(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7023853号
(P7023853)

(45)発行日　令和4年2月22日(2022.2.22)

(24)登録日　令和4年2月14日(2022.2.14)

(51)国際特許分類		FI		
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	ZNA
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z
C12N 1/15 (2006.01)		C12N	1/15	
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19	
C12N 1/21 (2006.01)		C12N	1/21	

請求項の数　20　（全229頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-546004(P2018-546004)
(86)(22)出願日　平成29年3月3日(2017.3.3)
(65)公表番号　特表2019-514347(P2019-514347A)
(43)公表日　令和1年6月6日(2019.6.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/020745
(87)国際公開番号　WO2017/152102
(87)国際公開日　平成29年9月8日(2017.9.8)
審査請求日　令和2年3月3日(2020.3.3)
(31)優先権主張番号　62/304,018
(32)優先日　平成28年3月4日(2016.3.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　517041235
アレクトル エルエルシー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールヴァード １３１， スイート ６００
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　ピンセティック， アンドリュー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールヴァード １５１， スイート ３００
(72)発明者　ローゼンタール， アーノン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＴＲＥＭ１抗体及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体であって、単離された抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性と比較して、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強し、
配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び配列番号２２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、単離された抗体。

【請求項２】

ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体であって、単離された抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性と比較して、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強し、
配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び配列番号２３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、単離された抗体。

【請求項３】

一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合について競合する、請求項１又は２に記載の単離された抗体。
【請求項４】
ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を誘導する、請求項１～３の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項５】
ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化の不在下で、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を誘導する、請求項１、３、又は４に記載の単離された抗体。
【請求項６】
リガンドの不在下で、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を誘導する、請求項１、３、又は４に記載の単離された抗体。
【請求項７】
プレートに結合し、かつ可溶性である場合に、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を誘導する、請求項１、及び３～６の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項８】
樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞からなる群から選択される初代細胞で、又は細胞株で、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する、請求項１～７の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項９】
配列番号１０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号２４９のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ１、配列番号２６１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ２、配列番号２６８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ３、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ４を含む軽鎖可変領域、並びに
配列番号１３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、配列番号２２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号２８５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ１、配列番号２９５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ２、配列番号２９９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ３、及び配列番号３１１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ４を含む重鎖可変領域、を含む、請求項１及び３～８の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項１０】
配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、配列番号２４８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ１、配列番号２６０のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ２、配列番号２７３のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ３、及び配列番号２７６のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ４を含む軽鎖可変領域、並びに
配列番号１３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１６８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、配列番号２３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、配列番号２８７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ１、配列番号２９１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ２、配列番号２９９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ３、及び配列番号３１４のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ４を含む重鎖可変領域、を含む、請求項２～４及び８の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項１１】
抗体が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４アイソタイプである、請求項１～１０の何れか一項に記載の単離された抗体。
【請求項１２】
（ａ）単離された抗体が、ヒトＩｇＧ１アイソタイプを有し、Ｎ２９７Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｄ２７０Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｃ２２６Ｓ、Ｃ２２９Ｓ、Ｅ２３３

Ｐ、Ｌ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ、Ｐ３３１Ｓ、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、Ａ３３０Ｌ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｌ３２８Ｅ、Ｐ２３８Ｄ、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、Ｅ２３３Ｄ、Ｇ２３７Ｄ、Ｈ２６８Ｄ、Ｐ２７１Ｇ、Ａ３３０Ｒ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置で、Ｆｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含むか（残基の番号付けはＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う）、又はグリシン２３６に対応する位置でＦｃ領域中にアミノ酸欠失を含む、

（ｂ）単離された抗体が、ＩｇＧ１アイソタイプを有し、ＩｇＧ２アイソタイプ重鎖定常ドメイン１（ＣＨ１）及びヒンジ領域を含み、任意選択的に、ＩｇＧ２アイソタイプＣＨ１及びヒンジ領域が、ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰ　ＬＡＰＣＳＲＳＴＳＥ　ＳＴＡＡＬＧＣＬＶＫ　ＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ　ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳ　ＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴ　ＶＰＳＳＮＦＧＴＱＴ　ＹＴＣＮＶＤＨＫＰＳ　ＮＴＫＶＤＫＴＶＥＲＫＣＣＶＥＣＰＰＣＰ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含み、任意選択的に、抗体Ｆｃ領域が、Ｓ２６７Ｅアミノ酸置換、Ｌ３２８Ｆアミノ酸置換又は両方、及び／又はＮ２９７Ａ又はＮ２９７Ｑアミノ酸置換を含むか（残基の番号付けはＥＵ番号付けに従う）、

（ｃ）単離された抗体が、ＩｇＧ２アイソタイプを有し、Ｐ２３８Ｓ、Ｖ２３４Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｈ２６８Ａ、Ｈ２６８Ｑ、Ｖ３０９Ｌ、Ａ３３０Ｓ、Ｐ３３１Ｓ、Ｃ２１４Ｓ、Ｃ２３２Ｓ、Ｃ２３３Ｓ、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｈ２６８Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ａ３３０Ｌ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置でＦｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含むか（残基の番号付けはＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う）、

（ｄ）単離された抗体が、ヒトＩｇＧ４アイソタイプを有し、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｓ２２８Ｐ、Ｌ２３６Ｅ、Ｓ２６７Ｅ、Ｅ３１８Ａ、Ｌ３２８Ｆ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｅ２３３Ｐ、Ｆ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ａ／Ｆ２３４Ａ、Ｓ２２８Ｐ、Ｓ２４１Ｐ、Ｌ２４８Ｅ、Ｔ３９４Ｄ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｌ２３５Ｅ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置でＦｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含むか（残基の番号付けはＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う）、或いは

（ｅ）単離された抗体が、ハイブリッドＩｇＧ２／４アイソタイプを有し、任意選択的に、ヒトＩｇＧ２のアミノ酸１１８－２６０及びヒトＩｇＧ４のアミノ酸２６１－４４７を含むアミノ酸配列を含む（残基の番号付けはＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う）、

請求項１１に記載の単離された抗体。

【請求項１３】

請求項１～１２の何れか一項に記載の抗体をコードする核酸配列を含む、単離された核酸。

【請求項１４】

請求項１３に記載の核酸を含むベクター。

【請求項１５】

請求項１３に記載の核酸又は請求項１４に記載のベクターを含む単離された宿主細胞。

【請求項１６】

ＴＲＥＭ１と結合する抗体を産生する方法であって、抗体が産生されるように請求項１５に記載の細胞を培養することを含む方法。

【請求項１７】

細胞によって産生された抗体を回収することをさらに含む、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

治療有効量の、請求項１～１２の何れか一項に記載の抗体を含む医薬。

【請求項１９】

阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する抗体、阻害性サイトカインと特異的に結合する抗体、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合するアゴニスト抗体、刺激性サイトカイン、及び標準的又は治験的抗癌療法から選択される少なくとも一つの追加の治療剤を更に含む、請求項１８に記載の医薬。

【請求項２０】

（ａ）阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する抗体が、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗Ｃ

ＴＬＡ－４抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ４抗体、抗ＨＶＥＭ抗体、抗Ｂ－及びＴ－リンパ球アテニュエータ（ＢＴＬＡ）抗体、抗キラー阻害性受容体（ＫＩＲ）抗体、抗ＧＡＬ９抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗Ａ２ＡＲ抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗ＣＤ２７抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択され、
（ｂ）阻害性サイトカインと特異的に結合する抗体が、抗ＣＣＬ２抗体、抗ＣＳＦ－１抗体、抗ＩＬ－２抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択され、
（ｃ）刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合するアゴニスト抗体が、アゴニスト抗ＣＤ４０抗体、アゴニスト抗ＯＸ４０抗体、アゴニスト抗ＩＣＯＳ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２８抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７／４－１ＢＢ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２７抗体、アゴニスト抗グルココルチコイドによって誘導されるＴＮＦＲ関連タンパク質ＧＩＴＲ抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択され、
（ｄ）刺激性サイトカインが、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ケモカインタンパク質ファミリーのＴＧＦ－βメンバー、ＩＬ２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＴＧＦ－β、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－８、ＩＬ－２３、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＬ－２、ＩＬ－１８、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択され、
（ｅ）標準的及び治験的抗癌療法が、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、ホルモン療法、イマチニブ（Ｇｌｅｅｖｅｃ（登録商標））、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標））、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標））、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、ＭａｂＴｈｅｒａ（登録商標）、Ｚｙｔｕｘ（登録商標））、寒冷療法、焼灼術、ラジオ波焼灼術、養子細胞移入（ＡＣＴ）、キメラ抗原受容体Ｔ細胞移入（ＣＡＲ－Ｔ）、ワクチン療法及びサイトカイン療法からなる群から選択される一又は複数の療法である、
請求項１９に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願とのクロスリファレンス
本出願は、すべての目的のために出典明示によって援用される２０１６年３月４日に出願された米国特許仮出願番号第６２／３０４０１８号の利益を主張する。
【背景技術】
【０００２】
自然免疫系は、好中球、組織マクロファージ、単球、樹状細胞及びＣＮＳミクログリアを含む細胞種の多様なセットからなる。これらの細胞は、適応免疫細胞、Ｔ及びＢ細胞と比較して比較的原始的な免疫系としてその役割について最も知られている。自然免疫細胞、特に、好中球は、通常、感染部位又は炎症部位に到達する最初の細胞である。組織マクロファージ、樹状細胞及びＣＮＳミクログリアなどの自然免疫細胞の別の重要な態様は、病原体及び危険に対する見張りとして働き、二次的に、好中球などのさらなる自然免疫細胞並びに適応免疫細胞を補充する。自然免疫系細胞、とりわけ、樹状細胞の第３の重大な機能は、幾分かは、専門の抗原提示細胞として、幾分かはサイトカイン及びケモカインを含むメディエーターを介して適応免疫系を調節することである。自然免疫細胞はまた、修復及び治癒に向けた又は炎症及び破壊に向けた分裂組織において、これらの因子及び細胞表面シグナルを介して重要な役割を果たす。マクロファージなどの自然免疫細胞は、Ｍ１様炎症性又はＭ２様修復促進表現型の何れかにむけて極性化されているとして記載されることが多いが、これらの細胞は、より大きな程度の多様性を示すという認識がますます増えている。
【０００３】
自然免疫細胞は、病原体－又は危険－と関連する分子パターン（ＰＡＭＰ又はＤＡＭＰ）の自己認識及び必要に応じて炎症性抗菌反応の開始を可能にする、多数の細胞表面受容体

及び細胞内感覚性分子を発現する。進化上保存された自然免疫受容体のファミリー、いわゆる、ミエロイド細胞に発現するトリガー受容体（ＴＲＥＭ）は、同定され、特徴付けられている。ＴＲＥＭは、受容体の免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーに属し、阻害性及び活性化受容体ファミリーメンバーの両方を含有する（Allcock、Barrow等、European Journal of Immunology、p567-577;2003年）（Ford及びMcVicar、Current Opinion in Immunology、p38-46;2009年）（Klesney-Tait、Turnbull等、Nat Immunol、p1266-1273;2006年）。かなり遍在性に発現されるＴＬＲ及びＮＯＤ様受容体とは対照的に、ＴＲＥＭの発現は、ミエロイド系統の細胞に限定されて現れる（Bouchon、Dietrich等、Ｊ Immunol、p4991-4995;2000年）。さらに、ＴＲＥＭは、ＴＬＲ－及びＮＯＤ－誘導性シグナルを統合し、強力に調節するその能力に基づいて、炎症反応のイニシエーターではなく主に微調整するものとして作用すると思われる（Arts、Joosten等、Journal of Leukocyte Biology、p209-215;2012年）。

【０００４】

ミエロイド細胞に発現するトリガー受容体－１（ＴＲＥＭ－１、本明細書においてＴＲＥＭ１とも呼ばれる）は、ＴＲＥＭファミリーの最初に同定され、最良に特徴付けられた受容体であり、主に活性化機能を有する（（Weber、Schuster等、PLoS Pathog、e1003900;2014）。ＴＲＥＭ－１は、単一Ｉｇ　Ｖ型ドメインから構成されるエクトドメイン、膜貫通領域及びシグナル伝達のためのＤＮＡＸ－活性化タンパク質１２（ＤＡＰ１２）を補充する短い細胞質テールからなる（Bouchon、Dietrich等、Ｊ Immunol、p4991-4995;2000年、Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）。ＴＲＥＭ－１は、好中球で、並びに単球及びマクロファージのサブセットで構成的に発現され、ＴＲＥＭ－１発現は、微生物産物に対する細胞の曝露の際にさらに上方制御される（Bouchon、Dietrich等、Ｊ Immunol、p4991-4995;2000年）。ＴＲＥＭ－１の、アゴニスト抗体単独との架橋は、中程度の細胞活性化のみを誘導するのに対し、ＴＲＥＭ－１は、酸化バーストの相当な増幅並びにＴＮＦ、ＩＬ－１β、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＭＣＰ－１及びＭｉｐ－１αなどの炎症促進性メディエーターの生成のために、それぞれのＴＬＲリガンドと強力に協力する（Bouchon、Dietrich等、Ｊ Immunol、p4991-4995;2000年）（Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）（Radsak、Salih等、The Journal of Immunology、p4956-4963;2004年）。以下に詳述されるようなヒト遺伝学的証拠及び疾患モデル研究は、ＴＲＥＭ－１をヒト疾患と具体的に関連付ける。

【０００５】

ｉｎ　ｖｉｖｏでは、ＴＲＥＭ－１の役割は、ＴＲＥＭ－１シグナル伝達の遮断が相当な保護を与えた、内毒素誘導性ショック又は微生物性敗血症の実験モデルにおいて大部分は特徴付けられている（Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）（Gibot、Journal of Experimental Medicine、p1419-1426;2004年、Gibot、Annals of Internal Medicine、9;2004年）。ＴＲＥＭ－１分子の可溶性形態、小さい推定ペプチド遮断薬（ＬＰ１７）又はＴＲＥＭ－１の発現を阻害するｓｉＲＮＡはすべて、ＴＲＥＭ－１シグナル伝達を低減するために動物研究において使用されている。リポ多糖類誘導性内毒素血症の研究に適用された３種の方法はすべて、ＴＲＥＭ－１シグナル伝達及び全身サイトカイン生成を減少させ、その結果、動物の生存を改善したと報告された（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）（Gibot、Journal of Experimental Medicine、p1419-1426;2004年）（Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）。

【０００６】

炎症、ホメオスタシス及び疾患におけるＴＲＥＭ－１の役割を調べるために、Ｗｅｂｅｒ等（Weber、Schuster等、PLoS Pathog、e1003900;2014年）は、エクソン２の標的化欠失によってＴＲＥＭ－１欠損（ＴＲＥＭ１－／－）マウスを作製した。実験的大腸炎から森林型熱帯リーシュマニア（Ｌｅｉｓｈｍａｎｉａ　ｍａｊｏｒ）、インフルエンザウイルス及びレジオネラ・ニューモフィラ（Ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ　ｐｎｅｕｍｏｐｈｉｌａ）による感染症の範囲のそれぞれの炎症及び感染モデルを使用して、彼らは、ＴＲＥ

Ｍ－１が完全にないことが、試験されたモデルにおける微生物制御が損なわれていないままで、罹病率及び免疫媒介性病態を大幅に減弱することを示している。これらの知見は、慢性炎症性障害におけるＴＲＥＭ－１の明確な役割を実証し、感染における限定された役割を示唆する。しかし、これらの知見は、好中球細胞外トラップ（ＮＥＴ）の形成によって（Barletta、Cagnina等、American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine、p1044-1050;2012年）を含む、特定の形態の微生物制御の欠損を示す他の公開された研究によって反論されている（Lin、Tseng等、Infect Immun、p1335-1342;2014年）。

【０００７】

ＴＲＥＭ－１は、非感染性炎症状態においてさらに役割を果たし得る。したがって、ＴＲＥＭ－１の発現はまた、ゴート（gaut）において、又はｉｎ　ｖｉｔｒｏで低酸素細胞培養条件によってみられるように（Bosco、Pierobon等、Blood、p2625-2639;2010年）（Murakami、Akahoshi等、Arthritis & Rheumatism、p455-462;2006年）、非微生物剤、尿酸ナトリウム一水和物結晶（ＭＳＵ）によって誘導され得る。関節リウマチ、急性膵炎、慢性閉塞性肺疾患及び心停止の患者について、増強されたＴＲＥＭ－１レベルが報告されている（Radsak、Taube等、Clinical and Developmental Immunology、p1-7;2007年）Ｙａｓｕｄａ、２００８年　２９番｝（Adib-Conquy、Monchi等、Shock、p406-410;2007年、Collins、La等、Annals of the Rheumatic Diseases、p1768-1774;2008年）。さらに、Ｗｅｂｅｒ等（Weber、Saurer等、European Journal of Immunology、p773-779;2011年）は、ヒト炎症性腸疾患（ＩＢＤ）における、及び大腸炎の動物モデルにおけるＴＲＥＭ－１の関与を記載している（Schenk、Bouchon等、Journal of Clinical Investigation、p3097-3106;2007年、Weber、Saurer等、European Journal of Immunology、p773-779;2011年、Saurer、Rihs等、Journal of Crohn's and Colitis、p913-923;2012年）。

【０００８】

疾患におけるＴＲＥＭ－１の影響に取り組む研究は、これまで、経路の競合阻害剤としての、ＴＲＥＭ－１／Ｉｇ融合タンパク質又はＴＲＥＭ－１の細胞外ドメインの部分を模倣する合成ペプチドの使用にほとんど頼ってきた。これらの阻害性物質は、内毒素誘導性ショック、微生物性敗血症及び動物モデルにおける実験的大腸炎からの保護を与えると報告されている（Schenk、Bouchon等、Journal of Clinical Investigation、p3097-3106;2007年）（Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）。しかし、微生物制御に対するＴＲＥＭ－１阻害剤の影響に関する知見のうちいくつかは、議論を引き起こしていると思われる（Klesney-Tait、Keck等、Journal of Clinical Investigation、p138-149;2012年）（Gibot、Massin等、European Journal of Immunology、p456-466;2007年）（Gibot、Alauzet等、The Journal of Infectious Diseases、p975-983;2006年）（Bouchon、Facchetti等、Nature、p1103-1107;2001年）。

【０００９】

ＴＲＥＭ－１の正確な生理学的機能及び疾患における役割に関する調査は、決定的な基質の欠如によって制限されていることが多かった。ＴＲＥＭ－１の推定リガンドは、実験的腹膜炎及び内毒血症（endotoxaemia）の際にヒト血小板の表面上及びマウス顆粒球上で記載されている（Haselmayer、Grosse-Hovest等、Blood、p1029-1035;2007年、Zanzinger、Schellack等、Immunology、p185-195;2009年）（Gibot、Alauzet等、The Journal of Infectious Diseases、p975-983;2006年）。さらに、壊死性細胞溶解物もまた、ＴＲＥＭ－１依存的に炎症促進性反応を刺激すると思われ、これは、高移動度群ボックス（Ｈｉｇｈ　Ｍｏｂｉｌｉｔｙ　Ｇｒｏｕｐ　Ｂｏｘ）１（ＨＭＧＢ１）タンパク質との会合と関連し得る（El Mezayen、El Gazzar等、Immunology Letters、p36-44;2007年）（Wu、Li等、Cancer Res、p3977-3986;2012年）。

【００１０】

炎症性シグナル伝達カスケード及びミエロイド細胞によるサイトカイン／ケモカイン産生を誘発すると考えられる、壊死性細胞によって放出される物質として、高移動度群ボック

ス１（ＨＭＧＢ１）及び熱ショックタンパク質７０（ＨＳＰ７０）などのＴＲＥＭ－１潜在的リガンドが挙げられる（El Mezayen、El Gazzar等、Immunology Letters、p36-44;2007年）。ＴＲＥＭ－１及びＨＭＧＢ１分子間の結合は、Ｗｕ等によってＳＰＲによって分析されている（Wu、Li等、Cancer Res、p39773986;2012年）。２種のタンパク質のＢＩＡｃｏｒｅセンソグラムは、これらのタンパク質の、チップ上の固定化されたＨＭＧＢ１との結合を示す応答単位（ＲＵ）の迅速な増大と、それに続く、洗浄の際の結合分子の喪失に起因するＲＵの減少を示した（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）。ＲＡＧＥ及びＴＲＥＭ－１の、ＨＭＧＢ１との結合は、濃度依存的であった。親和性定数、Ｋｄは、ＳＰＲ技術によって決定され、それぞれ、ＲＡＧＥ及びＨＭＧＢ１についてＫｄ　０．２ｍｍｏｌ／Ｌであり、ＴＲＥＭ－１及びＨＭＧＢ１についてＫｄ　３５．４ｍｍｏｌ／Ｌであるとわかった（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）。したがって、このリガンド候補との結合は、比較的低い親和性のものと思われる。

【００１１】

ＴＲＥＭ－１シグナル伝達に関与する別の分子リガンドは、ＴＲＥＭ－１の内因性リガンドが、細菌又はＴＬＲリガンド（ＴＬＲＬ）によって活性化された好中球上に存在することを示唆したＧｉｂｏｔ等によるこれまでの研究（Gibot、Buonsanti等、Infect Immun、p2823-2830;2006年）に基づいて、Ｒｅａｄ等によって記載された（Read、Kuijper等、Ｊ Immunol、p1417-1421;2015年）。癌と炎症の間の関係性は、多面的と思われる。したがって、炎症は、腫瘍の開始を促進し得るが、炎症はまた、定着腫瘍に対する抗腫瘍チェックポイント免疫応答を促進し得る。一部の自然免疫ミエロイド細胞は、ミエロイド由来サプレッサー細胞などの抗炎症性表現型に極性化された場合に、腫瘍成長を支持すると考えられるが、樹状細胞などのその他のミエロイド細胞は、細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）による抗腫瘍免疫応答との関連で、Ｔ細胞に対する腫瘍抗原の提示において重大な役割を果たす。実験的及び臨床的証拠は、慢性炎症が、腫瘍細胞を引き起こす最初の遺伝子変更に好都合な、腫瘍が進行し、転移することを可能にする組織微小環境を確立することによって腫瘍プロモーターとして作用する、発癌の複数の態様を促進し得ることを示唆する（Wuより（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年））（Trinchieri、F1000 Med Rep、2011、Trinchieri、Annual Review of Immunology、p677-706;2012年）（Borrello、Degl'Innocenti等、Cancer Letters、p262-270;2008年）（Kuraishy、Karin等、Immunity、p467-477;2011年）。マウスにおけるＴＲＥＭ１のマウス相同体の欠失は、ジエチルニトロソアミン（ＤＥＮ）によって引き起こされる肝細胞性発癌を減弱した。２週齢のＷＴの雄のマウスへのＤＥＮの単回注射は、８ヶ月内にα－フェトプロテイン（ＡＦＰ）発現性肝細胞癌腫（ＨＣＣ）の誘導をもたらし（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）、その多くは、明らかな新血管形成を伴い大きかった。ＷＴマウスとは異なり、同一齢のＤＥＮを施されたＴＲＥＭ１－／－雄マウスは、８ヶ月で腫瘍がなかった。１４ヶ月で、ＴＲＥＭ１－／－マウスのうち４％のみが、小さいＨＣＣを発生したが、その時点ですべてのＷＴマウスが、多数の通常のＨＣＣを発生した（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）。これらのデータは、ＤＥＮ投与に応じた効率的なＨＣＣ誘導は、ＴＲＥＭ１を必要とすることを示す。

【００１２】

ＴＲＥＭ－１は、ＤＥＮによる肝臓損傷の開始にとって必須であるとわかり、ＴＲＥＭ１欠損マウスは、ＨＣＣ発生の初期段階の間にＷＴマウスよりも少ない肝臓損傷しか示さなかった。統合すると、データは、ＴＲＥＭ１は、通常、腫瘍発生につながるクッパー細胞のＤＥＮ媒介性炎症性活性化において役割を果たすということを示唆する（Wu、Li等、Cancer Research、p3977-3986;2012年）。癌細胞は患者マクロファージにおいてＴＲＥＭ－１発現を直接上方制御することができ、腫瘍関連マクロファージにおけるＴＲＥＭ－１発現は、非小細胞肺癌を有する患者の癌再発及び生存不良と関連していることが示されている（Ho、Liao等、Am Ｊ Respir Crit Care Med、p763-770;2008年）。Ｙｕａ

ｎ等（Yuan、Mehta等、PLoS One、e94241;2014年）には、ＴＲＥＭ１抗体が記載されている（米国特許第９０００１２７　Ｂ２号）（Arts、Joosten等、Eur Cytokine Netw、p11-14;2011年）。しかし、溶液中でＴＲＥＭ１を活性化するアゴニスト抗体及び／又はＴＲＥＭ１リガンドと協力する抗体は、記載されていない。このような抗体は、炎症性極性化のミエロイド細胞促進の増大が有益であると予想される癌並びに不十分なＴＲＥＭ１及び／又はＤＡＰ１２シグナル伝達が関連付けられている前頭側頭型認知症及びアルツハイマー病などの疾患を治療するために、使用され得る。

【００１３】

さらに、リガンド遮断とは独立に、ＴＲＥＭ１機能を非競合的に遮断するアンタゴニスト抗体も、ＴＲＥＭ１上の複数部位との結合によってＴＲＥＭ１機能を遮断するアンタゴニスト抗体も報告されていない。このような抗体は、敗血症、関節リウマチ又は変形性関節症、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症又はその他などの過剰なミエロイド細胞活性化又は生存が病原性である複数の炎症性障害を治療するために、使用され得る。さらに、炎症性段階の神経変性性疾患は、ＴＲＥＭ－１の保護的役割にもかかわらず、逆説的にＴＲＥＭ－１シグナル伝達の低減から恩恵を受けると予測される。最後に、ＴＲＥＭ－１発現性腫瘍、又はミエロイド由来サプレッサー細胞によって浸潤された細胞などとのいくつかの関連で、ＴＲＥＭ－１の遮断は、腫瘍生存を低減することによって、及び抗腫瘍免疫を増強することによって保護的であり得る。

【００１４】

特許出願及び刊行物を含む、本明細書において引用されるすべての参考文献は、その全文が本明細書において出典明示により援用される。

【発明の概要】

【００１５】

この節は、本開示の特定の態様の概要を提供する。本発明は、この概要に記載される具体的な態様又は具体的な実施態様に制限されない。

【００１６】

本開示は、概して、ＴＲＥＭ１タンパク質、例えば、哺乳動物ＴＲＥＭ１又はヒトＴＲＥＭ１と特異的に結合する抗体、例えば、モノクローナル、キメラ、ヒト化抗体、抗体断片などを含む組成物及びこのような組成物を使用する方法を対象とする。本開示の抗体は、アゴニスト、アンタゴニスト又は不活性抗体を含み得る。本明細書において提供される方法は、本明細書において記載される障害又は疾患を有するリスクの防止、低減又は本明細書において記載される障害又は疾患を有する個体の治療において使用を見出す。本明細書において提供される方法はまた、それを必要とする個体における一又は複数の免疫細胞の生存、成熟、機能性、遊走又は増殖の誘導又は促進において使用を見出す。本明細書において提供される方法は、それを必要とする個体における、制御性Ｔ細胞、腫瘍が埋め込まれた免疫サプレッサー樹状細胞、腫瘍が埋め込まれた免疫サプレッサーマクロファージ、好中球、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、ＮＫ細胞、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）細胞、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）細胞又は慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）細胞の活性、機能性又は生存の低減においてさらに使用を見出す。

【００１７】

ＡＭＬ細胞などの腫瘍細胞がＴＲＥＭ１を発現する例では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、癌の治療において使用を見出す。いくつかの実施態様では、ＡＭＬなどの癌を標的とし、阻害するために、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を示す抗体を含む抗ＴＲＥＭ１抗体及び／又はＴＲＥＭ１抗体薬物コンジュゲートが使用され得る。

【００１８】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の１つのクラスは、例えば、ヒト一次免疫細胞及びＴＲＥＭ１発現性細胞株上で一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導するアゴニスト抗体に関する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと組み合わせた場合に、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結

合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、このようなアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合と競合せずに、そうでなければ、それを遮断せずに、リガンド誘導性ＴＲＥＭ１活性を増強し得ることが有利である。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、抗体がクラスター化しているか、溶液中にあるかに関わらず、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を活性化及び／又は増強し得る。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、二次抗体によって、Ｆｃ受容体によって、又はプレートとの結合によってクラスター化される必要なく、溶液中のＴＲＥＭ１を活性化し得る。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ｉｎ　ｖｉｖｏで作用の治療的部位で、抗体クラスター化の機序が存在するか否かに関わらず、ＴＲＥＭ１を活性化し得る。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１を発現する免疫細胞が、それらが治療効力のために必要とされる位置において主に作用し、その生理学的標的と相互作用可能となることを確実にし得る。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１活性を低減する遺伝子突然変異を有する場合に観察されるものと同様の疾患のリスクの増大につながるＴＲＥＭ１活性を遮断しない。

【００１９】

特定の態様では、本開示は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、これでは、抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する。いくつかの実施態様では、抗体は、単離抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性と比較して、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。前記の実施態様の何れかと組み合わされ得るいくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合を遮断せずに、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。前記の実施態様の何れかと組み合わされ得るいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合について、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと競合しない。前記の実施態様の何れかと組み合わされ得るいくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合を増強する。

【００２０】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合について、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと競合する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、本明細書において記載されるような一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。

【００２１】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと協力して、本明細書において記載されるような一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化の不在下で一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化を誘導又は保持することによって、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数の免疫細胞上で発現されるＦｃ－γ受容体によってクラスター化される。いくつかの実施態様では、抗体は、本明細書において記載されたような、例えば、本明細書において記載されるような置換又は修飾を有するＦｃ領域を有する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、一又は複数の免疫細胞は、Ｂ細胞又はミクログリア細胞である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、樹状

細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞からなる群から選択される初代細胞で、又は細胞株で測定され、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して測定される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、可溶性ＴＲＥＭ１のレベルを高め、可溶性ＴＲＥＭ１の半減期を増大し、又は両方である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、可溶性ＴＲＥＭ１のレベルは、ＴＲＥＭ１の血清レベル、ＴＲＥＭ１の脳脊髄液（ＣＳＦ）レベル、ＴＲＥＭ１の組織レベル及びそれらの何れかの組合せからなる群から選択される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数の細胞においてＴＲＥＭ１のレベルを低下させる。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを低下させ、ＴＲＥＭ１の細胞内レベルを低下させ、ＴＲＥＭ１の総レベルを低下させる、又はそれらの何れかの組合せ。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１分解、ＴＲＥＭ１切断、ＴＲＥＭ１内部移行、ＴＲＥＭ１シェディング、ＴＲＥＭ１発現の下方制御又はそれらの任意の組合せを誘導する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、一又は複数の細胞におけるＴＲＥＭ１のレベルは、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞からなる群から選択される初代細胞において、又は細胞株で測定され、ＴＲＥＭ１の細胞レベルは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して測定される。

【００２２】

抗体のさらなるクラスは、その立体配置又はクラスターを形成するその能力に関わらず、ＴＲＥＭ１と特異的に結合し、ＴＲＥＭ１を阻害し、ＴＲＥＭ１を活性化しないアンタゴニスト抗体に関する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１アンタゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１と結合し、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を低下させ、阻害し、そうでなければ、低減する。いくつかの実施態様では、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞表面上で発現されるＴＲＥＭ１とのリガンド結合を遮断し、そうでなければ、阻害する。

【００２３】

抗体のさらなるクラスは、ＴＲＥＭ１と特異的に結合する不活性抗体に関し、ＴＲＥＭ１機能を調節しない（例えば、低下させる／阻害する又は活性化する／誘導する）。

【００２４】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、本明細書において記載される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を阻害する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１と一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドとの間の相互作用を阻害し、ＴＲＥＭ１シグナル伝達を阻害する、又はその両方である。

【００２５】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、Ｆｃ－γ受容体（ＦｃγＲ）と結合できない。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４アイソタイプを有する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、（ａ）抗体は、ヒト又はマウスＩｇＧ１アイソタイプを有し、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ｄ２７０Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｃ２２６Ｓ、Ｃ２２９Ｓ、Ｐ２３８Ｓ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ｖ、Ｐ２３８Ａ、Ａ３２７Ｑ、Ａ３２７Ｇ、Ｐ３２９Ａ、Ｋ３２２Ａ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ、Ｐ３３１Ｓ、Ｔ３９４Ｄ、Ａ３３０Ｌ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｌ３２８Ｅ、Ｐ２３８Ｄ、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、Ｅ２３３Ｄ、Ｇ２３７Ｄ、Ｈ２６８Ｄ、Ｐ２７１Ｇ、Ａ３３０Ｒ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置で、Ｆｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含み、残基の番号付けは、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従うか、又はグリシン２３６に対応する位置で

Ｆｃ領域中にアミノ酸欠失を含み、（ｂ）抗体は、ＩｇＧ２アイソタイプを有し、Ｐ２３８Ｓ、Ｖ２３４Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｈ２６８Ａ、Ｈ２６８Ｑ、Ｈ２６８Ｅ、Ｖ３０９Ｌ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ａ３３０Ｓ、Ｐ３３１Ｓ、Ｃ２３２Ｓ、Ｃ２３３Ｓ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置で、Ｆｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含み、残基の番号付けは、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従い、又は（ｃ）抗体は、ＩｇＧ４アイソタイプを有し、Ｅ２３３Ｐ、Ｆ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ａ／Ｆ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｅ３１８Ａ、Ｓ２２８Ｐ、Ｌ２３６Ｅ、Ｓ２４１Ｐ、Ｌ２４８Ｅ、Ｔ３９４Ｄ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される残基位置で、Ｆｃ領域中に一又は複数のアミノ酸置換を含み、残基の番号付けは、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、（ａ）Ｆｃ領域は、Ａ３３０Ｌ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ、Ｐ３３１Ｓ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される位置に一又は複数のさらなるアミノ酸置換をさらに含み、残基の番号付けは、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従い、（ｂ）Ｆｃ領域は、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ，Ｔ２５６Ｅ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される位置に一又は複数のさらなるアミノ酸置換をさらに含み、残基の番号付けは、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従い、又は（ｃ）Ｆｃ領域は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従う、Ｓ２２８Ｐアミノ酸置換をさらに含む。

【００２６】

その実施態様を前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよい本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、ｉ．配列番号１のアミノ酸残基２１－２０５又は配列番号１のアミノ酸残基２１－２０５に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｉｉ．配列番号１のアミノ酸残基２６－１３４又は配列番号１のアミノ酸残基２６－１３４に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｉｉｉ．配列番号１のアミノ酸残基４５－５４又は配列番号１のアミノ酸残基４５－５４に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｉｖ．配列番号１のアミノ酸残基７０－７９又は配列番号１のアミノ酸残基７０－７９に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｖ．配列番号１のアミノ酸残基８９－９７又は配列番号１のアミノ酸残基８９－９７に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｖｉ．配列番号１のアミノ酸残基１１９－１２５又は配列番号１のアミノ酸残基１１９－１２５に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｖｉｉ．配列番号１のアミノ酸残基８３－９０又は配列番号１のアミノ酸残基８３－９０に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｖｉｉｉ．配列番号１のアミノ酸残基１９１－２０１又は配列番号１のアミノ酸残基１９１－２０１に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基、ｉｘ．配列番号１のアミノ酸残基１１６－１２５又は配列番号１のアミノ酸残基１１６－１２５に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基からなる群から選択されるアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。

【００２７】

本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０からなる群から選択される、又はＴ１－１－Ｔ１－２５若しくはＴ１－３３－Ｔ１－８０からなる群から選択される一又は複数の抗体と競合する。

【００２８】

その実施態様を何れかと組み合わせてもよい本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメイン又は両方が、Ｔ１－１－Ｔ１－８０からなる群から選択される、又はＴ１－１－Ｔ１－２５若しくはＴ１－３３－Ｔ１－８０からなる群から選択されるモノクローナル抗体のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、ＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ又は６つのＨＶＲを含む。

【００２９】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、（ａ）ＨＶＲ－Ｌ１は、配列番号９－２７からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、（ｂ）ＨＶＲ－Ｌ２は、配列番号２８－４０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、（ｃ）ＨＶＲ－Ｌ３は、配列番号４１－１１９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、（ｄ）ＨＶＲ－Ｈ１は、配列番号１２０－１４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、（ｅ）ＨＶＲ－Ｈ２は、配列番号１４４－１７２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、又は（ｆ）ＨＶＲ－Ｈ３は、配列番号１７３－２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、軽鎖可変ドメインは、（ａ）配列番号９－２７からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号９－２７からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８－４０からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号２８－４０からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２及び（ｃ）配列番号４１－１１９からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号４１－１１９からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３を含み、重鎖可変ドメインは、（ａ）配列番号１２０－１４３からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１２０－１４３からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４４－１７２からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１４４－１７２からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２及び（ｃ）配列番号１７３－２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１７３－２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【００３０】

本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、配列番号３１６－３９５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン及び／又は配列番号３９６－４７５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【００３１】

本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０からなる群から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５若しくはＴ１－３３－Ｔ１－８０からなる群から選択されるモノクローナル抗体の軽鎖可変ドメイン及び／又はＴ１－１－Ｔ１－８０からなる群から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５若しくはＴ１－３３－Ｔ１－８０からなる群から選択されるモノクローナル抗体の重鎖可変ドメインを含む。

【００３２】

本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０からなる群から選択される、又はＴ１－１－Ｔ１－２５若しくはＴ１－３３－Ｔ１－８０からなる群から選択されるモノクローナル抗体と本質的に同一のＴＲＥＭ１エピトープと結合する。

【００３３】

本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関し、抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、（ａ）配列番号１２０－１４３からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１２０－１４３からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４４－１７２からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１４４－１７２からなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１７３－２４７からなる群から選択されるアミノ酸配列又は配列番号１７３－２４７か

らなる群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【００３４】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質は、哺乳動物タンパク質又はヒトタンパク質である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質は、野生型タンパク質である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質は、天然に存在する変異体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質は、疾患変異体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質は、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト破骨細胞、ヒトの皮膚のランゲルハンス細胞、ヒトクッパー細胞、ヒトミクログリア及びそれらの任意の組合せで発現される。

【００３５】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ヒトＴＲＥＭ１、ヒトＴＲＥＭ１の天然に存在する変異体及びヒトＴＲＥＭ１の疾患変異体からなる群から選択される一又は複数のヒトタンパク質と結合する抗体断片であり、任意選択的に、抗体断片は、ヒトＴＲＥＭ１、ヒトＴＲＥＭ１の天然に存在する変異体及びヒトＴＲＥＭ１の疾患変異体からなる群から選択される一又は複数のヒトタンパク質と結合する第２の抗体断片と架橋される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ又はｓｃＦｖ断片である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、マウス抗体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ヒト化抗体、二重特異性抗体、多価抗体、コンジュゲート抗体又はキメラ抗体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、モノクローナル抗体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、第１の抗原及び第２の抗原を認識する二重特異性抗体である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、第１の抗原は、ヒトＴＲＥＭ１又はその天然に存在する変異体であり、第２の抗原は、（ａ）血液脳関門を越える輸送を促進する抗原、（ｂ）トランスフェリン受容体（ＴＲ）、インスリン受容体（ＨＩＲ）、インスリン様成長因子受容体（ＩＧＦＲ）、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質１及び２（ＬＰＲ－１及び２）、ジフテリア毒素受容体、ＣＲＭ１９７、ラマ単一ドメイン抗体、ＴＭＥＭ３０（Ａ）、タンパク質形質導入ドメイン、ＴＡＴ、Ｓｙｎ－Ｂ、ペネトラチン、ポリアルギニンペプチド、アンジオペプチド及びＡＮＧ１００５からなる群から選択される、血液脳関門を越える輸送を促進する抗原、（ｃ）疾患を引き起こすペプチド若しくはタンパク質又は疾患を引き起こす核酸からなる群から選択される疾患を引き起こす物質であって、疾患を引き起こす核酸が、アンチセンスＧＧＣＣＣＣ（Ｇ２Ｃ４）リピート増大ＲＮＡであり、疾患を引き起こすタンパク質が、アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、ｃ９ＲＡＮタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタキシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン（ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リ

ピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチドからなる群から選択される疾患を引き起こす物質、（ｄ）免疫細胞上で発現されるリガンド及び／又はタンパク質であって、ＣＤ４０、ＯＸ４０、ＩＣＯＳ、ＣＤ２８、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ及びホスファチジルセリンからなる群から選択されるリガンド及び／又はタンパク質並びに（ｅ）一又は複数の腫瘍細胞上で発現されるタンパク質、脂質、多糖又は糖脂質である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、疾患を引き起こすペプチド、疾患を引き起こすタンパク質、アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質若しくはその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタキシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン（ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチド及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される疾患を引き起こす物質と特異的に結合する一若しくは複数の抗体と組み合わせて、又はＣＤ４０、ＯＸ４０、ＩＣＯＳ、ＣＤ２８、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ－３、ＴＲＥＭ１、ＴＲＥＭ１、ＣＤ３３、Ｓｉｇｌｅｃ－５、Ｓｉｇｌｅｃ－９、Ｓｉｇｌｅｃ－１１、ホスファチジルセリン、疾患を引き起こす核酸、アンチセンスＧＧＣＣＣＣ（Ｇ２Ｃ４）リピート増大ＲＮＡ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される免疫調節性タンパク質と結合する一若しくは複数の抗体と組み合わせて使用される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、個体に投与された場合に、記憶を増大し、認知欠損を低減し、又は両方である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、ヒトＴＲＥＭ１及びマウスＴＲＥＭ１の両方と特異的に結合する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、約１２．８ｎＭ－約１．２ｎＭ又は１．２ｎＭ未満の範囲の、ヒトＴＲＥＭ１及びマウスＴＲＥＭ１に対する解離定数（K_D）を有する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、約１２．８ｎＭ－約２．９ｎＭ又は２．９ｎＭ未満の範囲の、ヒトＴＲＥＭ１に対する解離定数（K_D）を有する。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、抗体は、約１０．４ｎＭ－約１．２ｎＭ又は１．２ｎＭ未満の範囲の、マウスＴＲＥＭ１に対する解離定数（K_D）を有する。

【００３６】

本開示のその他の態様は、前記の請求項の何れか一項に記載の抗体をコードする核酸配列を含む単離された核酸に関する。本開示のその他の態様は、前記の実施態様の何れかの核酸を含むベクターに関する。本開示のその他の態様は、前記の実施態様の何れかのベクターを含む単離された宿主細胞に関する。本開示のその他の態様は、ＴＲＥＭ１と結合する抗体を産生する方法であって、抗体が産生されるように前記の実施態様の何れかの宿主細胞を培養することを含む方法に関する。いくつかの実施態様では、細胞によって産生された抗体を回収することをさらに含む方法。本開示のその他の態様は、前記の実施態様の何れかの方法によって産生された、ＴＲＥＭ１と結合する単離された抗体に関する。本開示

のその他の態様は、前記の実施態様の何れかの抗体及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物に関する。

【００３７】

本開示のその他の態様は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、アテローム性動脈硬化症、パジェット骨病、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫及び神経膠芽腫、子宮頸癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）感染、ドノバンリーシュマニア（Ｌｅｉｓｈｍａｎｉａ ｄｏｎｏｖａｎｉ）感染、群Ｂストレプトコッカス属（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ）感染、カンピロバクター・ジェジュニ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ）感染、髄膜炎菌（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｄｉｔｉｓ）感染、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａ）からなる群から選択される疾患、障害又は損傷を有するリスクを防止、低減する、又はそれを有する個体を治療する方法であって、それを必要とする個体に、治療有効量の、本明細書において記載されるようなＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体を投与することを含む方法に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００３８】

本開示のその他の態様は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、アテローム性動脈硬化症、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、パジェット骨病、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌感染、ドノバンリーシュマニア感染、群Ｂストレプトコッカス属感染、カンピロバクター・ジェジュニ感染、髄膜炎菌感染

、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌からなる群から選択される疾患、障害又は損傷を有するリスクの防止、低減又はそれを有する個体の治療において使用するための本明細書において記載さるようなＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００３９】

本開示のその他の態様は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、パジェット骨病、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌感染、ドノバンリーシュマニア感染、群Ｂストレプトコッカス属感染、カンピロバクター・ジェジュニ感染、髄膜炎菌感染、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌からなる群から選択される疾患、障害又は損傷を有するリスクの防止、低減又はそれを有する個体の治療のための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００４０】

前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、方法は、個体に、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体並びに／又は別の標準的及び治験的抗癌療法を投与することをさらに含む。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体が、単離された抗体と組み合わせて投与される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＣＴＬＡ４抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ４抗体及び抗ＨＶＥＭ抗体、抗Ｂ－及びＴ－リンパ球アテニュエータ（ＢＴＬＡ）抗体、抗キラー阻害性受容体（ＫＩＲ）抗体、抗ＧＡＬ９抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗Ａ２ＡＲ抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗ＣＤ２７抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、標準的及び治験的抗癌療法は、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、ホルモン療法、イマチニブ（Ｇｌｅｅｖｅｃ（登録商標））、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標））、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標））、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、ＭａｂＴｈｅｒａ（登録商標）、Ｚｙｔｕｘ（登録商標））、寒冷療法、焼灼術、ラジオ波焼灼術、養子細胞移入（ＡＣＴ）、キメラ抗原受容体Ｔ細胞移入（ＣＡＲ－Ｔ）、ワクチン療法及びサイトカイン療法からなる群から選択される一又は複数の療法である。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、本方法は、個体に、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与することをさらに含む。前記の実

施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＣＣＬ２抗体、抗ＣＳＦ－１抗体、抗ＩＬ－２抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、本方法は、個体に、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体を投与することをさらに含む。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、アゴニスト抗ＣＤ４０抗体、アゴニスト抗ＯＸ４０抗体、アゴニスト抗ＩＣＯＳ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２８抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７／４－１ＢＢ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２７抗体、アゴニスト抗グルココルチコイドによって誘導されるＴＮＦＲ関連タンパク質ＧＩＴＲ抗体及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、本方法は、個体に、少なくとも一つの刺激性サイトカインを投与することをさらに含む。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、少なくとも一つの刺激性サイトカインは、単離された抗体と組み合わせて投与される。前記の実施態様の何れかと組み合わせてもよいいくつかの実施態様では、少なくとも一つの刺激性サイトカインは、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ケモカインタンパク質ファミリーのＴＧＦ－βメンバー、ＩＬ２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＴＧＦ－β、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－８、ＩＬ－２３、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＬ－２、ＩＬ－１８、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。

【００４１】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する方法であって、個体に、治療有効量の、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強することにおいて使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強するための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記実施態様の何れかの抗体である。

【００４２】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体における、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する方法であって、個体に、治療有効量の、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性の誘導において使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導するための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００４３】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する方法であって、個体に、治療有効量の

、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強することにおいて使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体における、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強するための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００４４】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数の細胞でのＴＲＥＭ１のレベルを低下させる方法であって、個体に、治療有効量の、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数の細胞でのＴＲＥＭ１のレベルを低下させることにおいて使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、一又は複数の細胞でのＴＲＥＭ１のレベルを低下させるための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離された抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、前記の実施態様の何れかの抗体である。

【００４５】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、自然免疫細胞生存又は創傷治癒を誘導又は促進する方法であって、個体に、治療有効量の、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、自然免疫細胞生存又は創傷治癒を誘導又は促進することにおいて使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、自然免疫細胞生存又は創傷治癒を誘導又は促進するための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離されたアゴニスト抗体は、前記の実施態様の何れかのアゴニスト抗体である。

【００４６】

本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、記憶を増大し、認知欠損を低減し、又は両方である方法であって、個体に、治療有効量の、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体を投与することを含む方法に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、記憶を増大し、認知欠損を低減すること、又は両方において使用するための、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体に関する。本開示のその他の態様は、それを必要とする個体において、記憶を増大し、認知欠損を低減すること、又は両方のための医薬の製造における、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する単離されたアゴニスト抗体の使用に関する。いくつかの実施態様では、単離されたアゴニスト抗体は、前記の実施態様の何れかのアゴニスト抗体である。

【図面の簡単な説明】

【００４７】

【図１Ａ】２つのタンパク質間の相同性を描写する、ヒトＴＲＥＭ１タンパク質（配列番号４９８）とヒトＮＣＴＲ２タンパク質（配列番号４９９）とのアミノ酸配列アラインメントを示す図である。

【図１Ｂ】２つのタンパク質間の相同性を描写する、ヒトＴＲＥＭ１タンパク質（配列番号５００）とマウスＴＲＥＭ１タンパク質（配列番号５０１）とのアミノ酸配列アラインメントを示す図である。

【図２】２つのタンパク質間の相同性を描写する、ヒトＴＲＥＭ１タンパク質タンパク質（配列番号５０２）とヒトＴＲＥＭ２タンパク質タンパク質（配列番号５０３）とのアミ

ノ酸配列アラインメントを示す図である。
【図３Ａ】組換えヒトＴＲＥＭ１を発現するげっ歯類チャイニーズハムスター卵巣細胞株（ＣＨＯ）と結合するＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１からＴ１－８０のＦＡＣＳヒストグラムを示す図である。
【図３Ｂ】マウスＴＲＥＭ１を発現するＣＨＯ細胞と結合するＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１からＴ１－８０のＦＡＣＳヒストグラムを示す図である。影を付けたヒストグラムは、親のＴＲＥＭ１陰性ＣＨＯ細胞を表す。黒線で描かれたヒストグラムは、ＴＲＥＭ１陽性細胞集団抗体ｍＩｇＧ１、ｍＩｇＧ２Ａを表し、ＩＳＯ８８は、陰性アイソタイプコントロールを表す。抗体ＭＡＢ０１７０、ＲＤｈＴ１、及びＲＤｍＴ１は、陽性コントロールを表す。
【図４Ａ】一次ヒト好中球と結合するＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１からＴ１－８０のＦＡＣＳヒストグラムを示す図である。抗体ＩＳＯ８８は、陰性アイソタイプコントロールを表し、ＭＡＢ０１７０は、陽性コントロールを表す。影を付けたヒストグラムは、抗ヒトＦｃ二次抗体のみで染色された細胞を表す。黒線で描かれたヒストグラムは、ＴＲＥＭ１陽性細胞集団を表す。
【図４Ｂ】一次ヒト単球と結合するＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１からＴ１－８０のＦＡＣＳヒストグラムを示す図である。影を付けたヒストグラムは、アイソタイプ抗体陰性コントロールの結合を示す。黒線で描かれたヒストグラムは、ＴＲＥＭ１抗体の結合を表す。
【図５Ａ－Ｂ】Ａは、示された抗ＴＲＥＭ１抗体に対して定義されたエピトープを強調するヒトＴＲＥＭ１（ＰＤＢ１Ｑ８Ｍ）の構造的なマップを示す図である。アミノ酸領域Ｄ３８－Ｆ４８を、ヒトＴＲＥＭ１の陽性コントロール抗体であるＭＡＢ０１７０の予測されたエピトープとして黒色で示す。Ｂは、示された抗ＴＲＥＭ１抗体に対して定義されたエピトープを強調するヒトＴＲＥＭ１（ＰＤＢ１Ｑ８Ｍ）の構造的なマップを示す図である。アミノ酸領域Ｌ４５－Ａ５４、Ｔ７０－Ｐ７９、Ｄ８９－Ｒ９７、及びＰ１１９－Ｌ１２５を、Ｔ１－５３及びＴ１－６３の予測されたエピトープとして黒色で示す。
【図５Ｃ－Ｄ】Ｃは、示された抗ＴＲＥＭ１抗体に対して定義されたエピトープを強調するヒトＴＲＥＭ１（ＰＤＢ１Ｑ８Ｍ）の構造的なマップを示す図である。アミノ酸領域Ｌ４５－Ａ５４及びＹ１１６－Ｌ１２５を、Ｔ１－１０及びＴ１－６１の予測されたエピトープとして黒色で示す。Ｄは、示された抗ＴＲＥＭ１抗体に対して定義されたエピトープを強調するヒトＴＲＥＭ１（ＰＤＢ１Ｑ８Ｍ）の構造的なマップを示す図である。アミノ酸領域Ｇ８３－Ｙ９０を、Ｔ１－３４、－３９、－６２、－７１、及び－７６の予測されたエピトープとして黒色で示す。
【図６Ａ－Ｂ】Ａは、ヒトＴＲＥＭ１を発現するＣＨＯ細胞（ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１）と結合する組換えＨｉｓタグ付きヒトＰＧＬＹＲＰ１のＦＡＣＳヒストグラムを示す。ＰＧＬＹＲＰ１を、ＰＥで標識した抗ＨＩＳタグ二次抗体を用いて検出した。陰性コントロールとして（影を付けたヒストグラム）、マウスＰＧＬＹＲＰ１を、ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１細胞に添加した。Ｂは、ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１と結合する、枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｕｂｔｉｌｉｓ）から単離したペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＢＳ）又は黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）から単離したペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＳＡ）と複合体化したヒトＰＧＬＹＲＰ１の等高線図を示す。ゲートは、ＰＧＮ－ＢＳとのリガンド複合体の状況で受容体結合に関する結合活性の増加を示すｈｕＰＧＬＹＲＰ１－ｈｉｇｈ　ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１集団のパーセンテージを示す。ＰＧＮ－ＳＡとのリガンド複合体は、ｈｕＰＧＬＹＲＰ１－ｈｉｇｈ　ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１集団のパーセンテージを増加させない。
【図６Ｃ】ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１と結合する、枯草菌から単離したペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＢＳ）又は黄色ブドウ球菌から単離したペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＳＡ）と複合体化したマウスＰＧＬＹＲＰ１の等高線図を示す図である。ゲートは、ｍＰＧＬＹＲＰ１－ｈｉｇｈ　ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１集団のパーセンテージを示す。
【図６Ｄ】抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－４０からＴ１－８０によるＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１細胞と結合する可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体の封鎖を示す図である。ＴＲＥＭ１リガン

ドは、１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳと複合体化した５０ｎＭの組換えＨｉｓタグ付きヒトＰＧＬＹＲＰ１からなる。ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１細胞と結合するＴＲＥＭ１リガンドを、抗ＨＩＳタグＰＥ二次抗体を用いて検出した。抗体ｈｕＩｇＧ１及びｈｕＩｇＧ４は、アイソタイプ陰性コントロールを表し、Ｍａｂ０１７０は、陽性コントロールを表す。結果は、利用可能なＴＲＥＭ１抗体の全セットのうち代表的なものであり、抗ＴＲＥＭ１抗体で処理されたサンプルのＭＦＩ値をアイソタイプコントロールで処理されたサンプルのＭＦＩ値で割ることによる、リガンド結合のパーセントとして描写される。

【図７】細胞ベースのアッセイにおけるヒトＴＲＥＭ１依存性ＧＦＰレポーターの誘導を示す図である。濃度を減少させた、プレートと結合した全長ヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロール、又は抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－７６、－６９、－７２、－７１、－６１、－５９、－４０、－３９、－３４、及び－２２の何れかで細胞を処理した。結果は、バックグラウンドに対する倍率として表される。バックグラウンドレベルは、ｙ軸上で１に設定される。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールである。

【図８Ａ－Ｂ】図８Ａは、細胞ベースのアッセイにおけるヒトＴＲＥＭ１依存性ＧＦＰレポーターの誘導を示す。可溶性全長アイソタイプコントロール又は可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－７８、－７９、－８０、－１２、－４０、－５１、－５２、－６２、－６３、－１６、－２２、及び－３９の何れかで細胞を処理した。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールである。図８Ｂは、細胞ベースのアッセイにおけるヒトＴＲＥＭ１依存性ＧＦＰレポーターの誘導を示す。可溶性全長アイソタイプコントロール又は可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６４からＴ１－７６の何れかで細胞を処理した。結果は、利用可能なＴＲＥＭ１抗体の全セットのうち代表的なものであり、絶対ＭＦＩ値として描写される。

【図８Ｃ】細胞ベースのアッセイにおける、濃度を増加させた可溶性全長抗体Ｔ１－６２及びＴ１－７６、又はアイソタイプコントロールにより誘導されたＧＦＰ発現の用量応答曲線を示す図である。

【図９Ａ】細胞ベースのアッセイにおけるヒトＴＲＥＭ１依存性ＧＦＰレポーターの誘導を示す図である。可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体の存在下で、可溶性全長アイソタイプコントロール又は可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－７８、－７９、－８０、－１２、－４０、－５１、－５２、－６２、－６３、－１６、－２２、及び－３９の何れかで細胞を処理した。ＴＲＥＭ１リガンドは、１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳと複合体化した５０ｎＭのヒトＰＧＬＹＲＰ１（Ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）からなる。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールである。抗体Ｍａｂ０１７０は、陽性コントロールを表す。結果は、利用可能なＴＲＥＭ１抗体の全セットのうち代表的なものであり、絶対ＭＦＩ値として描写される。

【図９Ｂ】レポーター細胞ベースのアッセイにおける、ＴＲＥＭ１リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を増強するアゴニストＴＲＥＭ１抗体の能力を示す図である。組換えヒトＰＧＬＹＲＰ１及びＰＧＮ－ＢＳからなる可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体の存在又は非存在下で、濃度を減少させた抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６２又はＴ１－６３で細胞を処理した。「リガンドなし」サンプルは、抗体又はリガンドで刺激されていない細胞における基底のＧＦＰ発現を表す。結果は、絶対ＭＦＩ値として描写される。

【図９Ｃ】レポーター細胞ベースのアッセイにおける、アゴニスト及びアンタゴニストＴＲＥＭ１抗体の、ＴＲＥＭ１リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を増強する能力又は阻害する能力の何れかを示す図である。ＴＲＥＭ１リガンドは、１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳ又はＰＧＮ－ＳＡで一次ヒト好中球を刺激し、その後、抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１０、－６３、－６２、－６１、－３４、及び－４０の存在又は非存在下でＢＷＺレポーター細胞を共培養することによって供給された。「Ａｂなし」サンプルは、抗体で処理されていないレポーター細胞を表し、それに対して「ｈｕＩｇＧ」サンプルは、ヒトＩｇＧ１アイソタイプ陰性コントロールで処理されたレポーター細胞を表す。

【図９Ｄ】レポーター細胞ベースのアッセイにおける、ＴＲＥＭ１リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を阻害するアンタゴニストＴＲＥＭ１抗体の能力を示す図である。１０μ

ｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＳＡで一次ヒト好中球を刺激することにより、ＴＲＥＭ１リガンドの自然源が提供され、これはその後、濃度を増加させた抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－３４、－２２、－４０、及び－３９と共にＢＷＺレポーター細胞と共培養された。結果は、絶対ＭＦＩ値として描写される。

【図１０Ａ】一次ヒト単球からのＴＲＥＭ１媒介の呼吸バーストを示す図である。プレートと結合した、全長ヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロール又は抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－８、－１０、－１２、－１８、－１９、２１、－３３、－３４、４０、－４３、－６２、－６３、－７１、－７５、－７６、－７７、－７８、－７９、及び－８０で細胞を刺激した。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールである。

【図１０Ｂ】一次ヒト単球からのＴＲＥＭ１媒介の呼吸バーストを示す図である。未処理のままにするか、又はヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロールのプレートと結合したＦａｂ断片、又は抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－８、－１０、－１２、－１６、－２０、２２、－３３、－３４、－３９、－４０、－４１、－４３、－５１、－５２、－５３、－５５、－５７、－６２、－６３、－６９、－７１、－７５、－７６、及び－７７のＦａｂ断片で細胞を刺激した。

【図１０Ｃ】一次ヒト好中球からのＴＲＥＭ１媒介の呼吸バーストを示す図である。可溶性全長ヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロール、又は抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６３、－６２、－７１、－７６、－７７、－３９、－４０、－３４、－１０、－５７、－２２、－５１、－５２、－４５、－４６、－５６、－５９、－６１、－６９、－７２、－７８、及び－７９で細胞を刺激した。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールである。全ての実験において、２μＭの蛍光性インジケーターであるＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡで細胞を標識することによって活性酸素種（ＲＯＳ）の産生をモニターした。

【図１０Ｄ】一次ヒト好中球からの無細胞の細胞外ＤＮＡのＴＲＥＭ１によって媒介される放出を示す図である。可溶性全長ヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロール又は抗ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－６３、－６２、－７１、－７６、－７７、－３９、－４０、－３４、－５７、－５２、－５６、及び－６９で細胞を刺激した。細胞外ＤＮＡを、５μＭの蛍光性インジケーターＳｙｔｏｘ　Ｇｒｅｅｎで上清を染色することによって検出した。

【図１１Ａ】抗体刺激に応答する一次ヒト単球におけるＴＲＥＭ１受容体の下方制御を示す図である。可溶性全長アイソタイプコントロール又はＢｉｎ１カテゴリーからの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体の何れかで細胞を処理し、その後市販のｂｉｎ２抗ＴＲＥＭ１ＡＰＣ抗体（ＴＲＥＭ－２６、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）で染色した。

【図１１Ｂ】抗体刺激に応答する一次好中球におけるＴＲＥＭ１受容体の下方制御を示す図である。可溶性全長アイソタイプコントロール又は可溶性全長Ｂｉｎ１抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－２、－１２、－３３、－３４、－５６、－５７、－７１、－７５、－７６、－７７、及び－８０の何れかで細胞を処理した。抗体ｈｕＩｇＧ１は、アイソタイプ陰性コントロールを表し、Ｍａｂ０１７０は、陽性コントロールを表す。

【図１１Ｃ】Ｂｉｎ２抗体で処理され、その後フルオロフォアがコンジュゲートしたＢｉｎ１抗体であるＭａｂ０１７０で染色された一次単球におけるＴＲＥＭ１受容体の下方制御を示す図である。抗体ｈｕＩｇＧ１及びｈｕＩｇＧ４は、アイソタイプ陰性コントロールを表す。結果は、絶対的な蛍光強度（ＭＦＩ）値の中央値として表される。

【図１２Ａ－Ｂ】図１２Ａは、ＴＲＥＭ１リガンド及びＴｏｌｌ様受容体リガンドの非存在又は存在下で２０時間培養した一次ヒト単球の相対的な生存率を示す。図１２Ｂは、ＴＲＥＭ１リガンド及びＴｏｌｌ様受容体リガンドの非存在又は存在下で２０時間培養した一次ヒト好中球の相対的な生存率を示す。５００ｎＭのヒトＰＧＬＹＲＰ１、１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳ、可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体（５００ｎＭのＰＧＬＹＲＰ１＋１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳ）、又は１μｇ／ｍＬのＬＰＳの何れかで細胞を処理した。ルシフェラーゼベースのアッセイキット（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ；Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造元の説明書に従って使用して、細胞の生存率をＡＴＰの定量によって決定した。

【図１２Ｃ】可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体と共に２０時間培養した一次ヒト好中球の相対的な生存率を増強する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を示す図である。１０μｇ／ｍＬのＰ

ＧＮ－ＢＳ又は可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体（５００ｎＭのＰＧＬＹＲＰ１＋１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳ）の存在下で、ヒトアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）又はＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－３４、－６３、－７１、及び－７６の何れかで細胞を処理するか、又は未処理のままにした。ルシフェラーゼベースのアッセイキット（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ；Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造元の説明書に従って使用して、細胞の生存率をＡＴＰの定量によって決定した。

【図１３】ナイーブマウス又はＥＭＴ－６腫瘍を有するマウスの脾臓（ＳＰＬ）又は腫瘍（Ｔｕｍ）中に存在する示された免疫細胞集団におけるＴＲＥＭ１発現を示す図である。

【図１４】Ａ－Ｃは、例示的なアンタゴニストである本発明の開示の増強及び模倣抗ＴＲＥＭ１抗体の重鎖配列のアラインメントを示す図である。（ＶＨ３－２１＊０１＝配列番号５０４）；（ＡＤＩ－１９０８２＝配列番号５０５）；（ＡＤＩ－１９１１３＝配列番号５０６）；（ＡＤＩ－１９１０８＝配列番号５０７）；（ＡＤＩ－１９１０１＝配列番号５０８）；（ＡＤＩ－１９０８０＝配列番号５０９）；（ＡＤＩ－１９１１４＝配列番号５１０）；（ＶＨ４－０Ｂ＊０１＝配列番号５１１）；（ＡＤＩ－１９１３９＝配列番号５１２）；（ＡＤＩ－１９１３５＝配列番号５１３）；（ＡＤＩ－１９１３６＝配列番号５１４）；（ＡＤＩ－１９１３７＝配列番号５１５）；（ＡＤＩ－１９１５４＝配列番号５１６）；（ＶＨ４－３１＊０１＝配列番号５１７）；（ＡＤＩ－１９０９８＝配列番号５１８）；（ＡＤＩ－１９１３８＝配列番号５１９）；（ＶＨ３－０９＊０１＝配列番号５２０）；（ＡＤＩ－１９０９２＝配列番号５２１）；（ＡＤＩ－１９０８５＝配列番号５２２）；（ＡＤＩ－１９０９０＝配列番号５２３）；（ＡＤＩ－１９１５０＝配列番号５２４）；（ＡＤＩ－１９１４７＝配列番号５２５）；（ＡＤＩ－１９１５２＝配列番号５２６）；（ＡＤＩ－１９１３２＝配列番号５２７）；（ＡＤＩ－１９０８３＝配列番号５２８）；（ＡＤＩ－１９１４８＝配列番号５２９）；（ＡＤＩ－１９１３１＝配列番号５３０）；（ＡＤＩ－１９１５１＝配列番号５３１）；及び（ＡＤＩ－１９１４９＝配列番号５３２）

【図１５】Ａ－Ｊは、本発明の開示の様々な抗ＴＲＥＭ１抗体の重鎖可変領域配列のアラインメントを示す図である。図１５Ａ－１５Ｅは、重鎖配列からＣＤＲ２配列を示し、図１５Ｆ－１５Ｊは、重鎖配列の残りからＦＲ４を示す。（ＶＨ５－５１＊０１＝配列番号５３３）；（ＡＤＩ－１９１４４＝配列番号４６３）；（ＶＨ１－６９＊０１＝配列番号５３４）；（ＡＤＩ－１９０７０＝配列番号３９９）；（ＡＤＩ－１９０６８＝配列番号３９７）；（ＡＤＩ－１９１２９＝配列番号４４９）；（ＡＤＩ－１９０６９＝配列番号３９８）；（ＡＤＩ－１９１２０＝配列番号４４２）；（ＡＤＩ－１９１２６＝配列番号４４６）；（ＡＤＩ－１９０６７＝配列番号３９６）；（ＡＤＩ－１９１２７＝配列番号４４７）；（ＶＨ１－１８＊０１＝配列番号５３５）；（ＡＤＩ－１９１４５＝配列番号４６４）；（ＡＤＩ－１９１４３＝配列番号４６２）；（ＡＤＩ－１９１４６＝配列番号４６５）；（ＶＨ１－０２＊０２＝配列番号５３６）；（ＡＤＩ－１９１４２＝配列番号４６１）；（ＶＨ１－４６＊０１＝配列番号５３７）；（ＡＤＩ－１９０９７＝配列番号４２１）；（ＡＤＩ－１９０７２＝配列番号４０１）；（ＡＤＩ－１９１２１＝配列番号４４３）；（ＡＤＩ－１９１２５＝配列番号４４５）；（ＡＤＩ－１９１２２＝配列番号４４４）；（ＡＤＩ－１９１２８＝配列番号４４８）；（ＡＤＩ－１９０７６＝配列番号４０４）；（ＡＤＩ－１９１１７＝配列番号４３８）；（ＡＤＩ－１９０７３＝配列番号４０２）；（ＡＤＩ－１９１３０＝配列番号４５０）；（ＡＤＩ－１９０７１＝配列番号４００）；（ＡＤＩ－１９１１９＝配列番号４３９）；（ＡＤＩ－１９１２３＝配列番号４４０）；（ＡＤＩ－１９１２４＝配列番号４４１）；（ＡＤＩ－１９０７４＝配列番号４０３）；（ＡＤＩ－１９０７７＝配列番号４０５）；（ＶＨ４－０Ｂ＊０１＝配列番号５３８）；（ＡＤＩ－１９１３９＝配列番号４５８）；（ＡＤＩ－１９１３５＝配列番号４５４）；（ＡＤＩ－１９１３６＝配列番号４５５）；（ＡＤＩ－１９１３７＝配列番号４５６）；（ＡＤＩ－１９１５４＝配列番号４７２）；（ＶＨ４－５９＊０１＝配列番号５３９）；（ＡＤＩ－１９０８４＝配列番号４１２）；（ＡＤＩ－１９０８９＝配列番号４１７）；（ＶＨ４－３１＊０１＝配列番号５４０）；（ＡＤＩ－１９０９８＝配列番号

４２２）；（ＡＤＩ－１９１３８＝配列番号４５７）；（ＶＨ４－３９＊０１＝配列番号５４１）；（ＡＤＩ－１９１０２＝配列番号４２４）；（ＡＤＩ－１９１０４＝配列番号４２６）；（ＡＤＩ－１９１４０＝配列番号４５９）；（ＡＤＩ－１９１０５＝配列番号４２７）；（ＡＤＩ－１９１０３＝配列番号４２５）；（ＡＤＩ－１９１５６＝配列番号４７４）；（ＡＤＩ－１９０７９＝配列番号４０７）；（ＡＤＩ－１９１４１＝配列番号４６０）；（ＡＤＩ－１９１５５＝配列番号４７３）；（ＡＤＩ－１９０７８＝配列番号４０６）；（ＡＤＩ－１９１３３＝配列番号４５３）；（ＶＨ３－７２＊０１＝配列番号５４２）；（ＡＤＩ－１９０８６＝配列番号４１４）；（ＶＨ３－０７＊０１＝配列番号５４３）；（ＡＤＩ－１９０８７＝配列番号４１５）；（ＶＨ３－３３＊０１＝配列番号５４４）；（ＡＤＩ－１９１０７＝配列番号４２８）；（ＡＤＩ－１９１１６＝配列番号４３７）；（ＡＤＩ－１９１５９＝配列番号４７５）；（ＡＤＩ－１９１１１＝配列番号４３２）；（ＶＨ３－３０＊０３＝配列番号５４５）；（ＡＤＩ－１９１１２＝配列番号４３３）；（ＡＤＩ－１９０８１＝配列番号４０９）；（ＡＤＩ－１９１０９＝配列番号４３０）；（ＡＤＩ－１９１１０＝配列番号４３１）；（ＶＨ３－０９＊０１＝配列番号５４６）；（ＡＤＩ－１９０９２＝配列番号４２０）；（ＡＤＩ－１９０８５＝配列番号４１３）；（ＡＤＩ－１９０９０＝配列番号４１８）；（ＡＤＩ－１９１５０＝配列番号４１９）；（ＡＤＩ－１９１４７＝配列番号４６６）；（ＡＤＩ－１９１５２＝配列番号４７０）；（ＡＤＩ－１９１３２＝配列番号４５２）；（ＡＤＩ－１９０８３＝配列番号４１１）；（ＡＤＩ－１９１４８＝配列番号４６７）；（ＡＤＩ－１９１３１＝配列番号４５１）；（ＡＤＩ－１９１５１＝配列番号４６９）；（ＡＤＩ－１９１４９＝配列番号４６８）；（ＶＨ３－４８＊０１＝配列番号５４７）；（ＡＤＩ－１９０８８＝配列番号４１６）；（ＶＨ３－２１＊０１＝配列番号５４８）；（ＡＤＩ－１９０８２＝配列番号４１０）；（ＡＤＩ－１９１１３＝配列番号４３４）；（ＡＤＩ－１９１０８＝配列番号４２９）；（ＡＤＩ－１９１０１＝配列番号４２３）；（ＡＤＩ－１９０８０＝配列番号４０８）；（ＡＤＩ－１９１１４＝配列番号４３５）；（ＶＨ３－２３＊０１＝配列番号５４９）；（ＡＤＩ－１９１１５＝配列番号４３６）；及び（ＡＤＩ－１９１５３＝配列番号４７１）

【図１６】Ａ－Ｈは、本発明の開示の様々な抗ＴＲＥＭ１抗体の軽鎖可変領域配列のアラインメントを示す図である。図１６Ａ－１６Ｄは、軽鎖配列からＣＤＲ２配列を示し、図１６Ｅ－１６Ｈは、軽鎖配列の残りからＦＲ４を示す。（ＶＫ２－２８＊０１＝配列番号５５０）；（ＡＤＩ－１９１３１＝配列番号３７１）；（ＡＤＩ－１９１２１＝配列番号３６３）；（ＡＤＩ－１９１２３＝配列番号３６０）；（ＡＤＩ－１９０７１＝配列番号３２０）；（ＡＤＩ－１９０７４＝配列番号３２３）；（ＡＤＩ－１９１２２＝配列番号３６４）；（ＡＤＩ－１９１１７＝配列番号３５８）；（ＡＤＩ－１９１２８＝配列番号３６８）；（ＡＤＩ－１９０７２＝配列番号３２１）；（ＡＤＩ－１９０７６＝配列番号３２４）；（ＡＤＩ－１９１２５＝配列番号３６５）；（ＡＤＩ－１９０７７＝配列番号３２５）；（ＡＤＩ－１９１２４＝配列番号３６１）；（ＡＤＩ－１９１４８＝配列番号３８７）；（ＡＤＩ－１９１３０＝配列番号３７０）；（ＡＤＩ－１９０７８＝配列番号３２６）；（ＡＤＩ－１９１１９＝配列番号３５９）；（ＶＫ１－３３＊０１＝配列番号５５１）；（ＡＤＩ－１９０６８＝配列番号３１６）；（ＡＤＩ－１９０８４＝配列番号３３２）；（ＡＤＩ－１９１０４＝配列番号３４６）；（ＶＫ１－０５＊０１＝配列番号５５２）；（ＡＤＩ－１９１０８＝配列番号３４９）；（ＡＤＩ－１９１５３＝配列番号３９１）；（ＶＫ１－０５＊０３＝配列番号５５３）；（ＡＤＩ－１９０８７＝配列番号３３５）；（ＡＤＩ－１９１２７＝配列番号３６７）；（ＡＤＩ－１９１４９＝配列番号３８８）；（ＡＤＩ－１９０９０＝配列番号３３８）；（ＡＤＩ－１９１５１＝配列番号３８９）；（ＡＤＩ－１９０８５＝配列番号３３３）；（ＡＤＩ－１９１５０＝配列番号３３９）；（ＡＤＩ－１９１２６＝配列番号３６６）；（ＶＫ１－１２＊０３＝配列番号５５４）；（ＡＤＩ－１９１１５＝配列番号３５６）；（ＡＤＩ－１９１４６＝配列番号３８５）；（ＡＤＩ－１９１１３＝配列番号３５４）；（ＡＤＩ－１９１０３＝配列番号３４５）；（ＡＤＩ－１９１３２＝配列番号３７２）；（ＡＤＩ－１９１０７＝配列番号

３４８）；（ＡＤＩ－１９０８３＝配列番号３３１）；（ＡＤＩ－１９１４７＝配列番号３８６）；（ＡＤＩ－１９０９６＝配列番号３３４）；（ＡＤＩ－１９１４５＝配列番号３８４）；（ＶＫ１－３９＊０１＝配列番号５５５）；（ＡＤＩ－１９０８８＝配列番号３３６）；（ＡＤＩ－１９１３９＝配列番号３７８）；（ＡＤＩ－１９１０５＝配列番号３４７）；（ＡＤＩ－１９０９７＝配列番号３４１）；（ＡＤＩ－１９０９８＝配列番号３４２）；（ＶＫ４－０１＊０１＝配列番号５５６）；（ＡＤＩ－１９１３３＝配列番号３７３）；（ＡＤＩ－１９１３７＝配列番号３７６）；（ＡＤＩ－１９０８１＝配列番号３２９）；（ＡＤＩ－１９１５６＝配列番号３９４）；（ＡＤＩ－１９１４１＝配列番号３８０）；（ＡＤＩ－１９０６９＝配列番号３１８）；（ＡＤＩ－１９１０９＝配列番号３５０）；（ＡＤＩ－１９１４０＝配列番号３７９）；（ＡＤＩ－１９１３６＝配列番号３７５）；（ＡＤＩ－１９１２０＝配列番号３６２）；（ＡＤＩ－１９１１４＝配列番号３５５）；（ＡＤＩ－１９１１２＝配列番号３５３）；（ＡＤＩ－１９０７３＝配列番号３２２）；（ＡＤＩ－１９１１０＝配列番号３５１）；（ＡＤＩ－１９１３５＝配列番号３７４）；（ＡＤＩ－１９１４２＝配列番号３８１）；（ＡＤＩ－１９１５５＝配列番号３９３）；（ＶＫ３－２０＊０１＝配列番号５５７）；（ＡＤＩ－１９１３８＝配列番号３７７）；（ＡＤＩ－１９０６８＝配列番号３１７）；（ＡＤＩ－１９０８９＝配列番号３３７）；（ＡＤＩ－１９０８２＝配列番号３３０）；（ＡＤＩ－１９０８０＝配列番号３２８）；（ＡＤＩ－１９１４３＝配列番号３８２）；（ＶＫ３－１５＊０１＝配列番号５５８）；（ＡＤＩ－１９１１６＝配列番号３５７）；（ＡＤＩ－１９１５９＝配列番号３９５）；（ＡＤＩ－１９１５４＝配列番号３９２）；（ＡＤＩ－１９０７０＝配列番号３１９）；（ＡＤＩ－１９１０１＝配列番号３４３）；（ＡＤＩ－１９１１１＝配列番号３５２）；（ＶＫ３－１１＊０１＝配列番号５５９）；（ＡＤＩ－１９１５２＝配列番号３９０）；（ＡＤＩ－１９１２９＝配列番号３６９）；（ＡＤＩ－１９０７９＝配列番号３２７）；（ＡＤＩ－１９０９２＝配列番号３４０）；（ＡＤＩ－１９０９２＝配列番号３４４）；及び（ＡＤＩ－１９４４＝配列番号３８３）

【図１７】Ｔｒｅｍ１抗体に応答する可能性が高いヒトにおける腫瘍タイプの同定を例示するデータを提供する図である。ＣＥＳＣ：子宮頸部扁平上皮癌腫及び子宮頸管腺癌腫；ＬＧＧ：脳の低悪性度神経膠腫；ＬＩＨＣ：肝臓の肝細胞癌；ＬＵＳＣ：肺扁平上皮癌腫。

【発明を実施するための形態】

【００４８】

一般技術

本明細書において記載又は参照される技術及び手順は、全般的に十分に理解されており、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ等、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ 第3版（２００１） Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（F.M. Ausubel等編、(2003)）； ｔｈｅ ｓｅｒｉｅｓ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ （Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、Ｉｎｃ．）：ＰＣＲ ２：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ （M.J. MacPherson、B.D. Hames及びG.R. Taylor編(1995)）、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ編． （１９８８） Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、ａｎｄ Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ （R.I. Freshney編(1987)）；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（M.J. Gait編、1984）；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｎｏｔｅｂｏｏｋ（J.E. Cellis編、1998）Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ； Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（R.I. Freshney）編、1987）；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ （J.P. Mather及びP.E. Roberts、1998） Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ； Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ：Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ （A. Doyle、J.B. Griffiths及びD.G. Newell編、1993-8） Ｊ． Ｗｉｌｅｙ及びＳｏｎｓ； Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅ

ｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ （D.M. Weir及びC.C. Blackwell編）；Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｖｅｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌｓ（J.M. Miller及びM.P. Calos編、1987）；ＰＣＲ： Ｔｈｅ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ Ｃｈａｉｎ Ｒｅａｃｔｉｏｎ、（Mullis等編、1994）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ （J.E. Coligan等編、1991）；Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ （Wiley及びSons、1999）；Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌｏｇｙ（C.A. Janeway及びP. Travers、1997）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ （P. Finch、1997）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ（D. Catty.編、IRL Press、1988-1989）；Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ （P. Shepherd及びC. Dean編、Oxford University Press、2000）；Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ： Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（E. Harlow及びD. Lane（Cold Spring Harbor Laboratory Press、1999）；Ｔｈｅ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ （M. Zanetti及びJ. D. Capra編、Harwood Academic Publishers、1995）；並びにＣａｎｃｅｒ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ（V.T. DeVita等編、J.B. Lippincott Company、1993）に記載される広く利用される方法論などの当業者によって従来の方法論を使用してよく用いられている。

【００４９】

定義

本明細書において、用語「防止すること」は、個体における特定の疾患、障害又は状態の発生又は再発に関して予防を提供することを含む。個体は、特定の疾患、障害又は状態の素因があり得る、それに対して感受性があり得る、又はこのような疾患、障害又は状態が発達するリスクにあり得るが、疾患、障害又は状態を有するとまだ診断されていない。

【００５０】

本明細書において、特定の疾患、障害又は状態を発達する「リスクにある」個体は、検出可能な疾患又は疾患の症状を有する場合も、有していない場合もあり、本明細書において記載される治療法に先立って、検出可能な疾患又は疾患の症状を示していた場合も、示していなかった場合もある。「リスクにある」とは、個体が、当技術分野で公知のような特定の疾患、障害又は状態の発達と相関する測定可能なパラメーターである一又は複数のリスク因子を有することを示す。これらのリスク因子のうち一又は複数を有する個体は、これらのリスク因子のうち一又は複数を伴わない個体よりも、特定の疾患、障害又は状態を発達するより高い可能性を有する。

【００５１】

本明細書において、用語「治療」とは、臨床病理学の経過の間に治療されている個体の自然経過を変更するように設計された臨床的介入を指す。治療の望ましい効果として、特定の疾患、障害又は状態の、進行速度の低下、病理状態を回復させる又は緩和すること及び緩解又は予後の改善が挙げられる。特定の疾患、障害又は状態と関連する一又は複数の症状が、軽減される又は排除される場合に、個体は、成功裏に「治療される」。

【００５２】

「有効量」とは、少なくとも、所望の治療的又は予防的結果を達成するのに必要な投与量及び期間で有効な量を指す。有効量は、一回又は複数回の投与で提供され得る。本明細書において有効量とは、個体の疾患状態、年齢、性別及び体重並びに個体において所望の反応を誘発する治療の能力などの因子に従って変わり得る。有効量とはまた、治療上有益な効果が、治療の毒性又は有害な効果を上回るものである。予防的使用には、有益な又は所望の結果として、疾患、その合併症及び疾患の発達の間の中間病理学的表現型提示の生化学的、組織学的及び／又は行動的症状を含む、リスクを排除又は低減すること、重症度を減少させること又は疾患の発症を遅延させることなどの結果が挙げられる。治療的使用のために、有益な又は所望の結果として、疾患に起因する一又は複数の症状を減少させること、疾患を患っているものの生活の質を増大すること、疾患を治療するために必要なその他の薬物適用の用量を減少させること、標的化することなどによって別の投薬の効果を増

強すること、疾患の進行を遅延させること及び／又は生存を延長することなどの臨床結果が挙げられる。有効量の薬物、化合物又は薬学的組成物は、予防的又は治療的処置を直接又は間接的に達成するのに十分な量である。臨床関連で理解されるように、有効量の薬物、化合物又は薬学的組成物は、別の薬物、化合物又は薬学的組成物とともに達成される場合も達成されない場合もある。したがって、「有効量」は、一又は複数の治療薬を投与することとの関連で考えられ得、一又は複数のその他の薬剤とともに、所望の結果が達成され得る、又は達成される場合に、単一薬剤は、有効量で施されると考えられ得る。

【００５３】

「治療有効量」とは、少なくとも、特定の疾患、障害又は状態の測定可能な改善を達成するのに必要な最小濃度である。本明細書において治療有効量は、患者の疾患状態、年齢、性別及び体重並びに個体において所望の反応を誘発する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力などの因子に従って変わり得る。治療有効量はまた、治療上有益な効果が、抗ＴＲＥＭ１抗体の毒性又は有害な効果を上回るものである。

【００５４】

本明細書において、別の化合物又は組成物と「併用した」投与は、同時投与及び／又は異なる時間での投与を含む。併用した投与はまた、同一投与経路又は異なる投与経路を使用する、種々の投薬頻度又は間隔で含む、共製剤としての投与又は別個の組成物としての投与も包含する。

【００５５】

治療、リスクの防止又は低減を目的とする「個体」とは、ヒト、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、ネコなどといった、飼育動物及び家畜並びに動物園、スポーツ用又は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。好ましくは、個体は、ヒトである。

【００５６】

用語「免疫グロブリン」（Ｉｇ）は、本明細書において「抗体」と同義的に使用される。本明細書において、用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも２種の無傷の抗体から形成される多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）及び所望の生物活性を示す限り抗体断片を具体的に対象とする。

【００５７】

基本的な４鎖抗体単位は、二つの同一の軽（Ｌ）鎖及び二つの同一の重（Ｈ）鎖から構成されるヘテロ四量体糖タンパク質である。V_H及びV_Lの対合は、単一抗原結合部位を一緒に形成する。種々のクラスの抗体の構造及び特性については、例えば、Ｂａｓｉｃ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第８版、Ｄａｎｉｅｌ Ｐ． Ｓｔｉｔｅｓ、Ａｂｂａ Ｉ． Ｔｅｒｒ及びＴｒｉｓｔｒａｍ Ｇ． Ｐａｒｓｌｏｗ（編）、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ＆ Ｌａｎｇｅ、Ｎｏｒｗａｌｋ、ＣＴ、１９９４、ｐ７１及び第６章を参照のこと。

【００５８】

任意の脊椎動物種に由来するＬ鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてカッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる、２つの明確に別個の種類のうち一つに割り当てられ得る。その重鎖の定常ドメイン（ＣＨ）のアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、種々のクラス又はアイソタイプに割り当てられ得る。それぞれ、アルファ（「α」）、デルタ（「δ」）、イプシロン（「ε」）、ガンマ（「γ」）及びミュー（「μ」）と表される重鎖を有する５つのクラスの免疫グロブリン：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭがある。γ及びαクラスは、ＣＨ配列及び機能の比較的わずかな相違に基づいてサブクラス（アイソタイプ）にさらに分けられ、例えば、ヒトは、以下のサブクラスを発現する：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元立体配置は、周知であり、全般的に、例えば、Ａｂｂａｓ等、Ｃｅｌｌｕｌａｒ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第４版（W.B. Saunders Co.、2000）に記載されている。

【００５９】

「天然抗体」は、通常、２つの同一の軽（Ｌ）鎖及び２つの同一の重（Ｈ）鎖から構成される、約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。ジスルフィド結合の数は、種々の免疫グロブリンアイソタイプ重鎖の中で異なるが、各軽鎖は、一つの共有結合ジスルフィド結合によって重鎖に連結されている。各重鎖及び軽鎖はまた、規則的間隔の鎖内ジスルフィド橋を有する。各重鎖は、一方の末端に、可変ドメイン（V_H）と、それに続くいくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は、一方の末端に、可変ドメイン（V_L）を、もう一方の末端に定常ドメインを有し、軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第１の定常ドメインとアラインされ、軽鎖可変ドメインは、重鎖の可変ドメインとアラインされる。特定のアミノ酸残基は、軽鎖と重鎖可変ドメインの間に界面を形成すると考えられている。

【００６０】

本開示の単離された抗ＴＲＥＭ１抗体などの「単離された抗体」は、その生成環境の成分から（例えば、天然に又は組換えによって）同定され、分離され、及び／又は回収されているものである。好ましくは、単離されたポリペプチドは、その生成環境由来のすべてのその他の混入成分との会合を含まない。組換えトランスフェクト細胞に起因するものなどのその生成環境由来の混入成分は、通常、抗体の研究的、診断的又は治療的使用を干渉する材料であり、酵素、ホルモン及びその他のタンパク質性又は非タンパク質性溶質を含み得る。好ましい実施態様では、ポリペプチドは、（１）例えば、Ｌｏｗｒｙ法によって決定されるように、抗体の重量で９５％超に、いくつかの実施態様では、重量で９９％超に、（２）スピニングカップシークエネーターの使用によって、Ｎ末端又は内部アミノ酸配列の少なくとも１５個の残基を得るのに十分な程度に又は（３）クーマシーブルー若しくは、好ましくは、銀染色を使用して非還元又は還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥによって均一に精製される。単離された抗体は、抗体の天然環境の少なくとも一種の成分が存在しないので、組換えＴ細胞内のｉｎ　ｓｉｔｕでの抗体を含む。しかし、普通、単離されたポリペプチド又は抗体は、少なくとも一つの精製ステップによって調製される。

【００６１】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体の「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の重鎖又は軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、それぞれ、「V_H」及び「V_L」と呼ばれることもある。これらのドメインは、一般に、抗体の（同一クラスのその他の抗体に対して）最可変部分であり、抗原結合部位を含有する。

【００６２】

用語「可変」とは、可変ドメインの特定のセグメントが、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体の間で配列において極めて異なることを指す。Ｖドメインは、抗原結合を媒介し、特定の抗体の、その特定の抗原に対する特異性を規定する。しかし、可変性は、可変ドメインの全スパン中で均一に分布するわけではない。そうではなく、軽鎖及び重鎖可変ドメインの両方中の超可変領域（ＨＶＲ）と呼ばれる３つのセグメントに集中している。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。天然重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、ベータシート構造を接続する、いくつかの場合には、その一部を形成するループを形成する３つのＨＶＲによって接続されたベータシート立体配置を大部分がとる４つのＦＲ領域を各々含む。各鎖中のＨＶＲは、ＦＲ領域によって極接近して一緒に保持され、その他の鎖のＨＶＲは、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Kabat等、Sequences of Immunological Interest、第5版、National Institute of Health、Bethesda、MD (1991)を参照のこと）。定常ドメインは、抗原との抗体の結合に直接関与しないが、抗体依存性細胞性毒性における抗体の関与などの種々のエフェクター機能を示す。

