

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7571021号
(P7571021)

(45)発行日 令和6年10月22日(2024.10.22)

(24)登録日 令和6年10月11日(2024.10.11)

(51)国際特許分類	F I
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1
請求項の数 18 (全61頁) 最終頁に続く	

(21)出願番号	特願2021-532126(P2021-532126)	(73)特許権者	521232359
(86)(22)出願日	令和1年12月5日(2019.12.5)		グアンドン ティーシーアールキュア バイオファーマ テクノロジー カンパニー リミテッド
(65)公表番号	特表2022-512326(P2022-512326 A)		中華人民共和国 グアンジョウ ナンシャ ディストリクト ズージアン アベニュー ナンジアン セカンド ロード ナンバー 6 ビルディング 1 2
(43)公表日	令和4年2月3日(2022.2.3)	(73)特許権者	521063052
(86)国際出願番号	PCT/US2019/064757		ティーシーアールキュア バイオファーマ コーポレーション
(87)国際公開番号	WO2020/118094		アメリカ合衆国 2 7 7 0 9 ノースカロライナ州 ダーラム リサーチ トライアングル パーク ビー . オー . ボックス 1 1 0 0 8 7
(87)国際公開日	令和2年6月11日(2020.6.11)		
審査請求日	令和4年12月1日(2022.12.1)		
(31)優先権主張番号	62/776,012		
(32)優先日	平成30年12月6日(2018.12.6)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 腫瘍抗原、TGF-、および免疫チェックポイントを標的とする組み合わせTCR-T細胞療法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) LMP2に特異的に結合する抗LMP2 T細胞受容体(TCR)；

(b) 腫瘍における免疫チェックポイントの機能または発現を低下させる抑制性タンパク質；および

(c) 形質転換増殖因子ファミリー(TGF-)のメンバーに結合するタンパク質をコードする核酸を含む、改変T細胞であって、

前記抗LMP2 TCRが可変(Va)領域を含む鎖および可変(Vb)領域を含む鎖を含む、

(1) 該Va領域が、SEQ ID NO: 1の相補性決定領域1(CDR1)、相補性決定領域2(CDR2)、および相補性決定領域3(CDR3)を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 2のCDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；

(2) 該Va領域が、SEQ ID NO: 5のCDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 6のCDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または

(3) 該Va領域が、SEQ ID NO: 9のCDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 10のCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、

改変T細胞。

【請求項2】

前記形質転換増殖因子ファミリー(TGF-)のメンバーに結合するタンパク質が、TGF RIIの細胞外ドメインを含む、請求項1記載の改変T細胞。

【請求項 3】

可変 (Va) 領域を含む 鎖および可変 (Vb) 領域を含む 鎖を含む、T細胞受容体 (TCR) またはその抗原結合性フラグメントであって、前記TCRまたはその抗原結合性フラグメントはLMP2に特異的に結合し、

(1) 該Va領域が、SEQ ID NO: 1の相補性決定領域1 (CDR1)、相補性決定領域2 (CDR2)、および相補性決定領域3 (CDR3) を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 2のCDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；

(2) 該Va領域が、SEQ ID NO: 5のCDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 6のCDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または

(3) 該Va領域が、SEQ ID NO: 9のCDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 10のCDR1、CDR2、およびCDR3を含む、TCRまたはその抗原結合性フラグメント。

10

【請求項 4】

(1) 前記Va領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 17～19のアミノ酸をそれぞれ含み、前記Vb領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 20～22のアミノ酸をそれぞれ含むか；

(2) 該Va領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸をそれぞれ含み、該Vb領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 26～28のアミノ酸をそれぞれ含むか；または

(3) 該Va領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸をそれぞれ含み、該Vb領域におけるCDR1、CDR2、CDR3が、SEQ ID NO: 32～34のアミノ酸をそれぞれ含む、

20

請求項3記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 5】

Va領域およびVb領域を含む、TCRまたはその抗原結合性フラグメントであって、前記TCRまたはその抗原結合性フラグメントはLMP2に特異的に結合し、

(1) 前記Va領域が、SEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含み；かつ

前記Vb領域が、SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列を含む、

(2) 前記Va領域が、SEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含み；かつ

前記Vb領域が、SEQ ID NO: 6のアミノ酸配列を含む、または

(3) 前記Va領域が、SEQ ID NO: 9のアミノ酸配列を含み；かつ

前記Vb領域が、SEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含む、

30

前記TCRまたはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 6】

LMP2のペプチドエピトープに特異的に結合し、該LMP2のペプチドエピトープのアミノ酸配列がLLWTLVLL (SEQ ID NO: 16) を含む、請求項3～5のいずれか一項記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 7】

前記TCRまたはその抗原結合性フラグメントが、T細胞の表面において発現すると、標的がん細胞に対する細胞傷害活性を刺激する、請求項3～6のいずれか一項記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

40

【請求項 8】

請求項3～7のいずれか一項記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸を含む、ベクター。

【請求項 9】

請求項3～7のいずれか一項記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメントを含む、改変細胞。

【請求項 10】

ヒト対象から得られた細胞である、請求項9記載の改変細胞。

【請求項 11】

50

T細胞である、請求項9または10記載の改変細胞。

【請求項 1 2】

請求項8記載のベクターをインビトロまたはエクスピボで細胞内に導入する段階を含む、改変細胞を産生するための方法。

【請求項 1 3】

請求項9～11のいずれか一項記載の改変細胞を含む、対象におけるEBVに関連する疾患または障害を治療するための薬学的組成物。

【請求項 1 4】

前記EBVに関連する疾患または障害が、がんである、請求項13記載の薬学的組成物。

【請求項 1 5】

対象における腫瘍を治療するための薬学的組成物であって、
 (a) 請求項9～11のいずれか一項記載の改変細胞；および
 (b) チェックポイント阻害因子、および形質転換増殖因子 ファミリー (TGF-) のメンバーに結合するタンパク質、のうちのいずれか一方または両方を含む、薬学的組成物。

【請求項 1 6】

対象における腫瘍を治療するための薬学的組成物であって、
 (a) 請求項3～7のいずれか一項記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメント；および
 (b) チェックポイント阻害因子と、形質転換増殖因子 ファミリー (TGF-) のメンバーとを標的とする、二機能性trapタンパク質
 をコードする核酸を含む改変T細胞を含む、薬学的組成物。

【請求項 1 7】

前記腫瘍が、EBV誘発腫瘍またはHPV誘発腫瘍である、請求項15または16記載の薬学的組成物。

【請求項 1 8】

前記 鎖がマウス 鎖定常領域を含み、前記 鎖がマウス 鎖定常領域を含む、請求項3記載のTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権の主張

本出願は、2018年12月6日に出願された米国仮出願第62/776,012号の恩典を主張する。前記出願の全内容は、参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

技術分野

本開示は、全体として、改変細胞およびその組成物、特に、遺伝子改変T細胞受容体 (TCR)、TGF- 受容体 (例えば、TGF- trap)、およびチェックポイント阻害因子 (CPI) を含むT細胞に関する。組成物を使用してがんを治療するための方法もまた、本明細書に開示される。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

エプスタイン-バーウイルス (EBV) は、増殖している感染B細胞の中に遺伝子発現のプログラム、すなわち「増殖」または「潜伏感染III型 (latency III)」プログラムをインストールする。この種の潜伏は、インビトロEBV誘導リンパ芽球様細胞株 (LCL)、移植後リンパ増殖性疾患 (Brink AA, 1997, J Clin Pathol 50: 911-918. (非特許文献1)) のみならず、一次および持続EBV感染の間のリンパ器官におけるEBV感染B細胞にも見出され、ここで、このプログラムは、感染細胞の増殖を通じたEBV負荷の増幅をもたらすと考えられる (Young LS, 2004, Nat Rev Cancer 4: 757-768 (非特許文献2); Hochberg D, 2004, Proc Natl Acad Sci U S A 101: 239-244 (非特許文献3))。いく

10

20

30

40

50

つかの免疫原性EBV抗原、潜伏膜タンパク質（LMP1、LMP2A、LMP2B）およびエプスタイン-バー核抗原（EBNA1、-2、-3A、-3B、-3C、-LP）は、潜伏感染III型EBV感染B細胞において発現する。エプスタイン-バーウイルス（EBV）DNAは、鼻咽頭癌（Mutirangura et al., Clin Cancer Res. 4: 665-9 (1998) (非特許文献4)；Lo et al., Cancer Res. 59: 1188-91 (1999) (非特許文献5)）、ある種のリンパ腫（Lei et al., Br J Haematol. 111:239-46 (2000) (非特許文献6)；Gallagher et al., Int J Cancer. 84: 442-8 (1999) (非特許文献7)；Dronet et al., J Med Viral. 57: 383-9 (1999) (非特許文献8)）、乳癌（Bonnet, M. et al., J. Natl. Cancer Inst., 91: 1376-1381 (1999) (非特許文献9)）および肝細胞癌（Sugawara, Y. et al., Virology, 256: 196-202 (1999) (非特許文献10)）を有する患者において見出される。

10

【0004】

がんのための免疫療法の様式としての養子細胞移植（ACT）は、血液悪性疾患および悪性黒色腫の治療において顕著な成功を収めている。キメラ抗原受容体（CAR）を発現する遺伝子操作されたT細胞を使用して、CD19またはGD2などの腫瘍関連抗原（TAA）を特異的に標的とするACTの一形態は、B細胞悪性腫瘍などの疾患を治療するための臨床試験において有望な結果を示している。

【0005】

血液悪性腫瘍を有する患者におけるCAR-T細胞療法の実証された成功にかかわらず、固形腫瘍ではわずかな応答だけが観察されている。この原因の一部は、免疫抑制性腫瘍微小環境の確立にあるとすることができる。そのような環境は、T細胞における抑制性受容体（IR）の発現増加によって媒介されるいくつかの内因性抑制経路のアップレギュレーションを伴い、IRは、腫瘍内のそれらの同族リガンドと反応する（Ping Y, et al, Protein Cell 2018, 9(3):254-266 (非特許文献11)）。加えて、天然のT細胞受容体（TCR）とは異なり、CARは、主要組織適合クラス（MHC）非依存的に細胞表面のTAAを直接的かつ選択的に認識することができる。高密度のTAAは、CAR-T細胞による固形腫瘍浸透に影響を及ぼし得る。しかし、がん細胞表面においてMHC依存性の標的抗原が不足しているため、天然TCRを模倣する遺伝子改変TCRを有するT細胞は、CAR-T細胞よりもずっと深く浸透することができる。TCRは、MHCとの関連で細胞内抗原または細胞外抗原のいずれかを認識し得る。腫瘍を標的とするTCRを設計する場合、細胞内腫瘍抗原を標的とするための選択肢を有することは、有利であり得る。（Fesnak AD, et al. Nat Rev Cancer. 2016 Aug 23; 16(9): 566-581. (非特許文献12)）

20

30

【0006】

これまでに、CTLA-4、T細胞IgMチン-3（TIM-3）、リンパ球活性化遺伝子3（LAG-3）、およびプログラム細胞死-1（PD-1）などのいくつかのIRが、T細胞において特徴づけられている。これらの分子は、慢性疾患およびがんにおけるT細胞の持続的活性化に続いてアップレギュレーションされ、それらは、T細胞の機能障害および疲弊を促進し、したがって、結果として免疫サーベイランスからの腫瘍の逃避をもたらす。他のIRと異なり、PD-1は、T細胞の活性化の直後にアップレギュレーションされ、次にPD-1の2つのリガンド、PD-L1またはPD-L2の一方との相互作用を介してT細胞のエフェクター機能を抑制する。PD-L1は、T細胞、B細胞、マクロファージ、および樹状細胞（DC）上で構成的に発現する。PD-L1は、多種多様な固形腫瘍において豊富に発現することも示されている。対照的に、正常組織におけるPD-L1の発現は、検出不能である。PD-1は、免疫抑制におけるその重要な役割の結果として、T細胞に対するそのマイナスの影響を中和して抗腫瘍応答を高めることを目指す最近の研究の焦点であった。臨床試験は、PD-1のブロックが結腸直腸癌、腎癌、肺癌、および黒色腫における腫瘍退縮を顕著に媒介することを実証している。（Chae YK, et al, J Immunother Cancer. 2018; 6: 39; Le DT, et al. N Engl J Med 2015; 372: 2509-20. (非特許文献13)）

40

【0007】

TGF リガンドおよびその受容体の両方は、治療標的として集中的に研究されている。3つのリガンドアイソフォームであるTGF 1、2および3があり、そのすべてがホモ二量

50

体として存在する。TGF RI、IIおよびIII型と呼ばれる3つのTGF 受容体 (TGF R) もある (Lopez-Casillas et al., J. Cell Biol. 1994; 124:557-68 (非特許文献14))。TGF RIは、シグナル伝達鎖であり、リガンドと結合することができない。TGF RIIは、高い親和性でリガンドTGF 1および3と結合するが、TGF 2とは結合しない。TGF RII/TGF 複合体は、TGF RIを動員してシグナル伝達複合体を形成する (Won et al., Cancer Res. 1999; 59:1273-7 (非特許文献15))。TGF RIIIは、TGF のシグナル伝達受容体に結合するTGF の正の調節物質であり、3つのTGF アイソフォームすべてと高い親和性で結合する。細胞表面で、TGF /TGF RIII複合体はTGF RIIと結合し、次いでTGF RIを動員し、TGF RIはTGF RIIIと置き換わってシグナル伝達複合体を形成する。

【0008】

10

3つの異なるTGF アイソフォームはすべて、同じ受容体を通じてシグナル伝達するものの、それらは、インピボで差次的発現パターンおよび重複しない機能を有することが知られている。3つの異なるTGF アイソフォームノックアウトマウスは、別個の表現型を有し、多数の非代償性機能があることを示している (Bujak et al., Cardiovasc Res. 2007; 74: 184-95 (非特許文献16))。したがって、それぞれ腫瘍微小環境および心臓生理学におけるTGF 1およびTGF 2の主な役割を考えれば、TGF 2ではなくTGF 1を中和する治療剤は、抗腫瘍活性を損なわずに心毒性を最小限にすることによって、最適な治療係数を提供することもできる。

【0009】

従来の免疫チェックポイント阻害因子の有望な臨床活性にもかかわらず、治療有効性を向上させること、もしくは毒性を低下させることのいずれか、またはその両方によって治療係数を増加させることは、依然として抗がん免疫療法の開発の中心的な目標である。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0010】

【文献】Brink AA, 1997, J Clin Pathol 50: 911-918.

【文献】Young LS, 2004, Nat Rev Cancer 4: 757-768

【文献】Hochberg D, 2004, Proc Natl Acad Sci U S A 101: 239-244

【文献】Mutirangura et al., Clin Cancer Res. 4: 665-9 (1998)

【文献】Lo et al., Cancer Res. 59: 1188-91 (1999)

30

【文献】Lei et al., Br J Haematol. 111:239-46 (2000)

【文献】Gallagher et al., Int J Cancer. 84: 442-8 (1999)

【文献】Dronet et al., J Med Viral. 57: 383-9 (1999)

【文献】Bonnet, M. et al., J. Natl. Cancer Inst., 91: 1376-1381 (1999)

【文献】Sugawara, Y. et al., Virology, 256: 196-202 (1999)

【文献】Ping Y, et al, Protein Cell 2018, 9(3):254-266

【文献】Fesnak AD, et al. Nat Rev Cancer. 2016 Aug 23; 16(9): 566-581.

【文献】Chae YK, et al, J Immunother Cancer. 2018; 6: 39; Le DT, et al. N Engl J Med 2015; 372: 2509-20.

【文献】Lopez-Casillas et al., J. Cell Biol. 1994; 124:557-68

40

【文献】Won et al., Cancer Res. 1999; 59:1273-7

【文献】Bujak et al., Cardiovasc Res. 2007; 74: 184-95

【発明の概要】

【0011】

本開示は、抗LMP2 TCRをコードする核酸を含む改変T細胞であって、抗LMP2 TCRが、腫瘍におけるLMP2に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体 (TCR) である、改変T細胞を提供する。

【0012】

本発明の一局面において、抗LMP2 TCRは、以下のモチーフ配列を含む：それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 1の鎖CDR1 (27~32位)、鎖CDR2 (50~56位)、鎖CDR3

50

(90~101位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 2の鎖CDR1(27~31位)、鎖CDR2(49~54位)、鎖CDR3(92~106位)。別の態様において、抗LMP2 TCRは、SEQ ID NO: 1の鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 2の鎖可変ドメインを含む。さらなる態様において、遺伝子改変TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 3およびSEQ ID NO: 4に示される配列を含む。

【0013】

本発明の別の局面において、抗LMP2 TCRは、それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 5の鎖CDR1(25~30位)、鎖CDR2(48~54位)、鎖CDR3(89~100位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 6の鎖CDR1(25~29位)、鎖CDR2(47~52位)、鎖CDR3(91~103位)を含む。さらなる態様において、抗LMP2 TCRは、SEQ ID NO: 5の鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 6の鎖可変ドメインを含む。好ましい態様において、遺伝子改変TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 7およびSEQ ID NO: 8に示される配列を含む。

10

【0014】

本発明の別の局面において、抗LMP2 TCRは、それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 9の鎖CDR1(32~37位)、鎖CDR2(55~61位)、鎖CDR3(96~108位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 10の鎖CDR1(25~29位)、鎖CDR2(47~52位)、鎖CDR3(90~105位)を含む。さらなる態様において、抗LMP2 TCRは、SEQ ID NO: 9の鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 10の鎖可変ドメインを含む。好ましい態様において、遺伝子改変TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 11およびSEQ ID NO: 12に示される配列を含む。

20

【0015】

本発明の別の局面において、抗LMP2 TCRは、構成的に発現される。

【0016】

本発明の別の局面において、改変T細胞は、腫瘍における抑制性受容体の機能または発現を低下させる抑制性タンパク質をさらに含む。

【0017】

いくつかの態様において、抑制性タンパク質は免疫チェックポイント阻害因子である。

【0018】

いくつかの態様において、抑制性タンパク質は、プログラム細胞死タンパク質1(PD-1)をブロックし、ここで、該タンパク質は単鎖抗体(scFv)である。好ましい態様において、抑制性タンパク質は、構成的に発現される。

30

【0019】

本発明の一局において、前述の改変T細胞と、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物が提供される。また、それを必要とする対象に治療有効量の薬学的組成物を投与する段階を含む、がんを治療するための方法であって、該がんが、鼻咽頭癌、ホジキンリンパ腫、パーキットリンパ腫、または胃癌である、方法が提供される。

【0020】

いくつかの態様において、当該方法は、化学療法または放射線療法を含む既存の治療法の治療有効量を対象に施す段階をさらに含む。いくつかの態様において、細胞および既存の治療法は、順次または同時に投与される。

40

【0021】

本発明はまた、(a)腫瘍における抗原に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体；(b)腫瘍における免疫チェックポイントの機能または発現を低下させる抑制性タンパク質；および(c)形質転換増殖因子(TGF-)ファミリーのメンバーに結合するタンパク質、をコードする核酸を含む、改変T細胞を提供する。これらの改変T細胞は、低減したT細胞疲弊を示し；したがって、それらは、より強い抗腫瘍応答を誘導する能力を有する。標的とされる形質転換増殖因子(TGF-)は、TGF- 1、2または3であることができる。

【0022】

50

本発明の一局面において、免疫チェックポイントは、PD-1、PD-L1、およびCTLA-4のうちの1つまたは複数を含む。いくつかの態様において、抑制性タンパク質は、プログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) をブロックし、ここで、該タンパク質は単鎖抗体 (scFv) である。

【0023】

本発明の一局面において、腫瘍抗原は、ヒトパピローマウイルス (HPV) またはエプスタイン-バーウイルス (EBV) 抗原である。いくつかの態様において、遺伝子改変T細胞受容体は抗LMP2 TCRである。いくつかの態様において、抗LMP2 TCRは、SEQ ID NO: 1、5または9からなる群より選択される鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 2、6または10からなる群より選択される鎖可変ドメインを含む。いくつかの態様において、抗LMP2 TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 3およびSEQ ID NO: 4を含む。いくつかの態様において、抗LMP2 TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 7およびSEQ ID NO: 8を含む。いくつかの態様において、抗LMP2 TCRをコードする核酸は、SEQ ID NO: 11およびSEQ ID NO: 12を含む。いくつかの態様において、遺伝子改変T細胞受容体は、抗E6または抗E7 TCRである。

10

【0024】

本発明の別の局面において、遺伝子改変TCRは、構成的に発現される。

【0025】

本発明の一局面において、形質転換増殖因子ファミリーのメンバーを標的とする結合タンパク質は、ヒトTGFβRIIのフラグメントを含む。一態様において、当該結合タンパク質は、TGFβRIIの細胞外ドメイン (ECD) (SEQ ID NO: 13) を含む。

20

【0026】

本発明の一局面において、抑制性タンパク質および/またはTGFβ結合タンパク質は、構成的に発現される。

【0027】

本発明は、(a) 腫瘍における抗原に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体をコードする核酸；(b) 腫瘍における免疫チェックポイントの機能または発現を低下させる抑制性タンパク質をコードする核酸；および(c) 形質転換増殖因子 (TGFβ) ファミリーのメンバーに結合するタンパク質をコードする核酸を含む、前述の核酸を含むベクターをさらに提供し、ここで、ベクターは、好ましくはレトロウイルスベクターである。

30

【0028】

本発明の一局面において、前述の改変T細胞と、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物が提供される。また、それを必要とする対象に治療有効量の薬学的組成物を投与する段階を含む、がんを治療するための方法であって、がんが、主としてウイルス関連悪性腫瘍である、方法が提供される。

【0029】

いくつかの態様において、がんは、HPV陽性またはEBV陽性のがんである。いくつかの態様において、EBV関連がんは、鼻咽頭癌、ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、または胃癌であることができるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様において、HPV関連がんは、子宮頸癌、肛門癌、中咽頭癌、または生殖器癌であることができるが、それらに限定されるわけではない。

40

【0030】

本発明の一局面において、腫瘍は、ウイルス関連腫瘍またはウイルスがん遺伝子に関連する腫瘍である。

【0031】

いくつかの態様において、当該方法は、化学療法または放射線療法を含む既存の治療法の治療有効量を対象に施す段階をさらに含む。いくつかの態様において、細胞および既存の治療法は、順次または同時に投与される。

【0032】

本発明の別の局面において、遺伝子改変T細胞を産生する方法は、3つの導入遺伝子：(

50

1) 腫瘍における抗原に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体の鎖、(2) 同じTCRの鎖、ならびに(3) GSリンカーで連結された新規な免疫チェックポイント阻害因子(IC1)の重鎖可変領域および軽鎖可変領域が、可変重鎖のC末端で可動性リンカーペプチドを介してTCR RIIの細胞外ドメインのリガンド結合配列に融合したものを、含有するベクターを導入する段階を含み、ここで、該ベクターは、レトロウイルスベクターを含むが、それに限定されるわけではない。さらなる態様において、3つの導入遺伝子は、2A配列によって連結されている。いくつかの態様において、遺伝子改変TCRは、シグナルペプチド配列をさらに含む。

