(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7054622号
(P7054622)

(45)発行日　令和4年4月14日(2022.4.14)

(24)登録日　令和4年4月6日(2022.4.6)

(51)国際特許分類		FI		
Ｃ１２Ｎ　15/62　(2006.01)		Ｃ１２Ｎ	15/62	ＺＮＡ
Ａ６１Ｋ　35/26　(2015.01)		Ａ６１Ｋ	35/26	
Ａ６１Ｋ　39/395 (2006.01)		Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ
Ａ６１Ｋ　48/00　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	39/395	Ｔ
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	48/00	

請求項の数　35　（全309頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-503498(P2017-503498)
(86)(22)出願日　平成27年7月21日(2015.7.21)
(65)公表番号　特表2017-527271(P2017-527271A)
(43)公表日　平成29年9月21日(2017.9.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/041378
(87)国際公開番号　WO2016/014565
(87)国際公開日　平成28年1月28日(2016.1.28)
審査請求日　平成30年7月20日(2018.7.20)
審判番号　不服2020-13798(P2020-13798/J1)
審判請求日　令和2年10月1日(2020.10.1)
(31)優先権主張番号　PCT/CN2014/082586
(32)優先日　平成26年7月21日(2014.7.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
最終頁に続く

(73)特許権者　504389991
ノバルティス アーゲー
スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ ３５
(73)特許権者　500429103
ザ トラスティーズ オブ ザ ユニバーシティ オブ ペンシルバニア
アメリカ合衆国 １９１０４ ペンシルベニア州 フィラデルフィア シビック センター ブールバード ３６００ ナインス フロア
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100122301
弁理士　冨田 憲史
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ヒト化抗ＢＣＭＡキメラ抗原受容体を使用した癌の処置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする単離核酸分子であって、ＣＡＲが抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインを含み、抗ＢＣＭＡ結合ドメインが以下：

（ｉ）配列番号３９４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、配列番号４３４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）、配列番号４７４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）、配列番号５１４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域１（ＬＣ　ＣＤＲ１）、配列番号５５４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域２（ＬＣ　ＣＤＲ２）、および配列番号５９４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域３（ＬＣ　ＣＤＲ３）；

（ｉｉ）配列番号６３４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号７１４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号７５４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号８３４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；

（ｉｉｉ）配列番号８７４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号９５４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号９９４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号１０７４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；

（ｉｖ）配列番号３９６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３６のアミノ

酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号４７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号５１６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号５９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｖ）配列番号６３６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号７１６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号７５６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号８３６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；または
（ｖｉ）配列番号８７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号９５６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号９９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号１０７６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３、
を含む、単離核酸分子。
【請求項２】
ＣＡＲが以下：
（ｉ）配列番号７９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号９４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（ｉｉ）配列番号８１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号９６のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む、請求項１に記載の単離核酸分子。
【請求項３】
ＣＡＲが、配列番号４９、および配列番号５１からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するアミノ酸配列、
を含む、請求項１または２に記載の単離核酸分子。
【請求項４】
配列番号６４、および配列番号６６からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、請求項１－３のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項５】
配列番号１のアミノ酸を含むリーダー配列ありで、またはなしで、ＣＡＲが、配列番号１０９、または配列番号１１１のアミノ酸配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１－４のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項６】
配列番号１２４、または配列番号１２６のヌクレオチド配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、請求項１－５のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項７】
（ｉ）膜貫通ドメインが、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む；
（ｉｉ）膜貫通ドメインが、配列番号６のアミノ酸配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む；または
（ｉｉｉ）核酸分子が、配列番号１７のヌクレオチド配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有するヌクレオチド配列を含む
、請求項１－６のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項８】
抗ＢＣＭＡ結合ドメインが、ヒンジ領域により膜貫通ドメインに接続されており：
（ｉ）ヒンジ領域が、配列番号２のアミノ酸配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含むアミノ酸配列を含む；または
（ｉｉ）単離核酸分子が、配列番号１３のヌクレオチド配列、またはそれと９５～９９％

の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、
請求項１－７のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項９】
細胞内シグナル伝達ドメインが共刺激ドメインを含み、ここで
（ｉ）共刺激ドメインが、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子（ＳＬＡＭタンパク質）、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、Ｂ７－Ｈ３、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１（ＣＤ２２６）、ＳＬＡＭＦ４（ＣＤ２４４、２Ｂ４）、ＣＤ８４、ＣＤ９６（Ｔａｃｔｉｌｅ）、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９（ＣＤ２２９）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５）、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６（ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８）、ＳＬＡＭ（ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３）、ＢＬＡＭＥ（ＳＬＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む；
（ｉｉ）共刺激ドメインが、配列番号７のアミノ酸配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む；または
（ｉｉｉ）核酸分子が、配列番号１８のヌクレオチド配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、
請求項１－８のいずれか一項に記載の単離核酸分子。
【請求項１０】
（ｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む；
（ｉｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列、または配列番号７のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む；
（ｉｉｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号７のアミノ酸配列および配列番号９または配列番号１０のアミノ酸配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される；または
（ｉｖ）核酸分子が、配列番号１８のヌクレオチド配列、もしくはそれと９５～９９％の同一性を有するヌクレオチド配列および／または配列番号２０もしくは配列番号２１のヌクレオチド配列またはそれと９５～９９％の同一性を有するヌクレオチド配列を含む、
請求項１－９のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項１１】
配列番号１のアミノ酸配列をコードするリーダー配列をさらに含む、請求項１－１０のいずれかに記載の単離核酸分子。
【請求項１２】
請求項１－１１のいずれかに記載の核酸分子によってコードされた単離ポリペプチド分子。
【請求項１３】
単離キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）ポリペプチドであって、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＢＣ

ＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメイン、ならびに細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ここで、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは：
（ｉ）配列番号３９４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、配列番号４３４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）、配列番号４７４のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）、配列番号５１４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域１（ＬＣ　ＣＤＲ１）、配列番号５５４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域２（ＬＣ　ＣＤＲ２）、および配列番号５９４のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域３（ＬＣ　ＣＤＲ３）；
（ｉｉ）配列番号６３４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号７１４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号７５４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号８３４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉｉ）配列番号８７４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号９５４のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号９９４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号１０７４のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｖ）配列番号３９６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号４７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号５１６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号５９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｖ）配列番号６３６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号７１６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号７５６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号８３６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３；または
（ｖｉ）配列番号８７６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ２、配列番号９５６のアミノ酸配列を含むＨＣ　ＣＤＲ３、配列番号９９６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２、および配列番号１０７６のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ３、
を含む、単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１４】
（ｉ）配列番号７９のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号９４のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（ｉｉ）配列番号８１のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号９６のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む、請求項１３に記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１５】
ＣＡＲポリペプチドが、配列番号４９、および配列番号５１からなる群から選択されるアミノ酸配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１３または１４に記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１６】
配列番号１のアミノ酸を含むリーダー配列ありで、またはなしで、ＣＡＲポリペプチドが配列番号１０９、または配列番号１１１のアミノ酸配列、またはそれらと９５－９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１３－１５のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１７】
（ｉ）膜貫通ドメインがＴ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質由来の膜貫通ドメインを含む；
（ｉｉ）膜貫通ドメインが、配列番号６のアミノ酸配列、またはそれと９５～９９％の同

一性を有するアミノ酸配列を含む、
請求項１３－１６のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１８】
抗ＢＣＭＡ結合ドメインがヒンジ領域により膜貫通ドメインに接続されており、ヒンジ領域が、配列番号２もしくは配列番号３６のアミノ酸配列またはそれと９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、
請求項１３－１７のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項１９】
細胞内シグナル伝達ドメインが共刺激ドメインを含み、ここで
（ｉ）共刺激ドメインがＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子（ＳＬＡＭタンパク質）、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、Ｂ７－Ｈ３、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１（ＣＤ２２６）、ＳＬＡＭＦ４（ＣＤ２４４、２Ｂ４）、ＣＤ８４、ＣＤ９６（Ｔａｃｔｉｌｅ）、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９（ＣＤ２２９）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５）、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６（ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８）、ＳＬＡＭ（ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３）、ＢＬＡＭＥ（ＳＬＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む；または
（ｉｉ）共刺激ドメインが配列番号７のアミノ酸配列、またはそれと９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、
請求項１３－１８のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項２０】
（ｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む；
（ｉｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列、または配列番号７のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む；または
（ｉｉｉ）細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号７のアミノ酸配列および配列番号９または配列番号１０のアミノ酸配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される、
請求項１３－１９のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項２１】
配列番号１のアミノ酸配列を含むリーダー配列をさらに含む、
請求項１３－２０のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド。
【請求項２２】
請求項１－１１のいずれかに記載の核酸分子、または請求項１３－２１のいずれかに記載のＣＡＲポリペプチドをコードする核酸分子を含むベクターであって、ＤＮＡベクター、ＲＮＡベクター、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクターおよび

レトロウイルスベクターからなる群より選択され、任意にベクターが配列番号１１のヌクレオチド配列を含むＥＦ－１プロモーターをさらに含む、ベクター。
【請求項２３】
請求項１－１１のいずれかに記載の核酸分子、請求項１２に記載のポリペプチド分子、請求項１３－２１のいずれかに記載のＣＡＲポリペプチド、または請求項２２に記載のベクターを含む、細胞、例えば、免疫エフェクター細胞。
【請求項２４】
１以上の薬学的または生理学的に許容できる担体、希釈剤または賦形剤と組み合わせた、請求項２３に記載の細胞を含む、医薬組成物。
【請求項２５】
細胞、例えば、免疫エフェクター細胞を作製する、またはＲＮＡが加工された細胞の集団を生成するいずれかの方法であって、細胞を作成する方法が、請求項２２に記載のベクターで免疫エフェクター細胞を形質導入することを含み、かつＲＮＡが加工された細胞の集団を生成する方法が、インビトロで転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ここで、ＲＮＡが、請求項１３－２１のいずれかに記載のＣＡＲポリペプチドをコードする核酸分子を含む、方法。
【請求項２６】
ＢＣＭＡ発現に関連する疾患の治療のための医薬の製造における、請求項１－１１のいずれかに記載の核酸分子、請求項１２に記載のポリペプチド分子、請求項１３－２１のいずれかに記載のＣＡＲポリペプチド、請求項２２に記載のベクター、または請求項２３に記載の細胞、請求項２４に記載の医薬組成物、の使用。
【請求項２７】
（ａ）前記疾患が以下である：
（ｉ）癌もしくは悪性腫瘍または脊髄形成異常、骨髄異形成症候群もしくは前白血病状態の１以上から選択される前癌状態または
（ｉｉ）ＢＣＭＡの発現に関連する非癌関連の徴候；
（ｂ）疾患が血液癌である；
（ｃ）疾患がＢ細胞急性リンパ性白血病（「ＢＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「ＴＡＬＬ」）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）の１以上から選択される急性白血病；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）；Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型または大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常および骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症；前立腺癌（例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌）、膵臓癌、肺癌；または形質細胞増殖障害（例えば、無症候性骨髄腫（くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫）、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（ＭＧＵＳ）、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫（例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫）、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群（クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知））またはそれらの組合せである；または
（ｄ）疾患が、多発性骨髄腫であり、任意に疾患が、ＣＤ１９陰性多発性骨髄腫である、請求項２６に記載の使用。
【請求項２８】
細胞が
（ｉ）細胞の効能を増加させる薬剤；
（ｉｉ）細胞の投与に関連する１以上の副作用を改善する薬剤；または
（ｉｉｉ）ＢＣＭＡの発現に関連する疾患を処置する薬剤
の１以上と組み合わせて投与される、請求項２６または２７に記載の使用。

【請求項２９】
細胞がＰＤ－Ｌ１阻害剤、例えば、抗ＰＤ－Ｌ１抗体と組み合わせて投与される、請求項２６－２８のいずれかに記載の使用。
【請求項３０】
医薬品として使用するための、請求項１－１１のいずれかに記載の単離核酸分子、請求項１２に記載のポリペプチド分子、請求項１３－２１のいずれかに記載のＣＡＲポリペプチド分子、請求項２２に記載のベクター、請求項２３に記載の細胞または請求項２４に記載の医薬組成物。
【請求項３１】
ＢＣＭＡの発現に関連する疾患の処置で使用するための、請求項１－１１のいずれかに記載の単離核酸分子、請求項１２に記載のポリペプチド分子、請求項１３－２１のいずれかに記載の単離ＣＡＲポリペプチド分子、請求項２２に記載のベクター、請求項２３に記載の細胞または請求項２４に記載の医薬組成物。
【請求項３２】
細胞内シグナル伝達ドメインからの陽性シグナルを含む第二のポリペプチドと会合した、阻害分子の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドを含む阻害分子をさらに発現する、請求項２３に記載の細胞、例えば、免疫エフェクター細胞の集団、であって、
ここで、任意に阻害分子がＰＤ１の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドと、共刺激ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む第二のポリペプチドとを含む、細胞。
【請求項３３】
薬剤がｍＴＯＲ阻害剤であり、対象が、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１またはラパマイシンを投与される、請求項２８に記載の使用であって、
ここで任意に対象の末梢血液中のまたは対象から単離されたＴ細胞の調製物中の、ＰＤ－１陽性Ｔ細胞の比率を減少させる、ＰＤ－１陰性Ｔ細胞の比率を増加させるまたはＰＤ－１陰性Ｔ細胞／ＰＤ－１陽性Ｔ細胞の比率を増加させるのに十分な時間にわたり、ｍＴＯＲ阻害剤が投与される、請求項２８に記載の使用。
【請求項３４】
前記細胞がＣＤ１９　ＣＡＲ分子を含む細胞と組み合わせて投与される、請求項２６－２９のいずれかに記載の使用であって、ここで任意に：
（ｉ）ＢＣＭＡの発現に関連する疾患が多発性骨髄腫、例えば、ＣＤ１９陰性多発性骨髄腫である；
（ｉｉ）ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子を発現する細胞が、ＣＤ１９　ＣＡＲ分子を含む細胞の投与の前に、その後にまたはそれと同時に投与される；
（ｉｉｉ）ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子およびＣＤ１９　ＣＡＲ分子が同一の細胞内で発現される；または
（ｉｖ）ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子およびＣＤ１９　ＣＡＲ分子が同一であり、ＣＡＲ分子はＣＤ１９に特異的な免疫グロブリンの可変ドメイン配列を有する二重特異性ＣＡＲを規定する、
請求項２６－２９のいずれかに記載の使用。
【請求項３５】
前記細胞が用量の分割によって、例えば、部分用量の１回、２回、３回以上の別々の投与によって対象に投与され、
任意に、総用量の第一のパーセンテージが処置の１日目に投与され、総用量の第二のパーセンテージがその後の処置の日（例えば、２、３、４、５、６または７日目またはそれより後）に投与され、任意に総用量の第三のパーセンテージ（例えば、残りのパーセンテージ）がさらにその後の処置の日（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０日目またはそれより後）に投与され、
任意に、細胞の総用量の１０％が１日目に投与され、細胞の総用量の３０％が２日目に投与され、細胞の総用量の残りの６０％が処置の３日目に投与され、
任意に、総細胞用量が、$1\sim5\times10^{7}$または$1\sim5\times10^{8}$個の細胞を含む、

請求項２６－２９のいずれかに記載の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０１４年１１月６日付けで出願されたＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＣＮ２０１４／０９０５０１号および２０１４年７月２１日付けで出願されたＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＣＮ２０１４／０８２５８６号の優先権を主張するものである。これらの出願それぞれの全内容は、参照により本明細書に組み入れられる。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出された配列表を含有し、その全体は参照により組み入れられる。２０１５年７月１５日に作成された前記ASCIIのコピーは、N2067-7045WO3_SL.txtという名称であり、サイズは７７１,０２６バイトである。
【０００３】
本発明は、一般的に、Ｂ細胞成熟抗原タンパク質(ＢＣＭＡ)の発現に関連する疾患を処置するための、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を発現するように加工された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞)の使用に関する。
【背景技術】
【０００４】
Ｂ細胞成熟抗原(ＢＣＭＡ)は、Ｂ細胞系統の細胞で発現される腫瘍壊死ファミリー受容体(ＴＮＦＲ)のメンバーである。ＢＣＭＡ発現は、最終分化したＢ細胞において最も高い。ＢＣＭＡは、長期の体液性免疫を維持するための形質細胞の生存の媒介に関与する。近年、ＢＣＭＡの発現は、多数の癌、自己免疫障害および感染症との関連が示されてきた。ＢＣＭＡ発現が増加している癌としては、一部の血液癌、例えば多発性骨髄腫、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、様々な白血病および膠芽腫が挙げられる。
【発明の概要】
【０００５】
第一の面において、本発明は、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)をコードする単離核酸分子であって、ＣＡＲは、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン)を包含する、抗体または抗体フラグメントを含む、単離核酸分子を特徴とする。ある態様において、ＣＡＲは、本明細書で記載されるヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインまたは本明細書で記載されるヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、本明細書で記載される膜貫通ドメインおよび本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン)を包含する抗体または抗体フラグメントを含む。
【０００６】
ある態様において、コードされたＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン)は、本明細書で記載されるヒトもしくはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)、ならびに／または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、例えば、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含むヒトもしくはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含む。ある態様において、コードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、表１で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、表１で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２７１または２７３に示される軽鎖可変領域および／または配列番号２７１または２７３に示される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合

ドメインは、表１のアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２７１または２７３のアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および／または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列または表１のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２７１もしくは配列番号２７３からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされたヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、$(Gly_4-Ser)_n$リンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは３または４(配列番号２６)である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。

【０００７】

他の態様において、コードされたＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３をさらに含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３を含む。

【０００８】

ある態様において、コードされたＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部、ならびに表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部を含む。

【０００９】

ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、表１６で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、表１６で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２５９、配列番号２６０、配列番号２６１、配列番号２６２に示される軽鎖可変領域および／または配列番号２５５、配列番号２５６、配列番号２５７、配列番号２５８に示される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１６のアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、配列番号２５９、配列

番号２６０、配列番号２６１、配列番号２６２に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および／または配列番号２５５、配列番号２５６、配列番号２５７、配列番号２５８に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ４－Ｓｅｒ)ｎリンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは３または４(配列番号２６)である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。

【００１０】

ある態様において、コードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５および配列番号２６６からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１１】

ある態様において、コードされたＣＡＲは、例えば、本明細書で記載されるタンパク質、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインを包含する。ある態様において、コードされた膜貫通ドメインは、配列番号６の配列を含む。ある態様において、コードされた膜貫通ドメインは、配列番号６のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、改変が２０、１０もしくは５を超えないアミノ酸配列または配列番号６のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、膜貫通ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１７の配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１２】

ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ヒンジ領域、例えば本明細書で記載されるヒンジ領域によって膜貫通ドメインに接続されている。ある態様において、コードされたヒンジ領域は、配列番号２またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ヒンジ領域をコードする核酸配列は、配列番号１３の配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１３】

ある態様において、単離核酸分子は、共刺激ドメイン、例えば、本明細書で記載される共刺激ドメインをコードする配列をさらに含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、１以上の(例えば、１以上の、２以上のまたは３以上の)共刺激ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む。

【００１４】

ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、例えば、本明細書で記載されるタンパク質、例えば、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨ

ＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質から得られた機能的なシグナル伝達ドメインである。ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、４－１ＢＢ、ＣＤ２７、ＣＤ２８またはＩＣＯＳを含む。

【００１５】

ある態様において、４－１ＢＢのコードされた共刺激ドメインは、配列番号７のアミノ酸配列を含む。ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、配列番号７のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号７のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、共刺激ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１８のヌクレオチド配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＣＤ２８のコードされた共刺激ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列を含む。ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０４のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ＣＤ２８の共刺激ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１１０５のヌクレオチド配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＣＤ２７のコードされた共刺激ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列を含む。ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号８のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ＣＤ２７の共刺激ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１９のヌクレオチド配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＩＣＯＳのコードされた共刺激ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列を含む。ある態様において、コードされた共刺激ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０６のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ＩＣＯＳの共刺激ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１１０７のヌクレオチド配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１６】

ある態様において、コードされた一次シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインは、配列番号９(変異ＣＤ３ゼータ)または配列番号１０(野生型ヒトＣＤ３ゼータ)のアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１７】

ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、４－１ＢＢのコードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列

番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。ある態様において、４－１ＢＢの細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１８のヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列および／または配列番号２０もしくは配列番号２１のＣＤ３ゼータのヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１８】

ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２７の機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＣＤ２７のコードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９または配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。ある態様において、ＣＤ２７の細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１９のヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列および／または配列番号２０もしくは配列番号２１のＣＤ３ゼータのヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００１９】

ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２８の機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＣＤ２８のコードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０４のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。ある態様において、ＣＤ２８の細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１１０５のヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列および／または配列番号２０もしくは配列番号２１のＣＤ３ゼータのヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００２０】

ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＣＯＳの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＩＣＯＳのコードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータ

のアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０６のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。ある態様において、ＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１１０７のヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列および／または配列番号２０もしくは配列番号２１のＣＤ３ゼータのヌクレオチド配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００２１】

別の面において、本発明は、リーダー配列、例えば、本明細書で記載されるリーダー配列、例えば、配列番号１のアミノ酸配列；本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、本明細書で記載されるＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、ＬＣ　ＣＤＲ３、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含むヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば表１または１６に記載のヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメイン)またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列；本明細書で記載されるヒンジ領域、例えば、配列番号２のアミノ酸配列；本明細書で記載される膜貫通ドメイン、例えば、配列番号６の配列を含む膜貫通ドメイン；および細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインを含む、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子に関する。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、例えば、本明細書で記載される共刺激ドメイン(例えば、配列番号７のアミノ酸配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメインまたは配列番号８のアミノ酸配列を有するＣＤ２７共刺激ドメイン)および／または一次シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される一次シグナル伝達ドメイン(例えば、配列番号９または配列番号１０の配列を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメイン)を含む。ある態様において、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子は、配列番号１の核酸配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列によってコードされたリーダー配列を包含する。

【００２２】

別の面において、本発明は、リーダー配列、例えば、本明細書で記載されるリーダー配列、例えば、配列番号１のアミノ酸配列；本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、本明細書で記載されるＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、ＬＣ　ＣＤＲ３、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２および／またはＨＣ　ＣＤＲ３を含むヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば本明細書で記載されるヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、配列番号２７１もしくは配列番号２７３からなる群より選択される配列を含むヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン)またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列]；本明細書で記載されるヒンジ領域、例えば、配列番号２のアミノ酸配列；本明細書で記載される膜貫通ドメイン、例えば、配列番号６の配列を有する膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインを含む、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子に関する。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、例えば、本明細書で記載される共刺激ドメイン(例えば、配列番号７の配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメイン)および／または一次シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される一次シグナル伝達ドメイン(例えば、配列番号９または配列番号１０の配列を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメイン)を含む。ある態様において、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子は、配列番号１の核酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有するリーダー配列を包含する。

【００２３】

ある態様において、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子は、配列番号５４、配列番号

５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号１５０、配列番号１５１、配列番号１５２、配列番号１５３、配列番号１５４、配列番号１５５、配列番号１５６、配列番号１５７、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７、配列番号１６８、配列番号１６９または配列番号１７０の核酸配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列によってコードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインを包含する。ある態様において、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子は、配列番号２７２、配列番号２７４の核酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列によってコードされたヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメイン配列を包含する。

【００２４】

ある態様において、単離核酸分子は、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２または配列番号２３３のＣＡＲアミノ酸配列または配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２または配列番号２３３のアミノ酸配列のアミノ酸配列と８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するか、もしくは該アミノ酸配列に１、２または３改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列をコードする核酸を含む(例えば、これらからなる)。

【００２５】

ある態様において、単離核酸分子は、配列番号１１４、配列番号１１５、配列番号１１６、配列番号１１７、配列番号１１８、配列番号１１９、配列番号１２０、配列番号１２１、配列番号１２２、配列番号１２３、配列番号１２４、配列番号１２５、配列番号１２６、配列番号１２７、配列番号１２８、配列番号２３４、配列番号２３５、配列番号２３６、配列番号２３７、配列番号２３８、配列番号２３９、配列番号２４０、配列番号２４１、配列番号２４２、配列番号２４３、配列番号２４４、配列番号２４５、配列番号２４６、配列番号２４７、配列番号２４８、配列番号２４９、配列番号２５０、配列番号２５１、配列番号２５２、配列番号２５３または配列番号２５４の核酸配列または配列番号１１４、配列番号１１５、配列番号１１６、配列番号１１７、配列番号１１８、配列番号１１９、配列番号１２０、配列番号１２１、配列番号１２２、配列番号１２３、配列番号１２４、配列番号１２５、配列番号１２６、配列番号１２７、配列番号１２８、配列番号２３４、配列番号２３５、配列番号２３６、配列番号２３７、配列番号２３８、配列番号２３９、配列番号２４０、配列番号２４１、配列番号２４２、配列番号２４３、配列番号２４４、配列番号２４５、配列番号２４６、配列番号２４７、配列番号２４８、配列番号２４９、配列番号２５０、配列番号２５１、配列番号２５２、配列番号２５３または配列番号２５４の核酸配列のアミノ酸配列と８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するか、もしくは該核酸配列のアミノ酸配列に１、２または３

改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えない核酸配列を含む(例えば、これらからなる)。

【００２６】

ある面において、本発明は、抗ＢＣＭＡ結合ドメインをコードする単離核酸分子であって、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインの軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および／または軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)、ならびに本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインの重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および／または重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)を含み、例えば、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含む、核酸分子に関する。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、配列番号８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、１９２、１９３、１９４、１９５、１９６、１９７、１９８、１９９、２００、２０１、２０２、２０３、２０４、２０５、２０６、２０７、２０８、２０９、２１０、２１１、２１２、２５９、２６０、２６１または２６２で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、配列番号６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８１、８２、８３、１７１、１７２、１７３、１７４、１７５、１７６、１７７、１７８、１７９、１８０、１８１、１８２、１８３、１８４、１８５、１８６、１８７、１８８、１８９、１９０、１９１、２５５、２５６、２５７または２５８で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５または配列番号２６６のアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、配列番号８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、１９２、１９３、１９４、１９５、１９６、１９７、１９８、１９９、２００、２０１、２０２、２０３、２０４、２０５、２０６、２０７、２０８、２０９、２１０、２１１、２１２、２５９、２６０、２６１、もしくは２６２に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列または配列番号８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、１９２、１９３、１９４、１９５、１９６、１９７、１９８、１９９、２００、２０１、２０２、２０３、２０４、２０５、２０６、２０７、２０８、２０９、２１０、２１１、２１２、２５９、２６０、２６１、もしくは２６２のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域；および／または配列番号６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８１、８２、８３、１７１、１７２、１７３、１７４、１７５、１７６、１７７、１７８、１７９、１８０、１８１、１８２、１８３、１８４、１８５、１８６、１８７、１８８、１８９、１９０、１９１、２５５、２５６、２５７、もしくは２５８に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列または配列番号６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８１、８２、８３、１７１、１７２、１７３、１７４、１７５、１７６、１７７、１７８、１７９、１８

０、１８１、１８２、１８３、１８４、１８５、１８６、１８７、１８８、１８９、１９０、１９１、２５５、２５６、２５７または２５８のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５または配列番号２６６からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書で、例えば、表１または１６で記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書で、例えば、表１または１６で記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例えば、本明細書で記載されるリンカーを介して付着している。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ)$_n$リンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは４(配列番号２６)である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインをコードする単離された核酸配列は、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号１５０、配列番号１５１、配列番号１５２、配列番号１５３、配列番号１５４、配列番号１５５、配列番号１５６、配列番号１５７、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７、配列番号１６８、配列番号１６９および配列番号１７０からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００２７】

他の態様において、コードされたＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３をさらに含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３を含む。

【００２８】

ある態様において、コードされたＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部、ならびに表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部を含む。

【００２９】

ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、配列番号２７１もしくは２７３の軽鎖可変領域を含む(またはからなる)アミノ酸配列；および配列番号２７１もしくは２７３に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域；ならびに／または配列番号２７１もしくは２７３の重鎖可変領域を含む(またはからなる)アミノ酸配列；および配列番号２７１もしくは２７３に示

される重鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書で記載される、例えば、配列番号２７１または２７３に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書で記載される、例えば、配列番号２７１または２７３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例えば、本明細書で記載されるリンカーを介して付着している。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ４－Ｓｅｒ)ｎリンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは４(配列番号２６)である。

【００３０】

別の面において、本発明は、単離されたポリペプチド分子、例えば、核酸分子によってコードされた単離されたキメラ抗原受容体(ＣＡＲ)分子に関する。ある態様において、単離されたポリペプチド分子は、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２および配列番号２３３からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００３１】

別の面において、本発明は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ＢＣＭＡに特異的に結合するヒトもしくはヒト化抗体または抗体フラグメント)、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン)を含む、単離されたキメラ抗原受容体(ＣＡＲ)分子(例えば、ポリペプチド)に関する。ある態様において、ＣＡＲは、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、本明細書で説明されているようなＢＣＭＡに特異的に結合するヒト抗体または抗体フラグメント)、本明細書で記載される膜貫通ドメインおよび本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、本明細書で記載される共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン)を包含する抗体または抗体フラグメントを含む。

【００３２】

ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインの軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)および本明細書で記載される抗ＢＣＭＡドメインの重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)を含み、例えば、ヒトもしくはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１、配列番号２７１または２７３に列挙したアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列、もしくは表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示されるアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０

を超えないアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および／または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列、もしくは表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示されるアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５または配列番号２６６からなる群より選択される配列；または前述の配列のいずれかに対して少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)であるが改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列；または前述の配列のいずれかと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２７１もしくは配列番号２７３からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書で記載される、例えば表１または１６、配列番号２７１または配列番号２７３に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書で記載される、例えば表１または１６、配列番号２７１または配列番号２７３に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例えば本明細書で記載されるリンカーを介して付着している。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ４－Ｓｅｒ)ｎリンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは４である(配列番号２６)。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。

【００３３】

他の態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３をさらに含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３を含む。

【００３４】

ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部、ならびに表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部を含む。

【００３５】

ある態様において、単離されたＣＡＲ分子は、例えば本明細書で記載される、例えばＴ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む。ある態様において、膜貫通ドメインは、配列番号６の配列を含む。ある態様において、膜貫通ドメインは、配列番号６のアミノ酸配列の少なくとも１、２または３の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)であるが２０、１０もしくは５個以下の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するアミノ酸配列または

配列番号６のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。
【００３６】
ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ヒンジ領域、例えば本明細書で記載されるヒンジ領域によって膜貫通ドメインに接続されている。ある態様において、コードされたヒンジ領域は、配列番号２またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。
【００３７】
ある態様において、単離されたＣＡＲ分子は、共刺激ドメイン、例えば本明細書で記載される共刺激ドメインをコードする配列をさらに含む。ある態様において、単離されたＣＡＲ分子の細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインを含む。ある態様において、単離されたＣＡＲ分子の細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、単離されたＣＡＲ分子の細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む。
【００３８】
ある態様において、共刺激ドメインは、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質の機能的なシグナル伝達ドメインを含む。
【００３９】
ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号７の配列を含む。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号７のアミノ酸配列の少なくとも１、２または３の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)であるが２０、１０もしくは５個以下の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するアミノ酸配列または配列番号７のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＣＤ２８の共刺激ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列を含む。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０４のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＣＤ２７の共刺激ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列を含む。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号８のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。別の態様において、ＩＣＯＳの共刺激ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列を含む。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０６のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列

を含む。
【００４０】
ある態様において、一次シグナル伝達ドメインは、シグナル伝達ドメインまたはＣＤ３ゼータを含む。ある態様において、ＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインは、配列番号９(変異ＣＤ３ゼータ)もしくは配列番号１０(野生型ヒトＣＤ３ゼータ)またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。
【００４１】
ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７の配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０の配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列の少なくとも１、２または３の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)であるが２０、１０もしくは５個以下の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するアミノ酸配列または配列番号７のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７の配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０の配列を含み、ここで細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列は、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。
【００４２】
ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２７の機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＣＤ２７の細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号８のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号８の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。
【００４３】
ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２８の機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＣＤ２８のコードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号３７９のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。
【００４４】
ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＣＯＳの機能的なシグナル伝達ドメインおよび／またはＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、ＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のＣＤ３ゼータのアミノ酸配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列およ

び／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３改変を有するが、２０、１０もしくは５以下の改変を有するアミノ酸配列または配列番号１１０６のアミノ酸配列および／または配列番号９もしくは配列番号１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６の配列および配列番号９または配列番号１０の配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列が、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。

【００４５】

ある態様において、単離されたＣＡＲ分子は、リーダー配列、例えば、本明細書で記載されるリーダー配列をさらに含む。ある態様において、リーダー配列は、配列番号１のアミノ酸配列または配列番号１のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００４６】

別の面において、本発明は、リーダー配列、例えば、本明細書で記載されるリーダー配列、例えば、配列番号１のリーダー配列またはそれと９５～９９％の同一性を有するリーダー配列；本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、本明細書で記載されるＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、ＬＣ　ＣＤＲ３、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば表１または１６、配列番号２７１または配列番号２７３に記載の抗ＢＣＭＡ結合ドメインまたはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列；ヒンジ領域、例えば本明細書で記載されるヒンジ領域、例えば、配列番号２のヒンジ領域またはそれらと９５～９９％の同一性を有するヒンジ領域、膜貫通ドメイン、例えば、本明細書で記載される膜貫通ドメイン、例えば、配列番号６の配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を有する膜貫通ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン)を含む、単離されたＣＡＲ分子に関する。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、例えば、本明細書で記載される共刺激ドメイン、例えば、配列番号７の配列を有するかまたはそれらと９５～９９％の同一性を有する４－１ＢＢ共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される一次シグナル伝達ドメイン、例えば、配列番号９もしくは配列番号１０の配列を有するかまたはそれらと９５～９９％の同一性を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、例えば、本明細書で記載される共刺激ドメイン、例えば、配列番号７の配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書で記載される一次シグナル伝達ドメイン、例えば、配列番号９または配列番号１０の配列を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメインを含む。

【００４７】

ある態様において、単離されたＣＡＲ分子は、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２または配列番号２３３のアミノ酸配列または配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列

番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２または配列番号２３３のアミノ酸配列に少なくとも１、２、３、４、５、１０、１５、２０または３０の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば、置換、例えば保存的置換)が６０、５０または４０を超えないアミノ酸配列または配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２または配列番号２３３のアミノ酸配列と８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む(例えば、これらからなる)。

【００４８】

他の態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３をさらに含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３を含む。

【００４９】

ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部、ならびに表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部を含む。

【００５０】

ある面において、本発明は、本明細書で記載されるＢＣＭＡ結合ドメインの軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および／または軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)、ならびに本明細書で記載されるＢＣＭＡ結合ドメインの重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)を含むＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤRおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含むＢＣＭＡ結合ドメインに関する。

【００５１】

他の態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３をさらに含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３を含む。

【００５２】

ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部、ならびに表１または１６に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３の１、２または全部を含む。

【００５３】

ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領

域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)、ならびに本明細書で記載されるＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含み、例えば、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１、配列番号２７１または２７３に列挙したアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示されるアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および／または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列または表１もしくは配列番号２７１もしくは２７３に示されるアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５または配列番号２６６からなる群より選択される配列；または前述の配列のいずれかに対して少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)であるが改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列；または前述の配列のいずれかと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２７１もしくは配列番号２７３からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書で、例えば、表１または１６、配列番号２７１または配列番号２７３で記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書で、例えば、表１または１６、配列番号２７１または配列番号２７３で記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例えば、本明細書で記載されるリンカーを介して付着している。ある態様において、ＢＣＭＡ結合ドメインは、$(Gly_4-Ser)_n$リンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは４(配列番号２６)である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。

【００５４】

別の面において、本発明は、本明細書で記載される核酸分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクターに関する。ある態様において、ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクターまたはレトロウイルスベクターからなる群より選択される。

【００５５】

ある態様において、ベクターは、レンチウイルスベクターである。ある態様において、ベクターは、プロモーターをさらに含む。ある態様において、プロモーターは、ＥＦ－１プ

ロモーターである。ある態様において、ＥＦ－１プロモーターは、配列番号１１の配列を含む。別の態様において、プロモーターは、ＰＧＫプロモーター、例えば、本明細書で記載されるトランケートされたＰＧＫプロモーターである。

【００５６】

ある態様において、ベクターは、インビトロで転写されたベクターであり、例えば、本明細書で記載される核酸分子のＲＮＡを転写するベクターである。ある態様において、ベクター中の核酸配列は、ポリ(Ａ)テイル、例えば本明細書で記載されるポリＡテイル、例えば、約１５０個のアデノシン塩基を含むポリＡテイル(配列番号３８２)をさらに含む。ある態様において、ベクター中の核酸配列は、３’ＵＴＲ、例えば本明細書で記載される３’ＵＴＲ、例えば、ヒトベーターグロブリン由来の３’ＵＴＲの少なくとも１の反復を含む３’ＵＴＲをさらに含む。ある態様において、ベクター中の核酸配列は、プロモーター、例えばＴ２Ａプロモーターをさらに含む。

【００５７】

別の面において、本発明は、本明細書で記載されるベクターを含む細胞に関する。ある態様において、細胞は、本明細書で記載される細胞、例えば、免疫エフェクター細胞、例えば、ヒトＴ細胞またはヒトＮＫ細胞、例えば、本明細書で記載されるヒトＴ細胞または本明細書で記載されるヒトＮＫ細胞である。ある態様において、ヒトＴ細胞は、ＣＤ８＋Ｔ細胞である。

【００５８】

別の態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、別の薬剤、例えばＣＡＲ発現細胞の活性を強化する薬剤をさらに発現していてもよい。例えば、ある態様において、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であってもよい。阻害分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータが挙げられる。ある態様において、薬剤は、ＰＤ１を阻害する薬剤である。ある態様において、薬剤は、ＰＤ－Ｌ１を阻害する薬剤である。ある態様において、阻害分子を阻害する薬剤は、本明細書で記載される薬剤、例えば第一のポリペプチド、例えば阻害分子を含み、このようなポリペプチドは、細胞に陽性シグナルを提供する第二のポリペプチド、例えば、本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインと会合している薬剤である。ある態様において、薬剤は、例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＬＡＧ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＣＴＬＡ４、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ１６０、ＢＴＬＡ、ＬＡＩＲ１、ＴＩＭ３、２Ｂ４、ＴＧＦＲベータ、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＩＧＩＴなどの阻害分子の第一のポリペプチドまたはこれらのうちいずれかのフラグメント(例えば、これらのうちいずれかの細胞外ドメインの少なくとも一部)、ならびに本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインである(例えば、共刺激ドメイン(例えば、４１ＢＢ、ＣＤ２７またはＣＤ２８、例えば、本明細書で説明されているようなもの)および／または一次シグナル伝達ドメイン(例えば、本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン)を含む)第二のポリペプチドを含む。ある態様において、薬剤は、ＰＤ１の第一のポリペプチドまたはそれらのフラグメント(例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部)、ならびに本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、本明細書で記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメインおよび／または本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン)の第二のポリペプチドを含む。

【００５９】

別の面において、本発明は、本明細書で記載される細胞、例えば、本明細書で記載される

免疫エフェクター細胞、例えば、本明細書で記載されるＴ細胞またはＮＫ細胞に、ＣＡＲ、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸を含むベクターを形質導入することを含む、細胞を作製する方法に関する。

【００６０】

本発明はまた、ＲＮＡが加工された細胞の集団、例えば本明細書で記載される細胞の集団、例えば外因性ＲＮＡを一過性発現する免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の集団を生成する方法も提供する。本方法は、インビトロで転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ここで該ＲＮＡは、本明細書で記載されるＣＡＲ分子をコードする核酸を含む。

【００６１】

別の面において、本発明は、哺乳動物において抗腫瘍免疫を提供する方法であって、ＣＡＲ分子を発現する細胞、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞の有効量を哺乳動物に投与することを含む、方法に関する。ある態様において、細胞は、自己免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞または自己ＮＫ細胞である。ある態様において、細胞は、免疫エフェクター細胞、例えば、同種異系のＴ細胞または同種異系のＮＫ細胞である。ある態様において、哺乳動物は、ヒト、例えば、血液癌を有する患者である。

【００６２】

別の面において、本発明は、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患を有する哺乳動物の処置方法(例えば、増殖性疾患、前癌状態およびＢＣＭＡの発現に関連する非癌関連の徴候)であって、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞の有効量を哺乳動物に投与することを含む、処置方法に関する。ある態様において、哺乳動物は、ヒト、例えば、血液癌を有する患者である。

【００６３】

ある態様において、疾患は、本明細書で記載される疾患である。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患は、血液癌、例えば、これらに限定されないが、急性骨髄性白血病(ＡＭＬ)などの急性白血病；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性新生物；慢性骨髄性白血病(ＣＭＬ)；芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物；ならびにこれらに限定されないが、ＢＣＭＡを発現する、異型のおよび／または非古典的な癌、悪性腫瘍、前癌状態または増殖性疾患などのＢＣＭＡ発現に関連する疾患；ならびにそれらの組合せから選択される。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患は、これらに限定されないが、Ｂ細胞急性リンパ性白血病(「ＢＡＬＬ」)、Ｔ細胞急性リンパ性白血病(「ＴＡＬＬ」)、急性リンパ性白血病(ＡＬＬ)を包含する、１種または複数の急性白血病、；これらに限定されないが、慢性骨髄性白血病(ＣＭＬ)、慢性リンパ球性白血病(ＣＬＬ)を包含する、１種または複数の慢性白血病；これらに限定されないが、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型または大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常および骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症および骨髄の血液細胞の効果が認められない産生(または異形成)に共通する様々な血液学的状態の一群である「前白血病状態」を包含する、追加の血液癌もしくは血液学的状態、ならびにこれらに限定されないが、非定型的および／または非典型的な、ＢＣＭＡを発現する癌、悪性腫瘍、前癌状態または増殖性疾患を包含する、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患；ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される血液癌である。

【００６４】

ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(ク

ロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)が挙げられる。
【００６５】
ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、癌、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、膵臓癌または肺癌が挙げられる。
【００６６】
治療方法のある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子)を発現する細胞は、ＣＤ１９　ＣＡＲ分子を含む細胞と組み合わせて投与される。ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子を発現する細胞は、ＣＤ１９　ＣＡＲを発現する細胞の投与の前に、その後にまたはそれと同時に投与される。ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子を発現する細胞およびＣＤ１９　ＣＡＲ分子を発現する細胞は、単一の組成物の一部であり、他の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子を発現する細胞およびＣＤ１９ＣＡＲ分子を発現する細胞は、別々の組成物の一部である。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子)を発現する細胞は、ＣＤ１９　ＣＡＲ分子も発現する。ある態様において、ＢＣＭＡに関連する疾患は、多発性骨髄腫、例えば、ＣＤ１９陰性多発性骨髄腫である。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患は、多発性骨髄腫であり、例えば、ＣＤ１９陰性である多発性骨髄腫、例えば、フローサイトメトリーとＲＴ－ＰＣＲの両方で検出した場合に、例えば新生物形成性の形質細胞の大部分(例えば、９９.９５％)がＣＤ１９陰性の表現型を有する多発性骨髄腫である。
【００６７】
ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば本明細書で記載されるＣＡＲ分子発現細胞は、ＣＡＲ分子発現細胞の効能を増加させる薬剤、例えば本明細書で記載される薬剤と組み合わせて投与される。
【００６８】
ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞は、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせて投与される。理論に縛られることは望まないが、免疫を増強する低い用量(例えば、免疫系を完全に抑制するには不十分であるが免疫機能を向上させるには十分な用量)での処置は、ＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞もしくはＮＫ細胞の減少またはＰＤ－１陰性細胞の増加を伴うと考えられる。ＰＤ－１陰性免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)ではなくＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞は、ＰＤ－１リガンド、例えば、ＰＤ－Ｌ１またはＰＤ－Ｌ２を発現する細胞との接触によって排除することができる。
【００６９】
ある態様において、このアプローチは、対象における本明細書で記載されるＣＡＲ細胞の性能を最適化するのに使用できる。理論に縛られることは望まないが、ある態様において、内因性の非改変免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の性能が、向上すると考えられる。理論に縛られることは望まないが、ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現する細胞の性能が、向上すると考えられる。他の態様において、ＣＡＲを発現するように加工されたまたは加工されると予想される細胞、例えば、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の数を増加させるかまたはＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に対するＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の比率を増加させる量のｍＴＯＲ阻害剤と接触させることによって、エクスビボで処置され得る。
【００７０】
ある態様において、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤、例えば、アロステリック阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１または触媒性阻害剤の投与は、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞、例えば、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の投与の前に開始される。ある態様において、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細

胞またはＮＫ細胞のレベルまたはＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に対するＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の比率が、少なくとも一時的に増加するように、ＣＡＲ細胞は、十分な時間または十分なｍＴＯＲ阻害剤投与の後に投与される。

【００７１】

ある態様において、ＣＡＲを発現するように加工される細胞、例えば、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、対象におけるまたは対象から回収された、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞のレベルまたはＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に対するＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の比率が少なくとも一時的に増加するように、十分な時間の後にまたは十分な免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤投与の後に回収される。

【００７２】

ある態様において、本発明は、対象の処置で使用するためのｍＴＯＲ阻害剤であって、前記ｍＴＯＲ阻害剤は、前記対象の免疫応答を増強し、前記対象は、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現する免疫エフェクター細胞を受けたことがあるか、受けているかまたは受ける予定である、ｍＴＯＲ阻害剤を提供する。ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞は、ＣＡＲ分子を発現する細胞の投与に関連する１以上の副作用を改善する薬剤、例えば、本明細書で記載される薬剤と組み合わせて投与される。

【００７３】

ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば本明細書で記載されるＣＡＲ分子発現細胞は、ＢＣＭＡに関連する疾患を処置する薬剤、例えば本明細書で記載される薬剤と組み合わせて投与される。

【００７４】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡに関連する疾患は、癌もしくは悪性腫瘍などの増殖性疾患または脊髄形成異常、骨髄異形成症候群もしくは前白血病状態などの前癌状態であるかまたはＢＣＭＡ発現に関連する非癌関連の徴候である。

【００７５】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡに関連する疾患は、これらに限定されないが、急性骨髄性白血病(ＡＭＬ)などの１以上の急性白血病；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性新生物；慢性骨髄性白血病(ＣＭＬ)；芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物；多発性骨髄腫からなる群より選択される血液癌；ならびにこれらに限定されないが、ＢＣＭＡを発現する、異型のおよび／または非古典的な癌、悪性腫瘍、前癌状態または増殖性疾患などのＢＭＣＡ発現に関連する疾患；ならびにそれらの組合せである。ある態様において、ＢＣＭＡに関連する疾患は多発性骨髄腫である。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)が挙げられる。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、癌、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、膵臓癌または肺癌が挙げられる。

【００７６】

ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞は、多発性骨髄腫を有する対象を処置するのに使用される。ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞は、形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性

形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)を有する対象を処置するのに使用される。ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞は、癌、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、膵臓癌または肺癌を有する対象を処置するのに使用される。

【００７７】

ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞は、細胞の総用量を、用量の分割によって、例えば、部分用量の１回、２回、３回以上の別々の投与によって対象に投与することを含む用量レジメンに従って対象に投与される。ある態様において、総用量の第一のパーセンテージが処置の１日目に投与され、総用量の第二のパーセンテージがその後の処置の日(例えば、２、３、４、５、６または７日目またはそれより後)に投与され、総用量の第三のパーセンテージ(例えば、残りのパーセンテージ)がさらにその後の処置の日(例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０日目またはそれより後)に投与されてもよい。例えば、細胞の総用量の１０％が１日目に送達され、細胞の総用量の３０％が２日目に送達され、細胞の総用量の残りの６０％が処置の３日目に送達される。例えば、細胞の総用量は、１～５×１０^{7}または１～５×１０^{8}個のＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞を包含する。

【００７８】

ある態様において、リンパ球枯渇療法(例えば、シトキサン、例えば、１.５ｇ／ｍ^{2}で)は、ＣＡＲを発現する細胞を投与する前に対象に投与される。ある態様において、リンパ球枯渇療法(例えば、シトキサン)は、ＣＡＲを発現する細胞を投与する前に対象に投与されない。

【００７９】

ある態様において、リンパ球枯渇化学療法は投与されず、１～５×１０^{7}個のＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞の総用量が投与され(例えば、注入によって)、細胞用量の１０％が処置の１日目に、３０％が処置の２日目に、６０％が処置の３日目に投与される。別の態様において、リンパ球枯渇化学療法は投与されず、１～５×１０^{8}個のＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞の総用量が投与され(例えば、注入によって)、ここで細胞用量の１０％が処置の１日目に、３０％が処置の２日目に、６０％が処置の３日目に投与される。ある態様において、リンパ球枯渇化学療法(１.５ｇ／ｍ^{2}のシトキサン)がＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞投与の３日前に投与され、次いで１～５×１０^{7}個のＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞の総用量が投与され(例えば、注入によって)、ここで細胞用量の１０％が処置の１日目に、３０％が処置の２日目に、６０％が処置の３日目に投与される。ある態様において、リンパ球枯渇化学療法(１.５ｇ／ｍ^{2}のシトキサン)がＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞投与の３日前に投与され、次いで１～５×１０^{8}個のＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞の総用量が投与され(例えば、注入によって)、ここで細胞用量の１０％が処置の１日目に、３０％が処置の２日目に、６０％が処置の３日目に投与される。

【００８０】

別の面において、本発明は、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を含む細胞の有効量を対象に投与することを含む、細胞移植の前に対象をコンディショニングする方法に関する。ある態様において、細胞移植は、幹細胞移植である。幹細胞移植は、造血幹細胞移植または骨髄移植である。ある態様において、細胞移植は、同種異系移植または自己移植である。

【００８１】

ある態様において、細胞移植の前に対象をコンディショニングすることは、対象におけるＢＣＭＡを発現する細胞の数を低減することを含む。対象におけるＢＣＭＡを発現する細胞は、ＢＣＭＡを発現する正常細胞またはＢＣＭＡを発現する癌細胞であり、いくつかのケースにおいて、対象におけるコンディショニングが、細胞移植の前にＢＣＭＡを発現する正常および癌細胞の両方を低減すると予想される。

【００８２】

別の面において、本発明は、例えば本明細書で記載される医薬として使用するための、本発明のＣＡＲをコードする単離核酸分子、本発明のＣＡＲの単離されたポリペプチド分子、本発明のＣＡＲを含むベクターおよび本発明のＣＡＲを含む細胞に関する。

【００８３】

別の面において、本発明は、本発明のＣＡＲをコードする単離核酸分子、本発明のＣＡＲの単離されたポリペプチド分子、本発明のＣＡＲを含むベクターおよびＢＣＭＡを発現する疾患、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡを発現する疾患の処置で使用するための本発明のＣＡＲを含む細胞に関する。

【００８４】

前述の組成物および方法の追加の特色および態様は、以下のものの１以上を包含する。

【００８５】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載されるＢＣＭＡ結合ドメインは、表２０に示される重鎖可変領域からの１、２または３のＣＤＲ(例えば、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２および／またはＨＣ　ＣＤＲ３)；および／または表２１に示されるＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、Ｃ１３Ｆ１２.１の軽鎖可変領域からの１、２または３のＣＤＲ(例えば、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２および／またはＬＣ　ＣＤＲ３)；または前述の配列のいずれかに対して実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]を包含する。

【００８６】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表２２に示される重鎖可変領域からの１、２または３のＣＤＲ(例えば、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２および／またはＨＣ　ＣＤＲ３)；および／または表２３に示されるＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、Ｃ１３Ｆ１２.１の軽鎖可変領域からの１、２または３のＣＤＲ(例えば、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２および／またはＬＣ　ＣＤＲ３)；または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]を包含する。ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分

子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表２４に示される重鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２および／またはＨＣＤＲ３)；および／または表２５に示されるＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、Ｃ１３Ｆ１２.１の軽鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２および／またはＬＣ　ＣＤＲ３)；または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]を包含する。

【００８７】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、
(ｉ)表１もしくは１６、配列番号２７１もしくは２７３に列挙したＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２およびＬＣ　ＣＤＲ３または表２１、２３もしくは２５に記載のＬＣ　ＣＤＲ；ならびに／または
(ii)表１もしくは１６、配列番号２７１または２７３に列挙したＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのいずれかのアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３または表２０、２２、もしくは２４に記載のＨＣ　ＣＤＲ
を包含する。

【００８８】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、
(１)以下のうち１つから選択される３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号５０４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５４４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５８４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号５１４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号５１６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号５１８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９８のＬＣ　ＣＤＲ３；ならびに／または
(２)以下のうち１つから選択される３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号３８４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４２４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４６４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号３９４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号３９６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７６のＨＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５(１３９１１４)の、配列番号３９８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。

【００８９】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、
(１)以下のうち１つから選択される３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号７４４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７８４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８２４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号７５４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号７５６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号７５８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３８のＬＣ　ＣＤＲ３；ならびに／または
(２)以下のうち１つから選択される３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号６２４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６６４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７０４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号６３４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号６３６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１６のＨＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号６３８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。
【００９０】
ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、
(１)以下のうち１つから選択される３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号９８４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０２４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０６４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号９９４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号９９６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号９９８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７８のＬＣ　ＣＤＲ３；ならびに／または
(２)以下のうち１つから選択される３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号８６４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９０４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９４４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号８７４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号８７６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５６のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号８７８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。
【００９１】
ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子(例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ核酸またはＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチド)または本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、配列番号２７１もしくは２７３のヒト化ｓｃＦｖのアミノ酸配列またはｓｃＦｖ(配列番号２７２または２７４)またはそれらの抗原結合ドメイン(例えば、そ

れらのＶＨ、ＶＬまたは１以上のＣＤＲ)をコードするヌクレオチド配列を包含する。
【００９２】
特に他の定義がない限り、本明細書において使用される全ての専門用語や科学用語は、本発明が属する分野の当業者が一般的に理解するものと同じ意味を有する。以下で好適な方法および材料を説明するが、本発明の実施または試験において、本明細書で説明したものに類似したまたは同等な方法および材料を使用することができる。本明細書で述べられた全ての公報、特許出願、特許および他の参考文献は、参照によりそれら全体が開示に組み入れられる。加えて、材料、方法および実施例は単なる例示にすぎず、限定することを意図しない。見出し、小見出しまたは番号付けもしくは文字で分類された要素、例えば、(ａ)、(ｂ)、(ｉ)などは、単に読解しやすくするために示されたにすぎない。この文書における見出しまたは番号付けもしくは文字で分類された要素の使用は、工程または要素をアルファベット順に実行することまたは工程または要素が必ずしも互いに不連続であることを必要としない。本発明の他の特色、目的および利点は、説明および図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかであると予想される。
【図面の簡単な説明】
【００９３】
【図１】図１Ａおよび１Ｂを含む図１は、定量的ＰＣＲにより決定された場合の、骨髄腫サンプル中のＢＣＭＡ発現のグラフ表示である。ＢＣＭＡ発現は異なる骨髄腫細胞株において判定された(図１Ａ)。ＢＣＭＡ発現は正常な形質細胞と骨髄腫患者サンプルとの間で比較された(図１Ｂ)。
【００９４】
【図２】図２Ａ～２Ｅを含む図２は、フローサイトメトリーによる複数の骨髄腫細胞株および原発サンプルにおけるＢＣＭＡ発現の一連のグラフ表示である。ＢＣＭＡは細胞株Ｕ２６６(図２Ａ)、Ｈ９２９(図２Ｂ)および８２２６(図２Ｃ)の表面で検出された。ＢＣＭＡは分析された１０人の多発性骨髄腫患者のうち９人において大多数のクローン形質細胞上でも均一に発現された(図２Ｄおよび２Ｅ)。
【００９５】
【図３】図３Ａおよび３Ｂを含む図３は、正常末梢血細胞におけるおよびＣＤ３／ＣＤ２８拡大後(図３Ａ)並びに正常な骨髄細胞上(図３Ｂ)のＢＣＭＡ発現の欠如を示す一連のグラフ表示である。
【００９６】
【図４】図４Ａ～４Ｆを含む図４は、正常組織におけるＢＣＭＡ発現を示す一連の写真およびグラフである。免疫組織学的分析においてＢＣＭＡ発現に対して陽性染色する組織はリンパ節(図４Ａ)および扁桃腺(図４Ｂ)であった。ＢＣＭＡ発現に対して染色しない(ＢＣＭＡ陰性)代表的な組織には肺(図４Ｃ)、膵臓(図４Ｄ)および甲状腺(図４Ｅ)が含まれた。異なる組織におけるＲＮＡインサイチュハイブリダイゼーション分析も実施された(図４Ｆ)。
【００９７】
【図５】図５は、ｐＢＣＭＡ１、ｐＢＣＭＡ２、ｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４と命名された、ヒト化マウス抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有する４つのＣＡＲ構築物の模式図である。
【００９８】
【図６】図６は、Ｔ細胞上でのＢＣＭＡ－ＣＡＲ構築物の形質導入効率および発現を示す一連のフローサイトメトリープロットである。ＳＳ１－ＢＢｚは負の対照の働きをする抗メソセリンＣＡＲを表す。
【００９９】
【図７】図７Ａおよび７Ｂを含む図７は、ＥＬＩＳＡアッセイにより測定した場合の、ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴの抗原特異的サイトカイン産生を示す２つのグラフである。ＩＬ－２(図７Ａ)およびインターフェロンガンマ(ＩＦＮγ)(図７Ｂ)産生が評価された。
【０１００】

【図８】図８Ａ～８Ｄを含む図８は、指示された骨髄腫細胞株：Ｋ５６２発現ＢＣＭＡ(図８Ａ)、８２２６(図８Ｂ)、ＮＣＩ　Ｈ９２９(図８Ｃ)およびＯＰＭ２(図８Ｄ)上でのＢＣＭＡ－ＣＡＲＴの細胞障害活性を示す一連のグラフである。

【０１０１】

【図９】図９Ａおよび９Ｂを含む図９は、前臨床多発性骨髄腫動物モデルにおいてＢＣＭＡ－ＣＡＲＴの抗腫瘍活性を示すグラフおよび一連の図である。図９Ａは、全動物における疾患負荷を表す平均生物発光(光子／秒により表される)の定量化を示す。図９Ｂは、処置後の５、１５および２０日目に処置されたマウスで検出された生物発光の図を示す。

【０１０２】

【図１０】図１０Ａおよび１０Ｂを含む図１０は、ヒト化マウス抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の一連の模式図である。

【０１０３】

【図１１】図１１は、ルシフェラーゼレポーターアッセイによりレポーター細胞株に形質導入されたツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の標的特異的活性化を示す一連のグラフである。

【０１０４】

【図１２】図１２は、ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を用いた形質導入に先立つＣＤ３／ＣＤ２８拡大後のＴ細胞のＣＤ４＋およびＣＤ８＋集団の分布を示すフローサイトメトリープロットである。

【０１０５】

【図１３】図１３は、フローサイトメトリー分析および対応するヒストグラムによる形質導入１０日後のＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原の検出によりＣＡＲＴ形質導入効率を示す一連のプロットである。

【０１０６】

【図１４】図１４は、指示された標的細胞(例えば、Ｋ５６２、ＢＣＭＡを発現しているＫ５６２、ＫＭＳ１１－ｌｕｃ、ＭＭ１－Ｓ－ｌｕｃ、ＮＣＩ－Ｈ９２９、ＫＭｓ２６、ＲＰＭＩ　８２２６およびＣＤ３／ＣＤ２８ビーズ)を用いた刺激後のＣＦＳＥ染色によるツールＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞の増殖を示す一連のヒストグラムプロットである。

【０１０７】

【図１５】図１５Ａおよび１５Ｂを含む図１５は、指示された標的細胞を用いた刺激後のＣＡＲＴ発現細胞(図１５Ａ)および細胞の総数(図１５Ｂ)についての細胞数(フローサイトメトリーにより測定される)によりツールＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞の増殖を示す２つのグラフである。

【０１０８】

【図１６】図１６は、ルシフェラーゼアッセイによるＢＣＭＡ発現標的細胞ＫＭＳ１１－ルシフェラーゼ細胞(左)およびＭＭ１－Ｓ－ルシフェラーゼ細胞(右)に応答したツールＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ死滅を示すグラフである。

【０１０９】

【図１７】図１７は、ＣＦＳＥ細胞死滅アッセイによるＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したツールＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ死滅を示す一連のグラフである。

【０１１０】

【図１８】図１８は、ルシフェラーゼレポーターアッセイによるレポーター細胞株に形質導入されたヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するＢＣＭＡ　ＣＡＲの標的特異的活性化を示す一連のグラフである。

【０１１１】

【図１９】図１９は、ＣＤ３／ＣＤ２８拡大後およびＣＡＲ形質導入前のＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞集団の分布を示すフローサイトメトリープロットである。

【０１１２】

【図２０】図２０は、形質導入されたＴ細胞上でのＣＡＲ発現を評価することによる形質導入効率を示す一連のフローサイトメトリープロットおよび対応するヒストグラムプロットである。

【０１１３】
【図２１】図２１は、ＣＦＳＥ染色により測定した場合の、指示された標的細胞(Ｋ５６２、ＢＣＭＡを発現しているＫ５６２、ＲＰＭＩ　８２２６、ＫＭ１１－ｌｕｃおよびＮＣＩ－Ｈ９２９)を用いた刺激に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞の細胞増殖を示す一連のヒストグラムプロットである。
【０１１４】
【図２２】図２２Ａ～２２Ｃを含む図２２は、フローサイトメトリー分析により測定した場合の、指示された標的細胞(Ｋ５６２、ＢＣＭＡを発現しているＫ５６２、ＲＰＭＩ　８２２６、ＫＭＳ１１－ｌｕｃおよびＮＣＩ－Ｈ９２９)を用いた刺激に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞増殖を示す一連のグラフである。ＣＡＲＴ細胞の増殖はＣＤ３(図２２Ａ)、ＣＤ４(図２２Ｂ)およびＣＤ８(図２２Ｃ)を発現しているＴ細胞集団ごとに独立して分析した。
【０１１５】
【図２３】図２３Ａ～２３Ｃを含む図２３は、ルシフェラーゼアッセイによる、ＢＣＭＡ発現ＫＭＳ１１－ルシフェラーゼ標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ死滅を示す一連のグラフである。それぞれのＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の死滅能力(死滅した標的細胞のパーセント)は図２３Ａのそれぞれのグラフにおいて ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰと比較される。図２３Ｂでは、選ばれたＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は互いに比較された。図２３Ｃでは、エフェクター対標的比はＣＡＲ発現細胞に対して標準化された。Ｘ軸は死滅した標的細胞のパーセントを表し、Ｙ軸はエフェクター対標的(Ｅ対Ｔ)比を表す。
【０１１６】
【図２４】図２４は、ＮＳＧマウスにおいてＢＣＭＡ　ＣＡＲＴを用いた処置によりＫＭＳ－１１－ｌｕｃヒト多発性骨髄腫異種移植片の疾患進行が制御されることを示すグラフである。腫瘍細胞の平均生物発光(＋／－ＳＥＭ)は、ＲＯＩ(関心領域、例えば、全マウス)の光子／秒(ｐ／ｓ)としてグラフに表わされる場合、全動物における疾病負荷を示す。ＡＮＯＶＡ対媒体により有意性が計算される；＊はＰ＜０.０１を表す。
【０１１７】
【図２５】図２５Ａおよび２５Ｂを含む図２５は、２つの独立した実験におけるＫＭＳ－１１ヒト多発性骨髄腫モデルにおけるＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の抗腫瘍活性を示すグラフである。腫瘍細胞の平均生物発光(＋／－ＳＥＭ)は、全マウスの光子／秒(ｐ／ｓ)(または全流束もしくはＢＬＩ)としてグラフに表わされる場合、全動物における疾病負荷を示す。図２５Ａでは、２８日目にＡＮＯＶＡ対媒体により有意性が計算され；＊はＰ＜０.０１を表す。図２５Ｂでは、ＢＣＭＡ－４ＮＰ＊は第１の実験(図２５Ａに示される結果)からのＢＣＭＡ－４ＮＰ結果を表している。
【０１１８】
【図２６】図２６Ａ～２６Ｄを含む図２６は、ＫＭＳ－１１－ｌｕｃ腫瘍担持マウスの末梢血におけるＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞数の定量化によるＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞の増殖を示すグラフである。末梢血Ｔ細胞はＣＡＲ　Ｔ細胞処置に続く１、３、７、１０、１４日目におよびその後毎週分析された。第１の腫瘍実験(図２５Ａに示される結果)から、図２６ＡではＣＤ４＋ＣＡＲＴ集団が評価され、図２６ＢではＣＤ８＋ＣＡＲＴ集団が評価された。第２の腫瘍実験(図２５Ｂに示される結果)から、図２６ＣではＣＤ４＋ＣＡＲＴ集団が評価され、図２６ＤではＤ８＋ＣＡＲＴ集団が評価された。
【０１１９】
【図２７】図２７Ａ～２７Ｄを含む図２７は、第１の腫瘍実験(図２５Ａに示される結果)の終了時の骨髄および脾臓におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現Ｔ細胞の拡大を示すグラフである。骨髄(図２７Ａ)および脾臓(図２７Ｂ)におけるＣＤ４＝８＋ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現Ｔ細胞の平均数が計算された。Ｊ６ＭＯサンプルはＢＣＭＡ－４ＮＰ　ＣＡＲ構築物を発現しているＣＡＲ　Ｔ細胞を表す。骨髄(図２７Ｃ)および脾臓(図２７Ｄ)におけるＣＤ４＝８＋ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現Ｔ細胞の平均数が計算された。Ｊ６ＭＯサンプルはＢＣＭＡ－４ＮＰ ＣＡＲ構築物を発現しているＣＡＲ　Ｔ細胞を表す。

【０１２０】
【図２８】図２８Ａおよび２８Ｂを含む図２８は、２つの独立したレンチウイルス実験における選択されたＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物についてのレンチウイルス力価を示すグラフである。第１のテスト実行では、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の２つの異なるＤＮＡプレップを試験した(ＡおよびＢ)(図２８Ａ)。第２のテスト実行では、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の３つの異なるＤＮＡプレップを試験した(Ａ、ＢおよびＣ)(図２８Ｂ)。
【０１２１】
【図２９】図２９は、ＢＣＭＡ－４ＮＰと選択されたＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物、ＢＣＭＡ－４(Ｂ４)、ＢＣＭＡ－１０(Ｂ１０)、ＢＣＭＡ－１３(Ｂ１３)およびＢＣＭＡ－１５(Ｂ１５)の間の競合アッセイを示すグラフである。
【０１２２】
【図３０】図３０Ａ～Ｅを含む図３０は、選択されたＢＣＭＡ構築物：ＢＣＭＡ－１０(図３０Ａ)、ＢＣＭＡ－１３(図３０Ｂ)、ＢＣＭＡ－１５(図３０Ｃ)、ＢＣＭＡ－４(図３０Ｄ)およびＢＣＭＡ－４ＮＰ(図３０Ｅ)についての親和性アッセイの結果を示すグラフである。
【０１２３】
【図３１】図３１は、組換えＢＣＭＡに対する選択されたＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現Ｔ細胞の選択的結合を示すグラフである。組換え型のＢＣＭＡならびにＦｃドメインに融合されたタンパク質を含む密接な関連のあるファミリーメンバーＢＡＦＦＲおよびＴＡＣＩをＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５を発現しているＴ細胞と一緒にインキュベートした。組換えタンパク質と結合した細胞のパーセンテージ(％陽性細胞)を検出した。
【０１２４】
【図３２】図３２Ａ～３２Ｆを含む図３２は、脳組織におけるＢＣＭＡの免疫組織化学染色を描写する一連の画像である。カニクイザルの小脳の登上線維におけるＢＣＭＡ染色(図３２Ａ)。カニクイザルの下オリーブ核におけるニューロン細胞体でのＢＣＭＡ染色(図３２Ｂ)。カニクイザル延髄におけるＢＣＭＡ染色(図３２Ｃ)およびＩｇ染色(対照)(図３２Ｅ)。ヒト延髄におけるＢＣＭＡ染色(図３２Ｄ)およびＩｇ染色(対照)(図３２Ｆ)。
【０１２５】
【図３３】図３３Ａ～３３Ｅを含む図３３は、脳組織におけるＢＣＭＡ発現のＲＮＡ分析を描写する一連の画像およびグラフである。非ヒト霊長類小脳のＢＣＭＡ、ＤＡＰＢおよびＰＰＩＢ　ＲＮＡインサイチュハイブリダイゼーション(図３３Ａ)。非ヒト霊長類延髄のＢＣＭＡ、ＤＡＰＢおよびＰＰＩＢ　ＲＮＡインサイチュハイブリダイゼーション(図３３Ｂ)。ヒトの小脳、延髄、胃および腎臓におけるＢＣＭＡの定量的ＰＣＲ分析(図３３Ｃ)。カニクイザルの白質、灰白質、延髄、胃および腎臓におけるＢＣＭＡの定量的ＰＣＲ分析(図３３Ｄ)。ヒトにおける正常組織のＲＮＡｓｅｑ分析(図３３Ｅ)；ボックスは小脳におけるＢＣＭＡ発現を示す。
【０１２６】
【図３４】図３４は、再発および／または難治性骨髄腫におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞治療の安全性および実現可能性を評価するための研究の予定表を示す模式図である。
【０１２７】
【図３５】図３５Ａおよび３５Ｂを含む図３５は、標的細胞と共培養した場合のＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲＴにより分泌されるサイトカインの濃度を示すグラフである。図３５Ａは、ＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲＴにより分泌されるインターロイキン－２(ＩＬ－２)およびインターフェロンガンマ(ＩＦＮγ)の濃度を示すグラフである。図３５Ｂは、ＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲＴにより分泌される腫瘍壊死因子アルファ(ＴＮＦ－α)の濃度を示すグラフである。
【０１２８】
【図３６】図３６Ａおよび３６Ｂを含む図３６は、Ｔ細胞のｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚレンチウイルス形質導入の成長曲線および効率を示すグラフ／プロットである。図３６Ａは、拡大後数日目にｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚベクターを形質導入されたＴ細胞の数を示すグラフで

ある。図３６Ｂは、非形質導入ＮＴＤ細胞と比べた、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞(ｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚベクターを形質導入されたＴ細胞)上のＢＣＭＡのエクスビボ拡大の６日目の発現を示すフローサイトメトリープロットのパネルである。

【０１２９】

【図３７】図３７は、Ｋ５６２－ＢＣＭＡ細胞ならびに多発性骨髄腫細胞株ＮＣＩ　Ｈ９２９、Ｕ２６６、ＲＰＭＩ８２２６、ＯＰＭ２およびＭＭ１Ｓを含む、種々の細胞株上でのＢＣＭＡ表面発現を示すフローサイトメトリーヒストグラムのパネルである。全てのプロットでは、橙色ソリッドピークはアイソタイプ対照を表し、青色ソリッドピークはＢＣＭＡ抗体を用いた染色を表す。

【０１３０】

【図３８】図３８Ａおよび３８Ｂを含む図３８は、骨髄腫細胞株に応答したＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞により産生されるサイトカインの濃度を示すグラフである。図３８Ａは産生されたＩＬ－２の濃度を示し、図３８Ｂは産生されたＩＦＮ－γの濃度を示す。値はサイトカイン濃度をｐｇ／ｍＬで表す。

【０１３１】

【図３９】図３９Ａ～３９Ｃを含む図３９は、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞によるＢＣＭＡ＋多発性骨髄腫細胞株の抗原特異的死滅を示すグラフである。図３９ＡはＫ５６２－ＢＣＭＡ細胞の抗原特異的死滅を示し、図３９Ｂは、ＲＰＭＩ８２２６細胞の抗原特異的死滅を示し、図３９Ｃは、ＭＭ１Ｓ細胞の抗原特異的死滅を示す。

【０１３２】

【図４０】図４０Ａ～４０Ｃを含む図４０は、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞がインビボで効果的な抗骨髄腫活性を呈したことを示すグラフである。図４０Ａは非形質導入マウスにおける全体光輝を示すグラフであり、図４０ＢはＣＡＲＴ－ＢＣＭＡマウスにおける全体光輝を示すグラフである。図４０ＣはＴ細胞注射後のＮＴＤまたはＣＡＲＴ－ＢＣＭＡマウスにおけるパーセント生存を示すグラフである。ＲＰＭＩ８２２６ＣＢＧ＋腫瘍からの背側光子放射は、個々の動物は灰色で描き全体光輝中央値は赤色で描いて示している。ｎ＝群ごとに１０。時間はＴ細胞注射に続く週で示されている。

【０１３３】

【図４１】図４１Ａ～４１Ｄを含む図４１は、単一ベクター上の種々の配置を示しており、例えば、Ｕ６調節ｓｈＲＮＡはＥＦ１アルファ調節されたＣＡＲコードエレメントの上流または下流にある。図４１Ａおよび４１Ｂに描かれている例となる構築物では、転写はＵ６とＥＦ１アルファプロモーターを通して同じ方向に起こる。図４１Ｃおよび４１Ｄに描かれている例となる構築物では、転写はＵ６とＥＦ１アルファプロモーターを通して異なる方向に起こる。図４１Ｅでは、ｓｈＲＮＡ(および対応するＵ６プロモーター)は第１のベクター上にあり、ＣＡＲ(および対応するＥＦ１アルファプロモーター)は第２のベクター上にある。

【０１３４】

【図４２】図４２は、２つの例となるＲＣＡＲ配置の構造を描いている。抗原結合メンバーは抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよびスイッチドメインを含む。細胞内結合メンバーは、スイッチドメイン、共刺激シグナル伝達ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む。２つの配置は、本明細書で記載される第１および第２のスイッチドメインが、抗原結合メンバーおよび細胞内結合メンバーに関して異なる方向付けで可能であることを示している。他のＲＣＡＲ配置は本明細書にさらに記載されている。

【０１３５】

【図４３】図４３は、ＣＡＲ発現形質導入されたＴ細胞の増殖が細胞培養系において低用量のＲＡＤ００１により増強されることを示している。ＣＡＲＴは異なる濃度のＲＡＤ００１の存在下でＮａｌｍ－６細胞と共培養された。ＣＡＲ陽性ＣＤ３陽性Ｔ細胞(黒色)および全Ｔ細胞(灰色)の数は共培養の４日後に評価された。

【０１３６】

【図４４】図４４は、０.３、１、３および１０mg／kg(ｍｐｋ)での毎日ＲＡＤ００１投

与または媒体投与でのＮＡＬＭ６－ｌｕｃ細胞の腫瘍成長測定を描いている。丸形は媒体を表し、四角形は１０mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、三角形は３mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、逆三角形は１mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、菱形は0.３mg／kg用量のＲＡＤ００１を表す。

【０１３７】

【図４５】図４５Ａおよび４５Ｂを含む図４５は、ＮＡＬＭ６腫瘍を有するＮＳＧマウスの血液中のＲＡＤ００１の量を示す薬物動態曲線を示す。図４５ＡはＲＡＤ００１の最初の投与に続く０日目のＰＫを示す。図４５Ｂは最終ＲＡＤ００１投与に続く１４日目のＰＫを示す。菱形は１０mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、四角形は１mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、三角形は３mg／kg用量のＲＡＤ００１を表し、ｘは１０mg／kg用量のＲＡＤ００１を表す。

【０１３８】

【図４６】図４６Ａおよび４６Ｂを含む図４６は、ＲＡＤ００１投与するおよびしないヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞のインビボ増殖を示している。毎日の低用量のＲＡＤ００１(0.００３mg.kg)により、ｈｕＣＡＲ１９増殖の正常レベルを超えて、ＣＡＲ　Ｔ細胞増殖は増強される。図４６ＡはＣＤ４＋ＣＡＲ　Ｔ細胞を示す；図４６ＢはＣＤ８＋ＣＡＲ　Ｔ細胞を示す。丸形はＰＢＳを表し、四角形はｈｕＣＴＬ０１９を表し、三角形は３mg／kgＲＡＤ００１でのｈｕＣＴＬ０１９を表し、逆三角形は0.３mg／kg　ＲＡＤ００１でのｈｕＣＴＬ０１９を表し、菱形は0.０３mg／kg　ＲＡＤ００１でのｈｕＣＴＬ０１９を表し、黒色の丸形は0.００３mg／kg　ＲＡＤ００１でのｈｕＣＴＬ０１９を表す。

【０１３９】

【図４７】図４７は、患者の腫瘍細胞におけるＣＤ１９発現を描いている。ＣＤ１３８＋ＣＤ４５ｄｉｍ腫瘍細胞はＣＤ１９(ｘ軸)およびＣＤ３８(ｙ軸)に関して染色した。腫瘍細胞のおよそ１～２％がＣＤ１９抗原を発現した。

【発明を実施するための形態】

【０１４０】

定義

特に他の指定がない限り、本明細書において使用される全ての専門用語や科学用語は、本発明が関連する当業者により一般的に理解されるのと同じ意味を有する。

【０１４１】

単数表現は、文法上の目的語である物品が１以上(すなわち、少なくとも１の)であることを指す。一例として、「要素」は、１つの要素または１以上の要素を意味する。

【０１４２】

用語「約」は、量、一時的な持続時間および同種のものなどの測定可能な値を指す場合、規定された値から、±２０％の変動またはいくつかの場合において±１０％の変動またはいくつかの場合において±５％の変動またはいくつかの場合において±１％の変動またはいくつかの場合において±0.１％の変動を包含することを意味しており、これはなぜなら、このような変動は開示された方法を行うのに適切であるためである。

【０１４３】

用語「キメラ抗原受容体」またはその代わりに「ＣＡＲ」は、少なくとも細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、以下で定義されるような刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞質内シグナル伝達ドメイン(また本明細書では、「細胞内シグナル伝達ドメイン」とも称される)とを含む、組換えポリペプチド構築物を指す。ある態様において、ＣＡＲポリペプチド構築物中のドメインは、同じポリペプチド鎖中にあり、例えば、キメラ融合タンパク質を含む。ある態様において、ＣＡＲポリペプチド構築物中のドメインは、互いに連続しておらず、例えば、異なるポリペプチド鎖中にあり、例えば、本明細書で記載されるＲＣＡＲ中に提供される。

【０１４４】

ある面において、ＣＡＲの刺激分子は、Ｔ細胞受容体複合体と会合するゼータ鎖である。ある面において、細胞質内のシグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン(例えば

、ＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達ドメイン)を含む。ある面において、細胞質内シグナル伝達ドメインは、以下で定義されるような少なくとも１の共刺激分子由来の１以上の機能的なシグナル伝達ドメインをさらに含む。ある面において、共刺激分子は、４－１ＢＢ(すなわち、ＣＤ１３７)、ＣＤ２７、ＩＣＯＳおよび／またはＣＤ２８から選ばれる。ある面において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。ある面において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、共刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインおよび刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。ある面において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、１以上の共刺激分子由来の２の機能的なシグナル伝達ドメインおよび刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。ある面において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、１以上の共刺激分子由来の少なくとも２の機能的なシグナル伝達ドメインおよび刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。ある面において、ＣＡＲは、ＣＡＲ融合タンパク質のアミノ末端(Ｎ－ｔｅｒ)に任意のリーダー配列を含む。ある面において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインのＮ末端におけるリーダー配列をさらに含み、ここでリーダー配列は、細胞内プロセシングおよび細胞膜へのＣＡＲの局在化の間に、抗原認識ドメイン(例えば、ｓｃＦｖのアミノ酸)から切断されてもよい。

【０１４５】

特異的な腫瘍マーカーＸ(ここでＸは本明細書で記載される腫瘍マーカーであり得る)を標的とする抗原結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体またはＴＣＲ(例えば、ＴＣＲアルファ結合ドメインまたはＴＣＲベータ結合ドメイン)]を含むＣＡＲは、ＸＣＡＲとも称される。例えば、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメインを含むＣＡＲは、ＢＣＭＡＣＡＲと称される。ＣＡＲは、あらゆる細胞、例えば、本明細書で記載される免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)中で発現させることができる。

【０１４６】

用語「シグナル伝達ドメイン」は、第２メッセンジャーを生成したりまたはこのようなメッセンジャーに応答してエフェクターとして機能化したりすることにより規定のシグナル伝達経路を介して細胞活性を調節するために、細胞内の情報を伝えることによって作用するタンパク質の機能的な部分を指す。

【０１４７】

用語「ＢＣＭＡ」は、本明細書で使用される場合、Ｂ細胞成熟抗原を指す。ＢＣＭＡ(ＴＮＦＲＳＦ１７、ＢＣＭまたはＣＤ２６９としても公知)は腫瘍壊死受容体(ＴＮＦＲ)ファミリーのメンバーであり、最終分化したＢ細胞、例えば、メモリーＢ細胞および形質細胞で優勢に発現される。そのリガンドは、ＴＮＦファミリー(ＢＡＦＦ)のＢ細胞活性化剤および増殖誘導リガンド(ＡＰＲＩＬ)と呼ばれている。ＢＣＭＡは、長期の体液性免疫を維持するための形質細胞の生存の媒介に関与する。ＢＣＭＡに関する遺伝子は、第１６染色体にコードされており、１８４アミノ酸のタンパク質(ＮＰ＿００１１８３.２)をコードする長さが９９４ヌクレオチドの一次ｍＲＮＡ転写物(ＮＣＢＩ受入番号＿００１１９２.２)を生産する。ＢＣＭＡ遺伝子座から誘導された第二のアンチセンス転写が説明されており、これは、ＢＣＭＡ発現を調節することにおいて役割を果たす可能性がある。(Laabi Y. et al., Nucleic Acids Res., 1994, 22:1147-1154)。意義不明の追加の転写変異体が説明されている(Smirnova AS et al. Mol Immunol., 2008, 45(4):1179-1183。ＴＶ４としても公知の第二のアイソフォームが同定されている(Ｕｎｉｐｒｏｔ識別子Ｑ０２２２３－２)。「ＢＣＭＡ」は、本明細書で使用される場合、全長野生型ＢＣＭＡの、変異、例えば、点変異、フラグメント、挿入、欠失およびスプライス変異体を含むタンパク質を包含する。

【０１４８】

用語「抗体」は、本明細書で使用される場合、抗原と特異的に結合する免疫グロブリン分子由来のタンパク質またはポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナルもしくはモノクローナルの、複数もしくは単一の鎖のまたは無傷の免疫グロブリンであってもよく、自然源由来でもよいしまたは組換え源由来でもよい。抗体は、免疫グロブリン分子の四量体であってもよい。

【０１４９】

用語「抗体フラグメント」は、無傷の抗体またはそれらの組換え変異体の少なくとも一部を指し、さらに、抗体フラグメントの抗原などの標的への認識および特異的な結合をもたらすのに十分な程度の、抗原結合ドメイン、例えば無傷の抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体フラグメントの例としては、これらに限定されないが、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ(ａｂ’)２およびＦｖフラグメント、ｓｃＦｖ抗体フラグメント、線状抗体、単一ドメイン抗体、例えばｓｄＡｂ(ＶＬまたはＶＨのいずれか)、ラクダＶＨＨドメイン、ならびにヒンジ領域においてジスルフィド架橋で連結された、２以上の、例えば２の、Ｆａｂフラグメントまたは２以上の、例えば２の孤立したＣＤＲ、もしくは連結された抗体の他のエピトープ結合フラグメントを含む２価フラグメントなどの抗体フラグメントから形成された多重特異性分子が挙げられる。抗体フラグメントはまた、単一ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、ナノボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲおよびビス－ｓｃＦｖに取り込まれていてもよい(例えば、Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005を参照)。抗体フラグメントは、フィブロネクチンＩＩＩ型(Ｆｎ３)などのポリペプチドをベースとした足場にグラフト化することもできる(フィブロネクチンポリペプチドのミニボディを説明している米国特許第６,７０３,１９９号を参照)。

【０１５０】

用語「ｓｃＦｖ」は、軽鎖の可変領域を含む少なくとも１の抗体フラグメントと重鎖の可変領域を含む少なくとも１の抗体フラグメントとを含む融合タンパク質であって、軽鎖および重鎖可変領域が、短いフレキシブルなポリペプチドリンカーを介して連続的に連結されており、単一鎖のポリペプチドとして発現することができ、さらにｓｃＦｖが、その元となった無傷の抗体の特異性を保持している、上記融合タンパク質を指す。特段の規定がなければ、ｓｃＦｖは、本明細書で使用される場合、ＶＬおよびＶＨ可変領域をいずれの順番で有していてもよく、例えばポリペプチドのＮ末端およびＣ末端の終端に関して、ｓｃＦｖは、ＶＬ－リンカー－ＶＨを含んでいてもよいしまたはＶＨ－リンカー－ＶＬを含んでいてもよい。

【０１５１】

用語「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」は、本明細書で使用される場合、抗原特異性と結合親和性を付与する抗体可変領域内のアミノ酸配列を指す。例えば、一般的に、各重鎖可変領域中に３ＣＤＲ(例えば、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３)および各軽鎖可変領域中に３ＣＤＲ(ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３)がある。所与のＣＤＲの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(「Ｋａｂａｔ」番号付けスキーム)、Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948(「Ｃｈｏｔｈｉａ」番号付けスキーム)によって説明されたものまたはそれらの組合せなどの多数の周知のスキームのいずれかを使用して決定することができる。Ｋａｂａｔ番号付けスキームによれば、ある態様において、重鎖可変ドメイン(ＶＨ)におけるＣＤＲのアミノ酸残基は、３１～３５(ＨＣＤＲ１)、５０～６５(ＨＣＤＲ２)および９５～１０２(ＨＣＤＲ３)と番号付けされ、軽鎖可変ドメイン(ＶＬ)におけるＣＤＲのアミノ酸残基は、２４～３４(ＬＣＤＲ１)、５０～５６(ＬＣＤＲ２)および８９～９７(ＬＣＤＲ３)と番号付けされる。Ｃｈｏｔｈｉａ番号付けスキームによれば、ある態様において、ＶＨにおけるＣＤＲのアミノ酸は、２６～３２(ＨＣＤＲ１)、５２～５６(ＨＣＤＲ２)および９５～１０２(ＨＣＤＲ３)と番号付けされ、ＶＬにおけるＣＤＲのアミノ酸残基は、２６～３２(ＬＣＤＲ１)、５０～５２(ＬＣＤＲ２)および９１～９６(ＬＣＤＲ３)と番

号付けされる。ＫａｂａｔおよびＣｈｏｔｈｉａ番号付けスキームの組合せでは、ある態様において、ＣＤＲは、ＫａｂａｔのＣＤＲ、ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲまたはその両方の一部であるアミノ酸残基に相当する。例えば、ある態様において、ＣＤＲは、ＶＨ、例えば哺乳動物のＶＨ、例えばヒトＶＨにおいて、アミノ酸残基２６～３５(ＨＣＤＲ１)、５０～６５(ＨＣＤＲ２)および９５～１０２(ＨＣＤＲ３)；ならびにＶＬ、例えば哺乳動物のＶＬ、例えばヒトＶＬにおいて、アミノ酸残基２４～３４(ＬＣＤＲ１)、５０～５６(ＬＣＤＲ２)および８９～９７(ＬＣＤＲ３)に相当する。

【０１５２】

抗体またはそれらの抗体フラグメントを含む本発明のＣＡＲ組成物の一部は、様々な形態で存在していてもよく、例えば、その場合、抗原結合ドメインは、例えば、単一ドメイン抗体フラグメント(ｓｄＡｂ)、単鎖抗体(ｓｃＦｖ)または例えばヒト化抗体などのポリペプチド鎖の一部として発現される(Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426)。ある面において、本発明のＣＡＲ組成物の抗原結合ドメインは、抗体フラグメントを含む。さらなる面において、ＣＡＲは、ｓｃＦｖを含む抗体フラグメントを含む。

【０１５３】

用語「結合ドメイン」または「抗体分子」(本明細書では「抗標的(例えば、ＢＣＭＡ)結合ドメイン」とも称される)は、本明細書で使用される場合、少なくとも１の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む、タンパク質、例えば、免疫グロブリン鎖またはそれらのフラグメントを指す。用語「結合ドメイン」または「抗体分子」は、抗体および抗体フラグメントを包含する。ある態様において、抗体分子は、多重特異性抗体分子であり、例えば、抗体分子は、複数の免疫グロブリンの可変ドメイン配列を含み、ここで複数のもののうち第一の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、第一のエピトープに結合特異性を有し、複数のもののうち第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、第二のエピトープに結合特異性を有する。ある態様において、多重特異性抗体分子は、二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体は、２以下の抗原に特異性を有する。二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有する第一の免疫グロブリンの可変ドメイン配列および第二のエピトープに結合特異性を有する第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列を特徴とする。用語「抗体重鎖」は、それらの天然に存在するコンフォメーションの抗体分子中に存在する２タイプのポリペプチド鎖のうち大きい方を指し、通常これが抗体が属するクラスを決定する。

【０１５４】

用語「抗体軽鎖」は、それらの天然に存在するコンフォメーションの抗体分子中に存在する２タイプのポリペプチド鎖のうち小さい方を指す。カッパ(κ)およびラムダ(λ)軽鎖は、２の主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。

【０１５５】

用語「組換え抗体」は、例えばバクテリオファージまたは酵母発現系によって発現される抗体などの、組換えＤＮＡ技術を使用して生成される抗体を指す。この用語はまた、抗体をコードするＤＮＡ分子(このＤＮＡ分子は抗体タンパク質を発現する)または抗体を指定するアミノ酸配列の合成によって生成された抗体も意味すると解釈されるものとし、この場合、ＤＮＡまたはアミノ酸配列は、当業界で利用可能であり周知の組換えＤＮＡまたはアミノ酸配列技術を使用して得られたものである。

【０１５６】

用語「抗原」または「Ａｇ」は、免疫反応を惹起する分子を指す。この免疫反応は、抗体産生または特異的な免疫担当細胞の活性化のいずれかまたはその両方を含み得る。当業者であれば、実質的に全てのタンパク質またはペプチドを包含するあらゆる高分子が抗原として役立つ可能性があることを理解しているものと予想される。さらに抗原は、組換えま

たはゲノムＤＮＡ由来であってもよい。当業者であれば、免疫反応を惹起するタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分的なヌクレオチド配列を含むあらゆるＤＮＡが、結果的に本明細書において抗原という用語が使用される場合と同様の「抗原」をコードすることを理解しているものと予想される。さらに当業者であれば、抗原は、必ずしも遺伝子の全長ヌクレオチド配列によってのみコードされるわけではないことを理解しているものと予想される。本発明は、これらに限定されないが、１を超える遺伝子の部分的なヌクレオチド配列の使用を包含すること、さらに望ましい免疫反応を惹起するポリペプチドがコードされるように、これらのヌクレオチド配列は様々な組み合わせで配置されることが容易に理解される。さらに当業者であれば、抗原は、必ずしも「遺伝子」によってコードされていなくてもよいことを理解しているものと予想される。抗原は、生成されるか合成されてもよくまたは生体サンプル由来であってもよくまたはポリペプチド以外にも高分子であってもよいことが容易に理解される。このような生体サンプルとしては、これらに限定されないが、組織サンプル、腫瘍サンプル、細胞または他の生物学的成分を含む流体を挙げることができる。

【０１５７】

用語「抗腫瘍効果」は、これらに限定されないが、例えば、腫瘍容量の減少、腫瘍細胞数の減少、転移数の減少、期待寿命の増加、腫瘍細胞増殖の減少、腫瘍細胞生存の減少または癌性状態に関連する様々な生理学的な症状の改善などの様々な手段によって証明が可能な生物学的作用を指す。また「抗腫瘍効果」は、最初の場所における腫瘍の出現の予防における本発明のペプチド、ポリヌクレオチド、細胞および抗体の能力によっても証明することができる。

【０１５８】

用語「抗癌作用」は、これらに限定されないが、例えば、腫瘍容積の減少、癌細胞の数の減少、転移の数の減少、期待寿命の増加、癌細胞増殖の減少、癌細胞生存の減少または癌性状態に関連する様々な生理学的な症状の改善などの、様々な手段によって証明することができる生物学的作用を指す。「抗癌作用」はまた、最初の場所での癌発生の予防における、ペプチド、ポリヌクレオチド、細胞および抗体の能力によって証明することもできる。用語「抗腫瘍効果」は、これらに限定されないが、例えば、腫瘍容積の減少、腫瘍細胞の数の減少、腫瘍細胞増殖の減少または腫瘍細胞生存の減少などの、様々な手段によって証明することができる生物学的作用を指す。用語「自己」は、後でそれが再導入されることになる個体と同じ個体由来のあらゆる材料を指す。

【０１５９】

用語「同種異系」は、材料が導入される個体と同じ種の異なる動物由来のあらゆる材料を指す。２以上の個体は、１以上の遺伝子座における遺伝子が同一ではない場合、互いに同種異系といわれる。いくつかの面において、同じ種の個体からの同種異系材料は、抗原的に相互作用するのに十分な程度、遺伝学的に異なっていてもよい。

【０１６０】

用語「異種」は、異なる種の動物由来の移植片を指す。

【０１６１】

用語「アフェレーシス」は、本明細書で使用される場合、当業界で認識されている体外プロセスであって、ドナーまたは患者の血液を、そのドナーまたは患者から除去し、選択された特定の成分を分離除去する装置を通過させ、残りを、ドナーまたは患者の循環に、例えば返血によって戻すプロセスを指す。したがって、「アフェレーシスサンプル」という表現は、アフェレーシスを使用して得られたサンプルを指す。

【０１６２】

用語「組合せ」は、１用量単位形態における固定された組合せまたは投与の組合せのいずれかを指し、ここで投与の組合せの場合、本発明の化合物と組合せパートナー(例えば、以下で記載されるような、「治療剤」または「共薬剤」とも称される別の薬物)とが、同時に独立してまたは所定の時間間隔で別々に投与されてもよく、特にこれらの時間間隔は、組合せパートナーが協調的な作用、例えば相乗作用を示すことを許容する。単一の構成要素

が、キット中にまたは別々にパッケージ化されていてもよい。構成要素(例えば、粉末または液体)の一方または両方は、投与前に、所望の用量に再溶解または希釈されてもよい。本明細書で利用される用語「共投与」もしくは「投与の組合せ」または同種のものは、それらを必要とする単一の対象(例えば患者)への選択された組合せパートナーの投与を包含することを意味し、薬剤が必ずしも同じ投与経路でまたは同時に投与されない処置レジメンを包含することが意図される。用語「医薬的な組合せ」は、本明細書で使用される場合、１種より多くの活性成分を混合することまたは組み合わせることによって得られる製品を意味し、固定されたおよび固定されていない活性成分の組合せの両方を包含する。用語「固定された組合せ」は、活性成分、例えば本発明の化合物および組合せパートナーが、両方とも単一の物体または投薬の形態で患者に同時に投与されることを意味する。用語「固定されていない組合せ」は、活性成分、例えば本発明の化合物および組合せパートナーが、両方とも、具体的な時間制限なく、別々の物体として、同時に、並行してまたは逐次的にのいずれかで患者に投与され、このような投与により患者の体内で２化合物の治療上有効なレベルがもたらされることを意味する。後者はまた、カクテル療法、例えば３種以上の活性成分の投与にも適用される。

【０１６３】

用語「癌」は、異常な細胞の急速で制御不能な成長を特徴とする疾患を指す。癌細胞は、局所的にまたは血流およびリンパ系を介して体の他の部分に蔓延する可能性がある。様々な癌の例が本明細書で説明されており、これらに限定されないが、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、皮膚癌、膵臓癌、結腸直腸癌、腎臓癌、肝臓癌、脳癌、リンパ腫、白血病、肺癌および同種のものが挙げられる。本明細書で記載される方法によって処置される好ましい癌としては、多発性骨髄腫、ホジキンリンパ腫または非ホジキンリンパ腫が挙げられる。

【０１６４】

用語「腫瘍」および「癌」は、本明細書において同義的に使用され、例えば、どちらの用語も、固体および液性、例えば、びまん性または循環性の腫瘍を包含する。用語「癌」または「腫瘍」は、本明細書で使用される場合、前癌性の、同様に悪性の癌および腫瘍を包含する。

【０１６５】

「由来の」は、この用語が本明細書で使用される場合、第一の分子と第二の分子との関係を示す。これは一般的に、第一の分子と第二の分子との構造的な類似性を指し、第二の分子由来の第一の分子におけるプロセスまたは源の限定を意味したりまたは包含したりすることはない。例えば、ＣＤ３ゼータ分子由来の細胞内シグナル伝達ドメインのケースにおいて、細胞内シグナル伝達ドメインは、必要な機能、すなわち、適切な条件下でシグナルを生成する能力を有するのに十分なＣＤ３ゼータ構造を保持する。これは、細胞内シグナル伝達ドメインを生産する特定のプロセスへの限定を意味したりまたは包含したりすることはなく、例えば、細胞内シグナル伝達ドメインを提供するために、ＣＤ３ゼータ配列から開始して不要な配列を欠失させたりまたは変異を付与したりして、細胞内シグナル伝達ドメインを得なければならないことを意味しない。

【０１６６】

成句「ＢＣＭＡ発現に関連する疾患」としては、これらに限定されないが、ＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)を発現する細胞に関連する疾患、もしくはＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)を発現する細胞に関連する状態、例えば、癌もしくは悪性腫瘍などの増殖性疾患、もしくは脊髄形成異常、骨髄異形成症候群もしくは前白血病状態などの前癌状態など；またはＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)を発現する細胞に関連する非癌関連の徴候が挙げられる。誤解を避けるために言えば、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、例えばＢＣＭＡ発現が下方調節されているために、例えばＢＣＭＡを標的とする分子、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ阻害剤での処置によって、現時点ではＢＣＭＡを発現しないが、ある時期にＢＣＭＡを発現する細胞に関連する状態を挙げることができる。ある面において、ＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)

発現に関連する癌は、血液癌である。ある面において、血液癌(hematogical cancer)は、白血病またはリンパ腫である。ある面において、ＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)発現に関連する癌は、分化した形質Ｂ細胞の悪性腫瘍である。ある面において、ＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)発現に関連する癌は、例えば、これらに限定されないが、例えば、Ｂ細胞急性リンパ性白血病(「ＢＡＬＬ」)、Ｔ細胞急性リンパ性白血病(「ＴＡＬＬ」)、急性リンパ性白血病(ＡＬＬ)などの１以上の急性白血病；これらに限定されないが、例えば、慢性骨髄性白血病(ＣＭＬ)、慢性リンパ性白血病(ＣＬＬ)などの１種または複数の慢性白血病などの癌および悪性腫瘍を包含するが、これらに限定されない。ＢＭＣＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)の発現に関連する追加の癌または血液学的な状態としては、これらに限定されないが、例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型または大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常および骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症および骨髄の血液細胞の無効な生産(または異形成)を併せもつ血液学的な状態の多様な集合体である「前白血病状態」および同種のものが挙げられる。ある態様において、癌は、多発性骨髄腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫または膠芽腫である。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)が挙げられる。さらなるＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)発現に関連する疾患としては、これらに限定されないが、例えば、異型のおよび／または非古典的な癌、悪性腫瘍、前癌状態もしくはＢＣＭＡ発現(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)に関連する増殖性疾患、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、膵臓癌または肺癌が挙げられる。

【０１６７】

ＢＣＭＡ(例えば、野生型または変異ＢＣＭＡ)に関連する非癌関連の状態としては、ウイルス感染；例えば、ＨＩＶ、真菌感染(fungal invection)、例えば、Ｃ.ネオフォルマンス(C. neoformans)；自己免疫疾患；例えばリウマチ様関節炎、全身性エリテマトーデス(system lupus erythematosus)(ＳＬＥまたは狼瘡)、尋常性天疱瘡およびシェーグレン症候群；炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎；粘膜免疫に関する移植関連のアロ特異的な免疫障害；および体液性免疫が重要である生物製剤(例えば、第ＶＩＩＩ因子)に対する不要な免疫応答が挙げられる。ある態様において、ＢＣＭＡ発現に関連する非癌関連の徴候としては、これらに限定されないが、例えば、自己免疫疾患、(例えば、狼瘡)、炎症性疾患(アレルギーおよび喘息)および移植が挙げられる。ある態様において、腫瘍抗原を発現する細胞は、腫瘍抗原をコードするｍＲＮＡを、発現しているかまたはいずれかの時点で発現していた。ある態様において、腫瘍抗原を発現する細胞は、腫瘍抗原タンパク質(例えば、野生型または変異)を産生し、腫瘍抗原タンパク質は、正常なレベルまたは低下したレベルで提示され得る。ある態様において、腫瘍抗原を発現する細胞は、ある時点で検出可能なレベルの腫瘍抗原タンパク質を産生し、その後、実質的に検出不可能な腫瘍抗原タンパク質を産生した。

【０１６８】

用語「保存的配列改変」は、そのアミノ酸配列を含有する抗体または抗体フラグメントの結合特徴に有意に影響を与えたりまたは変更したりしないアミノ酸改変を指す。このような保存的改変としては、アミノ酸の置換、付加および欠失が挙げられる。改変は、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ介在変異誘発などの当業界公知の標準的な技術によって本発明

の抗体または抗体フラグメントに導入することができる。保存的置換とは、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられる置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当業界において定義されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電性極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン)、非極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン)、ベータ分岐側鎖(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を包含する。したがって、本発明のＣＡＲ内の１以上のアミノ酸残基が、同じ側鎖ファミリーの他のアミノ酸残基で置き換えられていてもよく、変更されたＣＡＲは、本明細書で記載される機能アッセイを使用してテストすることができる。

【０１６９】

用語「刺激」は、刺激分子(例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体)とその同起源のリガンドとの結合により誘導された一次応答を指し、それによって、これらに限定されないが、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体を介したシグナル伝達などのシグナル伝達事象が媒介される。刺激は、ＴＧＦ－βの下方調節および／または細胞骨格構造の再構築、ならびに同種のものなどの所定の分子の変更された発現を媒介することができる。

【０１７０】

用語「刺激分子」は、Ｔ細胞のシグナル伝達経路の少なくともいくつかの面に関して、刺激の形態でＴＣＲ複合体の一次的な活性化を調節する一次細胞質内シグナル伝達配列をもたらすＴ細胞によって発現される分子を指す。ある態様において、ＣＡＲ内のＩＴＡＭを含有するドメインは、内因性ＴＣＲ複合体とは独立して、一次ＴＣＲのシグナル伝達を再現する。ある面において、例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体とペプチドを提示したＭＨＣ分子との結合によって一次シグナルが始動し、それにより、これらに限定されないが、増殖、活性化、分化および同種のものなどのＴ細胞応答の媒介が起こる。刺激の形態で作用する一次細胞質内シグナル伝達配列(また、「一次シグナル伝達ドメイン」とも称される)は、シグナル伝達モチーフを含有していてもよく、これは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはＩＴＡＭとして知られている。本発明において特定の用途を有する一次細胞質内シグナル伝達配列を含有するＩＴＡＭの例としては、これらに限定されないが、ＴＣＲゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８(また、「ＩＣＯＳ」としても知られている)、ＦｃεＲＩおよびＣＤ６６ｄ、ＤＡＰ１０およびＤＡＰ１２由来のものが挙げられる。本発明の特定のＣＡＲにおいて、本発明のいずれか１以上のＣＡＲにおける細胞内シグナル伝達ドメインは、細胞内シグナル伝達配列、例えばＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達配列を含む。本発明の特定のＣＡＲにおいて、ＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達配列は、配列番号９として提供される配列であるかまたは非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基である。本発明の特定のＣＡＲにおいて、ＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達配列は、配列番号１０で提供される配列であるかまたは非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基である。用語「抗原提示細胞」または「ＡＰＣ」は、その表面上に主要組織適合複合体(ＭＨＣ)と複合体化した外来抗原を提示するアクセサリー細胞(例えば、Ｂ細胞、樹状細胞および同種のもの)などの免疫系細胞を指す。Ｔ細胞は、それらのＴ細胞受容体(ＴＣＲ)を使用してこれらの複合体を認識する可能性がある。ＡＰＣは抗原をプロセシングし、それらをＴ細胞に提示させる。

【０１７１】

「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、この用語が本明細書において使用される場合、分子の細胞内部分を指す。ある態様において、細胞内シグナルドメインは、エフェクター機能シグナルを伝達し、細胞に特殊化した機能を実行させる。細胞内シグナル伝達ドメイン全体が採用される場合もあるが、多くの場合において鎖全体を使用することは必ずしも必要

ではない。細胞内シグナル伝達ドメインのトランケートされた部分が使用される限りにおいて、このようなトランケートされた部分は、それがエフェクター機能シグナルを伝達しさえすれば無傷の鎖の代わりに使用することができる。したがって細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインのあらゆるトランケートされた部分を包含することを意味する。

【０１７２】

細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＡＲを含有する細胞、例えばＣＡＲＴ細胞の免疫エフェクター機能を促進するシグナルを生成する。例えばＣＡＲＴ細胞における免疫エフェクター機能の例としては、細胞溶解活性およびヘルパー活性、例えばサイトカイン分泌などが挙げられる。

【０１７３】

ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいてもよい。典型的な一次細胞内シグナル伝達ドメインとしては、一次刺激または抗原依存性刺激(antigen dependent simulation)に関与する分子由来のものが挙げられる。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激細胞内ドメインを含んでいてもよい。典型的な共刺激細胞内シグナル伝達ドメインとしては、共刺激シグナルまたは抗原非依存性刺激に関与する分子由来のものが挙げられる。例えば、ＣＡＲＴの場合において、一次細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞受容体の細胞質内配列を含んでいてもよいし、共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、補助受容体または共刺激分子からの細胞質内配列を含んでいてもよい。

【０１７４】

一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはＩＴＡＭとして公知のシグナル伝達モチーフを含んでいてもよい。ＩＴＡＭを含有する一次細胞質内シグナル伝達配列の例としては、これらに限定されないが、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８(「ＩＣＯＳ」としても公知)、ＦｃεＲＩ、ＣＤ６６ｄ、ＤＡＰ１０およびＤＡＰ１２由来のものが挙げられる。

【０１７５】

用語「ゼータ」またはその代わりに「ゼータ鎖」、「ＣＤ３－ゼータ」もしくは「ＴＣＲ－ゼータ」は、ＧｅｎＢａｎ受託番号ＢＡＧ３６６６４.１として提供されるタンパク質または非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基と定義され、「ゼータ刺激ドメイン」またはその代わりに「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」もしくは「ＴＣＲ－ゼータ刺激ドメイン」は、Ｔ細胞の活性化に必要な最初のシグナルを機能的に伝えるのに十分な、ゼータ鎖の細胞質内ドメインからのアミノ酸残基と定義される。ある面において、ゼータの細胞質内ドメインは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＢＡＧ３６６６４.１の残基５２から１６４またはそれらの機能的なオーソログである非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基を含む。ある面において、「ゼータ刺激ドメイン」または「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」は、配列番号９として提供される配列である。ある面において、「ゼータ刺激ドメイン」または「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」は、配列番号１０として提供される配列である。

【０１７６】

用語「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合することにより、これらに限定されないが増殖などのＴ細胞による共刺激応答を媒介する、Ｔ細胞上の同起源の結合パートナーを指す。共刺激分子は、効率的な免疫反応に必要な、抗原受容体以外の細胞表面分子またはそれらのリガンドである。共刺激分子としては、これらに限定されないが、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ

２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドが挙げられる。

【０１７７】

共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内部分を指す。

【０１７８】

細胞内シグナル伝達ドメインは、細胞内の部分全体、もしくはそれが得られた分子の天然型細胞内シグナル伝達ドメインの全体またはそれらの機能的なフラグメントを含んでいてもよい。

【０１７９】

用語「４－１ＢＢ」は、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＡＡＡ６２４７８.２として提供される配列アミノ酸配列を有するＴＮＦＲスーパーファミリーの一員または非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基を指し、「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＡＡＡ６２４７８.２のアミノ酸残基２１４～２５５または非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基と定義される。ある面において、「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、配列番号７として提供される配列または非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿および同種のものからの等価の残基である。

【０１８０】

「免疫エフェクター細胞」は、この用語が本明細書において使用される場合、免疫応答、例えば、免疫エフェクター応答の促進に関与する細胞を指す。免疫エフェクター細胞の例としては、Ｔ細胞、例えば、アルファ／ベータＴ細胞およびガンマ／デルタＴ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー(ＮＫ)細胞、ナチュラルキラーＴ(ＮＫＴ)細胞、肥満細胞、ならびに骨髄系由来の食細胞が挙げられる。

【０１８１】

「免疫エフェクター機能または免疫エフェクター応答」は、この用語が本明細書において使用される場合、例えば、免疫エフェクター細胞の、標的細胞の免疫攻撃を増強または促進する機能または応答を指す。例えば、免疫エフェクター機能または応答は、標的細胞の成長または増殖の殺滅または阻害を促進するＴまたはＮＫ細胞の特性を指す。Ｔ細胞のケースにおいて、一次刺激および副刺激が、免疫エフェクター機能または応答の例である。

【０１８２】

用語「エフェクター機能」は、細胞の特殊化した機能を指す。Ｔ細胞のエフェクター機能は、例えば、細胞溶解活性またはサイトカイン分泌などのヘルパー活性であり得る。

【０１８３】

用語「コード(すること)」は、ヌクレオチド(例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡおよびｍＲＮＡ)の規定の配列またはアミノ酸の規定の配列のいずれかを有する、生物学的プロセスにおける他のポリマーおよび高分子の合成のための鋳型として役立つ、遺伝子、ｃＤＮＡまたはｍＲＮＡなどのポリヌクレオチド中のヌクレオチドの特異的配列の固有の特性およびそれにより生じる生物学的な特性を指す。したがって、細胞または他の生物系中で、遺伝子に

対応するｍＲＮＡの転写および翻訳によりタンパク質が産生される場合、その遺伝子、ｃＤＮＡまたはＲＮＡは、タンパク質をコードする。そのヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり、通常配列表に示されるコード鎖と、遺伝子またはｃＤＮＡの転写のための鋳型として使用される非コード鎖はどちらも、その遺伝子またはｃＤＮＡのタンパク質または他の生成物をコードすると称することができる。

【０１８４】

特に他の規定がない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いの縮重型であるヌクレオチド配列や同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列全てを包含する。また、タンパク質またはＲＮＡをコードするヌクレオチド配列という成句は、いくつかの場合においてそのタンパク質をコードするヌクレオチド配列がイントロンを含有し得る程度にイントロンを包含していてもよい 。

【０１８５】

用語「有効量」または「治療有効量」は、本明細書では同義的に使用され、本明細書で説明されているような化合物、調合物、材料または組成物の、特定の生物学的な結果を達成するのに有効な量を指す。

【０１８６】

用語「内因性」は、生物、細胞、組織または系由来の材料またはそれらの内部で産生されたあらゆる材料を指す。

【０１８７】

用語「外因性」は、生物、細胞、組織または系の外部から導入された材料またはそれらの外部で産生されたあらゆる材料を指す。

【０１８８】

用語「発現」は、プロモーターによって駆動される特定のヌクレオチド配列の転写および／または翻訳を指す。

【０１８９】

用語「トランスファーベクター」は、単離された核酸を含み、細胞内部に単離された核酸を送達するのに使用できるものの組成物を指す。多数のベクターが当業界公知であり、これらに限定されないが、直鎖状ポリヌクレオチド、イオン性または両親媒性化合物と結合したポリヌクレオチド、プラスミドおよびウイルスなどが挙げられる。したがって、用語「トランスファーベクター」は、自律複製型プラスミドまたはウイルスを包含する。この用語はまた、例えばポリリジン化合物、リポソームおよび同種のものなどの、細胞への核酸のトランスファーを容易にする非プラスミドおよび非ウイルス化合物をさらに包含するとも解釈されるものとする。ウイルストランスファーベクターの例としては、これらに限定されないが、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクターおよび同種のものが挙げられる。

【０１９０】

用語「発現ベクター」は、発現するヌクレオチド配列に機能するように連結した発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現のための十分なシス作用性要素を含み、発現のための他の要素は、宿主細胞によって供給されてもよいしまたはインビトロでの発現系中に供給されてもよい。発現ベクターは、当業界公知のあらゆるものを包含し、例えば、組換えポリヌクレオチドを取り込んでいる、コスミド、プラスミド(例えば、裸の状態のまたはリポソーム中に含有された)およびウイルス(例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス)が挙げられる。

【０１９１】

用語「レンチウイルス」は、レトロウイルス科の属の１つを指す。レンチウイルスは、レトロウイルスのなかでも非分裂細胞に感染することができるという点で独特であり、これらは、宿主細胞のＤＮＡに相当な量の遺伝情報を送達することができることから、遺伝子送達ベクターの最も効率的な方法の１つである。ＨＩＶ、ＳＩＶおよびＦＩＶが、レンチウイルスの全ての例である。

【０１９２】
用語「レンチウイルスベクター」は、レンチウイルスゲノムの少なくとも一部に由来するベクターを指し、特に、Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)で示されるような自己不活性化レンチウイルスベクターが挙げられる。診療施設で使用される可能性があるレンチウイルスベクターの他の例としては、これらに限定されないが、例えば、Ｏｘｆｏｒｄ ＢｉｏＭｅｄｉｃａ製のＬＥＮＴＩＶＥＣＴＯＲ(登録商標)遺伝子送達技術、Ｌｅｎｔｉｇｅｎ製のＬＥＮＴＩＭＡＸ™ベクター系および同種のものが挙げられる。非臨床タイプのレンチウイルスベクターも利用可能であり、当業者公知であると予想される。

【０１９３】
用語「相同」または「同一性」は、２高分子間の、例えば２核酸分子間の、例えば２ＤＮＡ分子もしくは２ＲＮＡ分子間のまたは２ポリペプチド分子間のサブユニット配列の同一性を指す。２分子の両方におけるサブユニットの位置が同じモノマーのサブユニットで占められている場合、例えば、２ＤＮＡ分子それぞれにおける位置がアデニンで占められている場合、それらは、その位置において相同または同一である。２配列間の相同性は、マッチした位置または相同な位置の数の一次関数であり、例えば、２配列中の位置の半分(例えば、ポリマーの長さが１０個のサブユニット中の５個の位置)が相同である場合、２配列は５０％相同であり、位置の９０％(例えば、１０個のうち９個)がマッチしているかまたは相同である場合、２配列は９０％相同である。

【０１９４】
非ヒト(例えば、マウス)抗体の「ヒト化された」形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小の配列を含有する、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはそれらのフラグメント(例えばＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ(ａｂ’)２または抗体の他の抗原結合部分配列]である。大抵の場合、ヒト化抗体およびそれらの抗体フラグメントは、レシピエントの相補性決定領域(ＣＤＲ)からの残基が、望ましい特異性、親和性および能力を有するマウス、ラットまたはウサギなどの非ヒト種(ドナー抗体)のＣＤＲからの残基で置き換えられている、ヒト免疫グロブリン(レシピエントの抗体または抗体フラグメント)である。いくつかの場合において、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域(ＦＲ)残基は、対応する非ヒト残基で置き換えられている。さらに、ヒト化抗体／抗体フラグメントは、レシピエント抗体でも移入されたＣＤＲまたはフレームワーク配列でも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの改変は、抗体または抗体フラグメントの性能をさらに洗練させて最適化する可能性がある。一般的に、ヒト化抗体またはそれらの抗体フラグメントは、ＣＤＲ領域の全部または実質的に全部が非ヒト免疫グロブリンのＣＤＲ領域に相当し、ＦＲ領域の全部のまたはかなりの部分がヒト免疫グロブリン配列のＦＲ領域である、少なくとも１の、典型的には２可変ドメインの実質的に全部を含むと予想される。ヒト化抗体または抗体フラグメントはまた、免疫グロブリン定常領域(Ｆｃ)、典型的にはヒト免疫グロブリンの免疫グロブリン定常領域(Ｆｃ)の少なくとも一部を含んでいてもよい。さらなる詳細に関しては、Jones et al., Nature, 321: 522-525, 1986; Reichmann et al., Nature, 332: 323-329, 1988; Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596, 1992を参照されたい。

【０１９５】
「完全にヒト」は、分子全体がヒト由来であるかまたは抗体もしくは免疫グロブリンのヒト形態に同一なアミノ酸配列からなる場合の、免疫グロブリン、例えば抗体または抗体フラグメントを指す。

【０１９６】
用語「単離された」は、天然状態から変更されたまたは天然状態から除去されたことを意味する。例えば、生きた動物中に自然に存在する核酸またはペプチドは「単離されていない」が、同じ核酸またはペプチドでもその天然状態において共存する材料から部分的または完全に分離されていれば、「単離されている」。単離された核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形態で存在していてもよいしまたは例えば宿主細胞などの非天然の環

境中に存在していてもよい。

【０１９７】

本発明の内容では、以下に示す通常存在する核酸塩基の略語が使用される。「Ａ」はアデノシンを指し、「Ｃ」は、シトシンを指し、「Ｇ」は、グアノシンを指し、「Ｔ」は、チミジンを指し、「Ｕ」は、ウリジンを指す。

【０１９８】

用語「機能するように連結した」または「転写制御」は、調節配列と異種核酸配列とが機能的に連結されて、結果として後者の発現をもたらすことを指す。例えば、第一の核酸配列が第二の核酸配列と機能的な関係で配置される場合、第一の核酸配列は第二の核酸配列と機能するように連結している。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、プロモーターはコード配列に機能するように連結している。機能するように連結したＤＮＡ配列は、互いに連続していてもよく、例えば２タンパク質のコード領域を合体させることが必要な場合、同じリーディングフレーム内にあってもよい。

【０１９９】

免疫原性組成物の「非経口」投与という用語は、例えば、皮下(ｓ.ｃ.)、静脈内(ｉ.ｖ.)、筋肉内(ｉ.m.)胸骨内もしくは腫瘍内注射または点滴技術を包含する。

【０２００】

用語「核酸」または「ポリヌクレオチド」は、デオキシリボ核酸(ＤＮＡ)またはリボ核酸(ＲＮＡ)および一本鎖または二本鎖いずれかの形態のそれらのポリマーを指す。特に限定されない限り、この用語は、参照核酸と類似の結合特性を有し、天然に存在するヌクレオチドと類似の方式で代謝される天然ヌクレオチドの公知の類似体を含有する核酸を包含する。特に他の指定がない限り、特定の核酸配列はまた、それらの保存的に改変された変異体(例えば、縮重コドンの置換、例えば保存的置換)、対立遺伝子、オーソログ、ＳＮＰおよび相補配列、加えて明確に提示された配列も事実上包含する。具体的に言えば、縮重コドンの置換、例えば保存的置換は、１以上の選択された(または全ての)コドンの第三の位置が混成の塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することによって達成される可能性がある(Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); and Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994))]。

【０２０１】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」および「タンパク質」は、同義的に使用され、ペプチド結合により共有結合で連結されたアミノ酸残基で構成される化合物を指す。タンパク質またはペプチドは、少なくとも２アミノ酸を含有していなければならず、タンパク質またはペプチドの配列を構成し得るアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドは、互いにペプチド結合で合体した２以上のアミノ酸を含むあらゆるペプチドまたはタンパク質を包含する。この用語は、本明細書で使用される場合、当業界では一般的に例えばペプチド、オリゴペプチドおよびオリゴマーとも称される短鎖と、当業界では一般的に多くのタイプが存在するタンパク質と称されるそれより長い鎖との両方を指す。「ポリペプチド」としては、例えば、なかでも生物学的に活性なフラグメント、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドの変異体、改変されたポリペプチド、誘導体、類似体、融合タンパク質が挙げられる。ポリペプチドとしては、天然ペプチド、組換えペプチドまたはそれらの組み合わせが挙げられる。