【００６３】

用語「超可変領域」、「ＨＶＲ」又は「ＨＶ」は、本明細書において使用される場合、配列において超可変である、及び／又は構造的に規定されるループを形成する、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体のものなどの抗体可変ドメインの領域を指す。一般に、抗体は、６つのＨＶＲ；ＶＨ中の３つ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）及びＶＬ中の３つ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）を含む

。天然抗体では、Ｈ３及びＬ３は、六種のＨＶＲのうち最も多様性を示し、Ｈ３は、特に、抗体に対する精細な特異性の付与において独特な役割を果たすと考えられる。例えば、Ｘｕ等、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　１３：ｐ３７－４５（２０００）；Ｊｏｈｎｓｏｎ及びＷｕｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　２４８：ｐ１－２５（Lo編、Human Press、Totowa、NJ、2003））を参照のこと。実際、重鎖のみからなる天然に存在するラクダ科動物抗体は、軽鎖の不在下で機能的であり安定である。例えば、Ｈａｍｅｒｓ－Ｃａｓｔｅｒｍａｎ等、Ｎａｔｕｒｅ　３６３：ｐ４４６－４４８（１９９３）及びＳｈｅｒｉｆｆ等、Ｎａｔｕｒｅ　Ｓｔｒｕｃｔ．　Ｂｉｏｌ．　３：ｐ７３３－７３６（１９９６）を参照のこと。

【００６４】

いくつかのＨＶＲ描写は、使用においてであり、本明細書において包含される。Ｋａｂａｔ相補性決定領域（ＣＤＲ）であるＨＶＲは、配列可変性に基づいており、最もよく使用される（Ｋａｂａｔ等、前掲）。Ｃｈｏｔｈｉａは、代わりに構造ループの位置を言及する（Chothia及びLesk J. Mol. Biol. 196:p901-917(1987)）。ＡｂＭ　ＨＶＲは、カバットＣＤＲとコチア構造ループの間の妥協案を表し、Ｏｘｆｏｒｄ　ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウェアによって使用されている。「接触」ＨＶＲは、入手可能な複合体結晶構造の分析に基づいている。これらのＨＶＲの各々に由来する残基を以下に記す。

ループ	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 番号付け)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 番号付け)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

【００６５】

ＨＶＲは、以下のように「拡張されたＨＶＲ」を含み得る：ＶＬ中の２４－３６又は２４－３４（Ｌ１）、４６－５６又は５０－５６（Ｌ２）及び８９－９７又は８９－９６（Ｌ３）並びにＶＨ中の２６－３５（Ｈ１）、５０－６５又は４９－６５（好ましい実施態様）（Ｈ２）及び９３－１０２、９４－１０２又は９５－１０２（Ｈ３）。可変ドメイン残基は、これらの拡張されたＨＶＲの定義の各々についてＫａｂａｔ等、前掲に従って番号付けられる。

【００６６】

「フレームワーク」又は「ＦＲ」残基は、本明細書において定義されるＨＶＲ残基以外の可変ドメイン残基である。

【００６７】

語句「Ｋａｂａｔにおけるような可変ドメイン残基番号付け」又は「Ｋａｂａｔにおけるようなアミノ酸位置番号付け」及びその変動は、Ｋａｂａｔ等、前掲において抗体の編集物（ｃｏｍｐｉｌａｔｉｏｎ）の重鎖可変ドメイン又は軽鎖可変ドメインのために使用される番号付け方式を指す。この番号付け方式を使用して、実際の直鎖アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲ又はＨＶＲの短縮化又はそれへの挿入に対応して、より少ない又はさら

なるアミノ酸を含有し得る。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２の後ろに単一アミノ酸挿入部分（Ｋａｂａｔに従って残基５２ａ）及び重鎖ＦＲ残基８２の後ろに挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔに従って、残基８２ａ、８２ｂ及び８２ｃ等）を含み得る。残基のＫａｂａｔ番号付けは、抗体の配列の相同性の領域での、「標準の」Ｋａｂａｔ番号付けされた配列とのアラインメントによって所与の抗体に対して決定され得る。

【００６８】

Ｋａｂａｔ番号付け方式は、可変ドメイン中の残基（およそ軽鎖の残基１－１０７及び重鎖の１－１１３）に言及する場合に一般的に使用される（例えば、Kabat等、Sequences of Immunological Interest. 第5版Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、Md. (1991)）。「ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け方式」又は「ＥＵインデックス」は、免疫グロブリン重鎖定常領域中の残基に言及する場合に一般的に使用される（例えば、Ｋａｂａｔ等、前掲において報告されたＥＵインデックス）。「Ｋａｂａｔにおけるようなインデックス」とは、ヒトＩｇＧ１　ＥＵ抗体の残基番号付けを指す。抗体の可変ドメインにおける残基番号付けへの言及は、Ｋａｂａｔ番号付け方式による残基番号付けを意味する。抗体の定常ドメインにおける残基番号への言及は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け方式による残基番号付けを意味する（例えば、米国特許公開第２０１０－２８０２２７号を参照のこと）。

【００６９】

「アクセプターヒトフレームワーク」とは、本明細書において、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来するＶＬ又はＶＨフレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに「由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同一アミノ酸配列を含み得る、又は前から存在するアミノ酸配列変更を含有し得る。いくつかの実施態様では、前から存在するアミノ酸変更の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下又は２以下である。前から存在するアミノ酸変更が、ＶＨ中に存在する場合には、好ましいそれらの変更は、位置７１Ｈ、７３Ｈ及び７８Ｈのうち三つ、二つ又は一つのみで生じる、例えば、それらの位置のアミノ酸残基は、７１Ａ、７３Ｔ及び／又は７８Ａであり得る。一実施態様では、ＶＬアクセプターヒトフレームワークは、ＶＬヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列において同一である。

【００７０】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンＶＬ又はＶＨフレームワーク配列の選択において最も普通に存在するアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンＶＬ又はＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからである。一般に、配列のサブグループは、Ｋａｂａｔ等、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ （１９９１）におけるようなサブグループである。例として、ＶＬについて、Ｋａｂａｔ等、前掲におけるようなサブグループカッパＩ、カッパＩＩ、カッパＩＩＩ又はカッパＩＶであり得るサブグループが挙げられる。さらに、ＶＨについて、サブグループは、Ｋａｂａｔ等、前掲におけるようなサブグループＩ、サブグループＩＩ又はサブグループＩＩＩであり得る。

【００７１】

用語「モノクローナル抗体」とは、本明細書において、実質的に均一な抗体の集団から得られる本開示のモノクローナル抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体を指す、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、あり得る天然に存在する突然変異及び／又は微量で存在し得る翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化等）を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一抗原部位に対して向けられている。通常、異なる決定基（エピトープ）に対して向けられた異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一決定基に対して向けられる。モノクローナル抗体は

、その特異性に加えて、それらがハイブリドーマ培養によって合成され、その他の免疫グロブリンが混入していないという点で有利である。修飾語句「モノクローナル」は、抗体の特徴を、抗体の実質的に均一な集団から得られると示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されてはならない。例えば、本発明に従って使用されるべきモノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Kohler及びMilstein.、Nature、256:495-97(1975);Hongo等、Hybridoma、14(3):253-260(1995)、Harlow等、Antibodies:A Laboratory Manual、(Cold Spring Harbor Laboratory Press、第2版1988);Hammerling等、in:Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier、N.Y.、1981)）、組換えＤＮＡ法（例えば、米国特許第４８１６５６７号を参照のこと）、ファージディスプレイ技術（例えば、Clackson等、Nature、352:624-628(1991);Marks等、J. Mol. Biol.222:581-597(1992);Sidhu等、J. Mol. Biol. 338(2):299-310(2004);Lee等、J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093(2004);Fellouse、Proc.Nat'l Acad. Sci. USA 101(34):12467-472(2004);及びLee等、J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)を参照のこと、並びにヒト免疫グロブリン遺伝子座又はヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部又はすべてを有する動物においてヒト又はヒト様抗体を産生する技術（例えば、国際公開第１９９８／２４８９３号；国際公開第１９９６／３４０９６号；国際公開第１９９６／３３７３５号；国際公開第１９９１／１０７４１号；Jakobovits等、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:2551 (1993);Jakobovits等、Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等、Year in Immunol. 7:33(1993)；米国特許第５５４５８０７号；同５５４５８０６号；同５５６９８２５号；同５６２５１２６号；同５６３３４２５号；及び同５６６１０１６号；Marks等、Bio/Technology 10:779-783(1992);Lonberg等、Nature 368:856-859 (1994);Morrison、Nature368:812-813(1994);Fishwild等、Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger、Nature Biotechnol. 14:826(1996)；並びにLonberg及びHuszar、Intern. Rev. Immunol.13:65-93(1995)を参照のこと）を含む種々の技術によって作製され得る。

【００７２】

用語「全長抗体」「無傷の抗体」又は「全抗体」は、同義的に使用され、抗体断片とは対照的な、その実質的に無傷の形態での本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体を指す。具体的には、全抗体は、Ｆｃ領域を含む重鎖及び軽鎖を有するものを含む。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列定常ドメイン）又はそのアミノ酸配列変異体であり得る。いくつかの場合には、無傷の抗体は、一又は複数のエフェクター機能を有し得る。

【００７３】

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは、無傷の抗体の抗原結合及び／又は可変領域を含む。抗体断片の例として、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$及びＦｖ断片、ダイアボディ、直鎖抗体（米国特許第５６４１８７０号、実施例２；Zapata等、Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)を参照のこと）、一本鎖抗体分子及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【００７４】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体のパパイン消化は、「Ｆａｂ」断片と呼ばれる二つの同一の抗原結合性断片、及び残りの「Ｆｃ」断片、容易に結晶化する能力を反映する名称をもたらす。Ｆａｂ断片は、Ｈ鎖の可変領域ドメイン（V_H）及び一つの重鎖の第１の定常ドメイン（C_H1）とともの全Ｌ鎖からなる。各Ｆａｂ断片は、抗原結合に関して一価である、すなわち、単一抗原結合部位を有する。抗体のペプシン処置によって、異なる抗原結合活性を有する二つのジスルフィド連結されたＦａｂ断片に粗く相当し、依然として抗原を架橋可能である単一の大きなＦ（ａｂ’）$_2$断片が生じる。Ｆａｂ’断片は、抗体ヒンジ領域に由来する一又は複数のシステインを含む、C_H1ドメインのカルボキシ末端の２、３のさらなる残基を有することによってＦａｂ断片と異なる。Ｆａｂ’－ＳＨは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を有するＦａｂ’の本明細書にお

ける名称である。Ｆ（ａｂ’）$_2$抗体断片は、元々、それらの間にヒンジシステインを有するＦａｂ’断片の対として生成された。抗体断片のその他の化学的カップリングも公知である。

【００７５】

Ｆｃ断片は、ジスルフィドによって一緒に保持された両Ｈ鎖のカルボキシ末端部分を含む。抗体のエフェクター機能は、Ｆｃ領域中の配列、特定の種類の細胞で見られるＦｃ受容体（ＦｃＲ）によっても認識される領域によって決定される。

【００７６】

「Ｆｖ」は、完全抗原認識及び抗原結合部位を含有する最小の抗体断片である。この断片は、緊密な、非共有結合にある、一つの重鎖－及び一つの軽鎖－可変領域ドメインの二量体からなる。これら二つのドメインのフォールディングから、抗原結合のためのアミノ酸残基に寄与し、抗体に対する抗原結合特異性を付与する６つのＨＶＲ（Ｈ及びＬ鎖各々に由来する３ループ）が生じる。しかし、単一可変ドメインでさえ（又は抗原に対して特異的な３つのＨＶＲのみを含むＦｖの半分）、全結合部位よりも低い親和性でではあるが、抗原を認識し、結合する能力を有する。

【００７７】

「一本鎖Ｆｖ」はまた、「ｓＦｖ」又は「ｓｃＦｖ」とも略され、単一ポリペプチド鎖に接続されたV_H及びV_L抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくはｓＦｖポリペプチドは、ｓＦｖが、抗原結合にとって所望の構造を形成することを可能にする、V_H及びV_Lドメインの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。ｓＦｖの概説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、第１１３巻、Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ及びＭｏｏｒｅ編、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－ＶｅｒＬＡＧ－３、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、ｐ２６９－３１５ （１９９４）を参照のこと。

【００７８】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体の「機能的断片」は、無傷の抗体の一部を含み、一般に、無傷の抗体の抗原結合若しくは可変領域又は修飾されたＦｃＲ結合能力を保持する若しくは有する抗体のＦ領域を含む。抗体断片の例として、直鎖抗体、一本鎖抗体分子及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が挙げられる。

【００７９】

用語「ダイアボディ」とは、Ｖドメインの鎖間であるが、鎖内ではない対合が達成され、それによって二価断片、すなわち、２つの抗原結合部位を有する断片が得られるように、V_H及びV_Lドメインの間に短いリンカー（約５－１０）個の残基）を用いてｓＦｖ断片（前記の段落を参照のこと）を構築することによって調製された小さい抗体断片を指す。二重特異性ダイアボディは、２つの抗体のV_H及びV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する、２つの「クロスオーバー」ｓＦｖ断片のヘテロ二量体である。ダイアボディは、例えば、ＥＰ４０４，０９７；国際公開第９３／１１１６１号；Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ等、Ｐｒｏｃ． Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ ９０：６４４４－４８（１９９３）においてより詳細に記載される。

【００８０】

本明細書において、「キメラ抗体」とは、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の種に由来する又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一である、又は相同であり、鎖（両鎖）の残部が、別の種に由来する又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一である、又は相同である、本開示のキメラ抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体（免疫グロブリン）並びに所望の生物活性を示す限り、このような抗体の断片を指す（米国特許第４８１６５６７号；Morrison等、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA、81:6851-55(1984)）。本明細書における目的のキメラ抗体として、抗体の抗原結合領域が、例えば、目的の抗原を用いてマカクザルを免疫化することによって産生された抗体に由来するＰＲＩＭＡＴＩＺＥＤ（登録商標）抗体が挙げられる。本明細書において、「ヒト化抗体」は、「キメラ抗体」のサブセットが使用される。

【００８１】
本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体のヒト化形態などの非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。一実施態様では、ヒト化抗体は、レシピエントのＨＶＲに由来する残基が、所望の特異性、親和性及び／又は能力を有するマウス、ラット、ウサギ又は非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のＨＶＲに由来する残基によって置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦＲ残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体中に、又はドナー抗体中に見られない残基を含み得る。これらの修飾は、結合親和性などの抗体性能をさらに改善するために行われ得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも一つの、通常、二つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、超可変ループのすべて又は実質的にすべてが、非ヒト免疫グロブリン配列のものに対応し、ＦＲ領域のすべて又は実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリン配列のものであるが、ＦＲ領域は、結合親和性、異性化、免疫原性等といった抗体性能を改善する一又は複数の個々のＦＲ残基置換を含み得る。ＦＲ中のこれらのアミノ酸置換の数は、通常、Ｈ鎖中６以下及びＬ鎖中に３以下である。ヒト化抗体はまた、任意選択的に、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、通常、ヒト免疫グロブリンのものを含む。さらなる詳細については、例えば、Ｊｏｎｅｓ等、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ等、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）；及びＰｒｅｓｔａ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２：５９３－５９６（１９９２）を参照のこと。また、例えば、Ｖａｓｗａｎｉ及びＨａｍｉｌｔｏｎ、Ａｎｎ．Ａｌｌｅｒｇｙ，Ａｓｔｈｍａ＆Ｉｍｍｕｎｏｌ．１：１０５－１１５（１９９８）；Ｈａｒｒｉｓ、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ２３：１０３５－１０３８（１９９５）；Ｈｕｒｌｅ ａｎｄ Ｇｒｏｓｓ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．５：４２８－４３３（１９９４）；並びに米国特許第６９８２３２１号及び同７０８７４０９号も参照のこと。

【００８２】
「ヒト抗体」は、ヒトによって産生された、及び／又は本明細書において開示されるようなヒト抗体を作製する技術の何れかを使用して作製されている本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体のものに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に排除する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む当技術分野で公知の種々の技術を使用して産生され得る。Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ及びＷｉｎｔｅｒ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２７：３８１（１９９１）；Ｍａｒｋｓ等、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２２：５８１（１９９１）。また、ヒトモノクローナル抗体の調製のために利用可能なものとして、Ｃｏｌｅ等、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ、ｐ７７（１９８５）；Ｂｏｅｒｎｅｒ等、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４７（１）：８６－９５（１９９１）に記載される方法がある。ｖａｎ Ｄｉｊｋ及びｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５：３６８－７４（２００１）も参照のこと。ヒト抗体は、抗原負荷に応じてこのような抗体を産生するように修飾されているが、その内因性遺伝子座が無効にされているトランスジェニック動物、例えば、免疫化されたゼノマウス（ｘｅｎｏｍｉｃｅ）に、抗原を投与することによって調製され得る（例えば、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術に関する米国特許第６０７５１８１号及び同６１５０５８４号を参照のこと）。また、例えば、ヒトＢ－細胞ハイブリドーマ技術によって作製されたヒト抗体に関するＬｉ等、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１０３：３５５７－３５６２（２００６）も参照のこと。

【００８３】
例えば、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の特定の位置の「アミノ酸修飾」は、特定の残基の置換若しくは欠失又は特定の残基に隣接する少なくとも一個のアミノ酸残基の挿入を指す。特定の残基に「隣接する」挿入は、その１－２残基内の挿入を意味する。挿入は、特定の

残基のＮ末端又はＣ末端であり得る。本明細書において好ましいアミノ酸修飾は、置換である。

【００８４】

本開示の親和性成熟抗ＴＲＥＭ１抗体などの「親和性成熟」抗体は、それらの変更（複数可）を有さない親と比較して、抗原に対する抗体の親和性において改善をもたらすその一又は複数のＨＶＲ中に一又は複数の変更を有するものである。一実施態様では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル又はさらにはピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当技術分野で公知の手順によって産生される。例えば、Ｍａｒｋｓ等、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９－７８３（１９９２）には、ＶＨ－及びＶＬ－ドメインシャッフリングによる親和性成熟が記載されている。ＨＶＲ及び／又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、例えば、Ｂａｒｂａｓ等Ｐｒｏｃ Ｎａｔ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ ９１：３８０９－３８１３（１９９４）；Ｓｃｈｉｅｒ等 Ｇｅｎｅ １６９：１４７－１５５（１９９５）；Ｙｅｌｔｏｎ等 Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． １５５：１９９４－２００４（１９９５）；Ｊａｃｋｓｏｎ等、Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． １５４（７）：３３１０－９（１９９５）；及びＨａｗｋｉｎｓ等、Ｊ． Ｍｏｌ． Ｂｉｏｌ．２２６：８８９－８９６（１９９２）によって記載されている。

【００８５】

本明細書において使用されるように、用語「特異的に認識する」又は「特異的に結合する」とは、生体分子を含む分子の不均一集団の存在下での標的の存在を決定する、抗ＴＲＥＭ１抗体及びＴＲＥＭ１間などの標的及び抗体間の誘引又は結合などの測定可能な、再現性のある相互作用を指す。例えば、標的又はエピトープと特異的に又は優先的に結合する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体は、その他の標的又は標的のその他のエピトープと結合するよりも、より大きな親和性、結合力で、より容易に、及び／又はより長い期間この標的又はエピトープと結合する抗体である。例えば、第１の標的と特異的に又は優先的に結合する抗体（又は部分）は、第２の標的と特異的に又は優先的に結合する場合も結合しない場合もあるということも、本定義を読むことによって理解される。したがって、「特異的結合」又は「優先的結合」は、必ずしも排他的結合を必要としない（しかし、含み得る）。標的と特異的に結合する抗体は、少なくとも約１０３Ｍ－１又は１０４Ｍ－１、時には、約１０５Ｍ－１又は１０６Ｍ－１、その他の場合には、約１０６Ｍ－１又は１０７Ｍ－１、約１０８Ｍ－１－１０９Ｍ－１又は約１０１０Ｍ－１－１０１１Ｍ－１又はそれ以上の会合定数を有し得る。特定のタンパク質と特異的に免疫反応性の抗体を選択するために、種々のイムノアッセイ形式が使用され得る。例えば、固相ＥＬＩＳＡイムノアッセイが、タンパク質と特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体を選択するために日常的に使用される。イムノアッセイ形式及び特定の免疫反応性を決定するために使用され得る条件の説明については、例えば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ（１９８８） Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋを参照のこと。

【００８６】

本明細書において、ＴＲＥＭ１タンパク質又はＤＡＰ１２タンパク質及び第２のタンパク質間の「相互作用」は、制限するものではないが、タンパク質－タンパク質相互作用、物理的相互作用、化学的相互作用、結合、共有結合及びイオン結合を包含する。本明細書において、抗体は、抗体が、２種のタンパク質間の相互作用を撹乱する、低減する又は完全に排除する場合に、２種のタンパク質間の「相互作用を阻害する」。本開示の抗体又はその断片は、抗体又はその断片が、２種のタンパク質の一方と結合する場合に、２種のタンパク質間の「相互作用を阻害する」。

【００８７】

「アゴニスト」抗体又は「活性化」抗体は、抗体が抗原と結合した後に、抗原の一又は複数の活性又は機能を誘導する（例えば、増大する）、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体である。

【００８８】

「アンタゴニスト」抗体又は「遮断」抗体は、抗体が抗原と結合した後に、一若しくは複数のリガンドとの抗原結合を低減若しくは排除する（例えば、減少させる）及び／又は抗体が抗原と結合した後に、抗原の一若しくは複数の活性若しくは機能を低減若しくは排除する（例えば、減少させる）、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体である。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体又は遮断抗体は、一若しくは複数のリガンドとの抗原結合及び／又は抗原の一若しくは複数の活性若しくは機能を実質的に又は完全に阻害する。

【００８９】

抗体「エフェクター」機能とは、抗体のＦｃ領域（天然配列Ｆｃ領域又はアミノ酸配列変異体Ｆｃ領域）に起因するその生物学的活性を指し、抗体アイソタイプに応じて変わる。

【００９０】

本明細書において、用語「Ｆｃ領域」は、天然配列Ｆｃ領域及び変異体Ｆｃ領域を含む免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のＦｃ領域の境界は、変わる場合もあるが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、普通、位置Ｃｙｓ２２６から、又はＰｒｏ２３０から、そのカルボキシル末端に伸びるように定義される。Ｆｃ領域のＣ末端リシン（ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け方式に従って残基４４７）は、例えば、抗体の産生又は精製の間に、又は抗体の重鎖をコードする核酸を組換え遺伝子操作することによって除去され得る。したがって、無傷の抗体の組成物は、すべてのＫ４４７残基が除去されている抗体集団、Ｋ４４７残基が除去されていない抗体集団及びＫ４４７残基を有する及び有さない抗体の混合物を有する抗体集団を含み得る。本開示の抗体において使用するための適した天然配列Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４を含む。

【００９１】

「天然配列Ｆｃ領域」は、天然に見られるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトＦｃ領域は、天然配列ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域（非Ａ及びＡアロタイプ）、天然配列ヒトＩｇＧ２　Ｆｃ領域、天然配列ヒトＩｇＧ３　Ｆｃ領域及び天然配列ヒトＩｇＧ４　Ｆｃ領域並びにその天然に存在する変異体を含む。

【００９２】

「変異体Ｆｃ領域」は、少なくとも一つのアミノ酸修飾、好ましくは、一又は複数のアミノ酸置換のために、天然配列Ｆｃ領域のものとは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異体Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域と、又は親ポリペプチドのＦｃ領域と比較して、少なくとも一つのアミノ酸置換、例えば、天然配列Ｆｃ領域中又は親ポリペプチドのＦｃ領域中に約１－約１０のアミノ酸置換、好ましくは、約１－約５のアミノ酸置換を有する。本明細書において、変異体Ｆｃ領域は、好ましくは、天然配列Ｆｃ領域と、及び／又は親ポリペプチドのＦｃ領域と少なくとも約８０％の同一性、最も好ましくは、それらと少なくとも約９０％の同一性、より好ましくは、それらと少なくとも約９５％の同一性を有する。

【００９３】

「Ｆｃ受容体」又は「ＦｃＲ」は、抗体のＦｃ領域と結合する受容体を説明する。好ましいＦｃＲは、天然配列ヒトＦｃＲである。さらに、好ましいＦｃＲは、ＩｇＧ抗体と結合するもの（ガンマ受容体）であり、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ及びＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体（これらの受容体の対立遺伝子変異体或いはスプライス形態を含む）を含み、ＦｃγＲＩＩ受容体は、主に、その細胞質ドメインにおいて異なる同様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。活性化受容体ＦｃγＲＩＩＡは、その細胞質ドメイン中に免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（「ＩＴＡＭ」）を含有する。阻害受容体ＦｃγＲＩＩＢは、その細胞質ドメイン中に免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（「ＩＴＩＭ」）を含有する（例えば、M.Daeron、Annu. Rev. Immunol. 15:203-234(1997)を参照のこと）。ＦｃＲは、Ｒａｖｅｔｃｈ及びＫｉｎｅｔ、Ａｎｎｕ．　Ｒｅｖ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．　９：４５７－９２（１９９１）；Ｃａｐｅｌ等、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ　４：２５－３４（

１９９４）；及びｄｅ　Ｈａａｓ等、Ｊ．　Ｌａｂ．　Ｃｌｉｎ．　Ｍｅｄ．　１２６：３３０－４１（１９９５）に概説されている。その他のＦｃＲは、将来同定されるものを含めて、本明細書において用語「ＦｃＲ」によって包含される。ＦｃＲはまた、抗体の血清半減期を増大し得る。

【００９４】

ヒトＦｃＲｎ高親和性結合ポリペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏでのＦｃＲｎとの結合及び血清半減期は、例えば、ヒトＦｃＲｎを発現するトランスジェニックマウス又はトランスフェクトされたヒト細胞株において、又は変異体Ｆｃ領域を有するポリペプチドが投与されている霊長類においてアッセイできる。国際公開第２００４／４２０７２号（Ｐｒｅｓｔａ）には、ＦｃＲとの結合が改善された、又は減少した抗体変異体が記載されている。例えば、Ｓｈｉｅｌｄｓ等、Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．　９（２）：６５９１－６６０４（２００１）も参照のこと。

【００９５】

本明細書において、「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」及びペプチド、ポリペプチド又は抗体配列に関する「相同性」とは、配列をアラインし、必要に応じて、最大配列同一性パーセントを達成するためにギャップを導入した後の、配列同一性の一部として任意の保存的置換を考慮しない、特異的ペプチド又はポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージを指す。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のアラインメントは、当技術分野における技術内である種々の方法で、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ又はＭＥＧＡＬＩＧＮ（商標）（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成され得る。当業者ならば、比較されている配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するために必要とされる当技術分野で公知の任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適当なパラメーターを決定できる。アミノ酸残基は、目的の配列及び参照配列が最大にアラインされている場合に、参照配列中に存在する別のアミノ酸残基に「対応する」。

【００９６】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体をコードする「単離された」核酸分子は、同定され、それが産生された環境では通常関連している少なくとも一種の混入核酸分子から分離されている核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、産生環境と関連するすべての成分との関連を含まない。本明細書においてポリペプチド及び抗体をコードする単離された核酸分子は、天然に見られる形態又は設定以外の形態である。したがって、単離された核酸分子は、細胞中に天然に存在する本明細書におけるポリペプチド及び抗体をコードする核酸から区別される。

【００９７】

用語「ベクター」は、本明細書において、連結している別の核酸を輸送可能な核酸分子を指すものとする。ベクターの一つの種類として、「プラスミド」があり、それは、さらなるＤＮＡセグメントがライゲーションされ得る環状二本鎖ＤＮＡを指す。別の種類のベクターとして、ファージベクターがある。別の種類のベクターとして、ウイルスベクターがあり、さらなるＤＮＡセグメントが、ウイルスゲノム中にライゲーションされ得る。特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞中で自己複製可能である（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）。その他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノム中に組み込まれ得、それによって宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、作動可能に連結されている遺伝子の発現を指示可能である。このようなベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」又は簡単に「発現ベクター」と呼ばれる。一般に、組換えＤＮＡ技術において有用な発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。本明細書では、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドと同義的に使用され得、ベクターの最もよく使用される形態である。

【００９８】

本明細書において同義的に使用されるような「ポリヌクレオチド」又は「核酸」とは、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、ＤＮＡ及びＲＮＡを含む。ヌクレオチドは、ＤＮＡ若しくはＲＮＡポリメラーゼによって、又は合成反応によってポリマー中に組み込まれ得る、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド又は塩基及び／又はその類似体又は任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びその類似体などの修飾ヌクレオチドを含み得る。存在する場合には、ヌクレオチド構造への修飾は、ポリマーのアセンブリーの前に付与されても、後に付与されてもよい。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断されてもよい。ポリヌクレオチドは、標識とのコンジュゲーションなどの合成後に行われる修飾を含み得る。その他の種類の修飾として、例えば、「キャップ」、類似体を用いる一又は複数の天然に存在するヌクレオチドの置換、例えば、無電荷連結（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど）を有するもの及び電荷連結（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を有するもの、例えば、タンパク質などのペンダント部分（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ｐｌｙ－Ｌ－リシンなど）を含有するもの、介入物（例えば、アクリジン、ソラレンなど）を有するもの、キレーター（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された連結を有するもの（例えば、アルファアノマー核酸等）などのヌクレオチド間修飾並びにポリヌクレオチド（複数可）の非修飾形態が挙げられる。さらに、糖中に通常存在するヒドロキシル基の何れかが、例えば、ホスホネート基、リン酸基によって置き換えられ、標準保護基によって保護され、若しくはさらなるヌクレオチドとのさらなる連結を調製するために活性化され得、又は固相若しくは半固相支持体にコンジュゲートされ得る。５’及び３’末端ＯＨは、リン酸化され得る、又はアミン若しくは１－２０個の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換され得る。その他のヒドロキシルはまた、標準保護基に誘導体化され得る。ポリヌクレオチドはまた、例えば、２’－Ｏ－メチル－、２’－Ｏ－アリル－、２’－フルオロ－又は２’－アジド－リボース、炭素環式糖類似体、α－アノマー糖、アラビノース、キシロース又はリクソース（ｌｙｘｏｓｅ）などのエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体及びメチルリボシドなどの塩基性ヌクレオシド類似体を含む、一般に当技術分野で公知であるリボース又はデオキシリボース糖の類似形態を含有し得る。一又は複数のホスホジエステル結合は、代替連結基によって置き換えられ得る。これらの代替連結基として、それだけには限らないが、リン酸が、Ｐ（Ｏ）Ｓ（「チオエート」）、Ｐ（Ｓ）Ｓ（「ジチオエート」）、（Ｏ）ＮＲ２（「アミデート」）、Ｐ（Ｏ）Ｒ、Ｐ（Ｏ）ＯＲ’、ＣＯ又はＣＨ２（「ホルムアセタール」）（式中、各Ｒ又はＲ’が独立に、Ｈ又は任意選択的にエーテル（－Ｏ－）結合を含有する置換若しくは非置換アルキル（１－２０個のＣ）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル又はアラルジルである）によって置き換えられている実施態様が挙げられる。ポリヌクレオチド中のすべての結合が同一である必要はない。前記の説明は、ＲＮＡ及びＤＮＡを含む本明細書において言及されるすべてのポリヌクレオチドに当てはまる。

【００９９】

「宿主細胞」は、ポリヌクレオチド挿入物の組込みのためのベクター（複数可）のレシピエントであり得る、又はであった個々の細胞又は細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一宿主細胞の後代を含み、後代は、天然の、偶発的な又は計画的な突然変異のために、元の親細胞と必ずしも完全に同一でない場合もある（形態学において、又はゲノムＤＮＡ相補体において）。宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチド（複数可）を用いてｉｎ　ｖｉｖｏでトランスフェクトされた細胞を含む。

【０１００】

「担体」は、本明細書において、使用される投与量及び濃度で、それに曝露されている細胞又は哺乳動物にとって非毒性である、薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定化剤を含む。生理学的に許容される担体は、水性ｐＨ緩衝溶液であることが多い。生理学的に許容される担体の例として、リン酸、クエン酸及びその他の有機酸などのバッファー；アス

コルビン酸を含む抗酸化物質；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリジンなどのアミノ酸；単糖、二糖及びグルコース、マンノース又はデキストリンを含むその他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート化剤；マンニトール又はソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；並びに／又はＴＷＥＥＮ（商標）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）及びＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【０１０１】

用語「約」は、本明細書において、この技術分野における当業者に容易に知られるそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書において「約」値又はパラメーターへの言及は、その値又はパラメーターそれ自体に向けられる実施態様を含む（及び記載する）。

【０１０２】

本明細書において及び添付の特許請求の範囲において、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」及び「その（ｔｈｅ）」は、文脈が明確に別に示さない限り、複数の言及を含む。例えば、「抗体」への言及は、モル量などの１種から多数の抗体への言及であり、当業者に公知のその等価物などを含む。

【０１０３】

本明細書において記載される本開示の態様及び実施態様は、態様及び実施態様を「含んでいる（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ）」及び「本質的にからなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」を含むことが理解される。

【０１０４】

概要

本開示は、一又は複数のアゴニスト又はアンタゴニスト活性を有する抗ＴＲＥＭ１抗体、このような抗体を作製及び使用する方法、このような抗体を含有する薬学的組成物、このような抗体をコードする核酸及びこのような抗体をコードする核酸を含有する宿主細胞に関する。

【０１０５】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体のアゴニスト活性は、少なくとも幾分かは、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合と競合せずに、そうでなければ遮断せずに、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する抗体の能力による。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体による一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、抗ＴＲＥＭ１抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性と比較される。いくつかの実施態様では、一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、本明細書において開示されるいくつかの技術の何れかによってｉｎ　ｖｉｔｒｏ又はｉｎ　ｖｉｖｏで決定又は試験され得る（例えば、表１Ｂを参照のこと）。

【０１０６】

したがって、本開示の特定の態様は、少なくとも幾分かは、ヒトＴＲＥＭ１と高親和性で結合可能である（例えば、表１Ａを参照のこと）、ＴＲＥＭ１活性を活性化及び増強し得る（例えば、ＴＲＥＭ１リガンドと協同することによって）（例えば、表１Ｂを参照のこと）抗ＴＲＥＭ１抗体の同定に基づいている。

【０１０７】

本開示のさらなる態様は、少なくとも幾分かは、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、抗体が、ＴＲＥＭ１受容体クラスター化を誘導又は保持できないように産生されるか、そうでなければ、形式を合わせられる場合に、アンタゴニスト活性を誘導し得るという驚くべき発見に基づいている。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、制限するものではないが、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子活性化の阻害を含む、一又は複数のアンタゴニストＴＲＥＭ１活性を示す（例えば、表１Ｂを参照のこと）。

【０１０８】
ＴＲＥＭ１タンパク質
一態様では、本開示は、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質と結合し、細胞において発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導し、及び／又は一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する抗体を提供する。ＴＲＥＭ１は、限定するものではないが、マクロファージ、樹状細胞、単球、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞、破骨細胞、好中球及びミクログリアを含むミエロイド系統細胞で主に発現される、２３４個のアミノ酸の免疫グロブリン様受容体膜タンパク質である。いくつかの例では、ＴＲＥＭ１は、ＤＡＰ１２と受容体シグナル伝達複合体を形成する。いくつかの例では、ＴＲＥＭ１は、リン酸化し、ＤＡＰ１２（ＩＴＡＭドメインアダプタータンパク質）を介してシグナル伝達し得る。ＴＲＥＭ１シグナル伝達は、ＰＩ３Ｋ又はその他の細胞内シグナルの下流活性化をもたらし得る。ミエロイド細胞では、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）シグナルは、例えば、感染反応との関連でＴＲＥＭ１活性の活性化にとって重要である。ＴＬＲ、例えば、マクロファージ及び樹状細胞において発現されたＴＬＲはまた、病的炎症反応において重要な役割を果たす。
【０１０９】
本開示のＴＲＥＭ１タンパク質は、限定するものではないが、哺乳動物ＴＲＥＭ１タンパク質、ヒトＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＮＰ９９、配列番号１）、マウスＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＪＫＥ２、配列番号２）、ラットＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｄ４ＡＢＵ７、配列番号３）、アカゲザルＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＴＢＢ４、配列番号４）、ウシＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ６ＱＵＮ５、配列番号５）、ウマＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＰＳＦ７、配列番号６）、ブタＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｒ４ＳＥＹ７、配列番号７）、チンパンジーＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｈ２ＱＳＺ３、配列番号５６１）及びイヌＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｅ２ＲＰ３７、配列番号８）を含む。本明細書において「ＴＲＥＭ１タンパク質」とは、野生型配列及び天然に存在する変異体配列の両方を指す。
【０１１０】
ヒトＴＲＥＭ１アミノ酸配列の一例は、配列番号１として以下に示されている：

```
          10         20         30         40         50
MRKTRLWGLL WMLFVSELRA ATKLTEEKYE LKEGQTLDVK CDYTLEKFAS
          60         70         80         90        100
SQKAWQIIRD GEMPKTLACT ERPSKNSHPV QVGRIILEDY HDHGLLRVRM
         110        120        130        140        150
VNLQVEDSGL YQCVIYQPPK EPHMLFDRIR LVVTKGFSGT PGSNENSTQN
         160        170        180        190        200
VYKIPPTTTK ALCPLYTSPR TVTQAPPKST ADVSTPDSEI NLTNVTDIIR
         210        220        230
VPVFNIVILL AGGFLSKSLV FSVLFAVTLR SFVP
```

【０１１１】
ヒトＴＲＥＭ１は、シグナルペプチドを含むタンパク質前駆体形態であり得る。いくつかの実施態様では、ヒトＴＲＥＭ１は、シグナルペプチドを含まない成熟タンパク質である。いくつかの実施態様では、成熟ＴＲＥＭ１タンパク質は、細胞上で発現される。例示的ヒトＴＲＥＭ１タンパク質（ｐｏｒｔｅｉｎ）は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基１－２５に位置するシグナルペプチド、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基２６－１３４に位置する細胞外免疫グロブリン様可変型（ＩｇＶ）ドメイン、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基１３５－２０５に位置するさらなる細胞外配列、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基２２７－２３４に位置する膜貫通ドメイ

ン及びヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基２２７－２３４に位置する細胞内ドメインを含有し得る。

【０１１２】

ヒトＴＲＥＭ１の膜貫通ドメインは、ＴＲＥＭ２、ＴＲＥＭ１及びその他の関連ＩｇＶファミリーメンバーからのシグナル伝達を伝達する重要なアダプタータンパク質であるＤＡＰ１２中のアスパラギン酸と相互作用し得るアミノ酸残基２１７のリシンを含有する。

【０１１３】

ヒトＴＲＥＭ１の相同体として、限定するものではないが、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞受容体ＮＫ－ｐ４４（ＮＣＴＲ２）、多量体免疫グロブリン受容体（ｐＩｇＲ）、ＣＤ３００Ｅ、ＣＤ３００Ａ、ＣＤ３００Ｃ及びＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ１が挙げられる。いくつかの実施態様では、ＮＣＴＲ２は、ＩｇＶドメイン内のＴＲＥＭ１と類似性を有する。

【０１１４】

ＤＡＰ１２タンパク質

一態様では、本開示は、細胞において発現されたＤＡＰ１２タンパク質の一又は複数のＤＡＰ１２活性をさらに調節し得る抗ＴＲＥＭ１抗体を提供する。いくつかのシグナル伝達経路では、ＤＡＰ１２中のアスパラギン酸残基は、アミノ酸残基２１７にリシンを含有するヒトＴＲＥＭ１の膜貫通ドメインと相互作用し、ＴＲＥＭ２、ＴＲＥＭ１及びその他の関連ＩｇＶファミリーメンバータンパク質からのシグナル伝達を伝達する。

【０１１５】

ＤＡＰ１２は、キラー活性化受容体関連タンパク質、ＫＡＲ関連タンパク質（ＫＡＲＡＰ）、ＰＬＯＳＬ、ＰＬＯ－ＳＬ、ＴＹＲＯタンパク質及びチロシンキナーゼ結合タンパク質と多様に呼ばれる。ＤＡＰ１２は、１回貫通Ｉ型膜である。膜糖タンパク質のキラー細胞阻害性受容体（ＫＩＲ）ファミリーと会合し得、活性化シグナル伝達エレメントとして作用し得る。その他の実施態様では、ＤＡＰ１２タンパク質は、ゼータ鎖（ＴＣＲ）関連タンパク質キナーゼ７０ｋＤａ（ＺＡＰ－７０）及び脾臓チロシンキナーゼ（ＳＹＫ）と結合し、シグナル伝達、骨モデリング、脳ミエリン形成及び炎症において役割を果たし得る。

【０１１６】

ヒトＤＡＰ１２は、１１３個のアミノ酸長である。ホモ二量体、ジスルフィド結合されたタンパク質である。ＤＡＰ１２は、ヒトのアミノ酸残基２２－４０に位置する細胞外ドメイン、ヒトＤＡＰ１２のアミノ酸残基４１－６１に位置する膜貫通ドメイン及びヒトＤＡＰ１２のアミノ酸残基６２－１１３に位置する細胞内ドメインを含有する。免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）ドメインは、ヒトＤＡＰ１２のアミノ酸残基８０－１１３に位置する。

【０１１７】

ヒトＤＡＰ１２アミノ酸配列の一例は、配列番号５６０として以下に示されている：

ＭＧＧＬＥＰＣＳＲＬ　ＬＬＬＰＬＬＬＡＶＳ　ＧＬＲＰＶＱＡＱＡＱ　ＳＤＣＳＣＳＴＶ
ＳＰ　ＧＶＬＡＧＩＶＭＧＤ　ＬＶＬＴＶＬＩＡＬＡ
ＶＹＦＬＧＲＬＶＰＲ　ＧＲＧＡＡＥＡＡＴＲ　ＫＱＲＩＴＥＴＥＳＰ　ＹＱＥＬＱＧＱＲ
ＳＤ　ＶＹＳＤＬＮＴＱＲＰ　ＹＹＫ

【０１１８】

例示的ヒトＤＡＰ１２は、シグナルペプチドを含むタンパク質前駆体であり得る。いくつかの実施態様では、ヒトＤＡＰ１２は、シグナルペプチドを含まない成熟タンパク質である。いくつかの実施態様では、成熟ＤＡＰ１２タンパク質は、細胞上で発現される。

【０１１９】

ＤＡＰ１２をコードする遺伝子内の突然変異は、那須・ハコラ病としても知られる、硬化性白質脳症（ＰＬＯＳＬ）を伴う多発嚢胞性脂肪膜性骨異型性と関連していた。

【０１２０】

ＤＡＰ１２のそれぞれのアイソフォームをコードする複数の代替転写物変異体が同定されている。ＤＡＰ１２は、ＣＤ３００ファミリーの活性化受容体と非共有結合によって会合

する。ＣＤ３００－ＴＹＲＯＢＰ／ＤＡＰ１２複合体の架橋は、インテグリンによって媒介される好中球活性化などの細胞活性化をもたらす。いくつかの実施態様では、ＤＡＰ１２は、ＳＩＲＰＢ１、ＴＲＥＭ２、ＣＬＥＣＳＦ５、ＳＩＧＬＥＣ１４、ＣＤ３００ＬＢ、ＣＤ３００Ｅ及びＣＤ３００Ｄと、類似性によって、及びＩＴＡＭドメインを介して、並びにＳＨ２ドメインを介してＳＹＫと相互作用する。その他の実施態様では、ＤＡＰ１２は、ＳＹＫを活性化し、これは、好中球及びマクロファージインテグリン媒介性活性化を媒介する。その他の実施態様では、ＤＡＰ１２は、ＫＬＲＣ２及びＫＩＲ２ＤＳ３と相互作用する。

【０１２１】

ＤＡＰ１２タンパク質は、限定するものではないが、哺乳動物ＤＡＰ１２タンパク質、ヒトＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｏ４３９１４）、マウスＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｏ５４８８５）、ラットＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ６Ｘ９Ｔ７）、アカゲザルＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ８ＷＮＱ８）、ウシＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９５Ｊ８０）及びブタＤＡＰ１２タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＴＵ４５）を含む。本明細書において、「ＤＡＰ１２タンパク質」とは、野生型配列及び天然に存在する変異体配列の両方を指す。

【０１２２】

抗ＴＲＥＭ１抗体

本開示の特定の態様は、ＴＲＥＭ１と特異的に結合する抗体に関する。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、成熟ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、細胞上に発現された成熟ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、ヒト樹状細胞、ヒトマクロファージ、ヒト単球、ヒト好中球、ヒト破骨細胞、ヒト皮膚のランゲルハンス細胞、ヒトクッパー細胞、ヒトミクログリア及びそれらの任意の組合せから選択される一又は複数のヒト細胞上に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質と結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、アゴニスト抗体である。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、不活性抗体である。いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、アンタゴニスト抗体である。

【０１２３】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドが、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合することを競合、阻害、又はそうでなければ遮断せずに、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する。適したＴＲＥＭ１リガンドの例として、限定するものではないが、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）細胞によって発現されたＴＲＥＭ１リガンド、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、アニオン性ＡＰＯＥ２、アニオン性ＡＰＯＥ３、アニオン性ＡＰＯＥ４、脂質付加されたＡＰＯＥ２、脂質付加されたＡＰＯＥ３、脂質付加されたＡＰＯＥ４、双性イオン性脂質、負電荷を有するリン脂質、ホスファチジルセリン、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、膜リン脂質、脂質付加されたタンパク質、プロテオリピド、脂質付加されたペプチド及び脂質付加されたアミロイドβペプチドが挙げられる。したがって、特定の実施態様では、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドは、大腸菌細胞、アポトーシス細胞、核酸、アニオン性脂質、双性イオン性脂質、負電荷を有するリン脂質、ホスファチジルセリン（ＰＳ）、スルファチド、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン（ＳＭ）、リン脂質、脂質付加されたタンパク質、プロテオリピド、脂質付加されたペプチド及び脂質付加されたアミロイドβペプチドを含む。

【０１２４】

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体

本発明の抗ＴＲＥＭ１抗体の一クラスとして、アゴニスト抗体がある。例えば、ＴＲＥＭ１受容体は、シグナルを伝達するために細胞表面でのクラスター化を必要とすると考えられるので、アゴニスト抗体は、例えば、ＴＲＥＭ１受容体を刺激する独特の特徴を有し得る。例として、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、受容体活性化と適合する妥当なエピトー

プ特異性並びに細胞表面での受容体クラスター化を誘導又は保持する能力を有し得る。さらに、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの同時結合を遮断せずに、ＴＲＥＭ１と結合する能力を示し得る。本明細書において開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドとの相加的及び／又は相乗的機能的相互作用をさらに示し得る。したがって、いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の最大活性は、本開示の一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと組み合わせて本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体に結合された場合に、飽和濃度のリガンド単独又は飽和濃度の抗体単独に曝露された場合のＴＲＥＭ１の最大活性よりも大きい（例えば、増強される）ことがある。さらに、抗体の存在下で、所与の濃度のＴＲＥＭ１リガンドでのＴＲＥＭ１の活性が、より大きい（例えば、増強される）ことがある。したがって、いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１タンパク質に結合された場合に、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドとの相加作用を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと協力して、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する効力を、抗体の不在下での一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する効力と比較して増大する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化の不在下で、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化を誘導又は保持することによって、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、限定するものではないが、Ｂ細胞及びミクログリア細胞を含む一又は複数の免疫細胞上に発現された一又は複数のＦｃ－γ受容体によってクラスター化される。いくつかの実施態様では、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導された一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、限定するものではないが、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞を含む初代細胞で、又は細胞株で測定され、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性の増強は、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して測定される。

【０１２５】

ｉｎ　ｖｉｖｏでは、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、複数の可能性ある機序によって受容体を活性化し得る。いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、妥当なエピトープ特異性のために、プレートに結合された二次抗体とクラスター化される、又はＦｃγ受容体によってクラスター化される必要なく、溶液中でＴＲＥＭ１を活性化する能力を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、その独特の構造のために、受容体をクラスター化し、又は受容体をクラスター化された立体配置で保持し、それによって、Ｆｃ受容体と結合することなくＴＲＥＭ１などの受容体を活性化する内因的能力を有するＩｇＧ２などのヒト抗体のアイソタイプを有する（例えば、White等、(2015)Cancer Cell27、138-148を参照のこと）。

【０１２６】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、隣接する細胞上のＦｃγ受容体との結合によって受容体（例えば、ＴＲＥＭ１）をクラスター化する。抗体の定常ＩｇＧＦｃ部分の、Ｆｃγ受容体との結合は、抗体の凝集につながり、抗体は、順に、それらがその可変領域を介して結合する受容体を凝集する（Chu等(2008) Mol Immunol、45:3926-3933；及びWilson等、(2011)Cancer Cell19、101-113）。サイトカイン分泌、酸化バースト、食作用の増大及び抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）の増強を誘発しない、阻害性Ｆｃγ受容体ＦｃγＲ（ＦｃγＲＩＩＢ）との結合は、ＦｃγＲＩＩＢとの結合が、免疫有害作用を伴わないので、ｉｎ　ｖｉｖｏで抗体をクラスター化する好ましい方法であることが多い。

【０１２７】

ＴＲＥＭ１受容体を含む受容体をクラスター化するために、その他の機序も使用され得る。例えば、いくつかの実施態様では、上記のような、Ｆｃγ受容体と結合するＦｃ領域を有する抗体と同様の方法で、受容体（例えば、ＴＲＥＭ１）をクラスター化するために、一緒に架橋される抗体断片（例えば、Ｆａｂ断片）が使用され得る。いくつかの実施態様では、架橋された抗体断片（例えば、Ｆａｂ断片）は、それらが、細胞表面での受容体クラスター化を誘導し、ＴＲＥＭ１などの標的上の適当なエピトープと結合する場合に、アゴニスト抗体として機能し得る。

【０１２８】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する本開示の抗体は、そのエピトープ特異性のために、ＴＲＥＭ１と結合し、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を活性化するアゴニスト抗体を含み得る。いくつかの実施態様では、このような抗体は、ＴＲＥＭ１上のリガンド結合部位と結合し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの作用を模倣し得る、又はリガンド結合部位ではない一又は複数のドメインとの結合によって、標的抗原を刺激して、シグナルを伝達し得る。いくつかの実施態様では、抗体は、ＴＲＥＭ１とのリガンド結合と競合しない、又はそうでなければ、遮断しない。いくつかの実施態様では、抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと相加的又は相乗的に作用して、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を活性化及び／又は増強する。

【０１２９】

本明細書において、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、抗ＴＲＥＭ１抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性のレベルと比較して、一又は複数のＴＲＥＭ１活性における、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも６倍、少なくとも７倍、少なくとも８倍、少なくとも９倍、少なくとも１０倍、少なくとも１１倍、少なくとも１２倍、少なくとも１３倍、少なくとも１４倍、少なくとも１５倍、少なくとも１６倍、少なくとも１７倍、少なくとも１８倍、少なくとも１９倍、少なくとも２０倍又はそれ以上の増大を誘導する場合に、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、一又は複数のＴＥＭ１活性の増大は、任意の適したｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデル、例えば、実施例の節を参照のこと又は当技術分野で公知のアッセイによって、例えば、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を測定するルシフェラーゼベースのリポーターアッセイを利用することによって、Ｓｙｋなどの下流シグナル伝達パートナーのＴＲＥＭ１誘導性リン酸化の増大を測定するウエスタンブロット分析を使用して、又はＴＲＥＭ１活性化のマーカーの細胞表面レベルの変化を測定する蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）などのフローサイトメトリーを利用することによって測定される。ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用（例えば、結合）を測定するために、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルが使用され得る。

【０１３０】

本明細書において、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ又は細胞ベース培養アッセイを利用して、飽和抗体濃度で、ＴＲＥＭ１とのリガンド結合を２０％未満減少させる場合は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと、ＴＲＥＭ１の間の相互作用（例えば、結合）を競合、阻害又はそうでなければ遮断しないと考えられる。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ又は細胞ベースの培養アッセイを利用して、飽和抗体濃度で、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと、ＴＲＥＭ１の間の相互作用（例えば、結合）を、２０％未満、１９％未満、１８％未満、１７％未満、１６％未満、１５％未満、１４％未満、１３％未満、１２％未満、１１％未満、１０％未満、９％未満、８％未満、７％未満、６％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満又は１％未満阻害する。

【０１３１】
いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞上で発現されるＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、ＴＲＥＭ１の一又は複数の活性を誘導する。いくつかの実施態様では、抗体は、細胞膜に結合されていない可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、ＴＲＥＭ１の一又は複数の活性を誘導する。特定の実施態様では、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）は、非細胞性である。特定の実施態様では、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）は、限定するものではないが、細胞外環境中で、血液血清中で、脳脊髄液（ＣＳＦ）中で、及び組織内の間質性空間中で見い出され得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）のレベルを増大する、及び／又は可溶性ＴＲＥＭ１（ｓＴＲＥＭ１）タンパク質の半減期を増大する。
【０１３２】
本開示の抗ＴＲＥＭ１アゴニスト抗体及び／又は本開示の一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドによって誘導又は増強されるＴＲＥＭ１活性として、限定するものではないが、ＤＡＰ１２とのＴＲＥＭ１結合；ＴＲＥＭ１リン酸化及び／又はＤＡＰ１２リン酸化（ｐｈｏｓｐｈｏｒｙａｔｉｏｎ）；一又は複数のチロシンキナーゼ、例えば、ＳｙｋキナーゼなどのＳＲＣチロシンキナーゼ又はＺＡＰ７０キナーゼ又は両方の活性化；ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）の活性化；タンパク質キナーゼＢ（Ａｋｔ）の活性化；細胞形質膜へのホスホリパーゼＣ－γ（ＰＬＣ－γ）の補充、ＰＬＣ－γの活性化又は両方；細胞形質膜へのＴＥＣ－ファミリーキナーゼｄＶａｖの補充；ＭＡＰＫシグナル伝達の阻害；Ｔ細胞活性化リンカー（ＬＡＴ）、Ｂ細胞活性化リンカー（ＬＡＢ）のリン酸化又は両方；又はＩＬ－２によって誘導されるチロシンキナーゼ（Ｉｔｋ）の活性化が挙げられる。抗ＴＲＥＭ１アゴニスト抗体によって誘導又は増強されるさらなるＴＲＥＭ１活性として、（ａ）一又は複数の抗炎症性サイトカインの発現及び／又は活性を調節することであって、任意選択的に、一又は複数の抗炎症性サイトカインが、ＩＬ－４、ＩＬ－１０　ＴＧＦ－β、ＩＬ－１３、ＩＬ－３５　ＩＬ－１６、ＩＦＮ－α、ＩＬ－１Ｒα、ＶＥＧＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びＴＮＦ又はＩＬ－６の可溶性受容体から選択される、発現及び／又は活性を調節すること（ｂ）マクロファージ、例えば、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ及び／又はＭ２マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及びミクログリア細胞から選択される一又は複数の細胞における一又は複数の抗炎症性サイトカインの発現及び／又は活性を調節すること、（ｃ）一又は複数の炎症性サイトカインの発現及び／又は活性を調節することであって、任意選択的に、一又は複数の炎症性サイトカインが、ＩＦＮ－β、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＣＸＣＬ１０及びＭＣＰ－１から選択される、発現及び／又は活性を調節すること、（ｄ）マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及びミクログリア細胞から選択される一又は複数の細胞における一又は複数の炎症性サイトカインの発現及び／又は活性を調節すること、（ｅ）細胞外シグナル調節キナーゼ（ＥＲＫ）リン酸化を活性化すること、（ｆ）複数の細胞性タンパク質でのチロシンリン酸化を活性化すること、（ｇ）Ｃ－Ｃケモカイン受容体７（ＣＣＲ７）の発現を調節すること、（ｈ）ＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１発現細胞に向けたミクログリア細胞走化作用を活性化すること、（ｉ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア、Ｍ２ミクログリア、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ及びＭ２マクロファージから選択される一又は複数の細胞による、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及び／又は制御性Ｔ細胞などの一又は複数のＴ細胞の誘導及び／又は調節機能を増大すること、（ｊ）破骨細胞産生を活性化すること、破骨細胞形成の速度を増大すること又は両方、（ｋ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロフ

ァージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の生存を増大すること、（ｌ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の増殖を増大すること、（ｍ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の遊走を活性化すること、（ｎ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の一又は複数の機能を活性化すること、（ｏ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の成熟を活性化すること、（ｐ）アポトーシスニューロンクリアランス、神経組織細片クリアランス、非神経組織細片クリアランス、細菌クリアランス、その他の異物クリアランス、疾患を引き起こすタンパク質のクリアランス、疾患を引き起こすペプチドのクリアランス及び腫瘍細胞クリアランスから選択される一又は複数の種類のクリアランスを活性化することであって、任意選択的に、疾患を引き起こすタンパク質が、アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、ｃ９ＲＡＮタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタキシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン （ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチドから選択され、任意選択的に、腫瘍細胞が、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫及び甲状腺癌から選択される癌に由来する、一又は複数の種類のクリアランスを活性化すること、（ｑ）アポトーシスニューロン、神経組織細片及び非神経組織細片、細菌、その他の異物、疾患を引き起こすタンパク質、疾患を引き起こすペプチド、疾患を引き起こす核酸又は腫瘍細胞のうち一又は複数の食作用を阻害することであって、任意選択的に、疾患を引き起こす核酸が、アンチセンス ＧＧＣＣＣＣ（Ｇ２Ｃ４）リピート増大ＲＮＡであり、疾患を引き起こすタンパク質が、アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、ｃ９ＲＡＮタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタ

キシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン（ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチドから選択され、任意選択的に、腫瘍細胞が、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫又は甲状腺癌から選択される癌に由来する、食作用を阻害すること（ｒ）腫瘍細胞上のＴＲＥＭ１リガンドと結合すること、（ｓ）好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア及びマクロファージから選択される細胞上のＴＲＥＭ１リガンドと結合すること、（ｔ）ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞又は細胞傷害性Ｔ細胞のうち一又は複数による腫瘍細胞死滅を活性化すること、（ｕ）ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞又は細胞傷害性Ｔ細胞のうち一又は複数の抗腫瘍細胞増殖活性を活性化すること、（ｖ）ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞又は細胞傷害性Ｔ細胞のうち一又は複数の抗腫瘍細胞転移活性を活性化すること、（ｗ）一又は複数のＩＴＡＭモチーフ含有受容体を活性化することであって、任意選択的に、一又は複数のＩＴＡＭモチーフ含有受容体が、ＴＲＥＭ１、ＴＲＥＭ１、ＦｃγＲ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２から選択される、活性化すること、（ｘ）一又は複数のパターン認識受容体（ＰＲＲ）によるシグナル伝達を活性化することであって、任意選択的に、一又は複数のＰＲＲが、病原体関連分子パターン（ＰＡＭＰ）を同定する受容体、損傷関連分子パターン（ＤＡＭＰ）を同定する受容体及びそれらの任意の組合せから選択される、活性化すること、（ｙ）一又は複数の、モチーフＤ／Ｅｘ０－２ＹｘｘＬ／ＩＸ６－８ＹｘｘＬ／Ｉを含む受容体を活性化すること、（ｚ）一又は複数のＴｏｌｌ様受容体によるシグナル伝達を活性化すること、（ａａ）ＪＡＫ－ＳＴＡＴシグナル伝達経路を活性化すること、（ｂｂ）活性化Ｂ細胞の核内因子カッパ軽鎖エンハンサー（ＮＦκＢ）を活性化すること、（ｃｃ）ＩＴＡＭモチーフ含有受容体をリン酸化すること、（ｄｄ）一又は複数の炎症性受容体の発現を調節することであって、任意選択的に、一又は複数の炎症性受容体が、ＣＤ８６を含み、一又は複数の炎症性受容体が、ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞又は細胞傷害性Ｔ細胞のうち一又は複数で発現される、発現を調節すること、（ｅｅ）一又は複数のＴＲＥＭ１依存性遺伝子の発現を増大すること、（ｇｇ）撹乱されたＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現を正常化すること、（ｆｆ）一又は複数のＩＴＡＭ依存性遺伝子の発現を増大することであって、任意選択的に、一又は複数のＩＴＡＭ依存性遺伝子が、活性化Ｔ細胞の核内因子（ＮＦＡＴ）転写因子によって活性化される、発現を増大すること、（ｇｇ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の分化を阻害すること、（ｈｈ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の機能性を阻害すること、（ｉｉ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の、腫瘍への浸潤を減少させること、（ｊｊ）腫瘍中の、末梢血又はその他のリンパ器官中の腫瘍促進性ミエロイド／顆粒球性免疫抑制細胞数を減少させること、（ｋｋ）ミエロイド由来サプレッサー細胞の腫瘍促進活性を阻害すること、

（ｌｌ）腫瘍における、又は末梢血における腫瘍促進性サイトカインの発現を減少させることであって、任意選択的に、腫瘍促進性サイトカインが、ＴＧＦベータ又はＩＬ－１０である、発現を減少させること、（ｍｍ）腫瘍促進性ＦｏｘＰ３＋制御性Ｔリンパ球の腫瘍浸潤を減少させること、（ｎｎ）腫瘍死滅能を有する腫瘍特異的Ｔリンパ球の活性化を増大すること、（ｏｏ）腫瘍量を減少させること、（ｐｐ）腫瘍成長速度を減少させること、（ｑｑ）抗腫瘍Ｔ細胞応答を調節する一又は複数の免疫療法の有効性を増大することであって、任意選択的に、一又は複数の免疫療法が、ＰＤ１／ＰＤＬ１遮断、ＣＴＬＡ－４遮断及び癌ワクチンから選択される、免疫療法の有効性を増大すること、（ｒｒ）ＰＬＣγ／ＰＫＣ／カルシウム動員を阻害すること、（ｕｕ）ＰＩ３Ｋ／Ａｋｔ、Ｒａｓ／ＭＡＰＫシグナル伝達を阻害すること、（ｓｓ）樹状細胞、マクロファージ、単球及び／又はミクログリアによる食作用を増大すること、（ｔｔ）細胞表面でのＴＲＥＭ１クラスター化を誘導又は維持すること、（ｙｙ）記憶を増大すること、並びに（ｚｚ）認知欠損を低減することが挙げられる。

【０１３３】

いくつかの実施態様では、抗体架橋は、アゴニスト抗体機能にとって必要である。抗体架橋は、ｉｎ ｖｉｔｒｏで二次抗体との結合によって、又はｉｎ ｖｉｖｏでＦｃ受容体との結合によって生じ得る。例えば、アンタゴニスト抗体は、ｉｎ ｖｉｔｒｏでビオチン／ストレプトアビジン架橋又は二次抗体結合によってアゴニスト抗体に変換され得る（例えば、Gravestein等、(1996)J. Exp. Med.184:675-685;Gravestein等、(1994) International Immunol.7:551-557を参照のこと）。アゴニスト抗体は、受容体リガンドの生物活性を模倣することによって、又は受容体凝集を増強し、それによって受容体シグナル伝達を活性化することによって、その活性を発揮し得る。

【０１３４】

標的化受容体を活性化するための、ＦｃγＲ受容体との結合に依存性の抗体は、ＦｃγＲ結合を排除するように遺伝子操作された場合に、その活性を失い得る（例えば、Wilson等、(2011)Cancer Cell19、101-113;Armour等、（2003)Immunology 40(2003)585-593)；及びWhite等、(2015)Cancer Cell27、138-148を参照のこと）。したがって、妥当なエピトープ特異性を有する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、アゴニスト抗体であり、抗体が、ヒトＩｇＧ２アイソタイプ由来のＦｃドメイン（ＣＨ１及びヒンジ領域）又は阻害性ＦｃγＲＩＩＢ受容体又はその変動を優先的に結合可能である別の種類のＦｃドメインを有する場合には、最小の有害作用しか伴わずに標的抗原を活性化し得ると考えられる。

【０１３５】

例示的アゴニスト抗体Ｆｃアイソタイプ及び修飾を、以下の表Ａに提供する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、以下の表Ａに列挙されるＦｃアイソタイプを有する。

表 A:例示的抗 TREM1 抗体 Fc アイソタイプ

Fc アイソタイプ	突然変異(EU 又は Kabat 番号付けスキーム)
IgG1	N297A
IgG1	D265A及びN297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A 及び L235A L234A 及び G237A L234A 及び L235A 及び G237A
IgG1	P238D 及び/又は L328E 及び/又は S267E/L328F 及び/又は E233 及び又は/G237D 及び/又は H268D 及び/又は P271G 及び/又は A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び L328E 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び E233D 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG1	P238D 及び S267E 及び L328F 及び G237D 及び H268D 及び P271G 及び A330R
IgG2	V234A 及び G237A
IgG4	L235A 及び G237A 及び E318A
IgG4	S228P 及び L236E
IgG2/4 ハイブリッド	IgG2 aa118-260及びIgG4 aa261-447

Fc アイソタイプ	突然変異(EU 又は Kabat 番号付けスキーム)
	H268Q及びV309L及びA330S及びP331S
IgG1	C226S及びC229S及びE233P及びL234V及びL235A
IgG1	L234F及びL235E及びP331S
IgG2	C232S又はC233S
IgG2	A330S及びP331S
IgG1	S267E及びL328F S267E単独
IgG2	S267E及びL328F
IgG4	S267E及びL328F
IgG2	カッパ(軽鎖)LC を伴う WT HC カッパLCを伴うHC C127S カッパLC C214S カッパLC C214S及びHC C233S カッパLC C214S及びHC C232S P330S及びP331S突然変異と一緒の上記で列挙された突然変異の何れか WT IgG1のF(ab')2断片及び上記で列挙された突然変異の何れか
IgG1	IgG1 の定常重鎖 1(CH1)及びヒンジ領域を、IGg2 の CH1 及びヒンジ領域 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS

Fc アイソタイプ	突然変異(EU 又は Kabat 番号付けスキーム)
	NTKVDKTVER KCCVECPPCP (配列番号476)と置換 カッパLCを伴う
IgG1	A330L及び/又はL234F及び/又はL235E及び/又はP331S と一緒の、上記で列挙された突然変異の何れか
IgG1、IgG2 又は IgG4	M252Y及び/又はS254T及び/又はT256Eと一緒の、上記で 列挙された突然変異の何れか
マウス IgG1	マウス疾患モデルのため
IgG4	WT

【０１３６】
理論に拘泥するものではないが、表Ａに記載されるアイソタイプに加えて、ヒトＩｇＧ１又はＩｇＧ３アイソタイプ並びにヒトにおいて活性化Ｆｃγ受容体Ｉ、ＩＩＡ、ＩＩＣ、ＩＩＩＡ、ＩＩＩＢと、及び／又はマウスにおいてＦｃγ受容体Ｉ、ＩＩＩ及びＩＶと結合するその突然変異体を有する抗体（例えば、Ｓｔｒｏｈｌ（２００９）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２００９、２０：６８５－６９１）も、ｉｎ ｖｉｖｏでアゴニスト抗体として作用し得るが、ＡＤＣＣと関連する有害作用と関連する場合もあると考えられる。しかし、このようなＦｃγ受容体は、阻害性ＦｃγＦｃγＲＩＩＢと比較されるように、ｉｎ ｖｉｖｏで抗体結合にとってあまり利用可能ではないと思われる（例えば、White等、(2013) Cancer Immunol. Immunother.62、941-948；及びLi等、(2011)Science 333(6045):1030-1034を参照のこと）。
【０１３７】
いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ＩｇＧクラス、ＩｇＭクラス又はＩｇＡクラスのものである。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４アイソタイプを有する。
【０１３８】
特定の実施態様では、アゴニスト抗体は、ＩｇＧ２アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ヒトＩｇＧ２定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ２定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、Ｆｃ受容体との結合とは独立に、一又は複数のＴＲＥＭ１活性、ＤＡＰ１２活性又は両方を誘導する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、阻害性Ｆｃ受容体と結合する。特定の実施態様では、阻害性Ｆｃ受容体は、阻害性Ｆｃ－γ受容体ＩＩＢ（ＦｃγＩＩＢ）である。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｖ２３４Ａ（Alegre等、(1994) Transplantation 57:1537-1543.31;Xu等、(2000) Cell Immunol、200:16-26）、Ｇ２３７Ａ（Cole等(1999) Transplantation、68:563-571）、Ｈ２６８Ｑ、Ｖ３０９Ｌ、Ａ３３０Ｓ、Ｐ３３

１Ｓ（ＵＳ２００７／０１４８１６７；Armour等(1999) Eur J Immunol 29:2613-2624;Armour等（2000) The Haematology Journal 1(Suppl.1):27;Armour等(2000) The Haematology Journal 1(Suppl.1):27）、Ｃ２３２Ｓ及び／又はＣ２３３Ｓ（White等(2015) Cancer Cell 27、138-148）、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ（Chu等、(2008) Mol Immunol、45:3926-3933）、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１３９】

いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、Ｃ１２７Ｓアミノ酸置換を含有する重鎖定常ドメインを有するＩｇＧ２アイソタイプを有し、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う（White等、(2015) Cancer Cell27、138-148;Lightle等、(2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762；及び国際公開第２００８０７９２４６号）。

【０１４０】

いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、Ｃ２１４Ｓアミノ酸置換を含有するカッパ軽鎖定常ドメインを有するＩｇＧ２アイソタイプを有し、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う（White等、(2015) Cancer Cell27、138-148;Lightle等、(2010) PROTEIN SCIENCE 19:753-762；及び国際公開第２００８０７９２４６号）。

【０１４１】

特定の実施態様では、アゴニスト抗体は、ＩｇＧ１アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、マウスＩｇＧ１定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ヒトＩｇＧ１定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ１定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、阻害性Ｆｃ受容体と結合する。特定の実施態様では、阻害性Ｆｃ受容体は、阻害性Ｆｃ－γ受容体ＩＩＢ（ＦｃγＩＩＢ）である。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｎ２９７Ａ（Bolt S等(1993) Eur J Immunol 23:403-411）、Ｄ２６５Ａ（Shields等(2001) R. J. Biol. Chem. 276、6591-6604）、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ（Hutchins等(1995) Proc Natl Acad Sci USA、92:11980-11984;Alegre等、(1994) Transplantation 57:1537-1543. 31;Xu等、(2000) Cell Immunol、200:16-26）、Ｇ２３７Ａ（Alegre等(1994) Transplantation 57:1537-1543. 31;Xu等(2000) Cell Immunol、200:16-26）、Ｃ２２６Ｓ、Ｃ２２９Ｓ、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ｖ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ（McEarchern等、(2007) Blood、109:1185-1192）、Ｐ３３１Ｓ（Sazinsky等、(2008) Proc Natl Acad Sci USA 2008、105:20167-20172）、Ｓ２６７Ｅ、Ｌ３２８Ｆ、Ａ３３０Ｌ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１４２】

いくつかの実施態様では、抗体は、ＩｇＧ２アイソタイプ重鎖定常ドメイン１（ＣＨ１）及びヒンジ領域（White等、(2015) Cancer Cell 27、138-148）を含む。特定の実施態様では、ＩｇＧ２アイソタイプＣＨ１及びヒンジ領域は、ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＣＳＲＳＴＳＥＳＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＮＦＧＴＱＴＹＴＣＮＶＤＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＴＶＥＲＫＣＣＶＥＣＰＰＣＰ（配列番号４７６）のアミノ酸配列を含有する。いくつかの実施態様では、抗体Ｆｃ領域は、Ｓ２６７Ｅアミノ酸置換、Ｌ３２８Ｆアミノ酸置換若しくは両方及び／又はＮ２９７Ａ若しくはＮ２９７Ｑアミノ酸置換を含有し、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１４３】

特定の実施態様では、アゴニスト抗体は、ＩｇＧ４アイソタイプを有する。いくつかの実

施態様では、アゴニスト抗体は、ヒトＩｇＧ４定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ４定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、阻害性Ｆｃ受容体と結合する。特定の実施態様では、阻害性Ｆｃ受容体は、阻害性Ｆｃ－γ受容体ＩＩＢ（ＦｃγＩＩＢ）である。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｓ２２８Ｐ、Ｌ２３６Ｅ（Reddy等、(2000) Ｊ Immunol,164:1925-1933）、Ｓ２６７Ｅ、Ｅ３１８Ａ、Ｌ３２８Ｆ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１４４】

特定の実施態様では、アゴニスト抗体は、ハイブリッドＩｇＧ２／４アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、アゴニスト抗体は、ヒトＩｇＧ２のＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従うアミノ酸１１８－２６０及びヒトＩｇＧ４のＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従うアミノ酸２６１－４４７を含有するアミノ酸配列を含む（国際公開第１９９７／１１９７１号、国際公開第２００７／１０６５８５号）。

【０１４５】

特定の実施態様では、抗体は、マウスＩｇＧ４定常領域（Bartholomaeus等(2014)J. Immunol. 192、2091-2098）を含有する。

【０１４６】

いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付けに従うＡ３３０Ｌ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ又はＰ３３１Ｓから選択される一又は複数のさらなるアミノ酸置換及びそれらの任意の組合せをさらに含有する。

【０１４７】

不活性抗体

本開示の別のクラスの抗体は、不活性抗体を含む。本明細書において、「不活性」抗体とは、標的抗原と特異的に結合するが、抗原機能を調節しない（例えば、低減／阻害しない、又は活性化／誘導しない）抗体を指す。例えば、ＴＲＥＭ１の場合には、不活性抗体は、リガンド結合及び／又はＴＲＥＭ１活性を調節しない。理論に拘泥するものではないが、細胞表面でＴＲＥＭ１をクラスター化する能力を有さない抗体は、受容体活性化と適合するエピトープ特異性を有する場合でさえ、不活性抗体であり得ると考えられる。

【０１４８】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１タンパク質と結合する抗体は、ＴＲＥＭ１と結合するが、そのエピトープ特異性のために、タンパク質機能を調節しない抗体を含み得る。このような機能的に不活性な抗体は、カリチアマイシンのクラスに由来する細胞傷害性薬剤にコンジュゲートされており、急性骨髄性白血病腫瘍を標的化し、死滅させるために使用される（Naito等、(2000)、Leukemia、14、1436-1443;Ricart (2011) Clin Cacer Res 17;6417-6436;Hamann等、(2002) Journal: Bioconjugate Chemistry、13、47-58；及びBeitz等、(2001) Clin Cancer Res 7;1490-6）ＣＤ３３抗体ゲムツズマブオゾガマイシン（マイロターグとして市販されている）について記載されるように、毒素を輸送するための、又は腫瘍細胞へのカーゴとして使用され得る。したがって、いくつかの実施態様では、本開示の抗体は、ＴＲＥＭ１と結合するが、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導不可能である不活性抗体である（例えば、本明細書において記載されるＴＲＥＭ１活性）。

【０１４９】

例示的不活性抗体Ｆｃアイソタイプ及び修飾を、以下の表Ｂに提供する。いくつかの実施態様では、不活性抗体は、以下の表Ｂに列挙されるＦｃアイソタイプを有する。

【０１５０】

アンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体

別のクラスの抗体として、アンタゴニスト抗体がある。いくつかの実施態様では、ＴＲＥ

Ｍ１タンパク質と結合する抗体は、ＴＲＥＭ１と結合し、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンド間の相互作用を防止することによって、又はリガンドの存在下でＴＲＥＭ１の細胞外ドメインから細胞の細胞質へのシグナルの伝達を防止することの何れかによって、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を阻害するアンタゴニスト抗体を含み得る。

【０１５１】

ＴＲＥＭ１受容体は、シグナルを伝達するために細胞表面上でのクラスター化を必要とすると考えられている。したがって、いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、細胞表面上でのＴＲＥＭ１受容体クラスター化を阻害する独特の特徴を有し得る。例えば、このような抗体は、受容体阻害と適合する妥当なエピトープ特異性並びに細胞表面上での受容体クラスター化を遮断又は逆転させる能力を有し得る。いくつかの実施態様では、本開示のアンタゴニスト抗体は、本開示のアゴニスト抗体のエピトープ特異性を有し得るが、Ｆｃγ受容体と結合可能ではない、したがって、ＴＲＥＭ１受容体をクラスターできないＦｃドメインを有する。

【０１５２】

いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１依存性遺伝子の活性を低下させる。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数の細胞におけるＴＲＥＭ１のレベル（例えば、細胞表面レベル、細胞内レベル又は総レベル）を低下させる。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の分解を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の切断を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の内部移行を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１のシェディングを誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用（例えば、結合）を阻害する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１の分解を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１の切断を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１の内部移行を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１のシェディングを誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一過性に活性化し、次いで、ＴＲＥＭ１の発現の減少を誘導する。特定の実施態様では、個体は、ＴＲＥＭ１変異体対立遺伝子を有する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、溶液中で作用する。

【０１５３】

いくつかの例では、本開示のアンタゴニスト－ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１と結合し、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの結合を遮断し得る。本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドとの阻害性相互作用をさらに示し得る。したがって、いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の最大活性は、本開示の一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと組み合わせて本明細書において記載されるような抗ＴＲＥＭ１抗体に結合された場合に、飽和濃度のリガンドに曝露された場合のＴＲＥＭ１の最大活性よりも低いものであり得る（例えば、低減される）。さらに、所与の濃度のＴＲＥＭ１リガンドでのＴＲＥＭ１の活性は、抗体の存在下で、より小さいものであり得る（例えば、低減される）。したがって、いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドを用いた場合に、ＴＲＥＭ１タンパク質に結合された場合に一又は複数のＴＲＥＭ１活性を阻害する撹乱効果を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する能力を、抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する能力と比較して低下させる。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面クラスター化の存在下で一又は複数のＴＲＥＭ１活性を阻害する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞

表面クラスター化を遮断又は低減することによって、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を阻害する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、限定するものではないが、Ｂ細胞及びミクログリア細胞を含む一又は複数の免疫細胞上で発現される一又は複数のＦｃ－γ受容体によってクラスター化される。いくつかの実施態様では、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性の阻害は、限定するものではないが、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞を含む初代細胞で、又は細胞株で測定され、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性の阻害は、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して測定される。

【０１５４】

いくつかの実施態様では、抗体は、細胞膜に結合されていない可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、ＴＲＥＭ１の一又は複数の活性を阻害する。特定の実施態様では、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）は、限定するものではないが、細胞外環境中で、血液血清中で、脳脊髄液（ＣＳＦ）中で、及び組織内の間質性空間中で見出され得る。特定の実施態様では、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）は、非細胞性である。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）のレベルを増大する、及び／又は可溶性ＴＲＥＭ１タンパク質（ｓＴＲＥＭ１）の半減期を増大する。

【０１５５】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体によって阻害されるＴＲＥＭ１活性は、以下（ａ）一又は複数の抗炎症性サイトカインの発現を調節することであって、任意選択的に、一又は複数の抗炎症性サイトカインが、ＩＬ－４、ＩＬ－１０　ＴＧＦ－β、ＩＬ－１３、ＩＬ－３５　ＩＬ－１６、ＩＦＮ－α、ＩＬ－１Ｒａ、ＶＥＧＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びＴＮＦ又はＩＬ－６の可溶性受容体から選択される、発現を調節すること、（ｂ）マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、破骨細胞及びミクログリア細胞から選択される一又は複数の細胞における一又は複数の抗炎症性サイトカインの発現を調節すること、（ｃ）一又は複数の炎症性サイトカインの発現を調節することであって、任意選択的に、一又は複数の炎症性サイトカインが、ＩＦＮ－β、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＣＸＣＬ１０及びＭＣＰ－１から選択される、発現を調節すること、（ｄ）マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、破骨細胞及びミクログリア細胞から選択される一又は複数の細胞における一又は複数の炎症性サイトカインの発現を調節すること、（ｅ）細胞外シグナル調節キナーゼ（ＥＲＫ）リン酸化を活性化すること、（ｆ）複数の細胞性タンパク質でのチロシンリン酸化を活性化すること、（ｇ）Ｃ－Ｃケモカイン受容体７（ＣＣＲ７）の発現を調節すること、（ｈ）ＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１発現細胞に向けたミクログリア細胞走化作用を活性化すること、（ｉ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア、Ｍ２ミクログリア、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ及びＭ２マクロファージから選択される一又は複数の細胞による、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及び／又は制御性Ｔ細胞などの一又は複数のＴ細胞の誘導及び／又は調節機能を増大すること、（ｊ）破骨細胞産生を活性化すること、破骨細胞形成の速度を増大すること又は両方、（ｋ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア、ミエロイド由来サプレッサー細胞、Ｇｒ－１＋ＣＤ１１ｂ＋ミエロイド細胞及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の生存を増大すること、（ｌ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆

粒球、好中球、ミエロイド由来サプレッサー細胞、Ｇｒ－１＋ＣＤ１１ｂ＋ミエロイド細胞、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の増殖を増大すること、（ｍ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の遊走を活性化すること、（ｎ）樹状細胞、ミエロイド由来サプレッサー細胞、Ｇｒ－１＋ＣＤ１１ｂ＋ミエロイド細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の一又は複数の機能を活性化すること、（ｏ）樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、マクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、Ｇｒ－１＋ＣＤ１１ｂ＋ミエロイド細胞、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ、Ｍ２マクロファージ、単球、破骨細胞、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、顆粒球、好中球、ミクログリア、Ｍ１ミクログリア、活性化Ｍ１ミクログリア及びＭ２ミクログリアから選択される一又は複数の細胞の成熟を活性化すること、（ｐ）腫瘍細胞上のＴＲＥＭ１リガンドと結合すること、（ｑ）好中球、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア及びマクロファージから選択される細胞上のＴＲＥＭ１リガンドと結合すること、（ｒ）一又は複数のＩＴＡＭモチーフ含有受容体の活性化であって、任意選択的に、一又は複数のＩＴＡＭモチーフ含有受容体が、ＴＲＥＭ１、ＴＲＥＭ１、ＦｃγＲ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２から選択される、活性化、（ｘ）一又は複数のパターン認識受容体（ＰＲＲ）によるシグナル伝達の活性化であって、任意選択的に、一又は複数のＰＲＲが、病原体関連分子パターン（ＰＡＭＰ）を同定する受容体、損傷関連分子パターン（ＤＡＭＰ）を同定する受容体及びそれらの任意の組合せから選択される、活性化、（ｙ）モチーフＤ／Ｅｘ０－２Ｙｘｘ Ｌ／ＩＸ６－８Ｙｘｘ Ｌ／Ｉを含む一又は複数の受容体の活性化、（ｚ）一又は複数のＴｏｌｌ様受容体によるシグナル伝達の活性化、（ａａ）ＪＡＫ－ＳＴＡＴシグナル伝達経路の活性化、（ｂｂ）活性化Ｂ細胞の核内因子カッパ軽鎖エンハンサー（ＮＦκＢ）の活性化、（ｃｃ）ＩＴＡＭモチーフ含有受容体のリン酸化、（ｄｄ）一又は複数の炎症性受容体の発現の調節であって、任意選択的に、一又は複数の炎症性受容体が、ＣＤ８６を含み、一又は複数の炎症性受容体が、ミクログリア、マクロファージ、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、好中球、Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞又は細胞傷害性Ｔ細胞のうち一又は複数で発現される、発現の調節、（ｅｅ）一又は複数のＴＲＥＭ１依存性遺伝子の発現を増大すること、（ｇｇ）撹乱されたＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現の正常化、（ｆｆ）一又は複数のＩＴＡＭ依存性遺伝子の発現を増大することであって、任意選択的に、一又は複数のＩＴＡＭ依存性遺伝子が、活性化Ｔ細胞の核内因子（ＮＦＡＴ）転写因子によって活性化される、発現を増大すること、（ｇｇ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の分化を活性化すること、（ｈｈ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の機能性を活性化すること、（ｉｉ）免疫サプレッサー樹状細胞、免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫サプレッサー好中球及び制御性Ｔ細胞のうち一又は複数の、腫瘍への浸潤を増大すること、（ｊｊ）腫瘍中の、末梢血又はその他のリンパ器官中の腫瘍促進性ミエロイド／顆粒球性免疫抑制細胞数を増大すること、（ｋｋ）ミエロイド由来サプレッサー細胞の腫瘍促進活性を刺激すること、（ｌｌ）腫瘍における、又は末梢血における腫瘍促進性サイトカインの発現を増大することであって、任意選択的に、腫瘍促進性サイトカインが、ＴＧＦベータ又はＩＬ－１０である、発現を増大すること、（ｍｍ）腫瘍促進性ＦｏｘＰ３＋制御性Ｔリンパ球の腫瘍浸潤を減少させること、（ｎｎ）腫瘍死滅能を有する腫瘍特異的Ｔリンパ球

の活性化を減少させること、（ｏｏ）腫瘍量を増大すること、（ｐｐ）腫瘍成長速度を増大すること、（ｑｑ）抗腫瘍Ｔ細胞応答を調節する一又は複数の免疫療法の有効性を減少させることであって、任意選択的に、一又は複数の免疫療法が、ＰＤ１／ＰＤＬ１遮断、ＣＴＬＡ－４遮断及び癌ワクチンから選択される、免疫療法の有効性を減少させること、（ｒｒ）ＰＬＣγ／ＰＫＣ／カルシウム動員の阻害並びに（ｕｕ）ＰＩ３Ｋ／Ａｋｔ、Ｒａｓ／ＭＡＰＫシグナル伝達の阻害、（ｓｓ）細胞表面でのＴＲＥＭ１クラスター化の誘導又は保持、（ｘｘ）ＤＡＰ１２とのＴＲＥＭ１結合、（ｕｕ）ＴＲＥＭ１リン酸化、（ｖｖ）ＤＡＰ１２リン酸化、（ｗｗ）ＴＲＥＭ１リン酸化、（ｘｘ）Ｓｙｋキナーゼを含む一又は複数のＳＲＣファミリーチロシンキナーゼの活性化、（ｙｙ）Ｃ１ｑａ、Ｃ１ｑＢ、Ｃ１ｑＣ、Ｃ１ｓ、Ｃ１Ｒ、Ｃ４、Ｃ２、Ｃ３、ＩＴＧＢ２、ＨＭＯＸ１、ＬＡＴ２．ＣＡＳＰ１、ＣＳＴＡ、ＶＳＩＧ４、ＭＳ４Ａ４Ａ、Ｃ３ＡＲ１、ＧＰＸ１、ＴｙｒｏＢＰ、ＡＬＯＸ５ＡＰ、ＩＴＧＡＭ、ＳＬＣ７Ａ７、ＣＤ４、ＩＴＧＡＸ、ＰＹＣＡＲＤ及びＶＥＧＦｌからなる群から選択される一又は複数のタンパク質の発現を調節すること、（ｚｚ）記憶を増大すること、並びに（ａａａ）認知欠損を低減することのうち一又は複数を含み得る。

【０１５６】

いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、マクロファージ、ミクログリア細胞、Ｍ１マクロファージ、Ｍ１ミクログリア細胞、Ｍ２マクロファージ、Ｍ２ミクログリア細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又は樹状細胞の生存を減少させる。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用を阻害する。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１シグナル伝達を阻害する。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用を阻害し、ＴＲＥＭ１シグナル伝達を阻害する。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、ＤＡＰ１２とのＴＲＥＭ１相互作用を阻害する。

【０１５７】

上記で説明されるように、いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１アンタゴニスト抗体は、限定するものではないが、一又は複数の活性化Ｔ細胞の核内因子（ＮＦＡＴ）転写因子を含む一又は複数のＴＲＥＭ１依存性遺伝子の発現を阻害し得る。

【０１５８】

一又は複数の細胞におけるＴＲＥＭ１のレベル（例えば、細胞レベル）は、限定するものではないが、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベル、ＴＲＥＭ１の細胞内レベル及びＴＲＥＭ１の総レベルを指し得る。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルの低下は、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルは、例えば、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを測定する、蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）などのフローサイトメトリーを利用して、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルによって測定され得る。いくつかの実施態様では、細胞におけるＴＲＥＭ１のレベルの低下は、ＴＲＥＭ１の細胞内レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の細胞内レベルは、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデル、例えば、免疫染色、ウエスタンブロット分析、共免疫沈降及び細胞数測定によって測定され得る。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルの低下は、ＴＲＥＭ１の総レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の総レベルは、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデル、例えば、免疫染色、ウエスタンブロット分析、共免疫沈降及び細胞数測定によって測定され得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１分解、ＴＲＥＭ１切断、ＴＲＥＭ１内部移行、ＴＲＥＭ１シェディング、及び／又はＴＲＥＭ１発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施態様では、一又は複数の細胞におけるＴＲＥＭ１のレベル（例えば、細胞レベル）は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して、初代細胞（例えば、樹状細胞、

骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア及びマクロファージ）で、又は細胞株で測定される。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞レベルを、抗ＴＲＥＭ１抗体の不在下でのＴＲＥＭ１の細胞レベルと比較して、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％，少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％又はそれ以上低下させる。ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用（例えば、結合）の阻害を測定するために、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルが使用され得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、飽和抗体濃度で、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ又は細胞ベース培養アッセイを利用して、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用（例えば、結合）を、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％，少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％又はそれ以上阻害する。

【０１５９】

いくつかの実施態様では、アンタゴニスト活性のために、抗体架橋がないことが必要である。いくつかの実施態様では、抗体は、モノマーとして提示される場合にはアンタゴニストとして、二量体又は多量体として提示される場合にはアゴニストとして作用する。アンタゴニスト抗体は、受容体－リガンド相互作用を遮断することによってその活性を発揮し得る。

