

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-526157

(P2023-526157A)

(43)公表日 令和5年6月21日(2023.6.21)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783		4 B 0 6 3
C 1 2 Q	1/6809(2018.01)	C 1 2 Q	1/6809	Z	4 B 0 6 5
C 1 2 Q	1/6869(2018.01)	C 1 2 Q	1/6869	Z	4 C 0 7 6
C 1 2 Q	1/04 (2006.01)	C 1 2 Q	1/04		4 C 0 8 4
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全71頁) 最終頁に続く
(21)出願番号 特願2022-556460(P2022-556460)		(71)出願人 510002280			
(86)(22)出願日 令和3年3月19日(2021.3.19)		アメリカ合衆国			
(85)翻訳文提出日 令和4年11月16日(2022.11.16)		アメリカ合衆国、2 0 8 9 2 - 7 7 8 8			
(86)国際出願番号 PCT/US2021/023225		メリーランド州、ベセスダ、 エムエス			
(87)国際公開番号 WO2021/188941		シー 7 7 8 8、ロックレッジ ドライブ			
(87)国際公開日 令和3年9月23日(2021.9.23)		6 7 0 1、スイート 7 0 0、ナショナル			
(31)優先権主張番号 62/992,715		インスティテュート オブ ヘルス、 オ			
(32)優先日 令和2年3月20日(2020.3.20)		フィス オブ テクノロジー トランスフ			
(33)優先権主張国・地域又は機関		アー			
米国(US)		(74)代理人 100080791			
(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		弁理士 高島 一			
,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		(74)代理人 100136629			
AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		弁理士 鎌田 光宜			
T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		(74)代理人 100125070			
,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		弁理士 土井 京子			
		最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 単一細胞解析により末梢血からT細胞及びT細胞レセプターを免疫治療のために単離する方法

(57)【要約】

本発明は、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮された集団を調製する方法を提供する。本発明の方法は、患者の血液サンプルからT細胞を単離すること；遺伝子発現プロファイルを有する前記単離されたT細胞を選択すること；及び前記選択されたT細胞を選択されなかった細胞から分離することを含むことがある。前記分離された選択されたT細胞は前記標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮された集団を提供する。TCRを単離する方法、TCRを発現する細胞の集団を調製する方法、単離されたTCR、細胞の単離された集団、医薬組成物、及び、哺乳動物の疾患を治療又は予防する方法も提供される。

【選択図】 図 1

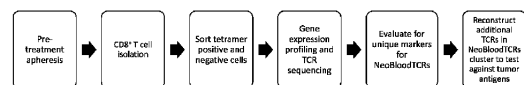


Fig. 1

【特許請求の範囲】

【請求項1】

標的抗原に対する特異性を有するT細胞の濃縮された集団を調製する方法であって、該方法は、

患者の血液サンプルからT細胞を単離すること、

遺伝子発現プロファイルを有する前記単離されたT細胞を選択すること、及び

選択されたT細胞を選択されなかった細胞から分離すること

を含み、

前記分離され選択されたT細胞は前記標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮された集団を提供し、

前記標的抗原は、がん特異的突然変異にコードされるネオアンチゲン、がん抗原又はがん関連ウイルス抗原であり、

前記遺伝子発現プロファイルは、

(a) ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PPIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻のうちの1つ以上；

(b) CARs⁺、CD39⁺(ENTPD1)⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺のうちの1つ以上；

(c) CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARs⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、及びTCF7⁻のうちの1つ以上；

(d) CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARs⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺のうちの1つ以上；

(e) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びCD103⁺のうちの1つ以上；

(f) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びTIGIT⁺のうちの1つ以上；

(g) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びPD-1⁺のうちの1つ以上；

(h) CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺及びCD39⁺のうちの1つ以上；

(i) CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺のうちの1つ以上；

10

20

30

40

50

(j) CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺のうちの1つ以上；

(k) AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺

、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFA TC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、P RDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、S HMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TP M4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHAEE⁺、及びYWHAQ⁺のうちの1つ以上；

(l) ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、GATA3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL 7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、LEPROTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2R Y10⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺、RALA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHB DD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSN1⁺、SE LL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM123⁺、TRAT1⁺、及びZFP36⁺のうちの1つ以上；

(m) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARID5B⁺、CAPN2⁺、CARS⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、I SG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、M X1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBD D2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SM CHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及びUBXN11⁺のうちの1つ以上；

(n) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、B IN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNL T1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、I SG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY 6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK

10

20

30

40

50

⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺のうち1つ以上；又は

(o) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺

、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD12⁻、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DARS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻のうち1つ以上

を含む、方法。

【請求項2】

請求項1に記載の方法であって、

(a) 前記遺伝子発現プロファイルは、ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PIIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻の全てを含む；

(b) 前記遺伝子発現プロファイルは、CARS⁺、CD39⁺(ENTPD1)⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CXCL13⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LGALS3⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺の全てを含む；

(c) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARS⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻

、NKG7⁺、NUCB2⁺、PITPNC1⁺、PLAC8⁺、及びTCF7⁺の全てとを含む；

(d) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARS⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺の全てとを含む；

(e) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁺、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びCD103⁺の全てとを含む；

(f) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁺、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びTIGIT⁺の全てとを含む；

(g) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁺、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びPD-1⁺の全てとを含む；

(h) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁺、HLA-DR⁺、及びCD39⁺の全てとを含む；

(i) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺の全てとを含む；

(j) 前記遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺の全てとを含む；

(k) 前記遺伝子発現プロファイルは、AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺

、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHAEE⁺、及びYWHAQ⁺の全てを含む；

(l) 前記遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、GAT

10

20

30

40

50

A3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、LEPR
OTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2RY10⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺、RA
LA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S1PR4⁺
、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM123⁺
、TRAT1⁺、及びZFP36⁺の全てを含む；

(m) 前記遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARID5B⁺
、CAPN2⁺、CARS⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺
、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-
DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、I
CAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LG
ALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、MX1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1⁺、P2RY8⁺
、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺
、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及びUBXN11⁺
の全てを含む；

(n) 前記遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3
G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺
、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺
、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYT
OR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETH
E1⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA
2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、
IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KL
F2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、
MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIAD2⁺、OPT
N⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PS
TPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺
、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、S
MCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺
、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、U
BXN11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺の全てを含む；又は

(o) 前記遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3
G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺
、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺
、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYT
OR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETH
E1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、HLA-DPA1⁺、HL
A-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺
、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITG
AE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1
L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺
、NELL2⁺、NR3C1⁺、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK
⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、R
HBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSIN1⁺
、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYT
L1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、T
PGS1⁺、TPM4⁺

、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD
12⁻、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DA
RS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LIN
C02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻

10

20

30

40

50

、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻の全てを含む、方法。

【請求項 3】

前記遺伝子発現プロファイルは、さらに、HAVCR2⁺(TIM3)⁺及びPDCD1⁺(PD1⁺)の一方又は両方を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記血液サンプルは、T細胞療法で治療されることがない患者に由来する、請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記患者の血液サンプル由来のT細胞を単離することは、前記血液サンプル由来のCD8⁺T細胞を単離することを含む、請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記患者の血液サンプル由来のT細胞を単離することは、前記血液サンプル由来のCD4⁺T細胞を単離することを含む、請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記患者が発現するHLA分子の同定を要さない、請求項 1 ないし 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

請求項 1 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の方法であって、

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、

(i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が正である遺伝子がコードするタンパク質の存在を検出することである；

(i i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子がコードするタンパク質の不存在を検出することである；

(i i i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子がコードするタンパク質の量を測定することである；及び／又は

(i v) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が正である遺伝子がコードするタンパク質の量を測定することである、方法。

【請求項 9】

請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項に記載の方法であって、

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、

(i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が正である遺伝子がコードするRNAの存在を検出することである；

(i i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子がコードするRNAの不存在を検出することである；

(i i i) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子がコードするRNAの量を測定することである；及び／又は

(i v) 前記遺伝子発現プロファイルの発現が正である遺伝子がコードするRNAの量を測定することである、方法。

【請求項 10】

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、1つ以上の単一細胞次元削減法を実行することを含む、請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、トランスクリプトーム解析の細胞インデックス化を実行することを含む、請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

10

20

30

40

50

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、配列決定によるエピトープ解析 (epitopes by sequencing analysis) を実行することを含む、請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、単一細胞トランスクリプトーム解析を実行することを含む、請求項 1 ないし 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

(a) を含む、請求項 1 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

(b) を含む、請求項 1 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

(i) 又は (j) を含み、且つ、前記遺伝子発現プロファイルは、CD25⁺及びCD127⁺の一方又は両方を更に含む、請求項 1 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記がん関連ウイルス抗原はヒトパピローマウイルス (HPV) 抗原又はエプスタイン-バー (EBV) ウイルス抗原である、請求項 1 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞レセプター (TCR) 又はその抗原結合部分を単離する方法であって、

請求項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の方法に基づいて、前記標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮された集団を調製すること；

濃縮された集団のT細胞を別々の単一T細胞サンプルに選別すること；

前記別々の単一T細胞サンプルの 1 又は 2 以上中のTCR相補性決定領域 3 (CDR3) を配列決定すること；

前記別々の単一T細胞サンプルの核酸がコードするCDR3を含むα鎖可変領域をCDR3を含むβ鎖可変領域と対にすること；

前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を宿主細胞に導入して、該宿主細胞によって前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を発現させること；

前記標的抗原に対する抗原特異性を有する、前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を発現する宿主細胞をスクリーニングすること；及び

前記標的抗原に対する抗原特異性を有する、前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を選択することを含み、

前記標的に対する抗原特異性を有する、前記TCR又はその抗原結合部分が単離される、方法。

【請求項 19】

標的抗原に対する抗原特異性を有するTCR又はその抗原結合部分を発現する細胞の集団を調製する方法であって、

請求項 18 に記載の方法に基づいてTCR又はその抗原結合部分を単離すること、及び

前記単離されたTCR又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を末梢血単核細胞 (PBMC) 内に導入して、前記TCR又はその抗原結合部分を発現する細胞を得ること

を含む、方法。

【請求項 20】

前記TCR又はその抗原結合部分を発現するPBMCの数を拡大することを更に含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

請求項 18 に記載の方法に基づいて単離された、TCR又はその抗原結合部分。

【請求項 22】

請求項 1 ～ 1 7 及び 1 9 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法に基づいて調製された、細胞の単離された集団。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 に記載の細胞の単離された集団及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 2 4】

哺乳動物の疾患の治療又は予防に使用するための、請求項 2 1 に記載の TCR、請求項 2 2 に記載の細胞の単離された集団、又は請求項 2 3 に記載の医薬組成物であって、前記疾患はがん又はウイルス疾患である、医薬組成物。

【請求項 2 5】

疾患の治療又は予防のための医薬を調製する方法であって、

請求項 1 ～ 1 7 に記載の方法に基づいて標的抗原に対する抗原特異性を有する T 細胞の濃縮された集団を調製すること；又は

(i i) 請求項 1 9 又は 2 0 に記載の TCR 又はその抗原結合部分を発現する T 細胞の単離された集団を調製することを含み、

前記疾患はがん又はウイルス疾患である、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本特許出願は、2020年3月20日に提出された米国仮特許出願番号第62／992，715号の利益を主張し、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれるものとする。

【0002】

連邦によって支援された研究開発に関する陳述

本発明は、連邦政府の支援を受け、プロジェクト番号 Z I A B C 0 1 0 9 8 4 の下、米国国立衛生研究所、米国国立がん研究所によりなされた。本発明において、連邦政府は一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

がん特異的突然変異によってコード化されたネオアンチゲンを標的とする T 細胞を用いた養子細胞療法 (ACT) は、一部の患者において良好な臨床効果をもたらすことができる。しかしながら、がんその他の疾患の治療に ACT を成功裏に使用するには、いくつかの障害が残っている。例えば、がん反応性 T 細胞を産生するために用いられる現在の方法は、かなりの時間を必要とし、がん標的と結合する所望の T 細胞受容体を容易に同定できない場合がある。従って、ACT のための細胞の単離集団を得る、改良された方法が必要とされている。

【発明の概要】

【0004】

本発明の一態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有する T 細胞の濃縮された集団を調製する方法を提供し、該方法は、患者の血液サンプルから T 細胞を単離すること；遺伝子発現プロファイルを有する単離 T 細胞を選択すること；及び選択された T 細胞を選択されなかった細胞から分離することを含み、前記分離され選択された T 細胞は前記標的抗原に対する抗原特異性を有する T 細胞の濃縮された集団を提供し、前記標的抗原は、がん特異的突然変異によってコードされるネオアンチゲン、がん抗原又はがん関連ウイルス抗原であり、前記遺伝子発現プロファイルは、(a) ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PPIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺

10

20

30

40

50

、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻のうちの1つ以上；(b) CARs⁺、CD39⁺(ENTPD1)⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、PDCD1⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺のうちの1つ以上；(c) CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARs⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、及びTCF7⁻の1つ以上；(d) CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CARs⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺のうちの1つ以上；(e) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びCD103⁺のうちの1つ以上；(f) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びTIGIT⁺のうちの1つ以上；(g) CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びPD-1⁺のうちの1つ以上と；(h) CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、及びCD39⁺のうちの1つ以上；(i) CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺のうちの1つ以上；(j) CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺のうちの1つ以上；(k) AHNK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、R

10

20

30

40

50

ASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KB
 P1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、S
 TK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX
⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHA
 E⁺、及びYWHAQ⁺のうちの1つ以上；(l) ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55
⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、
 GATA3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、L
 EPROTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2RY10⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺
 、RALA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S
 1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSN1⁺、SELL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM
 123⁺、TRAT1⁺、及びZFP36⁺の1つ以上；(m) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺
 、ARID5B⁺、CAPN2⁺、CARs⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP
 1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DP
 A1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNR
 NPUL1⁺、ICAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、
 KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、MX1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1
⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺
 、SAMHD1⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及び
 UBXN11⁺のうちの1つ以上；(n) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺
 、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、
 CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARs⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、C
 DC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺
 、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺
 、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺
 、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL
 10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2
⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX
 1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺
 、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTP
 IP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S
 100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMC
 HD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺、T
 MPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN
 11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺のうちの1つ以上；又は(o) ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、
 ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、
 C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARs⁺、CCNDBP1⁺、CD5
⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1
⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL
 5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、
 HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1
⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺
 、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITG
 B7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MF
 NG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺
 、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7
⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH
 2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3
 KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TA
 GAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、T
 RADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD12⁺

10

20

30

40

50

、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DARS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻のうちの1つ以上を含む。

【0005】

本発明の別の態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞受容体（TCR）、又はその抗原結合部分を単離する方法を提供し、該方法は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載された方法のいずれかに従って、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製すること；濃縮集団中のT細胞を別々の単一T細胞サンプルに選別すること；該別々の単一T細胞サンプルの1つ以上におけるTCR相補性決定領域3（CDR3）を配列決定すること；CDR3を含むα鎖可変領域と前記別々の単一T細胞サンプルの核酸がコードするCDR3を含むβ鎖可変領域とを対にすること；該対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域をコードする塩基配列を宿主細胞に導入し、前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を宿主細胞により発現させること；前記対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を発現する宿主細胞を標的抗原に対する抗原特異性についてスクリーニングすること；及び前記標的抗原に対する抗原特異性を有する対にしたα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を選択することを含み、前記標的抗原に対して抗原特異性を有するTCR又はその抗原結合部分が単離される。

【0006】

本発明のさらに別の態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有するTCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の集団を調製する方法を提供し、該方法は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載された方法のいずれかに従って、TCR、又はその抗原結合部分を単離すること、及び該単離されたTCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を末梢血単核細胞（PBMC）に導入して、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞を取得することを含む。

【0007】

本発明のさらなる態様は、関連するTCR、又はその抗原結合部分、細胞の単離集団、及び本発明の方法のいずれかに従って調製された医薬組成物を提供する。

【0008】

本発明のさらなる態様は、関連する、哺乳類における疾患を治療又は予防する方法、及び関連する、哺乳類における疾患の治療又は予防のための医薬品を調製する方法を提供し、ここで、疾患はがん又はウイルス性疾患である。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】図1は、本発明の一態様による、既知のネオアンチゲン反応性T細胞のテトラマー濃縮に続く単一細胞解析を用いて、治療前の患者の末梢血試料からネオアンチゲン反応性T細胞遺伝子シグネチャー（gene signatures）を同定する戦略を示す模式図である。

【図2A】図2Aは、大腸がん患者4246の末梢血由来の、テトラマーで濃縮されたサンプルの単一細胞トランスクリプトームのt-SNE解析結果（t-SNEマップ）を示す。クラスターには0～10の番号が付されている。

【図2B】図2Bは、図2Aのt-SNEマップに投影された、既知のネオアンチゲン反応性TCRを示す。既知のネオアンチゲン反応性TCRはクラスター4（ボックス部分）に局在する。

【図3】図3は、図2Aのクラスター4における患者4246のT細胞による、選択された遺伝子の発現を示す図である。

【図4A】図4Aは、クラスター4から上位15個のTCRのうちTCR1～TCR6でそれぞれ形質導入した同種異系T細胞を反応性既知のテトラマー（MY05B又はARMC9）で染色したフローサイトメトリー解析結果を示す。ボックス内のパーセンテージは、示された

10

20

30

40

50

テトラマーに結合した形質導入細胞のパーセンテージを示す。PE及びAPCは、テトラマー（Tet）に結合させ、その結合に基づいて細胞をFACSソートするために使用した蛍光色素である。

【図4B】図4Bは、クラスター4から上位15個のTCRのうちTCR7～TCR12をそれぞれ導入した同種異系T細胞を反応性既知のテトラマー（MY05B又はARMC9）で染色したフローサイトメトリー解析結果を示す。ボックス内のパーセンテージは、示されたテトラマーに結合した形質導入細胞のパーセンテージを示す。PE及びAPCは、テトラマー（Tet）に結合させ、その結合に基づいて細胞をFACSソートするために使用した蛍光色素である。

【図4C】図4Cは、クラスター4から上位15個のTCRのうちTCR13～TCR14（4C）をそれぞれ導入した同種異系T細胞を反応性既知のテトラマー（MY05B又はARMC9）で染色したフローサイトメトリー解析結果を示す。非形質導入細胞はコントロールとした。ボックス内のパーセンテージは、示されたテトラマーに結合した形質導入細胞のパーセンテージを示す。PE及びAPCは、テトラマー（Tet）に結合させ、その結合に基づいて細胞をFACSソートするために使用した蛍光色素である。

【図5】図5は、図2Aのt-SNEマップに投影された実験的に検証されたTCRを示す。MY05B特異的TCRは主にクラスター4に局在し、ARMC9特異的TCRは主にクラスター4に局在し、TCR14は主にクラスター6に局在していた。他のクラスターにはMY05B特異的TCR又はARMC9-特異的TCRはほとんど見られなかった。

【図6A】図6Aは、100ngのHLA B40：01でトランスフェクトし、表示された濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）の表示された変異体（丸）又は野生型（四角）ペプチドでパルスした標的Cos7細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン（IFN）-ガンマの量（ pg/mL ）を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成TCR（TCR1）で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞（▲）、又はタンデムミニジーン（TMG）3（変異型MY05Bを含む）若しくはTMG4（変異型ARMC9を含む）で形質導入した標的細胞（▼）が対照として機能した。

【図6B】図6Bは、100ngのHLA B40：01でトランスフェクトし、表示された濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）の表示された変異体（丸）又は野生型（四角）ペプチドでパルスした標的Cos7細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン（IFN）-ガンマの量（ pg/mL ）を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成TCR（TCR2）で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞（▲）、又はタンデムミニジーン（TMG）3（変異型MY05Bを含む）若しくはTMG4（変異型ARMC9を含む）で形質導入した標的細胞（▼）が対照として機能した。

【図6C】図6Cは、100ngのHLA B40：01でトランスフェクトし、表示された濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）の表示された変異体（丸）又は野生型（四角）ペプチドでパルスした標的Cos7細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン（IFN）-ガンマの量（ pg/mL ）を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成TCR（TCR3）で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞（▲）、又はタンデムミニジーン（TMG）3（変異型MY05Bを含む）若しくはTMG4（変異型ARMC9を含む）で形質導入した標的細胞（▼）が対照として機能した。

