

【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3年6月17日(2021.6.17)

【公表番号】特表2020-518289(P2020-518289A)
 【公表日】令和2年6月25日(2020.6.25)
 【年通号数】公開・登録公報2020-025
 【出願番号】特願2020-512082(P2020-512082)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0783
 A 6 1 K 35/17 Z
 A 6 1 P 31/00
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 0 5
 A 6 1 K 45/00

【手続補正書】
 【提出日】令和3年4月30日(2021.4.30)
 【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】

以下のステップ(i)及び(ii)を含む T細胞を増幅させる方法であって：

- (i) 非造血組織から得られた T細胞の集団を提供するステップ；
- (ii) 前記 T細胞を、効果的な量の
 - (a) IL-2またはIL-9；
 - (b) IL-15；および
 - (c) IL-21

の存在下で少なくとも5日間培養して増幅された T細胞の集団を生成するステップ；

前記方法は、ステップ(i)の後に、 T細胞を非造血細胞から分離して、分離された T細胞の集団を生成するステップを含み、かつ、ステップ(ii)は、実質的にストロマ細胞との接触のない条件下での T細胞の培養を含み、
 ステップ(ii)は、外因性TCR経路アゴニストのない条件下での T細胞の培養を含む、方法。

【請求項2】

ステップ(ii)が、さらにIL-4の存在下での T細胞の培養を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

ステップ(ii)が、さらに、前記 T細胞を、IL-2と、IL-15と、IL-21、ストロマ細胞

由来因子 (SDF)、IL-1、IL-12、IL-18およびIL-33からなる群より選択される少なくとも1つの因子と、の存在下で少なくとも5日間培養して、増幅された T細胞の集団を生成するステップ；を含む、請求項 1に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ(ii)が、無血清培地での T細胞の培養を含む、請求項 1 ~ 3のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ(i)の後、分離された T細胞の集団を生成するために、前記 T細胞を非造血細胞から分離する工程をさらに含み、かつ、

ステップ(ii)が以下を含む：

- (a) 実質的に腫瘍細胞との接触がない、 T細胞の培養；および/または
- (b) 実質的に支持細胞との接触がない、 T細胞の培養；

請求項 1 ~ 4のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ(ii)が無血清培地での T細胞の培養を含む、請求項 1 ~ 5のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 7】

ステップ(iii)が、実質的にストロマ細胞と前記 T細胞との接触がない条件下での T細胞の培養を含む、請求項 1 ~ 6のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 8】

非造血細胞から T細胞を分離するステップが、非造血組織から細胞を放出させるように構築された合成スキャホールド上での T細胞の培養を含む、請求項 1 ~ 7のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 9】

非造血細胞から T細胞を分離するステップが、IL-2および/またはIL-15の存在下での T細胞と非造血細胞との培養を含む、請求項 1 ~ 8のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 10】

分離されたリンパ球の集団が分離された T細胞の集団を含み、前記分離された T細胞の集団が分離されたV 1 T細胞の集団を含む、請求項 1 ~ 9のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 11】

(a)前記分離された T細胞の集団の少なくとも80%が、増幅前のV 1 T細胞である、及び/又は、
(b)前記分離された T細胞の集団の10%未満が、増幅前のV 2 T細胞である、請求項 1 ~ 10のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 12】

T細胞および/またはNK細胞は、前記分離された T細胞の集団から除去される、請求項 1 ~ 11のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 13】

14日間以内の培養で、増幅された T細胞の集団が、増幅前の分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも20倍の数の T細胞を含む、請求項 1 ~ 12のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 14】

21日間以内の培養で、増幅された T細胞の集団が、増幅前の分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも50倍の数の T細胞を含む、請求項 1 ~ 13のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 15】

前記増幅された T細胞の集団が、増幅されたV 1 T細胞の集団を含む、請求項 1 ~ 14のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 16】