【0033】

一局面において、本開示は、可変(Va)領域を含む鎖および可変(Vb)領域を含む鎖を含む、T細胞受容体(TCR)またはその抗原結合性フラグメントに関する。

10

【0034】

いくつかの態様において、

(1) Va領域が、SEQ ID NO: 1の相補性決定領域1(CDR1)、相補性決定領域2(CDR2)、および相補性決定領域3(CDR3)をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、Vb領域が、SEQ ID NO: 2のCDR1、CDR2、およびCDR3をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；

(2) Va領域が、SEQ ID NO: 5のCDR1、CDR2、CDR3を含む、CDR1、CDR2、およびCDR3をそれぞれ含む、Vb領域が、SEQ ID NO: 6のCDR1、CDR2、およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または

20

(3) Va領域が、SEQ ID NO: 9のCDR1、CDR2、CDR3をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、Vb領域が、SEQ ID NO: 10のCDR1、CDR2、およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含む、TCRまたは抗原結合性フラグメントが、本明細書において提供される。

【0035】

いくつかの態様において、

(1) Va領域が、SEQ ID NO: 17~19のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、Vb領域が、SEQ ID NO: 20~22のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；

(2) Va領域が、SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、Vb領域が、SEQ ID NO: 26~28のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または

30

(3) Va領域が、SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、Vb領域が、SEQ ID NO: 32~34のアミノ酸、25~29位のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含む、TCRまたは抗原結合性フラグメントが、本明細書において提供される。

【0036】

いくつかの態様において、

Va領域が、SEQ ID NO: 1、5、もしくは9のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；かつ

40

Vb領域が、SEQ ID NO: 2、6、もしくは10のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、TCRまたは抗原結合性フラグメントが、本明細書において提供される。

【0037】

いくつかの態様において、LMP2のペプチドエピトープ(LLWTLVLL)(SEQ ID NO: 16)に結合するか、またはそれを認識する、TCRまたは抗原結合性フラグメントが、本明細書において提供される。

【0038】

50

いくつかの態様において、T細胞の表面において発現すると、標的がん細胞に対する細胞傷害活性を刺激する、TCRまたは抗原結合性フラグメントが、本明細書において提供される。任意で、いくつかの態様において、標的がん細胞は、EBV DNA配列を含有するか、またはLMP2を発現する。

【0039】

一局面において、本開示は、本明細書に記載されているTCRまたはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸を含むベクターに関する。

【0040】

いくつかの態様において、ベクターは、発現ベクター、ウイルスベクター、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。

10

【0041】

一局面において、本開示は、本明細書に記載されているベクターを含む改変細胞に関する。

【0042】

一局面において、本開示は、本明細書に記載されているTCRまたはその抗原結合性フラグメントを含む改変細胞に関する。

【0043】

いくつかの態様において、TCRまたはその抗原結合性フラグメントは、細胞に対して異種である。

【0044】

いくつかの態様において、改変細胞は細胞株である。いくつかの態様において、改変細胞は、対象（例えば、ヒト対象）から得られた初代細胞である。いくつかの態様において、改変細胞はT細胞である。いくつかの態様において、T細胞はCD8+である。いくつかの態様において、T細胞はCD4+である。

20

【0045】

一局面において、本開示は、本明細書に記載されているベクターをインビトロまたはエクスピボで細胞内に導入する段階を含む、改変細胞を産生するための方法に関する。

【0046】

いくつかの態様において、ベクターはウイルスベクターであり、導入する段階は、形質導入により実施される。

30

【0047】

一局面において、本開示は、疾患または障害を治療する方法であって、EBVに関連する疾患または障害を有する対象に、本明細書に記載されている改変細胞を投与する段階を含む、方法に関する。

【0048】

いくつかの態様において、EBVに関連する疾患または障害は、がんである。

【0049】

一局面において、本開示は、対象における腫瘍を治療する方法であって、それを必要とする対象に、(a)腫瘍における抗原に特異的に結合するTCRまたはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸を含む改変T細胞；および(b)チェックポイント阻害因子、または形質転換増殖因子 ファミリー(TGF-)のメンバーに結合するタンパク質、のうちのいずれか一方または両方を投与する段階を含む、方法に関する。

40

【0050】

一局面において、本開示は、対象における腫瘍を治療する方法であって、それを必要とする対象に、(a)腫瘍における抗原に特異的に結合するTCRまたはその抗原結合性フラグメント；および(b)チェックポイント阻害因子と、形質転換増殖因子 ファミリー(TGF-)のメンバーとを標的とする、二機能性trapタンパク質をコードする核酸を含む改変T細胞を投与する段階を含む、方法に関する。

【0051】

いくつかの態様において、腫瘍は、EBV誘発腫瘍またはHPV誘発腫瘍である。

50

【 0 0 5 2 】

特に定義されないかぎり、本明細書に使用されるすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。方法および材料が、本発明における使用のために本明細書に記載され、当技術分野において公知の他の適切な方法および材料も使用することができる。材料、方法、および例は、単に例証であり、限定することを意図しない。すべての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリー、および本明細書に言及される他の参考文献は、それらの全体が参照により本明細書に組み入れられる。矛盾する場合、定義を含む本明細書が優先される。

【 0 0 5 3 】

[本発明1001]

抗LMP2 TCRをコードする核酸を含む改変T細胞であって、該抗LMP2 TCRが、腫瘍におけるLMP2に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体を含む、改変T細胞。

10

[本発明1002]

前記抗LMP2 TCRが、それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 1の鎖CDR1(27~32位)、鎖CDR2(50~56位)、鎖CDR3(90~101位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 2の鎖CDR1(27~31位)、鎖CDR2(49~54位)、鎖CDR3(92~106位)を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1003]

前記抗LMP2 TCRが、SEQ ID NO: 1を含む鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 2を含む鎖可変ドメインを含む、本発明1001の改変T細胞。

20

[本発明1004]

前記核酸が、SEQ ID NO: 3およびSEQ ID NO: 4を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1005]

前記抗LMP2 TCRが、それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 5の鎖CDR1(25~30位)、鎖CDR2(48~54位)、鎖CDR3(89~100位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 6の鎖CDR1(25~29位)、鎖CDR2(47~52位)、鎖CDR3(91~103位)を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1006]

前記抗LMP2 TCRが、SEQ ID NO: 5を含む鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 6を含む鎖可変ドメインを含む、本発明1001の改変T細胞。

30

[本発明1007]

前記核酸が、SEQ ID NO: 7およびSEQ ID NO: 8を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1008]

前記抗LMP2 TCRが、それぞれ、アミノ酸SEQ ID NO: 9の鎖CDR1(32~37位)、鎖CDR2(55~61位)、鎖CDR3(96~108位)およびアミノ酸SEQ ID NO: 10の鎖CDR1(25~29位)、鎖CDR2(47~52位)、鎖CDR3(90~105位)を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1009]

前記抗LMP2 TCRが、SEQ ID NO: 9を含む鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 10を含む鎖可変ドメインを含む、本発明1001の改変T細胞。

40

[本発明1010]

前記核酸が、SEQ ID NO: 11およびSEQ ID NO: 12を含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1011]

前記抗LMP2 TCRを構成的に発現する、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1012]

腫瘍における抑制性受容体の機能または発現を低下させる抑制性タンパク質をさらに含む、本発明1001の改変T細胞。

[本発明1013]

前記抑制性タンパク質が免疫チェックポイント阻害因子である、本発明1012の改変T細胞。

50

[本発明1014]

本発明1001～1013のいずれかの改変T細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

[本発明1015]

がんを治療するための方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の本発明1014の細胞を投与する段階を含む、方法。

[本発明1016]

前記がんが、鼻咽頭癌、ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、または胃癌である、本発明1015の方法。

[本発明1017]

化学療法または放射線療法を含む既存の治療法の治療有効量を前記対象に施す段階をさらに含む、本発明1016の方法。

[本発明1018]

前記細胞および既存の治療法が、順次または同時に投与される、本発明1017の方法。

[本発明1019]

(a) 腫瘍における抗原に特異的に結合する遺伝子改変T細胞受容体；
 (b) 腫瘍における免疫チェックポイントの機能または発現を低下させる抑制性タンパク質；および
 (c) 形質転換増殖因子ファミリー(TGF-)のメンバーに結合するタンパク質をコードする核酸を含む、改変T細胞。

[本発明1020]

前記免疫チェックポイントが、PD1、PD-L1、およびCTLA-4のうち1つまたは複数を含む、本発明1019の改変T細胞。

[本発明1021]

前記腫瘍における抗原が、ヒトパピローマウイルス(HPV)またはエプスタイン-バーウイルス(EBV)抗原を含む、本発明1019の改変T細胞。

[本発明1022]

前記遺伝子改変T細胞受容体が抗LMP2 TCRである、本発明1021の改変T細胞。

[本発明1023]

前記遺伝子改変T細胞受容体が抗E6 TCRである、本発明1021の改変T細胞。

[本発明1024]

前記結合タンパク質が、TGF RIIの細胞外ドメインを含む、本発明1019～1023のいずれかの改変T細胞。

[本発明1025]

前記抗LMP2 TCRが、SEQ ID NO: 1の鎖可変ドメインおよびSEQ ID NO: 2の鎖可変ドメインを含む、本発明1022の改変T細胞。

[本発明1026]

前記遺伝子改変抗原受容体をコードする核酸が、SEQ ID NO: 3およびSEQ ID NO: 4を含む、本発明1022の改変T細胞。

[本発明1027]

前記遺伝子改変TCRを構成的に発現する、本発明1019～1026のいずれかの改変T細胞。

[本発明1028]

TGF- を標的とする結合タンパク質を構成的に発現する、本発明1027の改変T細胞。

[本発明1029]

本発明1019の核酸を含む、ベクター。

[本発明1030]

レトロウイルスベクターである、本発明1029のベクター。

[本発明1031]

本発明1019～1028のいずれかの改変T細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

10

20

30

40

50

[本発明1032]がんを治療するための方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の本発明1031の細胞を投与する段階を含む、方法。[本発明1033]前記がんが、鼻咽頭癌、ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、または胃癌である、本発明1032の方法。[本発明1034]前記がんが、子宮頸癌、肛門癌、中咽頭癌、または生殖器癌である、本発明1032の方法。[本発明1035]化学療法または放射線療法を含む既存の治療法の治療有効量を前記対象に施す段階をさらに含む、本発明1033～1034のいずれかの方法。[本発明1036]前記細胞および既存の治療法が、順次または同時に投与される、本発明1035の方法。[本発明1037]前記腫瘍がウイルス関連腫瘍である、本発明1019～1028のいずれかの改変T細胞。[本発明1038]可変 (Va) 領域を含む 鎖および可変 (Vb) 領域を含む 鎖を含む、T細胞受容体 (TCR) またはその抗原結合性フラグメントであって、(1) 該Va領域が、SEQ ID NO: 1の相補性決定領域1 (CDR1)、相補性決定領域2 (CDR2)、および相補性決定領域3 (CDR3) をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 2のCDR1、CDR2、およびCDR3をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；(2) 該Va領域が、SEQ ID NO: 5のCDR1、CDR2、CDR3をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 6のCDR1、CDR2、およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または(3) 該Va領域が、SEQ ID NO: 9のCDR1、CDR2、CDR3をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 10のCDR1、CDR2、およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含む、TCRまたはその抗原結合性フラグメント。[本発明1039](1) 前記Va領域が、SEQ ID NO: 17～19のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、前記Vb領域が、SEQ ID NO: 20～22のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；(2) 該Va領域が、SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 26～28のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含むか；または(3) 該Va領域が、SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含み、該Vb領域が、SEQ ID NO: 32～34のアミノ酸、25～29位のアミノ酸をそれぞれ含む、CDR1、CDR2、およびCDR3を含む、本発明1038のT細胞受容体 (TCR) またはその抗原結合性フラグメント。[本発明1040]前記Va領域が、SEQ ID NO: 1、5、もしくは9のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；かつ前記Vb領域が、SEQ ID NO: 2、6、もしくは10のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1038のT細胞受容体 (TCR) またはその抗原結合性フラグメント。[本発明1041]

10

20

30

40

50

LMP2のペプチドエピトープ(LLWTLVLL)(SEQ ID NO: 16)に結合するか、またはそれを認識する、本発明1038~1040のいずれかのTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

[本発明1042]

前記TCRまたはその抗原結合性フラグメントが、T細胞の表面において発現すると、標的がん細胞に対する細胞傷害活性を刺激し、任意で、該標的がん細胞が、EBV DNA配列を含有するか、またはLMP2を発現する、本発明1038~1041のいずれかのTCRまたはその抗原結合性フラグメント。

[本発明1043]

本発明1038~1042のいずれかのTCRまたはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸を含む、ベクター。

10

[本発明1044]

発現ベクター、ウイルスベクター、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1043のベクター。

[本発明1045]

本発明1043~1044のいずれかのベクターを含む、改変細胞。

[本発明1046]

本発明1038~1042のいずれかのTCRまたはその抗原結合性フラグメントを含む、改変細胞。

[本発明1047]

前記TCRまたはその抗原結合性フラグメントが、前記細胞に対して異種である、本発明1046の改変細胞。

20

[本発明1048]

細胞株である、本発明1045~1047のいずれかの改変細胞。

[本発明1049]

対象(例えば、ヒト対象)から得られた初代細胞である、本発明1045~1047のいずれかの改変細胞。

[本発明1050]

T細胞である、本発明1045~1047のいずれかの改変細胞。

[本発明1051]

前記T細胞がCD8+である、本発明1050の改変細胞。

30

[本発明1052]

前記T細胞がCD4+である、本発明1050の改変細胞。

[本発明1053]

本発明1043または1044のベクターをインピトロまたはエクスピボで細胞内に導入する段階を含む、改変細胞を産生するための方法。

[本発明1054]

前記ベクターがウイルスベクターであり、前記導入する段階が、形質導入により実施される、本発明1053の方法。

[本発明1055]

疾患または障害を治療する方法であって、EBVに関連する疾患または障害を有する対象に、本発明1045~1052のいずれかの改変細胞を投与する段階を含む、方法。

40

[本発明1056]

前記EBVに関連する疾患または障害が、がんである、本発明1055の方法。

[本発明1057]

対象における腫瘍を治療する方法であって、それを必要とする該対象に、

(a) 腫瘍における抗原に特異的に結合するTCRまたはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸を含む、改変T細胞；および

(b) チェックポイント阻害因子、または形質転換増殖因子 ファミリー(TGF-)のメンバーに結合するタンパク質、のうちのいずれか一方または両方

50

を投与する段階を含む、方法。

[本発明1058]

対象における腫瘍を治療する方法であって、それを必要とする該対象に、

(a) 腫瘍における抗原に特異的に結合するTCRまたはその抗原結合性フラグメント；および

(b) チェックポイント阻害因子と、形質転換増殖因子ファミリー (TGF-) のメンバーとを標的とする、二機能性trapタンパク質

をコードする核酸を含む改変T細胞を投与する段階を含む、方法。

[本発明1059]

前記腫瘍が、EBV誘発腫瘍またはHPV誘発腫瘍である、本発明1057または1058の方法。

10

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および図面から、ならびに特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0054】

例示的な態様は、参照された図面において例証される。本明細書に開示される態様および図面は、限定的ではなく例証的と見なされるべきであることが意図される。

【0055】

【図1】図1Aは、MP71レトロウイルスベクター構築物を示す模式図である。P2Aは、2A自己切断型ペプチドをコードし；Vaは、ヒト抗LMP2 TCRの鎖の可変領域をコードし；Vbは、ヒト抗LMP2 TCRの鎖をコードし；Caは、TCR鎖の定常領域をコードし；Cbは、TCR鎖の定常領域をコードし；HGH\SSおよびHGH\SS\2は、シグナルペプチド（それぞれSEQ ID NO: 14および15）である。は、ウイルスRNA上のパッケージング配列を示す。図1Bは、MP71レトロウイルスベクター構築物を示す模式図である。P2AおよびT2Aは、2A自己切断型ペプチドをコードし；Vaは、遺伝子改変ヒトTCRの鎖の可変領域をコードし；Vbは、遺伝子改変ヒトTCRの鎖をコードし；Caは、TCR鎖の定常領域をコードし；Cbは、TCR鎖の定常領域をコードし；HGH\SSおよびHGH\SS\2はシグナルペプチド（それぞれSEQ ID NO: 14および15）であり；ICI-ScFvは、GSリンカーで連結された免疫チェックポイント阻害因子（ICI）の重鎖可変領域および軽鎖可変領域をコードし；TGF RIIは、TCR RIIの細胞外ドメインのリガンド結合配列をコードし；リンカーは、可変重鎖のC末端の可動性リンカーペプチドである。

20

30

【図2】図2Aは、L201 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。図2Bは、L201 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。

【図3】図3Aは、L201 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。図3Bは、L201 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。

【図4】図4Aは、L202 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。図4Bは、L202 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。

【図5】図5Aは、L202 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。図5Bは、L202 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。

【図6】図6Aは、L203 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。図6Bは、L203 TCRの鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。

40

【図7】図7Aは、L203 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。図7Bは、L203 TCR鎖可変ドメインをコードするDNA配列を示す。

【図8】HGH\SSシグナルペプチドのアミノ酸配列およびHGH\SS\2シグナルペプチドのアミノ酸配列を示す。

【図9】L201、L202、およびL203の構築物を形質導入されたヒトT細胞のTCR発現のフローサイトメトリーの結果を示すグラフのセットであり、その際、CD3、CD4、およびCD8を同時に染色し、生存CD3+リンパ球ゲーティング戦略を使用した。NTは、形質導入されていない対照である。TCR発現は、マウスTCR染色により示される。

【図10】抗原特異的な刺激を受けたTCR-T細胞のフローサイトメトリーの結果を示すグラフのセットであり、その際、CD3、CD8、および細胞内IFN-を染色した。L201、L2

50

02、およびL203構築物を使用して細胞に形質導入した。NTは、形質導入されていない対照である。

【図11A】抗LMP2 TCR L201を含有するTCR-T細胞の活性化曲線を示すグラフである。TCR-T細胞を、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、細胞内IFN- γ を発現しているT細胞の割合(%, Y軸)をフローサイトメトリーにより測定した。50%有効濃度(EC50)を決定した。

【図11B】抗LMP2 TCR L202を含有するTCR-T細胞の活性化曲線を示すグラフである。TCR-T細胞を、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、細胞内IFN- γ を発現しているT細胞の割合(%, Y軸)をフローサイトメトリーにより測定した。50%有効濃度(EC50)を決定した。

10

【図11C】抗LMP2 TCR L203を含有するTCR-T細胞の活性化曲線を示すグラフである。TCR-T細胞を、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、細胞内IFN- γ を発現しているT細胞の割合(%, Y軸)をフローサイトメトリーにより測定した。50%有効濃度(EC50)を決定した。

【図12】抗原特異的な刺激を受けたTCR-T細胞の長期IFN- γ 産生を示すヒストグラムである。L201 TCRを発現するようにヒトT細胞に形質導入し(TCR形質導入)、または形質導入せずに(陰性対照として)、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:0、1:1、または3:1のエフェクター対標的(E:T)比で共培養し、ヒトIFN- γ ELISAキットを使用してIFN- γ の産生を測定した。

【図13】図13Aは、L201 TCR-T細胞による標的細胞の特異的殺傷率(%)を示すヒストグラムである。EBVペプチドをパルスしたAPCを、L201 TCR-T細胞と共に1:1または3:1のエフェクター対標的比で共培養し、APCの細胞死を測定することにより、TCR-T細胞の細胞傷害性を決定した。L201 TCRを発現するようにヒトT細胞に形質導入した(TCR形質導入)か、または形質導入しなかった(陰性対照として)。図13Bは、L202 TCR-T細胞による標的細胞の特異的殺傷率(%)とE:T比との関係を示すグラフである。標的および非標的細胞(1:1の比で混合)を、L202 TCR-T細胞と共に、表示されているエフェクター対標的比で共培養し、標的細胞のアポトーシスを測定することにより、TCR-T細胞の細胞傷害性を決定した。

20

【図14】E6、E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RIIの構築物を形質導入されたヒトT細胞のTCR発現のフローサイトメトリーの結果を示すグラフのセットであり、その際、CD3、CD4、およびCD8を同時に染色し、生存CD3+リンパ球ゲーティング戦略を使用した。NTは、形質導入されていない対照である。TCR発現をマウスTCR染色により示す。長方形ボックス内のシグナルを全シグナルで割ったものにより、TCRの割合(%)を定義する。E6は、抗E6 TCRを指す。PD1-TGF RIIは、抗PD-1単鎖Fv(scFV)のC末端にヒトTGF RIIの細胞外ドメイン(TGF trap)が連結された融合タンパク質を指す。PDL1-TGF RIIは、抗PD-L1 scFVのC末端にTGF trapが連結された融合タンパク質を指す。HAC-TGF RIIは、HACと名づけられたPD-L1結合タンパク質のC末端にTGF trapが連結された融合タンパク質を指す。gp120-TGF RIIは、抗gp120 scFVのC末端にTGF trapが連結された融合タンパク質対照を指す。

30

【図15】図15Aは、抗原特異的な刺激を受けて細胞内IFN- γ を発現しているTCR-T細胞の割合(%, Y軸)を示すヒストグラムである。NTは、形質導入されていない対照である。E6、E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCRを発現するTCR-T細胞を使用した。ペプチドをパルスしたA562-A2細胞を、TCR-T細胞と共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、細胞内IFN- γ を発現しているTCR-T細胞の割合(%, Y軸)をフローサイトメトリーにより測定した。図15Bは、E6、E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCRを発現するように形質導入されたTCR-T細胞のIFN- γ 産生レベルを示すヒストグラムである。NTは、形質導入されていない対照である。Ca Ski E6/E7細胞を、TCR-T細胞と共に1:0、1:1、または3:1のエフェクター対標的比で共培養し

40

50

、ヒトIFN- ELISAキットを使用して上清中のIFN- の産生を測定した。

【図16】E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCRを発現するように形質導入されたTCR-T細胞による標的細胞の特異的殺傷率(%)を示すヒストグラムである。NTは、形質導入されていない対照である。Ca Ski腫瘍細胞をTCR-T細胞と共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、標的細胞の細胞死を測定することにより、TCR-T細胞の細胞傷害性を決定した。

【図17】分泌されたscFv-TGF RIIのTGF に対する結合曲線を示すグラフのセットである。E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCRを発現するように形質導入された293T細胞により、分泌されたsc Fv-TGF RIIが産生された。ELISAにより結合活性を決定した。

10

【図18】ヒトCa Ski細胞におけるTGF の発現を示すヒストグラムである。CMは培地である。

【図19】抗原特異的刺激を受けたTCR-T細胞の増殖を示すヒストグラムである。カルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル(CFSE)陰性集団により増殖を決定した。NTは、形質導入されていない対照である。E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCRを発現するようにTCR-T細胞に形質導入した。

【図20】LMP2. PD1-TGF RII、LMP2. PDL1-TGF RII、LMP2.HAC-TGF RII、またはLMP2. gp120-TGF RII TCRの構築物を形質導入されたヒトT細胞におけるTCR発現のフローサイトメトリーの結果を示すグラフのセットである。

20

【図21】抗原特異的な刺激を受けたTCR-T細胞のフローサイトメトリーの結果を示すグラフのセットであり、その際、CD3、CD8、および細胞内IFN- を染色した。L201-PD1 trap (L201. PD1-TGF RII)、L201-PDL1 trap (L201. PDL1-TGF RII)、L201-HAC trap (L201.HAC-TGF RII)、およびL201-gp210 trap (L201. gp120-TGF RII)が、細胞に形質導入するために使用した構築物である。NTは、形質導入されていない対照である。