【０１６０】

例示的アンタゴニスト抗体Ｆｃアイソタイプ及び修飾を、以下の表Ｂにおいて提供する。いくつかの実施態様では、アンタゴニスト抗体は、以下の表Ｂに列挙されたＦｃアイソタイプを有する。

【０１６１】

不活性及びアンタゴニスト抗体の例示的Ｆｃアイソタイプ

いくつかの実施態様では、不活性及び／又はアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ抗体は、以下の表Ｂに列挙されるＦｃアイソタイプを有する。

表 B:Fcγ受容体との結合が低減された例示的抗 TREM1 抗体 Fc アイソタイプ

Fc アイソタイプ	突然変異(EU 又は Kabat 番号付けスキーム)
IgG1	N297A 又は N297Q
IgG1	D265A及びN297A
IgG1	L234A 及び L235A
IgG2	V234A 及び G237A
IgG4	F235A 及び G237A 及び E318A E233P 及び/又は F234V N297A 又は N297Q
IgG4	S228P 及び L236E S241P S241P 及び L248E S228P 及び F234A 及び L235A
IgG2	H268Q及びV309L及びA330S及びP331S
IgG1	C220S 及び C226S 及び C229S 及び P238S
IgG1	C226S及びC229S及びE233P及びL234V及びL235A
IgG1	E233P及びL234V及びL235A及びG236欠失 P238A D265A N297A A327Q又はA327G P329A
IgG1	K322A及びL234A及びL235A

Fc アイソタイプ	突然変異(EU 又は Kabat 番号付けスキーム)
IgG1	L234F及びL235E及びP331S
IgG1 又は IgG4	T394D
IgG2	C232S又はC233S N297A又はN297Q
IgG2	V234A及びG237A及びP238S及びH268A及びV309L及びA330S及びP331S
IgG1、IgG2 又は IgG4	デルタa、b、c、ab、ac、g修飾
IgG1	A330L又はL234F及び/又はL235E及び/又はP331Sと一緒の、上記で列挙された突然変異の何れか
IgG1、IgG2 又は IgG4	M252Y及び/又はS254T及び/又はT256Eと一緒の、上記で列挙された突然変異の何れか

【０１６２】
特定の実施態様では、抗体は、ＩｇＧ１アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、抗体は、マウスＩｇＧ１定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、抗体は、ヒトＩｇＧ１定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ１定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ（Bolt S等(1993) Eur J Immunol 23:403-411）、Ｄ２６５Ａ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ（McEarchern等、(2007) Blood、109:1185-1192）、Ｃ２２６Ｓ、Ｃ２２９Ｓ（McEarchern等、(2007) Blood、109:1185-1192）、Ｐ２３８Ｓ（Davis等、(2007)J Rheumatol、34:2204-2210）、Ｅ２３３Ｐ、Ｌ２３４Ｖ（McEarchern等、(2007) Blood、109:1185-1192）、Ｐ２３８Ａ、Ａ３２７Ｑ、Ａ３２７Ｇ、Ｐ３２９Ａ（Shields RL.等、(2001)J Biol Chem. 276(9):6591-604）、Ｋ３２２Ａ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ（Hezareh等、(2001) J Virol 75、12161-12168;Oganesyan等、(2008) Acta Crystallographica 64、700-704）、Ｐ３３１Ｓ（Oganesyan等、(2008) Acta Crystallographica 64、700-704）、Ｔ３９４Ｄ（Wilkinson等(2013) MAbs 5(3): 406-417）、Ａ３３０Ｌ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。特定の実施態様では、Ｆｃ領域は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従うグリシン２３６に対応する位置にアミノ酸欠失をさらに含む。
【０１６３】
いくつかの実施態様では、抗体は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従うＣ２２０Ｓアミノ酸置換を含有する重鎖定常領域を有するＩｇＧ１アイソタイプを有する。
【０１６４】
いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従うＡ３３０

Ｌ、Ｌ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ及び／又はＰ３３１Ｓから選択される一又は複数のさらなるアミノ酸置換をさらに含有する。

【０１６５】

特定の実施態様では、抗体は、ＩｇＧ２アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、抗体は、ヒトＩｇＧ２定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ２定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｖ２３４Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｈ２６８Ｅ、Ｖ３０９Ｌ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑ、Ａ３３０Ｓ、Ｐ３３１Ｓ、Ｃ２３２Ｓ、Ｃ２３３Ｓ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１６６】

特定の実施態様では、抗体は、ＩｇＧ４アイソタイプを有する。いくつかの実施態様では、抗体は、ヒトＩｇＧ４定常領域を含有する。いくつかの実施態様では、ヒトＩｇＧ４定常領域は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数の修飾を含有する。例えば、いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、一又は複数のアミノ酸置換（例えば、同一アイソタイプの野生型Ｆｃ領域に対して）を含有する。いくつかの実施態様では、一又は複数のアミノ酸置換は、Ｅ２３３Ｐ、Ｆ２３４Ｖ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ、Ｅ３１８Ａ（Hutchins等(1995)Proc Natl Acad Sci USA、92:11980-11984）、Ｓ２２８Ｐ、Ｌ２３６Ｅ、Ｓ２４１Ｐ、Ｌ２４８Ｅ（Reddy等、(2000)J Immunol,164:1925-1933;Angal等、(1993) Mol Immunol. 30(1):105-8；US8614299 B2）、Ｔ３９４Ｄ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ及び／又はＮ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｑから選択され、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１６７】

いくつかの実施態様では、Ｆｃ領域は、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及び／又はＴ２５６Ｅから選択される一又は複数のさらなるアミノ酸置換をさらに含有し、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。

【０１６８】

さらなるＩｇＧ突然変異

いくつかの実施態様では、本明細書において記載されるＩｇＧ１変異体の一又は複数は、相補体活性化を排除するために、Ａ３３０Ｌ突然変異（Ｌａｚａｒ等、（２００６）　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ、１０３：４００５－４０１０）又はＬ２３４Ｆ、Ｌ２３５Ｅ及び／又はＰ３３１Ｓ突然変異のうち一若しくは複数（Sazinsky等、(2008) Proc Natl Acad Sci USA、105:20167-20172）と組み合わされ得、これでは、アミノ酸位置は、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従う。いくつかの実施態様では、本明細書において記載されるＩｇＧ変異体は、ヒト血清における抗体半減期を増強するために、一又は複数の突然変異と組み合わされ得る（例えば、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従うＭ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ突然変異）（Dall'Acqua等、(2006)J Biol Chem、281:23514-23524；及びStrohl等、(2009) Current Opinion in Biotechnology、20:685-691）。

【０１６９】

いくつかの実施態様では、本開示のＩｇＧ４変異体は、抗体安定化を増強するために、ＥＵ又はＫａｂａｔ番号付け慣習に従うＳ２２８Ｐ突然変異と組み合わされ得る（Angal等、(1993)Mol Immunol、30:105-108）及び／又はＰｅｔｅｒｓ等、（２０１２）ＪＢｉｏｌ　Ｃｈｅｍ．　１３；２８７（２９）：２４５２５－３３）に記載される一若しくは複数の突然変異と組み合わされ得る。

【０１７０】

例示的抗ＴＲＥＭ１抗体

上記の節に記載されるような一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導又は遮断するために、本

開示の抗ＴＲＥＭ１抗体が試験され得る。
【０１７１】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、モノクローナル抗体である。
【０１７２】
いくつかの実施態様では、本開示の単離された抗ＴＲＥＭ１抗体は、単離された抗体の不在下での、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性と比較して、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合と競合せずに、そうでなければ、それを遮断せずに、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する。いくつかの実施態様では、抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、多価抗体又はキメラ抗体である。このような抗体の例示的説明は、本開示を通じて見られる。いくつかの実施態様では、抗体は、第１の抗原及び第２の抗原を認識する二重特異性抗体である。
【０１７３】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、限定するものではないが、哺乳動物ＴＲＥＭ１タンパク質ヒトＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＮＰ９９、配列番号１）、マウスＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＪＫＥ２、配列番号２）、ラットＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｄ４ＡＢＵ７、配列番号３）、アカゲザルＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＴＢＢ４、配列番号４）、ウシＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ６ＱＵＮ５、配列番号５）、ウマＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＰＳＦ７、配列番号６）、ブタＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｒ４ＳＥＹ７、配列番号７）、チンパンジーＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｈ２ＱＳＺ３、配列番号５６１）及びイヌＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｅ２ＲＰ３７、配列番号８）を含む、ヒトＴＲＥＭ１又はその相同体と結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１と特異的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、マウスＴＲＥＭ１と特異的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１及びマウスＴＲＥＭ１の両方と特異的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、本明細書において記載されるような少なくとも一つのＴＲＥＭ１活性を調節する（例えば、誘導する又は阻害する）。
【０１７４】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質の膜結合又は可溶性形態及び／又は天然に存在する変異体と結合する。特定の好ましい実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１と結合する。
【０１７５】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞の表面で発現された本開示のＴＲＥＭ１タンパク質と結合し、表面で発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、少なくとも一つの本開示のＴＲＥＭ１活性を調節する（例えば、誘導する又は阻害する）アゴニスト抗体又はアンタゴニスト抗体である。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、不活性抗体である。
【０１７６】
ＴＲＥＭ１との抗体結合及びＴＲＥＭ１媒介性活性に対する抗ＴＲＥＭ１抗体の効果を評価するための例示的アッセイを、実施例の節において提供する。
【０１７７】
抗ＴＲＥＭ１抗体－結合領域
本開示の特定の態様は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基２１－２０５内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基２１－２０５に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する抗ＴＲＥＭ１抗体を提供す

る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基２６－１３４内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基２６－１３４に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基４５－５４内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基４５－５４に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基７０－７９内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基７０－７９に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基８９－９７内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基８９－９７に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基１１９－１２５内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基１１９－１２５に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基８３－９０内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基８３－９０に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基１９１－２０１内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基１９１－２０１に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）のアミノ酸残基１１６－１２５内の、又はＴＲＥＭ１相同体若しくは配列番号１のアミノ酸残基１１６－１２５に対応するオーソログ上のアミノ酸残基内の一又は複数のアミノ酸と結合する。

【０１７８】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、表２－５において列挙される抗体の何れかから選択される少なくとも一つの抗体の結合を競合的に阻害する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体又はＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３及び－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体の結合を競合的に阻害する。

【０１７９】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、表２－５において列挙される抗体の何れかから選択される少なくとも一つの抗体によって結合されるＴＲＥＭ１エピトープと同一であるか、又は重複するヒトＴＲＥＭ１のエピトープと結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体又はＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３及び－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体によって結合されるＴＲＥＭ１エピトープと同一であるか、又は重複するヒトＴＲＥＭ１のエピトープと結合する。

【０１８０】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、表２－５に列挙される抗体の何れかから選択される少なくとも一つの抗体によって結合される同一のＴＲＥＭ１エピトープと本質的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体又はＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３及び－Ｔ１－８０から選択される少なくとも一つの抗体によって結合される同一のＴＲＥＭ１エピトープと本質的に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法は、Ｍｏｒｒｉｓ（１９９６）「Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」、ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ第６６巻（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ）に、及び本開示の実施例２に提供されている。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－６２と同一のエピトープと本質的に結合する、又はＴ１－６３と同一のエピトープと本

質的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－３４と同一のエピトープと本質的に結合する、Ｔ１－３９と同一のエピトープと本質的に結合する、又はＴ１－４０と同一のエピトープと本質的に結合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列番号１のアミノ酸８３－９０及び１９１－２０１を含むエピトープと結合する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列番号１のアミノ酸４５－５４、７０－７９、８９－９７及び１１９－１２５を含むエピトープと結合する。

【０１８１】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合について、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される一又は複数の抗体と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合について、Ｔ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される一又は複数の抗体と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合についてＴ１－６２と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合についてＴ１－６３と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合についてＴ１－３４と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合についてＴ１－３９と競合する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合についてＴ１－４０と競合する。

【０１８２】

例示的競合アッセイでは、細胞表面で、固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞をＴＲＥＭ１（例えば、ヒト又は非ヒト霊長類）と結合する第１の標識化抗体及びＴＲＥＭ１との結合について第１の抗体と競合する能力について試験されている第２の非標識化抗体を含む溶液中でインキュベートする。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在し得る。コントロールとして、固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞を、第１の標識化抗体を含むが、第２の非標識化抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第１の抗体のＴＲＥＭ１との結合について許容状態下でのインキュベーション後、過剰の結合していない抗体を除去し、固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞と会合している標識の量を測定する。固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞と会合している標識の量が、コントロールサンプルと比較して試験サンプルにおいて実質的に低減される場合に、第２の抗体が、ＴＲＥＭ１との結合について第１の抗体と競合していることを示す。Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ 第１４章（Cold Spring Harbor Laboratory、Cold Spring Harbor、NY）を参照のこと。

【０１８３】

抗ＴＲＥＭ１抗体軽鎖及び重鎖可変領域

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、（ａ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体のうち何れか一つのＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３から選択される、少なくとも一つの、二つ又は三つのＨＶＲ及びそれらの任意の組合せを含む軽鎖可変領域及び／又は（ｂ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される抗体のうち何れか一つのＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３から選択される、少なくとも一つの、二つ又は三つのＨＶＲ及びそれらの任意の組合せを含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施態様では、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、ＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３は、表２－５に示されるような、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される抗体及びそれらの任意の組合せ、又はＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体及びそれらの任意の組合せに由来するＥＵ又はＫａｂａｔ ＨＶＲ、Ｃｈｏｔｈｉａ ＨＶＲ又は接触ＨＶＲ配列を含む。

【０１８４】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、（ｉ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｌ１配列の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｌ２の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、（ｉｉｉ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｌ３配列の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、（ｉｖ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｈ１配列の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｖ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｈ２の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２並びに（ｖｉ）表２－５に列挙される、又はＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体に由来するＨＶＲ－Ｈ３配列の何れかのアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも１つの、２つ、３つ、４つ、５つ又は６つＨＶＲを含む。

【０１８５】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、（ａ）配列番号９－２７から選択されるアミノ酸配列又は配列番号９－２７から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２８－４０から選択されるアミノ酸配列若しくは配列番号２８－４０から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２及び（ｃ）配列番号４１－１１９から選択されるアミノ酸配列若しくは配列番号４１－１１９から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３のうち一若しくは複数を含み、並びに／又は、重鎖可変ドメインは、（ａ）配列番号１２０－１４３から選択されるアミノ酸配列若しくは配列番号１２０－１４３から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１４４－１７２から選択されるアミノ酸配列若しくは配列番号１４４－１７２から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２及び（ｃ）配列番号１７３－２４７から選択されるアミノ酸配列若しくは配列番号１７３－２４７から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも約９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３のうち一又は複数を含む。

【０１８６】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、表２－５に列挙される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体の何れか一つの軽鎖可変領域並びに／又は表２－５に列挙される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－８０から選択される、若しくはＴ１－１－Ｔ１－２５及びＴ１－３３－Ｔ１－８０から選択される抗体の何れか一つの重鎖可変領域を含む。

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列番号３１６－３９５の何れかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び／又は配列番号３９６－４７５の何れかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含む。

【０１８７】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性を増強する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＧＰＳＷＩＤＶ（配列番号４７７）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＳＩＳＳ－ＧＹＹＷ（配列番号４７８）を含む重鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＷＩＧ（Ｓ／Ｙ）ＩＹｘＳＧｘＴＹＹ（配列番号４７９）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＩＧ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、Ｔ

ＲＥＭ１活性を増強する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＥＬＹＡＹＳＳＰＭＦＹＧＭＤＶ（配列番号４８０）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＳＩＳＳ－ＧＹＹＷ（配列番号４７８）を含む重鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＷＩＧ（Ｓ／Ｙ）ＩＹｘＳＧｘＴＹＹ（配列番号４７９）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＩＧ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性を増強する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＱＱＤＶＳＤＦＴ（配列番号１０１）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＱＳ（Ｉ／Ｖ）Ｓ（配列番号４８２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｇ／Ａ）ＡＳＳ（配列番号４８３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性を増強する本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＱＱＬＹＨＡＰＰＩＴ（配列番号４８５）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＱＳ（Ｉ／Ｖ）Ｓ（配列番号４８２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｇ／Ａ）ＡＳＳ（配列番号４８３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性を増強する抗体は、配列ＡＲＧＰＳＷＩＤＶ（配列番号４７７）又はＡＲＥＬＹＡＹＳＳＰＭＦＹＧＭＤＶ（配列番号４８１）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＳＩＳＳ－ＧＹＹＷ（配列番号４７８）を含む重鎖ＨＶＲ１、コンセンサス配列ＷＩＧ（Ｓ／Ｙ）ＩＹｘＳＧｘＴＹＹ（配列番号４７９）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＩＧ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列、配列ＱＱＤＶＳＤＦＴ（配列番号１０１）又はＱＱＬＹＨＡＰＰＩＴ（配列番号４８５）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＱＳ（Ｉ／Ｖ）Ｓ（配列番号４８２）を含む軽鎖ＨＶＲ１配列及びコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｇ／Ａ）ＡＳＳ（配列番号４８３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域であり、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。

【０１８８】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性を増強する抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－６２又はＴ１－６３の６つのＨＶＲを有する。したがって、いくつかの実施態様では、抗体は、配列番号１０を含む軽鎖ＨＶＲ１、配列番号２９を含む軽鎖ＨＶＲ２、配列番号１０１を含む軽鎖ＨＶＲ３、配列番号１３０を含む重鎖ＨＶＲ１、配列番号１５９を含む重鎖ＨＶＲ２及び配列番号２２９を含む重鎖ＨＶＲ３を有する。いくつかの実施態様では、抗体は、配列番号２３を含む軽鎖ＨＶＲ１、配列番号３４を含む軽鎖ＨＶＲ２、配列番号１０２を含む軽鎖ＨＶＲ３、配列番号１３６を含む重鎖ＨＶＲ１、配列番号１６８を含む重鎖ＨＶＲ２及び配列番号２３０を含む重鎖ＨＶＲ３を有する。

【０１８９】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＲＰＤＤＲＲＧＬＦＱＨ（配列番号４８６）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＦＴＦＳ（Ｓ／Ｔ）ＹＳＭＮ（配列番号４８７）を含む重鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＷＶＳＳＩＳＳＳＳｘＹＩＹＹ（配列番号４８８）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原を含み、「ＷＶ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＲＧＧＳＳＳＴＧＬＬＹ（配列番号４８９）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＦＴＦＳ（Ｓ／Ｔ）ＹＳＭＮ（配列番号４８７）を含む重鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＷＶＳＳＩＳＳＳＳｘＹＩＹＹ（配列番号４８８）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＶ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＴＲＩＤＤＳＦＤＩ（配列番号４９０）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＦＴＦＳ（Ｓ／Ｔ）ＹＳＭＮ（配列番号４８８）を含む重鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＷＶＳＳＩＳＳＳＳｘＹＩＹＹ（配列番号４８８）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＶ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。

【０１９０】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＱＱＹＧＰＹＰＹＴ（配列番号４９１）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列Ｑ（Ｓ／Ｄ）ＩＳＳＷＬＡ（配列番号４９２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｄ／Ａ）ＡＳＳＬ（Ｅ／Ｑ）Ｓ（配列番号４９３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＱＱＳＬＴＨＰＴ（配列番号４９４）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列Ｑ（Ｓ／Ｄ）ＩＳＳＷＬＡ（配列番号４９２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｄ／Ａ）ＡＳＳＬ（Ｅ／Ｑ）Ｓ（配列番号４９３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＡＡＱＤＬＬＰＹＴ（配列番号４９５）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列Ｑ（Ｓ／Ｄ）ＩＳＳＷＬＡ（配列番号４９２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及び／又はコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｄ／Ａ）ＡＳＳＬ（Ｅ／Ｑ）Ｓ（配列番号４９３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。

【０１９１】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、配列ＡＲＲＰＤＤＲＲＧＬＦＱＨ（配列番号４９６）又はＡＲＲＧＧＳＳＳＴＧＬＬＹ（配列番号４８９）を含む重鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列ＦＴＦＳ（Ｓ／Ｔ）ＹＳＭＮ（配列番号４８７）を含む重鎖ＨＶＲ１、コンセンサス配列ＷＶＳＳＩＳＳＳＳｘＹＩＹＹ（配列番号４８８）を含む重鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＷＶ」は、重鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列であり、ＱＱＹＧＰＹＰＹＴ（配列番号４９１）、ＱＱＳＬＴＨＰＴ（配列番号４９４）又はＡＡＱＤＬＬＰＹＴ（配列番号４９５）を含む軽鎖ＨＶＲ３、コンセンサス配列Ｑ（Ｓ／Ｄ）ＩＳＳＷＬＡ（配列番号４９２）を含む軽鎖ＨＶＲ１及びコンセンサス配列ＬＬＩＹ（Ｄ／Ａ）ＡＳＳＬ（Ｅ／Ｑ）Ｓ（配列番号４９３）を含む軽鎖ＨＶＲ２抗原接触領域を含み、「ＬＬＩＹ」（配列番号４８４）は、軽鎖ＦＲ２のＣ末端アミノ酸配列である。

【０１９２】

いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１活性をアンタゴナイズする抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－３４、Ｔ１－３９又はＴ１－４０の６つのＨＶＲを有する。したがって、いくつかの実施態様では、抗体は、配列番号２４を含む軽鎖ＨＶＲ１、配列番号３８を含む軽鎖ＨＶＲ２、配列番号７３を含む軽鎖ＨＶＲ３、配列番号１２３を含む重鎖ＨＶＲ１、配列番号１４８を含む重鎖ＨＶＲ２及び配列番号２０５を含む重鎖ＨＶＲ３を有する。いくつかの実施態様では、抗体は、配列番号２５を含む軽鎖ＨＶＲ１、配列番号３４を含む軽鎖ＨＶＲ２、配列番号７８を含む軽鎖ＨＶＲ３、配列番号１２３を含む重鎖ＨＶＲ１、配列番号１４８を含む重鎖ＨＶＲ２及び配列番号２０９を含む重鎖ＨＶＲ３を有する。いくつかの実施態様では、抗体は、配列番号１４を含む軽鎖ＨＶＲ１、配列番号３０を含む軽鎖ＨＶＲ２、配列番号７９を含む軽鎖ＨＶＲ３、配列番号１２３を含む重鎖ＨＶＲ１、配列番号５０を含む重鎖ＨＶＲ２及び配列番号２１０を含む重鎖ＨＶＲ３を有する。

【０１９３】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４においてリガンド増強抗体の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｇ又はＡである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、抗体は、図１４においてリガンド増強抗体の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、重鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、重鎖可変領域は、図１４において示されるようなリガンド増強抗体のＦＲ１からＦＲ３配列を含む。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなリガンド増強抗体のＦＲ１からＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域配列を有する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなＶＨ４－０Ｂ＊０１又はＶＨ４－３１＊０１配列を含む

重鎖可変領域を含む。
【０１９４】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４においてアンタゴニスト抗体の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、重鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、重鎖可変領域は、図１４において示されるようなアンタゴニスト抗体のＦＲ１からＦＲ３配列を含む。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなアンタゴニスト抗体のＦＲ１からＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域配列を有する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなＶＨ３－２１＊０１配列を含む重鎖可変領域を含む。
【０１９５】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４においてリガンド模倣抗体の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＴであり、図１４においてリガンド模倣抗体の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｚが、Ｓ又はＤである、重鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、重鎖可変領域は、図１４において示されるようなリガンド模倣抗体のＦＲ１からＦＲ３配列を含む。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなリガンド模倣抗体のＦＲ１からＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域配列を有する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１４において示されるようなＶＨ３－０９＊０１配列を含む重鎖可変領域を含む。
【０１９６】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ１－６９＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＮであり、図１５においてＶＨ１－６９＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ１－１８＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＨである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ１－０２＊０２のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｍ又はＩであり、図１５においてＶＨ１－０２＊０２のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｉ又はＶである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ４－０Ｂ＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｇ又はＡであり、図１５においてＶＨ４－０Ｂ＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ４－３９＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＤであり、図１５においてＶＨ４－３９＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｙ又はＳである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ３－３３＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＮであり、図１５においてＶＨ３－３３＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｖ又はＬであり、図１５においてＶＨ３－３３＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｚが、Ｙ又はＧである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ３－３０＊０３のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｆ又はＬである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ３－０９＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＴであり、位置Ｚが、Ｓ又はＤである、重鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５においてＶＨ３－

２１＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、重鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図においてＶＨ３－２３＊０１のセクション中の重鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＴである、重鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、重鎖可変領域は、図１５に示されるようなＦＲ１からＦＲ３配列を含む。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１５に示されるようなＦＲ１からＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域配列を有する。

【０１９７】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ２－２８＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＲであり、図１６においてＶＫ２－２８＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｎ又はＨである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ１－３３＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｅ又はＡである、軽鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ１－０５＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＮであり、ＶＫ１－０５＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｙ又はＳである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ１－０５＊０のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＧである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ１－１２＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｇ又はＤであり、位置ｚがＳ又はＤであり、図１６においてＶＫ１－１２＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ｓ又はＮである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ１－３９＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＲであり、位置ｚがＹ又はＦである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ４－０１＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｙ又はＦである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ３－２０＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｙ又はＦである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６においてＶＫ３－１５＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ１の位置Ｘが、Ｓ又はＧである、軽鎖ＣＤＲ１配列を有する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体が、図１６においてＶＫ３－１１＊０１のセクション中の軽鎖配列において示されるようなＣＤＲ２の位置Ｘが、Ａ又はＳである、軽鎖ＣＤＲ２配列を有する。いくつかの実施態様では、軽鎖可変領域は、図１６に示されるようなＦＲ１からＦＲ３配列を含む。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、図１６に示されるようなＦＲ１からＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域配列を有する。

【０１９８】

本開示の抗体の何れかは、細胞株によって産生され得る。いくつかの実施態様では、細胞株は、哺乳動物細胞株であり得る。特定の実施態様では、細胞株は、ハイブリドーマ細胞株であり得る。その他の実施態様では、細胞株は、酵母細胞株であり得る。本開示の抗体を産生するために、抗体産生に適した当技術分野で公知の任意の細胞株が使用され得る。抗体産生のための例示的細胞株は、本開示を通じて記載されている。

【０１９９】

いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体及びそのヒト化変異体である。特定の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、アゴニスト抗体である。特定の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、不

活性抗体である。特定の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、アンタゴニスト抗体である。
【０２００】
いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、表１Ａ、表１Ｂ又は表２－５に列挙される一又は複数の抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、表１Ａ、表１Ｂ又は表２－５に列挙される一又は複数の抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体と本質的に同一のＴＲＥＭ１エピトープと結合する、単離された抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、モノクローナル抗体Ｔ１－１－Ｔ１－８０の重鎖可変ドメインのＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む、単離された抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、モノクローナル抗体Ｔ１－１－Ｔ１－８０の軽鎖可変ドメインのＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む単離された抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、モノクローナル抗体Ｔ１－１－Ｔ１－８０のうち少なくとも一つの重鎖可変ドメインのＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３並びに軽鎖可変ドメインのＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む単離された抗体である。
【０２０１】
いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、モノクローナル抗体Ｔ１－１－Ｔ１－８０のうち少なくとも一つと本質的に同一のＴＲＥＭ１エピトープと結合する、単離された抗体である。
【０２０２】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１との結合について、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと競合しない。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドのＴＲＥＭ１との同時結合を遮断せずに、ＴＲＥＭ１と結合可能である。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドと相加的及び／又は相乗的な機能的相互作用が可能である。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、飽和濃度の一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドに曝露されたＴＲＥＭ１の最大活性を増大する。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、任意の濃度の一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドで得られたＴＲＥＭ１の活性を増大する。
【０２０３】
抗ＴＲＥＭ１抗体結合親和性
ヒトＴＲＥＭ１及びマウスＴＲＥＭ１の抗ＴＲＥＭ１抗体の解離定数（K_D）は、１５ｎＭ未満、１４．５ｎＭ未満、１４ｎＭ未満、１３．５ｎＭ未満、１３ｎＭ未満、１２．９ｎＭ未満、１２．８ｎＭ未満、１２．７ｎＭ未満、１２．６ｎＭ未満、１２．５ｎＭ未満、１２．４ｎＭ未満、１２．３ｎＭ未満、１２．２ｎＭ未満、１２．１ｎＭ未満、１２ｎＭ未満、１１．５ｎＭ未満、１１ｎＭ未満、１０．９ｎＭ未満、１０．８ｎＭ未満、１０．７ｎＭ未満、１０．６ｎＭ未満、１０．５ｎＭ未満、１０．４ｎＭ未満、１０．３ｎＭ未満、１０．２ｎＭ未満、１０．１ｎＭ未満、１０ｎＭ未満、９．５ｎＭ未満、９ｎＭ未満、８．５ｎＭ未満、８ｎＭ未満、７．５ｎＭ未満、７ｎＭ未満、６．９ｎＭ未満、６．８ｎＭ未満、６．７ｎＭ未満、６．６ｎＭ未満、６．５ｎＭ未満、６．４ｎＭ未満、６．３ｎＭ未満、６．２ｎＭ未満、６．１ｎＭ未満、６ｎＭ未満、５．５ｎＭ未満、５ｎＭ未満、４．５ｎＭ未満、４ｎＭ未満、３．５ｎＭ未満、３．４ｎＭ未満、３．３ｎＭ未満、３．２ｎＭ未満、３．１ｎＭ未満、３ｎＭ未満、２．９ｎＭ未満、２．８ｎＭ未満、２．７ｎＭ未満、２．６ｎＭ未満、２．５ｎＭ未満、２．４ｎＭ未満、２．３ｎＭ未満、２．２ｎＭ未満、２．１ｎＭ未満、２ｎＭ未満、１．９ｎＭ未満、１．８ｎＭ未満、１．７ｎＭ未満、１．６ｎＭ未満、１．５ｎＭ未満、１．４ｎＭ未満、１．３ｎＭ未満、１．２ｎＭ未満、１．１ｎＭ未満、１ｎＭ未満、０．９５ｎＭ未満又は０．９ｎＭ未満であり得る。いくつかの実施態様では、解離定数は、約１２．８ｎＭから約１．２ｎＭ又は１．２ｎＭ未満の範囲である。いくつかの実施態様では、ヒトＴＲＥＭ１に対する抗ＴＲＥＭ１抗体の解離定数は、約１２．８ｎＭから約２．９ｎＭ又は２．９ｎＭ未満の範囲である。いくつかの実施態様では、マウスＴＲＥＭ１に対する抗ＴＲＥＭ１抗体の解離定数は、約１

０．４ｎＭから約１．２ｎＭ又は１．２ｎＭ未満の範囲である。解離定数は、ＥＬＩＳＡ、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）、バイオレイヤーインターフェロメトリー（例えば、ＦｏｒｔｅＢｉｏによるＯｃｔｅｔ　Ｓｙｓｔｅｍを参照のこと）、等温滴定熱量測定法（ＩＴＣ）、示差走査熱量測定（ＤＳＣ）、円偏光二色性（ＣＤ）、ストップトフロー分析及び比色分析又は蛍光タンパク質融解分析などの任意の生化学的又は生物物理的技術を含む任意の分析技術によって決定され得る。

【０２０４】

さらなる抗ＴＲＥＭ１抗体、例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質と特異的に結合する抗体は、当技術分野で公知の種々のアッセイによって、その物理的／化学的特性及び／又は生物学的活性について同定され、スクリーニングされ、及び／又は特徴付けられ得る。

【０２０５】

二重特異性抗体

本開示の特定の態様は、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質及び第２の抗原と結合する二重特異性抗体に関する。二重特異性抗体を作製する方法は、当技術分野で周知であり、本明細書において記載されている。いくつかの実施態様では、本開示の二重特異性抗体は、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）の一又は複数のアミノ酸残基又は配列番号１のアミノ酸残基に対応するＴＲＥＭ１タンパク質上のアミノ酸残基と結合する。その他の実施態様では、本開示の二重特異性抗体はまた、ヒトＤＡＰ１２（配列番号５６０）の一又は複数のアミノ酸残基又は配列番号５６０）のアミノ酸残基に対応するＤＡＰ１２タンパク質上のアミノ酸残基と結合する。

【０２０６】

いくつかの実施態様では、本開示の二重特異性抗体は、第１の抗原及び第２の抗原を認識する。いくつかの実施態様では、第１の抗原は、ヒトＴＲＥＭ１若しくはその天然に存在する変異体又はヒトＤＡＰ１２若しくはその天然に存在する変異体である。いくつかの実施態様では、第２の抗原は、ａ）血液脳関門を越える輸送を促進する抗原、（ｂ）トランスフェリン受容体（ＴＲ）、インスリン受容体（ＨＩＲ）、インスリン様成長因子受容体（ＩＧＦＲ）、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質１及び２（ＬＰＲ－１及び２）、ジフテリア毒素受容体、ＣＲＭ１９７、ラマ単一ドメイン抗体、ＴＭＥＭ３０（Ａ）、タンパク質形質導入ドメイン、ＴＡＴ、Ｓｙｎ－Ｂ、ペネトラチン、ポリアルギニンペプチド、アンジオペプチド及びＡＮＧ１００５から選択される、血液脳関門を超える輸送を促進する抗原、（ｃ）アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、ｃ９ＲＡＮタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタキシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質　ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン（ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチドから選択される、疾患を引き起こすタンパク質並びに（ｄ）免疫細胞上で発現されるリガンド及び／又はタンパク質であって、ＣＤ４０、ＯＸ４０、ＩＣＯＳ、ＣＤ２８、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ－３及びホスファチジルセリンから選択されるリガンド及び／又はタンパク質並びに（ｅ）一又は複数の腫瘍細胞上で発現されるタンパク質、脂質、多糖又は糖脂質並びにそれらの任意の組合せである。

【０２０７】
抗体断片
本開示の特定の態様は、ヒトＴＲＥＭ１のうち一又は複数、ヒトＴＲＥＭ１の天然に存在する変異体及びヒトＴＲＥＭ１の疾患変異体と結合する抗体断片に関する。いくつかの実施態様では、抗体断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ又はｓｃＦｖ断片である。いくつかの実施態様では、抗体断片は、ａ）血液脳関門を越える輸送を促進する抗原、（ｂ）トランスフェリン受容体（ＴＲ）、インスリン受容体（ＨＩＲ）、インスリン様成長因子受容体（ＩＧＦＲ）、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質１及び２（ＬＰＲ－１及び２）、ジフテリア毒素受容体、ＣＲＭ１９７、ラマ単一ドメイン抗体、ＴＭＥＭ３０（Ａ）、タンパク質形質導入ドメイン、ＴＡＴ、Ｓｙｎ－Ｂ、ペネトラチン、ポリアルギニンペプチド及びアンジオペプチド及びＡＮＧ１００５から選択される、血液脳関門を越える輸送を促進する抗原、（ｃ）アミロイドβ、オリゴマーアミロイドβ、アミロイドβプラーク、アミロイド前駆体タンパク質又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、Ｃ９ｏｒｆ７２（第９染色体オープンリーディングフレーム７２）、ｃ９ＲＡＮタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、アタキシン１、アタキシン２、アタキシン３、アタキシン７、アタキシン８、アタキシン１０、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質、リピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチド、グリシン－アラニン（ＧＡ）リピートペプチド、グリシン－プロリン（ＧＰ）リピートペプチド、グリシン－アルギニン（ＧＲ）リピートペプチド、プロリン－アラニン（ＰＡ）リピートペプチド、ユビキチン及びプロリン－アルギニン（ＰＲ）リピートペプチドから選択される疾患を引き起こすタンパク質並びに（ｄ）免疫細胞上で発現されるリガンド及び／又はタンパク質であって、ＣＤ４０、ＯＸ４０、ＩＣＯＳ、ＣＤ２８、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ－３及びホスファチジルセリンから選択されるリガンド及び／又はタンパク質並びに（ｅ）一又は複数の腫瘍細胞上で発現されるタンパク質、脂質、多糖又は糖脂質並びにそれらの任意の組合せから選択される疾患を引き起こすタンパク質と特異的に結合する一又は複数の抗体と組み合わせて使用される。
【０２０８】
抗体フレームワーク
本明細書において記載される抗体の何れかは、ヒト免疫グロブリンフレームワークとして使用されるフレームワークをさらに含む。例えば、いくつかの実施態様では、抗体（例えば、抗ＴＲＥＭ１抗体）は、上記の実施態様の何れかにおけるようにＨＶＲを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。ヒト免疫グロブリンフレームワークは、ヒト抗体の一部であり得、又は非ヒト抗体は、一又は複数の内因性フレームワークを、ヒトフレームワーク領域（複数可）と置き換えることによってヒト化され得る。ヒト化のために使用され得るヒトフレームワーク領域として、それだけには限らないが、「最良適合」法（例えば、Sims等J. Immunol. 151:2296(1993)を参照のこと）を使用して選択されたフレームワーク領域、軽鎖又は重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter等Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:4285(1992)；及びPresta等J.Immunol.、151:2623(1993)を参照のこと）、ヒト成熟（体細胞突然変異した）フレームワーク領域又はヒト生殖系列フレームワーク領域（例えば、Almagro及びFransson、Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)を参照のこと）及びスクリーニングＦＲライブラリーに由来するフレームワーク領域（例えば、Baca等

、J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)及びRosok等、J.Biol.Chem. 271:22611-22618(1996)を参照のこと）が挙げられる。

【０２０９】

いくつかの実施態様では、抗体は、本開示のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３並びに表４に示されるような軽鎖フレームワーク領域のうち１つ、２つ、３つ又は４つを含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施態様では、抗体は、本開示のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３並びに表５に示されるような重鎖フレームワーク領域のうち１つ、２つ、３つ又は４つを含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施態様では、抗体は、本開示のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３並びに表４に示されるような軽鎖フレームワーク領域のうち１つ、２つ、３つ又は４つを含む軽鎖可変領域を含み、本開示のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３並びに表５に示されるような重鎖フレームワーク領域のうち１つ、２つ、３つ又は４つを含む重鎖可変領域をさらに含む。

【０２１０】

ＰＩ３Ｋ活性化

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後にＰＩ３Ｋ活性化を誘導し得る。

【０２１１】

ＰＩ３Ｋは、ホスファチジルイノシトール（ＰｔｄＩｎｓ）のイノシトール環の３位ヒドロキシル基をリン酸化可能な関連細胞内シグナル伝達性キナーゼのファミリーである。ＰＩ３Ｋファミリーは、一次構造、調節及びｉｎ　ｖｉｔｒｏ脂質基質特異性に基づいて３つの異なるクラス（クラスＩ、クラスＩＩ及びクラスＩＩＩ））に分割される。

【０２１２】

活性化ＰＩ３Ｋは、限定するものではないが、ＰｔｄＩｎｓ３Ｐ、ＰｔｄＩｎｓ（３，４）Ｐ２、ＰｔｄＩｎｓ（３，５）Ｐ２及びＰｔｄＩｎｓ（３，４，５）Ｐ３を含む種々の３－リン酸化ホスホイノシチドを産生する。これらの３－リン酸化ホスホイノシチドは、シグナル伝達タンパク質が種々の細胞膜に補充される機序において機能する。これらのシグナル伝達タンパク質は、限定するものではないが、ＰＸドメイン、プレクストリン相同性ドメイン（ＰＨドメイン）及びＦＹＶＥドメインを含むホスホイノシチド結合ドメインを含有する。ＰＩ３Ｋ活性化を調べるために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。

【０２１３】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＰＩ３Ｋ活性のレベルの低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。

【０２１４】

サイトカインの発現の調節

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞表面で発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、脳における炎症促進性メディエーターを調節する（例えば、増大させる又は減少させる）。本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、サイトカイン（例えば、抗炎症性メディエーター）の発現を調節する、及び／又は炎症促進性メディエーターの発現を調節する。ひとたび、細胞がＴＲＥＭ１シグナル伝達の欠乏のために死滅すると、それらは、炎症促進反応を誘導する。

【０２１５】

炎症は、病原体などの有害刺激、損傷を受けた細胞及び刺激物質に対する血管組織の複雑な生物学的応答の一部である。急性炎症の古典的な徴候は、疼痛、熱、発赤、腫脹及び機能の喪失である。炎症は、傷害性刺激を除去するための、及び治癒プロセスを開始するための生物による保護的試みである。炎症は、急性炎症又は慢性炎症の何れかとして分類され得る。急性炎症は、有害刺激に対する身体の最初の反応であり、血液から傷害を受けた組織への血漿及び白血球（特に、顆粒球）の移動の増大によって達成される。生化学的事象のカスケードは、傷害を受けた組織内の局所血管系、免疫系及び種々の細胞が関与する

炎症反応を伝播し、成熟させる。慢性炎症は、炎症部位に存在する細胞の種類における進行性移行につながる長期の炎症であり、炎症性プロセスに由来する組織の同時の破壊及び治癒によって特徴付けられる。

【０２１６】

本明細書において、抗炎症性メディエーターは、炎症反応を低減、阻害又は不活性化する機序に直接的又は間接的の何れか（例えば、抗炎症性シグナル伝達経路によって）関与しているタンパク質である。抗炎症性メディエーターを同定し特徴付けるために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。抗炎症性メディエーターの例として、限定するものではないが、ＩＬ－４、ＩＬ－１０　ＴＧＦ－β、ＩＬ－１３、ＩＬ－３５　ＩＬ－１６、ＩＦＮ－α、ＩＬ－１Ｒａ、ＶＥＧＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びＴＮＦ又はＩＬ－６の可溶性受容体などのサイトカインが挙げられる。

【０２１７】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＩＬ－１２ｐ７０、ＩＬ－６及びＩＬ－１０などのサイトカインの発現を調節し得る。特定の実施態様では、サイトカインの発現の調節は、マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリア細胞で起こる。発現の調節は、限定するものではないが、遺伝子発現の調節、転写発現の調節又はタンパク質発現の調節を含み得る。遺伝子、転写物（例えば、ｍＲＮＡ）及び／又はタンパク質発現を決定するために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。例えば、サイトカイン遺伝子発現レベルを決定するためにノーザンブロット分析が使用され得、サイトカイン転写のレベルを決定するためにＲＴ－ＰＣＲが使用され得、サイトカインタンパク質レベルを決定するためにウエスタンブロット分析が使用され得る。

【０２１８】

本明細書において、サイトカインは、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象の一又は複数の細胞におけるその発現が、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞において発現された同一サイトカインの発現と比較して調節される場合に、調節された（例えば、増大された又は減少された）発現を有し得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞においてサイトカイン発現を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞におけるサイトカイン発現と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％調節し得る。その他の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞においてサイトカイン発現を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞におけるサイトカイン発現と比較して、例えば、少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍調節する。

【０２１９】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数の抗炎症性メディエーターの異常なレベルと関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有用であり得る。

【０２２０】

炎症促進性メディエーターの発現の調節

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に炎症促進性メディエーターの発現を調節し得る（例えば、増大させる又は減少させる）。

【０２２１】

本明細書において、炎症促進性メディエーターは、炎症反応を誘導する、活性化する、促進する、又はそうでなければ増大する機序に直接的又は間接的の何れか（例えば、炎症性シグナル伝達経路によって）関与しているタンパク質である。炎症促進性メディエーターを同定し特徴付けるための、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。炎症促進性メディエーターの例として、限定するものではないが、ＦＮ－□、ＩＬ－１□、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＣＸＣＬ１０及びＭＣＰ－１などのサイトカインが挙げられる。

【０２２２】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＩＦＮ－ａ４、ＩＦＮ－ｂ、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＴＧＦ－βケモカインタンパク質ファミリーのメンバー、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－２３、ＭＣＰ－１、ＣＸＣＬ１０、ＶＥＧＦ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８及びＣＲＰなどの炎症促進性メディエーターの機能的発現及び／又は分泌を調節し得る。特定の実施態様では、炎症促進性メディエーターの発現の調節は、マクロファージ、樹状細胞、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリア細胞において起こる。発現の調節は、限定するものではないが、遺伝子発現の調節、転写発現の調節又はタンパク質発現の調節を含み得る。遺伝子、転写物（例えば、ｍＲＮＡ）及び／又はタンパク質発現を決定するために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。例えば、炎症促進性メディエーター遺伝子発現レベルを決定するためにノーザンブロット分析が使用され得、炎症促進性メディエーター転写レベルを決定するためにＲＴ－ＰＣＲが使用され得、炎症促進性メディエータータンパク質レベルを決定するためにウエスタンブロット分析が使用され得る。

【０２２３】

特定の実施態様では、炎症促進性メディエーターは、炎症性サイトカインを含む。したがって、特定の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数の炎症性サイトカインの分泌を調節し得る。本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体によって分泌が低減され得る炎症性サイトカインの例として、限定するものではないが、ＩＦＮ－ａ４、ＩＦＮ－ｂ、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＴＧＦ－β、ケモカインタンパク質ファミリーのメンバー、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－２３、ＭＣＰ－１、ＣＸＣＬ１０、ＶＥＧＦ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＣＲＰ及びＭＣＰ－１が挙げられる。

【０２２４】

特定の実施態様では、炎症促進性メディエーターは、炎症性受容体を含む。したがって、特定の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数の炎症性受容体の発現を調節し得る。発現が、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体によって低減され得る炎症性受容体の例として、限定するものではないが、ＣＤ８６が挙げられる。

【０２２５】

本明細書において、炎症促進性メディエーターは、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象の一又は複数の細胞におけるその発現が、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞において発現された同一炎症促進性メディエーターの発現と比較して調節される（例えば、増大される又は減少される）場合に、調節された発現を有し得る。いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞において炎症促進性メディエーター発現を、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞における炎症促進性メディエーター発現と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％調節し得る。その他の実施態様では、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞における炎症促進性メディエーター発現を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞における炎症促進性メディエーター発現と比較して、例えば、少なくとも少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍調節し得る。

【０２２６】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、一又は複数の炎症促進性メディエーターの異常なレベルと関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有用であり得る。

【０２２７】

ＥＲＫリン酸化

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されるＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に細胞外シグナル調節キナーゼ（ＥＲＫ）リン酸化を誘導し得る。

【０２２８】

細胞外シグナル調節キナーゼ（ＥＲＫ）は、例えば、減数分裂、有糸分裂及び分化した細胞における有糸分裂後機能の調節に関与している広く発現されるタンパク質キナーゼ細胞内シグナル伝達キナーゼである。増殖因子、サイトカイン、ウイルス感染、ヘテロ三量体Ｇタンパク質共役受容体のリガンド、形質転換作用物質及び発癌物質などの種々の刺激が、ＥＲＫ経路を活性化する。ＥＲＫのリン酸化は、そのキナーゼ活性の活性化につながる。

【０２２９】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＥＲＫリン酸化のレベルの低下と関連している状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有益であり得る。

【０２３０】

Ｓｙｋリン酸化

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中で発現されるＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、脾臓チロシンキナーゼ（Ｓｙｋ）リン酸化を誘導し得る。

【０２３１】

脾臓チロシンキナーゼ（Ｓｙｋ）は、いくつかの基質をリン酸化し、それによって、細胞活性化及び炎症性プロセスにつながるシグナル伝達複合体の形成を促進することによって、ＴＲＥＭ１の下流で機能する細胞内シグナル伝達分子である。

【０２３２】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｓｙｋリン酸化のレベルの低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有益であり得る。

【０２３３】

ＴＲＥＭ１自己リン酸化

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後にＴＲＥＭ１自己リン酸化を誘導し得る。

【０２３４】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１リン酸化のレベルの低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有益であり得る。

【０２３５】

ＤＡＰ１２結合及びリン酸化

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１のＤＡＰ１２との結合を誘導し得る。その他の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中で発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後にＤＡＰ１２リン酸化を誘導し得る。その他の実施態様では、ＴＲＥＭ１媒介性ＤＡＰ１２リン酸化は、一又は複数のＳＲＣファミリーチロシンキナーゼによって誘導される。Ｓｒｃファミリーチロシンキナーゼの例として、限定するものではないが、Ｓｒｃ、Ｓｙｋ、Ｙｅｓ、Ｆｙｎ、Ｆｇｒ、Ｌｃｋ、Ｈｃｋ、Ｂｌｋ、Ｌｙｎ及びＦｒｋが挙げられる。

【０２３６】

ＤＡＰ１２は、ＴＹＲＯタンパク質チロシンキナーゼ結合タンパク質、ＴＹＲＯＢＰ、ＫＡＲＡＰ及びＰＬＯＳＬとして様々に呼ばれる。ＤＡＰ１２は、その細胞質ドメイン中に免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含有する膜貫通シグナル伝達タンパク質である。特定の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１及び／又は抗ＤＡＰ１２抗体は、そのＩＴＡＭモチーフにおいてＤＡＰ１２リン酸化を誘導し得る。ＤＡＰ１２リン酸化などのタンパク質リン酸化を調べるために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。

【０２３７】

いくつかの実施態様では、ＤＡＰ１２は、ＳＲＣファミリーキナーゼによってリン酸化され、Ｓｙｋキナーゼ、ＺＡＰ７０キナーゼ又は両方の、ＤＡＰ１２／ＴＲＥＭ１複合体への補充及び活性化をもたらす。したがって、特定の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、Ｓｙｋ、ＺＡＰ７０又は両方を、ＤＡＰ１２／ＴＲＥＭ１複合体へ補充し得る。理論に拘泥するものではないが、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＤＡＰ１２活性、ＤＡＰ１２リン酸化又はＤＡＰ１２／ＴＲＥＭ１複合体へのＳｙｋ、ＺＡＰ７０若しくは両方の補充のレベルの低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有用であると考えられる。

【０２３８】

Ｃ－Ｃケモカイン受容体７の発現の調節

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、Ｃ－Ｃケモカイン受容体７（ＣＣＲ７）の発現を調節し得る（例えば、増大させる又は減少させる）。発現の調節は、限定するものではないが、遺伝子発現の調節、転写発現の調節又はタンパク質発現の調節を含み得る。遺伝子、転写物（例えば、ｍＲＮＡ）及び／又はタンパク質発現を決定するために、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。例えば、抗炎症性メディエーター遺伝子発現レベルを決定するためにノーザンブロット分析が使用され得、抗炎症性メディエーター転写のレベルを決定するためにＲＴ－ＰＣＲが使用され得、抗炎症性メディエータータンパク質レベルを決定す

るためにウエスタンブロット分析が使用され得る。
【０２３９】
Ｃ－Ｃケモカイン受容体７（ＣＣＲ７）は、Ｇタンパク質共役受容体ファミリーのメンバーである。ＣＣＲ７は、種々のリンパ組織において発現され、Ｂ細胞及びＴ細胞を活性化し得る。いくつかの実施態様では、ＣＣＲ７は、記憶Ｔ細胞の、リンパ節などの二次リンパ臓器への遊走を調節し得る。その他の実施態様では、ＣＣＲ７は、樹状細胞成熟を刺激し得る。ＣＣＲ７は、ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンドＣＣＬ１９／ＥＬＣ及びＣＣＬ２１と結合し得る受容体タンパク質である。
【０２４０】
本明細書において、ＣＣＲ７は、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象の一又は複数の細胞におけるその発現が、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞において発現されたＣＣＲ７の発現と比較して調節される場合に、調節された（例えば、増大された又は減少された）発現を有し得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞におけるＣＣＲ７発現を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞におけるＣＣＲ７発現と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％調節し得る。その他の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象の一又は複数の細胞におけるＣＣＲ７発現を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象の一又は複数の細胞におけるＣＣＲ７発現と比較して、例えば、少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍調節する。
【０２４１】
いくつかの実施態様では、ＣＣＲ７の発現の調節は、マクロファージ、樹状細胞及び／又はミクログリア細胞において起こる。ＣＣＲ７の発現の増大は、ケモカインＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１を発現する細胞に向けたミクログリア細胞走化作用を誘導し得る。したがって、特定の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１発現細胞に向けたミクログリア細胞走化作用を誘導し得る。
【０２４２】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、那須・ハコラ病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病を含む、ＣＣＲ７の異常なレベルと関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有用であり得る。
【０２４３】
骨髄由来樹状細胞の抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力の増強又は正常化
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、骨髄由来樹状細胞の、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及び／

又は制御性Ｔ細胞を含む抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力を増強及び／又は正常化し得る。

【０２４４】

いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、骨髄由来樹状細胞の、対象において一又は複数の抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力を、骨髄由来樹状細胞の、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象において一又は複数の抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％増強及び／又は正常化し得る。その他の実施態様では、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、骨髄由来樹状細胞の、対象において抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力を、骨髄由来樹状細胞の、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象において抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力と比較して、例えば、少なくとも少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍増強及び／又は正常化し得る。

【０２４５】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、骨髄由来樹状細胞の、抗原特異的Ｔ細胞を抗原刺激する、又はその機能を調節する能力の低下又は調節不全と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するのに有益であり得る。

【０２４６】

破骨細胞産生

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中で発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、破骨細胞産生を誘導し得る、及び／又は破骨細胞形成の速度を増大し得る。

【０２４７】

本明細書において、破骨細胞は、そのミネラル化マトリックスを除去すること及び有機骨を破壊すること（例えば、骨吸収）によって骨組織を除去し得る骨細胞の１種である。破骨細胞は、単球－マクロファージ細胞株の細胞の融合によって形成され得る。いくつかの実施態様では、破骨細胞は、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（ＴＲＡＰ）及びカテプシンＫの高発現を特徴とし得る。

【０２４８】

本明細書において、破骨細胞形成の速度は、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象における破骨細胞形成の速度が、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における破骨細胞形成の速度よりも大きい場合に、増大され得る。いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における破骨細胞形成の速度を、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応す

る対象における破骨細胞形成の速度と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％増大し得る。その他の実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における破骨細胞形成の速度を、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における破骨細胞形成の速度と比較して、例えば、少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍増大し得る。

【０２４９】

本明細書において、破骨細胞形成の速度は、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象における破骨細胞形成の速度が、アンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における破骨細胞形成の速度よりも小さい場合に、低下され得る。いくつかの実施態様では、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における破骨細胞形成の速度を、アンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における破骨細胞形成の速度と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％低下させ得る。その他の実施態様では、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における破骨細胞形成の速度を、アンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における破骨細胞形成の速度と比較して、例えば、少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍低下させ得る。

【０２５０】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、骨密度の病的減少と関連する骨粗鬆症及び骨密度の病的増加と関連する骨粗鬆症性疾患を含む異常な骨形成及び維持と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために

有益であり得る。
【０２５１】
ＴＲＥＭ１を発現する細胞の増殖、生存及び機能性
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中に発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合後に、樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及びミクログリア細胞（ミクログリア）の増殖、生存及び／又は機能を増大し得る。
【０２５２】
ミクログリア細胞は、脳及び脊髄の常在性マクロファージであるグリア細胞の１種であり、したがって、中枢神経系（ＣＮＳ）における活性免疫防御の第１の主な形態として作用する。ミクログリア細胞は、脳内の総グリア細胞集団の２０％を占める。ミクログリア細胞は、プラーク、損傷を受けたニューロン及び感染性病原体について、ＣＮＳを一定に除去している。脳及び脊髄は、ほとんどの感染症が脆弱な神経組織に到達することを防止する血液脳関門として知られる一連の内皮細胞によって身体の残りの部分から分けられている点で、「免疫特権を与えられた」臓器と考えられる。感染性病原体が脳に直接又は血液脳関門を越えて導入される場合には、ミクログリア細胞は、感受性の高い神経組織に損傷を与える前に炎症を減少させ、感染性病原体を破壊するように迅速に反応しなくてはならない。身体の残りの部分から抗体を入手できないために（２、３種の抗体は、血液脳関門を越えるように十分に小さい）、ミクログリアは、異物を認識し、それらを飲み込み、Ｔ細胞を活性化する抗原提示細胞として作用できなければならない。潜在的に致死的な損傷を防止するために、このプロセスは迅速に行われなければならないので、ミクログリア細胞は、ＣＮＳにおけるかなり小さい病的変化に対してでさえ極めて感受性が高い。それらは一部は、細胞外カリウムのかなり小さい変化に応じる独特のカリウムチャネルを有することによってこの感受性を達成する。
【０２５３】
本明細書において、本開示のマクロファージとして、限定するものではないが、Ｍ１マクロファージ、活性化Ｍ１マクロファージ及びＭ２マクロファージが挙げられる。本明細書において、本開示のミクログリア細胞として、限定するものではないが、Ｍ１ミクログリア細胞、活性化Ｍ１ミクログリア細胞及びＭ２ミクログリア細胞が挙げられる。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、免疫細胞の増殖又は生存の減少と関連する状態及び／又は疾患のリスクを低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。
【０２５４】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、樹状細胞、単球及び／又はマクロファージ上でのＣＤ８３及び／又はＣＤ８６の発現を増大し得る。
【０２５５】
本明細書において、マクロファージ、樹状細胞、単球及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能は、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療された対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能が、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能よりも大きい場合に、増大された発現を含み得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能と比較して、例えば、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７

５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも１００％、少なくとも１１０％、少なくとも１１５％、少なくとも１２０％、少なくとも１２５％、少なくとも１３０％、少なくとも１３５％、少なくとも１４０％、少なくとも１４５％、少なくとも１５０％、少なくとも１６０％、少なくとも１７０％、少なくとも１８０％、少なくとも１９０％又は少なくとも２００％増大し得る。その他の実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能を、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて治療されていない対応する対象における樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの増殖の速度、生存及び／又は機能と比較して、例えば、少なくとも１．５倍、少なくとも１．６倍、少なくとも１．７倍、少なくとも１．８倍、少なくとも１．９倍、少なくとも２．０倍、少なくとも２．１倍、少なくとも２．１５倍、少なくとも２．２倍、少なくとも２．２５倍、少なくとも２．３倍、少なくとも２．３５倍、少なくとも２．４倍、少なくとも２．４５倍、少なくとも２．５倍、少なくとも２．５５倍、少なくとも３．０倍、少なくとも３．５倍、少なくとも４．０倍、少なくとも４．５倍、少なくとも５．０倍、少なくとも５．５倍、少なくとも６．０倍、少なくとも６．５倍、少なくとも７．０倍、少なくとも７．５倍、少なくとも８．０倍、少なくとも８．５倍、少なくとも９．０倍、少なくとも９．５倍又は少なくとも１０倍増大し得る。

【０２５６】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、樹状細胞、マクロファージ、単球、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞、クッパー細胞及び／又はミクログリアの機能の低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。

【０２５７】

クリアランス及び食作用

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、細胞中で発現されたＴＲＥＭ１タンパク質との結合の後に、アポトーシスニューロン、神経系の神経組織細片、神経系の非神経組織細片、細菌、その他の異物、疾患を引き起こすタンパク質、疾患を引き起こすペプチド、疾患を引き起こす核酸又は腫瘍細胞のうち一又は複数のクリアランス及び／又は食作用を誘導し得る。特定の実施態様では、疾患を引き起こすタンパク質として、限定するものではないが、アミロイドβ又はその断片、タウ、ＩＡＰＰ、αシヌクレイン、ＴＤＰ－４３、ＦＵＳタンパク質、プリオンタンパク質、ＰｒＰＳｃ、ハンチンチン、カルシトニン、スーパーオキシドジムスターゼ、アタキシン、レビー小体、心房性ナトリウム利尿因子、膵島アミロイドポリペプチド、インスリン、アポリポタンパク質ＡＩ、血清アミロイドＡ、メディン、プロラクチン、トランスサイレチン、リゾチーム、β２ミクログロブリン、ゲルゾリン、ケラトエピセリン、シスタチン、免疫グロブリン軽鎖ＡＬ、Ｓ－ＩＢＭタンパク質及びグリシン－アラニン（ＧＡ）、グリシン－プロリン（ＧＰ）、グリシン－アルギニン（ＧＲ）、プロリン－アラニン（ＰＡ）又はプロリン－アルギニン（ＰＲ）から構成されるジペプチドリピート（ＤＰＲペプチド）を含むリピート関連非ＡＴＧ（ＲＡＮ）翻訳産物が挙げられる。特定の実施態様では、疾患を引き起こす核酸として、限定するものではないが、アンチセンスＧＧＣＣＣＣ（Ｇ２Ｃ４）リピート増大ＲＮＡが挙げられる。

【０２５８】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、限定するものではないが、アポトーシスニューロンクリアランス、神経組織細片クリアランス、非神経組織細片クリアランス、細菌又はその他の異物クリアランス、疾患を引き起こすタンパク質のクリアランス、疾患を引き起こすペプチドのクリアランス、疾患を引き起こす核酸のクリアランス及び腫瘍細胞クリアランスを含むクリアランスのうち一又は複数の種類を誘導し得る。

【０２５９】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、アポトーシスニューロン、神経組織細片、非神経組織細片、細菌、その他の異物、疾患を引き起こすタンパク質、疾患を引き起こすペプチド、疾患を引き起こす核酸及び／又は腫瘍細胞のうち一又は複数の食作用を誘導し得る。

【０２６０】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、低下したレベルのマクロファージコロニー刺激因子（ＭＣＳＦ）の条件下で、マクロファージ、樹状細胞、単球及び／又はミクログリアによる食作用を増大し得る。或いは、いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、正常レベルのマクロファージコロニー刺激因子（ＭＣＳＦ）の存在下で、マクロファージ、樹状細胞、単球及び／又はミクログリアによる食作用を増大し得る。

【０２６１】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、アポトーシスニューロン、神経系の神経組織細片、神経系の非神経組織細片、細菌、その他の異物、疾患を引き起こすタンパク質、疾患を引き起こすペプチド、疾患を引き起こす核酸又は腫瘍細胞のクリアランス及び／又は食作用と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。

【０２６２】

ＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現

いくつかの実施態様では、本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、転写因子の活性化Ｔ細胞の核内因子（ＮＦＡＴ）ファミリーの一又は複数の転写因子などのＴＲＥＭ１依存性遺伝子の活性及び／又は発現を増大し得る。或いは、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、転写因子のＮＦＡＴファミリーの一又は複数の転写因子などのＴＲＥＭ１依存性遺伝子の活性及び／又は発現を阻害し得る。

【０２６３】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１依存性遺伝子のレベルの低下と関連する状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。

【０２６４】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、パジェット骨病、癌、膀胱癌、脳癌、例えば、神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、ＴＲＥＭ１を発現する腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌感染、ドノバンリーシュマニア感染、群Ｂストレプトコッカス属感染、カンピロバクター・ジェジュニ感染、髄膜炎菌感染、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌を含む状態及び／又は疾患のリスクを防止する、低下させる、又はそれを治療するために有益であり得る。

【０２６５】
いくつかの実施態様では、本発明に従って疾患又は状態を治療する方法は、それを必要とする個体に、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの間の相互作用を阻害しない、及び／又は少なくとも一つのＴＲＥＭ１リガンドの一又は複数の活性を増強する薬剤の治療有効量を投与することを含む。
【０２６６】
本開示のその他の態様は、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、パジェット骨病、癌、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、ＴＲＥＭ１を発現する腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌感染、ドノバンリーシュマニア感染、群Ｂストレプトコッカス属感染、カンピロバクター・ジェジュニ感染、髄膜炎菌感染、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌から選択される疾患、障害又は損傷のリスクの防止、低減又は治療において使用するための、ＴＲＥＭ１と、一又は複数のＣＤ３３リガンド間の相互作用を阻害しない薬剤に関する。
【０２６７】
抗体調製
本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化及びキメラ抗体、ヒト抗体、抗体断片（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ及び$F(ab')_2$）、二重特異性及び多特異性抗体、多価抗体、ライブラリー由来抗体、エフェクター機能が修飾された抗体、抗体部分を含有する融合タンパク質並びに抗体のグリコシル化変異体、抗体のアミノ酸配列変異体及び共有結合によって修飾された抗体を含む本開示のＴＲＥＭ１タンパク質のアミノ酸残基を有するエピトープなどの抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意のその他の修飾された立体配置を包含し得る。抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒト、マウス、ラット又はその他の任意の起源のもの（キメラ又はヒト化抗体を含む）であり得る。
【０２６８】
（１）ポリクローナル抗体
抗ＴＲＥＭ１ポリクローナル抗体などのポリクローナル抗体は、一般に、関連抗原及びアジュバントの複数回の皮下（ｓｃ）又は腹膜内（ｉｐ）注射によって動物において産生される。二機能性薬剤又は誘導体化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基によるコンジュゲーション）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リシン残基による）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、$SOCl_2$又は$R^1N=C=NR$（式中、Ｒ及びR^1は独立に、低級アルキル基である）を使用して、関連抗原（例えば、本開示の精製又は組換えＴＲＥＭ１タンパク質）を、免疫化されるべき種において免疫原性であるタンパク質、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ）、血清アルブミン、ウシサイログロブリン又はダイズトリプシンインヒビターとコンジュゲ

ートすることは、有用であり得る。使用され得るアジュバントの例として、フロイントの完全アジュバント及びＭＰＬ－ＴＤＭアジュバント（モノホスホリル脂質Ａ、合成トレハロースジコリノミコレート）が挙げられる。免疫化プロトコールは、過度の実験方法を用いなくても当業者によって選択され得る。

【０２６９】

動物は、例えば、１００μｇ（ウサギについて）又は５μｇ（マウスについて）のタンパク質又はコンジュゲートを、３容積のフロイントの完全アジュバントと組み合わせること及び溶液を複数部位で皮内に注射することによって、所望の抗原、免疫原性コンジュゲート又は誘導体に対して免疫化される。１ヶ月後、動物に、フロイントの完全アジュバント中、元の量の１／５－１／１０のペプチド又はコンジュゲートを用いて、複数部位での皮下注射によって追加免疫する。７－１４日後、動物を出血させ、血清を抗体力価についてアッセイする。力価が定常に達するまで動物に追加免疫する。コンジュゲートはまた、タンパク質融合物として組換え細胞培養物中で作製され得る。また、免疫応答を増強するためにミョウバンなどの凝集剤が適している。

【０２７０】

（２）モノクローナル抗体

抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体などのモノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られる、すなわち、個々の抗体から構成される集団は、微量で存在し得るあり得る天然に存在する突然変異及び／又は翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除いて、同一である。したがって、修飾語句「モノクローナル」は、別個の抗体の混合物ではないというような抗体の特徴を示す。

【０２７１】

例えば、抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ等．、Ｎａｔｕｒｅ、２５６：４９５（１９７５）によって最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して作製され得る、又は組換えＤＮＡ法によって作製され得る（米国特許第４８１６５６７号）。

【０２７２】

ハイブリドーマ法では、マウス又はハムスターなどのその他の適当な宿主動物を、本明細書において上記のように免疫化して、免疫化に使用されたタンパク質（例えば、本開示の精製された、又は組換えＴＲＥＭ１タンパク質）と特異的に結合する抗体を産生する又は産生可能であるリンパ球を誘発する。或いは、ｉｎ ｖｉｔｒｏでリンパ球を免疫化してもよい。次いで、ポリエチレングリコールなどの適した融合剤を使用してリンパ球を骨髄腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding、Monoclonal Antibodies: Principles and Practice、p59-103(Academic Press、1986)）。

【０２７３】

免疫化剤は、通常、抗原性タンパク質（例えば、本開示の精製された、又は組換えＴＲＥＭ１タンパク質）又はその融合変異体を含む。一般に、ヒト起源の細胞が望ましい場合には末梢血リンパ球（「ＰＢＬ」）が使用され、非ヒト哺乳動物供給源が望ましい場合には、脾臓又はリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコールなどの適した融合剤を使用して、リンパ球を不死化細胞株と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する。Ｇｏｄｉｎｇ、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ： Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ （１９８６）、ｐ５９－１０３。

【０２７４】

不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳動物細胞、特に、げっ歯類、ウシ又はヒト起源の骨髄腫細胞である。通常、ラット又はマウス骨髄腫細胞株が使用される。次いで、調製されたハイブリドーマ細胞を播種し、好ましくは、融合していない親の骨髄腫細胞の成長又は生存を阻害する一又は複数の物質を含有する適した培養培地中で成長させる。例えば、親の骨髄腫細胞が、酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ又はＨＰＲＴ）を欠く場合には、ハイブリドーマの培養培地は、通常、ＨＧＰＲＴ欠損細胞の成長を防止する物質である、ヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミ

ジン（ＨＡＴ培地）を含む。
【０２７５】
好ましい不死化骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な高レベルの産生を支持し、ＨＡＴ培地などの培地に対して感受性が高いものである。これらの中で、ＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍に由来するものなどのマウス骨髄腫株（Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ ＵＳＡから入手可能）並びにＳＰ－２細胞及びその誘導体（例えば、Ｘ６３－Ａｇ８－６５３）（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ ＵＳＡから入手可能）が好ましい。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒトヘテロミエローマ細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている（Kozbor、J. Immunol.、133:3001(1984);Brodeur等、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications、p51-63(Marcel Dekker、Inc.、New York、1987)）。
【０２７６】
ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地は、抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイされる（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）又は酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）などのｉｎ ｖｉｔｒｏ結合アッセイによって決定される。
【０２７７】
ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地は、所望の抗原（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）に対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイされ得る。好ましくは、モノクローナル抗体の結合親和性及び特異性は、免疫沈降によって、又はラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）又は酵素結合測定法（ＥＬＩＳＡ）などのｉｎ ｖｉｔｒｏ結合アッセイによって決定され得る。このような技術及びアッセイは、当技術分野で知られている。例えば、結合親和性は、Ｍｕｎｓｏｎ等、Ａｎａｌ． Ｂｉｏｃｈｅｍ．、１０７：２２０（１９８０）のスキャッチャード分析によって決定され得る。
【０２７８】
所望の特異性、親和性及び／又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、制限希釈手順によってクローンをサブクローニングし、標準法（Ｇｏｄｉｎｇ、前掲）によって成長させてもよい。この目的のための適した培養培地として、例えば、Ｄ－ＭＥＭ又はＲＰＭＩ－１６４０培地が挙げられる。さらに、ハイブリドーマ細胞は、哺乳動物中の腫瘍としてｉｎ ｖｉｖｏで成長させてもよい。
【０２７９】
サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えば、プロテインＡ－セファロースクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、アフィニティークロマトグラフィー及び上記のようなその他の方法などの従来の免疫グロブリン精製手順によって、培養培地、腹水又は血清から適宜分離される。
【０２８０】
抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体はまた、米国特許第４８１６５６７号において開示されるもの及び上記のものなどの組換えＤＮＡ法によって作製され得る。モノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、従来手順によって（例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子と特異的に結合するオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離され、配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、このようなＤＮＡの好ましい供給源として働く。ＤＮＡを、ひとたび単離すると、発現ベクター中に入れ、次いで、これを、そうでなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞又は骨髄腫細胞などの宿主細胞中にトランスフェクトして、このような組換え宿主細胞中でモノクローナル抗体を合成する。抗体をコードするＤＮＡの細菌における組換え発現に関する総説として、Ｓｋｅｒｒａ等、Ｃｕｒｒ． Ｏｐｉｎ． Ｉｍｍｕｎｏｌ．、５：２５６－２６２ （１９９３）及びＰｌｕｃ

ｋｔｈｕｎ、Ｉｍｍｕｎｏｌ．　Ｒｅｖ．　１３０：１５１－１８８（１９９２）が挙げられる。

【０２８１】

特定の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ等、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２－５５４（１９９０）において記載された技術を使用して作製された抗体ファージライブラリーから単離され得る。Ｃｌａｃｋｓｏｎ等、Ｎａｔｕｒｅ、３５２：６２４－６２８（１９９１）及びＭａｒｋｓ等、Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．、２２２：５８１－５９７（１９９１）には、ファージライブラリーからの、それぞれマウス及びヒト抗体の単離が記載された。その後の刊行物には、極めて大きなファージライブラリーを構築するための戦略としての（Waterhouse等、Nucl. Acids Res.、21:2265-2266(1993)）、鎖シャッフリング（Marks等、Bio/Technology、10:779-783(1992)）並びにコンビナトリアル感染及びｉｎ　ｖｉｖｏ組換えによる、高親和性（ナノモル（「ｎＭ」）範囲）のヒト抗体の作製が記載されている。したがって、これらの技術は、所望の特異性のモノクローナル抗体（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質と結合するもの）の単離のための伝統的なモノクローナル抗体ハイブリドーマ技術の実行可能な代替法である。

【０２８２】

抗体又はその断片をコードするＤＮＡはまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を、相同マウス配列の代わりに置換することによって、又は免疫グロブリンコード配列を、非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列のすべて又は一部と共有結合によって接続することによって修飾され得る（米国特許第４８１６５６７号；Morrison等、Proc. Natl Acad. Sci. USA、81:6851 (1984)）。通常、抗原に対する特異性を有するある抗原結合部位と、異なる抗原に対する特異性を有する別の抗原結合部位を含むキメラ二価抗体を作製するために、このような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインと置換され、又はそれらは、抗体の１つの抗原結合部位の可変ドメインと置換される。

【０２８３】

本明細書において記載されるモノクローナル抗体（例えば、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその断片）は、一価であり得、その調製は、当技術分野で周知である。例えば、１つの方法は、免疫グロブリン軽鎖及び修飾された重鎖の組換え発現を含む。重鎖は、重鎖架橋を防止するために、一般に、Ｆｃ領域中の任意の点で末端切断型である。或いは、架橋を防止するために、関連システイン残基が、別のアミノ酸残基で置換され得るか、又は欠失される。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法はまた、一価抗体の調製にとっても適している。その断片、特にＦａｂ断片を製造するための抗体の消化は、当技術分野で公知の日常的な技術を使用して達成され得る。

【０２８４】

キメラ又はハイブリッド抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、架橋剤を含むものを含む、合成タンパク質化学における公知の方法を使用してｉｎ　ｖｉｔｒｏで調製され得る。例えば、ジスルフィド交換反応を使用して、又はチオエーテル結合を形成することによって、免疫毒素が構築され得る。この目的のための適した試薬の例として、イミノチオレート及びメチル－４－メルカプトブチルイミデートが挙げられる。

【０２８５】

（３）ヒト化抗体

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその抗体断片は、ヒト化又はヒト抗体をさらに含み得る。非ヒト（例えば、マウス）抗体のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有する、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖又はその断片（Ｆａｂ、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、Ｆ（ａｂ’）$_2$又はその他の抗体の抗原結合部分配列など）である。ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（ＣＤＲ）由来の残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット又はウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲに由来する残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含む。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク残基が、対応

する非ヒト残基によって置き換えられる。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体中にも、移入されたＣＤＲ又はフレームワーク配列中にも見られない残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも一つの、通常、二つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、ＣＤＲ領域のすべて又は実質的にすべてが、非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、ＦＲ領域のすべて又は実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、最適には、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、通常、ヒト免疫グロブリンのものを含む。Ｊｏｎｅｓ等、Ｎａｔｕｒｅ ３２１： ５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ等、Ｎａｔｕｒｅ ３３２： ３２３－３２９（１９８８）及びＰｒｅｓｔａ、Ｃｕｒｒ． Ｏｐｉｎ． Ｓｔｒｕｃｔ． Ｂｉｏｌ． ２： ５９３－５９６（１９９２）。

【０２８６】

非ヒト抗ＴＲＥＭ１抗体をヒト化するための方法は、当技術分野で周知である。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入された一又は複数のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、通常、「移入」可変ドメインからとられる「移入」残基と呼ばれることが多い。ヒト化は、Ｗｉｎｔｅｒ及び共同研究者、Ｊｏｎｅｓ等、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ等、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２７（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ等、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４－１５３６（１９８８）の方法に従って、又はげっ歯類ＣＤＲ若しくはヒト抗体の対応する配列のＣＤＲ配列を置換することによって本質的に実施され得る。したがって、このような「ヒト化」抗体は、キメラ抗体（米国特許第４８１６５６７号）であり、実質的に、無傷のヒト可変ドメイン未満が、非ヒト種由来の対応する配列によって置換されている。実際には、ヒト化抗体は、通常、いくつかのＣＤＲ残基及びおそらくはいくつかのＦＲ残基が、げっ歯類抗体中の類似部位に由来する残基によって置換されているヒト抗体である。

【０２８７】

ヒト化抗体の作製において使用されるべき、軽鎖及び重鎖両方のヒト可変ドメインの選択は、抗原性を低減するために極めて重要である。いわゆる「最良適合」法に従って、げっ歯類抗体の可変ドメインの配列が、既知ヒト可変ドメイン配列の全ライブラリーに対してスクリーニングされる。次いで、げっ歯類のものに最も近いヒト配列が、ヒト化抗体のヒトフレームワーク（ＦＲ）として認められる。Ｓｉｍｓ等、Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ等、Ｊ． Ｍｏｌ． Ｂｉｏｌ．、１９６：９０１（１９８７）。別の方法は、軽鎖又は重鎖の特定のサブグループのすべてのヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。いくつかの異なるヒト化抗体について同一フレームワークが使用され得る。Ｃａｒｔｅｒ等、Ｐｒｏｃ． Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ ８９：４２８５ （１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ等、Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． １５１：２６２３（１９９３）。

【０２８８】

さらに、抗体は、抗原に対する高親和性及びその他の好都合な生物学的特性を保持してヒト化されることが重要である。この目的を達成するために、好ましい方法に従って、親配列及びヒト化配列の三次元モデルを使用して、親配列及び種々の概念的ヒト化産物を分析するプロセスによってヒト化抗体が調製される。三次元免疫グロブリンモデルは、一般に入手可能であり、当業者は精通している。選択された候補免疫グロブリン配列のありそうな三次元コンホメーション構造を例示し、示すコンピュータプログラムが入手可能である。これらのディスプレイの調査によって、候補免疫グロブリン配列の機能における残基のあり得る役割の分析、すなわち、候補免疫グロブリンの、その抗原と結合する能力に影響を及ぼす残基の分析が可能となる。このような方法で、標的抗原（単数又は複数）（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）に対する親和性の増大などの所望の抗体特徴が達成されるように、ＦＲ残基がレシピエント及び移入配列から選択され、組み合わされ得る。一般に、ＣＤＲ残基は、直接、最も実質的に抗原結合に影響を及ぼすことに関与している。

【０２８９】

ヒト化抗ＴＲＥＭ１抗体の種々の形態が考慮される。例えば、ヒト化抗ＴＲＥＭ１抗体は、任意選択的に、ＨＳＰ６０などの一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドとコンジュゲートされているＦａｂなどの抗体断片であり得る。或いは、ヒト化抗ＴＲＥＭ１抗体は、無傷のＩｇＧ１抗体などの無傷の抗体であり得る。

【０２９０】

（４）ヒト抗体

或いは、ヒト抗ＴＲＥＭ１抗体は、作製され得る。例えば、免疫化の際に、内因性免疫グロブリン産生の不在下で、ヒト抗体の完全レパートリーを産生可能であるトランスジェニック動物（例えば、マウス）を製造することが現在可能である。キメラ及び生殖系列突然変異体マウスにおける抗体重鎖連結領域（J_H）遺伝子のホモ接合型欠失は、内因性抗体産生の完全阻害をもたらす。このような生殖系列突然変異体マウスにおけるヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイの移入は、抗原負荷の際にヒト抗体の産生をもたらす。例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ等、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：２５５１（１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ等、Ｎａｔｕｒｅ、３６２：２５５－２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎ等、Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．、７：３３（１９９３）；米国特許第５５９１６６９号及び国際公開第９７／１７８５２号を参照のこと。

【０２９１】

或いは、免疫化していないドナーから得た免疫グロブリン可変（Ｖ）ドメイン遺伝子レパートリーからｉｎ ｖｉｔｒｏでヒト抗ＴＲＥＭ１抗体及び抗体断片を製造するために、ファージディスプレイ技術が使用され得る。ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ等、Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５３（１９９０）；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ及びＷｉｎｔｅｒ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：３８１（１９９１）。この技術に従って、抗体Ｖドメイン遺伝子は、Ｍ１３又はｆｄなどの糸状バクテリオファージの主要な又は微量のコートタンパク質遺伝子の何れか中にインフレームでクローニングされ、ファージ粒子の表面上に機能的抗体断片として呈示される。糸状粒子は、ファージゲノムの一本鎖ＤＮＡコピーを含有するので、抗体の機能的特性に基づく選択はまた、それらの特性を示す抗体をコードする遺伝子の選択をもたらす。したがって、ファージは、Ｂ細胞の特性の一部を模倣する。ファージディスプレイは、例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ、Ｋｅｖｉｎ Ｓ．及びＣｈｉｓｗｅｌｌ、Ｄａｖｉｄ Ｊ．、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．３：５６４－５７１（１９９３）に概説される、種々の形式で実施され得る。ファージディスプレイには、Ｖ遺伝子セグメントのいくつかの供給源が使用され得る。Ｃｌａｃｋｓｏｎ等、Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）は、免疫化されたマウスの脾臓に由来するＶ遺伝子の小さいランダムコンビナトリアルライブラリーから、抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。Ｍａｒｋｓ等、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９１）又はＧｒｉｆｆｉｔｈ等、ＥＭＢＯ Ｊ．１２：７２５－７３４（１９９３）によって記載された技術に本質的に従って、免疫化されていないヒトドナーから得たＶ遺伝子のレパートリーが構築され得、抗原（自己抗原を含む）の多様なアレイに対する抗体が、単離され得る。米国特許第５５６５３３２号及び同５５７３９０５号も参照のこと。さらに、ｉｎ ｖｉｔｒｏでヒト抗ＴＲＥＭ１抗体及び抗体断片を製造するために、酵母ディスプレイ技術が使用され得る（例えば、国際公開第２００９／０３６３７９号；国際公開第２０１０／１０５２５６号；国際公開第２０１２／００９５６８号；ＵＳ２００９／０１８１８５５；ＵＳ２０１０／００５６３８６；及びFeldhaus及びSiegel (2004) J. Immunological Methods 290:69-80）。その他の実施態様では、ヒト抗ＴＲＥＭ１抗体及び抗体断片をｉｎ ｖｉｔｒｏで製造するために、リボソームディスプレイ技術が使用され得る（例えば、Roberts及びSzostak (1997) Proc Natl Acad Sci 94 :12297-12302;Schaffitzel等(1999) J. Immunolical Methods 231:119-135;Lipovsek及びPluckthun(2004)J. Immunological Methods 290:51-67）。

【０２９２】

ヒト抗ＴＲＥＭ１モノクローナル抗体の調製のために、Ｃｏｌｅ等及びＢｏｅｒｎｅｒ等

の技術も利用可能である（Ｃｏｌｅ等、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ、ｐ７７（１９８５）及びＢｏｅｒｎｅｒ等、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７（１）：８６－９５（１９９１）。同様に、ヒト抗ＴＲＥＭ１抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を、内在性免疫グロブリン遺伝子が部分的に又は完全に不活性化されているトランスジェニック動物、例えば、マウス中に導入することによって作製され得る。負荷すると、遺伝子再構成、アセンブリー及び抗体レパートリーを含むすべての点で、ヒトにおいて見られるものと酷似しているヒト抗体産生が観察される。このアプローチは、例えば、米国特許第５５４５８０７号、同５５４５８０６号、同５５６９８２５号、同５６２５１２６号、同５６３３４２５号、同５６６１０１６号に、また以下の科学的刊行物：Ｍａｒｋｓ等、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：７７９－７８３（１９９２）；Ｌｏｎｂｅｒｇ等、Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６－８５９（１９９４）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ、Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８１２－１３（１９９４）、Ｆｉｓｈｗｉｌｄ等、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－５１（１９９６）、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８２６（１９９６）並びにＬｏｎｂｅｒｇ及びＨｕｓｚａｒ、Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３（１９９５）に記載されている。最後に、ヒト抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、活性化Ｂ細胞によってｉｎ ｖｉｔｒｏで作製され得る（米国特許第５５６７６１０号及び同５２２９２７５号を参照のこと）。

【０２９３】

（５）抗体断片

特定の実施態様では、全抗ＴＲＥＭ１抗体ではなく抗ＴＲＥＭ１抗体断片を使用する利点がある。いくつかの実施態様では、より小さい断片の大きさが、迅速なクリアランス及びより良好な脳への浸透を可能にする。

【０２９４】

抗体断片の産生のために、種々の技術が開発されている。伝統的に、これらの断片は、無傷の抗体のタンパク質分解性消化によって導かれた（例えば、Morimoto等、J. Biochem. Biophys. Method. 24:107-117(1992);及びBrennan等、Science 229:81(1985)を参照のこと）。しかし、これらの断片は、現在、例えば、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体をコードする核酸を使用して組換え宿主細胞によって直接的に産生され得る。Ｆａｂ、Ｆｖ及びｓｃＦｖ抗体断片は、すべて大腸菌において発現され、大腸菌から分泌され得、したがって、多量のこれらの断片の直接産生が可能となる。抗ＴＲＥＭ１抗体断片はまた、上記で論じられたような抗体ファージライブラリーから単離され得る。或いは、Ｆａｂ’－ＳＨ断片は、大腸菌から直接的に回収され、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を形成するように化学的にカップリングされ得る（Carter等、Bio/Technology 10:163-167(1992)）。別のアプローチに従って、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、組換え宿主細胞培養物から直接的に単離され得る。ｉｎ ｖｉｖｏ半減期が増大したＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$抗体断片の産生は、米国特許第５８６９０４６号に記載されている。その他の実施態様では、最適な抗体は、一本鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）である。国際公開第９３／１６１８５号；米国特許第５５７１８９４号及び同５５８７４５８号を参照のこと。抗ＴＲＥＭ１抗体断片はまた、例えば米国特許第５６４１８７０号に記載されるような「線形抗体」であり得る。このような線形抗体断片は、単一特異性又は二重特異性であり得る。

【０２９５】

（６）二重特異性及び多特異性抗体

二重特異性抗体（ＢｓＡｂ）は、同一又は別のタンパク質（例えば、一又は複数の、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）上のものを含む、少なくとも２種の異なるエピトープに対して結合特異性を有する抗体である。或いは、ＢｓＡｂの一方の部分が、標的ＴＲＥＭ１抗原と結合するようにアームとされ得、もう一方が、第２のタンパク質と結合するアームと組み合わされ得る。このような抗体は、全長抗体又は抗体断片（例えば、Ｆ（ａｂ’）$_2$二重特異性抗体）に由来し得る。

【０２９６】

二重特異性抗体を作製するための方法は、当技術分野で公知である。全長二重特異性抗体の伝統的な産生は、２つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の同時発現に基づいており、これでは、２つの鎖は、異なる特異性を有する。Ｍｉｌｌｓｔｅｉｎ等、Ｎａｔｕｒｅ、３０５：５３７－５３９（１９８３）。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖のランダムな取り合わせのために、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は、１０種の異なる抗体分子の可能性ある混合物を産生し、そのうち１つのみが、妥当な二重特異性構造を有する。アフィニティークロマトグラフィーステップによって普通行われる妥当な分子の精製は、むしろ厄介なものであり、産生率は低い。同様の手順は、国際公開第９３／０８８２９号に、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ等、ＥＭＢＯ Ｊ．、１０：３６５５－３６５９（１９９１）に開示されている。

【０２９７】

異なるアプローチによれば、所望の結合特異性（抗体－抗原結合部位（ａｎｔｉｇｅｎ ｃｏｍｂｉｎｉｎｇ ｓｉｔｅｓ））を有する抗体可変ドメインを、免疫グロブリン定常ドメイン配列と融合する。融合物は、好ましくは、ヒンジ、C_H2及びC_H3領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインを有する。融合物の少なくとも一方中に存在する軽鎖結合に必要な部位を含有する第１の重鎖定常領域（C_H1）を有することが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合物及び必要に応じて、免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡを、別個の発現ベクター中に挿入し、適した宿主生物中に同時トランスフェクトする。これは、構築において使用される三種のポリペプチド鎖の不等比率が最適収率を提供する実施態様において、三種のポリペプチド断片の相互の割合の調整においてより大きな可動性を提供する。しかし、等比の少なくとも二種のポリペプチドの発現が、高収率をもたらす場合に、又は比が特に重大ではない場合に、二種又は三種すべてのポリペプチド鎖のコード配列を、一つの発現ベクター中に挿入することが可能である。

【０２９８】

このアプローチの好ましい実施態様では、二重特異性抗体は、一方のアーム中の第１の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖及びもう一方のアーム中のハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対（第２の結合特異性を提供する）から構成される。二重特異性分子の半分のみにおける免疫グロブリン軽鎖の存在が、容易な分離方法を提供するので、この非対称構造が、不要の免疫グロブリン鎖の組合せからの所望の二重特異性化合物の分離を促進することがわかった。このアプローチは、国際公開第９４／０４６９０号に開示されている。二重特異性抗体の作製のさらなる詳細については、例えば、Ｓｕｒｅｓｈ等、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １２１：２１０（１９８６）；及びＧａｒｂｅｒ、Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ １３、７９９－８０１（２０１４）を参照のこと。

【０２９９】

国際公開第９６／２７０１１号又は米国特許第５７３１１６８号に記載される別のアプローチによれば、一対の抗体分子の間の界面は、組換え細胞培養物から回収されるヘテロ二量体のパーセンテージを最大にするように遺伝子操作され得る。好ましい界面は、抗体定常ドメインのC_H3領域の少なくとも一部を含む。この方法では、第１の抗体分子の界面に由来する一又は複数の小さいアミノ酸側鎖を、より大きな側鎖（例えば、チロシン又はトリプトファン）と置き換える。大きなアミノ酸側鎖を、より小さいもの（例えば、アラニン又はトレオニン）と置き換えることによって、第２の抗体分子の界面上に、大きな側鎖に対する同一又は同様の大きさの代償性「空洞」が生じる。これが、ホモ二量体などのその他の不要な最終産物を上回って、ヘテロ二量体の収率を増大する機序を提供する。

