

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202292820 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.01.25

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2021.04.02

(54) СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ К TREM2

(31) 63/005,130; 63/079,810

(32) 2020.04.03; 2020.09.17

(33) US

(86) PCT/US2021/025626

(87) WO 2021/203030 2021.10.07

(88) 2021.11.18

(71) Заявитель:  
ЭЛЕКТОР ЭлЭлСи (US)

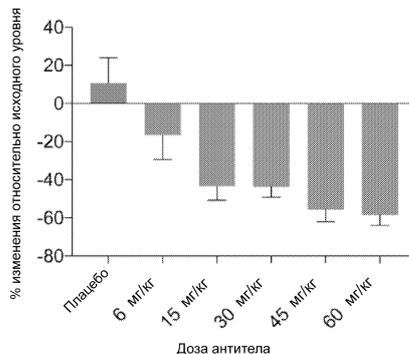
(72) Изобретатель:

Пол Роберт, Уорд Майкл Ф., Лун Хуа,  
Сиддики Омер Ризван, Розенталь  
Арнон, Йе Феликс Лицзя, Джексон  
Сэм (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение в общем относится к применению композиций, которые содержат антитела, например моноклональные, химерные, с созревшей аффинностью, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают один или более эпитопов в белке TREM2, например человеческом TREM2, и улучшают и/или усиливают функциональные характеристики, при лечении и/или замедлении прогрессирования заболевания или травмы у индивида, нуждающегося в этом.



A1

202292820

202292820

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-575825EA/032

### СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИТЕЛ К TREM2

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/005130, поданной 3 апреля 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/079810, поданной 17 сентября 2020 г., каждая из которых включена в данный посредством ссылки в полном объеме.

#### ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

Содержание следующего представления в текстовом файле ASCII полностью включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) Перечня последовательностей (имя файла: 735022003540SEQLIST.TXT, дата записи: 30 марта 2021 г., размер: 88 КБ).

#### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к терапевтическому применению антител к TREM2.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Болезнь Альцгеймера (БА) является дегенеративным заболеванием головного мозга и представляет собой наиболее распространенную причину деменции в Соединенных Штатах, от которой страдают приблизительно 5,5 миллионов американцев. Во всем мире 50 миллионов человек живут с деменцией, и ожидается, что к 2050 году эта распространенность утроится. Из 10 основных причин смерти в США БА является единственной основной причиной заболеваемости и смертности без подходящего лечения для профилактики, замедления или излечения (Отчет Ассоциации Альцгеймера, 2017 г.). Современные методы лечения БА, такие как ингибиторы ацетилхолинэстеразы (например, донепезил) и антагонисты рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) (например, мемантин), демонстрируют умеренные и временные преимущества в отношении когнитивных и поведенческих параметров у пациентов с БА, но не замедляют или не останавливают прогрессирование заболевания (Cummings (2004) N Engl J Med, 351:56-67).

Недавние исследования показали, что инициирующий рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-2 (TREM2), иммуноглобулин-подобный рецептор, может играть ключевую роль в БА. Например, было обнаружено, что гетерозиготные мутации в гене TREM2 повышают риск БА до 3 раз (Guerreiro et al (2013), N Engl J Med, 368:117-127; Jonsson et al (2013) N Engl J Med, 368:107-116) и увеличивают скорость снижения объема мозга (Rajagopalan et al (2013) N Engl J Med, 369:1565-1567). Даже люди без БА, которые несут гетерозиготную мутацию TREM2, демонстрируют нарушение когнитивных функций по сравнению с людьми с 2 нормальными аллелями TREM2. В контексте патологии БА экспрессия TREM2 влияет на амилоидную патологию, модулирует

дистрофию нейритов, гиперфосфорилирование и агрегацию тау-белка, а также влияет на потерю синапсов и нейронов (Jay et al (2017) *Mol Neurodegener*, 12(1):56). Кроме того, было показано, что TREM2 играет ключевую роль в ограничении развития патологий бляшек тау-белка (Leyns et al (2019) *Nat Neurosci*, PMID: 31235932). Недавние исследования на генетических моделях мышей также убедительно подтверждают ключевую роль TREM2 в БА, при этом потеря или дефицит TREM2 связаны с усилением патологии (Cheng-Hathaway et al (2018) *Mol Neurodegener*, 13(1):29; Wang et al (2015) *Cell*, 160:1061-1071; Wang et al (2016) *J Exp Med*, 213:667-675; Yuan et al (2016) *Neuron*, 90:724-739; Jay et al (2017) *J Neurosci*, 37:637-647).

TREM2 экспрессируется преимущественно на клетках миелоидного происхождения, включая микроглию (Colonna and Wang (2016) *Nat Rev Neurosci*, 17:201-207). Микроглия представляет собой резидентные макрофаги центральной нервной системы, которые при соответствующей активации, как считается, выполняют важную защитную роль при болезни Альцгеймера благодаря своим функциям «домашнего хозяйства», таким как облегчение очистки от клеточных остатков посредством фагоцитоза, а также секреция факторов роста. Было показано, что экспрессия TREM2 регулирует хемотаксис и фагоцитоз микроглии, а также повышает выживаемость, пролиферацию и дифференцировку клеток микроглии. Кроме того, хорошо известно, что TREM2 необходим для поддержания трофической функции микроглии в стареющем мозге, и исследования на животных показали, что существует перекрытие между фенотипом стареющей микроглии и молекулярными сигнатурами микроглии, обнаруженными в моделях БА, которые включают пути TREM2 (Krasemann et al (2017) *Immunity*, 47(3):566-581). Эти данные свидетельствуют о том, что активация TREM2 может улучшить патологию БА и привести к улучшению когнитивной функции за счет активации врожденной иммунной системы.

Соответственно, в данной области существует потребность в новых способах лечения БА и других нейродегенеративных заболеваний посредством активации врожденной иммунной системы (например, активности микроглии), например, с использованием агонистических антител, нацеленных на TREM2.

Все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в данной заявке, включены в данную заявку посредством ссылки в полном объеме.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное раскрытие, как правило, относится к способам использования композиций, которые включают антитела, например моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связываются с TREM2 человека.

В одном аспекте в данном документе предложен способ лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или травмы у индивида, включающий введение индивиду антитела к TREM2 в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг внутривенно, причем антитело к TREM2 является агонистом. В другом аспекте в данном документе предложен способ

лечения и/или замедления прогрессирувания заболевания или травмы у индивида, включающий введение индивиду антитела к TREM2 в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг внутривенно, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, и при этом: (i) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32); или (ii) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32).

В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 15 мг/кг до около 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг или около 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждую неделю в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 25 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 35 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 40 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 45 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около

одного раза каждые четыре недели в дозе около 55 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 60 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 27, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 30.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 29.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1 человека.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1 человека и содержит аминокислотные замены в области Fc в положениях остатков P331S и E430G, при этом нумерация остатков соответствует нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 43, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47; или (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 44, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 45, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48; или (б) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 46, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48.

В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание или травма выбраны из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хакола, когнитивного дефицита, потери памяти, повреждения спинного мозга, черепно-мозговой травмы, демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) или таупатия.

В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE) от около 16 до около 28 баллов до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет показатель общей клинической оценки деменции (CDR-GS) 0,5, 1,0 или 2,0 до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения перед введением антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат ПЭТ-сканирования на амилоиды. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивиду вводят ингибитор холинэстеразы и/или терапию мемантином. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида наблюдаются симптомы болезни Альцгеймера до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения симптомы представляют собой легкие когнитивные нарушения и/или легкую деменцию. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида не наблюдаются симптомы болезни Альцгеймера до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид является гетерозиготным или гомозиготным по мутации в TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в человеческом белке TREM2 в положении остатка R47H, R62H или в обоих положениях.

В некоторых вариантах осуществления изобретения перед введением антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат теста на амилоиды или тау-белок в крови.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 30% по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 40% по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости

индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения снижение уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида наблюдается примерно через 2 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида измеряют в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида с использованием электрохемилюминесцентного анализа.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида наблюдается примерно через 2 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида измеряют в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида с использованием анализа ELISA.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней растворимого TREM2 в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней растворимого CSF1R в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней амилоидной нагрузки в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни амилоидной нагрузки в головном мозге индивида измеряют с помощью амилоидно-позитронно-эмиссионной томографии. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение количества тау-белка в головном мозге индивида, что оценено по измерению уровней тау-белка в головном мозгу индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни тау-белка в головном мозге индивида измеряют с помощью тау-позитронно-эмиссионной томографии. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение одной или более аномалий в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения одну или более аномалий головного мозга измеряют с помощью магнитно-резонансной томографии. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или более аномалий головного мозга представляют собой объем головного мозга. В некоторых вариантах осуществления изобретения

способы, представленные в данном документе, также включают измерение объема головного мозга индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения объем головного мозга измеряют с помощью магнитно-резонансной томографии. В некоторых вариантах осуществления изобретения объем головного мозга измеряют с помощью объемной магнитно-резонансной томографии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают обнаружение наличия изменения в одном или нескольких генах у индивида, выбранных из APOE, TREM2, CD33, TMEM106b или CLUSTERIN.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров нейровоспаления в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более маркеров нейродегенерации в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров нейродегенерации представляют собой легкий нейрофиламент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина относятся к уровням экспрессии мРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина относятся к уровням экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включают измерение уровней экспрессии, sTREM2 или sCSF1R в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце крови индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или

более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров болезни Альцгеймера выбраны из A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общего тау, pТау, легкого нейрофиламента или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров болезни Альцгеймера представляют собой A $\beta$ 40, A $\beta$ 42, pТау и/или общий тау.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце крови индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров функционирования микроглии представляют собой CSF1R, IL1RN, YKL40 и/или остеопонтин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают определение балла одной или более клинических оценок индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, при этом одна или более клинических оценок выбраны из оценки краткого теста психического состояния (MMSE), общей клинической оценки деменции (CDR-GS), суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB) или повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS).

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают проведение оценок тау- или амилоидной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера, при этом болезнь Альцгеймера представляет собой раннюю форму болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется амилоидоз головного мозга до введения антитела к TREM2, при этом амилоидоз головного мозга оценивают в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида, или с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE) по меньшей мере около 22 баллов до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет показатель общей клинической оценки деменции (CDR-GS),

составляющий от около 0,5 до около 1,0 до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения до введения антитела к TREM2 индивид имеет показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса на основе показателя отсроченной памяти (RBANS DMI) 85 или менее. В некоторых вариантах осуществления изобретения перед введением антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат теста на амилоиды или тау-белок в крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают определение балла одной или нескольких клинических оценок индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, при этом одна или более клинических оценок выбраны из суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB), краткого теста психического состояния (MMSE), повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), шкалы оценки болезни Альцгеймера, когнитивной подшкалы-13 (ADAS-Cog13), совместного исследования болезни Альцгеймера, повседневной деятельности, адаптированной к легким когнитивным нарушениям (ADCS-ADL-MCI) и составной оценки болезни Альцгеймера (ADCOMS). В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера, включая, но не ограничиваясь этим, любой из биомаркеров, описанных в данном документе, до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2, при этом один или более биомаркеров болезни Альцгеймера измеряют с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) или в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости, полученном от индивида. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в данном документе, также включают проведение оценок тау- или амилоидной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы, представленные в настоящем документе, также включают выполнение одной или нескольких оценок речи у индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, (a) доза составляет около 15 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 8,63 дня; (b) доза составляет около 30 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 7,44 дня; (c) доза составляет около 45 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 8,40 дня; или (d) доза составляет около 60 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 9,93 дня.

В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в настоящем документе, способ дополнительно включает проведение анализа крови на амилоид или тау в образце, полученном от индивида, до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном документе предложен способ мониторинга лечения индивида, которому вводят антитело к TREM2, включающий измерение уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости снижаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней растворимого TREM2 в образце крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней растворимого TREM2 в образце крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого TREM2 в образце крови или плазмы снижаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в образце крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы увеличиваются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после

того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы увеличиваются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы увеличиваются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней остеопонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней остеопонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни остеопонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы увеличиваются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями остеопонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию

оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров болезни Альцгеймера выбраны из A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общего тау, pTau, легкого нейрофиламента или любой их комбинации.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров функционирования микроглии представляют собой CSF1R, IL1RN, YKL40 и/или остеопонтин.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров нейродегенерации включают NfL.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина относятся к уровням экспрессии мРНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина относятся к уровням экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включают измерение уровней

экспрессии sTREM2 или sCSF1R в образце спинномозговой жидкости, плазмы или крови индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней амилоидов в головном мозге индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней амилоида в головном мозге индивида.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней количества тау-белка в головном мозгу индивида, что оценено путем измерения уровней тау-белка в головном мозге индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней тау-белка в головном мозге индивида.

В другом аспекте в данном изобретении представлен способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение объема головного мозга индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ наблюдения за лечением, представленный в данном документе, также включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании объема головного мозга индивида.

В любом из вышеуказанных способов наблюдения за лечением антитело к TREM2 является агонистом.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

**На Фиг. 1** показана схема исследования фазы 1, описанного в Примере 1, для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) AT.1FM при введении в виде однократных возрастающих доз здоровым участникам и в виде многократных доз у участников с легкой и средней степенью БА. SAD=однократная возрастающая доза; MD=многократная доза. Стрелки указывают на введение AT.1FM в указанных дозах. Соотношение участников, принимавших активное лекарственное средство (AT.1FM), и участников, принимавших плацебо, указано для каждой группы (активное лекарственное средство:плацебо). Звездочка (\*) указывает на то, что люмбальные пункции выполняются для получения исходного образца спинномозговой жидкости (CSF) (группы SAD F, G, H, I, K и N; группы MD J, L и M). Знак плюс (+) указывает на открытые группы.

**На Фиг. 2** представлены результаты по безопасности для фазы SAD исследования фазы 1, описанного в Примерах 1 и 2. TEAE=нежелательное явление, возникающее при

лечении; SAE=серьезное нежелательное явление; «прекр.»=прекращение. Звездочка (\*) указывает на событие травматического повреждения, не связанное с исследуемым лечением.

**На Фиг. 3А-3В** показаны результаты экспериментов, в которых оценивали влияние АТ.1FM на уровни растворимого TREM2 (sTREM2) и растворимого CSF1R (sCSF1R) в спинномозговой жидкости (CSF) участников фазы SAD исследования, описанного в Примерах 1 и 2. На **Фиг. 3А** показано процентное изменение уровней sTREM2 в спинномозговой жидкости через два дня после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо по сравнению с исходными уровнями sTREM2 в CSF. На **Фиг. 3В** показано процентное изменение уровней sCSF1R в CSF через два дня после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо по сравнению с исходными уровнями sCSF1R в CSF.

**На Фиг. 4** показаны уровни sTREM2 в CSF здоровых добровольцев, которым вводили АТ.1FM или плацебо. Процентное изменение от исходного уровня (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) уровней sTREM2 в CSF представлено в день 2 (Д2) и день 12 (Д12) после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо.

**На Фиг. 5** показаны уровни растворимого CSF1R (sCSF1R) в CSF здоровых людей-добровольцев, которым вводили АТ.1FM или плацебо. Процентное изменение от исходного уровня (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) уровней sCSF1R в CSF представлено в день 2 (Д2) и день 12 (Д12) после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо.

**На Фиг. 6** показаны уровни YKL40 в CSF здоровых добровольцев, которым вводили АТ.1FM или плацебо. Процентное изменение от исходного уровня (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) уровней YKL40 в CSF представлено в день 2 и день 12 после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо.

**На Фиг. 7** показаны уровни IL-1RA в CSF здоровых добровольцев, которым вводили АТ.1FM или плацебо. Процентное изменение от исходного уровня (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) уровней IL-1RA в CSF представлено в день 2 и день 12 после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо.

**На Фиг. 8** показаны уровни остеопонтинина (OPN) в CSF здоровых добровольцев, которым вводили АТ.1FM или плацебо. Процентное изменение от исходного уровня (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) уровней OPN в CSF представлено в день 2 и день 12 после введения указанной дозы АТ.1FM или плацебо.

**На Фиг. 9** показана концентрация АТ.1FM в CSF здоровых людей-добровольцев. Концентрация АТ.1FM в CSF (нг/мл; среднее+стандартное отклонение) представлена в день 2 и день 12 после введения указанной дозы АТ.1FM.

**Фиг. 10А-10В** показывают концентрацию белка TREM2 в лобной коре и гиппокампе приматов, отличных от человека, которым вводили АТ.1FM или контроль. Приматам, отличным от человека, вводили контроль или АТ.1FM в указанных дозах внутривенно один раз в неделю, всего 5 доз. На **Фиг. 10А** показана концентрация белка

TREM2 в лобной коре через 48 часов после пятого введения AT.1FM или контроля (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего). На **Фиг. 10B** показана концентрация белка TREM2 в гиппокампе через 48 часов после пятого введения AT.1FM или контроля (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего). На **Фиг. 10A-10B**, измерения нормализовали по концентрации тканевого белка (N=6 на дозовую группу, \*,  $p < 0,05$ ; \*\*\*,  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*,  $p < 0,0001$  по однофакторному ANOVA).

На **Фиг. 11** показаны уровни sTREM2 в CSF приматов, отличных от человека, которым вводили AT.1FM или контроль один раз в неделю в течение 3 недель. Уровни sTREM2 в CSF (в процентах от исходного уровня; среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего) представлены в указанные моменты времени (часы) после первого введения контроля или AT.1FM. Стрелками указано время введения контроля или AT.1FM.

На **Фиг. 12** показаны уровни остеопонтинина в CSF приматов, отличных от человека, которым вводили AT.1FM или контроль один раз в месяц в течение 2 месяцев, всего три дозы (N=5 на группу). Уровни остеопонтинина в CSF (в процентах от исходного уровня; среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего) представлены в указанные моменты времени (часы) после первого введения контроля или AT.1FM. Стрелками указано время введения контроля или AT.1FM в дозе 250 мг/кг. Серая пунктирная линия обозначает исходный уровень (до введения дозы) остеопонтинина.

На **Фиг. 13** показана концентрация белка CSF1R в лобной коре и гиппокампе приматов, отличных от человека, которым вводили AT.1F или контроль. Приматам, отличным от человека, вводили контроль или AT.1F внутривенно в дозе 80 мг/кг один раз в неделю, всего 5 доз (N=5 на группу). Представлены концентрации белка CSF1R (нг белка CSF1R/мг общий белок) в лобной коре (левая часть) и в гиппокампе (правая часть) через 48 часов после пятого введения AT.1F или контроля.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предусмотрены способы лечения или замедления прогрессирования расстройства или повреждения путем введения агониста TREM2. Такие заболевания или повреждения включают деменцию, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, болезнь Насу-Хакола, когнитивный дефицит, потерю памяти, повреждение спинного мозга, черепно-мозговую травму, демиелинизацию, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз (БАС), болезнь Хантингтона, лейкоэнцефалопатию у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) и таупатии. Агонисты TREM2 включают антитела к TREM2, которые индуцируют или усиливают одну или более активностей TREM2 и/или усиливают одну или более активностей, индуцированных связыванием одного или более лигандов с TREM2. Например, антитела-агонисты к TREM2 могут снижать растворимый TREM2, индуцировать фосфорилирование тирозинкиназы селезенки (Syk), индуцировать связывание TREM2 с DAP12, индуцировать фосфорилирование DAP12, повышать пролиферацию, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и микроглиальных

клеток (микроглии) или повышать активность и/или экспрессию TREM2-зависимых генов.

### **Определения**

Используемый здесь термин «*профилактика*» включает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива конкретного заболевания, расстройства или состояния, включая отсрочку начала конкретного заболевания, расстройства или состояния у индивида, который может быть предрасположен к, подвержен или подвержен риску развития такого заболевания, расстройства или состояния, но у которого еще не было диагностировано заболевание, расстройство или состояние.

Как используется в данном документе, индивид, «*подверженный риску*» развития определенного заболевания, расстройства или состояния, может иметь или не иметь поддающееся обнаружению заболевание или симптомы заболевания, а также может иметь или не иметь поддающееся обнаружению заболевание или симптомы заболевания до применения способов лечения, описанных в данном документе. «В группе риска» означает наличие у индивида одного или более факторов риска, которые представляют собой поддающиеся измерению параметры, коррелирующие с развитием конкретного заболевания, расстройства или состояния, как известно в данной области. У человека, имеющего один или несколько из этих факторов риска, вероятность развития определенного заболевания, расстройства или состояния выше, чем у человека без одного или нескольких из этих факторов риска.

Как используется в данном документе, термин «*лечение*» относится к клиническому вмешательству с целью изменить естественное течение заболевания у индивида, которого лечат, в процессе клинического проявления патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, облегчение или смягчение патологического состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза конкретного заболевания, расстройства или состояния. Индивид успешно «лечится», например, если один или несколько симптомов, связанных с конкретным заболеванием, нарушением или состоянием, смягчаются или устраняются.

«*Эффективное количество*» относится к по меньшей мере количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желательного терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество можно вводить в одном или более введениях. Эффективное количество в данном изобретении может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и вес индивида, а также способности лечения вызывать желаемый ответ у индивида. Эффективным количеством также является такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты лечения перевешиваются терапевтически полезными эффектами. Для профилактического применения полезные или желаемые результаты включают такие результаты, как устранение или снижение риска, уменьшение тяжести или задержку начала заболевания, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания,

его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, возникающие при развитии заболевания. Для терапевтического применения полезные или желаемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или более симптомов, возникающих в результате заболевания, повышение качества жизни людей, страдающих этим заболеванием, уменьшение дозы других лекарственных препаратов, необходимых для лечения заболевания, повышение эффекта другого лекарственного средства, например, задержка прогрессирования заболевания и/или продление выживаемости. Эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для осуществления профилактического или терапевтического лечения, или непосредственно, или косвенно. Как понимается в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может или не может быть достигнуто в комбинации с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» может рассматриваться в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и один агент может рассматриваться как получаемый в эффективном количестве, если в комбинации с одним или более другими агентами желаемый результат может быть достигнут.

«Индивид» в целях лечения, профилактики или снижения риска относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид представляет собой человека.

Как используется в данном документе, термин введение «*вместе*» с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в разное время. Введение в сочетании также включает введение в виде совместного состава или введение в виде отдельных композиций, в том числе с различной частотой дозирования или интервалами, а также с использованием одного и того же пути введения или разных путей введения.

В данном контексте термин «*иммуноглобулин*» (Ig) применяется взаимозаменяемо с термином «*антитело*». Термин «антитело» в данном документе применяется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, но не ограничиваясь ими, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные из по меньшей мере двух интактных антител, и фрагменты антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность.

Основной единицей 4-цепочечного антитела является гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Спаривание  $V_H$  и  $V_L$  вместе образует один антигенсвязывающий

участок. Структуру и свойства различных классов антител см., например, в Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton. & Lange, Norwalk, CT, 1994, стр. 71 и глава 6.

L-цепь из любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различающихся типов, называемых каппа («κ») и лямбда («λ»), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена своих тяжелых цепей (СН), иммуноглобулины можно отнести к различным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, тяжелые цепи которых обозначены как альфа («α»), дельта («δ»), эпсилон («ε»), гамма («γ») и мю («μ») соответственно. Классы γ и α дополнительно разделяются на подклассы (изотипы) на основе относительно незначительных различий в последовательности СН и функционировании, например, организм человека экспрессирует следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Хорошо известны субъединичная структура и трехмерная конфигурация различных классов иммуноглобулинов, которые в общем случае описаны, например, в публикации Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4<sup>th</sup> ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

«Природные антитела» обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины с молекулярной массой приблизительно 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, хотя количество дисульфидных связей варьирует среди тяжелых цепей различных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепи также содержат регулярно расположенные внутрицепочечные дисульфидные мостики. На одном конце каждой тяжелой цепи находится переменный домен (V<sub>H</sub>), а затем - ряд константных доменов. На одном конце каждой легкой цепи находится переменный домен (V<sub>L</sub>), а на другом конце - константный домен; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а переменный домен легкой цепи выровнен с переменным доменом тяжелой цепи. Предполагается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область взаимодействия между переменными доменами легкой и тяжелой цепи.

«Выделенным» антителом, таким как изолированное антитело к TREM2 по данному изобретению, является такое антитело, которое было идентифицировано, выделено и/или извлечено из компонента его продуцирующей среды (например, природное или рекомбинантное). Предпочтительно, выделенный полипептид практически не связан с какими-либо другими загрязняющими компонентами из его продуцирующей среды. Загрязняющие компоненты его продуцирующей среды, такие как полученные из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой вещества, которые, как правило, препятствуют исследовательскому, диагностическому или терапевтическому применению антител и могут включать в себя ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления

изобретения полипептид может быть очищен (1) более чем на 95% масс. антитела, что определено, например, по методике Лоури, а в некоторых вариантах осуществления - более чем на 99% масс.; (2) до степени, являющейся достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с помощью секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до получения гомогенности с помощью электрофореза в ДСН-ПААГ в невозстановительных или восстановительных условиях с применением красителя Кумасси синего или, предпочтительно, серебряного красителя.

Термин «*вариабельная область*» или «*вариабельный домен*» антитела, такого как антитело к TREM2 по данному изобретению, относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут быть обозначены как « $V_H$ » и « $V_L$ », соответственно. Как правило, эти домены являются наиболее вариабельными частями антитела (относительно других антител того же класса) и содержат антигенсвязывающие участки.

Термин «*вариабельный*» относится к тому факту, что некоторые сегменты вариабельных доменов сильно различаются по последовательностям среди антител, таких как антитела к TREM2 по данному изобретению. Вариабельный домен опосредует антигенное связывание и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. Однако, вариабельность не является равномерно распределенной по всему диапазону вариабельных доменов. Напротив, она сосредоточена в трех сегментах вариабельных доменов как легкой, так и тяжелой цепи, называемых гипервариабельными областями (HVR). Более консервативные фрагменты вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Каждый вариабельный домен природных легких и тяжелых цепей содержит четыре FR-области, преимущественно принимающих конфигурацию бета-листа и соединенных тремя HVR, образующими петли, соединяющие структуры бета-типа, а в некоторых случаях - являющиеся их частью. HVR каждой цепи объединены друг с другом в непосредственной близости от FR-областей и, вместе с HVR другой цепи, участвуют в образовании антиген-связывающего сайта антител (см. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, однако проявляют различные эффекторные функции, например, участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

При использовании в данном документе, термин «*моноклональное антитело*» относится к антителу, такому как моноклональное антитело к TREM2 по данному изобретению, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования и т.д.), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, направленными на один антигенный участок. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно

включают в себя разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено на одну детерминанту антигена. Кроме своей специфичности, преимуществом моноклональных антител является то, что их можно синтезировать с помощью гибридомной культуры, практически не содержащей примесей других иммуноглобулинов. Определение «моноклональное» указывает на то, что антитело получено из практически однородной популяции антител; его не следует интерпретировать как требование о получении антитела посредством какого-либо конкретного способа. Например, моноклональные антитела, используемые в соответствии с данным изобретением, могут быть получены различными методами, включая, например, гибридомный метод (например, Kohler and Milstein., *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14 (3):253-260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling et al., в: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), методы рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567), технологии фагового дисплея (см., например, Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 101(34):12467-472 (2004); и Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), технологии презентации дрожжей (см., например, WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568, и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663-70 (2013), и технологии получения человеческих или человекоподобных антител у животных, которые имеют части или все локусы или гены иммуноглобулина человека, кодирующие последовательности иммуноглобулина человека (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); патенты США № 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 5661016; Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14:845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826 (1996); и Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995).

Термины «*полноразмерное антитело*», «*интактное антитело*» или «*целое антитело*» используются взаимозаменяемо и относятся к антителу, такому как антитело к TREM2 по данному изобретению, по существу в его интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. В частности, полноразмерные антитела включают такие антитела, которые имеют тяжелую и легкую цепи, включая Fc-область. Константные домены могут быть константными доменами нативных последовательностей (например, константные домены нативных последовательностей человека) или их вариантами аминокислотных последовательностей. В некоторых случаях интактное антитело может иметь одну или большее количество эффекторных функций.

«*Фрагмент антитела*» содержит часть интактного антитела, предпочтительно антигенсвязывающий и/или вариабельный участок интактного антитела. Примеры

фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и Fv; диатела; линейные антитела (см. Патент США 5641870, Пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)); молекулы одноцепочечных антител и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

При расщеплении антител, таких как антитела к TREM2 по данному изобретению, папином образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемые «Fab»-фрагментами, и остаточный «Fc»-фрагмент, название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Fab-фрагмент состоит из целой L-цепи вместе с доменом варибельной области H-цепи (V<sub>H</sub>) и первым константным доменом из одной тяжелой цепи (C<sub>H1</sub>). Каждый Fab-фрагмент является моновалентным относительно связывания антигена, т.е. он имеет один антигенсвязывающий участок. Обработка антитела пепсином дает один большой F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент, который условно соответствует двум дисульфидносвязанным Fab-фрагментам, способным связывать и перекрестно связывать антиген. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов тем, что имеют несколько дополнительных остатков на карбоксильном конце домена C<sub>H1</sub>, включая в себя один или большее количество цистеинов из шарнирного участка антитела. В данном документе Fab'-SH представляет собой обозначение Fab', в котором цистеиновый(-е) остаток(-и) константных доменов несет свободную тиольную группу. Фрагменты F(ab')<sub>2</sub> антитела первоначально получали в виде пар фрагментов Fab', между которыми находятся шарнирные остатки цистеина. Известны также другие варианты химического связывания фрагментов антител.

Fc-фрагмент содержит карбокситерминальные части обеих H-цепей, удерживаемых вместе дисульфидными связями. Эффекторные функции антител определяются по последовательностям в Fc-области, которая распознается Fc-рецепторами (FcR), обнаруженными на определенных типах клеток.

«Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, содержащий полный антигенраспознающий и антигенсвязывающий участок. Этот фрагмент состоит из димера одного домена варибельной области тяжелой цепи и одного домена варибельной области легкой цепи, соединенных жесткой нековалентной связью. В результате фолдинга этих двух доменов получают шесть гиперварибельных петель (по 3 петли из H и L-цепи), которые вносят аминокислотные остатки для связывания антигена и придают антигенсвязывающую специфичность к антителу. Однако даже один варибельный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных для антигена), обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем весь сайт связывания.

«Одноцепочечный Fv» также сокращенно обозначаемый как «sFv» или «scFv» являются фрагментами антител, которые содержат домены V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> антител, связанные в одну полипептидную цепь. Предпочтительно полипептид sFv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub>, который позволяет sFv формировать желаемую структуру для связывания антигена. Для обзора sFv, см. Plückthun, The

Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-VerLAG-3, New York, pp. 269-315 (1994).

«Функциональные фрагменты» антител, таких как антитела к TREM2 по данному изобретению, содержат часть интактного антитела, обычно включающую антигенсвязывающую или переменную область интактного антитела или Fc-область антитела, которая сохраняет или модифицирует способность связывания FcR.

Термин «диатела» относится к малым фрагментам антител, полученным в результате конструирования sFv-фрагментов (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10 остатков) между доменами  $V_H$  и  $V_L$ , с целью обеспечения спаривания переменных доменов между цепями, но не внутри цепей, в результате чего образуется двухвалентный фрагмент, т.е. фрагмент, имеющий два антигенсвязывающих участка. Диатела описаны более подробно в, например, EP 404097; WO 93/11161; Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90:6444-48 (1993).

При использовании в данном документе, «химерное антитело» относится к антителу, такому как химерное антитело к TREM2 по данному изобретению, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как остальная часть цепи(-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу, а также фрагменты таких антител, при условии, что они демонстрируют желательную биологическую активность (например, патент США № 4816567; Morrison et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 81:6851-55 (1984)). Химерные антитела включают антитела, в которых переменная область антитела получена из мышинового антитела, а константная область получена из человеческого антитела. При использовании в данном документе, термин «гуманизованное антитело» представляет собой подгруппу «химерных антител».

«Гуманизованными» формами антител нечеловеческого происхождения (например, мышинных), такими как гуманизованные формы антител к TREM2 по данному изобретению, являются химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. В одном варианте осуществления изобретения гуманизованное антитело представляет собой иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в котором остатки из HVR реципиента заменяют остатками из HVR вида, не являющегося человеком (донорного антитела), например, мыши, крысы, кролика или примата, не являющегося человеком, обладающий желательной специфичностью, сродством и/или активностью. В некоторых случаях FR-остатки иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизованные антитела могут содержать остатки, отсутствующие в реципиентном антителе или в донорском антителе. Эти модификации можно осуществить для дальнейшего уточнения характеристик антител, таких как аффинность связывания. Как правило, гуманизованное антитело

содержит по существу все или по меньшей мере один, а обычно два переменных домена, в которых все или по существу все гиперпеременные петли соответствуют гиперпеременным петлям последовательности иммуноглобулина нечеловеческого происхождения, и все или по существу все FR-области представляют собой такие области, которые относятся к последовательности иммуноглобулина человека, тем не менее FR-области могут включать в себя одну или более замен отдельных FR-остатков, что улучшает характеристики антител, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т.д. Количество этих аминокислот в FR, как правило, составляет не более 6 в цепи H, а в цепи L не более 3. Гуманизованное антитело, необязательно, также содержит по меньшей мере участок константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина. Дополнительную информацию см., например, в Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); и Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). См. также, например, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurler and Gross, *Curr. Opin. Biotech.* 5:428-433 (1994); и патенты США № 6982321 и 7087409.

«*Человеческое антитело*» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, соответствующую последовательности антитела, такого как антитело к TREM2 по данному изобретению, которое было получено с использованием любого из способов получения человеческих антител, описанных в данном документе, или иначе известно в данной области техники. Это определение человеческого антитела специально исключает гуманизованное антитело, содержащее нечеловеческие антигенсвязывающие остатки. Антитела человека можно получить с помощью различных методик, известных в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Также доступными для получения моноклональных человеческих антител являются методы, описанные в Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991). См. также van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001). Антитела человека можно получить путем введения антигена в организм трансгенного животного, модифицированного с целью продукции таких антител в ответ на антигенную стимуляцию, но эндогенные локусы которого отключены, например, иммунизированных ксеномышей (см., например, патенты США № 6075181 и 6150584 касательно технологии XENOMOUSE<sup>TM</sup>). Кроме того, информацию об антителах человека, полученных посредством технологии В-клеточных гибридом человека, см., например, в Li et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). В качестве альтернативы антитела человека также могут быть получены с использованием дрожжевых библиотек и способов, как описано, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; и Xu et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 26(10): 663-70 (2013).

При использовании в данном документе, термин «гипервариабельная область» или «HVR» относится к областям переменного домена антитела, такого как антитело к TREM2 по данному изобретению, которые характеризуются гипервариабельностью последовательностей и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела содержат шесть HVR: три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В природных антителах H3 и L3 характеризуются наибольшим разнообразием из шести HVR, и в частности, считается, что H3 играет уникальную роль в высокой специфичности антител. См., например, Xu et al., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson, Wu в *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)). Фактически, природные антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993) и Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

Ряд описаний HVR применяется и охватывается в данном документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения области HVR, определяющие комплементарность (CDR) по Кабату, основаны на вариабельности последовательности и применяются наиболее часто (Kabat et al., *выше*). В некоторых вариантах осуществления изобретения HVR могут представлять собой CDR по Чотиа. Чотиа вместо этого указывает на расположение структурных петель (Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления изобретения HVR могут представлять собой HVR AbM. HVR AbM представляют собой компромисс между CDR по Кабату и структурными петлями по Чотиа, и используются программным обеспечением для моделирования антител AbM от Oxford Molecular. В некоторых вариантах осуществления HVR могут быть «контактными» HVR. «Контактные» HVR основаны на анализе имеющихся комплексов кристаллических структур. Остатки от каждого из этих HVR отмечены ниже.

<u>Петля</u>	<u>Кабат</u>	<u>AbM</u>	<u>Чотиа</u>	<u>Контакт</u>
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 (нумерация по Кабату)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация по Чотиа)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

HVR могут включать «расширенные HVR» следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (предпочтительный вариант) (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH. Остатки переменного домена пронумерованы согласно Kabat et al., *выше*, для каждого из этих расширенных определений HVR.

«Каркасные» или «FR»-остатки представляют собой остатки переменного домена, не являющиеся остатками HVR, согласно определению в данном документе.

Фраза «*нумерация остатков переменных доменов по Кабату*» или «*нумерация положений аминокислот по Кабату*» и их вариации, относятся к системе нумерации, применяемой для переменных доменов тяжелой цепи или переменных доменов легкой цепи компиляции антител в Kabat et al., выше. При применении этой системы нумерации конкретная линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество аминокислот или дополнительные аминокислоты, соответствующие укорачиванию или вставке в FR или HVR переменного домена. Например, переменный домен тяжелой цепи может содержать вставку одной аминокислоты (остаток 52A согласно Кабату) после остатка 52 в H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b и 82c и т.д. согласно Кабату) после остатка 82 FR тяжелой цепи. Нумерация остатков по Кабату может быть определена для данного антитела при выравнивании в областях гомологии последовательности антитела с помощью «стандартной» последовательности, пронумерованной по Кабату.

Система нумерации по Кабату обычно применяется для названия остатка в переменном домене (приблизительно остатки 1-107 легкой цепи и остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Как правило, «система нумерации EU» или «индекс EU» применяется, когда речь идет об остатке в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, описанный в Kabat et al., выше). «Индекс EU согласно нумерации Кабата» относится к нумерации EU остатков антитела IgG1 человека. Ссылки на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации Кабата. Ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков согласно системе нумерации EU (например, см. патентную публикацию США № 2010-280227).

При использовании в данном документе, «*акцепторная каркасная область человека*» представляет собой каркасную область, которая содержит аминокислотную последовательность каркасной области VL или VH, которая получена из каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека. Акцепторный человеческий каркас, «производный от» каркаса иммуноглобулина человека или человеческого консенсусного каркаса, может иметь такую же аминокислотную последовательность или может содержать ранее существовавшие изменения в аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения количество ранее существовавших аминокислотных изменений составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее или 2 или менее. Когда в VH присутствуют ранее существовавшие аминокислотные замены, предпочтительно эти замены происходят только в трех, двух или одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотные остатки в этих положениях могут быть 71A, 73T и/или 78A. В некоторых вариантах осуществления изобретения

последовательность акцепторной каркасной области VL человека идентична последовательности каркасной области VL иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркасной области человека.

«Консенсусная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая содержит наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки при выборе последовательностей каркасной области VL или VH иммуноглобулина человека. Как правило, последовательности VL или VH иммуноглобулина человека выбирают из последовательностей подгруппы переменных доменов. В общем, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу, как в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). В случае VL, подгруппа может представлять собой, например, подгруппу каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как описано в Kabat et al., выше. Кроме того, в случае VH, подгруппа может быть, например, подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как описано в Kabat et al., выше.

«Аминокислотная модификация» в заданном положении, например, антитела к TREM2 по данному изобретению, относится к замене или делеции указанного остатка или вставке по меньшей мере одного аминокислотного остатка, смежного с указанным остатком. Вставка, «смежная» с указанным остатком означает вставку в пределах одного-двух остатков. Вставка может быть N-концевой или C-концевой относительно указанного остатка. Предпочтительная модификация аминокислоты в данном изобретении представляет собой замену.

[0100] Антитело «с созревшей аффинностью», такое как антитело к TREM2 с созревшей аффинностью, представляет собой антитело, содержащее одно или большее количество изменений в одной или большем количестве HVR, приводящих к усилению аффинности антитела к антигену по сравнению с исходным антителом, не содержащим указанного(-ых) изменения(-й). В одном варианте осуществления изобретения антитело с созревшей аффинностью обладает наномолярными или даже пикомолярными значениями сродства к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью получают с помощью методик, известных в данной области техники. Например, в работе Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) описано созревание аффинности путем перетасовки доменов VH и VL. Случайный мутагенез остатков HVR и/или каркасной области описан, например: Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); и Hawkins et al, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

[0101] При использовании в данном документе, термин «специфически связывает» или «специфически распознает» относится к измеримым и воспроизводимым взаимодействиям связывания между мишенью и антителом, например между антителом к TREM2 и TREM2, которое является определяющим для присутствия мишени в гетерогенной популяции молекул, таких как биологические молекулы. Например, антитело, такое как антитело к TREM2 по данному изобретению, которое специфически

связывается с мишенью или эпитопом мишени, представляет собой антитело, которое предпочтительно связывает эту мишень или эпитоп, например, с большей аффинностью или авидностью, чем оно связывается с другими неродственными мишенями или эпитопами. Также понятно, что антитело, которое специфически связывается с первой мишенью, может специфически связываться или не связываться со второй мишенью. Таким образом, «специфическое связывание» необязательно требует (хотя и может включать) исключительного связывания. Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь константу ассоциации, составляющую по меньшей мере около  $10^3 \text{ M}^{-1}$  или  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , иногда около  $10^5 \text{ M}^{-1}$  или  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , в других случаях около  $10^6 \text{ M}^{-1}$  или  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , от около  $10^8 \text{ M}^{-1}$  до  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , или от около  $10^{10} \text{ M}^{-1}$  до  $10^{11} \text{ M}^{-1}$  или выше. Для выбора антител, которые специфически иммунореактивны с конкретным белком, могут быть применены различные форматы иммуноанализа. Например, твердофазные иммуноанализы ELISA обычно применяются для отбора моноклональных антител, специфически иммунореактивных с белком. См., например, Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, or Vashist and Luong (2018) *Handbook of Immunoassay Technologies, Approaches, Performances, and Applications*, Academic Press, для описания форматов иммуноанализа и условий, которые могут быть применены для определения специфической иммунореактивности.

[0102] При использовании в данном документе, антитело «*ингибирует взаимодействие*» между двумя белками, когда антитело разрушает, уменьшает или полностью устраняет взаимодействие между двумя белками путем связывания с одним из двух белков.

[0103] Антитело-«*агонист*» представляет собой антитело, которое индуцирует (например, усиливает) одну или несколько активностей или функций мишени при связывании с мишенью.

[0104] «*Антагонистическое*» антитело или «*блокирующее*» антитело представляет собой антитело, которое уменьшает или устраняет (например, уменьшает) связывание антигена с одним или несколькими партнерами по связыванию после того, как антитело связывает антиген, и/или которое уменьшает или устраняет (например, уменьшает) одну или более активностей или функций антигена после того, как антитело связывает антиген. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-антагонисты или блокирующие антитела существенно или полностью ингибируют связывание антигена с одним или несколькими партнерами по связыванию и/или одну или несколько активностей или функций антигена.

[0105] «*Эффекторные функции*» антитела относятся к биологическим видам активности, присущим Fc-области (Fc-область с нативной последовательностью или вариант аминокислотной последовательности Fc-области) антитела, и изменяются в зависимости от изоформа антитела.

[0106] В данном документе термин «*Fc-область*» применяется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области нативной

последовательности и варианты Fc-областей. Несмотря на то, что границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьироваться, Fc-область тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как простирающаяся из аминокислотного остатка в положении Cys226 или из Pro230 по направлению к ее карбоксильному концу. С-концевой лизин (остаток 447 согласно системы нумерации EU) Fc-области можно удалить, например, во время продуцирования или очистки антитела, или посредством рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь указанного антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител со всеми удаленными остатками K447, популяции антител без удаленных остатков K447 и популяции антител, имеющие смесь антител с остатком K447 и без него. Подходящие нативные последовательности областей Fc для применения в антителах по данному изобретению включают человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[0107] «*Нативная последовательность области Fc*» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности области Fc, встречающейся в природе. Fc-области человека с нативной последовательностью включают Fc-область IgG1 человека с нативной последовательностью (аллотипы не-A и A); Fc-область IgG2 человека с нативной последовательностью; Fc-область IgG3 человека с нативной последовательностью; и Fc-область IgG4 человека с нативной последовательностью, а также их встречающиеся в природе варианты.

[0108] «*Вариант области Fc*» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой у природной последовательности области Fc в силу по меньшей мере одной аминокислотной модификации, предпочтительно одной или более аминокислотных(-ой) замен(-ы). Предпочтительно, вариант области Fc содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с природной последовательностью области Fc, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен, а предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных замен в природной последовательности области Fc. Вариантная область Fc согласно данному изобретению предпочтительно обладает по меньшей мере около 80% гомологией по отношению к нативной последовательности области Fc и/или с области Fc исходного полипептида, и наиболее предпочтительно, по меньшей мере около 90% гомологией по отношению к ним, более предпочтительно, по меньшей мере около 95% гомологией по отношению к ним.

[0109] «*Fc-рецептор*» или «*FcR*» описывает рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. Предпочтительным FcR является FcR человека с нативной последовательностью. Более того, предпочтительным FcR является тот, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и формы альтернативного сплайсинга этих рецепторов, рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся, прежде всего, своими цитоплазматическими

доменами. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив («ITAM») в его цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив («ITIM») в его цитоплазматическом домене (см., например, M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Обзор FcR дан в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34 (1994); и de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Другие FcR охвачены в данном документе термином «FcR». FcR также могут увеличивать период полувыведения антител из сыворотки.

[0110] Связывание с FcR *in vivo* и время полувыведения из сыворотке высокоаффинно связывающих полипептидов FcR человека можно анализировать, например, на трансгенных мышях или трансфицированных клеточных линиях человека, экспрессирующих FcR человека, или на приматах, которым вводят полипептиды, имеющие вариант области Fc. В WO 2004/42072 (Presta) описаны варианты антител с усиленным или ослабленным связыванием с FcR. См. также, например, Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001).

[0111] При использовании в данном документе, «процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «гомологию» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела определяют как процент аминокислотных остатков последовательности-кандидата, идентичных аминокислотным остаткам конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо, для достижения максимального процента идентичности последовательностей, причем при определении идентичности последовательностей консервативные замены не учитываются. Выравнивание для целей определения процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществить различными способами, известными специалистам в данной области техники, например, используя общедоступное компьютерное программное обеспечение, например, программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN<sup>TM</sup> (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для измерения степени выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания на полной длине подлежащих сравнению последовательностей.

[0112] «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, например кодирующая антитело, такое как антитело к TREM2 по данному изобретению, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая является идентифицированной и отделена по меньшей мере от одной контаминирующей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в среде, являющейся средой ее продуцирования. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не связана практически со всеми компонентами, связанными со средой продуцирования. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела данного документа, отличаются от нуклеиновой кислоты, существующей в природных условиях в клетках.

[0113] Термин «*вектор*», при использовании в данном документе, обозначает молекулу нуклеиновой кислоты, способную переносить другую нуклеиновую кислоту, с ней соединенную. Одним из типов вектора является «плазмида», которая относится к кольцевой двуцепочечной ДНК, в которую можно лигировать дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является фаговый вектор. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, в котором дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, не-эписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина при введении в клетку хозяина и, таким образом, реплицироваться вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном документе называют «рекомбинантными векторами экспрессии» или просто «векторами экспрессии». В общем, векторы экспрессии, используемые в методах рекомбинантной ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании изобретения «плазмида» и «вектор» могут быть взаимозаменяемы, поскольку плазмида является наиболее часто используемой формой вектора.

