

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2018128462, 24.02.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
25.02.2016 EP 16020057.2

(43) Дата публикации заявки: 25.03.2020 Бюл. № 9

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 25.09.2018(86) Заявка РСТ:
US 2017/019301 (24.02.2017)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/147383 (31.08.2017)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, БОКС-1125

(71) Заявитель(и):

СЕЛЛ МЕДИКА СВИТЗЕРЛЕНД АГ (CH),
ЗЕ ЮНИВЕРСИТИ ОФ НОРЗ
КАРОЛИНА ЭТ ЧАПЕЛ ХИЛЛ (US)

(72) Автор(ы):

ДОТТИ Джанпьетро (US),
ЛАНДОНИ Элиза (US),
ШАМШИЕВ Абдиджапар (CH),
КРЕЦШМАР Титус (CH),
ДРОСТЕ Мириам (CH),
ФИЛЛИПС Дуглас (CH)(54) **МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ**

(57) Формула изобретения

1. Сконструированная иммунная клетка, экспрессирующая
 - i) антигенный рецептор, и
 - ii) антитело, блокирующее PD-L1.
2. Сконструированная иммунная клетка по п. 1, отличающаяся тем, что указанное антитело ингибирует взаимодействие PD-L1 как с CD80, так и с PD-1.
3. Сконструированная иммунная клетка по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что указанное антитело является гуманизированным.
4. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная иммунная клетка представляет собой
 - Т-клетку,
 - природную Т-клетку-киллер (NKT),
 - природную клетку-киллер (NK)
 - эмбриональную стволовую клетку человека,
 - гемопозитическую стволовую клетку (HSC) или
 - индуцированную плюрипотентную стволовую клетку (iPS).
5. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанная Т-клетка представляет собой цитотоксический Т-лимфоцит (CTL), регуляторный Т-лимфоцит, воспалительные Т-лимфоциты, Т-лимфоцит-хелпер или гамма-дельта Т-клетку.
6. Сконструированная иммунная клетка по п. 4 или 5, отличающаяся тем, что

указанная Т-клетка представляет собой CD4+ или CD8+ клетку или смешанную популяцию CD4+ и CD8+ клеток.

7. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный антигенный рецептор представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR), и указанный CAR содержит цитоплазматический домен, трансмембранный домен и внеклеточный домен.

8. Сконструированная иммунная клетка по п. 7, отличающаяся тем, что указанный трансмембранный домен представляет собой CD3-дзета, CD4, CD28, CD8-альфа или 4-1BB трансмембранный домен.

9. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит один или более костимулирующих доменов.

10. Сконструированная иммунная клетка по любому из пп. 1-6, отличающаяся тем, что указанный антигенный рецептор представляет собой TCR, такой как эндогенный TCR или сконструированный TCR.

11. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанный антигенный рецептор является рекомбинантно экспрессированным.

12. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело представляет собой полноразмерный иммуноглобулин или производное антитела.

13. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело содержит функциональный Fc-домен.

14. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело содержит Fc-домен, который модифицирован таким образом, что он не индуцирует цитотоксические иммунные ответы или активацию комплемента.

15. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело не содержит Fc-домен.

16. Сконструированная иммунная клетка по п. 15, отличающаяся тем, что указанное антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fab, Fab', scFab, scFv, Fv-фрагмента, нанотела, VHH, dAb, минимальной единицы распознавания, диатела, одноцепочечного диатела (scDb), BiTE или DART.

17. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело связывает PD-L1 человека с KD менее 100 пМ,

18. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело содержит

i) по меньшей мере одну из CDR-последовательностей вариабельной тяжелой цепи (VH) -CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3, представленных в SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно, или их варианты,

б) по меньшей мере одну из CDR последовательностей вариабельной легкой цепи (VL) - CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3, представленных в SEQ ID NO: 3, 4 и 5 соответственно или их варианты.

19. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело содержит

i) по меньшей мере одну последовательность VH из SEQ ID NO: 2 и/или

ii) по меньшей мере одну последовательность VL из SEQ ID NO: 1.

20. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело содержит SEQ ID NO: 9.

21. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, содержащая

- i) по меньшей мере одну каркасную последовательность VH из SEQ ID NO: 2 и/или
- ii) по меньшей мере одну каркасную последовательность VL из SEQ ID NO: 1.

22. Сконструированная иммунная клетка по любому из пп. 1-11, отличающаяся тем, что указанное антитело конкурирует с антителом по п. 17-19 за связывание с PD-L1.

23. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что указанное антитело секретируется клеткой и/или экспрессируется на ее поверхности, например, секретируется.

24. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что клетка дополнительно экспрессирует один или более цитокинов, предпочтительно цитокин человека, такой как IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и/или MIP-1 альфа, и/или дополнительно экспрессирует одно или более антител, нацеленных на иммунную ингибирующую молекулу, таких как трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), IL-10, Fas, CD47, CTLA-4, Tim-3, LAG-3 и их лиганды

25. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что антигенный рецептор связывается с антигеном, который экспрессируется опухолью или патогеном или происходит из них.

26. Сконструированная иммунная клетка по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что антиген выбран из группы, состоящей из следующего: GD2, WT-1, 5T4, GPC3, CSPG4, MUC1 6, MUC1, CA1X, CEA, CDS, CD7, CD 10, CD19, CD20, CD22, CD23, CD30, CD33, CD34, CD38, CD41, CD44, CD49f, CD56, CD70, CD74, CD133, CD138, CD123, белки цитомегаловируса (CMV), такие как pp65 или IE-1, белки папилломавируса человека (HPV), такие как E6 или E7, белки вируса Эпштейна-Барра (EBV), такие как EBNA-1, LMP-1, LMP-2 или BARF-1, белки AdV, такие как гексон, EGP-2, EGP-40, EpCAM, erb-B2, erb-B3, erb-B4, FBP, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, рецептор фолиевой кислоты альфа, GD3, Her-1, HER-2, HER2-HER3 в комбинации или HER1-HER2 в комбинации, hTERT, IL-13R~ a2, К-легкая цепь, DR, LeY, молекула клеточной адгезии LI, MAGE-A1, MAGE-A4, MAGE-A10, Мезотелин, NKG2D-лиганды, NY-ESO-1, PSCA, PSMA, ROR1, TAG-72, VEGF-R2, EGFR, EGFRvIII, мутированный p53, мутированный ras, мутированный raf, мутированные RAC1, слитые молекулы bcr/abl, c-Met, альфафетопротейн, CA-125, MUC-1, эпителиальный опухолевый антиген, простатспецифический антиген, меланома-ассоциированный антиген, связывающий фолаты белок, оболочечный гликопротеин ВИЧ-1 gp120, оболочечный гликопротеин HIV-1 gp41, мезотелин, HERV-K или ERBB2.

27. Нуклеиновая кислота, кодирующая антигенный рецептор и антитело по любому из предшествующих пунктов.

28. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую антигенный рецептор и/или антитело по любому из пп. 1-26.

29. Вектор экспрессии по п. 28, представляющий собой лентивирус, ретровирус, аденовирус, адено-ассоциированный вирус (AAV), плазмиду, транспозон и инсерционную последовательность или искусственный хромосомный вектор.

30. Вектор экспрессии по п. 28 или 29, представляющий собой мультицистронный вектор, такой как бицистронный вектор.

31. Вектор экспрессии по любому из пп. 28-30, содержащий по меньшей мере одну последовательность IRES и/или по меньшей мере одну саморасщепляющуюся последовательность, такую как последовательность 2A.

32. Вектор экспрессии по любому из пп. 28-31, дополнительно содержащий предохранительный переключатель, такой как индуцируемый "переключатель самоубийства".

