

【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4年12月2日(2022.12.2)

【国際公開番号】WO2020/131547
 【公表番号】特表2022-514023(P2022-514023A)
 【公表日】令和4年2月9日(2022.2.9)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-024
 【出願番号】特願2021-535083(P2021-535083)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 5/078(2010.01)
 C 1 2 N 5/10(2006.01)
 A 6 1 P 35/00(2006.01)
 A 6 1 K 35/17(2015.01)
 A 6 1 P 43/00(2006.01)
 A 6 1 P 37/04(2006.01)
 C 0 7 K 16/18(2006.01)
 C 0 7 K 14/47(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/078 Z N A
 C 1 2 N 5/10
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 35/17 Z
 A 6 1 P 43/00 1 0 7
 A 6 1 P 37/04
 C 0 7 K 16/18
 C 0 7 K 14/47

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年11月24日(2022.11.24)

30

【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】

腫瘍浸潤リンパ球(TIL)を治療用TIL集団に拡大培養する方法であって、
 (a) 対象から得られた腫瘍サンプルを処理して複数の腫瘍断片にすることにより、前記対象から切除された腫瘍から第1のTIL集団を得ること；

40

(b) IL-2、OKT-3及び抗原提示細胞(APC)を含む細胞培養培地中で前記第1のTIL集団を培養することにより、第1の初回刺激拡大培養を実施して、第2のTIL集団を生じさせること、ここで、前記第1の初回刺激拡大培養は、第1のガス透過性表面積を含む容器内で実施され、前記第1の初回刺激拡大培養は、前記第2のTIL集団を得るために約1~7日間の第1の期間にわたって実施され、前記第2のTIL集団は、数において前記第1のTIL集団よりも多い；

(c) 前記第2のTIL集団の前記細胞培養培地にIL-2、OKT-3及びAPCを補充することにより、第2の急速拡大培養を実施して、第3のTIL集団を生じさせること、ここで、前記第2の急速拡大培養で添加されたAPCの数は、ステップ(b)で添加されたAPCの数の少なくとも2倍であり、前記第2の急速拡大培養は、前記第3のTIL

50

集団を得るために約 1 ~ 11 日間の第 2 の期間にわたって実施され、前記第 3 の T I L 集団は、治療用 T I L 集団であり、前記第 2 の急速拡大培養は、第 2 のガス透過性表面積を含む容器内で実施される；

(d) ステップ (c) から得られた前記治療用 T I L 集団を回収すること；

(e) 直交性 I L - 2 R を発現するように前記 T I L を操作すること；及び

(f) 前記回収及び操作された T I L 集団を輸注バッグに移すこと

を含む方法。

【請求項 2】

腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) を治療用 T I L 集団に拡大培養する方法であって、

(a) 対象から得られた腫瘍サンプルを処理して複数の腫瘍断片にすることにより、前記対象から切除された腫瘍から第 1 の T I L 集団を得ること； 10

(b) I L - 2、O K T - 3 を含み、且つ任意選択により抗原提示細胞 (A P C) を含む細胞培養培地中で前記第 1 の T I L 集団を培養することにより、第 1 の初回刺激拡大培養を実施して、第 2 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、前記第 2 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 7 日間の第 1 の期間にわたって実施され、前記第 2 の T I L 集団は、数において前記第 1 の T I L 集団よりも多い；

(c) 前記第 2 の T I L 集団を、直交性 I L - 2、O K T - 3 及び A P C を含む細胞培養培地と接触させることにより、第 2 の急速拡大培養を実施して、第 3 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 2 の急速拡大培養は、前記第 3 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 11 日間の第 2 の期間にわたって実施され、前記第 3 の T I L 集団は、治療用 T I L 20 集団である；

(d) 直交性 I L - 2 R を発現するように前記 T I L を操作すること；及び

(e) ステップ (d) から得られた前記治療用 T I L 集団を回収すること

を含み、任意選択により、ステップ (b) において、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞 (A P C) をさらに含み、ステップ (c) の前記培養培地中の A P C の数は、ステップ (b) の前記培養培地中の A P C の数よりも大きい、方法。

【請求項 3】

腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) を治療用 T I L 集団に拡大培養する方法であって、

(a) I L - 2、O K T - 3 及び抗原提示細胞 (A P C) を含む細胞培養培地中において、第 1 の T I L 集団であって、対象から切除された腫瘍からの腫瘍サンプルを処理して複数の腫瘍断片にすることによって得ることができる第 1 の T I L 集団を培養することにより、第 1 の初回刺激拡大培養を実施して、第 2 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、第 1 のガス透過性表面積を含む容器内で実施され、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、前記第 2 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 7 日間の第 1 の期間にわたって実施され、前記第 2 の T I L 集団は、数において前記第 1 の T I L 集団よりも多い； 30