14日間以内の培養で、増幅されたV₁ T細胞の集団が、増幅前の分離されたV₁ T細胞の集団と比較して、少なくとも20倍の数のV₁ T細胞を含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

21日間以内の培養で、増幅されたV₁ T細胞の集団が、増幅前の分離されたV₁ T細胞の集団と比較して、少なくとも50倍の数のV₁ T細胞を含む、請求項15または16に記載の方法。

【請求項18】

前記非造血組織が皮膚である、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0209

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0209】

他の実施形態は特許請求の範囲内にある。

(1)以下のステップ：

(i) 非造血組織から得られた T細胞の集団を提供するステップ；

(ii) 前記 T細胞を、効果的な量の

(a) IL-2またはIL-9；

(b) IL-15；および

(c) IL-21

の存在下で少なくとも5日間培養して増幅された T細胞の集団を生成するステップ；

を含む、 T細胞を増幅させる方法。

(2)ステップ(ii)が、さらにIL-4の存在下での T細胞の培養を含む、(1)に記載の方法。

(3)以下のステップ：

(i) 非造血組織から得られた T細胞の集団を提供するステップ；

(ii) 前記 T細胞を、IL-2と、IL-15と、IL-21、ストロマ細胞由来因子(SDF)、IL-1、IL-12、IL-18およびIL-33からなる群より選択される少なくとも1つの因子と、の存在下で少なくとも5日間培養して、増幅された T細胞の集団を生成するステップ；
を含む、 T細胞を増幅させる方法。

(4)ステップ(ii)が、外因性TCR経路アゴニストの不存在下での T細胞の培養を含む、(1)～(3)のいずれか1項に記載の方法。

(5)ステップ(ii)が、無血清培地での T細胞の培養を含む、(1)～(4)のいずれか1項に記載の方法。

(6)ステップ(i)の後、分離された T細胞の集団を生成するために、前記 T細胞を非造血細胞から分離する工程をさらに含み、かつ、

ステップ(ii)が以下を含む：

(a) 実質的にストロマ細胞との接触がない、 T細胞の培養；

(b) 実質的に腫瘍細胞との接触がない、 T細胞の培養；および/または

(c) 実質的に支持細胞との接触がない、 T細胞の培養；

(1)～(5)のいずれか1項に記載の方法。

(7)以下のステップ：

(i) 非造血細胞および T細胞を含む非造血組織を提供するステップ；

(ii) T細胞を非造血細胞から分離して、分離された T細胞の集団を得るステップ；

(iii) 前記 T細胞を、IL-2と、IL-15と、IL-21、SDF、IL-1、IL-12、IL-18およびIL-33からなる群より選択される因子と、の存在下で少なくとも5日間培養して、増幅された T細胞の集団を生成するステップ；

を含む、 T細胞を増幅させる方法。

(8) 前記非造血組織は、ヒトまたは非ヒト動物の対象から得られたものである、(7) に記載の方法。

(9) ステップ(ii)が、IL-2、IL-15およびIL-21の存在下での T細胞の培養を含む、(7) または (8) に記載の方法。

(10) ステップ(ii)が無血清培地での T細胞の培養を含む、(7) ~ (9) のいずれか 1 項に記載の方法。

(11) ステップ(iii)が、実質的にストロマ細胞と前記 T細胞との接触がない条件下での T細胞の培養を含む、(7) ~ (10) のいずれか 1 項に記載の方法。

(12) ステップ(iii)が、外因性TCR経路アゴニストが存在しない条件下での T細胞の培養を含む、(7) ~ (11) のいずれか 1 項に記載の方法。

(13) 非造血細胞から T細胞を分離するステップが、非造血組織から細胞を放出させるように構築された合成スキャホールド上での T細胞の培養を含む、(6) ~ (12) のいずれか 1 項に記載の方法。