【図22】図22Aは、抗原特異的刺激を受けた細胞内IFN- を発現しているTCR-T細胞の割合(%、Y軸)を示すヒストグラムである。NTは、形質導入されていない対照である。L201-PD1 trap (L201. PD1-TGF RII) TCR、L201-PDL1 trap (L201. PDL1-TGF RII) TCR、L201-HAC trap (L201.HAC-TGF RII) TCR、またはL201-gp210 trap (L201. gp120-TGF RII) TCRを発現するTCR-T細胞を使用した。ペプチドをパルスしたA562-A2細胞をTCR-T細胞と共に1:1のエフェクター対標的比で共培養し、細胞内IFN- を発現しているTCR-T細胞の割合(%、Y軸)をフローサイトメトリーにより測定した。図22Bは、L201-PD1 trap (L201. PD1-TGF RII) TCR、L201-PDL1 trap (L201. PDL1-TGF RII) TCR、L201-HAC trap (L201.HAC-TGF RII) TCR、またはL201-gp210 trap (L201. gp120-TGF RII) TCRを発現するように形質導入されたTCR-T細胞のIFN- 産生レベルを示すヒストグラムである。NTは、形質導入されていない対照である。Ca Ski E6/E7細胞を、TCR-T細胞と共に1:0、1:2、1:1、または3:1のエフェクター対標的比で共培養し、ヒトIFN- ELISAキットを使用して上清中のIFN- 産生を測定した。

30

40

【図23】L201-trap TCR-T細胞による標的細胞の特異的殺傷率(%)とE:T比との関係を示すグラフである。標的細胞を、L201-PD1 trap (L201. PD1-TGF RII) TCR、L201-PDL1 trap (L201. PDL1-TGF RII) TCR、L201-HAC trap (L201.HAC-TGF RII) TCR、またはL201-gp210 trap (L201. gp120-TGF RII) TCRを発現するように形質導入されたTCR-T細胞と共に、表示されているエフェクター対標的(E:T)比で共培養し、標的細胞の細胞死を測定することにより、TCR-T細胞の細胞傷害性を決定した。

【図24A】L202 TCR-T細胞または形質導入されていない細胞による処置後のマウスにおける個別の黒色腫瘍体積を示すグラフである。

【図24B】L202 TCR-T細胞または形質導入されていない細胞による処置後のマウスに

50

おける平均黒色腫瘍体積を示すグラフである。

【図 2 4 C】表示されているコホートにおける動物の腫瘍体積の変化倍率（20日目/0日目）を示すグラフである。

【図 2 4 D】L202 TCR-T細胞または形質導入されていない細胞を投与した後の、表示されている日における動物の平均重量を示すグラフである。

【図 2 5】3つのT細胞受容体のCDR配列を示す。

【図 2 6 - 1】本開示に記載されている配列を提供する。

【図 2 6 - 2】本開示に記載されている配列を提供する。

【図 2 6 - 3】本開示に記載されている配列を提供する。

【図 2 6 - 4】本開示に記載されている配列を提供する。

【図 2 6 - 5】本開示に記載されている配列を提供する。

【図 2 6 - 6】本開示に記載されている配列を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0056】

発明の詳細な説明

以下の態様およびその局面は、システム、組成物および方法と合わせて記載されかつ例証されており、それらは例示的かつ例証的であり、範囲において限定的でないことが意図される。

【0057】

定義

本明細書に使用される「含む (comprising)」または「含む (comprise)」という用語は、態様に有用な組成物、方法、およびそれらのそれぞれの構成要素を参照して使用されるものの、有用であろうとなかろうと不特定の要素の包含を排除しない。概して、本明細書に使用される用語は、一般的に「非限定の」用語 (open terms) として意図されることが、当業者によって理解されるであろう (例えば、「含む (including)」という用語は、「含むが、それに限定されるわけではない」として解釈すべきであり、「有する (having)」という用語は、「少なくとも有する」として解釈すべきであり、「含む (include)」という用語は、「含むが、それに限定されるわけではない」として解釈すべきである、等)。

【0058】

特に述べないかぎり、本出願の特定の態様を (特に特許請求の範囲に関連して) 記載することに関連して使用される「a」および「an」および「the」という用語および類似の言及は、単数および複数の両方を包含すると解釈することができる。本明細書における値の範囲の記載は、単に、別々の値が各々その範囲内に入ることを個別に参照する短縮法として役立つことが意図される。本明細書に特に示さないかぎり、各個別の値は、それが本明細書において個別に記載された場合のように、本明細書に組み入れられる。本明細書に記載されるすべての方法は、本明細書に特に示さないかぎり、または文脈と特に明らかに矛盾しないかぎり、任意の適切な順序で行うことができる。すべての例、または本明細書におけるある特定の態様に関して提供される例示的な言い回し (例えば「など (such as)」) の使用は、単に、本出願をより明らかにすることが意図されるのであって、別に主張された本出願の範囲に限定をもたらすものではない。「例えば (e.g.)」という省略形は、ラテン語 *exempli gratia* に由来し、本明細書において非限定的な例を示すために使用される。したがって、「例えば (e.g.)」という省略形は、「例えば (for example)」という用語と同義である。本明細書における言い回しは、本出願の実施に不可欠な、請求されていないいかなる要素を示すものと解釈されるべきではない。

【0059】

本明細書に使用される「約」という用語は、量、期間、およびその他などの測定可能な値を指し、特定の値から $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ または $\pm 0.1\%$ の変動を包含する。

【0060】

10

20

30

40

50

本明細書に使用される「抗体」という用語は、インタクトな免疫グロブリンを指すか、あるいはFc（結晶化可能フラグメント）領域またはFc領域のFcRn結合性フラグメント（本明細書において「Fcフラグメント」もしくは「Fcドメイン」と呼ばれる）を有するモノクローナルまたはポリクローナル抗原結合性フラグメントを指す。抗原結合性フラグメントは、組換えDNA技術により、またはインタクトな抗体の酵素的もしくは化学的切断により産生され得る。抗原結合性フラグメントは、とりわけ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、dAb、および相補性決定領域（CDR）フラグメント、単鎖抗体（scFv）、単ドメイン抗体、キメラ抗体、ダイアボディー（diabody）、およびポリペプチドに特異的抗原結合性を付与するために十分な、免疫グロブリンの少なくとも一部分を含有するポリペプチドを含む。Fcドメインは、抗体の2または3つのクラスに寄与する2つの重鎖の部分を含む。Fcドメインは、組換えDNA技術により、またはインタクトな抗体の酵素的切断（例えばパパイ

10

【0061】

本明細書に使用される「抗体フラグメント」という用語は、一般的にインタクトな抗体の抗原結合部位を含み、したがって抗原と結合する能力を保持する、インタクトな抗体の一部だけを含むタンパク質フラグメントを指す。本定義によって包含される抗体フラグメントの例は：(i) VL、CL、VHおよびCH1ドメインを有するFabフラグメント；(ii) CH1ドメインのC末端に1つまたは複数のシステインを有するFabフラグメントであるFab'フラグメント；(iii) VHおよびCH1ドメインを有するFdフラグメント；(iv) VHおよびCH1ドメインならびにCH1ドメインのC末端に1つまたは複数のシステイン残基を有するFd'フラグメント；(v) 抗体の単一の腕のVLおよびVHドメインを有するFvフラグメント；(vi) VHドメインからなるdAbフラグメント（Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)）；(vii) 単離されたCDR領域；(viii) F(ab')₂フラグメント、すなわちヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された2つのFab'フラグメントを含む二価フラグメント；(ix) 単鎖抗体分子（例えば、単鎖Fv；scFv）（Bird et al., Science 242:423-426 (1988)；およびHuston et al., PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988)）；(x) 軽鎖可変ドメイン（VL）に同じポリペプチド鎖として結合された重鎖可変ドメイン（VH）を含む、2つの抗原結合部位を有する「ダイアボディー」（例えば、EP 404,097；WO93/11161；およびHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)）を参照されたい）；(xi) 相補性軽鎖ポリペプチドと一緒に抗原結合領域の対を形成する、タンデムFdセグメント対（VH-CH1-VH-CH1）を含む「線状抗体」（Zapata et al. Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)；および米国特許第5,641,870号）を含む。

20

30

【0062】

本明細書に使用される「単鎖可変フラグメント」、「単鎖抗体可変フラグメント」または「scFv」抗体は、リンカーペプチドにより結合された重鎖可変領域（VH）および軽鎖可変領域（VL）だけを含む抗体の形態を指す。scFvは、単鎖ポリペプチドとして発現されることが可能である。scFvは、それが由来するインタクトな抗体の特異性を保持する。軽鎖および重鎖は、標的抗原に対するscFvの特異性が保持されるかぎり、任意の順序、例えば、VH-リンカー-VLまたはVL-リンカー-VHであってもよい。

【0063】

「結合タンパク質」という用語は、天然タンパク質結合ドメイン（サイトカイン、サイトカイン受容体など）、抗体フラグメント（Fab、scFv、ダイアボディー、可変ドメイン由来結合物質、VHHナノボディーなど）、別の足場由来タンパク質結合ドメイン（Fn3バリエーション、アンキリンリピートバリエーション、センチリン（centyrin）バリエーション、アビマー（avimer）、アフィボディー（affibody）など）または特異的抗原を認識する任意のタンパク質を指す。

40

【0064】

本明細書に使用される「抗原」という用語は、MHC分子によって提示された場合に抗体またはT細胞受容体（TCR）によって結合されることができ分子を指す。本明細書に使用される「抗原」という用語は、また、T細胞受容体によって認識されるT細胞エピトープ

50

を包含する。この認識は、T細胞の活性化に続いて、T細胞の増殖、サイトカイン分泌などのエフェクターメカニズムを引き起こす。抗原は、追加的に、免疫系によって認識されることが可能であり、かつ/またはBリンパ球および/もしくはTリンパ球の活性化をもたらす液性免疫応答および/もしくは細胞性免疫応答を誘導することが可能である。

【0065】

本明細書に使用される「HPV抗原」という用語は、ヒトパピローマウイルス(HPV)に由来するポリペプチド分子を指し、好ましくは、HPVは、HPV1、HPV2、HPV3、HPV4、HPV6、HPV10、HPV11、HPV16、HPV18、HPV26、HPV27、HPV28、HPV29、HPV30、HPV31、HPV33、HPV34、HPV35、HPV39、HPV40、HPV41、HPV42、HPV43、HPV45、HPV49、HPV51、HPV52、HPV54、HPV55、HPV56、HPV57、HPV58、HPV59、HPV68、HPV69より選択される。より好ましくは、HPVは、高リスクHPV、例えば、HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV59、HPV68、HPV69より選択される。いくつかの態様において、HPVポリペプチド分子は、E6およびE7より選択される。

10

【0066】

本明細書に使用される「EBV抗原」という用語は、エプスタイン-バーウイルス(EBV)由来のポリペプチド分子を指す。EBV抗原には、潜伏膜タンパク質(LMP1、LMP2A、およびLMP2B)ならびにエプスタイン-バー核抗原(EBNA1、-2、-3A、-3B、-3C、-LP)が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0067】

本明細書に使用される「末梢血細胞サブタイプ」という用語は、好酸球、好中球、T細胞、単球、K細胞、顆粒球、およびB細胞を含むが、それに限定されるわけではない、末梢血中に通常見出される細胞型を指す。

20

【0068】

本明細書に使用される「T細胞」という用語は、CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞を含む。T細胞という用語はまた、Tヘルパー1型T細胞およびTヘルパー2型T細胞の両方を含む。T細胞は、標的細胞表面の特異的抗原部分を認識する細胞表面受容体を発現する。細胞表面受容体は、標的細胞に関連する抗原性部分を認識することができる、野生型もしくは組換えT細胞受容体(TCR)、キメラ抗原受容体(CAR)、または任意の他の表面受容体であり得る。典型的には、TCRは、ある特定の細胞の表面のMHCタンパク質によって提示される特異的ペプチドに結合する2つのタンパク質鎖(鎖および鎖)を有する。TCRは、標的細胞の表面に発現されるMHC分子との関連でペプチドを認識する。TCRはまた、がん細胞の表面に直接提示されたがん抗原を認識する。

30

【0069】

本明細書に使用される「遺伝子操作された細胞(genetically modified cell)」、「再方向付けされた細胞(redirected cell)」、「改変細胞(engineered cell)」、「遺伝子改変細胞(genetically engineered cell)」または「操作された細胞(modified cell)」は、遺伝子改変抗原受容体およびチェックポイント阻害因子を発現する細胞を指す。いくつかの態様において、遺伝子操作された細胞は、遺伝子改変TCRをコードするベクターおよび1つまたは複数のチェックポイント阻害因子をコードするベクターを含む。いくつかの態様において、遺伝子操作された細胞は、遺伝子改変TCRおよび1つまたは複数のチェックポイント阻害因子をコードするベクターを含む。一態様において、遺伝子操作された細胞は、Tリンパ球(T細胞)である。一態様において、遺伝子操作された細胞は、ナチュラルキラー(NK)細胞である。

40

【0070】

本明細書に使用される「遺伝子改変」または「遺伝子操作」という用語は、コード領域、非コード領域もしくはその一部を欠失させることまたはコード領域もしくはその一部を挿入することを含むが、それに限定されるわけではない、細胞の核酸配列の改変を指す。

【0071】

本明細書に使用される「ベクター」、「クローニングベクター」または「発現ベクター

50

」という用語は、宿主に形質導入し、導入された配列の発現（例えば転写および翻訳）を促進するように、ポリヌクレオチド配列（例えば外来遺伝子）を宿主細胞内に導入することができる媒体を指す。ベクターは、プラスミド、ファージ、ウイルス、その他を含む。もっとも評判のよい種類のベクターは、関心対象の遺伝子を含む追加的なDNAセグメントがライゲーションされる場合がある閉鎖環状二本鎖DNAループを指す「プラスミド」である。別の種類のベクターは、輸送されるべき核酸構築物がウイルスゲノム中にライゲーションされるウイルスベクターである。ウイルスベクターは、それらが導入された宿主細胞中で自律複製することが可能であり、または宿主細胞のゲノム中にそれらを組み込み、それにより宿主ゲノムと共に複製される場合がある。さらに、ある特定のベクターは、それらが機能的に連結される遺伝子の発現を指示することが可能である。そのようなベクターは、本明細書において「組換え発現ベクター」または単に「発現ベクター」と呼ばれる。本発明は等価の機能を果たすそのような他の形態の発現ベクター、例えばウイルスベクター（例えば複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）を含むことが意図されると明記される場合がある。

【0072】

本明細書に使用される、「レトロウイルスベクター」または「組換えレトロウイルスベクター」という用語は、関心対象の核酸分子を保有する核酸構築物であって、ある特定の態様内でその発現を指示することができる核酸構築物を指す。レトロウイルスは、そのウイルスカプセル中にRNAの形態で存在し、宿主細胞中で複製した場合、二本鎖DNA中間体を形成する。同様に、レトロウイルスベクターは、RNAおよび二本鎖DNA形態の両方で存在し、その両方の形態が「レトロウイルスベクター」および「組換えレトロウイルスベクター」という用語に含まれる。「レトロウイルスベクター」および「組換えレトロウイルスベクター」という用語はまた、組換えDNAフラグメントを含有するDNA形態および組換えRNAフラグメントを含有するRNA形態を包含する。ベクターは、少なくとも1つの転写プロモーター/エンハンサー、または遺伝子発現を制御する他のエレメントを含み得る。そのようなベクターはまた、パッケージングシグナル、長末端反復配列（LTR）またはそれらの部分、ならびに使用されるレトロウイルスに適切なプラスおよびマイナス鎖プライマー結合部位（これらがレトロウイルスベクター中にまだ存在しない場合）を含み得る。任意で、ベクターはまた、ポリアデニル化を指示するシグナル、アンピシリン耐性、ネオマイシン耐性、TK、ヒグロマイシン耐性、フレオマイシン耐性、ヒスチジノール耐性、またはDHFRなどの選択マーカーのみならず、1つまたは複数の制限部位および翻訳終結配列を含み得る。例として、そのようなベクターは、5'LTR、リーディング配列、tRNA結合部位、パッケージングシグナル、第2鎖DNA合成起点、および3'LTRまたはその一部を含み得る。

【0073】

本明細書に使用される「リンカー」（L）または「リンカードメイン」または「リンカー領域」は、本発明のTCRのドメイン/領域のいずれかを一緒に連結する、約1~100アミノ酸長のオリゴペプチドまたはポリペプチド領域を指す。リンカーは、隣接タンパク質ドメインが相互に対して自由に移動するように、グリシンおよびセリンのような可動性残基から構成され得る。2つの隣接ドメインが相互に立体障害を及ぼさないことを保証することが望ましい場合、より長いリンカーが使用され得る。リンカーは、切断可能な場合と切断不可能な場合がある。切断可能なリンカーの例には、2Aリンカー（例えばT2A）、2A様リンカー、またはそれらの機能的等価物およびそれらの組み合わせが含まれる。いくつかの態様において、リンカーには、ピコルナウイルス2A様リンカー、ブタテッシュウウイルスのCHYSEL配列（P2A）、ゾセアアシグナ（*Thosea asigna*）ウイルス（T2A）、またはそれらの組み合わせ、バリエーション、および機能的等価物が含まれる。他の態様において、リンカー配列は、2Aグリシンと2Bプロリンとの間の切断を結果として生じるAsp-Val/Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly(2A)-Pro(2B)モチーフを含み得る。他のリンカーは、当業者により明らかであり、本発明の代替的な態様に関連して使用され得る。

【0074】

10

20

30

40

50

「薬学的製剤」という用語は、その中に含有される活性成分の生物学的活性を有効にさせる形態の調製物であって、製剤が投与される対象に許容されないほど毒性である追加的な構成要素を含有しない調製物を指す。

【0075】

「薬学的に許容される担体」は、活性成分以外の薬学的製剤中の成分であって、対象に無毒の成分を指す。薬学的に許容される担体は、緩衝剤、賦形剤、安定化剤、または保存剤を含むが、それに限定されるわけではない。

【0076】

本明細書に使用される「対象」は、ヒトまたは他の動物などの哺乳動物であり、典型的にはヒトである。いくつかの態様において、細胞、細胞集団、または組成物が投与される対象、例えば、患者は、哺乳動物であり、典型的にはヒトなどの霊長類である。いくつかの態様において、霊長類はサルまたは類人猿である。対象は、雄または雌であることができ、乳児期、年少期、青年期、成人期、および老年期の対象を含む、任意の適切な年齢であることができる。いくつかの態様において、対象は、げっ歯動物などの非霊長類哺乳動物である。

10

【0077】

「対照」という用語は、試験試料中の発現産物との比較を提供するのに適した任意の標準試料を指す。

【0078】

本明細書に使用される「抑制する」という用語は、例えば特定の作用、機能、または相互作用の任意の低減を指す。例えば、タンパク質の機能および/またはあるタンパク質の別のタンパク質への結合などの生物学的機能は、それが基準状態（例えば、野生型状態または適用される作用物質が存在しない状態のような対照）と比較して低減している場合、抑制されている。例えば、PD-1タンパク質の、そのリガンドのうちの1つもしくは複数（例えば、PD-L1および/もしくはPD-L2）への結合、ならびに/または結果として生じるPD-1シグナル伝達および免疫効果は、結合、シグナル伝達、および他の免疫効果が抗PD-1抗体などの作用物質との接触のせいで低減している場合、PD-1タンパク質が作用物質と接触されない場合と比較して、抑制されているかまたは欠損している。そのような抑制または欠損は、例えば特定の時間および/もしくは場所での作用物質の適用により誘導することができ、または連続的な投与などによって構成的であることができる。そのような抑制または欠損はまた、部分的または完全であることができる（例えば、野生型状態のような対照などの基準状態と比較して、本質的に測定可能な活性がない）。本質的に完全な抑制または欠損は、ブロックされていると称される。

20

30

【0079】

本明細書に使用される「病態」および「病状」は、がん、腫瘍、または感染症を含み得る。例示的な態様において、病態は、任意の形態の悪性腫瘍細胞増殖性の障害または疾患を含むが、それに少しも限定されない。例示的な態様において、病態は、腎癌、黒色腫、前立腺癌、乳癌、膠芽腫、肺癌、結腸癌、または膀胱癌のうちの任意の1つまたは複数を含む。

【0080】

「がん」および「がん性」は、アップレギュレーションされた細胞成長によって典型的に特徴づけられる、哺乳動物における生理的状态を指すまたはそれを記載する。「がん」という用語は、組織病理型または侵襲性の段階とは無関係に、すべての種類のがん性成長もしくは発がん過程、転移性組織または悪性形質転換細胞、組織、もしくは器官を含むことが意味される。固形腫瘍の例は、悪性腫瘍、例えば、様々な器官系の肉腫、腺癌、およびがん腫、例えば肝臓、肺、乳房、リンパ系、胃腸管（例えば、結腸）、尿生殖器（例えば、腎細胞、尿路上皮細胞）、前立腺および咽頭を冒すものを含む。腺癌は、大部分の結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝癌、非小細胞肺癌、小腸癌および食道癌などの悪性腫瘍を含む。一態様において、がんは、黒色腫、例えば、進行期黒色腫である。前述のがんの転移巣はまた、本発明の方法および組成物を使用して治療または予防することができる。治療

40

50

することができる他のがんの例は、骨癌、膵癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚または眼内悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、膣癌、外陰癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病を含む慢性または急性白血病、小児期固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓または尿管の癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS）腫瘍、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄腫瘍（spinal axis tumor）、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮癌、T細胞リンパ腫、アスベストにより誘発されるがんを含む環境に誘発されるがん、およびがんの組み合わせを含む。転移がん、例えばPD-L1を発現する転移がん（Iwai et al. (2005) Int. Immunol. 17:133-144）の治療は、本明細書に記載される抗体分子を使用してもたす

10

【0081】

本明細書に使用される「治療する（treat）」、「治療（treatment）」、「治療する（treating）」、または「改善」という用語は、治療的処置を指し、ここで、目的は、疾患または障害に関連する病態の進行または重症度を後退、軽減、改善、抑制、減速または停止させることである。「治療する」という用語は、がんなどの病態、疾患または障害の少なくとも1つの有害作用または症状を低減または軽減することを含む。1つまたは複数の症状または臨床マーカーが低減される場合、治療は概して「有効」である。あるいは、疾患の進行が低減するまたは止まる場合、治療は「有効」である。すなわち、「治療」は、症状またはマーカーの改善だけでなく、治療の非存在下で予期される症状の進行または悪化の休止または少なくとも減速も含む。有益なまたは所望の臨床結果は、検出可能であろうと検出不可能であろうと、1つまたは複数の症状の軽減、疾患の程度の減少、安定化した（すなわち、悪化していない）病状、疾患進行の遅延または減速、病状の改善または一時的緩和、および寛解（部分寛解であろうと全寛解であろうと）を含むが、それに限定されるわけではない。疾患の「治療」という用語はまた、疾患の症状または副作用からの解放を提供することを含む（姑息治療を含む）。いくつかの態様において、がんの治療は、腫瘍体積を減少させること、がん細胞数を減少させること、がんの転移を抑制すること、期待寿命を伸ばすこと、がん細胞の増殖を減少させること、がん細胞の生存を減少させること、またはがん性状態に関連する様々な生理的症状の改善を含む。