(b) 前記第 2 の T I L 集団を、追加的な I L - 2、O K T - 3 及び A P C を有する前記第 2 の T I L 集団の細胞培養培地に接触させることにより、第 2 の急速拡大培養を実施して、第 3 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 2 の急速拡大培養における A P C の数は、ステップ (a) における A P C の数の少なくとも 2 倍であり、前記第 2 の急速 40 拡大培養は、前記第 3 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 11 日間の第 2 の期間にわたって実施され、前記第 3 の T I L 集団は、治療用 T I L 集団であり、前記第 2 の急速拡大培養は、第 2 のガス透過性表面積を含む容器内で実施される；

(c) ステップ (b) から得られた前記治療用 T I L 集団を回収すること；及び

(d) 直交性 I L - 2 R を発現するように、ステップ (c) で生じられた前記 T I L を操作することを含む方法。

【請求項 4】

腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) を治療用 T I L 集団に拡大培養する方法であって、

(a) I L - 2、O K T - 3 を含み、且つ任意選択により抗原提示細胞 (A P C) を含む 50

細胞培養培地中で第1のTIL集団を培養することにより、第1の初回刺激拡大培養を実施して、第2のTIL集団を生じさせること、ここで、前記第1の初回刺激拡大培養は、前記第2のTIL集団を得るために約1～7日間の第1の期間にわたって実施され、前記第2のTIL集団は、数において前記第1のTIL集団よりも多い；

(b) 前記第2のTIL集団を、IL-2、OKT-3及びAPCを含む細胞培養培地と接触させることにより、第2の急速拡大培養を実施して、第3のTIL集団を生じさせること、ここで、前記第2の急速拡大培養は、前記第3のTIL集団を得るために約1～11日間の第2の期間にわたって実施され、前記第3のTIL集団は、治療用TIL集団である；

(c) ステップ(b)から得られた前記治療用TIL集団を回収すること；及び

(d) 直交性IL-2Rを発現するように、ステップ(c)で生じられた前記TILを操作すること

を含み、任意選択により、ステップ(a)において、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞(APC)をさらに含み、ステップ(b)の前記培養培地中のAPCの数は、ステップ(a)の前記培養培地中のAPCの数よりも大きい方法。

10

20

30

40

50

【請求項5】

(i) 前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数と、前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数との比は、約1.5:1～約20:1の範囲から選択され、任意選択により、前記比は、約1.5:1～約10:1の範囲から選択されるか、

(ii) 前記比は、約2:1～約5:1の範囲から選択されるか、

(iii) 前記比は、約2:1～約3:1の範囲から選択されるか、

(iv) 前記比は、約2:1であるか、

(v) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 1.0×10^6 個のAPC/cm²～約 4.5×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 2.5×10^6 個のAPC/cm²～約 7.5×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択されるか、

(vi) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 1.5×10^6 個のAPC/cm²～約 3.5×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 3.5×10^6 個のAPC/cm²～約 6.0×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択されるか、

(vii) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 2.0×10^6 個のAPC/cm²～約 3.0×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 4.0×10^6 個のAPC/cm²～約 5.5×10^6 個のAPC/cm²の範囲から選択されるか、

(viii) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 1×10^8 個のAPC～約 3.5×10^8 個のAPCの範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 3.5×10^8 個のAPC～約 1×10^9 個のAPCの範囲から選択され、

(ix) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 1.5×10^8 個のAPC～約 3×10^8 個のAPCの範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 4×10^8 個のAPC～約 7.5×10^8 個のAPCの範囲から選択されるか、

(x) 前記第1の初回刺激拡大培養におけるAPCの数は、約 2×10^8 個のAPC～約 2.5×10^8 個のAPCの範囲から選択され、前記第2の急速拡大培養におけるAPCの数は、約 4.5×10^8 個のAPC～約 5.5×10^8 個のAPCの範囲から選択されるか、あるいは

(xi) 約 2.5×10^8 個のAPCは、前記第1の初回刺激拡大培養に添加され、及び 5×10^8 個のAPCは、前記第2の急速拡大培養に添加される、請求項1、2又は4に記載の方法。

【請求項6】

(i) 前記第 2 の T I L 集団中の T I L の数と、前記第 1 の T I L 集団中の T I L の数との比は、約 1 . 5 : 1 ~ 約 1 0 0 : 1 であるか、

(i i) 前記第 2 の T I L 集団中の T I L の数と、前記第 1 の T I L 集団中の T I L の数との比は、約 5 0 : 1 であるか、