【図6D】図6Dは、100ngのHLA B40：01でトランスフェクトし、表示された濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）の表示された変異体（丸）又は野生型（四角）ペプチドでパルスした標的Cos7細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン（IFN）-ガンマの量（ pg/mL ）を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成TCR（TCR4）で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞（▲）、又はタンデムミニジーン（TMG）3（変異型MY05Bを含む）若しくはTMG4（変異型ARMC9を含む）で形質導入した標的細胞（▼）が対照として機能

した。

【図 6 E】図 6 E は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR5) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 F】図 6 F は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR6) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 G】図 6 G は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR7) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 H】図 6 H は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR8) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 I】図 6 I は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR9) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 J】図 6 J は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR10) で形質導入した患者 4246 に対して同種異系の T 細胞であった。DMSO で処理した標的細胞 (▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型 MY05B を含む) 若しくは TMG4 (変異型 ARMC9 を含む) で形質導入した標的細胞 (▼) が対照として機能した。

【図 6 K】図 6 K は、100ng の HLA B40:01 でトランスフェクトし、表示された濃度

($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR11) で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞(▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型MY05Bを含む) 若しくはTMG4 (変異型ARMC9を含む) で形質導入した標的細胞(▼)が対照として機能した。

【図6L】図6Lは、100ngのHLA B40:01でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR12) で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞(▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型MY05Bを含む) 若しくはTMG4 (変異型ARMC9を含む) で形質導入した標的細胞(▼)が対照として機能した。

10

【図6M】図6Mは、100ngのHLA B40:01でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR13) で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞(▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型MY05Bを含む) 若しくはTMG4 (変異型ARMC9を含む) で形質導入した標的細胞(▼)が対照として機能した。

20

【図6N】図6Nは、100ngのHLA B40:01でトランスフェクトし、表示された濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の表示された変異体 (丸) 又は野生型 (四角) ペプチドでパルスした標的 Cos7 細胞と共培養したエフェクター細胞によって分泌されたインターフェロン (IFN) - ガンマの量 (pg/mL) を示すグラフである。エフェクター細胞は、表示された再構成 TCR (TCR15) で形質導入した患者4246に対して同種異系のT細胞であった。DMSOで処理した標的細胞(▲)、又はタンデムミニジーン (TMG) 3 (変異型MY05Bを含む) 若しくはTMG4 (変異型ARMC9を含む) で形質導入した標的細胞(▼)が対照として機能した。

30

【図7A】図7Aは、がん患者4246、4287及び4317の末梢血由来の、テトラマーで濃縮されたサンプルの単一細胞トランスクリプトームのt-SNE解析結果 (t-SNEマップ) を示す。クラスターには0~12の番号が付されている。

【図7B】図7Bは、図7Aのt-SNEマップに投影された、患者4246、4287及び4317由来の既知のネオアンチゲン反応性TCRと、患者4287由来の既知のEBV反応性TCRを示す。既知のネオアンチゲン反応性TCRはクラスター9に局在する。

【図8】図8は、図7Aのt-SNEマップに投影された遺伝子シグネチャーの95番目のパーセンタイル (the 95th percentile) を発現するネオアンチゲン反応性末梢血 CD8^+ T細胞を示す。「A」で示される領域内の細胞は図7Bにも示される。

40

【図9A】図9Aは、本発明の一態様による、選択された表面マーカーを発現する CD4^+ 細胞の選別に続く単一細胞解析によって、治療前の患者の末梢血試料からネオアンチゲン反応性T細胞遺伝子シグネチャーを同定する戦略を示す模式図である。

【図9B】図9Bは、がん患者4400の末梢血由来の細胞表面マーカーで濃縮されたサンプルの単一細胞トランスクリプトームのUMAP解析結果 (UMAPスペース) を示す。クラスターには0~16の番号が付されている。

【図9C】図9Cは、図9BのUMAPスペースに投影された既知のネオアンチゲン反応性TCRを示す。既知のネオアンチゲン反応性TCRはクラスター7及び12に局在した。

【図9D】図9Dは、図9BのUMAPスペースに投影された遺伝子シグネチャーの90番目のパーセンタイル (the 90th percentile) を発現する末梢血 CD4^+ T細胞を示す。

50

【図 9 E】図 9 E は、Treg の同定のために、図 9 B の UMAP スペースに投影された Fox P3 発現末梢血 CD4⁺T 細胞を示す。Treg 細胞は最上部の丸く囲んだ領域にある。

【図 9 F】図 9 F は、図 9 B の UMAP スペースに投影された遺伝子シグネチャーの 90 番目のパーセントイルを発現する末梢血 Treg^{neg}CD4⁺を示す。

【図 10 A】図 10 A は、大腸がん患者 4382、4214 及び 4422 の末梢血由来の細胞表面マーカーで濃縮されたサンプルの単一細胞トランスクリプトームの UMAP 解析結果（UMAP スペース）を示す。クラスターには 0～13 の番号が付されている。既知のネオアンチゲン反応性 T 細胞は矢印で示すクラスター 4 及び 8 に優占的に集まっていた。

【図 10 B】図 10 B は、患者 4246、4382、4287 由来の既知のネオアンチゲン反応性 TCR と、患者 4287 由来の既知の EBV 反応性 TCR とが図 10 A の UMAP スペースに投影されたことを示す。EBV と、Flu と、CMV 又は EBV 又は Flu（CEFx）由来のペプチドのプールとに対して反応性を示した細胞が、図 10 A の UMAP スペースに投影された。

【図 10 C】図 10 C は、図 10 A の UMAP スペースに投影された遺伝子シグネチャーの 90 番目のパーセントイルを発現するネオアンチゲン反応性末梢血 CD8⁺T 細胞を示す。大きい円に含まれる領域内の細胞は、EBV 及び CEFx に対して反応性がある。小さい円に含まれる領域内の細胞は Flu に対して反応性がある。

【発明を実施するための形態】

【0010】

発明の詳細な説明

腫瘍浸潤リンパ球（TIL）が関与する ACT で進行がん患者を治療すると、固形がんの腫瘍退縮につながり得る。しかし、TIL 療法は、腫瘍切除、腫瘍断片の *in vitro* 成長、腫瘍反応性 T 細胞を保有する断片を選択する機能アッセイ、及び、最後に細胞移植のための断片培養物の拡大を必要とする。TIL 療法は、侵襲的で手間がかかり、かつ／又は時間がかかるため、進行した転移性がん患者の治療には不利になる可能性がある。手術の必要性を回避するために、血液から腫瘍およびネオアンチゲン反応性 T 細胞を単離するいくつかの方法が以前から提案されている。しかし、これらの従来の方法は、例えば、患者のヒト白血球抗原（HLA）組成の事前知識、腫瘍に発現する変異の事前知識、及び推定抗原の HLA への結合親和性の予測のいずれか 1 つ以上を必要とすることを含む種々の欠点のうちのいずれか 1 つ以上を有する可能性がある。これらの欠点は、より一般的に研究されている HLA にこれらの方法を制限する可能性がある。これらの方法の成功に対する更なる課題は、血液中のネオアンチゲン反応性細胞の頻度が非常に低く、おそらくこれらの方法の検出レベル以下であることであろう。同様の課題は、がん関連ウイルス抗原に反応する T 細胞の同定に関しても存在する。

【0011】

本発明の方法は、治療のための T 細胞を改変するために使用され得る抗原、例えば、がん特異的抗原及びがん関連ウイルス抗原に対して反応性の T 細胞及び T 細胞の TCR 配列を迅速に同定することによって、これらその他の欠点を改善することができる。本発明の方法は、有利には、腫瘍標本から腫瘍反応性 T 細胞及び TCR を単離するために一般的に用いられる侵襲的な腫瘍切除の必要性を低減又は排除し得る。

【0012】

末梢血から単離した T 細胞の単一細胞解析は、標的抗原に対して反応する、これまでに同定された TCR の大部分を包含する細胞集団を明らかにすることが発見された。この集団は、本明細書に記載される遺伝子発現プロファイルによって定義され得る。例えば、患者の血液由来のユニークな体細胞個別化突然変異を標的としたクローン的に定義された T 細胞受容体を用いて、本明細書に記載の遺伝子発現プロファイルを有する細胞によって発現される新しい未知の TCR が再構築され、標的抗原に対して反応性であることが判明した。本発明の方法は、増殖する腫瘍浸潤 T 細胞、高価で時間のかかるスクリーニング、及び／又は侵襲的な腫瘍切除を必要とせず、一般的ながんの細胞ベースの免疫療法のために T 細胞及び TCR を迅速に単離する可能性を劇的に増大させ得る。本発明の方法は、明確な T 細胞遺伝子シグネチャーに基づき、がん患者の血液サンプルから標的抗原に対して反

10

20

30

40

50

応性のTCRを単離及び構築するための、偏りのないアプローチを提供し得る。本明細書に記載の遺伝子発現プロフィールはまた、有利なことに、がん関連ウイルス抗原に反応するT細胞及びTCRを同定し得る。

【0013】

本発明の一態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製する方法を提供する。本明細書で使用する「抗原特異的」および「抗原特異性」という文言は、T細胞が抗原、又はそのエピトープに結合して免疫反応を誘発するように、抗原、又はそのエピトープに特異的に結合して免疫学的に認識することができることを意味する。この点、本発明の方法によって得られたT細胞集団は、本発明の方法によって得られていない細胞集団と比較して、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の高い比率を含むことができる。

10

【0014】

本発明の一態様において、標的抗原は、がん抗原である。本明細書で使用する「がん抗原」という用語は、抗原が腫瘍又はがんに関連するように、腫瘍細胞又はがん細胞によって単独又は優占的に発現又は過剰発現される任意の分子（例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、脂質、糖質など）を意味する。がん抗原は、さらに、正常細胞、非腫瘍細胞、又は非がん細胞によって発現させることがある。しかし、そのような場合、正常細胞、非腫瘍細胞、又は非がん細胞によるがん抗原の発現は、腫瘍細胞又はがん細胞による発現ほど強固ではない。この点、腫瘍細胞又はがん細胞は、正常細胞、非腫瘍細胞又は非がん細胞による抗原の発現と比較して、抗原を過剰に発現させ、又は抗原を有意に高いレベルで発現させることが可能である。また、がん抗原は、更に、異なる発生状態又は成熟状態の細胞によって発現され得る。例えば、がん抗原は、成体宿主には通常存在しない胚又は胎児期の細胞によって追加的に発現させることができる。あるいは、がん抗原は、幹細胞又は前駆細胞によって追加発現させることができ、これらの細胞は、通常、成体宿主には見出されない。がん抗原は当技術分野で知られており、例えば、メソセリン、CD19、CD22、CD276（B7H3）、gp100、MART-1、上皮成長因子受容体変異体III（EGFRVIII）、TRP-1、TRP-2、チロシナーゼ、NY-ESO-1（別名、CAG-3）、MAGE-1、MAGE-3等を含む。

20

【0015】

本発明の一態様において、標的抗原は、がん特異的な変異によってコードされたネオアンチゲンである。ネオアンチゲンは、発現されたタンパク質におけるがん特異的な変異から生じるがん抗原の一種である。「ネオアンチゲン」という用語は、正常（非がん）細胞によって発現される対応する野生型（非変異）ペプチド又はタンパク質と比較して、1つ以上のアミノ酸改変を含む、がん細胞によって発現されるペプチド又はタンパク質に関する。ネオアンチゲンは、患者特異的であってもよい。「がん特異的な変異」とは、腫瘍細胞又はがん細胞の核酸に存在し、対応する正常細胞、すなわち非腫瘍細胞又は非がん細胞の核酸には存在しない体細胞変異のことである。

30

【0016】

本発明の一態様において、標的抗原は、ウイルス特異的な抗原である。ウイルス特異的な抗原は当技術分野で知られており、例えば、ウイルスに感染していない細胞によって発現又は提示されず、ウイルス感染細胞（APC）によって発現又は提示される任意のウイルスタンパク質又はペプチド、例えば、env、gag、pol、gp120、チミジンキナーゼ等を含む。本発明の一態様において、ウイルス特異的な抗原は、がん関連ウイルス抗原であり、例えば、ヒトパピローマウイルス（HPV）16 E4、HPV 16 E6、HPV 16 E7、HPV 18 E6、HPV 18 E7等である。ウイルス特異的な抗原は、例えば、ヘルペスウイルス抗原、ポックスウイルス抗原、ヘパドナウイルス抗原、パピローマウイルス抗原、アデノウイルス抗原、コロナウイルス抗原、オルトミクスウイルス抗原、パラミクスウイルス抗原、フラビウイルス抗原、及びカリシウイルス抗原であってもよい。例えば、ウイルス特異的な抗原は、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）抗原、インフルエンザウイルス抗原、単純ヘルペスウイルス抗原、エプスタイン-バー（EBV）ウイルス抗原、HPV抗原、水痘ウイルス抗

40

50

原、サイトメガロウイルス抗原、A型肝炎ウイルス抗原、B型肝炎ウイルス抗原、C型肝炎ウイルス抗原、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗原、ヒトTリンパ球向性ウイルス抗原、カリシウイルス抗原、アデノウイルス抗原、及び、アリーナウイルス抗原からなる群から選択されてもよい。本発明の一態様において、がん関連ウイルス抗原は、HPV抗原又はEBV抗原である。

【0017】

本方法は、患者の血液サンプルからT細胞を単離することを含んでもよい。血液サンプルは、末梢血サンプルであってもよい。したがって、血液サンプルは、静脈穿刺及び動脈穿刺を含むがこれらに限定されない、任意の適切な手段によって得られてもよい。患者によって発現されるHLA分子を同定してもよいが、本発明の一態様において、本方法は、患者によって発現されるいかなるHLA分子も同定する必要はない。同様に、患者によって発現される1つ以上の標的抗原が同定されてもよいが、本発明の一態様において、本方法は、患者によって発現されるいかなる標的抗原をも同定することを要しない。本発明の一態様において、患者は、がん患者である。本発明の別の態様において、患者は、ウイルス性疾患に罹患している患者である。

【0018】

血液サンプルはT細胞療法で治療されている患者からのものであってもよいが、好ましい態様では、血液サンプルはT細胞療法で治療されていない患者からのものである。T細胞療法は、(i) 1つ以上のT細胞及び(ii) T細胞受容体を発現するように改変された1つ

以上の細胞の一方又は両方を投与することを含む任意の療法を含むことがある。血液サンプルは、T細胞療法以外の形態の免疫療法で治療されている患者からのものであってもよい。がん免疫療法は、がん細胞を攻撃するために免疫系を利用するがん治療の一形態である。抗ウイルス免疫療法は、ウイルスやウイルスに感染した細胞を免疫系で攻撃する治療形態である。T細胞療法以外の免疫療法としては、チェックポイント阻害剤、ワクチン、サイトカイン、抗体、及びキメラ抗原受容体（CAR）のいずれか1つ以上を投与することを含むことがあるが、これらに限定されない。

【0019】

本発明の一態様において、患者の血液サンプルからT細胞を単離することは、血液サンプルからCD8⁺T細胞を単離することを含む。本発明の別の態様において、患者の血液サンプルからT細胞を単離することは、血液サンプルからCD4⁺T細胞を単離することを含む。

【0020】

本方法は、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することをさらに含むことがある。遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、T細胞を別々の単一T細胞サンプルに選別し、1つ以上の単一T細胞による1つ以上の遺伝子の発現及び／又は非発現を別々に検出することを含むことがある。本発明の一態様において、遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、単一細胞のトランスクリプトーム解析を実施することを含む。

【0021】

1つ以上の単一T細胞による1つ以上の遺伝子の発現及び／又は非発現の検出は、例えば、CHROMIUM Single Cell Gene Expression Solution system (10x Genomics, Pleasanton, CA)（「CHROMIUMシステム」）を用いて実行することができる。CHROMIUMシステムは、複雑な細胞集団の詳細なプロファイリングを、細胞ごとにハイスループットなデジタル遺伝子発現で実行する。CHROMIUMシステムは、5'転写又はTCR解析のために個々の細胞のcDNAをバーコード化する。例えば、サンプルは10,000個の細胞のインプットから始まり、平均で約500個の遺伝子/細胞で、約3000個の細胞/サンプルのデータが得られることがある。

【0022】

本発明の一態様において、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択すること

は、トランスクリプトーム解析、シーケンス解析によるエピトープ、及びシーケンス解析によるトランスクリプトーム及びエピトープの細胞インデックス化 (CITE-Seq) 解析のうちの1つ以上を実行することを含む。CITE-Seqは、例えば、Stoeckiusら、Nat. Methods, 14(9): 865-868 (2017)に記載されている。簡潔にいうと、CITE-seqは、タンパク質マーカーの抗体ベースの検出を、多くの単一細胞のトランスクリプトームプロファイリングと一緒に並行して行う。オリゴヌクレオチド標識された抗体が、細胞タンパク質及びトランスクリプトーム測定を効率的な単一細胞リードアウトに統合するために使用される。

【0023】

単一細胞トランスクリプトーム解析によって得られるデータの次元性が高いため (例えば、約3000細胞／サンプル及び約500遺伝子／細胞)、遺伝子発現データの解析のために次元削減が実行されることがある。従って、本発明の一態様において、遺伝子発現プロフィールを有する単離T細胞を選択することは、1以上の単一細胞次元数削減方法を実行することを含む。単一細胞次元削減数方法の一例は、t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding (t-SNE) 解析である。t-SNEは、各データ点に2次元又は3次元マップ内の位置を与えることにより、高次元データを可視化する。t-SNEは、例えば、Van der Maaten and Hinton, J. Machine Learning Res., 9: 2579-2605 (2008)で説明されている。簡潔には、t-SNEは、2つの工程で実行される。第1工程では、高次元空間において、様々な隣接点間の関係を規定する確率分布が作成される。第2工程では、その確率分布に可能な限り従った低次元空間が再作成される。t-SNEの"t"はt分布に由来し、第2工程で使用される分布である。「S」及び「N」("stochastic"及び"neighbor")は、隣接する点間の確率分布の使用に由来する。単一細胞次元数削減方法のもう一つの例は、Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP)がある。

【0024】

遺伝子発現プロフィールは、(i) 1つ以上の遺伝子の正の発現、(ii) 1つ以上の遺伝子の負の発現、又は (iii) 1つ以上の遺伝子の正の発現と1つ以上の遺伝子の負の発現との組合せを含むことがある。表示された遺伝子の発現に関連して本明細書で使用される用語「正」(「+」と略されることもある)は、T細胞が、患者の血液サンプル中の他のT細胞と比較して、表示された遺伝子の発現をアップレギュレートしていることを意味する。アップレギュレートされた発現は、例えば、約1倍、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約11倍、約12倍、約13倍、約14倍、約15倍、約16倍、約17倍、約18倍、約19倍、約20倍、約21倍、約22倍、約23倍、約24倍、約25倍、約26倍、約27倍、約28倍、約29倍、約30倍、約31倍、約32倍、約33倍、約34倍、約35倍、又は前述の値のうち任意の2つの範囲、又はそれ以上の平均対数的変化(2を底とする)だけの、表示された遺伝子の発現における定量的増加を含むことがある。表示された遺伝子の発現に関連して本明細書で使用される用語「負」(「-」と略されることもある)は、T細胞が、患者の血液サンプル中の他のT細胞と比較して、表示された遺伝子の発現をダウンレギュレートしていることを意味する。ダウンレギュレートされた発現は、例えば、約-1倍、約-2倍、約-3倍、約-4倍、約-5倍、約-6倍、約-7倍、約-8倍、約-9倍、約-10倍、約-20倍、約-30倍、約-40倍、約-50倍、約-60倍、約-70倍、約-80倍、約-90倍、約-100倍、約-110倍、約-120倍、約-130倍、約-140倍、約-150倍、約-160倍、約-170倍、約-180倍、約-190倍、約-200倍、約-210倍、約-220倍、約-230倍、約-240倍、約-250倍、約-260倍、約-270倍、約-280倍、約-290倍、約-300倍、約-310倍、約-320倍、約-330倍、約-340倍、約-350倍、約-360倍、約-370倍、約-380倍、約-390倍、約-400倍、約-410倍、約-420倍、約-430倍、約-440倍、約-450倍、約-460倍、約-470倍、約-480倍、約-490倍、約-500倍、約-510倍、約-520倍、約-530倍、約-540倍

