

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7311512号

(P7311512)

(45)発行日 令和5年7月19日(2023.7.19)

(24)登録日 令和5年7月10日(2023.7.10)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

Z N A

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63

Z

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

請求項の数 30 (全87頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-531955(P2020-531955)

(86)(22)出願日 平成30年12月11日(2018.12.11)

(65)公表番号 特表2021-506244(P2021-506244
A)

(43)公表日 令和3年2月22日(2021.2.22)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/065026

(87)国際公開番号 WO2019/118513

(87)国際公開日 令和1年6月20日(2019.6.20)

審査請求日 令和3年11月30日(2021.11.30)

(31)優先権主張番号 62/597,827

(32)優先日 平成29年12月12日(2017.12.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/648,089

(32)優先日 平成30年3月26日(2018.3.26)

最終頁に続く

(73)特許権者 520046487

パイオニア イミュノセラピューティクス

インコーポレイテッド

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォル

ニア州 サウス サンフランシスコ タワー

プレイス 2 スイート 8 0 0

(74)代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74)代理人 100102118

弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 T R E M 2 抗体及び関連する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

活性なヒト I g G 1 F c 領域、C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 の 3 つの重鎖 C D R 配列を含む可変重鎖 (V H) 配列を含む重鎖、ならびに、C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 の 3 つの軽鎖 C D R 配列を含む可変軽鎖 (V L) 配列を含む軽鎖を含む、単離ヒト化抗 T R E M 2 抗体であって、

- a . C D R - H 1 が配列番号 9 に記載の配列を含み、
- b . C D R - H 2 が配列番号 1 0 に記載の配列を含み、
- c . C D R - H 3 が配列番号 1 1 に記載の配列を含み、
- d . C D R - L 1 が配列番号 1 2 に記載の配列を含み、
- e . C D R - L 2 が配列番号 1 3 に記載の配列を含み、及び
- f . C D R - L 3 が配列番号 1 4 に記載の配列を含む、

前記単離ヒト化抗 T R E M 2 抗体。

【請求項2】

V H 鎖配列が配列番号 1 に示される V H 配列を含み、かつ、V L 鎖配列が配列番号 2 に示される V L 配列を含む、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項3】

V H 鎖配列が配列番号 1、3、または 5 に示される V H 配列を含み、かつ、V L 鎖配列が配列番号 2、4、または 6 に示される V L 配列を含む、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項4】

重鎖が配列番号 25 に示される重鎖配列を含み、かつ、軽鎖が配列番号 26 に示される軽鎖配列を含む、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 5】

VH 鎖配列が配列番号 1 に示される VH 配列からなり、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2 に示される VL 配列からなる、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 6】

VH 鎖配列が配列番号 1、3、または 5 に示される VH 配列からなり、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2、4、または 6 に示される VL 配列からなる、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 7】

重鎖が配列番号 25 に示される重鎖配列からなり、かつ、軽鎖が配列番号 26 に示される軽鎖配列からなる、請求項 1 に記載の単離抗体。

10

【請求項 8】

アフコシル化され、かつ

VH 鎖配列が配列番号 1 に示される VH 配列を含み、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2 に示される VL 配列を含む、
請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 9】

アフコシル化され、かつ

VH 鎖配列が配列番号 1、3、または 5 に示される VH 配列を含み、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2、4、または 6 に示される VL 配列を含む、
請求項 1 に記載の単離抗体。

20

【請求項 10】

アフコシル化され、かつ

重鎖が配列番号 25 に示される重鎖配列を含み、かつ、軽鎖が配列番号 26 に示される軽鎖配列を含む、
請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 11】

アフコシル化され、かつ

VH 鎖配列が配列番号 1 に示される VH 配列からなり、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2 に示される VL 配列からなる、
請求項 1 に記載の単離抗体。

30

【請求項 12】

アフコシル化され、かつ

VH 鎖配列が配列番号 1、3、または 5 に示される VH 配列からなり、かつ、VL 鎖配列が配列番号 2、4、または 6 に示される VL 配列からなる、
請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 13】

アフコシル化され、かつ

重鎖が配列番号 25 に示される重鎖配列からなり、かつ、軽鎖が配列番号 26 に示される軽鎖配列からなる、
請求項 1 に記載の単離抗体。

40

【請求項 14】

表面プラズモン共鳴 (SPR) アッセイで測定された、1、2、3、4、または 5×10^{-9} M 以下の K_D でヒト TREM2 に結合する、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 15】

アフコシル化される、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 16】

活性なヒト IgG1 Fc 領域が、野生型ヒト IgG1 Fc 領域である、請求項 1 に記載の単離抗体。

【請求項 17】

50

アフコシル化され、かつ
活性なヒトIgG1Fc領域が、野生型ヒトIgG1Fc領域である、
請求項1に記載の単離抗体。

【請求項18】

アフコシル化され、
活性なヒトIgG1Fc領域が、野生型ヒトIgG1Fc領域であり、かつ
VH鎖配列が配列番号1に示されるVH配列からなり、かつ、VL鎖配列が配列番号2
に示されるVL配列からなる、
請求項1に記載の単離抗体。

【請求項19】

TREM2+骨髄細胞を特異的に殺傷、枯渇、または無効化することが可能であり、
抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)活性、抗体媒介性細胞貪食(ADCP)活
性、または補体依存性細胞傷害(CDC)活性を有する、
請求項1に記載の単離抗体。

【請求項20】

請求項1に記載の抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項21】

必要とする対象のがんを処置または予防するための医薬組成物であって、有効量の、活
性なヒトIgG1Fc領域、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の3つの
重鎖CDR配列を含む可変重鎖(VH)配列を含む重鎖、ならびに、CDR-L1、CDR
-L2、およびCDR-L3の3つの軽鎖CDR配列を含む可変軽鎖(VL)配列を含む
軽鎖を含む、抗TREM2抗体であって、

- a. CDR-H1が配列番号9に記載の配列を含み、
- b. CDR-H2が配列番号10に記載の配列を含み、
- c. CDR-H3が配列番号11に記載の配列を含み、
- d. CDR-L1が配列番号12に記載の配列を含み、
- e. CDR-L2が配列番号13に記載の配列を含み、及び
- f. CDR-L3が配列番号14に記載の配列を含む、

抗体を含む、前記医薬組成物。

【請求項22】

前記対象が、免疫療法を以前に受けているか、同時に受けるか、またはその後に受ける
ことになり、

前記免疫療法が、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD
1抗体；抗PDL1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹
状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タン
パク質；BiTE二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細
胞傷害療法；化学療法；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；な
らびにエピジェネティック調節因子のうちの少なくとも1つである、

請求項21に記載の医薬組成物。

【請求項23】

前記免疫療法が、抗PD1抗体である、請求項22に記載の医薬組成物。

【請求項24】

がんを有する対象のTREM2+骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させるための医
薬組成物であって、

活性なヒトIgG1Fc領域、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の3つ
の重鎖CDR配列を含む可変重鎖(VH)配列を含む重鎖、ならびに、CDR-L1、CD
R-L2、およびCDR-L3の3つの軽鎖CDR配列を含む可変軽鎖(VL)配列を含
む軽鎖を含む、抗TREM2抗体であって、

- a. CDR-H1が配列番号9に記載の配列を含み、
- b. CDR-H2が配列番号10に記載の配列を含み、

- c. C D R-H 3 が配列番号 1 1 に記載の配列を含み、
- d. C D R-L 1 が配列番号 1 2 に記載の配列を含み、
- e. C D R-L 2 が配列番号 1 3 に記載の配列を含み、及び
- f. C D R-L 3 が配列番号 1 4 に記載の配列を含む、

抗体を含む、前記医薬組成物。

【請求項 2 5】

活性なヒト I g G 1 F c 領域、C D R-H 1、C D R-H 2、および C D R-H 3 の 3 つの重鎖 C D R 配列を含む可変重鎖 (V H) 配列を含む重鎖、ならびに、C D R-L 1、C D R-L 2、および C D R-L 3 の 3 つの軽鎖 C D R 配列を含む可変軽鎖 (V L) 配列を含む軽鎖を含む、抗 T R E M 2 抗体であって、

10

- a. C D R-H 1 が配列番号 9 に記載の配列を含み、
- b. C D R-H 2 が配列番号 1 0 に記載の配列を含み、
- c. C D R-H 3 が配列番号 1 1 に記載の配列を含み、
- d. C D R-L 1 が配列番号 1 2 に記載の配列を含み、
- e. C D R-L 2 が配列番号 1 3 に記載の配列を含み、及び
- f. C D R-L 3 が配列番号 1 4 に記載の配列を含む、

抗体をコードする、単離ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセット。

【請求項 2 6】

請求項 2 5 に記載のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。

20

【請求項 2 7】

請求項 2 5 に記載のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、宿主細胞。

【請求項 2 8】

抗体の産生方法であって、

請求項 2 7 に記載の宿主細胞で前記抗体を発現させる工程、及び

前記発現された抗体を単離する工程

を含む、前記方法。

【請求項 2 9】

請求項 1 に記載の抗体及び使用説明書を含む、キット。

30

【請求項 3 0】

疾患または状態を有するかまたは有すると疑われる対象において、T R E M 2 を検出する方法であって、

(a) 前記対象由来の試料を受け取る工程、及び

(b) 前記試料を請求項 1 に記載の抗体と接触させることにより、前記試料中の T R E M 2 の存在またはレベルを検出する工程

を含む、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

40

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 7 年 1 2 月 1 2 日に出願された米国仮特許出願第 6 2 / 5 9 7 , 8 2 7 号及び 2 0 1 8 年 3 月 2 6 日に出願された同第 6 2 / 6 4 8 , 0 8 9 号の利益を主張し、これらのそれぞれは、あらゆる目的のために全体が本明細書で参照により組み込まれる。

【0 0 0 2】

配列表

本出願は、E F S - W e b を介して送信されている配列表を含有し、全体が本明細書で参照により組み込まれる。2 0 X X 年月 X X 日に作成された該 A S C I I コピーは、X X X X X U S _ s e q u e n c e l i s t i n g . t x t という名称であり、サイズが X , X X X , X X X バイトである。

50

【背景技術】

【0003】

背景

免疫は腫瘍の増殖を防止する役割を果たす。複雑な微小環境が病変内で発生し得、T細胞の動員にもかかわらず、多くの場合、発生する腫瘍の効果的な制御はない。腫瘍排除及び腫瘍エスケープ間のバランスの理解は、骨髄細胞が腫瘍の微小環境で果たす異なる役割の理解に依存し得る。

【0004】

腫瘍微小環境の骨髄集団は、単球及び好中球（骨髄由来抑制細胞として大まかにグループ化される場合がある）、マクロファージ、及び樹状細胞を顕著に含む。腫瘍内骨髄集団は、全体として、非刺激性または抑制性であると長らく考えられているが、さらに最近では、全ての腫瘍浸潤性骨髄細胞が同等なとは限らないことが認められている。

【0005】

正常組織では、これらの骨髄細胞の多くは、自然免疫及び獲得免疫の両方が適切に機能するために、特に、傷の修復のために不可欠である。しかし、がんのセッティングでは、かなり過剰なマクロファージならびにこれらの細胞型及び他の細胞型の機能不全の集団または歪んだ集団が一般に説明される。「マクロファージ」浸潤は、CD68またはCD163などの単一のマーカーにより定義される凝集集団と考えられる時、複数の腫瘍タイプに対する、対象のより悪い転帰と相関する（（de Visser, Cancer Immunol Immunother, 2008; 57:1531-9（非特許文献1））；（Hanada et al., Int J Urol 2000; 7:263-9（非特許文献2））；（Yao et al. Clin Cancer Res, 520, 2001; 7:4021-6（非特許文献3））；（Ruffell et al., PNAS, 523 2012; 109:2796-801（非特許文献4）））。しかし、腫瘍微小環境のマクロファージの表現型及び機能的サブセッティングは、マクロファージ及び樹状細胞の類似性により複雑化され、腫瘍生物学の問題である。形態学的基準が多くの場合、問題に適用されており、樹状細胞をマクロファージと識別しようとする1つのアプローチは、前者の場合、より突起または樹状突起のモルホロジーに基づき、後者の場合、よりベールまたは球根状のモルホロジーに基づいていた（Bell et al., J Exp Med 555, 1999; 190:1417-26（非特許文献5））。他の群は、遺伝的及び細胞表面マーカーに基づいて識別しようとする。

【0006】

腫瘍内の抗原提示区画には多様性があり、T細胞は、抗原提示細胞（APC）の特徴を識別し得る。T細胞が腫瘍免疫の主要な駆動体であるので、同種APCの正確な特徴を理解することが重要であろう。骨髄細胞は、腫瘍由来の抗原をT細胞に提示し、それにより、後者を活性化状態に維持することが可能な細胞の中で顕著である。抗原提示は、腫瘍自体内で生じ、腫瘍細胞傷害性Tリンパ球（CTL）の機能に影響を及ぼす可能性がある。抗原提示細胞（APC）によるT細胞の活性化は、抗原特異的な免疫応答及び腫瘍細胞の殺傷における重要な構成成分である。これらの骨髄集団は、後続の腫瘍反応性細胞傷害性Tリンパ球に対する主要なT細胞相互作用パートナー及び抗原提示細胞を表すので、それらの識別を理解すると、治療方法が導かれ得る。

【0007】

関連特許出願は、2015年9月28日に出願されたPCT/US2015/052682（特許文献1）及び2016年9月28日に出願されたPCT/US2016/054104（特許文献2）を含み、これらのそれぞれは、あらゆる目的のために、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0008】

本明細書に引用された全ての特許、特許出願、刊行物、文書、及び論文は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【先行技術文献】

10

20

30

40

50

【特許文献】

【0009】

【文献】PCT/US2015/052682

PCT/US2016/054104

【非特許文献】

【0010】

【文献】de Visser, Cancer Immunol Immunother, 2008; 57: 1531-9

Hanada et al., Int J Urol 2000; 7: 263-9

Yao et al. Clin Cancer Res, 520, 2001; 7: 4021-6

Ruffell et al., PNAS, 523 2012; 109: 2796-801

Bell et al., J Exp Med 555, 1999; 190: 1417-26

【発明の概要】

【0011】

概要

ヒトTREM2（配列番号15）に結合し、マウスTREM2（配列番号17）への結合について37017抗体（配列番号31及び32）と競合する単離抗体が本明細書に記載される。

【0012】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号9に記載の配列を含むCDR-H1、配列番号10に記載の配列を含むCDR-H2、配列番号11に記載の配列を含むCDR-H3、配列番号12に記載の配列を含むCDR-L1、配列番号13に記載の配列を含むCDR-L2、及び配列番号14に記載の配列を含むCDR-L3を含む。

【0013】

一部の実施形態では、抗体は、アフコシル化され、配列番号1に示されるVH配列；配列番号2に示されるVL配列；及び活性なヒトIgG1 Fc領域を含む。

【0014】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号7に示される配列の3つの重鎖CDR全て及び配列番号8に示される配列の3つの軽鎖CDR全てを含む。

【0015】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号7に示される配列の97位でのAからTへの置換；及び配列番号7に示される配列の98位でのKからRへの置換を含む。

【0016】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号1、3、または5に示されるVH配列を含む。

【0017】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号1、3、または5に示されるVH配列及び配列番号2、4、または6に示されるVL配列を含む。

【0018】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号1に示されるVH配列を含む。

【0019】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号1に示されるVH配列及び配列番号2に示されるVL配列を含む。

【0020】

一部の実施形態では、抗体は、37012抗体である。

【0021】

一部の実施形態では、抗体は、配列番号25に示される重鎖配列及び配列番号26に示される軽鎖配列を含む。

【0022】

別の態様では、ヒトTREM2（配列番号15）に結合する単離抗体が本明細書に記載され、抗体は、マウスTREM2（配列番号17）への結合について37017抗体（配

10

20

30

40

50

列番号 31 及び 32) と競合し、活性なヒト Fc 領域を含む。

【0023】

一部の実施形態では、抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラである。

【0024】

一部の実施形態では、抗体は、ヒト化である。

【0025】

一部の実施形態では、抗体は、表面プラズモン共鳴 (SPR) アッセイで測定された、約 1、2、3、4、または 5×10^{-9} 以下の K_D でヒト TREM2 に結合する。

【0026】

一部の実施形態では、抗体は、TREM2 + 骨髄細胞、任意に、非刺激性骨髄細胞を特異的に殺傷、枯渇、または無効化することが可能である。

10

【0027】

一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC) 活性を有する。一部の実施形態では、抗体は、抗体媒介性細胞貪食 (ADCP) 活性を有する。一部の実施形態では、抗体は、補体依存性細胞傷害 (CDC) 活性を有する。

【0028】

一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC)、抗体媒介性細胞貪食 (ADCP) 活性、または補体依存性細胞傷害 (CDC) を介して骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させる。

【0029】

一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、中和抗体、アンタゴニスト抗体、アゴニスト抗体、ポリクローナル抗体、IgG1 抗体、IgG3 抗体、アフコシル化抗体、二重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、全長抗体、及びそれらの抗原結合フラグメントのうちの少なくとも 1 つである。

20

【0030】

一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0031】

一部の実施形態では、抗体は、多重特異性である。

【0032】

一部の実施形態では、抗体は、アフコシル化される。

30

【0033】

一部の実施形態では、抗体は、その抗原結合フラグメント、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、一本鎖抗体分子、二重可変ドメイン抗体、単一可変ドメイン抗体、線形抗体、または V ドメイン抗体である。

【0034】

一部の実施形態では、抗体は、足場を含み、任意に、足場は、Fc、任意に、ヒト Fc である。

【0035】

一部の実施形態では、抗体は、IgG、IgA、IgD、IgE、及び IgM から選択されるクラスの重鎖定常領域を含む。

40

【0036】

一部の実施形態では、抗体は、クラス IgG の重鎖定常領域ならびに IgG1、IgG2、IgG3、及び IgG4 から選択されるサブクラスを含む。

【0037】

一部の実施形態では、抗体は、IgG1 の重鎖定常領域を含む。

【0038】

一部の実施形態では、Fc は、1 つ以上の修飾を含み、1 つ以上の修飾は、1 つ以上の修飾なしの Fc と比較して、半減期の増加、ADCC 活性の増加、ADCP 活性の増加、または CDC 活性の増加をもたらす。

【0039】

50

一部の実施形態では、Fcは、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIc、FcγRIIIa、及びFcγRIIIbからなる群より選択されるFcγ受容体に結合する。

【0040】

別の態様では、がんの処置に使用される単離抗体が本明細書に記載され、がんは、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択される。

【0041】

別の態様では、ヒトTREM2への結合について本明細書に記載の抗体と競合する単離抗体が本明細書に記載される。

【0042】

別の態様では、本明細書に記載の抗体が結合しているヒトTREM2エピトープに結合する単離抗体が本明細書に記載される。

【0043】

別の態様では、本明細書に記載の抗体、そのV_H、そのV_L、その軽鎖、その重鎖、またはその抗原結合部分をコードする単離ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセット、任意に、cDNAが本明細書に記載される。

【0044】

別の態様では、本明細書に記載されるようなポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含むベクターまたはベクターのセットが本明細書に記載される。

【0045】

別の態様では、本明細書に記載されるようなポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または本明細書に記載のベクターもしくはベクターのセットを含む宿主細胞が本明細書に記載される。

【0046】

別の態様では、本明細書に記載の宿主細胞を用いて抗体を発現させること及び発現された抗体を単離することを含む抗体を産生する方法が本明細書に記載される。

【0047】

別の態様では、本明細書に記載の抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が本明細書に記載される。

【0048】

別の態様では、有効量の本明細書に記載の抗体または医薬組成物を対象に投与することを含む、方法を必要とする対象の疾患または状態を処置または予防する方法が本明細書に記載される。

【0049】

一部の実施形態では、疾患または状態は、がんである。

【0050】

一部の実施形態では、抗体は、TREM2+骨髄細胞上のTREM2の細胞外ドメインに結合し、任意に、骨髄細胞は、腫瘍内にある。一実施形態では、抗体は、骨髄細胞上のTREM2の細胞外ドメインに結合し、骨髄細胞が、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD11c⁺、CD14⁺、及びBDCA3⁻である非刺激性骨髄細胞であり、抗体が、非刺激性骨髄細胞を抗体と接触させる前のがんに存在する非刺激性骨髄細胞のレベルよりも少ないレベルに、ADCC、CDC、及び／またはADCPを介して非刺激性骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させ、非刺激性骨髄細胞が、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、BDCA1⁻、及びBDCA3⁺である刺激性骨髄細胞、ならびに非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団に存在し、非刺激性骨髄細胞の殺傷、無効化、または枯渇が、がんを処置する。

【0051】

一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、抗体媒介性細胞貪食（ADCP）活性、または補体依存性細胞傷害（CDC）を介して骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させる。一部の実施形態では、抗体は、受容体ーリガンド遮断

10

20

30

40

50

、アゴニズム、またはアンタゴニズム活性を有する。

【0052】

一部の実施形態では、対象は、ヒトである。一部の実施形態では、がんは、固形がんである。一部の実施形態では、がんは、液体がんである。一部の実施形態では、がんが、メラノーマ、腎臓、肝胆道、頭頸部扁平上皮がん（HNSC）、膵臓、結腸、膀胱、膠芽腫、前立腺、肺、乳房、卵巣、胃、腎臓、膀胱、食道、腎臓、メラノーマ、及び中皮腫からなる群より選択される。一部の実施形態では、がんは、結腸がんまたは乳がんである。

【0053】

一部の実施形態では、接触は、対象の免疫応答を増強する。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、適応免疫応答である。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、自然免疫応答である。

【0054】

一部の実施形態では、対象は、免疫療法を以前に受けたことがあるか、同時に受けているか、または後に受けることになる。一部の実施形態では、免疫療法は、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD1抗体；抗PDL1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タンパク質；BiTE二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細胞傷害療法；化学療法；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；ならびにエピジェネティック調節因子のうちの少なくとも1つである。一部の実施形態では、免疫療法は、抗PD1抗体である。

【0055】

別の態様では、本明細書に記載の抗TREM2抗体または本明細書に記載の医薬組成物と骨髄細胞を接触させることを含む、がんを有する対象のTREM2+骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させる方法が本明細書に記載され、任意に、骨髄細胞は、腫瘍内にある。

【0056】

一部の実施形態では、抗体は、TREM2の細胞外ドメインに結合し、TREM2+骨髄細胞が、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD11c⁺、CD14⁺、及びBDCA3⁻である非刺激性骨髄細胞であり、抗体は、非刺激性骨髄細胞を抗体と接触させる前のがんに存在する非刺激性骨髄細胞のレベルよりも少ないレベルに、ADCC、CDC、及び／またはADCPを介して非刺激性骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させ、非刺激性骨髄細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、BDCA1⁻、及びBDCA3⁺である刺激性骨髄細胞、ならびに非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団に存在し、接触は、がんの外側に存在する骨髄細胞及び／またはがん中存在する刺激性骨髄細胞を実質的に殺傷、無効化、または枯渇させず、非刺激性骨髄細胞の殺傷、無効化、または枯渇が、がんへの免疫応答を増強することにより、がんを処置する。

【0057】

一部の実施形態では、抗体は、ADCC、CDC、及びADCPのうちの少なくとも1つにより骨髄細胞を殺傷する。一部の実施形態では、抗体は、ADCC、CDC、及びADCPのうちの少なくとも1つにより骨髄細胞を無効化する。一部の実施形態では、抗体は、ADCC、CDC、及びADCPのうちの少なくとも1つにより骨髄細胞を枯渇させる。一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）活性を有する。一部の実施形態では、抗体は、補体依存性細胞傷害（CDC）活性を有する。一部の実施形態では、抗体は、抗体媒介性貪食（ADCP）活性を有する。一部の実施形態では、抗体は、受容体-リガンド遮断、アゴニズム、またはアンタゴニズム活性を有する。

【0058】

一部の実施形態では、骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞である。一部の実施形態では、骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞である。一部の実施形態では、骨髄細胞は、樹状細胞、腫瘍関連マクロファージ（TAM）、好中球、または単球のうちの少なくとも1つを含む。一部の実施形態では、骨髄細胞は、好中球である。一部の実施形態では、骨髄細胞は、腫瘍関

10

20

30

40

50

連マクロファージである。一部の実施形態では、骨髄細胞は、腫瘍内にある。一部の実施形態では、骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞及び非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団にある。

【0059】

一部の実施形態では、対象は、ヒトである。一部の実施形態では、がんは、固形がんである。一部の実施形態では、がんは、液体がんである。一部の実施形態では、がんが、メラノーマ、腎臓、肝胆道、頭頸部扁平上皮がん（HNSC）、膵臓、結腸、膀胱、膠芽腫、前立腺、肺、乳房、卵巣、胃、腎臓、膀胱、食道、腎臓、メラノーマ、及び中皮腫からなる群より選択される。一部の実施形態では、がんは、結腸がんまたは乳がんである。

【0060】

一部の実施形態では、接触は、対象の免疫応答を増強する。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、適応免疫応答である。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、自然免疫応答である。

【0061】

一部の実施形態では、対象は、免疫療法を以前に受けたことがあるか、同時に受けているか、または後に受けることになる。一部の実施形態では、免疫療法は、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD1抗体；抗PDL1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タンパク質；BiTE二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細胞傷害療法；化学療法；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；ならびにエピジェネティック調節因子のうちの少なくとも1つである。一部の実施形態では、免疫療法は、抗PD1抗体である。

【0062】

別の態様では、疾患または状態を有するか、または有すると疑われる対象のTREM2を検出する方法が本明細書に記載され、方法は、（a）対象由来の試料を受け取ること、及び（b）試料を本明細書に記載の抗体と接触させることにより、試料中のTFの存在またはレベルを検出すること、を含む。

【0063】

一部の実施形態では、疾患または状態は、がんである。

【0064】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法は、チェックポイント阻害薬を投与することを含み、任意に、チェックポイント阻害薬は、PD1：PDL1軸の阻害薬であり、任意に、阻害薬は、抗体であり、任意に、抗体は、抗PD1抗体または抗PDL1抗体である。

【0065】

別の態様では、本明細書に開示の抗体または医薬組成物及び使用説明書を含むキットが本明細書に記載される。

[本発明1001]

ヒトTREM2（配列番号15）に結合し、マウスTREM2（配列番号17）への結合について37017抗体（配列番号31及び32）と競合する、単離ヒト化抗体。

[本発明1002]

a. 配列番号9に記載の配列を含むCDR-H1、
b. 配列番号10に記載の配列を含むCDR-H2、
c. 配列番号11に記載の配列を含むCDR-H3、
d. 配列番号12に記載の配列を含むCDR-L1、
e. 配列番号13に記載の配列を含むCDR-L2、及び
f. 配列番号14に記載の配列を含むCDR-L3、
を含む、[本発明1001]の単離ヒト化抗体。

[本発明1003]

アフコシル化され、かつ

10

20

30

40

50

配列番号 1 に示される V H 配列；配列番号 2 に示される V L 配列；及び活性なヒト I g G 1 F c 領域を含む、

[本発明 1002] の単離抗体。

[本発明 1004]

配列番号 7 に示される配列の 97 位での A から T への置換；及び配列番号 7 に示される配列の 98 位での K から R への置換を含む V H 配列を含む、[本発明 1002] の単離抗体。

[本発明 1005]

配列番号 1、3、または 5 に示される V H 配列を含む、[本発明 1003] の単離抗体。

[本発明 1006]

配列番号 1、3、または 5 に示される V H 配列；及び配列番号 2、4、または 6 に示される V L 配列を含む、[本発明 1005] の単離抗体。

[本発明 1007]

配列番号 1 に示される V H 配列を含む、[本発明 1003] の単離抗体。

[本発明 1008]

配列番号 1 に示される V H 配列及び配列番号 2 に示される V L 配列を含む、[本発明 1007] の単離抗体。

[本発明 1009]

37012 抗体である、[本発明 1008] の単離抗体。

[本発明 1010]

配列番号 25 に示される重鎖配列及び配列番号 26 に示される軽鎖配列を含む、[本発明 1001] の単離抗体。

[本発明 1011]

ヒト T R E M 2（配列番号 15）に結合する単離抗体であって、

i）マウス T R E M 2（配列番号 17）への結合について 37017 抗体（配列番号 31 及び 32）と競合し、

i i）活性なヒト F c 領域を含む、

前記単離抗体。

[本発明 1012]

a．配列番号 9 に記載の配列を含む C D R－H 1、

b．配列番号 10 に記載の配列を含む C D R－H 2、

c．配列番号 11 に記載の配列を含む C D R－H 3、

d．配列番号 12 に記載の配列を含む C D R－L 1、

e．配列番号 13 に記載の配列を含む C D R－L 2、及び

f．配列番号 14 に記載の配列を含む C D R－L 3

を含む、単離ヒト化抗体。

[本発明 1013]

配列番号 7 に示される配列の 97 位での A から T への置換；及び配列番号 7 に示される配列の 98 位での K から R への置換を含む V H 配列を含む、[本発明 1012] の単離抗体。

[本発明 1014]

配列番号 1、3、または 5 に示される V H 配列を含む、[本発明 1013] の単離抗体。

[本発明 1015]

配列番号 1、3、または 5 に示される V H 配列；及び配列番号 2、4、または 6 に示される V L 配列を含む、[本発明 1014] の単離抗体。

[本発明 1016]

配列番号 1 に示される V H 配列を含む、[本発明 1015] の単離抗体。

[本発明 1017]

配列番号 1 に示される V H 配列及び配列番号 2 に示される V L 配列を含む、[本発明 1016] の単離抗体。

[本発明 1018]

37012 抗体である、[本発明 1017] の単離抗体。

10

20

30

40

50

[本発明1019]

配列番号25に示される重鎖配列及び配列番号26に示される軽鎖配列を含む、[本発明1012]の単離抗体。

[本発明1020]

表面プラズモン共鳴（SPR）アッセイで測定された、約 1 、 2 、 3 、 4 、または 5×10^{-9} M以下の K_D でヒトTREM2に結合する、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1021]

TREM2 + 骨髄細胞、任意で非刺激性骨髄細胞、任意で腫瘍内骨髄細胞を特異的に殺傷、枯渇、または無効化することが可能である、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1022]

抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）活性を有する、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1023]

抗体媒介性細胞貪食（ADCP）活性を有する、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1024]

補体依存性細胞傷害（CDC）活性を有する、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1025]

モノクローナル抗体、中和抗体、アンタゴニスト抗体、アゴニスト抗体、ポリクローナル抗体、IgG1抗体、IgG3抗体、アフコシル化抗体、二重特異性抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、全長抗体、及びそれらの抗原結合フラグメントのうちの少なくとも1つである、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1026]

モノクローナル抗体である、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1027]

多重特異性である、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1028]

