に対する損傷は、ALSPに罹患した個体の多数の神経学的兆候及び症状に寄与すると考えられる（Oosterhof et al; Rademaker et al, Guo et al, 2019）。

【0094】

ALSPの一般的な症状には、大脳白質の異常、行動変化、認知症、パーキンソン病、発作、運動性失語症、失書症、計算不能症、失行症、動作緩慢、緩慢な動作、中枢神経系40
脱髄、抑鬱、鬱病、前頭葉型認知症、グリオーシス、過反射、反射亢進、伸展性足底反応、片側不全まひ、四肢不全まひ、白質脳症、記憶障害、健忘症、記憶喪失、記憶困難、不十分な記憶力、無言症、会話不能、非発話、中枢神経系におけるニューロン喪失、脳細胞の喪失、姿勢の不安定、平衡障害、急速前進、こわばり、筋肉こわばり、小股歩行、引きずり歩行、錐体路兆候、痙縮、不随意筋硬直、不随意筋収縮、不随意筋痙攣、人格上の問題、及び実行機能不全が含まれるがこれらに限定されない。

【0095】

現在はALSPと称される疾患は、以前は、2つの異なる疾患、すなわち、軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（HDL S）及び家族性色素性正染性白質脳症（POL D）と考えられていた。実際に、医師は、色素性グリア細胞がPOL Dの特徴であり50

、HDL Sの特徴ではないと考えていた。更に、医師は、スフェロイドがHDL Sの特徴であり、POL Dの特徴ではないと考えていた。しかしながら、各疾患の臨床的及び病理学的特徴の詳細な分析は、HDL S及びPOL Dを有する患者が色素性グリア細胞及びスフェロイドを呈したことを実証した。このように、HDL S及びPOL Dは現在、ALSPに包含される疾患の同じ範囲の一部と考えられている（Nicholson et al. (2013)）。

【0096】

ALSPについての例示的な代替名称には、限定するものではないが、スフェロイドを伴うびまん性遺伝性白質脳症；神経軸索スフェロイドを伴う成人発症白質萎縮症；神経軸索スフェロイドを伴う常染色体優性白質脳症；軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（HDL S）；神経軸索白質萎縮症；色素性正染性白質萎縮症；ならびに家族性色素性正染性白質脳症（POL D）が含まれる。

【0097】

いくつかの実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体を投与することは、軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）を予防し、リスクを低下させ、または処置し得る。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体を投与することは、軸索スフェロイド及び色素性グリアを伴う成人発症白質脳症（ALSP）を有する個体における1つ以上のTREM2活性を誘導する。理論に縛られることを望むものではなく、TREM2を作動させることは、ALSPを有する個体においてCSF1R欠損の作用を低下させると考えられる。

【0098】

小児発症白質脳症

小児発症白質脳症は、CSF1R遺伝子における変異によって引き起こされる稀な致命的神経疾患である。小児発症白質脳症は、1）発達退行、2）発症時の運動能力の問題、3）てんかん、及び4）認知低下を含む明確な小児表現型によって特性化される。最近の調査は、CSF1R遺伝子におけるヘテロ接合型変異によって引き起こされるALSPと比較して、小児発症白質脳症に罹患した個体は、CSF1R遺伝子におけるホモ接合型変異を有することを実証している。更に、小児発症白質脳症を有する個体は、ALSPと重複する多くの神経画像的特徴を有する一方で、それらはまた、ALSPを有する個体に存在しない区別可能な神経画像的特徴を有する（Oosterhof et al. (2019)）。

【0099】

いくつかの実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体を投与することは、小児発症白質脳症を予防し、そのリスクを低下させ、及び／または処置し得る。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体を投与することは、小児発症白質脳症を有する個体における1つ以上のTREM2活性を誘導する。理論に縛られることを望むものではなく、TREM2を作動させることは、小児発症白質脳症を有する個体においてCSF1R欠損の作用を低下させると考えられる。

【0100】

CSF1R変異

いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患を有する個体は、CSF1R遺伝子における変異を有する。上で詳述したように、ヒトCSF1R遺伝子は、コロニー刺激因子1受容体（CSF1R）をコードする。CSF1Rはまた、以下の名称のうちの1つによって称され得る：C-FMS、CD115、CD115抗原、CSF-1受容体、CSF-1R、CSF1R__ヒト、CSFR、FIM2、FMS、FMSがん原遺伝子、CSF-1-R、M-CSF-R、BANDDOS、v-FMS、及びc-FMSがん原遺伝子。CSF1R遺伝子の染色体位置は5q32であり、その分子位置は、5番染色体の塩基対150,053,291～150,113,372である。更に、CSF1R遺伝子についてのGenBank識別子は、NG_012303である。

【0101】

CSF1Rタンパク質は、PDGF受容体ファミリーに属するIII型チロシンキナーゼ成長因子受容体である。特に、CSF1Rは、高度にグリコシル化された細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内タンパク質チロシンキナーゼドメインから構成される。CSF1Rは、ミクログリアを含む単核食細胞の生存、増殖、分化、及び機能を制御するサイトカインであるCSF-1の受容体として主に作用する細胞表面受容体である。CSF1Rに対するCSF-1の結合は、受容体ホモ二量体の形成及びその後の細胞質性ドメインにおけるいくつかのチロシン残基の自己リン酸化をもたらす。

【0102】

CSF1R遺伝子における変異を同定するために当該技術分野で知られている任意のシーケンシング方法が使用され得る。例えば、CSF1R変異を同定するために使用され得るシーケンシング方法の非網羅的リストには、サンガーシーケンシング、全エクソームシーケンシング、及び次世代シーケンシングが含まれる。

【0103】

いくつかの実施形態において、CSF1R遺伝子における変異は、細胞内タンパク質チロシンキナーゼドメインをコードする遺伝子の部分にある。いくつかの実施形態において、CSF1R遺伝子における変異は、エクソン11～21のいずれか1つにある。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患を有する個体は、CSF1R遺伝子における変異についてヘテロ接合性である。いくつかの実施形態において、CSF1R欠損疾患を有する個体は、CSF1R遺伝子における変異についてホモ接合性である。いくつかの実施形態において、CSF1R遺伝子における変異は、免疫グロブリン様ドメインをコードする遺伝子の部分にある。いくつかの実施形態において、CSF1R遺伝子における変異は、膜貫通ドメインをコードする遺伝子の部分にある。いくつかの実施形態において、CSF1R遺伝子における変異は、制御性膜近傍ドメインをコードする遺伝子の部分にある。

【0104】

CSF1R遺伝子における例示的な変異には、限定するものではないが、c. 1754-2A>G (p. G585_K619delinsA)、c. 1766G>A (p. G589E)、c. 1897G>A (p. E633K)、c. 2297T>C (p. M766T)、c. 2308G>C (p. A770P)、c. 2320-2A>G (p. C774_N814del)、c. 2324T>A (p. I775N)、c. 2381T>C (p. I794T)、c. 2442+5G>C (p. C774_N814delinsQGLQSHVGPSPSSSPQAQ)、c. 2509G>T (p. D837Y)、c. 2546_2548delTCT (p. F849del)、c. 2546T>C (p. F849S)、c. 2603T>C (p. L868P)、c. 2624T>C (p. M875T)、及びc. 2632C>A (p. P878T)が含まれる(Oosterhof et al.; Rademaker et al.)。

【0105】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体を投与することは、CSF1Rの変異体バリエーションによって引き起こされるCSF1R欠損疾患を予防し、リスクを低下させ、及び／または処置し得る。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体を投与することは、CSF1Rの変異体バリエーションによって引き起こされるCSF1R欠損疾患を有する個体における1つ以上のTREM2活性を誘導し得る。

【0106】

併存疾患

CSF1R欠損疾患を有する個体は、例えば、前頭側頭型認知症(FTD)、大脳皮質基底核症候群(CBS)、大脳皮質基底核変性症(CBD)、アルツハイマー病(AD)、多発性硬化症(MS)、皮質下梗塞及び白質脳症を伴う非定型常染色体優性脳動脈症(CADASIL)、及びパーキンソン病(PD)などの追加の疾患に罹患しており、及び／または診断されている場合がある。

【0107】

TREM2 タンパク質

本開示は、CSF1R 欠損疾患を有する個体において処置し、予防し、またはリスクを低下させる方法であって、TREM2 タンパク質に結合する抗体を個体に投与することを含み、抗体は、アゴニストである、方法を提供する。

【0108】

骨髄細胞に発現したトリガー受容体-2 (TREM2) は、TREM-2、TREM2a、TREM2b、TREM2c、骨髄細胞に発現したトリガー受容体-2a、及び単球に発現したトリガー受容体-2として多様に称される。TREM2は、230アミノ酸の膜タンパク質である。TREM2は、限定するものではないが、マクロファージ、樹状細胞、単球、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、破骨細胞、及びミクログリアを含む骨髄系統細胞に主に発現する免疫グロブリン様受容体である。いくつかの実施形態において、TREM2は、DAP12と受容体シグナル伝達複合体を形成する。いくつかの実施形態において、TREM2は、DAP12 (ITAMドメインアダプタータンパク質) を介してリン酸化し、シグナル伝達する。いくつかの実施形態において、TREM2シグナル伝達は、PI3Kまたは他の細胞内シグナルの下流活性化をもたらす。骨髄細胞では、トル様受容体 (TLR) シグナルは、例えば、感染反応の文脈において、TREM2活性の活性化のために重要である。TLRはまた、病理学的炎症反応において重要な役割を果たし、例えば、TLRは、マクロファージ及び樹状細胞において発現する。

【0109】

本開示のTREM2タンパク質には、限定するものではないが、ヒトTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号Q9NZC2; 配列番号1)、及び非ヒト哺乳動物TREM2タンパク質、例えば、マウスTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号Q99NH8; 配列番号2)、ラットTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号D3ZZ89; 配列番号3)、アカゲザルTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号F6QVF2; 配列番号4)、カニクイザルTREM2タンパク質 (NCBIアクセッション番号XP_015304909.1; 配列番号5)、ウマTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号F7D6L0; 配列番号6)、ブタTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号H2EZZ3; 配列番号7)、及びイヌTREM2タンパク質 (UniProtアクセッション番号E2RP46; 配列番号8) が含まれる。本明細書で使用されるとき、「TREM2タンパク質」は、野生型配列及び天然に存在するバリエーション配列の両方を指す。

【0110】

いくつかの実施形態において、ヒトTREM2アミノ酸配列の例は、配列番号1として以下に示される。

【化1】

```

      10      20      30      40      50      60
MEPLRLILL FVTELSGAHN TTVFQGVAGQ SLQVSCPYDS MKHWGRRKAW CRQLGEKGPC

      70      80      90     100     110     120
QRRVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT

      130     140     150     160     170     180
LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESSEF EDAHVEHSIS RSLLEGEIPF PPTSILLLLA

      190     200     210     220     230
CIFLIKILAA SALWAAAWHG QKPGTHPPSE LDCGHDPGYQ LQTLPLGLRDT

```

【0111】

いくつかの実施形態において、ヒトTREM2は、シグナルペプチドを含むプレタンパク質である。いくつかの実施形態において、ヒトTREM2は、成熟タンパク質である。

いくつかの実施形態において、成熟 T R E M 2 タンパク質は、シグナルペプチドを含まない。いくつかの実施形態において、成熟 T R E M 2 タンパク質は、細胞上に発現する。いくつかの実施形態において、T R E M 2 は、ヒト T R E M 2（配列番号 1）のアミノ酸残基 1～18 に位置するシグナルペプチド；ヒト T R E M 2（配列番号 1）のアミノ酸残基 29～112 に位置する細胞外免疫グロブリン様可変型（I g V）ドメイン；ヒト T R E M 2（配列番号 1）のアミノ酸残基 113～174 に位置する追加の細胞外配列；ヒト T R E M 2（配列番号 1）のアミノ酸残基 175～195 に位置する膜貫通ドメイン；及びヒト T R E M 2（配列番号 1）のアミノ酸残基 196～230 に位置する細胞内ドメインを含有する。T R E M 2 切断部位は、ヒスチジン 157 の C 末端側で生じるものとして同定され（W O 2 0 1 8 / 0 1 5 5 7 3 を参照されたい）、その部位での切断は、T R E M 2 のその部分に対応する可溶性 T R E M 2（s T R E M 2）の増加として検出可能な、T R E M 2 細胞外ドメインの関連部分のシェディングにつながる。

10

【0112】

ヒト T R E M 2 の膜貫通ドメインは、T R E M 2、T R E M 1、及び他の関連する I g V ファミリーメンバーからシグナルを伝達する重要なアダプタータンパク質である D A P 1 2 におけるアスパラギン酸と相互作用し得るアミノ酸残基 186 のリジンを含有する。

【0113】

抗 T R E M 2 抗体

本開示の特定の態様は、T R E M 2 タンパク質に結合する抗体（例えば、モノクローナル抗体）であって、その抗 T R E M 2 抗体は、アゴニストである、抗体に関する。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、成熟 T R E M 2 タンパク質に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、成熟 T R E M 2 タンパク質に結合し、成熟 T R E M 2 タンパク質は、細胞上に発現している。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト破骨細胞、皮膚のヒトランゲルハンス細胞、ヒトクッパー細胞、ヒトミクログリア、及びそれらの任意の組み合わせから選択される 1 つ以上のヒト細胞に発現した T R E M 2 タンパク質に結合する。

20

【0114】

活性を誘導し、及び／またはリガンド誘導活性を向上させる抗 T R E M 2 抗体

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1 つ以上の T R E M 2 活性を誘導するアゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、細胞に発現した T R E M 2 タンパク質に結合した後に T R E M 2 の 1 つ以上の活性を誘導する。

30

【0115】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1 つ以上の T R E M 2 リガンドが T R E M 2 タンパク質に結合することに競合することなく、阻害することなく、またはそうでなければ阻止することなく T R E M 2 タンパク質に結合する。T R E M 2 リガンドの例には、限定するものではないが、E . c o l i 細胞によって発現した T R E M 2 リガンド、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、A P O E、A P O E 2、A P O E 3、A P O E 4、アニオン性 A P O E、アニオン性 A P O E 2、アニオン性 A P O E 3、アニオン性 A P O E 4、脂質付加 A P O E、脂質付加 A P O E 2、脂質付加 A P O E 3、脂質付加 A P O E 4、双性イオン性脂質、負に荷電したリン脂質、ホスファチジルセリン、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、膜リン脂質、脂質付加タンパク質、プロテオリピド、脂質付加ペプチド、及び脂質付加アミロイドベータペプチドが含まれる。したがって、特定の実施形態において、1 つ以上の T R E M 2 リガンドは、E . c o l i 細胞、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、双性イオン性脂質、負に荷電したリン脂質、ホスファチジルセリン（P S）、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン（S M）、リン脂質、脂質付加タンパク質、プロテオリピド、脂質付加ペプチド、及び脂質付加アミロイドベータペプチドを含む。

40

【0116】

本開示の方法において使用される抗 T R E M 2 抗体は、アゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、T R E M 2 タンパク質に結合する本開示の抗体には、それらのエ

50

ピトープ特異性により T R E M 2 に結合し、1つ以上の T R E M 2 活性を活性化するアゴニスト抗体が含まれ得る。いくつかの実施形態において、そのような抗体は、T R E M 2 上のリガンド結合部位に結合して1つ以上の T R E M 2 リガンドの作用を模倣し、またはリガンド結合部位ではない1つ以上のドメインに結合することによって T R E M 2 を刺激してシグナルを伝達し得る。いくつかの実施形態において、抗体は、T R E M 2 に結合するリガンドと競合せず、またはそうでなければそれを阻止しない。いくつかの実施形態において、抗体は、1つ以上の T R E M 2 リガンドと相加的にまたは相乗的に作用して、以下に示されるように、1つ以上の T R E M 2 活性を活性化し、及び／または向上させる。

【0117】

本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、1つ以上の T R E M 2 リガンドの同時結合を阻止することなく、T R E M 2 に結合する能力を示し得る。本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1つ以上の T R E M 2 リガンドと相加的及び／または相乗的機能相互作用を更に示し得る。よって、いくつかの実施形態において、本開示の1つ以上の T R E M 2 リガンドと組み合わせて本開示の抗 T R E M 2 抗体に結合した場合の T R E M 2 の最大活性は、リガンド単独の飽和濃度または抗体単独の飽和濃度に曝露された場合の T R E M 2 の最大活性よりも高い（向上する）場合がある。また、所与の濃度の T R E M 2 リガンドでの T R E M 2 の活性は、抗体の存在下でより高くなり得る（例えば、向上し得る）。

【0118】

したがって、いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1つ以上の T R E M 2 リガンドと共に相加効果を有し、T R E M 2 タンパク質に結合した場合に1つ以上の T R E M 2 活性を向上させる。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1つ以上の T R E M 2 リガンドと相乗作用して1つ以上の T R E M 2 活性を向上させる。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体の非存在下で1つ以上の T R E M 2 活性を誘導する1つ以上の T R E M 2 リガンドの効力と比較して、1つ以上の T R E M 2 活性を誘導する1つ以上の T R E M 2 リガンドの効力を増加させる。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 の細胞表面クラスター化の非存在下で1つ以上の T R E M 2 活性を向上させる。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 の細胞表面クラスター化を誘導または保持することによって1つ以上の T R E M 2 活性を向上させる。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、限定するものではないが、B細胞及びミクログリア細胞を含む1つ以上の免疫細胞に発現する1つ以上の F c ガンマ受容体によってクラスター化される。いくつかの実施形態において、T R E M 2 タンパク質に対する1つ以上の T R E M 2 リガンドの結合によって誘導される1つ以上の T R E M 2 活性の向上は、限定するものではないが、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、NK細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、及びクッパー細胞を含む初代細胞、または細胞株で測定される。

【0119】

特定の実施形態において、T R E M 2 タンパク質に対する1つ以上の T R E M 2 リガンドの結合によって誘導される1つ以上の T R E M 2 活性を向上させる本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗 T R E M 2 抗体の非存在下で T R E M 2 タンパク質に対する1つ以上の T R E M 2 リガンドの結合によって誘導される1つ以上の T R E M 2 活性のレベルと比較して、1つ以上の T R E M 2 活性が少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも11倍、少なくとも12倍、少なくとも13倍、少なくとも14倍、少なくとも15倍、少なくとも16倍、少なくとも17倍、少なくとも18倍、少なくとも19倍、少なくとも20倍またはそれ以上増加する。

【0120】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体及び／または本開示の1つ以上の T R E M 2 リガンドによって誘導され、及び／または向上し得る T R E M 2 活性には、限定するものではないが、D A P 1 2 に対する T R E M 2 結合；D A P 1 2 リン酸化；

