(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2014-528697
(P2014-528697A)
(43)公表日　平成26年10月30日(2014.10.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/04	(2006.01)	C12Q	1/04		4B063
C12N 5/0783	(2010.01)	C12N	5/00	202L	4B065
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	K	4C087
A61K 35/14	(2006.01)	G01N	33/53	D	
A61P 37/02	(2006.01)	A61K	35/14	Z	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 103 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-519174 (P2014-519174)
(86)(22)出願日　平成24年6月29日 (2012.6.29)
(85)翻訳文提出日　平成26年2月19日 (2014.2.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2012/045049
(87)国際公開番号　WO2013/006474
(87)国際公開日　平成25年1月10日 (2013.1.10)
(31)優先権主張番号　61/625,591
(32)優先日　平成24年4月17日 (2012.4.17)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/504,074
(32)優先日　平成23年7月1日 (2011.7.1)
(33)優先権主張国　米国(US)

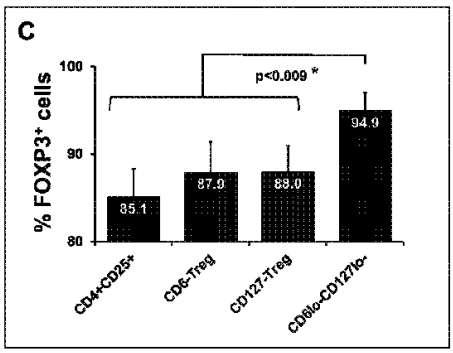
(71)出願人　510005889
ベックマン　コールター，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９２８２１，　ブレア，エス．クレーマー　ブールバード　２５０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(72)発明者　ガルシア　サンタナ，　カルロス　エー．
アメリカ合衆国　フロリダ　３３１７７，　マイアミ，　エスダブリュー　１６６ティーエイチ　ストリート　１４０８１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】調節性Ｔ細胞ならびにそれを同定する方法、それを取得する方法およびそれを使用して免疫ベースの障害を処置する方法

(57)【要約】
本明細書には、調節性Ｔ細胞、調節性Ｔ細胞を含む組成物、調節性Ｔ細胞またはそのサブセット集団を同定し、単離し、濃縮し、得、かつ／または増大させる方法、そのような方法を実施するために有用な構成成分を含むキット、ならびに個体における免疫に基づく障害を、調節性Ｔ細胞またはそのような調節性Ｔ細胞を含む組成物を、それを必要とする個体に投与することによって治療する方法が開示されている。一局面において、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法が提供され、この方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、上記試料中の上記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。

FIG. 5



【特許請求の範囲】
【請求項１】
免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。
【請求項２】
前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を単離または濃縮するステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるステップをさらに含む、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
前記スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、請求項１に記載の方法。
【請求項７】
前記スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
前記スクリーニングするステップが、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４９ｄバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ３８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}

／－ＣＤ４５ＲＡ^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＦｏｘＰ３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＦｏｘＰ３$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＴＬＡ－４$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＧＩＴＲバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＧＩＴＲ$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＬＡＧ－３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＬＡＧ－３$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ３９バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＤ３９$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＦｃＲＬ３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＦｃＲＬ３$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＣＲ７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＣＲ７$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＣＲ４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＣＲ４$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＣＲ８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＣＲ８$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＣＤ６２Ｌ$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、
Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＩＣＯＳバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／－ＩＣＯＳ$^{+}$または^{low}／－発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１０３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１０３$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＰＤ－１バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＰＤ－１$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１３４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１３４$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＧＡＲＰバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＧＡＲＰ$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＢ$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＯ$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ９５バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ９５$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１２２バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２２$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、ステップ、および／または

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップであって、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ８$^{+または ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定されるステップ

をさらに含む、請求項１に記載の方法。

【請求項９】

個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、

個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、

Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、

ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、

ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する前記亜集団Ｔ細胞を前記個体に投与し、それにより、前記個体における免疫反応を治療するステップと

を含む、方法。

【請求項１０】

ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する前記亜集団Ｔ細胞を前記個体に導入する前に、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する前記亜集団Ｔ細胞を増大させるステップをさらに含む、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】

前記スクリーニングするステップが、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出し、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップ、

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出し、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップ、または

Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出し、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップをさらに含む、請求項９に記載の方法。

【請求項１２】

前記免疫に基づく障害が、自己免疫性の状態、障害もしくは疾患、移植片拒絶反応、移植片対宿主病、または細菌、ウイルス、真菌、もしくは寄生生物由来の感染性非自己抗原に対する持続性かつ進行性の免疫反応である、請求項９に記載の方法。

【請求項１３】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む、キット。

【請求項１４】

ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンド、ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーリガンド、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカーリガンド、ＦｏｘＰ３バイオマーカーリガンド、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーリガンド、ＧＩＴＲバイオマーカーリガンド、ＬＡＧ－３バイオマーカーリガンド、ＣＤ３９バイオマーカーリガンド、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーリガンド、ＦｃＲＬ３バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ７バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ４バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ８バイオマーカーリガンド、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーリガンド、ＩＣＯＳバイオマーカーリガンド、ＣＤ１０３バイオマーカーリガンド、ＰＤ－１バイオマーカーリガンド、ＣＤ１３４バイオマーカーリガンド、ＧＡＲＰバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカーリガンド、ＣＤ９５バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２２バイオマーカーリガンド、ＣＤ８バイオマーカーリガンド、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項１３に記載のキット。

【請求項１５】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物であって、前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が、以下：

Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと

を含む方法によって得られる、組成物。

【請求項１６】

前記スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む前記試料をスクリーニングして、ＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、前記試料中の前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団

が同定される、請求項１５に記載の組成物。
【請求項１７】
前記方法が、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する前記亜集団Ｔ細胞を前記個体に導入する前に、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する前記亜集団Ｔ細胞を増大させるステップをさらに含む、請求項１５に記載の組成物。
【請求項１８】
２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団を同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、またはＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の２つの別個の集団の検出が、ｉ）ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンおよびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞、ｉｉ）ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンおよびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞、ｉｉｉ）ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンおよびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞、またはｉｖ）ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンおよびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞に基づく、方法。
【請求項１９】
免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットを同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、またはＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出が、ｉ）ＣＣＲ４^{ｌｏｗ}発現パターン、ＣＤ３９^{ｌｏｗ}発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{ｌｏｗ}発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉ）ＣＣＲ４$^{－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{－}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{－}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）ＣＣＲ４$^{ｈｉ／+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｈｉ／+}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{ｈｉ／+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン；およびｉｖ）ＣＲ４$^{ｈｉ／+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンを含む発現パターンに基づく、方法。
【請求項２０】
前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４$^{－}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９$^{－}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{－}$発現パターンを含むナイーブまたは休止免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットであり、
前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４^{ｌｏｗ}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９^{ｌｏｗ}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{ｌｏｗ}発現パターンを含む未成熟またはメモリー免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットであり、
前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ

$4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CCR4^{hi/+}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CD45RA^{-}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CD39^{hi/+}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CCR4^{hi/+}CD45RA^{-}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CCR4^{hi/+}CD39^{hi/+}$発現パターン、または$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{low/-}CCR4^{hi/+}HLA-DR^{low}$発現パターンを含む成熟またはエフェクター免疫抑制性調節性T細胞集団サブセットであり、かつ／または

前記免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CCR4^{hi/+}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CD45RA^{-}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CD39^{low}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}HLA-Dr^{low}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CCR4^{hi/+}CD45RA^{-}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CCR4^{hi/+}CD39^{low}$発現パターン、または$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD6^{hi/+}CCR4^{hi/+}HLA-DR^{low}$発現パターンを含む最終分化免疫抑制性調節性T細胞集団サブセットである、

請求項１９に記載の方法。

【請求項２１】

前記免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つまたは複数を単離または濃縮するステップをさらに含む、請求項１８に記載の方法。

【請求項２２】

前記免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの前記１つまたは複数を刺激性組成物と接触させ、それにより、免疫抑制性調節性T細胞の集団を増大させるステップをさらに含む、請求項２１に記載の方法。

【請求項２３】

免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットを同定する方法であって、

T細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、CD4バイオマーカー、CD25バイオマーカー、CD127バイオマーカー、ならびに、FoxP3バイオマーカー、CD45RAバイオマーカー、CCR4バイオマーカー、CD39バイオマーカー、またはHLA-Drバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ

を含み、前記免疫抑制性調節性T細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出が、ｉ）$CCR4^{low}$発現パターン、$CD39^{low}$発現パターン、または$HLA-Dr^{low}$発現パターンと併せて$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}$発現パターン；ｉｉ）$CCR4^{-}$発現パターン、$CD39^{-}$発現パターン、または$HLA-Dr^{-}$発現パターンと併せて$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）$CCR4^{hi/+}$発現パターン、$CD45RA^{-}$発現パターン、$CD39^{hi/+}$発現パターン、または$HLA-Dr^{low/-}$発現パターンと併せて$CD4^{+}CD25^{hi/+}CD127^{low/-}$発現パターン；およびｉｖ）$CR4^{hi/+}$発現パターン、$CD45RA^{-}$発現パターン、$CD39^{low/-}$発現パターン、または$HLA-Dr^{low/-}$発現パターンと併せて$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{+}$発現パターンを含む発現パターンに基づく、方法。

【請求項２４】

前記免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}CCR4^{-}$発現パターン、$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}CD39^{-}$発現パターン、または$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}HLA-Dr^{-}$発現パターンを含むナイーブまたは休止免疫抑制性調節性T細胞集団サブセットであり、

前記免疫抑制性調節性T細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、$CD4^{+}CD25^{+}CD127^{low/-}CD45RA^{+}CCR4^{low}$発現パターン、CD

４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９^{ｌｏｗ}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{ｌｏｗ}発現パターンを含む未成熟またはメモリー免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットであり、

前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＤ３９^{ｈｉ}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ３９^{ｈｉ}／$^{+}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｌｏｗ}／$^{－}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{ｌｏｗ}発現パターンを含む成熟またはエフェクター免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットであり、かつ／または

前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ３９^{ｌｏｗ}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{ｌｏｗ}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ３９^{ｌｏｗ}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＤ１２７^{ｈｉ}／$^{+}$ＣＣＲ４^{ｈｉ}／$^{+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{ｌｏｗ}発現パターンを含む最終分化免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、

請求項２３に記載の方法。

【請求項２５】

前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つまたは複数を単離または濃縮するステップをさらに含む、請求項２３に記載の方法。

【請求項２６】

前記免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの前記１つまたは複数を刺激性組成物と接触させ、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるステップをさらに含む、請求項２５に記載の方法。

【請求項２７】

個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮する方法であって、αＣＤ６抗体を前記個体に投与するステップを含み、前記投与によって、ＣＤ６^{ｈｉ}／$^{+}$発現パターンを含むＴ細胞が動作不能になるが、ＣＤ６^{ｌｏｗ}／$^{－}$発現パターンを含むＴ細胞は動作不能にならず、それにより、前記個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が濃縮される、方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【０００１】

Ｔ細胞またはＴリンパ球は、リンパ球として公知の白血球の一群に属し、細胞媒介性免疫において中心的な役割を果たす。これらは、Ｂ細胞などの他の種類のリンパ球とは、それらの細胞表面上にＴ細胞受容体（ＴＣＲ）と称される特別な受容体が存在することによって区別することができる。Ｔ細胞にはそれぞれが別個の機能を有するいくつかの異なるサブセットが発見されており、それらとして、Ｔヘルパー細胞（$Ｔ_{Ｈ}$細胞）、細胞傷害性Ｔ細胞（$Ｔ_{Ｃ}$細胞、またはＣＴＬ）、セントラルメモリーＴ細胞（$Ｔ_{ＣＭ}$細胞）およびエフェクターメモリーＴ細胞（$Ｔ_{ＥＭ}$細胞）を含めたメモリーＴ細胞（$Ｔ_{Ｍ}$細胞）、ナチュラルキラーＴ細胞（ＮＫＴ細胞）、ガンマデルタＴ細胞（γδＴ細胞）、ならびに調節性Ｔ細胞（$Ｔ_{ｒｅｇ}$細胞）が挙げられる。

【０００２】

調節性Ｔ細胞はサプレッサーＴ細胞としても公知であり、他の細胞の免疫応答を抑制するように作用する、Ｔ細胞の特殊化された亜集団である。例えば、$Ｔ_{ｒｅｇ}$細胞は、免疫反応の間のＴ細胞媒介性免疫の抑制および胸腺における負の選択のプロセスを免れた自己

反応性Ｔ細胞の抑制において主要な役割を果たす。ゆえに、T_{reg}細胞は、過剰な免疫原性反応を予防するための重要な「セルフチェック」をもたらし、したがって、免疫系の恒常性の維持および自己抗原に対する寛容性に極めて重要である。

【０００３】

T_{reg}細胞の２つの主要なクラスは、天然に存在するT_{reg}細胞および適応性T_{reg}細胞である。天然に存在するT_{reg}細胞（$CD4^+CD25^+FoxP3^+T_{reg}$細胞としても公知である）は胸腺において生じ、発生中のＴ細胞と、ＴＳＬＰで活性化された骨髄樹状細胞（$CD11c^+$）および形質細胞様樹状細胞（$CD123^+$）の両方との相互作用に関連づけられている。適応性T_{reg}細胞（Ｔｒ１細胞、Ｔｈ２細胞、Ｔｈ３細胞、およびＴｈ１７細胞を含む）は、正常な免疫応答の間に末梢において生じると思われ、T_{reg}細胞の発生および機能を促進すると思われる。

【０００４】

適応性T_{reg}細胞は、天然に存在するT_{reg}細胞の属性の多くを共有するが、重要な細胞表面バイオマーカーおよび機能的属性が異なる場合がある。例えば、それぞれＩＬ－１０およびＴＧＦβを産生するＴｒ１細胞およびＴｈ３細胞が記載されている。これらの結果により、マウスにおけるこの細胞サブセットを単離し、濃縮し、増大させることができることにより、免疫学的疾患における新規の治療介入がもたらされたので、免疫療法に対する新規の手法が導かれた。

【０００５】

天然に存在するT_{reg}細胞が自己寛容の重要な構成成分として同定されたことにより、免疫寛容を制御する免疫学および基本プロセスの調査の主な領域が開かれた。調節性Ｔ細胞は独特かつ頑強な治療的プロファイルを有する。細胞は、調節活性を生じるために特異的なＴ細胞受容体（ＴＣＲ）媒介性活性化を必要とするが、それらのエフェクター機能は、細胞間接触と抑制性サイトカインの産生の組み合わせによる非特異的な調節性の局所的炎症反応であると思われる。多数の試験により、天然に存在するT_{reg}細胞の、自己免疫疾患、移植、および移植片対宿主病における病理的免疫応答の抑制における強い影響が実証されている。しかし、ヒトという環境において天然に存在するT_{reg}細胞を試験および適用することの主な障害になっているのは、T_{reg}細胞を定義し、Ｔ細胞の他のサブセット、例えば、T_H細胞、T_C細胞、T_{CM}細胞、T_{EM}細胞などから分離し、さらに、T_{reg}細胞の異なる亜集団の間の区別を行うための特異的な細胞表面バイオマーカーが欠如していることである。

【０００６】

T_{reg}細胞を同定するため、単離するため、濃縮するため、または別のやり方で活用するための研究では、いくつもの異なる方法が用いられている。天然に存在するT_{reg}細胞に対して最も広く使用されているマーカーは表面抗原分類（ｃｌｕｓｔｅｒ ｏｆ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ）４（ＣＤ４）、表面抗原分類２５（ＣＤ２５）、フォークヘッド／ウイングドヘリックス転写因子ボックス（ｆｏｒｋｈｅａｄ／ｗｉｎｇｅｄ－ｈｅｌｉｘ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ｆａｃｔｏｒ ｂｏｘ）Ｐ３（ＦｏｘＰ３）、細胞傷害性Ｔリンパ球関連抗原４（ＣＴＬＡ－４）、グルココルチコイド誘導性腫瘍壊死因子受容体ファミリー関連遺伝子（ＧＩＴＲ）、リンパ球活性化遺伝子－３（ＬＡＧ－３）、および表面抗原分類１２７（ＣＤ１２７）である。残念ながら、蓄積されている証拠により、上記に列挙されたマーカーは厳密に言えばT_{reg}細胞に特異的ではないことが示唆される。例えば、天然に存在するT_{reg}細胞を同定するためにＣＤ２５表面マーカーおよびＣＤ４表面マーカーの高発現（$CD4^+CD25^+$細胞）が最初に使用された。しかし、ＣＤ４はT_H細胞およびT_M細胞の亜集団でも発現される。ＣＤ２５は、病原体に対する免疫応答の間などの免疫活性化の環境では非調節性Ｔ細胞でも発現される。したがって、ＣＤ４およびＣＤ２５の発現によって定義されると、T_{reg}細胞は成熟T_H細胞のうちの約５～１０％を構成する。Ｆｏｘｐ３の細胞における発現をさらに測定することにより、天然に存在するT_{reg}細胞（$CD4^+CD25^+FoxP3^+$細胞）をより特異的に分析することが可能になった。しかし、Ｆｏｘｐ３は活性化T_{EM}細胞にお

いても一過性に発現され、現在では、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{ｌｏｗ／－}$Ｔ細胞、T_H細胞、T_C細胞、およびメモリーＴ細胞を含めた大部分のヒトＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞およびＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞が、活性化されるとＦｏｘｐ３を一過性に発現することが文書で十分に裏付けられている。さらに、ＦｏｘＰ３は、染色の前に細胞膜の透過処理を必要とする核マーカーである。ゆえに、このバイオマーカーを使用することにより、その後の、機能的研究のため、または免疫療法において使用するための加工ステップ、例えば、生存可能な天然に存在するT_{reg}細胞の分離、単離、濃縮、または増大などが妨げられる。

【０００７】

ヒトにおける天然に存在するT_{reg}細胞（ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを示す）とT_H細胞（ＣＤ１２７$^{+}$発現パターンを示す）を識別するために、ＣＤ１２７を加えることを用いることができることが示唆されている。しかし、大部分のＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞が活性化されるとＣＤ１２７を下方制御することが最近報告された。さらに、ＣＤ１２７の喪失は、濾胞性ヘルパーＴ細胞（T_{FH}細胞）の特徴であり、これは、ヒト扁桃腺におけるＢ細胞に役立つ。ＣＴＬＡ－４はＴ細胞活性化の負の制御因子であり、全てのＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞およびＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞において、活性化の２～３日後に上方制御される。同様に、T_{EM}細胞で、活性化されるとＧＩＴＲおよびＬＡＧ－３の発現が誘導される。したがって、現在使用されているT_{reg}細胞バイオマーカー（ＣＤ２５、ＣＴＬＡ－４、ＧＩＴＲ、ＣＤ１２７、ＬＡＧ－３、ＧＡＲＰおよびＦｏｘＰ３）は全て、一般的なＴ細胞活性化マーカーであると思われる。ゆえに、これらのバイオマーカーはT_{reg}細胞に特異的ではないと思われ、したがって、天然に存在するT_{reg}細胞を、活性化T_H細胞などの他のＴ細胞サブセットと区別することに関して信頼できるものではない。したがって、現行のバイオマーカー試験では天然調節性Ｔ細胞および適応性調節性Ｔ細胞の多くが見落とされている可能性があり、特定の自己免疫性の環境における欠損または欠陥に関連する結論には疑問が生じる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

したがって、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、濃縮し、増大させるための改善された方法ならびに個体における免疫反応を調整する方法を開発する必要がある。さらに、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物ならびに個体における免疫反応を調整するための、そのような化合物の使用を開発する必要がある。最後に、上記の方法を行うために有用なバイオマーカーおよび／または他の構成成分を含むキットを開発する必要がある。

【課題を解決するための手段】

【０００９】

本開示は、表面抗原分類６（ＣＤ６）が、一般に免疫抑制性調節性Ｔ細胞の同定において、さらに、別のバイオマーカーと同時に使用すれば別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の亜集団の同定において特に有用なバイオマーカーであるという発見に関する。

【００１０】

したがって、本明細書の複数の態様には、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法が開示されている。ある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法。別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バ

イオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法。

【００１１】

別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される方法。

【００１２】

試料は、血液から得たＴ細胞、例えば、対象の末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、リンパ、胸腺、骨髄から単離されたものなど、またはこれだけに限定することなく、膵臓、眼、心臓、肝臓、神経、腸、皮膚、筋肉、軟骨、靭帯、滑液、および／または関節を含めた任意の特定の組織／器官試料を含んでよい。使用することができる他のバイオマーカーとしては、ＣＤ１２７バイオマーカー、表面抗原分類４９ｄ（ＣＤ４９ｄ）バイオマーカー、表面抗原分類３８（ＣＤ３８）バイオマーカー、表面抗原分類４５ＲＡ（ＣＤ４５ＲＡ）バイオマーカー、ヒト白血球抗原血清型ＤＲ（ＨＬＡ－ＤＲ）バイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、エクトヌクレオチダーゼ（ＣＤ３９）バイオマーカー、イカロスファミリーのメンバージンクフィンガー核タンパク質（Ｈｅｌｉｏｓ）バイオマーカー、オーファン受容体ＦｃＲＬ３（ＦｃＲＬ３）バイオマーカー、サイトカイン受容体７（ＣＣＲ７またはＣＤ１９７）バイオマーカー、サイトカイン受容体４（ＣＣＲ４またはＣＤ１９４）バイオマーカー、サイトカイン受容体８（ＣＣＲ８またはＣＤｗ１９８）、表面抗原分類ＣＤ６２Ｌ（ＣＤ６２Ｌ）バイオマーカー、誘導性Ｔ細胞共刺激分子（ＩＣＯＳまたはＣＤ２７８）バイオマーカー、表面抗原分類１０３（ＣＤ１０３）バイオマーカー、プログラム死－１（ＰＤ－１）バイオマーカー、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーのメンバーＯＸ４０（ＣＤ１３４）バイオマーカー、糖タンパク質Ａ反復優性（ｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ－Ａ　ｒｅｐｅｔｉｔｉｏｎｓ　ｐｒｅｄｏｍｉｎａｎｔ）（ＧＡＲＰ）バイオマーカー、表面抗原分類４５ＲＢ（ＣＤ４５ＲＢ）バイオマーカー、表面抗原分類４５ＲＯ（ＣＤ４５ＲＯ）バイオマーカー、表面抗原分類９５（ＣＤ９５）バイオマーカー、表面抗原分類１２２（ＣＤ１２２）バイオマーカー、表面抗原分類１４７（ＣＤ１４７）、表面抗原分類８（ＣＤ８）バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられる。これらの追加的なバイオマーカーの使用は、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の亜集団の同定において特に有用である。開示されているバイオマーカーは抗体であってもリガンドで

あってもよく、また、標識されていても標識されていなくてもよい。標識されている場合は、バイオマーカーは、フルオロフォア、量子ドット、リン光体（ｐｈｏｓｐｈｏｒｅ）、化学発光化合物、生物発光化合物、発色性化合物、ランタニドのような同位元素化合物、放射性同位元素、酵素、ビオチン分子、アビジン分子、またはバイオマーカーが結合した細胞を検出するために有用な任意の他の標識で標識されていてよい。同定するステップは、試料および有用なバイオマーカーを含め、本明細書に開示されている通りである。同定するステップでは、標識されたバイオマーカーを、フローサイトメーター、細胞選別機、磁気粒子／ビーズ、補体溶解、細胞パニング（ｃｅｌｌ　ｐａｎｎｉｎｇ）または細胞を単離または濃縮するための当業者に公知の他の方法論とともに使用することができる。さらに別の態様では、開示されている方法には、試料をスクリーニングするために使用されるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まないという条件がある。本明細書に開示されている方法は、同定された免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を単離または濃縮することをさらに含んでよい。本明細書に開示されている方法は、同定され、単離または濃縮された免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させることをさらに含んでよい。

【００１３】

本明細書の他の態様には、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、本明細書に開示されているＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法が開示されている。ある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。

【００１４】

別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステ

ップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。

【００１５】

同定するステップは、試料および有用なバイオマーカーを含め、本明細書に開示されている通りである。単離するステップでは、標識されたバイオマーカーを、フローサイトメーター、細胞選別機、磁気粒子／ビーズ、または細胞を単離するための当業者に公知の他の方法論とともに使用することができる。同定するステップと単離するステップは、任意の順序で、または、共通の決定因子を検出するために使用される多数の区別可能なバイオマーカーを使用することによって同時に進行させることができる。さらに別の態様では、開示されている方法には、試料をスクリーニングし、かつ／または単離するために使用されるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まないという条件がある。本明細書に開示されている方法は、単離された免疫抑制性調節性Ｔ細胞の亜集団を濃縮し、または増大させるステップをさらに含んでよい。

【００１６】

本明細書のさらに他の態様には、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、本明細書に開示されているＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、本明細書に開示されているＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法が開示されている。ある態様では、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。別の態様では、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。

【００１７】

別の態様では、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。さらに別の態様では、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。さらに別の態様では、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、Ｔ

細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法。

【００１８】

試料および有用なバイオマーカーを含めた同定するステップならびに標識されたバイオマーカーおよび方法論を含めた単離するステップは本明細書に開示されている通りである。刺激性組成物は、抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を含み、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、またはＴ細胞の生存または成長作用物質を含めた１種または複数種の追加的な作用物質をさらに含んでよい。あるいは、所望の発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を、まず濃縮し、または増大させ、次いで、本明細書に開示されている通り単離することができる。

【００１９】

本明細書のさらに他の態様には、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法が開示されている。ある態様では、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法。別の態様では、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法。

【００２０】

別の態様では、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法。さらに別の態様では、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少な

くとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法。さらに別の態様では、個体における免疫反応を調整する方法であって、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む方法。

【００２１】

試料および有用なバイオマーカーを含めた同定するステップならびに標識されたバイオマーカーおよび方法論を含めた単離するステップは本明細書に開示されている通りである。本開示の方法は、本明細書に開示されている所望の発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に、その亜集団Ｔ細胞を濃縮し、または増大させるステップをさらに含んでよい。あるいは、本明細書に開示されている試料をスクリーニングする前に、かつ／または本明細書に開示されている所望の発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を単離する前に、生物学的試料中の個体適合性Ｔ細胞の集団を濃縮し、または増大させることができる。

【００２２】

本明細書の他の態様には、本明細書に開示されている方法のいずれかを実施することにおいて有用な構成成分を含むキットが開示されている。ある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、かつ／または単離もしくは濃縮するためのキットはＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む。別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。そのような開示されているキットは、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンド、ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、ＣＤ３８バイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーリガンド、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカーリガンド、ＦｏｘＰ３バイオマーカーリガンド、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーリガンド、ＧＩＴＲバイオマーカーリガンド、ＬＡＧ－３バイオマーカーリガンド、ＣＤ３９バイオマーカーリガンド、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーリガンド、ＦｃＲＬ３バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ７バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ４バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ８バイオマーカーリガンド、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーリガンド、ＩＣＯＳバイオマーカーリガンド、ＣＤ１０３バイオマーカーリガンド、ＰＤ－１バイオマーカーリガンド、ＣＤ１３４バイオマーカーリガンド、ＧＡＲＰバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカーリガンド、ＣＤ９５バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２２バイオマーカーリガンド、ＣＤ１４７バイオマーカーリガンド、ＣＤ８バイオマーカーリガンド、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含んでよい。開示されているバイオマーカーリガンドは抗体であってもリガンドであってもよく、また、標識されていても標識されていなくてもよい。標識されている場合は、バイオマーカーリガンドは、フルオロフォア、量子ドット、リン光体、化学発光化合物、生物発光化合物、発色性化合物、ランタニドのような同位元素化合物、放射性同位元素、酵素、ビオチン分子、アビジン分子、またはバイオ

マーカーが結合した細胞を検出するために有用な任意の他の標識で標識されていてよい。標識されていない場合は、キットは、バイオマーカーリガンドを標識するために有用な標識および他の試薬をさらに含んでよい。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、本明細書に開示されている刺激性組成物を含む。そのようなキットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンドまたは本明細書に開示されている少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドをさらに含んでよい。開示されているキットは、陽性対照および／または陰性対照をさらに含んでよい。さらに、開示されているキットは、キットの内容物を使用することによって免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、濃縮し、かつ／または増大させるための説明書をさらに含んでよい。

【００２３】

本明細書のさらに他の態様には、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法によって得られる免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物が開示されている。ある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、本明細書に開示されているＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。

【００２４】

別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む方法によって得られる。

【００２５】

同定するステップは、試料および有用なバイオマーカーを含め、本明細書に開示されている通りである。単離するステップでは、標識されたバイオマーカーを、フローサイトメ

ーター、細胞選別機、磁気粒子／ビーズ、補体溶解、細胞パニングまたは細胞を単離するための当業者に公知の他の方法論とともに使用することができる。同定するステップと単離するステップは、任意の順序で、または、共通の決定因子を検出するために使用される多数の区別可能なバイオマーカーを使用することによって同時に進行させることができる。本明細書に開示されている方法は、同定された免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を濃縮し、または増大させるステップをさらに含んでよい。

【００２６】

本明細書のさらに他の態様には、免疫応答を治療するための、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物の使用が開示されている。免疫応答は自己免疫応答であってよい。

【００２７】

本明細書の他の態様には、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮する方法であって、αＣＤ６抗体を個体に投与するステップを含み、投与することにより、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含むＴ細胞が動作不能になるが、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞は動作不能にならず、それにより、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が濃縮される方法が開示されている。