(14) 非造血細胞から T細胞を分離するステップが、IL-2および/またはIL-15の存在下での T細胞と非造血細胞との培養を含む、(6) ~ (13) のいずれか 1 項に記載の方法。

(15) 分離されたリンパ球の集団が分離された T細胞の集団を含み、前記分離された T細胞の集団が分離されたV 1 T細胞の集団を含む、(6) ~ (14) のいずれか 1 項に記載の方法。

(16) 前記分離されたリンパ球の集団の1~10%が、増幅前の T細胞である、(15) に記載の方法。

(17) 前記分離されたリンパ球の集団の1~10%が、増幅前のV 1 T細胞である、(15) または (16) に記載の方法。

(18) 前記分離された T細胞の集団の少なくとも80%が、増幅前のV 1 T細胞である、(6) ~ (17) のいずれか 1 項に記載の方法。

(19) 前記分離された T細胞の集団の10%未満が、増幅前のV 2 T細胞である、(6) ~ (18) のいずれか 1 項に記載の方法。

(20) T細胞および/またはNK細胞は、前記分離された T細胞の集団から除去される、(6) ~ (19) のいずれか 1 項に記載の方法。

(21) 増幅前に、前記分離された T細胞の集団が、少なくとも10%のCCR3⁺細胞、少なくとも10%のCCR4⁺細胞、少なくとも10%のCCR7⁺細胞、少なくとも10%のCCR8⁺細胞、または少なくとも10%のCD103⁺細胞を含む、(6) ~ (20) のいずれか 1 項に記載の方法。

(22) 増幅前に、前記分離された T細胞の集団が、参照となる血液常在性V 2 T細胞の集団と比較して、高頻度のCCR3⁺細胞、CCR4⁺細胞、CCR7⁺細胞および/またはCCR8⁺細胞を含む、(6) ~ (21) のいずれか 1 項に記載の方法。

(23) 前記分離されたV 1 T細胞の集団が、参照となる血液常在性V 1 T細胞の集団と比較して、高頻度のNKG2D⁺細胞、CD56⁺細胞、CD69⁺細胞および/またはTIM3⁺細胞を含む、(14) ~ (22) のいずれか 1 項に記載の方法。

(24) 14日間以内の培養で、増幅された T細胞の集団が、増幅前の分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも20倍の数の T細胞を含む、(1) ~ (23) のいずれか 1 項に記載の方法。

(25) 21日間以内の培養で、増幅された T細胞の集団が、増幅前の分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも50倍の数の T細胞を含む、(1) ~ (24) のいずれか 1 項に記載の方法。

(26) 前記増幅された T細胞の集団が、増幅されたV 1 T細胞の集団を含む、(1) ~ (25) のいずれか 1 項に記載の方法。

(27) 14日間以内の培養で、増幅されたV 1 T細胞の集団が、増幅前の分離されたV 1 T細胞の集団と比較して、少なくとも20倍の数のV 1 T細胞を含む、(26) に記載の方

法。

(28) 21日間以内の培養で、増幅されたV 1 T細胞の集団が、増幅前の分離されたV 1 T細胞の集団と比較して、少なくとも50倍の数のV 1 T細胞を含む、(26)または(27)に記載の方法。

(29) 増幅された T細胞の集団がCD27を発現する、(1)~(28)のいずれか1項に記載の方法。

(30) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団よりも、高いCD27発現量の中央値を示す、(29)に記載の方法。

(31) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも2倍のCD27発現量の中央値を示す、(30)に記載の方法。

(32) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団と比較して、高頻度のCD27⁺細胞を有する、(29)に記載の方法。

(33) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団と比較して、少なくとも5%高頻度のCD27⁺細胞を有する、(32)に記載の方法。

(34) 増幅されたV 1 T細胞の集団がCD27を発現する、(26)~(28)のいずれか1項に記載の方法。

(35) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団よりも、高いCD27発現量の中央値を示す、(34)に記載の方法。