10

20

30

40

50

S y kキナーゼの活性化；I F N- β 、I L-1 α 、I L-1 β 、T N F- α 、Y M-1、I L-6、I L-8、C R P、C D 8 6、M C P-1 / C C L 2、C C L 3、C C L 4、C C L 5、C C R 2、C X C L-1 0、G a t a 3、R o r c、I L-2 0ファミリーメンバー、I L-3 3、L I F、I F N-ガンマ、O S M、C N T F、G M-C S F、C S F-1、M H C-I I、O P N、C D 1 1 c、G M-C S F、I L-1 1、I L-1 2、I L-1 7、I L-1 8、及びI L-2 3から選択される1つ以上の炎症誘発性メディエーターの調節であって、任意に調節は、マクロファージ、M 1マクロファージ、活性化M 1マクロファージ、M 2マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞から選択される1つ以上の細胞で生じる、調節；D A P 1 2 / T R E M 2複合体へのS y k、Z A P 7 0、またはその両方の動員；1つ以上のT R E M 2依存性遺伝子の活性の上昇であって、任意に1つ以上のT R E M 2依存性遺伝子は、活性化T細胞（N F A T）転写因子の核因子を含む、上昇；樹状細胞、マクロファージ、M 1マクロファージ、活性化M 1マクロファージ、M 2マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、ミクログリア、M 1ミクログリア、活性化M 1ミクログリア、及びM 2ミクログリア、またはそれらの任意の組み合わせの生存性の向上；C D 8 3、C D 8 6 M H CクラスI I、C D 4 0、及びそれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の刺激性分子の調節された発現であって、任意にC D 4 0は、樹状細胞、単球、マクロファージ、またはそれらの任意の組み合わせに発現し、任意に樹状細胞は、骨髄由来樹状細胞を含む、調節された発現；記憶力の上昇；ならびに認知障害の軽減が含まれる。いくつかの実施形態において、本開示の抗T R E M 2抗体は、個体に投与された場合、記憶力を上昇させ、及び／または認知障害を軽減する。

10

20

【0121】

S y kリン酸化

いくつかの実施形態において、本開示の抗T R E M 2抗体は、細胞において発現したT R E M 2タンパク質に結合した後に脾臓チロシンキナーゼ（S y k）リン酸化を誘導し得る。

【0122】

脾臓チロシンキナーゼ（S y k）は、いくつかの基質をリン酸化し、それにより、細胞活性化及び炎症プロセスにつながるシグナル伝達複合体の形成を容易化することによってT R E M 2の下流で機能する細胞内シグナル伝達分子である。

30

【0123】

いくつかの実施形態において、アゴニストT R E M 2抗体がS y k活性化を誘導する能力は、マウスマクロファージをクラスター化し、細胞抽出物におけるS y kタンパク質のリン酸化状態を測定することによって決定される。いくつかの実施形態において、野生型（W T）マウス、T R E M 2ノックアウト（K O）マウス、及び機能的F c受容体共通ガンマ鎖遺伝子の発現を欠くマウス（F c g R K O；R E F：T a k a i T 1 9 9 4 . C e l l 7 6（3）：5 1 9-2 9）からの骨髄由来マクロファージ（B M D M）を1 %血清R P M I中で4時間飢餓状態とし、次いでP B S-E D T Aで組織培養皿から除去し、P B Sで洗浄し、カウントする。いくつかの実施形態において、細胞を氷上で1 5分間、全長T R E M 2抗体、または対照抗体で被覆する。いくつかの実施形態において、冷P B Sで洗浄した後、細胞をやぎ抗ヒトI g Gの存在下で3 7℃で示された期間、インキュベートする。いくつかの実施形態において、刺激の後、細胞を溶解緩衝液（1 % v / vのN P-4 0 %、5 0 M mのトリス-H C l（p H 8 . 0）、1 5 0 m mのN a C l、1 m mのE D T A、1 . 5 m mのM g C l₂、1 0 %グリセロールに加えてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤）で溶解し、続いて1 6, 0 0 0 gで4℃で1 0分間遠心分離して不溶性物質を除去する。いくつかの実施形態において、次いでライセートを抗S y k抗体で免疫沈降させる（B M D Mの場合N-1 9またはヒトD Cの場合4 D 1 0、S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y）。いくつかの実施形態において、沈降したタンパク質をS D S-P A G Eによって分画し、P V D F膜に移し、抗ホスホチロシン

40

50

抗体（4G10, Millipore）によって捕捉する。いくつかの実施形態において、全ての基質が十分に免疫沈降することを確認するために、免疫プロットを、抗Syk抗体（Abcam、BMDMの場合）または抗Syk（Novus Biological、ヒトDCの場合）で再捕捉する。いくつかの実施形態において、可視化は、記載されているように（例えば、Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122):ra38）、改良化学発光（ECL）システム（GE healthcare）で実施される。

【0124】

DAP12結合及びリン酸化

いくつかの実施形態では、本開示の抗TREM2抗体は、DAP12に対するTREM2の結合を誘導し得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、細胞において発現したTREM2タンパク質に結合した後にDAP12リン酸化を誘導し得る。他の実施形態において、TREM2媒介DAP12リン酸化は、1つ以上のSRCファミリーチロシンキナーゼによって誘導される。Srcファミリーチロシンキナーゼの例には、限定するものではないが、Src、Syk、Yes、Fyn、Fgr、Lck、Hck、Blk、Lyn、及びFrkが含まれる。

【0125】

DAP12は、TYROタンパク質チロシンキナーゼ結合タンパク質、TYROBP、KARAP、及びPLOSと多様に称される。DAP12は、その細胞質性ドメインにおける免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ITAM）を含有する膜貫通シグナル伝達タンパク質である。特定の実施形態において、抗TREM2抗体は、そのITAMモチーフにおけるDAP12リン酸化を誘導し得る。DAP12リン酸化などのタンパク質リン酸化を決定するための当該技術分野で知られている任意の方法が使用され得る。

【0126】

いくつかの実施形態において、DAP12は、SRCファミリーキナーゼによってリン酸化され、DAP12/TREM2複合体へのSykキナーゼ、ZAP70キナーゼ、またはその両方の動員及び活性化をもたらす。

【0127】

いくつかの実施形態において、TREM2抗体がDAP12活性化を誘導する能力は、マウスマクロファージをクラスター化し、細胞抽出物におけるDAP12タンパク質のリン酸化状態を測定することによって決定される。いくつかの実施形態において、抗体での刺激の前に、マウス野生型（WT）骨髄由来マクロファージ（BMDM）及びTREM2ノックアウト（KO）BMDMを、1%血清RPMI中で4時間飢餓状態とする。いくつかの実施形態において、 1.5×10^6 細胞を、全長TREM2抗体または対照抗体と共に氷中で15分間インキュベートする。いくつかの実施形態において、細胞を洗浄し、ヤギ抗ヒトIgGの存在下で37℃で示された期間、インキュベートする。いくつかの実施形態において、刺激の後、細胞を、溶解緩衝液（1% v/vのn-ドデシル-β-D-マルトシド、50mMのトリス-HCl（pH8.0）、150mMのNaCl、1mMのEDTA、1.5mMのMgCl₂、10%グリセロールに加えてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤）で溶解し、続いて16,000gで4℃で10分間遠心分離して不溶性物質を除去する。いくつかの実施形態において、細胞ライセートを第2のTREM2抗体（R&D Systems）で免疫沈降させる。いくつかの実施形態において、沈降したタンパク質をSDS-PAGEによって分画し、PVDF膜に移し、抗ホスホチロシンAb（4G10, Millipore）によって捕捉する。いくつかの実施形態において、膜を剥がし、抗DAP12抗体（Cells Signaling, D7G1X）で再捕捉する。いくつかの実施形態において、TREM2免疫沈降に使用される各細胞ライセートは、対照抗体（抗Actin, Santa Cruz）によって示されるように、等量のタンパク質を含有する。

【0128】

TREM2を発現する細胞の増殖、生存及び機能性

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、細胞に発現した T R E M 2 タンパク質に結合した後に、樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞（ミクログリア）の増殖、生存、及び／または機能を増加させ得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、1 つ以上の自然免疫細胞の成長（例えば、増殖及び／または生存）を阻害する。

【0129】

ミクログリア細胞は、脳及び脊髄の常在性マクロファージであるグリア細胞の一種であり、したがって、中枢神経系（C N S）の能動免疫防御の第 1 形態として、かつ主要形態として作用する。ミクログリア細胞は、脳内の総グリア細胞集団の 20 % を構成する。ミクログリア細胞は、ブランク、損傷したニューロン及び感染性物質について C N S を絶えず探索している。脳及び脊髄は、ほとんどの感染症が傷つきやすい神経組織に達することを防止する血液脳関門として知られている一連の内皮細胞によって身体の残りの部分から隔てられている点で、「免疫特権」器官と考えられる。感染性物質が直接的に脳に導入され、または血液脳関門を通過する場合、ミクログリア細胞は、それらが敏感な神経組織を損傷させる前に、炎症を減少させ、感染性物質を破壊するために迅速に反応しなければならない。身体の他の部分から抗体が利用できないため（血液脳関門を通過するのに十分に小さい抗体はほとんどない）、ミクログリアは、異物を認識し、それらを飲み込み、T 細胞を活性化する抗原提示細胞として機能することが可能でなければならない。このプロセスは、致命的損傷を潜在的に防止するために迅速に行われなければならないので、ミクログリア細胞は、C N S における小さな病理学的変化に対してさえも極端に敏感である。それらは、細胞外カリウムの小さな変化に対してさえも反応する独自のカリウムチャネルを有することによって部分的にこの感受性を達成する。

【0130】

本明細書で使用されるとき、本開示のマクロファージには、限定するものではないが、M 1 マクロファージ、活性化 M 1 マクロファージ、及び M 2 マクロファージが含まれる。本明細書で使用されるとき、本開示のミクログリア細胞には、限定するものではないが、M 1 ミクログリア細胞、活性化 M 1 ミクログリア細胞、及び M 2 ミクログリア細胞が含まれる。

【0131】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、樹状細胞、単球、及び／またはマクロファージでの C D 8 3 及び／または C D 8 6 の発現を増加させ得る。

【0132】

本明細書で使用されるとき、本開示の抗 T R E M 2 抗体で処置された対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存性、及び／または機能の速度が、抗 T R E M 2 抗体で処置されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度よりも高い場合、マクロファージ、樹状細胞、単球、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度は、増加した発現を含み得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度を、例えば、抗 T R E M 2 抗体で処置されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度と比較して、少なくとも 10 %、少なくとも 15 %、少なくとも 20 %、少なくとも 25 %、少なくとも 30 %、少なくとも 35 %、少なくとも 40 %、少なくとも 45 %、少なくとも 50 %、少なくとも 55 %、少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 100 %、少なくとも 110 %、少なくとも 115 %、少なくとも 120 %、少なくとも 125 %、少なくとも 130 %、少なくとも

135%、少なくとも140%、少なくとも145%、少なくとも150%、少なくとも160%、少なくとも170%、少なくとも180%、少なくとも190%、または少なくとも200%増加させ得る。他の実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度を、例えば、抗TREM2抗体で処置されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及び／またはミクログリアの増殖、生存、及び／または機能の速度と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも1.6倍、少なくとも1.7倍、少なくとも1.8倍、少なくとも1.9倍、少なくとも2.0倍、少なくとも2.1倍、少なくとも2.15倍、少なくとも2.2倍、少なくとも2.25倍、少なくとも2.3倍、少なくとも2.35倍、少なくとも2.4倍、少なくとも2.45倍、少なくとも2.5倍、少なくとも2.55倍、少なくとも3.0倍、少なくとも3.5倍、少なくとも4.0倍、少なくとも4.5倍、少なくとも5.0倍、少なくとも5.5倍、少なくとも6.0倍、少なくとも6.5倍、少なくとも7.0倍、少なくとも7.5倍、少なくとも8.0倍、少なくとも8.5倍、少なくとも9.0倍、少なくとも9.5倍、または少なくとも10倍増加させ得る。

10

20

30

50

【0133】

いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体が*in vitro*で細胞生存を誘導し、または向上させる能力を評価するために、FcγRI、FcγRII、及びFcεRI受容体のガンマ鎖サブユニットが欠損したマクロファージ（Fcγr1KO mice, REF: Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch J. (1994) Cell, 76: 519-529）を、プレートに結合した抗TREM2抗体の存在下で培養し、細胞が準最適成長条件で培養された場合の細胞生存率を決定する。いくつかの実施形態において、Fcγr1 KOマウス（Taconic, Model 584）からのネズミ骨髄前駆体細胞を、脛骨及び大腿骨骨髄細胞を冷PBSでフラッシュすることによって得る。いくつかの実施形態において、PBSで1回洗浄した後、赤血球を、ACK溶解緩衝液（Lonza）を使用して溶解し、PBSで2回洗浄し、示された量のM-CSF（PeproTech）を有する完全RPMI培地（10% FCS、Pen/Strep、Gln、neAA）中に 0.5×10^6 細胞/mlで懸濁して、マクロファージを調製する。いくつかの実施形態において、骨髄由来マクロファージの細胞生存率を分析するために、細胞を上記のように調製し、非組織培養処置プレートにおいて準最適量のM-CSF（10 ng/ml）と共に96ウェルプレートにおいて $2.5 \times 10^4 / 200 \mu\text{l}$ で2日間播種する。いくつかの実施形態において、細胞を次いで、Tox Glo（商標）キット（Promega）を使用して定量し、発光を、細胞生存率の指標として決定する。いくつかの実施形態において、全ての実験は、抗TREM2抗体またはアイソタイプ対照抗体の存在下または非存在下で行われる。

【0134】

TREM2 依存性遺伝子発現

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、転写因子の活性化T細胞（NFAT）ファミリーの核因子の1つ以上の転写因子などのTREM2依存性遺伝子の活性及び／または発現を増加させ得る。

40

【0135】

いくつかの実施形態において、可溶性全長抗TREM2抗体がマウスまたはヒトTREM2依存性遺伝子を活性化する能力は、NFAT（活性化T細胞の核因子）プロモーターの制御下でルシフェラーゼレポーター遺伝子を使用して評価される。いくつかの実施形態において、マウス胸腺リンパ腫Tリンパ球に由来する細胞株BW5147.G.1.4（ATCC（登録商標）TIB48（商標））を、マウスTREM2及びDAP12で、ならびにSignal Lentiviral NFATルシフェラーゼウイルス（Qiagen）で感染させる。いくつかの実施形態において、代替的にBW5147.G.1.4細胞株を、ヒトTREM2/DAP12融合タンパク質で、及びSignal Lentiviral NF

A Tルシフェラーゼウイルス (Q i a g e n) で感染させる。いくつかの実施形態において、シグナル伝達についての陽性対照として、PMA (0.05 μ g/ml) 及びイオノマイシン (0.25 μ M) を一緒に添加する。いくつかの実施形態において、細胞を、可溶性抗TREM2及びアイソタイプ対照抗体と共に6時間インキュベートし、ルシフェラーゼ活性を、OneGlo試薬 (Promega) を各ウェルを添加し、プレート振盪機上で室温で3分インキュベートすることによって測定する。いくつかの実施形態において、ルシフェラーゼシグナルは、BioTekプレートリーダーを使用して測定する。いくつかの実施形態において、細胞は、内因性リガンドの存在または自発的受容体凝集のいずれかにより強いTREM2依存性シグナル伝達を示し、TREM2シグナル伝達をもたらす。

10

【0136】

TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合によって誘導される1つ以上のTREM2活性の向上は、例えば、in vitro細胞アッセイにおいて利用して測定される。いくつかの実施形態において、1つ以上のTREM2活性の増加は、本明細書に記載されているまたは当該技術分野で知られている任意の好適なin vitro細胞ベースアッセイまたは好適なin vivoモデルによって、例えば、Sykなどの下流シグナル伝達パートナーのTREM2誘導リン酸化の増加を測定するためのウェスタンブロット分析を使用して、TREM2依存性遺伝子発現を測定するためのルシフェラーゼベースのレポーターアッセイを利用することによって、またはTREM2活性化のマーカーの細胞表面レベルの変化を測定するための蛍光活性化セルソーティング (FACS) などのフローサイトメトリーを利用することによって測定され得る。本明細書に記載されるまたは当該技術分野で知られている任意のin vitro細胞ベースアッセイまたは好適なin vivoモデルは、TREM2と1つ以上のTREM2リガンドとの間の相互作用 (例えば、結合) を測定するために使用され得る。

20

【0137】

いくつかの実施形態において、1つ以上のTREM2活性の上昇は、in vitro細胞ベースアッセイによって測定される。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体がin vitroで細胞生存を向上させる能力を評価するために、FcγRI、FcγRII、及びFcεRI受容体のガンマ鎖サブユニットが欠損したマクロファージ (Fcγr1 KOマウス, REF: Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch J. (1994). Cell, 76: 519-529) を、プレートに結合した抗TREM2抗体の存在下で培養し、細胞が準最適成長条件で培養された場合の細胞生存率を決定する。いくつかの実施形態において、Fcγr1 KOマウス (Taconic, Model 584) からのネズミ骨髄前駆体細胞を、脛骨及び大腿骨骨髄細胞を冷PBSでフラッシュすることによって得る。いくつかの実施形態において、PBSで1回洗浄した後、赤血球を、ACK溶解緩衝液 (Lonza) を使用して溶解し、PBSで2回洗浄し、示された量のM-CSF (PeproTech) を有する完全RPMI培地 (10% FCS、Pen/Strep、Gln、neAA) 中に0.5 $\times 10^6$ 細胞/mlで懸濁して、マクロファージを調製する。いくつかの実施形態において、骨髄由来マクロファージの細胞生存率を分析するために、細胞を上記のように調製し、非組織培養処置プレートにおいて準最少量のM-CSF (10 ng/ml) と共に96ウェルプレートにおいて2.5 $\times 10^4$ /200 μ lで2日間播種する。いくつかの実施形態において、細胞を次いで、ToxGlo (商標) キット (Promega) を使用して定量し、発光を、細胞生存率の指標として決定する。いくつかの実施形態において、全ての実験は、抗TREM2抗体またはアイソタイプ対照抗体の存在下または非存在下で行われる。

30

40

【0138】

いくつかの実施形態において、1つ以上のTREM2活性の上昇は、in vivo細胞ベースアッセイによって測定される。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体がin vivoで免疫細胞の数を増加させる能力を評価するために、C57BL6マウ

50

スに、抗TREM2抗体またはマウスIgG1アイソタイプ対照抗体が腹腔内（IP）に注入され、脳における免疫細胞の数がFACSによって定量される。いくつかの実施形態において、1群当たり3～4匹のマウスに、40mg/kgの抗TREM2抗体またはアイソタイプ対照抗体mIgG1（クローンMOPC-21、Bio x cell）のIP注射を受けさせる。いくつかの実施形態において、48時間後、脳の全体を採取し、PBSですすぎ、1mg/mlコラゲナーゼを含有するPBS中で37℃でインキュベートし、セルストレーナーを介して処理して、シングルセル懸濁液を得る。いくつかの実施形態において、細胞を次いで、抗CD45-PerCp-Cy7、抗CD11b-PerCp-Cy5.5、抗Gr1-FITC抗体及び細胞生存色素（Life Technologies, Cat#L34957）で氷上で30分間インキュベートし、次いで冷FACS緩衝液で2回洗浄する。いくつかの実施形態において、4%PFA固定化サンプルを次いで、FACSによって分析する。いくつかの実施形態において、データをBD FACS Canto（商標）IIサイトメーター（Becton Dickinson）で取得し、FlowJoソフトウェアで分析する。

10

【0139】

いくつかの実施形態において、TREM2リガンドがそのEC₅₀濃度で使用された場合、抗TREM2抗体の非存在下でTREM2タンパク質に対するTREM2リガンドの結合によって誘導されるTREM2依存性遺伝子転写のレベルと比較して、本開示の抗TREM2抗体は、約0.5nM～約50nM、または50nM超の範囲の濃度で使用された場合、約1.5倍～約6倍、または6倍超の範囲のリガンド誘導TREM2依存性遺伝子転写の増加を誘導する場合、TREM2タンパク質に対するTREM2リガンドの結合によって誘導される1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、リガンド誘導TREM2依存性遺伝子転写の増加は、TREM2リガンドがそのEC₅₀濃度で使用された場合、抗TREM2抗体の非存在下でTREM2タンパク質に対するTREM2リガンドの結合によって誘導されるTREM2依存性遺伝子転写のレベルと比較して、約0.5nM～約50nM、または50nM超の範囲の濃度で使用された場合、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも11倍、少なくとも12倍、少なくとも13倍、少なくとも14倍、少なくとも15倍、少なくとも16倍、少なくとも17倍、少なくとも18倍、少なくとも19倍、少なくとも20倍またはそれ以上である。