アフコシル化される、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1029]

その抗原結合フラグメント、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、(scFv)₂、一本鎖抗体分子、二重可変ドメイン抗体、単一可変ドメイン抗体、線形抗体、またはVドメイン抗体である、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1030]

前記抗体が足場を含み、任意で前記足場がFc、任意でヒトFcである、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1031]

IgG、IgA、IgD、IgE、及びIgMから選択されるクラスの重鎖定常領域を含む、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1032]

前記IgGクラス、ならびにIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4から選択されるサブクラスの重鎖定常領域を含む、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1033]

IgG1の重鎖定常領域を含む、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1034]

Fcが1つ以上の修飾を含み、前記1つ以上の修飾が、前記1つ以上の修飾を有さない前記Fcと比較して、半減期の増加、ADCC活性の増加、ADCP活性の増加、またはCDC活性の増加をもたらす、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1035]

前記Fcが、FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIc、FcγRIIIa、及びFcγRIIIbからなる群より選択されるFcγ受容体に結合する、本発明のいずれかの単離抗体。

10

20

30

40

50

[本発明1036]

がんの処置に使用され、前記がんが、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択される、本発明のいずれかの単離抗体。

[本発明1037]

ヒトTREM2への結合について本発明のいずれかの抗体と競合する、単離抗体。

[本発明1038]

本発明のいずれかの抗体が結合しているヒトTREM2エピトープに結合する、単離抗体。

[本発明1039]

任意でポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットがcDNAである、本発明のいずれかの抗体をコードする単離ポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、そのVH、そのVL、その軽鎖、その重鎖、またはその抗原結合部分。

10

[本発明1040]

[本発明1039]のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。

[本発明1041]

[本発明1039]のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセットまたは[本発明1040]のベクターもしくはベクターのセットを含む、宿主細胞。

[本発明1042]

抗体の産生方法であって、

20

[本発明1041]の宿主細胞で前記抗体を発現させる工程、及び

前記発現された抗体を単離する工程

を含む、前記方法。

[本発明1043]

[本発明1001]～[本発明1038]のいずれかの抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

[本発明1044]

必要とする対象の疾患または状態を処置または予防する方法であって、有効量の[本発明1001]～[本発明1038]のいずれかの抗体または[本発明1043]の医薬組成物を前記対象に投与する工程を含む、前記方法。

30

[本発明1045]

前記疾患または状態が、がんである、[本発明1044]の方法。

[本発明1046]

前記抗体が、TREM2+骨髄細胞上のTREM2の細胞外ドメインに結合し、任意で前記骨髄細胞が、腫瘍内である、[本発明1044]の方法。

[本発明1047]

前記抗体が、骨髄細胞上のTREM2の前記細胞外ドメインに結合し、

前記骨髄細胞が、CD45+、HLA-DR+、CD11c+、CD14+、及びBDCA3-である非刺激性骨髄細胞であり、

40

前記抗体が、前記非刺激性骨髄細胞を前記抗体と接触させる前の、前記がん中存在する非刺激性骨髄細胞のレベルよりも少ないレベルまで、ADCC、CDC、及び/またはADCPを介して前記非刺激性骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させ、

前記非刺激性骨髄細胞が、CD45+、HLA-DR+、CD14-、CD11c+、BDCA1-、及びBDCA3+である刺激性骨髄細胞と前記非刺激性骨髄細胞とを含む免疫細胞の集団に存在し、

前記非刺激性骨髄細胞の前記殺傷、無効化、または枯渇が、前記がんを処置する、

[本発明1044]の方法。

[本発明1048]

前記抗体が、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)活性を有する、[本発明1044]の方法。

50

[本発明1049]

前記抗体が、補体依存性細胞傷害（CDC）活性を有する、[本発明1044]の方法。

[本発明1050]

前記抗体が、抗体媒介性貪食（ADCP）活性を有する、[本発明1044]の方法。

[本発明1051]

前記抗体が、受容体ーリガンド遮断、アゴニズム、またはアンタゴニズム活性を有する、[本発明1044]の方法。

[本発明1052]

前記対象が、ヒトである、[本発明1044]～[本発明1051]のいずれかの方法。

[本発明1053]

前記がんが、固形がんである、[本発明1044]～[本発明1052]のいずれかの方法。

[本発明1054]

前記がんが、液体がんである、[本発明1044]～[本発明1052]のいずれかの方法。

[本発明1055]

前記がんが、メラノーマ、腎臓、肝胆道、頭頸部扁平上皮がん（HNSC）、膵臓、結腸、膀胱、膠芽腫、前立腺、肺、乳房、卵巣、胃、腎臓、膀胱、食道、腎臓、メラノーマ、及び中皮腫からなる群より選択される、[本発明1044]～[本発明1052]のいずれかの方法。

[本発明1056]

前記がんが、結腸がんまたは乳がんである、[本発明1055]の方法。

[本発明1057]

前記接触が、前記対象の免疫応答を増強する、[本発明1044]～[本発明1056]のいずれかの方法。

[本発明1058]

前記増強された免疫応答が、適応免疫応答である、[本発明1057]の方法。

[本発明1059]

前記増強された免疫応答が、自然免疫応答である、[本発明1057]の方法。

[本発明1060]

前記対象が、免疫療法を以前に受けているか、同時に受けるか、またはその後受けることになる、[本発明1044]～[本発明1059]のいずれかの方法。

[本発明1061]

前記免疫療法が、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD1抗体；抗PD-L1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タンパク質；B1E二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細胞傷害療法；化学療法；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；ならびにエピジェネティック調節因子のうちの少なくとも1つである、[本発明1060]の方法。

[本発明1062]

前記免疫療法が、抗PD1抗体である、[本発明1061]の方法。

[本発明1063]

がんを有する対象のTREM2+骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させる方法であって、

前記骨髄細胞を、[本発明1001]～[本発明1038]のいずれかの抗体または[本発明1043]の医薬組成物と接触させる工程を含み、

任意で、前記骨髄細胞が腫瘍内である、
前記方法。

[本発明1064]

前記抗体が、TREM2の前記細胞外ドメインに結合し、

前記骨髄細胞が、CD45+、HLA-DR+、CD11c+、CD14+、及びBD

10

20

30

40

50

C A 3 - である非刺激性骨髄細胞であり、

前記抗体が、前記非刺激性骨髄細胞を前記抗体と接触させる前の、前記がん中存在する非刺激性骨髄細胞のレベルよりも少ないレベルまで、A D C C、C D C、及び／またはA D C Pを介して前記非刺激性骨髄細胞を殺傷、無効化、または枯渇させ、

前記非刺激性骨髄細胞が、C D 4 5 +、H L A - D R +、C D 1 4 -、C D 1 1 c +、B D C A 1 -、及びB D C A 3 +である刺激性骨髄細胞と前記非刺激性骨髄細胞とを含む免疫細胞の集団に存在し、

前記接触が、前記がんの外側に存在する骨髄細胞及び／または前記がん中存在する刺激性骨髄細胞を、実質的に殺傷、無効化、または枯渇させず、

前記非刺激性骨髄細胞の前記殺傷、無効化、または枯渇が、前記がんへの免疫応答を増強することにより、前記がんを処置する、

[本発明1063]の方法。

[本発明1065]

前記抗体が、A D C C、C D C、及びA D C Pのうちの少なくとも1つにより前記骨髄細胞を殺傷する、[本発明1063]の方法。

[本発明1066]

前記抗体が、A D C C、C D C、及びA D C Pのうちの少なくとも1つにより前記骨髄細胞を無効化する、[本発明1063]の方法。

[本発明1067]

前記抗体が、A D C C、C D C、及びA D C Pのうちの少なくとも1つにより前記骨髄細胞を枯渇させる、[本発明1063]の方法。

[本発明1068]

前記抗体が、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（A D C C）活性を有する、[本発明1063]の方法。

[本発明1069]

前記抗体が、補体依存性細胞傷害（C D C）活性を有する、[本発明1063]の方法。

[本発明1070]

前記抗体が、抗体媒介性貪食（A D C P）活性を有する、[本発明1063]の方法。

[本発明1071]

前記抗体が、受容体ーリガンド遮断、アゴニズム、またはアンタゴニズム活性を有する、[本発明1063]の方法。

[本発明1072]

前記骨髄細胞が、刺激性骨髄細胞である、[本発明1063]～[本発明1071]のいずれかの方法。

[本発明1073]

前記骨髄細胞が、非刺激性骨髄細胞である、[本発明1063]～[本発明1071]のいずれかの方法。

[本発明1074]

前記骨髄細胞が、樹状細胞、腫瘍関連マクロファージ（T A M）、好中球、または単球の少なくとも1つを含む、[本発明1063]～[本発明1073]のいずれかの方法。

[本発明1075]

前記骨髄細胞が、好中球である、[本発明1074]の方法。

[本発明1076]

前記骨髄細胞が、腫瘍関連マクロファージである、[本発明1074]の方法。

[本発明1077]

前記骨髄細胞が、腫瘍内である、[本発明1063]～[本発明1076]のいずれかの方法。

[本発明1078]

前記骨髄細胞が、刺激性骨髄細胞及び非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団である、[本発明1063]～[本発明1077]のいずれかの方法。

[本発明1079]

10

20

30

40

50

前記接触が、インビトロまたはインビボである、[本発明1063]～[本発明1078]のいずれかの方法。

[本発明1080]

前記接触が、必要とする対象においてインビボで生じ、任意で、前記対象ががんを有する、[本発明1063]～[本発明1079]のいずれかの方法。

[本発明1081]

前記対象が、ヒトである、[本発明1031]～[本発明1080]のいずれかの方法。

[本発明1082]

前記がんが、固形がんである、[本発明1063]～[本発明1081]のいずれかの方法。

[本発明1083]

前記がんが、液体がんである、[本発明1063]～[本発明1081]のいずれかの方法。

[本発明1084]

前記がんが、メラノーマ、腎臓、肝胆道、頭頸部扁平上皮がん（HNSC）、膵臓、結腸、膀胱、膠芽腫、前立腺、肺、乳房、卵巣、胃、腎臓、膀胱、食道、腎臓、メラノーマ、及び中皮腫からなる群より選択される、[本発明1080]の方法。

[本発明1085]

前記がんが、結腸がんまたは乳がんである、[本発明1084]の方法。

[本発明1086]

前記接触が、前記対象の免疫応答を増強する、[本発明1080]の方法。

[本発明1087]

前記増強された免疫応答が、適応免疫応答である、[本発明1080]の方法。

[本発明1088]

前記増強された免疫応答が、自然免疫応答である、[本発明1080]の方法。

[本発明1089]

前記対象が、免疫療法を以前に受けたことがあるか、同時に受けているか、またはその後を受けることになる、[本発明1080]～[本発明1088]のいずれかの方法。

[本発明1090]

前記免疫療法が、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD1抗体；抗PD-L1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タンパク質；BITE二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細胞傷害療法；化学療法；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；ならびにエピジェネティック調節因子のうちの少なくとも1つである、[本発明1089]の方法。

[本発明1091]

前記免疫療法が、抗PD1抗体である、[本発明1090]の方法。

[本発明1092]

疾患または状態を有するかまたは有すると疑われる対象において、TREM2を検出する方法であって、

（a）前記対象由来の試料を受け取る工程、及び

（b）前記試料を[本発明1001]～[本発明1038]のいずれかの抗体と接触させることにより、前記試料中のTREM2の存在またはレベルを検出する工程を含む、前記方法。

[本発明1093]

前記疾患または状態が、がんである、[本発明1092]の方法。

[本発明1094]

チェックポイント阻害薬を投与する工程をさらに含み、

任意で、前記チェックポイント阻害薬が、前記PD1：PD-L1軸の阻害薬であり、任意で、前記阻害薬が抗体であり、任意で、前記抗体が、抗PD1抗体または抗PD-L1抗体である、

10

20

30

40

50

[本発明1092]または[本発明1093]の方法。

[本発明1095]

[本発明1001]～[本発明1038]のいずれかの抗体または[本発明1043]の医薬組成物及び使用説明書を含む、キット。

【図面の簡単な説明】

【0066】

【図1A】CT-26同系マウス腫瘍モデルにおける抗PD-1と組み合わせた抗TREM2 PI-7012 媒介性抗腫瘍活性。PI-7012のアフコシル化は、抗PD-1と組み合わせて抗腫瘍活性を改善する。平均腫瘍体積（10マウス／グループ）が示される。

10

【図1B】CT-26同系マウス腫瘍モデルにおける抗PD-1と組み合わせた抗TREM2 PI-7012 媒介性抗腫瘍活性。PI-7012の個々の腫瘍体積が示される。

【図1C】CT-26同系マウス腫瘍モデルにおける抗PD-1と組み合わせた抗TREM2 PI-7012 媒介性抗腫瘍活性。アフコシル化PI-7012（afuc-PI-7012）が示される。

【図2】併用処置による有意な体重減少はない。各グループの10匹のマウスを、指示された抗体で処置し、体重を頻繁に記録した。各グループの平均体重を、研究日数に対してプロットした。

【図3】H&E染色に加えて、抗CD68を使用して、組織もマクロファージについて染色した。細胞内マーカーCD68は、炎症組織及び腫瘍の単球／マクロファージを免疫染色するための信頼できる細胞化学マーカーとして文献で広く使用されている。肺（パネルE）及び分析された他の組織では、CD68+マクロファージ数の識別可能な変化は、対照と比較して処置群のいずれかで観察されず、抗TREM2 媒介性枯渇がTMEにおいて特異的に発生したことを示す。

20

【図4A】示された処置群由来のFFPE肺組織の抗CD68染色。

【図4B】各切片の8～9つの視野を、光学顕微鏡による定量化に使用した。

【図5】TREM2の発現は、選択された組織の細胞において、存在しないかまたは非常に低かった。灰色のヒストグラムは、TREM2 KOのものであり、白抜きのヒストグラムは、野生型マウスのものである。抗TREM2 染色に使用される抗体は、R&D Systems製のクローン237920であった。

30

【図6】TREM2の細胞表面発現（白抜きのヒストグラム）は、MC38及びCT26の両方の腫瘍内の顆粒球または単球MDSCと比較して、TAMで有意に高かった。リンパ球は、TREM2を発現しない。アイソタイプ対照染色は、灰色の塗りつぶされたヒストグラムで示される。

【図7】TREM2の細胞表面発現（白抜きのヒストグラム）は、PBMCサブセットと比較して、CD14由来マクロファージで有意に高かった。ヒトPBMCまたはマクロファージを、TREM2（白抜きのヒストグラム）またはアイソタイプ対照（灰色のヒストグラム）のいずれかについて表面染色した。PBMCサブセットは、事前検証済みのマルチカラーFACSパネルを使用して、好中球、単球、またはT細胞として識別された。

【図8】TREM2の細胞表面発現（白抜きのヒストグラム）は、他の浸潤細胞または非CD45陽性細胞と比較して、TAMで有意に高かった。ヒト腫瘍組織由来の単一細胞懸濁液を、TREM2（白抜きのヒストグラム）またはアイソタイプ対照（灰色のヒストグラム）のいずれかについて表面染色した。免疫及び非免疫サブセットは、事前検証済みのマルチカラーFACSパネルを使用するものとして識別された。

40

【図9A】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI7012は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。腫瘍体積は、Panc-02腫瘍細胞が移植され、示されたmAbで処置された雌C57BL/6Jマウスにおいて経時的に追跡される。Y軸は、各グループの10匹のマウスの平均腫瘍体積の平均+/-標準偏差を表す。

【図9B】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI70

50

12は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。アイソタイプ対照mAbで処置された個々の動物の腫瘍体積。

【図9C】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI7012は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。抗TREM2 mAb afuc-PI7012で処置された個々の動物の腫瘍体積。

【図9D】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI7012は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。抗PD-1で処置された個々の動物の腫瘍体積。

【図9E】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI7012は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。抗TREM2 mAb afuc-PI7012及び抗PD-1で処置された個々の動物の腫瘍体積。

【図9F】抗PD-1 mAbと組み合わせた抗TREM2 mAb afuc-PI7012は、Panc-02膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。各処置群の移植後の32日目の群平均腫瘍体積の統計分析。

【図10】抗TREM2 mAb及び抗PD-1 mAbの処置後の腫瘍を含まないBALB/cマウスを、CT26腫瘍細胞（四角記号）で3ヶ月後に再チャレンジした。同様の処置ナイーブマウス（丸記号）に、同等の数のCT26細胞を投与し、研究期間中に腫瘍の成長について追跡した。研究期間中、マウスに追加の処置を提供しなかった。

【発明を実施するための形態】

【0067】

詳細な説明

定義

本明細書を解釈するために、以下の定義が適用されることになり、適切な場合はいつでも、単数形で使用される用語は、複数も含むことになり、逆もまた同様である。下記の任意の定義が、参照により本明細書に組み込まれる任意の文書と矛盾する場合、記載の定義が優先されるものとする。

【0068】

本明細書に記載の本発明の態様及び実施形態は、態様及び実施形態「を含むこと（comprising）」、「からなること（consisting）」、及び「から本質的になる（consisting essentially of）」を含むと理解される。

【0069】

本明細書に記載の全ての組成物及び本明細書に記載の組成物を使用する全ての方法では、組成物は、いずれかの列挙された構成成分もしくはステップを含み得るか、または列挙された構成成分もしくはステップ「から本質的になる」得る。組成物が列挙された構成成分「から本質的になる」と記載される時、組成物は、列挙された構成成分を含有し、明示的に列挙される構成成分以外の、処置される状態に実質的に影響を及ぼさないが、処置される状態に実質的に影響を及ぼす任意の他の構成成分を含有しない他の構成成分を含有し得るか、または組成物が処置される状態に実質的に影響を与える列挙された構成成分以外の追加の構成成分を含有する場合、組成物は、処置される状態に実質的に影響するのに十分な濃度または量の追加の構成成分を含有しない。方法が列挙されるステップ「から本質的になる」と記載される時、方法は、列挙されるステップを含有し、処置される状態に実質的に影響を与えない他のステップを含有してもよいが、方法が、明示的に列挙されるこれらのステップ以外の処置される状態に実質的に影響を与える任意の他のステップを含有しない。特定の非限定例として、組成物が構成成分『から本質的になる』と記載される場合、組成物はさらに、任意の量の薬学的に許容される担体、ビヒクル、または希釈剤、及び処置される状態に実質的に影響を及ぼさない、そのような他の構成成分を含有し得る。

【0070】

「任意に」という用語は、逐次的に使用される時、列挙された組み合わせの1つから全てまでを含むことを意味し、全ての副組み合わせを検討する。

【0071】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される「有効量」または「治療的有效量」は、単回投与または一連の投与の一部のいずれかとして、個体に投与される、抗 T R E M 2 抗原結合剤または抗 T R E M 2 抗体などの治療化合物の量を指し、これは、単独かまたは別の治療法との組み合わせのいずれかで、所望の治療効果を生じるのに効果的であるか、またはこれの原因となる。所望の治療効果の例は、免疫応答の増強；腫瘍の発達の減速または遅延；疾患の安定；1 つ以上の症状の改善である。有効量は、1 回以上の投薬で与えられてもよい。

【0072】

本明細書で使用される「処置すること」という用語は、がんなどの状態の進行を遅延または後退させることを指す。本明細書で使用される「処置」という用語は、がんなどの状態を処置する行為を指す。

10

【0073】

本明細書で使用される「個体」または「対象」は、ヒト、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、スポーツ、またはイヌ、ウマ、ウサギ、ウシ、ブタ、ハムスター、スナネズミ、マウス、フェレット、ラット、ネコなどのペット動物を含む哺乳動物として分類される任意の動物を指す。一部の実施形態では、個体は、ヒトである。一部の実施形態では、個体は、マウスである。

【0074】

「調節する」及び「調節」という用語は、列挙された可変要素を低減もしくは阻害、または、代わりとして活性化もしくは増加させることを指す。

【0075】

「増加させる」及び「活性化する」という用語は、列挙された可変要素の 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、100 %、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、20 倍、50 倍、100 倍、またはそれ以上の増加を指す。

20

【0076】

「低減させる」及び「阻害する」という用語は、列挙された可変要素の 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、20 倍、50 倍、100 倍、またはそれ以上の減少を指す。

【0077】

「刺激する」という用語は、受容体の活性化に関連する生物学的応答を誘導するための受容体シグナル伝達の活性化を指す。「アゴニスト」は、受容体に結合して、刺激する実体である。

30

【0078】

「拮抗する」という用語は、受容体の活性化に関連する生物学的応答を阻害するための受容体シグナル伝達の阻害を指す。「アンタゴニスト」は、受容体に結合して拮抗する実体である。

【0079】

本明細書で使用される「約」という用語は、当業者らがすぐにわかるそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。例示的な誤差範囲は、プラス 5 % またはマイナス 5 % である。本明細書の「約」値またはパラメーターへの言及は、その値またはパラメーター自体を対象とする実施形態を含み（且つ説明する）。

40

【0080】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈に別途明示のない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。

【0081】

本明細書に記載の構造的及び機能的特性のいずれかでは、これらの特性を決定する方法が当該技術分野で既知である。

【0082】

50

抗体 構造

本出願は、非刺激性骨髄細胞を無効化する抗体を含む、TREM2タンパク質に結合する抗体を含む抗体及び組成物を提供する。

【0083】

「抗体」という用語は、最も広い意味で、本明細書で使用され、抗原またはエпитープに特異的に結合する1つ以上の抗原結合ドメインを含む免疫グロブリン分子の特定のタイプを含む。抗体は、具体的には、インタクト抗体（例えば、インタクト免疫グロブリン）、抗体フラグメント、及び多重特異性抗体を含む。

【0084】

認識される免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、及びミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。軽鎖は、カッパまたはラムダのいずれかに分類される。抗体または免疫グロブリンの「クラス」は、重鎖が有する定常ドメインまたは定常領域のタイプを指す。抗体の5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM、ならびに、これらのうちのいくつかはさらに、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2、に分けられ得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び μ と呼ばれる。

【0085】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、2対のポリペプチド鎖からなり、各対は、1つの「軽」鎖（約25 kD）及び1つの「重」鎖（約50～70 kD）を有する。各鎖のN末端ドメインは、主に抗原認識に関与する約100～110以上のアミノ酸の可変領域を定義する。可変軽鎖（VL）及び可変重鎖（VH）という用語は、それぞれこれらの軽鎖及び重鎖ドメインを指す。IgG1重鎖は、N末端からC末端への、それぞれ、VH、CH1、CH2、及びCH3ドメインで構成される。軽鎖は、N末端からC末端へのVL及びCLドメインで構成される。IgG1重鎖は、CH1ドメイン及びCH2ドメイン間にヒンジを含む。特定の実施形態では、免疫グロブリン構築物は、治療用ポリペプチドに連結されているIgG、IgM、IgA、IgD、またはIgE由来の少なくとも1つの免疫グロブリンドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体にみられる免疫グロブリンドメインは、ダイアボディまたはナノボディなどの免疫グロブリンベースの構築物に由来するか、または誘導される。特定の実施形態では、本明細書に記載の免疫グロブリン構築物は、ラクダ科動物抗体などの重鎖抗体由来の少なくとも1つの免疫グロブリンドメインを含む。特定の実施形態では、本明細書で提供される免疫グロブリン構築物は、ウシ抗体、ヒト抗体、ラクダ抗体、マウス抗体、または任意のキメラ抗体などの哺乳動物抗体由来の少なくとも1つの免疫グロブリンドメインを含む。

【0086】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、重鎖を含む。一実施形態では、重鎖は、IgAである。一実施形態では、重鎖は、IgDである。一実施形態では、重鎖は、IgEである。一実施形態では、重鎖は、IgGである。一実施形態では、重鎖は、IgMである。一実施形態では、重鎖は、IgG1である。一実施形態では、重鎖は、IgG2である。一実施形態では、重鎖は、IgG3である。一実施形態では、重鎖は、IgG4である。一実施形態では、重鎖は、IgA1である。一実施形態では、重鎖は、IgA2である。

【0087】

本明細書で使用する「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列が超可変であり、及び／または構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、天然4本鎖抗体は、6つのHVR：VH（H1、H2、H3）の3つ及びVL（L1、L2、L3）の3つを含む。HVRは一般に、超可変ループ及び／または相補性決定領域（CDR）由来のアミノ酸残基を含み、後者は、最も高い配列可変性であり、及び／または抗原認識に関与する。VHのCDR1を除く

10

20

30

40

50

て、CDRは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。超可変領域（HVR）は、「相補性決定領域」（CDR）とも呼ばれ、これらの用語は、抗原結合領域を形成する可変領域の部分に関して本明細書では互換的に使用される。この特定の領域は、Kabat et al., U. S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) 及び Chothia et al., J Mol Biol 196:901-917 (1987) により記載されており、定義は、互いに比較した時、アミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体またはその多様体のCDRを指すいずれかの定義の適用は、本明細書で定義及び使用される用語の範囲内であることが意図される。特定のCDRを包含する正確な残基番号は、CDRの配列及びサイズにより変動するであろう。当業者らは、抗体の可変領域アミノ酸配列を考慮すると、どの残基が特定のCDRを含むかを規定通りに判定し得る。

【0088】

CDRのアミノ酸配列の境界は、上掲のKabat et al., (「Kabat」番号付けスキーム) ; Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (「Chothia」番号付けスキーム) ; MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (「Contact」番号付けスキーム) ; Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (「IMGT」番号付けスキーム) ; 及び Honegge and Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (「AHO」番号付けスキーム) に記載されるものを含む、既知の番号付けスキームの数のいずれかを使用して、当業者により決定することができ、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0089】

表Aは、Kabat及びChothiaスキームで同定されたCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3の位置を提供する。CDR-H1では、残基の番号付けは、Kabat及びChothiaの両方の番号付けスキームを使用して提供される。

【0090】

CDRは、例えば、www.bioinf.org.uk/abs/abnum/で入手可能な且つ全体が参照により組み込まれるAbhinandan and Martin, Immunology, 2008, 45:3832-3839に記載される、Abnumなどの抗体番号付けソフトウェアを使用して、割り当てられてもよい。

【0091】

(表A) Kabat及びChothia番号付けスキームによるCDRの残基

CDR	Kabat	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97
H1 (Kabat 番号付け)	H31-H35B	H26-H32 または H34*
H1 (Chothia 番号付け)	H31-H35	H26-H32
H2	H50-H65	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102

* CDR-H1のC末端は、Kabat番号付け規則を使用して番号付けされる時、CDRの長さに応じて、H32及びH34間で変動する。

【0092】

「EU番号付けスキーム」は一般に、抗体重鎖定常領域内の残基に言及する時に使用される（例えば、上掲のKabat et al. で報告されるように）。別途記載のない限

り、EU番号付けスキームは、本明細書に記載の抗体重鎖定常領域の残基を指すために使用される。

【0093】

本明細書で使用される場合、「一本鎖」という用語は、ペプチド結合により直線的に連結されているアミノ酸単量体を含む分子を指す。そのような特定の実施形態では、Fab軽鎖のC末端は、一本鎖Fab分子のFab重鎖のN末端に連結されている。本明細書でより詳細に記載されるように、scFvは、ポリペプチド鎖により、重鎖の可変ドメイン(VH)のC末端からN末端に連結されている軽鎖の可変ドメイン(VL)を有する。あるいは、scFvは、VHのC末端がポリペプチド鎖によりVLのN末端に連結されているポリペプチド鎖で構成される。

10

【0094】

「Fabフラグメント」(フラグメント抗原結合とも呼ばれる)は、軽鎖及び重鎖上のそれぞれ可変ドメインVL及びVHを伴う軽鎖の定常ドメイン(CL)及び重鎖の第1の定常ドメイン(CH1)を含有する。可変ドメインは、抗原結合に關与する相補性決定ループ(CDR、超可変領域とも呼ばれる)を含む。Fab'フラグメントは、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端に数個の残基の付加により、Fabフラグメントとは異なる。

【0095】

「F(ab')₂」フラグメントは、ジスルフィド結合によりヒンジ領域の近くで結合されている2つのFab'フラグメントを含有する。F(ab')₂フラグメントは、例えば、組み換え法またはインタクト抗体のペプシン消化により生成されてもよい。F(ab')フラグメントは、例えば、β-メルカプトエタノールで処理することにより解離させることができる。

20

【0096】

「Fv」フラグメントは、1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの非共有結合で連結された二量体を含む。

【0097】

「一本鎖Fv」または「scFv」は、抗体のVHドメイン及びVLドメインを含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖に存在する。一実施形態では、Fvポリペプチドはさらに、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にするVHドメイン及びVLドメイン間にポリペプチドリンカーを含む。scFvのレビューについては、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and More eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照のこと。HER2抗体scFvフラグメントは、WO93/16185;米国特許第5,571,894号;及び米国特許第5,587,458号に記載される。

30

【0098】

「scFv-Fc」フラグメントは、Fcドメインに結合しているscFvを含む。例えば、Fcドメインは、scFvのC末端に結合していてもよい。Fcドメインは、scFv(すなわち、VH-VLまたはVL-VH)における可変ドメインの配向に応じて、VHまたはVLに続いてよい。当該技術分野で既知の、または本明細書に記載の任意の好適なFcドメインが使用されてもよい。いくつかの場合では、Fcドメインは、IgG4 Fcドメインを含む。

40

【0099】

「単ドメイン抗体」または「sdAb」という用語は、抗体の1つの可変ドメインが他の可変ドメインの存在なしに抗原に特異的に結合する分子を指す。単ドメイン抗体及びそのフラグメントは、Arabi Ghahroudi et al., FEBS Letters, 1998, 414:521-526及びMuyldermans et al., Trends in Biochem. Sci., 2001, 26:230-245に

50

記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。単ドメイン抗体は、sdAbまたはナノボディとしても知られる。sdAbは、かなり安定しており、抗体のFc鎖との融合パートナーとして発現しやすい(Harmsen MM, De Haard HJ (2007). "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments". Appl. Microbiol Biotechnol. 77 (1) : 13-22)。

【0100】

天然に存在する抗体構造と実質的に類似する構造を有し且つFc領域を含む重鎖を有する抗体を指す「全長抗体」、「インタクト抗体」、及び「全抗体」という用語が本明細書において互換的に使用される。例えば、IgG分子を指すために使用される時、「全長抗体」は、2つの重鎖及び2つの軽鎖を含む抗体である。

【0101】

「エピトープ」という用語は、抗体に特異的に結合する抗原の一部を意味する。エピトープは多くの場合、表面にアクセス可能なアミノ酸残基及び／または糖側鎖からなり、特定の3次元構造特性及び特定の電荷特性を有してもよい。立体配座及び非立体配座エピトープは、後者ではなく前者への結合が変性溶媒の存在下で失われ得るという点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基、及び結合に直接関与しない他のアミノ酸残基を含んでもよい。抗体が結合するエピトープは、例えば、異なる点変異を有するTREM2多様体またはキメラTREM2多様体への抗体結合の試験などの、エピトープ決定のための既知の技術を使用して決定することができる。