、約－５５０倍、約－５６０倍、約－５７０倍、約－５８０倍、約－５９０倍、約－６００倍、又は前記の値の任意の２つの範囲、またはそれ以上の平均対数的変化（２を底とする）だけの、表示された遺伝子の発現における定量的減少を含むことがある。

【００２５】

本発明の一態様において、遺伝子発現プロファイルは、ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PPIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻のうちの１つ以上を含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PPIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻のうちのいずれか１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の２つの範囲）を含むことがある。

【００２６】

本発明の別の態様では、遺伝子発現プロファイルは、ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PPIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻の全てを含む。

【００２７】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CARS⁺、CD39⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、PDCD1⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺のうちの１つ以上を含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、CARS⁺、CD39⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、PDCD1⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺のうちのいずれか１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５又はそれ以上（若しくは前述の値のうち任意の２つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは

、CAR⁺、CD39⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、PDCD1⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺、及びTOX⁺の全てを含む。

【0028】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、及びTCF7⁻のうちの1つ以上とを含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、及びTCF7⁻のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、CYTOR⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、RBPJ⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、UBXN11⁺、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CYTIP⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、IMPDH2⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MYC⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、及びTCF7⁻の全てとを含む。

【0029】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺のうちの1つ以上とを含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、若しくは24若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、CAR⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、COTL1⁺、FLNA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MYO1G⁺、PASK⁺、S100A11⁺、TIGIT⁺、及びUBXN11⁺の全てとを含む。

【0030】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺、及びCD103⁺のうちの1つ以上とを含む。例えば、遺伝子発現

プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びCD103⁺のうちのいずれか1、2、3、4若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びCD103⁺の全てとを含む。

【0031】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びTIGIT⁺のうちの1つ以上とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びTIGIT⁺のうちの1、2、3、4若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びTIGIT⁺の全てとを含む。

10

【0032】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びPD-1⁺のうちの1つ以上とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びPD-1⁺のうちのいずれか1、2、3、4若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD8⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺、CD39⁺及びPD-1⁺の全てとを含む。

【0033】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺及びCD39⁺のうちの1つ以上とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺及びCD39⁺のうちのいずれか1、2、3若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、CD45RO⁺、CD45RA⁻、HLA-DR⁺及びCD39⁺の全てとを含む。

20

【0034】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺のうちの1つ以上とを含む。

30

【0035】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含む。

40

【0036】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロフィールは、CD4⁺と、AK4⁺、APOBEC3G⁺、

50

C12orf75⁺、CCL5⁺、CD74⁺、CLIC1⁺、COTL1⁺、CST7⁺、CXCL13⁺、CXCR3⁺、DUSP2⁺、EEF1A1⁺、F2R⁺、GAPDH⁺、GNLY⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、HCST⁺、HLA-DPA1⁺、LYAR⁺、LYST⁺、MRPL10⁺、MYO1G⁺、NKG7⁺、PABPC1⁺、PDCD1⁺、PFN1⁺、PRF1⁺、RAB27A⁺、RPL10⁺、RPL11⁺、RPL13⁺、RPL18A⁺、RPL19⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL8⁺、RPL9⁺、RPLP1⁺、RPS12⁺、RPS13⁺、RPS23⁺、RPS3A⁺、RPS8⁺、SARAF⁺、SELL⁺、TC2N⁺、TMSB4X⁺、及びTPT1⁺の全てとを含む。

【0037】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺のうちの1つ以上とを含む。

【0038】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とを含む。

【0039】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、CD4⁺と、AC004585.1⁺、ACTB⁺、ACTG1⁺、ALOX5AP⁺、ANXA1⁺、ANXA5⁺、CD52⁺、CD99⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、FAM45A⁺、FTH1⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、GIMAP4⁺、GYPC⁺、IFITM1⁺、IFITM2⁺、IGFBP4⁺、ITGB1⁺、LCP1⁺、LIMS1⁺、LMO4⁺、MALAT1⁺、MIF⁺、MSN⁺、MT-ND3⁺、NDUFA12⁺、PASK⁺、PFN1⁺、PGAM1⁺、PPP2R5C⁺、RARRES3⁺、RILPL2⁺、RPL30⁺、RPL32⁺、RPL34⁺、RPL9⁺、RPS13⁺、RPS25⁺、RPS3A⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SERF2⁺、SLC25A5⁺、SMC4⁺、TIMP1⁺、TMSB4X⁺、VDAC1⁺、及びZFP36L2⁺の全てとを含む。

【0040】

本発明の一態様では、本明細書に記載の遺伝子発現プロファイルのいずれかが、CD25⁺及びCD127⁺の一方又は両方をさらに含むことがある。Treg細胞は、CD25⁺CD127^{lo}発現によって定義することができる。この点で、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮された集団は、Tregを除外してもよい。

【0041】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、C
RIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、E
SYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIS

T1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHA⁺、及びYWHAQ⁺のうちの1つ以上を含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHA⁺、及びYWHAQ⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含み得る。例えば、遺伝子発現プロファイルは、AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NF

10

20

30

40

50

ATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHAEE⁺、及びYWHAQ⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、AHNAK⁺、AK4⁺、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ANXA6⁺、ARL6IP1⁺、ARPC4⁺、ATP2B4⁺、BIN1⁺、BRI3⁺、C12orf75⁺、CALHM2⁺、CAPN2⁺、CAPNS1⁺、CARHSP1⁺、CD74⁺、CD81⁺、CDC25B⁺、CDCA7⁺、CLDND1⁺、CNN2⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DOK2⁺、DYNLL1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ESYT1⁺、FLNA⁺、GPR171⁺、GYG1⁺、GZMA⁺、GZMK⁺、H1FX⁺、HACD4⁺、HIST1H1C⁺、HLA-DMA⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM3⁺、IDH2⁺、IFI27L2⁺、INPP5D⁺、IQGAP2⁺、ITGAL⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、JPT1⁺、LAG3⁺、LGALS1⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LIMS1⁺、MAD1L1⁺、MAP2K2⁺、MAP4K1⁺、MBD2⁺、MED15⁺、MIS18BP1⁺、MKNK2⁺、MXD4⁺、MYADM⁺、MYO1F⁺、MYO1G⁺、NCK2⁺、NDUFA7⁺、NFATC2⁺、OPTN⁺、OSBPL8⁺、P2RY8⁺、PAG1⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PHACTR2⁺、PRDX3⁺、PREX1⁺、PRKCB⁺、PSD4⁺、PSMA2⁺、PYCARD⁺、RAD23B⁺、RASA3⁺、RBM38⁺、RBPJ⁺、RCSD1⁺、RNPEPL1⁺、S1PR4⁺、SH2D1A⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SLC16A3⁺、SLC2A4RG⁺、SLC4A7⁺、SLF1⁺、SPN⁺、STK24⁺、TC2N⁺、TEX264⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TLN1⁺、TMC8⁺、TMX4⁺、TOX⁺、TPM4⁺、TRAPPC5⁺、TXN⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、VOPP1⁺、WNK1⁺、YWHAEE⁺、及びYWHAQ⁺の全てを含む。

10

20

30

40

50

【0042】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、GATA3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、LEPROTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2RY10⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺、RALA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM123⁺、TRAT1⁺、及びZFP36⁺のうちの1つ以上を含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、GATA3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、LEPROTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2RY10⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺、RALA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM123⁺、TRAT1⁺、及びZFP36⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ARID5B⁺、CCR4⁺、CD55⁺、CDKN1B⁺、COTL1⁺、CREM⁺、DCXR⁺、DGKA⁺、ELOVL5⁺、EML4⁺、EZR⁺、GATA3⁺、GPR183⁺、ICAM2⁺、IL7R⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITM2A⁺、LEF1⁺、LEPROTL1⁺、LTB⁺、NR3C1⁺、P2RY10⁺、PASK⁺、P

LP2⁺、PPP2R5C⁺、PRKX⁺、RALA⁺、RASA3⁺、RCAN3⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR1⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELL⁺、SESN3⁺、SETD2⁺、SMCHD1⁺、TMEM123⁺、TRAT1⁺、及びZFP36⁺の全てを含む。

【0043】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARID5B⁺、CAPN2⁺、CAR5⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、MX1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及びUBXN11⁺のうちの1つ以上を含む。例えば、遺伝子発

現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARID5B⁺、CAPN2⁺、CAR5⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、MX1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及びUBXN11⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARID5B⁺、CAPN2⁺、CAR5⁺、CDC25B⁺、CLDND1⁺、COTL1⁺、CREM⁺、CRIP1⁺、CXCR3⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、EMB⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、GATA3⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、IL10RA⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、MED15⁺、MX1⁺、NDUFA12⁺、NR3C1⁺、NSMCE1⁺、P2RY8⁺、PASK⁺、PPP2R5C⁺、RHBDD2⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S1PR4⁺、SAMHD1⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、TIGIT⁺、TRADD⁺、及びUBXN11⁺の全てを含む。

【0044】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CAR5⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIA2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UB

E2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺のうちの1つ以上を含む。例えば、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARs⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺のうちのいずれか1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARs⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSIN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、及びYWHAB⁺の全てを含む。

10

20

30

40

50

【0045】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARs⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA

-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD12⁻、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DARS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻のうちの1つ以上を含む。

10

【0046】

例えば、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、NDUFB9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD12⁻、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DARS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻のうちのいずれか1ないし159若しくはそれ以上（又は前述の値のうち任意の2つの範囲）を含むことがある。

20

30

【0047】

本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイルは、ALOX5AP⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、APOBEC3G⁺、ARHGEF1⁺、ARID5B⁺、BIN1⁺、BIN2⁺、C12orf75⁺、C4orf48⁺、CAMK4⁺、CAPN2⁺、CAPZB⁺、CARD16⁺、CARS⁺、CCNDBP1⁺、CD5⁺、CD55⁺、CD82⁺、CDC25B⁺、CHN1⁺、CLECL1⁺、CNN2⁺、CORO1B⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CYTOR⁺、DCXR⁺、DYNLL1⁺、DYNLT1⁺、EID1⁺、EIF3A⁺、ELOVL5⁺、EMB⁺、ETHE1⁺、FBXW5⁺、FLNA⁺、FYB1⁺、GATA3⁺、GNG2⁺、GSTK1⁺、HLA-DPA1⁺、HLA-DPB1⁺、HLA-DQA2⁺、HLA-DQB1⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、HLA-DRB5⁺、HNRNPUL1⁺、ICAM2⁺、ICAM3⁺、IL10RA⁺、IRF7⁺、ISG15⁺、ISG20⁺、ITGAE⁺、ITGB1⁺、ITGB7⁺、ITM2A⁺、KLF2⁺、LGALS3⁺、LIME1⁺、LY6E⁺、MAD1L1⁺、MED15⁺、MFNG⁺、MTERF4⁺、MX1⁺、MYO1G⁺、NDUFA12⁺、N

40

50

DUF9B9⁺、NELL2⁺、NR3C1⁺、NUDT21⁺、OCIAD2⁺、OPTN⁺、P2RY8⁺、PARP1⁺、PASK⁺、PLP2⁺、PPP1R7⁺、PPP2R5C⁺、PSMB2⁺、PSTPIP1⁺、PYCARD⁺、RBPJ⁺、RHBDD2⁺、RNASEH2B⁺、RNASET2⁺、S100A11⁺、S100A4⁺、S1PR4⁺、SAMSN1⁺、SELPLG⁺、SH3KBP1⁺、SHMT2⁺、SIT1⁺、SMCHD1⁺、SPN⁺、STK38⁺、SYTL1⁺、SYTL3⁺、TAGAP⁺、TBC1D10C⁺、TGFB1⁺、TIGIT⁺、TMPO⁺、TMX4⁺、TPGS1⁺、TPM4⁺、TRADD⁺、TSPO⁺、TXN⁺、UBE2L6⁺、UBXN11⁺、UCP2⁺、YWHAB⁺、ANKRD12⁻、APMAP⁻、CCL4⁻、CCL5⁻、CCR7⁻、CD48⁻、CD8B⁻、CXCR4⁻、CYTIP⁻、DARS⁻、EEF1B2⁻、EEF1G⁻、GZMH⁻、HSP90AB1⁻、IMPDH2⁻、ISCU⁻、LBH⁻、LINC02446⁻、LYAR⁻、MGST3⁻、MT-ND2⁻、MT-ND5⁻、MYC⁻、NDUFV2⁻、NFKBIA⁻、NKG7⁻、NUCB2⁻、PDCD4⁻、PITPNC1⁻、PLAC8⁻、PRF1⁻、PRMT2⁻、RPL17⁻、RPS17⁻、SNHG7⁻、SNHG8⁻、STK17A⁻、TCF7⁻、TOMM7⁻、WSB1⁻、及びZFAS1⁻の全てを含む。

10

【0048】

本発明の一態様では、本明細書に記載された遺伝子発現プロファイルのいずれかは、更に、HAVCR2⁺(TIM3)⁺及びPDCD1⁺(PD1⁺)のうち一方又は両方を含むことがある。

【0049】

遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、本明細書に記載の遺伝子発現プロファイルにおける遺伝子の発現産物（複数可）の有無を検出すること、又は発現量を測定することを含むことがある。この点に関して、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルの正の発現遺伝子（複数可）によりコードされるタンパク質（複数可）の存在を検出することを含むことがある。代替的又は付加的に、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子（複数可）によってコードされるタンパク質（複数可）の非存在を検出することを含むことがある。例えば、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、(i) 遺伝子発現プロファイルの正の発現遺伝子（複数可）によりコードされるタンパク質（複数可）の存在を検出すること；及び／又は(ii) 遺伝子発現プロファイルにおける負の発現遺伝子（複数可）によりコードされるタンパク質（複数可）の非存在を検出すること；を含むことがあり、ここで、遺伝子発現プロファイルは、CARs⁺、CD39⁺、CD62L⁺、CD70⁺、CD82⁺、CTLA4⁺、CXCL13⁺、HLA-DRA⁺、HLA-DRB1⁺、ITAGE⁺、LAG3⁺、LGALS3⁺、PDCD1⁺、SA100A4⁺、TIGIT⁺及びTOX⁺のうち1つ以上を含む。本発明の一態様では、遺伝子発現プロファイル

20

30

を有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイル中の1以上の遺伝子の細胞表面発現の存在及び／又は非存在を検出することを含む。代替的に又は追加的に、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルにおいて発現が負である遺伝子（複数可）によってコードされるタンパク質（複数可）の量を測定することを含むことがある。代替的又は付加的に、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルにおいて発現が正である遺伝子（複数可）によりコードされるタンパク質（複数可）の量を測定することを含むことがある。本発明の一態様において、遺伝子発現

40

【0050】

代替的又は付加的に、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルの発現が正の遺伝子（複数可）によりコードされるRNAの存在を検出することを含むことがある。代替的又は付加的に、遺伝子発現プロファイルを有する単離されたT細胞を選択することは、遺伝子発現プロファイルの発現が負である遺伝子（複数可）によってコードされるRNAの非存在を検出することを含むことがある。例えば、遺伝子発現プロファイルを有する単離T細胞を選択することは、(i) 遺伝子発現

50

プロフィールにおける発現が正の遺伝子（複数可）によってコードされるRNAの存在を検出すること；及び／又は（ii）遺伝子発現プロフィールにおける発現が負の遺伝子（複数可）によってコードされるRNAの非存在を検出することを含むことがあり、ここで、遺伝子発現プロフィールは、ACTG1⁺、AES⁺、ANXA2⁺、ANXA5⁺、ARPC2⁺、ARPC3⁺、CD3D⁺、CD52⁺、CD7⁺、CD62L⁺、CD99⁺、CORO1A⁺、COTL1⁺、CRIP1⁺、CXCL13⁺、EMP3⁺、FLNA⁺、FTL⁺、FYB1⁺、GAPDH⁺、H2AFV⁺、HMGB2⁺、IL32⁺、ITGB1⁺、LSP1⁺、LTB⁺、PIA⁺、S100A10⁺、S100A4⁺、S100A6⁺、SLC25A5⁺、SUB1⁺、TIGIT⁺、TMSB10⁺、VIM⁺、ACTB⁻、B2M⁻、BTG1⁻、CCL4⁻、CCL4L2⁻、CCL5⁻、CD74⁻、EEF1A1⁻、FTH1⁻、GZMK⁻、HLA-DRA⁻、MTRNR2L12⁻、PNRC1⁻、RPL10⁻、RPL13⁻、RPL3⁻、RPL30⁻、RPL32⁻、RPL34⁻、RPLP1⁻、RPL39⁻、RPL5⁻、RPLP0⁻、RPS12⁻、RPS14⁻、RPS18⁻、RPS19⁻、RPS21⁻、RPS23⁻、RPS24⁻、RPS3⁻、RPS3A⁻、RPS4X⁻、RPS6⁻、及びZC3HAV1⁻の1つ以上を含む。代替的又は付加的に、遺伝子発現プロフィールを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロフィールにおける発現が正の遺伝子（複数可）によりコードされるRNAの量を測定することを含むことがある。代替的又は付加的に、遺伝子発現プロフィールを有する単離T細胞を選択することは、遺伝子発現プロフィールにおける発現が負の遺伝子（複数可）によってコードされるRNAの量を測定することを含むことがある。

【0051】

本発明の一態様では、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製する方法は、T細胞の数を拡大することを含まない。T細胞の数の拡大は、例えば、米国特許第8,034,334号、米国特許第8,383,099号、米国特許出願公開番号2012/0244133、Dudleyら、J. Immunother、26:332-42（2003）、及びRiddellら、J. Immunol. Methods、128:189-201（1990）に記載のように当該分野で知られている多数の方法のいずれかにより達成することができる。例えば、T細胞の数の拡大は、OKT3抗体、IL-2、及びフィーダーPBMC（例えば、放射線照射された同種異系PBMC）とともにT細胞を培養することによって実行される。標的抗原に対する所望の特異性を有する希少及び／又は脆弱なT細胞は、T細胞の数を拡大する際に失われることがある。本発明の方法は、有利なことに、T細胞の数を増やすことなく本発明の方法を実行することにより、そのような希少及び／又は脆弱なT細胞を含む、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製することができる。

【0052】

本方法は、選択されたT細胞を未選択の細胞から分離することをさらに含むことがあり、ここでは、当該分離された選択されたT細胞が、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を提供する。この点に関して、選択された細胞は、未選択の細胞、すなわち、遺伝子発現プロフィールを有しない細胞から物理的に分離されてもよい。選択された細胞は、例えば、ソーティングなどの任意の適切な方法によって、選択されていない細胞から分離されてもよい。

【0053】

本発明の別の態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有するTCR、又はその抗原結合部分を単離する方法を提供する。

【0054】

本明細書で用いるTCRの「抗原結合部分」は、該抗原結合部分が本発明の他の態様に関して本明細書に記載するように標的抗原に特異的に結合することを条件として、それが部分であるTCRの連続したアミノ酸を含む任意の部分を目指す。用語「抗原結合部分」は、本発明のTCRの任意の部分又は断片を指し、その部分又は断片は、それが部分であるTCR（親TCR）の生物活性を保持する。抗原結合部分は、例えば、親TCRと比較して、標的抗原に特異的に結合する能力、又は病状を検出、治療、若しくは予防する能力を、同様の程度、同一の程度、又はより高い程度で保持するTCRの部分を含む。親TCRを参照すると、機能的部分は、例えば、親TCRの約10%、25%、30%、50%、68%、80%、90%、95%又はこれ以上を含むことができる。

