

【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】平成30年3月29日(2018.3.29)

【公表番号】特表2017-506894(P2017-506894A)

【公表日】平成29年3月16日(2017.3.16)

【年通号数】公開・登録公報2017-011

【出願番号】特願2016-553321(P2016-553321)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成30年2月9日(2018.2.9)

【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) T細胞を準備する工程；

(b) 悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を該T細胞に導入する工程；および

(c) 制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を該T細胞に導入する工程

を含む、操作されたT細胞を調製するための方法。

【請求項2】

制御性T細胞活性の阻害物質がFoxP3の阻害物質である、請求項1記載の方法。

【請求項3】

FoxP3の阻害物質が細胞透過性ペプチドである、請求項2記載の方法。

【請求項4】

FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質が、  
SEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列を含むポリペプチド、または  
SEQ ID NO：1の全長にわたってSEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列と少なくとも60%、  
例えば少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、その変種  
である、請求項3記載の方法。

【請求項5】

(d) 制御性T細胞 (Treg) の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第2のキメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程  
をさらに含む、請求項1~4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

(e) T細胞受容体 (TCR) の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子をDNA切断によって選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程  
をさらに含む、請求項1~5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

(f) 表面抗原CD25をコードする遺伝子をDNA切断によって選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程  
をさらに含む、請求項1~6のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球に由来する、請求項1~7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

(a) 悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子；および

(b) 制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を含む、好ましくは単離された、操作されたT細胞。

【請求項10】

制御性T細胞活性の阻害物質がFoxP3の阻害物質である、請求項9記載の操作されたT細胞。

【請求項11】

FoxP3の阻害物質が細胞透過性ペプチドである、請求項10記載の操作されたT細胞。

【請求項12】

FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質が、  
SEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列を含むポリペプチド、または  
SEQ ID NO：1の全長にわたってSEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列と少なくとも60%、  
例えば少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、その変種  
である、請求項11記載の操作されたT細胞。

【請求項13】

第1のキメラ抗原受容体と、制御性T細胞活性の阻害物質とが、T細胞によって発現される、請求項9~12のいずれか一項記載の操作されたT細胞。

【請求項14】

(c) 制御性T細胞 (Treg) の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第2のキメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子をさらに含む、請求項9~13のいずれか一項記載の操作されたT細胞。

【請求項15】

第2のキメラ抗原受容体がT細胞によって発現される、請求項14記載の操作されたT細胞

。

【請求項16】

(d) T細胞受容体 (TCR) の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子をDNA切断によって選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子

をさらに含む、請求項9~15のいずれか一項記載の操作されたT細胞。

【請求項17】

T細胞受容体 (TCR) の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子における欠失または変異をさらに含む、請求項9~16のいずれか一項記載の操作されたT細胞。

【請求項18】

細胞傷害性Tリンパ球である、請求項9~17のいずれか一項記載の操作されたT細胞。

【請求項19】

請求項9~18のいずれか一項記載の少なくとも1種類の遺伝子操作されたT細胞を含む、組成物。

【請求項20】

癌またはウイルス感染症の処置において使用するための医薬の製造における、請求項9~18のいずれか一項記載の操作されたT細胞の使用。

【請求項21】

リンパ腫の処置において使用するための医薬の製造における、請求項9~18のいずれか一項記載の操作されたT細胞の使用。

【請求項22】

悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられたキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列、および

制御性T細胞活性の阻害物質、例えば、FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項23】

悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列、および

制御性T細胞活性の阻害物質、例えば、FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む1つまたは複数の核酸分子を含む、組成物。

【請求項24】

請求項22記載の単離された核酸または請求項23記載の組成物を含む、キット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

[本発明1001]

(a) T細胞を準備する工程；

(b) 悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を該T細胞に導入する工程；および

(c) 制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を該T細胞に導入する工程

を含む、操作されたT細胞を調製するための方法。

[本発明1002]

制御性T細胞活性の阻害物質がFoxP3の阻害物質である、本発明1001の方法。

[本発明1003]

FoxP3の阻害物質が細胞透過性ペプチドである、本発明1002の方法。

[本発明1004]

(d) 制御性T細胞 (Treg) の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第2のキメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程