(36) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団と比較して、少なくとも2倍のCD27発現量の中央値を示す、(35)に記載の方法。

(37) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団と比較して、高頻度のCD27⁺細胞を有する、(34)~(36)のいずれか1項に記載の方法。

(38) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団と比較して、少なくとも5%高頻度のCD27⁺細胞を有する、(37)に記載の方法。

(39) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団よりも、低いTIGIT平均発現量を示す、(1)~(38)のいずれか1項に記載の方法。

(40) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団よりも、少なくとも50%低いTIGIT平均発現量を示す、(39)に記載の方法。

(41) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団よりも、低頻度のTIGIT⁺細胞を有する、(39)または(40)に記載の方法。

(42) 増幅された T細胞の集団が、分離された T細胞の集団よりも、少なくとも20%低頻度のTIGIT⁺細胞を有する、(41)に記載の方法。

(43) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団よりも、低いTIGIT平均発現量を示す、(26)~(28)、または(34)~(38)のいずれか1項に記載の方法。

(44) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団よりも、少なくとも50%低いTIGIT平均発現量を示す、(43)に記載の方法。

(45) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団よりも、低頻度のTIGIT⁺細胞を有する、(26)~(28)、または(34)~(38)のいずれか1項に記載の方法。

(46) 増幅されたV 1 T細胞の集団が、分離されたV 1 T細胞の集団よりも、少なくとも20%低頻度のTIGIT⁺細胞を有する、(45)に記載の方法。

(47) 増幅された T細胞の集団における、CD124、CD215、CD360、CTLA4、CD1b、BTLA、CD39、CD45RA、Fasリガンド、CD25、ICAM-1、CD31、KLRG1、CD30、およびCD2からなる群から選択される1以上のマーカーの平均発現量が、分離された T細胞の集団と比較して高い、(1)~(46)のいずれか1項に記載の方法。

(48) 増幅された T細胞の集団における、CD124、CD215、CD360、CTLA4、CD1b、BTLA、CD39、CD45RA、Fasリガンド、CD25、ICAM-1、CD31、KLRG1、CD30、およびCD2からなる群から選択される1以上のマーカーを発現する細胞が、分離された T細胞の集団と比較して高頻度である、(1)~(47)のいずれか1項に記載の方法。

(49) 増幅された T細胞の集団における、NKp44、NKp46、ICAM-2、CD70、CD28、CD103、NKp30、LAG3、CCR4、CD69、PD-1およびCD64からなる群から選択される1以上のマーカーの平均発現量が、分離された T細胞の集団と比較して低い、(1)～(48)のいずれか1項に記載の方法。

(50) 増幅された T細胞の集団における、NKp44、NKp46、ICAM-2、CD70、CD28、CD103、NKp30、LAG3、CCR4、CD69、PD-1およびCD64からなる群から選択される1以上のマーカーを発現する細胞が、分離された T細胞の集団と比較して低頻度である、(1)～(49)のいずれか1項に記載の方法。

(51) 増幅されたV 1 T細胞の集団における、CD124、CD215、CD360、CTLA4、CD1b、BTLA、CD39、CD45RA、Fasリガンド、CD25、ICAM-1、CD31、KLRG1、CD30、およびCD2からなる群から選択される1以上のマーカーの平均発現量が、分離されたV 1 T細胞の集団と比較して高い、(26)～(28)、(34)～(38)、(43)または(45)のいずれか1項に記載の方法。

(52) 増幅された T細胞の集団における、CD124、CD215、CD360、CTLA4、CD1b、BTLA、CD39、CD45RA、Fasリガンド、CD25、ICAM-1、CD31、KLRG1、CD30、およびCD2からなる群から選択される1以上のマーカーを発現する細胞が、分離された T細胞の集団と比較して高頻度である、(26)～(28)、(34)～(38)、(43)、(45)または(51)のいずれか1項に記載の方法。