【００２８】

本明細書の他の態様には、免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットを同定する方法が開示されており、ある態様では、該方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、またはＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含んでよく、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出は、ｉ）ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉ）ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）ＣＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{hi/+}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターン；およびｉｖ）ＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンに基づく。別の態様では、該方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、またはＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含んでよく、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出は、ｉ）ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉ）ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）ＣＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{hi/+}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン；およびｉｖ）ＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$発現パターンに基づく。免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットとしては、限定することなく、ナイーブまたは休止免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセット、未成熟またはメモリー免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセット、成熟またはエフェ

クター免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセット、および最終分化免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットが挙げられる。

【図面の簡単な説明】

【００２９】

【図１】図１Ａは、ＣＤ４$^{+}$リンパ球をＣＤ４／ＦＯＸＰ３およびＣＤ２５／ＦＯＸＰ３の発現について分析したドットプロットを示す。図１Ｂは、ＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞集団およびＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞集団におけるＣＤ６の低発現または陰性の発現を、それぞれＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{-}$細胞集団およびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{-}$細胞集団と比較したオーバーレイプロットを示す。

【図２】図２Ａは、ＣＤ４$^{+}$リンパ球を分析したドットプロットを示す。図２Ｂは、ＣＤ４$^{+}$リンパ球をＣＤ６／ＣＤ２５の発現について、および３種の異なるＣＤ４$^{+}$細胞サブセット：ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$およびＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$におけるＦＯＸＰ３の発現について分析したドットプロットを示す。

【図３】図３は、リンパ球をＣＤ６／ＣＤ２５の発現について、および３種の異なるリンパ球サブセット：ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$およびＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$におけるＦＯＸＰ３の発現を分析したドットプロットを示す。

【図４】図４Ａは、ＰＢＭＣを、ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団およびＣＤ６$^{+}$細胞集団におけるＦＯＸＰ３の発現について分析したドットプロットを示す。図４Ｂは、全ＰＢＭＣ、ＰＢＭＣ　ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団およびＰＢＭＣ　ＣＤ６$^{+}$細胞集団におけるＦＯＸＰ３$^{+}$細胞の発現の％のグラフを示す。

【図５－１】図５Ａは、リンパ球をＣＤ２５／ＣＤ４の発現、ＣＤ２５／ＣＤ６の発現、およびＣＤ２５／ＣＤ１２７の発現について、および以下のＣＤ４$^{+}$細胞サブセット：ＣＤ２５$^{+}$、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$、およびＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$におけるＦＯＸＰ３の発現を分析したドットプロットを示す。図５Ｂは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球をＣＤ６およびＣＤ１２７の発現について、および以下のＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$細胞サブセット：ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$およびＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$におけるＦＯＸＰ３の発現について分析したドットプロットを示す。

【図５－２】図５Ｃは、種々のマーカーの組み合わせによって定義される異なるｎＴ$_{reg}$集団におけるＦＯＸＰ３の発現のグラフを示す。棒グラフは、９体の異なる健康なドナーの末梢血から単離したＰＢＭＣから得た平均＋ＳＤを示す。ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$細胞において、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}集団、ＣＤ６－Ｔ$_{reg}$集団およびＣＤ１２７－Ｔ$_{reg}$集団と比較してＦＯＸＰ３$^{+}$の有意に高い濃縮が観察される（ｐ＜０．００９、Ｕ－マンホイットニー検定）。

【図６】図６Ａは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$細胞（ＣＤ６－ｎＴｒｅｇ）およびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$細胞（ＣＤ１２７－ｎＴｒｅｇ）の選別スキームを用いた、選別前および選別後の細胞の純度の代表的な結果のドットプロットを示す。図６ＢはＴ$_{reg}$抑制アッセイを示し、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む細胞が、αＣＤ３モノクローナル抗体およびαＣＤ２８モノクローナル抗体を用いて刺激したＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖に対する有意な（ｒ＜０．９９）用量反応抑制機能を有することが実証されている。前駆体発生頻度（ｐｆ）のパーセント抑制（％抑制＝ｐｆ試料／ｐｆ増殖対照×１００）が示されている。平均およびＳＤを、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{lo/-}$アッセイ実験における４つの試料および試験の陽性対照としてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$ｎＴｒｅｇアッセイ実験における９つの試料から算出した。

【図７】図７は、ＣＤ６$^{low/-}$ＦＯＸＰ３$^{+}$リンパ球をＦＯＸＰ３／ＣＤ４５ＲＡの発現について分析したドットプロットを示す。

【図８】図８は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$リンパ球をＦＯＸＰ３、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ４５ＲＡ、またはＨＬＡ－Ｄｒの発現について分析したドットプロットを示す。

【図９－１】図９Ａは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球、ＣＤ２５$^{+}$／ＣＤ６$^{low/-}$リ

ンパ球、およびＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$リンパ球を、ＧＡＲＰおよびＣＤ３９の発現またはＣＤ４５ＲＡおよびＣＣＲ４の発現について分析したドットプロットを示す。図９Ｂは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球、ＣＤ２５$^{+}$／ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$リンパ球、およびＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏ／－}$リンパ球を、ＣＤ４およびＦＯＸＰ３の発現、ＨＬＡ－ＤｒおよびＦＯＸＰ３の発現、またはＣＴＬＡ－４およびＦＯＸＰ３の発現について分析したドットプロットを示す。

【図９－２】図９Ｃは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$細胞集団、ＣＤ２５$^{+}$／ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$細胞集団、およびＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏ／－}$細胞集団におけるＦＯＸＰ３、ＨＬＡ－Ｄｒ、またはＣＴＬＡ－４の発現のグラフを示す。棒グラフは、５つの健康な対照試料から得た平均＋ＳＤを示す。

【図１０－１】図１０Ａは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$リンパ球をＣＤ４５ＲＡおよびＣＣＲ４の発現について分析したドットプロットおよび３つの細胞集団サブセット：ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４$^{－}$（ナイーブ／休止、Ｎ／Ｒ）、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$／ＣＣＲ４^{ｌｏｗ}（未成熟／メモリー、Ｉ／Ｍｅ）およびＣＤ４５ＲＡ$^{－}$／ＣＣＲ４^{ｈｉ}（成熟／エフェクター、Ｍａ／Ｅ）の同定を示す。図１０Ｂは、Ｎ／Ｒ集団サブセット、Ｉ／Ｍｅ集団サブセット、およびＭａ／Ｅ集団サブセットをＨＬＡ－ＤｒおよびＣＤ３９の発現について分析したドットプロットを示し、矢印はマーカーの発現の方向を示す。

【図１０－２】図１０Ｃは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$リンパ球をＣＤ４５ＲＡおよびＣＣＲ４の発現について分析したドットプロットおよび細胞集団サブセットＣＣＲ４^{ｈｉ}ＣＤ３９$^{－}$ＨＬＡ－ＤＲ$^{－}$（最終分化、ＴＤ）の同定を示す。図１０Ｄは、ＴＤ集団サブセットをＨＬＡ－ＤｒおよびＣ３９の発現について分析したドットプロットを示す。

【図１０－３】図１０Ｅは、Ｎ／Ｒ集団サブセット、Ｉ／Ｍｅ集団サブセット、Ｍａ／Ｅ集団サブセット、およびＴＤ集団サブセットにおけるＣＤ２５、ＣＤ３９、ＨＬＡ－ＤｒおよびＣＤ６２Ｌの発現の量のグラフを示す。図１０Ｆは、ＣＤ６$^{ｌｏ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏ／－}$ｎＴｒｅｇにおけるｎＴｒｅｇ関連マーカーについてのバックゲーティング（ｂａｃｋ－ｇａｔｉｎｇ）と３Ｄ分析の組み合わせによるＣＤ４５ＲＡ／ＣＣＲ４の二変量分析によって定義されるＮ／Ｒ集団サブセット、Ｉ／Ｍｅ集団サブセット、およびＭａ／Ｅ集団サブセットを分析したドットプロットを示し、ＨＬＡ－ＤＲ$^{+}$細胞の大部分がＣＣＲ４とＣＤ３９を同時発現することが示されている。

【図１０－４】図１０Ｇは、ＨＬＡ$^{－}$Ｄｒ$^{－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$（２．３±０．３）、ＨＬＡ$^{－}$ＤＲ$^{－}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$（３．２±０．３）、およびＨＬＡ$^{－}$ＤＲ$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$（５．０±０．７）におけるＦＯＸＰ３の発現のグラフを示す。図１０Ｈは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$ｎＴ$_{ｒｅｇ}$集団をＣＤ４５ＲＡおよびＧＡＲＰの発現について分析したドットプロットおよび３つの細胞集団サブセット：ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＧＡＲＰ$^{－}$（Ｐｏｐ１）、ＣＤ４５ＲＡ$^{－}$ＧＡＲＰ$^{－}$（Ｐｏｐ２）およびＣＤ４５ＲＡ$^{－}$ＧＡＲＰ$^{+}$（Ｐｏｐ３）の同定を示し、矢印はマーカーの発現の方向を示す。図１０Ｉは、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$ｎＴ$_{ｒｅｇ}$集団をＣＤ４５ＲＡおよびＧＡＲＰの発現について分析したドットプロットを示す。

【発明を実施するための形態】

【００３０】

本明細書は、ＣＤ６が試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の同定において特に有用なバイオマーカーであるという発見に関する。本明細書には、ヒトＴ細胞の表面膜におけるＣＤ６の低発現または陰性の発現の検出により、天然に存在する調節性Ｔ細胞の定義が改善されることが開示されている。このＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$の検出により、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、濃縮し、かつ／または増大させるための改善された方法を開発することが可能になる。さらに、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$免疫抑制性調節性Ｔ細胞を単離し、濃縮し、かつ／または増大させることができることにより、免疫に基づく障害の治療において有用な細胞療法を開発することが可能になる。

【００３１】
本明細書の複数の態様には、一部において、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法が開示されている。一実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３２】
別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３３】
さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３４】
さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３５】
さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３６】
さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３７】
別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。
【００３８】
別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマ

ーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップとを含み、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。

【００３９】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。

【００４０】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングしてＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含み、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される。

【００４１】

本明細書で使用される場合、「試料」または「生物学的試料」という用語は、哺乳動物、好ましくはヒトから取り出された、調節性Ｔ細胞を含有する組織または体液を指す。試料は、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）試料または血液のような末梢血試料、骨髄細胞試料を含めた血液および／または血液画分であってよい。試料とは、これだけに限定することなく、リンパ、胸腺、膵臓、眼、心臓、肝臓、神経、腸、皮膚、筋肉、軟骨、靭帯、滑液、および／または関節を含めた対象の任意の特定の組織／器官試料も包含してよい。試料は、健康な個体または望ましくない免疫応答が罹患した細胞、組織、および／もしくは器官を有する個体を含めた任意の個体から取得することができる。例えば、試料は、アレルギー、移植片対宿主病、細胞もしくは器官の移植、または自己免疫性の疾患もしくは障害を有する個体から取得することができる。そのような試料を得るための方法は、免疫学および医薬の当業者には周知である。それらの方法は、血液および血液構成成分を常套的な手順を用いて抜き取り、処理すること、または、生検材料を骨髄もしくは他の組織もしくは器官から標準の医学的技法を用いて得ることを伴う。

【００４２】

本明細書で使用される場合、「バイオマーカー」という用語は、リンパ球で発現される、またはリンパ球の異なるサブセットで示差的に発現されるエピトープ、抗原または受容体を指す。いくつかのバイオマーカーの発現は特定のＢ細胞系列またはＴ細胞系列または成熟経路の細胞に対して特異的であり、他のバイオマーカーの発現は同じ細胞の活性化の状態、位置、または分化に応じて変動する。バイオマーカーは、細胞表面バイオマーカーであっても細胞内バイオマーカーであってもよい。一実施形態では、本明細書に開示されている方法において使用されるバイオマーカーは全て細胞表面バイオマーカーである。別の実施形態では、本明細書に開示されている方法において使用されるバイオマーカーは全て細胞内バイオマーカーである。さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法において使用されるバイオマーカーは、細胞表面バイオマーカーと細胞内バイオマーカーの両方を含む。例示的なバイオマーカーとしては、限定することなく、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、Ｈ

ＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、およびＣＤ８バイオマーカーが挙げられる。本開示の方法を実施するため、および開示されているキットに含めるために有用な他のバイオマーカーは当技術分野で公知である。

【００４３】

一実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態のある態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態のさらに別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態のさらに別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４４】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合

わせを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態のある態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４５】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態のある態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４６】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカー、ならびに以下の追加的なバイオマーカーのうちの１種または複数種：ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４７】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカー、ならびに以下の追加的なバイオマーカーのうちの１種または複数種：ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－

４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４８】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカー、ならびに以下の追加的なバイオマーカーのうちの１種または複数種：ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。

【００４９】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも２種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態のある態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも２種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも２種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態のさらに別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも２種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態のさらに別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカーおよびＣＤ２５バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマ

ーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも２種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。

【００５０】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも３種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態のある態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも３種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態の別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも３種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。この実施形態のさらに別の態様では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップを含む。ただし、試料をスクリーニングするために使用される少なくとも３種の異なるバイオマーカーは、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、またはＦｏｘＰ３バイオマーカーとＣＴＬＡ－４バイオマーカーの両方を含まない。

【００５１】

本明細書で使用される場合、「バイオマーカーリガンド」という用語は、リンパ球で発現されるまたはリンパ球の異なるサブセットで示差的に発現されるエピトープ、抗原または受容体に特異的に結合することができる分子を指す。バイオマーカーリガンドとは抗体を包含する。本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、特定の抗原に応答して成される免疫系により生成される、抗原に特異的に結合する分子を指し、天然に存在する抗体と天然に存在しない抗体の両方を包含する。例えば、抗体は、断片が所望の生物活性を示す限りは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、二量体、多量体、多特異性抗体（ｍｕｌｔｉｓｐｅｃｉｆｉｃ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）、組換え抗体、ヒト化もしくは霊長類化（ｐｒｉｍａｔｉｚｅ）抗体、キメラ抗体、二機能性抗体（ｂｉ－ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）、Ｉｇ受容体のような細胞関連抗体、直鎖状抗体（ｌｉｎｅａｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）、ダイアボディ（ｄｉａｂｏｄｙ）、またはミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、およびその単鎖誘導体であってよい。抗体は、ＶＨドメインおよびＶＬドメイン、ならびに軽鎖定常ドメイン（ＣＬ）および重鎖定常ドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３を含む全長の免疫グロブリン分子であってもよく、全長の免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片、例えば、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）２断片、Ｆｃ断片、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片などであってよい。抗体は、任意の脊椎動物種（例えば、ヒト、ヤギ、ウマ、ロバ、マウス、ラット、ウサギ、またはニワトリ）に由来してよく、任意の種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、およびＩｇＡ）、クラス（例えば、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭ）またはサブクラス（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）であってもよい。天然に存在する抗体、天然に

存在しない抗体、およびその抗原性化合物結合性断片の構造に関する一般的な開示については、例えば、それぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれるＰｌｕｃｋｔｈｕｎ　ｉｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、１１３巻、ＲｏｓｅｎｂｕｒｇおよびＭｏｏｒｅ編、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、２６９～３１５頁（１９９４年）；Ｂｏｒｒａｂｅｃｋ、Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、第２版（Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓ　１９９５年）を参照されたい。

【００５２】

例示的なバイオマーカーリガンドとしては、αＣＤ４モノクローナル抗体、αＣＤ２５モノクローナル抗体、αＣＤ６モノクローナル抗体、αＣＤ１２７モノクローナル抗体、αＣＤ４９ｄモノクローナル抗体、αＣＤ３８モノクローナル抗体、αＣＤ４５ＲＡモノクローナル抗体、αＨＬＡ－ＤＲモノクローナル抗体、αＦｏｘＰ３モノクローナル抗体、αＣＴＬＡ－４モノクローナル抗体、αＧＩＴＲモノクローナル抗体、αＬＡＧ－３モノクローナル抗体、αＣＤ３９モノクローナル抗体、αＨｅｌｉｏｓモノクローナル抗体、αＦｃＲＬ３モノクローナル抗体、αＣＣＲ７モノクローナル抗体、αＣＣＲ４モノクローナル抗体、αＣＣＲ８モノクローナル抗体、αＣＤ６２Ｌモノクローナル抗体、αＩＣＯＳモノクローナル抗体、αＣＤ１０３モノクローナル抗体、αＰＤ－１モノクローナル抗体、αＣＤ１３４モノクローナル抗体、αＧＡＲＰモノクローナル抗体、αＣＤ４５ＲＢモノクローナル抗体、αＣＤ４５ＲＯモノクローナル抗体、αＣＤ９５モノクローナル抗体、αＣＤ１２２モノクローナル抗体、αＣＤ１４７モノクローナル抗体およびαＣＤ８モノクローナル抗体が挙げられる。そのようなモノクローナル抗体は市販されており、当業者に公知である。例えば、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を参照されたい。

【００５３】

別の実施形態では、ＣＤ６バイオマーカーリガンドは、ＣＤ１６６（ＡＬＣＡＭ）リガンドまたは任意のＣＤ６共刺激シグナルである。

【００５４】

バイオマーカーリガンドは標識されていても標識されていなくてもよい。標識されている場合は、バイオマーカーには、フルオロフォア、量子ドット、リン光体、化学発光化合物、生物発光化合物、発色性化合物、ランタニドのような同位元素化合物、放射性同位元素、ビオチン分子、アビジン分子、またはバイオマーカーが結合した細胞を検出するために有用な任意の他の標識が共有結合または非共有結合によって付着していてよい。標識を抗体に付着させる方法は、当業者に周知である。特に好ましい標識は、容易に切断すること、または分離すること、または生理的条件下で所定の酵素と接触させることによって加水分解に供することができるリンカーによってバイオマーカーリガンドに付着した標識である。バイオマーカーリガンドは、試料と接触させる前もしくはその後に、またはバイオマーカーと接触させる前もしくはその後に標識することができる。バイオマーカーリガンドは、バイオマーカーリガンドに結合する標識された抗体と接触させることによって標識することもできる。バイオマーカーリガンドは、常磁性ナノ粒子（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ、Ｇｅｒｍａｎｙ）などの磁気粒子とコンジュゲートすることもできる。

【００５５】

本明細書に開示されているＴ細胞の集団を含む試料をバイオマーカーリガンドと接触させる。試料とバイオマーカーリガンドの接触は、バイオマーカーリガンドと、その同族のバイオマーカーの特異的な結合が促進されるように行う。一般には、これは生理的条件下で行う。例えば、バイオマーカーリガンドが抗体である場合、抗体と試料の接触は、抗体とその対応するバイオマーカーの結合がもたらされ、それにより、抗体／バイオマーカー複合体が生じる条件下で行う。

【００５６】

本明細書に開示されているＴ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出する。標識されたバイオマーカーは、蛍光、生物

発光、化学発光、分光学、光化学、生化学、免疫化学、化学、磁気、または当業者に公知の他の物理的手段に基づく検出方法を用いてスクリーニングすることができる。標識されていないバイオマーカーは、サイズ、体積、密度、不透明度、または当業者に公知の他の物理的手段に基づく検出方法を用いてスクリーニングすることができる。

【００５７】

ある実施形態では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、細胞選別機を使用して実現される。細胞選別機は、当業者に周知であり、一般には、細胞の複合混合物を単一の細胞型の画分に分離することができるものである。一般には、選別する細胞を、小さなノズルオリフィスから発せられる担体液体の薄いジェットとして導入する。ノズルから出た直後に、流体力学的に集束した流体の流れが１つまたは複数の密に集束した光のビーム、通常はレーザー光のくびれ部分を通過する。流れが光ビームを通過する点にいくつもの検出器が向けられており、その１つは光ビームと一列に並んでおり（前方散乱またはＦＳＣ）、いくつかは光ビームに対して垂直であり（側方散乱またはＳＳＣ）、また、１つまたは複数の蛍光検出器がある。ビームを通過する０．２μｍ～１５０μｍの懸濁粒子のそれぞれにより光線が散乱し、また、粒子中に見いだされるまたは粒子に付着した蛍光化学物質が励起されて、光源より長い波長で放出される光になり得る。この散乱光および蛍光の組み合わせが検出器により拾われ、各検出器（各蛍光放出ピークに１つ）における輝度のゆらぎを分析することによって、個々の粒子の物理的構造および化学的構造に関する種々の種類の情報を引き出すことが可能になる。フローサイトメーターによって生成されたデータは、ヒストグラムを作成するために一次元で、または２次元のドットプロットに、さらには三次元でプロットすることができる。これらのプロット上の領域を、「ゲート」と称される一連のサブセット抽出物を創出することによって蛍光強度に基づいて逐次的に分離することができる。市場に出ているいくつかのフローサイトメーターでは蛍光の必要性が排除されており、光散乱のみが測定に使用される。他のフローサイトメーターでは各細胞の蛍光、散乱光、および透過光の画像が形成される。

【００５８】

この実施形態のある態様では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、蛍光標識したバイオマーカーリガンドを使用したフローサイトメーターによって実現される。フローサイトメトリーによる選別は、特殊化された種類のフローサイトメトリーである。これにより、生物学的な細胞の不均質な混合物について、各細胞に特異的な光散乱および蛍光の特性に基づいて、２つ以上の容器に、１つの細胞を一度に選別するための方法がもたらされる。これは、個々の細胞から、高速の客観的および定量的な蛍光シグナルの記録、ならびに特に興味深い細胞の物理的な分離をもたらすので、有用な科学的装置である。フローサイトメトリー選別機により、１秒当たり２００，０００事象を超えるスピードで細胞を容易に分析することができる。しかし、一般に、担体流体の物理的性質、および小滴間に細胞が分布している統計値により、選別速度が１秒当たり細胞約５０，０００個に限定される。このスピードと信頼できる分離の組み合わせにより、個々の細胞を他の使用のために単離または濃縮することが可能になる。

【００５９】

別の実施形態では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、磁気的に標識されたバイオマーカーリガンドを使用した磁気活性化細胞選別（ＭＡＣＳ）によって実現される。ＭＡＣＳにより、細胞を、特定のバイオマーカーに対するバイオマーカーリガンドでコーティングした磁気ナノ粒子と一緒にインキュベートすることによって分離することが可能になる。磁気ナノ粒子は、酸化鉄および多糖コーティングで構成される超常磁性ナノ粒子を含んでよい。磁気ナノ粒子は、細胞表面バイオマーカーへの迅速かつ効率的な結合が可能になるコロイド懸濁液のままであるために十分に小さいことが好ましい。この実施形態の複数の態様では、磁気ナノ粒子は直径約１ｎｍ～直径約１００ｎｍ、例えば、直径約２５ｎｍ、直径５

０ｎｍ、直径７５ｎｍ、または直径１００ｎｍなどである。この実施形態の他の態様では、磁気ナノ粒子の体積は、例えば、典型的な哺乳動物の細胞の体積の約１００万分の１、典型的な哺乳動物の細胞の体積の約２０万分の１、または典型的な哺乳動物の細胞の体積の約１０万分の１である。磁気ナノ粒子は、フローサイトメトリーに干渉しないこと、生分解性であること、および細胞機能に対する影響を無視できることが好ましい。抗体と磁気ナノ粒子のカップリングは、直接的であっても、フルオロフォア、量子ドット、リン光体、化学発光化合物、生物発光化合物、発色性化合物、ランタニドのような同位元素化合物、放射性同位元素、酵素、ビオチン分子、アビジン分子、またはバイオマーカーが結合した細胞を検出するために有用な任意の他の標識などのリガンドに対する第２の抗体を介して間接的であってもよい。

【００６０】

別の実施形態では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、固相付着によって実現される。ある態様では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、本明細書に開示されているバイオマーカーリガンドを使用したパニングまたは固相アフィニティークロマトグラフィーによって実現される。ある態様では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、本明細書に開示されている磁気的に標識されたバイオマーカーリガンドを使用した固相磁気ビーズによって実現される。例えば、その全体が参照によって組み込まれる米国特許出願公開第２００５／０１８６２０７号を参照されたい。

【００６１】

別の実施形態では、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップは、補体細胞溶解（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔ　ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ）によって実現される。補体細胞溶解は、抗体によって認識される望ましくない細胞集団を排除するために用いられ、特定の種類の抗体の、細胞表面上の「補体系」と称される酵素性分子のカスケードを固定し活性化する機能に基づく。最終的な反応により、膜内に物理的な穴が開き、浸透によって細胞溶解が生じる。一般には、細胞を、抗体と一緒に４℃で３０分間インキュベートし、補体酵素の供給源を加え、３７ｏＣでインキュベートする。最後に、細胞を等張性緩衝液で洗浄し、使用する準備ができる。

【００６２】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、１種または複数種のバイオマーカーの特徴的な発現パターンに基づいて同定する。一般に、そのような細胞は、１種または複数種のバイオマーカーの発現レベルに応じて、当業者に公知の通り容易に識別可能な染色強度の差異に基づいて同定される。一般には、バイオマーカーの発現は、高い（バイオマーカー^{hi}）、＋（バイオマーカー$^{+}$）、低い（バイオマーカー^{low}）および－（バイオマーカー$^{-}$）に分類される。

【００６３】

バイオマーカーリガンドを使用してスクリーニングした際に強くまたは明るく染色される細胞はバイオマーカー$^{+}$と称され、これにより、高レベルのバイオマーカーの発現を示す細胞の指標となる。例えば、ＣＤ４$^{hi/+}$、ＣＤ２５$^{hi/+}$、ＣＤ６$^{hi/+}$、ＣＤ１２７$^{hi/+}$、ＣＤ４９ｄ$^{hi/+}$、ＣＤ３８$^{hi/+}$、ＣＤ４５ＲＡ$^{hi/+}$、ＨＬＡ－ＤＲ$^{hi/+}$、ＦｏｘＰ３$^{hi/+}$、ＣＴＬＡ－４$^{hi/+}$、ＧＩＴＲ$^{hi/+}$、ＬＡＧ－３$^{hi/+}$、ＣＤ３９$^{hi/+}$、Ｈｅｌｉｏｓ$^{hi/+}$、ＦｃＲＬ３$^{hi/+}$、ＣＣＲ７$^{hi/+}$、ＣＣＲ４$^{hi/+}$、ＣＣＲ８$^{hi/+}$、ＣＤ６２Ｌ$^{hi/+}$、ＩＣＯＳ$^{hi/+}$、ＣＤ１０３$^{hi/+}$、ＰＤ－１$^{hi/+}$、ＣＤ１３４$^{hi/+}$、ＧＡＲＰ$^{hi/+}$、ＣＤ４５ＲＢ$^{hi/+}$、ＣＤ４５ＲＯ$^{hi/+}$、ＣＤ９５$^{hi/+}$、ＣＤ１２２$^{hi/+}$、ＣＤ１４７$^{hi/+}$およびＣＤ８$^{hi/+}$とは、それぞれ、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、Ｃ

Ｄ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカーに向けられた、標識されたバイオマーカーリガンドを使用してスクリーニングした際に強くまたは明るく染色される細胞を指す。

【００６４】

バイオマーカーリガンドを使用してスクリーニングした際にわずかに染色される、ぼんやりと染色される、または全く染色されない細胞はバイオマーカー$^{low/-}$と称され、これにより、高レベルのバイオマーカーの発現を示す細胞の指標となる。例えば、ＣＤ４$^{low/-}$、ＣＤ２５$^{low/-}$、ＣＤ６$^{low/-}$、ＣＤ１２７$^{low/-+}$、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$、ＣＤ３８$^{low/-}$、ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$、ＨＬＡ－ＤＲ$^{low/-}$、ＦｏｘＰ３$^{low/-}$、ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$、ＧＩＴＲ$^{low/-}$、ＬＡＧ－３$^{low/-}$、ＣＤ３９$^{low/-}$、Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$、ＦｃＲＬ３$^{low/-}$、ＣＣＲ７$^{low/-}$、ＣＣＲ４$^{low/-}$、ＣＣＲ８$^{low/-}$、ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$、ＩＣＯＳ$^{low/-}$、ＣＤ１０３$^{low/-}$、ＰＤ－１$^{low/-}$、ＣＤ１３４$^{low/-}$、ＧＡＲＰ$^{low/-}$、ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$、ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$、ＣＤ９５$^{low/-}$、ＣＤ１２２$^{low/-}$、ＣＤ１４７$^{low/-}$およびＣＤ８$^{low/-}$とは、それぞれ、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカーに向けられた、標識されたバイオマーカーリガンドを使用してスクリーニングした際に、わずかに染色される、ぼんやりと染色される、または全く染色されない細胞を指す。

【００６５】

細胞がバイオマーカー^{hi}細胞であると示すためのカットオフは、全ての細胞について観察される蛍光強度分布に関して設定することができ、蛍光強度の上位２％、３％、５％、７％または１０％に入る細胞がバイオマーカー^{hi}細胞と称される。この実施形態の複数の態様では、ＣＤ４^{hi}細胞、ＣＤ２５^{hi}細胞、ＣＤ６^{hi}細胞、ＣＤ１２７^{hi}細胞、ＣＤ４９ｄ^{hi}細胞、ＣＤ３８^{hi}細胞、ＣＤ４５ＲＡ^{hi}細胞、ＨＬＡ－ＤＲ^{hi}細胞、ＦｏｘＰ３^{hi}細胞、ＣＴＬＡ－４^{hi}細胞、ＧＩＴＲ^{hi}細胞、ＬＡＧ－３^{hi}細胞、ＣＤ３９^{hi}細胞、Ｈｅｌｉｏｓ^{hi}細胞、ＦｃＲＬ３^{hi}細胞、ＣＣＲ７$^{hi+}$細胞、ＣＣＲ４^{hi}細胞、ＣＣＲ８^{hi}細胞、ＣＤ６２Ｌ^{v}細胞、ＩＣＯＳ^{hi}細胞、ＣＤ１０３^{hi}細胞、ＰＤ－１^{hi}細胞、ＣＤ１３４^{hi}細胞、ＧＡＲＰ^{hi}細胞、ＣＤ４５ＲＢ^{hi}細胞、ＣＤ４５ＲＯ^{hi}細胞、ＣＤ９５^{hi}細胞、ＣＤ１２２^{hi}細胞、ＣＤ１４７^{hi}細胞、および／またはＣＤ８^{hi}細胞は、スクリーニングされた全ての細胞について観察された蛍光強度と比較して９０％もしくはそれより高い、９３％もしくはそれより高い、９５％もしくはそれより高い、９７％もしくはそれより高い、または９８％もしくはそれより高い蛍光強度を示す。