20

30

【0082】

本明細書に使用される「疾患の発生を遅延させる」は、疾患（がんなど）の発生を先送り、妨害、減速、遅滞、安定化、抑止および/または延期することを意味する。この遅延は、病歴および/または治療されている個体に応じて様々な期間であることができる。当業者に明らかなように、十分または顕著な遅延は、実際に個体が疾患を発生しない点で予防を包含することができる。例えば、末期がん、例えば転移の発生が遅延される場合がある。

【0083】

本明細書に使用される「予防する」は、疾患素因があり得るが、まだ疾患であると診断されていない対象における疾患の発生または再発に関する予防を提供することを含む。いくつかの態様において、提供される細胞および組成物は、疾患の発生を遅延させるまたは疾患の進行を減速するために使用される。

40

【0084】

本明細書に使用される、機能または活性を「抑止する」ことは、関心対象の状態もしくはパラメーターを除き、それ以外は同じ状態と比較した場合に、または別の状態と比較した場合に、当該機能または活性を低下させることである。例えば、腫瘍成長を抑止する細胞は、細胞の非存在下での腫瘍の成長速度と比較して、腫瘍の成長速度を低下させる。

【0085】

投与に関する文脈における、作用物質、例えば薬学的製剤、細胞、または組成物の「有効量」は、所望の結果（例えば、治療結果または予防結果）を達成するために必要な投薬量/量および期間での有効な量を指す。

50

【0086】

作用物質、例えば薬学的製剤または細胞の「治療有効量」は、所望の治療結果を達成するために、例えば疾患、病態、もしくは障害の治療および/または治療の薬物動態的もしくは薬力学的効果のために、必要な投薬量および期間で有効な量を指す。治療有効量は、対象の病状、年齢、性別、および体重、ならびに投与される細胞集団などの要因に応じて変動し得る。いくつかの態様において、提供される方法は、細胞および/または組成物を有効量、例えば治療有効量で投与することを伴う。

【0087】

「予防有効量」は、所望の予防結果を達成するために必要な投薬量および期間で有効な量を指す。必然的ではなく典型的には、予防用量は疾患前または疾患初期の対象に使用されるので、予防有効量は、治療有効量よりも少ないであろう。より低い腫瘍量に照らして、予防有効量は、いくつかの局面で治療有効量よりも高いであろう。

10

【0088】

本明細書に記載される様々な態様により、本発明は、改変細胞および改変細胞を含有する組成物/製剤を提供する。本発明はまた、病理学的疾患または病態を有する患者を治療するために有用であり得る、改変細胞を製造するための方法または工程を提供する。

【0089】

さらに、本明細書に記載される様々な態様により、本発明は、病理学的疾患または病態の治療のために使用され得る、細胞を遺伝子操作するために適する核酸構築物を含む組換えベクターを提供する。

20

【0090】

さらに、本明細書に記載される様々な態様により、本発明は、病理学的疾患または病態の治療のために使用され得る、細胞を遺伝子操作するために適する核酸構築物を含む改変細胞を提供し、ここで、核酸は：(a) 抗原に特異的に結合する遺伝子改変抗原受容体；および(b) 腫瘍標的の発現を低下させるかまたはその低下を引き起こすことができる抑制性タンパク質をコードする。様々な態様において、細胞は、遺伝子改変抗原受容体および抑制性タンパク質を発現する。様々な態様において、抑制性タンパク質は、構成的に発現される。

【0091】

提供される細胞、組成物、方法、および使用を用いて治療される疾患、病態、および障害の中に、固形腫瘍、血液悪性腫瘍、および黒色腫を含む腫瘍、ならびにウイルスまたは他の病原体、例えば、HPV、HIV、HCV、HBV、EBV、HTLV-1、CMV、アデノウイルス、BKポリオマウイルス、HHV-8、MCVまたは他の病原体、および寄生虫病による感染などの感染症が含まれる。いくつかの態様において、疾患または病態は、腫瘍、がん、悪性腫瘍、新生物、または他の増殖性疾患もしくは障害である。そのような疾患は、白血病、リンパ腫、例えば、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ性白血病(ALL)、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、難治性濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、B細胞悪性腫瘍、子宮頸癌、結腸、肺、肝臓、乳房、前立腺、卵巣、皮膚、黒色腫、骨、および脳癌、卵巣癌、上皮癌、腎細胞癌、膵臓腺癌、ホジキンリンパ腫、子宮頸癌、結腸直腸癌、膠芽腫、神経芽腫、ユーイング肉腫、髄芽腫、骨肉腫、滑膜肉腫、および/または中皮腫を含むが、それに限定されるわけではない。

30

【0092】

T細胞受容体および結合分子

本開示は、T細胞受容体(TCR)またはその抗原結合性フラグメントを提供する。いくつかの態様において、「T細胞受容体」または「TCR」は、可変a(もしくは)鎖およびb(もしくは)鎖を含有する分子(それぞれTCR およびTCR としても知られる)、または可変g(もしくは)鎖およびd(もしくは)鎖を含有する分子(それぞれTCR およびTCR としても知られる)、またはそれらの抗原結合部分を含有する分子であって、抗原、例えば、MHC分子に結合したペプチド抗原またはペプチドエピトープに特異的に

40

50

結合することができる分子である。いくつかの態様において、TCRはab形態である。典型的には、形態で存在するTCRと、形態で存在するTCRは、概して構造的に類似であるが、それらを発現するT細胞は、別個の解剖学的位置または機能を有する場合がある。概して、TCRは、T細胞（またはTリンパ球）の表面に見出され、そこでTCRは、概して、主要組織適合複合体（MHC）分子に結合したペプチドなどの抗原の認識を担う。

【0093】

いくつかの態様において、TCRは、a鎖およびb鎖を含有するTCRなどの、インタクトなまたは完全長のTCRである。いくつかの態様において、TCRは、完全長TCRよりも短い、MHC分子に結合した特異的ペプチドに結合する、例えば、MHC-ペプチド複合体に結合する、抗原結合部分である。一部の例では、TCRの抗原結合部分またはフラグメントは、完全長のまたはインタクトなTCRの構造ドメインの一部分だけを含むことができるが、それでも、完全TCRが結合する、MHC-ペプチド複合体などのペプチドエピトープに結合することができる。一部の例では、抗原結合部分は、TCRの可変ドメイン、例えばTCRの可変a（Va）鎖および可変b（Vb）鎖、または特異的MHC-ペプチド複合体に結合するための結合部位を形成するために十分なその抗原結合性フラグメントを含有する。

10

【0094】

TCRの可変ドメインは、概して、抗原認識および結合能、ならびにペプチド、MHC、および/またはMHC-ペプチド複合体の特異性の主な寄与因子である、相補性決定領域（CDR）を含有する。いくつかの態様において、TCRのCDRまたはその組み合わせは、所与のTCR分子の抗原結合部位のすべてまたは実質的にすべてを形成する。TCR鎖の可変領域内の様々なCDRは、概して、フレームワーク領域（FR）により分離されており、FRは、概して、CDRと比較してTCR分子間でより少ない変動性を示す（例えば、Jores et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988を参照されたい）。いくつかの態様において、CDR3は、抗原結合もしくは特異性を担う主なCDRであるか、または所与のTCR可変領域上の3つのCDRのうち、抗原認識に、および/もしくはペプチド-MHC複合体のプロセッシングされたペプチド部分との相互作用に、最も重要である。いくつかの状況では、鎖のCDR1は、ある特定の抗原ペプチドのN末端部分と相互作用することができる。いくつかの状況では、鎖のCDR1は、ペプチドのC末端部分と相互作用することができる。いくつかの状況では、CDR2は、MHC-ペプチド複合体のMHC部分との相互作用またはその認識に最も強く寄与するか、またはそれを担う主要なCDRである。

20

30

【0095】

いくつかの態様において、TCRのa鎖および/またはb鎖はまた、定常ドメイン、膜貫通ドメインおよび/または短い細胞質尾部を含有することができる（例えば、Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3 Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997を参照されたい）。いくつかの局面において、TCRの各鎖（例えば、または）は、1つのN末端免疫グロブリン可変ドメイン、1つの免疫グロブリン定常ドメイン、膜貫通領域、およびC末端の短い細胞質尾部を保有することができる。いくつかの態様において、TCRは、例えば細胞質尾部を介して、シグナル伝達の媒介に関与するCD3複合体の不変タンパク質に会合している。一部の例では、この構造は、TCRに、CD3およびそのサブユニットのような他の分子と会合させる。例えば、膜貫通領域と共に定常ドメインを含有するTCRは、タンパク質を細胞膜にアンカーし、CD3シグナル伝達機構または複合体の不変サブユニットと会合する場合がある。CD3シグナル伝達サブユニット（例えばCD3γ、CD3δ、CD3εおよびCD3ζ鎖）の細胞内尾部は、1つまたは複数の免疫受容活性化チロシンモチーフまたはITAMを含有し、概して、TCR複合体のシグナル伝達能に関与する。

40

【0096】

TCRの様々なドメインまたは領域を決定または同定することは、当業者の水準内である。一部の例では、ドメインまたは領域の正確な座位は、特定の構造もしくはホモロジーモ

50

デリングまたは特定のドメインを説明するために使用される他の特徴に応じて変動することができる。アミノ酸への参照は、TCRのドメイン編成を説明するために使用される、SEQ ID NOとして示される特異的配列への参照を含めて、例示を目的とし、提供される態様の範囲を限定するつもりはないことが理解される。一部の例では、特異的ドメイン（例えば、可変または定常）は、アミノ酸数個（例えば、1、2、3または4つ）より長くても短くてもよい。いくつかの局面において、TCRの残基は公知であるか、またはInternational Immunogenetics Information System (IMGT) ナンバリングシステム（例えば、www.imgt.orgを参照されたく、また、Lefranc et al. (2003) Developmental and Comparative Immunology, 27(1);55-77およびThe T Cell Factsbook 2nd Edition, Lefranc and LeFranc Academic Press 2001も参照されたい）に従って同定することができる。

10

【0097】

いくつかの態様において、TCRのa鎖およびb鎖は、各々、定常ドメインをさらに含有する。いくつかの態様において、a鎖定常ドメイン(Ca)およびb鎖定常ドメイン(Cb)は、個々に、哺乳動物（例えばヒトまたはマウス）の定常ドメインである。いくつかの態様において、定常ドメインは、細胞膜に隣接する。例えば、一部の例では、2つの鎖により形成されるTCRの細胞外部分は、2つの膜近位定常ドメイン、および2つの膜遠位可変ドメインを含有し、これらの可変ドメインは各々CDRを含有する。

【0098】

いくつかの局面において、ヒト定常領域、例えば、ヒトCa領域を含有する鎖およびヒトCbを含有する鎖を含有するTCRが、本明細書に提供される。いくつかの態様において、提供されるTCRは、完全ヒトTCRである。提供されるTCRの中には、ヒト定常領域を含有するTCR、例えば完全ヒトTCRがあり、その発現および/または活性、例えば、ヒト細胞、例えばヒトT細胞、例えば初代ヒトT細胞において発現する場合の発現および/または活性は、内因性ヒトTCRの存在によって影響されないか、または実質的に影響されない。

20

【0099】

いくつかの態様において、改変TCRは、内因性ヒトTCRを含有または発現するヒト細胞（例えば、ヒトT細胞）において発現する場合、類似のヒト細胞であるが内因性TCRの発現が低下または消失しているヒト細胞における同じTCRの発現、機能的活性、および/または抗腫瘍活性のレベルと比較して、類似のもしくは改善されたレベルで細胞表面において発現し、類似のもしくはより大きな機能的活性（例えば細胞溶解活性）を示し、かつ/または類似のもしくはより大きな抗腫瘍活性を示す。いくつかの例では、本明細書に記載されている改変TCRは、ヒトT細胞において発現する場合、類似のヒトT細胞であるが内因性TCRの発現が低下または消失している細胞において発現した場合の同じTCRの発現レベルの少なくとも80%もしくは少なくとも約80%、少なくとも85%もしくは少なくとも約85%、少なくとも90%もしくは少なくとも約90%、少なくとも95%もしくは少なくとも約95%、少なくとも100%もしくは少なくとも約100%、少なくとも105%もしくは少なくとも約105%、少なくとも110%もしくは少なくとも約110%、少なくとも115%もしくは少なくとも約115%、または少なくとも120%もしくは少なくとも約120%のレベルで、細胞表面において発現する。

30

40

【0100】

いくつかの態様において、CaおよびCbドメインの各々はヒトのものである。いくつかの態様において、Caは、TRAC遺伝子(IMGT命名法)によりコードされるか、またはそのバリエーションである。いくつかの態様において、Caのバリエーションは、少なくとも1つの非天然システインの置き換え、例えば本明細書に記載される任意の置き換えを含有する。

【0101】

いくつかの態様において、TCRは、例えば1つまたは複数のジスルフィド結合により連結された、2つの鎖aおよびbのヘテロ二量体であり得る。いくつかの態様において、TCRの定常ドメインは、システイン残基がジスルフィド結合を形成する短い接続配列を含有し、それにより、TCRの2つの鎖を連結する場合がある。いくつかの態様において、TCRは

50

、aおよびb鎖の各々に追加的なシステイン残基を有する場合があります、その結果、TCRは定常ドメインに2つのジスルフィド結合を含有する。いくつかの態様において、定常および可変ドメインの各々は、システイン残基により形成されるジスルフィド結合を含有する。

【0102】

いくつかの態様において、TCRは、本明細書に記載されているCDR、Vaおよび/またはVbならびに定常領域配列を含む。

【0103】

いくつかの態様において、TCRは完全長TCRである。いくつかの態様において、TCRは抗原結合部分である。いくつかの態様において、TCRは二量体TCR (dTCR) である。いくつかの態様において、dTCRは、提供されるTCR a鎖可変領域配列に対応する配列が、TCR a鎖定常領域細胞外配列に対応する配列のN末端に融合された第1のポリペプチド、および提供されるTCR b鎖可変領域配列に対応する配列が、TCR b鎖定常領域細胞外配列に対応する配列のN末端に融合された第2のポリペプチドを含有し、第1および第2のポリペプチドは、ジスルフィド結合により連結されている。

10

【0104】

いくつかの態様において、TCRは、細胞結合型または可溶型であり得る。いくつかの態様において、TCRは、細胞表面に発現される細胞結合型である。

【0105】

いくつかの態様において、TCRは、単鎖TCR (scTCR) である。scTCRは、MHC-ペプチド複合体に結合することができるa鎖およびb鎖を含有するアミノ酸単鎖である。典型的には、scTCRは、当業者に公知の方法を使用して生成することができる。例えば、WO96/13593、WO96/18105、WO99/18129、WO04/033685、WO2006/037960、WO2011/044186；米国特許第7,569,664号を参照されたく；これらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

【0106】

結合分子、例えば、抗原（例えば、がん抗原）に関連するペプチドエピトープと結合するまたはそれを認識するものが、本明細書に提供される。いくつかの態様において、抗原は、MHC分子に関連してがん細胞および/またはエプスタイン-バーウイルス (EBV) もしくはヒトパピローマウイルス (HPV) に感染した細胞の表面において発現するペプチドエピトープであることができる。そのような結合分子には、T細胞受容体 (TCR) およびその抗原結合性フラグメント、ならびにそのようなペプチドエピトープと結合するまたはそれを認識する抗原特異性を示す抗体およびその抗原結合性フラグメントが含まれる。いくつかの態様において、結合分子をコードする核酸分子、結合分子を含有する改変細胞、組成物、およびそのような結合分子、改変細胞または組成物を投与する段階を伴う治療方法もまた提供される。いくつかの局面において、提供される結合分子、例えばTCRまたは抗原結合性フラグメントを発現する改変細胞は、がん細胞またはEBVに感染した細胞などの、ペプチドエピトープを発現している標的細胞に対して細胞傷害活性を示す。

30

【0107】

いくつかの局面において、本開示は、EBVに由来するペプチドエピトープに結合する、TCRもしくはその抗原結合性フラグメントまたは抗体、例えば、その抗体フラグメント、およびタンパク質、例えば上述の1つまたは複数含有するキメラ分子、例えばキメラ受容体、例えば、TCR様CARを含めた結合分子、ならびに/またはTCRもしくはCARを発現している改変細胞を提供する。いくつかの態様において、結合分子は抗LMP2結合分子である。

40

【0108】

いくつかの局面において、結合分子は、MHC分子、例えばMHCクラスI分子に関連するエピトープを認識するまたはそれと結合する。いくつかの局面において、MHCクラスI分子は、その任意の1つまたは複数のサブタイプを含むヒト白血球抗原 (HLA) -A2分子、例えばHLA-A*0201、*0202、*0203、*0206、または*0207である。一部の例では、異なる集団の間のサブタイプの頻度に差があることができる。例えば、いくつかの態様にお

50

いて、HLA-A2陽性白人集団の95%超がHLA-A*0201であり、一方で、中国人集団における頻度は、HLA-A*0201が約23%、HLA-A*0207が45%、HLA-A*0206が8%およびHLA-A*0203が23%であると報告されている。いくつかの態様において、MHC分子はHLA-A*0201である。いくつかの態様において、本開示は、EBV-LMP2/HLA-A02複合体と結合するTCRまたはその抗原結合性フラグメントを提供する。

【0109】

いくつかの態様において、結合分子、例えば、TCRもしくはその抗原結合性フラグメントまたは抗体もしくはその抗原結合性フラグメントは、単離もしくは精製されているか、または組換え型である。特定の態様において、提供される結合分子のいずれか、例えばTCRもしくはその抗原結合性フラグメント、または抗体もしくはその抗原結合性フラグメントは、組換え型である。いくつかの局面において、結合分子、例えば、TCRもしくはその抗原結合性フラグメント、または抗体もしくはその抗原結合性フラグメントは、ヒトのものである。いくつかの態様において、結合分子はモノクローナル結合分子である。いくつかの局面において、結合分子は単鎖である。他の態様において、結合分子は2つの鎖を含有する。いくつかの態様において、結合分子、例えば、TCRもしくはその抗原結合性フラグメント、または抗体もしくはその抗原結合性フラグメントは、細胞表面において発現する。

10

【0110】

いくつかの態様において、Va領域は、SEQ ID NO: 1、5、もしくは9のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、Vb領域は、SEQ ID NO: 2、6、もしくは10のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、Va領域は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVa CDR配列を含む。いくつかの態様において、Vb領域は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVb CDR配列を含む。

20

【0111】

本開示はまた、本明細書に記載されるTCR aおよび/またはb鎖を提供する。いくつかの態様において、a鎖は、SEQ ID NO: 35、37、もしくは39のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、b鎖は、SEQ ID NO: 36、38、もしくは40のいずれかに示されるアミノ酸配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、a鎖は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVa CDR配列を含む。いくつかの態様において、b鎖は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVb CDR配列を含む。

30

【0112】

エプスタイン-バーウイルス感染およびがん

40

エプスタイン-バーウイルス(EBV)は、発がん性であると同定された最初のウイルスの1つであった。EBVは、CD21およびMHCクラスIIとの相互作用を通じてB細胞に感染することに極めて効果を発揮する。EBVはまた、上皮細胞に感染し、その中に保持されることができる。世界中の事実上すべての成人がEBVに曝露されたことがある。免疫低下の非存在下で小児期に最初に曝露される結果、細胞免疫応答により制御される自己制限疾患が生じる。エプスタイン-バーウイルス(EBV)およびEBV関連疾患に対する免疫防御の存在は周知である。ウイルスタンパク質に対する抗原特異的T細胞の宿主生成は、ウイルスに対して非常に有効である。しかし、EBVは、完全に消失せずに上皮細胞またはB細胞中に持続することができる。宿主の免疫状態における任意の変化は、再活性化をもたらすことができ、免疫低下の程度に応じて、この再活性化は悪性腫瘍をもたらす可能性がある。

50

【 0 1 1 3 】

EBVは、実質臓器および造血細胞移植（HSCT）に関与し、そこで、T細胞の減少した数または非存在が、EBVを保有するB細胞の無制限の増殖を引き起こす場合がある。そのような無制御の拡大増殖は、最もよく見られる移植後悪性腫瘍である移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）をもたらすことができる。この症候群の頻度および強度、ならびにそれらのT細胞集団に対するそれらの免疫抑制の効果は、各患者内で変動する。EBVはまた、他の悪性腫瘍にも関与する。いくつかの系列の研究が、EBVを様々な上皮悪性腫瘍およびリンパ系悪性腫瘍の病因に関係づけている。例えば、ホジキンリンパ腫（Glaser, et al. "Epstein-Barr virus-associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data." *International journal of Cancer* 70.4 (1997): 375-382）および非ホジキンリンパ腫がEBVに関係することが周知である。EBVと鼻咽頭癌との間にもまた、明らかな因果関係がある（NPC; Raab-Traub "Nasopharyngeal carcinoma: an evolving role for the Epstein-Barr virus." *Epstein-Barr Virus Volume 1*. Springer, Cham, 2015. 339-363.）。ホジキンリンパ腫およびNPCを有する患者の腫瘍試料は、潜伏膜タンパク質2（LMP2）を含むEBV由来タンパク質を発現する。LMP-2はまた、EBV関連胃癌の40%に見出されている。これらは非自己であり、EBVに対する細胞性免疫応答の主な標的でもあるので、これらは、免疫療法アプローチのための理想的な標的を表す。

10

【 0 1 1 4 】

EBVに関連するLMP2（+）ヒト悪性腫瘍のリストには、パーキットリンパ腫、免疫抑制リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、慢性炎症に関連するびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、形質芽球性リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、移植後リンパ増殖性障害、鼻咽頭癌、胃腺癌、リンパ上皮腫関連がん、および免疫不全関連平滑筋肉腫が含まれる。これらの障害は、例えば、WO/2019/213416A1; Thompson et al., "Epstein-Barr virus and cancer." *Clinical Cancer Research* 10.3 (2004): 803-821に記載されており、これらの両方は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

【 0 1 1 5 】

休止B細胞のEBV感染/形質転換は、潜伏リンパ芽球腫株（LCL）を産生する。LCLは潜伏複製状態で存在し、ウイルスゲノムの複数のコピーをエピソームとして保有する。LCLは、潜伏期に応じて変動する、潜伏タンパク質と呼ばれるいくつかのウイルス遺伝子産物を発現する。6つのエプスタインウイルス核抗原（EBNA 1、2、3A、3B、3CおよびLP）、3つの潜伏膜タンパク質（LMP 1、2Aおよび2B）ならびにBARF1という、合計で10種の潜伏タンパク質が記載されている。EBV初感染は、B細胞を活性化し、EBNA1、EBNA2、EBNA3、LMP1、LMP2およびBARF1が発現された場合に潜伏感染III型を誘発する。これらのタンパク質は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる、Bollard, et al., "T-cell therapy in the treatment of post-transplant lymphoproliferative disease." *Nature reviews Clinical oncology* 9.9 (2012): 510に記載されている。

30

【 0 1 1 6 】

本開示は、EBV感染ならびに/またはEBV誘発疾患および障害を治療する方法を提供する。

40

【 0 1 1 7 】

改変細胞

本開示は、TCRもしくはその抗原結合性フラグメント、または本明細書に記載されている他の類似の抗原結合分子を含む改変細胞（例えば、T細胞）を提供する。これらの改変細胞を使用して、本明細書に記載されている様々な障害または疾患（例えば、ウイルス感染、がん、ウイルス誘発障害）を治療することができる。