(i i i) 前記第 2 の T I L 集団中の T I L の数と、前記第 1 の T I L 集団中の T I L の数との比は、約 2 5 : 1 であるか、

(i v) 前記第 2 の T I L 集団中の T I L の数と、前記第 1 の T I L 集団中の T I L の数との比は、約 2 0 : 1 であるか、

(v) 前記第 2 の T I L 集団中の T I L の数と、前記第 1 の T I L 集団中の T I L の数との比は、約 1 0 : 1 であるか、あるいは

(v i) 前記第 2 の T I L 集団は、数において前記第 1 の T I L 集団よりも少なくとも 5 0 倍多い、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記治療用 T I L 集団を回収する前記ステップ後、前記回収された治療用 T I L 集団を輸注バッグに移す追加的なステップを実施することを含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記複数の腫瘍断片は、複数の別個の容器に分配され、前記別個の容器のそれぞれにおいて、前記第 2 の T I L 集団は、前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップで前記第 1 の T I L 集団から得られ、及び前記第 3 の T I L 集団は、前記第 2 の急速拡大培養の前記

ステップで前記第 2 の T I L 集団から得られ、前記第 3 の T I L 集団から得られた前記治療用 T I L 集団は、前記複数の容器のそれぞれから収集され、且つ組み合わされて、前記

回収された T I L 集団をもたらし、

任意選択により、前記複数の別個の容器は、

(i) 少なくとも 2 つの別個の容器、

(i i) 2 ~ 2 0 個の別個の容器、

(i i i) 2 ~ 1 0 個の別個の容器、又は

(i v) 2 ~ 5 個の別個の容器、

を含み、

任意選択により、前記別個の容器のそれぞれは、第 1 のガス透過性表面積を含む、請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記複数の腫瘍断片は、単一の容器内に分配され、

任意選択により、前記単一の容器は、第 1 のガス透過性表面積を含む、請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞 (A P C) を含み、及び前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 1 つの細胞層 ~ 約 3 つの細胞層の平均厚さで積層される、請求項 8 又は 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に、

(i) 約 1 . 5 の細胞層 ~ 約 2 . 5 の細胞層、又は

(i i) 約 2 つの細胞層、

の平均厚さで積層され、任意選択により、

前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に、

(i) 約 3 つの細胞層 ~ 約 5 つの細胞層、

(i i) 約 3 . 5 の細胞層 ~ 約 4 . 5 の細胞層、

(i i i) 約 4 つの細胞層、

10

20

30

40

50

の厚さで積層される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、第 1 のガス透過性表面積を含む第 1 の容器内で実施され、及び前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記第 2 の急速拡大培養は、第 2 のガス透過性表面積を含む第 2 の容器内で実施され、任意選択により、

(i) 前記第 2 の容器は、前記第 1 の容器よりも大きいか、

(i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞 (A P C) を含み、及び前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 1 つの細胞層 ~ 約 3 つの細胞層の平均厚さで積層されるか、

(i i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 1 . 5 の細胞層 ~ 約 2 . 5 の細胞層の平均厚さで積層されるか、

(i v) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 2 つの細胞層の平均厚さで積層されるか、あるいは

(v) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 2 のガス透過性表面積上に約 3 つの細胞層 ~ 約 5 つの細胞層の平均厚さで積層され、

任意選択により、前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 2 のガス透過性表面積上に約 3 . 5 の細胞層 ~ 約 4 . 5 の細胞層の平均厚さで積層され

更に任意選択により、前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 2 のガス透過性表面積上に約 4 つの細胞層の平均厚さで積層される、請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

第 1 の T I L 集団に対して前記第 1 の初回刺激拡大培養が実施される各容器について、前記第 2 の急速拡大培養は、前記第 1 の T I L 集団から生じられた前記第 2 の T I L 集団に対して同じ容器で実施され、任意選択により、

各容器は、第 1 のガス透過性表面積を含み、任意選択により、

(i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞 (A P C) を含み、及び前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 1 つの細胞層 ~ 約 3 つの細胞層の平均厚さで積層されるか、

(i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 1 . 5 の細胞層 ~ 約 2 . 5 の細胞層の平均厚さで積層されるか

(i i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 2 つの細胞層の平均厚さで積層されるか、

(i v) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 3 つの細胞層 ~ 約 5 つの細胞層の平均厚さで積層されるか、

(v) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 3 . 5 の細胞層 ~ 約 4 . 5 の細胞層の平均厚さで積層されるか、あるいは