[0114] «*Полинуклеотид*» или «*нуклеиновая кислота*», применяемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут быть дезоксирибонуклеотидами, рибонуклеотидами, модифицированными нуклеотидами или основаниями и/или их аналогами или любым субстратом, который может быть включен в полимер ДНК или РНК-полимеразой или путем синтетической реакции. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. Если имеет место, то модификация структуры нуклеотида может быть внесена до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может быть прервана ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может содержать модификацию(-и), сделанную(-ые) после синтеза, такую как конъюгация с меткой. Другие типы модификаций включают, например, «кэпы»; замещение одного или более встречающихся в природе нуклеотидов аналогами; и межнуклеотидные модификации, такие как, например, с незаряженными связями (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфоамидаты, карбаматы и т.д.) и с заряженными связями (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т.д.), теми, которые содержат боковые фрагменты, такие как, например, белки (например, нуклеазы, токсины, антитела, сигнальные пептиды, поли-L-лизин и т.д.), теми, которые содержат интеркаляторы (например, акридин, псорален и т.д.), теми, которые содержат хелаторы (например, металлы, радиоактивные металлы, бор, окислительные металлы и т.д.), теми, которые содержат алкилаторы, теми, которые содержат модифицированные связи (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т.д.), а также немодифицированные формы полинуклеотида(-ов). Кроме того, любая из

гидроксильных групп, обычно присутствующих в сахарах, может быть заменена, например, фосфонатными группами, фосфатными группами, защищена стандартными защитными группами или активирована для получения дополнительных связей с дополнительными нуклеотидами или может быть конъюгирована с твердыми или полутвердыми носителями. 5'- и 3'-концы ОН могут быть фосфорилированы или замещены аминами или фрагментами органической кепирующей группы от 1 до 20 атомов углерода. Другие гидроксилы также могут быть производными до стандартных защитных групп. Полинуклеотиды также могут содержать аналогичные формы сахаров рибозы или дезоксирибозы, которые обычно известны в данной области техники, включая, например, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил, 2'-фтор- или 2'-азидо-рибозу, аналоги карбоциклического сахара,  $\alpha$ -аномерные сахара, эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы, ликсозы, пиранозные сахара, фуранозные сахара, седогептулозы, ациклические аналоги и аналоги основных нуклеозидов, такие как метилрибозиды. Одна или более фосфодизфирных связей могут быть заменены альтернативными связующими группами. Эти альтернативные связывающие группы включают, но не ограничиваясь ими, варианты осуществления изобретения, в которых фосфат заменен на P(O)S («тиоат»), P(S)S («дитиоат»), (O)NR<sub>2</sub> («амидат»), P(O)R, P(O)OR', CO или CH<sub>2</sub> («формацеталь»), где каждый R или R' независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный алкил (1-20 C), необязательно содержащий эфирную (-O-) связь, арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или арадил. Не все связи в полинуклеотиде должны быть идентичными. Предыдущее описание относится ко всем полинуклеотидам, указанным в данном документе, включая РНК и ДНК.

[0115] «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку или клеточную культуру, которая может содержать или содержит вектор(-ы) или другую экзогенную нуклеиновую кислоту, например, которая включает полинуклеотидную вставку(-и). В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор или другая экзогенная нуклеиновая кислота включены в геном клетки-хозяина. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и это потомство не обязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(-ами) по данному изобретению.

[0116] При использовании в данном документе, «носители» включают в себя фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы, которые нетоксичны для клетки или млекопитающих, подвергающихся их воздействию при применяемых дозах и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой водный рН-буферизирующий раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярный (менее чем около 10 остатков) полипептид; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие

как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICS™.

[0117] Термины «TREM2», «белок TREM2» или «полипептид TREM2» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения любого нативного TREM2 от любого млекопитающего, включая приматов (например, людей и яванских макаков) и грызунов (например, мышей и крыс), если не указано другое. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин охватывает как последовательности дикого типа, так и встречающиеся в природе варианты последовательности, например варианты сплайсинга или аллельные варианты. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин включает «полноразмерный» непроцессированный TREM2, а также любую форму TREM2, полученную в результате процессинга в клетке (например, растворимый TREM2). В некоторых вариантах осуществления изобретения TREM2 представляет собой TREM2 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения аминокислотная последовательность иллюстративного TREM2 человека представляет собой SEQ ID №: 1.

[0118] В данном документе термин «около» относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. Ссылка на «около» значения или параметра включает (и описывает) варианты осуществления изобретения по данному документу, которые направлены на это значение или параметр *per se*.

[0119] В данном документе и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают множественное число, если из контекста явно не следует иное. Например, ссылка на «антитело» представляет собой ссылку на от одного до многих антител, такую как молярные количества, и включает их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

[0120] Следует понимать, что аспект и варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в данном документе, включают в себя «состоящий» и/или «состоящий по существу из» аспектов и вариантов осуществления.

### **Общее описание**

[0121] Данное изобретение относится к способам лечения или замедления развития расстройства или повреждения путем введения агониста TREM2. Агонисты TREM2 включают антитела к TREM2, которые индуцируют или усиливают одну или более активностей TREM2 и/или усиливают одну или более активностей, индуцированных связыванием одного или более лигандов с TREM2. Например, антитела-агонисты к TREM2 могут снижать растворимый TREM2, индуцировать фосфорилирование тирозинкиназы селезенки (Syk), индуцировать связывание TREM2 с DAP12, индуцировать

фосфорилирование DAP12, повышать пролиферацию, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и микроглиальных клеток (микроглии) или повышать активность и/или экспрессию TREM2-зависимых генов. Не связываясь какой-либо теорией, полагают, что агонизация TREM2 (например, путем введения антитела к TREM2 по данному изобретению) может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, что приводит к улучшению патологии и/или одного или более симптомов деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хаккола, когнитивного дефицита, потери памяти, повреждения спинного мозга, черепно-мозговой травмы, демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) или таупатии. Соответственно, как описано ниже, способы по данному изобретению удовлетворяют потребности в данной области техники для идентификации способов лечения пациентов с агонизирующими антителами к TREM2.

[0122] Анализ конечного периода полувыведения антитела к TREM2 согласно данному изобретению в плазме здоровых людей показал, что в испытанных дозах антитело к TREM2 неожиданно показало короткий конечный период полувыведения по сравнению с другими антителами аналогичного класса (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552) (см., например, **Пример 4**). Относительно короткий конечный период полувыведения антитела к TREM2 позволяет предположить, что это антитело может не обладать достаточно надежной терапевтической эффективностью.

[0123] Преимущественно, внутривенное введение разовой дозы антитела к TREM2 (см., например, **Пример 1**) приводило к снижению уровней растворимого TREM2 (например, снижение по меньшей мере на около 10%) и увеличению уровней растворимый CSF1R (например, увеличение по меньшей мере на около 5%) в спинномозговой жидкости здоровых людей (см., например, **Примеры 2-3**). Эти результаты показали, что антитело к TREM2 взаимодействовало со своей мишенью (т.е. TREM2) у индивидов. Дополнительные анализы антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости здоровых людей показали, что антитело присутствовало в спинномозговой жидкости через 12 дней после введения антитела в тестируемых дозах (см., например, **Пример 5**). Кроме того, измерения биомаркеров активации микроглии неожиданно показали, что введение антитела к TREM2 приводило к увеличению уровней растворимого CSF1R, YKL40a, IL-1RA и остеопонтинина в спинномозговой жидкости здоровых людей, которым вводили антитело к TREM2 (см., например, **Пример 3**). Эти результаты свидетельствовали о том, что антитело к TREM2 способствует активации микроглии после взаимодействия с мишенью.

Таким образом, в то время как антитело к TREM2 продемонстрировало относительно короткий период полувыведения и, таким образом, нельзя ожидать, что оно будет обладать достаточно надежной терапевтической эффективностью, антитело к

TREM2 неожиданно проявило относительно продолжительные фармакодинамические (ФД) эффекты, которые в некоторых случаях присутствовали через 12 дней после введения антитела (например, снижение уровней растворимого TREM2 и повышение уровней растворимого CSF1R, YKL40a, IL-1RA и остеопонтин в спинномозговой жидкости) (см., например, **Примеры 2-3**).

Преимущественно введение многократных доз антитела к TREM2 приматам, отличным от человека, также снижало уровни растворимого TREM2 в гиппокампе и лобной коре (см., например, **Пример 6**) и в спинномозговой жидкости (см., например, **Пример 7**). Кроме того, биомаркеры микроглиальной активности (например, остеопонтин и CSF1R) также были повышены в спинномозговой жидкости (см., например, **Пример 8**), гиппокампе и лобной коре (см., например, **Пример 8**) приматов, отличных от человека, которым вводили множественные дозы антитела к TREM2.

Соответственно, способы, представленные в данном документе, преимущественно позволяют относительно редко вводить антитело к TREM2 согласно данному изобретению, что особенно полезно для пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера, которые обычно поражают пациентов в течение длительных периодов времени и, таким образом, требуют регулярного лечения на протяжении многих лет. Поскольку внутривенное введение терапевтических средств нельзя проводить дома, пациентов необходимо транспортировать в инфузионные центры, что ложится тяжелым бременем как на пациента, так и на лицо, осуществляющее уход. Наконец, потеря памяти, перепады настроения, агрессия и другие поведенческие симптомы этих заболеваний затрудняют соблюдение пациентом режима лечения.

Все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в данной заявке, включены в данную заявку посредством ссылки в полном объеме.

### **Способы лечения**

В данном изобретении предложены способы лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или повреждения у индивида, включающие введение индивиду, нуждающемуся в этом, антитела, которое связывается с белком TREM2, при этом антитело является агонистом.

Как раскрыто в данном документе, антитела к TREM2 по данному изобретению могут быть использованы для лечения и/или замедления прогрессирования деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хакола, когнитивного дефицита, потери памяти, повреждения спинного мозга, черепно-мозговой травмы, демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии взрослых с аксональными сфероидами и пигментированной глией (ALSP) или таупатии. Активность TREM2 вовлечена в такие заболевания, расстройства и состояния, как описано, например, в Neumann, H et al., (2007) J Neuroimmunol 184: 92-99; Takahashi, K et al., (2005) J Exp Med 201: 647-657; Takahashi, K et al., (2007) PLoS Med 4: e124; Hsieh, CL et al., (2009) J Neurochem 109: 1144-1156; Malm, TM et al, Neurotherapeutics. 2014 Nov 18; Paloneva, J et

al., (2002) *Am J Hum Genet* 71: 656-662; Paloneva, J et al., (2003) *J Exp Med* 198: 669-675; Guerreiro, RJ et al., (2013) *JAMA Neurol* 70: 78-84; Guerreiro, RJ et al., (2012) *Arch Neurol*: 1-7; Guerreiro, R et al., (2013) *N Engl J Med* 368: 117-127; Jonsson, T et al., (2013) *N Engl J Med* 368: 107-116; Neumann, H et al., (2013) *N Engl J Med* 368: 182-184; Wang Y, et al., (2015) *Cell* 160(6):1061-71; Cady, J et al., (2014) *JAMA Neurol.* 71: 449-452; Cooper-Knock, J et al., (2017) *Acta Neuropathol. Commun.* 5:23; Cantoni, C et al., (2015) *Acta Neuropathol.* 129: 429-447; Ren, M, et al., (2018) *Exp. Neurol.* 302: 205-213; and Vuono, R et al., (2020) *Mov Disord* 35:401-408.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы лечения, представленные в данном документе, включают введение индивиду антитела к TREM2 в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, и при этом: (i) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32); или (ii) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 27, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 30.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 29.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1 человека и содержит аминокислотные замены в области Fc в положениях остатков P331S и E430G, при этом нумерация остатков соответствует нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 43, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47; или (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 44, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 45, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48; или (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 46, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48.

Не связываясь какой-либо теорией, полагают, что агонизация TREM2 (например, путем введения антитела к TREM2 по данному изобретению) может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, что приводит к улучшению патологии и/или одного или более симптомов деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хаккола, когнитивного дефицита, потери памяти, повреждения спинного мозга, черепно-мозговой травмы, демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) или таупатии.

#### *Деменция*

Деменция представляет собой неспецифический синдром (*m. e.* набор признаков и симптомов), который проявляется серьезной потерей общих когнитивных способностей у человека, ранее не имевшего нарушений, сверх того, что можно было бы ожидать от

нормального старения. Деменция может быть статической в результате уникальной глобальной травмы головного мозга. С другой стороны, деменция может прогрессировать, приводя к длительному снижению из-за повреждения или заболевания в организме. Хотя деменция гораздо чаще встречается у гериатрической популяции, она также может возникать в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, затронутые деменцией, включают, помимо прочего, память, концентрацию внимания, язык и решение проблем. Как правило, симптомы должны присутствовать в течение как минимум шести месяцев, прежде чем у человека будет диагностирована деменция.

Типичные формы деменции включают, без ограничения, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с тельцами Леви.

Не связываясь какой-либо теорией, считают, что введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или замедлять прогрессирование деменции. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у человека с деменцией. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего деменцией, например, по сравнению с исходным уровнем.

#### *Лобно-височная деменция*

Лобно-височная деменция (ЛВД, FTD) представляет собой состояние, возникающее в результате прогрессирующего поражения лобной доли мозга. Со временем дегенерация может распространиться на височную долю. Уступая только болезни Альцгеймера (БА, AD) по распространенности, ЛВД составляет 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки ЛВД включают нарушения памяти, поведенческие аномалии, изменения личности и языковые нарушения (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194 (2008); Neary, D., et al., Neurology 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002)).

Значительная часть случаев ЛВД наследуются по аутосомно-доминантному типу, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от ЛВД с поведенческими нарушениями до первичной прогрессирующей афазии и кортико-базальной ганглиозной дегенерации. ЛВД, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием специфических белковых агрегатов в пораженном головном мозге. Исторически в первых описаниях ЛВД признавалось наличие внутринейронных скоплений гиперфосфорилированного тау-белка в нейрофибрилярных клубках или тельцах Пика. Причинная роль тау-белка, ассоциированного с микротрубочками, была подтверждена идентификацией мутаций в

гене, кодирующем тау-белок, в нескольких семействах (Hutton, M., et al., Nature 393:702-705 (1998). Однако у большинства ЛВД в мозге не наблюдается накопления гиперфосфорилированного тау-белка, но обнаруживается иммунореактивность к убиквитину (Ub) и ДНК-связывающему белку TAR (TDP43) (Neumann, M., et al., Arch. Neurol. 64:1388-1394 (2007)).

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать прогрессирование ЛВД. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может стимулировать активность микроглии у индивида, страдающего ЛВД, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких провоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких противовоспалительных медиаторов) у человека с ЛВД.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением нейрокогнитивных и/или функциональных тестов или оценок по сравнению с исходным уровнем (например, оценки клинических результатов). Неограничивающие примеры нейрокогнитивных и функциональных тестов, которые можно использовать для оценки лечения и/или задержки прогрессирования ЛВД, включают клиническую шкалу оценки лобно-височной деменции (FCRS), шкалу оценки лобно-височной деменции (FRS), оценку общего клинического впечатления-улучшения (CGI-I), оценку нейропсихиатрической инвентаризации (NPI), тест цветных следов (СТТ), часть 2, повторяемую батарею для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), тест на интерференцию цветов и слов системы исполнительных функций Делиса-Каплана, индекс межличностной реактивности, оценку речи в лаборатории Winterlight (WLA) и оценку речи в лаборатории Summerlight (SLA). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением одного нейрокогнитивного и/или функционального теста или оценки. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем более чем одного нейрокогнитивного и/или функционального тестов или оценок (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более нейрокогнитивных и/или функциональных тестов или оценок).

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем глобального и/или регионарного объема головного мозга, объема гиперинтенсивности белого вещества, перфузии головного мозга, фракционной анизотропии, средней диффузионной способности, осевой диффузионной способности и радиальной диффузионной способности и/или функциональной активности головного мозга. В

некоторых вариантах осуществления изобретения перфузию головного мозга измеряют с помощью МРТ с мечением артерий. В некоторых вариантах осуществления изобретения радиальную диффузию измеряют с помощью визуализации тензора диффузии. В некоторых вариантах осуществления изобретения функциональную активность мозга измеряют с помощью функциональной МРТ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем маркеров нейродегенерации в цельной крови, плазме и СМЖ. Маркеры нейродегенерации могут включать, без ограничений, легкие нейрофиламенты [Nf1], Тау и/или рТау. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем маркеров лизосомной функции. Маркерами лизосомальной функции могут быть, без ограничения, катепсины. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем маркеров активности микроглии. Маркерами микроглиальной активности могут быть, без ограничения, интерлейкин-6, sCSF1R, YKL40 (CHI3L1), IL-1RA (IL1RN) и остеопонтин (SPP1). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем экспрессии информационной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) в периферических клетках. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением по сравнению с исходным уровнем аналитов, имеющих отношение к биологии заболевания ЛВД и/или ответу на антитело к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержка прогрессирования ЛВД определяется изменением нейровоспаления и/или активации микроглии по сравнению с исходным уровнем. Нейровоспаление и/или активацию микроглии можно измерить любым известным в данной области способом. В некоторых вариантах осуществления нейровоспаление и/или активация микроглии могут быть измерены с помощью позитронно-эмиссионной визуализации транслокаторного белка (TSPO-PET). В некоторых вариантах осуществления изобретения [18F]PBR06 и/или [11C]PBR28 ПЭТ используется в качестве радиоактивных индикаторов при визуализации TSPO-PET. В некоторых вариантах осуществления изобретения [18F]PBR06 используется в качестве радиоактивного индикатора при визуализации TSPO-PET. В некоторых вариантах осуществления изобретения [11C]PBR28 ПЭТ используется в качестве радиоактивного индикатора при визуализации TSPO-PET.

В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид является гетерозиготным по мутации в GRN (гене *гранулина*). В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная мутация представляет собой мутацию в GRN с утратой функции. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид является гетерозиготным по экспансии гексануклеотидного повтора C9orf72. В некоторых

вариантах осуществления изобретения у индивида проявляются симптомы ЛВД. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида не проявляются симптомы ЛВД.

В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида проявляются симптомы ЛВД, если он соответствует диагностическим критериям возможного поведенческого варианта ЛВД (пвЛВД) или вероятного пвЛВД или первичной прогрессирующей афазии (РРА). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется одно или несколько из поведенческих/когнитивных симптомов, необходимых для диагностики вероятного пвЛВД (Rascovsky et al., (2011) Brain 134(9):2456-2477). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида наблюдается легкая симптоматика, существенно не влияющая на повседневную деятельность (например, легкие когнитивные нарушения, легкие поведенческие нарушения). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется пвЛВД или РРА с сопутствующим заболеванием двигательных нейронов. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется ЛВД легкой степени тяжести, определяемая по шкале общей клинической оценки деменции (CDR) 1 или менее и по квадратичной шкале 1 или менее как в домене языка, так и в домене поведения, манер и личности шкалы клинической оценки лобно-височной деменции (FCRS).

#### *Болезнь Альцгеймера*

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной формой деменции. Не существует лекарства от болезни, которая ухудшается по мере прогрессирования и в конечном итоге приводит к смерти. Чаще всего БА диагностируют у лиц старше 65 лет. Однако менее распространенная болезнь Альцгеймера с ранним началом может возникнуть гораздо раньше.

Общие симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудности с запоминанием недавних событий, когнитивные симптомы, спутанность сознания, раздражительность и агрессию, перепады настроения, проблемы с речью и долговременную потерю памяти. По мере прогрессирования заболевания функции организма утрачиваются, что в конечном итоге приводит к смерти. Болезнь Альцгеймера развивается в течение неизвестного и переменного периода времени, прежде чем станет полностью очевидной, и может прогрессировать недиагностированной в течение многих лет.

Исследования показали, что иницирующий рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-2 (TREM2), подобный иммуноглобулину рецептор, может играть ключевую роль в БА. Например, было обнаружено, что гетерозиготные мутации в гене TREM2 повышают риск БА до 3 раз (Guerreiro et al (2013), N Engl J Med, 368:117-127; Jonsson et al (2013) N Engl J Med, 368:107-116) и увеличивают скорость снижения объема мозга (Rajagopalan et al (2013) N Engl J Med, 369:1565-1567). Недавние исследования на генетических моделях мышей также убедительно подтверждают ключевую роль TREM2 в БА, при этом потеря или дефицит TREM2 связаны с усилением патологии (Cheng-

Hathaway et al (2018) *Mol Neurodegener*, 13(1):29; Wang et al (2015) *Cell*, 160:1061-1071; Wang et al (2016) *J Exp Med*, 213:667-675; Yuan et al (2016) *Neuron*, 90:724-739; Jay et al (2017) *J Neurosci*, 37:637-647). Было показано, что экспрессия TREM2 повышает выживаемость, пролиферацию и дифференцировку клеток микроглии, регулирует хемотаксис и фагоцитоз микроглии и необходима для поддержания трофической функции микроглии в стареющем мозге. Кроме того, исследования на животных выявили совпадение между фенотипом стареющей микроглии и молекулярными характеристиками микроглии, обнаруженными в моделях БА, которые включают пути TREM2 (Krasemann et al (2017) *Immunity*, 47(3):566-581).

Соответственно, не желая быть связанными какой-либо теорией, считается, что активация TREM2 (например, с использованием агонистического антитела к TREM2, предложенного в данном документе) может улучшить патологию БА и привести к улучшению когнитивной функции за счет повышения активности микроглии. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению стимулирует или повышает активность микроглии у индивида, страдающего БА, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать прогрессирование болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или более провоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или более провоспалительных медиаторов) у индивида с БА.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется клинический диагноз вероятной деменции, вызванной болезнью Альцгеймера, на основании критериев ассоциации Национального института старения при болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE) 16-28 баллов (например, любой из 16 баллов, 17 баллов, 18 баллов, 19 баллов, 20 баллов, 21 балл, 22 баллов, 23 баллов, 24 баллов, 25 баллов, 26 баллов, 27 баллов или 28 баллов). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет показатель общей клинической оценки деменции (CDR-GS) 0,5, 1,0 или 2,0. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида положительный результат сканирования с помощью амилоидной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). В некоторых вариантах осуществления изобретения положительный результат ПЭТ-сканирования на амилоиды определяется качественным считыванием с использованием <sup>18</sup>F-флорбета ПЭТ/компьютерной томографии (КТ). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид принимает или ему вводят ингибитор холинэстеразы, например, для лечения болезни Альцгеймера. В некоторых

вариантах осуществления изобретения индивид принимает или ему вводят терапию мемантином, например, для лечения болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в белке TREM2 человека в положении остатка R47H. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в белке TREM2 человека в положении остатка R62H. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в белке TREM2 человека в положениях остатков R47H и R62H. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие одной или нескольких мутаций TREM2 у индивида определяют с использованием любого метода, известного в данной области техники, такого как секвенирование (например, секвенирование всего генома, целевое секвенирование, секвенирование следующего поколения или секвенирование по Сэнгеру) или полимеразная цепная реакция (например, ПЦР или кПЦР). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида есть или проявляются один или более симптомов болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет или не проявляются симптомы болезни Альцгеймера.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют по изменению относительно исходного уровня уровней одного или более биомаркеров микроглиальной активности у индивида, например, в спинномозговой жидкости или крови индивида. Биомаркеры микроглиальной активности включают, без ограничения, sCSF1R, sTREM2, YKL40 (CHI3L1), IL-1RA (IL1RN) и остеопонтин (SPP1).

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или более симптомов болезни Альцгеймера.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют с использованием одного или более инструментов клинической оценки, таких как краткий тест психического состояния (MMSE), повторяемая батарея для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), клиническая оценка деменции (CDR), общая клиническая оценка деменции (CDR-GS) и сумма квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела по данному изобретению приводит к улучшению показателя одной или более клинических оценок по сравнению с тем, что было до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют по изменению по сравнению с исходным уровнем одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в спинномозговой жидкости индивида, таких как sTREM2, sCSF1R, Abeta, тау-белок, р-тау-белок, легкая цепь нейрофиламента, нейрогранин и YKL40.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют по изменению по сравнению с исходным уровнем

одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в крови индивида, таких как sTREM2, sCSF1R, биомаркеры нейровоспаления (например, IL-6, SPP1, IFI2712A или TOP2A), и уровни экспрессии (например, уровни мРНК) TREM2 и CSF1R.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одной или нескольких аномалий головного мозга, таких как вазогенный отек головного мозга, поверхностный сидероз центральной нервной системы и церебральные микро- или макрогеморрагии. В некоторых вариантах осуществления изобретения одну или несколько аномалий головного мозга измеряют с использованием любого метода, известного в данной области техники, такого как магнитно-резонансная томография.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем уровней амилоидной нагрузки в головном мозге. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни амилоидной нагрузки в головном мозге определяют с использованием любого метода, известного в данной области, такого как амилоидная позитронно-эмиссионная томография.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера, при этом болезнь Альцгеймера представляет собой раннюю форму болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения ранняя форма болезни Альцгеймера относится к болезни Альцгеймера на основе континуума болезни Альцгеймера, как определено в рамках исследования Национального института старения и Ассоциации болезни Альцгеймера (NIA-AA) 2018 г. (Jack et al., *Alzheimers Dement* (2018) 14(4):535-562), включая признаки церебрального амилоидоза (A+) и клиническую тяжесть, соответствующую стадиям 2, 3 или ранней стадии 4. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид с ранней формой болезни Альцгеймера имеет общую клиническую оценку деменции (CDR-GS) 0,5 или 1, оценку краткого теста психического состояния (MMSE) от около 22 до около 30 баллов (например, любая из около 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 баллов) и показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) на основе показателя отсроченной памяти (DMI) около 85 баллов или ниже (например, оценка RBANS DMI любая из около 85, около 80, около 75, около 70, около 65, около 60, около 55, около 50, около 45 или около 40). В некоторых вариантах осуществления изобретения ранняя форма болезни Альцгеймера относится к заболеванию с клинической тяжестью, соответствующей ранней стадии болезни Альцгеймера, как определено Европейским агентством по лекарственным средствам (Европейское агентство по лекарственным средствам: CPMP/EWP/553/95 Rev.2. Guideline on the clinical investigation of medicines for the treatment of Alzheimer's disease 2018, доступно на веб-сайте [www\[dot\]ema.europa\[dot\]eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicines-treatment-alzheimers-disease-revision-2\\_en.pdf](http://www[dot]ema.europa[dot]eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicines-treatment-alzheimers-disease-revision-2_en.pdf), август 2020 г.) или Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых

продуктов и медикаментов США (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Центр оценки и исследований лекарственных средств. Guidance for industry: Early Alzheimer's Disease: Developing Drugs for Treatment (FDA, Мериленд), 2018 г.).

В некоторых вариантах осуществления изобретения ранняя форма болезни Альцгеймера диагностируется с использованием одного или нескольких инструментов клинической оценки, таких как краткий тест психического состояния (MMSE), общая клиническая оценка деменции (CDR-GS) или повторяемая батарея для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) на основе показателя отсроченной памяти (DMI). В некоторых вариантах осуществления изобретения раннюю форму болезни Альцгеймера диагностируют на основании наличия амилоидоза головного мозга. Амилоидоз головного мозга можно оценить с помощью любого метода, известного в данной области, такого как оценка спинномозговой жидкости или позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида, получающего лечение в соответствии со способами, представленными в данном документе, диагностирована ранняя форма болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения диагноз ранней формы болезни Альцгеймера включает признаки амилоидоза головного мозга, определяемые с помощью оценки CSF или ПЭТ. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяется положительным анализом крови на амилоид или тау до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения перед введением антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат теста на амилоиды или тау-белок в крови. В некоторых вариантах осуществления анализ крови на амилоид или тау представляет собой анализ крови PrecivityAD™-Aβ или тест на фосфорилированный тау 217 (p-tau217), тест на фосфорилированный тау 181 (p-tau181), тест на легкий нейрофиламент или тест на соотношение Aβ42/40. В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой тест на основе иммунологического анализа на отношение Aβ42/40 (см., например, Yamashita et al., Alzheimer's Association International Conference (2019) 15(7S), part 29, P4-548). В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой тест, основанный на масс-спектрометрии, на соотношении Aβ42/40 (см., например, Schindler et al., Neurology (2019) 93(17)). В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой основанный на иммуноанализе тест на p-tau217 (см., например, Palmqvist et al., JAMA (2020) 324(8):772-781).

В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой анализ крови PrecivityAD™-Aβ. Анализ крови PrecivityAD™-Aβ основан на оценке с помощью масс-спектрометрии белков в крови, которые указывают на вероятность отложений амилоида в головном мозге, измеренную с помощью

амилоидного ПЭТ-сканирования. Тест включает в себя соотношение  $A\beta_{42}/40$ , генотип ApoE и возраст человека в статистический алгоритм для оценки показателя вероятности амилоида (APS). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяется положительным анализом крови PrecivityAD™-A $\beta$ , например, у индивида высокий уровень APS ([www.c2ndiagnostics.com/products/home](http://www.c2ndiagnostics.com/products/home)). См., например, Schindler et al., *Neurology* (2019) 93(17):e1647- e1659. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяется с помощью промежуточного APS и подтверждением амилоидоза головного мозга с помощью амилоидной ПЭТ или соотношения pTau/A $\beta_{42}$  в CSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет низкого уровня APS. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяют с помощью амилоидного ПЭТ-сканирования. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяют с помощью исследований CSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяется наличием патологии бета-амилоида (A $\beta$ ). В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие патологии бета-амилоида (A $\beta$ ) оценивают по положительному анализу крови PrecivityAD™-A $\beta$ , например, у индивида высокая оценка вероятности амилоида (APS). В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие патологии бета-амилоида (A $\beta$ ) оценивают с помощью ПЭТ-сканирования амилоида. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие патологии бета-амилоида (A $\beta$ ) оценивают с помощью исследований CSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, что определяют по наличию амилоидной патологии. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие амилоидной патологии оценивают с помощью ПЭТ-сканирования амилоида. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие амилоидной патологии оценивают путем измерения отношения фосфорилированный тау (pTau)/бета-амилоид (1-42) (A $\beta_{42}$ ) в CSF. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидоза головного мозга, как определено с помощью положительной истории амилоидного ПЭТ-сканирования, например, полученного за  $\leq 24$  месяца до начала лечения в соответствии со способами согласно данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки амилоидной патологии при болезни Альцгеймера, что определяют с помощью положительного амилоидного ПЭТ-сканирования и/или соотношения pTau/A $\beta_{42}$  в CSF более 0,024. Любой подходящий способ, известный в данной области техники, может быть использован для измерения соотношения pTau/A $\beta_{42}$  в CSF, такие как иммунологические анализы, например, анализ Roche Elecsys. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида наблюдается ранняя форма болезни Альцгеймера с клинической тяжестью, соответствующей стадиям 2, 3 или ранней стадии 4, как определено в рамках

исследования NIA-AA 2018 г. (Jack et al., *Alzheimers Dement* (2018) 14(4):535-562), также описываемая как легкое когнитивное нарушение и легкая деменция в рамках исследования NIA-AA 2018 г. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE) по меньшей мере около 22 балла (например, любая из около 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 баллов). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется ранняя форма болезни Альцгеймера с легкой симптоматикой, определяемая оценкой краткого теста психического состояния (MMSE), составляющей по меньшей мере около 22 баллов (например, любая из около 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 баллов). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет общую клиническую оценку деменции (CDR-GS) от около 0,5 до около 1,0. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) на основе показателя отсроченной памяти (DMI) около 85 или менее (например, показатель RBANS DMI любой из около 85, около 80, около 75, около 70, около 65, около 60, около 55, около 50, около 45 или около 40). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид имеет показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) на основе показателя отсроченной памяти (DMI), который примерно на одно стандартное отклонение ниже нормативных данных, основанных на популяции. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида наблюдается потеря памяти, оцениваемая с помощью показателя отсроченной памяти (DMI) повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются признаки нарушения эпизодической памяти, что определяется оценкой RBANS по DMI, составляющей около 85 или менее (например, оценка RBANS DMI, равная любому из около 85, около 80, около 75, около 70, около 65, около 60, около 55, около 50, около 45 или около 40). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет лобно-височной деменции (FTD), болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, болезни Хантингтона или сосудистой деменции. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет другого состояния, кроме болезни Альцгеймера, которое может влиять на когнитивные функции. Примеры состояний, способных повлиять на когнитивные функции, включают, без ограничения, лобно-височную деменцию, деменцию с тельцами Леви, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, прогрессирующий надъядерный паралич, лобно-височную дегенерацию, болезнь Хантингтона, гидроцефалию с нормальным давлением, гипоксическое повреждение, судорожное расстройство, статическую энцефалопатию, закрытую травму головного мозга и нарушение развития. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет неконтролируемой гипертензии, сахарного диабета или заболевания щитовидной железы. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет серьезного заболевания сердца, сердечно-сосудистого заболевания или расстройства, заболевания

или расстройства печени, заболевания или расстройства почек. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет признаков клинически значимого заболевания головного мозга, отличного от болезни Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивиду не вводят антикоагулянтный лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления у индивида нет в анамнезе или нет сосудистого заболевания, которое может повлиять на когнитивную функцию, такого как клинически значимый стеноз сонных артерий, вертебральный стеноз или бляшка; аневризма аорты; внутричерепная аневризма; макрокровоизлияния; или артериовенозный порок развития. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе или нет клинического инсульта в течение последних 2 лет до лечения в соответствии со способами согласно данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе или нет острого явления, соответствующего транзиторной ишемической атаке, в течение последних 180 дней до лечения в соответствии со способами по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида не обнаруживается на МРТ кортикальный инсульт. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе тяжелой, клинически значимой (например, стойкого неврологического дефицита или структурного повреждения головного мозга) травмы ЦНС (например, ушиба головного мозга). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе или нет внутричерепной опухоли, например глиомы, за исключением доброкачественных опухолей головного мозга, которые не вызывают когнитивных симптомов. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида отсутствует инфекция, влияющая на функцию головного мозга. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе инфекций, которые приводили к неврологическим последствиям. Примеры таких инфекций включают, без ограничения, вирус иммунодефицита человека, сифилис, нейроборрелиоз, вирусный или бактериальный менингит/энцефалит. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет или не было острого заболевания, требующего или требовавшего внутривенного введения антибиотиков в течение 30 дней до лечения в соответствии со способами согласно данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе или нет системных аутоиммунных нарушений, которые потенциально могут вызывать прогрессирующее неврологическое заболевание с сопутствующим когнитивным дефицитом. Примеры таких аутоиммунных нарушений включают, без ограничения, рассеянный склероз, красную волчанку, синдром антифосфолипидных антител и болезнь Бехчета. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида в анамнезе или нет увеита, требующего медицинского вмешательства, хронического воспалительного или дегенеративного состояния глаза, текущей инфекции глаза, какого-либо продолжающегося заболевания глаза (например, дегенерации, катаракты или диабетической ретинопатии), требующего инъекционной медикаментозной терапии (например, ранибизумаб или афлиберцепт при дегенерации желтого пятна). В некоторых

вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе шизофрении, шизоаффективного расстройства, большого депрессивного расстройства или биполярного расстройства. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не имеет склонности к самоубийству. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не употреблял ранее алкоголь и/или у него отсутствует расстройство, связанное с употреблением психоактивных веществ, от умеренной до тяжелой степени (согласно Диагностическому и статистическому руководству по психическим расстройствам, 5-е издание) в течение последних 2 лет до начала лечения в соответствии со способами по изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет данных МРТ о  $>2$  лакунарных инфарктах, любом территориальном инфаркте  $>1$  см<sup>3</sup> или гиперинтенсивных поражениях белого вещества на последовательности FLAIR, которые соответствуют общей оценке Фазекаса, равной 3. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет наличия на МРТ  $>5$  микрокровоизлияний и/или участков лептоменингеального гемосидероза. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет значительной церебральной сосудистой патологии по оценке МРТ. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не является положительным по поверхностному антигену гепатита В, общему ядерному антителу гепатита В, антителам или антигену к ВИЧ-1 или -2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет в анамнезе спирохетозной инфекции центральной нервной системы (например, сифилиса, боррелиоза или болезни Лайма). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид является положительным в отношении антител к вирусу гепатита С и отрицательным в отношении рибонуклеиновой кислоты (РНК) гепатита С. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет активной или латентной формы туберкулеза. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида нет хронического активного иммунного расстройства, требующего системной иммуносупрессивной терапии, в течение 1 года до лечения в соответствии со способами данного изобретения. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида отсутствует дисфункция костного мозга, что определено на основании гемоглобина  $< 10$  г/дл, абсолютного числа нейтрофилов  $>1000/\text{мм}^3$  или количества тромбоцитов  $< 150000/\text{мм}^3$ . В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида отсутствуют аномальные уровни тиреотропного гормона (ТТГ). В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида уровни фолиевой кислоты или витамина В12 не являются достаточно низкими, так что дефицит может способствовать когнитивным нарушениям. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида отсутствует гемоглобин А1с  $>8\%$  или плохо контролируемый диабет (включая эпизоды гипогликемии). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не находится на непрерывном режиме приема лекарств, о которых известно, что они нарушают сознание или познавательную способность. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не лечился лекарственным препаратом от симптомов болезни Паркинсона или любого другого нейродегенеративного расстройства, за исключением лечения болезни Альцгеймера, в

течение 1 года до лечения в соответствии со способами данного изобретения. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид может принимать лекарственный препарат, используемый для лечения нейродегенеративного расстройства, если лекарственный препарат принимает индивид для лечения ненейродегенеративного расстройства, например синдрома беспокойных ног, например прамипексол. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не принимал типичный антипсихотический или нейролептический лекарственный препарат в течение 180 дней до лечения в соответствии со способами по данному изобретению, за исключением кратковременного лечения непсихиатрических показаний (например, рвоты). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не принимал атипичный антипсихотический лекарственный препарат, за исключением периодического краткосрочного применения (например, < 1 неделя). В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не принимал антикоагулянтный лекарственный препарат в течение 90 дней до лечения в соответствии со способами данного изобретения. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не принимает системную иммуносупрессивную терапию. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не употребляет опиатов или опиоидов постоянно, включая опиоидные препараты длительного действия, в течение 90 дней до лечения в соответствии со способами, представленными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не принимал стимулирующие препараты (например, амфетамин, препараты метилфенидата или модафинил) в течение 30 дней до лечения в соответствии со способами по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид не употребляет бензодиазепины, барбитураты или снотворные средства на протяжении 90 дней до начала лечения в соответствии со способами данного изобретения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней формы болезни Альцгеймера определяют с использованием одного или более инструментов клинической оценки, таких как клиническая оценка деменции (CDR), сумма квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB), краткий тест психического состояния (MMSE), повторяемая батарея для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), шкала оценки болезни Альцгеймера - когнитивная подшкала-13 (ADAS-Cog13), совместное исследование болезни Альцгеймера - повседневная деятельность, адаптированная к легким когнитивным нарушениям (ADCS-ADL-MCI), составная оценка болезни Альцгеймера (ADCOMS) или тест речи Winterlight Labs (WLSA). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела по данному изобретению приводит к улучшению показателя одной или более клинических оценок по сравнению с тем, что было до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней формы болезни Альцгеймера оценивают на основе скорости изменения балла одного или нескольких инструментов клинической оценки, таких как CDR-SB, MMSE, RBANS, ADAS-Cog13, ADCS-ADL-MCI, ADCOMS

или WLSA, например, по сравнению с предшествующим введением антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера оценивают на основании скорости изменения балла одного или нескольких инструментов клинической оценки, таких как CDR-SB, MMSE, RBANS, ADAS-Cog13, ADCS-ADL-MCI, ADCOMS или WLSA, т.е. на основании сравнения балла одного или нескольких инструментов клинической оценки, полученных до введения антитела к TREM2, с соответствующим баллом одного или нескольких инструментов клинической оценки, полученных после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2; или на основании сравнения двух или более баллов одного или более инструментов клинической оценки, полученных во время курса лечения антителом к TREM2 в соответствии со способами по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку раннего развития болезни Альцгеймера определяют по изменению по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких биомаркеров болезни Альцгеймера в спинномозговой жидкости человека, таких как растворимый TREM2 (sTREM2) и другие биомаркеры CSF, имеющие отношение к болезни Альцгеймера (например, A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общий тау, pTau или NfL) или функционирования микроглии (например, CSF1R, IL1RN, YKL40 и остеопонтин). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней стадии болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких биомаркеров болезни Альцгеймера в крови индивида, таких как растворимый TREM2 (sTREM2) в плазме, биомаркеры плазмы, имеющие отношение к болезни Альцгеймера (например, A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общий тау, pTau, NfL), или экспрессия РНК TREM2. В некоторых вариантах осуществления лечения и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких биомаркеров функционирования микроглии в плазме или спинномозговой жидкости индивида, таких как CSF1R, IL1RN, остеопонтин или YKL40. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких биомаркеров нейродегенерации в плазме или спинномозговой жидкости индивида, таких как NfL. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением объема мозга по сравнению с исходным уровнем, например, оцениваемым с помощью объемной МРТ. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем патологической нагрузки тау в головном мозге, например, оцениваемой с помощью тау-ПЭТ, например, с использованием радиофармпрепарата для тау-ПЭТ [ $^{18}\text{F}$ ]МК-6240. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем амилоидной нагрузки в головном мозге, например, оцениваемой с помощью продольной амилоидной ПЭТ, например, с использованием [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетабена (Neuraceq), [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетапира (Amyvid)

или [ $^{18}\text{F}$ ]флутаметамола (Vizamyl) в качестве радиофармпрепаратов. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких биомаркеров болезни Альцгеймера, оцениваемых с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ), такой как амилоидная ПЭТ (например, продольная амилоидная ПЭТ), например, с использованием [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетабена (Neuraceq), [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетапира (Amyvid) или [ $^{18}\text{F}$ ]флутаметамола (Vizamyl) в качестве радиофармпрепаратов или тау-ПЭТ, например, с использованием радиофармпрепарата для тау-ПЭТ [ $^{18}\text{F}$ ]МК-6240. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку ранней болезни Альцгеймера определяют тау и/или амилоидной позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку раннего развития болезни Альцгеймера определяют по изменению речи индивида по сравнению с исходным уровнем, например, с помощью оценки речи Winterlight Labs (WLSA).

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы по данному изобретению включают проведение геномных оценок для определения того, является ли индивид носителем APOE e4 и/или имеет один или несколько вариантов TREM2, вариант CD33, вариант TMEM106b или вариант CLUSTERIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы по данному изобретению включают проведение анализа крови на амилоид или тау в образце, полученном от индивида (например, у индивида с ранней стадией болезни Альцгеймера) до лечения в соответствии со способами по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы по изобретению включают определение того, что индивид (например, индивид, страдающий ранней болезнью Альцгеймера) обладает положительным тестом на амилоиды или тау в крови до лечения в соответствии со способами по изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы по изобретению включают выполнение теста на амилоиды или тау в крови до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления анализ крови на амилоид или тау представляет собой анализ крови PrecivityAD<sup>TM</sup>-A $\beta$  или тест на фосфорилированный тау 217 (p-tau217), тест на фосфорилированный тау 181 (p-tau181), тест на легкий нейрофиламент или тест на соотношение A $\beta$ 42/40. В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой тест на основе иммунологического анализа на отношение A $\beta$ 42/40 (см., например, Yamashita et al., Alzheimer's Association International Conference (2019) 15(7S), part 29, P4-548). В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой тест, основанный на масс-спектрометрии, на соотношении A $\beta$ 42/40 (см., например, Schindler et al., Neurology (2019) 93(17)). В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ крови на амилоид или тау представляет собой основанный на иммуноанализе тест на p-tau217 (см., например, Palmqvist et al., JAMA (2020) 324(8):772-781).

### *Болезнь Насу-Хакола*

Болезнь Насу-Хакола (NHD), которую также можно назвать поликистозной липомембранозной остеодисплазией со склерозирующей лейкоэнцефалопатией (PLOSL), представляет собой редкую наследственную лейкодистрофию, характеризующуюся прогрессирующей пресенильной деменцией, связанной с рецидивирующими переломами костей вследствие поликистозных поражений костей нижних и верхних конечностей. Течение болезни NHD обычно делится на четыре стадии: латентную, костную, раннюю неврологическую и позднюю неврологическую. После нормального развития в детстве (латентная стадия) NHD начинает проявляться в подростковом или юношеском возрасте (типичный возраст начала заболевания 20-30 лет) болью в руках, запястьях, лодыжках и стопах. Затем пациенты начинают страдать от рецидивирующих переломов костей из-за поликистоза костей и остеопоротических поражений костей конечностей (костная стадия). В течение третьего или четвертого десятилетия жизни (ранняя неврологическая стадия) у пациентов проявляются выраженные изменения личности (например, эйфория, отсутствие концентрации внимания, потеря суждений и социальных запретов), характерные для синдрома лобных долей. Пациенты также обычно страдают прогрессирующими нарушениями памяти. Также часто наблюдаются эпилептические припадки. Наконец (поздняя неврологическая стадия) у пациентов развивается глубокая деменция, они не могут говорить и двигаться и обычно умирают к 50 годам.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задерживать болезнь Насу-Хакола (NHD). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего NHD, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких провоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких противовоспалительных медиаторов) у индивида с NHD.

### *Боковой амиотрофический склероз (БАС, ALS)*

При использовании в данном документе, термины боковой амиотрофический склероз (БАС) или заболевание двигательных нейронов или болезнь Лу Герига используются взаимозаменяемо и относятся к изнурительному заболеванию различной этиологии, характеризующемуся быстро прогрессирующей слабостью, мышечной атрофией и фасцикуляциями, мышечной спастичностью, затруднением речи (дизартрией), затрудненным глотанием (дисфагией) и затрудненным дыханием (одышкой).

Было показано, что програнулин играет роль в БАС (Schymick, JC et al., (2007) J Neurol Neurosurg Psychiatry.;78:754-6) и снова защищает от повреждений, вызванных вызывающими БАС белками, такими как TDP-43 (Laird, AS et al., (2010). PLoS ONE 5: e13368). Также было продемонстрировано, что про-NGF индуцирует опосредованную p75

гибель олигодендроцитов и кортикоспинальных нейронов после повреждения спинного мозга (Beatty et al., *Neuron* (2002),36, pp. 375-386; Giehl et al, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (2004), 101, pp 6226-30).

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать БАС. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего БАС, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких провоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с БАС.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку прогрессирования БАС определяют изменением по сравнению с исходным уровнем атрофии головного мозга, связности мозга, свободной воды мозга и/или воспалением головного мозга. Любой метод, известный в данной области, включая, помимо прочего, МРТ, можно использовать для измерения атрофии головного мозга, связности головного мозга, свободной воды мозга и/или воспаления головного мозга. В некоторых вариантах осуществления изобретения атрофию головного мозга измеряют с помощью структурной МРТ. В некоторых вариантах осуществления изобретения свободную воду мозга и/или воспаление головного мозга измеряют с помощью диффузионно-тензорной визуализации (DTI). В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение и/или задержку прогрессирования БАС определяют изменением по сравнению с исходным уровнем одного или нескольких маркеров нейродегенерации, одного или нескольких маркеров глиальной активности, програнулина и/или одного или нескольких маркеров патологии TDP-43.

### *Болезнь Паркинсона*

Болезнь Паркинсона (БП), которую можно назвать идиопатическим или первичным паркинсонизмом, гипокинетическим ригидным синдромом (ГРС) или агитационным параличом, представляет собой нейродегенеративное заболевание головного мозга, которое влияет на контроль двигательной системы. Прогрессирующая гибель клеток мозга, вырабатывающих дофамин, приводит к основным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего болезнь Паркинсона диагностируют у людей старше 50 лет. Болезнь Паркинсона является идиопатической (не имеющей известной причины) у большинства людей. Тем не менее, генетические факторы также играют роль в заболевании.

Симптомы болезни Паркинсона включают, без ограничения, тремор кистей, рук, ног, челюсти и лица, ригидность мышц конечностей и туловища, замедленность движений (брадикинезию), постуральную нестабильность, трудности при ходьбе, нейропсихиатрические проблемы, изменения речи или поведения, депрессию, тревогу, боль, психоз, деменцию, галлюцинации и проблемы со сном.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать БП. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего БП, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с БП.

#### *Болезнь Хантингтона*

Болезнь Хантингтона (БХ) представляет собой наследственное нейродегенеративное заболевание, вызванное аутосомно-доминантной мутацией в гене гантингина (HTT). Расширение триплетного повтора цитокин-аденин-гуанин (CAG) в гене гантингина приводит к продукции мутантной формы белка гантингина (Htt), кодируемого этим геном. Этот мутантный белок гантингин (mHtt) токсичен и способствует гибели нейронов. Симптомы болезни Хантингтона чаще всего появляются в возрасте от 35 до 44 лет, хотя они могут появиться в любом возрасте.