【０３００】

抗体断片から二重特異性抗体を作製するための技術は、文献に記載されている。例えば、化学的連結を使用して二重特異性抗体が調製され得る。Ｂｒｅｎｎａｎ等、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：８１（１９８５）には、無傷の抗体をタンパク質分解性に切断して、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を生成する手順が記載されている。これらの断片を、ジチオール複合体化剤亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元して、隣接するジチオールを安定化し、分子間ジスルフィ

ド形成を防止する。次いで、生じたＦａｂ’断片を、チオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体に変換する。次いで、Ｆａｂ’－ＴＮＢ誘導体の一方を、Ｆａｂ’－ＴＮＢ誘導体に再変換して、二重特異性抗体を形成する。生じた二重特異性抗体は、酵素の選択的固定化のための薬剤として使用され得る。

【０３０１】

Ｆａｂ’断片は、大腸菌から直接的に回収され、二重特異性抗体を形成するように化学的にカップリングされ得る。Ｓｈａｌａｂｙ等、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７５：２１７－２２５（１９９２）には、完全ヒト化二重特異性抗体Ｆ（ａｂ’）$_2$分子の製造が記載されている。各Ｆａｂ’断片は、大腸菌から別個に分泌され、二重特異性抗体を形成するようにｉｎ ｖｉｔｒｏで指令された化学的カップリングに付された。このように形成された二重特異性抗体は、ＥｒｂＢ２受容体を過剰発現する細胞及び正常ヒトＴ細胞と結合でき、並びにヒト乳腺腫瘍標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の溶解活性の引き金を引くことができた。

【０３０２】

組換え細胞培養物から直接的に二価抗体断片を作製及び単離するための種々の技術も記載されている。例えば、二価ヘテロ二量体は、ロイシンジッパーを使用して製造されてきた。Ｋｏｓｔｅｌｎｙ等、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）。遺伝子融合によって、Ｆｏｓ及びＪｕｎタンパク質由来のロイシンジッパーペプチドを二種の異なる抗体のＦａｂ’部分と連結した。抗体ホモ二量体を、ヒンジ領域で還元して、単量体を形成し、次いで、再酸化して抗体ヘテロ二量体を形成する。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ等、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：６４４４－６４４８（１９９３）によって記載された「ダイアボディ」技術は、二重特異性／二価抗体断片を作製するための代替機序を提供してきた。断片は、短すぎて同一鎖上の二つのドメイン間の対合を可能にしないリンカーによって軽鎖可変ドメイン（V_L）に接続された重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。したがって、一方の断片のV_H及びV_Lドメインは、もう一方の断片の相補的V_L及びV_Hドメインと対形成を強いられ、それによって、二つの抗原－結合部位を形成する。一本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体の使用によって二重特異性／二価抗体断片を作製するための別の戦略も報告されている。Ｇｒｕｂｅｒ等、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５２：５３６８（１９９４）を参照のこと。

【０３０３】

二重特異性抗体を作製するための別の方法は、制御されたＦａｂアーム交換（ｃＦＡＥ）と表され、二重特異性ＩｇＧ１（ｂｓＩｇＧ１）を作製するために使いやすい方法である。プロトコールは、以下：（ｉ）ＣＨ３ドメイン中に単一の対応点突然変異を含有する二種の親ＩｇＧ１の別個の発現、（ｉｉ）半分子の組換えを可能にするようなｉｎ ｖｉｔｒｏで許容的酸化還元状態下での親ＩｇＧ１の混合、（ｉｉｉ）鎖内ジスルフィド結合の再酸化を可能にするための還元剤の除去、（ｉｖ）クロマトグラフィーベースの又は質量分析（ＭＳ）ベースの方法を使用する交換効率及び最終産物の分析を含む。プロトコールは、ベンチスケール（マイクログラムからミリグラム）及び大規模製造（キログラム）を形作るように設計されているミニバイオリアクタースケール（ミリグラムからグラム）の両方で、通常のＩｇＧ構造、特徴及び品質特性を有するｂｓＡｂを作製する。高品質の精製されたタンパク質から出発して、≧９５％の交換効率が、２－３日内に得られ得る（品質管理を含む）。Ｌａｂｒｉｊｎ等、Ｎａｔｕｒ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ９、２４５０－２４６３（２０１４）；及びＧａｒｂｅｒ、Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ １３、７９９－８０１（２０１４）を参照のこと。

【０３０４】

２を超える結合価を有する抗体も考慮される。例えば、三重特異的抗体が調製され得る。Ｔｕｔｔ等、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）。

【０３０５】

例示的二重特異性抗体は、所与の分子（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）上の２つの異なるエピトープと結合し得る。いくつかの実施態様では、二重特異性抗体は、本開

示のＴＲＥＭ１又はＤＡＰ１２タンパク質などの第１の抗原と、並びに血液脳関門を越える輸送を促進する第２の抗原と結合する。血液脳関門を越える輸送を促進する多数の抗原が当技術分野で公知である（例えば、Gabathuler R.、Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases、Neurobiol. Dis. 37 (2010)48-57を参照のこと）。このような第２の抗原として、限定するものではないが、トランスフェリン受容体（ＴＲ）、インスリン受容体（ＨＩＲ）、インスリン様成長因子受容体（ＩＧＦＲ）、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質１及び２（ＬＰＲ－１及び２）、ＣＲＭ１９７（ジフテリア毒素の非毒性突然変異体）を含むジフテリア毒素受容体、ＴＭＥＭ３０（Ａ）（Ｆｌｉｐｐａｓｅ）などのラマ単一ドメイン抗体、ＴＡＴ、Ｓｙｎ－Ｂ又はペネトラチン、ポリアルギニンなどのタンパク質形質導入ドメイン又は一般に正電荷を有するペプチド、ＡＮＧ１００５などのアンジオペプ（Ａｎｇｉｏｐｅｐ）ペプチド（例えば、Gabathuler、2010を参照のこと）及び血液脳関門内皮細胞上に豊富にあるその他の細胞表面タンパク質（例えば、Daneman等、PLoS One. 2010 Oct 29;5(10):e13741を参照のこと）が挙げられる。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体の第２の抗原として、限定するものではないが、本開示のＤＡＰ１２抗原を挙げることができる。その他の実施態様では、抗ＤＡＰ１２抗体の第２の抗原として、限定するものではないが、本開示のＴＲＥＭ１抗原を挙げることができる。その他の実施態様では、ＴＲＥＭ１及びＤＡＰ１２の両方と結合する二重特異性抗体は、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を促進し、増強し得る。その他の実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体の第２の抗原として、限定するものではないが、Ａベータペプチド、抗原又はアルファシヌクレインタンパク質抗原又はタウタンパク質アンチジーン又はＴＤＰ－４３タンパク質アンチジーン又はプリオンタンパク質アンチジーン又はハンチンチンタンパク質アンチジーン又はＲＡＮ、グリシン－アラニン（ＧＡ）、グリシン－プロリン（ＧＰ）、グリシン－アルギニン（ＧＲ）、プロリン－アラニン（ＰＡ）又はプロリン－アルギニン（ＰＲ）から構成されるジペプチドリピート（ＤＰＲペプチド）を含む翻訳産物アンチジーンを挙げることができる。

【０３０６】

（７）多価抗体

多価抗体は、抗体が結合する抗原を発現する細胞によって、二価抗体よりも速く内部移行され得る（及び／又は異化され得る）。本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその抗体断片は、３つ以上の抗原結合部位を有する多価抗体（ＩｇＭクラスとは別のもの）であり得（例えば、四価抗体）、これは、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組換え発現によって容易に産生され得る。多価抗体は、二量体化ドメイン及び３つ以上の抗原結合部位を含み得る。好ましい二量体化ドメインは、Ｆｃ領域又はヒンジ領域を含む。このシナリオでは、抗体は、Ｆｃ領域及びＦｃ領域のアミノ末端の３つ以上の抗原結合部位を含む。本明細書において好ましい多価抗体は、３から約８、好ましくは、４つの抗原結合部位を含有する。多価抗体は、少なくとも一つのポリペプチド鎖（好ましくは、２つのポリペプチド鎖）を含有し、ポリペプチド鎖（単数又は複数）は、２以上の可変ドメインを含む。例えば、ポリペプチド鎖（単数又は複数）は、ＶＤ１－（Ｘ１）ｎ－－ＶＤ２－（Ｘ２）ｎ－Ｆｃを含み得、式中、ＶＤ１は、第１の可変ドメインであり、ＶＤ２は、第２の可変ドメインであり、Ｆｃは、Ｆｃ領域の一つのポリペプチド鎖であり、Ｘ１及びＸ２は、アミノ酸又はポリペプチドを表し、ｎは、０又は１である。同様に、ポリペプチド鎖（単数又は複数）は、V_H－C_H１－可動性リンカー－V_H－C_H１－Ｆｃ領域鎖；又はV_H－C_H１－V_H－C_H１－Ｆｃ領域鎖を含み得る。本明細書において、多価抗体は、好ましくは、少なくとも２つ（好ましくは、４つ）の軽鎖可変ドメインポリペプチドをさらに含む。本明細書において多価抗体は、例えば、約２から約８の軽鎖可変ドメインポリペプチドを含み得る。本明細書において考慮される軽鎖可変ドメインポリペプチドは、軽鎖可変ドメインを含み、任意選択的に、ＣＬドメインをさらに含む。多価抗体は、ＴＲＥＭ１抗原並びに、限定するものではないが、さらなる抗原Ａベータペプチド、抗原又はアルファシヌクライン（ｓｙｎｕｃｌａｉｎ）タンパク質アンチジーン又はタウタンパク質アンチジーン又

はＴＤＰ－４３タンパク質アンチジーン又はプリオンタンパク質アンチジーン又はハンチンチンタンパク質アンチジーン又はＲＡＮ、グリシン－アラニン（ＧＡ）、グリシン－プロリン（ＧＰ）、グリシン－アルギニン（ＧＲ）、プロリン－アラニン（ＰＡ）又はプロリン－アルギニン（ＰＲ）から構成されるジペプチドリピート（ＤＰＲペプチド）を含む翻訳産物アンチジーン、インスリン受容体、インスリン様増殖因子受容体、トランスフェリン受容体又は血液脳関門を越える抗体移入を促進する任意のその他の抗原を認識し得る。

【０３０７】

（８）エフェクター機能エンジニアリング

抗体のエフェクター機能を修飾するため、及び／又は血清半減期を増大するために、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を修飾することもまた、望ましいものであり得る。例えば、定常領域上のＦｃ受容体結合部位は、特定のＦｃ受容体、例えば、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ及び／又はＦｃγＲＩＩＩとの結合親和性を除去又は低減して、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害を低減するように修飾又は突然変異され得る。いくつかの実施態様では、エフェクター機能は、抗体のＦｃ領域（例えば、ＩｇＧのＣＨ２ドメイン中の）のＮ－グリコシル化を除去することによって損なわれる。いくつかの実施態様では、エフェクター機能は、ＰＣＴ 国際公開第９９／５８５７２号及びＡｒｍｏｕｒ等、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４０：５８５－５９３（２００３）；Ｒｅｄｄｙ等、Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６４：１９２５－１９３３（２０００）に記載されるように、ヒトＩｇＧの２３３－２３６、２９７及び／又は３２７－３３１などの領域を修飾することによって損なわれる。その他の実施態様では、エフェクター機能を修飾して、ＩＴＩＭ含有ＦｃｇＲＩＩｂ（ＣＤ３２ｂ）に向けた知見選択性を増大して、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害及び抗体依存性細胞性食作用を含む体液性応答を活性化せずに隣接細胞上のＴＲＥＭ１抗体のクラスター化を増大するために、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を修飾することが望ましいものであり得る。

【０３０８】

抗体の血清半減期を増大するために、サルベージ受容体結合エピトープを、例えば、米国特許第５７３９２７７号に記載されるような抗体（特に、抗体断片）中に組み込んでもよい。本明細書において、用語「サルベージ受容体結合エピトープ」とは、ＩｇＧ分子のｉｎ ｖｉｖｏ血清半減期の増大に関与しているＩｇＧ分子（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４）のＦｃ領域のエピトープを指す。

【０３０９】

（９）その他のアミノ酸配列修飾

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその抗体断片のアミノ酸配列修飾も考慮される。例えば、抗体又は抗体断片の結合親和性及び／又はその他の生物学的特性を改善することが望ましいものであり得る。抗体又は抗体断片のアミノ酸配列変異体は、抗体又は抗体断片をコードする核酸中に適当なヌクレオチド変化を導入することによって、又はペプチド合成によって調製される。このような修飾として、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失及び／又は抗体のアミノ酸配列内の残基への挿入及び／又は抗体のアミノ酸配列内の残基の置換が挙げられる。欠失、挿入及び置換の任意の組合せは、所望の特徴（すなわち、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質と結合する、又はそれと物理的相互作用する能力）を有する限り、最終構築物に到達するように行われる。アミノ酸変化はまた、グリコシル化部位の数又は位置を変化させることなどの抗体の翻訳後プロセスを変更し得る。

【０３１０】

突然変異誘発にとって好ましい位置である抗ＴＲＥＭ１抗体の特定の残基又は領域の同定のための有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ及びＷｅｌｌｓ ｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４４：１０８１－１０８５（１９８９）によって記載されたように、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれている。これでは、残基又は標的残基の群が同定され（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ及びｇｌｕなどの電荷を有する残基）、アミノ酸の標的抗原の相互作用に影響を及ぼすように、中性又は負電荷を有するアミノ酸（最も好ましくは、アラニン又はポリアラニン）によって置き換えられる。置換の部位で、又は置換

の部位に、さらなる又はその他の変異体を導入することによって、置換に対する機能的感受性を実証するアミノ酸位置が次いで精製される。したがって、アミノ酸配列変動を導入する部位は予め決定されているが、突然変異自体の性質は、予め決定される必要はない。例えば、所与の部位での突然変異の性能を分析するために、標的コドン又は領域でアラニンスキャニング又はランダム突然変異誘発が実施され、発現された抗体変異体が所望の活性についてスクリーニングされる。

【０３１１】

アミノ酸配列挿入は、一残基から、１００個以上の残基を含有するポリペプチドの長さの範囲のアミノ－（「Ｎ」）及び／又はカルボキシ－（「Ｃ」）末端融合並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例として、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体又は細胞傷害性ポリペプチドに融合された抗体が挙げられる。抗体分子のその他の挿入性変異体として、抗体の血清半減期を増大する酵素又はポリペプチドへの、抗体のＮ－又はＣ－末端への融合物が挙げられる。

【０３１２】

別の種類の変異体として、アミノ酸置換変異体がある。これらの変異体は、異なる残基によって置き換えられた抗体分子中に少なくとも一つのアミノ酸残基を有する。置換性突然変異誘発の最大に興味深い部位として、超可変領域が挙げられるが、ＦＲ変更も考慮される。保存的置換は、以下の表Ｃに「好ましい置換」の見出しのもとで示されている。このような置換が、生物活性の変化をもたらす場合には、表Ｃにおいて「例示的置換」と命名された、又はアミノ酸クラスに関して以下にさらに記載されるようなより実質的な変化が導入され得、産物がスクリーニングされ得る。

表 C:アミノ酸置換

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

【０３１３】

抗体の生物学的特性における実質的な修飾は、（ａ）例えば、シート若しくはヘリックスコンホメーションのような、置換の領域におけるポリペプチド主鎖の構造、（ｂ）標的部位での分子の電荷若しくは疎水性又は（ｃ）側鎖の容積の維持に対してその効果が大幅に異なる置換を選択することによって達成される。天然に存在する残基は、一般的な側鎖特性に基づいて群にわけられる：

（１）疎水性：ノルロイシン、ｍｅｔ、ａｌａ、ｖａｌ、ｌｅｕ、ｉｌｅ、

（２）中性親水性：ｃｙｓ、ｓｅｒ、ｔｈｒ；

（３）酸性：ａｓｐ、ｇｌｕ；

（４）塩基性：ａｓｎ、ｇｌｎ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、ａｒｇ；
（５）鎖配向に影響を及ぼす残基：ｇｌｙ、ｐｒｏ；並びに
（６）芳香族：ｔｒｐ、ｔｙｒ、ｐｈｅ．

【０３１４】

非保存的置換は、これらのクラスのうち一つのメンバーを、別のクラスと交換することを伴う。

【０３１５】

抗体の適切なコンホメーションの維持に関与していない任意のシステイン残基も、分子の酸化的安定性を改善し、異常な架橋を防止するために、一般に、セリンと置換され得る。逆に、その安定性を改善するために、システイン結合（複数可）が、抗体に付加される場合もある（特に、抗体が、Ｆｖ断片などの抗体断片である場合）。

【０３１６】

特に好ましい種類の置換性変異体は、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗ＴＲＥＭ１抗体）の一又は複数の超可変領域残基を置換することを含む。一般に、さらなる開発のために選択された得られた変異体（複数可）は、それからそれらが作製される親抗体に対して改善された生物学的特性を有する。このような置換性変異体を作製するための好都合な方法は、ファージディスプレイを使用する親和性成熟を含む。手短には、いくつかの超可変領域部位（例えば、６－７部位）を突然変異させて、各部位ですべてのあり得るアミノ置換を作製する。このように作製した抗体変異体は、各粒子内にパッケージングされたＭ１３の、遺伝子ＩＩＩ産物との融合物として糸状ファージ粒子から一価様式で呈示される。ファージに呈示された変異体を、次いで、本明細書において開示されるようなその生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。修飾の候補超可変領域部位を同定するために、抗原結合に大幅に寄与している超可変領域残基を同定するためにアラニンスキャニング突然変異誘発が実施され得る。或いは、又はさらに、抗体及び抗原（例えば、本開示のＴＲＥＭ１タンパク質）の間の接触点を同定するために、抗原－抗体複合体の結晶構造を分析することが有益であり得る。このような接触残基及び隣接する残基は、本明細書において詳述された技術に従う置換の候補である。ひとたびこのような変異体が作製されると、変異体のパネルは、本明細書において記載されるようなスクリーニングに付され、一又は複数の関連アッセイにおいて優れた特性を有する抗体が、さらなる開発のために選択され得る。

【０３１７】

抗体の別の種類のアミノ酸変異体は、抗体の元のグリコシル化パターンを変更する。変更することは、抗体中に見られる一又は複数の炭水化物部分を欠失すること及び／又は抗体中に存在しない一又は複数のグリコシル化部位を付加することを意味する。

【０３１８】

抗体のグリコシル化は、通常、Ｎ結合型又はＯ結合型の何れかである。Ｎ結合型は、炭水化物部分の、アスパラギン残基の側鎖との結合を指す。トリペプチド配列アスパラギン－Ｘ－セリン及びアスパラギン－Ｘ－トレオニン（式中、Ｘは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分の、アスパラギン側鎖との酵素結合のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリペプチド配列の何れかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作り出す。Ｏ結合型グリコシル化とは、糖Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトース又はキシロースのうち一種の、ヒドロキシアミノ酸、５－ヒドロキシプロリン又は５－ヒドロキシリジンも使用され得るが最も一般的には、セリン又はトレオニンとの結合を指す。

【０３１９】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、上記のトリペプチド配列のうち一又は複数を含有するようにアミノ酸配列を変更することによって好都合に達成される（Ｎ結合型グリコシル化部位について）。変更はまた、元の抗体の配列への一又は複数のセリン又はトレオニン残基の付加又は置換によって行われ得る（Ｏ結合型グリコシル化部位について）。

【０３２０】

抗ＩｇＥ抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当技術分野で公知の種々の方法によって調製される。これらの方法として、それだけには限らないが、天然供給源からの単離（天然に存在するアミノ酸配列変異体の場合には）又はオリゴヌクレオチド媒介性（又は部位指定）突然変異誘発による調製、ＰＣＲ突然変異誘発及び抗体（例えば、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体）又は抗体断片のより早期に調製された変異体又は非変異体版のカセット突然変異誘発が挙げられる。

【０３２１】

（１０）その他抗体修飾

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその抗体断片は、当技術分野で公知であり、容易に入手可能であるさらなる非タンパク質性部分を含有するように、又は当技術分野で公知であり、容易に入手可能である異なる種類の薬物コンジュゲートを含有するようにさらに修飾され得る。好ましくは、抗体の誘導体化に適した部分は、水溶性ポリマーである。水溶性ポリマーの限定されない例として、それだけには限らないが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１、３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダム共重合体の何れか）及びデキストラン又はポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール及びそれらの混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のために製造において利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量であり得、分岐していても非分岐であってもよい。抗体と結合しているポリマーの数は変わり得、１を超えるポリマーが結合している場合には、それらは、同一分子である場合も異なる分子である場合もある。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／又は種類は、抗体誘導体が、既定される条件下で療法において使用されるか否かなどに関わらず、それだけには限らないが、改善されるべき抗体特定の特性又は機能を含む検討事項に基づいて決定され得る。このような技術及びその他の適した製剤は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：　Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２０版、Ａｌｆｏｎｓｏ　Ｇｅｎｎａｒｏ編、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ　Ｃｏｌｌｅｇｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ　ａｎｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　（２０００）に開示されている。

【０３２２】

薬物コンジュゲーションは、生物学的に活性な細胞傷害性（抗癌性）ペイロード又は薬物を、特定の腫瘍マーカー（例えば、理想的には、腫瘍細胞中に又は腫瘍細胞上に見られるべき唯一のものであるタンパク質）を特異的に標的とする抗体にカップリングすることを含む。抗体は、身体中でこれらのタンパク質を見つけ出し、自身を癌細胞の表面に結合する。抗体と、標的タンパク質（抗原）の間の生化学的反応は、腫瘍細胞におけるシグナルの引き金となり、次いで、腫瘍細胞は、抗体を細胞毒と一緒に吸収する、又は内部移行する。ＡＤＣが内部移行された後、細胞傷害性薬が放出され、癌を死滅させる。この標的化のために、理想的には薬物は、より低い副作用を有し、その他の化学療法薬よりも広い治療ウィンドウを与える。抗体をコンジュゲートする技術は、当技術分野で開示されており、当技術分野で公知である（例えば、Jane de Lartigue、OncLive July 5、2012;ADC Review on antibody-drug conjugates；及びDucry等、(2010). Bioconjugate Chemistry 21 (1):5-13を参照のこと）。

【０３２３】

結合アッセイ及びその他のアッセイ

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロットなどといった公知の方法によって抗原結合活性について試験され得る。

【０３２４】

いくつかの実施態様では、競合アッセイは、ＴＲＥＭ１との結合について、表１－５に列

挙される、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される抗体及びそのヒト化変異体の何れかと競合する抗体を同定するために使用され得る。特定の実施態様では、このような競合抗体は、表１－５に列挙される、Ｔ１－１－Ｔ１－８０から選択される抗体及びそのヒト化誘導体によって結合される同一エピトープ（例えば、線形又はコンホメーションエピトープ）と結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的方法は、Ｍｏｒｒｉｓ（１９９６）「Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｙ第６６巻（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ）に提供されている。

【０３２５】

例示的競合アッセイでは、固定化されたＴＲＥＭ１又は細胞表面上にＴＲＥＭ１を発現する細胞を、ＴＲＥＭ１（例えば、ヒト又は非ヒト霊長類）と結合する第１の標識化された抗体及びＴＲＥＭ１との結合について第１の抗体と競合するその能力について試験されている第２の非標識化された抗体を含む溶液中でインキュベートする。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在し得る。コントロールとして、固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞を、第１の標識化抗体を含むが、第２の非標識化抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第１の抗体のＴＲＥＭ１との結合について許容状態下でのインキュベーション後、過剰の結合していない抗体を除去し、固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞と会合している標識の量を測定する。固定化されたＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１を発現する細胞と会合している標識の量が、コントロールサンプルと比較して試験サンプルにおいて実質的に低減される場合に、第２の抗体が、ＴＲＥＭ１との結合について第１の抗体と競合していることを示す。Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ： Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ 第１４章（Cold Spring Harbor Laboratory、Cold Spring Harbor、NY）を参照のこと。

【０３２６】

核酸、ベクター及び宿主細胞

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、例えば、米国特許第４８１６５６７号に記載されるように、組換え法及び組成物を使用して産生され得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の何れかをコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗ＴＲＥＭ１抗体のＶＬを含有するアミノ酸配列及び／又はＶＨを含有するアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／又は重鎖）をコードし得る。いくつかの実施態様では、このような核酸を含有する一又は複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。いくつかの実施態様では、このような核酸を含有する宿主細胞も提供される。いくつかの実施態様では、宿主細胞は、（１）抗体のＶＬを含有するアミノ酸配列及び抗体のＶＨを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有するベクター又は（２）抗体のＶＬを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第１のベクター及び抗体のＶＨを含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第２のベクターを含有する（例えば、それらを用いて形質導入されている）。いくつかの実施態様では、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）細胞又はリンパ球細胞（例えば、Ｙ０、ＮＳ０、Ｓｐ２０細胞）である。本開示の宿主細胞としてまた、限定するものではないが、単離された細胞、ｉｎ ｖｉｔｒｏ培養細胞及びｅｘ ｖｉｖｏ培養細胞が挙げられる。

【０３２７】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を作製する方法が提供される。いくつかの実施態様では、方法は、抗ＴＲＥＭ１抗体をコードする核酸を含有する本開示の宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で培養することを含む。いくつかの実施態様では、その後、宿主細胞（又は宿主細胞培養培地）から抗体を回収する。

【０３２８】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の組換え産生のために、宿主細胞におけるさらなるクローニング及び／又は発現のために、抗ＴＲＥＭ１抗体をコードする核酸を、単離し、一又は複数のベクター中に挿入する。このような核酸は、従来手順を使用して（例えば、抗体の重鎖

及び軽鎖をコードする遺伝子と特異的に結合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って）、容易に単離され得、配列決定され得る。

【０３２９】

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又は本明細書において記載されるその断片ポリペプチド（抗体を含む）の何れかをコードする核酸配列を含有する適したベクターとして、限定するものではないが、クローニングベクター及び発現ベクターが挙げられる。適したクローニングベクターは、標準技術に従って構築され得る、又は当技術分野で入手可能な多数のクローニングベクターから選択され得る。選択されるクローニングベクターは、使用されるように意図される宿主細胞に従って変わり得るが、有用なクローニングベクターは、一般に、自己複製する能力を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼの単一標的を有し得、及び／又はベクターを含有するクローンの選択において使用され得るマーカーの遺伝子を保持し得る。適した例として、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、ｐＵＣ１８、ｐＵＣ１９、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（例えば、ｐＢＳ　ＳＫ＋）及びその誘導体、ｍｐｌ８、ｍｐｌ９、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９、ＣｏｌＥ１、ｐＣＲ１、ＲＰ４、ファージＤＮＡ並びにｐＳＡ３及びｐＡＴ２８などのシャトルベクターが挙げられる。これらの及び多数のその他のクローニングベクターが、ＢｉｏＲａｄ、Ｓｔｒａｔｅｇｅｎｅ及びＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎなどの市販のベンダーから入手可能である。

【０３３０】

発現ベクターは、一般に、本開示の核酸を含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームとして、又は染色体ＤＮＡの不可欠な部分の何れかとして宿主細胞において複製可能である。適した発現ベクターとして、それだけには限らないが、プラスミド、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルスを含むウイルスベクター、コスミド及びＰＣＴ公開番号ＷＯ８７／０４４６２号に開示される発現ベクター（複数可）が挙げられる。ベクター成分は、一般に、それだけには限らないが、以下のうち一又は複数を含む：シグナル配列、複製起点、一又は複数のマーカー遺伝子、適した転写制御エレメント（プロモーター、エンハンサー及びターミネーター等）。発現（すなわち、翻訳）のために、リボソーム結合部位、翻訳開始部位及び停止コドンなどの一又は複数の転写制御エレメントはまた、普通、必要とされる。

【０３３１】

目的の核酸を含有するベクターは、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、ＤＥＡＥ－デキストラン又はその他の物質を使用するトランスフェクション、微粒子銃、リポフェクション及び感染（例えば、ベクターがワクシニアウイルスなどの感染性物質である場合）を含むいくつかの適当な手段のうち何れかによって宿主細胞中に導入され得る。ベクター又はポリヌクレオチドを導入する選択は、宿主細胞の特徴に応じて変わることが多い。いくつかの実施態様では、ベクターは、一又は複数の、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体をコードするアミノ酸配列を含有する核酸を含有する。

【０３３２】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適した宿主細胞として、原核細胞又は真核細胞が挙げられる。例えば、本開示の抗ＴＲＥＭ１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、細菌において産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現について（例えば、大腸菌における抗体断片の発現を記載する、米国特許第５６４８２３７号、同５７８９１９９号及び同５８４０５２３号並びにＣｈａｒｌｔｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、第２４８巻（B.K.C. Lo編、Humana Press、Totowa、NJ、2003)、p245-254）。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離され得、さらに精製され得る。

【０３３３】

原核生物に加えて、糸状真菌又は酵母などの真核細胞微生物も、抗体をコードするベクターの適したクローニング又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的又は完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす真菌及び酵母株を含む（例えば、Gerngross、Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)；及びLi

等、Nat. Biotech. 24:210-215 (2006))。

【０３３４】

グリコシル化された抗体の発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）に由来し得る。無脊椎動物細胞の例として、植物及び昆虫細胞が挙げられる。特に、ヨトウガ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ）細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞とともに使用され得る多数のバキュロウイルス株が同定されている。植物細胞培養物もまた、宿主として利用され得る（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）技術を説明する、米国特許第５９５９１７７号、同６０４０４９８号、同６４２０５４８号、同７１２５９７８号及び同６４１７４２９号）。

【０３３５】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液において成長するように適応している哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株のその他の例として、ＳＶ４０（ＣＯＳ－７）によって形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株；ヒト胚性腎臓株（例えば、Graham等、J. Gen Virol. 36:59(1977)に記載されるような２９３又は２９３細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather、Biol. Reprod. 23:243-251(1980)に記載されるようなＴＭ４細胞）；サル腎臓細胞（ＣＶ１）；アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）；イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ；バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ　３Ａ）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８）；ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ　Ｇ２）；マウス乳房腫瘍（ＭＭＴ　０６０５６２）；例えば、Ｍａｔｈｅｒ等、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細胞が挙げられる。その他の有用な哺乳動物宿主細胞株として、ＤＨＦＲ－　ＣＨＯ細胞（Urlaub等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980)）を含むチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞並びにＹ０、ＮＳ０及びＳｐ２／０などの骨髄腫細胞株が挙げられる。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ及びWu、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、第２４８巻（B.K.C. Lo編、Humana Press、Totowa、NJ）、ｐ２５５－２６８（２００３）を参照のこと。

【０３３６】

薬学的組成物

抗ＴＲＥＭ１抗体は、抗体を適当な薬学的に許容される担体又は希釈剤と組み合わせることによって治療的投与のために種々の製剤中に組み込まれ得る、又は固体、半固体、液体又はガス状形態の調製物に製剤化され得る。このような製剤の例として、限定するものではないが、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、軟膏、溶液、坐剤、注射物、吸入剤、ゲル剤、ミクロスフェア及びエアゾールが挙げられる。薬学的組成物は、望まれる製剤に応じて、動物又はヒト投与のために薬学的組成物を製剤化するためによく使用されるビヒクルである、薬学的に許容される非毒性の担体又は希釈剤を含み得る。希釈剤は、組合せの生物活性に影響を及ぼさないように選択される。このような希釈剤の例として、限定するものではないが、蒸留水、緩衝水、生理食塩水、ＰＢＳ、リンゲル溶液、デキストロース溶液及びハンクス溶液が挙げられる。本開示の薬学的組成物又は製剤は、その他の担体、アジュバント又は非毒性、非治療性、非免疫原性安定化剤、賦形剤等をさらに含み得る。組成物はまた、ｐＨ調整剤及び緩衝剤、毒性調整剤、湿潤剤及び界面活性剤などの生理学的状態に近づけるためのさらなる物質を含み得る。

【０３３７】

本開示の薬学的組成物はまた、例えば、抗酸化剤などの種々の分解防止剤の何れかを含み得る。薬学的組成物がポリペプチドを含む場合には、ポリペプチドは、ポリペプチドのｉｎ　ｖｉｖｏ安定性を増強する、又はそうでなければ、その薬理学的特性を増強する（例えば、ポリペプチドの半減期を増大する、その毒性を低減する、溶解度又は取り込みを増強する）種々の周知の化合物と複合体化され得る。このような修飾又は複合体化剤の例と

して、限定するものではないが、硫酸塩、グルコン酸塩、クエン酸塩及びリン酸塩が挙げられる。組成物のポリペプチドは、そのｉｎ　ｖｉｖｏ特質を増強する分子と複合体化され得る。このような分子として、限定するものではないが、炭水化物、ポリアミン、アミノ酸、その他のペプチド、イオン（例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、マンガン）及び脂質が挙げられる。

【０３３８】

種々の種類の投与に適している製剤のさらなる例は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｍａｃｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ、ＰＡ、第１７版（１９８５）に見出すことができる。薬物送達法の簡単な概説については、Ｌａｎｇｅｒ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：１５２７－１５３３（１９９０）を参照のこと。

【０３３９】

経口投与のために、有効成分は、カプセル剤、錠剤及び散剤などの固体投与形で、又はエリキシル、シロップ及び懸濁液などの液体投与形で投与され得る。活性成分（複数可）は、不活性成分及びグルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、デンプン、セルロース又はセルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、サッカリンナトリウム、タルカム、炭酸マグネシウムなどの粉末化担体と一緒にゼラチンカプセル中にカプセル封入され得る。望ましい色、味、安定性、緩衝能、分散又はその他の公知の望ましい特徴を提供するために添加され得るさらなる不活性成分の例として、弁柄、シリカゲル、ラウリル硫酸ナトリウム、二酸化チタン及び食用白色インクが挙げられる。圧縮錠を作製するために、同様の希釈剤が使用され得る。錠剤及びカプセル剤の両方は、数時間にわたる投薬の連続放出を提供するように徐放製剤として製造され得る。圧縮錠は、任意の不快な味をマスクし、錠剤を大気から保護するために糖コーティング又はフィルムコーティングされ得る、又は胃腸管における選択的崩壊のために腸溶コーティングされ得る。経口投与のための液体投与形は、患者許容性を増大するために着色及び風味づけを含有し得る。

【０３４０】

非経口投与に適した製剤は、抗酸化物質、バッファー、静菌剤及び製剤を意図されるレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有し得る、水性及び非水性の、等張性滅菌注射溶液並びに懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤及び保存料を含み得る、水性及び非水性滅菌懸濁液を含む。

【０３４１】

薬学的組成物を製剤化するために使用される成分は、好ましくは、高純度のものであり、潜在的に有害な混入物を実質的に含まないものである（例えば、少なくとも、ナショナルフード（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｆｏｏｄ）（ＮＦ）等級、一般に、少なくとも分析等級及びより通常は、少なくとも薬理学的等級）。さらに、ｉｎ　ｖｉｖｏ使用のために意図される組成物は、通常、無菌である。使用に先立って所与の化合物が合成されなければならない限りで、得られた産物は、通常、任意の潜在的に毒性の物質、特に、合成又は精製プロセスの際に存在し得る任意の内毒素を実質的に含まない。非経口投与のための組成物も、無菌であり、実質的に等張性であり、ＧＭＰ条件下で作製される。

【０３４２】

製剤は、脳又は中枢神経系における保持及び安定化のために最適化され得る。薬剤が頭蓋区画中に投与される場合には、薬剤が区画中に保持され、拡散しない、そうでなければ、血液脳関門を越えないことが望ましい。安定化技術として、架橋、多量体化又は分子量の増大を達成するためのポリエチレングリコール、ポリアクリルアミド、中性タンパク質担体等といった連結基が挙げられる。

【０３４３】

保持を増大するためのその他の戦略として、生分解性又は生体内分解性インプラントにおける本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体などの抗体の捕捉が挙げられる。治療上有効な薬剤の放出速度は、ポリマーマトリックスを通る輸送の速度及びインプラントの生分解によって制御

される。ポリマーバリアを通る薬物の輸送はまた、化合物溶解度、ポリマー親水性、ポリマー架橋の程度、ポリマーバリアを薬物に対してより透過性にするための水吸収の際のポリマーの拡大、インプラントの幾何学等によって影響を受ける。インプラントは、移植の部位として選択された領域の大きさ及び形状と釣り合った寸法のものである。インプラントは、粒子、シート、パッチ、プラーク、ファイバー、マイクロカプセル等であり得、挿入の選択された部位と適合する任意の大きさ又は形状のものであり得る。

【０３４４】

インプラントは、一体化したもの、すなわち、ポリマーマトリックス中に均一に分布された活性剤を有するもの、又は活性薬剤のリザーバーがポリマーマトリックスによってカプセル化されるカプセル化されたものであり得る。使用されるべきポリマー組成物の選択は、投与の部位、所望の治療期間、患者耐性、治療されるべき疾患の性質等に応じて変わる。ポリマーの特徴として、移植の部位での生分解性、目的の薬剤との適合性、カプセル封入の容易性、生理学的環境における半減期が挙げられる。

【０３４５】

使用され得る生分解性ポリマー組成物は、分解される場合には、モノマーを含む、生理学的に許容される分解産物をもたらす有機エステル又はエーテルであり得る。無水物、アミドオルトエステル等は、それ自体で、又はその他のモノマーと組み合わせて、使用を見出し得る。ポリマーは、縮合ポリマーとなる。ポリマーは、架橋されている場合も、架橋されていない場合もある。ホモポリマー又は共重合体の何れかのヒドロキシ脂肪族カルボン酸のポリマー及び多糖が特に目的とされる。目的のポリエステルの中に、Ｄ－乳酸、Ｌ－乳酸、ラセミ乳酸、グリコール酸、ポリカプロラクトン及びそれらの組合せのポリマーが含まれる。Ｌ－乳酸塩又はＤ－乳酸塩を使用することによって、ゆっくりと生分解するポリマーが達成され、ラセミ化合物を用いる場合に、分解は実質的に増強される。グリコール酸及び乳酸の共重合体が特に目的とされ、生分解の速度は、グリコール酸対乳酸の割合によって制御される。最も迅速に分解される共重合体は、およそ等量のグリコール酸及び乳酸を有し、何れかのホモポリマーが、分解に対してより耐性である。グリコール酸対乳酸の比はまた、インプラントの脆性に影響を及ぼし、より大きな幾何学にとってより可動性のインプラントが望ましい。目的の多糖の中で、アルギン酸カルシウム及び機能化セルロース、特に、水に不溶性であること、約５ｋＤから５００ｋＤの分子量などを特徴とするカルボキシメチルセルロースエステルがある。生分解性ハイドロゲルもまた、本発明のインプラントにおいて使用され得る。ハイドロゲルは、通常、液体を吸収する能力を特徴とする共重合体材料である。使用され得る例示的生分解性ハイドロゲルは、Ｈｅｌｌｅｒｉｎ：Ｈｙｄｒｏｇｅｌｓ ｉｎ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｐｈａｒｍａｃｙ、Ｎ．Ａ．Ｐｅｐｐｅｓ編、第ＩＩＩ巻、ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ、Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ、Ｆｌａ．、１９８７、ｐ１３７－１４９に記載されている。

【０３４６】

薬学的投与量

本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を含有する本開示の薬学的組成物は、抗ＴＲＥＭ１抗体を用いる治療を必要とする個体、好ましくは、ヒトに、ボーラスとしての静脈内投与などの既知方法に従って、又は一定期間にわたる連続注入によって、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、頭蓋内、脊髄内、皮下、関節内、滑膜内、くも膜下腔内、経口、局所又は吸入経路によって投与され得る。

【０３４７】

本開示の薬学的組成物の投与量及び所望の薬物濃度は、想定される特定の使用に応じて変わり得る。適当な投与量又は投与経路の決定は、十分に当業者の技術の範囲内である。動物実験は、ヒト療法のための有効用量の決定のための信頼できるガイダンスを提供する。有効用量の間隔スケーリングは、Ｍｏｒｄｅｎｔｉ、Ｊ．及びＣｈａｐｐｅｌｌ、Ｗ．「Ｔｈｅ Ｕｓｅ ｏｆ Ｉｎｔｅｒｓｐｅｃｉｅｓ Ｓｃａｌｉｎｇ ｉｎ Ｔｏｘｉｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ」、Ｉｎ Ｔｏｘｉｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ Ｎｅｗ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ、Ｙａｃｏｂｉ等編、Ｐｅｒｇａｍｏｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏ

ｒｋ　１９８９、ｐ４２－４６に記載される原理に従って実施され得る。
【０３４８】
本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の何れかのｉｎ　ｖｉｖｏ投与のために、正常投与量は、投与経路に応じて、１日あたり約１０ｎｇ／個体の体重１ｋｇから最大約１００ｍｇ／個体の体重１ｋｇ又はより多くで、好ましくは、約１ｍｇ／ｋｇ／日から１０ｍｇ／ｋｇ／日で変わり得る。数日又はより長くにわたる反復投与のためには、治療されるべき疾患、障害又は状態の重症度に応じて、症状の所望の抑制が達成されるまで治療が持続される。
【０３４９】
例示的投薬レジメンは、約２ｍｇ／ｋｇの抗ＴＲＥＭ１抗体の初期用量と、それに続く、隔週で約１ｍｇ／ｋｇの毎週の維持量を投与することを含み得る。その他の投与レジメンは、医師が達成するように願う薬物動態学的崩壊のパターンに応じて有用であり得る。例えば、本明細書において、週に１回から２１回個体に投薬することが考慮される　特定の実施態様では、約３μｇ／ｋｇ－約２ｍｇ／ｋｇ（例えば、約３μｇ／ｋｇ、約１０μｇ／ｋｇ、約３０μｇ／ｋｇ、約１００μｇ／ｋｇ、約３００μｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ及び約２／ｍｇ／ｋｇ）の範囲の投薬が使用され得る。特定の実施態様では、投薬頻度は、１日あたり３回、１日あたり２回、１日あたり１回、２日あたり１回、週あたり１回、２週間あたり１回、４週間あたり１回、５週間あたり１回、６週間あたり１回、７週間あたり１回、８週間あたり１回、９週間あたり１回、１０週間あたり１回又は月あたり１回、２ヶ月あたり１回、３ヶ月あたり１回であるか又はそれより長い。療法の進行は、従来技術及びアッセイによって容易にモニターされる。投与される抗ＴＲＥＭ１抗体を含む投薬レジメンは、使用される用量とは独立に経時的に変わり得る。
【０３５０】
特定の抗ＴＲＥＭ１抗体の投与量は、抗ＴＲＥＭ１抗体の一又は複数の投与が与えられている個体において経験的に決定され得る。個体に、抗ＴＲＥＭ１抗体の増加性の用量が与えられる。抗ＴＲＥＭ１抗体の有効性を評価するために、本開示の疾患、障害又は状態（例えば、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、那須・ハコラ病及び多発性硬化症）のａｙの臨床症状はモニターされ得る。
【０３５１】
本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の投与は、例えば、レシピエントの生理学的状態、投与の目的が治療的であるか、予防的であるか及び熟練した実施者に公知のその他の因子に応じて、連続であっても、断続的であってもよい。抗ＴＲＥＭ１抗体の投与は、予め選択された期間にわたって本質的に連続であり得る、又は一連の間隔のあいた用量であり得る。
【０３５２】
特定の投与量及び送達法に関するガイダンスは、文献において提供されている；例えば、米国特許第４６５７７６０号；同５２０６３４４号；又は同５２２５２１２号を参照のこと。異なる治療及び異なる障害にとって、異なる製剤が有効であること及び特定の臓器又は組織を治療するように意図される投与は、別の臓器又は組織へのものとは異なる方法での送達を必要とし得ることは、本開示の範囲内である。さらに、投与量は、一又は複数の別個の投与によって、又は連続注入によって投与され得る。数日又はより長くにわたる反復投与のためには、状態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療が持続される。しかし、その他の投与レジメンが有用であり得る。この療法の進行は、従来技術及びアッセイによって容易にモニターされる。
【０３５３】
治療的使用
本開示のさらなる態様は、個体に、治療有効量の本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与して、個体における一又は複数のＴＲＥＭ１活性を調節する（例えば、誘導する又は阻害する）ことによって、ＴＲＥＭ１を調節する（例えば、活性化する又は阻害する）ための、ＤＡＰ１２を調節する（例えば、活性化する又は阻害する）ための、ＰＩ３Ｋを調節する（例えば、活性化する又は阻害する）ための、一又は複数の炎症促進性及び抗炎症性メディエーター（例えば、ＩＦＮ－ａ４、ＩＦＮ－ｂ、ＩＬ－１β、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、Ｉ

Ｌ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－２３、ＣＲＰ、ケモカインタンパク質ファミリーのＴＧＦ－βメンバー、ＩＬ－２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＩＦＮ－γ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＴＧＦ－β、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＭＣＰ－１、ＶＥＧＦ、ＣＸＣＬ１０及びＣＲＰ）の発現を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）ための、一又は複数のＴＲＥＭ１発現細胞の生存を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）ための、又は、一又は複数のＴＲＥＭ１発現細胞の機能を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）ための、又は一又は複数のＴＲＥＭ１発現細胞の増殖を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）ための、又は一又は複数のＴＲＥＭ１発現細胞の遊走を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）ための、又はそれを必要とする個体における一又は複数のＴＲＥＭ１発現細胞のその他の細胞との相互作用を調節する（例えば、活性化する又は低下させる）方法を提供する。

【０３５４】

本開示によって提供される抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、それを必要とする個体における、一又は複数の免疫細胞の生存、成熟、機能、遊走又は増殖の誘導又は促進において使用を見出す。本明細書において提供される抗ＴＲＥＭ１抗体は、それを必要とする個体における、制御性Ｔ細胞、腫瘍が埋め込まれた免疫サプレッサー樹状細胞、腫瘍が埋め込まれた免疫サプレッサーマクロファージ、ミエロイド由来サプレッサー細胞、腫瘍関連マクロファージ、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）細胞、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）細胞又は慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）細胞の活性、機能又は生存の低下においてさらなる使用を見出す。腫瘍－抗ＴＲＥＭ１抗体は、記憶の増大及び／又は認知欠損の低減においてさらなる使用をさらに見出し、また、先端的創傷ケアにおいて使用され得る。

【０３５５】

上記で説明したように、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、それだけには限らないが、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、混合型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病、正常圧水頭症、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン舞踏病、タウオパチー病、那須・ハコラ病、卒中、急性外傷、慢性外傷、認知欠損、記憶喪失、ループス、急性及び慢性大腸炎、関節リウマチ、創傷治癒、クローン病、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、肥満症、マラリア、本態性振戦、中枢神経系ループス、ベーチェット病、パーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核神経節変性症、急性播種性脳脊髄炎、肉芽腫性障害、サルコイドーシス、加齢の疾患、発作、脊髄損傷、外傷性脳損傷、加齢関連黄斑変性症、緑内障、網膜色素変性症、網膜変性症、気道感染症、敗血症、眼の感染症、全身感染症、ループス、関節炎、多発性硬化症、低骨密度、骨粗鬆症、骨形成、大理石骨病、パジェット骨病、固形癌及び血液癌、膀胱癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、乳癌、子宮頸癌、神経膠腫、神経膠芽腫、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、多発性骨髄腫、真性赤血球増加症、本態性血小板増多症、原発性又は特発性骨髄線維症、原発性又は特発性骨髄硬化症、骨髄由来腫瘍、ＴＲＥＭ１を発現する腫瘍、甲状腺癌、感染症、ＣＮＳヘルペス、寄生虫感染症、トリパノソーマ感染症、クルージ感染、緑膿菌感染、ドノバンリーシュマニア感染、群Ｂストレプトコッカス属感染、カンピロバクター・ジェジュニ感染、髄膜炎菌感染、Ｉ型ＨＩＶ及びインフルエンザ菌を含む任意の数の障害のリスクを防止、低減する、又はそれを治療するために使用され得る。したがって、本発明は、治療有効量の、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を個体に投与することによって、一又は複数のこのような疾患又は障害を有するリスクを防止、低減する、又はそれを有する個体を治療する方法を提供する。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、アゴニスト抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、不活性抗体である。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、アンタゴニスト抗体である。

【０３５６】
いくつかの実施態様では、方法は、個体に、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与すること及び／又は別の標準的若しくは治験的抗癌療法をさらに含む。いくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ４抗体及び抗ＨＶＥＭ抗体、抗Ｂ－及びＴ－リンパ球アテニュエータ（ＢＴＬＡ）抗体、抗キラー阻害性受容体（ＫＩＲ）抗体、抗ＧＡＬ９抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗Ａ２ＡＲ抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗ＣＤ２７抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。いくつかの実施態様では、標準的又は治験的抗癌療法は、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、ホルモン療法、イマチニブ（Ｇｌｅｅｖｅｃ（登録商標））、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標））、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標））、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、ＭａｂＴｈｅｒａ（登録商標）、Ｚｙｔｕｘ（登録商標））、寒冷療法、焼灼術、ラジオ波焼灼術、養子細胞移入（ＡＣＴ）、キメラ抗原受容体Ｔ細胞移入（ＣＡＲ－Ｔ）、ワクチン療法及びサイトカイン療法から選択される一又は複数の療法である。いくつかの実施態様では、方法は、個体に、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＣＣＬ２抗体、抗ＣＳＦ－１抗体、抗ＩＬ－２抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。いくつかの実施態様では、方法は、個体に、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体を投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、アゴニスト　抗ＣＤ４０抗体、アゴニスト抗ＯＸ４０抗体、アゴニスト抗ＩＣＯＳ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２８抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７／４－１ＢＢ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２７抗体、アゴニスト抗グルココルチコイドによって誘導されるＴＮＦＲ関連タンパク質ＧＩＴＲ抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。いくつかの実施態様では、方法は、個体に、少なくとも一つの刺激性サイトカインを投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、少なくとも一つの刺激性サイトカインは、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、少なくとも一つの刺激性サイトカインは、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ケモカインタンパク質ファミリーのＴＧＦ－βメンバー、ＩＬ２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＴＧＦ－β、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－８、ＩＬ－２３、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＬ－２、ＩＬ－１８、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びそれらの任意の組合せから選択される。

【０３５７】
本開示のその他の態様は、個体に、治療有効量の、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１リガンドの、ＴＲＥＭ１タンパク質との結合によって誘導される一又は複数のＴＲＥＭ１活性を増強する方法に関する。本開示のその他の態様は、個体に、治療有効量の本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、それを必要とする個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導する方法に関する。本開示のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又はｉｎ　ｖｉｖｏモデルなどの、ＴＲＥＭ１活性を測定するための任意の適した方法が使用され得る。

【０３５８】
本明細書において開示されるように、限定するものではないが、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のラン

ゲルハンス細胞及びクッパー細胞及び／又は細胞株を含む一又は複数の細胞でのＴＲＥＭ１の細胞レベルを低下させるために、本開示のＴＲＥＭ１抗体が使用され得る。いくつかの実施態様では、本開示は、個体に、治療有効量の本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、それを必要とする個体において、一又は複数の細胞でのＴＲＥＭ１の細胞レベルを低下させる方法を提供する。いくつかの実施態様では、一又は複数の細胞は、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア、マクロファージ、好中球、ＮＫ細胞、破骨細胞、皮膚のランゲルハンス細胞及びクッパー細胞及びそれらの任意の組合せから選択される。ＴＲＥＭ１の細胞レベルは、限定するものではないが、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベル、ＴＲＥＭ１の細胞内レベル及びＴＲＥＭ１の総レベルを指し得る。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルの低下は、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルは、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルによって測定され得る。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルの低下は、ＴＲＥＭ１の細胞内レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の細胞内レベルは、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルによって測定され得る。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルの低下は、ＴＲＥＭ１の総レベルの低下を含む。本明細書において、ＴＲＥＭ１の総レベルは、本明細書において記載される、又は当技術分野で公知の任意のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞ベースアッセイ又は適したｉｎ　ｖｉｖｏモデルによって測定され得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１分解、ＴＲＥＭ１切断、ＴＲＥＭ１内部移行、ＴＲＥＭ１シェディング及び／又はＴＲＥＭ１発現の下方制御を誘導する。いくつかの実施態様では、ＴＲＥＭ１の細胞レベルは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞アッセイを利用して、初代細胞（例えば、樹状細胞、骨髄由来樹状細胞、単球、ミクログリア及びマクロファージ）で、又は細胞株で測定される。

【０３５９】

本明細書において開示されるように、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、記憶を増大し、及び／又は認知欠損を低減するために使用され得る。いくつかの実施態様では、本開示は、それを必要とする個体において、個体に、治療有効量の本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって記憶を増大し、及び／又は認知欠損を低減する方法を提供する。

【０３６０】

本明細書において開示されるように、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、自然免疫細胞生存を誘導及び／又は促進するために使用され得る。いくつかの実施態様では、本開示は、個体に、治療有効量の本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、それを必要とする個体において、自然免疫細胞生存を誘導又は促進する方法を提供する。

【０３６１】

本明細書において開示されるように、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体はまた、受傷後などに創傷治癒を誘導又は促進するために使用され得る。いくつかの実施態様では、創傷治癒は、損傷後の結腸の創傷修復であり得る。いくつかの実施態様では、本開示は、個体に、治療有効量の本開示のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、それを必要とする個体において、創傷治癒を誘導又は促進する方法を提供する。

【０３６２】

いくつかの実施態様では、本開示の方法は、抗ＴＲＥＭ１抗体又は二重特異性抗体の、ＴＬＲアンタゴニストとの、又はＴＬＲアゴニストを中和する薬剤（例えば、中和サイトカイン又はインターロイキン抗体）との同時投与を含み得る。

【０３６３】

いくつかの実施態様では、本開示の方法は、ＰＧＬＹＲＰ－１などのＴＲＥＭ１リガンドとともに本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を含むキメラ構築物の投与を含み得る。

【０３６４】

認知症

認知症は、正常な加齢から予測され得るものを越えた、これまでに未障害の人における全

体的な認知能力の重篤な喪失として現れる非特異的症候群（すなわち、徴候及び症状のセット）である。認知症は、独特の全体的な脳傷害の結果として静的であり得る。或いは、認知症は、進行性であり得、身体における損傷又は疾患のために長期の低下をもたらす。認知症は、老人集団ではかなりより一般的であるが、６５歳より前で生じることもある。認知症によって影響を受ける認知領域として、限定するものではないが、記憶、注意持続時間、言語及び問題解決が挙げられる。一般に、症状が、個体が認知症と診断される前の少なくとも６ヶ月間存在しなければならない。

【０３６５】

認知症の例示的形態として、限定するものではないが、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、血管性認知症、意味性認知症及びレビー小体型認知症が挙げられる。

【０３６６】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、認知症のリスクを防止、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、認知症を有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３６７】

前頭側頭型認知症

前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）は、脳の前頭葉の進行性の増悪に起因する状態である。経時的に、変性は、側頭葉に進行し得る。有病率では唯一アルツハイマー病（ＡＤ）に次いで第２位であり、ＦＴＤは、初老期認知症の症例の２０％を占める。ＦＴＤの臨床特徴として、記憶欠損、行動異常、人格変化及び言語障害が挙げられる（Cruts,M. & Van Broeckhoven,C.、Trends Genet. 24:186-194(2008);Neary,D.等、Neurology 51:1546-1554(1998);Ratnavalli,E.、Brayne,C.、Dawson,K. & Hodges,J. R.、Neurology 58:1615-1621(2002)）。

【０３６８】

ＦＴＤの症例のかなりの部分は、常染色体優性様式で遺伝されるが、一つの家族中でさえ、症状は、行動撹乱を有するＦＴＤから、原発性進行性失語まで、皮質基底核神経節変性症までスペクトラムを広げ得る。ＦＴＤは、ほとんどの神経変性性疾患と同様、罹患脳における特定のタンパク質凝集塊の病的存在を特徴とする。歴史的に、ＦＴＤの最初の説明が、神経原線維変化又はピック体における高リン酸化されたタウタンパク質のニューロン内蓄積の存在を認識した。微小管関連タンパク質タウの原因的役割は、いくつかの家族におけるタウタンパク質をコードする遺伝子における突然変異の同定によって支持された（Ｈｕｔｔｏｎ，Ｍ．等、Ｎａｔｕｒｅ　３９３：７０２－７０５（１９９８）。しかし、ＦＴＤ脳の大部分は、高リン酸化されたタウの蓄積を示さないが、ユビキチン（Ｕｂ）及びＴＡＲ　ＤＮＡ結合タンパク質（ＴＤＰ４３）に対する免疫反応性を示す（Neumann,M.等、Arch. Neurol. 64:1388-1394(2007)）。Ｕｂを包含するＦＴＤ（ＦＴＤ－Ｕ）の症例の大部分は、プログラニュリン遺伝子に突然変異を保持すると示された。

【０３６９】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＦＴＤのリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＦＴＤを有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３７０】

アルツハイマー病

アルツハイマー病（ＡＤ）は、認知症の最も一般的な形態である。疾患の治癒はなく、進行するにつれ悪化し、最終的には死につながる。ほとんどの場合、ＡＤは、６５歳を超え

るヒトにおいて診断される。しかし、あまり蔓延していないが早期発症型アルツハイマーは、かなり早く生じることがある。

【０３７１】

アルツハイマー病の一般的な症状として、最近の出来事を思い出すことが難しいなどの行動的症状、認知症状、錯乱、易怒性及び攻撃性、気分動揺、言語の問題及び長期記憶喪失が挙げられる。疾患が進行するにつれ、身体機能が失われ、最終的に死につながる。アルツハイマー病は、十分に明らかになる前に未知の、可変量の時間発達し、診断されずに数年間進行することもある。

【０３７２】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、アルツハイマー病のリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、アルツハイマー病を有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の減少）を誘導し得る。

【０３７３】

那須・ハコラ病

那須・ハコラ病（ＮＨＤ）は、別に硬化性白質脳症を伴う多発嚢胞性脂肪膜性骨異型性（ＰＬＯＳＬ）と呼ばれることもあり、稀にしか遺伝しない白質ジストロフィーであり、下肢及び上肢の多嚢胞性骨様病変のために、再発性骨折を伴う進行性の初老期認知症である。ＮＨＤ疾患経過は、一般に、４つのステージ：潜在性、骨様、早期神経学的及び後期神経学的にわけられる。小児期（潜在性ステージ）の間の正常な発達後、ＮＨＤは、若年成人期の間に（通常の発症年齢２０～３０歳）手、手首、足首及び足の疼痛で現れ始める。次いで、患者は、肢の骨における多嚢胞性骨様及び骨粗鬆症性病変による再発性骨折に苦しみ始める（骨様ステージ）。２０代又は３０代の間に（早期神経学的ステージ）、患者は、前頭葉症候群に特有の明白な人格変化を示す（例えば、多幸感、集中の欠如、判断の喪失及び社会的抑制）。患者は、通常、進行性の記憶撹乱にも苦しむ。てんかん性発作も頻繁に観察される。最後に（後期神経学的ステージ）、患者は、重度の認知症に進行し、話すことも、動くこともできず、通常、５０歳までに死亡する。

【０３７４】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、那須・ハコラ病（ＮＨＤ）のリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＮＨＤを有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３７５】

パーキンソン病

パーキンソン病は、特発性又は原発性パーキンソニズム、運動低下性硬直性症候群（ＨＲＳ）又は振戦麻痺と呼ばれることもあり、運動系制御に影響を及ぼす神経変性性脳障害である。脳におけるドーパミン産生細胞の進行性の死滅が、パーキンソンの主要な症状につながる。ほとんどの場合、パーキンソン病は、５０歳を超えるヒトで診断される。パーキンソン病は、ほとんどのヒトにおいて特発性（既知原因がない）である。しかし、遺伝因子も疾患において役割を果たしている。

【０３７６】

パーキンソン病の症状として、限定するものではないが、手、腕、脚、顎及び顔面の振戦、脚及び躯幹における筋硬直及び動きが緩慢であること（動作緩慢）、姿勢の不安定性、歩行困難、精神神経性問題、発声又は挙動の変化、鬱病、不安神経症、疼痛、精神病、認知症、幻覚及び睡眠問題が挙げられる。

【０３７７】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、パーキンソン病のリスクを防止し、低減し得、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、パーキンソン病を有する個体において、一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３７８】

筋萎縮性側索硬化症

本明細書において、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）又は運動ニューロン疾患又はルー・ゲーリック病は、同義的に使用され、迅速進行性脱力、筋肉萎縮及び線維束性収縮、筋肉筋痙縮、発話困難（構音障害）、嚥下困難（嚥下障害）及び呼吸困難（ｄｉｆｆｉｃｕｌｔｙ　ｂｒｅａｔｈｉｎｇ）（呼吸困難（ｄｙｓｐｎｅａ））を特徴とする多様な病因論を有する衰弱性疾患を指す。

【０３７９】

プログラニュリンは、ＡＬＳにおいて役割を果たし（Schymick、JC等、(2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry;78:754-6）、ＴＤＰ－４３などのＡＬＳを引き起こすタンパク質によって引き起こされる損傷からもやはり保護する（Laird、AS等、(2010)、PLoS ONE 5:e13368）ことがわかっている。ｐｒｏ－ＮＧＦは、脊髄損傷後のオリゴデンドロサイト及び皮質脊髄ニューロンのｐ７５媒介性死滅を誘導する（Beatty等、Neuron(2002)、36、p375-386;Giehl等、Proc. Natl. Acad. Sci USA(2004)、101,p6226-30）ことも実証された。

【０３８０】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＡＬＳのリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＡＬＳを有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３８１】

ハンチントン舞踏病

ハンチントン舞踏病（ＨＤ）は、ハンチンチン遺伝子（ＨＴＴ）において常染色体優性突然変異によって引き起こされる遺伝性神経変性性疾患である。ハンチンチン遺伝子内のサイトカイン－アデニン－グアニン（ＣＡＧ）トリプレットリピートの拡大は、この遺伝子によってコードされるハンチンチンタンパク質（Ｈｔｔ）の突然変異体形態の生成をもたらす。この突然変異体ハンチンチンタンパク質（ｍＨｔｔ）は、毒性であり、神経細胞死に寄与する。ハンチントン舞踏病の症状は、任意の年齢で現れ得るが、３５歳から４４歳の間に最もよく現れる。

【０３８２】

ハンチントン舞踏病の症状として、限定するものではないが、運動制御の問題、痙攣様の、無作為運動（舞踏病）、異常な眼の動き、平衡障害、発作、咀嚼困難、嚥下困難、認知の問題、発話の変更、記憶欠損、思考困難、不眠症、疲労、認知症、人格の変化、鬱病、不安神経症及び強迫行動が挙げられる。

【０３８３】

いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ハンチントン舞踏病（ＨＤ）のリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、ＨＤを有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３８４】

タウオパチー病
タウオパチー病、又はタウオパチーは、脳内で微小管関連タンパク質タウの凝集によって引き起こされる神経変性性疾患のクラスである。アルツハイマー病（ＡＤ）は、最もよく知られたタウオパチー病であり、不溶性神経原線維変化（ＮＦＴ）の形態でニューロン内にタウタンパク質の蓄積を含む。その他のタウオパチー病及び障害として、進行性核上性麻痺、拳闘家認知症（慢性外傷性脳傷害）、前頭側頭型認知症及び染色体１７と連鎖しているパーキンソニズム、リチコ－ボーディッヒ病（グアムのパーキンソン認知症複合）、タングル優位型認知症、神経節膠腫及び神経節細胞腫、髄膜血管腫症、亜急性硬化性全脳炎、鉛脳障害、結節性硬化症、ハラーホルデン・スパッツ病、リポフスチン沈着症、ピック病、大脳皮質基底核変性症、嗜銀顆粒病（ＡＧＤ）、ハンチントン舞踏病、前頭側頭型認知症及び前頭側頭葉変性症が挙げられる。

【０３８５】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、タウオパチー病のリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、タウオパチー病を有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大又は一又は複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３８６】
多発性硬化症
多発性硬化症（ＭＳ）はまた、播種性硬化症又は散在性脳脊髄炎とも呼ばれ得る。ＭＳは、脳の軸索の周囲の脂肪ミエリン鞘及び脊髄が損傷を受けている炎症性疾患であり、脱髄及び瘢痕並びに広範囲の徴候及び症状につながる。ＭＳは、脳及び脊髄中の神経細胞の、互いに効率的に連絡する能力に影響を及ぼす。神経細胞は、活動電位と呼ばれる電気信号を、ミエリンと呼ばれる絶縁物質内に含有される軸索と呼ばれる長い線維の下に送ることによって連絡する。ＭＳでは、身体自身の免疫系が、ミエリンを攻撃し、損傷を与える。ミエリンが失われると、軸索は、もはや効率的にシグナルを伝達できない。ＭＳ発生は、普通、若年成人において起こり、女性においてより一般的である。

【０３８７】
ＭＳの症状として、限定するものではないが、感受性の喪失又はピリピリ感などの感覚の変化、穿刺又はしびれ感、例えば、知覚鈍麻及び知覚異常、筋肉脱力、クローヌス、筋肉攣縮、運動困難、協調及び平衡に関する困難、例えば、運動失調、発話の問題、例えば、構音障害又は嚥下困難、例えば、嚥下障害、視覚的問題、例えば、眼振、光視及び複視を含む視神経炎、疲労、急性又は慢性疼痛並びに膀胱及び腸の困難、種々の程度の認知障害、鬱病又は不安定な気分の情動的症状、通常の周囲温度よりも高い温度に対する曝露による現存の症状の増悪であるウートフ（Ｕｈｔｈｏｆｆ’ｓ）現象及び首を曲げたときに背中を下に走る電気的感覚であるレルミット徴候が挙げられる。

【０３８８】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、多発性硬化症のリスクを防止し、低減し得る、及び／又はそれを治療し得る。いくつかの実施態様では、抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することは、多発性硬化症を有する個体において一又は複数のＴＲＥＭ１活性（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、ＰＩ３Ｋ活性化、一若しくは複数の抗炎症性メディエーターの発現の増大及び一若しくは複数の炎症促進性メディエーターの発現の低減）を誘導し得る。

【０３８９】
癌
本開示のなおさらなる態様は、癌を有するリスクを防止し、低減する、又はそれを治療する方法であって、個体に、治療有効量の、単離された本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することを含む方法を提供する。本開示の単離された抗体の何れも、これらの方法において使用され得る。いくつかの実施態様では、単離された抗体は、本開示のアゴニスト抗体で

ある。その他の実施態様では、単離された抗体は、本開示のアンタゴニスト抗体である。
【０３９０】
上記のように、腫瘍微小環境は、Ｔリンパ球、マクロファージ及びミエロイド／顆粒球系統の細胞を含む不均一な免疫浸潤物を含有すると知られている。特に、腫瘍中のＭ２－マクロファージの存在は、不十分な予後と関連している。ＣＳＦ１Ｒ遮断薬などの腫瘍中のこれらの細胞数を低減する療法は、前臨床モデル及び早期ステージ臨床研究において有益な効果を示している。ＴＲＥＭ１は、ＣＳＦ１と協力して、ｉｎ ｖｉｔｒｏでマクロファージの生存を促進すること及びその効果は、その他の種類の貪食細胞と比較して、Ｍ２型マクロファージにおいて特に顕著であることが示されている。将来性のある前臨床試験はまた、腫瘍関連マクロファージを標的とする薬物（例えば、ＣＳＦ１／ＣＳＦ１Ｒ遮断抗体）と、Ｔ細胞を標的とするチェックポイント遮断抗体間の相乗作用を示しており、これは、両細胞種を操作することが、個々の療法が不十分にしか有効でない腫瘍モデルにおいて有効性を示すことを示す（Ｚｈｕ Ｙ；Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ． ２０１４年９月１５日；７４（１８）：５０５７－６９）。したがって、理論に拘泥するものではないが、腫瘍関連マクロファージにおいてＴＲＥＭ１シグナル伝達を遮断することは、腫瘍微小環境における免疫応答の抑制を阻害し、治療的抗腫瘍免疫応答をもたらし得ると考えられる。
【０３９１】
ＴＲＥＭ１とＣＳＦ１間の、及び標的化腫瘍関連マクロファージと標的化Ｔ細胞間の相乗作用のために、いくつかの実施態様では、癌を有するリスクを防止し、低減する、又はそれを治療する方法は、個体に、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与することをさらに含む。阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する抗体の例として、限定するものではないが、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ４抗体及び抗ＨＶＥＭ抗体、抗ＢＴＬＡ抗体、抗ＧＡＬ９抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗Ａ２ＡＲ抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ホスファチジルセリン抗体及びそれらの任意の組合せが挙げられる。いくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、本開示のアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体と組み合わせて投与される。
【０３９２】
いくつかの実施態様では、本明細書において開示の方法によって防止又は治療されるべき癌として、それだけには限らないが、扁平上皮癌（例えば、上皮扁平上皮癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌及び肺の扁平上皮癌腫を含む肺癌、腹膜の癌、肝細胞性癌、胃腸癌及び消化管間質腫瘍癌を含む胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ）又は胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ）、膵臓癌、神経膠芽腫、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、泌尿器の癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌腫、唾液腺癌腫、腎臓又は腎癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌腫、陰茎癌腫、黒色腫、表在性伝播性黒色腫、悪性黒子由来黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節性黒色腫、多発性骨髄腫及びＢ－細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリー細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病及び移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）並びに母斑症と関連する異常な血管増殖、浮腫（脳腫瘍と関連するものなど）、メージュ症候群、脳並びに頭頸部癌及び関連する転移が挙げられる。いくつかの実施態様では、癌は、結腸直腸癌である。いくつかの実施態様では、癌は、非小細胞肺癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、腎細胞癌、膀胱癌、卵巣癌、黒色腫、乳房癌腫、胃（ｇａｓｔｒｉｃ）癌及び肝細胞性癌腫から選択される。いくつかの実施態様では、癌は、トリプルネガティブ乳房癌腫である。いくつかの実施態様では、癌は、扁平上皮非小細胞肺癌、子宮頸癌、例えば、子宮頸部扁平上皮癌子宮頚管内腺癌、肝臓肝細胞性癌腫、低悪性度神経膠腫、神経膠芽腫、腎明細胞癌、腎乳頭細胞癌腫、嫌色素性腎細胞癌又は膵臓癌である。いくつかの実施態様では、癌は、扁平上皮非小細胞肺癌、子宮頸部扁平上皮癌又は子宮頚管内腺癌、肝臓肝細胞性癌腫又は低悪性度神経膠腫である。いくつかの実施態様では、癌は、早期ステージ癌又は後期ステージ癌であり得る。いくつかの実施態様では、癌は、原発腫瘍であり得る。いくつかの実施態様では、癌は、上記の種類の癌の何れかに由来する第２の部位で

、転移性腫瘍であり得る。
【０３９３】
いくつかの実施態様では、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体は、限定するものではないが、膀胱癌、乳癌、脳癌、例えば、低悪性度神経膠腫などの神経膠腫又は神経膠芽腫、子宮頸癌、結腸及び直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、腎細胞癌、腎盂癌、白血病、肺癌、例えば、非小細胞肺癌、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、線維肉腫及び甲状腺癌を含む癌のリスクを防止し、低減する、又はそれを治療するために使用され得る。
【０３９４】
いくつかの実施態様では、本開示は、個体に、治療有効量の本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体を投与することによって、癌のリスクを防止し、低減する、又はそれを治療する方法を提供する。
【０３９５】
いくつかの実施態様では、本方法は、個体に、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与すること、及び／又は別の標準的又は、治験的抗癌療法をさらに含む。いくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ４抗体及び抗ＨＶＥＭ抗体、抗Ｂ－及びＴ－リンパ球アテニュエータ（ＢＴＬＡ）抗体、抗キラー阻害性受容体　（ＫＩＲ）抗体、抗ＧＡＬ９抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗Ａ２ＡＲ抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ホスファチジルセリン抗体、抗ＣＤ２７抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。いくつかの実施態様では、標準的又は治験的抗癌療法は、放射線療法、細胞傷害性化学療法、標的療法、イマチニブ（Ｇｌｅｖｅｃ（登録商標））、トラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、養子細胞移入（ＡＣＴ）、キメラ抗原受容体Ｔ細胞移入（ＣＡＲ－Ｔ）、ワクチン療法、ホルモン療法、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標））、オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ（登録商標））、リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、ＭａｂＴｈｅｒａ（登録商標）、Ｚｙｔｕｘ（登録商標））、寒冷療法、焼灼術、ラジオ波焼灼術及びサイトカイン療法から選択される一又は複数の療法である。
【０３９６】
いくつかの実施態様では、方法は、個体に、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体を投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体は、抗ＣＣＬ２抗体、抗ＣＳＦ－１抗体、抗ＩＬ－２抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。
【０３９７】
いくつかの実施態様では、本方法は、個体に、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体を投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体は、アゴニスト抗ＣＤ４０抗体、アゴニスト抗ＯＸ４０抗体、アゴニスト抗ＩＣＯＳ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２８抗体、アゴニスト抗ＣＤ１３７／４－１ＢＢ抗体、アゴニスト抗ＣＤ２７抗体、アゴニスト抗グルココルチコイドによって誘導されるＴＮＦＲ関連タンパク質ＧＩＴＲ抗体及びそれらの任意の組合せから選択される。
【０３９８】
いくつかの実施態様では、方法は、個体に、少なくとも一つの刺激性サイトカインを投与することをさらに含む。いくつかの実施態様では、少なくとも一つの刺激性サイトカインは、単離された抗体と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、少なくとも一

つの刺激性サイトカインは、ＴＮＦ－α 、ＩＬ－１０、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ケモカインタンパク質ファミリーのＴＧＦ－βメンバー、ＩＬ２０ファミリーメンバー、ＩＬ－３３、ＬＩＦ、ＯＳＭ、ＣＮＴＦ、ＴＧＦ－β、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１７、ＩＬ－８、ＣＲＰ、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＬ－２、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、ＣＸＣＬ１０、ＭＣＰ－１、ＶＥＧＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ及びそれらの任意の組合せから選択される。

【０３９９】

製造のキット／物品

本開示はまた、本開示の単離された抗体（例えば、本明細書において記載される抗ＴＲＥＭ１又は抗ＤＡＰ１２抗体）又はその機能的断片を含有するキットを提供する。本開示のキットは、本開示の精製抗体を含む一又は複数の容器を含み得る。いくつかの実施態様では、キットは、本開示の方法に従って使用するための説明書をさらに含む。いくつかの実施態様では、これらの説明書は、本開示の方法に従って、認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、那須・ハコラ病、多発性硬化症及び癌から選択される疾患、障害又は傷害を有するリスクを防止、低減する、又はそれを有する個体を治療するための、本開示の単離された抗体（例えば、本明細書に記載された抗ＴＲＥＭ１又は抗ＤＡＰ１２抗体）の投与の説明を含む。

【０４００】

いくつかの実施態様では、説明書は、例えば、個体において、組織サンプルにおいて、又は細胞において、ＴＲＥＭ１及び／又はＤＡＰ１２を検出する方法の説明を含む。キットは、個体が、疾患及び疾患のステージを有するか否かを同定することに基づく治療に適した個体を選択することの説明をさらに含み得る。

【０４０１】

いくつかの実施態様では、キットは、本開示の別の抗体（例えば、阻害性チェックポイント分子と特異的に結合する少なくとも一つの抗体、阻害性サイトカインと特異的に結合する少なくとも一つの抗体及び／又は刺激性チェックポイントタンパク質と特異的に結合する少なくとも一つのアゴニスト抗体）及び／又は少なくとも一つの刺激性サイトカインをさらに含み得る。いくつかの実施態様では、キットは、抗体及び／又は刺激性サイトカインを、本開示の単離された抗体（例えば、本明細書において記載される抗ＴＲＥＭ１アンタゴニスト抗体）と組み合わせて使用するための説明書、本開示の単離された抗体を、抗体及び／又は刺激性サイトカインと組み合わせて使用するための説明書又は本開示の単離された抗体並びに抗体及び／又は刺激性サイトカインを本開示の任意の方法に従って使用するため説明書をさらに含み得る。

【０４０２】

説明書は、一般に、意図される治療のための投与量、投薬スケジュール及び投与経路についての情報を含む。容器は、単位用量の、大量パッケージ（例えば、複数用量パッケージ）又は部分単位用量であり得る。本開示のキット中に供給された説明書は、通常、表示又は添付文書（例えば、キット中に含まれる紙シート）に書かれた説明書であるが、機械によって読み取り可能な説明書（例えば、磁気又は光学ストレージディスクで保持される説明書）も許容される。

【０４０３】

例えば、表示又は添付文書は、本開示の疾患を治療するために組成物が使用されることを示す。説明書は、本明細書において記載される方法の何れかを実施するために提供され得る。

【０４０４】

本開示のキットは、適したパッケージング中にある。適したパッケージングとして、それだけには限らないが、バイアル、瓶、ジャー、可動性パッケージング（例えば、密閉されたマイラー又はプラスチックバッグ）等が挙げられる。また、吸入器、鼻腔投与デバイス（例えば、噴霧器）又はミニポンプなどの注入デバイスなどの特定のデバイスと組み合わせて使用するためのパッケージも考慮される。キットは、滅菌アクセスポートを有し得る

（例えば、容器は、皮下注射ニードルによって穿刺可能なストッパーを有する、静脈内溶液バッグ又はバイアルであり得る）。容器はまた、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射ニードルによって穿刺可能なストッパーを有する、静脈内溶液バッグ又はバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも一つの活性薬剤は、本開示の単離された抗体である（例えば、本明細書において記載される抗ＴＲＥＭ１又は抗ＤＡＰ１２抗体）。容器は、第２の薬学的に活性な薬剤をさらに含み得る。

【０４０５】

キットは、任意選択的に、バッファー又は解釈的情報などのさらなる成分を提供し得る。通常、キットは、容器及び表示又は添付文書（複数可）を容器上に又は容器と関連して含む。

【０４０６】

診断的使用

本開示の単離された抗体はまた、診断的有用性を有する。したがって、本開示は、個体における又は個体に由来する組織サンプルにおけるＴＲＥＭ１の検出などの診断目的で、本開示の抗ＴＲＥＭ１抗体又はその機能的断片を使用する方法を提供する。

【０４０７】

いくつかの実施態様では、個体は、ヒトである。いくつかの実施態様では、個体は、癌を患っている、又は癌を発生するリスクにあるヒト患者である。いくつかの実施態様では、診断的方法は、生検検体、組織又は細胞などの生物学的サンプルにおいてＴＲＥＭ１を検出することを含む。本開示の単離されたＴＲＥＭ１抗体を生物学的サンプルと接触させ、抗原が結合している抗体を検出する。例えば、腫瘍サンプル（例えば、生検検体）は、腫瘍関連マクロファージ（例えば、Ｍ２型マクロファージ）を検出し、及び／又は定量化するために、本明細書において記載された抗ＴＲＥＭ１抗体を用いて染色され得る。検出法は、抗原が結合している抗体の定量化を含み得る。生物学的サンプルにおける抗体検出は、免疫蛍光顕微鏡、免疫細胞化学、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ、ＦＡＣＳ分析、免疫沈降又はマイクロ－陽電子放射型断層撮影を含む当技術分野で公知の任意の方法を用いて起こり得る。特定の実施態様では、抗体は、例えば、１８Ｆを用いて放射標識され、その後に、マイクロ－陽電子放射型断層撮影分析を利用して検出される。抗体－結合はまた、陽電子放射型断層撮影（ＰＥＴ）、Ｘ線コンピューター断層撮影、単一光子放出コンピューター断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、コンピューター断層撮影（ＣＴ）及びコンピューター体軸断層撮影（ＣＡＴ）などの非浸潤技術によって患者において定量化され得る。

【０４０８】

その他の実施態様では、本開示の単離された抗ＴＲＥＭ１抗体は、例えば、前臨床疾患モデル（例えば、非ヒト疾患モデル）から採取された脳検体中のミクログリアを検出及び／又は定量化するために使用され得る。したがって、本開示の単離された抗ＴＲＥＭ１抗体は、コントロールと比較して、神経系疾患又は認知症、前頭側頭型認知症、アルツハイマー病、那須・ハコラ病又は多発性硬化症などの傷害のモデルにおける治療後の治療応答の評価において有用であり得る。

【０４０９】

本開示は、以下の実施例を参照することによってより十分に理解される。しかし、それらは本開示の範囲を制限すると解釈されてはならない。開示を通じてすべての引用は、出典明示により本明細書によって明確に援用される。

【実施例】

【０４１０】

実施例１：　アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体の産生、同定、及び特徴付け

導入

ヒトＴＲＥＭ１前駆タンパク質のアミノ酸配列は、以下の配列番号１に記載される。ヒトＴＲＥＭ１は、配列番号１のアミノ残基１－２０に位置するシグナルペプチドを含有する。ヒトＴＲＥＭ１は、配列番号１のアミノ残基２６－１３４に位置する細胞外免疫グロブリン様可変型（ＩｇＶ）ドメイン；配列番号１のアミノ残基１３５－２０５に位置するさ

らなる細胞外配列；配列番号１のアミノ残基２０６－２２６に位置する膜貫通ドメイン；及び配列番号１のアミノ残基２２７－２３４に位置する細胞内ドメインを含有する。

【０４１１】

ＴＲＥＭ１アミノ酸配列（配列番号１）：

ＭＲＫＴＲＬＷＧＬＬ ＷＭＬＦＶＳＥＬＲＡ ＡＴＫＬＴＥＥＫＹＥ ＬＫＥＧＱＴＬＤ ＶＫ ＣＤＹＴＬＥＫＦＡＳ ＳＱＫＡＷＱＩＩＲＤ ＧＥＭＰＫＴＬＡＣＴ ＥＲＰＳＫ ＮＳＨＰＶ ＱＶＧＲＩＩＬＥＤＹ ＨＤＨＧＬＬＲＶＲＭ ＶＮＬＱＶＥＤＳＧＬ ＹＱ ＣＶＩＹＱＰＰＫ ＥＰＨＭＬＦＤＲＩＲ ＬＶＶＴＫＧＦＳＧＴ ＰＧＳＮＥＮＳＴＱＮ ＶＹＫＩＰＰＴＴＴＫ ＡＬＣＰＬＹＴＳＰＲ ＴＶＴＱＡＰＰＫＳＴ ＡＤＶＳＴＰＤＳ ＥＩ ＮＬＴＮＶＴＤＩＩＲ ＶＰＶＦＮＩＶＩＬＬ ＡＧＧＦＬＳＫＳＬＶ ＦＳＶＬＦ ＡＶＴＬＲ ＳＦＶＰ

【０４１２】

ヒトＴＲＥＭ１の公知の特徴は、膜貫通ドメインが、ＴＲＥＭ１、ＴＲＥＭ１、及び他の関連のＩｇＶファミリーメンバーからシグナル伝達を導入する主要なアダプタータンパク質であるＤＡＰ１２におけるアスパラギン酸と相互作用することができるリシン（ａａ１８６）を含有することである。

【０４１３】

ヒトＴＲＥＭ１のＢＬＡＳＴ分析により、１８種の関連する相同体が同定された。これらの相同体は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞受容体ＮＫ－ｐ４４（ＮＣＴＲ２）、多量体免疫グロブリン受容体（ｐＩｇＲ）、ＣＤ３００Ｅ、ＣＤ３００Ａ、ＣＤ３００Ｃ、及びＴＲＥＭＬ１／ＴＬＴ１を含んでいた。最も近い相同体は、ＩｇＶドメイン内でＴＲＥＭ１との類似性を有するＮＣＴＲ２と同定された（図１Ａ）。またＢＬＡＳＴ分析により、ＴＲＥＭタンパク質と他のＩｇＶファミリータンパク質との比較も行った（図１Ｂ）。

【０４１４】

ＴＲＥＭ１はまた、ＴＲＥＭ２にも関する。ＴＲＥＭ１及びＴＲＥＭ２のアミノ酸配列のアラインメントを２方向ｂｌａｓｔによって作成した（図２Ａ）。これは同様に、ＩｇＶドメインに限定される。

【０４１５】

マウスハイブリドーマ技術、ファージディスプレイ技術、及びイーストディスプレイ技術を使用して、ＴＲＥＭ１の細胞外ドメイン、特に余分な細胞ドメイン（配列番号１のアミノ酸残基２１－２０５）と結合する抗体を生成する。次いで抗体を、以下の実施例２－４８に記載されるように、ＴＲＥＭ１を発現する細胞と結合するそれらの能力について、さらに細胞中及びｉｎ ｖｉｖｏにおける動物全体中でのＴＲＥＭ１のシグナル伝達及び機能を活性化するそれらの能力についてスクリーニングする。例えば、ＩｇＶドメイン（アミノ酸残基２６－１３４）を標的とするアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体を産生することができる。ＩｇＶドメインは、標的と結合し、受容体の多量体化を介して活性化を引き起こす。したがってこれらのドメインは、アゴニスト抗体にとって合理的な標的である。これらはまた、高度な多様性も有する。

【０４１６】

結果

抗ＴＲＥＭ１抗体産生

免疫化手順

ラピッドプライム方法：４匹の５０日齢雌ＢＡＬＢ／ｃマウスを以下の手順を使用して免疫化した。ヒトＴＲＥＭ１抗原を含有するがアジュバントを含有しない一連の皮下の水性注射液を１９日間にわたり与えた。マウスをＬａｂ Ｐｒｏｄｕｃｔｓの換気ラックシステム中に収容した。全ての４匹のマウスを１９日目に安楽死させ、リンパ球をハイブリドーマ細胞株生成のために回収した。

【０４１７】

標準的な方法：４匹の５０日齢雌ＢＡＬＢ／ｃ又はＮＺＢ／Ｗマウスを、以下の手順を使用して免疫化した。マウスをＬａｂ Ｐｒｏｄｕｃｔｓの換気ラックシステム中に収容し

た。マウスに、マウス１匹当たり２５μｇのタンパク質抗原でＣｐＧ－ＯＤＮアジュバント中に混合したヒトＴＲＥＭ１抗原（マウス１匹当たり総体積１２５μＬ）を３週間毎に腹腔内注射した。２回目のブーストから７日後に伏在静脈をランセットで切開することによって試験採血を行った。間接ＥＬＩＳＡアッセイによって試験採血（免疫血清）を試験して、融合のための最良の２つの応答マウスを決定した。マウスは、融合前にタイターを評価するために、３回目及び４回目のブースト、並びにブーストの７日後に別の試験採血を必要とする場合がある。抗体のタイターが十分高い場合、最良の２つの応答マウスに、外側尾静脈を介した最終的な静脈内ブーストを与える。ＩＶブーストの４日後、マウスを融合のために安楽死させた。脾臓を回収し、脾臓から単離したリンパ球を融合プロセスに使用して、ハイブリドーマを産生した。

【０４１８】

ハイブリドーマの開発

リンパ球を単離し、標準的なＲｏｃｈｅのプロトコールによりポリエチレングリコール（ＰＥＧ１５００）の存在下でマウスのＳＰ２／０骨髄腫細胞と融合した。１ステップのクローニング方法（ＨＡＴ選択）を使用して融合した細胞を培養した。この方法は、ハイブリドーマ選択及びクローニングを１つのステップに合わせるために、半固体のメチルセルロースベースのＨＡＴ選択的培地を使用する。半固体培地上で、単一細胞由来のハイブリドーマが増殖してモノクローナルコロニーを形成する。融合事象の１０日後、得られたハイブリドーマクローンのうち９４８個を９６ウェルの組織培養プレートに移し、対数中期の増殖が達成されるまで（５日）、ＨＴ含有培地中で増殖させた。

【０４１９】

ハイブリドーマのスクリーニング

９４８個のハイブリドーマからの組織培養上清を、スクリーニング抗原上での間接ＥＬＩＳＡ（一次スクリーニング）によって試験し、ヤギ抗ＩｇＧ／ＩｇＭ（Ｈ＆Ｌ）－ＨＲＰ二次を使用してＩｇＧ及びＩｇＭ抗体の両方に対してプローブ付けを行い、ＴＭＢ基質で展開した。このアッセイにおいてＯＤが０．２を超えるクローンを次回の試験に進めた。陽性の培養物をスクリーニング抗原で再試験して分泌を確認し、さらに、無関係の抗原（ヒトトランスフェリン）で再試験して、非特異的な又は「粘着性の」ｍＡｂを消去し、偽陽性を除外した。全ての目的のクローンを抗体捕捉ＥＬＩＳＡによってアイソタイプ分類し、それらがＩｇＧ又はＩｇＭアイソタイプであるかどうかを決定した。

【０４２０】

ハイブリドーマ細胞培養

目的のハイブリドーマ細胞株を、９６ウェルのプレートに移した後、２４ウェルの培養プレート中での培養で３２日間維持した。これは安定期間と称され、クローンが安定であり分泌を続けているかどうかを試験する。この安定期間の間、－８０℃で貯蔵するための（生存可能な６ヶ月間）全ての目的のクローンの一時的に凍結した細胞株のバックアップを作製する。この期間中に、分泌及び特異性についてハイブリドーマを定期的に試験した。

【０４２１】

サブクローニング

上位のハイブリドーマ細胞株（クローン）をサブクローニングして、単クローン性を確認した。サブクローニングは、１ステップのクローニングシステムを使用して親クローンを再度プレーティングすることによって実行された。２４個から９０個の間のサブクローンを９６ウェルの培養プレートに移した。サブクローンを間接ＥＬＩＳＡ及び抗体捕捉ＥＬＩＳＡによってスクリーニングした。各親につき上位のサブクローンを培養での拡張に進めた。クローン性が５０％未満の全ての親クローンに２回目のサブクローニングを実行した。

【０４２２】

次いで抗体を、ＴＲＥＭ１結合についてスクリーニングした。ヒトＴＲＥＭ１との結合について陽性であった抗体を、リガンド結合を遮断する能力、及び複数の細胞型でリガンドにより誘導されたＴＲＥＭ１活性を誘導する、増強する、又はそれ以外の方法で増加させ

る能力について試験した。表１Ａ及び１Ｂに、抗体のそれぞれのアイソタイプのｂｉｎカテゴリー、Ｋｄ及び生物活性を列挙する。表１Ａにおいて、「ＮＤ」は、Ｂｉｎカテゴリーがまだ決定されていない抗体を指す。「ＮＢ」は、抗原に対して結合活性がない抗体を指す。「ＰＦ」は、結合曲線の適合が不良なため速度定数が計算できない抗体を指す。表１Ｂにおいて、「ＮＡ」は、活性がない抗体を指す。

表 1:抗 TREM1 抗体

表 1A 生化学的な特徴付け

Ab 番号	Bin	Ab アイソタイプ	Fab KD ヒト TREM1-Fc (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)	IgG K_D (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)
T1-1	2	huIgG1	3.85E-08	1.72E+05	6.64E-03	1.79E-07	9.36E+04	1.68E-02
T1-2	1	huIgG1	4.07E-08	9.54E+04	3.88E-03	P.F.		
T1-3	2	huIgG1	6.31E-08	7.48E+04	4.72E-03	7.89E-08	4.70E+04	3.71E-03
T1-4	1	huIgG1	4.70E-08	1.81E+05	8.51E-03	1.11E-07	2.39E+05	2.64E-02
T1-5	2	huIgG1	1.48E-07	5.43E+04	8.02E-03	7.26E-08	1.58E+05	1.15E-02
T1-6	2	huIgG1	1.23E-07	1.06E+05	1.30E-02	2.03E-07	8.28E+04	1.68E-02
T1-7	2	huIgG1	3.19E-08	1.99E+05	6.36E-03	1.67E-07	1.24E+05	2.06E-02
T1-8	2	huIgG1	6.55E-08	1.18E+05	7.75E-03	1.77E-07	8.04E+04	1.42E-02
T1-9	2	huIgG1	5.96E-08	1.45E+05	8.61E-03	1.10E-07	7.81E+04	8.56E-03
T1-10	2	huIgG1	6.07E-09	1.04E+05	6.34E-04	8.45E-09	7.85E+04	6.63E-04
T1-11	2	huIgG1	7.04E-08	8.04E+04	5.66E-03	P.F.		
T1-12	1	huIgG1	2.58E-08	1.24E+05	3.21E-03	P.F.		
T1-13	1	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-14	2	huIgG1	2.13E-07	4.06E+04	8.62E-03	N.B.		
T1-15	1	huIgG1	P.F.			7.47E-08	2.44E+05	1.82E-02
T1-16	1	huIgG1	P.F.			N.B.		
T1-17	1	huIgG1	9.14E-08	8.19E+04	7.48E-03	N.B.		
T1-18	1	huIgG1	1.86E-07	7.88E+04	1.46E-02	N.B.		

