

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

(21)(22) Заявка: 2015140811, 26.02.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
26.02.2013 US 61/769,543

(43) Дата публикации заявки: 03.04.2017 Бюл. № 10

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 28.09.2015(86) Заявка РСТ:
US 2014/018667 (26.02.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/134165 (04.09.2014)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городиский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**МЕМОРИАЛ СЛОАН-КЕТТЕРИНГ
КЭНСЕР СЕНТЕР (US)**

(72) Автор(ы):

**БРЕНТДЖЕНС Реньер Дж. (US),
ДЖЕКсон Холли Дж. (US)**(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИММУНОТЕРАПИИ**

(57) Формула изобретения

1. Выделенная иммунореактивная клетка, включающая:

1) антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген, причем связывание активизирует иммунореактивную клетку, и

2) растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает полипептид, обладающий иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

2. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой антиген представляет собой антиген опухоли или патогенного микроорганизма.

3. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой растворимый scFv является секретлируемым.

4. Выделенная иммунореактивная клетка по любому из пп. 1-3, в котором антиген-узнающий рецептор представляет собой Т-клеточный рецептор (TCR) или химерный антигенный рецептор (CAR).

5. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой указанный антиген-узнающий рецептор является экзогенным или эндогенным.

6. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой указанный антиген-узнающий рецептор является рекомбинантно экспрессируемым.

7. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой антиген-узнающий рецептор экспрессируется с вектора.

8. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой scFv экспрессируется с вектора.

9. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой клетку выбирают из группы, состоящей из Т-клетки, природной киллерной (NK) клетки, цитотоксического Т-лимфоцита (CTL), регуляторной Т-клетки, эмбриональной стволовой клетки человека и плюрипотентной стволовой клетки, из которой лимфоидные клетки могут быть дифференцированы.

10. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой указанная иммунореактивная клетка является аутологичной.

11. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой антиген представляет собой опухолевый антиген, выбранный из

группы, состоящей из CD 19, MUC16, MUC1, CA1X, CEA, CDS, CD7, CD10, CD20, CD22, CD30, CD33, CD34, CD38, CD41, CD44, CD49f, CD56, CD74, CD133, CD138, антигена клеток, инфицированных цитомегаловирусом (ЦМВ), EGP-2, EGP-40, EpCAM, erb-B2,3,4, FBP, фетального ацетилхолинового рецептора, фолатного рецептора α , GD2, GD3, HER-2, hTERT, IL-13R- α 2, к-легкой цепи, KDR, LeY, молекулы адгезии клеток L1, MAGE-A1, мезотелина, лигандов NKG2D, NY-ESO-1, онкофетального антигена (h5T4), PSCA, PSMA, ROR1, TAG-72, VEGF-R2 или WT-1.

12. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой иммуносупрессивное полипептид выбран из группы, состоящей из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

13. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой указанный иммуностимулирующий полипептид выбран из группы, состоящей из CD28, OX-40, 4-1BB и их лигандов.

14. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой указанный антиген представляет собой CD19 или MUC16.

15. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой домен внутриклеточной сигнализации указанного антиген-узнающего рецептора представляет собой CD3 ζ -цепь, CD97, CD11a-CD18, CD2, ICOS, CD27, CD154, CDS, OX40, 4-1BB, сигнальный домен CD28 или их комбинации.

16. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой клетка экспрессирует рекомбинантный или эндогенный антигенный рецептор, который представляет собой 1928z или 4H1128Z.

17. Выделенная иммунореактивная клетка по п. 1, в которой растворимый scFv усиливает иммунный ответ иммунореактивной клетки.

18. Способ уменьшения опухолевой массы у индивидуума, включающий введение эффективного количества иммунореактивной клетки, содержащей антиген-узнающий рецептор, который связывается с первым антигеном, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с полипептидом, который обладает иммуносупрессивной активностью

или иммуностимулирующей активностью, тем самым вызывая гибель опухолевых клеток у индивидуума.

19. Способ по п. 18, в котором способ уменьшает число опухолевых клеток.

20. Способ по п. 18, в котором способ уменьшает размер опухоли.

21. Способ по п. 18, в котором способ уничтожает опухоль у индивидуума.

22. Способ повышения выживаемости индивидуума с неоплазией, включающий введение эффективного количества иммунореактивной клетки, содержащей антиген-узнающий рецептор, который связывается с первым антигеном, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с полипептидом, обладающим

иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью, предоставляя тем самым лечение или предупреждение неоплазии у индивидуума.

23. Способ по п. 22, в котором неоплазия выбрана из группы, состоящей из рака крови, В-клеточного лейкоза, множественной миеломы, лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза, неходжкинской лимфомы и рака яичника.

24. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой В-клеточный лейкоз, антиген представляет собой CD19, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

25. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой множественную миелому, антиген представляет собой CD19, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

26. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой острый лимфобластный лейкоз (ALL), антиген представляет собой CD19, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

27. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз, антиген представляет собой CD19, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

28. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой неходжкинскую лимфому, антиген представляет собой CD19, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

29. Способ по п. 23, в котором неоплазия представляет собой овариальную неоплазию, антиген представляет собой MUC16, и полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью, представляет собой один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

30. Способ по любому из пп. 22-29, в котором растворимый scFv является секретируемым.

31. Способ по п. 22-29, в котором scFv экспрессируется с вектора.

32. Способ по любому из пп. 22-29, в котором растворимый scFv усиливает иммунный ответ иммунореактивной клетки.

33. Способ по любому из пп. 22-29, в котором указанный антиген-узнающий рецептор представляет собой В-клеточный рецептор (TCR) или химерный антигенный рецептор (CAR).

34. Способ по любому из пп. 22-29, в котором указанный антиген-узнающий рецептор является экзогенным или эндогенным.

35. Способ по любому из пп. 22-29, в котором указанный антиген-узнающий рецептор является рекомбинантно экспрессируемым.

36. Способ по любому из пп. 22-29, в котором антиген-узнающий рецептор экспрессируется с вектора.

37. Способ по любому из пп. 22-29, в котором клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной (NK) клетки, цитотоксического Т-лимфоцита (CTL), регуляторной Т-клетки, эмбриональной стволовой клетки человека и плюрипотентной стволовой клетки, из которой лимфоидные клетки могут быть дифференцированы.

38. Способ по любому из пп. 22-29, в котором способ уменьшает или ликвидирует опухолевую массу у индивидуума.

39. Способ получения антиген-специфической иммунореактивной клетки,

включающий ведение в иммунореактивную клетку

последовательности нуклеиновых кислот, которая кодирует одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с полипептидом, обладающим иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью, где иммунореактивная клетка содержит антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген.

40. Способ по п. 39, в котором растворимый scFv является секретируемым.

41. Способ по п. 39 или 40, в котором scFv экспрессируется с вектора.

42. Способ по любому из пп. 39-40, в котором растворимый scFv усиливает иммунный ответ иммунореактивной клетки.

43. Способ по любому из пп. 39-40, в котором иммуносупрессивный полипептид выбран из группы, состоящей из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов.

44. Способ по любому из пп. 39-40, в котором иммуносупрессивный полипептид выбран из группы, состоящей из CD28, OX40, 4-1BB и их лигандов.

45. Способ по любому из пп. 39-40, в котором указанный антиген-узнающий рецептор представляет собой Т-клеточный рецептор (TCR) или химерный антигенный рецептор (CAR).

46. Способ по любому из пп. 39-40, в котором указанный антиген-узнающий рецептор является экзогенным или эндогенным.

47. Способ по любому из пп. 39-40, в котором указанный антиген-узнающий рецептор является рекомбинантно экспрессируемым.

48. Способ по любому из пп. 39-40, в котором указанный антиген-узнающий рецептор экспрессируется с вектора.

49. Способ по любому из пп. 39-40, в котором клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной (NK) клетки, цитотоксического Т-лимфоцита (CTL), регуляторной Т-клетки, эмбриональной стволовой клетки человека и плюрипотентной стволовой клетки, из которой лимфоидные клетки могут быть дифференцированы.

50. Способ по любому из пп. 39-40, в котором внутриклеточный сигнальный домен указанного антиген-связывающего рецептора представляет собой CD3 ζ -цепь, CD97, CD11a-CD18, CD2, ICOS, CD27, CD154, CDS, OX40, 4-1BB, сигнального домена CD28 или их комбинации.

51. Способ лечения рака крови у индивидуума, нуждающегося в этом, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества Т-клетки, содержащей антиген-узнающий рецептор, который связывает CD19, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает один или более из CD47, PD-1, CTLA-4 и их лигандов, предоставляя тем самым лечение рака крови у индивидуума.

52. Способ по п. 51, в котором рак крови выбран из группы, состоящей из В-клеточной лейкемии, миеломной болезни, острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфоцитарного лейкоза и неходжкинской лимфомы.

53. Вектор, включающий последовательность нуклеиновых кислот, кодирующую антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген, и последовательность нуклеиновых кислот, кодирующую растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает полипептид, обладающий иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

54. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество иммунореактивной клетки по любому из пп. 1-18 в фармацевтически приемлемом наполнителе.

55. Фармацевтическая композиция для лечения неоплазии, включающая эффективное количество Т-клетки, специфичной к опухолевому антигену, по любому из пп. 1-18 в

фармацевтически приемлемом наполнителе.

56. Набор для лечения неоплазии, патогенной инфекции, аутоиммунного расстройства или аллогенной трансплантации, включающий иммунореактивную клетку, содержащую антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген и активирует

иммунореактивную клетку, и растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает полипептид, который обладает иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

57. Набор по п. 56, где набор дополнительно содержит письменные инструкции по использованию указанной клетки для лечения индивидуума, имеющего неоплазию, патогенную инфекцию, аутоиммунное расстройство или аллогенную трансплантацию.