(v i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に約 4 つの細胞層の平均厚さで積層される、請求項 2 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップで第 1 の T I L 集団に対して前記第 1 の初回刺激拡大培養が実施される各容器について、前記第 1 の容器は、第 1 の表面積を含み、前記細胞培養培地は、抗原提示細胞 (A P C) を含み、及び前記 A P C は、前記第 1 のガス透過性表面積上に積層され、前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップで積層された A P C の層の平均数と、前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップで積層された A P C の層

10

20

30

40

50

の平均数との比は、約 1 : 1.1 ~ 約 1 : 10 の範囲から選択され、
前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップで積層された APC の層の平均数と、前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップで積層された APC の層の平均数との比は、

- (i) 約 1 : 1.2 ~ 約 1 : 8 の範囲、
- (i i) 約 1 : 1.3 ~ 約 1 : 7 の範囲、
- (i i i) 約 1 : 1.4 ~ 約 1 : 6 の範囲、
- (i v) 約 1 : 1.5 ~ 約 1 : 5 の範囲、
- (v) 約 1 : 1.6 ~ 約 1 : 4 の範囲、
- (v i) 約 1 : 1.7 ~ 約 1 : 3.5 の範囲、
- (v i i) 約 1 : 1.8 ~ 約 1 : 3 の範囲、
- (v i i i) 約 1 : 1.9 ~ 約 1 : 2.5 の範囲、
- (i x) 約 1 : 2、

から選択される、請求項 2 ~ 9、12 又は 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

(i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける 2 ~ 3 日後、前記細胞培養培地は、追加的な IL - 2 を補充されるか、そして / あるいは、(i i) 前記方法が、凍結保存プロセスを使用して、前記治療用 TIL 集団を回収する前記ステップにおける前記回収された TIL 集団を凍結保存することをさらに含み、任意選択により、前記抗原提示細胞が、人工抗原提示細胞である、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記輸注バッグを凍結保存するステップをさらに含み、任意選択により、回収された治療用 TIL 集団を輸注バッグに移すステップにおける輸注バッグが、HypoThermosol 含有輸注バッグである、請求項 1 又は 7 に記載の方法。

【請求項 17】

前記凍結保存プロセスは、回収された TIL 集団対凍結保存培地の 1 : 1 比を使用して実施され、任意選択により、凍結保存培地は、ジメチルスルホキシド (DMSO) を含み、任意選択により、前記凍結保存培地が、7 % ~ 10 % の DMSO を含む、請求項 15 又は 16 に記載の方法。

【請求項 18】

(i) 前記抗原提示細胞は、末梢血単核球 (PBMC) であり、任意選択により、前記 PBMC は、照射され、且つ同種異系であるか、
(i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、前記細胞培養培地は、末梢血単核球 (PBMC) を含み、前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップで前記細胞培養培地に添加された PBMC の総数は、約 2.5×10^8 個であるか、そして / あるいは

(i i i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおいて、前記細胞培養培地中の前記抗原提示細胞 (APC) は、末梢血単核球 (PBMC) であり、前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップで前記細胞培養培地に添加された PBMC の総数は、約 5×10^8 個である、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記治療用 TIL 集団を回収する前記ステップにおける前記回収は、

- (i) 膜ベースの細胞処理系、及び / 又は
- (i i) LOVO 細胞処理系、

を使用して実施される、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

(i) 前記複数の断片は、前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおいて、1 容器あたり約 60 個の断片を含み、各断片は、約 27 mm^3 の体積を有するか、

(i i) 前記複数の断片は、約 1300 mm^3 ~ 約 1500 mm^3 の総容積を有する約 30 ~ 約 60 個の断片を含むか、

10

20

30

40

50

(i i i) 前記複数の断片は、約 1 3 5 0 m m³の総容積を有する約 5 0 個の断片を含むか、又は

(i v) 前記複数の断片は、約 1 グラム～約 1 . 5 グラムの総質量を有する約 5 0 個の断片を含み、任意選択により、

前記細胞培養培地は、G コンテナ及び Xuri 細胞培養バッグからなる群から選択される容器内に提供される、請求項 1 ～ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

I L - 2 濃度は、約 1 0 , 0 0 0 I U / m L ～約 5 , 0 0 0 I U / m L であるか、任意選択により、前記 I L - 2 濃度は、約 6 , 0 0 0 I U / m L である、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

(i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおける前記第 1 の期間及び前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 2 の期間は、5 日間、6 日間又は 7 日間の期間内にそれぞれ個別に実施されるか、

(i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおける前記第 1 の期間は、5 日間、6 日間又は 7 日間の期間内に実施されるか、

(i i i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 2 の期間は、7 日間、8 日間又は 9 日間の期間内に実施されるか、