Ab 番号	Bin	Ab アイソタイプ	Fab KD ヒト TREM1-Fc (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)	IgG K_D (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)
T1-19	1	huIgG1	P.F.			N.B.		
T1-20	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-21	2	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-22	1	huIgG1	3.14E-08	8.98E+04	2.82E-03	3.46E-08	9.75E+04	3.38E-03
T1-23	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-24	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-25	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-26	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-27	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-28	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-29	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-30	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-31	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-32	N.D	huIgG1	N.B.			N.B.		
T1-33	1	huIgG1	P.F.			3.73E-08	5.46E+05	2.04E-02
T1-34	1	huIgG1	4.26E-09	1.08E+05	4.58E-04	8.29E-09	7.75E+04	6.42E-04
T1-35	2	huIgG1	P.F.			1.56E-08	1.21E+05	1.88E-03
T1-36	2	huIgG1	7.37E-09	3.96E+05	2.92E-03	2.20E-08	1.06E+05	2.33E-03
T1-37	1	huIgG1	P.F.			5.73E-08	2.85E+05	1.64E-02
T1-38	2	huIgG1	1.49E-08	4.47E+05	6.67E-03	5.71E-08	9.73E+04	5.56E-03
T1-39	1	huIgG1	P.F.			4.97E-08	2.24E+05	1.11E-02

Ab 番号	Bin	Ab アイソタイプ	Fab KD ヒト TREM1-Fc (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)	IgG K_D (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)
T1-40	2	huIgG1	P.F.			2.19E-08	8.37E+04	1.83E-03
T1-41	1	huIgG1	8.76E-09	5.97E+05	5.23E-03	1.63E-08	3.43E+05	5.58E-03
T1-42	1	huIgG1	1.68E-08	6.44E+05	1.08E-02	4.63E-08	3.14E+05	1.46E-02
T1-43	2	huIgG1	1.07E-08	1.29E+05	1.38E-03	1.22E-08	8.25E+04	1.00E-03
T1-44	2	huIgG1	2.96E-08	2.14E+05	6.33E-03	2.80E-08	1.37E+05	3.84E-03
T1-45	2	huIgG1	9.06E-09	1.61E+05	1.46E-03	1.07E-08	9.21E+04	9.81E-04
T1-46	2	huIgG1	1.08E-08	1.33E+05	1.43E-03	1.37E-08	8.23E+04	1.13E-03
T1-47	2	huIgG1	P.F.			3.81E-08	7.12E+04	2.71E-03
T1-48	2	huIgG1	3.41E-08	1.31E+05	4.46E-03	6.00E-08	8.82E+04	5.29E-03
T1-49	2	huIgG1	5.39E-09	1.54E+05	8.28E-04	9.46E-09	8.96E+04	8.48E-04
T1-50	2	huIgG1	2.80E-08	1.40E+05	3.91E-03	3.28E-08	1.53E+05	5.02E-03
T1-51	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-52	1	huIgG1	P.F.			5.66E-08	4.23E+05	2.40E-02
T1-53	2	huIgG1	1.41E-08	1.24E+05	1.75E-03	1.91E-08	8.16E+04	1.56E-03
T1-54	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-55	2	huIgG1	3.10E-08	1.05E+05	3.26E-03	8.86E-08	6.44E+04	5.71E-03
T1-56	1	huIgG1	P.F.			1.40E-08	9.98E+05	1.40E-02
T1-57	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-58	2	huIgG1	2.26E-08	2.27E+05	5.14E-03	2.51E-08	1.49E+05	3.74E-03
T1-59	2	huIgG1	2.07E-08	2.25E+05	4.66E-03	2.32E-08	1.30E+05	3.01E-03
T1-60	2	huIgG1	2.35E-08	2.51E+05	5.88E-03	2.77E-08	1.21E+05	3.35E-03

Ab 番号	Bin	Ab アイソタイプ	Fab KD ヒト TREM1-Fc (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)	IgG K_D (M)一価	kon (1/Ms)	koff (1/s)
T1-61	2	huIgG1	1.11E-07	6.77E+04	7.51E-03	3.68E-08	1.96E+05	7.23E-03
T1-62	2	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-63	2	huIgG1	P.F.			2.99E-08	2.21E+05	6.61E-03
T1-64	2	huIgG1	P.F.			2.16E-07	6.31E+04	1.36E-02
T1-65	2	huIgG1	P.F.			2.71E-07	1.05E+05	2.85E-02
T1-66	2	huIgG1	1.18E-08	3.43E+05	4.05E-03	3.70E-08	9.74E+04	3.60E-03
T1-67	1	huIgG1	8.11E-08	3.30E+05	2.67E-02	P.F.		
T1-68	1	huIgG1	P.F.			3.82E-08	5.08E+05	1.94E-02
T1-69	1	huIgG1	2.61E-08	3.35E+05	8.75E-03	3.47E-08	2.82E+05	9.77E-03
T1-70	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-71	3	huIgG1	2.23E-08	1.23E+06	2.74E-02	2.18E-08	8.54E+05	1.86E-02
T1-72	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-73	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-74	1	huIgG1	P.F.			1.35E-08	1.01E+06	1.36E-02
T1-75	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-76	1	huIgG1	2.93E-08	7.42E+05	2.17E-02	3.94E-08	5.83E+05	2.30E-02
T1-77	1	huIgG1	P.F.			P.F.		
T1-78	2	huIgG1	3.61E-08	2.77E+05	1.00E-02	4.64E-08	1.60E+05	7.40E-03
T1-79	2	huIgG1	P.F.			4.00E-08	1.19E+05	4.78E-03
T1-80	1	huIgG1	P.F.			N.B.		

表 1B 生物学的機能

Ab 番号	結合した TREM1 依存性遺伝子発現プレートの活性化	TREM1 依存性遺伝子発現溶液の活性化	受容体の下方制御−単球	リガンド結合の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の増強	呼吸バーストの誘導(活性酸素種	余分な細胞環境への DNA の放出	PGN−BS の存在下での好中球生存の促進
T1−1	+++	+/−	+	++	−	−			
T1−2	+++	+	++	+++	−	−			
T1−3	+++	−	+	++	++	−			
T1−4	+++	−	++	+++	+	−			
T1−5	+++	+/−	+	++	−	−			
T1−6	+++	+/−	+	++	−	−			
T1−7	+++	+/−	+	++	+	−			
T1−8	+++	+/−	+	+	−	−	+++		
T1−9	+++	+/−	+	+	−	−			
T1−10	+++	−	+	+	−	+	+++		
T1−11	+++	+/−	+	++	−	−			
T1−12	+	+	++	+++	+	−	++		
T1−13	+	−	+	+	−	−			
T1−14	+++	++	+	++	−	−			
T1−15	+++	++	++	+++	−	−			
T1−16	+	++	+	+	−	+			
T1−17	+	−	+	+	−	−			

Ab 番号	結合したTREM1依存性遺伝子発現プレートの活性化	TREM1依存性遺伝子発現溶液の活性化	受容体の下方制御−単球	リガンド結合の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の増強	呼吸バーストの誘導(活性酸素種	余分な細胞環境へのDNAの放出	PGN−BSの存在下での好中球生存の促進
T1−18	+	+	++	+++	−	−	++		
T1−19	+	++	+	++	−	−	++		
T1−20	++	++	++	+	−	−	+		
T1−21	+	−	+	+	−	−	++		
T1−22	+++	+/++	+++	+++	++/+++	−	++		
T1−23	++	+	++	+++	+	−			
T1−24	+++	++	+++	+++	+	−			
T1−25	++	+++	++	+++	−	−			
T1−26	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−27	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−28	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−29	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−30	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−31	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−32	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			
T1−33	+++	+	+++	+++	++	−	+++		
T1−34	+++	+/−	++	+++	+++	−	++	+++	+++
T1−35	+++	+	+	+	+	−			
T1−36	+++	+/−	+	+	+	−			

Ab 番号	結合したTREM1依存性遺伝子発現プレートの活性化	TREM1依存性遺伝子発現溶液の活性化	受容体の下方制御−単球	リガンド結合の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の増強	呼吸バーストの誘導(活性酸素種	余分な細胞環境へのDNAの放出	PGN−BSの存在下での好中球生存の促進
T1−37	+++	+		+	+	−			
T1−38	+++	−	+	+	+	−			
T1−39	+++	+/−	++	+++	+++	−	+++	+++	
T1−40	+++	+/−	+	+++	++/+++	−	++	+++	
T1−41	+++	+/−	+++	+++	++	−	++		
T1−42	+++	+/−	+++	+++	++	−			
T1−43	+++	+/−	+	+	−	−	++		
T1−44	++	+/−	+	+	−	−			
T1−45	+++	+/−	++	+	−	−			
T1−46	+++	−	++	+	−	−			
T1−47	+++	−	+	++	++	−			
T1−48	+++	+/−	++	+	−	−			
T1−49	+++	−	+	+	+	−			
T1−50	+++	−	+	+	−	−			
T1−51	+++	+	+++	+++	++/+++	−	+++	+++	
T1−52	+++	++	+++	+++	++	−	++	+++	
T1−53	+++	−	+	+	−	++	++		
T1−54	+++	+++	+++	+++	−	−			
T1−55	+++	−	+	+	+	−	++		

Ab 番号	結合したTREM1依存性遺伝子発現プレートの活性化	TREM1依存性遺伝子発現溶液の活性化	受容体の下方制御−単球	リガンド結合の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の増強	呼吸バーストの誘導(活性酸素種	余分な細胞環境へのDNAの放出	PGN−BSの存在下での好中球生存の促進
T1−56	+++	+++	+++	+++	−	−	++	+	
T1−57	+++	++	+++	+++	+	−	+++	+++	
T1−58	+++	−	+	++	++	−			
T1−59	+++	−	++	++	++	−			
T1−60	+++	−	+	++	++	−			
T1−61	+++	−	+	+++	+++	−			
T1−62	+++	++	+	++	−	+++	++	++	−
T1−63	++	−	+++	++	−	+++	+++		+
T1−64	+++	+	+	+++	+	−			
T1−65	++	−	+	+	−	−			
T1−66	+++	−	+	++	++	−			
T1−67	+++	+++	+++	+++	+	−			
T1−68	+++	++	+++	+++	++	−			
T1−69	+++	+	+++	+++	++	−	++	+	
T1−70	+++	++	+++	+++	++	−			
T1−71	+++	++	+++	+++	+	−	+++	+++	+++
T1−72	++	+++	+++	+++	−	−	++		
T1−73	+++	+++	+++	+++	−	−			
T1−74	+++	++	+	+++	++	−			

Ab 番号	結合したTREM1依存性遺伝子発現プレートの活性化	TREM1依存性遺伝子発現溶液の活性化	受容体の下方制御−単球	リガンド結合の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の遮断	リガンドにより誘導された遺伝子発現の増強	呼吸バーストの誘導(活性酸素種	余分な細胞環境へのDNAの放出	PGN−BSの存在下での好中球生存の促進
T1−75	+++	++	+++	+++	+	−	+++		
T1−76	+++	+++	+++	+++	−	−	+++	+++	+++
T1−77	+	+	+++	+++	++	−	++	+++	
T1−78	+++	++	++	++	+	−	++		
T1−79	+++	+/−	+	++	++	−	++		
T1−80	+	−	+	++	+	−	++		

【０４２３】

抗体重鎖及び軽鎖可変ドメインの配列

標準的な技術を使用して、生成した抗体の軽鎖可変及び重鎖可変ドメインをコードするアミノ酸配列を決定した。抗体のＥＵ又はＫａｂａｔの軽鎖ＨＶＲ配列は、表２－５に記載される。抗体のＥＵ又はＫａｂａｔの軽鎖ＨＶＲ配列は、表２に記載される。抗体のＥＵ又はＫａｂａｔの重鎖ＨＶＲ配列は、表３に記載される。抗体のＥＵ又はＫａｂａｔの軽鎖フレームワーク（ＦＲ）配列は、表４に記載される。抗体のＥＵ又はＫａｂａｔの重鎖フレームワーク（ＦＲ）配列は、表５に記載される。

表 2:抗 TREM1 抗体の EU 又は Kabat 軽鎖 HVR 配列

Ab 番号	HVR L1	HVR L2	HVR L3
TI-1	QASQDISNYLN (配列番号 9)	DASNLET (配列番号 28)	QQVYVLPFT (配列番号 41)
TI-2	RASQSVSSSYLA (配列番号 10)	GASSRAT (配列番号 29)	QQYLGFPPT (配列番号 42)
TI-3	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQSFLTPWT (配列番号 43)
TI-4	RASQSVSSNLA (配列番号 12)	GASTRAT (配列番号 31)	QQFNNHPIT (配列番号 44)
TI-5	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	VQARQTPLT (配列番号 45)
TI-6	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARDAPWT (配列番号 46)
TI-7	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQLASYPYT (配列番号 47)
TI-8	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARQTPFT (配列番号 48)
TI-9	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARQAPWT (配列番号 49)
TI-10	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARQVPPWT (配列番号 50)
TI-11	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARQAFT (配列番号 51)
TI-12	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DASNRAT (配列番号 33)	QQYTSWPLT (配列番号 52)
TI-13	RASQSVSSSFLA (配列番号 16)	GASSRAT (配列番号 29)	QQLDSHPPT (配列番号 53)
TI-14	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQYDVDPLT (配列番号 54)
TI-15	RASQSVSSSYLA (配列番号 10)	GASSRAT (配列番号 29)	QQAFISPPT (配列番号 55)
TI-16	RASQGISSWLA (配列番号 17)	AASSLQS (配列番号 34)	QQADTLPIT (配列番号 56)

Ab 番号	HVR L1	HVR L2	HVR L3
TI-17	QASQDISNYLN (配列番号 9)	DASNLAT (配列番号 35)	QQSDIHPRT (配列番号 57)
TI-18	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQDSIYPIT (配列番号 58)
TI-19	RASQGISSWLA (配列番号 17)	AASNLQS (配列番号 37)	QQANSFPLT (配列番号 59)
TI-20	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQYKSFSPFT (配列番号 60)
TI-21	RASQSISSFLN (配列番号 19)	AASSLQS (配列番号 34)	QQSYSDLT (配列番号 61)
TI-22	RASQSVSSSYLA (配列番号 10)	GASSRAT (配列番号 29)	QQYLIPPIT (配列番号 62)
TI-23	RASQSIGSWLA (配列番号 20)	KASSLES (配列番号 36)	QQHQSFSPT (配列番号 63)
TI-24	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQDSIYPIT (配列番号 58)
TI-25	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DASNRAT (配列番号 33)	QQRSVLPLT (配列番号 64)
TI-26	RASQSISSYLN (配列番号 21)	AASSLQS (配列番号 34)	QQIFSTPLT (配列番号 65)
TI-27	RASQSISSYLN (配列番号 21)	AASSLQS (配列番号 34)	QQSFYDPIT (配列番号 66)
TI-28	RASQSVGSNLA (配列番号 22)	GASTRAT (配列番号 31)	QQYLYFPLT (配列番号 67)
TI-29	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DASNRAT (配列番号 33)	QQGVNYPFT (配列番号 68)
TI-30	RASQGISSWLA (配列番号 17)	AASSLQS (配列番号 34)	QQVISFPT (配列番号 69)
TI-31	QASQDISNYLN (配列番号 9)	DASNLET (配列番号 28)	QQYDDFPPIT (配列番号 70)
TI-32	RASQSISRYLN (配列番号 23)	AASSLQS (配列番号 34)	QQSLDLPFT (配列番号 71)
TI-33	RASQGISSWLA (配列番号 17)	AASSLQS (配列番号 34)	QQINDHPFT (配列番号 72)

Ab 番号	HVR L1	HVR L2	HVR L3
TI-34	RASQSINSWLA (配列番号 24)	DASSLES (配列番号 38)	QQYGPYPYT (配列番号 73)
TI-35	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQSHSTPLT (配列番号 74)
TI-36	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQLASQPPT (配列番号 75)
TI-37	RASQSVSSNLA (配列番号 12)	GASTRAT (配列番号 31)	QQYAYWPLT (配列番号 76)
TI-38	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号:30)	QQDFSLPYT (配列番号 77)
TI-39	RASQDISSWLA (配列番号 25)	AASSLQS (配列番号 34)	QQSLTHPT (配列番号 78)
TI-40	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQYDLLPYT (配列番号 79)
TI-41	RASQDISSWLA (配列番号 25)	AASSLQS (配列番号 34)	QQAVIHPPYT (配列番号 80)
TI-42	RASQSVSSNLA (配列番号 12)	GASTRAT (配列番号 31)	QQYNVHPPRT (配列番号 81)
TI-43	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQSRNAPWT (配列番号 82)
TI-44	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARHGFT (配列番号 83)
TI-45	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQAREVPFT (配列番号 84)
TI-46	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARHVPPLT (配列番号 85)
TI-47	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQHDSAPYT (配列番号 86)
TI-48	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSHRAS (配列番号 39)	MQGRQVPFT (配列番号 87)
TI-49	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARGTPWT (配列番号 88)
TI-50	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQSRRAPPWT (配列番号 89)

Ab 番号	HVR L1	HVR L2	HVR L3
TI-51	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQFQSYPFT (配列番号 90)
TI-52	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQSSADSPFT (配列番号 91)
TI-53	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQARQLPWT (配列番号 92)
TI-54	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DSSNRAT (配列番号 40)	QQHDVWPIT (配列番号 93)
TI-55	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQTRHTPT (配列番号 94)
TI-56	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 13)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQDFARPPT (配列番号 95)
TI-57	RASQGIDSWLA (配列番号 26)	AASSLQS (配列番号 34)	QQRAVFPPT (配列番号 96)
TI-58	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQDATGIT (配列番号 97)
TI-59	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQLASFPWT (配列番号 98)
TI-60	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQLAFTPWT (配列番号 99)
TI-61	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQDHSFIT (配列番号 100)
TI-62	RASQSVSSSYLA (配列番号 10)	GASSRAT (配列番号 29)	QQDVSDFT (配列番号 101)
TI-63	RASQSISRYLN (配列番号 23)	AASSLQS (配列番号 34)	QQLYHAPPIT (配列番号 102)
TI-64	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQYDSLPFT (配列番号 103)
TI-65	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQVYLFPWT (配列番号 104)
TI-66	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQFFLAPPT (配列番号 105)
TI-67	RASQSVSSSFLA (配列番号 16)	GASSRAT (配列番号 29)	QQAVSLPWT (配列番号 106)

Ab 番号	HVR L1	HVR L2	HVR L3
TI-68	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DASNRAT (配列番号 33)	QQFDNLPYT (配列番号 107)
TI-69	RASQGISSWLA (配列番号 17)	AASNLQS (配列番号 37)	QQATAHPPT (配列番号 108)
TI-70	RASQDISSWLA (配列番号 25)	AASSLQS (配列番号 34)	QQAVSHPLT (配列番号 109)
TI-71	RASQGIDSWLA (配列番号 26)	AASSLQS (配列番号 34)	QQATSLPLT (配列番号 110)
TI-72	RSSQSLLHRNGYNYLD (配列番号 27)	LGSNRAS (配列番号 32)	MQRLQAWT (配列番号 111)
TI-73	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQYRTYPT (配列番号 112)
TI-74	RASQSISSWLA (配列番号 18)	KASSLES (配列番号 36)	QQHSLLSIT (配列番号 113)
TI-75	RASQSVSSYLA (配列番号 15)	DASNRAT (配列番号 33)	QHYNLWRT (配列番号 114)
TI-76	RASQSISSWLA (配列番号 18)	DASSLES (配列番号 38)	QQHSTYSWT (配列番号 115)
TI-77	RASQSVGSNLA (配列番号 22)	GASTRAT (配列番号 31)	QQHDVWPYT (配列番号 116)
TI-78	KSSQSVLFSSNNKNYLA (配列番号 14)	WASTRES (配列番号 30)	QQYFSTPPT (配列番号 117)
TI-79	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 11)	WASTRES (配列番号 30)	QQYALTPYT (配列番号 118)
TI-80	RASQSVGSNLA (配列番号 22)	GASTRAT (配列番号 31)	QQDHDRPLT (配列番号 119)

表 3:抗 TREM1 抗体の EU 又は Kabat 重鎖 HVR 配列

Ab 番号	HVR H1	HVR H2	HVR H3
TI-1	GTFSSYAIS (配列番号 120)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	ARGQGSDHYYYGMDV (配列番号 173)
TI-2	GTFSSYAIS (配列番号 120)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	AREGGPRGASFNWFDP (配列番号 174)
TI-3	GTFSSYAIS (配列番号 120)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	ARDVGSMYFDI (配列番号 175)
TI-4	GTFSSYAIS (配列番号 120)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	ARHYYYGYAYFDL (配列番号 176)
TI-5	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	ARESDGIDSYFDY (配列番号 177)
TI-6	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	ARESGHSYVSSFDP (配列番号 178)
TI-7	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	ARGLIYGDAFDY (配列番号 179)
TI-8	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	AREVSMTAASLDV (配列番号 180)
TI-9	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	AREAGYDISSAFDI (配列番号 181)
TI-10	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	AREGSGSWETLDV (配列番号 182)
TI-11	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARSGEYGFDL (配列番号 183)
TI-12	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARGGGYPWEAFDY (配列番号 184)
TI-13	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSNYIYYADSVKG (配列番号 148)	ARGRYRRTGSLDV (配列番号 185)
TI-14	FTFSSYGMH (配列番号 124)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 149)	ARRSSGDYLDV (配列番号 186)
TI-15	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号 150)	ARRGGSYDAFQH (配列番号 187)
TI-16	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKGPRMSGWWAD (配列番号 188)

Ab 番号	HVR H1	HVR H2	HVR H3
TI-17	GSISSYYWS (配列番号 126)	SIYYSGSTNYNPSLKS (配列番号 152)	ARGAPGGRHNWFDP (配列番号 189)
TI-18	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGDIGYADSVKG (配列番号 153)	AKGPRMVTHLDV (配列番号 190)
TI-19	FTFSDHHMD (配列番号 127)	RTRNKANSYTTEYAASVKG (配列番号 154)	ARGPLGYKL (配列番号 191)
TI-20	FTFSSYWMS (配列番号 128)	NIKQDGSEKYYVDSVKG (配列番号 155)	ARDAPQLGLDV (配列番号 192)
TI-21	FTFSSYSMN (配列番号 123)	YISSSSSTIYYADSVKG (配列番号 156)	ARGGPLGYGDYKGMDV (配列番号 193)
TI-22	GSISSYYWS (配列番号 126)	HIYYSGSTNYNPSLKS (配列番号 157)	ARDAGRYYGSSSSWYFDL (配列番号 194)
TI-23	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GITWNSGSIGYADSVKG (配列番号 158)	AKGPRLLSALDV (配列番号 195)
TI-24	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GITWNSGSIGYADSVKG (配列番号 158)	AKGPRLLSALDV (配列番号 195)
TI-25	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKGGSRYSHFDY (配列番号 196)
TI-26	YTFTSYYIH (配列番号 129)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	ARDSAQETYYYGMDV (配列番号 197)
TI-27	GSISSGGYYWS (配列番号 130)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 159)	ARDSSIAGRATLSFDY (配列番号 198)
TI-28	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSNYIYYADSVKG (配列番号 148)	ARGPSQYYYDSSAIEAFDI (配列番号 199)
TI-29	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARDGGGTAQADGAYYYGMDV (配列番号 200)
TI-30	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARGRKAAAGIDEAEYFQH (配列番号 201)
TI-31	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARDRRMWDPYGMDV (配列番号 202)
TI-32	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARDAPAVVGESPAFDI (配列番号 203)
TI-33	FTFSNYGMH (配列番号 131)	VIWYDGSNKYYADSVKG (配列番号 160)	AKGSTHRGSAYGMDV (配列番号 204)

Ab 番号	HVR H1	HVR H2	HVR H3
TI-34	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSNYIYYADSVKG (配列番号 148)	ARRPDDRRGLFQH (配列番号 205)
TI-35	FTFSSYGMH (配列番号 124)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 149)	ARPDYYSSRGVFDI (配列番号 206)
TI-36	FTFSSYGMH (配列番号 124)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 149)	ARPDYYSSRGVFDI (配列番号 206)
TI-37	FTFSSYGMH (配列番号 124)	LIWYDGSNKYYADSVKG (配列番号 161)	AKGDYLDPLFDY (配列番号 207)
TI-38	LTFSSYGMH (配列番号 132)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 149)	ARERGTYYYASGWAN (配列番号 208)
TI-39	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSNYIYYADSVKG (配列番号 148)	ARRGGSSSTGLLY (配列番号 209)
TI-40	FTFSSYSMN (配列番号 123)	SISSSSSYIYYADSVKG (配列番号 150)	ARTRIDDSFDI (配列番号 210)
TI-41	FTFSTYAMS (配列番号 133)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 162)	AKSKHSTTSLDV (配列番号 211)
TI-42	FTFSSYGMH (配列番号 124)	VIWYDGSNKGYADSVKG (配列番号 163)	ARELMVTSGGWLYGMDV (配列番号 212)
TI-43	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	AREAGNYYDIESAFDI (配列番号 213)
TI-44	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	AREGSGYDESMDV (配列番号 214)
TI-45	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	AREGSGYDESMDV (配列番号 214)
TI-46	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	AREGSGYDESMDV (配列番号 214)
TI-47	GTFSNYAIS (配列番号 134)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	ARGRGIAFDI (配列番号 215)
TI-48	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPGGGSTSYAQKFQG (配列番号 164)	AREAGQTSSALDV (配列番号 216)
TI-49	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	AREAGSWLISTAFDI (配列番号 217)
TI-50	YTFTSYYMH (配列番号 121)	IINPGGGSTSYAQKFQG (配列番号 165)	AREAGTMSSAFDI (配列番号 218)

Ab 番号	HVR H1	HVR H2	HVR H3
TI-51	GTFSSYAIS (配列番号 120)	SIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 166)	ARSGGYSSSWYGTGYDY (配列番号 219)
TI-52	GTFSSYAIS (配列番号 120)	SIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 166)	ARDRGQYSSSWYGRMDV (配列番号 220)
TI-53	YTFTSYYIH (配列番号 129)	IINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 146)	ARESGYHVSTAFDI (配列番号 221)
TI-54	GTFSSYAIS (配列番号 120)	GIIPIFGTANYAQKFQG (配列番号 144)	ARHWYALGSFDI (配列番号 222)
TI-55	YTFTSYYMH (配列番号 121)	VINPSGGSTSYAQKFQG (配列番号 145)	ARGADYYAGFDY (配列番号 223)
TI-56	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKGPRLLGYFDL (配列番号 224)
TI-57	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GITWNSGSIGYADSVKG (配列番号 158)	AKGPRYSKPYFDY (配列番号 225)
TI-58	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARQEYGDGYFDL (配列番号 226)
TI-59	YSISSGYYWA (配列番号 135)	SIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 167)	ARDLGGYEGAFDP (配列番号 227)
TI-60	YSISSGYYWA (配列番号 135)	SIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 167)	ARDLGGYEGAFDP (配列番号 227)
TI-61	YSISSGYYWG (配列番号 136)	SIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 167)	ARHDDYLSSFDP (配列番号 228)
TI-62	GSISSGGYYWS (配列番号 130)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 159)	ARGPSWIDV (配列番号 229)
TI-63	YSISSGYYWG (配列番号 136)	SIYHSGNTYYNPSLKS (配列番号 168)	ARELYAYSSPMFYGMDV (配列番号 230)
TI-64	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SISYSGSTYYNPSLKS (配列番号 169)	ARYYSPYGMDV (配列番号 231)
TI-65	GSISSSDYYWG (配列番号 137)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARDSGQYTGSLDV (配列番号 232)
TI-66	YTFTGYYMH (配列番号 138)	WINPNSGGTKYAQKFQG (配列番号 170)	ARERHSSLGYAY (配列番号 233)
TI-67	YTFTSYGIH (配列番号 139)	WISAYNGNTNYAQKLQG (配列番号 171)	ARGRPSSSWGNWFDP (配列番号 234)

Ab 番号	HVR H1	HVR H2	HVR H3
TI-68	YSFTTYWIG (配列番号 140)	IIYPGDSDTRYSPSFQG (配列番号 172)	ARGSPWDGRLFDI (配列番号 235)
TI-69	YTFTSYGIS (配列番号 141)	WISAYNGNTNYAQKLQG (配列番号 171)	ARGAGMYDGSPLGMDV (配列番号 236)
TI-70	YTFTSYGIH (配列番号 139)	WISAYNGNTNYAQKLQG (配列番号 171)	ARAGTIYGRLDL (配列番号 237)
TI-71	FTFGDYAMH (配列番号 142)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKGPRRTSHLDI (配列番号 238)
TI-72	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGDIGYADSVKG (配列番号 153)	AKGPRMTHSYFDL (配列番号 239)
TI-73	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKAPRMYGYFDL (配列番号 240)
TI-74	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGSIGYADSVKG (配列番号 151)	AKGPRTRGYFDL (配列番号 241)
TI-75	FTFDDYAMH (配列番号 125)	GISWNSGDIGYADSVKG (配列番号 153)	AKAPRTRWTYFDY (配列番号 242)
TI-76	FTFSSYAMS (配列番号 143)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 162)	ARARRGALAGMDV (配列番号 243)
TI-77	YSISSGYYWA (配列番号 135)	SIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 167)	ARGGPYPWSGWFDP (配列番号 244)
TI-78	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARDLGQYEGYFDL (配列番号 245)
TI-79	GSISSSSYYWG (配列番号 122)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 147)	ARLGDGYRIWADY (配列番号:246)
TI-80	FTFSSYGMH (配列番号 124)	LIWYDGSNKYYADSVKG (配列番号 161)	ARELIVGATGGLTYYYGMDV (配列番号 247)

表 4:抗 TREM1 抗体の EU 又は Kabat 軽鎖フレームワーク配列

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
TI-1	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLQPEDIATYYC (配列番号 267)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-2	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-3	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-4	EIVMTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 251)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-5	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-6	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-7	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-8	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-9	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-10	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-11	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC	WYLQKPGQSPQL LIF	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC	FGGGTKVEIK (配列番号:276)

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
	(配列番号 252)	(配列番号 264)	(配列番号 271)	
TI-12	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSC (配列番号 253)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-13	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号:276)
TI-14	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-15	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-16	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-17	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLQPEDIATYYC (配列番号 267)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-18	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-19	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-20	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号:260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-21	DIQLTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 256)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-22	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-23	DIQMTQSPSTLSASVG	WYQQKPGKAPKL	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI	FGGGTKVEIK

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
	DRVTITC (配列番号 255)	LIY (配列番号 260)	SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	(配列番号 276)
TI-24	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-25	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSC (配列番号 253)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-26	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-27	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-28	EIVLTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 257)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-29	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSC (配列番号 253)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-30	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-31	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTFTI SSLQPEDIATYYC (配列番号 267)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-32	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-33	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号:273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-34	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIS (配列番号 265)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
TI-35	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-36	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-37	EIVMTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 251)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-38	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-39	DIQLTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 258)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-40	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-41	DIQLTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 258)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-42	EIVMTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 251)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-43	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-44	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQV LIY (配列番号 266)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-45	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-46	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC	WYLQKPGQSPQL LIY	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC	FGGGTKVEIK (配列番号 276)

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
	(配列番号 252)	(配列番号 263)	(配列番号 271)	
TI-47	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-48	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-49	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-50	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-51	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-52	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-53	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-54	EIVMTQSPATLSLSPG ERATLSC (配列番号 259)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-55	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-56	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-57	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-58	DIVMTQSPDSLAVSLG	WYQQKPGQPPKL	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI	FGGGTKVEIK

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
	ERATINC (配列番号 250)	LIY (配列番号 262)	SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	(配列番号 276)
TI-59	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-60	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-61	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-62	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-63	DIQMTQSPSSLSASVG DRVTITC (配列番号 248)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-64	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDVAVYYC (配列番号 275)	FGGGTKVEIK (配列番号:276)
TI-65	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-66	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-67	EIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSC (配列番号 249)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC (配列番号 268)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-68	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSC (配列番号 253)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-69	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)

Ab 番号	VL FR1	VL FR2	VL F3	VL FR4
TI-70	DIQLTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 258)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-71	DIQMTQSPSSVSASVG DRVTITC (配列番号 254)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYC (配列番号 273)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-72	DIVMTQSPLSLPVTPG EPASISC (配列番号 252)	WYLQKPGQSPQL LIY (配列番号 263)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC (配列番号 271)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-73	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-74	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-75	EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSC (配列番号 253)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYC (配列番号 272)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-76	DIQMTQSPSTLSASVG DRVTITC (配列番号 255)	WYQQKPGKAPKL LIY (配列番号 260)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYC (配列番号 274)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-77	EIVMTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 251)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-78	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-79	DIVMTQSPDSLAVSLG ERATINC (配列番号 250)	WYQQKPGQPPKL LIY (配列番号 262)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYC (配列番号 269)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)
TI-80	EIVMTQSPATLSVSPG ERATLSC (配列番号 251)	WYQQKPGQAPRL LIY (配列番号 261)	GIPARFSGSGSGTEFTLTIS SLQSEDFAVYYC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 276)

表 5:抗 TREM1 抗体の EU 又は Kabat 重鎖フレームワーク配列

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
TI-1	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-2	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-3	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-4	QVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSS LRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGRGTLVTVSS (配列番号 312)
TI-5	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-6	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-7	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-8	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-9	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-10	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-11	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC	WGRGTLVTVSS (配列番号 312)

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
	番号 279)		(配列番号 299)	
TI-12	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列 番号 279)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGKGTTVTVSS (配列番号 313)
TI-13	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-14	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-15	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-16	EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYC (配列番号 302)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-17	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列番号 283)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-18	EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNTLYLQMNS LRAEDTALYYC (配列番号 303)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-19	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASG (配列番号 284)	WVRQAPGKGLEWV G (配列番号 294)	RFTISRDDSKNSLYLQMNS LKTEDTAVYYC (配列番号 304)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-20	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASG (配列番号 284)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-21	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASG (配列番号 284)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-22	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列番号 283)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGRGTLVTVSS (配列番号 312)
TI-23	EVQLVESGGGLVQPG	WVRQAPGKGLEWV	RFTISRDNAKNSLYLQMNS	WGQGTMVTVSS

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
	RSLRLSCAASG (配列番号 282)	S (配列番号 292)	LRAEDTALYYC (配列番号 302)	(配列番号 311)
TI-24	EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYC (配列番号 302)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-25	EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYC (配列番号 302)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-26	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-27	QVQLQESGPGLVKPS QTLSLTCTVSG (配列番号 285)	WIRQHPGKGLEWIG (配列番号 295)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-28	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-29	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列 番号 279)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-30	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列 番号 279)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-31	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列 番号 279)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-32	QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSG (配列 番号 279)	WIRQPPGKGLEWIG (配列番号 291)	RVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYC (配列番号 299)	WGQGTMVTVSS (配列番号 11)
TI-33	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配 列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-34	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LKAEDTAVYYC (配列番号 305)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
TI-35	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-36	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-37	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-38	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-39	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-40	EVQLVESGGGLVKPG GSLRLSCAASG (配列番号 280)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 300)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-41	EVQLLESGGGLVQPG GSLRLSCAASG (配列番号 286)	WVRQAPGKGLEWV S (配列番号 292)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-42	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASG (配列番号 281)	WVRQAPGKGLEWV A (配列番号 293)	RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYC (配列番号 301)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-43	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-44	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-45	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWM G (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-46	QVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASG	WVRQAPGQGLEWM G	RVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYC	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
	(配列番号 278)	(配列番号 290)	(配列番号 298)	
TI-47	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-48	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-49	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-50	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-52	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTTVTVSS (配列番号 309)
TI-53	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-54	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG (配列番号 277)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 297)	WGQGTMVTVSS (配列番号 311)
TI-55	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (配列番号 278)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 290)	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC (配列番号 298)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-56	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWVS (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC (配列番号 302)	WGRGTLVTVSS (配列番号 312)
TI-57	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG (配列番号 282)	WVRQAPGKGLEWVS (配列番号 292)	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC (配列番号 302)	WGQGTLVTVSS (配列番号 310)
TI-58	QLQLQESGPGLVKPS	WIRQPPGKGLEWIG	RVTISVDTSKNQFSLKLSS	WGRGTLVTVSS

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
	ETLSLTCTVSG（配列番号 279）	（配列番号 291）	VTAADTAVYYC（配列番号 299）	（配列番号 312）
TI-59	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG（配列番号 287）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-60	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG（配列番号 287）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-61	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG（配列番号 287）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-62	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSG（配列番号 285）	WIRQHPGKGLEWIG（配列番号 295）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTMVTVSS（配列番号 311）
TI-63	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG（配列番号 287）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGRGTTVTVSS（配列番号 314）
TI-64	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG（配列番号 279）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTTVTVSS（配列番号 309）
TI-65	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG（配列番号 279）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTMVTVSS（配列番号 311）
TI-66	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG（配列番号 278）	WVRQAPGQGLEWMG（配列番号 290）	RVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC（配列番号 306）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-67	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG（配列番号 278）	WVRQAPGQGLEWMG（配列番号 290）	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC（配列番号 307）	WGQGTTVTVSS（配列番号 309）
TI-68	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG（配列番号 288）	WVRQMPGKGLEWMG（配列番号 296）	QVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC（配列番号 308）	WGQGTMVTVSS（配列番号 311）
TI-69	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG（配列番号 278）	WVRQAPGQGLEWMG（配列番号 290）	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC（配列番号 307）	WGQGTTVTVSS（配列番号 309）

Ab 番号	VH FR1	VH FR2	VH F3	VH FR4
TI-70	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG（配列番号 278）	WVRQAPGQGLEWMG（配列番号 290）	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC（配列番号 307）	WGRGTLVTVSS（配列番号 312）
TI-71	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 282）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC（配列番号 302）	WGQGTMVTVSS（配列番号 311）
TI-72	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 282）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC（配列番号 302）	WGRGTLVTVSS（配列番号 312）
TI-73	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 282）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC（配列番号 302）	WGRGTSVTVSS（配列番号 315）
TI-74	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 282）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC（配列番号 302）	WGRGTLVTVSS（配列番号 312）
TI-75	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 289）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC（配列番号 302）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-76	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG（配列番号 286）	WVRQAPGKGLEWVS（配列番号 292）	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC（配列番号 301）	WGQGTTVTVSS（配列番号 309）
TI-77	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSG（配列番号 287）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-78	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG（配列番号 279）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGRGTLVTVSS（配列番号 312）
TI-79	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSG（配列番号 279）	WIRQPPGKGLEWIG（配列番号 291）	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC（配列番号 299）	WGQGTLVTVSS（配列番号 310）
TI-80	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASG（配列番号 281）	WVRQAPGKGLEWVA（配列番号 293）	RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC（配列番号 301）	WGQGTTVTVSS（配列番号 309）

【０４２４】

ＴＲＥＭ１抗体結合の特徴付け

ＴＲＥＭ１抗体の最初の特徴付けは、単球及び他の一次ヒト又はマウス免疫細胞上で発現されるＴＲＥＭ１と結合するそれらの能力を決定することを含んでいた。細胞を回収し、９６ウェルのプレート中で１０^{5}／ｍｌでプレーティングし、洗浄し、１０－５０ｕｇ／ｍｌのＭａｂ及びＦｃブロッキング試薬を含有する１００ｕｌのＰＢＳ中で、氷中で１時間インキュベートした。次いで細胞を２回洗浄し、５ｕｇ／ｍｌのＰＥコンジュゲート二次抗体を含有する１００ｕｌのＰＢＳ中で、氷中で３０分インキュベートした。細胞を冷ＰＢＳ中で２回洗浄し、ＢＤ　ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ上で捕捉した。平均蛍光強度（ＭＦＩ

）値又は％陽性細胞のデータ分析及び計算を、ＦｌｏｗＪｏ（ＴｒｅｅＳｔａｒ）ソフトウェアバージョン１０．０．７を用いて実行した。

【０４２５】

例えば、抗体Ｔ１－６３及びＴ１－７１は、ＦＡＣＳ分析を介して検出された陽性ＴＲＥＭ１抗体染色によって示されたように（黒線で描かれたヒストグラム）（図３Ａ）、組換えヒトＴＲＥＭ１を発現するげっ歯類細胞株（ＣＨＯ－ｈｕＴ１）と結合することを実証した。陰性アイソタイプコントロール（抗体ＩＳＯ８８）は結合を実証しなかった。抗体Ｔ１－６３及びＴ１－７１もまた、組換えマウスＴＲＥＭ１（ＣＨＯ－ｍＴ１）を高度に過剰発現するＣＨＯ細胞への部分的な／弱い結合を実証した（図３Ｂ）。同様に、例えば、抗体Ｔ１－６３及びＴ１－７１は、一次ヒト好中球（図４Ａ）と一次ヒト単球（図４Ｂ）の両方との結合を実証した。

【０４２６】

表６に、ＴＲＥＭ１抗体によって結合した細胞株に関する平均蛍光強度（ＭＦＩ）値を列挙する。結合は、親細胞株（ＣＨＯ親）、並びにヒトＴＲＥＭ１（ＣＨＯ－ｈＴ１）を過剰発現するＣＨＯ細胞及びマウスＴＲＥＭ１を過剰発現するＣＨＯ細胞と比較される。またＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ２への交差反応性についても試験された。結合は、親細胞株（ＢＷＺ親）、並びにヒトＴＲＥＭ２を過剰発現するＢＷＺ細胞及びマウスＴＲＥＭ２を過剰発現するＢＷＺ細胞と比較される。加えて、この表は、一次ヒト好中球（ｈＮｅｕｔ）との結合も要約する。表６に記載の結果は、試験された全ての抗体が、細胞膜上にヒトＴＲＥＭ１を過剰発現する細胞株には特異的に結合するが、ヒトＴＲＥＭ１を発現しないコントロール細胞株には結合しないことを示す。ほぼ例外なく、例えばＴ１－２６、Ｔ１－２７、及びＴ１－３４などのＴＲＥＭ１抗体は主として、ヒトＴＲＥＭ１と結合し、マウスＴＲＥＭ１と結合しなかった。重要なことに、ヒト又はマウスＴＲＥＭ２を過剰発現する細胞株に結合したＴＲＥＭ１抗体の何れも、相互作用の特異性が確認されていない。驚くべきことに、陽性コントロール抗体であるＭＡＢ０１７０は、ヒトＴＲＥＭ１と高親和性で結合するが、ヒト及びマウスＴＲＥＭ２への交差反応性を実証しなかった。またこれらの抗体は、ヒト一次好中球とも結合する。ヒト初代細胞との結合は、アイソタイプコントロール抗体ｈｕＩｇＧ１では検出されないことから、特異的である。

表 6:ヒト又はマウス TREM1 を発現するヒト細胞との TREM1 抗体結合

Ab 番号	CHO ヒト TREM1 の細胞結合(FOB バックグラウンドに対する倍率)	CHO マウス TREM1 の細胞結合(FOB バックグラウンドに対する倍率)	BWZ ヒト TREM2 の細胞結合(FOB バックグラウンドに対する倍率)	BWZ マウス TREM2 の細胞結合(FOB バックグラウンドに対する倍率)	ヒト好中球の細胞結合(FOB バックグラウンドに対する倍率)
T1-1	351.7	0.4	1.3	1.5	4.4
T1-2	313.8	0.3	0.9	1.7	2.5
T1-3	414.9	0.4	0.6	1.0	2.1
T1-4	508.7	0.4	0.7	1.3	2.2
T1-5	495.2	0.3	1.2	1.4	3.7
T1-6	409.1	0.4	0.4	0.7	2.7
T1-7	451.8	0.8	1.1	1.1	2.6
T1-8	454.6	0.7	1.9	1.2	1.6
T1-9	311.8	0.7	0.7	1.5	1.7
T1-10	525.7	0.8	0.9	1.0	2.9
T1-11	414.5	0.7	0.7	1.1	2.3
T1-12	503.3	0.5	0.6	1.0	3.2
T1-13	288.2	0.5	0.7	1.2	1.5
T1-14	418.4	0.8	0.7	1.4	2.3
T1-15	496.6	1.4	0.9	1.4	1.7
T1-16	298.2	1.0	0.7	1.2	1.6
T1-17	263.5	0.7	0.7	1.2	1.3
T1-18	456.7	0.8	0.5	0.9	2.0
T1-19	419.6	0.9	0.5	0.8	1.4
T1-20	408.2	0.7	0.6	1.0	1.3
T1-21	231.4	0.5	0.5	0.9	1.2
T1-22	586.0	1.3	0.8	1.6	5.3
T1-23	447.8	1.0	1.0	1.2	2.6
T1-24	489.0	1.3	1.4	1.2	6.9
T1-25	451.7	0.9	0.7	1.3	2.6
T1-26	126.8	417.1	0.8	1.2	1.4
T1-27	362.2	522.9	0.8	1.2	1.4
T1-28	16.6	408.1	0.6	1.1	1.0

T1-29	7.9	401.0	0.7	1.2	1.1
T1-30	19.4	453.2	0.5	0.8	1.1
T1-31	14.4	447.0	0.5	0.9	1.1
T1-32	27.2	380.1	0.9	1.2	1.0
T1-33	463.8	22.5	0.8	1.9	3.3
T1-34	511.3	158.7	0.8	1.3	3.6
T1-35	435.1	37.0	0.7	1.1	2.3
T1-36	452.8	59.1	0.8	1.1	2.8
T1-37	322.9	39.2	0.7	0.9	2.2
T1-38	387.7	22.9	0.5	0.8	2.1
T1-39	440.6	54.3	0.8	1.2	2.4
T1-40	458.2	51.0	0.7	1.1	3.5
T1-41	445.4	0.6	1.0	1.6	2.6
T1-42	397.0	11.4	0.9	1.4	3.3
T1-43	455.7	7.6	0.9	1.5	2.3
T1-44	431.0	8.0	0.9	1.2	3.1
T1-45	445.5	0.8	1.0	1.2	5.4
T1-46	491.3	2.6	0.9	1.0	5.9
T1-47	395.4	3.7	0.7	1.0	2.3
T1-48	291.2	8.4	1.2	1.0	4.0
T1-49	504.3	16.3	2.5	0.9	4.9
T1-50	420.8	2.6	1.2	1.3	2.7
T1-51	499.8	4.1	0.9	1.1	2.4
T1-52	475.3	3.2	1.0	1.2	4.2
T1-53	459.1	2.0	0.9	1.2	2.3
T1-54	437.9	3.1	1.1	1.2	3.8
T1-55	420.4	3.3	1.1	1.1	2.0
T1-56	431.5	1.1	1.2	1.3	6.8
T1-57	456.5	1.7	0.9	1.3	4.4
T1-58	418.0	1.6	1.0	1.2	2.6
T1-59	432.5	1.5	0.9	1.2	5.3
T1-60	398.4	1.0	0.8	1.1	2.8
T1-61	433.2	2.4	0.9	1.1	5.7
T1-62	363.8	1.9	1.4	0.9	2.1
T1-63	501.8	1.5	1.1	1.2	8.7

T1-64	410.0	0.7	1.0	1.2	4.7
T1-65	400.2	1.4	1.0	1.4	2.2
T1-66	506.8	1.5	0.9	1.1	2.7
T1-67	475.1	1.0	0.9	0.9	4.4
T1-68	410.9	1.0	0.9	1.1	2.2
T1-69	463.6	1.5	0.9	0.9	5.5
T1-70	404.8	1.2	0.9	0.9	2.2
T1-71	507.3	1.2	1.1	1.0	6.3
T1-72	504.0	1.2	1.3	1.3	5.2
T1-73	478.6	1.2	1.0	0.9	3.7
T1-74	498.8	1.9	0.7	0.9	3.9
T1-75	428.4	1.1	1.0	1.1	3.0
T1-76	516.3	1.0	0.9	1.2	3.2
T1-77	444.0	0.8	0.9	1.1	2.4
T1-78	405.3	1.1	1.2	1.2	6.2
T1-79	425.8	1.1	1.8	1.2	4.5
T1-80	345.8	1.2	1.0	0.9	1.7
MAB0170	447.4	0.1	6.5	49.0	4.5
huIgG1	0.1	0.1	1.0	0.9	1.0

【０４２７】

実施例２：　ＴＲＥＭ１抗体のエピトープマッピング

ＴＲＥＭ１抗体を、ヒトＴＲＥＭ１全体にわたる１５ｍｅｒ又は２５ｍｅｒのペプチド（配列番号１）と結合するそれらの能力について試験した。

【０４２８】

手法

直鎖状の１５ｍｅｒのペプチドを、ヒトＴＲＥＭ１（配列番号１）の配列に基づき１４残基をオーバーラップさせて合成した。加えて、直鎖状の２５ｍｅｒのペプチドを、ヒトＴＲＥＭ１の配列（配列番号１）又はマウスＴＲＥＭ１の配列（配列番号２）に基づき単一の残基をシフトさせて合成した。合成されたペプチドのそれぞれへのＴＲＥＭ１抗体の結合を、ＥＬＩＳＡベースの方法で試験した。このアッセイにおいて、ペプチドアレイを、一次抗体溶液と共にインキュベートした（４℃で一晩）。洗浄後、ペプチドアレイを、抗体ペルオキシダーゼコンジュゲート（ＳＢＡ、カタログ番号２０１０－０５）の１／１０００希釈液と共に２５℃で１時間インキュベートした。洗浄後、ペルオキシダーゼ基質である２，２’－アジノ－ジ－３－エチルベンズチアゾリンスルホン酸塩（ＡＢＴＳ）及び２μｌ／ｍｌの３％H_2O_2を添加した。１時間後、発色を測定した。発色を電荷結合素子（ＣＣＤ）カメラ及び画像処理システムで定量した。

【０４２９】

代替として、標的分子のエピトープを再構築するために、ループ化ペプチド及びコンビナトリアルペプチドのライブラリーを合成した。特許化された親水性ポリマー調合物をグラフト化し、それに続いて、ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）をＮ－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）と共に使用して、ｔ－ブチロキシカルボニルヘキサメチレンジアミン（ＢｏｃＨＭＤＡ）と反応させ、それに続いてトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）

を使用してＢｏｃ基を切断することによって、アミノ官能化ポリプロピレン支持体を得た。標準的なＦｍｏｃ－ペプチド合成を使用して、注文通りに改変されたＪＡＮＵＳ液取り扱いステーション（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）によってアミノ官能化した固体支持体上にペプチドを合成した。

【０４３０】

Ｐｅｐｓｃａｎの特許化された足場上の化学的に連結されたペプチド（Ｃｈｅｍｉｃａｌｌｙ　Ｌｉｎｋｅｄ　Ｐｅｐｔｉｄｅｓ　ｏｎ　Ｓｃａｆｆｏｌｄｓ：ＣＬＩＰＳ）技術を使用して構造的な模倣体の合成を行った。ＣＬＩＰＳ技術は、ペプチドを単一のループ及び二重のループに構造化することを可能にする。ＣＬＩＰＳ鋳型を、システイン残基にカップリングする。ペプチド中の複数のシステインの側鎖が、１つ又は２つのＣＬＩＰＳ鋳型にカップリングされる。例えば、炭酸水素アンモニウム（２０ｍＭ、ｐＨ７．８）／アセトニトリル（１：３（ｖ／ｖ））にｍＰ２　ＣＬＩＰＳ（２，６－ビス（ブロモメチル）ピリジン）の０．５ｍＭ溶液を溶解させる。この溶液を、ペプチドアレイ上に添加する。ＣＬＩＰＳ鋳型は、ペプチドアレイ（３μｌウェルを有する４５５ウェルのプレート）のペプチドが結合した固相中に存在する場合、２つのシステインの側鎖と結合することになる。ペプチドアレイを、溶液中で３０から６０分、溶液で完全に覆いながら穏やかに振盪する。最終的に、ペプチドアレイを過量のＨ２Ｏで徹底的に洗浄し、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中の１％ＳＤＳ／０．１％β－メルカプトエタノールを含有する崩壊緩衝液中で、７０℃で３０分超音波破砕し、それに続いてＨ２Ｏ中でさらに４５分超音波破砕する。Ｔ３　ＣＬＩＰＳ（２，４，６－トリス（ブロモメチル）ピリジン）を有するペプチドを、類似の方法で、ただしここでは３つのシステインで作製した。

【０４３１】

ループ化ペプチド：長さ１７の拘束性ペプチド。２－１６位は、標的配列由来の１５ｍｅｒである。ネイティブのＣｙｓ残基は、アセトアミドメチル基（ＡＣＭ）によって保護される。１及び１７位は、ｍＰ２　ＣＬＩＰＳ成分によって連結されたＣｙｓである。コンビナトリアルペプチド（不連続な模倣体）：長さ３３の拘束性ペプチド。２－１６位及び１８－３２位は、ＡＣＭによって保護されたネイティブのＣｙｓ残基を有する標的配列由来の１５ｍｅｒのペプチドである。１、１７及び３３位は、Ｔ３　ＣＬＩＰＳ成分によって連結されたＣｙｓである。

【０４３２】

合成されたペプチドのそれぞれへの抗体の結合を、ＰＥＰＳＣＡＮベースのＥＬＩＳＡで試験する。ペプチドアレイを、実験的に最適化された濃度の試験抗体及びブロッキング溶液（例えばＰＢＳ中の４％ウマ血清、５％オボアルブミン（ｗ／ｖ）／１％のＴｗｅｅｎ８０）で構成される試験抗体溶液と共にインキュベートする。ペプチドアレイを、試験抗体溶液と共に４℃で一晩インキュベートする。洗浄緩衝液（１×ＰＢＳ、０．０５％のＴｗｅｅｎ８０）で十分に洗浄した後、ペプチドアレイを、適切な抗体ペルオキシダーゼコンジュゲートの１／１０００希釈液と共に２５℃で１時間インキュベートする。洗浄緩衝液で洗浄後、ペルオキシダーゼ基質である２，２’－アジノ－ジ－３－エチルベンズチアゾリンスルホン酸塩（ＡＢＴＳ）及び２μｌ／ｍｌの３％Ｈ２Ｏ２を添加する。１時間後、発色を測定する。発色を電荷結合素子（ＣＣＤ）カメラ及び画像処理システムで定量する。

【０４３３】

代替として、質量分析方法を使用して、コンフォメーショナルエピトープを同定する。抗ＴＲＥＭ１抗体が結合するＴＲＥＭ１タンパク質上のコンフォメーショナルエピトープの主要な残基を高分解能で決定するために、抗体／抗原複合体を、重水素を含む架橋剤と共にインキュベートし、複数の酵素によるタンパク質分解による切断に供する。架橋されたペプチドを濃縮した後、高分解能質量分析（ｎＬＣ－オービトラップＭＳ）によってサンプルを分析し、ＸＱｕｅｓｔソフトウェアを使用して生成したデータを分析する。具体的には、等モルのＴＲＥＭ１抗原及び抗体の溶液（それぞれ５μｌ中の４μＭ）を混合することによってＴＲＥＭ１　ＥＣＤ／抗体複合体を生成する。得られた１μｌの混合物を、アセトニトリル／水（１：１、ｖ／ｖ）、ＴＦＡ０．１％中の再結晶化したシナピン酸マ

トリックス（１０ｍｇ／ｍｌ）で構成される１μｌのマトリックス（Ｋ２００ＭＡＬＤＩキット）と混合する。混合後、１μｌの各サンプルを、ＭＡＬＤＩプレート（ＳＣＯＵＴ３８４）上にスポットする。室温で結晶化した後、プレートをＭＡＬＤＩ質量分析計に導入し、即座に分析する。分析を３連で繰り返す。単量体の抗体、抗原、及び抗体並びに抗原／抗体複合体を表すピークが、予測された分子量で検出される。

【０４３４】

次いで、構造的な結合におけるエピトープがタンパク質分解によって生成した組織化されていないＣ１ｑペプチドと競合するかどうかを決定する。具体的には、ＴＲＥＭ１　ＥＣＤ／抗体複合体が直鎖状ペプチドと競合できるかどうかを決定するために、ＴＲＥＭ１ＥＣＤ抗原を、固定されたペプシンで消化する。１０μＭの濃度を有する抗原２５μｌを、固定されたペプシン５μＭと混合し、室温で３０分インキュベートする。インキュベーション時間後、サンプルを遠心分離し、上清をピペットで取る。タンパク質分解の完了は、高分子量ＭＡＬＤＩ質量分析によってリニアモードで調節される。１０００－３５００Ｄａの範囲で大量のペプチドを得るために、ペプシンによるタンパク質分解を最適化する。次に、５μｌのタンパク質分解によって生成した抗原ペプチドを５μｌの抗体（８μＭ）と混合し、３７℃で６時間インキュベートする。抗体をＴＲＥＭ１抗原ペプチドとインキュベートした後、５μｌの混合物を５μｌの無傷のＴＲＥＭ１抗原（４μＭ）と混合したところ、最終的なミックスは、２μＭ／２μＭ／２．５μＭのＴＲＥＭ１／抗体／ＴＲＥＭ１抗原ペプチドを含有することになる。ＭＡＬＤＩ　ＴｏＦ　ＭＳ分析は、標準的な窒素レーザー及び０から２０００ｋＤａの異なる質量範囲への集束を用いたＣｏｖａｌＸのＨＭ３相互作用モジュールを使用して実行される。分析のために、以下のパラメーター、質量分析計：リニア及びポジティブモード；イオン源１：２０ｋＶ；イオン源２：１７ｋＶ；パルスイオン抽出：４００ｎｓ；ＨＭ３の場合：ゲイン電圧：３．１４ｋＶ；ゲイン電圧：３．１４ｋＶ；加速電圧：２０ｋＶが適用される。機器の較正には、インスリン、ＢＳＡ及びＩｇＧのクラスターを用いた外部補正が適用されている。各サンプルにつき、３つのスポットが分析される（スポット１つ当たり３００回のレーザーショット）。提示されたスペクトルは、３００回のレーザーショットの合計に対応する。Ｃｏｍｐｌｅｘ　Ｔｒａｃｋｅｒ分析ソフトウェアバージョン２．０（ＣｏｖａｌＸ　Ｉｎｃ）を使用して、ＭＳデータを分析する。抗体と結合するＴＲＥＭ１のコンフォメーショナルエピトープを同定するために、化学的架橋、高分子量ＭＡＬＤＩ質量分析及びｎＬＣオービトラップ質量分析、抗原と抗体との相互作用の境界を使用して、以下の手順に従った。最終濃度２μＭ／２μＭの抗体／抗原ミックスを得るために、５μｌのサンプル抗原（濃度４μＭ）を、５μｌのサンプル抗体（濃度４μＭ）と混合する。混合物を、３７℃で１８０分インキュベートする。第１のステップで、１ｍｇのスベリン酸ジスクシンイミジルＨ１２（ＤＳＳ－Ｈ１２）架橋剤を、１ｍｇのスベリン酸ジスクシンイミジルＤ１２（ＤＳＳ－Ｄ１２）架橋剤と混合する。ＤＳＳ　Ｈ１２／Ｄ１２の２ｍｇ／ｍｌ溶液を得るために、調製された２ｍｇを１ｍｌのＤＭＦと混合する。前もって調製された１０μｌの抗体／抗原ミックスを、１μｌの調製された架橋剤ｄ０／ｄ１２溶液（２ｍｇ／ｍｌ）と混合した。架橋反応を達成するために、溶液を室温で１８０分インキュベートする。

【０４３５】

タンパク質分解を容易にするために、タンパク質中に存在するジスルフィド結合を低減することが必要である。架橋されたサンプルを、２０μｌの炭酸水素アンモニウム（２５ｍＭ、ｐＨ８．３）と混合する。混合後、２．５μｌのＤＴＴ（５００ｍＭ）を溶液に添加する。次いで混合物を、５５℃で１時間インキュベートする。インキュベーション後、２．５μｌのヨードアセトアミド（１Ｍ）を添加し、その後、暗室で、室温で１時間インキュベートする。インキュベーション後、タンパク質分解に使用される１２０μｌの緩衝液を添加することによって、溶液を１／５に希釈する。１４５μｌの低減された／アルキル化された架橋サンプルを、２μｌのトリプシン（Ｓｉｇｍａ、Ｔ６５６７）と混合する。タンパク質分解混合物を３７℃で一晩インキュベートする。ａ－キモトリプシンによるタンパク質分解の場合、タンパク質分解の緩衝液は、トリス－ＨＣＬ　１００ｍＭ、ＣａＣ

ｌ２　１０ｍＭ、ｐＨ７．８である。１４５μｌの低減された／アルキル化された架橋複合体を、２μｌのα－キモトリプシン２００μＭと混合し、３０℃で一晩インキュベートする。この分析のために、オービトラップ質量分析と組み合わせたｎＬＣを使用する。架橋剤ペプチドは、Ｘｑｕｅｓｔバージョン２．０及びｓｔａｖｒｏｘソフトウェアを使用して分析する。次いでペプチド及び架橋アミノ酸が同定される。

【０４３６】

結果

９つの抗ＴＲＥＭ１抗体につきＴＲＥＭ１結合領域を決定した。表７に、ヒトＴＲＥＭ１内の結合領域を列挙する。

表 7:ヒト TREM1 との TREM1 抗体結合領域

抗体	ヒト TREM1 結合領域	配列番号 1 のアミノ酸領域
T1-53	^{45}LEKFASSQKA^{54}、	45-54、70-79、89-97、及び 119-125
T1-63	^{70}TERPSKNSHP^{79}、 ^{89}DYHDHGLLR^{97}、及び ^{119}PKEPHML^{125}	
T1-34	^{83}GRIILEDY^{90} 及び ^{191}NLTNVTDIIRV^{201}	83-90 及び 191-201
T1-39		
T1-62		
T1-71		
T1-76		
T1-10	^{45}LEKFASSQKA^{54} 及び ^{116}YQPPKEPHML^{125}	45-54 及び 116-125
T1-61		

【０４３７】

表７に示されるように、抗体Ｔ１－５３及びＴ１－６３は、ヒトＴＲＥＭ１の細胞外ＩｇＶドメイン内の数種のペプチドについてロバストな結合を示した。表６に示されるように、抗体Ｔ１－５３及びＴ１－６３によって認識されるペプチドは、配列番号１のアミノ酸残基４５－５４、７０－７９、８９－９７、及び１１９－１２５に対応し、４５ＬＥＫＦＡＳＳＱＫＡ５４、７０ＴＥＲＰＳＫＮＳＨＰ７９、８９ＤＹＨＤＨＧＬＬＲ９７、及び１１９ＰＫＥＰＨＭＬ１２５のアミノ酸配列を有する。

【０４３８】

表７に示されるように、抗体Ｔ１－３４、－３９、－６２、－７１、及び－７６は、もっぱらヒトＴＲＥＭ１の細胞外ＩｇＶドメイン内の２つのペプチドについてロバストな結合を示した。表７に示されるように、抗体Ｔ１－３４、－３９、－６２、－７１、及び－７６によって認識されるペプチドは、配列番号１のアミノ酸残基８３－９０及び１９１－２０１に対応し、８３ＧＲＩＩＬＥＤＹ９０及び１９１ＮＬＴＮＶＴＤＩＩＲＶ２０１のアミノ酸配列を有する。

【０４３９】

表７に示されるように、抗体Ｔ１－１０及びＴ１－６１は、もっぱらヒトＴＲＥＭ１の細胞外ＩｇＶドメイン内の２つのペプチドについてロバストな結合を示した。表７に示されるように、ヒトＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１０及びＴ１－６１によって認識されるペプチドは、配列番号１のアミノ酸残基４５－５４及び１１６－１２５に対応し、４５ＬＥＫＦＡＳＳＱＫＡ５４及び１１６ＹＱＰＰＫＥＰＨＭＬ１２５のアミノ酸配列を有する。

【０４４０】

図５は、ヒトＴＲＥＭ１（ｐｄｂ　１Ｑ８Ｍ）の結晶構造上への抗ＴＲＥＭ１抗体によって結合したペプチドのマップを示す。黒色で強調された表面領域は、示された抗体の予測されたエピトープを表す。比較のために、図５Ａは、ヒトＴＲＥＭ１の陽性コントロール抗体であるＭＡＢ０１７０のエピトープのマップを示す。ＭＡＢ０１７０のエピトープは、ペプチドアレイとの結合とは対照的に水素－重水素交換によって定義され、これは、配列番号１のアミノ酸残基３８－４８に対応し、アミノ酸配列３８ＤＶＫＣＤＹＴＬＥＫＦ４８を有する。図５Ｂは、アミノ酸領域４５－５４、７０－７９、８９－９７、及び１１９－１２５が黒色で強調されたＴ１－５３及びＴ１－６３のエピトープのマップを示す。図５Ｃは、アミノ酸領域４５－５４及び１１６－１２５が黒色で強調されたＴ１－１０及びＴ１－６１のエピトープのマップを示す。図５Ｄは、アミノ酸領域８３－９０が黒色で強調されたＴ１－３４、－３９、－６２、－７１、及び－７６の単一のエピトープのマップを示す。この一連の抗体につき同定された第２のエピトープは、アミノ酸残基１９１－２０１に対応し、結晶構造では解像されないタンパク質の膜近位領域に存在する。

【０４４１】

実施例３：　ＴＲＥＭ１抗体はＳｙｋリン酸化を誘導する

脾臓チロシンキナーゼ（Ｓｙｋ）は、数種の基質をリン酸化し、それによって細胞活性化及び炎症プロセスを引き起こすシグナル伝達複合体の形成を容易にするＴＲＥＭ１の下流で機能する細胞内シグナル伝達分子である。アゴニストＴＲＥＭ１抗体のＳｙｋ活性化を誘導する能力を、マウスマクロファージを培養し、細胞抽出物中でのＳｙｋタンパク質のリン酸化状況を測定することによって決定した。

【０４４２】

野生型（ＷＴ）マウス、ＴＲＥＭ１ノックアウト（ＫＯ）マウス、及び機能的なＦｃ受容体共通のガンマ鎖遺伝子の発現が欠如したマウス（ＦｃｇＲ　ＫＯ；ＲＥＦ：Takai Ｔ 1994. Cell 76(3):519-29）からの骨髄由来のマクロファージ（ＢＭＤＭ）を１％血清ＲＰＭＩ中で４時間飢餓状態にし、次いでＰＢＳ－ＥＤＴＡを用いて組織培養皿から除去し、ＰＢＳで洗浄し、計数した。全長ＴＲＥＭ１抗体又はコントロール抗体（１０Ａ９又はｈｕＩｇＧ１アイソタイプコントロール）で、氷上で１５分間細胞をコーティングした。冷ＰＢＳで洗浄後、ヤギ抗ヒトＩｇＧの存在下で、示された期間にわたり３７℃で細胞をインキュベートした。刺激の後、細胞を溶解緩衝液（１％ｖ／ｖのＮＰ－４０％、５０Ｍｍのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ８．０）、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、１．５ｍＭのＭｇＣｌ$_2$、１０％グリセロール、それに加えてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤）で溶解させ、それに続いて４℃、１６，０００ｇで１０分遠心分離して、不溶性物質を除去した。次いで溶解産物を、抗Ｓｙｋ抗体（ＢＭＤＭにはＮ－１９又はヒトＤＣには４Ｄ１０、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）で免疫沈降した。沈殿したタンパク質をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分画し、ＰＶＤＦ膜に移し、抗リン酸化チロシン抗体（４Ｇ１０、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）でプローブ付けを行った。全ての基質が適切に免疫沈降したことを確認するために、免疫ブロットを、抗Ｓｙｋ抗体（Ａｂｃａｍ、ＢＭＤＭの場合）又は抗Ｓｙｋ（Ｎｏｖｕｓ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ、ヒトＤＣの場合）で再度プローブ付けを行った。可視化を、増強化学発光（ＥＣＬ）システム（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を用いて、説明されている通りに実行した（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。

【０４４３】

実施例４：　ＴＲＥＭ１抗体は、Ｆｃガンマ受容体を発現する隣接する細胞によってクラスター化された場合、Ｓｙｋリン酸化を誘導する。

脾臓チロシンキナーゼ（Ｓｙｋ）の活性化は、２以上のＴＲＥＭ１受容体を抗体で架橋し、それによって細胞活性化及び炎症プロセスを引き起こすシグナル伝達複合体の形成を容易にすることによって促進される。ｉｎ ｖｉｖｏでの架橋は、高親和性Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）を発現する隣接する細胞、例えばＢ細胞及び他の白血球などによって媒介される（White AL Cancer Immunol Immunother (2013) 62:941-948; Wilson NS 2011, Cancer Cell 19, 101-113; Bartholomaeus P J Immunol 2014; 192:2091-2098）。

【０４４４】

抗体のクラスター化を介してＳｙｋの活性化を誘導するＦｃ受容体の能力を、Ｆｃ受容体を発現する細胞の存在下でマウスマクロファージを培養し、細胞抽出物中でのＳｙｋタンパク質のリン酸化状況を測定することによって決定した。野生型（ＷＴ）マウス及びＴＲＥＭ１ノックアウト（ＫＯ）マウスからの骨髄由来のマクロファージ（ＢＭＤＭ）を１％血清ＲＰＭＩ中で４時間飢餓状態にし、次いでＰＢＳ－ＥＤＴＡを用いて組織培養皿から除去し、ＰＢＳで洗浄し、計数した。全長ＴＲＥＭ１抗体、又はコントロール抗体（１０Ａ９又はｈｕＩｇＧ１アイソタイプコントロール）で、氷上で１５分間細胞をコーティングした。冷ＰＢＳで洗浄後、グルタルアルデヒドで固定したＦｃ受容体を発現しており、以下のようにして前もって調製された細胞と共に細胞を３７℃で５分インキュベートした。簡単に言えば、Ｆｃ受容体を発現する細胞は、ＭＡＣＳマイクロビーズ（ＣＤ１９＋Ｂ細胞単離キット、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を製造元のプロトコールに従って使用してマウス脾臓から単離されたＢ細胞、又は代替としてＦｃＲ２ｂ及びＦｃＲ３を過剰発現するＰ８１５細胞株の何れかであった。細胞２×１０^{6}個／ｍｌの細胞を、０．０５％グルタルアルデヒドで、室温で１分固定し、反応を１μＭグリシンで止め、次いで細胞をＰＢＳで徹底的に洗浄した。刺激の後、細胞を溶解緩衝液（１％ｖ／ｖのＮＰ－４０％、５０Ｍｍのトリス－ＨＣｌ（ｐＨ８．０）、１５０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＥＤＴＡ、１．５ｍＭのＭｇＣｌ$_{2}$、１０％グリセロール、それに加えてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤）で溶解させ、それに続いて４℃、１６，０００ｇで１０分遠心分離して、不溶性物質を除去した。次いで溶解産物を、抗Ｓｙｋ抗体（ＢＭＤＭにはＮ－１９又はヒトＤＣには４Ｄ１０、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）で免疫沈降した。沈殿したタンパク質をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分画し、ＰＶＤＦ膜に移し、抗リン酸化チロシン抗体（４Ｇ１０、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）でプローブ付けを行った。全ての基質が適切に免疫沈降したことを確認するために、免疫ブロットを、抗Ｓｙｋ抗体（Ａｂｃａｍ、ＢＭＤＭの場合）又は抗Ｓｙｋ（Ｎｏｖｕｓ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ、ヒトＤＣの場合）で再度プローブ付けを行った。可視化を、増強化学発光（ＥＣＬ）システム（ＧＥ ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を用いて、説明されている通りに実行した（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。

【０４４５】

実施例５： ＴＲＥＭ１抗体はリガンド結合を遮断する

公開された報告によれば、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）リガンドに曝露された好中球は、それらの細胞表面にＴＲＥＭ１の内因性リガンドを出現させることが実証されている。例えば、ナイーブマウスからの好中球ではなく、盲腸結紮及び穿刺によって誘導された腹膜炎に罹っているマウスから採取された腹膜の好中球は、組換えマウスＴＲＥＭ１の可溶性断片と結合する。同様に、ＴＬＲリガンドで刺激されたヒト好中球は、ヒトＴＲＥＭ１を過剰発現するレポーター細胞を活性化する。近年、ヒトペプチドグリカン認識タンパク質－１（ｈＰＧＬＹＲＰ１）は、グラム陽性菌の細胞壁の主要な構造要素であるペプチドグリカンで刺激されたヒト好中球からのＴＲＥＭ１リガンドであることが同定された。ヒトＰＧＬＹＲＰ１は、細菌感染に対する先天性免疫応答に関与する分泌されたパターン認識受容体として機能する４つの保存されたペプチドグリカン結合タンパク質のファミリーに属する。ＰＧＬＹＲＰファミリーのなかでも、ＰＧＬＹＲＰ１が、好中性顆粒で固有に発現される。ヒトＴＲＥＭ１とｈＰＧＬＹＲＰ１との相互作用を検証するために、ヒトＴＲＥＭ１を発現するＣＨＯ細胞（ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１）を、１８０ｎＭの組換えＨｉｓタグ付きヒトＰＧＬＹＲＰ１又はマウスＰＧＬＹＲＰ１の何れかと共に氷上で３０分イン

キュベートした。その後、細胞を洗浄し、氷上で１５分、ＰＥで標識した抗ＨＩＳタグ二次モノクローナル抗体で染色した。リガンド結合をフローサイトメトリーによって評価した。図６Ａで示されるように、ｈＰＧＬＹＲＰ１の存在下の二次抗体でのみ染色したＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１細胞から、マウスではなくヒトＰＧＬＹＲＰ１が、ヒトＴＲＥＭ１と結合することが実証された。リガンドが高濃度にもかかわらず、蛍光強度のシフトが狭かったことから、リガンドと受容体との相互作用は低い親和性であったことが示唆される。この相互作用の結合活性を増加させるために、１８０ｎＭのｈＰＧＬＹＲＰ１を、濃度を増加させた枯草菌由来のペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＢＳ）又は黄色ブドウ球菌由来のペプチドグリカン（ＰＧＮ－ＳＡ）の何れかと混合することによって、可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体を形成した。図６Ｂで示されるように、ｈＰＧＬＹＲＰ１及びＰＧＮ－ＳＡではなくｈＰＧＬＹＲＰ１及びＰＧＮ－ＢＳからなる可溶性複合体のみが、二次抗体で染色したＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１における蛍光強度のシフトを増加させた。重要なことに、図６Ｃは、ＰＧＮ－ＢＳ又はＰＧＮ－ＳＡのどちらも、ＣＨＯ細胞上で発現されるヒトＴＲＥＭ１へのマウスＰＧＬＹＲＰ１の結合を増大させなかったことを示す。したがって、組換えｈＰＧＬＹＲＰ１及びＰＧＮ－ＢＳで構成される可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体は、ヒトＴＲＥＭ１との活発な結合を可能にする高次構造を形成する。

【０４４６】

ＣＨＯ－ｈｕＴＲＥＭ１細胞を、１０μｇ／ｍＬの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロールと共に氷上で３０分インキュベートすることによって、ヒトＴＲＥＭ１と結合するリガンドを遮断するＴＲＥＭ１抗体の能力を決定した。その後、細胞を洗浄し、５０ｎＭの組換えＨｉｓタグ付きｈＰＧＬＹＲＰ１及び１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳからなる可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体と共に氷上で３０分間インキュベートした。次いで細胞を洗浄し、氷上で１５分、ＰＥで標識した抗ＨＩＳタグ二次モノクローナル抗体で染色した。リガンド結合をフローサイトメトリーによって評価した。図６Ｄで示されるように、全てのＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１発現細胞とのリガンド結合を少なくとも部分的に低減した。しかしながら、全体的な観察として、Ｂｉｎ１カテゴリーからの抗ＴＲＥＭ１抗体が、Ｂｉｎ２カテゴリーからの抗ＴＲＥＭ１抗体より大きい程度にリガンド結合を遮断した。例えば、Ｂｉｎ１カテゴリーからの抗ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－４１、－４２、－５１、－５２、－５６、－５７、－６７、－６８、－６９、－７０、－７１、－７２、－７３、－７４、－７５、－７６、及び－７７は、リガンド結合を≧８５％遮断した。対照的に、Ｂｉｎ２カテゴリーからの抗ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－４０、－４４、－４５、－４６、－４７、－４８、－４９、－５８、－５９、－６０、－６１、－６２、－６３、－６４、－６５、－６６、－７８、及び－７９は、リガンド結合を≧５０％遮断した。

【０４４７】

実施例６：　プレートと結合したＴＲＥＭ１抗体はＴＲＥＭ１依存性遺伝子を誘導する

プレートと結合した全長抗ＴＲＥＭ１抗体の、マウス又はヒトＴＲＥＭ１依存性遺伝子を活性化する能力を、ＮＦＡＴ（活性化Ｔ細胞核内因子）プロモーターの調節下でルシフェラーゼ又はＧＦＰレポーター遺伝子を使用して評価した。マウス胸腺リンパ腫Ｔリンパ球由来の細胞株ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４（ＡＴＣＣ（登録商標）ＴＩＢ４８（商標））を、ヒト又はマウスＴＲＥＭ１及びＤＡＰ１２、並びにＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦＡＴ－ルシフェラーゼウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。代替として、ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４細胞株を、ヒトＴＲＥＭ１／ＣＤ３ゼータ鎖融合タンパク質、及びＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦＡＴ－ＧＦＰウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。ＰＭＡ（０．０５ｕｇ／ｍｌ）及びイオノマイシン（０．２５ｕＭ）を、ＮＦＡＴシグナル伝達の陽性コントロールとして、レポーター細胞に添加した。抗ＴＲＥＭ１及びアイソタイプコントロール抗体をＰＢＳ中に溶解させ、組織培養プレート上に０．６２５－１０ｕｇ／ｍｌの濃度範囲でプレーティングし、４℃で一晩インキュベートして、抗体をプレートに吸着させた。プレートを洗浄した後、細胞を、プレートと結合した抗体上に播種し、３７℃で一晩インキュベートした。ＧＦＰ誘導をフローサイトメトリーによって分析した。レポータ

ー細胞は、外因性の刺激の非存在下で、親のレポーター細胞（ＴＲＥＭ１発現がない）と比較して持続的なＴＲＥＭ１依存性シグナル伝達を呈示しないことから、内因性リガンド又は自発的な受容体凝集がないことが示される。

【０４４８】

図７Ａで示されるように、抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７６、－６９、－７２、－７１、－６１、－５９、－４０、－３９、－３４、及び－２２は、アイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と比較した場合、ヒトＴＲＥＭ１を発現するレポーター細胞において、ＧＦＰ発現を用量依存性の方式で増加させたことから、これらの抗体は、ＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を誘導できたことを示す。加えて、ある特定の抗ＴＲＥＭ１抗体、例えばＴ１－７７及び－７２は、プレートと結合した様式で有意な量のＧＦＰ発現を誘導しなかった。

【０４４９】

実施例７：　可溶性ＴＲＥＭ１抗体はＴＲＥＭ１依存性遺伝子を誘導する

可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体の、マウス又はヒトＴＲＥＭ１依存性遺伝子を活性化する能力を、ＮＦＡＴ（活性化Ｔ細胞核内因子）プロモーターの調節下でルシフェラーゼ又はＧＦＰレポーター遺伝子を使用して評価した。マウス胸腺リンパ腫Ｔリンパ球由来の細胞株ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４（ＡＴＣＣ（登録商標）ＴＩＢ４８（商標））を、ヒト又はマウスＴＲＥＭ１及びＤＡＰ１２、並びにＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦＡＴ－ルシフェラーゼウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。代替として、ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４細胞株を、ヒトＴＲＥＭ１／ＣＤ３ゼータ鎖融合タンパク質、及びＣｉｇｎａｌ　ＬｅｎｔｉＮＦＡＴ－ＧＦＰウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。ＮＦＡＴ依存性のＧＦＰ誘導を試験するために、これらのレポーター細胞を、ＰＭＡ（０．０５ｕｇ／ｍｌ）及びイオノマイシン（０．２５ｕＭ）で処理した。ＴＲＥＭ１活性化を試験するために、レポーター細胞を、可溶性抗ＴＲＥＭ１又はアイソタイプコントロール抗体と共に３７℃で一晩インキュベートし、ＧＦＰ誘導をフローサイトメトリーによって分析した。レポーター細胞は、外因性の刺激の非存在下で、親のレポーター細胞（ＴＲＥＭ１発現がない）と比較して持続的なＴＲＥＭ１依存性シグナル伝達を呈示しないことから、内因性リガンド又は自発的な受容体凝集がないことが示される。

【０４５０】

図８Ａで示されるように、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－７８、－１２、－５１、－１６、及び－２２は、ヒトＴＲＥＭ１を発現するレポーター細胞においてＧＦＰ発現を弱く増加させ、それに対してＴ１－５２及び－６２は、アイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と比較した場合、ＧＦＰ発現を～３倍増加させたことから、これらの抗体は、ＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を溶液中で様々な程度に誘導することができるアゴニストであることが示される。対照的に、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７９、－８０、－４０、－６３、及び－３９は、アイソタイプコントロールと比較した場合、ヒトＴＲＥＭ１を発現する細胞においてＧＦＰ発現を増加させなかった。図８Ａにおける点線は、刺激がない場合のＴＲＥＭ１活性のレベルを示す。

【０４５１】

図８Ｂで示されるように、抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６７、－７０、－７１、－７２、－７３、－７４、－７５、及び－７６は、ヒトＴＲＥＭ１を発現する細胞において、アイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と比較した場合、ＧＦＰ発現を≧３倍増加させたことから、これらの抗体は、ＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を誘導することができる強いアゴニスト抗体であることが示される。対照的に、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体、例えばＴ１－６５及び－６６は、アイソタイプコントロールと比較した場合、ヒトＴＲＥＭ１を発現する細胞においてＧＦＰ発現を増加させなかった。図８Ｂにおける点線は、刺激がない場合のＴＲＥＭ１活性のレベルを示す。

【０４５２】

図８Ｃは、弱い又は強いアゴニストＴＲＥＭ１抗体により誘導されたＧＦＰ発現の用量応答曲線を示す。濃度を増加させた可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－６２及び－７６を、レポーター細胞に３７℃で一晩添加した。ＧＦＰ発現のフローサイトメトリー分析は、

遺伝子発現に対する作用が用量依存性であることを実証する。
【０４５３】
図７Ａ及び７Ｂの結果を総合すると、図８Ａ－８Ｃの結果は、可溶性アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体が、ＴＲＥＭ１の天然リガンドであると考えられるＰＧＮ－ＢＳと複合体化した可溶性ヒトＰＧＬＹＲＰ１と類似した程度に遺伝子発現を誘導できることを示す。
【０４５４】
実施例８：　ＴＲＥＭ１の天然リガンドの活性を増強又は阻害する可溶性ＴＲＥＭ１抗体の能力の分析
マウス又はヒトＴＲＥＭ１の天然リガンドの活性を増強又は阻害する可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を、遺伝子発現の活性化を測定するためのＮＦＡＴ（活性化Ｔ細胞核内因子）プロモーターの調節下でルシフェラーゼ又はＧＦＰレポーター遺伝子を使用して評価した。マウス胸腺リンパ腫Ｔリンパ球由来の細胞株ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４（ＡＴＣＣ（登録商標）ＴＩＢ４８（商標））を、ヒト又はマウスＴＲＥＭ１及びＤＡＰ１２、並びにＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦＡＴ－ルシフェラーゼウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。代替として、ＢＷ５１４７．Ｇ．１．４細胞株を、ヒトＴＲＥＭ１／ＣＤ３ゼータ鎖融合タンパク質、及びＣｉｇｎａｌ　Ｌｅｎｔｉ　ＮＦＡＴ－ＧＦＰウイルス（Ｑｉａｇｅｎ）で感染させた。細胞を、５０ｎＭの組換えヒトＰＧＬＹＲＰ１及び１０μｇ／ｍＬのＰＧＮ－ＢＳからなる可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体と共に、可溶性抗ＴＲＥＭ１又はアイソタイプコントロール抗体と３７℃で一晩インキュベートした。ＧＦＰ発現をフローサイトメトリーによって分析した。
【０４５５】
図９Ａで示されるように、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－７８、－７９、－８０、－１２、－４０、－５１、－５２、－２２、及び－３９は、ＴＲＥＭ１リガンド及びアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）で処理された細胞と比較した場合、リガンドが媒介するヒトＴＲＥＭ１の活性化の規模を減少させた。これらのレポーター細胞において、Ｔ１－７７、－７８、－１２、－５１、及び－２２は、リガンドの非存在下でＴＲＥＭ１遺伝子発現を弱く活性化する可能性があるが（前に示した通り）、それらの主要な作用は、リガンドにより誘導されたシグナル伝達を遮断することである。対照的に、可溶性全長抗体Ｔ１－６２及びＴ１－６３は、可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体と共に培養した場合、レポーター細胞におけるＧＦＰ発現を増強した。図９Ｂで示されるように、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６２及びＴ１－６３を２μｇ／ｍＬの最低濃度まで滴定することにより、レポーター細胞において、抗体単独ではＧＦＰを誘導しなかったとしても、リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を増強した。可溶性全長Ｔ１－６２は、より高い濃度で、リガンドに関わりなくＴＲＥＭ１を強く活性化したが、それに対してＴ１－６３は、より高い濃度で、リガンドにより誘導されたＴＲＥＭ１シグナル伝達に対して有意な作用はなかった。これらの結果から、抗体Ｔ１－６２及びＴ１－６３は、ＴＲＥＭ１の天然リガンドであると考えられる組換えヒトＰＧＬＹＲＰ－１により誘導されたＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を増強できたことが示される。
【０４５６】
図９Ｃ及び９Ｄで示されるように、ヒトＴＲＥＭ１：ＮＦＡＴ－ＧＦＰレポーター細胞はまた、ＰＧＮ－ＳＡで刺激されたヒト好中球によっても活性化されるが、未処理の好中球では活性化されないことから、活性化された好中球はＴＲＥＭ１リガンドの自然源であり得るが実証される。図９Ｃにおいて、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－３４、－６１、及び－４０は、ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球及びアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と共培養されたレポーター細胞と比較した場合、ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球と共培養されたレポーター細胞において、リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を遮断した。対照的に、可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－１０、Ｔ１－６３、及びＴ１－６２は、ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球及びアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と共培養されたレポーター細胞と比較した場合、ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球と共培養されたレポーター細胞でのリガンドにより誘導されたＧＦＰ発現に対して有意な作用はな