【００６６】

細胞がバイオマーカー$^{+}$細胞であると示すためのカットオフは、全ての細胞について観察される蛍光強度分布に関して設定することができ、蛍光強度の上位１０％、２０％、３０％、４０％または５０％に入る細胞がバイオマーカー$^{+}$細胞と称される。この実施形態の複数の態様では、ＣＤ４$^{+}$細胞、ＣＤ２５$^{+}$細胞、ＣＤ６$^{+}$細胞、ＣＤ１２７$^{+}$細胞、ＣＤ４９ｄ$^{+}$細胞、ＣＤ３８$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$細胞、ＨＬＡ－ＤＲ$^{+}$細胞、ＦｏｘＰ３$^{+}$細胞、ＣＴＬＡ－４$^{+}$細胞、ＧＩＴＲ$^{+}$細胞、ＬＡＧ－３$^{+}$細胞、ＣＤ３９$^{+}$細胞、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$細胞、ＦｃＲＬ３$^{+}$細胞、ＣＣＲ７$^{+}$細胞、ＣＣＲ４$^{+}$細胞、ＣＣＲ８$^{+}$細胞、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$細胞、ＩＣＯＳ$^{+}$細胞、ＣＤ１０３$^{+}$細胞、ＰＤ－１$^{+}$細胞、ＣＤ１３４$^{+}$細胞、ＧＡＲＰ$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$細胞、ＣＤ９５$^{+}$細胞、ＣＤ１２２$^{+}$細胞、ＣＤ１４７$^{+}$細胞、および／またはＣＤ８$^{+}$細胞は、スクリーニングされた全ての細胞について観察された蛍光強度と比較して１０％もしくはそれより高い、２０％もしくはそれより高い、３０％もしくはそれより高い、４０％もしくはそれより高い、または５０％もしくはそれより高い蛍光強度を示す。

【００６７】

細胞がバイオマーカー^{low}細胞であると示すためのカットオフは、全ての細胞について観察される蛍光強度分布に関して設定することができ、蛍光強度が５０％、４０％、３０％、２０％、または１０％を下回る細胞が、バイオマーカー$^{low/-}$細胞と称される。この実施形態の複数の態様では、ＣＤ４^{low}細胞、ＣＤ２５^{low}細胞、ＣＤ６^{low}細胞、ＣＤ１２７^{low}細胞、ＣＤ４９ｄ^{low}細胞、ＣＤ３８^{low}細胞、ＣＤ４５ＲＡ^{low}細胞、ＨＬＡ－ＤＲ^{low}細胞、ＦｏｘＰ３^{low}細胞、ＣＴＬＡ－４^{low}細胞、ＧＩＴＲ^{low}細胞、ＬＡＧ－３^{low}細胞、ＣＤ３９^{low}細胞、Ｈｅｌｉｏｓ^{low}細胞、ＦｃＲＬ３^{low}細胞、ＣＣＲ７^{low}細胞、ＣＣＲ４^{low}細胞、ＣＣＲ８^{low}細胞、ＣＤ６２Ｌ^{low}細胞、ＩＣＯＳ^{low}細胞、ＣＤ１０３^{low}細胞、ＰＤ－１^{low}細胞、ＣＤ１３４^{low}細胞、ＧＡＲＰ^{low}細胞、ＣＤ４５ＲＢＰ^{low}細胞、ＣＤ４５ＲＯＰ^{low}細胞、ＣＤ９５Ｐ^{low}細胞、ＣＤ１２２^{low}細胞、ＣＤ１４７^{low}細胞、および／またはＣＤ８^{low}細胞は、スクリーニングされた全ての細胞について観察された蛍光強度と比較して５０％もしくはそれより低い、４０％もしくはそれより低い、３０％もしくはそれより低い、２０％もしくはそれより低い、または１０％もしくはそれより低い蛍光強度を示す。

【００６８】

細胞がバイオマーカー$^{-}$細胞であると示すためのカットオフは、全ての細胞について観察される蛍光強度分布に関して設定することができ、蛍光強度が１０％、７％、５％、３％、または２％を下回る細胞がバイオマーカー$^{-}$細胞と称される。この実施形態の複数の態様では、ＣＤ４$^{-}$細胞、ＣＤ２５$^{-}$細胞、ＣＤ６$^{-}$細胞、ＣＤ１２７$^{-}$細胞、ＣＤ４９ｄ$^{-}$細胞、ＣＤ３８$^{-}$細胞、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$細胞、ＨＬＡ－ＤＲ$^{-}$細胞、ＦｏｘＰ３$^{-}$細胞、ＣＴＬＡ－４$^{-}$細胞、ＧＩＴＲ$^{-}$細胞、ＬＡＧ－３$^{-}$細胞、ＣＤ３９$^{-}$細胞、Ｈｅｌｉｏｓ$^{-}$細胞、ＦｃＲＬ３$^{-}$細胞、ＣＣＲ７$^{-}$細胞、ＣＣＲ４$^{-}$細胞、ＣＣＲ８$^{-}$細胞、ＣＤ６２Ｌ$^{-}$細胞、ＩＣＯＳ$^{-}$細胞、ＣＤ１０３$^{-}$細胞、ＰＤ－１$^{-}$細胞、ＣＤ１３４$^{-}$細胞、ＧＡＲＰ$^{-}$細胞、ＣＤ４５ＲＢ$^{-}$細胞、ＣＤ４５ＲＯ$^{-}$細胞、ＣＤ９５$^{-}$細胞、ＣＤ１２２$^{-}$細胞、ＣＤ１４７$^{-}$細胞、および／またはＣＤ８$^{-}$細胞は、スクリーニングされた全ての細胞について観察された蛍光強度と比較して１０％もしくはそれより低い、７％もしくはそれより低い、５％もしくはそれより低い、３％もしくはそれより低い、または２％もしくはそれより低い蛍光強度を示す。

【００６９】

細胞は、全ての細胞についてのバイオマーカー染色の度数分布を得、高染色集団および低染色集団に対する集団カーブフィッティングを生成することによっても区別することができる。次いで、個々の細胞を、それぞれの集団分布の統計分析に基づいて、それが属する可能性がある集団に割り当てる。一実施形態では、バイオマーカー$^{low/-}$細胞は、バイオマーカー$^{+}$細胞の１分の１以下、２分の１以下、または３分の１以下の蛍光強度を示す。この実施形態の複数の態様では、ＣＤ４$^{low/-}$細胞、ＣＤ２５$^{low/-}$細胞

、ＣＤ６$^{low/-}$細胞、ＣＤ１２７$^{low/-+}$細胞、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$細胞、ＣＤ３８$^{low/-}$細胞、ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$、ＨＬＡ－ＤＲ$^{low/-}$細胞、ＦｏｘＰ３$^{low/-}$細胞、ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$細胞、ＧＩＴＲ$^{low/-}$細胞、ＬＡＧ－３$^{low/-}$細胞、ＣＤ３９$^{low/-}$細胞、Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$細胞、ＦｃＲＬ３$^{low/-}$細胞、ＣＣＲ７$^{low/-}$細胞、ＣＣＲ４$^{low/-}$細胞、ＣＣＲ８$^{low/-}$細胞、ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$細胞、ＩＣＯＳ$^{low/-}$細胞、ＣＤ１０３$^{low/-}$細胞、ＰＤ－１$^{low/-}$細胞、ＣＤ１３４$^{low/-}$細胞、ＧＡＲＰ$^{low/-}$細胞、ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$細胞、ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$細胞、ＣＤ９５$^{low/-}$細胞、ＣＤ１２２$^{low/-}$細胞、ＣＤ１４７$^{low/-}$細胞、およびＣＤ８$^{low/-}$細胞は、それぞれ、ＣＤ４$^{+}$細胞、ＣＤ２５$^{+}$細胞、ＣＤ６$^{+}$細胞、ＣＤ１２７$^{+}$細胞、ＣＤ４９ｄ$^{+}$細胞、ＣＤ３８$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$細胞、ＨＬＡ－ＤＲ$^{+}$細胞、ＦｏｘＰ３$^{+}$細胞、ＣＴＬＡ－４$^{+}$細胞、ＧＩＴＲ$^{+}$細胞、ＬＡＧ－３$^{+}$細胞、ＣＤ３９$^{+}$細胞、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$細胞、ＦｃＲＬ３$^{+}$細胞、ＣＣＲ７$^{+}$細胞、ＣＣＲ４$^{+}$細胞、ＣＣＲ８$^{+}$細胞、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$細胞、ＩＣＯＳ$^{+}$細胞、ＣＤ１０３$^{+}$細胞、ＰＤ－１$^{+}$細胞、ＣＤ１３４$^{+}$細胞、ＧＡＲＰ$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$細胞、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$細胞、ＣＤ９５$^{+}$細胞、ＣＤ１２２$^{+}$細胞、ＣＤ１４７$^{+}$細胞、およびＣＤ８$^{+}$細胞の１分の１以下、２分の１以下、または３分の１以下の蛍光強度を示す。

【００７０】

一実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４９$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７１】

この実施形態の別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７２】

この実施形態の他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、またはＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７３】

この実施形態の他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｏｘＰ３$^{low/-}$発現パターン

、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＧＩＴＲ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＬＡＧ－３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ３９$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$Ｈｅｌｉｏｓ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＦｃＲＬ３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ７$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＣＲ８$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ６２Ｌ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＩＣＯＳ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１０３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＰＤ－１$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１３４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＧＡＲＰ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ４５ＲＢ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ４５ＲＯ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ９５$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１２２$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ１４７$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$ＣＤ８$^{ｏｗ/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７４】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ/-}$および以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ３８$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{ｌｏｗ/-}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ^{ｌｏｗ}

／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ^{low}／－発現パターン、ＣＤ９５＋発現パターン、ＣＤ９５^{low}／－発現パターン、ＣＤ１２２＋発現パターン、ＣＤ１２２^{low}／－発現パターン、ＣＤ１４７＋発現パターン、ＣＤ１４７^{low}／－発現パターン、ＣＤ８＋発現パターン、またはＣＤ８^{low}／－発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７５】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５＋ＣＤ６^{low}／－および以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４＋発現パターン、ＣＤ１２７^{low}／－発現パターン、ＣＤ４９ｄ^{low}／－発現パターン、ＣＤ３８^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ^{low}／－発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ＋発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}／－発現パターン、ＦｏｘＰ３＋発現パターン、ＦｏｘＰ３^{low}／－発現パターン、ＣＴＬＡ－４＋発現パターン、ＣＴＬＡ－４^{low}／－発現パターン、ＧＩＴＲ＋発現パターン、ＧＩＴＲ^{low}／－発現パターン、ＬＡＧ－３＋発現パターン、ＬＡＧ－３^{low}／－発現パターン、ＣＤ３９＋発現パターン、ＣＤ３９^{low}／－発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ＋発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ^{low}／－発現パターン、ＦｃＲＬ３＋発現パターン、ＦｃＲＬ３^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ７＋発現パターン、ＣＣＲ７^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ４＋発現パターン、ＣＣＲ４^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ８＋発現パターン、ＣＣＲ８^{low}／－発現パターン、ＣＤ６２Ｌ＋発現パターン、ＣＤ６２Ｌ^{low}／－発現パターン、ＩＣＯＳ＋発現パターン、ＩＣＯＳ^{low}／－発現パターン、ＣＤ１０３＋発現パターン、ＣＤ１０３^{low}／－発現パターン、ＰＤ－１＋発現パターン、ＰＤ－１^{low}／－発現パターン、ＣＤ１３４＋発現パターン、ＣＤ１３４^{low}／－発現パターン、ＧＡＲＰ＋発現パターン、ＧＡＲＰ^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ^{low}／－発現パターン、ＣＤ９５＋発現パターン、ＣＤ９５^{low}／－発現パターン、ＣＤ１２２＋発現パターン、ＣＤ１２２^{low}／－発現パターン、ＣＤ１４７＋発現パターン、ＣＤ１４７^{low}／－発現パターン、ＣＤ８＋発現パターン、またはＣＤ８^{low}／－発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７６】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６^{low}／－ＣＤ１２７^{low}／－および以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４＋発現パターン、ＣＤ２５＋発現パターン、ＣＤ４９ｄ^{low}／－発現パターン、ＣＤ３８^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ^{low}／－発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ＋発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}／－発現パターン、ＦｏｘＰ３＋発現パターン、ＦｏｘＰ３^{low}／－発現パターン、ＣＴＬＡ－４＋発現パターン、ＣＴＬＡ－４^{low}／－発現パターン、ＧＩＴＲ＋発現パターン、ＧＩＴＲ^{low}／－発現パターン、ＬＡＧ－３＋発現パターン、ＬＡＧ－３^{low}／－発現パターン、ＣＤ３９＋発現パターン、ＣＤ３９^{low}／－発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ＋発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ^{low}／－発現パターン、ＦｃＲＬ３＋発現パターン、ＦｃＲＬ３^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ７＋発現パターン、ＣＣＲ７^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ４＋発現パターン、ＣＣＲ４^{low}／－発現パターン、ＣＣＲ８＋発現パターン、ＣＣＲ８^{low}／－発現パターン、ＣＤ６２Ｌ＋発現パターン、ＣＤ６２Ｌ^{low}／－発現パターン、ＩＣＯＳ＋発現パターン、ＩＣＯＳ^{low}／－発現パターン、ＣＤ１０３＋発現パターン、ＣＤ１０３^{low}／－発現パターン、ＰＤ－１＋発現パターン、ＰＤ－１^{low}／－発現パターン、ＣＤ１３４＋発現パターン、ＣＤ１３４^{low}／－発現パターン、ＧＡＲＰ＋発現パターン、ＧＡＲＰ^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ^{low}／－発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ＋発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ^{low}／－発現パターン、ＣＤ９５＋発現パターン、ＣＤ９５^{low}／－発現パターン、ＣＤ１２２＋発現パターン、ＣＤ１２２^{low}／－発現パターン、ＣＤ１４７＋発現パターン、ＣＤ１４７^{low}／－発現パターン、ＣＤ８

$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７７】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$および以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて同定する。

【００７８】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００７９】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８０】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８１】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８２】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８３】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８４】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【００８５】

別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００８６】

さらに別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００８７】

さらに別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００８８】

別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パター

ン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００８９】

さらに別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００９０】

さらに別の実施形態では、２つまたはそれより多い別個の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて同定する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターン　ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターンまたはＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターンまたはＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターンまたはＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターンまたはＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはその任意の組み合わせ。

【００９１】

本明細書の複数の態様には、一部において、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法が開示されている。一実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９２】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９３】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９４】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９５】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少

なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９６】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９７】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９８】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【００９９】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１００】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１０１】

スクリーニングするステップおよび接触させるステップは本明細書に記載の通りである。

【０１０２】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、１種または複数種のバイオマーカーの特徴的な発現パターンに基づいて単離または濃縮する。本明細書に開示されているスクリーニングするステップに関しては、そのような細胞を、１種または複数種のバイオマーカーの発現レベルに応じて、当業者に公知の通り、容易に識別可能な染色強度の差異に基づいて単離また

は濃縮する。一般には、バイオマーカー発現パターンの発現は、高い（バイオマーカー^{hi}）、＋（バイオマーカー$^{+}$）、低い（バイオマーカー^{low}）および－（バイオマーカー$^{-}$）に分類される。

【０１０３】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、所望のバイオマーカー発現パターンを含む細胞で実質的に構成されてよい。本明細書で使用される場合、「実質的に」という用語は、所望のバイオマーカー発現パターンを含む細胞の集団に関して使用される場合、集団由来の細胞の総数の少なくとも８０％が所望のバイオマーカー発現パターンを含む細胞の集団を指す。この実施形態の複数の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、例えば、集団由来の細胞の総数の少なくとも８３％、少なくとも８５％少なくとも８８％、または少なくとも９０％、少なくとも９３％、少なくとも９５％少なくとも９８％、または少なくとも９９％を構成する。この実施形態の他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、例えば、試料由来のＴ細胞の供給源集団と比較して少なくとも２倍、少なくとも４倍、少なくとも８倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍を構成する。

【０１０４】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、対象の細胞の正の選択または負の選択を用いて単離または濃縮することができる。さらに、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、対象の細胞の正の選択と負の選択の両方を用いて単離または濃縮することができる。本明細書で使用される場合、「正の選択」という用語は、細胞の混合物または出発集団から、指定の細胞におけるバイオマーカーの高発現または陽性の発現に基づいて特定の細胞を選択することを指す。本明細書で使用される場合、「負の選択」という用語は、細胞の混合物または出発集団から、特定の細胞におけるバイオマーカーの低発現または陰性の発現に基づいて特定の細胞を選択することを指す。細胞の正の選択または負の選択のために使用するバイオマーカーは、例えば、フローサイトメトリー選別機、ＭＡＣＳ、固相付着、パニング、およびクロマトグラフィーによって検出することができる。細胞における２種以上のバイオマーカーの免疫選択は１つまたは複数のステップで実施することができ、各ステップにおいて１種または複数種のバイオマーカーについて正または負に選択する。２種以上のバイオマーカーの免疫選択を、フローサイトメトリー選別機を使用して一ステップで実施する場合、２種以上の異なるバイオマーカーは異なるフルオロフォアで標識されていてよい。

【０１０５】

この実施形態の複数の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、細胞の供給源集団由来の細胞の総数と比較して、例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％少なくとも５０％、または少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、または少なくとも９０％濃縮する。この実施形態の他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、細胞の供給源集団由来の細胞の総数と比較して、例えば、少なくとも２倍、少なくとも４倍、少なくとも８倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍濃縮する。

【０１０６】

この実施形態の他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、例えば、試料中の細胞の総数の少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％に濃縮する。この実施形態のさらに他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、例えば、試料中の細胞の総数の約８０％～約８５％、約８０％～約９０％、約８０％～約９５％、約８０％～約９８％、約８０％～約１００％、約８５％～約９０％、約８５％～約９５％、約８５％～約９８％、約８５％～約１００％、約９０％～約９５％、約９０％～約９８％、または約９０％～約１００％に濃縮する。

【０１０７】

この実施形態の他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の亜集団を、例えば、試料中の細胞の総数から、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％単離する。この実施形態のさらに他の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の亜集団を、例えば、試料中の細胞の総数から、約８０％～約８５％、約８０％～約９０％、約８０％～約９５％、約８０％～約９８％、約８０％～約１００％、約８５％～約９０％、約８５％～約９５％、約８５％～約９８％、約８５％～約１００％、約９０％～約９５％、約９０％～約９８％、または約９０％～約１００％単離する。

【０１０８】

別の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、試料中の細胞からＣＤ６$^{+}$細胞を枯渇させる負の選択スキームによって単離する。さらに別の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、試料中の細胞からＣＤ６$^{+}$細胞を枯渇させる負の選択スキームによって濃縮する。

【０１０９】

免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、１種または複数種のバイオマーカーの特徴的な発現パターンに基づいて得る。所望のバイオマーカー発現パターンを含む細胞は、蛍光、生物発光、化学発光、分光学、光化学、生化学、免疫化学、化学、磁気、サイズ、体積、密度、不透明度、または当業者に公知の他の物理的手段に基づく検出方法を用いて単離または濃縮することができる。

【０１１０】

ある実施形態では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップは、本明細書に開示されている通り、細胞選別機を使用して実現される。この実施形態のある態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップは、本明細書に開示されている通り、フローサイトメトリー選別機を使用して実現される。別の実施形態では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップは、本明細書に開示されている通り、ＭＡＣＳを使用して実現される。バイオマーカー発現パターンを、本明細書に開示されている通り、対象の細胞の正の選択または負の選択のために使用することができる。細胞の正の選択または負の選択のために使用するバイオマーカー発現パターンは、例えば、フローサイトメトリー選別機、ＭＡＣＳ、パニング、およびクロマトグラフィーによって検出することができる。

【０１１１】

細胞がバイオマーカー^{hi}細胞、バイオマーカー$^{+}$細胞、バイオマーカー^{low}細胞、またはバイオマーカー$^{-}$細胞であることを示すためのカットオフ値は、本明細書に開示されている通りである。細胞は、本明細書に開示されている通り、全ての細胞についてのバイオマーカー染色の度数分布を得、高染色集団および低染色集団に対する集団カーブフィッティングを生成することによって区別することもできる。

【０１１２】

一実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４９$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１３】

この実施形態の別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$

ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１４】

この実施形態の他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、またはＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１５】

この実施形態の他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｏｘＰ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＧＩＴＲ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＬＡＧ－３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＦｃＲＬ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＣＲ８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＩＣＯＳ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１０３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＰＤ－１$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１３４$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＧＡＲＰ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$Ｃ

Ｄ６$^{low/-}$ＣＤ９５$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２２$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１４７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ８$^{ow/-}$発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１６】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンおよび以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{low/-}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{low/-}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{low/-}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{low/-}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１７】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンおよび以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{low/-}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{low/-}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{low/-}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{low/-}$発現パタ

ーン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１８】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ４$^{+}$発現パターン、ＣＤ２５$^{+}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１１９】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび以下の追加的なバイオマーカー発現パターン：ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{+}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、またはＣＤ８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンのうちの１種または複数種を含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。

【０１２０】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン

および１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２１】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２２】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２３】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２４】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２５】

さらに別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２６】

別の実施形態では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンおよび１種または複数種の追加的なバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞に基づいて単離または濃縮する。ただし、追加的なバイオマーカー発現パターンは、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{ｌｏｗ／－}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせではない。

【０１２７】

本明細書の複数の態様には、一部において、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法が開示されている。一実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレ

ベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を増大させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１２８】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１２９】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３０】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３１】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３２】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３３】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー，およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ

細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３４】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３５】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３６】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップとを含む。

【０１３７】

スクリーニングするステップ、接触させるステップ、および単離するステップは本明細書に記載の通りである。

【０１３８】

所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の増大は、標準の細胞培養手順を用いて、Ｔ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させることによって実現することができる。刺激性組成物は、Ｔ細胞受容体複合体に抗原特異的に結合し、それを活性化することによってＴ細胞の成長を促進する。刺激性組成物は、抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を有効量含む。刺激性組成物は、１種または複数種の追加的な作用物質、例えば、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、または一般にＴ細胞の生存および／または成長を促進する作用物質をさらに含んでよい。刺激性組成物は、溶液中にあっても懸濁液中にあってもよい。活性化および増大を促進するために、ＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子およびＴＣＲ共刺激物質を、一般には、三次元の固体表面、例えば、宿主細胞、ビーズ、または他の基材などの上に固定化することができる。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれるＴｈｏｍａｓら、Ｃｌｉｎ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．　１０５巻：２５９～２７２頁（２００２年）を参照されたい。基材として使用するために適した細胞としては、人工抗原提示細胞（ａＡＰＣ）が挙げられる。例えば、そのそれぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｋｉｍら、Ｎａｔ．　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．　２２巻（４号）：４０３～４１０頁（２００４年）；およびＴｈｏｍａｓら、Ｃｌｉｎ

．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１０５巻（３号）：２５９～２７２頁（２００２年）を参照されたい。ビーズは、一般には直径範囲が１μｍ～２０μｍであるプラスチック、ガラス、または任意の他の適切な材料であってよい。一実施形態では、活性化因子を、細胞：ビーズ比２：１～１：５、好ましくは１：１～１：３でもたらされる常磁性ビーズ上に固定化することができる。最適なビーズサイズは経験的に決定することができるが、一般には、サイズは直径１μｍ～２０μｍの範囲内に入る。

【０１３９】

ＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子は、例えばαＣＤ３抗体などの抗原非特異的活性化因子、および、例えば主要組織適合性遺伝子複合体（ＭＨＣ）ペプチド多量体などの抗原特異的活性化因子を含めた、ＴＣＲ／ＣＤ３に対する多価の抗体またはリガンドである。例えば、そのそれぞれの全体が参照によって組み込まれる、Ｙｅｅら、Ａｄｏｐｔｉｖｅ Ｔ ｃｅｌｌ ｔｈｅｒａｐｙ ｕｓｉｎｇ ａｎｔｉｇｅｎ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＣＤ８＋ Ｔ ｃｅｌｌ ｃｌｏｎｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｏｆ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｍｅｔａｓｔａｔｉｃ ｍｅｌａｎｏｍａ：Ｉｎ ｖｉｖｏ ｐｅｒｓｉｓｔｅｎｃｅ，ｍｉｇｒａｔｉｏｎ，ａｎｄ ａｎｔｉｔｕｍｏｒ ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ ｔｒａｎｓｆｅｒｒｅｄ Ｔ ｃｅｌｌｓ、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９９巻（２５号）：１６１６８～１６１７３頁（２００２年）；Ｂｕｔｔｅｒｆｉｅｌｄら、Ｔ－Ｃｅｌｌ ｒｅｓｐｏｎｓｅｓ ｔｏ ＨＬＡ－Ａ＊０２０１ ｉｍｍｕｎｏｄｏｍｉｎａｎｔ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｄｅｒｉｖｅｄ ｆｒｏｍ．ａｌｐｈａ．－ｆｅｔｏｐｒｏｔｅｉｎ ｉｎ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｈｅｐａｔｏｃｅｌｌｕｌａｒ ｃａｎｃｅｒ、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．９巻（１６号）：５９０２～５９０８頁（２００３年）；およびＹｅｅら、Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ ｏｆ ｈｉｇｈ ａｖｉｄｉｔｙ ｍｅｌａｎｏｍａ－ｒｅａｃｔｉｖｅ ＣＴＬ ｆｒｏｍ ｈｅｔｅｒｏｇｅｎｅｏｕｓ ｐｏｐｕｌａｔｉｏｎｓ ｕｓｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅ－ＭＨＣ ｔｅｔｒａｍｅｒｓ、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６２巻：２２２７～２２３０頁（１９９９年）を参照されたい。ＭＨＣペプチド多量体は、ＭＨＣクラスＩ／抗原性ペプチド複合体であってもＭＨＣクラスＩＩ／抗原ペプチド複合体であってもよい。抗原ペプチドは、自己抗原性ペプチドまたは同種異系抗原ペプチドであってよい。抗原ペプチドは、一般には、自己免疫疾患関連ペプチド、個体に投与された場合に自己免疫反応の調整において有効なペプチド、または個体における望ましくない免疫応答を促す抗原である。例えば、そのそれぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｂｌｕｅｓｔｏｎｅら、ＣＤ１２７ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｉｎｖｅｒｓｅｌｙ Ｃｏｒｒｅｌａｔｅｓ ｗｉｔ ＦｏｘＰ３ ａｎｄ Ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｖｅ Ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ＣＤ４$^{+}$Ｔ$_{ｒｅｇｓ}$、米国特許出願公開第２００８／０１３１４４５号を参照されたい。本明細書で使用される場合、「自己抗原ペプチド」または「自己抗原」という用語は、哺乳動物に対して生来のものであり、哺乳動物において病理学的に免疫原性である抗原またはエピトープを指す。

【０１４０】

自己抗原性ペプチドは、ＭＨＣクラスＩＩ分子と複合体形成することができるミモトープペプチドであってもよい。ミモトープペプチドは、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｂｌｕｅｓｔｏｎｅら、ＣＤ１２７ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｉｎｖｅｒｓｅｌｙ Ｃｏｒｒｅｌａｔｅｓ ｗｉｔ ＦｏｘＰ３ ａｎｄ Ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｖｅ Ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ＣＤ４$^{+}$Ｔ$_{ｒｅｇｓ}$、米国特許出願公開第２００８／０１３１４４５号に記載されている。本明細書で使用される場合、「同種異系抗原ペプチド」という用語は、同じ種由来の別の個体に注射されると、それを排除することを目的とした免疫応答のトリガーとなる、生物体の自己認識系の一部である抗原またはエピトープを指す。例示的なＭＨＣクラスＩＩ分子／ペプチド複合体は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｂｌｕｅｓｔｏｎｅら、ＣＤ１２７ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｉｎｖｅｒｓｅｌｙ Ｃｏｒｒｅｌａｔｅｓ ｗｉｔ ＦｏｘＰ３ ａｎｄ Ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｖｅ Ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ＣＤ４$^{+}$Ｔ$_{ｒｅｇｓ}$、米国特許出願

公開第２００８／０１３１４４５号に記載されている。

【０１４１】

他の方法で従来のＴ細胞由来の調節性Ｔ細胞を増大させるためにＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を使用するためのプロトコールは、細胞表面の表現型とは関係なく個体由来の調節性Ｔ細胞を増大させるために、自己抗原特異的ＭＨＣペプチド四量体、ペプチドパルスしたＤＣ（Ｙａｍａｚａｋｉら、Ｊ．　Ｅｘｐ．　Ｍｅｄ．　１９８巻：２３５～２４７頁、２００３年）または人工ＡＰＣ（Ｍａｕｓら、Ｎａｔ．　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．　２０巻：１４３～１４８頁、２００２年）を使用することを含む。さらに、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ手法およびｉｎ　ｖｉｖｏ手法の組み合わせにより、療法の効果を増強することができる。例えば、最近の試験により、自己抗原、変更されたペプチドリガンド、さらには非特異的な刺激、例えば、ＦｃＲ非結合性αＣＤ３モノクローナル抗体などを投与することにより、抗原特異的調節性Ｔ細胞の活性を促進することができることが示された。例えば、そのそれぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ａｐｏｓｔｏｌｏｕら、Ｊ．Ｅｘｐ．　Ｍｅｄ．　１９９巻：１４０１～１４０８頁（２００３年）；Ｂｅｌｇｈｉｔｈら、Ｎａｔ．　Ｍｅｄ．　９巻：１２０２～１２０８頁（２００３年）を参照されたい。したがって、調節性Ｔ細胞を誘導するためのｉｎ　ｖｉｖｏにおける免疫化とｅｘ　ｖｉｖｏにおける増大を組み合わせることまたはその逆が有利である可能性がある。