Симптомы болезни Хантингтона включают, без ограничения, проблемы с контролем движений, подергивания, беспорядочные движения (хорея), аномальные движения глаз, нарушение равновесия, судороги, затрудненное жевание, затрудненное глотание, когнитивные проблемы, измененную речь, нарушения памяти, трудности мышления, бессонницу, усталость, деменцию, изменения личности, депрессию, тревогу и компульсивное поведение.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать БХ. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего БХ, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с БХ.

#### *Таупатия*

Группа заболеваний таупатии или таупатии, представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, вызванных агрегацией тау-белка, ассоциированного с микротрубочками, в головном мозге. Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее известной таупатией и включает накопление тау-белка в нейронах в виде нерастворимых нейрофибриллярных клубков (NFT). Другие заболевания или расстройства таупатии включают прогрессирующий надъядерный паралич, хроническую травматическую энцефалопатию (*dementia pugilistica*), лобно-височную деменцию и паркинсонизм,

сцепленный с хромосомой 17, заболевание Литико-Бодига (паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама), деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, ганглиоглиому и ганглиоцитому, менингиоангиоматоз, подострый склерозирующий панэнцефалит, свинцовую энцефалопатию, туберозный склероз, болезнь Галлервордена-Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, аргирофильную зернистую болезнь (AGD), болезнь Хантингтона, лобно-височную деменцию и лобно-височную долеую дегенерацию.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать таупатию. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего таупатией, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких провоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с таупатией.

#### *Рассеянный склероз*

Рассеянный склероз (РС) также может называться множественным склерозом или диссеминированным энцефаломиелитом. РС представляет собой воспалительное заболевание, при котором жировые миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга повреждаются, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также к широкому спектру признаков и симптомов. РС влияет на способность нервных клеток головного и спинного мозга эффективно взаимодействовать друг с другом. Нервные клетки общаются, посылая электрические сигналы, называемые потенциалами действия, по длинным волокнам, называемым аксонами, которые содержатся в изолирующем веществе, называемом миелином. При РС собственная иммунная система организма атакует и повреждает миелин. Когда миелин утрачен, аксоны больше не могут эффективно проводить сигналы. РС обычно начинается у молодых людей, чаще у женщин.

Симптомы рассеянного склероза включают, без ограничения, изменения чувствительности, такие как потеря чувствительности или зуд; покалывание или онемение, такое как гипестезии и парестезии; мышечную слабость; клонус; мышечные спазмы; трудности в движении; трудности с координацией и равновесием, такие как атаксия; проблемы с речью, такие как дизартрия, или с глотанием, такие как дисфагия; проблемы со зрением, такие как нистагм, неврит зрительного нерва, включая фосфены, и диплопия; усталость; острую или хроническую боль; проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения различной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильного настроения; феномен Утхоффа, который представляет собой обострение существующих симптомов из-за воздействия более высоких, чем обычно,

температур окружающей среды; и симптом Лермитта, который представляет собой электрическое ощущение, которое проходит вниз по спине при сгибании шеи.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить и/или задержать РС. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего РС, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с РС.

#### *Черепно-мозговые травмы и травмы спинного мозга*

Черепно-мозговые травмы (ЧМТ) также известны как внутричерепные повреждения. Черепно-мозговые травмы возникают, когда внешняя сила травмирует мозг. Черепно-мозговые травмы можно классифицировать на основе тяжести, механизма (закрытая или проникающая травма головы) или других признаков (например, возникновение в определенном месте или на обширном участке).

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить ЧМТ. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего ЧМТ, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с ЧМТ.

К травмам спинного мозга (SCI) относятся любые повреждения спинного мозга, вызванные травмой, а не заболеванием. В зависимости от того, где поврежден спинной мозг и нервные корешки, симптомы могут сильно различаться: от боли до паралича и недержания мочи. Повреждения спинного мозга описываются на различных уровнях «неполноты», которые могут варьироваться от отсутствия воздействия на пациента до «полного» повреждения, которое означает полную потерю функции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить SCI. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может стимулировать или повышать активность микроглии у индивида, страдающего SCI, например, по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 может индуцировать или усиливать одну или более активностей TREM2 (например, фосфорилирование DAP12, активацию PI3K, повышенную экспрессию одного или

нескольких противовоспалительных медиаторов и снижение экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов) у индивида с SCI.

*Лейкоэнцефалопатия у взрослых с аксональными сфероидами и пигментированной глией (ALSP) и лейкоэнцефалопатия у детей*

Лейкоэнцефалопатия у взрослых с аксональными сфероидами и пигментированной глией (ALSP) и лейкоэнцефалопатия у детей являются редкими фатальными неврологическими заболеваниями, которые изменяют «белое вещество» центральной нервной системы у больных (Freeman et al. (2009) “Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids: Clinical, neuroimaging and neuropathologic observations.” Brain Pathol. 19(1): 39-47. PMID: 18422757; Rademakers et al. (2011) “Mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) gene cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.” Nat Genet. 44(2):200-205. PMID: 22197934; Oosterhof et al. (2019) “Homozygous Mutations in CSF1R Cause a Pediatric-Onset Leukoencephalopathy and Can Result in Congenital Absence of Microglia.” Am J Hum Genet. 104(5):936-947. PMID: 30982608). Ранее считалось, что ALSP представляет собой два отдельных патологических состояния: наследственную диффузную лейкоэнцефалопатию (HDLS) и семейную пигментную ортохроматическую лейкоэнцефалопатию (POLD). Однако, учитывая, что пациенты с HDLS и POLD могут иметь пигментированные глиальные клетки и сфериды, HDLS и POLD считаются частью одного и того же спектра заболеваний, охватываемого ALSP (Nicholson et al. (2013) “CSF1R mutations link POLD and HDLS as a single disease entity.” Neurology 80(11): 1033-1040. PMID: 23408870). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению может лечить ALSP или лейкоэнцефалопатию у детей.

*Клинические оценки*

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает определение балла одной или нескольких клинических оценок индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения клинические оценки выбирают из балла краткого теста психического состояния (MMSE), балла общей клинической оценки деменции (CDR-GS), суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB) или повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS). В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела по данному изобретению приводит к улучшению показателя одной или нескольких клинических оценок по сравнению с состоянием до введения антитела к TREM2, например, по сравнению с показателем одной или нескольких клинических оценок через от около 42 дней до менее 1 дня (например, любой из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дня, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8

дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до введения антитела к TREM2.

#### *Фармацевтические дозировки*

Антитело, предложенное в данном документе (и любое дополнительное терапевтическое средство), можно вводить любым подходящим способом, включая парентеральное, внутривенное, интраназальное введение, внутриочаговое введение, интрацеребральное, внутричерепное, интраспинальное, интрасиновиальное, интратекальное, пероральное, местное или ингаляционное введение. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное введение в виде болюсной или непрерывной инфузии в течение периода времени, внутриартериальное, интраартикулярное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение является подкожным введением. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение является подкожным. Дозирование можно осуществлять любым подходящим путем, например, с помощью инъекций, таких как внутривенные или подкожные инъекции, в зависимости от того, является ли введение краткосрочным или долгосрочным. Согласно данному изобретению предусмотрены различные схемы дозирования, включая, но не ограничиваясь ими, однократное или многократное введение в различные моменты времени, болюсное введение и импульсную инфузию.

Антитела по данному изобретению можно включать в состав препарата, дозировать и вводить с помощью способов, согласующихся с надлежащей медицинской практикой. Факторы, которые необходимо учитывать в данном случае, включают конкретное расстройство, которое лечат, конкретное млекопитающее, которое лечат, клиническое состояние отдельного пациента, причину расстройства, место доставки агента, способ введения, график введения и другие факторы, известные врачам. Антитело можно вводить в состав с одним или более агентами, применяемыми в настоящее время для профилактики или лечения рассматриваемого расстройства, однако это не является обязательным. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества антитела, присутствующего в составе, типа нарушения или лечения и других факторов, обсуждаемых выше. Другие агенты обычно применяют в тех же дозировках и вводят с помощью путей, описанных в данном документе, или приблизительно от 1 до 99% дозировок, описанных в настоящем документе, или в любой дозировке и любым путем, который эмпирически/клинически определен как подходящий.

Дозы конкретного антитела к TREM2 могут быть определены эмпирически у индивидов, которые получили одно или несколько введений антитела к TREM2. Индивидам вводят возрастающие дозы антитела к TREM2. Для оценки эффективности антитела к TREM2 можно наблюдать за клиническим симптомом любого из заболеваний, расстройств или состояний, описанных в данном описании (например, деменция, лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, болезнь Насу-Хаккола, когнитивный дефицит, потеря памяти, травма спинного мозга, черепно-мозговая травма, расстройство

демиелинизации, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз (БАС), болезнь Хантингтона, лейкоэнцефалопатия у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) и таупатия).

Для профилактики или лечения заболевания соответствующая доза антитела согласно изобретению (при применении отдельно или в комбинации с одним или большим количеством других дополнительных терапевтических агентов) будет зависеть от вида заболевания, подлежащего лечению, типа антитела, тяжести и течения заболевания, от того, вводят ли антитело в профилактических или терапевтических целях, предшествующей терапии, анамнеза заболевания пациента, реакции на антитело, и усмотрения лечащего врача. Антитело вводят пациенту подходящим образом за один раз или в течение серии процедур.

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают введение индивиду антитела к TREM2 внутривенно в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 15 мг/кг до около 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 15 мг/кг до около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 20 мг/кг до около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 20 мг/кг до около 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 15 мг/кг до около 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 45 мг/кг до около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 50 мг/кг до около 60 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет от около 20 мг/кг до около 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза составляет любую из около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг или около 60 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дозы вводят периодически, например, примерно один раз в неделю, один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в четыре недели, один раз в пять недель, один раз в шесть недель, один раз в семь недель или один раз в восемь недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозы вводят q1w, q2w, q3w, q4w, q5w, q6w, q7w или q8w.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования равна или превышает q1w (т.е. дозы вводят один раз в неделю или реже, чем один раз в неделю). В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования равна или превышает q2w (т.е. дозы вводят один раз в две недели или реже, чем один раз в две недели). В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования равна или превышает q3w (т.е. дозы вводят один раз в три недели или реже, чем один раз в три недели). В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования равна или превышает q4w (т.е. дозы вводят один раз в четыре недели или реже, чем один раз в четыре недели). В некоторых вариантах осуществления изобретения частота дозирования













В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждую неделю. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые три недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые четыре недели. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые пять недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые шесть недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые семь недель. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 проводят в первый день периода лечения и затем каждые восемь недель.

Можно вводить начальную повышенную нагрузочную дозу, за которой следует одна или большее количество пониженных доз. Однако можно использовать и другие схемы введения доз. Эффективность лечения можно контролировать с помощью обычных методик и анализов.

#### *Уровни растворимого TREM2*

Используемый в данном документе термин «растворимый TREM2» или «sTREM2» относится к любой форме TREM2, полученной в результате процессинга, например расщепления, белка TREM2, в результате чего образуется растворимая процессированная форма TREM2, например, как описано в настоящем документе в разделе «Белки TREM2».

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают внутривенное введение антитела к TREM2 индивиду, при этом введение антитела к TREM2 индивиду приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 индивиду приводит к снижению по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 99% или 100% уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 индивиду приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 30% по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости





TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 45 мг/кг приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 30% через 12 дней после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 45 мг/кг приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 40% через 12 дней после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 40% через 12 дней после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 50% через 12 дней после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере за около 4 дней до введения антитела к TREM2.

Уровни sTREM2 в спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни sTREM2 в спинномозговой жидкости индивида измеряют с помощью иммунологического анализа с использованием электрохемилюминесцентной методологии. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 человека разбавляют в буфере для покрытия и иммобилизуют на 96-луночном микротитрационном планшете для образцов. После блокировки и промывки планшета эндогенный контроль качества и

исследуемые образцы разбавляют буфером для анализа, наносят на планшет для образцов и инкубируют. Второе антитело к TREM2 человека, которое связывается с эпитопом, отличным от первого антитела, затем добавляют в качестве захватывающего антитела. Затем планшет промывают, добавляют стрептавидин Sulfo-Tag и инкубируют с последующим добавлением буфера для считывания T MSD. Концентрации sTREM2 (т.е. уровни sTREM2) определяют по стандартной кривой, полученной в относительных световых единицах в зависимости от концентрации. Калибровочная кривая создается с использованием четырехпараметрической кривой, аппроксимированной весами  $1/y^2$ . Квалифицированный диапазон для этого метода в СМЖ человека составляет от 0,400 нг/мл до 50,0 нг/мл.

#### *Уровни растворимого CSF1R*

Используемый в данном документе термин «растворимый CSF1R» или «sCSF1R» относится к любой форме CSF1R, полученной в результате процессинга, например расщепления, белка CSF1R, в результате чего образуется растворимая процессированная форма CSF1R, например, как описано в настоящем документе в Примере 2.

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают внутривенное введение антитела к TREM2 индивиду, при этом введение антитела к TREM2 индивиду приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 100% уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 10% по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в



по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 45 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 15% через 2 дней после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 25% через 2 дня после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 15 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 30 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 10% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 45 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 1% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 10% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R в спинномозговой

жидкости индивида сравнивают с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере за около 4 дней до введения антитела к TREM2.

Уровни sCSF1R в спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, известного в данной области, такого как ELISA (например, анализ ELISA производства R&D Systems), иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни sCSF1R в спинномозговой жидкости индивида измеряют с помощью анализа ELISA производства R&D Systems, который имеет квалифицированный диапазон в 100% СМЖ человека от 125 пг/мл до 4000 пг/мл.

#### *Уровни YKL40*

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают внутривенное введение антитела к TREM2 индивиду, при этом введение антитела к TREM2 индивиду приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 100%, по меньшей мере на около 125%, по меньшей мере на около 150%, по меньшей мере на около 175% или по меньшей мере на около 200% уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 10% по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 15% по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 20% по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до





антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к увеличению уровней YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями YKL40 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере за около 4 дней до введения антитела к TREM2.

Уровни YKL40 в спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления уровни YKL40 в спинномозговой жидкости индивида измеряют с помощью иммунологического анализа производства Roche.

#### *Уровни IL-1RA*

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают внутривенное введение антитела к TREM2 индивиду, при этом введение антитела к TREM2 индивиду приводит к увеличению уровней IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 приводит к увеличению по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 100%, по меньшей мере на около 110%, по меньшей мере на около 120%, по меньшей мере на около 130%, по меньшей мере на около 140%, по меньшей мере на около 150%, по меньшей мере на около 160%, по меньшей мере на около 170%, по меньшей мере на около 180%, по меньшей мере на около 190%, по меньшей мере на около 200%, по меньшей мере на около 225%, по меньшей мере на около 250%, по меньшей мере на около 275%, по меньшей мере на около 300%, по меньшей мере на около 325%, по меньшей мере на около 350%, по меньшей мере на около 375%, по меньшей мере на около 400%, по меньшей мере на около 450%, по меньшей мере на около 500%, по меньшей мере на около 550%, по меньшей мере на около 600%, по меньшей мере на около 650%, по меньшей мере на около 700%, по меньшей мере на около 750%, по меньшей мере на около 800%, по





В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 15 мг/кг приводит к увеличению уровней IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 10% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 30 мг/кг приводит к увеличению уровней IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 175% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 45 мг/кг приводит к увеличению уровней IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 25% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по изобретению в дозе около 60 мг/кг приводит к увеличению уровней IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 25% через 12 дня после введения антитела по сравнению с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дня, 1 дня или менее 1 дня) до введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида сравнивают с уровнями IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере за около 4 дней до введения антитела к TREM2.

Уровни IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA в спинномозговой жидкости индивида измеряют с помощью иммуноанализа ECL с использованием системы Meso Scale Discovery.

#### *Уровни остеопонтина*

В некоторых аспектах способы по данному изобретению включают внутривенное введение антитела к TREM2 индивиду, при этом введение антитела к TREM2 индивиду приводит к увеличению уровней остеопонтина в спинномозговой жидкости индивида по сравнению с уровнями остеопонтина в спинномозговой жидкости индивида до введения







Уровни остеопонтина в спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни остеопонтина в спинномозговой жидкости индивида измеряют с помощью иммуноанализа ECL с использованием системы Meso Scale Discovery.

#### *Фармакокинетика антител к TREM2*

В некоторых вариантах осуществления изобретения конечный период полувыведения антитела к TREM2 согласно данному изобретению в крови (например, в плазме) составляет около 5 дней, около 6 дней, около 7 дней, около 8 дней, около 9 дней или около 10 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения период полувыведения антитела к TREM2 в плазме составляет около 7 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения конечный период полувыведения антитела к TREM2 в крови (например, в плазме) составляет около 8 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения конечный период полувыведения антитела к TREM2 в крови (например, в плазме) составляет около 9 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения конечный период полувыведения антитела к TREM2 в крови (например, в плазме) составляет около 10 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза антитела к TREM2 составляет около 15 мг/кг и конечный период полувыведения антитела в плазме индивида составляет примерно 8,63 дня. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза антитела к TREM2 составляет около 30 мг/кг и конечный период полувыведения антитела в плазме индивида составляет около 7,44 дня. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза антитела к TREM2 составляет около 45 мг/кг и конечный период полувыведения антитела в плазме индивида составляет около 8,40 дня. В некоторых вариантах осуществления изобретения доза антитела к TREM2 составляет около 60 мг/кг и конечный период полувыведения антитела в плазме индивида составляет около 9,93 дня.

Конечный период полувыведения антитела к TREM2 по данному изобретению в крови (например, плазме) индивида определяют с использованием любого метода, известного в данной области, такого как иммуноанализ, иммуноблоты и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения время полувыведения антитела к TREM2 согласно данному изобретению в крови (например, плазме) индивида определяют с помощью анализа ELISA.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду приводит к присутствию антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду приводит к любой концентрации из по меньшей мере около 10 нг/мл, по меньшей мере около 25 нг/мл, по меньшей мере около 50 нг/мл, по меньшей мере около 75 нг/мл, по меньшей мере около 100 нг/мл, по меньшей мере около 125 нг/мл, по меньшей мере около 150 нг/мл, по

меньшей мере около 175 нг/мл, по меньшей мере около 200 нг/мл, по меньшей мере около 225 нг/мл, по меньшей мере около 250 нг/мл, по меньшей мере около 275 нг/мл, по меньшей мере около 300 нг/мл, по меньшей мере около 325 нг/мл, по меньшей мере около 350 нг/мл, по меньшей мере около 375 нг/мл, по меньшей мере около 400 нг/мл, по меньшей мере около 425 нг/мл, по меньшей мере около 450 нг/мл, по меньшей мере около 475 нг/мл, по меньшей мере около 500 нг/мл, по меньшей мере около 525 нг/мл, по меньшей мере около 550 нг/мл, по меньшей мере около 575 нг/мл, по меньшей мере около 600 нг/мл, по меньшей мере около 625 нг/мл, по меньшей мере около 650 нг/мл, по меньшей мере около 675 нг/мл, по меньшей мере около 700 нг/мл, по меньшей мере около 725 нг/мл, по меньшей мере около 750 нг/мл, по меньшей мере около 775 нг/мл, по меньшей мере около 800 нг/мл, по меньшей мере около 850 нг/мл, по меньшей мере около 900 нг/мл, по меньшей мере около 950 нг/мл, по меньшей мере около 1000 нг/мл, по меньшей мере около 1050 нг/мл, по меньшей мере около 1100 нг/мл, по меньшей мере около 1150 нг/мл, по меньшей мере около 1200 нг/мл, по меньшей мере около 1250 нг/мл или по меньшей мере около 1300 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду приводит к концентрации от около 10 нг/мл до около 750 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению присутствует в спинномозговой жидкости индивида в течение любого из следующих периодов: по меньшей мере около 2 дней, по меньшей мере около 3 дней, по меньшей мере около 4 дней, по меньшей мере около 5 дней, по меньшей мере около 6 дней, по меньшей мере около 7 дней, по меньшей мере около 8 дней, по меньшей мере около 9 дней, по меньшей мере около 10 дней, по меньшей мере около 11 дней или по меньшей мере около 12 дней после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению присутствует в спинномозговой жидкости индивида в течение по меньшей мере около 2 дней после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по изобретению присутствует в спинномозговой жидкости индивида в течение по меньшей мере около 12 дней после введения антитела.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 15 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 100 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 2 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 30 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 250 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 2 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 45 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 400 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида

через 2 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 60 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 600 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 2 дня после введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 15 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 50 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 12 дня после введения антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 30 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 125 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 12 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 45 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 200 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 12 дня после введения антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела к TREM2 по данному изобретению индивиду в дозе около 60 мг/кг приводит к концентрации по меньшей мере около 300 нг/мл антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости индивида через 12 дня после введения антитела к TREM2.

Антитело к TREM2 по данному изобретению может быть измерено в спинномозговой жидкости индивида с использованием любого метода, известного в данной области техники, такого как иммуноанализ, иммуноблоты и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению измеряют в спинномозговой жидкости индивида с помощью анализа ELISA.

#### **Диагностическое применение**

Выделенные антитела по данному изобретению (например, антитело к TREM2, описанное в данном документе) также имеют диагностическое значение. Таким образом, данное раскрытие обеспечивает способы использования антител по данному раскрытию или их функциональных фрагментов в диагностических целях, таких как обнаружение белка TREM2 у индивида или в образцах ткани, полученных от индивида.

В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид представляет собой пациента-человека, страдающего или подверженного риску развития заболевания, расстройства или травмы согласно данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения способы диагностики включают обнаружение белка TREM2 в биологическом образце, таком как образец биопсии, ткань или клетка. Антитело к TREM2, описанное в данном документе, контактирует с биологическим образцом, и обнаруживается связанное с антигеном антитело. Например, образец биопсии можно окрасить описанным в данном документе антителом к TREM2, чтобы обнаружить и/или количественно определить ассоциированные с заболеванием клетки. Метод обнаружения

может включать количественную оценку антигенсвязанного антитела. Обнаружение антител в биологических образцах может происходить любым методом, известным в данной области, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ELISA, анализ FACS, иммунопреципитацию или микропозитронно-эмиссионную томографию. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело помечено радиоактивным изотопом, например,  $^{18}\text{F}$ , и впоследствии выявляется с использованием анализа микропозитронно-эмиссионной томографии. Связывание антител также можно количественно определить у человека с помощью неинвазивных методов, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ) и компьютерная аксиальная томография (КАТ).

В других вариантах осуществления изобретения выделенное антитело по данному изобретению (например, антитело к TREM2, описанное в данном документе) можно использовать для обнаружения и/или количественного определения, например, микроглии в образце головного мозга, взятом из модели доклинического заболевания (например, модели заболевания на животных). Таким образом, выделенное антитело по данному изобретению (например, антитело к TREM2, описанное в данном документе) может быть полезным для оценки терапевтического ответа после лечения в модели заболевания или повреждения нервной системы, такого как деменция, лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, болезнь Насу-Хаккола, когнитивный дефицит, потеря памяти, повреждение спинного мозга, черепно-мозговая травма, расстройство демиелинизации, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз (БАС), болезнь Хантингтона, лейкоэнцефалопатия у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) и таупатия, по сравнению с контролем.

### **Белки TREM2**

В данном изобретении предложены способы лечения, профилактики или снижения риска у индивида, имеющего заболевание или травму, включающие введение индивиду антитела, которое связывается с белком TREM2, при этом антитело является агонистом.

Триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-2 (TREM2), по-разному обозначается как TREM-2, TREM2a, TREM2b, TREM2c, триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-2a, и триггерный рецептор, экспрессируемый на моноцитах-2. TREM2 представляет собой мембранный белок из 230 аминокислот. TREM2 представляет собой иммуноглобулин-подобный рецептор, в основном экспрессируемый на клетках миелоидного происхождения, включая, помимо прочего, макрофаги, дендритные клетки, моноциты, клетки Лангерганса кожи, клетки Купфера, остеокласты и микроглию. В некоторых вариантах осуществления изобретения TREM2 образует рецепторный сигнальный комплекс с DAP12. В некоторых вариантах осуществления изобретения TREM2 фосфорилирует и передает сигналы через DAP12 (белок-адаптер домена ITAM). В некоторых вариантах осуществления изобретения передача сигналов TREM2 приводит к последующей активации PI3K или других внутриклеточных сигналов.

На миелоидных клетках сигналы Toll-подобного рецептора (TLR) важны для активации активности TREM2, например, в контексте инфекционного ответа. TLR также играют ключевую роль в патологическом воспалительном ответе, например, TLR, экспрессируемые в макрофагах и дендритных клетках.

Белки TREM2 по данному изобретению включают, без ограничения, белок TREM2 человека (каталожный номер Uniprot Q9NZC2; SEQ ID №: 1) и белок TREM2 млекопитающего, отличного от человека, такой как белок TREM2 мыши (каталожный номер Uniprot Q99NH8; SEQ ID №: 2), белок TREM2 крысы (каталожный номер Uniprot D3ZZ89; SEQ ID №: 3), белок TREM2 макаки-резуса (каталожный номер Uniprot F6QVF2; SEQ ID №: 4), белок TREM2 яванского макака (каталожный номер NCBI XP\_015304909.1; SEQ ID №: 5), белок TREM2 лошади (каталожный номер Uniprot F7D6L0; SEQ ID №: 6), белок TREM2 свиньи (каталожный номер Uniprot H2EZZ3; SEQ ID №: 7) и белок TREM2 собаки (каталожный номер Uniprot E2RP46; SEQ ID №: 8). Используемый в данном документе термин «белок TREM2» относится как к последовательностям дикого типа, так и к встречающимся в природе вариантным последовательностям. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 по данному изобретению связывается с белком TREM2 дикого типа, встречающимся в природе вариантом белка TREM2 или аномальным вариантом белка TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пример аминокислотной последовательности TREM2 человека представлен ниже как SEQ ID №: 1:

```

      10      20      30      40      50      60
MEPLRLILL FVTELSGANN TTVFQGVAGQ SLQVSCPYS MKHWGRRKAW CRQLGKGP
      70      80      90     100     110     120
QRVVSTHNLW LLSFLRRWNG STAITDDTLG GTLTITLRNL QPHDAGLYQC QSLHGSEADT
     130     140     150     160     170     180
LRKVLVEVLA DPLDHRDAGD LWFPGESESF EDANVEHSIS RSLLEGEIPF PPTSILLLLA
     190     200     210     220     230
CIFLIKILAA SALWAAAHNG QKPGTHPPSE LDCGHDPGYQ LQTLPLGLRDT

```

В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческий TREM2 представляет собой пребелок, который включает сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления изобретения TREM2 человека представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах осуществления изобретения зрелый белок TREM2 не включает сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления изобретения зрелый белок TREM2 экспрессируется в клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретения белок TREM2 содержит сигнальный пептид, расположенный в аминокислотных остатках 1-18 человеческого TREM2 (SEQ ID №: 1); внеклеточный иммуноглобулин-подобный домен вариабельного типа (IgV), расположенный на аминокислотных остатках 29-112 человеческого TREM2 (SEQ ID №: 1); дополнительные внеклеточные последовательности, расположенные на аминокислотных остатках 113-174 человеческого TREM2 (SEQ ID №: 1); трансмембранный домен, расположенный на

аминокислотных остатках 175-195 человеческого TREM2 (SEQ ID №: 1); и внутриклеточный домен, расположенный на аминокислотных остатках 196-230 человеческого TREM2 (SEQ ID №: 1). Было установлено, что сайт расщепления TREM2 находится на С-концевой стороне гистидина 157 (см. WO2018/015573), и расщепление в этом сайте приводит к потере соответствующей части внеклеточного домена TREM2, обнаруживаемой как увеличение растворимого TREM2 (sTREM2), соответствующего этой части TREM2.

Трансмембранный домен TREM2 человека содержит лизин по аминокислотному положению 186, который может взаимодействовать с аспарагиновой кислотой в DAP12, который является ключевым адапторным белком, передающим сигналы от TREM2, TREM1 и других родственных членов семейства IgV.

Некоторые аспекты данного изобретения относятся к способам лечения заболевания или травмы у индивида, включающим введение индивиду антитела к TREM2 согласно данному изобретению в соответствии со способами, представленными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения индивид является гетерозиготным или гомозиготным по мутации в TREM2 (например, в гене TREM2 человека). Мутация может быть любого типа, включая, например, миссенс-мутацию, вставку-делецию или мутацию, генерирующую укороченный белковый продукт. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется мутация R47H TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется мутация R62H TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеются мутации R47H и R62H TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется одна или более аминокислотных замен в человеческом белке TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в человеческом белке TREM2 в положении остатка R47H, R62H или в обоих положениях. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в человеческом белке TREM2 в положении остатка R47H. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется аминокислотная замена в человеческом белке TREM2 в положении остатка R62H. В некоторых вариантах осуществления у индивида имеется аминокислотная замена в человеческом белке TREM2 в положениях остатков R47H и R62H. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутация в гене TREM2 или аминокислотная замена в белке TREM2 приводит к снижению функции TREM2 у пораженного индивида, например, по сравнению с белком TREM2, который, как считается, обладает функцией «дикого типа» или который имеет функцию, которую считают в пределах нормы. В некоторых вариантах осуществления изобретения у индивида имеется по меньшей мере одна копия функционального гена TREM2. Для определения наличия у индивида мутации в гене TREM2 или в белке TREM2 можно использовать любой метод, известный в данной области, такой как целевое секвенирование, секвенирование всего генома и полимеразная цепная реакция (например, количественная ПЦР).

### **Антитела к TREM2**

Некоторые аспекты данного изобретения относятся к антителам (например, моноклональным антителам), которые связываются с белком TREM2, при этом антитело к TREM2 является агонистом. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению связывают зрелый белок TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению связывают зрелый белок TREM2, при этом зрелый белок TREM2 экспрессируется в клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению связывают белок TREM2, экспрессированный на одной или нескольких клетках человека, выбранных из дендритных клеток человека, макрофагов человека, моноцитов человека, остеокластов человека, клеток кожи Лангерганса человека, клеток Купфера человека, микроглии человека, и любых их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению связывают белок TREM2, экспрессированный на одной или более микроглиях человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению связывают белок TREM2, экспрессированный на одной или более микроглиях человека.

### **Антитела к TREM2, которые индуцируют активность и/или усиливают лиганд-индуцированную активность**

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению представляет собой антитело-агонист, которое индуцирует или усиливает одну или более активностей TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело индуцирует или усиливает одну или более активностей TREM2 после связывания с белком TREM2, который экспрессируется на клетке.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению связываются с белком TREM2, не конкурируя, не ингибируя или иным образом не блокируя связывание одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2. Примеры лигандов TREM2 включают, без ограничения, лиганды TREM2, экспрессируемые клетками *E.coli*, апоптотическими клетками, нуклеиновые кислоты, анионные липиды, APOE, APOE2, APOE3, APOE4, анионный APOE, анионный APOE2, анионный APOE3, анионный APOE4, липидированный APOE, липидированный APOE2, липидированный APOE3, липидированный APOE4, цвиттерионные липиды, отрицательно заряженные фосфолипиды, фосфатидилсерин, сульфатиды, фосфатидилхолин, сфингомиелин, мембранные фосфолипиды, липидированные белки, протеолипиды, липидированные пептиды и липидированный бета-амилоидный пептид. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения один или более лигандов TREM2 включают *клетки E.coli*, апоптотические клетки, нуклеиновые кислоты, анионные липиды, цвиттерионные липиды, отрицательно заряженные фосфолипиды, фосфатидилсерин (PS), сульфатиды, фосфатидилхолин, сфингомиелин (SM), фосфолипиды, липидированные белки, протеолипиды, липидированные пептиды и липидированный бета-амилоидный пептид.

Антитела к TREM2, используемые в способах по данному изобретению, представляют собой антитела-агонисты. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела по данному изобретению, которые связывают белок TREM2, могут включать антитела-агонисты, которые благодаря своей эпитопной специфичности связывают TREM2 и активируют одну или более активностей TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения такие антитела могут связываться с сайтом связывания лиганда на TREM2 и имитировать действие одного или более лигандов TREM2 или стимулировать TREM2 к передаче сигнала путем связывания с одним или более доменами, которые не являются сайтами связывания лиганда. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела не конкурируют или иным образом не блокируют связывание лиганда с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела действуют аддитивно или синергетически с одним или несколькими лигандами TREM2 для активации и/или усиления еще одного действия TREM2, как указано ниже.

Антитела-агонисты к TREM2 по данному изобретению могут проявлять способность связывать TREM2, не блокируя одновременное связывание одного или нескольких лигандов TREM2. Антитела к TREM2 по данному изобретению могут дополнительно проявлять аддитивные и/или синергические функциональные взаимодействия с одним или более лигандами TREM2. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения максимальная активность TREM2 при связывании с антителами к TREM2 по данному изобретению в комбинации с одним или несколькими лигандами TREM2 по данному изобретению может быть выше (например, усиленной), чем максимальная активность TREM2 при воздействии насыщающих концентраций одного лиганда или насыщающих концентраций одного антитела. Кроме того, активность TREM2 при данной концентрации лиганда TREM2 может быть выше (например, усилена) в присутствии антитела.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению обладают аддитивным действием с одним или более лигандами TREM2 для усиления одной или более активностей TREM2 при связывании с белком TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению действуют синергетически с одним или более лигандами TREM2, усиливая одну или более активностей TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению повышают способность одного или нескольких лигандов TREM2 индуцировать одну или несколько активностей TREM2 по сравнению с эффективностью одного или нескольких лигандов TREM2 индуцировать одну или более активности TREM2 в отсутствие антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению усиливают одну или более активностей TREM2 в отсутствие кластеризации TREM2 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению усиливают одну или более активностей

TREM2 путем индуцирования или поддержания кластеризации TREM2 на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению кластеризованы одним или несколькими рецепторами Fc-гамма, экспрессированными на одной или нескольких иммунных клетках, включая, помимо прочего, В-клетки и клетки микроглии. В некоторых вариантах осуществления изобретения усиление одной или более активностей TREM2, индуцированное связыванием одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2, измеряют на первичных клетках, включая, помимо прочего, дендритные клетки, дендритные клетки, полученные из костного мозга, моноциты, микроглию, макрофаги, нейтрофилы, НК-клетки, остеокласты, клетки Лангерганса кожи и клетки Купфера, или на клеточных линиях.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению, которое усиливает одну или более активностей TREM2, индуцированных связыванием одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2, индуцирует по меньшей мере 2-кратное, по меньшей мере 3-кратное, по меньшей мере 4-кратное, по меньшей мере 5-кратное, по меньшей мере 6-кратное, по меньшей мере 7-кратное, по меньшей мере 8-кратное, по меньшей мере 9-кратное, по меньшей мере 10-кратное, по меньшей мере 11-кратное, по меньшей мере 12-кратное, по меньшей мере 13-кратное, по меньшей мере 14-кратное, по меньшей мере 15-кратное, по меньшей мере 16-кратное, по меньшей мере 17-кратное, по меньшей мере 18-кратное, по меньшей мере 19-кратное, по меньшей мере 20-кратное или более увеличение одной или нескольких активностей TREM2 по сравнению с уровнями одной или нескольких активностей TREM2, индуцированных связыванием одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2 в отсутствие антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения активность TREM2, которая может быть индуцирована и/или усилена антителами к TREM2 по данному изобретению, и/или один или несколько лигандов TREM2 по данному изобретению включают, без ограничения, связывание TREM2 с DAP12; фосфорилирование DAP12; активацию киназы Syk; модуляцию одного или более провоспалительных медиаторов, выбранных из ИФН- $\beta$ , ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , YM-1, ИЛ-6, ИЛ-8, CRP, CD86, MCP-1/CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCR2, CXCL-10, Gata3, Rorc, членов семейства ИЛ-20, ИЛ-33, LIF, ИФН-гамма, OSM, CNTF, GM-CSF, CSF-1, MHC-II, OPN, CD11c, GM-CSF, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18 и ИЛ-23, необязательно при этом модуляция происходит в одной или нескольких клетках, выбранных из макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, дендритных клеток, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и клеток микроглии; рекрутинг Syk, ZAP70 или обоих в комплексе DAP12/TREM2; повышение активности одного или более TREM2-зависимых генов, необязательно, когда один или более TREM2-зависимых генов содержат ядерный фактор факторов транскрипции активированных Т-клеток (NFAT); повышение выживаемости дендритных клеток, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1,

макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и микроглии M2 или любой их комбинации; модулирование экспрессии одной или более стимулирующих молекул, выбранных из CD83, CD86 MHC класса II, CD40 и любой их комбинации, необязательно, при этом CD40 экспрессируется на дендритных клетках, моноцитах, макрофагах или любой их комбинации, и необязательно, при этом дендритные клетки содержат дендритные клетки костного мозга; улучшение памяти; и уменьшение когнитивного дефицита. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению улучшают память и/или уменьшают когнитивный дефицит при введении индивиду.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 по данному изобретению индуцирует или усиливает одну или более активностей TREM2, выбранных из связывания TREM2 с DAP12, фосфорилирования DAP12, активации киназы Syk, рекрутинга Syk к комплексу DAP12/TREM2, повышения активности одного или более TREM2-зависимых генов или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более TREM2-зависимых генов включают ядерный фактор факторов транскрипции активированных Т-клеток (NFAT).

#### *Фосфорилирование Syk*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут индуцировать фосфорилирование тирозинкиназы селезенки (Syk) после связывания с белком TREM2, экспрессируемым в клетке.

Тирозинкиназа селезенки (Syk) представляет собой внутриклеточную сигнальную молекулу, которая функционирует после TREM2 путем фосфорилирования нескольких субстратов, тем самым способствуя образованию сигнального комплекса, ведущего к клеточной активации и воспалительным процессам.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способность антител-агонистов TREM2 индуцировать активацию Syk определяют путем культивирования мышинных макрофагов и измерения состояния фосфорилирования белка Syk в клеточных экстрактах. В некоторых вариантах осуществления изобретения макрофаги костного мозга (BMDC) мышей дикого типа (ДТ), мышей с нокаутом TREM2 (КО) и мышей, у которых отсутствует экспрессия функционального гена общей гамма-цепи Fc-рецептора (FcγR KO; REF: Takai T 1994. Cell 76(3):519-29) выдерживают без питательных веществ в течение 4 часов в 1% сыворотки RPMI, а затем удаляют из чашек для тканевых культур с ФСБ-ЭДТА, промывали ФСБ и подсчитывают. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки покрывают полноразмерными антителами TREM2 или контрольными антителами на 15 минут на льду. В некоторых вариантах осуществления изобретения после промывания холодным ФСБ клетки инкубируют при 37°C в течение указанного периода времени в присутствии козьего IgG против антител человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения после стимуляции клетки лизируют буфером для лизиса (1% об./об. NP-40%, 50 mM Tris-HCl (pH 8,0), 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 1,5 mM

MgCl<sub>2</sub>, 10% глицерина плюс ингибиторы протеазы и фосфатазы) с последующим центрифугированием при 16000 g в течение 10 мин при 4°C для удаления нерастворимых веществ. В некоторых вариантах осуществления изобретения лизаты затем подвергают иммунопреципитации антителом к Syk (N-19 для BMDM или 4D10 для DC человека, Santa Cruz Biotechnology). В некоторых вариантах осуществления изобретения осажденные белки фракционируют с помощью SDS-PAGE, переносят на мембраны PVDF и исследуют с помощью антитела к фосфотиозину (4G10, Millipore). В некоторых вариантах осуществления изобретения для подтверждения того, что все субстраты надлежащим образом иммунопреципитированы, иммуноблоты повторно исследуют с антителом к Syk (Abcam, для BMDM) или к Syk (Novus Biological, для DC человека). В некоторых вариантах осуществления изобретения визуализацию выполняют с помощью системы усиленной хемилюминесценции (ECL) (GE Healthcare), как описано (например, Peng et al., (2010) *Sci Signal.*, 3(122): ra38).

#### *Связывание и фосфорилирование DAP12*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут индуцировать связывание TREM2 с DAP12. В других вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут индуцировать фосфорилирование DAP12 после связывания с белком TREM2, экспрессируемым в клетке. В других вариантах осуществления изобретения опосредованное TREM2 фосфорилирование DAP12 индуцируется одной или несколькими тирозинкиназами семейства SRC. Примеры тирозинкиназ семейства Src включают, без ограничения, Src, Syk, Yes, Fyn, Fgr, Lck, Hck, Blk, Lyn и Frk.

DAP12 по-разному называют белком, связывающим протеинтирозинкиназу TYRO, TYROBP, KARAP и PLOSL. DAP12 представляет собой трансмембранный сигнальный белок, который содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) в его цитоплазматическом домене. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 может индуцировать фосфорилирование DAP12 в его мотиве ITAM. Можно использовать любой известный в данной области метод определения фосфорилирования белка, такой как фосфорилирование DAP12.

В некоторых вариантах осуществления изобретения DAP12 фосфорилируется киназами семейства SRC, что приводит к рекрутированию и активации киназы Syk, киназы ZAP70 или обеих к комплексу DAP12/TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способность антител к TREM2 индуцировать активацию DAP12 определяют путем культивирования макрофагов мыши и измерения состояния фосфорилирования белка DAP12 в клеточных экстрактах. В некоторых вариантах осуществления изобретения перед стимуляцией антителами макрофаги мыши костного мозга дикого типа (ДТ) (BMDM) и нокаутированные по TREM2 (KO) BMDM выдерживают без питательных веществ в течение 4 часов в 1% сыворотке RPMI. В некоторых вариантах осуществления изобретения 15×10<sup>6</sup> клеток инкубируют на льду в течение 15 минут с полноразмерными антителами TREM2 или

контрольными антителами. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки промывают и инкубируют при 37°C в течение указанного периода времени в присутствии козьего IgG против антител человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения после стимуляции клетки лизируют буфером для лизиса (1% об./об. н-додецил- $\beta$ -D-мальтозида, 50 mM Tris-HCl (pH 8,0), 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10% глицерина плюс ингибиторы протеазы и фосфатазы) с последующим центрифугированием при 16000 g в течение 10 мин при 4°C для удаления нерастворимых веществ. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеточный лизат подвергают иммунопреципитации вторым антителом к TREM2 (R&D Systems). В некоторых вариантах осуществления изобретения осажденные белки фракционируют с помощью SDS-PAGE, переносят на мембраны PVDF и исследуют с помощью антитела к фосфотирозину (4G10, Millipore). В некоторых вариантах осуществления изобретения мембрану удаляют и повторно исследуют с помощью антитела к DAP12 (Cells Signaling, D7G1X). В некоторых вариантах осуществления изобретения каждый клеточный лизат, используемый для иммунопреципитации TREM2, содержит равное количество белков, на что указывает контрольное антитело (к актину, Санта-Крус).

*Пролиферация, выживание и функциональность клеток, экспрессирующих TREM2*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут повышать пролиферацию, выживаемость и/или функцию дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и микроглиальных клеток (микроглии) после связывания с белком TREM2, экспрессируемым в клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению не ингибируют рост (например, пролиферацию и/или выживание) одной или более клеток врожденного иммунитета.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут повышать пролиферацию, выживаемость и/или функционирование микроглиальных клеток (микроглии) после связывания с белком TREM2, экспрессируемым в клетке. Клетки микроглии представляют собой тип глиальных клеток, которые являются резидентными макрофагами головного и спинного мозга и, таким образом, действуют как первая и основная форма активной иммунной защиты в центральной нервной системе (ЦНС). Клетки микроглии составляют 20% от общей популяции глиальных клеток головного мозга. Клетки микроглии постоянно очищают ЦНС от бляшек, поврежденных нейронов и инфекционных агентов. Головной и спинной мозг считаются «иммунопривилегированными» органами, поскольку они отделены от остального тела рядом эндотелиальных клеток, известных как гематоэнцефалический барьер, который предотвращает попадание большинства инфекций в уязвимую нервную ткань. В случае, когда инфекционные агенты попадают непосредственно в мозг или пересекают гематоэнцефалический барьер, клетки микроглии должны быстро реагировать, чтобы уменьшить воспаление и уничтожить инфекционные агенты, прежде чем они повредят чувствительную нервную ткань. Из-за недоступности антител из

остальной части тела (немногие антитела достаточно малы, чтобы преодолеть гематоэнцефалический барьер), микроглия должна быть способна распознавать инородные тела, поглощать их и действовать как антигенпрезентирующие клетки, активирующие Т-клетки. Поскольку этот процесс должен быть выполнен быстро, чтобы предотвратить потенциально фатальные повреждения, клетки микроглии чрезвычайно чувствительны даже к небольшим патологическим изменениям в ЦНС. Они достигают такой чувствительности отчасти за счет наличия уникальных калиевых каналов, которые реагируют даже на небольшие изменения внеклеточного калия.

При использовании в данном документе, макрофаги по данному изобретению включают, без ограничения, макрофаги M1, активированные макрофаги M1 и макрофаги M2. При использовании в данном документе, клетки микроглии по данному изобретению включают, без ограничения, клетки микроглии M1, активированные клетки микроглии M1 и клетки микроглии M2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут повышать экспрессию CD83 и/или CD86 на дендритных клетках, моноцитах и/или макрофагах.

При использовании в данном документе, скорость пролиферации, выживаемость и/или функционирование макрофагов, дендритных клеток, моноцитов и/или микроглии может включать повышенную экспрессию, если скорость пролиферации, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у субъекта, получавшего лечение антителом к TREM2 по данному изобретению, выше, чем скорость пролиферации, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у соответствующего субъекта, которого не лечили антителом к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению может повышать скорость пролиферации, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190% или по меньшей мере 200%, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функционированием дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у

соответствующего субъекта, которого не лечили антителом к TREM2. В других вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению может повышать скорость пролиферации, выживаемость и/или функционирование дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у субъекта по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 1,6 раза, по меньшей мере в 1,7 раза, по меньшей мере в 1,8 раза, по меньшей мере в 1,9 раза, по меньшей мере в 2,0 раза, по меньшей мере в 2,1 раза, по меньшей мере в 2,15 раза, по меньшей мере в 2,2 раза, по меньшей мере в 2,25 раза, по меньшей мере в 2,3 раза, по меньшей мере в 2,35 раза, по меньшей мере в 2,4 раза, по меньшей мере в 2,45 раза, по меньшей мере в 2,5 раза, по меньшей мере в 2,55 раза, по меньшей мере в 3,0 раза, по меньшей мере в 3,5 раза, по меньшей мере в 4,0 раза, по меньшей мере в 4,5 раза, по меньшей мере в 5,0 раз, по меньшей мере в 5,5 раз, по меньшей мере в 6,0 раз, по меньшей мере в 6,5 раз, по меньшей мере в 7,0 раз, по меньшей мере в 7,5 раз, по меньшей мере в 8,0 раз, по меньшей мере в 8,5 раз, по меньшей мере в 9,0 раз, по меньшей мере в 9,5 раз или по меньшей мере в 10 раз, например, по сравнению со скоростью пролиферации, выживаемостью и/или функционированием дендритных клеток, макрофагов, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и/или микроглии у соответствующего субъекта, которого не лечили антителом к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения для оценки способности антител к TREM2 индуцировать или повышать выживаемость клеток *in vitro* макрофаги с дефицитом субъединицы гамма-цепи рецепторов FcγRI, FcγRIII и FcεRI (мыши Fcγr1KO, ссылка: Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch J. (1994). Cell, 76:519-529) культивируют в присутствии связанных с планшетом антител к TREM2, и жизнеспособность клеток определяют, когда клетки культивируют в субоптимальных условиях роста. В некоторых вариантах осуществления изобретения мышинные клетки-предшественники костного мозга от мышей Fcγr1 KO (Taconic, модель 584) получают путем промывания клеток большеберцового и бедренного мозга холодным ФСБ. В некоторых вариантах осуществления изобретения после одной промывки ФСБ эритроциты лизируют с использованием лизирующего буфера ACK (Lonza), дважды промывают ФСБ и суспендируют при  $0,5 \times 10^6$  клеток/мл в полной среде RPMI (10% FCS, Pen/Strep, Gln, neAA) с указанным количеством M-CSF (Peprotech) для получения макрофагов. В некоторых вариантах осуществления изобретения для анализа жизнеспособности клеток макрофагов, происходящих из костного мозга, клетки готовят, как указано выше, и высевают в количестве  $2,5 \times 10^4 / 200$   $\mu$ л в 96-луночном планшете с субоптимальными количествами M-CSF (10 нг/мл) в обработанных планшетах, не предназначенных для культивирования тканей, в течение двух дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки затем количественно определяют с использованием набора ToxGlo™ (Promega) и определяют люминесценцию как меру жизнеспособности клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения все

эксперименты проводят в присутствии или в отсутствие антител к TREM2 или контрольных изотипических антител.