【0055】

抗原結合部分は、例えば、本発明のTCRの α 鎖及び／又は β 鎖の可変領域（複数可）の相補性決定領域（CDR）1、CDR2、及びCDR3のうちの1つ又はそれ以上を含む部分のように、本発明のTCRの α 鎖及び β 鎖のいずれか又は両方の抗原結合部分を含むことができる。本発明の一態様において、抗原結合部分は、 α 鎖のCDR1（CDR1 α ）、 α 鎖のCDR2（CDR2 α ）、 α 鎖のCDR3（CDR3 α ）、 β 鎖のCDR1（CDR1 β ）、 β 鎖のCDR2（CDR2 β ）、 β 鎖のCDR3（CDR3 β ）又はそれらの任意の組み合わせのアミノ酸配列を含むことができる。好ましくは、抗原結合部分は、本発明のTCRの、CDR1 α 、CDR2 α 、及びCDR3 α のアミノ酸配列；CDR1 β 、CDR2 β 及びCDR3 β のアミノ酸配列；又はCDR1 α 、CDR2 α 、CDR3 α 、CDR1 β 、CDR2 β 及びCDR3 β のすべてのアミノ酸配列を含む。

10

【0056】

本発明の一態様では、抗原結合部分は、例えば、上記に示したCDR領域の組み合わせを含む本発明のTCRの可変域を含むことができる。この点で、抗原結合部分は、本発明のTCRの α 鎖の可変領域（V α ）のアミノ酸配列、 β 鎖の可変領域（V β ）のアミノ酸配列、又はV α 及びV β の両方のアミノ酸配列を含むことができる。

【0057】

本発明の一態様では、抗原結合部分は、可変領域及び定常領域の組合せを含んでもよい。この点に関して、抗原結合部分は、本発明のTCRの α 鎖若しくは β 鎖の全長、又は α 鎖及び β 鎖の両方を含むことができる。

20

【0058】

本方法は、本発明の他の態様に関して、本明細書に記載された任意の本発明の方法に従って、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製することを含むことがある。

【0059】

本方法は、濃縮集団中のT細胞を別々の単一T細胞サンプルへソーティングし、且つ、当該別々の単一T細胞サンプルの1つ以上において、TCR α 鎖CDR3及び β 鎖CDR3の配列を決定することを含むことがある。本発明の一態様では、TCR α 鎖CDR3及び β 鎖CDR3の配列決定は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載の遺伝子発現プロフィールを解析するために採用される単一細胞トランスクリプトーム解析を用いて実施されることがある。TCR α 鎖CDR3及び β 鎖CDR3を配列決定するための他の技術は、例えば、US2020/0056237及びWO2017/048614に記載されている。

30

【0060】

本方法は、別々の単一T細胞サンプルの核酸によってコードされる、CDR3を含む α 鎖可変領域と、CDR3を含む β 鎖可変領域とを対にすることをさらに含むことがある。この点に関して、本方法は、CDR3を含む α 鎖可変領域とCDR3を含む β 鎖可変領域との対が機能的TCRをもたらすように、TCRを再構築することを含むことができる。本発明の一態様では、TCRは、インシリコ（in silico）で再構築される。TCRをインシリコで再構築し、CDR3を含む α 鎖可変領域とCDR3を含む β 鎖可変領域とを対にする方法は、例えば、US2020/0056237及びWO2017/048614に記載されている。

40

【0061】

本方法は、選択されたT細胞からTCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を単離することを含むことがあり、ここで、当該TCR、又はその抗原結合部分は、標的抗原に対する抗原特異性を有する。

【0062】

本方法は、対になる α 鎖可変領域及び β 鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を宿主細胞に導入すること、及び宿主細胞によって対になる α 鎖可変領域及び β 鎖可変領域を発現させることを含むことがある。単離TCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列（例えば、組換え発現ベクター）を宿主細胞に導入することは、例えば、Greenら（編）、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harb

50

or Laboratory

Press; 4th Ed. (2012)に記載されているような、当技術分野で公知の様々な方法のいずれかで実行してもよい。ヌクレオチド配列を宿主細胞に導入するために有用な技術の非限定的な例としては、形質転換、トランスダクション、トランスフェクション、及びエレクトロポレーションを含む。

【0063】

本発明の一態様では、本方法は、TCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を、例えばGreenら、前掲書に記載されているような確立した分子クローニング技術を使用して組換え発現ベクターにクローニングすることを含むことがある。組換え発現ベクターは、任意の適切な組換え発現ベクターとすることができ、任意の適切な宿主細胞を形質転換又はトランスフェクトするために使用することができる。適切なベクターは、プラスミド及びウイルスのような、増殖及び拡大用若しくは発現用又はその両方のために設計されたものを含む。ベクターは、トランスポゾン／トランスポザーゼ、pUCシリーズ (Fermentas Life Sciences)、pBluescriptシリーズ (Stratagene, La Jolla, CA)、pETシリーズ (Novagen, Madison, WI)、pGEXシリーズ (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、pEXシリーズ (Clontech, Palo Alto, CA) からなる群から選択することができる。バクテリオファージベクター、例えばλGT10、λGT11、λZapII (Stratagene)、λEMBL4、λNM1149なども使用することが可能である。植物発現ベクターの例は、pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121、pBIN19 (Clontech) を含む。動物発現ベクターの例は、pEUK-Cl、pMAMおよびpMAMneo (Clontech) を含む。好ましくは、組換え発現ベクターは、ウイルスベクター、例えば、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである。本発明の一態様において、組換え発現ベクターは、トランスポゾンである。

【0064】

宿主細胞（複数可）は、真核細胞、例えば、植物、動物、菌類、又は藻類であることができ、又は原核細胞、例えば、細菌又は原生動物であることができる。宿主細胞は、培養細胞または初代細胞、すなわち、生物、例えばヒトから直接単離された細胞であり得る。宿主細胞は、付着細胞又は浮遊細胞、すなわち、浮遊状態で増殖する細胞であり得る。適切な宿主細胞は当技術分野で知られており、例えば、DH5α大腸菌細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞、サルVERO細胞、COS細胞、HEK293細胞、その他を含む。TCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を増幅又は複製する目的のために、宿主細胞は好ましくは原核細胞、例えば、DH5α細胞である。組換えTCRを生産する目的のために、宿主細胞は好ましくは哺乳動物細胞である。最も好ましくは、宿主細胞はヒト細胞である。宿主細胞はいかなる細胞タイプであってもよく、いかなるタイプの組織に由来してもよく、いかなる発生段階であってもよいが、好ましくは、宿主細胞は末梢血リンパ球 (PBL) 又はPBMCである。より好ましくは、宿主細胞はT細胞である。

【0065】

ここでの目的のためには、T細胞は、培養T細胞、例えば、初代T細胞、又は培養T細胞株、例えば、Jurkat、SupT1等由来のT細胞、又は哺乳動物から得られたT細胞のような、任意のT細胞であり得る。哺乳動物から得られる場合、T細胞は、血液、骨髓、リンパ節、胸腺、その他の組織又は液体を含むが、これらに限定されない多数の供給源から得ることができる。T細胞はまた、濃縮又は精製することができる。好ましくは、T細胞は、ヒトT細胞である。T細胞は、任意のタイプのT細胞であることができ、また、CD4⁺/CD8⁺二重陽性

T細胞、CD4⁺ヘルパーT細胞、例えば、Th₁及びTh₂細胞、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞（例えば、細胞傷害性T細胞）、TIL、メモリーT細胞（例えば、セントラルメモリーT細胞及びエフェクターメモリーT細胞）、ナイーブT細胞等を含むがこれらに限らない任意の発生段階とすることができる。

【0066】

本方法は、対となるα鎖可変領域及びβ鎖可変領域を発現する宿主細胞を、標的抗原に

対する抗原特異性についてスクリーニングすること、及び標的抗原に対する抗原特異性を有する対となる α 鎖可変領域及び β 鎖可変領域を選択することを含んでよく、ここで、標的抗原に対して抗原特異性を有するTCR、又はその抗原結合部分が単離される。宿主細胞の抗原特異性のスクリーニング及び抗原特異性を有する対となる α 鎖可変領域及び β 鎖可変領域の選択は、例えばUS2017/0218042及びUS2017/0224800に記載されているような既知の技術を用いて実行されることがある。

【0067】

本発明の方法によって単離されたTCR、又はその抗原結合部分は、養子細胞療法用の細胞の調製に有用であることがある。この点に関して、本発明の一態様は、標的抗原に対する抗原特異性を有するTCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の集団を調製する方法を提供し、該方法は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載するように、TCR、又はその抗原結合部分を単離することと、単離したTCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列をPBMCに導入して、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞を取得することを含む。

10

【0068】

単離TCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列（例えば、組換え発現ベクター）をPBMCに導入することは、例えば、Greenら、前掲書に記載されているように、当技術分野で知られている様々な異なる方法のいずれかで実行してもよい。ヌクレオチド配列をPBMCに導入するのに有用な技術の非限定的な例としては、形質転換、トランスダクション、トランスフェクション、及びエレクトロポレーションを含む。

20

【0069】

本発明の一態様では、本方法は、単離されたTCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を、患者の自己由来であるPBMCに導入することを含む。この点に関して、本発明の方法によって同定及び単離されたTCR、又はその抗原結合部分は、各患者に対してパーソナライズされることもあり得る。しかしながら、別の一態様では、本発明の方法は、再発性（「共有変異」とも称される）がん特異的変異によってコードされる変異アミノ酸配列に対して抗原特異性を有するTCR、又はその抗原結合部分を同定し、単離することができる。この点に関して、本方法は、単離されたTCR又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を、患者と同種異系であるPBMCに導入することを含んでよい。例えば、本方法は、単離されたTCR又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列を、同一のMHC分子に関連して腫瘍が同一の変異を発現している別の患者のPBMCに導入することを含んでいてもよい。

30

【0070】

本発明の一態様では、PBMCは、T細胞を含む。T細胞は、任意のタイプのT細胞であってもよく、例えば、本発明の他の一態様に関して本明細書に記載されるもののいずれかであってもよい。特定の理論又は機序に拘束されることなく、より分化していない「比較的若い」T細胞は、より分化した「比較的古い」T細胞と比較して、より大きなin vivo持続性、増殖、及び抗腫瘍活性のいずれかの1つ以上に関連し得ると信じられている。したがって、本発明の方法は、有利にも、標的抗原に対する抗原特異性を有するTCR又はその抗原結合部分を同定及び単離し、TCR又はその抗原結合部分を、それよりTCR又はその抗原結合部分が単離された「比較的古い」T細胞（例えば、患者の腫瘍内のエフェクター細胞）と比較して、より大きなin vivo持続性、増殖及び抗腫瘍活性のいずれか1つ以上を提供し得る「比較的若い」T細胞へ導入することができる。

40

【0071】

本発明の一態様では、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の集団を調製する方法は、TCR、又はその抗原結合部分を発現するPBMCの数を拡大させることをさらに含む。PBMCの数を拡大することは、本発明の他の一態様に関して本明細書に記載されるように実行することができる。本発明の一態様において、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の集団を調製する方法は、TCR、又はその抗原結合部分を発現するPBMCの数を拡大することを含むが、標的抗原に対して抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団

50

を調製する方法は、T細胞の数を拡大することを含まない。

【0072】

本発明の別の態様は、本発明の他の側面に関して本明細書に記載された方法のいずれかによって単離されたTCR、又はその抗原結合部分を提供する。本発明の一態様は、TCRの α （アルファ）鎖、TCRの β （ベータ）鎖、TCRの γ （ガンマ）鎖、TCRの δ （デルタ）鎖、又はそれらの組み合わせなど、2つのポリペプチド（すなわち、ポリペプチド鎖）を含むTCRを提供する。本発明の別の態様は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載したように、1つ以上のCDR領域、1つ以上の可変領域、又はTCRの α 鎖及び β 鎖の一方又は両方を含むTCRの抗原結合部分を提供する。本発明TCRのポリペプチド、又はその抗原結合部分は、TCR、又はその抗原結合部分が標的抗原に対する抗原特異性を有することを条件として、任意のアミノ酸配列を含むことができる。

10

【0073】

本発明の別の態様は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載された方法のいずれかに従って調製された、細胞の単離集団を提供する。細胞の集団は、単離されたTCR、又はその抗原結合部分を発現するPBMCと、さらに少なくとも1種類の他の細胞、例えば、単離されたTCR、若しくはその抗原結合部分を発現しない宿主細胞（例えば、PBMC）、又は例えば、B細胞、マクロファージ、好中球、赤血球、肝細胞、内皮細胞、上皮細胞、筋肉細胞、脳細胞等のT細胞以外の細胞を含む、不均一な集団とすることができる。代替的に、細胞の集団は、集団が単離TCR、又はその抗原結合部分を発現するPBMCを主に含む（例えば、本質的にからなる）、実質的に均質な集団とすることができる。前記集団はまた、集団の全ての細胞が単離TCR、又はその抗原結合部分を発現するような、集団のすべての細胞が、単離TCR、又はその抗原結合部分を発現する単一のPBMCのクローンである、細胞のクローン集団であり得る。本発明の一態様では、細胞の集団は、本明細書に記載の単離TCR、又はその抗原結合部分を発現しているPBMCを含むクローン集団である。単離TCR、又はその抗原結合部分をコードするヌクレオチド配列をPBMCに導入することにより、本発明の方法は、有利なことに、単離TCRを発現し、標的抗原に対する抗原特異性を有するPBMC細胞の高い割合を含む細胞集団を提供することができる。本発明の一態様では、約1%ないし約100%、例えば、約1%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、約100%、又は前述の値のうち任意の2つの範囲で、細胞の集団は、単離されたTCRを発現し、標的抗原に対する抗原特異性を有するPBMC細胞を含む。特定の理論や機序に縛られることなく、単離されたTCRを発現し、標的抗原に対する抗原特異性を有するPBMC細胞を高い割合で含む細胞集団は、PBMCの機能、例えば標的細胞の破壊、及び／又は病状の治療若しくは予防を目標とする能力を阻害し得る無関係な細胞の割合がより低いと考えられている。標的細胞には、例えば、がん細胞またはウイルス感染細胞を含むことがある。

20

30

【0074】

本発明のTCR、又はその抗原結合部分、及び細胞の集団は、医薬組成物のような組成物に製剤化することができる。この点で、本発明は、本発明のTCR、若しくはその抗原結合部分、又は細胞の集団のいずれかと、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。本発明の医薬組成物は、別の薬学的に活性な薬剤（複数可）または薬物（複数可）、例えばアスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、メトトレ

40

キサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、ビンクリスチン等のような化学療法剤と組み合わせた、本発明のTCR、若しくはそれらの抗原結合部又は細胞集団を含むことができる。

【0075】

好ましくは、担体は、薬学的に許容される担体である。医薬組成物に関して、担体は、

50

検討される特定の本発明のTCR、若しくはその抗原結合部分、又は細胞の集団に対して従来から使用されているもののいずれでもよい。そのような薬学的に許容される担体は、当業者にはよく知られており、公衆に容易に利用可能である。薬学的に許容される担体は、使用条件下で有害な副作用又は毒性を有しないものであることが好ましい。

【0076】

担体の選択は、特定の本発明のTCR、その抗原結合部分、又は細胞の集団と、本発明のTCR、その抗原結合部分、又は細胞の集団を投与するために用いられる特定の方法とによって部分的には決定されるであろう。従って、本発明の医薬組成物の好適な製剤は様々である。好適な製剤は、経口、腫瘍内、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、又は腹腔内投与用のいずれかを含むことがある。本発明のTCR又は細胞集団を投与するために1つ以上の経路を使用することができ、特定の場合には、特定の経路は別の経路よりも即時的かつより効果的な応答を提供することができる。

【0077】

好ましくは、本発明のTCR、その抗原結合部分、又は細胞の集団は、注射によって、例えば、静脈内に投与される。本発明の細胞の集団が投与される場合、注射用の細胞のための薬学的に許容される担体は、例えば、通常の生理食塩水のような任意の等張担体（約0.90% w/v NaCl水溶液、約300mOsm/L NaCl水溶液、又は約9.0g/L NaCl水溶液）、NORMOSOL R電解質溶液（Abbott、シカゴ、IL）、PLASMA-LYTE A（Baxter、ディアフィールド、IL）、約5%のブドウ糖水溶液又はリンゲルの乳酸等の任意の等張担体を含むことができる。一態様では、薬学的に許容される担体は、ヒト血清アルブミンが添加される。

【0078】

本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、及び医薬組成物は、病状を治療又は予防する方法に用いることができることが企図されている。特定の理論又は機序に束縛されることなく、本発明のTCR、又はその抗原結合部分は、当該TCR、又はその抗原結合部分が細胞によって発現されると、標的抗原を発現する標的細胞に対する免疫応答を仲介することができるように、標的抗原に特異的に結合すると考えられている。この点に関して、本発明は、(i) 本発明の他の局面に関して本明細書に記載された方法のいずれかに従って、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製すること、又は(ii) 本発明の他の局面に関して本明細書に記載された方法のいずれかに従って、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の単離された集団を調製すること；及び哺乳動物の病態を治療又は予防するのに有効な量で、該細胞集団を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における疾患を治療又は予防の方法を提供する。

【0079】

本明細書で用いる用語「治療する」及び「予防する」並びにそれらに由来する語は、必ずしも100%又は完全な治療又は予防を含意するものではない。むしろ、当業者が潜在的な利益または治療効果を有すると認識する、様々な程度の治療又は予防が存在する。この点で、本発明の方法は、哺乳動物の病態の任意のレベルの任意の量の治療又は予防を提供することができる。さらに、本発明の方法によって提供される治療又は予防は、治療又は予防される状態の1つ以上の徴候又は症状の治療又は予防を含むことができる。例えば、治療又は予防は、腫瘍の退縮を促進することを含むことができる。また本明細書では、「予防」は、状態の発症、またはその症状、徴候、もしくは再発を遅らせることを含むことができる。

【0080】

本発明の目的のために、投与される本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の量又は用量（例えば、本発明の細胞の集団が投与される場合の細胞の数）

は、妥当な時間枠で哺乳動物に、例えば、治療又は予防応答をもたらすのに十分であるべきである。例えば、本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の用量は、投与時から約2時間以上、例えば12ないし24時間以上の期間において、標的抗

原に結合し、又は病状を検出、治療若しくは予防するのに十分な量であるべきである。特定の局面では、その期間はさらに長くなり得る。用量は、投与される特定の本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の有効性と、治療される哺乳動物（例えば、ヒト）の病状、及びその体重によって決定されるであろう。

【0081】

投与量を決定するための多くのアッセイが当技術分野で知られている。本発明の目的のために、それぞれ異なる用量のT細胞が投与された哺乳動物のセットのうち、哺乳動物にかかるT細胞の所定の用量を投与した際に、標的細胞が溶解される程度又はIFN- γ が本発明のTCR又はその抗原結合部分を発現するT細胞によって分泌される程度を比較することを含むアッセイは、哺乳動物に投与すべき開始用量を決定するために使用され得る。ある用量の投与により標的細胞が溶解される程度、又はIFN- γ が分泌される程度は、当該技術分野において既知の方法によってアッセイすることができる。

10

【0082】

本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の投与量は、特定の本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の投与に伴うかもしれないあらゆる副作用の存在、性質及び程度によっても決定されるであろう。典型的には、担当医は、年齢、体重、一般的な健康状態、食事、性別、投与される本発明TCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物、投与経路、及び治療される状態の重症度などの種々の要因を考慮して、個々の患者を治療するための本発明のTCR、その抗原結合部分、細胞の集団、又は医薬組成物の投与量を決定することになる。