20

30

【0140】

いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、少なくとも0.5nM、少なくとも0.6nM、少なくとも0.7nM、少なくとも0.8nM、少なくとも0.9nM、少なくとも1nM、少なくとも2nM、少なくとも3nM、少なくとも4nM、少なくとも5nM、少なくとも6nM、少なくとも7nM、少なくとも8nM、少なくとも9nM、少なくとも10nM、少なくとも15nM、少なくとも20nM、少なくとも25nM、少なくとも30nM、少なくとも35nM、少なくとも40nM、少なくとも45nM、少なくとも46nM、少なくとも47nM、少なくとも48nM、少なくとも49nM、または少なくとも50nMの濃度で使用される。いくつかの実施形態において、TREM2リガンドは、ホスファチジルセリン（PS）である。いくつかの実施形態において、TREM2リガンドは、スフィンゴミエリン（SM）である。いくつかの実施形態において、1つ以上のTREM2活性の上昇は、本明細書に記載されるまたは当該技術分野で知られている任意の好適なin vitro細胞ベースアッセイまたは好適なin vivoモデルによって測定され得る。いくつかの実施形態において、ルシフェラーゼベースレポーターアッセイは、例えば、WO2017/062672及びWO2019/028292に記載されているように、抗体の存在下及び非存在でリガンド誘導TREM2依存性遺伝子発現の倍数変化を測定するために使用される。

40

【0141】

本明細書で使用されるとき、本開示の抗TREM2抗体は、本明細書に記載されている

50

または当該技術分野で知られている任意の *in vitro* アッセイまたは細胞ベースの培養アッセイを利用して飽和抗体濃度で T R E M 2 に対するリガンド結合を 20 % 未満減少させた場合、1 つ以上の T R E M 2 リガンドと T R E M 2 との間の相互作用（例えば、結合）と競合せず、阻害せず、またはそうでなければ阻止しない。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、本明細書に記載されているまたは当該技術分野で知られている任意の *in vitro* アッセイまたは細胞ベースの培養アッセイを利用して飽和抗体濃度で 1 つ以上の T R E M 2 リガンドと T R E M 2 との間の相互作用（例えば、結合）を 20 % 未満、19 % 未満、18 % 未満、17 % 未満、16 % 未満、15 % 未満、14 % 未満、13 % 未満、12 % 未満、11 % 未満、10 % 未満、9 % 未満、8 % 未満、7 % 未満、6 % 未満、5 % 未満、4 % 未満、3 % 未満、2 % 未満、または 1 % 未満阻害する。

10

【0142】

可溶性 T R E M 2 を減少させる抗 T R E M 2 抗体

いくつかの実施形態において、アゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、可溶性 T R E M 2 (s T R E M 2) を減少させる。いくつかの実施形態において、アゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、細胞の細胞表面から細胞外サンプルへ「遊離」（例えば、シェディング）される s T R E M 2 のレベルを減少させる。いくつかの実施形態において、そのような抗体は、T R E M 2 の切断を阻止するように、T R E M 2 の領域に結合する。そのような実施形態において、抗体は、T R E M 2 の切断部位である H i s 1 5 7 を含む領域に結合する。

20

【0143】

抗 T R E M 2 抗体による T R E M 2 の切断の阻害の程度は、抗 T R E M 2 抗体の非存在下での s T R E M 2 の量と比較して、抗 T R E M 2 抗体の存在下での可溶性 T R E M 2 (s T R E M 2) の量と負に相関する。例えば、前記抗 T R E M 2 抗体の存在下で s T R E M 2 の量が、例えば、s T R E M 2 の E L I S A ベースの定量によってアッセイされる場合、抗 T R E M 2 抗体の非存在下での s T R E M 2 の量の 0 ~ 90 %、好ましくは 0 ~ 80 %、より好ましくは 0 ~ 70 %、更により好ましくは 0 ~ 60 %、更により好ましくは 0 ~ 50 % 及び更により好ましくは 0 ~ 20 % である場合、抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 の切断を阻害する抗 T R E M 2 抗体と考えられ得る。

【0144】

いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、処置されたサンプルにおける s T R E M 2 の量が対照値と比較して少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、少なくとも 90 % またはそれ以上減少する場合、s T R E M 2 のレベルを低下させる。いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、処置されたサンプルにおける s T R E M 2 の量が対照値と比較して少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍またはそれ以上減少する場合、s T R E M 2 のレベルを低下させる。いくつかの実施形態において、対照値は、未処置のサンプル（例えば、抗 T R E M 2 抗体で処置されていない T R E M 2 発現細胞からの上清、または抗 T R E M 2 抗体で処置されていない対象からのサンプル）または適切な非 T R E M 2 結合抗体で処置されたサンプルにおける s T R E M 2 の量である。

30

40

【0145】

いくつかの実施形態において、s T R E M 2 シェディングは、体液、例えば、血液、血漿、血清、尿、または脳脊髄液を含むサンプルを使用して測定される。いくつかの実施形態において、サンプルは、脳脊髄液を含む。いくつかの実施形態において、サンプルは、細胞培養からの上清（例えば、内因的に T R E M 2 を発現する初代細胞もしくは細胞株、例えば、ヒトマクロファージ、または T R E M 2 を発現するように操作された初代細胞もしくは細胞株からの上清）を含む。

【0146】

いくつかの実施形態において、サンプルにおける s T R E M 2 のレベルは、免疫アッセイを使用して測定される。免疫アッセイは、当該技術分野で知られており、酵素免疫

50

ノアッセイ (E I A)、例えば、酵素多重イムノアッセイ (E M I A)、酵素結合免疫吸着アッセイ (E L I S A)、マイクロ粒子酵素イムノアッセイ (M E I A)、免疫組織化学 (I H C)、免疫細胞化学、キャピラリー電気泳動イムノアッセイ (C E I A)、ラジオイムノアッセイ (R I A)、免疫蛍光、化学発光イムノアッセイ (C L)、及び電気化学発光イムノアッセイ (E C L) を含むがこれらに限定されない。いくつかの実施形態において、s T R E M 2 レベルは、E L I S A アッセイを使用して測定している。

【0147】

いくつかの実施形態において、E L I S A アッセイは、細胞培養上清における s T R E M 2 のレベルの定量のために使用され得る。いくつかの実施形態において、ヒト s T R E M 2 のための E L I S A は、M e s o S c a l e D i s c o v e r y S E C T O R I m a g e r 2 4 0 0 を使用して行われる。いくつかの実施形態において、ストレプトアビジンで被覆された 9 6 ウェルプレートと、P B S (p H 7 . 4) 中の 0 . 5 % ウシ血清アルブミン (B S A) 及び 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 (ブロッキング緩衝液) 中で 4 ° C で一晚ブロッキングする。いくつかの実施形態において、プレートを、ブロッキング緩衝液に希釈されたビオチン化ポリクローナルヤギ抗ヒト T R E M 2 捕捉抗体 (0 . 2 5 m g / m l ; R & D S y s t e m s) と共に室温で 1 時間振盪する。いくつかの実施形態において、プレートをその後、P B S 中の 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 (洗浄緩衝液) で 4 回洗浄し、プロテアーゼ阻害剤 (S i g m a) が補充された P B S (p H 7 . 4) 中の 0 . 2 5 % B S A 及び 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 (アッセイ緩衝液) に 1 : 4 で希釈されたサンプルと共に室温で 2 時間インキュベートする。いくつかの実施形態において、組換えヒト T R E M 2 タンパク質 (H o l z e l D i a g n o s t i k a) を、2 倍段階希釈でアッセイ緩衝液に希釈し、標準曲線 (濃度範囲、4 0 0 0 ~ 6 2 . 5 p g / m l) のために使用する。いくつかの実施形態において、プレートを、洗浄緩衝液で 5 分間 3 回洗浄してから、ブロッキング緩衝液に希釈されたマウスモノクローナル抗 T R E M 2 抗体 (1 m g / m l ; S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y ; B - 3) で室温で 1 時間インキュベートする。いくつかの実施形態において、3 回の追加の洗浄工程の後、プレートを S U L F O - T A G 標識抗マウス二次抗体 (1 : 1 0 0 0 ; M e s o S c a l e D i s c o v e r y) と共にインキュベートし、暗所で 1 時間インキュベートする。いくつかの実施形態において、プレートを洗浄緩衝液で 3 回洗浄し、続いて P B S 中で 2 回洗浄工程を行い、M e s o S c a l e D i s c o v e r y R e a d 緩衝液を添加することによって展開する。いくつかの実施形態において、電気化学刺激後の 6 2 0 n m での発光を、M e s o S c a l e D i s c o v e r y S E C T O R I m a g e r 2 4 0 0 リーダーを使用して測定する。いくつかの実施形態において、分泌された s T R E M 2 のレベルを定量するために、生物学的複製物からのコンディショニングされた培地を二連で分析する。いくつかの実施形態において、5 パラメータロジスティックフィットを介して M a s t e r P l e x R e a d e r F i t ソフトウェア (M i r a i B i o G r o u p , H i t a c h i S o l u t i o n s A m e r i c a) を使用して s T R E M 2 標準曲線を生成する。いくつかの実施形態において、s T R E M 2 のレベルは、その後、ウェスタンブロットから定量される場合、未熟 T R E M 2 のレベルに対して正規化される。

【0148】

いくつかの実施形態において、s T R E M 2 は、細胞性 T R E M 2 受容体の不活性バリアントであり得る。いくつかの実施形態において、s T R E M 2 は、対象の末梢、例えば、血漿、または脳に存在し得、抗 T R E M 2 抗体を隔離し得る。そのような隔離された抗体は、例えば、細胞に存在する細胞性 T R E M 2 受容体に結合し、それを活性化することができないであろう。したがって、特定の実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体、例えば、本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、可溶性 T R E M 2 に結合しない。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体、例えば、本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、i n v i v o で可溶性 T R E M 2 に結合しない。いくつかの実施形態において、可溶性 T R E M 2 に結合しない本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、例

例えば、s T R E M 2に含まれない細胞性T R E M 2の細胞外ドメインの部分、例えば、アミノ酸残基161～175内の1つ以上のアミノ酸残基を含み得る；T R E M 2の膜貫通部分にまたはその近くにあり得る；またはT R E M 2の膜貫通部分を含み得る、T R E M 2上のエピトープに結合し得る。

【0149】

T R E M 2クラスター化に影響を及ぼす抗体

i n v i v oにおいて、本開示の抗T R E M 2抗体は、複数の潜在的メカニズムによって受容体を活性化し得る。いくつかの実施形態において、本開示のアゴニスト抗T R E M 2抗体は、適切なエピトープ特異性のため、二次抗体でクラスター化しなくても、プレートに結合しなくても、またはF c g受容体を介してクラスター化しなくても、溶液中でT R E M 2を活性化する能力を有する。いくつかの実施形態において、本開示の抗T R E M 2抗体は、I g G 2などのヒト抗体のアイソタイプを有し、これは、それらの特有の構造により、受容体をクラスター化し、または受容体をクラスター化構造に保持する固有の能力を有することで、F c受容体に結合することなく、T R E M 2などの受容体を活性化する（例えば、White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148）。

【0150】

特定の実施形態において、アゴニスト抗T R E M 2抗体は、T R E M 2を活性化し、シグナルを伝達するために、細胞表面上のクラスター化を誘導または維持し得る。特定の実施形態において、適切なエピトープ特異性を有するアゴニスト抗T R E M 2抗体は、細胞表面上のT R E M 2のクラスター化を誘導または維持し、及び／またはT R E M 2を活性化し得る。いくつかの実施形態において、アゴニスト抗T R E M 2抗体は、配列番号1のアミノ酸残基124～153、または配列番号1のアミノ酸残基124～153に対応するT R E M 2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基129～153、または配列番号1のアミノ酸残基129～153に対応するT R E M 2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基140～149、または配列番号1のアミノ酸残基140～149に対応するT R E M 2タンパク質上のアミノ酸残基内；配列番号1のアミノ酸残基149～157、または配列番号1のアミノ酸残基149～157に対応するT R E M 2タンパク質上のアミノ酸残基内；または配列番号1のアミノ酸残基153～162、または配列番号1のアミノ酸残基153～162に対応するT R E M 2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸に結合する。いくつかの実施形態において、アゴニスト抗T R E M 2抗体は、配列番号1のD140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基、または配列番号1のD140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157からなる群から選択されるアミノ酸残基に対応する哺乳動物T R E M 2タンパク質上の1つ以上のアミノ酸残基に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗T R E M 2抗体は、隣接細胞上のF c g受容体に結合することによって受容体（例えば、T R E M 2）をクラスター化する。抗体の定常I g G F c部分がF c g受容体に結合すると、抗体の凝集につながり、ひいては、抗体がそれらの可変領域を介して結合する受容体を凝集させる（（Chu et al (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933；及びWilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113）。当業者に知られている任意の好適なアッセイ（WO2017/062672及びWO2019/028292に記載されているものなど）が、抗体クラスター化を決定するために使用され得る。

【0151】

他のメカニズムも受容体（例えば、T R E M 2）をクラスター化するために使用され得る。例えば、いくつかの実施形態において、一緒に架橋された抗体断片（例えば、F a b断片）を使用すると、上記のように、F c g受容体と結合するF c領域を有する抗体と同様の形態で、受容体（例えば、T R E M 2）をクラスター化することができる。いくつか

の実施形態において、架橋された抗体断片（例えば、F a b 断片）は、細胞表面上で受容体クラスター化を誘導し、標的（例えば、T R E M 2）上の適切なエピトープと結合する場合、アゴニスト抗体として機能することができる。

【 0 1 5 2 】

標的とされた受容体を活性化するために F c g R 受容体に対する結合に依存する抗体は、F c g R 結合を排除するように操作された場合、そのアゴニスト活性を喪失し得る（例えば、W i l s o n e t a l . , (2 0 1 1) C a n c e r C e l l 1 9 , 1 0 1 - 1 1 3 ; A r m o u r a t a l . , (2 0 0 3) I m m u n o l o g y 4 0 (2 0 0 3) 5 8 5 - 5 9 3) ; 及び W h i t e e t a l . , (2 0 1 5) C a n c e r C e l l 2 7 , 1 3 8 - 1 4 8 を参照されたい）。このように、適切なエピトープ特異性を有する本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体が F c ドメインを有する場合、T R E M 2 を活性化させ得ると考えられる。

10

【 0 1 5 3 】

例示的な抗体 F c アイソタイプ及び改変が以下の表 A において提供されている。いくつかの実施形態において、抗体は、以下の表 A に列挙された F c アイソタイプを有する。

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表A：Fcγ受容体に結合することが可能な例示的な抗体Fcγアイソタイプ

Fcアイソタイプ	変異 (EU ナンバリングスキーム)
IgG1	N297A
IgG1	D265A 及び N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A 及び L235A L234A 及び G237A L234A 及び L235A 及び G237A
IgG1	P238D 及び/または L328E 及び/または S267E/L328F 及び/または E233 及び/または G237D 及び/または H268D 及び/または P271G 及び/または A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG2	V234A 及び G237A
IgG4	L235A 及び G237A 及び E318A
IgG4	S228P 及び L236E
IgG2/4 ハイブリッド	IgG2 aa118～260 及び IgG4 aa261～447
	H268Q 及び V309L; 及び A330S 及び P331S
IgG1	C226S 及び C229S 及び E233P 及び L234V 及び L235A
IgG1	L234F 及び L235E 及び P331S
IgG2	C232S または C233S
IgG2	A330S 及び P331S
IgG1	S267E、及び L328F S267E 単独
IgG2	S267E 及び L328F
IgG4	S267E 及び L328F

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

Fc アイソタイプ	変異 (EU ナンバリングスキーム)
IgG2	カッパ(軽鎖)LC を有する WT HC カッパ LC を有する HC C127S カッパ LC C214S カッパ LC C214S 及び HC C233S カッパ LC C214S 及び HC C232S A330S 及び/または P331S も一緒に含む上記変異のいずれか WT IgG1 の F(ab') ₂ 断片及び上記変異のいずれか
IgG1	IgG1 の定常重鎖 1(CH1)及びヒンジ領域を IgG2 の CH1 及びヒンジ領域で置換 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP (配列番号 42) κLC を含む
IgG1	A330L/A330S 及び/または L234F 及び/または L235E 及び/または P331S も一緒に含む上記変異のいずれか
IgG1, IgG2, または IgG4	M252Y 及び/または S254T 及び/または T256E も一緒に含む上記変異のいずれか
マウス IgG1	マウス疾患モデルの場合
IgG4	WT
IgG1	E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、S440W 及び/またはこれらの任意の組み合わせも一緒に含む上記変異のいずれか
IgG2	E430G、E430S、E430F、E430T、E345K、E345Q、E345R、E345Y、S440Y、S440W 及び/またはこれらの任意の組み合わせも一緒に含む上記変異のいずれか

【0154】

いくつかの実施形態において、抗体は、IgG クラス、IgM クラス、または IgA クラスのものである。いくつかの実施形態において、抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、または IgG4 アイソタイプを有する。

【0155】

ヒトにおける活性化 Fcγ 受容体 I、IIA、IIC、IIIA、IIIB 及び/またはマウスにおける Fcγ 受容体 I、III 及び IV に結合するヒト IgG1 または IgG3 アイソタイプを有する抗体及びその変異体（例えば、Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 2009, 20:685-691）はまた、in vivo でアゴニスト抗体として作用し得るが、ADCC に関連する効果に関連付けられ得る。しかしながら、そのような Fcγ 受容体は、阻害性 Fcγ 受容体 FcγRIIB と比較して、in vivo で抗体結合にあまり利用可能ではないようである（例えば、White, et al., (2013) Cancer Immunol. Immunother. 62, 941-948; 及び Li et al., (2011) Science 333 (6045): 1030-1034 を参照された

い)。

【0156】

特定の実施形態において、抗体は、IgG2アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG2定常領域を含有する。いくつかの実施形態において、ヒトIgG2定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、Fc受容体への結合とは独立して、1つ以上のTREM2活性、DAP12活性、またはその両方を誘導する。いくつかの実施形態において、抗体は、阻害性Fc受容体に結合する。特定の実施形態において、阻害性Fc受容体は、阻害性Fc-ガンマ受容体IIB (FcγIIB) であり、これはADCCを最小化または排除する。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の改変を含有する。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含有する (例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比較して)。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、V234A (Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537-1543.31; Xu et al., (2000) Cell Immunol, 200:16-26), G237A (Cole et al. (1999) Transplantation, 68:563-571)、H268Q、V309L、A330S、P331S (US2007/0148167; Armour et al. (1999) Eur J Immunol 29:2613-2624; Armour et al. (2000) The Haematology Journal 1 (Suppl. 1):27; Armour et al. (2000) The Haematology Journal 1 (Suppl. 1):27)、C232S、及び/またはC233S (White et al. (2015) Cancer Cell 27, 138-148)、S267E、L328F (Chu et al., (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933)、M252Y、S254T、及び/またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUNANBARING規則に従うものである。

10

20

【0157】

いくつかの実施形態において、抗体は、C127Sアミノ酸置換を含有する重鎖定常ドメインを含むIgG2アイソタイプを有し、ここで、アミノ酸の位置は、EUNANBARING規則に従うものである (White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148; Lightle et al., (2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762; 及びWO2008079246)。