#### *TREM2-зависимая экспрессия генов*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению могут повышать активность и/или экспрессию TREM2-зависимых генов, таких как один или несколько факторов транскрипции ядерного фактора семейства факторов транскрипции активированных Т-клеток (NFAT).

В некоторых вариантах осуществления изобретения способность растворимых полноразмерных антител к TREM2 активировать мышинные или человеческие TREM2-зависимые гены оценивают с использованием репортерного гена люциферазы под контролем промотора NFAT (ядерный фактор активированных Т-клеток). В некоторых вариантах осуществления изобретения клеточная линия BW5147.G.1.4 (ATCC® TIB48™), полученная из Т-лимфоцитов мышины лимфомы тимуса, инфицирована мышинными TREM2 и DAP12 и вирусом Signal Lenti NFAT-люцифераза (Qiagen). В некоторых вариантах осуществления изобретения альтернативно клеточная линия BW5147.G.1.4 инфицирована человеческим слитым белком TREM2/DAP12 и вирусом Signal Lenti NFAT-люцифераза (Qiagen). В некоторых вариантах осуществления изобретения в качестве положительного контроля для передачи сигнала вместе добавляют РМА (0,05 мкг/мл) и иономицин (0,25 мкМ). В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки инкубируют вместе с растворимыми антителами к TREM2 и контрольными изотипическими антителами в течение 6 часов и измеряют активность люциферазы путем добавления реагента OneGlo (Promega) в каждую лунку и инкубации в течение 3 минут при комнатной температуре на шейкере для планшетов. В некоторых вариантах осуществления изобретения сигнал люциферазы измеряют с помощью планшет-ридера BioTek. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки демонстрируют стимулирующую TREM2-зависимую передачу сигналов либо из-за присутствия эндогенного лиганда, либо из-за спонтанной агрегации рецепторов, что приводит к передаче сигналов TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения усиление одной или более активностей TREM2, индуцированное связыванием одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2, измеряют, например, с использованием клеточного анализа *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение одной или более активностей TREM2 можно измерить с помощью любого подходящего анализа на основе клеток *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области, например, с использованием репортерного анализа на основе люциферазы для измерения экспрессии генов, зависящих от TREM2, с использованием вестерн-блоттинга для измерения увеличения TREM2-индуцированного фосфорилирования расположенных далее партнеров передачи сигнала, таких как Syk, или с использованием проточной цитометрии, такой как сортировка клеток, активируемая флуоресценцией (FACS), для измерения изменений уровней маркеров активации TREM2

на клеточной поверхности. Любые клеточные анализы *in vitro* или подходящие модели *in vivo*, описанные в данном документе или известные в данной области, могут быть использованы для измерения взаимодействия (например, связывания) между TREM2 и одним или несколькими лигандами TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение одной или более активностей TREM2 измеряют с помощью анализа на основе клеток *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления изобретения для оценки способности антител к TREM2 повышать выживаемость клеток *in vitro* макрофаги с дефицитом субъединицы гамма-цепи рецепторов FcγRI, FcγRII и FcεRI (мыши FcγRIKO, *ссылка: Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch J. (1994). Cell, 76:519-529*) культивируют в присутствии связанных с планшетом антител к TREM2, и жизнеспособность клеток определяют, когда клетки культивируют в субоптимальных условиях роста. В некоторых вариантах осуществления изобретения мышинные клетки-предшественники костного мозга от мышей FcγRI KO (Taconic, модель 584) получают путем промывания клеток большеберцового и бедренного мозга холодным ФСБ. В некоторых вариантах осуществления изобретения после одной промывки ФСБ эритроциты лизируют с использованием лизирующего буфера АСК (Lonza), дважды промывают ФСБ и суспендируют при  $0,5 \times 10^6$  клеток/мл в полной среде RPMI (10% FCS, Pen/Strep, Gln, neAA) с указанным количеством M-CSF (Peprotech) для получения макрофагов. В некоторых вариантах осуществления изобретения для анализа жизнеспособности клеток макрофагов, происходящих из костного мозга, клетки готовят, как указано выше, и высевают в количестве  $2,5 \times 10^4/200$   $\mu$ л в 96-луночной планшете с субоптимальными количествами M-CSF (10 нг/мл) в обработанных планшетах, не предназначенных для культивирования тканей, в течение двух дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки затем количественно определяют с использованием набора ToxGlo™ (Promega) и определяют люминесценцию как меру жизнеспособности клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения все эксперименты проводят в присутствии или в отсутствие антител к TREM2 или контрольных изотипических антител.

В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение одной или более активностей TREM2 измеряют с помощью анализа на основе клеток *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления изобретения для оценки способности антител к TREM2 увеличивать количество иммунных клеток *in vivo* мышам C57Bl6 внутрибрюшинно (IP) инъецируют антитело к TREM2 или контрольное антитело мышинового изотипа IgG1, и количество иммунных клеток в головном мозге количественно оценивают с помощью FACS. В некоторых вариантах осуществления изобретения от трех до четырех мышей в группе получают внутрибрюшинную инъекцию 40 мг/кг антитела к TREM2 или изотипическое контрольное антитело mIgG1 (клон MOPC-21, Biocell). В некоторых вариантах осуществления изобретения через 48 часов весь головной мозг собирают, промывают ФСБ, инкубируют при 37°C в ФСБ, содержащем 1 мг/мл коллагеназы и обрабатывали через клеточный фильтр для получения суспензии отдельных клеток. В

некоторых вариантах осуществления изобретения клетки затем инкубируют с антителами к CD45-PerCP-Cy7, к CD11b-PerCP-Cy5.5, к Gr1-FITC и красителем жизнеспособности клеток (Life Technologies, № по каталогу L34957) в течение 30 минут на льду, затем дважды промывают холодным буфером FACS. В некоторых вариантах осуществления изобретения образцы, зафиксированные в 4% PFA, затем анализируют с помощью FACS. В некоторых вариантах осуществления изобретения данные получают на цитометре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson) и анализируют с помощью программного обеспечения FlowJo.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению усиливает одну или более активностей TREM2, индуцированных связыванием лиганда TREM2 с белком TREM2, если оно индуцирует увеличение в диапазоне от около 1,5 до около 6 раз или более 6 раз в лиганд-индуцированной TREM2-зависимой транскрипции гена, при использовании в концентрации от около 0,5 нМ до около 50 нМ или выше 50 нМ, и по сравнению с уровнем TREM2-зависимой транскрипции гена, индуцированной связыванием лиганда TREM2 к белку TREM2 в отсутствие антитела к TREM2, когда лиганд TREM2 используется при его концентрации  $EC_{50}$ . В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение индуцированной лигандом TREM2-зависимой транскрипции гена составляет по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 6 раз, по меньшей мере 7 раз, по меньшей мере 8 раз, по меньшей мере 9 раз, по меньшей мере 10 раз, по меньшей мере 11 раз, по меньшей мере 12 раз, по меньшей мере 13 раз, по меньшей мере 14 раз, по меньшей мере 15 раз, по меньшей мере 16 раз, по меньшей мере 17 раз, по меньшей мере 18 раз, по меньшей мере 19 раз, по меньшей мере 20 раз или более при использовании в концентрации от около 0,5 нМ до около 50 нМ или выше 50 нМ, и по сравнению с уровнем TREM2-зависимой генной транскрипции, индуцированной связыванием лиганда TREM2 с белком TREM2 в отсутствие антитела к TREM2, когда лиганд TREM2 используется при его концентрации  $EC_{50}$ .

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 используется в концентрации по меньшей мере 0,5 нМ, по меньшей мере 0,6 нМ, по меньшей мере 0,7 нМ, по меньшей мере 0,8 нМ, по меньшей мере 0,9 нМ, по меньшей мере 1 нМ, по меньшей мере 2 нМ, по меньшей мере 3 нМ, по меньшей мере 4 нМ, по меньшей мере 5 нМ, по меньшей мере 6 нМ, по меньшей мере 7 нМ, по меньшей мере 8 нМ, по меньшей мере 9 нМ, по меньшей мере 10 нМ, по меньшей мере 15 нМ, по меньшей мере 20 нМ, по меньшей мере 25 нМ, по меньшей мере 30 нМ, по меньшей мере 35 нМ, по меньшей мере 40 нМ, по меньшей мере 45 нМ, по меньшей мере 46 нМ, по меньшей мере 47 нМ, по меньшей мере 48 нМ, по меньшей мере 49 нМ или по меньшей мере 50 нМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд TREM2 представляет собой фосфатидилсерин (PS). В некоторых вариантах осуществления изобретения лиганд TREM2 представляет собой сфингомиелин (SM). В некоторых вариантах осуществления

изобретения увеличение еще одной активности TREM2 можно измерить с помощью любого подходящего анализа на основе клеток *in vitro* или подходящей модели *in vivo*, описанной в данном документе или известной в данной области. В некоторых вариантах осуществления изобретения репортерный анализ на основе люциферазы используется для измерения кратного увеличения индуцированной лигандом экспрессии TREM2-зависимого гена в присутствии и в отсутствие антитела, как описано, например, в WO2017/062672 и WO2019/028292.

В данном документе антитело к TREM2 по данному изобретению не конкурирует, не ингибирует или иным образом не блокирует взаимодействие (например, связывание) между одним или несколькими лигандами TREM2 и TREM2, если оно снижает связывание лиганда с TREM2 менее чем на 20% при насыщающих концентрациях антител с использованием любого анализа *in vitro* или анализа клеточной культуры, описанного в настоящем документе или известного в данной области. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению ингибируют взаимодействие (например, связывание) между одним или более лигандами TREM2 и TREM2 менее чем на 20%, менее чем на 19%, менее чем на 18%, менее чем на 17%, менее чем на 16%, менее чем на 15%, менее чем на 14%, менее чем на 13%, менее чем на 12%, менее чем на 11%, менее чем на 10%, менее чем на 9%, менее чем на 8%, менее чем на 7%, менее чем на 6%, менее чем на 5%, менее чем на 4%, менее чем на 3%, менее чем на 2% или менее чем на 1% при насыщающих концентрациях антител с использованием любого анализа *in vitro* или анализа клеточной культуры, описанного в данном документе или известного в данной области.

#### **Антитела к TREM2, снижающие растворимый TREM2**

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 снижает уровень растворимого TREM2 (sTREM2). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 снижает уровень sTREM2, который «выделяется» с клеточной поверхности во внеклеточный образец (например, выделение). В некоторых вариантах осуществления изобретения такое антитело связывается с участком TREM2 таким образом, что оно блокирует расщепление TREM2. В таких вариантах осуществления изобретения антитело связывается с участком, содержащим His157, сайт расщепления TREM2.

Степень ингибирования расщепления TREM2 антителом к TREM2 отрицательно коррелирует с количеством растворимого TREM2 (sTREM2) в присутствии антитела к TREM2 по сравнению с количеством sTREM2 в отсутствие антитела к TREM2. Например, антитело к TREM2 можно рассматривать как антитело к TREM2, которое ингибирует расщепление TREM2, если в присутствии указанного антитела к TREM2 количество sTREM2 составляет 0-90%, предпочтительно 0-80%, более предпочтительно 0-70%, еще более предпочтительно 0-60%, еще более предпочтительно 0-50% и еще более предпочтительно 0-20% от количества sTREM2 в отсутствие антитела к TREM2, как

определено, например, с помощью количественного определения sTREM2 на основе ELISA.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 снижает уровни sTREM2, если количество sTREM2 в обработанном образце снижается по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или более по сравнению с контрольным значением. В некоторых вариантах осуществления изобретения контрольное значение представляет собой количество sTREM2 в необработанном образце (например, супернатант из клеток, экспрессирующих TREM2, которые не подвергались обработке антителом к TREM2, или образец от субъекта, который не подвергался лечению антителом к TREM2) или образец, обработанный соответствующим антителом, не связывающимся с TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения выделение sTREM2 измеряют с использованием образца, который содержит жидкость, например кровь, плазму, сыворотку, мочу или спинномозговую жидкость. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец содержит спинномозговую жидкость. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец содержит супернатант клеточных культур (например, супернатант первичной клетки или клеточной линии, эндогенно экспрессирующей TREM2, такой как макрофаги человека, или первичной клетки или клеточной линии, которые были сконструированы для экспрессии TREM2).

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень sTREM2 в образце измеряют с помощью иммунологического анализа. Иммуноанализы известны в данной области и включают, но не ограничиваются ими, иммуноферментные анализы (ИФА), такие как иммуноферментный анализ (EMIA), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммуноферментный анализ на микрочастицах (MEIA), иммуногистохимию (ИНС), иммуноцитохимию, иммуноанализы методом капиллярного электрофореза (CEIA), радиоиммуноанализы (RIA), иммунофлуоресценцию, хемилюминесцентные иммуноанализы (CL) и электрохемилюминесцентные иммуноанализы (ECL). В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни sTREM2 измеряют с помощью анализа ELISA.

В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ ELISA можно использовать для количественного определения уровней sTREM2 в супернатантах клеточных культур. В некоторых вариантах осуществления изобретения ELISA для sTREM2 человека проводится с использованием устройства визуализации Meso Scale Discovery SECTOR 2400. В некоторых вариантах осуществления изобретения покрытые стрептавидином 96-луночные планшеты блокируют в течение ночи при 4°C в 0,5% бычьего сывороточного альбумина (БСА) и 0,05% Твин 20 в ФСБ (pH 7,4) (блокирующий буфер). В некоторых вариантах осуществления изобретения планшеты встряхивают в течение 1 часа при комнатной температуре с биотинилированным поликлональным

козьим захватывающим антителом к TREM2 человека (0,25 мг/мл; R&D Systems), разбавленным блокирующим буфером. В некоторых вариантах осуществления изобретения планшеты последовательно промывают четыре раза 0,05% Твин 20 в ФСБ (промывочный буфер) и инкубируют в течение 2 часов при комнатной температуре с образцами, разведенными 1:4 в 0,25% БСА и 0,05% Твин 20 в ФСБ (pH 7,4) (буфер для анализа) с добавлением ингибиторов протеазы (Sigma). В некоторых вариантах осуществления изобретения рекомбинантный человеческий белок TREM2 (Holzel Diagnostika) разводят в буфере для анализа в двукратном последовательном разведении и используют для стандартной кривой (диапазон концентраций от 4000 до 62,5 пг/мл). В некоторых вариантах осуществления изобретения планшеты промывают три раза в течение 5 минут промывочным буфером перед инкубацией в течение 1 часа при комнатной температуре с мышинным моноклональным антителом к TREM2 (1 мг/мл; Santa Cruz Biotechnology; B-3), разведенным блокирующим буфером. В некоторых вариантах осуществления изобретения после трех дополнительных стадий промывки планшеты инкубируют с вторичным антителом против антител мыши, меченным SULFO-TAG. (1:1000; Meso Scale Discovery) и инкубируют в течение 1 часа в темноте. В некоторых вариантах осуществления изобретения планшеты трижды промывают промывочным буфером с последующими двумя этапами промывки в ФСБ и проявляют путем добавления буфера для считывания Meso Scale Discovery Read. В некоторых вариантах осуществления изобретения излучение света при 620 нм после электрохимической стимуляции измеряют с помощью считывающего устройства Meso Scale Discovery SECTOR Imager 2400. В некоторых вариантах осуществления изобретения для количественного определения уровней секретлируемого sTREM2 кондиционированные среды из биологических повторов анализируют в двух повторениях. В некоторых вариантах осуществления стандартные кривые sTREM2 генерируют с использованием программного обеспечения MasterPlex ReaderFit (MiraiBio Group, Hitachi Solutions America) посредством пятипараметрической логистической аппроксимации. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни sTREM2 впоследствии нормализуют к уровням незрелого TREM2, что определяется количественно с помощью вестерн-блоттинга.

В некоторых вариантах осуществления изобретения sTREM2 может представлять собой неактивные варианты клеточных рецепторов TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения sTREM2 может присутствовать на периферии, например в плазме, или в головном мозге субъекта, и может изолировать антитела к TREM2. Такие изолированные антитела были бы неспособны связываться и активировать, например, клеточный рецептор TREM2, присутствующий в клетках. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению, такие как антитела-агонисты к TREM2 по данному изобретению, не связываются с растворимым TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению, такие как антитела-агонисты к TREM2 по данному изобретению,

не связываются с растворимым TREM2 in vivo. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к TREM2 по данному изобретению, которые не связываются с растворимым TREM2, могут связываться с эпитопом на TREM2, который, например, может включать часть внеклеточного домена клеточного TREM2, не содержащегося в sTREM2, для например, один или несколько аминокислотных остатков в пределах аминокислотных остатков 161-175; может находиться в трансмембранной части TREM2 или рядом с ней; или может включать трансмембранную часть TREM2.

#### **Антитела, которые влияют на кластеризацию TREM2**

In vivo антитела к TREM2 по данному изобретению могут активировать рецепторы с помощью множества потенциальных механизмов. В некоторых вариантах осуществления изобретения агонистические антитела к TREM2 по данному изобретению благодаря соответствующей эпитопной специфичности обладают способностью активировать TREM2 в растворе без необходимости кластеризации со вторичным антителом, связывания на планшетах или кластеризации через рецепторы Fcγ. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению имеют изотипы человеческих антител, такие как IgG2, которые благодаря своей уникальной структуре обладают присущей им способностью объединять рецепторы в кластеры или сохранять рецепторы в кластерной конфигурации, тем самым активируя рецепторы, такие как TREM2 без связывания с рецептором Fc (например, White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к TREM2 могут индуцировать или поддерживать кластеризацию на клеточной поверхности для активации TREM2 и передачи сигнала. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к TREM2 с соответствующей эпитопной специфичностью могут индуцировать или поддерживать кластеризацию TREM2 на клеточной поверхности и/или активировать TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к TREM2 связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 124-153 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков на белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 124-153 SEQ ID №: 1; в пределах аминокислотных остатков 129-153 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков в белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 129-153 SEQ ID №: 1; в пределах аминокислотных остатков 140-149 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков на белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 140-149 SEQ ID №: 1; в пределах аминокислотных остатков 149-157 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков в белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 149-157 SEQ ID №: 1; или в пределах аминокислотных остатков 153-162 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков белка TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 153-162 SEQ ID №: 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела-агонисты к TREM2 связываются с одним или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из D140, L141, W142, F143, P144, E151, D152, H154, E156 и H157 SEQ ID №: 1,

или один или более аминокислотных остатков в белке TREM2 млекопитающих, соответствующий аминокислотному остатку, выбранному из группы, состоящей из D140, L141, W142, F143, P144, E151, D152, H154, E156 и H157 SEQ ID №: 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению кластеризуют рецепторы (например, TREM2) путем связывания с рецепторами Fcγ на соседних клетках. Связывание константной части Fc антитела IgG с рецепторами Fcγ приводит к агрегации антител, а антитела, в свою очередь, агрегируют рецепторы, с которыми они связываются через свою вариабельную область (Chu et al (2008) Mol Immunol, 45:3926-3933; и Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113). Любой подходящий анализ, известный специалисту в данной области (например, описанный в WO2017/062672 и WO2019/028292) может использоваться для определения кластеризации антител.

Другие механизмы также могут быть использованы для кластеризации рецепторов (например, TREM2). Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения фрагменты антител (например, Fab-фрагменты), которые сшиты друг с другом, могут быть использованы для кластеризации рецепторов (например, TREM2) способом, подобным антителам с Fc-областями, которые связывают Fcγ-рецепторы, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения сшитые фрагменты антител (например, Fab-фрагменты) могут функционировать как антитела-агонисты, если они индуцируют кластеризацию рецепторов на клеточной поверхности и связывают соответствующий эпитоп на мишени (например, TREM2).

Антитело, зависящее от связывания с рецептором FcγR для активации рецепторов-мишеней, может потерять свою агонистическую активность, если сконструировано для устранения связывания FcγR (см., например, Wilson et al., (2011) Cancer Cell 19, 101-113; Armour et al., (2003) Immunology 40 (2003) 585-593; и White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148). В некоторых вариантах осуществления изобретения считается, что антитело к TREM2 по данному изобретению с соответствующей специфичностью к эпитопу может активировать TREM2, когда антитело имеет домен Fc.

Примеры изотипов и модификаций Fc антител представлены в **Таблице А** ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип Fc, указанный в **таблице А** ниже.

**Таблица А: Примеры изотипов Fc антител, которые способны связывать гамма-рецептор Fc**

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
IgG1	N297A
IgG1	D265A и N297A
IgG1	D270A
IgG1	L234A/L235A L234A и G237A L234A и L235A и G237A

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
IgG1	P238D и/или L328E и/или S267E/L328F и/или E233 и/или G237D и/или H268D и/или P271G и/или A330P
IgG1	P238D и L328E и E233D и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и L328E и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и S267E и L328F и E233D и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG1	P238D и S267E и L328F и G237D и H268D и P271G и A330R
IgG2	V234A и G237A
IgG4	L235A и G237A и E318A
IgG4	S228P и L236E
IgG2/4 гибридный	IgG2 а.о. от 118 до 260 и IgG4 а.о. от 261 до 447
	H268Q и V309L; и A330S и P331S
IgG1	C226S и C229S и E233P и L234V и L235A
IgG1	L234F и L235E и P331S
IgG2	C232S или C233S
IgG2	A330S и P331S
IgG1	S267E и L328F Только S267E
IgG2	S267E и L328F
IgG4	S267E и L328F
IgG2	HC ДТ с каппа (легкой цепью) LC C127S HC с каппа LC C214S каппа LC C214S каппа LC и C233S HC C214S каппа LC и C232S HC Любая из перечисленных выше мутаций вместе с мутациями A330S и P331S Фрагмент F(ab') <sub>2</sub> IgG1 дикого типа и любая из перечисленных выше мутаций
IgG1	Замените константную тяжелую 1 (CH1) и шарнирную область IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT

Изотип Fc	Мутация (схема нумерации EU)
	YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP (SEQ ID №: 42) С каппа LC
IgG1	Любая из вышеперечисленных мутаций вместе с A330L/A330S и/или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любая из перечисленных выше мутаций вместе с M252Y и/или C254T и/или T256E
IgG1 мыши	Для моделей болезней на мышах
IgG4	ДТ
IgG1	Любая из вышеперечисленных мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.
IgG2	Любая из вышеперечисленных мутаций вместе с E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, S440W и/или любой их комбинацией.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Антитела с изотипами IgG1 или IgG3 человека и их мутанты (например, Strohl (2009) *Current Opinion in Biotechnology* 2009, 20:685-691), которые связывают активирующие рецепторы Fcγ I, II, III, IV у человека и/или рецепторы Fcγ I, III и IV у мышей могут также действовать как антитела-агонисты *in vivo*, но могут быть связаны с эффектами, имеющими отношение к ADCC. Однако такие рецепторы Fcγ, по-видимому, менее доступны для связывания антител *in vivo* по сравнению с ингибирующим рецептором Fcγ FcγRIIB (см., например, White, et al., (2013) *Cancer Immunol. Immunother.* 62, 941-948; и Li et al., (2011) *Science* 333(6045):1030-1034.).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область тяжелой цепи представляет собой константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область IgG2 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело индуцирует одну или более активностей TREM2, активностей DAP12 или обе активности независимо от связывания с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связывается с ингибирующим рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIb (FcγIIb), который минимизирует или устраняет ADCC. В некоторых вариантах

осуществления изобретения область Fc содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или более аминокислотных замен выбраны из V234A (Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Cole et al. (1999) *Transplantation*, 68:563-571), H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour et al. (1999) *Eur J Immunol* 29: 2613-2624; Armour et al. (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27; Armour et al. (2000) *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27), C232S и/или C233S (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148), S267E, L328F (Chu et al., (2008) *Mol Immunol*, 45:3926-3933), M252Y, S254T и/или T256E, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG2 с константным доменом тяжелой цепи, который содержит аминокислотную замену C127S, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой цепи каппа, который содержит аминокислотную замену C214S, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al., (2010) *PROTEIN SCIENCE* 19:753-762; и WO2008079246).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит константную область IgG1 мыши. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область IgG1 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связывается с ингибирующим рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ). В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или более аминокислотных замен выбраны из N297A (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields et al. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591-6604), L234A, L235A (Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Alegre et al. (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al. (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-

1192), P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T и/или T256E, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает константный домен 1 (CH1) тяжелой цепи изотипа IgG2 и шарнирную область (White et al., (2015) Cancer Cell 27, 138-148). В некоторых вариантах осуществления изобретения CH1 изотипа IgG2 и шарнирная область содержат аминокислотную последовательность ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVKDKTVERKCCVECPCP (SEQ ID №: 42). В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc антитела содержит аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F или и то, и другое, и/или аминокислотную замену N297A или N297Q, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область IgG4 человека включает область Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связывается с ингибирующим рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ). В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит одну или более аминокислотных замен (например, относительно области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или более аминокислотных замен выбраны из L235A, G237A, S228P, L236E (Reddy et al., (2000) J Immunol, 164:1925-1933), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T и/или T256E, при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет смешанный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает аминокислотную последовательность, содержащую аминокислоты со 118 по 260 в соответствии с нумерацией EU IgG2 человека и аминокислоты 261-447 в соответствии с нумерацией EU IgG4 человека (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит константную область мышиного IgG4 (Bartholomaeus, et al. (2014). J. Immunol. 192, 2091-2098).

В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F; L235E или P331S согласно нумерации EU; и любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит одну или более аминокислотных замен в области Fc в положении остатка, выбранном из C127S,

L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации, при этом нумерация остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и A330S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и P331S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления изобретения область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y, при этом нумерация положений остатков соответствует нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело имеет изотип IgG1 человека и содержит аминокислотные замены в области Fc в положениях остатков P331S и E430G, при этом нумерация остатков соответствует нумерации EU. Область Fc, содержащая аминокислотные замены в положениях остатков P331S и E430G, может называться «PSEG».

#### *Дальнейшие мутации IgG*

В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более вариантов IgG1, описанных в данном документе, могут быть объединены с мутацией A330L (Lazar et al., (2006) Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010) или с одной или более из мутаций L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al., (2008) Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172), при этом положение аминокислот соответствует соглашению о нумерации EU, чтобы исключить активацию комплемента. В некоторых вариантах осуществления изобретения варианты IgG, описанные в данном документе, могут быть объединены с одной или более мутациями для увеличения периода полувыведения антитела в сыворотке

человека (например, мутации M252Y, S254T, T256E в соответствии с соглашением о нумерации EU) (Dall'Acqua et al., (2006) *J Biol Chem*, 281:23514-23524; и Strohl et al., (2009) *Current Opinion in Biotechnology*, 20:685-691).

В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант IgG4 по данному изобретению может быть объединен с мутацией S228P в соответствии с соглашением о нумерации EU (Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30:105-108) и/или с одной или более мутациями, описанными в Peters et al., (2012) *J Biol Chem*. 13;287(29):24525-33) для усиления стабилизации антител.

### **Иллюстративные антитела к TREM2**

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению связывается с TREM2 с высокой аффинностью, является агонистом и индуцирует или усиливает одну или более активностей TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 усиливает одну или более активностей TREM2, индуцированных связыванием одного или более лигандов TREM2 с белком TREM2, по сравнению с одной или несколькими активностями TREM2, индуцированными связыванием одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2 в отсутствие выделенного антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 усиливает одну или более активностей TREM2, не конкурируя или иным образом не блокируя связывание одного или нескольких лигандов TREM2 с белком TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело представляет собой гуманизованное антитело, биспецифичное антитело, мультивалентное антитело или химерное антитело. Примеры описаний таких антител можно найти в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген.

В некоторых вариантах осуществления антитела к TREM2 по данному изобретению связываются с человеческим TREM2 или его гомологом, включая, помимо прочего, белок TREM2 млекопитающего (например, отличного от человека млекопитающего), белок TREM2 мыши (каталожный номер Uniprot Q99NH8), белок TREM2 крысы (каталожный номер Uniprot D3ZZ89), белок TREM2 макаки-резуса (каталожный номер Uniprot F6QVF2), белок TREM2 яванского макака (каталожный номер NCBI XP\_015304909.1), белок TREM2 лошади (каталожный номер Uniprot F7D6L0), белок TREM2 свиньи (каталожный номер Uniprot H2EZZ3) и белок TREM2 собаки (каталожный номер Uniprot E2RP46). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению специфически связываются с TREM2 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению специфически связываются с TREM2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению специфически связываются как с TREM2 человека, так и с TREM2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному

изобретению индуцируют по меньшей мере одну активность TREM2 по данному изобретению.

*Области связывания антител к TREM2*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 124-153 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков в белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 124-153 SEQ ID №: 1; одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 129-153 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков в белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 129-153 SEQ ID №: 1; одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 140-149 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков на белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 140-149 SEQ ID №: 1; одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 149-157 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков в белке TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 149-157 SEQ ID №: 1; или одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 153-162 SEQ ID №: 1 или аминокислотных остатков белка TREM2, соответствующих аминокислотным остаткам 153-162 SEQ ID №: 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению связываются с одним или более аминокислотных остатков D140, L141, W142, F143, P144, E151, D152, H154, E156 и H157 SEQ ID №: 1 или одним или более аминокислотных остатков в белке TREM2 млекопитающих, соответствующих аминокислотному остатку, выбранному из группы, состоящей из D140, L141, W142, F143, P144, E151, D152, H154, E156 и H157 SEQ ID №: 1.

*Вариабельные области легкой цепи и тяжелой цепи антитела к TREM2*

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2, используемые в способах по данному изобретению, описаны в WO2019/028292, WO2018/015573, WO2018/195506 или WO2019/055841, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2, которые необходимо использовать в способах по данному изобретению, индуцируют или усиливают одну или более из следующих активностей TREM2: связывание TREM2 с DAP12; фосфорилирование DAP12; активацию киназы Syk; модуляцию одного или более провоспалительных медиаторов, выбранных из ИФН-β, ИЛ-1α, ИЛ-1β, ФНО-α, YM-1, ИЛ-6, ИЛ-8, CRP, CD86, MCP-1/CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCR2, CXCL-10, Gata3, Rorc, членов семейства ИЛ-20, ИЛ-33, LIF, ИФН-гамма, OSM, CNTF, GM-CSF, CSF-1, MHC-II, OPN, CD11c, GM-CSF, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18 и ИЛ-23, необязательно при этом модуляция происходит в одной или нескольких клетках, выбранных из макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, дендритных клеток, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера и клеток микроглии; рекрутинг Syk, ZAP70 или обоих в комплексе DAP12/TREM2; повышение активности одного или более TREM2-зависимых

генов, необязательно, когда один или более TREM2-зависимых генов содержат ядерный фактор факторов транскрипции активированных Т-клеток (NFAT); повышение выживаемости дендритных клеток, макрофагов, макрофагов M1, активированных макрофагов M1, макрофагов M2, моноцитов, остеокластов, клеток Лангерганса кожи, клеток Купфера, микроглии, микроглии M1, активированной микроглии M1 и микроглии M2 или любой их комбинации; модулирование экспрессии одной или более стимулирующих молекул, выбранных из CD83, CD86 MHC класса II, CD40 и любой их комбинации, необязательно, при этом CD40 экспрессируется на дендритных клетках, моноцитах, макрофагах или любой их комбинации, и необязательно, при этом дендритные клетки содержат дендритные клетки костного мозга; улучшение памяти; и уменьшение когнитивного дефицита. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению улучшают память и/или уменьшают когнитивный дефицит при введении индивиду.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен тяжелой цепи содержит один или несколько из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 34; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 35; и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 31; и/или при этом переменный домен легкой цепи содержит один или несколько из: (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 41; (b) HVR-L2, содержащей



89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 40; и (с) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% SEQ ID №: 32.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40) и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33) и HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранные из FR1 VH, FR2 VH, FR3 VH и FR4 VH, причем: FR1 VH содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 9-11, FR2 VH содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 12 и 13, FR3 VH содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 14 и 15, и FR4 VH содержит последовательность SEQ ID №: 16; и/или переменная область легкой цепи содержит одну, две, три или четыре каркасные области, выбранные из FR1 VL, FR2 VL, FR3 VL и FR4 VL, причем FR1 L содержит последовательность, выбранную из

группы, состоящей из SEQ ID №: 17 -20, FR2 VL содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 21 и 22, FR3 VL содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 23 и 24, и FR4 VL содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID №: 25 и 26.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AL2p-47 (обозначаемой в данном документе как «AT.2V») или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 28; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AT.2V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 29. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.2V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 28, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AT.2V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи

антитела AT.2V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 29, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AT.2V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.2V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 28 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.2V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 28. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.2V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 28. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VH антитела AT.2V или SEQ ID №: 28, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AT.2V, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AT.2V и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AT.2V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению содержит последовательность переменного домена легкой цепи (VL), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AT.2V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 29 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления

изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AT.2V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 29. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AT.2V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 29. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VL антитела AT.2V или SEQ ID №: 29, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AT.2V, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AT.2V и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AT.2V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 29.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела AL2p-58 (обозначаемой в данном документе как «AT.1V») или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 27; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела AT.1V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере

мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.1V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 27, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела AT.1V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела AT.1V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 30, причем переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела AT.1V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.1V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 27 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.1V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 27. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела AT.1V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 27. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VH антитела AT.1V или SEQ ID №: 27, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VH содержит один, два или три HVR, выбранных

из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела AT.1V, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела AT.1V и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела AT.1V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат последовательность варибельного домена легкой цепи (VL), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела AT.1V или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 30 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела AT.1V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела AT.1V или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 30. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VL антитела AT.1V или SEQ ID №: 30, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела AT.1V, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела AT.1V и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела AT.1V. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 27, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 30.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 43, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47; или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 44, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 45, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48; или тяжелую цепь,







меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 56; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 57. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 56, причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела 42E8.H1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 57, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела 42E8.H1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по

меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 56 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела 42E8.H1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 56. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела 42E8.H1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 56. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VH антитела 42E8.H1 или SEQ ID №: 56, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела 42E8.H1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела 42E8.H1 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела 42E8.H1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела 42E8.H1 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 57 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела 42E8.H1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 57. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела 42E8.H1 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 57. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в

областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VL антитела 42E8.H1 или SEQ ID №: 57, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела 42E8.H1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела 42E8.H1 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела 42E8.H1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 56, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 57.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 64; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 65. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 64, причем переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела RS9.F6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2

по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 65, причем вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела RS9.F6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 64 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела RS9.F6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 64. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела RS9.F6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 64. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VH антитела RS9.F6 или SEQ ID №: 64, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела RS9.F6, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела RS9.F6 и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела RS9.F6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 по данному изобретению содержит последовательность вариабельного домена легкой цепи (VL), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на

92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела RS9.F6 или аминокислотной последовательности SEQ ID №: 65 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела RS9.F6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 65. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности вариабельного домена легкой цепи антитела RS9.F6 или в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 65. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VL антитела RS9.F6 или SEQ ID №: 65, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления изобретения VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела RS9.F6, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела RS9.F6 и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела RS9.F6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 64, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 65.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности SEQ ID №: 72; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID

№: 73. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к TREM2 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности SEQ ID №: 72 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 72. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 72. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VH SEQ ID №: 72, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), идентичную по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% аминокислотной последовательности SEQ ID №: 73 и содержит замены (например, консервативные замены, вставки или делеции относительно эталонной последовательности), но антитело к TREM2, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 10 аминокислот в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 73. В некоторых вариантах осуществления изобретения было заменено, вставлено и/или удалено в общем от 1 до 5 аминокислот в аминокислотной последовательности SEQ ID №: 73. В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в областях FR). В некоторых вариантах осуществления изобретения замены, вставки или делеции происходят в областях FR. Антитело к TREM2 необязательно содержит последовательность VL SEQ ID №: 73, включающую посттрансляционные модификации этой последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 72,

и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 73.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 по данному изобретению представляет собой PSEG AL2p-58 huIgG1 (обозначаемый в данном документе как «АТ.1FM»). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело-агонист к TREM2 по данному изобретению представляет собой AL2p-47 huIgG1 (обозначаемый в данном документе как «АТ.2F»).

**Таблица В: Последовательности**

SEQ ID №	Последовательность	Описание
1	MEPLRLLILLFVTELSGAHNTTVFQGVAGQSLQVSC PYDSMKHWGRRKAWCRQLGEKGPCQRVVSTHNL WLLSFLRRWNGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDA GLYQCQSLHGSEADTLRKVLVEVLADPLDHRDAGD LWFPGESESFEDAHVHSISRSLLEGEIPFPPTSILLLL ACIFLIKILAASALWAAWHGQKPGTHPPSELDCGH DPGYQLQTLPLGRDT	Белок TREM2 человека
2	MGPLHQFLLLLITALSQALNTTVLQGMAGQSLRVSC TYDALKHWGRRKAWCRQLGEEGPCQRVVSTHGV WLLAFLKKRNGSTVIADDTLAGTVTITLKNLQAGD AGLYQCQSLRGREAEVLQKVLVEVLEDPLDDQDAG DLWVPEESSFEGAQVEHSTSRNQETSFPPTSILLLLA CVLLSKFLAASILWAVARGRQKPGTPVVRGLDCGQ DAGHLQILTGPGGT	Белок TREM2 мышь
3	MEPLHVFVLLLVTLSQALNTTVLQGVAGQSLRVSC TYDALRHWGRRKAWCRQLAEEGPCQRVVSTHGV WLLAFLRKQNGSTVITDDTLAGTVTITLRNLQAGDA GLYQCQSLRGREAEVLQKVVVEVLEDPLDDQDAGD LWVPEESESEFEGAQVEHSTSSQVSSCGSPLTYHLPPK EPIRKDLLPTHFHSSPPGLCPPEQASYSQHPLGCGQG QAEAGDTCGQWARL	Белок TREM2 крысы
4	MPDPLFSAVQGKDKILHKALCICPWPGKGGMEPLRL LILLFATELSGAHNTTVFQGVVEGQSLQVSCPYDSMK HWGRRKAWCRQLGEKGPCQRVVSTHNLWLLSFLR RRNGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDAGFYQCQS	Белок TREM2 макаки-резуса

	LHGSEADTLRKVLVEVLADPLDHRDAGDLWVPGES ESFEDAHVEHSISRSLLEGEIPFPPTSVLLLLACIFLIKI LAASALWAAAWHGQKPGTHPPSEPDCGHDPGHQL QTLPLGRDT	
5	MEPLRLLILLFATELSGAHNTTVFQGVQSLQVSCP YDSMKHWGRRKAWCRQLGEGKGPCQRVVSTHNLW LLSFLRRRNGSTAITDDTLGGTLTITLRNLQPHDAGF YQCQSLHGSEADTLRKVLVEVLADPLDHRDAGDL WVPGESESFEDAHVEHSISRSLLEGEIPFPPTSVLLLL ACIFLIKILAASALWAAAWHGQKPGTHPPSEPDCGH DPGHQLQTLPLGRDT	Белок TREM2 яванской макаки
6	MEPLPLLILLSVAELSRGHNTTVFQGTAGRSLKVSCP YNSLMHWGRRKAWCRQLGEDGPCQQVVSTHSLWL LSFLKRRNGSTVITDDALGGILTITLRNLQAHDAGFY QCQSLHGGEADTLRKVLVEVLADPLDHQEPGDLWI PKESESFEDAQVEHSISRSLVEEIEPSLPTSILLLLACIF LSKLLAASAIWAAAWHGQKQETPPASEPDRGHDPG YQLHTLTGERDT	Белок TREM2 лошади
7	METLGLLLLLWVAELSRAHNTSVFQGTAGQSLRVS CSYNLKHGRRKAWCRQLSEEGLCQHVVSTHPT WLLSFLKRRNGSTAITDDALGGTLTITLRNLQAHDA GLYQCQSLHGSEADTLKVLVEVLADPLESQKSFQ DVQMEHSISRNLSEESLFPPTSTLFLACVFLSKLLV ASALWAAAWHGKQRTSPAGGLDCGRDPGDQDQT LTDELGESSDQDQTLTELRT	Белок TREM2 свиньи
8	MEPLWLLILLA VTELSGAHNTTVFQGMAGRSLQVS CPYNLKHGRRKAWCRQVDKEGPCQRVVSTHRS WLLSFLKRWNGSTAI VDDALGGTLTITLRNLQAHD AGLYQCQSLYGDEADTLRKVLVEVLADPLDHLDPG DLWIPEESKGFEDAHVEPSVSRSLSEEEIPFPPTSILFL LACIFLSKFLAASALWAAAWRGQKLGTPQASELDC SCDPGYQLQTLTEPRDM	Белок TREM2 собаки
9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASG	FR1 VH

10	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG	FR1 VH
11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG	FR1 VH
12	WVRQAPGQGLEWMG	FR2 VH
13	WVRQAPGQRLEWIG	FR2 VH
14	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC	FR3 VH
15	RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYC	FR3 VH
16	WGQGTLVTVSS	FR4 VH
17	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISC	FR1 VL
18	GVVMTQTPLSLSVTPGQPASISC	FR1 VL
19	GVVMAQTPLSLSVTPGQPASISC	FR1 VL
20	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINC	FR1 VL
21	WYLQKPGQSPQLLIY	FR2 VL
22	WYQQKPGQSPKLLIY	FR2 VL
23	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC	FR3 VL
24	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	FR3 VL
25	FGQGTKLEIK	FR4 VL
26	FGGGTKVEIK	FR4 VL
27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFSSQWM NWVRQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVT ITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNQPG ESYAMDYWGQGTLVTVSS	AL2p-58 (AT.1V) - вариабельный домен тяжелой цепи
28	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSDWM NWVRQAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNKP GESYAMDYWGQGTLVTVSS	AL2p-47 (AT.2V) - вариабельный домен тяжелой цепи
29	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRTSQSLVHSNAYT YLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRVSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTK LEIK	AL2p-47 (AT.2V) - вариабельный домен легкой цепи

30	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNRYT YLHWYQQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTK LEIK	AL2p-58 (AT.1V) - вариабельный домен легкой цепи
31	ARLLRNQPGESYAMDY	AL2p-58 (AT.1V) - HVR-H3
32	SQSTRVPYT	AL2p-58 (AT.1V); AL2p-47 (AT.2V) - HVR-L3
33	KVSNRFS	AL2p-58 (AT.1V) - HVR-L2
34	YAFSSQWMN	AL2p-58 (AT.1V) - HVR-H1
35	RIYPPGGDTNYAGKFQG	AL2p-58 (AT.1V) - HVR-H2
36	YAFSSDWMN	AL2p-47 (AT.2V) - HVR-H1
37	RIYPPGEGDTNYARKFHG	AL2p-47 (AT.2V) - HVR-H2
38	ARLLRNKPGESYAMDY	AL2p-47 (AT.2V) - HVR-H3
39	RTSQSLVHSNAYTYLH	AL2p-47 (AT.2V) - HVR-L1
40	KVSNRVS	AL2p-47 (AT.2V) - HVR-L2
41	RSSQSLVHSNRYTYLH	AL2p-58 (AT.1V) - HVR-L1
42	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPP CP	Константный домен 1 тяжелой цепи изотипа IgG2 (CH1) и

		шарнирная область
43	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFSSQWM            NWVRQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVT            ITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNQPG            ESYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST            SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP            AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN            TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP            KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD            GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL            NGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYT            LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ            PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN            VFSCSVMHGALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>AL2p-58 huIgG1            PSEG (AT.1FM) -            тяжелая цепь</p>
44	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYAFSSQWM            NWVRQAPGQRLEWIGRIYPGGGDTNYAGKFQGRVT            ITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNQPG            ESYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST            SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP            AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN            TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP            KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD            GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL            NGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYT            LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ            PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN            VFSCSVMHGALHNHYTQKSLSLSPG</p>	<p>AL2p-58 huIgG1            PSEG (AT.1FM) -            тяжелая цепь</p>
45	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYAFSSDWM            NWVRQAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRV            TITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARLLRNKP            GESYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS            TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT            FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP</p>	<p>AL2p-47 huIgG1            (AT.2F) - тяжелая            цепь</p>

	<p>SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV  YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	
46	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYAFSSDWM  NWVRQAPGQGLEWMGRIYPGEGDTNYARKFHGRV  TITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARLLRNKP  GESYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS  TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT  FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP  SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV  YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	<p>AL2p-47 huIgG1  (AT.2F) - тяжелая  цепь</p>
47	<p>DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNRYT  YLHWYQQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS  GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTK  LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY  PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL  SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR  GEC</p>	<p>AL2p-58 huIgG1  PSEG (AT.1FM) -  легкая цепь</p>
48	<p>DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRTSQSLVHSNAYT  YLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRVSGVPDRFSGSGS  GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTRVPYTFGQGTK  LEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY  PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL  SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR</p>	<p>AL2p-47 huIgG1  (AT.2F) - легкая  цепь</p>

	GEC	
49	D/Ex0-2YxxL/IX6-8YxxL/I	Рецепторный мотив
50	GYSITSDYAWN	CDR-H1 42E8.H1
51	YINYSGRTIYNPSLKS	CDR-H2 42E8.H1
52	ARWNGNYGFAY	CDR-H3 42E8.H1
53	RSSQSLVHINGNTYLH	CDR-L1 42E8.H1
54	KVSNRFS	CDR-L2 42E8.H1
55	SQTTHALFT	CDR-L3 42E8.H1
56	DVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPGNKLEWMGYINYSGRTIYNPSLKS TSKNHFFLQLISVTTEDTATYYCARWNGNYGFAYW GQGTLTVSA	42E8.H1 Вариабельная область тяжелой цепи
57	DWMTQNPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHINGNTY LHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDLGVY FCSQTTHALFTFGSGTKLEIK	42E8.H1 Вариабельная область легкой цепи
58	GYTFTSY	CDR-H1 RS9.F6
59	IGRSDPTTGGTNYNE	CDR-H2 RS9.F6
60	VRTSGTGDY	CDR-H3 RS9.F6
61	RSSQSLVHNNGNTFLH	CDR-L1 RS9.F6
62	VSNRFS	CDR-L2 RS9.F6
63	SQTTHVPPT	CDR-L3 RS9.F6
64	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMH WVKQSPGRGLEWIGRSDPTTGGTNYNEKFKTKATL TVDKPSSTAYMQLSSLTSDDSAVYYCVRTSGTGDY WGQGTSLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGGTTGSSVT	RS9.F6 Вариабельная область тяжелой цепи
65	DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNNGNT FLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGS	RS9.F6 Вариабельная

	GTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQTTHVPPTFGGGTK LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCF	область легкой цепи
66	GFTFTDFY	Консенсус WO2018/015573 CDR-H1
67	IRNKANGYTT	Консенсус WO2018/015573 CDR-H2
68	ARIGINNGGLDYWG	Консенсус WO2018/015573 CDR-H3
69	QSLLYSENNQDY	Консенсус WO2018/015573 CDR-L1
70	GAS	Консенсус WO2018/015573 CDR-L2
71	EQTYSYPYT	Консенсус WO2018/015573 CDR-L3
72	EVKLLESGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKANGYTTEYNPSVKGRF TISRDNQNMPLYLQMNTLR*EDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMTVSS	Консенсус WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи Звездочка (*) в последовательност и может представлять собой любую аминокислоту.
73	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSENNQD	Консенсус

	YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
74	GFTFTDFY	14D3 WO2018/015573 CDR-H1
75	IRNKTKGYTT	14D3 WO2018/015573 CDR-H2
76	ARIGVNNGGSLDYWG	14D3 WO2018/015573 CDR-H3
77	QSLLYSENNQDY	14D3 WO2018/015573 CDR-L1
78	GAS	14D3 WO2018/015573 CDR-L2
79	EQTYSYPYT	14D3 WO2018/015573 CDR-L3
80	EVKLLEFGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGRAPEWLGLIRNKTKGYTTEYNRSVKGRF TISRDNQNMPLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGVNN GGSLDYWGQGVMTVSS	14D3 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
81	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCKSSQSLLYSENNQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	14D3 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи

82	GFTFTDFY	14D8 WO2018/015573 CDR-H1
83	IRNKANGYTT	14D8 WO2018/015573 CDR-H2
84	ARIGINNGGSLDYWG	14D8 WO2018/015573 CDR-H3
85	QSLLYSEKNQDY	14D8 WO2018/015573 CDR-L1
86	GAS	14D8 WO2018/015573 CDR-L2
87	EQTYSYPYT	14D8 WO2018/015573 CDR-L3
88	EVKLLSEGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKANGYTTVYNPSVKGRF TISRDNQNMPLYLQMNTLRGEDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMVTVSS	14D8 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
89	DILINQSPASLTVSTGEKVTMSCRSSQSLLYSEKNQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASYRHTGVPDRFTGSG SGTDFTLTISVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	14D8 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
90	GFTFTDFY	7A12 WO2018/015573 CDR-H1
91	IRNKANGYTT	7A12

		WO2018/015573 CDR-H2
92	ARIGINNGGSLDYWG	7A12 WO2018/015573 CDR-H3
93	QSLLYSEKNQDY	7A12 WO2018/015573 CDR-L1
94	GAS	7A12 WO2018/015573 CDR-L2
95	EQTYSYPYT	7A12 WO2018/015573 CDR-L3
96	EVKLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKANGYTTQYNPSVKGRF TISRDNQTNMLYLQMNTLRGEDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMVTVSS	7A12 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
97	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSEKNQD YLAWYQQKPGQSPKLLMYGASYRHTGVPDRFTGS GSGTDFTLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAG TKLELK	7A12 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
98	GFTFTDFY	8A11 WO2018/015573 CDR-H1
99	IRNKTKGYTT	8A11 WO2018/015573 CDR-H2
100	ARIGVNNGGSLDYWG	8A11 WO2018/015573

		CDR-H3
101	QSLLYSENNQDY	8A11 WO2018/015573 CDR-L1
102	GAS	8A11 WO2018/015573 CDR-L2
103	EQTYSYPYT	8A11 WO2018/015573 CDR-L3
104	EVKLLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKTKGYTTEYNTSVKGRF TISRDNTQNMLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGVNN GGSLDYWGQGVMVTVSS	8A11 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
105	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCKSSQSLLYSENNQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	8A11 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
106	GFTFTDFY	21A3 WO2018/015573 CDR-H1
107	IRNKANGYTT	21A3 WO2018/015573 CDR-H2
108	ARIGINNGGSLDYWG	21A3 WO2018/015573 CDR-H3
109	QSLLYSEKNQDY	21A3 WO2018/015573 CDR-L1

110	GAS	21A3 WO2018/015573 CDR-L2
111	EQTYSYPYT	21A3 WO2018/015573 CDR-L3
112	EVKLLLESGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKANGYTTQYNPSVKGRF TISRDNNTQNMLYLQMNTLRGEDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMVTVSS	21A3 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
113	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSEKNQD YLAWYQQKPGQSPKLLMYGASYRHTGVPDRFTGS GSGTDFTLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAG TKLELK	21A3 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
114	GFTFTDFY	10C3 WO2018/015573 CDR-H1
115	IRNKTKGYTT	10C3 WO2018/015573 CDR-H2
116	ARIGTNNGGSLDYWG	10C3 WO2018/015573 CDR-H3
117	QSLLYSENNQDY	10C3 WO2018/015573 CDR-L1
118	GAS	10C3 WO2018/015573 CDR-L2
119	EQTYSYPYT	10C3

		WO2018/015573 CDR-L3
120	EVKLLLESGGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGETPEWLGLIRNKTKGYTTEYNPSVKGRFT ISRDNTQNMLYLQMNSLRPEDTATYYCARIGTNGG GSLDYWGQGVMVTVSS	10C3 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
121	DILIIQSPASLTVSAGARVTMSCSSQSLLYSENNQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	10C3 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
122	GFTFTDFY	18F9 WO2018/015573 CDR-H1
123	IRNKVNGYRT	18F9 WO2018/015573 CDR-H2
124	ARIGINNGGSLDYWG	18F9 WO2018/015573 CDR-H3
125	QSLLYSENNQDY	18F9 WO2018/015573 CDR-L1
126	GAS	18F9 WO2018/015573 CDR-L2
127	EQTYSYPYT	18F9 WO2018/015573 CDR-L3
128	EVKLLLESGGGLVQPGGSMRLSCVVS GFTFTDFYMN WIRQAAGKAPEWLGLIRNKVNGYRTEYNPSVKGRF	18F9 WO2018/015573

	TISRDNIQNMLYLQMNTLRAEDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMVTVSS	Вариабельная область тяжелой цепи
129	DILINQSPASLTVSAGEKVTMSCKSSQSLLYSENNQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFLTITSSVQAEDLADYYCEQTYSYPYTFGAGT KLELK	18F9 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
130	GFTFTDFY	15C5 WO2018/015573 CDR-H1
131	IRNKAYGYTT	15C5 WO2018/015573 CDR-H2
132	ARIGINYGGSLDYWG	15C5 WO2018/015573 CDR-H3
133	QSLLYSESNQDY	15C5 WO2018/015573 CDR-L1
134	GAS	15C5 WO2018/015573 CDR-L2
135	EQTYSYPYT	15C5 WO2018/015573 CDR-L3
136	EVKLLESGGLVQPGGSMRLSCAASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKAYGYTTEYNPSVKGRF TISRDNQDMLYLQMNTLRAEDTATYYCARIGINYG GSLDYWGQGVMVTVSS	15C5 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
137	DILINQSPASLTVSAGEKVTVSCCKSSQSLLYSESNQD	15C5

	YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASYRHTGVPDRFTGSG SGTDFTLTISSVQAEDLAHYECEQTYSPYTFGAGT KLELK	WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи
138	GFTFTDFY	1G6 WO2018/015573 CDR-H1
139	IRNKANGFTT	1G6 WO2018/015573 CDR-H2
140	ARIGINNGGSLDYWG	1G6 WO2018/015573 CDR-H3
141	QSLLYSENKQDY	1G6 WO2018/015573 CDR-L1
142	GAS	1G6 WO2018/015573 CDR-L2
143	EQTYSPYPT	1G6 WO2018/015573 CDR-L3
144	EVKLLESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFTDFYMN WIRQPAGKAPEWLGLIRNKANGFTTEYNPSVKGRFT ISRDNQTHMLYLQMNTRLAEDTATYYCARIGINNG GSLDYWGQGVMTVSS	1G6 WO2018/015573 Вариабельная область тяжелой цепи
145	DILINQSPASLTVSTGEKVTMSCKSSQSLLYSENKQD YLAWYQQKPGQFPKLLIYGASNRHTGVPDRFTGSG SGTDFTLTINIVQAEDLADYYECEQTYSPYTFGAGT KLELK	1G6 WO2018/015573 Вариабельная область легкой цепи

Любое из антител по данному изобретению может продуцироваться клеточной линией. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеточная линия может представлять собой клеточную линию млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеточная линия может представлять собой клеточную линию гибридомы. В других вариантах осуществления изобретения клеточная линия может представлять собой линию клеток дрожжей. Любая клеточная линия, известная в данной области техники, пригодная для продукции антител, может быть использована для продукции антител по данному изобретению. Иллюстративные клеточные линии для продуцирования антител описаны по всему настоящему раскрытию.

#### *Фрагменты антител*

Некоторые аспекты данного изобретения относятся к фрагментам антител, которые связываются с одним или более TREM2 человека, встречающимся в природе вариантом TREM2 человека и аномальным вариантом TREM2 человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, F<sub>v</sub> или scF<sub>v</sub>.

#### *Каркасы антител*

Любое из описанных в данном документе антител дополнительно включает каркас. В некоторых вариантах осуществления изобретения каркас представляет собой каркас иммуноглобулина человека. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело (например, антитело к TREM2) содержит HVR как в вышеупомянутом варианте осуществления и дополнительно содержит человеческий акцепторный каркас, например, каркас человеческого иммуноглобулина или человеческий консенсусный каркас. Каркасные области иммуноглобулина человека могут быть частью антитела человека, или антитело нечеловеческого происхождения может быть гуманизировано путем замены одной или нескольких эндогенных каркасных областей каркасной областью(-ями) человека. Каркасные участки человека, которые могут быть использованы для гуманизации, включают, но не ограничиваясь этим, каркасные области, выбранные с использованием метода «наилучшего соответствия» (см., например, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); каркасные участки, происходящие из консенсусной последовательности человеческих антител из определенной подгруппы переменных областей легкой или тяжелой цепей (см., например, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); и Presta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)); зрелые человеческие каркасные участки (соматически мутированные) или каркасные участки человеческой зародышевой линии (см., например, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); и каркасные участки, полученные в результате скрининга библиотек FR (см., например, Vasa et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)).

#### *Подготовка антител*

Антитела к TREM2 по данному изобретению могут включать поликлональные антитела, моноклональные антитела, гуманизированные и химерные антитела,

человеческие антитела, фрагменты антител (например, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv и F(ab')<sub>2</sub>), биспецифические и полиспецифические антитела, мультивалентные антитела, антитела, полученные из библиотеки, антитела с модифицированными эффекторными функциями, слитые белки, содержащие часть антитела, и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая включает сайт распознавания антигена, такой как эпитоп, содержащий аминокислотные остатки белка TREM2 по данному изобретению, включая гликозилированные варианты антител, варианты аминокислотной последовательности антител и ковалентно модифицированные антитела. Антитела к TREM2 могут быть человеческими, мышиными, крысиными или любого другого происхождения (включая химерные или гуманизированные антитела).

*(1) Поликлональные антитела*

Как правило, уровень поликлональных антител, таких как поликлональные антитела к TREM2, повышается у животных в результате множества подкожных (п/к) или внутрибрюшинных (в/б) инъекций соответствующего антигена и адъюванта. Может быть полезным конъюгирование соответствующего антигена (например, очищенного или рекомбинантного белка TREM2 по данному изобретению) с белком, который является иммуногенным для видов, подлежащих иммунизации, например, гемоцианином фиссуреллы (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином или ингибитором трипсина соевых бобов с применением бифункционального или дериватирующего агента, например, малеимидобензоилсульфосукцинимидного эфира (конъюгирование через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимид (через остатки лизина), глутарового альдегида, янтарного ангидрида, SOCl<sub>2</sub> или R<sup>1</sup>N=C=NR, где R и R<sup>1</sup> независимо являются низшими алкильными группами. Примеры адъювантов, которые могут применяться, включают в себя полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфориллипид А, синтетический дикориномиколат трегалозы). Протокол иммунизации может быть выбран специалистом в данной области техники без излишних экспериментов.

Животных иммунизируют против желаемого антигена, иммуногенных конъюгатов или производных, комбинируя, например, 100 мкг (для кроликов) или 5 мкг (для мышей) белка или конъюгата с 3 объемами полного адъюванта Фрейнда и вводя раствор внутривенно в несколько мест. Через месяц животным вводят бустерную дозу, содержащую от 1/5 до 1/10 исходного количества пептида или конъюгата в полном адъюванте Фрейнда путем подкожной инъекции в несколько мест. Через семь-четырнадцать дней у животных берут кровь и анализируют сыворотку на титр антител. Животным вводят бустерную дозу до достижения фазы плато для титра антител. Конъюгаты также можно получить в культуре рекомбинантных клеток в виде слитых белков. Кроме того, для усиления иммунного ответа пригодны агрегирующие агенты, такие как алюмокалиевые квасцы.

*(2) Моноклональные антитела*

Моноклональные антитела, такие как моноклональные антитела к TREM2, получают из популяции по существу однородных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Таким образом, модификатор «моноклональное» указывает на то, что антитело не является смесью отдельных антител.

Например, моноклональные антитела к TREM2, которые предназначены для применения в соответствии с данным изобретением, могут быть получены с помощью гибридомного способа, впервые описанного Köhler et al., *Nature*, 256:495 (1975), или могут быть получены с помощью способов рекомбинантной ДНК (патент США № 4816567).

При осуществлении гибридомного метода, мышь или другое подходящее животное-хозяин, например хомяк, иммунизируют, как описано выше, для выделения лимфоцитов, продуцирующих или способных продуцировать антитела, которые будут специфически связывать белок, применяемый для иммунизации (например, очищенный или рекомбинантный белок TREM2 по данному изобретению). В альтернативном варианте лимфоциты также могут быть иммунизированы *in vitro*. Затем лимфоциты соединяют с бессмертной клеточной линией, такой как клетки миеломы, с применением пригодного агента слияния, такого как полиэтиленгликоль, с целью образования гибридомной клетки (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)).

Культуральную среду, в которой культивируют клетки гибридомы, можно проанализировать на наличие моноклональных антител, направленных против желаемого антигена (например, белка TREM2 по данному изобретению), например, как определено с помощью иммунопреципитации или анализа связывания *in vitro*, например радиоиммуноанализа (RIA) или твердофазного анализа (ELISA). Такие методы и анализы хорошо известны в данной области техники.

После идентификации гибридных клеток, которые продуцируют антитела с желаемой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны могут быть субклонированы, а моноклональные антитела, секретируемые субклонами, могут быть отделены от культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки с помощью обычных процедур очистки иммуноглобулинов, таких как, например, хроматография с белком А-сефарозой, хроматография с гидроксилатапатами, гель-электрофорез, диализ, аффинная хроматография и другие способы, как описано выше.

Моноклональные антитела к TREM2 также можно получить с помощью методов рекомбинантной ДНК, например, как описано выше. ДНК, кодирующую моноклональные антитела, можно легко выделить и секвенировать с помощью традиционных способов (например, с применением олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи антител мыши). Гибридные клетки служат предпочтительным источником такой ДНК. После

выделения ДНК можно поместить в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки COS обезьян, клетки яичника китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые не производят белок иммуноглобулина иным способом, для синтеза моноклональных антител в таких рекомбинантных клетках-хозяевах. Обзорные статьи о рекомбинантной экспрессии в бактериях ДНК, кодирующих антитело, включают Skerra et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 5:256-262 (1993) и Plückthun, *Immunol. Rev.* 130:151-188 (1992).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к TREM2 можно выделить из фаговых библиотек антител, сгенерированных с помощью способов, описанных в публикации McCafferty et al., *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) и Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) описали выделение мышиных и человеческих антител, соответственно, из фаговых библиотек. В последующих публикациях описывается получение высокоаффинных (наномолярный диапазон («нМ»)) человеческих антител путем перетасовки цепей (Marks et al., *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)), а также комбинаторное инфицирование и рекомбинация *in vivo* в качестве стратегии создания очень больших фаговых библиотек (Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993)).

ДНК, кодирующую антитела или их фрагменты, также можно модифицировать, например, путем замены кодирующей последовательности константных доменов тяжелой и легкой цепи человека на гомологичные мышиные последовательности (патент США № 4816567; Morrison, et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), или путем ковалентного присоединения к кодирующей иммуноглобулин последовательности всей или части кодирующей последовательности неиммуноглобулинового полипептида. Как правило, такие неиммуноглобулиновые полипептиды являются замещенными в константных доменах антитела или являются замещенными в переменных доменах одного антигенсвязывающего участка антитела с целью создания химерного двухвалентного антитела, содержащего один антигенсвязывающий участок, имеющий специфичность к антигену, и другой антигенсвязывающий участок, имеющий специфичность к другому антигену.

### (3) Гуманизированные антитела

Антитела к TREM2 по данному изобретению или фрагменты антител могут дополнительно включать гуманизированные или человеческие антитела. Гуманизированные формы нечеловеческих (например, мышиных) антител представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулина или их фрагменты (такие как Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub> или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела включают человеческие иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из области, определяющей комплементарность, (CDR) реципиента заменяются остатками из CDR видов, отличных от человека (донорское антитело), таких как мышь, крыса или кролик,

имеющих желаемую специфичность, аффинность и функциональную возможность. В некоторых случаях остатки каркасной области Fv человеческого иммуноглобулина заменяются соответствующими нечеловеческими остатками. Гуманизированные антитела могут также включать остатки, которые не присутствуют ни в антителе реципиента, ни во встроенной CDR или последовательностях каркасных участков. В общем, гуманизированное антитело будет содержать практически все из по меньшей мере одного, а как правило, двух, переменных доменов, в которых все или практически все области CDR соответствуют таковым в нечеловеческом иммуноглобулине, и все или практически все области FR являются такими, как консенсусная последовательность иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело, необязательно, также содержит по меньшей мере участок константной области иммуноглобулина (Fc), как правило человеческого иммуноглобулина. Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-329 (1988) и Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2: 593-596 (1992).

В данной области техники известно несколько способов для гуманизации нечеловеческих антител к TREM2. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более аминокислотных остатков, введенных из источника, не являющегося человеком. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называют «импортированными» остатками, которые обычно берут из «импортируемого» переменного домена. Гуманизация в основном может быть выполнена по методу Winter and co-workers, Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534-1536 (1988), или путем замены CDR грызунов или последовательностей CDR на соответствующие последовательности человеческого антитела. Следовательно, такие «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), при этом значительно меньше, чем интактного человеческого переменного домена было замещено соответствующей последовательностью из видов, отличных от человека. На практике гуманизированные антитела, как правило, являются человеческими антителами, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR замещаются остатками из аналогичных областей в антителах грызунов.

Выбор человеческих переменных доменов, как легких, так и тяжелых, для использования при получении гуманизированных антител может влиять на иммуногенность. В соответствии с так называемым методом «наилучшего соответствия» последовательность переменного домена антитела грызунов подвергают скринингу на фоне всей библиотеки известных последовательностей переменных доменов человека. Человеческая последовательность, наиболее близкая к последовательности грызуна, затем принимается в качестве человеческого каркаса (FR) для гуманизированного антитела. Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987). В другом методе используется конкретная основа, полученная из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Один и тот же каркас можно использовать для нескольких различных

гуманизированных антител. Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993).

Гуманизированные антитела предпочтительно сохраняют высокую аффинность к антигену и другим благоприятным биологическим свойствам. Для достижения этой цели в соответствии с предпочтительным способом гуманизированные антитела получают путем анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с применением трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов общеизвестны и привычны специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей тестируемых иммуноглобулинов. Проверка этих изображений позволяет анализировать вероятную роль остатков в функционировании последовательности тестируемого иммуноглобулина, т.е. анализировать остатки, которые влияют на способность тестируемого иммуноглобулина связывать его антиген. Таким образом, остатки FR могут быть выбраны и объединены из реципиентной и импортируемой последовательности, так что достигается желательная характеристика антитела, такая как повышенная аффинность к целевому антигену или антигенам (например, белки TREM2 по данному изобретению). Как правило, остатки CDR непосредственно и наиболее существенно влияют на связывание антигена.

Рассматриваются различные формы гуманизированного антитела к TREM2. Например, гуманизированное антитело к TREM2 может представлять собой фрагмент антитела, такой как Fab, или интактное антитело, такое как интактное антитело IgG1.

#### (4) Фрагменты антител

В некоторых вариантах осуществления изобретения преимущества использования фрагментов антител к TREM2 выше, чем целых антител к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагменты меньшего размера обеспечивают быстрое выведение и лучшее проникновение в головной мозг.

Для получения фрагментов антител были разработаны различные способы. Традиционно эти фрагменты получали путем протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto et al., *J. Biochem. Biophys. Method.* 24:107-117 (1992); и Brennan et al., *Science* 229:81 (1985)). Однако теперь эти фрагменты могут быть получены непосредственно рекомбинантными клетками-хозяевами, например, с использованием нуклеиновых кислот, кодирующих антитела к TREM2 по данному изобретению. Все фрагменты антител Fab, Fv и scFv можно экспрессировать и секретировать из *E. coli*, таким образом обеспечивая легкое производство больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител к TREM2 могут быть также выделены из фаговых библиотек антител, как описано выше. Альтернативно, фрагменты Fab'-SH могут быть получены непосредственно из *E. coli* и химически сочетаться с образованием фрагментов F(ab')<sub>2</sub> (Carter et al., *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом, фрагменты F(ab')<sub>2</sub> могут быть выделены непосредственно из культуры рекомбинантных

клеток хозяев. Получение фрагментов антител Fab и F(ab')<sub>2</sub> с увеличенным временем полувыведения *in vivo* описано в патенте США № 5869046. В других вариантах осуществления изобретения выбранное антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). См. WO 93/16185; патент США № 5571894 и патент США № 5587458. Фрагмент антитела к TREM2 также может представлять собой «линейное антитело», например, как описано в патенте США 5641870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

*(5) Биспецифические и полиспецифические антитела*

Биспецифические антитела (BsAbs) представляют собой антитела, обладающие специфичностью связывания по меньшей мере к двум различным эпитопам, в том числе эпитопам того же или другого белка (например, одного или нескольких белков TREM2 по данному изобретению). Альтернативно, одна часть BsAb может быть оснащена для связывания с целевым антигеном TREM2, а другая часть может быть объединена с плечом, которое связывается со вторым белком. Такие антитела могут быть получены из полноразмерных антител или фрагментов антител (например, биспецифические антитела F(ab')<sub>2</sub>).

*(6) Разработка эффекторных функций*

Также может быть желательно модифицировать антитело к TREM2 по данному изобретению для модификации эффекторной функции и/или для увеличения периода полувыведения антител из сыворотки. Например, сайт связывания рецептора Fc в константной области может быть модифицирован или мутирован для удаления или снижения аффинности связывания с определенными рецепторами Fc, такими как FcγRI, FcγRII и/или FcγRIII для снижения антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффекторная функция нарушается путем удаления N-гликозилирования области Fc (например, в домене CH 2 IgG) антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффекторная функция нарушается модифицирующими областями, такими как 233-236, 297 и/или 327-331 IgG человека, как описано в PCT WO 99/58572 и Armour et al., *Molecular Immunology* 40: 585-593 (2003); Reddy et al., *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000). В других вариантах осуществления изобретения также может быть желательно модифицировать антитело к TREM2 по данному изобретению, чтобы изменить эффекторную функцию, чтобы повысить селективность обнаружения в отношении ИТМ-содержащего FcγRIIb (CD32b) для увеличения кластеризации антител к TREM2 на соседних клетках без активации гуморальных ответов, включая антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность и антителозависимый клеточный фагоцитоз.

Для того чтобы увеличить время полувыведения антитела из сыворотки, в антитело (особенно фрагмент антитела) можно включить эпитоп, связывающий рецептор спасения, как описано, например, в патенте США 5739277. Используемый в данном документе термин «*эпитоп, связывающий рецептор спасения*» относится к эпитопу Fc-области

молекулы IgG (например, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> или IgG<sub>4</sub>), который отвечает за повышение периода полувыведения *in vivo* молекулы IgG из сыворотки.

*(7) Другие модификации аминокислотной последовательности*

Также рассматриваются модификации аминокислотной последовательности антител к TREM2 по данному изобретению или фрагментов антител. Например, может быть желательным улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антител или фрагментов антител. Варианты аминокислотных последовательностей антител или фрагментов антител получают, внося соответствующие нуклеотидные изменения в нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации содержат, например, делеции и/или вставки в и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Для получения конечной конструкции осуществляют любую комбинацию из делеции, вставки и замены, при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками (т.е. способностью связывать или физически взаимодействовать с белком TREM2 по данному изобретению). Аминокислотные замены также могут менять посттрансляционные процессы антитела, такие как изменение числа или позиции сайтов гликозилирования.

Полезный способ идентификации определенных остатков или областей антитела к TREM2, которые являются предпочтительными участками для мутагенеза, называется «аланин-сканирующим мутагенезом», как описано в Cunningham and Wells, *Science*, 244:1081-1085 (1989). В данном случае определяют остаток или группу целевых остатков (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и замещают нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином) для воздействия на взаимодействие аминокислот с целевым антигеном. Затем те аминокислотные участки, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, корректируют, внося дополнительные или другие варианты в участках замен или для них. Таким образом, хотя участок для внесения вариации в аминокислотную последовательность предопределен, природа мутации *per se* не должна быть предопределенной. Например, чтобы проанализировать характеристики мутации в данном участке, можно провести аланин-сканирующий или случайный мутагенез в целевом кодоне или участке и провести скрининг экспрессируемых вариантов антител в отношении необходимой активности.

Вставки в аминокислотную последовательность включают amino- («N») и/или карбокси- («C») концевые гибриды длиной от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки одного или более аминокислотных остатков внутри последовательности. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионина или антитело, слитое с цитотоксическим полипептидом. Другие вставочные варианты молекулы антитела включают слияние с N- или C-концом антитела фермента или полипептида, что увеличивает период полувыведения антитела из сыворотки крови.

Другой тип варианта представляет собой вариант замены аминокислоты. Эти варианты имеют по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела, который заменен на другой остаток. Сайты, представляющие наибольший интерес для мутагенеза с применением замещений, включают гипервариабельные области, но также предполагают изменения FR. Консервативные замены приведены в **Таблице С** под заглавием «предпочтительные замены». Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то можно вносить более существенные изменения, обозначенные в **Таблице С** как « типовые замены » или дополнительно описанные ниже с привязкой к классам аминокислот, а продукты исследовать.

**Таблица С: Аминокислотные замены**

<b>Исходный остаток</b>	<b>Типовые замены</b>	<b>Предпочтительные замены</b>
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; норлейцин	leu
Leu (L)	норлейцин; 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; норлейцин	leu

Существенные модификации биологических свойств антитела осуществляются путем выбора замен, которые существенно различаются по их влиянию на поддержание (а) структуры полипептидного остова в области замещения, например, в виде складчатого слоя или спиральной конформации, (б) заряда или гидрофобности молекулы в целевом

сайте или (с) объема боковой цепи. Встречающиеся в природе остатки делятся на группы на основании общих свойств боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr;
- (3) кислые: asp, glu;
- (4) основные: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: gly, pro; и
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены включают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса.

Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании правильной конформации антитела, также можно заменить, обычно серином, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения неправильного перекрестного связывания. И наоборот, цистеиновая связь(и) может быть добавлена к антителу для улучшения его стабильности (в частности, когда антитело является фрагментом антитела, таким как фрагмент Fv).

Особенно предпочтительный тип варианта с заменой включает замену одного или более остатков гипервариабельного участка исходного антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела к TREM2). В общем случае полученный в результате вариант(-ы), отобранные для дополнительной разработки, должны иметь улучшенные биологические свойства относительно родительского антитела, из которого они получены. Удобный путь создания таких заместительных вариантов включает созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, осуществляют мутирование нескольких участков гипервариабельной области (например, 6-7 участков) для создания всех возможных аминокислотных замен в каждом участке. Созданные таким образом варианты антител отображаются моновалентным образом из частиц нитевидного фага в виде слияния с продуктом гена III M13, упакованных в каждой частице. Затем проводят скрининг отображенных фагом вариантов в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания), как раскрыто в данном документе. Для того чтобы определить тестируемые участки гипервариабельной области для проведения модификации, можно проводить аланин-сканирующий мутагенез для определения остатков гипервариабельной области, которые вносят существенный вклад в связывание антигена. Альтернативно или дополнительно, может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между антителом и антигеном (например, белком TREM2 по данному изобретению). Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами для проведения замен в соответствии с применяемыми в данном документе методиками. После создания таких вариантов набор вариантов подвергают описанному в данном документе скринингу, а антитела с превосходящими свойствами в одном или более релевантном анализе отбирают для дополнительной разработки. Созревание аффинности также можно

проводить с использованием технологии презентации дрожжей, такой как описанная, например, в WO2009/036379A2; WO2010105256; WO2012009568; и Xu et al., Protein Eng. Des. Sel., 26(10): 663-70 (2013).

Другой тип аминокислотного варианта антитела изменяет исходный паттерн гликозилирования антитела. Под изменением понимают удаление одной или нескольких углеводных частей, обнаруженных в антителе, и/или добавление одного или нескольких сайтов гликозилирования, отсутствующих в антителе.

Гликозилирование антител обычно является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикаминокислоте, чаще всего к серину или треонину, хотя также можно применять 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

Добавление сайтов гликозилирования к антителу обычно осуществляют путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или более описанных выше трипептидных последовательностей (для N-связанных сайтов гликозилирования). Изменение может также быть сделано добавлением, или замещением, одного или более остатков серина или треонина в последовательность исходного антитела (для O-связанных сайтов гликозилирования).

#### *(8) Другие модификации антител*

Антитела к TREM2 по данному изобретению или фрагменты антител могут быть дополнительно модифицированы, чтобы они содержали дополнительные небелковые фрагменты, которые известны в данной области и легко доступны, или чтобы они содержали различные типы конъюгатов с лекарственными средствами, которые известны в данной области и легко доступны. Фрагменты, пригодные для дериватизации антитела, предпочтительно представляют собой водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, но не ограничиваясь ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (либо гомополимеры, либо статистические сополимеры), декстран или поли(*n*-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры полипропиленгликоля, сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Преимуществом пропионового альдегида полиэтиленгликоля в производстве является его стабильность в воде. Полимер

может иметь любой молекулярный вес и может быть разветвленным или неразветвленным. Число полимеров, присоединенных к антителу, может изменяться, и, в случае присоединения более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. Как правило, число и/или тип полимеров, применяемых для дериватизации, можно определить с учетом факторов, включающих, но не ограничиваясь ими, конкретные свойства или функции антитела, подлежащие улучшению, независимо от того, будет ли производное антитела применяться в терапии при определенных условиях, и т. д. Такие способы и другие подходящие составы описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000).

Конъюгация лекарственных средств включает соединение биологически активной цитотоксической (противораковой) полезной нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевой маркер (например, белок, который в идеале должен быть обнаружен только в опухолевых клетках или на них). Антитела отслеживают эти белки в организме и прикрепляются к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и белком-мишенью (антигеном) запускает сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализует антитело вместе с цитотоксином. После интернализации ADC цитотоксическое лекарственное средство высвобождается и уничтожает рак. Благодаря такому нацеливанию в идеале лекарственное средство имеет меньше побочных эффектов и дает более широкотерапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические средства. Способы конъюгирования антител описаны и известны в данной области техники (см., например, Jane de Lartigue, OncLive July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; и Ducry et al., (2010). Bioconjugate Chemistry 21 (1): 5-13).

#### *(9) Анализы связывания и другие анализы*

Антитела к TREM2 согласно данному изобретению можно протестировать относительно антигенсвязывающей активности, например, с помощью известных способов, таких как ELISA, вестерн-блоттинг и т.д.

Подробные иллюстративные способы картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Тотова, Нью-Джерси).

#### **Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева**

Антитела к TREM2 по данному изобретению могут быть получены с применением рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах осуществления изобретения представлены выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из антител в TREM2 по данному изобретению. Такая нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела к TREM2 (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В дополнительном варианте осуществления

изобретения предложены один или более векторов (например, экспрессионные векторы), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин является эукариотической, например, клетка яичника китайского хомяка (CHO) или лимфоидная клетка (например, клетка Y0, NS0, Sp20). Клетки-хозяева по данному изобретению также включают, без ограничения, изолированные клетки, клетки, культивируемые *in vitro*, и клетки, культивируемые *ex vivo*.

Предложены способы получения антитела к TREM2 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает культивирование клетки-хозяина по данному изобретению, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к TREM2, в условиях, подходящих для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело впоследствии выделяют из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

Для рекомбинантного получения антитела к TREM2 по данному изобретению нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к TREM2 выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделить и секвенировать с помощью общепринятых методик (например, с применением олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

Подходящие векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител к TREM2 по данному изобретению или фрагменты их полипептидов (включая антитела), описанные в данном документе, включают, без ограничения, клонирующие векторы и экспрессионные векторы. Пригодные клонирующие векторы могут быть построены в соответствии со стандартными методиками или могут быть выбраны из большого числа клонирующих векторов, известных в данной области. Хотя выбранный клонирующий вектор может варьироваться в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для применения, полезные клонирующие векторы, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут обладать одной мишенью для конкретной эндонуклеазы рестрикции и/или могут нести гены для маркера, который может применяться при отборе клонов, содержащих вектор. Подходящие примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9,

ColE1, pCR1, RP4, ДНК фагов и «челночные» векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие клонирующие векторы доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Strategene и Invitrogen.

Экспрессионные векторы обычно являются реплицируемыми полинуклеотидными конструкциями, которые содержат полинуклеотид в соответствии с данным изобретением. Экспрессионный вектор может реплицироваться в клетках-хозяевах либо в виде эписом, либо как интегральная часть хромосомной ДНК. Подходящие экспрессионные векторы включают, но не ограничиваясь ими, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космиды и экспрессионный вектор(ы), описанные в публикации РСТ № WO 87/04462. Компоненты вектора, как правило, включают в себя, но не ограничиваясь ими, один или более из следующих элементов: сигнальную последовательность; точку начала репликации; один или более маркерных генов; подходящие элементы контроля транскрипции (такие как промоторы, энхансеры и терминаторы). Для экспрессии (т.е. трансляции) обычно требуются один или более контролирующих транскрипцию элементов, таких как сайты связывания рибосомы, сайты инициации трансляции или стоп-кодона.

Векторы, содержащие представляющие интерес полинуклеотиды, могут быть введены в клетку-хозяина любым из ряда подходящих средств, включая электропорацию, трансфекцию с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; баллистическую трансфекцию; липофекцию; и инфекцию (например, где вектор является инфекционным агентом, таким как вирус коровьей оспы). Выбор вводимых векторов или полинуклеотидов часто зависит от особенностей клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или несколько аминокислотных последовательностей, кодирующих антитело к TREM2 по данному изобретению.

Клетки-хозяева, пригодные для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела к TREM2 по данному изобретению можно получать в бактериях, в особенности, если гликозилирование и эффекторная функция Fc не являются необходимыми. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (например, патенты США № 5648237, 5789199 и 5840523; и Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, описывающие экспрессию фрагментов антител в *E. coli*.). После экспрессии антитело можно перевести из массы бактериальных клеток в растворимую фракцию, после чего дополнительно очистить.

В дополнение к прокариотам, пригодными хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, являются эукариотические микроорганизмы, например, мицелиальные грибы или дрожжи, в том числе штаммы грибов и дрожжей с «гуманизированными» путями гликозилирования, которые позволяют получать антитело

с частично или полностью человеческой моделью гликозилирования (например, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); и Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

Кроме того, в качестве хозяев можно применять клетки позвоночных. Например, можно применять клеточные линии млекопитающих, адаптированные для роста в суспензии. Другими примерами подходящих линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия CV1 почки обезьяны, трансформированная SV40 (COS-7); линия почек эмбриона человека (клетки 293 или 293, как описано, например, в Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почек детенышей хомячка (ВНК); мышинные клетки Сертоли (клетки ТМ4, как описано, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой марышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы-буйвола (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, как описано, например, в Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие пригодные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и линии клеток миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Обзор некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, пригодных для продукции антител, см., например, в Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

#### **Фармацевтические композиции**

В данном документе представлены фармацевтические композиции и/или фармацевтические составы, содержащие антитела к TREM2 по данному изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемый носитель предпочтительно нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях. Описанные в данном документе антитела могут быть включены в состав препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах. Примеры таких составов включают, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, ингалянты, гели, микросферы и аэрозоли. Фармацевтически приемлемые носители могут включать, в зависимости от желаемого состава, фармацевтически приемлемые, нетоксичные носители разбавителей, которые являются носителями, обычно используемыми для составления фармацевтических композиций для введения животным или людям. В определенных вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция может содержать материалы для составов для модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проницаемости композиции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пригодные фармацевтически приемлемые носители включают, но не ограничиваясь ими, аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин); противомикробные агенты; антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как борат, гидрокарбонат, трис-НСI, цитраты, фосфаты, другие органические кислоты); объемообразующие агенты (такие как маннит или глицин); хелатирующие агенты (такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТК)); комплексообразователи (такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин); наполнители; моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); красители, ароматизаторы и разбавители; эмульгаторы; гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); полипептиды с низкой молекулярной массой; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты (такие как хлорид бензалкония, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенэтиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода); растворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахарные спирты (такие как маннит или сорбит); суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты (такие как плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат 80, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал); стабилизирующие агенты (такие как сахароза или сорбит); агенты для повышения тоничности (такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, маннит, сорбит); средства доставки; разбавители; вспомогательные вещества и/или фармацевтические адъюванты. Дополнительные примеры составов, подходящих для различных типов введения, можно найти в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Pharmaceutical Press 22nd ed. (2013). Краткий обзор методов доставки лекарственных средств см. в Langer, Science 249:1527-1533 (1990).

Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим крови предполагаемого реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

Составы могут быть оптимизированы для удержания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. Когда агент вводят в краниальный отдел, желательно, чтобы агент удерживался в отделе и не диффундировал или иным образом пересекал гематоэнцефалический барьер. Методы стабилизации включают перекрестное связывание, мультимеризацию или связывание с такими группами, как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители и т.д. для достижения увеличения молекулярной массы.

Другие стратегии увеличения удерживания включают захват антитела, такого как антитело к TREM2 по данному изобретению, в биodeградируемом или биоразлагаемом имплантате. Скорость высвобождения терапевтически активного агента регулируется скоростью транспорта через полимерную матрицу и биodeградацией имплантата. Имплантаты могут быть частицами, листами, пластырями, бляшками, волокнами, микрокапсулами и т.п. и могут иметь любой размер или форму, совместимые с выбранным местом введения. Биоразлагаемые полимерные композиции, которые могут быть использованы, могут представлять собой органические сложные эфиры или простые эфиры, которые при разложении приводят к физиологически приемлемым продуктам разложения, включая мономеры. Могут найти применение ангидриды, амиды, ортоэфиры и т.п. сами по себе или в сочетании с другими мономерами. Полимеры будут конденсационными полимерами. Полимеры могут быть сшитыми или несшитыми. Особый интерес представляют полимеры гидроксалифатических карбоновых кислот, как гомо-, так и сополимеры, и полисахариды. Среди полиэфиров, представляющих интерес, находятся полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактона и их комбинации. К представляющим интерес полисахаридам относятся альгинат кальция и функционализированная целлюлоза, в частности сложные эфиры карбоксиметилцеллюлозы, характеризующиеся нерастворимостью в воде, молекулярной массой от около 5 кДа до 500 кДа и т.д. Биоразлагаемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах по данному изобретению. Гидрогели обычно представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью впитывать жидкость.

#### **Наборы/готовые изделия**

В данном документе представлены готовые изделия (например, набор), содержащие антитело к TREM2, описанное в данном документе. Готовое изделие может включать один или более контейнеров, содержащих описанное в данном документе антитело. Контейнеры могут представлять собой любую подходящую упаковку, включая, но не ограничиваясь ими, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и тому подобное. Контейнеры могут представлять собой одноразовые дозы, упаковки с большим количеством доз (например, мультидозовые упаковки) или субъединичные дозы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения наборы могут дополнительно включать второй агент. В некоторых вариантах осуществления изобретения второй агент представляет собой фармацевтически приемлемый буфер или разбавляющий агент, включая, но не ограничиваясь ими, такие как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера и раствор декстрозы. В некоторых вариантах осуществления изобретения второй агент представляет собой фармацевтически активный агент.

В некоторых вариантах осуществления любого готового изделия готовое изделие дополнительно включает инструкции по применению в соответствии со способами

данного раскрытия. Инструкции обычно включают информацию о дозировке, графике дозирования и пути введения для предполагаемого лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения эти инструкции содержат описание введения антитела по данному изобретению (например, антитела к TREM2, описанного в данном документе) для профилактики, снижения риска или лечения индивида, страдающего заболеванием, нарушением или повреждением, выбранным из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хакола, когнитивного дефицита, потери памяти, повреждения спинного мозга, черепно-мозговой травмы, расстройства демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) у взрослых и таупатии в соответствии с любыми способами по данному описанию. В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание, расстройство или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах осуществления изобретения инструкции включают инструкции по применению антитела к TREM2 и второго агента (например, второго фармацевтически активного агента).

#### **Биомаркеры и способы наблюдения за лечением**

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней растворимого TREM2 в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Уровни sTREM2 в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

Используемые в данном документе термины «CSF1R», «белок CSF1R» или «полипептид CSF1R» относятся к любому нативному CSF1R из любого источника млекопитающих, включая приматов (например, людей и яванских макаков) и грызунов (например, мышей и крыс), если не указано иное. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин охватывает как последовательности дикого типа, так и встречающиеся в природе вариантные последовательности, например варианты сплайсинга или аллельные варианты. В некоторых вариантах осуществления изобретения термин включает «полноразмерный» непротессированный CSF1R, а также любую форму CSF1R, полученную в результате процессинга в клетке (например, растворимый CSF1R или sCSF1R). В некоторых вариантах осуществления изобретения CSF1R представляет

собой CSF1R человека. Используемый в данном документе термин «растворимый CSF1R» или «sCSF1R» относится к любой форме CSF1R, полученной в результате процессинга, например расщепления, белка CSF1R, в результате чего образуется растворимая процессированная форма CSF1R, например, как описано в настоящем документе в Примере 2.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней растворимого CSF1R в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Уровни растворимого CSF1R в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA (например, анализ ELISA производства R&D Systems), иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней YKL40 в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Уровни YKL40 в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней IL-1RA в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Уровни IL-1RA в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе

или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней остеопонтинина в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни остеопонтинина измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни остеопонтинина измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Уровни остеопонтинина в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней амилоидной нагрузки в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни амилоидов в головном мозге индивида измеряют с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как амилоидно-позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), такая как продольная амилоидная ПЭТ, например, используя [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетабен (Neuraceq), [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетапир (Amyvid), [ $^{18}\text{F}$ ]флутаметамол (Vizamyl), или любой другой подходящий радиоактивный индикатор.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение количества тау-белка в головном мозге индивида, что оценено по измерению уровней тау-белка в головном мозгу индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни тау в головном мозге индивида измеряют с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как тау-позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), например, с использованием [ $^{18}\text{F}$ ]МК-6240 или любого другого подходящего радиоактивного индикатора.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение одной или нескольких аномалий головного мозга (например, церебральный вазогенный отек, поверхностный сидероз центральной нервной системы или церебральные микро- или макрогеморрагии) в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения одну или более аномалий головного мозга измеряют с использованием любого способа, представленного

в данном документе или известного в данной области техники, такого как магнитно-резонансная томография.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение объема головного мозга индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения объем головного мозга измеряют с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как магнитно-резонансная томография (МРТ), например объемная МРТ.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает обнаружение наличия изменения в одном или более генах у индивида, выбранных из APOE, ApoE4, TREM2, CSF1R, CD33, TMEM106b или CLUSTERIN. В некоторых вариантах осуществления изобретения наличие изменения в одном или нескольких генах у индивида выявляют с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как целевое секвенирование, секвенирование всего генома, секвенирование следующего поколения, секвенирование по Сэнгеру или полимеразная цепная реакция (например, ПЦР или кПЦР).

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров нейровоспаления в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров нейровоспаления измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров нейровоспаления измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Примеры маркеров нейровоспаления включают, без ограничения, IL-6, SPP1, IFI2712A и TOP2A. Уровни маркеров нейровоспаления могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров нейродегенерации измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров нейродегенерации измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид

получил одну или более доз антитела к TREM2. Примеры маркеров нейродегенерации включают, без ограничения, NfL. Уровни маркеров нейродегенерации могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина измеряют в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина измеряют в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтинина относятся к уровням экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтинина относятся к уровням экспрессии мРНК. Уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как секвенирование РНК, полимеразная цепная реакция (например, кПЦР), иммуноблоттинг, иммуноанализ (например, ELISA), масс-спектрометрия и методы генной экспрессии на микрочипах.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Примеры биомаркеров болезни Альцгеймера включают, без ограничения, sTREM2, sCSF1R, Abeta, A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, тау-белок, р-тау-белок, общий тау-белок, легкую цепь нейрофиламента, нейрогранин и YKL40. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера можно измерять в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. Уровни одного или нескольких биомаркеров болезни Альцгеймера могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как иммуноблоттинг, иммуноанализ (например, ELISA) и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов лечения, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров функции микроглии в образце спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. Примеры биомаркеров функции

микроглии включают, без ограничения, CSF1R, IL1RN, YKL40 и остеопонтин. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни одного или более биомаркеров функции микроглии можно измерить в образце крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. Уровни одного или нескольких биомаркеров функции микроглии могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как иммуноблоттинг, иммуноанализ (например, ELISA) и масс-спектрометрия.

В данном документе также представлены способы наблюдения за лечением индивида, которому вводят антитело к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (*m.e.* белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (*m.e.* вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы снижены, например, на 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80, 90% или 100% после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антител к TREM2, сравнивают с уровнями растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, сравнивают с уровнями растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида не менее чем за 4 дня до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

Уровни sTREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышены, например, на 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80, 90%, 100% или более после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антител к TREM2, сравнивают с уровнями растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, сравнивают с уровнями растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида не менее чем за 4 дня до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

Уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышены, например, на 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80, 90%, 100% или более после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антител к TREM2, сравнивают с уровнями YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, сравнивают с уровнями YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида не менее чем за 4 дня до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

Уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости,

крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышены, например, на 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80, 90%, 100% или более после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями растворимого IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антител к TREM2, сравнивают с уровнями IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, сравнивают с уровнями IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида не менее чем за 4 дня до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

Уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней остепонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней остепонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни остепонтинина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышены, например, на 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%,

40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80, 90%, 100% или более после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2 по сравнению с уровнями остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антител к TREM2, сравнивают с уровнями остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида в период от примерно 42 дней до менее чем 1 дня (например, любой период из 42 дней, 41 дня, 40 дней, 39 дней, 38 дней, 37 дней, 36 дней, 35 дней, 34 дней, 33 дней, 32 дней, 31 дней, 30 дней, 29 дней, 28 дней, 27 дней, 26 дней, 25 дней, 24 дней, 23 дней, 22 дней, 21 дня, 20 дней, 19 дней, 18 дней, 17 дней, 16 дней, 15 дней, 14 дней, 13 дней, 12 дней, 11 дней, 10 дней, 9 дней, 8 дней, 7 дней, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней, 1 дня или менее 1 дня) до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, сравнивают с уровнями остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида не менее чем за 4 дня до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

Уровни остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров болезни Альцгеймера включают A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общий тау, pTau или легкий нейрофиламент. Уровни одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров функции микроглии в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров функции микроглии в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров функционирования микроглии включают собой CSF1R, IL1RN, YKL40 или остеооптин. Уровни одного или более биомаркеров функционирования микроглии в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней амилоидной нагрузки индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней амилоидной нагрузки в головном мозге индивида. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). Уровни амилоидов в головном мозге индивида можно измерить с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как амилоидно-позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), такая как продольная амилоидная ПЭТ, например, используя [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетабен (Neuraceq), [ $^{18}\text{F}$ ]флорбетапир (Amyvid), [ $^{18}\text{F}$ ]флутаметамол (Vizamyl), или любой другой подходящий радиоактивный индикатор.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение количества тау-белка в головном мозге индивида, что оценено по измерению уровней тау-белка в головном мозгу индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней тау-белка в головном мозге индивида. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). Уровни тау в головном мозге индивида можно измерить с использованием любого способа, представленного в данном

документе или известного в данной области техники, такого как тау-позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), например, с использованием [<sup>18</sup>F]МК-6240 или любого другого подходящего радиоактивного индикатора.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение объема головного мозга индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе объема головного мозга индивида. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения объем головного мозга измеряют с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области техники, такого как магнитно-резонансная томография (МРТ), например объемная МРТ.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина в образце крови, плазмы, и/или спинномозговой жидкости. В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (т.е. белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (т.е. вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтинина относятся к уровням экспрессии белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтинина относятся к уровням экспрессии мРНК. Уровни экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA и/или остеопонтинина могут быть измерены с использованием любого способа, представленного в данном документе или известного в данной области, такого как секвенирование РНК, полимеразная цепная реакция (например, кПЦР), иммуноблоттинг, иммуноанализ (например, ELISA), масс-спектрометрия и методы генной экспрессии на микрочипах.