【 0 1 1 8 】

様々な態様において、改変細胞は、動物およびヒトを含むが、それに限定されるわけではないものから得られる。様々な態様において、改変細胞は、白血球、リンパ球、または

50

任意の他の適切な血液細胞型を含むが、それに限定されるわけではない、血球である。好ましくは、細胞は末梢血液細胞である。より好ましくは、細胞は、T細胞、B細胞、またはNK細胞である。

【0119】

別の態様において、細胞はT細胞である。本発明に使用されるT細胞の例には、患者から単離されたT細胞のインビトロ培養で得られた細胞（例えば、腫瘍浸潤リンパ球）；患者の末梢血から単離されたT細胞にウイルスベクターを形質導入することにより得られたTCR遺伝子操作T細胞；およびCAR形質導入T細胞が含まれるが、それに限定されるわけではない。好ましくは、T細胞はTCR遺伝子操作T細胞である。

【0120】

本発明の一態様において、細胞はNK細胞である。

【0121】

いくつかの態様において、改変細胞の調製は、1つまたは複数の培養および/または調製段階を含む。結合分子、例えば、TCRの導入のための細胞は、試料、例えば、生体試料、例えば、対象から得られるまたは対象に由来する試料から単離され得る。いくつかの態様において、細胞が単離される対象は、疾患もしくは病態を有する対象、または細胞療法を必要とする対象、または細胞療法が投与される対象である。対象は、いくつかの態様において、特定の治療的介入、例えばそのために細胞が単離、加工処理、および/または改変される養子細胞療法を必要とするヒトである。

【0122】

いくつかの態様において、単離方法は、細胞における1つまたは複数の特異的分子、例えば表面マーカー、例えば、表面タンパク質、細胞内マーカー、または核酸の発現または存在に基づく異なる細胞型の分離を含む。いくつかの態様において、そのようなマーカーに基づく分離のための任意の公知の方法が使用され得る。いくつかの態様において、分離は、親和性または免疫親和性に基づく分離である。例えばいくつかの局面において、単離は、例えば、そのようなマーカーに特異的に結合する抗体または結合パートナーとのインキュベーションとそれに一般的に続く、洗浄段階、および抗体または結合パートナーに結合しなかった細胞からの抗体または結合パートナーと結合した細胞の分離による、1つまたは複数のマーカー、典型的には細胞表面マーカーの細胞の発現または発現レベルに基づく、細胞および細胞集団の分離を含む。

【0123】

そのような分離段階は、試薬と結合した細胞がさらなる使用のために保持される正の選択、および/または抗体もしくは結合パートナーに結合しなかった細胞が保持される負の選択に基づくことができる。いくつかの例では、両方の画分がさらなる使用のために保持される。いくつかの局面において、不均一集団においてある細胞型を特異的に同定する抗体が入手不可能な場合、負の選択が特に有用であることができ、その結果、所望の集団以外の細胞によって発現されるマーカーに基づき分離が最良に実施される。

【0124】

結合分子を発現させるため、およびそのような結合分子を発現している遺伝子改変細胞を産生するための、方法、核酸、組成物、およびキットもまた、提供される。遺伝子改変は、概して、例えば、レトロウイルス形質導入、トランスフェクション、または形質転換による、治療用分子、例えば、TCR、CAR、例えば、TCR様CAR、ポリペプチド、融合タンパク質をコードする核酸の細胞内への導入を伴う。いくつかの態様において、遺伝子移入は、最初に、例えば細胞を、例えば、サイトカインまたは活性化マーカーの発現により測定される、増殖、生存、および/または活性化などの応答を誘導する刺激と組み合わせることによって該細胞を刺激し、続いて活性化細胞に形質導入し、培養して臨床適用に十分な数まで拡大増殖させることによって、達成される。

【0125】

いくつかの態様において、組換え核酸は、例えば、サルウイルス40 (SV40)、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス (AAV) 由来のベクターなどの組換え感染性ウイルス粒子

10

20

30

40

50

を使用して細胞内に移入される。いくつかの態様において、組換え核酸は、組換えレンチウイルスベクターまたはガンマ-レトロウイルスベクターなどのレトロウイルスベクターを使用してT細胞内に移入される。いくつかの態様において、レトロウイルスベクター、例えば、モロニー Maus 白血病ウイルス (MoMLV)、骨髄増殖性肉腫ウイルス (MPSV)、マウス胚性幹細胞ウイルス (MESV)、マウス幹細胞ウイルス (MSCV)、または脾フォーカス形成ウイルス (SFFV) に由来するレトロウイルスベクターは、長い末端反復配列 (LTR) を有する。大部分のレトロウイルスベクターは、マウスレトロウイルスに由来する。いくつかの態様において、レトロウイルスには、任意のトリまたは哺乳動物細胞源に由来するものが含まれる。レトロウイルスは、典型的には、ヒトを含むいくつかの種の宿主細胞に感染できることを意味する両種指向性である。いくつかの態様において、ベクターは、レンチウイルスベクターである。いくつかの態様において、組換え核酸は、エレクトロポレーションを介してT細胞内に移入される。いくつかの態様において、組換え核酸は、転位を介してT細胞内に移入される。免疫細胞に遺伝物質を導入し、発現させる他の方法には、リン酸カルシウムトランスフェクション、プロトプラスト融合、陽イオンリポソーム媒介トランスフェクション；タングステン粒子促進微粒子銃およびリン酸ストロンチウムDNA共沈が含まれる。これらの方法の多くは、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられるWO2019195486に記載されている。

10

【0126】

組換えベクター

遺伝物質を細胞に送達するために任意のベクターまたはベクター型が使用され得る。これらのベクターには、プラスミドベクター、ウイルスベクター、BAC、YAC、およびHACが含まれるが、それに限定されるわけではない。したがって、ウイルスベクターには、組換えレトロウイルスベクター、組換えレンチウイルスベクター、組換えアデノウイルスベクター、泡沫状ウイルスベクター、組換えアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター、ハイブリッドベクター、およびプラスミドトランスポゾン (例えば、スリーピングビューティートランスポゾンシステム) またはインテグラーゼに基づくベクターシステムが含まれ得るが、それに限定されるわけではない。本発明の代替的な態様に関連して使用され得る他のベクターは、当業者に明らかであろう。

20

【0127】

別の態様において、使用されるベクターは組換えレトロウイルスベクターである。ウイルスベクターは、ウイルスベクターの製造に特異的な培地中で成長される場合がある。ウイルスベクターを成長させるための任意の適切な成長培地および/またはサプリメントは、本明細書に記載される態様に従って使用され得る。

30

【0128】

遺伝子改変抗原受容体

遺伝子改変される抗原受容体には、T細胞受容体 (TCR)、キラー細胞免疫グロブリン様受容体ファミリー (KIR)、C型レクチン受容体ファミリー、白血球免疫グロブリン様受容体ファミリー (LILR)、1型サイトカイン受容体、2型サイトカイン受容体ファミリー、腫瘍壊死因子ファミリー、TGF 受容体ファミリー、ケモカイン受容体、およびIgSFが含まれるが、それに限定されるわけではない。

40

【0129】

本発明の一態様において、核酸構築物によりコードされる遺伝子改変抗原受容体は、遺伝子改変NK細胞受容体を含む。いくつかの態様において、NK細胞受容体は、キラー細胞免疫グロブリン様受容体ファミリー (KIR) を含む。代替的な態様において、NK細胞受容体は、C型レクチン受容体ファミリーを含む。

【0130】

他の態様において、核酸構築物によりコードされる遺伝子改変抗原受容体は、遺伝子改変T細胞受容体 (TCR) を含む。一態様において、TCRを発現しているT細胞は、 α -T細胞である。代替的な態様において、TCRを発現しているT細胞は β -T細胞である。

【0131】

50

標的とされる抗原

いくつかの態様において、疾患または障害に関連する抗原は、HPV、HIV、HCV、HBV、EBV、HTLV-1、CMV、アデノウイルス、BKポリオーマウイルス、HHV-8、MCVもしくは他の病原体により発現される分子、オーファンチロシンキナーゼ受容体ROR1、tEGFR、Her2、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、メソセリン、CEA、およびB型肝炎表面抗原、抗葉酸受容体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3、もしくは4、FBP、胎児アセチルコリン受容体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-1、IL-13R-2、kdr、軽鎖、ルイスY、L1-細胞接着分子、MAGE-A1、メソセリン、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2Dリガンド、NY-ESO-1、MART-1、gp100、腫瘍胎児性抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、がん胎児性抗原（CEA）、前立腺特異抗原、PSMA、Her2/neu、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、エフリンB2、CD123、CS-1、c-Met、GD-2、およびMAGE A3ならびにノまたはビオチン化分子からなる群より選択される。

10

【0132】

遺伝子改変抗原受容体は、ヒトパピローマウイルス（HPV）からの抗原に結合する。HPVのサブタイプは、HPV1、HPV2、HPV3、HPV4、HPV6、HPV10、HPV11、HPV16、HPV18、HPV26、HPV27、HPV28、HPV29、HPV30、HPV31、HPV33、HPV34、HPV35、HPV39、HPV40、HPV41、HPV42、HPV43、HPV45、HPV49、HPV51、HPV52、HPV54、HPV55、HPV56、HPV57、HPV58、HPV59、HPV68、HPV69より選択されるが、それに限定されるわけではない。いくつかの態様において、遺伝子改変抗原受容体により標的とされるHPVのサブタイプは、少なくとも1つのハイリスクHPV、例えば非限定的にHPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV59、HPV68、HPV69より選択される。

20

【0133】

いくつかの態様において、HPV抗原には、E1、E2、E3、E4、E6およびE7、L1およびL2タンパク質が含まれるが、それに限定されるわけではない。別の態様において、抗原はE6抗原である。なお別の態様において、抗原はE7抗原である。別の態様において、抗原はHPV16 E6抗原である。

【0134】

他の態様において、遺伝子改変抗原受容体は、EBVからの抗原に結合する。EBV抗原は、潜伏膜タンパク質（LMP1、LMP2A、LMP2B）およびエプスタイン-バー核抗原（EBNA1、-2、-3A、-3B、-3C、-LP）より選択されるが、それに限定されるわけではない。

30

【0135】

したがって、治療される疾患または病態は、非限定的に、ウイルス、レトロウイルス、細菌、および原虫感染症、免疫不全、ヒトパピローマウイルス（HPV）、サイトメガロウイルス（CMV）、エプスタイン-バーウイルス（EBV）、アデノウイルス、BKポリオーマウイルスなどの感染性疾患または病態である。いくつかの態様において、疾患または病態は、ウイルス、例えば、非限定的に、HPV、HCV、EBV、HIV、HHV-8、HTLV-1、およびMCVに関連する悪性腫瘍である。好ましくは、提供される組成物、細胞、方法、および使用を用いて治療されるウイルス関連悪性腫瘍は、HPVまたはEBV関連がんである。そのうえ、提供される組成物、細胞、および方法は、HPVまたはEBV関連がんによって引き起こされる固形腫瘍を治療するために使用することができる。具体的には、疾患または病態は、子宮頸癌、中咽頭癌、肛門癌、肛門管癌、直腸肛門癌、膣癌、陰門癌、および陰茎癌を含むが、それに限定されるわけではない、HPV関連がんを含む。疾患または病態には、HPV関連頭頸部癌、HPV関連子宮頸癌が含まれる。具体的には、疾患または病態にはまた、EBV関連がん、例えば、鼻咽頭癌、リンパ腫、乳癌および肝細胞癌が含まれる。

40

【0136】

チェックポイント阻害因子

様々な態様において、改変細胞は、少なくとも1つのチェックポイント阻害因子（CPI）を発現する。本発明の改変細胞により発現される抑制性タンパク質またはCPIは、免疫チ

50

チェックポイントを抑制またはブロックし、ここで、免疫チェックポイントは、PD-1、PD-L1、PD-L2、2B4 (CD244)、4-1BB、A2aR、B7.1、B7.2、B7-H2、B7-H3、B7-H4、B7-H6、BTLA、プチロフィリン、CD160、CD48、CTLA4、GITR、gp49B、HHLA2、HVEM、ICOS、ILT-2、ILT-4、KIRファミリー受容体、LAG-3、OX-40、PIR-B、SIRP (CD47)、TFM-4、TIGIT、TIM-1、TIM-3、TIM-4、VISTA、およびそれらの組み合わせを含む。

【0137】

いくつかの態様において、抑制性タンパク質は、PD-1またはPD-L1をブロックする。様々な態様において、抑制性タンパク質は、抗PD-1 scFvを含む。抑制性タンパク質は、PD-1もしくはPD-L1の低下した発現をもたらす、かつ/または集団内のT細胞におけるPD-1もしくはPD-L1のアップレギュレーションを抑制し、かつ/またはPD-1/PD-L1複合体の形成およびその後のシグナル伝達を物理的に妨げることができる。一態様において、抑制性タンパク質は、PD-1をブロックする。

10

【0138】

核酸構築物

図1Aを参照して、様々な好ましい態様に従い、核酸構築物は2つの配列を含み、当該2つの配列は以下を含む：(a) 抗LMP2 TCRの鎖の可変領域がマウスTCR鎖の定常領域に融合された、「aLMP-2_Va-Ca」と識別表示される配列 [ここで、aLMP-2_Vaは、抗LMP2 TCRの鎖可変領域に対応し、Caは、マウスTCR鎖定常領域に対応する]；(b) 同じ抗LMP2 TCRの鎖可変領域がマウスTCR鎖定常領域に融合された、「aLMP-2_Vb-Cb」と識別表示される配列 [ここで、aLMP-2_Vbは、同じヒト抗LMP2 TCRの鎖可変領域に対応し、Cbは、マウスTCR鎖定常領域に対応する]。一態様において、核酸構築物は、シグナルペプチドをコードする配列をさらに含む。

20

【0139】

図1Bを参照して、様々な態様に従い、核酸構築物は3つの配列を含み、当該3つの配列は以下を含む：(a) ヒトTCRの鎖可変領域がマウスTCRの鎖定常領域に融合された、「Va-Ca」と識別表示される配列 [ここで、Vaは、ヒトTCRの鎖可変領域に対応し、CaはマウスTCRの鎖定常領域に対応する]；(b) 同じヒトTCRの鎖可変領域がマウスTCRの鎖定常領域に融合された、「Vb-Cb」と識別表示される配列 [ここで、Vbは、同じヒトTCRの鎖可変領域に対応し、CbはマウスTCRの鎖定常領域に対応する]；ならびに(c) GSリンカーで連結された免疫チェックポイント阻害因子 (ICI) の重鎖可変領域および軽鎖可変領域が、重鎖可変領域のC末端において可動性リンカーペプチドを介してTCR RIIの細胞外ドメインのリガンド結合配列に融合した配列。好ましい態様において、核酸構築物は、シグナルペプチドをコードする配列をさらに含む。いくつかの態様において、ヒトTCRは抗LMP2 TCRである。いくつかの他の態様において、ヒトTCRは抗E-6 TCRである。いくつかの態様において、免疫チェックポイント阻害因子は抗PD-1抗体である。TCRの可変領域は、シグナルペプチド配列と連結することができる。

30

【0140】

核酸構築物は、構築物のトランスフェクション、形質導入、組み込み、複製、転写、翻訳、発現および/または安定化を援助および/または可能にする場合がある他の配列をさらに含む場合がある。好ましい態様において、核酸構築物は、前述の配列(a)、(b)および/または(c)を連結するP2Aおよび/またはT2A配列を含む。

40

【0141】

本開示はまた、本明細書に記載されているTCR a鎖および/またはb鎖をコードする核酸を提供する。いくつかの態様において、a鎖をコードする核酸は、SEQ ID NO: 41、43、もしくは45のいずれかに示される配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を有する核酸配列を含む。いくつかの態様において、b鎖をコードする核酸は、SEQ ID NO: 42、44、もしくは46のいずれかに示される配列、またはそれに対して少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは9

50

9%の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの態様において、a鎖は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVa CDR配列を含む。いくつかの態様において、b鎖は、本明細書に記載されている1つまたは複数のVb CDR配列を含む。

【0142】

改変細胞を調製するための方法

本発明は、病理的疾患または病態の治療のための改変細胞を製造および使用するための方法またはプロセスを提供する。該方法は、(I)患者の血液からT細胞を単離する段階；(II)T細胞集団に、遺伝子改変抗原受容体および抑制性タンパク質をコードする核酸構築物を含むウイルスベクターを形質導入する段階；(III)形質導入された細胞をインビトロで拡大増殖する段階；ならびに(IV)拡大増殖された細胞を患者に注入する段階であって、そこで改変T細胞が抗原陽性腫瘍細胞を探索して破壊する、段階を含む。いくつかの態様において、これらの改変T細胞は、PD-1/PD-L1の免疫抑制をブロックし、抗腫瘍免疫応答を強化することができる。

10

【0143】

該方法は、段階(II)の前に、本発明の核酸構築物を含有するウイルスベクターによるT細胞のトランスフェクションをさらに含む。

【0144】

T細胞のトランスフェクションは、リン酸カルシウム、エレクトロポレーション、リボソーム媒介移入、マイクロインジェクション、微粒子銃送達システム、または当業者に公知の任意の他の方法などの、任意の標準的な方法を使用することにより達成される場合がある。いくつかの態様において、T細胞のトランスフェクションは、リン酸カルシウム法を使用して行われる。

20

【0145】

本明細書に記載されている様々な態様により、本発明は、腫瘍、特にEBVおよびHPV関連がんに対する免疫療法を提供する。改変T細胞は、腫瘍関連HPV/EBV抗原を認識し、同時に、プログラム細胞死タンパク質1(PD-1)およびTGF β をブロックする単鎖抗体(scFv)融合タンパク質を分泌する。これらの改変T細胞は、より強い抗腫瘍応答および低減したT細胞疲弊を示す。

【0146】

(1)抗PD-1薬物送達が腫瘍部位に局在し、(2)抗PD-1単鎖抗体が現在存在している抗体よりも強く結合することから、PD-1チェックポイントのブロックが本発明でより有効であることが実験的に見出されている。また、抗PD-1薬物送達が腫瘍部位に局在するので、非特異的炎症による毒性は低い。本発明は、抗LMP2 TCRおよび抗PD-1の組み合わせがT細胞活性化を改善し、かつ/または既存の代替と比較してT細胞疲弊を防止することを提供する。

30

【0147】

また、本発明は、個別化抗腫瘍免疫療法を創出するための方法を提供する。抗LMP2+/抗PD-1改変T細胞は、患者の血液から産生することができる。次いで、これらの改変T細胞が細胞療法製品として患者に再注入される。この製品は、鼻咽頭癌、ホジキンリンパ腫、パーキットリンパ腫、胃癌およびその他を含むが、それに限定されるわけではないEBV LMP2関連腫瘍を有する任意の患者に適用することもできる。

40

【0148】

バリエーションおよび改変

結合分子、例えば、TCRまたはその抗原結合性フラグメントは、改変することができる。ある特定の態様において、結合分子、例えば、TCRまたはその抗原結合性フラグメントは、本明細書に記載される結合分子、例えばTCRの配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸変異、例えば、置換、欠失、挿入、および/または突然変異を含む。例示的なバリエーションは、結合分子の結合親和性および/または他の生物学的性質を改善するように設計されたものを含む。結合分子のアミノ酸配列バリエーションは、結合分子をコードするヌクレオチド配列内に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成により、調製される場合が

50

ある。そのような改変は、例えば、結合分子のアミノ酸配列からの欠失、および/またはその中への挿入および/またはその内部での残基の置換を含む。最終構築物が所望の特性、例えば、抗原結合性を保有するという条件で、欠失、挿入、および置換を任意に組み合わせて、最終構築物に到達することができる。

【0149】

いくつかの態様において、親結合分子、例えば、TCRのCDR内の1つまたは複数の残基が、置換される。いくつかの態様において、置換は、配列または配列中の位置を生殖系列配列、例えば、生殖系列（例えば、ヒト生殖系列）に見出される結合分子配列に戻し、例えば、ヒト対象に投与したときの免疫原性の可能性を低下させるように行われる。

【0150】

本開示はまた、TCRに関して上に記載されたようなCDRのうち任意の1つまたは複数を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、鎖に含有されるCDR1、CDR2および/またはCDR3、ならびに鎖に含有されるCDR1、CDR2および/またはCDR3を含む可変重鎖および軽鎖を含む。

【0151】

いくつかの態様において、抗体の重鎖および軽鎖は、完全長であることができるか、または抗原結合部分（Fab、F(ab')₂、Fvもしくは単鎖Fvフラグメント（scFv））であることができる。他の態様において、抗体重鎖定常領域は、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、およびIgEより選ばれ、特に、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4より、より詳細には、IgG1（例えば、ヒトIgG1）より選ばれる。いくつかの態様において、抗体軽鎖定常領域は、例えば、カッパまたはラムダ、特にカッパより選ばれる。抗原結合性フラグメントは、インタクテナ抗体が結合する抗原と結合する、インタクテナ抗体の一部を含む、インタクテナ抗体以外の分子を指す。抗原結合性フラグメントの例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディー；線状抗体；可変重鎖（VH）領域、単鎖抗体分子、例えばscFvおよび単ドメインVH単独抗体；ならびに抗体フラグメントから形成された多重特異性抗体が含まれるが、それに限定されるわけではない。特定の態様において、抗体は、可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む単鎖抗体フラグメント、例えばscFvである。単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分、または軽鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分を含む抗体フラグメントである。ある特定の態様において、単ドメイン抗体はヒト単ドメイン抗体である。

【0152】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分は、組換え受容体、例えば抗原受容体の部分として細胞上において発現する。抗原受容体の中に、機能的非TCR抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）がある。概して、MHC分子に関連するペプチドに対するTCR様特異性を示す抗体または抗原結合性フラグメントを含むCARはまた、TCR様CARと称される場合がある。したがって、提供された結合分子、例えば、EBV結合分子の中に、抗原受容体、例えば、提供される抗体、例えば、TCR様抗体の1つを含むものがある。いくつかの態様において、抗原受容体および他のキメラ受容体、例えばTCR様抗体は、LMP2の領域またはエピトープに特異的に結合する。抗原受容体の中に、キメラ抗原受容体（CAR）などの機能的非TCR抗原受容体がある。CARを発現している細胞、ならびに養子細胞療法、例えばHPVまたはEBV発現に関連する疾患および障害の治療におけるその使用もまた提供される。

【0153】

TCR様 CARは、MHC分子に関連してディスプレイまたは提示された場合に、T細胞エピトープまたはペプチドエピトープなどに対してT細胞受容体特異性を示す非TCR分子を含む。いくつかの態様において、TCR様 CARは、抗体またはその抗原結合部分、例えば、本明細書に記載されているTCR様抗体を含むことができる。いくつかの態様において、抗体またはその抗体結合部分は、MHC分子に関連する特異的ペプチドエピトープに対

10

20

30

40

50

して反応性であり、ここで、抗体または抗体フラグメントは、MHC分子に関連する特異的ペプチドを、MHC分子単独、特異的ペプチド単独、一部の例では、MHC分子に関連する無関係のペプチドと、区別することができる。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分は、T細胞受容体よりも高い結合親和性を示すことができる。