30

【0158】

いくつかの実施形態において、抗体は、C214Sアミノ酸置換を含有するカップ軽鎖定常ドメインを含むIgG2アイソタイプを有し、ここで、アミノ酸の位置は、EUNANBARING規則に従うものである (White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148; Lightle et al., (2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762; 及びWO2008079246)。

【0159】

特定の実施形態において、抗体は、IgG1アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、マウスIgG1定常領域を含有する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG1定常領域を含有する。いくつかの実施形態において、ヒトIgG1定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、阻害性Fc受容体に結合する。特定の実施形態において、阻害性Fc受容体は、阻害性Fc-ガンマ受容体IIB (FcγIIB) である。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の改変を含有する。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含有する (例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比較して)。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、N297A (Bolt Set al. (1993) Eur J Immunol 23:403-411)、D265A (Shields et al. (2001) R. J. Biol. Chem. 276, 6

40

50

591-6604)、L234A、L235A (Hutchins et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537-1543.31; Xu et al., (2000) Cell Immunol, 200:16-26)、G237A (Alegre et al. (1994) Transplantation 57:1537-1543.31; Xu et al. (2000) Cell Immunol, 200:16-26)、C226S、C229S、E233P、L234V、L234F、L235E (McEarchern et al., (2007) Blood, 109:1185-1192)、P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA 2008, 105:20167-20172)、S267E、L328F、A330L、M252Y、S254T、及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従うものである。

10

【0160】

いくつかの実施形態において、抗体は、IgG2アイソタイプの重鎖定常ドメイン1 (CH1) 及びヒンジ領域を含む (White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148)。特定の実施形態において、IgG2アイソタイプCH1及びヒンジ領域は、ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSTNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCP (配列番号42) のアミノ酸配列を含有する。いくつかの実施形態において、抗体Fc領域は、S267Eアミノ酸置換、L328Fアミノ酸置換もしくはその両方、及び／またはN297AもしくはN297Qアミノ酸置換を含有し、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従うものである。

20

【0161】

特定の実施形態において、抗体は、IgG4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG4定常領域を含有する。いくつかの実施形態において、ヒトIgG4定常領域は、Fc領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、阻害性Fc受容体に結合する。特定の実施形態において、阻害性Fc受容体は、阻害性Fc-ガンマ受容体IIB (FcγIIB) である。いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上の改変を含有する。例えば、いくつかの実施形態において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸置換を含有する (例えば、同じアイソタイプの野生型Fc領域と比較して)。いくつかの実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換は、L235A、G237A、S228P、L236E (Reddy et al., (2000) J Immunol, 164:1925-1933)、S267E、E318A、L328F、M252Y、S254T及び／またはT256Eから選択され、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従うものである。

30

【0162】

特定の実施形態において、抗体は、ハイブリッドIgG2/4アイソタイプを有する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG2のアミノ酸118~260 (EUナンバリングに従う) と、ヒトIgG4のアミノ酸261~447 (EUナンバリングに従う) とを含有するアミノ酸配列を含む (WO1997/11971; WO2007/106585)。

40

【0163】

特定の実施形態において、抗体は、マウスIgG4定常領域を含有する (Bartholomaeus, et al. (2014). J. Immunol. 192, 2091-2098)。

【0164】

いくつかの実施形態において、Fc領域は、A330L、L234F; L235EまたはP331S (EUナンバリングに従う) 及びこれらの任意の組み合わせから選択される

50

1つ以上の追加のアミノ酸置換を更に含有する。

【0165】

特定の実施形態において、抗体は、Fc領域においてC127S、L234A、L234F、L235A、L235E、S267E、K322A、L328F、A330S、P331S、E345R、E430G、S440Y、及びこれらの任意の組み合わせから選択される残基位置で1つ以上のアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、L243A、L235A、及びP331Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G及びP331Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G及びK322Aでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、A330S、及びP331Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、A330S、及びP331Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、及びA330Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E430G、K322A、及びP331Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置S267E及びL328Fでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置C127Sでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。いくつかの実施形態において、Fc領域は、位置E345R、E430G及びS440Yでアミノ酸置換を含有し、残基位置のナンバリングは、EUナンバリングに従う。

10

20

【0166】

いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG1アイソタイプを有し、Fc領域において残基位置P331S及びE430Gでアミノ酸置換を含み、残基のナンバリングは、EUナンバリングに従う。残基位置P331S及びE430Gでアミノ酸置換を含むFc領域は、「PSEG」と称され得る。

30

【0167】

更なるIgG変異

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるIgG1バリエーションのうちの1つ以上は、補体活性化を排除するために、A330L変異(Lazar et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010)またはL234F、L235E及び／またはP331S変異のうちの1つ以上(Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172)と組み合わせることができ、ここで、アミノ酸の位置は、EUナンバリング規則に従うものである。いくつかの実施形態において、本明細書に記載のIgGバリエーションは、ヒト血清における抗体半減期を延長するために1つ以上の変異と組み合わせられ得る(例えば、EUナンバリング規則に従うM252Y、S254T、T256E変異)(Dall'Acqua et al., (2006) J Biol Chem, 281:23514-23524; and Strohl et al., (2009) Current Opinion in Biotechnology, 20:685-691)。

40

【0168】

いくつかの実施形態において、本開示のIgG4バリエーションは、抗体の安定化を向上させるために、EUナンバリング規則に従ったS228P変異(Angal et al., (1993) Mol Immunol, 30:105-108)及び／またはPete

50

rs et al., (2012) J Biol Chem. 13; 287 (29): 24525-33)に記載されている1つ以上の変異と組み合わせることができる。

【0169】

例示的な抗TREM2抗体

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、高い親和性でTREM2に結合し、アゴニストであり、1つ以上のTREM2活性を誘導する。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、単離された抗体の非存在下でTREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合によって誘導される1つ以上のTREM2活性と比較して、TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合によって誘導される1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、TREM2タンパク質に対する1つ以上のTREM2リガンドの結合と競合することなく、またはそうでなければ阻止することなく、1つ以上のTREM2活性を向上させる。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト化抗体、二重特異性抗体、多価抗体、またはキメラ抗体である。そのような抗体の例示的記載は、本開示を通してみられる。いくつかの実施形態において、抗体は、第1の抗原及び第2の抗原を認識する二重特異性抗体である。

10

【0170】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、ヒトTREM2、または、限定するものではないが、哺乳動物（例えば、非ヒト哺乳動物）TREM2タンパク質、マウスTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号Q99NH8）、ラットTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号D3ZZ89）、アカゲザルTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号F6QVF2）、カニクイザルTREM2タンパク質（NCBIアクセッション番号XP_015304909.1）、ウマTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号F7D6L0）、ブタTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号H2EZZ3）、及びイヌTREM2タンパク質（Uniprotアクセッション番号E2RP46）を含むそのホモログに結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、ヒトTREM2に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、カニクイザルTREM2に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、ヒトTREM2及びカニクイザルTREM2の両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、本開示の少なくとも1つのTREM2活性を誘導する。

20

30

【0171】

抗TREM2抗体結合領域

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、配列番号1のアミノ酸残基124～153、または配列番号1のアミノ酸残基124～153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸；配列番号1のアミノ酸残基129～153、または配列番号1のアミノ酸残基129～153に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸；配列番号1のアミノ酸残基140～149、または配列番号1のアミノ酸残基140～149に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸；配列番号1のアミノ酸残基149～157、または配列番号1のアミノ酸残基149～157に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸；または配列番号1のアミノ酸残基153～162、または配列番号1のアミノ酸残基153～162に対応するTREM2タンパク質上のアミノ酸残基内の1つ以上のアミノ酸に結合する。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、配列番号1のアミノ酸残基D140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157のうちの1つ以上、または配列番号1のD140、L141、W142、F143、P144、E151、D152、H154、E156、及びH157からなる群から選択されるアミノ酸残基に対応する哺乳動物TREM2タンパク質上の1つ以上のアミノ酸残基に結合する。

40

50

【0172】

抗TREM2抗体軽鎖及び重鎖可変領域

いくつかの実施形態において、本開示の方法において使用される抗TREM2抗体は、WO2019/028292（参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。いくつかの実施形態において、本開示の方法において使用される抗TREM2抗体は、以下のTREM2活性のうちの1つ以上を誘導し、または向上させる：DAP12に対するTREM2結合；DAP12リン酸化；Sykキナーゼの活性化；IFN- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、YM-1、IL-6、IL-8、CRP、CD86、MCP-1/CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCR2、CXCL-10、Gata3、Rorc、IL-20ファミリーメンバー、IL-33、LIF、IFN-ガンマ、OSM、CNTF、GM-CSF、CSF-1、MHC-II、OPN、CD11c、GM-CSF、IL-11、IL-12、IL-17、IL-18、及びIL-23から選択される1つ以上の炎症誘発性メディエーターの調節であって、任意に調節は、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、及びミクログリア細胞から選択される1つ以上の細胞で生じる、調節；DAP12/TREM2複合体へのSyk、ZAP70、またはその両方の動員；1つ以上のTREM2依存性遺伝子の活性の上昇であって、任意に1つ以上のTREM2依存性遺伝子は、活性化T細胞（NFAT）転写因子の核因子を含む、上昇；樹状細胞、マクロファージ、M1マクロファージ、活性化M1マクロファージ、M2マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、ミクログリア、M1ミクログリア、活性化M1ミクログリア、及びM2ミクログリア、またはそれらの任意の組み合わせの生存性の向上；CD83、CD86 MHCクラスII、CD40、及びそれらの任意の組み合わせから選択される1つ以上の刺激性分子の調節された発現であって、任意にCD40は、樹状細胞、単球、マクロファージ、またはそれらの任意の組み合わせに発現し、任意に樹状細胞は、骨髄由来樹状細胞を含む、調節された発現；記憶力の上昇；ならびに認知障害の軽減。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、個体に投与された場合、記憶力を上昇させ、及び／または認知障害を軽減する。

【0173】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、（a）配列番号34と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）配列番号35と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び（c）配列番号31と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H3のうちの1つ以上を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、（a）配列番号41と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-L1；（b）配列番号33と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、

少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-L2；及び (c) 配列番号 32 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-L3 のうちの 1 つ以上を含む。

【0174】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 TREM2 抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、(a) 配列番号 36 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-H1；(b) 配列番号 37 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-H2；及び (c) 配列番号 38 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-H3 のうちの 1 つ以上を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、(a) 配列番号 39 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-L1；(b) 配列番号 40 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-L2；及び (c) 配列番号 32 と少なくとも 85%、少なくとも 86%、少なくとも 87%、少なくとも 88%、少なくとも 89%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む HVR-L3 のうちの 1 つ以上を含む。

【0175】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 TREM2 抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変領域は、アミノ酸配列 YAFSSDWMN (配列番号 36) を含む HVR-H1、アミノ酸配列 RIYPGEGDTNYARKFHG (配列番号 37) を含む HVR-H2、アミノ酸配列 ARLLRNKPGESYAMDY (配列番号 38) を含む HVR-H3 を含み、軽鎖可変領域は、アミノ酸配列 RTSQSLVHSNAYTYLH (配列番号 39) を含む HVR-L1、アミノ酸配列 KVSNRVS (配列番号 40) を含む HVR-L2、及びアミノ酸配列 SQSTRVPYT (配列番号 32) を含む HVR-L3 を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 TREM2 抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変領域は、アミノ酸配列 YAFSSQWMN (配列番号 34) を含む HVR-H1、アミノ酸配列 RIYPGGGDTNYAGKFQG (配列番号 35) を含む HVR-H2、アミノ酸配列 ARLLRNQPG

10

20

30

40

50

ESYAMDY（配列番号31）を含むHVR-H3を含み、軽鎖可変領域は、アミノ酸配列RSSQSLVHSNRYTYLH（配列番号41）を含むHVR-L1、アミノ酸配列KVSNRFS（配列番号33）を含むHVR-L2、及びアミノ酸配列SQSTRVPYT（配列番号32）を含むHVR-L3を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、VHFR1、VHFR2、VHFR3、及びVHFR4から選択される1、2、3または4つのフレームワーク領域を含み、VHFR1は、配列番号9～11からなる群から選択される配列を含み、VHFR2は、配列番号12及び13からなる群から選択される配列を含み、VHFR3は、配列番号14及び15からなる群から選択される配列を含み、VHFR4は、配列番号16の配列を含み、及び／または軽鎖可変領域は、VLFR1、VLFR2、VLFR3、及びVLFR4から選択される1、2、3または4つのフレームワーク領域を含み、LFR1は、配列番号17～20からなる群から選択される配列を含み、VLFR2は、配列番号21及び22からなる群から選択される配列を含み、VLFR3は、配列番号23及び24からなる群から選択される配列を含み、VLFR4は、配列番号25及び26からなる群から選択される配列を含む。

10

【0176】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体AL2p-47の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号28のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、抗体AL2p-47の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号29のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号28のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体AL2p-47のHVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号29のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、抗体AL2p-47のHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号28のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、

20

30

40

50

または欠失)を含有するが、その配列を含む抗TREM2抗体は、TREM2に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体AL2p-47の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号28のアミノ酸配列において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体AL2p-47の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号28のアミノ酸配列において合計で1~5個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において(すなわち、FR領域において)置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47のまたは配列番号28のVH配列(その配列の翻訳後修飾を含む)を含む。特定の実施形態において、VHは、(a)抗体AL2p-47のHVR-H1アミノ酸配列、(b)抗体AL2p-47のHVR-H2アミノ酸配列、及び(c)抗体AL2p-47のHVR-H3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号29のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する軽鎖可変ドメイン(VL)配列を含み、置換(例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失)を含有するが、その配列を含む抗TREM2抗体は、TREM2に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体AL2p-47の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号29のアミノ酸配列において合計で1~10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体AL2p-47の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号29のアミノ酸配列において合計で1~5個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において(すなわち、FR領域において)置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-47のまたは配列番号29のVL配列(その配列の翻訳後修飾を含む)を含む。特定の実施形態において、VLは、(a)抗体AL2p-47のHVR-L1アミノ酸配列、(b)抗体AL2p-47のHVR-L2アミノ酸配列、及び(c)抗体AL2p-47のHVR-L3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号28のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号29のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

20

30

40

50

【0177】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体AL2p-58の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、抗体AL2p-58の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号30のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少な

くとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体AL2p-58のHVR-H1、HVR-H2、及びHVR-H3アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号30のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、抗体AL2p-58のHVR-L1、HVR-L2、及びHVR-L3アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗TREM2抗体は、TREM2に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体AL2p-58の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号27のアミノ酸配列において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体AL2p-58の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号27のアミノ酸配列において合計で1～5個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において（すなわち、FR領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58のまたは配列番号27のVH配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VHは、（a）抗体AL2p-58のHVR-H1アミノ酸配列、（b）抗体AL2p-58のHVR-H2アミノ酸配列、及び（c）抗体AL2p-58のHVR-H3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号30のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗TREM2抗体は、TREM2に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体AL2p-58の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号30のアミノ酸配列において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体AL2p-58の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号30のアミノ酸配列において合計で1～5個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において（すなわち、FR領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体AL2p-58のまたは配列番号30のVL配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VLは、（a）抗体AL2p-58のHVR-L1アミノ酸配列、（b）抗体AL2p-58のHVR-L2アミノ酸配列、及び（c）抗体AL2p-58のHVR-L3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号27のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号30のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

20

30

40

50

【0178】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号43のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖；または配列番号44のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0179】

いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号45のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖；または配列番号46のアミノ酸を含む重鎖、及び配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【0180】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、(a)配列番号50と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号51と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c)配列番号52と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H3のうちの1つ以上を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、(a)配列番号53と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-L1；(b)配列番号54と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-L2；及び(c)配列番号55と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-L3のうちの1つ以上を含む。

【0181】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、(a)配列番号58と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H1；(b)配列番号59と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むHVR-H2；及び(c)配列番号60と少なくとも85%、少なくとも8

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体 4 2 E 8 . H 1 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、抗体 4 2 E 8 . H 1 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 7 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - H 1、H V R - H 2、及び H V R - H 3 アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 7 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - L 1、H V R - L 2、及び H V R - L 3 アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する重鎖可変ドメイン (V H) 配列を含み、置換 (例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失) を含有するが、その配列を含む抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体 4 2 E 8 . H 1 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 6 のアミノ酸配列において合計で 1 ~ 1 0 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体 4 2 E 8 . H 1 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 6 のアミノ酸配列において合計で 1 ~ 5 個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、H V R 外の領域において (すなわち、F R 領域において) 置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、F R 領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 のまたは配列番号 5 6 の V H 配列 (その配列の翻訳後修飾を含む) を含む。特定の実施形態において、V H は、(a) 抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - H 1 アミノ酸配列、(b) 抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - H 2 アミノ酸配列、及び (c) 抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - H 3 アミノ酸配列から選択される 1、2 または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 7 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する軽鎖可変ドメイン (V

10

20

30

40

50

L) 配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体 4 2 E 8 . H 1 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 7 のアミノ酸配列において合計で 1 ~ 1 0 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体 4 2 E 8 . H 1 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 5 7 のアミノ酸配列において合計で 1 ~ 5 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、H V R 外の領域において（すなわち、F R 領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、F R 領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗 T R E M 2 抗体は、抗体 4 2 E 8 . H 1 のまたは配列番号 5 7 の V L 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、V L は、（a）抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - L 1 アミノ酸配列、（b）抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - L 2 アミノ酸配列、及び（c）抗体 4 2 E 8 . H 1 の H V R - L 3 アミノ酸配列から選択される 1、2 または 3 つの H V R を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【 0 1 8 4 】

いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体 R S 9 . F 6 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 6 4 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、抗体 R S 9 . F 6 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 6 5 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体 R S 9 . F 6 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 6 4 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、抗体 R S 9 . F 6 の H V R - H 1、H V R - H 2、及び H V R - H 3 アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、抗体 R S 9 . F 6 の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 6 5 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、抗体 R S 9 . F 6 の H V R - L 1、H V R - L 2、及び H V R - L 3 アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、抗体 R S 9 . F 6 の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号 6 4 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する重鎖可変ドメイン（V H）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 に結合する能力を保持する

20

30

40

50

。特定の実施形態において、抗体RS9.F6の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号64のアミノ酸配列において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体RS9.F6の重鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号64のアミノ酸配列において合計で1～5個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において（すなわち、FR領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体RS9.F6のまたは配列番号64のVH配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VHは、（a）抗体RS9.F6のHVR-H1アミノ酸配列、（b）抗体RS9.F6のHVR-H2アミノ酸配列、及び（c）抗体RS9.F6のHVR-H3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、抗体RS9.F6の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号65のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗TREM2抗体は、TREM2に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、抗体RS9.F6の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号65のアミノ酸配列において合計で1～10個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、抗体RS9.F6の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列または配列番号65のアミノ酸配列において合計で1～5個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、HVR外の領域において（すなわち、FR領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、FR領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗TREM2抗体は、抗体RS9.F6のまたは配列番号65のVL配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VLは、（a）抗体RS9.F6のHVR-L1アミノ酸配列、（b）抗体RS9.F6のHVR-L2アミノ酸配列、及び（c）抗体RS9.F6のHVR-L3アミノ酸配列から選択される1、2または3つのHVRを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号64のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号65のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

20

30

【0185】

いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、配列番号72のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／または軽鎖可変ドメインは、配列番号73のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗TREM2抗体は、配列番号72のアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保存的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗TREM

40

50

2 抗体は、T R E M 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、配列番号 7 2 のアミノ酸配列において合計で 1 ～ 1 0 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、配列番号 7 2 のアミノ酸配列において合計で 1 ～ 5 個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、H V R 外の領域において（すなわち、F R 領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、F R 領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗 T R E M 2 抗体は、配列番号 7 2 の V H 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。いくつかの実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体は、配列番号 7 3 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する軽鎖可変ドメイン（V L）配列を含み、置換（例えば、参照配列に対する保守的置換、挿入、または欠失）を含有するが、その配列を含む抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、配列番号 7 3 のアミノ酸配列において合計で 1 ～ 1 0 個のアミノ酸が置換、挿入、及び／または欠失している。特定の実施形態において、配列番号 7 3 のアミノ酸配列において合計で 1 ～ 5 個のアミノ酸が置換、挿入及び／または欠失している。特定の実施形態において、H V R 外の領域において（すなわち、F R 領域において）置換、挿入、または欠失が生じる。いくつかの実施形態において、F R 領域において置換、挿入、または欠失が生じる。任意に、抗 T R E M 2 抗体は、配列番号 7 3 の V L 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号 7 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

20

【 0 1 8 6 】

いくつかの実施形態において、本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G である。いくつかの実施形態において、本開示のアゴニスト抗 T R E M 2 抗体は、A L 2 p - 4 7 h u I g G 1 である。

30

40

50

【表 2 - 1】

表 B : 配列

配列 番号	配列	記
1	MEPLRLILLFVTELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSCPYS MKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRVVSTHNLWLLSFLRR WNGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDAGLYQCQSLHGSE ADTLRKVLVEVLADPLDHRDAGDLWVPGESSEFEDAHVE HSISRSLLEGEIPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAAWH GQKPGTHPPSELDCGHDPGYQLQTLPLGLRDT	ヒト TREM2 タンパ ク質
2	MGPLHQFLLLLITALSQALNTTVLQGMAGQSLRVSTYD ALKHWGRRKAWCRQLGEEGPCQRVVSTHGVWLLAFLK KRNGSTVIADDTLAGTVTITLKNLQAGDAGLYQCQSLRG REAEVLQKVLVEVLEDPLDDQDAGDLWVPEESSFEGAQ VEHSTSRNQETSFPPTSILLLLACVLLSKFLAASILWAVAR GRQKPGTPVVRGLDCGQDAGHQLQILTGPGGT	マウス TREM2 タン パク質
3	MEPLHVFVLLLVTELSQALNTTVLQGVAGQSLRVSTYD ALRHWGRRKAWCRQLAEEGPCQRVVSTHGVWLLAFLRK QNGSTVITDDTLAGTVTITLRNLQAGDAGLYQCQSLRGRE AEVLQKVVEVLEDPLDDQDAGDLWVPEESESFEGAQVE HSTSSQVSSCGSPLYHLPPKEPIRKDLLPTHFHSSPPGLCP PEQASYSQHPLGCGQGQAEAGDTCGQWARL	ラット TREM2 タン パク質
4	MPDPLFSAVQGKDKILHKALCICPWPGKGGMEPLRLILL FATELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSCPYSMKHWGRRK AWCRQLGEKGPCQRVVSTHNLWLLSFLRRRNGSTAITDD TLGGTLTITLRNLQPHDAGFYQCQSLHGSEADTLRKVLVE VLADPLDHRDAGDLWVPGESSEFEDAHVEHSISRSLLEGE IPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAAWHGQKPGTHPPS EPDCGHDPGHQLQTLPLGLRDT	アカゲザル TREM2 タンパク質
5	MEPLRLILLFATELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSCPYS MKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRVVSTHNLWLLSFLRRR NGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDAGFYQCQSLHGSEA DTLRKVLEVLADPLDHRDAGDLWVPGESSEFEDAHVEH SISRSLLEGEIPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAAWH GQKPGTHPPSEPDCGHDPGHQLQTLPLGLRDT	カニクイザル TREM2 タンパク質
6	MEPLPLLILLSVAELSRGHNTTVFQGTAGRSLKVSCPYNL MHWGRRKAWCRQLGEDGPCQVSTHSLWLLSFLKRRN GSTVITDDALGGILTITLRNLQAHDAGFYQCQSLHGGEAD TLRKVLVEVLADPLDHQEPGDLWIPKESESFEDAQVEHSIS RSLVEEIPSLPTSILLLLACIFLSKLLAASAIWAAAWHGQK QETPPASEPDRGHDPGYQLHTLTGERDT	ウマ TREM2 タンパ ク質

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

7	METLGLLLLLWVAELSLAHNTSVFQGTAGQSLRVSCSYN SLKHWGRRKAWCRQLSEEGLCQHVVSTHPTWLLSFLKRR NGSTAITDDALGGTLTITLRNLQAHDAGLYQCQSLHGSEA DTLKKVLVEVLADPLESQSKSFQDVQMEHSISRNLSEESLF PPTSTLFLACVFLSKLLVASALWAAAWHGHKQRTSPAG GLDCGRDPGDQDQTLTDELGESSDQDQTLTELRT	ブタ TREM2 タンパ ク質
8	MEPLWLLILLAVTELSGAHNTTVFQGMAGRSLQVSCPYN SLKHWGRRKAWCRQVDKEGPCQRVVSTHRSWLLSFLKR WNGSTAIWDDALGGTLTITLRNLQAHDAGLYQCQSLYGD EADTLRKVLVEVLADPLDHLDPGDLWIPEESKGFEDAHV EPSVSRSLSEEEIPFPPTSILFLLACIFLSKFLAASALWAAA WRGQKLGTGPQASELDCSDPGYQLQTLTEPRDM	イヌ TREM2 タンパ ク質
9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG	VH FR1
10	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG	VH FR1
11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG	VH FR1
12	WVRQAPGQGLEWMG	VH FR2
13	WVRQAPGQRLEWIG	VH FR2
14	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC	VH FR3
15	RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYC	VH FR3
16	WGQGTLLTVSS	VH FR4
17	DVVMVTQTPLSLSVTPGQPASISC	VL FR1
18	GVVMVTQTPLSLSVTPGQPASISC	VL FR1
19	GVVMAQTPLSLSVTPGQPASISC	VL FR1
20	DVVMVTQSPDSLAVSLGERATINC	VL FR1
21	WYLQKPGQSPQLLIY	VL FR2
22	WYQQKPGQSPKLLIY	VL FR2
23	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	VL FR3
24	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC	VL FR3
25	FGQGTKLEIK	VL FR4
26	FGGGTKVEIK	VL FR4
27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWMNWV RQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVTITADTSAS TAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNQPGESYAMDYWGQ GTLTVTVSS	AL2p-58 -重鎖可変 ドメイン

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

28	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSDWMNWVR QAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARLLRNKPGESYAMDYWGQ GTLVTVSS	AL2p-47 - 重鎖可変 ドメイン
29	DVVMQTPLSLSVTPGQPASISCRTSQSLVHSNAYTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVSNRVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTKLEIK	AL2p-47 - 軽鎖可変 ドメイン
30	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNRYTYLH WYQQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTKLEIK	AL2p-58 - 軽鎖可変 ドメイン
31	ARLLRNKPGESYAMDY	AL2p-58 - HVR-H3
32	SQSTRVPYT	AL2p-58; AL2p-47 - HVR-L3
33	KVSNRFS	AL2p-58 - HVR-L2
34	YAFSSQWMN	AL2p-58 - HVR-H1
35	RIYPGGGDTNYAGKFQG	AL2p-58 - HVR-H2
36	YAFSSDWMN	AL2p-47 - HVR-H1
37	RIYPGEGDTNYARKFHG	AL2p-47 - HVR-H2
38	ARLLRNKPGESYAMDY	AL2p-47 - HVR-H3
39	RTSQSLVHSNAYTYLH	AL2p-47 - HVR-L1
40	KVSNRVS	AL2p-47 - HVR-L2
41	RSSQSLVHSNRYTYLH	AL2p-58 - HVR-L1
42	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYT CNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECP	IgG2 アイソタイプ 重鎖定常ドメイン 1(CH1)及びヒンジ 領域

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

43	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWMNWV RQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVTITADTSAS TAYMELSSLRSEDNAVYYCARLLRNQPGESYAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHGALHNHYTQKSLSLSPGK	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 重鎖
44	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWMNWV RQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVTITADTSAS TAYMELSSLRSEDNAVYYCARLLRNQPGESYAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHGALHNHYTQKSLSLSPG	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 重鎖
45	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSDWMNWVR QAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDNAVYYCARLLRNKPGESYAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	AL2p-47 huIgG1 - 重鎖

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

46	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSDWMNWVR QAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARLLRNKPGESYAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	AL2p-47 huIgG1 - 重鎖
47	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNRYTYLH WYQQKPGQSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	AL2p-58 huIgG1 PSEG - 軽鎖
48	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHSNAYTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVSNRVSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	AL2p-47 huIgG1 - 軽鎖
49	D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I	受容体モチーフ
50	GYSITSDYAWN	42E8.H1 CDR-H1
51	YINYSGRITIYNPSLKS	42E8.H1 CDR-H2
52	ARWNGNYGFAY	42E8.H1 CDR-H3
53	RSSQSLVHINGNTYLH	42E8.H1 CDR-L1
54	KVSNRFS	42E8.H1 CDR-L2
55	SQTTHALFT	42E8.H1 CDR-L3
56	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWI RQFPGNKLEWMGYINYSGRITIYNPSLKSRI SITRDTSKNHFFLQLISVTTEDTATYYCARWNGNYGFAYWGQGLTVSA	42E8.H1 重鎖可変領域

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

57	DWMTQNPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHINGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVY FCSQTTHALFTFGSGTKLEIK	42E8.H1 軽鎖可変領域
58	GYTFTSY	RS9.F6 CDR-H1
59	IGRSDPTTGGTNYNE	RS9.F6 CDR-H2
60	VRTSGTGDY	RS9.F6 CDR-H3
61	RSSQSLVHNNGNTFLH	RS9.F6 CDR-L1
62	VSNRFS	RS9.F6 CDR-L2
63	SQTTHVPPT	RS9.F6 CDR-L3
64	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVK QSPGRGLEWIGRSDPTTGGTNYNEKFKTKATLTVDKPSST AYMQLSSLTSDDSAVYYCVRTSGTGDYWGQGTSLTVSSA KTTAPSVYPLAPVCGGTTGSSVT	RS9.F6 重鎖可変領域
65	DVVMQTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNNGNTFLHW YLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDLGVYFCSQTTHVPPTFGGGTKLEIKRADAAPTVS IFPPSSEQLTSGGASVVCF	RS9.F6 軽鎖可変領域
66	GFTFTDFY	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-H1
67	IRNKANGYTT	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-H2
68	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-H3
69	QSLLYSENNQDY	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-L1
70	GAS	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-L2

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

71	EQTYSYPYT	WO2018/015573 コ ンセンサス CDR-L3
72	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKANGYTTTEYNPSVKGRFTISRDNNTQN MLYLQMNLTLR*EDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGV MTVSS	WO2018/015573 コ ンセンサス 重鎖可変領域 配列におけるアス タリスク(*)は任意 のアミノ酸であり 得る。
73	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 コ ンセンサス 軽鎖可変領域
74	GFTFTDFY	WO2018/015573 14D3 CDR-H1
75	IRNKTGYTT	WO2018/015573 14D3 CDR-H2
76	ARIGVNNGGSLDYWG	WO2018/015573 14D3 CDR-H3
77	QSLLYSENNQDY	WO2018/015573 14D3 CDR-L1
78	GAS	WO2018/015573 14D3 CDR-L2
79	EQTYSYPYT	WO2018/015573 14D3 CDR-L3
80	EVKLLEFGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGRAPEWLGLIRNKTGYTTTEYNRSVKGRFTISRDNNTQN MLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGVNNGGSLDYWGQGV MTVSS	WO2018/015573 14D3 重鎖可変領域

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

81	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLADYYCEQTYSPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 14D3 軽鎖可変領域
82	GFTFTDFY	WO2018/015573 14D8 CDR-H1
83	IRNKANGYTT	WO2018/015573 14D8 CDR-H2
84	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/015573 14D8 CDR-H3
85	QSLLYSEKNQDY	WO2018/015573 14D8 CDR-L1
86	GAS	WO2018/015573 14D8 CDR-L2
87	EQTYSPYTT	WO2018/015573 14D8 CDR-L3
88	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKANGYTTVYNPSVKGRFTISRDNQ NMLYLQMNTRLRGEDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGV MVTVSS	WO2018/015573 14D8 重鎖可変領域
89	DILINQSPASLTVSTGEKVTMSCRSSQSLLYSEKNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASYRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISSVQAEDLADYYCEQTYSPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 14D8 軽鎖可変領域
90	GFTFTDFY	WO2018/015573 7A12 CDR-H1
91	IRNKANGYTT	WO2018/015573 7A12 CDR-H2

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

92	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/015573 7A12 CDR-H3
93	QSLLYSEKNQDY	WO2018/015573 7A12 CDR-L1
94	GAS	WO2018/015573 7A12 CDR-L2
95	EQTYSYPYT	WO2018/015573 7A12 CDR-L3
96	EVKLLESGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKANGYTTQYNPSVKGRFTISRDNQ NMLYLQMNLTREGDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGV MVTVSS	WO2018/015573 7A12 重鎖可変領域
97	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSEKNQDYLA WYQQKPGQSPKLLMYGASYRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 7A12 軽鎖可変領域
98	GFTFTDFY	WO2018/015573 8A11 CDR-H1
99	IRNKTKGYTT	WO2018/015573 8A11 CDR-H2
100	ARIGVNNGGSLDYWG	WO2018/015573 8A11 CDR-H3
101	QSLLYSENNQDY	WO2018/015573 8A11 CDR-L1
102	GAS	WO2018/015573 8A11 CDR-L2
103	EQTYSYPYT	WO2018/015573 8A11 CDR-L3

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 0】

104	EVKLLSEGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKTGYTTEYNTSVKGRFTISRDNQTN MLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGVNNGGSLDYWGQGV MTVSS	WO2018/015573 8A11 重鎖可変領域
105	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCKSSQSLLYSENNQDYLA YQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTIS SVQAEDLADYYCEQTYSPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 8A11 軽鎖可変領域
106	GFTFTDFY	WO2018/015573 21A3 CDR-H1
107	IRNKANGYTT	WO2018/015573 21A3 CDR-H2
108	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/015573 21A3 CDR-H3
109	QSLLYSEKNQDY	WO2018/015573 21A3 CDR-L1
110	GAS	WO2018/015573 21A3 CDR-L2
111	EQTYSPYPT	WO2018/015573 21A3 CDR-L3
112	EVKLLSEGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKANGYTTQYNPSVKGRFTISRDNQTN NMLYLQMNTRLRGEDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGV MVTVSS	WO2018/015573 21A3 重鎖可変領域
113	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSEKNQDYLA WYQQKPGQSPKLLMYGASYRHTGVPDRFTGSGSGTDFTL TISSVQAEDLADYYCEQTYSPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 21A3 軽鎖可変領域
114	GFTFTDFY	WO2018/015573 10C3 CDR-H1

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

115	IRNKTKGYTT	WO2018/015573 10C3 CDR-H2
116	ARIGTNNGGSLDYWG	WO2018/015573 10C3 CDR-H3
117	QSLLYSENNQDY	WO2018/015573 10C3 CDR-L1
118	GAS	WO2018/015573 10C3 CDR-L2
119	EQTYSYPYT	WO2018/015573 10C3 CDR-L3
120	EVKLLSEGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGETPEWLGLIRNKTKGYTTEYNPSVKGRFTISRDNQTN MLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGTNNGGSLDYWGQGVM VTVSS	WO2018/015573 10C3 重鎖可変領域
121	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCKSSQSLLYSENNQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTIS SVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 10C3 軽鎖可変領域
122	GFTFTDFY	WO2018/015573 18F9 CDR-H1
123	IRNKVNGYRT	WO2018/015573 18F9 CDR-H2
124	ARIGINNGGSLDYWG	WO2018/015573 18F9 CDR-H3
125	QSLLYSENNQDY	WO2018/015573 18F9 CDR-L1
126	GAS	WO2018/015573 18F9 CDR-L2

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 2】

127	EQTYSYPYT	WO2018/015573 18F9 CDR-L3
128	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLSCVVSGFTFTDFYMNWIRQ AAGKAPEWLGLIRNKVNGYRTEYNPSVKGRFTISRDNIQN MLYLQMNTLRAEDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGVM VTVSS	WO2018/015573 18F9 重鎖可変領域
129	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSENNQDYL WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 18F9 軽鎖可変領域
130	GFTFTDFY	WO2018/015573 15C5 CDR-H1
131	IRNKAYGYTT	WO2018/015573 15C5 CDR-H2
132	ARIGINYGGSLDYWG	WO2018/015573 15C5 CDR-H3
133	QSLLYSESNQDY	WO2018/015573 15C5 CDR-L1
134	GAS	WO2018/015573 15C5 CDR-L2
135	EQTYSYPYT	WO2018/015573 15C5 CDR-L3
136	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMNWIRQ PAGKAPEWLGLIRNKAYGYTTEYNPSVKGRFTISRDNQD MLYLQMNTLRAEDTATYYCARIGINYGGSLDYWGQGVM VTVSS	WO2018/015573 15C5 重鎖可変領域
137	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSESNQDYLAW YQQKPGQFPKLLIYGASYRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTIS SVQAEDLAHYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 15C5 軽鎖可変領域

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 3】

138	GFTFTDFY	WO2018/015573 1G6 CDR-H1
139	IRNKANGFTT	WO2018/015573 1G6 CDR-H2
140	ARIGINNGSLDYWG	WO2018/015573 1G6 CDR-H3
141	QSLLYSENKQDY	WO2018/015573 1G6 CDR-L1
142	GAS	WO2018/015573 1G6 CDR-L2
143	EQTYSYPYT	WO2018/015573 1G6 CDR-L3
144	EVKLLES GGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFTDFYMNWIRQP AGKAPEWLGLIRNKANGFTTEYNPSVKGRFTISRDNQTH MLYLQMNTLRAEDTATYYCARIGINNGGSLDYWGQGVM VTVSS	WO2018/015573 1G6 重鎖可変領域
145	DILINQSPASLTVSTGEKVTMSCKSSQSLLYSENKQDYLA WYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT INIVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGTKLELK	WO2018/015573 1G6 軽鎖可変領域

10

20

30

【0187】

本開示の抗体のいずれも、細胞株によって生成され得る。いくつかの実施形態において、細胞株は、哺乳動物の細胞株であり得る。特定の実施形態において、細胞株は、ハイブリドーマ細胞株であり得る。他の実施形態において、細胞株は、酵母細胞株であり得る。抗体生成に好適な当該技術分野で知られている任意の細胞株が、本開示の抗体を生成するために使用され得る。抗体生成のための例示的な細胞株は、本開示を通して記載されている。

【0188】

抗体断片

本開示の特定の態様は、ヒトTREM2、ヒトTREM2の天然に存在するバリエーション、及びヒトTREM2の疾患バリエーションのうちの1つ以上に結合する抗体断片に関する。いくつかの実施形態において、抗体断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、FvまたはscFv断片である。

【0189】

抗体フレームワーク

本明細書に記載される抗体のいずれかは、フレームワークを更に含む。いくつかの実施形態において、フレームワークは、ヒト免疫グロブリンフレームワークである。例えば、いくつかの実施形態において、抗体（例えば、抗TREM2抗体）は、上記の実施形態の