【０２０２】

用語「プロモーター」は、ポリヌクレオチド配列の特異的転写を開始させるのに必要な、細胞の合成機構によって認識されるＤＮＡ配列または導入された合成機構を指す。

【０２０３】

用語「プロモーター／調節配列」は、プロモーター／調節配列に機能するように連結した遺伝子産物の発現に必要な核酸配列を指す。いくつかの場合において、この配列はコアプロモーター配列であってもよく、他の例において、この配列はまた、遺伝子産物の発現に必要なエンハンサー配列および他の調節因子を包含していてもよい。プロモーター／調節

配列は、例えば、組織特異的な方式で遺伝子産物を発現するプロモーター／調節配列であってもよい。

【０２０４】

用語「構成的」プロモーターは、遺伝子産物をコードするかまたは遺伝子産物を指定するポリヌクレオチドと機能するように連結している場合、細胞のほとんどまたは全ての生理学的条件下において細胞中で遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２０５】

用語「誘導性」プロモーターは、遺伝子産物をコードするかまたは遺伝子産物を指定するポリヌクレオチドと機能するように連結している場合、実質的にプロモーターに対応する誘導物質が細胞中に存在するときだけ、細胞中で遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２０６】

用語「組織特異的」プロモーターは、遺伝子をコードするかまたは遺伝子によって指定されたポリヌクレオチドと機能するように連結されている場合、実質的に細胞がプロモーターに対応する組織タイプの細胞であるときだけ、細胞中で遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２０７】

用語「癌関連抗原」または「腫瘍抗原」は、同義的に、全体的にまたはフラグメントとして(例えば、ＭＨＣ／ペプチド)のいずれかで癌細胞の表面に発現され、癌細胞への医薬物質の優先的な標的化に有用な分子(典型的にはタンパク質、炭水化物または脂質)を指す。ある態様において、腫瘍抗原は、正常細胞と癌細胞の両方によって発現されるマーカーであり、例えば、系統マーカー、例えば、Ｂ細胞におけるＣＤ１９である。ある態様において、腫瘍抗原は、正常細胞と比較して癌細胞において過剰発現される、例えば、正常細胞と比較して、１倍の発現、２倍の過剰発現、３倍の過剰発現またはそれ以上である細胞表面分子である。一部の実施面において、腫瘍抗原は、癌細胞において不適切に合成された細胞表面分子であり、例えば、正常細胞で発現された分子と比較して欠失、付加または変異を含有する分子である。ある態様において、腫瘍抗原は、全体がまたはフラグメント(例えば、ＭＨＣ／ペプチド)として、専ら癌細胞の細胞表面で発現されるが、正常細胞の表面で合成または発現されないと予想される。ある態様において、本発明のＣＡＲは、ＭＨＣによって提示されるペプチドに結合する抗原結合ドメイン(例えば、抗体または抗体フラグメント)を含むＣＡＲを包含する。通常、内因性タンパク質由来のペプチドは、主要組織適合複合体(ＭＨＣ)クラスＩ分子のポケットを満たし、ＣＤ８＋Ｔリンパ球上のＴ細胞受容体(ＴＣＲ)によって認識される。ＭＨＣクラスＩ複合体は、全ての有核細胞によって構成的に発現される。癌において、ウイルス特異的および／または腫瘍特異的ペプチド／ＭＨＣ複合体は、免疫療法のための細胞表面標的の特有なクラスの代表である。ヒト白血球抗原(ＨＬＡ)－Ａ１またはＨＬＡ－Ａ２の状況においてウイルスまたは腫瘍抗原由来のペプチドを標的とするＴＣＲ様抗体が、説明されている(例えば、Sastry et al., J Virol. 2011 85(5):1935-1942; Sergeeva et al., Blood, 2011 117(16):4262-4272; Verma et al., J Immunol 2010 184(4):2156-2165; Willemsen et al., Gene Ther 2001 8(21) :1601-1608 ; Dao et al., Sci Transl Med 2013 5(176) :176ra33 ; Tassev et al., Cancer Gene Ther 2012 19(2):84-100を参照)。例えば、ＴＣＲ様抗体は、ヒトｓｃＦｖファージ提示型ライブラリーなどのライブラリーをスクリーニングすることにより同定することができる。

【０２０８】

用語「腫瘍支持抗原」または「癌支持抗原」は、同義的に、それ自身癌性ではないが、癌細胞を、例えばそれらの成長または生存、例えば免疫細胞への耐性を促進することによって支持する細胞表面に発現される分子(典型的にはタンパク質、炭水化物または脂質)を指す。例示的なこのタイプの細胞としては、間質細胞および骨髄由来サプレッサー細胞(ＭＤＳＣ)が挙げられる。腫瘍支持抗原が癌細胞を支持する細胞上に提示される限り、腫瘍支持抗原それ自身が腫瘍細胞を支持する役割を果たす必要はない。

【０２０９】
用語「フレキシブルなポリペプチドリンカー」または「リンカー」は、ｓｃＦｖの状況で使用される場合、可変重鎖領域と可変軽鎖領域を一緒に連結するために、単独でまたは組み合わせて使用されるグリシンおよび／またはセリン残基などのアミノ酸からなるペプチドリンカーを指す。ある態様において、フレキシブルなポリペプチドリンカーは、Ｇｌｙ／Ｓｅｒリンカーであり、アミノ酸配列(Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ)ｎ(配列番号３８)を含み、式中ｎは、１に等しいかまたは１より大きい正の整数である。例えば、ｎ＝１、ｎ＝２、ｎ＝３、ｎ＝４、ｎ＝５およびｎ＝６、ｎ＝７、ｎ＝８、ｎ＝９およびｎ＝１０である。ある態様において、フレキシブルなポリペプチドリンカーとしては、これらに限定されないが、(Ｇｌｙ４Ｓｅｒ)４(配列番号２７)または(Ｇｌｙ４Ｓｅｒ)３(配列番号２８)が挙げられる。別の態様において、リンカーは、(Ｇｌｙ２Ｓｅｒ)、(ＧｌｙＳｅｒ)または(Ｇｌｙ３Ｓｅｒ)の複数の反復を包含する(配列番号２９)。参照により本明細書に組み入れられるＷＯ２０１２／１３８４７５で説明されているリンカーも本発明の範囲内に包含される)。

【０２１０】
５’キャップ(ＲＮＡキャップ、ＲＮＡ７－メチルグアノシンキャップまたはＲＮＡｍ7Ｇキャップともいう)は、本明細書で使用される場合、転写開始直後に真核性メッセンジャーＲＮＡの「前部」または５’末端に付加された改変されたグアニンヌクレオチドである。５’キャップは、最初に転写されるヌクレオチドに連結される末端基からなる。その存在は、リボソームによる認識およびＲＮアーゼからの保護にとって重要である。キャップの付加は転写とカップリングされ、それぞれ他方に影響を与えるように共に転写されることによって実行される。転写開始直後、合成されているｍＲＮＡの５’末端は、ＲＮＡポリメラーゼと会合したキャップを合成する複合体に結合される。この酵素的な複合体は、ｍＲＮＡのキャッピングに必要な化学反応を触媒する。合成は、多段階の生化学反応として進行する。キャッピング成分を改変して、その安定性または翻訳効率などのｍＲＮＡの機能性を調節してもよい。

【０２１１】
「インビトロで転写されたＲＮＡ」は、本明細書で使用される場合、インビトロで合成されたＲＮＡ、好ましくはｍＲＮＡを指す。一般的に、インビトロで転写されたＲＮＡは、インビトロの転写ベクターから生成される。インビトロの転写ベクターは、インビトロで転写されたＲＮＡを生成するのに使用される鋳型を含む。

【０２１２】
本明細書で使用される場合、「ポリ(Ａ)」は、ポリアデニル化によってｍＲＮＡに付着した一連のアデノシンである。一過性発現のための構築物の好ましい態様において、ポリＡは、５０から５０００個の間(配列番号３０)であり、好ましくは６４個より多く、より好ましくは１００個より多く、最も好ましくは３００または４００個より多い。ポリ(Ａ)配列を化学的または酵素的に改変して、局在化、安定性または翻訳効率などのｍＲＮＡの機能性を調節してもよい。

【０２１３】
「ポリアデニル化」は、本明細書で使用される場合、ポリアデニリル成分またはその改変された変異体をメッセンジャーＲＮＡ分子に共有結合で連結させることを指す。真核生物において、ほとんどのメッセンジャーＲＮＡ(ｍＲＮＡ)分子は、３’末端でポリアデニル化されている。３’ポリ(Ａ)テイルは、酵素のポリアデニル酸ポリメラーゼの作用を介してプレ－ｍＲＮＡに付加されたアデニンヌクレオチドの長い配列(しばしば数百にもなる)である。より高次の真核生物において、ポリ(Ａ)テイルは、特異的配列であるポリアデニル化シグナルを含有する転写物上に付加される。ポリ(Ａ)テイルとそれに結合したタンパク質は、エキソヌクレアーゼによる分解からｍＲＮＡを保護するのに役立つ。またポリアデニル化は、転写終結、細胞核外へのｍＲＮＡ輸送および翻訳にとっても重要である。ポリアデニル化は、ＲＮＡへのＤＮＡ転写直後に細胞核で起こるが、それに加えて後に細胞質内でも起こる可能性がある。転写が終結した後、ｍＲＮＡ鎖は、ＲＮＡポリメラーゼと会合

したエンドヌクレアーゼ複合体の作用を介して切断される。切断部位は通常、切断部位付近における塩基配列ＡＡＵＡＡＡの存在を特徴とする。ｍＲＮＡが切断された後、切断部位において遊離の３’末端にアデノシン残基が付加される。

【０２１４】

「一過性」は、本明細書で使用される場合、数時間、数日または数週間にわたり統合されていない導入遺伝子が発現されることを指し、ここで発現期間は、宿主細胞中でゲノムに統合されているかまたは安定なプラスミドレプリコン内に含有されている場合の遺伝子の発現期間より短い。

【０２１５】

用語「処置する」、「処置」および「処置すること」は、本明細書で使用される場合、１種または複数の療法(例えば、１種または複数の治療剤、例えば本発明のＣＡＲ)の投与の結果生じる、増殖性障害の進行、重症度および／または持続時間の低減もしくは改善または増殖性障害の１種もしくは複数の症状(好ましくは、１種または複数の識別可能な症状)の改善を指す。具体的な態様において、用語「処置する」、「処置」および「処置すること」は、必ずしも患者によって識別可能ではない、腫瘍成長などの増殖性障害の少なくとも１の測定可能な物理的なパラメーターの改善を指す。他の態様において、用語「処置する」、「処置」および「処置すること」は、例えば識別可能な症状の安定化によって物理的に、例えば物理的なパラメーターの安定化によって生理学的にのいずれかまたはその両方によって増殖性障害の進行を阻害することを指す。他の態様において、用語「処置する」、「処置」および「処置すること」は、腫瘍サイズまたは癌細胞数の低減または安定化を指す。

【０２１６】

用語「シグナル伝達経路」は、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナル伝達において役割を果たす様々なシグナル伝達分子間の生化学的な関係を指す。成句「細胞表面受容体」は、シグナルを受けて細胞膜を通過してシグナルを伝えることができる分子および分子複合体を包含する。

【０２１７】

用語「対象」は、免疫反応を惹起させることができる生物(例えば、哺乳動物、ヒト)を包含することが意図される。

【０２１８】

用語「実質的に精製された」細胞は、他の細胞型を本質的に含まない細胞を指す。また実質的に精製された細胞は、通常その天然に存在する状況で共存する他の細胞型から分離された細胞も指す。いくつかの場合において、実質的に精製された細胞の集団は、細胞の同種の集団を指す。他の例において、この用語は単に、それらの天然の状態において自然に共存する細胞から分離された細胞を指す。いくつかの面において、このような細胞は、インビトロで培養される。他の面において、このような細胞は、インビトロで培養されない。

【０２１９】

用語「治療」は、本明細書で使用される場合、処置を意味する。治療効果は、病状の回復、抑制、寛解または根絶により得られる。

【０２２０】

用語「予防」は、本明細書で使用される場合、疾患または病状の予防または予防的処置を意味する。

【０２２１】

本発明の内容において、「腫瘍抗原」または「過剰増殖性障害抗原」または「過剰増殖性障害に関連する抗原」は、特定の過剰増殖性障害に共通する抗原を指す。ある特定の面において、本発明の過剰増殖性障害抗原は、これらに限定されないが、原発性もしくは転移性黒色腫、胸腺腫、リンパ腫、肉腫、肺癌、肝臓癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、白血病、子宮癌、子宮頸癌、膀胱癌、腎臓癌および腺癌、例えば乳癌、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、卵巣癌、膵臓癌および同種のものまたは形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄

腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)などの癌由来である。

【０２２２】

用語「トランスフェクション」または「形質転換」または「形質導入」は、宿主細胞に外因性核酸を移入または導入させるプロセスを指す。「トランスフェクション」または「形質転換」または「形質導入」された細胞は、外因性核酸でトランスフェクトされた、形質転換したまたは形質導入された細胞である。細胞は、対象の初代細胞およびその後代を包含する。

【０２２３】

用語「特異的に結合する」は、サンプル中に存在する同起源の結合パートナー(例えば、Ｔ細胞上に存在する刺激および／または共刺激分子)タンパク質を認識してそれと結合する抗体またはリガンドを指すが、これらの抗体またはリガンドは、サンプル中の他の分子を実質的に認識したりまたはそれと結合したりしない。

【０２２４】

「調節可能なキメラ抗原受容体(ＲＣＡＲ)」は、本明細書で使用される場合、免疫エフェクター細胞中にあるとき、標的細胞、典型的には癌細胞への特異性および細胞内シグナルの生成をその細胞にもたらすポリペプチドのセット、最も簡単な態様では典型的には２ポリペプチドのセットを指す。ある態様において、ＲＣＡＲは、少なくとも細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、ならびに本明細書のＣＡＲ分子の文脈で定義された刺激分子および／または共刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞質内シグナル伝達ドメイン(本明細書では「細胞内シグナル伝達ドメイン」とも称される)を含む。ある態様において、ＲＣＡＲ中のポリペプチドのセットは、互いに連続しておらず、例えば、異なるポリペプチド鎖中にある。ある態様において、ＲＣＡＲは、二量体化分子の存在下でポリペプチドを互いにカップリングすることができ、例えば抗原結合ドメインを細胞内シグナル伝達ドメインにカップリングすることができる二量体化スイッチを包含する。ある態様において、ＲＣＡＲは、本明細書で記載される細胞(例えば、免疫エフェクター細胞)、例えばＲＣＡＲを発現する細胞(本明細書では「ＲＣＡＲＸ細胞」とも称される)中で発現される。ある態様において、ＲＣＡＲＸ細胞はＴ細胞であり、ＲＣＡＲＴ細胞と称される。ある態様において、ＲＣＡＲＸ細胞はＮＫ細胞であり、ＲＣＡＲＮ細胞と称される。ＲＣＡＲは、標的細胞、典型的には癌細胞への特異性およびＲＣＡＲを発現する細胞の免疫エフェクター特性を最適化することができる調節可能な細胞内シグナルの生成または増殖を、ＲＣＡＲを発現する細胞に提供することができる。ある態様において、ＲＣＡＲ細胞は、抗原結合ドメインによって結合された抗原を含む標的細胞に特異性を提供するのに、抗原結合ドメインに少なくとも部分的に依存する。

【０２２５】

「膜アンカー」または「膜係留ドメイン」は、この用語が本明細書において使用される場合、細胞外または細胞内ドメインを原形質膜に固定するのに十分なポリペプチドまたは部分、例えばミリストイル基を指す。

【０２２６】

「スイッチドメイン」は、この用語が本明細書において使用される場合、例えばＲＣＡＲについて述べられる場合、二量体化分子の存在下で別のスイッチドメインと会合する物体、典型的にはポリペプチドベースの物体を指す。会合は、第一のスイッチドメインに連結された、例えば融合した第一の物体と、第二のスイッチドメインに連結された、例えば融合した第二の物体との機能的なカップリングを引き起こす。第一および第二のスイッチドメインは、集合的に二量体化スイッチと称される。ある態様において、第一および第二のスイッチドメインは、互いに同じであり、例えばそれらは同じ一次アミノ酸配列を有するポリペプチドであり、集合的にホモ二量体化スイッチと称される。ある態様において、第

一および第二のスイッチドメインは、互いに異なっており、例えばそれらは異なる一次アミノ酸配列を有するポリペプチドであり、集合的にヘテロ二量体化スイッチと称される。ある態様において、スイッチは、細胞内である。ある態様において、スイッチは、細胞外である。ある態様において、スイッチドメインは、ポリペプチドベースの物体、例えば、ＦＫＢＰまたはＦＲＢベースの物体であり、二量体化分子は、小分子、例えば、ラパログ(rapalogue)である。ある態様において、スイッチドメインは、ポリペプチドベースの物体、例えばｍｙｃペプチドと結合するｓｃＦｖであり、二量体化分子は、ポリペプチド、それらのフラグメントまたはポリペプチドの多量体、例えば、１以上のｍｙｃ　ｓｃＦｖに結合するｍｙｃリガンドまたはｍｙｃリガンドの多量体である。ある態様において、スイッチドメインは、ポリペプチドベースの物体、例えばｍｙｃ受容体であり、二量体化分子は、抗体またはそれらのフラグメント、例えば、ｍｙｃ抗体である。

【０２２７】

「二量体化分子」は、この用語が本明細書において使用される場合、例えばＲＣＡＲについて述べられる場合、第一のスイッチドメインと第二のスイッチドメインとの会合を促進する分子を指す。ある態様において、二量体化分子は、対象において天然に存在しないかまたは有意な二量体化を引き起こすと予想される濃度で存在しない。ある態様において、二量体化分子は、小分子、例えばラパマイシンまたはラパログ、例えばＲＡＤ００１である。

【０２２８】

用語「生物学的に同等な」は、参照化合物(例えば、ＲＡＤ００１)の参照用量または参照量によって生産された作用と同等な作用を生産するのに必要な、参照化合物(例えば、ＲＡＤ００１)以外の薬剤の量を指す。ある態様において、作用は、例えば、Ｐ７０Ｓ６キナーゼ阻害によって測定される場合の、例えば、インビボ(in vivo)またはインビトロでのアッセイで評価される場合の、例えば、本明細書で記載されるアッセイ、例えばＢｏｕｌａｙアッセイまたはウェスタンブロットによるリン酸化されたＳ６のレベルの測定によって測定される場合のｍＴＯＲ阻害のレベルである。ある態様において、作用は、セルソーティングによって測定される場合のＰＤ－１陽性／ＰＤ－１陰性Ｔ細胞の比率の変更である。ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の生物学的に同等な量または用量は、参照化合物の参照用量または参照量が達成するのと同じレベルのＰ７０Ｓ６キナーゼ阻害を達成する量または用量である。ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の生物学的に同等なもの量または用量は、参照化合物の参照用量または参照量が達成するのと同じレベルの、ＰＤ－１陽性／ＰＤ－１陰性Ｔ細胞の比率における変更を達成する量または用量である。

【０２２９】

用語「免疫を増強する低い用量」は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えばアロステリックｍＴＯＲ阻害剤、例えばＲＡＤ００１もしくはラパマイシンまたは触媒性ｍＴＯＲ阻害剤と共に使用される場合、例えばＰ７０Ｓ６キナーゼ活性阻害によって測定した場合に、ｍＴＯＲ活性を、完全ではないが部分的に阻害するｍＴＯＲ阻害剤の用量を指す。例えばＰ７０Ｓ６キナーゼ阻害によるｍＴＯＲ活性を評価するための方法が、本明細書で論じられている。この用量は、完全な免疫抑制を引き起こすには不十分であるが、免疫応答を増強するには十分である。ある態様において、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤は、ＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞もしくはＮＫ細胞の数の減少および／またはＰＤ－１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞もしくはＮＫ細胞の数の増加またはＰＤ－１陰性免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)／ＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の比率の増加を引き起こす。

【０２３０】

ある態様において、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤は、ナイーブＴ細胞の数の増加を引き起こす。ある態様において、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤は、以下：

例えばメモリーＴ細胞、例えばメモリーＴ細胞前駆体における、以下のマーカー：ＣＤ６２Ｌｈｉｇｈ、ＣＤ１２７ｈｉｇｈ、ＣＤ２７＋およびＢＣＬ２の１以上の発現の増加；

例えばメモリーＴ細胞、例えばメモリーＴ細胞前駆体におけるＫＬＲＧ１発現の減少；および
メモリーＴ細胞前駆体、例えば、以下の特徴：ＣＤ６２Ｌｈｉｇｈの増加、ＣＤ１２７ｈｉｇｈの増加、ＣＤ２７＋の増加、ＫＬＲＧ１の減少およびＢＣＬ２の増加のいずれか１つのまたは組合せを有する細胞の数の増加
の１以上を引き起こし、ここで上述した変化はいずれも、例えば未処置の対象と比較して、例えば少なくとも一時的に起こる。

【０２３１】

「難治性」は、本明細書で使用される場合、疾患、例えば処置に応答しない癌を指す。ある態様において、難治性癌は、処置の前または開始時に、処置に対して耐性である可能性がある。他の態様において、難治性癌は、処置中に耐性になる可能性がある。難治性癌はまた、耐性癌とも呼ばれる。

【０２３２】

「再発した」または「再発する」は、本明細書で使用される場合、改善または応答期間の後に、例えば、治療、例えば癌治療の以前の処置の後に、疾患(例えば、癌)または癌などの疾患の徴候および症状が再出現することを指す。例えば、応答期間は、癌細胞のレベルが、特定の閾値未満、例えば、２０％、１％、１０％、５％、４％、３％、２％または１％未満に低下することを含み得る。再出現は、癌細胞のレベルが、特定の閾値より高く、例えば、２０％、１％、１０％、５％、４％、３％、２％または１％より高く上昇することを含み得る。

【０２３３】

範囲：本開示全体にわたり、本発明の様々な面は、範囲の様式で示される場合がある。範囲の様式での記載は、単に利便性および簡潔さのためであり、本発明の範囲における柔軟性のない限定として解釈されるべきではないことが理解されるものとする。したがって、範囲の記載は、全ての可能性のある部分範囲、加えてその範囲内の個々の数値を具体的に開示しているとみなされるものとする。例えば、１から６などの範囲の記載は、例えば１から３、１から４、１から５、２から４、２から６、３から６などの具体的に開示された部分範囲、加えてその範囲内の個々の数値、例えば、１、２、２.７、３、４、５、５.３および６を有するとみなされると予想される。別の例として、９５～９９％の同一性などの範囲は、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する何かを包含し、さらに、９６～９９％、９６～９８％、９６～９７％、９７～９９％、９７～９８％および９８～９９％の同一性などの部分範囲を包含する。これは、範囲の幅に関係なく適用される。

【０２３４】

説明
ＢＣＭＡキメラ抗原受容体を発現する細胞(ＣＡＲ)、例えば、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡを使用する癌などの疾患を処置するための、物の組成物および使用方法が本明細書において提供される。

【０２３５】

ある面において、本発明は、ＢＣＭＡタンパク質への結合が強化されるように加工された抗体または抗体フラグメントを含む多数のキメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を提供する。ある面において、本発明は、ＣＡＲを発現するように加工された細胞(例えば、免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)を提供し、ここでＣＡＲＴ細胞(「ＣＡＲＴ」)またはＣＡＲ　ＮＫ細胞は抗腫瘍特性を示す。ある面において、細胞はＣＡＲで形質転換され、ＣＡＲは細胞表面上に発現される。いくつかの態様において、細胞(例えば、免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)は、ＣＡＲをコードするウイルスベクターで形質導入される。いくつかの態様において、ウイルスベクターは、レトロウイルスベクターである。いくつかの態様において、ウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである。いくつかのこのような態様において、細胞は、ＣＡＲを安定して発現することができる。別の態様において、細胞(例えば、免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)

は、ＣＡＲをコードする、核酸、例えばｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ＤＮＡでトランスフェクトされる。いくつかのこのような態様において、細胞は、ＣＡＲを一過性発現することができる。

【０２３６】

ある面において、抗ＢＣＭＡ抗原のＣＡＲ結合部分は、ｓｃＦｖ抗体フラグメントである。ある面において、このような抗体フラグメントは、それらが等価な結合親和性を保持する、例えばそれらがその元となったＩｇＧ抗体と同等の効能で同じ抗原と結合するという点において機能的である。他の態様において、抗体フラグメントは、より低い結合親和性を有し、例えば、抗体フラグメントは、その元になる抗体より低い結合親和性で同じ抗原と結合するが、本明細書で記載される生体反応を提供するという点で機能的である。ある態様において、ＣＡＲ分子は、標的抗原に、１０－４Ｍから１０－８Ｍ、例えば、１０－５Ｍから１０－７Ｍ、例えば、１０－６Ｍまたは１０－７Ｍの結合親和性ＫＤを有する抗体フラグメントを含む。ある態様において、抗体フラグメントは、参照抗体、例えば本明細書で記載される抗体の、少なくとも５分の１、１０分の１、２０分の１、３０分の１、５０分の１、１００分の１または１,０００分の１の結合親和性を有する。

【０２３７】

ある面において、このような抗体フラグメントは、それらが、これらに限定されないが、当業者によって理解されると予想されるような免疫反応の活性化、その標的抗原からのシグナル伝達開始の阻害、キナーゼ活性の阻害および同種のものなどの生体反応をもたらす点で機能的である。ある面において、ＣＡＲの抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、その元となったｓｃＦｖのマウス配列と比較してヒト化されたｓｃＦｖ抗体フラグメントである。ある態様において、抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、ヒト抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインである。ある態様において、抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、ヒト化抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインである。

【０２３８】

いくつかの面において、本発明の抗体は、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)に取り込まれている。ある面において、ＣＡＲは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５または配列番号２６６の配列を含むＢＣＭＡ結合ドメインを含む。ある面において、ｓｃＦｖドメインは、ヒトである。別の面において、ｓｃＦｖドメインは、ＰＣＴ公報ＷＯ２０１２／１６３８０５号、ヒトＢＣＭＡに特異的に結合するマウス由来の抗体またはｓｃＦｖフラグメントを開示する米国特許第７,０８３,７８５号、ＥＰ特許第１９７５２３１号Ｂ１またはＰＣＴ公報ＷＯ１３／１５４７６０号(それぞれの内容は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる)で説明されている抗体または抗体フラグメントのｓｃＦｖドメインのヒト化変異体である。これらのマウス抗体および／またはｓｃＦｖのヒト化は、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ処置、例えば、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物で形質導入された免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞での処置を受けている患者において、マウス特異的な残基がヒト抗マウス抗原(ＨＡＭＡ)応答を誘導することが可能な臨床条件にとって望ましい場合がある。

【０２３９】

ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば本発明のＣＡＲの一部であるヒトまたはヒト化ｓｃＦｖは、その配列のコドンが哺乳動物細胞での発現に最適化された導入遺伝子によってコードされている。ある面において、本発明のＣＡＲ構築物全体は、その配列全体のコドンが哺乳動物細胞での発現に最適化された導入遺伝子によってコードされてい

る。コドンの最適化は、コードＤＮＡ中の同義コドン(すなわち、同じアミノ酸をコードするコドン)の出現頻度が異なる種で偏っているという発見を指す。このようなコドンの縮重は、同一なポリペプチドを様々なヌクレオチド配列でコードすることを可能にする。様々なコドン最適化方法が当業界公知であり、例えば、少なくとも米国特許第５,７８６,４６４号および６,１１４,１４８号で開示された方法が挙げられる。

【０２４０】

ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号４０に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４１に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４２に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４３に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４４に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４５に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４６に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４７に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４８に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号４９に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５０に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５１に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５２に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５３に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１２９に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３０に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１３１に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３２に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３３に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３４に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３５に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３６に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３７に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３８に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１３９に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１４０に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１４１に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４２に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４３に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４４に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４５に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４６に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４７に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４８に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１４９に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２５５に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト化抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２５７に示されるｓｃＦｖ部分を含む。

【０２４１】

ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２６３に示されるｓｃＦｖ部分を

含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２６４に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２６５に示されるｓｃＦｖ部分を含む。ある面において、ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２６６に示されるｓｃＦｖ部分を含む。

【０２４２】

ある面において、本発明のＣＡＲは、特異的な抗体抗原結合ドメインを細胞内シグナル伝達分子と組み合わせている。例えば、いくつかの面において、細胞内シグナル伝達分子としては、これらに限定されないが、ＣＤ３－ゼータ鎖、４－１ＢＢおよびＣＤ２８シグナル伝達モジュールならびにそれらの組み合わせが挙げられる。ある面において、抗原結合ドメインは、ＢＣＭＡに結合する。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２および配列番号２３３の１以上に示される配列から選択されるＣＡＲを含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号９９に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１００に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０１に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０２に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０３に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０４に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０５に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０６に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０７に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０８に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１０９に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１１０に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１１１に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号１１２に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１３に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１４に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１５に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１６に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１７に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１８に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２１９に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２０に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２１に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２２に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２３に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２４に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２５に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２６に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２７に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２８に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２２９に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２３０に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２３１に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２３２に示される配列を含む。ある面において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列番号２３３に示される配列を含む。

【０２４３】
さらに本発明は、疾患のなかでも、癌もしくはあらゆる悪性腫瘍またはＢＣＭＡを発現する細胞もしくは組織を伴う自己免疫疾患を処置するための医薬品または方法における、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ組成物およびそれらの使用を提供する。
【０２４４】
ある面において、本発明のＣＡＲは、ＢＣＭＡを発現する正常細胞を根絶するのに使用することができ、それによって細胞移植前の細胞調整療法(cellular conditioning therapy)として使用するために適用できる。ある面において、ＢＣＭＡを発現する正常細胞は、ＢＣＭＡを発現する正常幹細胞であり、細胞移植は、幹細胞移植である。
【０２４５】
ある面において、本発明は、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を発現するように加工された細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を提供し、ここでＣＡＲ　Ｔ細胞(「ＣＡＲＴ」)またはＣＡＲ　ＮＫ細胞は、抗腫瘍特性を示す。好ましい抗原は、ＢＣＭＡである。ある面において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、ヒト抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントまたは部分的にヒト化された抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントを含む。ある面において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含む、ヒト抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントまたは部分的にヒト化された抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントを含む。したがって、本発明は、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインを含み、細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に遺伝子操作されるＢＣＭＡ－ＣＡＲおよび養子療法のためのそれらの使用方法を提供する。
【０２４６】
ある面において、ＢＣＭＡ－ＣＡＲは、ＣＤ１３７(４－１ＢＢ)シグナル伝達ドメイン、ＣＤ２８シグナル伝達ドメイン、ＣＤ３ゼータシグナルドメインおよびそれらのあらゆる組み合わせの群より選択される少なくとも１の細胞内ドメインを含む。ある面において、ＢＣＭＡ－ＣＡＲは、ＣＤ１３７(４－１ＢＢ)またはＣＤ２８以外の１以上の共刺激分子由来の少なくとも１の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。
【０２４７】
キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)
本発明は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、本明細書で記載されるヒトまたはヒト化ＢＣＭＡ結合ドメイン)、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲ(例えば、ＣＡＲポリペプチド)であって、前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したいずれかの抗ＢＭＣＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含む、ＣＡＲを提供する。ＣＡＲの抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したいずれかの抗ＢＭＣＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)をさらに含んでいてもよい。
【０２４８】
本発明はまた、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする、例えば、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、本明細書で記載されるヒトまたはヒト化ＢＣＭＡ結合ドメイン)、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲをコードする核酸分子であって、前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したいずれかの抗ＢＭＣＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含む、核酸分子も提供する。ある態様において、ＣＡＲのコードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１または１６に列挙したいずれかの抗ＢＭＣＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)をさらに含んでいてもよい。
【０２４９】
具体的な面において、本発明のＣＡＲ構築物は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列

番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５および配列番号２６６からなる群より選択されるｓｃＦｖドメインを含み、ここでｓｃＦｖの前に、配列番号１で提供されるもののような任意のリーダー配列、それに続いて配列番号２または配列番号３または配列番号４または配列番号５で提供されるもののような任意のヒンジ配列、配列番号６で提供されるもののような膜貫通領域、配列番号７または配列番号８などの細胞内シグナル伝達ドメインおよび配列番号９または配列番号１０などのＣＤ３ゼータ配列が存在していてもよく、ここでドメインは連続しており同じリーディングフレーム内にあり、単一の融合タンパク質を形成する。また本発明は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５および配列番号２６６からなる群より選択されるｓｃＦｖフラグメントのそれぞれのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列も包含する。

【０２５０】

また本発明は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８、配列番号１４９、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５および配列番号２６６からなる群より選択されるｓｃＦｖフラグメントのそれぞれ、ならびに配列番号１、２および６～９のドメインのそれぞれのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、加えてコードされた本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ融合タンパク質も包含する。

【０２５１】

ある面において、典型的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、任意のリーダー配列、細胞外抗原結合ドメイン、ヒンジ、膜貫通ドメインおよび細胞内刺激ドメインを含む。ある面において、典型的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、任意のリーダー配列、細胞外抗原結合ドメイン、ヒンジ、膜貫通ドメイン、細胞内共刺激ドメインおよび細胞内刺激ドメインを含む。本発明のヒトｓｃＦｖドメインを含有する特異的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９として提供される。全長ＣＡＲ配列はまた、表１で示される配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３

、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９としても本明細書で示される。

【０２５２】

典型的なリーダー配列は、配列番号１として提供される。典型的なヒンジ／スペーサー配列は、配列番号２または配列番号３または配列番号４または配列番号５として提供される。典型的な膜貫通ドメイン配列は、配列番号６として提供される。４－１ＢＢタンパク質の細胞内シグナル伝達ドメインの典型的な配列は、配列番号７として提供される。ＣＤ２７の細胞内シグナル伝達ドメインの典型的な配列は、配列番号８として提供される。典型的なＣＤ３ゼータドメイン配列は、配列番号９または配列番号１０として提供される。

【０２５３】

ある面において、本発明は、ＣＡＲをコードする核酸分子を含む組換え核酸構築物を包含し、ここで該核酸分子は、例えば本明細書で記載される、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列と連続しておりそれと同じリーディングフレーム内にある抗ＢＣＭＡ結合ドメインをコードする核酸配列を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号１５０、配列番号１５１、配列番号１５２、配列番号１５３、配列番号１５４、配列番号１５５、配列番号１５６、配列番号１５７、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７、配列番号１６８、配列番号１６９および配列番号１７０の１以上から選択される。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５４を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５５を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５６を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５７を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５８を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５９を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６０を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６１を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６２を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６３を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６４を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６５を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６６を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６７を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号６８を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５０を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５１を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５２を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５３を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５４を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５５を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５６を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５７を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５８を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１５９を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６０を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６１を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６２を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６３を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６４を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６５を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６６を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番

号１６７を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６８を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１６９を含む。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１７０を含む。

【０２５４】

ある面において、本発明は、ＣＡＲをコードする核酸分子を含む組換え核酸構築物を包含し、ここで該核酸分子は、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号１５０、配列番号１５１、配列番号１５２、配列番号１５３、配列番号１５４、配列番号１５５、配列番号１５６、配列番号１５７、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７、配列番号１６８、配列番号１６９および配列番号１７０の１以上から選択される抗ＢＣＭＡ結合ドメインをコードする核酸配列を含み、ここで該配列は、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列と連続しておりそれと同じリーディングフレーム内にある。ＣＡＲにおいて使用できる典型的な細胞内シグナル伝達ドメインとしては、これらに限定されないが、例えば、ＣＤ３－ゼータ、ＣＤ２８、４－１ＢＢおよび同種のものの１以上の細胞内シグナル伝達ドメインが挙げられる。いくつかの場合において、ＣＡＲは、ＣＤ３－ゼータ、ＣＤ２８、４－１ＢＢおよび同種のもののあらゆる組み合わせを含んでいてもよい。ある面において、本発明のＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１４、配列番号１１５、配列番号１１６、配列番号１１７、配列番号１１８、配列番号１１９、配列番号１２０、配列番号１２１、配列番号１２２、配列番号１２３、配列番号１２４、配列番号１２５、配列番号１２６、配列番号１２７、配列番号１２８、配列番号２３４、配列番号２３５、配列番号２３６、配列番号２３７、配列番号２３８、配列番号２３９、配列番号２４０、配列番号２４１、配列番号２４２、配列番号２４３、配列番号２４４、配列番号２４５、配列番号２４６、配列番号２４７、配列番号２４８、配列番号２４９、配列番号２５０、配列番号２５１、配列番号２５２、配列番号２５３または配列番号２５４の１以上から選択される。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１４である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１５である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１６である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１７である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１８である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１１９である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２０である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２１である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２２である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２３である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２４である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２５である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２６である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２７である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号１２８である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３４である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３５である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３６である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３７である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３８である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２３９である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４０である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４１である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４２である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４３である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４４である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４５である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４６である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４７である。ある

面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４８である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２４９である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２５０である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２５１である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２５２である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２５３である。ある面において、ＣＡＲ構築物の核酸配列は、配列番号２５４である。

【０２５５】

所望の分子をコードする核酸配列は、当業界公知の組換え方法を使用して得ることができ、例えば遺伝子を発現する細胞からのライブラリーをスクリーニングすること、遺伝子を包含することがわかっているベクターからその遺伝子を抽出することまたはその遺伝子を含有する細胞および組織から標準的な技術を使用して直接単離することなどによって得ることができる。その代わりに、対象の核酸は、クローニングされるのではなく合成的に産生されてもよい。

【０２５６】

本発明は、細胞に直接形質導入することができる、ＣＡＲを発現するレトロウイルスおよびレンチウイルスベクター構築物を包含する。

【０２５７】

本発明はまた、細胞に直接トランスフェクトすることができるＲＮＡ構築物も包含する。トランスフェクションで使用するためのｍＲＮＡを生成するための方法は、長さが典型的には５０～２０００塩基の３’および５’非翻訳配列(「ＵＴＲ」)、５’キャップおよび／または内部リボソーム侵入部位(ＩＲＥＳ)、発現する核酸およびポリＡテイルを含有する構築物(配列番号３５)を産生するために、インビトロでの特別に設計されたプライマーを用いた鋳型の転写(ＩＶＴ)、それに続くポリＡ付加を含む。このようにして産生されたＲＮＡは、異なる種の細胞に効率的にトランスフェクトすることができる。ある態様において、鋳型は、ＣＡＲに関する配列を包含する。ある態様において、ＲＮＡ　ＣＡＲベクターは、エレクトロポレーションによって細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に形質導入される。

【０２５８】

抗原結合ドメイン

本発明のＣＡＲは、標的特異的な結合ドメインを含む。成分の選択は、標的細胞表面を特徴付けるリガンドのタイプおよび数に依存する。例えば、抗原結合ドメインは、特定の病状に関連する標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用する抗原を認識するように選ぶことができる。

【０２５９】

ある面において、所望の抗原と特異的に結合する抗原結合ドメインをＣＡＲに取り込ませる目的で、ＣＡＲが介在するＴ細胞応答は、対象の抗原に向けられていてもよい。

【０２６０】

ある面において、本発明のＣＡＲは、ＢＣＭＡに特異的に結合する結合ドメインを含む。ある面において、本発明のＣＡＲは、ヒトＢＣＭＡに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。

【０２６１】

抗原結合ドメインは、例えば、これらに限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体およびそれらの機能的なフラグメント、例えば、これらに限定されないが、単一ドメイン抗体、例えばラクダ由来のナノボディの重鎖可変ドメイン(ＶＨ)、軽鎖可変ドメイン(ＶＬ)および可変ドメイン(ＶＨＨ)など、ならびに抗原結合ドメインとして機能することが当業界公知の代替足場、例えば組換えフィブロネクチンドメインおよび同種のものなどの抗原に結合するあらゆるタンパク質であり得る。いくつかの場合において、抗原結合ドメインにとって、ＣＡＲが最終的に使用されると予想される同じ種由来であることが有益である。例えば、ヒトで使用するためには、ＣＡＲの抗原結合ドメインにとって、抗体または抗体フラグメントの抗原結合ドメインに関

してヒトまたはヒト化残基を含むことが有益であり得る。
【０２６２】
したがって、ある面において、抗原結合ドメインは、ヒトまたはヒト化抗体または抗体フラグメントを含む。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインの軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)および／または本明細書で記載されるヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインの重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)を含み、例えば、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含む。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインの重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)の１以上(例えば、全３)を含み、例えば、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、それぞれ本明細書で記載されるＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む２可変重鎖領域を有する。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載される(例えば、表１に記載の)ヒト軽鎖可変領域および／または本明細書で記載される(例えば、表１に記載の)ヒト重鎖可変領域を含む。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載される(例えば、表１に記載の)ヒト重鎖可変領域、例えば、少なくとも２の本明細書で記載される(例えば、表１に記載の)ヒト重鎖可変領域を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１のアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、表１に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１、２または３の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)であるが３０、２０もしくは１０以下の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するアミノ酸配列、もしくは表１１のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む軽鎖可変領域；および／または表１に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１、２または３の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)であるが３０、２０もしくは１０以下の改変(例えば、置換、例えば保存的置換)を有するアミノ酸配列、もしくは表１のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含む重鎖可変領域を含む。
【０２６３】
ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインをコードする核酸配列は、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号１５０、配列番号１５１、配列番号１５２、配列番号１５３、配列番号１５４、配列番号１５５、配列番号１５６、配列番号１５７、配列番号１５８、配列番号１５９、配列番号１６０、配列番号１６１、配列番号１６２、配列番号１６３、配列番号１６４、配列番号１６５、配列番号１６６、配列番号１６７、配列番号１６８、配列番号１６９および配列番号１７０からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書で記載される、例えば表１に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書で記載される、例えば表１に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例

えば本明細書で記載されるリンカーを介して付着している。ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ)$_n$リンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは３または４である(配列番号２６)。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。ある面において、抗原結合ドメインの部分は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９から選択される１以上の配列を含む。ある面において、ＣＡＲは、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２および配列番号２３３から選択される１以上の配列から選択される。

【０２６４】

ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で(例えば、表１６で)記載される軽鎖可変領域および／または本明細書で(例えば、表１６で)記載される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされたヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２５９、配列番号２６０、配列番号２６１、配列番号２６２に示される軽鎖可変領域および／または配列番号２５５、配列番号２５６、配列番号２５７、配列番号２５８に示される重鎖可変領域を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、表１６のアミノ酸配列の軽鎖および重鎖を含むｓｃＦｖである。ある態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ｓｃＦｖ)は、配列番号２５９、配列番号２６０、配列番号２６１、配列番号２６２に示される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列；および／または配列番号２５５、配列番号２５６、配列番号２５７、配列番号２５８に示される重鎖可変領域のアミノ酸配列に少なくとも１、２または３の改変(例えば置換、例えば保存的置換)を有するが、改変(例えば置換、例えば保存的置換)が３０、２０または１０を超えないアミノ酸配列を含む重鎖可変領域またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、コードされた抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、(Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ)$_n$リンカーを包含し、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは３または４(配列番号２６)である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域および重鎖可変領域は、例えば、以下の配置：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれであってもよい。

【０２６５】

ある態様において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号２６３、配列番号２６４、配列番号２６５および配列番号２６６からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０２６６】

いくつかの面において、非ヒト抗体は、ヒト化されており、この場合、該抗体の特異的な配列または領域は、ヒトにおいて自然に産生された抗体またはそれらのフラグメントに対

する類似性が増加するように改変される。ある面において、抗原結合ドメインがヒト化されている。

【０２６７】

ヒト化抗体は、当業界公知の様々な技術を使用して産生することができ、このような技術としては、これらに限定されないが、ＣＤＲグラフティング(例えば、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる欧州特許ＥＰ２３９,４００号；国際特許公開ＷＯ９１／０９９６７；および米国特許第５,２２５,５３９号、５,５３０,１０１号および５,５８５,０８９号を参照)、ベニアリング(veneering)またはリサーフェイシング(resurfacing)(例えば、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる欧州特許ＥＰ５９２,１０６号およびＥＰ５１９,５９６号；Padlan, 1991, Molecular Immunology, 28(4/5):489-498；Studnicka et al., 1994, Protein Engineering, 7(6):805-814；およびRoguska et al., 1994, PNAS, 91:969-973を参照]、チェーンシャッフリング(例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第５,５６５,３３２号を参照)、ならびに例えば、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第２００５／００４２６６４号、米国特許出願公開第２００５／００４８６１７号、米国特許第６,４０７,２１３号、米国特許第５,７６６,８８６号、国際特許公開ＷＯ９３１７１０５、Tan et al., J. Immunol., 169:1119-25 (2002)、Caldas et al., Protein Eng., 13(5):353-60 (2000)、Morea et al., Methods, 20(3):267-79 (2000)、Baca et al., J. Biol. Chem., 272(16):10678-84 (1997)、Roguska et al., Protein Eng., 9(10):895-904 (1996)、Couto et al., Cancer Res., 55 (23 Supp):5973s-5977s (1995)、Couto et al., Cancer Res., 55(8):1717-22 (1995)、Sandhu J S, Gene, 150(2):409-10 (1994)およびPedersen et al., J. Mol. Biol., 235(3):959-73 (1994)で開示された技術などが挙げられる。抗原結合を変更する、例えば向上させるために、しばしばフレームワーク領域中のフレームワーク残基は、ＣＤＲドナー抗体からの対応する残基で置換されると予想される。これらのフレームワーク置換、例えば保存的置換は、当業界周知の方法によって同定され、例えば、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定するための、ＣＤＲおよびフレームワーク残基の相互作用のモデリングおよび特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較によって同定される(例えば、参照によりそれらの全体が開示に組み入れられるQueen et alの米国特許第５,５８５,０８９号；およびRiechmann et al., 1988, Nature, 332:323を参照)。

【０２６８】

ヒト化抗体または抗体フラグメントは、その中に非ヒトである源からの残存する１以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、「移入」残基と称されることが多く、これは、典型的には「移入」可変ドメインから採取される。本明細書で示したように、ヒト化抗体または抗体フラグメントは、非ヒト免疫グロブリン分子からの１以上のＣＤＲおよびフレームワーク領域を含み、ここでフレームワークを含むアミノ酸残基は、完全にまたは大部分がヒト生殖細胞系由来である。抗体または抗体フラグメントのヒト化に関する複数の技術が当業界周知であり、本質的に、Ｗｉｎｔｅｒおよび協同研究者の方法(Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986)；Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988)；Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)]に従って、げっ歯類ＣＤＲまたはヒト抗体の対応する配列に関するＣＤＲ配列を置換すること、すなわち、ＣＤＲグラフティング(その内容が参照によりそれらの全体として本明細書に組み入れられるＥＰ２３９,４００；ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０９９６７；および米国特許第４,８１６,５６７号；６,３３１,４１５号；５,２２５,５３９号；５,５３０,１０１号；５,５８５,０８９号；６,５４８,６４０号)によって行うことができる。このようなヒト化抗体および抗体フラグメントにおいて、無傷のヒト可変ドメインより実質的に小さい部分が、非ヒト種からの対応する配列で置換されている。ヒト化抗体は、いくつかのＣＤＲ残基および場合によってはいくつかのフレームワーク(ＦＲ)残基がげっ歯類抗体中の類似の部位からの残基で置換されているヒト抗体であることが多い。また抗体および抗体フラグメントのヒト化は、ベニアリングまたはリサーフェイシング(その内容が参照によりそれらの全体として

本明細書に組み入れられるＥＰ５９２,１０６；ＥＰ５１９,５９６；Padlan, 1991, Molecular Immunology, 28(4/5):489-498；Studnicka et al., Protein Engineering, 7(6):805-814 (1994)；およびRoguska et al., PNAS, 91:969-973 (1994)]またはチェーンシャッフリング(米国特許第５,５６５,３３２号)によっても達成することができる。

【０２６９】

ヒト化抗体を作製するのに使用するために、軽鎖および重鎖の両方のヒト可変ドメインを選択することは、抗原性を低下させることになる。いわゆる「最良適合(best-fit)」法に従って、公知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してげっ歯類抗体の可変ドメインの配列がスクリーニングされる。次いでげっ歯類配列に最も近いヒト配列がヒト化抗体のためのヒトフレームワーク(ＦＲ)として容認される(その内容が参照によりそれらの全体として本明細書に組み入れられるSims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993)；Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)]。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループにおける全てのヒト抗体のコンセンサス配列由来の特定のフレームワークを使用する。様々な異なるヒト化抗体に同じフレームワークを使用することができる(例えば、その内容が参照によりそれらの全体として本明細書に組み入れられるNicholson et al. Mol. Immun. 34 (16-17): 1157-1165 (1997)；Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)；Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照]。いくつかの態様において、フレームワーク領域、例えば重鎖可変領域の全ての４フレームワーク領域は、ＶＨ４＿４－５９生殖細胞系配列由来である。ある態様において、フレームワーク領域は、例えば、対応するマウス配列におけるアミノ酸からの１、２、３、４または５の改変、例えば置換、例えば保存的置換を含んでいてもよい。ある態様において、フレームワーク領域、例えば軽鎖可変領域の全ての４フレームワーク領域は、ＶＫ３＿１.２５生殖細胞系配列由来である。ある態様において、フレームワーク領域は、例えば、対応するマウス配列におけるアミノ酸からの１、２、３、４または５の改変、例えば置換、例えば保存的置換を含んでいてもよい。

【０２７０】

いくつかの面において、抗体フラグメントを含む本発明のＣＡＲ組成物の一部は、標的抗原への高親和性および他の好都合な生物学的特性を保持したままヒト化される。本発明の一面によれば、ヒト化抗体および抗体フラグメントは、親の配列およびヒト化された配列の三次元モデルを使用して、親の配列および様々な概念的なヒト化生成物を分析するプロセスによって調製される。三次元免疫グロブリンモデルが一般的に入手可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の可能性がある三次元立体配座構造を例示して表示するコンピュータープログラムが利用可能である。これらの表示を精査することで、候補免疫グロブリン配列の機能化において見込みのある残基の役割の分析、例えば、候補免疫グロブリンの標的抗原と結合する能力に影響を与える残基の分析が可能になる。この方法で、標的抗原に対する高い親和性などの所望の抗体または抗体フラグメントの特徴が達成されるように、レシピエントおよび移入配列からＦＲ残基を選択して組み合わせることができる。一般的に、ＣＤＲ残基が、直接的にかつ最も実質的に抗原結合への影響に関与する。

【０２７１】

ヒト化抗体または抗体フラグメントは、元の抗体と類似の抗原特異性、例えば、本発明においてはヒトＢＣＭＡと結合する能力を保持している可能性がある。いくつかの態様において、ヒト化抗体または抗体フラグメントは、ヒトＢＣＭＡへの結合の向上した親和性および／または特異性を有する可能性がある。

【０２７２】

ある態様において、ＣＡＲのヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)軽鎖相補性決定領域１(ＬＣ　ＣＤＲ１)、軽鎖相補性決定領域２(ＬＣ　ＣＤＲ２)および軽鎖相補性決定領域３(ＬＣ　ＣＤＲ３)、ならびに／または本明細書で記載されるヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上

の(例えば全３の)重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含み、例えば、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、１以上の、例えば全３のＬＣ　ＣＤＲおよび１以上の、例えば全３のＨＣ　ＣＤＲを含む。ある態様において、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインの、１以上の(例えば全３の)重鎖相補性決定領域１(ＨＣ　ＣＤＲ１)、重鎖相補性決定領域２(ＨＣ　ＣＤＲ２)および重鎖相補性決定領域３(ＨＣ　ＣＤＲ３)を含み、例えば、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、それぞれ本明細書で記載されるＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２およびＨＣ　ＣＤＲ３を含む２可変重鎖領域を有する。ある態様において、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載されるヒト化軽鎖可変領域(例えば、配列番号２５５または２５７)および／または本明細書で記載されるヒト重鎖可変領域(例えば、配列番号２５５または２５７)を含む。

【０２７３】

ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、抗体または抗体フラグメントの特定の機能的な特徴または特性を特徴とする。例えば、ある面において、抗原結合ドメインを含む本発明のＣＡＲ組成物の一部は、ヒトＢＣＭＡに特異的に結合する。

【０２７４】

ある面において、抗原結合ドメインは、マウスＢＣＭＡと同じまたは類似した、ヒトＢＣＭＡへの結合特異性を有する。ある面において、本発明は、抗体または抗体フラグメントを含む抗原結合ドメインであって、ここで抗体結合ドメインは、ＢＣＭＡタンパク質またはそれらのフラグメントに特異的に結合し、抗体または抗体フラグメントは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８または配列番号１４９のアミノ酸配列を包含する可変軽鎖および／または可変重鎖を含む、ドメインに関する。ある面において、抗原結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８または配列番号１４９から選択されるｓｃＦｖのアミノ酸配列を含む。ある面において、ｓｃＦｖは、リーダー配列と連続しておりそれと同じリーディングフレーム内にある。ある面において、リーダー配列は、配列番号１として提供されるポリペプチド配列である。

【０２７５】

ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、フラグメント、例えば単鎖可変フラグメント(ｓｃＦｖ)である。ある面において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、Ｆｖ、Ｆａｂ、ａ(Ｆａｂ’)２または二機能性(例えば二重特異的)ハイブリッド抗体(例えば、Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987)]である。ある面において、本発明の抗体およびそれらのフラグメントは、野生型のまたは強化された親和性でＢＣＭＡタンパク質と結合する。

【０２７６】

いくつかの場合において、ｓｃＦｖは、当業界公知の方法に従って調製できる(例えば、Bird et al., (1988) Science 242:423-426およびHuston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883を参照]。ｓｃＦｖ分子は、フレキシブルなポリペプチドリンカーを使用してＶＨおよびＶＬ領域を一緒に連結することによって産生することが

できる。ｓｃＦｖ分子は、長さおよび／またはアミノ酸組成が最適化されたリンカー(例えば、Ｓｅｒ－Ｇｌｙリンカー)を含む。リンカーの長さは、ｓｃＦｖの可変領域がどのようにフォールディングして相互作用するかに大きく影響を与える可能性がある。実際、短いポリペプチドリンカーが採用される場合(例えば、５～１０アミノ酸の間)、鎖内のフォールディングが予防される。鎖間のフォールディングは、２可変領域を一緒に架橋して機能的なエピトープ結合部位を形成するのにも必要である。リンカーの方向およびサイズの例に関しては、例えば、参照により本明細書に組み入れられるHollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448、米国特許出願公開第２００５／０１００５４３号、２００５／０１７５６０６号、２００７／００１４７９４号およびＰＣＴ公開ＷＯ２００６／０２０２５８およびＷＯ２００７／０２４７１５を参照されたい。

【０２７７】

ｓｃＦｖは、そのＶＬとＶＨ領域との間に、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０アミノ酸残基以上のアミノ酸残基のリンカーを含んでいてもよい。リンカー配列は、あらゆる天然に存在するアミノ酸を含んでいてもよい。いくつかの態様において、リンカー配列は、アミノ酸であるグリシンおよびセリンを含む。別の態様において、リンカー配列は、一連のグリシンおよびセリン反復を含み、例えば(Ｇｌｙ４Ｓｅｒ)ｎを含み、ここで式中ｎは、１以上の正の整数である(配列番号２５)。ある態様において、リンカーは、(Ｇｌｙ４Ｓｅｒ)４(配列番号２７)または(Ｇｌｙ４Ｓｅｒ)３(配列番号２８)であってもよい。リンカーの長さを変化させることで、活性を保持したりまたは強化したりすることが可能であり、それにより活性研究において優れた効能がもたらされる。

【０２７８】

例示的なヒトＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物および抗原結合ドメイン

本明細書で開示される例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、任意のリーダー配列(例えば、それぞれ例示的なリーダーのアミノ酸およびヌクレオチド配列に関する配列番号１および配列番号１２)を前に有していてもよいｓｃＦｖ(例えば、表１または１６に開示されたｓｃＦｖ)を含む。ｓｃＦｖフラグメント(任意のリーダー配列を包含しない、配列番号３９～５３、１２９～１４９または２６３～２６６)の配列は、本明細書において、表１または１６で示される。ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、任意のヒンジドメイン、例えばＣＤ８ヒンジドメイン(例えば、配列番号２のアミノ酸配列または配列番号１３の核酸配列によってコードされたアミノ酸配列など)；膜貫通ドメイン、例えばＣＤ８膜貫通ドメイン(例えば、配列番号６のアミノ酸配列または配列番号１７のヌクレオチド配列によってコードされたアミノ酸配列など)；細胞内ドメイン、例えば４－１ＢＢ細胞内ドメイン(例えば、配列番号７のアミノ酸配列または配列番号１８のヌクレオチド配列によってコードされたアミノ酸配列など；および機能的なシグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータドメイン(例えば、配列番号９もしくは１０のアミノ酸配列または配列番号２０もしくは２１のヌクレオチド配列によってコードされたアミノ酸配列など)をさらに包含していてもよい。ある特定の態様において、ドメインは、同じリーディングフレーム内で連続しており、単一の融合タンパク質を形成する。他の態様において、ドメインは、例えば本明細書で記載されるＲＣＡＲ分子の場合のように、別々のポリペプチド中にある。

【０２７９】

ある特定の態様において、全長ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子は、表１または１６に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ

＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１のヌクレオチド配列またはそれらと実質的に(例えば、９５～９９％)同一な配列のアミノ酸配列またはそれらによってコードされるアミノ酸配列を包含する。

【０２８０】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表１または１６に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１(リーダー配列を含むまたは含まない)のｓｃＦｖのアミノ酸配列または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大２０、１５、１０、８、６、５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]を包含する。

【０２８１】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表１または１６に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大２０、１５、１０、８、６、５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]の、重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を包含する。

【０２８２】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表２０に示される、重鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２および／またはＨＣＤＲ３)；および／または表２１に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－

Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１；または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大２０、１５、１０、８、６、５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]の、軽鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２および／またはＬＣＤＲ３)を包含する。

【０２８３】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表２２に示される、重鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２および／またはＨＣＤＲ３)；および／または表２３に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１；または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大２０、１５、１０、８、６、５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]の、軽鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２および／またはＬＣＤＲ３)を包含する。

【０２８４】

ある特定の態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子または抗ＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、表２４に示される、重鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２および／またはＨＣＤＲ３)；および／または表２５に示される、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２.２、Ｃ１１Ｄ５.３、Ｃ１２Ａ３.２、もしくはＣ１３Ｆ１２.１；または前述の配列のいずれかに実質的に同一な配列(例えば、９５～９９％同一であるかまたは最大２０、１５、１０、８、６、５、４、３、２または１アミノ酸の変化、例えば置換(例えば、保存的置換)]の、軽鎖可変領域からの１、２または３ＣＤＲ(例えば、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２および／またはＬＣＤＲ３)を包含する。

【０２８５】

ｓｃＦｖドメインのヒトＣＤＲ配列の配列は、重鎖可変ドメインについては表２０、２２および２４に、軽鎖可変ドメインについては表２１、２３および２５に示される。「ＩＤ

」は、各ＣＤＲのそれぞれの配列番号を意味する。

【０２８６】

【表１】

表２０: Kabat 番号付けスキームによる重鎖可変ドメインのＣＤＲ

(Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)

候補	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	NHGMS	394	GIVYSGSTYYAASVKG	434	HGGESDV	474
139103	NYAMS	384	GISRSGENTYYADSVKG	424	SPAHYYGGMDV	464
139105	DYAMH	385	GISWNSGSIGYADSVKG	425	HSFLAY	465
139111	NHGMS	386	GIVYSGSTYYAASVKG	426	HGGESDV	466
139100	NFGIN	387	WINPKNNNTNYAQKFQG	427	GPYYYQSYMDV	467
139101	SDAMT	388	VISGSGGTTYYADSVKG	428	LDSSGYYYARGPRY	468
139102	NYGIT	389	WISAYNGNTNYAQKFQG	429	GPYYYYMDV	469
139104	NHGMS	390	GIVYSGSTYYAASVKG	430	HGGESDV	470
139106	NHGMS	391	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	471
139107	NHGMS	392	GIVYSGSTYYAASVKG	432	HGGESDV	472
139108	DYYMS	393	YISSSGSTIYYADSVKG	433	ESGDGMDV	473
139110	DYYMS	395	YISSSGNTIYYADSVKG	435	STMVREDY	475
139112	NHGMS	396	GIVYSGSTYYAASVKG	436	HGGESDV	476
139113	NHGMS	397	GIVYSGSTYYAASVKG	437	HGGESDV	477
139114	NHGMS	398	GIVYSGSTYYAASVKG	438	HGGESDV	478
149362	SSYYYWG	399	SIYYSGSAYYNPSLKS	439	HWQEWPDAFDI	479
149363	TSGMCVS	400	RIDWDEDKFYSTSLKT	440	SGAGGTSATAFDI	480
149364	SYSMN	401	SISSSSSYIYYADSVKG	441	TIAAVYAFDI	481
149365	DYYMS	402	YISSSGSTIYYADSVKG	442	DLRGAFDI	482
149366	SHYIH	403	MINPSGGVTAYSQTLQG	443	EGSGSGWYFDF	483
149367	SGGYYWS	404	YIYYSGSTYYNPSLKS	444	AGIAARLRGAFDI	484
149368	SYAIS	405	GIIPIFGTANYAQKFQG	445	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	485
149369	SNSAAWN	406	RTYYRSKWYSFYAISLKS	446	SSPEGLFLYWFDP	486
BCMA_EBB-C1978-A4	SYAMS	407	AISGSGGSTYYADSVKG	447	VEGSGSLDY	487
BCMA_EBB-	RYPMS	408	GISDSGVSTYYADS	448	RAGSEASDI	488

【表２】

C1978-G1			AKG			
BCMA_EBB-C1979-C1	SYAMS	409	AISGSGGSTYYADSVKG	449	ATYKRELRYYYGMDV	489
BCMA_EBB-C1978-C7	SYAMS	410	AISGSGGSTYYADSVKG	450	ATYKRELRYYYGMDV	490
BCMA_EBB-C1978-D10	DYAMH	411	GISWNSGSIGYADSVKG	451	VGKAVPDV	491
BCMA_EBB-C1979-C12	DYAMH	412	SINWKGNSLAYGDSVKG	452	HQGVAYYNYAMDV	492
BCMA_EBB-C1980-G4	SYAMS	413	AISGSGGSTYYADSVKG	453	VVRDGMDV	493
BCMA_EBB-C1980-D2	SYAMS	414	AISGSGGSTYYADSVKG	454	IPQTGTFDY	494
BCMA_EBB-C1978-A10	SYAMS	415	AISGSGGSTYYADSVKG	455	ANYKRELRYYYGMDV	495
BCMA_EBB-C1978-D4	SYAMS	416	AISGSGGSTYYADSVKG	456	ALVGATGAFDI	496
BCMA_EBB-C1980-A2	SYAMS	417	AISGSGGSTYYADSVKG	457	WFGEGFDP	497
BCMA_EBB-C1981-C3	SYAMS	418	AISGSGGSTYYADSVKG	458	VGYDSSGYYRDYYGMDV	498
BCMA_EBB-C1978-G4	SYAMS	419	AISGSGGSTYYADSVKG	459	MGWSSGYLGAFDI	499
A7D12.2	NFGMN	420	WINTYTGESYFADDFKG	460	GEIYYGYDGGFAY	500
C11D5.3	DYSIN	421	WINTETREPAYAYDFRG	461	DYSYAMDY	501
C12A3.2	HYSMN	422	RINTESGVPIYADDFKG	462	DYLYSLDF	502
C13F12.1	HYSMN	423	RINTETGEPLYADDFKG	463	DYLYSCDY	503

【０２８７】

【表３】

表２１：Kabat 番号付けスキームによる軽鎖可変ドメインのＣＤＲ

(Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)

候補	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
139109	RASQSISSYLN	514	AASSLQS	554	QQSYSTPYT	594
139103	RASQSISSSFLA	504	GASRRAT	544	QQYHSSPSWT	584
139105	RSSQSLLHSNGYNYLD	505	LGSNRAS	545	MQALQTPYT	585
139111	KSSQSLLRNDGKTPLY	506	EVSNRFS	546	MQNIQFPS	586
139100	RSSQSLLHSNGYNYLN	507	LGSKRAS	547	MQALQTPYT	587
139101	RASQSISSYLN	508	GASTLAS	548	QQSYKRAS	588
139102	RSSQSLLYSNGYNYVD	509	LGSNRAS	549	MQGRQFPYS	589
139104	RASQSVSSNLA	510	GASTRAS	550	QQYGSSLT	590
139106	RASQSVSSKLA	511	GASIRAT	551	QQYGSSSWT	591
139107	RASQSVGSTNLA	512	DASNRAT	552	QQYGSSPPWT	592
139108	RASQSISSYLN	513	AASSLQS	553	QQSYTLA	593
139110	KSSESLVHNSGKTYLN	515	EVSNRDS	555	MQGTHWPGT	595
139112	QASEDINKFLN	516	DASTLQT	556	QQYESLPLT	596
139113	RASQSVGSNLA	517	GASTRAT	557	QQYNDWLPVT	597
139114	RASQSIGSSSLA	518	GASSRAS	558	QQYAGSPPFT	598
149362	KASQDIDDAMN	519	SATSPVP	559	LQHDNFPLT	599
149363	RASQDIYNNLA	520	AANKSQS	560	QHYYRFPYS	600
149364	RSSQSLLHSNGYNYLD	521	LGSNRAS	561	MQALQTPYT	601
149365	GGNNIGTKSVH	522	DDSVRPS	562	QVWDSDSEHVV	602
149366	SGDGLSKKYVS	523	RDKERPS	563	QAWDDTTVV	603
149367	RASQGIRNWLA	524	AASNLQS	564	QKYNSAPFT	604
149368	GGNNIGSKSVH	525	GKNNRPS	565	SSRDSSGDHLRV	605
149369	QGDSLGNYYAT	526	GTNNRPS	566	NSRDSSGHHLL	606
BCMA_EBB-C1978-A4	RASQSVSSAYLA	527	GASTRAT	567	QHYGSSFNGSSLFT	607
BCMA_EBB-C1978-G1	RASQSVSNSLA	528	DASSRAT	568	QQFGTSSGLT	608
BCMA_EBB-C1979-C1	RASQSVSSSFLA	529	GASSRAT	569	QQYHSSPSWT	609
BCMA_EBB-C1978-C7	RASQSVSTTFLA	530	GSSNRAT	570	QQYHSSPSWT	610
BCMA_EBB-C1978-D10	RASQSISSYLN	531	AASSLQS	571	QQSYSTPYS	611
BCMA_EBB-C1979-C12	RATQSIGSSFLA	532	GASQRAT	572	QHYESSPSWT	612
BCMA_EBB-C1980-G4	RASQSVSSSYLA	533	GASSRAT	573	QQYGSPPRFT	613
BCMA_EBB-C1980-D2	RASQSVSSSYLA	534	GASSRAT	574	QHYGSSPSWT	614
BCMA_EBB-	RASQRVASNYLA	535	GASSRAT	575	QHYDSSPSWT	615

【表４】

C1978-A10						
BCMA_EBB-C1978-D4	RASQSLSSNFLA	536	GASNWAT	576	QYYGTSPMYT	616
BCMA_EBB-C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYLD	537	LGSNRAS	577	MQALQTPLT	617
BCMA_EBB-C1981-C3	RASQSVSSSYLA	538	GTSSRAT	578	QHYGNSPPKFT	618
BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	539	GASGRAT	579	QHYGGSPRLT	619
A7D12.2	RASQDVNTAVS	540	SASYRYT	580	QQHYSTPWT	620
C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	541	LASNLET	581	LQSRIFPRT	621
C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	542	LASNVQT	582	LQSRTIPRT	622
C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	543	LASNVQT	583	LQSRTIPRT	623

【０２８８】

【表５】

表２２: Chothia 番号付けスキームによる重鎖可変ドメインのＣＤＲ

(Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)

候補	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	GFALSNH	634	VYSGS	674	HGGESDV	714
139103	GFTFSNY	624	SRSGEN	664	SPAHYYGGMDV	704
139105	GFTFDDY	625	SWNSGS	665	HSFLAY	705
139111	GFALSNH	626	VYSGS	666	HGGESDV	706
139100	GYIFDNF	627	NPKNNN	667	GPYYYQSYMDV	707
139101	GFTFSSD	628	SGSGGT	668	LDSSGYYYARGPRY	708
139102	GYTFSNY	629	SAYNGN	669	GPYYYYMDV	709
139104	GFALSNH	630	VYSGS	670	HGGESDV	710
139106	GFALSNH	631	VYSGS	671	HGGESDV	711
139107	GFALSNH	632	VYSGS	672	HGGESDV	712
139108	GFTFSDY	633	SSSGST	673	ESGDGMDV	713
139110	GFTFSDY	635	SSSGNT	675	STMVREDY	715
139112	GFALSNH	636	VYSGS	676	HGGESDV	716
139113	GFALSNH	637	VYSGS	677	HGGESDV	717
139114	GFALSNH	638	VYSGS	678	HGGESDV	718
149362	GGSISSSYY	639	YYSGS	679	HWQEWPDAFDI	719
149363	GFSLRTSGM	640	DWDED	680	SGAGGTSATAFDI	720
149364	GFTFSSY	641	SSSSSY	681	TIAAVYAFDI	721
149365	GFTFSDY	642	SSSGST	682	DLRGAFDI	722
149366	GYTVTSH	643	NPSGGV	683	EGSGSGWYFDF	723
149367	GGSISSGGY	644	YYSGS	684	AGIAARLRGAFDI	724
149368	GGTFSSY	645	IPIFGT	685	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	725
149369	GDSVSSNSA	646	YYRSKWY	686	SSPEGLFLYWFDP	726
BCMA_EBB-C1978-A4	GFTFSSY	647	SGSGGS	687	VEGSGSLDY	727
BCMA_EBB-C1978-G1	GITFSRY	648	SDSGVS	688	RAGSEASDI	728
BCMA_EBB-C1979-C1	GFTFSSY	649	SGSGGS	689	ATYKRELRYYYGMDV	729
BCMA_EBB-C1978-C7	GFTFSSY	650	SGSGGS	690	ATYKRELRYYYGMDV	730
BCMA_EBB-C1978-D10	GFTFDDY	651	SWNSGS	691	VGKAVPDV	731
BCMA_EBB-C1979-C12	GFTFDDY	652	NWKGNS	692	HQGVAYYNYAMDV	732
BCMA_EBB-C1980-G4	GFTFSSY	653	SGSGGS	693	VVRDGMDV	733
BCMA_EBB-C1980-D2	GFTFSSY	654	SGSGGS	694	IPQTGTFDY	734
BCMA_EBB-C1978-A10	GFTFSSY	655	SGSGGS	695	ANYKRELRYYYGMDV	735
BCMA_EBB-C1978-D4	GFSFSSY	656	SGSGGS	696	ALVGATGAFDI	736

【表６】

BCMA_EBB-C1980-A2	GFTFSSY	657	SGSGGS	697	WFGEGFDP	737
BCMA_EBB-C1981-C3	GFTFSSY	658	SGSGGS	698	VGYDSSGYYRDYYGMDV	738
BCMA_EBB-C1978-G4	GFTFSSY	659	SGSGGS	699	MGWSSGYLGAFDI	739
A7D12.2	GYTFTNF	660	NTYTGE	700	GEIYYGYDGGFAY	740
C11D5.3	GYTFTDY	661	NTETRE	701	DYSYAMDY	741
C12A3.2	GYTFRHY	662	NTESGV	702	DYLYSLDF	742
C13F12.1	GYTFTHY	663	NTETGE	703	DYLYSCDY	743

【０２８９】

【表７】

表２３: Chothia 番号付けスキームによる軽鎖可変ドメインのＣＤＲ

(Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)

候補	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
139109	SQSISSY	754	AAS	794	SYSTPY	834
139103	SQSISSSF	744	GAS	784	YHSSPSW	824
139105	SQSLLHSNGYNY	745	LGS	785	ALQTPY	825
139111	SQSLLRNDGKTP	746	EVS	786	NIQFP	826
139100	SQSLLHSNGYNY	747	LGS	787	ALQTPY	827
139101	SQSISSY	748	GAS	788	SYKRA	828
139102	SQSLLYSNGYNY	749	LGS	789	GRQFPY	829
139104	SQSVSSN	750	GAS	790	YGSSL	830
139106	SQSVSSK	751	GAS	791	YGSSSW	831
139107	SQSVGSTN	752	DAS	792	YGSSPPW	832
139108	SQSISSY	753	AAS	793	SYTL	833
139110	SESLVHNSGKTY	755	EVS	795	GTHWPG	835
139112	SEDINKF	756	DAS	796	YESLPL	836
139113	SQSVGSN	757	GAS	797	YNDWLPV	837
139114	SQSIGSSS	758	GAS	798	YAGSPPF	838
149362	SQDIDDA	759	SAT	799	HDNFPL	839
149363	SQDIYNN	760	AAN	800	YYRFPY	840
149364	SQSLLHSNGYNY	761	LGS	801	ALQTPY	841
149365	NNIGTKS	762	DDS	802	WDSDSEHV	842
149366	DGLSKKY	763	RDK	803	WDDTTV	843
149367	SQGIRNW	764	AAS	804	YNSAPF	844
149368	NNIGSKS	765	GKN	805	RDSSGDHLR	845
149369	DSLGNYY	766	GTN	806	RDSSGHHL	846
BCMA_EBB-C1978-A4	SQSVSSAY	767	GAS	807	YGSSFNGSSLF	847
BCMA_EBB-C1978-G1	SQSVSNS	768	DAS	808	FGTSSGL	848
BCMA_EBB-C1979-C1	SQSVSSSF	769	GAS	809	YHSSPSW	849
BCMA_EBB-C1978-C7	SQSVSTTF	770	GSS	810	YHSSPSW	850
BCMA_EBB-C1978-D10	SQSISSY	771	AAS	811	SYSTPY	851
BCMA_EBB-C1979-C12	TQSIGSSF	772	GAS	812	YESSPSW	852
BCMA_EBB-C1980-G4	SQSVSSSY	773	GAS	813	YGSPPRF	853
BCMA_EBB-C1980-D2	SQSVSSSY	774	GAS	814	YGSSPSW	854
BCMA_EBB-C1978-A10	SQRVASNY	775	GAS	815	YDSSPSW	855
BCMA_EBB-C1978-D4	SQSLSSNF	776	GAS	816	YGTSPMY	856

【表８】

BCMA_EBB-C1980-A2	SQSLLHSNGYNY	777	LGS	817	ALQTPL	857
BCMA_EBB-C1981-C3	SQSVSSSY	778	GTS	818	YGNSPPKF	858
BCMA_EBB-C1978-G4	SQSVASSF	779	GAS	819	YGGSPRL	859
A7D12.2	SQDVNTA	780	SAS	820	HYSTPW	860
C11D5.3	SESVSVIGAHL	781	LAS	821	SRIFPR	861
C12A3.2	SESVTILGSHL	782	LAS	822	SRTIPR	862
C13F12.1	SESVTILGSHL	783	LAS	823	SRTIPR	863

【０２９０】

【表９】

表２４. Kabat 番号付けスキーム(Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)および Chothia 番号付けスキーム(Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)の組合せによる重鎖可変ドメインのＣＤＲ

候補	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	GFALSNHGMS	874	GIVYSGSTYYAASVKG	914	HGGESDV	954
139103	GFTFSNYAMS	864	GISRSGENTYYADSVKG	904	SPAHYYGGMDV	944
139105	GFTFDDYAMH	865	GISWNSGSIGYADSVKG	905	HSFLAY	945
139111	GFALSNHGMS	866	GIVYSGSTYYAASVKG	906	HGGESDV	946
139100	GYIFDNFGIN	867	WINPKNNNTNYAQKFQG	907	GPYYYQSYMDV	947
139101	GFTFSSDAMT	868	VISGSGGTTYYADSVKG	908	LDSSGYYYARGPRY	948
139102	GYTFSNYGIT	869	WISAYNGNTNYAQKFQG	909	GPYYYYMDV	949
139104	GFALSNHGMS	870	GIVYSGSTYYAASVKG	910	HGGESDV	950
139106	GFALSNHGMS	871	GIVYSGSTYYAASVKG	911	HGGESDV	951
139107	GFALSNHGMS	872	GIVYSGSTYYAASVKG	912	HGGESDV	952
139108	GFTFSDYYMS	873	YISSSGSTIYYADSVKG	913	ESGDGMDV	953
139110	GFTFSDYYMS	875	YISSSGNTIYYADSVKG	915	STMVREDY	955
139112	GFALSNHGMS	876	GIVYSGSTYYAASVKG	916	HGGESDV	956
139113	GFALSNHGMS	877	GIVYSGSTYYAASVKG	917	HGGESDV	957
139114	GFALSNHGMS	878	GIVYSGSTYYAASVKG	918	HGGESDV	958
149362	GGSISSSYYYWG	879	SIYYSGSAYYNPSLKS	919	HWQEWPDAFDI	959
149363	GFSLRTSGMCVS	880	RIDWDEDKFYSTSLKT	920	SGAGGTSATAFDI	960
149364	GFTFSSYSMN	881	SISSSSSYIYYADSVKG	921	TIAAVYAFDI	961
149365	GFTFSDYYMS	882	YISSSGSTIYYADSVKG	922	DLRGAFDI	962
149366	GYTVTSHYIH	883	MINPSGGVTAYSQTLQG	923	EGSGSGWYFDF	963
149367	GGSISSGGYYWS	884	YIYYSGSTYYNPSLKS	924	AGIAARLRGAFDI	964
149368	GGTFSSYAIS	885	GIIPIFGTANYAQKFQG	925	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	965
149369	GDSVSSNSAAWN	886	RTYYRSKWYSFYAISLKS	926	SSPEGLFLYWFDP	966
BCMA_EBB	GFTFSSYAMS	887	AISGSGGSTYYAD	927	VEGSGSLDY	967

【表１０】

-C1978-A4			SVKG			
BCMA_EBB-C1978-G1	GITFSRYPMS	888	GISDSGVSTYYADSAKG	928	RAGSEASDI	968
BCMA_EBB-C1979-C1	GFTFSSYAMS	889	AISGSGGSTYYADSVKG	929	ATYKRELRYYYGMDV	969
BCMA_EBB-C1978-C7	GFTFSSYAMS	890	AISGSGGSTYYADSVKG	930	ATYKRELRYYYGMDV	970
BCMA_EBB-C1978-D10	GFTFDDYAMH	891	GISWNSGSIGYADSVKG	931	VGKAVPDV	971
BCMA_EBB-C1979-C12	GFTFDDYAMH	892	SINWKGNSLAYGDSVKG	932	HQGVAYYNYAMDV	972
BCMA_EBB-C1980-G4	GFTFSSYAMS	893	AISGSGGSTYYADSVKG	933	VVRDGMDV	973
BCMA_EBB-C1980-D2	GFTFSSYAMS	894	AISGSGGSTYYADSVKG	934	IPQTGTFDY	974
BCMA_EBB-C1978-A10	GFTFSSYAMS	895	AISGSGGSTYYADSVKG	935	ANYKRELRYYYGMDV	975
BCMA_EBB-C1978-D4	GFSFSSYAMS	896	AISGSGGSTYYADSVKG	936	ALVGATGAFDI	976
BCMA_EBB-C1980-A2	GFTFSSYAMS	897	AISGSGGSTYYADSVKG	937	WFGEGFDP	977
BCMA_EBB-C1981-C3	GFTFSSYAMS	898	AISGSGGSTYYADSVKG	938	VGYDSSGYYRDYYGMDV	978
BCMA_EBB-C1978-G4	GFTFSSYAMS	899	AISGSGGSTYYADSVKG	939	MGWSSGYLGAFDI	979
A7D12.2	GYTFTNFGMN	900	WINTYTGESYFADDFKG	940	GEIYYGYDGGFAY	980
C11D5.3	GYTFTDYSIN	901	WINTETREPAYAYDFRG	941	DYSYAMDY	981
C12A3.2	GYTFRHYSMN	902	RINTESGVPIYADDFKG	942	DYLYSLDF	982
C13F12.1	GYTFTHYSMN	903	RINTETGEPLYADDFKG	943	DYLYSCDY	983

【０２９１】

【表１１】

表２５. Kabat番号付けスキーム(Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)およびChothia番号付けスキーム(Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948)の組合せによる軽鎖可変ドメインのＣＤＲ

候補	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
139109	RASQSISSYLN	994	AASSLQS	1034	QQSYSTPYT	1074
139103	RASQSISSSFLA	984	GASRRAT	1024	QQYHSSPSWT	1064
139105	RSSQSLLHSNGYNYLD	985	LGSNRAS	1025	MQALQTPYT	1065
139111	KSSQSLLRNDGKTPLY	986	EVSNRFS	1026	MQNIQFPS	1066
139100	RSSQSLLHSNGYNYLN	987	LGSKRAS	1027	MQALQTPYT	1067
139101	RASQSISSYLN	988	GASTLAS	1028	QQSYKRAS	1068
139102	RSSQSLLYSNGYNYVD	989	LGSNRAS	1029	MQGRQFPYS	1069
139104	RASQSVSSNLA	990	GASTRAS	1030	QQYGSSLT	1070
139106	RASQSVSSKLA	991	GASIRAT	1031	QQYGSSSWT	1071
139107	RASQSVGSTNLA	992	DASNRAT	1032	QQYGSSPPWT	1072
139108	RASQSISSYLN	993	AASSLQS	1033	QQSYTLA	1073
139110	KSSESLVHNSGKTYLN	995	EVSNRDS	1035	MQGTHWPGT	1075
139112	QASEDINKFLN	996	DASTLQT	1036	QQYESLPLT	1076
139113	RASQSVGSNLA	997	GASTRAT	1037	QQYNDWLPVT	1077
139114	RASQSIGSSSLA	998	GASSRAS	1038	QQYAGSPPFT	1078
149362	KASQDIDDAMN	999	SATSPVP	1039	LQHDNFPLT	1079
149363	RASQDIYNNLA	1000	AANKSQS	1040	QHYYRFPYS	1080
149364	RSSQSLLHSNGYNYLD	1001	LGSNRAS	1041	MQALQTPYT	1081
149365	GGNNIGTKSVH	1002	DDSVRPS	1042	QVWDSDSEHVV	1082
149366	SGDGLSKKYVS	1003	RDKERPS	1043	QAWDDTTVV	1083
149367	RASQGIRNWLA	1004	AASNLQS	1044	QKYNSAPFT	1084
149368	GGNNIGSKSVH	1005	GKNNRPS	1045	SSRDSSGDHLRV	1085
149369	QGDSLGNYYAT	1006	GTNNRPS	1046	NSRDSSGHHLL	1086
BCMA_EBB-C1978-A4	RASQSVSSAYLA	1007	GASTRAT	1047	QHYGSSFNGSSLFT	1087
BCMA_EBB-C1978-G1	RASQSVSNSLA	1008	DASSRAT	1048	QQFGTSSGLT	1088
BCMA_EBB-C1979-C1	RASQSVSSSFLA	1009	GASSRAT	1049	QQYHSSPSWT	1089
BCMA_EBB-C1978-C7	RASQSVSTTFLA	1010	GSSNRAT	1050	QQYHSSPSWT	1090
BCMA_EBB-C1978-D10	RASQSISSYLN	1011	AASSLQS	1051	QQSYSTPYS	1091
BCMA_EBB-C1979-C12	RATQSIGSSFLA	1012	GASQRAT	1052	QHYESSPSWT	1092
BCMA_EBB-C1980-G4	RASQSVSSSYLA	1013	GASSRAT	1053	QQYGSPPRFT	1093
BCMA_EBB-C1980-D2	RASQSVSSSYLA	1014	GASSRAT	1054	QHYGSSPSWT	1094

【表１２】

BCMA_EBB-C1978-A10	RASQRVASNYLA	1015	GASSRAT	1055	QHYDSSPSWT	1095
BCMA_EBB-C1978-D4	RASQSLSSNFLA	1016	GASNWAT	1056	QYYGTSPMYT	1096
BCMA_EBB-C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYLD	1017	LGSNRAS	1057	MQALQTPLT	1097
BCMA_EBB-C1981-C3	RASQSVSSSYLA	1018	GTSSRAT	1058	QHYGNSPPKFT	1098
BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	1019	GASGRAT	1059	QHYGGSPRLT	1099
A7D12.2	RASQDVNTAVS	1020	SASYRYT	1060	QQHYSTPWT	1100
C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	1021	LASNLET	1061	LQSRIFPRT	1101
C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	1022	LASNVQT	1062	LQSRTIPRT	1102
C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	1023	LASNVQT	1063	LQSRTIPRT	1103

【０２９２】
ある特定の態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子(例えば、ＣＡＲ核酸またはＣＡＲポリペプチド)またはＢＣＭＡ結合ドメインは、
(１)以下のうち１つから選択される１、２または３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号５０４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５４４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５８４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号５１４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号５１６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号５１８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号５９８のＬＣ　ＣＤＲ３、ならびに／または
(２)以下のうち１つからの１、２または３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号３８４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４２４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４６４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号３９４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号３９６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７６のＨＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５(１３９１１４)の、配列番号３９８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４３８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号４７８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。
【０２９３】
ある特定の態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子(例えば、ＣＡＲ核酸またはＣＡＲポリペプチド)は、
(１)以下のうち１つから選択される１、２または３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号７４４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７８４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８２４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号７５４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号７５６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号７５８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号７９８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号８３８のＬＣ　ＣＤＲ３；ならびに／または
(２)以下のうち１つから選択される１、２または３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：

(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号６２４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６６４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７０４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号６３４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号６３６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１６のＨＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号６３８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号６７８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号７１８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。

【０２９４】

ある特定の態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子(例えば、ＣＡＲ核酸またはＣＡＲポリペプチド)は、
(１)以下のうち１つから選択される１、２または３軽鎖(ＬＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号９８４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０２４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０６４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号９９４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３４のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７４のＬＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号９９６のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３６のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７６のＬＣ　ＣＤＲ３；もしくは
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号９９８のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０３８のＬＣ　ＣＤＲ２および配列番号１０７８のＬＣ　ＣＤＲ３；ならびに／または
(２)以下のうち１つから選択される１、２または３重鎖(ＨＣ)ＣＤＲ：
(ｉ)ＢＣＭＡ－４ＣＡＲ(１３９１０３)の、配列番号８６４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９０４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９４４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ii)ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲ(１３９１０９)の、配列番号８７４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１４のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５４のＨＣ　ＣＤＲ３；
(iii)ＢＣＭＡ－１３ＣＡＲ(１３９１１２)の、配列番号８７６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１６のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５６のＨＣ　ＣＤＲ３；
(ｉｖ)ＢＣＭＡ－１５ＣＡＲ(１３９１１４)の、配列番号８７８のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号９１８のＨＣ　ＣＤＲ２および配列番号９５８のＨＣ　ＣＤＲ３
を包含する。

【０２９５】

ある態様において、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物、例えば、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、本明細書で記載される方法、例えば実施例４で記載される方法を使用して生成される。例示的な抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖとしては、これらに限定されないが、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４およびＢＣＭＡ－１５が挙げられる。ヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖフラグメントの配列(配列番号３９～５２)は、表１に示される(名称の記号は、表２に示される)。

【０２９６】

ある態様において、全長ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物(例えば、配列番号９９～１１３)は、ｓｃＦｖフラグメント、例えばヒトｓｃＦｖフラグメント(例えば、配列番号３９～５２)を以下に示すものなどの追加の配列と組み合わせて使用して生成される。

【０２９７】

本明細書で記載されるｓｃＦｖフラグメント、例えば、リーダー配列を含まない(例えば、配列番号１のアミノ酸配列または配列番号１２のヌクレオチド配列を含まない)表１および１６または配列番号３９～５３、１２９～１４９、２６３～２６６、２７１もしくは２７３に記載のｓｃＦｖフラグメントは、本発明に包含されることに留意されたい。他の態様において、本明細書で記載されるｓｃＦｖフラグメント、例えば、リーダー配列を含む(例

えば、配列番号１のアミノ酸配列または配列番号１２のヌクレオチド配列を含まない)表１および１６または配列番号３９～５３、１２９～１４９、２６３～２６６、２７１または２７３に記載のｓｃＦｖフラグメントも、本発明に包含される。

【０２９８】

リーダー(アミノ酸配列)(配列番号１)

MALPVTALLLPLALLLHAARP

リーダー(核酸配列)(配列番号１２)

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAGACCC

【０２９９】

ＣＤ８ヒンジ(アミノ酸配列)(配列番号２)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

ＣＤ８ヒンジ(核酸配列)(配列番号１３)

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT

【０３００】

ＣＤ８膜貫通(アミノ酸配列)(配列番号６)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

ＣＤ８膜貫通(核酸配列)(配列番号１７)

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC

【０３０１】

４－１ＢＢ細胞内ドメイン(アミノ酸配列)(配列番号７)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

４－１ＢＢ細胞内ドメイン(核酸配列)(配列番号１８)

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG

【０３０２】

・ＣＤ２８細胞内ドメイン(アミノ酸配列)(配列番号１１０４)

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS(配列番号１１０４)

ＣＤ２８細胞内ドメイン(核酸配列)(配列番号１１０５)

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(配列番号１１０５)

【０３０３】

ＩＣＯＳ細胞内ドメイン(アミノ酸配列)(配列番号１１０６)

TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLTDVTL(配列番号１１０６)

ＩＣＯＳ細胞内ドメイン(核酸配列)(配列番号１１０７)

ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGTGAATACATGTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA(配列番号１１０７)

【０３０４】

・ＣＤ３ゼータドメイン(アミノ酸配列)(配列番号９)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

ＣＤ３ゼータ(核酸配列)(配列番号２０)

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTAC

AATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCG
AGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAG
GACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

【０３０５】

ＣＤ３ゼータドメイン(アミノ酸配列；ＮＣＢＩ参照配列ＮＭ＿０００７３４.３)(配列番号１０)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL
YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

ＣＤ３ゼータ(核酸配列；ＮＣＢＩ参照配列ＮＭ＿０００７３４.３)；(配列番号２１)

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAG
AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTT
TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGA
AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG
AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGC
ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGC
CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

【０３０６】

ＩｇＧ４ヒンジ(アミノ酸配列)(配列番号３６)

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM

ＩｇＧ４ヒンジ(ヌクレオチド配列)(配列番号３７)

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACC
CAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCG
AGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAA
TAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA
AGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATC
AGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGA
GGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCG
ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCC
CCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAG
CCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC
ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG

【０３０７】

ある態様において、ＣＡＲのｓｃＦｖフラグメントを、レンチウイルスベクターにクローニングして、単一のコーディングフレーム中に、プロモーター、例えば発現のためのＥＦ１アルファプロモーター(配列番号１１)を使用して、全長ＣＡＲ構築物を作り出す。

【０３０８】

ＥＦ１アルファプロモーター

CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAG
TTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTG
GGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATA
TAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAG
GTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGT
GCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTG
GAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGA
GTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGC
CTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGAC

GCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTT
CGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCG
AGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCG
GCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGC
TGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCA
GGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACA
AAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGG
CGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGG
GGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAG
GCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTG
GTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTG
A(配列番号１１)。

【０３０９】

Ｇｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号２５)

GGGGS

【０３１０】

Ｇｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号２６)：この配列は、１～６個の「Gly Gly Gly Gly Ser」反復単位を包含していてもよい。

GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

【０３１１】

Ｇｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号２７)

GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS

【０３１２】

Ｇｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号２８)

GGGGSGGGGS GGGGS

【０３１３】

Ｇｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号２９)

GGGS

【０３１４】

ＰｏｌｙＡ：(Ａ)５０００(配列番号３０)
ＰｏｌｙＡ：(Ｔ)１００(配列番号３１)
ＰｏｌｙＡ：(Ｔ)５０００(配列番号３２)
ＰｏｌｙＡ：(Ａ)５０００(配列番号３３)
ＰｏｌｙＡ：(Ａ)４００(配列番号３４)
ＰｏｌｙＡ：(Ａ)２０００(配列番号３５)
Ｇ

【０３１５】

ｌｙ／Ｓｅｒ(配列番号３８):この配列は、１～１０個の「Ｇｌｙ　Ｇｌｙ　Ｇｌｙ　Ｓｅｒ」反復単位を包含していてもよい。

GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS

【０３１６】

例示的なＢＣＭＡ　ｓｃＦｖドメインおよび例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子のアミノ酸および核酸配列は、表１に示される。

【０３１７】

以下の表２は、表１にも列挙されたＤＮＡのＩＤ番号に対するＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物のニックネームを示す。

【０３１８】

【表１３】

表２：ＣＡＲ構築物のＩＤ

ニックネーム	Novartis ID	DNA2.0 ID
BCMA-1	ER95-03VA	139100
BCMA-2	UR96-08PA	139101
BCMA-3	KR98-03KA	139102
BCMA-4	JF32-78IB	139103
BCMA-5	AR99-08FA	139104
BCMA-6	ZF34-73CB	139105
BCMA-7	QR91-12ZA	139106
BCMA-8	GR92-17UA	139107
BCMA-9	OG62-93QB	139108
BCMA-10	EG63-98LB	139109
BCMA-11	UG65-93FB	139110
BCMA-12	HU13-58ZB	139111
BCMA-13	KG66-98AB	139112
BCMA-14	HJ64-62PB	139113
BCMA-15	PY43-48LB	139114

【０３１９】

【表１４】

表１．例示的な抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖドメインおよびＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子のアミノ酸および核酸配列

各ｓｃＦｖの可変重鎖および可変軽鎖配列のアミノ酸配列も示される。表２は、数種のＢＣＭＡ　ＣＡＲの名称およびＣＡＲ構築物のＩＤを列挙する。

名称/説明	配列番号	配列
139109		
139109- aa ScFvドメイン	49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- nt ScFvドメイン	64	GAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCGCTGAGACTG TCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGCGCG CCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCGGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTATGCC GCATCCGTGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAGGAACACTCTGTACCTC CAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCGCATGGCGGA GAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTAGCGCGTCCGGCGGAGGC GGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACATCCAGCTCACCCAGTCCCCG AGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCATCACGTGCCGCGCCAGCCAGTCG ATTTCCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTCATC TACGCCGCCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGT ACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCTACTTACTACTGC CAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACTTTCGGACAAGGCACCAAGGTCGAAATCAAG
139109- aa VH	79	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139109- aa VL	94	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- aa 全長CAR	109	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYSTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139109- nt 全長CAR	124	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCGCTGAGA CTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGC GCGCCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCGGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTAT GCCGCATCCGTGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAGGAACACTCTGTAC CTCCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCGCATGGC GGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTAGCGCGTCCGGCGGA GGCGGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACATCCAGCTCACCCAGTCC CCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCATCACGTGCCGCGCCAGCCAG TCGATTTCCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTC ATCTACGCCGCCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCC GGTACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCTACTTACTAC TGCCAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACTTTCGGACAAGGCACCAAGGTCGAAATCAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTG

【表１５】

		CTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGG TTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCG CGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
139103		
139103- aa ScFvドメイン	39	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTTVTVSS ASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQ APRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQG TKLEIK
139103- nt ScFvドメイン	54	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAAGATCGCTTAGACTG TCGTGTGCCGCCAGCGGGTTCACTTTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCA CCCGGAAAGGGACTCGGTTGGGTGTCCGGCATTTCCCGGTCCGGCGAAAATACCTACTAC GCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAACACCCTGTAC TTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGTCGCCT GCCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCACTGTGACTGTCAGCAGC GCGTCGGGTGGCGGCGGCTCAGGGGGTCGGGCCTCCGGGGGGGGAGGGTCCGACATCGTG CTGACCCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGCGCGCGACCCTGTCATGC CGGGCATCCCAGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGACAG GCCCCGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTACCGGAATCCCAGACCGGTTC TCCGGCTCCGGTTCCGGGACCGATTTCACCCTTACTATCTCGCGCCTGGAACCTGAGGAC TCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACTCATCCCCGTCGTGGACGTTCGGACAGGGC ACCAAGCTGGAGATTAAG
139103- aa VH	69	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTTVTVSS
139103- aa VL	84	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIK
139103- aa 全長CAR	99	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQ APGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARS PAHYYGGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
139103- nt 全長CAR	114	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAAGATCGCTTAGA CTGTCGTGTGCCGCCAGCGGGTTCACTTTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTCCGCCAG GCACCCGGAAAGGGACTCGGTTGGGTGTCCGGCATTTCCCGGTCCGGCGAAAATACCTAC TACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAACACCCTG TACTTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGGTCG CCTGCCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCACTGTGACTGTCAGC AGCGCGTCGGGTGGCGGCGGCTCAGGGGGTCGGGCCTCCGGGGGGGGAGGGTCCGACATC GTGCTGACCCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGCGCGCGACCCTGTCA TGCCGGGCATCCCAGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGA CAGGCCCCGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTACCGGAATCCCAGACCGG

【０３２０】

【表１６】

		TTCTCCGGCTCCGGTTCCGGGACCGATTTCACCCTTACTATCTCGCGCCTGGAACCTGAG GACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACTCATCCCCGTCGTGGACGTTCGGACAG GGCACCAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139105		
139105- aa ScFvドメイン	40	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGTLVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTK VEIK
139105- nt ScFvドメイン	55	CAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAGAAGCCTGAGACTG TCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTGCGGCAGGCC CCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGAACTCCGGGTCCATTGGCTAC GCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCCCTGTAC TTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGTACTACTGCTCCGTGCATTCC TTCCTGGCCTACTGGGGACAGGGAACTCTGGTCACCGTGTCGAGCGCCTCCGGCGGCGGG GGCTCGGGTGGACGGGCCTCGGGCGGAGGGGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGACCCCG CTGAGCTTGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATCTCCTGCCGGTCATCCCAGTCC CTTCTCCACTCCAACGGATACAACTACCTCGACTGGTACCTCCAGAAGCCGGGACAGAGC CCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAGGAGTGCCGGATCGGTTCAGC GGATCTGGTTCGGGAACTGATTTCACTCTGAAGATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTG GGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACCCCCTATACCTTCGGCCAAGGGACGAAA GTGGAGATCAAG
139105- aa VH	70	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGTLVTVSS
139105- aa VL	85	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIK
139105- aa 全長CAR	100	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVH SFLAYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQ SLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
139105- nt 全長CAR	115	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAGAAGCCTGAGA CTGTCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTGCGGCAG GCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGAACTCCGGGTCCATTGGC TACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCCCTG TACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGTACTACTGCTCCGTGCAT

【表１７】

		TCCTTCCTGGCCTACTGGGGACAGGGAACTCTGGTCACCGTGTCGAGCGCCTCCGGCGGC GGGGGCTCGGGTGGACGGGCCTCGGGCGGAGGGGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGACC CCGCTGAGCTTGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATCTCCTGCCGGTCATCCCAG TCCCTTCTCCACTCCAACGGATACAACTACCTCGACTGGTACCTCCAGAAGCCGGGACAG AGCCCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAGGAGTGCCGGATCGGTTC AGCGGATCTGGTTCGGGAACTGATTTCACTCTGAAGATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGAC GTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACCCCCTATACCTTCGGCCAAGGGACG AAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTG CATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACT TGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAG CTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGAC GGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTC AATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAA ATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTT CACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139111		
139111- aa ScFvドメイン	41	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQP PQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKL EIK
139111- nt ScFvドメイン	56	GAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCACTGAGACTT TCGTGTGCGGTGTCAGGCTTCGCCCTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTGCGGAGAGCC CCGGGGAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTTACTACGCC GCAAGCGTGAAGGGTCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAACACCCTGTACCTC CAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGTTCCGCGCATGGAGGA GAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCGAGCGCCTCGGGGGGAGGA GGCTCCGGCGGTCGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGATGACGCAGACTCCA CTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATCTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGC CTGCTGAGGAACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGTACCTCCAGAAGGCTGGACAGCCC CCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCTTCTCCGGGGTGCCGGATCGGTTTTCC GGCTCGGGATCGGGCACCGACTTCACCCTGAAAATCTCCAGGGTCGAGGCCGAGGACGTG GGAGCCTACTACTGCATGCAAAACATCCAGTTCCCTTCCTTCGGCGGCGGCACAAAGCTG GAGATTAAG
139111- aa VH	71	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139111- aa VL	86	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEIK
139111- aa 全長CAR	101	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQ SLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
139111- nt	116	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG

【０３２１】

【表１８】

全長CAR		CCCGAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCACTGAGA CTTTCGTGTGCGGTGTCAGGCTTCGCCCTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTGCGGAGA GCCCCGGGGAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTTACTAC GCCGCAAGCGTGAAGGGTCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAACACCCTGTAC CTCCAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGTTCCGCGCATGGA GGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCGAGCGCCTCGGGGGGA GGAGGCTCCGGCGGTCGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGATGACGCAGACT CCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATCTCGTGCAAGAGCTCCCAG AGCCTGCTGAGGAACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGTACCTCCAGAAGGCTGGACAG CCCCCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCTTCTCCGGGGTGCCGGATCGGTTT TCCGGCTCGGGATCGGGCACCGACTTCACCCTGAAAATCTCCAGGGTCGAGGCCGAGGAC GTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAAACATCCAGTTCCCTTCCTTCGGCGGCGGCACAAAG CTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCC TCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCAT ACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGC GGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGC TGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGC CGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAAT CTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGC CACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCAC ATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139100		
139100- aa ScFvドメイン	42	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNTNY AQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMVTVSS ASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQ KPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTF GQGTKLEIK
139100- nt ScFvドメイン	57	CAAGTCCAACTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTGCTAGCGTGAAAGTG TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTCAGACAGGCC CCGGGCCAGGGGCTGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACAACACCAACTAC GCACAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGACTATCACCGCCGATGAATCGACCAATACCGCCTAC ATGGAGGTGTCCTCCCTGCGGTCGGAGGACACTGCCGTGTATTACTGCGCGAGGGGCCCA TACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCATGGTGACCGTGTCATCC GCCTCCGGTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGGCGGAGGAAGCGATATTGTG ATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTGACTCCTGGAGAACCGGCCTCCATTTCCTGC CGGTCCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACAACTACCTGAATTGGTACCTCCAG AAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATCTGGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGGGTG CCTGACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACTTCACTCTCCACATCACCCGCGTG GGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTC GGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
139100- aa VH	72	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNTNY AQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMVTVSS
139100- aa VL	87	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLGSKRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK
139100- aa 全長CAR	102	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQ APGQGLEWMGWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARG PYYYQSYMDVWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASIS CRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITR VGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA

【表１９】

		AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
139100- nt 全長CAR	117	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTCCAACTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTGCTAGCGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTCAGACAG GCCCCGGGCCAGGGGCTGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACAACACCAAC TACGCACAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGACTATCACCGCCGATGAATCGACCAATACCGCC TACATGGAGGTGTCCTCCCTGCGGTCGGAGGACACTGCCGTGTATTACTGCGCGAGGGGC CCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCATGGTGACCGTGTCA TCCGCCTCCGGTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGGCGGAGGAAGCGATATT GTGATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTGACTCCTGGAGAACCGGCCTCCATTTCC TGCCGGTCCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACAACTACCTGAATTGGTACCTC CAGAAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATCTGGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGG GTGCCTGACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACTTCACTCTCCACATCACCCGC GTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACA TTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCC CCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAG CGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACT ACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAA CTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGA GGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTAC AACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAA CGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGAC ACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139101		
139101- aa ScFvドメイン	43	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWGQGTLVT VSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQG TKVEIK
139101- nt ScFvドメイン	58	CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAGGATCATTGCGGCTC TCGTGCGCCGCCTCGGGCTTCACCTTCTCGAGCGACGCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCC CCGGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACTACGTACTAC GCCGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTTTAT CTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGCTGGAC TCCTCGGGCTACTACTATGCCCGGGGTCCGAGATACTGGGGACAGGGAACCCTCGTGACC GTGTCCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTCGGGAGGGCGGGCCTCCGGCGGCGGCGGTTCG GACATCCAGCTGACCCAGTCCCCATCCTCACTGAGCGCAAGCGTGGGCGACAGAGTCACC ATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCT GGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTTCGACCCTGGCATCCGGGGTGCCCGCG AGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTCTGACCATTAACAGCCTCCAGTCC GAGGATTCAGCCACTTACTACTGTCAGCAGTCCTACAAGCGGGCCAGCTTCGGACAGGGC ACTAAGGTCGAGATCAAG
139101- aa VH	73	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWGQGTLVT VSS
139101- aa	88	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLASGVPA

【０３２２】

【表２０】

VL		RFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVEIK
139101- aa 全長CAR	103	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQ APGKGLEWVSVISGSGGTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKL DSSGYYYARGPRYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQ SEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
139101- nt 全長CAR	118	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAGGATCATTGCGG CTCTCGTGCCGCCGCCTCGGGCTTCACCTTCTCGAGCGACGCCATGACCTGGGTCCGCCAG GCCCCGGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACTACGTAC TACGCCGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTT TATCTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGCTG GACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCGGGGTCCGAGATACTGGGGACAGGGAACCCTCGTG ACCGTGTCCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTCGGGAGGGCGGGCCTCCGGCGGCGGCGGT TCGGACATCCAGCTGACCCAGTCCCCATCCTCACTGAGCGCAAGCGTGGGCGACAGAGTC ACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAG CCTGGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTTCGACCCTGGCATCCGGGGTGCCC GCGAGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTCTGACCATTAACAGCCTCCAG TCCGAGGATTCAGCCACTTACTACTGTCAGCAGTCCTACAAGCGGGCCAGCTTCGGACAG GGCACTAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139102		
139102- aa ScFvドメイン	44	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNY AQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMVTVSSAS GGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKP GQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQ GTKVEIK
139102- nt ScFvドメイン	59	CAAGTCCAACTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCGAGCGTGAAAGTG TCCTGCAAGGCTTCCGGGTACACCTTCTCCAACTACGGCATCACTTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACGAACTAC GCTCAGAAGTTCCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCCACCGCCTAC ATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGGACCA TACTACTACTACATGGATGTCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCACCGTGTCATCCGCCTCG GGAGGCGGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGGAGATCGTGATGACC CAGAGCCCTCTCTCCTTGCCCGTGACTCCTGGGGAGCCCGCATCCATTTCATGCCGGAGC TCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACGTGGATTGGTACCTCCAAAAGCCG GGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCGAACAGGGCCAGCGGAGTGCCTGAC CGGTTCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGCTGCAAATCTCGAGAGTGGAGGCC

【表２１】

		GAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGGGCCGCCAGTTTCCGTACTCGTTCGGACAG GGCACCAAAGTGGAAATCAAG
139102- aa VH	74	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNY AQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMVTVSS
139102- aa VL	89	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIK
139102- aa 全長CAR	104	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQ APGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG PYYYYMDVWGKGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVE AEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
139102- nt 全長CAR	119	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTCCAACTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCGAGCGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCTTCCGGGTACACCTTCTCCAACTACGGCATCACTTGGGTGCGCCAG GCCCCGGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACGAAC TACGCTCAGAAGTTCCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCCACCGCC TACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCCGGGGA CCATACTACTACTACATGGATGTCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCACCGTGTCATCCGCC TCGGGAGGCGGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGGAGATCGTGATG ACCCAGAGCCCTCTCTCCTTGCCCGTGACTCCTGGGGAGCCCGCATCCATTTCATGCCGG AGCTCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACGTGGATTGGTACCTCCAAAAG CCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCGAACAGGGCCAGCGGAGTGCCT GACCGGTTCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGCTGCAAATCTCGAGAGTGGAG GCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGGGCCGCCAGTTTCCGTACTCGTTCGGA CAGGGCACCAAAGTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCT CCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTG GCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGT CGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAA GAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGC GTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGG GACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGA AGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTAT GACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139104		
139104- aa ScFvドメイン	45	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSLTFGGGTKVEIK
139104- nt ScFvドメイン	60	GAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGATCACTTCGCCTG TCCTGCGCCGTGTCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCGCGCG CCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACTACGCC GCGTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTCACGGGACAACTCGCGGAACACCCTGTACCTC CAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTACTGCTCCGCCCACGGTGGC GAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCAGCGCGTCCGGGGGAGGA GGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCC

【０３２３】

【表２２】

		GCCACCTTGAGCGTGTCACCAGGAGAGTCCGCCACCCTGTCATGCCGCGCCAGCCAGTCC GTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCCCCTAGACTCCTGATC TATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATTCCCGATAGGTTCAGCGGATCGGGCTCGGGC ACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCGAGGACGTGGCTGTGTACTACTGT CAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTGGCGGGACCAAAGTCGAGATTAAG
139104- aa VH	75	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139104- aa VL	90	EIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGIPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSLTFGGGTKVEIK
139104- aa 全長CAR	105	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQ SVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQYGSSLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR
139104- nt 全長CAR	120	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGATCACTTCGC CTGTCCTGCGCCGTGTCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCGC GCGCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACTAC GCCGCGTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTCACGGGACAACTCGCGGAACACCCTGTAC CTCCAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTACTGCTCCGCCCACGGT GGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCAGCGCGTCCGGGGGA GGAGGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGCTGACCCAGTCC CCCGCCACCTTGAGCGTGTCACCAGGAGAGTCCGCCACCCTGTCATGCCGCGCCAGCCAG TCCGTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCCCCTAGACTCCTG ATCTATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATTCCCGATAGGTTCAGCGGATCGGGCTCG GGCACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCGAGGACGTGGCTGTGTACTAC TGTCAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTGGCGGGACCAAAGTCGAGATTAAGACC ACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGAC TTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTT TCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTC CCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCT CCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAG GAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGC AGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTAC CAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCG CCTCGG
139106		
139106- aa ScFvドメイン	46	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLM YGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIK
139106- nt ScFvドメイン	61	GAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGAGACTG AGCTGCGCAGTGTCGGGATTCGCCCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCAGAAGGGCC CCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGGTTCCACTTACTACGCC GCCTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACCCTGTACCTC

【表２３】

		CAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGTTCCGCCCACGGTGGA GAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTGTCCTCCGCGTCCGGCGGTGGA GGGAGCGGCGGCCGCGCCAGCGGCGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCC GCTACTCTGTCGGTGTCGCCCGGAGAAAGGGCGACCCTGTCCTGCCGGGCGTCGCAGTCC GTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAGGCACCACGCCTGCTTATG TACGGTGCCTCCATTCGGGCCACCGGAATCCCGGACCGGTTCTCGGGGTCGGGGTCCGGT ACCGAGTTCACACTGACCATTTCCTCGCTCGAGCCCGAGGACTTTGCCGTCTATTACTGC CAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCGGCCAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAG
139106- aa VH	76	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139106- aa VL	91	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGIPD RFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIK
139106- aa 全長CAR	106	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYY CQQYGSSSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139106- nt 全長CAR	121	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGAGA CTGAGCTGCGCAGTGTCGGGATTCGCCCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCAGAAGG GCCCCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGGTTCCACTTACTAC GCCGCCTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACCCTGTAC CTCCAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGTTCCGCCCACGGT GGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTGTCCTCCGCGTCCGGCGGT GGAGGGAGCGGCGGCCGCGCCAGCGGCGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGATGACCCAGAGC CCCGCTACTCTGTCGGTGTCGCCCGGAGAAAGGGCGACCCTGTCCTGCCGGGCGTCGCAG TCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAGGCACCACGCCTGCTT ATGTACGGTGCCTCCATTCGGGCCACCGGAATCCCGGACCGGTTCTCGGGGTCGGGGTCC GGTACCGAGTTCACACTGACCATTTCCTCGCTCGAGCCCGAGGACTTTGCCGTCTATTAC TGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCGGCCAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTG CTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGG TTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCG CGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
139107		
139107- aa ScFvドメイン	47	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLL IYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQGTKVEI K

【０３２４】

【表２４】

139107- nt ScFvドメイン	62	GAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAAGCCTGAGACTG TCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCCCTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCC CCTGGGAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCCACCTACTACGCG GCCTCAGTGAAGGGCCGGTTTACTATTAGCCGCGACAACTCCAGAAACACACTGTACCTC CAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACCGCTATCTACTACTGCTCCGCCCATGGGGGA GAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCACTGTCACTGTGTCCAGCGCTTCCGGCGGTGGT GGAAGCGGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGCTGACCCAGTCCCCC GGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTCTCCTGTCGGGCATCCCAGTCC GTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGCCTGCTG ATCTACGACGCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCGGATCGCTTCAGCGGAGGCGGATCG GGCACCGACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTAC TGCCAGCAGTATGGTTCGTCCCCACCCTGGACGTTCGGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATC AAG
139107- aa VH	77	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139107- aa VL	92	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP DRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQGTKVEIK
139107- aa 全長CAR	107	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYGSSPPWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
139107- nt 全長CAR	122	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAAGCCTGAGA CTGTCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCCCTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCGG GCCCCTGGGAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCCACCTACTAC GCGGCCTCAGTGAAGGGCCGGTTTACTATTAGCCGCGACAACTCCAGAAACACACTGTAC CTCCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACCGCTATCTACTACTGCTCCGCCCATGGG GGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCACTGTCACTGTGTCCAGCGCTTCCGGCGGT GGTGGAAGCGGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGCTGACCCAGTCC CCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTCTCCTGTCGGGCATCCCAG TCCGTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCTCGCCTG CTGATCTACGACGCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCGGATCGCTTCAGCGGAGGCGGA TCGGGCACCGACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTAC TACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCCCCACCCTGGACGTTCGGCCAGGGGACTAAGGTCGAG ATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTC CTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG
139108		

【表２５】

139108- aa ScFvドメイン	48	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTTVTVSSASG GGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIK
139108- nt ScFvドメイン	63	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAAACCTGGAGGATCATTGAGACTG TCATGCGCGGCCTCGGGATTCACGTTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATTCGCCAGGCT CCGGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACATTTCCTCATCCGGCTCCACCATCTACTAC GCGGACTCCGTGAAGGGGAGATTCACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAACAGCCTGTAC CTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCTACTACTGCGCAAGGGAGAGC GGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGGTACCACTGTGACCGTGTCGTCGGCCTCCGGC GGAGGGGGTTCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGACCCAG TCCCCCTCATCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCACCATCACATGCCGGGCCTCA CAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCTAAGCTT CTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCATCTCGGTTCTCCGGCTCGGGC AGCGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCCACTTAC TACTGTCAGCAAAGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGACATCAAG
139108- aa VH	78	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTTVTVSS
139108- aa VL	93	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIK
139108- aa 全長CAR	108	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE SGDGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYTLAFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139108- nt 全長CAR	123	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAAACCTGGAGGATCATTGAGA CTGTCATGCGCGGCCTCGGGATTCACGTTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATTCGCCAG GCTCCGGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACATTTCCTCATCCGGCTCCACCATCTAC TACGCGGACTCCGTGAAGGGGAGATTCACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAACAGCCTG TACCTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCTACTACTGCGCAAGGGAG AGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGGTACCACTGTGACCGTGTCGTCGGCCTCC GGCGGAGGGGGTTCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGACC CAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCACCATCACATGCCGGGCC TCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCTAAG CTTCTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCATCTCGGTTCTCCGGCTCG GGCAGCGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCCACT TACTACTGTCAGCAAAGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGACATCAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTG CTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGG TTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCG CGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG

【０３２５】

【表２６】

		TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
139110		
139110- aa ScFvドメイン	50	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGTLVTVSSASG GGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPG QSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPGTFGQG TKLEIK
139110- nt ScFvドメイン	65	CAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAGGAAGCCTGAGACTG TCATGCGCGGCCTCTGGATTCACCTTCTCCGATTACTACATGTCATGGATCAGACAGGCC CCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCCTCCGGGAACACCATCTACTAC GCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCGCTGTAC CTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGCCCGGTCCACT ATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCAGCGCGAGCGGG GGTGGAGGCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGCGGTTCAGACATCGTGCTGACTCAG TCGCCCCTGTCGCTGCCGGTCACCCTGGGCCAACCGGCCTCAATTAGCTGCAAGTCCTCG GAGAGCCTGGTGCACAACTCAGGAAAGACTTACCTGAACTGGTTCCATCAGCGGCCTGGA CAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCAACAGGGATTCGGGGGTGCCCGACCGC TTCACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTCACCTTGAAAATCTCCAGAGTGGAAGCCGAG GACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTACCCACTGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGA ACTAAGCTCGAGATTAAG
139110- aa VH	80	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGTLVTVSS
139110- aa VL	95	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPGQSPRRLIYEVSNRD SGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPGTFGQGTKLEIK
139110- aa 全長CAR	110	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARS TMVREDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKS SESLVHNSGKTYLNWFHQRPGQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQGTHWPGTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
139110- nt 全長CAR	125	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAGGAAGCCTGAGA CTGTCATGCGCGGCCTCTGGATTCACCTTCTCCGATTACTACATGTCATGGATCAGACAG GCCCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCCTCCGGGAACACCATCTAC TACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCGCTG TACCTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGCCCGGTCC ACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCAGCGCGAGC GGGGGTGGAGGCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGCGGTTCAGACATCGTGCTGACT CAGTCGCCCCTGTCGCTGCCGGTCACCCTGGGCCAACCGGCCTCAATTAGCTGCAAGTCC TCGGAGAGCCTGGTGCACAACTCAGGAAAGACTTACCTGAACTGGTTCCATCAGCGGCCT GGACAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCAACAGGGATTCGGGGGTGCCCGAC CGCTTCACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTCACCTTGAAAATCTCCAGAGTGGAAGCC GAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTACCCACTGGCCTGGAACCTTTGGACAA GGAACTAAGCTCGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG

【表２７】

		GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139112		
139112- aa ScFvドメイン	51	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPKLLI YDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK
139112- nt ScFvドメイン	66	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGGAAGCCTTAGGCTG TCGTGCGCCGTCAGCGGGTTTGCTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCA CCGGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTATTACGCC GCGTCCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACCCTGTACTTG CAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCTCCGCCCACGGAGGA GAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCATCAGGAGGGGGT GGTTCGGGCGGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACATTCGGCTGACCCAGTCCCCG TCCCCACTGTCGGCCTCCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACTTGTCAGGCGTCCGAGGAC ATTAACAAGTTCCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATC TACGATGCCTCGACCCTTCAAACTGGAGTGCCTAGCCGGTTCTCCGGGTCCGGCTCCGGC ACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGGAAGATATCGGGACCTACTATTGC CAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCGGCGGGGGAACCAAGGTCGAGATTAAG
139112- aa VH	81	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139112- aa VL	96	DIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDASTLQTGVPS RFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK
139112- aa 全長CAR	111	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASE DINKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYY CQQYESLPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139112- nt 全長CAR	126	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGGAAGCCTTAGG CTGTCGTGCGCCGTCAGCGGGTTTGCTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCCGCCGG GCACCGGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTATTAC GCCGCGTCCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACCCTGTAC TTGCAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCTCCGCCCACGGA GGAGAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCATCAGGAGGG GGTGGTTCGGGCGGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACATTCGGCTGACCCAGTCC CCGTCCCCACTGTCGGCCTCCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACTTGTCAGGCGTCCGAG GACATTAACAAGTTCCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTG ATCTACGATGCCTCGACCCTTCAAACTGGAGTGCCTAGCCGGTTCTCCGGGTCCGGCTCC GGCACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGGAAGATATCGGGACCTACTAT TGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCGGCGGGGGAACCAAGGTCGAGATTAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT

【０３２６】

【表２８】

		GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTG CTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGG TTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCG CGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
139113		
139113- aa ScFvドメイン	52	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK
139113- nt ScFvドメイン	67	GAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGCGGCTC TCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAATCACGGGATGTCGTGGGTCAGACGGGCC CCGGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACTACGCC GCTTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTCACGGGACAACAGCCGCAACACCCTCTATCTG CAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGCTCCGCACACGGCGGC GAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCACTGTCACCGTGTCGTCCGCATCCGGTGGCGGA GGATCGGGTGGCCGGGCCTCCGGGGGCGGCGGCAGCGAGACTACCCTGACCCAGTCCCCT GCCACTCTGTCCGTGAGCCCGGGAGAGAGAGCCACCCTTAGCTGCCGGGCCAGCCAGAGC GTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGGTCCCAGGCTGCTGATC TACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCGCGAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCCGGG ACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGGAGGACTTCGCGGTGTACTACTGT CAGCAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACATTTGGACAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAA
139113- aa VH	82	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139113- aa VL	97	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK
139113- aa 全長CAR	112	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYY CQQYNDWLPVTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
139113- nt 全長CAR	127	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGCGG CTCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAATCACGGGATGTCGTGGGTCAGACGG GCCCCGGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACTAC GCCGCTTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTCACGGGACAACAGCCGCAACACCCTCTAT CTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGCTCCGCACACGGC GGCGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCACTGTCACCGTGTCGTCCGCATCCGGTGGC GGAGGATCGGGTGGCCGGGCCTCCGGGGGCGGCGGCAGCGAGACTACCCTGACCCAGTCC CCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCGGGAGAGAGAGCCACCCTTAGCTGCCGGGCCAGCCAG AGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGGTCCCAGGCTGCTG ATCTACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCGCGAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCC GGGACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGGAGGACTTCGCGGTGTACTAC

【表２９】

		TGTCAGCAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACATTTGGACAGGGGACGAAGGTGGAAATC AAAACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCT CTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGT CTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTG CTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGC CGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCA GATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAG CCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGA CTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCC CTGCCGCCTCGG
139114		
139114- aa ScFvドメイン	53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGG GSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLL MYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGTKVEI K
139114- nt ScFvドメイン	68	GAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCACTGAGACTG TCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTCCGGCGCGCC CCCGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTACGCC GCGAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGCAACACCCTGTACTTG CAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCACACGGAGGA GAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTCAGCAGCGCCTCCGGCGGCGGG GGCTCAGGCGGACGGGCTAGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGATCGTGCTGACCCAGTCGCCT GGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGGAAAGGGCAACCCTGTCCTGTCGGGCCAGCCAGTCC ATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGACAGGCTCCGCGGCTGCTT ATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACCGGTTCTCCGGGTCCGGTTCC GGCACCGATTTCACCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACTAC TGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCCGTTCACGTTCGGACAGGGAACCAAGGTCGAGATC AAG
139114- aa VH	83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139114- aa VL	98	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGTKVEIK
139114- aa 全長CAR	113	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQ SIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYAGSPPFTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
139114- nt 全長CAR	128	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCACTGAGA CTGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTCCGGCGC GCCCCCGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTAC GCCGCGAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGCAACACCCTGTAC TTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCACACGGA GGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTCAGCAGCGCCTCCGGCGGC

【０３２７】

【表３０】

		GGGGGCTCAGGCGGACGGGCTAGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGATCGTGCTGACCCAGTCG CCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGGAAAGGGCAACCCTGTCCTGTCGGGCCAGCCAG TCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGACAGGCTCCGCGGCTG CTTATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACCGGTTCTCCGGGTCCGGT TCCGGCACCGATTTCACCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTAC TACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCCGTTCACGTTCGGACAGGGAACCAAGGTCGAG ATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTC CTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG
149362		
149362-aa ScFvドメイン	129	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSAY YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDAFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWYQQKPGEAP LFIIQSATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKL EIK
149362-nt ScFvドメイン	150	CAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGTCAAGCCATCCGAAACTCTCTCCCTG ACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCCATCTCATCGTCGTACTACTACTGGGGCTGGATTAGG CAGCCGCCCGGAAAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGCATCTACTATTCCGGCTCGGCGTAC TACAACCCTAGCCTCAAGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTCCAAGAACCAGTTT TCCCTGCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGTGCTCGGCAT TGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACATTTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTCA TCCGGGGGTGGAGGCAGCGGGGGAGGAGGGTCCGGGGGGGGAGGTTCAGAGACAACCTTG ACCCAGTCACCCGCATTCATGTCCGCCACTCCGGGAGACAAGGTCATCATCTCGTGCAAA GCGTCCCAGGATATCGACGATGCCATGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCGAAGCGCCG CTGTTCATTATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGCCTGGAATCCCACCGCGGTTCAGCGGC AGCGGTTTCGGAACCGACTTTTCCCTGACCATTAACAACATTGAGTCCGAGGACGCCGCC TACTACTTCTGCCTGCAACACGACAACTTCCCTCTCACGTTCGGCCAGGGAACCAAGCTG GAAATCAAG
149362-aa VH	171	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSAY YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDAFDIWGQGTMVTVS S
149362-aa VL	192	ETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWYQQKPGEAPLFIIQSATSPVPGIPP RFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIK
149362-aa 全長CAR	213	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGSAYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCAR HWQEWPDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPAFMSATPGDKVIISC KASQDIDDAMNWYQQKPGEAPLFIIQSATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDA AYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
149362-nt	234	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG

【表３１】

全長CAR		CCCCAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGTCAAGCCATCCGAAACTCTCTCC CTGACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCCATCTCATCGTCGTACTACTACTGGGGCTGGATT AGGCAGCCGCCCGGAAAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGCATCTACTATTCCGGCTCGGCG TACTACAACCCTAGCCTCAAGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTCCAAGAACCAG TTTTCCCTGCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGTGCTCGG CATTGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACATTTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTG TCATCCGGGGGTGGAGGCAGCGGGGGAGGAGGGTCCGGGGGGGGAGGTTCAGAGACAACC TTGACCCAGTCACCCGCATTCATGTCCGCCACTCCGGGAGACAAGGTCATCATCTCGTGC AAAGCGTCCCAGGATATCGACGATGCCATGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCGAAGCG CCGCTGTTCATTATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGCCTGGAATCCCACCGCGGTTCAGC GGCAGCGGTTTCGGAACCGACTTTTCCCTGACCATTAACAACATTGAGTCCGAGGACGCC GCCTACTACTTCTGCCTGCAACACGACAACTTCCCTCTCACGTTCGGCCAGGGAACCAAG CTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCC TCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCAT ACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGC GGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGC TGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGC CGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAAT CTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGC CACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCAC ATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149363		
149363-aa ScFvドメイン	130	VNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWIRQPPGKALEWLARIDWDEDKFY STSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWGPGTMVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSA PRSLMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTK LEIK
149363-nt ScFvドメイン	151	CAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCCTTGGTCAAGCCTACCCAGACCCTCACTCTG ACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCCCTGCGGACTTCCGGGATGTGCGTGTCCTGGATCAGA CAGCCTCCGGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTCGCTCGCATTGACTGGGATGAGGACAAGTTC TACTCCACCTCACTCAAGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACCTCTGACAACCAAGTG GTGCTCCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCACTTACTACTGCGCGAGGAGC GGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTTCGATATTTGGGGCCCGGGTACCATGGTCACC GTGTCAAGCGGAGGAGGGGGGTCCGGGGGCGGCGGTTCCGGGGGAGGCGGATCGGACATT CAGATGACTCAGTCACCATCGTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACT TGCCGGGCATCCCAGGACATCTATAACAACCTTGCGTGGTTCCAGCTGAAGCCTGGTTCC GCACCGCGGTCACTTATGTACGCCGCCAACAAGAGCCAGTCGGGAGTGCCGTCCCGGTTT TCCGGTTCGGCCTCGGGAACTGACTTCACCCTGACGATCTCCAGCCTGCAACCCGAGGAT TTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTACTACCGCTTTCCCTACTCGTTCGGACAGGGAACC AAGCTGGAAATCAAG
149363-aa VH	172	QVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWIRQPPGKALEWLARIDWDEDKF YSTSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWGPGTMVT VSS
149363-aa VL	193	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMYAANKSQSGVPS RFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIK
149363-aa 全長CAR	214	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWI RQPPGKALEWLARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCAR SGAGGTSATAFDIWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPE

【０３２８】

【表３２】

		DFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR
149363-nt 全長CAR	235	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCCTTGGTCAAGCCTACCCAGACCCTCACT CTGACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCCCTGCGGACTTCCGGGATGTGCGTGTCCTGGATC AGACAGCCTCCGGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTCGCTCGCATTGACTGGGATGAGGACAAG TTCTACTCCACCTCACTCAAGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACCTCTGACAACCAA GTGGTGCTCCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCACTTACTACTGCGCGAGG AGCGGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTTCGATATTTGGGGCCCGGGTACCATGGTC ACCGTGTCAAGCGGAGGAGGGGGGTCCGGGGGCGGCGGTTCCGGGGGAGGCGGATCGGAC ATTCAGATGACTCAGTCACCATCGTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACAATC ACTTGCCGGGCATCCCAGGACATCTATAACAACCTTGCGTGGTTCCAGCTGAAGCCTGGT TCCGCACCGCGGTCACTTATGTACGCCGCCAACAAGAGCCAGTCGGGAGTGCCGTCCCGG TTTTCCGGTTCGGCCTCGGGAACTGACTTCACCCTGACGATCTCCAGCCTGCAACCCGAG GATTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTACTACCGCTTTCCCTACTCGTTCGGACAGGGA ACCAAGCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACC ATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGT ACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAG GACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAA TTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAA CTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCA GAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGC AAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCT CTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149364		
149364-aa ScFvドメイン	131	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQG TKLEIK
149364-nt ScFvドメイン	152	GAAGTGCAGCTTGTCGAATCCGGGGGGGGACTGGTCAAGCCGGGCGGATCACTGAGACTG TCCTGCGCCGCGAGCGGCTTCACGTTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTCCGCCAAGCC CCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTCTATCTCCTCGTCGTCGTCCTACATCTACTAC GCCGACTCCGTGAAGGGAAGATTCACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCACTGTAC TTGCAAATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGTACTATTGCGCCAAGACTATT GCCGCCGTCTACGCTTTCGACATCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACTGTGTCGTCCGGT GGTGGTGGCTCGGGCGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGGGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAG TCGCCACTGAGCCTCCCTGTGACCCCCGAGGAACCCGCCAGCATCAGCTGCCGGTCCAGC CAGTCCCTGCTCCACTCCAACGGATACAATTACCTCGATTGGTACCTTCAGAAGCCTGGA CAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAAACCGCGCGTCAGGAGTGCCTGACCGG TTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGATTTCACCCTGAAAATCTCCAGGGTGGAGGCAGAG GACGTGGGAGTGTATTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTTGGGCAGGGC ACCAAGCTGGAGATCAAG
149364-aa VH	173	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTTVTVSS
149364-aa V	194	EIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA

【表３３】

L		SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK
149364-aa 全長CAR	215	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQ APGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKT IAAVYAFDIWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRS SQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
149364-nt 全長CAR	236	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTTGTCGAATCCGGGGGGGGACTGGTCAAGCCGGGCGGATCACTGAGA CTGTCCTGCGCCGCGAGCGGCTTCACGTTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTCCGCCAA GCCCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTCTATCTCCTCGTCGTCGTCCTACATCTAC TACGCCGACTCCGTGAAGGGAAGATTCACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACTCACTG TACTTGCAAATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGTACTATTGCGCCAAGACT ATTGCCGCCGTCTACGCTTTCGACATCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACTGTGTCGTCC GGTGGTGGTGGCTCGGGCGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGGGGGTCCGAGATTGTGCTGACC CAGTCGCCACTGAGCCTCCCTGTGACCCCCGAGGAACCCGCCAGCATCAGCTGCCGGTCC AGCCAGTCCCTGCTCCACTCCAACGGATACAATTACCTCGATTGGTACCTTCAGAAGCCT GGACAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAAACCGCGCGTCAGGAGTGCCTGAC CGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGATTTCACCCTGAAAATCTCCAGGGTGGAGGCA GAGGACGTGGGAGTGTATTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTTGGGCAG GGCACCAAGCTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149365		
149365-aa S cFvドメイン	132	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGTMVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIR DDSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDSEHVVFGGGTKLTVL
149365-nt S cFvドメイン	153	GAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGTGAAGCCTGGAGGTTCGCTGAGACTG TCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCGACTACTACATGTCCTGGATCAGACAGGCC CCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCATCGGGCAGCACTATCTACTAC GCGGACTCAGTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGATAACGCGAAGAACTCGCTGTAT CTGCAAATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGATCTC CGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGGAACCATGGTCACAGTGTCCAGCGGAGGGGGA GGATCGGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCCTCCTACGTGCTGACTCAGAGCCCA AGCGTCAGCGCTGCGCCCGGTTACACGGCAACCATCTCCTGTGGCGGAAACAACATTGGG ACCAAGTCTGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCTCCCCTGTTGGTGATCCGC GATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCCGGGACGGTTCTCCGGCTCCAACAGCGGCAAT ATGGCCACTCTCACCATCTCGGGAGTGCAGGCCGGAGATGAAGCCGACTTCTACTGCCAA GTCTGGGACTCAGACTCCGAGCATGTGGTGTTCGGGGGCGGAACCAAGCTGACTGTGCTC

【０３２９】

【表３４】

149365-aa VH	174	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGTMVTVSS
149365-aa VL	195	SYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDSVRPSKIPGR FSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDSEHVVFGGGTKLTVL
149365-aa 全長CAR	216	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LRGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNI GTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYC QVWDSDSEHVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
149365-nt 全長CAR	237	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGTGAAGCCTGGAGGTTCGCTGAGA CTGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCGACTACTACATGTCCTGGATCAGACAG GCCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCATCGGGCAGCACTATCTAC TACGCGGACTCAGTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGATAACGCGAAGAACTCGCTG TATCTGCAAATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGAT CTCCGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGGAACCATGGTCACAGTGTCCAGCGGAGGG GGAGGATCGGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCCTCCTACGTGCTGACTCAGAGC CCAAGCGTCAGCGCTGCGCCCGGTTACACGGCAACCATCTCCTGTGGCGGAAACAACATT GGGACCAAGTCTGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCTCCCCTGTTGGTGATC CGCGATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCCGGGACGGTTCTCCGGCTCCAACAGCGGC AATATGGCCACTCTCACCATCTCGGGAGTGCAGGCCGGAGATGAAGCCGACTTCTACTGC CAAGTCTGGGACTCAGACTCCGAGCATGTGGTGTTCGGGGGCGGAACCAAGCTGACTGTG CTCACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCT CTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGT CTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTG CTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGC CGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCA GATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAG CCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGA CTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCC CTGCCGCCTCGG
149366		
149366-aa ScFvドメイン	133	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSGGVTAY SQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGSGSGWYFDFWGRGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVV LISRDKERPSGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGTKLTV L
149366-nt ScFvドメイン	154	CAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGAGCCTCCGTGAAAGTG TCCTGCAAGCCTTCGGGATACACCGTGACCTCCCACTACATTCATTGGGTCCGCCGCGCC CCCGGCCAAGGACTCGAGTGGATGGGCATGATCAACCCTAGCGGCGGAGTGACCGCGTAC AGCCAGACGCTGCAGGGACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTCCTCCACCGTCTAT ATGGAACTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGTACTACTGCGCCCGGGAAGGA TCAGGCTCCGGGTGGTATTTCGACTTCTGGGGAAGAGGCACCCTCGTGACTGTGTCATCT GGGGGAGGGGGTTCCGGTGGTGGCGGATCGGGAGGAGGCGGTTCATCCTACGTGCTGACC CAGCCACCCTCCGTGTCCGTGAGCCCCGGCCAGACTGCATCGATTACATGTAGCGGCGAC

【表３５】

		GGCCTCTCCAAGAAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGAAGGCCGGACAGAGCCCGGTGGTG CTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAATCCCGGACAGGTTCTCGGGTTCCAAC TCCGCGGACACTGCTACTCTGACCATCTCGGGGACCCAGGCTATGGACGAAGCCGATTAC TACTGCCAAGCCTGGGACGACACTACTGTCGTGTTTGGAGGGGGCACCAAGTTGACCGTC CTT
149366-aa VH	175	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSGGVTAY SQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGSGSGWYFDFWGRGTLVTVSS
149366-aa VL	196	SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISRDKERPSGIPDR FSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGTKLTVL
149366-aa 全長CAR	217	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRR APGQGLEWMGMINPSGGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCARE GSGSGWYFDFWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSG DGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISRDKERPSGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEAD YYCQAWDDTTVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
149366-nt 全長CAR	238	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGAGCCTCCGTGAAA GTGTCCTGCAAGCCTTCGGGATACACCGTGACCTCCCACTACATTCATTGGGTCCGCCGC GCCCCCGGCCAAGGACTCGAGTGGATGGGCATGATCAACCCTAGCGGCGGAGTGACCGCG TACAGCCAGACGCTGCAGGGACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTCCTCCACCGTC TATATGGAACTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGTACTACTGCGCCCGGGAA GGATCAGGCTCCGGGTGGTATTTCGACTTCTGGGGAAGAGGCACCCTCGTGACTGTGTCA TCTGGGGGAGGGGGTTCCGGTGGTGGCGGATCGGGAGGAGGCGGTTCATCCTACGTGCTG ACCCAGCCACCCTCCGTGTCCGTGAGCCCCGGCCAGACTGCATCGATTACATGTAGCGGC GACGGCCTCTCCAAGAAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGAAGGCCGGACAGAGCCCGGTG GTGCTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAATCCCGGACAGGTTCTCGGGTTCC AACTCCGCGGACACTGCTACTCTGACCATCTCGGGGACCCAGGCTATGGACGAAGCCGAT TACTACTGCCAAGCCTGGGACGACACTACTGTCGTGTTTGGAGGGGGCACCAAGTTGACC GTCCTTACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTC CTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG
149367		
149367-aa ScFvドメイン	134	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGK APNLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPFTFGPGT KVDIK
149367-nt ScFvドメイン	155	CAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGGACTCGTGAAGCCGTCCCAGACCCTGTCCCTG ACTTGCACCGTGTCGGGAGGAAGCATCTCGAGCGGAGGCTACTATTGGTCGTGGATTCGG CAGCACCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACTCCGGCTCGACCTAC

【０３３０】

【表３６】

		TACAACCCATCGCTGAAGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTCCAAGAATCAGTTC AGCCTGAAGCTCTCTTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCACGCGCT GGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACCATGGTCACC GTGTCCTCCGGCGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCAGGAGGAGGGGGGTCCGACATC GTCATGACTCAGTCGCCCTCAAGCGTCAGCGCGTCCGTCGGGGACAGAGTGATCATCACC TGTCGGGCGTCCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAG GCCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCCTCAAACCTCCAATCCGGGGTGCCGAGCCGCTTC AGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGATTTCACTCTGACCATCTCCTCCCTGCAACCTGAAGAT GTGGCTACCTACTACTGCCAAAAGTACAACTCCGCACCTTTTACTTTCGGACCGGGGACC AAAGTGGACATTAAG
149367-aa VH	176	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQGTMVT VSS
149367-aa VL	197	DIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQSGVPS RFSGSGSGADFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPFTFGPGTKVDIK
149367-aa 全長CAR	218	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWI RQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR AGIAARLRGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVII TCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTISSLQPE DVATYYCQKYNSAPFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR
149367-nt 全長CAR	239	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGGACTCGTGAAGCCGTCCCAGACCCTGTCC CTGACTTGCACCGTGTCGGGAGGAAGCATCTCGAGCGGAGGCTACTATTGGTCGTGGATT CGGCAGCACCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACTCCGGCTCGACC TACTACAACCCATCGCTGAAGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTCCAAGAATCAG TTCAGCCTGAAGCTCTCTTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCACGC GCTGGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACCATGGTC ACCGTGTCCTCCGGCGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCAGGAGGAGGGGGGTCCGAC ATCGTCATGACTCAGTCGCCCTCAAGCGTCAGCGCGTCCGTCGGGGACAGAGTGATCATC ACCTGTCGGGCGTCCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGA AAGGCCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCCTCAAACCTCCAATCCGGGGTGCCGAGCCGC TTCAGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGATTTCACTCTGACCATCTCCTCCCTGCAACCTGAA GATGTGGCTACCTACTACTGCCAAAAGTACAACTCCGCACCTTTTACTTTCGGACCGGGG ACCAAAGTGGACATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACC ATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGT ACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAG GACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAA TTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAA CTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCA GAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGC AAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCT CTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149368		
149368-aa ScFvドメイン	135	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWG

【表３７】

		QGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQ QKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDH LRVFGTGTKVTVL
149368-nt ScFvドメイン	156	CAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGGAGCTCTGTGAAAGTG TCCTGCAAGGCCTCCGGGGGCACCTTTAGCTCCTACGCCATCTCCTGGGTCCGCCAAGCA CCGGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGGGGAATTATCCCTATCTTCGGCACTGCCAACTAC GCCCAGAAGTTCCAGGGACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCACCTCCACCGCTTAT ATGGAGCTGTCCAGCTTGCGCTCGGAAGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAGGGGT GGATACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGGCCTCCTGCGGTCGGCGTTCGACATCTGGGGC CAGGGCACTATGGTCACTGTGTCCAGCGGAGGAGGCGGATCGGGAGGCGGCGGATCAGGG GGAGGCGGTTCCAGCTACGTGCTTACTCAACCCCCTTCGGTGTCCGTGGCCCCGGGACAG ACCGCCAGAATCACTTGCGGAGGAAACAACATTGGGTCCAAGAGCGTGCATTGGTACCAG CAGAAGCCAGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGCTCTACGGGAAGAACAATCGGCCCAGCGGA GTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTCACGCTCCGGTACAACCGCTTCACTGACTATCACCGGG GCCCAGGCAGAGGATGAAGCGGACTACTACTGTTCCTCCCGGGATTCATCCGGCGACCAC CTCCGGGTGTTCGGAACCGGAACGAAGGTCACCGTGCTG
149368-aa VH	177	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWG QGTMVTVSS
149368-aa VL	198	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVPDR FSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLRVFGTGTKVTVL
149368-aa 全長CAR	219	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARR GGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPG QTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTIT GAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLRVFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR
149368-nt 全長CAR	240	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGGAGCTCTGTGAAA GTGTCCTGCAAGGCCTCCGGGGGCACCTTTAGCTCCTACGCCATCTCCTGGGTCCGCCAA GCACCGGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGGGGAATTATCCCTATCTTCGGCACTGCCAAC TACGCCCAGAAGTTCCAGGGACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCACCTCCACCGCT TATATGGAGCTGTCCAGCTTGCGCTCGGAAGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGAGG GGTGGATACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGGCCTCCTGCGGTCGGCGTTCGACATCTGG GGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTCCAGCGGAGGAGGCGGATCGGGAGGCGGCGGATCA GGGGGAGGCGGTTCCAGCTACGTGCTTACTCAACCCCCTTCGGTGTCCGTGGCCCCGGGA CAGACCGCCAGAATCACTTGCGGAGGAAACAACATTGGGTCCAAGAGCGTGCATTGGTAC CAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGCTCTACGGGAAGAACAATCGGCCCAGC GGAGTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTCACGCTCCGGTACAACCGCTTCACTGACTATCACC GGGGCCCAGGCAGAGGATGAAGCGGACTACTACTGTTCCTCCCGGGATTCATCCGGCGAC CACCTCCGGGTGTTCGGAACCGGAACGAAGGTCACCGTGCTGACCACTACCCCAGCACCG AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATC TACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACT CTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAG GGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAA

【０３３１】

【表３８】

		GAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGT ATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACC GCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149369		
149369-aa ScFvドメイン	136	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWY SFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDPWGQGTL VTVSSGGDGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPG QAPVLVIYGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHHLLFG TGTKVTVL
149369-nt ScFvドメイン	157	GAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGTGAAGCCATCCCAGACCCTGTCCCTG ACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGCGTGTCATCGAACTCCGCCGCCTGGAACTGGATTCGG CAGAGCCCGTCCCGCGGACTGGAGTGGCTTGGAAGGACCTACTACCGGTCCAAGTGGTAC TCTTTCTACGCGATCTCGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAACCCTGATACCTCCAAGAAT CAGTTCTCCCTCCAACTGAAATCCGTCACCCCCGAGGACACAGCAGTGTATTACTGCGCA CGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCCTGTATTGGTTTGACCCCTGGGGCCAGGGGACTCTT GTGACCGTGTCGAGCGGCGGAGATGGGTCCGGTGGCGGTGGTTCGGGGGGCGGCGGATCA TCATCCGAACTGACCCAGGACCCGGCTGTGTCCGTGGCGCTGGGACAAACCATCCGCATT ACGTGCCAGGGAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCACTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGC CAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACAACAGACCTTCCGGCATCCCCGACCGG TTCAGCGCTTCGTCCTCCGGCAACACTGCCAGCCTGACCATCACTGGAGCGCAGGCCGAA GATGAGGCCGACTACTACTGCAACAGCAGAGACTCCTCGGGTCATCACCTCTTGTTCGGA ACTGGAACCAAGGTCACCGTGCTG
149369-aa VH	178	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWY SFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDPWGQGTL VTVSS
149369-aa VL	199	SSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPVLVIYGTNNRPSGIPDR FSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHHLLFGTGTKVTVL
149369-aa 全長CAR	220	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWI RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYC ARSSPEGLFLYWFDPWGQGTLVTVSSGGDGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTIR ITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPVLVIYGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQA EDEADYYCNSRDSSGHHLLFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
149369-nt 全長CAR	241	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGTGAAGCCATCCCAGACCCTGTCC CTGACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGCGTGTCATCGAACTCCGCCGCCTGGAACTGGATT CGGCAGAGCCCGTCCCGCGGACTGGAGTGGCTTGGAAGGACCTACTACCGGTCCAAGTGG TACTCTTTCTACGCGATCTCGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAACCCTGATACCTCCAAG AATCAGTTCTCCCTCCAACTGAAATCCGTCACCCCCGAGGACACAGCAGTGTATTACTGC GCACGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCCTGTATTGGTTTGACCCCTGGGGCCAGGGGACT CTTGTGACCGTGTCGAGCGGCGGAGATGGGTCCGGTGGCGGTGGTTCGGGGGGCGGCGGA TCATCATCCGAACTGACCCAGGACCCGGCTGTGTCCGTGGCGCTGGGACAAACCATCCGC ATTACGTGCCAGGGAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCACTTGGTACCAGCAGAAGCCG GGCCAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACAACAGACCTTCCGGCATCCCCGAC CGGTTCAGCGCTTCGTCCTCCGGCAACACTGCCAGCCTGACCATCACTGGAGCGCAGGCC GAAGATGAGGCCGACTACTACTGCAACAGCAGAGACTCCTCGGGTCATCACCTCTTGTTC GGAACTGGAACCAAGGTCACCGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCG GCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCT

【表３９】

		CTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACT CAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGC AGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACC TATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-A4		
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa ScFvドメイン	137	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRL LISGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGSSLFTFGQG TRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt ScFvドメイン	158	GAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGAGGGTCCCTTAGACTG TCATGCGCCGCAAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCC CCCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACTTACTAC GCTGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACTCCAAGAACACCCTCTAC CTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTACTGCGCCAAAGTGGAA GGTTCAGGATCGCTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGACCGTGTCATCGGGCGGA GGAGGTTCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGGAGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAGAGC CCTGGTACTCTGAGCCTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACCCTGTCCTGCCGCGCTTCCCAA TCCGTGTCCTCCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCCCCTCGGCTG CTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAATCCCAGACAGATTCGGGGGTTCCGGC AGCGGCACAGATTTCACCCTGACTATTTCGAGGTTGGAGCCCGAGGACTTTGCGGTGTAT TACTGTCAGCACTACGGGTCGTCCTTTAATGGCTCCAGCCTGTTCACGTTCGGACAGGGG ACCCGCCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VH	179	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGTLVTVSS
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VL	200	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLISGASTRATGIP DRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGSSLFTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa 全長CART	221	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV EGSGSLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLISGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQHYGSSFNGSSLFTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt 全長CART	242	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGAGGGTCCCTTAGA CTGTCATGCGCCGCAAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAA GCCCCCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACTTAC TACGCTGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACTCCAAGAACACCCTC TACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTACTGCGCCAAAGTG GAAGGTTCAGGATCGCTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGACCGTGTCATCGGGC GGAGGAGGTTCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGGAGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAG AGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACCCTGTCCTGCCGCGCTTCC

【０３３２】

【表４０】

		CAATCCGTGTCCTCCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCCCCTCGG CTGCTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAATCCCAGACAGATTCGGGGGTTCC GGCAGCGGCACAGATTTCACCCTGACTATTTCGAGGTTGGAGCCCGAGGACTTTGCGGTG TATTACTGTCAGCACTACGGGTCGTCCTTTAATGGCTCCAGCCTGTTCACGTTCGGACAG GGGACCCGCCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-G1		
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa ScFvドメイン	138	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVSTYY ADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQGTMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNSLAWYQQKPGQAPRLL IYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGTKLEI K
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt ScFvドメイン	159	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCATTGAGGCTG TCATGCGCGGCCAGCGGTATTACCTTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCC CCGGGGAAAGGGCTTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTCAGCACTTACTAC GCCGACTCCGCCAAGGGACGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCGAAGAACACCCTGTTC CTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGTGACCCGCGCC GGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCACCGTGTCGTCCGGCGGA GGGGGCTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCGTGCTGACCCAATCC CCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACCTTGTCCTGTCGCGCGAGCCAG TCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCTCCGAGACTTCTG ATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCCCCGACCGCTTTTCGGGGTCCGGCTCA GGAACCGATTTCACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGCCAGAGGATTTCGCCATCTATTAC TGCCAGCAGTTCGGTACTTCCTCCGGCCTGACTTTCGGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATC AAG
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VH	180	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVSTYY ADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQGTMVTVSS
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VL	201	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNSLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGTKLEIK
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa 全長CART	222	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQ APGKGLEWVSGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTR AGSEASDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS QSVSNSLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIY YCQQFGTSSGLTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt	243	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCATTGAGG

【表４１】

全長CART		CTGTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACCTTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTCAGACAG GCCCCGGGGAAAGGGCTTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTCAGCACTTAC TACGCCGACTCCGCCAAGGGACGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCGAAGAACACCCTG TTCCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGTGACCCGC GCCGGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCACCGTGTCGTCCGGC GGAGGGGGCTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCGTGCTGACCCAA TCCCCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACCTTGTCCTGTCGCGCGAGC CAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCTCCGAGACTT CTGATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCCCCGACCGCTTTTCGGGGTCCGGC TCAGGAACCGATTTCACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGCCAGAGGATTTCGCCATCTAT TACTGCCAGCAGTTCGGTACTTCCTCCGGCCTGACTTTCGGAGGCGGCACGAAGCTCGAA ATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTC CTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1979-C1		
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa ScFvドメイン	139	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFG QGTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt ScFvドメイン	160	CAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGGGGCTCACTTAGACTG TCCTGCGCGGCCAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCC CCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGCGGCTCGACCTATTAC GCGGATTCAGTGAAGGGCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCCTTGTAC CTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAATCTACTACTGCGCTCGGGCCACT TACAAGAGGGAACTGCGCTACTACTACGGGATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCATGGTC ACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGGGTGGAGGGTCGGAG ATCGTGATGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTCGCTGTCCCCCGGCGAACGGGCCACCCTG TCATGTCGGGCCAGCCAGTCAGTGTCGTCAAGCTTCCTCGCCTGGTACCAGCAGAAACCG GGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCCGGGCCACCGGTATTCCTGAC CGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTTACTCTGACTATCTCTCGCCTCGAGCCA GAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGTACCACTCCTCCCCGTCCTGGACGTTCGGA CAGGGCACAAGGCTGGAGATTAAG
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VH	181	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTMV TVSS
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VL	202	EIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa 全長CART	223	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARA TYKRELRYYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERAT LSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE

【０３３３】

【表４２】

		PEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1 979-C1 - nt 全長CART	244	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGGGGCTCACTTAGA CTGTCCTGCGCGGCCAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAG GCCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGCGGCTCGACCTAT TACGCGGATTCAGTGAAGGGCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCCTTG TACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAATCTACTACTGCGCTCGGGCC ACTTACAAGAGGGAACTGCGCTACTACTACGGGATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCATG GTCACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGGGTGGAGGGTCG GAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTCGCTGTCCCCCGGCGAACGGGCCACC CTGTCATGTCGGGCCAGCCAGTCAGTGTCGTCAAGCTTCCTCGCCTGGTACCAGCAGAAA CCGGGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCCGGGCCACCGGTATTCCT GACCGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTTACTCTGACTATCTCTCGCCTCGAG CCAGAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGTACCACTCCTCCCCGTCCTGGACGTTC GGACAGGGCACAAGGCTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCG GCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCT CTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACT CAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGC AGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACC TATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-C7		
BCMA_EBB-C1 978-C7 - aa ScFvドメイ ン	140	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKP GQAPRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFG QGTKVEIK
BCMA_EBB-C1 978-C7 - nt ScFvドメイ ン	161	GAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTCAGGCTG TCCTGCGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCCTCGTACGCCATGTCCTGGGTCCGCCAGGCC CCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACGTACTAC GCGGACAGCGTCAAGGGAAGGTTCACAATCTCCCGCGATAATTCGAAGAACACTCTGTAC CTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGTACTACTGCGCACGGGCCACC TACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACTGTG ACCGTGTCCTCGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCGGAGGCGGTTCCGAG ATTGTGCTGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTCGCTGTCCCCGGGAGAGAGCGCTACTCTG AGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCG GGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACAGAGCGACCGGAATTCCTGAC CGCTTCTCGGGGAGCGGTTCAGGCACCGACTTCACCCTGACTATCCGGCGCCTGGAACCC GAAGATTTCGCCGTGTATTACTGTCAACAGTACCACTCCTCGCCGTCCTGGACCTTTGGC CAAGGAACCAAAGTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1 978-C7 - aa VH	182	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTTV TVSS

【表４３】

BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VL	203	EIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYGSSNRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa 全長CART	224	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARA TYKRELRYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESAT LSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLE PEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt 全長CART	245	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTCAGG CTGTCCTGCGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCCTCGTACGCCATGTCCTGGGTCCGCCAG GCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACGTAC TACGCGGACAGCGTCAAGGGAAGGTTCACAATCTCCCGCGATAATTCGAAGAACACTCTG TACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGTACTACTGCGCACGGGCC ACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACT GTGACCGTGTCCTCGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCGGAGGCGGTTCC GAGATTGTGCTGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTCGCTGTCCCCGGGAGAGAGCGCTACT CTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAG CCGGGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACAGAGCGACCGGAATTCCT GACCGCTTCTCGGGGAGCGGTTCAGGCACCGACTTCACCCTGACTATCCGGCGCCTGGAA CCCGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGTCAACAGTACCACTCCTCGCCGTCCTGGACCTTT GGCCAAGGAACCAAAGTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCG GCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCT CTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACT CAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGC AGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACC TATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-D10		
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa ScFvドメイン	141	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-D10- nt ScFvドメイン	162	GAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGACGGTCGCTGCGGCTG AGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACCTTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCG CCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCGGATAC GCGGACTCCGTGAAGGGAAGGTTCACCATTTCCCGCGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAC TTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGTCGGA AAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCCAGCGGCGGGGGT GGATCGGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGATGACCCAGACCCCC TCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTGACTATCACATGTAGAGCCTCGCAGAGC ATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCCCCGAAGCTCCTGATC

【０３３４】

【表４４】

		TACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCCGGC ACCGACTTCACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGC CAGCAGTCCTACTCCACCCCTTACTCCTTCGGCCAAGGAACCAGGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa VH	183	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGTTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-D10- aa VL	204	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa 全長CART	225	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARV GKAVPDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYSTPYSFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
BCMA_EBB-C1978-D10 - nt 全長CART	246	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGACGGTCGCTGCGG CTGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACCTTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTCAGACAG GCGCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCGGA TACGCGGACTCCGTGAAGGGAAGGTTCACCATTTCCCGCGACAACGCCAAGAACTCCCTG TACTTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGTC GGAAAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCCAGCGGCGGG GGTGGATCGGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGATGACCCAGACC CCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTGACTATCACATGTAGAGCCTCGCAG AGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCCCCGAAGCTCCTG ATCTACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCC GGCACCGACTTCACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTAC TGCCAGCAGTCCTACTCCACCCCTTACTCCTTCGGCCAAGGAACCAGGCTGGAAATCAAG ACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTG CTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGG TTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCG CGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1979-C12		
BCMA_EBB-C1979-C12- aa ScFvドメイン	142	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPGKGLEWVASINWKGNSLAY GDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQ APRLLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQG TKVEIK
BCMA_EBB-C1979-C12 - n	163	GAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGGAGGATTGGTGCAGCCCGGAAGGTCCCTGCGGCTC TCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACCTTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTCAGACAGCGC

【表４５】

t ScFvドメイン		CCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTCGCCTCAATCAACTGGAAGGGAAACTCCCTGGCCTAT GGCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTCGCGCGACAACGCCAAGAACACCGTGTTT CTGCAAATGAATTCCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGCCAGCCACCAG GGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAGGGACGCTCGTCACCGTG TCCTCCGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGGGCAGCGAAATCGTG CTGACTCAGAGCCCGGGAACTCTTTCACTGTCCCCGGGAGAACGGGCCACTCTCTCGTGC CGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGACAG GCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAACGCGCCACTGGCATTCCTGACCGGTTC AGCGGCAGAGGGTCGGGAACCGATTTCACACTGACCATTTCCCGGGTGGAGCCCGAAGAT TCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATTACGAGTCCTCCCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGG ACCAAAGTGGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VH	184	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPGKGLEWVASINWKGNSLAY GDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTV SS
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VL	205	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQRATGIP DRFSGRGSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa 全長CART	226	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQ RPGKGLEWVASINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASH QGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTLTISRVEPE DSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt 全長CART	247	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGGAGGATTGGTGCAGCCCGGAAGGTCCCTGCGG CTCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACCTTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTCAGACAG CGCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTCGCCTCAATCAACTGGAAGGGAAACTCCCTGGCC TATGGCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTCGCGCGACAACGCCAAGAACACCGTG TTTCTGCAAATGAATTCCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGCCAGCCAC CAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAGGGACGCTCGTCACC GTGTCCTCCGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGGGCAGCGAAATC GTGCTGACTCAGAGCCCGGGAACTCTTTCACTGTCCCCGGGAGAACGGGCCACTCTCTCG TGCCGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGA CAGGCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAACGCGCCACTGGCATTCCTGACCGG TTCAGCGGCAGAGGGTCGGGAACCGATTTCACACTGACCATTTCCCGGGTGGAGCCCGAA GATTCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATTACGAGTCCTCCCCTTCATGGACCTTCGGTCAA GGGACCAAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC

【０３３５】

【表４６】

		GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1980-G4		
BCMA_EBB- C1980-G4- aa ScFvドメイン	143	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLL IYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRFTFGPGTKVDI K
BCMA_EBB- C1980-G4- nt ScFvドメイン	164	GAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGCGGATCACTGCGGCTG TCCTGCGCGGCATCAGGCTTCACGTTTTCTTCCTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCAGGCC CCTGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCGGGGTCCGGCGGGAGCACCTACTAC GCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACTCCAAGAACACCCTCTAC CTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTATTGCGCTAAGGTCGTG CGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAGTGTCCTCGGGGGGAGGC GGTAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAATCACCC GCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTGTCCTGTCGGGCCAGCCAATCA GTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCGAGACTCCTT ATCTATGGCGCATCCTCCCGCGCCACCGGAATCCCGGATAGGTTCTCGGGAAACGGATCG GGGACCGACTTCACTCTCACCATCTCCCGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTAC TGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTCACTTTCGGCCCCGGCACCAAAGTGGACATC AAG
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VH	185	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMDVWGQGTTVTVSS
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VL	206	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRFTFGPGTKVDIK
BCMA_EBB- C1980-G4- aa 全長CART	227	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV VRDGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ SVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYGSPPRFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
BCMA_EBB- C1980-G4- nt 全長CART	248	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGCGGATCACTGCGG CTGTCCTGCGCGGCATCAGGCTTCACGTTTTCTTCCTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCAG GCCCCTGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCGGGGTCCGGCGGGAGCACCTAC TACGCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACTCCAAGAACACCCTC TACCTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTATTGCGCTAAGGTC GTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAGTGTCCTCGGGGGGA GGCGGTAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAATCA CCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTGTCCTGTCGGGCCAGCCAA TCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCGAGACTC CTTATCTATGGCGCATCCTCCCGCGCCACCGGAATCCCGGATAGGTTCTCGGGAAACGGA TCGGGGACCGACTTCACTCTCACCATCTCCCGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTAC TACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTCACTTTCGGCCCCGGCACCAAAGTGGAC ATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTC CTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC

【表４７】

		ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCA TGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1980-D2		
BCMA_EBB- C 1980-D2- aa ScFvドメイン	144	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGTRLE IK
BCMA_EBB- C 1980-D2- nt ScFvドメイン	165	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGTGCAACCGGGGGGATCGCTCAGACTG TCCTGTGCGGCGTCAGGCTTCACCTTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTCAGACAGGCC CCTGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGGATCTACATACTAC GCCGATAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCCAAGAACACTCTCTAT CTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAAATCCCT CAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTCAGCAGCGGTGGC GGAGGTTCGGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCA CCCGGCACTTTGTCCCTGTCGCCTGGAGAAAGGGCCACCCTTTCCTGCCGGGCATCCCAA TCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAGGCCCGGACAGGCCCCACGGCTT CTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGCGACCGGTATCCCGGACCGGTTTTCGGGCTCGGGC TCAGGAACTGACTTCACCCTCACCATCTCCCGCCTGGAACCCGAAGATTTCGCTGTGTAT TACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCCGTCCTGGACGTTCGGCCAGGGAACTCGGCTGGAG ATCAAG
BCMA_EBB- C 1980-D2- aa VH	186	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGTLVTVSS
BCMA_EBB- C 1980-D2- aa VL	207	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB- C 1980-D2- aa 全長CART	228	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKI PQTGTFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS QSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQHYGSSPSWTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
BCMA_EBB- C 1980-D2- nt 全長CART	249	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGTGCAACCGGGGGGATCGCTCAGA CTGTCCTGTGCGGCGTCAGGCTTCACCTTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTCAGACAG GCCCCTGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGGATCTACATAC TACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCCAAGAACACTCTC TATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAAATC CCTCAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTCAGCAGCGGT GGCGGAGGTTCGGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAG TCACCCGGCACTTTGTCCCTGTCGCCTGGAGAAAGGGCCACCCTTTCCTGCCGGGCATCC CAATCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAGGCCCGGACAGGCCCCACGG

【０３３６】

【表４８】

		CTTCTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGCGACCGGTATCCCGGACCGGTTTTCGGGCTCG GGCTCAGGAACTGACTTCACCCTCACCATCTCCCGCCTGGAACCCGAAGATTTCGCTGTG TATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCCGTCCTGGACGTTCGGCCAGGGAACTCGGCTG GAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCC CAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACC CGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGG GTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTG TACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGT TCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGC AGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGC GGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATG CAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-A10		
BCMA_EBB-C1978-A10-aa ScFvドメイン	145	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYYGMDVWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKP GQAPSLLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTFG QGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-A10-nt ScFvドメイン	166	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTCCGGCTG AGCTGCGCCGCTTCGGGATTCACCTTTTCCTCCTACGCGATGTCTTGGGTCAGACAGGCC CCCGGAAAGGGGCTGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACGTACTAC GCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTCGCGCGAGAATGACAAGAACTCCGTGTTC CTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGTACTATTGTGCGCGCGCCAAC TACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACTATGGTG ACCGTGTCATCCGGTGGAGGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGGGCGGGGGTTCAGAA ATTGTCATGACCCAGTCCCCGGGAACTCTTTCCCTCTCCCCCGGGGAATCCGCGACTTTG TCCTGCCGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACCTCGCATGGTACCAGCATAAGCCA GGCCAAGCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCCGCGCCACTGGCGTGCCGGAT AGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTCACCCTGGCAATCTCGCGGCTGGAACCG GAGGATTCGGCCGTGTACTACTGCCAGCACTATGACTCATCCCCCTCCTGGACATTCGGA CAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VH	187	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYYGMDVWGQGTMV TVSS
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VL	208	EIVMTQSPGTLSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLISGASSRATGVP DRFSGSGSGTDFTLAISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-A10-aa 全長CART	229	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARA NYKRELRYYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGESAT LSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAISRLE PEDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C	250	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG

【表４９】

1978-A10- nt 全長CART		CCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTCCGG CTGAGCTGCGCCGCTTCGGGATTCACCTTTTCCTCCTACGCGATGTCTTGGGTCAGACAG GCCCCCGGAAAGGGGCTGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACGTAC TACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTCGCGCGAGAATGACAAGAACTCCGTG TTCCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGTACTATTGTGCGCGCGCC AACTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACTATG GTGACCGTGTCATCCGGTGGAGGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGGGCGGGGGTTCA GAAATTGTCATGACCCAGTCCCCGGGAACTCTTTCCCTCTCCCCCGGGGAATCCGCGACT TTGTCCTGCCGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACCTCGCATGGTACCAGCATAAG CCAGGCCAAGCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCCGCGCCACTGGCGTGCCG GATAGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTCACCCTGGCAATCTCGCGGCTGGAA CCGGAGGATTCGGCCGTGTACTACTGCCAGCACTATGACTCATCCCCCTCCTGGACATTC GGACAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCG GCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCT CTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACT CAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGA CGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGC AGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACC TATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-D4		
BCMA_EBB- C1978-D4- aa ScFvドメイン	146	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAP GLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPMYTFGQGTK VEIK
BCMA_EBB- C1978-D4- nt ScFvドメイン	167	GAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCCCTGAGGCTT TCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCCTTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGGTTCGACCTATTAC GCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAACACTCTGTAC CTCCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGCGAAGGCGCTG GTCGGCGCGACTGGGGCATTCGACATCTGGGGACAGGGAACTCTTGTGACCGTGTCGAGC GGAGGCGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCGAAATCGTGTTGACT CAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTCACCCGGGGAGCGGGCCACTCTCTCCTGTCGCGCC TCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCG GGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACTGGGCAACGGGAACCCCTGATCGGTTCAGCGGA AGCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCAGACTGGAACCGGAGGACTTCGCC GTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCCCCATGTACACATTCGGACAGGGTACCAAG GTCGAGATTAAG
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VH	188	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGTLVTVSS
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VL	209	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLIYGASNWATGTP DRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPMYTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-D4- aa 全長CART	230	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKA LVGATGAFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR

【０３３７】

【表５０】

		ASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDF AVYYCQYYGTSPMYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
BCMA_EBB- C1978-D4- nt全長CART	251	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCCCTGAGG CTTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCCTTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCAA GCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGGTTCGACCTAT TACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAACACTCTG TACCTCCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGCGAAGGCG CTGGTCGGCGCGACTGGGGCATTCGACATCTGGGGACAGGGAACTCTTGTGACCGTGTCG AGCGGAGGCGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCGAAATCGTGTTG ACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTCACCCGGGGAGCGGGCCACTCTCTCCTGTCGC GCCTCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCC CCGGGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACTGGGCAACGGGAACCCCTGATCGGTTCAGC GGAAGCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCAGACTGGAACCGGAGGACTTC GCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCCCCATGTACACATTCGGACAGGGTACC AAGGTCGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTG CATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACT TGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAG CTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGAC GGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTC AATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAA ATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTT CACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1980-A2		
BCMA_EBB- C1980-A2- aa ScFvドメイン	147	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTK VDIK
BCMA_EBB- C1980-A2- nt ScFvドメイン	168	GAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCGGGGGATCACTGCGCCTG TCCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTCAGACAGGCA CCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATTTCGGGTTCGGGGGGCAGCACCTACTAC GCTGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACTCCAAGAACACCTTGTAC CTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGTGTATTACTGCGTGCTGTGGTTC GGAGAGGGATTCGACCCGTGGGGACAAGGAACACTCGTGACTGTGTCATCCGGCGGAGGC GGCAGCGGTGGCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGTTGACCCAGTCCCCT CTGAGCCTGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCTCCTGCCGGTCGAGCCAGTCC CTCCTGCACTCCAATGGGTACAACTACCTCGATTGGTATCTGCAAAAGCCGGGCCAGAGC CCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCGGGGTGCCTGATAGATTCTCC GGGTCCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCTCGAGGGTGGAGGCCGAGGACGTC GGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCCCTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAG GTCGACATCAAGA
BCMA_EBB- C1980-A2- aa	189	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGTLVTVSS

【表５１】

VH		
BCMA_EBB- C1980-A2- aa VL	210	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB- C1980-A2- aa 全長CART	231	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLW FGEGFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ SLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
BCMA_EBB- C1980-A2- nt 全長CART	252	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCGGGGGATCACTGCGC CTGTCCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTCAGACAG GCACCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATTTCGGGTTCGGGGGGCAGCACCTAC TACGCTGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACTCCAAGAACACCTTG TACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGTGTATTACTGCGTGCTGTGG TTCGGAGAGGGATTCGACCCGTGGGGACAAGGAACACTCGTGACTGTGTCATCCGGCGGA GGCGGCAGCGGTGGCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGTTGACCCAGTCC CCTCTGAGCCTGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCTCCTGCCGGTCGAGCCAG TCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACTACCTCGATTGGTATCTGCAAAAGCCGGGCCAG AGCCCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCGGGGTGCCTGATAGATTC TCCGGGTCCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCTCGAGGGTGGAGGCCGAGGAC GTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCCCTGACCTTCGGAGGAGGAACG AAGGTCGACATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTG CATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACT TGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAG CTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGAC GGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTC AATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAA ATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTT CACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1981-C3		
BCMA_EBB- C1981-C3- aa ScFvドメイン	148	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGYDSSGYYRDYYGMDVWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKF TFGPGTKLEIK
BCMA_EBB- C1981-C3- nt ScFvドメイン	169	CAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGACTT TCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACCTTCTCCTCCTATGCTATGTCCTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCTCAACATACTAC GCCGACTCCGTCAAGGGTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACTCCAAGAATACCCTGTAC CTCCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAAGTCGGA TACGATAGCTCCGGTTACTACCGGGACTACTACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGCACC ACCGTGACCGTGTCAAGCGGCGGAGGCGGTTCAGGAGGGGGAGGCTCCGGCGGTGGAGGG TCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCGTTGTCCCCGGGGGAGCGCGCT

【０３３８】

【表５２】

		ACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCGTGTCGAGCTCCTACCTCGCGTGGTACCAGCAG AAGCCCGGACAGGCCCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTTCTTCACGCGCCACCGGGATC AGCGACAGGTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGGACCGACTTCACCCTGACCATTAGCCGGCTG GAGCCTGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGCCAACACTACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTC ACGTTCGGACCCGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VH	190	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGYDSSGYYRDYYGMDVWGQGT TVTVSS
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VL	211	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGIS DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIK
BCMA_EBB- C1981-C3- aa 全長CART	232	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV GYDSSGYYRDYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1981-C3- nt 全長CART	253	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCCAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGA CTTTCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACCTTCTCCTCCTATGCTATGTCCTGGGTGCGCCAG GCCCCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCTCAACATAC TACGCCGACTCCGTCAAGGGTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACTCCAAGAATACCCTG TACCTCCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAAGTC GGATACGATAGCTCCGGTTACTACCGGGACTACTACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGC ACCACCGTGACCGTGTCAAGCGGCGGAGGCGGTTCAGGAGGGGGAGGCTCCGGCGGTGGA GGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCGTTGTCCCCGGGGGAGCGC GCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCGTGTCGAGCTCCTACCTCGCGTGGTACCAG CAGAAGCCCGGACAGGCCCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTTCTTCACGCGCCACCGGG ATCAGCGACAGGTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGGACCGACTTCACCCTGACCATTAGCCGG CTGGAGCCTGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGCCAACACTACGGAAACTCGCCGCCAAAG TTCACGTTCGGACCCGGAACCAAGCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCA CCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATT TGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTAC TGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGC TGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAG AACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAG CGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGC CTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAA GGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACC AAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-G4		
BCMA_EBB- C1978-G4- aa ScFvドメイン	149	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQGTTVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQ APRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGG TKVDIK
BCMA_EBB- C	170	GAAGTCCAACTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTTCGGCTG

【表５３】

1978-G4- nt ScFvドメイン		TCGTGCGCCGCCTCCGGGTTCACGTTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGTCAGACAGGCA CCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACCTACTAT GCCGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAACACCCTGTAC CTCCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATACCGCGGTGTACTATTGCGCCAAGATGGGT TGGTCCAGCGGATACTTGGGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACTACTGTGACCGTG TCCTCCGGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGGCTCGGGTGGAGGGGGTTCCGAAATCGTG TTGACCCAGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGAGAACGGGCTACACTGTCATGT AGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCGTTCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAG GCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGACCGGCATCCCTGACCGCTTC TCCGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCATTAGCAGGCTTGAGCCCGAGGAT TTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGGGGAGCCCTCGCCTGACCTTCGGAGGCGGA ACTAAGGTCGATATCAAAA
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VH	191	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQGTTVTV SS
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VL	212	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB- C1978-G4- aa 全長CART	233	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKM GWSSGYLGAFDIWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1978-G4- nt 全長CART	254	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGG CCCGAAGTCCAACTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTTCGG CTGTCGTGCGCCGCCTCCGGGTTCACGTTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGTCAGACAG GCACCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACCTAC TATGCCGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAACACCCTG TACCTCCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATACCGCGGTGTACTATTGCGCCAAGATG GGTTGGTCCAGCGGATACTTGGGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACTACTGTGACC GTGTCCTCCGGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGGCTCGGGTGGAGGGGGTTCCGAAATC GTGTTGACCCAGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGAGAACGGGCTACACTGTCA TGTAGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCGTTCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGA CAGGCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGACCGGCATCCCTGACCGC TTCTCCGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCATTAGCAGGCTTGAGCCCGAG GATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGGGGAGCCCTCGCCTGACCTTCGGAGGC GGAACTAAGGTCGATATCAAAACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCT ACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCT GGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAG GAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGAC CCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGA GGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

【０３３９】

ある態様において、追加の例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、例えば、実施例２および３で記載されるｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４　ＣＡＲからの結果に基づき、ＰＣＴ公報ＷＯ２０１２／０１６３８０５(その内容は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる)からのＶＨおよびＶＬ配列を使用して生成される。図１０Ａに、例示的なＢＣＭＡ構築物(ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰ)の略図を示す。２つの構築物は、ＶＨおよびＶＬ鎖の方向の点で異なる(図１０Ｂ)。以下の表３に、例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物およびそれらの対応するＤＮＡのＩＤを示す。

【０３４０】

【表５４】

表３．ツールＣＡＲ構築物のＩＤ

ニックネーム	Novartis ID	DNA2.0 ID
BCMA-3NP		126022
BCMA-4NP		126021

【０３４１】

ある態様において、追加の例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物はまた、表１６に見出されるＶＨおよびＶＬ配列を使用して生成されてもよい。ＶＨおよびＶＬドメインならびにリンカー配列および全長ＣＡＲを含む例示的なｓｃＦｖドメインのアミノ酸配列も、表１６に見出される。

【０３４２】

【表５５】

表１６．追加の例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲ配列

名称	配列	配列番号
A7D12.2 VH	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFADDFKG RFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSA	255
A7D12.2 VL	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDRFTGSG SGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	259
A7D12.2 scFvドメイン	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFADDFKG RFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGS GGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDR FTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	263
A7D12.2 全長CART	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFADDFKG RFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGS GGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDR FTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR	267
C11D5.3 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	256
C11D5.3 VL	DIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARF SGSGSGTDFTLTIDPVEEDDVAIYSCLQSRIFPRTFGGGTKLEIK	260
C11D5.3 scFvドメイン	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	264
C11D5.3 全長CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR	268
C12A3.2 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKG RFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSS	257
C12A3.2 VL	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	261
C12A3.2 scFvドメイン	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKG RFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	265
C12A3.2 全長CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKG RFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS	269

【表５６】

	LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	
C13F12.1 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKG RFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS	258
C13F12.1 VL	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	262
C13F12.1 scFvドメイン	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKG RFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	266
C13F12.1 全長CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKG RFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	270

【０３４３】

ある態様において、ＶＬの前にＶＨを有する例示的なヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖの核酸配列(Ｈ２Ｌ、例えば、ｐＢＣＭＡ２およびｐＢＣＭＡ４)は、以下の通りである：

CAGGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCTCCGTGAAAGT
GAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTCAGCAACTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGG
CCCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGCCACCTACAGGGGCCACAGCGACACCTAC
TACAACCAGAAGTTCAAGGGCCGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGC
CTACATGGAACTGAGCAGCCTCAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGCGCCAGGG
GCGCCATCTACAACGGCTACGACGTGCTGGACAACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACC
GTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTAGCGGAGGAGGCGGGAGCGGTGGAGGTGGCTCTGGAG
GTGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGC
GACAGGGTGACCATTACCTGCTCCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTA
CCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCAACCTGCACT
CCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATC
TCCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGGAAGCTCCC
CTGGACTTTCGGCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGCGT

(配列番号２７２)

【０３４４】

ＶＬの前にＶｈを有する例示的なヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｈ２Ｌ、例えば、ｐＢＣＭＡ２およびｐＢＣＭＡ４)の対応するアミノ酸配列は、以下の通りである：

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S N Y W M H W V R
Q A P G Q G L E W M G A T Y R G H S D T Y Y N Q K F K G R V T I T A D K S T
S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G A I Y N G Y D V L D N W G Q G
T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S L S
A S V G D R V T I T C S A S Q D I S N Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y Y T
S N L H S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q
Y R K L P W T F G Q G T K L E I K R(配列番号２７１)

【０３４５】

ある態様において、ＶＨの前にＶＬを有する例示的なヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖの核酸配列(Ｌ２Ｈ、例えば、ｐＢＣＭＡ１およびｐＢＣＭＡ３)は、以下の通りである：
GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGAC
CATTACCTGCTCCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCAACCTGCACTCCGGCGTGCCC
AGCAGGTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCTCCAGCCTGCA
GCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGGAAGCTCCCCTGGACTTTCG
GCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGCGTGGTGGAGGAGGTAGCGGAGGAGGCGGGAG
CGGTGGAGGTGGCTCTGGAGGTGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGCCG
AAGTGAAGAAGCCCGGCAGCTCCGTGAAAGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTC
AGCAACTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGG
CGCCACCTACAGGGGCCACAGCGACACCTACTACAACCAGAAGTTCAAGGGCCGGGTGA
CCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTCAGGAGC
GAGGACACCGCTGTGTATTACTGCGCCAGGGGCGCCATCTACAACGGCTACGACGTGCT
GGACAACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC
(配列番号２７４)

【０３４６】

ＶＨの前にＶＬを有する例示的なヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｌ２Ｈ、例えば、ｐＢＣＭＡ１およびｐＢＣＭＡ３)の対応するアミノ酸配列は、以下の通りである：
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSNLHSGV
PSRFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRKLPWTFGQ GTKLEIKRGG GGSGGG
GSGGGGSGGGGSQV QLVQSGAEVK KPGSSVKVSC KASGGTFSNY WMHWVRQAPG Q
GLEWMGATYRGHSDTYYNQ KFKGRVTITA DKSTSTAYME LSSLRSEDTA VYYCARGA
IYNGYDVLDNWGQGTLVTVSS(配列番号２７３)

【０３４７】

ＣＡＲのｓｃＦｖフラグメントを、レンチウイルスベクターにクローニングして、単一のコーディングフレーム中に、発現のためのＥＦ１アルファプロモーター(配列番号１１)を使用して、全長ＣＡＲ構築物を作り出すことができる。

【０３４８】

ＣＡＲ構築物は、以下の配列：GGGGS(配列番号２５)の１以上を有するＧｌｙ／Ｓｅｒリンカー；１～６個の「Gly Gly Gly Gly Ser」反復単位を包含するもの、例えば、GGGGS GGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(配列番号２６)；GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(配列番号２７)；GGGGSGGGGS GGGGS(配列番号28)；GGGS(配列番号２９)；または１～１０個の「Ｇｌｙ　Ｇｌｙ　Ｇｌｙ　Ｓｅｒ」反復単位を包含するもの、例えば、GGGS GGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS(配列番号３８)を包含していてもよい。ある態様において、ＣＡＲ構築物は、ポリＡ配列、例えば、５０～５０００または１００～５０００個のアデニンを包含する配列(例えば、配列番号３０、配列番号３３、配列番号３４または配列番号３５)または５０～５０００個のチミンを包含する配列(例えば、配列番号３１、配列番号３２)を包含する。あるいは、ＣＡＲ構築物としては、例えば、配列ＧＳＴＳＧＳＧＫＰＧＳＧＥＧＳＴＫＧ(配列番号１１０８)を包含するリンカーを挙げることができる。

【０３４９】

二重特異性ＣＡＲ

ある態様において、多重特異性抗体分子は、二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体は、２以下の抗原に特異性を有する。二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有する第一の免疫グロブリンの可変ドメイン配列および第二のエピトープに結合特異性を有する第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列を特徴とする。ある態様において、第一および第二のエピトープは、同じ抗原、例えば、同じタンパク質(または多量体タンパク質のサブユニット)上にある。ある態様において、第一および第二のエピトープは、オーバーラップしている。ある態様において、第一および第二のエピトープは、オーバーラ

ップしていない。ある態様において、第一および第二のエピトープは、異なる抗原、例えば、異なるタンパク質(または異なる多量体タンパク質のサブユニット)上にある。ある態様において、二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列および軽鎖可変ドメイン配列、ならびに第二のエピトープに結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列および軽鎖可変ドメイン配列を含む。ある態様において、二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有する半抗体および第二のエピトープに結合特異性を有する半抗体を含む。ある態様において、二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有する半抗体またはそれらのフラグメントおよび第二のエピトープに結合特異性を有する半抗体またはそれらのフラグメントを含む。ある態様において、二重特異性抗体分子は、第一のエピトープに結合特異性を有するｓｃＦｖまたはそれらのフラグメントおよび第二のエピトープに結合特異性を有するｓｃＦｖまたはそれらのフラグメントを含む。

【０３５０】

ある特定の態様において、抗体分子は、多重特異性(例えば、二重特異性または三重特異性)抗体分子である。二重特異性またはヘテロ二量体抗体分子を生成するためのプロトコールは当業界において公知であり、例えば、これらに限定されないが、例えばＵＳ５７３１１６８で説明されている、例えば、「ノブインアホール(knob in a hole)」アプローチ；例えばＷＯ０９／０８９００４、ＷＯ０６／１０６９０５およびＷＯ２０１０／１２９３０４で説明されている、静電的操作によるＦｃ対形成；例えばＷＯ０７／１１０２０５で説明されている、鎖交換加工ドメイン(Strand Exchange Engineered Domains：ＳＥＥＤ)ヘテロ二量体形成；例えばＷＯ０８／１１９３５３、ＷＯ２０１１／１３１７４６およびＷＯ２０１３／０６０８６７で説明されている、Ｆａｂアーム交換；例えばＵＳ４４３３０５９で説明されている、例えば、アミン応答性基とスルフヒドリル応答性基とを有するヘテロ二官能性試薬を使用して二重特異性構造を生成するための抗体架橋による、二重の抗体コンジュゲート；例えばＵＳ４４４４８７８で説明されている、２重鎖間のジスルフィド結合の還元および酸化のサイクルを介して異なる抗体からの半抗体(重鎖－軽鎖対またはＦａｂ)を組み換えることによって生成された二重特異性抗体決定基；例えばＵＳ５２７３７４３で説明されている、スルフヒドリル応答性基を介して架橋された三官能性の抗体、例えば、３Ｆａｂ’フラグメント；例えばＵＳ５５３４２５４で説明されている、Ｃ末端尾部を介して架橋された、好ましくはジスルフィドまたはアミン応答性の化学的架橋を介した、生合成結合タンパク質、例えばｓｃＦｖ対；例えばＵＳ５５８２９９６で説明されている、二機能性抗体、例えば、定常ドメインと置き換えられたロイシンジッパー(例えば、ｃ－ｆｏｓおよびｃ－ｊｕｎ)を介して二量体化された異なる結合特異性を有するＦａｂフラグメント；例えばＵＳ５５９１８２８で説明されている、二重特異性および多重特異性のモノ－および多価受容体、例えば、一方の抗体のＣＨ１領域と、典型的には軽鎖が結合した他方の抗体のＶＨ領域との間でポリペプチドスペーサーを介して連結された２抗体(２Ｆａｂフラグメント)のＶＨ－ＣＨ１領域；例えばＵＳ５６３５６０２で説明されている、二重特異性ＤＮＡ－抗体コンジュゲート、例えば、ＤＮＡの二本鎖断片を介した抗体またはＦａｂフラグメントの架橋形成；例えばＵＳ５６３７４８１で説明されている、二重特異性融合タンパク質、例えば、親水性のらせん状ペプチドリンカーを間に有する２ｓｃＦｖおよび完全な定常領域を含有する発現構築物；例えばＵＳ５８３７２４２で説明されている、多価および多重特異性結合タンパク質、例えば、一般的にダイアボディと呼ばれるＩｇ重鎖可変領域の結合領域を有する第一のドメインとＩｇ軽鎖可変領域の結合領域を有する第二のドメインとを有するポリペプチドの二量体(二重特異性、三重特異性または四重特異性の分子のために作り出されるより高次の構造も包含される)；例えばＵＳ５８３７８２１で説明されている、ＶＬおよびＶＨ鎖が連結されており、さらにペプチドスペーサーを用いて抗体のヒンジ領域およびＣＨ３領域と接続されているミニボディ構築物であって、二量体化されて二重特異性／多価分子を形成することができるミニボディ構築物；短いペプチドリンカー(例えば、５または１０アミノ酸)を用いてまたはまったくリンカーを用いずにいずれかの方向で連結されたＶＨおよびＶＬドメインであって、二量体を形

成して、二重特異性ダイアボディを形成することができる、ドメイン；例えばＵＳ５８４４０９４で説明されている、三量体および四量体；例えばＵＳ５８６４０１９で説明されている、Ｃ末端で架橋性基を用いたペプチド結合によって接続され、ＶＬドメインとさらに結合して一連のＦＶ(またはｓｃＦｖ)を形成する、ＶＨドメイン(またはファミリーメンバー中のＶＬドメイン)のストリング；ならびに例えばＵＳ５８６９６２０で説明されている、ＶＨおよびＶＬドメインの両方がペプチドリンカーを介して連結された単一の鎖結合ポリペプチドであって、非共有結合または化学的な架橋形成を介して多価構造に組み合わされて、ｓｃＦＶまたはダイアボディタイプの様式の両方を使用して例えばホモ２価、ヘテロ２価、３価および４価構造を形成する、ポリペプチドが挙げられる。追加の例示的な多重特異性および二重特異性分子ならびにそれらの作製方法は、例えば、ＵＳ５９１０５７３、ＵＳ５９３２４４８、ＵＳ５９５９０８３、ＵＳ５９８９８３０、ＵＳ６００５０７９、ＵＳ６２３９２５９、ＵＳ６２９４３５３、ＵＳ６３３３３９６、ＵＳ６４７６１９８、ＵＳ６５１１６６３、ＵＳ６６７０４５３、ＵＳ６７４３８９６、ＵＳ６８０９１８５、ＵＳ６８３３４４１、ＵＳ７１２９３３０、ＵＳ７１８３０７６、ＵＳ７５２１０５６、ＵＳ７５２７７８７、ＵＳ７５３４８６６、ＵＳ７６１２１８１、ＵＳ２００２００４５８７Ａ１、ＵＳ２００２０７６４０６Ａ１、ＵＳ２００２１０３３４５Ａ１、ＵＳ２００３２０７３４６Ａ１、ＵＳ２００３２１１０７８Ａ１、ＵＳ２００４２１９６４３Ａ１、ＵＳ２００４２２０３８８Ａ１、ＵＳ２００４２４２８４７Ａ１、ＵＳ２００５００３４０３Ａ１、ＵＳ２００５００４３５２Ａ１、ＵＳ２００５０６９５５２Ａ１、ＵＳ２００５０７９１７０Ａ１、ＵＳ２００５１００５４３Ａ１、ＵＳ２００５１３６０４９Ａ１、ＵＳ２００５１３６０５１Ａ１、ＵＳ２００５１６３７８２Ａ１、ＵＳ２００５２６６４２５Ａ１、ＵＳ２００６０８３７４７Ａ１、ＵＳ２００６１２０９６０Ａ１、ＵＳ２００６２０４４９３Ａ１、ＵＳ２００６２６３３６７Ａ１、ＵＳ２００７００４９０９Ａ１、ＵＳ２００７０８７３８１Ａ１、ＵＳ２００７１２８１５０Ａ１、ＵＳ２００７１４１０４９Ａ１、ＵＳ２００７１５４９０１Ａ１、ＵＳ２００７２７４９８５Ａ１、ＵＳ２００８０５０３７０Ａ１、ＵＳ２００８０６９８２０Ａ１、ＵＳ２００８１５２６４５Ａ１、ＵＳ２００８１７１８５５Ａ１、ＵＳ２００８２４１８８４Ａ１、ＵＳ２００８２５４５１２Ａ１、ＵＳ２００８２６０７３８Ａ１、ＵＳ２００９１３０１０６Ａ１、ＵＳ２００９１４８９０５Ａ１、ＵＳ２００９１５５２７５Ａ１、ＵＳ２００９１６２３５９Ａ１、ＵＳ２００９１６２３６０Ａ１、ＵＳ２００９１７５８５１Ａ１、ＵＳ２００９１７５８６７Ａ１、ＵＳ２００９２３２８１１Ａ１、ＵＳ２００９２３４１０５Ａ１、ＵＳ２００９２６３３９２Ａ１、ＵＳ２００９２７４６４９Ａ１、ＥＰ３４６０８７Ａ２、ＷＯ０００６６０５Ａ２、ＷＯ０２０７２６３５Ａ２、ＷＯ０４０８１０５１Ａ１、ＷＯ０６０２０２５８Ａ２、ＷＯ２００７０４４８８７Ａ２、ＷＯ２００７０９５３３８Ａ２、ＷＯ２００７１３７７６０Ａ２、ＷＯ２００８１１９３５３Ａ１、ＷＯ２００９０２１７５４Ａ２、ＷＯ２００９０６８６３０Ａ１、ＷＯ９１０３４９３Ａ１、ＷＯ９３２３５３７Ａ１、ＷＯ９４０９１３１Ａ１、ＷＯ９４１２６２５Ａ２、ＷＯ９５０９９１７Ａ１、ＷＯ９６３７６２１Ａ２、ＷＯ９９６４４６０Ａ１で見出される。上記で参照した出願の内容は、この参照によりそれらの全体が開示に組み入れられる。

【０３５１】

二重特異性抗体分子の各抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)内で、ＶＨは、ＶＬの上流であってもよいしまたは下流であってもよい。ある態様において、上流の抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)は、全体的な二重特異性抗体分子がＶＨ１－ＶＬ１－ＶＬ２－ＶＨ２のアレンジメントを有するように、そのＶＬ(ＶＬ１)の上流にそのＶＨ(ＶＨ１)があるようにアレンジされ、下流の抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)は、そのＶＨ(ＶＨ２)の上流にそのＶＬ(ＶＬ２)があるようにアレンジされる。他の態様において、上流の抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)は、全体的な二重特異性抗体分子がＶＬ１－ＶＨ１－ＶＨ２－ＶＬ２のアレンジメントを有するように、そのＶＨ(ＶＨ１)の上流がそのＶＬ(ＶＬ１)にあるようにアレンジされ、下流の抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)は、そのＶＬ(ＶＬ２)の上流にそのＶＨ(ＶＨ２)

があるようにアレンジされる。リンカーは、２抗体または抗体フラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)の間に配置されてもよく、例えば、構築物がＶＨ１－ＶＬ１－ＶＬ２－ＶＨ２のようにアレンジされる場合はＶＬ１とＶＬ２との間にまたは構築物がＶＬ１－ＶＨ１－ＶＨ２－ＶＬ２のようにアレンジされる場合はＶＨ１とＶＨ２との間に配置されてもよい。リンカーは、本明細書で記載されるリンカー、例えば、(Ｇｌｙ４－Ｓｅｒ)ｎリンカーであってもよく、ここでｎは、１、２、３、４、５または６であり、好ましくは４(配列番号２６)である。一般的に、２ｓｃＦｖ間のリンカーは、２ｓｃＦｖのドメイン間での誤った対形成が回避される程度に長いと予想される。リンカーは、第一のｓｃＦｖのＶＬとＶＨとの間に配置されてもよい。リンカーは、第二のｓｃＦｖのＶＬとＶＨとの間に配置されてもよい。複数のリンカーを有する構築物において、リンカーのいずれか２以上は、同一のものであってもよいしまたは異なるものであってもよい。したがって、ある態様において、二重特異性ＣＡＲは、本明細書で記載されるアレンジメントにおいて、ＶＬ、ＶＨおよび任意に１以上のリンカーを含む。

【０３５２】

ある面において、二重特異性抗体分子は、ＢＣＭＡに結合特異性を有し、例えば、本明細書で記載される、例えば表１または表１６で記載されるｓｃＦｖを含むかまたは本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ｓｃＦｖからの軽鎖ＣＤＲおよび／または重鎖ＣＤＲを含む、第一の免疫グロブリンの可変ドメイン配列、例えばｓｃＦｖと、異なる抗原における第二のエピトープに結合特異性を有する第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列とを特徴とする。いくつかの面において、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、ＡＭＬ細胞上で発現される抗原、例えば、ＢＣＭＡ以外の抗原に結合特異性を有する。例えば、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、ＣＤ１２３に結合特異性を有する。別の例として、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、ＣＬＬ－１に結合特異性を有する。別の例として、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、ＣＤ３４に結合特異性を有する。別の例として、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、ＦＬＴ３に結合特異性を有する。例えば、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、葉酸受容体ベータに結合特異性を有する。いくつかの面において、第二の免疫グロブリンの可変ドメイン配列は、Ｂ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂまたはＣＤ７９ａに結合特異性を有する。

【０３５３】

キメラＴＣＲ

ある面において、本発明の抗ＢＣＭＡ抗体および抗体フラグメント(例えば、表１および１６で開示されたもの)を、Ｔ細胞受容体(「ＴＣＲ」)鎖、例えば、ＴＣＲアルファまたはＴＣＲベータ鎖の１以上の定常ドメインにグラフト化して、ＢＣＭＡに特異的に結合するキメラＴＣＲを作り出すこともできる。理論に縛られることはないが、キメラＴＣＲは、抗原結合の際にＴＣＲ複合体を介してシグナル伝達すると考えられる。例えば、本明細書で開示されるＢＣＭＡ　ｓｃＦｖは、ＴＣＲ鎖、例えば、ＴＣＲアルファ鎖および／またはＴＣＲベータ鎖の、定常ドメイン、例えば細胞外定常ドメインの少なくとも一部、膜貫通ドメインおよび細胞質内ドメインにグラフト化されてもよい。別の例として、ＢＣＭＡ抗体フラグメント、例えば本明細書で記載されるＶＬドメインは、ＴＣＲアルファ鎖の定常ドメインにグラフト化されてもよいし、ＢＣＭＡ抗体フラグメント、例えば本明細書で記載されるＶＨドメインは、ＴＣＲベータ鎖の定常ドメインにグラフト化されてもよい(または代替として、ＶＬドメインは、ＴＣＲベータ鎖の定常ドメインにグラフト化されてもよいし、ＶＨドメインは、ＴＣＲアルファ鎖にグラフト化されてもよい)。別の例として、抗ＢＣＭＡ抗体または抗体フラグメントのＣＤＲ、例えば、表２０、２１、２２、２３、２４または２５に記載される抗ＢＣＭＡ抗体または抗体フラグメントのＣＤＲを、ＴＣＲアルファおよび／またはベータ鎖にグラフト化して、ＢＣＭＡに特異的に結合するキメラＴＣＲを作り出してもよい。例えば、本明細書で開示されたＬＣＤＲは、ＴＣＲアルファ鎖の可変ドメインにグラフト化されてもよいし、本明細書で開示されたＨＣＤＲは、ＴＣＲ

ベータ鎖の可変ドメインにグラフト化されてもよくまたは逆もまた同様である。このようなキメラＴＣＲは、当業界において公知の方法によって生産され得る(例えば、Willemsen RA et al, Gene Therapy 2000; 7: 1369-1377; Zhang T et al, Cancer Gene Ther 2004; 11: 487-496; Aggen et al, Gene Ther. 2012 Apr;19(4):365-74)。

【０３５４】

膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、様々な態様において、ＣＡＲの細胞外ドメインに付着した膜貫通ドメインが含まれるように、ＣＡＲを設計することができる。膜貫通ドメインは、膜貫通領域に隣接する１以上の追加のアミノ酸、例えば、膜貫通が誘導されたタンパク質の細胞外領域と会合する１以上のアミノ酸(例えば、細胞外領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０から最大１５のアミノ酸)および／または膜貫通タンパク質が誘導されたタンパク質の細胞内領域に会合した１以上の追加のアミノ酸(例えば、細胞内領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０から最大１５のアミノ酸)を包含していてもよい。ある面において、膜貫通ドメインは、使用されるＣＡＲの他のドメインの１つと会合しているドメインである。いくつかの場合において、膜貫通ドメインが同一または異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインと結合しないように、例えば、受容体複合体の他の一員との相互作用が最小化されるように、膜貫通ドメインを選択してもよいしまたはアミノ酸置換によって改変してもよい。ある面において、膜貫通ドメインは、ＣＡＲを発現する細胞の、例えばＣＡＲＴ細胞の表面上で別のＣＡＲとホモ二量体化することができる。異なる面において、膜貫通ドメインのアミノ酸配列は、同じＣＡＲを発現する細胞、例えばＣＡＲＴに存在する天然型の結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小化するように改変または置換されていてもよい。

【０３５５】

膜貫通ドメインは、天然源から得てもよいしまたは組換え源から得てもよい。源が天然である場合、そのドメインは、あらゆる膜結合タンパク質または膜貫通タンパク質に由来するものであってもよい。ある面において、膜貫通ドメインは、ＣＡＲが標的に結合したときはいつでも細胞内ドメインにシグナル伝達することができる。本発明において特定の用途を有する膜貫通ドメインは、少なくとも、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８(例えば、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ)、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４の膜貫通領域を包含していてもよい。ある態様において、膜貫通ドメインは、共刺激分子の少なくとも膜貫通領域、例えば、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、

ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドを包含していてもよい。

【０３５６】

いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えばヒトタンパク質由来のヒンジを介して、ＣＡＲの細胞外領域、例えばＣＡＲの抗原結合ドメインに付着することができる。例えば、ある態様において、ヒンジは、ヒトＩｇ(免疫グロブリン)のヒンジ、例えばＩｇＧ４ヒンジまたはＣＤ８ａヒンジであってもよい。ある態様において、ヒンジまたはスペーサーは、配列番号２のアミノ酸配列を含む(例えば、これらからなる)。ある面において、膜貫通ドメインは、配列番号６の膜貫通ドメインを含む(例えば、これらからなる)。

【０３５７】

ある面において、ヒンジまたはスペーサーは、ＩｇＧ４ヒンジを含む。例えば、ある態様において、ヒンジまたはスペーサーは、アミノ酸配列ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM(配列番号３)のヒンジを含む。ある態様において、ヒンジまたはスペーサーは、GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG(配列番号１４)のヌクレオチド配列によってコードされたヒンジを含む。

【０３５８】

ある面において、ヒンジまたはスペーサーは、ＩｇＤヒンジを含む。例えば、ある態様において、ヒンジまたはスペーサーは、アミノ酸配列RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH(配列番号４)のヒンジを含む。ある態様において、ヒンジまたはスペーサーは、AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAG

10 20 30 40 50

CCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTC
TAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT(配列番号１５)のヌクレオチド配列
によってコードされたヒンジを含む。
【０３５９】
ある面において、膜貫通ドメインは組換えであってもよく、その場合、膜貫通ドメインは
、主としてロイシンおよびバリンなどの疎水性残基を含むと予想される。ある面において
、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンの三つ組は、組換え膜貫通ドメインの
それぞれの末端で見出すことができる。
【０３６０】
ＣＡＲの膜貫通ドメインと細胞質内領域との間で、長さが２から１０アミノ酸の間の短い
オリゴリンカーまたはポリペプチドリンカーが連結を形成していてもよい。グリシン－セ
リンの二つ組が特に好適なリンカーを付与する。例えば、ある面において、リンカーは、
GGGGSGGGGS(配列番号５)のアミノ酸配列を含む。ある態様において、リンカーは、GG
TGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC(配列番号１６)のヌクレオチド配列によってコ
ードされる。
【０３６１】
ある面において、ヒンジまたはスペーサーは、ＫＩＲ２ＤＳ２ヒンジを含む。
【０３６２】
細胞質内ドメイン
本発明のＣＡＲの細胞質内ドメインまたは領域は、細胞内シグナル伝達ドメインを包含す
る。細胞内シグナル伝達ドメインは、一般的に、ＣＡＲが導入されている免疫細胞の正常
なエフェクター機能の少なくとも１の活性化に関与する。
【０３６３】
本発明のＣＡＲで使用するための細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、抗原受容体
と接触した後にシグナル伝達を開始させるように協同して作用するＴ細胞受容体(ＴＣＲ)
および補助受容体の細胞質内配列、加えて同じ機能的な能力を有するこれらの配列および
あらゆる組換え配列のあらゆる誘導体または変異体が挙げられる。
【０３６４】
ＴＣＲ単独により生成されたシグナルは、Ｔ細胞を完全に活性化させるには不十分であり
、さらに二次的および／または共刺激シグナルも必要であることが知られている。したが
って、Ｔ細胞の活性化は、細胞質内シグナル伝達配列の２の別個のクラス：ＴＣＲを介し
た抗原依存性の一次活性化を開始させるクラス(一次細胞内シグナル伝達ドメイン)および
抗原非依存性の方式で作用して二次シグナルまたは共刺激シグナルを提供するクラス(二次
細胞質内ドメイン、例えば共刺激ドメイン)によって媒介されるということができる。
【０３６５】
一次シグナル伝達ドメインは、刺激による方式または阻害による方式のいずれかでＴＣＲ
複合体の一次的な活性化を調節する。刺激による方式で作用する一次細胞内シグナル伝達
ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはＩＴＡＭとして知られる
シグナル伝達モチーフを含有していてもよい 。
【０３６６】
本発明において特に有用なＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメインの例とし
ては、ＴＣＲゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ
３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８(「ＩＣＯＳ」と
しても公知)ＦｃεＲＩ、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２およびＣＤ６６ｄの上記ドメインが挙げ
られる。ある態様において、本発明のＣＡＲは、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えばＣ
Ｄ３－ゼータの一次シグナル伝達ドメインを含む。
【０３６７】
ある態様において、一次シグナル伝達ドメインは、改変されたＩＴＡＭドメイン、例えば
、天然ＩＴＡＭドメインと比較して活性が変更された(例えば、増加または減少した)、変
異したＩＴＡＭドメインを含む。ある態様において、一次シグナル伝達ドメインは、改変

されたＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、最適化および／またはトランケートされたＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、一次シグナル伝達ドメインは、１、２、３、４以上のＩＴＡＭモチーフを含む。

【０３６８】

本発明において特定の用途を有する一次細胞内シグナル伝達ドメインを含有する分子のさらなる例としては、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２およびＣＤ３２のものが挙げられる。

【０３６９】

ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ３－ゼータシグナル伝達ドメインそれ自身を含んでいてもよいしまたは本発明のＣＡＲの状況において有用な他のあらゆる所望の細胞内シグナル伝達ドメインと組み合わせることができる。例えば、ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータ鎖の部分および共刺激シグナル伝達ドメインを含んでいてもよい。共刺激シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むＣＡＲの一部を指す。共刺激分子とは、抗原に対する効率的なリンパ球応答に必要な、抗原受容体以外の細胞表面分子またはそのリガンドである。このような分子の例としては、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドおよび同種のものが挙げられる。例えば、ＣＤ２７の共刺激は、インビトロにおけるヒトＣＡＲＴ細胞の拡大、エフェクター機能および生存を強化し、インビボにおけるヒトＴ細胞の持続性および抗腫瘍活性を増大させることが実証されている(Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706)。本発明のＣＡＲの細胞質内部分内の細胞内シグナル伝達配列は、ランダムな順番または特定の順番で互いに連結されていてもよい。例えば長さが２から１０アミノ酸の間(例えば、２、３、４、５、６、７、８、９または１０アミノ酸)の短いオリゴリンカーまたはポリペプチドリンカーが、細胞内シグナル伝達配列間の連結を形成していてもよい。ある態様において、好適なリンカーとして、グリシン－セリンの二つ組を使用することができる。ある態様において、好適なリンカーとして、単一のアミノ酸、例えばアラニン、グリシンを使用することができる。

【０３７０】

ある面において、細胞内シグナル伝達ドメインは、２以上、例えば、２、３、４、５以上の共刺激シグナル伝達ドメインが含まれるように設計される。ある態様において、２以上、例えば、２、３、４、５以上の共刺激シグナル伝達ドメインは、リンカー分子、例えば本明細書で記載されるリンカー分子によって隔てられる。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、２共刺激シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、

リンカー分子は、グリシン残基である。いくつかの態様において、リンカーは、アラニン残基である。

【０３７１】

ある面において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ２８のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある面において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよび４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある面において、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号７のシグナル伝達ドメインである。ある面において、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号９(変異ＣＤ３ゼータ)または配列番号１０(野生型ヒトＣＤ３ゼータ)のシグナル伝達ドメインである。

【０３７２】

ある面において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ２７のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある面において、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号８)のアミノ酸配列を含む。ある面において、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(配列番号１９)の核酸配列によってコードされる。

【０３７３】

ある面において、細胞内は、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ２８のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある面において、ＣＤ２８のシグナル伝達ドメインは、配列番号１１０４のアミノ酸配列を含む。ある面において、ＣＤ２８のシグナル伝達ドメインは、配列番号１１０５の核酸配列によってコードされる。

【０３７４】

ある面において、細胞内は、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよびＩＣＯＳのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある面において、ＩＣＯＳのシグナル伝達ドメインは、配列番号１１０６のアミノ酸配列を含む。ある面において、ＩＣＯＳのシグナル伝達ドメインは、配列番号１１０７の核酸配列によってコードされる。

【０３７５】

ある面において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞は、第二のＣＡＲ、例えば同じ標的(ＢＣＭＡ)または異なる標的に対する、例えば異なる抗原結合ドメインを包含する第二のＣＡＲ(例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、もしくはＣＳ－１または他の多発性骨髄腫の標的、例えば、カッパ軽鎖、ＣＤ１３８、ルイスＹ抗原、もしくはＣＤ３８(Garfall et al., Discovery Medicine, 2014, 17(91):37-46)]をさらに含んでいてもよい。ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、第一の抗原を標的とし、共刺激シグナル伝達ドメインを有するが一次シグナル伝達ドメインを有さない細胞内シグナル伝達ドメインを包含する第一のＣＡＲおよび第二の異なる抗原を標的とし、一次シグナル伝達ドメインを有するが共刺激シグナル伝達ドメインを有さない細胞内シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲを含む。理論に縛られることは望まないが、第一のＣＡＲにおける、共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳまたはＯＸ－４０および第二のＣＡＲにおける、一次シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータの設置は、両方の標的が発現される細胞に対するＣＡＲ活性を制限することができる。ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび共刺激ドメインを包含する第一のＢＣＭＡ　ＣＡＲ、ならびにＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、白血病またはリンパ腫細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＳ－１、カッパ軽鎖、ＣＤ１３９、ルイスＹ抗原またはＣＤ３８)を標的とし、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲを含む。別の態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを包含する第一のＢＣＭＡ　ＣＡＲ、ならびにＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、白血病またはリンパ腫細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、

ＣＳ－１、カッパ軽鎖、ＣＤ１３９、ルイスＹ抗原またはＣＤ３８)を標的とし、抗原に対する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび共刺激シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲを含む。ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲおよびＣＤ１９(ＣＤ１９　ＣＡＲ)を標的とするＣＡＲを含む。

【０３７６】

ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲおよび阻害性ＣＡＲを含む。ある態様において、阻害性ＣＡＲは、正常細胞上で見出されるが、癌細胞、例えばメソテリンも発現する正常細胞では見出されない抗原と結合する抗原結合ドメインを含む。ある態様において、阻害性ＣＡＲは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび阻害分子の細胞内ドメインを含む。例えば、阻害性ＣＡＲの細胞内ドメインは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータの細胞内ドメインであってもよい。

【０３７７】

ある態様において、ＣＡＲ発現細胞が２種以上の異なるＣＡＲを含む場合、異なるＣＡＲの抗原結合ドメインは、抗原結合ドメインが互いに相互作用しないようになっていてもよい。例えば、第一および第二のＣＡＲを発現する細胞は、例えばフラグメント、例えばｓｃＦｖとして、第二のＣＡＲの抗原結合ドメインとの会合を形成しない第一のＣＡＲの抗原結合ドメインを有していてもよく、例えば、第二のＣＡＲの抗原結合ドメインは、ＶＨＨである。

【０３７８】

ある態様において、抗原結合ドメインは、相補性決定領域が単一ドメインのポリペプチドの一部である分子を含む単一ドメイン抗原結合(ＳＤＡＢ)分子を含む。例としては、これらに限定されないが、重鎖可変ドメイン、天然に軽鎖が欠失した結合分子、従来の４鎖抗体由来の単一ドメイン、加工されたドメインおよび抗体由来のもの以外の単一ドメイン足場が挙げられる。ＳＤＡＢ分子は、当業界のいずれかのものかまたはいずれかの将来的な単一ドメイン分子でもよい。ＳＤＡＢ分子は、あらゆる種由来であってもよく、これらに限定されないが、マウス、ヒト、ラクダ、ラマ、ヤツメウナギ、魚類、サメ、ヤギ、ウサギおよびウシ由来であってもよい。またこの用語は、ラクダ科動物およびサメ以外の種からの天然に存在する単一ドメイン抗体分子も包含する。

【０３７９】

ある面において、ＳＤＡＢ分子は、魚類に見出される免疫グロブリンの可変領域由来、例えば、サメ血清中に見出される新規の抗原受容体(ＮＡＲ)として公知の免疫グロブリンアイソタイプ由来の免疫グロブリンの可変領域などであってもよい。ＮＡＲ(「ＩｇＮＡＲ」)の可変領域由来の単一ドメイン分子を生産する方法は、ＷＯ０３／０１４１６１およびStreltsov (2005) Protein Sci. 14:2901-2909で説明されている。

【０３８０】

別の面によれば、ＳＤＡＢ分子は、軽鎖が欠失した重鎖として公知の天然に存在する単一ドメイン抗原結合分子である。このような単一ドメイン分子は、例えば、ＷＯ９４０４６７８およびHamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363:446-448に開示されている。明確さの理由のために、天然に軽鎖が欠失した重鎖分子由来のこの可変ドメインは、本明細書において、それを従来の４鎖の免疫グロブリンのＶＨと区別するために、ＶＨＨまたはナノボディとして理解される。このようなＶＨＨ分子は、ラクダ科の種由来であってもよく、例えばラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカおよびグアナコ中にある。ラクダ科以外の他の種が天然に軽鎖が欠失した重鎖分子を生産する可能性があり、このようなＶＨＨは、本発明の範囲内である。

【０３８１】

ＳＤＡＢ分子は、組換え、ＣＤＲグラフト化、ヒト化、ラクダ化、脱免疫化および／またはインビトロで生成されてもよい(例えば、ファージディスプレイによって選択される)。

【０３８２】

また、受容体の抗原結合ドメイン間で相互作用する抗原結合ドメインを含む複数のキメラ膜貫通型受容体を有する細胞は、例えばその同種抗原と結合する抗原結合ドメインの１以上の能力を阻害することから、望ましくない可能性があることも発見された。したがって、このような相互作用を最小化する抗原結合ドメインを含む第一および第二の天然に存在しないキメラ膜貫通型受容体を有する細胞が、本明細書で開示される。さらに、このような相互作用を最小化する抗原結合ドメインを含む第一および第二の天然に存在しないキメラ膜貫通型受容体をコードする核酸、加えてこのような細胞および核酸の作製および使用方法も本明細書で開示される。ある態様において、前記第一、前記第二の天然に存在しないキメラ膜貫通型受容体のうち一方の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含み、他方は、単一のＶＨドメイン、例えば、ラクダ、サメ、もしくはヤツメウナギの単一のＶＨドメインまたはヒトもしくはマウス配列由来の単一のＶＨドメインを含む。

【０３８３】

ある態様において、特許請求された発明は、第一および第二のＣＡＲを含み、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、可変軽鎖ドメインおよび可変重鎖ドメインを含まない。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、他方は、ｓｃＦｖではない。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、単一のＶＨドメイン、例えば、ラクダ、サメまたはヤツメウナギの単一のＶＨドメインまたはヒトもしくはマウス配列由来の単一のＶＨドメインを含む。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、ナノボディを含む。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、ラクダＶＨＨドメインを含む。

【０３８４】

ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインはｓｃＦｖを含み、他方は、単一のＶＨドメイン、例えば、ラクダ、サメまたはヤツメウナギの単一のＶＨドメインまたはヒトもしくはマウス配列由来の単一のＶＨドメインを含む。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインはｓｃＦｖを含み、他方は、ナノボディを含む。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲのうち一方の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含み、他方は、ラクダＶＨＨドメインを含む。

【０３８５】

ある態様において、細胞表面上に提示される場合、前記第一のＣＡＲの抗原結合ドメインのその同種抗原への結合は、前記第二のＣＡＲの存在によって実質的に低減されない。ある態様において、前記第二のＣＡＲの存在下における前記第一のＣＡＲの抗原結合ドメインのその同種抗原への結合は、前記第二のＣＡＲの非存在下における前記第一のＣＡＲの抗原結合ドメインのその同種抗原への結合の、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％である。

【０３８６】

ある態様において、細胞表面上に提示される場合、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲの抗原結合ドメインは、両方がｓｃＦｖ抗原結合ドメインの場合よりも低い程度に互いに会合している。ある態様において、前記第一のＣＡＲ、前記第二のＣＡＲの抗原結合ドメインは、両方がｓｃＦｖ抗原結合ドメインの場合よりも、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％低い程度に互いに会合している。

【０３８７】

別の面において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞は、別の薬剤、例えばＣＡＲを発現する細胞の活性を増強する薬剤をさらに発現することができる。例えば、ある態様において、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤、例えば本明細書で記載される薬剤であっ

てもよい。阻害分子、例えばＰＤ１は、ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞の免疫エフェクター応答を展開する能力を低減することができる。阻害分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータが挙げられる。ある態様において、阻害分子を阻害する薬剤は、細胞に陽性シグナルを提供する第二のポリペプチド、例えば本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインと会合した、第一のポリペプチド、例えば阻害分子を含む。ある態様において、薬剤は、例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータまたはこれらのいずれかのフラグメント(例えば、これらのいずれかの細胞外ドメインの少なくとも一部)などの阻害分子の第一のポリペプチド、ならびに本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインである(例えば、共刺激ドメイン(例えば、本明細書で記載されるような４１ＢＢ、ＣＤ２７、ＩＣＯＳまたはＣＤ２８)および／または一次シグナル伝達ドメイン(例えば、本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインを含む]第二のポリペプチドを含む。ある態様において、薬剤は、ＰＤ１またはそれらのフラグメントの第一のポリペプチド(例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部)および本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインの第二のポリペプチド(例えば、本明細書で記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメインおよび／または本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン)を含む。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられるＷＯ２０１３／０１９６１５で説明されているような、スイッチ共刺激受容体を含む。ＰＤ１は、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＩＣＯＳおよびＢＴＬＡも包含するＣＤ２８受容体ファミリーの阻害性の一員である。ＰＤ－１は、活性化されたＢ細胞、Ｔ細胞および骨髄細胞で発現される(Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75)。ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１およびＰＤ－Ｌ２に対する２リガンドは、ＰＤ１に結合したときのＴ細胞の活性化を下方調節することが示されている(Freeman et a. 2000 J Exp Med 192:1027-34；Latchman et al.2001 Nat Immunol 2:261-8； Carter et al.2002 Eur J Immunol 32:634-43)。ＰＤ－Ｌ１は、ヒト癌において豊富である(Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7；Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314；Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094)。免疫抑制は、ＰＤ１とＰＤ－Ｌ１との局所的な相互作用を阻害することによって、回復させることができる。

【０３８８】

ある態様において、薬剤は、阻害分子、例えばプログラム死１(ＰＤ１：Programmed Death 1)の細胞外ドメイン(ＥＣＤ)を含み、４１ＢＢおよびＣＤ３ゼータなどの膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインに融合させることができる(また本明細書では、ＰＤ１ＣＡＲとも称される)。ある態様において、ＰＤ１ＣＡＲは、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲと組み合わせて使用される場合、ＣＡＲ発現細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞の持続性を向上させる。ある態様において、ＣＡＲは、配列番号２４において下線で示されたＰＤ１の細胞外ドメインを含むＰＤ１　ＣＡＲである。ある態様において、ＰＤ１　ＣＡＲは、配列番号２４のアミノ酸配列を含む。

Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapayk

qgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrg
kghdglyqglstatkdtydalhmqalppr(配列番号２４)。

【０３８９】

ある態様において、ＰＤ１　ＣＡＲは、以下に示されるアミノ酸配列(配列番号２２)を含む
。

pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqd
crfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqf
qtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrg
rkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeyd
vldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtyda
lhmqalppr(配列番号２２)。

【０３９０】

ある態様において、薬剤は、ＰＤ１　ＣＡＲ、例えば本明細書で記載されるＰＤ１　ＣＡＲをコードする核酸配列を含む。ある態様において、ＰＤ１　ＣＡＲに関する核酸配列は、以下に示され、ＰＤ１　ＥＣＤは、以下の配列番号２３において下線で示される。

atggccctccctgtcactgccctgcttctcccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggttt
ctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataa
tgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaa
accagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtga
ctcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacc
tgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccg
agcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggt
cacgaccactccggcgccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggcc
ggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatt
tgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcg
gaaaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacggttgc
tcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcc
cccgcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgt
gctggacaagcggcgcggccgggaccccgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggc
ctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcg
gaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccaccaaggacacatacgatgccctgc
acatgcaggcccttcccccctcgc(配列番号２３)。

【０３９１】

別の面において、本発明は、ＣＡＲを発現する細胞、例えば、ＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲを発現するＮＫ細胞の集団を提供する。ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞の集団は、異なるＣＡＲを発現する細胞の混合物を含む。例えば、ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞(例えば、ＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲを発現するＮＫ細胞)の集団は、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第一の細胞および異なる抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、第一の細胞によって発現されるＣＡＲにおける抗ＢＣＭＡ結合ドメインとは異なる本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第二の細胞を包含していてもよい。別の例として、ＣＡＲを発現する細胞の集団は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインを包含するＣＡＲを発現する第一の細胞およびＢＣＭＡ以外の標的(例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＳ－１、カッパ軽鎖、ＣＤ１３９、ルイスＹ抗原またはＣＤ３８)に対する抗原結合ドメインを包含するＣＡＲを発現する第二の細胞を包含していてもよい。ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞の集団は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインを含むＣＡＲを発現する第一の細胞およびＣＤ１９を標的とする抗原結合ドメインを含むＣＡＲ(ＣＤ１９　ＣＡＲ)を発現する第二の細胞を包含する。ある態様において、ＣＡＲ発現細胞の集団は、例えば、一次細胞内シグナル伝達ドメインを包含する第一のＣＡＲ発現細胞および二次シグナル伝達ドメインを包含する第二

のＣＡＲ発現細胞を包含する。
【０３９２】
別の面において、本発明は、集団中の少なくとも１種の細胞が、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡドメインを有するＣＡＲを発現し、第二の細胞が、別の薬剤、例えばＣＡＲを発現する細胞の活性を増強する薬剤を発現する、細胞の集団を提供する。例えば、ある態様において、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であってもよい。いくつかの態様において、阻害分子は、例えば、免疫エフェクター応答を仕掛けるＣＡＲ発現細胞の能力を減少させることができる。阻害分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータが挙げられる。ある態様において、阻害分子を阻害する薬剤は、第一のポリペプチド、例えば阻害分子を含み、このようなポリペプチドは、細胞に陽性シグナルを提供する第二のポリペプチド、例えば、本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインと会合している。ある態様において、薬剤は、例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータまたはこれらのいずれかのフラグメント(例えば、これらのいずれかの細胞外ドメインの少なくとも一部)などの阻害分子の第一のポリペプチド、ならびに本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインである(例えば、共刺激ドメイン(例えば、本明細書で記載されるような４１ＢＢ、ＣＤ２７、ＩＣＯＳまたはＣＤ２８)および／または一次シグナル伝達ドメイン(例えば、本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインを含む]第二のポリペプチドを含む。ある態様において、薬剤は、ＰＤ１またはそれらのフラグメントの第一のポリペプチド(例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部)および本明細書で記載される細胞内シグナル伝達ドメインの第二のポリペプチド(例えば、本明細書で記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメインおよび／または本明細書で記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン)を含む。
【０３９３】
ある面において、本発明は、ＣＡＲを発現する細胞(例えば、ＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲを発現するＮＫ細胞)の集団、例えば、異なるＣＡＲを発現する細胞の混合物を、別の薬剤、例えば本明細書で記載されるキナーゼ阻害剤などのキナーゼ阻害剤と組み合わせて投与することを含む方法を提供する。別の面において、本発明は、細胞の集団を、別の薬剤、例えば本明細書で記載されるキナーゼ阻害剤などのキナーゼ阻害剤と組み合わせて投与することを含む方法であって、集団中の少なくとも１種の細胞が、本明細書で記載される抗癌関連抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現し、第二の細胞が、別の薬剤、例えばＣＡＲを発現する細胞の活性を増強する薬剤を発現する、方法を提供する。
【０３９４】
ナチュラルキラー細胞受容体(ＮＫＲ)ＣＡＲ
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子は、ナチュラルキラー細胞受容体(ＮＫＲ)の１以上の構成要素を含み、それによってＮＫＲ－ＣＡＲを形成する。ＮＫＲの構成要素は、以下のナチュラルキラー細胞受容体：キラー細胞免疫グロブリン様受容体(ＫＩＲ)、例えば、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＫＩＲ２ＤＬ２／Ｌ３、ＫＩＲ２ＤＬ４、ＫＩＲ２ＤＬ５Ａ、ＫＩＲ２ＤＬ５Ｂ、ＫＩＲ２ＤＳ１、ＫＩＲ２ＤＳ２、ＫＩＲ２ＤＳ３、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＤＩＲ２ＤＳ５、ＫＩＲ３ＤＬ１／Ｓ１、ＫＩＲ３ＤＬ２、ＫＩＲ３ＤＬ３、ＫＩＲ２ＤＰ１およびＫＩＲ３ＤＰ１；天然細胞毒性(cytoxicity)受容体(ＮＣＲ)、例えば、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ４６；免疫細胞受容体のシグナル伝達リンパ球活性化分子(

ＳＬＡＭ)ファミリー、例えば、ＣＤ４８、ＣＤ２２９、２Ｂ４、ＣＤ８４、ＮＴＢ－Ａ、ＣＲＡＣＣ、ＢＬＡＭＥおよびＣＤ２Ｆ－１０；Ｆｃ受容体(ＦｃＲ)、例えば、ＣＤ１６およびＣＤ６４；ならびにＬｙ４９受容体、例えば、ＬＹ４９Ａ、ＬＹ４９Ｃのいずれかからの、膜貫通ドメイン、ヒンジドメインまたは細胞質内ドメインであり得る。本明細書で記載されるＮＫＲ－ＣＡＲ分子は、アダプター分子または細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ＤＡＰ１２と相互作用する可能性がある。ＮＫＲ構成要素を含むＣＡＲ分子の例示的な配置および配列は、その内容が参照により本明細書に組み入れられる国際公報ＷＯ２０１４／１４５２５２号で説明されている。

【０３９５】

キメラ抗原受容体を調節するための戦略

ＣＡＲ活性を調節することができる多くの方法がある。ある態様において、ＣＡＲ活性を制御することができる調節可能なＣＡＲ(ＲＣＡＲ)は、ＣＡＲ療法の安全性および効能を最適化するのに望ましい。例えば二量体化ドメインに融合したカスパーゼを使用してアポトーシスを誘導すること(例えば、Di et al., N Engl. J. Med. 2011 Nov. 3;365(18):1673-1683を参照)は、例えば本発明のＣＡＲ療法における安全性スイッチとして使用できる。別の例において、ＣＡＲを発現する細胞はまた、二量体化剤(例えば、リミヅシド(rimiducid)(ＡＰ１９０３(Ｂｅｌｌｉｃｕｍ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ)またはＡＰ２０１８７(Ariad)とも呼ばれる]投与の際にカスパーゼ－９の活性化および細胞のアポトーシスを引き起こす誘導性カスパーゼ－９(ｉカスパーゼ－９)分子も発現することができる。ｉカスパーゼ－９分子は、ＣＩＤの存在下で二量体化を媒介する二量体化(ＣＩＤ)結合ドメインの化学的な誘導物質を含有する。これは、ＣＡＲを発現する細胞の誘導性で選択的な枯渇を引き起こす。いくつかの場合において、ｉカスパーゼ－９分子は、ＣＡＲをコードするベクターとは別の核酸分子によってコードされる。いくつかの場合において、ｉカスパーゼ－９分子は、ＣＡＲをコードするベクターと同じ核酸分子によってコードされる。ｉカスパーゼ－９は、ＣＡＲを発現する細胞のあらゆる毒性を回避するための安全性スイッチを提供することができる。例えば、Song et al. Cancer Gene Ther. 2008; 15(10):667-75;臨床試験識別番号NCT02107963;およびDi Stasi et al. N. Engl. J. Med. 2011; 365:1673-83を参照されたい。

【０３９６】

本発明のＣＡＲ療法を調節するための代替の戦略としては、例えば、ＣＡＲを発現する細胞を欠失させることによって、例えば、抗体依存性細胞媒介性細胞毒性(ＡＤＣＣ)を誘導することによって、ＣＡＲ活性を非活性化したりまたは止めたりする小分子または抗体を利用することが挙げられる。例えば、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞もまた、細胞死、例えばＡＤＣＣまたは補体(compliment)誘導性の細胞死を誘導することが可能な分子によって認識される抗原を発現する可能性がある。例えば、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞はまた、抗体または抗体フラグメントによって標的化される可能性がある受容体を発現する可能性もある。このような受容体の例としては、ＥｐＣＡＭ、ＶＥＧＦＲ、インテグリン(例えば、インテグリンαｖβ３、α４、αＩ３／４β３、α４β７、α５β１、αｖβ３、αｖ)、ＴＮＦ受容体スーパーファミリーのメンバー(例えば、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１、ＴＲＡＩＬ－Ｒ２)、ＰＤＧＦ受容体、インターフェロン受容体、葉酸受容体、ＧＰＮＭＢ、ＩＣＡＭ－１、ＨＬＡ－ＤＲ、ＣＥＡ、ＣＡ－１２５、ＭＵＣ１、ＴＡＧ－７２、ＩＬ－６受容体、５Ｔ４、ＧＤ２、ＧＤ３、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ１１、ＣＤ１１ａ／ＬＦＡ－１、ＣＤ１５、ＣＤ１８／ＩＴＧＢ２、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２３／ｌｇＥ受容体、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ４０、ＣＤ４１、ＣＤ４４、ＣＤ５１、ＣＤ５２、ＣＤ６２Ｌ、ＣＤ７４、ＣＤ８０、ＣＤ１２５、ＣＤ１４７／ベイシジン、ＣＤ１５２／ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１５４／ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ１９５／ＣＣＲ５、ＣＤ３１９／ＳＬＡＭＦ７およびＥＧＦＲ、ならびにそれらのトランケートされたバージョン(例えば、１以上の細胞外のエピトープを保存するが細胞質内ドメイン内の１以上の領域が欠失したバージョン)が挙げられる。例えば、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞はまた、シグナル伝達能力を欠

失しているが、ＡＤＣＣ、例えばセツキシマブ(ＥＲＢＩＴＵＸ(登録商標)]を誘導することが可能な分子によって認識されるエピトープを保持するトランケートされた上皮増殖因子受容体(ＥＧＦＲ)を発現してもよく、それにより、セツキシマブの投与が、ＡＤＣＣとその後のＣＡＲを発現する細胞の枯渇を誘導するようになる(例えば、ＷＯ２０１１／０５６８９４およびJonnalagadda et al., Gene Ther. 2013; 20(8)853-860を参照)。別の戦略としては、リツキシマブと結合し、その結果として例えばＡＤＣＣによるＣＡＲを発現する細胞の選択的な枯渇を引き起こす、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞中でＣＤ３２およびＣＤ２０抗原の両方からの標的エピトープを組み合わせた高度に圧縮されたマーカー／自殺遺伝子を発現することが挙げられる(例えば、Philip et al., Blood. 2014; 124(8)1277-1287を参照)。本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞を枯渇させるための他の方法としては、例えばＡＤＣＣを誘導することによる破壊のために、成熟リンパ球、例えばＣＡＲを発現する細胞と選択的に結合してそれを標的とする、モノクローナル抗ＣＤ５２抗体であるＣＡＭＰＡＴＨ(登録商標)の投与が挙げられる。他の態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、ＣＡＲリガンド、例えば抗イディオタイプ抗体を使用して選択的に標的化され得る。ある態様において、抗イディオタイプ抗体は、エフェクター細胞活性、例えばＡＤＣＣまたはＡＤＣ活性を引き起こすことによって、ＣＡＲを発現する細胞の数を低減させることができる。他の態様において、ＣＡＲリガンド、例えば抗イディオタイプ抗体は、細胞の殺滅を誘導する薬剤、例えば毒素とカップリングされることによって、ＣＡＲを発現する細胞の数を低減させることができる。あるいは、ＣＡＲ分子それ自身が、後述するように、活性を調節することができる、例えば開始させたり止めたりできるように設計されていてもよい。

【０３９７】

ある態様において、ＲＣＡＲは、ポリペプチドのセットを含み、最も簡単な態様において、典型的には、２ポリペプチドのセットであって、本明細書で記載される標準的なＣＡＲの構成要素、例えば抗原結合ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインが別々のポリペプチドまたはメンバーに分配されているものである。ある態様において、ポリペプチドのセットは、二量体化分子の存在下でポリペプチドを互いにカップリングすることができ、例えば抗原結合ドメインを細胞内シグナル伝達ドメインにカップリングすることができる二量体化スイッチを包含する。このような調節可能なＣＡＲの追加の説明および例示的な配置は、本明細書で、さらにその全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公報ＷＯ２０１５／０９０２２９号で示される。

【０３９８】

ある態様において、ＲＣＡＲは、２ポリペプチドまたはメンバー：１)細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば本明細書で記載される一次細胞内シグナル伝達ドメインおよび第一のスイッチドメインを含む細胞内シグナル伝達メンバー；２)例えば本明細書で記載される腫瘍抗原を標的とする、本明細書で記載される抗原結合ドメインおよび第二のスイッチドメインを含む抗原結合メンバーを含む。ＲＣＡＲは、本明細書で記載される膜貫通ドメインを含んでいてもよい。ある態様において、膜貫通ドメインは、細胞内シグナル伝達メンバー、抗原結合メンバーまたは両方に配置されていてもよい。(特に他の指定がない限り、本明細書においてＲＣＡＲのメンバーまたは要素が記載される場合、順番は示された通りであってもよいが、他の順番も同様に包含される。言い換えれば、ある態様において、順番は本文で設定された通りであるが、他の態様において順番は異なっていてもよい。例えば、膜貫通領域の一方の側における要素の順番は例とは異なっていてもよく、例えば、細胞内シグナル伝達ドメインに対するスイッチドメインの位置は異なっていてもよく、例えば逆でもよい)。

【０３９９】

ある態様において、第一および第二のスイッチドメインは、細胞内または細胞外の二量体化スイッチを形成することができる。ある態様において、二量体化スイッチは、例えば第一および第二のスイッチドメインが同一のホモ二量体化スイッチであってもよくまたは例えば第一および第二のスイッチドメインが互いに異なるヘテロ二量体化スイッチであって

もよい。

【０４００】

ある態様において、ＲＣＡＲは、「マルチスイッチ」を含んでいてもよい。マルチスイッチは、ヘテロ二量体化スイッチドメインまたはホモ二量体化スイッチドメインを含んでいてもよい。マルチスイッチは、第一のメンバー、例えば抗原結合メンバーおよび第二のメンバー、例えば細胞内シグナル伝達メンバーに、独立して、複数の、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９または１０のスイッチドメインを含む。ある態様において、第一のメンバーは、複数の第一のスイッチドメイン、例えばＦＫＢＰベースのスイッチドメインを含んでいてもよく、第二のメンバーは、複数の第二のスイッチドメイン、例えばＦＲＢベースのスイッチドメインを含んでいてもよい。ある態様において、第一のメンバーは、第一および第二のスイッチドメイン、例えばＦＫＢＰベースのスイッチドメインおよびＦＲＢベースのスイッチドメインを含んでいてもよく、第二のメンバーは、第一および第二のスイッチドメイン、例えばＦＫＢＰベースのスイッチドメインおよびＦＲＢベースのスイッチドメインを含んでいてもよい。

【０４０１】

ある態様において、細胞内シグナル伝達メンバーは、１以上の細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば一次細胞内シグナル伝達ドメインおよび１以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

【０４０２】

ある態様において、抗原結合メンバーは、１以上の細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、１以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含んでいてもよい。ある態様において、抗原結合メンバーは、複数の、例えば２または３、例えば４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳおよびＯＸ４０から選択される本明細書で記載される共刺激シグナル伝達ドメインを含み、態様において、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含まない。ある態様において、抗原結合メンバーは、細胞外から細胞内の方向に、以下の共刺激シグナル伝達ドメイン：４－１ＢＢ－ＣＤ２７；４－１ＢＢ－ＣＤ２７；ＣＤ２７－４－１ＢＢ；４－１ＢＢ－ＣＤ２８；ＣＤ２８－４－１ＢＢ；ＯＸ４０－ＣＤ２８；ＣＤ２８－ＯＸ４０；ＣＤ２８－４－１ＢＢ；または４－１ＢＢ－ＣＤ２８を含む。このような態様において、細胞内の結合メンバーは、ＣＤ３ゼータドメインを含む。このような態様の一つにおいて、ＲＣＡＲは、(１)抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび２共刺激ドメイン、ならびに第一のスイッチドメインを含む抗原結合メンバー；ならびに(２)膜貫通ドメインまたは膜係留ドメインおよび少なくとも１の一次細胞内シグナル伝達ドメイン、ならびに第二のスイッチドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【０４０３】

態様は、抗原結合メンバーがＣＡＲ細胞の表面に係留されていないＲＣＡＲを提供する。これは、細胞内シグナル伝達メンバーを有する細胞が、抗原結合メンバーをコードする配列で細胞が形質転換されることなく、１以上の抗原結合ドメインとうまく対を形成することを可能にする。このような態様において、ＲＣＡＲは、１)第一のスイッチドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば一次細胞内シグナル伝達ドメインおよび第一のスイッチドメインを含む細胞内シグナル伝達メンバー；ならびに２)抗原結合ドメインおよび第二のスイッチドメインを含む抗原結合メンバーであって、膜貫通ドメインまたは膜係留ドメインを含まず、さらに細胞内シグナル伝達ドメインを含まない可能性がある、抗原結合メンバーを含む。ある態様において、ＲＣＡＲは、３)第二の抗原結合ドメイン、例えば抗原結合ドメインと結合するものとは異なる抗原と結合する第二の抗原結合ドメイン；および第二のスイッチドメインを含む第二の抗原結合メンバーをさらに含んでいてもよい。

【０４０４】

また、抗原結合メンバーが二重特異的な活性および標的化能力を含むＲＣＡＲも本明細書で示される。この態様において、抗原結合メンバーは、複数の、例えば２、３、４または５抗原結合ドメイン、例えばｓｃＦｖを含んでいてもよく、ここで各抗原結合ドメインは

、標的抗原、例えば異なる抗原または同じ抗原、例えば同じ抗原上の同一または異なるエピトープに結合する。ある態様において、複数の抗原結合ドメインは、タンデム状であり、抗原結合ドメインのそれぞれの間に、リンカーまたはヒンジ領域が配置されていてもよい。好適なリンカーおよびヒンジ領域は、本明細書で記載される。

【０４０５】

態様は、増殖の切り換えを可能にする配置を有するＲＣＡＲを提供する。この態様において、ＲＣＡＲは、１)任意に膜貫通ドメインまたは膜係留ドメイン；例えば４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳおよびＯＸ４０から選択される、１以上の共刺激シグナル伝達ドメイン、ならびにスイッチドメインを含む細胞内シグナル伝達メンバー；ならびに２)抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび一次細胞内シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータドメインを含む抗原結合メンバーであって、抗原結合メンバーはスイッチドメインを含まないかまたは細胞内シグナル伝達メンバーにおいてスイッチドメインと二量体化するスイッチドメインを含まない、抗原結合メンバーを含む。ある態様において、抗原結合メンバーは、共刺激シグナル伝達ドメインを含まない。ある態様において、細胞内シグナル伝達メンバーは、ホモ二量体化スイッチからのスイッチドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達メンバーは、ヘテロ二量体化スイッチの第一のスイッチドメインを含み、ＲＣＡＲは、ヘテロ二量体化スイッチの第二のスイッチドメインを含む第二の細胞内シグナル伝達メンバーを含む。このような態様において、第二の細胞内シグナル伝達メンバーは、細胞内シグナル伝達メンバーと同じ細胞内シグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、二量体化スイッチは、細胞内である。ある態様において、二量体化スイッチは、細胞外である。

【０４０６】

ここで説明したＲＣＡＲ配置のいずれかにおいて、第一および第二のスイッチドメインは、本明細書で記載されるＦＫＢＰ－ＦＲＢベースのスイッチを含む。

【０４０７】

また、本明細書で記載されるＲＣＡＲを含む細胞も本明細書で示される。ＲＣＡＲを発現するように加工されたあらゆる細胞が、ＲＣＡＲＸ細胞として使用することができる。ある態様において、ＲＣＡＲＸ細胞はＴ細胞であり、ＲＣＡＲＴ細胞と称される。ある態様において、ＲＣＡＲＸ細胞はＮＫ細胞であり、ＲＣＡＲＮ細胞と称される。