(i v) 前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおける前記第 1 の期間及び前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 2 の期間は、7 日間の期間内にそれぞれ個別に実施されるか、

(v) 前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収までのステップは、約 1 4 日間～約 1 6 日間の期間内に実施されるか、

(v i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収までのステップは、約 1 5 日間～約 1 6 日間の期間内に実施されるか、

(v i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収までのステップは、約 1 4 日間の期間内に実施されるか、

(v i i i) 前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収までのステップは、約 1 5 日間の期間内に実施されるか、

(i x) 前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収までのステップは、約 1 6 日間の期間内に実施されるか、あるいは

(x) 前記方法が、凍結保存プロセスを使用して、前記回収された治療用 T I L 集団を凍結保存するステップをさらに含み、前記第 1 の初回刺激拡大培養から前記治療用 T I L 集団の前記回収及び凍結保存までのステップは、1 6 日間以下で実施される、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

(i) 前記治療用 T I L 集団を回収する前記ステップで回収された前記治療用 T I L 集団は、治療有効投与量の前記 T I L のための十分な T I L を含み、任意選択により、治療有効投与量のために十分な T I L の数は、約 $2 . 3 \times 1 0^{10}$ ～約 $1 3 . 7 \times 1 0^{10}$ 個であるか、

(i i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 3 の T I L 集団は、増加した有効性、増加したインターフェロンガンマ産生及び / 又は増加したポリクローナル性を提供するか、

(i i i) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 3 の T I L 集団は、1 8 日間より長いプロセスによって調製された T I L と比較して、少なくとも 1 倍～5 倍以上のインターフェロンガンマ産生を提供するか、あるいは

(i v) 前記第 2 の急速拡大培養の前記ステップにおける前記第 3 の T I L 集団から得られたエフェクター T 細胞及び / 又はセントラルメモリー T 細胞は、前記第 1 の初回刺激拡大培養の前記ステップにおける前記第 2 の T I L 集団から得られるエフェクター T 細胞及び / 又はセントラルメモリー T 細胞と比べて、増加した C D 8 及び C D 2 8 発現を呈する

10

20

30

40

50

、請求項 1 ~ 2.2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

癌を有する対象を処置するための医薬組成物であって、

(a) 対象から得られた腫瘍サンプルを処理して複数の腫瘍断片にすることにより、前記対象から切除された腫瘍から第 1 の T I L 集団を得ること；

(b) I L - 2、O K T - 3 及び抗原提示細胞 (A P C) を含む細胞培養培地中で前記第 1 の T I L 集団を培養することにより、第 1 の初回刺激拡大培養を実施して、第 2 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、第 1 のガス透過性表面積を含む容器内で実施され、前記第 1 の初回刺激拡大培養は、前記第 2 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 7 日間にわたって実施され、前記第 2 の T I L 集団は、数において前記第 1 の T I L 集団よりも少なくとも 5 0 倍多い；

(c) 前記第 2 の T I L 集団の前記細胞培養培地に追加的な I L - 2、O K T - 3 及び A P C を補充することにより、第 2 の急速拡大培養を実施して、第 3 の T I L 集団を生じさせること、ここで、前記第 2 の急速拡大培養に添加された A P C の数は、ステップ (b) で添加された A P C の数の少なくとも 2 倍であり、前記第 2 の急速拡大培養は、前記第 3 の T I L 集団を得るために約 1 ~ 1 1 日間にわたって実施され、前記第 3 の T I L 集団は、治療用 T I L 集団であり、前記第 2 の急速拡大培養は、第 2 のガス透過性表面積を含む容器内で実施される；

(d) ステップ (c) から得られた前記治療用 T I L 集団を回収すること；

(e) 直交性 I L - 2 R を発現するように、ステップ (d) で生じられた前記 T I L を操作すること；

(f) ステップ (e) からの前記回収された T I L 集団を輸注バッグに移すこと；

(g) 治療有効投与量の、ステップ (f) からの前記 T I L を前記対象に投与すること；及び

(h) 治療有効投与量の、前記発現された直交性 I L - 2 R に結合することができる I L - 2 オルソログを前記対象に投与すること

を含む、投与することを含む、方法によって製造される治療用腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) 集団を含む、医薬組成物。

【請求項 2 5】

(i) I L - 2 R を発現するための前記操作は、ステップ (b) とステップ (c) との間で実施されるか、

(i i) I L - 2 R を発現するための前記操作は、ステップ (c) とステップ (d) との間で実施されるか、あるいは

(i i i) 直交性 I L - 2 は、ステップ (c) の I L - 2 を代替する、

請求項 1 又は 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50