(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-527963
(P2024-527963A)
(43)公表日　令和6年7月26日(2024.7.26)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*35/17*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/17		４Ｂ０６４
Ｃ１２Ｎ	*15/13*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/13	ＺＮＡ	４Ｂ０６５
Ｃ１２Ｎ	*15/12*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12		４Ｃ０７６
Ｃ１２Ｎ	*15/62*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/62	Ｚ	４Ｃ０８４
Ｃ０７Ｋ	*19/00*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	19/00		４Ｃ０８７

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全57頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-504944(P2024-504944)
(86)(22)出願日　令和4年7月28日(2022.7.28)
(85)翻訳文提出日　令和6年3月18日(2024.3.18)
(86)国際出願番号　PCT/AU2022/050795
(87)国際公開番号　WO2023/004461
(87)国際公開日　令和5年2月2日(2023.2.2)
(31)優先権主張番号　2021902320
(32)優先日　令和3年7月28日(2021.7.28)
(33)優先権主張国・地域又は機関
オーストラリア(AU)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　523436296
プレシャント セラピューティクス リミテッド
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロード １００，４階
(74)代理人　100092783
弁理士　小林 浩
(74)代理人　100120134
弁理士　大森 規雄
(74)代理人　100131990
弁理士　大野 玲恵
(72)発明者　ヤトミ－クラーク，スティーブン エル．
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ユニバーサル受容体免疫細胞療法

(57)【要約】
本発明は、ユニバーサル免疫受容体細胞ベースの療法のための方法に関する。
【選択図】なし

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
免疫細胞療法から利益を得るであろう対象において疾患を治療する方法であって、
ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を前記対象に投与することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もある、投与することと、
ｉｉ）ステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、前記分子を前記対象に投与することと、
ｉｉｉ）ステップｉｉ）の少なくとも２１日後に、前記対象を前記治療に対する応答性について分析することと、
ｉｖ）前記対象が前記治療に応答しているが、前記疾患が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法。
【請求項２】
対象において腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激する方法であって、
ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を前記対象に投与することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合している場合もしていない場合もある、投与することと、
ｉｉ）ステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、前記分子を前記対象に投与することと、
ｉｉｉ）ステップｉｉ）の少なくとも約２１日後に、前記対象を前記治療に対する応答性について分析することと、
ｉｖ）前記対象が前記治療に応答しているが、前記腫瘍が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法。
【請求項３】
前記分子が、ステップｉ）で前記ユニバーサル免疫受容体に結合しない、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記分子が、ステップｉ）で前記ユニバーサル免疫受容体に結合する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項５】
ステップｉｉ）で、前記分子が２回投与される、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記分子が、ステップｉ）の後３日目及び６日目に投与される、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記分子が、ステップｉ）の後に３回投与される、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
前記分子が、ステップｉ）の後１日目、４日目、及び６日目に投与される、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
ステップｉ）の２１日～４９日後に、前記対象が、前記治療に対する応答性について分析される、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記治療が、ステップｉ）の前に少なくとも１回、及びステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、前記分子を前記対象に投与することを含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】

前記治療が、ステップｉ）の前に２回、及びステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、前記分子を前記対象に投与することを含む、請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２】

前記分子が、異なる用量、好ましくは、約０．２５ｍｇ／ｍ^2～２．０ｍｇ／ｍ^{2}の用量、約５ｍｇ／ｍ^2～２５ｍｇ／ｍ^{2}の用量、及び約５０ｍｇ／ｍ^2～１００ｍｇ／ｍ^{2}の用量で投与される、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１３】

ステップｉｖ）が、ステップｉ）の前記分子と同じ抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１４】

ステップｉｖ）が、ステップｉ）の前記分子と異なる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１５】

前記分子が、前記疾患と関連付けられる２つ以上の抗原、好ましくは、前記疾患と関連付けられる２つの抗原を結合するドメインを含む、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１６】

免疫細胞療法から利益を得るであろう対象において疾患を治療する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を投与することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後に１４日～２８日間、少なくとも２又は３日ごとに、前記分子を前記対象に投与することと、

ｉｉｉ）前記対象が前記治療に応答しているが、前記疾患が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法。

【請求項１７】

対象において腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を前記対象に投与することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合している場合もしていない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後に約１４日～約２８日間、少なくとも２又は３日ごとに、前記分子を前記対象に投与することと、

ｉｉｉ）前記対象が前記治療に応答しているが、前記腫瘍が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法。

【請求項１８】

前記分子が、ステップｉ）で前記ユニバーサル免疫受容体に結合しない、請求項１６又は１７に記載の方法。

【請求項１９】

前記分子が、ステップｉ）で前記ユニバーサル免疫受容体に結合する、請求項１６又は１７に記載の方法。

【請求項２０】

前記分子が、ステップｉ）の後に、３日ごとに投与される、請求項１６～１９のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２１】

前記分子が、ステップｉ）の後に２１日間、３日ごとに投与される、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】
前記分子が、ステップｉ）の前に少なくとも１回、及びステップｉ）の後に約１４～約２８日間、２日又は３日ごとに、対象に投与される、請求項１６～２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
前記分子が、ステップｉ）の前に２回、及びステップｉ）の後に約１４～約２８日間、２日又は３日ごとに、対象に投与される、請求項１６～２２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４】
腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激することが、前記対象のサイトカインレベルを増加させること、好ましくは、インターフェロンγ（ＩＦＮ－γ）、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、及びインターロイキン－２（ＩＬ－２）のうちの１つ以上又は全部のレベルを増加させることを含む、請求項２又は１７に記載の方法。
【請求項２５】
ステップｉｉｉ）が、ステップｉ）の前記分子と同じ抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む、請求項１６～２４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６】
ステップｉｉｉ）が、ドメインを含み、ステップｉ）の前記分子と異なる抗原を結合する分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む、請求項１６～２４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２７】
前記分子が、前記疾患と関連付けられる２つ以上の抗原、好ましくは、前記疾患と関連付けられる２つの抗原を結合するドメインを含む、請求項１６～２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
前記治療が、前記治療を受けていない対象と比較したときに、前記対象の生存率を増加させる、請求項１～２７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２９】
前記対象を、疾患又はがんを有するか又は有する疑いがあると診断するステップを更に含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３０】
任意選択で、化学療法、放射線療法、手術、骨髄移植、薬物療法、凍結アブレーション、又は高周波アブレーションからなる群から選択される追加の治療剤の投与を更に含み、請求項１～２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３１】
前記ユニバーサル免疫受容体が、細胞外ヒンジ領域に結合したＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ又はＳｐｙＴａｇ細胞外結合ドメインを含み、前記細胞外結合ドメインが同様にして膜貫通ドメインに結合し、前記膜貫通ドメインが同様にして免疫細胞受容体細胞内シグナル伝達ドメインに結合する、請求項１～３０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３２】
前記ユニバーサル免疫受容体細胞内シグナル伝達ドメインが、共刺激分子を更に含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
前記ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ細胞外結合ドメインが、前記細胞外ヒンジドメインに結合する、請求項３１又は請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記ＳｐｙＴａｇ細胞外結合ドメインが、前記細胞外ヒンジドメインに結合する、請求項３１又は請求項３２に記載の方法。
【請求項３５】

前記分子が、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ又はＳｐｙＴａｇと前記ドメインとを含む、請求項１～３４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３６】
前記ドメインが、抗体、抗体断片、ｓｃＦｖ、タンパク質足場、ペプチド、リガンド、オリゴヌクレオチド、アプタマー、標識剤、腫瘍抗原、自己抗原、ウイルス抗原、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項１～３５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３７】
前記分子がＳｐｙＴａｇを含む、請求項３５に記載の方法。
【請求項３８】
前記分子がＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含む、請求項３５に記載の方法。
【請求項３９】
前記分子が、約０．２５ｍｇ／ｍ^2～２．０ｍｇ／ｍ^{2}の用量、約５ｍｇ／ｍ^2～２５ｍｇ／ｍ^{2}の用量、又は約５０ｍｇ／ｍ^2～１００ｍｇ／ｍ^{2}の用量で投与される、請求項１～１１又は１３～３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
前記免疫細胞が、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞、骨髄細胞、マクロファージ、幹細胞、又はそれらの組み合わせである、請求項１～３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４１】
前記Ｔ細胞が、ＣＤ３＋Ｔ細胞である、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
前記Ｔ細胞が、細胞傷害性Ｔ細胞、ガンマデルタＴ細胞、Ｔ調節細胞、又はｉＮＫＴ細胞である、請求項４０又は請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
前記免疫細胞の約１０％～約５０％が、ＣＤ８＋細胞である、請求項４０に記載の方法。
【請求項４４】
前記方法により、ＣＤ４５ＲＯ＋ＣＤ４５ＲＡ－Ｔエフェクターメモリー細胞の富化及び／又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ４５ＲＯ－Ｔセントラルメモリー細胞の富化がもたらされる、請求項４０に記載の方法。
【請求項４５】
前記細胞が自己細胞である、請求項１～４４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４６】
前記疾患が、がん、感染症、又は炎症性疾患である、請求項１、３～１６、又は１８～４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４７】
前記がんが、腎細胞がん、膵臓がん、頭頸部がん、前立腺がん、膠芽腫、悪性神経膠腫、骨肉腫、大腸がん、胃がん、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、卵巣がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、滑膜肉腫、甲状腺がん、乳がん、黒色腫、白血病、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、又はリンパ腫である、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
前記対象が哺乳動物である、請求項１～４７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４９】
前記対象がヒトである、請求項１～４８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５０】
免疫細胞療法から利益を受け得る対象における対象において疾患を治療するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、前記分子が、前記対象に、前記細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、７日の後少なくとも２１日間、前記

対象が前記治療への応答性について分析されることになり、前記対象が前記治療に応答しているが、前記疾患が依然として検出可能である場合、前記治療が繰り返される、使用すること。

【請求項５１】

対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、前記分子が、前記対象に、前記細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、前記７日の後少なくとも２１日間、前記対象が前記治療への応答性について分析されることになり、前記対象が前記治療に応答しているが、前記腫瘍が依然として検出可能である場合、前記治療が繰り返される、使用すること。

【請求項５２】

免疫細胞療法の利益を受け得る対象における疾患を治療するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、前記分子が、前記対象に、前記細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、前記対象が前記治療に応答しているが、前記疾患が依然として検出可能である場合、前記治療が繰り返される、使用すること。

【請求項５３】

対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、前記ユニバーサル免疫受容体が、前記腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、前記分子が、前記対象に、前記細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、前記対象が前記治療に応答しているが、前記腫瘍が依然として検出可能である場合、前記治療が繰り返される、使用すること。

【請求項５４】

配列番号５若しくは配列番号６として提供されるアミノ酸の配列、又は配列番号５及び配列番号６の一方若しくは両方と少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＨＥＲ２受容体を結合することができる、ポリペプチド。

【請求項５５】

配列番号７及び／若しくは配列番号１０として提供される又は配列番号８及び／若しくは配列番号９として提供されるアミノ酸の配列、あるいはそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／あるいは組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＥＧＦＲｖＩＩＩ受容体を結合することができる、ポリペプチド。

【請求項５６】

配列番号１１及び／若しくは配列番号１４として提供される又は配列番号１２及び／若しくは配列番号１３として提供されるアミノ酸の配列、あるいはそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／あるいは組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＩＬ－１３Ｒａ２受容体を結合することができる、ポリペプチド。

【請求項５７】

配列番号１５及び／若しくは配列番号１６として提供されるアミノ酸の配列又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＣＤ３３受容体を結合することができる、ポリペプチド。

【請求項５８】
配列番号１７及び／若しくは配列番号１８として提供されるアミノ酸の配列又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＣ型レクチン様（ＣＬＬ１）受容体を結合することができる、ポリペプチド。
【請求項５９】
請求項５４～５８のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする単離された及び／又は外因性のポリヌクレオチド。
【請求項６０】
請求項５９に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。
【請求項６１】
請求項５９に記載のポリヌクレオチド及び／又は請求項６０に記載のベクターを含む、単離されたトランスジェニック細胞。
【請求項６２】
請求項６１に記載の細胞を培養することと、前記ポリペプチドを前記細胞又は培養培地から精製することと、を含む、請求項５９に記載のポリペプチドを産生させる方法。
【請求項６３】
疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を含む医薬組成物であって、前記ドメインが、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８、配列番号９、配列番号１０、配列番号１１、配列番号１２、配列番号１３、配列番号１４、配列番号１５、配列番号１６、配列番号１７、配列番号１８、又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列のうちの１つ以上又は全部を含む、医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、２０２１年７月２８日に出願されたＡＵ２０２１／９０２３２０からの優先権を主張する。
【０００２】
本発明は、ユニバーサル免疫受容体細胞ベースの療法のための方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
血液がんに対する細胞免疫療法としてのキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）Ｔ細胞などのキメラ免疫ベースの細胞療法の成功にもかかわらず、これらの療法は、発生する可能性がある固有の合併症を有することがあり、これにより治療有効性が制限され得る。主な毒性は、治療可能なＢ細胞無形成からより重篤なサイトカイン放出症候群及び神経毒性に及び得る。更に、従来の免疫細胞療法は、これまでのところ、固形腫瘍を治療するための有効性が限られていることが示されている。これは、免疫抑制性腫瘍微小環境（ＴＭＥ）、非効率的な細胞輸送、及び抗原発現の不均一性を含む多くの要因に起因する。固形悪性腫瘍と血液悪性腫瘍との両方の背景において、腫瘍逃避に起因して再発が一般的である。これらは全て、細胞免疫療法において現在満たされていないニーズであり、これらは、免疫細胞を発現するユニバーサル免疫受容体により対処することができる。
【０００４】
ユニバーサル免疫受容体（ＵＩＲ）は、（ｉ）細胞外アダプタータンパク質（ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒなど）を有する従来のＣＡＲと同様の標準的な細胞内シグナル伝達ドメインと、（ｉｉ）アダプタータンパク質（ＳｐｙＴＡＧなど）にコンジュゲートした標的化抗体との２つの別個の構成要素で構成される（ＷＯ２０１７／１１２７８４）。次いで、標的化抗体は、腫瘍抗原及びＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ受容体上の細胞外アダプターを標的化するための免疫学的架橋として機能して、抗原特異的細胞応答を誘発することができる。ＣＡＲの抗原認識ドメインを細胞内シグナル伝達ドメインから別個の個性要素に切り離すこ

とにより、その後、同じＵＩＲを有する１つ以上の異なる抗原を標的にして、免疫逃避又は腫瘍不均一性を克服し、用量調整又は離脱を行って、投与後のＵＩＲ免疫細胞機能を調節することで、養子免疫療法の安全性を更に増加させることが可能になる。

【０００５】

がんなどの疾患をより効果的かつ確実に治療すると同時に、現在のＣＡＲ　Ｔなどの療法で遭遇する一般的な問題を最小限に抑えるために、改善されたユニバーサル免疫受容体細胞ベースの療法が必要であり。

【発明の概要】

【０００６】

本発明は、ユニバーサル免疫受容体系を用いて対象を効果的に治療するための方法を提供する。ＣＡＲ　Ｔ細胞などの組換え免疫細胞の持続は、エピジェネティックな変化をもたらす一過性の休止により達成され得る。本発明の場合、これは、タグ付き結合剤の定期的な投薬及び投薬の中断により達成される。

【０００７】

ある態様では、本発明は、免疫細胞療法から利益を得るであろう対象において疾患を治療する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を対象に投与することであって、ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、分子を対象に投与することと、

ｉｉｉ）ステップｉｉ）の少なくとも約２１日後に、対象を治療に対する応答性について分析することと、

ｉｖ）対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法、を提供する。

【０００８】

別の態様では、対象において腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を対象に投与することであって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合している場合もしていない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、分子を対象に投与することと、

ｉｉｉ）ステップｉｉ）の少なくとも約２１日後に、対象を治療に対する応答性について分析することと、

ｉｖ）対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法、を提供する。

【０００９】

ある実施形態では、本分子は、ステップｉ）でユニバーサル免疫受容体に結合しない。

【００１０】

ある実施形態では、本分子は、ステップｉ）でユニバーサル免疫受容体に結合する。

【００１１】

ある実施形態では、ステップｉｉ）で、本分子は２回投与される。ある実施形態では、本分子は、ステップｉ）の後３日目及び６日目に投与される。

【００１２】

ある実施形態では、ステップｉｉ）で、本分子は３回投与される。ある実施形態では、本分子は、ステップｉ）の後１日目、４日目、及び６日目に投与される。

【００１３】

ある実施形態では、ステップｉｉ）の約２１日～約４９日後に、対象を治療に対する応答性について分析する。ある実施形態では、ステップｉｉ）の約２１日後に、対象を治療に対する応答性について分析する。ある実施形態では、ステップｉｉ）の約４９日後に、対象を治療に対する応答性について分析する。

【００１４】
ある実施形態では、ステップｉｉ）は、ステップｉ）の前に少なくとも１回、及びステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、本分子を対象に投与することを含む。別の実施形態では、ステップｉｉ）は、ステップｉ）の前に２回、及びステップｉ）の後７日以内に少なくとも２回、本分子を対象に投与することを含む。
【００１５】
ある実施形態では、ステップ（ｉｉ）は、次の投薬レジメンのうちの１つを含む：
（ａ）ステップｉ）の免疫細胞の投与後７日以内に、２４～４８時間の時間枠内で投薬し、任意選択で繰り返すこと、
（ｂ）ステップｉ）の免疫細胞の投与後７日以内に、２４時間ごとに投薬すること、
（ｃ）ステップｉ）の免疫細胞の投与後７日以内に、所与の時間枠内で治療を一時停止し、次の時間枠内で治療を再開し、次の時間枠内で治療を一時停止することを含む、断続的に投薬すること。
【００１６】
上記（ａ）、（ｂ）、又は（ｃ）のうちのいずれかにおいて、ステップｉ）で投与されるＵＩＲ細胞は、非武装（ｕｎａｒｍｅｄ）であっても事前武装（ｐｒｅａｒｍｅｄ）であってもよい。
【００１７】
別の実施形態では、本分子は、異なる用量で投与される。一例では、異なる用量は、約０．７５ｍｇ／ｍ^2、約１５ｍｇ／ｍ^{2}の用量、及び約７５ｍｇ／ｍ^{2}の用量である。別の実施形態では、異なる用量は、約０．２５ｍｇ／ｍ^2、約０．５ｍｇ／ｍ^2、約０．７５ｍｇ／ｍ^2、約１ｍｇ／ｍ^2、約２．５ｍｇ／ｍ^2、約５．０ｍｇ／ｍ^2、約７．５ｍｇ／ｍ^2、約１０ｍｇ／ｍ^2、約１２．５ｍｇ／ｍ^2、約１５．０ｍｇ／ｍ^2、約１７．５ｍｇ／ｍ^2、約２０ｍｇ／ｍ^2、約２２．５ｍｇ／ｍ^2、約２５ｍｇ／ｍ^2、約３５ｍｇ／ｍ^2、約４５ｍｇ／ｍ^2、約５５ｍｇ／ｍ^2、約６５ｍｇ／ｍ^2、約７０ｍｇ／ｍ^2、約７５ｍｇ／ｍ^2、約８０ｍｇ／ｍ^2、約８５ｍｇ／ｍ^2、約９０ｍｇ／ｍ^2、約９５ｍｇ／ｍ^{2}以上のうちのいずれか１つ以上を含んでもよい。別の実施形態では、用量は、約０．２５ｍｇ／ｍ^2～２．０ｍｇ／ｍ^2、約０．５ｍｇ／ｍ^2～１．５ｍｇ／ｍ^2、又は約０．５ｍｇ／ｍ^2～１．０ｍｇ／ｍ^{2}であってもよい。別の実施形態では、用量は、約５ｍｇ／ｍ^2～２５ｍｇ／ｍ^2、約１０ｍｇ／ｍ^2～２０ｍｇ／ｍ^2、又は約１２ｍｇ／ｍ^2～１７ｍｇ／ｍ^{2}であってもよい。別の実施形態では、用量は、約５０ｍｇ／ｍ^2～１００ｍｇ／ｍ^2、約６０ｍｇ／ｍ^2～９０ｍｇ／ｍ^2、又は約７０ｍｇ／ｍ^2～８０ｍｇ／ｍ^{2}であってもよい。
【００１８】
別の実施形態では、対象に投与される分子の異なる用量は、約１．６の体表面積（ＢＳＡ）につき、約０．２５ｍｇ、約２４ｍｇ、又は約１２０ｍｇを含む。別の例では、約１．６のＢＳＡにつき、対象に投与される分子の異なる用量は、約０．１ｍｇ、約０．１５ｍｇ、約０．２５ｍｇ、約０．３５ｍｇ、約０．４５ｍｇ、約０．６ｍｇ、約１２ｍｇ、約１６ｍｇ、約２０ｍｇ、約２４ｍｇ、約２８ｍｇ、約３２ｍｇ、約３６ｍｇ、約８０ｍｇ、約９０ｍｇ、約１００ｍｇ、約１１０ｍｇ、約１２０ｍｇ、約１３０ｍｇ、約１４０ｍｇ、約１５０ｍｇ以上のうちの１つを含む。別の実施形態では、対象に投与される分子の異なる用量は、約０．１ｍｇ～２．０ｍｇ、約０．２ｍｇ～１．５ｍｇ、又は約０．２ｍｇ～０．７５ｍｇを含む。別の実施形態では、対象に投与される分子の異なる用量は、約４ｍｇ～３６ｍｇ、約１２ｍｇ～３２ｍｇ、又は約２０ｍｇ～２８ｍｇを含む。別の実施形態では、分子の異なる用量は、約６０ｍｇ～１６０ｍｇ、約８０ｍｇ～１４０ｍｇ、又は約１００ｍｇ～１３０ｍｇを含む。
【００１９】
ある実施形態では、ステップｉｖ）は、ステップｉ）の分子と同じ抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む。別の実施形態では、ステップｉｖ）は、ステップｉ）の分子と異なる抗原

を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む。

【００２０】

ある実施形態では、本分子は、疾患と関連付けられる２つ以上の抗原を結合するドメインを含む。ある実施形態では、本分子は、疾患、好ましくはがんと関連付けられる２つの抗原を結合するドメインを含む。別の実施形態では、本分子は、疾患、好ましくはがんと関連付けられる３つの抗原を結合するドメインを含む。

【００２１】

別の態様では、本発明は、免疫細胞療法から利益を得るであろう対象において疾患を治療する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を対象に投与することであって、ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後に約１４日～約２８日間、少なくとも２又は３日ごとに、分子を対象に投与することと、

ｉｉｉ）対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法、を提供する。

【００２２】

別の態様では、対象において腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激する方法であって、

ｉ）ユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を対象に投与することであって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合している場合もしていない場合もある、投与することと、

ｉｉ）ステップｉ）の後に約１４日～約２８日間、少なくとも２又は３日ごとに、分子を対象に投与することと、

ｉｉｉ）対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、ステップｉ）及びｉｉ）を繰り返すことと、を含む、方法、を提供する。