【0102】

「多重特異性抗体」は、2つ以上の異なるエピトープに集合的に特異的に結合する2つ以上の異なる抗原結合ドメインを含む抗体である。2つ以上の異なるエピトープは、同じ抗原（例えば、細胞により発現される単一のTREM2分子）または異なる抗原（例えば、同じ細胞により発現される異なるTREM2分子、もしくはTREM2分子及び非TREM2分子）上のエピトープであり得る。一部の態様では、多重特異性抗体は、2つの異なるエピトープに結合する（すなわち、「二重特異性抗体」）。一部の態様では、多重特異性抗体は、3つの異なるエピトープに結合する（すなわち、「三重特異性抗体」）。

【0103】

「単一特異性抗体」は、単一のエピトープに特異的に結合する1つ以上の結合部位を含む抗体である。単一特異性抗体の例は、二価（すなわち、2つの抗原結合ドメインを有する）であるが、2つの抗原結合ドメインのそれぞれで同じエピトープを認識する、天然に存在するIgG分子である。結合特異性は、任意の好適な原子価で存在してもよい。

【0104】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団由来の抗体を指す。実質的に均一な抗体の集団は、モノクローナル抗体の産生中に通常生じ得る多様体を除いて、実質的に類似し且つ同じエピトープ（複数可）に結合する抗体を含む。そのような多様体は一般に、少量でのみ存在する。モノクローナル抗体は通常、複数の抗体から単一の抗体を選択することを含むプロセスにより得られる。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、酵母クローン、細菌クローン、または他の組み換えDNAクロンのプールなど、複数のクローン由来のユニークなクロンの選択であり得る。選択された抗体はさらに、例えば、標的に対する親和性（「親和性成熟」）を改善するため、抗体をヒト化するため、細胞培養における産生を改善するため、及び／または対象における免疫原性を低減させるために、改変することができる。

【0105】

「エフェクター機能」は、抗体のFc領域により媒介される生物活性を指し、この活性は、抗体アイソタイプに応じて変動し得る。抗体エフェクター機能の例としては、補体依存性細胞傷害(CDC)を活性化するC1q結合、抗体依存性細胞傷害(ADCC)を活性化するFc受容体結合、及び抗体依存性細胞貪食(ADCP)、受容体リガンド遮断、

アゴニズム、またはアンタゴニズムが挙げられる。

【0106】

抗TREM2抗体は、表に記載されるクローンなど、本明細書に記載されるものを含み得る。一部の実施形態では、抗体は、代替足場を含む。一部の実施形態では、抗体は、代替足場からなる。一部の実施形態では、抗体は、代替足場から本質的になる。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントを含む。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントからなる。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントから本質的になる。「TREM2抗体」、「抗TREM2抗体」、または「TREM2特異的抗体」は、抗原TREM2に特異的に結合する、本明細書で提供されるような抗体である。一部の実施形態では、抗体は、TREM2の細胞外ドメインと結合する。特定の実施形態では、本明細書で提供されるTREM2抗体は、異なる種由来のTREM2タンパク質間でまたはそれらの間で保存されるTREM2のエピトープに結合する。

10

【0107】

「キメラ抗体」という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来するが、重鎖及び／または軽鎖の残りが異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

【0108】

非ヒト抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小限の配列を含有するキメラ抗体である。ヒト化抗体は一般に、1つ以上のCDR由来の残基が、非ヒト抗体（ドナー抗体）の1つ以上のCDR由来の残基により置き換えられるヒト抗体（レシピエント抗体）である。ドナー抗体は、任意の好適な非ヒト抗体、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、または所望の特異性、親和性、もしくは生物学的効果を有する非ヒト霊長動物抗体であり得る。ヒト化抗体は、ヒト対象に投与される時、非ヒト種抗体と比較して、免疫応答を誘発する可能性が低く、及び／または重度でない免疫応答を誘発する。一部の場
合では、レシピエント抗体の選択されたフレームワーク領域残基が、ドナー抗体由来の対応するフレームワーク領域残基により置き換えられる。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体またはドナー抗体のいずれにもみられない残基を含んでもよい。そのような修飾は、さらに抗体機能を純化するためになされてもよい。ヒト化抗体を作製する方法の例は、米国特許第6,054,297号、同第5,886,152号、及び同第5,877,293号に見出すことができ、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。さらなる詳細については、Jones et al., Nature, 1986, 321:522-525; Riechmann et al., Nature, 1988, 332:323-329; 及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol., 1992, 2:593-596（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）を参照のこと。

20

30

【0109】

一実施形態では、ヒト抗体由来の定常ドメイン（複数可）は、非ヒト種の可変ドメイン（複数可）に融合される。別の実施形態では、非ヒト抗体の1つ以上のCDR配列中の1つ以上のアミノ酸残基は、それがヒト対象に投与された時、非ヒト抗体の免疫原性の可能性を低減させるように変化し、変化したアミノ酸残基はいずれも、抗体の抗原への免疫特異的結合について重要でないか、または、行われたアミノ酸配列への変化が保存的な変化であり、その結果、ヒト化抗体の抗原への結合が、非ヒト抗体の抗原への結合よりも著しく低い。

40

【0110】

「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞により産生されるか、または、ヒト抗体レパートリーまたはヒト抗体コード配列（例えば、ヒト供給源から得られるか、またはde novoで設計される）を利用する非ヒト供給源に由来する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。ヒト抗体は、特に、ヒト化抗体を除外する。一実施形態では、可変ドメイン及び定常ドメインの全ては、ヒト免疫グロブリン配列（完全ヒト抗体）に由来する。これらの抗体は、ヒト重鎖及び／または軽鎖をコードする遺伝子に由来する抗体を発現するように遺伝子修飾されるマウスの目的の抗原による免疫化を含む様々な

50

方法で調製されてもよい。

【0111】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントからなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントから本質的になる。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、Fvフラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、Fabフラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、F(ab')₂フラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、Fab'フラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、scFv(scFv)フラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、scFv-Fcフラグメントである。一部の実施形態では、抗体フラグメントは、単ドメイン抗体のフラグメントである。

10

【0112】

TREM2抗体の配列

V_Hドメイン

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号1、3、5、及び7から選択されるV_H配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号1のV_H配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号3のV_H配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号5のV_H配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号7のV_H配列を含む。

20

【0113】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号1、3、5、及び7で提供される例示のV_H配列と少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%の同一性を有するV_H配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25のアミノ酸置換を有する配列番号1、3、5、及び7で提供されるV_H配列を含む。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従ってdenovoで単離されてもよい。

30

【0114】

V_Lドメイン

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2、4、6、及び8から選択されるV_L配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2のV_L配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号4のV_L配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号6のV_L配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号8のV_L配列を含む。

40

【0115】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2、4、6、及び8で提供される例示のV_L配列と少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%の同一性を有するV_L配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25のアミノ酸置換を有する配列番号2、4、6、及び8で提供されるV_L配列を含む。一部の態

50

様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

【0116】

$V_H - V_L$ の組み合わせ

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V_H 配列、ならびに配列番号 2、4、6、及び 8 から選択される V_L 配列を含む。

10

【0117】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1 の V_H 配列及び配列番号 2 の V_L 配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 3 の V_H 配列及び配列番号 4 の V_L 配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 5 の V_H 配列及び配列番号 6 の V_L 配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 7 の V_H 配列及び配列番号 8 の V_L 配列を含む。特定の態様では、配列番号 1、3、5、及び 7 のいずれかを、配列番号 2、4、6、及び 8 のいずれかと組み合わせることができる。例えば、配列番号 1 は、配列番号 2、4、6、または 8 のいずれかと組み合わせることができる。別の例として、配列番号 2 は、配列番号 1、3、5、または 7 のいずれかと組み合わせることができる。

20

【0118】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 で提供される例示の V_H 配列と少なくとも約 50%、60%、70%、80%、90%、95%、または 99% の同一性を有する V_H 配列、ならびに、配列番号 2、4、6、及び 8 で提供される例示の V_L 配列と少なくとも約 50%、60%、70%、80%、90%、95%、または 99% の同一性を有する V_L 配列、を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、最大 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または 25 のアミノ酸置換を有する配列番号 1、3、5、及び 7 で提供される V_H 配列、ならびに、最大 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または 25 のアミノ酸置換を有する配列番号 2、4、6、及び 8 で提供される V_L 配列、を含む。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

30

40

【0119】

CDR

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V_H ドメインの 1～3 つの CDR を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V_H ドメインの 2～3 つの CDR を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V_H ドメインの 3 つの CDR を含む。一部の態様では、CDR は、例示的な CDR である。一部の態様では、CDR は、Kabat CDR である。一部の態様では、CDR は、Chothia CDR である。一部の態様では、CDR は、A

50

b M C D Rである。一部の態様では、C D Rは、C o n t a c t C D Rである。一部の態様では、C D Rは、I M G T C D Rである。

【0120】

一部の実施形態では、C D Rは、配列番号1、3、5、及び7のC D R-H1、C D R-H2、またはC D R-H3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有するC D Rである。一部の実施形態では、C D R-H1は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号1、3、5、及び7から選択されるV HドメインのC D R-H1である。一部の実施形態では、C D R-H2は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号1、3、5、及び7から選択されるV HドメインのC D R-H2である。一部の実施形態では、C D R-H3は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号1、3、5、及び7から選択されるV HドメインのC D R-H3である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って、d e n o v oで単離されてもよい。

10

【0121】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2、4、6、及び8から選択されるV Lドメインの1〜3つのC D Rを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2、4、6、及び8から選択されるV Lドメインの2〜3つのC D Rを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号2、4、6、及び8から選択されるV Lドメインの3つのC D Rを含む。一部の態様では、C D Rは、例示的なC D Rである。一部の態様では、C D Rは、K a b a t C D Rである。一部の態様では、C D Rは、C h o t h i a C D Rである。一部の態様では、C D Rは、A b M C D Rである。一部の態様では、C D Rは、C o n t a c t C D Rである。一部の態様では、C D Rは、I M G T C D Rである。

20

【0122】

一部の実施形態では、C D Rは、配列番号2、4、6、及び8のC D R-L1、C D R-L2、またはC D R-L3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有するC D Rである。一部の実施形態では、C D R-L1は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号2、4、6、及び8から選択されるV LドメインのC D R-L1である。一部の実施形態では、C D R-L2は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号2、4、6、及び8から選択されるV LドメインのC D R-L2である。一部の実施形態では、C D R-L3は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号2、4、6、及び8から選択されるV LドメインのC D R-L3である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って、d e n o v oで単離されてもよい。

30

40

【0123】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号1、3、5、及び7から選択されるV Hドメインの1〜3つのC D R、ならびに配列番号2、4、6、及び8から選択されるV Lドメインの1〜3つのC D Rを含む。一部の実施形態では、本明細書で提

50

供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V H ドメインの 2 ～ 3 つの C D R、ならびに配列番号 2、4、6、及び 8 から選択される V L ドメインの 2 ～ 3 つの C D R を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 1、3、5、及び 7 から選択される V H ドメインの 3 つの C D R、ならびに配列番号 2、4、6、及び 8 から選択される V L ドメインの 3 つの C D R を含む。一部の態様では、C D R は、例示的な C D R である。一部の態様では、C D R は、K a b a t C D R である。一部の態様では、C D R は、C h o t h i a C D R である。一部の態様では、C D R は、A b M C D R である。一部の態様では、C D R は、C o n t a c t C D R である。一部の態様では、C D R は、I M G T C D R である。

【0124】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 11 から選択される C D R - H 3 を含む。一部の態様では、C D R - H 3 は、配列番号 11 の C D R - H 3 と少なくとも約 50 %、75 %、80 %、85 %、90 %、または 95 % の同一性を有する。一部の実施形態では、C D R - H 3 は、最大 1、2、3、4、5、6、7、または 8 つのアミノ酸置換を有する配列番号 11 から選択される C D R - H 3 である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って d e n o v o で単離されてもよい。

【0125】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 10 の C D R - H 2 を含む。一部の態様では、C D R - H 2 は、配列番号 10 の C D R - H 2 と少なくとも約 50 %、75 %、80 %、85 %、90 %、または 95 % の同一性を有する。一部の実施形態では、C D R - H 2 は、最大 1、2、3、4、5、6、7、または 8 つのアミノ酸置換を有する配列番号 10 の C D R - H 2 である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って d e n o v o で単離されてもよい。

【0126】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 9 の C D R - H 1 を含む。一部の態様では、C D R - H 1 は、配列番号 9 の C D R - H 1 と少なくとも約 50 %、75 %、80 %、85 %、90 %、または 95 % の同一性を有する。一部の実施形態では、C D R - H 1 は、最大 1、2、3、4、5、6、7、または 8 つのアミノ酸置換を有する配列番号 9 の C D R - H 1 である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って d e n o v o で単離されてもよい。

【0127】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 11 の C D R - H 3 及び配列番号 10 の C D R - H 2 を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号 11 の C D R - H 3、配列番号 10 の C D R - H 2、及び配列番号 9 の C D R

ーH1を含む。一部の実施形態では、CDR-H3は、配列番号11のCDR-H3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-H2は、配列番号10のCDR-H2と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-H1は、配列番号9のCDR-H1と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-H3は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号11のCDR-H3であり；CDR-H2は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号10のCDR-H2であり；CDR-H1は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号9のCDR-H1である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って*de novo*で単離されてもよい。

【0128】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号14のCDR-L3を含む。一部の態様では、CDR-L3は、配列番号14のCDR-L3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-L3は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号14のCDR-L3である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って*de novo*で単離されてもよい。

【0129】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号13のCDR-L2を含む。一部の態様では、CDR-L2は、配列番号13のCDR-L2と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-L2は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号13のCDR-L2である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って*de novo*で単離されてもよい。

【0130】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号12のCDR-L1を含む。一部の態様では、CDR-L1は、配列番号12のCDR-L1と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-L1は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号12のCDR-L1である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形

態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

【0131】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号14のCDR-L3及び配列番号13のCDR-L2を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号14のCDR-L3、配列番号13のCDR-L2、及び配列番号12のCDR-L1を含む。一部の実施形態では、CDR-L3は、配列番号14のCDR-L3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-L2は、配列番号13のCDR-L2と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-L1は、配列番号12のCDR-L1と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-L3は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号14のCDR-L3であり；CDR-L2は、最大1、2、3、または4つのアミノ酸置換を有する配列番号13のCDR-L2であり；CDR-L1は、最大1、2、3、4、5、または6つのアミノ酸置換を有する配列番号12のCDR-L1である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

【0132】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号11のCDR-H3、配列番号10のCDR-H2、配列番号9のCDR-H1、配列番号14のCDR-L3、配列番号13のCDR-L2、及び配列番号12のCDR-L1を含む。一部の実施形態では、CDR-H3は、配列番号11のCDR-H3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-H2は、配列番号10のCDR-H2と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-H1は、配列番号9のCDR-H1と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-L3は、配列番号14のCDR-L3と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-L2は、配列番号13のCDR-L2と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有し、CDR-L1は、配列番号12のCDR-L1と少なくとも約50%、75%、80%、85%、90%、または95%の同一性を有する。一部の実施形態では、CDR-H3は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号11のCDR-H3であり；CDR-H2は、最大1、2、3、4、5、6、7、または8つのアミノ酸置換を有する配列番号10のCDR-H2であり；CDR-H1は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号9のCDR-H1であり；CDR-L3は、最大1、2、3、4、または5つのアミノ酸置換を有する配列番号14のCDR-L3であり；CDR-L2は、最大1、2、3、または4つのアミノ酸置換を有する配列番号13のCDR-L2であり；CDR-L1は、最大1、2、3、4、5、または6つのアミノ酸置換を有する配列番号12のCDR-L1である。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本段落で記載される抗体は、本明細書では「多様体」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような多様体は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該技術分野で既知のもしくは本明細書に記載の他の任意の方法により、本明細書で提供される配列から誘導される。一部の実施形態では、そのような多様体は、本明細書で提供される配列から誘導されず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

【0133】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、配列番号9のCDR-H1、配列番号10のCDR-H2、配列番号11のCDR-H3、配列番号12のCDR-L1、配列番号13のCDR-L2、及び配列番号14のCDR-L1を含む。

【0134】

Fc領域

本明細書の「Fcドメイン」または「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する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。用語は、天然配列Fc領域及び多様性Fc領域を含む。本明細書で別途指定のない限り、Fc領域または定常領域中のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムによるものである。本明細書で使用される二量体Fcの「Fcポリペプチド」は、二量体Fcドメインを形成する2つのポリペプチドのうちの1つ、すなわち、安定した自己会合が可能な免疫グロブリン重鎖のC末端定常領域を含むポリペプチドを指す。例えば、二量体IgGFcのFcポリペプチドは、IgG CH2及びIgG CH3定常ドメイン配列を含む。Fcは、クラスIgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMのものであり得、これらのいくつかはさらに、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2に分けられてもよい。

【0135】

「Fc受容体」及び「FcR」という用語は、抗体のFc領域に結合する受容体について説明するために使用される。例えば、FcRは、天然配列のヒトFcRであり得る。一般に、FcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）と結合するものであり、対立遺伝子多様体及びこれらの受容体の選択的スプライシング型を含むFcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIサブクラスの受容体を含む。FcγRII受容体は、主に細胞質ドメインが異なる類似のアミノ酸配列を有するFcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害受容体」）を含む。他のアイソタイプの免疫グロブリンは、特定のFcRに結合することもできる（例えば、Janeway et al., *Immunobiology: the immune system in health and disease*, (Elsevier Science Ltd., NY) (4th ed., 1999)を参照のこと）。活性化受容体FcγRIIAは、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。阻害受容体FcγRIIBは、細胞質ドメインに免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ITIM）を含有する（Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15: 203~234 (1997)で概説される）。FcR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)で概説される。将来的に同定されるべきものを含む他のFcRは、本明細書では「FcR」という用語に包含される。用語は、母系IgGの胎児への移入に関与する、新生児受容体FcRnも含む（Guyer et al., *J. Immunol.* 117: 587 (1976); 及びKim et al., *J. Immunol.* 24: 249 (1994)）。

【0136】

一部の実施形態では、抗体は、IgG1抗体である。

【0137】

一部の実施形態では、抗体は、IgG3抗体である。

【0138】

一部の実施形態では、抗体は、IgG2抗体である。

【0139】

一部の実施形態では、抗体は、IgG4抗体である。

【0140】

CH2ドメインの修飾は、FcへのFcRの結合に影響を与え得る。異なるFc-ガンマ(Fcγ)受容体に対するFcの親和性を選択的に改変するためのFc領域の多数のアミノ酸修飾は、当該技術分野で既知である。一実施形態では、Fcは、Fc-ガンマ受容体の選択的結合を促進するための1つ以上の修飾を含む。

【0141】

FcRのFcへの結合を変化させる例示的な変異が以下に列举される：

S298A/E333A/K334A、S298A/E333A/K334A/K326A (Lu Y, Vernes JM, Chiang N, et al. J Immunol Methods. 2011 Feb 28;365(1-2):132-41)；

F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L、F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L (Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuailon N, et al. Cancer Res. 2007 Sep 15;67(18):8882-90; Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, et al. Breast Cancer Res. 2011 Nov 30;13(6):R123)；

F243L (Stewart R, Thom G, Levens M, et al. Protein Eng Des Sel. 2011 Sep;24(9):671-8.)，
S298A/E333A/K334A (Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. J Biol Chem. 2001 Mar 2;276(9):6591-604)；

S239D/I332E/A330L、S239D/I332E (Lazar GA, Dang W, Karki S, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 14;103(11):4005-10)；

S239D/S267E、S267E/L328F (Chu SY, Vostiar I, Karki S, et al. Mol Immunol. 2008 Sep;45(15):3926-33)；

S239D/D265S/S298A/I332E、S239E/S298A/K326A/A327H、G237F/S298A/A330L/I332E、S239D/I332E/S298A、S239D/K326E/A330L/I332E/S298A、G236A/S239D/D270L/I332E、S239E/S267E/H268D、L234F/S267E/N325L、G237F/V266L/S267DならびにWO2011/120134及びWO2011/120135（参照により本明細書に組み込まれる）に列举される他の変異。Therapeutic Antibody Engineering (William R. Strohl and Lila M. Strohl, Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11, ISBN 1 907568 37 9, Oct 2012)は、283頁に変異を列举する。

【0142】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、エフェクター機能を媒介する能力を改善する修飾を含む。そのような修飾は、当該技術分野で既知であり、アフコシル化、または活性化受容体に対するFcの親和性の操作、主に、ADCCの場合FCGR3a、及びCDCの場合C1qを含む。以下の表Bは、エフェクター機能操作に関する文献で報告される種々の設計をまとめたものである。

【0143】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333、及び334位のうちの1つ以上での置換、を有するFc領域を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、全体

10

20

30

40

50

が参照により組み込まれる Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006, 103: 4005-4010 で記載されるような 239、332、及び 330 位での 1 つ以上のアミノ酸置換を有する Fc 領域を含む。

【0144】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、C1q 結合及び／または CDC を改善または減少させる 1 つ以上の改変を含む。米国特許第 6,194,551 号、WO 99/51642、及び Idusogie et al., J. Immunol., 2000, 164: 4178-4184（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）を参照のこと。

【0145】

従って、一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、改善されたエフェクター機能を与える、表 B に記載されるような 1 つ以上のアミノ酸修飾を含む二量体 Fc を含み得る。別の実施形態では、抗体は、エフェクター機能を改善するようにアフコシル化することができる。

【0146】

（表 B）CH2 ドメイン及びエフェクター機能操作

参照	変異	効果
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	アフコシル化	ADCC の増加
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	ADCC の増加
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	ADCC の増加
Stavenshagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	ADCC の増加
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	ADCC の増加
Stewart, 2011	F243L	ADCC の増加
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	ADCC の増加
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	ADCC の増加
Lazar, 2006	S239D/I332E	ADCC の増加
Bowles, 2006	AME-D, 特定されていない変異	ADCC の増加
Heider, 2011	37.1, 開示されていない変異	ADCC の増加
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	CDC の増加

【0147】

FcγR 及び／または補体結合及び／またはエフェクター機能を低減させる Fc 修飾は当該技術分野で既知である。近年の刊行物は、エフェクター活性が低減またはサイレンシングされた抗体を操作するために使用されている方策について説明する（Strohl, WR (2009), Curr Opin Biotech 20: 685-691, and Strohl, WR and Strohl LM, “Antibody Fc engineering for optimal antibody performance” In

Therapeutic Antibody Engineering, Cambridge: Woodhead Publishing (2012), pp 225–249を参照のこと)。これらの方策は、グリコシル化の修飾によるエフェクター機能の低減、IgG2/IgG4足場の使用、またはヒンジもしくはFcのCH2領域への変異の導入を含む。例えば、米国特許公開第2011/0212087号(Strohl)、国際特許公開第WO2006/105338号(Xencor)、米国特許公開第2012/0225058号(Xencor)、米国特許公開第2012/0251531号(Genentech)、及びStrop et al. (2012) J. Mol. Biol. 420:204–219は、Fcに結合するFcγRまたは補体を低減させる特定の修飾について説明する。

10

【0148】

Fcに結合するFcγRまたは補体を低減させる既知のアミノ酸修飾の特定の非限定例としては、以下の表Cで同定されるものを含む。

【0149】

(表C) Fcに結合するFcγRまたは補体を低減させる改変

企業	変異
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A
Protein Design labs	IGG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
Alexion	IGG2/IGG4combo
Merck	IGG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Amgen	大腸菌産物、糖ではない
Medimune	L234F/L235E/P331S
Trubion	ヒンジ変異、場合により、C226S/P230S

20

30

【0150】

アミノ酸配列を改変することなく、Fcグリコシル化部位(Asn297EU番号付け)にフコースをほとんどまたは全く有さない抗体を産生する方法は、当該技術分野で周知である。GlymaxX(登録商標)テクノロジー(ProBioGen AG)は、抗体産生に使用される細胞へのフコース生合成の細胞経路を偏向させる酵素の遺伝子の導入に基づく。これは、抗体産生細胞によるN結合型抗体炭水化物部分への糖「フコース」の付加を防止する(von Horsten et al. (2010) Glycobiology. 2010 Dec; 20(12):1607–18)。脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損している、細菌性酸化還元酵素であるGDP-6-デオキシ-D-リキソ-4-ヘキシロースレダクターゼ(RMD)の安定した過剰発現を有するCHO-DG44(Henning von Horsten et al., Glycobiology 2010, 20:1607–1618を参

40

50

照のこと)またはLec13 CHO細胞(Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys., 1986, 249:533-545; 米国特許公開第2003/0157108号; WO2004/056312 (これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)、ならびにアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子などのノックアウト細胞株またはFUT8ノックアウトCHO細胞(Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng., 2004, 87:614-622; Kanda et al., Biotechnol. Bioeng., 2006, 94:680-688; 及びWO 2003/085107 (これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)が挙げられる。フコシル化のレベルが低下した抗体を得るための別のアプローチは、米国特許第8,409,572号に見出すことができ、これは、抗体のフコシル化のレベルの低下を生じる能力について抗体産生のための細胞株を選択することを教示する。

10

【0151】

抗体は、完全にアフコシル化することができ(それらが、検出可能なフコースを含有しないことを意味する)、または、それらは、部分的にアフコシル化することができ、このことは、単離抗体が、哺乳動物発現系により産生された類似の抗体について通常検出されるフコースの量の95%未満、85%未満、75%未満、65%未満、55%未満、45%未満、35%未満、25%未満、15%未満、または5%未満を含有することを意味する。

【0152】

一部の態様では、本明細書で提供される抗体は、天然に存在するIgG1ドメインと比較して、Asn297位でフコース含有量が低減したIgG1ドメインを含む。そのようなFcドメインは、改善されたADCCを有することが既知である。全体が参照により組み込まれるShields et al., J. Biol. Chem., 2002, 277:26733-26740を参照のこと。一部の態様では、そのような抗体は、Asn297位に任意のフコースを含まない。フコースの量は、例えば、全体が参照により組み込まれるWO2008/077546に記載されるような任意の好適な方法を使用して決定されてもよい。

20

【0153】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、GlcNAcでバイセクト型になる、抗体のFc領域に結合している二分岐オリゴ糖などのバイセクト型オリゴ糖を含む。そのような抗体多様体は、フコシル化の低減及び/またはADCC機能の改善を有し得る。そのような抗体多様体の例は、例えば、WO2003/011878; 米国特許第6,602,684号及び米国特許公開第2005/0123546号に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

30

【0154】

本明細書で提供される抗体に組み込まれ得る他の例示のグリコシル化多様体は、例えば、米国特許公開第2003/0157108号、同第2004/0093621号、同第2003/0157108号、同第2003/0115614号、同第2002/0164328号、同第2004/0093621号、同第2004/0132140号、同第2004/0110704号、同第2004/0110282号、同第2004/0109865号; 国際特許公開第2000/61739号、同第2001/29246号、同第2003/085119号、同第2003/084570号、同第2005/035586号、同第2005/035778号、同第2005/053742号、同第2002/031140号、Okazaki et al., J. Mol. Biol., 2004, 336:1239-1249、及びYamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng., 2004, 87:614-622に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

40

【0155】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Fc領域に結合しているオリゴ糖

50

中に少なくとも1つのガラクトース残基を有するFc領域を含む。そのような抗体多様体は、改善されたCDC機能を有し得る。そのような抗体多様体の例は、例えば、WO1997/30087；WO1998/58964；及びWO1999/22764に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0156】

脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損している、細菌性酸化還元酵素であるGDP-6-デオキシ-D-リキソ-4-ヘキシロースレダクターゼ(RMD)の安定した過剰発現を有するCHO-DG44(Henning von Horsten et al., Glycobiol 2010, 20:1607-1618を参照のこと)またはLec13 CHO細胞(Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys., 1986, 249:533-545；米国特許公開第2003/0157108号；WO2004/056312(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)、ならびにアルファ-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子などのノックアウト細胞株またはFUT8ノックアウトCHO細胞(Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng., 2004, 87:614-622；Kanda et al., Biotechnol. Bioeng., 2006, 94:680-688；及びWO2003/085107(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)が挙げられる。

【0157】

一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞貪食(ADCP)活性を有する。ADCPは、病原性または腫瘍形成性の標的細胞の表面の抗原に抗体が結合する時生じ得る。単球及びマクロファージを含む、細胞表面にFc受容体を保有する食細胞は、標的細胞に結合している抗体のFc領域を認識して結合する。Fc受容体が抗体結合標的細胞に結合すると、標的細胞の貪食を開始することができる。ADCPは、ADCCの一形態と考えることができる。

【0158】

一部の実施形態では、抗体は、免疫複合体を形成することが可能である。例えば、免疫複合体は、抗体で覆われた腫瘍細胞であり得る。

【0159】

一部の態様では、抗TREM2抗体は、がん組織の外側に存在する骨髓細胞に実質的に結合しない。一部の態様では、抗TREM2抗体は、がん組織に存在する刺激性骨髓細胞に実質的に結合しない。

【0160】

一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0161】

一部の実施形態では、抗体は、ポリクローナル抗体である。

【0162】

一部の実施形態では、抗体は、ハイブリドーマにより産生される。他の実施形態では、抗体は、所望の変換ドメイン及び定常ドメインを発現するように操作された組み換え細胞により産生される。

【0163】

一部の実施形態では、抗体は、抗原特異性及びより低いヒンジ領域またはその多様体を保持する一本鎖抗体または他の抗体誘導体であり得る。

【0164】

一部の実施形態では、抗体は、多機能抗体、組み換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、フラグメント、またはその多様体であってよい。特定の実施形態では、抗体フラグメントまたはその誘導体は、Fabフラグメント、Fab'2フラグメント、CDR、及びScFvから選択される。

【0165】

一部の実施形態では、抗体は、TREM2タンパク質などの表面抗原に特異的である。一部の実施形態では、治療用抗体は、腫瘍抗原（例えば、腫瘍細胞により特異的に発現される分子）に特異的である。特定の実施形態では、治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長動物IgG1またはIgG3Fc部分を有してもよい。

【0166】

結合

標的分子への抗体の結合に関して、特定の抗原（例えば、ポリペプチド標的）または特定の抗原上のエピトープ「と結合する」、「と特異的結合すること」、「に特異的に結合する」、「に特異的である」、「と選択的に結合する」、及び「に選択的である」という用語は、（例えば、非標的分子との）非特異的または非選択的相互作用とはある程度異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、標的分子への結合を測定し、それを非標的分子への結合と比較することにより測定することができる。特異的結合は、標的分子上で認識されるエピトープを模倣する対象分子との競合により決定することもできる。その場合、標的分子への抗体の結合が対象分子により競合的に阻害される場合、特異的結合が示される。