【０４０８】

また、ＲＣＡＲをコードする配列を含む核酸およびベクターも本明細書で示される。ＲＣＡＲの様々な要素をコードする配列は、同じ核酸分子、例えば同じプラスミドまたはベクター、例えばウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターに配置させることができる。ある態様において、(ｉ)抗原結合メンバーをコードする配列および(ii)細胞内シグナル伝達メンバーをコードする配列は、同じ核酸、例えばベクターに存在していてもよい。対応するタンパク質の生産は、例えば、別のプロモーターの使用によってまたはバイシストロン性の転写産物(単一の翻訳産物の切断によってまたは２の別々のタンパク質産物の翻訳によって２タンパク質の生産を引き起こすことができる)の使用によって達成することができる。ある態様において、切断可能なペプチドをコードする配列、例えばＰ２ＡまたはＦ２Ａ配列は、(ｉ)と(ii)との間に配置される。ある態様において、ＩＲＥＳ、例えばＥＭＣＶまたはＥＶ７１　ＩＲＥＳをコードする配列は、(ｉ)と(ii)との間に配置される。これらの態様において、(ｉ)および(ii)は単一のＲＮＡとして転写される。ある態様において、(ｉ)および(ii)が別々のｍＲＮＡとして転写されるように、第一のプロモーターは(ｉ)に機能するように連結しており、第二のプロモーターは(ii)に機能するように連結している。

【０４０９】

代替として、ＲＣＡＲの様々な要素をコードする配列は、異なる核酸分子、例えば異なるプラスミドまたはベクター、例えばウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターに配置させてもよい。例えば、(ｉ)抗原結合メンバーをコードする配列は第一の核酸、例えば第一のベクターに存在していてもよいし、(ii)細胞内シグナル伝達メンバーをコードする配列は第二の核酸、例えば第二のベクターに存在していてもよい。

【０４１０】
二量体化スイッチ
二量体化スイッチは、非共有結合でもよいしまたは共有結合でもよい。非共有結合の二量体化スイッチにおいて、二量体化分子は、スイッチドメイン間の非共有結合の相互作用を促進する。共有結合の二量体化スイッチにおいて、二量体化分子は、スイッチドメイン間の共有結合の相互作用を促進する。
【０４１１】
ある態様において、ＲＣＡＲは、ＦＫＢＰ／ＦＲＡＰまたはＦＫＢＰ／ＦＲＢベースの二量体化スイッチを含む。ＦＫＢＰ１２(ＦＫＢＰまたはＦＫ５０６結合タンパク質)は、天然産物の免疫抑制薬であるラパマイシンにとって最初の細胞内標的として役立つ豊富な細胞質内タンパク質である。ラパマイシンは、ＦＫＢＰおよび大きいＰＩ３Ｋ相同体のＦＲＡＰ(ＲＡＦＴ、ｍＴＯＲ)に結合する。ＦＲＢは、ＦＫＢＰ－ラパマイシン複合体と結合するのに十分なＦＲＡＰの９３アミノ酸の部分である(Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue. Proc Natl Acad Sci U S A 92: 4947-51)。
【０４１２】
ある態様において、ＦＫＢＰ／ＦＲＡＰ、例えばＦＫＢＰ／ＦＲＢベースのスイッチは、二量体化分子、例えばラパマイシンまたはラパマイシン類似体を使用することができる。
【０４１３】
ＦＫＢＰのアミノ酸配列は、以下の通りである：
DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETSY(配列番号２７５)
【０４１４】
ある態様において、ＦＫＢＰスイッチドメインは、ラパマイシンまたはラパログの存在下でＦＲＢと結合する能力を有するＦＫＢＰフラグメントまたはそれらのフラグメントもしくは類似体、例えば以下に示す配列番号２７５の下線で示された部分を含んでいてもよい：
VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETS(配列番号２７６)
【０４１５】
ＦＲＢのアミノ酸配列は、以下の通りである：
ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK(配列番号２７７)
【０４１６】
「ＦＫＢＰ／ＦＲＡＰ、例えばＦＫＢＰ／ＦＲＢベースのスイッチ」は、この用語が本明細書において使用される場合、ラパマイシンまたはラパログの存在下でＦＲＢと結合する能力を有するＦＫＢＰフラグメントもしくはそれらの類似体またはそれらのフラグメントもしくは類似体、例えば、ＲＡＤ００１を含み、配列番号２７５または２７６のＦＫＢＰ配列と、少なくとも７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８または９９％の同一性を有するかまたはそれとは３０、２５、２０、１５、１０、５、４、３、２または１以下のアミノ酸残基が異なる、第一のスイッチドメイン；ならびにラパマイシンまたはラパログの存在下でＦＲＢと結合する能力を有するＦＲＢフラグメントもしくはそれらの類似体またはそれらのフラグメントもしくは類似体を含み、配列番号２７７のＦＲＢ配列と、少なくとも７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８または９９％の同一性を有するかまたはそれとは３０、２５、２０、１５、１０、５、４、３、２または１以下のアミノ酸残基が異なる、第二のスイッチドメインを含む二量体化スイッチを

指す。ある態様において、本明細書で記載されるＲＣＡＲは、配列番号２７５(または配列番号２７６)に開示されたアミノ酸残基を含む１スイッチドメインおよび配列番号２７７に開示されたアミノ酸残基を含む１スイッチドメインを含む。

【０４１７】

ある態様において、ＦＫＢＰ／ＦＲＢ二量体化スイッチは、ＦＲＢベースのスイッチドメイン間の、変更された、例えば増強された複合体形成を示す、改変されたＦＲＢスイッチドメインを含み、例えば、改変されたＦＲＢスイッチドメイン、ＦＫＢＰベースのスイッチドメインおよび二量体化分子、例えばラパマイシンまたはラパログ、例えばＲＡＤ００１を含む。ある態様において、改変されたＦＲＢスイッチドメインは、野生型アミノ酸が他のいずれかの天然に存在するアミノ酸に変異した、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個以上の、アミノ酸位置Ｌ２０３１、Ｅ２０３２、Ｓ２０３５、Ｒ２０３６、Ｆ２０３９、Ｇ２０４０、Ｔ２０９８、Ｗ２１０１、Ｄ２１０２、Ｙ２１０５およびＦ２１０８における変異から選択される１以上の変異を含む。ある態様において、変異ＦＲＢは、Ｅ２０３２における変異を含み、ここでＥ２０３２は、フェニルアラニン(Ｅ２０３２Ｆ)、メチオニン(Ｅ２０３２Ｍ)、アルギニン(Ｅ２０３２Ｒ)、バリン(Ｅ２０３２Ｖ)、チロシン(Ｅ２０３２Ｙ)、イソロイシン(Ｅ２０３２Ｉ)、例えば配列番号２７８またはロイシン(Ｅ２０３２Ｌ)に変異しており、例えば、配列番号２７９である。ある態様において、変異ＦＲＢは、Ｔ２０９８における変異を含み、ここでＴ２０９８は、フェニルアラニン(Ｔ２０９８Ｆ)またはロイシン(Ｔ２０９８Ｌ)に変異しており、例えば、配列番号２８０である。ある態様において、変異ＦＲＢは、Ｅ２０３２およびＴ２０９８における変異を含み、ここでＥ２０３２は、いずれかのアミノ酸に変異しており、Ｔ２０９８は、いずれかのアミノ酸に変異しており、例えば、配列番号２８１である。ある態様において、変異ＦＲＢは、Ｅ２０３２ＩおよびＴ２０９８Ｌの変異を含み、例えば、配列番号２８２である。ある態様において、変異ＦＲＢは、Ｅ２０３２ＬおよびＴ２０９８Ｌの変異を含み、例えば、配列番号２８３である。

【０４１８】

【表５７】

表１７.二量体化分子への親和性が増加した例示的な変異ＦＲＢ

FRB 変異体	アミノ酸配列	配列番号
E2032I 変異体	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	78
E2032L 変異体	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	79
T2098L 変異体	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	80
E2032, T2098 変異体	ILWHEMWHEGL**X**EASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL**X**QAWDLYYHVFRRISKTS	81
E2032I, T2098L 変異体	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	82
E2032L, T2098L 変異体	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGR DLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	83

【０４１９】

他の好適な二量体化スイッチとしては、ＧｙｒＢ－ＧｙｒＢベースの二量体化スイッチ、ジベレリンベースの二量体化スイッチ、タグ／結合剤の二量体化スイッチおよびハロ－タグ／スナップ－タグ二量体化スイッチが挙げられる。本明細書で示される指針に従って、このようなスイッチおよび関連する二量体化分子は、当業者に明らかであると予想される。

【０４２０】

二量体化分子

スイッチドメイン間の会合は、二量体化分子によって促進される。二量体化分子の存在下で、スイッチドメイン間の相互作用または会合は、第一のスイッチドメインと会合した、例えば融合したポリペプチドと、第二のスイッチドメインと会合した、例えば融合したポリペプチドとの間のシグナル伝達を可能にする。非限定的なレベルの二量体化分子の存在下で、シグナル伝達は、例えば本明細書で記載されるシステムで測定した場合、１.１倍、１.２倍、１.３倍、１.４倍、１.５倍、１.６倍、１.７倍、１.８倍、１.９倍、２倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍に増加する。

【０４２１】

ラパマイシンおよびラパマイシン類似体(時にはラパログと称される)、例えばＲＡＤ００１は、本明細書で記載されるＦＫＢＰ／ＦＲＢベースの二量体化スイッチにおける二量体化分子として使用することができる。ある態様において、二量体化分子は、ラパマイシン(シロリムス)、ＲＡＤ００１(エベロリムス)、ゾタロリムス、テムシロリムス、ＡＰ－２３５７３(リダフォロリムス)、バイオリムスおよびＡＰ２１９６７から選択することができる。ＦＫＢＰ／ＦＲＢベースの二量体化スイッチとの使用に好適な追加のラパマイシン類似体は、「併用療法」という表題のセクションまたは「免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤との組合せ」という表題のサブセクションでさらに説明されている。

【０４２２】

スプリットＣＡＲ

ある態様において、ＣＡＲを発現する細胞は、スプリットＣＡＲを使用する。スプリットＣＡＲアプローチは、参照により本明細書に組み入れられる公報ＷＯ２０１４／０５５４４２およびＷＯ２０１４／０５５６５７でより詳細に説明されている。簡単に言えば、スプリットＣＡＲシステムは、第一の抗原結合ドメインおよび共刺激ドメイン(例えば、４１ＢＢ)を有する第一のＣＡＲを発現する細胞を含み、この細胞は、第二の抗原結合ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、ＣＤ３ゼータ)を有する第二のＣＡＲも発現する。細胞が第一の抗原と遭遇すると、共刺激ドメインが活性化され、細胞は増殖する。細胞が第二の抗原と遭遇すると、細胞内シグナル伝達ドメインが活性化され、細胞を殺滅する活性が開始される。したがって、ＣＡＲを発現する細胞は、両方の抗原の存在下でのみ完全に活性化される。ある態様において、第一の抗原結合ドメインは、ＢＣＭＡを認識し、例えば本明細書で記載される抗原結合ドメインを含み、第二の抗原結合ドメインは、急性骨髄性白血病細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１２３、ＣＬＬ－１、ＣＤ３４、ＦＬＴ３または葉酸受容体ベータを認識する。ある態様において、第一の抗原結合ドメインは、ＢＣＭＡを認識し、例えば本明細書で記載される抗原結合ドメインを含み、第二の抗原結合ドメインは、Ｂ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂまたはＣＤ７９ａを認識する。

【０４２３】

安定性および変異

抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖ分子(例えば、可溶性ｓｃＦｖ)の安定性は、従来の対照ｓｃＦｖ分子または全長抗体の生物物理学的特性(例えば、熱安定性)を参照して評価することができる。ある態様において、ヒト化ｓｃＦｖは、説明されているアッセイにおいて、対照結合分子(例えば従来のｓｃＦｖ分子)よりも、約０.１℃、約０.２５℃、約０.５℃、約０.７５℃、約１℃、約１.２５℃、約１.５℃、約１.７５℃、約２℃、約２.５℃、約３℃、約３.５℃、約４℃、約４.５℃、約５℃、約５.５℃、約６℃、約６.５℃、約７℃、約７.５℃、約８℃、約８.５℃、約９℃、約９.５℃、約１０℃、約１１℃、約１２℃、約１３℃、約１４℃または約１５℃高い熱安定性を有する。

【０４２４】

抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの熱安定性の向上は、続いてＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ構築物全体にも付与されることから、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ構築物の治療特性の向上がもたらされる。抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの熱安定性は、従来の抗体と比較して少なくとも約２℃または３℃向上させることができる。ある態様において、抗ＢＣＭ

Ａ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して１℃向上した熱安定性を有する。別の態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して２℃向上した熱安定性を有する。別の態様において、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して４℃、５℃、６℃、７℃、８℃、９℃、１０℃、１１℃、１２℃、１３℃、１４℃、１５℃向上した熱安定性を有する。比較は、例えば、本明細書で開示されたｓｃＦｖ分子と、ｓｃＦｖのＶＨおよびＶＬを得た抗体のｓｃＦｖ分子またはＦａｂフラグメントとの間で行うことができる。熱安定性は、当業界公知の方法を使用して測定できる。例えば、ある態様において、Ｔｍを測定してもよい。以下で、Ｔｍの測定方法および他のタンパク質の安定性の決定方法をより詳細に説明する。

【０４２５】

ｓｃＦｖにおける変異(可溶性ｓｃＦｖのヒト化または直接の変異誘発により生じる)はｓｃＦｖの安定性を変更し、ｓｃＦｖおよびＣＡＲＴ３３構築物の全体的な安定性を向上させる。ヒトｓｃＦｖの安定性は、Ｔｍ、温度変性および温度凝集などの測定を使用してマウスｓｃＦｖと比較することができる。

【０４２６】

変異ｓｃＦｖの結合能力は、実施例で記載されるアッセイを使用して決定することができる。

【０４２７】

ある態様において、変異したｓｃＦｖによってＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ構築物に安定性の向上が付与されるように、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、ヒト化プロセスから生じる少なくとも１の変異を含む。別の態様において、変異したｓｃＦｖによってＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ構築物に安定性の向上が付与されるように、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、ヒト化プロセスから生じる少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０の変異を含む。

【０４２８】

タンパク質の安定性を評価する方法

抗原結合ドメインの安定性は、例えば後述される方法を使用して検討してもよい。このような方法によれば、最も安定でないドメインがそもそもフォールディングしないかまたは協調的にフォールディングしないマルチドメインユニット(例えば、単一のアンフォールディング転移を示すマルチドメインタンパク質)の全体的な安定性の限界を制限するかのいずれかである複数の熱的アンフォールディング転移(thermal unfolding transition)を決定することができる。最も安定でないドメインは、多数の追加の方法で同定することができる。どのドメインが全体的な安定性を制限するのかを探査するために、変異誘発を行うことができる。加えて、マルチドメインタンパク質のプロテアーゼ耐性は、最も安定でないドメインが本質的にフォールディングされないことがわかっている条件下で、ＤＳＣまたは他の分光分析方法を介して達成することができる(Fontana, et al., (1997) Fold. Des., 2: R17-26; Dimasi et al. (2009) J. Mol. Biol. 393: 672-692]。最も安定でないドメインが同定されたら、このドメイン(またはそれらの一部)をコードする配列が、本方法におけるテスト配列として採用される可能性がある。

【０４２９】

ａ)熱安定性

組成物の熱安定性は、多数の非限定的な生物物理学的または生化学的な当業界公知の技術を使用して分析することができる。所定の態様において、熱安定性は、解析的分光分析によって評価される。

【０４３０】

典型的な解析的分光分析方法は、示差走査熱量測定(ＤＳＣ)である。ＤＳＣは、大部分のタンパク質またはタンパク質ドメインのアンフォールディングに伴う吸熱に感受性を有する熱量計を採用する(例えば、Sanchez-Ruiz, et al., Biochemistry, 27: 1648-52, 1988を参照)。タンパク質の熱安定性を決定するためには、熱量計にタンパク質のサンプルを挿入し、ＦａｂまたはｓｃＦｖがフォールディングしなくなるまで温度を上げる。タン

パク質がフォールディングしない温度が、全体的なタンパク質の安定性の指標である。
【０４３１】
別の典型的な解析的分光分析方法は、円偏光二色性(ＣＤ)分光法である。ＣＤ分光分析は、組成物の光学活性を、温度上昇の関数として測定する。円偏光二色性(ＣＤ)分光法は、構造的な非対称によって生じる左回り偏光と右回り偏光との吸収の差を測定する。無秩序なまたはフォールディングしていない構造は、規則正しいまたはフォールディングしている構造のＣＤスペクトルとは極めて異なるＣＤスペクトルをもたらす。ＣＤスペクトルは、温度上昇による変性作用に対するタンパク質の感受性を反映することから、タンパク質の熱安定性の指標である(van Mierlo and Steemsma, J. Biotechnol., 79(3):281-98, 2000を参照]。
【０４３２】
熱安定性を測定するための別の典型的な解析的分光分析方法は、蛍光発光分光法である(上記のvan Mierlo and Steemsmaを参照)。熱安定性を測定するためのさらに別の典型的な解析的分光分析方法は、核磁気共鳴(ＮＭＲ)分光法である(例えば上記のvan Mierlo and Steemsmaを参照)。
【０４３３】
組成物の熱安定性は、生化学的に測定することができる。熱安定性を検討するための典型的な生化学的方法は、熱的誘発アッセイ(thermal challenge assay)である。「熱的誘発アッセイ」において、組成物は、設定された期間にわたり一連の温度上昇に晒される。例えば、ある態様において、テストｓｃＦｖ分子またはｓｃＦｖ分子を含む分子は、例えば１～１.５時間にわたり一連の温度上昇に晒される。次いでタンパク質の活性が、適切な生化学アッセイによってアッセイされる。例えば、タンパク質が結合タンパク質(例えばｓｃＦｖまたはｓｃＦｖ含有ポリペプチド)である場合、結合タンパク質の結合活性は、機能的または定量的ＥＬＩＳＡによって決定することができる。
【０４３４】
このようなアッセイは、ハイスループット様式で行ってもよいし、Ｅ.コリ(Ｅ.ｃｏｌｉ)とハイスループットスクリーニングを使用した実施例で開示された様式で行ってもよい。抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖ変異体のライブラリーは、当業界公知の方法を使用して作り出すこともできる。抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの発現を誘導してもよいし、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖを熱的誘発に晒してもよい。誘発されたテストサンプルを結合に関してアッセイしてもよく、そのうち安定な抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖをスケールアップしてさらに特徴付けてもよい。
【０４３５】
熱安定性は、上記の技術のいずれか(例えば解析的分光法技術)を使用して組成物の融解温度(Ｔｍ)を測定することによって評価される。融解温度とは、組成物の分子の５０％がフォールディングした状況である温度遷移曲線の中点における温度である(例えば、Dimasi et al. (2009) J. Mol Biol. 393: 672-692を参照]。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖのＴｍ値は、約４０℃、４１℃、４２℃、４３℃、４４℃、４５℃、４６℃、４７℃、４８℃、４９℃、５０℃、５１℃、５２℃、５３℃、５４℃、５５℃、５６℃、５７℃、５８℃、５９℃、６０℃、６１℃、６２℃、６３℃、６４℃、６５℃、６６℃、６７℃、６８℃、６９℃、７０℃、７１℃、７２℃、７３℃、７４℃、７５℃、７６℃、７７℃、７８℃、７９℃、８０℃、８１℃、８２℃、８３℃、８４℃、８５℃、８６℃、８７℃、８８℃、８９℃、９０℃、９１℃、９２℃、９３℃、９４℃、９５℃、９６℃、９７℃、９８℃、９９℃、１００℃である。ある態様において、ＩｇＧのＴｍ値は、約４０℃、４１℃、４２℃、４３℃、４４℃、４５℃、４６℃、４７℃、４８℃、４９℃、５０℃、５１℃、５２℃、５３℃、５４℃、５５℃、５６℃、５７℃、５８℃、５９℃、６０℃、６１℃、６２℃、６３℃、６４℃、６５℃、６６℃、６７℃、６８℃、６９℃、７０℃、７１℃、７２℃、７３℃、７４℃、７５℃、７６℃、７７℃、７８℃、７９℃、８０℃、８１℃、８２℃、８３℃、８４℃、８５℃、８６℃、８７℃、８８℃、８９℃、９０℃、９１℃、９２℃、９３℃、９４℃、９５℃、９６℃、９７℃、９

８℃、９９℃、１００℃である。ある態様において、多価抗体のＴｍ値は、約４０℃、４１℃、４２℃、４３℃、４４℃、４５℃、４６℃、４７℃、４８℃、４９℃、５０℃、５１℃、５２℃、５３℃、５４℃、５５℃、５６℃、５７℃、５８℃、５９℃、６０℃、６１℃、６２℃、６３℃、６４℃、６５℃、６６℃、６７℃、６８℃、６９℃、７０℃、７１℃、７２℃、７３℃、７４℃、７５℃、７６℃、７７℃、７８℃、７９℃、８０℃、８１℃、８２℃、８３℃、８４℃、８５℃、８６℃、８７℃、８８℃、８９℃、９０℃、９１℃、９２℃、９３℃、９４℃、９５℃、９６℃、９７℃、９８℃、９９℃、１００℃である。

【０４３６】

また熱安定性は、分析的な熱量測定技術(例えばＤＳＣ)を使用して組成物の比熱または熱容量(Ｃｐ)を測定することによっても評価される。組成物の比熱とは、１ｍｏｌの水の温度を１℃上昇させるのに必要なエネルギー(例えばｋｃａｌ／ｍｏｌで示される)である。Ｃｐが大きいほど、変性タンパク質または不活性なタンパク質の組成物であることの品質証明になる。組成物の熱容量(ΔＣｐ)の変化は、その温度遷移の前と後に組成物の比熱を決定することによって測定される。また熱安定性は、アンフォールディングのギブスの自由エネルギー(ΔＧ)、アンフォールディングのエンタルピー(ΔＨ)またはアンフォールディングのエントロピー(ΔＳ)などの熱力学的な安定性の他のパラメーターを測定または決定することによっても評価できる。上記の生化学アッセイの１種または複数(例えば熱的誘発アッセイ)を使用して、組成物の５０％がその活性(例えば結合活性)を保持する温度(すなわちＴｃ値)が決定される。

【０４３７】

加えて、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖへの変異により、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの熱安定性は、変異していない抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖと比較して変化する。ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖがＢＣＭＡ構築物に取り入れられると、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばヒト化ｓｃＦｖは、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ構築物全体に熱安定性を付与する。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖに熱安定性を付与する単一の変異を含む。別の態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖは、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖに熱安定性を付与する複数の変異を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖ中の複数の変異は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの熱安定性に対する相加効果を有する。

【０４３８】

ｂ)凝集％

組成物の安定性は、その凝集する性質を測定することによって決定することができる。凝集は、多数の非限定的な生化学的または生物物理学技術によって測定できる。例えば、組成物の凝集は、クロマトグラフィー、例えばサイズ排除クロマトグラフィー(ＳＥＣ)を使用して評価してもよい。ＳＥＣは、サイズに基づき分子を分離する。カラムは、イオンや小分子はそれらの内部に通すが大きいものは通さないと予想される高分子ゲルの半固体のビーズで充填されている。タンパク質組成物がカラム上部に適用されると、小型のフォールディングしたタンパク質(すなわち凝集していないタンパク質)は、大きいタンパク質凝集体を受け入れられる容量より大きい容量の溶媒中に分散される。結果的に大きい凝集体はカラムをより迅速に移動するので、このようにして混合物を分離したりまたはその構成要素に分画したりすることが可能になる。各画分は、ゲルから溶出したときに別々に定量することができる(例えば光散乱によって)。したがって、組成物の凝集％は、画分の濃度をゲルに適用されたタンパク質の総濃度と比較することによって決定することができる。安定な組成物は、本質的に単一の画分としてカラムから溶出して、溶出プロファイルまたはクロマトグラムにおいて本質的に単一のピークとして出現する。

【０４３９】

ｃ)結合親和性

組成物の安定性は、その目標とする結合親和性を決定することによって検討することがで

きる。結合親和性を決定するための多種多様の方法が当業界公知である。結合親和性を決定するための典型的な方法は、表面プラズモン共鳴を採用するものである。表面プラズモン共鳴とは、例えばＢＩＡｃｏｒｅのシステム(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, SwedenおよびPiscataway, N.J.)を使用して、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度変化を検出することにより、リアルタイムの生体特異的な相互作用の分析を可能にする光学現象である。さらなる説明については、Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26；Jonsson, U., i (1991) Biotechniques 11:620-627；Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131；およびJohnnson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277を参照されたい。

【０４４０】

ある面において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、本明細書で記載される抗原結合ドメインのアミノ酸配列に相同なアミノ酸配列を含み、抗原結合ドメインは、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントの所望の機能特性を保持する。具体的なある面において、本発明のＣＡＲ組成物は、抗体フラグメントを含む。さらなる面において、その抗体フラグメントは、ｓｃＦｖを含む。

【０４４１】

様々な面において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、一方または両方の可変領域(例えば、ＶＨおよび／またはＶＬ)内、例えば１以上のＣＤＲ領域内および／または１以上のフレームワーク領域内の、１以上のアミノ酸を改変することによって加工される。具体的なある面において、本発明のＣＡＲ組成物は、抗体フラグメントを含む。さらなる面において、その抗体フラグメントは、ｓｃＦｖを含む。

【０４４２】

本発明の抗体または抗体フラグメントは、それらの所望の活性は変化させずにアミノ酸配列が変化するように(例えば、野生型から)さらに改変されてもよいことは、当業者には理解されるものと予想される。例えば、「非必須」アミノ酸残基においてアミノ酸置換、例えば保存的置換をもたらす追加のヌクレオチド置換、例えば保存的置換がタンパク質になされてもよい。例えば、分子中の非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置き換えられていてもよい。別の態様において、アミノ酸の鎖が、側鎖ファミリーの一員の、順番および／または組成において異なる構造的に類似した鎖で置き換えられていてもよく、例えば、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられる保存的置換がなされてもよい。

【０４４３】

類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当業界において定義されており、塩基性側鎖(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電性極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、ベータ分岐側鎖(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を包含する。

【０４４４】

２以上の核酸またはポリペプチド配列の状況における完全同一(Percent identity)とは、２以上の配列が同一であることを指す。以下の配列比較アルゴリズムの１つを使用してまたは手作業でのアライメントと目視検査により測定する場合、比較ウィンドウまたは指示された領域にわたり最大限一致するように比較して並べたときに、２配列が、同一であるアミノ酸残基またはヌクレオチドの特定のパーセンテージ(例えば、特定の領域にわたりまたは特に指定されない場合は配列全体にわたり、６０％の同一性であり、７０％、７１％。７２％。７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％,８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性であってもよい)を有する場合、その２配列は「実質的に同一」である。同一性は、長さが少なくとも

約５０ヌクレオチド(または１０アミノ酸)の領域にわたりまたはより好ましくは長さが１００から５００もしくは１０００以上のヌクレオチド(または２０、５０、２００以上のアミノ酸)の領域にわたり存在してもよい。

【０４４５】

配列の比較のために、典型的には１配列が、テスト配列と比較される参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、テストおよび参照配列をコンピューターに入力し、部分配列の座標を指定し、必要に応じて配列アルゴリズムのプログラムパラメーターを指定する。デフォルトプログラムのパラメーターを使用してもよいしまたは代替パラメーターを指定してもよい。次いで配列比較アルゴリズムは、プログラムパラメーターに基づき参照配列に対するテスト配列のパーセント配列同一性を計算する。比較のための配列のアライメント方法は当業界周知である。比較のための最適な配列のアライメントは、例えば、Smith and Waterman, (1970) Adv. Appl. Math. 2:482cのローカルホモロジーアルゴリズムによって、Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443のホモロジーアライメントアルゴリズムによって、Pearson and Lipman, (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444の類似性検索方法によって、これらのアルゴリズムのコンピューター化された実行(Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｐａｃｋａｇｅ、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｍｐｕｔｅｒ　Ｇｒｏｕｐ、５７５　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｄｒ.、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩにおける、ＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡおよびＴＦＡＳＴＡ)によってまたは手作業でのアライメントと目視検査(例えば、Brent et al., (2003) Current Protocols in Molecular Biologyを参照]によって行うことができる。

【０４４６】

パーセント配列同一性および配列類似性を決定するのに好適なアルゴリズムの２例は、ＢＬＡＳＴおよびＢＬＡＳＴ２.０アルゴリズムであり、これらはそれぞれ、Altschul et al., (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402；およびAltschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410で説明されている。ＢＬＡＳＴ分析を行うためのソフトウェアは、国立バイオテクノロジー情報センター(Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ)を介して公共的に利用可能である。

【０４４７】

また２アミノ酸配列間のパーセント同一性は、ＡＬＩＧＮプログラム(バージョン２.０)に組み込まれ、ＰＡＭ１２０重量残基表、１２のギャップの伸長ペナルティーおよび４のギャップペナルティーを使用するＥ.ＭｅｙｅｒｓおよびW.Ｍｉｌｌｅｒ((1988) Comput. Appl. Biosci. 4:11-17]のアルゴリズムを使用しても決定することができる。加えて、２アミノ酸配列間のパーセント同一性は、ＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラム(www.gcg.comで利用可能)に組み込まれ、Ｂｌｏｓｓｏｍ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックスのいずれか、ならびに１６、１４、１２、１０、８、６または４のギャップウェイトおよび１、２、３、４、５または６のレングスウェイトを使用するＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453]のアルゴリズムを使用して決定することもできる。

【０４４８】

ある面において、本発明は、機能的に同等な分子を生成する開始時の抗体またはフラグメント(例えば、ｓｃＦｖ)のアミノ酸配列の改変を意図している。例えば、ＣＡＲに含まれる、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖのＶＨまたはＶＬは、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えばｓｃＦｖの開始時のＶＨまたはＶＬフレームワーク領域の、少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％,８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性が保持されるように改変してもよい。本発明は、機能的に同等な分子を生成するために、ＣＡＲ構築物全体の改変、例えば、ＣＡＲ構築物の様々なドメインの１以上のアミノ酸配列における改変を意図している。ＣＡＲ構築物は、開始時のＣＡＲ構築物の、少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９

％、８０％,８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性が保持されるように改変してもよい。

【０４４９】

ＲＮＡトランスフェクション

本明細書において、インビトロで転写されたＲＮＡ　ＣＡＲを産生する方法が開示される。本発明はまた、細胞に直接トランスフェクトすることができる、ＣＡＲをコードするＲＮＡ構築物も包含する。トランスフェクションで使用するためのｍＲＮＡを生成するための方法は、長さが典型的には５０～２０００塩基の３’および５’非翻訳配列(「ＵＴＲ」)、５’キャップおよび／または内部リボソーム侵入部位(ＩＲＥＳ)、発現する核酸およびポリＡテイルを含有する構築物(配列番号３５)を産生するために、インビトロでの特別に設計されたプライマーを用いた鋳型の転写(ＩＶＴ)、それに続くポリＡ付加を含んでいてもよい。このようにして産生されたＲＮＡは、異なる種の細胞に効率的にトランスフェクトすることができる。ある面において、鋳型は、ＣＡＲに関する配列を包含する。

【０４５０】

ある面において、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、メッセンジャーＲＮＡ(ｍＲＮＡ)によってコードされる。ある面において、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲをコードするｍＲＮＡは、ＣＡＲを発現する細胞(例えば、ＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲを発現するＮＫ細胞)の産生のために、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞に導入される。

【０４５１】

ある態様において、インビトロで転写されたＲＮＡ　ＣＡＲは、一過性トランスフェクションの形態として細胞に導入することができる。ＲＮＡは、ポリメラーゼ連鎖反応(ＰＣＲ)で生成した鋳型を使用したインビトロでの転写によって産生される。あらゆる源からの対象のＤＮＡを、インビトロでの適切なプライマーおよびＲＮＡポリメラーゼを使用したｍＲＮＡ合成のための鋳型に直接ＰＣＲで変換させることができる。ＤＮＡ源は、例えば、ゲノムＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、ファージＤＮＡ、ｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ配列または他のあらゆる適切なＤＮＡ源であってもよい。インビトロでの転写のための所望の鋳型(temple)は、本発明のＣＡＲである。例えば、ＲＮＡ　ＣＡＲのための鋳型は、抗腫瘍抗体の単一の鎖可変ドメインを含む細胞外領域；ヒンジ領域、膜貫通ドメイン(例えば、ＣＤ８ａの膜貫通ドメイン)；ならびに細胞内シグナル伝達ドメインを包含する細胞質内領域、例えば、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよび４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインを含む細胞質内領域を含む。

【０４５２】

ある態様において、ＰＣＲに使用するＤＮＡは、オープンリーディングフレームを含有する。ＤＮＡは、生物のゲノムからの天然に存在するＤＮＡ配列由来であってもよい。ある態様において、核酸は、５’および／または３’非翻訳領域(ＵＴＲ)の一部または全部を包含していてもよい。核酸は、エキソンおよびイントロンを包含していてもよい。ある態様において、ＰＣＲに使用するＤＮＡは、ヒト核酸配列である。別の態様において、ＰＣＲに使用するＤＮＡは、５’および３’ＵＴＲを包含するヒト核酸配列である。その代わりにＤＮＡは、天然に存在する生物では通常発現されない人工ＤＮＡ配列であってもよい。典型的な人工ＤＮＡ配列は、一緒にライゲートして融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを形成する遺伝子の一部を含有する配列である。一緒にライゲートされるＤＮＡの一部は、単一の生物由来であってもよいしまたは１種より多くの生物由来であってもよい。

【０４５３】

ＰＣＲは、トランスフェクションに使用されるｍＲＮＡのインビトロでの転写のための鋳型を生成するために使用される。ＰＣＲを行う方法は当業界周知である。ＰＣＲで使用するためのプライマーは、ＰＣＲのための鋳型として使用するＤＮＡの領域に実質的に相補的な領域が含まれるように設計される。「実質的に相補的」は、本明細書で使用される場合、プライマー配列中の塩基の大部分または全部が相補的であるかまたは１以上の塩基が

非相補的であるかもしくはミスマッチのヌクレオチド配列を指す。実質的に相補的な配列は、ＰＣＲに使用されるアニーリング条件下で、意図したＤＮＡ標的にアニールしたりまたは意図したＤＮＡ標的とハイブリダイズしたりすることが可能である。プライマーは、ＤＮＡ鋳型のいずれかの部分に実質的に相補的になるように設計することができる。例えば、プライマーは、５’および３’ＵＴＲを包含する細胞中で正常に転写される核酸(オープンリーディングフレーム)の一部が増幅されるように設計することができる。またプライマーは、対象の特定のドメインをコードする核酸の一部が増幅されるように設計することもできる。ある態様において、プライマーは、５’および３’ＵＴＲの全部または一部を包含するヒトｃＤＮＡのコード領域が増幅されるように設計される。ＰＣＲに有用なプライマーは、当業界周知の合成方法によって生成することができる。「フォワードプライマー」は、増幅されるべきＤＮＡ配列の上流でＤＮＡ鋳型におけるヌクレオチドに実質的に相補的なヌクレオチドの領域を含有するプライマーである。「上流」は、本明細書において、コード鎖に関して増幅するＤＮＡ配列の５位を指すものとして使用される。「リバースプライマー」は、増幅されるべきＤＮＡ配列の下流で二本鎖ＤＮＡ鋳型に実質的に相補的なヌクレオチドの領域を含有するプライマーである。「下流」は、本明細書において、コード鎖に関して増幅するＤＮＡ配列の３’位を指すものとして使用される。

【０４５４】

本明細書で開示された方法において、ＰＣＲに有用なあらゆるＤＮＡポリメラーゼを使用することができる。試薬およびポリメラーゼは、多数の供給元から市販されている。

【０４５５】

安定性および／または翻訳効率を促進する能力を有する化学構造も使用が可能である。ＲＮＡは、好ましくは５’および３’ＵＴＲを有する。ある態様において、５’ＵＴＲは、長さが１から３０００ヌクレオチドの間である。コード領域に付加する５’および３’ＵＴＲ配列の長さは、これらに限定されないが、ＵＴＲの異なる領域にアニールするＰＣＲのためのプライマーを設計することなど様々な方法によって変更することができる。このアプローチを使用すれば、当業者は、転写されたＲＮＡのトランスフェクション後に最適な翻訳効率を達成するのに必要な５’および３’ＵＴＲの長さを改変することができる。

【０４５６】

５’および３’ＵＴＲは、対象の核酸にとって、天然に存在する内因性５’および３’ＵＴＲであってもよい。その代わりに、フォワードおよびリバースプライマーにＵＴＲ配列を取り入れることによってまたは鋳型の他のあらゆる改変によって、対象の核酸にとって内因性ではないＵＴＲ配列を付加してもよい。対象の核酸にとって内因性ではないＵＴＲ配列の使用は、ＲＮＡの安定性および／または翻訳効率を改変するのに有用な可能性がある。例えば、３’ＵＴＲ配列中のＡＵリッチ要素は、ｍＲＮＡの安定性を減少させる可能性があることが知られている。それゆえに、当業界周知のＵＴＲの特性に基づき転写されたＲＮＡの安定性を増加させるには、３’ＵＴＲを選択または設計することができる。

【０４５７】

ある態様において、５’ＵＴＲは、内因性核酸のコザック配列を含有していてもよい。その代わりに、対象の核酸にとって内因性ではない５’ＵＴＲを上述したようにＰＣＲによって付加する場合、５’ＵＴＲ配列を付加することによってコンセンサスコザック配列の設計を改めてもよい。コザック配列は一部のＲＮＡ転写物の翻訳効率を増加させることができるが、効率的な翻訳を可能にするために全てのＲＮＡに必要であるとは考えられていない。多くのｍＲＮＡにとってのコザック配列の必要条件は当業界公知である。他の態様において、５’ＵＴＲは、ＲＮＡのゲノムが細胞中で安定であるＲＮＡウイルスの５’ＵＴＲであってもよい。他の態様において、様々なヌクレオチド類似体は、３’または５’ＵＴＲにおいて、エキソヌクレアーゼによるｍＲＮＡの分解を妨害するのに使用できる。

【０４５８】

遺伝子クローニングを必要とすることなくＤＮＡ鋳型からのＲＮＡの合成を可能にするためには、転写プロモーターは、転写する配列の上流でＤＮＡ鋳型に付着すると予想される。ＲＮＡポリメラーゼのプロモーターとして機能する配列がフォワードプライマーの５’末

端に付加される場合、ＲＮＡポリメラーゼのプロモーターは、転写するオープンリーディングフレームの上流でＰＣＲ産物に取り入れられるようになる。好ましいある態様において、プロモーターは、本明細書の他所で説明したように、Ｔ７ポリメラーゼプロモーターである。他の有用なプロモーターとしては、これらに限定されないが、Ｔ３およびＳＰ６ＲＮＡポリメラーゼプロモーターが挙げられる。Ｔ７、Ｔ３およびＳＰ６プロモーターのコンセンサスヌクレオチド配列は、当業界公知である。

【０４５９】

好ましい態様において、ｍＲＮＡは、５’末端上のキャップと３’ポリ(Ａ)テイルの両方を有しており、これらがリボソーム結合、翻訳開始および細胞中でのｍＲＮＡの安定性を決定する。環状ＤＮＡ鋳型、例えばプラスミドＤＮＡにおいて、ＲＮＡポリメラーゼは、真核細胞での発現には好適ではない長いコンカテマー様の生成物を産生する。３’ＵＴＲの末端で直線化したプラスミドＤＮＡの転写は、正常なサイズのｍＲＮＡをもたらすが、これは転写後にポリアデニル化されたとしても真核性のトランスフェクションにおいて有効ではない。

【０４６０】

直鎖状ＤＮＡ鋳型において、ファージＴ７ＲＮＡポリメラーゼは、鋳型の最後の塩基を過ぎても転写物の３’末端を伸長することができる((Schenborn and Mierendorf, Nuc Acids Res., 13:6223-36 (1985)；Nacheva and Berzal-Herranz, Eur. J. Biochem., 270:1485-65 (2003))。

【０４６１】

ポリＡ／Ｔストレッチをコードする鋳型に統合する従来の方法は、分子クローニングである。しかしながら、プラスミドＤＮＡに統合されたポリＡ／Ｔ配列は、プラスミドを不安定化する可能性があり、これが、なぜ細菌細胞から得られたプラスミドのＤＮＡ鋳型に、欠失や他の異常が高度に混入していることが多いのかの理由である。そのため、クローニング手法は面倒で時間がかかるだけでなく、信頼できないものになっている。これが、クローニングを用いずにポリＡ／Ｔ３’ストレッチを有するＤＮＡ鋳型の構築が可能になる方法が極めて望ましい理由である。

【０４６２】

転写のＤＮＡ鋳型のポリＡ／Ｔセグメントは、ＰＣＲ中に、ポリＴテイル、例えば１００Ｔテイル(配列番号３１)(サイズは、５０～５０００のＴであってもよい(配列番号３２)]を含有するリバースプライマーを使用することによってまたはＰＣＲ後に、これらに限定されないが、ＤＮＡライゲーションまたはインビトロでの組換えなどの他のあらゆる方法によって産生することができる。またポリ(Ａ)テイルは、ＲＮＡに安定性ももたらし、それらの分解を少なくする。一般的に、ポリ(Ａ)テイルの長さは、転写されたＲＮＡの安定性と正の相関がある。ある態様において、ポリ(Ａ)テイルは、１００から５０００アデノシンの間である(配列番号３３)。

【０４６３】

ＲＮＡのポリ(Ａ)テイルは、Ｅ.コリのポリＡポリメラーゼ(Ｅ－ＰＡＰ)などのポリ(Ａ)ポリメラーゼを使用して、インビトロでの転写の後にさらに伸長させることができる。ある態様において、ポリ(Ａ)テイルの長さを１００ヌクレオチドから、３００～４００ヌクレオチド(配列番号３４)に増加させることにより、ＲＮＡの翻訳効率約２倍の増加がもたらされる。加えて、３’末端への異なる化学基の付着は、ｍＲＮＡの安定性を増加させることができる。このような付着は、改変された／人工ヌクレオチド、アプタマーおよび他の化合物を含有していてもよい。例えば、ＡＴＰ類似体は、ポリ(Ａ)ポリメラーゼを使用してポリ(Ａ)テイルに取り入れられてもよい。ＡＴＰ類似体は、ＲＮＡの安定性をさらに増加させることができる。

【０４６４】

また５’キャップは、ＲＮＡ分子に安定性ももたらす。好ましい態様において、本明細書で開示された方法によって産生されたＲＮＡは、５’キャップを包含する。５’キャップは、当業界公知の技術や本明細書で記載される技術を使用してもたらされる(Cougot, et al.,

Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001)；Stepinski, et al., RNA, 7:1468-95 (2001)；Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005))。

【０４６５】

本明細書で開示された方法によって産生されたＲＮＡはまた、内部リボソーム侵入部位(ＩＲＥＳ)配列を含有していてもよい。ＩＲＥＳ配列は、あらゆるウイルス配列、染色体配列または人工的に設計された配列であってもよく、これは、キャップ非依存性のｍＲＮＡへのリボソーム結合を開始させて翻訳開始を容易にするものである。細胞のエレクトロポレーションに好適なあらゆる溶質、すなわち糖、ペプチド、脂質、タンパク質、抗酸化剤および界面活性剤などの細胞の透過性および生存能力を助長する因子を含有し得る溶質が包含されていてもよい。

【０４６６】

ＲＮＡは、多数の異なる方法、例えば市販の方法のいずれかを使用して標的細胞に導入することができ、このような方法としては、これらに限定されないが、エレクトロポレーション(Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems, Cologne, Germany)]、(ＥＣＭ８３０(ＢＴＸ)(Harvard Instruments, Boston, Mass.]またはジーンパルサーII(BioRad、Denver、Colo.)、マルチポレーター(Eppendort, Hamburg Germany)、リポフェクションを使用したカチオン性リポソーム介在トランスフェクション、ポリマーのカプセル封入、ペプチド介在トランスフェクションまたは遺伝子銃粒子送達系、例えば「ジーンガン」(例えば、Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)を参照]が挙げられる。

【０４６７】

非ウイルスの送達方法

いくつかの面において、非ウイルス方法は、細胞または組織または対象に本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸を送達するのに使用することができる。

【０４６８】

ある態様において、非ウイルス方法としては、トランスポゾン(転移因子とも呼ばれる)の使用が挙げられる。ある態様において、トランスポゾンは、ゲノム中の位置にそれ自身を挿入することができるＤＮＡの断片、例えば、自己増殖してそのコピーをゲノムに挿入することができるＤＮＡの断片またはより長い核酸からプライシングしてゲノム中の別の場所に挿入することができるＤＮＡの断片である。例えば、トランスポゾンは、転移のための遺伝子の端にある逆方向反復配列で構成されるＤＮＡ配列を含む。

【０４６９】

トランスポゾンを使用する核酸送達の例示的な方法としては、スリーピングビューティートランスポゾンシステム(ＳＢＴＳ)およびｐｉｇｇｙＢａｃ(ＰＢ)トランスポゾンシステムが挙げられる。例えば、全てが参照により本明細書に組み入れられる、Aronovich et al. Hum. Mol. Genet. 20. R1(2011):R14-20; Singh et al. Cancer Res. 15(2008): 2961-2971; Huang et al. Mol. Ther. 16(2008):580-589; Grabundzija et al. Mol. Ther. 18(2010):1200-1209; Kebriaei et al. Blood. 122.21(2013):166; Williams. Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16; Bell et al. Nat. Protoc. 2.12(2007):3153-65;およびDing et al. Cell. 122.3(2005):473-83を参照されたい。

【０４７０】

ＳＢＴＳは、２構成要素：１)導入遺伝子を含有するトランスポゾンおよび２)トランスポゼース酵素源を包含する。トランスポゼースは、担体プラスミド(または他のドナーＤＮＡ)から標的ＤＮＡ、例えば宿主細胞染色体／ゲノムにトランスポゾンを転移させることができる。例えば、トランスポゼースは、担体プラスミド／ドナーＤＮＡに結合し、プラスミドからトランスポゾン(導入遺伝子を包含する)を切り出して、それを宿主細胞のゲノムに挿入する。例えば上記のAronovich et al.を参照されたい。

【０４７１】

例示的なトランスポゾンとしては、ｐＴ２ベースのトランスポゾンが挙げられる。例えば、全てが参照により本明細書に組み入れられる、Grabundzija et al. Nucleic Acids Re

s. 41.3(2013):1829-47;およびSingh et al. Cancer Res. 68.8(2008): 2961-2971を参照されたい。例示的なトランスポゼースとしては、Ｔｃ１／マリナー型トランスポゼース、例えばＳＢ１０トランスポゼースまたはＳＢ１１トランスポゼース(例えばサイトメガロウイルスプロモーターから発現させることができる過剰活性化トランスポゼース)が挙げられる。例えば、全てが参照により本明細書に組み入れられるAronovich et al.；Kebriaei et al.；およびGrabundzija et al.を参照されたい。

【０４７２】

ＳＢＴＳの使用は、導入遺伝子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸の効率的な統合および発現を許容する。例えばＳＢＴＳなどのトランスポゾンシステムを使用して本明細書で記載されるＣＡＲを安定して発現する細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞を生成する方法が本明細書で示される。

【０４７３】

本明細書で記載される方法によれば、ある態様において、ＳＢＴＳ構成要素を含有する１以上の核酸、例えばプラスミドが、細胞(例えば、ＴまたはＮＫ細胞)に送達される。例えば、核酸は、核酸(例えば、プラスミドＤＮＡ)送達の標準的な方法、例えば本明細書で記載される方法、例えば、エレクトロポレーション、トランスフェクションまたはリポフェクションによって送達される。ある態様において、核酸は、導入遺伝子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸を含むトランスポゾンを含有する。ある態様において、核酸は、導入遺伝子(例えば、本明細書で記載されるＣＡＲをコードする核酸)に加えてトランスポゼース酵素をコードする核酸配列を含むトランスポゾンを含有する。他の態様において、２核酸を含むシステムが提供され、例えば、二重プラスミドシステム、例えば、第一のプラスミドが導入遺伝子を含むトランスポゾンを含有し、第二のプラスミドがトランスポゼース酵素をコードする核酸配列を含有するシステムが提供される。例えば、第一および第二の核酸は、宿主細胞に共に送達される。

【０４７４】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞、例えば、ＴまたはＮＫ細胞は、ＳＢＴＳを使用した遺伝子挿入と、ヌクレアーゼ(例えば、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ＺＦＮ)、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(ＴＡＬＥＮ)、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムまたは加工されたメガヌクレアーゼを再加工したホーミングエンドヌクレアーゼ)を使用した遺伝学的編集との組合せを使用することによって生成される。

【０４７５】

ある態様において、送達の非ウイルス方法の使用は、細胞、例えばＴまたはＮＫ細胞の再プログラミングおよび細胞の対象への直接注入を許容する。非ウイルスベクターの利点としては、これらに限定されないが、患者集団を満たすのに必要となる十分な量を生産するのが容易且つ比較的低コストであること、貯蔵中の安定性および免疫原性の欠如が挙げられる。

【０４７６】

ＣＡＲをコードする核酸構築物

本発明はまた、本明細書で記載される１種または複数のＣＡＲ構築物をコードする核酸分子も提供する。ある面において、核酸分子は、メッセンジャーＲＮＡの転写物として提供される。ある面において、核酸分子は、ＤＮＡ構築物として提供される。

【０４７７】

したがって、ある面において、本発明は、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)をコードする単離核酸分子であって、ＣＡＲは、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン(例えば、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメイン)、膜貫通ドメイン、ならびに刺激ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、共刺激シグナル伝達ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメイン、例えばゼータ鎖を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、核酸分子に関する。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインであり、例えば、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列

番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８または配列番号１４９からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む抗ＢＣＭＡ結合ドメインである。ある態様において、膜貫通ドメインは、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインである。ある態様において、膜貫通ドメインは、配列番号６の配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ヒンジ領域、例えば本明細書で記載されるヒンジによって膜貫通ドメインに接続されている。ある態様において、ヒンジ領域は、配列番号２もしくは配列番号３もしくは配列番号４もしくは配列番号５またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、単離核酸分子は、共刺激ドメインをコードする配列をさらに含む。ある態様において、共刺激ドメインは、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質の機能的なシグナル伝達ドメインである。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号７の配列もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列または配列番号８の配列を有するＣＤ２７共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)または配列番号３７９の配列を有するＣＤ２８共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)または配列番号３８１の配列を有するＩＣＯＳ共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)を含む。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号１６の配列またはそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよびＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７もしくは配列番号８の配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列および配列番号９もしくは配列番号１０の配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含み、ここで細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列は、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。

【０４７８】

別の面において、本発明は、配列番号１のリーダー配列、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８または配列番号１４９(もしくはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列)からなる群より選択される配列を有するｓｃＦｖドメイン、配列番号２もしくは配列番号３もしくは配列番号４もしくは配列番号５(もしくはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列)のヒンジ領域、配列番号６の配列(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)を有する膜貫通ドメイン、配列番号７の配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメインまたは配列番号８の配列(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)を有するＣＤ２７共刺激ドメインまたは配列番号１１０４の配列(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)を有するＣＤ２８共刺激ドメインまたは配列番号１１０６の配列を有するＩＣＯＳ共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)および配列番号９もしくは配列番号１０の配列を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメイン(もしくはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列)を含む、ＣＡＲ構築物をコードする単離核酸分子に関する。

【０４７９】

別の面において、本発明は、上記核酸分子によってコードされた単離されたポリペプチド分子に関する。ある態様において、単離されたポリペプチド分子は、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０４８０】

別の面において、本発明は、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび刺激ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体(ＣＡＲ)分子をコードする核酸分子であって、前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む、核酸分子に関する。

【０４８１】

ある態様において、コードされたＣＡＲ分子は、共刺激ドメインをコードする配列をさらに含む。ある態様において、共刺激ドメインは、例えば、本明細書で記載されるタンパク質、例えば、ＭＨＣクラスＩ分子、ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子(ＳＬＡＭタンパク質)、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＴＬＡ、Ｔｏｌｌリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１(ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８)、４－１ＢＢ(ＣＤ１３７)、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－

１、ＩＣＯＳ(ＣＤ２７８)、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ(ＬＩＧＨＴＲ)、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０(ＫＬＲＦ１)、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１(ＣＤ２２６)、ＳＬＡＭＦ４(ＣＤ２４４、２Ｂ４)、ＣＤ８４、ＣＤ９６(Ｔａｃｔｉｌｅ)、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９(ＣＤ２２９)、ＣＤ１６０(ＢＹ５５)、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００(ＳＥＭＡ４Ｄ)、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６(ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８)、ＳＬＡＭ(ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３)、ＢＬＡＭＥ(ＳＬＡＭＦ８)、ＳＥＬＰＬＧ(ＣＤ１６２)、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａおよびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドからなる群より選択されるタンパク質の機能的なシグナル伝達ドメインである。ある態様において、共刺激ドメインは、配列番号７の配列を含む。ある態様において、膜貫通ドメインは、例えば本明細書で記載される、例えばＴ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７およびＣＤ１５４からなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインである。ある態様において、膜貫通ドメインは、配列番号６の配列を含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメインおよびゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。ある態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号７の配列および配列番号９の配列を含み、ここで細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列は、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として発現される。ある態様において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ヒンジ領域によって膜貫通ドメインに接続されている。ある態様において、ヒンジ領域は、配列番号２を含む。ある態様において、ヒンジ領域は、配列番号３または配列番号４または配列番号５を含む。

【０４８２】

別の面において、本発明は、配列番号１のリーダー配列、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号１２９、配列番号１３０、配列番号１３１、配列番号１３２、配列番号１３３、配列番号１３４、配列番号１３５、配列番号１３６、配列番号１３７、配列番号１３８、配列番号１３９、配列番号１４０、配列番号１４１、配列番号１４２、配列番号１４３、配列番号１４４、配列番号１４５、配列番号１４６、配列番号１４７、配列番号１４８および配列番号１４９またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列からなる群より選択される配列を有するｓｃＦｖドメイン、配列番号２もしくは配列番号３もしくは配列番号４もしくは配列番号５のヒンジ領域、配列番号６の配列を有する膜貫通ドメイン、配列番号７の配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメインまたは配列番号８の配列を有するＣＤ２７共刺激ドメインまたは配列番号１１０４の配列を有するＣＤ２８共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)または配列番号１１０６の配列を有するＩＣＯＳ共刺激ドメイン(もしくはそれと９５～９９％の同一性を有する配列)および配列番号９もしくは配列番号１０の配列を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメインを含むコードされたＣＡＲ分子に関する。ある態様において、コードされたＣＡＲ分子は、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号２１３、配列番号２１４、配列番号２１５、配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２１９、配列番号２２０、配列番号２２１、配列番号２２２

、配列番号２２３、配列番号２２４、配列番号２２５、配列番号２２６、配列番号２２７、配列番号２２８、配列番号２２９、配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２および配列番号２３３からなる群より選択される配列またはそれらと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０４８３】

所望の分子をコードする核酸配列は、当業界公知の組換え方法を使用して得ることができ、例えば遺伝子を発現する細胞からのライブラリーをスクリーニングすること、遺伝子それを包含することがわかっているベクターからその遺伝子を抽出することまたはその遺伝子を含有する細胞および組織から標準的な技術を使用して直接単離することなどによって得ることができる。その代わりに、対象の遺伝子は、クローニングされるのではなく合成的に産生されてもよい。

【０４８４】

本発明はまた、本発明のＤＮＡが挿入されるベクターも提供する。レンチウイルスなどのレトロウイルス由来ベクターは、導入遺伝子の長期にわたり安定な統合および娘細胞中でのその増殖を可能にすることから、長期にわたる遺伝子移入を達成するためのツールとして好適である。レンチウイルスベクターは、肝細胞などの非増殖細胞に形質導入することができるという点で、マウス白血病ウイルスなどのオンコレトロウイルス由来のベクターに勝る追加の利点を有する。またレンチウイルスベクターは、低い免疫原性という追加の利点も有する。またレトロウイルスベクターは、例えば、ガンマレトロウイルスベクターであってもよい。ガンマレトロウイルスベクターは、例えば、プロモーター、パッケージングシグナル(Ψ)、プライマー結合部位(ＰＢＳ)、１以上(例えば、２)ロングターミナルリピート(ＬＴＲ)および目的の導入遺伝子、例えば、ＣＡＲをコードする遺伝子を包含していてもよい。ガンマレトロウイルスベクターは、ｇａｇ、ｐｏｌおよびｅｎｖなどのウイルスの構造遺伝子(gens)を欠失していてもよい。例示的なガンマレトロウイルスベクターとしては、マウス白血病ウイルス(ＭＬＶ)、脾フォーカス形成ウイルス(ＳＦＦＶ)および骨髄増殖性肉腫ウイルス(ＭＰＳＶ)およびそれら由来のベクターが挙げられる。他のガンマレトロウイルスベクターは、例えば、Tobias Maetzig et al.,“Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application” Viruses. 2011 Jun; 3(6): 677-713で説明されている。

【０４８５】

別の態様において、本発明の所望のＣＡＲをコードする核酸を含むベクターは、アデノウイルスベクター(Ａ５／３５)である。別の態様において、ＣＡＲをコードする核酸の発現は、スリーピングビューティー、ＣＲＩＳＰＲ、ＣＡＳ９およびジンクフィンガーヌクレアーゼなどのトランスポゾンを使用して達成することができる。以下の、参照により本明細書に組み入れられるJune et al. 2009 Nature Reviews Immunology 9.10: 704-716を参照されたい。

【０４８６】

簡単にまとめると、ＣＡＲをコードする天然または合成核酸の発現は、典型的には、ＣＡＲポリペプチドまたはそれらの一部をコードする核酸をプロモーターに機能するように連結して、その構築物を発現ベクターに取り入れることによって達成される。ベクターは、真核生物の複製および統合に好適であってもよい。典型的なクローニングベクターは、転写および翻訳ターミネーター、開始配列、ならびに所望の核酸配列の発現の調節に有用なプロモーターを含有する。

【０４８７】

発明の発現構築物は、標準的な遺伝子送達プロトコールを使用して核酸の免疫化および遺伝子治療にも使用することができる。遺伝子送達方法は、当業界公知である。例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる米国特許第５,３９９,３４６号、５,５８０,８５９号、５,５８９,４６６号を参照されたい。別の態様において、本発明は、遺伝子治療用ベクターを提供する。

【０４８８】

核酸は、多数のタイプのベクターにクローニングすることができる。例えば、核酸は、これらに限定されないが、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルスおよびコスミドなどのベクターにクローニングすることができる。特に興味深いベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター(probe generation vector)および配列決定ベクターが挙げられる。

【０４８９】

さらに、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に供給されてもよい。ウイルスベクター技術は当業界周知であり、例えば、Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING：A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NYや他のウイルス学および分子生物学マニュアルで説明されている。ベクターとして有用なウイルスとしては、これらに限定されないが、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルスおよびレンチウイルスが挙げられる。一般的に、好適なベクターは、少なくとも１種の生物において機能的な複製起点、プロモーター配列、便利な制限エンドヌクレアーゼ部位および１以上の選択マーカーを含有する(例えば、ＷＯ０１／９６５８４；ＷＯ０１／２９０５８；および米国特許第６,３２６,１９３号)。

【０４９０】

哺乳動物細胞への遺伝子移入のための多数のウイルスベース系が開発されてきた。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達系に便利なプラットフォームを提供する。選択された遺伝子を、当業界公知の技術を使用してベクターに挿入し、レトロウイルス粒子中にパッケージ化してもよい。次いで組換えウイルスを単離して、インビボまたはエクスビボのいずれかで対象の細胞に送達してもよい。多数のレトロウイルス系が当業界公知である。いくつかの態様において、アデノウイルスベクターが使用される。多数のアデノウイルスベクターが当業界公知である。ある態様において、レンチウイルスベクターが使用される。

【０４９１】

追加のプロモーター要素、例えばエンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。これらは、典型的には開始部位上流の領域３０～１１０ｂｐに配置されるが、多数のプロモーターが開始部位の下流に同様に機能的な要素を含有することが示されている。要素が互いに逆転または移動したときにプロモーターの機能が保存されるように、プロモーター要素間の間隔はフレキシブルであることが多い。チミジンキナーゼ(ｔｋ)プロモーターにおいて、プロモーター要素間の間隔は、活性が衰退し始める手前の５０ｂｐの間隔まで大きくすることができる。個々の要素は、転写を活性化するために、プロモーターに応じて協調的または独立的のいずれかによって機能する可能性があることが考えられる。

【０４９２】

哺乳動物のＴ細胞においてＣＡＲの導入遺伝子を発現することができるプロモーターの例は、ＥＦ１ａプロモーターである。天然型のＥＦ１ａプロモーターは、アミノアシルｔＲＮＡのリボソームへの酵素による送達に関与する延長因子－１複合体のアルファサブユニットの発現を駆動する。ＥＦ１ａプロモーターは、哺乳動物の発現プラスミドにおいて広く使用されおり、レンチウイルスベクターにクローニングした導入遺伝子からのＣＡＲ発現の駆動において有効であることが示されてきた。例えば、Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)を参照されたい。ある面において、ＥＦ１ａプロモーターは、配列番号１１として提供される配列を含む。

【０４９３】

プロモーターの別の例は、前初期サイトメガロウイルス(ＣＭＶ)プロモーター配列である。このプロモーター配列は、それに機能するように連結したあらゆるポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強い構成的プロモーター配列である。しかしながら他の構成的プロモーター配列も使用が可能であり、このような構成的プロモーター配列としては、これらに限定されないが、シミアンウイルス４０(ＳＶ４０)初期プロモーター、マウス乳癌ウイルス(ＭＭＴＶ)、ヒト免疫不全ウイルス(ＨＩＶ)ロングターミナルリピート(ＬＴＲ)プロモーター、ＭｏＭｕＬＶプロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、エプスタイン－バーウイルス前初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモー

ター、加えてヒト遺伝子プロモーター、例えば、これらに限定されないが、アクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、延長因子－１αプロモーター、ヘモグロビンプロモーターおよびクレアチンキナーゼプロモーターなどが挙げられる。さらに本発明は、構成的プロモーターの使用に限定されないものとする。誘導性プロモーターも、本発明の一部として意図される。誘導性プロモーターの使用は、分子スイッチを提供し、このような分子スイッチは、分子スイッチが機能するように連結したポリヌクレオチド配列の発現が望ましい場合に、そのポリヌクレオチド配列の発現を開始させまたは発現が望ましくない場合に、その発現を停止させることができる。誘導性プロモーターの例としては、これらに限定されないが、メタロチオネインプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーターおよびテトラサイクリンプロモーターが挙げられる。

【０４９４】

プロモーターの別の例は、ホスホグリセリン酸キナーゼ(ＰＧＫ)プロモーターである。ある態様において、トランケートされたＰＧＫプロモーター(例えば、野生型ＰＧＫプロモーター配列と比較した場合、１以上の、例えば、１、２、５、１０、１００、２００、３００または４００個のヌクレオチド欠失を有するＰＧＫプロモーター)が望ましい場合がある。例示的なＰＧＫプロモーターのヌクレオチド配列を以下に示す。

【０４９５】

ＷＴ　ＰＧＫプロモーター

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCC
TCCGAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG
TGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGT
CGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAG
GCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGC
TTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTG
TTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGG
TCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGTGCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTT
TGGGTCCCGACGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTTGGGGCACCATAAGCT

(配列番号１１０９)

【０４９６】

例示的なトランケートされたＰＧＫプロモーター：

ＰＧＫ１００：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCC
TCCGAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG

(配列番号１１１０)

【０４９７】

ＰＧＫ２００：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCC
TCCGAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG
TGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGT
CGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACG

(配列番号１１１１)

【０４９８】

ＰＧＫ３００：

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCC
TCCGAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG
TGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGT
CGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAG
GCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGC
TTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCG

(配列番号１１１２)

【０４９９】
ＰＧＫ４００：
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCC
TCCGAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG
TGGGGCGGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGT
CGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAG
GCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGC
TTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTG
TTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGG
TCCCAGCCG
(配列番号１１１３)
【０５００】
ベクターはまた、例えば、分泌を容易にするためのシグナル配列、ポリアデニル化シグナルおよび転写ターミネーター(例えば、ウシ成長ホルモン(ＢＧＨ)遺伝子からの)、エピソームの複製および原核生物における複製を可能にする要素(例えばＳＶ４０オリジンおよびＣｏｌＥ１または当業界において公知の他のもの)ならびに／または選択を可能にする要素(例えば、アンピシリン耐性遺伝子および／またはゼオシンマーカー)を包含していてもよい。
【０５０１】
ＣＡＲポリペプチドまたはそれらの一部の発現を検討するために、細胞に導入する発現ベクターはまた、ウイルスベクターを介してトランスフェクトまたは感染させたようとする細胞の集団から発現する細胞を同定および選択しやすくするために、選択マーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子のいずれかまたはその両方を含有していてもよい。他の面において、選択マーカーは、ＤＮＡの別の断片に搭載させてコトランスフェクション手法で使用されてもよい。選択マーカーおよびレポーター遺伝子はどちらも、宿主細胞で発現できるように適切な調節配列を端部に有していてもよい。有用な選択マーカーとしては、例えば、ｎｅｏなどの抗生物質耐性遺伝子および同種のものが挙げられる。
【０５０２】
レポーター遺伝子は、トランスフェクトされる可能性がある細胞を同定するために、さらには調節配列の機能性を評価するために使用することができる。一般的に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物または組織に存在しないかまたはそれらによって発現されない遺伝子であり、さらに、その発現がいくつかの容易に検出可能な特性、例えば酵素活性によって証明されるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、ＤＮＡがレシピエントの細胞に導入された後の好適な時間にアッセイされる。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、ベーターガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼをコードする遺伝子または緑色蛍光タンパク質遺伝子を挙げることができる(例えば、Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82)。好適な発現系は周知であり、公知の技術を使用して調製してもよいしまたは商業的に入手してもよい。一般的に、レポーター遺伝子の最大レベルの発現を示す最小の５’フランキング領域を有する構築物は、プロモーターとして同定される。このようなプロモーター領域は、レポーター遺伝子に連結されて、プロモーターによって駆動された転写をコンディショニングする能力に関して薬剤を評価するために使用することができる。
【０５０３】
ある態様において、ベクターは、第二のＣＡＲをコードする核酸をさらに含んでいてもよい。ある態様において、第二のＣＡＲは、急性骨髄性白血病細胞上で発現される標的、例えば、ＣＤ１２３、ＣＤ３４、ＣＬＬ－１、葉酸受容体ベータ、もしくはＦＬＴ３；またはＢ細胞上で発現される標的、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂ、もしくはＣＤ７９ａに対する抗原結合ドメインを包含する。ある態様において、ベクターは、第一の抗原

と特異的に結合し、共刺激シグナル伝達ドメインを有するが一次シグナル伝達ドメインを有さない細胞内シグナル伝達ドメインを包含する第一のＣＡＲをコードする核酸配列および第二の異なる抗原と特異的に結合し、一次シグナル伝達ドメインを有するが共刺激シグナル伝達ドメインを有さない細胞内シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲをコードする核酸を含む。ある態様において、ベクターは、ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび共刺激ドメインを包含する第一のＢＣＭＡ　ＣＡＲをコードする核酸、ならびにＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、ＡＭＬ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１２３、ＣＤ３４、ＣＬＬ－１、葉酸受容体ベータ、もしくはＦＬＴ３；またはＢ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂ、もしくはＣＤ７９ａ)を標的とし、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲをコードする核酸を含む。別の態様において、ベクターは、ＢＣＭＡ結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを包含する第一のＢＣＭＡ　ＣＡＲをコードする核酸、ならびにＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、ＡＭＬ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１２３、ＣＤ３４、ＣＬＬ－１、葉酸受容体ベータ、もしくはＦＬＴ３；またはＢ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂ、もしくはＣＤ７９ａ)と特異的に結合し、抗原に対する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび共刺激シグナル伝達ドメインを包含する第二のＣＡＲをコードする核酸を含む。

【０５０４】

ある態様において、ベクターは、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲをコードする核酸および阻害性ＣＡＲをコードする核酸を含む。ある態様において、阻害性ＣＡＲは、正常細胞上で見出されるが、癌細胞、例えばＢＣＭＡも発現する正常細胞では見出されない抗原と結合する抗原結合ドメインを含む。ある態様において、阻害性ＣＡＲは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメインおよび阻害分子の細胞内ドメインを含む。例えば、阻害性ＣＡＲの細胞内ドメインは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータの細胞内ドメインであってもよい。

【０５０５】

ある態様において、ベクターは、ＣＡＲ、例えば本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲおよび第二のＣＡＲ、例えば、阻害性ＣＡＲまたはＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、ＡＭＬ細胞上で発現される抗原、例えば、ＣＤ１２３、ＣＬＬ－１、ＣＤ３４、ＦＬＴ３、もしくは葉酸受容体ベータ；またはＢ細胞で発現される抗原、例えば、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂまたはＣＤ７９ａ)に特異的に結合するＣＡＲをコードする２以上の核酸配列を含んでいてもよい。このような態様において、ＣＡＲをコードする２以上の核酸配列は、同じフレーム中で単一のポリペプチド鎖として単一の核酸分子によってコードされる。この面において、２以上のＣＡＲは、例えば、１以上のペプチド切断部位(例えば、自動切断部位または細胞内プロテアーゼの基質)によって分離していてもよい。ペプチド切断部位の例としては、以下が挙げられ、ここでＧＳＧ残基は任意である：

Ｔ２Ａ：(GSG) ＥＧＲＧＳＬＬＴＣＧＤＶＥＥＮＰＧＰ(配列番号１１１４)

Ｐ２Ａ：(GSG) ＡＴＮＦＳＬＬＫＱＡＧＤＶＥＥＮＰＧＰ(配列番号１１１５)

Ｅ２Ａ：(GSG) ＱＣＴＮＹＡＬＬＫＬＡＧＤＶＥＳＮＰＧＰ(配列番号１１１６)

Ｆ２Ａ：(GSG) ＶＫＱＴＬＮＦＤＬＬＫＬＡＧＤＶＥＳＮＰＧＰ(配列番号１１１７)

【０５０６】

遺伝子を細胞に導入して発現させる方法は当業界公知である。発現ベクターの場合において、ベクターは、当業界におけるあらゆる方法によって宿主細胞、例えば哺乳動物、細菌

、酵母または昆虫細胞に容易に導入することができる。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的または生物学的な手段によって宿主細胞に移入させることができる。

【０５０７】

宿主細胞にポリヌクレオチドを導入する物理的な方法としては、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および同種のものが挙げられる。ベクターおよび／または外因性核酸を含む細胞を産生する方法は当業界周知である。例えば、Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NYを参照されたい。宿主細胞にポリヌクレオチドを導入する好ましい方法は、リン酸カルシウムトランスフェクションである。

【０５０８】

宿主細胞に対象のポリヌクレオチドを導入する生物学的な方法としては、ＤＮＡおよびＲＮＡベクターの使用が挙げられる。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物、例えばヒト細胞に遺伝子を挿入するための最も広く使用されている方法になりつつある。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、単純疱疹ウイルスＩ、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス、ならびに同種のもの由来のものであってもよい。例えば、米国特許第５,３５０,６７４号および５,５８５,３６２号を参照されたい。

【０５０９】

宿主細胞にポリヌクレオチドを導入するための化学的手段としては、例えば高分子複合体、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズなどのコロイド分散系、ならびに水中油型エマルジョン、ミセル、混合ミセルおよびリポソームなどの脂質ベースの系が挙げられる。インビトロおよびインビボでの送達媒体として使用するための典型的なコロイド系は、リポソーム(例えば人工膜小胞)である。最先端の核酸の標的化送達の他の方法が利用可能であり、例えば、標的化ナノ粒子を用いたポリヌクレオチドの送達または他の好適なサブミクロンサイズの送達システムなどが挙げられる。

【０５１０】

非ウイルス送達システムが利用されるケースにおいて、典型的な送達媒体は、リポソームである。脂質調合物の使用は、宿主細胞への核酸の導入(インビトロ、エクスビボまたはインビボ)を意図している。別の面において、核酸は、脂質と会合していてもよい。脂質に会合した核酸は、リポソームの水性の内部に封入されていてもよいし、リポソームの脂質二重層内に点在させてもよいし、リポソームとオリゴヌクレオチドの両方と会合する連結分子を介してリポソームに付着していてもよいし、リポソーム中に閉じ込められていてもよいし、リポソームと複合体化していてもよいし、脂質を含有する溶液中に分散されていてもよいし、脂質と混合されてもよいし、脂質と組み合わされていてもよいし、脂質中の懸濁液として含有されてもよいし、ミセルと共に含有されるかもしくはミセルと複合体化していてもよいしまたはそれ以外の方法で脂質と会合していてもよい。脂質、脂質／ＤＮＡまたは脂質／発現ベクターが会合した組成物は、溶液中におけるいかなる特定の構造にも限定されない。例えば、上記組成物は、二重層構造で、ミセルとしてまたは「崩壊した」構造で存在していてもよい。また上記組成物は、単に溶液中に点在した状態であってもよく、サイズまたは形状が均一でない凝集体を形成する可能性もある。脂質は、天然に存在する可能性がある脂肪性の物質であるかまたは合成脂質である。例えば、脂質としては、細胞質中で自然に発生する脂肪の小滴、加えて長鎖脂肪族炭化水素およびそれらの誘導体、例えば脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、ならびにアルデヒドなどを含有する化合物のクラスが挙げられる。

【０５１１】

使用に好適な脂質は、商業的な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, St.Louis, MOから得ることができ、リン酸ジセチル(「ＤＣＰ」)は、K&K Laboratories(Plainview, NY)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」)および他の脂質は、Avanti Polar Lipids,Inc.(Birmingham, AL)から得ることができる。クロロホルムまたはクロロホルム／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または凝集体の生成によって形成された様々な単層および多層の脂質小胞(lipid vehicles)を包括する一般名称である。リポソームは、リン脂質二重層膜と内部の水性媒体とを有する小胞構造を有することを特徴とすることができる。多重膜リポソームは、水性媒体によって隔てられた複数の脂質層を有する。これらは、リン脂質が過量の水溶液中に懸濁されると自発的に形成される。脂質成分は、閉じた構造が形成される前に自己再構成を経て、水を閉じ込め、脂質二重層の間に溶質を溶解させる(Ghosh et al., 1991 Glycobiology 5: 505-10)。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括される。例えば、脂質は、ミセル構造であると推定することができまたは単に脂質分子の不均一な凝集体として存在する可能性もある。また、リポフェクトアミン－核酸複合体も考慮される。

【０５１２】

宿主細胞に外因性核酸を導入するのに使用される方法またはそれとは別に細胞を本発明の阻害剤に晒す方法にかかわらず、宿主細胞中の組換え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。このようなアッセイとしては、例えば、当業者周知の「分子生物学的な」アッセイ、例えばサザンおよびノーザンブロッティング、ＲＴ－ＰＣＲおよびＰＣＲ；「生化学的な」アッセイ、例えば、免疫学的な手段(ＥＬＩＳＡおよびウェスタンブロット)によるまたは本発明の範囲内に含まれる薬剤を同定するための本明細書で記載されるアッセイによる、特定のペプチドの存在または非存在の検出などが挙げられる。

【０５１３】

本発明はさらに、ＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクターを提供する。ある面において、ＣＡＲベクターは、細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞に直接形質導入することができる。ある面において、ベクターは、クローニングまたは発現ベクターであり、例えば、これらに限定されないが、１以上のプラスミド(例えば、発現プラスミド、クローニングベクター、ミニサークル、ミニベクター、二重微小染色体)、レトロウイルスおよびレンチウイルスベクター構築物などのベクターである。ある面において、ベクターは、哺乳動物のＴ細胞またはＮＫ細胞中でＣＡＲ構築物を発現することができる。ある面において、哺乳動物のＴ細胞は、ヒトＴ細胞である。ある面において、哺乳動物ＮＫ細胞は、ヒトＮＫ細胞である。

【０５１４】

Ｔ細胞源

細胞源、例えば免疫エフェクター細胞(例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)は、拡大および遺伝学的改変の前に、対象から得られる。用語「対象」は、免疫反応を惹起させることができる生物(例えば、哺乳動物)を包含することが意図される。対象の例としては、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラットおよびそれらのトランスジェニック種が挙げられる。Ｔ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、感染部位からの組織、腹水、胸膜滲出、脾臓組織および腫瘍などの多数の源から得ることができる。

【０５１５】

本発明のある面において、当業界において利用可能な多数の免疫エフェクター細胞(例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)株を使用することができる。本発明のある面において、Ｔ細胞は、ＦｉｃｏｌｌTMセパレーションなどの当業者公知の多数の技術を使用して対象から収集された血液のユニットから得ることができる。好ましいある面において、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細胞などのリンパ球、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核の白血球、赤血球および血小板を含有する。ある面において、アフェレーシスによって収集された細胞を洗浄して血漿画分を除去し、それに続く処理工程のために細胞を適切な緩衝液または培地中に置くことがで

きる。本発明のある面において、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水(ＰＢＳ)で洗浄される。代替の面において、洗浄溶液はカルシウムを含まず、マグネシウムを含んでいなくもよくまたは２価カチオンの全てとはいかないまでもその多くを含んでいなくてもよい。

【０５１６】

カルシウムの非存在下における初期の活性化工程により、活性化を増大させることができる。当業者であれば容易に認識するものと予想されるが、洗浄工程は、当業者公知の方法によって、例えば半自動の「流水式」遠心分離機(例えば、Cobe 2991 cell processor、Baxter CytoMateまたはHaemonetics Cell Saver 5)を製造元の説明書に従って使用することによって達成されてもよい。洗浄後、細胞は、様々な生体適合性緩衝液、例えばＣａ非含有、Ｍｇ非含有ＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａなどまたは他の緩衝液含有または非含有食塩水に再懸濁されもよい。その代わりに、アフェレーシスサンプルの望ましくない成分を除去し、細胞を培養培地に直接再懸濁させてもよい。

【０５１７】

適用方法は、５％またはそれ未満、例えば２％のヒトＡＢ血清を含む培養培地条件を利用でき、公知の培養培地条件および組成、例えばSmith et al., “Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement” Clinical & Translational Immunology (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31で記載されるものを採用できることが認識されている。

【０５１８】

ある面において、Ｔ細胞は、例えば、ＰＥＲＣＯＬＬTMの勾配を介した遠心分離によってまた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り末梢血リンパ球から単離される。陽性または陰性選択技術によって、特定のＴ細胞部分集団、例えばＣＤ３＋、ＣＤ２８＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８＋、ＣＤ４５ＲＡ＋およびＣＤ４５ＲＯ＋Ｔ細胞をさらに単離することができる。例えば、ある面において、所望のＴ細胞の陽性選択に十分な期間にわたり、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８(例えば、３×２８)がコンジュゲートしたビーズ、例えばＤＹＮＡＢＥＡＤＳ(登録商標)Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８Ｔとインキュベートすることによって、Ｔ細胞が単離される。ある面において、期間は、約３０分である。さらなる面において、期間は、３０分から３６時間の範囲またはそれより長くおよびその間の全ての整数値である。さらなる面において、期間は、少なくとも１、２、３、４、５または６時間である。さらに別の好ましい面において、期間は、１０から２４時間である。ある面において、インキュベート期間は、２４時間である。腫瘍組織または免疫不全個体から腫瘍浸潤リンパ球(ＴＩＬ)を単離する場合のように、他の細胞型と比較してＴ細胞がわずかしかないあらゆる状況においてＴ細胞を単離するためには、より長いインキュベート時間が使用される可能性がある。さらに、より長いインキュベート時間の使用は、ＣＤ８＋Ｔ細胞の捕獲効率を増加させることができる。したがって、時間を単に短くしたりまたは長くしたりすることによって、Ｔ細胞をＣＤ３／ＣＤ２８ビーズに結合させることができおよび／またはＴ細胞に対するビーズの比率(本明細書でさらに記載されるように)を増加または減少させることによって、培養開始時またはプロセス中の他のタイムポイントで、Ｔ細胞の部分集団を可否に応じて優先的に選択することができる。加えて、ビーズまたは他の表面に対する抗ＣＤ３および／または抗ＣＤ２８抗体の比率を増加または減少させることによって、培養開始時または他の所望のタイムポイントで、Ｔ細胞の部分集団を可否に応じて優先的に選択することができる。当業者であれば、本発明の状況において複数回の選択も使用できるということを認識しているものと予想される。ある面において、活性化および拡大プロセス中に、選択手法を行って「任意抽出の」細胞を使用することが望ましい場合がある。また「任意抽出の」細胞は、追加の回の選択で処理してもよい。

【０５１９】

陰性選択によるＴ細胞集団の濃縮は、陰性選択された細胞に独特な表面マーカーに向けられた抗体の組み合わせを用いて達成することができる。１つの方法は、セルソーティングおよび／または負磁気免疫接着を介した選択または陰性選択された細胞に存在する細胞表面マーカーに向けられたモノクローナル抗体のカクテルを使用するフローサイトメトリー

である。例えば、陰性選択によってＣＤ４＋細胞を濃縮するためには、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、ＣＤ１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＨＬＡ－ＤＲおよびＣＤ８に対する抗体を包含する。ある面において、典型的にはＣＤ４＋、ＣＤ２５＋、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＧＩＴＲ＋およびＦｏｘＰ３＋を発現する制御性Ｔ細胞を濃縮するかまたは陽性選択することが望ましい場合がある。その代わりに、ある面において、抗Ｃ２５がコンジュゲートしたビーズまたは他の類似の選択方法によって、制御性Ｔ細胞を枯渇させる。

【０５２０】

本明細書で記載される方法は、例えば陰性選択技術、例えば本明細書で記載される選択技術を使用した、免疫エフェクター細胞の特定の部分集団、例えば調節性Ｔ細胞枯渇、ＣＤ２５＋細胞枯渇集団であるＴ細胞の選択を包含していてもよい。好ましくは、調節性Ｔ細胞枯渇集団は、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％未満のＣＤ２５＋細胞を含有する。

【０５２１】

ある態様において、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋Ｔ細胞は、抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントまたはＣＤ２５結合リガンド、ＩＬ－２を使用して集団から除去される。ある態様において、抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントまたは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ているかまたは別の方法で基質、例えばビーズ上にコーティングされている。ある態様において、抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントは、本明細書で記載される基質にコンジュゲートされている。

【０５２２】

ある態様において、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋Ｔ細胞は、ＭｉｌｔｅｎｙｉTMからのＣＤ２５枯渇試薬を使用して、集団から除去される。ある態様において、ＣＤ２５枯渇試薬に対する細胞の比率は、２０μＬに対して細胞１×１０^{7}または１５μＬに対して細胞１×１０^{7}または１０μＬに対して細胞１×１０^{7}または５μＬに対して細胞１×１０^{7}または2.５μＬに対して細胞１×１０^{7}または1.２５μＬに対して細胞１×１０^{7}である。ある態様において、例えば調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋枯渇の場合、細胞５億／mlより多くが使用される。さらなる面において、細胞６億、７億、８億または９億／mlの細胞濃度が使用される。

【０５２３】

ある態様において、枯渇させる免疫エフェクター細胞の集団は、約６×１０^{9}のＣＤ２５＋Ｔ細胞を包含する。他の面において、枯渇させる免疫エフェクター細胞の集団は、約１×１０^{9}から１×１０^{10}およびその間のあらゆる整数値のＣＤ２５＋Ｔ細胞を包含する。ある態様において、結果得られた調節性Ｔ細胞枯渇集団は、２×１０^{9}またはそれ未満の調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞(例えば、１×１０^{9}、５×１０^{8}、１×１０^{8}、５×１０^{7}、１×１０^{7}またはそれ未満のＣＤ２５＋細胞)を有する。

【０５２４】

ある態様において、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞は、ＣｌｉｎｉＭＡＣシステムを例えばチュービング１６２－０１などの枯渇チュービングセットと共に使用して、集団から除去される。ある態様において、ＣｌｉｎｉＭＡＣシステムは、例えばＤＥＰＬＥＴＩＯＮ2.１などの枯渇設定で実行される。

【０５２５】

特定の理論に縛られることは望まないが、アフェレーシスの前またはＣＡＲを発現する細胞生成物の製造中に、対象において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、不要な免疫細胞、例えばＴＲＥＧ細胞の数を減少させること)は、対象の再発リスクを低減させる可能性がある。例えば、ＴＲＥＧ細胞を枯渇させる方法は、当業界において公知である。ＴＲＥＧ細胞を減少させる方法としては、これらに限定されないが、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体(本明細書で記載される抗ＧＩＴＲ抗体)、ＣＤ２５－枯渇およびそれらの組合せが挙げられる。

【０５２６】

ある態様において、製造方法は、ＣＡＲを発現する細胞の製造前に、ＴＲＥＧ細胞の数を低減すること(例えば、を枯渇させること)を含む。例えば、製造方法は、例えば、ＣＡＲを発現する細胞(例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞)生成物の製造前にＴＲＥＧ細胞を枯渇させるために、サンプル、例えばアフェレーシスサンプルを、抗ＧＩＴＲ抗体および／または抗ＣＤ２５抗体(もしくはそれらのフラグメントまたはＣＤ２５結合リガンド)と接触させることを含む。

【０５２７】

ある態様において、対象は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の製造のために細胞を収集する前に、ＴＲＥＧ細胞を低減させる１以上の療法で前処置され、それによって対象がＣＡＲを発現する細胞の処置に戻るリスクを低減させる。ある態様において、ＴＲＥＧ細胞を減少させる方法としては、これらに限定されないが、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇の１以上またはそれらの組合せを対象に投与することが挙げられる。シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５－枯渇の１以上またはそれらの組合せの投与は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の注入の前に、その間にまたはその後に行うことができる。

【０５２８】

ある態様において、対象は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の製造のために細胞を収集する前に、シクロホスファミドで前処置され、それによって対象がＣＡＲを発現する細胞の処置に戻るリスクを低減させる。ある態様において、対象は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の製造のために細胞を収集する前に、抗ＧＩＴＲ抗体で前処置され、それによって対象がＣＡＲを発現する細胞の処置に戻るリスクを低減させる。

【０５２９】

ある態様において、除去される細胞の集団は、調節性Ｔ細胞または腫瘍細胞ではなく、別の様式でＣＡＲＴ細胞、例えばＣＤ１４、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ３３、ＣＤ１５または免疫抑制細胞によって発現される可能性がある他のマーカーを発現する細胞の拡張および／または機能に負の影響を与える細胞である。ある態様において、このような細胞は、調節性Ｔ細胞および／または腫瘍細胞と同時にまたは前記枯渇の後にまたは別の順番で除去されることが想定される。

【０５３０】

本明細書で記載される方法は、１を超える選択工程、例えば１を超える枯渇工程を包含していてもよい。陰性選択によるＴ細胞集団の濃縮は、例えば、陰性選択された細胞に独特な表面マーカーに向けられた抗体の組合せを用いて達成することができる。１つの方法は、陰性選択された細胞上に提示される細胞表面マーカーに向けられたモノクローナル抗体のカクテルを使用する負磁気免疫接着またはフローサイトメトリーによるセルソーティングおよび／または選択である。例えば、陰性選択によりＣＤ４＋細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、ＣＤ１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＨＬＡ－ＤＲおよびＣＤ８に対する抗体を包含していてもよい。

【０５３１】

本明細書で記載される方法は、集団から、腫瘍抗原、例えばＣＤ２５を含まない腫瘍抗原、例えばＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＤ３８、ＣＤ１２３、ＣＤ２０、ＣＤ１４またはＣＤ１１ｂを発現する細胞を除去することにより、ＣＡＲ、例えば本明細書で記載されるＣＡＲの発現に好適な、調節性Ｔ細胞枯渇、例えばＣＤ２５＋枯渇および腫瘍抗原枯渇細胞の集団を提供することをさらに包含していてもよい。ある態様において、腫瘍抗原を発現する細胞は、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントおよび抗腫瘍抗原抗体またはそれらのフラグメントは、同じ基質、例えば細胞を除去するのに使用できるビーズに付着することができまたは抗ＣＤ２５抗体もしくはそれらのフラグメントまたは抗腫瘍抗原抗体もしくはそれらのフラグメントは、別々のビーズに付着することができ、それらの混合物は、細胞を除去するのに使用することができる。他の態様において、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞の除去および腫瘍抗原を発現する細胞の除去は、逐次的であり、例えばどちらの順番でも行うこ

とができる。
【０５３２】
また、集団から、チェックポイント阻害剤、例えば本明細書で記載されるチェックポイント阻害剤を発現する細胞、例えばＰＤ１＋細胞、ＬＡＧ３＋細胞およびＴＩＭ３＋細胞の１種または複数を除去することによって、調節性Ｔ細胞枯渇、例えばＣＤ２５＋枯渇細胞およびチェックポイント阻害剤枯渇細胞、例えばＰＤ１＋、ＬＡＧ３＋および／またはＴＩＭ３＋枯渇細胞の集団を提供することを包含する方法も提供される。例示的なチェックポイント阻害剤としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータが挙げられる。ある態様において、チェックポイント阻害剤は、ＰＤ１またはＰＤ－Ｌ１である。ある態様において、チェックポイント阻害剤を発現する細胞は、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントおよび抗チェックポイント阻害剤抗体またはそれらのフラグメントは、同じビーズに付着していてもよく、これは、細胞を除去するのに使用することができまたは抗ＣＤ２５抗体またはそれらのフラグメントおよび抗チェックポイント阻害剤抗体またはそれらのフラグメントは、別々のビーズに付着することができ、その混合物は、細胞を除去するのに使用することができる。他の態様において、調節性Ｔ細胞、例えばＣＤ２５＋細胞の除去およびチェックポイント阻害剤を発現する細胞の除去は、逐次的であり、例えばどちらの順番でも行うことができる。
【０５３３】
ある態様において、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦα、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、グランザイムＢおよびパーフォリンの１種または複数または他の適切な分子、例えば他のサイトカインを発現するＴ細胞集団を選択する場合がある。細胞発現に関してスクリーニングする方法は、例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ２０１３／１２６７１２で説明されている方法によって決定することができる。
【０５３４】
陽性または陰性選択によって細胞の所望の集団を単離するために、細胞および表面(例えば、ビーズなどの粒子)の濃度は様々であってもよい。ある面において、細胞およびビーズの接触を最大にするために、ビーズおよび細胞が一緒に混合される容量を有意に減少させる(例えば、細胞濃度を増加させる)ことが望ましい場合がある。例えば、ある面において、細胞２０億／mlの濃度が使用される。ある面において、細胞１０億／mlの濃度が使用される。さらなる面において、１mlあたり細胞１００万より多くが使用される。さらなる面において、１mlあたり、細胞１０００万、１５００万、２０００万、２５００万、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万または５０００万の細胞濃度が使用される。さらなるある面において、１mlあたり、細胞７５００万以上、８０００万以上、８５００万以上、９０００万以上、９５００万以上または１億の細胞濃度が使用される。さらなる面において、１mlあたり細胞１億２５００万または１億５０００万の濃度が使用できる。高濃度の使用は、細胞収量、細胞の活性化および細胞拡大の増加をもたらすことができる。さらに、高い細胞濃度の使用は、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞などの対象の標的抗原の発現が弱い可能性がある細胞または多くの腫瘍細胞が存在するサンプル(例えば、白血病の血液、腫瘍組織など)からの細胞のより効率的な捕獲を可能にする。このような細胞集団は治療的価値を有する可能性があり、取得が望ましいと予想される。例えば、高濃度の細胞の使用は、通常のＣＤ２８発現が比較的弱いＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択を可能にする。
【０５３５】
関連する面において、より低い細胞の濃度を使用することが望ましい場合がある。Ｔ細胞および表面(例えば、ビーズなどの粒子)の混合物を相当に希釈することによって、粒子と細胞との相互作用を最小化する。それにより、粒子に結合させるために、大量の所望の抗

原を発現する細胞が選択される。例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞は、より高レベルのＣＤ２８を発現するが、薄い濃度でＣＤ８＋Ｔ細胞より効率的に捕捉される。ある面において、使用される細胞の濃度は、５×１０ｅ６／mlである。他の面において、使用される濃度は、約１×１０^{5}／mlから１×１０^{6}／mlまでおよびその間のあらゆる整数値であってもよい。

【０５３６】

他の面において、細胞は、回転器で、様々な長さの時間にわたり、様々な速度、２～１０℃または室温のいずれかでインキュベートすることができる。

【０５３７】

刺激のためのＴ細胞を洗浄工程後に凍結してもよい。理論に縛られるつもりはないが、凍結工程とそれに続く融解工程は、細胞集団中の顆粒球とある程度の単球を除去することによってより均一な生成物をもたらす。血漿と血小板を除去する洗浄工程の後、細胞を凍結溶液に懸濁してもよい。多くの凍結のための溶液およびパラメーターが当業界公知であり、この状況において有用であると予想されるが、１つの方法は、２０％ＤＭＳＯおよび８％ヒト血清アルブミンを含有するＰＢＳまたは１０％デキストラン４０および５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミンならびに７.５％ＤＭＳＯを含有する培養培地または３１.２５％Ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１.２５％デキストロース５％、０.４５％ＮａＣｌ、１０％デキストラン４０および５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミンおよび７.５％ＤＭＳＯを含有する培養培地または例えばヘスパンおよびＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａを含有する他の好適な細胞凍結媒体を使用し、次いで細胞を１度／分の速度で－８０℃に凍結させ、液体窒素貯蔵タンクの蒸気相中で保存することを含む。他の制御冷凍方法を使用してもよいし、同様に－２０℃で即座にまたは液体窒素中で非制御冷凍してもよい。

【０５３８】

ある面において、低温保存した細胞を融解させて、本明細書で説明したようにして洗浄し、本発明の方法を使用して活性化する前に室温で１時間そのまま置く。

【０５３９】

また、本発明の状況では、本明細書で説明したようにして拡大させた細胞が必要になるかもしれないときの前の期間に、対象から血液サンプルまたはアフェレーシス産物を収集することも考慮される。そのようなものとして、拡大させようとする細胞の源を必要なあらゆる時点で収集することができ、さらに、本明細書で記載されるものなどの細胞治療、例えばＴ細胞治療によって利益を得ると予想される多数の疾患または状態のための細胞治療、例えばＴ細胞治療で後に使用するために、免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞などの所望の細胞を単離して凍結してもよい。ある面において、血液サンプルまたはアフェレーシスは、全般的に健康な対象から採取される。ある面において、血液サンプルまたはアフェレーシスは、疾患を発症させる危険性があるが、まだ疾患を発症させていない、全般的に健康な対象から採取され、さらに、後の使用のために対象の細胞を単離して凍結してもよい。ある面において、免疫エフェクター細胞(例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)は、後の時点で拡大、凍結および使用されてもよい。ある面において、本明細書で説明したような特定の疾患の診断の直後に、ただしいかなる処置の前に、サンプルが患者から収集される。さらなる面において、これらに限定されないが、ナタリズマブ、エファリズマブなどの薬剤、抗ウイルス剤、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えばシクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、ミコフェノール酸塩およびＦＫ５０６、抗体または他の免疫除去剤、例えば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、マイコフェノール酸、ステロイド、ＦＲ９０１２２８および放射線照射での処置などの多数の関連する処置様式の前に、細胞が、対象からの血液サンプルまたはアフェレーシスから単離される。

【０５４０】

本発明のさらなる面において、対象に機能的なＴ細胞を残す処置の後に、患者から直接Ｔ細胞を得る。これに関して、所定の癌処置の後、特定には、免疫系にダメージを与える薬物での処置の後、患者が通常処置から回復すると予想される期間中の処置の直後に、得ら

れたＴ細胞の品質が、エクスビボで拡大するそれらの能力に関して最適であるかまたは向上している可能性があることが観察されている。同様に、本明細書で記載される方法を使用したエクスビボでの操作の後、これらの細胞は、生着およびインビボでの拡大の強化にとって好ましい状況にある可能性がある。したがって、本発明の内容において、この回収期間中に、Ｔ細胞、樹状細胞または造血細胞系の他の細胞を包含する血液細胞を収集することが考慮される。さらに、ある面において、動員(例えば、ＧＭ－ＣＳＦを用いた動員)およびコンディショニングレジメンを使用して、特に療法後の規定の時間帯中に、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生および／または拡大にとって好都合な対象における状態を作り出すことができる。例示的な細胞型としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞および他の免疫系細胞が挙げられる。

【０５４１】

ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する免疫エフェクター細胞は、免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤を受けた対象から得られる。ある態様において、対象におけるまたは対象から回収された、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞のレベルまたはＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞の比率、例えばＴ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞が少なくとも一時的に増加した状態になるように、十分な時間の後または十分な免疫を増強する低い用量のｍＴＯＲ阻害剤投与の後に、ＣＡＲを発現するように加工される免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞の集団が回収される。

【０５４２】

他の態様において、ＣＡＲを発現するように加工されているかまたは加工される免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞の集団は、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞の数を増加させるまたはＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞の比率、例えばＴ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞を増加させる量のｍＴＯＲ阻害剤との接触によって、エクスビボで処置され得る。

【０５４３】

ある態様において、Ｔ細胞集団は、ジアシルグリセロールキナーゼ(diaglycerol kinase)(ＤＧＫ)欠損である。ＤＧＫ欠損細胞は、ＤＧＫのＲＮＡまたはタンパク質を発現しない細胞を包含するかまたは低減または阻害されたＤＧＫ活性を有する。ＤＧＫ欠損細胞は、遺伝学的アプローチによって、例えば、ＤＧＫ発現を低減または予防するためにＲＮＡ干渉剤、例えばｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡを投与することによって生成することができる。あるいは、ＤＧＫ欠損細胞は、本明細書で記載されるＤＧＫ阻害剤での処置によって生成することができる。

【０５４４】

ある態様において、Ｔ細胞集団は、イカロス欠損である。イカロス欠損細胞は、イカロスのＲＮＡまたはタンパク質を発現しない細胞を包含するかまたは低減または阻害されたイカロス活性を有する。イカロス欠損細胞は、遺伝学的アプローチによって、例えば、イカロス発現を低減または予防するためにＲＮＡ干渉剤、例えばｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡを投与することによって生成することができる。あるいは、イカロス欠損細胞は、イカロス阻害剤、例えばレナリドマイドでの処置によって生成することができる。

【０５４５】

ある態様において、Ｔ細胞集団は、ＤＧＫ欠損およびイカロス欠損であり、例えば、ＤＧＫおよびイカロスを発現しないかまたは低減もしくは阻害されたＤＧＫおよびイカロス活性を有する。このようなＤＧＫおよびイカロス欠損細胞は、本明細書で記載される方法のいずれかによって生成することができる。

【０５４６】

ある態様において、ＮＫ細胞は、対象から得られる。別の態様において、ＮＫ細胞は、ＮＫ細胞株、例えばＮＫ－９２細胞株(Ｃｏｎｋｗｅｓｔ)である。

【０５４７】

同種異系ＣＡＲ

本明細書で記載される態様において、免疫エフェクター細胞は、同種異系の免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞またはＮＫ細胞であってもよい。例えば、細胞は、同種異系のＴ細胞、例えば、機能的なＴ細胞受容体(ＴＣＲ)および／またはヒト白血球抗原(ＨＬＡ)、例えばＨＬＡクラスＩおよび／またはＨＬＡクラスIIの発現が欠失した同種異系のＴ細胞であってもよい。

【０５４８】

機能的なＴＣＲが欠失したＴ細胞は、例えば、その表面上にいかなる機能的なＴＣＲも発現しないように加工されていてもよいし、機能的なＴＣＲを含む１以上のサブユニットを発現しないように加工されていてもよいし(例えば、ＴＣＲアルファ、ＴＣＲベータ、ＴＣＲガンマ、ＴＣＲデルタ、ＴＣＲイプシロンおよび／またはＴＣＲゼータを発現しない(またはその低減された発現を示す)ように加工される]またはその表面上に非常にわずかな機能的なＴＣＲしか生産しないように加工されていてもよい。あるいは、Ｔ細胞は、例えば、ＴＣＲのサブユニットの１以上の変異またはトランケートされた形態の発現によって、実質的に機能が損なわれたＴＣＲを発現することができる。用語「実質的に機能が損なわれたＴＣＲ」は、このＴＣＲが、宿主において有害な免疫反応を惹起しないと予想されることを意味する。

【０５４９】

本明細書で記載されるＴ細胞は、例えば、その表面上に機能的なＨＬＡを発現しないように加工されていてもよい。例えば、本明細書で記載されるＴ細胞は、ＨＬＡ、例えばＨＬＡクラスＩおよび／またはＨＬＡクラスIIの細胞表面での発現が下方調節されるように加工されていてもよい。いくつかの面において、ＨＬＡの下方調節は、ベーター２ミクログロブリン(Ｂ２Ｍ)の発現を低減したりまたはなくしたりすることによって達成され得る。ある態様において、Ｔ細胞は、機能的なＴＣＲおよび機能的なＨＬＡ、例えばＨＬＡクラスＩおよび／またはＨＬＡクラスIIを欠失していてもよい。

【０５５０】

機能的なＴＣＲおよび／またはＨＬＡの発現が欠失した改変Ｔ細胞は、ＴＣＲまたはＨＬＡの１以上のサブユニットのノックアウトまたはノックダウンなどのあらゆる好適な手段により得ることができる。例えば、Ｔ細胞は、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、クラスター化規則的間隔短鎖回文配列リピート(ＣＲＩＳＰＲ)転写活性化剤様のエフェクターヌクレアーゼ(ＴＡＬＥＮ)また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および／またはＨＬＡのノックダウンを包含していてもよい。

【０５５１】

ある態様において、同種異系の細胞は、阻害分子を発現しないかまたは低いレベルで発現する細胞、例えば本明細書で記載されるいずれかの方法によって加工された細胞であってもよい。例えば、細胞は、阻害分子を発現しないかまたは低いレベルで発現する細胞、例えば、ＣＡＲを発現する細胞の免疫エフェクター応答を展開する能力を減少させることができる細胞であってもよい。阻害分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータが挙げられる。阻害分子の阻害、例えばＤＮＡ、ＲＮＡまたはタンパク質レベルでの阻害による阻害は、ＣＡＲを発現する細胞の性能を最適化することができる。ある態様において、阻害核酸、例えば、本明細書で記載される阻害核酸、例えばｄｓＲＮＡ、例えばｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡ、クラスター化規則的間隔短鎖回文配列リピート(ＣＲＩＳＰＲ)、転写活性化剤様のエフェクターヌクレアーゼ(ＴＡＬＥＮ)またはジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ(ＺＦＮ)が使用できる。

【０５５２】

ＴＣＲまたはＨＬＡを阻害するｓｉＲＮＡおよびｓｈＲＮＡ

いくつかの態様において、ＴＣＲの発現および／またはＨＬＡの発現は、細胞、例えば、Ｔ細胞におけるＴＣＲおよび／またはＨＬＡおよび／または本明細書で記載される阻害分子(例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータ)をコードする核酸を標的とするｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡを使用して阻害することができる。

【０５５３】

Ｔ細胞におけるｓｉＲＮＡおよびｓｈＲＮＡの発現は、例えば、レンチウイルス発現系など、任意の従来の発現系を使用して達成することができる。

【０５５４】

ＴＣＲの構成要素の発現を下方調節する、例示的なｓｈＲＮＡは、例えば、米国特許出願公開第２０１２／０３２１６６７号において説明されている。ＨＬＡクラスＩおよび／またはＨＬＡクラスII遺伝子の発現を下方調節する、例示的なｓｉＲＮＡおよびｓｈＲＮＡは、例えば、米国特許出願公開第ＵＳ２００７／００３６７７３号において説明されている。

【０５５５】

ＴＣＲまたはＨＬＡを阻害するＣＲＩＳＰＲ

本明細書で使用される場合、「ＣＲＩＳＰＲ」または「ＴＣＲおよび／またはＨＬＡに対するＣＲＩＳＰＲ」または「ＴＣＲおよび／またはＨＬＡを阻害するＣＲＩＳＰＲ」とは、クラスター化規則的間隔短鎖回文配列リピートのセットまたはリピートのこのようなセットを含む系を指す。本明細書で使用される場合、「Ｃａｓ」とは、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質を指す。「ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ」系とは、ＣＲＩＳＰＲおよびＣａｓに由来する系であって、ＴＣＲ遺伝子および／またはＨＬＡ遺伝子、ならびに／または本明細書で記載される阻害分子(例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータ]をサイレンシングするかまたは変異させるのに使用し得る系を指す。

【０５５６】

天然に存在するＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系は、シークエンシングされた真正細菌ゲノムの約４０％およびシークエンシングされた古細菌の９０％において見出される(Grissa et al. (2007) BMC Bioinformatics 8: 172)。この系は、プラスミドおよびファージなど、外来の遺伝子要素に対する耐性を付与し、獲得免疫の形態をもたらす、原核生物免疫系のタイプである(Barrangou et al. (2007) Science 315: 1709-1712; Marragini et al. (2008) Science 322: 1843-1845]。

【０５５７】

ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系を、マウスまたは霊長動物など、真核生物における遺伝子編集(特異的な遺伝子をサイレンシングするか、増強するかまたは変化させること)における使用のために改変した(Wiedenheft et al. (2012) Nature 482: 331-8]。これは、真核細胞に、特異的に設計されたＣＲＩＳＰＲおよび１以上の適切なＣａｓを含有するプラスミドを導入することにより達成される。

【０５５８】

ＣＲＩＳＰＲ遺伝子座と呼ばれることもあるＣＲＩＳＰＲ配列は、リピートとスペーサーとの交代を含む。天然に存在するＣＲＩＳＰＲにおいて、スペーサーは通常、プラスミド配列またはファージ配列など、細菌に対して外来の配列を含み、ＴＣＲおよび／またはＨ

ＬＡのＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系において、スペーサーは、ＴＣＲまたはＨＬＡ遺伝子配列に由来する。

【０５５９】

ＣＲＩＳＰＲ遺伝子座に由来するＲＮＡは、構成的に発現し、Ｃａｓタンパク質により、低分子ＲＮＡにプロセシングされる。これらは、リピート配列で挟んだスペーサーを含む。ＲＮＡは、他のＣａｓタンパク質が、外因性遺伝子要素を、ＲＮＡレベルまたはＤＮＡレベルでサイレンシングするように導く(Horvath et al. (2010) Science 327: 167-170; Makarova et al. (2006) Biology Direct 1: 7]。したがって、スペーサーは、ｓｉＲＮＡと同様に、ＲＮＡ分子の鋳型として機能する(Pennisi (2013) Science 341: 833-836]。

【０５６０】

これらは、細菌の多くの異なるタイプにおいて天然に存在するので、ＣＲＩＳＰＲの正確な配置、ならびにＣａｓ遺伝子およびそれらの産物の構造、機能および数は、種によっていくぶんか異なる(Haft et al. (2005) PLoS Comput. Biol. 1: e60; Kunin et al. (2007) Genome Biol. 8: R61; Mojica et al. (2005) J. Mol. Evol. 60: 174-182; Bolotin et al. (2005) Microbiol. 151: 2551-2561; Pourcel et al. (2005) Microbiol. 151: 653-663；およびStern et al. (2010) Trends. Genet. 28: 335-340]。例えば、Ｃｓｅ(Ｃａｓの亜型、Ｅ.コリ]タンパク質(例えば、ＣａｓＡ)は、機能的な複合体であるＣａｓｃａｄｅを形成し、Ｃａｓｃａｄｅは、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ転写物を、Ｃａｓｃａｄｅが保持するスペーサー－リピート単位にプロセシングする(Brouns et al. (2008) Science 321: 960-964]。他の原核生物において、Ｃａｓ６は、ＣＲＩＳＰＲ転写物をプロセシングする。Ｅ.コリにおけるＣＲＩＳＰＲベースのファージ不活化は、ＣａｓｃａｄｅおよびＣａｓ３を必要とするが、Ｃａｓ１またはＣａｓ２は必要としない。Ｐｙｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｆｕｒｉｏｓｕｓおよび他の原核生物におけるＣｍｒ(Ｃａｓ　ＲＡＭＰモジュール)タンパク質は、相補的な標的ＲＮＡを認識し、切断する、低分子ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡと、機能的な複合体を形成する。より単純なＣＲＩＳＰＲ系は、二重螺旋の各鎖に１ずつ、２活性の切断部位を有するヌクレアーゼである、Ｃａｓ９タンパク質に依拠する。Ｃａｓ９と、改変されたＣＲＩＳＰＲ遺伝子座のＲＮＡとの組合せは、遺伝子編集のための系において使用することができる(Pennisi (2013) Science 341: 833-836]。

【０５６１】

したがって、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系を使用して、ＴＣＲ遺伝子および／またはＨＬＡ遺伝子を編集すること(塩基対を付加または欠失させること)もでき、未成熟停止を導入して、ＴＣＲおよび／またはＨＬＡの発現を減少させることもできる。代替的に、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系を、ＲＮＡ干渉と同様に使用し、ＴＣＲ遺伝子および／またはＨＬＡ遺伝子を可逆的にオフにすることもできる。例えば、哺乳動物細胞において、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系ＲＮＡは、Ｃａｓタンパク質を、ＴＣＲプロモーターおよび／またはＨＬＡプロモーターに導き、ＲＮＡポリメラーゼを立体的に遮断し得る。

【０５６２】

当業界公知の技術、例えば、米国特許出願公開第２０１４００６８７９７号およびCong (2013) Science 339: 819-823において説明されている技術を使用して、ＴＣＲおよび／またはＨＬＡを阻害する人工ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系を生成することができる。ＴＣＲおよび／またはＨＬＡを阻害する、当業界公知の他の人工ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系であって、例えば、Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32:6 569-576、米国特許第８,８７１,４４５号；同第８,８６５,４０６号；同第８,７９５,９６５号；同第８,７７１,９４５号；および同第８,６９７,３５９号において説明されている人工ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ系もまた、生成することができる。

【０５６３】

ＴＣＲおよび／またはＨＬＡを阻害するＴＡＬＥＮ

「ＴＡＬＥＮ」または「ＨＬＡおよび／またはＴＣＲに対するＴＡＬＥＮ」または「ＨＬＡおよび／またはＴＣＲを阻害するＴＡＬＥＮ」とは、ＨＬＡ遺伝子および／またはＴＣ

Ｒ遺伝子、ならびに／または本明細書で記載される阻害分子(例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータ]を編集するのに使用し得る人工ヌクレアーゼである、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼを指す。

【０５６４】

ＴＡＬＥＮは、ＴＡＬエフェクターＤＮＡ結合ドメインを、ＤＮＡ切断ドメインに融合させることにより、人工的に作製される。転写活性化因子様エフェクター(effects)(ＴＡＬＥ)は、ＨＬＡ遺伝子またはＴＣＲ遺伝子の一部を含む、任意の所望のＤＮＡ配列に結合するように加工することができる。加工されたＴＡＬＥを、ＤＮＡ切断ドメインと組み合わせることにより、ＨＬＡ配列またはＴＣＲ配列を含む、任意の所望のＤＮＡ配列に特異的な制限酵素を作製することができる。次いで、これらを、細胞に導入し、そこで、これらを、ゲノム編集のために使用することができる(Boch (2011) Nature Biotech. 29: 135-6；およびBoch et al. (2009) Science 326: 1509-12; Moscou et al. (2009) Science 326: 3501]。

【０５６５】

ＴＡＬＥとは、Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ属細菌により分泌されるタンパク質である。ＤＮＡ結合ドメインは、１２番目のアミノ酸および１３番目のアミノ酸を除き、反復的で、高度に保存的な３３～３４アミノ酸の配列を含有する。これらの２位置は、高度に可変性であり、特異的なヌクレオチド認識との強い相関を示す。したがって、これらを、所望のＤＮＡ配列に結合するように加工することができる。

【０５６６】

ＴＡＬＥＮを作製するために、ＴＡＬＥタンパク質を、野生型ＦｏｋＩエンドヌクレアーゼまたは変異させたＦｏｋＩエンドヌクレアーゼである、ヌクレアーゼ(N)に融合させる。ＴＡＬＥＮにおけるその使用のために、ＦｏｋＩに対する数々の変異が施されており、これらは、例えば、切断特異性または切断活性を改善する(Cermak et al. (2011) Nucl. Acids Res. 39: e82; Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8; Hockemeyer et al. (2011) Nature Biotech. 29: 731-734; Wood et al. (2011) Science 333: 307; Doyon et al. (2010) Nature Methods 8: 74-79; Szczepek et al. (2007) Nature Biotech. 25: 786-793；およびGuo et al. (2010) J. Mol. Biol. 200: 96]。

【０５６７】

ＦｏｋＩドメインは、二量体として機能し、標的ゲノムにおける部位に対する固有のＤＮＡ結合ドメインであって、適正な配向性および間隔を有するＤＮＡ結合ドメインを有する、２構築物を必要とする。ＴＡＬＥ　ＤＮＡ結合ドメインとＦｏｋＩ切断ドメインとの間のアミノ酸残基の数および２の個別のＴＡＬＥＮ結合部位の間の塩基の数のいずれもが、高レベルの活性を達成するための重要なパラメータであると考えられる(Miller et al. (2011) Nature Biotech. 29: 143-8]。

【０５６８】

ＨＬＡ　ＴＡＬＥＮまたはＴＣＲ　ＴＡＬＥＮを、細胞内で使用して、二本鎖切断(ＤＳＢ)を施すことができる。修復機構による、非相同な末端接合を介する切断の修復が適正でない場合は、切断部位に変異を導入することができる。例えば、不適正な修復は、フレームシフト変異を導入する場合がある。代替的に、外来ＤＮＡを、ＴＡＬＥＮと共に、細胞に導入することもでき、外来ＤＮＡの配列および染色体配列に応じて、この過程を使用して、ＨＬＡ遺伝子またはＴＣＲ遺伝子における欠損を是正するともでき、このような欠損を、ｗｔ　ＨＬＡ遺伝子またはｗｔ　ＴＣＲ遺伝子に導入して、ＨＬＡまたはＴＣＲの発現を減少させることもできる。

【０５６９】

モジュール構成要素を使用する種々のスキームを含む、当業界公知の任意の方法を使用して、ＨＬＡまたはＴＣＲにおける配列に特異的なＴＡＬＥＮを構築することができる(Zhang et al. (2011) Nature Biotech. 29: 149-53; Geibler et al. (2011) PLoS ONE 6: e19509]。

【０５７０】

ＨＬＡおよび／またはＴＣＲを阻害するジンクフィンガーヌクレアーゼ

「ＺＦＮ」または「ジンクフィンガーヌクレアーゼ」または「ＨＬＡおよび／またはＴＣＲに対するＺＦＮ」または「ＨＬＡおよび／またはＴＣＲを阻害するＺＦＮ」とは、ＨＬＡ遺伝子および／またはＴＣＲ遺伝子、ならびに／または本明細書で記載される阻害分子(例えば、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータ]を編集するのに使用し得る人工ヌクレアーゼである、ジンクフィンガーヌクレアーゼを指す。

【０５７１】

ＴＡＬＥＮと同様に、ＺＦＮは、ＤＮＡ結合ドメインに融合させたＦｏｋＩヌクレアーゼドメイン(またはその誘導体)を含む。ＺＦＮの場合、ＤＮＡ結合ドメインは、１以上のジンクフィンガーを含む(Carroll et al. (2011) Genetics Society of America 188: 773-782；およびKim et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 1156-1160]。

【０５７２】

ジンクフィンガーとは、１以上の亜鉛イオンにより安定化する、低分子タンパク質構造モチーフである。ジンクフィンガーは、例えば、Ｃｙｓ２Ｈｉｓ２を含むことが可能であり、およそ３ｂｐの配列を認識し得る。特異性が公知の種々のジンクフィンガーを組み合わせて、約６、９、１２、１５または１８ｂｐの配列を認識するマルチフィンガーポリペプチドを作製することができる。ジンクフィンガー(およびその組合せ)を生成するのに、特異的な配列を認識する、種々の選択技術およびモジュールアセンブリー技術であって、ファージディスプレイ、酵母１ハイブリッド系、細菌１ハイブリッド系および細菌２ハイブリッド系、ならびに哺乳動物細胞を含む技術が利用可能である。

【０５７３】

ＴＡＬＥＮと同様に、ＺＦＮも、ＤＮＡを切断するのに二量体化しなければならない。したがって、非パリンドロミックのＤＮＡ部位を標的とするには、ＺＦＮの対が必要とされる。２の個別のＺＦＮは、それらのヌクレアーゼが適正な間隔で隔てられた状態で、ＤＮＡ逆鎖に結合しなければならない(Bitinaite et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 10570-5]。

【０５７４】

これもまたＴＡＬＥＮと同様に、ＺＦＮも、ＤＮＡにおいて二本鎖切断を作り出すことが可能であり、修復が適正でない場合は、これにより、フレームシフト変異を作り出し、細胞におけるＨＬＡおよび／またはＴＣＲの発現および量の減少をもたらす。ＺＦＮはまた、ＨＬＡ遺伝子またはＴＣＲ遺伝子に変異を施すように、相同組換えと共に使用することもできる。

【０５７５】

当業界公知の任意の方法を使用して、ＨＬＡおよび／またはＴＣＲにおける配列に特異的なＺＦＮを構築することができる。例えば、Provasi (2011) Nature Med. 18: 807-815; Torikai (2013) Blood 122: 1341-1349; Cathomen et al. (2008) Mol. Ther. 16: 1200-7; Guo et al. (2010) J. Mol. Biol. 400: 96；米国特許公開第２０１１／０１５８９５７号；および米国特許公開第２０１２／００６０２３０号を参照されたい。

【０５７６】

テロメラーゼの発現

いかなる特定の理論にも縛られるつもりはないが、いくつかの態様において、患者における治療的Ｔ細胞の持続性は、Ｔ細胞におけるテロメアの短縮に起因して短期間であり、したがって、テロメラーゼ遺伝子のトランスフェクションは、Ｔ細胞のテロメアを長くし、患者におけるＴ細胞の持続性を改善する可能性がある。Carl June, “Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic”, Journal of Clinical Investigation, 117:1466-1476 (2007)を参照されたい。したがって、ある態様において、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞は、テロメラーゼサブユニット、例えば、テロメラーゼの触媒性サブユニット、例えば、ＴＥＲＴ、例えば、ｈＴＥＲＴを異所的に発現する。いくつかの面において、本開示は、ＣＡＲ発現細胞を作製する方法であって、細胞を、テロメラーゼサブユニット、例えば、テロメラーゼの触媒性サブユニット、例えば、ＴＥＲＴ、例えば、ｈＴＥＲＴをコードする核酸と接触させることを含む方法を提示する。細胞は、ＣＡＲをコードする構築物と接触させる前に、核酸と接触させることもでき、これと並列して接触させることもでき、この後で接触させることもできる。

【０５７７】

ある面において、本開示は、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞)の集団を作製する方法を特徴とする。ある態様において、方法は、免疫エフェクター細胞の集団(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を用意することと；免疫エフェクター細胞の集団を、ＣＡＲをコードする核酸と接触させることと；ＣＡＲおよびテロメラーゼの発現を可能とする条件下で、免疫エフェクター細胞の集団をテロメラーゼサブユニット、例えば、ｈＴＥＲＴをコードする核酸と接触させることとを含む。

【０５７８】

ある態様において、テロメラーゼサブユニットをコードする核酸は、ＤＮＡである。ある態様において、テロメラーゼサブユニットをコードする核酸は、テロメラーゼサブユニットの発現を駆動することが可能なプロモーターを含む。

【０５７９】

ある態様において、ｈＴＥＲＴは、ＧｅｎＢａｎｋ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　ＩＤ　ＡＡＣ５１７２４.１のアミノ酸配列(Meyerson et al., “hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization” Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795)であって、以下：