【0154】

CARを含む例示的な抗原受容体、およびそのような受容体を改変および細胞に導入するための方法には、例えば、米国特許出願公開第2002/131960号、同第2013/287748号、同第2013/0149337号、米国特許第6,451,995号、同第7,446,190号、同第8,252,592号に記載されたものが含まれ；それらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0155】

いくつかの態様において、CARは、概して、いくつかの局面ではリンカーおよび/または膜貫通ドメインを介して1つまたは複数の細胞内シグナル伝達成分と連結した、MHC分子に関連するペプチドに特異的な抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、細胞外抗原（またはリガンド）結合ドメインを含む。いくつかの態様において、そのような分子は、典型的には、TCRなどの天然抗原受容体を通過するシグナル、任意で、共刺激受容体と組み合わせてそのような受容体を通過するシグナルを模倣または近似することができる。

【0156】

いくつかの態様において、CARは、典型的には、1つもしくは複数の抗原結合性フラグメント、ドメイン、もしくは部分、または1つもしくは複数の抗体可変ドメイン、および/もしくは抗体分子などの1つまたは複数の抗原結合分子をその細胞外部分に含む。いくつかの態様において、CARは、モノクローナル抗体（mAb）の可変重鎖（VH）および可変軽鎖（VL）に由来する単鎖抗体フラグメント（scFv）などの、抗体分子の1つまたは複数の抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、CARは、MHC分子に関連して細胞表面に提示されたペプチドエピトープを特異的に認識する抗体または抗原結合性フラグメント（例えば、scFv）などのTCR様抗体を含有する。

【0157】

二機能性trap融合タンパク質

本開示はまた、二機能性trap融合タンパク質を提供する。免疫チェックポイント（例えば、PD-1またはPD-L1）を標的とするモノクローナル抗体は、これらの作用物質の主なクラスである。PD-1受容体は、活性化T細胞上およびナチュラルキラー（NK）細胞上において発現する。PD-1は、典型的には抗原提示細胞上において発現するそのリガンドPD-L1およびPD-L2との相互作用の後、T細胞およびNK細胞の成熟、増殖、およびエフェクター機能を抑制することにより、免疫応答を調節する。

【0158】

免疫チェックポイントの発現に加えて、腫瘍微小環境は、他の免疫抑制分子を含有する。がんにおいて複数の機能を有するサイトカイン、TGF- β （TGFB）が特に関心対象である。TGF- β は増殖を防止し、腫瘍発生の初期に腫瘍細胞の分化およびアポトーシスを促進する。しかし、腫瘍進行の間、腫瘍のTGF- β 非感受性が、TGF- β 受容体発現の喪失または下流のシグナル伝達要素への突然変異により生じる。次いで、TGF- β は、血管新生、上皮間葉転換（EMT）の誘導、および免疫抑制に対するその作用を通じて腫瘍の進行を促進する。高いTGF- β 血清レベルおよび腫瘍上のTGF- β 受容体（TGF β R）発現の喪失は、予後不良と相関する。TGF β ターゲティング療法は、限られた臨床活性を示している。

【0159】

いくつかの局面において、本開示は、免疫チェックポイントおよびTGF- β 陰性調節経路の両方を標的とすることができる二機能性trapタンパク質を提供する。いくつかの態様において、二機能性trapタンパク質は、PD-1およびTGF- β の両方を標的とする。いくつかの態様において、二機能性trapタンパク質は、PD-L1およびTGF- β の両方を標的とする。いくつかの態様において、二機能性融合タンパク質は、PD-L1をブロックしかつTGF- β を隔離するように設計される。M7824（MSB0011395C）は、ヒトIgG1モノクローナル抗

10

20

30

40

50

体 (mAb) アベルマブに基づくヒト抗PD-L1 scFvのC末端に連結したヒトTGF- β 受容体II (TGF- β RII) の細胞外ドメインを含む。いくつかの態様において、二機能性融合タンパク質は、ヒト抗PD-1 scFvのC末端に連結したヒトTGF- β 受容体II (TGF- β RII) の細胞外ドメインを含む。

【0160】

これらの二機能性trap融合タンパク質は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる、Knudson, et al. "M7824, a novel bifunctional anti-PD-L1/TGF Trap fusion protein, promotes anti-tumor efficacy as monotherapy and in combination with vaccine." *Oncoimmunology* 7.5 (2018): e1426519に記載されている。

【0161】

本開示は、本明細書に記載されているTCRまたは抗原結合分子を1つまたは複数の二機能性trap融合タンパク質と組み合わせて使用することにより、本明細書に記載されている様々な障害 (例えば、がん) を治療する、方法を提供する。いくつかの態様において、対象は、本明細書に記載されているTCRまたは抗原結合分子および1つまたは複数の二機能性trap融合タンパク質を発現する細胞により処置される。

【0162】

組成物、製剤および投与方法

本開示は、開示されている方法によって産生された改変T細胞およびその集団を含有する組成物 (薬学的組成物および治療的組成物を含む) を提供する。改変T細胞およびその組成物を対象、例えば患者に投与するための方法、例えば治療法も提供される。

【0163】

A. 組成物および製剤

所与の用量またはその分割量として投与するための細胞数を含む1回用量形態組成物などの薬学的組成物および製剤を含む、投与のための改変T細胞を含む組成物が提供される。薬学的組成物および製剤は、1つまたは複数の随意の薬学的に許容される担体または賦形剤を含む場合がある。いくつかの態様において、組成物は、少なくとも1つの追加的な治療剤を含む。

【0164】

いくつかの態様において、担体の選択は、一部には、特定の細胞 (例えば、T細胞もしくはNK細胞) により、および/または投与方法により決定される。したがって、様々な適切な製剤がある。例えば、薬学的組成物は、保存剤を含有することができる。適切な保存剤は、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、およびベンザルコニウム塩化物を含む場合がある。いくつかの態様において、2つ以上の保存剤の混合物が使用される。保存剤またはその混合物は、典型的には、保存剤またはその混合物は、典型的には総組成物の約0.0001重量% ~ 約2重量%の量で存在する。担体は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) によって記載されている。薬学的に許容される担体は、一般的には、採用される投薬量および濃度でレシipientに無毒であり、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの緩衝剤; アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤; 保存剤 (オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; ヘキサメトニウム塩化物; ベンザルコニウム塩化物; ベンゼトニウム塩化物; フェノール、ブチルアルコールもしくはベンジルアルコール; メチルパラベンもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン; カテコール; レゾルシノール; シクロヘキサノール; 3-ペンタノール; およびm-クレゾールなど); 低分子量 (約10残基未満) ポリペプチド; 血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質; ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー; グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリシンなどのアミノ酸; 単糖、二糖、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の糖質; EDTAなどのキレート剤; スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖; ナトリウムなどの塩形成対イオン; 金属錯体 (例えばZn-タンパク質錯体); ならびに/またはポリエチレングリコール (PEG) などの非イオン性界面活性剤を含むが、それに限定されるわけで

10

20

30

40

50

はない。

【0165】

本発明に使用される適切な緩衝剤は、例えば、クエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、ならびに様々な他の酸および塩を含む。いくつかの態様において、2つ以上の緩衝剤の混合物が使用される。緩衝剤またはその混合物は、典型的には、総組成物の約0.001重量%～約4重量%の量で存在する。投与可能な薬学的組成物を調製するための方法は公知である。例示的な方法は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)に、より詳細に記載されている。

【0166】

製剤は、水溶液を含むことができる。製剤または組成物はまた、改変T細胞で処置されている特定の適応症、疾患、または病態に有用な複数の活性成分、好ましくは細胞を補完する活性を有する成分を含有する場合があります、ここで、それぞれの活性は相互に不利に影響しない。そのような活性成分は、意図される目的のために有効な量で組み合わせ適切に存在する。したがって、いくつかの態様において、薬学的組成物はさらに、化学療法剤、例えば、アスパラギナーゼ、プスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルピシン、ドキシソルピシン、フルオロウラシル、ゲムシタピン、ヒドロキシウレア、メトトレキサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、および/またはビンクリスチンなどの他の薬学的に活性な作用物質または薬物を含む場合がある。

【0167】

薬学的組成物は、いくつかの態様において、治療有効量または予防有効量のように、疾患または病態を治療または予防するために有効な量の細胞を含有する。治療または予防有効性は、いくつかの態様において、処置された対象の定期的な評価によりモニタリングされる。所望の投薬量は、細胞の単回ボラス投与により、細胞の複数回ボラス投与により、または細胞の連続注入投与により送達されることができる。

【0168】

細胞および組成物は、標準的な投与技術、製剤、および/またはデバイスを使用して投与され得る。細胞の投与は、自己または異種であることができる。例えば、免疫応答性T細胞または前駆細胞を、一対象から得て、それらを本明細書に記載される様々な態様により遺伝子操作した後、同じ対象または異なる適合性の対象に投与することができる。末梢血由来の免疫応答性T細胞またはそれらの子孫（例えば、インピボ、エクスピボまたはインピトロで得られたもの）は、カテーテル投与、全身注射、局所注射、静脈内注射、または非経口投与を含む局所注射により投与することができる。通常、治療的組成物（例えば、遺伝子操作された免疫応答細胞を含有する薬学的組成物）を投与する場合、それは通常、単位剤形の注射剤（液剤、懸濁剤、乳剤）として製剤化される。

【0169】

本明細書に開示される製剤は、経口、静脈内、腹腔内、皮下、肺、経皮、筋肉内、鼻腔内、口腔、舌下、または坐剤投与のための製剤を含む。いくつかの態様において、細胞集団は、非経口的に投与される。本明細書に使用される「非経口的」という用語は、静脈内、筋肉内、皮下、直腸、膺、および腹腔内投与を含む。いくつかの態様において、細胞は、静脈内、腹腔内、または皮下注射による末梢全身送達を用いて対象に投与される。

【0170】

組成物は、いくつかの態様において、無菌液体調製物、例えば、等張水溶液、懸濁物、エマルション、分散物、または粘性組成物として提供され、それらは、いくつかの局面では選択されたpHに緩衝化され得る。液体調製物は、通常、ゲル、他の粘性組成物および固体組成物よりも調製が容易である。そのうえ、液体組成物は、特に注射による投与が幾分より好都合である。他方で粘性組成物は、特定の組織とより長い接触期間を提供するように適切な粘性範囲内で製剤化することができる。液体または粘性組成物は、例えば、水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール）およびそれらの適切な混合物を含有する溶媒または分散

10

20

30

40

50

媒であることができる担体を含むことができる。

【0171】

無菌注射液は、細胞を溶媒中に、例えば無菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロース、またはその他などの適切な担体、希釈剤、または賦形剤と混合して組み入れることによって調製されることができる。組成物は、投与経路および所望の調製物に応じて、湿潤剤、分散剤、または乳化剤（例えばメチルセルロース）、pH緩衝剤、ゲル化剤もしくは増粘添加剤、保存剤、香味剤、および/または着色剤などの補助物質を含有することができる。適切な調製物を調製するために、いくつかの局面で標準的な教科書が参考にされ得る。

【0172】

抗菌保存剤、抗酸化剤、キレート剤、および緩衝剤を含む、組成物の安定性および無菌性を高める様々な添加剤を添加することができる。様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、およびソルビン酸によって微生物の作用の防止を保證することができる。注射可能な薬学的剤形の長期吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの使用によって引き起こすことができる。

10

【0173】

インピボ投与のために使用されるべき製剤は、通常、無菌である。無菌性は、例えば無菌濾過膜を通した濾過により容易に達成され得る。

【0174】

B. 養子細胞療法における改変T細胞の投与方法および使用

20

細胞、集団、および組成物を投与する方法、ならびにがんを含む疾患、病態、および障害を治療または予防するためのそのような細胞、集団、および組成物の使用が提供される。いくつかの態様において、本明細書に記載されている方法は、本明細書に記載されている疾患、病状、および障害の発症リスクを低減することができる。

【0175】

いくつかの態様において、本明細書に記載される細胞、集団、および組成物は、治療されるべき特定の疾患または病態を有する対象または患者に、例えば養子T細胞療法などの養子細胞療法により投与される。いくつかの態様において、インキュベーションおよび/または他の加工段階の後の改変された組成物および生産終了時（end-of-production）組成物などの、提供された方法により調製される細胞および組成物は、疾患または病態を有するまたはそのリスクを有する対象などの対象に投与される。いくつかの局面では、それにより方法は、改変T細胞により認識される抗原を発現しているがんにおける腫瘍量を減らすことにより、疾患または病態の1つまたは複数の症状を治療する、例えば改善する。

30

【0176】

養子細胞療法のための細胞の投与方法は公知であり、提供される方法および組成物に関連して使用され得る。例えば、養子T細胞療法の方法は、例えば、Gruenbergらの米国特許出願公開第2003/0170238号；Rosenbergの米国特許第4,690,915号；Rosenberg (2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85)に記載されている。例えば、Themeli et al. (2013) *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933；Tsukahara et al. (2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9；Davila et al. (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338を参照されたい。

40

【0177】

いくつかの態様において、細胞療法（例えば、養子T細胞療法）は、T細胞が、細胞療法を受けることになる対象またはそのような対象由来の試料から単離され、かつ/または他の方法で調製される自己移入により実施される。したがって、いくつかの局面では、細胞は、治療を必要とする対象、例えば患者に由来し、単離および処理後の細胞が同じ対象に投与される。

【0178】

いくつかの態様において、細胞療法（例えば養子T細胞療法）は、T細胞が、細胞療法を

50

受けることになるまたは最終的に受ける対象以外の対象（例えば第1の対象以外の対象）から単離され、かつ/または他の方法で調製される同種移入により実施される。そのような態様において、次に細胞は、同じ種の異なる対象（例えば、第2の対象）に投与される。いくつかの態様において、第1および第2の対象は、遺伝的に同一である。いくつかの態様において、第1および第2の対象は、遺伝的に類似である。いくつかの態様において、第2の対象は、第1の対象と同じHLAクラスまたは上位タイプを発現する。

【0179】

いくつかの態様において、対象は、細胞または細胞を含有する組成物の投与前に、疾患または病態、例えば腫瘍を標的とする治療剤で処置されたことがある。いくつかの局面では、対象は、他の治療剤に抗療性または非応答性である。いくつかの態様において、対象は、例えば化学療法、放射線照射、および/または造血幹細胞移植（HSCT）、例えば同種HSCTを含む別の治療的介入による処置後に、持続性の疾患または再発した疾患を有する。いくつかの態様において、対象が別の治療法に抵抗性になったにもかかわらず、投与は、対象を効果的に治療する。

10

【0180】

いくつかの態様において、対象は、他の治療剤に応答し、治療剤による処置は疾患負荷を低減する。いくつかの局面では、対象は、初めは治療剤に応答性であるが、時間と共に疾患または病態の再発を示す。いくつかの態様において、対象は再発していない。いくつかのそのような態様において、対象は、再発のリスクがある、例えば再発のリスクが高いと決定され、したがって、細胞が予防的に、例えば再発の可能性を低減するためまたは再発を予防するために投与される。いくつかの態様において、対象は、別の治療剤による先行処置を受けていない。

20

【0181】

いくつかの態様において、細胞は、いくつかの局面で所望の用量もしくは数の細胞もしくは細胞型および/または所望の比の細胞型を含む、所望の投薬量で投与される。したがって、細胞の投薬量は、いくつかの態様において、細胞の総数（または体重1kgあたりの数）および所望の比の個別集団またはサブタイプ、例えばCD4+対CD8+の比に基づく。いくつかの態様において、細胞の投薬量は、個別の集団中または個別の細胞型の細胞の所望の総数（または体重1kgあたりの数）に基づく。いくつかの態様において、投薬量は、所望の総細胞数、所望の比、および個別集団中の細胞の所望の総数などの、そのような特徴の組み合わせの組み合わせに基づく。

30

【0182】

いくつかの態様において、CD8+ T細胞およびCD4+ T細胞などの細胞の集団またはサブタイプは、T細胞の所望の用量などの総細胞の所望の用量で、またはその許容差内で投与される。いくつかの態様において、所望の用量は、所望の細胞数または細胞が投与される対象の単位体重あたりの所望の細胞数、例えば個/kgである。いくつかの態様において、所望の用量は、最小細胞数または単位体重あたりの最小細胞数であるか、またはそれを超える。いくつかの態様において、所望の用量で投与される総細胞の中で、個別の集団またはサブタイプは、所望のアウトプット比（例えばCD4+対CD8+の比）またはその近くで、例えばそのような比のある特定の許容差または許容誤差内で存在する。

40

【0183】

いくつかの態様において、細胞は、CD4+細胞の所望の用量および/またはCD8+細胞の所望の用量のような、1つまたは複数の個別の細胞集団または細胞サブタイプの所望の用量で、またはその許容差内で投与される。いくつかの態様において、所望の用量は、サブタイプもしくは集団の所望の細胞数、または細胞が投与される対象の単位体重あたりのそのような細胞の所望の数、例えば個/kgである。いくつかの態様において、所望の用量は、集団もしくはサブタイプの細胞の最小数または単位体重あたりの集団もしくはサブタイプの細胞の最小数であるか、またはそれを超える。

【0184】

したがって、いくつかの態様において、投薬量は、所望の固定用量の総細胞および所望

50

の比に基づき、ならびに/または個別のサブタイプもしくは亜集団のうちの1つまたは複数、例えばそれぞれの所望の固定用量に基づく。したがって、いくつかの態様において、投薬量は、T細胞の所望の固定用量もしくは最小用量およびCD4+細胞対CD8+細胞の所望の比に基づき、ならびに/またはCD4+細胞および/もしくはCD8+細胞の所望の固定用量もしくは最小用量に基づく。

【0185】

ある特定の態様において、細胞または細胞のサブタイプの個別の集団は、約100万～約1000億個の範囲、例えば100万～約500億個の範囲（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、またはこれらの値のうちの任意の2つにより定められる範囲）、例えば約1000万～約1000億個の範囲（例えば、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、またはこれらの値のうちの任意の2つにより定められる範囲）、場合により約1億個～約500億個の範囲（例えば、約1億2000万個、約2億5000万個、約3億5000万個、約4億5000万個、約6億5000万個、約8億個、約9億個、約30億個、約300億個、約450億個）またはこれらの範囲の間の任意の値の細胞数で対象に投与される。

10

【0186】

いくつかの態様において、総細胞の用量および/または細胞の個別の亜集団の用量は、 10^4 または約 $10^4 \sim 10^9$ または約 10^9 個の細胞/キログラム(kg)体重、例えば $10^5 \sim 10^6$ 個の細胞/kg体重の範囲内であり、例えば、少なくとも 1×10^5 もしくは少なくとも約 1×10^5 もしくは 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個の細胞/kg、少なくとも 1.5×10^5 もしくは少なくとも約 1.5×10^5 もしくは 1.5×10^5 もしくは約 1.5×10^5 個の細胞/kg、少なくとも 2×10^5 もしくは少なくとも約 2×10^5 もしくは 2×10^5 もしくは約 2×10^5 個の細胞/kg、または少なくとも 1×10^6 もしくは少なくとも約 1×10^6 もしくは 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個の細胞/kg体重である。例えばいくつかの態様において、細胞は、 10^4 または約 $10^4 \sim 10^9$ または約 10^9 個のT細胞/キログラム(kg)体重、例えば $10^5 \sim 10^6$ 個のT細胞/kg体重、例えば、少なくとも 1×10^5 もしくは少なくとも約 1×10^5 もしくは 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個のT細胞/kg、少なくとも 1.5×10^5 もしくは少なくとも約 1.5×10^5 もしくは 1.5×10^5 もしくは約 1.5×10^5 個のT細胞/kg、少なくとも 2×10^5 もしくは少なくとも約 2×10^5 もしくは 2×10^5 もしくは約 2×10^5 個のT細胞/kg、または少なくとも 1×10^6 もしくは少なくとも約 1×10^6 もしくは 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個のT細胞/kg体重、またはそのある特定の誤差範囲内で投与される。

20

30

【0187】

いくつかの態様において、細胞は、 10^4 または約 $10^4 \sim 10^9$ または約 10^9 個のCD4+および/またはCD8+細胞/キログラム(kg)体重、例えば $10^5 \sim 10^6$ 個のCD4+および/またはCD8+細胞/kg体重、例えば、少なくとも 1×10^5 もしくは少なくとも約 1×10^5 もしくは 1×10^5 もしくは約 1×10^5 個のCD4+および/またはCD8+細胞/kg、少なくとも 1.5×10^5 もしくは少なくとも約 1.5×10^5 もしくは 1.5×10^5 もしくは約 1.5×10^5 個のCD4+および/もしくはCD8+細胞/kg、少なくとも 2×10^5 もしくは少なくとも約 2×10^5 もしくは 2×10^5 もしくは約 2×10^5 個のCD4+および/もしくはCD8+細胞/kg、または少なくとも 1×10^6 もしくは少なくとも約 1×10^6 もしくは 1×10^6 もしくは約 1×10^6 個のCD4+および/もしくはCD8+細胞/kg体重、またはそのある特定の誤差範囲内で投与される。

40

【0188】

いくつかの態様において、細胞は、約 1×10^6 個より多くの、約 2.5×10^6 個より多くの、約 5×10^6 個より多くの、約 7.5×10^6 個より多くの、もしくは約 9×10^6 個より多くのCD4+細胞、および/または少なくとも約 1×10^6 個、少なくとも約 2.5×10^6 個、少なくとも約 5×10^6 個、少なくとも約 7.5×10^6 個、もしくは少なくとも約 9×10^6 個のCD4+細胞、ならびに/あるいは約 1×10^6 個より多くの、約 2.5×10^6 個より多くの、約 5×10^6 個より多くの、約 7.5×10^6 個より多くの、もしくは約 9×10^6 個より多くのCD8+細胞、および/または少なくとも約 1×10^6 個、少なくとも約 2.5×10^6 個、少なくとも約 5×10^6 個、

50

少なくとも約 7.5×10^6 個、もしくは少なくとも約 9×10^6 個のCD8+細胞、ならびに/あるいは約 1×10^6 個より多くの、約 2.5×10^6 個より多くの、約 5×10^6 個より多くの、約 7.5×10^6 個より多くの、もしくは約 9×10^6 個より多くのT細胞、および/または少なくとも約 1×10^6 個、少なくとも約 2.5×10^6 個、少なくとも約 5×10^6 個、少なくとも約 7.5×10^6 個、もしくは少なくとも約 9×10^6 個のT細胞、あるいはそのある特定の誤差範囲内で投与される。いくつかの態様において、細胞は、約 $10^8 \sim 10^{12}$ もしくは約 $10^{10} \sim 10^{11}$ 個のT細胞、約 $10^8 \sim 10^{12}$ もしくは約 $10^{10} \sim 10^{11}$ 個のCD4+細胞、および/または約 $10^8 \sim 10^{12}$ もしくは約 $10^{10} \sim 10^{11}$ 個のCD8+細胞、あるいはそのある特定の誤差範囲内で投与される。