【０１４２】

ある実施形態では、刺激性組成物は、ＭＨＣクラスＩ／抗原性ペプチド複合体、特に、そのようなＭＨＣ／ペプチド複合体の凝集体を含む。この実施形態の複数の態様では、刺激性組成物は、ＭＨＣクラスＩ／同種異系抗原ペプチド複合体またはＭＨＣクラスＩ／抗原性ペプチド複合体を含む。別の実施形態では、刺激性組成物は、ＭＨＣクラスＩＩ／抗原性ペプチド複合体、特に、そのようなＭＨＣ／ペプチド複合体の凝集体を含む。この実施形態の複数の態様では、刺激性組成物は、ＭＨＣクラスＩＩ／同種異系抗原ペプチド複合体またはＭＨＣクラスＩＩ／抗原性ペプチド複合体を含む。機能的なＭＨＣクラスＩ／ペプチド複合体およびＭＨＣクラスＩＩ／ペプチド複合体を生成するための多数の適用可能な方法が当技術分野で公知である。

【０１４３】

ＴＣＲ共刺激物質活性化因子は、ＴＣＲ共刺激物質、例えば、ＣＤ２８、ＧＩＴＲ、Ｂ７－１／２、ＣＤ５、ＩＣＯＳ、ＯＸ４０またはＣＤ４０などに特異的な多価の抗体またはリガンドである。例えば、そのそれぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｓｈｉｍｉｚｕら、Ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ　ｏｆ　ＣＤ２５（＋）ＣＤ４（＋）　ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ　Ｔ　ｃｅｌｌｓ　ｔｈｒｏｕｇｈ　ＧＩＴＲ　ｂｒｅａｋｓ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　ｓｅｌｆ－ｔｏｌｅｒａｎｃｅ、Ｎａｔ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．　３巻（２号）：１３５～１４２頁（２００２年）；Ｔｏｎｅら、Ｍｏｕｓｅ　ｇｌｕｃｏｃｏｒｔｉｃｏｉｄ－ｉｎｄｕｃｅｄ　ｔｕｍｏｒ　ｎｅｃｒｏｓｉｓ　ｆａｃｔｏｒ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｌｉｇａｎｄ　ｉｓ　ｃｏ－ｓｔｉｍｕｌａｔｏｒｙ　ｆｏｒ　Ｔ　ｃｅｌｌｓ、Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ．　１００巻（２５号）：１５０５９～１５０６４頁（２００３年）を参照されたい。共刺激性作用物質は、アゴニスト抗体、例えば、ＣＤ２８、ＧＩＴＲ、Ｂ７－１／２、ＣＤ５、ＩＣＯＳ、ＯＸ４０またはＣＤ４０に結合するアゴニスト抗体などであってよい。

【０１４４】

第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質は、サイトカイン、例えば、肝細胞増殖因子、顆粒球コロニー刺激因子、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－１３、およびＩＬ－１５などのインターロイキンなどである。有効量は、一般には、約２００～約２５００ＩＵ／ｍＬである。

【０１４５】

ある実施形態では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の増大は、Ｔ細胞の亜集団を抗原と接触させることによって実現することができる。この実施形態のある態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、細胞の集

団を抗原特異的調節性Ｔ細胞刺激性組成物と接触させることによって実現することができる。この実施形態の別の態様では、刺激性組成物は、ＭＨＣクラスＩＩ／自己抗原性ペプチド複合体を含む。この実施形態のさらに別の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団は、細胞の集団を抗原特異的調節性Ｔ細胞刺激性組成物および別の刺激性作用物質または第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質と接触させることによって実現することができる。

【０１４６】

さらに別の実施形態では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の増大は、Ｔ細胞の亜集団をアゴニスト抗体と接触させることによって実現することができる。この実施形態のある態様では、アゴニスト抗体は、αＣＤ３抗体またはαＣＤ２８抗体である。

【０１４７】

さらに別の実施形態では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の増大は、Ｔ細胞の亜集団をアゴニスト抗体および第２の刺激作用物質と接触させることによって実現することができる。この実施形態のある態様では、第２の刺激性作用物質はサイトカインである。この実施形態の複数の態様では、サイトカインは例えばＩＬ－２などのインターロイキンである。この実施形態のある態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の増大は、Ｔ細胞の亜集団を、ＴＧＦβまたはラパマイシンの存在下でαＣＤ３抗体またはαＣＤ２８抗体、およびＩＬ－２と接触させることによって実現することができる。

【０１４８】

刺激性組成物の各構成成分の最適な濃度、培養条件および持続時間は、常套的な実験を用いて経験的に決定することができる。最大の増大は経験的に決定され、これは、例えば、細胞型、インキュベーション条件によって変動する。この実施形態の複数の態様では、所望のバイオマーカー発現パターンを含むＴ細胞の亜集団の最大の増大は、例えば、少なくとも５０倍、少なくとも１００倍、少なくとも２００倍、少なくとも３００倍、少なくとも５００倍または少なくとも８００倍であってよい。

【０１４９】

本明細書の複数の態様には、一部において、個体における免疫に基づく障害を治療する方法が開示されている。一実施形態では、本明細書に開示されている方法は、養子細胞免疫療法である。

【０１５０】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５１】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５２】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５３】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５４】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５５】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーおよびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５６】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大

させるステップをさらに含む。

【０１５７】

別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５８】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１５９】

さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている方法は、Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、およびＣＤ１２７バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップとを含む。この実施形態のある態様では、該方法は、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を、亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に増大させるステップをさらに含む。

【０１６０】

スクリーニングするステップ、接触させるステップ、単離するステップ、および増大させるステップは本明細書に記載の通りである。得られた生物学的試料は個体適合性Ｔ細胞の集団を含む。本明細書で使用される場合、「個体適合性Ｔ細胞」という用語は、被験体に、場合によって免疫抑制療法と併せて、広範囲にわたる慢性移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）をもたらすことなく導入することができる細胞を指す。得られた個体適合性Ｔ細胞の集団は、抗原または自己抗原に特異的な調節性Ｔ細胞を含んでよく、また、抗原または自己抗原に特異的な調節性Ｔ細胞が存在する任意の供給源、例えば、末梢血、臍帯血、胸腺、リンパ節、脾臓、および骨髄などから得ることができる。生物学的試料は、健康な個体、または、本明細書に記載の療法に適した、本明細書に開示されている免疫に基づく障害に罹患しているもしくは寛解の状態にある個体から得ることができる。

【０１６１】

ある実施形態では、個体適合性細胞の集団を含む生物学的試料は、個体、すなわち、自己細胞から得られる。別の実施形態では、個体適合性細胞の集団を含む生物学的試料は、

個体とは別個のドナーから得られる。ドナーは、同系であることが好ましいが、得られる細胞が、被験体に、場合によって免疫抑制療法と併せて、広範囲にわたる慢性移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）をもたらすことなく導入することができるという点で個体適合性であれば、同種異系、さらには異種であってもよい。同種異系のドナー細胞は、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）適合性であることが好ましく、一般には、免疫抑制療法と併せて投与される。被験体適合性にするために、異種の細胞をガンマ線照射またはＰＥＮ１０処理に供することができる。ある特定の実施形態では、調節性Ｔ細胞の供給源は死体組織由来であってよい。

【０１６２】

所望のバイオマーカー発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与する。個体は、免疫反応の調整が望まれる任意の哺乳動物であってよい。個体はヒトを包含し、ヒトは患者であってよい。一般には、免疫に基づく障害に対する従来の治療の候補である個体はいずれも、本明細書に開示されている免疫に基づく障害の治療の候補である。手術前評価は、一般には、手順に関連するリスクおよび利益の全てを開示した徹底的なインフォームドコンセントに加えて、常套的な病歴および身体検査を含む。

【０１６３】

所望のバイオマーカー発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞は、調節性Ｔ細胞の集団である。この実施形態のある態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}$発現パターンを含む。

【０１６４】

この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD38^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD49^{low/-}$発現パターンを含む。

【０１６５】

この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD127^{low/-}CD49d^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD127^{low/-}CD38^{low/-}$発現パターンを含む。

【０１６６】

この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}CD49d^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}CD38^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}CD45RA^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}CD49d^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態のさらに別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD25^{+}CD6^{low/-}CD127^{low/-}CD38^{low/-}$発現パターンを含む。この実施形態の別の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}CD127^{low/-}CD49d^{low/-}CD38^{low/-}$発現パターンを含む。

【０１６７】

この実施形態の他の態様では、調節性Ｔ細胞の集団は、$CD6^{low/-}$発現パターン、$CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターン、または$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/}$

$^{-}$発現パターンのいずれかを含み、ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{low/-}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{+}$発現パターン、ＦｏｘＰ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{+}$発現パターン、ＣＴＬＡ－４$^{low/-}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{+}$発現パターン、ＧＩＴＲ$^{low/-}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{+}$発現パターン、ＬＡＧ－３$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{+}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{+}$発現パターン、Ｈｅｌｉｏｓ$^{low/-}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{+}$発現パターン、ＦｃＲＬ３$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ７$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ４$^{low/-}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{+}$発現パターン、ＣＣＲ８$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$発現パターン、ＣＤ６２Ｌ$^{low/-}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{+}$発現パターン、ＩＣＯＳ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{+}$発現パターン、ＣＤ１０３$^{low/-}$発現パターン、ＰＤ－１$^{+}$発現パターン、ＰＤ－１$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{+}$発現パターン、ＣＤ１３４$^{low/-}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{+}$発現パターン、ＧＡＲＰ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＢ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＯ$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ９５$^{+}$発現パターン、ＣＤ９５$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{+}$発現パターン、ＣＤ１２２$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ１４７$^{low/-}$発現パターン、ＣＤ８$^{+}$発現パターン、ＣＤ８$^{low/-}$発現パターン、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。

【０１６８】

個体に投与される、所望のバイオマーカー発現パターンを有する調節性Ｔ細胞は、一般には、所定の抗原または自己抗原に特異的な調節性Ｔ細胞を含む組成物である。そのような所定の抗原または自己抗原に特異的な調節性Ｔ細胞は、本明細書に開示されている方法を用いて、好ましくは標的とされるアレルギー反応または自己免疫反応に関連する所定の抗原または自己抗原に特異的な細胞から得られ、増大される。個体に投与される調節性Ｔ細胞は、抑制因子または他の生物学的因子、例えば、ＩＬ－４、幹細胞増殖因子、血管新生調節因子、または遺伝的欠損などを炎症の部位に送達するための「トロイの木馬」としての機能を果たすことができる。

【０１６９】

個体を免疫に基づく障害について治療する。本明細書で使用される場合、「免疫に基づく障害」という用語は、異常な免疫応答が個体における免疫に基づく障害の病原に寄与する状態、障害、または疾患を指す。異常な免疫応答とは、望ましくない免疫または自己免疫応答と特徴付けられる、個体における任意の免疫反応である。開示されている治療方法は、宿主における異常な免疫応答の調整が望まれる種々の異なる免疫に基づく障害の治療において有用である。免疫に基づく障害としては、これだけに限定することなく、自己免疫性の状態、障害または疾患、移植片拒絶反応、移植片対宿主病、癌、免疫に基づく炎症性疾患、ならびに、哺乳動物およびヒトに浸潤し、存続する細菌、ウイルス、真菌、もしくは寄生生物由来の感染性非自己抗原に対する持続性かつ進行性の免疫反応が挙げられる。そのような状態および障害としては、アレルギーおよび／または喘息が挙げられる。アレルギーおよび喘息は、花粉、動物の鱗屑および食物タンパク質として外来抗原または非自己抗原に感作されることに起因し得る。外来抗原を惹起する供給源は、植物、真菌、カビ、または他の環境汚染物質であり得る。例えば、免疫に基づく障害は自己免疫応答であってよく、抗原は自己抗原であり、移植片対宿主免疫応答および抗原は自己抗原、アレルギー、喘息、組織もしくは器官移植の拒絶反応、または移植片対宿主免疫応答であり、抗原は、有害な免疫応答を惹起する精製されたもしくは精製されていないアレルゲンの構成成分または移植された組織もしくは器官である。

【０１７０】

自己免疫は、哺乳動物およびヒトに浸潤し、存続する細菌、ウイルス、真菌、もしくは寄生生物由来の感染性非自己抗原とは別個の非感染性自己抗原に対する持続性かつ進行性

の免疫反応と定義される。自己免疫応答は、個体の免疫系が自己抗原を外来と認識し、それにより自己反応性エフェクター免疫細胞が産生された場合に起こる。自己反応性エフェクター免疫細胞とは、これだけに限定されないが、細胞傷害性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、およびＢ細胞を含めた種々の系列由来の細胞を含む。正確な機構は異なるが、自己免疫疾患に罹患している個体に自己反応性エフェクター免疫細胞が存在していることにより、個体の組織および細胞が破壊され、その結果、病理症状が生じる。自己免疫疾患の個体は、当業者に公知の通り診断することができる。そのような個体は、症候的に、および／または試料を個体から得、自己反応性Ｔ細胞を単離し、個体における自己反応性Ｔ細胞のレベルを対照と比較することによって同定することができる。例えば、米国特許出願公開第２００６／０１０５３３６号を参照されたい。個体におけるそのような細胞の存在、したがって、個体における抗原特異的自己免疫疾患などの自己免疫疾患の存在を決定するための多数のアッセイは当業者に公知であり、開示されている方法において容易に用いることができる。対象のアッセイとしては、これだけに限定されないが、例えば、Ａｕｔｏｉｍｍｕｎｉｔｙ ３６巻（６～７号）：３６１～３６６頁（２００３年）；Ｊ．Ｐｅｄｉａｔｒ．Ｈｅｍａｔｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．２５巻（補遺１）：Ｓ５７～Ｓ６１頁（２００３年）；Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ ３巻（１１号）：２０７７～２０８４頁（２００３年）；Ａｕｔｏｉｍｍｕｎ．Ｒｅｖ．２巻（１号）：４３～４９頁（２００３年）に記載のアッセイが挙げられる。

【０１７１】

自己免疫性の状態、障害または疾患は、各疾患の主要な臨床病理学的特徴に応じて、全身性の自己免疫性の状態、障害または疾患および器官特異的な自己免疫性の状態、障害または疾患に大まかに分けられる。全身性自己免疫性の状態、障害または疾患としては、限定することなく、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、シェーグレン症候群、強皮症、関節リウマチおよび多発性筋炎が挙げられる。器官特異的な自己免疫性の状態、障害または疾患は、内分泌性（１型糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病など）、皮膚性（尋常性天疱瘡、乾癬、強皮症）、血液性（自己免疫性溶血性貧血）、神経性（多発性硬化症）であってもよく、体組織の実質的にあらゆる限局性腫瘤も伴ってもよい。自己免疫性の状態、障害または疾患としては、限定することなく、急性播種性脳脊髄炎（ＡＤＥＭ）、アジソン病、アレルギーまたは感受性、αリン脂質抗体症候群（ＡＰＳ）、関節炎、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性胃炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性多腺性内分泌障害症候群、自己免疫性ぶどう膜網膜炎、水疱性類天疱瘡、セリアック病、シャガス病、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、大腸炎、クローン病、１型糖尿病（ＩＤＤＭ）、子宮内膜症、線維筋痛症、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群（ＧＢＳ）、橋本甲状腺炎、化膿性汗腺炎、特発性血小板減少性紫斑病、炎症性腸疾患、間質性膀胱炎、ループス（円板状エリテマトーデス、薬剤誘発性エリテマトーデス、ループス腎炎、新生児エリテマトーデス、亜急性皮膚エリテマトーデスおよび全身性エリテマトーデスを含む）、斑状強皮症、多発性硬化症（ＭＳ）、重症筋無力症、ミオパチー、ナルコレプシー、神経性筋強直症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、原発性胆汁性肝硬変、再発性播種性脳脊髄炎（多相性播種性脳脊髄炎）、リウマチ熱、統合失調症、強皮症、シェーグレン症候群、腱滑膜炎、甲状腺炎、血管炎、および白斑が挙げられる。その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｐａｍｅｌａ Ｄ．Ｖａｎ Ｓｃｈａａｃｋ＆Ｋｅｎｎｅｔｈ Ｌ．Ｔｏｎｇ、Ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｏｆ Ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ Ｄｉｓｏｒｄｅｒ ｗｉｔｈ ａ Ｎｅｕｒｏｔｏｘｉｎ、米国特許出願公開第２００６／１３８０５９号を参照されたい。多発性硬化症（ＥＡＥ：実験的自己免疫性脳脊髄炎）、重症筋無力症（ＥＭＧ：実験的重症筋無力症）および神経炎（ＥＡＮ：実験的自己免疫性神経炎）を含めた、自己抗原のＴ細胞エピトープを使用して耐性を誘導するための確立された動物モデルが多数存在する。

【０１７２】

本発明の態様は、一部において、移植片拒絶反応を提供する。移植片拒絶反応は、移植された器官または組織がレシピエントの免疫系に攻撃されることが原因で移植された器官

または組織が移植レシピエントの身体に許容されない場合に起こる。適応免疫応答、移植片拒絶反応は、Ｔ細胞媒介性機構および体液性免疫（抗体）機構の両方に媒介される。一致しない対立遺伝子の数により、拒絶応答のスピードおよび規模が決定される。異なる機構が異なる移植片に対して作用する傾向がある。

【０１７３】

移植片拒絶反応は、超急性拒絶反応、急性拒絶反応、または慢性拒絶反応に分類することができる。超急性拒絶反応は、レシピエントにおける、ドナーに対する既存の抗体（例えば、ＡＢＯ血液型抗体）に対する補体媒介性応答である。超急性拒絶反応は、移植後数分以内に起こり、重度の全身性炎症反応を予防するためにはすぐに除去しなければならない。急速な血液の凝集が起こる。

【０１７４】

急性拒絶反応は、早ければ移植の１週間後に始まる可能性がある（即時の超急性拒絶反応とは対照的に）。急性拒絶反応のリスクは、移植後の最初の３カ月において最も高い。しかし、急性拒絶反応は、移植の数カ月～数年後に起こる可能性もある。急性拒絶反応が通常移植の１週間後に始まるのは、Ｔ細胞が拒絶反応機構に関与するからである。これらのＴ細胞は、拒絶反応が始まる前に分化しなければならない。Ｔ細胞は、移植された組織内の細胞を溶解させる、または移植された組織の壊死を引き起こすサイトカインを産生する。急性拒絶反応の単一のエピソードは、即座に認識され、治療されれば懸念の原因にはならず、器官不全症に至ることはめったにない。免疫抑制薬の使用によって免疫応答が変更されていなければ、急性拒絶反応は移植の全て（一卵性双生児間の移植以外）でいくらかの程度で起こる。急性拒絶反応は、身体の全ての細胞に存在するＨＬＡの不一致によって引き起こされる。各ＨＬＡには多数の異なる対立遺伝子が存在し、したがって、ドナー組織およびレシピエントの身体における全てのＨＬＡが完全に一致することは非常にまれである。

【０１７５】

移植された器官または組織の慢性拒絶反応とは、十分に解明されていない移植された組織に対する慢性の炎症性免疫応答に起因する拒絶反応である。肺移植後の慢性拒絶反応は、肺移植患者における長期罹患率および死亡率の主な原因である。

【０１７６】

「移植片拒絶反応」という用語には、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）も包含される。ＧＶＨＤは、移植された骨髄における機能的な免疫細胞がレシピエントを「外来」と認識し、免疫学的攻撃を開始する、同種異系の骨髄移植の一般的な合併症である。ＧＶＨＤは、ある特定の状況下の輸血においても起こる。ＧＶＨＤは、急性型および慢性型に分けられる。この疾患の急性型または劇症型（ａＧＶＨＤ）は、通常、移植後の最初の１００日以内に観察され、付随する罹患率および死亡率が原因で移植の主要な難題になっている。移植片対宿主病の慢性型（ｃＧＶＨＤ）は、通常、１００日後に起こる。ｃＧＶＨＤの中程度～重度の症例の出現は、長期生存に不利に影響する。急性ＧＶＨＤおよび慢性ＧＶＨＤには異なる免疫細胞サブセット、異なるサイトカインプロファイル、いくらか異なる宿主標的が関与し、治療に対する応答が異なると思われる。

【０１７７】

急性ＧＶＨＤは、肝臓、皮膚および粘膜、胃腸管、免疫系（造血系、例えば、骨髄および胸腺）自体に対する、ならびに特発性肺臓炎の形態で肺に対する選択的な損傷を特徴とする。胃腸管の急性ＧＶＨＤにより、重度の腸の炎症、粘膜の脱落、重度の下痢、腹痛、悪心、および嘔吐がもたらされる可能性がある。これは、一般には、腸の生検によって診断される。肝臓ＧＶＨＤは、急性患者におけるビリルビンレベルによって測定される。皮膚ＧＶＨＤにより、びまん性斑状丘疹状皮疹が、時にはレース状型で生じる。急性ＧＶＨＤは以下の通り病期分類される：各器官を低い、１から高い、４まで個別に病期分類したものを伴う全体的なグレード（皮膚－肝臓－消化管）。グレードＩＶ　ＧＶＨＤの患者は通常予後不良を有する。ＧＶＨＤが重度であり、制御下に置くためにステロイドおよび追加的な作用物質を伴う厳しい免疫抑制を必要とする場合、患者は、免疫抑制の結果として

重度の感染症を発生する可能性があり、感染症により死亡する恐れがある。慢性ＧＶＨＤでも上記の器官が攻撃されるが、その長期経過では、結合組織および外分泌腺の損傷も引き起こされる可能性がある。

【０１７８】

本明細書に開示されている抗原特異的調節性Ｔ細胞は、病原性が、病原体の細胞変性効果の結果ではなく、感染性因子に対する免疫性炎症応答によって引き起こされる損傷である感染症を治療するために使用することもできる。例えば、本明細書に開示されている発現されたウイルス抗原を標的とする調節性Ｔ細胞を使用して、感染によって引き起こされる局所的な組織傷害を抑制すること、および自己免疫疾患の発生を先導する炎症を軽減することができるので、これらのＴ細胞により、ウイルス誘導性免疫性炎症疾患を治療することができる。ウイルス誘導性免疫性炎症疾患の非限定的な例としては、Ｃ型肝炎、ＨＳＶ誘導性角膜炎症、コクサッキー誘導性膵炎、およびコクサッキー誘導性１型糖尿病が挙げられる。

【０１７９】

本明細書で使用される場合、「治療（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」という用語は、個体における免疫に基づく障害の臨床症状を軽減すること、緩和すること、もしくは排除すること、または、個体における免疫に基づく障害の臨床症状の発症を遅延させることまたは予防することを指す。例えば、「治療（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」という用語は、免疫に基づく障害を特徴とする状態の症状を、例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％または少なくとも１００％軽減することを意味する場合がある。免疫に基づく障害の症状としては、限定することなく、浮腫、充血、紅斑、挫傷、圧痛、凝り、膨張、発熱、悪寒、鼻づまり、頭が重い感じ（ｓｔｕｆｆｙ　ｈｅａｄ）、呼吸困難、体液貯留、血餅、食欲の喪失、心拍数の増加、肉芽腫の形成、線維素性、膿、非粘性漿液、潰瘍、自己反応性エフェクター免疫細胞の産生の増大、炎症、および疼痛が挙げられる。免疫に基づく障害に伴う実際の症状は周知であり、当業者が、これだけに限定することなく、免疫に基づく障害の場所、免疫に基づく障害の原因、免疫に基づく障害の重症度、免疫に基づく障害の影響を受ける組織または器官を含めた因子を考慮に入れることによって決定することができる。

【０１８０】

本発明の態様は、一部において、自己免疫障害または移植片拒絶反応に伴う症状の軽減を提供する。この実施形態のある態様では、軽減される症状は、炎症、疲労、めまい感、倦怠感、熱の上昇および高体温、手および足における低温に対する極度の感受性、筋肉および関節の衰弱および凝り、体重変化、消化または胃腸の問題、低血圧または高血圧、被刺激性、不安、または抑うつ、不妊症または性衝動の減少（低リビドー）、血糖の変化、および自己免疫疾患の種類に応じて、器官または組織のサイズの増大、または器官または組織の破壊である。

【０１８１】

本発明の態様は、一部において、炎症に伴う症状の軽減を提供する。この実施形態のある態様では、軽減される症状は、浮腫、充血、紅斑、挫傷、圧痛、凝り、膨張、発熱、悪寒、鼻および気管支を含めた気道の鬱血、洞の鬱血、呼吸の問題、体液貯留、血餅、食欲の喪失、心拍数の増加、肉芽腫の形成、線維素性、膿、または非粘性漿液、潰瘍の形成、または疼痛である。

【０１８２】

本明細書に開示されている治療方法と一緒に用いる本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の量は、一般には、治療有効量になる。本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、「治療有効用量」と同義であり、それを必要とする個体において実施者により求められている生物学的応答または臨床応答が引き出される調節性Ｔ細胞の量を指す。非限定的な例として、有効量は、浮腫、充血、紅斑、挫傷、圧痛、凝り、膨張、発熱、悪寒、鼻づまり、頭が重いこと、呼吸困難、体液貯留、血餅、食欲の喪失、心拍数の増加

、肉芽腫の形成、線維素性、膿、非粘性漿液、潰瘍、自己反応性エフェクター免疫細胞の産生の増大、炎症、または疼痛のような免疫に基づく障害の症状を軽減するために十分な量である。

【０１８３】

開示されている方法の特定の適用のために投与されるべき適切な有効量は、当業者が、本明細書において提供される手引きを用いて決定することができる。例えば、免疫に基づく障害を特徴とする状態の症状の治療における本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の有効性は、その状態に付随する１つまたは複数の臨床症状、および／または生理的指標を観察することによって決定することができる。免疫に基づく障害を有する個体の治療に対する応答は、その個体の症状の重症度を決定することによって、または免疫に基づく障害を有する個体由来の試料中の自己反応性Ｔ細胞の発生頻度を決定することによってモニターすることができる。免疫に基づく障害の症状の重症度は、自己反応性Ｔ細胞の数と相関し得る。例えば、米国特許出願公開第２００６／０１０５３３６号を参照されたい。さらに、試料中の自己反応性Ｔ細胞の数の増加を、症状の重症度を最小限にすることおよび／または症状が現れる前に免疫に基づく障害を治療することを目的とした治療を適用するための指標として用いることができる。別の例として、免疫に基づく障害を特徴とする状態の症状の治療における本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の有効性は、現存するＴ細胞注入療法を用いた臨床経験に依拠することによって決定することができる。免疫に基づく障害の改善は、併用療法の必要性が減少することによっても示される場合がある。当業者には、特定の免疫に基づく障害に付随する適切な症状または指標が分かり、また、個体が本明細書に開示されている治療の候補であるかどうかをどのように決定するかが分かるであろう。個体の状態を療法の過程全体を通してモニターすることができること、および、投与する本明細書に開示されている化合物または組成物の有効量をそれに応じて加減することができることは当業者には理解されよう。

【０１８４】

この実施形態の複数の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量により、免疫に基づく障害に伴う症状が、例えば、少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％または少なくとも１００％軽減される。この実施形態の他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量により、免疫に基づく障害に伴う症状が、例えば、最大で１０％、最大で２０％、最大で３０％、最大で４０％、最大で５０％、最大で６０％、最大で７０％、最大で８０％、最大で９０％または最大で１００％軽減される。この実施形態のさらに他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量により、免疫に基づく障害に伴う症状が、例えば、約１０％～約１００％、約１０％～約９０％、約１０％～約８０％、約１０％～約７０％、約１０％～約６０％、約１０％～約５０％、約１０％～約４０％、約２０％～約１００％、約２０％～約９０％、約２０％～約８０％、約２０％～約２０％、約２０％～約６０％、約２０％～約５０％、約２０％～約４０％、約３０％～約１００％、約３０％～約９０％、約３０％～約８０％、約３０％～約７０％、約３０％～約６０％、または約３０％～約５０％軽減される。この実施形態のさらに他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量は、免疫に基づく障害に伴う症状を、例えば、少なくとも１週間、少なくとも１カ月、少なくとも２カ月、少なくとも３カ月、少なくとも４カ月、少なくとも５カ月、少なくとも６カ月、少なくとも７カ月、少なくとも８カ月、少なくとも９カ月、少なくとも１０カ月、少なくとも１１カ月、または少なくとも１２カ月にわたって軽減するために十分な投与量である。

【０１８５】

この実施形態の他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量は、例えば、細胞約1×10^{7}個、細胞約1×10^{8}個、細胞約1×10^{9}個、細胞約1×10^{10}個、または細胞約1×10^{11}個である。この実施形態のさらに他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量は、例えば、少なくとも細胞１×１

0^{7}個、少なくとも細胞1×10^{8}個、少なくとも細胞1×10^{9}個、少なくとも細胞1×10^{10}個、または少なくとも細胞1×10^{11}個である。この実施形態のさらに他の態様では、本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞の治療有効量は、例えば、細胞約1×10^{7}個～細胞約1×10^{11}個、細胞約1×10^{8}個～細胞約1×10^{11}個、細胞約1×10^{9}個～細胞約1×10^{11}個、細胞約1×10^{10}個～細胞約1×10^{11}個、細胞約1×10^{7}個～細胞約1×10^{10}個、細胞約1×10^{8}個～細胞約1×10^{10}個、細胞約1×10^{9}個～細胞約1×10^{10}個、または細胞約1×10^{8}個～細胞約1×10^{9}個である。