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCVP
WDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTTSV
RSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQL
GAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKR
PRRGAAPEPERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEATSLEGALSGTRHSH
PSVGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPSLTG
ARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPL
RAAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVP
PGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRGCAWLRRSPGVGCVPAAE
HRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQHL
KRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVVGARTFRREKRAER
LTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDV
TGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYM
RQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQGIPQ
GSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEY
GCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTS
IRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLLQAYRFH
ACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSEAVQW
LCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTILD(配列番号２８４)

のアミノ酸配列を有する。

【０５８０】
ある態様において、ｈＴＥＲＴは、配列番号２８４の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一な配列を有する。ある態様において、ｈＴＥＲＴは、配列番号２８４の配列を有する。ある態様において、ｈＴＥＲＴは、Ｎ末端、Ｃ末端またはこれらの両方において、欠失(例えば、５、１０、１５、２０または３０アミノ酸を超えない)を含む。ある態様において、ｈＴＥＲＴは、Ｎ末端、Ｃ末端またはこれらの両方において、トランスジェニックのアミノ酸配列(例えば、５、１０、１５、２０または３０アミノ酸を超えない)を含む。
【０５８１】
ある態様において、ｈＴＥＲＴは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＡＦ０１８１６７の核酸配列(Meyerson et al., “hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization” Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795)：

```
1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc
61 cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc
121 tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg
181 gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg
241 cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg
301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg
361 cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct
421 acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc
481 gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg
541 tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca
601 ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg
661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga
721 ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg
781 ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga
841 cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag
901 ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc
961 agcaccacgc gggccccccа tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc
1021 ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc
1081 ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg
1141 agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc
1201 tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc
1261 agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag
1321 cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg
1381 acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt
1441 acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc
1501 acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca
1561 agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca
1621 ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg
1681 ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt
1741 atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga
1801 gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt
1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc
1921 gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag
1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt
2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg
2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc
2161 cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc
```

2221 aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc
2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc
2341 acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg
2401 agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca
2461 gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg
2521 gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct
2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc
2641 tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa
2701 ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga
2761 agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga
2821 tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg
2881 tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc
2941 gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt
3001 gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct
3061 acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc
3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc
3181 tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg
3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc
3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc
3361 agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg
3421 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg
3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc
3541 ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct
3601 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc
3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc
3721 agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc
3781 cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc
3841 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt
3901 gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg
3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa
4021 aaaaaaa(配列番号２８５)

によりコードされる。

【０５８２】

ある態様において、ｈＴＥＲＴは、配列番号２８５の配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６、９７％、９８％または９９％同一な配列を有する核酸によりコードされる。ある態様において、ｈＴＥＲＴは、配列番号２８５の核酸によりコードされる。

【０５８３】

Ｔ細胞の活性化および拡大

Ｔ細胞は、一般的に、例えば米国特許第６,３５２,６９４号；６,５３４,０５５号：６,９０５,６８０号：６,６９２,９６４号：５,８５８,３５８号：６,８８７,４６６号：６,９０５,６８１号：７,１４４,５７５号：７,０６７,３１８号：７,１７２,８６９号：７,２３２,５６６号：７,１７５,８４３号：５,８８３,２２３号：６,９０５,８７４号：６,７９７,５１４号：６,８６７,０４１号：および米国特許出願公開第２００６０１２１００５号で説明されているような方法を使用して活性化させて拡大させてもよい。

【０５８４】

一般的に、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナルを刺激する薬剤と、Ｔ細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドとを付着させた表面と接触させることによって、本発明のＴ細胞を拡大させることができる。特定には、本明細書で説明したようにして、例えば、表面上に固定された抗ＣＤ３抗体もしくはそれらの抗原結合フラグメントまたは抗ＣＤ２抗体と接触させることによってまたはカルシウムイオノフォアと共にプロテインキナーゼＣ活

性化剤(例えば、ブリオスタチン)と接触させることによって、Ｔ細胞集団を刺激してもよい。Ｔ細胞表面上のアクセサリー分子の共刺激のために、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例えば、Ｔ細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、Ｔ細胞の集団を抗ＣＤ３抗体および抗ＣＤ２８抗体と接触させてもよい。ＣＤ４＋Ｔ細胞またはＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するため、抗ＣＤ３抗体および抗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、これらは、一般的に当業界で知られている他の方法と同様にして使用することができる(Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998；Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999；Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999]。

【０５８５】

ある面において、Ｔ細胞に関する一次刺激シグナルおよび共刺激シグナルは、様々なプロトコールによって供給することができる。例えば、各シグナルを供給する薬剤は、溶解した状態かまたは表面にカップリングされていてもよい。表面にカップリングされる場合、薬剤は、同じ表面にカップリングされてもよいし(すなわち、「シス」形成)または別の表面に(すなわち、「トランス」形成)カップリングされてもよい。その代わりに、１種の薬剤が表面にカップリングされ、他の薬剤が溶解した状態であってもよい。ある面において、共刺激シグナルを供給する薬剤が細胞表面に結合しており、一次活性化シグナルを供給する薬剤が、溶解した状態かまたは表面にカップリングされていてもよい。ある面において、両方の薬剤が溶解した状態であってもよい。ある面において、薬剤は、可溶性の形態であってもよく、次いで、Ｆｃ受容体を発現する細胞などの表面にまたは薬剤に結合すると予想される抗体もしくは他の結合剤に架橋されていてもよい。これに関して、例えば、本発明においてＴ細胞を活性化して拡大させることに使用することが意図された人工抗原提示細胞(ａＡＰＣ)に関する米国特許出願公開第２００４０１０１５１９号および２００６００３４８１０号を参照されたい。

【０５８６】

ある面において、２種の薬剤が、同じビーズ上、すなわち「シス」または別のビーズ上、すなわち「トランス」のいずれかでビーズ上に固定される。一例として、一次活性化シグナルを供給する薬剤は、抗ＣＤ３抗体またはそれらの抗原結合フラグメントであり、共刺激シグナルを供給する薬剤は、抗ＣＤ２８抗体またはそれらの抗原結合フラグメントであり、どちらの薬剤も、等しい分子の量で同じビーズに共に固定される。ある面において、ＣＤ４＋Ｔ細胞の拡大およびＴ細胞成長のために、ビーズに結合した１：１の比率の各抗体が使用される。本発明のある面において、１：１の比率を使用して観察された拡大と比較してＴ細胞拡大の増加が観察されるような、ビーズに結合した抗ＣＤ３：ＣＤ２８抗体の比率が使用される。特定のある面において、１：１の比率を使用して観察された拡大と比較して、約１から約３倍の増加が観察される。ある面において、ビーズに結合したＣＤ３：ＣＤ２８抗体の比率は、１００：１から１：１００の範囲およびその間の全ての整数値である。本発明のある面において、抗ＣＤ３抗体より多くの抗ＣＤ２８抗体が、粒子に結合しており、すなわちＣＤ３：ＣＤ２８の比率は１未満である。本発明のある面において、ビーズに結合した抗ＣＤ２８抗体と抗ＣＤ３抗体との比率は、２：１より大きい。特定のある面において、１：１００のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。ある面において、１：７５のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。さらなる面において、１：５０のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。ある面において、１：３０のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。好ましいある面において、１：１０のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。ある面において、１：３のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。さらなるある面において、３：１のＣＤ３：ＣＤ２８の比率のビーズに結合した抗体が使用される。

【０５８７】

Ｔ細胞または他の標的細胞を刺激するために、１：５００から５００：１までおよびその

間のあらゆる整数値の粒子と細胞との比率を使用することができる。当業者であれば容易に認識できるように、粒子と細胞との比率は、標的細胞に対する粒度によって決まる可能性がある。例えば、小さいサイズのビーズは、わずかな数の細胞としか結合できないが、より大きいビーズは多くと結合できる。ある面において、細胞と粒子との比率は、１：１００から１００：１の範囲およびその間のあらゆる整数値であり、さらなる面において、この比率は、１：９から９：１およびその間のあらゆる整数値を含み、Ｔ細胞を刺激するのにも使用することができる。抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８がカップリングされた粒子とＴ細胞との、Ｔ細胞の刺激をもたらす比率は上述したように様々なであってよいが、所定の好ましい値としては、１：１００、１：５０、１：４０、１：３０、１：２０、１：１０、１：９、１：８、１：７、１：６、１：５、１：４、１：３、１：２、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１および１５：１が挙げられ、１の好ましい比率は、粒子とＴ細胞とが少なくとも１：１である。ある面において、１：１またはそれ未満の粒子と細胞との比率が使用される。特定のある面において、好ましい粒子：細胞の比率は、１：５である。さらなる面において、粒子と細胞との比率は、刺激の日に応じて変更することができる。例えば、ある面において、粒子と細胞との比率は、１日目では１：１から１０：１であり、その後、毎日または１日おきに最大１０日まで細胞に追加の粒子が添加され、最終的には１：１から１：１０の比率である(添加した日の細胞数に基づく)。特定のある面において、粒子と細胞との比率は、刺激の１日目には１：１であり、刺激の３日目および５日目には１：５に調整される。ある面において、粒子は、毎日または１日おきに添加して、１日目に最終的な１：１の比率にし、刺激の３日目および５日目に１：５にする。ある面において、粒子と細胞との比率は、刺激の１日目には２：１であり、刺激の３日目および５日目には１：１０に調整される。ある面において、粒子は、毎日または１日おきに添加して、１日目に最終的な１：１の比率にし、刺激の３日目および５日目に１：１０にする。当業者であれば、様々な他の比率が本発明で使用するのに適している可能性があることを認識するものと予想される。特定には、比率は、粒度ならびに細胞のサイズおよびタイプに応じて様々であると予想される。ある面において、使用のための最も典型的な比率は、１日目に１：１、２：１および３：１の付近である。

【０５８８】

本発明のさらなる面において、Ｔ細胞などの細胞は、薬剤でコーティングされたビーズと組み合わされ、その後ビーズおよび細胞を分離して、次いで細胞を培養する。代替の面において、培養の前に薬剤でコーティングしたビーズと細胞とを分離せずに、一緒に培養する。さらなる面において、まず磁力などの力の適用によってビーズおよび細胞を濃縮し、その結果として細胞表面マーカーのライゲーションを増加させることにより、細胞の刺激を誘導する。

【０５８９】

一例として、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８が付着している常磁性ビーズ(３×２８個のビーズ)をＴ細胞に接触させることによって、細胞表面タンパク質をライゲートさせることができる。ある面において、細胞(例えば、10^4から10^9のＴ細胞)およびビーズ(例えば、ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ(登録商標)Ｍ－４５０ＣＤ３／ＣＤ２８Ｔ常磁性ビーズを１：１の比率で]を、緩衝液、例えばＰＢＳ(カルシウムおよびマグネシウムなどの２価カチオンを含まない)中で組み合わせる。ここでも、あらゆる細胞濃度が使用できることは、当業者であれば容易に認識することができる。例えば、標的細胞は、サンプル中で極めて希少であってもよいし、サンプルのわずか０.０１％しか含んでいなくてもよいしまたはサンプル全体(すなわち、１００％)が対象の標的細胞を構成していてもよい。したがって、あらゆる細胞数が本発明の内容に含まれる。ある面において、細胞と粒子とが最大限に接触するように、粒子および細胞が一緒に混合されている容量を有意に減少させること(すなわち、細胞の濃度を増加させること)が望ましい場合がある。例えば、ある面において、細胞約２０億／mlの濃度が使用される。ある面において、１mlあたり１億より多くの細胞が使用される。さらなる面において、１mlあたり細胞１０００万、１５００万、２０００万、２５００万

、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万または５０００万の細胞の濃度が使用される。さらなるある面において、１mlあたり細胞７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万または１億の細胞の濃度が使用される。例えば、ある面において、１mlあたりの細胞約１００億、１mlあたりの細胞９０億、１mlあたりの細胞８０億、１mlあたりの細胞７０億、１mlあたりの細胞６０億、１mlあたりの細胞５０億または１mlあたりの細胞２０億の濃度を使用する。ある面において、１mlあたりの細胞１億超を使用する。さらに、高い細胞濃度の使用は、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞などの対象の標的抗原の発現が弱い可能性がある細胞のより効率的な捕獲を可能にする。ある面において、このような細胞集団は治療的価値を有する可能性があり、取得が望ましいと予想される。例えば、高濃度の細胞の使用は、通常のＣＤ２８発現が比較的弱いＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択を可能にする。

【０５９０】

ある態様において、ＣＡＲをコードする核酸、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲで形質導入した細胞を、例えば、本明細書で記載される方法により拡大する。ある態様において、細胞を、培養物中で、数時間(例えば、約２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、９時間、１０時間、１５時間、１８時間、２１時間)～約１４日間(例えば、１日間、２日間、３日間、４日間、５日間、６日間、７日間、８日間、９日間、１０日間、１１日間、１２日間、１３日間または１４日間)にわたり拡大させる。ある態様において、細胞を、４～９日間にわたり拡大させる。ある態様において、細胞を、８日間またはこれ未満、例えば、７、６または５日間にわたり拡大させる。ある態様において、細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ細胞を、培養物中で、５日間にわたり拡大させると、結果として得られる細胞は、培養物中の同じ培養条件下において９日間にわたり拡大させた同じ細胞より強力である。効力は、例えば、種々のＴ細胞機能、例えば、増殖、標的細胞の殺滅、サイトカインの産生、活性化、遊走またはこれらの組合せにより規定することができる。ある態様において、細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ細胞であって、５日間にわたり拡大させたＢＣＭＡ　ＣＡＲ細胞は、抗原刺激時に、培養物中の同じ培養条件下において９日間にわたり拡大させた同じ細胞と比較して、細胞倍加の少なくとも１、２、３または４倍の増加を示す。ある態様において、細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現する細胞を、培養物中で、５日間にわたり拡大させると、結果として得られる細胞は、培養物中の同じ培養条件下において９日間にわたり拡大させた同じ細胞と比較して、高度な炎症促進性サイトカインの産生、例えば、ＩＦＮ－γレベルおよび／またはＧＭ－ＣＳＦレベルを呈示する。ある態様において、細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ細胞であって、５日間にわたり拡大させたＢＣＭＡ　ＣＡＲ細胞は、培養物中の同じ培養条件下において９日間にわたり拡大させた同じ細胞と比較して、炎症促進性サイトカインの産生、例えば、ＩＦＮ－γレベルおよび／またはＧＭ－ＣＳＦレベルの、ｐｇ／ml単位で、少なくとも１倍、２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍またはこれを超える増加を示す。

【０５９１】

本発明のある面において、混合物は、数時間(約３時間)から約１４日間またはその間の１時間毎のあらゆる整数値の時間、培養されてもよい。ある面において、混合物は、２１日間培養されてもよい。本発明のある面において、ビーズおよびＴ細胞は、約８日間、一緒に培養される。ある面において、ビーズおよびＴ細胞は、２～３日間、一緒に培養される。またＴ細胞の培養時間が６０日間またはそれより長くなるように、数サイクルの刺激が望ましい場合がある。Ｔ細胞培養に適切な条件としては、血清(例えば、ウシ胎児またはヒト血清)、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、ＴＧＦβおよびＴＮＦ－αなどの増殖および生存能力に必要な因子または当業者公知の細胞成長に関する他のあらゆる添加剤を含有していてもよい適切な培地(例えば、最小必須培地またはＲＰＭＩ培地１６４０または、Ｘ－ｖｉｖｏ　１５、(Ｌｏｎｚａ)]が挙げられる。細胞成長に関する他の添加剤としては、これらに限定されないが、界面活性剤、プラスマネート、ならびにＮ－アセ

チル－システインおよび２－メルカプトエタノールなどの還元剤が挙げられる。培地としては、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウムおよびビタミンが添加され、無血清であるかまたは適切な量の血清(または血漿)または規定された一連のホルモンおよび／またはＴ細胞の成長および拡大に十分な量のサイトカインが補充されたかのいずれかの、ＲＰＭＩ１６４０、ＡＩＭ－Ｖ、ＤＭＥＭ、ＭＥＭ、α－ＭＥＭ、Ｆ－１２、Ｘ－Ｖｉｖｏ　１５およびＸ－Ｖｉｖｏ　２０、Ｏｐｔｉｍｉｚｅｒを挙げることができる。抗生物質、例えばペニシリンおよびストレプトマイシンは、実験的培養の場合のみに包含され、対象に注入する細胞の培養の場合は包含されない。標的細胞は、例えば、適切な温度(例えば、３７℃)および雰囲気(例えば、空気および５％CO_2)などの成長を支持するのに必要な条件下で維持される。

【０５９２】

ある態様において、細胞を、１以上のインターロイキンを含む、適切な培地(例えば、本明細書で記載される培地)中で拡大させ、これにより、１４日間の拡大期間にわたり、例えば、フローサイトメトリーなど、本明細書で記載される方法により測定される通り、細胞の、少なくとも２００倍(例えば、２００倍、２５０倍、３００倍、３５０倍)の増加を結果としてもたらす。ある態様において、細胞を、ＩＬ－１５および／またはＩＬ－７(例えば、ＩＬ－１５およびＩＬ－７)の存在下において拡大させる。

【０５９３】

ある態様において、本明細書で記載される方法、例えば、ＣＡＲ発現細胞を製造する方法は、例えば、抗ＣＤ２５抗体、もしくはそのフラグメントまたはＣＤ２５結合リガンドであるＩＬ－２を使用して、調節性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞を、細胞集団から除去することを含む。調節性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞を、細胞集団から除去する方法は、本明細書で記載される。ある態様において、方法、例えば、製造する方法は、細胞集団(例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞などの調節性Ｔ細胞を枯渇させた細胞集団；または抗ＣＤ２５抗体、そのフラグメント、もしくはＣＤ２５結合リガンドとあらかじめ接触させた細胞集団)をＩＬ－１５および／またはＩＬ－７と接触させることをさらに含む。例えば、細胞集団(例えば、抗ＣＤ２５抗体、そのフラグメント、もしくはＣＤ２５結合リガンドとあらかじめ接触させた細胞集団)を、ＩＬ－１５および／またはＩＬ－７の存在下において拡大させる。

【０５９４】

いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造時に、例えば、エクスビボにおいて、インターロイキン１５(ＩＬ－１５)ポリペプチド、インターロイキン１５受容体アルファ(ＩＬ－１５Ｒａ)ポリペプチドまたはＩＬ－１５ポリペプチドおよびＩＬ－１５Ｒａポリペプチド、例えば、ｈｅｔＩＬ－１５の両方の組合せを含む組成物と接触させる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造時に、例えば、エクスビボにおいて、ＩＬ－１５ポリペプチドを含む組成物と接触させる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造時に、例えば、エクスビボにおいて、ＩＬ－１５ポリペプチドおよびＩＬ－１５Ｒａポリペプチドの両方の組合せを含む組成物と接触させる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造時に、例えば、エクスビボにおいて、ｈｅｔＩＬ－１５を含む組成物と接触させる。

【０５９５】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、エクスビボにおける拡大時に、ｈｅｔＩＬ－１５を含む組成物と接触させる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、エクスビボにおける拡大時に、ＩＬ－１５ポリペプチドを含む組成物と接触させる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、エクスビボにおける拡大時に、ＩＬ－１５ポリペプチドおよびＩＬ－１５Ｒａポリペプチドの両方を含む組成物と接触させる。ある態様において、接触させることは、リンパ球亜集団、例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞の生存および増殖を結果としてもたらす。

【０５９６】

様々な刺激時間に晒されたＴ細胞は、異なる特徴を示す可能性がある。例えば、典型的な血液またはアフェレーシスで得られた末梢血単核細胞産物は、細胞毒性またはサプレッサーＴ細胞集団(ＴＣ、ＣＤ８＋)より大きいヘルパーＴ細胞集団(ＴＨ、ＣＤ４＋)を有する。エクスビボでのＣＤ３およびＣＤ２８受容体を刺激することによるＴ細胞拡大は、約８～９日目の前には主としてＴＨ細胞からなるＴ細胞集団を産生するが、約８～９日目の後、Ｔ細胞の集団は、よりいっそう多くのＴＣ細胞集団を含む。したがって、処置目的に応じて、主としてＴＨ細胞を含むＴ細胞集団を対象に注入することが有利な場合がある。同様に、ＴＣ細胞の抗原特異的なサブセットが単離された場合、このようなサブセットは、このサブセットをより高度に拡大させるのに有益な場合がある。

【０５９７】

さらに、ＣＤ４およびＣＤ８マーカーに加えて、細胞拡大プロセスの経過中、他の表現型マーカーが有意に、ただし大部分は再生可能に変化する。したがって、このような再現性は、活性化されたＴ細胞産物を特定の目的に合わせる能力を可能にする。

【０５９８】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲが構築されたら、これらに限定されないが、抗原刺激後にＴ細胞を拡大させて再刺激の非存在下でＴ細胞の拡大を維持する能力および適切なインビトロおよび動物モデルにおける抗癌活性などの分子の活性を評価するために、様々なアッセイを使用することができる。ＢＣＭＡ　ＣＡＲの作用を評価するためのアッセイは、以下のさらなる詳細で記載される。

【０５９９】

初代Ｔ細胞におけるＣＡＲ発現のウェスタンブロット分析は、単量体および二量体の存在を検出するのに使用できる。例えば、Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)を参照されたい。極めて簡単に言えば、ＣＡＲを発現するＴ細胞(ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の１：１混合物)を、インビトロで１０日より長く拡大させ、続いて溶解させて還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥを行う。全長ＴＣＲ－ζ細胞質内ドメインおよび内因性ＴＣＲ－ζ鎖を含有するＣＡＲを、ＴＣＲ－ζ鎖に対する抗体を使用するウェスタンブロッティングによって検出する。同じＴ細胞サブセットを、共有結合による二量体形成の評価を許容する非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析に使用する。

【０６００】

インビトロにおける抗原刺激後のＣＡＲ＋Ｔ細胞拡大は、フローサイトメトリーによって測定することができる。例えば、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の混合物を、αＣＤ３／αＣＤ２８のａＡＰＣで刺激し、続いて分析するプロモーターの制御下でＧＦＰを発現するレンチウイルスベクターを移入させる。典型的なプロモーターとしては、ＣＭＶ　ＩＥ遺伝子、ＥＦ－１α、ユビキチンＣまたはホスホグリセロキナーゼ(ＰＧＫ)プロモーターが挙げられる。培養から６日目に、ＣＤ４＋および／またはＣＤ８＋Ｔ細胞サブセットにおいてＧＦＰ蛍光をフローサイトメトリーによって評価する。例えば、Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)を参照されたい。その代わりに、０日目に、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の混合物を、αＣＤ３／αＣＤ２８でコーティングされた磁気ビーズで刺激し、１日目に、２Ａリボゾームスキッピング配列(ribosomal skipping sequence)を使用してｅＧＦＰと共にＣＡＲを発現するバイシストロン性のレンチウイルスベクターを使用して、ＣＡＲで形質導入する。培養物は、洗浄の後、多発性骨髄腫細胞株またはＫ５６２－ＢＣＭＡなどのＢＣＭＡ発現細胞で再刺激する。１日おきに外因性ＩＬ－２を１００ＩＵ／mlで培養に添加する。ＧＦＰ＋Ｔ細胞は、ビーズベースの計数を使用するフローサイトメトリーによって数えられる。例えば、Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464(2009)を参照されたい。

【０６０１】

再刺激の非存在下において持続されるＣＡＲ＋Ｔ細胞拡大もまた、測定することができる。例えば、(Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]を参照されたい。略述すると、０日目における、αＣＤ３／αＣＤ２８でコーティングされた磁気ビーズによる刺激および１日目における、表示のＣＡＲの形質導入に続き、Ｃｏｕｌｔｅ

ｒ Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ ＩＩＩ粒子カウンター、Ｎｅｘｃｅｌｏｍ Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ ＶｉｓｉｏｎまたはＭｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｓｃｅｐｔｅｒを使用して、培養の８日目に、平均Ｔ細胞容量(ｆｌ)を測定する。

【０６０２】

ＣＡＲＴ活性を測定するのに、動物モデルもまた使用することができる。例えば、ヒトＢＣＭＡ特異的ＣＡＲ＋Ｔ細胞を使用して、免疫不全マウスにおける原発性ヒト多発性骨髄腫を処置する異種移植片モデルを使用することができる。例えば、(Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]を参照されたい。ごく簡単に略述すると、ＭＭの確立の後で、マウスを、処置群について無作為化する。異なる数のＢＣＭＡ ＣＡＲＴ細胞を、ＭＭを保有する免疫不全マウスに注射することができる。動物は、毎週の間隔で、疾患の進行および腫瘍負荷について評価する。ログランク検定を使用して、群についての生存曲線を比較する。加えて、免疫不全マウスにおいてＴ細胞を注射した４週間後における、末梢血絶対ＣＤ４＋Ｔ細胞数および末梢血絶対ＣＤ８＋Ｔ細胞数もまた、分析することができる。マウスに、多発性骨髄腫細胞を注射し、３週間後、例えば、ｅＧＦＰに連結されたＣＡＲをコードする、バイシストロニックのレンチウイルスベクターにより、ＢＣＭＡ ＣＡＲを発現するように加工された、Ｔ細胞を注射する。注射前にｍｏｃｋ形質導入細胞と混合することによって、Ｔ細胞を４５～５０％の投入されたＧＦＰ＋Ｔ細胞に対して正規化し、フローサイトメトリーによって確認する。１週間おきに白血病に関して動物を検討する。ログランク検定を使用してＣＡＲ＋Ｔ細胞グループごとの生存曲線を比較する。

【０６０３】

細胞増殖およびサイトカイン産生の検討は、例えば、Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464(2009)で、すでに説明されている。略述すると、ＣＡＲに媒介される増殖の評価は、洗浄されたＴ細胞を、ＢＣＭＡを発現するＫ５６２細胞と混合することにより、マイクロ滴定プレートにおいて実施するかまたは使用の前に、他のＢＣＭＡ発現骨髄腫細胞を、ガンマ放射線で照射する。これらのシグナルは、エクスビボにおいて、長期にわたるＣＤ８＋Ｔ細胞の拡大を支援するので、Ｔ細胞増殖の刺激についての陽性対照として機能するように、抗ＣＤ３(クローンＯＫＴ３)モノクローナル抗体および抗ＣＤ２８(クローン９.３)モノクローナル抗体を、ＫＴ３２－ＢＢＬ細胞を伴う培養物に添加する。培養中に、Ｔ細胞は、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ™蛍光ビーズ(Invitrogen、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ)およびフローサイトメトリーを製造元により説明されているように使用して数えられる。ｅＧＦＰ－２Ａが連結されたＣＡＲ発現レンチウイルスベクターで加工されたＴ細胞を使用したＧＦＰ発現によって、ＣＡＲ＋Ｔ細胞を同定する。ＧＦＰを発現しないＣＡＲ＋Ｔ細胞の場合、ビオチン化組換えＢＣＭＡタンパク質および二次アビジン－ＰＥコンジュゲートを用いて、ＣＡＲ＋Ｔ細胞を検出する。またＴ細胞におけるＣＤ４＋およびＣＤ８＋発現も、特異的なモノクローナル抗体(BD Biosciences)を用いて同時に検出する。ヒトＴＨ１／ＴＨ２サイトカインサイトメトリー用ビーズアレイキット(BD Biosciences, San Diego, CA)を製造元の説明書に従って使用して、再刺激から２４時間後に収集された上清に対してサイトカイン測定を行う。ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒフローサイトメーターを使用して蛍光を検討し、製造元の説明書に従ってデータを分析する。

【０６０４】

細胞毒性は、標準的な５１Ｃｒ放出アッセイにより評価することができる。例えば、(Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]を参照されたい。略述すると、標的細胞(例えば、ＢＣＭＡを発現するＫ５６２細胞株および原発性多発性骨髄腫細胞)に、５１Ｃｒ(ＮａＣｒＯ４として、New England Nuclear, Boston, MA)を、頻繁に攪拌しながら３７℃で２時間にわたりロードし、完全ＲＰＭＩ中で２回にわたり洗浄し、マイクロ滴定プレートに播種した。完全ＲＰＭＩ中で、エフェクターＴ細胞とウェル中の標的細胞とを、エフェクター細胞：標的細胞(Ｅ：Ｔ)の様々な比率で混合する。さらに、培地のみ(自発的な放出、ＳＲ)またはトリトン－Ｘ１００洗浄剤の１％溶液(合計の放出、ＴＲ)を含有する追加のウェルも調製する。３７℃で４時間インキュベートした後、各ウ

ェルからの上清を回収する。次いでガンマ粒子カウンター(Packard Instrument Co., Waltham, MA)を使用して放出された５１Ｃｒを測定する。各条件を少なくとも３連で行い、式：％溶解物＝(ＥＲ－ＳＲ)／(ＴＲ－ＳＲ)を使用して溶解物のパーセンテージを計算し、ここで式中、ＥＲは、各実験条件で放出された平均５１Ｃｒを表す。

【０６０５】

腫瘍を有する動物モデルにおけるＣＡＲの特異的なトラフィッキングおよび増殖を評価するために、イメージング技術を使用することができる。このようなアッセイは、例えば、(Barrett et al., Human Gene Therapy 22:1575-1586 (2011)]において説明されている。略述すると、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γｃ－／－(ＮＳＧ)マウスまたは他の免疫不全マウスに、多発性骨髄腫細胞をＩＶ注射した７日後、ＣＡＲ構築物によるエレクトロポレーションの４時間後におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞を注射した。Ｔ細胞に、ホタルルシフェラーゼを発現するレンチウイルス構築物を安定的にトランスフェクトし、マウスを、生物発光についてイメージングする。代替的に、多発性骨髄腫異種移植片モデルにおける、ＣＡＲ＋Ｔ細胞の単回注射の治療効能および治療特異性は、以下の通りに測定することもできる：ＮＳＧマウスに、ホタルルシフェラーゼを安定的に発現するように形質導入された多発性骨髄腫細胞を注射した７日後、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物でエレクトロポレーションしたＴ細胞の、単回の尾静脈注射を施す。注射後の様々なタイムポイントで動物を画像化する。例えば、５日目(処置の２日前)および８日目(ＣＡＲ＋ＰＢＬから２４時間後)の代表的なマウスにおけるホタルルシフェラーゼ陽性白血病の光子密度のヒートマップを作製することができる。

【０６０６】

代替的にまたは本明細書で開示された方法と組み合わせて、ＣＡＲ発現細胞の検出および／または定量化(例えば、インビトロまたはインビボ(例えば、臨床モニタリング)]；免疫細胞の拡大および／または活性化；ならびに／またはＣＡＲリガンドの使用を伴う、ＣＡＲ特異的選択の１以上のための方法および組成物も開示される。例示的なある態様において、ＣＡＲリガンドは、ＣＡＲ分子に結合する抗体、例えば、ＣＡＲの細胞外抗原結合ドメインに結合する抗体(例えば、抗原結合ドメインに結合する抗体、例えば、抗イディオタイプ抗体；または細胞外結合ドメインの定常領域に結合する抗体)である。他の態様において、ＣＡＲリガンドは、ＣＡＲ抗原分子(例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ抗原分子)である。

【０６０７】

ある面において、ＣＡＲ発現細胞を検出および／または定量化するための方法が開示される。例えば、ＣＡＲリガンドを使用して、インビトロまたはインビボにおいて、ＣＡＲ発現細胞を検出および／または定量化する(例えば、患者におけるＣＡＲ発現細胞または患者への投与の臨床モニタリングを行う)ことができる。方法は、

ＣＡＲリガンド(適宜、標識されたＣＡＲリガンド、例えば、タグ、ビーズ、放射性標識または蛍光標識を含むＣＡＲリガンド)を用意することと；

ＣＡＲ発現細胞を得ること(例えば、製造用サンプルまたは臨床サンプルなど、ＣＡＲ発現細胞を含有するサンプルを得ること)と；

結合が生じる条件下において、ＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲリガンドと接触させ、これにより、存在するＣＡＲ発現細胞のレベル(例えば、量)を検出することと

を含む。ＣＡＲ発現細胞の、ＣＡＲリガンドとの結合は、ＦＡＣＳ、ＥＬＩＳＡなど、標準的な技術を使用して検出することができる。

【０６０８】

別の面において、細胞(例えば、免疫エフェクター細胞)を拡大および／または活性化させる方法が開示される。方法は、

ＣＡＲ発現細胞(例えば、第一のＣＡＲ発現細胞またはＣＡＲを一過性に発現する細胞)を用意することと；

前記ＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲリガンド、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲリガンドと、免疫細胞の拡大および／または増殖が生じる条件下において接触させ、これにより、

活性化および／または拡大させた細胞集団をもたらすことと
を含む。
【０６０９】
ある特定の態様において、ＣＡＲリガンドは、存在する(例えば、基質、例えば、天然では存在しない基質に固定化するかまたは接合させる)。いくつかの態様において、基質は、非細胞性基質である。非細胞性基質は、例えば、プレート(例えば、マイクロ滴定プレート)、膜(例えば、ニトロセルロース膜)、マトリックス、チップまたはビーズから選択される固体支持体であり得る。ある態様において、ＣＡＲリガンドは、基質(例えば、基質表面上)に存在する。ＣＡＲリガンドは、基質に固定化することもでき、接合させることもでき、共有結合的または非共有結合的に会合させる(例えば、架橋する)こともできる。ある態様において、ＣＡＲリガンドは、ビーズに接合させる(例えば、共有結合的に接合させる)ことができる。前述の態様において、免疫細胞集団は、インビトロまたはエクスビボにおいて拡大させることができる。方法はさらに、例えば、本明細書で記載される方法のいずれかを使用して、ＣＡＲ分子のリガンドの存在下において、免疫細胞の集団を培養することを含み得る。
【０６１０】
他の態様において、細胞を拡大および／または活性化させる方法は、第二の刺激分子、例えば、ＣＤ２８の添加をさらに含む。例えば、ＣＡＲリガンドおよび第二の刺激分子を、基質、例えば、１以上のビーズに固定化し、これにより、細胞の拡大および／または活性化を増加させることができる。
【０６１１】
さらに別の面において、ＣＡＲ発現細胞について選択または濃縮する方法が提供される。方法は、ＣＡＲ発現細胞を、本明細書で記載されるＣＡＲリガンドと接触させることと；ＣＡＲリガンドの結合に基づき、細胞を選択することとを含む。
【０６１２】
さらに他の態様において、ＣＡＲ発現細胞を枯渇させ、低減し、かつ／または死滅させるための方法が提供される。方法は、ＣＡＲ発現細胞を、本明細書で記載されるＣＡＲリガンドと接触させることと；ＣＡＲリガンドの結合に基づき、細胞を標的とし、これにより、ＣＡＲ発現細胞の数を低減し、かつ／またはこれらを死滅させることとを含む。ある態様において、ＣＡＲリガンドを、毒性薬剤(例えば、毒素または細胞除去薬)にカップリングさせることができる。別の態様において、抗イディオタイプ抗体は、エフェクター細胞活性、例えば、ＡＤＣＣまたはＡＤＣ活性を引き起こし得る。
【０６１３】
本明細書で開示された方法において使用し得る例示的な抗ＣＡＲ抗体は、例えば、その内容が参照により組み入れられる、ＷＯ２０１４／１９０２７３およびJena et al., “Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials”, PLOS March 2013 8:3 e57838において説明されている。ある態様において、抗イディオタイプ抗体分子は、抗ＣＤ１９抗体分子、例えば、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖを認識する。例えば、抗イディオタイプ抗体分子は、結合について、Jena et al., PLOS March 2013 8:3 e57838において説明されている、ＣＤ１９特異的ＣＡＲ　ｍＡｂクローン番号１３６.２０.１と競合する場合もあり、ＣＤ１９特異的ＣＡＲ　ｍＡｂクローン番号１３６.２０.１と同じＣＤＲ(例えば、Ｋａｂａｔによる定義、Ｃｈｏｔｈｉａによる定義またはＫａｂａｔによる定義とＣｈｏｔｈｉａによる定義との組合せを使用する、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３(ＣＨ　ＣＤＲ３)、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２およびＶＬ　ＣＤＲ３の１以上、例えば、これらの全て)を有する場合もあり、ＣＤ１９特異的ＣＡＲ　ｍＡｂクローン番号１３６.２０.１と同じ可変領域の１以上(例えば、２)を有する場合もあり、ＣＤ１９特異的ＣＡＲ　ｍＡｂクローン番号１３６.２０.１を含む場合もある。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、Jena et al.において説明されている方法に従い作製した。別の態様において、抗イディオタイプ抗体分子は、ＷＯ２０１４／１９０２７３において説明されている抗イデ

ィオタイプ抗体分子である。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体分子は、１３６.２０.１など、ＷＯ２０１４／１９０２７３の抗体分子と同じＣＤＲ(例えば、ＶＨ ＣＤＲ１、ＶＨ ＣＤＲ２、ＶＨ ＣＤＲ３、ＶＬ ＣＤＲ１、ＶＬ ＣＤＲ２およびＶＬ ＣＤＲ３の１以上、例えば、これらの全て)を有し、ＷＯ２０１４／１９０２７３の抗体分子の１以上(例えば、２)の可変領域を有する場合もあり、１３６.２０.１など、ＷＯ２０１４／１９０２７３の抗体分子を含む場合もある。他の態様において、抗ＣＡＲ抗体は、例えば、ＷＯ２０１４／１９０２７３において説明されている、ＣＡＲ分子の細胞外結合ドメインの定常領域に結合する。いくつかの態様において、抗ＣＡＲ抗体は、ＣＡＲ分子の細胞外結合ドメインの定常領域、例えば、重鎖定常領域(例えば、ＣＨ２－ＣＨ３間ヒンジ領域)または軽鎖定常領域に結合する。例えば、いくつかの態様において、抗ＣＡＲ抗体は、結合について、ＷＯ２０１４／１９０２７３において説明されている、２Ｄ３モノクローナル抗体と競合し、２Ｄ３(例えば、ＶＨ ＣＤＲ１、ＶＨ ＣＤＲ２、ＶＨ ＣＤＲ３、ＶＬ ＣＤＲ１、ＶＬ ＣＤＲ２およびＶＬ ＣＤＲ３の１以上、例えば、これらの全て)と同じＣＤＲを有するかまたは２Ｄ３の１以上(例えば、２)の可変領域を有するかまたはＷＯ２０１４／１９０２７３において説明されている２Ｄ３を含む。

【０６１４】

いくつかの面および態様において、本明細書における組成物および方法を、例えば、その内容が参照によりそれらの全体において本明細書に組み入れられる、２０１４年７月３１日に出願された米国第６２／０３１,６９９号において説明されている通り、Ｔ細胞の特異的なサブセットについて最適化する。いくつかの態様において、Ｔ細胞の最適化されたサブセットは、対照Ｔ細胞、例えば、同じ構築物を発現する、異なるタイプのＴ細胞(例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞またはＣＤ４＋Ｔ細胞)と比較して、持続性の増強を提示する。

【０６１５】

いくつかの態様において、ＣＤ４＋Ｔ細胞は、本明細書で記載されるＣＡＲであって、ＣＤ４＋Ｔ細胞に適する細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞について最適化された細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞における持続性の増強をもたらす細胞内シグナル伝達ドメイン)、例えば、ＩＣＯＳドメインを含むＣＡＲを含む。いくつかの態様において、ＣＤ８＋Ｔ細胞は、本明細書で記載されるＣＡＲであって、ＣＤ８＋Ｔ細胞に適する細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞について最適化された細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞における持続性の増強をもたらす細胞内シグナル伝達ドメイン)、例えば、４－１ＢＢドメイン、ＣＤ２８ドメインまたはＩＣＯＳドメイン以外の、別の共刺激ドメインを含むＣＡＲを含む。いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲは、本明細書で記載される抗原結合ドメイン、例えば、ＣＡＲは、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメイン、例えば、表１または１６の抗原結合ドメインを含む。

【０６１６】

ある面において、本明細書では、対象、例えば、癌を有する対象を処置する方法が記載される。方法は、前記対象に、

１)ＣＡＲ(ＣＡＲＣＤ４＋)を含むＣＤ４＋Ｔ細胞であって、

抗原結合ドメイン、例えば、本明細書で記載される抗原結合ドメイン、例えば、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメイン、例えば、表１または１６の抗原結合ドメインと；

膜貫通ドメインと；

細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、第一の共刺激ドメイン、例えば、ＩＣＯＳドメインと

を含むＣＤ４＋Ｔ細胞；および

２)ＣＡＲ(ＣＡＲＣＤ８＋)を含むＣＤ８＋Ｔ細胞であって、

抗原結合ドメイン、例えば、本明細書で記載される抗原結合ドメイン、例えば、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメイン、例えば、表１または１６の抗原結合ドメインと；

膜貫通ドメインと；

細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、第二の共刺激ドメイン、例えば、４－１ＢＢドメ

イン、ＣＤ２８ドメインまたはＩＣＯＳドメイン以外の、別の共刺激ドメインと
を含み、
ＣＡＲＣＤ４＋とＣＡＲＣＤ８＋とが互いに異なる、
ＣＤ８＋Ｔ細胞
の有効量を投与することを含む。
【０６１７】
方法はさらに、
３)ＣＡＲ(第二のＣＡＲＣＤ８＋)を含む、第二のＣＤ８＋　Ｔ細胞であって、
抗原結合ドメイン、例えば、本明細書で記載される抗原結合ドメイン、例えば、ＢＣＭＡに特異的に結合する抗原結合ドメイン、例えば、表１または１６の抗原結合ドメインと；
膜貫通ドメインと；
細胞内シグナル伝達ドメインと
を含み、第二のＣＡＲＣＤ８＋が、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＡＲＣＤ８＋において存在しない共刺激シグナル伝達ドメインを含み、適宜、ＩＣＯＳシグナル伝達ドメインを含まない、第二のＣＤ８＋　Ｔ細胞
を投与することを含んでもよい。
【０６１８】
また、他のアッセイ、例えば本明細書における実施例の章で説明されているアッセイ、同様に当業界公知のアッセイなども、本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を評価するのに使用することができる。
【０６１９】
治療的適用
ＢＣＭＡ関連疾患および／または障害
ある面において、本発明は、ＢＣＭＡ発現に関連する疾患を処置するための方法を提供する。ある面において、本発明は、腫瘍の一部がＢＣＭＡに関して陰性であり、腫瘍の一部がＢＣＭＡに関して陽性である疾患を処置するための方法を提供する。例えば、本発明のＣＡＲは、上昇したＢＣＭＡの発現に関連する疾患に関する処置を受けた対象を処置するのに有用であり、ここで上昇したＢＣＭＡのレベルに関する処置を受けた対象は、上昇したＢＣＭＡのレベルに関連する疾患を示す。ある態様において、本発明のＣＡＲは、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患のための処置を受けた対象を処置するために有用であり、この場合、ＢＣＭＡの発現に関する処置を受けた対象は、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患を呈示する。
【０６２０】
ある態様において、本発明は、ＢＣＭＡが、正常細胞および癌細胞のいずれにおいても発現されるが、正常細胞においては低レベルで発現される、疾患を処置するための方法を提供する。ある態様において、方法は、ＢＣＭＡ　ＣＡＲが、ＢＣＭＡを発現する癌細胞に結合し、これらを死滅させることは可能とするが、ＢＣＭＡを発現する正常細胞の死滅は３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％未満である、アフィニティーであって、例えば、本明細書で記載されるアッセイにより決定される、アフィニティーにより結合する、本発明のＣＡＲを選択することをさらに含む。例えば、Ｃｒ５１　ＣＴＬに基づくフローサイトメトリーなどの死滅アッセイを使用することができる。ある態様において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、標的抗原に対する結合アフィニティーであるＫＤが、１０－４Ｍ～１０－８Ｍ、例えば、１０－５Ｍ～１０－７Ｍ、例えば、１０－６Ｍまたは１０－７Ｍである抗原結合ドメインを有する。ある態様において、ＢＣＭＡ抗原結合ドメインの結合アフィニティーは、参照抗体、例えば、本明細書で記載される抗体の少なくとも５倍、１０倍、２０倍、３０倍、５０倍、１００倍または1,０００倍未満である。
【０６２１】
ある面において、本発明は、哺乳動物免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞における発現のためのプロモーターに作動可能に連結したＢＣＭＡ　ＣＡＲを含むベクターに関する。ある面において、本発明は、ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現する、組換え免疫

エフェクター細胞、例えば、組換えＴ細胞または組換えＮＫ細胞であって、ＢＣＭＡを発現する腫瘍の処置における使用のための組換え免疫エフェクター細胞を提供するが、この場合、ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現する組換え免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)と称する。ある面において、本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)は、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)が、腫瘍細胞を標的とし、腫瘍の成長を阻害するように、腫瘍細胞を、その表面上で発現される、少なくとも１の本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲと接触させることが可能である。

【０６２２】

ある面において、本発明は、ＢＣＭＡを発現する腫瘍細胞の成長を阻害する方法であって、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)が、抗原に応答して活性化し、癌細胞を標的とし、腫瘍の成長を阻害するように、腫瘍細胞を、本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)と接触させることを含む方法に関する。

【０６２３】

ある面において、本発明は、対象における癌を処置する方法に関する。方法は、癌を、対象において処置するように、対象に、本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を投与することを含む。本発明のＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)により処置可能な癌の例は、ＢＣＭＡの発現に関連する癌である。

【０６２４】

本発明は、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を発現するように、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を遺伝子改変し、それを必要とするレシピエントに、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を注入する、細胞療法のタイプを含む。注入される細胞は、レシピエントにおける腫瘍細胞を死滅させることが可能である。抗体療法と異なり、ＣＡＲで改変された細胞、例えば、ＣＡＲで改変されたＴ細胞またはＣＡＲで改変されたＮＫ細胞、は、インビボにおける複製が可能であり、持続的な腫瘍制御につながり得る、長期にわたる持続性を結果としてもたらす。種々の面において、患者に投与された細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)またはそれらの子孫細胞は、細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、患者への投与後、少なくとも４カ月間、５カ月間、６カ月間、７カ月間、８カ月間、９カ月間、１０カ月間、１１カ月間、１２カ月間、１３カ月間、１４カ月間、１５カ月間、１６カ月間、１７カ月間、１８カ月間、１９カ月間、２０カ月間、２１カ月間、２２カ月間、２３カ月間、２年間、３年間、４年間または５年間にわたり、患者において存続する。

【０６２５】

本発明はまた、例えば、インビトロにおいて転写されるＲＮＡにより、キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を一過性に発現するように、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を改変し、それを必要とするレシピエントに、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を注入する、細胞療法のタイプも含む。注入される細胞は、レシピエントにおける腫瘍細胞を死滅させることが可能である。したがって、種々の面において、患者に投与される免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、患者への投与後、１カ月間未満、例えば、３週間、２週間、１週間にわたり存在する。

【０６２６】

いかなる特定の理論にも縛られるつもりはないが、ＣＡＲで改変された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)により惹起される抗腫瘍免疫応答は、能動的免疫応答の場合もあり、受動的免疫応答の場合もあり、代替的に、間接的免疫応答と対比される直接的免疫応答に起因する場合もある。ある面において、ＣＡＲで形質導入された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、ＢＣＭＡを発現するヒト癌細胞に応

答して、特異的な炎症促進性サイトカインの分泌および強力な細胞溶解活性を呈示し、可溶性ＢＣＭＡによる阻害に抵抗し、バイスタンダー殺滅を媒介し、確立されたヒト腫瘍の退縮を媒介する。例えば、ＢＣＭＡを発現する腫瘍による不均質場内の無抗原腫瘍細胞は、ＢＣＭＡによりリダイレクトされた免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)であって、隣接する抗原陽性癌細胞に対してあらかじめ反応している免疫エフェクター細胞による間接的破壊を受けやすい。

【０６２７】

ある面において、本発明の完全ヒトＣＡＲで改変された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、エクスビボにおける免疫化のためのワクチンのタイプであってもよく、かつ／または哺乳動物におけるインビボ治療のためのワクチンのタイプであってもよい。ある面において、哺乳動物は、ヒトである。

【０６２８】

エクスビボでの免疫化に関して、哺乳動物に細胞を投与する前に、インビトロで、以下：ｉ)細胞の拡大、ii)細胞へのＣＡＲをコードする核酸の導入またはiii)細胞の低温保存のうち少なくとも１つが行われる。

【０６２９】

エクスビボの手法は当業界周知であり、以下でより詳細に論じられる。簡単に言えば、哺乳動物(例えば、ヒト)から細胞を単離し、本明細書で開示されたＣＡＲを発現するベクターで遺伝子改変する(すなわち、インビトロで形質導入またはトランスフェクトする)。ＣＡＲで改変された細胞を哺乳動物のレシピエントに投与することによって、治療的利益をもたらすことができる。哺乳動物のレシピエントはヒトであってもよいし、ＣＡＲで改変された細胞はレシピエントにとって自己であってもよい。その代わりに、細胞は、レシピエントにとって同種異系、同系または異種であってもよい。

【０６３０】

エクスビボで造血幹および前駆細胞を拡大させる手法は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第５,１９９,９４２号で説明されており、本発明の細胞に適用することができる。他の好適な方法が当業界公知であり、それゆえに本発明は、いかなる特定のエクスビボでの細胞拡大方法にも限定されない。簡単に言えば、エクスビボでのＴ細胞の培養および拡大は、(１)末梢血液の回収物または骨髄外植片から、哺乳動物由来のＣＤ３４＋造血幹および前駆細胞を収集すること；および(２)このような細胞をエクスビボで拡大させることを含む。米国特許第５,１９９,９４２号で説明されている細胞成長因子に加えて、ｆｌｔ３－Ｌ、ＩＬ－１、ＩＬ－３およびｃ－ｋｉｔリガンドなどの他の因子を細胞の培養および拡大に使用することができる。

【０６３１】

エクスビボでの免疫化に関して細胞ベースのワクチンを使用することに加えて、本発明はまた、患者中の抗原に対して向けられた免疫反応を惹起するための、インビボでの免疫化のための組成物および方法も提供する。

【０６３２】

一般的に、本明細書で説明したようにして活性化され拡大させた細胞は、免疫不全の個体において生じた疾患の処置および予防で利用することができる。特に、本発明のＣＡＲで改変された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)は、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患、障害および状態の処置において使用される。ある面において、本発明の細胞は、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患、障害および状態を発症する危険性がある患者の処置に使用することができる。したがって、本発明は、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患、障害および状態の処置または予防のための方法であって、それを必要とする対象に、本発明のＣＡＲで改変された免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の治療有効量を投与することを含む方法を提供する。

【０６３３】

ある面において、本発明のＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を使用して、癌もしくは悪性腫瘍などの増殖性疾患または脊髄形成異常、骨髄異形成症

候群、もしくは前白血病などの前癌状態を処置することができる。ある面において、癌は、血液癌である。血液癌状態とは、白血病、ならびに血液、骨髄およびリンパ系に影響を及ぼす悪性リンパ増殖性状態などの癌のタイプである。ある面において、血液癌は、白血病またはリンパ腫である。ＢＣＭＡに関連する疾患または障害の例は、多発性骨髄腫(ＭＭとしてもまた公知)である[Claudio et al., Blood. 2002, 100(6):2175-86；およびNovak et al., Blood. 2004, 103(2):689-94を参照されたい)。形質細胞性骨髄腫またはカーラー病としてもまた公知の多発性骨髄腫とは、骨髄における異常または悪性の形質Ｂ細胞の蓄積を特徴とする癌である。癌細胞は、隣接する骨に浸潤し、骨格構造を破壊し、骨痛および骨折を結果としてもたらすことが多い。骨髄腫の大半の症例はまた、悪性形質細胞のクローン増殖により過剰に産生される、異常な免疫グロブリンである、パラプロテイン(Ｍタンパク質または骨髄腫タンパク質としてもまた公知)の産生も特徴とする。３０ｇ／Ｌを超える血清パラプロテインレベルは、The International Myeloma Working Group(ＩＭＷＧ)の診断基準(Kyle et al. (2009), Leukemia. 23:3-9を参照されたい)に従う、多発性骨髄腫の診断に用いられる。多発性骨髄腫の他の症状または徴候は、腎機能の低下または腎不全、骨病変、貧血、高カルシウム血症および神経症状を含む。

【０６３４】

多発性骨髄腫を、他の形質細胞増殖障害と識別するための基準は、The International Myeloma Working Groupにより確立されている(Kyle et al. (2009), Leukemia. 23:3-9を参照されたい))。以下の基準：

・クローン骨髄形質細胞≧１０％

・血清中および／または尿中単クローン性タンパク質の存在(真性の非分泌性多発性骨髄腫を有する患者を除く)

・根底をなす形質細胞増殖障害、具体的には：

○高カルシウム血症：血清カルシウム≧１００mlあたり１１.５mg

○腎不全：血清クレアチニン＞１ｌあたり１.７３ミリモル

○貧血：ヘモグロビン値＞正常の下限を下回る１００mlあたり２ｇまたはヘモグロビン値＜１００mlあたり１０ｇである、正色素性貧血、正球性貧血

○骨病変：溶解性病変、重度の骨減少症または病理学的骨折

に帰せられる末端臓器損傷の証拠の全３を満たさなければならない。

【０６３５】

本明細書で記載される組成物および方法により処置され得る、他の形質細胞増殖障害は、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)を含むがこれらに限定されない。

【０６３６】

多発性骨髄腫の病期分類においては、２病期分類システム：国際病期分類システム(ＩＳＳ)(Greipp et al. (2005), J. Clin. Oncol. 23 (15):3412-3420を参照されたい]およびデューリー－サーモン病期分類システム(ＤＳＳ)(Durie et al. (1975), Cancer 36 (3):842-854を参照されたい]が使用されている。２病期分類システムを、以下の表にまとめる。

【０６３７】

【表５８】

表18

病期	国際病期分類システム		デューリー―サーモン病期分類システム	
	基準	生存期間中央値	基準	生存期間中央値*
I	β_2M<3.5mg/lおよび血清アルブミン≧3.5 g/dL	62カ月間	以下の全て: ヘモグロビンレベル>10g/dL 血清カルシウム:正常または<12mg/dL 骨ｘ線:正常または１形質細胞腫に限る 低度の単クローン性タンパク質産生(IgG<5g/dL、IgA<3g/dL、ベンスジョーンズタンパク質<24時間あたり4g/dL	IA: 62カ月間 IB: 22カ月間
II	病期Iでも病期IIIでもない	44カ月間	病期Iでも病期IIIでもない	IIA: 58カ月間 IIB: 354カ月間
III	β_2M ≥5.5 mg/l	29カ月間	以下の１以上: ヘモグロビンレベル<8.5g/dL 血清カルシウム:正常または>12mg/dL 溶骨性病変の進行 高度の単クローン性タンパク質産生(IgG>7g/dL、IgA>5g/dL、ベンスジョーンズタンパク質>24時間あたり12g/dL	IIIA: 45カ月間 IIIB: 24カ月間

*デューリー-サーモン病期分類システムはまた、腎機能の状態について表示する亜分類も含む。表示「A」または「B」を、病期番号の後に付加する[表示中、「A」は、比較的正常な腎機能(血清クレアチニン値〈2.0mg/dL)を指し示し、Bは、異常な腎機能(血清クレアチニン値〉2.0mg/dL)を指し示す]。

【０６３８】

多発性骨髄腫および関連する疾患のための標準的な処置は、化学療法、幹細胞移植(自己移植または同種異系移植)、放射線療法および他の薬物療法を含む。使用されることが多い抗骨髄腫薬は、アルキル化剤(例えば、ベンダムスチン、シクロホスファミドおよびメルファラン)、プロテアソーム阻害剤(例えば、ボルテゾミブ)、コルチコステロイド(例えば、デキサメタゾンおよびプレドニゾン)およびイムノモジュレーター(例えば、サリドマイドおよびレナリドマイドまたはＲｅｖｌｉｍｉｄ(登録商標))またはこれらの任意の組合せを含む。ビホスホネート薬もまた、骨量の低下を予防するように、標準的な抗ＭＭ処置と組み

合わせて投与されることが多い。６５～７０歳より高齢の患者は、幹細胞移植の候補者となる可能性が小さい。場合によって、第一の移植に対する応答が最適未満である６０歳未満の患者には、二重自己幹細胞移植も選択肢となる。本発明の組成物および方法は、多発性骨髄腫のために現行で処方されている処置のいずれかと組み合わせて投与することができる。

【０６３９】

ＢＣＭＡに関連する疾患または障害の別の例は、ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫である(Chiu et al., Blood. 2007, 109(2):729-39; He et al., J Immunol. 2004, 172(5):3268-79を参照されたい]。

【０６４０】

ホジキン病としてもまた公知のホジキンリンパ腫(ＨＬ)は、白血球またはリンパ球に由来するリンパ系の癌である。リンパ腫を含む異常な細胞は、リード－スタンバーグ細胞と呼ばれる。ホジキンリンパ腫において、癌は、１リンパ節群から別のリンパ節群へと拡散する。ホジキンリンパ腫は、リード－スタンバーグ細胞の形状およびリード－スタンバーグ細胞の周囲の細胞組成(リンパ節生検を介して決定される)に基づき、４病理学的亜型：結節硬化型ＨＬ、混合細胞型亜型、リンパ球豊富型またはリンパ球優位型、リンパ球枯渇型に下位分類することができる。一部のホジキンリンパ腫はまた、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫の場合もあり、性状不明の場合もある。ホジキンリンパ腫の症状および徴候は、頸部、腋窩部、もしくは鼠径部のリンパ節における無痛の腫脹、発熱、寝汗、体重の減少、疲労、掻痒感または腹痛を含む。

【０６４１】

非ホジキンリンパ腫(ＮＨＬ)は、ホジキンリンパ腫以外の、リンパ腫の任意の種類を含む、血液癌の多様な群を含む。非ホジキンリンパ腫の亜型は主に、細胞の形状、染色体異常および表面マーカーにより分類される。ＮＨＬ亜型(またはＮＨＬ関連癌)は、バーキットリンパ腫、Ｂ細胞慢性リンパ球性白血病(Ｂ－ＣＬＬ)、Ｂ細胞前リンパ球性白血病(Ｂ－ＰＬＬ)、慢性リンパ球性白血病(ＣＬＬ)、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫(ＤＬＢＣＬ)(例えば、血管内大細胞型Ｂ細胞リンパ腫および原発性縦隔Ｂ細胞リンパ腫)、濾胞性リンパ腫(例えば、濾胞中心リンパ腫、濾胞性小切れ込み核細胞型リンパ腫)、ヘアリーセル白血病、高悪性度Ｂ細胞リンパ腫(バーキットリンパ腫様)、リンパ形質細胞性リンパ腫(ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症)、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫(例えば、節外性辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫または粘膜関連リンパ組織型(ＭＡＬＴ)リンパ腫、節性辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫および脾辺縁帯Ｂ細胞リンパ腫)、形質細胞腫／骨髄腫、前駆Ｂリンパ芽球性白血病／リンパ腫(ＰＢ－ＬＢＬ／Ｌ)、原発性中枢神経系(ＣＮＳ)リンパ腫、原発性眼内リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(ＳＬＬ)などであるがこれらに限定されないＢ細胞リンパ腫；ならびに未分化大細胞型リンパ腫(ＡＬＣＬ)、成人Ｔ細胞リンパ腫／白血病(例えば、くすぶり型、慢性型、急性型およびリンパ腫型)、血管中心性リンパ腫、血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫(例えば、菌状息肉腫、セザリー症候群など)、節外性ナチュラルキラー／Ｔ細胞リンパ腫(鼻腔型)、腸管症型Ｔ細胞リンパ腫、大顆粒リンパ球白血病、前駆Ｔリンパ芽球性リンパ腫／白血病(Ｔ－ＬＢＬ／Ｌ)、Ｔ細胞慢性リンパ球性白血病／前リンパ球性白血病(Ｔ－ＣＬＬ／ＰＬＬ)および性状不明の末梢性Ｔ細胞リンパ腫などであるがこれらに限定されないＴ細胞リンパ腫を含む。ホジキンリンパ腫の症状および徴候は、頸部、腋窩部または鼠径部のリンパ節における無痛の腫脹、発熱、寝汗、体重の減少、疲労、掻痒感、腹痛、咳または胸痛を含む。

【０６４２】

病期分類は、ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫のいずれについても同じであり、体内の癌細胞の拡散の程度を指す。病期Ｉにおいて、リンパ腫細胞は、１リンパ節群にある。病期ＩＩにおいて、リンパ腫細胞は、少なくとも２リンパ節群に存在するが、いずれの群も横隔膜の同じ側にあるかまたは組織もしくは臓器の一部および横隔膜の同じ側にある臓器の近傍のリンパ節にある。病期ＩＩＩにおいて、リンパ腫細胞は、横隔膜の両側のリンパ節またはこれらのリンパ節群の近傍の組織もしくは臓器の一部または脾臓にある

。病期ＩＶにおいて、リンパ腫細胞は、少なくとも１の臓器もしくは組織のいくつかの部分に見出されるかまたは横隔膜の他の側の臓器およびリンパ節にある。ローマ数字による病期分類表記に加えて、病期はまた、Ａ、Ｂ、ＥおよびＳの文字(文字中、Ａは、症状を有さない患者を指し、Ｂは、症状を有する患者を指し、Ｅは、リンパ腫がリンパ系外の組織に見出される患者を指し、Ｓは、リンパ腫が脾臓に見出される患者を指す]によっても記載される。

【０６４３】

ホジキンリンパ腫は一般に、放射線療法、化学療法または造血幹細胞移植により処置される。非ホジキンリンパ腫のための最も一般的な治療は、４の異なる化学療法(シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾロン)およびリツキシマブ(Ｒｉｔｕｘａｎ(登録商標)]からなるＲ－ＣＨＯＰである。ＮＨＬを処置するのに一般に使用される他の治療は、他の化学療法剤、放射線療法、幹細胞移植(自己骨髄移植または同種異系骨髄移植)または免疫療法などの生物学的療法を含む。生物学的療法剤の他の例は、リツキシマブ(Ｒｉｔｕｘａｎ(登録商標)]、トシツモマブ(Ｂｅｘｘａｒ(登録商標)]、エプラツズマブ(ＬｙｍｐｈｏＣｉｄｅ(登録商標)]およびアレムツズマブ(ＭａｂＣａｍｐａｔｈ(登録商標)]を含むがこれらに限定されない。本発明の組成物および方法は、ホジキンリンパ腫または非ホジキンリンパ腫のために現行で処方されている処置のいずれかと組み合わせて投与することができる。

【０６４４】

ＢＣＭＡの発現はまた、リンパ形質細胞性リンパ腫(ＬＰＬ)としてもまた公知のワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症(WM)にも関連している(Elsawa et al., Blood. 2006, 107(7):2882-8を参照されたい)。ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症は、かつては、多発性骨髄腫に関すると考えられたが、最近では、非ホジキンリンパ腫の亜型として分類されている。WMは、貧血および血液を増粘させる結果として過粘稠度症候群をもたらす、パラプロテインまたは免疫グロブリンM(ＩｇM)の過剰量の産生を結果としてもたらす、制御不能のＢ細胞リンパ球増殖を特徴とする。WMの他の症状または徴候は、発熱、寝汗、疲労、貧血、体重の減少、リンパ腺症または巨脾症、霧視、めまい、鼻血、歯茎の出血、異常なあざ、腎機能障害または腎不全、アミロイドーシスまたは末梢神経障害を含む。

【０６４５】

WMのための標準的な処置は、具体的には、リツキシマブ(Ｒｉｔｕｘａｎ(登録商標)]による化学療法からなる。クロランブシル(Ｌｅｕｋｅｒａｎ(登録商標)]、シクロホスファミド(Ｎｅｏｓａｒ(登録商標)]、フルダラビン(Ｆｌｕｄａｒａ(登録商標)]、クラドリビン(Ｌｅｕｓｔａｔｉｎ(登録商標)]、ビンクリスチンおよび／またはサリドマイドなど、他の化学療法薬も、組み合わせて使用することができる。プレドニゾンなどのコルチコステロイドもまた、化学療法と組み合わせて投与することができる。血液からパラプロテインを除去することにより、一部の症状を緩和するように、患者の処置を通して、プラズマスフェレーシスまたは血漿交換を一般に使用する。場合によって、幹細胞移植も、一部の患者のための選択肢である。

【０６４６】

ＢＣＭＡに関連する疾患または障害の別の例は、脳の癌である。具体的に、ＢＣＭＡの発現は、星状細胞腫または神経膠芽腫に関連している(Deshayes et al, Oncogene. 2004, 23(17):3005-12, Pelekanou et al., PLoS One. 2013, 8(12): e83250を参照されたい)。星状細胞腫とは、脳における神経膠細胞のタイプである、星状細胞から生じる腫瘍である。神経膠芽腫(多形神経膠芽腫またはＧＢＭとしてもまた公知)は、星状細胞腫の最も悪性の形態であり、脳の癌(病期IV)の最も進行した病期であると考えられる。神経膠芽腫には、２変種：巨細胞性神経膠芽腫および神経膠肉腫が存在する。他の星状細胞腫は、若年性毛様細胞性星状細胞腫(ＪＰＡ)、原線維性星状細胞腫、多形黄色星状細胞腫(ＰＸＡ)、胚芽異形成性神経上皮腫瘍(ＤＮＥＴ)および未分化星状細胞腫(ＡＡ)を含む。

【０６４７】

神経膠芽腫または星状細胞腫に関連する症状または徴候は、脳内圧の増加、頭痛、発作、記憶喪失、挙動の変化、体の片側における運動または感覚の喪失、言語機能障害、認知機能障害、視覚機能障害、悪心、嘔吐および腕部または脚部の筋力低下を含む。

【０６４８】

手術による腫瘍の摘出(または切除)は、正常な周囲の脳に対する損傷を伴わないかまたは損傷を最小限として、可能な限り大きく神経膠腫を摘出するための標準的な処置である。任意の残存する癌細胞または衛星病変からの疾患の再発を抑制し、遅らせるように、手術の後で、放射線療法および／または化学療法を使用することが多い。放射線療法は、全脳放射線療法(従来の体外照射放射線)、標的化された三次元原体放射線療法および標的化された放射性核種を含む。神経膠芽腫を処置するのに一般に使用される化学療法剤は、テモゾロミド、ゲフィチニブまたはエルロチニブおよびシスプラチンを含む。ベバシズマブ(Ａｖａｓｔｉｎ(登録商標)]などの血管新生阻害剤もまた、化学療法および／または放射線療法と組み合わせて一般に使用される。

【０６４９】

神経症状を軽減し、神経機能を改善するのに、支持処置もまた、頻繁に使用され、本明細書で記載される癌治療のいずれかと組み合わせて投与される。主要な支持剤は、抗痙攣剤およびコルチコステロイドを含む。したがって、本発明の組成物および方法は、神経膠芽腫または星状細胞腫を処置する標準的な処置または支持処置のいずれかと組み合わせて使用することができる。

【０６５０】

癌に関しない疾患および障害であって、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患および障害もまた、本明細書で開示された組成物および方法により処置することができる。癌に関しない疾患および障害であって、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患および障害の例は、ウイルス感染；例えば、ＨＩＶ、真菌感染、例えば、C. neoformans；過敏性腸疾患；潰瘍性大腸炎および粘膜免疫に関する障害を含むがこれらに限定されない。

【０６５１】

本発明のＣＡＲで改変された免疫エフェクター細胞(例えばＴ細胞またはＮＫ細胞)は、単独で投与されてもよいしまたは希釈剤とおよび／またはＩＬ－２もしくは他のサイトカインなどの他の成分もしくは細胞集団と組み合わせた医薬組成物として投与されてもよい。

【０６５２】

本発明は、癌を処置するための組成物および方法を提供する。ある面において、癌は、血液癌であり、血液癌は、これらに限定されないが、白血病またはリンパ腫である。ある面において、本発明のＣＡＲ発現細胞(例えばＣＡＲＴ細胞またはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)は、癌および悪性腫瘍を処置するのに使用でき、限定されるものではないが、癌および悪性腫瘍としては、これらに限定されないが、例えば、Ｂ細胞急性リンパ性白血病(「ＢＡＬＬ」)、Ｔ細胞急性リンパ性白血病(「ＴＡＬＬ」)、急性リンパ性白血病(ＡＬＬ)を包含する、急性白血病；これらに限定されないが、例えば、慢性骨髄性白血病(ＣＭＬ)、慢性リンパ球性白血病(ＣＬＬ)を包含する、１種または複数の慢性白血病；これらに限定されないが、例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型または大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常および骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症および骨髄の血液細胞の効果が認められない産生(または異形成)に共通する様々な血液学的状態の一群である「前白血病状態」を包含する、追加の血液癌または血液学的状態、ならびに同種のものなどが挙げられる。さらなるＢＣＭＡ発現に関連する疾患としては、これらに限定されないが、例えば、非定型的および／または非典型的な、ＢＣＭＡを発現する癌、悪性腫瘍、前癌状態または増殖性疾患が挙げられる。

【０６５３】

ある態様において、本明細書で記載される組成物を使用して、形質細胞増殖障害、例えば、無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫または無痛性骨髄腫)、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(ＭＧＵＳ)、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、形質細胞腫(例えば、形質細胞悪液質、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫および多発性形質細胞腫)、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症およびＰＯＥＭＳ症候群(クロウ深瀬症候群、高月病およびＰＥＰ症候群としても公知)を含むがこれらに限定されない疾患を処置することができる。

【０６５４】

ある態様において、本明細書で記載される組成物を使用して、癌、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、前立腺癌(例えば、去勢抵抗性前立腺癌もしくは治療抵抗性前立腺癌または転移性前立腺癌)、膵臓癌または肺癌を含むがこれらに限定されない疾患を処置することができる。

【０６５５】

本発明はまた、ＢＣＭＡ発現細胞集団の増殖を阻害するかまたはＢＣＭＡ発現細胞集団を低減するための方法であって、細胞の集団を、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と接触させることを含む方法も提供する。具体的な面において、本発明は、ＢＣＭＡを発現する癌細胞の集団の増殖を阻害するかまたはＢＣＭＡを発現する癌細胞の集団を低減するための方法であって、ＢＭＣＡ発現癌細胞集団を、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と接触させることを含む方法を提供する。ある面において、本発明は、ＢＣＭＡを発現する癌細胞の集団の増殖を阻害するかまたはＢＣＭＡを発現する癌細胞の集団を低減するための方法であって、ＢＣＭＡ発現癌細胞集団を、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と接触させることを含む方法を提供する。ある特定の面において、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)は、細胞および／または癌細胞の量、数、数量またはパーセンテージを、骨髄性白血病またはＢＣＭＡ発現細胞に関連する別の癌を有する対象またはこれらのための動物モデルにおいて、陰性対照と比べて、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９５％または少なくとも９９％低減する。ある面において、対象は、ヒトである。

【０６５６】

本発明はまた、ＢＣＭＡ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡを発現する血液癌または異型癌)に関連する疾患を予防、処置および／または管理するための方法であって、それを必要とする対象に、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を投与することを含む方法も提供する。ある面において、対象は、ヒトである。ＢＣＭＡ発現細胞に関連する障害の非限定的な例は、ウイルス感染または真菌感染および粘膜免疫に関する障害を含む。

【０６５７】

本発明はまた、ＢＣＭＡ発現細胞に関連する疾患を予防、処置および／または管理するための方法であって、それを必要とする対象に、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を投与することを含む方法も提供する。ある面において、対象は、ヒトである。

【０６５８】

本発明は、ＢＣＭＡ発現細胞に関連する癌の再発を予防するための方法であって、それを必要とする対象に、本発明の抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細

胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であり、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を投与することを含む方法を提供する。ある面において、方法は、それを必要とする対象に、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞またはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)であって、ＢＣＭＡ発現細胞に結合するＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞の有効量を、別の治療の有効量と組み合わせて投与することを含む。

【０６５９】

併用療法

本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、他の公知の薬剤および療法と組み合わせて使用してもよい。「組み合わせて」投与されるとは、本明細書で使用される場合、対象が障害に罹っている間に、２種の(以上の)異なる処置が対象に送達されることを意味し、例えば、対象が障害を有すると診断された後、かつ障害が治癒もしくは除去されたりまたは他の理由で処置が中止されたりする前に、２種以上の処置が送達される。いくつかの態様において、投与に関して重複があるように、１種の処置の送達が、第二の送達が始まるときもなお行われている。これは、本明細書では「同時」または「並列送達」とも称されることもある。他の態様において、１つの処置の送達は、他の処置の送達が始まる前に終わる。いずれのケースのいくつかの態様において、投与を組み合わせることによって、処置はより有効である。例えば、第二の処置を行わなかった場合と等しい作用が見られるかまたは第一の処置の非存在下で第二の処置が投与された場合に見られると予想される程度、もしくは第一の処置を用いて類似の状況が見られる程度より大きい程度に、第二の処置が症状を低減する場合、例えば、第二の処置はより有効である。いくつかの態様において、送達は、症状または障害に関する他のパラメーターの低減が、他方の非存在下で送達された一方の処置で観察されると予想されるパラメーターの低減より大きくなるような送達である。２処置の作用は、部分的に相加的、全体的に相加的またはそれより大きく相加的であってもよい。送達は、送達された第一の処置の作用が、第二が送達されたときもなお検出可能になるような送達であってもよい。

【０６６０】

本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞および少なくとも１種の追加の治療剤は、同じまたは別の組成物で同時に投与されてもよいしまたは逐次的に投与されてもよい。逐次的な投与の場合、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を最初に投与し、２番目に追加の薬剤を投与してもよいしまたは投与順はその逆でもよい。

【０６６１】

ＣＡＲ療法および／または他の治療剤、手順、もしくはモダリティーは、障害が活性である期間において投与することもでき、寛解期間または疾患がそれほど活性でない期間において投与することもできる。ＣＡＲ療法は、他の処置の前に投与することもでき、他の処置と並列して投与することもでき、他の処置後に投与することもでき、障害の寛解時に投与することもできる。

【０６６２】

組み合わせて投与する場合、ＣＡＲ療法およびさらなる薬剤(例えば、第二の薬剤または第三の薬剤)または全ての薬剤は、個別に、例えば、単剤療法として使用される各薬剤の量または投与量より高量または高用量で投与することもでき、これより低量または低用量で投与することもでき、これと同量または同用量で投与することもできる。ある特定の態様において、ＣＡＲ療法、さらなる薬剤(例えば、第二の薬剤または第三の薬剤)または全ての薬剤の投与される量または投与量は、個別に、例えば、単剤療法として使用される各薬剤の量または投与量より低量または低投与量(例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％または少なくとも５０％の量または投与量)である。他の態様において、所望の効果(例えば、癌の処置)を結果としてもたらす、ＣＡＲ療法、さらなる薬剤(例えば、第二の薬剤または第三の薬剤)または全ての薬剤の量または投与量は、同じ治療効果を達成するのに必要とされる個別に、例えば、単剤療法として使用される各薬剤の量または投与量より低量または低投与量(例えば、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくと

も４０％または少なくとも５０％の低量または低投与量)である。
【０６６３】
さらなる面において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、外科手術、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えばシクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、ミコフェノール酸塩およびＦＫ５０６、抗体または他の免疫除去剤、例えばＣＡＭＰＡＴＨ、抗ＣＤ３抗体もしくは他の抗体療法、シトキサン(cytoxin)、フルダラビン、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、マイコフェノール酸、ステロイド、ＦＲ９０１２２８、サイトカイン、ならびに放射線照射、ペプチドワクチン、例えばIzumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971で説明されているものと組み合わせた処置レジメンで使用することができる。
【０６６４】
ある特定の場合、本発明の化合物を、他の抗癌剤、抗アレルギー剤、吐き気止め(または制吐剤)、鎮痛剤、細胞保護剤およびこれらの組合せなど、他の治療剤と組み合わせる。
【０６６５】
ある態様において、本明細書で記載される第一のＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を、第二のＣＡＲ発現細胞と組み合わせて使用することができる。ある態様において、第二のＣＡＲ発現細胞は、異なる抗ＢＭＣＡ結合ドメインを含むＣＡＲ、例えば、本明細書で記載される抗ＢＣＭＡ結合ドメインであって、第一のＣＡＲ発現細胞が発現するＣＡＲにおける抗ＢＣＭＡ結合ドメインと異なる抗ＢＣＭＡ結合ドメインを発現する。ある態様において、第二のＣＡＲ発現細胞は、ＢＣＭＡ以外の抗原(例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＳ－１、カッパ軽鎖、ＣＤ１３９、ルイスＹ抗原またはＣＤ３８)を標的とする抗原結合ドメインを含むＣＡＲを発現する。ある態様において、本明細書で記載される第一のＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を、ＣＤ１９　ＣＡＲを含む第二のＣＡＲ発現細胞と組み合わせて使用する。ある態様において、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞を、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞と組み合わせて使用して、本明細書で記載されるＢＣＭＡ関連癌、例えば、多発性骨髄腫を処置する。いくつかの態様において、多発性骨髄腫は、ＣＤ１９陰性であり、例えば、フローサイトメトリー、ＲＴ－ＰＣＲまたはフローサイトメトリーおよびＲＴ－ＰＣＲの両方により検出される通り、例えば、表現型がＣＤ１９陰性である新生物性形質細胞の大部分(例えば、少なくとも９８％、９９％、９９.５％、９９.９％または９９.９５％)を有する。本明細書の実施例１７において示される通り、ＣＤ１９　ＣＡＲは、ＣＤ１９陰性の多発性骨髄腫に対してもなお有効であり得る。理論に縛られるつもりはないが、ＣＤ１９　ＣＡＲは、本明細書で記載されるアッセイの検出閾値を下回るレベルのＣＤ１９を発現する細胞を標的とするかまたは新生物性細胞を支持する非新生物性細胞を標的とすることにより、新生物性細胞の、小規模であるが重要なＣＤ１９陽性集団にも作用し得る。ある態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、Ｂ細胞、例えば、調節性Ｂ細胞を除去し得る。
【０６６６】
例えば、ある態様において、本明細書で記載される第一のＣＡＲ発現細胞、例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と、本明細書で記載される第二のＣＡＲ発現細胞、例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞とを、同じ組成物中で調製し、並列して投与する。別の態様において、本明細書で記載される第一のＣＡＲ発現細胞、例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と、本明細書で記載される第二のＣＡＲ発現細胞、例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞とを、別個の組成物中で調製し、別個の組成物を、並列して投与するかまたは逐次的に投与する。ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞と、第二のＣＡＲ発現細胞とを、別個の組成物中で調製する場合、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞をまず投与し、第二のＣＡＲ発現細胞を次に投与することもでき、投与の順序を逆にすることもできる。
【０６６７】
ある態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、２０１４年３月１５日に出願されたＷＯ２０１４／１５３２７０(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)において説明されて

いるＣＤ１９　ＣＡＲ、例えば、ヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲまたはこれと少なくとも９５％、例えば、９５～９９％同一な配列である。いくつかの態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲ構築物は、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１２／０７９０００号(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)において提示されているＣＡＲ１９構築物またはこれと少なくとも９５％、例えば、９５～９９％同一な配列である。ある態様において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、ＷＯ２０１２／０７９０００において説明されているｓｃＦｖまたはこれと少なくとも９５％、例えば、９５～９９％同一な配列である。

【０６６８】

ある態様において、第一のＣＡＲ発現細胞を、対象に投与し、第二のＣＡＲ発現細胞を、対象に投与する。ある態様において、第一のＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ２７共刺激ドメインと、ＣＤ３ゼータ(変異体または野生型)一次シグナル伝達ドメインとを含む、ＣＡＲ(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲまたはＣＤ１９　ＣＡＲ)を含む。ある態様において、第二のＣＡＲ発現細胞は、４－１ＢＢ共刺激ドメインと、ＣＤ３ゼータ(変異体または野生型)一次シグナル伝達ドメインとを含む、ＣＡＲ(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ)を含む。理論に縛られるつもりはないが、態様において、第一のＣＡＲ発現細胞は、第二のＣＡＲ発現細胞より毒性が小さくてもよく、腫瘍を減量するのに使用することができる。

【０６６９】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、化学療法剤と組み合わせて使用することができる。典型的な化学療法剤としては、アントラサイクリン(例えば、ドキソルビシン(例えば、リポソーマルドキソルビシン(liposomal doxorubicin))]、ビンカアルカロイド(例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン)、アルキル化剤(例えば、シクロホスファミド、ダカルバジン(decarbazine)、メルファラン、イフォスファミド、テモゾロマイド)、免疫細胞抗体(例えば、アレムツズマブ(alemtuzamab)、ゲムツズマブ、リツキシマブ、トシツモマブ)、代謝拮抗物質(例えば、葉酸アンタゴニスト、ピリミジン類似体、プリン類似体およびアデノシンデアミナーゼ阻害剤(例えば、フルダラビン)など)、ｍＴＯＲ阻害剤、ＴＮＦＲグルココルチコイド誘導性ＴＮＦＲ関連タンパク質(ＧＩＴＲ)アゴニスト、プロテアソーム阻害剤(例えば、アクラシノマイシンＡ、グリオトキシンまたはボルテゾミブ)、イムノモジュレーター、例えばサリドマイドまたはサリドマイド誘導体(例えば、レナリドマイド)が挙げられる。

【０６７０】

併用療法で使用するために考慮される一般的な化学療法剤としては、アナストロゾール(Ａｒｉｍｉｄｅｘ(登録商標))、ビカルタミド(Ｃａｓｏｄｅｘ(登録商標))、硫酸ブレオマイシン(Ｂｌｅｎｏｘａｎｅ(登録商標))、ブスルファン(Ｍｙｌｅｒａｎ(登録商標))、ブスルファン注射剤(Ｂｕｓｕｌｆｅｘ(登録商標))、カペシタビン(Ｘｅｌｏｄａ(登録商標))、Ｎ４－ペントキシカルボニル－５－デオキシ－５－フルオロシチジン、カルボプラチン(Ｐａｒａｐｌａｔｉｎ(登録商標))、カルムスチン(ＢｉＣＮＵ(登録商標))、クロラムブシル(Ｌｅｕｋｅｒａｎ(登録商標))、シスプラチン(Ｐｌａｔｉｎｏｌ(登録商標))、クラドリビン(Ｌｅｕｓｔａｔｉｎ(登録商標))、シクロホスファミド(Ｃｙｔｏｘａｎ(登録商標)またはＮｅｏｓａｒ(登録商標))、シタラビン、シトシンアラビノシド(Ｃｙｔｏｓａｒ－Ｕ(登録商標))、シタラビンリポソーム注射剤(ＤｅｐｏＣｙｔ(登録商標))、ダカルバジン(ＤＴＩＣ－Ｄｏｍｅ(登録商標))、ダクチノマイシン(アクチノマイシンＤ、コスメガン(Ｃｏｓｍｅｇａｎ))、塩酸ダウノルビシン(Ｃｅｒｕｂｉｄｉｎｅ(登録商標))、クエン酸ダウノルビシンリポソーム注射剤(ＤａｕｎｏＸｏｍｅ(登録商標))、デキサメタゾン、ドセタキセル(Ｔａｘｏｔｅｒｅ(登録商標))、塩酸ドキソルビシン(Ａｄｒｉａｍｙｃｉｎ(登録商標)、Ｒｕｂｅｘ(登録商標))、エトポシド(Ｖｅｐｅｓｉｄ(登録商標))、リン酸フルダラビン(Ｆｌｕｄａｒａ(登録商標))、５－フルオロウラシル(Ａｄｒｕｃｉｌ(登録商標)、Ｅｆｕｄｅｘ(登録商標))、フルタミド(Ｅｕｌｅｘｉｎ(登録商標))、テザシチビン(ｔｅｚａｃｉｔｉｂｉｎｅ)、ゲムシタビン(ジフルオロデオキシシチジン)、ヒドロキシ尿素(Ｈｙｄｒｅａ(登録商標))、イダルビシン(Ｉｄａｍｙｃｉｎ(登録商標))、イフォスファミド(ＩＦＥＸ(登録商標))、イリノテカン(Ｃａｍｐｔｏｓａｒ(登録商標))、Ｌ－アスパラギナーゼ(ＥＬＳＰ

ＡＲ(登録商標))、ロイコボリンカルシウム、メルファラン(Ａｌｋｅｒａｎ(登録商標))、６－メルカプトプリン(Ｐｕｒｉｎｅｔｈｏｌ(登録商標))、メトトレキセート(Ｆｏｌｅｘ(登録商標))、ミトキサントロン(Ｎｏｖａｎｔｒｏｎｅ(登録商標))、マイロターグ、パクリタキセル(Ｔａｘｏｌ(登録商標))、フェニックス(イットリウム９０／ＭＸ－ＤＴＰＡ)、ペントスタチン、カルムスチンインプラント含有ポリフェプロサン２０(Ｇｌｉａｄｅｌ(登録商標))、クエン酸タモキシフェン(Ｎｏｌｖａｄｅｘ(登録商標))、テニポシド(Ｖｕｍｏｎ(登録商標))、６－チオグアニン、チオテパ、チラパザミン(Ｔｉｒａｚｏｎｅ(登録商標))、注射用の塩酸トポテカン(Ｈｙｃａｍｐｔｉｎ(登録商標))、ビンブラスチン(Ｖｅｌｂａｎ(登録商標))、ビンクリスチン(Ｏｎｃｏｖｉｎ(登録商標))およびビノレルビン(Ｎａｖｅｌｂｉｎｅ(登録商標))が挙げられる。

【０６７１】

本発明の化合物と組み合わせるための、特に目的の抗癌剤は、アントラサイクリン；アルキル化剤；代謝拮抗剤；カルシウム依存性ホスファターゼであるカルシニューリンもしくはｐ７０Ｓ６キナーゼであるＦＫ５０６を阻害する薬物またはｐ７０Ｓ６キナーゼを阻害する薬物；ｍＴＯＲ阻害剤；イムノモジュレーター；アントラサイクリン；ビンカアルカロイド；プロテアソーム阻害剤；ＧＩＴＲアゴニスト；タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤；ＣＤＫ４キナーゼ阻害剤；ＢＴＫ阻害剤；ＭＫＮキナーゼ阻害剤；ＤＧＫキナーゼ阻害剤；または腫瘍崩壊ウイルスを含む。

【０６７２】

典型的なアルキル化剤としては、これらに限定されないが、ナイトロジェンマスタード、エチレンイミン誘導体、スルホン酸アルキル、ニトロソウレアおよびトリアゼン)：ウラシルマスタード(Ａｍｉｎｏｕｒａｃｉｌ Ｍｕｓｔａｒｄ(登録商標)、Ｃｈｌｏｒｅｔｈａｍｉｎａｃｉｌ(登録商標)、Ｄｅｍｅｔｈｙｌｄｏｐａｎ(登録商標)、Ｄｅｓｍｅｔｈｙｌｄｏｐａｎ(登録商標)、Ｈａｅｍａｎｔｈａｍｉｎｅ(登録商標)、Ｎｏｒｄｏｐａｎ(登録商標)、Ｕｒａｃｉｌ ｎｉｔｒｏｇｅｎ ｍｕｓｔａｒｄ(登録商標)、Ｕｒａｃｉｌｌｏｓｔ(登録商標)、Ｕｒａｃｉｌｍｏｓｔａｚａ(登録商標)、Ｕｒａｍｕｓｔｉｎ(登録商標)、Ｕｒａｍｕｓｔｉｎｅ(登録商標))、ｃｈｌｏｒｍｅｔｈｉｎｅ(Ｍｕｓｔａｒｇｅｎ(登録商標))、シクロホスファミド(Ｃｙｔｏｘａｎ(登録商標)、Ｎｅｏｓａｒ(登録商標)、Ｃｌａｆｅｎ(登録商標)、Ｅｎｄｏｘａｎ(登録商標)、Ｐｒｏｃｙｔｏｘ(登録商標)、Ｒｅｖｉｍｍｕｎｅ™)、イフォスファミド(Ｍｉｔｏｘａｎａ(登録商標))、メルファラン(Ａｌｋｅｒａｎ(登録商標))、クロラムブシル(Ｌｅｕｋｅｒａｎ(登録商標))、ピポブロマン(Ａｍｅｄｅｌ(登録商標)、Ｖｅｒｃｙｔｅ(登録商標))、トリエチレンメラミン(Ｈｅｍｅｌ(登録商標)、Ｈｅｘａｌｅｎ(登録商標)、Ｈｅｘａｓｔａｔ(登録商標))、トリエチレンチオホスファラミン、テモゾロマイド(Ｔｅｍｏｄａｒ(登録商標))、チオテパ(Ｔｈｉｏｐｌｅｘ(登録商標))、ブスルファン(Ｂｕｓｉｌｖｅｘ(登録商標)、Ｍｙｌｅｒａｎ(登録商標))、カルムスチン(ＢｉＣＮＵ(登録商標))、ロムスチン(ＣｅｅＮＵ(登録商標))、ストレプトゾシン(Ｚａｎｏｓａｒ(登録商標))およびダカルバジン(ＤＴＩＣ－Ｄｏｍｅ(登録商標))が挙げられる。追加の典型的なアルキル化剤としては、これらに限定されないが、オキサリプラチン(Ｅｌｏｘａｔｉｎ(登録商標))；テモゾロマイド(Ｔｅｍｏｄａｒ(登録商標)およびＴｅｍｏｄａｌ(登録商標))；ダクチノマイシン(また、アクチノマイシン－Ｄとしても公知、Ｃｏｓｍｅｇｅｎ(登録商標))；メルファラン(また、Ｌ－ＰＡＭ、Ｌ－サルコリシンおよびフェニルアラニンマスタードとしても公知、Ａｌｋｅｒａｎ(登録商標))；アルトレタミン(また、ヘキサメチルメラミン(ＨＭＭ)としても公知、Ｈｅｘａｌｅｎ(登録商標))；カルムスチン(ＢｉＣＮＵ(登録商標))；ベンダムスチン(Ｔｒｅａｎｄａ(登録商標))；ブスルファン(Ｂｕｓｕｌｆｅｘ(登録商標)およびＭｙｌｅｒａｎ(登録商標))；カルボプラチン(Ｐａｒａｐｌａｔｉｎ(登録商標))；ロムスチン(また、ＣＣＮＵとしても公知、ＣｅｅＮＵ(登録商標))；シスプラチン(また、ＣＤＤＰとしても公知、Ｐｌａｔｉｎｏｌ(登録商標)およびＰｌａｔｉｎｏｌ(登録商標)－ＡＱ)；クロラムブシル(Ｌｅｕｋｅｒａｎ(登録商標))；シクロホスファミド(Ｃｙｔｏｘａｎ(登録商標)およびＮｅｏｓａｒ(登録商標))；ダカルバジン(また、ＤＴＩＣ、ＤＩＣおよびイミダゾールカルボキサミドとしても公知

、ＤＴＩＣ－Ｄｏｍｅ(登録商標))；アルトレタミン(また、ヘキサメチルメラミン(ＨＭＭ)としても公知、Ｈｅｘａｌｅｎ(登録商標))；イフォスファミド(Ｉｆｅｘ(登録商標))；プレドニマスチン(prednumustine)；プロカルバジン(Ｍａｔｕｌａｎｅ(登録商標))；メクロレタミン(また、ナイトロジェンマスタード、ムスチンおよび塩酸メクロレタミン(mechloroethamine)としても公知、Ｍｕｓｔａｒｇｅｎ(登録商標))；ストレプトゾシン(Ｚａｎｏｓａｒ(登録商標))；チオテパ(また、チオホスファミド(thiophosphoamide)、ＴＥＳＰＡおよびＴＳＰＡとしても公知、Ｔｈｉｏｐｌｅｘ(登録商標))；シクロホスファミド(Ｅｎｄｏｘａｎ(登録商標)、Ｃｙｔｏｘａｎ(登録商標)、Ｎｅｏｓａｒ(登録商標)、Ｐｒｏｃｙｔｏｘ(登録商標)、Ｒｅｖｉｍｍｕｎｅ(登録商標))；およびベンダムスチンＨＣｌ(Ｔｒｅａｎｄａ(登録商標))が挙げられる。

【０６７３】

典型的なｍＴＯＲ阻害剤としては、例えば、テムシロリムス；リダフォロリムス(公式には、デフォロリムス、(１Ｒ,２Ｒ,４Ｓ)－４－[(２Ｒ)－２[(１Ｒ,９Ｓ,１２Ｓ,１５Ｒ,１６Ｅ,１８Ｒ,１９Ｒ,２１Ｒ、２３Ｓ,２４Ｅ,２６Ｅ,２８Ｚ,３０Ｓ,３２Ｓ,３５Ｒ)－１,１８－ジヒドロキシ－１９,３０－ジメトキシ－１５,１７,２１,２３、２９,３５－ヘキサメチル－２,３,１０,１４,２０－ペンタオキソ－１１,３６－ジオキサ－４－アザトリシクロ[３０.３.１.０４,９]ヘキサトリアコンター１６,２４,２６,２８－テトラエン－１２－イル]プロピル]－２－メトキシシクロヘキシルジメチルホスフィネートとして公知であり、また、ＡＰ２３５７３およびＭＫ８６６９としても公知であり、ＰＣＴ公開ＷＯ０３／０６４３８３で説明されている)；エベロリムス(Ａｆｉｎｉｔｏｒ(登録商標)またはＲＡＤ００１)；ラパマイシン(ＡＹ２２９８９、Ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ(登録商標))；セマピモド(simapimod)(ＣＡＳ１６４３０１－５１－３)；テムシロリムス(emsirolimus)、(５－｛２,４－ビス[(３Ｓ)－３－メチルモルホリン－４－イル]ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７－イル｝－２－メトキシフェニル)メタノール(ＡＺＤ８０５５)；２－アミノ－８－[トランス－４－(２－ヒドロキシエトキシ)シクロヘキシル]－６－(６－メトキシ－３－ピリジニル)－４－メチル－ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７(８Ｈ)－オン(ＰＦ０４６９１５０２、ＣＡＳ１０１３１０１－３６－４)；およびＮ２－[１,４－ジオキソ－４－[[４－(４－オキソ－８－フェニル－４Ｈ－１－ベンゾピラン－２－イル)モルホリニウム－４－イル]メトキシ]ブチル]－Ｌ－アルギニルグリシル－Ｌ－α－アスパルチルＬ－セリン－(配列番号３８３)、分子内塩(ＳＦ１１２６、ＣＡＳ９３６４８７－６７－１)およびＸＬ７６５が挙げられる。

【０６７４】

典型的なイムノモジュレーターとしては、例えば、アフツズマブ(Ｒｏｃｈｅ(登録商標)より入手可能)；ペグフィルグラスチム(Ｎｅｕｌａｓｔａ(登録商標))；レナリドマイド(ＣＣ－５０１３、Ｒｅｖｌｉｍｉｄ(登録商標))；サリドマイド(Ｔｈａｌｏｍｉｄ(登録商標))、アクチミド(ＣＣ４０４７)；およびＩＲＸ－２(インターロイキン１、インターロイキン２およびインターフェロンγなどのヒトサイトカインの混合物、ＣＡＳ９５１２０９－７１－５、IRX Therapeuticsより入手可能)が挙げられる。

【０６７５】

典型的なアントラサイクリンとしては、例えば、ドキソルビシン(Ａｄｒｉａｍｙｃｉｎ(登録商標)およびＲｕｂｅｘ(登録商標))；ブレオマイシン(ｌｅｎｏｘａｎｅ(登録商標))；ダウノルビシン(塩酸ダウノルビシン(dauorubicin hydrochloride)、ダウノマイシンおよび塩酸ルビドマイシン、Ｃｅｒｕｂｉｄｉｎｅ(登録商標))；ダウノルビシンリポソーム(クエン酸ダウノルビシンリポソーム、ＤａｕｎｏＸｏｍｅ(登録商標))；ミトキサントロン(ＤＨＡＤ、Ｎｏｖａｎｔｒｏｎｅ(登録商標))；エピルビシン(Ｅｌｌｅｎｃｅ™)；イダルビシン(Ｉｄａｍｙｃｉｎ(登録商標)、Ｉｄａｍｙｃｉｎ ＰＦＳ(登録商標))；マイトマイシンＣ(Ｍｕｔａｍｙｃｉｎ(登録商標))；ゲルダナマイシン；ハービマイシン；ラビドマイシン；およびデスアセチルラビドマイシンが挙げられる。

【０６７６】

典型的なビンカアルカロイドとしては、例えば、酒石酸ビノレルビン(Ｎａｖｅｌｂｉｎｅ(登録商標))、ビンクリスチン(Ｏｎｃｏｖｉｎ(登録商標))およびビンデシン(Ｅｌｄｉｓｉ

ｎｅ(登録商標))；ビンブラスチン(また、硫酸ビンブラスチン、ビンカロイコブラスチンおよびＶＬＢとしても公知、Ａｌｋａｂａｎ－ＡＱ(登録商標)およびＶｅｌｂａｎ(登録商標))；およびビノレルビン(Ｎａｖｅｌｂｉｎｅ(登録商標))が挙げられる。

【０６７７】

典型的なプロテオソーム阻害剤としては、ボルテゾミブ(Ｖｅｌｃａｄｅ(登録商標))；カーフィルゾミブ(ＰＸ－１７１－００７、(Ｓ)－４－メチル－Ｎ－((Ｓ)－１－(((Ｓ)－４－メチル－１－((Ｒ)－２－メチルオキシラン－２－イル)－１－オキソペンタン－２－イル)アミノ)－１－オキソ－３－フェニルプロパン－２－イル)－２－((Ｓ)－２－(２－モルホリノアセトアミド)－４－フェニルブタンアミド)－ペンタンアミド)；マリゾミブ(ＮＰＩ－００５２)；クエン酸イキサゾミブ(ＭＬＮ－９７０８)；デランゾミブ(ＣＥＰ－１８７７０)；およびＯ－メチル－Ｎ－[(２－メチル－５－チアゾリル)カルボニル]－Ｌ－セリル－Ｏ－メチル－Ｎ－[(１Ｓ)－２－[(２Ｒ)－２－メチル－２－オキシラニル]－２－オキソ－１－(フェニルメチル)エチル]－Ｌ－セリンアミド(ＯＮＸ－０９１２)が挙げられる。

【０６７８】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、フルダラビン、シクロホスファミドおよび／またはリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、フルダラビン、シクロホスファミドおよびリツキシマブ(ＦＣＲ)と組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、ＣＬＬを有する。例えば、対象は、第１７染色体の短腕部における欠失(例えば、白血病性細胞におけるｄｅｌ(１７ｐ))を有する。他の例において、対象は、ｄｅｌ(１７ｐ)を有さない。ある態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含む。他の態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含まない。ある態様において、フルダラビンを、約１０～５０mg／m^2(例えば、約１０～１５mg／m^2、１５～２０mg／m^2、２０～２５mg／m^2、２５～３０mg／m^2、３０～３５mg／m^2、３５～４０mg／m^2、４０～４５mg／m^2または４５～５０mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。ある態様において、シクロホスファミドを、約２００～３００mg／m^2(例えば、約２００～２２５mg／m^2、２２５～２５０mg／m^2、２５０～２７５mg／m^2または２７５～３００mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。ある態様において、リツキシマブを、約４００～６００mg／m^2(例えば、４００～４５０mg／m^2、４５０～５００mg／m^2、５００～５５０mg／m^2または５５０～６００mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。

【０６７９】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ベンダムスチンおよびリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、ＣＬＬを有する。例えば、対象は、第１７染色体の短腕部における欠失(例えば、白血病性細胞におけるｄｅｌ(１７ｐ))を有する。他の例において、対象は、ｄｅｌ(１７ｐ)を有さない。ある態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含む。他の態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含まない。ある態様において、ベンダムスチンを、約７０～１１０mg／m^2(例えば、７０～８０mg／m^2、８０～９０mg／m^2、９０～１００mg／m^2または１００～１１０mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。ある態様において、リツキシマブを、約４００～６００mg／m^2(例えば、４００～４５０mg／m^2、４５０～５００mg／m^2、５００～５５０mg／m^2または５５０～６００mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。

【０６８０】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、リツキシマブ、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよび／またはコルチコステロイド(例えば、プレドニゾン)と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、リツキシマブ、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビ

ンクリスチンおよびプレドニゾン(Ｒ－ＣＨＯＰ)と組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫(ＤＬＢＣＬ)を有する。ある態様において、対象は、巨大腫瘤がない限局期ＤＬＢＣＬ(例えば、サイズ／直径が７cm未満である腫瘍を含む)を有する。ある態様において、対象を、Ｒ－ＣＨＯＰと組み合わせた放射線により処置する。例えば、対象に、Ｒ－ＣＨＯＰ(例えば、Ｒ－ＣＨＯＰの１～６サイクル、例えば、１、２、３、４、５または６サイクル)に続いて、放射線を投与する。場合によって、対象に、Ｒ－ＣＨＯＰ(例えば、Ｒ－ＣＨＯＰの１～６サイクル、例えば、１、２、３、４、５または６サイクル)に続いて、放射線を投与する。

【０６８１】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、エトポシド、プレドニゾン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、ドキソルビシンおよび／またはリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、エトポシド、プレドニゾン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、ドキソルビシンおよびリツキシマブ(ＥＰＯＣＨ－Ｒ)と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、用量を調整したＥＰＯＣＨ－Ｒ(ＤＡ－ＥＰＯＣＨ－Ｒ)と組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、Ｂ細胞リンパ腫、例えば、Ｍｙｃが再構成された侵襲性Ｂ細胞リンパ腫を有する。

【０６８２】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、リツキシマブおよび／またはレナリドマイドと組み合わせて投与する。レナリドマイド((ＲＳ)－３－(４－アミノ－１－オキソ１,３－ジヒドロ－２Ｈ－イソインドール－２－イル)ピペリジン－２,６－ジオン)は、イムノモジュレーターである。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、リツキシマブおよびレナリドマイドと組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、濾胞性リンパ腫(ＦＬ)またはマントル細胞リンパ腫(ＭＣＬ)を有する。ある態様において、対象は、ＦＬを有し、かつて癌治療により処置されたことがない。ある態様において、レナリドマイドを、約１０～２０mg(例えば、１０～１５mgまたは１５～２０mg)の投与量で、例えば、毎日投与する。ある態様において、リツキシマブを、約３５０～５５０mg／ｍ^2(例えば、３５０～３７５mg／ｍ^2、３７５～４００mg／ｍ^2、４００～４２５mg／ｍ^2、４２５～４５０mg／ｍ^2、４５０～４７５mg／ｍ^{2}または４７５～５００mg／ｍ^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。

【０６８３】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ブレンツキシマブと組み合わせて投与する。ブレンツキシマブとは、抗ＣＤ３０抗体とモノメチルアウリスタチンＥとの抗体－薬物コンジュゲートである。ある態様において、対象は、ホジキンリンパ腫(ＨＬ)、例えば、再発性ＨＬまたは不応性ＨＬを有する。ある態様において、対象は、ＣＤ３０＋ ＨＬを含む。ある態様において、対象は、自己幹細胞移植(ＡＳＣＴ)を受けている。ある態様において、対象は、ＡＳＣＴを経ていない。ある態様において、ブレンツキシマブを、約１～３mg／kg(例えば、約１～１.５mg／kg、１.５～２mg／kg、２～２.５mg／kgまたは２.５～３mg／kg)の投与量で、例えば、静脈内において、例えば、３週間ごとに投与する。

【０６８４】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ブレンツキシマブおよびダカルバジンと組み合わせるかまたはブレンツキシマブおよびベンダムスチンと組み合わせて投与する。ダカルバジンとは、化学名を５－(３,３－ジメチル－１－トリアゼニル)イミダゾール－４－カルボキサミドとするアルキル化剤である。ベンダムスチンとは、化学名を４－[５－[ビス(２－クロロエチル)アミノ]－１－メチルベンズイミダゾール－２－イル]ブタン酸とするアルキル化剤である。ある態様において、対象は、ホジキンリンパ腫(ＨＬ)を有する。ある態様において、対象は、かつて癌治療により処置されたことがない。ある態様において、対象は、少なくとも６０歳であり、例えば、６０歳、６５歳、７０歳、７５歳、８０歳、８５歳またはこれを超える。ある態様において、ダカルバジン

を、約３００～４５０mg／ｍ２(例えば、約３００～３２５mg／ｍ２、３２５～３５０mg／ｍ２、３５０～３７５mg／ｍ２、３７５～４００mg／ｍ２、４００～４２５mg／ｍ２または４２５～４５０mg／ｍ２)の投与量で、例えば、静脈内投与する。ある態様において、ベンダムスチンを、約７５～１２５mg／ｍ２(例えば、７５～１００または１００～１２５mg／ｍ２の投与量で、例えば、約９０mg／ｍ２)、例えば、静脈内投与する。ある態様において、ブレンツキシマブを、約１～３mg／kg(例えば、約１～１.５mg／kg、１.５～２mg／kg、２～２.５mg／kgまたは２.５～３mg／kg)の投与量で、例えば、静脈内において、例えば、３週間ごとに投与する。

【０６８５】

いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＣＤ２０阻害剤、例えば、抗ＣＤ２０抗体(例えば、抗ＣＤ２０単一特異性抗体または抗ＣＤ２０二特異性抗体)またはそのフラグメントと組み合わせて投与する。例示的な抗ＣＤ２０抗体は、リツキシマブ、オファツムマブ、オクレリズマブ、ベルツズマブ、オビヌツズマブ、ＴＲＵ－０１５(Trubion Pharmaceuticals)、オカラツズマブおよびＰｒｏ１３１９２１(Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ)を含むがこれらに限定されない。例えば、Lim et al. Haematologica. 95.1(2010):135-43を参照されたい。

【０６８６】

いくつかの態様において、抗ＣＤ２０抗体は、リツキシマブを含む。リツキシマブとは、例えば、www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.pdfにおいて説明されている通りに、ＣＤ２０に結合し、ＣＤ２０を発現する細胞の細胞溶解を引き起こす、マウス／ヒトキメラモノクローナル抗体ＩｇＧ１カッパ鎖である。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、リツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、ＣＬＬまたはＳＬＬを有する。

【０６８７】

いくつかの態様において、リツキシマブを、静脈内投与する、例えば、静脈内注入として投与する。例えば、各回の注入は、約５００～２０００mg(例えば、約５００～５５０mg、５５０～６００mg、６００～６５０mg、６５０～７００mg、７００～７５０mg、７５０～８００mg、８００～８５０mg、８５０～９００mg、９００～９５０mg、９５０～１０００mg、１０００～１１００mg、１１００～１２００mg、１２００～１３００mg、１３００～１４００mg、１４００～１５００mg、１５００～１６００mg、１６００～１７００mg、１７００～１８００mg、１８００～１９００mgまたは１９００～２０００mg)のリツキシマブを施す。いくつかの態様において、リツキシマブを、１５０mg／ｍ２～７５０mg／ｍ２、例えば、約１５０～１７５mg／ｍ２、１７５～２００mg／ｍ２、２００～２２５mg／ｍ２、２２５～２５０mg／ｍ２、２５０～３００mg／ｍ２、３００～３２５mg／ｍ２、３２５～３５０mg／ｍ２、３５０～３７５mg／ｍ２、３７５～４００mg／ｍ２、４００～４２５mg／ｍ２、４２５～４５０mg／ｍ２、４５０～４７５mg／ｍ２、４７５～５００mg／ｍ２、５００～５２５mg／ｍ２、５２５～５５０mg／ｍ２、５５０～５７５mg／ｍ２、５７５～６００mg／ｍ２、６００～６２５mg／ｍ２、６２５～６５０mg／ｍ２、６５０～６７５mg／ｍ２または６７５～７００mg／ｍ２(表記中、ｍ２は、対象の体表面積を指し示す)の用量で投与する。いくつかの態様において、リツキシマブを、少なくとも４日間、例えば、４日間、７日間、１４日間、２１日間、２８日間、３５日間またはこれを超える投与間隔で投与する。例えば、リツキシマブを、少なくとも０.５週間、例えば、０.５、１、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間またはこれを超える投与間隔で投与する。いくつかの態様において、リツキシマブを、本明細書で記載される用量および投与間隔で、ある期間、例えば、少なくとも２週間、例えば、少なくとも、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０週間以上にわたり投与する。例えば、リツキシマブを、本明細書で記載される用量および投与間隔で、処置サイクル１あたり、のべ少なくとも４回の投与(dose)(例えば、処置サイクル１あたり、少なくとも４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６以上投与)にわたり投与する。

【０６８８】
いくつかの態様において、抗ＣＤ２０抗体は、オファツムマブを含む。オファツムマブとは、分子量を約１４９ｋＤａとする、抗ＣＤ２０　ＩｇＧ１κヒトモノクローナル抗体である。例えば、オファツムマブは、トランスジェニックマウスおよびハイブリドーマ技術を使用して生成し、組換えマウス細胞株(ＮＳ０)から発現し、精製する。例えば、www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf；ならびに臨床試験識別番号ＮＣＴ０１３６３１２８、ＮＣＴ０１５１５１７６、ＮＣＴ０１６２６３５２およびＮＣＴ０１３９７５９１を参照されたい。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、オファツムマブと組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、ＣＬＬまたはＳＬＬを有する。

【０６８９】
いくつかの態様において、オファツムマブを、静脈内注入として投与する。例えば、各回の注入は、約１５０～３０００mg(例えば、約１５０～２００mg、２００～２５０mg、２５０～３００mg、３００～３５０mg、３５０～４００mg、４００～４５０mg、４５０～５００mg、５００～５５０mg、５５０～６００mg、６００～６５０mg、６５０～７００mg、７００～７５０mg、７５０～８００mg、８００～８５０mg、８５０～９００mg、９００～９５０mg、９５０～１０００mg、１０００～１２００mg、１２００～１４００mg、１４００～１６００mg、１６００～１８００mg、１８００～２０００mg、２０００～２２００mg、２２００～２４００mg、２４００～２６００mg、２６００～２８００mgまたは２８００～３０００mg)のオファツムマブを施す。ある態様において、オファツムマブを、約３００mgの出発投与量に続いて、２０００mgで、例えば、約１１回の投与、例えば、２４週間にわたり投与する。いくつかの態様において、オファツムマブを、少なくとも４日間、例えば、４日間、７日間、１４日間、２１日間、２８日間、３５日間またはこれを超える投与間隔で投与する。例えば、オファツムマブを、少なくとも１週間、例えば、１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、９週間、１０週間、１１週間、１２週間、２４週間、２６週間、２８週間、２０週間、２２週間、２４週間、２６週間、２８週間、３０週間またはこれを超える投与間隔で投与する。いくつかの態様において、オファツムマブを、本明細書で記載される用量および投与間隔で、ある期間、例えば、少なくとも１週間、例えば、１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、９週間、１０週間、１１週間、１２週間、１３週間、１４週間、１５週間、１６週間、１７週間、１８週間、１９週間、２０週間、２２週間、２４週間、２６週間、２８週間、３０週間、４０週間、５０週間、６０週間以上または１カ月間、２カ月間、３カ月間、４カ月間、５カ月間、６カ月間、７カ月間、８カ月間、９カ月間、１０カ月間、１１カ月間、１２カ月間以上または１年間、２年間、３年間、４年間、５年間以上にわたり投与する。例えば、オファツムマブを、本明細書で記載される用量および投与間隔で、処置サイクル１あたり、のべ少なくとも２回の投与(例えば、処置サイクル１あたり、少なくとも、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１８、２０以上投与)にわたり投与する。

【０６９０】
場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、オクレリズマブを含む。オクレリズマブとは、例えば、臨床試験識別番号ＮＣＴ０００７７８７０、ＮＣＴ０１４１２３３３、ＮＣＴ００７７９２２０、ＮＣＴ００６７３９２０、ＮＣＴ０１１９４５７０およびKappos et al. Lancet. 19.378(2011):1779-87において説明されている、ヒト化抗ＣＤ２０モノクローナル抗体である。

【０６９１】
場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、ベルツズマブを含む。ベルツズマブとは、ＣＤ２０に対するヒト化モノクローナル抗体である。例えば、臨床試験識別番号ＮＣＴ００５４７０６６、ＮＣＴ００５４６７９３、ＮＣＴ０１１０１５８１およびGoldenberg et al. Leuk Lymphoma. 51(5) (2010):747-55を参照されたい。

【０６９２】

場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、ＧＡ１０１を含む。ＧＡ１０１(オビヌツズマブまたはＲＯ５０７２７５９ともまた呼ばれる)とは、ヒト化され、糖鎖加工された、抗ＣＤ２０モノクローナル抗体である。例えば、Robak. Curr. Opin. Investig. Drugs. 10.6(2009):588-96；臨床試験識別番号ＮＣＴ０１９９５６６９、ＮＣＴ０１８８９７９７、ＮＣＴ０２２２９４２２およびＮＣＴ０１４１４２０５；ならびにwww.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdfを参照されたい。

【０６９３】

場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、ＡＭＥ－１３３ｖを含む。ＡＭＥ－１３３ｖ(ＬＹ２４６９２９８またはオカラツズマブともまた呼ばれる)は、ＣＤ２０に対するヒト化ＩｇＧ１モノクローナル抗体であって、リツキシマブと比較して、ＦｃγＲＩＩＩａ受容体に対するアフィニティーを増加させ、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ＡＤＣＣ)活性を増強した、ヒト化ＩｇＧ１モノクローナル抗体である。例えば、Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25；およびForero-Torres et al. Clin Cancer Res. 18.5(2012):1395-403を参照されたい。

【０６９４】

場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、ＰＲＯ１３１９２１を含む。ＰＲＯ１３１９２１とは、リツキシマブと比較して、ＦｃγＲＩＩＩａへの結合が良好となり、ＡＤＣＣが増強されるように加工された、ヒト化抗ＣＤ２０モノクローナル抗体である。例えば、Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25；およびCasulo et al. Clin Immunol. 154.1(2014):37-46；ならびに臨床試験識別番号ＮＣＴ００４５２１２７を参照されたい。

【０６９５】

場合によって、抗ＣＤ２０抗体は、ＴＲＵ－０１５を含む。ＴＲＵ－０１５とは、ＣＤ２０に対する抗体のドメインに由来する、抗ＣＤ２０融合タンパク質である。ＴＲＵ－０１５は、モノクローナル抗体より小型であるが、Ｆｃに媒介されるエフェクター機能を保持する。例えば、Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25を参照されたい。ＴＲＵ－０１５は、ヒトＩｇＧ１のヒンジドメイン、CH_2ドメインおよびＣＨ３ドメインに連結されているが、ＣＨ１ドメインおよびＣＬドメインを欠く、抗ＣＤ２０単鎖可変性フラグメント(ｓｃＦｖ)を含有する。

【０６９６】

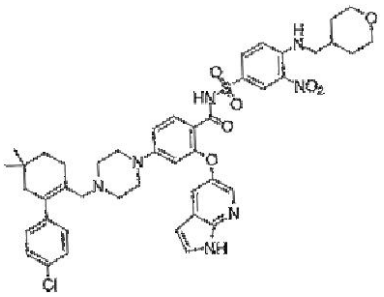
いくつかの態様において、本明細書で記載される抗ＣＤ２０抗体を、本明細書で記載される治療剤、例えば、化学療法剤(例えば、サイトキサン、フルダラビン、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤、脱メチル化剤、ペプチドワクチン、抗腫瘍抗生剤、チロシンキナーゼ阻害剤、アルキル化剤、抗微小管剤または抗有糸分裂薬剤)、抗アレルギー剤、吐き気止め(または制吐剤)、鎮痛剤または細胞保護剤にコンジュゲートさせるかまたは他の形で結合させる。

【０６９７】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、Ｂ細胞リンパ腫２(ＢＣＬ－２)阻害剤(例えば、ＡＢＴ－１９９またはＧＤＣ－０１９９ともまた呼ばれるベネトクラクス)および／またはリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ベネトクラクスおよびリツキシマブと組み合わせて投与する。ベネトクラクスとは、抗アポトーシスタンパク質であるＢＣＬ－２を阻害する低分子である。ベネトクラクス｛４－(４－｛[２－(４－クロロフェニル)－４,４－ジメチルシクロヘキス－１－エン－１－イル]メチル｝ピペラジン－１－イル)－Ｎ－(｛３－ニトロ－４－[(テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イルメチル)アミノ]フェニル｝スルホニル)－２－(１Ｈ－ピロロ[２,３－ｂ]ピリジン－５－イルオキシ)ベンズアミド｝の構造を、下記に示す。

【０６９８】

【化１】



【０６９９】
ある態様において、対象は、ＣＬＬを有する。ある態様において、対象は、再発性ＣＬＬ、例えば、対象は、かつて、癌治療を投与されたことがある。ある態様において、ベネトクラクスを、約１５～６００mg(例えば、１５～２０、２０～５０、５０～７５、７５～１００、１００～２００、２００～３００、３００～４００、４００～５００または５００～６００mg)の投与量で、例えば、毎日投与する。ある態様において、リツキシマブを、約３５０～５５０mg／ｍ２(例えば、３５０～３７５mg／ｍ２、３７５～４００mg／ｍ２、４００～４２５mg／ｍ２、４２５～４５０mg／ｍ２、４５０～４７５mg／ｍ２または４７５～５００mg／ｍ２)の投与量で、例えば、静脈内において、例えば、毎月投与する。

【０７００】
理論に縛られずに述べると、一部の癌では、Ｂ細胞(例えば、調節性Ｂ細胞)は、Ｔ細胞を抑制し得ると考えられる。さらに、オキサリプラチン(oxiplatin)とＢ細胞枯渇剤との組合せは、腫瘍サイズを低減することも可能であり、かつ／または対象における腫瘍を消失させることも可能であると考えられる。いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ)を、Ｂ細胞枯渇剤(例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞、ＣＤ２０　ＣＡＲ発現細胞、リツキシマブ、オクレリズマブ、エプラツズマブまたはベリムマブ)およびオキサリプラチンと組み合わせて投与する。ある態様において、癌細胞は、ＣＤ１９陰性でもよく、ＣＤ１９陽性でもよく、ＢＣＭＡ陰性でもよく、ＢＭＣＡ陽性でもよい。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ)を、Ｂ細胞枯渇剤およびオキサリプラチンと組み合わせて投与して、癌、例えば、本明細書で記載される癌、例えば、固形癌、例えば、前立腺癌、膵臓癌または肺癌を処置する。

【０７０１】
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ)は、対象におけるＢ細胞(例えば、ＢＣＭＡ、ＣＤ１９および／またはＣＤ２０を発現する、形質細胞様表現型を有する、例えばＢ細胞)を枯渇させ得る。ある態様において、Ｂ細胞は、ＣＤ１９陰性でもよく、ＣＤ１９陽性でもよく、ＢＣＭＡ陰性でもよく、ＢＭＣＡ陽性でもよい。いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ)を、オキサリプラチンと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、オキサリプラチンと組み合わせて投与して、癌、例えば、固形癌、例えば、前立腺癌、膵臓癌または肺癌を処置する。いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、腫瘍崩壊ウイルスと組み合わせて投与する。ある態様において、腫瘍崩壊ウイルスは、癌細胞において選択的に複製され、癌細胞の死を惹起するかまたはその増殖を遅らせることが可能である。場合によって、腫瘍崩壊ウイルスは、非癌細胞に対して影響を及ぼさないかまたはその影響が最小限である。腫瘍崩壊ウイルスは、腫瘍崩壊アデノウイルス、腫瘍崩壊単純ヘルペスウイルス、腫瘍崩壊レトロウイルス、腫瘍崩壊パルボウイルス、腫瘍崩壊ワクシニアウイルス、腫瘍崩壊シンドビスウイルス、腫瘍崩壊インフルエンザウイルスまたは腫瘍崩壊ＲＮＡウイルス(例えば、腫瘍崩壊レオウイルス、腫瘍崩壊ニューカッスル病ウイルス(ＮＤＶ)、腫瘍崩壊麻疹ウイルスま