【0189】

いくつかの態様において、細胞は、複数の細胞集団またはサブタイプ、例えばCD4+およびCD8+細胞またはサブタイプが所望のアウトプット比またはその許容される範囲内になるように投与される。いくつかの局面では、所望の比は、特定の比であってもよいし、比の範囲であってもよく、例えば、いくつかの態様において、所望の比（例えば、CD4+細胞とCD8+細胞の比）は、5:1もしくは約5:1と5:1もしくは約5:1との間（または約1:5よりも大きく約5:1よりも小さい）、あるいは1:3もしくは約1:3と3:1もしくは約3:1の間（または約1:3よりも大きく約3:1よりも小さい）、例えば2:1もしくは約2:1と1:5もしくは約1:5の間（または約1:5よりも大きく約2:1よりも小さい）、例えば5:1、4.5:1、4:1、3.5:1、3:1、2.5:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1:1、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、もしくは1:5、または約5:1、約4.5:1、約4:1、約3.5:1、約3:1、約2.5:1、約2:1、約1.9:1、約1.8:1、約1.7:1、約1.6:1、約1.5:1、約1.4:1、約1.3:1、約1.2:1、約1.1:1、約1:1、約1:1.1、約1:1.2、約1:1.3、約1:1.4、約1:1.5、約1:1.6、約1:1.7、約1:1.8、約1:1.9、約1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、もしくは1:5である。いくつかの局面では、許容差は、所望の比の約1%以内、約2%以内、約3%以内、約4%以内、約5%以内、約10%以内、約15%以内、約20%以内、約25%以内、約30%以内、約35%以内、約40%以内、約45%以内、約50%以内であり、これらの範囲の間の任意の値を含む。

【0190】

疾患の予防または治療のために適切な投薬量は、治療されるべき疾患、細胞または組換え受容体の種類、疾患の重症度および経過、細胞が予防目的で投与されるかまたは治療目的で投与されるか、先行の治療、対象の臨床歴および細胞に対する応答、ならびに担当医の判断に依存する場合がある。組成物および細胞は、いくつかの態様において、一度にまたは一連の処置にわたり対象に適切に投与される。

【0191】

本明細書に記載される細胞は、任意の適切な手段により、例えば、ボーラス注入により、注射により、例えば静脈内もしくは皮下注射、眼内注射、眼周囲注射、網膜下注射、硝子体内注射、経中隔注射、胸膜下注射、脈絡膜内注射、前房内注射、結膜下（subconjunctival）注射、結膜下注射、テノン下注射、眼球後注射、眼球周囲注射、または後傍強膜送達（posterior juxtasclear delivery）により投与することができる。いくつかの態様において、それらは、非経口、肺内、および鼻腔内に投与され、局所処置が所望の場合は、病巣内投与で投与される。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与を含む。いくつかの態様において、所与の用量は、細胞の単回ボーラス投与により投与される。いくつかの態様において、所与の用量は、例えば3日間以内の期間にわたる細胞の複数ボーラス投与により、または細胞の連続注入投与により投与される。

【0192】

いくつかの態様において、細胞は、抗体または改変細胞または受容体または細胞障害剤もしくは治療剤などの作用物質などの別の治療的介入と同時にまたは任意の順序で順次などの、併用処置の部分として投与される。細胞は、いくつかの態様において、1つもしくは

10

20

30

40

50

複数の追加的な治療剤と共に、または別の治療的介入に関連して同時または任意の順序の順次のいずれかで共投与される。いくつかの状況では、細胞は、別の治療法と十分に近い時間で共投与され、その結果、細胞集団は1つまたは複数の追加的な治療剤の効果を高める、またはその逆である。いくつかの態様において、細胞は、1つまたは複数の追加的な治療剤の前に投与される。いくつかの態様において、細胞は、1つまたは複数の追加的な治療剤の後に投与される。いくつかの態様において、1つまたは複数の追加的な薬剤は、例えば持続性を高めるためにIL-2などのサイトカインを含む。いくつかの態様において、方法は、化学療法剤の投与を含む。

【0193】

細胞の投与に続き、いくつかの態様における改変細胞集団の生物学的活性は、例えばいくつかの公知の方法のいずれかにより測定される。評価すべきパラメーターは、インピボでの、例えばイメージングによる、またはエクスピボでの、例えばELISAもしくはフローサイトメトリーによる、抗原への改変T細胞の特異的結合を含む。ある特定の態様において、改変細胞が標的細胞を破壊する能力は、例えば、Kochenderfer et al., *J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009)およびHerman et al. *J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004)に記載された細胞傷害性アッセイなどの、当技術分野において公知の任意の適切な方法を用いて測定することができる。ある特定の態様において、細胞の生物学的活性は、CD107a、IFN、IL-2、およびTNFなどの1つまたは複数のサイトカインの発現および/または分泌をアッセイすることによって測定される。いくつかの局面では、生物学的活性は、腫瘍量または負荷における低減などの臨床アウトカムを評価することによって測定される。

【0194】

ある特定の態様において、改変細胞は、それらの治療有効性または予防有効性が増加するように、任意のいくつかの方法でさらに操作される。例えば、集団によって発現される、改変されたCARまたはTCRを、標的指向性部分に直接的またはリンカーにより間接的のいずれかでコンジュゲートすることができる。標的指向性部分に化合物（例えばCARまたはTCR）をコンジュゲートする実施は、当技術分野において公知である。例えば、Wadwa et al., *J. Drug Targeting* 3: 111 (1995)、および米国特許第5,087,616号を参照されたい。

【0195】

C. 投与計画またはレジメン

いくつかの態様において、第1の用量の細胞が与えられ、続いて1つまたは複数の第2の継続用量の細胞が与えられる、反復投薬方法が提供される。養子療法の方法で対象に投与される場合、細胞の複数用量のタイミングおよびサイズは、概して、TCR発現改変T細胞の有効性および/または活性および/または機能を向上させるように設計される。いくつかの態様において、反復投薬は、PD-1および/またはPD-L1などの抑制性免疫分子がTCR発現改変T細胞上でアップレギュレーションされる場合に起きる可能性があるダウンレギュレーションまたは抑制活性を低下させる。当該方法は、異なる用量の間に特定の時間枠を有して、通常、第1の用量に続いて、1つまたは複数の継続用量を投与し、異なる用量の間に特定の時間枠を設けることを含む。

【0196】

養子細胞療法に関して、所与の「用量」の投与は、単一の組成物および/または単一の中断されない投与としての（例えば、単回注射または連続注入としての）所与の量または数の細胞の投与を包含し、また、複数の個別の組成物または注入で3日間以内の特定の期間にわたり提供される分割用量としての所与の量または数の細胞の投与を包含する。したがって、いくつかの状況では、第1の用量または継続用量は、単一の時点に与えられるまたは開始される特定の数の細胞の単一または連続投与である。しかし、いくつかの状況では、第1の用量または継続用量は、1日1回3日間もしくは2日間のよう、3日以内の期間にわたる複数の注射もしくは注入で、または1日間にわたる複数回の注入により投与される。

【0197】

したがって、いくつかの局面では、第1の用量の細胞が、単一の薬学的組成物として投与される。いくつかの態様において、継続用量の細胞が、単一の薬学的組成物として投与される。

【0198】

いくつかの態様において、第1の用量の細胞は、合計で第1の用量の細胞を含有する複数の組成物として投与される。いくつかの態様において、継続用量の細胞は、合計で継続用量の細胞を含有する複数の組成物として投与される。いくつかの局面では、追加的な継続用量は、3日以内の期間にわたって複数の組成物で投与され得る。

【0199】

「分割用量」という用語は、1日間よりも長い期間にわたって投与されるように分割されている用量を指す。この種の投薬は、本方法により包含され、単一用量であると見なされる。

10

【0200】

したがって、第1の用量および/または継続用量は、いくつかの局面では、分割用量として投与され得る。例えば、いくつかの態様において、用量は、対象に2日間または3日間かけて投与され得る。分割投薬のための例示的な方法は、1日目に用量の25%を投与し、2日目に用量の残りの75%を投与することを含む。他の態様において、第1の用量の33%が、1日目に投与され、残りの67%が2日目に投与され得る。いくつかの局面では、用量の10%が1日目に投与され、用量の30%が2日目に投与され、用量の60%が3日目に投与される。いくつかの態様において、分割用量は、3日間よりも長くにわたっては投与されない。

20

【0201】

第1の用量などの先行用量に関連する「継続用量」という用語は、先行の、例えば第1の、用量の後、合間にいかなる介在用量も対象に投与せず、同じ対象に投与される用量を指す。それでもなお、用量は、単一の分割用量内に含まれる一連の注入または注射の中の第2、第3、および/またはその他の注射または注入を包含しない。したがって、特に規定しないかぎり、1、2または3日間以内の第2の注入は、本明細書に使用される場所の「連続」用量であると見なされない。同様に、分割用量内の一連の複数の用量の中の第2、第3、およびその他もまた、「連続」用量の意味に関連して「介在」用量と見なされない。したがって、特に規定しないかぎり、たとえ対象が第1の用量の開始に続き細胞の第2または後続の注射または注入を受けた場合であっても、第1または先行用量の開始後3日間よりも長いある特定の期間投与される用量は、第2または後続の注射または注入が第1または先行用量の開始に続いて3日以内の期間に起こったのであるかぎり「連続」用量であると見なされる。

30

【0202】

したがって、特に規定しないかぎり、最大3日間にわたる同じ細胞の複数回投与は、単一用量と見なされるのであって、第2の用量が第1と「連続的」であるかを決定するために、最初の投与から3日以内の細胞の投与は、継続用量と見なされず、かつ介在用量と見なされない。

【0203】

いくつかの態様において、複数の継続用量は、いくつかの局面で、第1の用量と第1の継続用量との間のタイミングに関するガイドラインと同じタイミングガイドラインを用いて、例えば、第1および複数の継続用量を投与し、投与された第1の用量から、対象においてPD-1および/またはPD-L1などの抑制性免疫分子がアップレギュレーションされている期間内に各継続用量を与えることによって与えられる。末梢血または他の体液からのTCR発現細胞などの抗原発現細胞におけるPD-1および/またはPD-L1のレベルを評価することなどによって継続用量をいつ提供すべきかを経験的に決定することは、技術者のレベルの範囲内である。

40

【0204】

いくつかの態様において、第1の用量と第1の継続用量との間、または第1の用量と複数の継続用量との間のタイミングは、各継続用量が約5日間よりも長い、約6日間よりも長い

50

、約7日間よりも長い、約8日間よりも長い、約9日間よりも長い、約10日間よりも長い、約11日間よりも長い、約12日間よりも長い、約13日間よりも長い、約14日間よりも長い、約15日間よりも長い、約16日間よりも長い、約17日間よりも長い、約18日間よりも長い、約19日間よりも長い、約20日間よりも長い、約21日間よりも長い、約22日間よりも長い、約23日間よりも長い、約24日間よりも長い、約25日間よりも長い、約26日間よりも長い、約27日間よりも長い、約28日間よりも長い、またはそれよりも長い期間内に与えられるようなタイミングである。いくつかの態様において、継続用量は、第1または直前の用量の投与後約28日間よりも短い期間内に与えられる。追加的な用量または複数の追加的な継続用量は、後続用量または後続の継続用量とも称される。

【0205】

細胞の第1の用量および/または1つもしくは複数の継続用量のサイズは、概して、改善された有効性および/または低減した毒性リスクを提供するように設計される。いくつかの局面では、第1の用量または任意の継続用量の投薬量またはサイズは、上記の任意の投薬量または量である。いくつかの態様において、第1の用量または任意の継続用量中の細胞数は、対象の体重に基づいて約 0.5×10^6 個/kg ~ 5×10^6 個/kg、約 0.75×10^6 個/kg ~ 3×10^6 個/kg、または約 1×10^6 個/kg ~ 2×10^6 個/kgである（それぞれ両端の値を含む）。

【0206】

本明細書に使用される「第1の用量」は、所与の用量のタイミングが継続用量または後続用量の投与の前であることを記載するために使用される。この用語は、対照が細胞療法薬の用量を以前に受けたことがないことも、対象が同じ細胞または同じ組換え受容体を発現または同じ抗原を標的とする細胞の用量を以前に受けたことがないことさえも、必ずしも意味しない。

【0207】

いくつかの態様において、継続用量中の細胞によって発現される受容体（例えばTCR）は、第1の用量の細胞によって発現される受容体（例えばTCR）のように、少なくとも1つの免疫反応性エピトープを含有する。いくつかの態様において、継続用量で投与される細胞によって発現される受容体（例えばTCR）は、第1の用量によって発現される受容体（例えばTCR）と同一である、または第1の用量として投与される細胞によって発現される受容体（例えばTCR）と実質的に同一である。

【0208】

対象に様々な用量で投与される細胞によって発現されるTCRなどの受容体は、治療されている疾患または病態またはその細胞において発現される、それに関連する、および/またはそれに特異的な分子を一般的に認識するまたはそれと特異的に結合する。受容体は、分子（例えば抗原）に特異的に結合すると、概して、ITAM形質導入シグナルなどの免疫刺激シグナルを細胞内に送達し、それにより、疾患または病態を標的とする免疫応答を促進する。例えば、いくつかの態様において、第1の用量中の細胞は、発現される抗原に特異的に結合するTCRを発現する。

【実施例】

【0209】

以下の実施例は、本発明の特許請求の範囲を限定することを意図するものではなく、特定の態様の例示であることを意図するものである。技術者に思い浮かぶ、例示される方法における任意の変形は、本発明の範囲内に入ることが意図される。

【0210】

通常、エプスタイン-バーウイルス（EBV）およびヒトパピローマウイルス（HPV）を含むウイルスによる感染に関連するがんは、養子免疫療法の優れた標的である。ここで、本発明者らは、EBVの潜伏膜タンパク質2（LMP2）抗原に応答して活性化することができる新規なT細胞受容体（TCR）配列を同定した（TCR-L201；図10および11）。これらのインターフェロン（IFN）活性化の結果と一致して、TCR-L201を発現しているT細胞は、HLA-A2と連結したLMP2ペプチドを発現するように改変されたがん細胞を特異的に殺

10

20

30

40

50

傷することができる(図13A)。HLA-A2は最もよく見られるヒト血清型の1つであるので、L201 TCRは、EBV関連NPCならびにホジキンリンパ腫およびパーキットリンパ腫を含むリンパ腫に対する改変TCR-T細胞療法に有用性を有する。

【0211】

構築物の設計

LMP2 TCR-T細胞について、標準的な分子生物学技法を使用して、2つのコード領域を含有するMP71レトロウイルスベクター構築物を生成した：(1)ヒト抗LMP2 TCRの鎖の可変領域がマウスTCR鎖の定常領域に融合したもの；(2)同じヒト抗LMP2 TCRの鎖の可変領域がマウスTCR鎖の定常領域に融合したもの。(図1A)

【0212】

TCR-ICI-TGF TRAP TCR-T細胞について、標準的な分子生物学技法を使用して、3つのコード領域を含有するMP71レトロウイルスベクター構築物を生成した：(1)ヒト特異的TCRの鎖可変領域がマウスTCRの鎖定常領域に融合したもの；(2)同じヒトTCRの鎖可変領域がマウスTCRの鎖定常領域に融合したもの；(3)GSリンカーで連結された免疫チェックポイント阻害因子(ICI)の重鎖可変領域および軽鎖可変領域が、可変重鎖のC末端で可動性リンカーペプチドを介してTCR RIIの細胞外ドメインのリガンド結合配列に融合したもの。抗gp120-TCR RII抗体を非特異的scFv-TCR RII対照として使用する。(図1B)

【0213】

細胞株および培地

HEK-293T、Ca Ski、およびK562細胞をATCCから購入した。匿名のドナーからの末梢血単核細胞(PBMC)をHemacareから購入した。ヒトHLA-A2単鎖を過剰発現しているベクターによるK562細胞のレンチウイルス形質導入によりK562-A2細胞を産生した。ヒトE6およびE7を過剰発現しているベクターによるCa Ski細胞のレトロウイルス形質導入によりCa Ski E6/E7細胞を産生した。LLWエピトープ-リンカー-HLA-A2またはCLGエピトープ-リンカー-HLA-A2を過剰発現するベクターのレトロウイルス形質導入によりA375-pHLA(LLW)およびA375-pHLA(CLG)細胞を産生した。DMEM+10% FBS、RPMI+10% FBS、またはX-Vivo+5%ヒト血清A/B中で細胞を培養した。

【0214】

レトロウイルスベクターの産生

標準的なリン酸カルシウム沈殿プロトコルを使用するHEK-293T細胞の一過性トランスフェクションによりレトロウイルスベクターを調製した。ウイルス上清を48時間目に回収し、T細胞に形質導入するために使用した。T細胞の形質導入および拡大増殖。レトロウイルス形質導入の前に、T細胞アクティベーターピーズおよびヒトIL-2と一緒に培養することによりPBMCを2日間活性化した。形質導入のために、15mg/ウェルのRetroNectin(Clontech Laboratories)でコーティングした組織培養処理されていない24ウェルプレート上に、新たに回収されたレトロウイルス上清を32、2,000gで2時間遠心することによりスピンドットした。活性化PBMCをプレート上にロードし、32、600gで30分間回転させた。T細胞を37および5% CO₂でインキュベートした。培地を2日毎に補充した。

【0215】

TCR染色

すべての抗体をBiolegendから購入した。トランスフェクションの72時間後に、マウスTCR鎖に対する抗体染色とそれに続くによるフローサイトメトリーにより組換えTCRの発現を検出した。CD3、CD4、およびCD8染色を同時に行った。生存CD3+リンパ球ゲーティング戦略を使用した。NT=形質導入されていない対照。

【0216】

初代ヒトT細胞に、L201、L202およびL203 TCRの構築物を形質導入した。結果：(図9)抗LMP2 TCRは、ヒトT細胞において強く発現される。

【0217】

10

20

30

40

50

初代ヒトT細胞に、E6、E6- PD1-TGF RII、E6- PDL1-TGF RII、E6-HAC-TGF RIIまたはE6- gp120-TGF RII TCRの構築物を形質導入した。結果：(図14)抗E6 TCRは、本来の抗E6 TCR、E6- PD1-TGF RII、E6- PDL1-TGF RII、E6-HAC-TGF RIIおよびE6- gp120-TGF RII TCR構築物を含有するT細胞において強く発現される。

【0218】

初代ヒトT細胞に、LMP2- PD1-TGF RII、LMP2- PDL1-TGF RII、LMP2-HAC-TGF RIIまたはLMP2- gp120-TGF RII TCRの構築物を形質導入した。結果：(図20)抗LMP2 TCRは、本来の抗LMP2 TCR、LMP2- PD1-TGF RII、LMP2- PDL1-TGF RII、LMP2-HAC-TGF RIIおよびLMP2- gp120-TGF RII TCR構築物を含有するT細胞において強く発現される。

10

【0219】

インビトロでのTCR-TによるIFN 産生

TCR-T細胞を、種々の種類の標的細胞と共に、表示されている様々なエフェクター対標的比で共培養した。細胞内IFN- または分泌されたIFN- の発現を、それぞれ、フローサイトメトリーにより、または製造業者の説明書に従ってヒトIFN- ELISAキットを用いて、測定した。

【0220】

抗LMP2 TCRを有するTCR-T細胞を、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。結果：(図10および11A~11C)抗LMP2 TCRを含有するTCR-T細胞は、細胞内IFN- 発現によって測定されるように標的細胞によって特異的に活性化することができた。3つの抗LMP2 TCRはすべて、マイクロモル濃度以下のEC50を示した。

20

【0221】

L201 TCR-T細胞を、EBVペプチドをパルスしたAPCと共に1:0、1:1、および3:1のエフェクター対標的比で48時間共培養した。結果：(図12)TCR-T細胞は、標的細胞により活性化することができた。より高いE:T比は、TCR-T細胞により多くのIFN- を産生させる。

【0222】

分泌されたICI-TGF RII trapの、抗原特異的の刺激を受けたTCR-T細胞のIFN 産生に対する効果。(a)TCR-T細胞を、ペプチドをパルスしたK562-A2細胞と共に1:1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。次いで、細胞を収集し、細胞内IFN- 発現をフローサイトメトリーにより測定した(図15A)。(b)TCR-T細胞を、Ca Ski E6/E7細胞と共に1:0、1:2、1:1、および3:1のエフェクター対標的比で72時間共培養した(図15B)。次いで上清を収集し、ヒトIFN- ELISAキットを製造業者の説明書に従って使用してIFN- の産生を測定した。結果：(図15B)E6 TCRを含有するTCR-T細胞は、IFN- 発現により測定されるように標的細胞により活性化することができた。ペプチドをパルスしたAPCまたはE6+標的細胞(Ca Ski E6/E7)のいずれかにより刺激されると、E6- PD1-TGF RII、E6- PDL1-TGF RII、E6-HAC-TGF RII、またはE6- gp120-TGF RII TCR-T細胞は、E6単独よりもずっと高いIFN- 発現を有する。対照E6- gp120-TGF RII TCR-T細胞と比較して、E6- PD1-TGF RII、E6- PDL1-TGF RII、E6-HAC-TGF RII TCR-T細胞は、抗原特異的の刺激を受けて、より高いレベルのIFN- を産生している。

30

40

【0223】

LMP2- PD1-TGF RII、LMP2- PDL1-TGF RII、LMP2-HAC-TGF RII、またはLMP2- gp120-TGF RII TCR-T細胞を、LMP2-LLWペプチドをパルスしたAPCと共に1:1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。結果：(図21)LMP2 TCRを含有するTCR-T細胞は、IFN- 発現により測定されるように標的細胞によって活性化することができた。ペプチドをパルスしたAPCによって刺激されると、LMP2単独、LMP2- PD1-TGF RII、LMP2- PDL1-TGF RII、LMP2-HAC-TGF RIIおよびLMP2- gp120-TGF R

50

II TCR-T細胞は、高いIFN- γ 発現を有する。

【0224】

特異的細胞溶解（細胞傷害性）

LMP2 TCR-T細胞殺傷アッセイのために、EBVペプチドをパルスしたAPC（K562-A2）を予めCFSEで染色し、次いで、形質導入されていないT細胞またはTCR形質導入T細胞と共に1：1、および3：1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。標的細胞に対するT細胞の細胞傷害性をAnnexin V/7-AAD染色により測定した。A375細胞殺傷のために、標的（A375-pHLA（LLW））細胞および非標的（A375-pHLA（CLG））細胞をそれぞれCFSEおよびCelltrace Violetで標識し、1：1の比で混合した。次いで、混合した細胞をL202 TCR-T細胞と共に様々なエフェクター対標的細胞比で一晩共培養した。標的細胞

10

【0225】

標的細胞に対するL201 TCR-T細胞またはL202 TCR-T細胞の細胞傷害性。（a）EBVペプチドAPCを予めCFSEで染色し、次いで、L201 TCR-T細胞と共に1：1および3：1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。標的細胞に対するT細胞の細胞傷害性をAnnexin V/7-AAD染色により測定した。結果：（図13A）L201抗LMP2 TCR-T細胞は標的細胞を特異的に殺傷した。より高いE：T比で、TCR-T細胞は、より高い殺傷能を有する。

【0226】

（b）標的（A375-pHLA（LLW））細胞および非標的（A375-pHLA（CLG））細胞を、それぞれCFSEおよびCelltrace Violetで標識し、1：1の比で混合した。次いで、混合した細胞を、L202 TCR-T細胞と共に、表示されているエフェクター対標的細胞比で一晩、共培養した。結果：（図13B）L202抗LMP2 TCR-T細胞は、標的細胞を特異的に殺傷した。より高いE：T比で、TCR-T細胞は、より高い殺傷能を有する。