【0167】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位及びその結合パートナー（例えば、抗原またはエピトープ）間の非共有相互作用の合計の強さを指す。別途明記のない限り、本明細書で使用される場合、「親和性」は、結合ペアのメンバー（例えば、抗体及び抗原またはエピトープ）間の1:1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。パートナーYに対する分子Xの親和性は、解離平衡定数(K_D)で表すことができる。解離平衡定数に寄与する速度論的成分は、以下でより詳細に説明される。親和性は、表面プラズモン共鳴(SPR)技術（例えば、BIACORE（登録商標））またはバイオレイヤー干渉法（例えば、FORTEBIO（登録商標））などの、本明細書に記載のものを含む、当該技術分野で既知の一般的な方法により測定することができる。

【0168】

本明細書で使用される「 k_d 」(sec^{-1})という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度定数を指す。この値は、 k_{off} 値とも呼ばれる。

【0169】

本明細書で使用される「 k_a 」($\text{M}^{-1} \times \text{sec}^{-1}$)という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度定数を指す。この値は、 k_{on} 値とも呼ばれる。

【0170】

本明細書で使用される「 K_D 」(M)という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離平衡定数を指す。 $K_D = k_d / k_a$ 。一部の実施形態では、抗体の親和性は、そのような抗体及びその抗原間の相互作用についての K_D に関して説明される。明確にするために、当該技術分野で知られる通り、より小さい K_D 値は、高い親和性相互作用を示すが、大きい K_D 値は、低い親和性相互作用を示す。

【0171】

本明細書で使用される「 K_A 」(M^{-1})という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の会合平衡定数を指す。 $K_A = k_a / k_d$ 。

【0172】

本明細書で2つ以上の抗体との関連で使用される場合、「と競合する」または「と交差競合する」という用語は、2つ以上の抗体が抗原（例えば、TREM2）への結合について競合することを示す。1つの例示的なアッセイでは、TREM2は、表面上にコーティングされ、第1のTREM2抗体と接触し、その後、第2のTREM2抗体が加えられる。別の例示的なアッセイでは、第1のTREM2抗体が表面にコーティングされ、TREM2と接触させ、次に、第2のTREM2抗体が加えられる。いずれのアッセイでも、第1のTREM2抗体の存在が第2のTREM2抗体の結合を低減させる場合、抗体は、互いに競合する。「と競合する」という用語は、1つの抗体が別の抗体の結合を低減させるが、抗体が逆の順序で加える時、競合が観察されない抗体の組み合わせも含む。しかし、

一部の実施形態では、第1及び第2の抗体は、それらが加えられる順序に関係なく、互いの結合を阻害する。一部の実施形態では、1つの抗体は、別の抗体のその抗原への結合を少なくとも25%、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85%、少なくとも90%、または少なくとも95%低減させる。当業者は、TREM2に対する抗体の親和性及び抗体の価数に基づいて、競合アッセイで使用される抗体の濃度を選択することができる。この定義に記載されるアッセイは、例示であり、当業者は、抗体が互いに競合するかどうかを決定するために任意の好適なアッセイを利用することができる。好適なアッセイは、例えば、Cox et al., "Immunoassay Methods," in Assay Guidance Manual [Internet], Updated December 24, 2014 (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; accessed September 29, 2015); Silman et al., Cytometry, 2001, 44:30-37; 及び Finco et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0173】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、約0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、1.95、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10×10^{-9} M以下の K_D でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体の K_D は、Biacoreアッセイで測定された、約0.001~0.01、0.01~0.1、0.01~0.05、0.05~0.1、0.1~0.5、0.5~1、0.25~0.75、0.25~0.5、0.5~0.75、0.75~1、0.75~2、1.1~1.2、1.2~1.3、1.3~1.4、1.4~1.5、1.5~1.6、1.6~1.7、1.7~1.8、1.8~1.9、1.9~2、1~2、1~5、2~7、3~8、3~5、4~6、5~7、6~8、7~9、7~10、または $5 \sim 10 \times 10^{-9}$ Mである。

【0174】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、約2、1.98、1.95、1.9、1.85、1.8、1.75、1.7、1.65、1.6、1.55、1.50、1.45、または 1.4×10^{-9} M以下の K_D でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、Biacoreアッセイで測定された、1.9~1.8、1.8~1.7、1.7~1.6、1.6~1.5、または $1.9 \sim 1.5 \times 10^{-9}$ Mの K_D でヒトTREM2に結合する抗体が本明細書で提供される。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、約10、9.56、9.5、9.0、8.88、8.84、8.5、8、7.5、7.32、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2、1.5、もしくは 1×10^{-4} (1/s) 以下の K_d でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、7~10、7~8、8~9、9~10、7~7.5、7.5~8、8~8.5、8.5~9、9~9.5、または $9.5 \sim 10 \times 10^{-4}$ (1/s) の K_d でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、約4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、45、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6、7、8、9、もしくは 10×10^5 (1/Ms) 以上の K_a でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Biacoreアッセイで測定された、4~7、4~4.5、4.5~5、5~5.5、5.5~6、6~6.5、もしくは6.5~7、7~8、8~9、または $9 \sim 10 \times 10^5$ (1/Ms) の K_a でヒトTREM2

に結合する。

【0175】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、フローサイトメトリーで測定された、2、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、または0.1 nM以下のEC50でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、抗体は、フローサイトメトリーで測定された、0.6～1.4 nMのEC50でヒトTREM2に結合する。一部の実施形態では、抗体は、フローサイトメトリーで測定された、約0.5、0.6、0.9、1.1、1.2、1.3、1.4、または1.5 nMのEC50でヒトTREM2に結合する。

10

【0176】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、フローサイトメトリーで測定された、2、1.9、1.8、1.7、1.6、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2、または0.1 nM以下のEC50でマウスTREM2に結合する。一部の実施形態では、抗体は、フローサイトメトリーで測定された、0.6～1.4 nMのEC50でマウスTREM2に結合する。一部の実施形態では、抗体は、フローサイトメトリーで測定された、約0.5、0.6、0.9、1.1、1.2、1.3、1.4、または1.5 nMのEC50でマウスTREM2に結合する。

【0177】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、フローサイトメトリーで測定された、20 nM以上のEC50でヒトTREM2に結合しない。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、フローサイトメトリーで測定された、3 nM以上のEC50でマウスTREM2に結合しない。

20

【0178】

目的の抗体（例えば、TREM2）が結合している標的抗原上のエピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)に記載されるような所定の交差遮断アッセイを実施することができる。代替的または追加的に、エピトープマッピングは、当該分野で既知の方法により実施することができる。

30

【0179】

抗体間の競合は、試験中の抗体が共通の抗原に対する参照抗体の特異的結合を阻害または遮断するアッセイで決定することができる（例えば、Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990; Fendly et al. Cancer Research 50:1550-1558; US 6,949,245を参照のこと）。過剰な試験抗体（例えば、少なくとも2x、5x、10x、20x、または100x）が参照抗体の結合を、競合結合アッセイで測定されるように、例えば、少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%阻害または遮断する場合、試験抗体は、参照抗体と競合する。競合アッセイ（競合抗体）により同定される抗体は、参照抗体と同じエピトープに結合する抗体、及び立体障害が発生するために参照抗体が結合しているエピトープに十分に近い隣接エピトープに結合する抗体を含む。例えば、TREM2への結合について本明細書に記載の第1の抗体と競合する第2の競合抗体は、同定することができる。特定の場合では、第2の抗体は、第1の抗体の結合を、競合結合アッセイで測定されるように、例えば、少なくとも50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%遮断または阻害し得る。特定の場合では、第2の抗体は、第1の抗体を50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%超、置換することができる。

40

【0180】

機能

50

一部の実施形態では、抗体は、抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を有する。ADCCは、抗体が病原性または腫瘍形成性の標的細胞の表面の抗原に結合する時に生じ得る。細胞傷害性T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、樹状細胞、または単球を含む、細胞表面上にFcγRまたはFCGR）を有するエフェクター細胞は、標的細胞に結合している抗体のFc領域を認識して結合する。そのような結合は、細胞死につながる細胞内シグナル伝達経路の活性化を引き起こし得る。特定の実施形態では、抗体の免疫グロブリンFc領域サブタイプ（アイソタイプ）は、ヒトIgG1及びIgG3を含む。本明細書で使用される場合、ADCCは、Fc受容体（FcR）を発現する非特異的細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、及びマクロファージ）が標的細胞の結合している抗体を認識し、続いて、標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介性反応を指す。ADCCを媒介する初代細胞であるNK細胞は、FcγRIIIのみを発現するが、単球は、FcγRI、FcγRII及びFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現は、Ravetch and Kinetic, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991) の464頁の表3にまとめられる。目的の分子のADCC活性を評価するために、米国特許第5,500,362号または同第5,821,337号に記載されるようなインビトロADCCアッセイが実施されてもよい。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞は、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞を含む。代替的または追加的に、目的の分子のADCC活性は、例えば、Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95: 652-656 (1998) に開示されるような動物モデルにおいて、インビボで評価されてもよい。

10

20

【0181】

一部の実施形態では、抗体は、補体依存性細胞傷害（CDC）活性を有する。抗体誘導性CDCは、典型的な補体カスケードのタンパク質により媒介され、抗体への補体タンパク質C1qの結合により引き起こされる。C1qに結合する抗体Fc領域は、補体カスケードの活性化を誘導し得る。特定の実施形態では、抗体の免疫グロブリンFc領域サブタイプ（アイソタイプ）は、ヒトIgG1及びIgG3を含む。本明細書で使用される場合、CDCは、補体の存在下で、分子が標的を溶解させる能力を指す。補体活性化経路は、同種抗原と複合化された分子（例えば、ポリペプチド（例えば、抗体））への補体系（C1q）の最初の成分の結合により開始される。補体活性化を評価するために、例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996) に記載されるような、CDCアッセイが実施されてもよい。

30

【0182】

一部の実施形態では、抗体は、アゴニスト抗体である。アゴニスト抗体は、抗体が細胞上に発現されたTREM2タンパク質と結合した後、NSMの1つ以上の活性または機能を誘導し（例えば、増加させ）得る。アゴニスト抗体は、NSMに結合して活性化して、細胞の増殖に変化を引き起こすか、または抗原提示能を修飾し得る。アゴニスト抗体は、NSMに結合して活性化し、細胞成長またはアポトーシスの修飾につながる細胞内シグナル伝達経路を誘発し得る。

【0183】

一部の実施形態では、抗体は、アンタゴニスト抗体である。アンタゴニスト抗体は、抗体が細胞上で発現されたTREM2タンパク質に結合した後、NSMの1つ以上の活性または機能を遮断（例えば、減少）させ得る。例えば、アンタゴニスト抗体は、1つ以上のNSMのタンパク質に結合するリガンドに結合して遮断し、細胞の分化及び増殖を防止するか、または抗原提示能を修飾し得る。アンタゴニスト抗体は、リガンドによるTREM2タンパク質に結合して活性化を防止し、結合及び活性化を妨げ、細胞成長及び生存に寄与する細胞内シグナル伝達経路を修飾し得る。

40

【0184】

一部の実施形態では、抗体は、枯渇抗体である。枯渇抗体は、分子の他の免疫細胞との抗体の相互作用を介した接触時に、非刺激性骨髓細胞を殺傷するものである。例えば、抗

50

体は、T R E M 2 タンパク質を担持する細胞に結合する時、補体タンパク質を捉え、補体依存性細胞溶解を誘導することができる。抗体は、T R E M 2 タンパク質を持つ細胞に結合する時、抗体依存性細胞傷害（A D C C）によりそれらを殺傷するために、F c 受容体を持つ近隣の細胞も誘発し得る。

【0185】

一部の実施形態では、抗体は、中和抗体であり、抗体は、N S M の1つ以上の生物学的活性を中和する。一部の実施形態では、T R E M 2 タンパク質は、非刺激性骨髄細胞の表面に発現され、抗体は、T R E M 2 タンパク質の細胞外ドメインを認識する。

【0186】

一部の実施形態では、抗体は、N S M に選択的である（T R E M 2 に優先的に結合する）。特定の実施形態では、N S M に選択的に結合する抗体は、0.0001 nM ~ 1 μM の範囲の解離定数（K d）を有する。特定の実施形態では、抗体は、異なる種由来のタンパク質間で保存されるT R E M 2 タンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、選択的結合は、排他的結合を含むが、これを必要としない。

【0187】

一実施形態では、標的に結合している抗T R E M 2 抗体は、それが結合している非刺激性骨髄細胞のインビボでの枯渇を引き起こす原因となる。一部の実施形態では、クラスター化抗体により誘導されるエフェクタータンパク質は、炎症性サイトカインの放出、抗原産生の制御、エンドサイトーシス、または細胞殺傷を含む、様々な応答を誘発し得る。一実施形態では、抗体は、補体を動員及び活性化するか、または抗体依存性細胞傷害（A D C C）をインビボで媒介するか、またはF c 受容体をインビボで結合することにより貪食を媒介することが可能である。抗体はまた、結合時に非刺激性骨髄細胞のアポトーシスまたは壊死を誘導することにより、非刺激性骨髄細胞を枯渇させ得る。

【0188】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、インビトロであり、a) 非刺激性骨髄細胞を殺傷すること、b) 非刺激性骨髄細胞の磁気ビーズ枯渇；またはc) 非刺激性骨髄細胞の蛍光活性化細胞選別（F A C S）選別により達成される。

【0189】

一部の実施形態では、抗体は、エフェクター分子に結合しているか、またはコンジュゲートされる。特定の実施形態では、抗体は、放射性核種、細胞毒素、化学療法剤、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素、免疫調節剤、抗血管新生剤、プロアポトーシス剤、サイトカイン、ホルモン、オリゴヌクレオチド、アンチセンス分子、s i R N A、第2の抗体、及び第2の抗体フラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの治療薬にコンジュゲートされる。

【0190】

特定の実施形態では、抗体は、薬物、例えば、毒素、化学療法剤、免疫モジュレーター、または放射性同位元素にコンジュゲートされる。調製A D C（抗体薬物コンジュゲート）のいくつかの方法は、当該技術分野で既知であり、例えば、米国特許第8,624,003号（p o t 法）、同第8,163,888号（1段階）、及び5,208,020（2段階法）に記載される。抗体またはその抗原結合フラグメントは、抗原結合性である放射性核種、細胞毒素、化学療法剤、薬物、プロドラッグ、毒素、酵素、免疫調節剤、抗血管新生剤、プロアポトーシス剤、サイトカイン、ホルモン、オリゴヌクレオチド、アンチセンス分子、s i R N A、第2の抗体、及び第2の抗体フラグメントを含む少なくとも1つの薬剤にコンジュゲートすることができる。

【0191】

非刺激性骨髄細胞（N S M）

抗T R E M 2 抗体の使用を含む、非刺激性骨髄細胞（N S M）を無効化及び／または検出するための方法及び組成物が本明細書に記載される。N S M タンパク質を発現する非刺激性骨髄細胞を標的及び／または検出するための方法及び組成物もまた本明細書で提供される。

【0192】

その非ヒト個体においてヒトNSMタンパク質の非ヒトホモログに向けられた抗体の使用を含む、非刺激性骨髄細胞を無効化及び／または検出するための方法及び組成物もまた本明細書で提供される。

【0193】

本明細書で使用される場合、非刺激性骨髄細胞は、免疫応答を刺激するのに十分に効果的ではない（例えば、刺激性骨髄細胞と比較して腫瘍微小環境における抗腫瘍応答を刺激するのに効果的ではない）骨髄細胞である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞と比較して、抗原（例えば、腫瘍抗原）のT細胞への提示に効果的ではないか、または腫瘍特異的T細胞応答の刺激に効果的ではない。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞と比較して、腫瘍関連抗原のT細胞への取り込み、処理、及び／または提示能力の減少を示し得る。非刺激性骨髄細胞は、細胞傷害性Tリンパ球を再プライミングする能力の低下を含むか、もしくは能力を全く含まないことがあるか、または一部の場合では、効果的な腫瘍細胞の殺傷を刺激する可能性がない。非刺激性骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞と比較して、限定されないが、CD80、CD86、MHC I、及びMHC IIを含む、抗原処理、抗原提示、及び／または抗原共刺激に関与する遺伝子及び細胞表面マーカーの発現の低下を示し得る。

【0194】

非刺激性骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞と比較した時、限定されないが、TAP1、TAP2、PSMB8、PSMB9、TAPBP、PSME2、CD24a、CD274、BTLA、CD40、CD244、ICOSL、ICAM1、TIM3、PDL2、RANK、FLT3、CSF2RB、CSF2RB2、CSF2RA、IL12b、XCR1、CCR7、CCR2、CCL22、CXCL9、及びCCL5のうちのいずれか1つ以上を含む、交差提示、共刺激、及び／または刺激性サイトカインに関連する遺伝子の発現の低下、ならびに抗炎症性サイトカインIL-10の発現の増加を示し得る。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、分化及び生存のための転写因子IRF4及びサイトカインGM-CSFまたはCSF-1によって決まる。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、血管内皮成長因子（VEGF）及び一酸化窒素合成酵素（NOS）を分泌することにより腫瘍血管新生に寄与して、上皮成長因子（EGF）を分泌することにより腫瘍成長を支持し得る。

【0195】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍関連マクロファージ（TAM）、好中球、単球、または樹状細胞（DC）である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、樹状細胞（DC）ではない。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、好中球である。

【0196】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍関連マクロファージ（TAM）である。TAMは、がん性腫瘍の近くまたは内部に存在するマクロファージであり、循環単球または常在組織マクロファージに由来する。

【0197】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞及び刺激性骨髄細胞は、それらが発現するマーカーまたはそれらが選択的に発現するマーカーに基づいて区別される。細胞表面マーカーの発現は、『+』または『陽性』と記載することができる。細胞表面マーカーの不存在は、『-』または『陰性』と記載することができる。細胞表面マーカーの発現はさらに、『high』（高レベルのマーカーを発現する細胞）または『low』（低レベルのマーカーを発現する細胞）として記載することができ、これは、細胞表面上の各マーカーの相対的発現を示す。マーカーのレベルは、当該技術分野で既知の種々の方法、例えば、免疫染色及びFACS分析、またはゲル電気泳動及びウェスタンブロッティングにより決定されてもよい。

【0198】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、樹状細胞（DC）である。一部の実施形態

では、樹状細胞は、突起または樹状突起のモルホロジーにより区別することができる。一実施形態では、非刺激性樹状細胞は、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、及びBDCA1⁺（DC1細胞とも呼ばれる）である。一実施形態では、非刺激性樹状細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、及びBDCA3⁺（DC2細胞とも呼ばれる）ではない。一実施形態では、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、及びBDCA3⁺である樹状細胞は、刺激性骨髄細胞である。

【0199】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍関連マクロファージである。一部の実施形態では、例えば、ヒトでは、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、CD11b⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、CD11c⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、BDCA3⁻である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、BDCA3⁻、CD11b⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、BDCA3⁻、CD11c⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、CD11b⁺、及びCD11c⁺である。一部の実施形態では、非刺激性腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、BDCA3⁻、CD11b⁺、及びCD11c⁺である。

【0200】

一部の実施形態では、本発明の方法及び組成物は、他の哺乳動物、例えば、マウスに、おけるTAM及びDCを標的化するのに有用である。そのような実施形態では、マウスTAM及びDCを、TREM2抗体と接触させる。一実施形態では、例えば、マウスにおいて、腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、CD11b^{high}、及びCD11c^{low}（TAM1とも呼ばれる）である。一実施形態では、例えば、マウスにおいて、腫瘍関連マクロファージは、少なくともCD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁺、CD11b^{low}、及びCD11c^{high}（TAM2とも呼ばれる）である。本明細書で使用される「CD11b^{high}マクロファージ」という用語は、高レベルのCD11bを発現するマクロファージに関する。本明細書で使用される「CD11b^{low}マクロファージ」という用語は、CD11b^{high}マクロファージのレベルよりも実質的に低いレベルのCD11bを表面上に発現するマクロファージに関する。本明細書で使用される「CD11c^{high}」という用語は、高レベルのCD11cを発現するマクロファージに関する。本明細書で使用される「CD11c^{low}マクロファージ」という用語は、CD11c^{high}マクロファージのレベルよりも実質的に低いレベルのCD11cを表面上に発現するマクロファージに関する。

【0201】

一部の実施形態では、本発明の非刺激性骨髄細胞は、TAM及びDC1細胞のうちの1つ以上を含む。

【0202】

一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、本発明の非刺激性骨髄細胞は、TAM1、TAM2、及びDC1細胞のうちの1つ以上を含む。そのような実施形態では、本発明の非刺激性骨髄細胞を、TREM2抗体と接触させる。

【0203】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍細胞である骨髄細胞である。

【0204】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍病変の周縁内または形質転換された腫

10

20

30

40

50

瘍管内に局在し、それらは、同種のT細胞と接触する。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞の局在化が修飾され、その結果、細胞は、もはや腫瘍の縁には局在化しないか、またはもはやT細胞と接触していない。

【0205】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、刺激性骨髄細胞及び非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団にある。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞のみを含む免疫細胞の集団にある。本発明の免疫細胞の集団は、純粋であり、均一であり、不均一であり、様々な供給源に由来し（例えば、病変組織、腫瘍組織、健康な組織、細胞バンク）、初代細胞培養物中で維持され、及び／または *ex vivo* 培養で維持されてもよい。

【0206】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、腫瘍関連マクロファージである。

【0207】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、樹状細胞である。

【0208】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ である。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ である細胞を含む。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ である細胞からなる。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0209】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ である。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ である細胞を含む。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ である細胞からなる。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0210】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞を含む。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞からなる。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0211】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11c^{+}$ である。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11c^{+}$ である細胞を含む。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11c^{+}$ である細胞からなる。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11c^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0212】

一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞を含む。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞からなる。一実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$

10

20

30

40

50

である細胞から本質的になる。

【0213】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞を含む。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞からなる。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0214】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞を含む。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞からなる。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0215】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞を含む。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞からなる。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $B220^{+}$ 、 $CD11b^{+}$ 、及び $CD11c^{+}$ である細胞から本質的になる。

【0216】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ ではない。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{-}$ 、 $CD11c^{+}$ 、及び $B220^{+}$ でない細胞を含む。

【0217】

一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{high}$ 、及び $CD11c^{low}$ である。一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{high}$ 、及び $CD11c^{low}$ である細胞を含む。一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{high}$ 、及び $CD11c^{low}$ である細胞からなる。一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{high}$ 、及び $CD11c^{low}$ である細胞から本質的になる。そのような実施形態では、非刺激性マウス骨髄細胞を、TREM2抗体と接触させる。

【0218】

一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{low}$ 、及び $CD11c^{high}$ である。一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{low}$ 、及び $CD11c^{high}$ である細胞を含む。一部の実施形態では、例えば、マウスにおいて、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{low}$ 、及び $CD11c^{high}$ である細胞からなる。一部の実施形態では、例えば、マウスでは、非刺激性骨髄細胞は、 $CD45^{+}$ 、 $HLA-DR^{+}$ 、 $CD14^{+}$ 、 $CD11b^{low}$ 、及び $CD11c^{high}$ である細胞から本質的になる。そ

10

20

30

40

50

のような実施形態では、非刺激性マウス骨髄細胞を、TREM2抗体と接触させる。

【0219】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、がん組織にある。

【0220】

一部の実施形態では、免疫細胞の集団は、がん組織にある。

【0221】

一部の実施形態では、非刺激性細胞及び刺激性骨髄細胞は、がん組織にある。

【0222】

一部の実施形態では、生体試料は、非刺激性骨髄細胞及び刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団を含む。

【0223】

NSM細胞は、腫瘍組織に存在し且つNSM細胞マーカーの発現により他の細胞型と区別され得るDC1、TAM1、及びTAM2細胞を総称的に指し得る。例えば、SDCよりもNSM細胞において豊富に発現または翻訳される遺伝子及び関連タンパク質は、NSMマーカーとして作用し得る。例示的なNSMマーカーは、CD11bである。追加の例示的なNSMマーカーを、表Aに示す。NSM細胞は、TREM2、MS4A7、C5AR1、LYVE1、ABCC3、LILRB4、MRC1／CD206、SIGLEC1、STAB1、TMEM37、MERTK、及びTMEM119を細胞表面上に発現し得る。一部の態様では、NSM細胞は、KIT、CCR7、BATF3、FLT3、ZBTB46、IRF8、BTLA、MYCL1、CLEC9A、BDCA3、及びXCR1のうちの少なくとも1つを発現しない。

【0224】

一実施形態では、NSM細胞は、表Aに列挙されるNSMマーカー遺伝子のうちの1つ以上を発現する。別の実施形態では、NSM細胞は、表Dに列挙されたNSMマーカーのうちの2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、またはそれ以上を発現する。別の実施形態では、NSM細胞は、表Dに列挙されたNSMマーカーのうちのほとんどまたは全てを発現する。別の実施形態では、NSM細胞は、MRC1、MS4A7、C1QC、APOE、C1QB、C1QA、及びC5AR1を発現するものとして同定される。

【0225】

(表D)

SDC マーカ	NSM マーカ
KIT	C5AR1
CCR7	LYVE1
BATF3	ABCC3
FLT3	MRC1
ZBTB46	SIGLEC1
IRF8	STAB1
BTLA	C1QB
MYCL1	C1QA
CLEC9A	TMEM37
BDCA3	MERTK
XCR1	C1QC
	TMEM119
	MS4A7
	APOE
	CYP4F18
	TREM2
	TLR7
	LILRB4

【0226】

刺激性骨髄細胞

本明細書で使用される場合、刺激性骨髄細胞（特定の態様ではSDCとも呼ばれる）は、免疫応答を刺激するのに有効な骨髄細胞である（例えば、非刺激性骨髄細胞と比較して、腫瘍微小環境で抗腫瘍応答を刺激するのにより効果的である）。一部の実施形態では、刺激性骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞と比較して、抗原（例えば、腫瘍抗原）をT細胞に提示するのに有効であるか、または腫瘍特異的T細胞応答を刺激するのに有効である。一部の実施形態では、刺激性骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞と比較して、腫瘍関連抗原のT細胞への取り込み、処理、及び／または提示能力の増加を示し得る。刺激性骨髄細胞は、細胞障害性Tリンパ球を再プライミングするか、または、一部の 경우에는、非刺激性骨髄細胞と比較して効果的な腫瘍細胞殺傷を刺激する能力の増加を有し得る。刺激性骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞と比較して、限定されないが、CD80、CD86、MHC I、及びMHC IIを含む、抗原処理、抗原提示、及び／または抗原共刺激に関与する遺伝子及び細胞表面マーカーのより高い発現を示し得る。

10

【0227】

例示的な刺激性骨髄細胞マーカーを、表Aに列挙する。例えば、ヒトSDCでは、Xcr1、Clec9a、及びBDCA3（CD141）の発現が、SDC同定のマーカーである。マウスでは、CD103は、SDC同一性の強力なマーカーとして使用することもできるが、ヒトSDCでは発現されないことに留意されるであろう。

【0228】

一実施形態では、SDCは、樹状細胞同一性を有し且つ表Aに列挙されるSDCマーカーのうちの1つ以上も発現する腫瘍浸潤性骨髄細胞である。別の実施形態では、SDCは、樹状細胞の同一性を有し且つ表Aに列挙されるSDCマーカーの2、3、4、5、6、7、8、9、または全てをも発現する腫瘍浸潤性骨髄細胞である。別の実施形態では、SDCは、BDCA3、KIT、CCR7、BATF3、FLT3、ZBTB46、IRF8、BTLA、MYCL1、XCR1、及びCLEC9Aを発現する腫瘍浸潤性骨髄樹状細胞として同定される。SDCの細胞は、KIT、CCR7、BATF3、FLT3、ZBTB46、IRF8、BTLA、MYCL1、CLEC9A、BDCA3、及びXCR1のうちの少なくとも1つを発現し得る。一部の実施形態では、SDCは、TREM2、MS4A7、C5AR1、LYVE1、ABCC3、LILRB4、MRC1／CD206、SIGLEC1、STAB1、TMEM37、MERTK、及び／またはTMEM119を細胞表面上に実質的に発現しない。一部の実施形態では、SDCは、C5AR1、LYVE1、ABCC3、MRC1、SIGLEC1、STAB1、C1QB、C1QA、TMEM37、MERTK、C1QC、TMEM119、MS4A7、APOE、CYP4F18、TREM2、TLR7、及び／またはLILRB4を実質的に発現しない。フローサイトメトリー及びPCRは、他の技術的に認められているアッセイの中で、本明細書に開示のマーカーの発現を評価するために使用することができる。

20

30

【0229】

刺激骨髄細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、CD11c⁺、及びBDCA3⁺であり得る。刺激骨髄細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、及びBDCA3⁺であり得る。刺激骨髄細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD14⁻、及びBDCA3⁺であり得る。刺激骨髄細胞は、CD45⁺、HLA-DR⁺、CD11c⁺、及びBDCA3⁺であり得る。

40

【0230】

タンパク質、ヌクレオチド、及びホモログ

NSMタンパク質を発現する非刺激性ヒト骨髄細胞を無効化及び／または検出するための方法及び組成物が、本明細書で提供される。一部の実施形態では、本発明は、NSMタンパク質ホモログを発現する非ヒト哺乳動物細胞からの非刺激性骨髄細胞を無効化及び／または検出することに関する。例えば、マウスのNSMタンパク質は、ヒトホモログと同等の制限された発現パターンを発現し得る。従って、一実施形態では、NSMタンパク質を発現する非刺激性マウス骨髄細胞を無効化及び／または検出するための方法及び組成物が本明細書で提供される。類似の発現パターンを有する、NSMタンパク質のホモログを

50

発現する任意の個体由来の非刺激性細胞を無効化及び／または検出するための類似の方法及び組成物も本明細書に提供され、その細胞は、NSMタンパク質と同等の発現パターンを示す。

【0231】

NSMタンパク質またはヌクレオチドは、C5AR1、LYVE1、ABCC3、MRC1、SIGLEC1、STAB1、C1QB、C1QA、TMEM37、MERTK、C1QC、TMEM119、MS4A7、APOE、CYP4F18、TREM2、TLR7、及びLILRB4、ならびにそのホモログのうちの少なくとも1つ以上を含み得る。SDCタンパク質またはヌクレオチドは、KIT、CCR7、BATF3、FLT3、ZBTB46、IRF8、BTLA、MYCL1、CLEC9A、BDCA3、及びXCR1、及びそれらのホモログのうちの少なくとも1つ以上を含み得る。細胞表面NSMタンパク質は、TREM2、MS4A7、C5AR1、LYVE1、ABCC3、LILRB4、MRC1／CD206、SIGLEC1、STAB1、TMEM37、MERTK、及びTMEM119のうちの少なくとも1つ以上を含み得る。細胞表面のNSMタンパク質は、1つ以上の抗TREM2抗体を単独または組み合わせて標的とすることができる。一般に、NSMは、NSMタンパク質またはヌクレオチドについて陽性であり、SDCタンパク質またはヌクレオチドについて陰性であり、逆に、SDCは一般に、SDCタンパク質またはヌクレオチドについて陽性であり、NSMタンパク質またはヌクレオチドについて陰性である。