たは腫瘍崩壊水泡性口内炎ウイルス(ＶＳＶ))を含むがこれらに限定されない。
【０７０２】
いくつかの態様において、腫瘍崩壊ウイルスとは、ウイルス、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、ＵＳ２０１０／０１７８６８４Ａ１において説明されている、組換え腫瘍崩壊ウイルスである。いくつかの態様において、組換え腫瘍崩壊ウイルスは、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、ＵＳ２０１０／０１７８６８４Ａ１において説明されている、免疫応答または炎症応答の阻害剤をコードする核酸配列(例えば、異種核酸配列)を含む。ある態様において、組換え腫瘍崩壊ウイルス、例えば、腫瘍崩壊ＮＤＶは、アポトーシス促進性タンパク質(例えば、アポプチン)、サイトカイン(例えば、ＧＭ－ＣＳＦ、インターフェロンガンマ、インターロイキン２(ＩＬ－２)、腫瘍壊死因子アルファ)、免疫グロブリン(例えば、ＥＤ－Ｂフィブロネクチンに対する抗体)、腫瘍関連抗原、二特異性アダプタータンパク質(例えば、ＮＤＶ　ＨＮタンパク質およびＣＤ３またはＣＤ２８などのＴ細胞共刺激受容体に対して方向付けられた、二特異性抗体または二特異性抗体フラグメント；またはヒトＩＬ－２と、ＮＤＶ　ＨＮタンパク質に対して方向付けられた単鎖抗体との融合タンパク質)を含む。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、Zamarin et al. Future Microbiol. 7.3(2012):347-67を参照されたい。いくつかの態様において、腫瘍崩壊ウイルスとは、それらの各々が参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、ＵＳ８５９１８８１Ｂ２、ＵＳ２０１２／０１２２１８５Ａ１またはＵＳ２０１４／０２７１６７７Ａ１において説明されている、キメラ腫瘍崩壊ＮＤＶである。
【０７０３】
いくつかの態様において、腫瘍崩壊ウイルスは、癌細胞においてもっぱら複製されるように設計された、条件づけ複製型アデノウイルス(ＣＲＡｄ)を含む。例えば、Alemany et al. Nature Biotechnol. 18(2000):723-27を参照されたい。いくつかの態様において、腫瘍崩壊アデノウイルスは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、Alemany et al.の７２５頁の表１において説明されている、腫瘍崩壊アデノウイルスを含む。
【０７０４】
例示的な腫瘍崩壊ウイルスは、以下：
群Ｂ腫瘍崩壊アデノウイルス(ＣｏｌｏＡｄ１)(PsiOxus Therapeutics Ltd.)(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０２０５３２２０を参照されたい)；
顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(ＧＭ－ＣＳＦ)を含むアデノウイルスである、ＯＮＣＯＳ－１０２(旧称：ＣＧＴＧ－１０２)(Oncos Therapeutics)(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０１５９８１２９を参照されたい)；
ヒトＰＨ２０ヒアルロニダーゼをコードする、遺伝子改変された腫瘍崩壊ヒトアデノウイルスである、ＶＣＮ－０１(VCN Biosciences, S.L.)(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０２０４５６０２およびＮＣＴ０２０４５５８９を参照されたい)；
網膜芽細胞腫／Ｅ２Ｆ経路が調節異常である癌細胞(Institut Catala d’Oncologia)において選択的に複製されるように改変された、野生型ヒトアデノウイルス血清型５(Ｈａｄ５)に由来するウイルスである、条件づけ複製型アデノウイルスであるＩＣＯＶＩＲ－５(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０１８６４７５９を参照されたい)；
腫瘍崩壊アデノウイルスである、ＩＣＯＶＩＲ５を感染させた骨髄由来の自己間葉系幹細胞(ＭＳＣ)(Hospital Infantil Universitario Nino Jesus, Madrid, Spain/ Ramon Alemanry)を含む、Ｃｅｌｙｖｉｒ(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０１８４４６６１を参照されたい)；
ヒトＥ２Ｆ－１プロモーターが、不可欠のＥ１ウイルス遺伝子の発現を駆動し、これにより、ウイルスの複製および細胞毒性を、Ｒｂ経路欠損腫瘍細胞に制限する、条件づけ複製型腫瘍崩壊血清型５アデノウイルス(Ａｄ５)である、ＣＧ００７０(Cold Genesys, Inc.)(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０２１４３８０４を参照されたい)；または
網膜芽細胞腫(Ｒｂ)経路欠損細胞において選択的に複製され、インテグリンに結合するある特定のＲＧＤを発現する細胞により効率的に感染するように加工されたアデノウイルス

である、ＤＮＸ－２４０１(旧称：Ｄｅｌｔａ－２４－ＲＧＤ)(Clinica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra/DNAtrix, Inc.)(例えば、臨床試験識別子：ＮＣＴ０１９５６７３４を参照されたい)を含むがこれらに限定されない。

【０７０５】

いくつかの態様において、本明細書で記載される腫瘍崩壊ウイルスを、注射、例えば、皮下注射、動脈内注射、静脈内注射、筋内注射、髄腔内注射または腹腔内注射により投与する。ある態様において、本明細書で記載される腫瘍崩壊ウイルスを、腫瘍内投与、皮内投与、経粘膜投与、経口投与、鼻腔内投与するかまたは肺内投与を介して投与する。

【０７０６】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞を、対象に、Ｔｒｅｇ細胞集団を減少させる分子と組み合わせて投与する。Ｔｒｅｇ細胞の数を減少させる(例えば、枯渇させる)方法は、当業界公知であり、例えば、ＣＤ２５の枯渇、シクロホスファミドの投与、ＧＩＴＲ機能をモジュレートすることを含む。理論に縛られるつもりはないが、アフェレーシスの前または本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与の前に、対象におけるＴｒｅｇ細胞の数を低減することは、腫瘍微小環境における望ましくない免疫細胞(例えば、Ｔｒｅｇ)の数を低減し、対象の再発の危険性を低減すると考えられる。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＧＩＴＲアゴニストおよび／または調節性Ｔ細胞(Ｔｒｅｇ)を枯渇させるＧＩＴＲ抗体など、ＧＩＴＲを標的とする分子および／またはＧＩＴＲ機能をモジュレートする分子と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞を、対象に、シクロホスファミドと組み合わせて投与する。ある態様において、ＧＩＴＲ結合分子および／またはＧＩＴＲ機能をモジュレートする分子(例えば、ＧＩＴＲアゴニストおよび／またはＴｒｅｇを枯渇させるＧＩＴＲ抗体)を、ＣＡＲ発現細胞の投与の前に投与する。例えば、ある態様において、ＧＩＴＲアゴニストは、細胞のアフェレーシスの前に投与することができる。ある態様において、シクロホスファミドを、対象に、ＣＡＲ発現細胞の投与(例えば、注入または再注入)の前または細胞のアフェレーシス(aphersis)の前に投与する。ある態様において、シクロホスファミドおよび抗ＧＩＴＲ抗体を、対象に、ＣＡＲ発現細胞の投与(例えば、注入または再注入)の前または細胞のアフェレーシスの前に投与する。ある態様において、対象は、癌(例えば、固形癌または多発性骨髄腫、ＡＬＬ、もしくはＣＬＬなどの血液癌)を有する。ある態様において、対象は、ＣＬＬを有する。ある態様において、対象は、多発性骨髄腫を有する。ある態様において、対象は、固形癌、例えば、本明細書で記載される固形癌を有する。典型的なＧＩＴＲアゴニストとしては、例えば、ＧＩＴＲ融合タンパク質および抗ＧＩＴＲ抗体(例えば、２価抗ＧＩＴＲ抗体)、例えば、米国特許第６,１１１,０９０号、欧州特許第０９０５０５号Ｂ１、米国特許第８,５８６,０２３号、ＰＣＴ公開ＷＯ２０１０／００３１１８および２０１１／０９０７５４で説明されているＧＩＴＲ融合タンパク質または例えば米国特許第７,０２５,９６２号、欧州特許第１９４７１８３号Ｂ１、米国特許第７,８１２,１３５号、米国特許第８,３８８,９６７号、米国特許第８,５９１,８８６号、欧州特許ＥＰ１８６６３３９号、ＰＣＴ公開ＷＯ２０１１／０２８６８３、ＰＣＴ公開ＷＯ２０１３／０３９９５４、ＰＣＴ公開ＷＯ２００５／００７１９０、ＰＣＴ公開ＷＯ２００７／１３３８２２、ＰＣＴ公開ＷＯ２００５／０５５８０８、ＰＣＴ公開ＷＯ９９／４０１９６、ＰＣＴ公開ＷＯ２００１／０３７２０、ＰＣＴ公開ＷＯ９９／２０７５８、ＰＣＴ公開ＷＯ２００６／０８３２８９、ＰＣＴ公開ＷＯ２００５／１１５４５１、米国特許第７,６１８,６３２号およびＰＣＴ公開ＷＯ２０１１／０５１７２６で説明されている抗ＧＩＴＲ抗体が挙げられる。

【０７０７】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば本明細書で記載されるｍＴＯＲ阻害剤、例えばエベロリムスなどのラパログと組み合わせて対象に投与される。ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤は、ＣＡＲ発現細胞の前に投与される。例えば、ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤は、細胞のアフェレーシスの前に投与されてもよい。

【０７０８】
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する細胞は、ＧＩＴＲアゴニスト、例えば本明細書で記載されるＧＩＴＲアゴニストと組み合わせて対象に投与される。ある態様において、ＧＩＴＲアゴニストは、ＣＡＲ発現細胞の前に投与される。例えば、ある態様において、ＧＩＴＲアゴニストは、細胞のアフェレーシスの前に投与されてもよい。
【０７０９】
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、例えば、本明細書で記載される、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤と組み合わせて投与する。ある態様において、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤は、ＳＨＰ－１阻害剤、例えば、スチボグルコン酸ナトリウムなど、例えば、本明細書で記載されるＳＨＰ－１阻害剤である。ある態様において、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤は、ＳＨＰ－２阻害剤である。
【０７１０】
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用することができる。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＣＤＫ４阻害剤、例えば、本明細書で記載されるＣＤＫ４阻害剤、例えば、６－アセチル－８－シクロペンチル－５－メチル－２－(５－ピペラジン－１－イル－ピリジン－２－イルアミノ)－８Ｈ－ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７－オン塩酸塩(パルボシクリブまたはＰＤ０３３２９９１ともまた称する)などの、例えば、ＣＤＫ４／６阻害剤である。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＢＴＫ阻害剤、例えば、イブルチニブなど、例えば、本明細書で記載されるＢＴＫ阻害剤である。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ラパマイシン、ラパマイシン類似体である、ＯＳＩ－０２７など、例えば、本明細書で記載されるｍＴＯＲ阻害剤である。ｍＴＯＲ阻害剤は、例えば、ｍＴＯＲＣ１阻害剤および／またはｍＴＯＲＣ２阻害剤、例えば、ｍＴＯＲＣ１阻害剤および／または本明細書で記載されるｍＴＯＲＣ２阻害剤であり得る。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＭＮＫ阻害剤、例えば、４－アミノ－５－(４－フルオロアニリノ)－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジンなど、例えば、本明細書で記載されるＭＮＫ阻害剤である。ＭＮＫ阻害剤は、例えば、ＭＮＫ１ａ阻害剤、ＭＮＫ１ｂ阻害剤、ＭＮＫ２ａ阻害剤および／またはＭＮＫ２ｂ阻害剤であり得る。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、例えば、ＰＦ－０４６９５１０２など、本明細書で記載されるＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ二重阻害剤である。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＤＧＫ阻害剤、例えば、ＤＧＫｉｎｈ１(Ｄ５９１９)またはＤＧＫｉｎｈ２(Ｄ５７９４)など、例えば、本明細書で記載されるＤＧＫ阻害剤である。
【０７１１】
ある態様において、キナーゼ阻害剤は、アロイシンＡ；２－(２－クロロフェニル)－５,７－ジヒドロキシ－８－[(３Ｓ,４Ｒ)－３－ヒドロキシ－１－メチル－４－ピペリジニル]－４－クロメノンである、フラボピリドールまたはＨＭＲ－１２７５；クリゾチニブ(ＰＦ－０２３４１０６６；２－(２－クロロフェニル)－５,７－ジヒドロキシ－８－[(２Ｒ,３Ｓ)－２－(ヒドロキシメチル)－１－メチル－３－ピロリジニル]－４Ｈ－１－ベンゾピラン－４－オン塩酸塩(Ｐ２７６－００)；１－メチル－５－[[２－[５－(トリフルオロメチル)－１Ｈ－イミダゾール－２－イル]－４－ピリジニル]オキシ]－Ｎ－[４－(トリフルオロメチル)フェニル]－１Ｈ－ベンズイミダゾール－２－アミン(ＲＡＦ２６５)；インジスラム(Ｅ７０７０)；ロスコビチン(ＣＹＣ２０２)；パルボシクリブ(ＰＤ０３３２９９１)；ジナシクリブ(ＳＣＨ７２７９６５)；Ｎ－[５－[[(５－ｔｅｒｔ－ブチルオキサゾール－２－イル)メチル]チオ]チアゾール－２－イル]ピペリジン－４－カルボキサミド(ＢＭＳ　３８７０３２)；４－[[９－クロロ－７－(２,６－ジフルオロフェニル)－５Ｈ－ピリミド[５,４－ｄ][２]ベンズアゼピン－２－イル]アミノ]－安息香酸(ＭＬＮ８０５４)；５－[３－(４,６－ジフルオロ－１Ｈ－ベンズイミダゾール－２－イル)－１Ｈ－インダゾール－５－イル]－Ｎ－エチル－４－メチル－３－ピリジンメタンアミン(ＡＧ－０２４３２２)；４－(２,６－ジクロロベンゾイルアミノ)－１Ｈ－ピラゾール－３－カルボン酸Ｎ－(ピペリジン－４－イル)アミド(ＡＴ７５１９)；４－[２－メチル－１－(１－メチルエチル)－１Ｈ－イミダゾ

ール－５－イル]－Ｎ－[４－(メチルスルホニル)フェニル]－２－ピリミジンアミン(ＡＺＤ５４３８)；およびＸＬ２８１(ＢＭＳ９０８６６２)から選択されるＣＤＫ４阻害剤である。

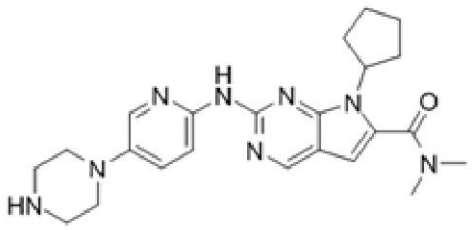
【０７１２】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＣＤＫ４阻害剤、例えば、パルボシクリブ(ＰＤ０３３２９９１)であり、パルボシクリブを、約５０mg、６０mg、７０mg、７５mg、８０mg、９０mg、１００mg、１０５mg、１１０mg、１１５mg、１２０mg、１２５mg、１３０mg、１３５mg(例えば、７５mg、１００mgまたは１２５mg)の用量で、ある期間にわたり毎日、例えば、２８日間のサイクルの１４～２１日間にわたり毎日または２１日間のサイクルの７～１２日間にわたり毎日を投与する。ある態様において、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２以上のサイクルのパルボシクリブを投与する。

【０７１３】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、サイクリン依存性キナーゼ(ＣＤＫ)４阻害剤またはＣＤＫ６阻害剤、例えば、本明細書で記載されるＣＤＫ４阻害剤またはＣＤＫ６阻害剤と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＣＤＫ４／６阻害剤(例えば、ＣＤＫ４およびＣＤＫ６の両方を標的とする阻害剤)、例えば、本明細書で記載されるＣＤＫ４／６阻害剤と組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、ＭＣＬを有する。ＭＣＬとは、現行で利用可能な治療に対する応答性が不良である、すなわち、本質的に治癒不可能である、侵襲性の癌である。ＭＣＬの多くの症例において、サイクリンＤ１(ＣＤＫ４／６の調節因子)は、ＭＣＬ細胞において(例えば、免疫グロブリンおよびＣｙｃｌｉｎ　Ｄ１遺伝子を伴う染色体転座に起因して)発現される。したがって、理論に縛られずに述べると、ＭＣＬ細胞は、ＣＤＫ４／６の阻害に対して、高度な特異性で、高度に感受性である(すなわち、正常な免疫細胞に対する影響は最小限である)と考えられる。ＣＤＫ４／６阻害剤は、単独でも、ＭＣＬの処置において、ある程度の効能をもたらしたが、部分寛解を達成したのにとどまり、再発率は高かった。例示的なＣＤＫ４／６阻害剤は、ＬＥＥ０１１(リボシクリブともまた呼ばれる)であり、その構造を下記に示す。

【化２】



【０７１４】

理論に縛られずに述べると、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の、ＣＤＫ４／６阻害剤(例えば、ＬＥＥ０１１または他の本明細書で記載されるＣＤＫ４／６阻害剤)を伴う投与は、例えば、ＣＤＫ４／６阻害剤単独と比較して、例えば、高い寛解率および／または低い再発率を伴う、高い応答性を達成し得ると考えられる。

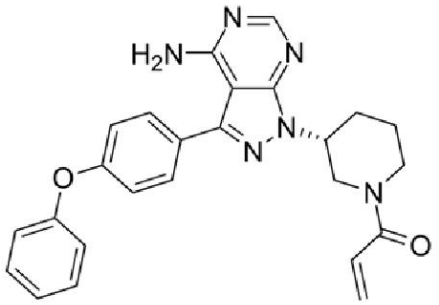
【０７１５】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、イブルチニブ(ＰＣＩ－３２７６５)；ＧＤＣ－０８３４；ＲＮ－４８６；ＣＧＩ－５６０；ＣＧＩ－１７６４；ＨＭ－７１２２４；ＣＣ－２９２；ＯＮＯ－４０５９；ＣＮＸ－７７４；およびＬＦＭ－Ａ１３から選択されるＢＴＫ阻害剤である。好ましい態様において、ＢＴＫ阻害剤は、インターロイキン２誘導性キナーゼ(ＩＴＫ)のキナーゼ活性を低減または阻害せず、ＧＤＣ－０８３４；ＲＮ－４８６；ＣＧＩ－５６０；ＣＧＩ－１７６４；ＨＭ－７１２２４；ＣＣ－２９２；ＯＮＯ－４０５９；ＣＮＸ－７７４；およびＬＦＭ－Ａ１３から選択される。

【０７１６】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＢＴＫ阻害剤、例えば、イブルチニブ(ＰＣＩ－３２７６５)である。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＢＴＫ阻害剤(例えば、イブルチニブ)と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、イブルチニブ(ＰＣＩ－３２７６５ともまた呼ばれる)と組み合わせて投与する。イブルチニブ｛１－[(３Ｒ)－３－[４－アミノ－３－(４－フェノキシフェニル)－１Ｈ－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジン－１－イル]ピペリジン－１－イル]プロプ－２－エン－１－オン｝の構造を、下記に示す。

【化３】



【０７１７】

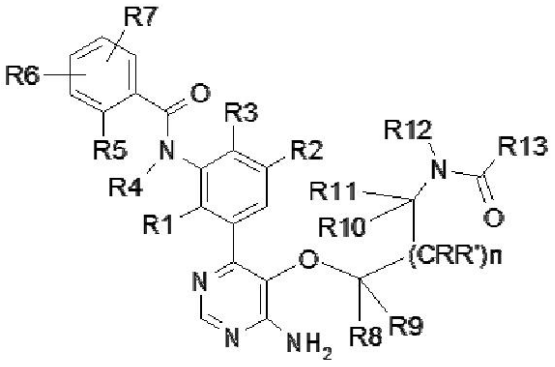
ある態様において、対象は、ＣＬＬ、マントル細胞リンパ腫(ＭＣＬ)または小リンパ球性リンパ腫(ＳＬＬ)を有する。例えば、対象は、第１７染色体の短腕部における欠失(例えば、白血病性細胞におけるｄｅｌ(１７ｐ))を有する。他の例において、対象は、ｄｅｌ(１７ｐ)を有さない。ある態様において、対象は、再発性ＣＬＬまたはＳＬＬを有し、例えば、対象は、かつて、癌治療を投与されたことがある(例えば、かつて、１、２、３または４既往の癌治療を投与されたことがある)。ある態様において、対象は、不応性ＣＬＬまたはＳＬＬを有する。他の態様において、対象は、濾胞性リンパ腫、例えば、再発性リンパ腫または不応性濾胞性リンパ腫を有する。いくつかの態様において、イブルチニブを、約３００～６００mg／日(例えば、約３００～３５０mg／日、３５０～４００mg／日、４００～４５０mg／日、４５０～５００mg／日、５００～５５０mg／日または５５０～６００mg／日、例えば、約４２０mg／日または約５６０mg／日)の投与量で、例えば、経口投与する。ある態様において、イブルチニブを、約２５０mg、３００mg、３５０mg、４００mg、４２０mg、４４０mg、４６０mg、４８０mg、５００mg、５２０mg、５４０mg、５６０mg、５８０mg、６００mg(例えば、２５０mg、４２０mgまたは５６０mg)の用量で、ある期間にわたり毎日、例えば、２１日間のサイクルにわたり毎日または２８日間のサイクルにわたり毎日投与する。ある態様において、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２以上のサイクルのイブルチニブを投与する。いくつかの態様において、イブルチニブを、リツキシマブと組み合わせて投与する。例えば、Burger et al. (2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): New, Updated Results Of a Phase II Trial In 40 Patients, Abstract 675 presented at 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, LA 7-10 Decを参照されたい。理論に縛られずに述べると、イブルチニブの添加は、Ｔ細胞増殖性応答を増強し、Ｔ細胞を、ヘルパーＴ２(Ｔｈ２)表現型から、ヘルパーＴ１(Ｔｈ１)表現型にシフトさせると考えられる。Ｔｈ１およびＴｈ２は、ヘルパーＴ細胞の表現型であり、Ｔｈ１は、Ｔｈ２と対比して、異なる免疫応答経路を方向付ける。Ｔｈ１表現型は、例えば、細胞内病原体／ウイルスまたは癌性細胞などの細胞を死滅させるための炎症促進性応答または永続的な自己免疫応答に関連する。Ｔｈ２表現型は、好酸球の蓄積および抗炎症性応答に関連する。

【０７１８】

本明細書の方法、使用および組成物のいくつかの態様において、ＢＴＫ阻害剤は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、国際出願第ＷＯ／２０１５／０７９４１７号

において説明されている、ＢＴＫ阻害剤である。例えば、いくつかの態様において、ＢＴＫ阻害剤は、式(Ｉ)の化合物または薬学的に許容されるその塩である。

【化４】



(I)

[式中、
Ｒ１は、水素、ヒドロキシにより適宜置換される、Ｃ１～Ｃ６アルキルであり、
Ｒ２は、水素もしくはハロゲンであり、
Ｒ３は、水素もしくはハロゲンであり、
Ｒ４は、水素であり、
Ｒ５は、水素もしくはハロゲンであるか、
またはＲ４およびＲ５は、互いと接合し、結合、－ＣＨ２－、－ＣＨ２－ＣＨ２－、－ＣＨ＝ＣＨ－、－ＣＨ＝ＣＨ－ＣＨ２－；－ＣＨ２－ＣＨ＝ＣＨ－；もしくは－ＣＨ２－ＣＨ２－ＣＨ２－を表し、
Ｒ６およびＲ７は、互いと独立に、Ｈ、ヒドロキシルにより適宜置換される、Ｃ１～Ｃ６アルキル、ハロゲンもしくはヒドロキシにより適宜置換される、Ｃ３～Ｃ６シクロアルキルまたはハロゲンを表し、
Ｒ８、Ｒ９、Ｒ、Ｒ’、Ｒ１０およびＲ１１は、互いと独立に、Ｈ、もしくはＣ１～Ｃ６アルコキシにより適宜置換される、Ｃ１～Ｃ６アルキルを表すか；またはＲ８、Ｒ９、Ｒ、Ｒ’、Ｒ１０およびＲ１１の任意の２つは、それらが結合する炭素原子と併せて、３～６員の飽和炭素環を形成することが可能であり、
Ｒ１２は、水素またはハロゲンもしくはＣ１～Ｃ６アルコキシにより適宜置換される、Ｃ１～Ｃ６アルキルであり、
またはＲ１２およびＲ８、Ｒ９、Ｒ、Ｒ’、Ｒ１０またはＲ１１の任意の１つは、それらが結合する原子と併せて、４、５、６または７員のアザシクロ環を形成することが可能であり、この環は、ハロゲン、シアノ、ヒドロキシル、Ｃ１～Ｃ６アルキルまたはＣ１～Ｃ６アルコキシにより適宜置換され、
ｎは、０または１であり、
Ｒ１３は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、もしくはＮ,Ｎ－ジ－Ｃ１～Ｃ６アルキルアミノにより適宜置換される、Ｃ２～Ｃ６アルケニル；Ｃ１～Ｃ６アルキルもしくはＣ１～Ｃ６アルコキシにより適宜置換される、Ｃ２～Ｃ６アルキニル；またはＣ１～Ｃ６アルキルにより適宜置換される、Ｃ２～Ｃ６酸化アルキレニルである)

【０７１９】

いくつかの態様において、式ＩのＢＴＫ阻害剤は、Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルアゼチジン－３－イル)オキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｅ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－((１－(ブタ－２－エノイル)アゼチジン－３－イル)オキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－((１－プロピオロイルアゼチジン－３－イル)オキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－((１－(ブタ－２－イノイル)アゼチ

ジン－３－イル)オキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルピペリジン－４－イル)オキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルアクリルアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｅ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルブタ－２－エンアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルプロピオルアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｅ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(４－メトキシ－Ｎ－メチルブタ－２－エンアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルブタ－２－インアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(２－((４－アミノ－６－(３－(４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)ピリミジン－５－イル)オキシ)エチル)－Ｎ－メチルオキシラン－２－カルボキサミド；Ｎ－(２－((４－アミノ－６－(３－(６－シクロプロピル－８－フルオロ－１－オキソイソキノリン－２(１Ｈ)－イル)フェニル)ピリミジン－５－イル)オキシ)エチル)－Ｎ－メチルアクリルアミド；Ｎ－(３－(５－(２－アクリルアミドエトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－エチルアクリルアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－(２－フルオロエチル)アクリルアミド)エトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(５－((１－アクリルアミドシクロプロピル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(５－(２－アクリルアミドプロポキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(ブタ－２－インアミド)プロポキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルアクリルアミド)プロポキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(２－(Ｎ－メチルブタ－２－インアミド)プロポキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(３－(Ｎ－メチルアクリルアミド)プロポキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－((１－(ブタ－２－イノイル)ピロリジン－２－イル)メトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－２－(３－(５－((１－アクリロイルピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－(ヒドロキシメチル)フェニル)－６－シクロプロピル－３,４－ジヒドロイソキノリン－１(２Ｈ)－オン；Ｎ－(２－((４－アミノ－６－(３－(６－シクロプロピル－１－オキソ－３,４－ジヒドロイソキノリン－２(１Ｈ)－イル)－５－フルオロ－２－(ヒドロキシメチル)フェニル)ピリミジン－５－イル)オキシ)エチル)－Ｎ－メチルアクリルアミド；Ｎ－(３－(５－(((２Ｓ,４Ｒ)－１－アクリロイル－４－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリ

ミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(((２Ｓ,４Ｒ)－１－(ブタ－２－イノイル)－４－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；２－(３－(５－(((２Ｓ,４Ｒ)－１－アクリロイル－４－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－(ヒドロキシメチル)フェニル)－６－シクロプロピル－３,４－ジヒドロイソキノリン－１(２Ｈ)－オン；Ｎ－(３－(５－(((２Ｓ,４Ｓ)－１－アクリロイル－４－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(((２Ｓ,４Ｓ)－１－(ブタ－２－イノイル)－４－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(５－(((１Ｒ,２Ｓ,４Ｒ)－１－アクリロイル－４－フルオロピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(６－アミノ－５－(((２Ｓ,４Ｒ)－１－(ブタ－２－イノイル)－４－フルオロピロリジン－２－イル)メトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルアゼチジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－Ｎ－(３－(６－アミノ－５－((１－プロピオロイルアゼチジン－２－イル)メトキシ)ピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｓ)－２－(３－(５－((１－アクリロイルアゼチジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－(ヒドロキシメチル)フェニル)－６－シクロプロピル－３,４－ジヒドロイソキノリン－１(２Ｈ)－オン；(Ｒ)－Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルアゼチジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；(Ｒ)－Ｎ－(３－(５－((１－アクリロイルピペリジン－３－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(５－(((２Ｒ,３Ｓ)－１－アクリロイル－３－メトキシピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；Ｎ－(３－(５－(((２Ｓ,４Ｒ)－１－アクリロイル－４－シアノピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミド；またはＮ－(３－(５－(((２Ｓ,４Ｓ)－１－アクリロイル－４－シアノピロリジン－２－イル)メトキシ)－６－アミノピリミジン－４－イル)－５－フルオロ－２－メチルフェニル)－４－シクロプロピル－２－フルオロベンズアミドから選択される。

【０７２０】

他の形で提示されない限りにおいて、式ＩのＢＴＫ阻害剤を説明するのに上記で使用した化学用語は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、国際出願第ＷＯ／２０１５／０７９４１７号において明示されるそれらの意味に従い使用する。

【０７２１】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、テムシロリムス；ＡＰ２３５７３およびＭＫ８６６９としてもまた公知の、リダホロリムス((１Ｒ,２Ｒ,４Ｓ)－４－[(２Ｒ)－２[(１Ｒ,９Ｓ,１２Ｓ,１５Ｒ,１６Ｅ,１８Ｒ,１９Ｒ,２１Ｒ,２３Ｓ,２４Ｅ,２６Ｅ,２８Ｚ,３０Ｓ,３２Ｓ,３５Ｒ)－１,１８－ジヒドロキシ－１９,３０－ジメトキシ－１５,１７,２１,２３、２９,３５－ヘキサメチル－２,３,１０,１４,２０－ペンタオキソ－１１,３６－ジオキサ－４－アザトリシクロ[３０.３.１.０^{4,9}]ヘキサトリアコンタ－１６,２４,２６,２８－テトラエン－１２－イル]プロピル]－２－メトキシシクロヘキシルジメチルホスフィネート)；エベロリムス(ＲＡＤ００１)；ラパマイシン(ＡＹ２２９８９)；セマピモド；(５－｛２,４－ビス

[(３Ｓ)－３－メチルモルホリン－４－イル]ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７－イル}－２－メトキシフェニル)メタノール(ＡＺＤ８０５５)；２－アミノ－８－[ｔｒａｎｓ－４－(２－ヒドロキシエトキシ)シクロヘキシル]－６－(６－メトキシ－３－ピリジニル)－４－メチル－ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７(８Ｈ)－オン(ＰＦ０４６９１５０２)；およびＮ２－[１,４－ジオキソ－４－[[４－(４－オキソ－８－フェニル－４Ｈ－１－ベンゾピラン－２－イル)モルホリニウム－４－イル]メトキシ]ブチル]－Ｌ－アルギニルグリシル－Ｌ－α－アスパルチルＬ－セリン－(配列番号３８３)の分子内塩(ＳＦ１１２６)；およびＸＬ７６５から選択される、ｍＴＯＲ阻害剤である。

【０７２２】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ラパマイシンであり、ラパマイシンを、約３mg、４mg、５mg、６mg、７mg、８mg、９mg、１０mg(例えば、６mg)の用量で、ある期間にわたり毎日、例えば、２１日間のサイクルにわたり毎日または２８日間のサイクルにわたり毎日投与する。ある態様において、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２以上のサイクルのラパマイシンを投与する。ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、エベロリムスであり、エベロリムスを、約２mg、２.５mg、３mg、４mg、５mg、６mg、７mg、８mg、９mg、１０mg、１１mg、１２mg、１３mg、１４mg、１５mg(例えば、１０mg)の用量で、ある期間にわたり毎日、例えば、２８日間のサイクルにわたり毎日投与する。ある態様において、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２以上のサイクルのエベロリムスを投与する。

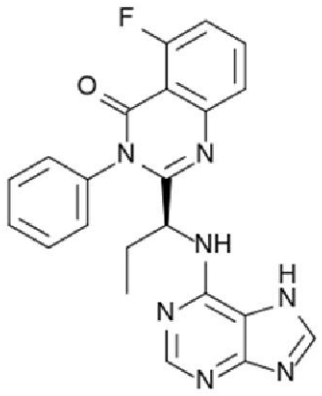
【０７２３】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、ＣＧＰ０５２０８８；４－アミノ－３－(ｐ－フルオロフェニルアミノ)－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジン(ＣＧＰ５７３８０)；セルコスポラミド；ＥＴＣ－１７８０４４５－２；および４－アミノ－５－(４－フルオロアニリノ)－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジンから選択される、ＭＮＫ阻害剤である。

【０７２４】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ホスホイノシチド３キナーゼ(ＰＩ３Ｋ)阻害剤(例えば、本明細書で記載されるＰＩ３Ｋ阻害剤、例えば、イデラリシブまたはドゥベリシブ)および／またはリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、イデラリシブおよびリツキシマブと組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ドゥベリシブおよびリツキシマブと組み合わせて投与する。イデラリシブ(ＧＳ－１１０１またはＣＡＬ－１０１ともまた呼ばれる；Ｇｉｌｅａｄ)は、ＰＩ３Ｋのデルタアイソフォームを遮断する低分子である。イデラリシブ(５－フルオロ－３－フェニル－２－[(１Ｓ)－１－(７Ｈ－プリン－６－イルアミノ)プロピル]－４(３Ｈ)－キナゾリノン)の構造を、下記に示す。

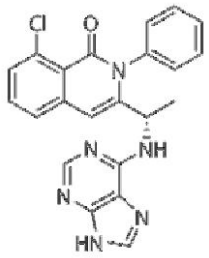
【化５】



【０７２５】

ドゥベリシブ(ＩＰＩ－１４５ともまた呼ばれる；Ｉｎｆｉｎｉｔｙ　ＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓおよびＡｂｂｖｉｅ)は、ＰＩ３Ｋ－δ、ＰＩ３Ｋ－γを遮断する低分子である。ドゥベリシブ｛８－クロロ－２－フェニル－３－[(１Ｓ)－１－(９Ｈ－プリン－６－イルアミノ)エチル]－１(２Ｈ)－イソキノリノン｝の構造を、下記に示す。

【化６】



【０７２６】

ある態様において、対象は、ＣＬＬを有する。ある態様において、対象は、再発性ＣＬＬ、例えば、対象は、かつて、癌治療を投与されたことがある(例えば、かつて、抗ＣＤ２０抗体を投与されたことがあるかまたはイブルチニブを投与されたことがある)。例えば、対象は、第１７染色体の短腕部における欠失(例えば、白血病性細胞におけるｄｅｌ(１７ｐ))を有する。他の例において、対象は、ｄｅｌ(１７ｐ)を有さない。ある態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含む。他の態様において、対象は、免疫グロブリン重鎖可変領域(IgV_H)遺伝子において変異を含む白血病性細胞を含まない。ある態様において、対象は、第１１染色体の長腕部における欠失(ｄｅｌ(１１ｑ))を有する。他の態様において、対象は、ｄｅｌ(１１ｑ)を有さない。ある態様において、イデラリシブを、約１００～４００mg(例えば、１００～１２５、１２５～１５０、１５０～１７５、１７５～２００、２００～２２５、２２５～２５０、２５０～２７５、２７５～３００、３２５～３５０、３５０～３７５または３７５～４００mg)の投与量で、例えば、毎日２回投与する。ある態様において、ドゥベリシブを、約１５～１００mg(例えば、約１５～２５、２５～５０、５０～７５または７５～１００mg)の投与量で、例えば、毎日２回投与する。ある態様において、リツキシマブを、約３５０～５５０mg／m^2(例えば、３５０～３７５mg／m^2、３７５～４００mg／m^2、４００～４２５mg／m^2、４２５～４５０mg／m^2、４５０～４７５mg／m^2または４７５～５００mg／m^2)の投与量で、例えば、静脈内投与する。

【０７２７】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、未分化リンパ腫キナーゼ(ＡＬＫ)阻害剤と組み合わせて投与する。例示的なＡＬＫキナーゼは、クリゾチニブ(Pfizer)、セリチニブ(Novartis)、アレクチニブ(中外)、ブリガチニブ(ＡＰ２６１１３ともまた呼ばれる；Ariad)、エントレクチニブ(Ignyta)、ＰＦ－０６４６３９２２(Pfizer)、ＴＳＲ－０１１(Tesaro)(例えば、臨床試験識別番号ＮＣＴ０２０４８４８８を参照されたい)、ＣＥＰ－３７４４０(Teva)およびＸ－３９６(Xcovery)を含むがこれらに限定されない。いくつかの態様において、対象は、固形癌、例えば、本明細書で記載される固形癌、例えば、肺癌を有する。

【０７２８】

クリゾチニブの化学名は、３－[(１Ｒ)－１－(２,６－ジクロロ－３－フルオロフェニル)エトキシ]－５－(１－ピペリジン－４－イルピラゾール－４－イル)ピリジン－２－アミンである。セリチニブの化学名は、５－クロロ－N^2－[２－イソプロポキシ－５－メチル－４－(４－ピペリジニル)フェニル]－N^4－[２－(イソプロピルスルホニル)フェニル]－２,４－ピリミジンジアミンである。アレクチニブの化学名は、９－エチル－６,６－ジメチル－８－(４－モルホリノピペリジン－１－イル)－１１－オキソ－６,１１－ジヒドロ－５Ｈ－ベンゾ[ｂ]カルバゾール－３－カルボニトリルである。ブリガチニブの化学名は、５－クロロ－N^2－｛４－[４－(ジメチルアミノ)－１－ピペリジニル]－２－メトキシフェニル

}－Ｎ４－[２－(ジメチルホスホリル)フェニル]－２,４－ピリミジンジアミンである。エントレクチニブの化学名は、Ｎ－(５－(３,５－ジフルオロベンジル)－１Ｈ－インダゾール－３－イル)－４－(４－メチルピペラジン－１－イル)－２－((テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル)アミノ)ベンズアミドである。ＰＦ－０６４６３９２２の化学名は、(１０Ｒ)－７－アミノ－１２－フルオロ－２,１０,１６－トリメチル－１５－オキソ－１０,１５,１６,１７－テトラヒドロ－２Ｈ－８,４－(メテノ)ピラゾロ[４,３－ｈ][２,５,１１]－ベンゾキサジアザシクロテトラデシン－３－カルボニトリルである。ＣＥＰ－３７４４０の化学構造は、(Ｓ)－２－((５－クロロ－２－((６－(４－(２－ヒドロキシエチル)ピペラジン－１－イル)－１－メトキシ－６,７,８,９－テトラヒドロ－５Ｈ－ベンゾ[７]アヌレン－２－イル)アミノ)ピリミジン－４－イル)アミノ)－Ｎ－メチルベンズアミドである。Ｘ－３９６の化学名は、(Ｒ)－６－アミノ－５－(１－(２,６－ジクロロ－３－フルオロフェニル)エトキシ)－Ｎ－(４－(４－メチルピペラジン－１－カルボニル)フェニル)ピリダジン－３－カルボキサミドである。

【０７２９】

ある態様において、キナーゼ阻害剤は、２－アミノ－８－[ｔｒａｎｓ－４－(２－ヒドロキシエトキシ)シクロヘキシル]－６－(６－メトキシ－３－ピリジニル)－４－メチル－ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７(８Ｈ)－オン(ＰＦ－０４６９１５０２)；Ｎ－[４－[[４－(ジメチルアミノ)－１－ピペリジニル]カルボニル]フェニル]－Ｎ’－[４－(４,６－ジ－４－モルホリニル－１,３,５－トリアジン－２－イル)フェニル]尿素(ＰＦ－０５２１２３８４、ＰＫＩ－５８７)；２－メチル－２－｛４－[３－メチル－２－オキソ－８－(キノリン－３－イル)－２,３－ジヒドロ－１Ｈ－イミダゾ[４,５－ｃ]キノリン－１－イル]フェニル｝プロパンニトリル(ＢＥＺ－２３５)；アピトリシブ(ＧＤＣ－０９８０、ＲＧ７４２２)；２,４－ジフルオロ－Ｎ－｛２－(メチルオキシ)－５－[４－(４－ピリダジニル)－６－キノリニル]－３－ピリジニル｝ベンゼンスルホンアミド(ＧＳＫ２１２６４５８)；８－(６－メトキシピリジン－３－イル)－３－メチル－１－(４－(ピペラジン－１－イル)－３－(トリフルオロメチル)フェニル)－１Ｈ－イミダゾ[４,５－ｃ]キノリン－２(３Ｈ)－オンマレイン酸(ＮＶＰ－ＢＧＴ２２６)；３－[４－(４－モルホリニルピリド[３’,２’：４,５]フロ[３,２－ｄ]ピリミジン－２－イル]フェノール(ＰＩ－１０３)；５－(９－イソプロピル－８－メチル－２－モルホリノ－９Ｈ－プリン－６－イル)ピリミジン－２－アミン(ＶＳ－５５８４、ＳＢ２３４３)；およびＮ－[２－[(３,５－ジメトキシフェニル)アミノ]キノキサリン－３－イル]－４－[(４－メチル－３－メトキシフェニル)カルボニル]アミノフェニルスルホンアミド(ＸＬ７６５)から選択される、ホスファチジルイノシトール３キナーゼ(ＰＩ３Ｋ)およびｍＴＯＲの二重阻害剤である。

【０７３０】

カルシウム依存性ホスファターゼであるカルシニューリンを阻害する薬物(サイクロスポリンおよびＦＫ５０６)または増殖因子によって誘導されたシグナル伝達に重要なｐ７０Ｓ６キナーゼを阻害する薬物(ラパマイシン)(Liu et al., Cell 66:807-815, 1991；Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991；Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993)のいずれかも使用することができる。さらなる面において、本発明の細胞組成物は、骨髄移植、フルダラビンなどの化学療法剤を使用したＴ細胞除去療法、外部ビーム放射線療法(ＸＲＴ)、シクロホスファミドおよび／またはＯＫＴ３もしくはＣＡＭＰＡＴＨなどの抗体と共に(例えば、その前、それと同時またはその後に)患者に投与することができる。ある面において、本発明の細胞組成物は、ＣＤ２０と反応する薬剤、例えばリツキサンなどのＢ細胞除去療法の後に投与される。例えば、ある態様において、対象は、高用量化学療法、それに続いて末梢血幹細胞移植での標準的な処置を受けてもよい。所定の態様において、移植後、対象は、本発明の拡大させた免疫細胞の注入を受ける。さらなる態様において、拡大させた細胞は、外科手術の前にまたはその後に投与される。

【０７３１】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ビホスホネート、例えば、パミドロネート(Ａｒｅｄｉａ(登録商標))；ゾレドロン酸またはゾレドロネート(

Ｚｏｍｅｔａ(登録商標)、Ｚｏｍｅｒａ(登録商標)、Ａｃｌａｓｔａ(登録商標)またはＲｅｃｌａｓｔ(登録商標))；アレンドロネート(Ｆｏｓａｍａｘ(登録商標))；リセドロネート(Ａｃｔｏｎｅｌ(登録商標))；イバンドロネート(Ｂｏｎｉｖａ(登録商標))；クロンドロネート(Ｂｏｎｅｆｏｓ(登録商標))；エチドロネート(Ｄｉｄｒｏｎｅｌ(登録商標))；チルドロネート(Ｓｋｅｌｉｄ(登録商標))；パミドロネート(Ａｒｅｄｉａ(登録商標))；ネリドロネート(Ｎｅｒｉｘｉａ(登録商標))；ラネル酸ストロンチウム(Strontiun)(Ｐｒｏｔｅｌｏｓ(登録商標)またはＰｒｏｔｏｓ(登録商標))；およびテリパラチド(Ｆｏｒｔｅｏ(登録商標))と組み合わせて投与する。

【０７３２】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、コルチコステロイド、例えば、デキサメタゾン(例えば、Ｄｅｃａｄｒｏｎ(登録商標))、ベクロメタゾン(例えば、Ｂｅｃｌｏｖｅｎｔ(登録商標))、ヒドロコルチゾン(コルチゾン、ヒドロコルチゾンコハク酸エステルナトリウム、ヒドロコルチゾンリン酸エステルナトリウムとしてもまた公知であり、Ａｌａ－Ｃｏｒｔ(登録商標)、ヒドロコルチゾンリン酸エステル、Ｓｏｌｕ－Ｃｏｒｔｅｆ(登録商標)、Ｈｙｄｒｏｃｏｒｔ　Ａｃｅｔａｔｅ(登録商標)およびＬａｎａｃｏｒｔ(登録商標)の商標名で販売されている)、プレドニゾロン(Ｄｅｌｔａ－Ｃｏｒｔｅｌ(登録商標)、Ｏｒａｐｒｅｄ(登録商標)、Ｐｅｄｉａｐｒｅｄ(登録商標)およびＰｒｅｌｏｎｅ(登録商標)の商標名で販売されている)、プレドニゾン(Ｄｅｌｔａｓｏｎｅ(登録商標)、Ｌｉｑｕｉｄ　Ｒｅｄ(登録商標)、Ｍｅｔｉｃｏｒｔｅｎ(登録商標)およびＯｒａｓｏｎｅ(登録商標)の商標名で販売されている)、メチルプレドニゾロン(６－メチルプレドニゾロン、メチルプレドニゾロン酢酸エステル、メチルプレドニゾロンコハク酸エステルナトリウムとしてもまた公知の、Ｄｕｒａｌｏｎｅ(登録商標)、Ｍｅｄｒａｌｏｎｅ(登録商標)、Ｍｅｄｒｏｌ(登録商標)、Ｍ－Ｐｒｅｄｎｉｓｏｌ(登録商標)およびＳｏｌｕ－Ｍｅｄｒｏｌ(登録商標)の商標名で販売されている)；ジフェンヒドラミン(例えば、Ｂｅｎａｄｒｙｌ(登録商標))、ヒドロキシジンおよびシプロヘプタジンなどの抗ヒスタミン剤；ならびにベーターアドレナリン作動性受容体アゴニスト、アルブテロール(例えば、Ｐｒｏｖｅｎｔｉｌ(登録商標))およびテルブタリン(Ｂｒｅｔｈｉｎｅ(登録商標))などの気管支拡張剤と組み合わせて投与する。

【０７３３】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、イムノモジュレーター、例えば、アフツズマブ(Ｒｏｃｈｅ(登録商標)から市販されている)；ペグフィルグラスチム(Ｎｅｕｌａｓｔａ(登録商標))；レナリドマイド(ＣＣ－５０１３、Ｒｅｖｌｉｍｉｄ(登録商標))；サリドマイド(Ｔｈａｌｏｍｉｄ(登録商標))、アクチミド(ＣＣ４０４７)；およびＩＲＸ－２(インターロイキン１、インターロイキン２およびインターフェロンγ、ＣＡＳ　９５１２０９－７１－５を含む、ヒトサイトカインの混合物であり、IRX Therapeuticsから市販されている)と組み合わせて投与する。

【０７３４】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、プロテアソーム阻害剤、例えば、ボルテゾミブ(Ｖｅｌｃａｄｅ(登録商標))；イキサゾミブクエン酸エステル(ＭＬＮ９７０８、ＣＡＳ　１２０１９０２－８０－８)；ダノプレビル(ＲＧ７２２７、ＣＡＳ　８５０８７６－８８－９)；イキサゾミブ(ＭＬＮ２２３８、ＣＡＳ　１０７２８３３－７７－２)；および(Ｓ)－Ｎ－[(フェニルメトキシ)カルボニル]－Ｌ－ロイシル－Ｎ－(１－ホルミル－３－メチルブチル)－Ｌ－ロイシンアミド(ＭＧ－１３２、ＣＡＳ　１３３４０７－８２－６)と組み合わせて投与する。

【０７３５】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、血管内皮増殖因子(ＶＥＧＦ)受容体、例えば、ベバシズマブ(Ａｖａｓｔｉｎ(登録商標))、アキシチニブ(Ｉｎｌｙｔａ(登録商標))；ブリバニブアラニンエステル｛ＢＭＳ－５８２６６４、(Ｓ)－((Ｒ)－１－(４－(４－フルオロ－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－イルオキシ)－５－メチルピロロ[２,１－ｆ][１,２,４]トリアジン－６－イルオキシ)プロパン－２－イル)２－アミ

ノプロパノエート}；ソラフェニブ(Ｎｅｘａｖａｒ(登録商標))；パゾパニブ(Ｖｏｔｒｉｅｎｔ(登録商標))；スニチニブリンゴ酸塩(Ｓｕｔｅｎｔ(登録商標))；セジラニブ(ＡＺＤ２１７１、ＣＡＳ ２８８３８３－２０－１)；バラガテフ(ＢＩＢＦ１１２０、ＣＡＳ ９２８３２６－８３－４)；フォレチニブ(ＧＳＫ１３６３０８９)；テラチニブ(ＢＡＹ５７－９３５２、ＣＡＳ ３３２０１２－４０－５)；アパチニブ(ＹＮ９６８Ｄ１、ＣＡＳ ８１１８０３－０５－１)；イマチニブ(Ｇｌｅｅｖｅｃ(登録商標))；ポナチニブ(ＡＰ２４５３４、ＣＡＳ ９４３３１９－７０－８)；チボザニブ(ＡＶ９５１、ＣＡＳ ４７５１０８－１８－０)；レゴラフェニブ(ＢＡＹ７３－４５０６、ＣＡＳ ７５５０３７－０３－７)；バタラニブ二塩酸塩(ＰＴＫ７８７、ＣＡＳ ２１２１４１－５１－０)；ブリバニブ(ＢＭＳ－５４０２１５、ＣＡＳ ６４９７３５－４６－６)；バンデタニブ(Ｃａｐｒｅｌｓａ(登録商標)またはＡＺＤ６４７４)；モテサニブ二リン酸塩｛ＰＣＴ公開第ＷＯ０２／０６６４７０号において説明されている、ＡＭＧ７０６、ＣＡＳ ８５７８７６－３０－３、Ｎ－(２,３－ジヒドロ－３,３－ジメチル－１Ｈ－インドール－６－イル)－２－[(４－ピリジニルメチル)アミノ]－３－ピリジンカルボキサミド｝；ドビチニブ二乳酸(ＴＫＩ２５８、ＣＡＳ ８５２４３３－８４－２)；リンファニブ(ＡＢＴ８６９、ＣＡＳ ７９６９６７－１６－３)；カボザンチニブ(ＸＬ１８４、ＣＡＳ ８４９２１７－６８－１)；レスタウルチニブ(ＣＡＳ １１１３５８－８８－４)；Ｎ－[５－[[[５－(１,１－ジメチルエチル)－２－オキサゾリル]メチル]チオ]－２－チアゾリル]－４－ピペリジンカルボキサミド(ＢＭＳ３８７０３、ＣＡＳ ３４５６２７－８０－７)；(３Ｒ,４Ｒ)－４－アミノ－１－((４－((３－メトキシフェニル)アミノ)ピロロ[２,１－ｆ][１,２,４]トリアジン－５－イル)メチル)ピペリジン－３－オール(ＢＭＳ６９０５１４)；Ｎ－(３,４－ジクロロ－２－フルオロフェニル)－６－メトキシ－７－[[(３ａα,５β,６ａα)－オクタヒドロ－２－メチルシクロペンタ[ｃ]ピロール－５－イル]メトキシ]－４－キナゾリンアミン(ＸＬ６４７、ＣＡＳ ７８１６１３－２３－８)；４－メチル－３－[[１－メチル－６－(３－ピリジニル)－１Ｈ－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジン－４－イル]アミノ]－Ｎ－[３－(トリフルオロメチル)フェニル]－ベンズアミド(ＢＨＧ７１２、ＣＡＳ ９４０３１０－８５－０)；およびアフリベルセプト(Ｅｙｌｅａ(登録商標))と組み合わせて投与する。

【０７３６】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＣＤ２０抗体またはそのコンジュゲート、例えば、リツキシマブ(Ｒｉｕｘａｎ(登録商標)およびＭａｂＴｈｅｒａ(登録商標))；およびトシツモマブ(Ｂｅｘｘａｒ(登録商標))；およびオファツムマブ(Ａｒｚｅｒｒａ(登録商標))、イブリツモマブチウキセタン(Ｚｅｖａｌｉｎ(登録商標))；およびトシツモマブと組み合わせて投与する。

【０７３７】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、抗痙攣剤、例えば、抗痙攣剤(抗てんかん薬または抗発作薬)：アルデヒド、例えば、パラルデヒド；芳香族アリルアルコール、例えば、スチリペントール(Ｄｉａｃｏｍｉｔ(登録商標))；バルビツレート、例えば、フェノバルビタール(Ｌｕｍｉｎａｌ(登録商標))、メチルフェノバルビタール(Ｍｅｂａｒａｌ(登録商標))、バルベキサクロン(Ｍａｌｉａｓｉｎ(登録商標))、ベンゾジアゼピン、例えば、クロバザム(Ｏｎｆｉ(登録商標))、クロナゼパム(Ｋｌｏｎｏｐｉｎ(登録商標))、クロラゼペート(Ｔｒａｎｘｅｎｅ(登録商標)およびＮｏｖｏ－Ｃｌｏｐａｔｅ(登録商標))、ジアゼパム(Ｖａｌｉｕｍ(登録商標)、Ｌｅｍｂｒｏｌ(登録商標)、Ｄｉａｓｔａｔ(登録商標))、ミダゾラム(Ｖｅｒｓｅｄ(登録商標))、ロラゼパム(Ａｔｉｖａｎ(登録商標)およびＯｒｆｉｄａｌ(登録商標))、ニトラゼパム(Ａｌｏｄｏｒｍ(登録商標)、Ａｒｅｍ(登録商標)、Ｉｎｓｏｍａ(登録商標))、テマゼパム(ｒｅｓｔｏｒｉｌ(登録商標)、Ｎｏｒｍｉｓｏｎ(登録商標))、ニメトゼパム(Ｅｒｉｍｉｎ(登録商標))、臭化物、例えば、臭化カリウム；カルバメート、例えば、フェルバメート(Ｆｅｌｂａｔｏｌ(登録商標))；カルボキサミド、例えば、カルバマゼピン(Ｔｅｇｒｅｔｏｌ(登録商標)、Ｅｑｕｅｔｒｏ(登録商標))、オクスカルバゼピン(Ｔｒｉｌｅｐｔａｌ(登録商標)、Ｏｘｃａｒｂ(登録商標))、エスリカルバゼピン酢酸エステル(Ａｐｔｉｏｍ(登録商標))；脂肪酸、例えば

、バルプロエート(バルプロ酸、バルプロ酸ナトリウム、ジバルプロエクスナトリウム)、ビガバトリン(Ｓａｂｒｉｌ(登録商標))、プロガビド(Ｇａｂｒｅｎ(登録商標))、チアガビン(Ｇａｂｉｔｒｉｌ(登録商標))；果糖誘導体、例えば、トピラマート(Ｔｏｐａｍａｘ(登録商標))；ＧＡＢＡ類似体、例えば、ガバペンチン(Ｎｅｕｒｏｎｔｉｎ(登録商標))、プレガバリン(Ｌｙｒｉｃａ(登録商標))；ヒダントイン、例えば、エトトイン(Ｐｅｇａｎｏｎｅ(登録商標))、フェニトイン(Ｄｉｌａｎｔｉｎ(登録商標))、メフェニトイン(Ｍｅｓａｎｔｏｉｎ(登録商標))、ホスフェニトイン(Ｃｅｒｅｂｙｘ(登録商標)、Ｐｒｏｄｉｌａｎｔｉｎ(登録商標))；オキサゾリジンジオン、例えば、パラメタジオン(Ｐａｒａｄｉｏｎｅ(登録商標))、トリメタジオン(Ｔｒｉｄｉｏｎｅ(登録商標))；プロピオネート、例えば、ベクラミド(Ｃｈｏｒａｃｏｎ(登録商標)、Ｈｉｂｉｃｏｎ(登録商標)、Ｐｏｓｅｄｒｉｎｅ(登録商標))；ピリミジンジオン、例えば、プリミドン(Ｍｙｓｏｌｉｎｅ(登録商標))；ピロリジン、例えば、ブリバラセタム、レベチラセタム、セレトラセタム(Ｋｅｐｐｒａ(登録商標))；スクシンイミド、例えば、エトスクシミド(Ｚａｒｏｎｔｉｎ(登録商標))、フェンスクシミド(Ｍｉｌｏｎｔｉｎ(登録商標))、メスクシミド(Ｃｅｌｏｎｔｉｎ(登録商標)、Ｐｅｔｉｎｕｔｉｎ(登録商標))；スルホンアミド、例えば、アセタゾラミド(Ｄｉａｍｏｘ(登録商標))、スルチアム(Ｏｓｐｏｌｏｔ(登録商標))、メタゾラミド(Ｎｅｐｔａｚａｎｅ(登録商標))、ゾニサミド(Ｚｏｎｅｇｒａｎ(登録商標))；トリアジン、例えば、ラモトリギン(Ｌａｍｉｃｔａｌ(登録商標))；尿素、例えば、フェナツリド、フェナセミド(Ｐｈｅｎｕｒｏｎｅ(登録商標))；バルプロイルアミド(バルポレートのアミド誘導体(derivatives))、例えば、バルプロミド(Ｄｅｐａｍｉｄｅ(登録商標))、バルノクタミド；ＡＭＰＡ受容体アンタゴニスト、例えば、ペランパネル(Ｆｙｃｏｍｐａ(登録商標))と組み合わせて投与する。

【０７３８】

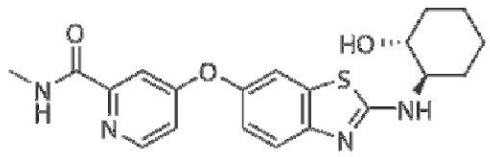
ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、インドールアミン２,３－ジオキシゲナーゼ(ＩＤＯ)阻害剤と組み合わせて投与する。ＩＤＯとは、アミノ酸であるＬ－トリプトファンの、キヌレニンへの分解を触媒する酵素である。多くの癌、例えば、前立腺癌、結腸直腸癌、膵臓癌、子宮頸癌、胃癌、卵巣癌、頭部癌および肺癌は、ＩＤＯを過剰発現する。ｐＤＣ、マクロファージおよび樹状細胞(ＤＣ)は、ＩＤＯを発現し得る。理論に縛られずに述べると、Ｌ－トリプトファンの減少(例えば、ＩＤＯにより触媒される)は、Ｔ細胞のアネルギーおよびアポトーシスを誘導することにより、免疫抑制環境を結果としてもたらすと考えられる。したがって、理論に縛られずに述べると、ＩＤＯ阻害剤は、例えば、ＣＡＲ発現免疫細胞の抑制または死を減少させることにより、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の効能を増強し得ると考えられる。ある態様において、対象は、充実性腫瘍、例えば、本明細書で記載される充実性腫瘍、例えば、前立腺癌、結腸直腸癌、膵臓癌、子宮頸癌、胃癌、卵巣癌、頭部癌または肺癌を有する。例示的なＩＤＯ阻害剤は、１－メチル－トリプトファン、インドキシモド(NewLink Genetics)(例えば、臨床試験識別番号：ＮＣＴ０１１９１２１６；ＮＣＴ０１７９２０５０を参照されたい)およびＩＮＣＢ０２４３６０(Ｉｎｃｙｔｅ　Ｃｏｒｐ.)(例えば、臨床試験識別番号：ＮＣＴ０１６０４８８９；ＮＣＴ０１６８５２５５を参照されたい)を含むがこれらに限定されない。

【０７３９】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、骨髄由来免疫抑制細胞(ＭＤＳＣ)のモジュレーターと組み合わせて投与する。ＭＤＳＣは、末梢および多くの充実性腫瘍の腫瘍部位に蓄積される。これらの細胞は、Ｔ細胞応答を抑制し、これにより、ＣＡＲ発現細胞療法の効能を妨げる。理論に縛られずに述べると、ＭＤＳＣモジュレーターの投与は、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の効能を増強すると考えられる。ある態様において、対象は、充実性腫瘍、例えば、本明細書で記載される充実性腫瘍、例えば、神経膠芽腫を有する。例示的なＭＤＳＣモジュレーターは、ＭＣＳ１１０およびＢＬＺ９４５を含むがこれらに限定されない。ＭＣＳ１１０とは、マクロファージコロニー刺激因子(Ｍ－ＣＳＦ)に対するモノクローナル抗体(ｍＡｂ)である。例えば、臨床試験識

別番号ＮＣＴ００７５７７５７を参照されたい。ＢＬＺ９４５とは、コロニー刺激因子１受容体(ＣＳＦ１Ｒ)の低分子阻害剤である。例えば、Pyonteck et al. Nat. Med. 19(2013):1264-72を参照されたい。ＢＬＺ９４５の構造を、下記に示す。

【化７】



【０７４０】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞(例えば、参照により本明細書に組み入れられる、ＷＯ２０１２／０７９０００において説明されている、例えば、ＣＴＬ０１９)と組み合わせて投与する。ある態様において、対象は、急性骨髄性白血病(ＡＭＬ)、例えば、ＣＤ１９陽性ＡＭＬまたはＣＤ１９陰性ＡＭＬを有する。ある態様において、対象は、ＣＤ１９＋リンパ腫、例えば、ＣＤ１９＋非ホジキンリンパ腫(ＮＨＬ)、ＣＤ１９＋　ＦＬまたはＣＤ１９＋　ＤＬＢＣＬを有する。ある態様において、対象は、再発性ＣＤ１９＋リンパ腫または不応性ＣＤ１９＋リンパ腫を有する。ある態様において、リンパ枯渇化学療法を、対象に、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞の投与(例えば、注入)の前に、投与と並列してまたは投与の後で投与する。ある例では、リンパ枯渇化学療法を、対象に、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞の投与の前に投与する。例えば、リンパ枯渇化学療法は、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞の注入の１～４日(例えば、１、２、３または４日)前に終了する。ある態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞の複数回投与を、例えば、本明細書で記載される通りに行う。例えば、単回投与は、ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞約５×１０８個を含む。ある態様において、リンパ枯渇化学療法を、対象に、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞、例えば、非ＣＤ１９　ＣＡＲ発現(expresing)細胞の投与(例えば、注入)の前に、投与と並列してまたは投与の後で投与する。ある態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲＴを、対象に、非ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書で記載される非ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞の投与(例えば、注入)の前に、投与と並列してまたは投与の後で投与する。

【０７４１】

いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞、例えば、参照により本明細書に組み入れられる、ＷＯ２０１２／０７９０００において説明されている、例えば、ＣＴＬ０１９と組み合わせて、ＢＣＭＡの発現に関連する疾患、例えば、本明細書で記載される癌の処置のために投与する。理論に縛られずに述べると、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞と組み合わせて投与することは、初期系統の癌幹細胞、例えば、癌幹細胞を標的とし、免疫応答をモジュレートし、調節性Ｂ細胞を枯渇させ、かつ／または腫瘍微小環境を改善することにより、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の効能を改善すると考えられる。例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞が、初期系統マーカーを発現する癌細胞、例えば、癌幹細胞およびＣＤ１９発現細胞を標的とするのに対し、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞は、後期系統マーカーを発現する癌細胞、例えば、ＢＣＭＡを標的とする。このプレコンディショニング法は、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の効能を改善し得る。このような態様において、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞を、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞投与(例えば、注入)の前に、投与と並列してまたは投与の後で投与する。

【０７４２】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞はまた、ＣＤ１９を標的とするＣＡＲ、例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲも発現する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲおよびＣＤ１９　ＣＡＲを発現する細胞を、対象に、本明細書で記載される癌、例えば、ＡＭＬの処置のために投与する。ある態様において、ＣＡＲ分子の一方または両方の配置は、一次細胞内シグナル伝達ドメインと、共刺激シグナル伝達ドメインとを含む。別の態様において、ＣＡＲ分子の一方または両方の配置は、一次細胞内シグナル伝達ドメインと、２以上、例えば、２、３、４または５以上の共刺激シグナル伝達ドメインとを含む。このような態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子と、ＣＤ１９　ＣＡＲとは、同じ一次細胞内シグナル伝達ドメインを有してもよく、異なる一次細胞内シグナル伝達ドメインを有してもよく、同じ共刺激シグナル伝達ドメインを有してもよく、異なる共刺激シグナル伝達ドメインを有してもよく、同じ数の共刺激シグナル伝達ドメインを有してもよく、異なる数の共刺激シグナル伝達ドメインを有してもよい。代替的に、本明細書で記載されるＣＡＲと、ＣＤ１９　ＣＡＲとは、ＣＡＲ分子の１つが、抗原結合ドメインおよび共刺激ドメイン(例えば、４－１ＢＢ)を含むのに対し、他のＣＡＲ分子は、抗原結合ドメインおよび一次細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、ＣＤ３ゼータ)を含む、スプリットＣＡＲとしても配置される。

【０７４３】

いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象に、インターロイキン１５(ＩＬ－１５)ポリペプチド、インターロイキン１５受容体アルファ(ＩＬ－１５Ｒａ)ポリペプチドまたはＩＬ－１５ポリペプチドおよびＩＬ－１５Ｒａポリペプチド、例えば、ｈｅｔＩＬ－１５(Ａｄｍｕｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ,ＬＬＣ)の両方の組合せと組み合わせて投与する。ｈｅｔＩＬ－１５とは、ＩＬ－１５とＩＬ－１５Ｒａとの、ヘテロ二量体の非共有結合的複合体である。ｈｅｔＩＬ－１５は、例えば、参照により本明細書に組み入れられる、Ｕ.Ｓ.８,１２４,０８４、Ｕ.Ｓ.２０１２／０１７７５９８、Ｕ.Ｓ.２００９／００８２２９９、Ｕ.Ｓ.２０１２／０１４１４１３およびＵ.Ｓ.２０１１／００８１３１１において説明されている。ある態様において、ｈｅｔ－ＩＬ－１５を、皮下投与する。ある態様において、対象は、癌、例えば、固形癌、例えば、黒色腫または結腸癌を有する。ある態様において、対象は、転移性癌を有する。

【０７４４】

ある態様において、対象は、ＣＡＲ発現細胞の投与に関連する副作用を低減または改善する薬剤を投与されてもよい。ＣＡＲ発現細胞の投与に関連する副作用としては、これらに限定されないが、ＣＲＳおよびマクロファージ活性化症候群(ＭＡＳ)とも称される血球貪食性リンパ組織球症(ＨＬＨ)が挙げられる。ＣＲＳの症状としては、高熱、吐き気、一過性の低血圧、低酸素症および同種のものが挙げられる。ＣＲＳは、発熱、疲労、食欲不振、筋肉痛、関節痛、悪心、嘔吐および頭痛などの臨床的全身徴候および臨床的全身症状を含み得る。ＣＲＳは、発赤などの臨床的皮膚徴候および臨床的皮膚症状を含み得る。ＣＲＳは、悪心、嘔吐および下痢などの臨床的消化管徴候および臨床的消化管症状を含み得る。ＣＲＳは、頻呼吸および低酸素血などの臨床的呼吸器徴候および臨床的呼吸器症状を含み得る。ＣＲＳは、頻脈、脈圧拡大、低血圧、心(cardac)拍出量の増加(初期)および心拍出量の潜在的な減少(後期)などの臨床的心血管徴候および臨床的心血管症状を含み得る。ＣＲＳは、ｄ－ダイマーの増加、出血を伴うかまたは伴わない低フィブリノーゲン血症などの臨床的凝固徴候および臨床的凝固症状を含み得る。ＣＲＳは、高窒素血症などの臨床的腎臓徴候および臨床的腎臓症状を含み得る。ＣＲＳは、高トランスアミナーゼ血症および高ビリルビン血症などの臨床的肝臓徴候および臨床的肝臓症状を含み得る。ＣＲＳは、頭痛、精神状態の変化、精神錯乱、せん妄、喚語困難または完全な失語症、幻覚、振戦、ディスメトリア、歩行の異変および発作などの臨床的神経徴候および臨床的神経症状を含み得る。

【０７４５】

したがって、本明細書で記載される方法は、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を対象に投与することと、１以上の薬剤をさらに投与して、ＣＡＲ発現細胞による処置から生じ

る可溶性因子のレベルの上昇を管理することとを含み得る。ある態様において、対象において上昇する可溶性因子は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦα、ＩＬ－２およびＩＬ－６の１以上である。ある態様において、対象において上昇する因子は、ＩＬ－１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－８、ＩＬ－５およびフラクタルカインの１以上である。したがって、この副作用を処置するのに投与される薬剤は、これらの可溶性因子の１以上を中和する薬剤であり得る。ある態様において、これらの可溶性形態の１以上を中和する薬剤は、抗体または抗体フラグメントである。このような薬剤の例は、ステロイド(例えば、コルチコステロイド)、ＴＮＦαの阻害剤およびＩＬ－６の阻害剤を含むがこれらに限定されない。ＴＮＦα阻害剤の例は、インフリキシマブ、アダリムマブ、セルトリズマブペゴルおよびゴリムマブなどの抗ＴＮＦα抗体分子である。ＴＮＦα阻害剤の別の例は、融合タンパク質、エタネルセプトなどである。ＴＮＦαの低分子阻害剤は、キサンチン誘導体(例えば、ペントキシフィリン)およびブプロピオンを含むがこれらに限定されない。ＩＬ－６阻害剤の例は、トシリズマブ(ｔｏｃ)、サリルマブ、エルシリモマブ、ＣＮＴＯ　３２８、ＡＬＤ５１８／ＢＭＳ－９４５４２９、ＣＮＴＯ　１３６、ＣＰＳＩ－２３６４、ＣＤＰ６０３８、ＶＸ３０、ＡＲＧＸ－１０９、ＦＥ３０１およびＦＭ１０１などの抗ＩＬ－６抗体分子である。ある態様において、抗ＩＬ－６抗体分子は、トシリズマブである。ＩＬ－１Ｒベースの阻害剤の例は、アナキンラである。

【０７４６】

いくつかの態様において、対象に、例えば、とりわけ、メチルプレドニゾロン、ヒドロコルチゾンなどのコルチコステロイドを投与する。

【０７４７】

いくつかの態様において、対象に、例えば、ノルエピネフリン、ドーパミン、フェニレフリン、エピネフリン、バソプレッシンまたはこれらの組合せなどの血管拡張剤を投与する。

【０７４８】

ある態様において、対象に、解熱剤を投与することができる。ある態様において、対象に、鎮痛剤を投与することができる。

【０７４９】

ある態様において、対象に、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞の、脳へのトラフィッキングを予防する薬剤、例えば、ナタリズマブ(ＴＹＳＡＢＲＩ(登録商標))を投与することができる。ＢＣＭＡの発現、例えば、そのスプライス変異体が、脳の一部、例えば、小脳または延髄において検出されている。いかなる特定の理論にも縛られずに述べると、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞の、脳へのトラフィッキングの予防は、いかなるＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞が、ＢＣＭＡ発現脳組織と相互作用することも、これに対して作用することも予防することが好ましい。

【０７５０】

ある態様において、対象に、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を投与することができる。例えば、ある態様において、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であることが可能であり、例えば、薬剤は、チェックポイント阻害剤である。いくつかの態様において、阻害性分子、例えば、プログラム死１(ＰＤ１)は、ＣＡＲ発現細胞が、免疫エフェクター応答を誘発する能力を減少させ得る。阻害分子の例は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５)、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３(ＣＤ２７６)、Ｂ７－Ｈ４(ＶＴＣＮ１)、ＨＶＥＭ(ＴＮＦＲＳＦ１４またはＣＤ２７０)、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスII、ＧＡＬ９、アデノシンおよびＴＧＦＲベータを含む。例えば、ＤＮＡレベル、ＲＮＡレベルまたはタンパク質レベルにおける阻害による阻害分子の阻害は、ＣＡＲ発現細胞の性能を最適化し得る。ある態様において、例えば、本明細書で記載される通り、阻害核酸、例えば、ｄｓＲＮＡ、例えば、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡ、クラスター化規則的間隔短鎖回文配列リピート(ＣＲＩＳＰＲ)、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(ＴＡＬＥＮ)またはジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ(ＺＦＮ)を使用し

て、ＣＡＲ発現細胞における阻害分子の発現を阻害することができる。ある態様において、阻害剤は、ｓｈＲＮＡである。ある態様において、阻害分子は、ＣＡＲ発現細胞内で阻害される。これらの態様において、阻害分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子は、構成要素、例えばＣＡＲの構成要素の全てをコードする核酸に連結されている。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、阻害分子の阻害剤と組み合わせて、例えば、チェックポイント阻害剤と組み合わせて、例えば、ＰＤ１および／またはＰＤ－Ｌ１の阻害剤と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＰＤ１の阻害剤と組み合わせて投与する。ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＰＤ－Ｌ１の阻害剤と組み合わせて投与する。

【０７５１】

ある態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子が発現される、例えば、ＣＡＲ発現細胞内で発現されるように、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子を、プロモーター、例えば、Ｈ１由来のプロモーターまたはＵ６由来のプロモーターに作動可能に連結する。例えば、Tiscornia G., “Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA,” Chapter 3, in Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA (eds. Friedmann and Rossi). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2007；Brummelkamp TR, et al. (2002) Science 296: 550-553；Miyagishi M, et al. (2002) Nat. Biotechnol. 19: 497-500を参照されたい。ある態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、同じベクター、例えば、ＣＡＲの構成要素、例えば、構成要素の全てをコードする核酸分子を含むレンチウイルスベクターに存在する。このような態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、ベクター、例えば、レンチウイルスベクターの、ＣＡＲの構成要素、例えば、構成要素の全てをコードする核酸に対して、５’側または３’側に配置される。Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、ＣＡＲの構成要素、例えば、構成要素の全てをコードする核酸と、同じ方向に転写される場合もあり、異なる方向に転写される場合もある。ある態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、ＣＡＲの構成要素、例えば、構成要素の全てをコードする核酸分子を含むベクター以外のベクターに存在する。ある態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、ＣＡＲ発現細胞内で一過性に発現される。ある態様において、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子をコードする核酸分子は、ＣＡＲ発現細胞のゲノムに安定的に統合される。図４１Ａ～４１Ｅは、ＣＡＲの構成要素、例えば、構成要素の全てを、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子と共に発現するベクターの例を描示する。

【０７５２】

Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子の発現を阻害するために有用なｄｓＲＮＡ分子であって、Ｔ細胞の機能をモジュレートまたは調節する、例えば、Ｔ細胞の機能を阻害する分子が、ＰＤ－１である、ｄｓＲＮＡ分子の例を、下記に提示する。

【０７５３】

下記の表１８に、ＰＤＣＤ１(ＰＤ１)ＲＮＡｉ剤(マウスＰＤＣＤ１の遺伝子配列であるＮＭ＿００８７９８.２におけるそれらの位置に由来する)の名称を、ＤＮＡ配列を表す配列番号２８６～３３３と共に提示する。１９マーおよび２１マーの配列として表示される、

センス(Ｓ)配列およびアンチセンス(ＡＳ)配列の両方を、この表に示す。また、位置(ＰｏＳ、例えば、１７６)は、マウスＰＤＣＤ１の遺伝子配列であるＮＭ＿００８７９８.２における位置の番号に由来することにも注目されたい。「センス１９」配列番号２８６～２９７；「センス２１」配列番号２９８～３０９；「アセンス(asense)２１」配列番号３１０～３２１；「アセンス１９」配列番号３２２～３３３に対応する配列番号を、１２の群において指し示す。

【０７５４】

【表５９】

表１８：マウスＰＤＣＤ１(ＰＤ１)のｓｈＲＮＡ配列

NM_008798.2における位置	標的領域	センス19	センス21	アセンス21	アセンス19
176	CDS	GGAGGTCCCTCACCTTCTA(配列番号286)	CTGGAGGTCCCTCACCTTCTA(配列番号298)	TAGAAGGTGAGGGACCTCCAG(配列番号310)	TAGAAGGTGAGGGACCTCC(配列番号322)
260	CDS	CGGAGGATCTTATGCTGAA(配列番号287)	GTCGGAGGATCTTATGCTGAA(配列番号299)	TTCAGCATAAGATCCTCCGAC(配列番号311)	TTCAGCATAAGATCCTCCG(配列番号323)
359	CDS	CCCGCTTCCAGATCATACA(配列番号288)	TGCCCGCTTCCAGATCATACA(配列番号300)	TGTATGATCTGGAAGCGGGCA(配列番号312)	TGTATGATCTGGAAGCGGG(配列番号324)
528	CDS	GGAGACCTCAACAAGATAT(配列番号289)	CTGGAGACCTCAACAAGATAT(配列番号301)	ATATCTTGTTGAGGTCTCCAG(配列番号313)	ATATCTTGTTGAGGTCTCC(配列番号325)
581	CDS	AAGGCATGGTCATTGGTAT(配列番号290)	TCAAGGCATGGTCATTGGTAT(配列番号302)	ATACCAATGACCATGCCTTGA(配列番号314)	ATACCAATGACCATGCCTT(配列番号326)
584	CDS	GCATGGTCATTGGTATCAT(配列番号291)	AGGCATGGTCATTGGTATCAT(配列番号303)	ATGATACCAATGACCATGCCT(配列番号315)	ATGATACCAATGACCATGC(配列番号327)

【表６０】

588	CDS	GGTCATTGGTATCATGAGT(配列番号292)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT(配列番号304)	ATGGTCATTGGTATCATGAGT(配列番号316)	ATGGTCATTGGTATCATGA(配列番号328)
609	CDS	CCTAGTGGGTATCCCTGTA(配列番号293)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA(配列番号305)	GCCCTAGTGGGTATCCCTGTA(配列番号317)	GCCCTAGTGGGTATCCCTG(配列番号329)
919	CDS	GAGGATGGACATTGTTCTT(配列番号294)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT(配列番号306)	ATGAGGATGGACATTGTTCTT(配列番号318)	ATGAGGATGGACATTGTTC(配列番号330)
1021	3'UTR	GCATGCAGGCTACAGTTCA(配列番号295)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA(配列番号307)	GAGCATGCAGGCTACAGTTCA(配列番号319)	GAGCATGCAGGCTACAGTT(配列番号331)
1097	3'UTR	CCAGCACATGCACTGTTGA(配列番号296)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA(配列番号308)	TTCCAGCACATGCACTGTTGA(配列番号320)	TTCCAGCACATGCACTGTT(配列番号332)
1101	3'UTR	CACATGCACTGTTGAGTGA(配列番号297)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA(配列番号309)	AGCACATGCACTGTTGAGTGA(配列番号321)	AGCACATGCACTGTTGAGT(配列番号333)

【０７５５】

下記の表１９に、ＰＤＣＤ１(ＰＤ１)ＲＮＡｉ剤(ヒトＰＤＣＤ１の遺伝子配列におけるそれらの位置に由来する)の名称を、ＤＮＡ配列を表す配列番号３３４～３８１と共に提示する。センス(Ｓ)配列およびアンチセンス(ＡＳ)配列の両方を、１９マーおよび２１マーの配列として表示する。「センス１９」配列番号３３４～３４５；「センス ２１」配列番号３４６～３５７；「アセンス２１」配列番号３５８～３６９；「アセンス１９」配列番号３７０～３８１に対応する配列番号を、１２の群において指し示す。

【０７５６】

【表６１】

表１９：ヒトＰＤＣＤ１(ＰＤ１)のｓｈＲＮＡ配列

NM_005018.2における位置	標的領域	センス19	アセンス19	センス21	アセンス21
145	CDS	GGCCAGGATGGTTCTTAGA(配列番号334)	TCTAAGAACCATCCTGGCC(配列番号346)	GCGGCCAGGATGGTTCTTAGA(配列番号358)	TCTAAGAACCATCCTGGCCGC(配列番号370)
271	CDS	GCTTCGTGCTAAACTGGTA(配列番号335)	TACCAGTTTAGCACGAAGC(配列番号347)	GAGCTTCGTGCTAAACTGGTA(配列番号359)	TACCAGTTTAGCACGAAGCTC(配列番号371)
393	CDS	GGGCGTGACTTCCACATGA(配列番号336)	TCATGTGGAAGTCACGCCC(配列番号348)	ACGGGCGTGACTTCCACATGA(配列番号360)	TCATGTGGAAGTCACGCCCGT(配列番号372)
1497	3'UTR	CAGGCCTAGAGAAGTTTCA(配列番号337)	TGAAACTTCTCTAGGCCTG(配列番号349)	TGCAGGCCTAGAGAAGTTTCA(配列番号361)	TGAAACTTCTCTAGGCCTGCA(配列番号373)
1863	3'UTR	CTTGGAACCCATTCCTGAA(配列番号338)	TTCAGGAATGGGTTCCAAG(配列番号350)	TCCTTGGAACCCATTCCTGAA(配列番号362)	TTCAGGAATGGGTTCCAAGGA(配列番号374)

【表６２】

1866	3'UTR	GGAACCCATT CCTGAAATT (配列番号339)	AATTTCAGGA ATGGGTTCC (配列番号351)	TTGGAACCCA TTCCTGAAAT T (配列番号363)	AATTTCAGGA ATGGGTTCCA A (配列番号375)
1867	3'UTR	GAACCCATTC CTGAAATTA (配列番号340)	TAATTTCAGG AATGGGTTC (配列番号352)	TGGAACCCAT TCCTGAAATT A (配列番号364)	TAATTTCAGG AATGGGTTCC A (配列番号376)
1868	3'UTR	AACCCATTCC TGAAATTAT (配列番号341)	ATAATTTCAG GAATGGGTT (配列番号353)	GGAACCCATT CCTGAAATTA T (配列番号365)	ATAATTTCAG GAATGGGTTC C (配列番号377)
1869	3'UTR	ACCCATTCCT GAAATTATT (配列番号342)	AATAATTTCA GGAATGGGT (配列番号354)	GAACCCATTC CTGAAATTATT (配列番号366)	AATAATTTCA GGAATGGGTT C (配列番号378)
1870	3'UTR	CCCATTCCTG AAATTATTT (配列番号343)	AAATAATTTCA GGAATGGG (配列番号355)	AACCCATTCC TGAAATTATTT (配列番号367)	AAATAATTTCA GGAATGGGTT (配列番号379)
2079	3'UTR	CTGTGGTTCT ATTATATTA (配列番号344)	TAATATAATAG AACCACAG (配列番号356)	CCCTGTGGTT CTATTATATTA (配列番号368)	TAATATAATAG AACCACAGGG (配列番号380)
2109	3'UTR	AAATATGAGA GCATGCTAA (配列番号345)	TTAGCATGCT CTCATATTT (配列番号357)	TTAAATATGA GAGCATGCTA A (配列番号369)	TTAGCATGCT CTCATATTTAA (配列番号381)

【０７５７】

ある態様において、阻害シグナルの阻害剤は、例えば阻害分子に結合する抗体または抗体フラグメントであってもよい。例えば、薬剤は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２またはＣＴＬＡ４に結合する抗体または抗体フラグメントであってもよい(例えば、イピリムマブ(また、ＭＤＸ－０１０およびＭＤＸ－１０１とも称され、Ｙｅｒｖｏｙ(登録商標)として販売されている；Bristol-Myers Squibb；トレメリムマブ(Pfizerより入手可能なＩｇＧ２モノクローナル抗体、以前はチシリムマブとして公知、ＣＰ－６７５,２０６)。)。ある態様において、薬剤は、ＴＩＭ３に結合する抗体または抗体フラグメントである。ある態様において、薬剤は、ＬＡＧ３に結合する抗体または抗体フラグメントである。ある態様において、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤、例えば、阻害分子の阻害剤を、同種異系のＣＡＲ、例えば、本明細書で記載される(例えば、本明細書の「同種異系のＣＡＲ」節において記載される)同種異系のＣＡＲと組み合わせて投与する。

【０７５８】

ＰＤ－１は、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＩＣＯＳおよびＢＴＬＡも包含する受容体のＣＤ２８ファミリーの阻害性の一員である。ＰＤ－１は、活性化されたＢ細胞、Ｔ細胞および骨髄細胞で発現される(Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75)。ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１およびＰＤ－Ｌ２に関する２リガンドは、ＰＤ－１に結合する際にＴ細胞の活性化を下方調節することが示されている(Freeman et a.2000 J Exp Med 192:1027-34；Latchman et al.2001 Nat Immunol 2:261-8； Carter et al.2002 Eur J Immunol 32:634-43)。ＰＤ－Ｌ１は、ヒト癌において豊富である(Dong et al. 2003 J Mol Med

81:281-7；Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314；Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094)。免疫抑制は、ＰＤ－１とＰＤ－Ｌ１との局所的な相互作用を阻害することによって、回復させることができる。当業界では、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１およびＰＤ－Ｌ２の、抗体、抗体フラグメントおよび他の阻害剤が利用可能であり、本明細書で記載される本発明のＣＡＲと組み合わせて使用することができる。例えば、ニボルマブ(また、ＢＭＳ－９３６５５８またはＭＤＸ１１０６とも称される；Bristol-Myers Squibb)は、ＰＤ－１を特異的にブロックする完全ヒトＩｇＧ４　モノクローナル抗体である。ＰＤ－１に特異的に結合するニボルマブ(クローン５Ｃ４)および他のヒトモノクローナル抗体は、ＵＳ８,００８,４４９およびＷＯ２００６／１２１１６８に開示されている。ピジリズマブ(Ｐｉｄｉｌｉｚｕｍａｂ)(ＣＴ－０１１；Ｃｕｒｅ　Ｔｅｃｈ)は、ＰＤ－１ピジリズマブに結合するヒト化ＩｇＧ１ｋモノクローナル抗体であり、他のヒト化抗ＰＤ－１モノクローナル抗体は、ＷＯ２００９／１０１６１１に開示されている。ペンブロリズマブ(かつては、ランブロリズマブとして公知であり、また、ＭＫ０３４７５とも称する；Ｍｅｒｃｋ)とは、ＰＤ－１に結合するヒト化ＩｇＧ４モノクローナル抗体である。ペンブロリズマブ および他のヒト化抗ＰＤ－１抗体は、ＵＳ８,３５４,５０９およびＷＯ２００９／１１４３３５において開示されている。ＭＥＤＩ４７３６(Medimmune)は、ＰＤＬ１に結合するヒトモノクローナル抗体であり、リガンドの、ＰＤ１との相互作用を阻害する。ＭＤＰＬ３２８０Ａ(Genentech/Roche)は、ＰＤ－Ｌ１に結合するヒトＦｃに最適化されたＩｇＧ１モノクローナル抗体である。ＭＤＰＬ３２８０Ａおよび他のＰＤ－Ｌ１に対するヒトモノクローナル抗体は、米国特許第７,９４３,７４３号および米国特許出願公開第２０１２００３９９０６号に開示されている。他の抗ＰＤ－Ｌ１結合剤としては、ＹＷ２４３.５５.Ｓ７０(ＷＯ２０１０／０７７６３４において、重鎖および軽鎖可変領域は、配列番号２０および２１に示される)およびＭＤＸ－１　１０５(また、ＢＭＳ－９３６５５９とも称され、例えばＷＯ２００７／００５８７４で開示された抗ＰＤ－Ｌ１結合剤である)が挙げられる。ＡＭＰ－２２４(Ｂ７－ＤＣＩｇ；アンプリミューン；例えば、ＷＯ２０１０／０２７８２７およびＷＯ２０１１／０６６３４２で開示されたもの)は、ＰＤ－１とＢ７－Ｈ１との相互作用をブロックするＰＤ－Ｌ２Ｆｃ融合可溶性受容体である。他の抗ＰＤ－１抗体としては、なかでもＡＭＰ５１４(アンプリミューン)が挙げられ、例えば、ＵＳ８,６０９,０８９、ＵＳ２０１００２８３３０および／またはＵＳ２０１２０１１４６４９で開示された抗ＰＤ－１抗体である。

【０７５９】

ＴＩＭ３(Ｔ細胞免疫グロブリン３)もまた、特に、ＩＦＮ－ｇを分泌するＣＤ４＋　１型ヘルパーＴ細胞およびＣＤ８＋　１型細胞毒性Ｔ細胞において、Ｔ細胞の機能を負に調節し、Ｔ細胞の枯渇において極めて重要な役割を果たす。ＴＩＭ３と、そのリガンド、例えば、ガレクチン９(Ｇａｌ９)、ホスファチジルセリン(ＰＳ)およびＨＭＧＢ１との相互作用の阻害は、免疫応答を増加させ得る。当業界では、ＴＩＭ３およびそのリガンドの抗体、抗体フラグメントおよび他の阻害剤が利用可能であり、本明細書で記載されるＣＤ１９　ＣＡＲまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲと組み合わせて使用することができる。例えば、ＴＩＭ３を標的とする、抗体、抗体フラグメント、低分子またはペプチド阻害剤は、ＴＩＭ３のＩｇＶドメインに結合して、そのリガンドとの相互作用を阻害する。ＴＩＭ３を阻害する抗体およびペプチドは、ＷＯ２０１３／００６４９０およびＵＳ２０１００２４７５２１において開示されている。他の抗ＴＩＭ３抗体は、ＲＭＴ３－２３(Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551において開示されている)およびクローン８Ｂ.２Ｃ１２(Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541において開示されている)のヒト化形を含む。ＴＩＭ３およびＰＤ－１を阻害する二特異性抗体は、ＵＳ２０１３０１５６７７４において開示されている。

【０７６０】

他の態様において、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤は、ＣＥＡＣＡＭ阻害剤(例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３および／またはＣＥＡＣＡＭ－５阻害剤)である。ある態様において、ＣＥＡＣＡＭの阻害剤は、抗ＣＥＡＣＡＭ抗体分子である。例示的な

抗ＣＥＡＣＡＭ－１抗体は、ＷＯ２０１０／１２５５７１、ＷＯ２０１３／０８２３６６、ＷＯ２０１４／０５９２５１およびＷＯ２０１４／０２２３３２において説明されており、例えば、ＵＳ２００４／００４７８５８、ＵＳ７,１３２,２５５およびＷＯ９９／０５２５５２において説明されている、例えば、モノクローナル抗体である、３４Ｂ１、２６Ｈ７および５Ｆ４またはこれらの組換え形態である。他の態様において、抗ＣＥＡＣＡＭ抗体は、例えば、Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529 (DOI:10:1371/journal.pone.0021146)において説明されているＣＥＡＣＡＭ－５に結合するかまたは例えば、ＷＯ２０１３／０５４３３１およびＵＳ２０１４／０２７１６１８において説明されている、ＣＥＡＣＡＭ－１およびＣＥＡＣＡＭ－５と交差反応する。

【０７６１】

理論に縛られるつもりはないが、ＣＥＡＣＡＭ－１およびＣＥＡＣＡＭ－５などの癌胎児性抗原細胞接着分子(ＣＥＡＣＡＭ)は、少なくとも部分的に、抗腫瘍免疫応答の阻害を媒介すると考えられる(例えば、Markel et al. J Immunol. 2002 Mar 15;168(6):2803-10; Markel et al. J Immunol. 2006 Nov 1;177(9):6062-71; Markel et al. Immunology. 2009 Feb;126(2):186-200; Markel et al. Cancer Immunol Immunother. 2010 Feb;59(2):215-30; Ortenberg et al. Mol Cancer Ther. 2012 Jun;11(6):1300-10; Stern et al. J Immunol. 2005 Jun 1;174(11):6692-701; Zheng et al. PLoS One. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529を参照されたい)。例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１は、ＴＩＭ－３に対する異好性リガンドとして、ＴＩＭ－３に媒介されるＴ細胞の忍容性および枯渇において、役割を果たすものとして説明されている(例えば、ＷＯ２０１４／０２２３３２；Huang, et al. (2014) Nature doi:10.1038/nature13848を参照されたい)。ある態様において、ＣＥＡＣＡＭ－１およびＴＩＭ－３の共遮断は、異種移植片結腸直腸癌モデルにおいて、抗腫瘍免疫応答を増強することが示されている(例えば、ＷＯ２０１４／０２２３３２；Huang, et al. (2014), supraを参照されたい)。他の態様において、ＣＥＡＣＡＭ－１およびＰＤ－１の共遮断は、例えば、ＷＯ２０１４／０５９２５１において説明されている、Ｔ細胞忍容性を低減する。したがって、ＣＥＡＣＡＭ阻害剤は、癌、例えば、黒色腫、肺癌(例えば、ＮＳＣＬＣ)、膀胱癌、結腸癌、卵巣癌および本明細書で記載される他の癌に対する免疫応答を増強するのに、本明細書で記載される他のイムノモジュレーター(例えば、抗ＰＤ－１および／または抗ＴＩＭ－３阻害剤)と共に使用することができる。

【０７６２】

ＬＡＧ３(リンパ球活性化遺伝子３またはＣＤ２２３)は、活性化したＴ細胞およびＢ細胞において発現される細胞表面分子であって、ＣＤ８＋　Ｔ細胞の枯渇において役割を果たすことが示されている細胞表面分子である。当業界では、ＬＡＧ３およびそのリガンドの抗体、抗体フラグメントおよび他の阻害剤が利用可能であり、本明細書で記載されるＣＤ１９　ＣＡＲまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲと組み合わせて使用することができる。例えば、ＢＭＳ－９８６０１６(Bristol-Myers Squib)は、ＬＡＧ３を標的とするモノクローナル抗体である。ＩＭＰ７０１(Immutep)は、ＬＡＧ３アンタゴニスト抗体であり、ＩＭＰ７３１(ImmutepおよびGlaxoSmithKline)は、ＬＡＧ３枯渇抗体である。他のＬＡＧ３阻害剤は、ＬＡＧ３の可溶性部分と、ＭＨＣクラスII分子に結合し、抗原提示細胞(ＡＰＣ)を活性化させる、Ｉｇとの組換え融合タンパク質である、ＩＭＰ３２１(Immutep)を含む。他の抗体は、例えば、ＷＯ２０１０／０１９５７０において開示されている。

【０７６３】

いくつかの態様において、ＣＡＲ発現細胞の活性を強化する薬剤は、例えば、第一のドメインおよび第二のドメインを含む融合タンパク質であってもよく、ここで第一のドメインは阻害分子またはそれらのフラグメントであり、第二のドメインは、陽性シグナルと会合するポリペプチドであり、例えば、本明細書で説明したような細胞内(antracellular)シグナル伝達ドメインを含むポリペプチドである。いくつかの態様において、陽性シグナルと会合するポリペプチドとしては、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳの共刺激ドメイン、例えば、ＣＤ２８、ＣＤ２７および／またはＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメインおよび／

または例えば、本明細書で説明されたような、例えばＣＤ３ゼータの一次シグナル伝達ドメインを挙げることができる。ある態様において、融合タンパク質は、ＣＡＲを発現した同じ細胞によって発現される。別の態様において、融合タンパク質は、細胞、例えば抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現しないＴ細胞またはＮＫ細胞によって発現される。

【０７６４】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の活性を強化する薬剤は、ｍｉＲ－１７－９２である。

【０７６５】

ある態様において、本明細書で記載されるＣＡＲの活性を増強する薬剤は、サイトカインである。サイトカインは、Ｔ細胞の拡大、分化、生存およびホメオスタシスに関する、重要な機能を有する。本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を施される対象に投与し得るサイトカインは、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＩＬ－９、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８およびＩＬ－２１またはこれらの組合せを含む。好ましい態様において、投与されるサイトカインは、ＩＬ－７、ＩＬ－１５またはＩＬ－２１またはこれらの組合せである。サイトカインは、毎日１回または毎日１回を超えて、例えば、毎日２回、毎日３回または毎日４回投与することができる。サイトカインは、１日超にわたり投与することができ、例えば、サイトカインを、２日間にわたり、３日間、４日間、５日間、６日間、１週間、２週間、３週間または４週間にわたり投与する。例えば、サイトカインを、毎日１回ずつ７日間にわたり投与する。

【０７６６】

ある態様において、サイトカインを、ＣＡＲ発現Ｔ細胞と組み合わせて投与する。サイトカインは、ＣＡＲ発現Ｔ細胞と同時に投与することもでき、並列して、例えば、同じ日に投与することもできる。サイトカインは、ＣＡＲ発現Ｔ細胞と同じ医薬組成物中に調製することもでき、別個の医薬組成物中に調製することもできる。代替的に、サイトカインは、ＣＡＲ発現Ｔ細胞の投与の直後に、例えば、ＣＡＲ発現Ｔ細胞の投与の１日後、２日後、３日後、４日後、５日後、６日後または７日後に投与することができる。サイトカインを、１日超にわたり施される投与レジメンにおいて投与する、態様において、サイトカイン投与レジメンの１日目は、ＣＡＲ発現Ｔ細胞の投与と同じ日であってもよく、サイトカイン投与レジメンの１日目は、ＣＡＲ発現Ｔ細胞の投与の１日後、２日後、３日後、４日後、５日後、６日後または７日後であってもよい。ある態様において、１日目に、ＣＡＲ発現Ｔ細胞を、対象に投与し、２日目に、サイトカインを、毎日１回ずつ、次の７日間にわたり投与する。好ましい態様において、ＣＡＲ発現Ｔ細胞と組み合わせて投与されるサイトカインは、ＩＬ－７、ＩＬ－１５またはＩＬ－２１である。

【０７６７】

他の態様において、サイトカインを、ＣＡＲ発現細胞の投与後、ある期間にわたり、例えば、ＣＡＲ発現細胞を投与して、少なくとも２週間、３週間、４週間、６週間、８週間、１０週間、１２週間、４カ月間、５カ月間、６カ月間、７カ月間、８カ月間、９カ月間、１０カ月間、１１カ月間、もしくは１年間またはこれを超える後に投与する。ある態様において、サイトカインを、対象の、ＣＡＲ発現細胞への応答を評価した後で投与する。例えば、対象に、本明細書で記載される投与量およびレジメンに従い、ＣＡＲ発現細胞を投与する。本明細書で記載される方法のいずれかを使用して、対象の、ＣＡＲ発現細胞療法への応答であって、腫瘍増殖の阻害、循環腫瘍細胞の低減または腫瘍の退縮を含む応答を、ＣＡＲ発現細胞を投与した、２週間、３週間、４週間、６週間、８週間、１０週間、１２週間、４カ月間、５カ月間、６カ月間、７カ月間、８カ月間、９カ月間、１０カ月間、１１カ月間、もしくは１年間またはこれを超える後に評価する。ＣＡＲ発現細胞療法に対して十分な応答を呈示しない対象には、サイトカイン投与することができる。ＣＡＲ発現細胞療法に対する応答が最適未満である対象へのサイトカインの投与は、ＣＡＲ発現細胞の効能または抗癌活性を改善する。好ましい態様において、ＣＡＲ発現細胞の投与の後で投与されるサイトカインは、ＩＬ－７である。

【０７６８】

ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量との組合せ
本明細書で記載される方法は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１など、ラパログを含む、ｍＴＯＲのアロステリック阻害剤の、免疫を増強する低用量を使用する。ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量(例えば、免疫系を完全に抑制するには不十分であるが、免疫機能を改善するには十分な用量)の投与は、対象における免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞またはＣＡＲ発現細胞の性能を最適化し得る。ｍＴＯＲの阻害を測定するための方法、投与量、処置レジメンおよび適切な医薬組成物は、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願第２０１５／０１２４００３６号において説明されている。
【０７６９】
ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、以下：
ｉ)ＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞の数の減少；
ii)ＰＤ－１陰性免疫エフェクター細胞の数の増加；
iii)ＰＤ－１陰性免疫エフェクター細胞／ＰＤ－１陽性免疫エフェクター細胞の比の増加；
ｉｖ)ナイーブＴ細胞の数の増加；
ｖ)例えば、メモリーＴ細胞、例えば、メモリーＴ細胞前駆体における、以下のマーカー：ＣＤ６２Ｌｈｉｇｈ、ＣＤ１２７ｈｉｇｈ、ＣＤ２７＋およびＢＣＬ２、の１以上の発現の増加；
ｖｉ)例えば、メモリーＴ細胞、例えば、メモリーＴ細胞前駆体における、ＫＬＲＧ１の発現の減少；または
vii)メモリーＴ細胞前駆体、例えば、以下の特徴：ＣＤ６２Ｌｈｉｇｈの増加、ＣＤ１２７ｈｉｇｈの増加、ＣＤ２７＋の増加、ＫＬＲＧ１の減少およびＢＣＬ２の増加の任意の１つまたはこれらの組合せを有する細胞の数の増加；
の１以上を結果としてもたらし、
この場合、前出、例えば、ｉ)、ii)、iii)、ｉｖ)、ｖ)、ｖｉ)またはvii)のいずれかは、例えば、処置されていない対象と比較して、例えば、少なくとも一過性に生じる。
【０７７０】
別の態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、培養物または対象における、ＣＡＲ発現細胞の増殖または持続性の、例えば、処置されていないＣＡＲ発現細胞または処置されていない対象と比較した増加または延長を結果としてもたらす。ある態様において、増殖または持続性の増加は、ＣＡＲ発現細胞の数の増加に関連する。増殖の増加または延長を測定するための方法は、実施例１５および１６において説明されている。別の態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、培養物または対象における、ＣＡＲ発現細胞による癌細胞の殺滅の、例えば、処置されていないＣＡＲ発現細胞または処置されていない対象と比較した増加を結果としてもたらす。ある態様において、癌細胞の殺滅の増加は、腫瘍容量の減少に関連する。癌細胞の殺滅の増加を測定するための方法は、本明細書の、例えば、実施例２、５～６、８および１３において記載される。ある態様において、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞を、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ｍＴＯＲのアロステリック阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１またはｍＴＯＲの触媒阻害剤の、免疫を増強する低用量と組み合わせて投与する。例えば、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与の前に開始し、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与の前に完了することもでき、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与と同時に開始し、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与と重複させることもでき、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の投与の後で持続することもできる。
【０７７１】
これの代わりにまたはこれに加えて、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現するように加工される、免疫エフェクター細胞を最適化することができる。このような態様において、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、アロステリック阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１または触媒阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与を、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現するように加工される、免疫エフェクター

細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞の、対象からの採取の前に開始または完了する。
【０７７２】
別の態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ分子を発現するように加工される、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞を、例えば、対象からの採取の後で、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の存在下において培養することもでき、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞を、例えば、対象への投与の前に、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の存在下において培養することもできる。
【０７７３】
ある態様において、対象への、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、毎週１回、例えば、即放剤形で、０.１～２０mg、０.５～１０mg、２.５～７.５mg、３～６mgまたは約５mgのＲＡＤ００１またはその生物学的同等用量を投与することを含む。ある態様において、対象への、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、毎週１回、例えば、徐放剤形で、０.３～６０mg、１.５～３０mg、７.５～２２.５mg、９～１８mgまたは約１５mgのＲＡＤ００１またはその生物学的同等用量を投与することを含む。
【０７７４】
ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤の用量は、少なくとも５％であるが９０％を超えないか、少なくとも１０％であるが９０％を超えないか、少なくとも１５％であるが９０％を超えないか、少なくとも２０％であるが９０％を超えないか、少なくとも３０％であるが９０％を超えないか、少なくとも４０％であるが９０％を超えないか、少なくとも５０％であるが９０％を超えないか、少なくとも６０％であるが９０％を超えないか、少なくとも７０％であるが９０％を超えないか、少なくとも５％であるが８０％を超えないか、少なくとも１０％であるが８０％を超えないか、少なくとも１５％であるが８０％を超えないか、少なくとも２０％であるが８０％を超えないか、少なくとも３０％であるが８０％を超えないか、少なくとも４０％であるが８０％を超えないか、少なくとも５０％であるが８０％を超えないか、少なくとも６０％であるが８０％を超えないか、少なくとも５％であるが７０％を超えないか、少なくとも１０％であるが７０％を超えないか、少なくとも１５％であるが７０％を超えないか、少なくとも２０％であるが７０％を超えないか、少なくとも３０％であるが７０％を超えないか、少なくとも４０％であるが７０％を超えないか、少なくとも５０％であるが７０％を超えないか、少なくとも５％であるが６０％を超えないか、少なくとも１０％であるが６０％を超えないか、少なくとも１５％であるが６０％を超えないか、少なくとも２０％であるが６０％を超えないか、少なくとも３０％であるが６０％を超えないか、少なくとも４０％であるが６０％を超えないか、少なくとも５％であるが５０％を超えないか、少なくとも１０％であるが５０％を超えないか、少なくとも１５％であるが５０％を超えないか、少なくとも２０％であるが５０％を超えないか、少なくとも３０％であるが５０％を超えないか、少なくとも４０％であるが５０％を超えないか、少なくとも５％であるが４０％を超えないか、少なくとも１０％であるが４０％を超えないか、少なくとも１５％であるが４０％を超えないか、少なくとも２０％であるが４０％を超えないか、少なくとも３０％であるが４０％を超えないか、少なくとも３５％であるが４０％を超えないか、少なくとも５％であるが３０％を超えないか、少なくとも１０％であるが３０％を超えないか、少なくとも１５％であるが３０％を超えないか、少なくとも２０％であるが３０％を超えないかまたは少なくとも２５％であるが３０％を超えない、ｍＴＯＲの阻害に関連するかまたはｍＴＯＲの阻害をもたらす。
【０７７５】
ある態様において、対象への、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、毎週１回、例えば、即放剤形で、０.１～２０mg、０.５～１０mg、２.５～７.５mg、３～６mgまたは約５mgのＲＡＤ００１またはその生物学的同等用量を投与することを含む。ある態様において、対象への、ｍＴＯＲ阻害剤の、免疫を増強する低用量の投与は、例えば、毎週１回、例えば、徐放剤形で、０.３～６０mg、１.５～３０mg、７.５～２２.５mg、９～１８mgまたは約１５mgのＲＡＤ００１またはその生物学的同等用量を投

与することを含む。

【０７７６】

ｍＴＯＲ阻害の程度は、Ｐ７０　Ｓ６キナーゼ阻害の程度として伝え得るかまたはこれに対応し得る、例えば、ｍＴＯＲ阻害の程度は、Ｐ７０　Ｓ６キナーゼ活性の減少のレベルにより、例えば、Ｐ７０　Ｓ６キナーゼ基質のリン酸化の減少により決定することができる。ｍＴＯＲ阻害のレベルは、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願第２０１５／０１２４００３６号において説明されているまたは参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第７,７２７,９５０号において説明されている、ブーレーアッセイにより、Ｐ７０　Ｓ６キナーゼ活性を測定すること；ウェスタンブロットによりリン酸化したＳ６のレベルを測定すること；またはＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞の、ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞に対する比の変化を査定することなど、種々の方法により査定することができる。

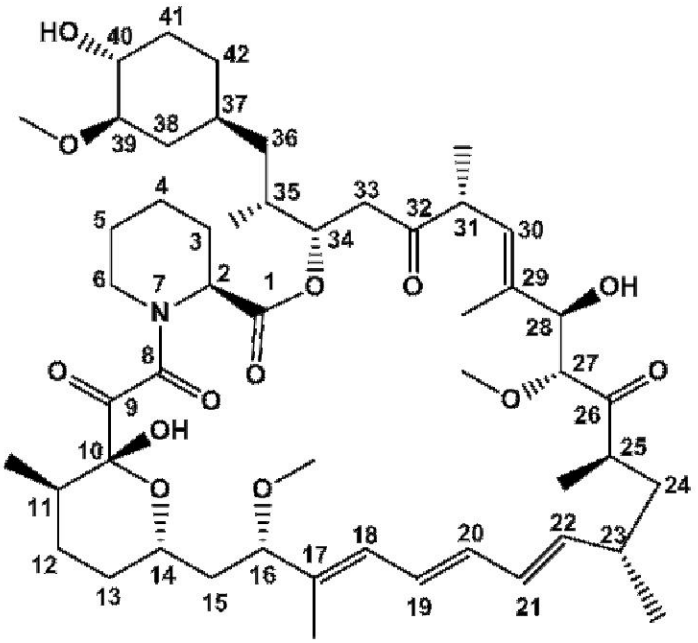
【０７７７】

本明細書で使用される場合、用語「ｍＴＯＲ阻害剤」は、細胞内のｍＴＯＲキナーゼを阻害する化合物もしくはリガンドまたは薬学的に許容されるその塩を指す。ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤は、アロステリック阻害剤である。ｍＴＯＲのアロステリック阻害剤は、中性の三環式化合物であるラパマイシン(シロリムス)、ラパマイシンと構造的類似性および機能的な類似性を有する化合物であり、例えば、ラパマイシン誘導体、ラパマイシン類似体(ラパログともまた称する)を含む、ラパマイシン関連化合物およびｍＴＯＲ活性を阻害する、他のマクロリド化合物を含む。ある態様において、ｍＴＯＲ阻害剤は、触媒阻害剤である。

【０７７８】

ラパマイシンとは、Streptomyces hygroscopicusにより産生される、公知のマクロリド抗生剤であって、式Ａに示される構造を有する抗生剤である。

【化８】



(A)

【０７７９】

例えば、McAlpine, J.B., et al., J. Antibiotics (1991) 44: 688; Schreiber, S.L., et al., J. Am. Chem. Soc. (1991) 113: 7433；米国特許第３,９２９,９９２号を参照されたい。ラパマイシンについては、種々の番号付けスキームが提起されている。混乱を回避するために、本明細書では、具体的なラパマイシン類似体を名づける場合、式Ａの番号付

けスキームを使用する、ラパマイシンを参照して、名称を与える。
【０７８０】
本発明において有用なラパマイシン類似体は、例えば、ラパマイシンのシクロヘキシル環におけるヒドロキシル基を、ＯＲ１(式中、Ｒ１は、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、アシルアミノアルキルまたはアミノアルキルである)により置きかえた、Ｏ置換された類似体；例えば、各々の内容が参照により組み入れられる、ＵＳ５,６６５,７７２およびＷＯ９４／０９０１０において説明されている、エベロリムスとしてもまた公知のＲＡＤ００１である。
【０７８１】
他の適切なラパマイシン類似体は、２６位または２８位において置換されたラパマイシン類似体を含む。ラパマイシン類似体は、上述の類似体のエピマー、特に、４０、２８または２６位において置換された類似体のエピマーであることが可能であり、例えば、それらの内容が参照により組み入れられるＵＳ６,０１５,８１５、ＷＯ９５／１４０２３およびＷＯ９９／１５５３０において説明されている通り、さらに水素化してもよく、例えば、ゾタロリムスとしてもまた公知のＡＢＴ５７８またはそれらの内容が参照により組み入れられる、ＵＳ７,０９１,２１３、ＷＯ９８／０２４４１およびＷＯ０１／１４３８７において説明されている、ラパマイシン類似体、例えば、リダホロリムスとしてもまた公知のＡＰ２３５７３であり得る。
【０７８２】
本発明における使用に適するラパマイシン類似体の例であって、ＵＳ５,６６５,７７２による例は、４０－Ｏ－ベンジル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(４’－ヒドロキシメチル)ベンジル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[４’－(１,２－ジヒドロキシエチル)]ベンジル－ラパマイシン、４０－Ｏ－アリル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[３’－(２,２－ジメチル－１,３－ジオキソラン－４(Ｓ)－イル)－プロパ－２’－エン－１’－イル]－ラパマイシン、(２’Ｅ,４’Ｓ)－４０－Ｏ－(４’,５’－ジヒドロキシペンタ－２’－エン－１’－イル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－ヒドロキシ)エトキシカルボニルメチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－ヒドロキシ)エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(３－ヒドロキシ)プロピル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(６－ヒドロキシ)ヘキシル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[２－(２－ヒドロキシ)エトキシ]エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[(３Ｓ)－２,２－ジメチルジオキソラン－３－イル]メチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[(２Ｓ)－２,３－ジヒドロキシプロパ－１－イル]－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－アセトキシ)エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－ニコチノイルオキシ)エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[２－(Ｎ－モルホリノ)アセトキシ]エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－Ｎ－イミダゾリルアセトキシ)エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－[２－(Ｎ－メチル－Ｎ’－ピペラジニル)アセトキシ]エチル－ラパマイシン、３９－Ｏ－デスメチル－３９,４０－Ｏ,Ｏ－エチレン－ラパマイシン、(２６Ｒ)－２６－ジヒドロ－４０－Ｏ－(２－ヒドロキシ)エチル－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－アミノエチル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－アセトアミノエチル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－ニコチンアミドエチル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－(Ｎ－メチル－イミダゾ－２’－イルカルボエトキサミド)エチル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－エトキシカルボニルアミノエチル)－ラパマイシン、４０－Ｏ－(２－トリルスルホンアミドエチル)－ラパマイシンおよび４０－Ｏ－[２－(４’,５’－ジカルボエトキシ－１’,２’,３’－トリアゾール－１’－イル)－エチル]－ラパマイシンを含むがこれらに限定されない。
【０７８３】
本発明において有用な他のラパマイシン類似体は、ラパマイシンのシクロヘキシル環におけるヒドロキシル基および／または２８位におけるヒドロキシ基を、ヒドロキシエステル基により置きかえた類似体であり、例えば、ＵＳＲＥ４４,７６８において見出されるラパマイシン類似体、例えば、テムシロリムスが公知である。
【０７８４】
本発明において有用な他のラパマイシン類似体は、１６位におけるメトキシ基を、別の置換基、好ましくはアルキニルオキシ、ベンジル、オルトメトキシベンジル、もしくはクロ

ロベンジルにより置きかえ(ヒドロキシ適宜置換される)、かつ／またはラパマイシンのシクロヘキシル環が、３９位のメトキシ基を欠くシクロペンチル環となるように、３９位におけるメトキシ基を、３９炭素と併せて欠失させた類似体であって、例えば、それらの内容が参照により組み入れられる、ＷＯ９５／１６６９１およびＷＯ９６／４１８０７において説明されている類似体を含む。類似体は、ラパマイシンの４０位におけるヒドロキシをアルキル化し、かつ／または３２カルボニルを還元するように、さらに改変することができる。

【０７８５】

ＷＯ９５／１６６９１によるラパマイシン類似体は、１６－デメトキシ－１６－(ペンター２－イニル)オキシ－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－(ブター２－イニル)オキシ－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－(プロパルギル)オキシ－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－(４－ヒドロキシ－ブター２－イニル)オキシ－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－ベンジルオキシ－４０－Ｏ－(２－ヒドロキシエチル)－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－ベンジルオキシ－ラパマイシン、１６－デメトキシ－１６－オルト－メトキシベンジル－ラパマイシン、１６－デメトキシ－４０－Ｏ－(２－メトキシエチル)－１６－ペンター２－イニル)オキシ－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－ホルミル－４２－ノル－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－ヒドロキシメチル－４２－ノル－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－カルボキシ－４２－ノル－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－(４－メチル－ピペラジン－１－イル)カルボニル－４２－ノル－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－(モルホリン－４－イル)カルボニル－４２－ノル－ラパマイシン、３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－[Ｎ－メチル、Ｎ－(２－ピリジン－２－イル－エチル)]カルバモイル－４２－ノル－ラパマイシンおよび３９－デメトキシ－４０－デスオキシ－３９－(ｐ－トルエンスルホニルヒドラゾノメチル)－４２－ノル－ラパマイシンを含むがこれらに限定されない。

【０７８６】

ＷＯ９６／４１８０７によるラパマイシン類似体は、３２－デオキソ－ラパマイシン、１６－Ｏ－ペント－２－イニル－３２－デオキソ－ラパマイシン、１６－Ｏ－ペント－２－イニル－３２－デオキソ－４０－Ｏ－(２－ヒドロキシ－エチル)－ラパマイシン、１６－Ｏ－ペント－２－イニル－３２－(Ｓ)－ジヒドロ－４０－Ｏ－(２－ヒドロキシエチル)－ラパマイシン、３２(Ｓ)－ジヒドロ－４０－Ｏ－(２－メトキシ)エチル－ラパマイシンおよび３２(Ｓ)－ジヒドロ－４０－Ｏ－(２－ヒドロキシエチル)－ラパマイシンを含むがこれらに限定されない。

【０７８７】

別の適切なラパマイシン類似体は、その内容が参照により組み入れられる、ＵＳ２００５／０１０１６２４において説明されている、ウミロリムスである。

【０７８８】

他にエベロリムス(Ａｆｉｎｉｔｏｒ(登録商標))としても公知のＲＡＤ００１は、各々の内容が参照により組み入れられる、ＵＳ５,６６５,７７２およびＷＯ９４／０９０１０において説明されている通り、化学名(１Ｒ,９Ｓ,１２Ｓ,１５Ｒ,１６Ｅ,１８Ｒ,１９Ｒ,２１Ｒ,２３Ｓ,２４Ｅ,２６Ｅ,２８Ｅ,３０Ｓ,３２Ｓ,３５Ｒ)－１,１８－ジヒドロキシ－１２－{(１Ｒ)－２－[(１Ｓ,３Ｒ,４Ｒ)－４－(２－ヒドロキシエトキシ)－３－メトキシシクロヘキシル]－１－メチルエチル} －１９,３０－ジメトキシ－１５,１７,２１,２３,２９,３５－ヘキサメチル－１１,３６－ジオキサ－４－アザ－トリシクロ[３０.３.１.０４,９]ヘキサトリアコンター１６,２４,２６,２８－テトラエン－２,３,１０,１４,２０－ペンタオンを有する。

【０７８９】

ｍＴＯＲのアロステリック阻害剤のさらなる例は、シロリムス(ラパマイシン、ＡＹ－２２９８９)、４０－[３－ヒドロキシ－２－(ヒドロキシメチル)－２－メチル－プロパノエート]－ラパマイシン(テムシロリムスまたはＣＣＩ－７７９ともまた呼ばれる)およびリダホ

ロリムス(ＡＰ－２３５７３／ＭＫ－８６６９)を含む。ｍＴｏｒのアロステリック阻害剤の他の例は、ゾタロリムス(ＡＢＴ５７８)およびウミロリムスを含む。

【０７９０】

これの代わりにまたはこれに加えて、ｍＴＯＲキナーゼドメインを直接標的とし、ｍＴＯＲＣ１およびｍＴＯＲＣ２の両方を標的とする、ｍＴＯＲのＡＴＰ競合型触媒阻害剤も見出されている。これらはまた、４ＥＢＰ１－Ｔ３７／４６のリン酸化およびキャップ依存性翻訳など、ラパマイシン耐性ｍＴＯＲＣ１のアウトプットをモジュレートするため、ラパマイシンなど、ｍＴＯＲのアロステリック阻害剤より有効な、ｍＴＯＲＣ１の阻害剤でもある。