【０１８６】

本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞は、さまざまなやり方で投与することができる。非限定的な例として、細胞は、静脈内に、もしくは抑制されるべき免疫応答の場所に近接する体腔内、例えば、腹腔内腔などに送達すること、または、免疫反応の部位内もしくはその近くに直接注射することができる。静脈内投与は、例えば、多くのそのような状態の治療において有利である。

【０１８７】

本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞は、注射によって投与するために、従来の薬学的に許容される非経口用ビヒクルを使用して医薬品および医薬組成物に製剤化することができる。これらのビヒクルは、非毒性かつ治療的であってよく、いくつもの製剤が、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓに記載されている。賦形剤の非限定的な例は、生理食塩水、リンゲル液、生理食塩水－ブドウ糖溶液、およびハンクス平衡塩類溶液である。医薬組成物は、少量の添加物、例えば、等張性、生理的なｐＨ、および安定性を維持する物質なども含有してよい。本明細書に開示されている調節性Ｔ細胞を含む医薬品および組成物は、単位用量の形式であってよい。一般に、単位用量は治療有効量の調節性Ｔ細胞を含有する。量は、一般に、患者の年齢、サイズ、性別、治療される状態およびその重症度、細胞の状態、ならびに試料のドナーから得られたそれらの元の特性に左右される。投与量の力価を決定して、治療的に有効な投与量を同定する方法は当業者に公知である。一般に、治療有効量の調節性Ｔ細胞は、約1×10^{7}～約1×10^{11}であってよい。

【０１８８】

本明細書の複数の態様には、一部において、本明細書に開示されている方法のいずれかを実施することにおいて有用な構成成分を含むキットが開示されている。

【０１８９】

一実施形態では、キットは、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するために必要な構成成分を含む。この実施形態のある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、かつ／または単離するためのキットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む。

【０１９０】

この実施形態の別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。

【０１９１】

この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。

【０１９２】

一実施形態では、キットは、全血を使用し、３種の異なる細胞表面バイオマーカーリガンドを使用した一ステップの染色プロトコールとして設計される。この実施形態のある態様では、キットは、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む。この実施形態の別の態様では、キットは、

ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む。この実施形態のさらに別の態様では、キットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンド、およびＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンドを含む。この実施形態のさらに別の態様では、キットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンド、およびＣＤ３８バイオマーカーリガンドを含む。この実施形態の別の態様では、キットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、およびＣＤ３８バイオマーカーリガンドを含む。この実施形態のさらに別の態様では、キットは、ＦＯＸＰＳバイオマーカーリガンドを陽性対照として含む。

【０１９３】

この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。

【０１９４】

この実施形態のさらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドを含む。

【０１９５】

この実施形態の他の態様では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、ＣＤ３８バイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーリガンド、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカーリガンド、ＦｏｘＰ３バイオマーカーリガンド、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーリガンド、ＧＩＴＲバイオマーカーリガンド、ＬＡＧ－３バイオマーカーリガンド、ＣＤ３９バイオマーカーリガンド、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーリガンド、ＦｃＲＬ３バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ７バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ４バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ８バイオマーカーリガンド、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーリガンド、ＩＣＯＳバイオマーカーリガンド、ＣＤ１０３バイオマーカーリガンド、ＰＤ－１バイオマーカーリガンド、ＣＤ１３４バイオマーカーリガンド、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカーリガンド、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含んでよい。この実施形態のさらに他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、陽性対照および／もしくは陰性対照、ならびに／または、キットの内容物を使用することによって免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するための説明書をさらに含んでよい。この実施形態の別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットは、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるために必要な構成成分をさらに含んでよい。

【０１９６】

別の実施形態では、キットは、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるために必要な構成成分を含む。この実施形態のある態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、刺激性組成物を含む。この実施形態の複数の態様では、刺激性組成物は、有効量の抗原または同種異系抗原を含む。この実施形態の他の態様では、刺激性組成物は、有効量のＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を含む。この実施形態のさらに他の態様では、刺激性組成物は、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、一般にＴ細胞の生存および／または成長を促進する作用物質、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む。この実施形態の別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、αＣＤ３抗体、αＣＤ２８抗体、ＩＬ－２またはＩＬ－１５、およびＴＧＦβまたはラパマイシンを含めた刺激性組成物を含む。この実施形態のさらに他の態様

では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、陽性対照および／もしくは陰性対照、ならびに／または、キットの内容物を使用することによって免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるための説明書をさらに含んでよい。この実施形態のさらに他の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、ディッシュまたはフラスコのような培養容器、培養培地、または、任意の必要な、細胞の成長を促進するために有用な緩衝液、因子をさらに含んでよい。さらに別の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットは、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンド、または本明細書に開示されている少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドをさらに含んでよい。

【０１９７】

開示されているバイオマーカーリガンドは、抗体であってもリガンドであってもよく、標識されていても標識されていなくてもよい。標識されている場合は、バイオマーカーには、フルオロフォア、量子ドット、リン光体、化学発光化合物、生物発光化合物、発色性化合物、ランタニドのような同位元素化合物、放射性同位元素、酵素、ビオチン分子、アビジン分子、またはバイオマーカーが結合した細胞を検出するために有用な任意の他の標識が共有結合または非共有結合によって付着していてよい。標識されていない場合は、キットは、バイオマーカーリガンドを標識するために有用な標識および他の試薬をさらに含んでよい。標識を抗体に付着させる方法は、当業者に周知である。特に好ましい標識は、容易に切断すること、または分離すること、または生理的条件下で所定の酵素と接触させることによって加水分解に供することができるリンカーによってバイオマーカーリガンドに付着した標識である。この実施形態のある態様では、ＣＤ４バイオマーカーリガンドは蛍光標識された抗ＣＤ４モノクローナル抗体であり、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドは蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドは蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体であり、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンドは蛍光標識された抗ＣＤ１２７モノクローナル抗体である。

【０１９８】

開示されている刺激性組成物は、抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を有効量で含んでよい。刺激性組成物は、１種または複数種の追加的な作用物質、例えば、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、または一般にＴ細胞の生存および／または成長を促進する作用物質をさらに含んでよい。刺激性組成物は、溶液中に存在しても懸濁液中に存在してもよく、固体表面、例えば、宿主細胞、ビーズ、または他の基材などに固定化されていてもよい。基材として使用するために適した細胞としては、人工抗原提示細胞（ａＡＰＣ）が挙げられる。ビーズは、一般には、直径範囲が１μｍ～２０μｍであるプラスチック、ガラス、磁気、または任意の他の適切な材料であってよい。刺激性組成物、ＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、および生存および／または成長促進因子は本明細書に記載の通りである。

【０１９９】

本明細書に開示されている説明書は、対象キット内に種々の形態で存在してよく、その１つまたは複数がキット内に存在してよい。これらの説明書が存在してよい１つの形態は、例えば、キットの包装内の、添付文書内の、情報が印刷された１枚または複数枚の紙などの適切な媒体または基材に印刷された情報である。さらに別の手段は、情報が記録されたコンピュータ可読の媒体、例えば、ディスケット、テープ、またはＣＤである。存在してよいさらに別の手段は、離れた場所で情報にアクセスするためにインターネットを介して使用することができるウェブサイトアドレスである。任意の都合のよい手段がキット内に存在してよい。

【０２００】

本明細書の複数の態様には、一部において、本明細書に開示されている方法に従って得られる免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物が開示されている。ある実施形態では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物は、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法に従って作製される。別の実施

形態では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物は、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させる方法に従って作製される。これらの実施形態の複数の態様では、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団は、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞、ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞を含む。

【０２０１】

別の実施形態では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物は医薬組成物である。医薬組成物は、治療有効量の本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞を、従来の許容される医薬賦形剤と組み合わせることによって調製することができる。治療有効量の調節性Ｔ細胞は、一般には、本明細書に開示されている通りであり、一般には、細胞約１×１０^{7}個～細胞約１×１０^{11}個である。医薬組成物は、個体に投与された際に有害な、アレルギー性の、または他の不都合なもしくは望ましくない反応が生じないことが好ましい。本明細書に開示されている医薬組成物は、医学的適用および獣医学的適用のために有用である。医薬組成物は、個体に単独で、または他の補充的な活性化合物、作用物質、薬物またはホルモンと組み合わせて投与することができる。医薬組成物は、これだけに限定することなく、従来の混合、溶解、造粒、糖剤作製、研和（ｌｅｖｉｇａｔｉｎｇ）、乳化、被包、封入（ｅｎｔｒａｐｐｉｎｇ）、および凍結乾燥を含めた種々のプロセスのいずれを用いても製造することができる。医薬組成物は、これだけに限定することなく、投与するために適した、滅菌された液剤、懸濁剤、または任意の他の剤形を含めた種々の形態のいずれをとってもよい。

【０２０２】

別の実施形態では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物を、本明細書に開示されている個体における免疫に基づく障害を治療する方法において使用する。さらに別の実施形態では、本明細書に開示されている免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物を、本明細書に開示されている免疫に基づく障害を治療するための医薬品を製造するために使用する。

【０２０３】

本明細書の複数の態様には、一部において、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮する方法が開示されている。一態様では、開示されている方法は、αＣＤ６抗体を個体に投与するステップを含み、投与することにより、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含むＴ細胞が動作不能になるが、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞は動作不能にならず、それにより、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が濃縮される。

【０２０４】

開示されている方法を実施するために有用な抗ＣＤ６抗体は、例えば、そのそれぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｓｔａｒｌｉｎｇら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｔｏ Ｈｕｍａｎ ＣＤ６、ＵＳ６，３７２，２１５；およびＣａｓｉｍｉｒｏら、Ａｎｔｉ－ＣＤ６ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｕｓｅｓ、Ｕ．Ｓ． ６，５７２，８５７に記載されている。αＣＤ６抗体は、本明細書に開示されている任意の種類の抗体であってよい。

【０２０５】

αＣＤ６抗体は、任意の適切な投与製剤および投与経路を用いて投与することができる。例えば、αＣＤ６抗体を含む組成物は、注射によって投与することができる。

【０２０６】

本明細書に開示されている個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮する方法と一緒に使用する本明細書に開示されているαＣＤ６抗体の量は、一般には、治療有効量になる。免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮するために個体に投与されるαＣＤ６抗体に関して、治

療有効量とは、それを必要とする個体において実施者により求められている生物学的応答または臨床応答が引き出されるαＣＤ６抗体の量を指す。非限定的な例として、有効量のαＣＤ６抗体は、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮するために十分な量である。

【０２０７】

この実施形態の複数の態様では、αＣＤ６抗体の治療有効量は、個体において、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む細胞の数と比較して、例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％少なくとも５０％、または少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、または少なくとも９０％動作不能にする量である。この実施形態の他の態様では、αＣＤ６抗体の治療有効量は、個体において、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む細胞の数と比較して、例えば、少なくとも２倍、少なくとも４倍、少なくとも８倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍動作不能にする量である。

【０２０８】

この実施形態の複数の態様では、αＣＤ６抗体の治療有効量は、個体において、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含む細胞の数と比較して、例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％少なくとも５０％、または少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、または少なくとも９０％濃縮する量である。この実施形態の他の態様では、αＣＤ６抗体の治療有効量は、個体において、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含む免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含む細胞の数と比較して、例えば、少なくとも２倍、少なくとも４倍、少なくとも８倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍濃縮する量である。

【０２０９】

本明細書の複数の態様は、以下の通り説明することもできる：

１．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ

を含み、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。

【０２１０】

２．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、

Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、

Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと

を含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。

【０２１１】

３．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、

Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ

を含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。

【０２１２】

４．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、

Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステッ

プと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと
を含み、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。
【０２１３】
５．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。
【０２１４】
６．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと
を含み、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、方法。
【０２１５】
７．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を単離または濃縮するステップをさらに含む、実施形態１から６に記載の方法。
【０２１６】
８．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を、刺激性組成物を用いて増大させるステップをさらに含む、実施形態７に記載の方法。
【０２１７】
９．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２１８】
１０．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２１９】
１１．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより

、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２０】
１２．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２１】
１３．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２２】
１４．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離し、それにより、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２３】
１５．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるステップをさらに含む、実施形態９から１４に記載の方法。
【０２２４】
１６．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２５】
１７．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それ

により、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２６】
１８．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２７】
１９．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２８】
２０．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２２９】
２１．増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得る方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を刺激性組成物と接触させ、それにより、増大した免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を得るステップと
を含む、方法。
【０２３０】
２２．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、

個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３１】
２３．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、
個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料をＣＤ６バイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ６バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３２】
２４．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、
個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３３】
２５．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、
個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ２５バイオマーカーおよびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３４】
２６．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、
個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３５】
２７．個体における免疫に基づく障害を治療する方法であって、
個体適合性Ｔ細胞の集団を含む生物学的試料を得るステップと、
Ｔ細胞の集団を含む試料を、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドと接触させるステップと、
Ｔ細胞の集団をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、およびＣＤ６バイオマーカーを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むＴ細胞の亜集団を単離するステップと、
ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与し、それにより、個体における免疫に基づく障害を治療するステップと
を含む、方法。
【０２３６】
２８．ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に、ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を、刺激性組成物を用いて増大させるステップをさらに含む、実施形態２２および２３に記載の方法。
【０２３７】
２９．ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を、刺激性組成物を用いて増大させるステップをさらに含む、実施形態２４および２５に記載の方法。
【０２３８】
３０．ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を個体に投与する前に、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを有する亜集団Ｔ細胞を、刺激性組成物を用いて増大させるステップをさらに含む、実施形態２６および２７に記載の方法。
【０２３９】
３１．刺激性組成物が、抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を含む、実施形態８、１６から２１、および２８から３０に記載の方法。
【０２４０】
３２．刺激性組成物が、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、またはＴ細胞の生存または成長作用物質をさらに含む、実施形態３１に記載の方法。
【０２４１】
３３．刺激性組成物が、αＣＤ３抗体、αＣＤ２８抗体、ＩＬ－２またはＩＬ－１５、およびＴＧＦβまたはラパマイシンを含む、実施形態３２に記載の方法。
【０２４２】
３４．試料がＰＢＭＣ試料である、実施形態１から３３に記載の方法。
【０２４３】
３５．試料が血液試料、リンパ組織試料、胸腺試料、膵臓試料、眼試料、心臓試料、肝臓試料、神経試料、腸試料、皮膚試料、筋肉試料、軟骨試料、または靭帯試料である、実施形態１から３３に記載の方法。
【０２４４】
３６．ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態１、２、７、８、１５から１７、２２、２３、２８、および３１から３５に記載の方法。
【０２４５】

３７．ＣＤ２５バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態３、４、７、８、１５、１８、１９、２４、２５、２９、および３１から３５に記載の方法。

【０２４６】

３８．ＣＤ４バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ４モノクローナル抗体であり、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態５から８、１５、２０、２１、２６、２７、および３０から３５に記載の方法。

【０２４７】

３９．ＣＤ１２７バイオマーカーリガンド、ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、ＣＤ３８バイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーリガンド、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカーリガンド、ＦｏｘＰ３バイオマーカーリガンド、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーリガンド、ＧＩＴＲバイオマーカーリガンド、ＬＡＧ－３バイオマーカーリガンド、ＣＤ３９バイオマーカーリガンド、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーリガンド、ＦｃＲＬ３バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ７バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ４バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ８バイオマーカーリガンド、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーリガンド、ＩＣＯＳバイオマーカーリガンド、ＣＤ１０３バイオマーカーリガンド、ＰＤ－１バイオマーカーリガンド、ＣＤ１３４バイオマーカーリガンド、ＧＡＲＰバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカーリガンド、ＣＤ９５バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２２バイオマーカーリガンド、ＣＤ１４７バイオマーカーリガンド、ＣＤ８バイオマーカーリガンド、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、実施形態１から３８に記載の方法。

【０２４８】

４０．ＣＤ１２７バイオマーカー、ＣＤ４９ｄバイオマーカー、ＣＤ３８バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカー、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＴＬＡ－４バイオマーカー、ＧＩＴＲバイオマーカー、ＬＡＧ－３バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカー、ＦｃＲＬ３バイオマーカー、ＣＣＲ７バイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＣＲ８バイオマーカー、ＣＤ６２Ｌバイオマーカー、ＩＣＯＳバイオマーカー、ＣＤ１０３バイオマーカー、ＰＤ－１バイオマーカー、ＣＤ１３４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカー、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカー、ＣＤ９５バイオマーカー、ＣＤ１２２バイオマーカー、ＣＤ１４７バイオマーカー、ＣＤ８バイオマーカー、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、実施形態１から３９に記載の方法。

【０２４９】

４１．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ１２７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４０に記載の方法。

【０２５０】

４２．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ４９ｄバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４９ｄ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４１に記載の方法。

【０２５１】

４３．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ３８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、

ＣＤ３８$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４２に記載の方法。

【０２５２】

４４．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ４５ＲＡバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４５ＲＡ$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４３に記載の方法。

【０２５３】

４５．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＨＬＡ－Ｄｒ$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４４に記載の方法。

【０２５４】

４６．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＦｏｘＰ３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＦｏｘＰ３$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４５に記載の方法。

【０２５５】

４７．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＴＬＡ－４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＴＬＡ－４$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４６に記載の方法。

【０２５６】

４８．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＧＩＴＲバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＧＩＴＲ$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４７に記載の方法。

【０２５７】

４９．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＬＡＧ－３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＬＡＧ－３$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４８に記載の方法。

【０２５８】

５０．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ３９バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ３９$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から４９に記載の方法。

【０２５９】

５１．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＨｅｌｉｏｓバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、Ｈｅｌｉｏｓ$^{＋またはｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から

５０に記載の方法。
【０２６０】
５２．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＦｃＲＬ３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＦｃＲＬ３$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５１に記載の方法。
【０２６１】
５３．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＣＲ７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＣＲ７$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５２に記載の方法。
【０２６２】
５４．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＣＲ４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＣＲ４$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５３に記載の方法。
【０２６３】
５５．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＣＲ８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＣＲ８$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５４に記載の方法。
【０２６４】
５６．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ６２Ｌバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ６２Ｌ$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５５に記載の方法。
【０２６５】
５７．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＩＣＯＳバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＩＣＯＳ$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５６に記載の方法。
【０２６６】
５８．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ１０３バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ１０３$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５７に記載の方法。
【０２６７】
５９．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＰＤ－１バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＰＤ－１$^{+}$ｏｒ$^{low/-}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５８に記載の方法。
【０２６８】

６０．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ１３４バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ１３４$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から５９に記載の方法。

【０２６９】

６１．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＧＡＲＰバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＧＡＲＰ$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６０に記載の方法。

【０２７０】

６２．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ４５ＲＢバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４５ＲＢ$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６１に記載の方法。

【０２７１】

６３．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ４５ＲＯバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ４５ＲＯ$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６２に記載の方法。

【０２７２】

６４．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ９５バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ９５$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６３に記載の方法。

【０２７３】

６５．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ１２２バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ１２２$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６４に記載の方法。

【０２７４】

６６．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ１４７バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ１４７$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６５に記載の方法。

【０２７５】

６７．スクリーニングするステップが、Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングしてＣＤ８バイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップをさらに含み、ＣＤ８$^{+}^{または}^{ｌｏｗ／－}$発現パターンをさらに含むＴ細胞の亜集団が検出されることにより、試料中の免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が同定される、実施形態１から６６に記載の方法。

【０２７６】

６８．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む、キット。

【０２７７】
６９．ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態６８に記載のキット。
【０２７８】
７０．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む、キット。
【０２７９】
７１．ＣＤ２５バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態７０に記載のキット。
【０２８０】
７２．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも２種の異なるバイオマーカーリガンドを含む、キット。
【０２８１】
７３．ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体であり、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ１２７モノクローナル抗体である、実施形態７２に記載のキット。
【０２８２】
７４．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドを含む、キット。
【０２８３】
７５．ＣＤ４バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ４モノクローナル抗体であり、ＣＤ２５バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体である、実施形態７４に記載のキット。
【０２８４】
７６．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を同定し、単離し、かつ／または濃縮するためのキットであって、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドを含む少なくとも３種の異なるバイオマーカーリガンドを含む、キット。
【０２８５】
７７．ＣＤ２５バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ２５モノクローナル抗体であり、ＣＤ６バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ６モノクローナル抗体であり、ＣＤ１２７バイオマーカーリガンドが蛍光標識された抗ＣＤ１２７モノクローナル抗体である、実施形態７６に記載のキット。
【０２８６】
７８．ＣＤ４９ｄバイオマーカーリガンド、ＣＤ３８バイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカーリガンド、ＨＬＡ－ＤＲバイオマーカーリガンド、ＦｏｘＰ３バイオマーカーリガンド、ＣＴＬＡ－４バイオマーカーリガンド、ＧＩＴＲバイオマーカーリガンド、ＬＡＧ－３バイオマーカーリガンド、ＣＤ３９バイオマーカーリガンド、Ｈｅｌｉｏｓバイオマーカーリガンド、ＦｃＲＬ３バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ７バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ４バイオマーカーリガンド、ＣＣＲ８バイオマーカーリガンド、ＣＤ６２Ｌバイオマーカーリガンド、ＩＣＯＳバイオマーカーリガンド、ＣＤ１０３バイオマーカーリガンド、ＰＤ－１バイオマーカーリガンド、ＣＤ１３４バイオマーカーリガンド、ＧＡＲＰバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＢバイオマーカーリガンド、ＣＤ４５ＲＯバイオマーカーリガンド、ＣＤ９５バイオマーカーリガンド、ＣＤ１２２バイオマ

ーカーリガンド、ＣＤ１４７バイオマーカーリガンド、ＣＤ８バイオマーカーリガンド、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、実施形態６８から７７に記載のキット。

【０２８７】

７９．免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を増大させるためのキットであって、刺激性組成物を含む、キット。

【０２８８】

８０．刺激性組成物が抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を含む、実施形態７９に記載のキット。

【０２８９】

８１．刺激性組成物が、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、またはＴ細胞の生存または成長作用物質をさらに含む、実施形態７９および８０に記載のキット。

【０２９０】

８２．刺激性組成物が、αＣＤ３抗体、αＣＤ２８抗体、ＩＬ－２またはＩＬ－１５、およびＴＧＦβまたはラパマイシンを含む、実施形態７９に記載のキット。

【０２９１】

８３．ＣＤ６バイオマーカーリガンドまたは実施形態６８から７９に記載のキットのいずれか１つをさらに含む実施形態７９から８２に記載のキット。

【０２９２】

８４．ＣＤ２５バイオマーカーリガンドおよびＣＤ６バイオマーカーリガンドまたは実施形態６８から７９に記載のキットのいずれか１つをさらに含む実施形態７９から８１に記載のキット。

【０２９３】

８５．ＣＤ６バイオマーカーリガンドおよびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドまたは実施形態６８から７９に記載のキットのいずれか１つをさらに含む実施形態７９から８１に記載のキット。

【０２９４】

８６．ＣＤ４バイオマーカーリガンド、ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、およびＣＤ６バイオマーカーリガンドまたは実施形態６８から７９に記載のキットのいずれか１つをさらに含む実施形態７９から８１に記載のキット。

【０２９５】

８７．ＣＤ２５バイオマーカーリガンド、ＣＤ６バイオマーカーリガンド、およびＣＤ１２７バイオマーカーリガンドまたは実施形態６８から７９に記載のキットのいずれか１つをさらに含む実施形態７９から８１に記載のキット。

【０２９６】

８８．実施形態７から２２または３１から６７に記載の方法に従って得られる免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団を含む組成物。

【０２９７】

８９．医薬組成物である、実施形態８８に記載の組成物。

【０２９８】

９０．個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞を濃縮する方法であって、αＣＤ６抗体を個体に投与するステップを含み、投与することにより、ＣＤ６$^{hi/+}$発現パターンを含むＴ細胞が動作不能になるが、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むＴ細胞は動作不能にならず、それにより、個体における免疫抑制性調節性Ｔ細胞の集団が濃縮される、方法。

【０２９９】

９１．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットを同定する方法であって、

Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ６バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＤ４５ＲＡバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、またはＨＬＡ－

Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出が、ｉ）ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉ）ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９^{hi}／$^{+}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}／$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$発現パターン；およびｉｖ）ＣＲ４^{hi}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９^{low}／$^{-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}／$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンに基づく、方法。

【０３００】

９２．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンを含むナイーブまたは休止免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９１に記載の方法。

【０３０１】

９３．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンを含む未成熟またはメモリー免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９１または９２に記載の方法。

【０３０２】

９４．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＤ３９^{hi}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＣＤ３９^{hi}／$^{+}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{low}／$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{low}発現パターンを含む成熟またはエフェクター免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９１から９３に記載の方法。

【０３０３】

９５．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}／$^{+}$ＣＤ６^{hi}／$^{+}$ＣＣＲ４^{hi}／$^{+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{low}発現パターンを含む最終分化免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９１から９４に記載の方法。

【０３０４】

９６．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットを同定する方法であって、
Ｔ細胞の集団を含む試料をスクリーニングして、ＣＤ４バイオマーカー、ＣＤ２５バイオマーカー、ＣＤ１２７バイオマーカー、ならびに、ＦｏｘＰ３バイオマーカー、ＣＤ４

５ＲＡバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカー、またはＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーである１種の追加的なバイオマーカーの細胞における発現のレベルを検出するステップ
を含み、免疫抑制性調節性Ｔ細胞の４つの別個の成熟サブセットの検出が、ｉ）ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉ）ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$発現パターン；ｉｉｉ）ＣＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{hi/+}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$発現パターン；およびｉｖ）ＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ３９$^{low/-}$発現パターン、またはＨＬＡ－Ｄｒ$^{low/-}$発現パターンと併せてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$発現パターンに基づく、方法。

【０３０５】

９７．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９$^{-}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ$^{-}$発現パターンを含むナイーブまたは休止免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９６に記載の方法。

【０３０６】

９８．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターンを含む未成熟またはメモリー免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９６または９７に記載の方法。

【０３０７】

９９．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ３９$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＣＤ３９$^{hi/+}$発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{low}発現パターンを含む成熟またはエフェクター免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９６から９８に記載の方法。

【０３０８】

１００．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つが、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＨＬＡ－Ｄｒ^{low}発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$発現パターン、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{hi/+}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＣＤ３９^{low}発現パターン、またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＣＲ４$^{hi/+}$ＨＬＡ－ＤＲ^{low}発現パターンを含む最終分化免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団サブセットである、実施形態９６から９９に記載の方法。

【０３０９】

１０１．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つまたは複数を単離または濃縮するステップをさらに含む、実施形態９１から１００に記載の方法。

【０３１０】

１０２．免疫抑制性調節性Ｔ細胞集団の４つの別個の成熟サブセットのうちの１つまたは複数を、刺激性組成物を用いて増大させるステップをさらに含む、実施形態９１から１０１に記載の方法。

【０３１１】

１０３．刺激性組成物が抗原特異的であるＴＣＲ／ＣＤ３活性化因子を含む、実施形態１０２に記載の方法。

【０３１２】

１０４．刺激性組成物が、共刺激性作用物質、第２の調節性Ｔ細胞刺激性作用物質、またはＴ細胞の生存または成長作用物質をさらに含む、実施形態１０２または１０３に記載の方法。

【０３１３】

１０５．刺激性組成物が、αＣＤ３抗体、αＣＤ２８抗体、ＩＬ－２またはＩＬ－１５、およびＴＧＦβまたはラパマイシンを含む、実施形態１０２に記載の方法。

【０３１４】

１０６．試料がＰＢＭＣ試料である、実施形態９１から１０５に記載の方法。

【０３１５】

１０７．試料が血液試料、リンパ組織試料、胸腺試料、膵臓試料、眼試料、心臓試料、肝臓試料、神経試料、腸試料、皮膚試料、筋肉試料、軟骨試料、または靭帯試料である、実施形態９１から１０６に記載の方法。

【実施例】

【０３１６】

以下の非限定的な実施例は、現在意図されている代表的な実施形態の完全な理解を容易にするために例示する目的でのみ提供される。これらの実施例は、調節性Ｔ細胞を同定し、得、増大させる方法、本明細書に開示されている方法のいずれかの実施において有用な構成成分を含むキット、および調節性Ｔ細胞を含む組成物に関する実施形態を含めた本明細書に記載の実施形態のいかなるものも限定するものと解釈されるべきではない。

【０３１７】

（実施例１）

ＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞集団およびＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞集団のＣＤ６発現は低い

ＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$調節性Ｔ細胞、ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$調節性Ｔ細胞およびＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$調節性Ｔ細胞におけるＣＤ６の発現の分布を実証するために、多色フローサイトメトリー分析を実施して、これらの細胞サブセットにおけるＣＤ６発現パターンを決定した。

【０３１８】

回収した末梢血単核細胞（ＰＢＭＣｃ）を、ＣＤ４、ＣＤ２５、ＣＤ６の細胞表面発現について染色し、細胞内発現についてＦＯＸＰ３で染色した。簡単に述べると、健康な対照由来のＰＢＭＣを、フィコール（Ｆｉｃｏｌｌ）勾配遠心分離によってヘパリン処理血液から単離した。１×ＰＢＳ－２％ヒトＡＢ血清（ＨＡＢＳ）－１％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）１００μＬ当たり約１～２×１０^{6}個の回収されたＰＢＭＣを、以下のモノクローナル抗体：αＣＤ６－ＦＩＴＣ、αＣＤ４－ＰＣ７、およびαＣＤ２５－ＡＰＣの細胞表面染色カクテルと一緒に４℃で２０～３０分インキュベートした。インキュベートした細胞を、１×ＰＢＳ－２％ＨＡＢＳ－１％ＰＦＡで２回洗浄し、固定し、Ｐｅｒｍ／Ｆｉｘ　Ｂｕｆｆｅｒ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を用いて透過処理し、Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ　Ｂｕｆｆｅｒ（ｅＢｉｏｃｉｅｎｃｅ）で２回洗浄し、次いで、ヒトＩｇＧと一緒に、４℃で５分インキュベートした。αＦＯＸＰ３－Ｐａｃｉｆｉｃ　Ｂｌｕｅクローン