かった。ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球とは対照的に、ＰＧＮ－ＢＳで処理された好中球は、ヒトＴＲＥＭ１：ＮＦＡＴ－ＧＦＰレポーター細胞においてＧＦＰ発現を誘導しなかった。しかしながら、Ｔ１－６２及びＴ１－６３の存在下で、ＰＰＧＮ－ＢＳで処理された好中球及びアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と共培養されたレポーター細胞と比較した場合、ＧＮ－ＢＳで処理された好中球はＴＲＥＭ１を活性化した。重要なことに、Ｔ１－６３及び－６２は、未処理の好中球と共培養されたレポーター細胞においてＧＦＰ発現を増強しなかったことから、これらの抗体（Ｔ１－６２及び－６３）は、活性化された一次好中球から発現された天然リガンドにより誘導されたＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を増強できたことが示される。

【０４５７】

図９Ｄは、濃度を増加させた可溶性抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－３４、－２２、－４０、及び－３９が、ＰＧＮ－ＳＡで処理された好中球及び濃度を増加させたアイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ１）と共培養されたレポーター細胞と比較した場合、ＰＧＮ－ＳＡで処理されたヒト一次好中球と共培養されたレポーター細胞において、リガンドにより誘導されたＧＦＰ発現を阻害することを示す。したがって、これらの抗体は、活性化された一次好中球から発現された天然リガンドにより誘導されたＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写に拮抗することができた。

【０４５８】

これらの結果は、図７Ａ－Ｂ及び図８Ａ－Ｃの結果と併せて、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体とＴＲＥＭ１リガンドとの組合せにより誘導されたＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写における増加したレベルが、抗ＴＲＥＭ１抗体単独とＴＲＥＭ１リガンド単独により誘導されたレベルとを足した場合に予測されるＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写における累積的なレベルより大きかったことから、本明細書において同定されたある特定のアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の天然リガンド、例えば組換えヒトＰＧＬＹＲＰ－１、及び活性化された好中球上で発現されるリガンドなどとの相乗作用を示してＴＲＥＭ１依存性の遺伝子転写を増強することを実証する。

【０４５９】

実施例９：　ＴＲＥＭ１抗体は免疫細胞において呼吸バーストを誘導する

ＴＲＥＭ１抗体のアゴニスト機能を、一次ヒト先天性免疫細胞（例えば、単球及び好中球）において評価した。

【０４６０】

抗ＴＲＥＭ１及びアイソタイプコントロール抗体をＰＢＳ中に溶解させ、組織培養物で処理された９６ウェルのプレート上に１０μｇ／ｍｌの濃度でプレーティングし、４℃で一晩インキュベートして、抗体をプレートに吸着させた。プレートを洗浄した後、末梢血単核細胞から得られた一次単球を、プレートと結合した抗体上に播種した。活性酸素種（ＲＯＳ）の産生を検出するために、細胞を、２μＭの蛍光色素ＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡで標識した。ＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡの存在下、３７℃での抗体媒介性刺激の１時間後、細胞における相対蛍光単位を、励起波長４９５ｎｍ及び発光波長５３０ｎｍで測定した。培地単独中で及び／又はプレートと結合したアイソタイプコントロール抗体（ｈｕＩｇＧ１）と共にインキュベートされた標識細胞のバックグラウンド蛍光を引くことによって、刺激された細胞の具体的な蛍光指標を得た。ＢｉｏＴｅｋ　Ｓｙｎｅｒｇｙ（商標）マイクロプレートリーダーでＧＥＮ５（商標）２．０４ソフトウェアを使用してプレートを読んだ。

【０４６１】

一次ヒト単球をプレートと結合した架橋抗ＴＲＥＭ１抗体で刺激した場合、図１０Ａの結果は、試験された全ての抗体が、アイソタイプコントロール（ｈｕＩｇＧ）で刺激された細胞と比較して、様々な程度に呼吸バーストを誘導したことを示す。さらに、ヒトＴＲＥＭ１：ＮＦＡＴ－ＧＦＰレポーター細胞を用いて実行された前のアッセイでＴＲＥＭ１を不十分に活性化したプレートと結合した抗体、例えばＴ１－１２、－１８、－１９、－２１、及び－７７もまた、単球におけるＲＯＳ産生を弱く刺激した。それに対して、プレートと結合した抗体Ｔ１－１０、－７１、及び－７６は、単球において最大レベルのＲＯＳ

を誘導したが、これは、レポーター細胞においてＧＦＰを誘導するそれらの能力と相関する。

【０４６２】

単球上で発現されたＦｃγＲが、プレートと結合した全長抗ＴＲＥＭ１抗体によるＴＲＥＭ１媒介のＲＯＳ産生を不明確にするかどうかを確認するために、本発明者らは、これらの抗体及びアイソタイプコントロールのＦａｂ断片を生成した。Ｆａｂ断片を、組織培養物で処理された９６ウェルのプレート上に１０μｇ／ｍｌの濃度でプレーティングし、４℃で一晩インキュベートして、プレートに吸着させた。プレートを洗浄した後、末梢血単核細胞から得られた一次単球を、プレートと結合したＦａｂ断片上に播種した。活性酸素種（ＲＯＳ）の産生を検出するために、細胞を、２μＭの蛍光色素ＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡで標識した。ＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡの存在下、３７℃でのＦａｂ媒介性刺激の１時間後、励起波長４９５ｎｍ及び発光波長５３０ｎｍで細胞における相対蛍光単位を測定した。培地単独中で及び／又はプレートと結合したアイソタイプコントロールＦａｂと共にインキュベートされた標識細胞のバックグラウンド蛍光を引くことによって、刺激された細胞の具体的な蛍光指標を得た。ＢｉｏＴｅｋ　Ｓｙｎｅｒｇｙ（商標）マイクロプレートリーダーでＧＥＮ５（商標）２．０４ソフトウェアを使用してプレートを読んだ。

【０４６３】

図１０Ｂにおいて、全体的な観察として、プレートと結合したＦａｂ断片で刺激された単球におけるＲＯＳ産生は、プレートと結合した全長抗体より低いようであり、これは、このアッセイにおいてＦｃγＲが部分的に寄与することを示す。それにもかかわらず、ある特定のクローン、例えばＴ１－３３、－３９、－５７、及び－７１からのＦａｂ断片はそれでもなお口バストな呼吸バーストを誘導することから、ＴＲＥＭ１活性化は単独でもＲＯＳ産生にとって十分であることが実証される。全長様式の場合と同様に、Ｔ１－１２及びＴ１－７７のＦａｂ断片も、単球におけるＲＯＳを弱く誘導する。

【０４６４】

図１０Ｃにおいて、一次ヒト好中球を、２０μｇ／ｍＬの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体又はヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロールで刺激し、２μＭのＣＭ－Ｈ２ＤＣＦＤＡで３７℃で１時間標識して、ＴＲＥＭ１媒介のＲＯＳ産生をモニターした。ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６２、－７１、－７６、及び－５７は、レポーター細胞でなされたＴＲＥＭ１活性化の観察と一致して、溶液中で高度なアゴニストであることを証明した。対照的に、ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－６３、－４０、－３４、－２２、－６１、－５９、及び－７９は、溶液中でもＴＲＥＭ１媒介の呼吸バーストを弱く活性化したが、これもまた、レポーター細胞で実行されたアッセイと一致する。レポーター細胞を用いた場合のそれらの弱いアゴニスト活性に反して、ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－７７、－３９、及び－５１は、好中球においてＲＯＳ産生を強く刺激した。

【０４６５】

好中球は、ネトーシスと呼ばれる固有な形態の細胞死を受けるが、これは、核のＤＮＡが細胞外空間に押し出されて、ＮＥＴ（好中球細胞外トラップ）と呼ばれるウェブ様のトラップを形成することを特徴とする。文献における実質的な証拠によれば、活性化された好中球からのＲＯＳ産生がＮＥＴ形成を刺激することが確立されている。図１０Ｄにおいて、細胞を、２０μｇ／ｍＬの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体又はヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロールと共に３７℃で一晩インキュベートした。好中球から放出された細胞外ＤＮＡを、膜不浸透性の蛍光ＤＮＡ挿入剤である５μＭのＳｙｔｏｘ　Ｇｒｅｅｎを添加することによって検出した。上清中の相対蛍光単位を、励起波長４９０ｎｍ及び発光波長５２５ｎｍで測定した。刺激された細胞の具体的な蛍光指標を、培地単独中で及び／又はアイソタイプコントロールと共にインキュベートされた標識細胞のバックグラウンド蛍光を引くことによって得た。ＢｉｏＴｅｋ　Ｓｙｎｅｒｇｙ（商標）マイクロプレートリーダーでＧＥＮ５（商標）２．０４ソフトウェアを使用してプレートを読んだ。結果から、溶液中でＲＯＳ産生を誘導することが可能なアゴニストＴＲＥＭ１抗体、例えばＴ１－６２、－７１、－７６、－７７、－５７、及び－５１はまた、一次ヒト好中球から放出された無

細胞の細胞外ＤＮＡの量も増加させることが実証される。対照的に、溶液中でＴＲＥＭ１を活性化しないＴ１－６３と共にインキュベートした好中球は、細胞外ＤＮＡを放出することができなかった。

【０４６６】

総合すると、図１０Ａ－Ｄに提示される結果は、アゴニストＴＲＥＭ１抗体が、一次ヒト細胞に作用して、ＲＯＳ産生及びＮＥＴ形成などのＴＲＥＭ１媒介プロセスを活性化することを確立する。重要なことに、ＴＲＥＭ１抗体は、活性のために表面受容体をクラスター化するために組織培養プレート上への吸着に依存することなく、むしろ溶液中でアゴニスト特性を保持する。

【０４６７】

実施例１０： ＴＲＥＭ１抗体はＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを減少させる

免疫細胞の表面上で発現されたある特定のＩＴＩＭ／ＩＴＡＭ受容体を標的化する抗体は、単球、マクロファージ、樹状細胞、好中球、及び／又は小グリア細胞上の受容体の表面レベルを低減できると考えられる。

【０４６８】

ヒト一次単球（ｈｕＭｏｎｏ）及び好中球上におけるＴＲＥＭ１の細胞表面発現を低減する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価した。ヒト単球又は好中球を、９６ウェルの組織培養プレート中で、単独又は１０μｇ／ｍｌの可溶性抗ＴＲＥＭ１抗体若しくはアイソタイプコントロール抗体の存在下の何れかで培養した。翌日、ｈｕＭｏｎｏ又は好中球を、ＦＡＣＳによって、細胞表面上のＴＲＥＭ１発現について分析した。ＴＲＥＭ１発現を、市販の抗ヒトＴＲＥＭ１抗体（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、Ｔｒｅｍ－２６）又はフルオロフォアがコンジュゲートしたＭａｂ０１７０の何れかを使用して検出した。

【０４６９】

図１１Ａで示されるように、ほとんどのＢｉｎ１カテゴリーからの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体が、アイソタイプコントロール（ｈＩｇＧ１及びｈＩｇＧ４）で処理された細胞と比較した場合、一次ｈｕＭｏｎｏにおいて、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを≧７０％低減した。同様に、図１１Ｂは、Ｂｉｎ１カテゴリーからの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－２、－１２、－３３、－３４、－５６、－５７、－７１、－７５、－７６、及び－７７が、アイソタイプコントロール（ｈＩｇＧ１）で処理された細胞と比較した場合、一次ヒト好中球において、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを≧６５％低減したことを実証する。

【０４７０】

図１１Ｃは、Ｂｉｎ２カテゴリーからのほとんどの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体が、アイソタイプコントロール（ｈＩｇＧ）で処理された細胞と比較した場合、ＴＲＥＭ１の細胞表面レベルを≧５０％低減したことを実証する。全体的な観察として、Ｂｉｎ１からの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体は、ＴＲＥＭ１の細胞表面発現を、Ｂｉｎ２からの可溶性全長抗ＴＲＥＭ１抗体より大きい程度に下方制御した。

【０４７１】

実施例１１： ＴＲＥＭ１リガンドは免疫細胞生存を増加させる

ｉｎ ｖｉｔｒｏでの細胞生存

ＴＲＥＭ１が遺伝学的に欠乏したナイーブマウスは、野生型マウスと比較して、骨髄区画内の細胞生存低減に関する内因性の素因がないことが解明されている。しかしながら、数々の研究によれば、炎症状態で、ＴＲＥＭ１ノックアウトマウスは、影響を受けた組織への好中球浸潤の減少を示すことが実証されている。これらの観察は、ＴＲＥＭ１は、好中球の移動能力又はそれらの炎症中の生存の何れかにおいて機能する可能性があることを示唆する。ｉｎ ｖｉｔｒｏでの免疫細胞生存に影響を与えるＴＲＥＭ１リガンドの能力を評価するために、一次ヒト単球又は好中球を、ヒトＰＧＬＹＲＰ１、ＰＧＮ－ＢＳ、可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体、又はＬＰＳの存在又は非存在下で、３７℃２０時間培養した。ルシフェラーゼベースのアッセイキット（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ；Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造元の説明書に従って使用して、細胞の生存率を代謝活性のインジケーターであるＡＴＰの定量によって決定した。ＢｉｏＴｅｋ Ｓｙｎｅｒｇｙ（商標）マイクロプ

レートリーダーでＧＥＮ５（商標）２．０４ソフトウェアを使用して、発光を測定した。
【０４７２】
図１２Ａで示されるように、一次ヒト単球を、ＰＧＮ－ＢＳ（１０μｇ／ｍｌ）又はＬＰＳ（１μｇ／ｍｌ）などのＴＬＲリガンドで刺激することは、代謝的に活性な細胞を、細胞生存の改善を示す未処理細胞に比べて～３倍増加させた。同様に、ヒトＰＧＬＹＲＰ１（１０μｇ／ｍｌ）又はｈＰＧＬＹＲＰ１／ＰＧＮ－ＢＳからなる可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体で単球を処理することも、代謝的に活性な細胞を、未処理細胞と比べて～３倍に増強した。図１２Ｂで示されるように、一次ヒト好中球をＴＬＲリガンドで刺激することは、対照的な結果をもたらした。ＬＰＳ（１μｇ／ｍｌ）処理が、代謝的に活性な細胞を未処理細と比べて～１．５倍増加させたのに対して、ＰＧＮ－ＢＳ（１０μｇ／ｍｌ）処理は、代謝的に活性な細胞を未処理細胞と比べて～５５％減少させた。ＰＧＮ－ＢＳとは対照的に、好中球をヒトＰＧＬＹＲＰ１単独（１０μｇ／ｍｌ）で刺激することは、代謝的に活性な細胞を未処理細胞と比べて～１．５倍増加させた。ＰＧＬＹＲＰ１とＰＧＮ－ＢＳとを組み合わせて可溶性ＴＲＥＭ１リガンド複合体を形成する場合、代謝的に活性な細胞の減少が未処理細胞と比べてわずか２２％であることから、ＰＧＬＹＲＰ１は、ＰＧＮ－ＢＳにより媒介される表現型を部分的に逆転させる。したがって、ＴＲＥＭ１のライゲーションは、ＰＧＮによって誘導された好中球の細胞死を阻害すると考えられる。
【０４７３】
抗ＴＲＥＭ１抗体の、リガンドと相乗作用して代謝的に活性な好中球の比率を増加させる能力を評価するために、細胞を、抗ＴＲＥＭ１抗体Ｔ１－３４、－６３、－７１、及び－７６又はアイソタイプコントロールのヒトＩｇＧ１（ｈｕＩｇＧ１）の存在下で、１０μｇ／ｍｌのＰＧＮ－ＢＳ又は１０μｇ／ｍｌのＰＧＮ－ＢＳと複合体化した５００ｎＭのｈＰＧＬＹＲＰ１の何れかと共に培養した。３７℃で２０時間インキュベートした後、ルシフェラーゼベースのアッセイキット（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ；Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造元の説明書に従って使用して、細胞の生存率を、ＡＴＰの定量によって決定した。図１２Ｃで示されるように、一次ヒト好中球をＰＧＮ－ＢＳで処理することは、ｈｕＩｇＧ１又は抗ＴＲＥＭ１抗体の存在下で、代謝活性を未処理好中球と比べて～５５％減少させた。可溶性リガンド複合体の形態でＰＧＬＹＲＰ１をＰＧＮ－ＢＳと共に添加することは、アイソタイプコントロールの存在下で、好中球の生存率を、ＰＧＮ－ＢＳ単独と比べて～３３％増加させた。しかしながら、好中球を、ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－３４及びＴ１－７１の存在下でリガンド複合体で処理することは、細胞の生存率を、ＰＧＮ－ＢＳ刺激単独と比べてそれぞれ～６０％及び～５０％増加させた。ＴＲＥＭ１抗体、Ｔ１－６３及びＴ１－７６は、リガンド複合体の存在下で、生存率を、ＰＧＮ－ＢＳ単独で処理された好中球と比べて４０－４５％増加させることによって、より軽度の活性を示した。したがって、ＴＲＥＭ１抗体は、リガンドと共に、ペプチドグリカンによって誘導された好中球の細胞死を阻害するように作用する。
【０４７４】
実施例１１： 遺伝子発現を誘導するか又は天然リガンドにより誘導された遺伝子発現を増強するＴＲＥＭ１アゴニスト抗体の要約
抗ＴＲＥＭ１抗体は、ルシフェラーゼレポーター遺伝子によって測定した場合、ヒトＴＲＥＭ１を発現する細胞においてＴＲＥＭ１依存性遺伝子発現をモジュレートすることにおいて、溶液中又は抗体のクラスター化後（すなわちプレート結合によって）の何れかでアゴニスト又はアンタゴニスト活性を実証した（表１Ｂ）。ＴＲＥＭ１抗体のサブセットは、プレートと結合した場合、アゴニスト活性を呈示する。ＴＲＥＭ１抗体の別のサブセットは、溶液中の場合、アゴニスト活性を呈示する。ＴＲＥＭ１抗体の第３のサブセットは、可溶性の非架橋抗体のアンタゴニスト作用を呈示する。
【０４７５】
実施例１２： ｉｎ ｖｉｖｏで免疫細胞の補充を増加させることにおけるＴＲＥＭ１抗体の作用の分析
抗体単独又はＬＰＳとの組合せの何れかの腹膜内（ＩＰ）投与の後における、Ｃ５７Ｂｌ

６マウスの腹膜腔（ＰＥＣ）における炎症細胞（好中球、顆粒球、単球、及びマクロファージ）の補充をモジュレートするＴＲＥＭ１抗体の能力を評価した。簡単に言えば、まずマウスに、４０ｍｇ／ｋｇの抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロール抗体であるｍＩｇＧ１（クローンＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｘｃｅｌｌ）のＩＰ注射を与えた。１４時間後、マウスに、４ｍｇ／ｋｇのＬＰＳ、又はコントロールとしてＰＢＳのＩＰ注射を与えた。ＬＰＳ又はＰＢＳ注射の６時間後、細胞を、記載された通りにＰＥＣから回収し（例えば、Gawish Rら、2014 FASEB Jを参照のこと）、ＦＡＣＳによって分析した。ＦＡＣＳ分析のために、ＰＥＣ細胞を、抗ＣＤ１１ｂ－パシフィックブルー、抗ＣＤ１１ｃ－ＰｅＣｙ７、抗ＭＣＨ－ＩＩ－ＡＰＣＣｙ７、抗Ｇｒ１－ＦＩＴＣ、抗Ｌｙ６Ｇ－ＰＥ及び生死判定色素（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号Ｌ３４９５７）と共に氷上で１時間インキュベートし、次いで冷ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した。次いで４％ＰＦＡ固定サンプルを得た。ＢＤ　ＦＡＣＳ　ＣＡＮＴＯ　ＩＩ血球計算器（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）でデータを得て、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いて分析した。

【０４７６】

実施例１３：　ＴＲＥＭ１抗体はマウスにおいて可溶性ＴＲＥＭ１のレベルを増加させるＴＲＥＭ１の細胞外部分は、可溶性の形態（ｓＴＲＥＭ１）に変えることができ、したがって血漿及び髄液（ＣＳＦ）中で検出できると考えられる。また、アルツハイマー病又は前頭側頭認知症を有する個体において、ＣＳＦ中のｓＴＲＥＭ１の量は、健康なコントロール個体と比較して低いとも考えられている。

【０４７７】

マウスにおけるｓＴＲＥＭ１の血清レベルに対する抗ＴＲＥＭ１抗体の作用を決定するために、マウスの血液中に存在するｓＴＲＥＭ１の量を、可溶性抗ＴＲＥＭ１抗体の注射後の２、４、８及び１５日に測定した。ｓＴＲＥＭ１の血清レベルを、標準的なＥＬＩＳＡ方法を使用して測定した。簡単に言えば、Ｉｍｍｕｌｏｎ　ＥＬＩＳＡ９６ウェルプレートを、２μｇ／ｍｌの捕獲抗ＴＲＥＭ１抗体１００μｌで４℃で一晩コーティングした。翌朝、プレートを２００μｌの洗浄緩衝液（ＰＢＳ＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）で３回洗浄した。次いでプレートを、オービタルシェーカーで、３００μｌの結合緩衝液（ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ）の添加によって室温で１時間遮断した。その後、血清サンプル（１：１２希釈）及び標準（組換えマウスＴＲＥＭ１、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を、１００μｌの結合緩衝液中に添加し、プレートを室温で１時間インキュベートした。次いでプレートを２００μｌの洗浄緩衝液で３回洗浄した。検出ビオチン化ラット抗ＴＲＥＭ１（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｐｉｅｒｃｅからのマイクロ－ＮＨＳ－Ｐｅｇ４－ビオチン化キットでビオチン化した）を、１００μｌの結合緩衝液中に１：１０，０００で添加し、オービタルシェーカーで、室温で１時間インキュベートした。次いでプレートを２００μｌの洗浄緩衝液で３回洗浄した。プレートに、結合緩衝液中１：２００のストレプトアビジン－ＨＲＰ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）１００μｌを添加し、オービタルシェーカーで２０分インキュベートした。次いでプレートを２００μｌの洗浄緩衝液で３回洗浄し、１００□ｌのＴＭＢ基質（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｐｉｅｒｃｅ）を添加し、発色するまでプレート振盪機上でインキュベートした。５０□ｌの硫酸の添加によって反応を止め、Ｂｉｏｔｅｋ　Ｓｙｎｅｒｇｙ　Ｈ１プレートリーダーを使用して色を定量した。

【０４７８】

抗ＴＲＥＭ１抗体注射後の２、４、８及び１５日におけるマウスの血清中に存在する抗ＴＲＥＭ１抗体の量を決定するために、標準的なＥＬＩＳＡ方法を利用した。簡単に言えば、ＥＬＩＳＡプレートを、０．１ｕｇ／ウェルの組換えマウスＴＲＥＭ１タンパク質で、炭酸コーティング緩衝液（ｐＨ９．６）中１００μＬ／ウェルで４℃で一晩コーティングした。次いでプレートを洗浄し、ＰＢＳ中の３％脱脂乳で室温で１時間遮断し、次いで洗浄した。マウス血清サンプルをＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ中で滴定し、１００μＬ／ウェルでプレートに添加し、振盪しながら３７℃で１時間インキュベートした。抗ＴＲＥＭ１抗体を、ヤギ抗マウスＩｇＧ１－ＨＲＰ二次を使用して検出し、ＴＭＢ基質で展開した。規定量

の抗ＴＲＥＭ１抗体をナイーブマウスの血清でスパイクし、滴定して、検量線を得た。
【０４７９】
実施例１５： アルツハイマー病のマウスモデルにおける抗ＴＲＥＭ１抗体の作用の分析
炎症性遺伝子
ＡＰＰＰＳ１マウスの脳の異なる領域で炎症性遺伝子の発現をモジュレートする抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を、抗ＴＲＥＭ１抗体の頭蓋内（ＩＣ）投与後に評価した。ＡＰＰＰＳ１マウスは、何れもＴｈｙ１プロモーターの調節下で、スウェーデン突然変異（Ｋ６７０Ｎ、Ｍ６７１Ｌ）を有するＡＰＰ及びＬ１６６Ｐ突然変異を含有するＰＳＥＮ１の両方に関するヒト導入遺伝子を含有する。１グループ当たり５匹のマウスに、抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロール抗体であるｍＩｇＧ１（クローンＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｘｃｅｌｌ）の１ｍｇ／ｍｌ溶液２ｕｌのＩＣ注射を、記載された通りに与えた（Wilcock DMら、(2003) J Neurosci 23:3745;Wilcock DMら、(2004) Neurobiol Dis 15:11;Sudduthら、(2013) J. Neurosc、33、9684。具体的には、外科手術の日にマウスの体重を量り、イソフルランで麻酔し、定位装置（５１７３３Ｄデジタルデュアルマニピュレーターマウス定位フレーム；Ｓｔｏｅｌｔｉｎｇ）に入れた。正中矢状の切開を行って頭蓋を露出させ、定位フレーム中に搭載した歯科用ドリルで前頭皮質及び海馬の上の以下の座標に４つの穿頭孔を開けた：前頭皮質、前後方向＋１．７ｍｍ、横方向±２．０ｍｍ；海馬、前後方向－２．７ｍｍ；横方向２．５ｍｍ、全てブレグマから採取。注射しようとする溶液を含有する１０ｍｌのＨａｍｉｌｔｏｎシリンジ（Ｈａｍｉｌｔｏｎ）に取り付けられた２６ゲージの針をブレグマの３．０ｍｍ腹側に下げ、２分間にわたり２μｌの注射を行った。切開部をクリーニングし、外科的ステープルで閉じた。注射から３日後、マウスを塩類溶液で灌流し、脳の右半球を前頭皮質、海馬、脳の残部に切り分け、急速冷凍した。トリゾールプラスＲＮＡ精製システム（Ａｍｂｉｏｎ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製造元の説明書に従って使用して、左の海馬からＲＮＡを抽出した。ＢｉｏＳｐｅｃナノ分光光度計（島津）を使用してＲＮＡを定量し、ｃＤＮＡ Ｈｉｇｈ Ｃａｐａｃｉｔｙキット（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を製造元の説明書に従って使用してｃＤＮＡを逆転写した。リアルタイムＰＣＲを、目的の遺伝子のＩＬ－１ｂ、ＩＬ－６、ＴＮＦａ、ＩＬ－１２、ＹＭ－１、ＩＬ－１Ｒａ、ＭＲＣ１、ＩＬ－１０、ＣＤ８６、ＦＣＧＲ１Ｂ、及びＴＧＦｂのためのＴａｑＭａｎ（登録商標）遺伝子発現プローブを含有する３８４ウェルの微小流体工学カードカスタムＴａｑＭａｎ（登録商標）アッセイ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して実行した。全ての遺伝子発現データを１８Ｓ ｒＲＮＡ発現に正規化した。変化倍数を、ΔＣＴ方法を使用して決定した。データは、平均±ＳＥＭとして提示される。統計的分析は、ＪＭＰ統計的分析プログラム（ＳＡＳ）を使用して実行される。ｐ値が０．０５より低い場合、統計的有意性を割り当てた。必要に応じて、一元配置ＡＮＯＶＡ及び二元配置ＡＮＯＶＡを使用して、時間経過に沿った処理の差及び処理グループ内の差を検出した。
【０４８０】
アミロイドベータペプチド
ＡＰＰＰＳ１マウスの脳の異なる領域におけるアミロイドベータ（Ａベータ）ペプチドの量を低減する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を、抗ＴＲＥＭ１抗体の頭蓋内（ＩＣ）投与後に評価した。１グループ当たり５匹のマウスに、抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロール抗体であるｍＩｇＧ１（クローンＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｘｃｅｌｌ）の１ｍｇ／ｍｌ溶液２ｕｌのＩＣ注射を与えた。Ａベータペプチドの定量、３日のポット注射（pot injection）のために、致死量のペントバルビタールを注射した後、２５ｍｌの規定食塩液でマウスの心臓内を灌流した。脳を迅速に取り出し、正中矢状の面で二等分した。左半分を、新たに調製された４％パラホルムアルデヒド中で浸漬固定した。右半分を前頭皮質及び海馬に切り分け、これを単離し、液体窒素中で急速冷凍し、－８０℃で貯蔵した。低温保護としての一連の１０、２０、及び３０％スクロース溶液に左半分の脳を通過させ、スライド式マイクロトームを使用して２５μｍの凍結した水平断片を収集し、４℃でアジ化ナトリウムを含有するＰＢＳ中に浮遊させた状態で貯蔵した。推測の注射部位間に３００μ

mの間隔を設けた断片をまず搭載し、クレシルバイオレットによって染色して、注射部位を識別した。全てのそれに続く組織学及び免疫組織化学のために、注射部位間に１００μmの間隔を設けた６つの断片を選択し、分析した。Ａベータのための浮遊性の免疫組織化学（ウサギポリクローナル抗体Ａβ１-１６；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を実行した。陽性染色によって占められた領域のパーセントを、ニコンのエレメントであるＢＲソフトウェアを使用して計算した。

【０４８１】

ＦＡＤマウスのアルツハイマー病モデル

抗ＴＲＥＭ１抗体の、アルツハイマー病（ＡＤ）の発症を遅延させる、予防する、又は逆転させる能力を評価するために、５Ｘ　ＦＡＤマウスを使用する。５Ｘ　ＦＡＤマウスは、スウェーデン（Ｋ６７０Ｎ、Ｍ６７１Ｌ）、フロリダ（Ｉ７１６Ｖ）、及びロンドン（Ｖ７１７Ｉ）家族性アルツハイマー病（ＦＡＤ）突然変異を有する突然変異ヒトＡＰＰ（６９５）を、２つのＦＡＤ突然変異、Ｍ１４６Ｌ及びＬ２８６Ｖを有するヒトＰＳ１と共に過剰発現する。両方の導入遺伝子は、マウスＴｈｙ１プロモーターによって、脳での過剰発現を駆動させＡＤの主要な特徴を再現するように制御される。マウスは、１４週齢から開始して、５０ｍｇ／ｋｇの抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロール抗体であるｍＩｇＧ１（クローンＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｘｃｅｌｌ）で週１回処理される。免疫組織化学を用いて、さらに組織抽出物のＥＬＩＳＡによって、マウスをＡベータ斑の負荷量について試験する。マウスをさらに、脳中の小グリア細胞の数及び認知障害の低減について、モーリスの水迷路、空間学習及び記憶課題、放射アーム水迷路、空間学習及び記憶課題、Ｙ迷路（空間認知の尺度としての自発的交替行動を定量する）、オープンフィールドにおける嗜好性、評価学習に対するオペラント学習、並びにメモリー、及び恐怖条件付け（mousebiology.orgのウェブサイト；Wangら、(2015) Cell. pii: S0092-8674(15)00127-0）を使用して試験する。

【０４８２】

Ｔｇ２５７６マウスのアルツハイマー病モデル

抗ＴＲＥＭ１抗体の、アルツハイマー病（ＡＤ）の発症を遅延させる、予防する、又は逆転させる能力を評価するために、Ｔｇ２５７６マウスが使用される。Ｔｇ２５７６マウスは、スウェーデン突然変異（ＫＭ６７０／６７１ＮＬ）を有するＡＰＰ（アイソフォーム６９５）の突然変異形態を過剰発現する。マウスは、９８－９９週齢から開始して、５０ｍｇ／Ｋｇ抗ＴＲＥＭ１抗体又はアイソタイプコントロール抗体であるｍＩｇＧ１（クローンＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｘｃｅｌｌ）で週１回処理される。免疫組織化学を用いて、さらに組織抽出物のＥＬＩＳＡによって、マウスをＡベータ斑の負荷量について試験する。マウスをさらに、脳中の小グリア細胞の数及び認知障害の低減について、モーリスの水迷路、空間学習及び記憶課題、放射アーム水迷路、空間学習及び記憶課題、Ｙ迷路（空間認知の尺度としての自発的交替行動を定量する）、オープンフィールドにおける嗜好性、評価学習に対するオペラント学習、並びにメモリー、及び恐怖条件付け（mousebiology.orgのウェブサイト；Wangら、(2015) Cell. pii: S0092-8674(15)00127-0）を使用して試験する。

【０４８３】

実施例１６：　腫瘍微小環境におけるＴＲＥＭ１発現

３匹のＣ５７Ｂｌ６又はＢＡＬＢ／ｃマウス（雌、８週齢）のグループの皮下を、１００ｕｌのＰＢＳに懸濁した１×１０^{6}個のＭＣ３８若しくはＣＴ２６結腸癌腫細胞、又はＥＭＴ－６マウス乳癌腫細胞で攻撃した。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。腫瘍が７００－１０００ｍｍ^{3}のサイズに達したら、腫瘍を体外培養して、腫瘍微小環境におけるＴＲＥＭ１発現をＦＡＣＳによって分析した。比較として、腫瘍を有するマウスの脾臓又はナイーブマウスのコントロール脾臓も分析した。ＦＡＣＳによる発現分析のために、腫瘍及び脾臓を１ｍｇ／ｍｌコラゲナーゼを含有するＰＢＳ中でインキュベートし、次いでセルストレーナー（ｃｅｌｌ　ｓｔｒａｉｎｅｄ）を介して加工し、単一の細胞懸濁液を得た。次いで細胞を、抗ＣＤ４５－ＰｅｒＣｐ－Ｃｙ７、抗ＣＤ１１ｂ－Ｐｅｒ

ＣＰ－Ｃｙ５．５、抗ＣＤ３－ＰＣ、抗Ｇｒ１－ＦＩＴＣ、抗ＮＫ１．１－ＰＥ、抗ＴＲＥＭ１－ＡＰＣ抗体及び生死判定色素（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号Ｌ３４９５７）と共に氷上で３０分インキュベートし、次いで冷冷ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した。次いで４％ＰＦＡ固定サンプルを得た。ＢＤ　ＦＡＣＳ　ＣＡＮＴＯ　ＩＩ血球計算器（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）でデータを得て、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いて分析した。

【０４８４】

図１３で示されるように、ＴＲＥＭ１は、ＥＭＴ－６腫瘍中のＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ１－細胞の５０－６０％で高度に上方制御されたが、脾臓では高度に上方制御されなかったことが見出された。ＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ１＋ＭＤＳＣ細胞は、腫瘍と脾臓の両方で高いレベルのＴＲＥＭ１を発現する。

【０４８５】

表８に要約したように、ＴＲＥＭ１は、ＣＤ４５＋ＣＤ３－ＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ１－骨髄細胞（これらは、マクロファージ、単球、及び樹状細胞を包含する）の～１０－６０％、並びにＭＣ３８、ＣＴ２６及びＥＭＴ６腫瘍に浸潤するＣＤ４５＋ＣＤ３－ＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ１＋骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）の～４０－７０％で細胞表面上において発現されることが見出された。ＴＲＥＭ１は、腫瘍を有するマウス又はナイーブマウスの脾臓中のＣＤ１１ｂ＋Ｇｒ１－細胞において発現されないことが見出された。これらの結果は、Ｂ１６、ＭＣ３８、ＣＴ２６、及びＥＭＴ－６腫瘍が、骨髄細胞及びＭＤＳＣのサブセットにおいてＴＲＥＭ１の細胞表面発現を刺激することを示す。

表 8:腫瘍微小環境における TREM1 発現

マーカー	細胞型	B16	マディソン	CT26	EMT-6	MC38
CD45+CD3+ NK1.1−	T 細胞	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
CD45+CD3− NK1.1−CD11b +Gr1−	骨髄細胞	脾臓と比較した腫瘍における陽性の最小の増加%(0%から~10)	脾臓と比較した腫瘍における陽性の最小の増加%(0%から~10)	脾臓と比較した腫瘍における陽性の最小の増加%(0%から~10−20%)	脾臓と比較した腫瘍における陽性の増加%(**0%から~50−60%**)	脾臓と比較した腫瘍における陽性の増加%(**10%から~50−60%**)
CD45+CD3− NK1.1−CD11b +Gr1+	MDSC	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(**~40−70%**)	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(~30−40%)	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(~30−40%)	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(**~60−70%**)	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(~20−70%)
CD45+CD3− NK1.1−CD11c +	DCs	陰性	陰性(腫瘍では低い?)	陰性(腫瘍では低い?)	n.d.	脾臓と比較した腫瘍における類似の陽性%(0%から~60−70%)
CD45−	腫瘍/脈管構造	陰性	陰性	陰性	陰性	n.d.

【０４８６】

実施例１７： ＴＲＥＭ１欠失マウスにおける腫瘍増殖の分析

ＴＲＥＭ１野生型（ＷＴ、ｎ＝１１）及びＴＲＥＭ１ノックアウト（ＫＯ、ｎ＝１４）マウス（性別及び年齢を適合させた同腹子、１０週齢（＋／－２週間））のグループの皮下を、１００ｕｌのＰＢＳに懸濁した１×１０^{6}個のＭＣ３８結腸癌腫腫瘍細胞で攻撃した。埋め込みの前にマウスをイソフルランで麻酔した。５日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定した。実験の評価項目は、２０００ｍｍ^{3}の腫瘍体積又は６０日である。経時的な腫瘍サイズ（体積、ｍｍ^{3}として示される）が転帰尺度である。

【０４８７】
実施例１８：　乳癌のマウスモデルにおけるＴＲＥＭ１抗体の抗癌作用の分析
８週齢（＋／－２週齢）の１０匹のＢＡＬＢ／ｃマウスのグループの皮下を、１００ｕｌのＰＢＳに懸濁した５×１０^{6}個のＥＭＴ－６腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、マウスのグループに、４０ｍｇ／ｋｇの抗ＴＲＥＭ１抗体を１日目、４日目、８日目、１５日目、及び２２日目にＩＰ注射する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００ｍｍ^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率％が転帰尺度である。腫瘍の取り込み及び増殖速度の低減、腫瘍浸潤性の免疫サプレッサーマクロファージの数の低減、及び腫瘍へのエフェクターＴ細胞流入の増加が、抗ＴＲＥＭ１抗体を遮断する抗癌作用を示す。
【０４８８】
実施例１９：　乳癌のマウスモデルにおける、ＴＲＥＭ１抗体を、阻害チェックポイントタンパク質又は阻害サイトカイン／ケモカイン及びそれらの受容体に対する抗体と組み合わせた併用療法の相加的な抗腫瘍作用の分析
８週齢（＋／－２週齢）の１０ＢＡＬＢ／ｃマウスのグループの皮下を１００ｕｌのＰＢＳに懸濁した５×１０^{6}個のＥＭＴ－６腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、マウスのグループに、１日目、４日目、８日目、１５日目、及び２２日目に４０ｍｇ／ｋｇの抗ＴＲＥＭ１抗体を単独で、又は８日目及び１１日目にチェックポイントタンパク質（例えば、抗ＰＤＬ１ｍＡｂクローン１０Ｆ．９Ｇ２及び／又は抗ＣＴＬＡ－４ｍＡｂクローン９Ｈ１０）に対する抗体と組み合わせてＩＰ注射する。処理グループは、抗ＴＲＥＭ１；抗ＣＴＬＡ－４；抗ＴＲＥＭ１＋抗ＣＴＬＡ－４及びアイソタイプコントロールを包含する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００ｍｍ^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率％が転帰尺度である。併用療法による腫瘍増殖の減少及び生存率パーセントの増加は、抗ＴＲＥＭ１抗体が、抗チェックポイント抗体との相加的又は相乗的な治療作用を有することを示す。チェックポイント分子に対するアンタゴニスト抗体は、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ－３、及びホスファチジルセリン（ＰＳ）に対する抗体を包含する。阻害サイトカインに対するアンタゴニスト抗体は、ＣＣＬ２、ＣＳＦ－１、及びＩＬ－２に対する抗体を包含する。
【０４８９】
実施例２０：　ＴＲＥＭ１抗体を刺激チェックポイントタンパク質を活性化する抗体と組み合わせた併用療法の相加的な抗腫瘍作用の分析
８週齢（＋／－２週齢）の１５匹のＣ５７Ｂｌ６／ＮＴａｃマウスのグループの皮下を、実施例１９に記載されたように腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、３日目、６日目、及び９日目に、マウスに、２００ｕｇの抗ＴＲＥＭ１抗体単独で、又は刺激チェックポイントタンパク質を活性化するアゴニスト抗体（例えば、ＯＸ４０又はＩＣＯＳ　ｍＡｂ）と組み合わせて３日毎に４用量で腹腔内注射する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００ｍｍ^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率パーセントが転帰尺度である。併用療法による腫瘍増殖の減少及び生存率パーセントの増加は、抗ＴＲＥＭ１抗体が、刺激チェックポイント抗体と相加的又は相乗的な治療作用を有することを示す。刺激チェックポイント抗体は、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０、及びＧＩＴＲに対するアゴニスト／刺激性の抗体を包含する。
【０４９０】
実施例２１：　ＴＲＥＭ１抗体を刺激性サイトカインと組み合わせた併用療法の相加的な抗腫瘍作用の分析
８週齢（＋／－２週齢）の１５匹のＣ５７Ｂｌ６／ＮＴａｃマウスのグループの皮下を、

実施例１９に記載されたように腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、マウスに、２００ｕｇの抗ＴＲＥＭ１抗体単独で、又は刺激性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１２、ＩＦＮ－ａ）と組み合わせて３日毎に４用量で腹腔内注射する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００mm^3の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率パーセントが転帰尺度である。併用療法による腫瘍増殖の減少及び生存率パーセントの増加は、抗ＴＲＥＭ１抗体が、免疫刺激性サイトカインとの相加的又は相乗的な治療作用を有することを示す。刺激性サイトカインは、ＩＦＮ－ａ／ｂ、ＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１８、ＧＭ－ＣＳＦ、及びＧ－ＣＳＦを包含する。

【０４９１】

実施例２２： 炎症性疾患のモデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性を、炎症性疾患のモデル、例えばリウマチ様関節炎又は別の炎症性疾患の確立されたモデル（Mizoguchi (2012) Prog Mol Biol Transl Sci.、105:263-320；及びAsquithら、(2009) Eur J Immunol. 39:2040-4）で試験する。

【０４９２】

実施例２３： ｉｎ ｖｉｖｏにおける動物全体のＥＡＥ及びクプリゾンからの保護

成体の７－９週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手）の尾の付け根の両側に、不完全フロイントアジュバント（Ｄｉｆｃｏ）中の１００μｇのミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質ペプチド３５-５５（アミノ酸ＭＥＶＧＷＹＲＳＰＦＳＲＶＶＨＬＹＲＮＧＫ（配列番号４９７）；Ｓｅｑｌａｂ）及び１ｍｇのヒト型結核菌Ｈ３７Ｒａ（Ｄｉｆｃｏ）を含有する２００μｌの接種材料を注射する。免疫化後の０日目及び２日目に百日咳毒素（２００ｎｇ；Ｌｉｓｔ Ｂｉｏ－ｌｏｇｉｃａｌ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）を注射する。臨床徴候は、以下のようにスコア付けされる：０、臨床徴候なし；１、完全な尾の引きずり；２、完全な尾の引きずり及び異常な歩行；３、１本の後肢の対不全麻痺；４、完全な後脚対不全麻痺；及び５、前肢及び後肢の麻痺又は瀕死。１４日目に疾患が発病したマウスのみ（１又はそれより高い臨床スコア）を実験に使用する。ＥＡＥ罹患マウスに、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体を、最初の臨床症状の日に、又は他のあらゆる望ましい時間に腹腔内又は静脈内注射する（PLoS Med (2007) 4(4): e124）。

【０４９３】

若い又は老化した野生型（ＷＴ）マウスに、０．２％クプリゾン（ＣＰＺ）、すなわち粉末化したシュウ酸ビス（シクロヘキシリデンヒドラジド）（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）を含有する標準的な餌（Ｈａｒｌａｎ）を４、６又は１２週間にわたり給餌する。組織学的及び免疫組織化学的分析のために、マウスを４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）で灌流した後、脳を取り出し、４％ＰＦＡ中で２４時間固定し、続いて３０％スクロース中に２４－４８時間浸漬する。ミエリンの完全性及びダメージ、加えて細胞増殖及び炎症を評価するために、断片又はマウス脳を、抗ＭＢＰ（１：１００；Ａｂｃａｍ、ａｂ７３４９）、－ｄＭＢＰ（１：２０００；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、ａｂ５８６４）、－βＡＰＰ（１：１００；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、５１－２７００）、－ＳＭＩ－３１（１：１０００；Ｃｏｖａｎｃｅ、ｓｍｉ－３１Ｒ）、－Ｉｂａ１（１：６００；Ｗａｋｏ、０１９－１９７４１）、－ＢｒｄＵ（１：２５０；Ａｂｃａｍ、７Ｅ５８９３）、－ＧＦＡＰ（１：２００；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、１３－０３００）、－ｉＮＯＳ（１：１００；ＢＤ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ、６１０３２９）、－ＬＰＬ（１：４００、Ｇ．Ｏｌｉｖｅｃｒｏｎａ博士より）及び－ＭＨＣＩＩ（１：１００；ＢＤ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ、５５３５４９）で染色した。抗体の行動に関する作用について、透明なポリスチレンの囲い及びコンピューター化された光束機器を使用してマウスを歩行活動について分析する。全般の活動変数（合計の歩行、垂直の立ち上がり）を費やした時間、移動距離及び進入などの情動性の指標と共に分析する。感覚運動性試験のバッテリーを実行して、バランス（出っ張り及

びプラットフォーム）、強度（さかさまのスクリーン）、協調（ポール及び傾斜したスクリーン）及び運動の開始（歩行の開始）を評価する。運動の協調及びバランスを、ロータロッドプロトコールを使用して研究する（Cantoniら、Acta Neuropathol (2015)129(3):429-47）。

【０４９４】

実施例２４： 外傷性脳損傷の確立された動物モデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性が、外傷性脳損傷の確立された動物モデルで試験する（Tanaka, Yら(2013) Neuroscience 231 49-60）。例えば、小グリア細胞及び星状細胞の活性化を誘導する外傷性脳損傷のモデルを使用する。８又は９週齢の雄Ｃ５７ＢＬ／６Ｊ ＷＴマウス又はプログラニュリンヘテロ接合型マウスを使用する（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ又はＪａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから購入）。滅菌塩類溶液中に溶解したキシラジン塩酸塩（８ｍｇ／ｋｇ）及び抱水クロラール（３００ｍｇ／ｋｇ）の腹膜内投与によってマウスを麻酔し、その後、定位装置（ナリシゲ、日本、東京）に入れた。頭皮を切開し、頭蓋を露出させる。頭蓋骨から骨膜を取り去り、歯科用ドリルを用いて右大脳半球上にドリルで穴を開け、針の先端で硬膜を除去する。外径０．５mmのステンレス鋼カニューレを使用して、右半球に縦の刺創を作る。カニューレを中線の１．３mm横方向、及びブレグマの１mm後方に配置し、先端が深さ２mmに達するまで脳に導入する。次いでカニューレを尾側に２mm（ブレグマ３mm）シフトさせ、次いでその最初の位置に対して吻側に２mm後ろにシフトさせる。最終的に、カニューレを脳から除去し、頭皮創傷を縫合した。

【０４９５】

代替として、改変された重り落下デバイスを使用する（Chen, Y.ら、(1996) J. Neurotrauma 13、557-568）。具体的には、イソフルラン麻酔後、中線を縦方向に切開し、頭蓋骨を露出させる。先端がテフロンの円錐体（直径２mm）を、冠状面中心の中線に対して１－２mm横方向に設置する。手で頭をその場に保持し、前もって固定された高さから円錐体上に９５ｇの重りを落下させ、その結果、左半球に局所的損傷が生じる。麻酔から回復した後、マウスをそれらのホームケージに戻し、術後ケアを行い、食物及び水を自由に摂取させる。偽コントロールを麻酔し、皮膚の切開のみを行った。４ｍｇ／ｍｌから０．５ｍｇ／ｍｌの範囲の抗体濃度で２５０ｕｌ／マウスの体積（体重１０グラム当たり１００ｕｌとして計算される）で腹膜内注射によって送達されたＴＲＥＭ１抗体で、マウスを処理する。コントロールＩｇＧ抗体を４ｍｇ／ｍｌの濃度で注射する。外傷性脳損傷－３日目、次いで１日目、７日目、１４日目、２１日目、２８日目に抗体を注射する。神経学的スコア（ＮＳＳ）は、経過観察の最後まで（４週間）、ＴＢＩ後の１時間（全てのグループにおける損傷の類似の重症度を定義し、確認するため）、次いで２４時間、及び３日目、５日目、７日目、並びに週１回に評価される。新規の物体認識試験を使用して、損傷後の４日目、１６日目、３２日目に認知機能を試験する。

【０４９６】

神経学的重症度スコア（ＮＳＳ）を記載された通りに実行する（Beni-Adani, L.ら、(2001) J. Neurotrauma 25、324-333; Tsenter, J.ら、(2008). J. Neurotrauma 25、324-333）。具体的には、ＮＳＳは、運動機能、注意力、及び挙動を反映する、オープンフィールド性能、ビーム歩行、バランス、及び片側不全麻痺の評価を包含する１０の個別のタスクからなる。タスク実行の失敗につき１ポイントが与えられ、成功の場合は０である。外傷後１時間のＮＳＳは、損傷の初期重症度を反映する。したがって、回復の程度（デルタＮＳＳ）は、損傷後１時間における初期のＮＳＳスコアとそれに続く任意のタイムポイントにおけるＮＳＳスコアとの差として計算される。

【０４９７】

新規物体認識試験（ＮＯＲＴ）は、ＴＢＩにおける認知異常を測定するための高感度で再現可能な試験である。マウスを、１時間の慣らし期間にわたり、遮音した部屋で上が開い

たガラス製水槽のような透明なボックス中にそれぞれ同時に入れる。翌日、ボックスの２つの異なる角に置かれた２つの同一な清潔なしっくいの物体と共に、マウスをボックスに５分にわたり再度導入して、ベースラインの活動を測定する。４時間後、物体の１つを、同じサイズ及びテクスチャーを有する新しいもので置き換え、マウスを同じケージに追加の５分にわたり再度導入して、新規物体認識を試験する。マウスが物体の探索に費やした時間を、様々な処理を盲検化した操作員により手作業で記録した。物体のそれぞれにおける累積的な費やした時間を記録した。物体の探索は、２ｃｍの距離で鼻を物体に向けること及び／又は鼻でそれを触ることと定義される。総探索時間に対する新しい物体を調査するのに動物が費やした総探索時間のパーセンテージは、認識記憶の尺度である。ベースライン時に、マウスは、両方の物体にほぼ等しい時間を費やしたが、これは、両方ともマウスにとって新規であるためである。試験において、認知に関して健康なマウスは、新しい物体を「新しい」と識別し、古い方を覚えるため、新しい物体を探索するのにより長い時間を費やすことになる（時間の～７０－７５％）。ＴＢＩは記憶障害を引き起こすため、新しい物体を探索する時間のパーセントはより低い（正常より低い）。ＴＢＩからの多少の自発的な回復が起こると、ＴＢＩマウスが新規の物体に時間の６０－６５％を費やすことになり得る。統計分析のために、市販のコンピューターソフトウェア（ＳｉｇｍａＳｔａｔ ２．０３、Ｓｙｓｔａｔ Ｓｏｆｔｗａｒｅ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ、ＵＳＡ）を使用することができる。処理は独立変数であり、ＴＢＩパラメーターの転帰は従属変数である。ＮＳＳ及びＮＯＲＴ実験シリーズの有意性は、繰り返しの測定の二元配置ＡＮＯＶＡ、及び事後のフィッシャーのＰＬＳＤ試験を使用して試験される。データは、平均±ｓ．ｅ．ｍ．として示される。

【０４９８】

実施例２５： 毒素によって誘導された損傷後の神経炎症及びニューロン損失のモデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性を、毒素によって誘導された損傷後の神経炎症及びニューロン損失のモデルで試験する（Martens, LHら、(2012) The Journal of Clinical Investigation、122、3955）。３月齢のマウスを、２日にわたり１日当たり４回のＭＰＴＰ（１－メチル－４－フェニル－１，２，３，６－テトラヒドロピリジン）の腹膜内注射（４μｇ／ｇ体重）（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）又はＰＢＳで処理する。標準的なプロトコールに従ってアゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体でマウスを処理し、次いで立体解析学的な計数を使用して分析して、黒質緻密部（ＳＮｐｃ）中のドーパミンニューロン及び小グリア細胞を記載された通りに定量する。

【０４９９】

実施例２６： アゴニスト及び／又は二重特異性ＴＲＥＭ１抗体によって抗原特異的なＴ細胞増殖を誘導するＢＭＤＣの能力の増強

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体は、マーカーＣＤ８３及びＣＤ８６を発現し、次いで抗原特異的なＴ細胞増殖を誘導する骨髄由来樹状細胞（ＢＭＤＣ）の能力を増加させることができると考えられる。ＴＲＥＭ１抗体が、樹状細胞上で細胞表面マーカーＣＤ８３及びＣＤ８６の発現を誘導するかどうかを決定するために、１２ウェルのプレート中にＰＢＳ中２又は５μｇ／ｍｌで抗体を４℃で一晩プレーティングする。次の日ウェルをＰＢＳで３回洗浄し、５日目に未成熟のヒトＤＣを回収し、細胞１００万個／ウェルでプレーティングし、サイトカインの非存在下で、３７Ｃ、５％CO_2でインキュベートする。４８時間後、ＣＤ８６、ＣＤ８３及びＣＤ１１ｃ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のＦＡＣＳ分析をＢＤ ＦＡＣＳ Ｃａｎｔｏ上で実行する。データ分析を、ＦｌｏｗＪｏ（ＴｒｅｅＳｔａｒ）ソフトウェアバージョン１０．０．７を用いて実行した。代替として、５日目に、Ｕ型の底のＴＣで処理されていない９６ウェルのプレートで、サイトカイン非含有の培地中で、細胞１００，０００個／ウェルで未成熟のヒト樹状細胞をプレーティングする。２０μｇ／ｍｌのＬＰＳ除去した抗ヒト二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）と共に、又はそれなしで、抗体を５μｇ／ｍ

ｌで添加する。ＣＤ８６、ＣＤ８３、及びＣＤ１１ｃ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のＦＡＣＳ分析を、前に記載した通りに抗体添加の４８時間後に実行する。ＢＭＤＣにより誘導されたオボアルブミン（ＯＶＡ）特異的なＴ細胞応答は、ＣＦＳＥ希釈によって決定することができる。培養６日後にＢＭＤＣをＭＡＣＳによって単離し、ＧＭ－ＣＳＦ（１０ｎｇ／ｍＬ）の存在下で４時間、ＯＶＡ（２又は０．５ｍｇ／ｍＬ）及びＣｐＧ　ＤＮＡ（１００又は２５ｎＭ）と共に、丸底の９６ウェルのプレートの１ウェル当たり細胞１×１０^{4}個でプレーティングする。ＯＴ－ＩＩトランスジェニックマウスの脾臓及びリンパ節からのＣＤ４Ｔ細胞を、Ｄｙｎａｌ　Ｍｏｕｓｅ　ＣＤ４　Ｎｅｇａｔｉｖｅ　Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用することによって単離し、ＣＦＳＥ（最終濃度０．８ｍＭ）で染色する。ＤＣ培養の４時間後、１×１０^{5}個のＣＦＳＥ標識ＣＤ４　ＯＴ－ＩＩ　Ｔ細胞を各ウェルに添加し、７２時間インキュベートする。培養後、細胞を抗ＣＤ４モノクローナル抗体で染色し、フローサイトメトリーを実行して、ゲーティングしたＣＤ４　ＯＴ－ＩＩ　Ｔ細胞のＣＦＳＥ希釈を検出する。分裂及び分割インデックスのパーセンテージを計算するためのデータ分析を、Ｆｌｏｗｊｏソフトウェア（Ｔｒｅｅｓｔａｒ）（Eur. J. Immunol.2012.42: 176-185）によって実行する。

【０５００】

代替として、５日目の未成熟の樹状細胞（ＣＤ１４－ＣＤ１１ｃ＋ＬＩＮ－）を、前の日に２μｇ／ｍｌ抗体でコーティングした１２ウェルの培養皿中にプレーティングする。Ｔ細胞添加の前に、プレートをＰＢＳで３回洗浄する。非自家性ドナーからのＣＤ４＋Ｔ細胞を単離し、１：１０の比率でＤＣに添加する前にＣＦＳＥで標識した。ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｄｙｎａｌビーズは陽性コントロールとして役立つ。５日目後の共培養細胞を、ＣＦＳＥ希釈のために、ＢＤ　ＦＡＣＳＣａｎｔｏ　ＩＩでのフローサイトメトリーによって分析する。ＣＦＳＥ^{lo}細胞と比較したＣＦＳＥ^{hi}のパーセントを、ＦｌｏｗＪｏ（ＴｒｅｅＳｔａｒ）で各条件につき計算する。

【０５０１】

実施例２７：　ＴＲＥＭ１抗体はヒト樹状細胞（ＤＣ）上でのＣＤ８３及びＣＤ８６の発現を誘導し、Ｔ細胞増殖を誘導する

ＣＤ８３及びＣＤ８６の発現を修飾する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、プレートと結合した抗体及び可溶性抗体の両方を、樹状細胞（ＤＣ）と共にインキュベートし、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＣＣＲ７、及びリン酸化ＥＲＫの発現を測定した。Ｔ細胞増殖をモジュレートする抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、Ｔ細胞及び抗ＴＲＥＭ１抗体と共にＤＣをインキュベートし、Ｔ細胞増殖のレベルを測定する。１２ウェルのプレート中で、抗体を、ＰＢＳ中２又は５ｕｇ／ｍｌで、４Ｃで一晩プレーティングする。次の日ウェルをＰＢＳで３回洗浄する。５日目に、未成熟のヒトＤＣを回収し、細胞１００万個／ウェルでプレーティングし、サイトカインの非存在下で、３７Ｃ、５％CO_2でインキュベートする。４８時間後、ＣＤ８６、ＣＤ８３、ＣＤ１１ｃ、ＨＬＡ－ＤＲ、及びＬＩＮ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のＦＡＣＳ分析をＢＤ　ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ上で実行する。データ分析を、ＦｌｏｗＪｏ（ＴｒｅｅＳｔａｒ）ソフトウェアバージョン１０．０．７を用いて実行する。ＣＤ１１ｃ＋ＨＬＡ－ＤＲ＋ＬＩＮ－細胞集団のＣＤ８３、ＣＤ８６、及びＣＣＲ７のレベルを評価する。細胞内ＥＲＫのリン酸化のために、細胞を１％ホルムアルデヒドで固定し、ｃｙｔｏｆｉｘ／ｃｙｔｏｐｅｒｍキット（ＢＤ）で透過性にし、ＰＥ－ＥＲＫ抗体（ＢＤ）で染色した後、細胞内Ｅｒｋのリン酸化をフローサイトメトリーで決定する。

【０５０２】

代替として、５日目の未成熟のヒト樹状細胞を、Ｕ型の底のＴＣで処理されていない９６ウェルのプレートで、サイトカイン非含有の培地中で、細胞１００，０００個／ウェルでプレーティングする。２０ｕｇ／ｍｌのＬＰＳ除去した抗ヒト二次（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）と共に、又はそれなしで、抗体を５ｕｇ／ｍｌで添加する。ＣＤ８６、ＣＤ８３、ＣＤ１１ｃ、ＨＬＡ－ＤＲ、及びＬＩＮ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）のＦＡＣＳ分析を、前に記載した通りに抗体添加の４８時間後に実行する。加

えて、５日目の未成熟の樹状細胞（ＣＤ１４－ＣＤ１１ｃ＋ＬＩＮ－）を、前の日に２ｕｇ／ｍｌ抗体でコーティングした１２ウェルの培養皿中にプレーティングする。Ｔ細胞添加の前にプレートをＰＢＳで３回洗浄する。非自己ドナーからのＣＤ４＋Ｔ細胞を単離し、１：１０、１：５０、又は１：２５０の比率でＤＣに添加する前にＣＦＳＥで標識した。ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｄｙｎａｌビーズは陽性コントロールとして役立つ。５日目後の共培養細胞を、ＣＦＳＥ希釈のために、ＢＤ　ＦＡＣＳＣａｎｔｏ　ＩＩでのフローサイトメトリーによって分析する。ＣＦＳＥｌｏ細胞と比較したＣＦＳＥｈｉのパーセントを、ＦｌｏｗＪｏ（ＴｒｅｅＳｔａｒ）で各条件につき計算する。

【０５０３】

実施例２８：　アゴニスト及び／又は二重特異性ＴＲＥＭ１抗体によるマクロファージにおけるＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）応答の正常化及び増加

ＴＬＲ応答を修飾する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、骨髄由来のマクロファージ（ＢＭＤＭ）又は一次腹腔マクロファージのＴＬＲシグナル伝達に対する応答を、ＴＲＥＭ１の欠乏によって変更する（Turnbull、IRら、Ｊ Immunol 2006;177:3520-3524）。アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体は、マクロファージにおけるＴＬＲ応答を増加又は正常化できると考えられる。一次マクロファージを惹起するために、マウスを、１．５ｍｌの２％チオグリコレート媒体で腹膜内注射により処理し、次いで腹膜の洗浄によって細胞を単離する。ＢＭＤＭを生成するために、全ての骨髄を、１０％ウシ血清、５％ウマ血清、及び６ｎｇ／ｍｌ組換えヒトＣＳＦ－１が補充されたＤＭＥＭ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）中で培養する。細胞を５－６日培養し、接着細胞をＰＢＳ中の１ｍＭのＥＤＴＡで取り外す。細胞を、市販の抗体：抗ＣＤ１１ｂ、抗ＣＤ４０、抗ＧＲ１（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）、及びＦ４／８０（Ｃａｌｔａｇ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）で染色する。ＢＭＤＭを再度プレーティングし、３７℃で４時間接着させ、次いでＴＬＲアゴニスト、例えばＬＰＳ（ウマ流産菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ　ａｂｏｒｔｕｓ　ｅｑｕｉ））、ザイモサン（サッカロミセス・セレビジエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ））、及びＣｐＧ１８２６ＤＮＡ（例えば、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入）などを添加する。刺激の２４時間後に細胞培養上清を収集し、培養上清中のＩＦＮ－ａ４、ＩＦＮ－ｂ、ＩＬ－６、ＩＬ－１２ｐ７０、及びＴＮＦサイトカイン濃度のレベルを、マウスＩＦＮ－ａ４、ＩＦＮ－ｂ、ＩＬ－６、ＩＬ－１２ｐ７０、ＴＮＦ、及びＩＬ－１０　ＥＬＩＳＡキット（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）並びにＶｅｒｉＫｉｎｅマウスＩＦＮ－ｂ　ＥＬＩＳＡキット（ＰＢＬインターフェロン源）を製造元のプロトコールに従って使用して決定する。代替として、ヒト又はマウスサイトカインのためのＣｙｔｏｍｅｔｒｉｃビーズアレイ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、又はメソスケールディスカバリーシステムを備えたＶ－ＰＬＥＸヒト若しくはマウスサイトカインシステムを使用することができる。代替として、サイトカイン分泌を分析するために、示された遺伝子型を有するＢＭ由来マクロファージを５日目に回収し、９６ウェルのプレート上に10^5細胞／ウェルでプレーティングする。次いで細胞を示された濃度のＬＰＳ又はザイモサンで刺激する。２４時間後、細胞培養上清を回収し、ＦＡＣＳにより、炎症性サイトカイン（ＩＬ－１２、ＩＬ－１０、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦａ、ＩＬ－６、ＭＣＰ－１）の存在について、Ｃｙｔｏｍｅｔｒｉｃビーズアレイキット（ＢＤ、製造元の説明書に従う）を使用して分析する。細胞をＦＡＣＳによっても分析して、生存率（ＤＡＰＩ）及び表面マーカー（ＣＤ１１ｂ、ＣＤ８６）の発現を評価する。

【０５０４】

実施例２９：　ＴＲＥＭ１はマクロファージからの炎症性サイトカインの分泌を増加させる。

骨髄由来のマクロファージ（ＢＭＤＭ）又は一次腹腔マクロファージ応答は、ＴＲＥＭ１が欠失した場合、変更されたＴＬＲシグナル伝達を有する（Turnbull、IRら、Ｊ Immunol 2006;177:3520-3524）。ＴＲＥＭ１抗体が、炎症性サイトカイン産生における変化を誘導するかどうかを決定するために、マウス野生型（ＷＴ）及びＴＲＥＭ１　ＫＯマウス（ＫＯ）又はＴＲＥＭ１ヘテロ接合型（ＨＥＴＳ）を、抗体単独、又は非飽和レベルの

ＴＬＲ刺激因子と組み合わせた抗体と共に培養し、２４－４８時間の後にサイトカインのレベルを測定する。ＢＭＤＭを生成するために、野生型（ＷＴ）からの全ての骨髄を、１０％ウシ血清、５％ウマ血清、及び５０ｎｇ／ｍｌ組換えマウスＣＳＦ－１が補充されたＲＰＭＩ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）中で培養した。細胞を５日間培養し、接着細胞をＰＢＳ中の１ｍＭのＥＤＴＡで取り外す。ＢＭＤＭを、９６ウェルのプレート上に細胞10^5個／ウェルでプレーティングし、３７℃で４時間接着させる。次いで細胞を抗体単独に曝露し、ＴＬＲアゴニストであるＬＰＳ（ウマ流産菌）又はザイモサン（サッカロミセス・セレビジエ）で、単独で０．０１－１００ｎｇ／ｍｌ（ＬＰＳ）又は０．０１－１００□ｇ／ｍｌ（ザイモサン）の範囲の濃度で刺激するか、又はＴＲＥＭ１抗体と組み合わせてＬＰＳ又はザイモサンで刺激する。代替として、ＷＴ及びＫＯマウスから単離されたマクロファージを、ＴＲＥＭ１抗体と共に、又はそれなしで、１０ｎｇ／ｍｌのサイトカインＩＬ－４又は５０ｎｇ／ｍｌのＩＦＮ－□□の存在下で培養する。刺激の２４又は４８時間後に細胞培養上清を収集し、ＴＮＦａ、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、及びＭＣＰ－１サイトカインのレベルを、Ｃｙｔｏｍｅｔｒｉｃ　Ｂｅａｄ　Ａｒｒａｙ　Ｍｏｕｓｅ　Ｉｎｆｌａｍａｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（ＢＤ）を製造元のプロトコールに従って使用することによって測定した。

【０５０５】

実施例３０：　アゴニスト及び／又は二重特異性ＴＲＥＭ１抗体による骨髄由来の骨髄前駆細胞における抗炎症性サイトカインＩＬ－１０の阻害

骨髄由来の骨髄前駆細胞は、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体で処理し、アポトーシス細胞と共培養することによって、又は類似の刺激によって１００ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ（Ｓｉｇｍａ）で刺激した後、抗炎症性サイトカインＩＬ－１０の減少を示す可能性があると考えられる。骨髄由来の骨髄前駆細胞の単離を、以下のように実行する。骨髄細胞を、６－８週齢の成体雌Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ、Ｓｕｌｚｆｅｌｄ、Ｇｅｒｍａｎｙ）及びＴＲＥＭ１欠失マウス（ＫＯＭＰリポジトリ）の後肢の脛骨及び大腿骨の髄腔から単離する。赤血球の除去を、低張溶液での溶解によって実行する。７５ｃｍ^{2}の培養フラスコ（Ｇｒｅｉｎｅｒ　Ｂｉｏ－Ｏｎｅ）中で、細胞を、１０％ウシ胎児血清（Ｐａｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）及び１０ｎｇ／ｍｌのＧＭ－ＣＳＦ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を含有するＤＭＥＭ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中で培養する。２４時間後、非接着細胞を収集し、新しい７５ｃｍ^{2}の培養フラスコ中に再度播種する。５日後に培地を換え、追加の１０－１１日間細胞を培養する。ＴＲＥＭ１抗体の存在又は非存在下で細胞を培養し、２４時間後に上清を収集し、細胞から放出されたＩＬ－１０のレベルを、ＩＬ－１０　ＥＬＩＳＡにより製造元の説明書に従って決定する（ＱｕａｎｔｉｋｉｎｅＭマウスＩＬ－１０、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）（JEM (2005), 201; 647-657；及びPLoS Medicine (2004), 4 ¦ Issue 4 ¦ e124）。

【０５０６】

実施例３１：　アゴニスト及び／又は二重特異性ＴＲＥＭ１抗体による骨髄系統からの細胞における貪食の誘導

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体は、アポトーシスニューロン、神経組織細片、非神経組織細片、細菌、その他の異物、及び疾患を引き起こすタンパク質、任意選択的に、例えばＡベータペプチド、アルファシヌクレインタンパク質、タウタンパク質、ＴＤＰ－４３タンパク質、プリオンタンパク質、ハンチンチンタンパク質、ＲＡＮ、翻訳生成物のアンチジーンなど、例えば、骨髄系統、例えば単球、樹状細胞マクロファージ及びミクログリア細胞などからの細胞における、グリシン－アラニン（ＧＡ）、グリシン－プロリン（ＧＰ）、グリシン－アルギニン（ＧＲ）、プロリン－アラニン（ＰＡ）、又はプロリン－アルギニン（ＰＲ）で構成されるジペプチドリピート（ＤＰＲペプチド）などの貪食を誘導できると考えられる。二重特異性抗体は、ＴＲＥＭ１抗原及び第２の抗原を認識する抗体であってもよく、このようなものとしては、限定するものではないが、Ａベータペプチド、抗原若しくはアルファシヌクレインタンパク質アンチジーン、又はタウタンパク質アンチジーン、又はＴＤＰ－４３タンパク質アンチジーン、又はプ

リオンタンパク質アンチジーン、又はハンチンチンタンパク質アンチジーン、又はＲＡＮ、翻訳生成物アンチジーン、例えばグリシン－アラニン（ＧＡ）、グリシン－プロリン（ＧＰ）、グリシン－アルギニン（ＧＲ）、プロリン－アラニン（ＰＡ）、又はプロリン－アルギニン（ＰＲ）で構成されるジペプチドリピート（ＤＰＲペプチド）などが挙げられる。単球は、成体Ｃ５７ＢＬ／６マウスから収集される末梢血液から単離される。低張性溶解緩衝液により赤血球を枯渇させる。１０％ウシ胎児血清（Ｐａｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）を含有するＲＰＭＩ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中で、培養皿上に細胞をプレーティングする。１０％CO_2、３７℃で数時間細胞を培養する。トリプシン処理後、接着細胞を収集し、貪食実験に使用する。

【０５０７】

出生後３日目から５日目（Ｐ３からＰ５）のＣ５７ＢＬ／６マウスの脳からミクログリア細胞を調製する。簡単に言えば、髄膜を機械的に除去し、細胞を粉砕により解離させ、１０％ＦＣＳ（ＰＡＮ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ＧｍｂＨ）、１％グルコース（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、１％Ｌ－グルタミン（ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ）、及び１％ペニシリン／ストレプトマイシン（ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ）が補充された基礎培地（ＢＭＥ；ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ）中で１４日間培養して、コンフルエントなグリア細胞の単分子層を形成する。ミクログリア細胞を収集するために、培養物を回転式の振盪機で２時間振盪する（２００ｒｐｍ）。付着した星状細胞を免疫組織化学に使用する。取り外されたミクログリア細胞を、通常の培養皿中に播種して１時間置き、次いで全ての非接着細胞を除去し捨てる。ＣＤ１１ｂに対して向けられた抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いたフローサイトメトリー分析によって決定した場合、単離されたミクログリア細胞の純度は、約９５％である。ミクログリア細胞を、前に記載した通りの基礎培地中で培養する（Hickman SEら、J Neurosci. 2008 Aug 13;28(33):8354-60;及びMicroglia Methods and Protocols Vol. 1041）。Ｃ５７ＢＬ／６マウス胚（Ｅ１５－１６）の脳から、希突起膠細胞（すなわち、ニューロン）及びニューロン濃縮細胞を調製する。簡単に言えば、脳組織を機械的に単離し、分散し、０．０１ｍｇ／ｍｌのポリ－Ｌ－オルニチン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）及び１０μｇ／ｍｌのラミニン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）で予めコーティングした培養皿に播種する。細胞を、２％Ｂ－２７サプリメント（ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ）、１％グルコース（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、及び１％ＦＣＳ（ＰＡＮ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ＧｍｂＨ）が補充されたニューロン馴化媒体（ＢＭＥ；ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ）中で培養する。細胞を５－１０日培養して、形態学的に成熟した希突起膠細胞を得る。

【０５０８】

貪食アッセイを実行するために、ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、アポトーシスニューロン、神経組織細片、非神経組織細片、細菌、その他の異物、及び疾患を引き起こすタンパク質と共に培養する。ニューロンを５－１０日培養し、次いでオカダ酸を３０ｎＭの最終濃度で３時間添加して、アポトーシスを誘導する。ニューロンの細胞膜を、ＣｅｌｌＴｒａｃｋｅｒ　ＣＭ－ＤｉＩ膜色素（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ）で標識する。インキュベーション後、アポトーシスニューロン又は他の貪食の標的を２回洗浄し、形質導入されたミクログリア細胞培養物に１：２０のエフェクター／標的の比率で添加する。アポトーシスニューロン添加後の１及び２４時間に、共焦点蛍光顕微鏡（Ｌｅｉｃａ）下でニューロンの細胞膜を貪食したミクログリア細胞の数を計数する。３つの異なる領域のアポトーシス細胞を６０の倍率で計数する。貪食の量は、フローサイトメトリーによって確認する。さらに、アポトーシスニューロン添加の２４、４８、又は７２時間後に、細胞を収集し、サイトカインのＲＴ－ＰＣＲに使用する。マイクロスフェアビーズ又は細菌貪食アッセイを実行するために、ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、抗ＴＲＥＭ１アゴニスト抗体で処理する。２４時間後、１．００μｍの赤色蛍光マイクロスフェアビーズ（Ｆｌｕｏｒｅｓｂｒｉｔｅ　Ｐｏｌｙｃｈｒｏｍａｔｉｃ　Ｒｅｄマイクロスフェア；Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ．）又は蛍光標識された細菌を１時間添加する。ミクログリア細胞によるマイクロスフェアビーズ又は蛍光標識された細菌の貪食を蛍光顕微鏡検査法によって分析する。さらに、ミクログリア細胞を培養プレ

ートから収集し、フローサイトメトリーによって分析する。ビーズを貪食したミクログリア細胞のパーセンテージを決定する。アミロイド貪食アッセイを実行するために、ＨｉＬｙｔｅＦｌｕｏｒ（商標）６４７（Ａｎａｓｐｅｃ）－Ａベーター（１－４０）を、トリス／ＥＤＴＡ（ｐＨ８．２）に２０ｍＭで再懸濁し、次いで３７℃、暗所で３日間インキュベートして、凝集を促進する。ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、凝集した蛍光標識したベータペプチドを添加する２４時間前に、低濃度の血清（インスリンが補充された０．５％ＦＢＳ）、ＬＰＳ（５０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＦＮｃ（１００ユニット／ｍｌ）、及び抗ＴＲＥＭ１アゴニスト抗体中で前処理する。アミロイド貪食及びＴＲＥＭ１の表面発現を、１００ｎＭの凝集したＨｉＬｙｔｅＦｌｕｏｒ（商標）６４７－Ａｂ－（１－４０）の添加５時間後のフローサイトメトリー分析によって決定する（ASN NEURO (2010) 2(3): 157-170）。類似の方式で、他の疾患を引き起こすタンパク質の貪食を実行する。

【０５０９】

実施例３２： アゴニストＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体による、ミクログリア細胞、マクロファージ、及び樹状細胞におけるＣＣＲ７並びにＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１への移動の誘導

抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１／二重特異性抗体は、ミクログリア細胞、マクロファージ、及び樹状細胞におけるＣＣＲ７及びＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１への移動を誘導できると考えられる。ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞の何れかを、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１／ＤＡＰ１２二重特異性抗体、又はコントロール抗体と共に培養する。７２時間後に細胞を収集し、ＣＣＲ７特異的抗体で免疫標識し、フローサイトメトリーによって分析する。増加したＣＣＲ７発現のあらゆる機能的な帰結を決定するために、走化性アッセイを実行する。ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、ＴＲＥＭ１を介してアゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１／ＤＡＰ１２二重特異性抗体で刺激し、２つのチャンバーシステムに入れる。ケモカインリガンドＣＣＬ１９及びＣＣＬ２１に移動するミクログリア細胞の数を定量する（JEM (2005)、201、647-657）。走化性アッセイのために、ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１／二重特異性抗体に曝露し、１μｇ／ｍｌのＬＰＳで処理する。ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞を、下のチャンバー中に１００ｎｇ／ｍｌのＣＣＬ１９又はＣＣＬ２１（両方ともＰｅｐｒｏＴｅｃｈ）を含む４５０μｌの培地を含有するトランスウェルシステム（３μｍ孔のフィルター；Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）の上のチャンバーに移す。１時間のインキュベーション期間後、下のチャンバーに移動したミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞の数を、３つの独立した領域で顕微鏡法により計数する（JEM (2005)、201、647-657）。

【０５１０】

実施例３３： アゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体によるミクログリア細胞、マクロファージ、及び樹状細胞におけるＦ－アクチンの誘導

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体は、ミクログリア細胞、マクロファージ、及び樹状細胞においてＦ－アクチンを誘導できると考えられる。ＴＲＥＭ１で形質導入されるか又はＴＲＥＭ１を発現する、ミクログリア細胞、マクロファージ又は樹状細胞及び他の目的の細胞を培養プレートに添加し、次いでアゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１二重特異性抗体、又はコントロール抗体に曝露する。細胞を固定し、遮断し、次いで１時間後、Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ５４６コンジュゲートファロイジン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ）で染色し、Ｆ－アクチンを蛍光色素で標識する。４０×の対物レンズ（Ｌｅｉｃａ）を備えた共焦点レーザー顕微鏡検査法によって画像を収集する。（JEM (2005)、201、647-657）。

【０５１１】

実施例３４： アゴニストＴＲＥＭ１、ＤＡＰ１２、及び／又はＴＲＥＭ１／ＤＡＰ１２二重特異性抗体による破骨細胞産生の誘導及び破骨細胞形成速度の増加

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体は、破骨細胞産生を誘導し

、破骨細胞形成速度を増加させることができると考えられる。破骨細胞を作り出すＲＡＷ２６４．７細胞又は骨髄由来の単球／マクロファージ（ＢＭＭ）前駆細胞を、１０％ＦＢＳ（Ａｔｌａｎｔｉｃ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ、Ａｔｌａｎｔａ、ＧＡ、ＵＳＡ）及びペニシリン－ストレプトマイシン－グルタミン（Ｍｅｄｉａｔｅｃｈ）が補充された、ＲＰＭＩ－１６４０培地（Ｍｅｄｉａｔｅｃｈ）、又は別の適切な培地中で維持する。ＦＬＡＧエピトープがＮ末端に付加されたＴＲＥＭ１ＢのｃＤＮＡを、ＩＲＥＳのレトロウイルスベクターｐＭＸｐｉｅ上流に挿入し、続いてｅＧＦＰのｃＤＮＡ配列を挿入する。Ｆｕｇｅｎｅ６（Ｒｏｃｈｅ）を製造元のプロトコールに従って使用して、細胞をｐＭＸｐｉｅ－ＦＬＡＧ　ＴＲＥＭ１Ｂでトランスフェクトする。２μｇ／ｍｌのピューロマイシン（Ｓｉｇｍａ）中で細胞を選択する。安定なピューロマイシン耐性クローンを、フローサイトメトリーを使用することによって抗ＦＬＡＧ　Ｍ２モノクローナル抗体（Ｓｉｇｍａ）の結合についてスクリーニングし、次いでサブクローニングし、ピューロマイシン選択培地で維持する。

【０５１２】

ＴＲＥＭ１Ｂを発現するＲＡＷ２６４．７細胞を、１０％ＦＢＳ、ペニシリン－ストレプトマイシン－グルタミン、５０ｎｇ／ｍｌのＲＡＮＫＬ、及び２０ｎｇ／ｍｌのＭ－ＣＳＦが補充されたアルファ－ＭＥＭ培地中、細胞３０００個／ウェルで、９６ウェルのプレートに播種する。培地を３日毎に交換し、抗ＴＲＥＭ１アゴニスト抗体に曝露し、多核化された（少なくとも３つの核の）ＴＲＡＣＰ＋破骨細胞の数を計数し、光学顕微鏡法によってスコア付けする。複雑度及びサイズを決定するために、核の数によって破骨細胞を計数する（＞１０個又は３－１０個の核）。破骨細胞の表面領域もＩｍａｇｅ　Ｊソフトウェア（ＮＩＨ）を使用することによって測定する。加えて、破骨細胞遺伝子の発現レベルを決定する。異なるタイムポイントでＴＲＩｚｏｌ試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して破骨細胞形成性培養物から全ＲＮＡを抽出する。ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩＩキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用した第１の鎖のｃＤＮＡ合成の後、Ｎｆａｔｃ１、Ａｃｐ５、Ｃｔｓｋ、Ｃａｌｃｒ、及びＣｃｎｄ１についてリアルタイム定量ＰＣＲ反応を実行する。標的ｍＲＮＡ発現の相対的な定量を計算し、シクロフィリンの発現に正規化し、（標的遺伝子のｍＲＮＡ／シクロフィリンのｍＲＮＡ）３×１０^{6}として示す。（J. OF BONE AND MINERAL RESEARCH (2006)、21、237-245; J Immunol 2012; 188:2612-2621）。

【０５１３】

代替として、ＢＭＭ細胞をプレート上の３連のウェルに播種し、ＲＡＮＫＬ、Ｍ－ＣＳＦ、並びに抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１二重特異性抗体、又はアイソタイプ適合コントロールモノクローナル抗体で処理する。大きい多核細胞が見えるようになるまで培地を３日毎に交換する。３日から５日培養した後、細胞をＰＢＳ中の３．７％ホルムアルデヒドで１０分固定する。次いでプレートをＰＢＳで２回洗浄し、５０％アセトン及び５０％エタノールの溶液中で３０秒インキュベートし、ＰＢＳで洗浄する。Ｓｉｇｍａからのキット（製品番号４３５）を用いて酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（ＴＲＡＰ）に対して細胞染色する。次いで多核化された（２つより多くの核の）ＴＲＡＰ陽性細胞を、光学顕微鏡法によって記載された通りに計数する（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。

【０５１４】

実施例３５：　老化、発作、脊髄の損傷、網膜ジストロフィー、前頭側頭認知症、及びアルツハイマー病の動物モデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性を、前に記載した通りに、老化、発作、脊髄の損傷、網膜ジストロフィー、前頭側頭認知症、ハンチントン病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症及びアルツハイマー病のための動物モデルで試験する（例えば、Beattie, MSら、(2002) Neuron 36、375-386; Volosin, Mら、(2006) J. Neurosci. 26、7756-7766; Nykjaer, Aら、(2005) Curr. Opin. Neur

obiol. 15、49-57; Jansen, Pら、(2007) Nat. Neurosci. 10、1449-1457; Volosin, Mら、(2008) J. Neurosci. 28、9870-9879; Fahnestock, Mら、(2001) Mol. Cell Neurosci. 18、210-220; Nakamura, Kら、(2007) Cell Death. Differ. 14、1552-1554; Yune, Tら、(2007) Brain Res. 1183、32-42; Wei, Yら、(2007) Neurosci. Lett. 429、169-174; Provenzano, MJら、(2008) Laryngoscope 118、87-93; Nykjaer, Aら、(2004) Nature 427、843-848; Harrington, AWら、(2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101、6226-6230; Teng, HKら、(2005) J. Neurosci. 25、5455-5463; Jansen, Pら、(2007) Nat. Neurosci. 10、1449-1457; Volosin, Mら、(2008) J. Neurosci. 28、9870-9879; Fan, YJら、(2008) Eur. J. Neurosci. 27、2380-2390; Al-Shawi, Rら、(2008) Eur. J. Neurosci.27、2103-2114; and Yano, Hら、(2009) J. Neurosci. 29、14790-14802）。

【０５１５】

実施例３６： アテローム性動脈硬化症のモデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性を、前に記載した通りに、アテローム性動脈硬化症のモデルで試験する（例えば、Lance, Aら、(2011) Diabetes, 60, 2285; and Kjolby, Mら、(2012) Cell Metabolism 12, 213-223）。

【０５１６】

実施例３７： 感染のモデルにおけるアゴニストＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療的使用の特徴付け

アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体の治療有用性を、感染のモデルで試験する。例えば、正常マウス又はプログラニュリンヘテロ接合型マウスにおけるリステリア・モノサイトゲネス又は他の感染を、前に記載した通りに使用することができる（例えば、Yin, Fら、(2009) J. Exp. Med、207、117-128）。

【０５１７】

実施例３８： ＰＩ３Ｋ経路の活性化を示すＴＲＥＭ１、ＤＡＰ１２、ＳＹｋ、ＥＲＫ、及びＡＫＴのリン酸化を誘導する抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体に関するスクリーニング

細胞（Ｊ７７４、ＲＡＷ２６４．７、ＢＭＭ細胞、又は破骨細胞）を、ＰＢＳ－ＥＤＴＡを用いて組織培養皿から除去し、ＰＢＳで洗浄し、計数する。Ｊ７７４（４０×１０^{6}個）又はＲＡＷ２６４．７細胞（１０×１０^{6}個のＢＭＭ又は破骨細胞）を、１μｇ／１０^{6}個の細胞で氷上で２０分、又は他の条件下で、抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１二重特異性抗体、又はアイソタイプ適合コントロール抗体と共にインキュベートする。氷冷した放射性免疫沈降アッセイ（ＲＩＰＡ）緩衝液中で２０分細胞を溶解させ、続いて１６，０００ｇで１０分、４℃で遠心分離して、不溶性物質を除去する。得られた上清を、示された抗体（ＤＡＰ１２、ＥＲＫ、又はＡＫＴ）及びプロテインＡ又はプロテインＧ－アガロース（Ｓｉｇｍａ）を用いた免疫沈降反応に供する。ビーズをＲＩＰＡ緩衝液で徹底的に洗浄し、タンパク質をＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）によって分離する。次いでタンパク質をウェスタンブロッティングによってニトロセルロースメンブレンに移し、適切な抗体（ＤＡＰ１２、ＥＲＫ、又はＡＫＴのリン酸化された形態を特異的に認識する抗体）と共にインキュベートし、増強化学発光（ＥＣＬ）システム（Ｐｉｅｒｃｅ）を用いて記載された通りに可視化する（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。

【０５１８】

実施例３９： カルシウム流出を誘導する抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体に関するスクリーニング

ＢＭＭ細胞をＨＥＰＥＳ含有緩衝液［２０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．３）、１２０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＣａＣｌ、１ｍＭのＭｇＣｌ、５ｍＭのＫＣｌ、グルコース（１ｍｇ／ｍｌ）、ウシ血清アルブミン（１ｍｇ／ｍｌ）］で２回洗浄し、続いて０．０５％Ｐｌｕｒｏｎｉｃ Ｆ－１２７（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及び１μＭのＩｎｄｏ－１ＡＭ（

Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中で３７℃で２０分インキュベートする。細胞をＨＥＰＥＳ緩衝液で２回洗浄し、次いで抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１二重特異性抗体（１６μｇ／ｍｌ）又はコントロール抗体（１６μｇ／ｍｌ）で刺激し、分光光度計（ＰＴＬ　Ｐｈｏｔｏｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ）によってモニターする。製造元の説明書に従ってＩｎｄｏ－１蛍光発光をカルシウム（$Ｃａ^{２＋}$）に変換する（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。

【０５１９】

実施例４０：　破骨細胞及び／又はミクログリア細胞の生存を促進する抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体に関するスクリーニング

脛骨及び大腿の骨髄細胞を冷ＰＢＳでフラッシングすることによって、マウス骨髄前駆体を得る。ＰＢＳで１回洗浄した後、ＡＣＫ溶解緩衝液（Ｌｏｎｚａ）を使用して赤血球を溶解させ、ＰＢＳで２回洗浄し、マクロファージを作製するための示された量の５０ｎｇ／ｍｌのＭ－ＣＳＦ又は１０ｎｇ／ｍｌのＧＭ－ＣＳＦを含む完全ＲＰＭＩ培地（１０％ＦＣＳ、Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ、Ｇｌｎ、ｎｅＡＡ）中に細胞０．５×$１０^{６}$個／ｍｌで懸濁する。Ｍ２型マクロファージの場合、１０ｎｇ／ｍｌのＩＬ－４を培養細胞に添加する。Ｍ１型マクロファージの場合、５０ｎｇ／ｍｌのＩＦＮ－γを添加する。一部の実験において、５日目に、ＬＰＳ又はザイモサンを１μｇ／ｍｌ－０．０１ｎｇ／ｍｌの濃度で細胞培養物に添加する。組換えサイトカインをＰｅｐｒｏＴｅｃｈから購入した。ＢＭ由来マクロファージの生存率を分析するために、示された遺伝子型の細胞を上述した通りに調製し、段階的な濃度のＭＣＳＦ中で培養する。細胞は、９６ウェルのプレート中に$１０^{５}$個／２００μｌでプレーティングするか（ルシフェラーゼベースのアッセイを使用した生存率分析のため）、又は組織培養で処理されていないプレート中の６ウェルのプレート中に０．５×$１０^{６}$個／１ｍｌでプレーティングするか（トリパンブルー排除細胞計数のため）の何れかである。新鮮なＭ－ＣＳＦを含有する培地を３日目に添加する。示されたタイムポイントで、３ｍＭのＥＤＴＡを用いてプレートから穏やかに細胞を取り外し、Ｂｕｒｋｅｒチャンバーを使用して計数する。一部の実験において、ＦＡＣＳ分析のためにもＣＤ１１ｂ抗体及びＤＡＰＩを使用して細胞を染色する。代替として、細胞を、ＴｏｘＧｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）と直接インキュベートし、ルシフェラーゼ活性を決定する。一部の実験において、５日目にＭＣＳＦを培養培地からから引き出すか又は引き出さずに、細胞の生存率を３６時間後にＦＡＣＳによって分析する。成熟破骨細胞培養物を、２４ウェルの培養皿中でＲＡＮＫＬ及びＭ－ＣＳＦで識別する。４日後、完全培地を無血清培地で交換して、アポトーシスを誘導する。細胞を、一晩の血清飢餓状態で、ＲＡＮＫＬ、ＰＢＳ、並びに抗ＴＲＥＭ１及び／若しくはＴＲＥＭ１二重特異性抗体、又はアイソタイプ適合コントロール抗体で処理する。細胞を１％パラホルムアルデヒド中で固定し、ＴＵＮＥＬベースのキット（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ社）を製造元の説明書に従って用いて染色した。Ｎｉｋｏｎ　ＴＥ２０００－Ｅ顕微鏡で２０×の倍率を用いてアポトーシスを起こした核を計数する。結果は、２つのウェルの６つの無作為に選択した視野における細胞総数に対するアポトーシス細胞のパーセンテージとして記載された通りに表される（例えば、Pengら、(2010) Sci Signal.、3(122): ra38）。類似のアッセイを一次ミクログリア細胞を用いて実行する。