【０７９１】

触媒阻害剤は、ＢＥＺ２３５、もしくは２－メチル－２－[４－(３－メチル－２－オキソ－８－キノリン－３－イル－２,３－ジヒドロ－イミダゾ[４,５－ｃ]キノリン－１－イル)－フェニル]－プロピオニトリルまたはモノトシル酸塩形態(ＢＥＺ２３５の合成は、ＷＯ２００６／１２２８０６において説明されている)；化学名｛５－[２,４－ビス－((Ｓ)－３－メチル－モルホリン－４－イル)－ピリド[２,３ｄ]ピリミジン－７－イル]－２－メトキシ－フェニル｝－メタノールを有する、ＣＣＧ１６８(他にＡＺＤ－８０５５としても公知である；Chresta, C.M., et al., Cancer Res, 2010, 70(1), 288-298)；３－[２,４－ビス[(３Ｓ)－３－メチルモルホリン－４－イル]ピリド[２,３－ｄ]ピリミジン－７－イル]－Ｎ－メチルベンズアミド(ＷＯ０９１０４０１９)；３－(２－アミノベンゾ[ｄ]オキサゾール－５－イル)－１－イソプロピル－１Ｈ－ピラゾロ[３,４－ｄ]ピリミジン－４－アミン(ＷＯ１００５１０４３およびＷＯ２０１３０２３１８４)；Ｎ－(３－(Ｎ－(３－((３,５－ジメトキシフェニル)アミノ)キノキサリン－２－イル)スルファモイル)フェニル)－３－メトキシ－４－メチルベンズアミド(ＷＯ０７０４４７２９およびＷＯ１２００６５５２)；化学名１－[４－[４－(ジメチルアミノ)ピペリジン－１－カルボニル]フェニル]－３－[４－(４,６－ジモルホリノ－１,３,５－トリアジン－２－イル)フェニル]尿素を有する、ＰＫＩ－５８７(Venkatesan, A.M., J. Med.Chem., 2010, 53, 2636-2645)；化学名２,４－ジフルオロ－Ｎ－｛２－メトキシ－５－[４－(４－ピリダジニル)－６－キノリニル]－３－ピリジニル｝ベンゼンスルホンアミドを有する、ＧＳＫ－２１２６４５８(ACS Med. Chem. Lett., 2010, 1, 39-43)；５－(９－イソプロピル－８－メチル－２－モルホリノ－９Ｈ－プリン－６－イル)ピリミジン－２－アミン(ＷＯ１０１１４４８４)；および(Ｅ)－Ｎ－(８－(６－アミノ－５－(トリフルオロメチル)ピリジン－３－イル)－１－(６－(２－シアノプロパン－２－イル)ピリジン－３－イル)－３－メチル－１Ｈ－イミダゾ[４,５－ｃ]キノリン－２(３Ｈ)－イリデン)シアナミド(ＷＯ１２００７９２６)を含む。

【０７９２】

さらなるｍＴＯＲの触媒阻害剤の例は、８－(６－メトキシ－ピリジン－３－イル)－３－メチル－１－(４－ピペラジン－１－イル－３－トリフルオロメチル－フェニル)－１,３－ジヒドロ－イミダゾ[４,５－ｃ]キノリン－２－オン(ＷＯ２００６／１２２８０６)およびＫｕ－００６３７９４(Garcia-Martinez JM, et al., Biochem J., 2009, 421(1), 29-42；Ｋｕ－００６３７９４とは、ラパマイシンの哺乳動物標的(ｍＴＯＲ)の特異的阻害剤である)を含む。ＷＹＥ－３５４とは、別のｍＴＯＲの触媒阻害剤の例である(Yu K, et al. (2009). Biochemical, Cellular, and In vivo Activity of Novel ATP-Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin. Cancer Res. 69(15): 6232-6240)。

【０７９３】

本発明に従い有用なｍＴＯＲ阻害剤はまた、前出のいずれかのプロドラッグ、誘導体、薬学的に許容される塩または類似体も含む。

【０７９４】

ＲＡＤ００１などのｍＴＯＲ阻害剤は、本明細書で記載される特定の投与に基づく、当業界で十分に確立された方法に基づく送達のために製剤化することができる。特に、米国特許第６,００４,９７３号(参照により本明細書に組み入れられる)は、本明細書で記載される

ｍＴＯＲ阻害剤と共に使用可能な製剤の例を提示している。
【０７９５】
ＣＡＲの有効性またはサンプルの適性を査定するための方法およびバイオマーカー
別の面において、本発明は、対象(例えば、癌、例えば、血液癌を有する対象)における、ＣＡＲ発現細胞療法(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ療法)の有効性またはＣＡＲ療法(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ療法)のためのサンプル(例えば、アフェレーシスサンプル)の適性を査定またはモニタリングする方法を特徴とする。方法は、ＣＡＲ療法の有効性またはサンプルの適性の値を得ることを含み、この場合、前記値は、ＣＡＲ発現細胞療法の有効性または適性を指し示す。
【０７９６】
ある態様において、ＣＡＲ療法の有効性またはサンプルの適性の値は、以下：
(ｉ)サンプル(例えば、アフェレーシスサンプルまたは製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル)中の休眠中のＴＥＦＦ細胞、休眠中のＴＲＥＧ細胞、幼若Ｔ細胞(例えば、幼若ＣＤ４細胞もしくは幼若ＣＤ８細胞またはガンマ／デルタＴ細胞)、もしくは初期メモリーＴ細胞またはこれらの組合せの１、２、３以上(例えば、全て)のレベルまたは活性；
(ii)サンプル(例えば、アフェレーシスサンプルまたは製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル)中の、活性化したＴＥＦＦ細胞、活性化したＴＲＥＧ細胞、経時Ｔ細胞(例えば、経時ＣＤ４細胞または経時ＣＤ８細胞)、もしくは後期メモリーＴ細胞またはこれらの組合せの１、２、３以上(例えば、全て)のレベルまたは活性；
(iii)サンプル(例えば、アフェレーシスサンプルまたは製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル)中の、免疫細胞枯渇マーカー、例えば、１、２またはこれを超える免疫チェックポイント阻害剤(例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３および／またはＬＡＧ－３)のレベルまたは活性。ある態様において、免疫細胞は、枯渇表現型を有する、例えば、少なくとも２の枯渇マーカーを共発現する、例えば、ＰＤ－１およびＴＩＭ－３を共発現する。他の態様において、免疫細胞は、枯渇表現型を有する、例えば、少なくとも２の枯渇マーカーを共発現する、例えば、ＰＤ－１およびＬＡＧ－３を共発現する；
(ｉｖ)サンプル(例えば、アフェレーシスサンプルまたは製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル)中の、例えば、ＣＤ４＋　Ｔ細胞集団内またはＣＤ８＋　Ｔ細胞集団内の、ＣＤ２７および／またはＣＤ４５ＲＯ－(例えば、ＣＤ２７＋　ＣＤ４５ＲＯ－)免疫エフェクター細胞のレベルまたは活性；
(ｖ)ＣＣＬ２０、ＩＬ－１７ａおよび／またはＩＬ－６、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＣＤ５７、ＣＤ２７、ＣＤ１２２、ＣＤ６２Ｌ、ＫＬＲＧ１から選択されるバイオマーカーの１、２、３、４、５、１０、２０以上のレベルまたは活性；
(ｖｉ)ＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル中、例えば、ＢＣＭＡ発現細胞生成物のサンプル中の、サイトカインのレベルまたは活性(例えば、サイトカインレパートリーの品質)；あるいは
(vii)製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル中の、ＣＡＲ発現細胞の形質導入効率の１、２、３、４、５、６以上の(全て)の尺度を含む。
【０７９７】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、ＣＡＲ発現細胞療法は、複数のＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞(例えば、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞の集団)、例えば、複数のＴ細胞またはＮＫ細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞の集団)またはこれらの組合せを含む。ある態様において、ＣＡＲ発現細胞療法は、ＢＣＭＡＣＡＲ療法である。
【０７９８】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(ｉ)～(vii)の１以上の尺度は、対象から入手されたアフェレーシスサンプルから得る。アフェレーシスサンプルは、注入または再注入の前に査定することができる。
【０７９９】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(ｉ)～(vii)の１以上

の尺度は、製造されたＣＡＲ発現細胞生成物のサンプル、例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ発現細胞生成物のサンプルから得る。製造されたＣＡＲ発現細胞生成物は、注入または再注入の前に査定することができる。

【０８００】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、ＣＡＲ発現細胞療法を施される前に、これを施される時にまたはこれを施された後で、対象を査定する。

【０８０１】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(ｉ)～(vii)の１以上の尺度は、遺伝子発現、フローサイトメトリーまたはタンパク質発現の１以上についてのプロファイルを査定する。

【０８０２】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、方法は、(ｉ)～(vii)の１以上の尺度に基づき、対象を、応答例、非応答例、再発例または非再発例として同定することをさらに含む。

【０８０３】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、応答例(例えば、完全応答例)は、ＧＺＭＫ、ＰＰＦ１ＢＰ２またはナイーブＴ細胞の１、２以上の(全て)の、非応答例と比較して、高度なレベルまたは大きな活性を有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８０４】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、ＩＬ２２、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２１、ＩＲＦ８、ＩＬ８、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、エフェクターＴ細胞または調節性Ｔ細胞の１、２、３、４、５、６、７以上の(例えば、全て)の、応答例と比較して、高度なレベルまたは大きな活性を有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８０５】

ある態様において、再発例とは、以下の遺伝子：ＭＩＲ１９９Ａ１、ＭＩＲ１２０３、ｕｃ０２１ｏｖｐ、ＩＴＭ２ＣおよびＨＬＡ－ＤＱＢ１の１以上(例えば、以下の遺伝子の２、３、４または全て)の発現レベルの、非再発例と比較した上昇、ならびに／または以下の遺伝子：ＰＰＩＡＬ４Ｄ、ＴＴＴＹ１０、ＴＸＬＮＧ２Ｐ、ＭＩＲ４６５０－１、ＫＤＭ５Ｄ、ＵＳＰ９Ｙ、ＰＲＫＹ、ＲＰＳ４Ｙ２、ＲＰＳ４Ｙ１、ＮＣＲＮＡ００１８５、ＳＵＬＴ１Ｅ１およびＥＩＦ１ＡＹの１以上(例えば、以下の遺伝子の２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１または全て)の発現のレベルの、非再発例と比較した低下を有するかまたはこれを有するものとして同定される患者である。

【０８０６】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、完全応答例は、参照値、例えば、非応答例におけるＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージと比較して大きな、例えば、統計学的に有意な大きな、ＣＤ８＋　Ｔ細胞のパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８０７】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、完全応答例は、参照値、例えば、非応答例におけるＣＤ２７＋　ＣＤ４５ＲＯ－免疫エフェクター細胞の数と比較して大きな、例えば、ＣＤ８＋　集団内の、ＣＤ２７＋　ＣＤ４５ＲＯ－免疫エフェクター細胞のパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８０８】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、完全応答例または部分応答例は、参照値、例えば、非応答例におけるＣＤ４＋　Ｔ細胞のパーセンテージと比較して大きな、例えば、統計学的に有意な大きな、ＣＤ４＋　Ｔ細胞のパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８０９】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、完全応答例は、休眠中のＴＥＦＦ細胞、休眠中のＴＲＥＧ細胞、幼若Ｔ細胞(例えば、幼若ＣＤ４細胞もしくは幼若ＣＤ８細胞またはガンマ／デルタＴ細胞)、もしくは初期メモリーＴ細胞またはこれらの組合せの１、２、３以上(例えば、全て)の、参照値、例えば、非応答例における休眠中のＴＥＦＦ細胞、休眠中のＴＲＥＧ細胞、幼若Ｔ細胞(例えば、幼若ＣＤ４細胞または幼若ＣＤ８細胞)または初期メモリーＴ細胞の数と比較して大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１０】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、活性化したＴＥＦＦ細胞、活性化したＴＲＥＧ細胞、経時Ｔ細胞(例えば、経時ＣＤ４細胞または経時ＣＤ８細胞)、もしくは後期メモリーＴ細胞またはこれらの組合せの１、２、３以上(例えば、全て)の、参照値、例えば、応答例における活性化したＴＥＦＦ細胞、活性化したＴＲＥＧ細胞、経時Ｔ細胞(例えば、経時ＣＤ４細胞または経時ＣＤ８細胞)または後期メモリーＴ細胞の数と比較して大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１１】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、免疫細胞枯渇マーカー、例えば、１、２またはこれを超える免疫チェックポイント阻害剤(例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＴＩＭ－３および／またはＬＡＧ－３)大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。ある態様において、非応答例は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１またはＬＡＧ－３を発現する免疫エフェクター細胞(例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞および／またはＣＤ８＋　Ｔ細胞)(例えば、ＣＡＲ発現ＣＤ４＋　細胞および／またはＣＤ８＋　Ｔ細胞)の、応答例に由来するＰＤ－１またはＬＡＧ－３を発現する免疫エフェクター細胞のパーセンテージと比較して大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１２】

ある態様において、非応答例は、枯渇表現型を有する免疫細胞、例えば、少なくとも２の枯渇マーカーを共発現する、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１および／またはＴＩＭ－３を共発現する免疫細胞大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。他の態様において、非応答例は、枯渇表現型を有する免疫細胞、例えば、少なくとも２の枯渇マーカーを共発現する、例えば、ＰＤ－１およびＬＡＧ－３を共発現する免疫細胞が大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１３】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、ＣＡＲ発現細胞集団(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ＋細胞集団)内のＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１＋／ＬＡＧ－３＋細胞の、ＣＡＲ発現細胞療法による応答例(例えば、完全応答例)と比較して大きなパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１４】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、部分応答例は、ＣＡＲ発現細胞集団(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ＋細胞集団)内のＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１＋／ＬＡＧ－３＋細胞の、応答例より高度なパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１５】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、ＣＡＲ発現細胞集団(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ＋細胞集団)内のＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１＋　ＣＡＲ＋の枯渇表現型およびＬＡＧ３の共発現を有するかまたはこれを有するものとして同定される。

【０８１６】

本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、非応答例は、ＣＡＲ発現細胞集団(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ＋細胞集団)内のＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１＋／ＴＩＭ－３＋細胞の、応答例(例えば、完全応答例)と比較して大きなパーセンテージを有するか

またはこれを有するものとして同定される。
【０８１７】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、部分応答例は、ＣＡＲ発現細胞集団(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ＋細胞集団)内のＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１＋／ＴＩＭ－３＋細胞の、応答例より高度なパーセンテージを有するかまたはこれを有するものとして同定される。
【０８１８】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、アフェレーシスサンプル中のＣＤ８＋　ＣＤ２７＋　ＣＤ４５ＲＯ－　Ｔ細胞の存在は、ＣＡＲ発現細胞療法(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ療法)に対する対象の応答の、陽性の予測因子である。
【０８１９】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、アフェレーシスサンプル中のＰＤ１＋　ＣＡＲ＋　Ｔ細胞およびＬＡＧ３＋　Ｔ細胞またはＴＩＭ３＋　Ｔ細胞の高度なパーセンテージは、ＣＡＲ発現細胞療法(例えば、ＢＣＭＡＣＡＲ療法)に対する対象の応答の、予後不良の予測因子である。
【０８２０】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、応答例(例えば、完全応答例または部分応答例)以下のプロファイル：
(ｉ)ＣＤ２７＋免疫エフェクター細胞の数が、参照値、例えば、非応答例におけるＣＤ２７＋免疫エフェクター細胞の数と比較して大きいこと；
(ii)ＣＤ８＋　Ｔ細胞の数が、参照値、例えば、非応答例におけるＣＤ８＋　Ｔ細胞の数と比較して大きいこと；
(iii)１以上のチェックポイント阻害剤、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、もしくはＫＬＲＧ－１またはこれらの組合せから選択されるチェックポイント阻害剤を発現する免疫細胞の数が、参照値、例えば、非応答例における１以上のチェックポイント阻害剤を発現する細胞の数と比較して小さいこと；あるいは
(ｉｖ)休眠中のＴＥＦＦ細胞、休眠中のＴＲＥＧ細胞、ナイーブＣＤ４細胞、刺激されていないメモリー細胞もしくは初期メモリーＴ細胞またはこれらの組合せの１、２、３、４以上の(全て)の数が、参照値、例えば、非応答例における休眠中のＴＥＦＦ細胞、休眠中のＴＲＥＧ細胞、ナイーブＣＤ４細胞、刺激されていないメモリー細胞または初期メモリーＴ細胞の数と比較して大きいこと
の１、２、３以上(または全て)を有する。
【０８２１】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(ｖｉ)のサイトカインのレベルまたは活性は、サイトカインである、ＣＣＬ２０／ＭＩＰ３ａ、ＩＬ１７Ａ、ＩＬ６、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＦＮγ、ＩＬ１０、ＩＬ１３、ＩＬ２、ＩＬ２１、ＩＬ４、ＩＬ５、ＩＬ９、もしくはＴＮＦαまたはこれらの組合せの１、２、３、４、５、６、７、８以上の(全て)から選択される。サイトカインは、ＩＬ－１７ａ、ＣＣＬ２０、ＩＬ２、ＩＬ６またはＴＮＦａの１、２、３、４以上の(全て)から選択することができる。ある態様において、サイトカインのレベルの上昇または活性の増加は、ＩＬ－１７ａおよびＣＣＬ２０の一方または両方から選択され、応答性の増加または再発の減少を指し示す。
【０８２２】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(vii)における形質導入効率が１５％またはこれを超えることは、応答性の増加または再発の減少を指し示す。
【０８２３】
本明細書で開示された方法のいずれかの、いくつかの態様において、(vii)における形質導入効率が１５％未満であることは、応答性の減少または再発の増加を指し示す。
【０８２４】
ある態様において、本明細書の方法により同定される応答例、非応答例、再発例または非再発例は、臨床基準に従い、さらに査定することができる。例えば、完全応答例は、疾患

、例えば、癌を有するかまたはこれを有する対象であって、処置に対する完全応答、例えば、完全寛解を呈示する対象として同定される。完全応答は、例えば、本明細書で記載される通り、ＮＣＣＮ　Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ(登録商標)またはCheson et al, J Clin Oncol 17:1244 (1999)およびCheson et al., “Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma”, J Clin Oncol 25:579-586 (2007)(これらのいずれもが参照によりそれらの全体において本明細書に組み入れられる)を使用して同定することができる。部分応答例は、疾患、例えば、癌を有するかまたはこれを有する対象であって、処置に対する部分応答、例えば、部分寛解を呈示する対象として同定される。部分応答は、例えば、本明細書で記載される通り、ＮＣＣＮ　Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ(登録商標)またはＣｈｅｓｏｎによる基準を使用して同定することができる。非応答例は、疾患、例えば、癌を有するかまたはこれを有する対象であって、処置に対する応答を呈示しない対象として同定され、例えば、患者は、安定(stable disease)または進行(progressive disease)を示す。非応答例は、例えば、本明細書で記載される通り、ＮＣＣＮ　Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ(登録商標)またはＣｈｅｓｏｎによる基準を使用して同定することができる。

【０８２５】

代替的にまたは本明細書で開示された方法と組み合わせて、前記値に応じて、

例えば、応答例または非再発例に、ＣＡＲ発現細胞療法を投与すること；

ＣＡＲ発現細胞療法の用量を変更して投与すること；

ＣＡＲ発現細胞療法のスケジュールまたは時間経過を変更すること；

例えば、非応答例または部分応答例に、ＣＡＲ発現細胞療法と組み合わせたさらなる薬剤、例えば、本明細書で記載されるチェックポイント阻害剤、例えば、チェックポイント阻害剤を投与すること；

非応答例または部分応答例に、ＣＡＲ発現細胞療法による処置の前に、対象における幼若Ｔ細胞の数を増加させる治療を投与すること；

ＣＡＲ発現細胞療法の製造工程を改変すること、例えば、ＣＡＲをコードする核酸を導入する前に、幼若Ｔ細胞を濃縮することまたは、例えば、非応答例もしくは部分応答例として同定された対象について、形質導入効率を増加させること；

例えば、非応答例または部分応答例または再発例のための代替的治療を投与すること；あるいは

対象が、非応答例または再発例であるかまたはこれとして同定される場合、例えば、ＣＤ２５の枯渇、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体またはこれらの組合せの投与の１以上により、ＴＲＥＧ細胞集団および／またはＴＲＥＧ遺伝子署名を減少させること

の１、２、３、４以上のを実施する。

【０８２６】

ある特定の態様において、対象を、抗ＧＩＴＲ抗体により前処置する。ある特定の態様において、注入または再注入の前に、対象を、抗ＧＩＴＲ抗体により処置する。

【０８２７】

バイオポリマーの送達法

いくつかの態様において、本明細書で開示された、１以上のＣＡＲ発現細胞を、対象に、バイオポリマー足場、例えば、バイオポリマーインプラントを介して、投与または送達することができる。バイオポリマー足場は、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞の送達、拡大および／または分散を支援または増強し得る。バイオポリマー足場は、天然に存在する場合もあり、合成の場合もある、生体適合性ポリマー(例えば、炎症応答または免疫応答を実質的に誘導しない)および／または生体分解性ポリマーを含む。

【０８２８】

適切なバイオポリマーの例は、寒天、アガロース、アルギン酸、アルギン酸／リン酸カルシウムセメント(ＣＰＣ)、ベーターガラクトシダーゼ(β－ＧＡＬ)、(１,２,３,４,６－ペンタアセチルａ－Ｄ－ガラクトース)、セルロース、キチン、キトサン、コラーゲン、エラスチン、ゼラチン、ヒアルロン酸コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、ポリ(３－ヒドロキシ酪酸－コ－３－ヒドロキシ－ヘキサン酸)(ＰＨＢＨＨｘ)、ポリ(ラクチド)、ポリ(カプロラ

クトン)(ＰＣＬ)、ポリ(ラクチド－コ－グリコリド)(ＰＬＧ)、ポリエチレンオキシド(ＰＥＯ)、ポリ(乳酸－コ－グリコール酸)(ＰＬＧＡ)、ポリ酸化プロピレン(ＰＰＯ)、ポリビニルアルコール(ＰＶＡ)、シルク、ダイズタンパク質および単独でまたは任意の濃度および任意の比で、他の任意のポリマー組成物と組み合わせたダイズタンパク質単離物を含むがこれらに限定されない。バイオポリマーは、接着促進分子または遊走促進分子、例えば、リンパ球のコラーゲン受容体に結合するコラーゲン模倣ペプチドおよび／または送達される細胞の送達、拡大または機能、例えば、抗癌活性を増強する刺激分子により強化または改変することができる。バイオポリマー足場は、注射剤、例えば、ゲル組成物もしくは半固体組成物または固体組成物であり得る。

【０８２９】

いくつかの態様において、本明細書で記載されるＣＡＲ発現細胞を、対象への送達の前に、バイオポリマー足場に播種する。ある態様において、バイオポリマー足場は、例えば、足場のバイオポリマーに組み込むかまたはコンジュゲートさせた、本明細書で記載される１以上のさらなる治療剤(例えば、別のＣＡＲ発現細胞、抗体または低分子)またはＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤をさらに含む。ある態様において、バイオポリマー足場を、腫瘍においてまたは抗腫瘍効果を媒介するのに十分な腫瘍の近傍内に、例えば、腫瘍内注射するかまたは手術により植え込む。それらの送達のためのバイオポリマー組成物および方法さらなる例は、Stephan et al., Nature Biotechnology, 2015, 33:97-101；およびＷＯ２０１４／１１０５９１において説明されている。

【０８３０】

医薬組成物および処置

本発明の医薬組成物は、ＣＡＲ発現細胞、例えば本明細書で説明したような複数のＣＡＲ発現細胞を、１以上の薬学的または生理学的に許容できる担体、希釈剤または賦形剤と組み合わせて含んでいてもよい。このような組成物は、緩衝液、例えば中性緩衝食塩水、リン酸緩衝生理食塩水および同種のもの；炭水化物、例えばグルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン、マンニトール；タンパク質；ポリペプチドまたはアミノ酸、例えばグリシン；抗酸化剤；キレート剤、例えばＥＤＴＡまたはグルタチオン；アジュバント(例えば、水酸化アルミニウム)；および保存剤を含んでいてもよい。ある面において、本発明の組成物は、静脈内投与用に製剤化される。

【０８３１】

本発明の医薬組成物は、処置する(または予防する)疾患に適切な方式で投与されてもよい。投与の量および頻度は、患者の状態、ならびに患者の疾患のタイプおよび重症度のような要素によって決定されると予想されるが、適切な投薬は臨床試験によって決定してもよい。

【０８３２】

ある態様において、医薬組成物は、例えば、内毒素、マイコプラスマ、複製能を有するレンチウイルス(ＲＣＬ)、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ　ｇａｇ、残留した抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８でコーティングされたビーズ、マウス抗体、プールされたヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培養培地の成分、ベクターのパッケージング細胞またはプラスミド成分、細菌および真菌からなる群より選択される汚染物質を実質的に含まず、例えば、それらのレベルが検出可能ではない。ある態様において、細菌は、アルカリゲネス・フェカーリス(Alcaligenes faecalis)、カンジダ・アルビカンス(Candida albicans)、エシェリキア・コリ(Escherichia coli)、ヘモフィルス・インフルエンザ(Haemophilus influenza)、ナイセリア・メニンギティディス(Neisseria meningitides)、シュードモナス・アエルギノーサ(Pseudomonas aeruginosa)、スタフィロコッカス・アウレウス(Staphylococcus aureus)、ストレプトコッカス・ニューモニエ(Streptococcus pneumonia)およびストレプトコッカス・ピオゲネス(Streptococcus pyogenes)Ａ群からなる群より選択される少なくとも１つである。

【０８３３】

「免疫学的有効量」、「抗腫瘍有効量」、「腫瘍阻害有効量」または「治療量」が提示さ

れる場合、投与する本発明の組成物の正確な量は、患者(対象)の年齢、体重、腫瘍のサイズ、感染または転移の程度および状態の個体差を医師が検討することによって決定することができる。一般的に、本明細書で記載されるＴ細胞を含む医薬組成物は、範囲内の全ての整数値を含め、細胞１０^{4}から１０^{9}個／kg体重の投薬量、いくつかの場合において細胞１０^{5}から１０^{6}個／kg体重の投薬量で投与されてもよいと概説することができる。またＴ細胞組成物は、これらの投薬量で複数回投与してもよい。細胞は、免疫療法で一般的によく知られている注入技術を使用することによって投与してもよい(例えば、Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988を参照)。

【０８３４】

ある面において、対象に活性化されたＴ細胞を投与し、その後続いて再度採血し(またはアフェレーシスが行われ)、それからのＴ細胞を本発明に従って活性化し、これらの活性化され拡大したＴ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、数週間に複数回実行してもよい。ある面において、１０ccから４００ccの採取された血液から、Ｔ細胞を活性化することができる。ある面において、２０cc、３０cc、４０cc、５０cc、６０cc、７０cc、８０cc、９０ccまたは１００ccの採取された血液から、Ｔ細胞を活性化する。

【０８３５】

本組成物の投与は、例えばエアロゾル吸入法、注射、取り込み、輸注、埋め込みまたは移植などによるあらゆる便利な方式で実行することができる。本明細書で記載される組成物は、動脈経由、皮下、皮内、腫瘍内、リンパ節経由、髄内、筋肉内、静脈内(ｉ.ｖ.)注射でまたは腹腔内で、患者に投与されてもよい。ある面において、本発明のＴ細胞組成物は、皮内または皮下注射によって患者に投与される。ある面において、本発明のＣＡＲ発現細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)組成物を、ｉ.ｖ.注射により投与する。ＣＡＲ発現細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の組成物は、腫瘍、リンパ節または感染部位に直接注射することができる。

【０８３６】

特定の例示的な面において、対象は、リューカフェレーシスを受ける可能性があり、この場合、目的の細胞、例えば、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を選択および／または単離するように、白血球を、エクスビボにおいて集めるか、濃縮するかまたは枯渇させる。これらの免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)単離物を、当業界公知の方法により拡大し、本発明の１以上のＣＡＲ構築物を導入し、これにより、本発明のＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲ　Ｔ細胞またはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を創出し得るように処置することができる。それを必要とする対象は、その後、高用量の化学療法による標準的な処置に続き、末梢血幹細胞移植を受ける場合がある。ある特定の面において、移植に続きまたは移植と並列して、対象に、拡大させた本発明のＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲ　Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の注入を施す。さらなる面において、拡大させた細胞を、手術の前にまたは手術に続いて投与する。

【０８３７】

ある態様において、例えば、本明細書で記載されるＣＡＲを発現する、１以上の細胞、例えば、本明細書で記載される、ＢＣＭＡ結合ＣＡＲを投与する前に、対象において、リンパ枯渇を実施する。ある態様において、リンパ枯渇は、メルファラン、サイトキサン、シクロホスファミドおよびフルダラビンの１以上を投与することを含む。

【０８３８】

患者に投与する上記の処置の投与は、処置される状態の正確な性質および処置を受けるレシピエントに応じて様々であると予想される。ヒトへの投与に関する投薬量の尺度化は、当業界で容認された実施に従って行うことができる。例えばＣＡＭＰＡＴＨに関する用量は、一般的に、成人の患者の場合、１mgから約１００mgの範囲であり、通常１日から３０日までの期間毎日投与されると予想される。好ましい１日用量は、１mgから１０mg／１日であるが、いくつかの場合において、それより多くの最大４０mg／日の用量が使用される場合もある(米国特許第６,１２０,７６６号で説明されている)。

【０８３９】
ある態様において、例えば、インビトロにおける転写を使用して、ＣＡＲを、免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)に導入し、対象(例えば、ヒト)に、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の初回投与および本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の１回または複数回の後続投与を施し、１回または複数回の後続投与を、先行投与の１５日未満後、例えば、１４日、１３日、１２日、１１日、１０日、９日、８日、７日、６日、５日、４日、３日または２日後に行う。ある態様において、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、１回を超える投与を、対象(例えば、ヒト)に、毎週行う、例えば、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、２、３または４回の投与を、毎週行う。ある態様において、対象(例えば、ヒト対象)に、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、１回を超える毎週の投与(例えば、２、３または４回にわたる毎週の投与)(本明細書ではまた、サイクルとも称する)を施すのに続いて、１週間にわたり、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を投与せず、次いで、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、１回または複数回のさらなる投与(例えば、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)の、１回を超える毎週の投与)を、対象に行う。別の態様において、対象(例えば、ヒト対象)に、１を超えるサイクルのＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を施し、各サイクルの間の時間は、１０日間、９日間、８日間、７日間、６日間、５日間、４日間または３日間未満である。ある態様において、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を、隔日で、毎週３回の投与にわたり投与する。ある態様において、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞(例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞)を、少なくとも２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間またはこれを超えて投与する。
【０８４０】
ある面において、レンチウイルスなど、レンチウイルスウイルスベクターを使用して、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴまたはＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を生成する。このようにして生成されたＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴまたはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)は、安定的なＣＡＲ発現を示すであろう。
【０８４１】
ある面において、ガンマレトロウイルスベクター、例えば、本明細書で記載されるガンマレトロウイルスベクターなどのウイルスベクターを使用して、ＣＡＲ発現細胞、例えば、ＣＡＲＴを生成する。これらのベクターを使用して生成されたＣＡＲＴは、安定的なＣＡＲ発現を示し得る。
【０８４２】
ある面において、ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴまたはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)は、ＣＡＲベクターを、形質導入後４日間、５日間、６日間、７日間、８日間、９日間、１０日間、１１日間、１２日間、１３日間、１４日間、１５日間にわたり、一過性に発現する。ＣＡＲの一過性発現は、ＲＮＡ　ＣＡＲベクターの送達により実行することができる。ある面において、ＣＡＲ　ＲＮＡで、細胞、例えば、Ｔ細胞またはＮＫ細胞を、エレクトロポレーションにより形質導入する。
【０８４３】
ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴまたはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)を使用して(特に、マウスｓｃＦｖを保有するＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴまたはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)により)処置される患者において生じ得る潜在的な問題は、複数回にわたる処置後におけるアナフィラキシーである。
【０８４４】
この理論に縛られることは望まないが、このようなアナフィラキシー応答は、患者が体液性抗ＣＡＲ応答、すなわち抗ＩｇＥアイソタイプを有する抗ＣＡＲ抗体を発生させることによって引き起こされる可能性があると考えられる。抗原曝露が１０日から１４日中断さ

れると、患者の抗体産生細胞が、ＩｇＧアイソタイプ(アナフィラキシーを引き起こさない)からＩｇＥアイソタイプへのクラススイッチを経ると考えられる。

【０８４５】

患者が、一過性ＣＡＲ療法の経過中に、抗ＣＡＲ抗体応答(ＲＮＡの形質導入により発生する抗ＣＡＲ抗体応答など)を発生させる危険性が高い場合も、ＣＡＲ発現細胞(例えば、ＣＡＲＴまたはＣＡＲ発現ＮＫ細胞)の注入の中断は、１０～１４日間を超えないものとする。

【実施例】

【０８４６】

以下の実施例を参照しながら本発明をさらに詳細に説明する。これらの実施例は単に例示のために示されたものであり、特に他の規定がない限り限定を意図していない。したがって、本発明は、以下の実施例に限定されると決して解釈されず、本明細書で示された教示の結果として明らかになるありとあらゆるバリエーションを包含すると解釈されるものとする。

【０８４７】

当業者は、さらなる説明がなくても、前述の説明および以下の説明に役立つ例を使用して、本発明の化合物を作製し利用して、特許請求された方法を実施することができると考えられる。以下の実施例は、本発明の様々な面を具体的に指摘するが、開示のその他の部分を限定すると決して解釈されないものとする。

【０８４８】

実施例１：ＢＣＭＡは骨髄腫細胞株および原発サンプルにおいて発現される

定量的ＰＣＲによる骨髄腫細胞株におけるＢＣＭＡ発現の分析

ヒト癌の１６細胞株を定量的ＲＴ－ＰＣＲによりＢＣＭＡ　ＲＮＡ発現についてスクリーニングした。ＲＮＡはＲＮＡqueos－４ＰＣＲキット(Ambion、ＡＭ－１９１４)を用いて抽出し、ｃＤＮＡはＲＴ－ｑＰＣＲ用iScript Reverse Transcription Supermix(BioRad、１７０－８８４１)を用いて合成した。相対的ＢＣＭＡ　ｃＤＮＡコピーは、ＡＢＩ　ＴａｑＭａｎ　ＢＣＭＡ特異的プライマーおよびプローブセット(ＡＢＩ、Ｈｓ０３０４５０８０、ロット：１１３９７７７)；標準化用にＴａｑＭａｎ　ＧＵＳＢ(ＡＢＩ、Ｈｓ９９９９９９０８＿Ｍ１、ロット：１０９３８６９)プライマーおよびプローブセットを用いて相対的ｑＰＣＲ(ｑＰＣＲ)により定量化した。

ｑＰＣＲの分析により、試験した全てのＭＭ細胞株(Ｕ２６６、ＮＣＩ　Ｈ９２９およびＲＰＭＩ　８２２６)がＢＣＭＡを発現することが示された。ＢＣＭＡは、ＢＪＡＢおよびＬＣＬ細胞(Ｂ細胞リンパ芽球様細胞株)ならびにＣＥＭ細胞(Ｔ－リンパ芽球様細胞株)でも検出された。その他の非ＭＭ細胞株で、ＢＣＭＡの検出可能な発現を示したものはなかった。このＲＮＡ分析は、評価において使用される陽性ＢＣＭＡ発現細胞株の選択のためのフローサイトメトリーによるタンパク質検出を補完する。詳細な結果は図１Ａに提供されている。形質細胞におけるおよび患者由来の異なる多発性骨髄腫サンプルにおけるＢＣＭＡ発現のＲＮＡ分析の比較は図１Ｂに提供されている。

【０８４９】

フローサイトメトリーによる多発性骨髄腫細胞株および原発サンプルにおけるＢＣＭＡ発現の分析

多発性骨髄腫(ＭＭ)細胞株Ｕ２６６、ＮＣＩ　Ｈ９２９もしくはＲＰＭＩ　８２２６またはＭＭ患者由来の原発サンプル(ＰＢまたはＢＭ)は、ヒトＢＣＭＡ／ＴＮＦＲＳＦ１７フィコエリトリン親和性精製ＰＡｂ、ヤギＩｇＧ(Ｒ＆Ｄ、ＦＡＢ１９３Ｐ)を用いて染色した。多発性骨髄腫患者由来の原発サンプルは、Ｌｉｖｅ／ｄｅａｄ色素(ＬｉｆｅＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｌ３４９６０)、ＣＤ４５－ＢＶ４２１(Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、３０４０３２)、ＣＤ３８－ＡＰＣｅＦ７８０(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　４７－０３８９－４２)、ＣＤ１３８－ＡＰＣ(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　１７－１３８９－４２)、ＣＤ１９－ＰＥＣＹ７(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｅ１０３２８－１６３２)、ラムダ鎖－ＰｅｒＣＰ－ｅＦ

７１０(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　４６－９９９０－４２)およびカッパ軽鎖(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、１１－９９７０－４２)でも染色した。染色したサンプルからのデータはＢＤ　Ｆｏｒｔｅｓｓａサイトメーターを使用して収集した。フローサイトメトリー分析はＦｌｏｗｊｏ　ｖ１０(Tree Star　Ｉｎｃ)を使用して実施した。
ＢＣＭＡは、図２Ａ、２Ｂおよび２Ｃに示される３ＭＭ細胞株全ての表面で検出された。さらに、ＢＣＭＡは、分析したＭＭ患者の大半(１０のうち９)において大多数のクローン(カッパまたはラムダに限定される)形質細胞上で均一に発現されていた。(図２Ｄおよび２Ｅ)。これらの結果は、ＭＭ中の標的としてのＢＣＭＡの関連性を強力に支持している。
【０８５０】
正常な末梢血細胞、ＣＤ３／ＣＤ２８拡大Ｔ細胞および骨髄幹細胞におけるＢＣＭＡ発現のフローサイトメトリー分析
正常組織におけるおよびＴ細胞上でのＢＣＭＡの考えられる的外れの発現を除外するため、ボランティアの健康なドナーからの２骨髄(ＢＭ)および末梢血(ＰＢ)検体におけるＢＣＭＡ発現をフローサイトメトリーにより評価した。単核細胞はＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ(ＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ)勾配分離を通じて得た。ＢＭ細胞はＬｉｖｅ／ｄｅａｄ色素(ＬｉｆｅＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｌ３４９６０)で標識し、次に、ＣＤ３４－ＡＰＣ(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、１７－０３４９－４２)、ＣＤ３８－ＰＥＣＹ７(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、２５－０３８９－４２)、ヒト造血系統マーカーｍｉｘ－ＦＩＴＣ(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、２２－７７７８－７２)、ＣＤ４５ＲＡ－ＡＰＣ－ｅＦ７８０(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、４５－０９０９－４２)、ＣＤ９０－ＰｅｒＣＰＣｙ５.５(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、４５－０９０９－４１)、ＣＤ１０－ＢＶ４２１(Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、３１２２１８)およびＢＣＭＡ－ＰＥ(Ｒ＆Ｄ、ＦＡＢ１９３Ｐ)に対するモノクローナル抗体で染色した。新鮮なＰＢ細胞はベースラインでおよびＣＤ３／ＣＤ２８ビーズを用いた刺激と拡大に続いて染色した。ＰＢはＣＤ１４－Ｖ５００(ＢＤ、５６１３９１)、ＣＤ４５－ＢＶ４２１(Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、３０４０３２)、ＣＤ３－ＡＦ７００(５６－００３８－４２)、ＣＤ１９－ＰＥＣＹ７(ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｅ１０３２８－１６３２)およびＢＣＭＡ－ＰＥ(Ｒ＆Ｄ、ＦＡＢ１９３Ｐ)に対するモノクローナル抗体で染色した。細胞は２度洗浄し、染色データはＢＤ　Ｆｏｒｔｅｓｓａサイトメーターにおいて取得した。フローサイトメトリー分析はＦｌｏｗｊｏ　ｖ１０(Tree Star　Ｉｎｃ)を使用して実施した。
ＰＢＭＣ上ではＢＣＭＡ発現の証拠は全く観察されなかった。重要なのは、Ｔ細胞が拡大中ＢＣＭＡに対して陰性のままであったことである。(図３Ａ)。ＢＭ中の異なる幹細胞サブセットの分析により、系統陰性ＣＤ３４陽性幹細胞上ではＢＣＭＡの発現は明らかにならなかった。特に、リンパ球系共通前駆細胞および造血幹細胞は陰性であった。(図３Ｂ)。
【０８５１】
免疫組織化学による正常組織におけるＢＣＭＡ発現の分析
免疫組織化学のための３種の市販の抗体(Ｎｏｖｕｓ、Ｓｉｇｍａ)を選択し、パラフィン固定正常脾臓組織において滴定した。２７の健康なヒト組織を含む、組織マイクロアレイ(ＴＭＡ)を免疫組織化学により染色した。３種の抗体は全てリンパ節、脾臓および扁桃腺の正常な形質細胞上で陽性染色を示し、試験した正常な肺、膵臓および甲状腺では陰性であった。染色は、入手可能な抗体がポリクローナル性であるためにおそらく非特異的であるが、以下の器官：胃、唾液腺、腎臓、副腎、小脳、心臓および虫垂において観察された。選択された結果は図４Ａ～４Ｅに示されており、表１１に要約されている。
【０８５２】

【表６３】

表１１．正常組織における免疫組織化学染色によるＢＣＭＡ発現

部位	n=	染色
胎盤	2	neg
脂肪	2	neg
膀胱	2	neg
大脳皮質	2	neg
小脳	2	pos
乳房	0	N/A
子宮頸	1	neg
結腸	2	pos
横隔膜	2	neg
十二指腸	2	pos
食道	2	pos
胆嚢	2	neg
心臓	2	neg
回腸	2	pos
空腸	2	pos
腎臓	2	neg
肝臓	2	neg
肺	2	neg
卵巣	2	neg
膵臓	2	neg
甲状腺	1	neg
直腸	2	pos
皮膚	2	neg
骨格筋	2	neg
脾臓	2	pos
胃	2	pos
精巣	2	neg
胸腺	2	neg
平滑筋	2	neg
扁桃腺	1	pos
子宮	2	neg

これらの結果により、特にこれらの組織におけるＢＣＭＡ発現の欠如を確かめるためにＲＮＡスコープインサイチュハイブリダイゼーションを使用して、発現をさらに分析した。選択された結果は図４Ｆに示されている。

【０８５３】

実施例２：ヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するＣＡＲのインビトロ評価

ヒト化マウス抗ＢＣＭＡ抗体から生成されるＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物

４の異なる抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物をＰＣＴ出願ＷＯ２０１２／１６３８０５に開示されるＶＬおよびＶＨ配列を使用して設計した(前記特許文献の内容は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)。抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを作り出すため、ＶＨおよびＶＬ配列を合成し、[Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ]×４リンカー(配列番号２７)を用いて結合させ、ＶＨがＶＬに先行する(Ｈ２Ｌ、配列番号２５５)またはＶＬがＶＨに先行する(Ｌ２Ｈ、配列番号２５７)２一本鎖可変フラグメント(ｓｃＦｖ)を作り出した。ＣＤ８リーダーも合成してＢａｍＨＩ部位を有するそれぞれのｓｃＦｖの５’末端に融合させ、合

成時にはＸｂａＩおよびＢｓｐＥ１に対する制限部位をそれぞれ５’および３’末端に含ませて、ヒンジならびに４－１ＢＢおよびＣＤ３ｚ細胞質ドメインを有するＣＤ８ＴＭ領域を含有するｐＴＲＰＥレンチウイルスベクターへのＣＤ８リーダー－ｓｃＦｖのクローニングを促進させた。１つはヒトＣＤ８ヒンジを含有しもう一方はヒトＩｇＧ４ヒンジを含有する、２の別々のＣＡＲ骨格構築物をクローニングのために使用して、図５に模式的に示される４抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を生成し、ｐＢＣＭＡ１、ｐＢＣＭＡ２、ｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４と命名した。感染性のレンチウイルスベクター上清を生成するため、２９３－Ｔ細胞に、リポフェクタミン２０００(Invitrogen)を利用して以下のプラスミド：ｐＴＲＰ－ＶＳＶ－Ｇ(水疱性口内炎ウイルス(ＶＳＶ－Ｇ)エンベロープをコードする)、ｐＴＲＰ　ｇａｇ／ｐｏｌ(ｇａｇおよびｐｏｌをコードする)およびｐＴＲＰ－Ｒｅｖを４ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物と一緒にトランスフェクトした。

【０８５４】

ＶＨがＶＬに先行するヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｈ２Ｌ、例えば、ｐＢＣＭＡ２およびｐＢＣＭＡ４)の核酸配列は以下の通りである。

CAGGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCTCCGTGAAAGT
GAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTCAGCAACTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGG
CCCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGCCACCTACAGGGGCCACAGCGACACCTAC
TACAACCAGAAGTTCAAGGGCCGGGTGACCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGC
CTACATGGAACTGAGCAGCCTCAGGAGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGCGCCAGGG
GCGCCATCTACAACGGCTACGACGTGCTGGACAACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACC
GTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTAGCGGAGGAGGCGGGAGCGGTGGAGGTGGCTCTGGAG
GTGGCGGAAGCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGC
GACAGGGTGACCATTACCTGCTCCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTA
CCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCAACCTGCACT
CCGGCGTGCCCAGCAGGTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATC
TCCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGGAAGCTCCC
CTGGACTTTCGGCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGCGT

(配列番号２７２)

【０８５５】

ＶＨがＶＬに先行するヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｈ２Ｌ、例えば、ｐＢＣＭＡ２およびｐＢＣＭＡ４)の対応するアミノ酸配列は以下の通りである。

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S N Y W M H W V R
Q A P G Q G L E W M G A T Y R G H S D T Y Y N Q K F K G R V T I T A D K S T
S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R G A I Y N G Y D V L D N W G Q G
T L V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S L S
A S V G D R V T I T C S A S Q D I S N Y L N W Y Q Q K P G K A P K L L I Y Y T
S N L H S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q
Y R K L P W T F G Q G T K L E I K R(配列番号２７１)

【０８５６】

ＶＬがＶＨに先行するヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｌ２Ｈ、例えば、ｐＢＣＭＡ１およびｐＢＣＭＡ３)の核酸配列は以下の通りである。

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCTCACTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGAC
CATTACCTGCTCCGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGC
CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTACACCTCCAACCTGCACTCCGGCGTGCCC
AGCAGGTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATCTCCAGCCTGCA
GCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGGAAGCTCCCCTGGACTTTCG
GCCAGGGCACCAAACTGGAGATCAAGCGTGGTGGAGGAGGTAGCGGAGGAGGCGGGAG
CGGTGGAGGTGGCTCTGGAGGTGGCGGAAGCCAGGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGCGCCG
AAGTGAAGAAGCCCGGCAGCTCCGTGAAAGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCGGCACCTTC
AGCAACTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGG

CGCCACCTACAGGGGCCACAGCGACACCTACTACAACCAGAAGTTCAAGGGCCGGGTGA
CCATCACCGCCGACAAGAGCACCAGCACCGCCTACATGGAACTGAGCAGCCTCAGGAGC
GAGGACACCGCTGTGTATTACTGCGCCAGGGGCGCCATCTACAACGGCTACGACGTGCT
GGACAACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC
(配列番号２７４)
【０８５７】
ＶＬがＶＨに先行するヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ(Ｌ２Ｈ、例えば、ｐＢＣＭＡ１およびｐＢＣＭＡ３)の対応するアミノ酸配列は以下の通りである。
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY TSNLHSGV
PSRFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRKLPWTFGQ GTKLEIKRGG GGSGGG
GSGGGGSGGGGSQV QLVQSGAEVK KPGSSVKVSC KASGGTFSNY WMHWVRQAPG Q
GLEWMGATYRGHSDTYYNQ KFKGRVTITA DKSTSTAYME LSSLRSEDTA VYYCARGA
IYNGYDVLDNWGQGTLVTVSS(配列番号２７３)
ヒト化抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するこれらのｐＢＣＭＡ－ＣＡＲは、以下で詳述される実験においておよび実施例３において利用される。
【０８５８】
Ｔ細胞におけるＢＣＭＡ－ＣＡＲの効率的発現
健康なドナーから新たに単離されたヒトＴ細胞にｐＢＣＭＡ１～４ＣＡＲをコードするレンチウイルスベクター上清を形質導入し、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現をフローサイトメトリーにより評価した。手短に言えば、Ｔ細胞を１０％ＦＢＳを有するＲＰＭＩ　１６４０培地で培養し、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８Ｄｙｎａｂｅａｄｓ(Invitrogen)を用いて刺激した。刺激の２４時間後、Ｔ細胞に４の異なるｐＢＣＭＡ　ＣＡＲレンチウイルス上清を形質導入した。抗メソセリンＣＡＲ(ＳＳ１)ベクターを形質導入したＴ細胞は正の対照として使用した。偽形質導入Ｔ細胞(ＮＴＤ)は負の対照として使用した。レンチウイルスの形質導入４～６日後、Ｔ細胞は、ビオチン化プロテインＬ抗体、続いてストレプトアビジンＦＩＴＣ(BD Biosciences)またはビオチンヤギ抗マウスで染色し、ＣＡＲ発現はフローサイトメトリー(FACS Calibur, BD)により評価した。フローサイトメトリー分析はＦｌｏｗｊｏ(Tree Star Inc)を使用することにより実施した。
図６に示すように、形質導入後、ｐＢＣＭＡ　ＣＡＲが形質導入されたＴ細胞の細胞表面で効率的に発現されるのが観察された。
【０８５９】
抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ発現Ｔ細胞(ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ)からのサイトカイン産生
ヒトＢＣＭＡを異所的に発現しているＫ５６２細胞(Ｋ５６２－ＢＣＭＡ)は、ＧｅｎｅＣｏｐｏｅｉａにより供給されるベクターを使用するレンチウイルス形質導入とそれに続くピューロマイシン選択により生成した。Ｋ５６２－ＢＣＭＡ特異的標的細胞は、ｐＢＣＭＡ１～４ＣＡＲ形質導入されたＴ細胞からの細胞障害性およびサイトカイン産生をインビトロで評価するために利用した。抗ｐＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞または対照Ｔ細胞は対数期成長の終了まで拡大させ、その後に陽性対照としてＫ５６２－ＢＣＭＡ特異的標的細胞、Ｋ５６２－メソセリン標的細胞または負の対照として非標的細胞のいずれかと一緒に３対１比のエフェクター細胞対標的細胞で１６時間共培養した。培養上清を収穫し、ＩＦＮガンマおよびＩＬ－２濃度は製造業者の使用説明書(Ｒ＆Ｄ)に従って特定のＥＬＩＳＡにより測定した。図７Ａおよび７Ｂに示されるように、４つの抗ｐＢＣＭＡ　ＣＡＲ全てを発現しているＴ細胞は、ＢＣＭＡ発現標的細胞と共培養した場合は類似するレベルのＩＦＮガンマおよびＩＬ－２を産生したが、ＢＣＭＡ陰性標的細胞と共培養した場合は産生しなかった。
【０８６０】
骨髄腫細胞株上でのＢＣＭＡ　ＣＡＲＴの細胞障害活性
ＢＣＭＡ発現標的細胞を死滅させるｐＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の能力は５１Ｃｒ放出アッセイを使用して評価した。手短に言えば、標的ＭＭ細胞を５１Ｃｒ(重クロム酸ナトリウム塩)で標識し、洗浄し異なるエフェクター／標的比でエフェクターｐＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ

細胞と共培養した。４時間で上清を収集し、９６ウェルＬｕｍａｐｌａｔｅｓ(Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ)中に置いた。標識された標的細胞から放出された５１Ｃｒの量は液体シンチレーション計数器(ＭｉｃｒｏＢｅｔａ　ｔｒｉｌｕｘ、Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ)上で測定した。培地だけでまたは１％ＳＤＳを有する培地でインキュベートされた標的細胞を使用して自然(Ｓ)または最大(Ｍ)５１Ｃｒ放出を判定した。特異的溶解のパーセンテージは以下の：１００×(ｃｐｍ実験放出－ｃｐｍＳ放出)／(ｃｐｍＭ放出－ｃｐｍＳ放出)の通りに計算した。

【０８６１】

図８Ａ、８Ｂ、８Ｃおよび８Ｄに示されるように、４つのｐＢＣＭＡ－ＣＡＲ形質導入されたＴ細胞全てが、Ｋ５６２－ＢＣＭＡおよびＢＣＭＡ発現多発性骨髄腫細胞株の溶解を誘導することができ、ＢＣＭＡ陰性細胞株に対してはほとんど活性がなかった。ＣＤ８ヒンジを有するｐＢＣＭＡ－ＣＡＲ(ｐＢＣＭＡ３および４)のほうがＩｇＧ４ヒンジを含有するｐＢＣＭＡ　ＣＡＲと比べて大きな細胞障害性を示し、ヒンジが最適機能のためのＣＡＲ設計では重要な要因であることが示唆される。

【０８６２】

実施例３：多発性骨髄腫についてのｐＢＣＭＡ－ＣＡＲＴのインビボ評価

ｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４　ＣＡＲ改変Ｔ細胞の増強された機能を支持するインビトロデータに基づいて、これらのＣＡＲＴの抗腫瘍活性をＲＰＭＩ８２２６細胞株を使用して多発性骨髄腫の前臨床動物モデルにおいて評価した。ＲＰＭＩ８２２６細胞は、生物発光インビボ撮像(ＩＶＩＳ)およびリビングイメージソフトウェア(Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ)により腫瘍進行を追跡するためにコメツキムシ緑色ルシフェラーゼ(ＣＢ－Ｇ　Ｌｕｃ＋)を発現するように操作されていた。ＣＢ－Ｇ　Ｌｕｃ＋の注入４週間後、ＲＰＭＩ８２２６細胞はＮＳＧレシピエントに静脈内注射し、ｐＢＣＭＡ３　ＣＡＲ、ｐＢＣＭＡ４　ＣＡＲ、ＣＤ１９　ＣＡＲ(ヒトＣＤ８ヒンジを有するＦＭＣ６３抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ、４－１ＢＢおよびＣＤ３ｚ細胞質ドメイン)またはＳＳ１　ＣＡＲ(ヒトＣＤ８ヒンジを有するＳＳ１抗メソセリンｓｃＦｖ、４－１ＢＢおよびＣＤ３ｚ細胞質ドメイン)を発現しているＴ細胞は静脈内注射し、腫瘍負荷は光学イメージングによりならびに疾患の臨床徴候の出現により評価した(下の表１２)。スコアリングは以下の通りに実施した：１－臨床徴候なし；２－微量な歩行変化／微量な腫瘍体積；３－移動性低下／腫瘍体積／依然として歩行可能；４－後肢麻痺／大きな腫瘍体積／エンドポイント；および５－完全な肢麻痺。

【０８６３】

【表６４】

表１２．処置群および臨床スコアリング

群	スコアリング50日目
BCMA3	2
BCMA4	2
SS1	3
CD19	4
CTL	4

【０８６４】

図９Ａおよび９Ｂに示されるように、ｐＢＣＭＡ－３およびｐＢＣＭＡ４　ＣＡＲ　Ｔ細胞のいずれかを発現しているＴ細胞は、メソセリン(ＳＳ１と命名されている)またはＣＤ１９を標的にする対照Ｔ細胞と比べて、ＲＰＭＩ８２２６を担持するマウスの腫瘍負荷の有意な減少ならびに臨床疾患活性の改善を誘導する。

【０８６５】

実施例２および３に記載される実験は、さらなるＣＡＲ構築物のためのヒトｓｃＦｖ結合ドメインを同定するための理論的根拠を提供し、これら構築物は実施例４～７において説

明され評価される。
【０８６６】
実施例４：ヒト抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の生成
ＣＡＲ構築物用のヒトＢＣＭＡ特異的ｓｃＦｖは３ラウンドのビーズベースのＢｉｏ－ＢＣＭＡパニングにより同定した。Ａｒｍ１では、ＳＢＡＬ－１Ｓｋファージライブラリー(８.４Ｅ１３)を使用した。Ａｒｍ２では、ＳＢＡＬ－３Ｓｋ(Ｇ１＋Ｇ２＋Ｇ４＋Ｇ５)ファージライブラリー(１Ｅ１３)を使用した。ファージライセートはＥＬＩＳＡによりＢＣＭＡ反応性についてスクリーニングした。３１９の陽性ヒットを同定し、１３５の独特の配列を表していた。ファージ配列は、大腸菌(Ｅ.ｃｏｌｉ)で発現させることが可能な可溶性ｓｃＦｖに変換した。次に、大腸菌ライセートはＥＬＩＳＡによりスクリーニングし、周辺質はＦＡＣｓによりスクリーニングした。ＦＡＣｓ分析により１５ヒットが同定された。次に、ｓｃＦｖは大腸菌から精製し、精製されたｓｃＦｖはＦＡＣｓにより試験した。１５のｓｃＦｖが確認され、ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４およびＢＣＭＡ－１５と命名した。ヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖフラグメントの配列(配列番号３９～５２)は表１に提供されている(および名称は表２に提供されている)。完全ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物(配列番号９９～１１３)は、発明を実施するための形態に示されている追加の配列、例えば、リーダー、ＣＤ８ヒンジ、ＣＤ８膜貫通、４－１ＢＢ細胞内ドメイン、ＣＤ２７細胞内ドメイン、ＣＤ２８細胞内ドメイン、ＩＣＯＳドメイン、ＣＤ３ゼータドメイン(変異体)、ヒトＣＤ３ゼータドメイン、ＩｇＧ４ヒンジ、Ｇｌｙ／Ｓｅｒ配列および／またはポリ(Ａ)配列と組み合わせてヒトｓｃＦｖフラグメント(配列番号３９～５２)を使用して生成した。
次いでＣＡＲのｓｃＦｖフラグメントをレンチウイルスベクターにクローニングして、単一のコードフレームで、発現のためのＥＦ１アルファプロモーターを使用して全長ＣＡＲ構築物を作り出した(配列番号１１)。
ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖドメインおよびＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子のアミノ酸および核酸配列は発明を実施するための形態の表１に提供されている。発明を実施するための形態の表２は、ＤＮＡ　ＩＤ番号に関してＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物のニックネームを命名しており、表１にも収載されている。
さらなるツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物も、ＰＣＴ出願ＷＯ２０１２／１６３８０５からのＶＨおよびＶＬ配列を使用して生成し(前記特許文献の内容は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)、実施例２および３に記載されるｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４ＣＡＲからの結果に基づいている。ツールＢＣＭＡ構築物(ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰ)の模式図は図１０Ａに示されている。２構築物はＶＨとＶＬさの向きが異なる(図１０Ｂ)。ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物およびその対応するＤＮＡ　ＩＤは下に示されている。
【０８６７】
【表６５】
表３．ツールＣＡＲ構築物ＩＤ

ニックネーム	Novartis ID	DNA2.0 ID
BCMA-3NP		126022
BCMA-4NP		126021

さらなるＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物も、発明を実施するための形態の表１６に見られるＶＨおよびＶＬ配列を使用して生成することが可能である。ＶＨとＶＬドメインおよびリンカー配列を含む例となるｓｃＦｖドメインならびに完全長ＣＡＲのアミノ酸配列も表１６に見られる。
【０８６８】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物のウイルス力価の生成と計算
レンチウイルス上清はｓｃＦｖファージスクリーニングから得られた１５のＢＣＭＡ特異的ＣＡＲ構築物から生成した(表２)。２ＢＣＭＡツールＣＡＲ構築物、ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰのレンチウイルス上清も生成した。この実施例に記載されるツール構築物は実施例２および３に既に記載されているｐＢＣＭＡ３およびｐＢＣＭＡ４構築物に基づいている。
【０８６９】
レンチウイルス上清を生成するため、ＬｅｎｔｉＸ－２９３Ｔ細胞を０日目に播種し、１日目にリポフェクタミン２０００トランスフェクション試薬(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)をトランスフェクトした。構築物ごとに、使用したプラスミドＤＮＡは、ｐＲＳＶ.ＲＥＶ(Ｒｅｖ発現プラスミド)、ｐＭＤＬｇ／ｐ.ＲＲＥ(Ｇａｇ／Ｐｏｌ発現プラスミド)、ｐＶＳＶ－Ｇ(ＶＳＶ糖タンパク質発現プラスミド)およびＣＡＲトランスファーベクターであった。トランスフェクション混合物は２日目に新鮮な培地と取り換え、ウイルス上清は３日目および４日目に収集した。
【０８７０】
ウイルス上清はＬｅｎｔｉ－Ｘコンセントレータ試薬(Ｃｌｏｎｔｅｃｈ)を使用して濃縮させ、得られたペレットは最初の体積の１／１０～１／１００で増殖培地に再懸濁した。濃縮したウイルス上清をアリコートにし－８０℃で保存した。ウイルス力価の計算は、ＳｕｐＴ１細胞に形質導入しＣＡＲ発現を評価することにより決定した。ＳｕｐＴ１細胞に１日目に、開始濃度１対３００でウイルス上清の３倍連続希釈シリーズを形質導入した。ＣＡＲ発現は５日目に、ＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原(Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ)およびビオチン－プロテインＬ試薬(ＧｅｎＳｃｒｉｐｔ)を用いて評価した。ウイルス力価は以下の式に従って計算した：
(％ＣＡＲ＋)×(＃ＳｕｐＴ１細胞)／(ウイルス量(ml))×(希釈度)。
【０８７１】
平均ウイルス力価は１～２０％ＣＡＲ陽性の直線領域での希釈ポイントから計算した。ＢＣＭＡ　ＣＡＲクローンの力価計算は表４に示している。

【表６６】

表4. BCMA-FcまたはプロテインLのいずれかにより測定した場合のBCMAターゲティングCARを形質導入したLentiX-293T細胞からのレンチウイルス上清の力価

クローン	BCMA-Fc力価 (TU/ml)	プロテインL力価 (TU/ml)
BCMA-1	1.27E+08	7.54E+06
BCMA-2	1.02E+08	1.43E+08
BCMA-4	1.46E+08	1.58E+08
BCMA-5	9.98E+07	9.64E+07
BCMA-6	1.41E+08	4.82E+06
BCMA-7	6.41E+07	5.53E+07
BCMA-8	6.15E+07	6.98E+07
BCMA-9	8.57E+07	7.75E+07
BCMA-10	6.73E+07	8.77E+07
BCMA-11	4.60E+07	5.43E+06
BCMA-12	4.88E+07	5.97E+07
BCMA-13	9.96E+07	5.52E+07
BCMA-14	9.88E+07	1.20E+08
BCMA-15	7.39E+07	7.41E+07
BCMA-3NP	5.38E+07	6.11E+07
BCMA-4NP	5.35E+07	5.37E+07

【０８７２】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲクローンは全てＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原を用いて検出されたが、いくつかのクローン(ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－１１)ではビオチン－プロテインＬを用いたほうが弱かった。ＢＣＭＡ－Ｆｃ検出に基づく力価を使用して原発Ｔ細胞における形質導入のＭＯＩを計算した。この実施例に記載されるヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、実施例４および５での実験全体で使用される。この実施例に記載されるツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物は、実施例５、６および７に記載される実験でも使用される。

【０８７３】

実施例５：ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物のインビトロ特徴付け

ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物についてのＪＮＬレポーターアッセイ

ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を形質導入したジャーカット－ＮＦＡＴ－ルシフェラーゼ(ＪＮＬ)細胞を、ＢＣＭＡ発現標的細胞株に応答した活性化について評価した。０日目、ＪＮＬ細胞にＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰを形質導入した。ウイルス濃度はＭＯＩの３に調整し、一晩インキュベートした。形質導入に続く６日目、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入されたＪＮＬ細胞は、０から２７に及ぶエフェクター対標的(Ｅ対Ｔ)比で標的細胞と一緒にインキュベートした。標的細胞株は、Ｋ５６２(ＢＣＭＡ負の対照)、ならびにＢＣＭＡ陽性多発性骨髄腫細胞株、ＮＣＩ－Ｈ９２９、ＫＭＳ２６およびＲＰＭＩ８２２６であった。ＪＮＬ活性化は７日目にＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ基質(Ｐｒｏｍｅｇａ)を使用して測定した。形質導入されたＪＮＬ上でのＣＡＲ発現は６日目にＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原を用いて評価した(表５)。このレポーターアッセイにより、ツールＢＣＭＡターゲティングＣＡＲクローンが標的特異的様式で活性化されていることが示される(図１１)。

【表６７】

表５．ＪＮＬ細胞上でのパーセントＣＡＲ発現

	BCMA−Fc検出
クローン	% CAR+
BCMA−3NP	31.2
BCMA−4NP	41.9

【０８７４】

ＢＣＭＡターゲティングツールＣＡＲを用いた原発Ｔ細胞の単離、形質導入および活性化の予定は表６に示されている。０日目、健康なヒトドナーＰＢＭＣ(ノバルティス従業員血液ドナープログラム(Novartis Employee Blood Donor program))をＦｉｃｏｌｌ抽出により全血から単離し、Ｔ細胞はＰａｎ　Ｔ細胞単離キットＩＩ(Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ)を使用する負の選択によりＰＢＭＣから単離した。単離されたＴ細胞は、ビーズ対細胞の３対１比でＤｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ｅｘｐａｎｄｅｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)を用いて一晩刺激した。Ｔ細胞はＣＤ４＋およびＣＤ８＋細胞の相対量を評価するために染色もした(図１２)。

【０８７５】

【表６８】

表６．　ＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入されたクローンのＴ細胞拡大の予定

日数	活性
0	T細胞を単離し活性化する
1	T細胞を形質導入する（MOI=5）
2	培地を添加する−0.5ml/ウェル
3	
4	1対2に分割する
5	
6	1対2に分割する（Split UTD 対照1:2.5）
7	
8	
9	1対2に分割する
10	
11	ビーズを外しアリコートを凍結させる

【０８７６】

１日目、Ｔ細胞にＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰを形質導入した。ウイルス濃度はＭＯＩの５に調整し、一晩インキュベートした。１１日目、形質導入したＣＡＲＴ細胞からビーズを外し、９０％ＦＢＳ、１０％ＤＭＳＯ中にその細胞をアリコートにして凍結させた。形質導入および拡大に続いて、Ｔ細胞はＣＤ４＋およびＣＤ８＋細胞の相対量を評価するために再び染色した。さらに、ＣＡＲ発現はＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原を用いて評価した(図１３)。

【０８７７】
ＢＣＭＡ増殖アッセイ
ＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞増殖を評価した。ＣＡＲＴ細胞は０日目に解凍し、回復するように一晩インキュベートした。１日目、ＣＡＲＴ細胞にＣｅｌｌＴｒａｃｅ　ＣＦＳＥ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)を標識し、１対１のＥ対Ｔ比で照射した標的細胞と一緒にインキュベートした。３対１のビーズ対細胞比のＤｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ｅｘｐａｎｄｅｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズを陽性対照としてインキュベートした。５日目、ＣＦＳＥレベルをＣＡＲＴ細胞において測定した(図１４)。さらに、ＣＡＲＴ細胞をＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８およびＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原で染色し、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ　Ａｂｓｏｌｕｔｅ　Ｃｏｕｎｔｉｎｇ　Ｂｅａｄｓ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)と比べてフローサイトメトリーにより測定して相対的細胞数を決定した(図１５)。ＢＣＭＡに応答した特異的な増殖がＢＣＭＡ－３ＮＰとＢＣＭＡ－４ＮＰの両方で観察された。
【０８７８】
ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴルシフェラーゼ細胞死滅アッセイ
ＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞死滅を評価した。ＣＡＲＴ細胞は０日目に解凍し、回復するように一晩インキュベートした。１日目、ＣＡＲＴ細胞は０から２０に及ぶＥ対Ｔ比でＢＣＭＡ発現ＫＭＳ１１－ルシフェラーゼまたはＭＭ１－Ｓ－ルシフェラーゼ標的細胞と一緒にインキュベートした。細胞死滅から生じるルシフェラーゼシグナルの減少は２日目にＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ基質を使用して測定し、特異的溶解は以下の式に従って計算した：
特異的溶解(％)＝１００－(サンプルルシフェラーゼ／平均最大発光)＊１００。細胞死滅の結果は図１６に見られ、ツールＣＡＲＴクローンが特異的死滅応答を有することを示している。
【０８７９】
ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ　ＣＦＳＥ細胞死滅アッセイ
ＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞死滅を評価した。ＣＡＲＴ細胞は０日目に解凍し、回復するように一晩インキュベートした。１日目、標的細胞にＣｅｌｌＴｒａｃｅ　ＣＦＳＥ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)を標識し、０から１０に及ぶＥ対Ｔ比でＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞と一緒にインキュベートした。標的細胞株は、Ｋ５６２－ＢＣＭＡ(ＢＣＭＡを安定的に発現するように操作されている)、Ｋ５６２(親株)ならびにＢＣＭＡ陽性多発性骨髄腫細胞株、ＮＣＩ－Ｈ９２９、ＫＭＳ２６およびＲＰＭＩ８２２６であった。細胞死滅から生じるＣＦＳＥ陽性細胞の減少は２日目にＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ　Ａｂｓｏｌｕｔｅ　Ｃｏｕｎｔｉｎｇ　Ｂｅａｄｓ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)と比べてフローサイトメトリーにより測定して相対的細胞数を決定した(図１７)。特異的な細胞死滅がＢＣＭＡ－３ＮＰとＢＣＭＡ－４ＮＰの両方で観察された。
【０８８０】
ＢＣＭＡツールＣＡＲクローンのインビトロ特徴付けに基づいて、ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰを、ＫＭＳ１１－ルシフェラーゼ播種性腫瘍モデルにおけるインビボ評価のために選択した。ＵＴＤ(非形質転換)Ｔ細胞は負の対照として選択した。インビボ特徴付けからの結果は実施例５にさらに記載されている。
【０８８１】
実施例６：ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴのインビトロ特徴付け
この実施例に記載される実験は、表１からのヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを含有するＣＡＲ構築物およびツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を利用する。
【０８８２】
ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物についてのＪＮＬレポーターアッセイ
ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を形質導入したジャーカット－ＮＦＡＴ－ルシフェラーゼ(ＪＮＬ)細胞をＢＣＭＡ発現標的細胞株に応答した活性化について評価した。小規模ウイルス上清サンプルはＪＮＬ細胞の形質導入のためのＨＥＫ２９３Ｔ細胞において生成した。形質導

入に続く３日目、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入ＪＮＬ細胞は６対１のエフェクター対標的(Ｅ対Ｔ)比で標的細胞と一緒にインキュベートした。標的細胞株は、Ｋ５６２－ＢＣＭＡ(ＢＣＭＡを安定的に発現するように操作されている)、Ｋ５６２(親株)、ならびにＢＣＭＡ陽性多発性骨髄腫細胞株、ＮＣＩ－Ｈ９２９およびＲＰＭＩ８２２６であった。ＪＮＬ活性化は４日目にＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ基質(Ｐｒｏｍｅｇａ)を使用して測定した。形質導入されたＪＮＬ上でのＣＡＲ発現は７日目にＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原およびビオチン－プロテインＬ試薬を用いて評価した(表７)。このレポーターアッセイにより、いくつかのＢＣＭＡターゲティングＣＡＲクローンが標的特異的様式で活性化されていることが示される(図１８)。

【０８８３】

【表６９】

表７．ＪＮＬ細胞上でのパーセントＣＡＲ発現

	BCMA-Fc検出
クローン	% CAR+
BCMA-1	72.1
BCMA-2	32.0
BCMA-3	0.0
BCMA-4	49.5
BCMA-5	28.9
BCMA-6	44.4
BCMA-7	30.4
BCMA-8	32.4
BCMA-9	54.7
BCMA-10	29.5
BCMA-11	42.7
BCMA-12	23.4
BCMA-13	32.7
BCMA-14	31.8
BCMA-15	36.9
BCMA-3NP	6.7
BCMA-4NP	28.3

【０８８４】

ＪＮＬ活性は％ＣＡＲ発現と相関していなかった。ＢＣＭＡ特異的活性化に基づいて、以下のＢＣＭＡ　ＣＡＲクローン：ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４およびＢＣＭＡ－１５は原発Ｔ細胞における特徴付けのために選択された。観察された非特異的活性化に基づいて、ＢＣＭＡ－６は負の対照として選択された。観察された活性の非存在に基づいて、ＢＣＭＡ－９も負の対照として選択された。

【０８８５】

原発ヒトＴ細胞のＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入

ＢＣＭＡターゲティングＣＡＲを用いた原発Ｔ細胞の単離、形質導入および活性化の予定は表８に示されている。０日目、健康なヒトドナーＰＢＭＣ(ノバルティス従業員血液ドナー計画)をＦｉｃｏｌｌ抽出により全血から単離し、Ｔ細胞はＰａｎ　Ｔ細胞単離キットＩＩ(Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ)を使用する負の選択によりＰＢＭＣから単離した。単離されたＴ細胞は、ビーズ対細胞の３対１比でＤｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ｅｘ

ｐａｎｄｅｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)を用いて一晩刺激した。Ｔ細胞はＣＤ４＋およびＣＤ８＋細胞の相対量を評価するために染色もした(図１９)。

【０８８６】

【表７０】

表８．　ＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入されたクローンのＴ細胞拡大の予定

日数	活性
0	T細胞を単離し活性化する
1	T細胞を形質導入する（MOI=5）
2	培地を添加する-0.5ml/ウェル
3	
4	1対3に分割する
5	
6	1対2に分割する
7	
8	1対2.25に分割する
9	
10	
11	ビーズを外しアリコートを凍結させる

【０８８７】

１日目、Ｔ細胞は以下のＢＣＭＡ　ＣＡＲクローン：ＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰを形質導入した。ウイルス濃度はＭＯＩの５に調整し(表９)、一晩インキュベートした。

【０８８８】

【表７１】

表９．ＭＯＩの５を得るためにクローンごとのウェルあたり添加されるＴ細胞の計算

クローン	TU/ml	ウェルあたりのMOI:5
BCMA-1	1.27E+08	39.4
BCMA-4	1.46E+08	34.3
BCMA-5	9.98E+07	50.1
BCMA-6	1.41E+08	35.5
BCMA-7	6.41E+07	78.0
BCMA-8	6.15E+07	81.4
BCMA-9	8.57E+07	58.3
BCMA-10	6.73E+07	74.3
BCMA-12	4.88E+07	102.5
BCMA-13	9.96E+07	50.2
BCMA-14	9.88E+07	50.6
BCMA-15	7.39E+07	67.6
BCMA-3NP	5.38E+07	92.9
BCMA-4NP	5.35E+07	93.5

【０８８９】

１１日目、形質導入したＣＡＲＴ細胞からビーズを外し、９０％ＦＢＳ、１０％ＤＭＳＯ中にその細胞をアリコートにして凍結させた。形質導入および拡大に続いて、Ｔ細胞はＣＤ４＋およびＣＤ８＋細胞の相対量を評価するために再び染色した。さらに、ＣＡＲ発現はＢＣＭＡ－Ｆｃ抗原を用いて評価した(図２０)。

【０８９０】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ増殖アッセイ

ＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞増殖を評価した。ＣＡＲＴ細胞は０日目に解凍し、回復するように一晩インキュベートした。１日目、ＣＡＲＴ細胞にＣｅｌｌＴｒａｃｅ　ＣＦＳＥ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)を標識し、１対１のＥ対Ｔ比で照射した標的細胞と一緒にインキュベートした。６日目、ＣＦＳＥレベルをＣＡＲＴ細胞において測定した(図２１)。

さらに、ＣＡＲＴ細胞をＣＤ３、ＣＤ４およびＣＤ８で染色し、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ　Ａｂｓｏｌｕｔｅ　Ｃｏｕｎｔｉｎｇ　Ｂｅａｄｓ(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ)と比べてフローサイトメトリーにより測定して相対的細胞数を決定した(図２２Ａ、２２Ｂおよび２２Ｃ)。ＢＣＭＡに応答した特異的な増殖は以下のＣＡＲＴクローン：ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４およびＢＣＭＡ－１５について観察された。

【０８９１】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ死滅アッセイ

ＢＣＭＡ発現標的細胞に応答したＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞死滅を評価した。ＣＡＲＴ細胞は０日目に解凍し、回復するように一晩インキュベートした。１日目、ＣＡＲＴ細胞は０から１０に及ぶＥ対Ｔ比でＢＣＭＡ発現ＫＭＳ１１－ルシフェラーゼ標的細胞と一緒にインキュベートした。細胞死滅から生じるルシフェラーゼシグナルの減少は２日目にＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ基質を使用して測定し、特異的溶解は以下の式に従って計算した：

特異的溶解(%)＝１００－(サンプルルシフェラーゼ／平均最大発光)＊１００。

細胞死滅アッセイの結果は図２３Ａに示されており、それぞれのＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物

をＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰと比べている。これらの結果により、いくつかのＣＡＲＴクローン(ヒト抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを発現している)は対照ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰ構築物よりも大きな死滅応答を有することが示されている。選択された候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲ(ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５)からの結果は図２３Ｂのグラフに提示されており、候補ＣＡＲ間で死滅能力を比べている。非形質導入Ｔ細胞およびＢＣＭＡ－４ＮＰ構築物を形質導入されたＴ細胞はそれぞれ負および正の対照として使用した。選択されたＢＣＭＡ　ＣＡＲＴクローン(ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５)の細胞死滅のパーセンテージはＣＡＲＴごとにＣＡＲ発現のパーセントに正規化されており、図２３Ｃに提示されている。結果は、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５ＣＡＲＴクローンが全てＢＣＭＡ－４ＮＰに類似する細胞死滅能力を有していたことを示している。

【０８９２】

上記のＢＣＭＡ　ＣＡＲＴクローンのインビトロアッセイの要約は表１０に示されている。実施例７に記載される通りに、ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴクローンのインビトロ特徴付けに基づいて、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５をＫＭＳ１１－ルシフェラーゼ播種性腫瘍モデルにおけるインビボ評価のために選択した。ＢＣＭＡ－４ＮＰは正の対照で選択され、ＢＣＭＡ－９およびＵＴＤ(非形質導入)は負の対照として選択された。

【０８９３】

【表７２】

表１０．ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴクローンのインビトロ特徴付けの要約

	JNL結合アッセイ			細胞死	増殖					
	K562対比			EC50	CD3対標的なし比					
	K562-BCMA	NCI-H929	RPMI 8226	KMS11-luc	K562	K562-BCMA	NCI-H929	KMS11-luc	RPMI 8226	
BCMA-3NP	1.58	1.30	1.58	0.16	1.70	7.96	8.91	8.96	8.43	BCMA-3NP
BCMA-4NP	3.15	2.27	3.54	0.12	1.58	5.52	6.52	5.41	5.83	BCMA-4NP
BCMA-1	4.60	4.55	5.06	0.68	1.38	1.59	4.97	1.38	2.96	BCMA-1
BCMA-4	4.47	3.31	6.25	0.13	1.34	7.37	8.64	8.63	8.14	BCMA-4
BCMA-5	2.34	2.34	2.40	0.21	0.52	1.62	1.72	1.61	1.73	BCMA-5
BCMA-6	1.07	1.38	1.16	0.20	2.94	3.14	3.09	2.35	3.17	BCMA-6
BCMA-7	2.55	2.36	2.77	0.15	0.84	1.72	1.80	1.71	1.62	BCMA-7
BCMA-8	3.17	2.67	3.87	0.14	0.98	2.55	2.17	2.46	2.56	BCMA-8
BCMA-9	1.59	1.99	1.54	0.68	1.19	1.51	4.63	1.66	2.50	BCMA-9
BCMA-10	3.23	2.70	3.25	0.18	1.31	5.84	6.37	4.20	6.69	BCMA-10
BCMA-12	3.17	2.78	3.36	0.22	0.95	2.90	2.98	2.76	3.27	BCMA-12
BCMA-13	3.74	2.68	3.66	0.11	0.93	3.47	3.46	3.20	3.48	BCMA-13
BCMA-14	2.81	2.65	3.31	0.12	1.24	4.12	3.86	3.42	3.93	BCMA-14
BCMA-15	2.91	2.79	3.49	0.11	1.13	3.94	4.08	3.51	3.73	BCMA-15

	増殖									
	CD8対標的なし比				CD4対標的なし比					
K562	K562-BCMA	NCI-H929	KMS11-luc	RPMI 8226	K562	K562-BCMA	NCI-H929	KMS11-luc	RPMI 8226	
1.54	5.79	7.05	9.41	5.90	1.76	9.42	10.02	8.46	10.02	BCMA-3NP
1.34	3.06	4.31	5.20	3.49	1.85	8.50	8.98	5.54	8.50	BCMA-4NP
1.18	1.61	4.14	1.56	3.58	1.51	1.57	5.57	1.24	2.43	BCMA-1
1.18	5.66	7.42	8.74	6.19	1.50	9.21	9.86	8.60	10.12	BCMA-4
0.42	0.99	1.11	1.27	1.25	0.57	2.19	2.23	1.90	2.15	BCMA-5
2.01	2.13	2.26	2.23	2.39	4.39	4.70	4.34	2.50	4.35	BCMA-6
0.77	1.08	1.18	1.35	1.19	0.89	2.17	2.23	1.96	1.91	BCMA-7
0.81	1.59	1.41	1.83	1.81	1.15	3.59	2.98	3.11	3.33	BCMA-8
1.05	1.43	4.79	1.83	2.76	1.31	1.59	4.45	1.49	2.24	BCMA-9
1.03	3.01	3.86	3.84	4.33	1.37	6.70	7.05	4.25	7.31	BCMA-10
0.72	1.51	1.76	2.11	2.12	1.02	3.42	3.41	2.94	3.66	BCMA-12
0.72	2.34	2.53	2.79	2.86	1.28	5.40	5.05	3.84	4.44	BCMA-13
1.00	2.65	2.73	2.83	3.03	1.49	5.73	5.07	3.97	4.84	BCMA-14
0.84	1.89	2.42	2.73	2.51	1.26	4.87	4.82	3.82	4.24	BCMA-15

【０８９４】

実施例７：ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴのインビボ特徴付け

ＫＭＳ－１１はＩｇＧκ胸水貯留に由来するヒト多発性骨髄腫細胞株であり、易感染性マウスにおいて異種移植片として成長させることが可能である。この異種移植片はヒトに見られる骨髄における疾患を模倣して、骨における多発性骨髄腫に対する治療の効能を試験するために用いるモデルを確立することになる。これらのマウスを使用すれば、Ｂ細胞成熟抗原(ＢＣＭＡ)などの、形質細胞および多発性骨髄腫細胞上で見られる細胞マーカーに対して特異的なキメラ抗原受容体(ＣＡＲ)Ｔ細胞の効能を試験することが可能である。ＫＭＳ－１１細胞にはホタルルシフェラーゼレポーター遺伝子がタグ付けされており、ＢＣＭＡに対して特異的なＣＡＲ　Ｔ細胞の効能を試験するためにＮＯＤ.Ｃｇ－ＰｒｋｄｃｓｃｉｄＩｌ２ｒｇｔｍ１Ｗｊｌ／ＳｚＪ(ＮＳＧ)マウスで多発性骨髄腫の同所性モデルにおいて使用した。

【０８９５】

ＢＣＭＡ発現はＫＭＳ－１１細胞上で試験され、これらの細胞をインビトロアッセイにおいて使用して、標的を認識し応答するＢＣＭＡ特異的ＣＡＲ　Ｔ細胞の能力を調べた。インビボではＫＭＳ－１１細胞は尾静脈を経て静脈内に移植されると成長し、その成長は主に骨髄に限定される。腫瘍細胞を移植して１週間後、疾患は完全に骨に移動し指数関数的速度で成長し始める。未処置のままにしておくと、腫瘍移植の５～６週間後マウスは臨床症状および後肢麻痺を呈し始める。ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、モデルがＢＣＭＡ

ＣＡＲ　Ｔ細胞の効能および抗腫瘍活性を試験するのに適したインビボモデルであるのかを判定するための効能研究においてこのモデルではじめて試験された。これに続いて、インビトロスクリーニングからのリードＢＣＭＡ　ｓｃＦｖをこのインビボモデルにおいて試験しており、反復効能研究において現在確認しているところである。

【０８９６】

材料および方法

ＫＭＳ－１１細胞株：ＫＭＳ－１１ヒト多発性骨髄腫細胞株は、多発性骨髄腫に罹った患者の胸水貯留から発現させた。次に、細胞にホタルルシフェラーゼをタグ付けした。これらの懸濁細胞は、１０％熱失活したウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩにおいて成長する。

【０８９７】

マウス：６週齢のＮＳＧ(ＮＯＤ.Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃｓｃｉｄ Ｉｌ２ｒｇｔｍ１Ｗｊｌ／ＳｚＪ)マウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ(ストック番号００５５５７)から受け取った。実験前の少なくとも３日間にわたり動物をそのままNovartisのＮＩＢＲＩ動物施設に順応させた。動物は、NovartisのＡＣＵＣの規則とガイドラインに従って扱われた。

【０８９８】

腫瘍移植：ＫＭＳ－１１－ｌｕｃ細胞を１０％熱失活したウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩにおいてインビトロで成長させ拡大させた。次に、細胞は１５mlのコニカルチューブに移し、冷たい無菌ＰＢＳを用いて２度洗浄した。次に、ＫＭＳ－１１－ｌｕｃ細胞を計数し、ミリリットルのＰＢＳあたり１０×１０^{6}細胞の濃度で再懸濁させた。細胞を氷上に置き、直ちに(１時間以内)マウスに移植した。ＫＭＳ－１１細胞は尾静脈を経て静脈内に１００μｌ容量で注射され、マウスあたり総数で１×１０^{6}細胞であった。

【０８９９】

ＣＡＲ　Ｔ細胞投与：マウスは腫瘍移植の７～８日後５×１０^{6}Ｔ細胞を投与された。細胞は３７℃の水浴中で部分的に解凍し、次に細胞を含有するチューブに１mlの冷たい無菌ＰＢＳを添加することにより完全に解凍させた。解凍された細胞は１５mlのファルコンチューブに移し、ＰＢＳを用いて最終容量１０mlに調整した。細胞は、毎度１０００ｒｐｍで１０分間２度洗浄し、次に血球計数器上で計数した。ＣＡＲ　Ｔ細胞は、それぞれの群が同じパーセンテージのＣＡＲ＋Ｔ細胞を有するように、ＣＡＲ形質導入について標準化された。次に、総数で５×１０^{6}細胞をmlの冷ＰＢＳあたり５０×１０^{6}細胞の濃度で再懸濁し、マウスに投与するまで氷上で保管した。マウスは尾静脈を経て静脈内に１００μｌのＣＡＲ　Ｔ細胞を注射され、マウスあたり５×１０^{6}Ｔ細胞の用量であった。

群あたり５～７マウスが、１００μｌのＰＢＳ単独(ＰＢＳ)、非形質導入Ｔ細胞(偽)、ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(ＢＣＭＡ－３ＮＰまたはＢＣＭＡ－４ＮＰ)または新規のＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１５)のいずれかを用いて処置された。Ｔ細胞は全て同じヒトドナーから同時に調製された。

【０９００】

動物モニタリング：週２回の体重測定を含むマウスの健康状態は毎日にモニターされた。体重のパーセント変化は、(ＢＷｃｕｒｒｅｎｔ－ＢＷｉｎｉｔｉａｌ)／(ＢＷｉｎｉｔｉａｌ)×１００％として計算した。腫瘍負荷は生物発光撮像により週２回モニターした。マウスは、麻酔をかけＸｅｎｏｇｅｎを用いてマウスを撮像する１０分前にＤ－ルシフェリンを腹腔内に注射した。疾病負荷は、腫瘍細胞の生物発光(光子／秒)を計算することにより計算した。

【０９０１】

生物発光分析：パーセント処置／対照(Ｔ／Ｃ)値は以下の式を使用して計算した：

ΔＴ≧０の場合、％Ｔ／Ｃ＝１００×ΔＴ／ΔＣ；

ΔＴ＜０の場合、％退縮＝１００×ΔＴ／Ｔｉｎｉｔｉａｌ；

式中、Ｔ＝研究最終日の薬物処置群の平均生物発光；Ｔｉｎｉｔｉａｌ＝＝投与開始日の薬物処置群の平均生物発光；ΔＴ＝＝研究最終日の薬物処置群の平均生物発光－＝投与開

始日の薬物処置群の平均生物発光；Ｃ＝＝研究最終日の対照群の平均生物発光；およびΔＣ＝＝研究最終日の対照群の平均生物発光－＝投与開始日の対照群の平均生物発光。

【０９０２】

１００％から４２％の範囲のＴ／Ｃ値は抗腫瘍活性が全くないまたは最小の抗腫瘍活性を有すると解釈され；≦４２％かつ＞１０％であるＴ／Ｃ値は抗腫瘍活性または腫瘍成長阻害を有すると解釈される。≦１０％のＴ／Ｃ値または≧－１０％の退縮値は腫瘍停滞だと解釈される。＜－１０％の退縮値は退縮として報告される。

【０９０３】

末梢血ＦＡＣＳ分析：マウスの末梢血中のＴ細胞もモニターした。マウスは、氷上に保たれたＥＤＴＡ被覆チューブ内に尾静脈を介して毎週血を採った。１０～２０μｌの血液をチューブから氷上の９６ウェルプレートに播いた。赤血球はＡＣＫ赤血球溶解バッファー(Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ番号Ａ１０４９２－０１)を用いて溶解させ、次に、冷ＰＢＳで２度洗浄した。細胞は、ヒトのＦｃブロッキングミックスおよびマウスＦｃブロック(Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ、カタログ番号１３０－０５９－９０１および１３０－０９２－５７５)と一緒に３０分間インキュベートし、次に、抗マウスＣＤ１１ｂ抗体(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ番号５５７９６０)、抗ヒトＣＤ４抗体(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ番号５６３５５０)、抗ヒトＣＤ８抗体(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、カタログ番号５６０３４７)およびＢＣＭＡ－Ｆｃ抗体(Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、カタログ番号１９３－ＢＣ－０５０)、続いてＩｇ二次(Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ)と一緒にインキュベートした。細胞は２％パラホルムアルデヒド溶液を用いて２０分間固定化し、洗浄してＢＤ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ上での分析に先立って一晩ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ中で保存し、続いてＦｌｏｗＪｏ　ＦＡＣＳ分析ソフトウェアを使用してさらに分析した。細胞は分析して、ＫＭＳ－１１－ｌｕｃ腫瘍担持ＮＳＧマウスにおいてミリリットルの血液あたりのＣＡＲ＋ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の数を決定した。血液中のＴ細胞数は平均±平均値の標準偏差(ＳＥＭ)として報告している。

【０９０４】

結果

ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰ)の抗腫瘍活性を評価し、ヒト多発性骨髄腫のＫＭＳ－１１モデルにおいて直接比較した。０日目の腫瘍移植に続いて、マウスは処置群に無作為化し、７日目に５×１０^{6}Ｔ細胞を用いて静脈内に処置した。多発性骨髄腫疾患負荷および動物健康は、動物がエンドポイントに到達するまでモニターした。全ての群のマウスは、対照群の疾病負荷が画像処理によって最大発光に近づくＣＡＲ　Ｔ細胞投与後の１４日目(腫瘍移植２１日後)に安楽死させた。

疾患負荷の明らかな違いを、対照群とＣＡＲ　Ｔ細胞投与後の１４日目Ｐ＜０.０１のツールＣＡＲ　Ｔ細胞のいずれかで処置した群との間で見ることができる。ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の両方が、ＮＳＧマウスにおいてヒト多発性骨髄腫成長を制御する類似の能力を示している。偽形質導入されたＴ細胞群についての％Ｔ／Ｃ値は２１２.１３％であり、偽形質導入されたＴ細胞には抗腫瘍化性がないことを示している。

【０９０５】

ＢＣＭＡ－３ＮＰおよびＢＣＭＡ－４ＮＰ群についてのパーセントデルタＴ／Ｃ値はそれぞれ１.１０％および２.１７％であり、ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いた処置後の腫瘍停滞を示している。生物発光撮像結果は図２４に示されている。いかなるＴ細胞も受けていないＰＢＳ処置群は、静脈内に移植されたＮＳＧマウスにおいてベースラインのＫＭＳ－１１腫瘍成長動態を示している。偽処置群は、ＣＡＲ　Ｔ細胞と同じインビトロ拡大過程を経験した非形質導入Ｔ細胞を受けた。これらの細胞は、この腫瘍モデルにおいてＴ細胞の非特異的応答を示すＴ細胞対照として働く。ＰＢＳと偽形質導入Ｔ細胞処置群の両方が、実験を通じて連続する腫瘍進行を示す。ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の両方が５×１０^{6}Ｔ細胞注射後疾患の進行を制御する。

ＫＭＳ－１１－ｌｕｃモデルがＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を介したターゲティングに応答す

ることの確認に続いて、新規のｓｃＦｖリードを評価するための研究を開始した。腫瘍移植に続いて、マウスは再び処置群に無作為化され、７日目に５×１０６Ｔ細胞を用いて静脈内に処置した。多発性骨髄腫疾患負荷および動物健康は、動物がエンドポイントに到達するまでモニターした。群のそれぞれのマウスは、群の疾病負荷が画像処理によって最大発光に近づくと安楽死させた。

【０９０６】

疾患負荷の明らかな違いを、対照群とＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞で処置した群のうちの一部の間で見ることができる。ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(ＢＣＭＡ－４ＮＰ)は以前明らかにされていたようにはＫＭＳ－１１腫瘍成長を制御しなかった。しかし、新規のＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の一部はこの多発性骨髄腫モデルにおいて様々なレベルの効能を確かに示した。群ごとにエンドポイントで計算された％Ｔ／Ｃ値は、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３群では腫瘍成長の停滞を示している。偽形質導入Ｔ細胞群は６１.５６％の％Ｔ／Ｃ値を有しており、偽形質導入Ｔ細胞が最小の抗腫瘍活性を有するか抗腫瘍活性が全くないことを示している。ＢＣＭＡ－４Ｐ群についてのパーセントデルタＴ／Ｃ値は３２.０３％であり、ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いた処置後のいくらかの最小抗腫瘍効能を示している。ＢＣＭＡ－１０とＢＣＭＡ－１３群の両方が、それぞれ０.０７％および６.０４％のＴ／Ｃ値を有する腫瘍成長において停滞を示している。ＢＣＭＡ－４は腫瘍成長に初期の制御を示しているが、１つのＴ細胞用量のみをそれぞれの群に与えると、この群における腫瘍は成長し始める。第１の実験からの生物発光撮像結果は図２５Ａに示されている。いかなるＴ細胞も受けていないＰＢＳ処置群は、静脈内に移植されたＮＳＧマウスにおいてベースラインのＫＭＳ－１１腫瘍成長動態を示している。偽処置群は、ＣＡＲ　Ｔ細胞と同じインビトロ拡大過程を経験した非形質導入Ｔ細胞を受けた。これらの細胞は、この腫瘍モデルにおいてＴ細胞の非特異的応答を示すＴ細胞対照として働く。ＰＢＳと偽形質導入Ｔ細胞処置群の両方が、実験を通じて連続する腫瘍進行を示す。ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞群の間で、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３は抗腫瘍活性を示し、ツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(ＢＣＭＡ－４ＮＰ)ならびにＢＣＭＡ－９およびＢＣＭＡ－１５は抗腫瘍効能を示さない。第２の実験が実施され、生物発光撮像結果は図２５Ｂに提供されている。非形質導入Ｔ細胞を受けるマウスはベースラインのＫＭＳ－１１腫瘍成長動態を示している。ＢＣＭＡ－４ＮＰ＊は第１の実験におけるＢＣＭＡ－４ＮＰ　ＣＡＲＴクローンからの結果を表している。第２の実験では、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５は頑強な抗腫瘍活性を示した。

【０９０７】

生物発光により疾病負荷をモニターすることに加えて、それぞれの群中のＣＡＲ＋Ｔ細胞数も末梢血ＦＡＣＳ分析によってモニターした。この研究のＦＡＣＳ結果は図２６に示されている。ＫＭＳ－１１腫瘍に対して抗腫瘍効果を示す群は末梢血においてＣＤ４＋ＣＡＲ＋およびＣＤ８＋ＣＡＲ＋Ｔ細胞拡大も示す。ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３群は、Ｔ細胞処置後の１０日目から２０日目の間にＣＤ４＋ＣＡＲ＋増殖のピークを示す。これらの同じ群は延長されたＣＤ８＋ＣＡＲ＋Ｔ細胞拡大も示す。

新規のＢＣＭＡ　ＣＡＲ形質導入Ｔ細胞の抗腫瘍活性を、ヒト多発性骨髄腫の異種移植片モデルを担持するＮＳＧマウスにおける効能研究において評価した。これらの研究によれば、ＫＭＳ－１１－ｌｕｃモデルはＮＳＧマウスにおいてヒト多発性骨髄腫を再現し、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の標的になることができることが示されている(図２４)。このモデルがＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を試験するのに適していることの確認に続いて、新規のヒトＢＣＭＡ　ＣＡＲを効能研究において試験した。この研究により、新規のＢＣＭＡ　ＣＡＲのうちのいくつか(ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３)は多発性骨髄腫の異種移植片モデルにおいて抗腫瘍応答を開始することが示された(図２５Ａ)。腫瘍実験は繰り返され、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５を試験した。ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５は、移植後少なくとも４週間(２８日)腫瘍成長を阻害するまたは減少させることにより抗腫瘍効能を示した(図２５Ｂ)。

【０９０８】
さらに、抗腫瘍応答はこれらのマウスの末梢血中でのＣＤ４＋ＣＡＲ＋およびＣＤ８＋ＣＡＲ＋Ｔ細胞の拡大と相関している(図２６Ａ、Ｂ、ＣおよびＤ)。このＴ細胞拡大が観察されないときはＢＣＭＡ　ＣＡＲのいずれにおいても抗腫瘍効能は観察されなかった。このモデルにおいて最大の抗腫瘍効能を示すＢＣＭＡ－１０は、もっとも持続性のあるＣＤ８＋ＣＡＲ＋Ｔ細胞拡大も示す。ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３群全てが対照群と比べた場合腫瘍成長の有意な変化を示す。第１回の腫瘍実験においてツールＢＣＭＡ　ＣＡＲ(ＢＣＭＡ－４ＮＰ)ならびにＢＣＭＡ－９およびＢＣＭＡ－１５を用いて見られる効能の欠如(図２５Ａ)はこれらの群でマウスの末梢血におけるＴ細胞拡大の欠如に相関している。同様に、第２の腫瘍実験においてＢＣＭＡ－４ＮＰを用いて見られる効能の欠如(図２５Ｂ)はマウスの末梢血におけるＴ細胞拡大の欠如に相関している。
【０９０９】
末期の骨髄および脾臓サンプルもインビボ腫瘍実験の終了時に分析して、抗腫瘍効能を示したＣＡＲＴクローンが抗腫瘍効能を示さなかった群と比べて骨髄集団を確立することができる点に違いを示すのかどうかを判定した。ＣＡＲ発現ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の数を、第１の実験からマウスの骨髄(図２７Ａおよび２７Ｃ)および脾臓(図２７Ｂおよび２７Ｄ)において決定した。結果から、ＢＣＭＡ－９　ＣＡＲＴの投与により骨髄と脾臓において最も多い数のＣＡＲ＋Ｔ細胞(ＣＤ４＋とＣＤ８＋Ｔ細胞の両方)が生じたことが示されており、ＢＣＭＡ－９　ＣＡＲＴ細胞はインビボで効率的な拡大を経験しているが、死滅能力も抗腫瘍活性もないことを示している。ＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲＴ細胞は、骨髄および脾臓においてＴ細胞の上から２番目に一貫した確立を示した。ＢＣＭＡ－４およびＢＣＭＡ－１５ＣＡＲＴ細胞も脾臓で見出された。
【０９１０】
実施例８：治療のためにリードＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を同定する
リードＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物を同定するための、いくつかのインビトロおよびインビボアッセイの結果。実験アッセイ、アッセイの詳細を記載している実施例およびアッセイの分析後に得られたリードＢＣＭＡ　ＣＡＲの数は以下の表に要約されている(表１３)。アッセイの結果は表１３に収載される順に分析して、特異性、免疫エフェクター細胞における発現、ならびにインビトロおよび／またはインビボ活性を示した候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲを選択した。
【０９１１】

【表７３】

表１３．ＢＣＭＡ　ＣＡＲを選択するためのアッセイ

アッセイ	アッセイが記載されている実施例	基準	BCMA CARs（15のうちから）
CAR発現(レンチウイルスを形質導入されたジャーカットおよび/または原発T細胞)	実施例5および6	あり	14
JNL NFATレポーター活性化	実施例5	負の対照に対して>2倍	10
T細胞拡大(細胞サイズ、全細胞数)	実施例5および6	サイズ:ミクロン 細胞数:T=0細胞数に対して>20倍	10
T細胞増殖(CFSE染色された細胞FACS)		負の対照と比べて≧1ログシフト	10
標的細胞死滅(CFSEまたはルシフェラーゼ)	実施例5および6	E対T3倍<負の対照での>90%死滅	7
腫瘍退縮(単一用量投与;1.5×10^6 CAR^+T細胞)	実施例7	持続性腫瘍退縮>2週間 CAR^+T細胞拡大の証拠	4または2
レンチウイルス力価	実施例8	再現性のよい高ウイルス力価	4または2

【０９１２】

インビトロアッセイ、例えば、レンチウイルスを形質導入されたＣＡＲ発現、ＪＮＬ　ＮＦＡＴ活性化、Ｔ細胞拡大、Ｔ細胞増殖および標的細胞死滅(実施例５、６および７に記載されている)に基づいて、７ＢＣＭＡ　ＣＡＲがインビボで治療効能について試験するべきリードＣＡＲと同定され、５ＢＣＭＡ　ＣＡＲ(ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５)が実施例８で試験された。実施例８に記載されるように、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５は全て抗腫瘍効能を示し、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３は２の別々のインビボ実験で抗腫瘍効能を再現性よく示していた。

レンチウイルス力価は、自動ウイルス産生およびＳｕｐＴ１細胞の自動形質導入後に候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲ間で比較した。２の独立したレンチウイルス力価アッセイを実行した。最初の力価テスト実行はＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５　ＣＡＲの２の独立したＤＮＡプレップ(ＡおよびＢ)を分析した。第２の力価テスト実行はＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５　ＣＡＲの３の独立したＤＮＡプレップ(Ａ、ＢおよびＣ)を分析した。ウイルス産生は自動９６ウェルフォーマットにおいてもたらされた。ＳｕｐＴ１細胞形質導入も自動９６ウェルフォーマットを介して実施した。ＣＡＲ発現はＦＡＣｓにより手動で分析し、結果は図２８Ａおよび２８Ｂに示されている。試験した全てのＢＣＭＡ　ＣＡＲがウイルス力価の比較可能なレベルと一貫性を示した。

したがって、表１３に概要を述べたインビトロおよびインビボ実験からの結果をまとめると、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５はアッセイごとの基準を満たしていることが確認され、治療的使用のためのさらなる試験に向けた良好な候補である。両方の実験で抗腫瘍効能を再現性よく示したＣＡＲ構築物のみをさらに分析する腫瘍縮退分析においてもっと厳格な基準を使用した場合、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３をさらなる治療的試験のために同定した。

【０９１３】

実施例９：リードＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の特徴付け
実施例５～８に記載される種々のアッセイにおいてインビトロおよびインビボ効能を示したリードＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５　ＣＡＲの特性を特徴付けるためのさらなるアッセイを実施した。ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３の配列アライメントにより、２ＣＡＲが同一の重鎖ＣＤＲおよび軽鎖ＣＤＲに高い相同性を有することが示された。４リード候補ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５　ＣＡＲと対照としてのＢＣＭＡ－４ＮＰ(ツールＣＡＲ)の間で競合アッセイを実施した。ＢＣＭＡ－４ＮＰはＢＣＭＡ基質と一緒にインキュベートされ、図２９に示されるように、インキュベーションの５０秒から３００秒の間で結合する。４ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物が添加され、基質への結合がモニターされた。図２９に示されるように、４ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物の全てがＢＣＭＡ－４ＮＰ対照と競合しており、４候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲの全てがＢＣＭＡ－４ＮＰツールＣＡＲと同じエピトープに結合することを示している。所与の濃度では、候補ＣＡＲが異なるエピトープに結合しようとしている場合、予想されるＲＵ変化は約７０ＲＵになると考えられる。候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲの結合中に観察される小さなＲＵ変化は、ＢＣＭＡからのＢＣＭＡ－４ＮＰ対照サンプルのわずかな解離のためであった。

【０９１４】
候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲ：ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５について抗体親和性も評価した。結果は図３０に示しており、下の表に要約されている。

【表７４】
表１４．ＢＣＭＡ　ＣＡＲ結合親和性

サンプル	適合度	ka	kd	KD
BCMA-10	1対1結合	7.10E+04	2.39E-03	33.6
BCMA-13	1対1結合	6.56E+04	1.61E-03	24.5
BCMA-15	1対1結合	2.01E+05	1.87E-03	9.3
BCMA-4	1対1結合	6.17E+05	6.00E-04	1.0
BCMA-4NP	1対1結合	1.58E+06	1.72E-04	0.1

【０９１５】
ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３は類似する親和性を有し、試験した候補の中で親和性がもっとも低い。
候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲの選択的結合も試験した。ＢＣＭＡはＴＮＦ受容体ファミリー中の１つの受容体であり、密接に関連するファミリーメンバーＢａｆｆＲおよびＴＡＣＩを含む。ＢＣＭＡはＢａｆｆＲに約４１％の相同性を、ＴＡＣＩに約２２％の相同性を有する。候補ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１３およびＢＣＭＡ－１５を発現しているＴ細胞は、Ｆｃ領域に融合された組換えＢＣＭＡ、ＢａｆｆＲまたはＴＡＣＩと一緒にインキュベートした。結合はＣＡＲ$^{+}$細胞を染色することにより評価した(図３１)。結果によれば、特異的結合はＢＣＭＡ発現Ｔ細胞の全てと組換えＢＣＭＡ－Ｆｃの間でのみ観察されることが示されており、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ構築物がＢＣＭＡに選択的に結合することを示している。

【０９１６】
実施例１０：脳におけるＢＣＭＡ発現
表１１に示されている組織マイクロアレイ結果は、免疫組織化学分析によりＢＣＭＡ発現は小脳において検出されることを示した。ヒトおよび非ヒト霊長類ホルマリン固定パラフィン包埋(ＦＦＰＥ)脳組織を、抗ＢＣＭＡ抗体、例えば、ＢＣＭＡ細胞内エピトープに対して産生されたＵＳＢｉｏウサギポリクローナル抗体(０８０７－５０Ｇ)およびＢＣＭＡ細胞外エピトープを認識するＪ６ＭＯウサギキメラ抗体を用いて染色した。非霊長類ヒト(

カニクイザル)脳組織におけるＵｓＢｉｏウサギポリクローナル抗体を用いた染色により、小脳登上線維(図３２Ａ)および小脳の下オリーブ核中の細胞体(図３２Ｂ)の陽性染色が得られた。Ｊ６ＭＯを用いた非ヒト霊長類脳組織の染色により、下オリーブ核のみにおいてＢＣＭＡ陽性染色が得られた(図３２Ｃ；図３２Ｅにおけるｉｇ対照染色)。同様に、Ｊ６ＭＯを用いたヒト脳組織の染色によっても、下オリーブ核のみにおいてＢＣＭＡ陽性染色が得られた(図３２Ｄ；図３２Ｆにおけるｉｇ対照染色)。
免疫組織化学結果はＲＮＡ分析により確かめられた。非ヒト霊長類およびヒト脳組織のインサイチュハイブリダイゼーションを実施した。小脳と延髄の両方はインサイチュハイブリダイゼーションによるｍＲＮＡ検出によってＢＣＭＡ陰性であった(図３３Ａおよび３３Ｂ)。定量的ＰＣＲも、非ヒト霊長類(カニクイザル)およびヒト由来の小脳、延髄、胃および腎臓組織上で実施した。ｑＰＣＲ結果によれば、ＢＣＭＡ　ｍＲＮＡはヒト(図３３Ｃ)または非ヒト霊長類(図３３Ｄ)の小脳および延髄でも検出されなかったことが示されている。免疫組織化学分析とＲＮＡ分析との間の潜在的食い違いは、当技術分野で公知の異なるＢＣＭＡスプライス変異型に起因する可能性がある(Smirnova et al., Mol Immunol, 2008, 45:1179-83)。
【０９１７】
あらゆるＢＣＭＡアイソフォームおよびスプライス変異型を検出すると考えられるＲＮＡｓｅｑ分析を正常な組織上で実施した。結果によれば、ＢＣＭＡの発現は正常組織ではＲＮＡｓｅｑによりほとんどまたは全く検出されなかったことが示されている(図３３Ｅ)。ＢＣＭＡ検出タンパク質がＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞にとって利用しやすいのかどうかおよびＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ療法に対する含みを判定するためにさらなる分析を実施する。ＰＣＲプローブは再設計され、ＢＣＭＡスプライス変異型発現が再評価される。小脳サンプル中の単細胞ＲＮＡｓｅｑが実施される。細胞内染色を可視化するために共焦点顕微鏡分析が実施される。マウスは、効果的なＣＡＲＴ、例えば、ＢＣＭＡ－１０およびＢＣＭＡ－１３での脳に対する効果についても評価される。ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞の脳への潜在的輸送を防ぐために、ナタリズマブを対象に投与することが可能である。
【０９１８】
実施例１１：再発性／難治性骨髄腫におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ療法
この実施例では、再発性および／または難治性多発性骨髄腫においてＢＣＭＡ特異的ＣＡＲを発現している自己Ｔ細胞の注入の安全性および実現可能性を評価するための単一コホート非盲検パイロット研究を提供する。ＢＣＭＡ－ＣＡＲは直列型ＴＣＲζおよび４－１ＢＢ(ＴＣＲζ／４－１ＢＢ)共刺激ドメインを含み、ＢＣＭＡ－ＣＡＲを発現しているＴ細胞はＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞と呼ばれる。
【０９１９】
研究目的
研究の主目的は、ＭＭ患者におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の安全性および許容性を判定することである。第二の目的には、奏効率、微小残存病変(ＭＲＤ)率、無憎悪および全生存期間を含む予後を記載すること、ならびにＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を製造する実現可能性を評価することが含まれる。調査目的には、ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞をその拡大、残留性、ホーミング、表現型および機能に関して特徴付けること；ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞に対する細胞性および／または液性免疫の発現について評価すること；免疫グロブリンレベルを含む、Ｂ細胞および形質細胞区画化に対するＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の効果を評価すること；患者の全身の可溶性免疫性因子に対するＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の影響を判定すること；処置前および後でＭＭ細胞上でのＢＣＭＡ発現を評価すること；ならびに前臨床利益後に進行する患者におけるＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いた再処置の安全性および効能を評価することが含まれる。
【０９２０】
研究期間
活発な介入およびモニタリングの期間はおよそ２年である。２年後、遅延性有害事象のためのモニタリングは、ＦＤＡガイドラインに従って個別の長期経過観察プロトコルに移行

することになる。プロトコルは登録数を完了させるにはおよそ１２～１８カ月必要とすることになる。

【０９２１】

診断および主要な組み入れ基準

最大１２人の評価可能な対象を登録する。

組み入れ基準には、事前アルキル化剤、プロテアソーム阻害剤(ＰＩ)および免疫調節剤(ＩＭｉＤ)を必ず含む少なくとも３治療経験(または、ＩＭｉＤ(免疫調節剤、サリドマイドおよびレナリドミド)およびプロテアソーム阻害剤が二重に無効である場合には、２治療経験)の後、再発性および／または難治性多発性骨髄腫に罹った１８歳を超える成人患者が含まれる。患者は再発しており、ＰＤ)に対するＩＭＷＧ(国際骨髄腫ワーキンググループ)基準を満たしていると定義されまたは難治性であり、最新のレジメン後＜ＰＲ)に到達していると定義される。患者は現在利用可能な治療では予後が限定されている(≦２年生存)。

【０９２２】

研究結果、用量、経路、レジメン

ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の単回注入は静脈内注入により施される。コホート１は１～５×１０^{8}ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞を単独で受けることになり、全細胞中形質導入される細胞は２～５０％の範囲と計算された(コホート１の細胞用量は、思いがけない厳しい毒性がある場合は１～５×１０^{7}ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞(コホート１)まで減少させることができる)。コホート２は、１～５×１０^{7}ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の注入の１～３日前に静脈内注入により投与されるシクロホスファミド(シトキサン)１.５ｇ／ｍ^{2}を受けることになる。コホート３は、１～５×１０^{8}ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ細胞の注入の１～３日前に静脈内注入により投与されるシクロホスファミド１.５ｇ／ｍ^{2}を受けることになる。

注入される全容量および分あたり１０～２０ｍＬの推奨される注入速度に基づいて。コホートごとの投与量およびレジメンは下の表に要約されており、模式図は図３４に示されている。

【０９２３】

【表７５】

表１５．コホートおよび投与量の要約

コホート	リンパ球枯渇化学療法(Lymphodepleting chemo)	BCMA-CAR T細胞用量
-1	-	$1\sim5\times10^7$
1 (n=3)	-	$1\sim5\times10^8$
2 (n=3)	シトキサン 1.5 g/m^2	$1\sim5\times10^7$
3 (n=6)	シトキサン 1.5 g/m^2	$1\sim5\times10^8$

Ｔ細胞の脳への潜在的輸送を防ぐために、患者にナタリズマブ(ＴＹＳＡＢＲＩ(登録商標))を投与することが可能である。

【０９２４】

患者モニタリング

腫瘍応答は、血清および尿タンパク質電気泳動および免疫固定法；骨髄生検；ならびに処置に先立って骨格病変が存在している場合は撮像により測定されることになる。神経変化がないことを保証するために治療前および後に神経試験も実施することになる。

【０９２５】

統計的方法論

統計的分析は研究の調査的性質との調和を保つのに主に記述的になる。記述統計は相対的生着、残留性ならびに研究薬成分の血液および骨髄への輸送を判定するために適用されることになる。全体的範疇と主要範疇内の両方で、全ての有害事象が記述され、有害事象率については正確な９５％信頼区間が生成されることになる。抗腫瘍活性などの他の二次エ

ンドポイントの分析も主に記述的であり、平均および標準偏差などの要約統計量または生存情報についてのカプラン・マイヤー曲線を含むことができる。

【０９２６】

実施例１２：ＣＡＲＴ細胞からのサイトカイン分泌

標的に応答してサイトカインを分泌するＣＡＲＴ細胞の能力を判定した。ＢＣＭＡ－１０ＣＡＲまたは非形質導入Ｔ細胞を含有するＣＡＲＴ細胞をＢＣＭＡ陽性(ＫＭＳ１１－ｌｕｃ)またはＢＣＭＡ陰性(Ｕ８７－ｌｕｃ)標的細胞と共培養し、ＩＬ－２、ＩＦＮγおよびＴＮＦαの培地への分泌を測定した。具体的には、ＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲまたは非形質導入のいずれかを含有する解凍したＣＡＲ　Ｔ細胞を、２.５対１のエフェクター対標的比で２０時間標的細胞と共培養した。標的細胞には、ＢＣＭＡ陽性ルシフェライズドＫＭＳ－１１(ＫＭＳ１１－ｌｕｃ)またはＢＣＭＡ陰性ルシフェライズドＵ８７細胞(Ｕ８７－ｌｕｃ)が含まれていた。エフェクター細胞は、完全Ｔ細胞培地において、全容量２００μＬ／ウェル中３×１０^{4}標的細胞で９６ウェルＵ字型底プレートにおいて培養した。２０時間後、上清を培養物から取り除き、ＩＦＮγ、ＩＬ－２およびＴＮＦα分泌を、ＦＡＣＳ上でのサイトメトリックビーズアレイ(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ)により製造業者の使用説明書に従って定量化した。測定は２連で行った。エラーバーは標準偏差を表す(図３５Ａ～３５Ｂ)。結果により、非形質導入Ｔ細胞ではなくＢＣＭＡ－１０　ＣＡＲＴが、ＢＣＭＡ陰性標的細胞ではなくＢＣＭＡ発現標的細胞により刺激されてサイトカインを産生したことが示される。

【０９２７】

実施例１３：多発性骨髄腫におけるＢＣＭＡ－ＣＡＲＴの機能

多発性骨髄腫(ＭＭ)は骨髄中の形質細胞の悪性腫瘍であり、もっとも一般的には貧血、皮膚病変、骨圧痛または骨痛、疲労、溶骨性病変、高カルシウム血症、腎不全および再発性細菌感染を含む臨床的特徴がある。レナリドミドなどの薬物を用いた最近の処置が再発ＭＭの生存の著しい増加を引き起こしているという事実にもかかわらず、この疾患はほとんど常に不治である。５年生存率中央値は約３５％である。予後不良のために、効果的な標的療法が必要とされる。

キメラ抗原受容体(ＣＡＲ)を発現するように操作されたＴ細胞を使用する処置は、ＡＬＬなどの血液系悪性腫瘍のための有望な免疫療法をもたらすことが可能である。ＣＡＲは、腫瘍細胞上で発現される細胞表面標的タンパク質を認識する融合タンパク質を含有している。差次的遺伝子発現研究により、悪性形質細胞および正常形質細胞に対して高度に特異的な標的抗原として、Ｂ細胞成熟抗原(ＢＣＭＡ、ＣＤ２６９)が同定されており、したがって、ＢＣＭＡはＣＡＲ　Ｔ細胞療法のために潜在的に有用な標的抗原である。例えば、Carpenter et al. Clin Cancer Res. 19.8(2013):2048-60を参照されたい。

ＢＣＭＡはＴＮＦ受容体スーパーファミリーのメンバーである。そのタンパク質はＴＮＦＲＳＦ１７遺伝子にコードされている。ＢＣＭＡは成熟Ｂリンパ球において発現される。ＢＣＭＡは腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー、メンバー１３(ＴＮＦＳＦ１３Ｂ／ＴＡＬＬ－１／ＢＡＦＦ)、ＡＰＲＩＬにおよび種々のＴＲＡＦファミリーメンバーに結合する。そのリガンドとの相互作用により、Ｂ細胞成長、長期血漿生存および細胞増殖に関連付けられるＮＦカッパＢおよびＭＡＰＫ８／ＪＮＫシグナルが生じる。

この実施例は、ＢＣＭＡ１０　ｓｃＦｖを組み込んでいるｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚ　ＣＡＲ形質導入Ｔ細胞(ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡまたはＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ)のインビトロおよびインビボ機能を評価するための前臨床研究を記載する。

【０９２８】

材料

Ｔ細胞.健康なドナー由来のＴ細胞はペンシルバニア大学ＣＦＡＲヒト免疫学コア(Human Immunology Core)(Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ、ＰＡ)から入手した。細胞は健康なボランティアドナーの白血球除去から調製した。

培地.１０％ウシ胎仔血清と濾過(Ｖａｌｌｅｙ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ)、２mMのＧｌｕｔａＭａｘ(Invitrogen)、１０mMのＨＥＰＥＳ(Invitrogen)、１００Ｕ／mlのペニシ