20

【0083】

本発明の細胞集団が投与される一態様では、1回の輸液あたり投与される細胞数は、例えば、100万ないし1000億個の範囲で変動してもよいが、この例示的範囲以下の量又は以上の量は、本発明の範囲内である。例えば、本発明の宿主細胞の1日当たりの投与量は、細胞約100万ないし約1500億個（例えば、約500万個、約2500万個、約5億個、約10億個、約50億個、約200億個、約300億個、約400億個、約600億個、約800億個、約1000億個、約1200億個、約1300億個、約1500億個、又は前述の値のうち任意の2つの範囲）、好ましくは、約1000万個ないし約1300億個（約2000万個、約3000万個、約4000万個、約6000万個、約7000万個、約8000万個、約9000万個、約100億個、約250億個、約500億個、約750億個、約900億個、約1000億個、約1100億個、約1200億個、約1300億個、又は前述の値のうち任意の2つの範囲）、より好ましくは約1億個ないし約1300億個（例えば、約1.2億個、約2.5億個、約3.5億個、約4.5億個、約6.5億個、約8億個、約9億個、約30億個、約300億個、約450億個、約500億個、約750億個、約900億個、約1000億個、約1100億個、約1200億個、約1300億個、又は前述の値のうち任意の2つの範囲）とすることができる。

30

【0084】

細胞の集団が投与される本発明の方法の目的のために、細胞は、哺乳動物に対して同種異系の細胞又は自家の細胞とすることができる。好ましくは、細胞は、哺乳動物に対して自家性である。

【0085】

本発明の別の態様は、哺乳類における病態の治療又は予防のための医薬を調製する方法を提供し、該方法は、(i) 本発明の他の局面に関して本明細書に記載される方法のいずれかに従って、標的抗原に対する抗原特異性を有するT細胞の濃縮集団を調製すること、又は(ii) 本発明の他の局面に関して本明細書に記載される方法のいずれかに従って、TCR、又はその抗原結合部分を発現する細胞の単離された集団を調製することを含む。

40

【0086】

本発明の一態様では、疾患はがんである。がんは、有利なことに、急性リンパ性がん、急性骨髄性白血病、肺胞横紋筋肉腫、骨がん、脳がん、乳がん、肛門、肛門管、又は直腸のがん、眼のがん、肝内胆管のがん、関節のがん、頸部、胆嚢又は胸膜のがん、鼻、鼻腔又は中耳のがん、口腔のがん、膣のがん、外陰部のがん胆管がん、慢性リンパ性白血病、

50

慢性骨髄性がん、結腸がん、食道がん、子宮頸がん、胃がん、胃腸カルチノイド腫瘍、神経膠腫、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、腎がん、喉頭がん、肝臓がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん）、悪性中皮腫、メラノーマ、多発性骨髄腫、鼻咽頭がん、非ホジキンリンパ腫、中咽頭がん、卵巣がん、陰茎がん、膵臓がん、腹膜、軟骨および腸間膜がん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、腎がん、皮膚がん、小腸がん、軟部組織がん、胃がん、精巣がん、甲状腺がん、子宮がん、尿管がん、膀胱がん、固形がん、液状腫瘍のいずれかを含む、いずれかのがんであってもよい。好ましくは、がんは上皮性がんである。一態様では、がんは、胆管がん、メラノーマ、結腸がん、直腸がん、乳がん、肺がん、肛門がん、食道がん、又は胃がんである。

【0087】

10

本発明の一態様では、疾患は、ウイルス性疾患である。本明細書において、「ウイルス性疾患」とは、人から人へ、又は生物から生物へ感染することができ、ウイルスによって引き起こされる疾患を意味する。本発明の一局面では、ウイルス性疾患は、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ヘパドナウイルス、パピローマウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、オルソミクソウイルス、パラミクソウイルス、フラビウイルス、及びカリシウイルスからなる群より選択されるウイルスによって引き起こされる。例えば、ウイルス性疾患は、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）、インフルエンザウイルス、単純ヘルペスウイルス、エプスタイン-バーウイルス、HPV、水痘ウイルス、サイトメガロウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、ヒトTリンパトロピックウイルス、カリシウイルス、アデノウイルス及びアレナウイルスからなる群から選ばれるウイルスによって引き起こされ得る。本発明の一態様では、ウイルス性疾患は、本明細書に記載されるウイルスのいずれかによって引き起こされる慢性ウイルス感染症であり得る。ウイルス性疾患は、例えば、インフルエンザ、肺炎、ヘルペス、肝炎、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、慢性疲労症候群、突然急性呼吸器症候群（sudden acute respiratory syndrome、SARS）、胃腸炎、腸炎、心炎、脳炎、気管支炎、呼吸器乳頭種、髄膜炎、HIV／エイズ、HPV感染、及び単核症であってもよい。本発明の一態様では、ウイルス性疾患は、がん関連ウイルスに起因するウイルス感染症である。

20

【0088】

本発明の方法において言及される哺乳動物は、任意の哺乳動物であり得る。本明細書で用いる場合、「哺乳動物」という用語は、マウスやハムスターなどの齧歯目の哺乳動物、ウサギなどの齧歯目の哺乳動物を含むが、これらに限定されない、任意の哺乳動物を意味する。哺乳動物は、Felines（ネコ）およびCanines（イヌ）を含む食肉目（Carnivora）であることが好ましい。好ましくは、哺乳動物は、Bovines（ウシ）およびSwines（ブタ）を含む偶蹄目（Artiodactyla）、又はEquines（ウマ）を含む奇蹄目（Perissodactyla）である。好ましくは、哺乳動物は、霊長類、セボ類、またはシモ類（サル）、又は真猿亜目（Anthropoids、ヒト及びサル）である。より好ましい哺乳動物は、ヒトである。特に好ましい態様では、哺乳動物は、標的抗原を発現している患者である。

30

【0089】

以下の実施例は、本発明を更に説明するが、もちろん、決してその範囲を限定するものとして解釈すべきではない。

40

【実施例】

【0090】

実施例 1

本実施例は、大腸がん患者の末梢血由来のネオアンチゲン反応性T細胞が共有する遺伝子発現プロファイルの同定を示すものであり、該遺伝子発現プロファイルは、単一細胞のトランスクリプトーム解析結果のtSNE分析を用いて同定される。

【0091】

遺伝子シグネチャーを確立するために、まず、ACTを投与する前の大腸がん患者（42

）の血液サンプルから、 $CD8^+$ T細胞を分離した。次に、腫瘍断片の機能スクリーニングによって事前に同定された既知のネオアンチゲンを負荷したHLAテトラマー染色を用いて、蛍光活性化細胞選別（FACS）によりネオアンチゲン反応性細胞をサンプルの残りから分離した。選別されたネオアンチゲン反応性細胞は、テトラマーで染色されていないT細胞と1:10の割合（ネオアンチゲン反応性：非反応性）で希釈し、サンプルを10倍の単一細胞トランスクリプトーム及びTCR配列決定に送った（図1）。血液中のネオアンチゲン反応性細胞の頻度は、 1×10^6 個のT細胞に1個と低いため、ネオアンチゲン反応性細胞の頻度を高めるために、血液からネオアンチゲン反応性細胞の選別を実施した。血中のネオアンチゲン反応性T細胞が、同じ血液サンプル中の非ネオアンチゲン反応性細胞から分離できる明確な遺伝子シグネチャーを示すかどうかを調べるために、テトラマー陰性細胞を加えた（図2A～2B）。この実験では、既知のネオアンチゲンを負荷したHLAテトラマーを用いて本書に記載の遺伝子発現プロファイルと同定したが、患者が発現するいかなるHLA分子、ネオアンチゲン、又は変異を同定したり、いかなるテトラマー陰性細胞をサンプルに加えたりしなくても、ネオアンチゲン反応性T細胞の濃縮集団を調製するために本書に記載の遺伝子発現プロファイルを使用できるものと考えられる。

10

【0092】

2つの $CD8^+$ T細胞拘束性ネオアンチゲン（MY05BとARMC9）が、従来のTILフラグメントスクリーンによって大腸がん患者4246で先に同定された。その後、ネオアンチゲン特異的HLA変異ペプチド（pHLA）テトラマーを構築し、pHLAテトラマー陽性及び陰性T細胞を1:10の割合で選別した。図1に概略を示すように、テトラマー陰性 $CD8$ 濃縮／分離血中T細胞に2つのネオアンチゲン特異的テトラマーをスパイクした後、血中由来T細胞のトランスクリプトーム及びT細胞受容体（scRNA及びscTCR）の複合単一細胞解析が実施された。

20

【0093】

scRNA解析のtSNE解析は、遺伝子シグネチャーによってクラスターに分かれ得る異なっていて区別できる集団を示した（図2A）。既知のネオアンチゲン反応性TCR配列をtSNEプロットに重ね合わせると、既知のネオアンチゲン反応性TCRの大部分はクラスター4に存在することが示された（図2B）。このことは、腫瘍反応性ネオアンチゲン特異的T細胞は、治療前の血液中で単一細胞解析によって捉えられたユニークな転写状態を示すことを示唆した。

30

【0094】

クラスター4のより詳細な解析により、既知のネオアンチゲン特異的TCRを持つクラスター4は、当該クラスターで発現が増加した遺伝子、例えば、CARS、CD39（ENTPD1）、CD70、CD82、CTLA4、CXCL13、HAVCR2（TIM3）、HLA-DRA、HLA-DRB1、ITAGE、LAG3、LGALS3、PDCD1（PD-1）、SA100A4、TIGIT、及びTOXと、CD62L（SELL）のようなメモリーに関連するいくつかの遺伝子とに基づいて、活性化－機能不全のシグネチャーを示すことが明らかになった（図3）。本実施例に説明されている遺伝子は、反応性細胞が多く含まれるクラスター（エンリッチメントクラスター）で発現がアップレギュレートされた遺伝子である。

【0095】

40

実施例2

本実施例は、大腸がん患者の末梢血から単離したネオアンチゲン反応性T細胞が共有する遺伝子発現プロファイルの同定を示し、該遺伝子発現プロファイルは、ネオアンチゲン反応性T細胞の遺伝子発現を血液サンプル中の他の全細胞のものと比較することにより同定される。

【0096】

実施例1で同定したネオアンチゲン反応性T細胞による様々な遺伝子の発現量を測定し、患者4246の末梢血サンプルにおける非ネオアンチゲン反応性T細胞の発現量と単一細胞トランスクリプトーム解析を用いて比較した。

【0097】

50

表 1 A は、差次的発現解析によって測定された、非ネオアンチゲン反応性 T 細胞と比較してネオアンチゲン反応性 T 細胞が発現する上位遺伝子を示す。

【 0 0 9 8 】

表 1 B は、差次的発現解析によって測定された、非ネオアンチゲン反応性 T 細胞と比較してネオアンチゲン反応性 T 細胞によってダウンレギュレートされる上位遺伝子を示す。

【 0 0 9 9 】

【表 1 A】

遺伝子	avg_log(倍数変化)	調整済み p 値
ACTG1	30.6522572	2.01E-20
S100A4	25.52500693	4.96E-74
CD52	14.87771524	1.79E-56
EMP3	13.88017246	2.51E-33
GAPDH	10.74659868	0.003100251
CXCL13	10.33849313	5.58E-112
TMSB10	9.652263397	4.64E-44
LSP1	9.651328751	9.14E-28
FTL	9.649787321	4.55E-10
ANXA5	9.144207385	1.12E-85
S100A6	8.634874557	1.64E-66
S100A10	8.490069553	1.94E-42
LTB	7.634051009	3.40E-13
CD3D	7.343139595	1.17E-18
IL32	6.949957884	2.92E-12
VIM	6.652013675	2.06E-20
COTL1	6.546139388	6.07E-72
FLNA	5.692650414	1.16E-35
ITGB1	5.207674077	3.51E-75
ANXA2	5.059313239	5.35E-66
PPIA	4.941454702	0.002528764
SUB1	4.438815808	2.06E-17
ARPC3	4.284581111	4.87E-22
CRIP1	4.162065543	1.35E-34
ARPC2	4.102482365	1.35E-06
FYB1	3.975646347	1.23E-20
SELL	3.871132202	8.51E-27
SLC25A5	3.852388809	9.43E-06
CD99	3.697428941	1.58E-16
CD7	3.693000635	5.21E-35
COR01A	3.627458905	3.41E-29
TIGIT	3.535538969	3.76E-68
HMGB2	3.389185552	2.32E-10
H2AFV	3.299578964	8.19E-07
AES	3.298626895	2.74E-32

10

20

30

40

【 0 1 0 0 】

50

【表 1 B】

遺伝子	avg_log(倍数変化)	調整済み p 値
GZMK	-26.26487648	5.76E-06
BTG1	-26.92043022	0.000382896
RPS3A	-28.18836463	1.95E-11
PNRC1	-30.172237	5.54E-06
RPS14	-30.34773577	8.40E-11
RPL34	-30.4721558	5.19E-10
RPLP1	-31.04195466	0.01169429
RPS19	-32.34773487	1.59E-05
CCL5	-33.2644597	3.89E-24
ZC3HAV1	-33.78245197	2.99E-05
RPS6	-34.21296323	1.94E-05
RPL39	-35.52218116	4.82E-10
CD74	-36.35987671	1.32E-08
RPS21	-36.78208167	8.96E-05
RPL32	-37.34778201	0.001382364
RPL3	-39.34771011	8.85E-24
B2M	-42.34771376	8.58E-28
RPL13	-44.67268817	0.041586251
RPLP0	-47.03380414	1.25E-06
ACTB	-47.3477366	5.46E-40
RPS23	-47.3478597	0.000200326
RPS12	-49.35021229	7.42E-31
RPS3	-50.34523778	9.12E-09
RPS18	-50.35016553	0.00416526
HLA-DRA	-50.67730801	2.92E-27
RPL30	-53.31020011	2.74E-07
RPL5	-54.17063958	1.65E-09
RPS24	-55.42556516	0.007784781
MTRNR2L12	-59.3477366	2.59E-18
RPL10	-65.34775105	7.85E-10
EEF1A1	-84.3477366	1.16E-14
RPS4X	-96.85239234	0.000142781
FTH1	-225.3474009	5.88E-26
CCL4	-303.8802857	1.76E-18
CCL4L2	-524.3477366	7.24E-15

10

20

30

40

【0101】

実施例 3

本実施例は、実施例 1 のクラスター 4 で同定された T 細胞から単離された再構成 TCR の大部分（93.33%）が、患者が発現した 2 つのネオアンチゲンのうちの 1 つを特異的に認識していることを示す。

【0102】

次に、クラスター 4 の遺伝子シグネチャーがネオアンチゲン反応性を予測できるかどうかを検証するために、クラスター 4 に存在する 15 種類の TCR を構築した（表 2 A）。表 2 A は、既知の TCR を除いたクラスター 4 の上位 TCR を頻度別に示したものである

50

。4つの既知のTCRは全て、クラスター4の頻度別上位19個に含まれていた。TCR 1～15はクラスターでの頻度に基づいて構成した。既知のネオアンチゲン反応性TCRは表2Bに記載されている。

【0103】
【表2A】

TCR No.	TRAV	TRBV	Rx1 フェレシス前		10xの% (CD8)	10x/Rx1 フェレシス前 の比	10x クラスター 4の%	% クラスター4/% 10x の比
			の%*	(CD4及びCD8)				
6	38-1	10-2	0.004619994		1.36	295	12.8	9.38
8	8-3	4-1	<0.000001		1.28	1279899	10.41	8.14
1	30	11-2	0.00044423		1.01	2267	8.03	7.97
4	25	4-3	<0.000001		0.9	902224	7.16	7.93
2	8-3	10-3	0.002887496		0.44	153	3.69	8.37
5	27	4-3	0.009906334		0.36	36	3.47	9.73
10	27	3-1	0.000710768		0.27	384	2.6	9.54
9	3	10-3	<0.000001		0.34	335711	2.6	7.75
11	25	10-3	0.002620958		0.31	120	2.6	8.27
7	44046	15	<0.000001		0.19	188838	1.74	9.19
14	19	2	0.000222115		2.16	9730	1.74	0.8
12	13-1	10-3	<0.000001		0.17	167856	1.74	10.34
15	13-1	10-3	0.000932883		0.13	135	1.08	8.62
13	13-1	5-5	0.000799614		0.13	157	1.08	8.62
3	13-1	10-3	0.003775957		0.27	72	0.65	2.39

* Adaptive Biotechnology による TCR 配列決定に基づく

【0104】

【表 2 B】

TRAV	TRBV	Rx1 フェレシス前の%* (CD4 及び CD8)	10x の% (CD8)	10x /Rx1 フェレシス前の比	10x クラスター4 の%	% クラスター4 /% 10x の比	既知の反応性
13-1	6-2	<0. 000001	0. 34	335711	2. 82	8. 4	MY05B
19	10-3	0. 002443266	0. 29	120	2. 39	8. 12	MY05B
13-1	10-3	<0. 000001	0. 29	293747	1. 95	6. 65	MY05B
14/DV4	5-4	0. 002843073	0. 1	37	1. 08	10. 34	ARMC9

* Adaptive Biotechnology による TCR 配列決定に基づく

【0105】

15種類のTCRのそれぞれについて、TCRをコードするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターを同種異系T細胞にウイルス導入し、既知のネオアンチゲンを含むテトラマーで染色を行った。蛍光色素APC及びPEを結合させたストレプトアビジンを有するテトラマーが、結合に基づくFACSによって細胞を選別するために使用された。真のTCRはどちらかの蛍光色素を持つテトラマーに結合するが、非特異的結合は一般に1つだけ陽性となるため、両方の蛍光色素を使用することがより特異的である。

【0106】

構築した15個のTCRのうち、14個（93.33％）のTCRが2つのテトラマーのいずれか

10

20

30

40

50

に特異的に染色された（図4A-4C）。興味深いことに、どちらのテトラマーにも染色性を示さなかった14番のTCRは、他のクラスターと比較して、クラスター4で濃縮を示さなかった唯一のTCRであった（表3、図5）。クラスター4のT細胞の約68%がネオアンチゲン特異的であったと推定される。

【0107】

TCRを導入した細胞（n=50,000）を、100 ngのHLA B40:01を導入し、様々な濃度の変異型MYO5B、野生型（WT）MYO5B、変異型ARMC9又はWT ARMC9でパルスした標的Cos7細胞（n=60,000）と共培養した。TCRを導入した細胞は、変異ペプチドを特異的に認識した（図6A～6N）。

【0108】

10

20

30

40

50

【表 3】

TCR No.	TRBV	Rx1 フェレシス前の%* (CD4 及び CD8)	10x の% (CD8)	10x /Rx1 フェレシス前の比	10x クラスター 4	% クラスター 4 / % 10x の比	既知の反応性
6	10-2	0.004619994	1.36	295	12.8	9.38	MY05B
8	4-1	<0.000001	1.28	1279899	10.41	8.14	ARMC9
1	11-2	0.00044423	1.01	2267	8.03	7.97	ARMC9
4	4-3	<0.000001	0.9	902224	7.16	7.93	ARMC9
2	10-3	0.002887496	0.44	153	3.69	8.37	MY05B
5	4-3	0.009906334	0.36	36	3.47	9.73	ARMC9
10	3-1	0.000710768	0.27	384	2.6	9.54	ARMC9
9	10-3	<0.000001	0.34	335711	2.6	7.75	MY05B
11	10-3	0.002620958	0.31	120	2.6	8.27	MY05B
7	15	<0.000001	0.19	188838	1.74	9.19	MY05B
14	2	0.000222115	2.16	9730	1.74	0.8	
12	10-3	<0.000001	0.17	167856	1.74	10.34	MY05B
15	10-3	0.000932883	0.13	135	1.08	8.62	MY05B
13	5-5	0.000799614	0.13	157	1.08	8.62	MY05B
3	10-3	0.003775957	0.27	72	0.65	2.39	MY05B

* Adaptive Biotechnology による TCR 配列決定に基づく

【0109】

実施例 1～3 で得られたデータは、以下の結論を示した。

1. 血中のネオアンチゲン特異的 T 細胞は、scRNA によって捕捉されるユニークな転写シグネチャーを発現した（図 3、表 1 A～1 B）；
2. 同じ転写モジュールから他の未知の TCR を再構成すると、同じ 2 つのネオアンチゲンを認識する 14 個の TCR が追加で検出された（図 4 A～4 C、表 3）；及び
3. 治療前の血液から患者の腫瘍特異的なネオアンチゲン反応性 TCR を同定し再構築することは、高次元解析を用いることで実現可能である。