【０５２０】

実施例４１：　ＴＲＥＭ１はマクロファージ及び樹状細胞の生存を増加させる

細胞生存におけるＴＲＥＭ１の役割を評価するために、野生型（ＷＴ）、ＴＲＥＭ１ノックアウト（ＫＯ）、並びにＴＲＥＭ１ヘテロ接合型（Ｈｅｔ）マクロファージ及び樹状細胞を、ＴＲＥＭ１抗体又はその断片の存在下で培養し、細胞の生存率を決定する。

【０５２１】

脛骨及び大腿の骨髄細胞を冷ＰＢＳでフラッシングすることによって、ＴＲＥＭ１ＷＴ、Ｈｅｔ、及びＫＯマウスからのマウス骨髄前駆細胞を得る。ＰＢＳで１回洗浄した後、ＡＣＫ溶解緩衝液（Ｌｏｎｚａ）を使用して赤血球を溶解させ、ＰＢＳで２回洗浄し、マクロファージを産生するための示された量の５０ｎｇ／ｍｌのＭ－ＣＳＦ、又は樹状細胞を

生産するための１０ｎｇ／ｍｌのＧＭ－ＣＳＦを含む完全ＲＰＭＩ培地（１０％ＦＣＳ、Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ、Ｇｌｎ、ｎｅＡＡ）中に細胞０．５×１０６個／ｍｌで懸濁する。Ｍ２型マクロファージの場合、１０ｎｇ／ｍｌのＩＬ－４を培養細胞に添加する。Ｍ１型マクロファージの場合、５０ｎｇ／ｍｌのＩＦＮ－γを添加する。一部の実験において、５日目にＬＰＳ又はザイモサンを１μｇ／ｍｌ－０．０１ｎｇ／ｍｌの濃度範囲で細胞培養物に添加する。組換えサイトカインは、ＰｅｐｒｏＴｅｃｈから購入する。骨髄由来マクロファージの生存率を分析するために、細胞を上述した通りに調製し、ＭＣＳＦ中で培養する。９６ウェルのプレート中に細胞を１０５個／２００μｌでプレーティングするか（ルシフェラーゼベースのアッセイを使用した生存率分析のため）、又は組織培養で処理されていないプレート中の６ウェルのプレート中に０．５×１０６個／１ｍｌでプレーティングするか（トリパンブルー排除細胞計数のため）の何れかである。新鮮なＭ－ＣＳＦを含有する培地を３日目に添加する。示されたタイムポイントで、３ｍＭのＥＤＴＡを用いてプレートから穏やかに細胞を取り外し、Ｂｕｒｋｅｒチャンバーを使用して計数する。生細胞のＦＡＣＳ分析のために、５０ｎｇ／ｍｌのＭＣＳＦ中で６日間（＋ＭＣＳＦ）又は５０ｎｇ／ｍｌのＭＣＳＦ中で４日間の何れかでマクロファージを培養し、その後、追加の３６時間でＭＣＳＦを除去する（－ＭＣＳＦ）。ＣＤ１１ｂ抗体及びＤＡＰＩを使用して細胞を染色する。ルシフェラーゼ生存率アッセイのために、細胞の生存率を、段階的な濃度の増殖因子ＧＭＣＳＦ（樹状細胞）、ＭＣＳＦ（Ｍ１マクロファージ）、又はＭＣＳＦ＋ＩＬ－４（Ｍ２マクロファージ）中での培養の５日目に測定する。細胞を、ＴｏｘＧｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）と直接インキュベートし、ルシフェラーゼ活性（発光）を決定する。炎症性メディエーターＩＦＮ－γ、ＬＰＳ、又はザイモサンの存在下で培養された生存可能なマクロファージのＦＡＣＳ分析のために、細胞を５日目に収集し、ＣＤ１１ｂ抗体及びＤＡＰＩを使用して染色する。全ての実験を、ＴＲＥＭ１抗体若しくはコントロール抗体又はその断片の存在又は非存在下で実行する。代替として、ＷＴマウスに、４０ｍｇ／ｋｇ又は別の用量のＴＲＥＭ１又はコントロール抗体を腹腔内（ＩＰ）注射し、続いて１２－２４時間後に、２－４ｍｇ／ｋｇのＬＰＳをＩＰ注射する。６時間後に細胞を腹腔から収集し、ＦＡＣＳによって、以下のマーカー；ＣＤ１１ｂ－ＰＢ；ＣＤ１１ｃ　Ｐｅｃｙ７；ＭＨＣ－ＩＩ　ＡＰＣｃｙ７；Ｇｒ１　ＦＩＴＣ；Ｌｙ６Ｇ　ＰＥ；Ａｍｃｙａｎ生／死細胞を使用して分析した。

【０５２２】

実施例４２：　免疫／ミクログリア細胞制御モジュール内の遺伝子発現におけるＴＲＥＭ１／ＴＹＲＯＢＰ依存性変化を正常化する抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体に関するスクリーニング

マウス胚幹細胞由来のミクログリア細胞を、療法とも細胞内免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）モチーフが欠失した全長又は短縮型のＴｙｒｏｂｐの何れかを過剰発現するようにレンチウイルスベクターによって遺伝子改変する。ミクログリア細胞はまた、ＴＲＥＭ１についてヘテロ接合型のマウス胚幹細胞由来でもある。Ｔｙｒｏｂｐ又はＴＲＥＭ１の変動に応答したゲノム規模での遺伝子発現の変化を評価するために、遺伝子発現データを、（１）ビヒクル、（２）全長Ｔｙｒｏｂｐ、若しくは（３）ドミナントネガティブ短縮型Ｔｙｒｏｂｐを過剰発現する；又は（４）ＴＲＥＭ１のノックダウン構築物、例えばＳｉＲＮＡなどを過剰発現するマウスミクログリア細胞のマクロファージ又は樹状細胞、及びＴＲＥＭ１についてヘテロ接合型の細胞、加えてＴＲＥＭ１欠失マウス由来の細胞のＲＮＡシーケンシングから得る。全長Ｔｙｒｏｂｐ及び短縮型Ｔｙｒｏｂの過剰発現に対しておよそ２，６３８個及び３，４１５個の差次的に発現された遺伝子がそれぞれ同定される（Zhangら、(2013) Cell 153、707-720）。無傷のＴｙｒｏｂｐを過剰発現するミクログリア細胞から差次的に発現された遺伝子のおよそ９９％が、コントロールビヒクルと比較して下方制御される。例えば、６５８個の遺伝子が、小胞／自食作用に関し、同様にＲＮＡ代謝及び細胞周期の有糸分裂に関与する遺伝子は、活性Ｔｙｒｏｂｐによって下方制御されるが、ドミナントネガティブ短縮型Ｔｙｒｏｂｐを発現する細胞において上方制御される。逆に言えば、小胞／自食作用経路及びミトコンドリアに

関する一部の２，８５６個の遺伝子は、ドミナントネガティブ短縮型Ｔｙｒｏｂｐを発現するミクログリア細胞中で選択的に上方制御される。アゴニスト抗ＴＲＥＭ１及び／又はＴＲＥＭ１二重特異性抗体を、正常なミクログリア細胞、及びドミナントネガティブ短縮型Ｔｙｒｏｂｐを発現する細胞（Zhangら、(2013) Cell 153、707-720）、ＴＲＥＭ１がノックダウンされた構築物を発現する細胞、又はＴＲＥＭ１についてヘテロ接合型である細胞中で無傷のＴｙｒｏｂｐを過剰発現するミクログリア細胞で観察された遺伝子発現プロファイルに類似した遺伝子発現プロファイルを惹起するそれらの能力についてスクリーニングする。遺伝子発現ネットワークを変化させることが可能な抗体を選択する。

【０５２３】

実施例４３：　ＴＲＥＭ１抗体の抗癌作用の分析

８週齢（＋／－２週齢）の１０匹のＣ５７Ｂｌ６／ＮＴａｃマウスのグループの皮下を、１００ｕｌのＰＢＳに懸濁した腫瘍細胞（例えば1×10^{5}から1×10^{6}個のＭＣ３８、ルイス肺、又はＢ１６細胞）で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、マウスのグループに、２００ｕｇのアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体のそれぞれ、例えば実施例３８及び４０に記載されたものを３日毎に４用量で腹腔内注射する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００mm^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率パーセントが転帰尺度である。腫瘍の取り込み及び増殖速度の低減、腫瘍浸潤性の免疫サプレッサーマクロファージの数の低減、及び腫瘍へのエフェクターＴ細胞流入の増加が、抗ＴＲＥＭ１抗体を遮断する抗癌作用を示す。

【０５２４】

実施例４４：　ＴＲＥＭ１抗体を、阻害チェックポイントタンパク質又は阻害サイトカイン／ケモカイン及びそれらの受容体に対する抗体と組み合わせた併用療法の相加的な抗腫瘍作用の分析

８週齢（＋／－２週齢）の１５匹のＣ５７Ｂｌ６／ＮＴａｃマウスのグループの皮下を、腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、３日目、６日目、及び９日目に、マウスに、２００ｕｇの抗ＴＲＥＭ１抗体を単独で、又はチェックポイントタンパク質に対する抗体（例えば抗ＰＤＬ１ｍＡｂクローン１０Ｆ．９Ｇ２及び／又は抗ＣＴＬＡ－４ｍＡｂクローンＵＣ１０－４Ｆ１０－１１）と組み合わせて３日毎に４用量でｉ．ｐ．注射する。処理グループは、抗ＴＲＥＭ１；抗ＣＴＬＡ－４；抗ＰＤＬ１；抗ＴＲＥＭ１＋抗ＣＴＬＡ－４；抗ＴＲＥＭ１＋抗ＰＤＬ１；及びアイソタイプコントロールを包含する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００mm^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率％が転帰尺度である。併用療法による腫瘍増殖の減少及び生存率％の増加は、抗ＴＲＥＭ１抗体が、抗チェックポイント抗体との相加的又は相乗的な治療作用を有することを示す。チェックポイント分子に対するアンタゴニスト抗体としては、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＨＶＥＭ、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＧＡＬ９、ＴＩＭ３、Ａ２ＡＲ、ＬＡＧ－３、及びホスファチジルセリン（ＰＳ）に対する抗体が挙げられる。阻害サイトカインに対するアンタゴニスト抗体は、ＣＣＬ２、ＣＳＦ－１、及びＩＬ－２に対する抗体を包含する。

【０５２５】

実施例４５：　ＴＲＥＭ１抗体を刺激チェックポイントタンパク質を活性化する抗体と組み合わせた併用療法の相加的な抗腫瘍作用の分析

８週齢（＋／－２週齢）の１５匹のＣ５７Ｂｌ６／ＮＴａｃマウスのグループの皮下を、腫瘍細胞で攻撃する。埋め込みの前に動物をイソフルランで麻酔する。２日目から開始して、３日目、６日目、及び９日目に、マウスに、２００ｕｇの抗ＴＲＥＭ１抗体単独で、又は刺激チェックポイントタンパク質を活性化するアゴニスト抗体（例えば、ＯＸ４０又はＩＣＯＳ　ｍＡｂ）と組み合わせて３日毎に４用量で腹腔内注射する。４日目から開始して２週に１回カリパスを用いてモニターして、腫瘍増殖を測定する。実験の評価項目は、２０００mm^{3}の腫瘍体積又は６０日である。腫瘍増殖及び生存率パーセントが転帰尺

度である。併用療法による腫瘍増殖の減少及び生存率％の増加は、抗ＴＲＥＭ１抗体が、刺激チェックポイント抗体と相加的又は相乗的な治療作用を有することを示す。刺激チェックポイント抗体としては、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ１３７、ＣＤ２７、ＣＤ４０、及びＧＩＴＲに対するアゴニスト／刺激性の抗体が挙げられる。

【０５２６】

実施例４６： ＴＲＥＭ１抗体の抗卒中作用の分析

中大脳動脈（ＭＣＡＯ）の一時的な閉塞、すなわちヒト卒中に厳密に似ているモデルを使用して、マウスにおいて脳梗塞を誘導する。モノフィラメント（７０ＳＰＲｅ、Ｄｏｃｃｏｌ Ｃｏｒｐ、ＵＳＡ）を、右総頸動脈の切開部を介して内頸動脈に導入する。中大脳動脈を、様々な再灌流時間（６時間、１２時間、２４時間、２日、７日及び２８日）で３０分閉塞する。１２時間及び７日に、偽動物を使用して外科手術の作用を調節する。偽動物は、中大脳動脈を閉塞させずに同じ外科手術を受ける。アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体又はコントロール抗体で処理されたＭＣＡＯ動物を、梗塞の容量測定、急性炎症性反応（１２時間の再灌流）、炎症促進性サイトカインＴＮＦａ、ＩＬ－１ａ、及びＩＬ－１ｂの転写、ミクログリア細胞の活性（ＣＤ６８、Ｉｂａ１）、ケモカインＣＣＬ２（ＭＣＰ１）、ＣＣＬ３（ＭＩＰ１ａ）及びケモカイン受容体ＣＸ３ＣＲ１の転写、並びにＣＤ３陽性Ｔ細胞の浸潤について試験する（Sieberら、(2013) PLoS ONE 8(1): e52982. doi:10.1371/journal.pone.0052982）。

【０５２７】

実施例４７： 抗ＴＲＥＭ１抗体の抗アルツハイマー病作用の分析

抗ＴＲＥＭ１抗体の、アルツハイマー病（ＡＤ）の発症を遅延させる、予防する、又は逆転させる能力を評価するために、５Ｘ ＦＡＤマウスを使用する。５Ｘ ＦＡＤマウスは、スウェーデン（Ｋ６７０Ｎ、Ｍ６７１Ｌ）、フロリダ（Ｉ７１６Ｖ）、及びロンドン（Ｖ７１７Ｉ）家族性アルツハイマー病（ＦＡＤ）突然変異を有する突然変異ヒトＡＰＰ（６９５）を、２つのＦＡＤ突然変異、Ｍ１４６Ｌ及びＬ２８６Ｖを有するヒトＰＳ１と共に過剰発現する。両方の導入遺伝子は、マウスＴｈｙ１プロモーターによって、脳での過剰発現を駆動させＡＤの主要な特徴を再現するように制御される。免疫組織化学を用いて、さらに組織抽出物のＥＬＩＳＡによって、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体又はコントロール抗体で処理されたマウスをＡベータ斑の負荷量について試験する。学習及び記憶、並びに恐怖条件付けを評価するために、マウスをさらに、モーリスの水迷路、空間学習及び記憶課題、放射アーム水迷路、空間学習及び記憶課題、Ｙ迷路（空間認知の尺度としての自発的交替行動を定量する）、オープンフィールドにおける嗜好性、オペラント学習を使用して、脳中のミクログリア細胞の数及び認知障害の低減について試験する（mousebiology.orgのウェブサイト；Wangら、(2015) Cell. pii: S0092-8674(15)00127-0）。

【０５２８】

実施例４８： 気道感染におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

細菌による気道感染を遅延させる、予防する、又は処置するＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、肺炎連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）でのＣ５７Ｂｌ６マウスの攻撃を含む前臨床マウスモデルを使用する。このモデルは、１０５ＣＦＵの肺炎連鎖球菌血清型３（ＡＴＣＣ６３０３）を記載された通りに鼻腔内（ｉ．ｎ．）投与することを含む（例えば、Sharif Oら、2014 PLoS Pathog. 2014年6月; 10(6): e1004167;及びSchabbauer Gら、2010 J Immunol 185: 468-476を参照のこと）。このモデルにおいて、ＷＴ Ｃ５７Ｂｌ６マウスの～９０％が感染後６日以内に感染で死亡する。１グループ当たりマウス１０匹から１５匹を肺炎連鎖球菌で刺激し、それに伴い０日目から開始して１日おきにアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体で処理する。肺炎連鎖球菌での攻撃の３時間前に抗ＴＲＥＭ１抗体の第１の用量を投与する。マウスを１５日間毎日モニターして、死亡事象をチェックする。細菌攻撃から生き残ったマウスの％を決定する。別の実験で、血液及び肺中の細菌負荷量の計数及びサイトカイン発現も決定する。感染の２４又は４８時間後、ＥＤＴＡ含有するチューブ中に血液を収集し、寒天プレート上にプレーティングして、血漿中の細菌のＣＦＵを数える。ＥＬＩＳＡによるサイトカ

イン分析のために血漿を－２０℃で貯蔵する。肺を回収し、ホモジナイズし、寒天プレート上にプレーティングして、細菌のＣＦＵを数えるか、又は溶解緩衝液中で３０分インキュベートし、サイトカイン測定のために上清を分析する。別の実験で、細菌感染の４０時間後に肺を収集し、１０％ホルマリン中で固定し、Ｈ＆Ｅ病理学分析のためにパラフィン中に埋め込む。

【０５２９】

実施例４９：　敗血症におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

敗血症を遅延させる、予防する、又は処置するＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、ＬＰＳでのＣ５７Ｂｌ６マウスの全身攻撃を含む前臨床マウスモデルを使用する。このモデルは、３７ｍｇ／ｍｌのＬＰＳを記載された通りに腹膜内（ｉ．ｐ．）投与することを含む（例えば、Gawish Rら、2014 FASEB Jを参照のこと）。このモデルにおいてＷＴＣ５７Ｂｌ６マウスの＞９５％がＬＰＳ注射後４０時間以内に感染で死亡する。マウスのコホートをＬＰＳで攻撃し、それに伴いアンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体で０日目から始めて毎日処理する。ＬＰＳでの攻撃の３時間前に抗ＴＲＥＭ１抗体の第１の用量を投与する。昼間の間、マウスを～４時間毎にモニターして、死亡事象をチェックする。ＬＰＳでの攻撃から生き残ったマウスのパーセンテージを決定する。

【０５３０】

別の実験で、腹膜洗浄液（ＰＬＦ）を収集する。ＥＬＩＳＡによるサイトカイン分析のために上清を－２０℃で貯蔵し、ペレット化した細胞を計数して、腹膜腔中に動員された炎症細胞を定量する。他の感染のモデルにおけるＴＲＥＭ１抗体の効能を試験するために、類似の研究を実行してもよい（例えば、Sunら、(2013) Invest Ophthalmol Vis Sci. 17;54(5):3451-62を参照のこと）。

【０５３１】

実施例５０：　急性及び慢性大腸炎におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

大腸炎を遅延させる、予防する、又は処置する抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、急性又は慢性大腸炎の前臨床マウスモデルを使用する。ＤＳＳによって誘導された大腸炎の場合、マウスに飲用水中３％のＤＳＳを８日間にわたり適宜与える。ＴＮＢＳによって誘導された大腸炎の場合、マウスを麻酔し、２０％エタノール中３ｍｇ（ｖｏｌ／ｖｏｌ）のＴＮＢＳの直腸内注射又はコントロールとしてビヒクル単独で処理する。慢性大腸炎モデルの場合、２％ＤＳＳを５日間、それに続いて１０日の回収期間を３サイクルで全てのマウスを処理する。全てのモデルにつき、体重の減少、便の堅さ、及び便潜血の存在を毎日モニターし、これを使用して、記載された通りに疾患活動性指標を計算する（例えば、Correale C、2013、Gastroenterology、2013年2月、pp.346-356.e3を参照のこと）。マウスのコホートを、アンタゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体で０日目から始めて毎日処理し、ＤＳＳ又はＴＮＢＳ投与に供する。マウスを毎日モニターして、体重の減少、便の堅さ、及び便潜血の存在をチェックする。これらを毎日モニターして、記載された通りに疾患活動性指標を計算するのに使用した（例えば、S. Vetrano、Gastroenterology、135 (2008)、pp.173-184を参照のこと）。別の実験で、粘膜のダメージの内視鏡及び組織学的な画像を収集して、炎症細胞浸潤及び粘膜のダメージを評価する。クローン病、炎症性腸疾患、及び潰瘍性大腸炎などの他の自己免疫モデルにおけるＴＲＥＭ１抗体の利益を試験するために、類似の研究を実行してもよい（例えば、Lowら、(2013) Drug Des Devel Ther.;7: 1341-1357;及びSollidら、(2008) PLoS Med 5(9): e198を参照のこと）。

【０５３２】

実施例５１：　創傷治癒におけるアゴニストＴＲＥＭ１の保護作用の分析

損傷後の結腸の創傷修復を増加させる抗ＴＲＥＭ１抗体の能力を評価するために、結腸における生検損傷のマウスモデルを使用する。このモデルにおいて、外部操作されるシースを備えた内視鏡を中間から下行結腸に挿入し、肛門と直腸の接合部まで粘膜を調査する。次いで、単一の粘膜全体の全層領域及び粘膜下組織を、筋層の貫通を回避しながら直径３フレンチのフレキシブルな生検鉗子で除去する。各マウスにおいて、結腸の背面にそって

３－５部位で生検損傷を与える（例えば、Seno H、2008、Proc Natl Acad Sci U S A. 2009年1月6日；106(1): 256-261を参照のこと）。生検損傷の２日後又は３日後に、マウスのコホートをアゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体で処理する。マウスを１５日間毎日モニターして、病変の表面領域を測定することによって体重の減少及び創傷治癒をチェックする。

【０５３３】

実施例５２：　網膜変性におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

ＡＭＤは、外部の網膜の変性疾患である。炎症、特に炎症性サイトカイン及びマクロファージはＡＭＤ疾患の進行に寄与すると考えられる。ドルーゼン、ブルック膜、脈絡膜及び網膜におけるＡＭＤ病変と近接したマクロファージの存在が報告されている。マクロファージは、組織因子（ＴＦ）及び血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）を放出するが、これらは脈絡膜の血管新生を示す患者において新生血管形成の拡張の引き金になる。黄斑の脈絡膜中に存在するマクロファージのタイプは加齢に伴って変化し、より高齢の目ではより若い目と比較してＭ２マクロファージレベルの上昇を呈示する。しかしながら、進行中のＡＭＤ斑は、類似の年齢の正常な解剖された目と比較して、Ｍ２に対するＭ１の比率がより高い。（例えば、Cao Xら、(2011)、Pathol Int 61(9): pp528-35を参照のこと）。これは、古典的な目におけるＭ１マクロファージ活性化とＡＭＤ進行の後期発症との間に関連があることを示唆する。網膜のミクログリア細胞は、通常内部の網膜中にも存在する組織常在性のマクロファージである。ダメージの場合には、ミクログリア細胞は、活性化されて、炎症媒介物質として作用する可能性がある。ＡＭＤ組織サンプルにおいて活性化されたミクログリア細胞が検出されており、ＡＭＤの病因を引き起こす炎症プロセスの１つの可能性のある寄与因子として提唱されている（Guptaら、(2003) Exp Eye Res.、76(4): 463-71）。ＡＭＤを予防する、遅延させる、又は逆転させるアンタゴニストＴＲＥＭ１抗体の能力を、１つ又は複数のＡＭＤモデルで試験する（例えば、Pennesiら、(2012) Mol Aspects Med.; 33(4): 487-509を参照のこと）。全体的な炎症性マクロファージ（Ｍ１及び／又は活性化されたミクログリア細胞の何れか）は、ＡＭＤ疾患の進行と相関することが報告されており、それゆえにアンタゴニストＴＲＥＭ１抗体の治療標的の代表である。緑内障及び遺伝学的形態又は網膜変性、例えば網膜色素変性症などにおいても類似の治療的有用性を達成することができる。

【０５３４】

緑内障における網膜神経節細胞変性を予防する、遅延させる、又は逆転させるＴＲＥＭ１抗体の能力を、緑内障モデルで試験する（例えば、El-Danafら、(2015).J Neurosci. 11;35(6):2329-43を参照のこと）。同様に、遺伝学的に誘導された網膜変性及び網膜色素変性症におけるＴＲＥＭ１抗体の治療上の利益は、Changら、(2002) Vision Res.; 42(4):517-25、及び「Retinal Degeneration Rat Model Resource Availability of P23H and S334ter Mutant Rhodopsin Transgenic Rats and RCS Inbred and RCS Congenic Strains of Rats」、MM LaVail、2011年6月30日で説明されたようにして試験される。

【０５３５】

実施例５３：　脂肪生成及び食事誘発性肥満におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

脂肪生成及び肥満症におけるＴＲＥＭ１抗体の作用を試験するために、高脂肪食（ＨＦＤ）のマウスモデルを使用する（例えば、Parkら、(2015) Diabetes. 64(1):117-27を参照のこと）。

【０５３６】

実施例５４：　マラリアにおけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

非肝実質細胞におけるＴＲＥＭ１発現は、マラリア病原体のネズミマラリア原虫（Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ　ｂｅｒｇｈｅｉ）による肝臓段階の感染に対する耐性と厳密に相関する（Goncalvesら、(2013) Proc Natl Acad Sci 26;110(48):19531-6）。理論に拘泥するものではないが、ＴＲＥＭ１抗体は、ネズミマラリア原虫での肝臓段階の感染に対する耐性を増加させると考えられる。マラリア感染に対する耐性を増加させるＴＲＥＭ１抗

体の能力を、Goncalvesら、(2013) Proc Natl Acad Sci 26;110(48):19531-6に記載されているようにして試験する。簡単に言えば、ＧＦＰを発現するネズミマラリア原虫ＡＮＫＡ種虫を、ハマダラカ（Ａｎｏｐｈｅｌｅｓ　ｓｔｅｐｈｅｎｓｉ）からの感染した唾液腺の切開によって得る。ＲＰＭＩ培地中の種虫懸濁液を、マウス１匹当たり１０４個の種虫を含有する１００μＬの接種材料でｉ．ｖ．注射する。注射の４０時間後に肝臓を収集するか、又は生存及び寄生虫血症を２８日間にわたり追跡する。実験的な大脳マラリアのスコア付けのために、神経学的な症状を、注射後の５日目からモニターする。

【０５３７】

実施例５５：　骨粗鬆症におけるＴＲＥＭ１抗体の保護作用の分析

骨は、カルシウムホメオスタシス及び構造的な必要性を維持するために絶えず再構築される動的な臓器である。破骨細胞は、骨の有機及び無機要素の両方の除去に関与する細胞である。破骨細胞は、マクロファージ系統の造血細胞祖先由来であり、ＮＦκＢリガンドの腫瘍壊死因子ファミリーのサイトカイン受容体活性化剤に応答して分化する。破骨細胞は、唯一の骨吸収細胞であり、これが、骨粗鬆症及び大理石骨病の病因の中心である（Novackら、(2008) Annual Rev Pathol.、3:457-84）。骨粗鬆症は、骨折のリスク増加を引き起こす可能性がある骨量及び密度の減少を特徴とする進行性の骨疾患である。これは、骨の転換が促進される場合、ほとんど閉経後の最初の数年で認められ、破骨細胞と骨芽細胞の両方の活性が増加する。しかしながら、再吸収及び合成プロセスにおける不均衡のために、正味の作用は骨量減少であり、これは、主として小柱である。したがって、骨粗鬆症における最も優勢な骨折部位は、手首、大腿頸部、及び椎体であり、これらにおいて小柱の構造が、全体の骨強度にとって重要である。骨粗鬆症を引き起こす破骨細胞分化の促進及び骨吸収能力の増加は、ＴＲＥＭ１発現が欠失した動物モデルにおいて説明されている（Oteroら(2012) J. Immunol. 188、2612-2621）。破骨細胞機能の低減は、ＤＡＰ１２ＩＴＡＭシグナル伝達アダプターが欠失した動物モデルで観察されるように、骨量の増加及び骨髄腔の消滅を伴う大理石骨病を引き起こし、結果として破骨細胞様細胞の分化の有意な欠陥が起こる（Kogaら、(2004) Nature 428: 758-763）。理論に拘泥するものではないが、本発明の開示の抗ＴＲＥＭ１抗体の投与は、骨粗鬆症を予防する、骨粗鬆症のリスクを低減する、及び／又は骨粗鬆症を処理することができると考えられる。一部の実施態様において、アゴニスト抗ＴＲＥＭ１抗体の投与は、大理石骨病を有する個体において１つ又は複数のＴＲＥＭ１活性を誘導することができる（例えば、ＤＡＰ１２リン酸化、Ｓｙｋ活性化、及び破骨細胞への分化の促進される）（Pengら(2010). Sci Signal. 2010 18;3 122; 及びHumphreyら、(2006) J Bone Miner Res.、21(2):237-45）。

【０５３８】

実施例５６：　抗ＴＲＥＭ１抗体に応答する可能性が最も高いヒトにおける腫瘍タイプの同定。

ＴＲＥＭ１は、ヒト癌において腫瘍浸潤骨髄細胞で発現され、ＴＲＥＭ１活性のモジュレーションは、一部の腫瘍タイプでは他のものより多くの影響を有すると予測される。抗ＴＲＥＭ１抗体が、疾患に影響を有する可能性が最も高い腫瘍タイプを同定するために、ＴＣＧＡデータベース内の２１種の腫瘍タイプにわたる８０００個より多くの一次ヒト腫瘍サンプルを、ＲＮＡｓｅｑによって測定した場合、ＴＲＥＭ１発現と患者生存との関連について照合した。発現と生存との関連を、Ｒにおけるコックス比例ハザードモデルにより、性別、年齢、及び腫瘍悪性度について補正して評価した。

【０５３９】

ボンフェローニの多重試験補正の後に、高いＴＲＥＭ１発現と不良な患者予後との有意な関連が、子宮頸癌（ＣＥＳＣ、基準のｐ＝１．８Ｅ－３、補正されたｐ＝３．８Ｅ－２）、肝臓癌（ＬＩＨＣ、基準のｐ＝３．７Ｅ－５、補正されたｐ＝７．７Ｅ－４）、及び低悪性度神経膠腫（ＬＧＧ、基準のｐ＝１．３Ｅ－５、補正されたｐ＝２．７Ｅ－４）で観察された。また扁平上皮非小細胞肺癌（ＬＵＳＣ、基準のｐ＝３．６Ｅ－３、補正されたｐ＝７．６Ｅ－２）でも関連が観察された。図１７に有意な関連の例が示されており、こ

の場合、高い及び低いＴＴＲＥＭ１発現は、所与の腫瘍タイプにおける上位及び下位２０％のサンプルにおけるＴＲＥＭ１発現レベルと定義される。１つの分析において、一緒にグループ分けした場合、神経膠腫及び膠芽腫、並びに一緒にグループ分けした場合、腎臓明細胞癌腫、乳頭状腎細胞癌腫、及び嫌色素腎細胞癌腫でも関連が観察されたことから、高いＴＲＥＭ１発現と不良な患者生存との基準の関連が、膵臓癌及び腎臓明細胞癌腫に見出された。

【０５４０】

参考文献

Adib-Conquy, M., M. Monchi, C. Goulenok, I. Laurent, M. Thuong, J.-M. Cavaillon and C. Adrie (2007). "INCREASED PLASMA LEVELS OF SOLUBLE TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS 1 and PROCALCITONIN AFTER CARDIAC SURGERY AND CARDIAC ARREST WITHOUT INFECTION." Shock28(4): 406-410.

Allcock, R. J. N., A. D. Barrow, S. Forbes, S. Beck and J. Trowsdale (2003). "The human TREM gene cluster at 6p21.1 encodes both activating and inhibitory single IgV domain receptors and includes NKp44." European Journal of Immunology 33(2): 567-577.

Arts, R. J., L. A. Joosten, C. A. Dinarello, B. J. Kullberg, J. W. van der Meer and M. G. Netea (2011). "TREM-1 interaction with the LPS/TLR4 receptor complex." Eur Cytokine Netw 22(1): 11-14.

Arts, R. J. W., L. A. B. Joosten, J. W. M. van der Meer and M. G. Netea (2012). "TREM-1: intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors." Journal of Leukocyte Biology 93(2): 209-215.

Barletta, K. E., R. E. Cagnina, M. D. Burdick, J. Linden and B. Mehrad (2012). "Adenosine A2B Receptor Deficiency Promotes Host Defenses against Gram-Negative Bacterial Pneumonia." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine186(10): 1044-1050.

Borrello, M. G., D. Degl ' Innocenti and M. A. Pierotti (2008). "Inflammation and cancer: The oncogene-driven connection." Cancer Letters 267(2): 262-270.

Bosco, M. C., D. Pierobon, F. Blengio, F. Raggi, C. Vanni, M. Gattorno, A. Eva, F. Novelli, P. Cappello, M. Giovarelli and L. Varesio (2010). "Hypoxia modulates the gene expression profile of immunoregulatory receptors in human mature dendritic cells: identification of TREM-1 as a novel hypoxic marker in vitro and in vivo." Blood117(9): 2625-2639.

Bouchon, A., J. Dietrich and M. Colonna (2000). "Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes." J Immunol164(10): 4991-4995.

Bouchon, A., F. Facchetti, M. A. Weigand and M. Colonna (2001). Nature 410(6832): 1103-1107.

Collins, C. E., D. T. La, H. T. Yang, F. Massin, S. Gibot, G. Faure and W. Stohl (2008). "Elevated synovial expression of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in patients with septic arthritis or rheumatoid arthritis." Annals of the Rheumatic Diseases 68(11): 1768-1774.

El Mezayen, R., M. El Gazzar, M. C. Seeds, C. E. McCall, S. C. Dreskin and M. R. Nicolls (2007). "Endogenous signals released from necrotic cells augment inflammatory responses to bacterial endotoxin." Immunology Letters 111(1): 36-44.

Ford, J. W. and D. W. McVicar (2009). "TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease." Current Opinion in Immunology 21(1): 38-46.

Gibot, S. (2004). "Plasma Level of a Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1: Its Diagnostic Accuracy in Patients with Suspected Sepsis." Annals

of Internal Medicine141(1): 9.
Gibot, S. (2004). "A Soluble Form of the Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 Modulates the Inflammatory Response in Murine Sepsis." Journal of Experimental Medicine200(11): 1419-1426.
Gibot, S., C. Alauzet, F. Massin, N. Sennoune, Gilbert C. Faure, M. C. Bene, A. Lozniewski, P. E. Bollaert and B. Levy (2006). "Modulation of the Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 Pathway during Pneumonia in Rats." The Journal of Infectious Diseases194(7): 975-983.
Gibot, S., C. Buonsanti, F. Massin, M. Romano, M. N. Kolopp-Sarda, F. Benigni, G. C. Faure, M. C. Bene, P. Panina-Bordignon, N. Passini and B. Levy (2006). "Modulation of the triggering receptor expressed on the myeloid cell type 1 pathway in murine septic shock." Infect Immun 74(5): 2823-2830.
Gibot, S., F. Massin, M. Marcou, V. Taylor, R. Stidwill, P. Wilson, M. Singer and G. Bellingan (2007). "TREM-1 promotes survival during septic shock in mice." European Journal of Immunology 37(2): 456-466.
Haselmayer, P., L. Grosse-Hovest, P. von Landenberg, H. Schild and M. P. Radsak (2007). "TREM-1 ligand expression on platelets enhances neutrophil activation." Blood 110(3): 1029-1035.
Ho, C.-C., W.-Y. Liao, C.-Y. Wang, Y.-H. Lu, H.-Y. Huang, H.-Y. Chen, W.-K. Chan, H.-W. Chen and P.-C. Yang (2008). "TREM-1 Expression in Tumor-associated Macrophages and Clinical Outcome in Lung Cancer." Am J Respir Crit Care Med 177(7): 763-770.
Klesney-Tait, J., K. Keck, X. Li, S. Gilfillan, K. Otero, S. Baruah, D. K. Meyerholz, S. M. Varga, C. J. Knudson, T. O. Moninger, J. Moreland, J. Zabner and M. Colonna (2012). "Transepithelial migration of neutrophils into the lung requires TREM-1." Journal of Clinical Investigation 123(1): 138-149.
Klesney-Tait, J., I. R. Turnbull and M. Colonna (2006). "The TREM receptor family and signal integration." Nat Immunol 7(12): 1266-1273.
Kuraishy, A., M. Karin and Sergei I. Grivennikov (2011). "Tumor Promotion via Injury- and Death-Induced Inflammation." Immunity 35(4): 467-477.
Lin, Y. T., K. Y. Tseng, Y. C. Yeh, F. C. Yang, C. P. Fung and N. J. Chen (2014). "TREM-1 promotes survival during Klebsiella pneumoniae liver abscess in mice." Infect Immun 82(3): 1335-1342.
Murakami, Y., T. Akahoshi, I. Hayashi, H. Endo, S. Kawai, M. Inoue, H. Kondo and H. Kitasato (2006). "Induction of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in murine resident peritoneal macrophages by monosodium urate monohydrate crystals." Arthritis & Rheumatism 54(2): 455-462.
Radsak, M. P., H. R. Salih, H. G. Rammensee and H. Schild (2004). "Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 in Neutrophil Inflammatory Responses: Differential Regulation of Activation and Survival." The Journal of Immunology 172(8): 4956-4963.
Radsak, M. P., C. Taube, P. Haselmayer, S. Tenzer, H. R. Salih, R. Wiewrodt, R. Buhl and H. Schild (2007). "Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 1 Is Released in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease." Clinical and Developmental Immunology 2007: 1-7.
Read, C. B., J. L. Kuijper, S. A. Hjorth, M. D. Heipel, X. Tang, A. J. Fleetwood, J. L. Dantzler, S. N. Grell, J. Kastrup, C. Wang, C. S. Brandt, A. J. Hansen, N. R. Wagtmann, W. Xu and V. W. Stennicke (2015). "Cutting Edge: identification of neutrophil PGLYRP1 as a ligand for TREM-1." J Immunol 194(4): 1417-1421.
Saurer, L., S. Rihs, M. Birrer, N. Saxer-Seculic, M. Radsak and C. Mueller (201

2). "Elevated levels of serum-soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with IBD do not correlate with intestinal TREM-1 mRNA expression and endoscopic disease activity." Journal of Crohn's and Colitis 6(9): 913-923.
Schenk, M., A. Bouchon, F. Seibold and C. Mueller (2007). "TREM-1-expressing intestinal macrophages crucially amplify chronic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases." Journal of Clinical Investigation 117(10): 3097-3106.
Trinchieri, G. (2011). "Innate inflammation and cancer: Is it time for cancer prevention?" F1000 Med Rep 3.
Trinchieri, G. (2012). "Cancer and Inflammation: An Old Intuition with Rapidly Evolving New Concepts *." Annual Review of Immunology 30(1): 677-706.
Weber, B., L. Saurer, M. Schenk, N. Dickgreber and C. Mueller (2011). "CX3CR1 defines functionally distinct intestinal mononuclear phagocyte subsets which maintain their respective functions during homeostatic and inflammatory conditions." European Journal of Immunology 41(3): 773-779.
Weber, B., S. Schuster, D. Zysset, S. Rihs, N. Dickgreber, C. Schurch, C. Riether, M. Siegrist, C. Schneider, H. Pawelski, U. Gurzeler, P. Ziltener, V. Genitsch, F. Tacchini-Cottier, A. Ochsenbein, W. Hofstetter, M. Kopf, T. Kaufmann, A. Oxenius, W. Reith, L. Saurer and C. Mueller (2014). "TREM-1 deficiency can attenuate disease severity without affecting pathogen clearance." PLoS Pathog 10(1): e1003900.
Wu, J., J. Li, R. Salcedo, N. F. Mivechi, G. Trinchieri and A. Horuzsko (2012). "The proinflammatory myeloid cell receptor TREM-1 controls Kupffer cell activation and development of hepatocellular carcinoma." Cancer Res 72(16): 3977-3986.
Wu, J., J. Li, R. Salcedo, N. F. Mivechi, G. Trinchieri and A. Horuzsko (2012). "The Proinflammatory Myeloid Cell Receptor TREM-1 Controls Kupffer Cell Activation and Development of Hepatocellular Carcinoma." Cancer Research 72(16): 3977-3986.
Yuan, Z., H. J. Mehta, K. Mohammed, N. Nasreen, R. Roman, M. Brantly and R. T. Sadikot (2014). "TREM-1 is induced in tumor associated macrophages by cyclo-oxygenase pathway in human non-small cell lung cancer." PLoS One 9(5): e94241.
Zanzinger, K., C. Schellack, N. Nausch and A. Cerwenka (2009). "Regulation of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 expression on mouse inflammatory monocytes." Immunology128(2): 185-195.

【０５４１】

抗体可変領域配列

軽鎖可変領域配列

ＴＩ－１（ＡＤＩ－１９０６７）軽鎖可変領域（配列番号３１６）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＤＡＳＮＬＥＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＦＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＶＹＶＬＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２（ＡＤＩ－１９０６８）軽鎖可変領域（配列番号３１７）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＬＧＦＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３（ＡＤＩ－１９０６９）軽鎖可変領域（配列番号３１８）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ

ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＳＦＬＴＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４（ＡＤＩ－１９０７０）軽鎖可変領域（配列番号３１９）
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＶＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＮＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＴＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＳ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＦＮＮＨＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５（ＡＤＩ－１９０７１）軽鎖可変領域（配列番号３２０）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＶＱＡＲＱＴＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６（ＡＤＩ－１９０７２）軽鎖可変領域（配列番号３２１）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＤＡＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７（ＡＤＩ－１９０７３）軽鎖可変領域（配列番号３２２）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＬＡＳＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－８（ＡＤＩ－１９０７４）軽鎖可変領域（配列番号３２３）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＱＴＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－９（ＡＤＩ－１９０７６）軽鎖可変領域（配列番号３２４）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＱＡＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１０（ＡＤＩ－１９０７７）軽鎖可変領域（配列番号３２５）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＱＶＰＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１１（ＡＤＩ－１９０７８）軽鎖可変領域（配列番号３２６）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＦＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＱＡＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１２（ＡＤＩ－１９０７９）軽鎖可変領域（配列番号３２７）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＴＳＷＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１３（ＡＤＩ－１９０８０）軽鎖可変領域（配列番号３２８）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＦＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＬＤＳＨＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１４（ＡＤＩ－１９０８１）軽鎖可変領域（配列番号３２９）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＹＤＶＤＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１５（ＡＤＩ－１９０８２）軽鎖可変領域（配列番号３３０）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＡＦＩＳＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

ＴＩ－１６（ＡＤＩ－１９０８３）軽鎖可変領域（配列番号３３１）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＤＴＬＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１７（ＡＤＩ－１９０８４）軽鎖可変領域（配列番号３３２）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＤＡＳＮＬＡＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＦＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＳＤＩＨＰＲＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１８（ＡＤＩ－１９０８５）軽鎖可変領域（配列番号３３３）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＤＳＩＹＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－１９（ＡＤＩ－１９０８６）軽鎖可変領域（配列番号３３４）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＮＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＮＳＦＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２０（ＡＤＩ－１９０８７）軽鎖可変領域（配列番号３３５）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＫＳＦＳＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２１（ＡＤＩ－１９０８８）軽鎖可変領域（配列番号３３６）
ＤＩＱＬＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＦＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＹＳＤＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２２（ＡＤＩ－１９０８９）軽鎖可変領域（配列番号３３７）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＬＩＰＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２３（ＡＤＩ－１９０９０）軽鎖可変領域（配列番号３３８）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＧＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＨＱＳＦＳＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２４（ＡＤＩ－１９１５０）軽鎖可変領域（配列番号３３９）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＤＳＩＹＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２５（ＡＤＩ－１９０９２）軽鎖可変領域（配列番号３４０）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＲＳＶＬＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２６（ＡＤＩ－１９０９７）軽鎖可変領域（配列番号３４１）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＩＦＳＴＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２７（ＡＤＩ－１９０９８）軽鎖可変領域（配列番号３４２）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＦＹＤＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２８（ＡＤＩ－１９１０１）軽鎖可変領域（配列番号３４３）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＶＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＧＳＮＬＡＷＹＱＱＫＰ

ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＴＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＳ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＬＹＦＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－２９（ＡＤＩ－１９１０２）軽鎖可変領域（配列番号３４４）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＧＶＮＹＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３０（ＡＤＩ－１９１０３）軽鎖可変領域（配列番号３４５）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＶＩＳＦＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３１（ＡＤＩ－１９１０４）軽鎖可変領域（配列番号３４６）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＱＡＳＱＤＩＳＮＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＤＡＳＮＬＥＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＦＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＹＤＤＦＰＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３２（ＡＤＩ－１９１０５）軽鎖可変領域（配列番号３４７）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＲＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＬＤＬＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３３（ＡＤＩ－１９１０７）軽鎖可変領域（配列番号３４８）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＩＮＤＨＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３４（ＡＤＩ－１９１０８）軽鎖可変領域（配列番号３４９）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＮＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＳＤＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＧＰＹＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３５（ＡＤＩ－１９１０９）軽鎖可変領域（配列番号３５０）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＳＨＳＴＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３６（ＡＤＩ－１９１１０）軽鎖可変領域（配列番号３５１）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＬＡＳＱＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３７（ＡＤＩ－１９１１１）軽鎖可変領域（配列番号３５２）
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＶＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＮＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＴＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＳ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＡＹＷＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３８（ＡＤＩ－１９１１２）軽鎖可変領域（配列番号３５３）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＤＦＳＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－３９（ＡＤＩ－１９１１３）軽鎖可変領域（配列番号３５４）
ＤＩＱＬＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＬＴＨＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４０（ＡＤＩ－１９１１４）軽鎖可変領域（配列番号３５５）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＹＤＬＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

ＴＩ－４１（ＡＤＩ－１９１１５）軽鎖可変領域（配列番号３５６）
ＤＩＱＬＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＶＩＨＰＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４２（ＡＤＩ－１９１１６）軽鎖可変領域（配列番号３５７）
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＶＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＮＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＴＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＳ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＹＮＶＨＰＰＲＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４３（ＡＤＩ－１９１１７）軽鎖可変領域（配列番号３５８）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＳＲＮＡＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４４（ＡＤＩ－１９１１９）軽鎖可変領域（配列番号３５９）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＶＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＨＧＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４５（ＡＤＩ－１９１２３）軽鎖可変領域（配列番号３６０）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＥＶＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４６（ＡＤＩ－１９１２４）軽鎖可変領域（配列番号３６１）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＨＶＰＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４７（ＡＤＩ－１９１２０）軽鎖可変領域（配列番号３６２）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＨＤＳＡＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４８（ＡＤＩ－１９１２１）軽鎖可変領域（配列番号３６３）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＨＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＧＲＱＶＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－４９（ＡＤＩ－１９１２２）軽鎖可変領域（配列番号３６４）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＧＴＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５０（ＡＤＩ－１９１２５）軽鎖可変領域（配列番号３６５）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＳＲＲＡＰＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５１（ＡＤＩ－１９１２６）軽鎖可変領域（配列番号３６６）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＦＱＳＹＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５２（ＡＤＩ－１９１２７）軽鎖可変領域（配列番号３６７）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＳＳＡＤＳＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５３（ＡＤＩ－１９１２８）軽鎖可変領域（配列番号３６８）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ

ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＡＲＱＬＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５４（ＡＤＩ－１９１２９）軽鎖可変領域（配列番号３６９）
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＳＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＨＤＶＷＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５５（ＡＤＩ－１９１３０）軽鎖可変領域（配列番号３７０）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＴＲＨＴＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５６（ＡＤＩ－１９１３１）軽鎖可変領域（配列番号３７１）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＳＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＤＦＡＲＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５７（ＡＤＩ－１９１３２）軽鎖可変領域（配列番号３７２）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＤＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＲＡＶＦＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５８（ＡＤＩ－１９１３３）軽鎖可変領域（配列番号３７３）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＤＡＴＧＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－５９（ＡＤＩ－１９１３５）軽鎖可変領域（配列番号３７４）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＬＡＳＦＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６０（ＡＤＩ－１９１３６）軽鎖可変領域（配列番号３７５）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＬＡＦＴＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６１（ＡＤＩ－１９１３７）軽鎖可変領域（配列番号３７６）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＤＨＳＦＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６２（ＡＤＩ－１９１３８）軽鎖可変領域（配列番号３７７）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＤＶＳＤＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６３（ＡＤＩ－１９１３９）軽鎖可変領域（配列番号３７８）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＲＹＬＮＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＬＹＨＡＰＰＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６４（ＡＤＩ－１９１４０）軽鎖可変領域（配列番号３７９）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＥＰＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＹＤＳＬＰＦＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６５（ＡＤＩ－１９１４１）軽鎖可変領域（配列番号３８０）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＹＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＶＹＬＦＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

ＴＩ－６６（ＡＤＩ－１９１４２）軽鎖可変領域（配列番号３８１）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ
ＷＹＱＱＫＰＧＱＰＰＫＬＬＩＹＷＡＳＴＲＥＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴ
ＩＳＳＬＱＡＥＤＶＡＶＹＹＣＱＱＦＦＬＡＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６７（ＡＤＩ－１９１４３）軽鎖可変領域（配列番号３８２）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＧＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＳＦＬＡＷＹＱＱＫ
ＰＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＳＲＡＴＧＩＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＲＬＥ
ＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＡＶＳＬＰＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６８（ＡＤＩ－１９１４４）軽鎖可変領域（配列番号３８３）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＦＤＮＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－６９（ＡＤＩ－１９１４５）軽鎖可変領域（配列番号３８４）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＮＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＴＡＨＰＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７０（ＡＤＩ－１９１４６）軽鎖可変領域（配列番号３８５）
ＤＩＱＬＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＤＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＶＳＨＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７１（ＡＤＩ－１９１４７）軽鎖可変領域（配列番号３８６）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＶＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＤＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＡＡＳＳＬＱＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＥＤＦＡＴＹＹＣＱＱＡＴＳＬＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７２（ＡＤＩ－１９１４８）軽鎖可変領域（配列番号３８７）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＬＳＬＰＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＬＨＲＮＧＹＮＹＬＤＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＬＧＳＮＲＡＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＭＱＲＬＱＡＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７３（ＡＤＩ－１９１４９）軽鎖可変領域（配列番号３８８）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＹＲＴＹＰＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７４（ＡＤＩ－１９１５１）軽鎖可変領域（配列番号３８９）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＫＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＨＳＬＬＳＩＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７５（ＡＤＩ－１９１５２）軽鎖可変領域（配列番号３９０）
ＥＩＶＬＴＱＳＰＡＴＬＳＬＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＳＳＹＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＤＡＳＮＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＥＰ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＨＹＮＬＷＲＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７６（ＡＤＩ－１９１５３）軽鎖可変領域（配列番号３９１）
ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＴＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＳＩＳＳＷＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＫＡＰＫＬＬＩＹＤＡＳＳＬＥＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰ
ＤＤＦＡＴＹＹＣＱＱＨＳＴＹＳＷＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７７（ＡＤＩ－１９１５４）軽鎖可変領域（配列番号３９２）
ＥＩＶＭＴＱＳＰＡＴＬＳＶＳＰＧＥＲＡＴＬＳＣＲＡＳＱＳＶＧＳＮＬＡＷＹＱＱＫＰ
ＧＱＡＰＲＬＬＩＹＧＡＳＴＲＡＴＧＩＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＳ
ＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＨＤＶＷＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ
ＴＩ－７８（ＡＤＩ－１９１５５）軽鎖可変領域（配列番号３９３）
ＤＩＶＭＴＱＳＰＤＳＬＡＶＳＬＧＥＲＡＴＩＮＣＫＳＳＱＳＶＬＦＳＳＮＮＫＮＹＬＡ

WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQYFSTPPTFGGGTKVEIK
TI－79（ADI－19156）軽鎖可変領域（配列番号394）
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA
WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQYALTPYTFGGGTKVEIK
TI－80（ADI－19159）軽鎖可変領域（配列番号395）
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKP
GQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS
EDFAVYYCQQDHDRPLTFGGGTKVEIK
重鎖可変領域配列
TI－1（ADI－19067）重鎖可変領域（配列番号396）
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARGQGSDHYYYGMDVWGQGTTVTV
SS
TI－2（ADI－19068）重鎖可変領域（配列番号397）
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCAREGGPRGASFNWFDPWGQGTLVT
VSS
TI－3（ADI－19069）重鎖可変領域（配列番号398）
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARDVGSMYFDIWGQGTMVTVSS
TI－4（ADI－19070）重鎖可変領域（配列番号399）
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
PGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAY
MELSSLRSEDTAVYYCARHYYYGYAYFDLWGRGTLVTVSS
TI－5（ADI－19071）重鎖可変領域（配列番号400）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA
PGQGLEWMGVINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARESDGIDSYFDYWGQGTLVTVSS
TI－6（ADI－19072）重鎖可変領域（配列番号401）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA
PGQGLEWMGVINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARESGHSYVSSFDPWGQGTLVTVSS
TI－7（ADI－19073）重鎖可変領域（配列番号402）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA
PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARGLIYGDAFDYWGQGTLVTVSS
TI－8（ADI－19074）重鎖可変領域（配列番号403）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA
PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCAREVSMTAASLDVWGQGTMVTVSS
TI－9（ADI－19076）重鎖可変領域（配列番号404）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQA
PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCAREAGYDISSAFDIWGQGTMVTVSS
TI－10（ADI－19077）重鎖可変領域（配列番号405）

ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＧＳＧＳＷＥＴＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１１（ＡＤＩ－１９０７８）重鎖可変領域（配列番号４０６）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＧＥＹＧＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１２（ＡＤＩ－１９０７９）重鎖可変領域（配列番号４０７）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧＧＹＰＷＥＡＦＤＹＷＧＫＧＴＴＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１３（ＡＤＩ－１９０８０）重鎖可変領域（配列番号４０８）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＮＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＲＹＲＲＴＧＳＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１４（ＡＤＩ－１９０８１）重鎖可変領域（配列番号４０９）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＳＳＧＤＹＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１５（ＡＤＩ－１９０８２）重鎖可変領域（配列番号４１０）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＧＧＳＹＤＡＦＱＨＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１６（ＡＤＩ－１９０８３）重鎖可変領域（配列番号４１１）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＭＳＧＷＷＡＤＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１７（ＡＤＩ－１９０８４）重鎖可変領域（配列番号４１２）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＹＹＷＳＷＩＲＱＰ
ＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＮＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳＬ
ＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＡＰＧＧＲＨＮＷＦＤＰＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１８（ＡＤＩ－１９０８５）重鎖可変領域（配列番号４１３）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＤＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＭＶＴＨＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－１９（ＡＤＩ－１９０８６）重鎖可変領域（配列番号４１４）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＨＨＭＤＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＧＲＴＲＮＫＡＮＳＹＴＴＥＹＡＡＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＤＳＫＮＳ
ＬＹＬＱＭＮＳＬＫＴＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＰＬＧＹＫＬＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－２０（ＡＤＩ－１９０８７）重鎖可変領域（配列番号４１５）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＷＭＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＮＩＫＱＤＧＳＥＫＹＹＶＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＡＰＱＬＧＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－２１（ＡＤＩ－１９０８８）重鎖可変領域（配列番号４１６）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＹＩＳＳＳＳＳＴＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧＰＬＧＹＧＤＹＫＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴ
ＶＳＳ
ＴＩ－２２（ＡＤＩ－１９０８９）重鎖可変領域（配列番号４１７）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＹＹＷＳＷＩＲＱＰ

PGKGLEWIGHIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSL
KLSSVTAADTAVYYCARDAGRYYGSSSSWYFDLWGRGTLV
TVSS

TI－２３（ＡＤＩ－１９０９０）重鎖可変領域（配列番号４１８）
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA
PGKGLEWVSGITWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCAKGPRLLSALDVWGQGTMVTVSS

TI－２４（ＡＤＩ－１９１５０）重鎖可変領域（配列番号４１９）
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA
PGKGLEWVSGITWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCAKGPRLLSALDVWGQGTMVTVSS

TI－２５（ＡＤＩ－１９０９２）重鎖可変領域（配列番号４２０）
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA
PGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCAKGGSRYSHFDYWGQGTLVTVSS

TI－２６（ＡＤＩ－１９０９７）重鎖可変領域（配列番号４２１）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVRQA
PGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARDSAQETYYYGMDVWGQGTTVTV
SS

TI－２７（ＡＤＩ－１９０９８）重鎖可変領域（配列番号４２２）
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIR
QHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARDSSIAGRATLSFDYWGQGTLV
TVSS

TI－２８（ＡＤＩ－１９１０１）重鎖可変領域（配列番号４２３）
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA
PGKGLEWVSSISSSSSNYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGPSQYYYDSSAIEAFDIWGQGT
MVTVSS

TI－２９（ＡＤＩ－１９１０２）重鎖可変領域（配列番号４２４）
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR
QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARDGGGTAQADGAYYYGMDVWGQ
GTTVTVSS

TI－３０（ＡＤＩ－１９１０３）重鎖可変領域（配列番号４２５）
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR
QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARGRKAAAGIDEAEYFQHWGQGT
LVTVSS

TI－３１（ＡＤＩ－１９１０４）重鎖可変領域（配列番号４２６）
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR
QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARDRRMWDPYGMDVWGQGTTVTV
SS

TI－３２（ＡＤＩ－１９１０５）重鎖可変領域（配列番号４２７）
QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIR
QPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQF
SLKLSSVTAADTAVYYCARDAPAVVGESPAFDIWGQGTMV
TVSS

ＴＩ－３３（ＡＤＩ－１９１０７）重鎖可変領域（配列番号４２８）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＮＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＷＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＫＧＳＴＨＲＧＳＡＹＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶ
ＳＳ
ＴＩ－３４（ＡＤＩ－１９１０８）重鎖可変領域（配列番号４２９）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＮＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＫＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＰＤＤＲＲＧＬＦＱＨＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－３５（ＡＤＩ－１９１０９）重鎖可変領域（配列番号４３０）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＰＤＹＹＳＳＲＧＶＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－３６（ＡＤＩ－１９１１０）重鎖可変領域（配列番号４３１）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＰＤＹＹＳＳＲＧＶＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－３７（ＡＤＩ－１９１１１）重鎖可変領域（配列番号４３２）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＬＩＷＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＫＧＤＹＬＤＰＬＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－３８（ＡＤＩ－１９１１２）重鎖可変領域（配列番号４３３）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＬＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＳＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＲＧＴＹＹＹＡＳＧＷＡＮＷＧＱＧＴＬＶＴＶ
ＳＳ
ＴＩ－３９（ＡＤＩ－１９１１３）重鎖可変領域（配列番号４３４）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＮＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＲＧＧＳＳＳＴＧＬＬＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４０（ＡＤＩ－１９１１４）重鎖可変領域（配列番号４３５）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＳＭＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＳＩＳＳＳＳＳＹＩＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＴＲＩＤＤＳＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４１（ＡＤＩ－１９１１５）重鎖可変領域（配列番号４３６）
ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＴＹＡＭＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＡＩＳＧＳＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＫＳＫＨＳＴＴＳＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４２（ＡＤＩ－１９１１６）重鎖可変領域（配列番号４３７）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＶＩＷＹＤＧＳＮＫＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＬＭＶＴＳＧＧＷＬＹＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶ
ＴＶＳＳ
ＴＩ－４３（ＡＤＩ－１９１１７）重鎖可変領域（配列番号４３８）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＡＧＮＹＹＤＩＥＳＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴ
ＶＳＳ
ＴＩ－４４（ＡＤＩ－１９１１９）重鎖可変領域（配列番号４３９）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ

ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＶＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＧＳＧＹＤＥＳＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４５（ＡＤＩ－１９１２３）重鎖可変領域（配列番号４４０）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＶＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＧＳＧＹＤＥＳＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４６（ＡＤＩ－１９１２４）重鎖可変領域（配列番号４４１）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＶＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＧＳＧＹＤＥＳＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４７（ＡＤＩ－１９１２０）重鎖可変領域（配列番号４４２）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＮＹＡＩＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＲＧＩＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４８（ＡＤＩ－１９１２１）重鎖可変領域（配列番号４４３）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＶＩＮＰＧＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＡＧＱＴＳＳＡＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－４９（ＡＤＩ－１９１２２）重鎖可変領域（配列番号４４４）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＡＧＳＷＬＩＳＴＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶ
ＳＳ
ＴＩ－５０（ＡＤＩ－１９１２５）重鎖可変領域（配列番号４４５）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＧＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＡＧＴＭＳＳＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５１（ＡＤＩ－１９１２６）重鎖可変領域（配列番号４４６）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＳＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＧＧＹＳＳＳＷＹＧＴＧＹＤＹＷＧＱＧＴＬＶ
ＴＶＳＳ
ＴＩ－５２（ＡＤＩ－１９１２７）重鎖可変領域（配列番号４４７）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＳＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＲＧＱＹＳＳＳＷＹＧＲＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶ
ＴＶＳＳ
ＴＩ－５３（ＡＤＩ－１９１２８）重鎖可変領域（配列番号４４８）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＳＧＹＨＶＳＴＡＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５４（ＡＤＩ－１９１２９）重鎖可変領域（配列番号４４９）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＳＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＧＴＦＳＳＹＡＩＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＧＩＩＰＩＦＧＴＡＮＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＩＴＡＤＥＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＨＷＹＡＬＧＳＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５５（ＡＤＩ－１９１３０）重鎖可変領域（配列番号４５０）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＶＩＮＰＳＧＧＳＴＳＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＳＴＶＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＡＤＹＹＡＧＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５６（ＡＤＩ－１９１３１）重鎖可変領域（配列番号４５１）

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＬＬＧＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５７（ＡＤＩ－１９１３２）重鎖可変領域（配列番号４５２）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＴＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＹＳＫＰＹＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５８（ＡＤＩ－１９１３３）重鎖可変領域（配列番号４５３）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＥＹＧＤＧＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－５９（ＡＤＩ－１９１３５）重鎖可変領域（配列番号４５４）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＡＶＳＧＹＳＩＳＳＧＹＹＷＡＷＩＲＱ
ＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＨＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳ
ＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＬＧＧＹＥＧＡＦＤＰＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６０（ＡＤＩ－１９１３６）重鎖可変領域（配列番号４５５）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＡＶＳＧＹＳＩＳＳＧＹＹＷＡＷＩＲＱ
ＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＨＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳ
ＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＬＧＧＹＥＧＡＦＤＰＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６１（ＡＤＩ－１９１３７）重鎖可変領域（配列番号４５６）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＡＶＳＧＹＳＩＳＳＧＹＹＷＧＷＩＲＱ
ＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＨＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳ
ＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＨＤＤＹＬＳＳＦＤＰＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６２（ＡＤＩ－１９１３８）重鎖可変領域（配列番号４５７）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＱＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＧＧＹＹＷＳＷＩＲ
ＱＨＰＧＫＧＬＥＷＩＧＹＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＰＳＷＩＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６３（ＡＤＩ－１９１３９）重鎖可変領域（配列番号４５８）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＡＶＳＧＹＳＩＳＳＧＹＹＷＧＷＩＲＱ
ＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＨＳＧＮＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳ
ＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＬＹＡＹＳＳＰＭＦＹＧＭＤＶＷＧＲＧＴＴＶ
ＴＶＳＳ
ＴＩ－６４（ＡＤＩ－１９１４０）重鎖可変領域（配列番号４５９）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＳＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＹＹＳＰＹＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６５（ＡＤＩ－１９１４１）重鎖可変領域（配列番号４６０）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＤＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＳＧＱＹＴＧＳＬＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６６（ＡＤＩ－１９１４２）重鎖可変領域（配列番号４６１）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＧＹＹＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＰＮＳＧＧＴＫＹＡＱＫＦＱＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＩＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＲＬＲＳＤＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＲＨＳＳＬＧＹＡＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＴＩ－６７（ＡＤＩ－１９１４３）重鎖可変領域（配列番号４６２）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＧＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＳＡＹＮＧＮＴＮＹＡＱＫＬＱＧＲＶＴＭＴＴＤＴＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＲＳＬＲＳＤＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＲＰＳＳＳＷＧＮＷＦＤＰＷＧＱＧＴＴＶＴＶ
ＳＳ
ＴＩ－６８（ＡＤＩ－１９１４４）重鎖可変領域（配列番号４６３）

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＥＳＬＫＩＳＣＫＧＳＧＹＳＦＴＴＹＷＩＧＷＶＲＱＭ
ＰＧＫＧＬＥＷＭＧＩＩＹＰＧＤＳＤＴＲＹＳＰＳＦＱＧＱＶＴＩＳＡＤＫＳＩＳＴＡＹ
ＬＱＷＳＳＬＫＡＳＤＴＡＭＹＹＣＡＲＧＳＰＷＤＧＲＬＦＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ

ＴＩ－６９（ＡＤＩ－１９１４５）重鎖可変領域（配列番号４６４）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＧＩＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＳＡＹＮＧＮＴＮＹＡＱＫＬＱＧＲＶＴＭＴＴＤＴＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＲＳＬＲＳＤＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＡＧＭＹＤＧＳＰＬＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴ
ＶＳＳ

ＴＩ－７０（ＡＤＩ－１９１４６）重鎖可変領域（配列番号４６５）
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＧＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＳＡＹＮＧＮＴＮＹＡＱＫＬＱＧＲＶＴＭＴＴＤＴＳＴＳＴＡＹ
ＭＥＬＲＳＬＲＳＤＤＴＡＶＹＹＣＡＲＡＧＴＩＹＧＲＬＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７１（ＡＤＩ－１９１４７）重鎖可変領域（配列番号４６６）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＧＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＲＴＳＨＬＤＩＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７２（ＡＤＩ－１９１４８）重鎖可変領域（配列番号４６７）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＤＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＭＴＨＳＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７３（ＡＤＩ－１９１４９）重鎖可変領域（配列番号４６８）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＡＰＲＭＹＧＹＦＤＬＷＧＲＧＴＳＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７４（ＡＤＩ－１９１５１）重鎖可変領域（配列番号４６９）
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＳＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＧＰＲＴＲＧＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７５（ＡＤＩ－１９１５２）重鎖可変領域（配列番号４７０）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＤＤＹＡＭＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＧＩＳＷＮＳＧＤＩＧＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＬＹＹＣＡＫＡＰＲＴＲＷＴＹＦＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７６（ＡＤＩ－１９１５３）重鎖可変領域（配列番号４７１）
ＥＶＱＬＬＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＡＭＳＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＳＡＩＳＧＳＧＧＳＴＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＡＲＲＧＡＬＡＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７７（ＡＤＩ－１９１５４）重鎖可変領域（配列番号４７２）
ＱＶＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＡＶＳＧＹＳＩＳＳＧＹＹＷＡＷＩＲＱ
ＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＨＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦＳ
ＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＧＰＹＰＷＳＧＷＦＤＰＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７８（ＡＤＩ－１９１５５）重鎖可変領域（配列番号４７３）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＤＬＧＱＹＥＧＹＦＤＬＷＧＲＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－７９（ＡＤＩ－１９１５６）重鎖可変領域（配列番号４７４）
ＱＬＱＬＱＥＳＧＰＧＬＶＫＰＳＥＴＬＳＬＴＣＴＶＳＧＧＳＩＳＳＳＳＹＹＷＧＷＩＲ
ＱＰＰＧＫＧＬＥＷＩＧＳＩＹＹＳＧＳＴＹＹＮＰＳＬＫＳＲＶＴＩＳＶＤＴＳＫＮＱＦ
ＳＬＫＬＳＳＶＴＡＡＤＴＡＶＹＹＣＡＲＬＧＤＧＹＲＩＷＡＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ

ＴＩ－８０（ＡＤＩ－１９１５９）重鎖可変領域（配列番号４７５）
ＱＶＱＬＶＥＳＧＧＧＶＶＱＰＧＲＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨＷＶＲＱＡ

ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＬＩＷＹＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＳＫＮＴＬＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＥＬＩＶＧＡＴＧＧＬＴＹＹＹＧＭＤＶＷＧＱＧ
ＴＴＶＴＶＳＳ

例示的ＴＲＥＭ１タンパク質配列：

マウスＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ９ＪＫＥ２；配列番号２）
ＭＲＫＡＧＬＷＧＬＬＣＶＦＦＶＳＥＶＫＡＡＩＶＬＥＥＥＲＹＤＬＶＥＧＱＴＬＴＶＫ
ＣＰＦＮＩＭＫＹＡＮＳＱＫＡＷＱＲＬＰＤＧＫＥＰＬＴＬＶＶＴＱＲＰＦＴＲＰＳＥＶ
ＨＭＧＫＦＴＬＫＨＤＰＳＥＡＭＬＱＶＱＭＴＤＬＱＶＴＤＳＧＬＹＲＣＶＩＹＨＰＰＮ
ＤＰＶＶＬＦＨＰＶＲＬＶＶＴＫＧＳＳＤＶＦＴＰＶＩＩＰＩＴＲＬＴＥＲＰＩＬＩＴＴ
ＫＹＳＰＳＤＴＴＴＴＲＳＬＰＫＰＴＡＶＶＳＳＰＧＬＧＶＴＩＩＮＧＴＤＡＤＳＶＳＴ
ＳＳＶＴＩＳＶＩＣＧＬＬＳＫＳＬＶＦＩＩＬＦＩＶＴＫＲＴＦＧ

ラットＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｄ４ＡＢＵ７；配列番号３）
ＭＲＫＡＧＬＷＧＬＬＬＶＦＦＶＳＥＶＫＡＡＩＶＰＥＥＥＲＹＤＬＶＥＧＱＴＬＴＶＮ
ＣＰＦＮＩＭＫＹＡＲＳＲＫＡＷＱＲＬＳＡＧＫＥＰＬＴＬＶＶＴＥＲＳＳＴＴＳＳＥＶ
ＲＶＧＫＹＴＬＫＤＤＰＴＥＡＭＬＦＶＱＭＴＤＬＱＶＴＤＳＧＬＹＲＣＶＩＹＨＰＰＮ
ＤＰＶＬＬＦＨＰＶＲＬＶＶＴＫＧＳＳＧＶＳＶＰＤＩＩＰＴＴＫＰＴＥＶＰＶＬＩＴＴ
ＫＨＳＴＰＴＲＳＬＰＫＳＴＡＶＶＳＳＰＤＰＧＶＴＩＮＮＧＴＤＰＴＳＶＳＴＹＮＶＶ
ＶＰＶＶＣＧＬＬＩＫＴＬＩＦＦＶＬＦＶＶＴＫＲＳＦＧ

アカゲザルＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＴＢＢ４；配列番号４）
ＭＲＫＴＲＬＷＧＬＬＷＭＬＦＶＳＥＬＲＡＴＴＥＬＴＥＥＫＹＥＹＫＥＧＱＴＬＥＶＫ
ＣＤＹＡＬＥＫＹＡＮＳＲＫＡＷＱＫＭＥＧＫＭＰＫＩＬＡＫＴＥＲＰＳＥＮＳＨＰＶＱ
ＶＧＲＩＴＬＥＤＹＰＤＨＧＬＬＱＶＱＭＴＮＬＱＶＥＤＳＧＬＹＱＣＶＩＹＱＨＰＫＥ
ＳＨＶＬＦＮＰＩＣＬＶＶＴＫＧＳＳＧＴＰＧＳＳＥＮＳＴＱＮＶＹＲＴＰＳＴＴＡＫＡ
ＬＧＰＲＹＴＳＰＲＴＶＴＱＡＰＰＥＳＴＶＶＶＳＴＰＧＰＧＰＬＰＦＦＰＳＰＣＡＥＲＭ

ウシＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｑ６ＱＵＮ５；配列番号５）
ＭＲＫＡＧＶＷＧＬＬＷＭＬＦＩＥＥＩＱＡＡＡＥＶＦＥＥＫＣＴＬＡＥＧＱＴＬＫＶＳ
ＣＰＴＮＴＮＩＹＳＮＳＱＫＡＷＱＲＬＫＤＮＧＥＶＱＴＬＡＩＴＥＧＳＳＱＶＲＶＧＫ
ＹＦＬＥＤＩＰＳＥＧＭＬＱＩＱＭＡＮＬＱＶＥＤＳＧＬＹＲＣＶＩＬＧＰＳＤＰＩＩＬ
ＦＨＰＶＲＬＶＶＴＫＮＳＬＧＴＰＡＳＤＥＹＰＣＱＶＳＶＱＮＰＴＰＬＰＶＴＴＫＬＲ
ＰＲＰＲＰＲＰＫＰＶＴＱＰＩＰＴＳＡＤＲＬＳＳＰＧＦＴＶＴＰＴＮＶＴＨＶＮＲＡＰ
ＧＩＳＩＩＩＰＡＡＣＧＬＬＳＫＴＬＶＦＩＧＬＦＡＶＴＨＲＳＦＡＳ

ウマＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｆ６ＰＳＦ７；配列番号６）
ＭＲＫＡＫＬＷＧＬＬＧＭＬＦＶＳＥＬＱＡＡＡＧＱＡＥＥＫＫＩＬＴＥＧＥＴＬＮＹＨ
ＣＶＹＴＲＫＨＳＱＳＱＫＡＷＱＲＶＭＤＧＧＫＡＥＴＬＡＦＴＥＫＴＳＫＮＳＱＥＬＧ
ＧＲＹＦＬＥＤＮＴＴＱＧＡＶＨＶＲＭＴＮＶＱＭＳＤＳＧＬＹＲＣＶＩＹＰＩＬＳＮＰ
ＥＶＬＥＳＬＲＬＶＶＴＫＧＤＴＶＳＬＧＳＳＰＳＤＳＰＳＰＤＫＮＰＰＲＤＫＡＱＴＴ
ＴＦＰＰＡＴＫＡＰＶＴＱＰＰＰＫＳＴＡＧＶＳＲＰＧＬＥＶＮＰＴＨＶＴＤＶＴＲＩＳ
ＶＦＳＩＶＩＰＶＡＣＡＬＶＴＫＳＬＶＬＴＶＬＦＡＶＴＱＫＳＦＧＳ

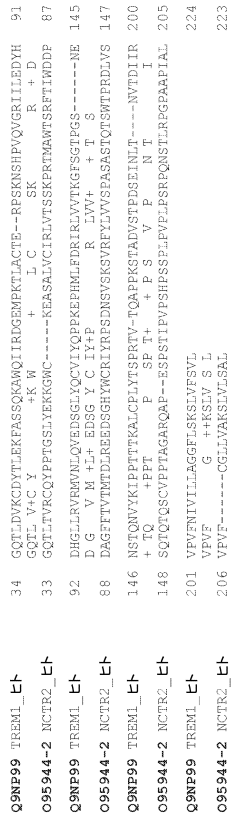
ブタＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｒ４ＳＥＹ７；配列番号７）
ＭＲＳＡＲＬＧＲＬＬＷＭＬＦＩＴＥＩＱＡＡＴＥＬＰＥＥＫＹＩＬＡＥＧＥＴＬＮＶＮ
ＣＰＶＴＶＧＶＹＳＮＳＲＫＡＷＱＫＬＮＲＮＧＫＦＱＴＬＡＩＴＥＲＶＳＧＱＶＳＫＶ
ＱＶＧＫＩＦＬＴＤＥＰＳＥＧＭＬＨＶＱＭＴＮＶＱＡＥＤＳＧＬＹＲＣＶＩＹＱＰＰＫ
ＤＰＩＩＬＦＹＰＶＲＬＶＶＴＮＹＳＳＧＴＰＡＳＡＥＴＰＴＱＳＣＳＰＴＴＴＬＰＰＴ
ＴＴＴＮＲＨＲＰＲＰＲＴＶＲＴＶＴＱＦＬＴＤＦＴＴＳＬＳＳＰＧＬＫＶＴＬＴＮＶＴ
ＤＩＴＲＤＴＥＩＳＬＩＬＰＡＶＣＧＬＬＳＫＳＬＶＦＩＶＬＦＶＶＴＲＭＳＦＴＰ

イヌＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｅ２ＲＰ３７；配列番号８）
ＭＲＫＡＲＬＷＥＬＬＷＬＬＦＩＳＥＬＱＡＴＴＥＰＤＥＩＫＹＶＬＡＥＧＧＴＬＮＭＫ
ＣＴＴＳＴＷＫＹＴＹＳＱＫＡＷＱＫＬＭＤＲＥＫＰＬＴＬＩＦＴＥＮＶＳＧＤＴＳＱＶ
ＱＲＧＲＹＦＬＥＤＩＰＳＥＡＩＬＮＶＱＭＴＮＬＱＶＥＤＳＧＬＹＱＣＶＩＹＨＰＱＫ
ＮＰＤＩＬＹＰＲＶＲＬＶＶＴＫＧＩＴＡＳＤＫＳＰＴＱＮＬＡＱＩＳＴＨＰＰＴＴＴＫ

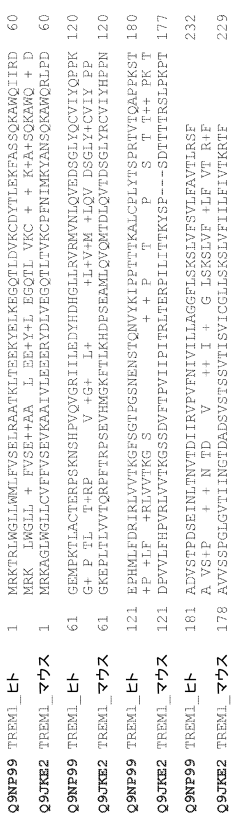
AQSTLLASPRTVTQLPPKSTADTSSPDFGVNITNVTNVTS
YGFRFSVINIVILVLCGFLSKSLVFTVLIAVTQRSFGP
チンパンジーＴＲＥＭ１タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ受託番号Ｈ２ＱＳＺ３；配列番号５６１）
MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLDVK
CDYTLEKFASSQKAWQIIRDGEMPKTLACTERPSENSHPV
QVGRIILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPK
EPHILFDRIRLVVTKGFSGTPGSNENSTQNVYKIPPTTTK
ALHPLYTSPRTVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTNVTDIIR
VPVFNIVILLAGGFLSKSLVFSVLFAVTLRSFVP

【図面】

【図１Ａ】



【図１Ｂ】

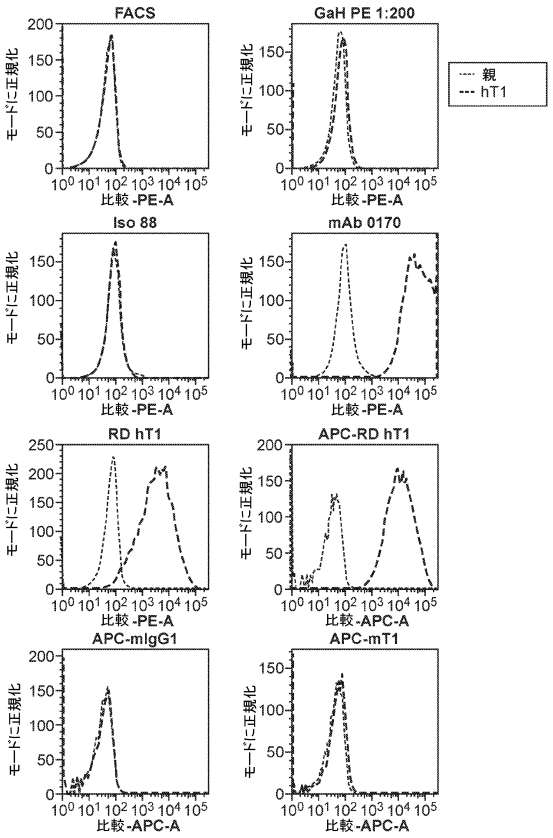


【図２】

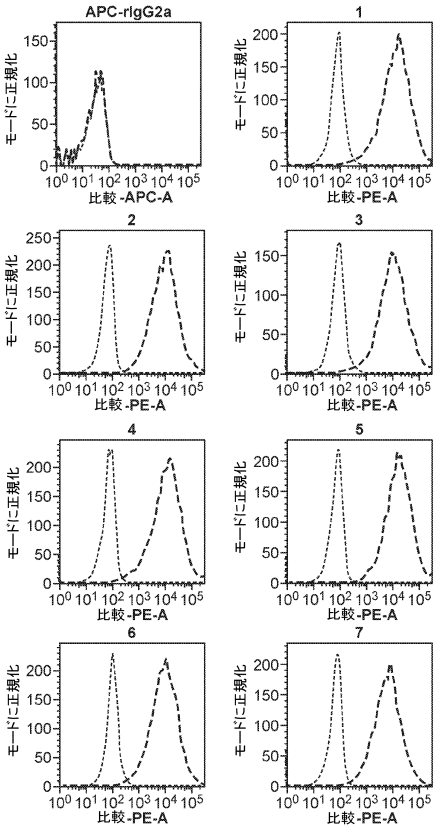
```
                                                                                                                  66
Q9NP99 TREM1_ヒト    9  LLWMLFVSELRAATKITEEKYELKEGQTLDVKCDYTLEKFASSQKAW--QIIRDGEMPKT
                        LL +LFV+EL  A   T  ++  GQ+L V C Y   K   +KAW  Q+   G   +
Q9NZC2-2 TREM2_ヒト   6  LLILLLFVTELSGAHNTTV--FQGVAGQSLQVSCPYDSMKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRV  63

                                                                                                                 113
Q9NP99 TREM1_ヒト   67  LACTERPSKNSHPVQVGRIILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQC
                        ++          +          G   + D    G  L + +  NLQ  D+GLYQC
Q9NZC2-2 TREM2_ヒト  64  VSTHNLWLLSFLRRWNGSTAITDDTLGGTLTTTLRNLQPHDAGLYQC                                          110
```