(53) 増幅された T細胞の集団における、NKp44、NKp46、ICAM-2、CD70、CD28、CD103、NKp30、LAG3、CCR4、CD69、PD-1およびCD64からなる群から選択される1以上のマーカーの平均発現量が、分離された T細胞の集団と比較して低い、(26)～(28)、(34)～(38)、(43)、(45)、(51)または(52)のいずれか1項に記載の方法。

(54) 増幅された T細胞の集団における、NKp44、NKp46、ICAM-2、CD70、CD28、CD103、NKp30、LAG3、CCR4、CD69、PD-1およびCD64からなる群から選択される1以上のマーカーを発現する細胞が、分離された T細胞の集団と比較して低頻度である、(26)～(28)、(34)～(38)、(43)、(45)または(51)～(53)のいずれか1項に記載の方法。

(55) ステップ(iii)が、実質的にストロマ細胞との接触がない、 T細胞の培養を含む、(8)～(54)のいずれか1項に記載の方法。

(56) ステップ(iii)が、実質的に支持細胞との接触がない、 T細胞の培養を含む、(8)～(55)のいずれか1項に記載の方法。

(57) ステップ(iii)が、実質的に腫瘍細胞との接触がない、 T細胞の培養を含む、(8)～(55)のいずれか1項に記載の方法。

(58) 前記非造血組織が腫瘍組織ではない、(1)～(57)のいずれか1項に記載の方法。

(59) 前記非造血組織が皮膚である、(1)～(58)のいずれか1項に記載の方法。

(60) (1)～(59)のいずれかの方法により得られた、増幅された T細胞。

(61) 分離された集団の T細胞の少なくとも50%がCD27を発現し、実質的にTIGITを発現しない、分離された T細胞の集団。

(62) 分離された集団の T細胞の少なくとも50%がV 1を発現する、請求項61に記載の分離された T細胞の集団。

(63) (60)に記載の増幅された T細胞、または、(61)若しくは(62)に記載の分離された T細胞の集団を含む、医薬組成物。

(64) 対象における癌または感染症の治療方法に使用するための、(63)に記載の医薬組成物。

(65) 対象における癌または感染症の治療用薬剤の製造における、(63)に記載の医薬組成物の使用。

(66) 治療に効果的な量の、(1)～(59)のいずれか1項に記載の方法により得られた増幅された T細胞、請求項60に記載の増幅された T細胞、(61)若しく

は(62)に記載の分離された集団、または、(63)に記載の医薬組成物を、治療を要する対象に投与するステップを含む、養子T細胞療法により対象を治療する方法。

(67)増幅された T細胞の治療に効果的な量は、1投与あたり 10×10^{12} 細胞未満である、(66)に記載の方法。

(68)前記治療を要する対象への1以上の追加の治療剤の投与を含む、(66)または(67)に記載の方法。

(69)前記1以上の追加の治療剤は、免疫療法剤、細胞傷害剤、成長阻害剤、放射線治療剤、血管新生阻害剤、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、(68)に記載の方法。

(70)前記1以上の追加の治療剤は、前記増幅された T細胞と同時に投与される、(68)または(69)に記載の方法。

(71)前記1以上の追加の治療剤は、前記増幅された T細胞の投与後に投与される、(68)または(69)に記載の方法。

(72)前記追加の治療剤が、免疫療法剤である、(68)~(71)のいずれか1項に記載の方法。

(73)治療に有効な量の(63)に記載の医薬組成物を、治療を要する対象に投与するステップを含む、養子T細胞療法により対象を治療する方法。

(74)前記対象がヒトである、(66)~(73)のいずれか1項に記載の方法。

(75)前記ヒトがヒト癌患者である、(74)に記載の方法。

(76)前記ヒト癌患者が固形癌に対する治療を受けている、(75)に記載の方法。

(77)前記ヒトはウイルス感染に対する治療を受けている、(76)に記載の方法。