【0110】

患者の血液からネオアンチゲン特異的TCRを単離する以前の試みは、これらのT細胞の前駆体頻度が非常に低いこと、及び、血液からこれらの細胞の表現型マーカーを決定できる

正確なアプローチがないことから、歴史的に困難であった。本発明の方法は、腫瘍切除前に腫瘍特異的TCRを同定し、潜在的に単離するためのプラットフォームを提供し、より侵襲性の低い免疫療法レジメンを採用するユニークな機会を提供するものである。

【0111】

実施例 4

本実施例は、3名のがん患者の末梢血から得られたネオアンチゲン反応性T細胞が共有する包括的な遺伝子発現プロファイルの同定を示し、ここで遺伝子発現プロファイルは、単一細胞のトランスクリプトーム解析の結果のtSNE分析を用いて同定される。本実施例はまた、がん患者の末梢血からのEBV反応性T細胞が共有する包括的遺伝子発現プロファイルの同定を実証し、ここで、遺伝子発現プロファイルは、単一細胞トランスクリプトーム解析の結果のtSNE解析を用いて同定される。

10

【0112】

実施例1～3に記載の方法を、さらに2名の転移性がん患者4287（結腸がん）及び4317（直腸がん）に対して実行した。この解析により、合計3名の患者、すなわち、患者4287及び4317並びに患者4246からの試料から、包括的な遺伝子シグネチャーを得ることができた。患者4246は実施例1～3で解析した。

【0113】

患者4287は、エプスタイン・バー・ウイルス（EBV）についても陽性であった。実施例1～3に記載した本方法は、患者4287のEBV反応性T細胞に関しても実行された。

20

【0114】

scRNA解析のtSNE解析では、遺伝子シグネチャーによってクラスターに分けることができる異なる区別できる集団が示された（図7A）。既知のネオアンチゲン反応性TCR配列（及び患者4287のEBV反応性TCR配列）をtSNEプロットに重ね合わせると、既知のネオアンチゲン反応性TCR（及びEBV反応性TCR配列）の大部分はクラスター9に存在することが示された（図7B）。

【0115】

本実施例で同定したネオアンチゲン反応性T細胞による様々な遺伝子の発現レベルを測定し、患者4246、4287、4317の末梢血サンプルにおける非ネオアンチゲン反応性T細胞の発現レベルと単一細胞トランスクリプトーム解析を用いて比較した。

30

【0116】

表4Aは、差次的発現解析により測定した、非ネオアンチゲン反応性T細胞と比較してネオアンチゲン反応性T細胞で発現する上位遺伝子を示す。

【0117】

表4Bは、差次的発現解析によって測定した、非ネオアンチゲン反応性T細胞と比較してネオアンチゲン反応性T細胞によってダウンレギュレートされた上位遺伝子を示す。

【0118】

患者4246、4287及び4317の末梢血CD8⁺T細胞による遺伝子発現を検討し、各細胞の遺伝子発現プロファイルが表4A～4Bで同定された遺伝子発現プロファイルにどの程度近いかを判定した。表4A～4Bで同定された遺伝子発現プロファイルに最も近い遺伝子発現プロファイルを示すそれらの細胞の上位95番目のパーセンタイル（the 95th percentile）を同定した（図8）。表4A～4Bで特定されたものに最も近い遺伝子発現プロファイルを示すそれらの細胞の上位95番目のパーセンタイルの遺伝子発現プロファイルは、以下の表5に記載される。

40

【0119】

50

【表 4 A】

	average_logFoldChange	調整済み <i>p</i> 値
CHN1	1.329457827	2.69E-240
CLECL1	1.131774123	6.73E-170
PASK	0.934654095	1.33E-90
UBXN11	0.850500271	1.00E-49
LGALS3	0.847532241	1.76E-57
ITGB1	0.84060359	1.92E-72
LIME1	0.809077933	3.47E-52
TIGIT	0.788510988	4.07E-58
HLA-DRA	0.767792393	2.63E-53
ALOX5AP	0.76567169	9.06E-69
MYO1G	0.755746764	6.73E-50
HLA-DRB1	0.755026591	1.63E-57
HLA-DRB5	0.74306221	2.04E-69
CD82	0.737838016	1.56E-44
CDC25B	0.733458585	4.58E-42
ANXA5	0.728110042	1.35E-50
ANXA2	0.709044305	3.46E-41
FLNA	0.653976427	1.83E-32
P2RY8	0.637695424	1.39E-26
GATA3	0.631822721	1.50E-17
HLA-DQA2	0.625146226	7.80E-61
ITM2A	0.596488637	4.80E-49
TPM4	0.594495731	9.82E-21
HLA-DPA1	0.581726611	2.53E-47
COTL1	0.574193576	2.56E-44
S100A11	0.558325899	5.33E-44
RBPJ	0.550035019	3.13E-17
HLA-DQB1	0.536435972	1.69E-32
CYTOR	0.53382937	2.71E-22
TRADD	0.533499295	7.73E-15
CARS	0.53280646	5.61E-31

10

20

30

40

【 0 1 2 0 】

50

【表 4 B】

	average_logFoldChange	調整済み p 値
LINC02446	-0.450046699	1.45E-05
IMPDH2	-0.471567915	9.42E-06
CYTIP	-0.502345494	1.54E-14
NUCB2	-0.505172439	6.44E-08
EEF1G	-0.562848342	4.20E-15
MYC	-0.564363277	6.22E-06
CCL5	-0.576868426	2.30E-17
CCR7	-0.582681624	7.45E-16
LYAR	-0.596306859	1.45E-09
PITPNC1	-0.644586391	1.16E-09
TCF7	-0.661697531	2.60E-15
CCL4	-0.738902905	9.16E-11
PLAC8	-0.841351385	1.26E-13
NKG7	-0.917748154	5.11E-29
GZMH	-1.037027439	1.73E-17

【0121】

本実施例で同定された代替的な遺伝子発現プロファイルは、表 4 C に記載されている。

【0122】

10

20

30

40

50

【表 4 C - 1】

代替 1 (クラスター 9) (アップレギュレートされた)	代替 2 (クラスター 9 でネオアンチゲン反応性がある全て) (アップレギュレートされた)	代替 3 (クラスター 9 以外でネオアンチゲン反応性あり)	
ALOX5AP	ALOX5AP	ALOX5AP	ネオアンチゲ ンクロンで アップレギュ レートされた
ANXA2	ANXA2	ANXA2	
ANXA5	ANXA5	ANXA5	
ARID5B	APOBEC3G	APOBEC3G	
CAPN2	ARHGEF1	ARHGEF1	
CARS	ARID5B	ARID5B	
CDC25B	BIN1	BIN1	
CLDN1	BIN2	BIN2	
COTL1	C12orf75	C12orf75	
CREM	C4orf48	C4orf48	
CRIP1	CAMK4	CAMK4	
CXCR3	CAPN2	CAPN2	
CYTOR	CAPZB	CAPZB	
DCXR	CARD16	CARD16	
EMB	CARS	CARS	
FBXW5	CCNDBP1	CCNDBP1	
FLNA	CD5	CD5	
GATA3	CD55	CD55	
HLA-DPA1	CD82	CD82	
HLA-DPB1	CDC25B	CDC25B	
HLA-DQB1	CHN1	CHN1	
HLA-DRA	CLECL1	CLECL1	
HLA-DRB1	CNN2	CNN2	
HLA-DRB5	COR01B	COR01B	
HNRNPUL1	COTL1	COTL1	30
ICAM2	CRIP1	CRIP1	
IL10RA	CYTOR	CYTOR	
ISG15	DCXR	DCXR	
ISG20	DYNLL1	DYNLL1	
ITGB1	DYNLT1	DYNLT1	40
ITGB7	EID1	EID1	
ITM2A	EIF3A	EIF3A	
KLF2	ELOVL5	ELOVL5	
LGALS3	EMB	EMB	
LIME1	ETHE1	ETHE1	
MED15	FLNA	FBXW5	

【 0 1 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 C - 2】

代替 1 (クラスター 9) (アップレギュレートされた)	代替 2 (クラスター 9 でネオアンチゲン反応性がある全て) (アップレギュレートされた)	代替 3 (クラスター 9 以外でネオアンチゲン反応性あり)	
MX1	FYB1	FLNA	10
NDUFA12	GATA3	FYB1	
NR3C1	GNG2	GATA3	
NSMCE1	HLA-DPA1	GNG2	
P2RY8	HLA-DPB1	GSTK1	
PASK	HLA-DQA2	HLA-DPA1	
PPP2R5C	HLA-DQB1	HLA-DPB1	
RHBDD2	HLA-DRA	HLA-DQA2	
RNASET2	HLA-DRB1	HLA-DQB1	
S100A11	HLA-DRB5	HLA-DRA	
S1PR4	ICAM2	HLA-DRB1	20
SAMHD1	ICAM3	HLA-DRB5	
SAMSN1	IL10RA	HNRNPUL1	
SELPLG	IRF7	ICAM2	
SMCHD1	ISG15	ICAM3	
SPN	ISG20	IL10RA	
TIGIT	ITGAE	IRF7	
TRADD	ITGB1	ISG15	
UBXN11	ITGB7	ISG20	
	ITM2A	ITGAE	30
	KLF2	ITGB1	
	LGALS3	ITGB7	
	LIME1	ITM2A	
	LY6E	KLF2	
	MAD1L1	LGALS3	
	MED15	LIME1	
	MFNG	LY6E	
	MTERF4	MAD1L1	
	MX1	MED15	40
	MYO1G	MFNG	
	NDUFA12	MTERF4	
	NDUFB9	MX1	
	NELL2	MYO1G	
	NR3C1	NDUFA12	
	OCIAD2	NDUFB9	
	OPTN	NELL2	
	P2RY8	NR3C1	

【 0 1 2 4 】

【表 4 C - 3】

代替 1 (クラスター 9) (アップレギュレートされた)	代替 2 (クラスター 9 でネオアンチゲン反応性がある全て) (アップレギュレートされた)	代替 3 (クラスター 9 以外でネオアンチゲン反応性あり)	
	PARP1	NUDT21	
	PASK	OCIAD2	
	PLP2	OPTN	
	PPP1R7	P2RY8	
	PPP2R5C	PARP1	
	PSMB2	PASK	
	PSTPIP1	PLP2	
	PYCARD	PPP1R7	
	RBPJ	PPP2R5C	
	RHBDD2	PSMB2	
	RNASEH2B	PSTPIP1	
	RNASET2	PYCARD	
	S100A11	RBPJ	
	S100A4	RHBDD2	
	S1PR4	RNASEH2B	
	SAMSN1	RNASET2	
	SELPLG	S100A11	
	SH3KBP1	S100A4	
	SHMT2	S1PR4	
	SIT1	SAMSN1	
	SMCHD1	SELPLG	
	SPN	SH3KBP1	
	STK38	SHMT2	
	SYTL1	SIT1	
	SYTL3	SMCHD1	
	TAGAP	SPN	
	TBC1D10C	STK38	
	TIGIT	SYTL1	
	TMPO	SYTL3	
	TMX4	TAGAP	
	TPGS1	TBC1D10C	
	TPM4	TGFB1	
	TRADD	TIGIT	
	TSPO	TMPO	
	TXN	TMX4	
	UBE2L6	TPGS1	
	UBXN11	TPM4	

10

20

30

40

【 0 1 2 5 】

【表 4 C - 4】

代替1 (クラスター9) (アップレギュレートされた)	代替2 (クラスター9でネオアンチゲン反応性がある全て) (アップレギュレートされた)	代替3 (クラスター9以外でネオアンチゲン反応性あり)	
	UCP2	TRADD	
	YWHAB	TSP0	
		TXN	
		UBE2L6	
		UBXN11	
		UCP2	
		YWHAB	ネオアンチゲ ンクローンで ダウンレギュ レートされた
		ANKRD12	
		APMAP	
		CCL4	
		CCL5	
		CCR7	
		CD48	
		CD8B	
		CXCR4	
		CYTIP	
		DARS	
		EEF1B2	
		EEF1G	
		GZMH	
		HSP90AB1	
		IMPDH2	
		ISCU	
		LBH	
		LINC02446	
		LYAR	
		MGST3	
		MT-ND2	
		MT-ND5	
		MYC	
		NDUFV2	
		NFKBIA	
		NKG7	
		NUCB2	
		PDCD4	
		PITPNC1	
		PLAC8	

10

20

30

40

【 0 1 2 6 】

50

【表 4 C - 5】

代替 1 (クラスター 9) (アップレギュレートされた)	代替 2 (クラスター 9 でネオアンチゲン反応性がある全て) (アップレギュレートされた)	代替 3 (クラスター 9 以外でネオアンチゲン反応性あり)	
		PRF1	10
		PRMT2	
		RPL17	
		RPS17	
		SNHG7	
		SNHG8	
		STK17A	
		TCF7	
		TOMM7	
		WSB1	
		ZFAS1	20

【 0 1 2 7 】

【表 5】

ALOX5AP ⁺	COTL1 ⁺	ITGB1 ⁺
ANXA2 ⁺	FLNA ⁺	ITM2A ⁺
ANXA5 ⁺	HLA-DPA1 ⁺	LGALS3 ⁺
CARS ⁺	HLA-DQA2 ⁺	LIME1 ⁺
CD82 ⁺	HLA-DQB1 ⁺	MYO1G ⁺
CDC25B ⁺	HLA-DRA ⁺	PASK ⁺
CHN1 ⁺	HLA-DRB1 ⁺	S100A11 ⁺
CLECL1 ⁺	HLA-DRB5 ⁺	TIGIT ⁺
		UBXN11 ⁺

【 0 1 2 8 】

実施例 5

本実施例は、CD39⁺CD103⁺発現細胞をFACSで選別することにより、患者4246の治療前血液サンプルからネオアンチゲン反応性TCRを検出することを示す。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 9 】

実施例4の単一細胞配列結果に基づき、血中の活性化メモリーT細胞上の表面マーカー（例えば、 $CD39^+CD103^+$ 、 $CD39^+TIGIT^+$ 、 $CD39^+PD-1^+$ ）の発現に基づいてネオアンチゲン反応性T細胞を選別－濃縮する方法を開発した。

【 0 1 3 0 】

患者4246の治療前血液サンプルからの $CD8^+$ 細胞は、 $CD45RO^+CD45RA^-HLA-DR^+$ の発現と $CD39$ 及び $CD103$ の共発現とに基づいて選別され、TCR配列決定が行われた。選別された集団における既知のネオアンチゲン反応性TCRの頻度を、バルクの前処理血液サンプルにおけるそれらの頻度と比較して、表6に示す（N.D.-検出されず、N/A-適用されず）。

10

【 0 1 3 1 】

【表 6】

標的ネオアンチゲン	バルク CD3 での頻度	$CD39^+CD103^+$ での頻度	濃縮倍率 ($CD39^+CD103^+$ /バルク CD3)
ARMC9 ^{L146F}	4.44E-06	0.0077 (1/131)	1718
MY05B ^{K1410Q}	2.89E-05	0.077 (10/131)	2644
MY05B ^{K1410Q}	3.78E-05	0.046 (6/131)	1213
ARMC9 ^{L146F}	N. D.	0.015 (2/131)	N/A
ARMC9 ^{L146F}	9.91E-05	0.015 (2/131)	154
MY05B ^{K1410Q}	4.62E-05	0.023 (3/131)	496
MY05B ^{K1410Q}	N. D.	N. D.	N/A
ARMC9 ^{L146F}	9.77E-06	0.0077 (1/131)	781
MY05B ^{K1410Q}	N. D.	0.046 (6/131)	N/A
ARMC9 ^{L146F}	7.11E-06	0.015 (2/131)	2148
MY05B ^{K1410Q}	2.62E-05	0.084 (11/131)	3204
MY05B ^{K1410Q}	N. D.	N. D.	N/A
MY05B ^{K1410Q}	8.00E-06	0.031 (4/131)	3819
MY05B ^{K1410Q}	9.33E-06	0.0077 (1/131)	818
MY05B ^{K1410Q}	2.44E-03	0.11 (14/131)	44
MY05B ^{K1410Q}	N. D.	0.0077 (1/131)	N/A
MY05B ^{K1410Q}	N. D.	0.061 (8/131)	N/A
ARMC9 ^{L146F}	0.002843073	N. D.	N/A
Total	5.56E-03	0.549618321	

20

30

40

【 0 1 3 2 】

実施例 6

本実施例は、転移性HPV⁺肛門がん患者の末梢血からのHPV反応性 $CD8^+$ T細胞の検出を実証する。

【 0 1 3 3 】

転移性HPV⁺肛門がん患者の血液サンプルから、 $CD39^+CD103^+$ を発現する $CD8^+$ T細胞

50

胞 ($CD8^+CD45RO^+CD45RA^-HLA-DR^+$ でゲーティング) が選別された。選別された細胞は、HPV反応性 $CD8^+$ T細胞が濃縮されていた。選別された集団における既知のHPV反応性TCRの頻度を、実施例5に記載したように、バルクの治療前血液試料におけるそれらの頻度と比較した。HPV

反応性クローンの頻度は、選別されたサブセットにおいて4% (4/96) であり、血液において0.2%であった。

【0134】

実施例7

本実施例は、FACS選抜 $CD39^+$ 発現細胞による大腸がん患者4400の治療前血液試料からのネオアンチゲン $CD4^+$ T細胞レセプターの検出を実証する。

【0135】

$CD4^+$ 細胞の濃縮戦略は、図9Aに示される。簡潔には、 $CD8^+$ T細胞について実施例1〜3で用いたアプローチと同様に、HLA-DR及び $CD39$ を共発現するネオアンチゲン反応性 $CD4^+$ T細胞を選別し、バルク $CD4^+$ T細胞と混合した(1:1の比率)。この混合物は、 $10\times$ 単一細胞トランスクリプトーム及びTCR配列決定のために送られた。 $CD4^+$ TCRに対するテトラマーの利用可能性及び信頼性が限られていたので、 $CD8^+$ の結果とネオアンチゲン反応性 $CD4^+$ 細胞が活性化メモリー表現型を発現するという仮定に基づいて、 $CD4^+CD45RO^+CD45RA^-HLA-DR^+CD39^+$ 発現細胞をFACSで選別することにより、ネオアンチゲン反応性 $CD4^+$ T細胞を濃縮した(図9B)。

【0136】

Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP)解析に基づき、既知の反応性クローンはクラスター7と12に優占的に存在した(図9B〜9C)。これらのクラスターで有意に発現がアップレギュレートされた遺伝子の表を作成した(表7)。表7の遺伝子は、 $CD8^+$ 細胞について作成した遺伝子シグネチャーと重複していた。

【0137】

次に、遺伝子シグネチャーが既知の反応性クローン及び推定ネオアンチゲン反応性クラスターを捕捉できるかどうかテストした。解析の結果、遺伝子シグネチャーは $CD4^+$ 細胞に使用でき、推定ネオアンチゲン反応性クラスターを捕捉することができた(図9D)。注目すべきは、遺伝子シグネチャーの高発現(90番目のパーセンタイル)を示した細胞の中に、 $CD4^+$ Treg細胞のサブセットがあったことである。これらの細胞は、バイオインフォマティクス技術を用いて除去することができ(図9E〜9F)、 $CD25$ 及び $CD127$ 表面マーカー(例えば、 $CD25^-$ 及び $CD127^-$)を用いてFACS選別から除外できる(Treg細胞は $CD25^+CD127^{lo}$ 発現によって定義できる)。