33. Вектор клонирования, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 27.
34. Способ получения сконструированной иммунной клетки по любому из пп. 1-26, включающий следующие этапы:
 - (a) Обеспечение иммунной клетки,
 - (b) Введение в указанную клетку по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей указанный антигенный рецептор, и по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей указанное антитело; а также
 - (c) Экспрессия указанных нуклеиновых кислот указанной клеткой.
35. Способ по п. 34, отличающийся тем, что этап (b) включает введение в указанную клетку вектора экспрессии по любому из пп. 28-32.
36. Способ по п. 34 или 35, дополнительно включающий следующий этап:
 - (i) введение в указанную клетку по меньшей мере одного другого антигенного рецептора, имеющего отличную антигенную специфичность по сравнению с антигенным рецептором по п. 34; и/или введение в указанную клетку по меньшей мере одного другого антитела, имеющего отличную антигенную специфичность по сравнению с антителом по п. 34.
37. Фармацевтическая композиция, содержащая
 - i) эффективное количество сконструированной иммунной клетки по любому из пп. 1-26 или вектора экспрессии по любому из пп. 28-32 и
 - ii) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
38. Сконструированная иммунная клетка по любому из пп. 1-26, вектор экспрессии по любому из пп. 28-32 или фармацевтическая композиция по п. 37 для применения в терапии.
39. Сконструированная иммунная клетка, вектор экспрессии или фармацевтическая композиция по п. 38, где терапия сочетается с одним или несколькими видами терапии, выбранными из группы, состоящей из терапии антителами, химиотерапии, цитокинотерапии, терапии дендритными клетками, генной терапии, гормональной терапии, лазерной светотерапии и лучевой терапии.
40. Способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
 - (a) Обеспечение сконструированной иммунной клетки по любому из пп. 1-26;
 - (b) Введение указанных иммунных клеток указанному субъекту.
41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что указанная иммунная клетка является аутологичной или аллогенной.
42. Способ по любому из пп. 40 или 41, отличающийся тем, что клетки вводят указанному субъекту один или более раз.
43. Способ лечения субъекта, нуждающегося в этом, включающий:
 - (a) Обеспечение вектора экспрессии по любому из пп. 28-32 или фармацевтической композиции по п. 37;
 - (b) Введение указанного вектора экспрессии или указанной фармацевтической композиции указанному субъекту.
44. Способ по любому из пп. 40-43 в сочетании с одним или несколькими видами терапии, выбранными из группы, состоящей из терапии антителами, химиотерапии, цитокинотерапии, терапии дендритными клетками, генной терапии, гормональной терапии, лазерной светотерапии и лучевой терапии.
45. Клетка или вектор по п. 38 или 39 или способ по любому из пп. 40-44, где состоянием, которое лечат, является предраковое или раковое состояние, такое как НМРЛ (немелкоклеточный рак легких) уротелиальный рак, меланома, почечно-клеточная карцинома, лимфома Ходжкина, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак яичников, рак желудочно-кишечного тракта, гепатоцеллюлярный рак, глиома, рак молочной железы, лимфома, мелкоклеточный рак легкого, миелодиспластические

синдромы, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, несветлоклеточный рак почки, колоректальный рак, саркомы, рак толстой кишки, рак почки, рак легкого, рак поджелудочной железы или рак желудка, рак кожи, рак матки, глиобластома, нейробластома, саркома, рак головы и шеи, лейкемия, карцинома, карцинома клеток Меркеля или почечно-клеточная карцинома (ПКК), рак крови, множественная миелома, лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), В-клеточный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, неходжкинская лимфома; патогенная инфекция, аутоиммунное расстройство.

46. Набор для лечения рака, патогенной инфекции, аутоиммунного заболевания, содержащий:

сконструированную иммунную клетку по любому из пп. 1-26 или вектор экспрессии по любому из пп. 28-32, а также

письменные инструкции по применению.

47. Набор по п. 46, дополнительно содержащий индуктор предохранительного переключателя, такой как индуцируемый «переключатель самоубийства».

48. Сконструированная иммунная клетка по п. 9, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит один или несколько костимулирующих доменов, например CD28, 4-1 BB (CD137), ICOS или OX40 (CD134), или их функциональные фрагменты, соответственно.