

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和6年9月10日(2024.9.10)

【国際公開番号】WO2022/051749

【公表番号】特表2023-539361(P2023-539361A)

【公表日】令和5年9月13日(2023.9.13)

【年通号数】公開公報(特許)2023-173

【出願番号】特願2023-514397(P2023-514397)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 1/00(2006.01)

C 0 7 K 14/55(2006.01)

C 0 7 K 14/54(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0783 Z N A

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 1/00 A

C 0 7 K 14/55

C 0 7 K 14/54

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年8月30日(2024.8.30)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ナチュラルキラー(NK)細胞の増殖を増強する方法であって、該方法は、以下：

(a) フィーダー細胞の第1の集団とのNK細胞の集団の1回目の共培養を培地中で行うこと、

ここでフィーダー細胞の第1の集団は、4-1BBLおよび膜結合型インターロイキン-15(mbIL15)を発現するように操作された細胞を含み、

ここで1回目の共培養におけるNK細胞の集団は、フィーダー細胞の第1の集団よりも少ない細胞を含み、

ここで1回目の共培養における培地は、インターロイキン2(IL2)、インターロイキン12(IL12)、およびインターロイキン18(IL18)を含み、および

ここで1回目の共培養は、増殖したNK細胞の集団を産生する；

(b) 増殖したNK細胞の集団の少なくとも一部をフィーダー細胞の第1の集団から分離すること、および

(c) フィーダー細胞の第2の集団との増殖したNK細胞の集団の少なくとも一部の2回

10

20

30

40

50

目の共培養を行うこと、ここでフィーダー細胞の第2の集団は、新鮮な培地において4-1 B B Lおよび膜結合型インターロイキン-15 ( m b I L 1 5 ) を発現するように操作された細胞を含み、

ここで2回目の共培養におけるNK細胞の集団は、フィーダー細胞の集団よりも少ない細胞を含み、

ここで2回目の共培養における培地は、インターロイキン2 ( I L 2 )、インターロイキン12 ( I L 1 2 )、およびインターロイキン18 ( I L 1 8 ) を含み、および

ここで2回目の共培養は、さらに増殖したNK細胞の集団を産生する  
を含む、方法。

【請求項2】

増殖したNK細胞の集団のさらなる増殖を産生する、工程(b)および(c)を1回または複数回繰り返すことを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

増殖させたNK細胞の追加のフィーダー細胞の集団および新鮮な培地との反復共培養は、反復共培養の非存在下でNK細胞をフィーダー細胞の集団で増殖させる場合と比較して、増強したNK細胞の増殖を産生する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 2 が、約10単位/mLから約100単位/mLの濃度である、請求項1から3のいずれか一項に記載される方法。

【請求項5】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 1 2 が、約50単位/mL未満の濃度である、請求項1から4のいずれか一項に記載される方法。

【請求項6】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 1 2 が、約10 ng/mLから約100 ng/mLの間の濃度である、請求項1から5のいずれか一項に記載される方法。

【請求項7】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 1 2 が、約30 ng/mL未満の濃度である、請求項1から6のいずれか一項に記載される方法。

【請求項8】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 1 8 が、約0.01 ng/mLから約30 ng/mLの間の濃度である、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するI L 1 8 が、約10 ng/mL未満の濃度である、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

1回または複数回の共培養工程におけるフィーダー細胞に対するNK細胞の比が、約1:2から約1:20の間である、請求項1から9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

増殖したNK細胞が、蛍光活性化セルソーティング(FACS)によってフィーダー細胞から分離される、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

フィーダー細胞の集団が、4-1 B B Lおよびm b I L 1 5の両方を発現するK 5 6 2細胞を含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

1回または複数回の共培養工程が、NK細胞活性化のマーカの発現を増加させる、請求項1から12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

10

20

30

40

50

1 回または複数回の共培養工程が、増殖したNK細胞の細胞毒性を増加させる、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

1 回または複数回の共培養工程が、増殖したNK細胞の持続性を増加させる、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

1 回目の共培養が、約6時間から約14日の間行われる、請求項1から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

共培養が、少なくとも3回繰り返される、請求項1から16のいずれか一項に記載の方法 10

【請求項18】

NK細胞をキメラ抗原受容体(CAR)をコードするベクターと接触させることをさらに含む、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

CARが、CD19、CD123、CD70、BCMA、またはナチュラルキラー受容体群D(NKG2D)のリガンドのうちの1つまたは複数を標的とするように構成される、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

NK細胞が、2回目の共培養の前にCARをコードするベクターと接触される、請求項18または請求項19に記載の方法。 20

【請求項21】

2回目の共培養が、約6時間から約14日の間である、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

請求項1から21のいずれか一項によって産生される、NK細胞の集団。

【請求項23】

疾患の処置において使用するための、請求項22に記載のNK細胞の集団。

【請求項24】

疾患が癌である、請求項23に記載の使用するためのNK細胞の集団。

【請求項25】

操作されたナチュラルキラー(NK)細胞の集団であって、  
標的癌細胞上のマーカーに結合し、結合すると、NK細胞が標的癌細胞に対して細胞傷害効果を発揮するように誘導するように構成された、操作されたキメラ受容体を含み、  
ここでNK細胞は、以下：

a) フィーダー細胞の第1の集団とのNK細胞の集団の1回目の共培養を培地中で行うこと、

ここで、フィーダー細胞の第1の集団は、4-1BBおよび膜結合インターロイキン-15(mbIL15)を発現するように操作された細胞を含み、

ここで1回目の共培養におけるNK細胞の集団は、フィーダー細胞の第1の集団よりも少ない細胞を含み、

ここで1回目の共培養における培地は、インターロイキン2(IL2)、インターロイキン12(IL12)、およびインターロイキン18(IL18)を含み、およびここで1回目の共培養は、NK細胞の増殖集団を産生する；

(b) フィーダー細胞の第1の集団からNK細胞の増殖集団の少なくとも一部を分離すること、および

(c) フィーダー細胞の第2の集団との増殖したNK細胞の集団の少なくとも一部の2回目の共培養を行うこと、ここでフィーダー細胞の第2の集団は、新鮮な培地において4-1BBおよび膜結合インターロイキン-15(mbIL15)を発現するように操作された細胞を含み、

ここで2回目の共培養におけるNK細胞の集団は、フィーダー細胞の集団よりも少な 50

い細胞を含み、

ここで2回目の共培養における培地は、インターロイキン2 (IL2)、インターロイキン12 (IL12)、およびインターロイキン18 (IL18)を含み、および

ここで2回目の共培養は、さらに増殖したNK細胞の集団を産生するを含む方法によって増殖された、集団。

【請求項26】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL2が、約10単位/mLから約100単位/mLの間の濃度である、請求項25に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項27】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL2が、約50単位/mL未満の濃度である、請求項25または26に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項28】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL12が、約10 ng/mLから約100 ng/mLの間の濃度である、請求項25から27のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項29】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL12が、約30 ng/mL未満の濃度である、請求項25から28のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項30】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL18が、約0.01 ng/mLから約30 ng/mLの間の濃度である、請求項25から29のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項31】

1回または複数回の共培養工程において使用される培地中に存在するIL18が、約10 ng/mL未満の濃度である、請求項25から30のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項32】

1回目の共培養におけるフィーダー細胞に対するNK細胞の比が、約1:2から約1:20の間である、請求項25から31のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項33】

フィーダー細胞が、4-1BBLおよびmbIL15の両方を発現するK562細胞である、請求項32に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項34】

1回目の共培養が、約6時間から約14日の間行われる、請求項25から33のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項35】

キメラ受容体が、CD19、CD123、CD70、BCMA、またはナチュラルキラー受容体群Dのリガンド(NKG2D)のうちの1つまたは複数を選択的に標的とするように構成されたキメラ抗原受容体(CAR)である、請求項25から34のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項36】

疾患の処置において使用するための、請求項25から35のいずれか一項に記載の操作されたNK細胞の集団。

【請求項37】

疾患が癌である、請求項36に記載の操作されたNK細胞の集団。

10

20

30

40

50