リンおよび１００μｇ／mlのストレプトマイシン(Ｇｉｂｃｏ)を補充したＲＰＭＩ培地(Ｇｉｂｃｏ)を使用した。
ＣＤ３／２８ビーズ.ＣＤ３／２８ビーズ(ＧＭＰグレード)はペンシルバニア大学の臨床細胞ワクチン生産施設(Clinical Cell and Vaccine Production Facility)により製造された。
プラスミド.ｐＥＬＰＳレンチウイルスベクターＮＶＰ－ＭＣＭ９９８にクローニングされたｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚ　ＣＡＲ構築物はNovartisにより生成された。
抗体.抗体、ヤギ抗ヒトＢＣＭＡ　ＰＥ標識された(Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、カタログ番号３５７５０４)およびストレプトアビジン(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ)は多発性骨髄腫細胞株上でのＢＣＭＡ発現を検出するために使用された。ＣＡＲ　Ｔ細胞発現では、ＢＣＭＡ　ｆｃ融合タンパク質(Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、カタログ番号１９３－ＢＣ－０５０)が使用され、続いて抗ヒトＩｇＧ　ｆｃ－ＰＥ抗体(Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、カタログ番号４０９３０４)が使用された。
ＰＢＳ.ＰＢＳはＧｉｂｃｏ製であった。
レンチウイルスパッケージ.ＰＣＬ　ＵＳＵＧ,ＰＲＳＶ　Ｒｅｖ,ＰＧＡＧ　ｐｏｌプラスミド(Ｎａｔｕｒｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ｃｏｒｐ.カタログ番号ＮＴＣ　ＲＰ２０)は、リポフェクタミン２０００(Invitrogen、カタログ番号１１６６８０２７)を用いて２９３Ｔ細胞上でトランスフェクトすることによりｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚレンチウイルス調製のために使用された。
細胞株.ヒト胎児由来腎臓２９３Ｔ細胞(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＲＬ－３２１６)はレンチウイルス調製のために使用した。多発性骨髄腫細胞株ＲＰＭＩ　８２２６(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＣＬ－１５５)、ＭＭ１Ｓ(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＲＬ－２９７４)、Ｕ２６６(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＲＬ－３２１６)、ＮＣＩ　Ｈ９２９(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＲＬ－９０６８)およびＯＰＭ２(ＤＳＭＺカタログ番号ＡＣＣ－５０)；ならびにＫ５６２(ＡＴＣＣ　カタログ番号ＣＣＬ－２５６)またはＫ５６２－ＢＣＭＡ細胞(Ｇｅｎｅｃｏｐｏｅｉａ　カタログ番号Ｌｖ１０５由来のＢＣＭＡレンチウイルスベクター)は、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞上での機能実験のために使用された。
【０９２９】
方法
レンチウイルス産生プロトコルおよび力価決定.２９３Ｔ細胞は、１０％ＦＢＳ(ＡＴＣＣカタログ番号３０－２０２０)およびストレプト／ペニシリン(Invitrogen　カタログ番号１０３７８－０１６)を補充したＲＰＭＩ１６４０培地(Ｇｉｂｃｏ　カタログ番号１１８７５－０８０)を用いてＴ１５０フラスコ(Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｃｏｓｔａｒ　カタログ番号４３０８２５)中にフラスコあたり８×１０^{6}細胞で播種され、パッキングプラスミドミックス(Ｎａｔｕｒｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ｃｏｒｐ.)プラスｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚコードｐＥＬＰＳレンチウイルスベクターを２４時間トランスフェクトされた。得られたウイルス調製物は－８０℃で保存された。組換えレンチウイルスはＣＤ４　Ｔ上で力価測定された。
形質導入プロトコル.ヒト免疫学コアから入手したＴ細胞は培地で１度洗浄し、１０^{6}細胞／mlで再懸濁し、１対３の細胞対ビーズ比でＣＤ３／２８を用いて刺激した。レンチウイルス形質導入は、レンチウイルスベクターをＭＯＩの３で細胞培養物中に混合することにより２日目に実施した。
Ｔ細胞拡大.刺激されたＴ細胞は養われ、７～９日間または細胞分裂の減少速度および平均細胞容量の＜約３００ｆｌまでの減少により判定した場合に細胞を休ませるまで、２～３日ごとに0.８×１０^{6}細胞／mlまで分割した。
細胞培養物.多発性骨髄腫細胞株およびＫ５６２、Ｋ５６２　ＢＣＭＡ細胞株は１０％ＦＢＳおよび抗生物質を有するＲＰＭＩにおいて培養した。
細胞計数.細胞は、培養物を穏やかに混合して培養容量から４０μｌの細胞を収集し、計数のための２０mlのＩｓｏｔｏｎ　ＩＩ希釈緩衝液を有するアキュベット(accuvettes)(Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ)に入れることにより、拡大中３日ごとにＣｏｕｌｔｅｒ　Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ３(Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ)を使用して計数した。この試験

の結果(絶対細胞数および細胞容量)を使用して細胞濃度、全細胞数、成長速度および希釈容量を決定した。
５１Ｃｒ放出アッセイ.ＢＣＭＡ発現標的細胞を死滅させるＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞の能力は５１Ｃｒ放出アッセイを使用して評価した。手短に言えば、標的Ｋ５６２－ＢＣＭＡ細胞(または対照Ｋ５６２細胞)および多発性骨髄腫細胞株を５１Ｃｒ(重クロム酸ナトリウム塩)で標識し、洗浄し異なるエフェクター／標的比でエフェクターＣＡＲＴ－ＢＣＭＡまたは対照非形質導入Ｔ細胞(ＮＴＤ)と共培養した。４時間で上清を収集し、９６ウェルＬｕｍａｐｌａｔｅｓ(Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ)中に置いた。標識された標的細胞から放出された５１Ｃｒの量は液体シンチレーション計数器(ＭｉｃｒｏＢｅｔａ　ｔｒｉｌｕｘ、Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ)上で測定した。培地だけでまたは１％ＳＤＳを有する培地でインキュベートされた標的細胞を使用して自然(Ｓ)または最大(Ｍ)５１Ｃｒ放出を判定した。特異的溶解のパーセンテージは以下の：１００×(ｃｐｍ実験放出－ｃｐｍＳ放出)／(ｃｐｍＭ放出－ｃｐｍＳ放出)の通りに計算した。
形質導入されたＴ細胞上でのＣＡＲ検出.ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡの形質導入を評価するため、Ｔ細胞はＢＣＭ－Ｆｃ融合タンパク質(Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ)続いて抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ－ＰＥ抗体(Ｂｉｏｌｅｎｇｅｎｄ)を用いて染色した。
フローサイトメトリー.抗ＢＣＭＡ染色では、ヒト骨髄腫細胞株はヤギ抗ヒトＰＥ　ＢＣＭＡ抗体(Ｂｉｏｌｏｅｇｅｎｄ)続いてストレプトアビジン(ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ)を用いて染色した。全ての実験のフローサイトメトリー分析はＦｌｏｗＪｏ(Ｔｒｅｅ　Ｓｔａｒ,Ｉｎｃ.)を使用することにより実施した。
ＥＬＩＳＡ.標的Ｋ５６２－ＢＣＭＡ細胞(または対照Ｋ５６２細胞)または多発性骨髄腫細胞株は９６ウェル平底プレートの２連のウェルにおいて標的対エフェクター比１対３でＣＡＲ形質導入Ｔ細胞と組み合わせた。ＥＬＩＳＡアッセイは、製造業者の推奨する通りにヒトＩＦＮγまたはＩＬ２　Ｄｕｏｓｅｔ　ＥＬＩＳＡキット(Ｒ＆Ｄ)を使用することによりインキュベーションの１６時間後に収集した上清の１対１０希釈において実施した。
【０９３０】
結果
ｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚは形質導入されたＴ細胞上で高度に発現された
新たに精製され負の選択を受けた正常なヒトＴ細胞をＣＤ３／２８ビーズ(細胞対ビーズ比１対３)を使用してインビトロで活性化し拡大させておいた。活性化後１日目、細胞はｈｕＢＭＣＡ－ＢＢｚを発現している前臨床レンチウイルスベクターを形質導入しまたは偽形質導入(ＮＴＤ対照)させた。図３６Ａは、培養中の全Ｔ細胞の増加を示している。ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞は３日ごとに計数され、分割された細胞の比で調整された。Ｔ細胞はＣｏｕｌｔｅｒ　Ｃｏｕｎｔｅｒ　ＭｕｌｔｉｓｉｚｅｒＩＩＩを使用して数え上げられ、拡大サイクルの終了時(７～９日)まで２日ごとに養われた。エクスビボ拡大の６日目、２００μｌのＣＡＲＴ－ＢＣＭＡまたは対照ＮＴＤ　Ｔ細胞は上の方法のセクションで記載された通りに染色された。生細胞集団にＦＣＳ対ＳＳＣを使用してゲートをかけた。フロー取得はＢＣ　ＦＡＣＳ　Ｃａｎｔｏ装置上で実施し、フロー分析はＦｌｏｗＪｏソフトウェア(Ｔｒｅｅ　Ｓｔａｒ,Ｉｎｃ.)を使用して実施した。
【０９３１】
非形質導入(ＮＴＤ)とＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞の増殖率に違いは観察されず、レンチウイルス発現がＴ細胞の増殖ポテンシャルに影響を及ぼさなかったことを示している(図３６Ａ)。形質導入効率は上の方法のセクションで記載された通りに形質導入後６日目で評価した。図３６ＢはｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚ形質導入効率が４９％だったことを示している。これらの結果は、ｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚ　ＣＡＲがヒトＴ細胞の表面で効率的に発現されたことを示している。
【０９３２】
ＢＣＭＡは多発性骨髄腫細胞株上で異なるレベルで発現された
多発性骨髄腫細胞株上でのＢＣＭＡ表面発現はフローサイトメトリー染色を使用して判定された。生細胞集団にＦＣＳ／ＳＣＣパラメータによりゲートをかけた。フロー取得はｃ

ａｎｔｏ装置上で実行されフロー分析はＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いた。試験された大半の多発性骨髄腫細胞株は強いＢＣＭＡ発現を示し、ＲＰＭＩ８２２６および対照Ｋ５６２－ＢＣＭＡ細胞のほうが発現した表面ＢＣＭＡレベルは低かった(図３７)。全てのプロットで、橙色ソリッドピークはアイソタイプ対照を表し、青色ソリッドピークはＢＣＭＡ抗体を用いた染色を表す(図３７)。フローサイトメトリー染色により、多発性骨髄腫細胞株、ＮＣＩ　Ｈ９２９、Ｕ２６６、ＲＰＭＩ　８２２６、ＯＰＭ２およびＭＭ１Ｓの表面上での、ならびに、Ｋ５６２－ＢＣＭＡ細胞によるＢＣＭＡ発現が明らかにされた。Ｋ５６２細胞株の表面ではＢＣＭＡは検出されなかった(図３７)。これらの結果は、ＢＣＭＡがいくつかの多発性骨髄腫細胞株により発現されており、発現レベルは約１ログばらついていたことを示している。

【０９３３】

ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞はサイトカインを産生し異なるＢＣＭＡ発現多発性骨髄腫細胞株に応答して特異的に細胞障害特性を示した

サイトカインを産生しＢＣＭＡ＋標的細胞を死滅させるＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞の能力を判定した。ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞(ｈｕＢＣＭＡ－ＢＢｚ形質導入Ｔ細胞)または対照非形質導入Ｔ細胞(ＮＴＤ)をＫ５６２、Ｋ５６２－ＢＣＭＡまたは多発性骨髄腫細胞株(ＭＭ１Ｓ、ＯＰＭ２またはＵ２６６)と１６時間二通りに共培養した。細胞はＴ細胞対標的細胞の３対１比で共培養した。無細胞上清を収穫し、上の方法のセクションで記載した通りにＩＬ２またはＩＦＮγの産生を評価した。

【０９３４】

ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞は、非抗原発現野生型Ｋ５６２細胞と比べて、ＢＣＭＡを発現するように操作されたＫ５６２(Ｋ５６２－ＢＣＭＡ)の存在下でＩＬ２またはＩＦＮγを特異的に産生した。ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞は、Ｕ２６６、ＯＰＭ２およびＭＭ１Ｓ多発性骨髄腫細胞株の存在下でもサイトカインを産生することができた(図３８Ａ～３８Ｂ)。これらの結果により、ＢＣＭＡ＋標的細胞株の存在下で、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞は炎症促進性サイトカインを産生したことが示されている。

【０９３５】

ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞の抗腫瘍有効性についての別のインビトロ基準は、ＢＣＭＡ＋標的細胞を死滅させるその能力である。Ｔ細胞は、例えば、図３６Ａ～３６Ｂとの関連で、上に記載される通りに活性化され形質導入された。ＢＣＭＡ１０　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、５１Ｃｒ標識Ｋ５６２－ＢＣＭＡ、ＲＰＭＩ８２２６またはＭＭ１Ｓ細胞株と、図３９Ａ～３９Ｃに示されるエフェクター対標的比(Ｅ対Ｔ比)(０、１０、２０または３０のＥ対Ｔ)で４時間共培養され、溶解のパーセンテージは上の方法のセクションで記載した通りに計算された。図３９Ａは、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞がＫ５６２－ＢＣＭＡ細胞を特異的に死滅させたことを示している。ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞は、４時間細胞障害性アッセイにおいてＢＣＭＡｈｉｇｈ多発性骨髄腫細胞株ＭＭ１ＳおよびＢＣＭＡｌｏｗＲＰＭＩ８２２６細胞株も効率的に死滅させた(図３９Ｂ、３９Ｃ)。これらの結果により、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡは多発性骨髄腫細胞株に対して増強された細胞障害活性(５１Ｃｒアッセイ)を呈したことが示されている。

【０９３６】

インビボでのＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞の抗腫瘍活性

多くの他の骨髄腫細胞株と比べて低いレベルのＢＣＭＡ発現を示すＲＰＭＩ８２２６細胞を使用して、生物発光撮像(ＢＬＩ)のためにコメツキムシ緑色ルシフェラーゼ(ＣＢＧ)を発現するように操作されたＢＣＭＡｌｏｗＲＰＭＩ８２２６細胞株により生じる腫瘍を認識し除去するＣＡＲＴ－ＢＣＭＡの能力を評価するためのマウスモデルを確立した。確立した静脈内ＲＰＭＩ８２２６腫瘍を有するＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γ鎖－／－(ＮＳＧ)マウスは、腫瘍細胞播種に続く３０日目にＣＡＲＴ－ＢＣＭ細胞(ｎ＝１０)または非形質導入対照Ｔ細胞(ＮＴＤ)(ｎ＝１０)の静脈内注射を受けた。ＲＰＭＩ８２２６細胞を移植された細胞ＮＳＧマウスは、腫瘍細胞注射に続く３０日目に５×１０^{6}ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ　Ｔ細胞を用いて処置された。骨髄腫腫瘍進行は、Ｔ細胞注入後９週間(腫瘍注射後１４週間)

までインビボＢＬＩ(週あたり１回の腹部および背部マウス領域のＢＬＩ)により追跡された。

【０９３７】

非形質導入Ｔ細胞は腫瘍を制御できず、マウスは全て腫瘍注射の１０～１１週後の疾患進行のために安楽死させなければならなかった(図４０Ａおよび４０Ｃ)。これとは対照的に、ＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ細胞を受けたマウスは大半のマウスで腫瘍成長の制御を示し、ＮＴＤ対照処置マウスの０％生存と比べて腫瘍細胞播種後の１０週目ではＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ処置マウスの生存は８０％であった(図４０Ｂおよび４０Ｃ)。これらの結果により、髄内ＲＰＭＩ８２２６腫瘍はＣＡＲＴ－ＢＣＭＡ処置により阻害されたことが示されている。

【０９３８】

実施例１４：ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ投与スキーム

ＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞療法、例えば、本明細書で記載されるＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞療法は、患者、例えば、多発性骨髄腫患者に、本明細書で記載される投与レジメン、例えば、以下に記載される投与レジメンに従って施すことが可能である。

白血球除去は、自家Ｔ細胞を手に入れるためにＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ療法を受けるのに先立って患者で実施した。ＢＣＭＡレンチＣＡＲ　Ｔ細胞の製造および／または凍結保存を実施する。患者は疾病管理を維持するために製造中に治療を受けることができる。一部の患者はＣＡＲＴ細胞投与前にリンパ球枯渇療法(例えば、シトキサン)を受けることができる。例えば、リンパ球枯渇化学療法、例えば、シトキサン(例えば、１.５ｇ／ｍ^{2}で)が患者に投与される。他の投与レジメンでは、リンパ球枯渇化学療法は患者に施されない。次に、患者は本明細書で記載される投与レジメンに従ってＢＣＭＡ　ＣＡＲＴ細胞を用いて処置される。

投与レジメンには用量分割が含まれ、例えば、細胞の全用量のうちの一定のパーセンテージが処置の１日目に送達され、細胞の全用量のうちの異なるパーセンテージが処置の後日に送達され、細胞の全用量のうちの異なるパーセンテージが処置のさらに後日に送達される。例えば、細胞の全用量の１０％が１日目に送達され、細胞の全用量のうちの３０％が２日目に送達され、細胞の全用量のうちの残りの６０％が処置の３日目に送達される。例えば、全細胞用量には、１から５×１０^{7}または１から５×１０^{8}ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞が含まれる。

【０９３９】

１投与レジメンでは、リンパ球枯渇化学療法は施されず、１から５×１０^{7}の全ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞用量が処置の１日目に細胞用量の１０％、処置の２日目に３０％、処置の３日目に６０％で投与される(例えば、注入により)。別の投与レジメンでは、リンパ球枯渇化学療法は施されず、１から５×１０^{8}の全ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞用量が処置の１日目に細胞用量の１０％、処置の２日目に３０％、処置の３日目に６０％で投与される(例えば、注入により)。別の投与レジメンでは、リンパ球枯渇化学療法(シトキサン１.５ｇ／ｍ^{2}で)がＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞投与３日前に施され、次に、１から５×１０^{7}の全ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞用量が処置の１日目に細胞用量の１０％、処置の２日目に３０％、処置の３日目に６０％で投与される(例えば、注入により)。さらに別の投与レジメンでは、リンパ球枯渇化学療法(シトキサン１.５ｇ／ｍ^{2}で)がＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞投与３日前に施され、次に、１から５×１０^{8}の全ＢＣＭＡ－ＣＡＲＴ細胞用量が処置の１日目に細胞用量の１０％、処置の２日目に３０％、処置の３日目に６０％で投与される(例えば、注入により)。

【０９４０】

臨床試験室評価はＣＡＲＴ細胞投与後の１、２、４、７、１４、２１、２８日目に、４週間ごとに実施される(０日目はＣＡＲＴ投与の１日目にあたる)。多発性骨髄腫評価は、ＣＡＲＴ投与前、ＣＡＲＴ投与の１日目(０日)、ならびに１４、２８日目および４週間ごとに実施される。骨髄液／生検(ｂｘ)は、ＣＡＲＴ投与前、ならびにＣＡＲＴ投与後の２８および９０日目に実施される。ＣＡＲＴ処置の最初の２８日後、経過観察は４週間ごとに、６カ月まで、次に、３カ月ごとに２年まで実施される。

【０９４１】
実施例１５：低用量のＲＡＤ００１は細胞培養モデルにおいてＣＡＲＴ増殖を刺激する
インビトロでのＣＡＲ　Ｔ細胞増殖に対する低用量のＲＡＤ００１の効果を、ＣＡＲＴ発現細胞を異なる濃度のＲＡＤ００１の存在下で標的細胞と共培養することにより評価した。
【０９４２】
材料および方法
ＣＡＲ形質導入Ｔ細胞の生成
ヒト化抗ヒトＣＤ１９　ＣＡＲ(ｈｕＣＡＲＴ１９)レンチウイルス移送ベクター(ｔｒａｎｓｆｅｒ　ｖｅｃｔｏｒ)を使用して、ＶＳＶｇシュードタイプ化レンチウイルス粒子にパッケージングされたゲノム物質を生成した。ヒト化抗ヒトＣＤ１９　ＣＡＲ(ｈｕＣＡＲＴ１９)のアミノ酸およびヌクレオチド配列は、２０１４年３月１５日に提出されたＰＣＴ出願、ＷＯ２０１４／１５３２７０に記載されるＣＡＲ１、ＩＤ　１０４８７５であり、その中で配列番号８５および３１と命名されている。
レンチウイルス移送ベクターＤＮＡは、Ｌｅｎｔｉ－Ｘ　２９３Ｔ細胞をトランスフェクトするためのリポフェクタミン試薬と組み合わせて、３パッケージング成分、ＶＳＶｇ　ｅｎｖ、ｇａｇ／ｐｏｌおよびｒｅｖと混合させる。培地はその後２４時間および３０時間後に交換し、ウイルス含有培地は収集し、濾過して－８０℃で保存する。ＣＡＲＴは、健康なドナーの血液またはロイコパック(leukopak)の負磁気選択により得られる新鮮なまたは凍結未処理のＴ細胞の形質導入により生成される。Ｔ細胞は抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８ビーズと一緒の２４時間のインキュベーションにより活性化され、その後ウイルス上清または濃縮されたウイルス(それぞれ、ＭＯＩ＝２または１０)が培養物に添加される。改変されたＴ細胞は約１０日間拡大させておく。形質導入された細胞(細胞表面でＣＡＲを発現している)のパーセンテージおよびＣＡＲ発現のレベル(相対的蛍光強度、幾何平均)は７日目から９日目の間でフローサイトメトリー分析により決定される。遅い成長速度と約３５０ｆＬに近づくＴ細胞サイズの組合せによりＴ細胞が後の分析のために凍結保存される状態が決定される。
【０９４３】
ＣＡＲＴの増殖評価
ＣＡＲＴの機能性を評価するため、Ｔ細胞を解凍し、計数し、生存率をセロメーター(Cellometer)により評価する。それぞれの培養物中のＣＡＲ陽性細胞の数は非形質導入Ｔ細胞(ＵＴＤ)を使用して標準化する。ＣＡＲＴに対するＲＡＤ００１の効果はＲＡＤ００１を用いた滴定において試験し、５０ｎＭで開始した。共培養実験全てにおいて使用する標的細胞株はＮａｌｍ－６、ＣＤ１９を発現しルシフェラーゼを発現するように形質導入されているヒトプレＢ細胞急性リンパ性白血病(ＡＬＬ)細胞株である。
ＣＡＲＴの増殖を測定するため、Ｔ細胞は１対１の比で標的細胞と一緒に培養する。細胞がＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８およびＣＡＲ発現のために染色されるとき、アッセイは４日間実行される。Ｔ細胞の数は基準としてビーズの計数を使用するフローサイトメトリーにより評価する。
【０９４４】
結果
ＣＡＲＴ細胞の増殖能力を４日間共培養アッセイにおいて試験した。ＣＡＲ陽性ＣＤ３陽性Ｔ細胞(暗いバー)および全ＣＤ３陽性Ｔ細胞(明るいバー)の数は、ＣＡＲ形質導入および非形質導入Ｔ細胞をＮａｌｍ－６と一緒に培養した後に評価した(図４３)。ｈｕＣＡＲＴ１９細胞は、０.０１６ｎＭ未満のＲＡＤ００１の存在下で培養すると拡大し、もっと高い濃度の化合物では拡大の程度はそれよりも少なかった。重要なのは、０.００３２と０.０１６ｎＭのＲＡＤ００１の両方で増殖はＲＡＤ００１の添加なしで観測された場合より高かったことである。非形質導入Ｔ細胞(ＵＴＤ)は検出可能な拡大を示さなかった。
【０９４５】
実施例１６：低用量のＲＡＤ００１はＣＡＲＴ発現をインビボで刺激する
この実施例では、異なる濃度のＲＡＤ００１と一緒にインビボで増殖するｈｕＣＡＲ１９

細胞の能力を評価する。
【０９４６】
材料および方法
ＮＡＬＭ６－ｌｕｃ細胞：ＮＡＬＭ６ヒト急性リンパ性白血病(ＡＬＬ)細胞株を再発ＡＬＬに罹った患者の末梢血から発現させた。次に、細胞にホタルルシフェラーゼをタグ付けした。これらの懸濁細胞は１０％の熱失活させたウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩにおいて成長する。
マウス：生後６週間のＮＳＧ(ＮＯＤ.Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃｓｃｉｄ Ｉｌ２ｒｇｔｍ１Ｗｊｌ／ＳｚＪ)マウスはＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ(ストック番号００５５５７)から入手した。
腫瘍移植：ＮＡＬＭ６－ｌｕｃ細胞を１０％熱失活させたウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩにおいてインビトロで成長させ拡大させた。次に、細胞は１５mlのコニカルチューブに移し、冷たい無菌ＰＢＳを用いて２度洗浄した。次に、ＮＡＬＭ６－ｌｕｃ細胞を計数し、ミリリットルのＰＢＳあたり１０×１０６細胞の濃度で再懸濁させた。細胞を氷上に置き、直ちに(１時間以内)マウスに移植した。ＮＡＬＭ６－ｌｕｃ細胞は尾静脈を経て静脈内に１００μｌ容量で注射され、マウスあたり総数で１×１０６細胞であった。
【０９４７】
ＣＡＲ　Ｔ細胞投与：マウスは腫瘍移植の７日後５×１０６Ｔ細胞を投与された。細胞は３７℃の水浴中で部分的に解凍し、次に細胞を含有するチューブに１mlの冷たい無菌ＰＢＳを添加することにより完全に解凍させた。解凍された細胞は１５mlのファルコンチューブに移し、ＰＢＳを用いて最終容量１０mlに調整した。細胞は、毎回１０００ｒｐｍで１０分間２度洗浄し、次に血球計数器上で計数した。次に、Ｔ細胞は冷ＰＢＳ１mlあたり５０×１０６ＣＡＲ　Ｔ細胞の濃度で再懸濁し、マウスに投与するまで氷上で保管した。マウスは尾静脈を経て静脈内に１００μｌのＣＡＲ　Ｔ細胞を注射され、マウスあたり５×１０６ＣＡＲ　Ｔ細胞の用量であった。群あたり８マウスを１００μｌのＰＢＳ単独で(ＰＢＳ)またはヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔ細胞で処置した。
ＲＡＤ００１投与：１mgのＲＡＤ００１に等しい濃縮したマイクロエマルジョン５０mgを処方し、次に、投与時にＤ５Ｗ(デキストロース５％水溶液)に再懸濁した。マウスには毎日、所望の用量のＲＡＤ００１を、２００μｌを用いて経口投与した(経口経管栄養を介して)。
ＰＫ分析：マウスは腫瘍移植の７日後に開始してＲＡＤ００１を毎日投与した。投与群は以下の通りであった：０.３mg／kg、１mg／kgおよび１０mg／kg。マウスは最初と最後のＲＡＤ００１投与に続いて０日目および１４日目にＰＫ分析のため以下の時点で血を採った：１５分、３０分、１時間、２時間、４時間、８時間、１２時間および２４時間。
【０９４８】
結果：
ＲＡＤ００１の展開および薬物動態はＮＳＧマウスにおいてＮＡＬＭ６－ｌｕｃ腫瘍を用いて試験した。ＲＡＤ００１だけを毎日経口投与してもＮＡＬＭ６－ｌｕｃ腫瘍の成長には影響を及ぼさなかった(図４４)。ＲＡＤ００１の薬物動態分析によれば、腫瘍担持マウスの血液中ではＲＡＤ００１はかなり安定していることが示されている(図４５Ａおよび４５Ｂ)。０日目と１４日目の両方でのＰＫ分析では、血液中のＲＡＤ００１濃度は、試験されたもっとも低い用量(０.３mg／kg)での投与の２４時間後でも約１０ｎｍであることを示している。
【０９４９】
これらの用量に基づいて、ｈｕＣＡＲ１９　ＣＡＲ　Ｔ細胞は、これらの細胞の増殖能力を判定するためにＲＡＤ００１と一緒におよびそれなしで投与された。使用したもっとも高い用量は、投与の２４時間後の血液中のＲＡＤ００１レベルに基づいて３mg／kgであった。ＲＡＤ００１の濃度はＲＡＤ００１の最終投与の２４時間後１０ｎＭを超えていたので、ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いたインビボ研究ではいくつかのもっと低い用量のＲＡＤ００１が使用された。ＣＡＲ　Ｔ細胞は毎日経口ＲＡＤ００１投与の開始に１日先立って静脈内

投与された。マウスはＴ細胞拡大ではＦＡＣＳを介してモニターされた。
【０９５０】
最も低い用量のＲＡＤ００１は、ＣＡＲ　Ｔ細胞の増強された増殖を示している(図４６)。この増強された増殖は、ＣＤ８＋ＣＡＲ　Ｔ細胞よりもＣＤ４＋ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いるほうが明白であり長期である。しかし、ＣＤ８＋ＣＡＲ　Ｔ細胞を用いると増強された増殖は、ＣＡＲ　Ｔ細胞投与に続く初期の時点で見ることが可能である。
【０９５１】
実施例１７：多発性骨髄腫の処置において使用するためのＣＤ１９ＣＡＲＴ細胞
化学療法、標的化療法および自己幹細胞移植の現行のレジメンを用いてさえも、骨髄腫は治療不能の疾患とみなされている。本発明の実施例は、キメラ抗原受容体(レンチウイルス／ＣＤ１９：４－１ＢＢ：ＣＤ３ゼータ；「ＣＡＲＴ１９」またはＣＴＬ０１９としても知られている)を有するＣＤ１９に向けられた自己Ｔ細胞での多発性骨髄腫(ＭＭ)の処置を説明する。この実施例から、ＣＤ１９を対象とするＣＡＲ療法は、極めて低い(ほとんどの方法で検出不可能な)レベルのＣＤ１９しか発現しない骨髄腫幹細胞および／または腫瘍細胞の標的化に基づいて、深く長期的に持続する寛解を確立する可能性を有することが示される。
【０９５２】
侵攻性二次プラズマ細胞性白血病を有する患者の処置において、本発明者らは、サルベージ自己幹細胞移植から２日後に投与されたＣＡＲＴ１９は、複数のラインの化学療法を経て進行している患者において、プラズマ細胞性白血病の急速なクリアランスと極めて優れた部分応答を引き起こしたことを見出した。処置前の数か月間、この患者は輸血依存性であった。処置の２ヶ月後、彼女は彼女の血球数を回復しており(正常な範囲の血小板数および白血球数を有しており)、自身の処置のために入院していた病院から退院したために輸血は必要ではなかった。
【０９５３】
骨髄腫細胞はＣＤ１９を自然に発現しないため、この腫瘍においてＣＡＲＴ１９処置が急速で有意な腫瘍応答を誘導したという発見は驚くべきことであった。特定の理論に縛られることは望まないが、骨髄腫を処置するのにＣＡＲＴ１９を使用することができるというのは、以下の理由：(１)骨髄腫細胞は従来、フローサイトメトリーによりＣＤ１９発現に関して陰性であると考えられているが、骨髄腫細胞は、ＲＮＡによっては発現が検出可能であるがフローサイトメトリーまたは免疫組織化学によっては検出不可能であるような極めて低いレベルのＣＤ１９を発現する場合があることを示すデータがあり；さらに(２)多発性骨髄腫を引き起こし、特に化学療法に耐性の癌性幹細胞であると考えられる、クローン型Ｂ細胞を標的化する概念であることから、理にかなっている。Ｂ細胞と骨髄腫腫瘍細胞とはクローンの関係であるが、従来の骨髄腫療法は、Ｂ細胞よりも悪性形質細胞を目的としている。それゆえに骨髄腫を処置するためのＣＡＲＴ１９は、ほとんどの骨髄腫療法とは異なる細胞集団を標的とする。
【０９５４】
本発明者らの一人の患者の経験において、患者は循環する形質細胞を有しており、本発明者らは、彼女の腫瘍細胞をＣＤ１９の発現に関してテストすることができた。彼女の腫瘍細胞のおよそ１～２％がＣＤ１９抗原を発現した(図４７)。したがって、彼女の腫瘍細胞の極めて小さい集団にＣＡＲＴ１９が直接的な作用を有する可能性があるということは理にかなっているが、極めて優れた部分応答は、ＣＤ１９＋腫瘍細胞の極めて小さい集団だけを標的化することに基づき予測されなかった。
このケースでは、高用量のメルファラン後の自己幹細胞移植レスキューに続いてＣＡＲＴ１９が投与された。これは骨髄腫において標準的な療法であるが、治療効果はない。さらにこの患者は以前にタンデム自己幹細胞移植を受けており、移植後の初期(＜６ヶ月)に再発していた。特定の理論に縛られることは望まないが、本発明の実施例で記載されるようなＣＡＲＴ１９細胞の使用は、サルベージ自己幹細胞移植と組み合わせた場合、骨髄腫の処置において重複しないメカニズムを有する可能性がある。

【０９５５】
難治性多発性骨髄腫に罹った患者は骨髄破壊的化学療法およびＡＳＣＴ後にＣＴＬ０１９を用いて処置された。検出可能なＣＴＬ０１９の消失および正常なＣＤ１９陽性Ｂ細胞の再構成にもかかわらず寛解は維持され、この応答が持続性のＣＴＬ０１９活性を必要としなかったことを示していた。さらに、腫瘍性形質細胞の大多数(９９.９５％)がフローサイトメトリーとＲＴ－ＰＣＲの両方でＣＤ１９陰性であったにもかかわらず、この患者の応答は実現された。
【０９５６】
患者の優勢な腫瘍性形質細胞集団において検出可能なＣＤ１９発現がないことは、ＣＴＬ０１９の臨床的に関連のある標的がこの優勢なＣＤ１９陰性集団の外側に存在したことを示唆している。多発性骨髄腫患者における腫瘍性形質細胞は遺伝的、免疫表現性のおよび機能的不均一性を示している。抗骨髄腫療法によるクローンの生存のためには特定の亜集団が必要な可能性がある。ここで報告されている患者では、例えば、形質細胞の小さなＣＤ１９発現サブセットが比較的メルファラン抵抗性であったがＣＴＬ０１９には感受性があった可能性がある。この所見はクローンの小さなサブセットを治療的に標的にすれば、従来の抗骨髄腫療法と結び付けた場合、耐久性のある臨床的有用性をもたらすことが可能であることを示唆している。
【０９５７】
あるいは、この患者におけるＣＴＬ０１９の臨床的に関連のある標的が腫瘍性形質細胞集団の外側に存在した可能性がある。例えば、ＣＴＬ０１９は、比較的小さいが腫瘍性形質細胞を生じる幹細胞集団を標的にすることがある。したがって、多発性骨髄腫は、最終的に分化した形質細胞であるだけでなく、複数の後期Ｂ系統細胞型の疾患でもある可能性があるので、Ｂリンパ球を標的にするＣＴＬ０１９のような治療薬は、直接形質細胞を標的にする治療薬にとって有用な補助剤となり得る。
１０人のさらなる多発性骨髄腫患者は、第Ｉ相臨床試験ではＣＡＲＴ１９を用いて処置されることになり、少なくとも３人の患者は現在まで処置を受けている。
【０９５８】
用量の論理的説明
第一の３人の患者で、本発明者らは、１.４×１０^{7}から１.１×１０^{9}個のＣＡＲＴ－１９細胞の範囲の用量で臨床活性を観察した。この観察から、少なくとも処置された第一の３人の患者において、明白な用量応答関係はなかったことが示される。用量において２の対数倍数差で投与された患者において、完全応答が観察された。したがって、代謝される標準的な薬物とは異なり、ＣＡＲＴ細胞は、広範な用量応答範囲を有する可能性がある。ＣＡＲＴ細胞は患者において広範にわたり増殖することができるために、これは最も可能性がある。それゆえに本発明者らは、注入の場合、１～５×１０^{8}個のＣＡＲＴ－１９細胞の用量範囲を設定した。範囲外使用に基づき提供されたこの一人の患者の研究において、患者に最大５×１０^{8}個のＣＡＲＴ１９細胞が提供され、用量の下限は設けなかった。患者１０人のトライアルの場合、患者には、１～５×１０^{7}個のＣＡＲＴ－１９細胞が提供されると予想される。
【０９５９】
一般的な設計
これは、範囲外使用に基づき提供された一人の患者の研究であった；これは、ＣＡＲＴ－１９が発現されるように形質導入された自己Ｔ細胞の注入が安全であるかどうかを決定するための第Ｉ相研究の後にモデル化された。この研究の主な目的は、１回目のＡＳＣＴに続く初期の再発後にサルベージＡＳＣＴを受けた患者におけるＣＡＲＴ－１９Ｔ細胞の安全性、忍容性および生着可能性を決定することであった。そのプロトコールは、非盲検の予備的研究からなる。
【０９６０】
登録時に、対象は、骨髄生検と、それらのＭＭの慣例的な実験的およびイメージングの検討を受ける。適格の対象は、ＣＡＲＴ－１９製造のための膨大な数の末梢血単核細胞(ＰＢ

ＭＣ)を得るために、定常状態のアフェレーシスを受ける。ＴＣＲζ／４－１ＢＢレンチウイルスベクターで形質導入されたＰＢＭＣからＴ細胞を精製し、インビトロで拡大させ、次いで将来的な投与のために凍結する。Ｔ細胞がうまく製造された患者の数と比較して、Ｔ細胞の収集、拡大または製造が不十分な患者の数を記録する；この患者集団において、生成物製造の実行可能性は、問題があるとは予測されない。
対象は、一般的に、追加の２回のＡＳＣＴを行うためにそれらの１回目のＡＳＣＴのための調製で行われた動員／収集から保存されたままの十分な末梢血幹細胞を有していたとされる。そうではない対象は、処置を行う医師の選択に従ったレジメンを用いたそれらの定常状態のアフェレーシスの前または後のいずれかに２回目の動員／収集手法を受ける。最初の白血球除去血輸血からおよそ２週間後、対象は病院に入院して、高用量のメルファラン(－２日目)、それに続いて２日日後(０日目)に自己幹細胞の注入を受け、全ての対象は、１２～１４日後(＋１２～１４日目)にＣＡＲＴ－１９細胞の注入を受ける。最大１０人の患者が登録される。
【０９６１】
全ての対象は、ＣＡＲＴ－１９細胞の安全性および生着および持続性を検討するために、研究の４週目を過ぎたら定期的に血液テストを受ける。＋４２日目および＋１００日目に、骨髄の形質細胞の負荷およびＣＡＲＴ－１９細胞の骨髄へのトラフィッキングを検討するために、対象は骨髄穿刺液／生検を受ける。１００日目に、国際骨髄腫作業部会(IMWG:International Myeloma Working Group)の基準１３６に従って形式的な応答の検討を行い、多発性骨髄腫を有する患者に関する慣例的な臨床実践に従ってＴＴＰをモニターする。この研究で測定された主要な効能の結果は、患者の最初のＡＳＣＴ後のＴＴＰと、この研究でのＡＳＣＴ後のＴＴＰとの比較である。
【０９６２】
処置レジメン
再発した／進行性多発性骨髄腫のための療法
患者は、登録前に、それらの処置を行う医師の選択に従って再発した／進行性の多発性骨髄腫のための療法を受けていてもよい。療法は、登録時に継続していてもよい。
患者は、アフェレーシスの２週間前および高用量のメルファランの２週間前に全ての療法を止めなければならない。アフェレーシスと高用量のメルファランとの間の中断が２週間より長いと予想される場合、患者は、それらの処置を行う医師の裁量でアフェレーシス後に療法を再開してもよい。
【０９６３】
高用量のメルファラン(－２日目)
－３日目または－２日目に患者は病院に入院して、処置プロトコール開始の前に、腫瘍溶解症候群に関するパラメーターをモニターすることを包含する主治医による試験と慣例的な実験室検査を受ける。ＭＭをモニターする実験室検査(ＳＰＥＰ、定量的な免疫グロブリンおよび無血清の軽鎖分析)のための血液は、このような検査で承認から７日以内に採血されなかった場合、療法開始前に採取する。
【０９６４】
高用量療法は、－２日目に、２００mg／m^2の用量のメルファランをおよそ２０分かけて静脈内投与することからなる。メルファランの用量は、７０歳より高齢の患者かまたは処置を行う医師の裁量で２００mg／m^2の用量に耐えられない可能性があるあらゆる年齢の患者である場合、１４０mg／m^2に下げる。全ての患者は、標準的な制吐剤の予防的投与を受け、このような予防的投与としては、デキサメタゾンおよび標準的な抗生物質の予防的投与を挙げることができる。
【０９６５】
幹細胞の再注入(０日目)
幹細胞の注入は、０日目に、高用量メルファランの投与から少なくとも１８時間後に行われる。幹細胞は、標準的な規格化された実施に従って、前投与の後におよそ２０～６０分間かけて静脈内注入される。少なくとも２×10^6個のＣＤ３４＋前駆体／kg体重が注入

されると予想される。加えて、少なくとも１×１０^{6}個のＣＤ３４＋前駆体／kg体重が、生着の遅延のまたは後の移植片失敗の場合に注入され得るバックアップ用の幹細胞生成物として利用可能であると予想される。Ｇ－ＣＳＦは、＋５日目から開始してＳＱ投与され、標準的な規格化された実施に従って投薬されると予想される。輸注サポートなどの他の支持療法の測定が、標準的な規格化されたガイドラインに従って行われると予想される。

【０９６６】

ＣＡＲＴ１９細胞の注入(＋１２～１４日目)

ＣＡＲＴ－１９で形質導入したＴ細胞の単回用量は、最大５×１０^{7}個のＣＡＲＴ－１９細胞からなる用量で与えられると予想される。ＣＤ１９ＴＣＲζ４－１ＢＢベクターを形質導入された細胞の注入のための最小許容用量は１×１０^{7}である。ＣＡＲＴ－１９細胞は、幹細胞注入後の＋１２～１４日目に急速静脈注入により単回用量として与えられることになる。患者が１２～１４日のウィンドウにおいて本明細書で記載される組み入れ基準のいずれも満たせない場合、ＣＡＲＴ－１９注入は基準が満たされるまで＋１２～１４日過ぎに遅延され得る。

【０９６７】

維持的なレナリドマイド

それらの１回目のＡＳＣＴの後に維持的なレナリドマイドを受けてそれに耐えた対象は、処置を行う医師の判断で禁忌がないと仮定しておよそ＋１００日目に、レナリドマイド維持療法を再開させる。開始用量は、過去の経験が特定の患者に対して代わりの開始用量を指示していなければ一日１０mgになる。維持療法は疾患進行または不耐性まで続くことになる。

【０９６８】

研究薬物の投与

注入は免疫抑制された患者のための予防策を使用して、Ｒｈｏｄｅｓの隔離室で行われる。形質導入されたＴ細胞は、三方活栓付の１８ゲージラテックスフリーＹ型血液セットを通じて１分間あたりおよそ１０ｍＬから２０mlの流速で急速静脈注入により投与する。注入期間は注入される全容量および推奨される注入速度に基づくことになる。各注入バッグは、以下：「自己使用のみ」と記されたラベルが添付されている。加えてラベルには、対象のイニシャル、生年月日および研究番号などの少なくとも２の固有の識別子が記載されている。注入前、２人の人が独立して、対象立ち会いのもとでこの情報の全てを検証することにより、情報が参加者と正確に合致していることを確認する。

【０９６９】

パッケージング

注入は、１～５×１０^{7}個のＣＡ　Ｔ１９で形質導入された細胞の単回用量で構成され、注入にとって許容できる最小用量は１×１０^{7}個のＣＡＲＴ－１９細胞である。各バッグは、以下の注入可能グレードの試薬(％ｖ／ｖ)：３１.２５％ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１.２５％デキストロース(５％)、０.４５％ＮａＣｌ、最大７.５％ＤＭＳＯ、１％デキストラン４０、５％ヒト血清アルブミンを含有する低温保存用媒体(cryomedia)のアリコート(容量は用量によって決まる)を含有する。

【０９７０】

アフェレーシス

アフェレーシスセンターで、大容量(１２～１５リットルまたは血液容量の４～６倍)のアフェレーシス手法を実行する。この手法の間にＣＡＲＴ－１９のためのＰＢＭＣを得る。目的は、１回の白血球除去血輸血で、ＣＡＲＴ－１９Ｔ細胞を製造するために少なくとも５×１０^{9}個の白血球を回収することである。ＦＤＡの遡及要件および調査のためのベースラインの血液白血球も得て、低温保存する。細胞生成物は、およそ２～４週間後のリリースの準備ができている。フローサイトメトリーによるリンパ球サブセットの定量は、ＣＤ１９およびＣＤ２０Ｂ細胞の決定を包含する。ベースラインの検討は、ヒト抗ＶＳＶ－Ｇおよび抗マウス抗体(ＨＡＭＡ)に関して行われる。対象がこれまでに、現行の臨床用細胞およびワクチン生産施設における適正製造基準(Good Manufacturing Practices at t

he Clinical Cell and Vaccine Production Facility)に従って保存された十分なアフェレーシス(apberesis)採血を受けていた場合、これらの細胞は、ＣＡＲＴ－１９製造のための細胞源として使用することができる。保存されたアフェレーシス産物の使用は、対象にとって追加のアフェレーシス採血(apheresis collection)を受ける費用、時間および危険を回避すると予想される。

【０９７１】

腫瘍縮小化学療法(cytoreductive chemotherapy)

リンパ球枯渇化学療法(lymphodepleting chemotherapy)は、本明細書で説明したような高用量のメルファランである。

【０９７２】

ＣＡＲＴ－１９注入

幹細胞再注入後の＋１２～１４日目に、注入を開始させると予想される。

【０９７３】

化学療法の投与が部分的にリンパ球減少症を誘導する原因となるため、第一の注入前の＋１２～１４日目に、患者は、ＣＤ３、ＣＤ４およびＣＤ８数の差とそれらの検討に関するＣＢＣを受ける。

【０９７４】

第一の用量は、単回用量を使用して投与される。患者のベッドのそばで細胞を融解させる。融解させた細胞を、注入期間がおよそ１０～１５分間になるように、耐えられる限り速い注入速度で与える。混合を容易にするために、細胞は、Ｙ－アダプターを使用して同時に投与される。本明細書で説明したようにして、対象は注入を受けて前投与される。対象のバイタルサインを検討し、投与前に、注入の最後に、その後１時間にわたり１５分毎に、これらが安定して問題のない状態になるまで、パルスオキシメトリーを行う。第一の注入前のあらゆる時間と各注入後に２０分から４時間まで、ベースラインのＣＡＲＴ－１９レベルを決定するための血液サンプルを得る(続いてＴＣＳＬに送る)。

【０９７５】

結果

３人の処置抵抗性、進行多発性骨髄腫患者が、この進行中の試験においてＣＴＬ０１９を用いてこれまで処置を受けてきた。これらの患者のうちの２人についての結果は、両者が３カ月時点での主要効能評価に基づいてＣＴＬ０１９療法から実質的な抗腫瘍効果を受けていることを示している。３人目の患者はまだ３カ月時点に達していない。２人の患者についての結果は下にさらに詳細に記載されている。

【０９７６】

第１の骨髄腫患者はその＋１００日応答評価を終了しておりＣＡＲＴ１９療法に対して極めて良好な応答をしていた。以下の検査が実施され、以下の結果であった。

－ＳＰＥＰ／免疫固定：陰性

－尿免疫固定：彼女の免疫固定上にかすかな測定不能カッパ軽鎖バンド(３８日目にも存在しており、したがって新しくはない)

【０９７７】

他の点では、患者は

－血清遊離軽鎖比：正常

－骨髄生検：陰性

－ＩｇＡ免疫表現型試験：ＩｇＡは検出限界を下回る

を含む厳格な完全緩解についての基準を満たしていた。

【０９７８】

尿免疫固定からのかすかな測定不能カッパ軽鎖結果以外、患者は「厳格な完全緩解」についての基準を全て満たしていた。３時点(－２日目、＋３８日目、＋１０３日目)での形質細胞免疫表現型試験の要約は図３９に示されており、患者のＩｇＡが検出限界を下回ることを示している。前記要約は、－２日目での重い骨髄腫負荷ならびに＋３８日目および＋１０３日目では検出可能な負荷なしを示しており、これにより患者はフロー分析による「

ＭＲＤ陰性」に分類される。＋１０３日目、前記要約は正常なポリクローナルＣＤ１９＋形質細胞およびＢ細胞の回復を示している。患者には疾患または治療の症候がなく、健常人のように機能している。

【０９７９】

処置を受けた第２の患者はまだ＋１００日時点に到達していない。しかし、この時点で、彼女は健康が回復しつつあるが、ＣＴＬ０１９注入の効果を判定するには時期尚早である。

【０９８０】

均等物

本明細書において引用されたありとあらゆる特許、特許出願および出版物の開示は、それによってそれらの全体が参照により本明細書に組み入れられる。本発明を具体的な面を参照しながら開示してきたが、本発明の他の面およびバリエーションが、本発明の真の本質および範囲から逸脱することなく当業者によって考え出され得ることは明らかである。添付の特許請求の範囲は、このような面および等価なバリエーションの全てを包含するものと解釈されることが意図される。

【図面】

【図１】

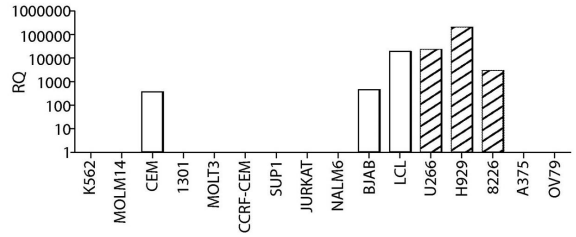


FIG. 1A

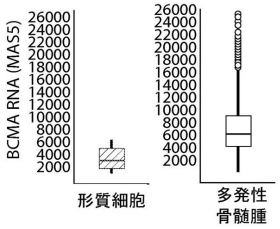


FIG. 1B

【図２－１】

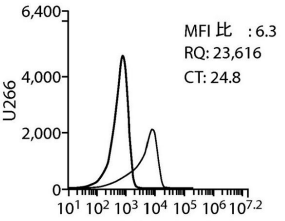


FIG. 2A

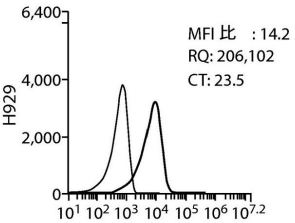


FIG. 2B

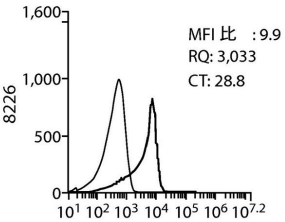


FIG. 2C

【図２－２】

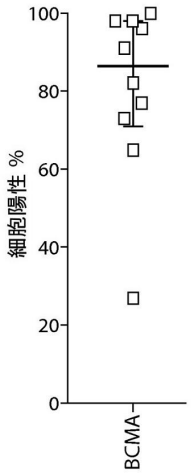


FIG. 2D

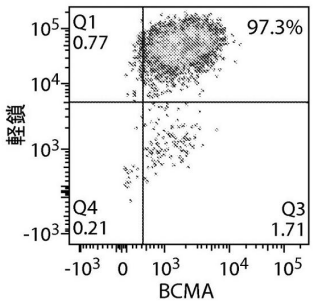


FIG. 2E

【図３Ａ】

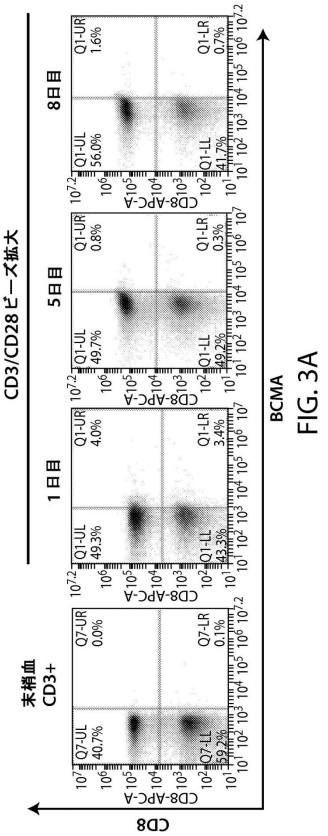


FIG. 3A

【図３Ｂ】

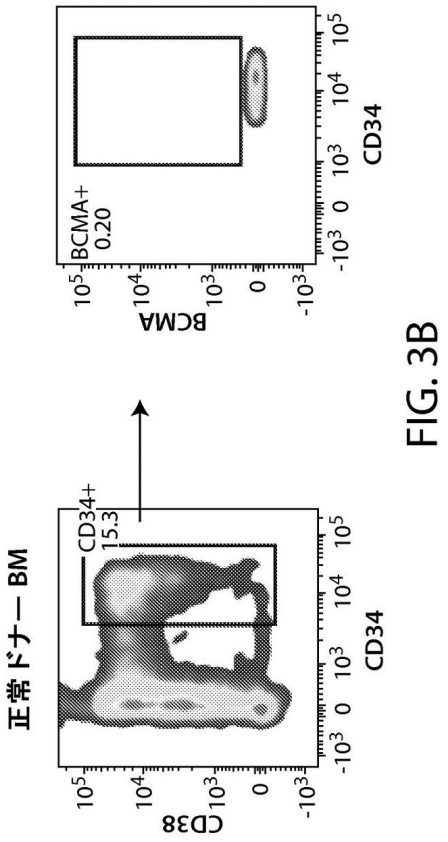


FIG. 3B

【図４－１】

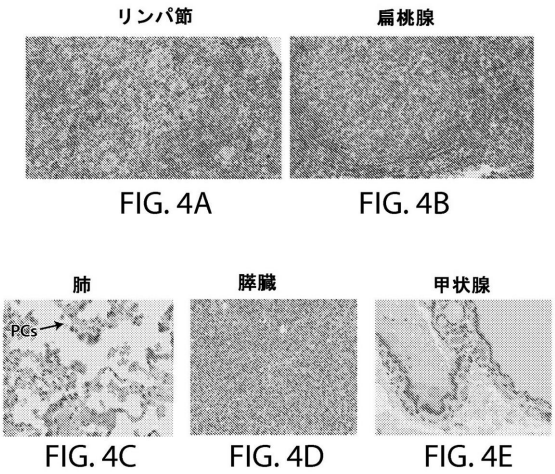


FIG. 4A FIG. 4B

FIG. 4C FIG. 4D FIG. 4E

【図４－２】

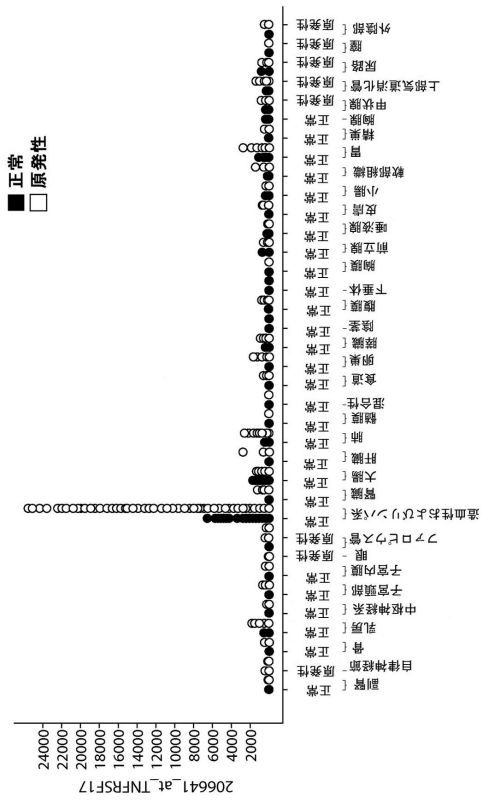


FIG. 4F

【図５】

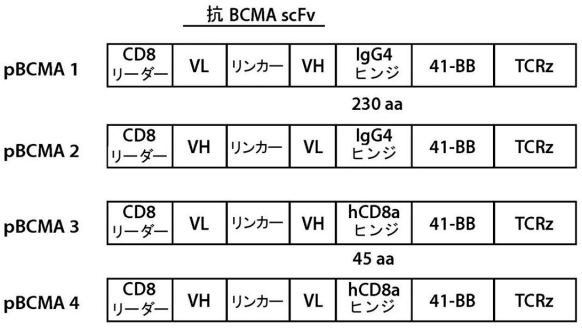


FIG. 5

【図６】

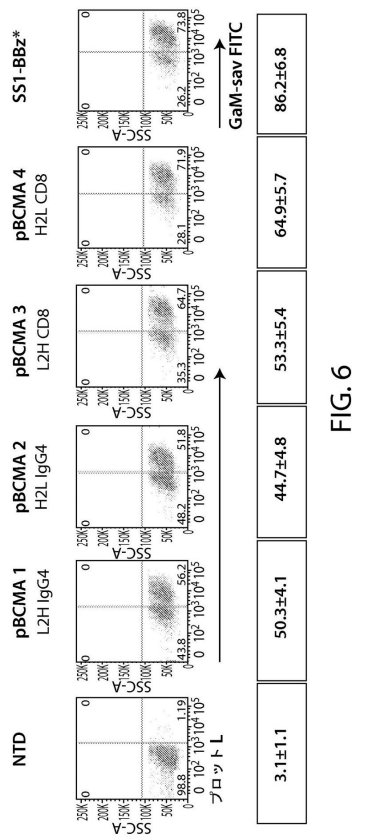


FIG. 6

【図７】

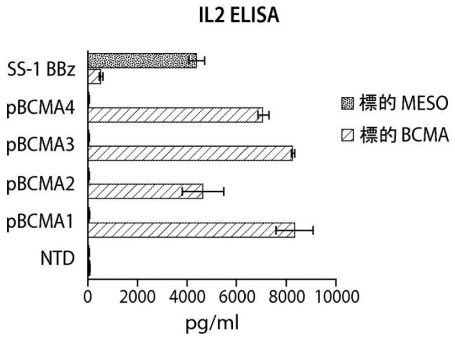


FIG. 7A

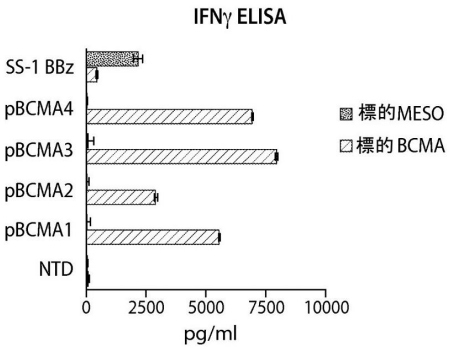


FIG. 7B

【図８－１】

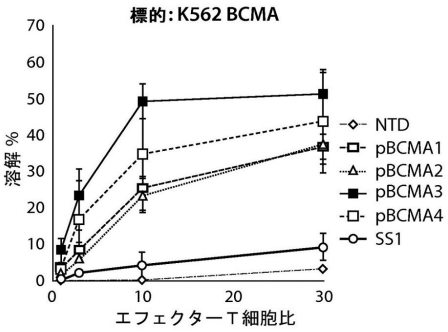


FIG. 8A

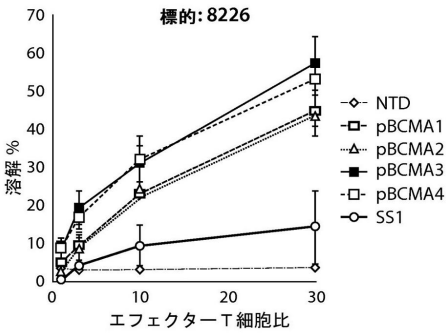


FIG. 8B

【図８－２】

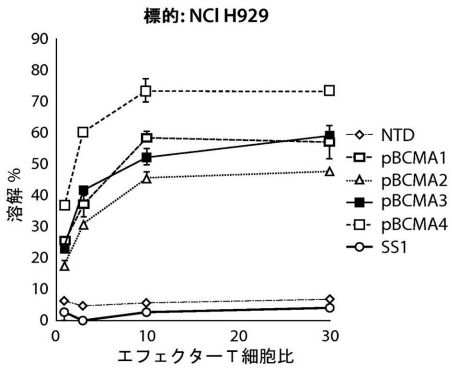


FIG. 8C

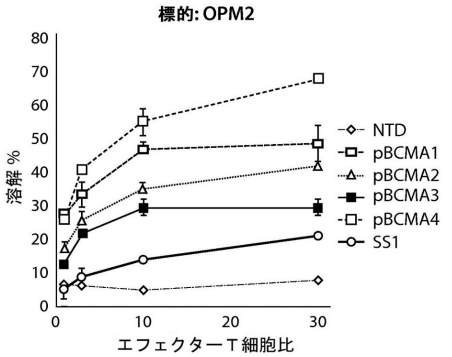


FIG. 8D

【図９】

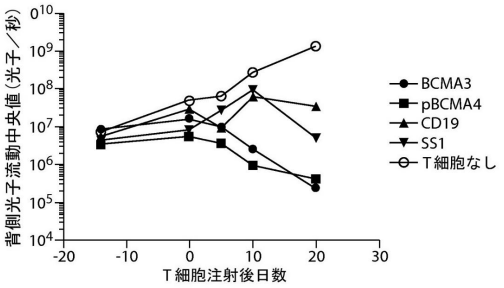


FIG. 9A

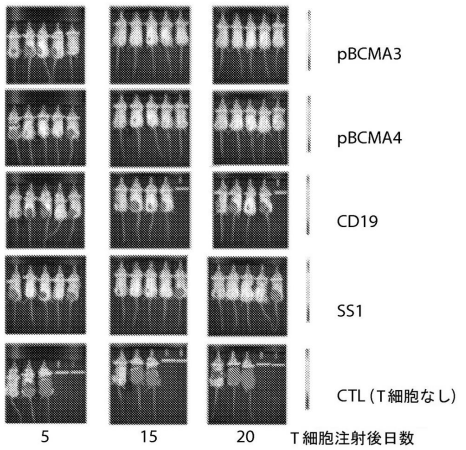


FIG. 9B

【図１０】

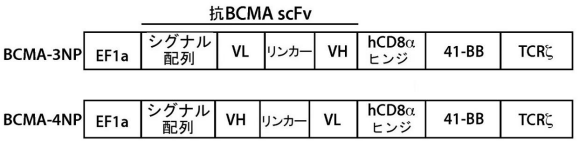


FIG. 10A

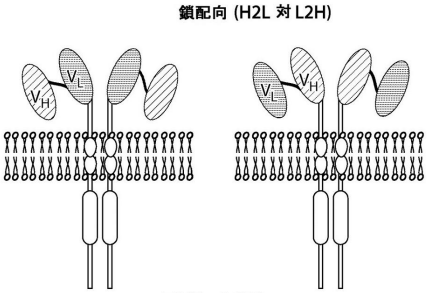


FIG. 10B

【図１１】

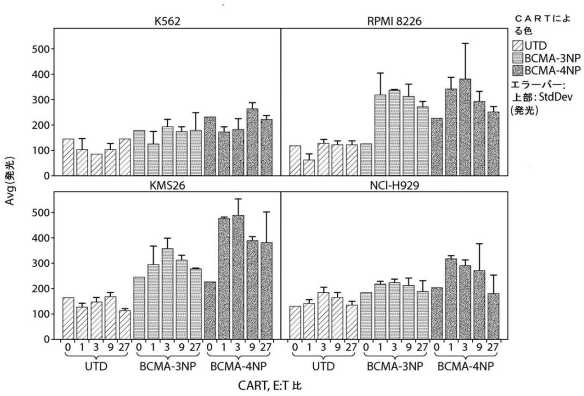


FIG. 11

【図１２】

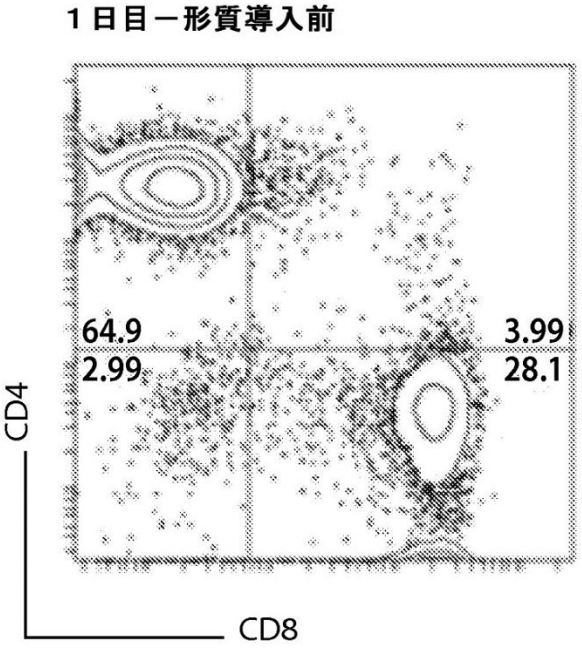


FIG. 12

【図１３】

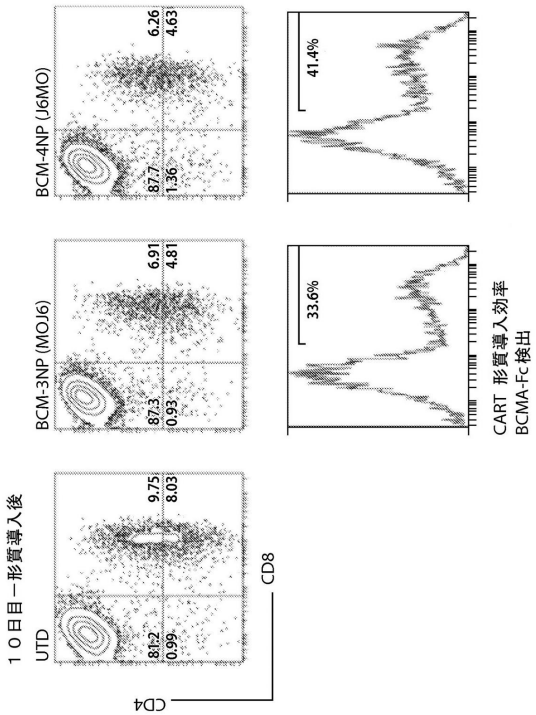


FIG. 13

【図１４】

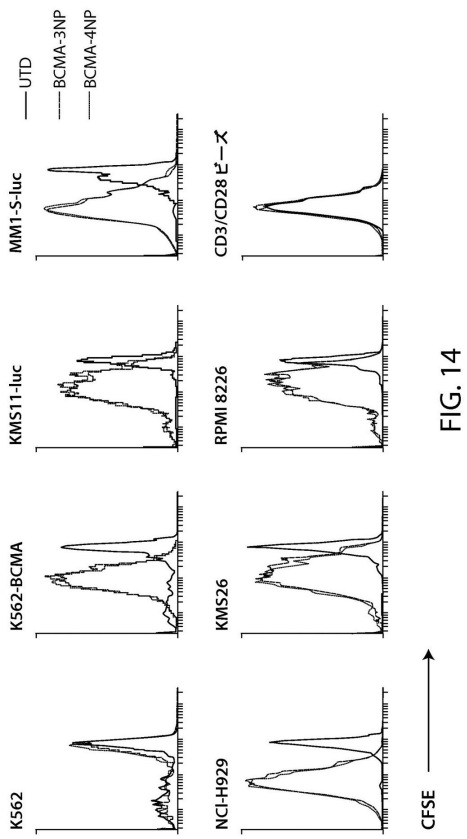


FIG. 14

【図１５】

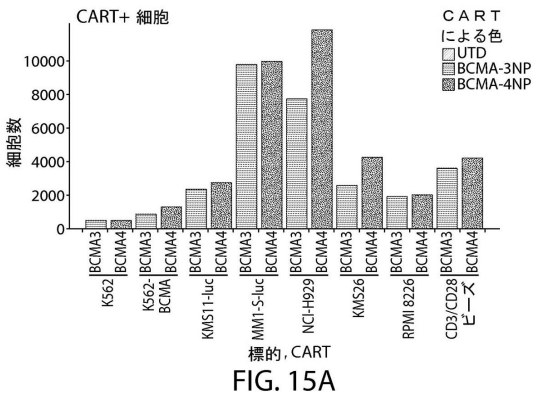


FIG. 15A

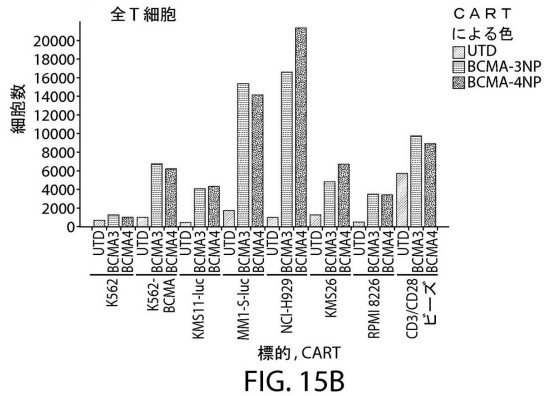


FIG. 15B

【図１６】

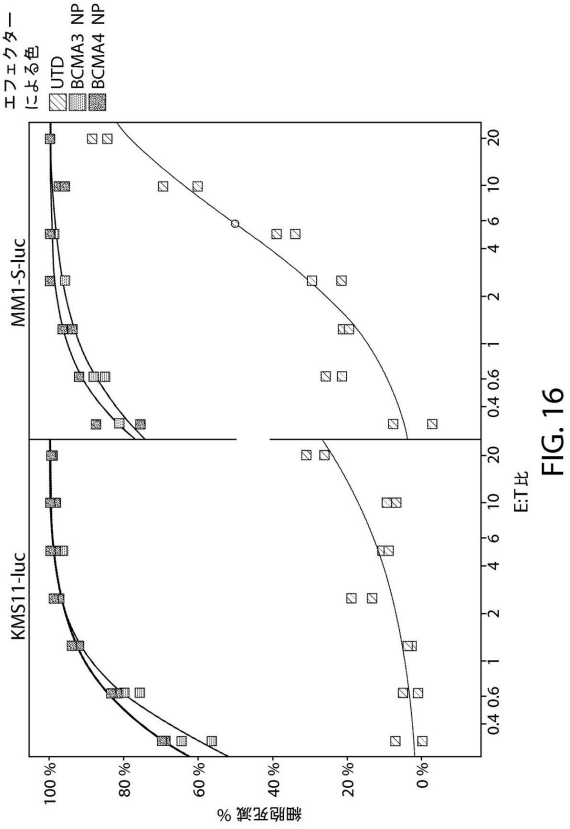


FIG. 16

【図１７－１】

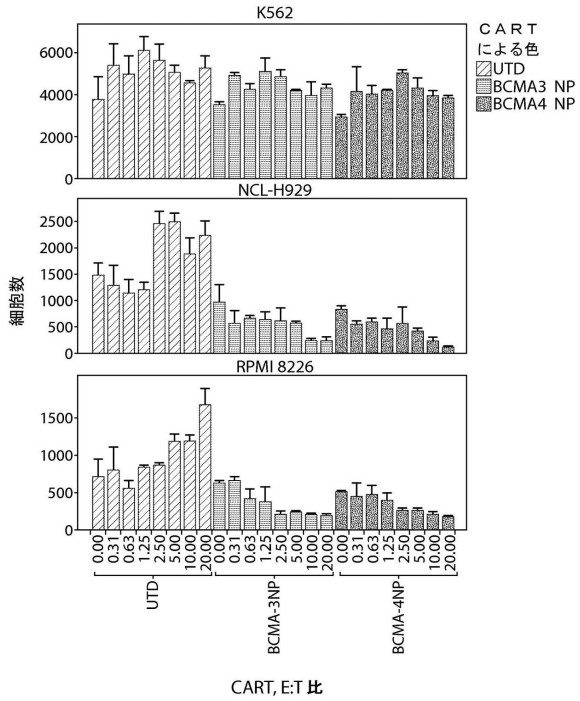


FIG. 17

【図１７－２】

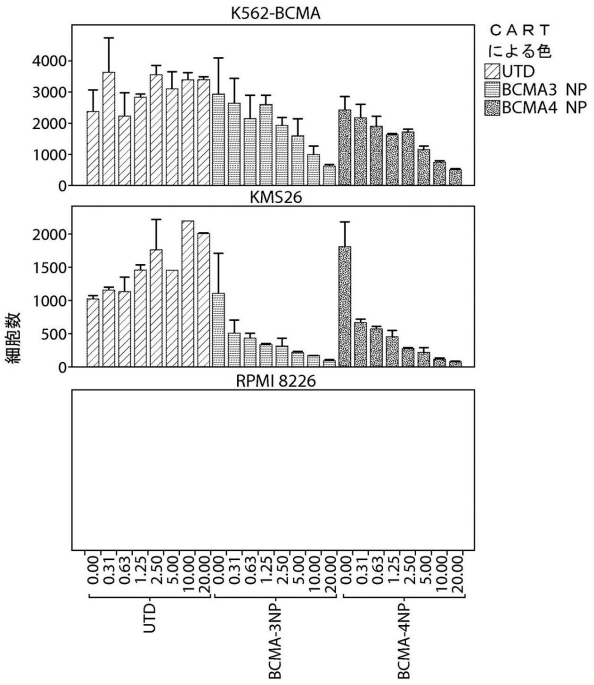


FIG. 17 続き

【図１８】

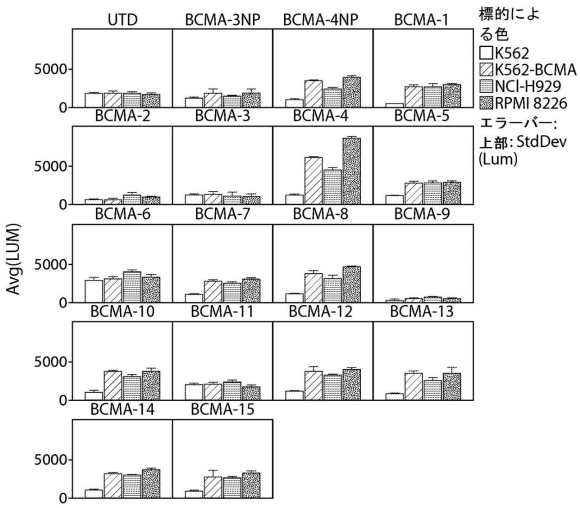


FIG. 18

【図１９】

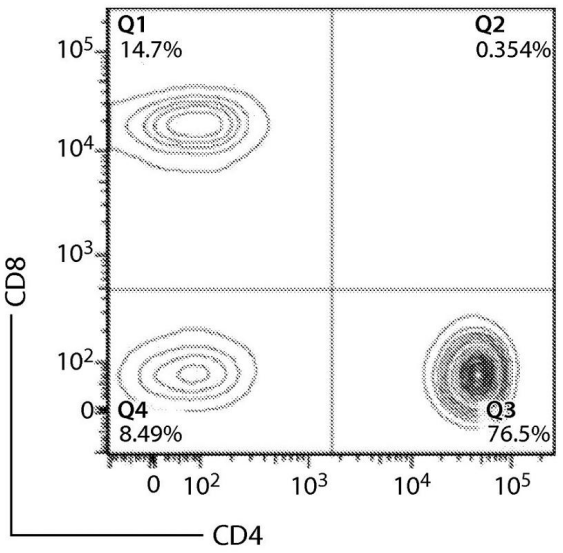


FIG. 19

【図２０－１】

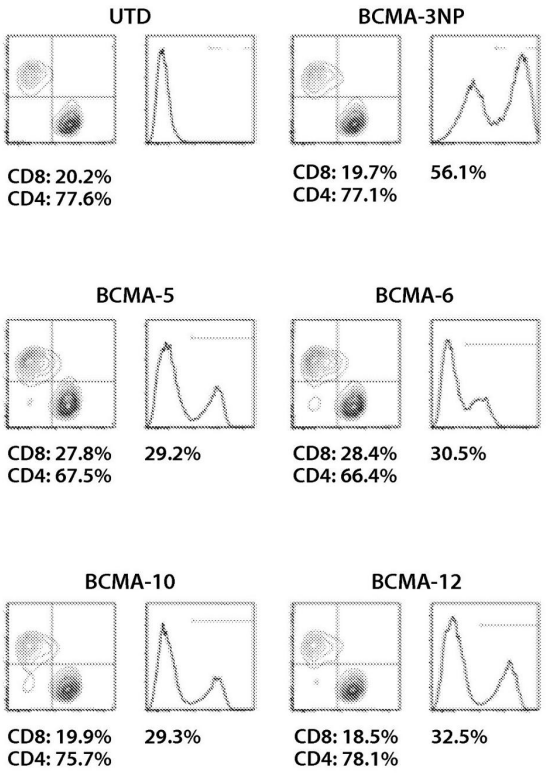


FIG. 20-1

【図２０－２】

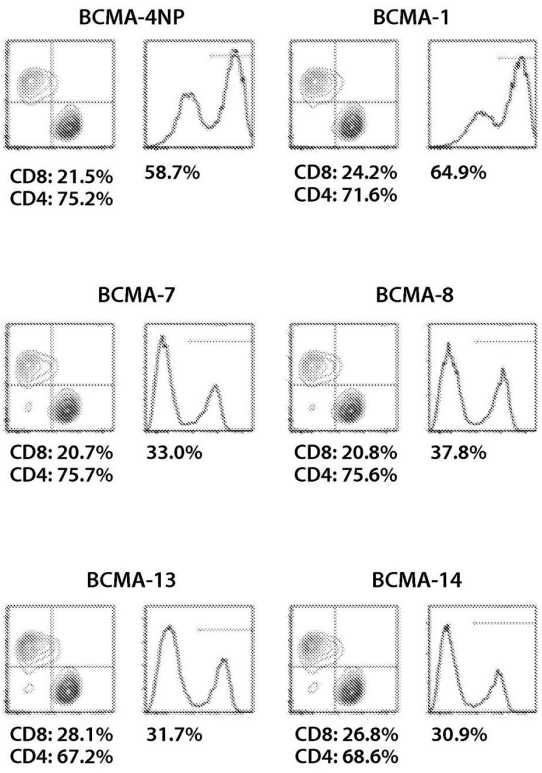


FIG. 20-2

【図２０－３】

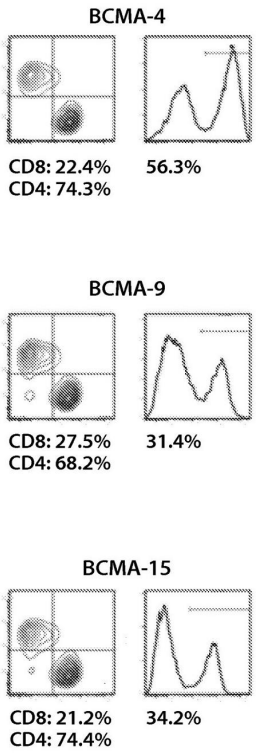


FIG. 20-3

【図２１】

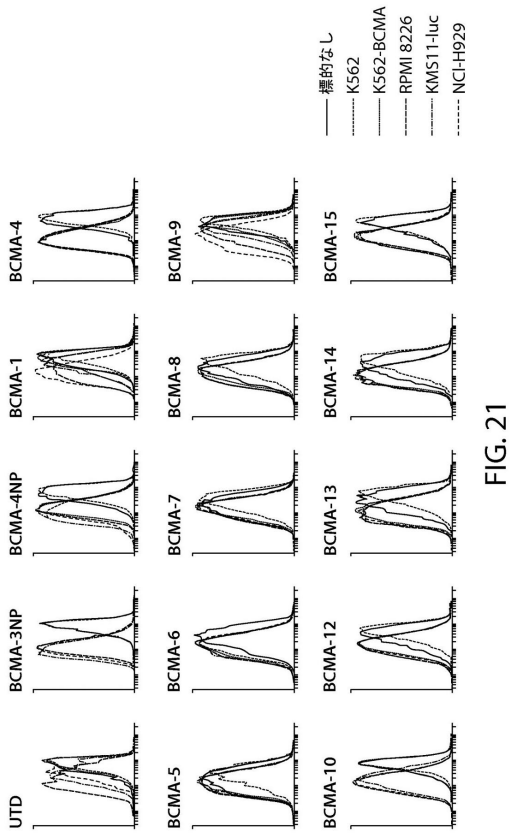


FIG. 21

【図２２Ａ】

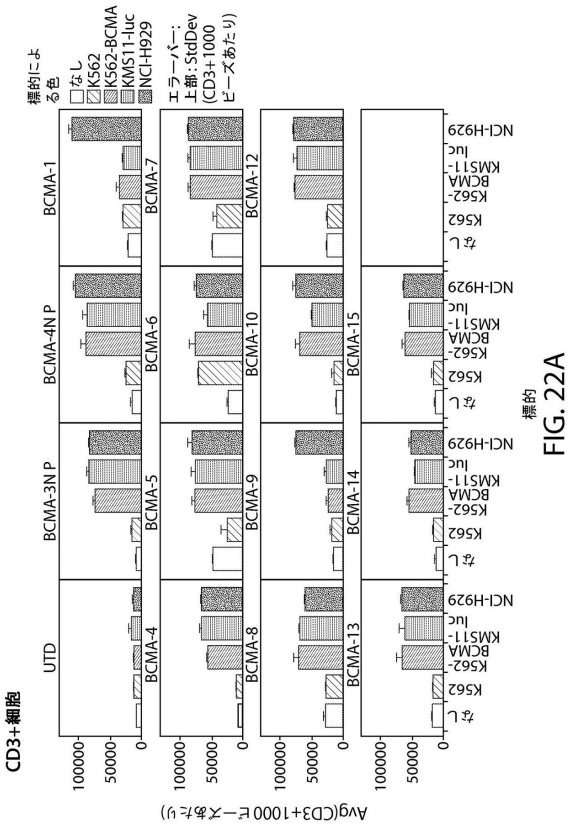


FIG. 22A

【図２２Ｂ】

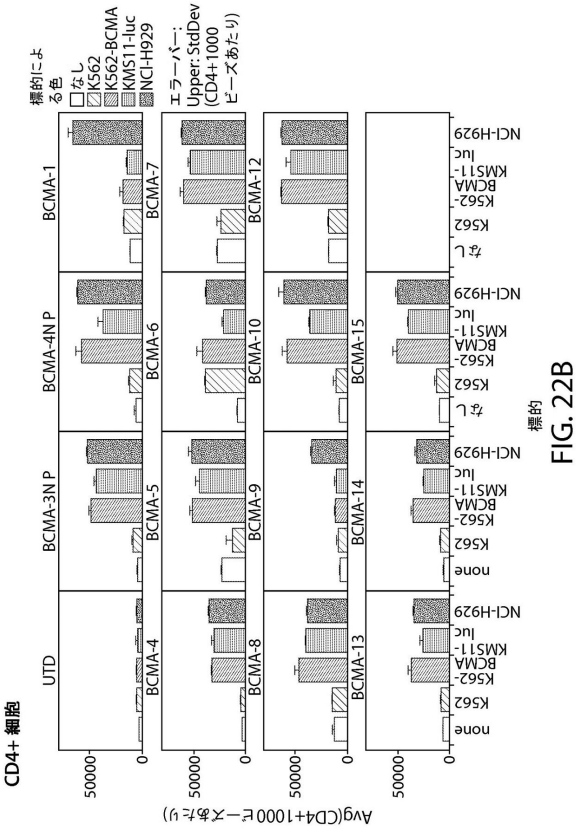


FIG. 22B

【図２２Ｃ】

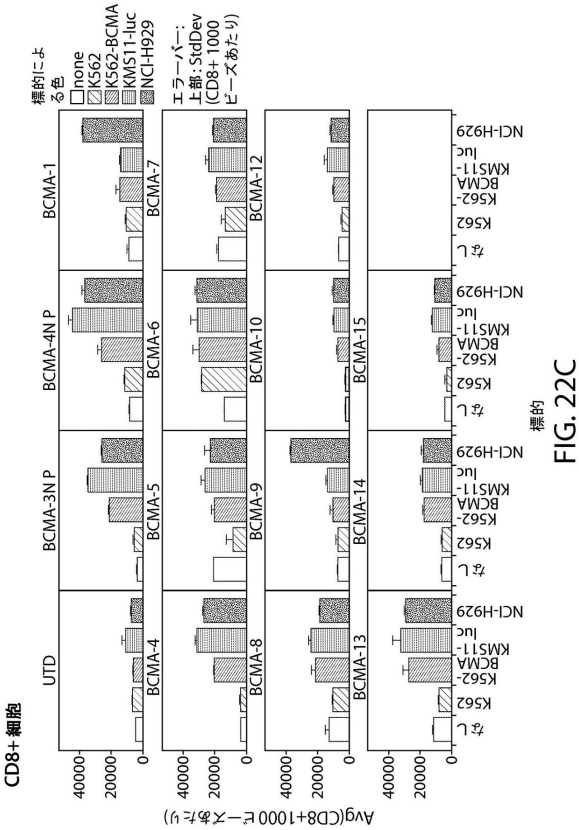


FIG. 22C

【図２３－１】

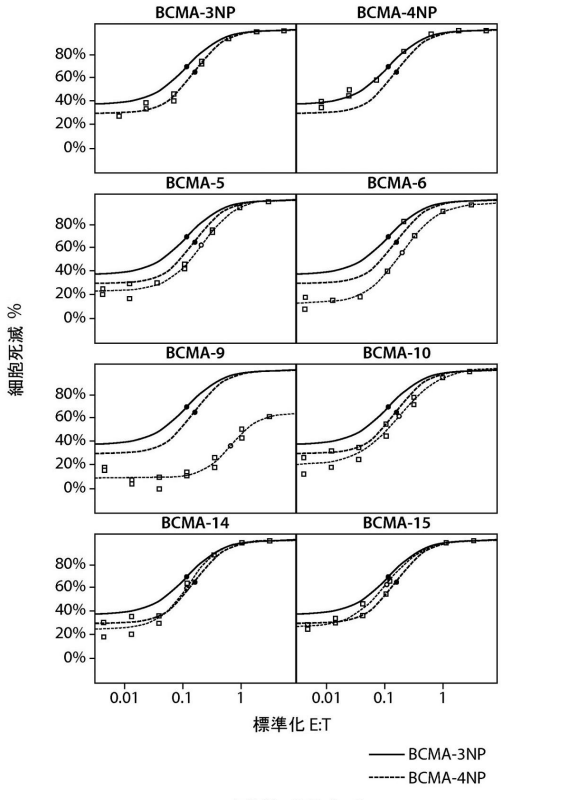


FIG. 23A-1

【図２３－２】

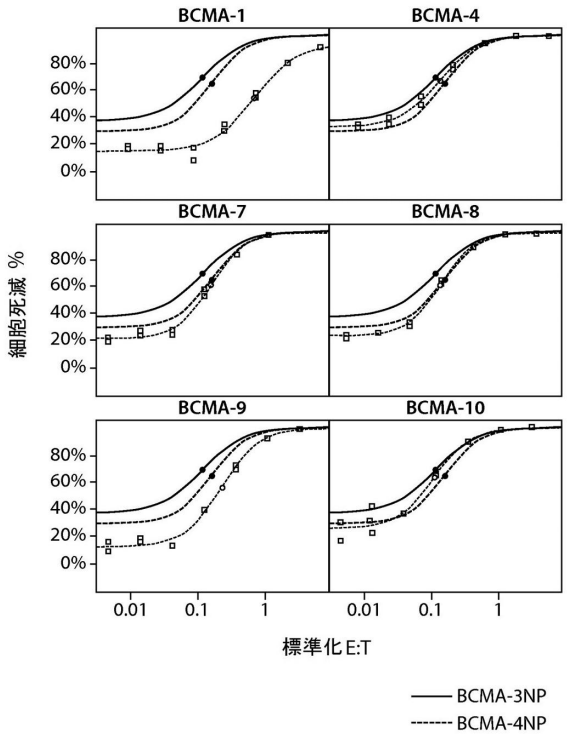


FIG. 23A-2

【図２３－３】

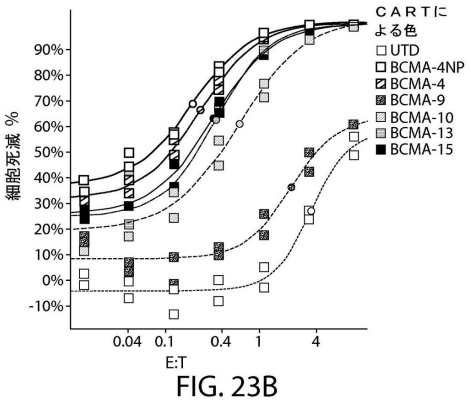


FIG. 23B

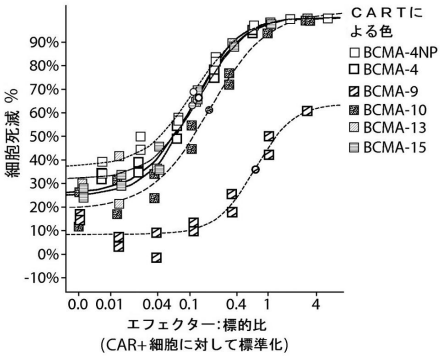


FIG. 23C

【図２４】

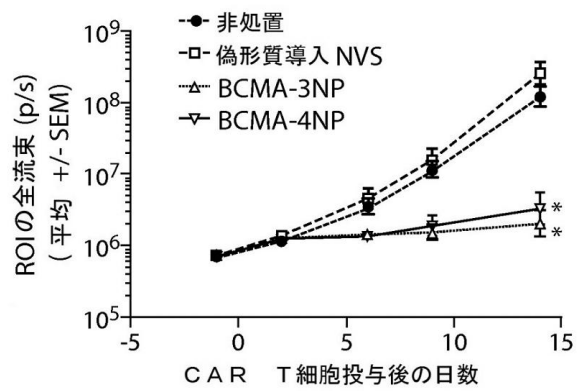


FIG. 24

【図２５】

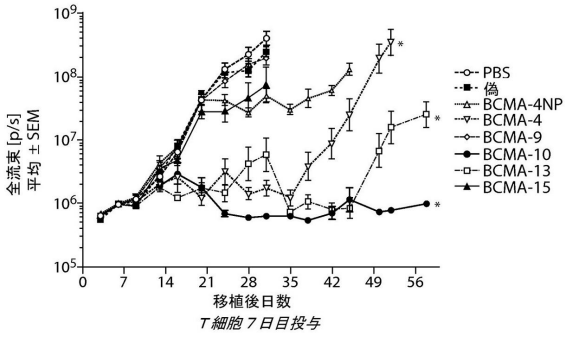


FIG. 25A

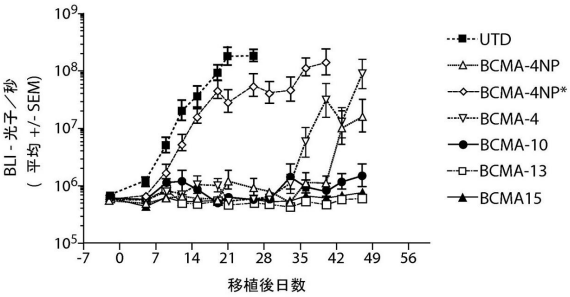


FIG. 25B

【図２６－１】

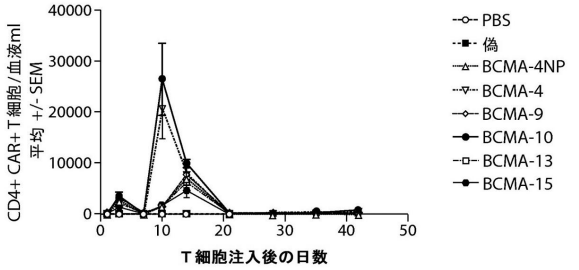


FIG. 26A

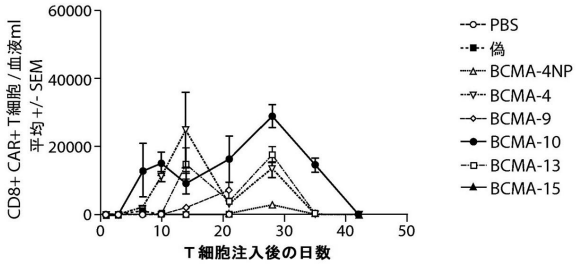


FIG. 26B

【図２６－２】

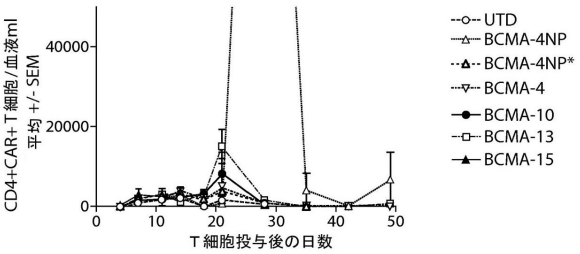


FIG. 26C

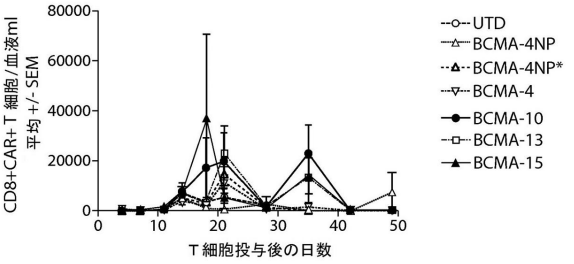


FIG. 26D

【図２７】

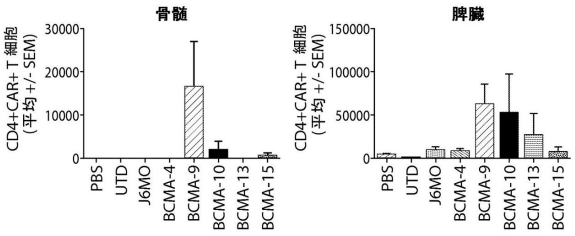


FIG. 27A

FIG. 27B

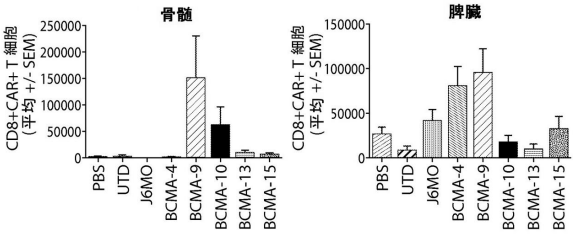


FIG. 27C

FIG. 27D

【図２８】

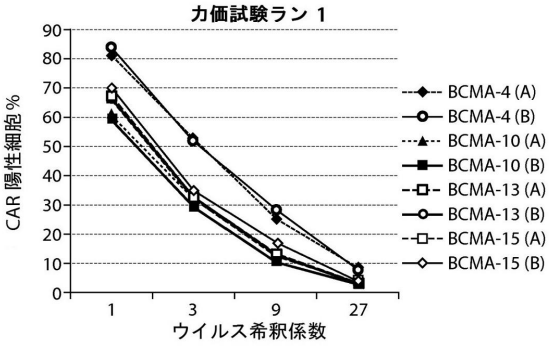


FIG. 28A

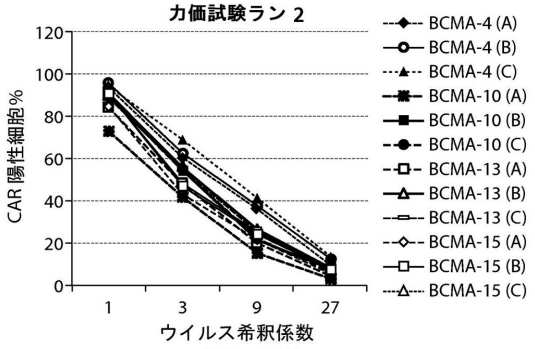


FIG. 28B

【図２９】

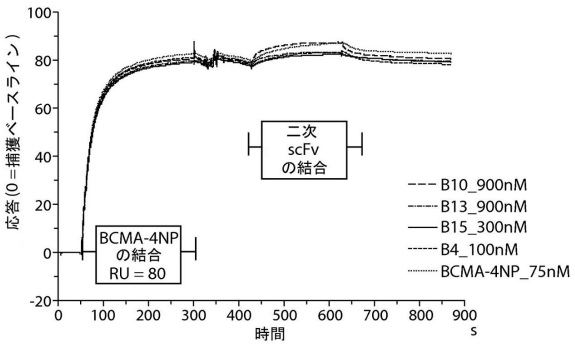


FIG. 29

【図３０－１】

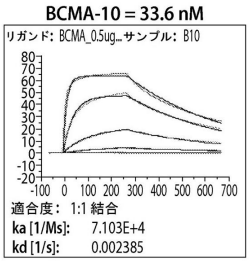


FIG. 30A

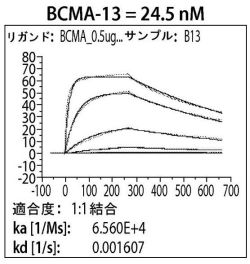


FIG. 30B

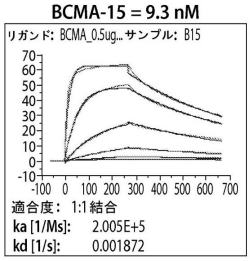


FIG. 30C

【図３０－２】

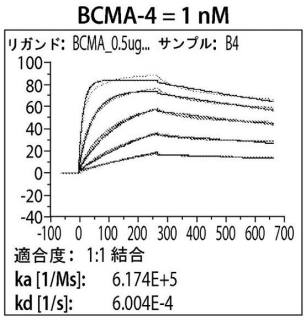


FIG. 30D

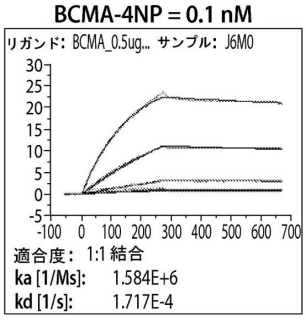


FIG. 30E

【図３１】

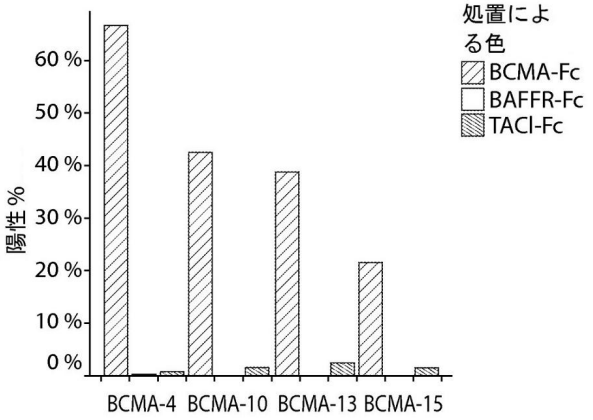


FIG. 31

【図３２】

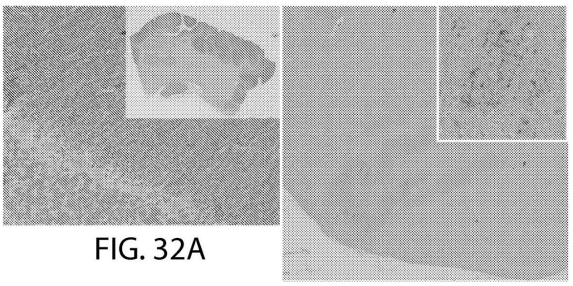


FIG. 32A

FIG. 32B

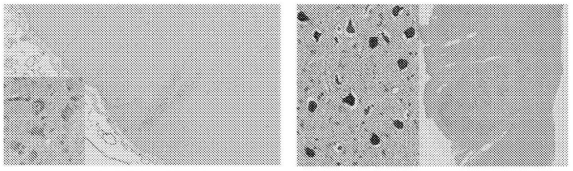


FIG. 32C

FIG. 32D

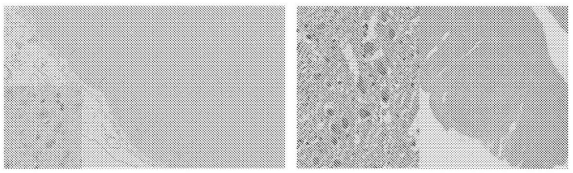


FIG. 32E

FIG. 32F

【図３３－１】

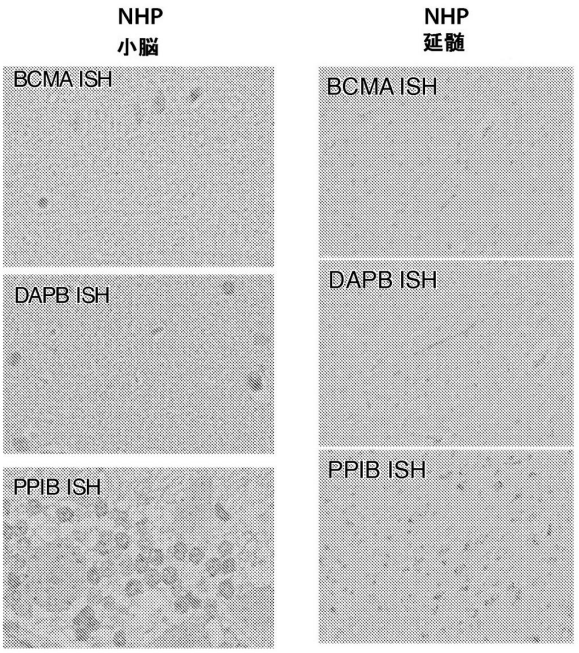


FIG. 33A

FIG. 33B

【図３３－２】

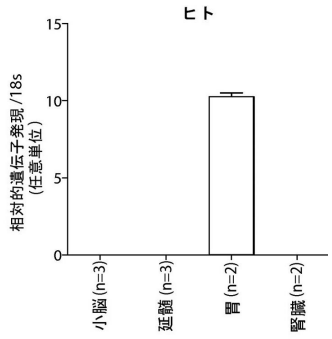


FIG. 33C

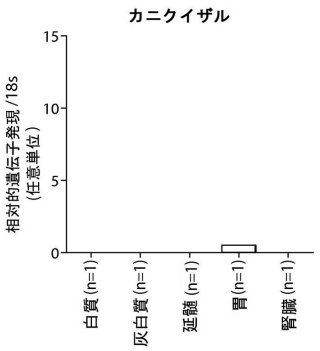


FIG. 33D

【図３３－３】

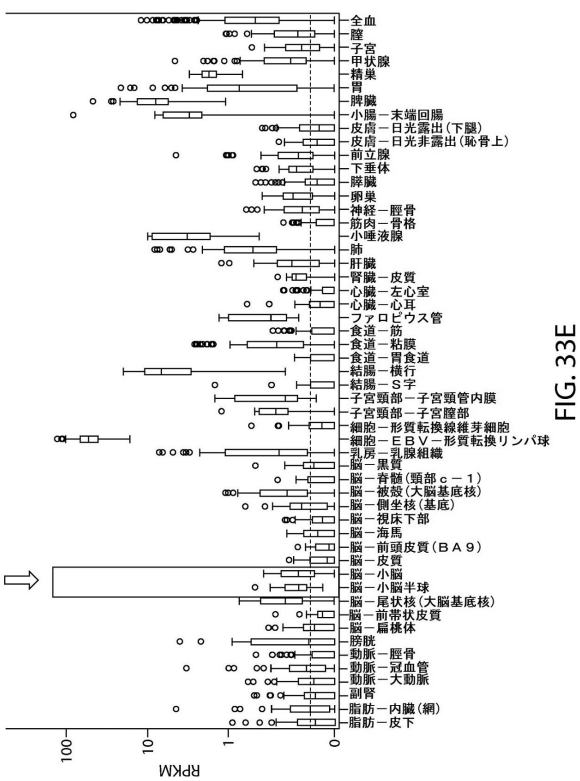


FIG. 33E

【図３４】

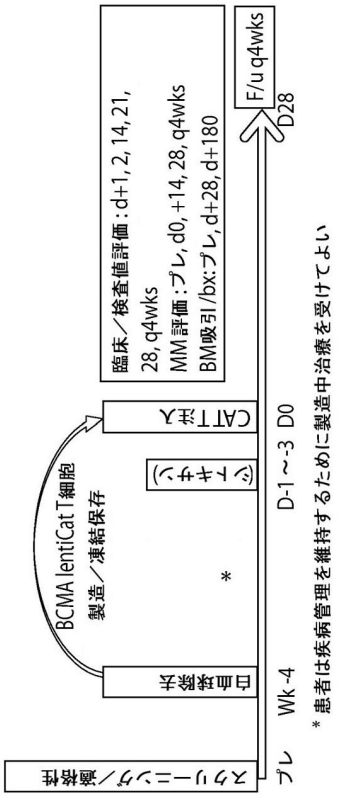


FIG. 34

【図３５】

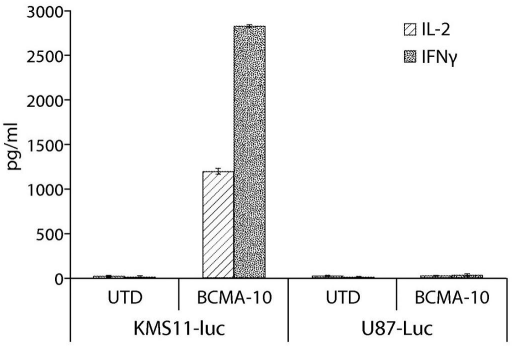


FIG. 35A

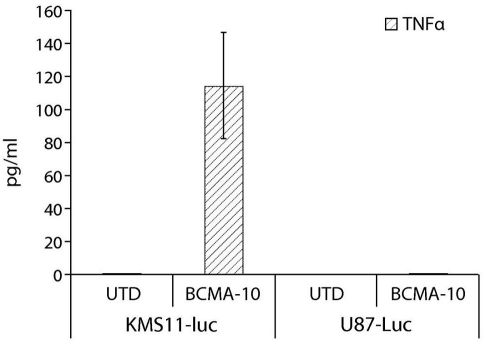


FIG. 35B

【図３６】

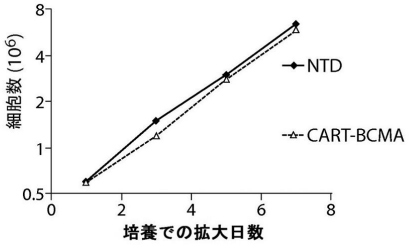


FIG. 36A

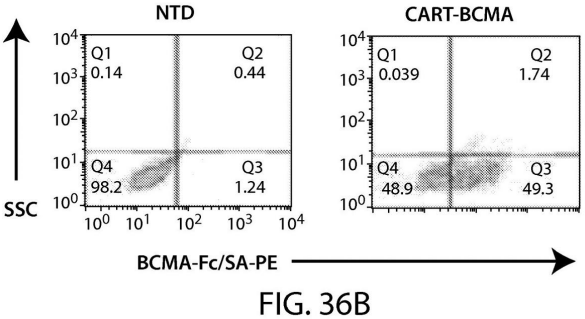


FIG. 36B

【図３７】

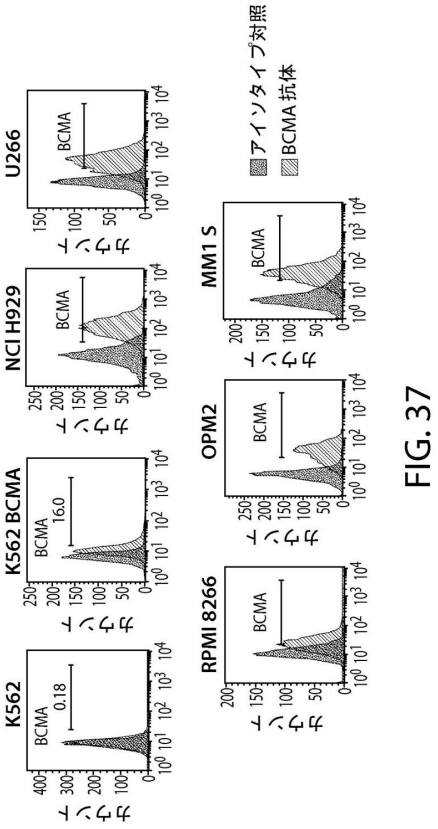


FIG. 37

【図３８】

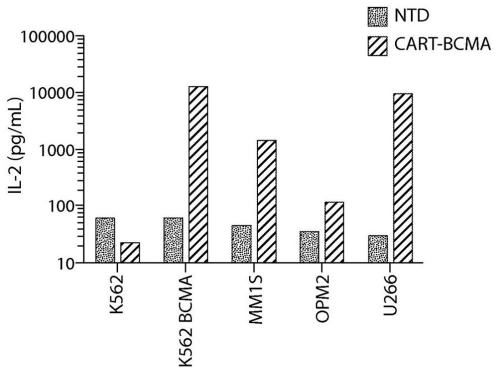


FIG. 38A

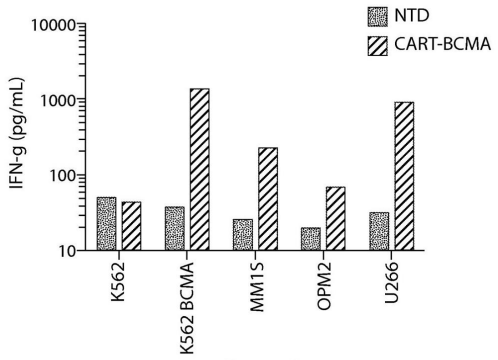


FIG. 38B

【図３９】

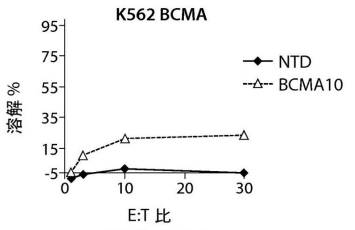


FIG. 39A

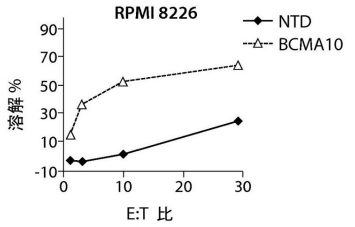


FIG. 39B

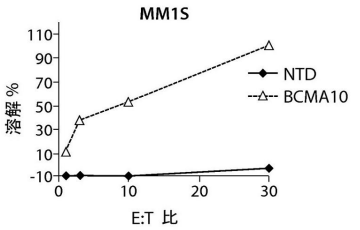


FIG. 39C

【図４０】

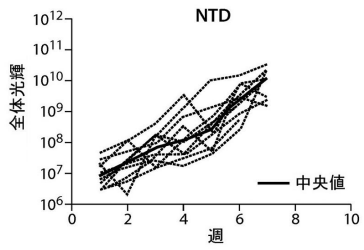


FIG. 40A

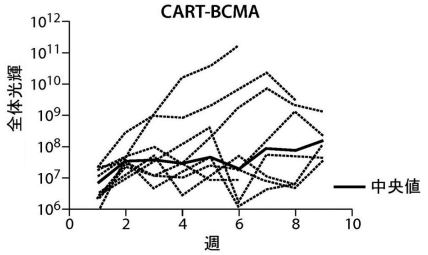


FIG. 40B

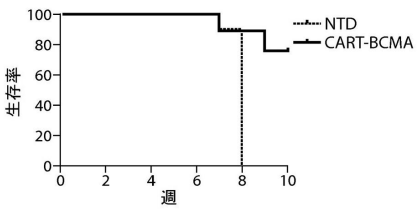


FIG. 40C

【図４１】

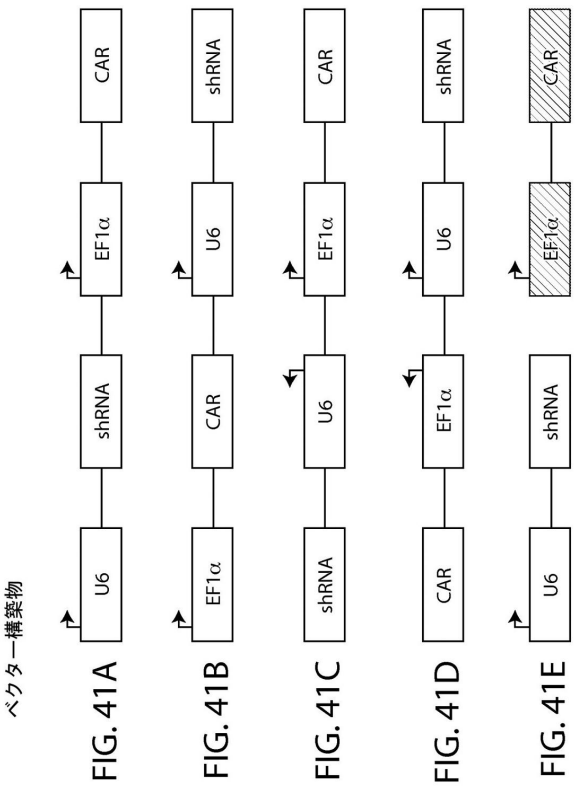


FIG. 41A FIG. 41B FIG. 41C FIG. 41D FIG. 41E

【図４２】

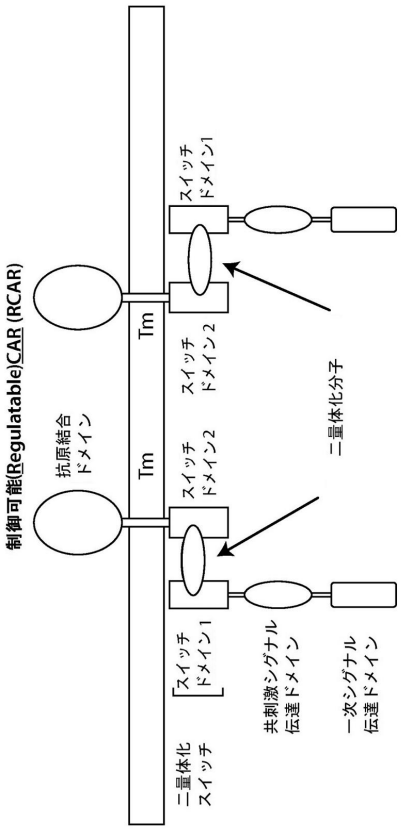


Fig. 42

【図４３】

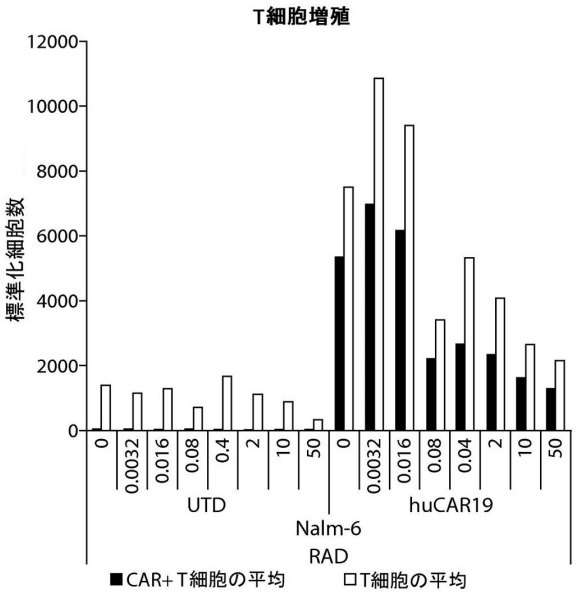


FIG. 43

【図４４】

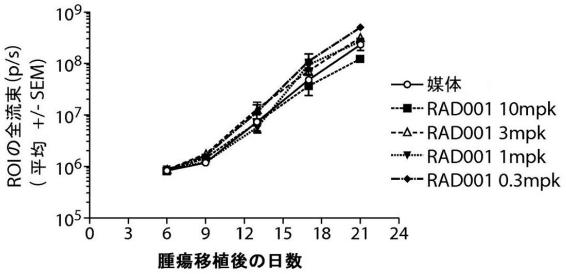


FIG. 44

【図４５】

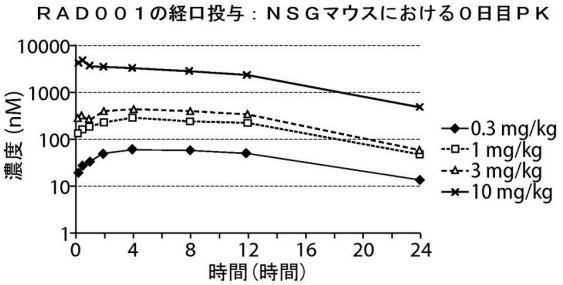


FIG. 45A

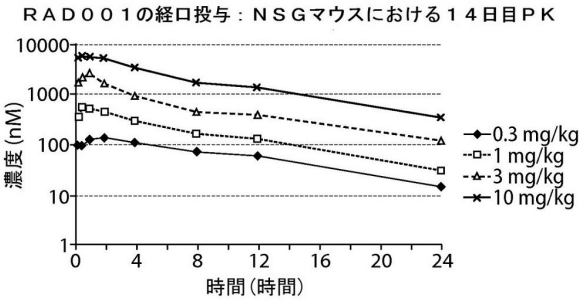


FIG. 45B

【図４６】

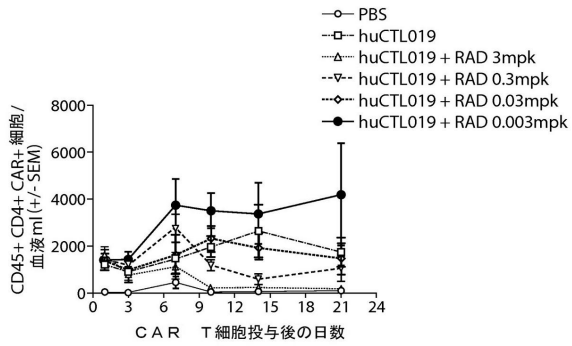


FIG. 46A

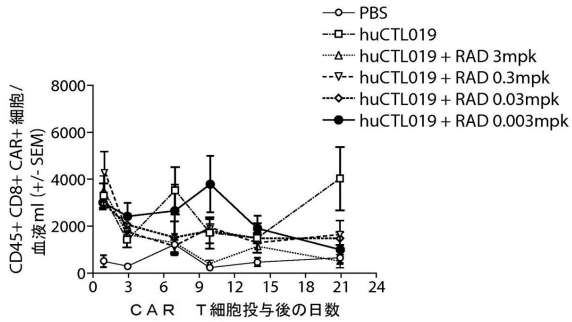
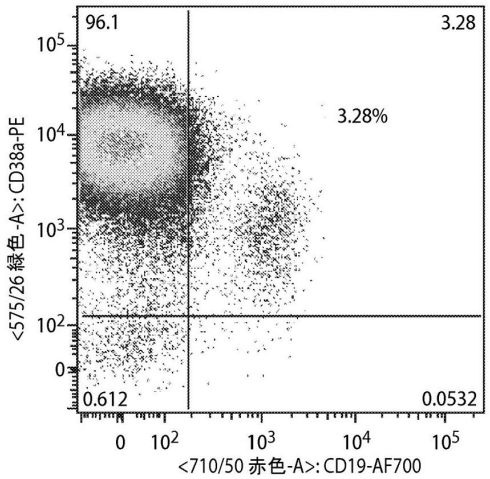


FIG. 46B

【図４７】



CD19（ｘ軸）およびCD38（ｙ軸）について染色されたCD138＋CD45 dim腫瘍細胞

FIG. 47

【配列表】

0007054622000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI	
A61P	*35/02*	*(2006.01)*	A61P	35/00
C07K	*14/705*	*(2006.01)*	A61P	35/02
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	14/705
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	16/28
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C07K	19/00
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/15
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/19
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	1/21
			C12N	5/10

中国(CN)

(31)優先権主張番号 PCT/CN2014/090501

(32)優先日 平成26年11月6日(2014.11.6)

(33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

(72)発明者 ジェニファー・ブログドン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド

(72)発明者 ユージーン・チェ
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、シドニー・ストリート６４番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド内

(72)発明者 ヒルマー・エーバースバッハ
スイス、ツェーハー－４００２バーゼル、ポストファッハ、ノバルティス・ファルマ・アクチェンゲゼルシャフト

(72)発明者 デイビッド・グラス
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、テクノロジー・スクエア１００番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド

(72)発明者 ヘザー・ヒュエ
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、シドニー・ストリート６４番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド

(72)発明者 カール・エイチ・ジューン
アメリカ合衆国１９０６６ペンシルベニア州メリオン・ステーション、ベアード・ロード４０９番

(72)発明者 ジョアン・マニック
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２２０番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド

(72)発明者 マイケル・シー・ミローン
アメリカ合衆国０８００２ニュージャージー州チェリー・ヒル、サリー・ロード３１４番

(72)発明者 レオン・マーフィー
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド

(72)発明者 ガブリエラ・プレサ
アメリカ合衆国１９４２２ペンシルベニア州ブルーベル、プロウシェア・ロード１１１４番

(72)発明者 セレスト・リチャードソン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２２０番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレ

イテッド
(72)発明者　マルコ・ルエラ
アメリカ合衆国１９１４３ペンシルベニア州フィラデルフィア、サウス・フォーティセブンス・ストリート５００番、アパートメント２０７
(72)発明者　ラシュマ・シン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０番、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　ワン・ヨンチアン
中華人民共和国２０１２０３シャンハイ、チャンジアン・ハイ－テク・パーク、ハレイ・ロード、レイン８９８、ナンバー８ビルディング、チャイナ・ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ
(72)発明者　チーロン・ウー
中華人民共和国２０１２０３シャンハイ、チャンジアン・ハイ－テク・パーク、ハレイ・ロード、レイン８９８、ナンバー８ビルディング、チャイナ・ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ

合議体
審判長　福井 悟
審判官　吉森 晃
審判官　高堀 栄二
(56)参考文献　国際公開第２０１３／１５４７６０（WO，Ａ１）
国際公開第２０１２／１６３８０５（WO，Ａ１）
(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07K 1/00-19/00
C12N 15/00-15/90
Ｇｏｏｇｌｅ Ｓｃｈｏｌａｒ、ＰｕｂＭｅｄ、ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）、ＣＡｐｌｕｓ／ＢＩＯＳＩＳ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）