【0138】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

クラスター 1 2	クラスター 7
AK4 ⁺	AC004585.1 ⁺
APOBEC3G ⁺	ACTB ⁺
C12orf75 ⁺	ACTG1 ⁺
CCL5 ⁺	ALOX5AP ⁺
CD74 ⁺	ANXA1 ⁺
CLIC1 ⁺	ANXA5 ⁺
COTL1 ⁺	CD52 ⁺
CST7 ⁺	CD99 ⁺
CXCL13 ⁺	CNN2 ⁺
CXCR3 ⁺	COTL1 ⁺
DUSP2 ⁺	FAM45A ⁺
EEF1A1 ⁺	FTH1 ⁺
F2R ⁺	FYB1 ⁺
GAPDH ⁺	GAPDH ⁺
GNLY ⁺	GIMAP4 ⁺
GZMA ⁺	GYPC ⁺
GZMK ⁺	IFITM1 ⁺
HCST ⁺	IFITM2 ⁺
HLA-DPA1 ⁺	IGFBP4 ⁺
LYAR ⁺	ITGB1 ⁺
LYST ⁺	LCP1 ⁺
MRPL10 ⁺	LIMS1 ⁺
MYO1G ⁺	LMO4 ⁺
NKG7 ⁺	MALAT1 ⁺
PABPC1 ⁺	MIF ⁺
PDCD1 ⁺	MSN ⁺
PFN1 ⁺	MT-ND3 ⁺
PRF1 ⁺	NDUFA12 ⁺
RAB27A ⁺	PASK ⁺
RPL10 ⁺	PFN1 ⁺
RPL11 ⁺	PGAM1 ⁺
RPL13 ⁺	PPP2R5C ⁺
RPL18A ⁺	RARRES3 ⁺
RPL19 ⁺	RILPL2 ⁺
RPL30 ⁺	RPL30 ⁺
RPL32 ⁺	RPL32 ⁺
RPL34 ⁺	RPL34 ⁺
RPL8 ⁺	RPL9 ⁺
RPL9 ⁺	RPS13 ⁺
RPLP1 ⁺	RPS25 ⁺
RPS12 ⁺	RPS3A ⁺

10

20

30

40

【 0 1 3 9 】

【表 7 - 2】

クラスター 1 2	クラスター 7
RPS13 ⁺	S100A11 ⁺
RPS23 ⁺	S1PR4 ⁺
RPS3A ⁺	SERF2 ⁺
RPS8 ⁺	SLC25A5 ⁺
SARAF	SMC4 ⁺
SELL ⁺	TIMP1 ⁺
TC2N ⁺	TMSB4X ⁺
TMSB4X ⁺	VDAC1 ⁺
TPT1 ⁺	ZFP36L2 ⁺

10

20

【0140】

実施例 8

本実施例では、さらに3名の転移性胃腸がん患者の治療前血液サンプルから、細胞表面マーカーに基づくFACS選別によりネオアンチゲン反応性CD8⁺T細胞の検出を実証する。

【0141】

本方法を検証するため、さらに3名の転移性胃腸がん患者（4382、4214、4422）から、細胞表面マーカーを用いてネオアンチゲン反応性CD8⁺T細胞を細胞濃縮した。CD8⁺CD45RO⁺CD45RA⁻HLA-DR⁺及びCD39⁺又はCD103⁺又はCD39⁺CD103⁺を発現する細胞を、既知の比率でバルクCD8⁺細胞と混合した。次に、細胞を単一細胞次世代シーケンサーに提出し、最初の3名の患者を分析した。図10Aにおいて、UMAP解析は、細胞が13のクラスターに集積し、4名の患者からの既知のネオアンチゲン反応性T細胞は、クラスター4及び8に優占的に集積したことを示す(図10B)。クラスター4及び8で発現がアップレギュレートされた遺伝子を表8A（クラスター8）及び表8B（クラスター4）に示す。

30

【0142】

40

50

【表 8 A】

クラスター 8 でアップレギュレートされた遺伝子			
AHNAK ⁺	EMB ⁺	LIMS1 ⁺	RBPJ ⁺
AK4 ⁺	ESYT1 ⁺	MAD1L1 ⁺	RCSD1 ⁺
ALOX5AP ⁺	FLNA ⁺	MAP2K2 ⁺	RNPEPL1 ⁺
ANXA2 ⁺	GPR171 ⁺	MAP4K1 ⁺	S1PR4 ⁺
ANXA5 ⁺	GYG1 ⁺	MBD2 ⁺	SH2D1A ⁺
ANXA6 ⁺	GZMA ⁺	MED15 ⁺	SH3KBP1 ⁺
ARL6IP1 ⁺	GZMK ⁺	MIS18BP1 ⁺	SHMT2 ⁺
ARPC4 ⁺	H1FX ⁺	MKNK2 ⁺	SIT1 ⁺
ATP2B4 ⁺	HACD4 ⁺	MXD4 ⁺	SLC16A3 ⁺
BIN1 ⁺	HIST1H1C ⁺	MYADM ⁺	SLC2A4RG ⁺
BRI3 ⁺	HLA-DMA ⁺	MYO1F ⁺	SLC4A7 ⁺
C12orf75 ⁺	HLA-DPA1 ⁺	MYO1G ⁺	SLF1 ⁺
CALHM2 ⁺	HLA-DPB1 ⁺	NCK2 ⁺	SPN ⁺
CAPN2 ⁺	HLA-DQB1 ⁺	NDUFA7 ⁺	STK24 ⁺
CAPNS1 ⁺	HLA-DRA ⁺	NFATC2 ⁺	TC2N ⁺
CARHSP1 ⁺	HLA-DRB1 ⁺	OPTN ⁺	TEX264 ⁺
CD74 ⁺	HLA-DRB5 ⁺	OSBPL8 ⁺	TGFB1 ⁺
CD81 ⁺	ICAM3 ⁺	P2RY8 ⁺	TIGIT ⁺
CDC25B ⁺	IDH2 ⁺	PAG1 ⁺	TLN1 ⁺
CDC47 ⁺	IFI27L2 ⁺	PARP1 ⁺	TMC8 ⁺
CLDND1 ⁺	INPP5D ⁺	PASK ⁺	TMX4 ⁺
CNN2 ⁺	IQGAP2 ⁺	PHACTR2 ⁺	TOX ⁺
COTL1 ⁺	ITGAL ⁺	PRDX3 ⁺	TPM4 ⁺
CRIP1 ⁺	ITGB1 ⁺	PREX1 ⁺	TRAPPC5 ⁺
CXCR3 ⁺	ITGB7 ⁺	PRKCB ⁺	TXN ⁺
CYTOR ⁺	ITM2A ⁺	PSD4 ⁺	UBXN11 ⁺
DOK2 ⁺	JPT1 ⁺	PSMA2 ⁺	UCP2 ⁺
DYNLL1 ⁺	LAG3 ⁺	PYCARD ⁺	VOPPI ⁺
EIF3A ⁺	LGALS1 ⁺	RAD23B ⁺	WNK1 ⁺
ELOVL5 ⁺	LGALS3 ⁺	RASA3 ⁺	YWHAE ⁺
	LIME1 ⁺	RBM38 ⁺	YWHAQ ⁺

10

20

30

40

【 0 1 4 3 】

【表 8 B】

クラスター 4 でアップレギュレートされた遺伝子			
ALOX5AP ⁺	GATA3 ⁺	P2RY10 ⁺	S1PR1 ⁺
ARID5B ⁺	GPR183 ⁺	PASK ⁺	S1PR4 ⁺
CCR4 ⁺	ICAM2 ⁺	PLP2 ⁺	SAMHD1 ⁺
CD55 ⁺	IL7R ⁺	PPP2R5C ⁺	SAMSN1 ⁺
CDKN1B ⁺	ISG20 ⁺	PRKX ⁺	SELL ⁺
COTL1 ⁺	ITGB1 ⁺	RALA ⁺	SESN3 ⁺
CREM ⁺	ITM2A ⁺	RASA3 ⁺	SETD2 ⁺
DCXR ⁺	LEF1 ⁺	RCAN3 ⁺	SMCHD1 ⁺
DGKA ⁺	LEPROTL1 ⁺	RHBDD2 ⁺	TMEM123 ⁺
ELOVL5 ⁺	LTB ⁺	RNASET2 ⁺	TRAT1 ⁺
EML4 ⁺	NR3C1 ⁺	S100A11 ⁺	ZFP36 ⁺
EZR ⁺			

10

20

【0144】

EBVと、Fluと、CMV若しくはEBV若しくはFlu由来のペプチドのプール（CEFx）とに対して反応性を示す細胞を、図10BのUMAP空間上に投影した。3名の患者（4246、4317、4287）のサンプル（表4A～4B）から開発した遺伝子シグネチャーを検証するために、表4A～4Bで同定したものに最も近い遺伝子発現プロファイルを示すそれらの細胞の上位90番目のパーセンタイルをUMAP上に投影してクラスター4及び8を強調表示した（図10C）。

30

【0145】

本書に引用された刊行物、特許出願、及び特許を含む全ての文献は、各文献が参照により組み込まれることが個別にかつ明確に示され、その全体が本書に記載された場合と同じ程度まで、参照により本明細書に組み込まれるものとする。

【0146】

本発明の説明する文脈において（特に、以下の特許請求の範囲の文脈において）、用語「a」及び「an」及び「the」及び「少なくとも1」並びに同様の指示対象の使用は、本明細書に特記しないか文脈と明らかに矛盾しない限り、単数形及び複数形の両方をカバーすると解釈すべきである。1以上の事項の列挙の後での用語「少なくとも1」の使用（例えば、「A及びBのうち少なくとも1」）は、本明細書に特記しないか又は文脈と明らかに矛盾しない限り、列挙した事項から選択された1の事項（A若しくはB）又は列挙した事項のうち2以上の任意の組合せ（A及びB）を意味すると解釈すべきである。用語「含む（comprising）」、「有する（having）」、「含む（including）」及び「含有する（containing）」は、特記しない限り、オープンエンドの用語（即ち、「～を含むがそれらに限定されない」を意味する）と解釈すべきである。本明細書の数値範囲の記述は、本明細書に特記しない限り、その範囲内に入る各個別の値に個々に言及する省略方法として働くことのみを意図しており、各個別の値は、それが本明細書に個々に記述されているかのように本明細書に組込まれる。本明細書に記載の全ての方法は、本明細書に特記しないか又は文脈と特に明らかに矛盾しない限り、任意の好適な順序で実施できる。本明細

40

50

書に提供される任意の及び全ての例又は例示的語句（例えば、「等（such as）」）の使用は、本発明をよりよく説明することのみを意図しており、特段特許請求されない限り、本発明の範囲に限定を課すものではない。本明細書の全ての語句は、特許請求されていない任意の要素を本発明の実施に必須のものとして示していると解釈すべきではない。

【0147】

発明を実施するための、発明者が知る最良の形態を含む、本発明の好ましい実施形態が本明細書に記載される。これらの好ましい実施形態のバリエーションは、上述の説明を読めば当業者に明らかとなり得る。本発明者らは、当業者がかかるバリエーションを適宜使用することを予期しており、本発明者らは、本明細書に具体的に記載されたのとは異なる方法で本発明が実施されることを意図している。従って、本発明は、適用される法律によって許容されるとおり、本明細書に添付した特許請求の範囲に記載の主題の全ての改変及び均等物を含む。更に、その全ての可能なバリエーションでの上記要素の任意の組合せが、本明細書に特記しないか又は文脈と特に明らかに矛盾しない限り、本発明によって包含される。