40

50

いずれかにおけるHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。ヒト免疫グロブリンフレームワークは、ヒト抗体の一部であり得、あるいは、非ヒト抗体は、1つ以上の内在性フレームワークをヒトフレームワーク領域（複数可）で置き換えることによってヒト化されてもよい。ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、次のものが含まれるが、これらに限定されない：「最良適合（best-fit）」法を使用して選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993)を参照されたい）、軽鎖または重鎖可変領域の特定の下位集団のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carte et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)、及びPresta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照されたい）、ヒト成熟（体細胞変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞株フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci., 13:1619-1633 (2008)参照）；及びFRライブラリのスクリーニングから得られるフレームワーク領域（例えば、Baca et al., J. Biol. Chem., 272:10678-10684 (1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem., 271:22611-22618 (1996)参照）が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0190】

抗体の調製

20

本開示の抗TREM2抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化及びキメラ抗体、ヒト抗体、抗体断片（例えば、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及びF(ab')₂）、二重特異性及び多重特異性抗体、多価抗体、コンジュゲート抗体、ライブラリ由来抗体、改変したエフェクター機能を有する抗体、抗体部分を含有する融合タンパク質、ならびに本開示のTREM2タンパク質のアミノ酸残基を有するエピトープなどの抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の改変形態（抗体のグリコシル化バリエーション、抗体のアミノ酸配列バリエーション及び共有結合的に改変された抗体を含む）を包含し得る。抗TREM2抗体は、ヒト、ネズミ、ラットまたは任意の他の起源であってよい（キメラまたはヒト化抗体を含む）。

【0191】

30

（1）ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体、例えば、抗TREM2ポリクローナル抗体は、一般に、関連抗原及びアジュバントの皮下（sc）注射または腹腔内（ip）注射を複数回行うことによって、動物内で生成される。関連抗原（例えば、本開示の精製または組み換えTREM2タンパク質）は、免疫する種において免疫原性であるタンパク質、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、血清アルブミン、ウシサイログロブリンまたはダイズトリプシン阻害剤に、二官能性または誘導化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介したコンジュゲート）、N-ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を介する）、グルタルアルデヒド、コハク酸無水物、SOCl₂、またはR¹N=C=N R（式中、R及びR¹は独立して低級アルキル基である）を使用して、コンジュゲートすることが有用であり得る。用いられ得るアジュバントの例には、フロイント完全アジュバント及びMPL- α -TDMアジュバント（モノホスホリルリピドA、合成トレハロースジコリノミコール酸エステル）が含まれる。免疫化プロトコルは、過度な実験なしに当業者によって選択され得る。

40

【0192】

動物は、例えば、100 μ g（ウサギの場合）または5 μ g（マウスの場合）のタンパク質またはコンジュゲート（それぞれ、ウサギまたはマウスの場合）を3体積のフロイント完全アジュバントと組み合わせ、複数の部位で溶液を皮内注射することによって、所望の抗原、免疫原性コンジュゲート、または誘導体に対して免疫化される。1ヶ月後、動物は、複数の部位での皮下注入により完全フロイントアジュバント中のペプチドまたはコン

50

ジュゲートの元の量の $1/5 \sim 1/10$ で追加免疫される。7～14日後、動物が採血され、血清が抗体力価についてアッセイされる。動物は、力価がプラトーに到達するまで追加免疫される。コンジュゲートは、タンパク質融合物として組換え細胞培養物でも作製され得る。また、ミョウバン等の凝集剤も免疫応答の向上に好適である。

【0193】

(2) モノクローナル抗体

抗TREM2モノクローナル抗体などのモノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られ、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る可能性のある天然に存在する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除き、同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、別個の抗体の混合物ではない抗体の特性を示す。

10

【0194】

例えば、抗TREM2モノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495 (1975) により最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して作製され得、または組み換えDNA法（米国特許第4,816,567号）によって作製され得る。

【0195】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターなどを上述のように免疫化すると、免疫化に使用されたタンパク質（例えば、本開示の精製または組み換えTREM2タンパク質）に特異的に結合する抗体を生成するか、生成することができるリンパ球が誘発される。代替的に、リンパ球は、*in vitro*で免疫化され得る。その後、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して、リンパ球をミエローマ細胞などの不死細胞株と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)）。

20

【0196】

ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地は、例えば、免疫沈降によってまたはラジオイムノアッセイ（RIA）もしくは酵素結合アッセイ（ELISA）などの *in vitro* 結合アッセイによって決定されるように、所望の抗原（例えば、本開示のTREM2タンパク質）に対して指向化されたモノクローナル抗体の存在についてアッセイされ得る。そのような技術及びアッセイは、当該技術分野で既知である。

30

【0197】

所望の特異性、親和性、及び／または活性の抗体を生成するハイブリドーマ細胞が同定された場合、クローンはサブクローニングされ得、サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、従来の免疫グロブリン精製手順、例えば、タンパク質A-セファロースクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、アフィニティークロマトグラフィー及び上記の他の方法などによって、培養培地、腹水または血清から分離され得る。

【0198】

抗TREM2モノクローナル抗体はまた、例えば、上述したように、組換えDNA法によって作製され得る。モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、ネズミ抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合するオリゴヌクレオチドプローブを使用して）容易に単離及び配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの好ましい源としての機能を果たす。単離されると、DNAが発現ベクター内に配置され得、その後、これが、宿主細胞、例えば、E. coli細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、または免疫グロブリンタンパク質を別様に生成しない骨髓腫細胞にトランスフェクトされて、そのような組換え宿主細胞内でモノクローナル抗体を合成する。抗体をコードするDNAの細菌中での組み換え発現についての総説には、Skerra, Curr. Opin. Immunol., 5:256-262 (1993) 及びPluckthun, Immunol. Rev. 130:

40

50

151-188 (1992) が含まれる。

【0199】

特定の実施形態において、抗TREM2抗体は、McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990) に記載の技術を使用して生成された抗体ファージライブラリから単離することができる。Clackson et al., 352:624-628 (1991) 及びMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) は、それぞれ、ファージライブラリからのネズミ抗体及びヒト抗体の単離について記載している。後続の公開物は、鎖シャフリングによる高親和性（ナノモル（「nM」）範囲）のヒト抗体の生成（Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)）、ならびに非常に大きいファージライブラリを構築するための戦略としてのコンビナトリアル感染及びin vivo組み換え（Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21:2265-2266 (1993)）について記載している。

【0200】

抗体またはその断片をコードするDNAはまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を相同ネズミ配列の代わりに置き換えることによって（米国特許第4,816,567号；Morrison, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)）、または免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全てもしくは一部を共有結合させることによって、改変することができる。典型的に、そのような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインと置き換えるか、抗体の1つの抗原結合部位の可変ドメインと置き換えて、ある抗原に対する特異性を有する抗原結合部位と、異なる抗原に対する特異性を有する別の抗原結合部位とを含むキメラ二価抗体が作製される。

【0201】

（3）ヒト化抗体

本開示の抗TREM2抗体またはその抗体断片は、ヒト化またはヒト抗体を更に含む得る。非ヒト（例えば、ネズミ）抗体のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはその断片（例えば、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂または抗体の他の抗原結合サブ配列）である。ヒト化抗体には、レシピエントの相補性決定領域（CDR）に由来する残基が、所望される特異性、親和性及び／または能力を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のCDRに由来する残基で置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）が含まれる。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基により置き換えられる。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体にも、移入された（imported）CDRまたはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでもよい。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、ここで、CDR領域の全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FR領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、任意に、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの少なくとも一部分を含む。Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann, Nature 332:323-329 (1988) 及びPresta, Curr. Opin. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。

【0202】

非ヒト抗TREM2抗体をヒト化するための特定の方法は、当該技術分野で知られている。通常、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源からそれに導入される1つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的に「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は、本質的にWinter and coworkers, Jones et al., Nature 321:522-52

5 (1986); Riechmann ., Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536 (1988)の方法に従って行うことができ、または齧歯類のCDRまたはCDR配列を、ヒト抗体の対応する配列の代わりに置き換えることによって行うことができる。したがって、このような「ヒト化抗体」は、キメラ抗体（米国特許第4,816,567号）であり、実質的に完全ヒト可変ドメイン未満が、非ヒト種からの対応する配列により置換されている。実際に、ヒト化抗体は、典型的にヒト抗体であり、いくつかのCDR残基及び恐らくいくつかのFR残基は、齧歯類抗体における類似部位からの残基により置換される。

【0203】

ヒト化抗体を作製するために使用される軽及び重の両方のヒト可変ドメインの選択は、免疫原性に影響を及ぼし得る。いわゆる「最良適合」法に従って、齧歯類抗体の可変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリに対してスクリーニングする。次いで、齧歯類の配列に最も近いヒト配列がヒト化抗体のヒトフレームワーク（FR）として認められる。Sims et al., 151:2296 (1993); Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定の下位群の全てのヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークが、いくつかの異なるヒト化抗体のために使用され得る。Carter et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993)。

【0204】

ヒト化抗体は、好ましくは、抗原に対する高い親和性及び他の望ましい生物学的特性を保持する。この目標を達成するために、好ましい方法によれば、ヒト化抗体は、親及びヒト化配列の三次元モデルを使用した親配列及び様々な概念的ヒト化生成物を分析するプロセスによって調製される。三次元免疫グロブリンモデルは一般に入手可能であり、そして当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推定される三次元立体配座構造を例示及び表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示を検討することにより、当該免疫グロブリン候補配列の機能における残基の予想される役割の分析、すなわち、免疫グロブリン候補がその抗原と結合する能力に影響する残基の分析が可能となる。このようにして、標的抗原（複数可）（例えば、本開示のTREM2タンパク質）に対する親和性の増大などの所望の抗体特性が達成されるように、レシピエント及び移入配列からFR残基が選択され、組み合わせられ得る。一般に、CDR残基は、抗原結合への影響に直接的かつ最も実質的に関与している。

【0205】

様々な形態のヒト化抗TREM2抗体が企図される。例えば、ヒト化抗TREM2抗体は、抗体断片、例えば、Fab、またはインタクト抗体、例えば、インタクトIgG1抗体であり得る。

【0206】

（4）抗体断片

特定の実施形態において、抗TREM2全抗体ではなく、抗TREM2抗体断片を使用する利点が存在する。いくつかの実施形態において、より小さな断片サイズにより、急速なクリアランス及びより良好な脳浸透が可能となる。

【0207】

抗体断片を生成するための様々な技術が開発されている。従来、これらの断片は、インタクト抗体のタンパク質分解消化によって得られていた（例えば、Morimoto et al., J. Biochem. Biophys. Method. 24:107-117 (1992); 及びBrennan et al., Science 229:81 (1985) 参照）。しかしながら、これらの断片は、現在、組み換え宿主細胞によって、例えば、本開示の抗TREM2抗体をコードする核酸を使用して、直接生成され得る。F

10

20

30

40

50

a b、F v 及び s c F v 抗体断片は全て、E. coli 中で発現及び分泌され得るため、これらの断片の直接的な大量作製が可能になる。抗 T R E M 2 抗体断片はまた、上述の抗体ファージライブラリから単離され得る。代替的に、F a b ' - S H 断片を E. coli から直接回収し、化学的にカップリングして、F (a b ')₂ 断片を形成することができる (C a r t e r e t a l . , B i o / T e c h n o l o g y 10:163-167 (1992))。別のアプローチによると、F (a b ')₂ 断片は、組換え宿主細胞培養物から直接単離され得る。延長した i n v i v o 半減期を有する F a b 及び F (a b ')₂ 抗体断片の生成は、米国特許番号 5, 869, 046 に記載されている。他の実施形態において、最適な抗体は、一本鎖 F v 断片 (s c F v) である。W O 93 / 16185 ; 米国特許第 5, 571, 894 号及び米国特許第 5, 587, 458 号を参照されたい。抗 T R E M 2 抗体断片はまた、例えば、米国特許 5, 641, 870 に記載されている「線状抗体」であり得る。そのような線状抗体断片は、単一特異性または二重特異性であり得る。

10

(5) 二重特異性抗体及び多特異性抗体。

【0208】

二重特異性抗体 (B s A b) は、同一または別のタンパク質 (例えば、1つ以上の本開示の T R E M 2 タンパク質) 上のエピトープを含む、少なくとも2つの異なるエピトープに対する結合特異性を有する抗体である。代替的に、B s A b の一方の部分を実質的 T R E M 2 抗原に結合するように武装させ、他方の部分を第2のタンパク質に結合するアームと組み合わせることができる。このような抗体は、完全長抗体または抗体断片から得ることができる (例えば、F (a b ')₂ 二重特異性抗体)。

20

【0209】

(6) エフェクター機能操作

また、抗体のエフェクター機能を改変し、及び／または血清中半減期を延長するために、本開示の抗 T R E M 2 抗体を改変することが望ましい場合がある。例えば、定常領域上の F c 受容体結合部位を改変または変異させて、特定の F c 受容体、例えば、F c γ R I 、F c γ R I I 、及び／または F c γ R I I I に対する結合親和性を除去または低減して、抗体依存性細胞媒介細胞傷害を低減し得る。いくつかの実施形態において、エフェクター機能は、抗体の F c 領域 (例えば、I g G の C H 2 ドメイン中) の N-グリコシル化を除去することによって低下する。いくつかの実施形態において、エフェクター機能は、P C T W O 99 / 58572 及び A r m o u r e t a l . , M o l e c u l a r I m m u n o l o g y 40:585-593 (2003) ; R e d d y e t a l . , J . I m m u n o l o g y 164:1925-1933 (2000) に記載されるように、ヒト I g G の 233~236、297 及び／または 327~331 などの領域を改変することによって低下する。他の実施形態において、本開示の抗 T R E M 2 抗体を改変してエフェクター機能を改変して、I T I M を含有する F c g R I I b (C D 32 b) に対する発見選択性を向上させて、抗体依存性細胞媒介細胞傷害及び抗体依存性細胞貪食を含む体液性反応を活性化することなく、隣接細胞上で T R E M 2 抗体のクラスター化を増加させることも所望であり得る。

30

【0210】

抗体の血清半減期を増加させるために、例えば、米国特許第 5, 739, 277 号に記載されるようなサルベージ受容体結合エピトープが抗体 (特に、抗体断片) 中に組み込まれ得る。本明細書で使用されるとき、「サルベージ受容体結合エピトープ」という用語は、I g G 分子の i n v i v o 血清半減期を延長させるのに貢献する I g G 分子 (例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、または I g G₄) の F c 領域のエピトープを指す。

40

【0211】

(7) 他のアミノ酸配列改変

本開示の抗 T R E M 2 抗体、またはその抗体断片のアミノ酸配列改変も企図される。例えば、抗体または抗体断片の結合親和性及び／または他の生物学的特性を改善することが望ましいことがある。抗体または抗体断片のアミノ酸配列バリエーションは、適切なヌクレオ

50

チド変化を抗体または抗体断片をコードする核酸に導入することによって、またはペプチド合成によって調製される。そのような改変には、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の欠失、及び／または挿入、及び／または置換が含まれる。欠失、挿入及び置換は、最終的な構築物に到達するように、任意の組み合わせがなされるが、最終的な構築物が所望の特性（すなわち、本開示の T R E M 2 タンパク質と結合し、または物理的に相互作用する能力）を持つことを条件とする。また、アミノ酸の変化により、抗体の翻訳後プロセスを変えることができ、例えば、グリコシル化部位の数または位置を変更することができる。

【0212】

変異導入に好ましい位置である抗 T R E M 2 抗体の特定の残基または領域を特定するのに有用な方法は、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれ、C u n n i n g h a m a n d W e l l s i n S c i e n c e , 2 4 4 : 1 0 8 1 - 1 0 8 5 (1 9 8 9) に記載されている。この場合、標的残基のうちのある残基または群（例えば、a r g、a s p、h i s、l y s 及び g l u などの荷電残基）を特定し、これを中性または負に荷電したアミノ酸（最も好ましくはアラニンまたはポリアラニン）で置き換え、アミノ酸と標的抗原との相互作用に影響を与えるようにする。次いで、置換に対する機能的感受性を実証するアミノ酸位置は、更なるまたは他のバリエーションを置換部位に、またはその代わりに導入することにより洗練される。したがって、アミノ酸配列変異を導入するための部位が予め決定されている一方で、変異自体の性質は予め決定される必要はない。例えば、所与の部位での変異の性能を分析するために、アラニンスキャニングまたはランダム変異誘発が標的コドンまたは領域で実行され、発現した抗体バリエーションが所望の活性に関して選別される。

【0213】

アミノ酸配列挿入には、1 個の残基から 1 0 0 個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ（「N」）及び／またはカルボキシ（「C」）末端融合、ならびに単一のまたは多数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N 末端メチオニル残基を有する抗体、または細胞傷害性ポリペプチドに融合した抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入バリエーションには、抗体の血清半減期を増大する酵素またはポリペプチドへの抗体の N 末端または C 末端の融合が含まれる。

【0214】

別の種類のバリエーションは、アミノ酸置換バリエーションである。これらのバリエーションは、異なる残基に置き換えられた抗体分子内に少なくとも 1 つのアミノ酸残基を有する。置換変異誘発に関する最も関心ある部位には、超可変領域が含まれるが、F R 改変も企図される。保存的置換について、以下の表 C に「好ましい置換」という見出しで示す。そのような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表 C に「例示的な置換」と表示されるか、またはアミノ酸クラスを参照して以下に更に記載されるより実質的な変化が導入され、産物がスクリーニングされ得る。

10

20

30

40

50

【表 3】

表 C : アミノ酸置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val ; leu ; ile	val
Arg (R)	lys ; gln ; asn	lys
Asn (N)	gln ; his ; asp, lys ; arg	gln
Asp (D)	glu ; asn	glu
Cys (C)	ser ; ala	ser
Gln (Q)	asn ; glu	asn
Glu (E)	asp ; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn ; gln ; lys ; arg	arg
Ile (I)	leu ; val ; met ; ala ; phe ; ノルロイシン	leu
Leu (L)	ノルロイシン ; ile ; val ; met ; ala ; phe	ile
Lys (K)	arg ; gln ; asn	arg
Met (M)	leu ; phe ; ile	leu
Phe (F)	leu ; val ; ile ; ala ; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr ; phe	tyr
Tyr (Y)	trp ; phe ; thr ; ser	phe
Val (V)	ile ; leu ; met ; phe ; ala ; ノルロイシン	leu

10

20

30

【0215】

抗体の生物学的特性の実質的な改変は、置換を選択することにより達成され、これらは、（a）置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、例えば、シートもしくは螺旋立体配座、（b）標的部位における分子の荷電もしくは疎水性、または（c）側鎖のバルクの維持に対するそれらの影響が著しく異なる。天然に存在する残基は、一般的な側鎖特性に従って分類される：

- （1）疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；
- （2）中性親水性：cys、ser、thr；
- （3）酸性：asp、glu；
- （4）塩基性：asn、gln、his、lys、arg；
- （5）鎖配向に影響を及ぼす残基：gly、pro；及び
- （6）芳香族：trp、tyr、phe。