10

【0232】

本明細書に記載の抗体は、少なくとも1つのポリペプチドを含むが、それらは通常、HC／LCの二量体、すなわち4つのポリペプチド、を含む。本明細書に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた記載される。抗体は通常、単離される。

20

【0233】

本明細書中で使用される場合、「単離された」は、天然の細胞培養環境の構成成分から同定及び分離及び／または回収されている薬剤（例えば、ポリペプチドまたはポリヌクレオチド）を意味する。自然環境の汚染構成成分は、抗体の診断的使用または治療的使用を妨げ、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溶質を含み得る物質である。単離されたは、例えば、ヒトの介入により、合成的に生成されている薬剤も指す。

【0234】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書で互換的に使用される。つまり、ポリペプチドに関する説明は、ペプチドの記載及びタンパク質の記載に等しく適用され、逆もまた同様である。用語は、天然に存在するアミノ酸ポリマー及び1つ以上のアミノ酸残基が非天然にコードされたアミノ酸であるアミノ酸ポリマーに適用される。本明細書で使用される場合、用語は、アミノ酸残基が共有ペプチド結合により連結されている、全長タンパク質を含む、任意の長さのアミノ酸鎖を包含する。

30

【0235】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸及び天然に存在しないアミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様に機能するアミノ酸アナログ及びアミノ酸模倣体を指す。天然にコードされているアミノ酸は、20の一般的なアミノ酸（アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プラリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、及びバリン）ならびにピロリシン及びセレノシステインである。アミノ酸アナログは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を有する化合物、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム、に結合している炭素、を指す。そのようなアナログは、修飾R基（例えば、ノルロイシン）または修飾ペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持する。アミノ酸への言及は、例えば、天然に存在するタンパク質新生

40

50

L-アミノ酸；D-アミノ酸、アミノ酸多様体及び誘導体などの化学修飾アミノ酸； β -アラニン、オルニチンなどの天然に存在する非タンパク新生アミノ酸；ならびにアミノ酸に特徴的である当技術分野で既知の特性を有する化学合成された化合物を含む。天然に存在しないアミノ酸の例としては、 α -メチルアミノ酸（例えば、 α -メチルアラニン）、D-アミノ酸、ヒスチジン様アミノ酸（例えば、2-アミノ-ヒスチジン、 β -ヒドロキシ-ヒスチジン、ホモヒスチジン）、側鎖に追加のメチレンを有するアミノ酸（「ホモ」アミノ酸）、及び側鎖のカルボン酸官能基がスルホン酸基で置換されたアミノ酸（例えば、システイン酸）が挙げられるが、これらに限定されない。合成非天然アミノ酸、置換アミノ酸、または1つ以上のD-アミノ酸を含む非天然アミノ酸の、本発明のタンパク質への組み込みは、異なる多数の方法で有利であり得る。D-アミノ酸含有ペプチドなどは、L-アミノ酸含有対応物と比較して、インビトロまたはインビボでの安定性の増加を示す。従って、より高い細胞内安定性が要求または必要される時、D-アミノ酸を組み込んだペプチドの構築物などは、特に有用であり得る。より具体的には、D-ペプチドなどは、内因性のペプチダーゼ及びプロテアーゼに対して耐性を示し、それにより、分子の生物学的利用能の改善及びそのような特性が要求される時のインビボでの寿命の延長が提供される。さらに、D-ペプチドなどは、ヘルパーT細胞への主要組織適合遺伝子複合体クラスII制限提示のために効率的に処理することができず、それ故、生物全体における体液性免疫応答を誘導する可能性が低い。

10

【0236】

アミノ酸は、本明細書では、一般に公知の3文字記号またはIUPAC-IUB生化学命名委員会が推奨する1文字記号のいずれかで呼ばれてもよい。同様に、ヌクレオチドは、一般に是認されている1文字コードで呼ばれてもよい。

20

【0237】

本発明では、抗体のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも含まれる。「ポリヌクレオチド」または「ヌクレオチド配列」という用語は、2つ以上のヌクレオチド分子の連続ストレッチを示すことが意図される。ヌクレオチド配列は、ゲノム、cDNA、RNA、半合成もしくは合成起源、またはそれらの任意の組み合わせのものであり得る。

【0238】

「核酸」という用語は、デオキシリボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオシド、リボヌクレオシド、またはリボヌクレオチド、及び一本鎖または二本鎖のいずれかの形態のそれらのポリマーを指す。特に限定のない限り、用語は、参照核酸と類似の結合特性を有し且つ天然に存在するヌクレオチドと類似の方法で代謝される天然ヌクレオチドの既知のアナログを含有する核酸を包含する。特に別途限定がない限り、用語は、PNA（ペプチド核酸）を含むオリゴヌクレオチドアナログ、アンチセンス技術で使用されるDNAのアナログ（ホスホロチオエート、ホスホロアミデートなど）も指す。別途明記のない限り、特定の核酸配列は、保存的に修飾されたその多様体（縮重コドン置換を含むが、これに限定されない）及び相補的配列、ならびに明示的に示された配列も暗黙的に包含する。具体的には、縮重コドン置換は、1つ以上の選択された（または全ての）コドンの3番目の位置が混合塩基及び／またはデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することにより達成されてもよい（Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)）。

30

【0239】

「保存的に修飾された多様体」は、アミノ酸及び核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、「保存的に修飾された多様体」は、同一もしくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸、または核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列を指す。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一の核酸は、任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、及びGCUは全て、アミノ酸アラニンをコードする。従って、アラニンがコドンにより指定される全ての位置

40

50

で、コドンは、コードされたポリペプチドを改変することなく、記載された対応するコドンのうちのいずれかに改変することができる。そのような核酸変異は、「サイレント変異」であり、これは、保存的に修飾された変化の1種である。ポリペプチドをコードする本明細書の全ての核酸配列はまた、核酸のあらゆる可能なサイレント変異について説明する。核酸中の各コドン（通常、メチオニンの唯一のコドンであるAUG、及び通常、トリプトファンの唯一のコドンであるTGGを除く）が、機能的に同一の分子を生じるように修飾することができることを、当業者は、認識するであろう。従って、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列に内在する。

【0240】

アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされた配列の単一アミノ酸または少量のアミノ酸を変更、付加、または欠失する、核酸、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質配列への個々の置換、欠失、または付加は、変更がアミノ酸の欠失、アミノ酸の付加、またはアミノ酸の化学的に類似したアミノ酸での置換をもたらす「保存的に修飾された多様体」であることを認識するであろう。機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換の表は、当業者らに既知である。そのような保存的に修飾された多様体は、本明細書に記載の多形多様体、種間ホモログ、及び対立遺伝子に加えられ、それらを除外しない。

【0241】

機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換の表は、当業者らに既知である。次の8つのグループは、互いに保存的な置換であるアミノ酸を含有する：1) アラニン (A)、グリシン (G)；2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)；3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)；4) アルギニン (R)、リジン (K)；5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)；6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W)；7) セリン (S)、トレオニン (T)；及び8) システイン (C)、メチオニン (M)（例えば、Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W H Freeman & Co.; 2nd edition (December 1993))を参照のこと）。

【0242】

2つ以上の核酸またはポリペプチド配列の文脈における「同一の」またはパーセント「同一性」という用語は、同じである2つ以上の配列または部分配列を指す。比較ウィンドウ、あるいは以下の配列比較アルゴリズム（もしくは当業者らが利用可能な他のアルゴリズム）のものを使用して、または手動のアラインメント及び目視検査により、測定されるような設計領域にわたり最大の一致を得るために比較及びアラインされる時に、配列は、同じ（すなわち、指定される領域にわたり約60%の同一性、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、または約95%の同一性）であるアミノ酸残基またはヌクレオチドの割合を有する場合、「実質的に同一」である。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、MEGALIGN (DNASTAR)、CLUSTALW、CLUSTAL OMEGA、またはMUSCLEソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピューターソフトウェアを使用して、当該技術分野の範囲内にある種々の方法で達成することができる。この定義は、試験配列の補完物も指す。同一性は、少なくとも約50のアミノ酸もしくはヌクレオチド長である領域にわたって、または75~100のアミノ酸もしくはヌクレオチド長である領域にわたって、または指定されている場合、ポリヌクレオチドもしくはポリペプチドの全配列にわたって、存在し得る。ヒト以外の種由来のホモログを含む本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、本明細書に記載のポリヌクレオチド配列またはそのフラグメントを有する標識プローブを用いて、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でライブラリーをスクリーニングするステップ、ならびに該ポリヌクレオチド配列を含有する全長cDNA及びゲノムクローンを単離するステップを含むプロセスにより、得られてもよい。そのようなハイブリダイゼーション技術は、当業者に周知である。

10

20

30

40

50

【0243】

配列比較のために、通常、試験配列が比較される1つの配列が、参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを使用する時、試験配列及び参照配列をコンピューターに入力し、必要に応じて、部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムパラメーターを指定する。デフォルトプログラムパラメーターを使用することができ、または代替のパラメーターを指定することができる。次に、配列比較アルゴリズムは、プログラムパラメーターに基づいて、参照配列と比較した試験配列についてのパーセント配列同一性を計算する。

【0244】

本明細書で使用される「比較ウィンドウ」は、2つの配列が最適にアラインされた後、配列が同数の連続した位置の参照配列と比較され得る、20～600、通常は、約50～約200、より通常は、約100～約150からなる群より選択される連続した位置の数のうちのいずれか1つのセグメントへの言及を含む。比較のために配列をアラインさせる方法は、当業者らに既知である。限定されないが、Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482cの局所相同性アルゴリズムによるもの、Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443の相同性アラインメントアルゴリズムによるもの、Pearson and Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444の類似性の検索方法によるもの、これらのアルゴリズム (Wisconsin Genetics Software Package、Genetics Computer Group (ウィスコンシン州マディソンサイエンスドライブ575) のGAP、BESFIT、FASTA、及びTFASTA) のコンピューターによる実行によるもの、または手動アラインメント及び目視検査 (例えば、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1995 supplement) を参照のこと) によるものを含む、比較のための配列の最適なアラインメントを実行することができる。

【0245】

パーセント配列同一性及び配列類似性を決定するのに適するアルゴリズムの一例は、BLAST及びBLAST2.0アルゴリズムであり、これらは、それぞれAltschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402、及びAltschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410に記載される。BLAST分析を実行するためのソフトウェアは、ncbi.nlm.nih.govのワールド・ワイド・ウェブで入手可能な国立バイオテクノロジー情報センター (the National Center for Biotechnology Information) により公的に入手可能である。BLASTアルゴリズムパラメーターW、T、及びXは、アラインメントの感度及び速度を決定する。BLASTNプログラム (ヌクレオチド配列用) は、デフォルトとして11のワード長 (W)、10の期待値 (E) または、M=5、N=-4、及び両鎖の比較を使用する。アミノ酸配列の場合、BLASTPプログラムは、デフォルトとして、3のワード長、及び10の期待値 (E)、及びBLOSUM62スコアリングマトリックスは、50の (Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915を参照のこと) アラインメント (B)、10の期待値 (E)、M=5、N=-4、及び両鎖の比較を使用する。BLASTアルゴリズムは通常、「低複雑度」フィルターをオフにして実施される。

【0246】

BLASTアルゴリズムはまた、2つの配列間の類似性の統計分析を実施する (例えば、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787を参照のこと)。BLASTアルゴリズムにより提供される類似性の1つの尺度は、最小合計確率 (P(N)) であり、これは、2つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の一致が偶然に起こる確率の指標を提供する。例え

10

20

30

40

50

ば、試験核酸の参照核酸との比較における最小合計確率が約 0.2 未満、または約 0.01 未満、または約 0.001 未満である場合、核酸は、参照配列と類似であると考えられる。

【0247】

「選択的（または特異的）にハイブリダイズする」という表現は、その配列が複雑な混合物（細胞またはライブラリー DNA または RNA を含むが、これらに限定されない）中に存在する場合、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で特定のヌクレオチド配列のみへの分子の結合、二重化、またはハイブリダイゼーションを指す。

【0248】

「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」という表現は、当該技術分野で既知のように、低イオン強度及び高温の条件下での DNA、RNA、もしくは他の核酸、またはそれらの組み合わせの配列のハイブリダイゼーションを指す。通常、ストリンジェントな条件下では、プローブは、核酸の複雑な混合物（限定されないが、全細胞またはライブラリーの DNA または RNA を含む）の標的部分配列にハイブリダイズすることになるが、複雑な混合物の他の配列にはハイブリダイズしない。厳しい条件は、配列に依存し、異なる状況により異なるであろう。より長い配列は、特に高温でハイブリダイズする。核酸のハイブリダイゼーションに対する広範なガイドは、Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology—Hybridization with Nucleic Probes, “Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays” (1993) にみられる。

【0249】

本明細書で使用される場合、「操作、操作された、操作すること」という用語は、ペプチド骨格の任意の操作、または天然に存在するもしくは組み換えのポリペプチドまたはそのフラグメントの翻訳後修飾を含むと考えられる。操作は、アミノ酸配列の変更、グリコシル化パターンの変更、または個々のアミノ酸の側鎖基の変更、及びこれらのアプローチの組み合わせを含む。設計されたタンパク質は、標準的な分子生物学技術により発現及び生成される。

【0250】

「単離核酸分子またはポリヌクレオチド」は、天然環境から取り出されている核酸分子、DNA、または RNA を意味する。例えば、ベクターに含有されるポリペプチドをコードする組み換えポリヌクレオチドは、単離されていると考えられる。単離ポリヌクレオチドのさらなる例は、異種宿主細胞または溶液中で（部分的にもしくは実質的に）精製されたポリヌクレオチド内で維持される組み換えポリヌクレオチドを含む。単離ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチド分子を通常含有する細胞に含有されるポリヌクレオチド分子を含むが、ポリヌクレオチド分子は、染色体外に、または天然の染色体の場所とは異なる染色体の場所に存在する。単離 RNA 分子は、インビボまたはインビトロの RNA 転写産物、ならびにポジティブ鎖及びネガティブ鎖形態、ならびに二本鎖形態を含む。本明細書に記載の単離ポリヌクレオチドまたは核酸はさらに、例えば、PCR または化学合成を介して、合成的に生成されるような分子を含む。加えて、ポリヌクレオチドまたは核酸は、特定の実施形態では、プロモーター、リボソーム結合部位、または転写ターミネーターなどの制御エレメントを含む。

【0251】

「ポリメラーゼ連鎖反応」または「PCR」という用語は一般に、例えば、米国特許第 4,683,195 号に記載されるように、インビトロで所望のヌクレオチド配列を増幅するための方法を指す。一般に、PCR 法は、テンプレート核酸に優先的にハイブリダイズすることが可能なオリゴヌクレオチドプライマーを使用して、プライマー伸長合成の反復サイクルを含む。

【0252】

本発明の参照ヌクレオチド配列と少なくとも、例えば、95%「同一」のヌクレオチド配列を有する核酸またはポリヌクレオチドにより、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチド配列が、参照ヌクレオチド配列の各100ヌクレオチド当たり最大5つの点変異を含み得ることを除いて、参照配列と同一であることが意図される。換言すれば、参照ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るために、参照配列中のヌクレオチドの最大5%が、欠失しているか、もしくは別のヌクレオチドで置換されていてもよく、または参照配列中の全ヌクレオチドの最大5%のヌクレオチド数が、参照配列中に挿入されてもよい。参照配列のこれらの変更は、参照配列の残基間、または参照配列内の1つ以上の隣接基のいずれかに点在する参照ヌクレオチド配列の5'もしくは3'末端に、またはそれらの末端位置間のいずれかに生じ得る。実際問題として、特定のポリヌクレオチド配列が本発明のヌクレオチド配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるかどうかは、ポリペプチド（例えば、ALIGN-2）について上記で考察したものなどの既知のコンピュータープログラムを使用して、通常決定することができる。

【0253】

ポリペプチドの誘導体または多様体は、誘導体または多様体のアミノ酸配列が元のペプチドに由来する100アミノ酸配列と少なくとも50%の同一性を有する場合、ペプチドと「相同性」を共有するか、または「相同」であると言われる。特定の実施形態では、誘導体または多様体は、誘導体と同数のアミノ酸残基を有するペプチドまたはペプチドのフラグメントのいずれかと少なくとも75%同じである。特定の実施形態では、誘導体または多様体は、誘導体と同数のアミノ酸残基を有するペプチドまたはペプチドのフラグメントのいずれかと少なくとも85%同じである。特定の実施形態では、誘導体のアミノ酸配列は、誘導体と同数のアミノ酸残基を有するペプチドまたはペプチドのフラグメントと少なくとも90%同じである。一部の実施形態では、誘導体のアミノ酸配列は、誘導体と同数のアミノ酸残基を有するペプチドまたはペプチドのフラグメントと少なくとも95%同じである。特定の実施形態では、誘導体または多様体は、誘導体と同数のアミノ酸残基を有するペプチドまたはペプチドのフラグメントのいずれかと少なくとも99%同じである。

【0254】

本明細書で使用される「修飾された」という用語は、ポリペプチドの長さ、アミノ酸配列、化学構造、翻訳同時修飾、またはポリペプチドの翻訳後修飾の変更などの、所与のポリペプチドになされた任意変更を指す。形態「（修飾された）」用語は、検討されるポリペプチドが任意に修飾され、つまり、検討中のポリペプチドが修飾または未修飾であり得ることを意味する。

【0255】

一部の態様では、ポリペプチドは、本明細書に開示の表（複数可）またはアクセッション番号（複数可）に記載される関連（例えば、ポリペプチド及び／または抗体）アミノ酸配列またはそのフラグメントと少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%と同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、本明細書に開示の単離抗体またはタンパク質は、本明細書に開示の表（複数可）またはアクセッション番号（複数可）に記載される関連ヌクレオチド配列またはそのフラグメントと少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%の同一であるポリヌクレオチドによりコードされるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、ヌクレオチド配列は、本明細書に開示の表（複数可）またはアクセッション番号（複数可）に記載されるような本明細書に開示のヌクレオチド配列と少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%同一であるヌクレオチド配列を含む。

【0256】

医薬組成物

本出願は、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤と共に、本明細書に記載の抗体のうちのいずれか1つ以上を含む医薬組成物を含む、抗体を含む組成物を提供する。一部の実施

形態では、組成物は、無菌である。医薬組成物は一般に、有効量の抗体を含む。

【0257】

これらの組成物は、本明細書に開示の抗体のうちの1つ以上に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝液、安定剤、または当業者らに周知の他の物質を含み得る。そのような物質は、無毒であるべきであり、有効成分の有効性を妨げてはならない。担体または他の物質の正確な性質は、投与経路、例えば、経口、静脈内、皮膚または皮下、鼻腔、筋肉内、腹腔内経路に依存し得る。

【0258】

経口投与のための医薬組成物は、錠剤、カプセル剤、散剤、または液体形態であり得る。錠剤は、ゼラチンまたはアジュバントなどの固体担体を含み得る。液体医薬組成物は一般に、水、石油、動物もしくは植物油、鉱油、または合成油などの液体担体を含む。生理食塩水、デキストロースもしくは他の糖類溶液、またはグリコール、例えば、エチレングリコール、プロピレングリコール、もしくはポリエチレングリコールを含むことができる。

【0259】

静脈内、皮膚もしくは皮下注射、または罹患部位での注射のために、活性成分は、発熱性物質不含であり、好適なpH、等張性、及び安定性を有する非経口的に許容される水溶液の形態であろう。当業者らは、例えば、塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、乳酸加リンガー注射液などの等張性ビヒクルを使用して、好適な溶液を十分に調製することができる。必要に応じて、保存剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤、及び／または他の添加剤を含むことができる。

【0260】

それが、個体に与えられるべきポリペプチド、抗体（例えば、抗TREM2抗体）、核酸、小分子、または他の薬学的に有用な化合物であるかどうかに関わらず、投与は、「治療的有效量」または「予防的有效量」（場合によっては、治療であり得るが、予防は、治療と考えることができる）であることが好ましく、これは、個体に有益性を示すのに十分である。投与される実際の量、ならびに投与の速度及び経過は、処置されるタンパク質凝集疾患の性質及び重症度に依存するであろう。処置の製剤化、例えば、投薬量の決定などは、一般開業医及び他の医師の責任の範囲内であり、通常、処置されるべき障害、個々の対象の状態、分娩部位、投与方法、及び開業医に既知の他の要因を考慮に入れる。上述の技術及びプロトコルの例としては、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980に見出され得る。

【0261】

組成物は、処置されるべき状態に応じて、単独でまたは他の処置と組み合わせて、同時にまたは連続的に投与することができる。

【0262】

方法

調製方法

本明細書に記載の抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されるような、組み換え方法及び組成物を使用して産生され得る。

【0263】

一実施形態では、本明細書に記載の抗体をコードする単離核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び／またはVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）または単ドメイン抗体のVHHを含むアミノ酸配列をコードしてもよい。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。一実施形態では、核酸は、マルチシストロニックベクターで提供される。さらなる実施形態では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施形態では、宿主細胞は、（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗原結合ポリペプチド構築物のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または、（2）抗原結合ポリペプチド構築物のVLを含むアミノ酸配列をコードする

核酸を含む第1のベクター及び抗原結合ポリペプチド構築物のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクター、を含む（例えば、形質転換されている）。一実施形態では、宿主細胞は、真核細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはヒト胚性腎臓（HEK）細胞、またはリンパ系細胞（例えば、YO、NSO、Sp20細胞）である。一実施形態では、抗体を作製する方法が提供され、方法は、抗体の発現に適する条件下で、上で提供されるように、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養する、及び、任意に、宿主細胞（または宿主細胞培地）から抗体を回収することを含む。

【0264】

抗体の組み換え産生の場合、例えば、上述されるような抗体をコードする核酸は、単離され、宿主細胞におけるさらなるクローニング及び／または発現のための1つ以上のベクターに挿入される。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可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離及び配列決定されてもよい。

【0265】

「実質的に精製された」という用語は、天然に存在する環境にみられるようなタンパク質に通常付随するか、またはそれと相互作用する構成成分が実質的または本質的に不含であり得る本明細書に記載の構築物、またはその多様体を指し、すなわち、天然の細胞または特定の実施形態では、細胞外物質に実質的に含まない組み換え産生されたヘテロマルチマーの場合の宿主細胞は、混入タンパク質の約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2%未満、または約1%未満（乾燥重量で）を有するタンパク質の調製を含む。ヘテロマルチマーまたはその多様体が宿主細胞により組み換え産生される時、特定の実施形態におけるタンパク質は、細胞の乾燥重量の約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、約5%、約4%、約3%、約2%、または約1%以下で存在する。ヘテロマルチマーまたはその多様体が宿主細胞により組み換え産生される時、タンパク質は、特定の実施形態では、細胞の乾燥重量の約5g/L、約4g/L、約3g/L、約2g/L、約1g/L、約750mg/L、約500mg/L、約250mg/L、約100mg/L、約50mg/L、約10mg/L、または約1mg/L以下で、培地中に存在する。特定の実施形態では、本明細書に記載の方法により生成される「実質的に精製された」ヘテロマルチマーは、SDS/PAGE分析、RP-HPLC、SEC、及びキャピラリー電気泳動などの適切な方法により決定された、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%の精製レベル、具体的には、少なくとも約75%、80%、85%の精製レベル、より具体的には、少なくとも約90%の精製レベル、少なくとも約95%の精製レベル、少なくとも約99%の精製レベル、またはそれ以上を有する。

【0266】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に適する宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞を含む。

【0267】

「組み換え宿主細胞」または「宿主細胞」は、挿入、例えば、直接的な取り込み、形質導入、f-交配、または組み換え宿主細胞を作製するための当技術分野で既知の他の方法、に使用される方法に関係なく、外因性ポリヌクレオチドを含む細胞を指す。外因性ポリヌクレオチドは、非統合ベクター、例えば、プラスミドとして維持されても、あるいは、宿主ゲノムに組み込まれてもよい。宿主細胞は、CHO、CHOの誘導体、NSO、Sp20、CV-1、VERO-76、HeLa、HepG2、Per.C6、またはBHKを含み得る。

【0268】

本明細書で使用される場合、「真核生物（eukaryote）」という用語は、系統

10

20

30

40

50

発生ドメイン真核生物 (Eucarya)、例えば、動物 (限定されないが、哺乳動物、昆虫、爬虫類、鳥などを含む)、繊毛虫、植物 (限定されないが、単子葉植物、双子葉植物、藻類などを含む)、菌類、酵母、鞭毛虫、微孢子虫、原生生物などに属する生物を指す。

【0269】

本明細書で使用される場合、「原核生物 (prokaryote)」という用語は、原核生物 (prokaryotic organisms) を指す。例えば、非真核生物は、Eubacteria (限定されないが、Escherichia coli、Thermus thermophilus、Bacillus stearothermophilus、Pseudomonas fluorescens、Pseudomonas aeruginosa、Pseudomonas putidaなどを含む) 系統発生ドメイン、または古細菌 (限定されないが、Methanococcus jannaschii、Methanobacterium thermoautotrophicum、Halobacterium、例えば、Haloferax volcanii及びHalobacterium種NRC-1、Archaeoglobus fulgidus、Pyrococcus furiosus、Pyrococcus horikoshii、Aeuiropyrum pernixなどを含む) 系統発生ドメインに属し得る。

【0270】

例えば、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、細菌で産生されてもよい。細菌における抗体フラグメント及びポリペプチドの発現では、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、(大腸菌 (E. coli.) における抗体フラグメントの発現について記載するCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N. J., 2003), pp. 245-254も参照のこと) を参照のこと。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てもよく、さらに精製することができる。

【0271】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母菌などの真核微生物は、真菌及び酵母菌系統を含む抗体をコードするベクターのための好適なクローニングまたは発現宿主であり、このグリコシル化経路は、「ヒト化」されており、ヒトグリコシル化パターンを部分的または完全に含む抗体の産生をもたらす。Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004)、及びLi et al., Nat. Biotech. 24: 210-215 (2006) を参照のこと。

【0272】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物 (無脊椎動物及び脊椎動物) に由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞、特に、トランスフェクションの場合、Spodoptera frugiperda細胞、と共に使用され得る多数のバキュロウイルス系統が同定されている。

【0273】

植物細胞培養は、宿主として利用することもできる。例えば、(トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES (商標) 技術について説明する) 米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号を参照のこと。

【0274】

脊椎動物細胞はまた、宿主として使用されてもよい。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40により形質転換されたサル腎臓CV1株 (COS-7) ; ヒト胚腎臓株 (例えば、Graham et al., J. Gen. Virol. 36: 59 (1977) に記載されるような293または293細胞) ; ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK) ; マウスセ

10

20

30

40

50

ルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980) に記載されるようなTM4細胞）；サル腎細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸がん細胞（HELA）；イヌ腎細胞（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) に記載されるようなTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)）；ならびにY0、NS0、及びSP2/0などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に適する特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N. J.), pp. 255-268 (2003) を参照のこと。

【0275】

一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、所定の比で、抗体をコードする核酸で少なくとも1つの安定した哺乳動物細胞をトランスフェクトすること及び少なくとも1つの哺乳動物細胞において核酸を発現させることを含む方法により、安定した哺乳動物細胞で産生される。一部の実施形態では、核酸の所定の比は、発現産物中の抗体の最高の割合をもたらす投入核酸の相対的な比を決定するために、一過性トランスフェクション実験で決定される。

【0276】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるような安定した哺乳動物細胞で抗体を産生する方法があり、少なくとも1つの安定した哺乳動物細胞の発現産物は、単量体の重鎖もしくは軽鎖ポリペプチドまたは他の抗体と比較して、より大きな割合の所望のグリコシル化抗体を含む。

【0277】

一部の実施形態では、本明細書に記載の安定な哺乳動物細胞においてグリコシル化抗体を産生する方法があり、該方法は、所望のグリコシル化抗体を同定及び精製することを含む。一部の実施形態では、該同定は、液体クロマトグラフィー及び質量分析の一方または両方によるものである。

【0278】

必要に応じて、抗体は、発現後に精製または単離することができる。タンパク質は、当業者らに既知の様々な方法で単離または精製されてもよい。標準的な精製方法は、FPLC及びHPLCなどのシステムを使用して、大気圧または高圧で実施される、イオン交換、疎水性相互作用、親和性、サイズまたはゲル濾過、ならびに逆相を含むクロマトグラフィー技術を含む。精製方法はまた、電気泳動技術、免疫学技術、沈殿技術、透析技術、及びクロマトフォーカシング技術を含む。タンパク質濃縮と組み合わせた限外濾過及びダイアフィルトレーション技術も有用である。当該技術分野で周知の通り、様々な天然タンパク質がFc及び抗体に結合し、これらのタンパク質は、抗体の精製のために本発明において使用を見出し得る。例えば、細菌のタンパク質A及びGは、Fc領域に結合する。同様に、細菌のプロテインLは、一部の抗体のFab領域に結合する。精製は多くの場合、特定の融合パートナーにより使用可能にすることができる。例えば、抗体は、GST融合が用いられる場合、グルタチオン樹脂、Hisタグが用いられるかまたは固定化される場合、Ni²⁺アフィニティークロマトグラフィー、フラグタグが使用される場合、抗フラグ抗体を使用して精製されてもよい。好適な精製技術における一般的なガイダンスについては、例えば、全体が参照により組み込まれるProtein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994を参照のこと。必要な精製度は、抗体の使用に応じて変動するであろう。一部の 경우에는、精製は、必要ない。

【0279】

特定の実施形態では、抗体は、限定されないが、Q-セファロース、DEAEセファロース、ポロスHQ、ポロスDEAF、トヨパールQ、トヨパールQAE、トヨパールDEAE、リソース／ソースQ及びDEAE、フラクトゲルQ及びDEAEカラムでのクロマトグラフィーを含む陰イオン交換クロマトグラフィーを使用して精製される。

【0280】

特定の実施形態では、本明細書に記載のタンパク質は、限定されないが、SP-セファロース、CMセファロース、ポロスHS、ポロスCM、トヨパールSP、トヨパールCM、リソース／ソースS及びCM、フラクトゲルS及びCMカラム、ならびにその等価物及び同等物を含む陽イオン交換クロマトグラフィーを使用して精製される。