【図面】

【図1】



図1

【図2A】

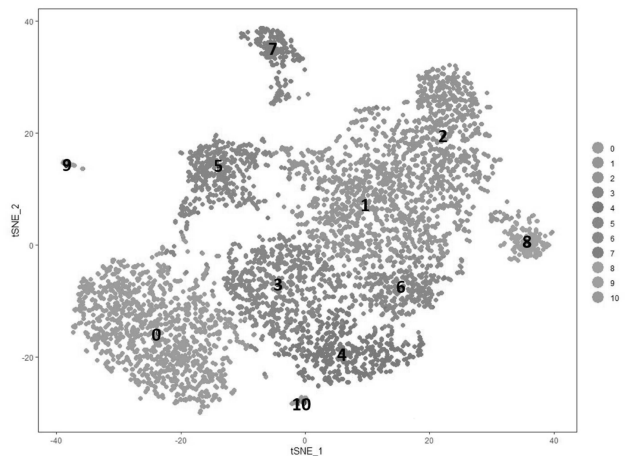


図2A

【図 2 B】

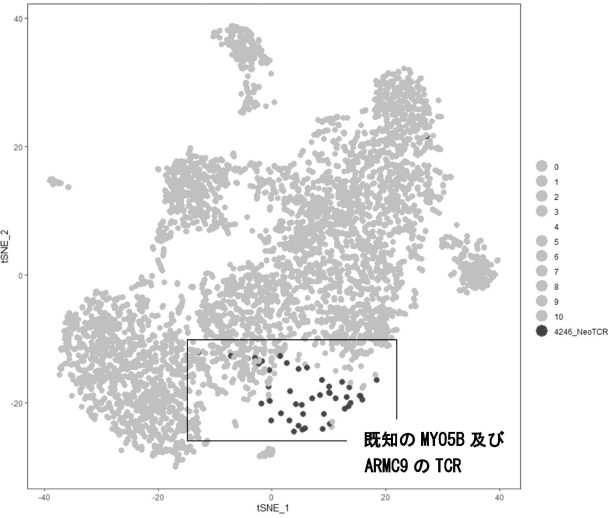


図 2 B

【図 3】

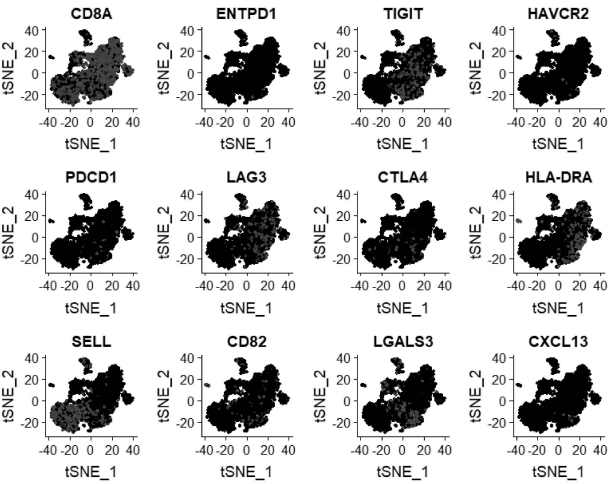


図 3

【図 4 A】

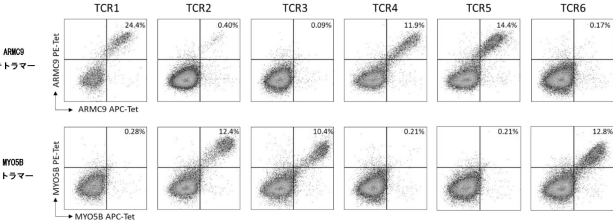


図 4 A

【図 4 B】

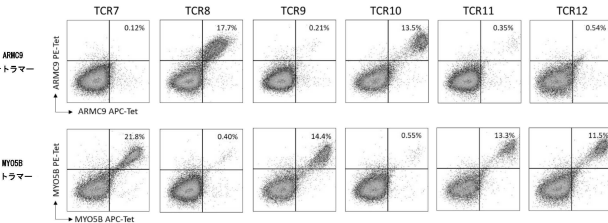


図 4 B

10

20

30

40

50

【図 4 C】

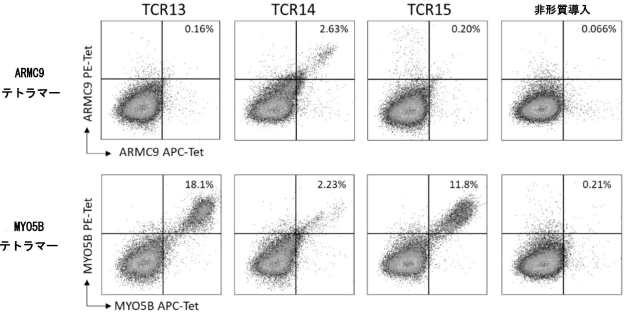


図 4 C

【図 5】

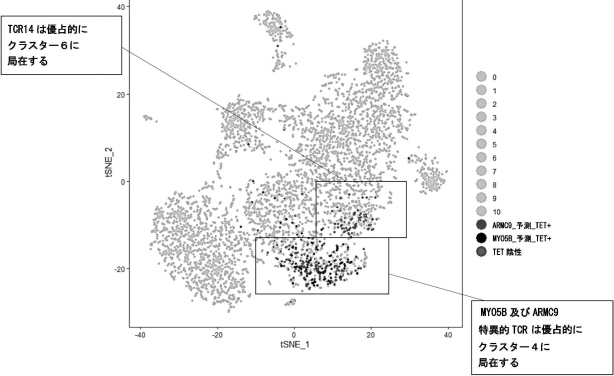


図 5

【図 6 A - D】

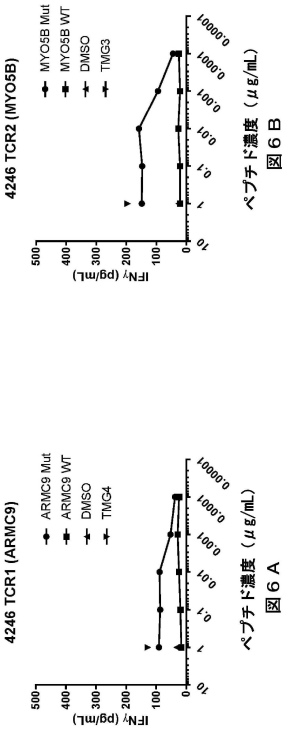


図 6 A

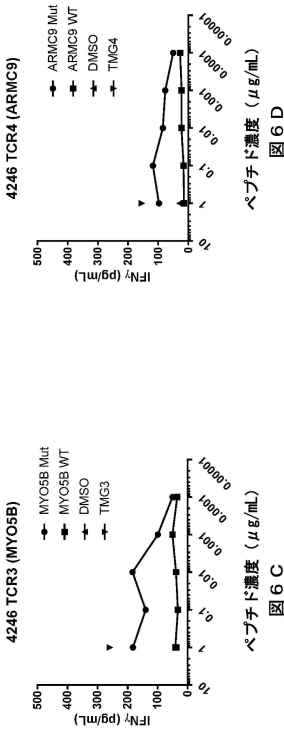


図 6 C

【図 6 E - H】

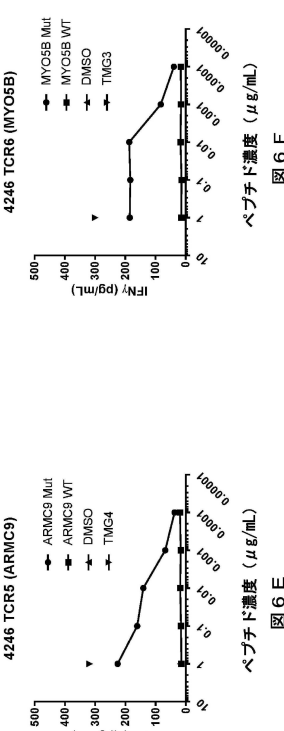


図 6 E

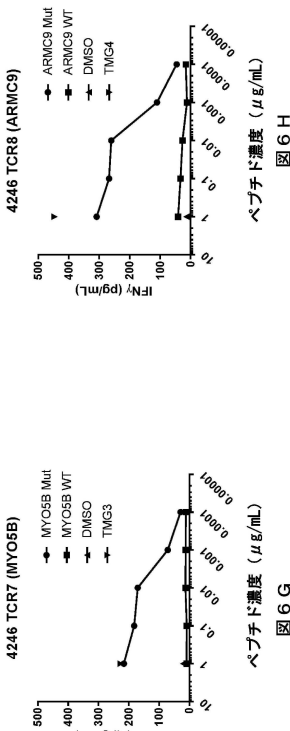


図 6 G

10

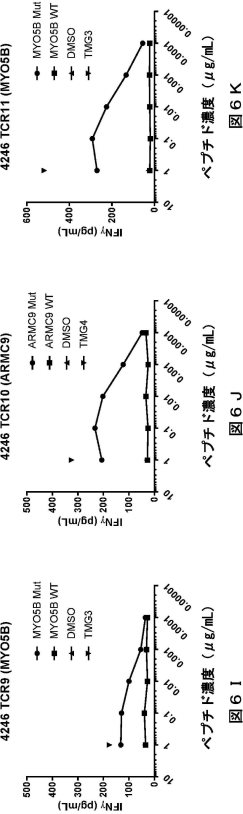
20

30

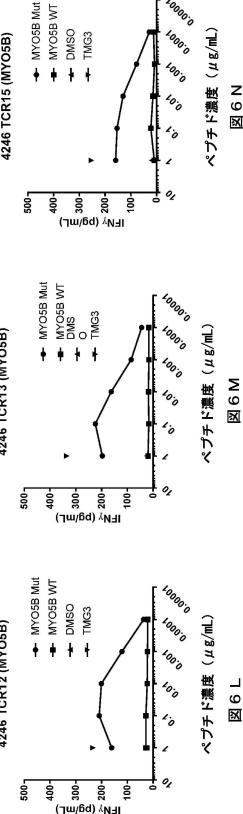
40

50

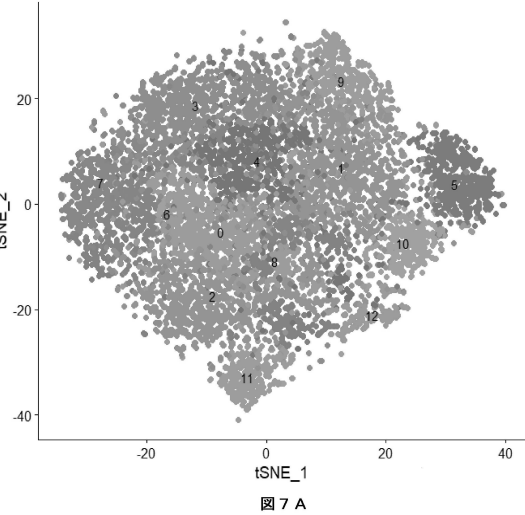
【図 6 I - K】



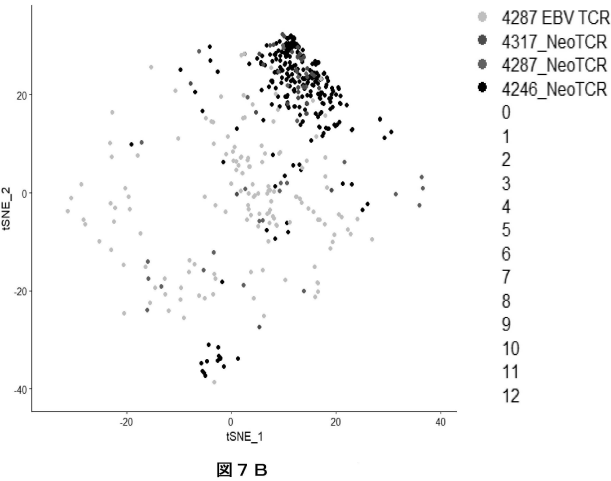
【図 6 L - N】



【図 7 A】



【図 7 B】



10

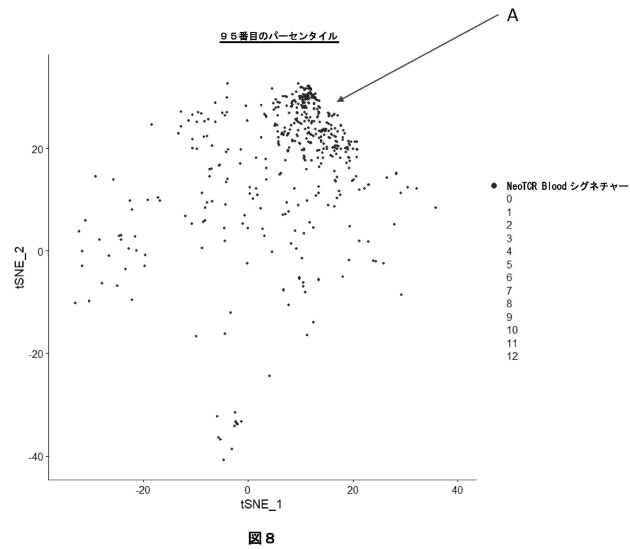
20

30

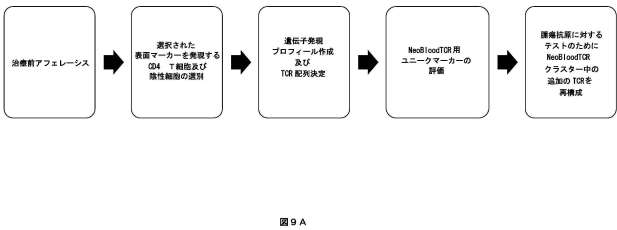
40

50

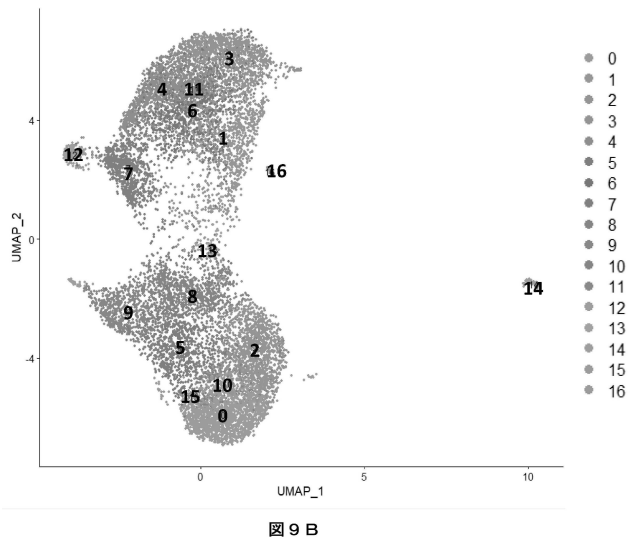
【図 8】



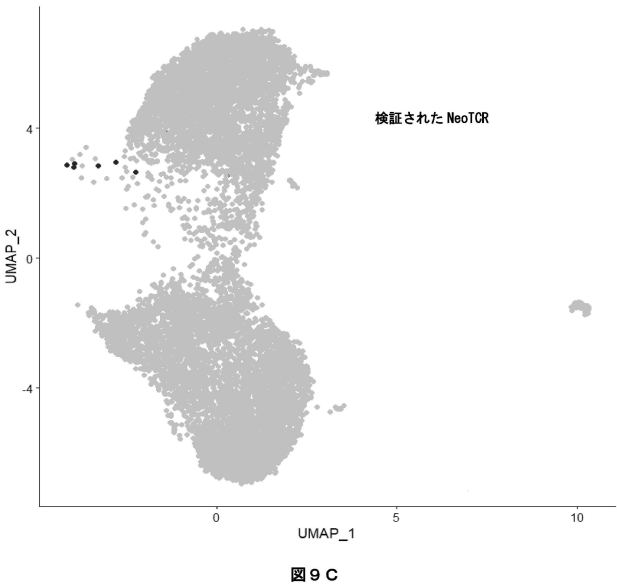
【図 9 A】



【図 9 B】



【図 9 C】



10

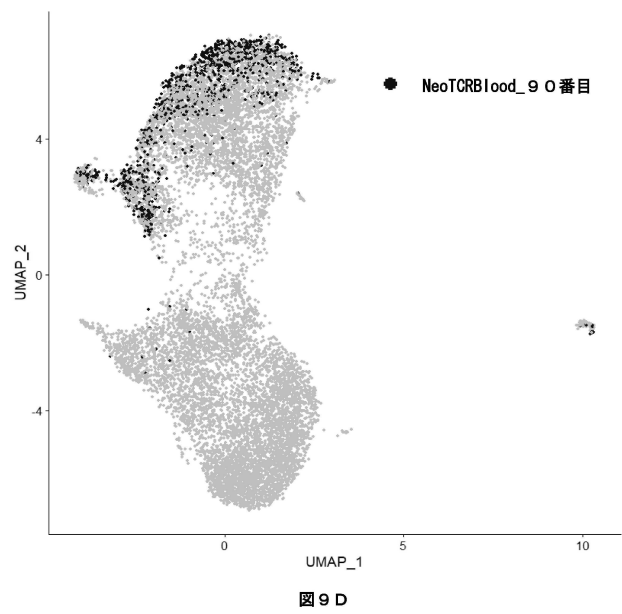
20

30

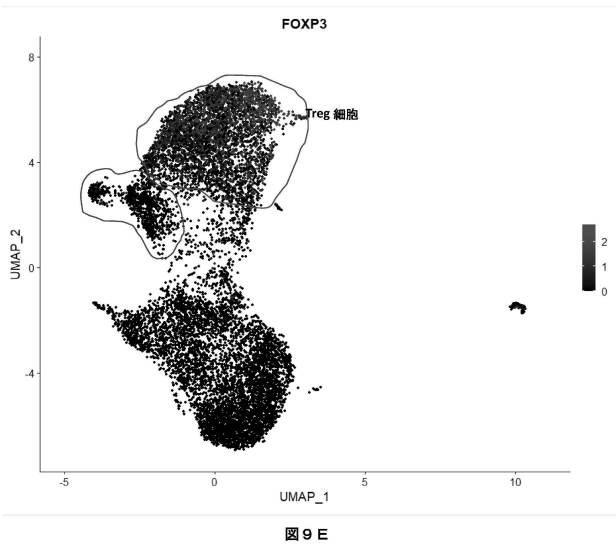
40

50

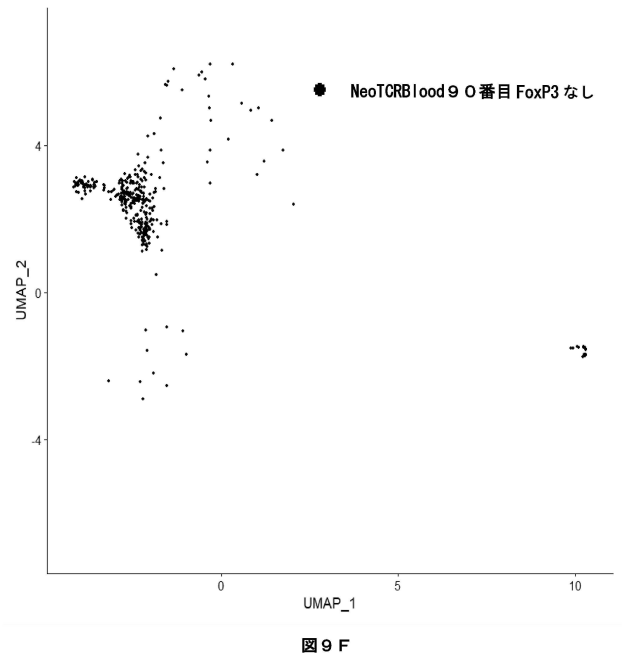
【図 9 D】



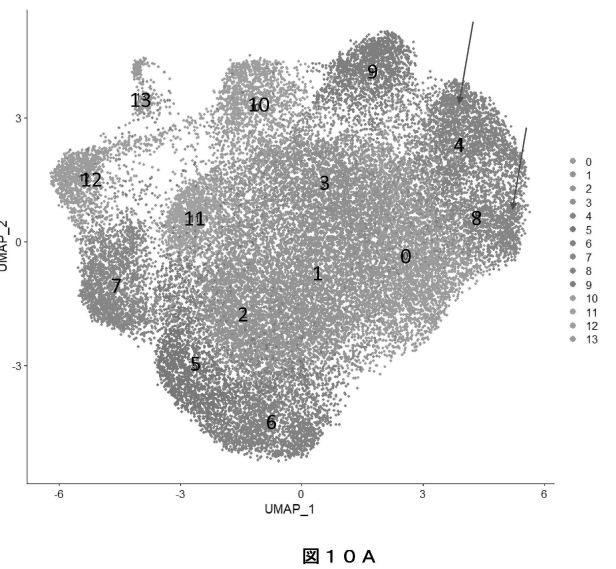
【図 9 E】



【図 9 F】



【図 1 0 A】



10

20

30

40

50

【図 1 0 B】

反応性クローン

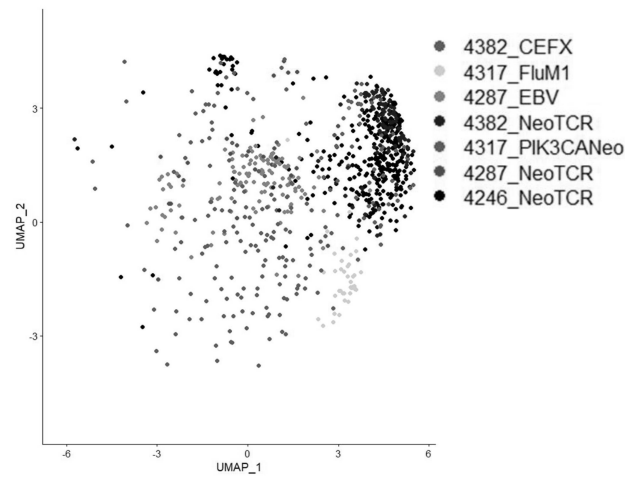


図 1 0 B

【図 1 0 C】

9 0 番目の NeoBlood シグネチャー

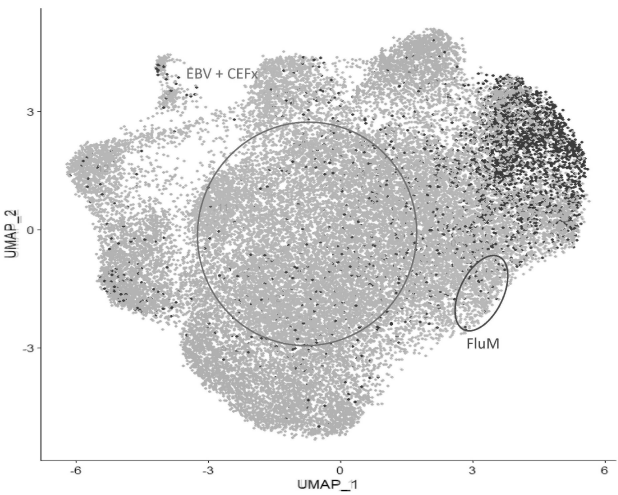


図 1 0 C

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/023225

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N5/0783 C12N5/078 C12N5/10 A61K48/00 A61K39/00 C12N15/10 C12Q1/6886 A61K35/17 G01N33/50 G01N33/569 A61K38/17		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N A61K C40B C12Q G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/100001 A1 (BROAD INST INC [US]; MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY [US] ET AL.) 23 May 2019 (2019-05-23)	1,3-17, 22-25
Y	page 7, paragraph [0152] - page 78; claims 1, 30; tables 1-20	2
X	WO 2019/112932 A1 (US HEALTH [US]) 13 June 2019 (2019-06-13)	1,4-16, 22-25
Y	paragraph [[0038]] - paragraph [[0039]]; claim 1	2
X	WO 2019/204338 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]) 24 October 2019 (2019-10-24)	1,4-25
Y	paragraph [0065] - paragraph [0067] paragraph [0008]	2
	----- -/--	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 18 June 2021		Date of mailing of the international search report 29/06/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Paresce, Donata

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/023225

Q(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/048614 A1 (US HEALTH [US]) 23 March 2017 (2017-03-23) cited in the application	1,3-15, 18-25
Y	claims 1-5	2
A	----- CAFRI GAL ET AL: "Memory T cells targeting oncogenic mutations detected in peripheral blood of epithelial cancer patients", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 10, no. 1, 1 December 2019 (2019-12-01), XP055815324, DOI: 10.1038/s41467-019-08304-z Retrieved from the Internet: URL:https://www.nature.com/articles/s41467-019-08304-z.pdf> the whole document	1-25
A	----- VAN DER LEUN ANNE M ET AL: "CD8T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis", NATURE REVIEWS CANCER, NATURE PUB. GROUP, LONDON, vol. 20, no. 4, 5 February 2020 (2020-02-05), pages 218-232, XP037078048, ISSN: 1474-175X, DOI: 10.1038/S41568-019-0235-4 [retrieved on 2020-02-05] table 1	1-25
A	----- FUCHS YANNICK F. ET AL: "Gene Expression-Based Identification of Antigen-Responsive CD8+ T Cells on a Single-Cell Level", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 10, 1 January 2019 (2019-01-01), page 2568, XP055814573, DOI: 10.3389/fimmu.2019.02568 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/artic- les/PMC6851025/pdf/fimmu-10-02568.pdf> page 9	1-25
A	----- ANDREA GARCIA-GARIJO ET AL: "Determinants for Neoantigen Identification", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 10, no. 1392, 24 June 2019 (2019-06-24), XP055630095, DOI: 10.3389/fimmu.2019.01392 the whole document	1-25
	----- -/--	

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/023225

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2016/100977 A1 (BROAD INST INC [US]; GEN HOSPITAL CORP [US] ET AL.) 23 June 2016 (2016-06-23) claims 1-15 -----	1-25
A	WO 2016/179006 A1 (US HEALTH [US]) 10 November 2016 (2016-11-10) paragraph [[0014]] - paragraph [[0019]] -----	1-25
A	CARSTEN LINNEMANN ET AL: "High-throughput identification of antigen-specific TCRs by TCR gene capture", NATURE MEDICINE, vol. 19, no. 11, 13 October 2013 (2013-10-13), pages 1534-1541, XP055190765, ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/nm.3359 the whole document -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/023225

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019100001 A1	23-05-2019	NONE	
WO 2019112932 A1	13-06-2019	US 2021052642 A1 WO 2019112932 A1	25-02-2021 13-06-2019
WO 2019204338 A1	24-10-2019	NONE	
WO 2017048614 A1	23-03-2017	NONE	
WO 2016100977 A1	23-06-2016	EP 3234130 A1 EP 3757211 A1 US 2018000913 A1 WO 2016100977 A1	25-10-2017 30-12-2020 04-01-2018 23-06-2016
WO 2016179006 A1	10-11-2016	AU 2016258845 A1 CA 2984234 A1 US 2018148690 A1 US 2020095548 A1 WO 2016179006 A1	09-11-2017 10-11-2016 31-05-2018 26-03-2020 10-11-2016

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/12 (2006.01)
 A 6 1 P 31/22 (2006.01)
 A 6 1 P 31/20 (2006.01)
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 C 0 7 K 14/725 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 31/12
 A 6 1 P 31/22
 A 6 1 P 31/20
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 39/395 E
 A 6 1 K 39/395 T
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 S
 A 6 1 K 48/00
 C 0 7 K 14/725
 A 6 1 K 47/68

4 C 0 8 7
 4 H 0 4 5

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
 E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
 G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
 TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100121212

弁理士 田村 弥栄子

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(74)代理人 100152308

弁理士 中 正道

(74)代理人 100201558

弁理士 亀井 恵二郎

(74)代理人 100125081

弁理士 小合 宗一

(72)発明者 ヨセフ、ラミ

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 0 8 7 8、ゲイサーズバーグ、ランドセンド ドライヴ 1 4

(72)発明者 コーブランド、エイミー アール。

アメリカ合衆国、コロンビア特別区 2 0 0 0 9、ワシントン、ノースウエスト セブンティーンズ
 ストリート 2 4 2 8、アパートメント 3エヌ

(72)発明者 クリシュナ、スリ

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 0 8 5 2、ノース ベセスダ、ストラスモア ホール ストリ
 ート 1 0 3 0 0、アパートメント 1 0 4

(72)発明者 ロウリー、ザ サード、フランク ジェイ。

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 0 8 7 1、クラークスバーグ、マーツ ストリート 1 3 0 5 2

(72)発明者 ローゼンバーグ、スティーヴン エー。

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 0 8 5 4、ポトマック、アイアン ゲート ロード 1 0 1 0 4

(72)発明者 ロビンズ、ポール エフ。

アメリカ合衆国、メリーランド州 2 0 8 1 5、チェヴィー チェース、グレンデール ロード 7
 9 0 7

F ターム (参考) 4B063 QA01 QA13 QQ02 QQ03 QQ08 QQ79 QR48 QR55 QS28 QX02

4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA44

4C076 AA95 CC27 CC35 CC41 EE59

F ターム (参考) 4C084 AA13 NA05 NA13 NA14 ZB261 ZB331
 4C085 AA13 AA14 BA51 BA80 BB01 BB12 BB50 CC03 CC31 DD62
 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG06 GG08
 4C087 AA01 AA02 AA03 BB37 CA04 DA20 NA05 NA13 ZB26 ZB33
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 EA20 FA74