40

【0216】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0217】

抗体の適切な立体配座の維持に関与しない任意のシステイン残基も概してセリンで置換されて、分子の酸化的安定性が改善され、異常な架橋が阻止され得る。逆に、システイン

50

結合（複数可）を抗体に付加すると、その安定性を改善することができる（具体的には、抗体が Fv 断片などの抗体断片である場合）。

【0218】

特に好ましい種類の置換バリエーションは、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗 T R E M 2 抗体）の 1 つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、更なる開発のために選択された結果として生じるバリエーション（複数可）は、それらが生成される親抗体と比較して改善された生物学的特性を有する。そのような置換バリエーションを生成するための好都合な方法は、ファージディスプレイを使用した親和性成熟を伴う。簡潔には、いくつかの超可変領域部位（例えば、6 ～ 7 つの部位）は、各部位に全ての可能なアミノ置換を生成するために変異される。このように生成された抗体バリエーションは、各粒子内にパッケージングされた M 1 3 の遺伝子 E I I 産物への融合物として糸状ファージ粒子からの一価様式で表示される。その後、ファージディスプレイされたバリエーションは、本明細書に開示されるそれらの生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。改変の候補となる超可変領域部位を特定するために、アラニンスキャニング変異誘発を行い、抗原結合に著しく寄与する超可変領域残基を特定することができる。代替的にまたは追加的に、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して、抗体と抗原（例えば、本開示の T R E M 2 タンパク質）との間の接触点を特定することが有益であり得る。そのような接触残基及び隣接残基は、本明細書に詳述される技術に従った置換の候補である。そのようなバリエーションが生成されると、バリエーションのパネルが本明細書に記載されるようにスクリーニングに供され、1 つ以上の関連アッセイにおいて優れた特性を有する抗体が更なる開発のために選択され得る。親和性成熟はまた、例えば、W O 2 0 0 9 / 0 3 6 3 7 9 A 2 ; W O 2 0 1 0 1 0 5 2 5 6 ; W O 2 0 1 2 0 0 9 5 6 8 ; 及び X u e t a l . , P r o t e i n E n g . D e s . S e l . , 2 6 (1 0) : 6 6 3 - 7 0 (2 0 1 3) に開示されているものなどの酵母提示技術を用いることによって実施され得る。

10

20

【0219】

抗体の別の種類のアミノ酸バリエーションは、抗体の元のグリコシル化パターンを変化させる。変化は、抗体に見られる 1 つ以上の炭水化物部分の欠失、及び／または抗体に存在しない 1 つ以上のグリコシル化部位の付加を意味する。

【0220】

抗体のグリコシル化は、典型的には、N 結合または O 結合のいずれかである。N 結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。トリペプチド配列であるアスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニン（式中、X は、プロリン以外の任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素結合の認識配列である。したがって、ポリペプチド内でのこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在により、潜在的なグリコシル化部位が作製される。O 結合グリコシル化とは、糖類である N-アセイルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうちの 1 つの、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはスレオニンへの結合を指すが、5-ヒドロキシプロリンまたは 5-ヒドロキシリジンも使用され得る。

30

【0221】

グリコシル化部位の、抗体への付加は、（N 連結グリコシル化部位のための）上述のトリペプチド配列のうちの 1 つ以上を含有するようにアミノ酸配列を変化させることにより簡便に達成される。変化はまた、元の抗体の配列に 1 つ以上のセリン残基もしくはトレオニン残基を付加するか、これらの残基で置換することによっても行うことができる（O 結合型グリコシル化部位の場合）。

40

（8）他の抗体改変

【0222】

本開示の抗 T R E M 2 抗体、またはその抗体断片は、当該技術分野で知られており、容易に利用可能な更なる非タンパク質性部分を含有するように、または当該技術分野で知られており、容易に利用可能な異なるタイプの薬物コンジュゲートを含有するように更に改変され得る。好ましくは、抗体の誘導化に好適な部分は、水溶性ポリマーである。水溶性

50

ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（*n*－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにこれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐していても非分岐であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は異なり得、１つより多くのポリマーが結合している場合、それらは同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／または種類は、改善対象の抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で治療において使用されるかどうか等を含むが、これらに限定されない考慮に基づいて、決定することができる。そのような技術及び他の好適な製剤は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000) に開示されている。

10

20

30

40

50

【0223】

薬物コンジュゲーションは、生物学的活性細胞傷害性（抗がん）ペイロードまたは薬物を、特定の腫瘍マーカー（例えば、理想的には、腫瘍細胞内または腫瘍細胞上にのみ見られるタンパク質）を特異的に標的とする抗体にカップリングすることを伴う。抗体は、身体内でこれらのタンパク質を見つけ出し、それ自体をがん細胞の表面に結合させる。抗体と標的タンパク質（抗原）との間の生化学的反応は、腫瘍細胞におけるシグナルを誘発し、これは次いで細胞毒素と共に抗体を吸収し、または内在化する。ADCが内在化された後、細胞傷害性薬物が放出され、がんを殺傷する。この標的化により、理想的には、薬物は、他の化学療法剤よりも低い副作用を有し、より広い治療ウィンドウを提供する。抗体をコンジュゲートする技術は、当該技術分野において開示されており、既知である（例えば、Jane de Lartigue, *OncLive* July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; 及び Ducry et al., (2010). *Bioconjugate Chemistry* 21 (1): 5-13 参照）。

【0224】

(9) 結合アッセイ及び他のアッセイ

本開示の抗TREM2抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロットなどの既知の方法によって抗原結合活性について試験され得る。

【0225】

抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的な方法は、Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols,” in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提供される。

【0226】

核酸、ベクター及び宿主細胞

本開示の抗TREM2抗体は、例えば、米国特許番号4,816,567に記載されているように、組換え方法及び組成物を使用して生成され得る。いくつかの実施形態において、本開示の抗TREM2抗体のいずれかをコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗TREM2抗体のVLを含有するアミノ酸配列及び／またはVHを含有するアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）をコードし得る。いくつかの実施形態において、そのような核酸を含有する１つ以上のベ

クター（例えば、発現ベクター）が提供される。いくつかの実施形態において、そのような核酸を含有する宿主細胞もまた提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、（１）抗体のV_Lを含有するアミノ酸配列及び抗体のV_Hを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有するベクター、または（２）抗体のV_Lを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第１のベクター及び抗体のV_Hを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第２のベクターを含有する（例えば、形質導入されている）。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、真核生物、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y₀、NS₀、Sp₂0細胞）である。本開示の宿主細胞にはまた、限定するものではないが、単離された細胞、*in vitro*培養細胞、及び*ex vivo*培養細胞が含まれる。

10

【0227】

本開示の抗TREM2抗体の作製方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、抗TREM2抗体をコードする核酸を含有する本開示の宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、その後、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収される。

【0228】

本開示の抗TREM2抗体を組み換え生成するには、抗TREM2抗体をコードする核酸を単離し、宿主細胞における更なるクローニング及び／または発現のために１つ以上のベクター中に挿入する。そのような核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定することができる。

20

【0229】

本開示の抗TREM2抗体または本明細書に記載のそのポリペプチド（抗体を含む）断片のうちのいずれかをコードする核酸配列を含有する好適なベクターには、限定するものではないが、クローニングベクター及び発現ベクターが含まれる。好適なクローニングベクターは、標準的技術に従って構築することができ、あるいは当該技術分野において入手可能な多数のクローニングベクターから選択してもよい。選択されるクローニングベクターは、使用予定の宿主細胞に応じて変わり得るが、有用なクローニングベクターは、一般に、自己複製能を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼの標的を１つ有し得、及び／またはベクターを含有するクローンの選択に用いることができるマーカーの遺伝子を保持し得る。好適な例には、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、pUC18、pUC19、Bluescript（例えば、pBS SK+）及びその誘導体、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、ファージDNA、ならびにpSA3及びpAT28などのシャトルベクターが含まれる。これらのクローニングベクター及び多くの他のクローニングベクターが、BioRad、Stratagene及びInvitrogenなどの商業的供給業者から入手可能である。

30

【0230】

発現ベクターは、一般に、本開示の核酸を含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームまたは染色体DNAの構成部分のいずれかとして、宿主細胞内で複製可能であり得る。好適な発現ベクターには、プラスミド、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルスを含むウイルスベクター、コスミド及びPCT国際公開番号WO87/04462に開示の発現ベクター（複数可）が含まれるが、これらに限定されない。ベクター構成要素は、一般に、次の要素：シグナル配列、複製起点、１つ以上のマーカー遺伝子、好適な転写調節エレメント（プロモーター、エンハンサー及びターミネーターなど）のうちの１つ以上を含み得るが、これらに限定されない。発現（すなわち、翻訳）には、リボソーム結合部位、翻訳開始部位及び終止コドンなどの１つ以上の翻訳調節エレメントも通常必要である。

40

【0231】

目的の核酸を含有するベクターは、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、DEAEデキストランまたは他の物質を用いるトランスフ

50

エクシオン、微粒子銃、リポフェクション及び感染（例えば、この場合のベクターはワクシニアウイルスなどの感染因子である）を含む、多数の適切な手段のいずれかによって、宿主細胞に導入することができる。導入ベクターまたはポリヌクレオチドの選択は、多くの場合、宿主細胞の特徴に依存する。いくつかの実施形態において、ベクターは、本開示の抗TREM2抗体をコードする1つ以上のアミノ酸配列を含有する核酸を含有する。

【0232】

抗体コーディングベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、本開示の抗TREM2抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合には、細菌において生成され得る。細菌での抗体断片及びポリペプチドの発現については、（例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号及び同第5,840,523号；ならびにCharlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254 (E. coli. における抗体断片の発現に関する記載)）。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離され得、更に精製することができる。

10

【0233】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物もまた、抗体コーディングベクターに好適なクローニング宿主または発現宿主であり、これらには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす、真菌株及び酵母株が含まれる（例えば、Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)；及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)）。

20

【0234】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合された哺乳動物細胞株が、有用であり得る。有用な宿主哺乳動物細胞株の他の例は、SV40により形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7)；ヒト胚性腎臓株(293細胞または例えばGraham et al., *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977)に記載されているような293細胞)；ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)；マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)に記載のTM4細胞)；サル腎臓細胞(CV1)；アフリカミドリサル腎臓細胞(VERO-76)；ヒト子宮頸癌細胞(HELA)；イヌ科腎臓細胞(MDCK)；バッファローラット肝細胞(BRL 3A)；ヒト肺細胞(W138)；ヒト肝細胞(Hep G2)；マウス乳腺腫瘍(MMT 060562)；例えば、Mather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)に記載のTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な宿主哺乳動物細胞株には、DHFR-CHO細胞(Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞；ならびにY0, NS0及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が含まれる。抗体生成に好適な特定の宿主哺乳動物細胞株の総説については、例えば、Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

30

40

【0235】

薬学的組成物及び製剤

本明細書では、本開示の抗TREM2抗体及び薬学的に許容可能な担体を含む薬学的組成物が提供される。いくつかの実施形態において、本明細書では、生理的に許容可能な担体、賦形剤または安定化剤において所望の純度を有する本開示の抗TREM2抗体を含む薬学的組成物が提供される(Remington's *Pharmaceutical Sciences* (1990) Mack Publishing Co., Easton

50

， P a .) 。 許 容 可 能 な 担 体 、 賦 形 剤 、 ま た は 安 定 化 剤 は 、 用 い ら れ る 投 薬 量 及 び 濃 度 で レ シ ピ エ ン ト に 対 し て 非 毒 性 で あ る 。

【 0 2 3 6 】

様 々 な 実 施 形 態 に お い て 、 抗 T R E M 2 抗 体 を 含 む 薬 学 的 組 成 物 は 、 薬 学 的 に 許 容 可 能 な 担 体 と 共 に 製 剤 中 で 提 供 さ れ る (例 え ば 、 G e n n a r o , R e m i n g t o n : T h e S c i e n c e a n d P r a c t i c e o f P h a r m a c y w i t h F a c t s a n d C o m p a r i s o n s : D r u g f a c t s P l u s , 2 0 t h e d . (2 0 0 3) ; A n s e l e t a l . , P h a r m a c e u t i c a l D o s a g e F o r m s a n d D r u g D e l i v e r y S y s t e m s , 7 t h e d . , L i p p e n c o t t W i l l i a m s a n d W i l k i n s (2 0 0 4) ; K i b b e e t a l . , H a n d b o o k o f P h a r m a c e u t i c a l E x c i p i e n t s , 3 r d e d . , P h a r m a c e u t i c a l P r e s s (2 0 0 0) を 参 照 さ れ た い) 。 非 経 口 投 与 に 好 適 な 製 剤 に は 、 抗 酸 化 剤 、 緩 衝 剤 、 静 菌 剤 及 び 製 剤 を 対 象 の レ シ ピ エ ン ト の 血 液 と 等 張 に す る 溶 質 を 含 む 得 る 、 水 性 及 び 非 水 性 の 等 張 性 無 菌 注 射 液 剤 と 、 懸 濁 化 剤 、 可 溶 化 剤 、 粘 稠 化 剤 、 安 定 剤 及 び 防 腐 剤 を 含 む 得 る 、 水 性 及 び 非 水 性 の 無 菌 懸 濁 剤 が 含 ま れ る 。

10

【 0 2 3 7 】

薬学的投薬量及び投与

本 明 細 書 で 提 供 さ れ る 抗 T R E M 2 抗 体 は 、 非 経 口 、 肺 内 、 鼻 腔 内 、 病 巣 内 投 与 、 脳 脊 髄 内 、 頭 蓋 内 、 髄 腔 内 、 滑 液 嚢 内 、 髄 腔 内 、 経 口 、 局 所 、 ま た は 吸 入 経 路 を 含 む 任 意 の 好 適 な 手 段 に よ っ て 投 与 さ れ 得 る 。 非 経 口 注 入 に は 、 筋 肉 内 、 ボ ー ラ ス と し て の も し く は 所 定 期 間 に わ た る 連 続 注 入 に よ る 静 脈 内 投 与 、 動 脈 内 、 関 節 内 、 腹 腔 内 、 ま た は 皮 下 投 与 が 含 ま れ る 。 い く つ か の 実 施 形 態 に お い て 、 投 与 は 、 静 脈 内 投 与 で あ る 。 い く つ か の 実 施 形 態 に お い て 、 投 与 は 、 皮 下 で あ る 。 投 薬 は 、 投 与 が 短 期 で あ る か 、 ま た は 長 期 で あ る か に 部 分 的 に 依 存 し て 、 任 意 の 適 し た 経 路 、 例 え ば 、 静 脈 内 ま た は 皮 下 注 入 等 の 注 入 に よ る こ と が で き る 。 限 定 さ れ な い が 、 様 々 な 時 点 で の 単 回 ま た は 複 数 回 投 与 、 ボ ー ラ ス 投 与 、 及 び パ ル ス 点 滴 を 含 む 様 々 な 投 薬 ス ケ ジ ュ ー ル が 本 明 細 書 に お い て 企 図 さ れ る 。

20

【 0 2 3 8 】

疾 患 の 予 防 ま た は 処 置 の た め 、 抗 T R E M 2 抗 体 の 適 切 な 投 薬 量 は 、 処 置 さ れ る 疾 患 の 種 類 、 特 定 の 抗 体 、 そ の 疾 患 の 重 症 度 及 び 経 過 、 抗 体 が 予 防 目 的 ま た は 治 療 目 的 で 投 与 さ れ る か ど う か 、 こ れ ま で の 治 療 法 、 患 者 の 臨 床 歴 及 び 抗 体 へ の 反 応 、 な ら び に 主 治 医 の 判 断 に 応 じ て 異 な る 。 抗 体 は 好 適 に 、 1 回 で 、 ま た は 一 連 の 処 置 に わ た っ て 患 者 に 投 与 さ れ る 。

30

【 0 2 3 9 】

キット／製造品

本 開 示 は ま た 、 本 開 示 の 単 離 さ れ た 抗 体 (例 え ば 、 本 明 細 書 に 記 載 の 抗 T R E M 2 抗 体) 、 ま た は そ の 機 能 的 断 片 を 含 有 す る キ ャ ッ プ を 提 供 す る 。 本 開 示 の キ ャ ッ プ は 、 本 開 示 の 精 製 さ れ た 抗 体 を 含 む 1 つ 以 上 の 容 器 を 含 む 得 る 。 い く つ か の 実 施 形 態 に お い て 、 キ ャ ッ プ は 、 本 開 示 の 方 法 に 従 っ て 使 用 す る た め の 説 明 書 を 更 に 含 む 。 い く つ か の 実 施 形 態 に お い て 、 こ れ ら の 説 明 書 は 、 本 開 示 の 任 意 の 方 法 に 従 っ て 、 小 児 発 症 白 質 脳 症 ; 軸 索 ス フ ェ ロ イ ド 及 び 色 素 性 グ リ ア を 伴 う 成 人 発 症 白 質 脳 症 (A L S P) ; ス フ ェ ロ イ ド を 伴 う び ま ん 性 遺 伝 性 白 質 脳 症 ; 神 經 軸 索 ス フ ェ ロ イ ド を 伴 う 成 人 発 症 白 質 萎 縮 症 ; 神 經 軸 索 ス フ ェ ロ イ ド を 伴 う 常 染 色 体 優 性 白 質 脳 症 ; 軸 索 ス フ ェ ロ イ ド を 伴 う 遺 伝 性 び ま ん 性 白 質 脳 症 (H D L S) ; 神 經 軸 索 白 質 萎 縮 症 ; 色 素 性 正 染 性 白 質 萎 縮 症 ; な ら び に 家 族 性 色 素 性 正 染 性 白 質 脳 症 (P O L D) か ら 選 択 さ れ る 疾 患 、 障 害 、 ま た は 傷 害 を 有 す る 個 体 を 予 防 し 、 そ の リ ス ク を 低 下 さ せ 、 ま た は 処 置 す る た め の 本 開 示 の 単 離 さ れ た 抗 体 (例 え ば 、 本 明 細 書 に 記 載 の 抗 T R E M 2 抗 体) の 投 与 の 説 明 を 含 む 。

40

【 0 2 4 0 】

い く つ か の 実 施 形 態 に お い て 、 説 明 書 は 、 例 え ば 、 個 体 に お い て 、 組 織 サ ン プ ル に お い て 、 ま た は 細 胞 に お い て 、 T R E M 2 タ ン プ ク 質 を 検 出 す る 方 法 の 記 述 を 含 む 。 キ ャ ッ プ は

50

、個体が疾患を有し、どの段階の疾患を有するかの判断に基づいて、処置に適した個体を選択することに関する記述を更に含み得る。

【0241】

いくつかの実施形態において、キットは、本開示の別の抗体（例えば、阻害性チェックポイント分子に特異的に結合する少なくとも1つの抗体、抑制性サイトカインに特異的に結合する少なくとも1つの抗体及び／または刺激性チェックポイントタンパク質に特異的に結合する少なくとも1つのアゴニスト抗体）及び／または少なくとも1つの刺激性サイトカインを更に含み得る。いくつかの実施形態において、キットは、本開示の任意の方法に従って、本開示の単離された抗体（例えば、本明細書に記載の抗TREM2抗体）と組み合わせて抗体及び／または刺激性サイトカインを使用するための説明書、抗体及び／または刺激性サイトカインと組み合わせて本開示の単離された抗体を使用するための説明書、または本開示の単離された抗体ならびに抗体及び／または刺激性サイトカインを使用するための説明書を更に含み得る。

10

【0242】

説明書は、一般に、目的の処置のための投薬量、投与計画及び投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、バルク包装（例えば、複数回用量包装）または分割単位用量でもよい。本開示のキット内に供給される説明書は、典型的には、ラベルまたは添付文書（例えば、キット内に含まれる紙シート）上の文書による説明書であるが、機械可読説明書（例えば、磁気または光学記憶ディスク上で配信される説明書）も許容される。

20

【0243】

ラベルまたは添付文書は、その組成物が、例えば、本開示の疾患を処置するために使用されることを示す。説明書は、本明細書に記載の方法のいずれかを実施するために提供され得る。