58. Иммунореактивная клетка, экспрессирующая антиген-связывающий рецептор, обладающий активностью активизации иммунной клетки, и экзогенный CD40L.

59. Иммунореактивная клетка по п. 58, в которой антиген-связывающий рецептор является химерным антигенным рецептором.

60. Иммунореактивная клетка по п. 59, в которой химерный антигенный рецептор распознает опухолевый антиген.

61. Иммунореактивная клетка по любому из пп. 58-60, в которой иммунореактивная клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной клетки, цитотоксической Т-клетки и регуляторной Т-клетки.

62. Способ увеличения продуцирования иммунно-активирующих цитокинов в ответ на раковую клетку или патогенный микроорганизм у индивидуума, включающий введение индивидууму иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген раковой клетки или патогенного микроорганизма, соответственно, и дополнительно экспрессирующей экзогенный CD40L.

63. Способ по п. 62, в котором антиген-связывающий рецептор является химерным антигенным рецептором.

64. Способ по п. 63, в котором химерный антигенный рецептор распознает раковый антиген.

65. Способ по любому из пп. 62-64, в котором иммунореактивная клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной клетки, цитотоксической Т-клетки и регуляторной Т-клетки.

66. Способ по любому из пп. 62-64, в котором цитокином является IL-12.

67. Способ повышения CD8+ цитотоксического Т-клеточного ответа на раковую клетку или патогенный микроорганизм у индивидуума, включающий введение индивидууму иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген раковой клетки или патогенного микроорганизма, соответственно, и дополнительно экспрессирующей экзогенный CD40L.

68. Способ по п. 67, в котором антиген-связывающий рецептор является химерным антигенным рецептором.

69. Способ по п. 68, где химерный антигенный рецептор распознает раковый антиген.

70. Способ по любому из пп. 67-69, где иммунореактивная клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной клетки, цитотоксической Т-клетки и регуляторной Т-клетки.

71. Способ повышения созревания дендритных клеток у индивидуума, имеющего рак или имеющего заболевание, вызываемое патогенным микроорганизмом, включающий введение индивидууму иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывает антиген раковой клетки или патогенного микроорганизма, соответственно, и дополнительно экспрессирующей экзогенный CD40L.

72. Способ по п. 71, в котором антиген-связывающий рецептор является химерным

антигенным рецептором.

73. Способ по п. 72, в котором химерный антигенный рецептор распознает раковый антиген.

74. Способ по любому из пп. 71-73, в котором иммунореактивная клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, натуральной киллерной клетки, цитотоксической Т-клетки и регуляторной Т-клетки.

75. Способ уменьшения опухолевой массы у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывается с первым антигеном, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и экспрессирующей экзогенный CD40L, вызывая тем самым гибель опухолевых клеток у индивидуума.

76. Способ увеличения выживаемости индивидуума, имеющего неоплазию, включающий введение индивидууму эффективного количества иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывается с первым антигеном, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и экспрессирующей экзогенный CD40L, увеличивая тем самым выживаемость индивидуума.

77. Способ лечения или предупреждения неоплазии у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества иммунореактивной клетки, имеющей антиген-узнающий рецептор, который связывается с первым антигеном, причем связывание активирует иммунореактивную клетку, и экспрессирующей экзогенный CD40L, предоставляя тем самым лечение или предупреждение неоплазии у индивидуума.

78. Нуклеиновая кислота, включающая последовательность, кодирующую CAR и кодирующую CD40L, каждый из которых необязательно функционально связан с промоторным элементом.

79. Нуклеиновая кислота по п. 78, входящая в вектор.

80. Нуклеиновая кислота по п. 79, в которой вектор представляет собой вирус.

81. Набор для лечения неоплазии, патогенной инфекции, аутоиммунного расстройства или аллогенной трансплантации, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, который распознает антиген неоплазии, патогенной инфекции, аутоиммунного расстройства или трансплантата, подвергаемого лечению, и нуклеиновую кислоту, кодирующую растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывается с полипептидом, обладающим иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

82. Набор для лечения рака, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, который распознает антиген рака, и нуклеиновую кислоту, кодирующую растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает полипептид, обладающий иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

83. Набор для лечения рака или патоген-опосредованного расстройства, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR,

который распознает антиген раковой опухоли или патогенного микроорганизма, и нуклеиновую кислоту, кодирующую растворимый одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который связывает полипептид, обладающий иммуносупрессивной активностью или иммуностимулирующей активностью.

84. Набор для лечения раковой опухоли или патоген-опосредованного расстройства, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, который распознает антиген раковой опухоли или патогенного микроорганизма, и нуклеиновую кислоту, кодирующую CD40L.