В некоторых вариантах осуществления способов наблюдения за лечением, представленных в данном документе, способ включает измерение уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основании уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения активность антитела к TREM2 по данному изобретению относится к взаимодействию с мишенью (*т.е.* белком TREM2) с помощью антитела к TREM2 (*т.е.* вовлечение мишени). В некоторых вариантах осуществления изобретения один или более биомаркеров нейродегенерации включают, помимо прочего, NfL. Уровни одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы индивида могут быть измерены с использованием любого метода, описанного в данном документе или известного в данной области, такого как ELISA, иммунологические анализы, иммуноблоттинг и масс-спектрометрия.

Данное изобретение будет более понятным на основании следующих примеров. Однако они не должны рассматриваться как ограничивающие объем изобретения. Все ссылки в данном описании включены в настоящий документ посредством ссылки.

#### ПРИМЕРЫ

***Пример 1: Исследование фазы I, оценивающее безопасность, переносимость, фармакокинетику, фармакодинамику и иммуногенность однократных и многократных доз АТ.1FM у здоровых участников и у участников с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести.***

В этом примере описано многоцентровое, рандомизированное, двойное слепое, контролируемое по плацебо исследование с повышением дозы, первое исследование на людях (FII) у здоровых взрослых и у участников с болезнью Альцгеймера (AD) от легкой до умеренной степени тяжести. Исследование было разработано для систематической оценки безопасности (включая иммуногенность), переносимости, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) АТ.1FM при введении в виде однократных возрастающих доз здоровым участникам и в виде многократных доз участникам с болезнью Альцгеймера легкой и средней степени тяжести.

#### **I. Цели исследования**

Основной целью этого исследования является оценка безопасности, переносимости, ФК и ФД АТ.1FM, вводимого в однократных возрастающих дозах здоровым участникам и многократных дозах участникам с БА легкой и средней степени тяжести.

#### **II. Участники исследования**

##### **A. Критерии включения**

Участники, отвечающие всем следующим критериям включения, включаются в фазу однократной возрастающей дозы (SAD) этого исследования:

Взрослые в возрасте 18-65 лет.

Хорошее здоровье, определяемое отсутствием клинически значимых данных из анамнеза, физическим осмотром, офтальмологическим осмотром, ЭКГ в 12 отведениях, лабораторными анализами и основными показателями жизнедеятельности.

Участники, отвечающие всем следующим критериям включения, включаются в фазу многократных доз (MD) этого исследования:

Взрослые в возрасте 50-85 лет.

Клинический диагноз вероятной деменции при БА на основании критериев ассоциации Национального института старения и болезни Альцгеймера.

Скрининговый краткий тест психического состояния (MMSE) 16-28 баллов.

Скрининговая общая клиническая оценка деменции (CDR-GS) 0,5, 1,0 или 2,0.

Положительное сканирование амилоид-ПЭТ путем качественного считывания с использованием визуализации  $^{18}\text{F}$ -флорбета ПЭТ/КТ.

Если уже принимают ингибитор холинэстеразы и/или терапию мемантином для лечения БА, стабильная доза в течение по меньшей мере 4 недель до скрининга.

Кроме того, участники, которые имеют по меньшей мере одну из мутаций TREM2 R47H или R62H, включены в когорту M этого исследования.

### В. Критерии исключения

Участники, отвечающие любому из следующих критериев исключения, не включаются в это исследование:

Анамнез или наличие заболеваний центральной нервной системы или системных аутоиммунных заболеваний, включая, но не ограничиваясь этим, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, красную волчанку, синдром антифосфолипидных антител и болезнь Бехчета.

Известный анамнез тяжелых аллергических, анафилактических или других реакций гиперчувствительности на химерные, человеческие или гуманизированные антитела или слитые белки.

Текущее лечение препаратами, которые, как известно, удлиняют интервал QT.

Интервал QT, скорректированный по формуле Фридеричия (QTcF), > 450 мсек, что подтверждено по меньшей мере 2 ЭКГ через > 30 минут одна от другой.

Увеит в настоящем или в анамнезе, требующий медицинского вмешательства, хроническое воспалительное или дегенеративное заболевание глаза, текущая глазная инфекция, любое продолжающееся заболевание глаз, требующее инъекционной медикаментозной терапии (например, ранибизумаб или афлиберцепт при дегенерации желтого пятна), или запланированная инвазивная глазная процедура в течение периода исследования.

Судороги в анамнезе, за исключением фебрильных судорог в детстве.

Иммуносупрессия, вызванная заболеванием (например, ВИЧ) или лекарствами; иммуносупрессивная терапия (например, длительная системная кортикостероидная терапия) в течение 12 месяцев до скрининга в течение всего периода исследования.

Большое депрессивное расстройство в анамнезе (в течение последних 5 лет), за исключением случаев эффективного лечения при включении в исследование и на протяжении всего исследования.

Шизофрения, шизоаффективное расстройство или биполярное расстройство в анамнезе.

Склонность к самоубийству.

Противопоказания к люмбальной пункции твердой мозговой оболочки, включая коагулопатию, сопутствующую антикоагулянтную терапию (за исключением ингибиторов тромбоцитов, таких как аспирин или клопидогрель), тромбоцитопению или другие факторы, препятствующие безопасной люмбальной пункции.

Кроме того, участники, которые соответствуют любому из следующих критериев исключения, не включаются в фазу многократных доз (MD) этого исследования:

Деменция из-за состояния, отличного от БА, включая, но не ограничиваясь этим, лобно-височную деменцию, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, болезнь Хантингтона или сосудистую деменцию.

Анамнез или наличие клинически выраженного сосудистого заболевания, потенциально поражающего головной мозг (например, клинически значимый вертебральный стеноз или бляшка сонных артерий; аневризма аорты; внутричерепная аневризма; кровоизлияние в мозг; артериовенозный порок развития), которое потенциально может повлиять на когнитивную функцию.

Анамнез или наличие инсульта в течение последних 2 лет или документированный анамнез преходящего нарушения мозгового кровообращения в течение последних 12 месяцев.

В анамнезе тяжелая, клинически значимая (стойкий неврологический дефицит или структурное повреждение головного мозга) травма центральной нервной системы (например, ушиб головного мозга).

МРТ свидетельствует о:

Более чем 2 лакунарных инфарктах;

Любом территориальном инфаркте  $> 1 \text{ см}^3$ ; или

Значительных гиперинтенсивных поражениях FLAIR в белом веществе головного мозга, которые могут способствовать когнитивной дисфункции.

Следующие лекарственные препараты запрещены в качестве ежедневного лечения за 1 месяц до скрининга и до конца исследования. Тем не менее, они разрешены периодически, по мере необходимости, в любой момент исследования, при условии, что ни одна доза не будет принята в течение 2 дней до любой нейрокогнитивной оценки:

Типичные антипсихотические или нейролептические препараты.

Наркотические анальгетики.

Седативные, снотворные или бензодиазепиновые препараты.

Трициклические антидепрессанты.

Любые седативные антигистаминные препараты (дифенгидрамин или другие подобные безрецептурные антигистаминные препараты).

Интервал QT, скорректированный по формуле Фридеричия (QTcF),  $> 470 \text{ мс}$ , что подтверждено по меньшей мере 2 ЭКГ через  $> 30$  минут для участников мужского пола; интервал QT, скорректированный по формуле Фридеричия (QTcF),  $> 480 \text{ мс}$ , что подтверждено как минимум 2 ЭКГ через  $> 30$  минут для участников женского пола.

### **III. Дизайн исследования**

Это исследование проводится в две фазы: фаза однократной возрастающей дозы (SAD) и фаза многократных доз (MD). **Фиг. 1** иллюстрирует обобщение дизайна этого исследования.

Всего в исследовании участвует приблизительно 101 участник. Из них приблизительно 65 здоровых взрослых участников участвуют в 11 predeterminedных когортах с однократной возрастающей дозой и до 32 участников с БА (28 активное лекарственное средство:4 плацебо) зачислены в до 3 predeterminedных групп MD.

#### А. Фаза однократного возрастания дозы

В фазе SAD примерно до 65 здоровых взрослых участников последовательно регистрируются в 11 группах, предварительно определенных как группы от А до I, группа К и группа N. Группы SAD от А до С включают от 1 до 3 участников, принимающих активное лекарственное средство (АТ.1FM) на группу, а группы SAD от D до I включают 8 участников на группу (6 активное лекарственное средство:2 плацебо). Открытая группа К SAD включает 6 участников, получавших лечение в дозе 45 мг/кг. Открытая группа N SAD включает 8 участников, получавших лечение в дозе 60 мг/кг.

Фаза исследования с однократной дозой и здоровыми добровольцами состоит из периода скрининга, периода исследования (лечения), последующих посещений и заключительного контроля/и посещения для оценки безопасности в конце исследования (EOS). Продолжительность участия в исследовании для каждого участника группы SAD составляет приблизительно 16 недель.

##### *(i) Скрининг (день -28 до дня -2)*

Скрининг проводится в течение 4 недель до включения в исследование и до первой введенной дозы исследуемого лекарственного средства в день 1. Скрининговые оценки включают обзор исследования критериев включения/исключения в исследование, полный физический осмотр, неврологическое обследование, оценки безопасности (включая лабораторные исследования безопасности, измерение основных показателей жизнедеятельности) и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях. Люмбальные пункции для получения исходных образцов CSF выполняют только в определенных группах образцов спинномозговой жидкости (группы SAD F, G, H и I).

##### *(ii) Госпитализация и лечение (День -1 и День 1)*

Участников исследования рандомизируют (если применимо) на группу для получения АТ.1FM или плацебо путем внутривенной (в/в) инфузии. Все участники групп от А до С получают АТ.1FM. В группах от D до I всего 6 участников на группу получают АТ.1FM, а 2 участника в группе получают плацебо.

В день лечения (день 1) оценка перед инфузией включает обзор нежелательных явлений (АЕ) и сопутствующих препаратов, основных показателей жизнедеятельности, ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях и неврологическое обследование. Сбор исходных образцов для ФК сыворотки, антител к лекарственным средствам (АДА) и оценку биомаркеров ФД в плазме осуществляют до дозирования.

В день 1 участники получают в/в инфузию AT.1FM или плацебо при соответствующем уровне дозы для назначенной им группы.

Обобщение графика лечения для групп SAD представлено в **Таблице 1**.

**Таблица 1. Схема лечения для фазы SAD.**

Группа SAD	Доза (мг/кг)	Число участников	
		Активное лекарственное средство	Плацебо
A	0,003	от 1 до 3	0
B	0,03	от 1 до 3	0
C	0,2	от 1 до 3	0
D	0,6	6	2
E	2	6	2
F	6	6	2
G	15	6	2
H	30	6	2
I	60	6	2
K	45	6	0
N	60	8	0

После инфузии в день 1 оценки включают обзор АЕ и сопутствующих препаратов, основных показателей жизнедеятельности и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях. Сбор образцов для ФК сыворотки и ФД плазмы осуществляют в конце инфузии (в течение 15 минут) и через 4, 8 и 12 часов ( $\pm$  15 минут) после окончания инфузии. Образцы для оценки ADA собирают у участников с признаками и симптомами реакций, связанных с инфузией. В таких случаях соответствующий дополнительный образец для ФК получают в тот же момент времени, что и наблюдаемая реакция, связанная с инфузией. После начала инфузии исследуемого лекарственного средства обо всех АЕ сообщают в течение 12 недель после последней инфузии.

*(iii) Увеличение дозы*

Все участники групп от А до С получают AT.1FM. Группы от А до С изначально включают по 1 участнику на группу. При отсутствии клинически значимых сигналов безопасности у первого участника группы А в течение 48-часового периода наблюдения за безопасностью в исследование вступает группа В. При отсутствии клинически значимых сигналов безопасности у участников группы В после инфузии в течение 48-часового периода наблюдения за безопасностью в исследование вступает группа С.

Если первые участники в группах от А до С испытывают клинически значимый сигнал безопасности, оценивается необходимость включения еще 2 участников в ту же группу (между участниками 48 часов) или, если безопасно, перейти к следующей группе. При отсутствии клинически значимых сигналов безопасности у участников группы С в течение 48 часов вступает группа D. Первые 2 участника в группах однократной дозы от D до I являются контрольными (1 активное средство, 1 плацебо). Контрольные участники получают исследуемый препарат примерно за 48 часов до остальных участников группы. При отсутствии клинически значимых сигналов безопасности у контрольных участников в течение этого периода оставшиеся участники в группе получают дозу с достаточным минимальным интервалом между участниками ( $\geq 1$  час), чтобы можно было отслеживать любые острые события безопасности после введения дозы.

*(iv) Последующее наблюдение с дня 2 по день 3*

После внутривенной инфузии исследуемого лекарственного средства или плацебо в день 1 участники находятся под наблюдением, включая обзор АЕ, сопутствующих препаратов и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях (в день 3 через 48 часов  $\pm$  60 минут после окончания инфузии). Сбор образцов крови для анализа биомаркеров ФК и ФД происходит в день 2 (24 часа  $\pm$  60 минут) и день 3 (48 часов  $\pm$  60 минут) после окончания инфузии. Люмбальные пункции для получения CSF выполняют в день 3 или в день, определяемый предварительными данными ФК и ФД из предыдущих групп с однократной дозой, где это применимо, для всех участников в группе CSF (т.е. группы SAD F, G, H и I).

*(v) Последующее наблюдение в дни 5, 8, 13, 30, 43 и 57*

Безопасность участников оценивают в день 5, 8 и 13 ( $\pm$  1 день), в день 30 и 43 ( $\pm$  2 дня) и в день 57 ( $\pm$  3 дня). Отбор проб для измерения биомаркеров ФК и ФД происходит при каждом посещении. Отбор проб для оценки иммуногенности проводят в день 30 ( $\pm$  2 дня) и в день 57 ( $\pm$  3 дня).

Участникам назначенной группы CSF (т.е. группы SAD F, G, H и I) делают люмбальную пункцию для получения CSF в день 13 ( $\pm$  1 день) или в день, определенный по предварительным данным фармакокинетики и фармакопеи из предыдущих групп однократной дозы, где применимо.

*(vi) Окончание исследования (День 85)*

Участников оценивают в конце исследования (EOS) в день 85 ( $\pm$  5 дней). В дополнение к обзору АЕ, сопутствующих препаратов и всех процедур безопасности, участники проходят ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях и предоставляют образцы для биомаркеров ФК, ФД, иммуногенности.

*(vii) Открытые группы с однократной дозой K и N*

Группе K вводят AT.1FM как открытой группе из 6 участников в дозе 45 мг/кг. Группе N вводят AT.1FM как открытой группе из 8 участников в дозе 60 мг/кг.

Участникам в группе K делают люмбальные пункции при скрининге (по меньшей мере за 4 дня до инфузии исследуемого лекарственного средства) в день 3 и день 13 ( $\pm$  1

день) или в день, определяемый предварительными данными ФК и ФД, полученными в группе предыдущей однократной дозы, где это применимо.

Участники в группе N подвергаются люмбальной пункции при скрининге (по меньшей мере за 4 дня до введения исследуемого препарата) и еще 2 люмбальными пункциями в либо день 18, день 30 или день 43 ( $\pm 1$  день), либо в день, определяемый предварительными данными ФК и ФД, полученными от предыдущих групп. Всего каждому участнику группы N проводят не более 3 люмбальных пункций.

#### В. Фаза многократных доз

В фазе MD до 32 участников с БА от легкой до умеренной степени зачисляются в 3 группы, предварительно определенные как группы J, L и M. Группа J включает до 10 участников (8 активное лекарственное средство:2 плацебо). Группа L включает 12 участников (10 активное лекарственное средство:2 плацебо). Группа M включает 10 участников, все из которых несут мутацию TREM2 либо R47H, либо R62H, и все получают активное лекарственное средство (открытое исследование).

Фаза MD исследования состоит из периода скрининга, периода исследования (лечения), последующих посещений и заключительного контроля/визита для оценки безопасности EOS. Для группы J продолжительность участия в исследовании для каждого участника составляет примерно 25 недель. Для групп J и M продолжительность участия в исследовании для каждого участника составляет примерно 26 недель.

Участники группы MD J получают AT.1FM или плацебо один раз в неделю в течение 4 недель (дни 1, 8, 15 и 22).

Участники открытых групп MD L и M получают 2 дозы AT.1FM с интервалом в 4 недели (дни 1 и 29).

Группа J вступает после определения приемлемого безопасного и переносимого уровня дозы в группах SAD на основании данных о безопасности и переносимости вплоть до визита в день 13 включительно. Предварительные данные ФК из групп SAD используются для предсказания ФК MD, чтобы сообщить об окончательном выборе уровня дозы и частоты дозирования.

#### *(i) Предварительный скрининг (до дня -1)*

Процедуры предварительного скрининга проводят у потенциальных участников с БА для группы M (группа с мутацией TREM2). Предварительный скрининг проводят до скрининга или в любое время в течение периода скрининга. Предварительный скрининг состоит из скрининга слюны на наличие мутаций TREM2 (R47H и R62H).

#### *(ii) Скрининг (с дня -42 по день -1)*

Процедуры скрининга для всех групп MD проводят в течение 6 недель до регистрации и до первой введенной дозы исследуемого лекарственного препарата в день 1.

Полные скрининговые оценки участников с БА для всех групп MD включают обзор критериев включения/исключения из исследования, полное физическое обследование, неврологическое обследование, офтальмологическое обследование, оценки

безопасности, включая лабораторные исследования безопасности, измерение основных показателей жизнедеятельности и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях.

Участники проходят краткий тест психического состояния (MMSE), повторяемую батарею для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), клиническую оценку деменции (CDR) и магнитно-резонансную томографию головного мозга (МРТ) (включая, помимо прочего, FLAIR и T2\*-взвешенные последовательности GRE). Скрининговую МРТ проводят как можно ближе к началу окна скрининга и по меньшей мере за 10 дней до рандомизации в день 1. Выполняют люмбальную пункцию для получения исходного образца CSF. Визуализацию амилоид-ПЭТ проводят всем участникам групп MD.

*(iii) Лечение (день 1)*

Участников исследования рандомизируют (в зависимости от обстоятельств) для получения AT.1FM или плацебо посредством внутривенной инфузии следующим образом: группа J: 8 активное лекарственное средство и 2 плацебо; группа L: 10 активное лекарственное средство и 2 плацебо; группа M: 10 активное лекарственное средство. Краткий обзор схемы лечения для фазы многократных доз данного исследования представлен в **Таблице 2**.

**Таблица 2. Схема лечения для групп с многократными дозами.**

Группа MD	Доза (мг/кг) (дни лечения)	Число участников	
		Активное лекарственное средство	Плацебо
J	15 мг/кг (День 1, 8, 15 и 22)	8	2
L	60 мг/кг (День 1 и 29)	10	2
M*	60 мг/кг (День 1 и 29)	10	0
*Группа MD M является открытой и включает только участников с БА, у которых есть по меньшей мере 1 из 2 мутаций TREM2: R47H или R62H.			

Оценка перед инфузией в день 1 включает обзор АЕ и сопутствующих препаратов, оценку массы тела, основных показателей жизнедеятельности, лабораторные исследования безопасности, ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях, ограниченный и ориентированный на симптомы физический осмотр и неврологическое обследование. Участники проходят оценку Sheehan-STS. Сбор исходных образцов для оценки ФК сыворотки, ADA, биомаркеров ФД в плазме и цельной крови для WGS происходит до введения дозы. Сбор цельной крови для экспрессии мРНК и других биомаркеров проводят перед инфузией в день 1.

После окончания инфузии в день 1 оценки включают обзор АЕ и сопутствующих препаратов, основных показателей жизнедеятельности и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях. После начала инфузии исследуемого лекарственного средства обо всех АЕ сообщают в течение 16 недель после последней инфузии.

Сбор образцов для ФК сыворотки и биомаркеров ФД плазмы проводят в конце инфузии (в течение 15 минут), через 4, 8 и 12 часов ( $\pm 15$  минут) и через 24 часа ( $\pm 60$  минут) после инфузии. Образцы для оценки ADA собирают у участников с признаками и симптомами реакций, связанных с инфузией. В таких случаях соответствующий дополнительный образец для ФК получают в тот же момент времени, что и наблюдаемая реакция, связанная с инфузией. Сбор цельной крови для экспрессии мРНК и других биомаркеров проводят через 24 часа ( $\pm 60$  минут) после инфузии.

*(iv) Лечение в дни 8, 15 и 22 (группа J) или в день 29 (группы L и M)*

Группа J: после первой в/в инфузии исследуемого препарата в день 1 участникам вводят исследуемое лекарственное средство в дни 8, 15 и 22 ( $\pm 1$  день).

Группы L и M: после первой в/в инфузии исследуемого препарата в день 1 участникам вводят вторую дозу исследуемого лекарственного средства в день 29 ( $\pm 1$  день).

Оценки безопасности включают оценку АЕ, обзор сопутствующих препаратов, оценку массы тела и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях.

Участники проходят оценку Sheehan-STS перед инфузией в день 8, день 15 и день 22 для группы J и в день 29 для групп L и M. Сбор цельной крови для анализов экспрессии мРНК и других биомаркеров осуществляют перед инфузией в день 8 для группы J. Для групп L и M сбор цельной крови для анализов экспрессии мРНК и других биомаркеров проводят перед инфузией в день 29 ( $\pm 2$  дня).

Сбор образцов крови для анализа биомаркеров ФК и ФД осуществляют в день 8, 15 и 22 (до инфузии и снова в конце инфузии [в течение 15 минут] и через 4 часа после окончания инфузии [ $\pm 15$  минут]) для группы J. Для групп L и M образцы крови для анализа биомаркеров ФК и ФД собирают в день 8, день 15, день 22 и день 29 (до инфузии и снова в конце инфузии [в течение 15 минут] и через 4 часа после окончания инфузии [ $\pm 15$  минут]).

Отбор проб для оценки ADA осуществляют до инфузии в день 22 (группа J) и в день 29 (группы L и M). Дополнительно, образцы ADA собирают у участников с признаками и симптомами реакций, связанных с инфузией. В таких случаях соответствующий дополнительный образец для ФК получают в тот же момент времени, что и наблюдаемая реакция, связанная с инфузией.

Постдозовые люмбальные пункции для получения CSF проводят в день 29 ( $\pm 2$  дня) и день 50 ( $\pm 2$  дня) для группы J. Постдозовые люмбальные пункции для получения CSF проводят в день 31 ( $\pm 2$  дня) и день 57 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M или в день, определенный по предварительным данным ФК и ФД от предыдущих групп с однократной дозой.

Постдозовую ПЭТ-визуализацию амилоидов проводят в день 106 ( $-2/+14$  дней) для группы J и день 113 ( $-2/+14$  дней) для групп L и M. МРТ головного мозга проводят в день 36 ( $\pm 2$  дня) для группы J и в день 43 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M. За участниками наблюдают в течение 16 недель после последнего дня инфузии.

*(v) Последующее наблюдение*

После завершения периода лечения последующие оценки мониторинга безопасности проводят в дни 29, 36, 50, 64, 78 и 106 ( $\pm 2$  дня) для группы J, и в дни 31, 36, 43, 57, 71, 85 и 113 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M. Оценка безопасности включает оценку АЕ, обзор сопутствующих препаратов и ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях для всех участников. Участники проходят оценку Sheehan-STS при каждом последующем посещении.

ПЭТ-визуализацию амилоидов выполняют в день 106 (-2/+14 дней) для группы J и в день 113 (-2/+14 дней) для групп L и M.

МРТ головного мозга выполняют в день 36 ( $\pm 2$  дня) для группы J и в день 43 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M.

Офтальмологическое обследование осуществляют в день 57 ( $\pm 6$  дней) для групп L и M. В случае клинически значимых результатов последующие офтальмологические осмотры проводятся ежемесячно или по клиническим показаниям до разрешения.

Отбор проб для измерения биомаркеров ФК и ФД происходит при каждом последующем посещении для всех групп MD. Отбор проб для ADA происходит в дни 50, 78 и 106 ( $\pm 2$  дня) для группы J и в дни 57, 85 и 113 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M.

Сбор цельной крови для анализа экспрессии мРНК и других биомаркеров проводят в день 29 ( $\pm 2$  дня) и день 50 ( $\pm 2$  дня) для группы J и в день 57 для групп L и M.

Люмбальные пункции для получения CSF проводят в день 29 и день 50 ( $\pm 2$  дня) для группы J и в день 31 и 57 ( $\pm 2$  дня) для групп L и M или в день, определенный предварительными данными ФК и ФК из предыдущих групп с однократной дозой. Люмбальную пункцию в день 31 для групп L и M проводят между 24 и 48 часами после окончания инфузии в день 29.

*(vi) Конец исследования (день 134 для группы J и день 141 для групп L и M)*

Оценки в конце исследования проводят в день 134 ( $\pm 5$  дней) для группы J и в день 141 ( $\pm 5$  дней) для групп L и M. В дополнение к обзору АЕ, сопутствующих препаратов и процедур безопасности, участникам выполняют ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях и отбирают образцы для анализа фармакокинетики, биомаркеров ФД и иммуногенности. Участники также проходят оценку Sheehan-STS и проходят оценки MMSE, RBANS, CDR и МРТ головного мозга.

**IV. Исследуемое лекарственное средство и плацебо**

AT.1FM представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело-агонист к TREM2. Плацебо для в/в вливания представляет собой физиологический раствор. Исследуемое лекарственное средство или плацебо вводят в виде в/в инфузии в течение приблизительно 60 минут.

**V. Конечные точки исследования**A. Конечные точки безопасности

Конечные точки безопасности этого исследования включают:

Частота, характер и тяжесть серьезных нежелательных явлений (SAE) и нежелательных явлений, представляющих особый интерес (AESI). AESI включают связанную с амилоидами аномалию визуализации - отек (ARIA-E); вазогенный отек головного мозга; аномалию визуализации, связанную с амилоидами - гемосидерин (ARIA-H); новое мозговое микрокровоизлияние; и АЕ степени 2 или выше увеит.

Частота нежелательных явлений, ограничивающих дозу, (DLAE).

Частота прекращения лечения из-за АЕ.

Частота случаев снижения дозы из-за АЕ.

Средние изменения клинических лабораторных тестов по сравнению с исходным уровнем с течением времени; частота появления аномальных лабораторных показателей, возникающих при лечении, и аномальных лабораторных значений, зарегистрированных как АЕ.

Отклонения при физическом и неврологическом осмотре.

Отклонения при офтальмологическом обследовании.

Среднее изменение показателей жизнедеятельности по сравнению с исходным уровнем с течением времени и частота аномальных показателей жизнедеятельности.

Суицидальные мысли, суицидальное поведение и самоповреждающее поведение без суицидальных намерений, как определено с помощью оценки Sheehan-STS (только для групп MD).

Заболеваемость ADA во время исследования по отношению к распространенности ADA на исходном уровне (в группах SAD и MD).

#### В. Конечные точки: фармакокинетика, фармакодинамика и биомаркеры

Фармакокинетические конечные точки для этого исследования включают:

Концентрацию АТ.1FM в сыворотке.

Взаимосвязь между концентрацией в сыворотке или ФК параметрами для АТ.1FM и конечными точками безопасности.

Взаимосвязь между концентрацией в сыворотке, концентрацией в CSF или ФК параметрами для АТ.1FM и активностью или конечными точками ФД (взаимосвязь с активностью является конечной точкой только для групп MD).

Кроме того, исследовательские биомаркеры ФД для этого исследования включают:

Биомаркеры на основе крови: sTREM2 в плазме, маркеры нейровоспаления в крови и экспрессию соответствующих биомаркеров и антигенов на клеточной поверхности.

Биомаркеры на основе CSF: sTREM2, биомаркеры CSF, относящиеся к БА, и другие соответствующие маркеры нейровоспаления.

Генетические маркеры, относящиеся к показанию заболевания: апополипротеин Е4 (ApoE4); варианты TREM2, варианты CD33, варианты TMEM106b и варианты CLUSTERIN.

Биомаркеры визуализации (для групп MD): МРТ и ПЭТ-визуализация амилоидов.

Анализ поисковых конечных точек биомаркеров включает:

Изменения уровней sTREM2 в плазме и CSF после введения дозы по сравнению с исходным уровнем.

Взаимосвязь между биомаркерами на исходном уровне, включая распространенные и редкие генетические варианты, идентифицированные с помощью полногеномного секвенирования (WGS), выполненного на дезоксирибонуклеиновой кислоте, выделенной из крови, и конечными точками безопасности, ФК, активности, иммуногенности или других биомаркеров (связь с активностью является конечной точкой только для групп MD).

Изменения амилоидной нагрузки в головном мозге, оцененные с помощью амилоидно-позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), только в группах MD.

Изменения маркеров нейровоспаления и патологического процесса в CSF и плазме.

Изменения экспрессии антигенов клеточной поверхности.

### С. Исследовательские конечные точки клинических исходов

Исследовательские конечные точки клинических результатов для этого исследования включают (только для групп MD):

Оценку суммы квадратов клинической деменции (CDR-SB) (изменения после введения дозы относительно исходного уровня).

Краткий тест психического состояния (MMSE) (изменения после введения дозы относительно исходного уровня).

Показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) (изменения после введения дозы относительно исходного уровня).

## **VI. Оценки исследования**

### A. Оценки безопасности

Безопасность определяют путем оценки основных показателей жизнедеятельности, ЭКГ в 12 отведениях в трех повторениях, мониторинга массы тела участников, клинических лабораторных анализов, физических осмотров, неврологических обследований, офтальмологических обследований, оценки АЕ и анализа сопутствующих препаратов. Образцы для оценки развития ADA собирают до и в течение всего периода лечения и последующего наблюдения. У участников с БА Sheehan-STS используют для проспективной оценки суицидальных наклонностей. Проводят МРТ головного мозга для выявления бессимптомных аномалий головного мозга (включая, помимо прочего, последовательности FLAIR и T2\*-взвешенную GRE).

#### *(i) Полное неврологическое обследование*

Полное неврологическое обследование включает оценку сознания, ориентации, черепно-мозговых нервов, двигательной и сенсорной системы, координации и походки, а также рефлексов.

#### *(ii) Офтальмологические оценки*

Офтальмологические оценки включают проверку остроты зрения (например, с использованием таблицы Снеллена), обследование с помощью щелевой лампы до и после расширения, исследование глазного дна в расширенном состоянии с помощью непрямой

офтальмоскопии и обследование с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ), включая ОКТ с улучшенной глубиной визуализации для обследования хориоидеи.

(iii) Sheehan-STS

У пациентов с БА в группах MD проспективную склонность к суициду регулярно оценивают на протяжении всего исследования с использованием Sheehan-STS. Sheehan-STS представляет собой проспективную шкалу, которая оценивает суицидальные мысли и поведение, возникающие в результате лечения. Каждый пункт Sheehan-STS оценивают по 5-балльной шкале Лайкерта. (0=нет вообще; 1=немного; 2=умеренно; 3=очень; 4=очень сильно). Для первоначального посещения контрольные временные рамки относятся к «последнему 1 году». Для всех последующих посещений используются временные рамки «с момента последней оценки».

(iv) Магнито-резонансная томография

Оценку МРТ головного мозга, включая, но не ограничиваясь этим, последовательности FLAIR и T2\*-взвешенные GRE, проводят у участников исследования с БА в группах MD при скрининге, в последующий период наблюдения и в конце исследования для выявления несимптоматических аномалий головного мозга, таких как вазогенный отек головного мозга, поверхностный сидероз центральной нервной системы и церебральные микро- или макрогеморрагии. Скрининговую МРТ проводят как можно ближе к началу окна скрининга и по меньшей мере за 10 дней до рандомизации в день 1.

(v) Амилоидно-позитронно-эмиссионная томография

Визуализацию амилоидов с помощью ПЭТ проводят всем участникам с БА.

(vi) Скрининг мутаций TREM2

Образцы слюны берутся у всех потенциальных участников группы MD M (группа с мутацией TREM2) при предварительном скрининге, чтобы определить, являются ли они носителями мутаций R47H или R62H TREM2. Участников, у которых установлено, что они являются носителями по меньшей мере 1 из этих 2 мутаций, включают в группу M исследования.

(vii) Антитела к лекарственным средствам

Образцы крови собирают и анализируют на наличие антител к лекарственным средствам (ADA) АТ.1FM с использованием валидированного мостикового иммуноанализа. Дополнительные образцы для оценки ADA собирают у участников с признаками и симптомами реакций, связанных с инфузией. В таких случаях соответствующий дополнительный образец для ФК получают в тот же момент времени, что и наблюдаемая реакция, связанная с инфузией.

В. Клинические оценки

Участники с болезнью Альцгеймера в группах MD проходят оценки MMSE, RBANS и CDR. Результаты суммируют по времени и группе лечения (активное соединение или плацебо).

(i) Краткий тест психического состояния (MMSE)

MMSE представляет собой краткий тест, используемый для выявления когнитивных нарушений. Его обычно используют для оценки тяжести когнитивных нарушений и отслеживания когнитивных изменений у человека с течением времени. MMSE оценивает ориентацию (время и место), регистрацию, внимание и счет, недавнюю память, язык (называние, понимание и повторение) и конструктивное упражнение (копирование фигуры). Максимальный общий балл составляет 30, причем более высокий балл указывает на лучшую когнитивную деятельность.

*(ii) Повторяемая батарея для оценки нейропсихологического статуса (RBANS)*

RBANS представляет собой набор из 12 подтестов, представляющих 5 нейрокогнитивных доменов: непосредственная память, визуально-пространственный/конструкционный, язык, внимание и отсроченная память. Необработанные баллы по каждому подтесту в домене преобразуют в итоговый балл или индексный балл для домена путем сверки с таблицами нормативных данных. RBANS также предоставляет общий индексный балл, который обобщает общий уровень выполнения пациентом этого показателя.

*(iii) Клиническая оценка деменции (CDR)*

CDR Вашингтонского университета представляет собой глобальный инструмент оценки, который дает общие баллы (т.е. CDR-GS). Сумма квадратов (т.е. CDR-SB) представляет собой подробный количественный общий показатель, который предоставляет больше информации, чем CDR-GS, у пациентов с легкой деменцией (O'Bryant et al (2010) Arch Neurol, 67(6):746-49). CDR характеризует 6 доменов когнитивных и функциональных характеристик, применимых к БА и связанных с ней деменциям: память, ориентация, суждения и решение проблем, общественные дела, дом и хобби, уход за собой. Необходимая информация для составления каждого рейтинга получается посредством полуструктурированного интервью пациента и надежного информатора или дополнительного источника (например, лица, осуществляющего уход).

С. Фармакокинетические оценки

Образцы крови для анализа ФК сыворотки получают в следующие моменты времени:

До дозирования, в течение 60 минут после фактической дозы.

После окончания инфузии ( $\pm 15$  минут).

Между 4-12 часами после окончания инфузии ( $\pm 15$  минут).

Между 24-48 часами после окончания инфузии ( $\pm 60$  минут).

От 48 часов до 12 дней после окончания инфузии (день 13) ( $\pm 1$  день).

После дня 13 ( $> 12$  дней после окончания инфузии) ( $\pm 2-5$  дней).

ФК анализы сыворотки выполняют с использованием утвержденных процедур и методов.

Индивидуальные и средние данные о концентрации АТ.1FM в сыворотке в зависимости от времени представлены в виде таблицы и графика по группе/уровню дозы. ФК параметры рассчитывают на основе индивидуальных концентраций АТ.1FM в

сыворотке с использованием неподделенного подхода. Оценивают следующие параметры ФК:

Максимальная концентрация лекарственного средства ( $C_{\max}$ ).

Время достижения  $C_{\max}$  ( $T_{\max}$ ).

Площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного средства от времени от нуля до последней измеряемой концентрации ( $AUC_{(0-последняя)}$ ).

Площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного средства от времени от нуля до бесконечности ( $AUC_{(0-беск.)}$ ), рассчитанная как сумма  $AUC_{(0-последняя)}$  плюс последняя измеримая концентрация в плазме, деленная на константу скорости выведения [ $k_{el}$ ].

Площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного средства от времени в интервале между приемами ( $AUC_{\tau}$ ), где  $\tau$  представляет собой время в интервале между приемами (рассчитано только для групп MD).

Кажущаяся конечная константа скорости элиминации ( $k_{el}$ ), рассчитанная путем линейной регрессии конечной линейной части логарифмической кривой зависимости концентрации от времени.

Кажущийся конечный период полувыведения ( $t_{1/2}$ ).

Кажущийся общий клиренс после внесосудистого введения (группы SAD: кажущийся общий клиренс после внесосудистого введения [ $CL$ ]; группы MD  $CL_{ss}$ ), рассчитанный как доза/ $AUC_{0-беск.}$  для однократной/первой дозы и доза/ $AUC_{\tau}$  после введения MD.

Кажущийся общий объем распределения в терминальной фазе после внесосудистого введения (группы SAD:  $V_z$ ; группы MD:  $V_{zss}$ ), рассчитанный как доза/( $k_{el} \times AUC_{0-беск.}$ ) после однократной/первой дозы и доза/( $k_{el} \times AUC_{\tau}$ ) после введения MD.

Значения  $k_{el}$ ,  $t_{1/2}$ ,  $AUC_{0-беск.}$ ,  $CL$  или  $V_z$  приведены для случаев, в которых не наблюдается конечной логарифмической-линейной фазы в зависимости концентрации от времени.

Оценки для ФК параметров сводят в таблицы и суммируют с помощью описательной статистики (среднее, стандартное отклонение, медиана, минимум, максимум, коэффициент вариации (CV%), среднее геометрическое, 90% доверительный интервал и геометрический CV%). Индивидуальные и средние данные о концентрации AT.1FM в CSF в зависимости от времени представлены в виде таблицы и графика по группе/уровню дозы.

Изучаются возможные корреляции соответствующих ФК параметров с дозой, демографическими данными, безопасностью (включая изменения интервала QT) и показателями ФД. Для характеристики этих корреляций проводится дополнительное моделирование, включая ФК анализ популяции.

#### Д. Фармакодинамические оценки

Образцы для исследовательской оценки биомаркеров ФД собирают и анализируют с использованием валидированных методов анализа.

Все данные о биомаркерах ФД суммируются по времени, группе лечения и группе с описательной статистикой (например, число непропущенных наблюдений, среднее арифметическое, стандартное отклонение, медиана, минимум, максимум и CV%). Также представлено количество значений ниже предела количественного определения. Наблюдаемые изменения по сравнению с исходным уровнем и процентные изменения параметров биомаркеров ФД по сравнению с исходным уровнем обобщаются отдельно для групп с однократным и многократным дозированием, если применимо.

Исследовательские анализы проводятся для оценки влияния АТ.1FM на исследовательские биомаркеры. Кроме того, анализируются исследовательские биомаркеры до и после введения дозы АТ.1FM для определения взаимосвязи между воздействием ФК и уровнями биомаркеров.

*(i) Биомаркеры крови*

Образцы крови для измерения ФД отбирают в то же время, что и образцы для анализа ФК. Биомаркеры крови включают, но не ограничиваясь ими, растворимый TREM2 (sTREM2) в плазме, маркеры нейровоспаления в крови, мРНК и другие биомаркеры.

Только для групп MD также собирают образцы цельной крови для изучения экспрессии мРНК и других биомаркеров.

*(ii) Люмбальные пункции*

Люмбальные пункции для получения образцов CSF выполняют для выбранных групп, как описано выше.

Оценивают следующие биомаркеры CSF:

Растворимый TREM2.

Растворимый CSF1R.

Биомаркеры CSF, относящиеся к БА (включая, но не ограничиваясь ими, Aβeta, тау, p-тау, легкую цепь нейрофиламента, нейрогранин и YKL40).

Другие соответствующие маркеры нейровоспаления.

*(iii) Полногеномное секвенирование*

Только для групп MD сбор исходного образца крови для полногеномного секвенирования (WGS) происходит перед введением дозы в день 1. Оценивают генетические маркеры, относящиеся к показанию к заболеванию, включая ApoE4, варианты TREM2, варианты CD33, варианты TMEM106b и варианты кластерина.

Е. Статистические вычисления

Данные анализируют и представляют отдельно для групп SAD и MD. Все непрерывные данные суммируют с использованием описательной сводной статистики (количество непропущенных наблюдений, среднее значение, стандартное отклонение, минимум и максимум). Категориальные данные обобщаются в виде подсчета частот и процентов. Исходный уровень относится к последнему доступному отсутствующему наблюдению до первого введения исследуемого лекарственного средства. Отсутствующие данные не засчитываются, если не указано иное.

Для исследования определены следующие анализируемые популяции:

Популяция, получившая лечение: популяция, получившая лечение, включает всех рандомизированных участников и основана на полученном лечении/уровне дозы.

Популяция безопасности: популяция безопасности включает всех рандомизированных участников, которые получают любое количество АТ.1FM или плацебо, и основана на фактическом полученном лечении/уровне дозы, если он отличается от того, к которому рандомизирован участник.

Популяция ФК: популяция ФК включает всех рандомизированных участников, которые получают любое количество активного исследуемого лекарственного средства (АТ.1FM) с достаточными данными о концентрации в плазме во времени для определения по меньшей мере 1 параметра ФК. Участники, которые получают только плацебо, исключаются из популяции ФК. Для групп MD в популяцию ФК включаются только участники, получившие все дозы АТ.1FM.

Популяция ФД: популяция PD включает всех рандомизированных участников, которые получают любое количество АТ.1FM или плацебо и имеют результаты исходного уровня и  $\geq 1$  оценки после исходного уровня оценки ФД. Популяция ФД основана на фактическом полученном лечении/уровне дозы, если он отличается от того, к которому был рандомизирован участник. Для групп MD в популяцию ФД включаются только участники, получившие все дозы АТ.1FM.

***Пример 2: Результаты исследования фазы I, оценивающего безопасность, переносимость, фармакокинетику, фармакодинамику и иммуногенность однократных доз АТ.1FM у здоровых участников.***

В этом примере описаны результаты фазы исследования с однократной возрастающей дозой (SAD), описанного в примере 1.

#### Материалы и методы

##### *Исследование фазы I (фаза однократной возрастающей дозы)*

Как подробно описано в примере 1, 56 здоровых взрослых участников были последовательно включены в 10 групп (А-Н, К и I) и получили однократную внутривенную (в/в) дозу АТ.1FM в диапазоне от 0,003 мг/кг до 60 мг/кг 1 (см. **Таблицу 1**). Группы SAD от А до С включали по 1 участнику, принимавшему активное лекарственное средство, на группу; группы от D до Н включали по 8 участников на группу (6 активное лекарственное средство:2 плацебо); а группа I включала 7 участников (6 активное лекарственное средство:1 плацебо). В открытой группе К 6 участников получали активное лекарство в дозе 45 мг/кг. В группах от F до К люмбальные пункции выполнялись до введения дозы, через 2 дня после введения дозы и через 12 дней после введения дозы для получения образцов спинномозговой жидкости (CSF). За всеми субъектами наблюдали до дня 85.

##### *Анализ sTREM2 в CSF человека*

Метод иммунологического анализа был квалифицирован для определения sTREM2 в CSF человека с использованием электрохемилюминесцентной методики.

Первое антитело к TREM2 человека разводили в буфере для покрытия и иммобилизовали на 96-луночном микротитрационном планшете для образцов. После блокировки и промывки планшета эндогенный контроль качества и исследуемые образцы разбавляли буфером для анализа, наносили на планшет для образцов и инкубировали. Второе антитело к TREM2 человека, которое связывается с эпитопом, отличным от первого антитела, затем добавляли в качестве захватывающего антитела. Затем планшет промывали, добавляли стрептавидин Sulfo-Tag и инкубировали с последующим добавлением буфера для считывания T MSD. Концентрации определяли по стандартной кривой, полученной в относительных световых единицах в зависимости от концентрации. Калибровочную кривую создавали с использованием четырехпараметрической кривой, аппроксимированной весами  $1/y^2$ . Квалифицированный диапазон для этого метода в СМЖ человека составляет от 0,400 нг/мл до 50,0 нг/мл.

#### *Анализ sCSF1R в CSF человека*

Коммерческий анализ ELISA от R&D Systems прошел квалификацию для определения CSF1R в CSF человека. Человеческое захватывающее антитело к М-CSF R разводили в буфере для покрытия и иммобилизовали на 96-луночном микротитрационном планшете для образцов. После блокировки и промывки планшета эндогенный контроль качества и исследуемые образцы разбавляли, наносили на планшет для образцов и инкубировали. Добавляли человеческое антитело для обнаружения М-CSF R и инкубировали. Планшет промывали и затем добавляли реагент стрептавидин-HRP, а затем рабочий раствор субстрата. Планшет инкубировали при температуре окружающей среды и останавливали добавлением стоп-раствора серной кислоты. Планшет считывали на планшет-ридере с использованием двух фильтров: 450 нм для обнаружения и 570 нм для фона. Концентрации определяли по стандартной кривой, полученной путем построения графика зависимости оптической плотности от концентрации. Калибровочную кривую создавали с использованием четырехпараметрической кривой, аппроксимированной весами  $1/y^2$ . Квалифицированный диапазон для этого метода в 100% CSF человека составляет от 125 пг/мл до 4000 пг/мл.

#### Результаты

Как показано на **Фиг. 2**, АТ.1FM в целом был безопасным и хорошо переносился. Серьезных нежелательных явлений, связанных с приемом лекарственного средства, или дозолимитирующей токсичности не наблюдалось вплоть до самой высокой дозы антитела.

Затем оценивали влияние АТ.1FM на биомаркеры CSF. Как показано на **Фиг. 3А**, введение однократной дозы АТ.1FM вызывало дозозависимое снижение растворимого TREM2 (sTREM2) по сравнению с исходным уровнем при оценке через два дня после введения антитела. sTREM2 является продуктом расщепления клеточной поверхности TREM2 металлопротеазами (Feuerbach et al (2017) *Neurosci Lett*, 660:109-114.)

Как показано на **Фиг. 3В**, снижение уровней sTREM2 сопровождалось увеличением уровней растворимого CSF1R (sCSF1R) при оценке через два дня после

введения антитела. sCSF1R представляет собой продукт расщепления трансмембранного белка CSF1R, который экспрессируется только микроглией головного мозга.

Изменения концентраций дополнительных биомаркеров в CSF определяли до введения дозы, а также в день 2 и день 12 после введения дозы у здоровых добровольцев, которым вводили антитело к TREM2 AT.1FM в дозе 6 мг/кг, 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг.

***Пример 3: Влияние антитела к TREM2 на различные фармакодинамические маркеры у здоровых добровольцев.***

В этом примере описаны результаты экспериментов, в которых оценивали концентрации биомаркеров в CSF здоровых добровольцев, которым вводили антитело к TREM2 AT.1FM в дозах 6 мг/кг, 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг, как описано в Примере 2. Образцы CSF получали от здоровых добровольцев до введения дозы и в день 2 и день 12 после введения антитела к TREM2 AT.1FM. Определяли изменения концентраций следующих биомаркеров в CSF: sTREM2, sCSF1R, YKL40, IL-1RA и остеопонтин.