【0244】

本開示のキットは、好適なパッケージング内にある。好適なパッケージングには、バイアル、ボトル、瓶、可撓性パッケージング（例えば、密封マイラーまたはプラスチック袋）等が含まれるが、これらに限定されない。特定のデバイス、例えば、吸入具、鼻投与デバイス（例えば、噴霧器）または注入デバイス、例えば、ミニポンプと組み合わせて使用するためのパッケージも企図される。キットは、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。容器も同様に、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物における少なくとも1つの活性剤は、本開示の単離された抗体（例えば、本明細書に記載の抗TREM2抗体）である。容器は、第2の薬学的活性剤を更に含み得る。

30

【0245】

キットは任意に、緩衝液などの追加の成分及び解釈情報を提供し得る。通常、キットは、容器と、その容器上または容器に付属するラベルまたは添付文書（複数可）とを含む。

【0246】

本開示は、以下の実施例を参照することによって、より十分に理解されるであろう。しかしながら、これらは、本開示の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本開示全体における全ての引用文献は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

40

【0247】

バイオマーカー

特定の実施形態において、CSF1Rレベルは、本明細書に記載されるTREM2抗体の活性についてのバイオマーカーとして使用される。特定の実施形態において、対象に投与されるTREM2抗体は、処置されていない対象または対照抗体もしくはプラセボで処置された対象と比べて、有意にCSF1R発現を誘導し、またはCSF1Rレベルを上昇させる。特定の実施形態において、TREM2抗体は、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、TREM2抗体は、CSF1RのR

50

NAレベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、TREM2抗体は、CSF1Rタンパク質レベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、例えば、脳脊髄液において検出される場合、脳において上昇する。特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、前頭皮質において上昇する。特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、海馬において上昇する。特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、血漿において上昇する。特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、抗TREM2アゴニスト抗体の活性についてのバイオマーカーとして使用される。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、CSF1RのRNAレベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、CSF1Rのタンパク質レベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、例えば、脳脊髄液において検出される場合、脳におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、前頭皮質におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、海馬におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、抗TREM2アゴニスト抗体は、血漿におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。

10

20

30

40

50

【0248】

特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、AL2p-58 huIgG1 PSEG活性についてのバイオマーカーとして使用される。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、CSF1RのRNAレベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、CSF1Rのタンパク質レベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、例えば、脳脊髄液において検出される場合、脳におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、前頭皮質におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、海馬におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-58 huIgG1 PSEGは、血漿におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。

【0249】

特定の実施形態において、CSF1RのRNAまたはタンパク質レベルは、AL2p-47 huIgG1活性についてのバイオマーカーとして使用される。特定の実施形態において、AL2p-47 huIgG1は、CSF1RのRNAレベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-47 huIgG1は、CSF1Rのタンパク質レベルを、例えば、10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80、90%または100%上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-47 huIgG1は、例えば、脳脊髄液において検出される場合、脳におけるCSF1RのRNAまたはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、AL2p-47 huIgG1は、前頭皮質における

C S F 1 R の R N A またはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、A L 2 p - 4 7 h u I g G 1 は、海馬における C S F 1 R の R N A またはタンパク質レベルを上昇させる。特定の実施形態において、A L 2 p - 4 7 h u I g G 1 は、血漿における C S F 1 R の R N A またはタンパク質レベルを上昇させる。

【0250】

本明細書に記載の処置方法のいくつかの実施形態において、方法は、個体からのサンプルにおける C S F 1 R のレベルを測定する工程を含む。サンプルは、個体の脳脊髄液の血液からのものであり得る。C S F 1 R の R N A レベルまたは C S F 1 R のタンパク質レベルは、当業者に知られている任意の技術によって測定され得る。いくつかの実施形態において、C S F 1 R のレベルは、抗 T R E M 2 抗体を投与する前及び後に測定され、C S F 1 R のレベルの差が計算される。いくつかの実施形態において、C S F 1 R のレベルが抗 T R E M 2 抗体の投与後に上昇する場合、抗 T R E M 2 抗体は、個体において活性であると考えられる。いくつかの実施形態において、C S F 1 R のレベルが抗 T R E M 2 抗体の投与後に上昇しない場合、抗 T R E M 2 抗体は、個体において活性ではないと考えられる。

10

20

30

40

50

【0251】

本開示は、抗 T R E M 2 抗体が投与されている個体の処置をモニタリングする方法であって、個体が抗 T R E M 2 抗体の1つ以上の用量を摂取する前及び後に個体からのサンプルにおける C S F 1 R のレベルを測定することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、方法は、A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G が投与されている個体の処置をモニタリングすることである。いくつかの実施形態において、方法は、A L 2 p - 4 7 h u I g G 1 が投与されている個体の処置をモニタリングすることである。いくつかの実施形態において、サンプルは、個体の脳脊髄液または個体の血液からのものである。いくつかの実施形態において、方法は、サンプルにおける C S F 1 R のレベルに基づいて個体における抗 T R E M 2 抗体の活性を評価する工程を更に含む。例えば、いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、C S F 1 R のレベルが抗 T R E M 2 抗体の投与後に上昇する場合、個体において活性であると考えられ、いくつかの実施形態において、抗 T R E M 2 抗体は、C S F 1 R のレベルが抗 T R E M 2 抗体の投与後に上昇しない場合、個体において活性ではないと考えられる。

【実施例】

【0252】

実施例1：C S F 1 離脱後のヒトマクロファージ細胞生存率

抗 T R E M 2 アゴニスト抗体が C S F 1 離脱後のヒトマクロファージの生存性を維持する能力を評価するために、ヒト単球を R o s e t t e S e p ヒト単球濃縮プロトコル (S t e m C e l l T e c h n o l o g i e s) を使用して全血から単離した。ヒト単球由来マクロファージを調製するために、単球をカウントし、完全 R P M I 培地 (G l u t a m a x 、ペニシリン／ストレプトマイシン、非必須アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、及び10%熱不活性化ウシ胎仔血清で補充された R P M I) 及び 5 0 n g / m L の M - C S F (P e p r o t e c h) に播種した。6日後、分化した単球 (マクロファージ) を収穫し、 1.0×10^5 細胞／ウェルの密度で96ウェルプレート上で M - C S F を有する完全 R P M I 培地に播種した。細胞を一晩回復させた。7日目に、細胞培地を無血清 R P M I 培地に置き換え、細胞を M - C S F のみ (5 0 n g / m L) 、I g G 1 (1 0 μ g / m L) 、A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G (1 μ g / m L) 、または A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G (1 0 μ g / m L) で処置した。M - C S F 離脱後の各後日に C e l l T i t e r - G l o 発光生存アッセイ (P r o m e g a) を使用して細胞生存率を定量した。

【0253】

図1に示されているように、A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G (1 0 μ g / m L) で処置されたヒトマクロファージは、M - C S F 単独 (5 0 n g / m L) 、I g G 1 (1 0 μ g / m L) 、または A L 2 p - 5 8 h u I g G 1 P S E G (1 μ g / m L)

で処置された細胞と比較して有意に上昇した細胞生存率を有していた。特に、 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ でのAL2p-58 huIgG1 PSEG処置は、M-CSF単独と比較して、細胞生存率を有意に改善させた。

【0254】

実施例2：CSF1R阻害後のヒトマクロファージ細胞生存率及び生存性

実施例1で提示された結果は、抗TREM2アゴニスト抗体での処置が、M-CSF1の離脱後にヒトマクロファージの生存性を維持することができることを実証した。しかしながら、M-CSF1は、受容体CSF1Rの唯一のリガンドである。本例では、受容体CSF1R自体が阻害される場合、ヒトマクロファージの生存率に対する抗TREM2アゴニスト抗体の効果を調査するために実験を行った。

【0255】

抗TREM2抗体がCSF1R阻害後にヒトマクロファージの生存性を維持する能力を評価するために、CSF1R阻害剤PLX3397の存在下でAL2p-58 huIgG1 PSEGが細胞生存率及び生存性を向上させる能力を試験した(DeNardo et al., Cancer Discov (2011) 1(1):54-67. 22039576); Peng, et al., J. of Exp Canc Res (2019) 38(1):372. PMID:31438996)。CSF1離脱実験と同様に、ヒト由来マクロファージを6日目に96ウェルプレートに播種し、IgG1、PLX3397(30nM)、AL2p-58 huIgG1 PSEG(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)またはPLX3397及びAL2p-58 huIgG1 PSEGの組み合わせ(全ての完全RPMI培地中)で7日目に処置した。各後日にCellTiter-Glo発光生存アッセイ(Promega)を使用して細胞生存率を定量した。

【0256】

図2に示されているように、AL2p-58 huIgG1 PSEGでの処置は、CSF1R阻害の存在下でヒトマクロファージの生存性を維持した。特に、図2に示されるデータは、PLX3397(CSF1R阻害剤)で処置されたヒトマクロファージが低下した細胞生存率を有していたことを実証した。しかしながら、PLX3397で処置された細胞がAL2p-58 huIgG1 PSEGでも処置された場合、細胞生存率が有意に改善された。更に、データは、PLX3397及びAL2p-58 huIgG1 PSEGの両方で処置されたヒトマクロファージが、CSF1R阻害に供されなかった細胞(例えば、IgG1での処置またはAL2p-58 huIgG1 PSEG単独での処置)と同様の細胞生存率のレベルを有することを示していた。

【0257】

実施例3：抗TREM2アゴニスト抗体は、非ヒト霊長類におけるCSF1Rタンパク質の発現を増加させる

非ヒト霊長類を対照IgGでまたは増加する濃度のAL2p-58 huIgG1 PSEG抗体で処置した。前頭皮質からのサンプルにおけるCSF1Rタンパク質のレベルを測定した。図3に示されているように、AL2p-58 huIgG1 PSEG処置は、対照処置と比較して前頭皮質におけるCSF1Rタンパク質発現を増加させた。研究において使用されたAL2p-58 huIgG1 PSEGの最低濃度よりも12.5倍高かった最高濃度のAL2p-58 huIgG1 PSEGは、示されているように対照と比較して統計的に有意であったCSFR1レベルの上昇をもたらした。前頭皮質と比較して、海馬におけるCSFR1の増加が観察されたが、同等の研究においてAL2p-58 huIgG1 PSEGで処置された非ヒト霊長類では一致して観察されず、AL2p-58 huIgG1 PSEGが脳の特定の部分においては他の部分と比べてCSF1Rレベルに対する効果をより多く有し得ることを示している。

【0258】

実施例4：抗TREM2抗体は、非ヒト霊長類の前頭皮質及び海馬におけるCSF1Rレベルを増加させる。

この実施例は、非ヒト霊長類(カニクイザル)の前頭皮質及び海馬におけるCSF1R

10

20

30

40

50

タンパク質のレベルに対するAL2p-58 huIgG1の効果を評価した実験の結果を記載する。AL2p-58 huIgG1は、野生型IgG1を含むFcを有する抗TREM2抗体AL2p-58 huIgG1 PSEGのバリエーションである。

【0259】

カニクイザルに对照または抗AL2p-58 huIgG1の毎週用量を合計で5つの用量についての静脈内注射によって投与した（1用量群当たりN=5）。5回目の投薬から48時間後、脳組織を収穫し、対応するライセートをCSF1Rタンパク質発現について分析した。

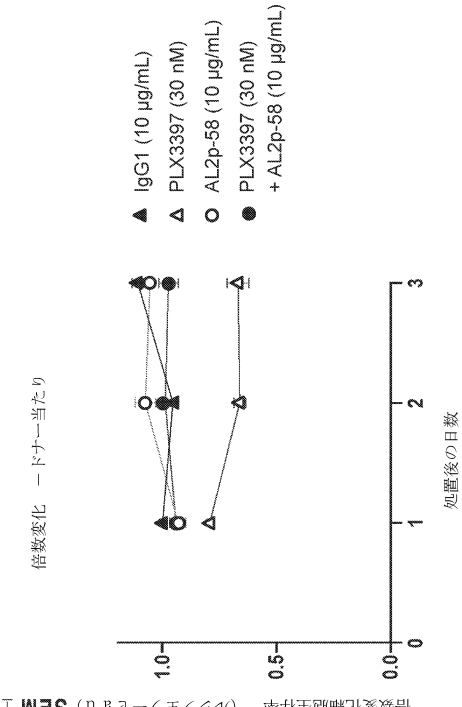
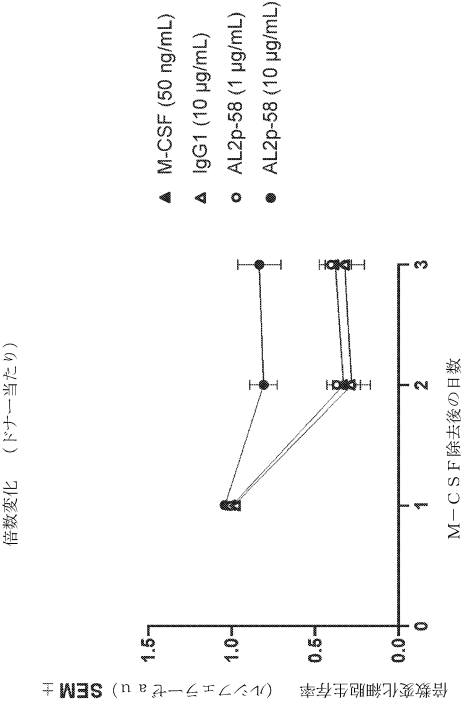
【0260】

図4に示されているように、非ヒト霊長類の前頭皮質及び海馬におけるCSF1Rタンパク質レベルは、对照で処置された動物と比較して、抗TREM2抗体AL2p-58 huIgG1の投与後に有意に上昇した。

【図面】

【図1】

【図2】



10

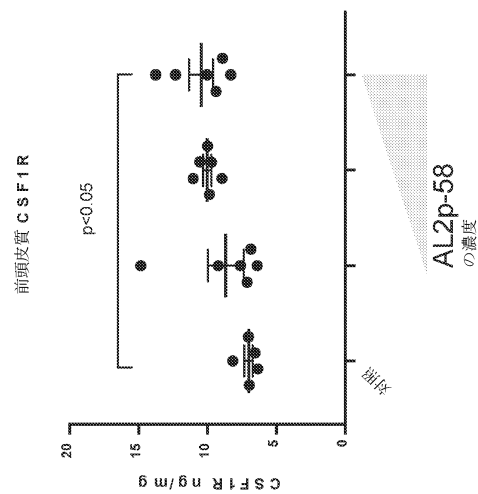
20

30

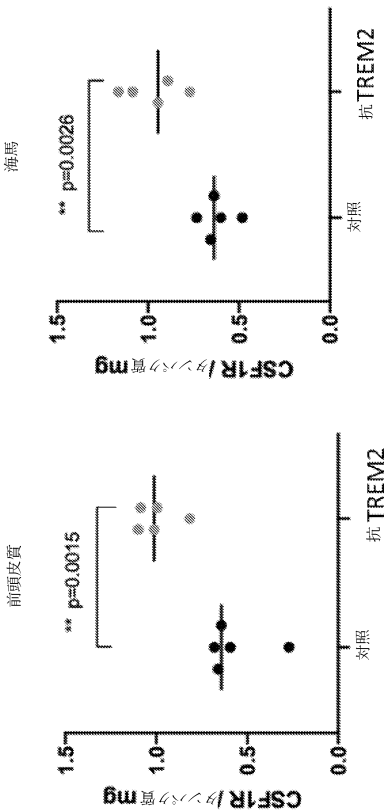
40

50

【 図 3 】



【 図 4 】



【 配 列 表 】

2023505279000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/063339

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 A61P25/28 A61K39/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/028292 A1 (ALECTOR LLC [US]) 7 February 2019 (2019-02-07) tables 6A,7A; sequences 59,64,108,112, 200-203, 214, 215 paragraph [0127] paragraph [0132] paragraph [0141] paragraph [0266] paragraph [0395] paragraph [0381] - paragraph [0383] paragraph [0386] - paragraph [0388] paragraph [0397] - paragraph [0399] ----- -/-	1-15, 17-31, 34-41
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 18 March 2021		Date of mailing of the international search report 29/03/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Turri, Matteo

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2020/063339

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KOBER DANIEL L ET AL: "TREM2-Ligand Interactions in Health and Disease", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, ACADEMIC PRESS, UNITED KINGDOM, vol. 429, no. 11, 19 April 2017 (2017-04-19), pages 1607-1629, XP085041882, ISSN: 0022-2836, DOI: 10.1016/J.JMB.2017.04.004 -----	1-44
A	NICHOLSON ET AL.: "CSF1R mutations link POLD and HDLS as a single disease entity", NEUROLOGY, vol. 80, no. 11, 2013, pages 1033-1040, XP002802331, cited in the application -----	1-44
A	RADEMAKERS ET AL.: "Mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) gene cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids", NAT GENET, vol. 44, no. 2, 2011, pages 200-205, XP002802332, cited in the application -----	1-44
A	OOSTERHOF NYNKE ET AL: "Homozygous Mutations inCSF1RCause a Pediatric-Onset Leukoencephalopathy and Can Result in Congenital Absence of Microglia", THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS, vol. 104, no. 5, 2 May 2019 (2019-05-02), pages 936-947, XP085676536, ISSN: 0002-9297, DOI: 10.1016/J.AJHG.2019.03.010 cited in the application -----	1-44
A	GUO ET AL.: "Bi-allelic CSF1R Mutations Cause Skeletal Dysplasia of Dysosteosclerosis-Pyle Disease Spectrum and Degenerative Encephalopathy with Brain Malformation", AM J HUM GENET, vol. 104, no. 5, 2019, pages 925-935, XP002802333, cited in the application -----	1-44
A	PRIDANS ET AL.: "CSF1R mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids are loss of function", SCI REP, vol. 3, 2013, page 3012, XP002802334, cited in the application ----- -/--	1-44

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2020/063339

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHITU VIOLETA ET AL: "Phenotypic characterization of aCsflrhaploinsufficient mouse model of adult-onset leukodystrophy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP)", NEUROBIOLOGY OF DISEASE, vol. 74, 1 February 2015 (2015-02-01), pages 219-228, XP029137277, ISSN: 0969-9961, DOI: 10.1016/J.NBD.2014.12.001 -----	1-44

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2020/063339

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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/063339

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 2019028292 A1	07-02-2019	AU 2018311055 A1	14-11-2019
		BR 112019022752 A2	19-05-2020
		CA 3061755 A1	07-02-2019
		CL 2019003093 A1	20-03-2020
		CL 2020001974 A1	23-10-2020
		CN 110621696 A	27-12-2019
		CO 2019012210 A2	01-04-2020
		CR 20190485 A	10-02-2020
		EC SP19078429 A	28-02-2020
		EP 3601358 A1	05-02-2020
		JP 2020533948 A	26-11-2020
		KR 20200033794 A	30-03-2020
		PE 20200148 A1	17-01-2020
		PH 12019502459 A1	20-07-2020
		TW 201912654 A	01-04-2019
		US 2019040130 A1	07-02-2019
		US 2020317776 A1	08-10-2020
		W0 2019028292 A1	07-02-2019

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
			A 6 1 P	25/00	1 0 1
			A 6 1 P	25/24	

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,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),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,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,Z
W

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 ローゼンタール, アーノン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 ロン, ホア

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

(72)発明者 サラザール, サンティアゴ ヴィヴェロス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
ブルヴァード 1 3 1, スイート 6 0 0, シー／オー アレクトル エルエルシー

F ターム (参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 BB31 BB33 BB36 BB37 BB41 BB43 BB44
CC22 CC23 DD62 EE01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA42 DA76 EA28 FA74