２０６Ｄ（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）モノクローナル抗体を含む細胞内染色カクテルをこれらの細胞に加え、暗所で室温で６０分インキュベートし、Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ　Ｂｕｆｆｅｒで洗浄し、その後、１×ＰＢＳ－２％ＨＡＢＳで洗浄し、５００μＬの１×ＰＢＳ－２％ＨＡＢＳ－１％ＰＦＡに再懸濁させた。

【０３１９】

多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞を４０５ｎｍ、４８８ｎｍ、および６３３ｎｍのレーザーを備えたフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングした。自己蛍光、アイソタイプおよびＦＭＯ対照を使用して、陰性および陽性の蛍光事象のヒストグラム位置を確立し、結果を、各モノクローナル抗体についての陰性領域を超える細胞の百分率として、かつ／または別個の集団の蛍光強度の平均（ＭＦＩ）として表した。染色プロトコールにおいて使用した蛍光色素とコンジュゲートしたヒトリンパ球マーカーに対する抗体を用いた単一チューブ染色を用いて補償制御（ｃｏｍｐｅｎｓａｔｉｏｎ　ｃｏｎｔｒｏｌ）を実施した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照、アイソタイプ対照、および／または公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。結果は、２つの試料の評価を表す。収集したデータの分析を、Ｓｕｍｍｉｔ５．０またはＫａｌｕｚａ１．１を使用して実施した。増殖アッセイにおいて前駆体発生頻度を分析するためにＭｏｄＦｉｔソフトウェアを使用した。統計分析のために、Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｏｆｆｉｃｅ　Ｅｘｃｅｌ２００３およびＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ５．０１を使用した。

【０３２０】

結果は、ＣＤ４　ＦＯＸＰ３リンパ球集団では、表面ＣＤ６バイオマーカーの発現がＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$発現パターンを含む細胞においてＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{-}$発現パターンを含む細胞と比較して約２分の１である（ＭＦＩ　６．３対１１．６）ことが示されていることを示している（図１Ａ）。同様に、ＣＤ２５　ＦＯＸＰ３リンパ球集団の分析により、ＣＤ６バイオマーカーの発現はＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$発現パターンを含む細胞においてＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{-}$発現パターンを含む細胞と比較して２分の１であり（ＭＦＩ　６．２対１２．５）、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$ＦＯＸＰ３$^{-}$発現パターンを含む細胞と比較して２分の１であった（ＭＦＩ　６．２対１１．４）（図１Ｂ）ことが示されている。

【０３２１】

ヒトの天然に存在するＴ調節性（ｎＴ$_{ｒｅｇ}$）は、接触依存性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ抑制に関与する、ＣＤ４$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$細胞またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞であると定義されている。この結果は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＦＯＸＰ３$^{+}$ｎＴ$_{ｒｅｇ}$細胞および／またはＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＦＯＸＰ３$^{+}$ｎＴ$_{ｒｅｇ}$細胞が、より低いＣＤ６バイオマーカーの発現を示すことを示している。ＣＤ６陰性Ｔ細胞は、アロ反応性応答を開始する能力を欠くことが示されており、アネルギー性細胞であると考えられている。ｎＴ$_{ｒｅｇ}$細胞においてＣＤ６が発現されないことにより、何故これらの調節性細胞もアネルギー性細胞であるかの１つの機構が示唆された。

【０３２２】

（実施例２）

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$細胞集団はＦＯＸＰ３を発現する

ＣＤ４／ＣＤ２５／ＣＤ６亜集団におけるＦＯＸＰ３マーカーの発現を評価するために、多色フローサイトメトリー分析を実施して、これらの調節性Ｔ細胞サブセットにおけるＦＯＸＰ３発現パターンを決定した。

【０３２３】

実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基

づいてゲーティングした。ＣＤ４$^{+}$リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ６／ＣＤ２５の発現について分析した。３つのＣＤ４$^{+}$細胞サブセット：ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$およびＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$においてＦＯＸＰ３の発現を分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照、アイソタイプ対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３２４】

結果は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球の９４．２％がＦＯＸＰ３も発現することを示している（図２Ｂ）。しかし、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球ではほんの９．５％がＦＯＸＰ３を発現し、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンを含むリンパ球ではほんの１．８％がＦＯＸＰ３を発現する（図２Ｂ）。これらの結果は、ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞がＣＤ２５バイオマーカーの発現について不均一であることが確証されることを示しているが、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する調節性Ｔ細胞によりＦＯＸＰ３$^{+}$ｎＴ$_{reg}$細胞の大部分が同定されると思われることを示している。

【０３２５】

（実施例３）

ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団はＦＯＸＰ３を発現する

リンパ球ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$亜集団におけるＦＯＸＰ３の発現を評価するために、多色フローサイトメトリー分析を実施して、これらの調節性Ｔ細胞サブセットにおけるＦＯＸＰ３発現パターンを決定した。

【０３２６】

実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ６／ＣＤ２５の発現について分析した。３つの細胞サブセット：ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$およびＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$においてＦＯＸＰ３の発現を分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照、アイソタイプ対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３２７】

結果は、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球の８９．２％がＦＯＸＰ３も発現することを示している（図３）。しかし、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球ではほんの９．０％がＦＯＸＰ３を発現し、ＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンを含むリンパ球ではほんの１．８％がＦＯＸＰ３を発現する（図３）。この分析は、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球が２つの集団サブセットを含み、大きな集団はＦＯＸＰ３の発現が高レベルであり（８９．２％）、小さな集団はＦＯＸＰ３の発現が低い、またはそれを発現しない（１０．７％）ことを示している（図３）。さらに、これらの実験により、ＣＤ２５$^{low/-}$ＣＤ６$^{+}$発現パターンを含む細胞はＦＯＸＰ３を発現しなかったが、ＣＤ２５$^{low/-}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する細胞はＦＯＸＰ３も発現する細胞の小さなサブセット（９．０％）を含有したことが示された（図３）。これらの結果は、ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞はＣＤ２５バイオマーカーの発現について不均一であることを示しているが、ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを有する調節性Ｔ細胞によりＦＯＸＰ３$^{+}$ｎＴ$_{reg}$細胞の大部分が同定されると思われることを示している。

【０３２８】

（実施例４）

ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団はＦＯＸＰ３を発現する

ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞に対するＣＤ６枯渇の効果を評価するために、多色フローサイトメト

リー分析を実施して、ｎＣＤ６$^{+}$細胞サブセットおよびＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$細胞サブセットにおけるＦＯＸＰ３発現パターンを決定した。

【０３２９】

実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ６／ＣＤ４の発現について分析した。２つの細胞サブセット：ＰＢＭＣ ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$およびＰＢＭＣ ＣＤ６$^{+}$においてＦＯＸＰ３の発現を分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照、アイソタイプ対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３３０】

この分析により、ＰＢＭＣ ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むリンパ球が、ＰＢＭＣ ＣＤ６$^{+}$発現パターンを含むリンパ球（８．３％）よりも高レベル（４１．５％）のＦＯＸＰ３の発現を示した（図４Ａ）ことも示された。これらの結果により、ＰＢＭＣにおけるＣＤ６枯渇により、ＦＯＸＰ３$^{+}$ｎＴ$_{ｒｅｇ}$細胞を有意に濃縮することができることが実証された。

【０３３１】

（実施例５）

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$細胞集団は、ＦＯＸＰ３$^{+}$発現の高濃縮を示す

ＦＯＸＰ３についてより均一のＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$細胞集団を同定するために、多色フローサイトメトリー分析を実施して、これらの調節性Ｔ細胞サブセットにおいてＣＤ６およびＣＤ１２７発現パターンを決定した。

【０３３２】

ＰＢＭＣを４体の健康な個体から入手したことおよびαＣＤ１２７－ＰＥモノクローナル抗体を細胞表面染色カクテルに加えたこと以外は実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングした。ＣＤ４$^{+}$リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ４／ＣＤ２５の発現、ＣＤ１２７／ＣＤ２５の発現、およびＣＤ６／ＣＤ２５の発現について分析した。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ１２７／ＣＤ６の発現について分析した。以下のＣＤ４$^{+}$細胞サブセット：ＣＤ２５$^{+}$、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$およびＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$においてＦＯＸＰ３の発現を分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照、アイソタイプ対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３３３】

結果は、ＦＯＸＰ３の発現について、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}細胞（８５．１％ＦＯＸＰ３$^{+}$）、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$（８７．９％ＦＯＸＰ３$^{+}$）およびＣＤ４$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$細胞（８８．０％ＦＯＸＰ３$^{+}$）の間に有意な差異は見いだされなかったことを示している（図５Ａ）。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}細胞をＣＤ６およびＣＤ１２７の発現について分析したところ、この分析により、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含む細胞の９４．９％がＦＯＸＰ３を発現し（図５Ｂ）、レベルは９２．８％がＦＯＸＰ３を発現したＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{ｌｏｗ／－}$細胞に匹敵することが明らかになったことが印象的である。逆に、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$細胞サブセットは低ＦＯＸＰ３発現を示した（２２．６％）（図５Ｂ）。総合すると、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}集団＜ＣＤ４$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$集団＝ＣＤ４$^{+}$

ＣＤ１２７$^{low/-}$集団＜ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$集団というＦＯＸＰ３$^{+}$細胞の累進的な濃縮が存在した（図５Ｃ）。したがって、ＣＤ６表面マーカーとＣＤ１２７表面マーカーの組み合わせにより、ＦＯＸＰ３$^{+}$細胞について最も高く濃縮されたＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}集団が同定され、これらの結果は、均一なＦＯＸＰ３$^{+}$細胞集団を、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ１２７$^{low/-}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンに基づいて同定することができることを示している。

【０３３４】

（実施例６）

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団はＴ細胞活性化を抑制する

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球の抑制機能を実証するために、選別された細胞を用いた抑制アッセイを実施して、カルボキシフルオセイン二酢酸スクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）に基づく増殖アッセイを用いて、添加したＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{low/-}$細胞の、同種異系のＣＤ８$^{+}$応答Ｔ細胞の増殖を抑制する能力を評価した。

【０３３５】

健康な対照由来のヒトＰＢＭＣを、ヘパリン処理血液からフィコール（Ｆｉｃｏｌｌ）勾配遠心分離によって単離した。完全細胞培養培地５００μＬ当たり約２０～３０×１０^{6}個の回収されたＰＢＭＣを、以下のモノクローナル抗体：αＣＤ６－ＡＰＣ、αＣＤ４－ＰＣ７、およびαＣＤ２５－ＰＥの細胞表面染色カクテルと一緒に４℃で３０分インキュベートした。インキュベートした細胞を１×ＰＢＳで２回洗浄し、完全培地に再懸濁させて密度を約１０×１０^{6}細胞／ｍＬにした。

【０３３６】

フローサイトメトリーを使用した細胞選別のために、逐次的なゲーティング定義に基づいて細胞選別機（ＭＯＦＬＯ（登録商標）ＸＤＰ　Ｃｅｌｌ　Ｓｏｒｔｅｒ）を使用して約６０，０００～１００，０００個の細胞を選別して完全培地に入れた。リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングし、ダブレットをＳＳＣ－Ｈ／ＳＳＣ－Ｗドットプロットおよびｆｓｃ－Ｈ／ＦＳＣ－Ｗドットプロットによって排除した。ＣＤ４$^{+}$リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ２５／ＣＤ６の発現について分析した。高速細胞選別のために２つのＣＤ４$^{+}$サブセット：ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$（ＦＯＸＰ３$^{+}$Ｔ$_{reg}$細胞）およびＣＤ２５$^{-}$ＣＤ６$^{+}$（ＦＯＸＰ３$^{-}$非Ｔ$_{reg}$細胞）を選択した。

【０３３７】

結果により、この選別スキームにより９６％純粋であるＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$細胞集団の単離をもたらすことができることが実証された（図６Ａ）。

【０３３８】

Ｔ$_{reg}$抑制アッセイを行うために、０．６μＭのＣＦＳＥ、５００μＬを、単一の健康な個体から単離した、Ｔ応答（Ｔ$_{resp}$）細胞と称されるＰＢＭＣ、１００万～２０００万個を含む細胞懸濁液５００μＬに加えた。細胞懸濁混合物を約２０℃で約５分インキュベートし、低温のＨＡＢＳ約１ｍＬを加え、この混合物を約１分インキュベートした。インキュベートした後、１×ＰＢＳ約１０ｍＬを加え、この混合物を約１５００ｒｐｍ、約２０℃で約５分遠心分離した。細胞を完全細胞培養培地（ＲＭＰＩ１６４０、Ｇｌｕｔａｍａｘ－Ｉ、２５ｍＭのＨｅｐｅｓ、２．５％ヒトＡＢ血清、ピルビン酸ナトリウム、１００Ｕ／ｍＬのペニシリン、１００μｇ／ｍＬのストレプトマイシン、それに加えて非必須アミノ酸および２－メルカプトエタノール）に再懸濁させて密度を１ｍＬ当たり細胞約１×１０^{6}個にした。

【０３３９】

抑制アッセイは、Ｔ$_{reg}$細胞数の滴定に基づいた。細胞総数約３０，０００～５０，０００個を、９６ウェルプレートに、以下の選別されたＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{low/-}$Ｔ$_{reg}$細胞とＴ$_{resp}$細胞の比：１：１、１：２、１：４、および１：８でプレーティングした。プレーティングした細胞を３７°Ｃ、５％ＣＯ$_{2}$雰囲気、および９５％

湿度の中で４日間インキュベートした。次いで、０．５μｇ／ｍＬの可溶性αＣＤ３モノクローナル抗体およびαＣＤ２８モノクローナル抗体を用いて細胞を刺激し、３７℃、５％$ＣＯ_2$雰囲気、および９５％湿度の中で４日間インキュベートした。回収するために、細胞を７５０ｒｐｍ、約２０℃で３分遠心分離し、培地を吸引し、新鮮な培養培地１５０μＬを各ウェルに加えた。「染色していないＰＢＭＣ」対照以外について、αＣＤ８－ＡＰＣモノクローナル抗体約４μＬを各ウェルに加え、暗所で４℃で３０分インキュベートした。１×ＰＢＳ、１０％ＨＡＢＳ約２００μＬを各ウェルに加え、９６ウェルプレートを７５０ｒｐｍ、約２０℃で３分遠心分離し、培地を吸引し、１×ＰＢＳ、１０％ＨＡＢＳ約２００μＬを各ウェルに加えた。７ＡＡＤ約５μＬを各ウェルに加えて、生存細胞を同定した。$Ｔ_{reg}$細胞抑制を分析するために、フローサイトメトリーを使用して、細胞を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングし、次いで、$７ＡＡＤ^{+}$発現パターンを含む細胞を排除し、$ＣＤ８^{+}$発現パターンを含む細胞をＣＦＳＥ染色によって分析して、細胞増殖を評価した。$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{-}ＣＤ６^{+}$発現パターンを含む選別された非$Ｔ_{reg}$細胞集団を全ての実験において陰性対照として使用した。刺激していない応答細胞のＣＦＳＥヒストグラムにより親集団を定義し、活性化された応答物の増殖を、ＭｏｄＦｉｔ　ＬＴ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ（Ｖｅｒｉｔｙ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｈｏｕｓｅ、ｖ３．０；Ｔｏｐｓｈａｍ　ＭＥ）を使用して前駆体発生頻度（ｐｆ）を算出することによって決定した。３つの試料の代表的な結果を評価し、それが各$Ｔ_{reg}$：$Ｔ_{resp}$比の試料についてのｐｆの％抑制として表されている。

【０３４０】

結果は、$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{+}ＣＤ６^{low/-}$発現パターンを含む細胞が、αＣＤ３モノクローナル抗体およびαＣＤ２８モノクローナル抗体を用いて刺激した$ＣＤ８^{+}$Ｔ細胞に対する用量反応抑制機能を有したことを示している（図６Ｂ）。１：１の$Ｔ_{reg}$：$Ｔ_{resp}$比で最大の抑制（５７％）が観察された。抑制活性は、アッセイの陽性対照として使用した、選別された$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{hi}ＣＤ１２７^{lo/-}$細胞の抑制活性と同様であった（図６Ｂ）。陰性対照として使用した、選別された$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{-}ＣＤ６^{+}$非$Ｔ_{reg}$細胞または$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{-}ＣＤ１２７^{+}$非$Ｔ_{reg}$細胞では抑制活性は示されなかった（データは示していない）。これらの結果は、$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{+}ＣＤ６^{low/-}$細胞集団が、抑制性の調節性を有することを示している。総合すると、ＦＯＸＰ３の高発現、$Ｔ_{reg}$関連抗原（ＣＤ４およびＣＤ２５）の特徴的な分布、およびｉｎｖｉｔｒｏ機能アッセイにおける抑制因子活性により、天然の調節性Ｔ抑制因子細胞が細胞表面ＣＤ６の低／陰性発現を示し、$ＣＤ４^{+}ＣＤ２５^{+}ＣＤ６^{low/-}$発現パターンにより、調節性Ｔ細胞抑制細胞が同定されたという結論が確立された。

【０３４１】

（実施例７）

$ＣＤ２５^{+}ＣＤ６^{low/-}$細胞集団における$Ｔ_{reg}$関連マーカーの特徴付け

$ＣＤ６^{low/-}$発現パターンにより、均一な細胞集団または不均一な細胞集団が定義されるかどうかを決定するために、多色フローサイトメトリー分析を、$ＣＤ２５^{+}ＣＤ６^{low}$調節性Ｔ細胞において異なるバイオマーカー発現パターンが観察されるかどうかを決定するために、種々のバイオマーカーを使用して実施した。

【０３４２】

αＣＤ４５ＲＡ－ＥＣＤモノクローナル抗体、およびαＨＬＡ－Ｄｒ－ＡＰＣＡ７５０モノクローナル抗体を細胞表面染色カクテルに加え、αＣＴＬＡ－４－ＰＣ５モノクローナル抗体を細胞内染色カクテルに加えたこと以外は実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングし、リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ６／ＦＯＸＰ３の発現について分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。多

色フローサイトメトリー分析の第２ラウンドにおいて、５００，０００個超の細胞を分析した。リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングし、T_{reg}関連マーカーのＣＤ４５ＲＡ、ＨＬＡ－ＤｒおよびＣＴＬＡ－４を用いて、ＣＤ４５ＲＡ／ＦＯＸＰ３発現パターンに基づいて分析した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３４３】

ＣＤ６およびＦＯＸＰ３の発現の分析の結果により、調節性Ｔ細胞の３つの別個の集団を見分けることができることが示されている（図７）。$CD6^{low/-}$細胞の約２２．０％は、$CD45RA^{+}FOXP3^{low/-}$発現パターンをさらに含む細胞であり、$CD6^{low/-}$細胞の約３７．１％は、$CD45RA^{-}FOXP3^{+}$発現パターンをさらに含む細胞であり、$CD6^{low/-}$細胞の約２９．２％は、$CD45RA^{-}FOXP3^{low/-}$発現パターンをさらに含む細胞である。これらの３つの$CD6^{low/-}$細胞集団の、追加的なバイオマーカーを使用したさらなる分析が表１に示されている。

【０３４４】

【表１】

表１．３つの$CD6^{low/-}$細胞集団の分析

	$CD45RA^{+}FOXP3^{low/-}$	$CD45RA^{-}FOXP3^{low/-}$	$CD45RA^{-}FOXP3^{+}$
$CTLA\text{-}4^{+}$	34.0%	62.1%	91.7%
$HLA\text{-}Dr^{+}$	3.1%	21.8%	61.6%
$CD25^{+}$	100%	100%	100%

どちらもｉｎ　ｖｉｔｒｏの抑制機能を伴う$CD45RA^{+}FOXP3^{low}$休止T_{reg}細胞および$CD45RA^{-}FOXP3^{high}$活性化T_{reg}細胞、ならびに$CD45RA^{-}FOXP3^{low}$サイトカイン分泌性非抑制性Ｔｒｅｇ細胞を含めた３つの表現型および機能的なT_{reg}細胞サブセットが最近提唱された。ＣＤ６バイオマーカーを使用した結果は、これらの３つのサブタイプを容易に同定し、単離することができることを示している。

【０３４５】

（実施例８）

$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$細胞集団における$T_{reg}$関連マーカーの特徴付け

$CD4^{+}CD25^{+}CD6^{low/-}$発現パターンを含むリンパ球をより詳細に特徴付けるために、多色フローサイトメトリー分析を実施して、これらの調節性Ｔ細胞サブセットにおけるＣＤ１２７発現パターン、ＣＤ４５Ａ発現パターン、ＨＬＡ－Ｄｒ発現パターン、およびＣＬＴＡ－４発現パターンを決定した。

【０３４６】

αＣＤ１２７－ＰＥモノクローナル抗体、αＣＤ４５ＲＡ－ＥＣＤモノクローナル抗体、およびαＨＬＡ－Ｄｒ－ＡＰＣＡ７５０モノクローナル抗体を細胞表面染色カクテルに加え、αＣＴＬＡ－４－ＰＣ５モノクローナル抗体を細胞内染色カクテルに加えた以外は実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、細胞０．５～１．０×10^{6}個を、フローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングした。$CD4^{+}$リンパ球をドットプロットにおいてＣＤ６／ＣＤ２５の発現について分析した。$CD25^{+}/CD6^{low/-}$リンパ球をドットプロットにおいてＦＯＸＰ３、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ４５ＲＡ、およびＨＬＡ－Ｄｒの発現について分析した。ＦＯＸＰ３染色に対する陰性対照を、１つの対照および公知の陰性細胞集団を引いた蛍光によって決定した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３４７】

結果は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含む細胞が異なるレベルのＣＴＬＡ－４、ＣＤ４５ＲＡおよびＨＬＡ－Ｄｒを発現したことを示している。ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含む細胞の大部分（８４．５％）がＦＯＸＰ３も発現した（図８）。結果により、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$発現パターンを含むリンパ球の６２．７％がＣＴＬＡ－４も発現することも明らかになり（図８）、これにより、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞の２つの別個の集団が存在し、大きな集団（６２．７％）はＣＴＬＡ－４を発現し、小さな集団（３７．３％）はこのバイオマーカーを発現しないことが示されている（図８）。同様に、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞の２つの別個の集団がＣＤ４５ＲＡバイオマーカーおよびＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカーに基づいて同定された。ＣＤ４５ＲＡについては、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞の２つの別個の集団は、ＣＤ４５ＲＡを発現しなかった大きな集団（７９．４％）と、このバイオマーカーを発現した小さな集団（２０．６％）であった（図８）。ＨＬＡ－Ｄｒについては、ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞の２つの別個の集団は、ＨＬＡ－Ｄｒを発現しなかった大きな集団（６８．０％）と、このバイオマーカーを発現した小さな集団（３２．０％）であった（図８）。これらの結果は、追加的なバイオマーカーの使用は、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞またはＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{ｌｏｗ／－}$調節性Ｔ細胞の別個のサブセット集団の同定において有用であることを示している。

【０３４８】

（実施例９）

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{ｌｏ／－}$集団とＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ１２７$^{ｌｏ／－}$集団のバイオマーカーの発現の比較

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{ｌｏ／－}$Ｔ$_{ｒｅｇ}$集団とＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ１２７$^{ｌｏ／－}$Ｔ$_{ｒｅｇ}$集団の間の差異を見分けるために、多色フローサイトメトリー分析を、これらの調節性Ｔ細胞サブセットが異なるバイオマーカー発現パターンを有するかどうかを決定するために種々のバイオマーカーを使用して実施した。

【０３４９】

ＰＢＭＣを５体の健康な個体から入手し、細胞を、蛍光標識されたモノクローナル抗体の以下の３つのパネル：１）パネル８ｃ（αＣＤ４－ＰＣ７、αＣＤ２５－ＡＰＣ－ＡＦ６４７、αＣＤ６－ＦＩＴＣ、αＣＤ１２７－ＰＥ、αＣＤ４５ＲＡ－ＥＣＤ、αＨＬＡ－Ｄｒ－ＡＰＣ－ＡＦ７５０、αＣＴＬＡ－４－ＰＣ５、αＦＯＸＰ３－Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ）；２）パネル１０ｃ－１（αＣＤ４－Ｋｒｏｍｅ Ｏｒａｎｇｅ、αＣＤ２５－ＰＣ７、αＣＤ６－ＦＩＴＣ、αＣＤ１２７－ＡＰＣ－ＣＦ７００、αＣＤ４５ＲＡ－ＡＰＣ－ＡＦ７５０、αＣＤ６２Ｌ－ＥＣＤ、αＣＤ３９－ＡＰＣ－ＡＦ６４７、αＣＣＲ４－ＰＥ、αＨＬＡ－Ｄｒ－Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ、およびα７ＡＡＤ；または３）パネル１０ｃ－２（αＣＤ４－Ｋｒｏｍｅ Ｏｒａｎｇｅ、αＣＤ２５－ＰＣ７、αＣＤ６－ＦＩＴＣ、αＣＤ１２７－ＡＰＣ－ＣＦ７００、αＣＤ４５ＲＡ－ＡＰＣ－ＡＦ７５０、αＣＤ６２Ｌ－ＥＣＤ、αＣＤ３９－ＡＰＣ－ＡＦ６４７、αＧＡＲＰ－ＰＥ、αＨＬＡ－Ｄｒ－Ｐａｃｉｆｉｃ Ｂｌｕｅ、およびα７ＡＡＤ）のうちの１つを使用して染色した以外は実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングした。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球をＣＤ１２７またはＣＤ６の発現についてゲーティングし、次いで、ドットプロットにおいて他のバイオマーカーのうちの１つについて分析した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３５０】

結果は、バイオマーカーＣＣＲ４、ＣＤ３９、ＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ４５ＲＡ、ＧＡＲＰ、およびＣＴＬＡ－４の発現パターンに関して、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{ｈｉ}ＣＤ６$^{ｌｏ／－}$Ｔ

$_{reg}$集団とCD4^{+}CD25^{hi}CD127$^{lo/-}$T$_{reg}$集団の間で有意差は確認されなかったことを示している（図９Ａ、Ｂ、＆Ｃ）。しかし、驚いたことに、CD4^{+}CD25^{hi}CD6$^{lo/-}$T$_{reg}$集団およびCD4^{+}CD25^{hi}CD127$^{lo/-}$T$_{reg}$集団の中でＨＬＡ－Ｄｒバイオマーカー、ＣＣＲ４バイオマーカー、ＧＡＲＰバイオマーカー、ＣＤ３９バイオマーカーおよびＣＤ４５ＲＡバイオマーカーの発現の分布の不均一性が観察され、これにより、nT$_{regs}$における、異なる段階の細胞成熟を示す可能性がある異なるサブセットの潜在性が示されている（図９Ａ＆Ｂ）。

【０３５１】

（実施例１０）

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$細胞集団におけるT$_{reg}$関連マーカーの特徴付け

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５^{hi}ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$発現パターンを含むリンパ球をより詳細に特徴付けるために、多色フローサイトメトリー分析を、nT$_{reg}$分化／成熟経路の異なる段階を区別することができるかどうかを決定するために種々のバイオマーカーを使用して実施した。

【０３５２】

細胞を、以下の蛍光標識されたモノクローナル抗体：αＣＤ４－Ｋｒｏｍｅ　Ｏｒａｎｇｅ、αＣＤ２５－ＰＣ７、αＣＤ６－ＦＩＴＣ、αＣＤ１２７－ＡＰＣ－ＣＦ７００、αＣＤ４５ＲＡ－ＡＰＣ－ＡＦ７５０、αＣＤ３９－ＡＰＣ－ＡＦ６４７、αＣＣＲ４－ＰＥまたはαＧＡＲＰ－ＰＥ、αＨＬＡ－Ｄｒ－Ｐａｃｉｆｉｃ　ＢｌｕｅまたはαＦＯＸＰ３－Ｐａｃｉｆｉｃ　Ｂｌｕｅを使用して染色した以外は実施例１に記載の通りヒトＰＢＭＣを単離し、回収し、細胞表面バイオマーカーの発現および細胞内バイオマーカーについて染色した。多色フローサイトメトリー分析のために、５００，０００個超の細胞をフローサイトメーター（ＧＡＬＬＩＯＳ（商標）Ｆｌｏｗ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ）を使用して分析し、リンパ球を前方光散乱および側方光散乱に基づいてゲーティングした。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$リンパ球をＣＤ１２７およびＣＤ６の発現についてゲーティングし、次いで、ドットプロットにおいて他のバイオマーカーのうちの１つについて分析した。サンプルサイズおよびデータの分析は実施例１に記載の通りであった。

【０３５３】

最初に、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$発現パターンを含む細胞を、メモリーＴ細胞段階とナイーブＴ細胞段階の間を識別するためにＣＤ４５ＲＡの発現について、および、局所組織、特に皮膚への細胞輸送に必要な細胞ホーミングマーカーとしてＣＣＲ４の発現について検査した。結果により、３つの細胞集団：１）nT$_{reg}$ナイーブ／休止（Ｎ／Ｒ）サブセットと称されるＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４$^{-}$；２）未成熟／メモリー（Ｉ／Ｍｅ）と称されるＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＣＣＲ４^{lo}；および３）成熟／エフェクター（Ｍａ／Ｅ）と称されるＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}が同定された（図１０Ａ）。これらのサブセットのそれぞれにおけるＣＤ３９の発現の分析では、成熟プロセスを通じてＣＤ３９の発現が累進的に増大し、Ｎ／Ｒサブセットにおいて７．９％のＣＤ３９の発現；Ｉ／Ｍｅサブセットにおいて３１．３％のＣＤ３９の発現；およびＭａ／Ｅサブセットにおいて８２．９％のＣＤ３９の発現が明らかになった。ＨＬＡ－Ｄｒの発現の分析では、Ｍａ／Ｅサブセットにおいて発現が検出された（３５．８％）ことが示された。興味深いことに、ＨＬＡ－ＤＲ陽性細胞のほとんど全てが、Ｍａ／Ｅ段階でＣＤ３９を同時発現する（図１０Ｂ）。これらの結果は、ＨＬＡ－ＤＲの発現が、nT$_{reg}$成熟のＣＤ３９よりも後の段階で現れることを示唆している。

