

【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 1 年 7 月 18 日 (2019.7.18)

【公表番号】特表 2018-519816 (P2018-519816A)

【公表日】平成 30 年 7 月 26 日 (2018.7.26)

【年通号数】公開・登録公報 2018-028

【出願番号】特願 2017-566082 (P2017-566082)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/15 (2015.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 5/10 Z N A

A 6 1 K 35/15 Z

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 35/00

C 1 2 N 5/0783

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 6 月 12 日 (2019.6.12)

【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】

(a) NK 細胞を準備する工程；

(b) 特異的エンドヌクレアーゼを使用することによって NK 細胞における遺伝子の発現を低下させるかまたは不活化する工程を含み、

該遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、A2A 受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、CD74、シクロフィリン A、TBL1XR1、HPRT、dCK、CD5、 β 2M、および PD-1 をコードするものからなる群より選択される、NK 細胞の治療活性を改善する方法。

【請求項 2】

前記遺伝子が、細胞傷害活性または細胞溶解活性の改善による抗腫瘍免疫治療の促進に関与しており、かつ TGF β 受容体、Cbl-B、A2A 受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、CD74、シクロフィリン A、および PD-1 をコードするものからなる群より選択される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記遺伝子が、造血細胞移植生着の改善に関与しており、かつ β 2M である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

前記遺伝子が、薬物が患者へ同時に投与される時の薬物に対する NK 細胞の感受性の低下

に關与しており、かつTBL1XR1、HPRT、dCK、およびCD5をコードするものからなる群より選択される、請求項1記載の方法。

【請求項5】

工程(b)における遺伝子発現の低下または不活化が、TALヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、またはRNA誘導型エンドヌクレアーゼを使用することによって実施される、請求項1~4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

不活化される遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、またはA2A受容体をコードするものである、請求項1、2および4のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

不活化されるかまたは遺伝子発現が低下させられる遺伝子が、CD74を発現する、請求項1、2および4のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

不活化されるかまたは遺伝子発現が低下させられる遺伝子が、PD-1を発現する、請求項1、2および4のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

二重の遺伝子不活化または二重の遺伝子発現の低下が実施され、不活化される2種の遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、A2A受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、CD94、Fas、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、シクロフィリンA、TBL1XR1、HPRT、dCK、CD52、 β 2M、およびPD-1をコードするものの中から選択される、請求項1~8のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

IL2受容体(CD25)、IL15-2A-IL15受容体、抗CD16 CAR、INF γ 、リステリアP60、TNF、およびIL12 α をコードするものの中から選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の活性化によって、細胞傷害性/細胞溶解機能を増強するため、NK細胞の少なくとも1種の付加的な遺伝子修飾が実施される、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

酵素ALDH、MGMT、MTX、GST、およびシチジンデアミナーゼをコードするものの中から選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の活性化によって、生物宿主における生着を増強するため、NK細胞の少なくとも1種の付加的な遺伝子修飾が実施される、請求項1~10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

(c)悪性細胞または感染細胞の表面に発現された少なくとも1種の抗原に対するキメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含む外来性核酸分子をNK細胞へ導入する工程

をさらに含む、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

キメラ抗原受容体が、SEQ ID NO 10(CD19抗原)、SEQ ID NO 11(CD38抗原)、SEQ ID NO 12(CD123抗原)、SEQ ID NO 13(CS1抗原)、SEQ ID NO 14(BCMA抗原)、SEQ ID NO 15(FIT-3抗原)、SEQ ID NO 16(CD33抗原)、SEQ ID NO 17(CD70抗原)、SEQ ID NO 18(EGFRvIII抗原)、およびSEQ ID NO 19(WT1抗原)との80%を超える、好ましくは90%を超える、より好ましくは95%を超える同一性の抗原性標的配列を有するscFv(VH鎖およびVL鎖)を含む、請求項12記載の方法。