をさらに含む、本発明1001~1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

(e) T細胞受容体 (TCR) の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子をDNA切断によって選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程

をさらに含む、本発明1001~1004のいずれかの方法。

[本発明1006]

(f) 表面抗原CD25をコードする遺伝子をDNA切断によって選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子を前記T細胞に導入する工程

をさらに含む、本発明1001~1005のいずれかの方法。

[本発明1007]

(g) 結果として生じた操作されたT細胞を増殖させる工程

をさらに含む、本発明1001~1006のいずれかの方法。

[本発明1008]

FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質が、

SEQ ID NO : 1に示したアミノ酸配列を含むポリペプチド、または

SEQ ID NO : 1の全長にわたってSEQ ID NO : 1に示したアミノ酸配列と少なくとも60%、例えば少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、その変種である、本発明1003~1007のいずれかの方法。

[本発明1009]

第1のキメラ抗原受容体がBリンパ球抗原CD19に対して向けられたものである、本発明1001~1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

第1のキメラ抗原受容体が、分化クラスター分子、例えば、CD16、CD64、CD78、CD96、CCL1、CD116、CD117、CD71、CD45、CD71、CD123、およびCD138、腫瘍関連表面抗原、例えば、ErbB2 (HER2/neu)、癌胎児抗原 (CEA)、上皮細胞接着分子 (EpcAM)、上皮増殖因子受容体 (EGFR)、EGFR変種III (EGFRvIII)、CD19、CD20、CD30、CD40、ジシアロガングリオシドGD2、管上皮ムチン、gp36、TAG-72、スフィンゴ糖脂質、神経膠腫関連抗原、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、フェトプロテイン (AFP)、レクチン反応性AFP、チログロブリン、RAGE-1、MN-CA IX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2 (AS)、腸カルボキシルエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ (prostase)、プロスターゼ特異的抗原 (PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGA-1a、p53、プロステイン (prostain)、PSMA、サバイピンおよびテロメラーゼ、前立腺癌腫瘍抗原-1 (PCTA-1)、MAGE、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、CD22、インシュリン増殖因子 (IGF1) -I、IGF-II、IGF1受容体、メソテリン、腫瘍特異的ペプチドエピトープを提示する主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、5T4、ROR1、Nkp30、NKG2D、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメイン (extra domain) A (EDA) とエクストラドメインB (EDB) およびテネイシン-CのA1ドメイン (TnC A1) および線維芽細胞関連タンパク質 (fap) ; 細胞系列特異的抗原または組織特異的抗原、例えば、CD3、CD4、CD8、CD24、CD25、CD33、CD34、CD133、CD138、C-TLA-4、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、GM-CSF、サイトカイン受容体、エンドグリン、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、BCMA (CD269、TNFRSF17)、多発性骨髄腫抗原もしくはリンパ芽球性白血病抗原、例えば、TNFRSF17 (UNIPROT Q02223)、SLAMF7 (UNIPROT Q9NQ25)、GPCR5D (UNIPROT Q9NZD1)、FKBP11 (UNIPROT Q9NYL4)、KAMP3、ITGA8 (UNIP

ROT P53708)、およびFCRL5 (UNIPROT Q68SN8)より選択される抗原、ウイルス特異的  
表面抗原、例えば、HIV特異的抗原(例えば、HIV gp120); EBV特異的抗原、CMV特異的抗  
原、HPV特異的抗原、ラッサウイルス特異的抗原、インフルエンザウイルス特異的抗原、  
ならびにこれらの表面抗原の任意の誘導体または変種より選択される抗原に対して向けら  
れたものである、本発明1001~1008のいずれかの方法。

[本発明1011]

第1のキメラ抗原受容体または第2のキメラ抗原受容体が単鎖キメラ抗原受容体である、  
本発明1001~1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

第1のキメラ抗原受容体または第2のキメラ抗原受容体が多鎖キメラ抗原受容体である、  
本発明1001~1010のいずれかの方法。

[本発明1013]

第2のキメラ抗原受容体が表面抗原CD25に対して向けられたものである、本発明1004~1  
013のいずれかの方法。

[本発明1014]