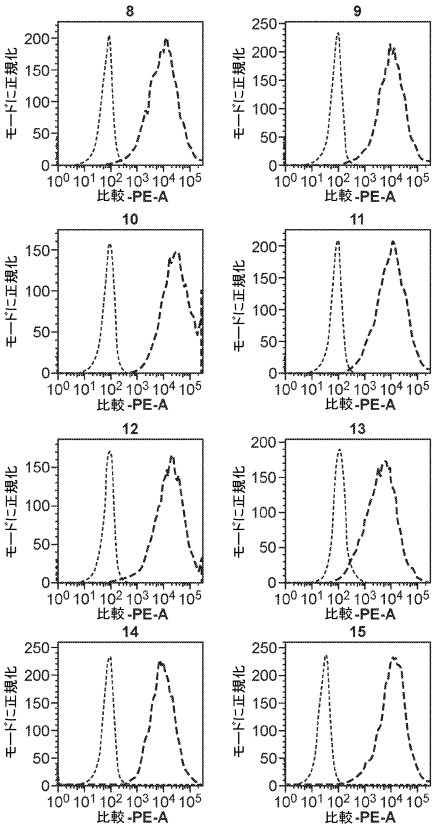
【図３Ａ－１】



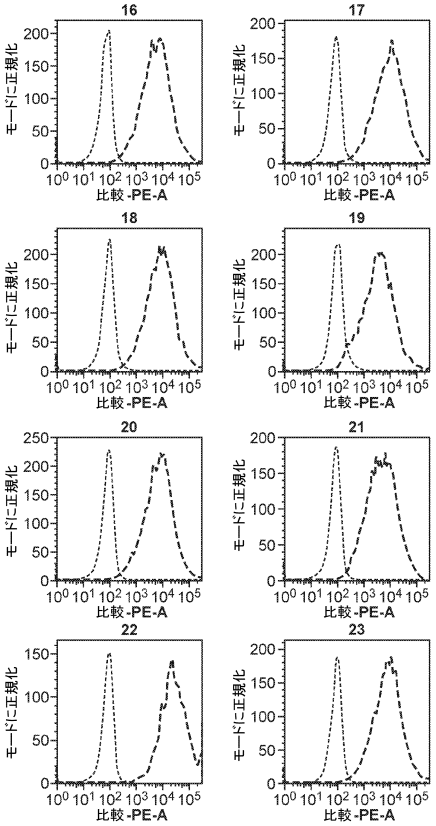
【図３Ａ－２】



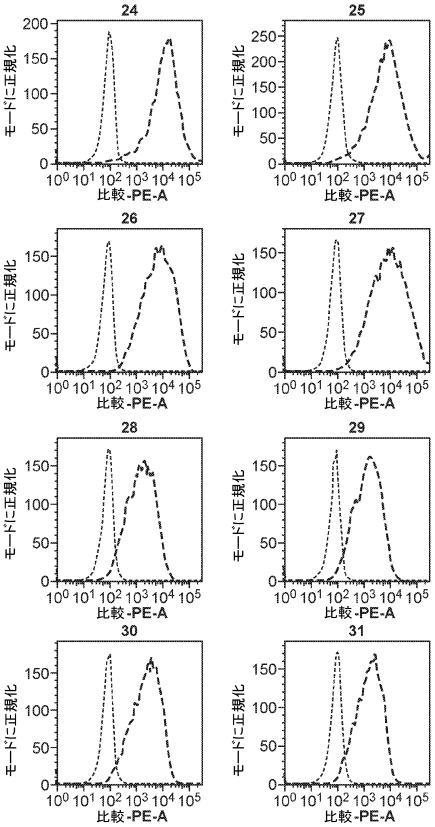
【図３Ａ－３】



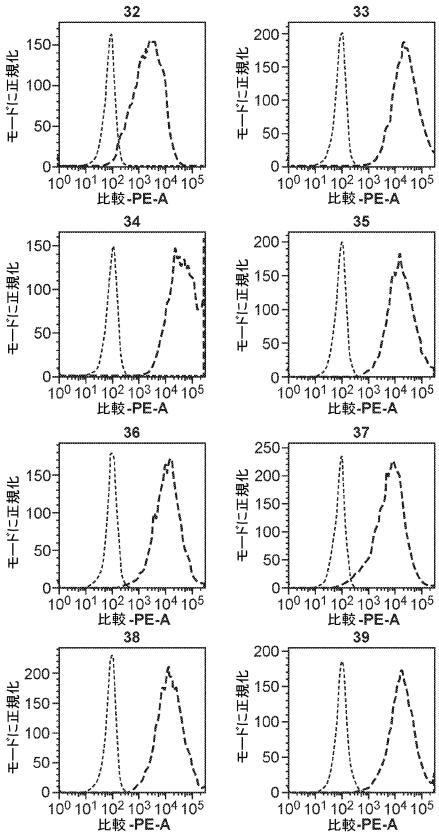
【図３Ａ－４】



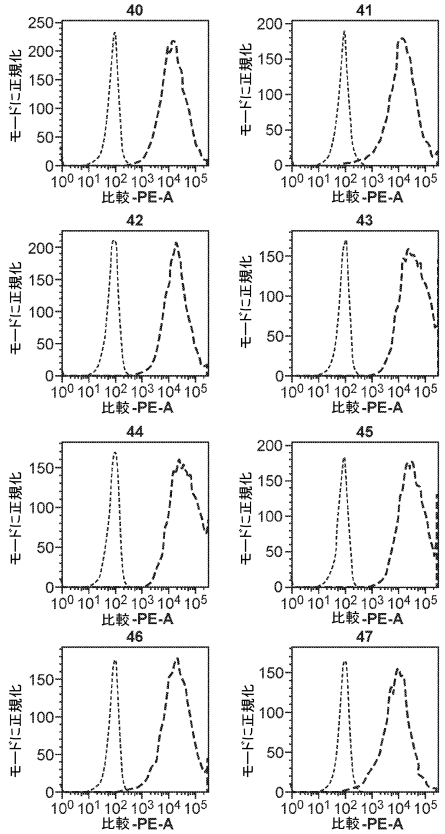
【図３Ａ－５】



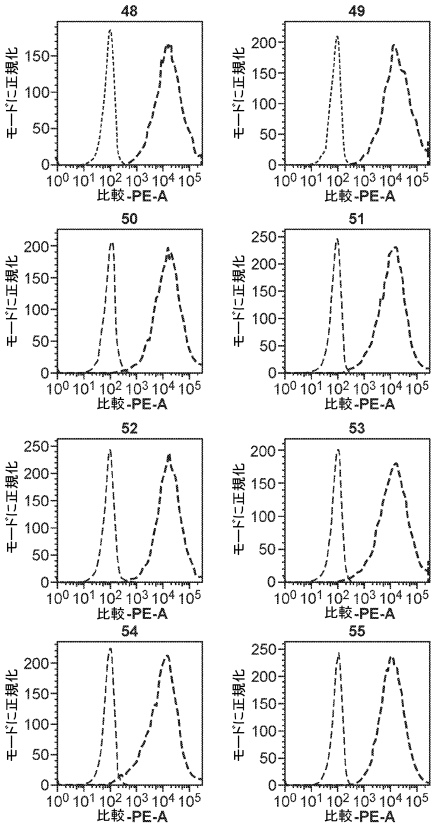
【図３Ａ－６】



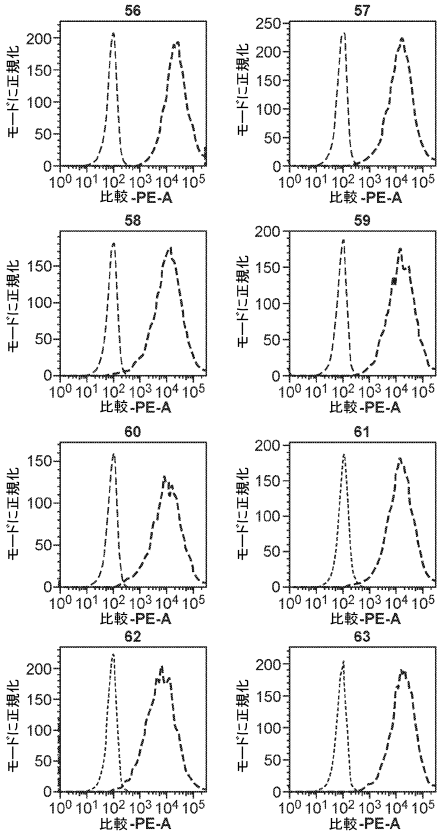
【図３Ａ－７】



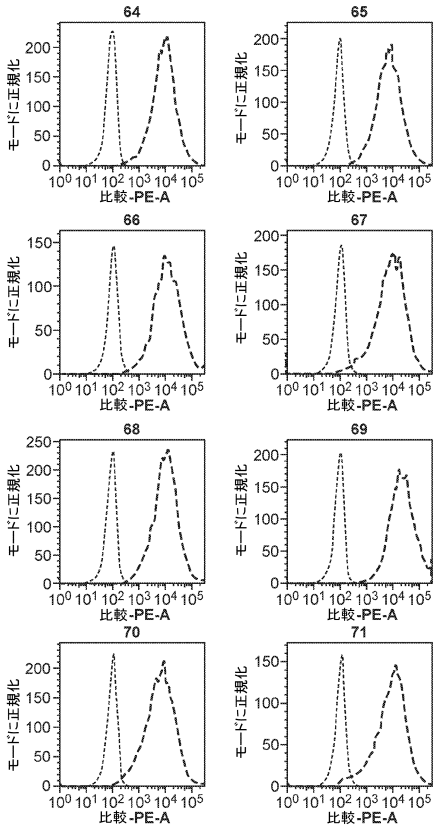
【図３Ａ－８】



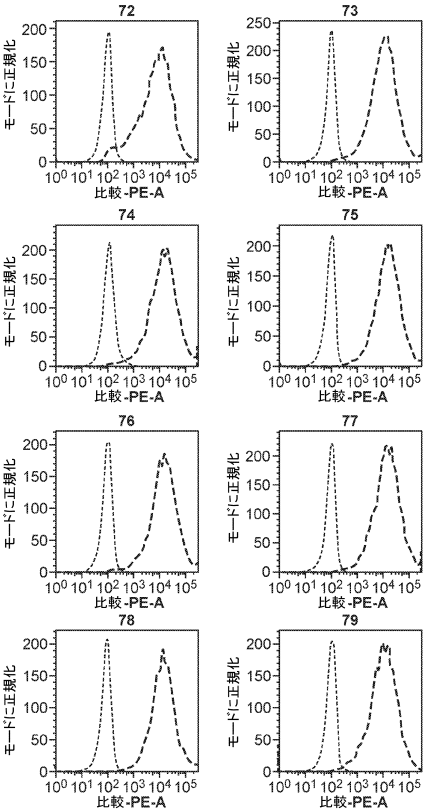
【図３Ａ－９】



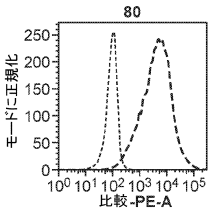
【図３Ａ－１０】



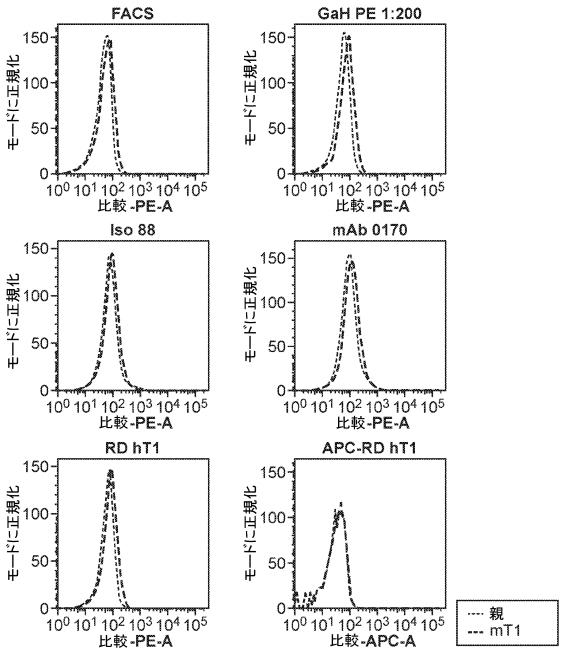
【図３Ａ－１１】



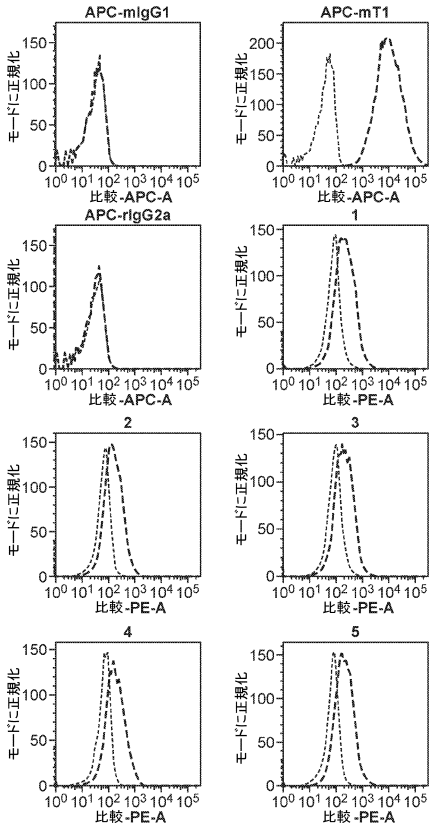
【図３Ａ－１２】



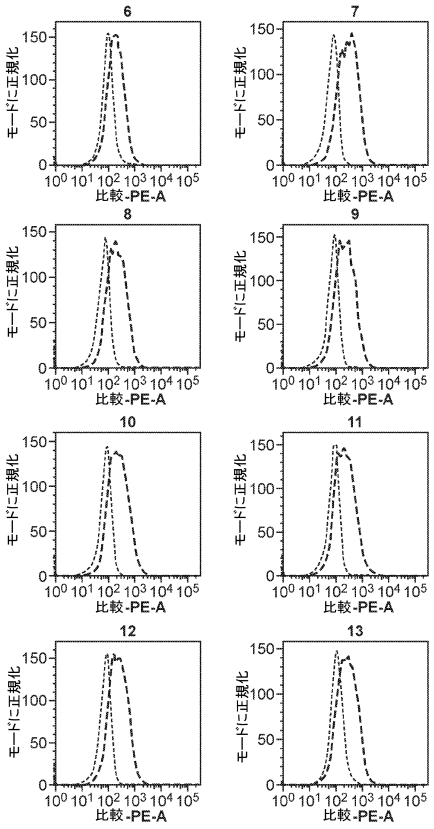
【図３Ｂ－１】



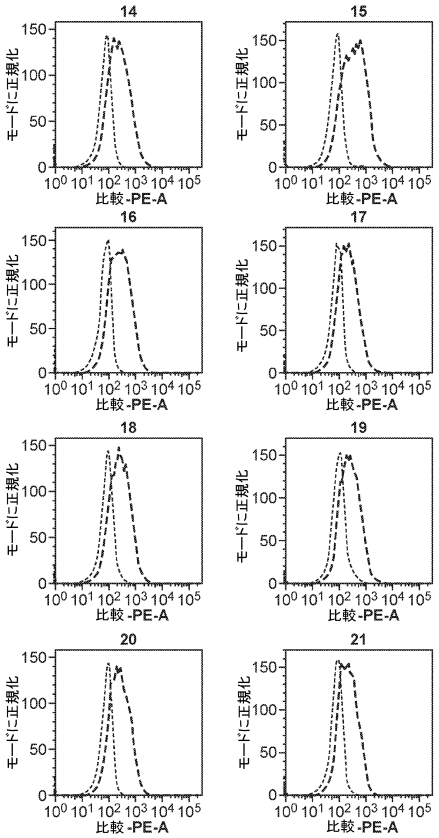
【図３Ｂ－２】



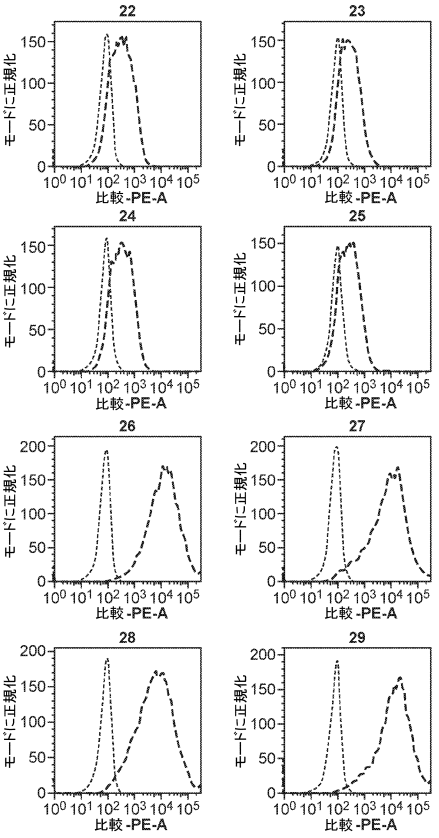
【図３Ｂ－３】



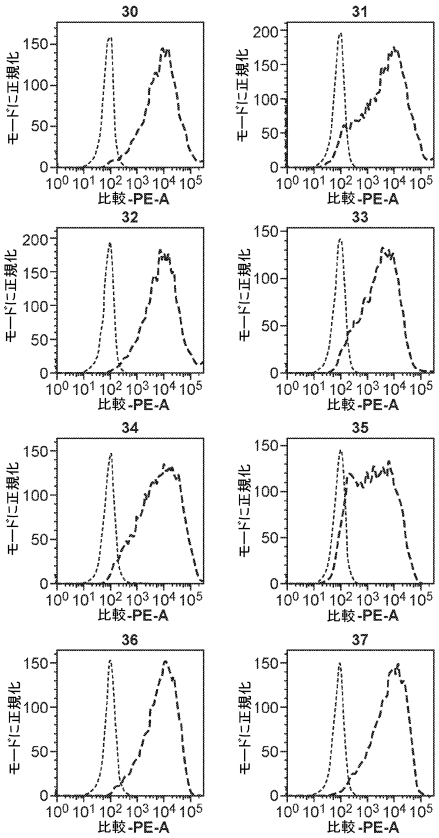
【図３Ｂ－４】



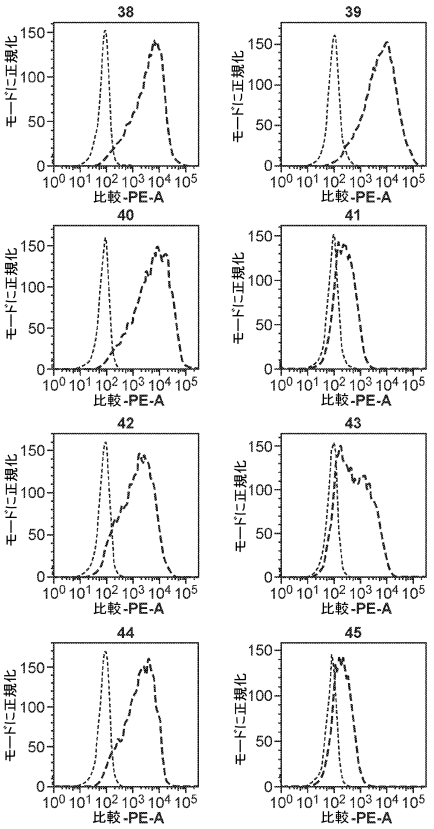
【図３Ｂ－５】



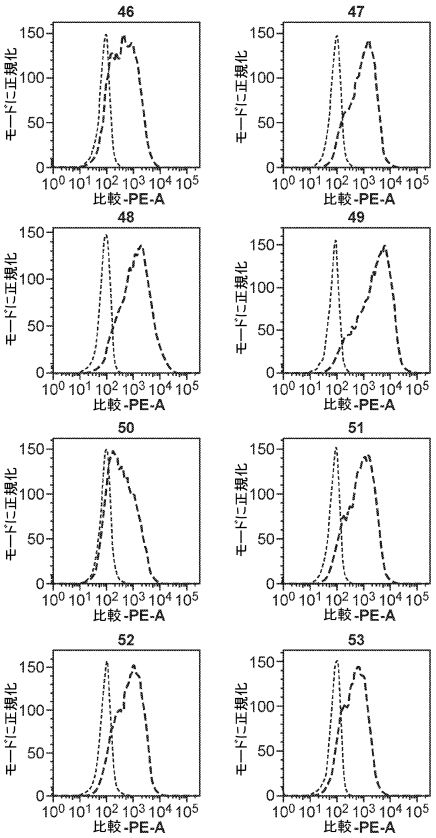
【図３Ｂ－６】



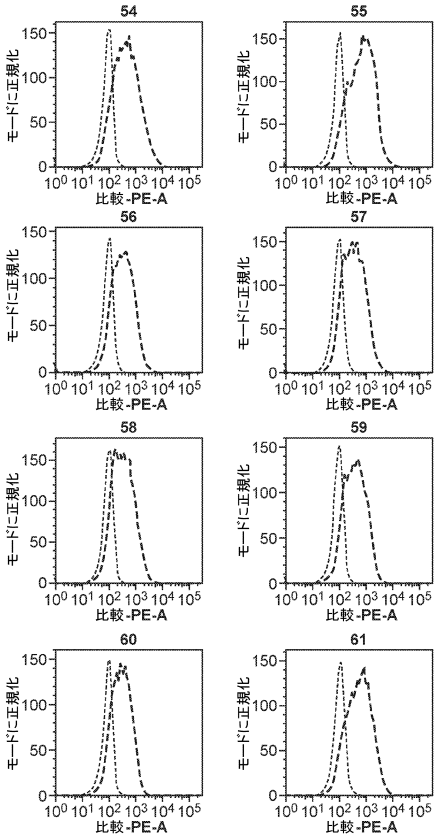
【図３Ｂ－７】



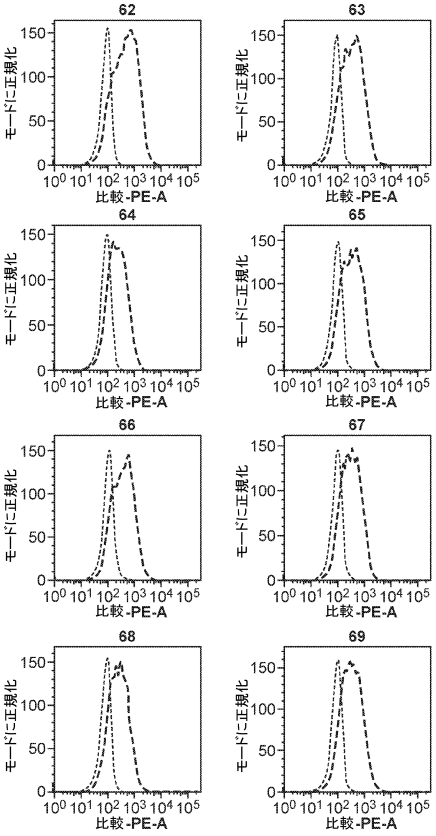
【図３Ｂ－８】



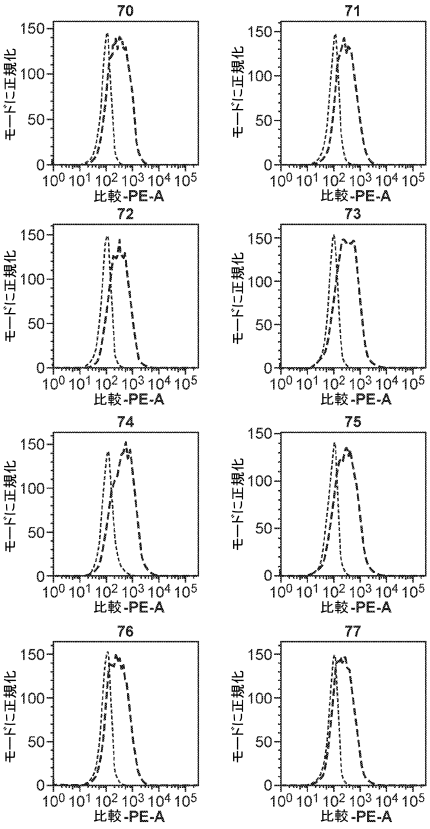
【図３Ｂ－９】



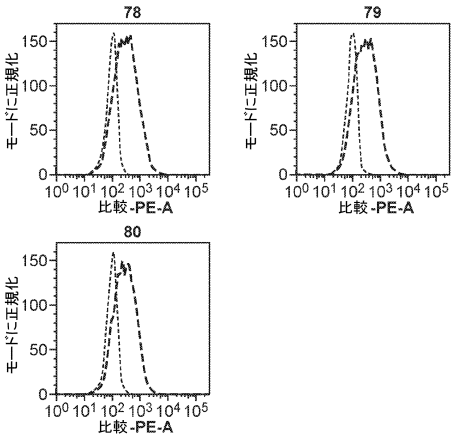
【図３Ｂ－１０】



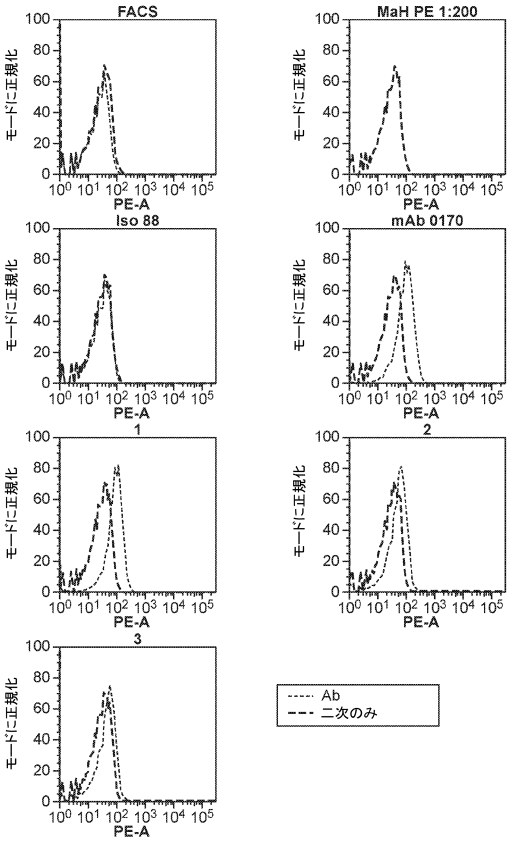
【図３Ｂ－１１】



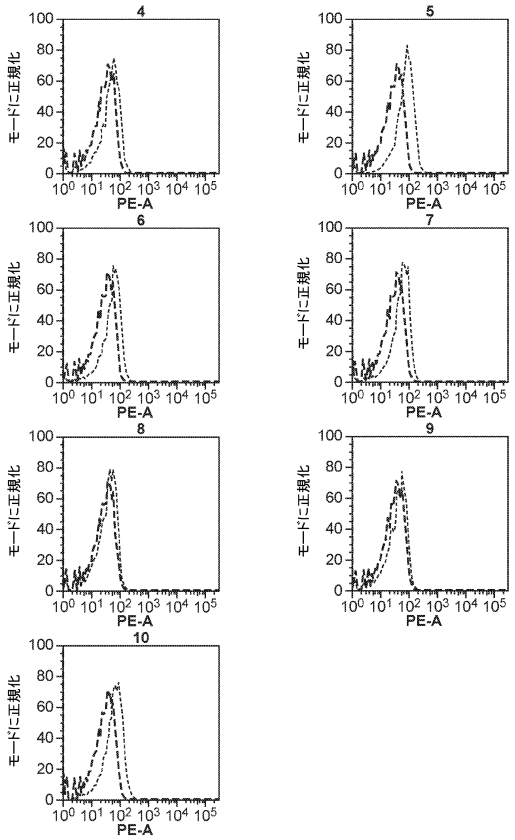
【図３Ｂ－１２】



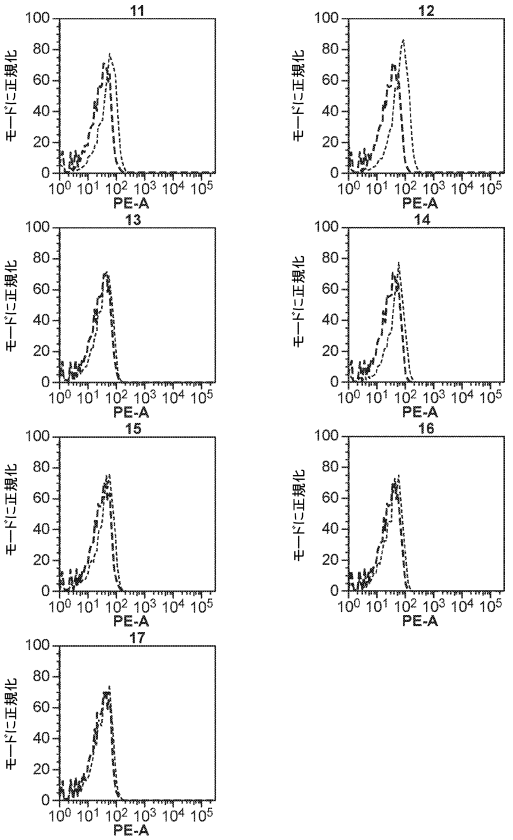
【図４Ａ－１】



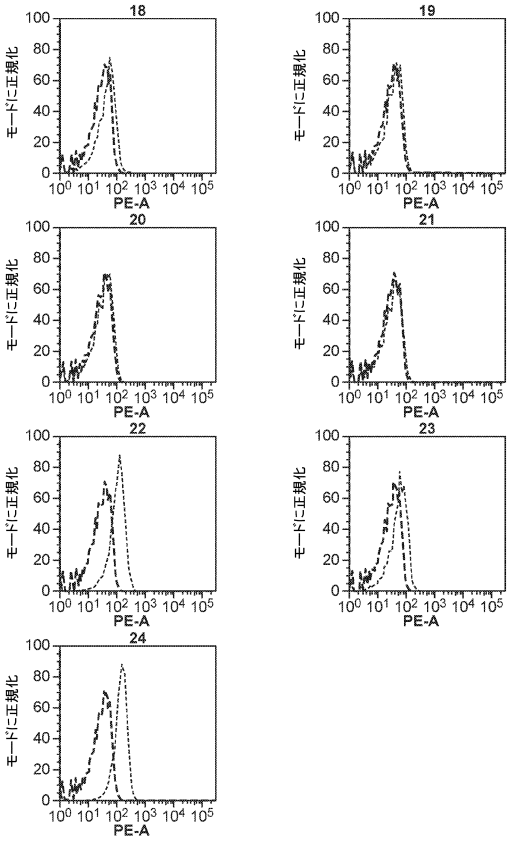
【図４Ａ－２】



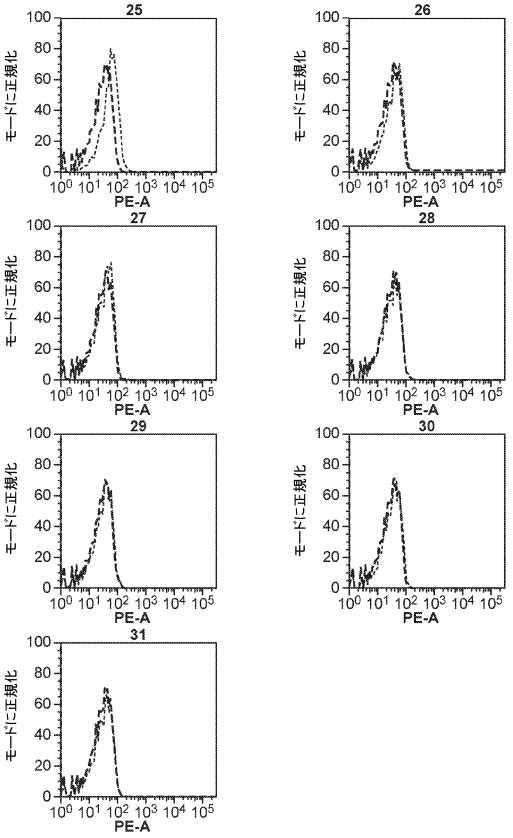
【図４Ａ－３】



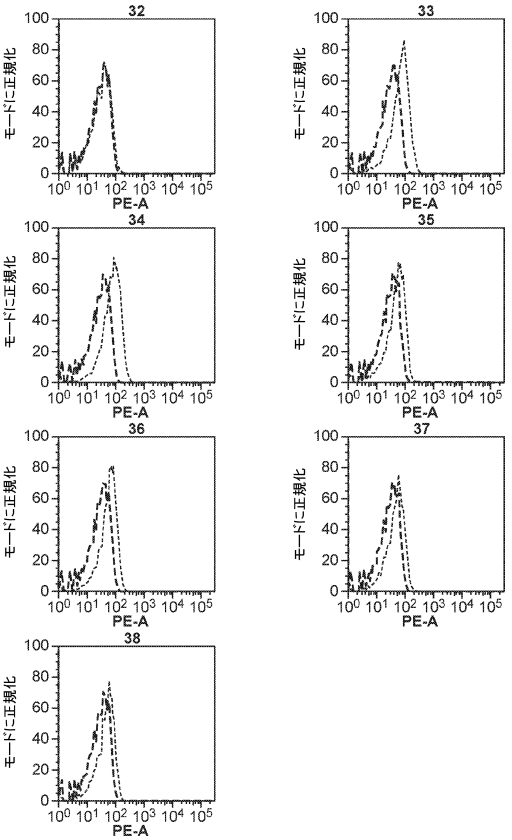
【図４Ａ－４】



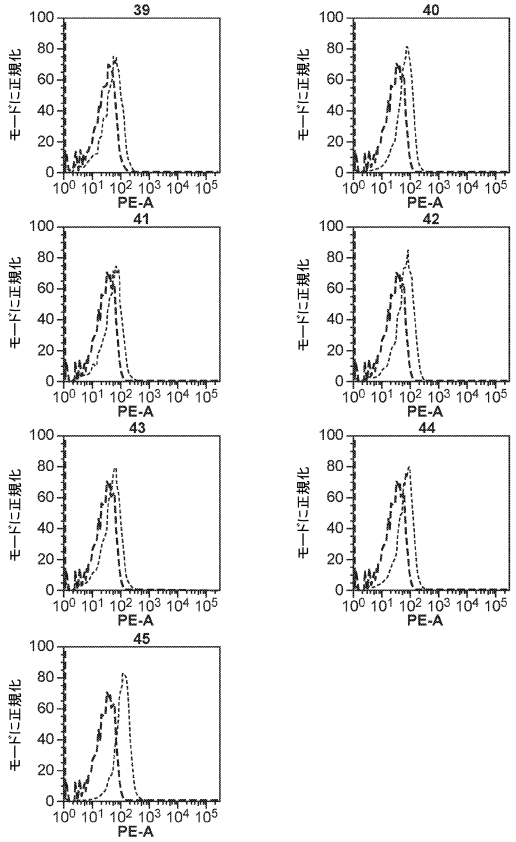
【図４Ａ－５】



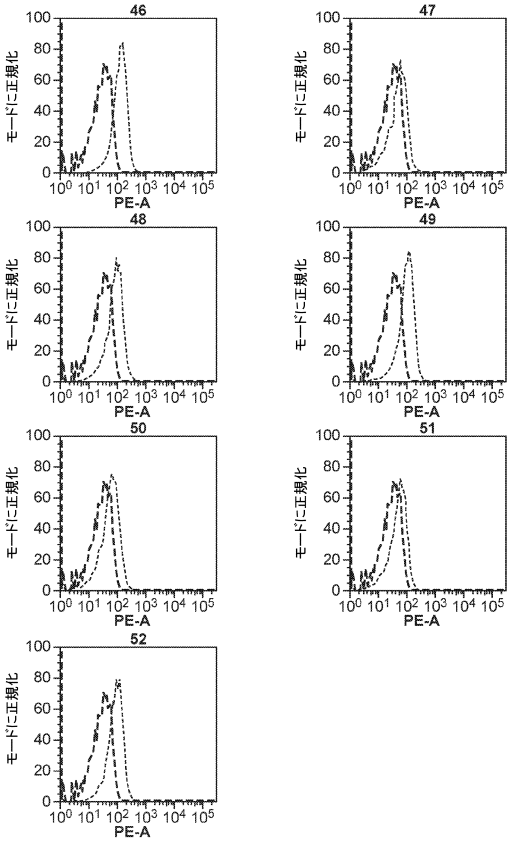
【図４Ａ－６】



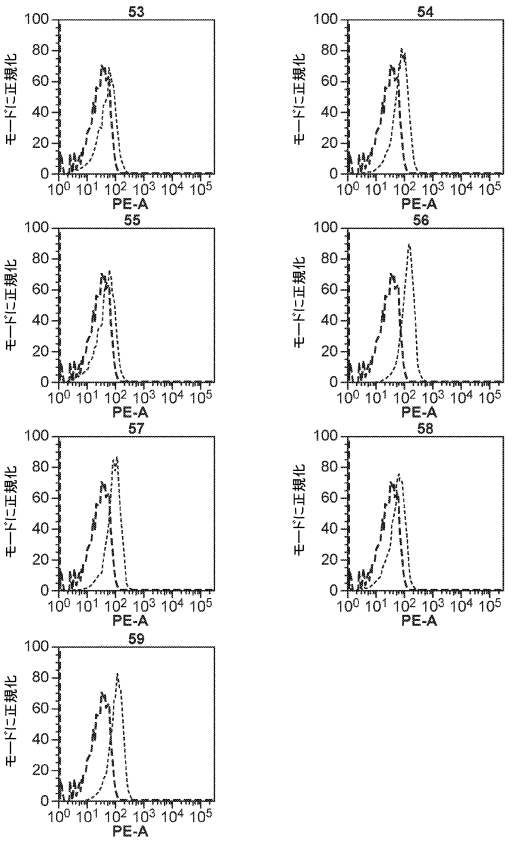
【図４Ａ－７】



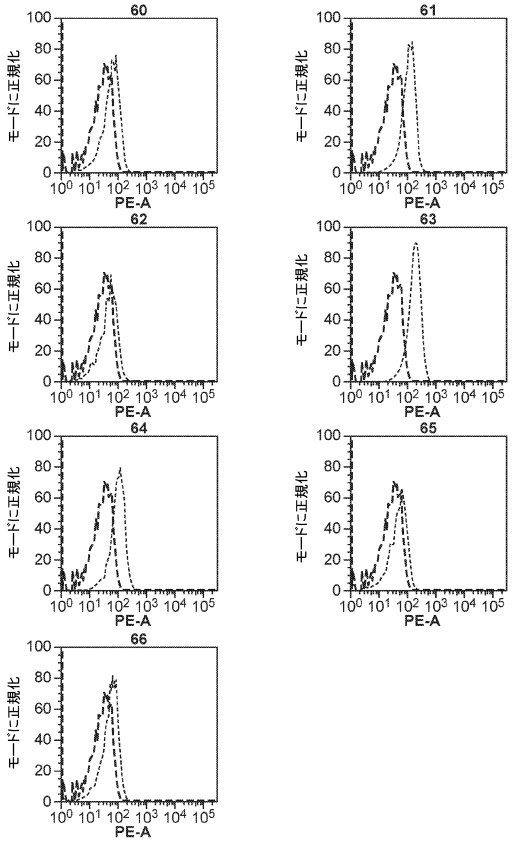
【図４Ａ－８】



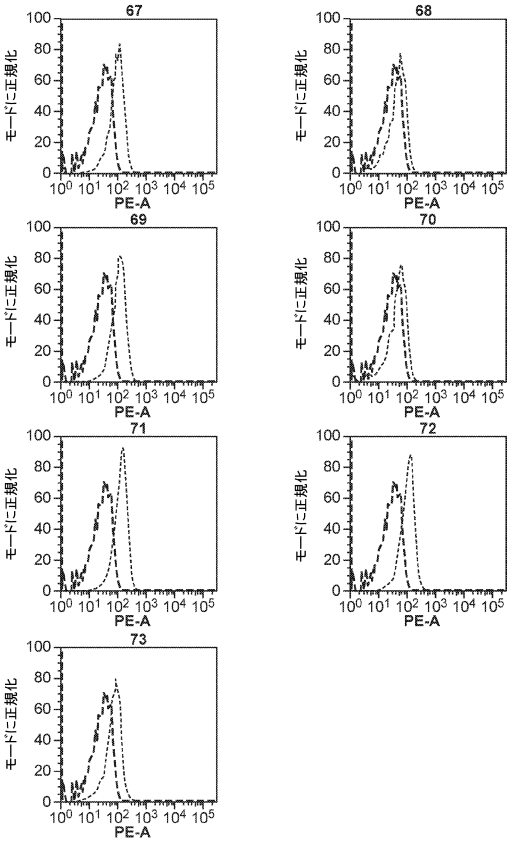
【図４Ａ－９】



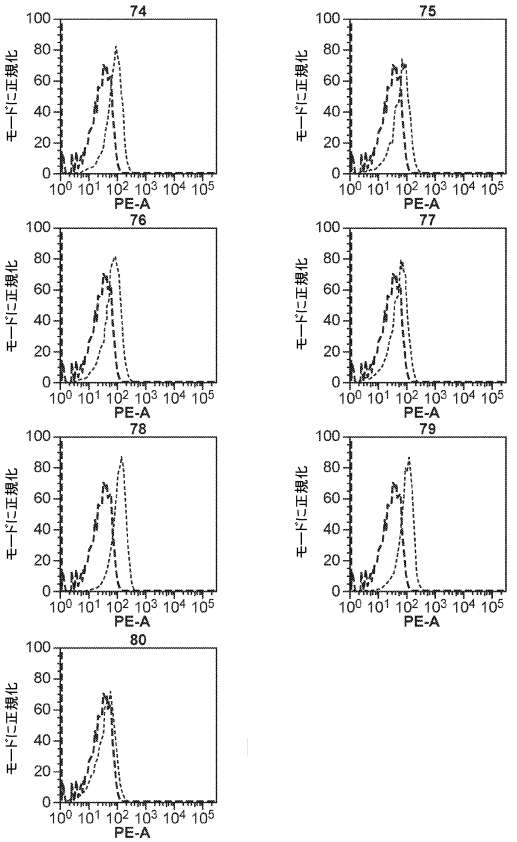
【図４Ａ－１０】



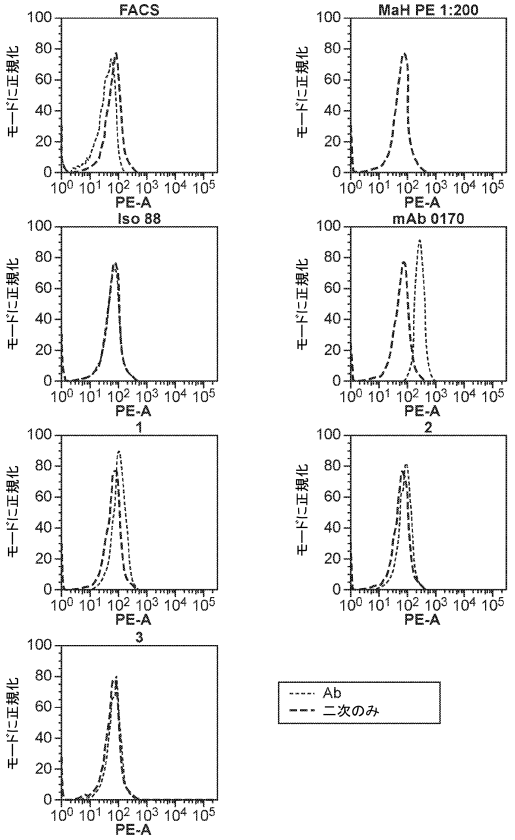
【図４Ａ－１１】



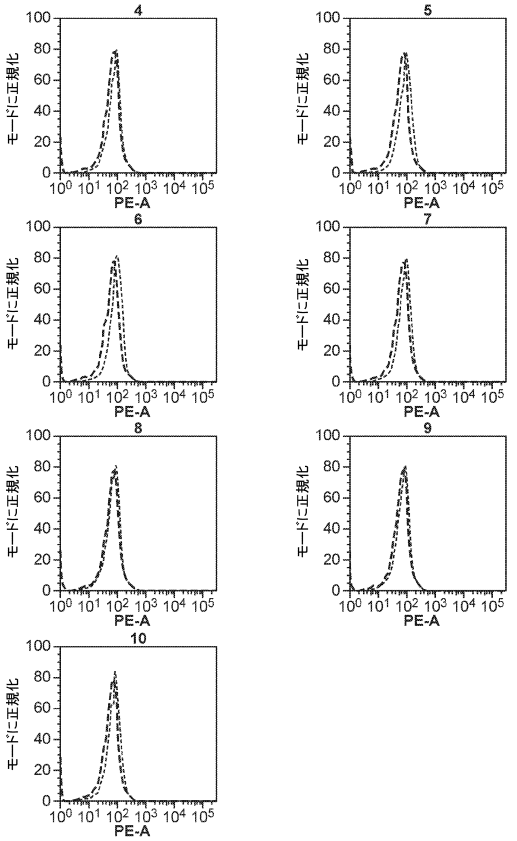
【図４Ａ－１２】



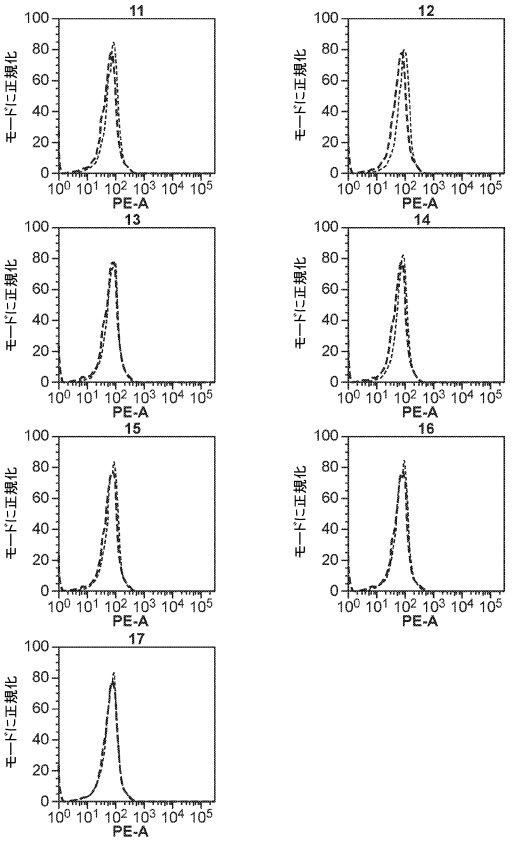
【図４Ｂ－１】



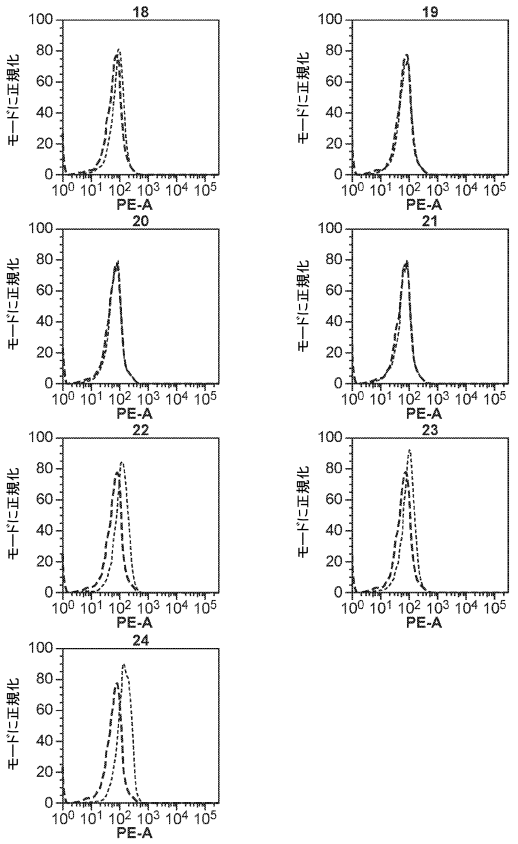
【図４Ｂ－２】



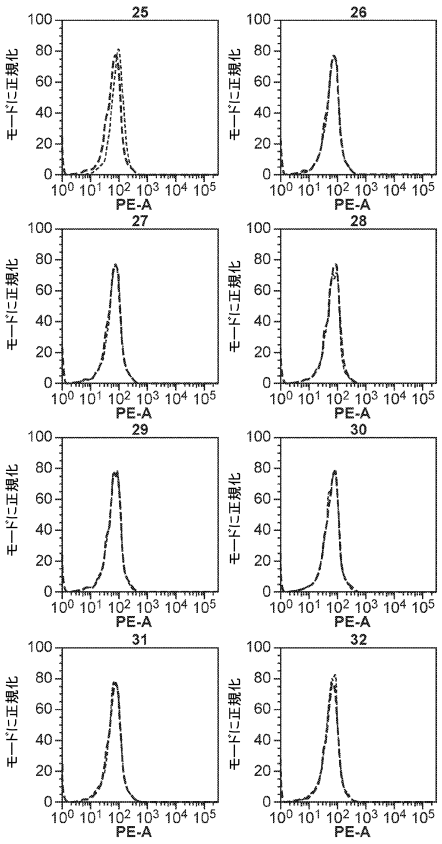
【図４Ｂ－３】



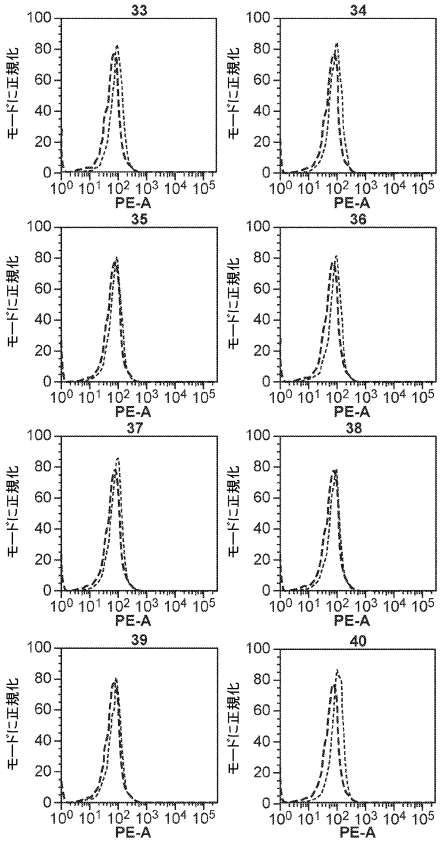
【図４Ｂ－４】



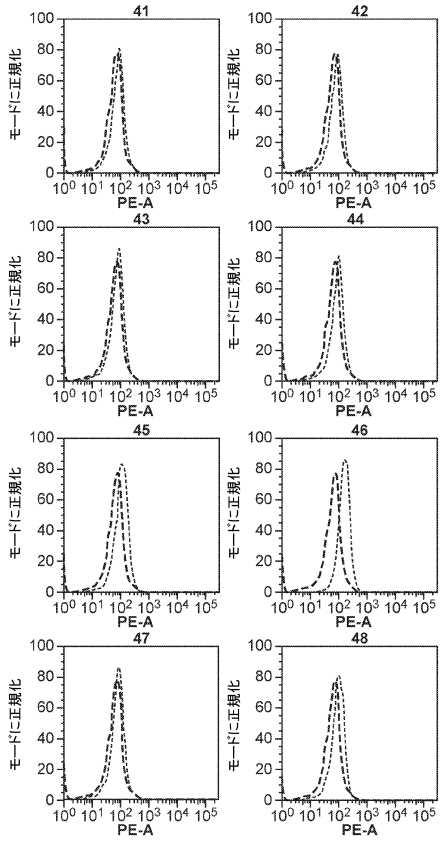
【図４Ｂ－５】



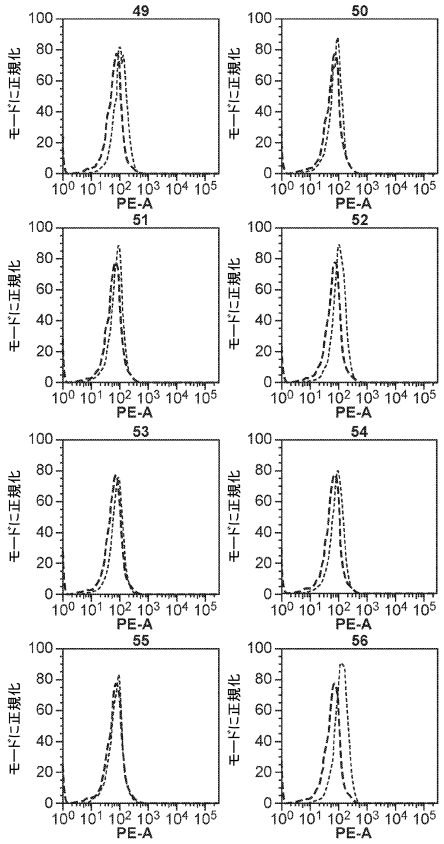
【図４Ｂ－６】



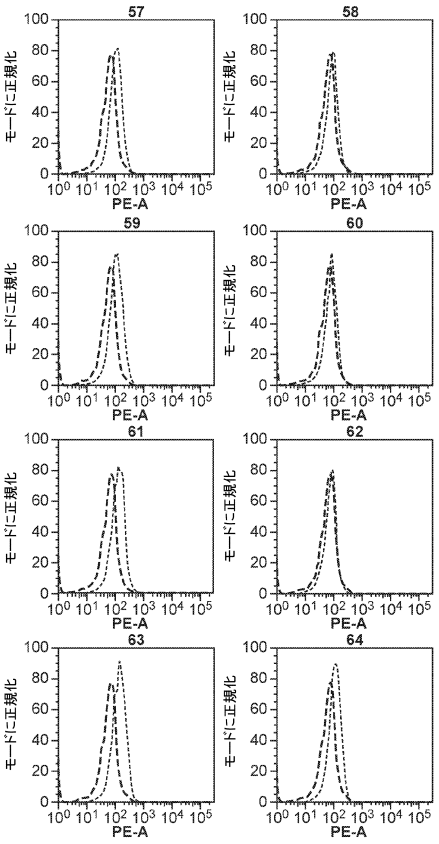
【図４Ｂ－７】



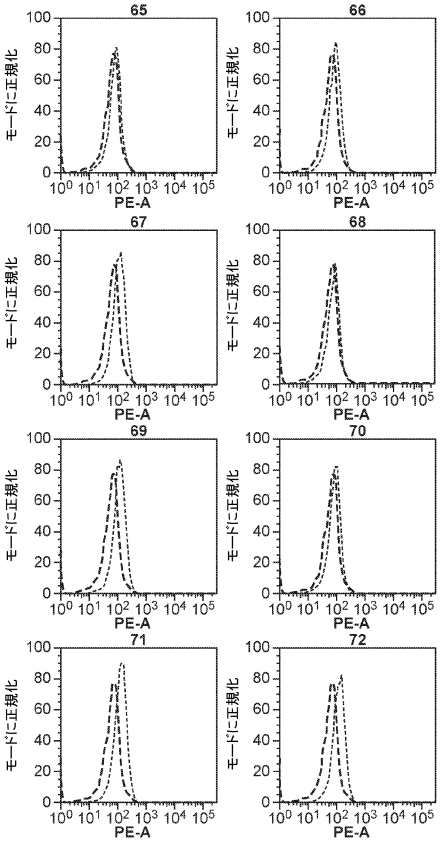
【図４Ｂ－８】



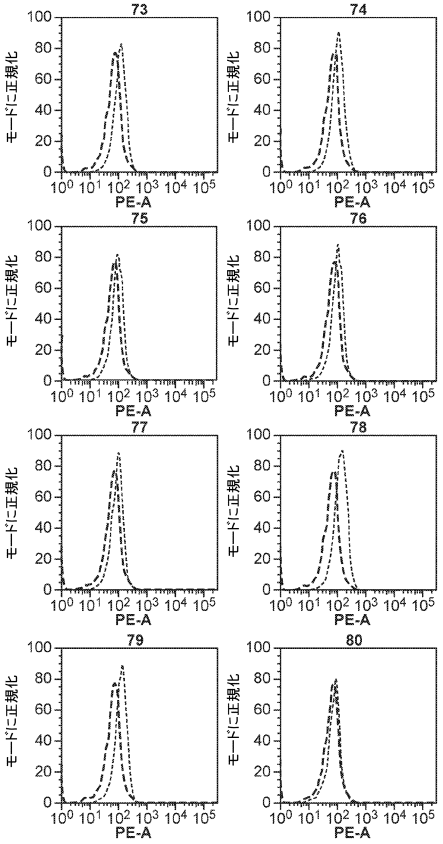
【図４Ｂ－９】



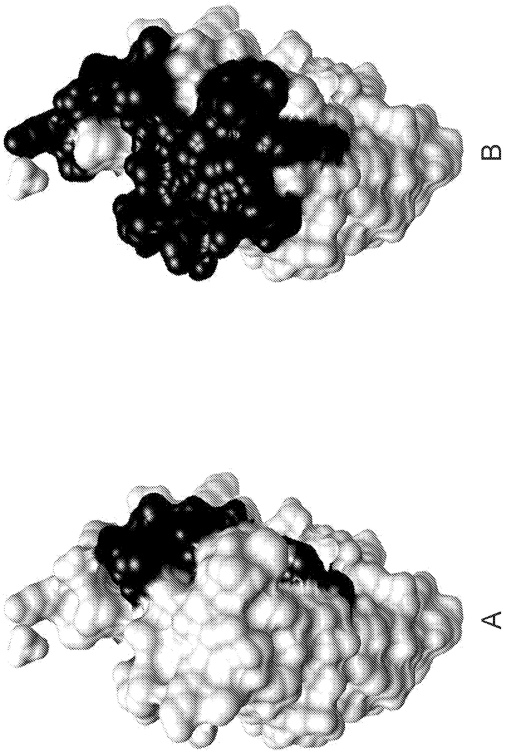
【図４Ｂ－１０】



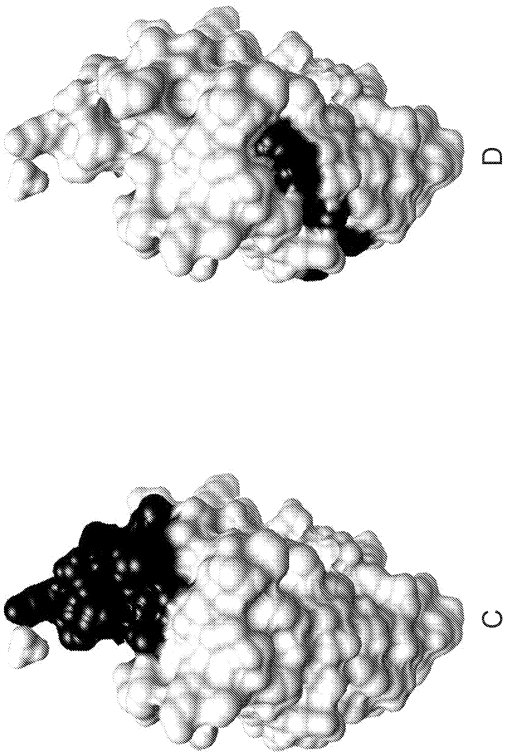
【図４Ｂ－１１】



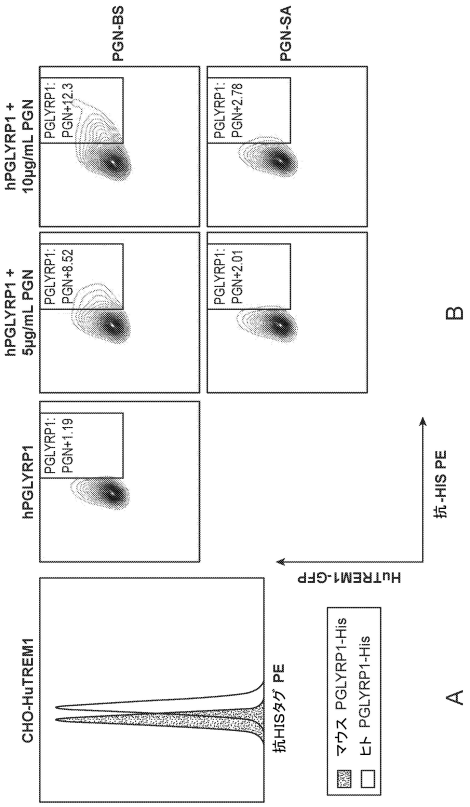
【図５Ａ－Ｂ】



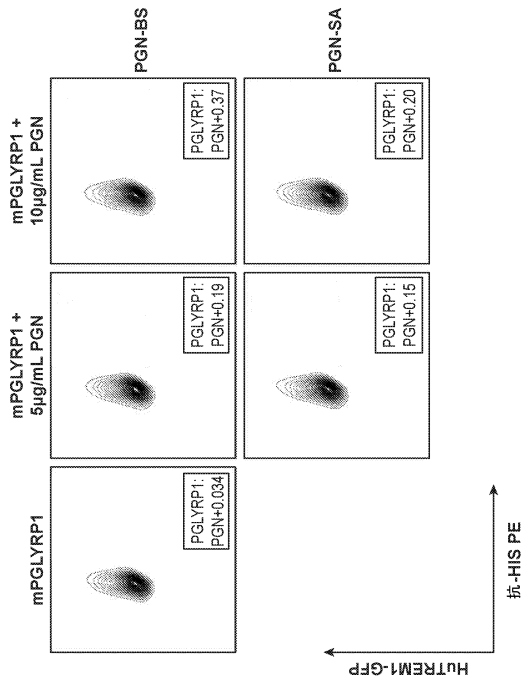
【図５Ｃ－Ｄ】



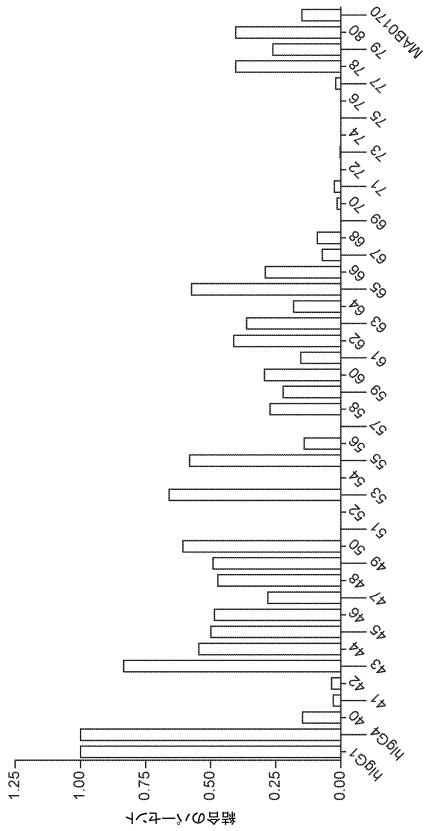
【図６Ａ－Ｂ】



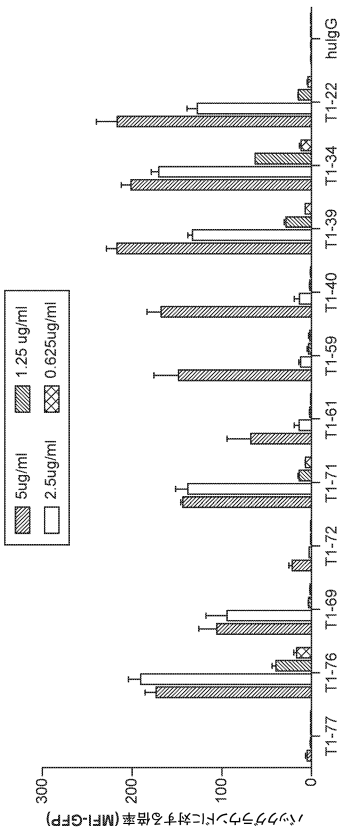
【図６Ｃ】



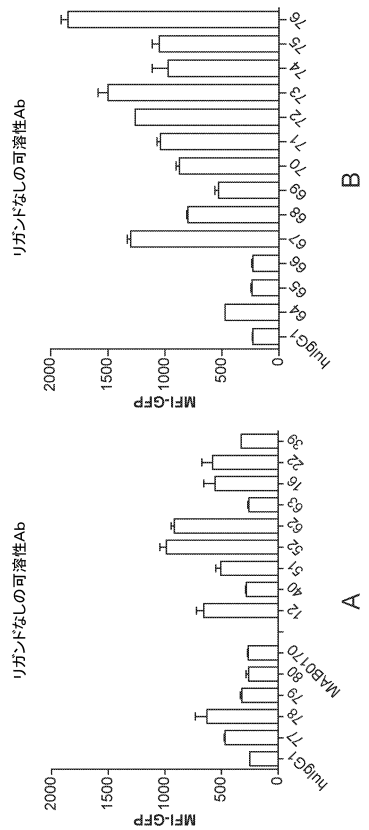
【図６Ｄ】



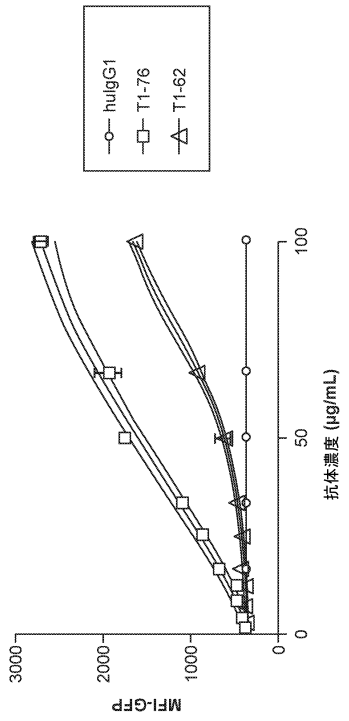
【図７】



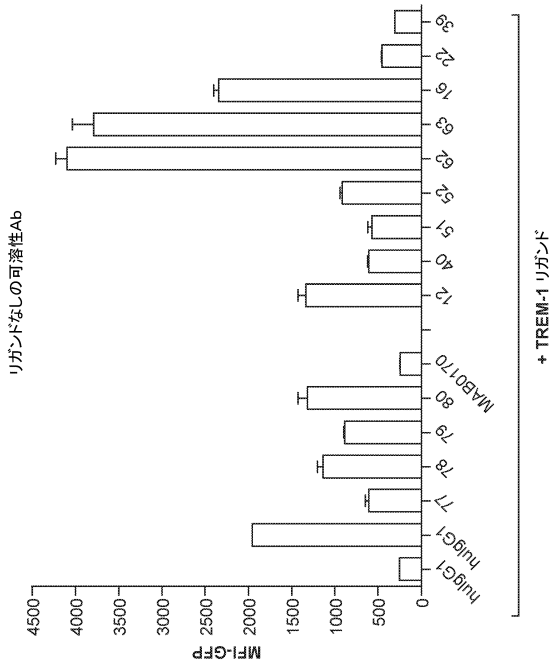
【図８Ａ－Ｂ】



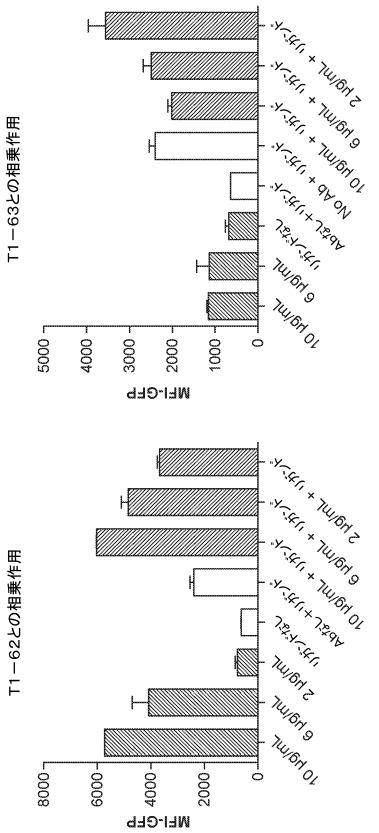
【図８Ｃ】



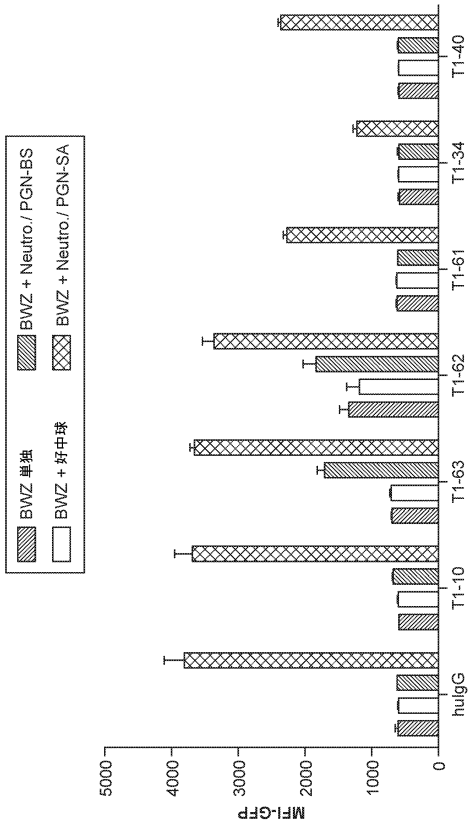
【図９Ａ】



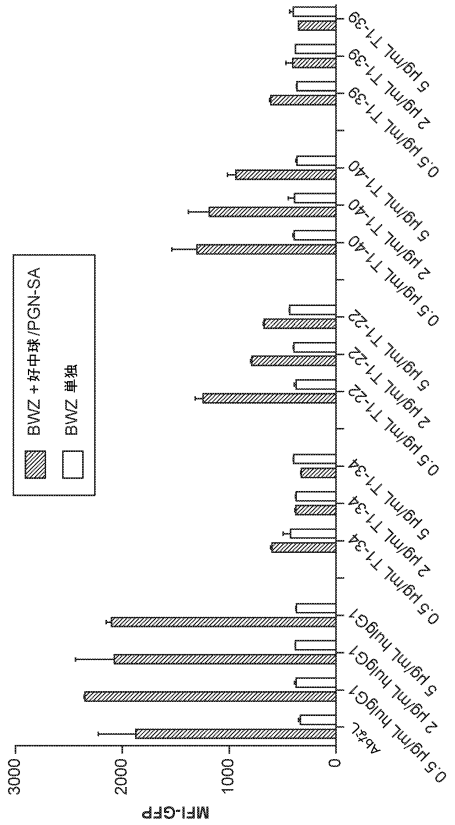
【図９Ｂ】



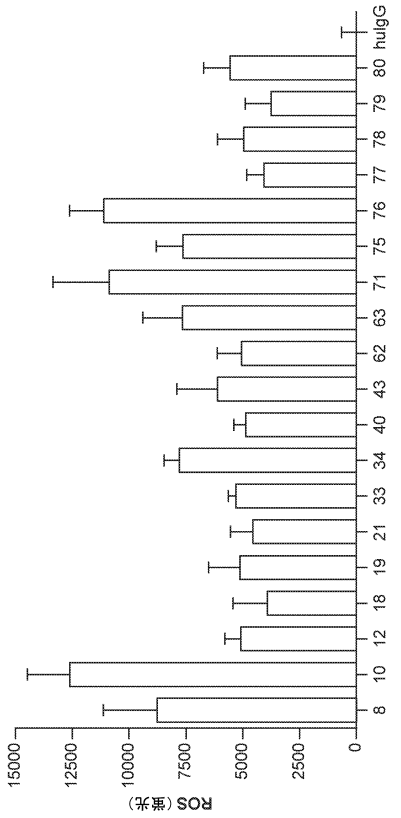
【図９Ｃ】



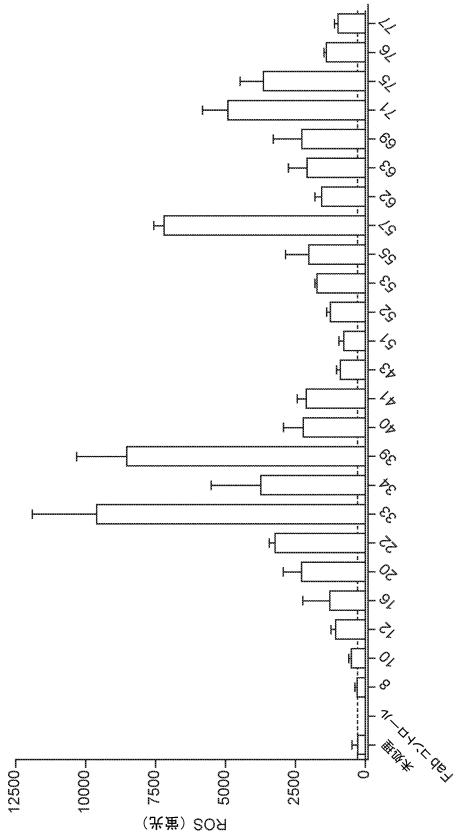
【図９Ｄ】



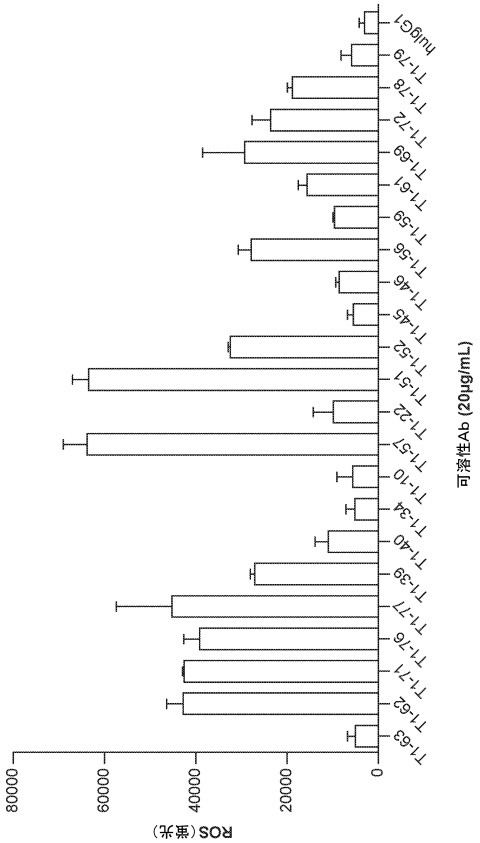
【図１０Ａ】



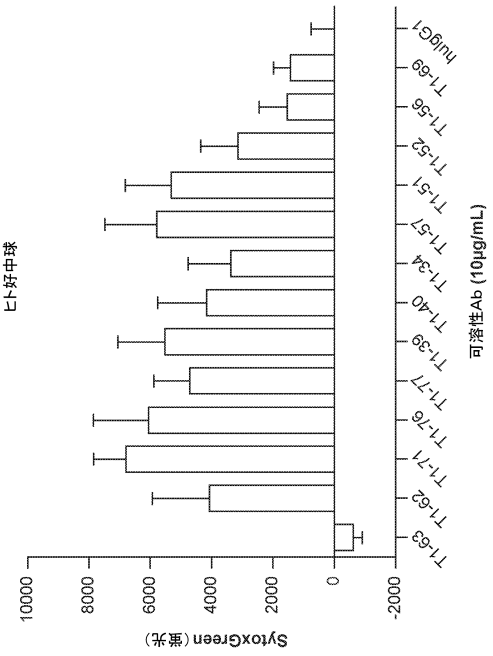
【図１０Ｂ】



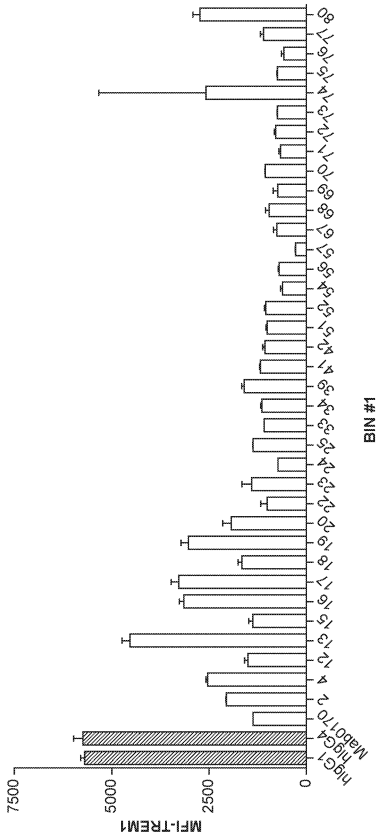
【図１０Ｃ】



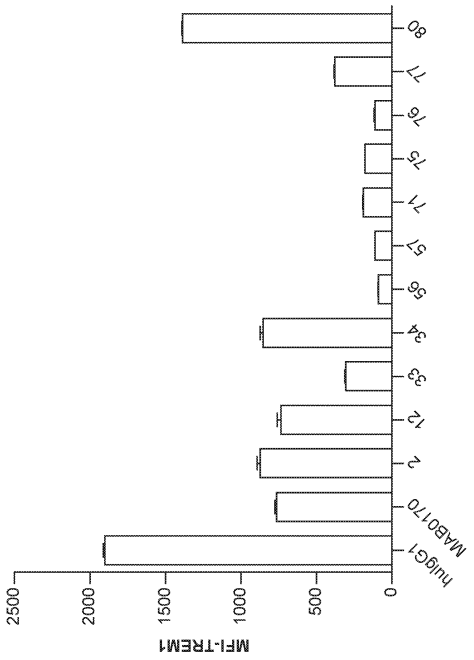
【図１０Ｄ】



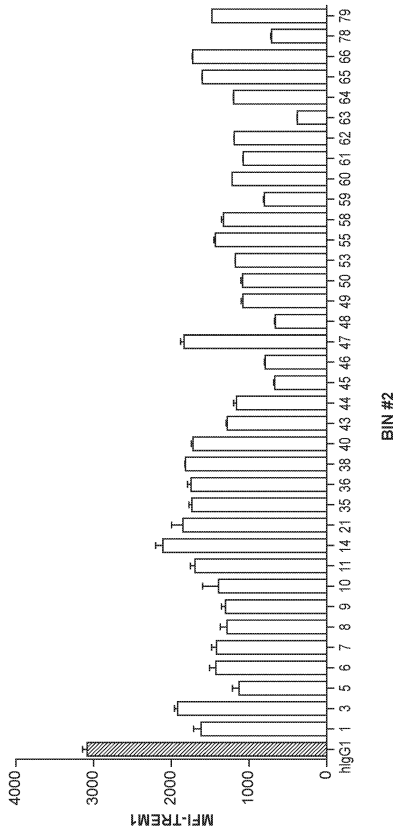
【図１１Ａ】



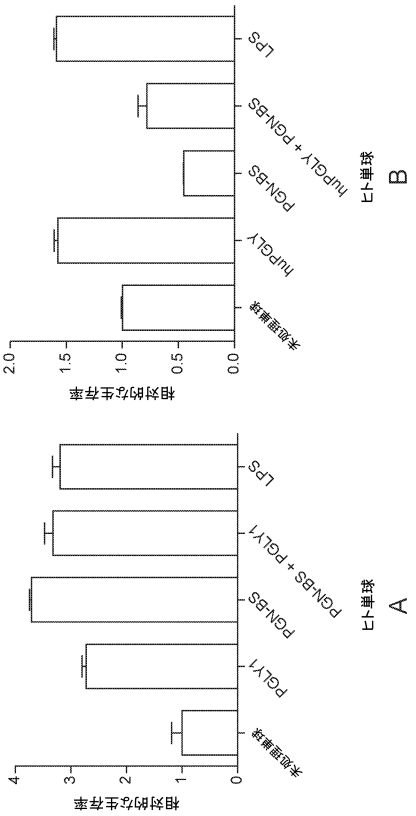
【図１１Ｂ】



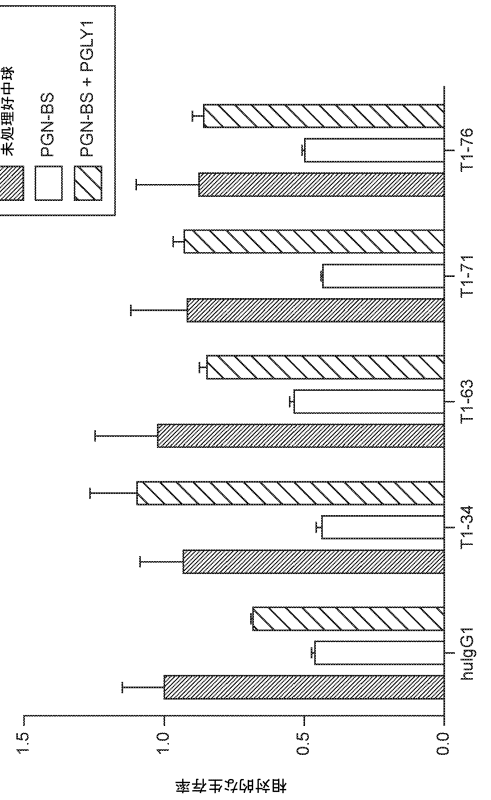
【図１１Ｃ】



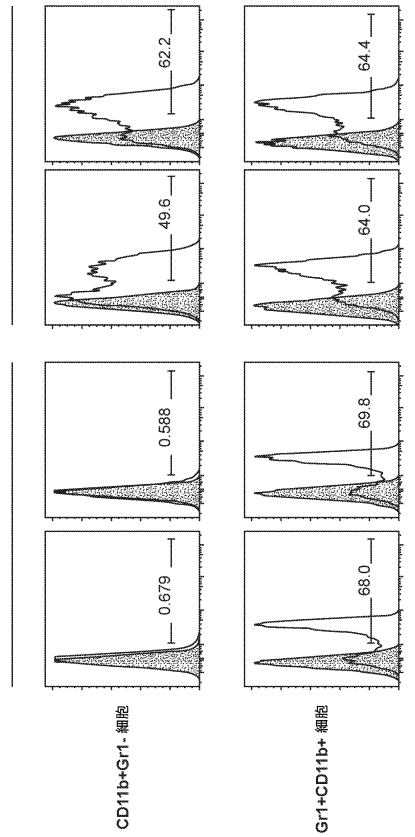
【図１２Ａ－Ｂ】



【図１２Ｃ】



【図１３】



【図１４Ａ】

例示的なアンタゴニスト抗体
T1-39 (ADI-19113), T1-34 (ADI-19108), T1-40 (ADI-19114)

```
                                                
```

【図１４Ｃ】

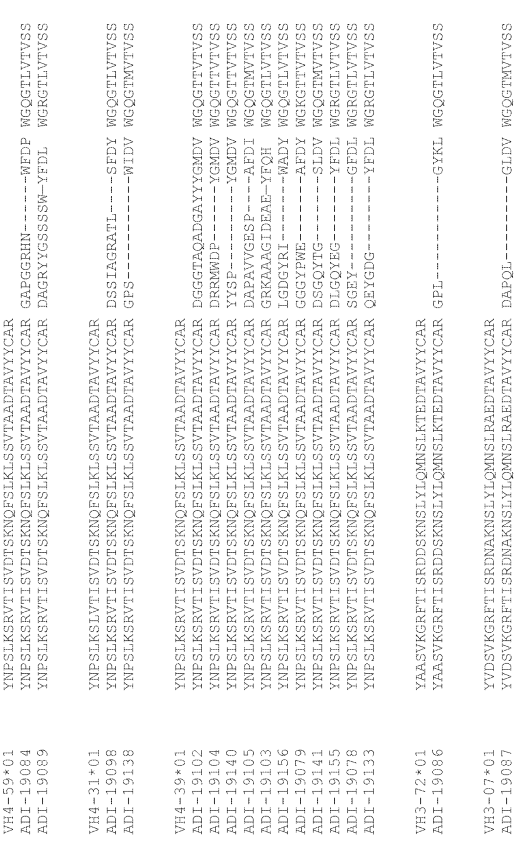
例示的なTREM1活性化抗体（リガンド模倣体）

```
                                                
```

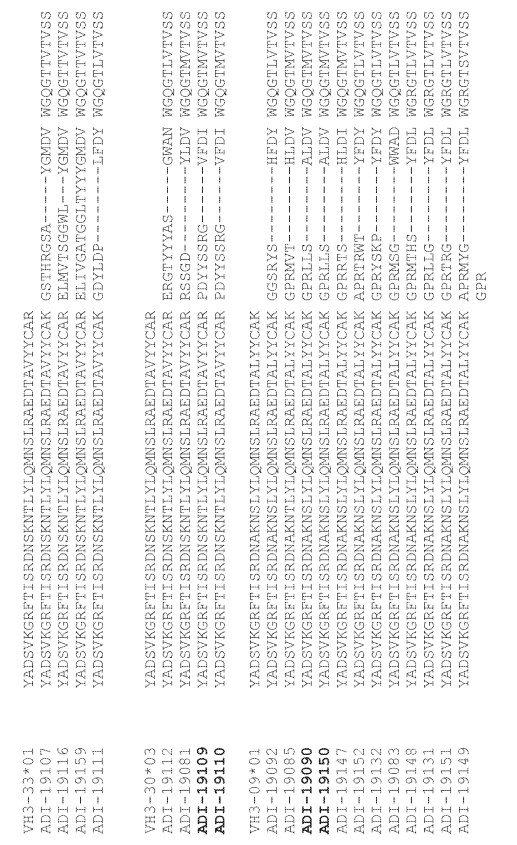
【図１５Ｄ】

```
                                                
```

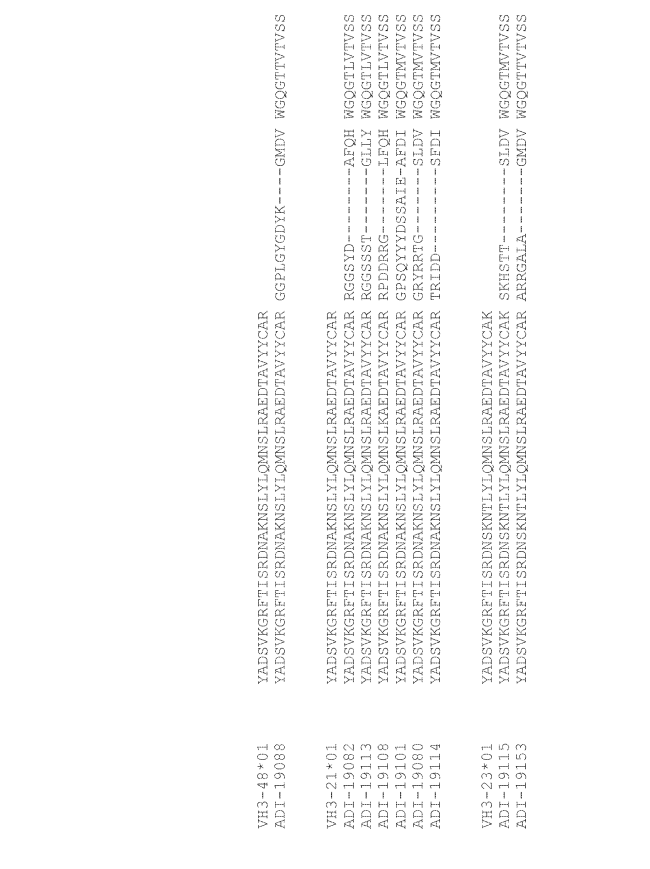
【図１５Ｈ】



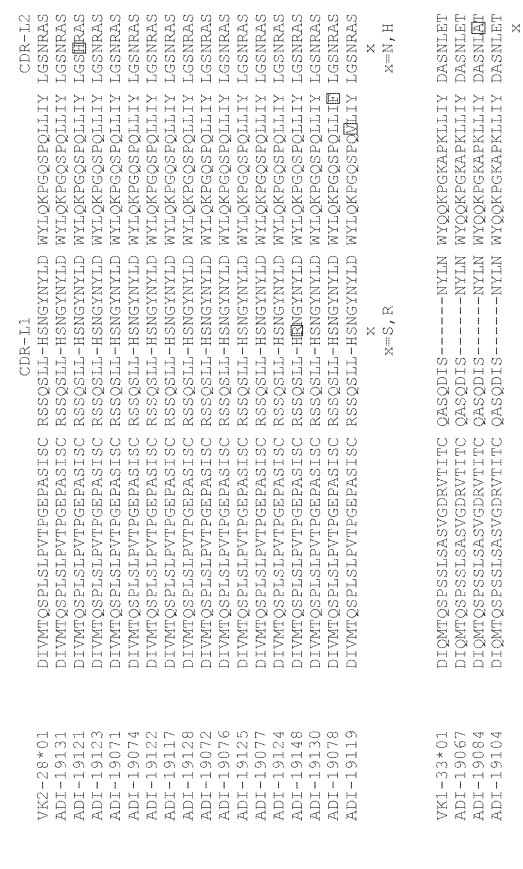
【図１５Ｉ】



【図１５Ｊ】



【図１６Ａ】



【図１６Ｂ】

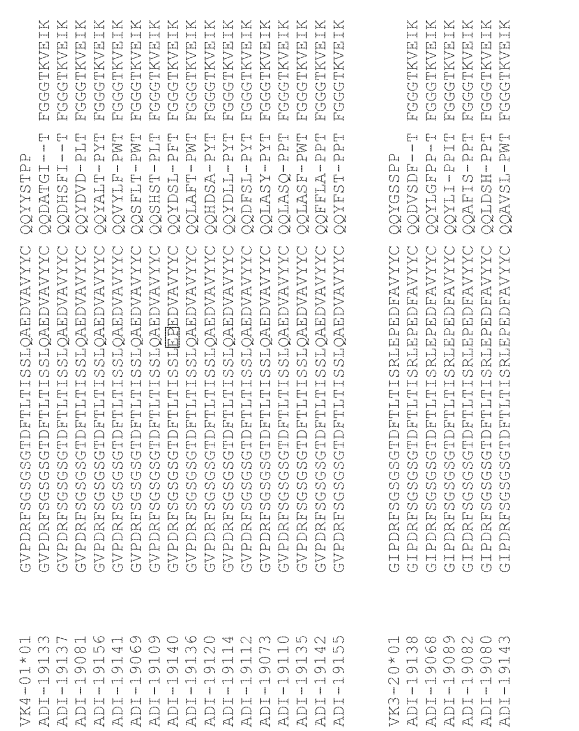
【図１６Ｃ】

【図１６Ｄ】

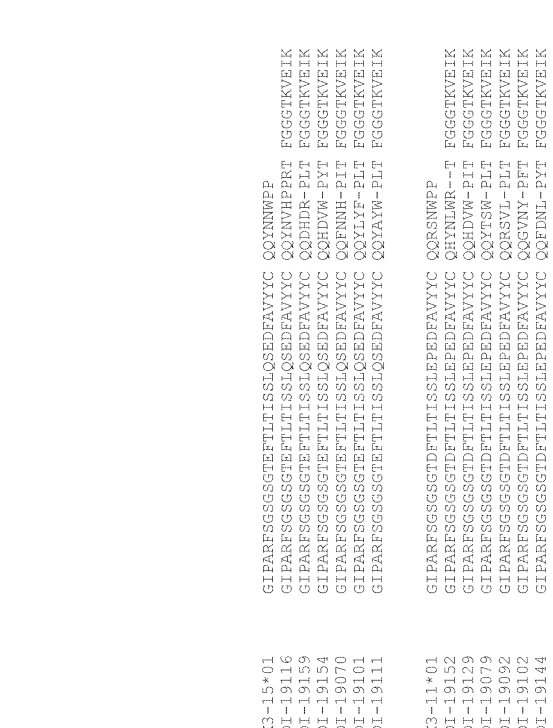
【図１６Ｅ】

【図１６Ｆ】

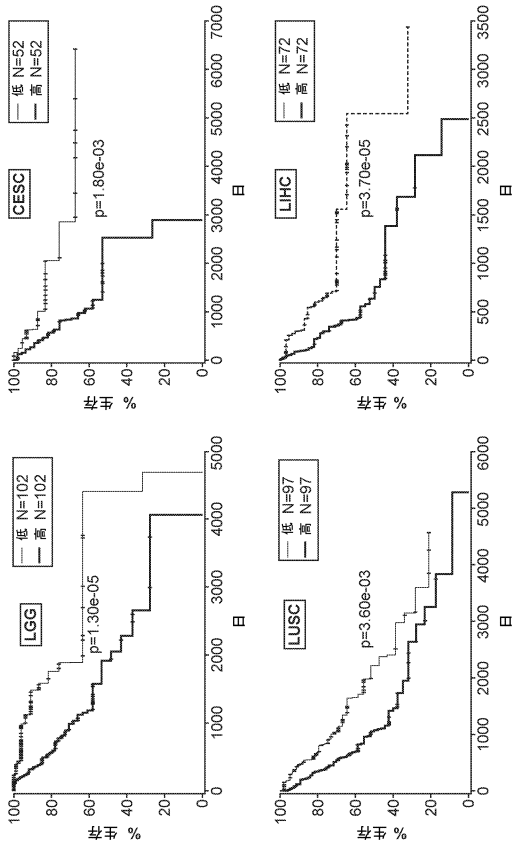
【図１６Ｇ】



【図１６Ｈ】



【図１７】



フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10	
C12P 21/08 (2006.01)		C12P	21/08	
C07K 16/28 (2006.01)		C07K	16/28	
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	D
A61K 45/00 (2006.01)		A61K	39/395	N
A61P 43/00 (2006.01)		A61K	45/00	
A61P 25/28 (2006.01)		A61P	43/00	121
A61P 25/14 (2006.01)		A61P	25/28	
A61P 25/16 (2006.01)		A61P	25/14	
A61P 25/00 (2006.01)		A61P	25/16	
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	25/00	
A61P 9/00 (2006.01)		A61P	35/00	
A61P 1/00 (2006.01)		A61P	9/00	
A61P 1/04 (2006.01)		A61P	1/00	
A61P 19/02 (2006.01)		A61P	1/04	
A61P 3/04 (2006.01)		A61P	19/02	
A61P 33/06 (2006.01)		A61P	3/04	
A61P 27/02 (2006.01)		A61P	33/06	
A61P 27/06 (2006.01)		A61P	27/02	
A61P 19/10 (2006.01)		A61P	27/06	
A61P 35/02 (2006.01)		A61P	19/10	
A61P 19/00 (2006.01)		A61P	35/02	
A61P 33/14 (2006.01)		A61P	19/00	
A61P 31/04 (2006.01)		A61P	33/14	
A61P 31/18 (2006.01)		A61P	31/04	
A61P 17/02 (2006.01)		A61P	31/18	
A61P 37/02 (2006.01)		A61P	17/02	
A61K 38/19 (2006.01)		A61P	37/02	
A61K 38/20 (2006.01)		A61K	38/19	
A61K 38/21 (2006.01)		A61K	38/20	
A61P 7/00 (2006.01)		A61K	38/21	
		A61P	7/00	

８０，サウス サンフランシスコ，オイスター ポイント ブールヴァード １５１，スイート ３００
(72)発明者 ラム， ヘレン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールヴァード １５１， スイート ３００
(72)発明者 アヴォガドリ－コナーズ， フランチェスカ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールヴァード １５１， スイート ３００
(72)発明者 リー， スンジュ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールヴァード １５１， スイート ３００

審査官 林 康子
(56)参考文献 米国特許出願公開第２０１３／０３０９２３９（ＵＳ，Ａ１）
特表２０１５－５０８７６２（ＪＰ，Ａ）
(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １５／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＧｅｎＢａｎｋ／ＥＭＢＬ／ＤＤＢＪ／ＧｅｎｅＳｅｑ
ＵｎｉＰｒｏｔ／ＧｅｎｅＳｅｑ
ＰｕｂＭｅｄ