【0281】

さらに、本明細書に記載の抗体は、当該技術分野で既知の技術を使用して化学的に合成することができる（例えば、Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W. H. Freeman & Co., N. Y. 及び Hunkapiller et al., *Nature*, 310:105-111 (1984) を参照のこと）。例えば、ポリペプチドのフラグメントに対応するポリペプチドは、ペプチド合成機の使用により合成することができる。さらに、必要に応じて、非古典的アミノ酸または化学的アミノ酸アナログを、ポリペプチド配列への置換または付加として導入することができる。非古典的アミノ酸は一般に、一般的なアミノ酸のD異性体である2, 4ジアミノ酪酸、 α -アミノイソ酪酸、4アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、g-Abu、e-Ahx、6アミノヘキサン酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、 ϵ -ブチルグリシン、 ϵ -ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、アラニン、フルオロアミノ酸、メチルアミノ酸などのデザイナーアミノ酸、C-メチルアミノ酸、N-メチルアミノ酸、及びアミノ酸アナログを含むが、これらに限定されない。さらに、アミノ酸は、D（右旋性）またはL（左旋性）であり得る。

【0282】

使用方法

一態様では、本出願は、非刺激性骨髄細胞を、ヒト抗体などの抗TREM2抗体と接触させる方法を提供し、これにより、非刺激性骨髄細胞の無効化がもたらされる。

【0283】

別の態様では、本出願は、非刺激性骨髄細胞を、抗TREM2マウス抗体と接触させる方法を提供し、これにより、非刺激性骨髄細胞の無効化がもたらされる。

【0284】

一部の実施形態では、非刺激性細胞は、DC1細胞及びTAM細胞のうちの1つ以上である。

【0285】

一部の実施形態では、本出願は、非刺激性骨髄細胞をTREM2抗体と接触させ、それにより、非刺激性骨髄細胞を殺傷することを含む、非刺激性骨髄細胞を無効化する方法を提供する。無効化は、細胞を、部分的または完全に機能しないようにすることを指す。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞において成長停止を誘導することをもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞のアポトーシスをもたらす。一部の実施形態では、非刺激性細胞の無効化は、例えば、補体依存性細胞傷害（CDC）または抗体依存性細胞傷害（ADCC）により、細胞の溶解をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞の壊死をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞において成長停止を誘導することをもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞の不活化をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞内のTREM2タンパク質の活性の中和をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞の増殖の低減をもた

らす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、細胞の分化をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、阻害性抗原提示細胞として作用する細胞の能力の減少をもたらすか、または活性化抗原提示細胞として作用する細胞の能力の増加をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、腫瘍組織または腫瘍微小環境（TME）内の細胞の局在異常をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、腫瘍組織または腫瘍微小環境内の細胞の空間構成の改変をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の無効化は、腫瘍組織またはTME内の細胞の時間的発現の改変をもたらす。一部の実施形態では、方法はさらに、非刺激性骨髄細胞を除去することを含む。

【0286】

本明細書に記載される非刺激性骨髄細胞を無効化する任意の及び全ての態様では、特性（複数可）または機能（複数可）の態様の任意の増加または減少または変化は、抗TREM2抗体と接触していない細胞と比較される通りである。

【0287】

別の態様では、本出願は、非刺激性骨髄細胞を抗TREM2抗体と接触させる方法を提供し、これは、非刺激性骨髄細胞の機能の調節をもたらす。調節は、以下のうちのいずれか1つ以上であり得る。一部の実施形態では、非刺激性細胞は、DC1細胞、TAM1細胞、及びTAM2細胞のうちの1つ以上である。一部の実施形態では、機能の調節は、非刺激性骨髄細胞の無効化をもたらす。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の機能の調節は、例えば、非刺激性細胞がMHC I分子上の腫瘍抗原をナイーブCD8+T細胞に交差提示する能力を増加させることにより、天然及び活性化CD8+T細胞の両方を刺激する細胞の能力の増加をもたらす。一部の実施形態では、調節は、例えば、T細胞受容体（TCR）シグナル伝達、T細胞増殖、またはT細胞サイトカイン産生を誘発させる細胞の能力を含む、非刺激性骨髄細胞のT細胞刺激機能を増加させる。一実施形態では、非刺激性細胞の生存が減少するか、または非刺激性細胞の増殖が減少する。一実施形態では、刺激性骨髄細胞対非刺激性骨髄細胞の比が増加する。

【0288】

本明細書に記載される非刺激性骨髄細胞の機能を減少させる任意の及び全ての態様では、特性（複数可）または機能（複数可）の態様の任意の増加または減少または変化は、TREM2抗体と接触していない細胞と比較される通りである。

【0289】

一部の実施形態では、本出願は、非刺激性骨髄細胞を抗TREM2抗体と接触させ、それにより、非刺激性骨髄細胞を殺傷することを含む、非刺激性骨髄細胞を殺傷する（細胞死の誘発とも呼ばれる）方法を提供する。一部の実施形態では、殺傷は、抗TREM2抗体と接触されていない非刺激性骨髄細胞と比較して増加している。一部の実施形態では、接触は、非刺激性骨髄細胞のアポトーシスを誘導する。一部の実施形態では、接触は、非刺激性骨髄細胞のアポトーシスを誘導する。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、非刺激性骨髄細胞及び刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団にある。一部の実施形態では、方法はさらに、非刺激性骨髄細胞を除去することを含む。一部の実施形態では、細胞の10%～80%が殺傷される。一部の実施形態では、細胞の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、または80%が殺傷される。

【0290】

一部の実施形態では、本出願は、免疫細胞の集団を抗TREM2抗体と接触させることを含む、刺激性骨髄細胞及び非刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団において、刺激性骨髄細胞対非刺激性骨髄細胞の比を増加させる方法を提供する。一部の実施形態では、比は、抗TREM2抗体と接触されていない細胞の集団と比較して増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対DC1細胞の比が増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対TAM1細胞の比が増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対TAM2細胞の比が増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対TAM1+TAM2細胞の比が増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対TAM1+DC1細胞の比が増加する。一部の実施形態では、

10

20

30

40

50

、DC2細胞対DC1+TAM2細胞の比が増加する。一部の実施形態では、DC2細胞対DC1+TAM1+TAM2細胞の比が増加する。一部の実施形態では、少なくとも比は、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%増加する。

【0291】

一部の実施形態では、接触前の刺激性骨髄細胞対非刺激性骨髄細胞の比は、0.001：1～0.1：1の範囲である。一部の実施形態では、接触後の刺激性骨髄細胞対非刺激性骨髄細胞の比は、0.1：1～100：1の範囲である。

【0292】

一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の数が低減する。一部の実施形態では、刺激性骨髄細胞は、DC2細胞である。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、例えば、壊死またはアポトーシスにより殺傷する。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、成長停止を引き起こすように誘導される。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞は、もはや増殖しない。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の空間的局在化が改変され、比は、TMEの特定の領域で増加する。一部の実施形態では、非刺激性骨髄細胞の一時的発現が改変され、比は、腫瘍の発達中の特定の時間の間に増加する。

【0293】

一部の実施形態では、接触は、インビトロである。一部の実施形態では、接触は、インビボである。一部の特定の実施形態では、接触は、ヒトのインビボである。一部の実施形態では、接触は、抗TREM2抗体を投与することにより生じる。一部の実施形態では、抗体（例えば、ヒト）を投与される個体は、がんを有する。

【0294】

別の態様では、本発明は、抗TREM2抗体を含む有効量の組成物を個体に投与することを含む、個体における免疫関連状態（例えば、がん）を処置する方法を提供する。別の態様では、本発明は、抗TREM2抗体を含む有効量の組成物を個体に投与することを含む、個体における免疫応答を増強する方法を提供する。一部の実施形態では、これらの方法はさらに、他の併用療法、例えば、PD-L遮断療法、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-L2抗体、CTLA4遮断療法、抗CTLA-4抗体、T細胞の阻害分子が遮断される全身性チェックポイント遮断療法、養子T細胞療法、CAR-T細胞療法、樹状細胞、または他の細胞療法、及び従来の化学療法と組み合わせて提供される。

【0295】

一部の実施形態では、方法はさらに、個体由来の生体試料中のTREM2タンパク質の発現レベルを決定することを含む。一部の実施形態では、生体試料は、体液、組織試料、器官試料、尿、糞便、血液、唾液、CSF、及びそれらの任意の組み合わせを含むが、これらに限定されない。一部の実施形態では、生体試料は、腫瘍組織に由来する。一部の実施形態では、発現レベルは、TREM2タンパク質をコードするmRNAのmRNA発現レベルを含む。一部の実施形態では、TREM2タンパク質の発現レベルは、NSMのタンパク質発現レベルを含む。一部の実施形態では、TREM2タンパク質の発現レベルは、FACS、ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロッキング、免疫検出法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCRまたはRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術、及びFISH、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される方法を使用して、試料において検出される。

【0296】

別の態様では、本出願は、非刺激性骨髄細胞を含む細胞の集団を抗TREM2抗体と接触させること、及び非刺激性骨髄細胞の数を定量化することを含む、一般的な非刺激性骨髄細胞の有無を判定するための方法、または特定の非刺激性骨髄細胞（例えば、DC1細胞、TAM1細胞、及び／もしくはTAM2細胞）の有無を判定するための方法を提供する。別の態様では、本出願は、非刺激性骨髄細胞及び刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集

10

20

30

40

50

団を、抗 T R E M 2 抗体と接触させること、細胞への抗体の結合を示す複合体または部分を検出すること、ならびに任意に、集団中の非刺激性骨髄細胞の数を定量化することを含む非刺激性骨髄細胞の有無を判定するための方法を提供する。別の態様では、非刺激性骨髄細胞及び刺激性骨髄細胞を含む免疫細胞の集団を抗 T R E M 2 抗体と接触させること；刺激性骨髄細胞及び非刺激性骨髄細胞の数を定量化すること；ならびに非刺激性骨髄細胞対刺激性骨髄細胞の相対比を決定することを含む、非刺激性骨髄細胞対刺激性骨髄細胞の相対比を決定する方法が提供される。

【0297】

検出及び／または定量化のために本明細書に記載される実施形態では、抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 タンパク質に結合するが、必ずしも A D C C などの生物学的応答に影響を及ぼす必要がないが、それは、生物学的応答に影響を有してもよい。

【0298】

別の態様では、本発明は、個体由来の生体試料における T R E M 2 タンパク質の発現レベルを検出すること、及び T R E M 2 タンパク質の発現レベルに基づいて、個体が免疫療法に应答し得るかどうかを判定することを含む、免疫関連状態（例えば、がん）の処置のための免疫療法（例えば、抗 T R E M 2 抗体を用いる）に应答し得る個体を同定するための方法を提供し、健康な個体のものと比較して上昇した個体の T R E M 2 タンパク質のレベルは、個体が免疫療法に应答し得ることを示す。一部の実施形態では、これらの方法はまた、個体における免疫関連状態（例えば、がん）を診断するために使用されてもよく、T R E M 2 タンパク質の発現レベルに基づき、健康な個体のものと比較して上昇した個体の T R E M 2 タンパク質のレベルは、個体のがんを患うことを示す。一部の実施形態では、発現レベルは、T R E M 2 タンパク質をコードする m R N A の m R N A 発現レベルを含む。他の実施形態では、T R E M 2 タンパク質の発現レベルは、T R E M 2 タンパク質のタンパク質発現レベルを含む。一部の実施形態では、T R E M 2 タンパク質の発現レベルは、F A C S、ウェスタンブロット、E L I S A、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロッキング、免疫検出法、H P L C、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、H P L C、q P C R、R T-q P C R、多重 q P C R または R T-q P C R、R N A-s e q、マイクロアレイ分析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術、及び F I S H、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される方法を使用して、試料において検出される。これらの実施形態では、抗 T R E M 2 抗体は、T R E M 2 タンパク質に結合するが、必ずしも A D C C などの生物学的応答に影響を与える必要はない。一部の実施形態では、生体試料は、腫瘍組織に由来する。一部の実施形態では、生体試料は、体液、組織試料、器官試料、尿、糞便、血液、唾液、C S F、及びそれらの任意の組み合わせを含むが、これらに限定されない。

【0299】

腫瘍に対する対象の免疫応答を増強する方法、または免疫療法処置の有効性を増強する方法も本明細書で開示される。一般に、S D C の存在量を増加させる処置は、無再発生存期間などの対象の結果を改善することになり、がん免疫療法処置の有効性を増強させることになる。処置は、対象の腫瘍における、S D C 細胞の相対的または絶対的な存在量を増加させ得る。処置は、対象の腫瘍における、N S M 細胞の相対的または絶対的な存在量を減少させ得る。

【0300】

一般的な処置方策の例示的な方法は、F l t 3 L の全身導入により S D C の数を増加することを含む。別の方法は、C S F 1 を同時に遮断しながら、F l t 3 L を用いる、対象の自己骨髄または血液細胞の処置である。例えば、レトロウイルスにより、骨髄または血液前駆細胞集団における、I R F 8、M y c l 1 または B A T F 3 または Z B T B 4 6 などの S D C 転写因子の発現はまた、S D C の出現を促進するために使用されてもよい。別の処置方策は、S D C を選択的に控えながら、N S M 細胞を系統的に排除することを含む。これは、これらの集団の比の全体的に好ましい変化を生じ得る。N S M 細胞の排除は、T R E M 2 表面タンパク質に対する抗体の投与（腫瘍に全身または限局）を含む任意の手

段で達成され得る。

【0301】

一部の実施形態では、SDC増強処置は、がんを制御または根絶することにおいて対象の天然の免疫系をより可能にする治療的処置として適用される。別の実施形態では、本発明のSDC増強処置は、免疫療法処置などの治療的処置と組み合わせて適用され（そのような適用は、免疫療法処置の前に、同時に、または後に行われる）、SDC増強処置は、治療的処置の有効性を増加させるための補助またはアジュバント処置として作用する。

【0302】

投与方法

一部の実施形態では、本明細書で提供される方法は、個体において、免疫関連状態の処置に有用である。一実施形態では、個体は、ヒトであり、抗体は、TREM2抗体である。別の実施形態では、個体は、マウスであり、抗体は、TREM2抗体である。

【0303】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗TREM2抗体のインビボ投与の場合、通常の投薬量は、投与経路に応じて、1日当たり約10ng/kg～約100mg/kgの個体の体重以上、好ましくは、約1mg/kg/日～10mg/kg/日で変動し得る。処置されるべき疾患または障害の重症度に応じて、数日間以上にわたる反復投与については、処置は、症状の所望の抑制が達成されるまで持続される。例示的な投与レジメンは、約2mg/kgの抗TREM2抗体の初期用量を投与し、続いて、隔週で、約1mg/kgの毎週の維持用量を投与することを含む。他の投薬レジメンは、医師が達成したい薬物動態の低下のパターンに応じて有用であり得る。例えば、個体に、週に1～21回投与することは、本明細書で検討される。特定の実施形態では、約3μg/kg～約2mg/kgの範囲に及ぶ投与（例えば、約3μg/kg、約10μg/kg、約30μg/kg、約100μg/kg、約300μg/kg、約1mg/kg、及び約2mg/kg）が使用され得る。特定の実施形態では、投与頻度は、1日3回、1日2回、1日1回、2日に1回、週に1回、2週に1回、4週に1回、5週に1回、6週に1回、7週に1回、8週に1回、9週に1回、10週に1回、または月に1回、2ヶ月に1回、3ヶ月に1回、またはそれ以上である。治療の進行は、従来の技術及びアッセイにより容易に監視される。投与される抗TREM2抗体を含む投与レジメンは、使用される用量とは独立して、経時的に変動し得る。

【0304】

一部の実施形態では、本明細書で提供される方法（例えば、免疫応答を増強する方法または非刺激性骨髄細胞の無効化を生じる方法）は、がんの処置に有用であり、抗TREM2抗体または抗TREM2抗体を投与される個体は、がんを有する。

【0305】

任意の好適ながんは、本明細書で提供される抗体で処置され得る。がんは、医療分野で既知の任意のがん腫、腺がん、軟組織、肉腫、奇形腫、メラノーマ、白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、または脳がんであり得る。一部の実施形態では、がんは、固形がんである。一部の実施形態では、がんは、液体がんである。一部の実施形態では、がんは、免疫回避性である。一部の実施形態では、がんは、免疫応答性である。一部の実施形態では、がんは、メラノーマ、腎臓、肝胆管、頭頸部扁平上皮がん（HNSC）、膵臓、結腸、膀胱、膠芽腫、前立腺、肺、乳房（乳腺）、卵巣、胃、腎臓、膀胱、食道、腎臓、メラノーマ、白血病、リンパ腫、または中皮腫である。一部の実施形態では、がんは、結腸がん、膵がん、または乳がんである。

【0306】

一部の実施形態では、免疫関連状態は、（ヒトの）非刺激性骨髄細胞上のTREM2タンパク質の発現または非ヒト種におけるTREM2タンパク質のホモログの発現に関連する免疫関連状態である。一部の実施形態では、免疫関連状態は、刺激性骨髄細胞と比較して、非刺激性骨髄細胞におけるTREM2タンパク質の過剰発現に関連する免疫関連状態である。一部の実施形態では、TREM2 mRNAまたはTREM2タンパク質の過剰

10

20

30

40

50

発現は、刺激性骨髄細胞と比較して、少なくとも約2倍、5倍、10倍、25倍、50倍、または100倍高い。

【0307】

一部の実施形態では、処置は、対象における免疫応答を増強する。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、適応免疫応答である。一部の実施形態では、増強された免疫応答は、自然免疫応答である。

【0308】

一部の実施形態では、抗体は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、くも膜下腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される。有効量の抗TREM2抗体は、がんの処置のために投与されてもよい。抗TREM2抗体の適切な投薬量は、処置されるべきがんのタイプ、抗TREM2抗体のタイプ、がんの重症度及び経過、個体の臨床状態、個体の臨床歴、及び処置に対する応答、ならびに主治医の判断に基づいて決定されてもよい。

【0309】

併用療法

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、少なくとも1つの追加の治療薬と共に投与される。任意の好適な追加の治療薬は、本明細書で提供される抗体と共に投与されてもよい。一部の実施形態では、チェックポイント阻害薬；T細胞のチェックポイント阻害薬；抗PD1抗体；抗PDL1抗体；抗CTLA4抗体；養子T細胞療法；CAR-T細胞療法；樹状細胞ワクチン；単球ワクチン；T細胞及び抗原提示細胞の両方に結合する抗原結合タンパク質；BITE二重抗原結合タンパク質；トール様受容体リガンド；サイトカイン；細胞傷害療法；化学療法；細胞増殖抑制薬；放射線療法；小分子阻害薬；小分子アゴニスト；免疫調節薬；及び後成的調節因子、それらの組み合わせから選択される免疫療法。

【0310】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、抗体である。一部の実施形態では、追加の治療薬は、腫瘍細胞表面上のタンパク質（複数可）に結合する抗体である。

【0311】

がんの処置のために、抗TREM2抗体は、免疫チェックポイントタンパク質を阻害する1つ以上の抗体と組み合わされてもよい。腫瘍細胞の表面に表示される免疫チェックポイントタンパク質が特に興味深い。臨床がん免疫療法、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4（CTLA4、CD152としても知られる）、及びプログラム細胞死タンパク質1（PD1、CD279としても知られる）との関連で最も活発に研究されている免疫チェックポイント受容体は双方ともに阻害受容体である。これらの受容体のいずれかを遮断する抗体の臨床活性は、抗腫瘍免疫を複数のレベルで増強させ得ること、ならびに機械論的考察及び前臨床モデルにより導かれる組み合わせの方策を理性的に設計することができることを意味する。

【0312】

PD-1の2つのリガンドは、PD-1リガンド1（PD-L1、B7-H1及びCD274としても知られる）ならびにPD-L2（B7-DC及びCD273としても知られる）である。PD-L1は、がん細胞上に発現され、T細胞上の受容体PD-1への結合を介して、それがT細胞の活性化／機能を阻害する。がん細胞上のその同種リガンドであるPD-L1及びPD-L2と、PD-1の相互作用を遮断する阻害薬は、T細胞の活性化及び機能の両方の増加をもたらす、がん細胞が免疫系を回避することを防止し得る。

【0313】

一部の実施形態では、免疫療法は、PD-1及びPD-L1またはPD-L2の結合を妨害する薬剤である。一部の実施形態では、免疫療法は、抗PD1抗体である。一部の実施形態では、免疫療法は、抗PD-L1抗体である。一部の実施形態では、免疫療法は、抗PD-L2抗体である。

【0314】

種々のPD-1、PD-L1、及びPD-L2抗体は、当該技術分野で既知である。一部の実施形態では、追加の治療薬は、アテゾリズマブ（PD-L1）、アベルマブ（PD-L1）、デュルバルマブ（PD-L1）、ニボルマブ（PD-1）、ペンブロリズマブ（PD-1）、セミプリマブ（PD-1）、イピリムマブ（CTLA-4）、トレメリムマブ（CTLA-4）、またはそれらの任意の組み合わせのうちの少なくとも1つである。
【0315】

追加の治療剤は、任意の好適な手段で投与することができる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬は、同じ医薬組成物に含まれる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬は、異なる医薬組成物に含まれる。
【0316】

本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬が異なる医薬組成物中に含まれる実施形態では、抗体の投与は、追加の治療薬の投与の前に、同時に、及び／または後に行われ得る。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1ヶ月以内に行われる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1週間以内に行われる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1日以内に行われる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約12時間以内に行われる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1時間以内に行われる。

【0317】

キット及び製造物品

本出願は、本明細書に記載の抗体組成物のうちのいずれか1つ以上を含むキットを提供する。一部の実施形態では、キットはさらに、2次抗体、免疫組織化学分析用試薬、薬学的に許容される賦形剤、及び取扱説明書、ならびにそれらの任意の組み合わせのいずれかから選択される構成成分を含有する。特定の実施形態では、キットは、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤と共に、本明細書に記載の抗体組成物のうちのいずれか1つ以上を含む医薬組成物を含む。

【0318】

本出願はまた、本明細書に記載の抗体組成物またはキットのうちのいずれか1つを含む製造物品を提供する。製造物品の例としては、バイアル（密封バイアルを含む）を含む。

【実施例】

【0319】

以下は、本発明を実施するための特定の実施形態の例である。実施例は、例示のみを目的として提供されており、決して本発明の範囲を制限することを意図していない。使用される数値（例えば、量、温度など）に関して正確性を確保する取り組みがなされているが、一部の実験誤差及び偏差は当然許容されるべきである。

【0320】

本発明の実施は、別途指示のない限り、当該技術分野の範囲内で、タンパク質化学、生化学、組み換えDNA技術、及び薬理学の従来の方法を用いるであろう。そのような技術は、文献で完全に説明される。例えば、T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W. H. Freeman and Company, 1993); A. L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic*

Chemistry 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B (1992)を参照のこと。

【0321】

実施例1：抗TREM2抗体のヒト化。

クローン#237920のヒト化

マウス及びヒトTREM2に特異的なモノクローナルラットIgG₂Bクローン#237920 (R&D Systemsカタログ番号MAB17291)を、配列決定及びヒト化に使用した。簡単に言うと、抗体のジスルフィド結合をジチオスレイトール (DTT) で還元し、遊離のスルフヒドリル基をヨードアセトアミドでアルキル化した。アルキル化された抗体を配列決定グレードのエンドプロテイナーゼで消化させ、スピンカラムを使用して精製し、配列をLC-MS/MS分析で決定した。配列は、以下に示される。

配列番号	名称	配列
33	ラットIgG2B クローン番号 237920 重鎖	EVQLVESGGG LVQPGRSLKL SCAASGFTFS NYMAWVRQA PTKGLEWVAS LTNSGGSTYY RDSVKGRFTL SRDNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTREW AGSGYFDYWG QGVMVTVSSA QTTAPSVYPL APGCGDTTSS TVTLGCLVKG YFPEPVTVTW NSGALSSDVH TFP AVLQSGL YTLTSSVTSS TWPSQTVTCN VAHPASSTKV DKKVERRDGG IGHKCPTCPT CHKCPVPELL GGPSVFLFPP KPKDILLLSQ NAKVTCVVVD VSEEEPDVQF SWFVNNVEVH TAQTQPREEQ YNSTFRVVSA LPLQHQQDWS GKEFKCKVNN KALPSPIEKT LSKPKGLVRK PQVYVMGPPT EQLTEQTVSL TCLTSGFLPN DIGVEWTSNG HIEKNYKNT PVMDSDGSFF MYSKLNVERS RWDSRAPFVC SVVHEGLHNH HVEKSLSRPP G
34	ラットIgG2B クローン番号 237920 軽鎖	NIVMTQSPKS MSLSVGDRVT MNCKASQNVG NNLAWYQQKP GQSPKLLLYY TSNRFTGVPD RFTGGGYGTD FTLTINSVQA EDAAFYQCQR IYNPWFTEGG GTKLELKRAD AAPTVSIFPP STEQLATGGA SVVCLMNNFY PRDISVKWKI DGTERRDGLV DSVTDQDSKD STYSMSSTLS LTKADYESHN LYTCEVVKHT SSSPVVKSEF RNEC

【0322】

VH及びVL配列を、NCBI Webサイト (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>; Ye, J. et al. Nucleic Acids Research 41:W34-W40 (2013)) の既知のヒト生殖系列配列のライブラリーと比較した。使用されたデータベースは、IMGTヒトVH遺伝子 (F+ORF、273生殖系列配列) 及びIMGTヒトVLカッパ遺伝子 (F+ORF、74生殖系列配列) であった。

【0323】

237920 VHでは、ヒト生殖系列IGHV3-23 (対立遺伝子1) をアクセプター配列として選択し、ヒト重鎖IGHJ4 (対立遺伝子1) 結合領域 (J遺伝子) を、IMGT (登録商標) the international Immunogenetics information system (登録商標) www.imgt.org (創設者及びディレクター: Marie-Paule Lefranc、仏国モンペリエ) で編集されたヒト結合領域配列から選択した。

【0324】

237920 VLでは、ヒト生殖細胞系IGKV1-39 (対立遺伝子1) を、アクセプター配列として選択し、ヒト軽鎖IGKJ2 (対立遺伝子1) 結合領域 (J遺伝子) を、IMGT (登録商標) the international Immunogenetics information system (登録商標) www.imgt.org (創設者及びディレクター: Marie-Paule Lefranc、仏国モンペリエ) で編集されたヒト結合領域配列から選択した。

【0325】

CDRをAbM定義に従って定義した (CDR定義を比較する表については、Dr. Andrew C. R. Martin www.bioinf.org.uk/abs/ のウ

ェブサイトを参照のこと）。例えば、ヒト化抗体の結合を最適化するために、対応する親マウス配列へのヒト生殖系列フレームワーク（すなわち、VH及びVLの非CDR残基）位置の変更を使用した。

【0326】

表1Aは、作成されたmAb 237920のヒト化バージョンのVL、VH、及び完全な重鎖及び軽鎖配列を示す。37017は、他のヒト化バージョンが追加の変異により作成された親のヒト化クローンである。表1Bは、CDR配列を示す。

【0327】

(表1A)

配列番号	名称	配列
1	37012_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSS
2	37012_VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIK
3	37013_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSS
4	37013_VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIK
5	37014_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSS
6	37014_VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIK
7	37017_VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSS
8	37017_VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIK
25	完全 37012_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
26	完全 37012_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFI FPP SDEQLKSGTASVCLLNFPY PRAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	完全 37013_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
28	完全 37013_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFI FPP SDEQLKSGTASVCLLNFPY PRAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
29	完全 37014_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
30	完全 37014_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNSPWTFGQGTKLEIKRTVAAPS VFI FPP SDEQLKSGTASVCLLNFPY PRAKQVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	完全 37017_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEWAGSGYFDYWGGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL

10

20

30

40

50

		TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
32	完全 37017_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【 0 3 2 8 】

(表 1 B) ヒト化抗体の C D R

CDR	配列	配列番号
CDR-H1	FSNYMA	9
CDR-H2	SLTNSGGSTY	10
CDR-H3	EWAGSGY	11
CDR-L1	NVGNNLA	12
CDR-L2	YTSNRFT	13
CDR-L3	RIYNPWF	14

10

【 0 3 2 9 】

ヒト化抗体のフレームワークのアラインメント (出現順にそれぞれ、配列番号 7、3、5、21、6、23 および 24)

CDR-H1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY	60
CDR-H2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY	60
CDR-H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNSGGSTYY	60
3-23*01	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY	60

20

CDR-H1	ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEWAGSGYFDYWGGTLTVSS	119
CDR-H2	ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGTLTVSS	119
CDR-H3	ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGGTLTVSS	119
3-23*01	ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK-----WGQGTLLTVSS	109

30

CDR-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS	60
CDR-L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTMTCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNRFTGVPS	60
1-39*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS	60

40

CDR-L1	RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIK	107
CDR-L2	RFGSGSGTDFTLTISVQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIK	107
1-39*01	RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTP---PFGQGTLEIK	106

【 0 3 3 0 】

V L ドメイン内の C D R では、A s n 2 8、A s n 3 1、A s n 3 2、及び A s n 5 3

50

は、配列及び立体配座に基づく脱アミド化の可能性が低い。Asn93は、脱アミド化の可能性が低程度乃至中程度であり、低レベルのこの翻訳後修飾を示し得る。VHドメインでは、Asn31は、配列及び立体配座に基づく脱アミド化の可能性が低い。CDR-H2では、Asn53は、翻訳後修飾を防止する脱アミド化の可能性が中程度であり、Asn53は、Gln、Ser、またはAlaに改変することができ、結合の維持を実験的に決定した。CDR-H3では、Trp100は、特にストレス条件下で、溶媒に露出し、酸化の可能性を有し得る。

【0331】

溶液中エンドプロテイナーゼ消化

mAb配列決定分析のために、モノクローナル抗体(mAb)の溶液中エンドプロテイナーゼ消化を実施した。50 µgの抗体をDTTで還元し、ヨードアセトアミドを使用してアルキル化し、アセトン沈殿させ、1 µg/µLの濃度で、水中で再構成した。製造者の使用説明書に従って、5つの個々の酵素消化：Asp-N、キモトリプシン、エラスターゼ、トリプシン、及びペプシンを使用して、抗体試料の溶液中消化を実施した。次に、試料を、凍結乾燥し、0.1%のTFAに再懸濁し、C18 Zip-Tipを使用して精製した。次に、試料を、真空遠心分離で乾燥させ、質量分析まで凍結保存した。

【0332】

質量分析

インタクト質量測定

mAbの試料を、変性させ、還元し、酸性化した。次に、Waters QToF Ultima Global質量分析計(LC-ESI-TOF MS)に接続されたAgilent 1100 HPLCを使用して、タンパク質を分析した。Waters Mass Lynx 4.1ソフトウェアを使用して、適切なLC-MSスペクトルを処理(結合、減算、平滑化、デコンボリューション)した。