第2のキメラ抗原受容体が、CD25である第1の表面抗原と、CD4、CD152、IL3R、CCR4、CC  
R6、CD161、およびCXCR3からなる群より選択される第2の表面抗原とに対して向けられたも  
のである、本発明1004~1013のいずれかの方法。

[本発明1015]

(e)に記載のレアカットエンドヌクレアーゼが、TCR またはTCR をコードする遺伝  
子を選択的に不活性化する、本発明1005~1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球に由来する、本発明1001~1015のいずれかの方法。

[本発明1017]

(a)悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向  
けられた第1のキメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸  
分子;および

(b)制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子  
を含む、好ましくは単離された、操作されたT細胞。

[本発明1018]

制御性T細胞活性の阻害物質がFoxP3の阻害物質である、本発明1017の操作されたT細胞  
。

[本発明1019]

FoxP3の阻害物質が細胞透過性ペプチドである、本発明1018の操作されたT細胞。

[本発明1020]

第1のキメラ抗原受容体と、制御性T細胞活性の阻害物質とが、T細胞によって発現され  
る、本発明1017~1019のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1021]

(c)制御性T細胞(Treg)の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向け  
られた第2のキメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む外因性核酸分子  
をさらに含む、本発明1017~1020のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1022]

第2のキメラ抗原受容体がT細胞によって発現される、本発明1021の操作されたT細胞。

[本発明1023]

(d)T細胞受容体(TCR)の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子をDNA切断によ  
って選択的に不活性化することができるレアカットエンドヌクレアーゼをコードするヌク  
レオチド配列を含む外因性核酸分子

をさらに含む、本発明1017~1022のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1024]

T細胞受容体(TCR)の1成分をコードする少なくとも1種類の遺伝子における欠失または

変異をさらに含む、本発明1017～1023のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1025]

FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質が、

SEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列を含むポリペプチド、または

SEQ ID NO：1の全長にわたってSEQ ID NO：1に示したアミノ酸配列と少なくとも60%、  
例えば少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、その変種  
である、本発明1019～1024のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1026]

第1のキメラ抗原受容体がBリンパ球抗原CD19に対して向けられたものである、本発明10  
17～1025のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1027]

第1のキメラ抗原受容体が、分化クラスター分子、例えば、CD16、CD64、CD78、CD96、C  
LL1、CD116、CD117、CD71、CD45、CD71、CD123、およびCD138、腫瘍関連表面抗原、例え  
ば、ErbB2 (HER2/neu)、癌胎児抗原 (CEA)、上皮細胞接着分子 (EpCAM)、上皮増殖因  
子受容体 (EGFR)、EGFR変種III (EGFRvIII)、CD19、CD20、CD30、CD40、ジシアロガン  
グリオシドGD2、管上皮ムチン、gp36、TAG-72、スフィンゴ糖脂質、神経膠腫関連抗原、  
-ヒト絨毛性ゴナドトロピン、フェトプロテイン (AFP)、レクチン反応性AFP、チロ  
グロブリン、RAGE-1、MN-CA IX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2 (AS)、腸カル  
ボキシルエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ、プロスターゼ特異的抗原 (C  
PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGA-1a、p53、プロステイン、PSMA、サバイピンおよびテロメラ  
ーゼ、前立腺癌腫瘍抗原-1 (PCTA-1)、MAGE、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2  
、CD22、インシュリン増殖因子 (IGF1) -I、IGF-II、IGF1受容体、メソテリン、腫瘍特異  
的ペプチドエピトープを提示する主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、5T4、ROR1、Nk  
p30、NKG2D、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメインA (EDA) とエクスト  
ラドメインB (EDB) およびテネイシン-CのA1ドメイン (TnC A1) および線維芽細胞関連タ  
ンパク質 (fap) ; 細胞系列特異的抗原または組織特異的抗原、例えば、CD3、CD4、CD8、  
CD24、CD25、CD33、CD34、CD133、CD138、CTLA-4、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、GM-CSF  
、サイトカイン受容体、エンドグリン、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、BCMA (C  
D269、TNFRSF17)、多発性骨髄腫抗原もしくはリンパ芽球性白血病抗原、例えば、TNFRSF  
17 (UNIPROT Q02223)、SLAMF7 (UNIPROT Q9NQ25)、GPCR5D (UNIPROT Q9NZD1)、FKBP11  
(UNIPROT Q9NYL4)、KAMP3、ITGA8 (UNIPROT P53708)、およびFCRL5 (UNIPROT Q68SN8  
) より選択される抗原、ウイルス特異的表面抗原、例えば、HIV特異的抗原 (例えば、HIV  
gp120) ; EBV特異的抗原、CMV特異的抗原、HPV特異的抗原、ラッサウイルス特異的抗原  
、インフルエンザウイルス特異的抗原、ならびにこれらの表面抗原の任意の誘導體または  
変種より選択される抗原に対して向けられたものである、本発明1017～1025のいずれかの  
操作されたT細胞。