【０３５４】

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$発現パターンを含む細胞の分析をＣＤ４５ＲＡおよびＣＣＲ４の発現について検査した。結果により、大多数の細胞（６０％）が、ＣＤ３９（１１．５％）およびＨＬＡ－Ｄｒ（４．８％）の発現が低い（図１０Ｄ）ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＣＣＲ４^{hi}である（図１０Ｃ）ことが明らかになった。この最後の集団により、最終分化（ＴＤ）nT$_{reg}$サブセットを示すと思われるnT$_{reg}$分化／成熟経路に

おける第４の細胞集団サブセットが明らかになった。ＣＤ４５ＲＡ／ＣＣＲ４サブセットにおいて各マーカーについてのＭＦＩを分析することで同様の結果が得られた（図１０Ｅ）。興味深いことに、ＣＤ６２Ｌマーカーは全ＣＤ４５ＲＡ／ＣＣＲ４区画において発現され、ｎＴ$_{reg}$－ＴＤサブセットにおいてＭＦＩの発現が高い（図１０Ｅ）。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$集団におけるＴ$_{reg}$関連マーカーの発現についてのバックゲーティングと３Ｄ分析の組み合わせを用いると、大多数のＨＬＡ－Ｄｒ$^{+}$細胞がＣＤ３９とＣＣＲ４を同時発現することが観察された（図１０Ｆ）。

【０３５５】

最後に、異なるｎＴ$_{reg}$サブセットにおいてＦＯＸＰ３　ＭＦＩの発現を検査することにより、ＨＬＡ$^{-}$Ｄｒ$^{+}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$サブセットはＨＬＡ$^{-}$Ｄｒ$^{-}$ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$細胞およびＨＬＡ－Ｄｒ－ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$細胞と比較して高いＦＯＸＰ３の発現を示すことが実証されたが、２重の陰性ＨＬＡ－Ｄｒ／ＣＤ４５ＲＡサブセットでは中間のＦＯＸＰ３の発現が実証された（図１０Ｇ）。総合すると、この発現パターンの分析により、表２に示されているように、ｎＴ$_{reg}$分化／成熟経路の４つの細胞集団サブセットが同定された。

【０３５６】

【表２】

表２．天然の調節性Ｔ抑制因子細胞分化／成熟経路の分析

バイオマーカー	細胞集団サブセット			
	ナイーブ／休止	未成熟／メモリー	成熟／エフェクター	最終分化
CD4	+	+	+	+
CD25	hi	hi	hi	+
CD6	lo/–	lo/–	lo/–	+
CD127	lo/–	lo/–	lo/–	+
FOXP3	lo	lo	hi	lo
CD45RA	+	+	–	–
CCR4	–	lo/–	hi	hi
CD39	–	lo	+	lo
HLA-Dr	–	lo	lo	lo

-、分析された細胞集団における約9%未満のバイオマーカーの検出。
lo、分析された細胞集団における約10%～約49%のバイオマーカーの検出。
+、分析された細胞集団における約50%～約89%のバイオマーカーの検出。
hi、分析された細胞集団における約90%超のバイオマーカーの検出。

ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{hi/+}$ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$Ｔ$_{reg}$集団もＣＤ４５ＲＡおよびＧＡＲＰの発現を用いて分析した。結果により、３つのＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{lo/-}$ＣＤ１２７$^{lo/-}$細胞集団サブセット：１）ＣＤ４５ＲＡ$^{+}$ＧＡＲＰ$^{-}$（Ｐｏｐ１）細胞；２）ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＧＡＲＰ$^{-}$（Ｐｏｐ２）細胞；および３）ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＧＡＲＰ$^{+}$（Ｐｏｐ３）細胞が同定された（図１０Ｈ）。各ＣＤ４５ＲＡ／ＧＡＲＰサブセットにおけるＣＤ３９およびＨＬＡ－Ｄｒの発現の分析により、Ｐｏｐ１からＰｏｐ２へ、そしてＰｏｐ３へのＣＤ３９の発現の増大が示された。しかし、ＧＡＲＰの発現とｎＴ$_{reg}$細胞の活性化の状態の間の正の相関を示す以前の報告（Ｗａｎｇら、Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｏｆ　ＧＡＲＰ　Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅｌｙ　Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ　Ａｃｔｉｖａｔｅｄ　Ｈｕｍａｎ　ＦＯＸＰ３$^{+}$　Ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ　Ｔ　Ｃｅｌｌｓ、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ　Ｓ　Ａ　１０６巻：１３４３９～１３４４４頁、２００９年）とは異なり、ＨＬＡ－ＤｒはＧＡＲＰ$^{-}$（Ｐｏｐ２）亜集団とＧＡＲＰ$^{+}$（Ｐｏｐ３）亜集団のどちらでも発現された（図１０Ｈ）。さらに、ＧＡＲＰの発現はＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$ＣＤ６$^{+}$ＣＤ１２７$^{+}$細胞においても検出された（図１０Ｉ）。

【０３５７】

最後に、本明細書の態様は特定の実施形態に関して強調されているが、当業者は、これらの開示されている実施形態は、単に、本明細書に開示されている主題の原理を例示するものであることが理解されるべきであることを容易に理解されよう。したがって、開示されている主題は、本明細書に記載の特定の方法論、プロトコール、および／または試薬などに決して限定されないことが理解されるべきである。ゆえに、開示されている主題に対する種々の改変または変化または代替の形態を、本明細書における教示に従って、本明細書の主旨から逸脱することなく作製することができる。最後に、本明細書において使用される用語法は、特定の実施形態を説明するためだけのものであり、特許請求の範囲によって単独に定義されている本発明の範囲を限定するものではない。したがって、本発明は、正確に、示され、説明されている通りであるとは限定されない。

【０３５８】

発明者らが知っている本発明を実行するための最良の形態を含めた本発明のある特定の実施形態が本明細書に記載されている。当然、前述の説明を読めば、これらの記載されている実施形態に対する変形が当業者には明らかになろう。本発明者は、当業者が必要に応じてそのような変形を用いることを予想し、また、本発明者らは、本発明が本明細書に具体的に記載されているものとは別のやり方で実施されることを意図している。したがって、本発明は、適用法によって認められる添付の特許請求の範囲において列挙されている主題の改変および等価物の全てを包含する。さらに、本明細書において別段の指定がある場合、または文脈から明らかに矛盾する場合を除き、上記の実施形態の、可能性のあるその変形での任意の組み合わせが本発明に包含される。

【０３５９】

本発明の代替的な実施形態、要素、またはステップの群分けは限定とは解釈されない。各群のメンバーは、個々に、または本明細書に開示されている他の群のメンバーとの任意の組み合わせで参照することおよび特許請求することができる。群の１つまたは複数のメンバーを、利便性および／または特許性のためにその群に含めることまたはそれから削除することができることが予測される。任意のそのような包含または削除が生じた場合、本明細書は改変された群を含有し、したがって、添付の特許請求の範囲において使用される全てのマーカッシュ群の記載を満たすものとみなされる。

【０３６０】

別段の指定のない限り、本明細書および特許請求の範囲において使用される特性、項目、数量、パラメータ、性質、期間などを表している数は全て、全ての場合に、「約」という用語によって修飾されていると理解されるべきである。本明細書で使用される場合、「約」という用語は、そのように修飾された特性、項目、数量、パラメータ、性質、または期間が示されている特性、項目、数量、パラメータ、性質、または期間の値の＋１０パーセントまたはその－１０％の範囲を包含することを意味する。したがって、それに反する指示がない限り、本明細書および添付されている特許請求の範囲に記載の数値パラメータは変動し得る近似である。最低限でも、また、特許請求の範囲に対する等価物の学説の適用を限定しようとするものではなく、各数値的な指標は、少なくとも、報告されている有意な桁の数に照らし、通常の丸め技法を適用することによって解釈されるべきである。広範囲の本発明を示している数値範囲および値は近似であるが、特定の例に記載の数値範囲および値は可能な限り正確に報告されている。しかし、いかなる数値範囲または値も、本質的には、必ず、それらのそれぞれの試験測定値に見いだされる標準偏差によって生じる特定の誤差を含有する。本明細書における値の数値範囲の列挙は、ただ単に、その範囲内に入る個々の数値のそれぞれを個別に参照する簡潔な方法としての機能を果たすものとする。本明細書では、別段の指定のない限り、数値範囲の個々の値は、それが本明細書において個々に列挙されたのと同様に本明細書に組み込まれる。

【０３６１】

本発明の説明と関連して（特に以下の特許請求の範囲と関連して）使用される「ａ（１つの）」、「ａｎ（１つの）」、「ｔｈｅ（その）」という用語および同様の指示対象は、本明細書において特に指定がある場合、または文脈から明らかに矛盾する場合を除き、

単数と複数の両方を包含すると解釈されるべきである。本明細書に記載の方法は全て、本明細書において別段の指定がある場合、または文脈から明らかに矛盾する場合を除き、任意の適切な順番で実施することができる。本明細書において提供される任意のかつ全ての例、または例示的な言葉（例えば、「など」）の使用は、ただ単に、本発明をよりよく明らかにすることを意図しており、別のように特許請求された本発明の範囲に対する限定を提起するものではない。本明細書では、いかなる言葉も、本発明の実施に必須の任意の特許請求されていない要素を示すものと解釈されるべきではない。

【０３６２】

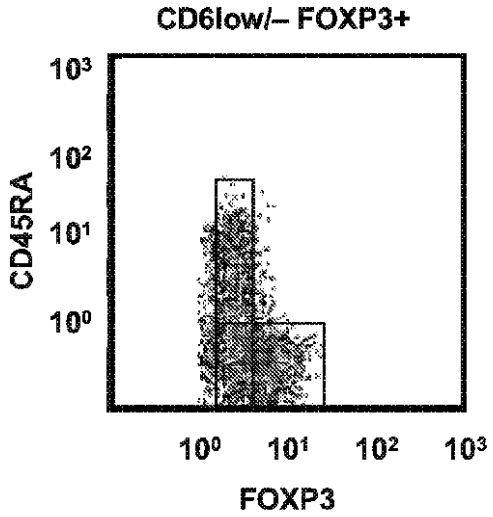
本明細書に開示されている特定の実施形態は、からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）、または、から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）という言葉を使用することによって特許請求の範囲においてさらに限定することができる。特許請求の範囲において使用される場合、出願されたままであっても修正の際に加えられたものであっても、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」という移行用語（ｔｒａｎｓｉｔｉｏｎ　ｔｅｒｍ）は、特許請求の範囲に明記されていないいかなる要素、ステップ、または成分も排除する。「から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」という移行用語により、特許請求の範囲は、明記された材料またはステップ、ならびに基本特性および新規の特性（複数可）に実質的に影響を及ぼさない材料またはステップに限定される。そのように特許請求された本発明の実施形態は、本明細書において本質的にまたは明白に説明され、権限が与えられる。

【０３６３】

本明細書において参照され、識別されている全ての特許、特許公報、および他の刊行物は、例えば、本発明とともに用いることができる、そのような刊行物に記載の組成物および方法論を説明し開示する目的で、個別にかつ明白に、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。これらの刊行物は、単に、本出願の出願日より前のそれらの開示について提供されている。この点については何も、本発明者らが先行発明に基づいて、または任意の他の理由でそのような開示に先立つ権限がないことの容認と解釈されるべきではない。これらの文書の内容に関する日付または表示に関する記載は、出願人らが入手可能な情報に基づき、これらの文書の日付または内容の正確さに関してはいかなる容認もなさない。

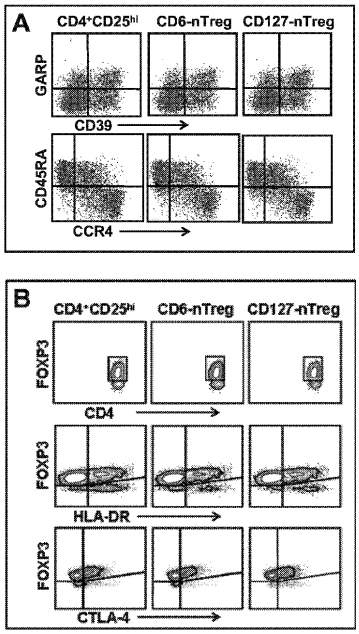
【図７】

FIG. 7



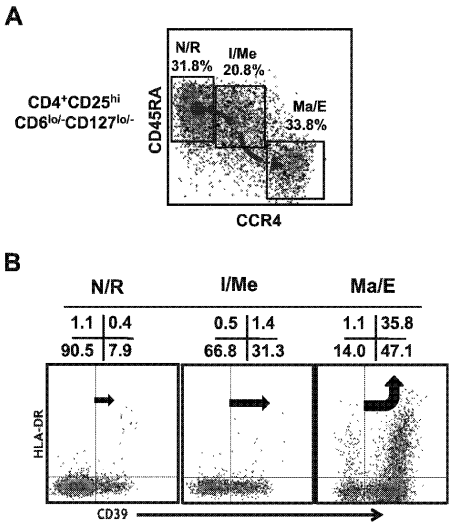
【図９－１】

FIG. 9



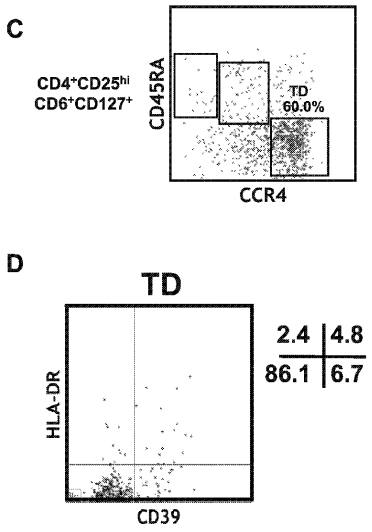
【図１０－１】

FIG. 10



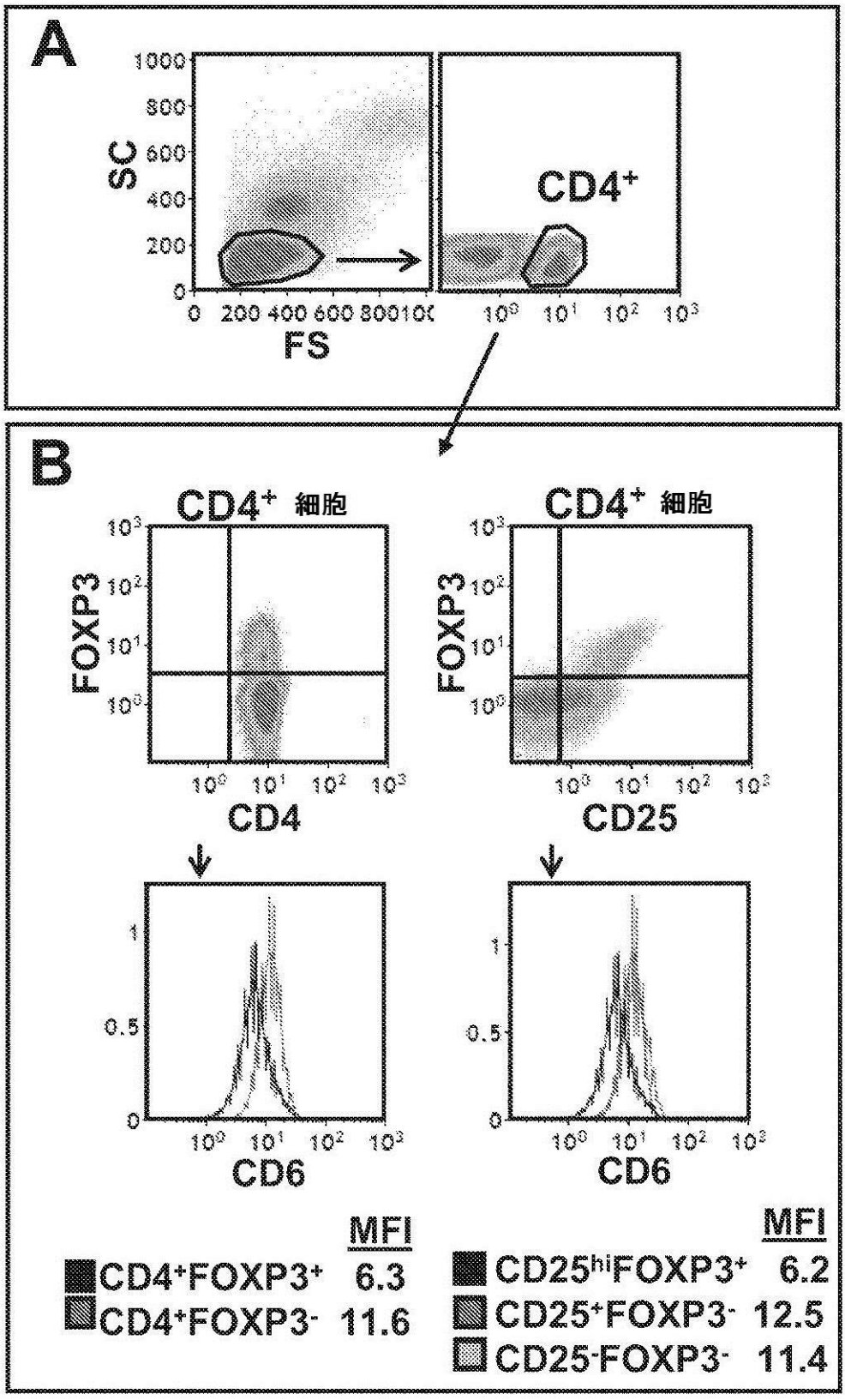
【図１０－２】

FIG. 10

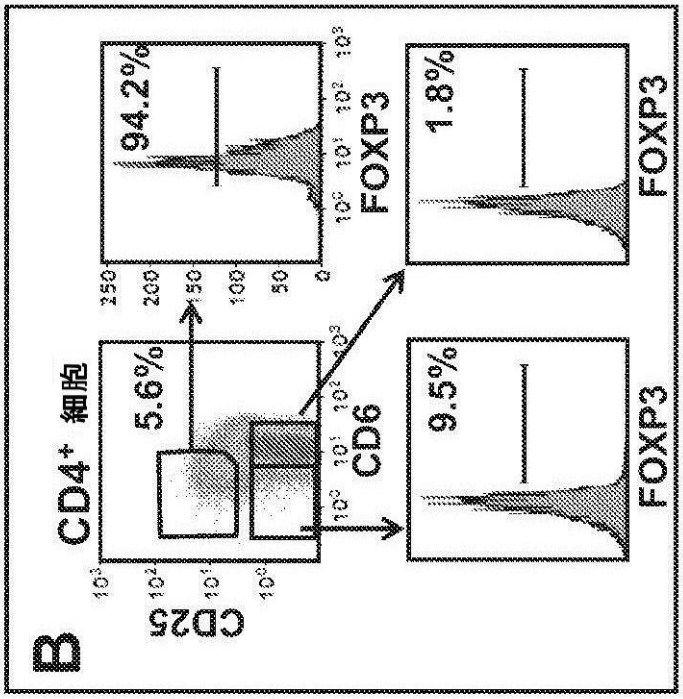


【図１】

FIG. 1


A
SC
FS
CD4+
B
CD4+ 細胞
FOXP3
CD4
CD25
CD6
MFI
CD4+FOXP3+ 6.3
CD4+FOXP3- 11.6
CD25hiFOXP3+ 6.2
CD25+FOXP3- 12.5
CD25-FOXP3- 11.4

【図２】



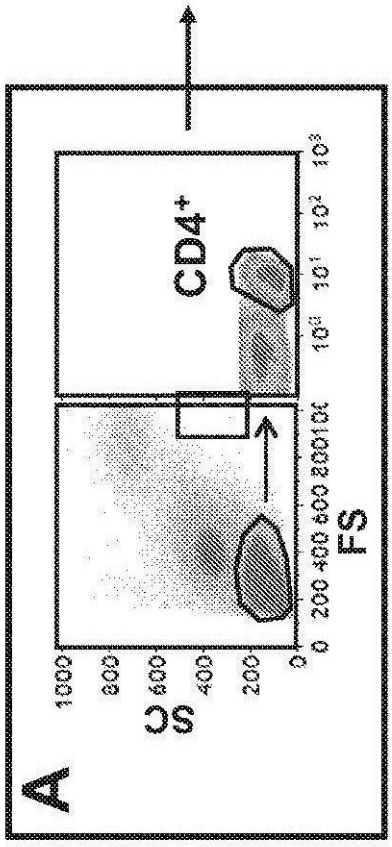
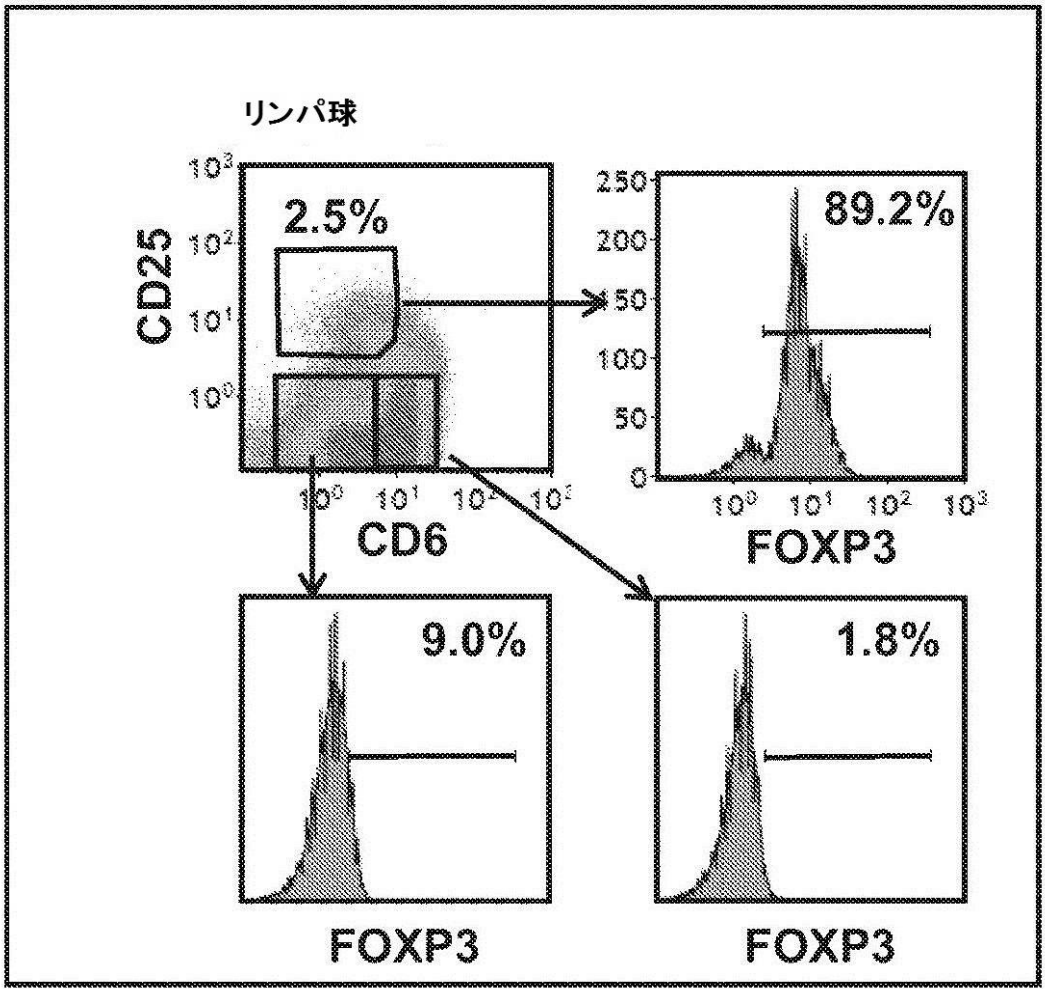


FIG. 2

【図３】

FIG. 3



【図４】

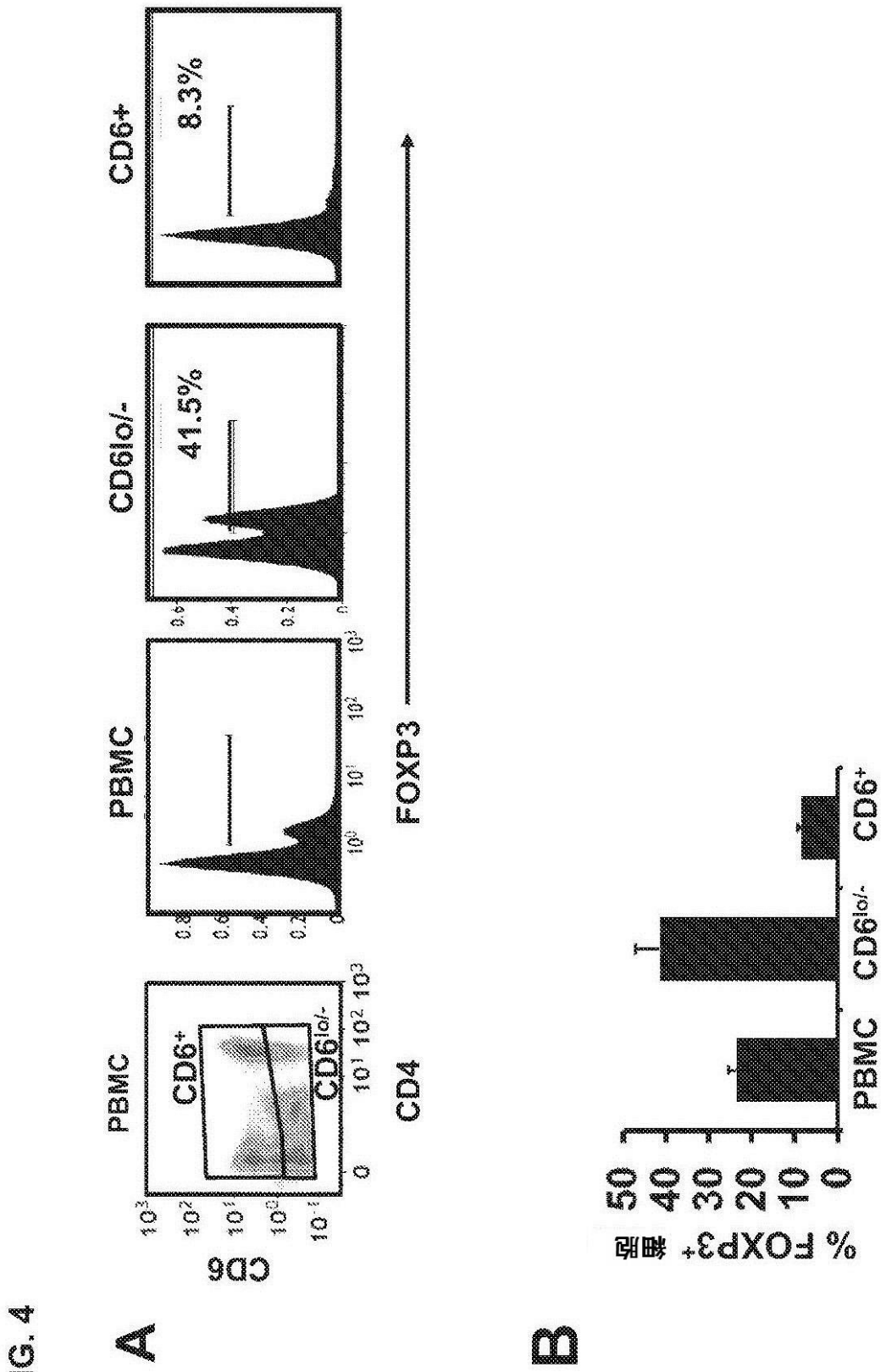
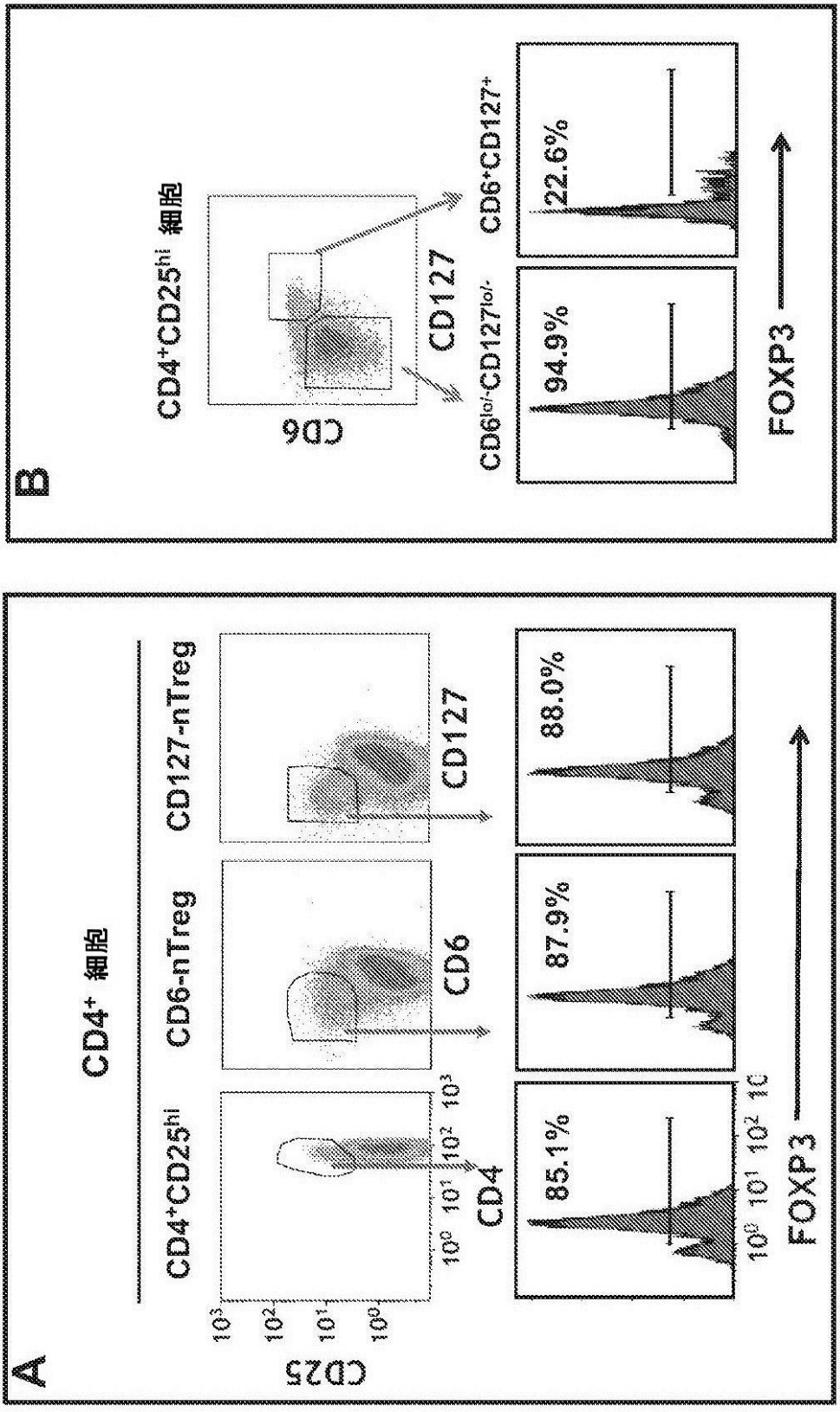


FIG. 4

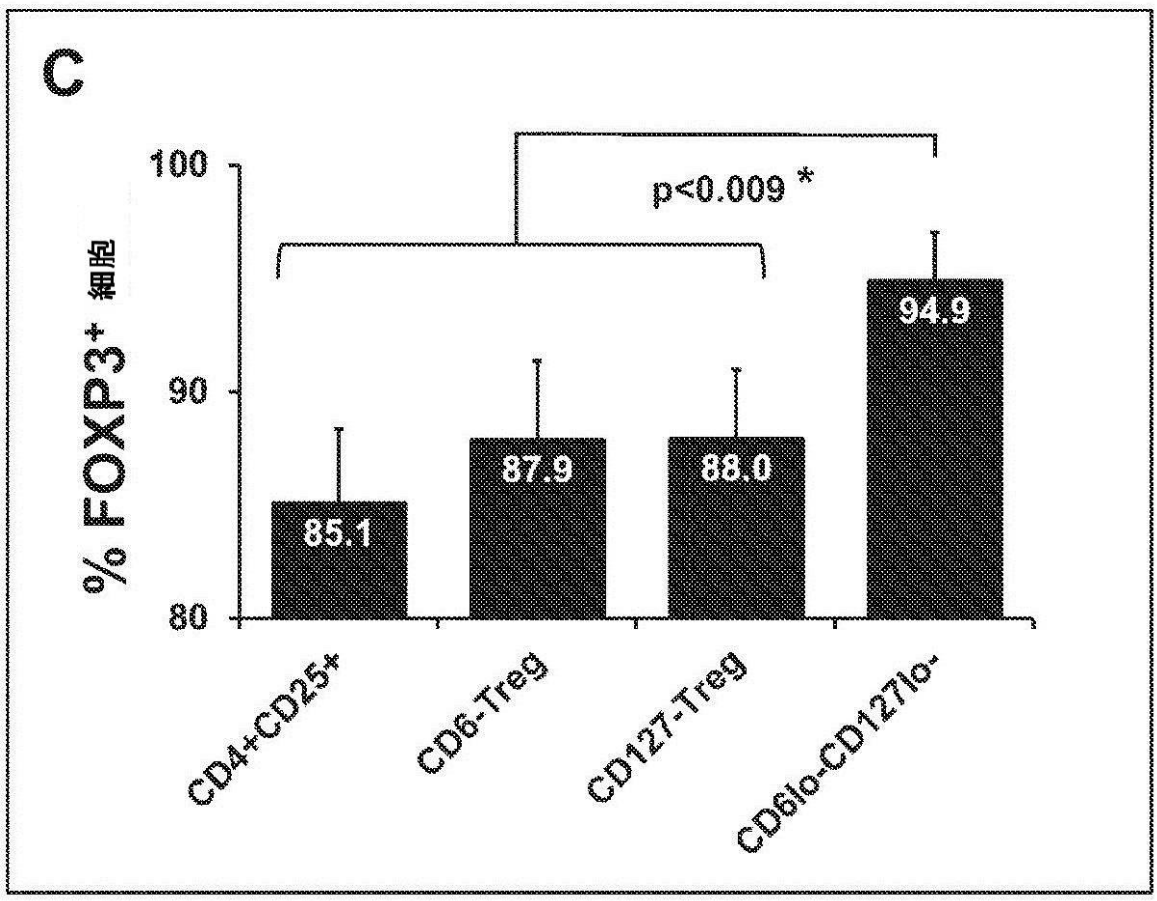
【図５－１】

FIG. 5

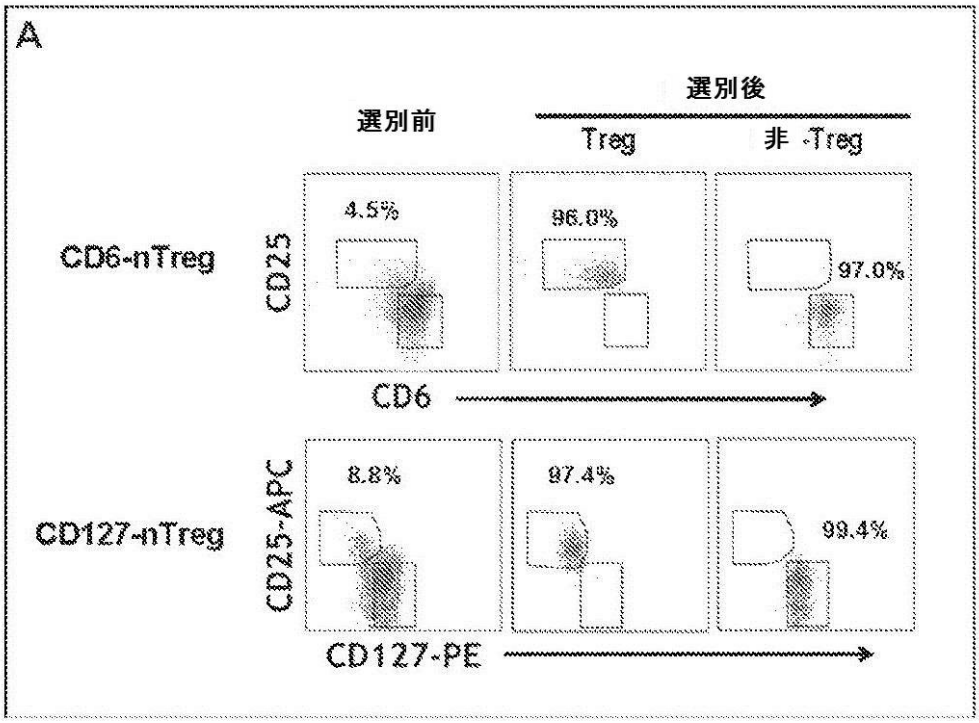

A
CD4+ 細胞
CD4+CD25hi
CD6-nTreg
CD127-nTreg
CD25
CD4
CD6
CD127
85.1%
87.9%
88.0%
FOXP3
B
CD4+CD25hi 細胞
CD6
CD127
CD6lo/-CD127lo/-
CD6+CD127+
94.9%
22.6%
FOXP3

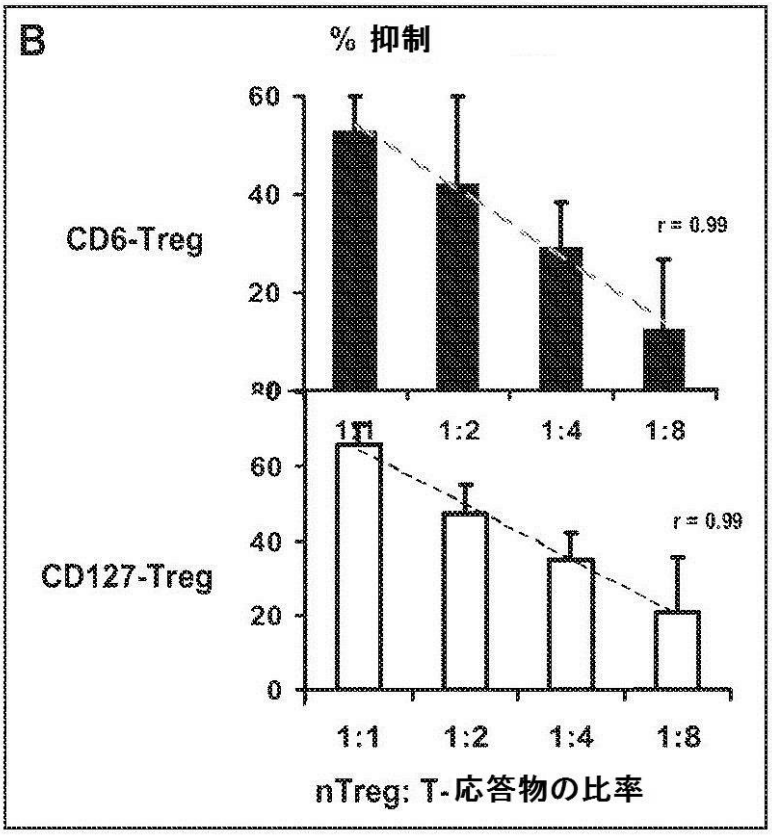
【図５－２】

FIG. 5


C
100
90
80
% FOXP3+ 細胞
p<0.009 *
85.1
87.9
88.0
94.9
CD4+CD25+
CD6-Treg
CD127-Treg
CD6lo-CD127lo-

【図６】
FIG. 6


A
選別後
選別前
Treg
非 -Treg
CD6-nTreg
CD25
4.5%
96.0%
97.0%
CD6
CD127-nTreg
CD25-APC
8.8%
97.4%
99.4%
CD127-PE


B
% 抑制
CD6-Treg
60
40
20
0
r = 0.99
1:1
1:2
1:4
1:8
CD127-Treg
60
40
20
0
r = 0.99
1:1
1:2
1:4
1:8
nTreg: T-応答物の比率

【図８】

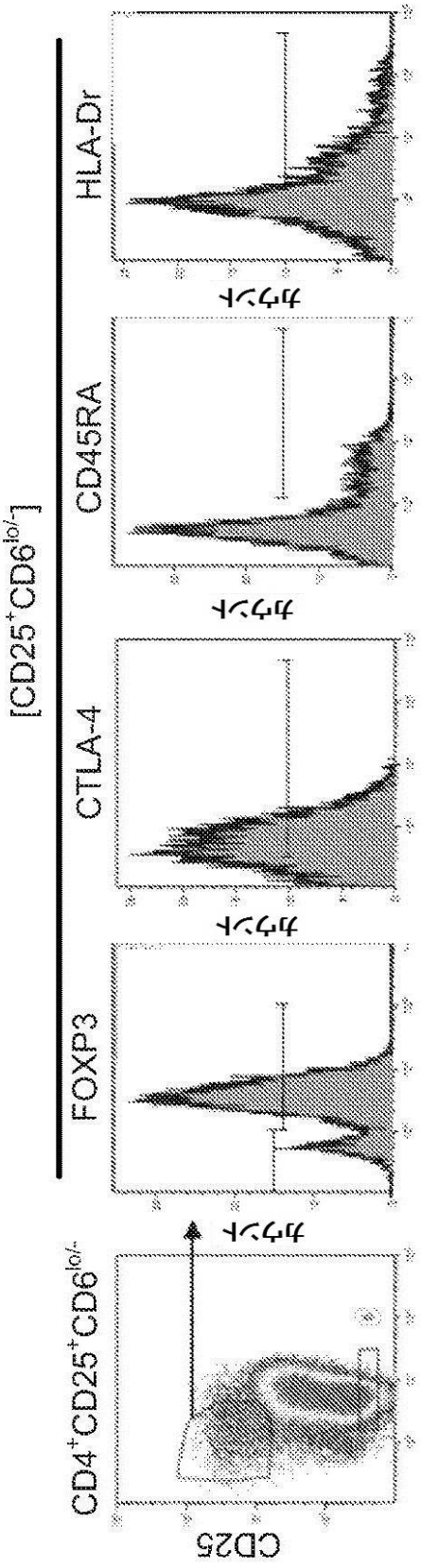
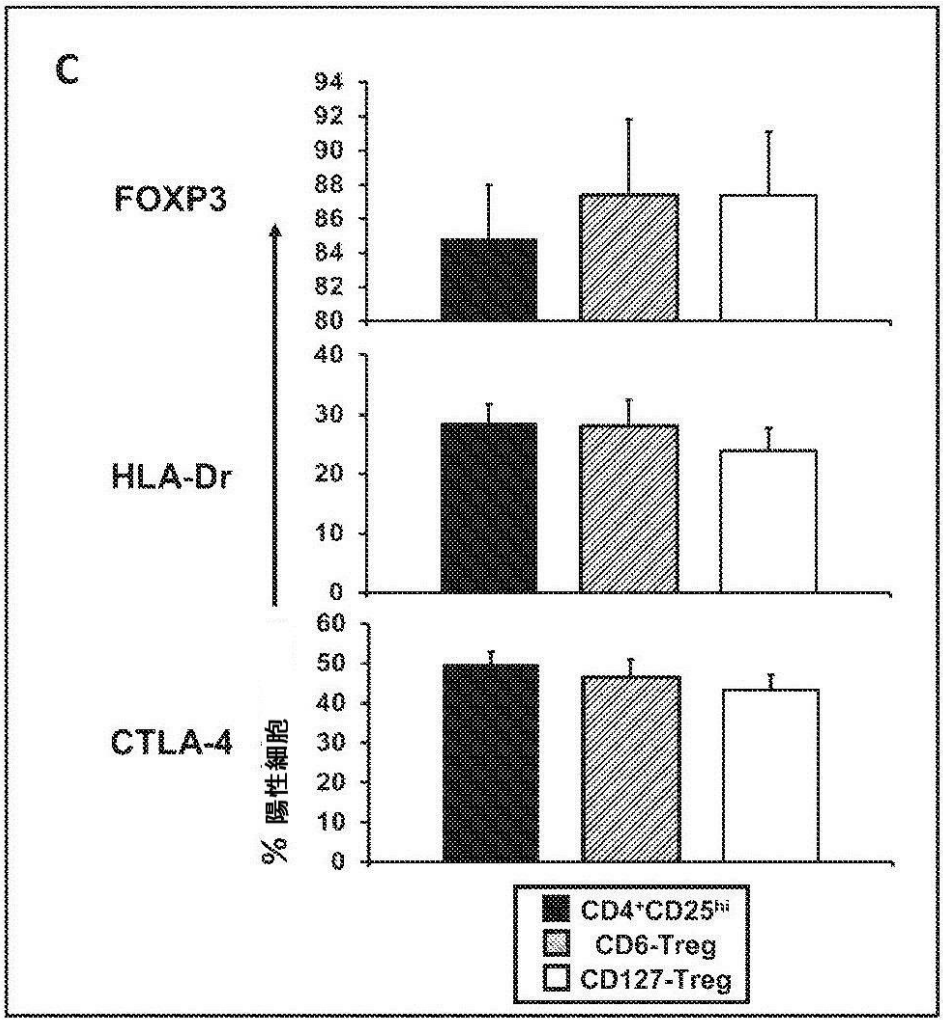

CD4+CD25+CD6lo/-
CD25
カウント
FOXP3
CTLA-4
CD45RA
HLA-Dr
[CD25+CD6lo/-]

FIG. 8

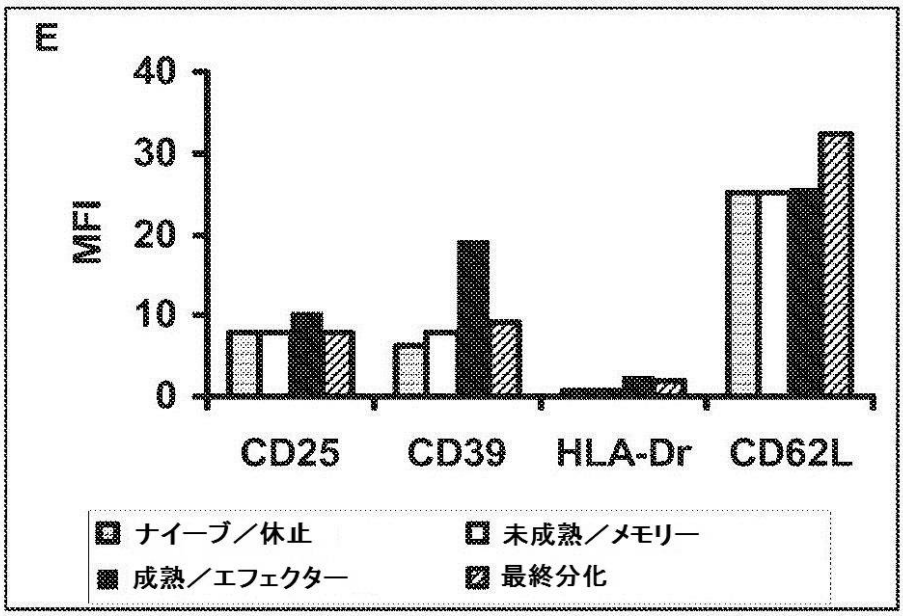
【図９－２】

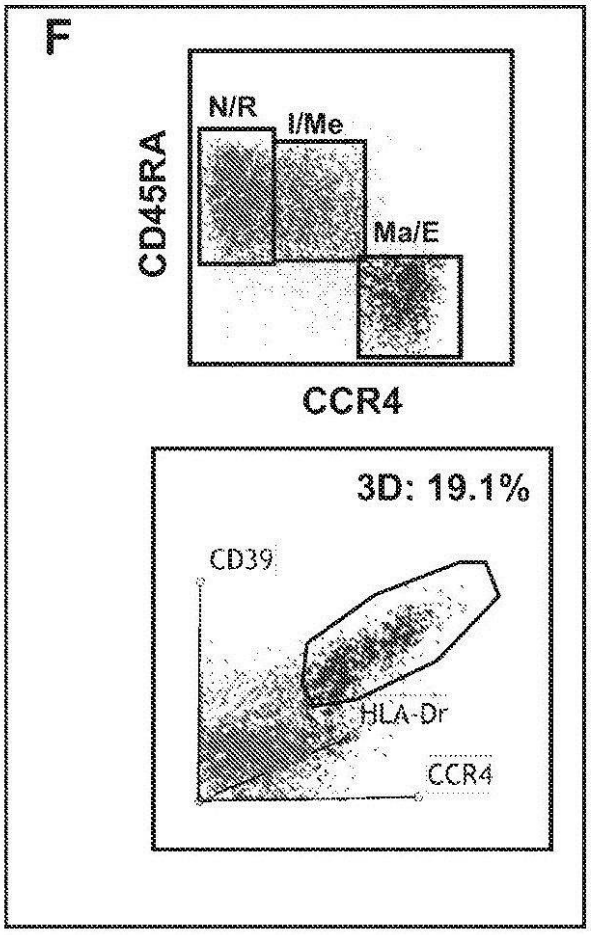
FIG. 9


C
FOXP3
HLA-Dr
CTLA-4
% 陽性細胞
94
92
90
88
86
84
82
80
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
CD4+CD25hi
CD6-Treg
CD127-Treg

【図１０－３】

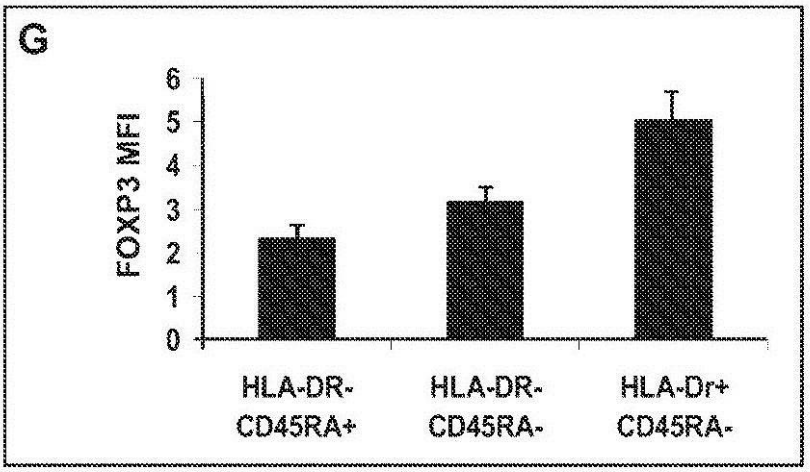
FIG. 10

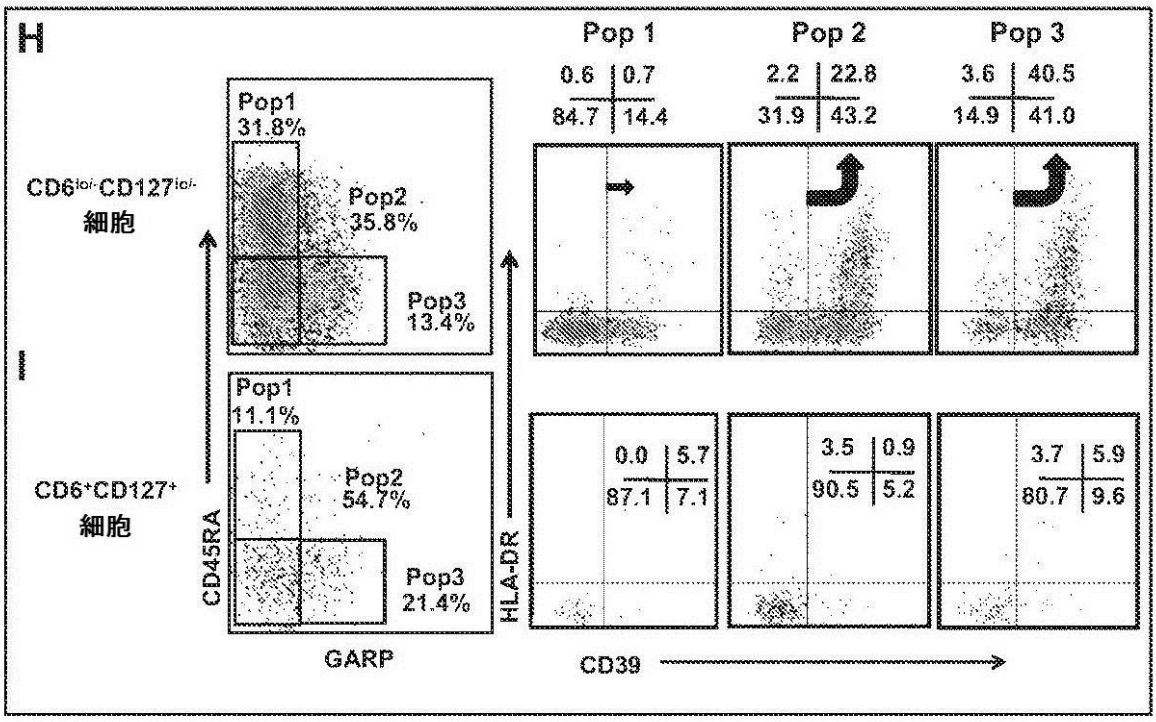

E
40
30
20
10
0
MFI
CD25
CD39
HLA-Dr
CD62L
ナイーブ／休止
未成熟／メモリー
成熟／エフェクター
最終分化


F
CD45RA
N/R
I/Me
Ma/E
CCR4
3D: 19.1%
CD39
HLA-Dr
CCR4

【図１０－４】

FIG. 10


G
FOXP3 MFI
6
5
4
3
2
1
0
HLA-DR-
CD45RA+
HLA-DR-
CD45RA-
HLA-Dr+
CD45RA-


H
Pop 1
Pop 2
Pop 3
0.6 | 0.7
84.7 | 14.4
2.2 | 22.8
31.9 | 43.2
3.6 | 40.5
14.9 | 41.0
Pop1
31.8%
Pop2
35.8%
Pop3
13.4%
CD6lo/-CD127lo/-
細胞
Pop1
11.1%
Pop2
54.7%
Pop3
21.4%
CD6+CD127+
細胞
CD45RA
GARP
HLA-DR
CD39
0.0 | 5.7
87.1 | 7.1
3.5 | 0.9
90.5 | 5.2
3.7 | 5.9
80.7 | 9.6

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/045049

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/569 C07K16/28 C12N5/0783
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N C12N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
L	SHIMON SAKAGUCHI ET AL: "FOXP3 + regulatory T cells in the human immune system", NATURE REVIEWS. IMMUNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 10, no. 7, 1 July 2010 (2010-07-01), pages 490-500, XP002663981, ISSN: 1474-1733, DOI: 10.1038/NRI2785 [retrieved on 2010-06-18] p. 490-493 and table 1 ----- -/--	1-4,6-22

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 October 2012	07/01/2013

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Schalich, Juliane

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/045049

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

4, 7, 8, 15-22(completely); 1-3, 6, 9-14(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2012/045049

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	H J KOLB ET AL: "HLA-Haploidentical stem cell transplant-ation in AML/MDS using marrow and CD6-Depleted mobilized blood cells", ANNALS OF HEMATOLOGY, vol. 87, 26 January 2008 (2008-01-26), pages S65-S67, XP055039282, ISSN: 0939-5555, DOI: 10.1007/s00277-008-0443-6 abstract	1-3,9, 10,12-14
Y	SMITH T R F ET AL: "Revival of CD8<+> Treg-mediated suppression", TRENDS IN IMMUNOLOGY, ELSEVIER, RAHWAY, NJ, US, vol. 29, no. 7, 1 July 2008 (2008-07-01), pages 337-342, XP022765474, ISSN: 1471-4906, DOI: 10.1016/J.IT.2008.04.002 [retrieved on 2008-05-29] page 337 - page 339	1-3,9, 10,12
Y	D. MOUGIAKAKOS ET AL: "Naturally occurring regulatory T cells show reduced sensitivity toward oxidative stress-induced cell death", BLOOD, vol. 113, no. 15, 9 April 2009 (2009-04-09), pages 3542-3545, XP055039672, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2008-09-181040 page 3542	13,14
L	D. NUMMER ET AL: "Role of Tumor Endothelium in CD4+CD25+ Regulatory T Cell Infiltration of Human Pancreatic Carcinoma", JNCI JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE, vol. 99, no. 15, 1 August 2007 (2007-08-01), pages 1188-1199, XP055039283, ISSN: 0027-8874, DOI: 10.1093/jnci/djm064	4,6-8, 11,15-22

2

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

International Application No. PCT/US2012/045049

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 4, 7, 8, 15-22(completely); 1-3, 6, 9-14(partially)

CD4+ CD25+ CD6low/- expression as marker for Treg

---

2. claims: 5(completely); 1-3, 6, 9-14(partially)

CD25+ CD6low/- CD127low/- expression as marker for Treg

---

3. claims: 23-26

CD25+ CD6low/- CD127low/- expression as marker for Treg

---

4. claim: 27

Use of anti-CD6 antibodies for enriching Treg in a patient

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
	Ａ６１Ｐ 37/02	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA

Ｆターム(参考) 4B063 QA18 QQ08 QQ79 QR66 QS12 QX02
4B065 AA90X AC20 BA25 CA44 CA46
4C087 AA01 AA04 BB34 BB37 BB43 NA14 ZB07

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2014528697A5	公开(公告)日	2015-08-20
申请号	JP2014519174	申请日	2012-06-29
[标]申请(专利权)人(译)	贝克曼考尔特公司		
申请(专利权)人(译)	贝克曼库尔特有限公司		
[标]发明人	ガルシアサンタナカルロスエー		
发明人	ガルシア サンタナ, カルロス エー.		
IPC分类号	C12Q1/04 C12N5/0783 G01N33/53 A61K35/14 A61P37/02		
FI分类号	C12Q1/04 C12N5/00.202.L G01N33/53.K G01N33/53.D A61K35/14.Z A61P37/02		
F-TERM分类号	4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR66 4B063/QS12 4B063/QX02 4B065/AA90X 4B065/AC20 4B065/BA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C087/AA01 4C087/AA04 4C087/BB34 4C087/BB37 4C087/BB43 4C087/NA14 4C087/ZB07		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	61/625591 2012-04-17 US 61/504074 2011-07-01 US		
其他公开文献	JP2014528697A JP6173310B2		

摘要(译)

在本文中，调节性T细胞，其包含调节性T细胞的组合物，以确定调节性T细胞或子种群，分离和浓缩，得到，和/或增加，这样的方法包括有用成分用于实施方法，以及基于在个体中免疫病症的试剂盒，所述调节性T细胞或组合物，包括这样的调节性T细胞给予有需要的个体其公开了一种治疗它的方法。在一个方面，提供了一种识别免疫抑制调节性T细胞群的方法，该方法是筛选样品包含T细胞群中，至少两个含有CD25生物标记和生物标记CD6的不同，其包括检测生物标志物的细胞表达的水平，CD25 + CD6 低/ - 中检测到包含所述表达模式的T细胞亚群，鉴定样品中免疫抑制性调节T细胞的群体。