

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年9月26日(2019.9.26)

【公表番号】特表2018-527932(P2018-527932A)

【公表日】平成30年9月27日(2018.9.27)

【年通号数】公開・登録公報2018-037

【出願番号】特願2018-511706(P2018-511706)

【国際特許分類】

C 1 2 N	5/0783	(2010.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	37/08	(2006.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	5/0783	Z N A
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 Q	1/686	Z
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	37/08	
A 6 1 K	35/17	
G 0 1 N	33/53	K
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/09	Z

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月15日(2019.8.15)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒトCD8<sup>+</sup>CD45RC<sup>10w</sup>T制御性(Treg)細胞の単離集団であって、好ましくは前記Treg細胞がGITR<sup>+</sup>および/またはFoxp3<sup>+</sup>である、単離集団。

【請求項2】

前記Treg細胞が、キメラ抗原受容体(CAR)またはキメラ自己抗体受容体(CAAR)を含む遺伝子改変されたTreg細胞である、請求項1に記載の単離集団。

【請求項3】

ヒト末梢血単核細胞(PBMC)またはリンパ球を含有する生体試料から、場合によりGITR<sup>+</sup>および/またはFoxp3<sup>+</sup>である、IFN<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒトCD8<sup>+</sup>CD45RC<sup>10w</sup>Treg細胞を検出および/または単離するための方法であって、以下のステップ:

(a) ヒトPBMCまたはリンパ球の前記集団を、ヒトCD8<sup>+</sup>CD45RC<sup>10w</sup>T

reg 細胞の集団を単離するのに有用な手段と、場合により GITR<sup>+</sup> および / または Foxp3<sup>+</sup> の CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の集団を単離するのに有用な手段と、接触させるステップ；

(b) ステップ (a) で得られたヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の単離集団を、IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞を単離するのに有用な手段と接触させるステップ、を含む方法。

#### 【請求項 4】

前記ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の集団を単離するのに有用な手段が、モノクローナル抗ヒト CD3 抗体、モノクローナル抗ヒト CD8 抗体およびモノクローナル抗ヒト CD45RC 抗体からなり、場合により抗ヒト GITR 抗体をさらに含む、少なくとも 3 つの抗体の組み合わせであり、

前記 IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞を単離するのに有用な手段は、IFN<sup>+</sup> と T 細胞に特異的な細胞表面分子（例えば、CD3、CD8、CD45）とに結合する二重特異性抗体、IL-10 と T 細胞に特異的な細胞表面分子（例えば、CD3、CD8、CD45）とに結合する二重特異性抗体および IL-34 と T 細胞に特異的な細胞表面分子（例えば、CD3、CD8、CD45）とに結合する二重特異性抗体からなる群から選択される少なくとも 2 つの二重特異性抗体の組み合わせである、

請求項 3 に記載の方法。

#### 【請求項 5】

IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の単離集団を、Treg 細胞を増幅させるのに適した培地と接触させるステップを含む、場合により GITR<sup>+</sup> および / または Foxp3<sup>+</sup> である、IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞を増幅させるための方法。

#### 【請求項 6】

前記 IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の単離集団が、凍結され、続いて解凍された後、Treg 細胞を増幅させるのに適した培地と接触させられる、請求項 5 に記載の方法。

#### 【請求項 7】

前記 Treg 細胞を増幅させるのに適した培地が、抗原、細胞、MHC ポリマーおよび抗体からなる群から選択される少なくとも 1 種の抗原特異性刺激剤を含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

#### 【請求項 8】

前記培地が、少なくとも 1 種のサイトカインを含み、好ましくは前記培地が、一定量のインターロイキン-2 (IL-2) および / または一定量のインターロイキン-15 (IL-15) を含む、請求項 5 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

#### 【請求項 9】

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) またはリンパ球を含有する生体試料から CD8<sup>+</sup> GITR<sup>+</sup> Treg 細胞を単離すること、場合によりヒト末梢血単核細胞 (PBMC) またはリンパ球を含有する生体試料から CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> GITR<sup>+</sup> Treg 細胞を単離すること、

場合により前記単離された Treg 細胞を凍結し、続いて解凍すること、および前記細胞を培養で増幅させること、を含む、IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の集団を生成するための方法。

#### 【請求項 10】

増幅された IFN<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> IL-34<sup>+</sup> 分泌ヒト CD8<sup>+</sup> CD45RC<sup>1°w</sup> Treg 細胞の単離集団であって、好ましくは前記 Treg 細胞が GITR<sup>+</sup> および / または Foxp3<sup>+</sup> である、単離集団。

**【請求項 11】**

前記 T reg 細胞が、抗原特異性である、および / または C A R もしくは C A A R を含む遺伝子改変された T reg 細胞である、請求項 10 に記載の単離集団。

**【請求項 12】**

請求項 1 または 2 に記載の IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団あるいは請求項 10 または 11 に記載の増幅された IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団と、少なくとも 1 種の医薬的に許容できる担体と、を含む医薬組成物。

**【請求項 13】**

医薬として使用するための、請求項 1 または 2 に記載の IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団あるいは請求項 10 または 11 に記載の増幅された IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団。

**【請求項 14】**

必要とする患者において移植片拒絶、GVHD、慢性炎症性疾患、自己免疫疾患、治療性タンパク質への望まない免疫反応、またはアレルギーを予防または処置するための方法における使用のための、請求項 1 または 2 に記載の IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団あるいは請求項 10 または 11 に記載の増幅された IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の単離集団。

**【請求項 15】**

患者に、移植片拒絶、GVHD、慢性炎症性疾患、自己免疫疾患、治療性タンパク質への望まない免疫反応、またはアレルギーのリスクがあるか否かを決定するためのインビトロ法であって、請求項 3 または 4 に記載の方法により前記患者から得られた生体試料中の IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の存在を決定するステップを含み、IFN <sup>+</sup> IL - 10 <sup>+</sup> IL - 34 <sup>+</sup> 分泌ヒト CD8 <sup>+</sup> CD45RC <sup>1 ° w</sup> T reg 細胞の存在が、移植片拒絶、GVHD、慢性炎症性疾患、自己免疫疾患、治療性タンパク質への望まない免疫反応、またはアレルギーのリスクの低減を示す、インビトロ法。