【請求項14】

請求項1~13のいずれか一項記載の方法を使用することによって入手可能な改変NK細胞。

【請求項15】

医薬の調製における、請求項14記載の改変NK細胞の使用。

【請求項16】

医薬が癌またはウイルス感染の処置において使用するためのものである、例えばリンパ腫の処置において使用するためのものである、請求項15記載の使用。

【請求項 17】

請求項14記載の少なくとも1種の単離されたNK細胞を含む薬学的組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

本発明の一つの局面に関して本明細書に与えられた詳細は、本発明の他の局面のいずれかにも当てはまるものが、理解される。

[本発明1001]

(a) NK細胞を準備する工程；

(b) 特異的エンドヌクレアーゼを使用することによってNK細胞における遺伝子の発現を低下させるかまたは不活化する工程
を含み、

該遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、A2A受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、CD74、シクロフィリンA、TBL1XR1、HPRT、dCK、CD5、 β 2M、およびPD-1をコードするものからなる群より選択される、
NK細胞の治療活性を改善する方法。

[本発明1002]

前記遺伝子が、細胞傷害活性または細胞溶解活性の改善による抗腫瘍免疫治療の促進に関与しており、かつTGF β 受容体、Cbl-B、A2A受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、CD74、シクロフィリンA、およびPD-1をコードするものからなる群より選択される、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記遺伝子が、造血細胞移植生着の改善に関与しており、かつ β 2Mである、本発明1001の方法。

[本発明1004]

β 2Mの配列がSEQ ID NO.29を有する、本発明1003の方法。

[本発明1005]

前記遺伝子が、薬物が患者へ同時に投与される時の薬物に対するNK細胞の感受性の低下に関与しており、かつTBL1XR1、HPRT、dCK、およびCD5をコードするものからなる群より選択される、本発明1001の方法。

[本発明1006]

工程(b)における遺伝子発現の低下または不活化が、TALヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、またはRNA誘導型エンドヌクレアーゼを使用することによって実施される、本発明1001～1005のいずれかの方法。

[本発明1007]

工程(b)における遺伝子発現の低下または不活化が、TALヌクレアーゼを使用して実施される、本発明1002の方法。

[本発明1008]

工程(b)における遺伝子発現の低下または不活化が、RNA誘導型エンドヌクレアーゼを使用することによって実施される、本発明1002の方法。

[本発明1009]

RNA誘導型エンドヌクレアーゼがCas9またはCpf1である、本発明1008の方法。

[本発明1010]

エンドヌクレアーゼが、NK細胞へ導入されたmRNAによってコードされる、本発明1001～1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

NK細胞の細胞傷害性または細胞溶解活性を増強するための、本発明1001～1002および10

06～1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

不活化される遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、またはA2A受容体をコードするものである、本発明1011の方法。

[本発明1013]

TGF β をコードする遺伝子を不活化するためのTALヌクレアーゼをコードする核酸が、SEQ ID No:2～3と、少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%の同一性を共有する、本発明1012の方法。

[本発明1014]

E3ユビキチンリガーゼCbl-bをコードする遺伝子を不活化するためのTALヌクレアーゼをコードする核酸が、SEQ ID No:5～6および8～9と、少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%の同一性を共有する、本発明1012の方法。

[本発明1015]

宿主生物におけるNK細胞の生着を増強するための、本発明1001、1003～1004、および1006～1010のいずれかの方法。

[本発明1016]

不活化されるかまたは遺伝子発現が低下させられる遺伝子が、CD74を発現する、本発明1011の方法。

[本発明1017]

薬物に対するNK細胞の感受性を低下させるための、本発明1001、1005～1010のいずれかの方法。

[本発明1018]

不活化されるかまたは遺伝子発現が低下させられる遺伝子が、シクロフィリンA、TBL1XR1、HPRT、dCK、およびCD52を発現するものの中から選択される、本発明1016の方法。

[本発明1019]

免疫チェックポイントに対するNK細胞の感受性を低下させるための、本発明1001、1006～1009のいずれかの方法。

[本発明1020]

不活化されるかまたは遺伝子発現が低下させられる遺伝子が、PD-1を発現する、本発明1019の方法。

[本発明1021]

二重の遺伝子不活化または二重の遺伝子発現の低下が実施され、不活化される2種の遺伝子が、TGF β 受容体、Cbl-B、A2A受容体、KLRD1、LIR1/ILT2、KIR、CD94、Fas、AhR、Tim-3、Tyro-3、GCN2、CD94、シクロフィリンA、TBL1XR1、HPRT、dCK、CD52、 β 2M、およびPD-1をコードするものの中から選択される、本発明1001～1016のいずれかの方法。

[本発明1022]

IL2受容体(CD25)、IL15-2A-IL15受容体、抗CD16 CAR、INF γ 、リステリアP60、TNF、およびIL12 α をコードするものの中から選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の活性化によって、細胞傷害性/細胞溶解機能を増強するため、NK細胞の少なくとも1種の付加的な遺伝子修飾が実施される、本発明1001～1021のいずれかの方法。

[本発明1023]

酵素ALDH、MGMT、MTX、GST、およびシチジンデアミナーゼをコードするものの中から選択される少なくとも1種の遺伝子の発現の活性化によって、生物宿主における生着を増強するため、NK細胞の少なくとも1種の付加的な遺伝子修飾が実施される、本発明1001～1021のいずれかの方法。

[本発明1024]

(c)悪性細胞または感染細胞の表面に発現された少なくとも1種の抗原に対するキメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含む外来性核酸分子をNK細胞へ導入する工程をさらに含む、本発明1001～1023のいずれかの方法。

[本発明1025]

CARをコードするポリヌクレオチドが、電気穿孔によってNK細胞へ直接導入される、本発明1024の方法。

[本発明1026]

キメラ抗原受容体が、SEQ ID NO 10 (CD19抗原)、SEQ ID NO 11 (CD38抗原)、SEQ ID NO 12 (CD123抗原)、SEQ ID NO 13 (CS1抗原)、SEQ ID NO 14 (BCMA抗原)、SEQ ID NO 15 (FLT-3抗原)、SEQ ID NO 16 (CD33抗原)、SEQ ID NO 17 (CD70抗原)、SEQ ID NO 18 (EGFRvIII抗原)、およびSEQ ID NO 19 (WT1抗原)との80%を超える、好ましくは90%を超える、より好ましくは95%を超える同一性の抗原性標的配列を有するscFv (VH鎖およびVL鎖)を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

(d)得られた改変NK細胞を増大させる工程
をさらに含む、本発明1001~1026のいずれかの方法。

[本発明1028]

本発明1001~1027のいずれかの方法を使用することによって入手可能な改変NK細胞。

[本発明1029]

医薬として使用するための、本発明1028の改変NK細胞。

[本発明1030]

癌またはウイルス感染の処置において使用するための、本発明1029の改変NK細胞。

[本発明1031]

リンパ腫の処置において使用するための、本発明1030の改変NK細胞。

[本発明1032]

処置される患者に由来する、本発明1028~1031のいずれかの改変NK細胞。

[本発明1033]

ドナーに由来する、本発明1028~1031のいずれかの改変NK細胞。

[本発明1034]

本発明1028~1033のいずれかの少なくとも1種の単離されたNK細胞を含む薬学的組成物。

[本発明1035]

薬学的組成物が、NK細胞および他のPBMCの混合物を含有し、これら免疫細胞が、好ましくは同一のドナーに由来し、NK細胞が、全免疫細胞の0.1%~40%、好ましくは0.2%~20%、より好ましくは5%~16%を占める、本発明1034の薬学的組成物。

[本発明1036]

(a)本発明1001~1028のいずれかの方法によってNK細胞の集団を調製する工程；
(b)形質転換されたNK細胞を患者へ投与する工程
を含む、その必要のある患者を処置する方法。

[本発明1037]

患者が免疫抑制剤によって処置されている、本発明1036の方法。

[本発明1038]

免疫抑制剤が、6TG、6MG、および、クロファラビン、フルダラビンなどのプリン類似体、シタラビン、プレドニゾン、リツキシマブの中から選択される、本発明1037の方法。