【００２３】

上記の態様のある実施形態では、本分子は、ステップｉ）でユニバーサル免疫受容体に結合しない。

【００２４】

上記の態様のある実施形態では、本分子は、ステップｉ）でユニバーサル免疫受容体に結合する。

【００２５】

上記の態様のある実施形態では、本分子は、ステップｉ）の後に、３日ごとに投与される。

【００２６】

上記の態様のある実施形態では、本分子は、ステップｉ）の後に約２１日間、３日ごとに投与される。

【００２７】

上記の態様のある実施形態では、対象は、ステップｉｉ）の完了から７日以内、５日以内、３日以内、又は１日以内に、治療に対する応答性について分析される。

【００２８】

ある実施形態では、ステップｉ）は、ステップｉ）の免疫細胞の投与の前に少なくとも１回、及びステップｉ）の後に約１４日～約２８日間、２日又は３日ごとに、分子を対象に投与することを含む。ある実施形態では、ステップｉｉ）は、ステップｉ）の前に２回、及びステップｉ）の後に約１４日～約２８日間、２日又は３日ごとに、分子を対象に投与することを含む。

【００２９】

ある実施形態では、腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するこ

とは、対象のサイトカインレベルを増加させること、好ましくは、インターフェロンγ（ＩＦＮ－γ）、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、及びインターロイキン－２（ＩＬ－２）のうちの１つ以上又は全部のレベルを増加させることを含む。

【００３０】

ある実施形態では、ステップｉｉｉ）は、ステップｉ）の分子と同じ抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む。別の実施形態では、ステップｉｉｉ）は、ステップｉ）の分子と異なる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を投与することを含む。

【００３１】

ある実施形態では、本分子は、疾患と関連付けられる２つ以上の抗原を結合するドメインを含む。ある実施形態では、本分子は、疾患と関連付けられる２つの抗原を結合するドメインを含む。別の実施形態では、本分子は、疾患と関連付けられる３つの抗原を結合するドメインを含む。

【００３２】

ある実施形態では、本治療により、対象における生存期間が増加する。ある実施形態では、生存期間は、治療を受けていない対象と比較して増加する。ある実施形態では、生存期間は、治療を受けていない対象と比較して、３、６、９、１２、２４、３６、４８、６０、７２、８４、９６か月以上増加する。

【００３３】

ある実施形態では、対象は、がん、感染症、又は炎症性疾患などの疾患を有すると診断されているか、又は有する疑いがある。したがって、ある実施形態では、本明細書に記載の方法は、対象を、がん、感染症、又は炎症性疾患などの疾患を有するか、又は有する疑いがあると診断するステップを含む。

【００３４】

ある実施形態では、本方法又は使用は、任意選択的に、化学療法、放射線療法、手術、骨髄移植、薬物療法、凍結アブレーション、又は高周波アブレーションからなる群から選択される追加の治療剤の投与を更に含む。

【００３５】

ある実施形態では、本ユニバーサル免疫受容体は、細胞外ヒンジ領域に結合したＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ又はＳｐｙＴａｇ細胞外結合ドメインを含み、細胞外結合ドメインが同様にして膜貫通ドメインに結合し、膜貫通ドメインが同様にして免疫細胞受容体細胞内シグナル伝達ドメインに結合する。

【００３６】

ある実施形態では、ユニバーサル免疫受容体細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激分子を更に含む。

【００３７】

ある実施形態では、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ細胞外結合ドメインは、細胞外ヒンジドメインに結合する。代替的な実施形態では、ＳｐｙＴａｇ細胞外結合ドメインは、細胞外ヒンジドメインに結合する。

【００３８】

ある実施形態では、分子は、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ又はＳｐｙＴａｇとドメインとを含む。

【００３９】

ある実施形態では、ドメインは、抗体、抗体断片、ｓｃＦｖ、タンパク質足場、ペプチド、リガンド、オリゴヌクレオチド、アプタマー、腫瘍抗原、自己抗原、ウイルス抗原、及びこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。ある実施形態では、ドメインは、抗体又は抗体断片である。

【００４０】

ある実施形態では、分子は、ＳｐｙＴａｇを含む。代替的な実施形態では、分子は、Ｓ

ｐｙＣａｔｃｈｅｒを含む。
【００４１】
代替的な実施形態では、上述のＳｐｙＴｙｇはＳｎｏｏｐＴａｇであり、上述のＳｐｙＣａｔｃｈｅｒはＳｎｏｏｐＣａｔｃｈｅｒである。
【００４２】
ある実施形態では、分子は、細胞外結合ドメインを結合する第１のドメインと、疾患と関連付けられる抗原を結合する第２のドメインとを含むポリペプチドである。ある実施形態では、分子は、標識剤である第３のドメインを更に含む。
【００４３】
ある実施形態では、分子は、約０．２５ｍｇ／ｍ^2、約０．５ｍｇ／ｍ^2、約０．７５ｍｇ／ｍ^2、約１ｍｇ／ｍ^2、約２．５ｍｇ／ｍ^2、約５．０ｍｇ／ｍ^2、約７．５ｍｇ／ｍ^2、約１０ｍｇ／ｍ^2、約１２．５ｍｇ／ｍ^2、約１５．０ｍｇ／ｍ^2、約１７．５ｍｇ／ｍ^2、約２０ｍｇ／ｍ^2、約２２．５ｍｇ／ｍ^2、約２５ｍｇ／ｍ^2、約３５ｍｇ／ｍ^2、約４５ｍｇ／ｍ^2、約５５ｍｇ／ｍ^2、約６５ｍｇ／ｍ^2、約７０ｍｇ／ｍ^2、約７５ｍｇ／ｍ^2、約８０ｍｇ／ｍ^2、約８５ｍｇ／ｍ^2、約９０ｍｇ／ｍ^2、約９５ｍｇ／ｍ^{2}以上の用量で対象に投与される。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約０．２５ｍｇ／ｍ^2～２．０ｍｇ／ｍ^2、約０．５ｍｇ／ｍ^2～１．５ｍｇ／ｍ^2、又は約０．５ｍｇ／ｍ^2～１．０ｍｇ／ｍ^{2}である。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約５ｍｇ／ｍ^2～２５ｍｇ／ｍ^2、約１０ｍｇ／ｍ^2～２０ｍｇ／ｍ^2、又は約１２ｍｇ／ｍ^2～１７ｍｇ／ｍ^{2}である。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約５０ｍｇ／ｍ^2～１００ｍｇ／ｍ^2、約６０ｍｇ／ｍ^2～９０ｍｇ／ｍ^2、又は約７０ｍｇ／ｍ^2～８０ｍｇ／ｍ^{2}である。好ましくは、対象に投与される分子の用量は、約０．７５ｍｇ／ｍ^2、約１５ｍｇ／ｍ^2、又は約７５ｍｇ／ｍ^{2}である。
【００４４】
ある実施形態では、約１．６の体表面積（ＢＳＡ）につき、分子は、約０．１ｍｇ、約０．１５ｍｇ、約０．２５ｍｇ、約０．３５ｍｇ、約０．４５ｍｇ、約０．６ｍｇ、約１２ｍｇ、約１６ｍｇ、約２０ｍｇ、約２４ｍｇ、約２８ｍｇ、約３２ｍｇ、約３６ｍｇ、約８０ｍｇ、約９０ｍｇ、約１００ｍｇ、約１１０ｍｇ、約１２０ｍｇ、約１３０ｍｇ、約１４０ｍｇ、約１５０ｍｇ以上の用量で対象に投与される。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約０．１ｍｇ～２．０ｍｇ、約０．２ｍｇ～１．５ｍｇ、又は約０．２ｍｇ～０．７５ｍｇである。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約４ｍｇ～３６ｍｇ、約１２ｍｇ～３２ｍｇ、又は約２０ｍｇ～２８ｍｇである。別の実施形態では、対象に投与される分子の用量は、約６０ｍｇ～１６０ｍｇｇ、約８０ｍｇ～１４０ｍｇ、又は約１００ｍｇ～１３０ｍｇである。好ましくは、対象に投与される分子の用量は、約０．２５ｍｇ、約２４ｍｇ、又は約１２０ｍｇである。当業者であれば、異なるＢＳＡに対する等価用量を計算する方法を理解する。
【００４５】
ある実施形態では、免疫細胞は、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、樹状細胞、骨髄細胞、マクロファージ、幹細胞、又はそれらの組み合わせである。
【００４６】
ある実施形態では、Ｔ細胞は、ＣＤ３＋Ｔ細胞である。ある実施形態では、Ｔ細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞、ガンマデルタＴ細胞、Ｔ調節細胞、又はｉＮＫＴ細胞である。
【００４７】
ある実施形態では、本明細書に記載の方法により、ＣＤ４＋及び／又はＣＤ８＋Ｔ細胞の富化が提供される。別の実施形態では、免疫細胞の少なくとも約１０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の少なくとも約２０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の少なくとも約３０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の少なくとも約４０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の少なくとも約５０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の少なくとも約

６０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の約１０％～約６０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の約１０％～約５０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の約１０％～約４０％がＣＤ８＋細胞である。ある実施形態では、免疫細胞の約１０％～約３０％がＣＤ８＋細胞である。

【００４８】

別の実施形態では、本明細書に記載の方法によりＣＤ４５ＲＯ＋ＣＤ４５ＲＡ－Ｔエフェクターメモリー細胞の富化が提供される。別の実施形態では、本明細書に記載の方法には、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ４５ＲＯ－Ｔセントラルメモリー細胞の富化が含まれる。

【００４９】

本発明により分子に共有結合したユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞の投与が提供される実施形態では、本方法により、脾臓及び／又は腫瘍におけるＣＤ８＋ユニバーサル免疫受容体細胞が増加する。

【００５０】

ある実施形態では、細胞は、自己細胞である。代替的な実施形態では、細胞は、同種異系である。

【００５１】

ある実施形態では、疾患は、がん、感染症、又は炎症性疾患である。

【００５２】

本発明を使用して治療され得るがんの例には、腎細胞がん、膵臓がん、頭頸部がん、前立腺がん、膠芽腫、悪性神経膠腫、骨肉腫、大腸がん、胃がん、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、卵巣がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、滑膜肉腫、甲状腺がん、乳がん、黒色腫、白血病、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、又はリンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない。

【００５３】

ある実施形態では、対象が、哺乳動物である。ある実施形態では、対象が、ヒトである。

【００５４】

本発明は、免疫細胞療法から利益を受け得る対象における対象において疾患を治療するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、本ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、７日の後少なくとも２１日間、対象が治療への応答性について分析されることになり、対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、使用すること、を更に提供する。

【００５５】

また、免疫細胞療法から利益を受け得る対象における対象において疾患を治療することに使用するためのユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞、本ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、７日の後少なくとも２１日間、対象が治療への応答性について分析されることになり、対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、免疫細胞、も提供される。

【００５６】

また、対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、７日の後少なくとも２１日間、対象が治療への応答性について分析されることになり、対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、使用すること、も提供される。

【００５７】
また、対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激することに使用するためのユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞であって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与後７日以内に少なくとも２回投与されることになり、７日の後少なくとも２１日間、対象が治療への応答性について分析されることになり、対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、免疫細胞、も提供される。
【００５８】
また、免疫細胞療法の利益を受け得る対象における疾患を治療するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、使用すること、も提供される。
【００５９】
また、免疫細胞療法の利益を受け得る対象における疾患を治療することに使用するためのユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞であって、ユニバーサル免疫受容体が、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、対象が治療に応答しているが、疾患が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、免疫細胞、も提供される。
【００６０】
また、対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するための医薬品を製造するためにユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を使用することであって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、使用すること、も提供される。
【００６１】
また、対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激することに使用するためのユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞であって、ユニバーサル免疫受容体が、腫瘍と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあり、分子が、対象に、細胞の投与の後に１４日～２８日間、２又は３日ごとに投与され、対象が治療に応答しているが、腫瘍が依然として検出可能である場合、治療が繰り返される、免疫細胞、も提供される。
【００６２】
別の態様では、本発明は、配列番号５若しくは配列番号６として提供されるアミノ酸の配列、又は配列番号５及び配列番号６の一方若しくは両方と少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＨＥＲ２受容体を結合することができる、ポリペプチド、を提供する。
【００６３】
別の態様では、本発明は、配列番号７及び／若しくは配列番号１０として提供される又は配列番号８及び／若しくは配列番号９として提供されるアミノ酸の配列を含む、あるいはそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を有する、実質的に精製された及び／あるいは組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＥＧＦＲｖＩＩＩ受容体を結合することができる、ポリペプチド、を提供する。
【００６４】

別の態様では、本発明は、配列番号１１及び／若しくは配列番号１４として提供される又は配列番号１２及び／若しくは配列番号１３として提供されるアミノ酸の配列を含む、あるいはそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を有する、実質的に精製された及び／あるいは組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＩＬ－１３Ｒａ２受容体を結合することができる、ポリペプチド、を提供する。

【００６５】

別の態様では、本発明は、配列番号１５及び／若しくは配列番号１６として提供されるアミノ酸の配列又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＣＤ３３受容体を結合することができる、ポリペプチドを提供する。

【００６６】

別の態様では、本発明は、配列番号１７及び／若しくは配列番号１８として提供されるアミノ酸の配列又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列を含む実質的に精製された及び／又は組換えのポリペプチドであって、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒを含むタンパク質に共有結合し、がん細胞上でＣ型レクチン様（ＣＬＬ１）受容体を結合することができる、ポリペプチド、を提供する。

【００６７】

別の態様では、本発明は、本発明のポリペプチドをコードする単離された及び／又は外因性のポリヌクレオチドを提供する。

【００６８】

更なる態様では、本発明は、本発明のポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。

【００６９】

また別の態様では、本発明は、本発明のポリヌクレオチド及び／又は本発明のベクターを含む、単離されたトランスジェニック細胞を提供する。ある実施形態では、細胞は、細菌細胞又は哺乳動物細胞である。

【００７０】

また別の態様では、本発明は、疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子に共有結合する場合もしない場合もあるユニバーサル免疫受容体を含む免疫細胞を含む医薬組成物を提供する。ある実施形態では、ドメインは、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８、配列番号９、配列番号１０、配列番号１１、配列番号１２、配列番号１３、配列番号１４、配列番号１５、配列番号１６、配列番号１７、配列番号１８、又はそれと少なくとも９０％同一であるアミノ酸の配列のうちの１つ以上又は全部を含む。

【００７１】

別の態様では、本発明は、本発明の細胞を培養することと、ポリペプチドを細胞又は培養培地から精製することと、を含む、本発明のポリペプチドを産生させる方法を提供する。

【００７２】

ある実施形態では、細胞は、免疫細胞活性化剤、好ましくは、ＩＬ－２、抗ＣＤ３抗体、又は抗ＣＤ２８抗体の存在下で培養される。別の実施形態では、免疫細胞活性化剤は、Ｔｉｍ－３及び／又はＰＤ－１の発現を増加させる。また別の実施形態では、免疫細胞の少なくとも約３０％が、Ｔｉｍ－３及び／又はＰＤ－１陽性である。

【００７３】

本明細書におけるいずれの実施形態も、別段の定めがない限り、いずれの他の実施形態にも準用されるものとする。

【００７４】

本発明は、例示のみを目的とする本明細書に記載される特定の実施形態によって範囲が限定されるべきではない。機能的に等価な産生物、組成物、及び方法は、本明細書に記載されるように、明らかに本発明の範囲内である。

【００７５】
本明細書全体をとおして、別段の定めがない限り、又は文脈上別段の必要がない限り、単一のステップ、物質の組成物、ステップの群、又は物質の組成物の群への言及は、１つ及び複数（すなわち、１つ以上）のそれらのステップ、物質の組成物、ステップの群、又は物質の組成物の群を包含するように解釈されなければならない。
【００７６】
本発明は、以下の非限定的な例によって、及び添付の図面を参照して説明される。
【図面の簡単な説明】
【００７７】
【図１】投薬スケジュールの例である。
【図２】投薬スケジュールの例である。
【図３】投薬スケジュールの例である。
【図４】投薬スケジュールの例である。
【図５】投薬スケジュールの例である。
【図６】結合剤の投薬レジメンにより、インビボでの機能的ＵＩＲ発現が調節される。（Ａ）「非武装」ＯｍｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞（ＦＬＡＧ＋のみ）、及び「武装」ＯｍｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞（ＦＬＡＧ＋ＩｇＧ＋）の発現である。（Ｂ）漸増濃度の抗体結合剤で武装化されたＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋又はＣＤ４＋ＦＬＡＧ＋ＣＡＲ　Ｔ細胞においてＩｇＧ　ＭＦＩによって検出された「武装」ＯｍｎｉＣＡＲ受容体である。（Ｃ）ＭＤＡ－ＭＢ２３１－ＨＥＲ２腫瘍とともに２４時間共培養した漸増濃度の結合剤で武装化したＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞によるサイトカインＩＦＮγ、ＴＮＦ、及びＩＬ－２の産生である。（Ｄ）養子移入後１日目又は７日目の血液から単離したＴ細胞上の武装ＯｍｎｉＣＡＲ受容体の％を示すＦＡＣＳプロットである。（Ｅ）３～４日ごとに様々な用量の結合剤を投薬した群についての、移入後１日目の血液からのＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋ＣＡＲ　Ｔ細胞のＩｇＧ＋％である。（Ｆ）３～４日ごとに様々な用量の結合剤を投薬した群についての、移入後１日目の血液中の武装ＩｇＧ＋ＦＬＡＧ＋ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の数である。
【図７－１】結合剤の投与レジメンにより、インビボでＴ細胞のメモリー表現型、拡大、及び持続性が調節される。（Ａ）処置レジメンの概略図（低用量＝１ｕｇ、高用量＝２５ｕｇ）である。事前調整した腫瘍保持マウスを、処置計画１～３に従って、１０００万～２０００万個の非武装又は事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の単回用量で処置し、抗体結合剤を更に投薬した。（Ｂ）移入後１日目のＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋細胞／血液１ｕＬの数である。（Ｃ）移入後７日目の血液由来のＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞上でのＩｇＧ染色のＭＦＩである。（Ｄ）非形質導入ＯｍｎｉＣＡＲ群対非武装ＯｍｎｉＣＡＲ群についての移入後７日目の全ＣＤ８＋Ｔ細胞／血液１ｕＬの数である。（Ｅ）ＣＤ４５ＲＯ＋ＣＤ４５ＲＡ－（Ｔエフェクターメモリー）集団又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ４５ＲＯ－（Ｔセントラルメモリー）集団のメモリー表現型である。データは、平均±ＳＥＭとして示す。
【図７－２】同上。
【図８】結合剤の投薬レジメンにより、インビボでの抗腫瘍有効性が調節される。（Ａ）事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞で処置し、高用量の結合剤を投薬したマウスの腫瘍成長曲線である。（Ｂ）脾臓又は（Ｃ）腫瘍を治療の終点で抽出し、ＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞を計数した。（Ｄ）終点での腫瘍由来のＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋　ＯｍｎｉＣＡＲ　ＴＩＬのＴＩＭ３＋ＰＤ１＋集団％である。（Ｅ）急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）のマウスモデルにおける経時的な腫瘍負荷を決定するための生物発光画像法である。ＮＳＧマウスに、５００万個のＫＧ－１細胞を与え、動物を未処置のままにした（対照）か、又はＣＡＲ－Ｔ移入後３日目、６日目、及び９日目に、事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ－Ｔ細胞並びに２５ｕｇのＣＤ３３及びＣＬＬ－１結合剤を与えた。データは、平均±ＳＥＭとして示す。
【図９】結合剤の投薬レジメン及び特別な設計により、ＯｍｎｉＣＡＲ抗原非依存性シグナル伝達又は抗原依存性シグナル伝達が調節される。（Ａ）ＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋（上）の％又はＣＤ４＋ＦＬＡＧ＋（下）の％によってサブセットした、７２時間後の刺激してい

ない又は刺激した（ＯＫＴ３）Ｔ細胞のＴＩＭ３発現である。（Ｂ）ＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋（上）の％又はＣＤ４＋ＦＬＡＧ＋（下）の％によってサブセットした、７２時間後の刺激していない又は刺激した（ＯＫＴ３）Ｔ細胞のＰＤ－１発現（左）である。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１、データは平均±ＳＥＭとして示す。

【図１０－１】複数の腫瘍抗原を順次又は同時に標的化するためのメトロノミック投薬である。（Ａ）Ｕ２５１ＭＧ－ＨＥＲ２（ＧＦＰ）腫瘍とＵ２５１ＭＧ－ＥＧＦＲｖｉｉｉ（ｍＣｈｅｒｒｙ）腫瘍との混合腫瘍培養の数である。（Ｂ）混合腫瘍培養と共培養した抗ＨＥＲ２武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞である。（Ｃ）混合腫瘍培養と共培養した抗ＥＧＦＲｖｉｉｉ武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞である。（Ｄ）共培養後２０時間での抗ＨＥＲ２結合剤を加えた（ＨＥＲ２ＬＴスイッチング）又は加えない（スイッチングなし）混合腫瘍培養とともに共培養した抗ＥＧＦＲｖｉｉｉ武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞である。データは、平均±ＳＤとして示す。（Ｅ）同じＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞試料（下）上の３つの結合剤の発現のヒストグラム（上）である。ＦＡＣＳは、同じＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞産物上の各二重組み合わせにおける結合剤発現をプロットする。（Ｆ）マウスの血清中のＨＥＲ２及びＥＧＦＲｖＩＩＩ抗体結合剤の存在の決定である。

【図１０－２】同上。

【図１１】メモリー及び抗腫瘍機能的能力を調節するための、従来のＣＡＲ　Ｔ細胞と比較したＯｍｎｉＣＡＲにおける抗原非依存性トニックシグナル伝達のモデルである。（Ａ）時間、用量調節、又は複数結合剤の組み合わせ戦略を包含するメトロノミック投与の概略図である。（Ｂ）トニックシグナル伝達の抗原非依存性調節と、メモリー表現型と、機能的／抗腫瘍能力との間の相互関係のモデルである。

【００７８】

配列表の凡例

配列番号１－ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒユニバーサル免疫受容体アミノ酸配列
配列番号２－ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒユニバーサル免疫受容体をコードするヌクレオチド配列
配列番号３－Ｎ末端シグナルを有する標準Ｈｅｒ２－ＳｐｙＴａｇ結合剤
配列番号４－Ｎ末端シグナルを有する半減期が短いＨｅｒ２－ＳｐｙＴａｇ結合剤
配列番号５－Ｎ末端シグナルを有しない標準Ｈｅｒ２－ＳｐｙＴａｇ結合剤
配列番号６－Ｎ末端シグナルを有しない半減期が短いＨｅｒ２－ＳｐｙＴａｇ結合剤
配列番号７－ＥＧＦＲｖＩＩＩ重鎖アミノ酸配列
配列番号８－ＳｐｙＴａｇ　アミノ酸配列を有するＥＧＦＲｖＩＩＩ重鎖
配列番号９－ＥＧＦＲｖＩＩＩ軽鎖アミノ酸配列
配列番号１０－ＳｐｙＴａｇアミノ酸配列を有するＥＧＦＲｖＩＩＩ軽鎖
配列番号１１－ＩＬ－１３Ｒａ２重鎖アミノ酸配列
配列番号１２－ＳｐｙＴａｇアミノ酸配列を有するＩＬ－１３Ｒａ２重鎖
配列番号１３－ＩＬ－１３Ｒａ２軽鎖アミノ酸配列
配列番号１４－ＳｐｙＴａｇアミノ酸配列を有するＩＬ－１３Ｒａ２軽鎖
配列番号１５－ＣＤ３３重鎖アミノ酸配列
配列番号１６－ＳｐｙＴａｇアミノ酸配列を有するＣＤ３３軽鎖アミノ酸配列
配列番号１７－ＣＬＬ１重鎖アミノ酸配列
配列番号１８－ＳｐｙＴａｇアミノ酸配列を有するＣＬＬ１軽鎖アミノ酸配列