Как показано на **Фиг. 4**, антитело к TREM2 AT.1FM снижало уровни sTREM2 в CSF здоровых добровольцев по сравнению с исходным уровнем дозозависимым образом, что указывает на целевое вовлечение антитела. Снижение уровней sTREM2 в CSF в основном сохранялось до 12 дней после введения дозы.

Как показано на **Фиг. 5**, антитело к TREM2 AT.1FM повышало уровни sCSF1R в CSF здоровых добровольцев по сравнению с исходным уровнем.

Как показано на **Фиг. 6**, антитело к TREM2 AT.1FM повышало уровни YKL40 в CSF здоровых добровольцев по сравнению с исходным уровнем. Уровни YKL40 определяли с помощью иммуноанализа от Roche.

Как показано на **Фиг. 7**, антитело к TREM2 AT.1FM повышало уровни IL-1RA (IL1RN) в CSF здоровых добровольцев по сравнению с исходным уровнем. Уровни IL-1RA определяли с помощью иммуноанализа ECL с использованием системы Meso Scale Discovery.

Как показано на **Фиг. 8**, антитело к TREM2 AT.1FM повышало уровни остеопонтин (OPN) в CSF здоровых добровольцев по сравнению с исходным уровнем. Уровни остеопонтин определяли с помощью иммуноанализа ECL с использованием системы Meso Scale Discovery.

Наблюдаемая модуляция уровней sCSF1R, YKL40 (CHI3L1), IL-1RA (IL1RN) и остеопонтин (SPP1) в CSF антителом к TREM2 AT.1FM указывает на активацию микроглии после взаимодействия с мишенью.

Предварительные данные были доступны для двух участников с БА из групп MD. У обоих этих участников с БА было снижено sTREM2 CSF в ответ на лечение AT.1FM, что свидетельствует о целевом вовлечении в соответствии с тенденцией, наблюдаемой у здоровых участников-добровольцев.

**Пример 4: Фармакокинетика антитела к TREM2 в сыворотке здоровых добровольцев.**

В этом примере описано исследование фазы 1 в соответствии с протоколом, описанным в Примере 1, в котором изучали периферическую фармакокинетику (ФК) внутривенно введенного антитела к TREM2 AT.1FM у здоровых людей.

Здоровым людям-добровольцам вводили однократную дозу антитела AT.1FM (или плацебо-контроль) в виде внутривенной инфузии в течение приблизительно одного часа. Дозы антитела к TREM2 AT.1FM, использованные в этом исследовании, составляли 0,003 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,6 мг/кг, 2 мг/кг, 6 мг/кг, 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Каждая группа с дозой 0,003 мг/кг, 0,03 мг/кг и 0,2 мг/кг включала одного субъекта, которому вводили дозу антитела AT.1FM. Каждая группа с дозой 0,6 мг/кг, 2 мг/кг, 6 мг/кг, 15 мг/кг, 30 мг/кг и 45 мг/кг включала 8 субъектов, 6 из которых получали дозу антитела AT.1FM и 2 из которых получали дозу плацебо-контроля. Группа с дозой 60 мг/кг включала 7 субъектов, 6 из которых получили дозу антитела AT.1FM, а 1 из которых получил дозу плацебо-контроля.

Кровь брали у людей в несколько моментов времени для получения концентраций антител к TREM2 в сыворотке для измерения фармакокинетики. Концентрации антител к TREM2 были доступны до 84 дней после введения дозы для всех групп. Концентрации антитела к TREM2 в сыворотке определяли с помощью анализа ELISA.

Данные ФК сыворотки для антитела к TREM2 AT.1FM у здоровых добровольцев из каждой группы доз представлены в **Таблице 3**.

**Таблица 3. Измерения фармакокинетики AT.1FM в сыворотке у здоровых добровольцев.**

Уровень дозы	$C_{\max}$ (мкг/мл) (CV%)	$AUC_{\text{беск.}}$ (ч*мкг/мл) (CV%)	$T_{1/2}$ (ч) (CV%)
0,003 мг/кг	0,06 (н/д)	3,85 (н/д)	43,5 (н/д)
0,03 мг/кг	0,88 (н/д)	94,3 (н/д)	101,3 (н/д)
0,2 мг/кг	4,32 (н/д)	432 (н/д)	116,1 (н/д)
0,6 мг/кг	15,4 (22,9)	1280 (27,6)	123,9 (13,8)
2 мг/кг	62,2 (23,0)	5369 (17,9)	188,1 (40,5)
6 мг/кг	147,7 (10,9)	15990 (10,3)	196,7 (11,0)

15 мг/кг	439,6 (22,2)	48090 (6,7)	207,1 (30,1)
30 мг/кг	725,0 (10,6)	81860 (20,4)	178,5 (29,2)
45 мг/кг	1087,0 (49,8)	116000 (48,1)	201,5 (37,4)
60 мг/кг	1413,4 (21,9)	129800 (28,1)	238,2 (21,5)
$C_{\max}$ =максимальная концентрация антитела; $AUC_{\text{беск.}}$ =площадь под кривой зависимости концентрации лекарственного средства от времени от нуля до бесконечности; $T_{1/2}$ =конечный период полувыведения; час=часы; CV%=коэффициент вариации; н/д=нет данных.			

Как показано в **Таблице 3**, антитело к TREM2 AT.1FM, введенное здоровым людям-добровольцам, показало приблизительно пропорциональную дозе  $C_{\max}$ . Данные также показали, что конечный период полувыведения из плазмы антитела к TREM2 AT.1FM был коротким при всех испытанных дозах, в диапазоне от 123,9 часа (5,16 дней) при дозе 0,6 мг/кг до 238,2 часа (9,93 дня) при дозе 60 мг/кг.

В целом, результаты, представленные в этом примере, показали, что в протестированных дозах антитело к TREM2 AT.1FM выводится быстрее, чем другие терапевтические антитела аналогичного класса. Например, антитело к TREM2 AT.1FM неожиданно показало короткий конечный период полувыведения в сыворотке по сравнению с другими антителами аналогичного класса (Ovacik, M and Lin, L, (2018) Clin Transl Sci 11, 540-552). Относительно короткий конечный период полувыведения антитела к TREM2 AT.1FM позволяет предположить, что это антитело может не обладать достаточно надежной терапевтической эффективностью. Однако, как показано в приведенных выше примерах, введение однократных доз антитела к TREM2 AT.1FM здоровым людям-добровольцам приводило к изменениям уровней белка в CSF для некоторых биомаркеров вовлечения мишени и/или активации микроглии (например, CSF1R, YKL40, IL-1RA, остеопонтин или TREM2), которые присутствовали через 2 дня после введения антитела и в некоторых случаях до 12 дней после введения антитела (см., например, Примеры 2 и 3). Аналогичным образом, как описано в последующих примерах, введение многократных доз антитела к TREM2 AT.1FM (или варианта антитела AT.1FM) приматам, не являющимся человеком, также приводило к устойчивой модуляции определенных биомаркеров вовлечения мишени и/или активации микроглии (например, TREM2, остеопонтин или CSF1R) в таких тканях, как лобная кора или гиппокамп и/или в CSF (см., например, Примеры 6, 7 и 8). Таким образом, несмотря на относительно короткий конечный период полувыведения антитела к TREM2 AT.1FM, результаты, описанные в данном документе, показывают, что антитело к TREM2 AT.1FM обладает

фармакодинамическими эффектами, которые указывают на терапевтическую активность антитела.

***Пример 5: Фармакокинетика антитела к TREM2 в спинномозговой жидкости (CSF) здоровых добровольцев.***

Спинномозговую жидкость (CSF) получали путем люмбальной пункции у здоровых добровольцев, которым вводили однократную дозу антитела к TREM2 AT.1FM (или контроль плацебо) в виде внутривенной инфузии, как описано выше в Примере 1. Концентрации антитела к TREM2 в CSF были протестированы в день 2 и день 12 после введения дозы для групп с дозой 6 мг/кг, 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Концентрации антитела к TREM2 в CSF определяли с помощью анализа ELISA.

Как показано на **Фиг. 9**, концентрации антитела к TREM2 AT.1FM в CSF продемонстрировали дозозависимое увеличение в день 2 и день 12 после введения дозы. На **Фиг. 9** данные представлены как среднее (+ стандартное отклонение) концентраций антитела к TREM2 AT.1FM в CSF (нг/мл). Через 12 дней после введения дозы отношение концентраций антитела к TREM2 AT.1FM в CSF к сыворотке составляло примерно 0,2%-0,3%.

***Пример 6: Антитело к TREM2 снижает паренхиматозные уровни TREM2 у приматов, отличных от человека.***

В этом примере описаны результаты исследования по оценке фармакодинамики (ФД) внутривенно введенного антитела к TREM2 AT.1FM у приматов, отличных от человека (макаки-крабоеды).

Для этого исследования приматам, отличным от человека, вводили антитело к TREM2 путем внутривенной инфузии в дозах 20 мг/кг, 80 мг/кг или 250 мг/кг один раз в неделю, всего 5 доз (N=6 на дозовую группу). Через сорок восемь часов после введения пятой дозы у животных собирали ткани и определяли количество белка TREM2 в лобной коре и в гиппокампе. Уровни белка TREM2 (нг), измеренные в образцах тканей, нормализовали к общему белку (мг) в каждом образце.

Как показано на **Фиг. 10А-10В**, антитело к TREM2 AT.1FM снижало паренхиматозные уровни TREM2 у отличных от человека приматов дозозависимым образом. В частности, антитело к TREM2 AT.1FM, введенное в дозах 20 мг/кг, 80 мг/кг и 250 мг/кг, снижало уровни белка TREM2 в лобной коре приматов, отличных от человека, по сравнению с животными, получавшими плацебо-контроль (**Фиг. 10А**). Дополнительно, антитело к TREM2 AT.1FM, введенное в дозах 20 мг/кг, 80 мг/кг и 250 мг/кг, снижало уровни белка TREM2 в гиппокампе приматов, отличных от человека, по сравнению с животными, получавшими плацебо-контроль (**Фиг. 10В**).

***Пример 7: Антитело к TREM2 снижает уровень sTREM2 в спинномозговой жидкости у приматов, отличных от человека.***

В этом примере описаны результаты исследования, в котором оценивали уровни растворимого TREM2 (sTREM2) в спинномозговой жидкости (CSF) приматов, отличных от человека (макаки-крабоеды), которым вводили антитело к TREM2 AT.1FM.

Приматам, отличным от человека, вводили антитело к TREM2 AT.1FM путем внутривенной инъекции в дозах 20 мг/кг, 80 мг/кг или 250 мг/кг один раз в неделю (q1w) в течение 3 недель (3x q1w; N=4 на дозовую группу). CSF получали от каждого животного в разное время после введения каждого антитела. Уровни sTREM2 измеряли в CSF.

Как показано на **Фиг. 11**, антитело к TREM2 снижало уровни sTREM2 в CSF дозозависимым образом у приматов, отличных от человека, по сравнению с исходным уровнем. Стрелками на **Фиг. 11** указано время введения дозы антитела к TREM2 в соответствии со схемой дозирования 3x q1w. Уровни sTREM2 в CSF снизились после первоначального введения дозы. В частности, уровни sTREM2 в спинномозговой жидкости снизились примерно до 50%-75% относительно исходных уровней sTREM2 у животных, получавших дозу 20 мг/кг; и снизились примерно до 20%-30% исходных уровней sTREM2 у животных, получавших дозу 80 мг/кг или 250 мг/кг.

**Пример 8: Антитело к TREM2 увеличивает маркеры микроглиальной активности у приматов, отличных от человека.**

В этом примере описаны результаты исследования, в котором оценивали уровни биомаркеров активности микроглии в спинномозговой жидкости (CSF) приматов, отличных от человека (макаки-крабоеды), которым вводили антитело к TREM2 AT.1FM.

Приматам, отличным от человека, вводили антитело к TREM2 AT.1FM путем внутривенной инъекции в дозах 20 мг/кг, 80 мг/кг или 250 мг/кг с использованием режима дозирования 3x q1w (N=4 на дозовую группу). CSF получали от каждого животного в разное время после введения каждого антитела и определяли уровни остеопонтина, маркера активированной микроглии.

В другом исследовании приматам, отличным от человека (яванским макакам), вводили 3 ежемесячных внутривенных инъекции контрольного антитела или антитела к TREM2 AT.1FM в дозе 250 мг/кг (N=4 на группу). Как показано на **Фиг. 12**, уровни остеопонтина по сравнению с исходным уровнем были значительно повышены в CSF животных, которым вводили AT.1FM, по сравнению с контрольной группой.

В другом исследовании приматам, отличным от человека (макаки-крабоеды), еженедельно вводили дозы контрольного антитела или антитела к TREM2 AL2p-58 huIgG1 (обозначаемого в данном документе как «AT.1F») с помощью внутривенной инъекции в дозе 80 мг/кг всего пять доз (N=5 на дозовую группу). AT.1F представляет собой вариант антитела к TREM2 AT.1FM, имеющий Fc, содержащий IgG1 дикого типа. Через сорок восемь часов после 5<sup>-й</sup> дозы собирали мозговую ткань и соответствующие лизаты анализировали на экспрессию белка CSF1R.

Как показано на **Фиг. 13**, уровни белка CSF1R в лобной коре и в гиппокампе приматов, отличных от человека, значительно увеличились после введения антитела к TREM2 AT.1F по сравнению с контрольными животными.

**Пример 9: Исследование фазы 2 для оценки эффективности и безопасности AT.1FM у участников с ранней болезнью Альцгеймера.**

В этом примере описано рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование фазы 2, в котором оценивают эффективность и безопасность антитела к TREM2 AT.1FM, вводимого внутривенно участникам с ранней болезнью Альцгеймера (БА).

#### **Дизайн исследования**

##### ***Критерии включения и исключения участников***

В исследование включаются взрослые в возрасте от 50 до 85 лет, отвечающие следующим критериям включения:

Диагностика ранней БА, включая признаки амилоидоза головного мозга с использованием CSF или ПЭТ, на основе континуума болезни Альцгеймера в рамках исследования Национального института старения и Ассоциации болезни Альцгеймера (NIA-AA) в 2018 г. (Jack et al., *Alzheimers Dement* (2018) 14(4):535-562).

Необходимо наличие признаков церебрального амилоидоза (A+), как подробно описано ниже:

Участник должен иметь положительный результат анализа крови PrecivityAD™-Aβ (т.е. иметь высокий балл вероятности наличия амилоидов [APS]) перед тем, как приступить к исследованиям амилоидов с помощью ПЭТ или CSF для подтверждения патологии бета-амилоида (Aβ). Анализ крови PrecivityAD™-Aβ объединяет концентрацию в крови изоформ Aβ амилоида-бета (1-42) (Aβ42), амилоида-бета (1-40) (Aβ40) и изоформ APOE, как измерено с помощью масс-спектрометрии наряду с возрастом (см., например, Schindler et al., *Neurology* (2019) 93(17):e1647- e1659).

Демонстрация амилоидной патологии с помощью амилоидного ПЭТ или соотношения фосфорилированного тау-белка (pTau)/амилоид-бета (1-42) (Aβ42) в CSF, как указано ниже, требуется для всех участников.

Участники с положительным результатом ПЭТ-сканирования на амилоид в анамнезе, полученные за ≤24 месяца до начала скрининга и отвечающие приемлемым критериям для ПЭТ-сканирования на амилоид в анамнезе, как указано ниже, не проходят анализ крови PrecivityAD™-Aβ.

Участники с подтвержденным положительным амилоидным ПЭТ-сканированием в анамнезе считаются положительными на церебральную патологию Aβ без дальнейшего тестирования.

Участники с промежуточным APS переходят к подтверждению с помощью амилоидной ПЭТ или соотношения pTau/Aβ42 в CSF. Участники с низким APS не допускаются.

Доказательства амилоидной патологии БА, что подтверждается либо положительным амилоидным сканированием ПЭТ посредством визуального считывания, проведенного в лаборатории ПЭТ, либо соотношением pTau/Aβ42 в CSF более 0,024, как измерено с помощью анализа Roche Elecsys. ПЭТ с амилоидами в анамнезе, проведенная ≤24 месяцев до начала скрининга, может соответствовать этому критерию; измерения CSF в анамнезе не могут соответствовать этому критерию.

Клиническая тяжесть соответствует стадиям 2, 3 или ранней стадии 4, как определено в рамках исследования NIA-AA 2018 г., а также описывается как легкие когнитивные нарушения и легкая деменция в рамках исследования NIA-AA 2018 г.

У участника есть легкая симптоматика, определяемая скрининговым кратким тестом психического состояния (MMSE)  $\geq 22$  баллов.

Участник имеет показатель общей CDR (CDR-GS) от 0,5 до 1,0.

У участника есть признаки эпизодического ухудшения памяти, как это определено показателем повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS) на основе показателя отсроченной памяти (DMI)  $\leq 85$ .

Если участник получает симптоматические лекарственные препараты от БА (для памяти и/или поведенческих симптомов), режим дозирования должен оставаться стабильным в течение 90 дней до начала скрининга и не должен изменяться во время участия в исследовании. Симптоматические препараты для лечения БА не назначаются, не модифицируются и не прекращаются в течение 90 дней до начала скрининга.

Лица, соответствующие любому из следующих критериев, исключаются из этого исследования:

Любое свидетельство о патологическом состоянии, отличном от БА, которое может влиять на познавательную способность, включая, но не ограничиваясь этим, лобно-височную деменцию, деменцию с тельцами Леви, сосудистую деменцию, болезнь Паркинсона, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Кройцфельда-Якоба, прогрессирующий супраядерный паралич, лобно-височную дегенерацию, заболевание Хантингтона, гидроцефалию с нормальным давлением, гипоксическое повреждение, расстройство схватывания, статическую энцефалопатию, закрытая травма головного мозга или нарушение развития.

Деменция из-за состояния, отличного от БА, включая, но не ограничиваясь этим, лобно-височную деменцию (FTD), болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, болезнь Хантингтона или сосудистую деменцию.

Известный анамнез тяжелых аллергических, анафилактических или других реакций гиперчувствительности на химерные, человеческие или гуманизированные антитела или слитые белки.

Текущая неконтролируемая гипертензия, сахарный диабет или заболевание щитовидной железы.

Клинически значимое заболевание сердца, сердечно-сосудистое заболевание или расстройство, заболевание или расстройство печени, заболевание или расстройство почек.

Анамнез или наличие клинически значимого заболевания головного мозга, кроме БА.

Невылеченный рак в анамнезе.

Текущее использование антикоагулянтов.

Анамнез или наличие сосудистого заболевания, которое может оказывать влияние на когнитивную функцию (например, клинически значимый вертебральный стеноз или

бляшка сонной артерии; аневризма аорты; внутрочерепная аневризма; макро-кровоизлияние; артериовенозный порок).

Анамнез или наличие клинического инсульта в течение последних 2 лет, задокументированный анамнез в течение последних 180 дней до скрининга острого явления, соответствующего транзиторной ишемической атаке, или наличие на МРТ любого кортикального инсульта независимо от возраста.

В анамнезе тяжелая, клинически значимая (например, стойкий неврологический дефицит или структурное повреждение головного мозга) травма ЦНС (например, ушиб головного мозга).

Анамнез или наличие внутрочерепной опухоли (например, глиомы, за исключением доброкачественных опухолей головного мозга, которые не вызывают когнитивных симптомов).

Наличие инфекций, влияющих на функцию головного мозга, или наличие в анамнезе инфекций, которые привели к неврологическим последствиям (например, вирус иммунодефицита человека, сифилис, нейроборрелиоз, вирусные или бактериальные менингит/энцефалит).

Участник в настоящее время имеет или имел острое заболевание, требующее или требовавшее внутривенного введения антибиотиков в течение 30 дней до первого введения исследуемого препарата.

Наличие в анамнезе или наличие системных аутоиммунных заболеваний, которые потенциально вызывают прогрессирующее неврологическое заболевание с сопутствующим когнитивным дефицитом (например, рассеянный склероз, красная волчанка, синдром антифосфолипидных антител, болезнь Бехчета).

Анамнез или наличие увеита, требующего медицинского вмешательства, хроническое воспалительное или дегенеративное заболевание глаза, текущая глазная инфекция, любое продолжающееся заболевание глаз (например, дегенерация, катаракта или диабетическая ретинопатия), требующее инъекционной медикаментозной терапии (например, ранибизумаб или афлиберцепт при дегенерации желтого пятна), или запланированная инвазивная глазная процедура в течение периода исследования.

Шизофрения, шизоаффективное расстройство, большое депрессивное расстройство или биполярное расстройство в анамнезе.

Склонность к самоубийству.

Алкоголь и/или расстройство, связанное с употреблением психоактивных веществ, от умеренной до тяжелой степени (согласно Диагностическому и статистическому руководству по психическим расстройствам, 5-е издание) в анамнезе в течение последних 2 лет.

МРТ свидетельствует о  $>2$  лакунарных инфарктах, любой территориальный инфаркт  $>1 \text{ см}^3$  или гиперинтенсивные поражения белого вещества в последовательности FLAIR, которые соответствуют общей оценке Фазекаса 3.

Наличие на МРТ >5 микрокровоизлияний и/или очагов лептоменингеального гемосидероза.

Наличие выраженной церебральной сосудистой патологии по данным МРТ.

У участника положительный результат на поверхностный антиген вируса гепатита В, общее количество ядерных антител к вирусу гепатита В, антитела или антиген ВИЧ-1 или -2 или наличие в анамнезе спирохетозной инфекции ЦНС (например, сифилиса, боррелиоза или болезни Лайма). Участники с положительным результатом на антитела к вирусу гепатита С допускаются, если тест на рибонуклеиновую кислоту (РНК) гепатита С отрицательный.

Участники с активным или скрытым туберкулезом.

Любое хроническое активное иммунное расстройство, требующее системной иммуносупрессивной терапии в течение 1 года до включения в исследование. Лежащая в основе дисфункция костного мозга на основе гемоглобина <10 г/дл, абсолютное число нейтрофилов >1000/мм<sup>3</sup> или количество тромбоцитов < 150000/мм<sup>3</sup>. Непрерывное использование преднизолона ≤10 мг/сутки или эквивалентного кортикостероида разрешен при стабильном режиме в течение как минимум 90 дней до исследуемого лечения; прерывистое краткосрочное использование преднизолона или эквивалентного кортикостероида разрешено для лечения острого состояния.

Аномальный тиреотропный гормон (ТТГ) при скрининге или анализы, которые остаются аномальными при повторном тестировании или требуют нового лечения или корректировки текущего лечения.

Скрининг уровней фолиевой кислоты или витамина В12, которые являются достаточно низкими или остаются низкими при повторном тестировании, так что дефицит может способствовать когнитивным нарушениям.

Скрининг гемоглобина А1с >8% или плохо контролируемый диабет (включая эпизоды гипогликемии).

Любое продолжительное использование лекарств, о которых известно, что они нарушают сознание или когнитивные функции (периодическое или кратковременное применение [например, < 1 недели] этих препаратов допускается при необходимости лечения какого-либо заболевания).

Любое предыдущее лечение лекарственными препаратами, используемыми для лечения симптомов болезни Паркинсона или любого другого нейродегенеративного расстройства (за исключением лекарственных препаратов для лечения болезни Альцгеймера) в течение 1 года после скрининга. Некоторые лекарственные препараты приемлемы, если участник принимает лекарство от ненейродегенеративного расстройства, такого как синдром беспокойных ног (например, прамипексол).

Типичные антипсихотические или нейролептические препараты в течение 180 дней после скрининга, за исключением кратковременного лечения непсихиатрических показаний (например, рвоты).

Атипичные антипсихотики, за исключением периодического кратковременного применения (<1 недели), что разрешено, кроме как в течение 2 дней или 5 периодов полувыведения (в зависимости от того, что дольше) перед любой нейрокогнитивной оценкой.

Антикоагулянты в течение 90 дней после скрининга; разрешены антитромбоцитарные препараты (например, аспирин, клопидогрель, дипиридамол).

Использование системной иммуносупрессивной терапии или предполагаемое использование системной иммуносупрессивной терапии во время исследования. Непрерывное использование преднизолона  $\leq 10$  мг/сутки или эквивалентного кортикостероида разрешен при стабильном режиме в течение по меньшей мере 90 дней до применения исследуемого лечения; прерывистое краткосрочное использование преднизолона или эквивалентного кортикостероида разрешено для лечения острого состояния.

Хроническое употребление опиатов или опиоидов (включая опиоидные препараты длительного действия) в течение 90 дней после скрининга. Периодическое кратковременное использование (<1 недели) опиоидных препаратов короткого действия от боли разрешается, за исключением 2 дней или 5 периодов полураспада (в зависимости от того, что дольше) до любой нейрокогнитивной оценки.

Стимулирующие препараты (амфетамин, препараты метилфенидата или модафинил) в течение 30 дней после скрининга и на протяжении всего исследования.

Хроническое употребление бензодиазепинов, барбитуратов или снотворных за 90 дней до скрининга. Периодическое кратковременное использование (< 1 недели) бензодиазепинов, буспирона или снотворных препаратов короткого действия для сна или беспокойства разрешены, кроме как в течение 2 дней или 5 периодов полувыведения (в зависимости от того, что дольше) до любой нейрокогнитивной оценки.

#### ***Лечение в рамках исследования***

Это исследование включает три экспериментальные группы и одну группу сравнения с плацебо. В **Таблице 4** представлен обзор групп исследования и методов лечения в этом исследовании.

***Таблица 4. Группы исследования и методы лечения.***

Группы в исследовании	Назначенное лечение
Доза 1 АТ.1FM (экспериментальная)	АТ.1FM вводили посредством внутривенной инфузии в дозе 15 мг/кг каждые 4 недели.
Доза 2 АТ.1FM (экспериментальная)	АТ.1FM вводили посредством внутривенной инфузии в дозе 40 мг/кг каждые 4 недели.
Доза 3 АТ.1FM (экспериментальная)	АТ.1FM вводили посредством внутривенной инфузии в дозе 60 мг/кг каждые 4 недели.
Плацебо для сравнения	Плацебо вводили путем внутривенной

инфузии каждые 4 недели.
--------------------------

АТ.1FM вводят в виде внутривенной (в/в) инфузии в течение примерно 60 минут.

### ***Цели исследования***

Основная цель этого исследования - оценить эффективность АТ.1FM в замедлении прогрессирования заболевания по сравнению с плацебо у участников с ранней БА.

Вторичной целью этого исследования является оценка эффективности АТ.1FM у участников с ранней БА, измеряемой по скорости изменения оценок клинических исходов, например, как описано ниже.

Целью фармакокинетики данного исследования является оценка концентрации АТ.1FM у участников с ранней БА в сыворотке и CSF.

Целью данного исследования является оценка безопасности и переносимости АТ.1FM у участников с ранней БА.

Исследовательская цель этого исследования состоит в том, чтобы оценить влияние АТ.1FM у участников с ранней БА на исследовательские фармакодинамические биомаркеры (например, как описано ниже).

### ***Основные критерии эффективности***

Первичной конечной мерой для этого исследования является прогрессирование заболевания, измеряемое с помощью суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB). Прогрессирование заболевания оценивают с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Вторичные показатели результатов этого исследования включают:

Изменение балла MMSE, оцениваемого с начала исследования до его завершения, до 48 или 96 недель.

Изменение показателя RBANS, оцениваемого с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Изменение оценки когнитивной подшкалы 13 шкалы оценки болезни Альцгеймера (ADAS-Cog13), оцениваемой с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Изменение показателя совместного исследования болезни Альцгеймера - повседневной деятельности, адаптированной к легким когнитивным нарушениям (ADCS-ADL-MCI), оцениваемого с начала исследования до его завершения, до 48 или 96 недель.

Изменение составной оценки болезни Альцгеймера (ADCOMS), оцениваемой с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Оценка безопасности и переносимости АТ.1FM, включая частоту нежелательных явлений.

Частота нежелательных явлений, оцениваемая с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Скорость изменения оценки MMSE.

Скорость изменения оценки RBANS.

Скорость изменения оценки ADAS-Cog13.

Скорость изменения оценки ADCS-ADL-MCI.

Скорость изменения оценки ADCOMS.

Изменение оценки CDR-SB по сравнению с исходным уровнем к неделе 48, 72 и 96.

Изменение оценки MMSE по сравнению с исходным уровнем к неделе 48, 72 и 96.

Изменение оценки RBANS по сравнению с исходным уровнем к неделе 48, 72 и 96.

Изменение оценки ADAS-Cog13 по сравнению с исходным уровнем к неделе 48, 72 и 96.

Изменение оценки ADCS-ADL-MCI по сравнению с исходным уровнем к недели 48, 72 и 96.

Изменение оценки ADCOMS по сравнению с исходным уровнем к неделе 48, 72 и 96.

Дополнительные показатели результатов этого исследования включают оценку фармакодинамических биомаркеров, включая изменения в магнитно-резонансной томографии (МРТ), биомаркеры крови, тау- и амилоидную позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), измерения речи и биомаркеры спинномозговой жидкости (CSF). Фармакодинамические биомаркеры оценивают с начала исследования до его завершения, вплоть до 48 или 96 недель.

Фармакокинетические (ФК) показатели результатов этого исследования включают:

Концентрации ФК AT.1FM в сыворотке и другие параметры ФК.

Концентрации AT.1FM ФК в CSF.

Возникновение антител к лекарственным средствам (ADA).

Показатели безопасности в этом исследовании включают:

Частота нежелательных явлений (АЕ), включая нежелательные явления, представляющие особый интерес (АЕСI), и серьезные нежелательные явления (SAE).

Изменения по сравнению с исходным уровнем основных показателей жизнедеятельности, физических данных, неврологических данных, офтальмологических данных, ЭКГ и результатов клинических лабораторных исследований.

Колумбийская шкала оценки серьезности суицидальных намерений (C-SSRS).

Нарушения при МРТ.

Исследовательские фармакодинамические (ФД) биомаркеры результатов этого исследования включают:

Изменения уровней растворимого TREM2 (sTREM2) в CSF и/или плазме по сравнению с исходным уровнем.

Изменения уровней биомаркеров, связанных с функцией микроглии, в CSF и/или плазме, по сравнению с исходным уровнем (например, CSF1R, IL1RN, остеоопонтин и YKL40).

Изменения по сравнению с исходным уровнем биомаркеров, связанных с патологией БА, в CSF и/или плазме (например, A $\beta$ 40, A $\beta$ 42, pTau и общий тау)

Изменения по сравнению с исходным уровнем биомаркеров нейродегенерации в плазме и CSF (например, NfL).

Изменения объема головного мозга по сравнению с исходным уровнем, оцененные с помощью объемной МРТ.

Изменения по сравнению с исходным уровнем патологической нагрузки тау в головном мозге, что оценено с помощью позитронно-эмиссионной томографии тау (тау-ПЭТ).

Изменения по сравнению с исходным уровнем амилоидной нагрузки в головном мозге, что оценено с помощью продольного амилоидного ПЭТ-сканирования.

Изменения по сравнению с исходным уровнем в измерениях речи с помощью оценки речи Winterlight Labs (WLSA).

### **Оценки исследования**

#### ***Оценки эффективности***

Основная цель этого исследования - оценить эффективность AT.1FM в замедлении прогрессирования заболевания по сравнению с плацебо у участников с ранней БА.

Выполняют следующие нейрокогнитивные и функциональные тесты: CDR, MMSE, RBANS, ADAS-Cog13, ADCS-ADL-MCI и WLSA. Нейрокогнитивные и функциональные тесты проводят перед введением исследуемого препарата и перед любыми стрессовыми процедурами (например, забором крови, люмбальной пункцией или визуализацией). Если участник следует прерывистым или краткосрочным схемам приема лекарств, которые, как известно, нарушают сознание или познавательную способность, такое лекарство прекращают за 2 дня или 5 периодов полураспада (в зависимости от того, что дольше) до любой когнитивной или поведенческой оценки. Использование каннабиноидов (кроме каннабидиола [CBD]) запрещено в течение 72 часов до любой когнитивной или поведенческой оценки.

#### ***Оценки безопасности***

Оценка безопасности включает мониторинг нежелательных явлений (АЕ), физикальное, офтальмологическое и неврологическое обследование, определение основных показателей жизнедеятельности, ЭКГ, клинические лабораторные анализы, колумбийскую шкалу оценки серьезности суицидальных намерений и МРТ.

#### ***Оценки ФК***

Выполняют заборы образцов крови ФК, CSF и ADA, а также измеряют концентрации AT.1FM. Во время визитов для дозирования в течение недель исследования 1, 5, 9, 13, 25 и 49 образцы ФК сыворотки собирают перед введением дозы, в течение 15 минут после окончания инфузии и в течение 60-90 минут после окончания инфузии. Во время всех других посещений для дозирования образцы ФК сыворотки берут до введения дозы и в течение 15 минут после окончания инфузии. Окончание инфузии определяют как окончание промывки линии. Во время посещений без дозирования образцы ФК сыворотки берут в любое время во время визита исследования.

Образцы крови, собранные для мониторинга ADA, анализируют на наличие ADA AT.1FM с использованием проверенного мостового иммунологического анализа. Дополнительные образцы для оценки ADA собирают у участников с признаками и симптомами реакций, связанных с инфузией. В таких случаях соответствующий дополнительный образец для ФК получают в тот же момент времени, что и наблюдаемая реакция, связанная с инфузией.

#### ***Оценка биомаркеров ФД***

Биомаркеры крови, оцениваемые в этом исследовании, включают:

sTREM2 в плазме.

Биомаркеры плазмы, имеющие отношение к БА (например, A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общий тау, pTau и легкий нейрофиламент [NfL]).

Дополнительные биомаркеры ФД, такие как анализ транскрипции цельной крови с последующим выделением гена PAX из клеточной РНК для оценки экспрессии TREM2, а также других представляющих интерес генов.

Биомаркеры CSF, оцениваемые в этом исследовании, включают:

sTREM2 в CSF.

Биомаркеры CSF, относящиеся к БА (например, A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, общий тау, pTau, NfL) и функционированию микроглии (например, YKL40 и остеопонтин)

Другие исследовательские биомаркеры ФД.

Биомаркеры визуализации, оцениваемые в этом исследовании, включают:

Меру МРТ-визуализации.

Меру продольной визуализации амилоидов с помощью ПЭТ, например, с использованием [ $^{18}$ F]флорбетабен (Neuraceq), [ $^{18}$ F]флорбетапир (Amyvid) или [ $^{18}$ F]флутаметамол (Vizamyl) в качестве радиофармпрепаратов.

Меры визуализации тау-ПЭТ, например, с использованием радиофармпрепарата для тау-ПЭТ [ $^{18}$ F]МК-6240.

#### ***Геномные оценки***

Образец крови собирают при скрининге для экстракции ДНК, чтобы генотипировать варианты APOE. Участников стратифицируют во время рандомизации на основе статуса APOE e4 (носитель или не носитель).

Образцы крови собирают на исходном уровне для выделения ДНК, чтобы обеспечить анализ целевых вариантов генома и анализ секвенирования всего генома (WGS) для выявления распространенных и редких генетических вариантов, которые позволяют прогнозировать ответ на AT.1FM, связаны с прогрессированием до более тяжелого болезненного состояния, связаны с выводами о безопасности или могут расширить знания и понимание биологии болезней.

Целевые геномные оценки в этом исследовании включают:

APOE e4

Варианты TREM2, варианты Ig-подобного лектина 3 (CD33), связывающего сиаловую кислоту, варианты трансмембранного белка 106b (TMEM106b) и варианты

CLUSTERIN.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или травмы у индивида, включающий введение индивиду антитела к TREM2 в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг внутривенно, причем антитело к TREM2 является агонистом.

2. Способ лечения и/или замедления прогрессирования заболевания или травмы у индивида, включающий введение индивиду антитела к TREM2 в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг внутривенно, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, и при этом:

(i) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPPGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32); или

(ii) HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32).

3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что доза составляет от около 15 мг/кг до около 60 мг/кг.

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что доза составляет около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг или около 60 мг/кг.

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг.

6. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждую неделю в дозе по меньшей мере около 15 мг/кг.

7. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 15 мг/кг.

8. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 20 мг/кг.

9. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 25 мг/кг.

10. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 30 мг/кг.

11. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 35 мг/кг.

12. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 40 мг/кг.

13. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 45 мг/кг.

14. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 50 мг/кг.

15. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 55 мг/кг.

16. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антитело к TREM2 вводят около одного раза каждые четыре недели в дозе около 60 мг/кг.

17. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSQWMN (SEQ ID №: 34), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGGGDTNYAGKFQG (SEQ ID №: 35), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNQPGESYAMDY (SEQ ID №: 31), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RSSQSLVHSNRYTYLH (SEQ ID №: 41), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID №: 33), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32).

18. Способ по любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 27, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 30.

19. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность YAFSSDWMN (SEQ ID №: 36), HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность RIYPGEGDTNYARKFHG (SEQ ID №: 37), HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность ARLLRNKPGESYAMDY (SEQ ID №: 38), HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность RTSQSLVHSNAYTYLH (SEQ ID №: 39), HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность KVSNRVS (SEQ ID №: 40), а HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность SQSTRVPYT (SEQ ID №: 32).

20. Способ по любому из пп. 1-16 или 19, отличающийся тем, что антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 28, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 29.

21. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанное антитело имеет изотип IgG1 человека.

22. Способ по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что антитело имеет изотип IgG1 человека и содержит аминокислотные замены в области Fc в положениях остатков P331S и E430G, при этом нумерация остатков соответствует нумерации EU.

23. Способ по любому из пп. 1-18 или 21-22, отличающийся тем, что антитело содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 43, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 44, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 47.

24. Способ по любому из пп. 1-16 или 19-21, отличающийся тем, что антитело содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 45, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 46, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID №: 48.

25. Способ по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что заболевание или травма выбраны из группы, состоящей из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Насу-Хакола, когнитивного дефицита, потери памяти, расстройства демиелинизации, рассеянного склероза, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза (БАС), болезни Хантингтона, лейкоэнцефалопатии у взрослых с аксональными сфероидными и пигментированной глией (ALSP) и таупатии.

26. Способ по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера.

27. Способ по п. 26, отличающийся тем, что индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE), составляющую от около 16 до около 28 баллов до введения антитела к TREM2.

28. Способ по п. 26 или п. 27, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 индивид имеет показатель общей клинической оценки деменции (CDR-GS), составляющий 0,5, 1,0 или 2,0.

29. Способ по любому из пп. 26-28, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат ПЭТ-сканирования на амилоиды.

30. Способ по любому из пп. 26-29, отличающийся тем, что индивиду вводят ингибитор холинэстеразы и/или терапию мемантином.

31. Способ по любому из пп. 26-30, отличающийся тем, что у субъекта наблюдаются симптомы болезни Альцгеймера до введения антитела к TREM2.

32. Способ по п. 31, отличающийся тем, что симптомы представляют собой легкие когнитивные нарушения и/или легкую деменцию.

33. Способ по любому из пп. 26-30, отличающийся тем, что у индивида не

наблюдаются симптомы болезни Альцгеймера до введения антитела к TREM2.

34. Способ по любому из пп. 1-33, отличающийся тем, что индивид является гетерозиготным или гомозиготным по мутации в TREM2.

35. Способ по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что у индивида наблюдается аминокислотная замена в белке TREM2 человека в положении остатка R47H, R62H или в обоих.

36. Способ по любому из пп. 1-35, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат теста на амилоиды или тау-белок в крови.

37. Способ по любому из пп. 1-36, отличающийся тем, что введение антитела к TREM2 приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 30% по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

38. Способ по любому из пп. 1-37, отличающийся тем, что введение антитела к TREM2 приводит к снижению уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 40% по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

39. Способ по п. 37 или п. 38, отличающийся тем, что снижение уровней растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида наблюдается примерно через 2 дня после введения антитела к TREM2.

40. Способ по любому из пп. 37-39, отличающийся тем, что уровни растворимого TREM2 в спинномозговой жидкости индивида измеряют в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида, с использованием электрохемилюминесцентного анализа.

41. Способ по любому из пп. 1-40, отличающийся тем, что введение антитела к TREM2 приводит к увеличению уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида по меньшей мере на около 5% по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида до введения антитела к TREM2.

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что увеличение уровней растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида наблюдается примерно через 2 дня после введения антитела к TREM2.

43. Способ по п. 41 или п. 42, отличающийся тем, что уровни растворимого CSF1R в спинномозговой жидкости индивида измеряют в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида, с помощью анализа ELISA.

44. Способ по любому из пп. 1-43, дополнительно включающий измерение уровней растворимого TREM2 в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

45. Способ по любому из пп. 1-44, дополнительно включающий измерение уровней растворимого CSF1R в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида

до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

46. Способ по любому из пп. 1-45, дополнительно включающий измерение уровней амилоидной нагрузки в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что уровни амилоидной нагрузки в головном мозге индивида измеряют с помощью позитронно-эмиссионной томографии с детектированием амилоидов.

48. Способ по любому из пп. 1-47, дополнительно включающий измерение одной или более аномалий в головном мозге индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что одну или более аномалий головного мозга измеряют с помощью магнитно-резонансной томографии.

50. Способ по п. 48 или п. 49, отличающийся тем, что одна или более аномалий головного мозга представляют собой объем головного мозга.

51. Способ по любому из пп. 1-50, дополнительно включающий обнаружение наличия изменения в одном или нескольких генах у индивида, выбранных из группы, состоящей из APOE, TREM2, CD33, TMEM106b и CLUSTERIN.

52. Способ по любому из пп. 1-51, дополнительно включающий измерение уровней одного или более биомаркеров нейродегенерации в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или несколько доз антитела к TREM2.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что один или более биомаркеров нейродегенерации представляют собой легкий нейрофиламент.

54. Способ по любому из пп. 1-53, дополнительно включающий измерение уровней экспрессии TREM2, CSF1R, YKL40, IL-1RA или остеопонтина в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

55. Способ по любому из пп. 1-54, дополнительно включающий измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера в образце крови, плазмы и/или спинномозговой жидкости индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что один или более биомаркеров болезни Альцгеймера представляют собой A $\beta$ 40, A $\beta$ 42, pTau и/или общий тау-белок.

57. Способ по любому из пп. 1-56, дополнительно включающий определение показателя одной или более клинических оценок индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, при этом одна или более клинических оценок выбраны из группы, состоящей из оценки краткого теста психического состояния (MMSE), общей клинической оценки деменции (CDR-GS), суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB) и повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS).

58. Способ по любому из пп. 1-57, дополнительно включающий проведение оценки с помощью тау- или амилоидной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

59. Способ по любому из пп. 1-58, отличающийся тем, что заболевание или повреждение представляет собой болезнь Альцгеймера, и при этом болезнь Альцгеймера представляет собой раннюю форму болезни Альцгеймера.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что у индивида наблюдается амилоидоз головного мозга до введения антитела к TREM2, при этом амилоидоз головного мозга оценивают в образце спинномозговой жидкости, полученном от индивида, или с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ).

61. Способ по п. 59 или п. 60, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 индивид имеет оценку краткого теста психического состояния (MMSE) по меньшей мере около 22 баллов.

62. Способ по любому из пп. 59-61, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 индивид имеет показатель общей клинической оценки деменции (CDR-GS) от около 0,5 до около 1,0.

63. Способ по любому из пп. 59-62, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 индивид имеет показатель повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса на основе показателя отсроченной памяти (RBANS DMI), составляющий 85 или менее.

64. Способ по любому из пп. 59-63, отличающийся тем, что до введения антитела к TREM2 у индивида имеется положительный результат теста на амилоиды или тау-белок в крови.

65. Способ по любому из пп. 59-64, дополнительно включающий определение показателя одной или более клинических оценок индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, при этом одна или более клинических оценок выбраны из группы, состоящей из суммы квадратов клинической оценки деменции (CDR-SB), краткого теста психического состояния (MMSE), повторяемой батареи для оценки нейропсихологического статуса (RBANS), шкалы оценки болезни Альцгеймера, когнитивной подшкалы-13 (ADAS-Cog13), совместного исследования болезни Альцгеймера, повседневной деятельности, адаптированной к легким когнитивным нарушениям (ADCS-ADL-MCI), и составной оценки болезни Альцгеймера (ADCOMS).

66. Способ по любому из пп. 59-65, дополнительно включающий измерение уровней одного или более биомаркеров болезни Альцгеймера до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, при этом один или более биомаркеров болезни Альцгеймера измеряют с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) или в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости, полученном от индивида.

67. Способ по любому из пп. 59-66, дополнительно включающий проведение оценки с помощью тау- или амилоидной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) у

индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

68. Способ по любому из пп. 59-67, дополнительно включающий выполнение одной или более оценок речи у индивида до и после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

69. Способ по любому из пп. 1-6 и 17-68, отличающийся тем, что (a) доза составляет около 15 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 8,63 дня; (b) доза составляет около 30 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 7,44 дня; (c) доза составляет около 45 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 8,40 дня; или (d) доза составляет около 60 мг/кг, а конечный период полувыведения антитела из плазмы индивида составляет около 9,93 дня.

70. Способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

71. Способ по п. 70, дополнительно включающий стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

72. Способ по п. 71, отличающийся тем, что определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы уменьшаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, по сравнению с уровнями растворимого TREM2 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

73. Способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

74. Способ по п. 73, дополнительно включающий стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

75. Способ по п. 74, отличающийся тем, что определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, по сравнению с уровнями растворимого CSF1R в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

76. Способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела

к TREM2.

77. Способ по п. 76, дополнительно включающий стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, по сравнению с уровнями YKL40 в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

79. Способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

80. Способ по п. 79, дополнительно включающий стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, по сравнению с уровнями IL-1RA в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

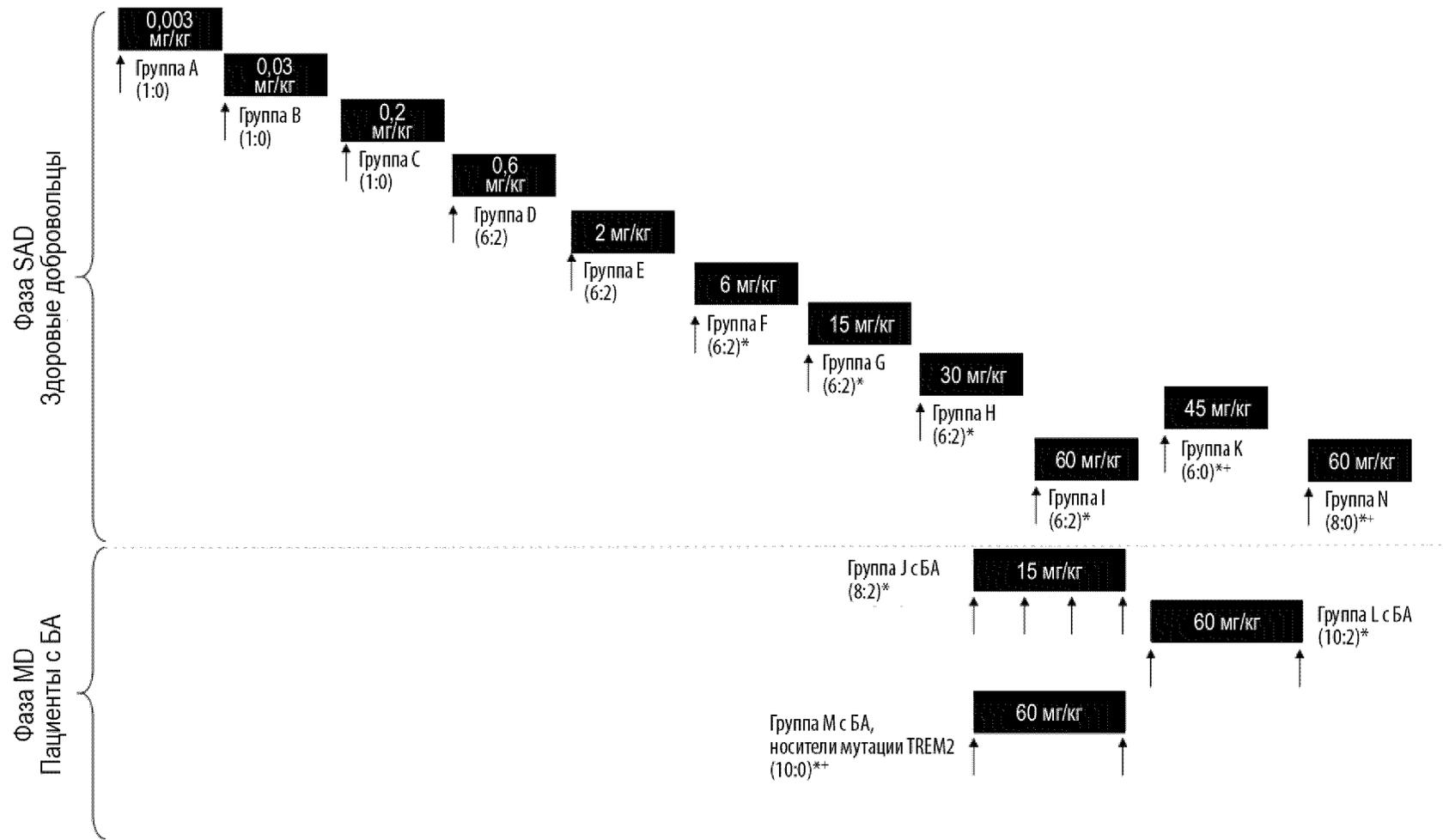
82. Способ наблюдения за лечением индивида, которому ввели антитело к TREM2, включающий измерение уровней остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы от индивида до или после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2.