【0333】

LC-MS/MS分析

精製されたペプチドを0.1%のギ酸中で再懸濁し、消化物のそれぞれの半分を、ナノスプレー源及びEASY-NLC 1000システム(Thermo Fisher Scientific)が装備されたOrbitrap分析計(Q-Exactiv, Thermo Fisher Scientific)で分析した。800バールの圧力で、PeppMap(登録商標)RSLC 2 µmのC18樹脂が充填された50 cm(75 µmの内径)EASY-Sprayカラムに、ペプチドをロードした。60分かけて、0.1%のギ酸中の0%~30%のアセトニトリルに設定された勾配を使用して、250 mL/minの速度で、ペプチドを溶出させた。ナノエレクトロスプレーイオン源により、Q-Exactiv質量分析計(Thermo Fisher Scientific)に、ペプチドを導入した。計器方法は、自動利得制御(AGC)標的が1E6であり、最大イオン注入時間が120 msであり、解像度が70000であるOrbitrap質量分析計内の1つのMSフルスキャン(400~1600 m/z)、続いて、解像度が17500であり、AGC標的が5E5であり、最大イオン時間が100 msである10データ依存性MS/MSスキャン、及び1つのマイクロスキャンからなる。MS/MSスキャンを起動させる強度しきい値を、1.0%のアンダーフィル比に設定した。正規化されたコリジョンエネルギーが30に設定されたHCDコリジョンセル中で、フラグメンテーションが発生した。8秒のセッティングを使用して、動的除外を適用した。

【0334】

表2は、ヒト化クローンの生物物理学的特性をまとめたものである。分子量及び吸光係数を、4次構造における寄与タンパク質鎖の合計について推定した。デフォルトでは、計算は、各鎖から等しい単量体の寄与と仮定する。吸光係数は、 $M^{-1}cm^{-1}$ の単位のタンパク質1モル当たりの、280 nmでの予測吸光度である。グリコシル化、リン酸化、及びタンパク質分解などの潜在的な翻訳後修飾は、分子量または吸光係数の推定において考慮されない。

10

20

30

40

50

【0335】

(表2)

抗体	吸光係数	分子量(Da)	等電点	力価(mg/L)
PI37012	226380	145004	8.41	255.9
PI37013	226380	145012	8.41	249.7
PI37014	226380	144972	8.41	259.9
PI37017	226380	144870	8.45	198.61

10

【0336】

実施例2：抗TREM2抗体の産生及び特性決定

抗体の産生及び特性決定

標準的な方法を使用して、標準的なタンパク質発現ベクターをHEK293にトランスフェクトし、その後、細胞を7日間成長させ、採取した。HEK293に加えて、CRISPR/Cas9編集(Alexander Weiss、トロント大学)により、哺乳動物の $\alpha 1$, 6フコシルトランスフェラーゼ(FUT8)を欠損させた293細胞においても、抗体を産生した。上清のpHを、1MのHepes pH7.4で調整し、微生物の成長を防止するために、アジ化ナトリウムを添加した。KanCap A樹脂を使用して、タンパク質を捕捉し、1Mの塩化ナトリウムを含有するPBS及びPBSで抗体を洗浄した後に、50mMのクエン酸 pH3.5、100mMのNaClで溶出させた。溶出後直ちに、0.5Mのアルギニン含有する1MのTris(pH8)で溶液を中和した。標準的技術を使用して、PBSにバッファー交換されたタンパク質に対する生物物理学的特性決定を行った。タンパク質をOD280で定量化し、計算された吸光係数を使用して、量及び濃度を決定した。還元及び非還元SDS-PAGE(Biorad基準トリス/グリシン/SDS、4~20%)またはPerkin Elmer GXIIキャピラリー電気泳動システムを使用して、純度及びおよその分子量を決定した。Sepax Zenix-C SEC-300、3 μ m、300Å、4.6*150mmサイズ排除カラム及びPBSランニング緩衝液を使用する、280nmでの検出を用いるHPLCで、凝集状態を決定した。

20

30

【0337】

表面プラズモン共鳴(SPR)を使用した抗体親和性測定

アミンカップリングによりチップに直接固定化されたヒトTREM2 His(Sino Biological、中華人民共和国北京)または抗Hisキャプチャーを通したSeries SCM5 chips上で捕捉されたヒトまたはTREM2ヒトIgG1 Fc融合タンパク質(95%超純度に精製された社内SEC)を用いる、Biacore T200(GE Healthcare、英国)を使用した表面プラズモン共鳴で、結合動力学を決定した。示された抗体の連続希釈液を30 μ l/分で2分間注入した。次に、PBSまたはシステム緩衝液を30 μ l/分で400秒間注入して、解離を観察した。ブランクフローセルの応答を減算することにより、結合応答を修正した。速度論的分析では、 k_{on} 値及び k_{off} 値のグローバルフィッティングの1:1ラングミュアモデルを使用した。 K_d 値を、 k_{on} 及び k_{off} の比から決定した。

40

【0338】

表3は、SPRで測定されたヒトTREM2-Hisへの抗体結合親和性を示す。

(表3)

抗体	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	R_{max} (RU)	χ^2 (RU ²)
PI37012	1.70E+06	8.69E-03	5.12E-09	30.2053	1.1785
PI37013	1.14E+06	5.49E-03	4.82E-09	33.8282	1.3772
PI37014	5.11E+05	2.43E-03	4.74E-09	34.5363	1.3754

50

【0339】

表4は、SPRで測定されたヒトTREM2-Fcへの抗体結合親和性を示す。

(表4)

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi ² (RU ²)
PI37012	4.96E+05	9.56E-04	1.93E-09	185.50	16.25
Afuc PI37012	4.47E+05	8.84E-04	1.98E-09	174.90	13.83
PI37013	5.17E+05	8.88E-04	1.72E-09	190.63	19.07
PI37014	4.71E+05	7.32E-04	1.55E-09	184.88	17.65
PI37017	3.40E+05	6.14E-03	1.80E-08	35.05	4.58

10

【0340】

低いリガンド密度 (RL=500RU) では、ヒトTREM2-FcへのPI37017結合動態は、好適な適合をもたらさなかった。このデータは、配列番号31の配列の97位に存在するA及び98位に存在するK (クローン37017) が、ラットIgG2Bクローン#237920のヒト化時に、ヒトTREM2結合の実質的な喪失を引き起こす可能性が高いことを示す。これらのフレームワーク残基 (A97T及びK98R) の変異は、ヒト化クローンによるヒトTREM2結合の増加をもたらす。例えば、クローン37012を参照のこと。

【0341】

実施例3：抗TREM2抗体の細胞結合

細胞結合 (EC50測定)：

ヒトまたはマウスTREM2を過剰発現する100,000~500,000のExp i 293親細胞またはExp i 293細胞を、96ウェルプレートにプレーティングし、死細胞を、Zombie Near Infrared (Biolegend) で染色した。示された非コンジュゲート抗体の滴度を、8~10点にわたって、1:3の希釈範囲で、0~10ug/mlの範囲内で、これらの細胞と共にインキュベートした。それらのアイソタイプ (hIgG1またはmIgG2a) に応じて、これらの1次非コンジュゲート抗体を、Alexa Fluor 647コンジュゲート抗ヒトFcまたは抗マウスFc2次抗体 (Jackson ImmunoResearch) で検出した。Alexa Fluor 647シグナルを、フローサイトメトリー (BD Fortessa X-14、BD Biosciences) で測定した。Graphpad Prism (Graphpad Software) で、HEK293親細胞から生じたバックグラウンド蛍光を介して、過剰発現細胞に結合する抗体から生じたシグナルをカーブフィッティングすることにより、EC50値を計算した。

20

30

【0342】

このデータは、配列番号31の配列の97位に存在するA及び98位に存在するK (クローン37017) が、ラットIgG2Bクローン#237920のヒト化時に、ヒトTREM2結合の実質的な喪失を引き起こす可能性が高いことを示す。これらのフレームワーク残基 (A97T及びK98R) の変異は、ヒト化クローンによるヒトTREM2結合の増加をもたらす。例えば、クローン37012を参照のこと。

40

【0343】

表5は、細胞表面TREM2への抗TREM2抗体の飽和結合の最大半減を示す。

(表5)

50

抗体	細胞株	EC50 (nM)
237920	Expi-mTREM2	0.9
237920	Expi-hTREM2	0.6
PI37012	Expi-mTREM2	0.5
PI37012	Expi-hTREM2	1.3
PI37013	Expi-mTREM2	1.2
PI37013	Expi-hTREM2	1.4
PI37013	Expi-mTREM2	1.2
PI37014	Expi-hTREM2	1.4
PI37017	Expi-mTREM2	3.6
PI37017	Expi-hTREM2	23.3

10

【0344】

実施例4：PI-7012は、抗PD-1と組み合わせて抗腫瘍活性を改善する材料及び方法

CT26.WT (CRL-2638) 細胞を、American Type Culture Collection (ATCC) から購入した。インビボでの使用のための抗体を全て、エンドトキシンについて試験し、0.2 EU/mg 以下のタンパク質を使用した。クローンRMP1-14 (Absolute Antibody Inc.、カタログ番号Ab00813-7.1) 由来の抗マウスPD-1抗体のアミノ酸配列を、質量分析 (LC-MS/MS) で決定した。文献 (Nimmerjahn and Ravetch 2005 Science 310:1510-1512¹) に記載されるように、FcγR への結合を排除するために、マウスIgG1バージョンのRMP1-14抗体のFc領域に、単一点変異 [D265A] を導入した。マウスIgG1 [クローンMOPC-21]、及びマウスIgG2a [クローンC1.18.4] アイソタイプ対照を、BioXCell から購入した。PI-7012及びAfuc-PI-7012 (PI37012のCDR配列を有し、マウスIgG2aフォーマットでマウス化された) を、それぞれ、マウスIgG2aフォーマットのExpi293細胞 (Thermo Fisher Scientific) または293/FUT8ノックアウト細胞 (University of Toronto) で産生させ、MabSelectプロテインAレジン (GE Life Sciences) を使用して精製した。抗体を、0.1Mのクエン酸緩衝液 (pH3.0) で溶出させ、使用前に緩衝液を交換した。

20

30

【0345】

生きている動物を含む全ての実験手順は、Murigenicsのthe Institutional Animal Care and Use Committeesにより承認された。6～8週齢の雌BALB/cマウスをTaconicから購入し、動物施設に1週間慣れさせた後に使用した。液体窒素ストックから解凍した後、CT26細胞を、3～7回の継代培養で採取し、次に、インビボ実験に使用した。雌BALB/cマウスの右側腹部を剃毛し、前日に、注射のために調製した。腫瘍接種当日、細胞を採取し、30分以内に使用した。皮下腫瘍を確立するために、 1×10^6 のCT26細胞を移植し、次に、腫瘍の成長についてマウスを監視した。式 $(L \times W^2) / 2$ (式中、Lは、より長い測定値である) を使用して、腫瘍寸法のノギス測定から腫瘍体積を計算した。腫瘍が80～100立方mmの平均サイズに達した時、マウスを表6に示されるように処置群に無作為化した：

40

(表6)

50

群	処置	用量／持続時間
1	マウス IgG2a + マウス IgG1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4
2	マウス IgG2a + 抗 PD-1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4
3	抗 TREM2 [PI-7012] + マウス IgG1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4
4	抗 TREM2 [PI-7012] + 抗 PD-1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4
5	抗 TREM2 [Afuc PI-7012] + マウス IgG1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4
6	抗 TREM2 [Afuc PI-7012] + 抗 PD-1	10 mg/Kg + 5 mg/Kg i.p., q5d x 4

【0346】

腫瘍体積及び体重を週2回監視し、一元ANOVAにより群間比較分析のためにグラフ化した。研究中に腫瘍体積が約2000立方mmに達した時、体重が15%超低減した時、または他の健康関連の懸念のために、マウスを安楽死させた。

【0347】

結果

糖鎖工学を介して特定のFcγRに結合するmAbの親和性（すなわち、抗TREM2 mAbのアフコシル化バージョンを生成することによる）は、抗腫瘍活性を増加させ得るかどうかを、本発明者らは判定した。CT26腫瘍モデルにおいて、PI-7012及びafuc-PI-7012を抗PD-1と組み合わせて試験した。PI-7012及びafuc-PI-7012は、類似のレベルの腫瘍成長阻害を示した（79%対88%のTGI）。afuc-PI-7012を用いる処置は、30%の治癒率をもたらした。図1Aにみられるように、afuc-PI-7012は、抗PD-1と組み合わせると、PI-7012よりも抗腫瘍活性を増加させている。抗腫瘍活性に対するPI-7012のアフコシル化の影響は、個々のマウス腫瘍体積の分析で、より明確にみられた（図1B及び1C）。これは、抗TREM2抗体のアフコシル化が、コアフコシル化抗体よりも有意な治療上の利点を提供することを示す。

【0348】

研究の過程において、いずれの処置群においても、体重の有意な減少はなかった（図2）。体重減少は通常、処置に関連する毒性の代替指標として使用される。このデータは、単一の薬剤としての、または抗PD-1と組み合わせた、抗TREM2を用いる短期または長期の処置が、十分に耐用性があり、重大ないかなる毒性も観察されずに行われたことを示す。

【0349】

実施例5：抗TREM2療法に関連する明白な毒性なし

材料及び方法

上記の例で処置されたマウス由来の組織（肺、肝臓、脳、腎臓、及び心臓）を、10%の中性緩衝ホルマリン中に少なくとも24時間保存し、組織学のために規定通りに処理し、5～6μmで切断し、切片をヘマトキシリン及びエオシンで染色した。染色されたスライドを、低倍率（40～100x）光学顕微鏡を使用して試験し、画像をHisto W

i zにより得た。抗CD68抗体(AbD Serotec)を使用して、CD68陽性細胞を検出し、光学顕微鏡を使用して、40X切片の8~9つの視野を定量化した。

【0350】

結果

処置後のマウス組織(肺、肝臓、心臓、腎臓、及び脳)のH&E染色による全体的な形態学的分析は、アイソタイプ対照で処置されたマウスと比較して、PI-7012、afuc-PI-7012、及び抗PD-1の組み合わせで処置されたマウスにおいて、いかなる形態学的変化も認められなかった(図3は、肺組織の染色を示す)。

【0351】

H&E染色に加えて、抗CD68を使用して、組織もマクロファージについて染色した。細胞内マーカーCD68は、炎症組織及び腫瘍の単球/マクロファージを免疫染色するための信頼できる細胞化学マーカーとして文献で広く使用されている。肺内(図4A)、及び分析された他の組織(図4B)では、対照と比較して、処置群のいずれにおいても、抗TREM2媒介性枯渇が特にTMEにおいて生じたことを示すCD68+マクロファージ数の識別可能な変化が観察されなかった。

【0352】

実施例6：健康なマウス組織における制限されたTREM2発現

材料及び方法

全ての動物試験は、the Murigenics Animal Studies Committeeにより承認された。C57BL/6J-Trem2^{em2}Adiuj/J(以下、TREM2KOと呼ばれる)及び対照C57BL/6Jマウスは、Jackson Laboratory由来のものであった。完全な肺、脾臓、及び骨を採取し、フローサイトメトリーのためにすぐに処理した。並行して、血液を心臓穿刺で採取した。Miltenyi MACSS組織解離キットを使用して、組織を単一細胞懸濁液に処理した。1xの赤血球溶解緩衝液(Biolegend)を使用して、赤血球を溶解させた。細胞表面染色のための処理の前に、細胞を、Fixable Viability Dye(ThermoFisher Scientific)で染色した。抗マウス免疫表現型抗体は、Fcブロックと共に、FACS緩衝液(2%のFBS、2mMのEDTA、1xPBS)で希釈し、氷上で30分間染色した。染色後、細胞をFACS緩衝液で2回洗浄し、次に、PBS中の2%のパラホルムアルデヒドで15分間固定した。全てのデータをLSR Fortessaフローサイトメーター(BD)またはAttuneフローサイトメーター(ThermoFisher)で収集し、FlowJoソフトウェアを使用して分析した。TREM2KO細胞染色は、灰色のプロットで示され、野生型細胞染色は、白抜きのプロットで示されている。

【0353】

結果

TREM2は、活性化マクロファージ、未成熟樹状細胞、破骨細胞、及びミクログリア^{2,3}上に発現される。高レベルのTREM2を発現する細胞は、免疫監視、細胞-細胞相互作用、組織破片のクリアランス、及び潜在炎症反応⁴の消失に関与すると考えられる。遺伝子ノックダウンまたはノックアウトによるこれらの細胞上のTREM2発現の不存在は、細胞の破片を貪食する能力を付与し、また、制御性サイトカイン⁵の産生を増加させる。生理学的設定では、FACSプロットでみられるように、末梢血、脾臓、肝臓、または肺でのTREM2の発現は、非常に少ない乃至検出されない(図5)。しかし、肺または肝臓常在マクロファージが単離され、純粋な細胞集団としてTREM2について染色される場合、TREM2の発現は検出可能になる。

【0354】

実施例7：TREM2は主に、マウスTAM上に発現される。

材料及び方法

腫瘍組織を処理して、標準的な方法で単一細胞懸濁液を単離した。要約すると、腫瘍をかみそりの刃で細かく刻み、Miltenyi MACS解離キットの酵素を含有するR

10

20

30

40

50

P M I - 1 6 4 0 培地中で消化した。腫瘍を、製造業者の推奨により G e n t l e M A C S で処理し、37℃で約40分間インキュベートした。消化混合物を、2mMのE D T A 及び2%のウシ胎児血清を含有するP B S でクエンチした。次に、単一細胞懸濁液を70µmのフィルターに通し、次に、細胞をF A C S 緩衝液ですすいだ。遠心分離後、細胞ペレットを、F A C S 緩衝液に再懸濁し、腫瘍関連マクロファージ及び他の免疫細胞集団⁶を同定するために、抗体カクテルで染色した。T R E M 2 K O 細胞染色は、灰色のプロットで示され、野生型細胞染色は、白抜きのプロットで示されている。

【0355】

結果

T 細胞、B 細胞、N K 細胞、及び他の非骨髄性細胞集団、ならびにC D 4 5 陰性細胞は、細胞表面に検出可能なT R E M 2 発現を発現しない。しかし、腫瘍関連マクロファージ (T A M) 及び骨髄由来抑制細胞 (M D S C) を含む骨髄細胞サブセットは、細胞表面に様々な程度でT R E M 2 を発現する。腫瘍微小環境においてT R E M 2 について陽性である細胞型のうち、T A M 上の受容体発現の密度は、腫瘍の起源に関係なく、他の細胞型よりも有意に高かった (図6に示されるC T 2 6 及びM C 3 8)。

【0356】

実施例8：ヒト末梢血白血球における制限されたT R E M 2 発現

材料及び方法

ボランティアの正常なヒトから得られた末梢血単核細胞 (P B M C) 及び負に選別されたC D 1 4 + 単球がA l l C e l l s I n c. により提供された。標準プロトコール⁵を使用して、C D 1 4 + 単球をi n - v i t r o で分化させた。2mMのL - グルタミン、1mL当たり100µgのストレプトマイシン、1mL当たり100Uのペニシリン、及び10%の熱不活化F B S が補充されたR P M I - 1 6 4 0 培地からなる完全培地で、C D 1 4 + 単球を培養した。マクロファージへの分化を引き起こすために、50ng/mLのM - C S F を培地に加えた。培地を2~3日毎に補充した。7日後、マクロファージをピペティングにより採取し、後続のトリプシン処理により、接着細胞を収集した。次に、細胞を遠心分離し、抗生物質、2%のF B S 及び組み換えヒトI F N - γ 及び100ng/mLのL P S が補充されたR P M I - 1 6 4 0 に再懸濁した。細胞サブセットにおけるT R E M 2 の細胞表面染色を評価するために、標準的な骨髄性カクテルを使用して、これらのマクロファージをP B M C と同時に表面染色した。対照m A b で染色された細胞は、灰色のプロットで示される。抗T R E M 2 m A b で染色された細胞は、白抜きのプロットで示される。

【0357】

結果

図7にみられるように、e x - v i v o 分化型マクロファージは、評価されたP B M C ベースの細胞型と比較して、T R E M 2 の細胞表面受容体密度が著しく高いことを示す。文献で報告された観察と同様に、単球及び一部の好中球は、より低いレベルのT R E M 2 を発現する。

【0358】

実施例9：T R E M 2 は主に、ヒトT A M 上に発現される。

材料及び方法

ヒト腫瘍組織を、C o o p e r a t i v e H u m a n T i s s u e N e t w o r k (C H T N) から入手した。M i l t e n y i M A C S 分離キット及びg e n t l e M A C S プロトコールを使用して、新しいヒト腫瘍組織を単一細胞懸濁液に解離させた。事前検証済みのマルチカラーF A C S パネルを使用して、ヒト腫瘍組織の単一細胞懸濁液を表面染色した。全てのデータをL S R F o r t e s s a フローサイトメーター (B D) またはA t t u n e フローサイトメーター (T h e r m o F i s h e r) で収集し、F l o w J o ソフトウェアを使用して分析した。数字は、各集団の染色指数を示し、これは、抗T R E M 2 染色からアイソタイプ対照染色を差し引いたものとして定義される。

【0359】

結果

腫瘍微小環境内で、TREM2発現は、他の細胞と比較して、TAM上で高レベルに差次的に発現され（図8）、それをTAMの翻訳関連マーカーにする。粘液性腺がんの種々の細胞集団におけるTREM2抗体染色（白抜き）またはアイソタイプ対照染色（灰色）の代表的なヒストグラムを示す。一括して、このデータは、TREM2標的化薬が特定のTAMの枯渇を促進し、末梢細胞または他の組織常在免疫サブセットに対する付随的な影響が比較的少ない乃至全くないという仮説をサポートする。

【0360】

実施例10：複数の同系腫瘍モデルにおける抗PD-1と組み合わせた抗TREM2抗体の抗腫瘍有効性

材料及び方法

CT26.WT (CRL-2638)、Py8119 (CRL-3278)、4T1 (CRL-2539)、及びEMT6 (CTL-2755)細胞を、the American Type Culture Collection (ATCC) から購入した。Panc-02細胞を、AJES Life Sciences (Stony Brook, NY) で使用した。インビボで使用される抗体は全て、0.2 EU/mg以下のタンパク質であった。クローンRMP1-14の抗マウスPD-1抗体のアミノ酸配列を、質量分析 (LC-MS/MS) で決定した。FcγRへの結合を排除するために、単一の点変異D265Aを、RMP1-14抗体のFc領域に導入した。マウスのIgG1、クローンMOPC-21、及びマウスのIgG2a、クローンC1.18.4は、アイソタイプ対照を、BioXCellから購入した。PI-7012及びafuc-PI-7012（双方ともにマウスIgG2aとして）を、それぞれ、Expi293細胞 (Thermo Fisher Scientific) または293/FUT8ノックアウト細胞で産生させ、次に、MabSelectプロテインAレジン (GE Life Sciences) を使用して精製した。mAbを0.1Mのクエン酸緩衝液 (pH3.0) で溶出させ、緩衝液を使用前に交換した。

【0361】

生きている動物を含む全ての実験手順は、Murigenicsのthe Institutional Animal Care and Use Committeesにより承認された。雌BALB/cまたはC57BL/6マウス（6～8週齢）を、Taconic研究所またはThe Jackson研究所から購入し、動物施設で1週間慣れさせた後に使用した。液体窒素ストックから解凍した後、腫瘍細胞を、3～7回の継代培養で採取し、次に、インビボ実験に使用した。雌マウスの右側腹部を剃毛し、腫瘍細胞接種の前日に、注射のために調製した。腫瘍接種当日、細胞を採取し、30分以内に使用した。皮下腫瘍を確立するために、 1×10^6 のCT26、EMT6、もしくはPanc-02細胞、または 1×10^5 の4T1細胞をマウスの好適な系統に移植し、次に、腫瘍成長について動物を監視した。Py8119細胞の等量の単一細胞懸濁液をMatrigel (Corningカタログ番号354248または354263) と混合した後、マウス1匹当たり 2×10^6 の細胞を移植した。

【0362】

腫瘍寸法のノギス測定を使用して、式 $(L \times W^2) / 2$ （式中、Lは、より長い測定値である）を使用して、腫瘍体積を計算した。腫瘍が80～100立方mmの平均サイズに達した時、マウスを表7に示されるように処置群に無作為化した。

【0363】

腫瘍体積及び体重を、週2回監視し、一元ANOVAにより群間比較分析のためにグラフ化した。腫瘍体積が約2,000立方mmに達した時、または研究中に体重が15%超低減した時に、マウスを安楽死させた。

【0364】

（表7）

10

20

30

40

50

群	処置	用量／持続時間
1	マウス IgG1 + マウス IgG2a	5 mg/kg + 15 mg/kg i.p., q5d x 4
2	抗 PD-1 + マウス IgG2a	5 mg/kg + 15 mg/kg i.p., q5d x 4
3	マウス IgG1 + 抗 TREM2	5 mg/kg + 15 mg/kg i.p., q5d x 4
4	抗 PD-1 + 抗 TREM2	5 mg/kg + 15 mg/kg i.p., q5d x 4

【0365】

結果

結果を表8にまとめる。式： $\%TGI = (1 - \{T_t / T_0 / C_t / C_0\} / 1 - \{C_0 / C_t\}) \times 100$ （式中、 T_t ＝時間 t に組み合わせ処置された腫瘍体積の中央値、 T_0 ＝時間 0 に組み合わせ処置された腫瘍体積の中央値、 C_t ＝時間 t にアイソタイプ対照の腫瘍体積の中央値、及び C_0 ＝時間 0 にアイソタイプ処置された腫瘍体積の中央値（処置の開始前））により、投与期間（ t ）の終わりに、腫瘍成長阻害（ $\%TGI$ ）を決定した。

【0366】

（表8）

モデル	系統	活性
CT26 [CRC]	BALB/c	抗 PD-1 と組み合わせた処置時の CT26 における約 50～85%の TGI、及び 40～60%の完全奏効
Py8119 [TNBC]	C57BL/6	抗 PD-1 と組み合わせた約 56%の TGI
4T1 [TNBC]	BALB/c	抗 PD-1 と組み合わせた約 23%の TGI
EMT6 [乳房]	BALB/c	抗 PD-1 と組み合わせた約 63%の TGI 及び 20%の完全奏効
Panc02 [膵臓]	C57BL/6	抗 PD-1 と組み合わせた約 63%の TGI

【0367】

図9A～Fは、複数の同系マウス腫瘍モデルにおける抗 PD-1 と組み合わせた抗 TREM2 PI-7012 または afuc-PI7012 の抗腫瘍活性を示す。抗 PD-1 mAb と組み合わせた抗 TREM2 mAb afuc-PI7012 は、Panc-02 膵臓腫瘍モデルに有意な抗腫瘍活性をもたらす。図9Aは、各群における10匹のマウスの平均腫瘍体積の平均＋／－標準偏差を示す。図9B、9C、9D、及び9Eは、経時的な各処置群における個体の動物の腫瘍体積を示す。図9Fは、移植後32日目のグループ平均腫瘍体積の統計分析を示す。Graph Pad Prismソフトウェアで利用可能な統計分析を使用して、群間の腫瘍体積の差異を評価した。研究データに対して、一元ANOVA、続いて、Sidakの多重比較検定を実施した。

【0368】

図9A及び9Dにみられるように、皮下Panc-02腫瘍は、抗 PD-1 mAb 単剤免疫チェックポイント遮断療法、または抗 TREM2 mAb afuc-PI-7012 療法単独には応答しない。しかし、抗 TREM2 mAb afuc-PI-7012 及び抗 PD-1 mAb によるPanc-02腫瘍担持動物の併用処置は、有意な腫瘍成長阻害をもたらした。

【0369】

免疫チェックポイント媒介性のCD8T細胞枯渇の逆転を伴う、骨髄調整の併用治療方策

を、複数の同系腫瘍モデルで試験した。表 8 に示されるように、抗 T R E M 2 及び抗 P D - 1 m A b の組み合わせは、有意な腫瘍成長阻害、ならびに試験された腫瘍モデルのいくつかに完全な退行をもたらした。これらの同系モデルを、2 つの異なるマウス系統のバックグラウンド（典型的な T h - 1 C 5 7 B L / 6 及び T h - 2 B A L B / c 系統）で成長させたことに留意することが重要であり、これらのバックグラウンドは、インビボでこれらの系統で成長した腫瘍の免疫浸潤物の組成に有意差があることが既知である。

【 0 3 7 0 】

実施例 1 1：抗 T R E M 2 m A b 及び抗 P D - 1 m A b の併用処置に応答するマウスにおいて、長期の抗腫瘍免疫記憶を誘発する。

材料及び方法

実施例 9 に記載の抗 T R E M 2 m A b 及び抗 P D - 1 m A b 処置後の、以前の研究からの腫瘍がない B A L B / c マウスに、 1×10^6 の C T 2 6 腫瘍細胞で 3 ヶ月後に再チャレンジした。腫瘍体積を、移植後 2 5 日間測定した。同齢の処置ナイーブマウスに、同等数の C T 2 6 細胞を投与し、研究期間中に腫瘍の成長について追跡した。研究期間中、マウスに追加の処置を提供しなかった。

【 0 3 7 1 】

結果

抗 T R E M 2 m A b a f u c - P I - 7 0 1 2 及び抗 P D - 1 m A b の組み合わせでの処置後に、C T 2 6 腫瘍が治癒したマウスは、有効な抗腫瘍記憶応答を確立した（図 1 0）。治癒したマウスは、追加の治療がなくても、新しい腫瘍の成長を拒絶することができ、これは、元の移植された腫瘍に対する長期的な免疫記憶を示す。この形態の長期免疫記憶は、活発な C D 8 + エフェクター記憶応答の維持を利用する。

【 0 3 7 2 】

参考文献

1. Nimmerjahn, F. & Ravetch, J. V. Divergent Immunoglobulin G Subclass Activity Through Selective Fc Receptor Binding. *Science* (80-.). **310**, 1510 LP-1512 (2005).
2. Ford, J. W. & McVicar, D. W. TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease. *Curr. Opin. Immunol.* **21**, 38–46 (2009).
3. Colonna, M. TREMs in the immune system and beyond. *Nat. Rev. Immunol.* **3**, 445 (2003).
4. Takahashi, K., Rochford, C. D. P. & Neumann, H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J. Exp. Med.* **201**, 647 LP-657 (2005).
5. Piccio, L. *et al.* Blockade of TREM-2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.* **37**, 1290–1301 (2007).
6. Broz, M. L. *et al.* Dissecting the Tumor Myeloid Compartment Reveals Rare Activating Antigen-Presenting Cells Critical for T Cell Immunity. *Cancer Cell* **26**, 638–652 (2017).