【発明を実施するための形態】

【００７９】

一般的な技法及び定義

別途具体的に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者に一般に理解される意味と同じ意味を有すると解釈されるものとする（例えば、細胞培養、細胞ベースの免疫療法、分子遺伝学、タンパク質化学、及び生化学）。

【００８０】

別段の指示がない限り、本発明で利用される組換えタンパク質、細胞培養、及び免疫学的技法は、当業者に周知の標準的な手順である。そのような技法は、Ｊ．Ｐｅｒｂａｌ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ（１９８４），Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｕｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（１９８９）、Ｔ．Ａ．Ｂｒｏｗｎ（編），Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｖｏｌｕｍｅｓ １ ａｎｄ ２，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ（１９９１）、Ｄ．Ｍ．Ｇｌｏｖｅｒ ａｎｄ Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ（編），ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｖｏｌｕｍｅｓ １－４，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ（１９９５ ａｎｄ １９９６）、及びＦ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（編），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂ．Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ（１９８８，現在までの全ての改訂を含む）、Ｅｄ Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｄａｖｉｄ Ｌａｎｅ（編）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｕｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，（１９８８）、及びＪ．Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ ｅｔ ａｌ．（編）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ ａｌｌ ｕｐｄａｔｅｓ ｕｎｔｉｌ ｐｒｅｓｅｎｔ現在までの全ての改訂を含む）などの情報源の文献全体で記載及び説明されている。

【００８１】

「及び／又は」、例えば、「Ｘ及び／又はＹ」という用語は、「Ｘ及びＹ」又は「Ｘ又はＹ」のいずれかを意味すると理解され、両方の意味又はいずれかの意味を明示的に支持するように解釈されるものとする。

【００８２】

本明細書で使用される場合、反対に述べられない限り、約という用語は、指定された値の＋／－１０％、より好ましくは＋／－５％、より好ましくは＋／－１％を指す。

【００８３】

本明細書全体を通して、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」という単語、又は「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」若しくは「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」などの変形は、記載された要素、整数、若しくはステップ、又は要素、整数、若しくはステップの群を含めることを暗示するが、任意の他の要素、整数、若しくはステップ、又は要素、整数、若しくはステップの群を除外することを暗示しないことが理解される。

【００８４】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、任意の動物であり得る。一実施形態では、動物は、脊椎動物である。例えば、動物は、哺乳動物、鳥類、脊索動物、両生類、又は爬虫類であり得る。例示的な対象には、ヒト、霊長類、家畜（例えば、ヒツジ、ウシ、ニワトリ、ウマ、ロバ、ブタ）、コンパニオンアニマル（例えば、イヌ、ネコ）、実験動物（例えば、マウス、ウサギ、ラット、モルモット、ハムスター）、捕獲野生動物（例えば、キツネ、シカ）が含まれるが、これらに限定されない。一実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。ある実施形態では、本発明の方法は、獣医使用のためのものである。

【００８５】

本明細書で使用される「治療する」又は「治療」という用語は、医療専門家による対象の直接的な治療（例えば、対象に治療薬を投与することによる）、又は（ｉ）特許請求される方法に従って対象に自己治療を指示する（例えば、薬物を自己投与する）、若しくは（ｉｉ）特許請求される方法に従って第三者に対象を治療するように指示する、任意の形態の指示を提供することによって、少なくとも１人の当事者（例えば、医師、看護師、薬剤師、又は医薬品販売担当者）によって行われる間接的な治療の両方を指す。また、「治療する」又は「治療」という用語の意味には、例えば、疾患の進行を予防又は遅らせるの

に十分な初期段階で治療薬を投与することによる、治療される疾患の予防又は低減も含まれる。

【００８６】

本明細書で使用される場合、「対象は治療に応答しているが、疾患は依然として検出可能である」という用語は、疾患の検出可能な低減（少なくとも７５％の低減、少なくとも５０％の低減、又は少なくとも２５％の低減など）（腫瘍負荷の低減など）を指すが、疾患は依然として存在する。本発明の方法を使用して治療することができる疾患を検出するための方法は、当該技術分野で周知であり、画像法（ＰＥＴ、ＰＥＴ＿ＳＰＥＣＴ、及びＭＲＩなど）、細胞検出、及び病原体検出技法を含む。

【００８７】

本明細書で使用される場合、「サイトカイン放出症候群」（ＣＲＳ）は、キメラ抗原受容体細胞療法、治療用抗体、及びハプロ同一同種移植と関連付けられる、発熱及び多臓器機能障害を特徴とする急性全身性炎症症候群を指す。

【００８８】

ポリペプチドは、参照アミノ酸配列に対するそのアミノ酸配列の同一性の程度（同一性％）によって、又はある参照アミノ酸配列に対する同一性％が別の参照アミノ酸配列に対するものよりも大きいことによって定義されてもよい。参照アミノ酸配列に対するポリペプチドの同一性％は、典型的には、ギャップ作成ペナルティ＝５、及びギャップ延長ペナルティ＝０．３のパラメータを有するギャップ分析（Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，１９７０；ＧＣＧプログラム）によって決定される。クエリ配列は、少なくとも１００アミノ酸長であり、ギャップ分析は、少なくとも１００個のアミノ酸の領域にわたって２つの配列を整列させる。更により好ましくは、クエリ配列は、少なくとも２５０アミノ酸長であり、ギャップ分析は、少なくとも２５０個のアミノ酸の領域にわたって２つの配列を整列させる。更により好ましくは、ギャップ分析は、参照アミノ酸配列の全長にわたって２つの配列を整列させる。

【００８９】

定義されたポリペプチドに関して、本明細書に提供されるものよりも高い同一性％数値が好ましい実施形態を包含することが理解される。このため、該当する場合、最小同一性％数値の観点から、ポリペプチドが、関連する指定された配列番号と、少なくとも９１％、より好ましくは少なくとも９２％、より好ましくは少なくとも９３％、より好ましくは少なくとも９４％、より好ましくは少なくとも９５％、より好ましくは少なくとも９６％、より好ましくは少なくとも９７％、より好ましくは少なくとも９８％、より好ましくは少なくとも９９％、より好ましくは少なくとも９９．１％、より好ましくは少なくとも９９．２％、より好ましくは少なくとも９９．３％、より好ましくは少なくとも９９．４％、より好ましくは少なくとも９９．５％、より好ましくは少なくとも９９．６％、より好ましくは少なくとも９９．７％、より好ましくは少なくとも９９．８％、更により好ましくは少なくとも９９．９％同一であるアミノ酸配列を含むことが好ましい。ある実施形態では、上で列挙した範囲の各々について、同一性％は１００％を含まない、すなわち、アミノ酸配列は指定された配列番号とは異なる。

【００９０】

本明細書で使用される「併用療法」、「併用投与」、又は「同時投与」などの用語は、選択された治療剤の単一の対象への投与を包含することを意味し、薬剤が、同じ若しくは異なる投与経路によって、又は同じ若しくは異なる時間に投与される治療レジメンを含むことを意図している。

【００９１】

<u>ユニバーサル免疫受容体</u>

本明細書で使用される場合、「ユニバーサル免疫受容体」又は「ＵＩＲ」は、免疫細胞が、細胞外ヒンジ領域に結合した細胞外結合ドメインを含むタンパク質を組換え発現するキメラ抗原受容体系であり、細胞外結合ドメインが同様にして膜貫通ドメインに結合し、膜貫通ドメインが同様にして免疫細胞受容体細胞内シグナル伝達ドメインに結合する。こ

の系は、細胞外結合ドメインを結合する第１のドメインと、疾患と関連付けられる抗原（がん細胞の表面上のがん抗原など）を結合する第２のドメインとを含む可溶性分子を更に含む。本明細書で使用される場合、「ユニバーサル免疫受容体」という用語は、細胞外結合ドメインに結合した（武装とも称される）又は結合していない（非武装とも称される）分子を指し得る。本発明に使用するためのＵＩＲは、第１のドメインが細胞外結合ドメインを結合するときに共有結合を形成する。

【００９２】

本発明に使用するためのユニバーサル免疫受容体の例は、ＳｐｙＴａｇ／ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ系（ＷＯ２０１７／１１２７８４）である。「ＳｐｙＴａｇ／ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ系」という用語は、バージョン１（ＵＳ９，５４７，００３）、バージョン２（ＷＯ２０１８／１９７８５４）、及びバージョン３（ＷＯ２０２０／１８３１９８）などの系の各バージョンを包含する。別の例として、本発明で使用するための普遍的な免疫受容体は、ＳｎｏｏｐＴａｇ／ＳｎｏｏｐＣａｔｃｈｅｒ系（Ｖｅｇｇｉａｎｉ ｅｔ ａｌ．，２０１６；ＷＯ２０１６／１９３７４６）である。

【００９３】

本発明の背景における「キメラ抗原受容体」又は代替的に「ＣＡＲ」という用語は、免疫細胞内にあるときに、分子が例えばがん細胞を結合した細胞外結合ドメインに共有結合すると、標的細胞に対する特異性を、及び細胞内シグナル生成を、細胞に提供する。

【００９４】

ＣＡＲ（ＵＩＲ）を使用して、選択された標的に特異的なＴ細胞、樹状細胞、又はナチュラルキラー（ＮＫ）細胞などの免疫細胞を生成することができる。ＣＡＲを生成するための好適な構築物は、ＵＳ５，８４３，７２８、ＵＳ５，８５１，８２８、ＵＳ５，９１２，１７０、ＵＳ６，００４，８１１、ＵＳ６，２８４，２４０、ＵＳ６，３９２，０１３、ＵＳ６，４１０，０１４、ＵＳ６，７５３，１６２、ＵＳ８，２１１，４２２、及びＷＯ９２１５３２２に記載されている。代替的なＣＡＲ構築物は、連続した世代に属するものとして特徴付けることができる。第一世代ＣＡＲは、典型的には、抗原に特異的な抗体の一本鎖可変断片からなり、例えば、柔軟なリンカー、例えば、ＣＤ８ａヒンジドメイン及びＣＤ８ａ膜貫通ドメインによって、ＣＤ３Ｃ又はＦｃＲｙ又はｓｃＦｖ－ＦｃＲｙのいずれかの膜貫通及び細胞内シグナル伝達ドメインに連結した、特定の抗体のＶＨに連結したＶＬを含む（例えば、ＵＳ７，７４１，４６５、ＵＳ５，９１２，１７２、及びＵＳ５，９０６，９３６を参照されたい）。第二世代ＣＡＲは、ＣＤ２８、ＣＤ２８ｚ、ＯＸ４０（ＣＤ１３４）、又は４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）などの１つ以上の共刺激性分子の細胞内ドメインを、エンドドメイン、例えば、ｓｃＦｖ－ＣＤ２８／ＯＸ４０／４ ＢＢ－ＣＤ３内に組み込む（例えば、ＵＳ８，９１１，９９３、ＵＳ８，９１６，３８１、ＵＳ８，９７５，０７１、ＵＳ９，１０１，５８４、ＵＳ９，１０２，７６０、ＵＳ９，１０２，７６１を参照されたい）。第三世代ＣＡＲは、ＣＤ３Ｃ鎖、ＣＤ９７、ＧＤＩ ｌａ－ＣＤ１８、ＣＤ２、ＩＣＯＳ、ＣＤ２７、ＣＤ１５４、ＣＤＳ、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、又はＣＤ２８シグナル伝達ドメインなどの共刺激エンドドメインの組み合わせ、例えば、ｓｃＦｖ－ＣＤ２８－４ＢＢ－ＣＤ３Ｃ又はｓｃＦｖ－ＣＤ２８－ＯＸ４０－ＣＤ３Ｑを含む（例えば、ＵＳ８，９０６，６８２、ＵＳ８，３９９，６４５、ＵＳ５，６８６，２８１、ＷＯ２０１４／１３４１６５、及びＷＯ２０１２／０７９０００を参照されたい）。いくつかの実施形態では、共刺激は、共刺激を用いた、例えば、プロフェッショナル抗原提示細胞上の抗原との相互作用に続いて活性化及び拡大されるように選択される、抗原特異的Ｔ細胞内でのＣＡＲの発現によって連携させることができる。例えば、Ｔ細胞攻撃の標的化を改善し、かつ／又は副作用を最小限に抑えるために、追加の操作された受容体を免疫細胞に提供することができる。

【００９５】

当業者であれば、「抗体」が、概して、１つ以上のポリペプチド鎖、例えば、V_Lを含むポリペプチド及び／又はV_Hを含むポリペプチドからなる少なくとも１つの可変領域を含むタンパク質であるとみなされることを認識する。抗体はまた、概して、定常ドメイン

を含み、そのうちのいくつかは、重鎖の場合、定常断片又は断片結晶化可能（Ｆｃ）領域を含む定常領域内に配列され得る。V_HとV_Lとは相互作用して、１つ又はいくつかの密接に関係する抗原に特異的に結合することができる抗原結合部位を含むＦｖを形成する。概して、哺乳動物由来の軽鎖は、κ軽鎖又はλ軽鎖のいずれかであり、哺乳動物由来の重鎖は、α、δ、ε、γ、又はμである。抗体は、いずれの種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及びIgA_2）、又はサブクラスであることもできる。「抗体」という用語は、ヒト化抗体、霊長類化抗体、ヒト抗体、及びキメラ抗体も包含する。

【００９６】

「完全長抗体」、「インタクト抗体」、又は「全抗体」という用語は、抗体の抗原結合断片とは対照的に、実質的にインタクトな形態の抗体を指すように互換的に使用される。具体的には、全抗体には、Ｆｃ領域を含む重鎖及び軽鎖を有するものが含まれる。定常ドメインは、野生型配列定常ドメイン（例えば、ヒト野生型配列定常ドメイン）であっても、そのアミノ酸配列バリアントであってもよい。

【００９７】

本明細書で使用される「抗体断片」という用語は、標的抗原、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ｓｃＦｖ断片、抗体の他の抗原結合部分配列に結合する能力を保持する抗体断片を含み、全抗体の修飾によって産生されたもの又は組換えＤＮＡ技術を使用してデノボ合成されたもの、及びＩｇＧ以外の抗体から得られる対応する断片を含むことができる。これらの抗体断片は、Ｊ．Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ ９８－１１８（Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８３）に記載されているように、タンパク質分解性断片化手順などの従来の手順、及び当業者に既知の他の技法によって得られる。断片は、インタクトな抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングされる。

【００９８】

好適な抗体又は抗原結合断片としては、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、モノクローナル抗体、Ｆａｂ’、ｒＩｇＧ（半抗体）、ｆ（ａｂ’）２、ナノボディ、キメラ抗体、ｓｃＦｖ、ｓｃＦｖマルチマー、単一ドメイン抗体、又は単一ドメイン融合抗体が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、抗体又は抗体様分子は、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、単一の分子組成物の抗体分子の調製を指す。モノクローナル抗体は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す。

【００９９】

ある実施形態では、分子は、ポリペプチドである。ある実施形態では、分子は、単一のオープンリーディングフレームによってコードされる単一のポリペプチド鎖である。

【０１００】

ある実施形態では、分子は、標識剤である第３のドメインを更に含む。いくつかの実施形態では、標識剤は、ｍｙｃタグ、ＦＬＡＧタグ、Ｈｉｓタグ、ＨＡタグ、蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ））、フルオロフォア（例えば、テトラメチルローダミン（ＴＲＩＴＣ）、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ））、ジニトロフェノール、ペリジニンクロロフィルタンパク質複合体、緑色蛍光タンパク質、フィコエリスリン（ＰＥ）、ヒスチジン、ビオチン、ストレプトアビジン、アビジン、西洋ワサビペルオキシダーゼ、パルミトイル化、ニトロシル化、アルカラニンホスファターゼ、グルコースオキシダーゼ、グルタチオンＳ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、マルトース結合タンパク質、放射性同位体、及び放射性同位体標識に使用される任意の種類の化合物、例えば、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－１，４，７，１０ －テトラ酢酸（ＤＯＴＡ）、ジエチレントリアミン五酢酸（ＤＴＰＡ）、及び１，４，７－トリアザシクロノナン－１，４，７－三酢酸（ＮＯＴＡ）からなる群から選択される。

【０１０１】

疾患と関連付けられる抗原を結合するドメインを含む分子は、当該技術分野で既知の任

意の手段によって産生させることができる。一実施形態では、分子は、その分子を発現する組換え細胞から産生させ、精製する。別の実施形態では、分子は、合成される。

【０１０２】

ＵＩＲ発現細胞を調製する方法

細胞の供給源

拡大、及び可能な遺伝子修飾又は他の修飾の前に、Ｔ細胞、樹状細胞、マクロファージ、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、又はそれらの組み合わせなどの免疫細胞を含むか、又はそれらからなる細胞集団を、対象から得ることができる。免疫細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位の組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍などのいくつかの供給源から得ることができる。

【０１０３】

本開示のある特定の実施形態では、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ（商標）分離などの当業者に知られている任意の数の技法を使用して、対象から収集された血液の単位から得ることができる。好ましい一実施形態では、個体の循環血液からの細胞は、アフェレーシスによって得られる。アフェレーシス産物は、典型的には、Ｔ細胞、単球、顆粒球、Ｂ細胞、樹状細胞、他の有核白血球、赤血球、及び血小板を含む、リンパ球を含有する。一実施形態では、アフェレーシスによって回収された細胞は、血漿画分を除去するために、かつ任意選択的に、後続の処理ステップのために細胞を適切な緩衝液又は培地に配置するために、洗浄され得る。一実施形態では、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄される。代替の実施形態では、洗浄溶液は、カルシウムを欠き、マグネシウムを欠き得るか、又は全てではないが多くの二価カチオンを欠き得る。

【０１０４】

カルシウムの非存在下での最初の活性化ステップは、増幅された活性化につながる可能性がある。当業者であれば容易に理解されるように、洗浄ステップは、製造元の指示に従い、半自動「フロースルー」遠心分離器（例えば、Ｃｏｂｅ　２９９１細胞プロセッサ、Ｂａｘｔｅｒ　ＣｙｔｏＭａｔｅ、又はＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ　Ｃｅｌｌ　Ｓａｖｅｒ５）を使用することによるなど、当業者に既知の方法によって達成され得る。洗浄後、細胞は、例えば、無Ｃａ、無Ｍｇ　ＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ、又は緩衝液の有無にかかわらず他の生理食塩溶液などの様々な生体適合性緩衝液に再懸濁され得る。代替的に、アフェレーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を培養培地中に直接再懸濁し得る。

【０１０５】

本出願の方法は、５％以下、例えば２％のヒトＡＢ血清を含む培養培地条件を利用することができ、公知の培養培地条件及び組成物、例えば、Ｓｍｉｔｈ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）に記載されるものを採用することができることが認識される。

【０１０６】

一実施形態では、Ｔ細胞は、例えば、ＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配による遠心分離又は対向流遠心溶出法によって、赤血球を溶解させ、単球を枯渇させることによって、末梢血リンパ球から単離される。

【０１０７】

本明細書に記載の方法は、例えば、Ｔ調節細胞枯渇集団である免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の特定の亜集団の選択を含むことができる。例えば、ＣＤ２５＋の枯渇した細胞集団は、例えば、本明細書に記載の負の選択技術を使用して得ることができる。好ましくは、Ｔ調節枯渇細胞の集団は、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％未満のＣＤ２５＋細胞を含有する。

【０１０８】

一実施形態では、Ｔ調節（T_{REG}）細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞は、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片、又はＣＤ２５結合リガンド、ＩＬ－２を使用して集団から除去される。一実施形態では、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片、又はＣＤ２５結合リガンドは、基質、例えばビーズにコンジュゲートされるか、又はそれ以外の場合、基質、例えばビ

ーズ上にコーティングされる。一実施形態では、抗ＣＤ２５抗体又はその断片は、本明細書に記載の基質にコンジュゲートされる。

【０１０９】

特定の理論に拘束されることを望むものではないが、アフェレーシスの前に、又はＵＩＲ発現細胞産物の製造中に、対象における免疫細胞の負の調節因子のレベルを減少させること（例えば、望ましくない免疫細胞、例えば、ＴＲＥＧ細胞の数を減少させること）により、対象の再発のリスクを低減させることができる。例えば、Ｔｒｅｇ細胞を枯渇させる方法は、当該技術分野で既知である。ＴＲＥＧ細胞を減少させる方法には、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体（本明細書に記載される抗ＧＩＴＲ抗体）、ＣＤ２５－枯渇、及びこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、製造方法は、ＵＩＲ発現細胞の製造前にＴＲＥＧ細胞の数を低減させる（例えば、枯渇させる）ことを含む。例えば、製造方法は、試料、例えば、アフェレーシス試料を、抗ＧＩＴＲ抗体及び／又は抗ＣＤ２５抗体（又はその断片、若しくはＣＤ２５結合リガンド）と接触させて、例えば、ＵＩＲ発現細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）産物を製造する前に、ＴＲＥＧ細胞を枯渇させることを含む。

【０１１１】

刺激のための細胞は、洗浄ステップの後に凍結させることもできる。理論に拘束されないことを望むと、凍結及びその後の解凍ステップは、細胞集団内の顆粒球及びある程度の単球を除去することによって、より均一な産物を提供する。血漿及び血小板を除去する洗浄ステップの後、細胞は、凍結溶液に懸濁され得る。多くの凍結溶液及びパラメータが、当該技術分野で知られており、この背景では有用であるが、１つの方法は、２０％のＤＭＳＯ及び８％のヒト血清アルブミンを含有するＰＢＳ、又は１０％のデキストラン４０及び５％のデキストロース、２０％のヒト血清アルブミン及び７．５％のＤＭＳＯ、若しくは３１．２５％のＰｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１．２５％のデキストロース５％、０．４５％のＮａＣｌ、１０％のデキストラン４０及び５％のデキストロース、２０％のヒト血清アルブミン、並びに７．５％のＤＭＳＯを含む培養培地、又は例えばＨｅｓｐａｎ及びＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａを含有する他の好適な細胞凍結培地を使用することを伴い、次いで、細胞を、１分間当たり１°の速度で－８０℃に凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相に保管する。制御された凍結の他の方法、及び－２０℃又は液体窒素中での即座の制御されない凍結が使用されてもよい。