83. Способ по п. 82, дополнительно включающий стадию оценки активности антитела к TREM2 у индивида на основе уровней остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы.

84. Способ по п. 83, отличающийся тем, что определяют, что антитело к TREM2 является активным у индивида, если уровни остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы повышаются после того, как индивид получил одну или более доз антитела к TREM2, по сравнению с уровнями остеопонтина в образце спинномозговой жидкости, крови или плазмы до того, как индивид получил дозу антитела к TREM2.

85. Способ по любому из пп. 70-84, отличающийся тем, что антитело к TREM2 представляет собой агонист.

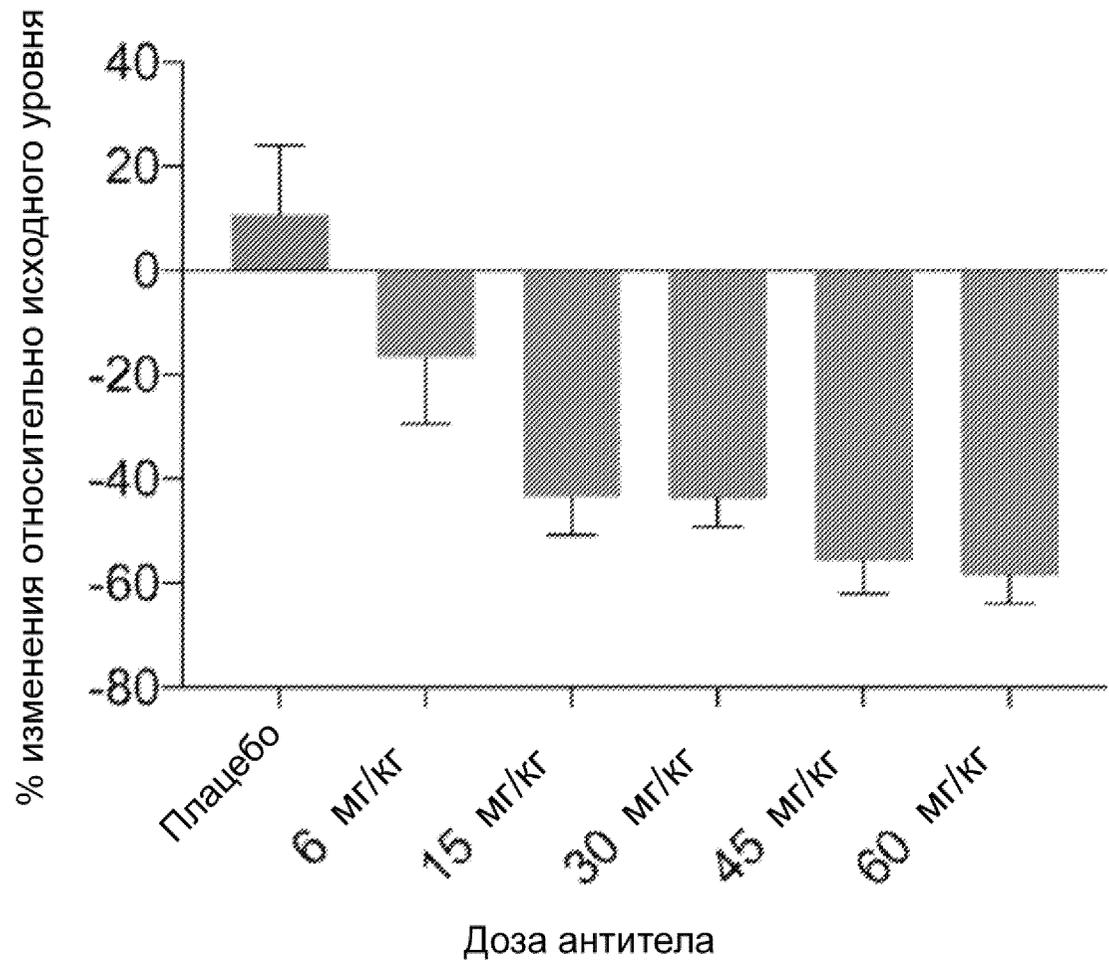
По доверенности



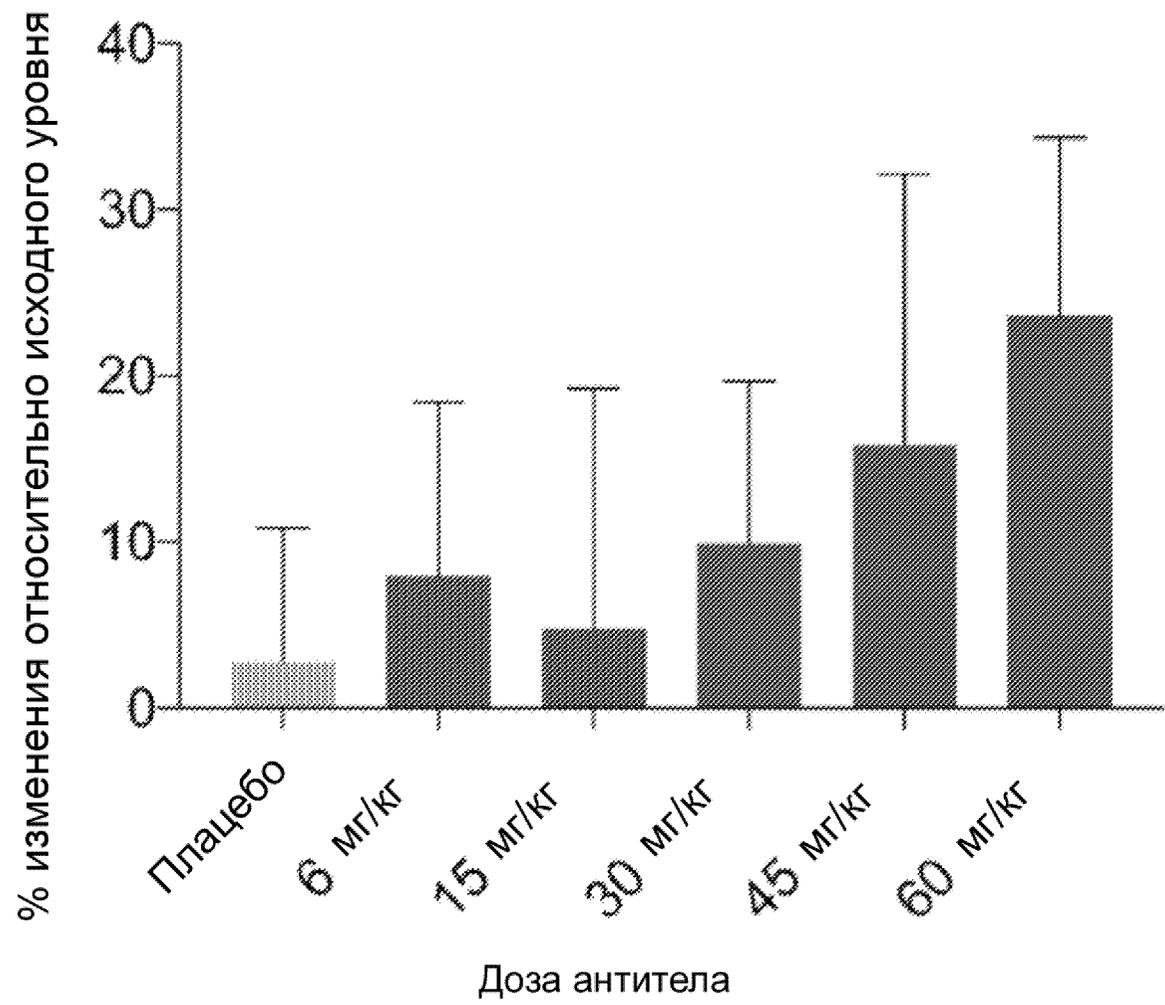
Фиг. 1

Побочное явление	Однократная возрастающая доза							
	Группа А,В,С 0,003-0,2 мг/кг (N=3) п (%)	Группа D 0,6 мг/кг (N=8) п (%)	Группа E 2 мг/кг (N=8) п (%)	Группа F 6 мг/кг (N=8) п (%)	Группа G 15 мг/кг (N=8) п (%)	Группа H 30 мг/кг (N=8) п (%)	Группа K 45 мг/кг (N=6) п (%)	Группа I 60 мг/кг (N=7) п (%)
Любое ТЕАЕ	2 (66,7)	4 (50,0)	4 (50,0)	7 (87,5)	6 (75,0)	6 (75,0)	6 (100,0)	6 (85,7)
Любое ТЕАЕ, связанное с лечением	2 (66,7)	2 (25,0)	4 (50,0)	4 (50,0)	2 (25,0)	5 (62,5)	5 (83,3)	6 (85,7)
Любое SAE	0	0	0	1 (12,5)*	0	0	0	0
Любое SAE, связанное с лечением	0	0	0	0	0	0	0	0
Любое ТЕАЕ, приводя- щее к раннему прекр.	0	0	0	0	0	0	0	0

Фиг. 2

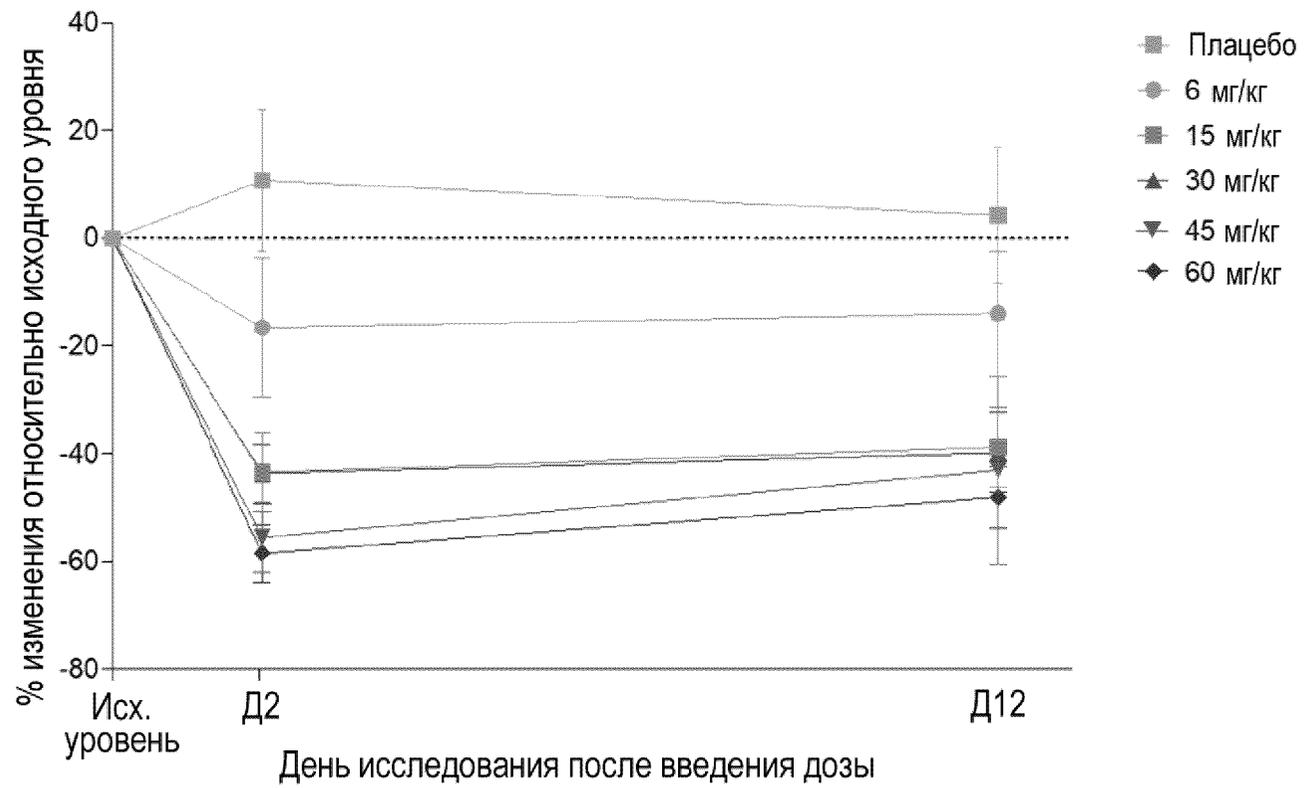


Фиг. 3А



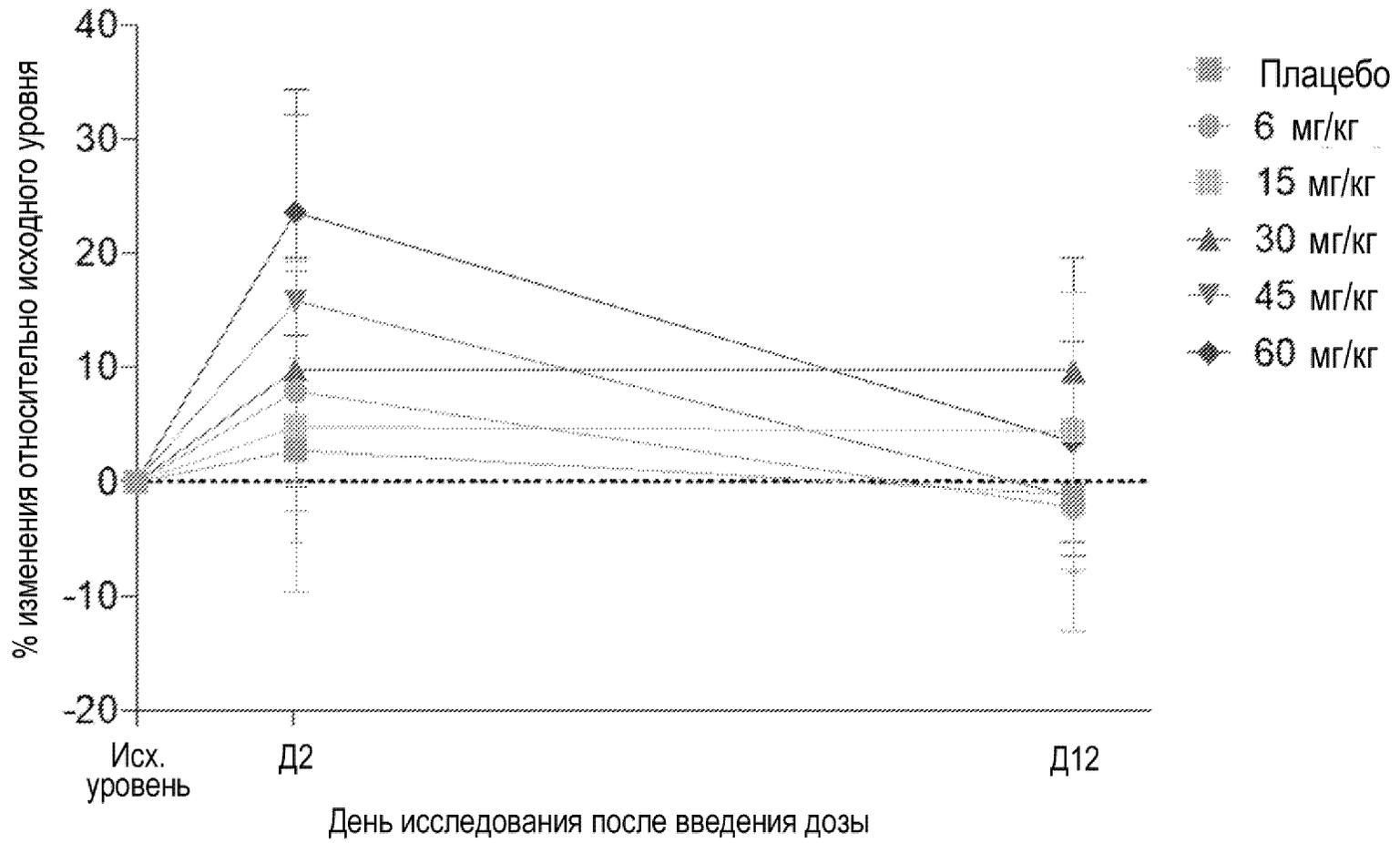
Фиг. 3В

### Уровни sTREM2 в CSF

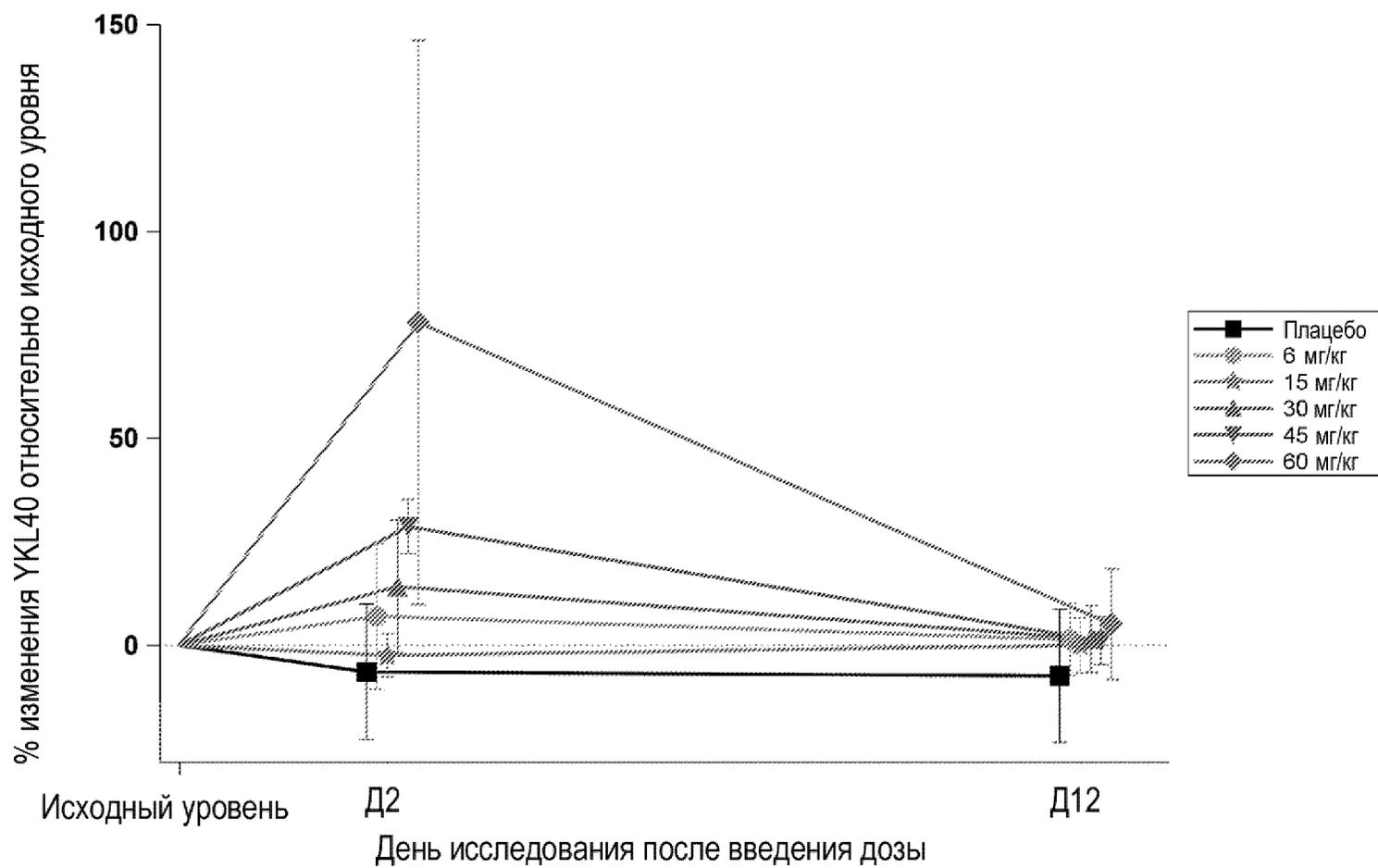


Фиг. 4

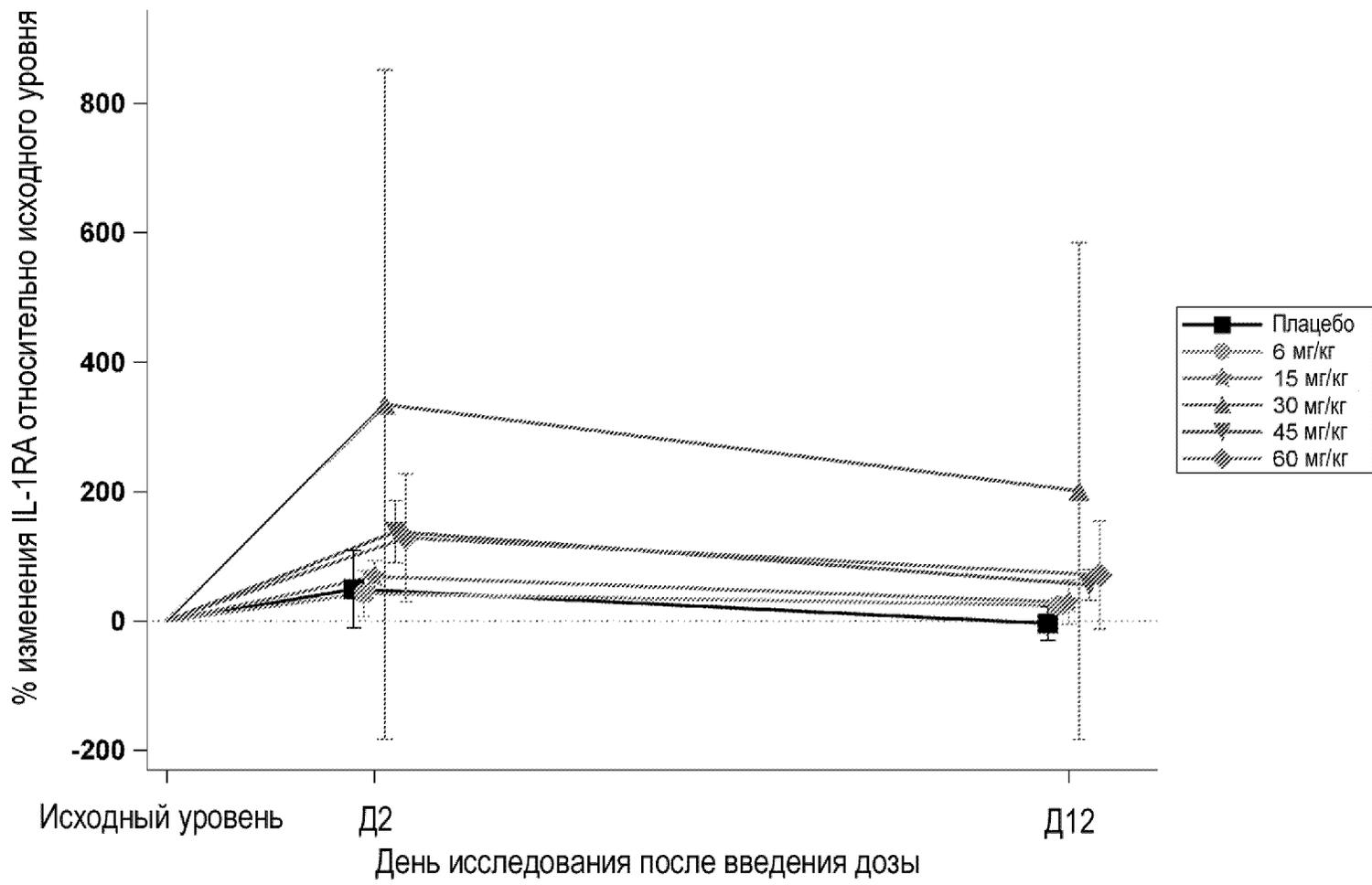
### Уровни sCSF1R в CSF



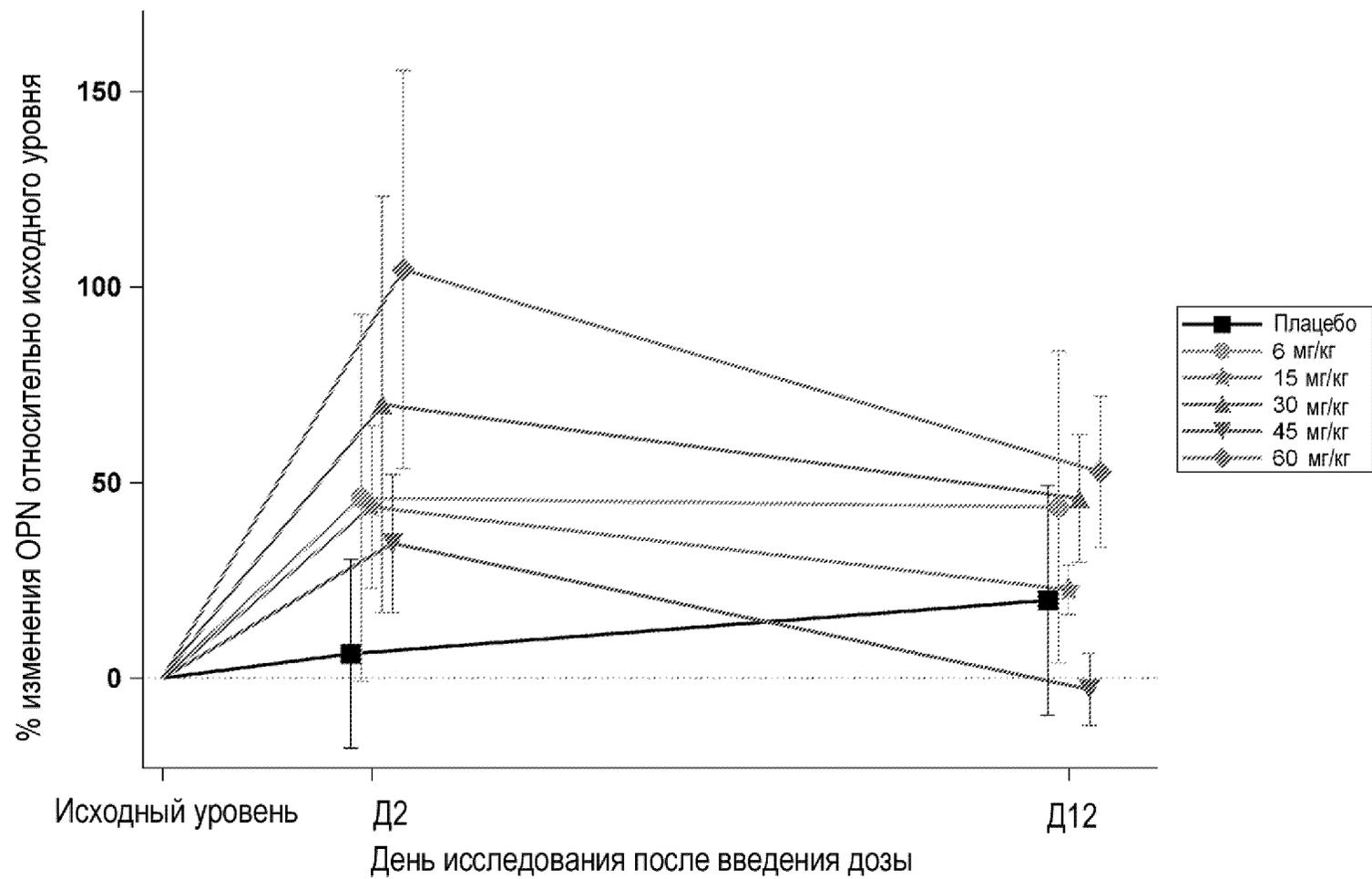
Фиг. 5



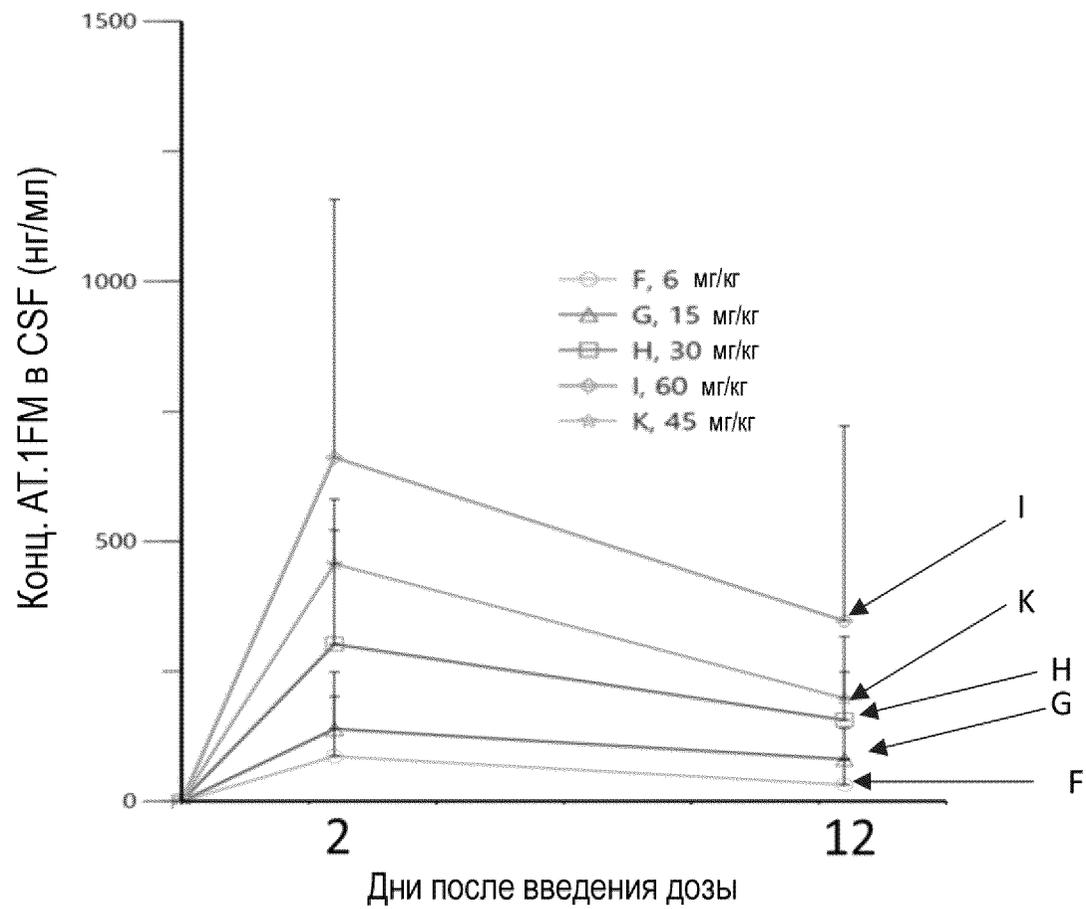
Фиг. 6



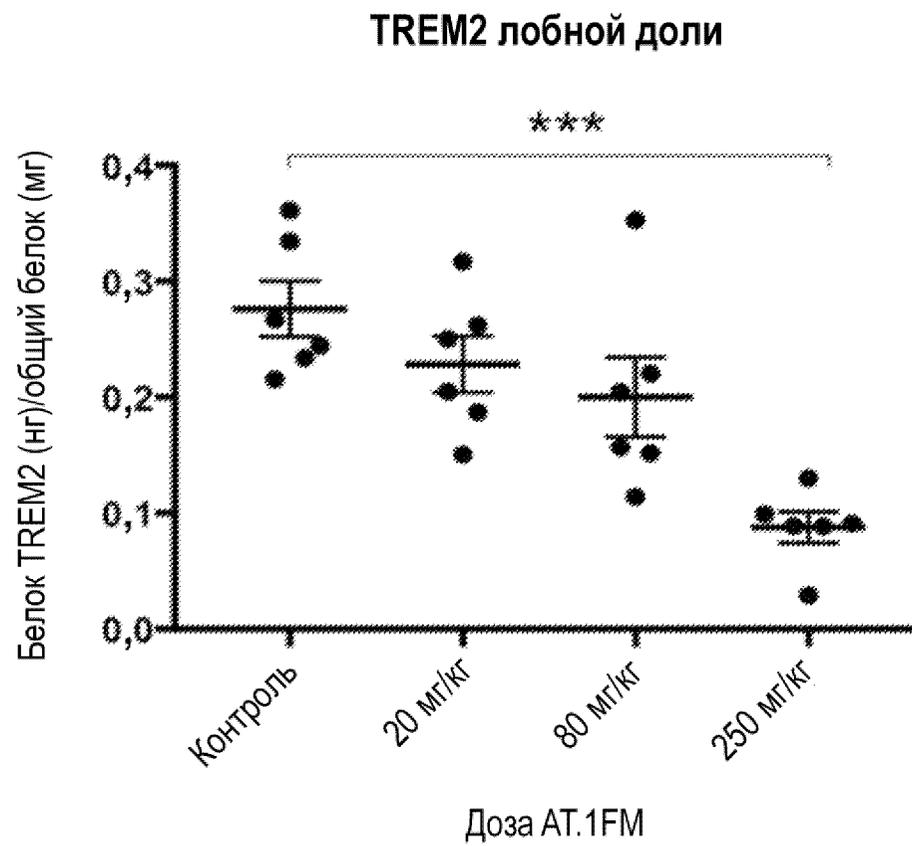
Фиг. 7



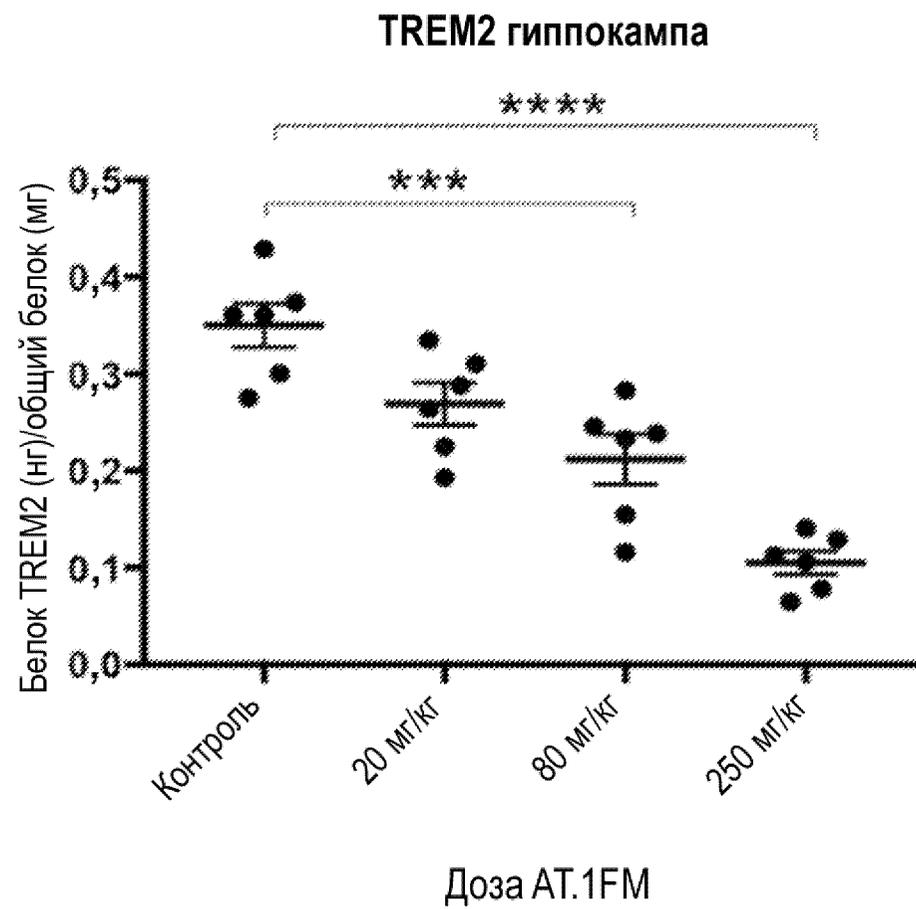
Фиг. 8



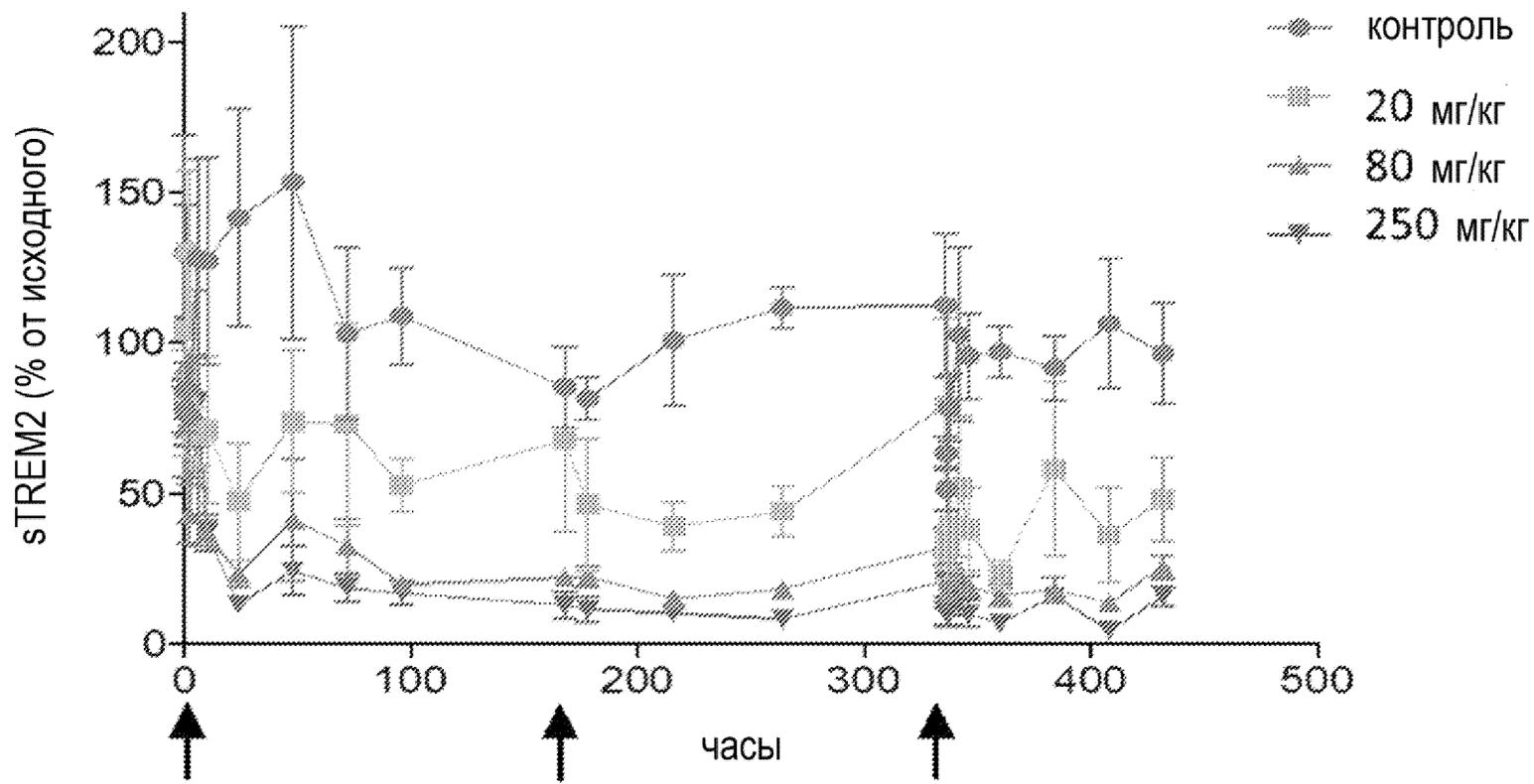
Фиг. 9



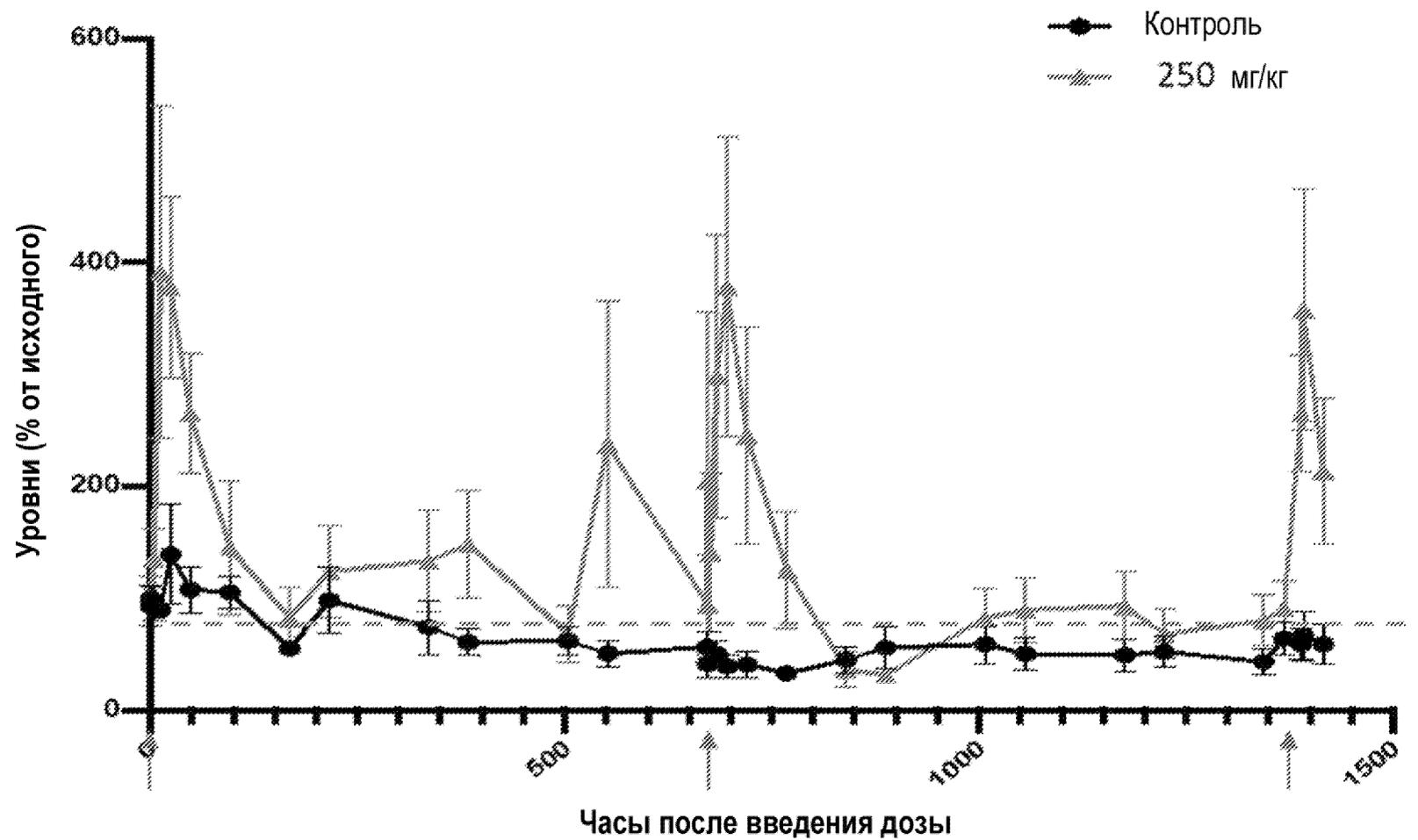
Фиг. 10А



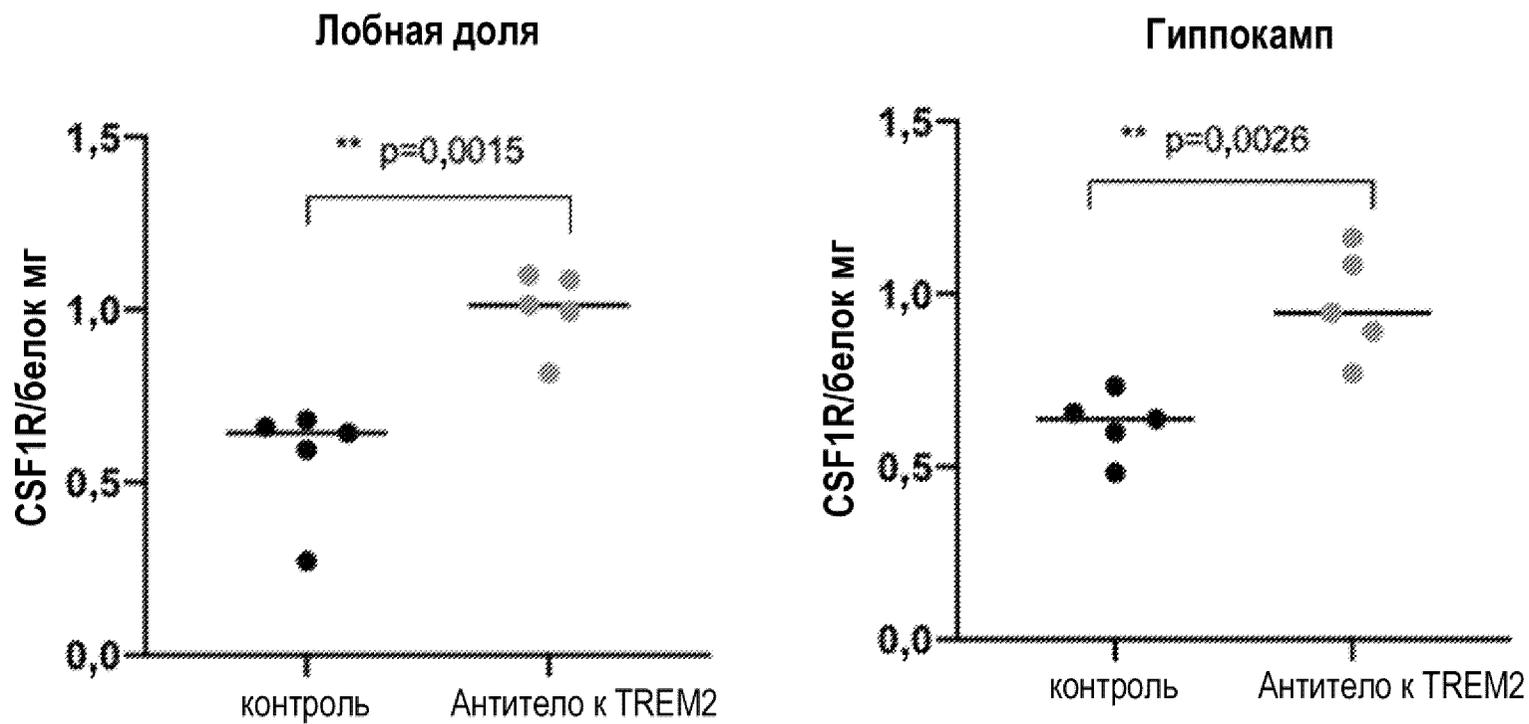
Фиг. 10В



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13