[本発明1028]

第1のキメラ抗原受容体または第2のキメラ抗原受容体が単鎖キメラ抗原受容体である、  
本発明1017～1027のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1029]

第1のキメラ抗原受容体または第2のキメラ抗原受容体が多鎖キメラ抗原受容体である、  
本発明1017～1027のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1030]

第2のキメラ抗原受容体が単一特異性である、本発明1017～1029のいずれかの操作され  
たT細胞。

[本発明1031]

第2のキメラ抗原受容体が多重特異性である、本発明1017～1029のいずれかの操作され  
たT細胞。

[本発明1032]

第2のキメラ抗原受容体が表面抗原CD25に対して向けられたものである、本発明1017～1

031のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1033]

第2のキメラ抗原受容体が、CD25である第1の表面抗原と、CD4、CD152、IL3R、CCR4、CCR6、CD161、およびCXCR3からなる群より選択される第2の表面抗原とに対して向けられたものである、本発明1031の操作されたT細胞。

[本発明1034]

T細胞が、TCR またはTCR をコードする遺伝子を選択的に不活性化するレアカットエンドヌクレアーゼを発現する、本発明1017～1033のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1035]

細胞傷害性Tリンパ球に由来する、本発明1017～1034のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1036]

医薬として使用するための、本発明1017～1035のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1037]

癌またはウイルス感染症の処置において使用するための、本発明1017～1035のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1038]

リンパ腫の処置において使用するための、本発明1017～1035のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1039]

本発明1017～1035のいずれかの少なくとも1種類の遺伝子操作されたT細胞を含む、組成物。

[本発明1040]

悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられたキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列、および

制御性T細胞活性の阻害物質、例えば、FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質をコードするヌクレオチド配列

を含む、単離された核酸分子。

[本発明1041]

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列と、制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列とが、リボソームスキップ配列をコードするヌクレオチド配列、例えば2Aペプチドをコードするヌクレオチド配列によって互いに機能的に連結されている、本発明1040の単離された核酸分子。

[本発明1042]

ベクター、例えば、ウイルスベクターまたはプラスミドであり、

前記ヌクレオチド配列が、T細胞における発現に適した1つまたは複数のプロモーターと機能的に連結されている、

本発明1040または1041の単離された核酸分子。

[本発明1043]

悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列、および

制御性T細胞活性の阻害物質、例えば、FoxP3の細胞透過性ペプチド阻害物質をコードするヌクレオチド配列

を含む1つまたは複数の核酸分子を含む、組成物。

[本発明1044]

第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列、および

制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列

を含む核酸分子を含む、本発明1043の組成物。

[本発明1045]

悪性細胞または感染細胞の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第1のキメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含む第1の核酸分子

、および

制御性T細胞活性の阻害物質をコードするヌクレオチド配列を含む第2の核酸分子を含む、本発明1043の組成物。

[本発明1046]

制御性T細胞（Treg）の表面に発現している少なくとも1種類の抗原に対して向けられた第2のキメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含むさらなる核酸分子を含む、本発明1043～1045のいずれかの組成物。

[本発明1047]

核酸分子が、ベクター、例えば、ウイルスベクターまたはプラスミドであり、前記ヌクレオチド配列が、T細胞における発現に適した1つまたは複数のプロモーターと機能的に連結されている、本発明1043～1046のいずれかの組成物。

[本発明1048]

本発明1040～1042のいずれかの単離された核酸または本発明1043～1047のいずれかの組成物を含む、キット。

本発明の一局面について本明細書において示された詳しい内容は本発明の他の局面のいずれにも適用されることが理解される。