【０１１２】

ある特定の実施形態では、凍結保存された細胞を本明細書に記載されるように解凍し、洗浄し、本発明の方法を使用して活性化する前に室温で１時間休ませる。

【０１１３】

本発明の背景において、本明細書に記載の拡大された細胞が必要とされ得る前の期間の、対象からの血液試料又はアフェレーシス産物の収集も企図される。このように、拡大される細胞の供給源は、必要な任意の時点で収集することができ、本明細書に記載のものなど、免疫細胞療法から利益を得るであろう任意の数の疾患又は状態のための免疫細胞療法において後で使用するために、Ｔ細胞などの所望の細胞を単離及び凍結することができる。一実施形態では、血液試料又はアフェレーシスは、概して健康な対象から採取される。ある特定の実施形態では、血液試料又はアフェレーシスは、疾患を発症するリスクがあるがまだ疾患を発症していない概して健康な対象から採取され、目的の細胞は、単離され、後で使用するために凍結される。ある特定の実施形態では、Ｔ細胞は、拡大され、凍結され、後で使用されてもよい。ある特定の実施形態では、試料は、本明細書に記載される特定の疾患の診断直後に、任意の治療の前に患者から収集される。更なる実施形態では、細胞は、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法、放射線などの薬剤、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノール酸塩、及びＦＫ５０６などの免疫抑制剤、抗体、又はＣＡＭＰＡＴＨ、抗ＣＤ３抗体、シトキサン、フルダラビン、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、Ｆ

Ｒ９０１２２８、及び放射線などの他の免疫除去剤による治療を含むが、それに限定されない、任意の数の関連する治療様式の前に、対象からの血液試料又はアフェレーシスから単離される。

【０１１４】

ＵＩＲ発現細胞を作製する方法

ある実施形態では、本発明の方法は、ＵＩＲをコードするベクター又は核酸を細胞に導入することによるＵＩＲ発現細胞の作製を含む。遺伝子を細胞に導入及び発現させる方法は、当該技術分野で既知である。発現ベクターの背景において、ベクターは、当該技術分野の任意の方法によって、宿主Ｔ細胞、例えば、哺乳動物、細菌、酵母、又は昆虫Ｔ細胞に容易に導入され得る。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的、又は生物学的手段によって宿主Ｔ細胞に移入され得る。

【０１１５】

宿主Ｔ細胞中にポリヌクレオチドを導入するための物理的方法は、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、粒子衝撃、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどを含む。ベクター及び／又は外因性核酸を含む細胞を産生させるための方法は、当該技術分野で周知である（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，ｖｏｌｕｍｅｓ １－４，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓを参照されたい）。ポリヌクレオチドを宿主Ｔ細胞に導入するための好ましい方法は、リン酸カルシウムトランスフェクションである。

【０１１６】

目的のポリヌクレオチドを宿主Ｔ細胞に導入するための生物学的方法には、ＤＮＡ及びＲＮＡベクターの使用が含まれる。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、遺伝子を哺乳動物、例えば、ヒト細胞に挿入するための最も広く使用される方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルスＩ、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルスなどに由来し得る（例えば、ＵＳ５，３５０，６７４及びＵＳ５，５８５，３６２を参照されたい）。

【０１１７】

ポリヌクレオチドを宿主Ｔ細胞に導入するための化学的手段には、巨大分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズ、並びに水中油乳剤、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含む脂質ベースの系などのコロイド分散系が含まれる。インビトロ及びインビボで送達ビヒクルとして使用するための例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。標的化ナノ粒子又は他の好適なサブミクロンサイズの送達系によるポリヌクレオチドの送達などの、核酸の最先端の標的化送達の他の方法が利用可能である。

【０１１８】

例示的な非ウイルス送達ビヒクルは、リポソームである。脂質製剤の使用は、核酸の宿主Ｔ細胞への導入（インビトロ、エクスビボ、又はインビボ）のために企図される。別の実施形態では、核酸は、脂質と関連付けられてもよい。脂質に関連する核酸は、リポソームの水性内部にカプセル化されてもよく、リポソームの脂質二重層内に散在されてもよく、リポソーム及びオリゴヌクレオチドの両方と関連付けられる連結分子を介してリポソームに結合されてもよく、リポソームに捕捉されてもよく、リポソームと複合体化されてもよく、脂質を含有する溶液に分散されてもよく、脂質と混合されてもよく、脂質と組み合わされてもよく、脂質中に懸濁液として含有されてもよく、ミセルに含有されるか、若しくはそれと複合体化されてもよく、又は別様には脂質と関連付けられてもよい。脂質、脂質／ＤＮＡ、又は脂質／発現ベクター関連組成物は、溶液中の任意の特定の構造に限定されない。例えば、それらは、二重層構造に、ミセルとして、又は「崩壊した」構造で存在してもよい。それらはまた、単に溶液中に散在されてもよく、場合によっては、サイズ又は形状が均一ではない凝集体を形成してもよい。脂質は、天然に存在する脂質か、又は合成脂質であり得る脂肪性物質である。例えば、脂質としては、細胞質内に天然に存在する脂肪液滴、並びに脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、及びアルデヒドなどの長鎖脂肪族炭化水素及びそれらの誘導体を含有する化合物のクラスが挙げられる。使用

に好適な脂質を、商業的供給源から得ることができる。例えば、ジミリスチルホスファチジルコリン（「ＤＭＰＣ」）は、Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈから得ることができ、ジセチルホスフェート（「ＤＣＰ」）は、Ｋ＆Ｋ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから得ることができ、コレステロール（「Ｃｈｏｉ」）は、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ－Ｂｅｈｒｉｎｇから得ることができ、ジミリスチルホスファチジルグリセロール（「ＤＭＰＧ」）及び他の脂質は、例えば、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ，Ｉｎｃ．から得ることができる。クロロホルム又はクロロホルム／メタノール中の脂質のストック溶液は、約－２０℃で保存することができる。クロロホルムは、メタノールよりも容易に蒸発するため、唯一の溶媒として使用される。「リポソーム」は、封入された脂質二重層又は凝集体の生成によって形成される様々な単層及び多層脂質ビヒクルを包含する一般的な用語である。リポソームは、リン脂質二重層膜及び内部水性媒体を有する小胞構造を有するものとして特徴付けることができる。

【０１１９】

多層リポソームは、水性媒体によって分離された複数の脂質層を有する。それらは、リン脂質が、過剰な水溶液に懸濁されるときに自発的に形成される。脂質成分は、閉じた構造を形成する前に自己再構成され、脂質二重層の間に水及び溶解した溶質を捕捉する（Ｇｈｏｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１）。しかしながら、溶液中で通常の小胞構造とは異なる構造を有する組成物も包含される。例えば、脂質は、ミセル構造を想定するか、又は単に脂質分子の不均一な凝集体として存在し得る。リポフェクタミン核酸複合体も企図される。

【０１２０】

宿主Ｔ細胞に外因性核酸を導入するために使用される方法にかかわらず、又は別様には細胞を本発明の阻害剤に曝露するために使用される方法にかかわらず、宿主Ｔ細胞中の組換えＤＮＡ配列の存在を確認するために、様々なアッセイを行うことができる。そのようなアッセイとしては、例えば、サザンブロッティング及びノーザンブロッティング、ＲＴ－ＰＣＲ及びＰＣＲなどの当業者に周知の「分子生物学的」アッセイ；例えば、免疫学的手段（ＥＬＩＳＡ及びウェスタンブロット）によって、又は本明細書に記載されるアッセイによって、特定のペプチドの存在又は非存在を検出して、本発明の範囲に入る薬剤を特定することなどの「生化学的」アッセイが挙げられる。

【０１２１】

<u>免疫細胞を培養及び拡大させる方法</u>

Ｔ細胞などの免疫細胞は、概して、例えば、ＵＳ６，３５２，６９４、ＵＳ６，５３４，０５５、ＵＳ６，９０５，６８０、ＵＳ６，６９２，９６４、ＵＳ５，８５８，３５８、ＵＳ６，８８７，４６６、ＵＳ６，９０５，６８１、ＵＳ７，１４４，５７５、ＵＳ７，０６７，３１８、ＵＳ７，１７２，８６９、ＵＳ７，２３２，５６６、ＵＳ７，１７５，８４３、ＵＳ５，８８３，２２３、ＵＳ６，９０５，８７４、ＵＳ６，７９７，５１４、ＵＳ６，８６７，０４１、及びＵＳ２００６／０１２１００５に記載の方法を使用して活性化及び拡大させてもよい。

【０１２２】

本明細書に開示される方法によってＴ細胞を拡大させることにより、細胞を、約１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、１００倍、２００倍、３００倍、４００倍、５００倍、６００倍、７００倍、８００倍、９００倍、１０００倍、２０００倍、３０００倍、４０００倍、５０００倍、６０００倍、７０００倍、８０００倍、９０００倍、１０，０００倍、１００，０００倍、１，０００，０００倍、１０，０００，０００倍又はそれ以上、及びそれらの間の全ての整数又は部分整数だけ増殖させることができる。一実施形態では、Ｔ細胞は、約２０倍～約５０倍の範囲で拡大する。

【０１２３】

ある実施形態では、細胞を、約７日～約１４日間、又は約７日～約１０日間培養する。

【０１２４】

概して、免疫細胞の集団、例えば、Ｔ調節細胞枯渇細胞は、それに結合された表面と、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナルを刺激する薬剤及びＴ細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドを接触させることによって拡大し得る。具体的には、Ｔ細胞集団は、抗ＣＤ３抗体若しくはその抗原結合断片又は表面上に固定された抗ＣＤ２抗体と接触させることにより、又はカルシウムイオノフォアと併用してタンパク質キナーゼＣ活性化因子（例えば、ブリオスタチン）と接触させることなどにより、本明細書に記載されるように刺激され得る。Ｔ細胞の表面上のアクセサリ分子の共刺激のために、アクセサリ分子に結合するリガンドが使用される。例えば、Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の増殖を刺激するために適切な条件下で、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体と接触させることができる。ＣＤ４＋　Ｔ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するために、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体を使用することができる。抗ＣＤ２８抗体の例としては、９．３、Ｂ－Ｔ３、ＸＲ－ＣＤ２８（Ｄｉａｃｌｏｎｅ、Ｂｅｓａｎｃｏｎ，Ｆｒａｎｃｅ）が挙げられ、当該技術分野において一般的に知られている他の方法（Ｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，１９９８、Ｈａａｎｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９、Ｇａｒｌａｎｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９）と同様に使用され得る。

【０１２５】

免疫細胞培養に適切な条件は、血清（例えば、ウシ胎仔又はヒト血清）、インターロイキン－２（ＩＬ－２）、インスリン、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＴＧＦ、及びＴＮＦ－ａ、又は当業者に既知の細胞の成長のための任意の他の添加剤を含む、増殖及び生存能に必要な因子を含有し得る適切な培地（例えば、最小必須培地若しくはＲＰＭＩ　Ｍｅｄｉａ　１６４０、又はＸ－ｖｉｖｏ　１５（Ｌｏｎｚａ））を含む。細胞の成長のための他の添加剤としては、界面活性剤、プラスマネート、並びにＮ－アセチル－システイン及び２－メルカプトエタノールなどの還元剤が挙げられるが、これらに限定されない。培地には、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、及びビタミンが添加され、無血清であるか、又は適切な量の血清（若しくは血漿）若しくは定義されたホルモンのセット、並びに／又はＴ細胞の成長及び拡大に十分な量のサイトカインが補充された、ＲＰＭＩ１６４０、ＡＩＭ－Ｖ、ＤＭＥＭ、ＭＥＭ、ａ－ＭＥＭ、Ｆ－１２、Ｘ－Ｖｉｖｏ　１５、及びＸ－Ｖｉｖｏ　２０、Ｏｐｔｉｍｉｚｅｒが含まれ得る。抗生物質、例えば、ペニシリン及びストレプトマイシンは、実験培養物にのみ含まれ、対象に注入される細胞の培養物には含まれない。標的Ｔ細胞は、成長を支援するのに必要な条件、例えば、適切な温度（例えば、３７℃）及び雰囲気（例えば、空気プラス５％ＣＯ２）下で維持される。

【０１２６】

造血幹細胞及び前駆細胞のエクスビボ拡大のための手順は、ＵＳ５，１９９，９４２に記載されており、本発明の細胞に適用することができる。他の好適な方法は、当該技術分野で既知であり、したがって、本発明は、細胞のエクスビボ拡大の任意の特定の方法に限定されない。簡潔に述べると、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞）のエクスビボ培養及び拡大は、（１）末梢採血又は骨髄外植体から哺乳動物由来のＣＤ３４＋造血幹細胞及び前駆細胞を収集することと、（２）そのような細胞をエクスビボで拡大させることと、を含む。ＵＳ５，１９９，９４２に記載の細胞成長因子に加えて、ｆｌｔ３－Ｌ、ＩＬ－１、ＩＬ－３、及びｃ－キットリガンドなどの他の因子を、細胞の培養及び拡大に使用することができる。

【０１２７】

<u>免疫細胞</u>

本明細書で使用される場合、「免疫細胞」という語句は、抗原の認識時に免疫応答に影響を及ぼすか、又は免疫応答を誘導することができる細胞を指す。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、Ｔ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、マクロファージ、樹状細胞、又は幹細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、哺乳動物細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒト細胞である。細胞は、それらが投与される対象に対して自己であっても同種異系であってもよい。

【０１２８】
本発明に有用な幹細胞の例としては、造血幹細胞／前駆細胞及び人工多能性幹細胞が挙げられるが、これらに限定されない。
【０１２９】
本明細書で使用される場合、「細胞傷害性活性」という語句は、ＮＫ細胞などの免疫細胞が生細胞を破壊する能力を指す。
【０１３０】
本明細書で使用される場合、「免疫応答」という用語は、当該技術分野におけるその通常の意味を有し、体液性免疫及び細胞性免疫の両方を含む。免疫応答は、抗抗原抗体の発症、抗原特異的Ｔ細胞の拡大、腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）の増加、抗腫瘍又は抗腫瘍抗原遅延型過敏症（ＤＴＨ）応答の発症、病原体のクリアランス、病原体及び／又は腫瘍の成長及び／又は広がりの抑制、腫瘍低減、転移の低減又は排除、再発までの時間の増加、病原体又は腫瘍を含まない生存期間の増加、並びに生存時間の増加のうちの１つ以上として顕出し得る。免疫応答は、Ｂ細胞活性化、Ｔ細胞活性化、ナチュラルキラー細胞活性化、抗原提示細胞（例えば、Ｂ細胞、ＤＣ、単球、及び／又はマクロファージ）の活性化、サイトカイン産生、ケモカイン産生、特異的細胞表面マーカー発現、特に、共刺激分子の発現のうちの１つ以上によって媒介され得る。免疫応答は、体液性、細胞性、Ｔｈ１若しくはＴｈ２応答、又はそれらの組み合わせを特徴とし得る。ある実施形態では、免疫応答は、自然免疫応答である。
【０１３１】
Ｔ細胞
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、Ｔ細胞、例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞である。Ｔ細胞又はＴリンパ球は、細胞媒介性免疫において中心的な役割を果たすリンパ球の一種である。それらは、細胞表面にＴ細胞受容体（ＴＣＲ）が存在することによって、Ｂ細胞及びナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）などの他のリンパ球と区別することができる。Ｔ細胞にはいくつかのサブセットがあり、各々が異なる機能を有する。
【０１３２】
ある実施形態では、Ｔ細胞は、セントラルメモリー（$Ｔ_{ＣＭ}$）Ｔ細胞であるか、又はそれを含む。$Ｔ_{ＣＭ}$細胞は、リンパ節を巡回し、既知の病原体に対するセントラル免疫サーベイランスを提供するが、一次組織免疫サーベイランスを行うものとしては説明されていない。ある実施形態では、本発明の方法を使用して産生される$Ｔ_{ＣＭ}$細胞は、ＣＤ４５ＲＯ＋　ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞、好ましくはＣＤ４５ＲＯ＋ＣＤ６２$Ｌ^{hi}$　Ｔ細胞を含む。そのような細胞はまた、ＣＣＲ７＋であってもよい。
【０１３３】
ある実施形態では、Ｔ細胞は、セントラルメモリー幹細胞（$Ｔ_{ＣＭ}$）Ｔ細胞であるか、又はそれを含む。$Ｔ_{ＳＣＭ}$細胞は、幹細胞様の自己再生能力、並びにメモリー及びエフェクターサブセットの全スペクトルを再構成する多能性能力を備えた、メモリーリンパ球のまれなサブセットである。ある実施形態では、$Ｔ_{ＳＣＭ}$細胞は、ＣＤ２７$^{+}$ＣＤ９５$^{+}$Ｔ細胞を含む。
【０１３４】
本明細書で使用される場合、調節Ｔ細胞（$Ｔ_{ＲＥＧ}$）又はその変形は、免疫寛容の維持に重要であるＴ細胞の集団を指す。それらの主な役割は、免疫反応の終わりに向かってＴ細胞媒介免疫をシャットダウンし、胸腺内の負の選択のプロセスを逃れた自己反応性Ｔ細胞を抑制することである。ＣＤ４＋$Ｔ_{ＲＥＧ}$細胞の２つの主要なクラスであるＦｏｘｐ３＋及びＦｏｘｐ３－が説明されている。
【０１３５】
ガンマデルタ（γδ）Ｔ細胞は、「非従来型」Ｔ細胞のプロトタイプであり、末梢血中のＴ細胞の比較的小さなサブセットを表す。これらは、γ鎖とδ鎖とで構成されるヘテロ二量体Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の発現によって定義される。これにより、これらが、αβＴＣＲを発現するＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞及びＣＤ８＋細胞傷害性Ｔ細胞と区別される。

【０１３６】
ｉＮＫＴ（不変ＮＫＴ）細胞は、抗原がＴＣＲと結合するときに、Ｔｈ１又はＴｈ２サイトカインを速やかに分泌する先天性リンパ球として分類される。活性化されたｉＮＫＴ細胞は、ＮＫ細胞、ＤＣ、Ｂ細胞、及びＴ細胞の応答の動員、活性化、又は調節を介して、適応免疫応答を調節することができる。
【０１３７】
ある実施形態では、Ｔ細胞は、ナイーブＴ細胞である。本明細書で使用される場合、「ナイーブＴ細胞」という用語は、成熟し、胸腺によって放出されたが、対応する抗原にまだ遭遇していないＴ細胞の集団を指す。言い換えれば、ナイーブＴ細胞は、成熟と活性化との間の段階にある。ナイーブＴ細胞は、Ｌ－セレクチン（ＣＤ６２Ｌ）及びＣ－Ｃケモカイン受容体７型（ＣＣＲ７）の表面発現、活性化マーカーＣＤ２５、ＣＤ４４、又はＣＤ６９の非存在、及びメモリーＣＤ４５ＲＯアイソフォームの非存在を一般に特徴としている。それらはまた、サブユニットＩＬ－７受容体－α、ＣＤ１２７、及びコモン－γ鎖、ＣＤ１３２からなる機能的ＩＬ－７受容体を発現する。
【０１３８】
機能的内因性Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）を欠くＴ細胞は、例えば、その表面上にいかなる機能的ＴＣＲも発現しないように操作されてもよく、機能的ＴＣＲを含む１つ以上のサブユニットを発現しないように操作されてもよく、又はその表面上にほとんど機能的ＴＣＲを産生しないように操作されてもよい。代替的に、Ｔ細胞は、例えば、ＴＣＲのサブユニットのうちの１つ以上の変異形態又は切断形態の発現によって、実質的に障害のあるＴＣＲを発現することができる。「実質的に障害のあるＴＣＲ」という用語は、このＴＣＲが、宿主において有害な免疫反応を誘発しないことを意味する。
【０１３９】
本明細書に記載のＴ細胞は、例えば、その表面に機能的ＨＬＡを発現しないように操作され得る。例えば、本明細書に記載のＴ細胞は、Ｔ細胞表面発現ＨＬＡ、例えば、ＨＬＡクラス１及び／又はＨＬＡクラスＩＩが下方調節されるように操作され得る。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、機能的ＴＣＲ及び機能的ＨＬＡ、例えば、ＨＬＡクラスＩ及び／又はＨＬＡクラスＩＩを欠く場合がある。
【０１４０】
機能的ＴＣＲ及び／又はＨＬＡの発現を欠く修飾されたＴ細胞は、ＴＣＲ又はＨＬＡの１つ以上のサブユニットのノックアウト又はノックダウンを含む任意の好適な手段によって得ることができる。例えば、Ｔ細胞は、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、又はジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ＺＦＮ）を使用したＴＣＲ及び／又はＨＬＡのノックダウンを含み得る。
【０１４１】
<u>ナチュラルキラー細胞</u>
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ナチュラルキラー細胞である。ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞は、感染した細胞及び形質転換された細胞を殺傷することができるＣＤ５６　ＣＤ３大顆粒リンパ球であり、先天性免疫系の重要な細胞サブセットを構成する。細胞傷害性ＣＤ８＋Ｔリンパ球とは異なり、ＮＫ細胞は、事前の感作を必要とせずに腫瘍細胞に対する細胞傷害を発揮し、ＭＨＣ－Ｉ－陰性細胞を根絶することもできる。ある実施形態では、ＮＫ細胞は、ＣＤ３－ＣＤ５６＋ＣＤ７＋ＣＤ１２７－ＮＫｐ４６＋Ｔ－ｂｅｔ＋Ｅｏｍｅｓ＋である。ある実施形態では、細胞傷害性ＮＫ細胞ＣＤ５６^{dim} ＣＤ１６＋。
【０１４２】
<u>樹状細胞</u>
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、樹状細胞である。樹状細胞は、ＣＤ３４＋幹細胞から骨髄に起源し、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）クラスＩＩ分子を発現する、特化された抗原提示細胞の異質の群である。成熟樹状細胞は、Ｔ細胞及びＮＫ細胞などのエフ

ェクター免疫細胞をプライミング、活性化、及び拡大することができる。樹状細胞療法は、当該技術分野で既知である（例えば、Ｓａｂａｄｏ　ｅｔ　ａｌ．，２０１７を参照されたい）。簡潔に述べると、樹状細胞は、患者から単離されてもよく、疾患特異的抗原、例えば、がん特異的抗原に曝露されてもよく、又はＵＩＲ若しくは疾患特異的抗原を発現するように遺伝子修飾されてもよく、次いで、患者に戻して注入されて、エフェクター免疫細胞、例えば、Ｔ細胞をプライミング、活性化、及び拡大する。

【０１４３】

骨髄細胞

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、骨髄細胞である。顆粒球、単球、マクロファージ、及び樹状細胞は、集合的に骨髄細胞と呼ばれる白血球のサブグループを表す。それらは、血液及びリンパ系を通して循環し、様々なケモカイン受容体を介して、組織損傷及び感染の部位に迅速に動員される。組織内で、それらは、貪食及び炎症性サイトカインの分泌のために活性化され、それによって保護免疫において主要な役割を果たす。骨髄細胞療法は、当該技術分野で既知であり、がん、感染症、又は疾患の治療に有用であり得る。例えば、骨髄細胞は、腫瘍間質に豊富であることが知られており、これらの細胞の存在は、多くのがん型において患者の転帰に影響を及ぼし得る。簡潔に述べると、骨髄細胞は、患者から単離されてもよく、疾患特異的抗原、例えば、がん特異的抗原に曝露されてもよく、又はＵＩＲ若しくは疾患特異的抗原を発現するように遺伝子修飾されてもよく、次いで、患者に戻して注入されて、エフェクター免疫細胞、例えば、Ｔ細胞をプライミング、活性化、及び拡大する。

【０１４４】

マクロファージ

マクロファージは、細菌及び他の有害生物の検出、食作用、及び破壊に関与する特殊化された細胞である。加えて、それらはまた、Ｔ細胞に抗原を提示し、他の細胞を活性化する分子（サイトカインとして知られる）を放出することによって炎症を開始し得る。

【０１４５】

ＵＩＲ発現細胞療法

ＵＩＲ細胞療法は、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞）が、ＵＩＲを発現するように遺伝子修飾され、ＵＩＲ発現細胞（例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞）が、それを必要とするレシピエントに注入される、細胞療法の一種である。注入された細胞は、レシピエントにおけるＵＩＲの標的を発現する疾患細胞を殺傷することができる。抗体療法とは異なり、ＵＩＲ修飾免疫細胞（例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞）は、インビボで複製することができ、持続した腫瘍制御をもたらすことができる長期持続性をもたらす。様々な実施形態では、ＵＩＲ細胞は、患者に投与され、ＵＩＲ細胞の患者への投与後、少なくとも４か月、５か月、６か月、７か月、８か月、９か月、１０か月、１１か月、１２か月、１３か月、１４か月、１５か月、１６か月、１７か月、１８か月、１９か月、２０か月、２１か月、２２か月、２３か月、２年、３年、４年、又は５年間、患者においてＵＩＲ細胞又はその子孫が持続する。

【０１４６】

ある実施形態では、対象に投与されるとき、ＵＩＲ細胞は、事前武装される。より具体的には、細胞は、対象に投与される前にＵＩＲを共有結合するような条件下で分子に曝露されており、よって、それらが投与されるときに標的細胞（がん細胞など）を結合することができる。

【０１４７】

ある実施形態では、対象に投与されるとき、ＵＩＲ細胞は、事前武装されない。より具体的には、細胞は、対象に投与される前にＵＩＲを共有結合するような条件下で分子に曝露されていない。この実施形態では、細胞が機能するために、細胞がインビボで武装となるように、分子も対象に投与される。

【０１４８】

一実施形態では、事前武装ＵＩＲ細胞を投与し、続いて、約２１日間、３日ごとに、例えば、１日目、４日目、及び６日目に、分子を投与する。

【０１４９】
ある実施形態では、事前武装ＵＩＲ細胞を投与し、続いて、週に２回、例えば、３日目及び６日目に、分子を投与し、続いて、約２１日間の休薬を行う。
【０１５０】
ある実施形態では、非武装ＵＩＲ細胞を投与し、続いて、週に２回、例えば、３日目及び６日目に、分子を投与し、続いて、約２１日間の休薬を行う。
【０１５１】
ある実施形態では、事前武装ＵＩＲ細胞を投与し、続いて、週に３回、例えば、１日目、４日目、及び６日目に、分子を投与し、続いて、約２１日間の休薬を行う。
【０１５２】
ある実施形態では、非武装ＵＩＲ細胞を投与し、続いて、週に３回、例えば、１日目、４日目、及び６日目に、分子を投与し、続いて、約４９日間の休薬を行う。
【０１５３】
本発明は、ある数のサイクルで実施されてもよい。例えば、本明細書で定義される第１のサイクルの後、対象を分析して、対象が治療に応答したかどうかを決定する。対象が治療に応答するが、疾患が依然として検出可能である場合、対象を治療の第２のサイクルに供してもよい。更に、第２のサイクルの後に、対象が治療に応答するが、疾患が依然として検出可能である場合、対象を治療の第３のサイクルに供してもよい。
【０１５４】
ある実施形態では、対象は、治療に応答したかどうかを決定する前に休薬する。ある実施形態では、対象は、約２１日間休薬する。ある実施形態では、対象は、約２８日間休薬する。ある実施形態では、対象は、約３５日間休薬する。ある実施形態では、対象は、約４２日間休薬する。ある実施形態では、対象は、約４９日間休薬する。
【０１５５】
本発明はまた、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞）が、例えばインビボ転写ＲＮＡによって、ＵＩＲを一過性に発現するように修飾され、ＵＩＲ－Ｔ細胞が、それを必要とするレシピエントに注入される、細胞療法の種類を含む。注入された細胞は、レシピエントにおいて腫瘍細胞を殺傷することができる。このため、様々な実施形態では、患者に投与される免疫細胞（例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞）は、ＵＩＲ－Ｔ細胞を患者に投与した後、１か月未満、例えば、３週間、２週間、１週間存在する。いかなる特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、ＵＩＲ－Ｔ細胞によって励起される抗腫瘍免疫応答は、能動免疫応答であっても受動免疫応答であってもよく、又は代替的に、直接的対間接免疫応答に起因してもよい。
【０１５６】
本発明が、対象における腫瘍に対するユニバーサル免疫受容体媒介性免疫応答を刺激するための方法を企図する場合、ＵＩＲ－Ｔ細胞によって励起される免疫応答は、能動免疫応答であるか受動免疫応答であるか、又は直接対間接免疫応答であるかにかかわらず、対象においてがんを治療するのに十分であると想定される。
【０１５７】
上述のように、エクスビボ手順は、当該技術分野で周知であり、上記で説明されている。簡潔に述べると、細胞は、哺乳動物（例えば、ヒト）から単離され、ＵＩＲを発現するベクターを用いて遺伝子修飾される（すなわち、インビトロで形質導入又はトランスフェクトされる）。ＵＩＲ発現細胞（例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞）は、治療効果を提供するために哺乳動物レシピエントに投与することができる。哺乳動物レシピエントは、ヒトであってもよく、ＵＩＲ発現細胞は、レシピエントに関して自己であり得る。代替的に、細胞は、レシピエントに関して、同種、同系、又は異種であり得る。
【０１５８】
本発明のＵＩＲ細胞は、本明細書に記載されるように、単独で、又は希釈剤と組み合わせた、及び／又はＩＬ－２若しくは他のサイトカイン若しくは細胞集団などの他の成分と組み合わせた医薬組成物としてのいずれかで、投与されてもよい。免疫細胞は、単独で、

又は希釈剤と組み合わせた、及び／又はＩＬ－２、ＩＬ－１５若しくは他のサイトカイン若しくは細胞集団などの他の成分と組み合わせた医薬組成物としてのいずれかで、投与されてもよい。簡潔に述べると、医薬組成物は、１つ以上の薬学的に又は生理学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤と組み合わせて、本明細書に記載される免疫細胞を含んでもよい。かかる組成物は、中性緩衝食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース、又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；ポリペプチド又はグリシンなどのアミノ酸；抗酸化剤；ＥＤＴＡ又はグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び防腐剤を含んでもよい。開示される方法で使用するための組成物は、いくつかの実施形態では、静脈内投与のために製剤化される。

【０１５９】

本明細書に記載される細胞を含む医薬組成物は、10^4～10^9個の細胞／体重１ｋｇ、例えば、10^5～10^6個の細胞／体重１ｋｇ（これらの範囲内の全ての整数値を含む）の投薬量で投与されてもよい。細胞組成物は、これらの投薬量で複数回投与されてもよい。細胞は、免疫療法で一般的に知られている注入技法を使用することによって投与することができる（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８を参照されたい）。特定の患者に最適な投薬量及び治療レジメンは、患者を疾患の徴候についてモニタリングし、適宜に治療を調整することによって、医療分野の当業者によって容易に決定され得る。

【０１６０】

本明細書に記載の分子（結合剤）を含む薬学的組成物は、例えば、１ｋｇ当たり０．５ｍｇ～５ｍｇの用量で投与されてもよい。

【０１６１】

ある特定の実施形態では、活性化された免疫細胞を対象に投与し、次いで、その後再採血し（又はアフェレーシスを行い）、その血液から免疫細胞を活性化及び拡大し、これらの活性化及び拡大した細胞を患者に再注入することが望ましい場合がある。このプロセスは、数週間ごとに複数回実行されることができる。ある特定の実施形態では、免疫細胞は、１０ｃｃ～４００ｃｃの採血から活性化され得る。ある特定の実施形態では、免疫細胞は、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃ、又は１００ｃｃの採血から活性化される。この複数回採血／複数回再注入プロトコルを使用することは、ある特定の免疫細胞の集団を選出するように機能し得る。

【０１６２】

<u>併用療法</u>

本発明のＵＩＲ－Ｔ細胞などの免疫細胞又は本発明の方法によって産生される免疫細胞は、ＰＲＬＲアンタゴニスト（例えば、抗ＰＲＬＲ抗体又はＰＲＬＲの小分子阻害剤）、ＥＧＦＲアンタゴニスト（例えば、抗ＥＧＦＲ抗体［例えば、セツキシマブ又はパニツムマブ］又はＥＧＦＲの小分子阻害剤［例えば、ゲフィチニブ又はエルロチニブ］）、Ｈｅｒ２／ＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、又はＥｒｂＢ４などの別のＥＧＦＲファミリーメンバーのアンタゴニスト（例えば、抗ＥｒｂＢ２［例えば、トラスツズマブ又はＴ－ＤＭ１］、抗ＥｒｂＢ３、若しくは抗ＥｒｂＢ４抗体、又はＥｒｂＢ２、ＥｒｂＢ３、若しくはＥｒｂＢ４活性の小分子阻害剤）、ｃＭＥＴアンタゴニスト（例えば、抗ｃＭＥＴ抗体）、ＩＧＦ１Ｒアンタゴニスト（例えば、抗ＩＧＦ１Ｒ抗体）、Ｂ－ｒａｆ阻害剤（例えば、ベムラフェニブ、ソラフェニブ、ＧＤＣ－０８７９、ＰＬＸ－４７２０）、ＰＤＧＦＲ－アルファ阻害剤（例えば、抗ＰＤＧＦＲ－アルファ抗体）、ＰＤＧＦＲ－ベータ阻害剤（例えば、抗ＰＤＧＦＲ－ベータ抗体、又はイマチニブメシレート若しくはスニチニブマレートなどの小分子キナーゼ阻害剤）、ＰＤＧＦリガンド阻害剤（例えば、抗ＰＤＧＦ－Ａ、－Ｂ、－Ｃ、又は－Ｄ抗体、アプタマー、ｓｉＲＮＡなど）、ＶＥＧＦアンタゴニスト（例えば、アフリベルセプトなどのＶＥＧＦ－Ｔｒａｐ、例えば、ＵＳ７，０８７，４１１を参照されたい（本明細書では「ＶＥＧＦ阻害融合タンパク質」とも称される）、抗ＶＥＧＦ抗体（例えば、ベバシズマブ）、ＶＥＧＦ受容体の小分子キナーゼ阻害剤（例えば

、スニチニブ、ソラフェニブ、又はパゾパニブ））、ＤＬＬ４アンタゴニスト（例えば、ＲＥＧＮ４２１などのＵＳ２００９／０１４２３５４に開示されている抗ＤＬＬ４抗体）、Ａｎｇ２アンタゴニスト（例えば、Ｈ１Ｈ６８５ＰなどのＵＳ２０１１／００２７２８６に開示されている抗Ａｎｇ２抗体）、ＦＯＬＨ１アンタゴニスト（例えば、抗ＦＯＬＨ１抗体）、ＳＴＥＡＰ１又はＳＴＥＡＰ２アンタゴニスト（例えば、抗ＳＴＥＡＰ１抗体又は抗ＳＴＥＡＰ２抗体）、ＴＭＰＲＳＳ２アンタゴニスト（例えば、抗ＴＭＰＲＳＳ２抗体）、ＭＳＬＮアンタゴニスト（例えば、抗ＭＳＬＮ抗体）、ＣＡ９アンタゴニスト（例えば、抗ＣＡ９抗体）、ウロプラキンアンタゴニスト（例えば、抗ウロプラキン［例えば、抗ＵＰＫ３Ａ］抗体）、ＭＵＣ１６アンタゴニスト（例えば、抗ＭＵＣ１６抗体）、Ｔｎ抗原アンタゴニスト（例えば、抗Ｔｎ抗体）、ＣＬＥＣ１２Ａアンタゴニスト（例えば、抗ＣＬＥＣ１２Ａ抗体）、ＴＮＦＲＳＦ１７アンタゴニスト（例えば、抗ＴＮＦＲＳＦ１７抗体）、ＬＧＲ５アンタゴニスト（例えば、抗ＬＧＲ５抗体）、一価のＣＤ２０アンタゴニスト（例えば、リツキシマブなどの一価抗ＣＤ２０抗体）、ＰＤ－１抗体、ＰＤ－Ｌ１抗体、ＣＤ３抗体、ＣＴＬＡ－４抗体などからなる群から選択される１つ以上の追加の治療活性成分と共製剤化、及び／又はそれらと組み合わせて投与され得る。本発明のＣＡＲ－Ｔ細胞と組み合わせて有益に投与され得る他の薬剤には、例えば、タモキシフェン、アロマターゼ阻害剤、及びサイトカイン阻害剤（ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８などのサイトカイン、又はそれらのそれぞれの受容体に結合する低分子サイトカイン阻害剤及び抗体を含む）が含まれる。

【０１６３】

本発明は、本明細書に記載されるＵＩＲ－Ｔ細胞などの免疫細胞のいずれかを、１つ以上の化学療法剤と組み合わせて含む、組成物及び治療製剤を含む。化学療法剤の例としては、チオテパ及びシクロスホスファミド（Ｃｙｔｏｘａｎ（商標））などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファンなどのアルキルスルホン酸塩；ベンゾドーパ、カルボクオン、メトレドーパ、及びウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンホスホルアミド、及びトリメチロメラミンを含む、エチレンイシンイミン及びメチルアメラミン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、オキシド塩酸化メクロレタミン、メルファラン、ノベミチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタードなどの窒素マスタード；カルムスチン、クロロゾトーシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア；アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オートラマイシン、アザセリン、ブレマイシン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び５－フルオラシル（５－ＦＵ）などの抗代謝物質；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎薬、フロリン酸などの葉酸補充剤、アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デホファミン；デメコルシン；ジアジコン；エルフォルニチン；酢酸エリプチニウム；エ

トグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ポドフィリン酸；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（商標）；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；２，２’，２’’－トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキサン類、例えば、パクリタキセル（Ｔａｘｏｌ（商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ、Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）及びドセタキセル（Ｔａｘｏｔｅｒｅ（商標）、Ａｖｅｎｔｉｓ Ａｎｔｏｎｙ、Ｆｒａｎｃｅ）；クロラムブシル；ゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；マイトマイシンＣ；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ビノレルビン；ナベルビン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼロダ；イバンドロネート；ＣＰＴ－１１；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸；エスペラマイシン；カペシタビン；並びに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、又は誘導体が挙げられる。また、この定義には、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、４（５）－イミダゾール、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ　１１７０１８、オナプリストン、及びトレミフェン（Ｆａｒｅｓｔｏｎ）を含む抗エストロゲン、並びにフルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリンなどの抗アンドロゲン、並びに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、又は誘導体など、腫瘍に対するホルモン作用を調節又は阻害するように作用する抗ホルモン剤も含まれる。

【０１６４】

開示される治療剤のいずれかの投与は、注射、輸血、又は移植を含む、任意の都合のよい様式で実行されてもよい。本明細書に記載される組成物は、皮下、皮内、腫瘍内、結節内、髄内、筋肉内、静脈内（ｉ．ｖ．）注射、又は腹腔内で患者に投与されてもよい。いくつかの実施形態では、開示される組成物は、ｉ．ｖ．注射によって投与される。本組成物はまた、腫瘍、リンパ節、又は感染部位に直接注射されてもよい。

【０１６５】

当業者であれば理解するように、上記の細胞及び／又は分子は、治療有効量で対象に投与されることになる。本明細書で使用される場合、「有効量」又は「治療有効量」という用語は、治療される疾患又は状態の症状のうちの１つ以上をある程度緩和するか、又は悪化を防止する、投与される十分な量の治療剤を指す。その結果は、疾患の徴候、症状、若しくは原因の低減若しくは進行の防止、又は生体系の他の任意の所望の変化であり得る。例えば、治療上の使用のための「有効量」は、過度の有害な副作用なしに疾患症状の臨床的に有意な減少をもたらすために必要な治療剤の量である。

【０１６６】

「治療有効量」という用語は、例えば、予防有効量を含む。治療剤の「有効量」は、過度の有害な副作用なしに所望の薬理学的効果又は治療改善を達成するのに有効な量である。「有効量」又は「治療有効量」は、対象の年齢、体重、全身状態、治療される状態、治療される状態の重症度、及び処方医師の判断のいずれかの化合物の代謝における変動に起因して、対象によって異なる場合があることが理解される。

【０１６７】

定期的な実験（用量漸増臨床試験を含むが、これらに限定されない）によってそのような治療有効量を決定することは、当該技術分野の技術の範囲内であるとみなされる。任意の個々の症例における適切な「有効量」は、用量漸増研究などの技法を使用して決定され得る。

【０１６８】

１つ以上の治療剤が組み合わせて使用される場合、各治療剤の「治療有効量」は、それ

自体が使用されるときに治療有効であるであろう治療剤の量を指すことができ、又は１つ以上の追加の治療剤との組み合わせによって治療的に有効である低減した量を指してもよい。

【０１６９】

治療の方法

本発明の、又は本発明を使用して産生される免疫細胞、例えば、ＵＩＲ－Ｔ細胞は、とりわけ、疾患又は障害の治療、予防、及び／又は改善に有用である。例えば、本発明のＵＩＲ－Ｔ細胞は、がん、感染症、又は炎症性疾患の治療に有用である。別の例として、本発明の方法によって産生される樹状細胞は、例えば、がん、感染症（細菌又はウイルス感染症など）、又は自己免疫疾患（糖尿病など）を治療するための樹状細胞ワクチン（例えば、Ｄａｔｔａ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４を参照されたい）として使用することができる。更なる例として、ＮＫ－ＵＩＲ細胞などのＮＫ細胞を使用して、がんを治療することができる（例えば、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．，２０２１を参照されたい）。

【０１７０】

ＵＩＲ細胞は、脳及び髄膜、中咽頭、肺及び気管支樹、消化管、男性及び女性の生殖管、筋肉、骨、皮膚及び付属器、結合組織、脾臓、免疫系、血液形成細胞及び骨髄、肝臓及び尿路、並びに眼などの特殊感覚器官に発生する原発性及び／又は転移性腫瘍を治療するために使用され得る。ある特定の実施形態では、本発明のＵＩＲ細胞は、次のがん：腎細胞がん、膵臓がん、頭頸部がん、前立腺がん、悪性神経膠腫、骨肉腫、大腸がん、胃がん（例えば、ＭＥＴ増幅を伴う胃がん）、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、卵巣がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、滑膜肉腫、甲状腺がん、乳がん、黒色腫、白血病、又はリンパ腫のうちの１つ以上を治療するために使用される。

【０１７１】

ある実施形態では、本発明のＵＩＲ細胞は、白血病、例えば、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、又は慢性リンパ性白血病を治療するために使用される。ある実施形態では、白血病は、低ＣＤ３３＋芽球が優勢である急性骨髄性白血病である。

【０１７２】

別の実施形態では、本発明のＵＩＲ細胞は、リンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫を治療するために使用される。非ホジキンリンパ腫の種類としては、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、又は末梢Ｔ細胞リンパ腫が挙げられる。ある実施形態では、リンパ腫は、低レベルのＣＤ１９及び／又はＣＤ２０を有するびまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫又は非ホジキンリンパ腫である。

【０１７３】

武装ユニバーサル免疫受容体が結合し得る抗原の例としては、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＲＯＲ１、ＣＤ２２がん胎児性抗原、アルファフェトプロテイン、ＣＡ－１２５、５Ｔ４、ＭＵＣ－１、上皮腫瘍抗原、前立腺特異的抗原、黒色腫関連抗原、変異ｐ５３、変異ｒａｓ、ＨＥＲ２／Ｎｅｕ、葉酸結合タンパク質、ＨＩＶ－１エンベロープ糖タンパク質ｇｐｌ２０、ＨＩＶ－１エンベロープ糖タンパク質ｇｐ４１、ＧＤ２、ＣＤ１２３、ＣＤ３３、ＣＤ１３８、ＣＤ２３、ＣＤ３０、ＣＤ５６、ｃ－Ｍｅｔ、メオテリン、ＧＤ３、ＨＥＲＶ－Ｋ、ＩＬ－１　ＩＲａ、ｋ鎖、ｌ鎖、ＣＳＰＧ４、ＥＲＢＢ２、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、又はＶＥＧＦＲ２が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１７４】

本明細書に記載される治療の方法の背景において、ＵＩＲ細胞などの免疫細胞は、単剤療法として（すなわち、唯一の治療剤として）、又は１つ以上の追加の治療剤（その例は本明細書の他の場所に記載される）と組み合わせて（併用療法）投与されてもよい。

【０１７５】

一実施形態では、対象は、がん（例えば、がん）を発症するリスクがある。対象が、対照集団よりもがんを発症するリスクが高い場合、対象は、リスクがある。対照集団は、が

んに罹患していないか、又はがんの家族歴を有する一般集団から無作為に選択された（例えば、年齢、性別、人種、及び／又は民族によってマッチングされた）１人以上の対象を含み得る。がんに関連する「リスク因子」が、その対象に関連することが判明した場合、対象は、がんのリスクがあるとみなされ得る。リスク因子には、例えば、対象の集団に関する統計学的又は疫学的研究をとおして、所与の障害と関連付けられる任意の活動、形質、事象、又は特性が含まれ得る。このため、基礎となるリスク因子を特定する研究に、対象が具体的に含まれていなくても、対象は、がんのリスクがあると分類され得る。

【０１７６】

一実施形態では、対象は、がんを発症するリスクがあり、細胞又は組成物は、がんの症状の発現前又は発現後に投与される。一実施形態では、細胞又は組成物は、がんの症状の発現前に投与される。一実施形態では、細胞又は組成物は、がんの症状の発現後に投与される。一実施形態では、本発明の細胞又は組成物は、リスクがある対象におけるがんの症状のうちの１つ以上を緩和又は軽減する用量で投与される。

【０１７７】

ある実施形態では、対象は、がん、感染症、又は炎症性疾患などの疾患又は障害を有すると診断されているか、又は有する疑いがある。ある実施形態では、本明細書に記載の方法は、対象を、がん、感染症、又は炎症性疾患などの疾患又は障害を有するか、又は有する疑いがあると診断するステップを含む。

【０１７８】

本明細書で使用される診断は、対象又は患者が本発明の免疫細胞による治療を必要とするという決定を指す。本明細書に記載の方法に従って診断される疾患又は障害の種類は、当該技術分野で既知の又は本明細書に記載のいずれの種類であってもよい。

【０１７９】

ある実施形態では、本発明の免疫細胞による治療を必要とする対象を特定又は診断するステップは、対象が、がんを有するという決定を含み、

－血液プロファイリング、

－細胞生検吸引物又は組織生検、

－コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャン、骨スキャン、磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）スキャン、超音波及びＸ線などのイメージング、

－身体検査、のうちの１つ以上又は全ての評価を含んでもよい。

【０１８０】

ＮＫ細胞により治療することができる疾患の例としては、がん（例えば、黒色腫、前立腺がん、乳がん、及び肝臓がん）、並びにウイルス感染症（例えば、ＨＳＶ、肝炎ウイルス、ヒトサイトメガロウイルス、インフルエンザウイルス、フラビウイルス、及びＨＩＶ－１による感染症）、細菌感染症（例えば、マイコバクテリア、リステリア、及びブドウ球菌による感染症）、及び原虫感染症（例えば、マラリア原虫による感染症）、及び真菌感染症（例えば、アスペルギルスによる感染症）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１８１】

炎症性疾患の例としては、抗生物質耐性微生物感染症、特発性肺線維症、及びアルツハイマー病が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１８２】

当業者には明らかであるように、対象におけるがんの症状の「低減」は、同じくがんに罹患しているが、本明細書に記載の方法による治療を受けていない別の対象と比較したものとなる。これは、必ずしも２人の対象の対照比較を必要としない。むしろ、集団データを信頼することができる。例えば、本明細書に記載の方法で治療を受けていないがんに罹患している対象の集団（任意選択的に、治療された対象と同様の対象の集団、例えば、年齢、体重、人種）を評価し、平均値を、本明細書に記載の方法で治療された対象又は対象の集団の結果と比較する。

【０１８３】
一実施形態では、本発明の免疫細胞及び方法は、がん、感染症、又は炎症性疾患などの疾患又は障害に罹患している対象の生存を改善するために使用される。生存が企図される場合、生存分析は、カプラン・マイヤー法を使用して行うことができる。カプラン・マイヤー法は、生存期間データから生存関数を推定し、治療後一定期間生存する患者の割合を測定するために使用することができる。生存関数のカプラン・マイヤー法のプロットは、十分な大きさの試料が採取されたときに、その集団の真の生存関数に近づく、大きさが減少する一連の水平ステップである。連続した別個のサンプリングされた観察（「クリック」）間の生存関数の値は、一定であると仮定される。カプラン・マイヤー曲線の重要な利点は、この方法が、最終的な結果が観察される前に（例えば、患者が研究から離脱した場合）、試料からの「打ち切り」データ損失を考慮に入れることができることである。プロットでは、小さな垂直のチェックマークは、患者データが打ち切られた損失を示す。切り捨てや打ち切りが発生しない場合、カプラン・マイヤー曲線は、経験分布と同等である。
【０１８４】
統計学では、ログランク検定（Ｍａｎｔｅｌ－Ｃｏｘ検定としても知られている）は、２つのグループの患者の生存分布を比較する仮説検定である。これは、ノンパラメトリック検定であり、データが正しく打ち切られる場合に使用するのに適している。これは、測定が事象までの時間である場合に、対照群と比較して新薬の有効性を確立するために、臨床試験で広く使用されている。ログランク検定統計量は、観察された各事象時間における２つのグループのハザード関数の推定値を比較する。これは、各観察された事象時間におけるグループのうちの１つにおける観察された事象及び予想される事象の数を計算し、次いでこれらを加算して、事象が存在する全ての時点にわたる全体的な概要を得ることによって構築される。ログランク統計量は、２つのグループを比較するＣｏｘ比例ハザードモデルのスコア検定として導出することができる。したがって、これは、そのモデルに基づく尤度比検定統計量と漸近的に等価である。
【実施例】
【０１８５】
実施例１－ユニバーサル免疫受容体
配列番号２として提供されるポリヌクレオチド配列によってコードされる、ＣＤ８ａリーダー、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ　ｖ００３、ＣＤ８ａヒンジ、ＣＤ８ａ膜貫通ドメイン、ＣＤ２８ｚ共刺激ドメイン、及びＣＤ３ｚ細胞内シグナル伝達ドメイン（配列番号１）を、Ｎ末端からＣ末端の順に有する、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒユニバーサル免疫受容体を産生させた。
【０１８６】
配列番号１：ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒユニバーサル免疫受容体。第１の下線付きセクションはＣＤ８リーダーであり、第２の下線付きセクションはＳｐｙＣａｔｃｈｅｒであり、第３の下線付きセクションは、ＣＤ８ａヒンジ、続いてＣＤ８ａ膜貫通ドメインであり、第４の下線付きセクションは、ＣＤ８ａ膜貫通ドメイン、続いて、ＣＤ２８ｚ共刺激ドメイン（このセクションのＣ末端ＩＤを除く）であり、第５の下線付きセクションはＣＤ３ｚ細胞内シグナル伝達ドメインである。
【０１８７】
MALPVTALLLPLALLLHAARPGSVTTLSGLSGEQGPSGDMTTEEDSATHIKFSK
RDEDGRELAGATMELRDSSGKTISTWISDGHVKDFYLYPGKYTFVETAAPDGY
EVATPIEFTVNEDGQVTVDGEATEGDAHTASTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP
EACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKR
SRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSIDRVKFSRSADAPAYK
QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR*

【０１８８】

配列番号２：配列番号１のＳｐｙＣａｔｃｈｅｒユニバーサル免疫受容体をコードするポリヌクレオチド。

ａｔｇｇｃｃｔｔａｃｃａｇｔｇａｃｃｇｃｃｔｔｇｃｔｃｃｔｇｃｃｇｃｔｇｇｃｃｔ
ｔｇｃｔｇｃｔｃｃａｃｇｃｃｇｃｃａｇｇｃｃｇｇｇａｔｃｃＧＴＧＡＣＡＡＣＡＣＴ
ＧＡＧＣＧＧＡＣＴＧＴＣＴＧＧＣＧＡＧＣＡＡＧＧＣＣＣＴＴＣＴＧＧＣＧＡＴＡＴＧ
ＡＣＣＡＣＣＧＡＡＧＡＧＧＡＴＡＧＣＧＣＣＡＣＡＣＡＣＡＴＣＡＡＧＴＴＣＡＧＣＡ
ＡＧＣＧＣＧＡＣＧＡＧＧＡＣＧＧＣＡＧＡＧＡＡＣＴＴＧＣＴＧＧＣＧＣＴＡＣＣＡＴ
ＧＧＡＡＣＴＧＡＧＡＧＡＣＡＧＣＡＧＣＧＧＣＡＡＧＡＣＣＡＴＣＡＧＣＡＣＣＴＧＧ
ＡＴＣＴＣＴＧＡＣＧＧＣＣＡＣＧＴＧＡＡＧＧＡＣＴＴＣＴＡＴＣＴＧＴＡＣＣＣＣＧ
ＧＣＡＡＧＴＡＣＡＣＣＴＴＣＧＴＧＧＡＡＡＣＣＧＣＣＧＣＴＣＣＴＧＡＣＧＧＣＴＡ
ＣＧＡＡＧＴＧＧＣＣＡＣＡＣＣＴＡＴＣＧＡＧＴＴＣＡＣＣＧＴＧＡＡＣＧＡＧＧＡＴ
ＧＧＣＣＡＡＧＴＧＡＣＣＧＴＧＧＡＴＧＧＣＧＡＡＧＣＴＡＣＡＧＡＡＧＧＣＧＡＣＧ
ＣＣＣＡＴＡＣＡｇｃｔａｇｃａｃｃａｃｇａｃｇｃｃａｇｃｇｃｃｇｃｇａｃｃａｃｃ
ａａｃａｃｃｇｇｃｇｃｃｃａｃｃａｔｃｇｃｇｔｃｇｃａｇｃｃｃｃｔｇｔｃｃｃｔｇ
ｃｇｃｃｃａｇａｇｇｃｇｔｇｃｃｇｇｃｃａｇｃｇｇｃｇｇｇｇｇｇｇｃｇｃａｇｔｇｃ
ａｃａｃｇａｇｇｇｇｇｃｔｇｇａｃｔｔｃｇｃｃｔｇｔｇａｔｔｔｔｔｇｇｇｔｇｃｔ
ｇｇｔｇｇｔｇｇｔｔｇｇｔｇｇａｇｔｃｃｔｇｇｃｔｔｇｃｔａｔａｇｃｔｔｇｃｔａ
ｇｔａａｃａｇｔｇｇｃｃｔｔｔａｔｔａｔｔｔｔｃｔｇｇｇｔｇａｇｇａｇｔａａｇａ
ｇｇａｇｃａｇｇｃｔｃｃｔｇｃａｃａｇｔｇａｃｔａｃａｔｇａａｃａｔｇａｃｔｃｃ
ｃｃｇｃｃｇｃｃｃｃｇｇｇｃｃｃａｃｃｃｇｃａａｇｃａｔｔａｃｃａｇｃｃｃｔａｔ
ｇｃｃｃｃａｃｃａｃｇｃｇａｃｔｔｃｇｃａｇｃｃｔａｔｃｇｃｔｃｃａｔｃｇａｔａ
ｇａｇｔｇａａｇｔｔｃａｇｃａｇｇａｇｃｇｃａｇａｃｇｃｃｃｃｃｇｃｇｔａｃａａ
ｇｃａｇｇｇｃｃａｇａａｃｃａｇｃｔｃｔａｔａａｃｇａｇｃｔｃａａｔｃｔａｇｇａ
ｃｇａａｇａｇａｇｇａｇｔａｃｇａｔｇｔｔｔｔｇｇａｃａａｇａｇａｃｇｔｇｇｃｃ
ｇｇｇａｃｃｃｔｇａｇａｔｇｇｇｇｇｇｇａａａｇｃｃｇａｇａａｇｇａａｇａａｃｃｃ
ｔｃａｇｇａａｇｇｃｃｔｇｔａｃａａｔｇａａｃｔｇｃａｇａａａｇａｔａａｇａｔｇ
ｇｃｇｇａｇｇｃｃｔａｃａｇｔｇａｇａｔｔｇｇｇａｔｇａａａｇｇｃｇａｇｃｇｃｃ
ｇｇａｇｇｇｇｃａａｇｇｇｇｃａｃｇａｔｇｇｃｃｔｔｔａｃｃａｇｇｇｔｃｔｃａｇ
ｔａｃａｇｃｃａｃｃａａｇｇａｃａｃｃｔａｃｇａｃｇｃｃｃｔｔｃａｃａｔｇｃａｇ
ｇｃｃｃｔｇｃｃｃｃｃｔｃｇｃｔａａ

【０１８９】

更に、Ｈｅｒ２を結合する２つのＳｐｙＴａｇ結合分子を産生させた。一方は、Ｎ末端シグナルペプチド、Ｈｅｒ２を結合する抗体可変ドメイン、抗体定常ドメイン、リンカー、及びＳｐｙＴａｇを含む標準Ｈｅｒ２結合剤（配列番号３）と称される。他方は、短半減期結合剤と称され、より短い半減期を付与する抗体定常ドメイン有する（配列番号４）。発現及びプロセシングの後、Ｎ末端シグナルペプチドを除去し、投与される分子がこのペプチドを欠くようにする（それぞれ配列番号５及び６）。

【０１９０】

配列番号３：Ｎ末端シグナル配列を有する標準Ｈｅｒ２結合剤（ＳｐｙＴａｇ付き重鎖）。第１の下線付きセクションは、Ｎ末端シグナル配列、続いて、Ｈｅｒ２を結合する抗体可変ドメインであり、第２の下線付きセクションは、抗体定常ドメイン、続いて、リンカーであり、第３の下線付きセクションはＳｐｙｔａｇである。

【０１９１】

MAWSWVFLFFLSVTTGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI
HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL
RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG
GGGSRGVPHIVMVDAYKRYK

【０１９２】

配列番号４：Ｎ末端シグナル配列を有する短半減期Ｈｅｒ２バリアント（ＳｐｙＴａｇ付き重鎖）。第１の下線付きセクションは、Ｎ末端シグナル配列、続いて、Ｈｅｒ２を結合する抗体可変ドメインであり、第２の下線付きセクションは、短半減期抗体定常ドメイン、続いて、リンカーであり、第３の下線付きセクションはＳｐｙｔａｇである。

【０１９３】

MAWSWVFLFFLSVTTGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI
HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL
RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMASRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG
GGGSRGVPHIVMVDAYKRYK

【０１９４】

配列番号５：Ｎ末端シグナル配列を有しない標準Ｈｅｒ２結合剤（ＳｐｙＴａｇ付き重鎖）（抗Ｈｅｒ２－ＳＴ）。

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＮＩＫＤＴＹＩＨＷＶＲＱＡ
ＰＧＫＧＬＥＷＶＡＲＩＹＰＴＮＧＹＴＲＹＡＤＳＶＫＧＲＦＴＩＳＡＤＴＳＫＮＴＡＹ
ＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＳＲＷＧＧＤＧＦＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳ
ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳ
ＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴ
ＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧ
ＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷ
ＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＧＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫ
ＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥ
ＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶ
ＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴ
ＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＲＧＶＰＨＩＶＭＶＤＡＹＫＲＹＫ

【０１９５】

配列番号６：Ｎ末端シグナル配列を有しない短半減期Ｈｅｒ２バリアント（ＳｐｙＴａｇ付き重鎖）。

【０１９６】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP
TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFY
AMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSRGVPHIVMVDAYKRYK

【０１９７】

各結合剤に関係するＤＮＡ配列を、まず、ＳｐｙＴａｇ配列を含むポリヌクレオチドとしてデノボ合成し、次いで、これをトランスフェクショングレードのエンドトキシン不含プラスミド（例えば、ｐＡｂ２０－ｈＣＬ－１）にクローニングした。これを次に、ＴｕｎａＣＨＯなどの許容的細胞株に一過性にトランスフェクトし、その後、これをＤＭＥＭ／Ｆ１２中で１４日間培養した後、タンパク質Ａ精製、サイズ排除クロマトグラフィー、及び超高速液体クロマトグラフィーを使用して、結合剤を精製する。同一性の確認は、質量分析法を使用して行った。追加の結合剤が開発及び合成されており、本明細書の配列番号８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、及び１８により開示される。

【０１９８】

実施例２－細胞のトランスフェクション及び拡大

多形核細胞又は富化Ｔ細胞のいずれかの調製物を、ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズを用いて２４時間活性化させた後、レトロネクチン又はポリブレンの存在下で更に２４時間、ＳｐｙＣａｔｃｈｅｒ構築物をコードするレンチウイルスにより形質導入し、そうしたらすぐに５０ＩＵ／ｍＬの組換えＩＬ－２を加える。ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズを７日間の連続培養後に除去し、Ｔ細胞を更に７日間培養する。形質導入効率を、細胞表面上のＳｐｙＣａｔｃｈｅｒの発現に基づいて決定し、Ｔ細胞の数及び表現型を、Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｃｏｕｒｔｅｒ及びマルチパラメータフローサイトメトリーを使用して決定する。

【０１９９】

実施例３－ＵＩＲ－Ｔ細胞のメトロノミック投薬

メトロノミック投薬がＵＩＲ－Ｔ細胞の持続性及び活性に与える影響を決定するために、免疫不全ＮＯＤ－ＳＣＩＤ－ガンマ（ＮＳＧ）マウスに、２～５×１０^{6}のＭＣＦ７又はＳＫＢＲ３乳がん細胞のいずれかを（乳房脂肪褥又は皮下注射を介して）注射する。腫瘍成長を２日ごとに測定する。腫瘍注射後５～１０日後、又は腫瘍が２０～３０ｍｍ^{3}に達したら、これらのマウスを０．５～１Ｇｙの全身照射で事前調整する。同じ日に、これらのマウスに、２１日間３日ごとにマウス当たり１２．５μｇ～５０μｇの濃度の抗Ｈｅｒ２－ＳＴ（ＳｐｙＴａｇ付き抗Ｈｅｒ２結合剤又は短半減期バージョン）とともに、事前武装ＵＩＲ　Ｔ細胞（２００μＬのＰＢＳ中１×１０^{7}個のＵＩＲ　Ｔ細胞）を静脈内に注射する（図１）。各投薬サイクルは２１日間継続する。

【０２００】

ＳＴ結合剤の不連続投薬が持続性及びＵＩＲ－Ｔ活性に与える影響も、２８日間の投薬プロトコルにおいて評価し、ここでは、腫瘍サイズが２０～３０ｍｍ^{3}に達したとき（０日目）に、事前武装ＵＩＲ　Ｔを投与し、抗Ｈｅｒ２－ＳＴ（又は短半減期バージョン）を、最初の１週間に２回（例えば、３日目及び６日目に）、マウス当たり１２．５μｇ～５０μｇの濃度で投与し、続いて２１日間の休薬期間を入れる（図２）。

【０２０１】

ＳＴ結合剤のインビボ武装化及び不連続投薬がＵＩＲ－Ｔの持続性及び細胞傷害性に与える影響も、更なる２８日間の投薬プロトコルにおいて評価し、ここでは、腫瘍サイズが２０～３０ｍｍ^{3}に達したとき（０日目）に、非武装ＵＩＲ　Ｔを投与し、抗Ｈｅｒ２－ＳＴ（又は短半減期バージョン）を、最初の１週間に３回（例えば、３日目及び６日目に）、マウス当たり１２．５μｇ～５０μｇの濃度で投与し、続いて２１日間の休薬期間を入れる（図３）。

【０２０２】

ＳＴ結合剤のインビボ武装化及び不連続投薬がＵＩＲ－Ｔの持続性及び細胞傷害性に与える影響も、更なる２８日間の投薬プロトコルにおいて評価し、ここでは、腫瘍サイズが２０～３０ｍｍ^{3}に達したとき（０日目）に、非武装ＵＩＲ　Ｔを投与し、抗Ｈｅｒ２－ＳＴ（又は短半減期バージョン）を、最初の１週間に３回（例えば、１日目、４日目、及び７日目に）、マウス当たり１２．５μｇ～５０μｇの濃度で投与し、続いて２１日間の休薬期間を入れる（図４）。

【０２０３】

ＳＴ結合剤のインビボ武装化及び不連続投薬がＵＩＲ－Ｔの持続性及び細胞傷害性に与える影響も、より長い５６日間の投薬プロトコルにおいて評価し、ここでは、腫瘍サイズが２０～３０ｍｍ^{3}に達したとき（０日目）に、非武装ＵＩＲ　Ｔを投与し、抗Ｈｅｒ２－ＳＴ（又は短半減期バージョン）を、最初の１週間に３回（例えば、１日目、４日目、及び７日目に）、マウス当たり１２．５μｇ～５０μｇの濃度で投与し、続いて４９日間の休薬期間を入れる（図５）。

【０２０４】

実施例４－ＵＩＲ－Ｔ細胞の抗腫瘍有効性及び投薬

材料及び方法

細胞株及びマウスモデル

ヒト乳がん細胞株ＭＤＡ－ＭＢ２３１をＡＴＣＣから調達し、ＮＯＤ－ＳＣＩＤガンマ（ＮＳＧ）マウスに接種するために使用した。各細胞株に対するＰＣＲ分析を定期的に行って、細胞株がマイコプラズマ陰性であることを確認した。全ての腫瘍細胞株を、１０％の熱不活性化されたウシ胎仔血清（ＦＢＳ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、２ｍＭグルタミン、０．１ｍＭ非必須アミノ酸、１０ｍＭ　４－（２－ヒドロキシエチル）－１－ピペラジンエタンスルホン酸（ＨＥＰＥＳ）、１００Ｕ／ｍＬペニシリン、及び１００μｇ／ｍＬストレプトマイシンを補充したＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ＵＳＡ）中で培養した。細胞を、３７℃、$CO_2$１０％の加湿したインキュベーター中で成長させた。他の細胞株には、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，ＵＳＡ）から入手した、レトロウイルス及びレンチウイルスパッケージ株、ＨＥＫ２９３ｇｐ、ＰＡ３１７、並びにＧＰ＋Ｅ８６が含まれる。ＧＰ＋Ｅ８６、ＰＡ３１７、ＨＥＫ２９３Ｔ、及びＨＥＫ２９３ｇｐを、上記の腫瘍細胞培地と同じ培地中に維持した。

【０２０５】

第３世代レンチウイルス産生

第３世代レンチウイルスエンベロープ、パッケージング、及び移送プラスミドを使用し、これらはＡｄｄｇｅｎｅから調達した。移入プラスミドは、ｐＵＬＴＲＡプラスミドの修飾バリアントであった。Ｔ１７５フラスコを、ポリＤ－リジン（５０μｇ／ｍＬ）で事前にコーティングし、２３００万個のＨＥＫ２９３Ｔパッケージ細胞を洗浄した後で播種した。２４時間後、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　３０００試薬を製造業者の指示に従って使用して、細胞を１：１：１：１のモル比のプラスミドでトランスフェクトした。ウイルス上清を、トランスフェクション後１日目、２日目、及び３日目に収集し、濾過し（０．４５μＭ）、Ｔａｋａｒａ　ＢｉｏからのＬｅｎｔｉ－Ｘ－Ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｅｒ試薬で濃縮した後、アリコートを－８０℃で凍結させた。

【０２０６】

ヒトＰＢＭＣのレンチウイルス形質導入

新鮮なドナーヒトＰＢＭＣを、１：　１比のＰＢＳで希釈することによって処理した後、Ｆｉｃｏｌｌ分離によって分離させた。白血球を血清及び赤血球から分離させ、収集した後、更なる赤血球溶解を行った。溶解後、細胞を、ＯＫＴ３（３０ｎｇ／ｍＬ）、６００ＩＵのヒトＩＬ－２、及び完全ＲＰＭＩ（１０％　ＦＣＳ、ピルビン酸ナトリウム、グルタマックス、ＮＥＡＡ、ＨＥＰＥＳ、及びペニシリン／ストレプトマイシン）培地で、１００万細胞／ｍＬの細胞濃度で、最低４８時間活性化させた。活性化後、活性化したＴ細胞を６００ＩＵのＩＬ－２とともに１００万Ｔ細胞／ｍＬで再播種した後、レンチブースト試薬（１：４００）とともに１ＭＯＩ機能力価のレンチウイルスを加えた。細胞に培地及びＩＬ－２を足し、最低７２時間培養した。