【 0 3 7 3 】

本発明は特に、好ましい実施形態及び種々の代替実施形態に関して示され、記載されているが、形態及び詳細の種々の変更が、本明細書では、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく行うことができることを、当業者らは理解するであろう。

【 0 3 7 4 】

本明細書の本文内で引用された全ての参考文献、発行された特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために、本明細書で全体が参照により組み込まれる。

【 0 3 7 5 】

配列

配列 番号	名称	配列
1	37012_VH	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKLEWVSSLTNS GGSTYYADSVKGRFTISRDN ~~SKNTLYLQ~~ MNSLRAEDTAVYYC TRE WAGSGYFDY WGQGT ~~LVTVSS~~
2	37012_VL	DIQMTQSPSSLSASV ~~GDRVIT~~ ITCKASQNVGN ~~NLA~~ WYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISS ~~LQ~~ PEDFATYYCQRIYN ~~SPWTF~~ GQGT ~~KLEIK~~
3	37013_VH	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKLEWVSSLTNS GGSTYYADSVKGRFTISRDN ~~SKNTLYLQ~~ MNSLRAEDTAVYYC TRE WAGSGYFDY WGQGT ~~LVTVSS~~
4	37013_VL	DIQMTQSPSSLSASV ~~GDRVIT~~ ITCKASQNVGN ~~NLA~~ WYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISS ~~VQ~~ PEDFATYYCQRIYN ~~SPWTF~~ GQGT ~~KLEIK~~
5	37014_VH	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKLEWV AS LNTNS GGSTYYADSVKGRFT LS RDNSKNTLYLQ MNS LRAEDTAVYYC TRE WAGSGYFDY WGQGT ~~LVTVSS~~
6	37014_VL	DIQMTQSPSSLSASV ~~GDRVIT~~ ITCKASQNVGN ~~NLA~~ WYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISS ~~LQ~~ PEDFATYYCQRIYN ~~SPWTF~~ GQGT ~~KLEIK~~
7	37017_VH	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKLEWVSSLTNS GGSTYYADSVKGRFTISRDN ~~SKNTLYLQ~~ MNSLRAEDTAVYYC AK EWAGSGYFDY WGQGT ~~LVTVSS~~
8	37017_VL	DIQMTQSPSSLSASV ~~GDRVIT~~ ITCKASQNVGN ~~NLA~~ WYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISS ~~LQ~~ PEDFATYYCQRIYN ~~SPWTF~~ GQGT ~~KLEIK~~
9	CDR-H1	FSNYMA
10	CDR-H2	SLTNSGGSTY
11	CDR-H3	EWAGSGY
12	CDR-L1	NVGNNLA
13	CDR-L2	YTSNRFT
14	CDR-L3	RIYN ~~SPW~~
15	TREM2 ヒト タンパク質	MEPLRLILLILFVTELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSCPYDSMKHWGRRKAWCRQL GEKGPCQRRVSTHNLWLLSFLRRWNGSTAITDDTLGGTTLITLRLNQLPHDAGLY QCQSLHGSEADTLRKVLVEVLADPLDHRDAGDLWFPGESESFEDAHVEHSISRSL LLEGEIPFPPTSILLLLACIFLIKILAASALWAAAWHGQKPGTHPPSELDCGHD PGYQLQTLPLGRDT
16	TREM2 ヌクレオチド (CDS)	ATGGAGCCTCTCCGGCTGCTCATCTTACTCTTTGTCACAGAGCTGTCCGGAGCC CACAACACCACAGTGTTCAGGGCGTGGCGGGCCAGTCCCTGCAGGTGTCTTGC CCCTATGACTCCATGAAGCACTGGGGGAGGCGCAAGGCCTGGTGCCGCCAGCTG GGAGAGAAGGGCCCATGCCAGCGTGTGGTCAGCACGCACAACCTGTGGCTGCTG TCCTTCCTGAGGAGGTGGAATGGGAGCACAGCCATCACAGACGATACCCCTGGGT GGCACTCTCACCATTACGCTGCGGAATCTACAACCCCATGATGCGGGTCTCTAC CAGTGCCAGAGCCTCCATGGCAGTGAGGCTGACACCCCTCAGGAAGGTCTTGGTG GAGGTGCTGGCAGACCCCTGGATCACCGGGATGCTGGAGATCTCTGGTTCCCC GGGGAGTCTGAGAGCTTCGAGGATGCCCATGTGGAGCACAGCATCTCCAGGAGC CTCTTGAAGGAGAAATCCCCTTCCCACCCACTTCCATCCTTCTCCTCCTGGCC TGCATCTTTCTCATCAAGATTCTAGCAGCCAGCGCCCTCTGGGCTGCAGCCTGG CATGGACAGAAGCCAGGGACACATCCACCCAGTGAACCTGGACTGTGGCCATGAC

10

20

30

40

50

		CCAGGGTATCAGCTCCAAACTCTGCCAGGGCTGAGAGACACGTGA
17	TREM2 マウス タンパク質	MGPLHQFLLLLITALSQALNTTVLQGMAGQSLRVSTYDALKHWGRRKAWCRQL GEEGPCQRRVSTHGVWLLAFLKKRNGSTVIADDTLAGTVTITLKNLQAGDAGLY QCQSLRGREAEVLQKVLVEVLEDPLDDQDAGDLWVPEESSSFEGAQVEHSTSRN QETSFPPTSILLLLACVLLSKFLAASILWAVARGRQKPGTPVVRGLDCGQDAGH QLQILTGPGGT
18	フレーム H1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNS GGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEWAGSGYFDYWGQGTL VTVSS
19	フレーム H2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNS GGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGQGTL VTVSS
20	フレーム H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVASLTNS GGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDYWGQGTL VTVSS
21	3-23*01 フレーム VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSAISGS GGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGQGLTVTVSS
22	フレーム L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIK
23	フレーム L2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIK
24	3-23*01 フレーム VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPFGGQTKLEIK
25	完全 37012_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNS GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDY WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
26	完全 37012_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	完全 37013_H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYMAWVRQAPGKGLEWVSSLTNS GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREWAGSGYFDY WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
28	完全 37013_L	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGNLAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRIYNPWFQGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

29	完全 37014_H	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWV ~~ASLTNS~~ GGSTYYADSVKGRFT ~~LSRDNSKNTLYLQMN~~ SLRAEDTAVYYC ~~TREWAGSGYFDY~~ WGQGT ~~LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP~~ TVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV ~~PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK~~ VEPKSCDKTHTCP ~~PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH~~ EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD ~~WLN~~ NGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV ~~DKSRWQQGNV~~ FSCSV ~~MHE~~ ALHNHYTQKSLSLSPGK
30	完全 37014_L	DIQMTQSPSSLSASV ~~GD~~ RVTTITCKASQNVGN ~~N~~ LAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISSLPEDFATYYCQRIYN ~~SPWTFGQGT~~ KLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV ~~VCLLNNFY~~ PREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSK ~~DSTYSL~~ SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT ~~KS~~ FNRGEC
31	完全 37017_H	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWV ~~S~~ SLTNS GGSTYYADSVKGRFTIS ~~RDNSKNTLYLQMN~~ SLRAEDTAVYYC ~~AK~~ EWAGSGYFDY WGQGT ~~LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP~~ TVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV ~~PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK~~ VEPKSCDKTHTCP ~~PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH~~ EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD ~~WLN~~ NGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV ~~DKSRWQQGNV~~ FSCSV ~~MHE~~ ALHNHYTQKSLSLSPGK
32	完全 37017_L	DIQMTQSPSSLSASV ~~GD~~ RVTTITCKASQNVGN ~~N~~ LAWYQQKPGKAPKLLIYYTSNR FTGVPSR ~~FSGSGSGTDFTLT~~ ISSLPEDFATYYCQRIYN ~~SPWTFGQGT~~ KLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV ~~VCLLNNFY~~ PREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSK ~~DSTYSL~~ SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT ~~KS~~ FNRGEC
33	ラット IgG2B クローン番号 237920 重鎖	EVQLVESGGG LVQPG ~~RSLKL~~ SCAASGFTFS NYMAWVRQA PTKGLEWVAS LTNSGGSTYY RDSVKGRFTL SRD ~~NAKSTLY~~ LQMDSLRSED TATYYCTREW AGSGYFDYWG QGVMVTVSSA QTTAPSVYPL APGCGDTTSS TVTLGCLVKG YFPEPVTVTW NSGALSSDVH TFP ~~AVLQ~~ SGL YTLTSSVTSS TWPSQTVTCN VAHPASSTKV DKKVERRDGG IGHKCP ~~TCPT~~ CHKCPVPELL GGPSVFLFPP KPKDILLLSQ NAKVTCVVVD VSEEEPDVQF SWFVNNVEVH TAQTQPREEQ YNSTFRVVSA LPLQH ~~QDWMS~~ GKEFKCKVNN KALPSPIEKT LSKPKGLVRK PQVYVMGPPT EQLTEQTVSL T ~~CLTSGFLPN~~ DIGVEWTSNG HIEKNYK ~~NTE~~ PVMDS ~~DGSFF~~ MYSKLNVERS RWDSRAPFVC SVVHEGLHNH HVEKSLSRPP G
34	ラット IgG2B クローン番号 237920 軽鎖	NIVMTQSPKS MSLSV ~~GD~~ RVTT MNCKASQNVG NNLAWYQQKP GQSPKLLLYY TSNRFTGV ~~PD~~ RFTGGGYGTD FTLTINSVQA EDAAFY ~~YCQR~~ IYN ~~SPWTFGG~~ GTKLELKRAD AAPT ~~VSIFPP~~ STEQLATGGA SVVCLMNNFY PRDISVKW ~~KI~~ DGTERRDGVL DSVTDQDSKD STYSMSSTLS LTKADY ~~ESHN~~ LYTCEVVHKT SSSPVVKSFN RNEC

10

20

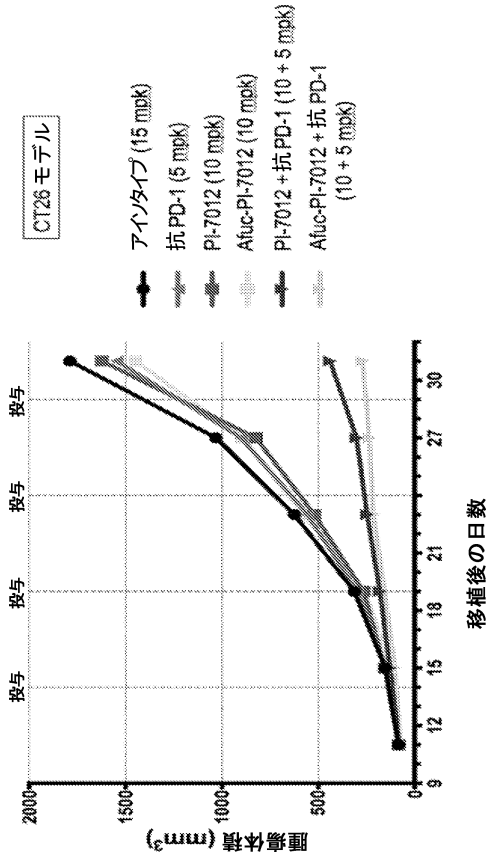
30

40

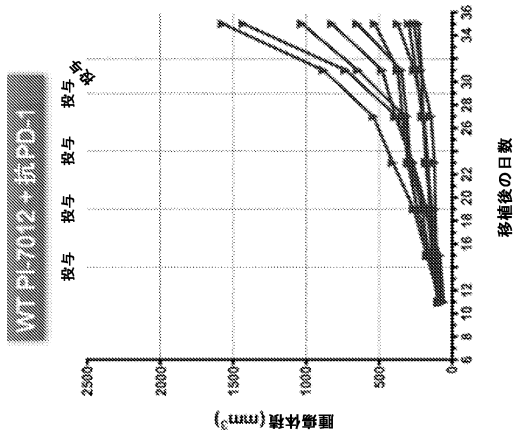
50

【図面】

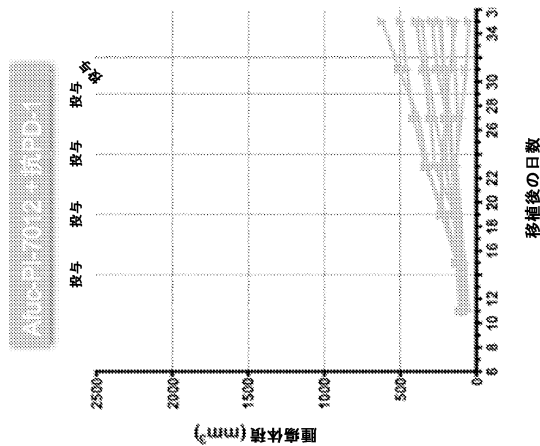
【図 1 A】



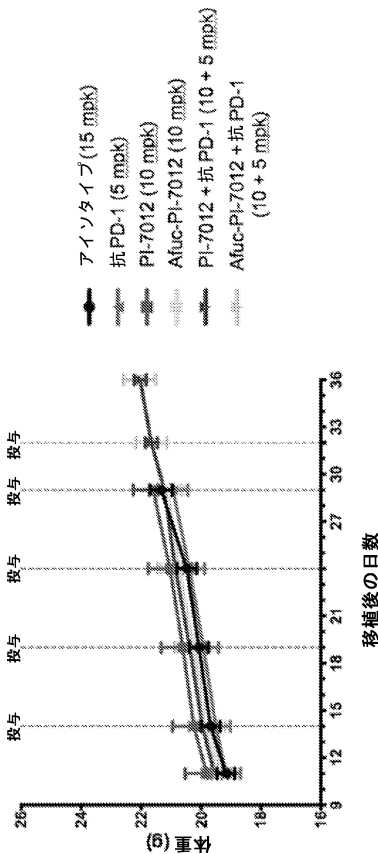
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2】



10

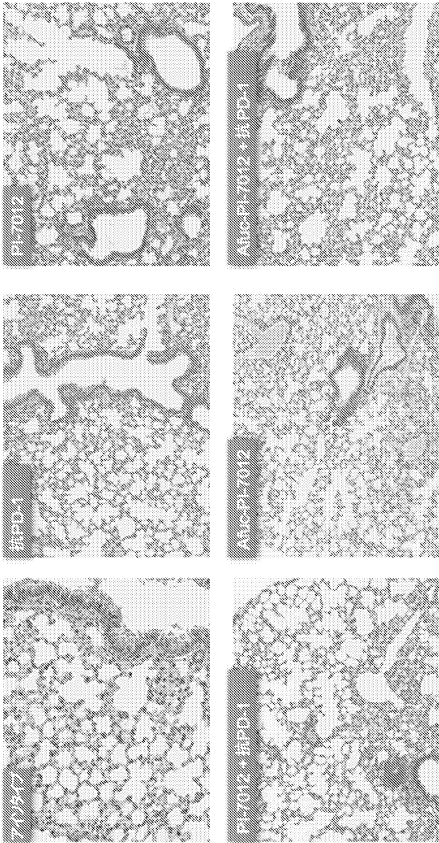
20

30

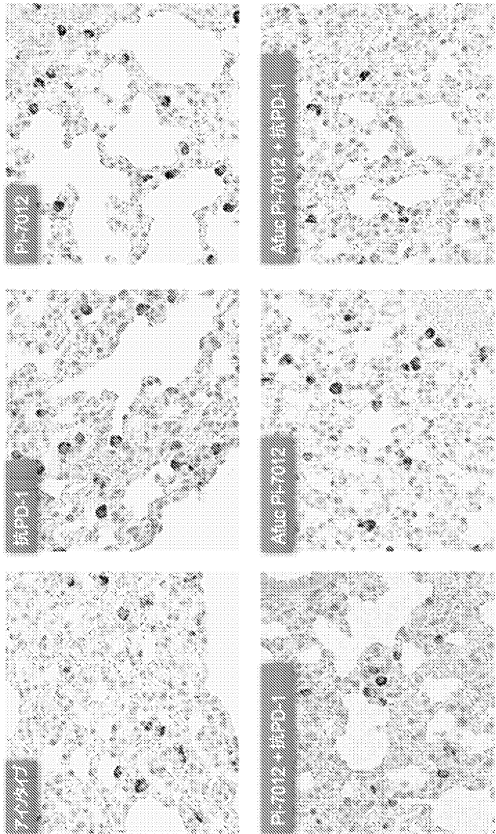
40

50

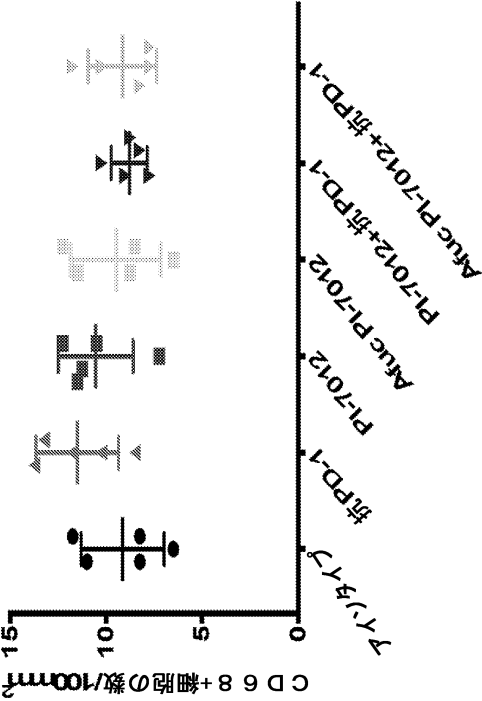
【図 3】



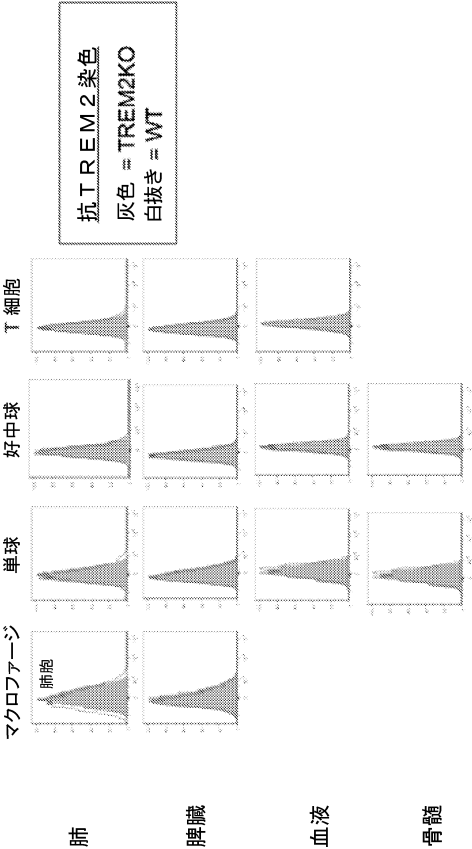
【図 4 A】



【図 4 B】



【図 5】



10

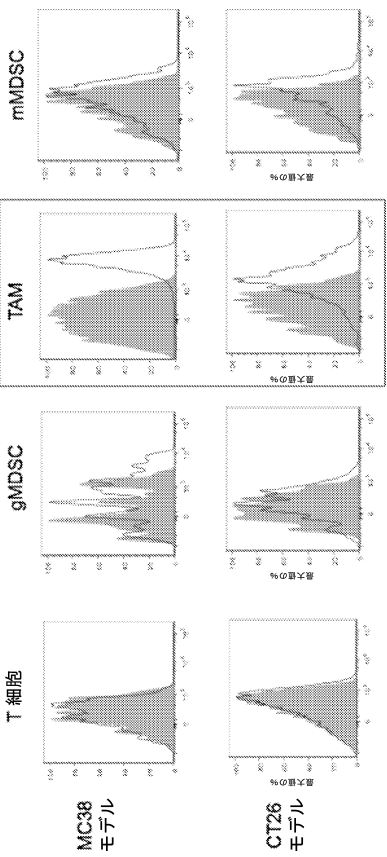
20

30

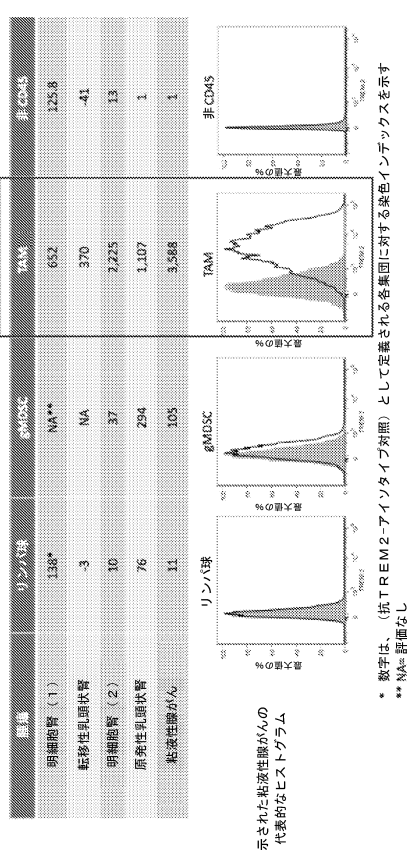
40

50

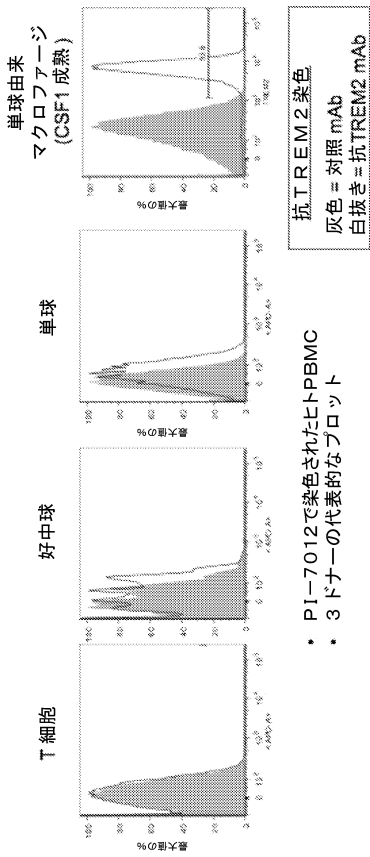
【図 6】



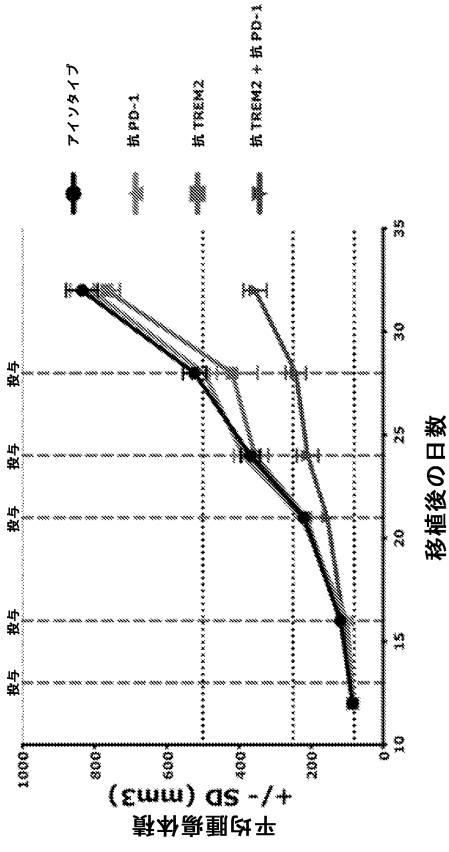
【図 8】



【図 7】



【図 9 A】



10

20

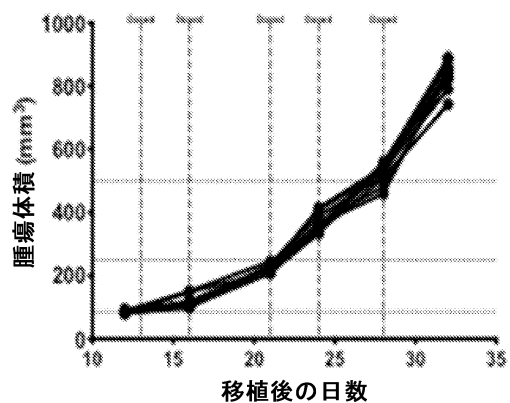
30

40

50

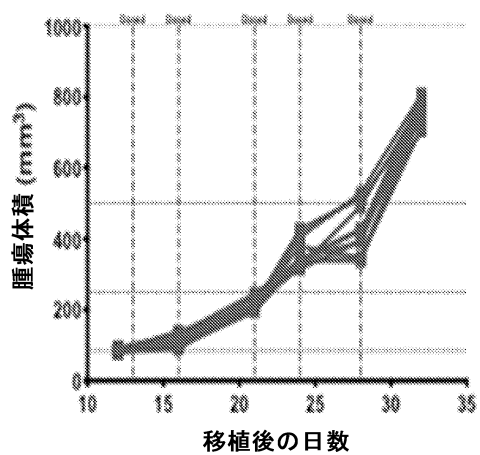
【図 9 B】

アイソタイプ



【図 9 C】

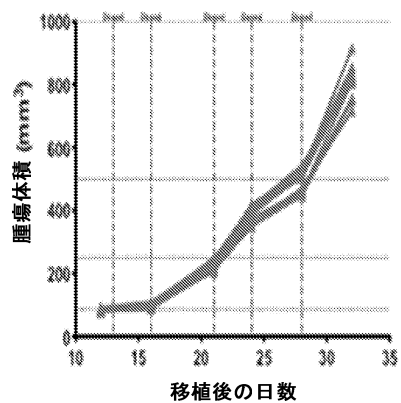
抗 TREM2



10

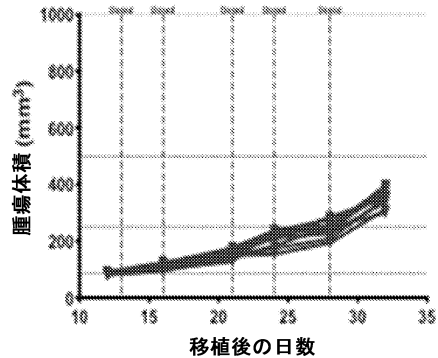
【図 9 D】

抗 PD-1



【図 9 E】

抗 TREM2 + 抗 PD-1



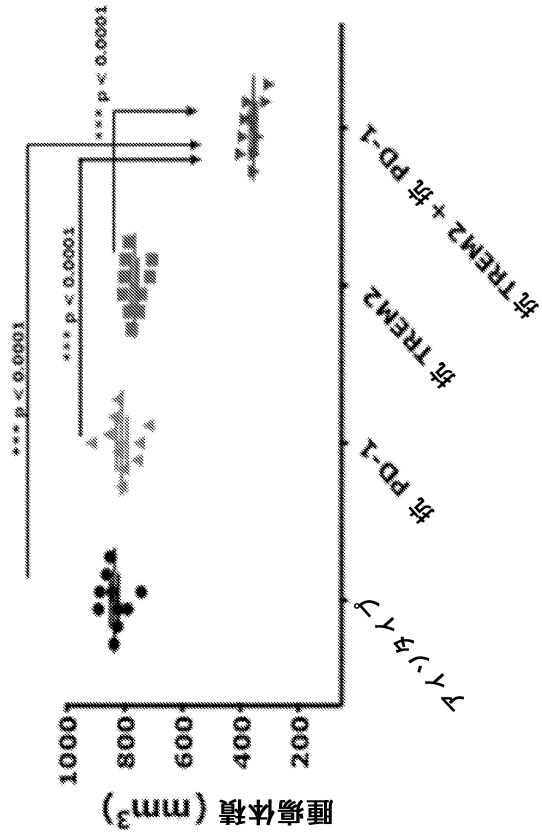
20

30

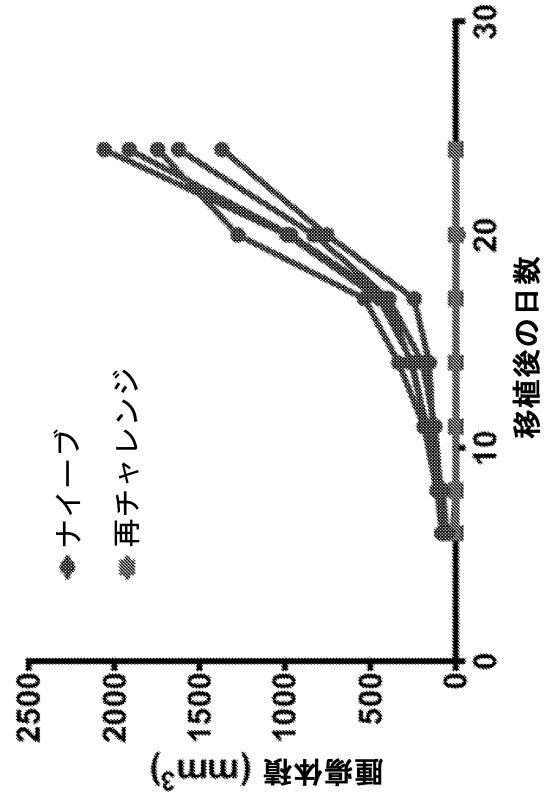
40

50

【図 9 F】



【図 10】



【配列表】

0007311512000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 G 0 1 N 33/574 (2006.01)

F I

C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/08
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 37/06
 A 6 1 P 43/00 1 2 1
 G 0 1 N 33/574 A

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ステューリ ミッシェル

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ タワー プレイス 2
 スイート 8 0 0 ケア オブ パイオニア イミュノセラピューティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 スリラム ベンカタラマン

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ タワー プレイス 2
 スイート 8 0 0 ケア オブ パイオニア イミュノセラピューティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 パル アリトラ

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ タワー プレイス 2
 スイート 8 0 0 ケア オブ パイオニア イミュノセラピューティクス インコーポレイテッド

(72)発明者 プレスタ レオナルド ジー.

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ タワー プレイス 2
 スイート 8 0 0 ケア オブ パイオニア イミュノセラピューティクス インコーポレイテッド

審査官 藤山 純

(56)参考文献 特表 2 0 1 7 - 5 2 3 8 1 4 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 6 / 0 4 9 6 4 1 (W O, A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 1 2 N 1 5 / 1 3
 C 0 7 K 1 6 / 2 8
 C 1 2 N 1 5 / 6 3
 C 1 2 N 1 / 1 5
 C 1 2 N 1 / 1 9
 C 1 2 N 1 / 2 1
 C 1 2 N 5 / 1 0
 C 1 2 P 2 1 / 0 8
 A 6 1 K 3 9 / 3 9 5

A61P 35/00

A61P 37/06

A61P 43/00

G01N 33/574

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (ST
N)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq