

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 1 年 12 月 5 日 (2019.12.5)

【公表番号】特表 2018-533625 (P2018-533625A)

【公表日】平成 30 年 11 月 15 日 (2018.11.15)

【年通号数】公開・登録公報 2018-044

【出願番号】特願 2018-543036 (P2018-543036)

【国際特許分類】

A 6 1 K	35/28	(2015.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	31/18	(2006.01)
A 6 1 P	17/14	(2006.01)
A 6 1 P	5/38	(2006.01)
A 6 1 P	7/06	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 P	27/16	(2006.01)
A 6 1 P	7/04	(2006.01)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/14	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/14	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	21/04	(2006.01)
A 6 1 P	19/08	(2006.01)
A 6 1 P	17/06	(2006.01)
A 6 1 P	9/08	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/51	(2015.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K	35/28	
C 1 2 N	5/10	Z N A
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	31/18	

A 6 1 P	17/14	
A 6 1 P	5/38	
A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	27/16	
A 6 1 P	7/04	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	5/14	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	9/08	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/51	
A 6 1 K	35/17	Z
C 1 2 N	15/09	1 1 0

【手続補正書】

【提出日】令和1年10月21日(2019.10.21)

【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】

CD33 CAR-T療法に耐性である改変造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)の集団を作製するための方法であって、該方法が、ガイド核酸を含むCRISPR系を該HSPC中へ導入する段階であって、該CRISPR系が、SEQ ID NO:4に示される核酸配列を含む内因性CD33コード配列中に、CD33の遺伝子発現をダウンレギュレートすることができる挿入および/または欠失をもたらし、段階を含み、それにより、改変ヒトHSPCの集団を作製する、前記方法。

【請求項 2】

CRISPR系が、一本鎖オリゴヌクレオチドドナー(ssODN)配列を含む相同組換え修復(HDR)鑄型をさらに含み、

任意で、ssODN配列が、(i)余分なアデニンが挿入されているSEQ ID NO: 4に示されるヌ

クレオチド配列または(ii)SEQ ID NO: 5に示されるヌクレオチド配列を含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

HSPCが、末梢血単核細胞、臍帯血細胞、骨髓、リンパ節、および脾臓からなる群より選択される供給源から入手されるヒト細胞であるか、または

HSPCがCD34+ HSPCである、

請求項1記載の方法。

【請求項4】

CD33 CAR-T療法に耐性である改変造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)の集団を作製するための方法であって、該方法が、CRISPR系を該HSPC中へ導入する段階であって、該CRISPR系が、

ガイド核酸、および

SEQ ID NO: 5に示されるヌクレオチド配列を含む一本鎖オリゴヌクレオチドドナー(ssODN)配列

を含み、

該CRISPR系が、SEQ ID NO:4に示される核酸配列を含む内因性CD33コード配列中に、CD33の遺伝子発現をダウンレギュレートすることができる挿入および/または欠失をもたらす

、

段階を含み、それにより、改変ヒトHSPCの集団を作製する、

前記方法。

【請求項5】

HSPCが、末梢血単核細胞、臍帯血細胞、骨髓、リンパ節、および脾臓からなる群より選択される供給源から入手されるヒト細胞であるか、または

HSPCがCD34+ HSPCである、

請求項4記載の方法。

【請求項6】

CD33 CAR-T療法に耐性である改変造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)の集団であって、該HSPCが、SEQ ID NO:4に示される核酸配列を含む内因性CD33コード配列中に挿入および/または欠失を含み、該挿入および/または欠失が、ガイド核酸を含むCRISPR系によって媒介され、かつ該挿入および/または欠失が、CD33の遺伝子発現をダウンレギュレートすることができる、前記集団。

【請求項7】

CRISPR系が、一本鎖オリゴヌクレオチドドナー(ssODN)配列を含む相同組換え修復(HDR)鑄型をさらに含み、

任意で、ssODN配列が、(i)余分なアデニンが挿入されているSEQ ID NO: 4に示されるヌクレオチド配列または(ii)SEQ ID NO: 5に示されるヌクレオチド配列を含む、

請求項6記載の改変HSPCの集団。

【請求項8】

HSPCが、末梢血単核細胞、臍帯血細胞、骨髓、リンパ節、および脾臓からなる群より選択される供給源から入手される自家細胞であるか、または

HSPCがCD34+ HSPCである、

請求項6または7記載の改変HSPCの集団。

【請求項9】

CD33 CAR-T細胞、および

CD33を標的とする療法に耐性である改変造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)の集団を組み合わせてなる、その必要のある対象におけるがんを処置するための医薬であって、該HSPCが、

SEQ ID NO: 4に示される核酸配列を含むCD33コード配列中に挿入および/または欠失を含み、該挿入および/または欠失が、ガイド核酸を含むCRISPR系によって導入されており、かつ該挿入および/または欠失が、CD33の遺伝子発現をダウンレギュレートすることがで

きる、
前記医薬。

【請求項 10】

CD33を標的とする療法に耐性である改変造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)の集団を含み、
CD33 CAR-T細胞を含むCD33を標的とする療法と併用される、その必要のある対象においてキメラ抗原受容体(CAR)T細胞療法から造血幹細胞または前駆細胞を保護するための医薬であって、
該HSPCが、
SEQ ID NO: 4に示される核酸配列を含む内因性CD33コード配列中に挿入および/または欠失を含み、該挿入および/または欠失が、ガイド核酸を含むCRISPR系によって導入されており、かつ該挿入および/または欠失が、CD33の遺伝子発現をダウンレギュレートすることができる、
前記医薬。

【請求項 11】

CRISPR系が、相同組換え修復(HDR)鋳型をさらに含み、
任意で、HDR鋳型が、一本鎖オリゴヌクレオチドドナー(ssODN)配列を含み、
任意で、ssODN配列が、(i)余分なアデニンが挿入されているSEQ ID NO: 4に示されるヌクレオチド配列または(ii)SEQ ID NO: 5に示されるヌクレオチド配列を含む、
請求項9または10記載の医薬。

【請求項 12】

HSPCが、CD33を標的とする療法より前に対象に投与されるように用いられることを特徴とする、請求項9～11のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 13】

HSPCが、末梢血単核細胞、臍帯血細胞、骨髓、リンパ節、および脾臓からなる群より選択される供給源から入手される自家細胞であるか、または
HSPCがCD34+ HSPCである、
請求項9～12のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 14】

がんが、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸がん、皮膚がん、膵臓がん、大腸がん、腎臓がん、肝臓がん、脳がん、リンパ腫、白血病、肺がん、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、請求項9記載の医薬。

【請求項 15】

がんが、白血病である、請求項9記載の医薬。

【請求項 16】

がんが、急性骨髄性白血病(AML)である、請求項9記載の医薬。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

1つの態様において、状態は、自己免疫疾患である。別の態様において、自己免疫疾患は、後天性免疫不全症候群(AIDS)、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性アジソン病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、内耳自己免疫病(AIED)、自己免疫性リンパ増殖症候群(ALPS)、自己免疫性血小板減少性紫斑病(ATP)、ベーチェット病、心筋症、セリアック病-疱疹状皮膚炎；慢性疲労免疫機能不全症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIPD)、瘢痕性類天疱瘡、寒冷凝集素症、クレスト症候群、クローン病、ドゴー病、若年性皮膚筋炎、円板状ループス、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛-線維筋炎、グレープス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA腎症、インスリン依存

性糖尿病、若年性慢性関節炎（スティール病）、若年性関節リウマチ、メニエール病、混合性結合組織病、多発性硬化症、重症筋無力症、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症（進行性全身性硬化症（PSS）、これは全身性硬化症（SS）としても知られる）、シェーグレン症候群、スティッフマン症候群、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、白斑、ヴェーゲナー肉芽腫症、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。別の態様において、状態はがんである。さらに別の態様において、がんは、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸がん、皮膚がん、膵臓がん、大腸がん、腎臓がん、肝臓がん、脳がん、リンパ腫、白血病、肺がん、ならびにそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。

[本発明1001]

その必要のある対象においてキメラ抗原受容体(CAR)T細胞療法から造血幹細胞または前駆細胞を保護する方法であって、該方法が、改変造血幹細胞または前駆細胞を対象へ投与する段階を含み、ここで、該幹細胞または前駆細胞が、内因性遺伝子またはその一部の発現を減少させることができる核酸を含み、ここで、該内因性遺伝子が、CARに標的とされる抗原ドメインを含むポリペプチドをコードする、前記方法。

[本発明1002]

CAR T細胞療法をその必要のある対象へ施す段階をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1003]

内因性遺伝子発現を減少させることができる核酸が、CRISPR系である、本発明1001の方法。

[本発明1004]

CRISPR系が、Cas発現ベクターと、内因性遺伝子に対して特異的なガイド核酸配列とを含む、本発明1003の方法。

[本発明1005]

CRISPR系が、内因性遺伝子に対して特異的なガイド核酸配列と複合体化されたCas9タンパク質を含む、本発明1003の方法。

[本発明1006]

CRISPR系が誘導性プロモーターを含む、本発明1003の方法。

[本発明1007]

Cas発現ベクター中の誘導性プロモーターを活性化する作用物質へ造血幹細胞または前駆細胞を曝露する段階をさらに含む、本発明1006の方法。

[本発明1008]

内因性遺伝子が腫瘍抗原をコードする、本発明1001の方法。

[本発明1009]

内因性遺伝子が、CARに標的とされる腫瘍細胞上に発現される、本発明1001の方法。

[本発明1010]

内因性遺伝子がCD33またはCD123をコードする、本発明1001の方法。

[本発明1011]

改変細胞が、CARに標的とされる抗原ドメインを欠いている改変ポリペプチドをコードする改変内因性遺伝子をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1012]

前記改変ポリペプチドが、内因性遺伝子によってコードされるポリペプチドの機能と同等である少なくとも1つの機能を含む、本発明1011の方法。

[本発明1013]

改変造血幹細胞または前駆細胞を作製するための方法であって、該方法が、内因性遺伝子またはその一部の発現を減少させることができる核酸を細胞中へ導入する段階を含み、ここで、該内因性遺伝子が、キメラ抗原受容体(CAR)に標的とされる抗原ドメインを含む

ポリペプチドをコードする、前記方法。

[本発明1014]

CAR T細胞療法の必要のある対象から細胞を得る段階をさらに含む、本発明1013の方法。

[本発明1015]

細胞が、末梢血単核細胞、臍帯血細胞、骨髓、リンパ節、および脾臓からなる群より選択される供給源から入手される、本発明1013の方法。

[本発明1016]

細胞がCD34+である、本発明1013の方法。

[本発明1017]

内因性遺伝子発現を減少させることができる核酸が、CRISPR系である、本発明1013の方法。

[本発明1018]

CRISPR系が、内因性遺伝子に対して特異的なガイド核酸配列と複合体化されたCas9タンパク質を含む、本発明1017の方法。

[本発明1019]

CRISPR系が、Cas発現ベクターと、内因性遺伝子に対して特異的なガイド核酸配列とを含む、本発明1017の方法。

[本発明1020]

CRISPR系が誘導性プロモーターを含む、本発明1017の方法。

[本発明1021]

Cas発現ベクター中の誘導性プロモーターを活性化する作用物質へ造血幹細胞または前駆細胞を曝露する段階をさらに含む、本発明1020の方法。

[本発明1022]

内因性遺伝子が腫瘍抗原をコードする、本発明1013の方法。

[本発明1023]

内因性遺伝子が、CARに標的とされる腫瘍細胞上に発現される、本発明1013の方法。

[本発明1024]

内因性遺伝子が、CD33およびCD123からなる群より選択される、本発明1013の方法。

[本発明1025]

改変細胞中へ改変内因性遺伝子を導入する段階をさらに含み、該改変内因性遺伝子が、CARに標的とされる抗原ドメインを欠いている改変ポリペプチドをコードする、本発明1013の方法。

[本発明1026]

前記改変ポリペプチドが、内因性遺伝子によってコードされるポリペプチドの機能と同等である少なくとも1つの機能を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

前記細胞を増大させる段階をさらに含む、本発明1013の方法。

[本発明1028]

前記増大させる段階を、前記核酸を導入する段階の前に行う、本発明1027の方法。

[本発明1029]

前記細胞を凍結保存する段階をさらに含む、本発明1013の方法。

[本発明1030]

前記核酸を導入する前に、凍結保存された細胞を解凍する段階をさらに含む、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記核酸を導入する段階を、細胞に形質導入を行うこと、細胞にトランスフェクションを行うこと、および細胞にエレクトロポレーションを行うことからなる群より選択されるプロセスによって行う、本発明1013の方法。

[本発明1032]

本発明1013の方法に従って作製された改変細胞を含む、組成物。

[本発明1033]

本発明1013の方法に従って作製された改変細胞および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

[本発明1034]

養子細胞移入療法のための方法であって、該方法が、本発明1013の方法に従って作製された改変細胞を含む有効量の薬学的組成物を、その必要のある対象へ投与する段階を含み、ここで、該対象に、有効量の該細胞と、内因性遺伝子によってコードされるポリペプチドの抗原ドメインを標的とするCAR T細胞療法とが施され、それによって対象を処置する、前記方法。

[本発明1035]

前記改変細胞が、対象中で少なくとも1つの血液細胞型へ分化する、本発明1034の方法。

[本発明1036]

前記改変細胞が、対象中への投与後に自己複製することができる、本発明1034の方法。

[本発明1037]

その必要のある対象における状態を処置する方法であって、
該方法が、

対象に本発明1013の方法に従って作製された改変細胞を含む治療有効量の薬学的組成物を投与する段階と、

CAR療法を施す段階であって、該CARが、内因性遺伝子によってコードされるポリペプチドの抗原ドメインを特異的に標的とする抗原結合ドメインを含む、前記段階と
を含み、それによって状態を処置する、前記方法。

[本発明1038]

前記改変細胞が、対象中で少なくとも1つの血液細胞型へ分化する、本発明1037の方法。

[本発明1039]

前記改変細胞が、対象中への投与後に自己複製することができる、本発明1037の方法。

[本発明1040]

前記状態が自己免疫疾患である、本発明1037の方法。

[本発明1041]

自己免疫疾患が、後天性免疫不全症候群（AIDS）、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性アジソン病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、内耳自己免疫病（AIED）、自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）、自己免疫性血小板減少性紫斑病（ATP）、ベーチェット病、心筋症、セリアック病-疱疹状皮膚炎；慢性疲労免疫機能不全症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIPD）、瘢痕性類天疱瘡、寒冷凝集素症、クレスト症候群、クローン病、ドゴー病、若年性皮膚筋炎、円板状ループス、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛-線維筋炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、インスリン依存性糖尿病、若年性慢性関節炎（スティル病）、若年性関節リウマチ、メニエール病、混合性結合組織病、多発性硬化症、重症筋無力症、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症（進行性全身性硬化症（PSS）、これは全身性硬化症（SS）としても知られる）、シェーグレン症候群、スティッフマン症候群、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、白斑、ヴェーゲナー肉芽腫症、ならびにそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1040の方法。

[本発明1042]

状態ががんである、本発明1037の方法。

[本発明1043]

がんが、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸がん、皮膚がん、膵臓がん、大腸がん、腎臓がん、肝臓がん、脳がん、リンパ腫、白血病、肺がん、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1042の方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2018533625000001.app

【手続補正4】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図4 - 2

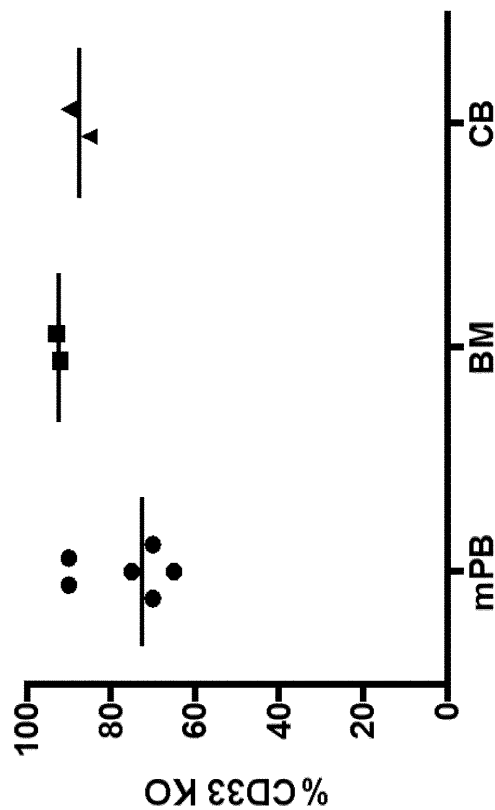
【補正方法】変更

【補正の内容】

【図4 - 2】

(SEQ ID NO: 3)		(SEQ ID NO: 4)
CD33-gRNA		PAM
5'-GCAGGAGTCAGTGACGGGTACAGGAGGGTTTGTGCGTCC-3'		(SEQ ID NO: 4)
wt	GCAGGAGTCAGTGACGGGTACA	GGAGGGTTTGTGCGTCC (SEQ ID NO: 4)
+1	GCAGGAGTCAGTGACGGGTACAAGGAGGGTTTGTGCGTCC	(SEQ ID NO: 5)
D2	GCAGGAGTCAGTGACGGTA--	GGAGGGTTTGTGCGTCC (SEQ ID NO: 6)
D14	GCAGGAGTCAGTGACGGT---	-----GCGTCC (SEQ ID NO: 7)
D15	GCAGGAGTCAGTGACG-----	-----TGCGTCC (SEQ ID NO: 8)
D18	GCAGGAG-----	-----GTTTGTGCGTCC (SEQ ID NO: 9)
D20	GCAGGAGTCAGTG-----	-----CGTCC (SEQ ID NO: 10)

C



D