【０２０７】

フローサイトメトリー

収集した細胞を、最初にＦＡＣＳ緩衝液で洗浄し、次いで、氷上で３０分間、フルオロフォアにコンジュゲートした抗体で染色した。細胞をＦＡＣＳ緩衝液で少なくとも２回洗浄した後、ＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁させ、ビーズ（２０μＬ、約２０，０００ビーズ）を計数した。細胞内又は核内染色の場合、染色された細胞を、製造業者の指示に従って、それぞれＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓキット又はｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅキットを使用して、更に固定し、透過させた。その後、固定し透過された細胞を、室温で３０分間、フルオロフォアにコンジュゲートした抗体で更に染色した後、パーマ／洗浄緩衝液で少なくとも２回洗浄し、カウントビーズを用いてパーマ／洗浄緩衝液に最後に再懸濁させた。染色した試料を、ＢＤ　ＦＡＣＳｙｍｐｈｏｎｙ、ＦＡＣＳＦｏｒｔｅｓｓａ、又はＬＳＲ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で取得した。標的Ｔ細胞集団の数は、標的化集団の試料／ビーズ事象×事象における入力ビーズの数を使用して計算した。

【０２０８】

ＣＡＲ　Ｔ細胞と腫瘍細胞との共培養

ＯＫＴ３（１：１０００）によるヒトＣＡＲ　Ｔ細胞の直接活性化のために、平底９６ウェルプレートを少なくとも１時間３７℃で事前にコーティングした。腫瘍共培養のために、ＣＡＲ　Ｔ細胞及び腫瘍細胞を、平底９６ウェルプレート中で、５０，０００個の腫瘍細胞／ウェルとともに、様々なＥ：Ｔ比で、２００μＬの補充ＲＰＭＩ培地中で共培養した。細胞を、示すように、３７℃及び５％ＣＯ２で２４～７２時間共培養した。

【０２０９】

Ｉｎｃｕｃｙｔｅ殺傷アッセイ

まず腫瘍細胞を形質導入して、ＨＥＲ２にはＧＦＰ又はＥＧＦＲｖＩＩＩにはｍＣｈｅｒｒｙの蛍光マーカーに連結した標的抗原を発現させた。腫瘍を３８４ウェルプレートに５０００個の細胞／ウェルで一晩播種した後、製造業者によって提供されるＣａｓｐａｓｅ　３／７染料を推奨濃度で用いて、様々な比のＣＡＲ　Ｔ細胞を各ウェルに加えた。次いで、プレートを、５％CO_2、３７℃のインキュベーター内部に位置するｉｎｃｕｃｙｔｅマシンに加え、１～４時間ごとに合計２４～７２時間撮像した。画像を、Ｉｎｃｕｃｙｔｅ分析ソフトウェアで分析する。

【０２１０】

サイトカイン産生の定量化

収集した上清を、サイトメトリックビーズアレイ（ＣＢＡ）アッセイ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）によって分析した。１２．５μＬの上清をＶ底９６ウェルプレートに移した。試験した各サイトカインを含む標準物質の半系列希釈液を、最高濃度５０００ｐｇ／ｍＬでプレーティングした。製造業者の指示に従って、０．２５μＬのビーズ／サイトカイン／ウェルのサイトカイン特異的ビーズを含む捕捉カクテルを、Ｂ　Ｄビーズ緩衝溶液を用いてそれぞれ１２．５μＬ／ウェル（ヒト）まで作製し、各ウェルに加えた。次いで、プレートを最大１時間室温でインキュベートした。マウス又はヒトのサイトカインのＰＥ検出抗体カクテルのためのビーズと同じ体積を作製し、各ウェルに加えた。プレートを、再度、最大１時間室温の暗所でインキュベートした。最後に、細胞を、提供された洗

浄緩衝液で少なくとも２回洗浄した後、７５～１００μＬの洗浄緩衝液に再懸濁させ、ＢＤ　ＦａｃｓＶｅｒｓｅ（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）で分析し、データをＦＣＡＰソフトウェア（ＢＤ　ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で処理した。

【０２１１】

ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の「武装化」及び「事前武装化」、抗体結合剤の投薬スケジューリング

非武装のＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞は、ｓｐｙＣａｔｃｈｅｒ受容体ＣＡＲに結合した標的化抗体結合剤を有しず、腫瘍抗原に結合することができないため、腫瘍細胞を活性化することも殺傷することもできない。抗体結合剤を計１００ｎＭの濃度でＴ細胞培地（１０ｅ６／ｍＬ未満）中のＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞に加え、約３０分間３７℃にて５％ＣＯ２中でインキュベートすることにより、ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞を「武装化」すると、機能的なｓｐｙＣａｔｃｈｅｒ：ｓｐｙＴＡＧ受容体が形成される。「事前武装」ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞は、養子移植前にエクスビボで又は体／マウスの外で武装化されたＣＡＲ　Ｔ細胞である。抗体は、養子移入の前に洗い流す。

【０２１２】

腫瘍保持マウスの養子移入及び処置

ヒトＨＥＲ２抗原を皮下発現するように形質導入した２～５×１０６個のＭＤＡ－ＭＢ２３１乳がん細胞を、ＮＳＧマウスに注射した。腫瘍の確立後、続いてマウスを０．５ｇｙの全身照射の事前調整レジメンに供し、その後、２４時間ごとにマウス当たり２５，０００ＩＵのＩＬ－２の４用量を補充したＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の養子移入を行う。結合剤を、メトロノミッス投薬スケジュールに基づいて、腫瘍内、静脈内、又は腹腔内に送達した（図１１Ａ）。

【０２１３】

腫瘍浸潤免疫サブセットの分析

腫瘍浸潤ＣＡＲ　Ｔ細胞表現型を調べるために、マウスを安楽死させ、腫瘍又は脾臓を取り出した。腫瘍を機械的に消化させ、１ｍｇ／ｍＬのコラゲナーゼＩＶ型（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）及び０．０２ｍｇ／ｍＬのＤＮＡｓｅ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）を補充したＤＭＥＭを用いて、３７℃で一定に振盪しながら３０分間酵素的に消化させた。次いで、腫瘍単一細胞懸濁液を、７０μｍフィルターを通して濾過した後、フローサイトメトリー染色のためにアリコートする。脾臓も機械的に消化させ、７０μｍフィルターを通して濾過した後、染色する。

【０２１４】

結果

結合剤の投薬レジメンにより、インビボでの機能的ＵＩＲ発現が調節される。

上述したプロトコルを使用し、第３世代レンチウイルスを使用してＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞を生成し、抗ＦＬＡＧ抗体を使用して非抗原特異的ＯｍｎｉＣＡＲ受容体の形質導入効率及び発現を検出した（図６Ａ）。「非武装」ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞は、抗体結合剤成分を欠いており、そのため抗腫瘍応答を励起するために腫瘍抗原に結合することができない。抗ヒトＩｇＧ抗体を加えることで、それらが自発的にＯｍｎｉＣＡＲ受容体と複合体を形成するときに完全長抗体結合剤を検出することができるようになり、これにより、それぞれの標的抗原に対して完全に機能性である「武装」ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞が得られる（図６Ａ）。

【０２１５】

ヒトＨＥＲ２抗原に対する漸増濃度の抗体結合剤とともにインキュベートすることで、抗ＩｇＧによる検出が増加し、これは、ＣＤ８＋　ＦＬＡＧ＋ＣＡＲ　Ｔ細胞とＣＤ４＋　ＦＬＡＧ＋　ＣＡＲ　Ｔ細胞との両方における「武装」ＯｍｎｉＣＡＲ受容体の発現の増加に対応する（図６Ｂ）。武装受容体の発現の増加と相関して、ＨＥＲ２で形質導入した乳がん細胞株ＭＤＡ－ＭＢ２３１（ＭＤＡ－ＭＢ２３１－ＨＥＲ２）と共培養したときに３つの別個のドナーから生成されたＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞が活性化され、漸増濃度の機能性サイトカインＩＦＮγ、ＴＮＦ、及びＩＬ－２を分泌した（図６Ｃ）。ＯｍｎｉＣＡ

Ｒ　Ｔ細胞は、ＮＳＧマウスへの養子移入後に武装化することもできる。この目的で、１０００万～２０００万個のＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞をＮＳＧマウスに移入し、抗体結合剤を漸増濃度で３日ごとに投薬した。移入後１日目及び７日目に血液を収集し、「武装」ＦＬＡＧ＋　ＣＡＲ　Ｔ細胞を両方の時点で検出し、発現レベルは、増加した結合剤投薬濃度に対応した（図６Ｄ）。治療後１日目に、より高い投薬量の結合剤により、武装受容体の検出の増加（図６Ｅ）、並びに武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の早期拡大及び数（図６Ｆ）が得られた。同様に、７日目の武装受容体の発現（ＭＦＩ）は、結合剤の投薬量の増加に対応した（図６Ｄ）。

【０２１６】

結合剤の投与レジメンにより、インビボでＴ細胞のメモリー表現型、拡大、及び持続性が調節される。

ＯｍｎｉＣＡＲ療法の治療有効性を更に調査するために、ＮＳＧマウスにヒトＭＤＡ－ＭＢ２３１－ＨＥＲ２乳がん細胞を注射した。腫瘍が確立されたら、マウスを、ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞、及び抗ＨＥＲ２抗体結合剤の異なる用量及び投薬レジメンを用いて処置した（図７Ａ）。以前の観察と同様に、より高い投薬量の抗体結合剤により、マウスの末梢におけるＣＤ８＋　ＦＬＡＧ＋　ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の早期拡張が得られた（図７Ｂ）。５ｕｇ／マウス超の結合剤の投与により、「武装」ＯｍｎｉＣＡＲ受容体の発現がより大きくなり、これは、腫瘍保有マウス若しくは非腫瘍保有マウスのいずれかにおける結合剤の投薬、又は１週間超の投与間の長い間隔を置いた期間と一致していた（図７Ｃ）。

【０２１７】

用量及び投薬戦略を調節することで、インビボでＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞のメモリー表現型が調節され得、この効果は、腫瘍保持マウス及び非腫瘍保持マウスの背景で観察された（図７Ｄ）。結合剤の濃度が低いと、ＣＤ４５ＲＯ＋ＣＤ４５ＲＡ－Ｔエフェクターメモリー亜集団の％が事前武装単独よりも大きくなる一方、結合剤の濃度が高いと、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ４５ＲＯ－Ｔセントラルメモリー亜集団の％がより大きくなり、これは抗原非依存性であるように見える（図７Ｄ）。実際、高用量処置群において末梢で移入されたＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の７日目に観察された拡大の多くは抗原非依存性であり、ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞の拡大がＯｍｎｉＣＡＲ受容体からのシグナル伝達の調節に結び付けられる固有の特徴であることを示している（図７Ｅ）。

【０２１８】

結合剤の投薬レジメンにより、インビボでの抗腫瘍有効性が調節される

拡大及び機能の観察と一致して、事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞及び高用量の抗体結合剤で処置したマウスは、未処置のマウスと比較して抗腫瘍効果を媒介し、全体的な腫瘍サイズを低減させ得る（図８Ａ）。試験の終点で、脾臓及び腫瘍をマウスから単離した。予期したとおり、高い結合剤用量での処置により、脾臓における生着が低減した（図８Ｂ）。同様に、このパターンは、腫瘍内で検出された腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）の数に変換された（図８Ｃ）。より高い投薬量の結合剤により、機能的ＯｍｎｉＣＡＲ受容体発現の増加に起因した抗原特異的シグナル伝達の増加も駆動され、その結果、ＴＩＭ３＋ＰＤ１＋ＣＤ８＋ＦＬＡＧ＋ＣＡＲ　ＴＩＬの％が増加し得る（図８Ｄ）。

【０２１９】

提案されたレジメンの効果を、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）のモデルにおいても試験した。生物発光画像法を行って、ＡＭＬのマウスモデルにおける経時的な腫瘍負荷を決定した。ＮＳＧマウスに、５００万個のＫＧ－１細胞を与え、動物を未処置のままにした（対照）か、又はＣＡＲ－Ｔ移入後３日目、６日目、及び９日目に、事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ－Ｔ細胞並びに２５ｕｇのＣＤ３３及びＣＬＬ－１結合剤を与えた。対照群と比較した場合、ＣＡＲ－Ｔ移入後３日目、６日目、及び９日目に、事前武装ＯｍｎｉＣＡＲ－Ｔ細胞及び２５μｇのＣＤ３３及びＣＬＬ－１結合剤で処置したマウスにおいて、腫瘍成長に対する有意な効果が観察された（図８Ｅ）。

【０２２０】

結合剤の投薬レジメン又は特別な設計により、ＯｍｎｉＣＡＲ抗原非依存性シグナル伝達又は抗原依存性シグナル伝達が調節される

従来のＣＡＲ Ｔ又は非形質導入Ｔ細胞と比較して、養子移植後のＣＡＲ Ｔ細胞の優れた増殖を駆動するＯｍｎｉＣＡＲの固有の能力は、抗原非依存性であることが以前に示された（図７Ｄ）。関与する可能性のある機序を調査するために、活性化、増殖、又はチェックポイントＴ細胞マーカーの発現のレベルについて、ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞をインビトロで非形質導入又は従来のＣＡＲ Ｔ細胞と直接比較した。ＩＬ－２の存在下で刺激なしで７２時間超共培養した後、ＣＤ８とＣＤ４との両方、それぞれ非武装又は武装ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞は、非形質導入又は従来のＣＡＲ Ｔ細胞と比較したとき、活性化マーカーＴＩＭ３の発現を上方調節した（図９Ａ）。

【０２２１】

重要なことに、ＣＤ８及びＣＤ４武装ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞の両方が、それらの非武装の相対物と比較して、より高いレベルのＴｉｍ３を発現した（図９Ａ）。ＯＫＴ３（αＣＤ３）で７２時間超刺激すると、全てのＣＤ８＋群は、Ｔｉｍ３を同様のレベルに上方調節したが、非武装又は武装ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞の両方が全体的により高い発現を有した（図９Ａ）。興味深いことに、非武装及び武装ＣＤ４＋ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞の両方が、従来のＣＡＲ Ｔ細胞と比較して有意に高いＴｉｍ３発現を有し、ＯＫＴ３で刺激されると活性化のレベルがより高くなることを示した（図９Ａ）。第２の後期チェックポイント受容体であるＰＤ－１は、刺激なしではインビトロで高度に発現されなかったが、これは刺激すると上方調節されたものの、ＣＤ８＋画分における武装化によってはされなかった（図９Ｂ）。しかしながら、ＰＤ－１の発現は、ＣＤ４＋画分で顕著であり、非武装及び武装ＣＤ４＋ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞は、より高いレベルのＰＤ－１を発現し、刺激していない細胞における武装化により、ＰＤ－１発現が更に高くなった（図９Ｂ）。ＰＤ－１は、刺激したＣＤ４＋ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞において上昇し続けるが、武装ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞は、非武装と比較してＰＤ－１が低減し、これにより、ＣＤ４＋Ｔ細胞における武装ＯｍｎｉＣＡＲ受容体からのシグナル伝達が低減する可能性が示される（図９Ｂ）。

【０２２２】

まとめると、非武装又は武装ＯｍｎｉＣＡＲ受容体は、それぞれ、刺激していない又は刺激したＣＤ８又はＣＤ４画分に対して固有のシグナル伝達効果を有し、養子移入後のＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞産物の異なる画分を差別的に調節するための用途を強調する。ＣＤ８画分とＣＤ４画分との間の複雑な相互作用により、移入されたＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞の優れた増殖が駆動され得る。

【０２２３】

複数の腫瘍抗原を順次又は同時に標的化するためのメトロノミック投薬

ＯｍｎｉＣＡＲプラットフォームの利点は、複数の腫瘍抗原を、異なる抗体結合剤の順次又は同時投薬によって標的化できることである。ヒト膠芽腫細胞株Ｕ２５１ＭＧを修飾して、ヒトＨＥＲ２又は変異型ＥＧＦＲｖＩＩＩ受容体のいずれかを別々に発現させた。混合腫瘍共培養において、Ｕ２５１ＭＧ－ＨＥＲ２とＵ２５１ＭＧ－ＥＧＦＲｖＩＩＩとの両方が、安定した成長動態を有した（図１０Ａ）。ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞を、ヒトＨＥＲ２抗原のみに対して武装化した場合、混合腫瘍共培養において、Ｕ２５１ＭＧ－ＨＥＲ２細胞を発現するＨＥＲ２のみが排除された（図１０Ｂ）。同様に、ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞を変異型ＥＧＦＲｖＩＩＩ抗原のみに対して武装化した場合、混合腫瘍共培養物において、Ｕ２５１ＭＧ－ＥＧＦＲｖＩＩＩを発現するＥＧＦＲｖＩＩ細胞のみが排除された（図１０Ｃ）。最後に、異なる標的への抗原スイッチングを示すために、ＯｍｎｉＣＡＲ Ｔ細胞を標的とするＥＧＦＲｖＩＩＩを混合腫瘍アッセイにおいて共培養し、１００ｎＭのＨＥＲ２結合剤を２０時間後に加えた（図１０Ｄ）。ＨＥＲ２結合剤を加えるまで、ＥＧＦＲｖＩＩＩ発現腫瘍のみが排除されたが、ＣＡＲ Ｔ細胞殺傷は、ＨＥＲ２結合剤を加えた後にＨＥＲ２発現腫瘍にスイッチされ、これにより、抗原の迅速かつ効率的な標的化が順次行われることが示された（図１０Ｄ）。複数の腫瘍抗原を同時に標的化する

ために、ＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞を、３つ以上の異なる結合剤の等価レベルの発現及び共発現で、一度に２つ以上の抗体結合剤を用いて武装化することができる（図１０Ｅ）。最後に、ＨＥＲ２及びＥＧＦＲｖＩＩＩ抗体結合剤の存在は、それらの投与から２週間後にマウスの血清中で検出することができる（図１０Ｆ）。

【０２２４】

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）Ｔ細胞療法は、血液悪性腫瘍の治療において広く成功を収めており、複数の固形腫瘍を治療するための臨床試験中である。しかしながら、対処する必要がある独自の毒性及びその後の再発に関係するいくつかの課題がある。ユニバーサル免疫受容体は、急速に出現する養子免疫療法の武装形態であり、これは、安全性の増加及び副作用の低減（注入後のＣＡＲ応答のオン／オフのスイッチング）、並びに腫瘍再発をもたらす腫瘍逃避機序（抗原喪失又は抗原不均一性など）を克服するための複数の腫瘍抗原を標的とすることによって、これらの課題に対処する可能性を有する。加えて、ユニバーサルＣＡＲ　Ｔ細胞は、現在臨床にある従来のＣＡＲ療法と比較して、はるかに大きな汎用性、低コスト、及び既製品有用性を有する可能性があり得る。したがって、図１１Ａで強調されているメトロノミック投薬戦略は、インビトロ及びインビボでの抗原特異的機能性ＵＩＲ発現の発現を調節する能力だけでなく、インビボでのＴ細胞のメモリー分化、拡大、及び持続を調節する能力をＯｍｎｉＣＡＲ　Ｔ細胞に与えることができる。

【０２２５】

投薬レジメンを、不連続投与、連続投与、若しくは定期投与をとおして、時間的に調節することにより、又は投薬濃度を調節することにより（図１１Ａ）、抗原非依存性トニックシグナル伝達及び抗原依存性ＣＡＲシグナル伝達の強度を直接的又は間接的に調節して、最適なＴ細胞メモリーサブセット、Ｔ細胞活性化、及び抗腫瘍機能の維持につなげることが可能である（図１１Ｂ）。ＯｍｎｉＣＡＲプラットフォームに固有なのは、抗原非依存性トニックシグナル伝達を調節する能力であり、これは、強固なアーキテクチャ、したがって固定レベルのトニックシグナル伝達を有する従来のＣＡＲ　Ｔ細胞よりも高いレベルで、改善された安全性、抗腫瘍活性、及びＴ細胞拡大を駆動する（図１１Ｂ）。抗原標的間で迅速かつ効率的に連続してスイッチングする能力、又は複数の腫瘍抗原を同時に標的化するように２つ以上の抗原結合剤で武装化することにより、複数の抗原を標的化することもできる（図１０Ａ～Ｅ）。結論として、これらの知見は、養子移植後の抗腫瘍治療応答を微調整するためのＯｍｎｉＣＡＲ　ＵＩＲプラットフォームの柔軟性と相乗的に組み合わせる戦略として、メトロノミック投薬を支持している。

【０２２６】

当業者であれば、広く説明した本発明の主旨又は範囲から逸脱することなく、特定の実施形態に示されている本発明に対して多数の変形及び／又は変更を行うことができることを理解する。したがって、本実施形態は、全ての点で例示的であり、限定的ではないものとみなされるべきである。

【０２２７】

本明細書で説明及び／又は参照される全ての刊行物は、それらの全体が本明細書に組み込まれる。

【０２２８】

本明細書に含まれている文書、行為、材料、デバイス、物品などのいずれの考察も、本発明の背景を提供する目的であるにすぎない。これらの事項のいずれか又は全てが、先行技術の基礎の一部を形成していること、又は本出願の各請求項の優先日前に存在した本発明に関連する分野における共通一般的知識であったことを認めるものとして解釈されるべきではない。

【０２２９】

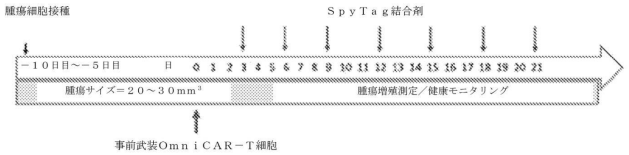
参照文献

Ｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．（１９９８）Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ　Ｐｒｏｃ．３０：３９７５－３９７７．
Ｄａｔｔａ　ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｙａｌｅ　Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｍｅｄ　８７：４９１

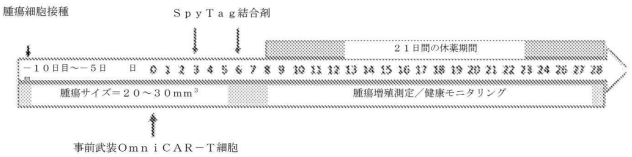
－５１８．
Ｇａｒｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈ．２２７：５３－６３．
Ｇｈｏｓｈ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌｏｇｙ ５：５０５－５１０．
Ｈａａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９０：１３１９－１３２８．
Ｌｕｉ ｅｔ ａｌ．（２０２１）Ｊ Ｈｅｍａｔ Ｏｎｃｏｌ １４：７．
Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ ３１９：１６７６．
Ｓａｂａｄｏ ｅｔ ａｌ．（２０１７）Ｃｅｌｌ Ｒｅｓ ２７：７４－９５．
Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｃｌｉｎｉｃａｌ ＆ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４：ｅ３１．
Ｖｅｇｇｉａｎｉ ｅｔ ａｌ．（２０１６）ＰＮＡＳ １１３：１２０２－１２０７．

【図面】

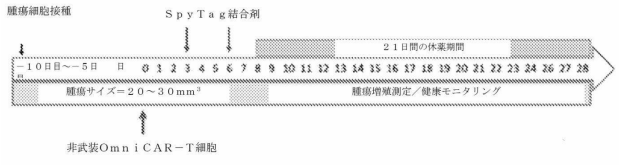
【図１】



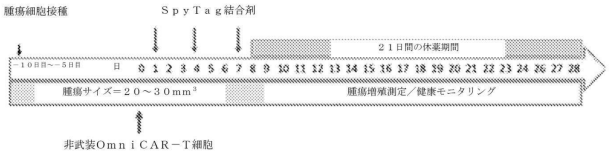
【図２】



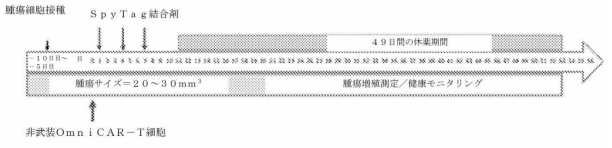
【図３】



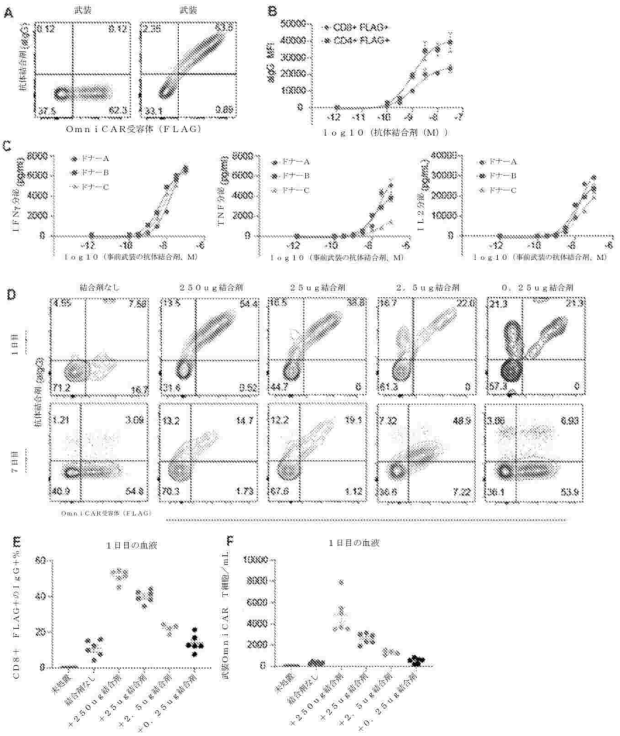
【図４】



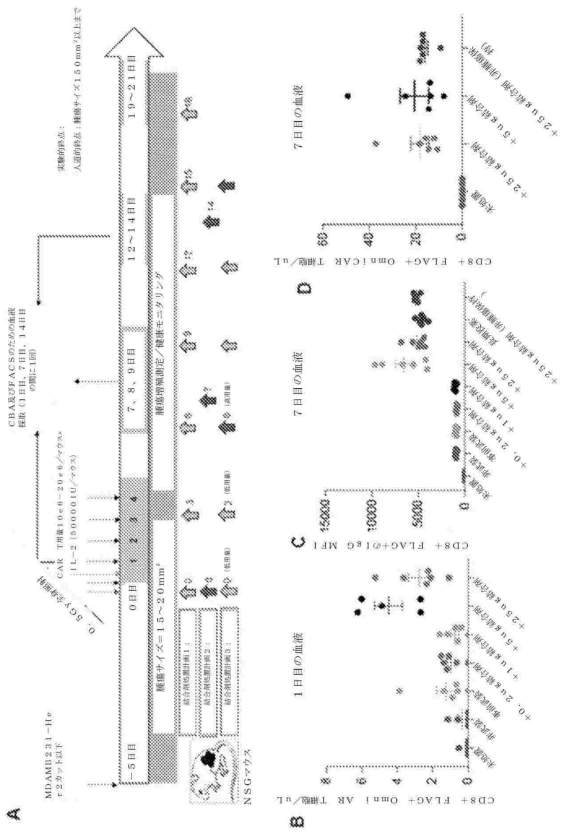
【図５】


腫瘍細胞接種
ＳｐｙＴａｇ結合剤
４９日間の休薬期間
腫瘍サイズ＝２０～３０ｍｍ³
腫瘍増殖測定／健康モニタリング
非武装ＯｍｎｉＣＡＲ－Ｔ細胞

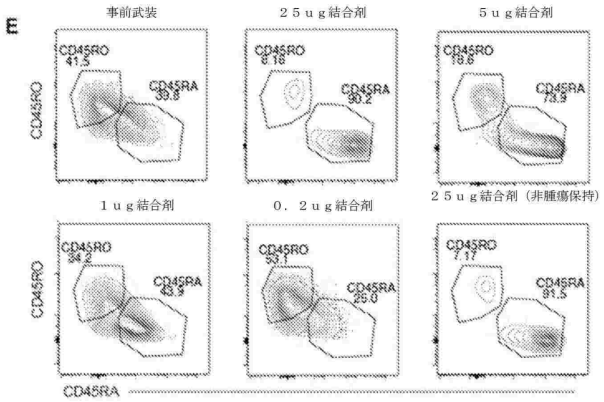
【図６】


A
武装
武装
B
CD8+ FLAG+
CD4+ FLAG+
OmniCAR受容体（FLAG）
log10（抗体結合剤（M））
C
ドナーA
ドナーB
ドナーC
log10（事前武装の抗体結合剤，M）
D
結合剤なし
２５０ｕｇ結合剤
２５ｕｇ結合剤
２．５ｕｇ結合剤
０．２５ｕｇ結合剤
１日目
７日目
E
１日目の血液
F
１日目の血液

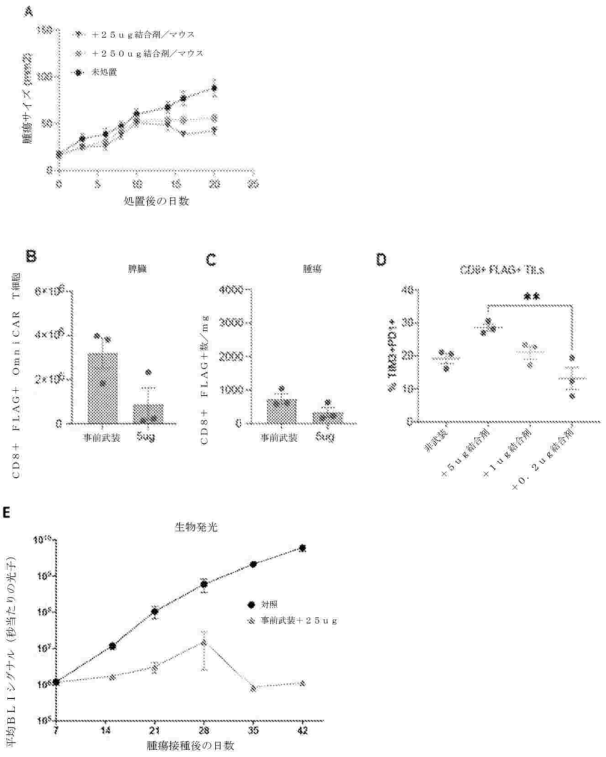
【図７－１】


A
B
C
D
７日目の血液
１日目の血液
NSGマウス

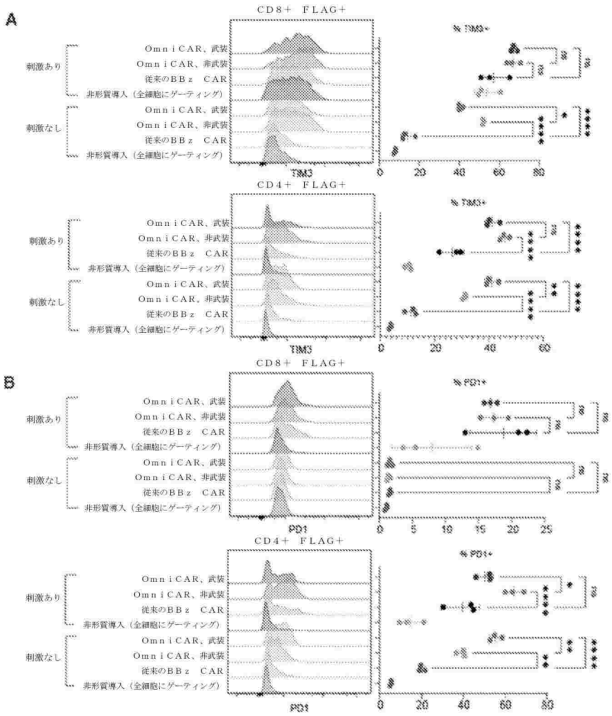
【図７－２】


E
事前武装
２５ｕｇ結合剤
５ｕｇ結合剤
１ｕｇ結合剤
０．２ｕｇ結合剤
２５ｕｇ結合剤（非腫瘍保持）
CD45RO
CD45RA

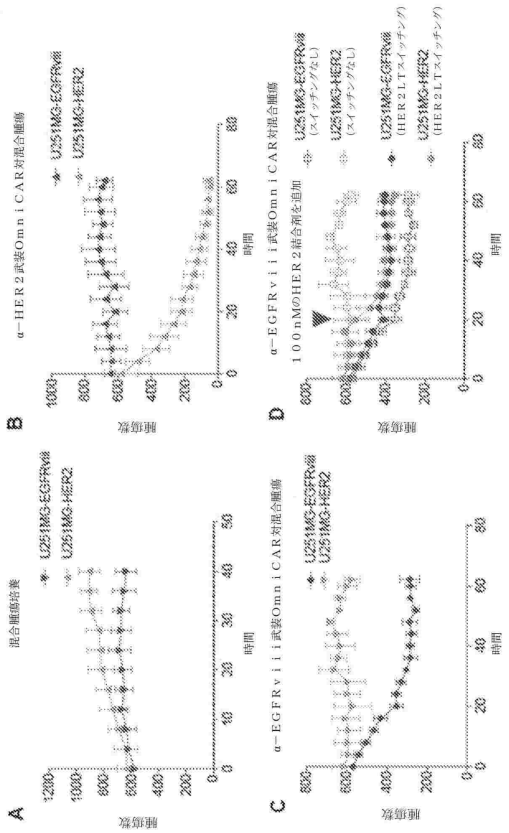
【図８】



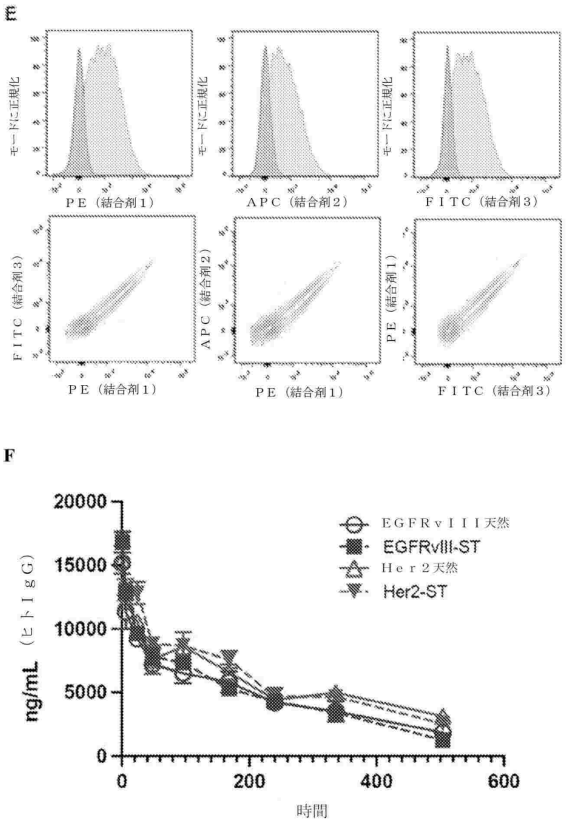
【図９】



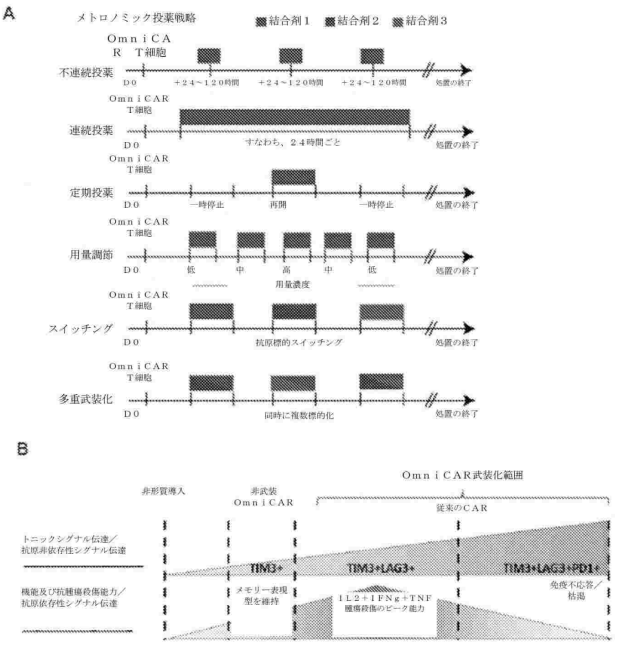
【図１０－１】



【図１０－２】



【図１１】



【配列表】

<u>２０２４５２７９６３０００００１．ｘｍｌ</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU2022/050795

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/17 (2015.01) ***A61P 35/00 (2006.01)*** ***A61P 35/02 (2006.01)*** ***C07K 16/28 (2006.01)*** ***C07K 16/32 (2006.01)*** ***C07K 14/47 (2006.01)*** ***C07K 14/705 (2006.01)*** ***C07K 14/715 (2006.01)***

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)

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)

DATABASES: MEDLINE, EPODOC, WPIAP, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, GENOMEQUEST (nucleic acid and protein databases). KEYWORDS: Universal immune receptor, chimeric antigen receptor, CAR-T, OmniCART, SpyCatcher, SpyTag, T cell, immune cell, EGFRvIII, HER2, IL-13Rα2 CD33, CLL1, antibody, immunoglobulin as well as synonyms and similar terms. SEQ ID NO. 5-18. Applicant and/or Inventor searches of the patent and non-patent literature was performed in DOCDB and DWPI, PubMed, and in internal databases provided by IP Australia.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C [X] 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
20 October 2022	20 October 2022
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustralia.gov.au	**Authorised officer** Monica Graham AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61 2 6283 3179

Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		International application No. PCT/AU2022/050795
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2017/112784 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 29 June 2017 (D1: see abstract, summary of the invention, page 56 lines 30-34, page 57 lines 14-17, claims, Figure 1). as above	54 and 59-63 1-53
X Y	Prescient Therapeutics Announcement: "Prescient Announces Internal OmniCAR Programs for Three Next-Gen CAR-T Therapies" & OmniCAR Development Program 18 January 2021. Retrieved online Oct 2022: https://www.listcorp.com/asx/ptx/prescient-therapeutics-limited/news/ptx-announces-3-next-gen-car-t-programs-with-omnicar-2495006.html (D2: see pages 1-2, and sections: Strategy Overview, AML OmniCAR CD43/CLL-1, GBM OmniCAR Her2/EGFRviii). as above	54-63 1-53
X Y	MINUTOLO N.G, et al. "Quantitative Control of Gene-Engineered T-Cell Activity through the Covalent Attachment of Targeting Ligands to a Universal Immune Receptor." J Am Chem Soc. 2020 Apr 8;142(14):6554-6568. doi: 10.1021/jacs.9b11622. Epub 2020 Mar 30. (D3: see abstract, Introduction, Experimental: whole Section; Results Section: In Vivo Efficacy in Xenograft Tumor Models; Figure 5). as above	54 and 59-63 1-53
X	WO 2012/082841 A2 (UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE) 21 June 2012 (D4: see abstract, paragraphs [0043]-[0047], [0058]-[0062] and claims).	63
X	LIM R.M, et al. "A Universal CAR-NK Cell Targeting Various Epitopes of HIV-1 gp160." J.ACS Chem Biol. 2020 Aug 21;15(8):2299-2310. doi: 10.1021/acschembio.0c00537. Epub 2020 Jul 28. (D5: see Abstract, Introduction and Results).	63
X	WO 2020/072764 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH-OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 09 April 2020 (D6: see abstract, pages 2-3, 10-13 and 31-33, claims).	63
X	WO 2018/160993 A1 (OBSIDIAN THERAPEUTICS) 07 September 2018 (D7: see SEQ ID NOs. 383, 385, 387, 401, 403, 404, 408, 411, 412, 418, 419, 421 and claims).	63
A	WO 2021/007428 A2 (THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY; Y-TRAP, INC.) 14 January 2021 (D8: see SEQ ID NO. 60, 289, 294, 296, 297, 298, 299, 300, 482, 484, 485 and 487 and 482-485)	54-63
P,X	WO 2021/151038 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 29 July 2021 (D9: see whole document)	1-53 and 63

Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU2022/050795

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

   Genomequest search for SEQ ID NOs 5-18 and the SpyTag sequence

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU2022/050795

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:
the subject matter listed in Rule 39 on which, under Article 17(2)(a)(i), an international search is not required to be carried out, including

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 Supplemental Box for Details

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 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.:

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/AU2022/050795

Supplemental Box

Continuation of: **Box III**

This International Application does not comply with the requirements of unity of invention because it does not relate to one invention or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

This Authority has found that there are different inventions based on the following features that separate the claims into distinct groups:

1) Claims 1-53 and 63 are directed to methods of treating a disease or stimulating an immune response by administering immune cells comprising a universal immune receptor to the subject, wherein the universal immune receptor may or may not be covalently bound to a molecule which comprises a domain which binds an antigen associated with the disease. Also the use of said immune cells and pharmaceutical composition comprising said immune cells.

2) Claims 54-62 are directed to a substantially purified and/or recombinant polypeptide comprising a heavy or light chain sequence as defined by SEQ ID NO: 5-18 which is capable of covalently binding to a protein comprising Spycatcher and binding to HER2, EGFRvIII, IL-13Ra2, CD33 or CLL1. This group could be further sub-divided into polypeptides specific for each of the targeting moiety eg. HER2, EGFRvIII, IL-13Ra2, CD33 and CLL1.

PCT Rule 13.2, first sentence, states that unity of invention is only fulfilled when there is a technical relationship among the claimed inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. PCT Rule 13.2, second sentence, defines a special technical feature as a feature which makes a contribution over the prior art.

When there is no special technical feature common to all the claimed inventions there is no unity of invention.

In the above groups of claims, the identified features may have the potential to make a contribution over the prior art but are not common to all the claimed inventions and therefore cannot provide the required technical relationship. Therefore there is no special technical feature common to all the claimed inventions and the requirements for unity of invention are consequently not satisfied *a priori*.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members	International application No. PCT/AU2022/050795

This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	**Publication Date**	**Publication Number**	**Publication Date**
WO 2017/112784 A1	29 June 2017	WO 2017112784 A1	29 Jun 2017
		US 2019389925 A1	26 Dec 2019
		US 11377481 B2	05 Jul 2022
		US 2022281944 A1	08 Sep 2022
WO 2012/082841 A2	21 June 2012	WO 2012082841 A2	21 Jun 2012
		AU 2011343887 A1	04 Jul 2013
		AU 2011343887 B2	16 Jun 2016
		CA 2821080 A1	21 Jun 2012
		CA 3102782 A1	21 Jun 2012
		EP 2651442 A2	23 Oct 2013
		EP 2651442 B1	22 Apr 2020
		EP 3693017 A1	12 Aug 2020
		JP 2014504294 A	20 Feb 2014
		JP 5897035 B2	30 Mar 2016
		US 2013287752 A1	31 Oct 2013
		US 9233125 B2	12 Jan 2016
		US 2016129109 A1	12 May 2016
		US 10973893 B2	13 Apr 2021
		US 2021330769 A1	28 Oct 2021
WO 2020/072764 A1	09 April 2020	WO 2020072764 A1	09 Apr 2020
		CA 3112212 A1	09 Apr 2020
		EP 3861024 A1	11 Aug 2021
		US 2022267435 A1	25 Aug 2022
WO 2018/160993 A1	07 September 2018	WO 2018160993 A1	07 Sep 2018
		AU 2018226857 A1	19 Sep 2019
		AU 2018227583 A1	17 Oct 2019
		CA 3055200 A1	07 Sep 2018
		CA 3055202 A1	07 Sep 2018
		CN 110831961 A	21 Feb 2020

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members	International application No. PCT/AU2022/050795

This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	**Publication Date**	**Publication Number**	**Publication Date**
		CN 110913954 A	24 Mar 2020
		EA 201991827 A1	02 Mar 2020
		EP 3589373 A1	08 Jan 2020
		EP 3589646 A1	08 Jan 2020
		JP 2020511528 A	16 Apr 2020
		JP 2020511529 A	16 Apr 2020
		JP 2021088598 A	10 Jun 2021
		KR 20200010181 A	30 Jan 2020
		SG 10202001869V A	29 Apr 2020
		SG 11201907922P A	27 Sep 2019
		US 2020172879 A1	04 Jun 2020
		US 2022213449 A1	07 Jul 2022
		WO 2018161000 A1	07 Sep 2018
		WO 2018161017 A1	07 Sep 2018
		WO 2018161026 A1	07 Sep 2018
		WO 2018161038 A1	07 Sep 2018
WO 2021/007428 A2	14 January 2021	WO 2021007428 A2	14 Jan 2021
		EP 3996730 A2	18 May 2022
		US 2021107969 A1	15 Apr 2021
WO 2021/151038 A1	29 July 2021	WO 2021151038 A1	29 Jul 2021
		AU 2021209950 A1	01 Sep 2022
		BR 112022014540 A2	20 Sep 2022
		CA 3168878 A1	29 Jul 2021
		IL 295036 A	01 Sep 2022
		KR 20220132577 A	30 Sep 2022

End of Annex

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K 16/30 (2006.01)		C07K	16/30		4H045
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z	
C12N 1/15 (2006.01)		C12N	1/15		
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19		
C12N 1/21 (2006.01)		C12N	1/21		
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10		
C07K 14/725(2006.01)		C07K	14/725		
C07K 14/705(2006.01)		C07K	14/705		
C12N 15/11 (2006.01)		C12N	15/11	Z	
C12N 5/0783(2010.01)		C12N	5/0783		
C12P 21/02 (2006.01)		C12P	21/02	C	
C07K 14/00 (2006.01)		C07K	14/00		
A61K 45/00 (2006.01)		A61K	45/00		
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	47/68		
C12P 21/08 (2006.01)		C12P	21/08		

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

ード １００，４階，プレシャント セラピューティクス リミテッド内

(72)発明者 リム，レベッカ
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロード １００，４階，プレシャント セラピューティクス リミテッド内

(72)発明者 ダーシー，フィリップ ケー．
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロード １００，４階，プレシャント セラピューティクス リミテッド内

(72)発明者 シェリー，ダニエル エイ．
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロード １００，４階，プレシャント セラピューティクス リミテッド内

(72)発明者 セク，ケビン
オーストラリア国 ３２０５ ビクトリア州，サウス メルボルン，アルバート ロード １００，４階，プレシャント セラピューティクス リミテッド内

Ｆターム（参考） 4B064 AG20 AG27 CA19 CC24 DA05
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA92Y AA94Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44
4C076 AA95 CC04 CC07 CC27 CC31 EE59
4C084 AA19 NA05 ZB11 ZB26 ZB27 ZB31
4C087 AA01 AA02 BB37 BB64 BB65 CA04 NA14 ZB09 ZB11 ZB26 ZB27 ZB31
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA54 CA40 DA50 DA76 DA86 EA28 FA74