20

【0227】

標的細胞に対する様々な抗LMP2 TCR-T細胞の特異的殺傷。LMP2-LLWペプチドをパルスしたAPCを予めCFSEで染色し、次いでTCR-T細胞と共に複数のエフェクター対標的比で一晩共培養した。LMP2-LLWペプチドをパルスしたAPCに対するT細胞の細胞傷害性をAnnexin V/7-AAD染色により測定した。結果：（図23）すべてのLMP2 TCR-T細胞は、LMP2+標的細胞（Ca Ski）を特異的に殺傷した。対照LMP2. gp120-TGF RII TCR-T細胞は、他のLMP2 TCR-T細胞よりも弱く標的細胞を殺傷した。したがって、LMP2-PD1-TGF RII、LMP2-PDL1-TGF RII、LMP2-HAC-TGF RII TCR-T細胞は、LMP2-gp120-TGF RII TCR-T細胞よりも高い殺傷能を有する。

30

【0228】

E6-ICI-TGF β TRAP T細胞殺傷アッセイのために、Ca Ski腫瘍細胞を予めCFSEで染色し、次いで、E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCR-T細胞と共に1：1のエフェクター対標的比で一晩共培養した。Ca Ski7細胞に対するT細胞の細胞傷害性を、Annexin V/7-AAD染色により測定した。

【0229】

結果：（図16）すべてのE6 TCR-T細胞は、E6+標的細胞（Ca Ski）を特異的に殺傷した。E6. gp120-TGF RII TCR-Tは、E6単独と同じように効率的に標的細胞を殺傷し、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII TCR-T細胞は、E6. gp120-TGF RII TCR-T細胞よりも高い殺傷能を有する。

40

【0230】

分泌されたscFv-TGF RIIのTGF β に対する結合活性。scFv-TGF RIIでコーティングしたプレートに組換えヒトTGF β 1を添加し、それをビオチン化抗TGF β 1およびHRP-アビジンにより検出した。

【0231】

結果：（図17）E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCR形質導入293T細胞により産生された、分泌されたscF

50

v-TGF RIIは、組換えヒトTGF 1と類似の親和性で結合する。

【0232】

TGF 発現。製造業者の説明書に従ってヒトTGF ELISAキットを使用してE6+標的細胞 (Ca Ski) における分泌されたTGF を測定した。

【0233】

結果：(図18) E6+標的細胞 (Ca Ski) は、TGF を産生し、それを上清中に分泌することができる。

【0234】

インビトロでのTCR-T細胞の増殖。E6、E6. PD1-TGF RII、E6. PDL1-TGF RII、E6.HAC-TGF RII、またはE6. gp120-TGF RII TCR-T細胞を予めCFSEで染色した。次いで、染色されたT細胞をCa Ski細胞と共に72時間共培養し、CFSEの強度をフローサイトメトリーにより測定した。非形質導入 (NT) T細胞を対照として使用した。

10

【0235】

結果：(図19) E6+標的細胞への曝露は、すべてのE6 TCR-T細胞が増殖するように刺激した (活性化の別の尺度)。E6. PDL1-TGF RII TCR-T細胞は、試験された他のTCR-T細胞よりも速く増殖した。

【0236】

L202 TCR-T細胞のインビボ抗腫瘍有効性

方法：6~8週齢雌性NSGマウスの右側腹部皮下に 5.0×10^6 個のA375-pep-HLA-A2黒色腫細胞を接種した。試験0日目である9日後に、各群が平均腫瘍体積 35mm^3 を担持するように、腫瘍体積に基づき動物を群に選別した。試験0日目に、動物に 10×10^6 個のTCR+L202細胞または形質導入されていない細胞を静脈内注射した。これらの注射を7日後の試験6日目に繰り返した。

20

【0237】

表示されている日に腫瘍体積を測定し、個別に(図24A)または各群についての平均として(図24B)プロットした。腫瘍の変化倍率(図24C)を計算し、(20日目の腫瘍体積)/(0日目の腫瘍体積)としてプロットした。動物の体重変化を、0日目の初回動物体重を基準にした割合(%)として計算した(図24D)。まとめると、これらの結果はL202 TCR-T細胞の口バスタな抗腫瘍有効性を示し、明らかな毒性の証拠はない。

【0238】

予測方法

6~8週齢雌性NSGマウスの右側腹部皮下に、 5.0×10^6 個のA375-pep-HLA-A2黒色腫細胞を接種する。試験0日目である9日後に、各群が平均腫瘍体積 35mm^3 を担持するように、腫瘍体積に基づき動物を群に選別する。試験0日目に、動物に $1e6$ 個の形質導入されていない細胞または以下の構築物を形質導入されたTCR-T細胞を静脈内注射する：1) L202；2) L202-PD1；3) L202-TGF RII；4) L202-PD1-TGF RII。これらの注射を7日後の試験6日目に繰り返す。次いで、腫瘍体積および動物の体重を20日目まで2日毎に測定し、20日目に実験を終了する。

30

【0239】

A375腫瘍を完全に消失させた 10×10^6 個のL202細胞(図24B)とは対照的に、本発明者らは、 1×10^6 個のL202細胞による処置がインビボで腫瘍の成長を中程度に抑制すると予想する。PD1がA375黒色腫の成長を推進する公知の能力に基づき(引用PMID: 26359984)、本発明者らは、抗PD1の添加がL202単独と比較してマウス腫瘍量のより強い低減をもたらすと予想する(群2を群1と比較)。抗PD1存在下および非存在下のTGF の拮抗作用を検討することにより、さらなる相加または相乗効果が決定されるであろう(群4および3を、それぞれ群1および2と比較)。まとめると、本発明者らは、TCR-T細胞療法を免疫チェックポイント抑制および/またはTGF のブロックと組み合わせることが、量的により大きな抗腫瘍有効性を提供し、それにより、より小さな投薬レジメンの使用を促進するという原理証明をこれらの実験が提供すると予想する。

40

【0240】

50

本明細書に引用されるすべての参考文献は、完全に示されているかの如くそれらの全体が参照により組み入れられる。特に定義されないかぎり、本明細書に使用される技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。Allen et al., Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22nd ed., Pharmaceutical Press (September 15, 2012); Hornyak et al., Introduction to Nanoscience and Nanotechnology, CRC Press (2008); Singleton and Sainsbury, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed., revised ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2006); Smith, March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 7th ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2013); Singleton, Dictionary of DNA and Genome Technology 3rd ed., Wiley- Blackwell (November 28, 2012); および Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)は、本出願に使用される用語の多くへの一般指針を当業者に提供する。抗体を調製するやり方に関する参考文献については、Greenfield, Antibodies A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY, 2013); Koehler and Milstein, Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion, Eur. J. Immunol. 1976 Jul, 6(7):511-9; Queen and Selick, Humanized immunoglobulins、米国特許第5,585,089号(1996年12月); および Riechmann et al., Reshaping human antibodies for therapy, Nature 1988 Mar 24, 332(6162):323-7を参照されたい。

10

20

【0241】

当業者は、本発明の実施に使用することもできる、本明細書に記載されているものと類似または等価の多くの方法および材料を認識するであろう。本発明の他の特徴および利点は、例により本発明の態様の様々な特徴を例証する添付の図面と共に採用された、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。実際に、本発明は、記載される方法および材料に決して限定されない。便宜上、本明細書において、すなわち本明細書、実施例および添付の特許請求の範囲に用いられるある特定の用語をここに集める。本発明の組成物および方法は、本明細書に開示される例示的な配列の変形に限定されるのではなく、本明細書に開示される例示的な配列と少なくとも90%、少なくとも95%および少なくとも99%の同一性を有するものを含む。

30

【0242】

特に述べないかぎり、または状況から暗に意味されないかぎり、以下の用語および語句は、下に提供される意味を含む。特に明示的に述べないかぎり、または状況から明らかでないかぎり、下の用語および語句は、該用語または語句が属する技術分野で獲得した意味を排除しない。定義は、特定の態様を説明することを助けるために提供されるのであって、請求された発明を限定することを意図しない。それは、本発明の範囲が特許請求の範囲によってのみ限定されるからである。特に定義されないかぎり、本明細書に使用されるすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。

【0243】

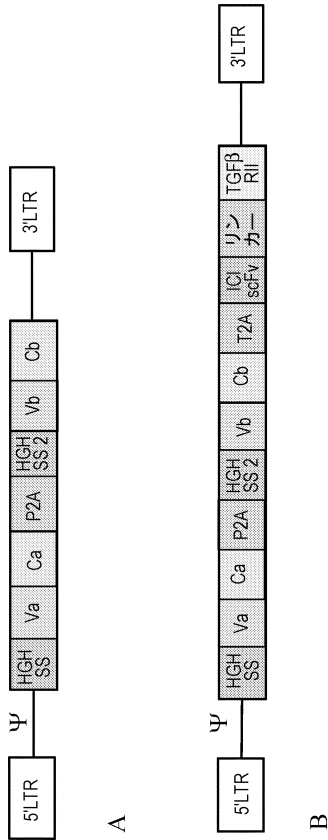
本明細書におけるすべての刊行物は、各個別の刊行物または特許出願が参照により組み入れられると具体的かつ個別に示されている場合と同じ程度に、参照により組み入れられる。以下の説明は、本発明の理解に有用であり得る情報を含む。これは、本明細書に提供される任意の情報が先行技術であるか、またはここに請求される発明に関連するという承認でも、具体的または明示的に参照される任意の刊行物が先行技術であるという承認でもない。

40

50

【 図面 】

【 図 1 】



【 図 2 】

DQQVKQNSPQLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKYP AEGPTFLISSIKDKNEDGR
FTVFLNKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAAPPPSGNQFYFGTGTSLTVIP

(SEQ ID No: 1)

A

DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWRQDPGLRLIYFSYDVKMKKEG
DIPEGYSVSRERKERSLILESASTNQTSMYL CASSTRLAGAQRDTQYFGPGTRLTVL

(SEQ ID No: 2)

B

10

20

【 図 3 】

gatcagcaggtaaacaaaatagcccgctcacttcagttcaagaagcgcactctcactcaactgcgattacacgaactctatgttgattactttt
ttggtacaagaagtagccagcagagggctcgcactttctctcataagcagatcaaaagataagaacgaagcgggtccaagtggttcccttaa
caaaagcgaagcactgtctctgcactgtgcccaccgacgactcagctgtactctcgcgcaccaccacccctcggtatcaatt
tacttcggtacgggacgtctcactgttatacc

(SEQ ID No: 3)

A

【 図 4 】

EDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYDSSSTLYWYKQEPGAGLQLTYIFSNMDMKQDRL
TVLLNKKDKHLSLRIADTQTGDSAIYFCAESIPSGYNKLIFGAGTRLAVHP

(SEQ ID No: 5)

A

30

gacgtgaaggtcactcagctctcaggtatctgttaagcgcactgcgaaaaagtcttggagtggtccaggacatggatcacgaaaaatggtttg
gtatgccaaagaccctggcctgggtctcagactgattacttttagctacagcttataaatgaaggaagggatgattctcgaagggtatagtttca
cgcgagaagaagcgggtctcactgatcttgactcagctccactaaccaaacatcatgtaccttgcgcacttagtaacaggctcgcgggcct
caacgggataccaatattcggtcgggcacgcggtgacgtcctg

(SEQ ID No: 4)

B

GVAQSPRYKIEKQSVAFWCNPISGHATLYWYQQLGGGPKLLIQFQNGWVDDSQLP
KDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASSLGLAGEDTQYFGPGTRLTVL

(SEQ ID No: 6)

B

40

50

【 5 】

gaggacgtagaacaatcttttctctctgctcgcggaggagatctctctgtaacttaactacaccgatagcagctcaacgtaacctctctggtat
aagcaggagcccgccgagcagcttgcactctgactatattatgcaataggaatgaaacaagaccacagattgacagctcttgaacaagaa
agacaagcactttctctcgcattgaggacaccagcagggaactcagcaattttttgctgaaagcattccctctggatacaaaagtgat
ttggacgggaccaggctggcggctcatcca

(SEQ ID No: 7)

A

gggtggcacaatccccaggtaacaagatcagagaaggcagctcgcgttttgggtatccaatctggcatgccacacttctggtatc
aacagatacgggtcagggccgaagctgcttatacagtttcaaaacaatggcgtgctgagcagctcagcttccc.aagacagattttgacagag
agactgaagggggtgagtagtacctgaaatacaaccggcgaactgaagacagctgctctactttgcttctcactcggattgctggaga
ggacacacaatacttggctcagaaccagactcaggttcg

(SEQ ID No: 8)

B

【 6 】

QQKNDDQQVKQNSPQLSVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKYPAEQPTFLISSIKDK
NEDGRFTVFLNKSAKHLHLHIVPSQPGDSAVYFCAAKLPQAAGNKLTFGGGTRVLVKP

(SEQ ID No: 9)

A

MVIQNPRYQVTFQKPVTLSCSQTLNHNVMYVYQKSSQAPKLLFHYDKDFNNEAD
TPDNFQSRPNTSFCFLDIRSPGLGDAAMYLCATSSSIAGDTRNNEQFFGPGTRLTLV

(SEQ ID No: 10)

B

10

【 7 】

caacagaagaatgacgatcaacaagtaagcaaacagccctctcttctcagtaagaaggacgcatctctatacttaactgacactacaata
gcatgtttgactctctctggtgtaaaaaatccagcagagggtcccaactctctatcagcagaagcalttaagacaaaaatgaagcggta
ggttcacagcttctcaataaaagcgttaaacatctctcactccatattgtaccgtcccaactggtgacagtcggatattttggcagccaactt
cctcaggcggctgggaataaacctgactgttggcggcggcagggctctggtaaaacc

(SEQ ID No: 11)

A

atggtatccaaaaccagataccagggttacgacttccgcaagcagtaacacttctatgttcaaaccttgaatcaaatgcatgactggtatc
aaacaaagtcaagccagcccaaaactctcttctactatgataaaagactcaacaatgagccgatcccccagcaacttccagagtaggagg
cccaacaagttttgttcttgacatccctcaccggacttggcagatgctcctgctgacatcaagtagttaggggatagc
ggaaacacgaacaattttgtctggaaaccaggcttacggtattg

(SEQ ID No: 12)

B

【 8 】

MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEASA

(SEQ ID No: 14)

MATGSRTSLLAFGLLCLPCLQEGSA

(SEQ ID No: 15)

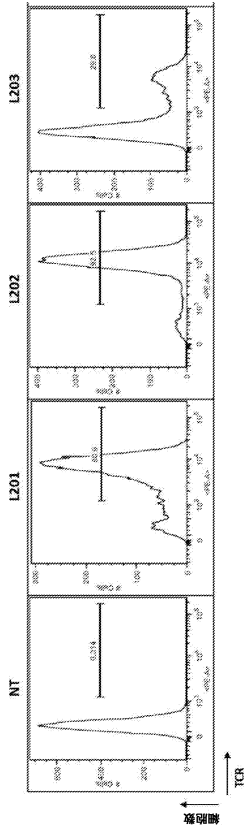
20

30

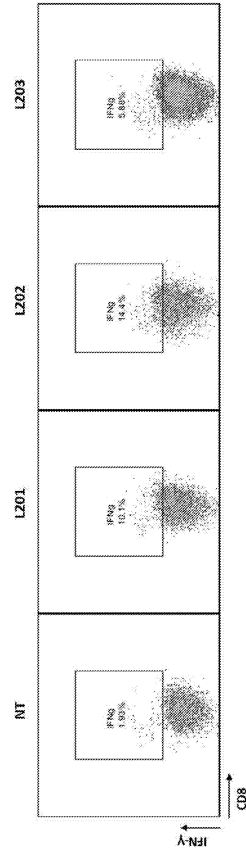
40

50

【 図 9 】



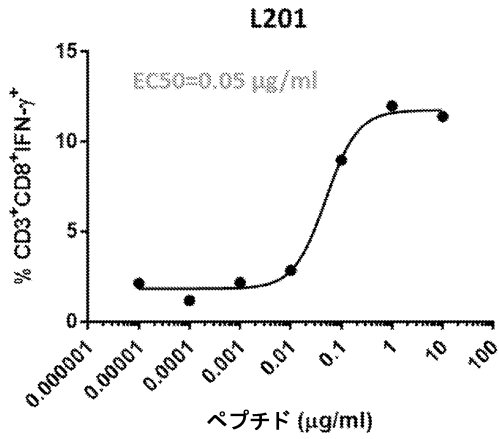
【 図 10 】



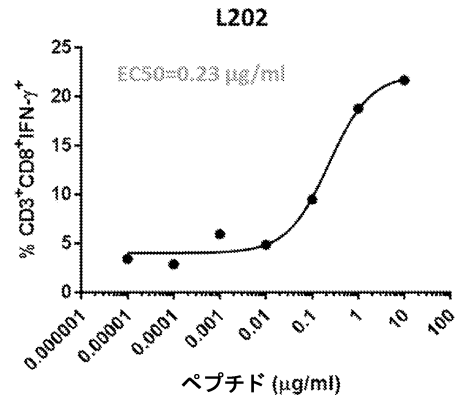
10

20

【 図 11 A 】



【 図 11 B 】

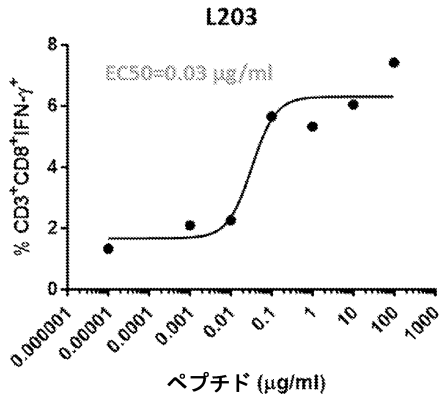


30

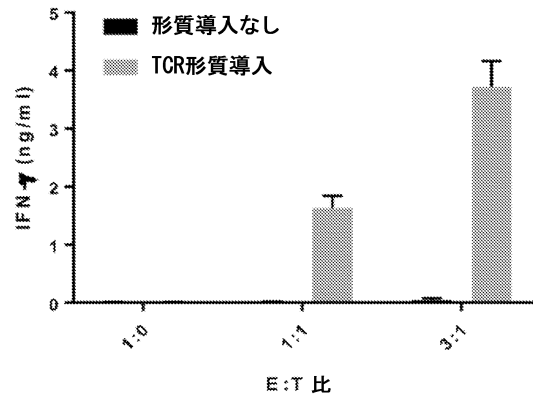
40

50

【図 1 1 C】

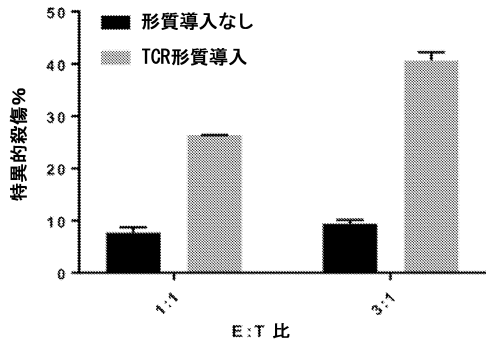


【図 1 2】

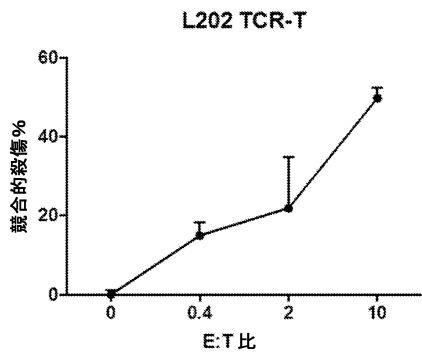


10

【図 1 3】

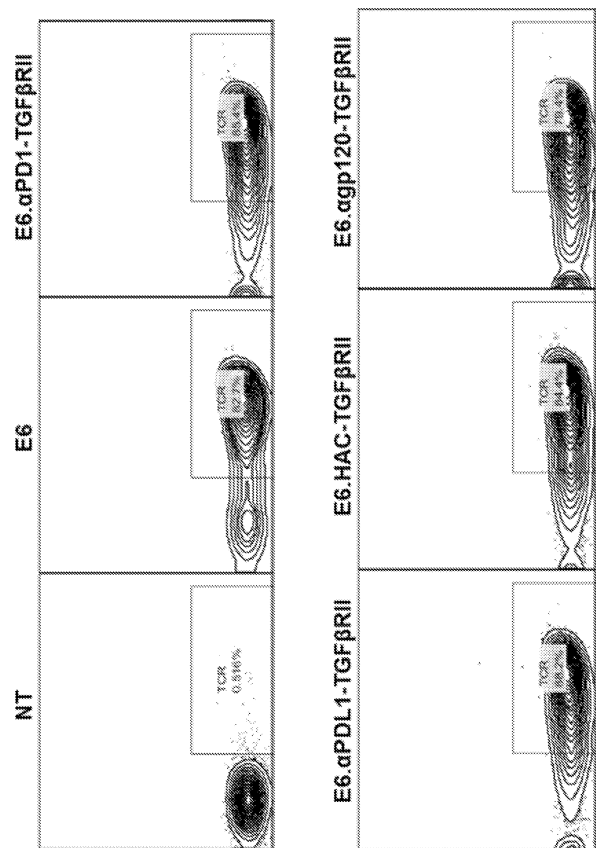


A



B

【図 1 4】



20

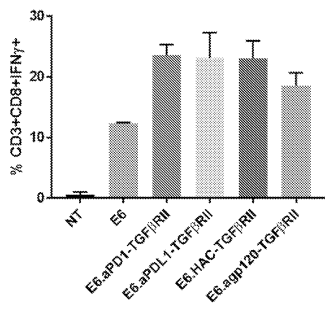
30

40

50

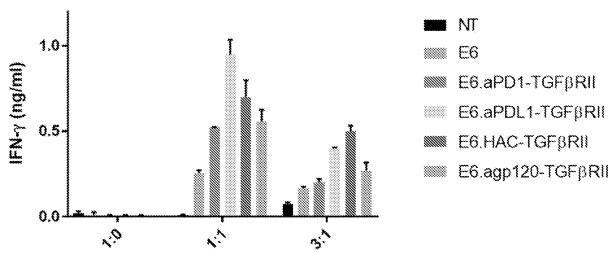
【 図 1 5 】

ペプチドをパルスしたK562-A2と
(一晚)共培養した場合の細胞内IFN- γ 発現



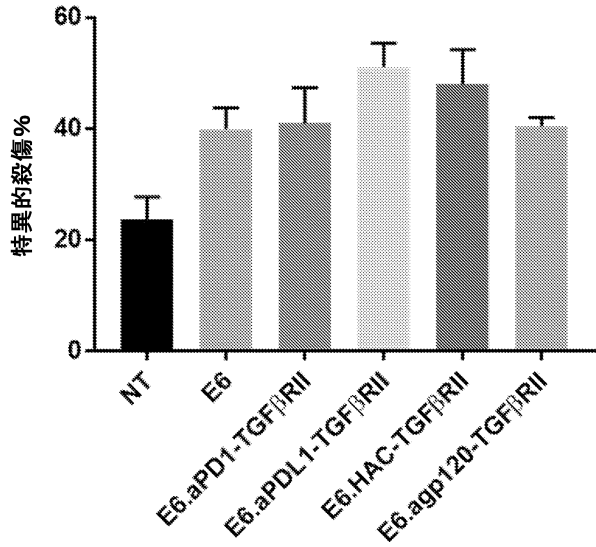
A

Ca Ski E6/E7と
(72時間)共培養した場合のIFN- γ 分泌



B

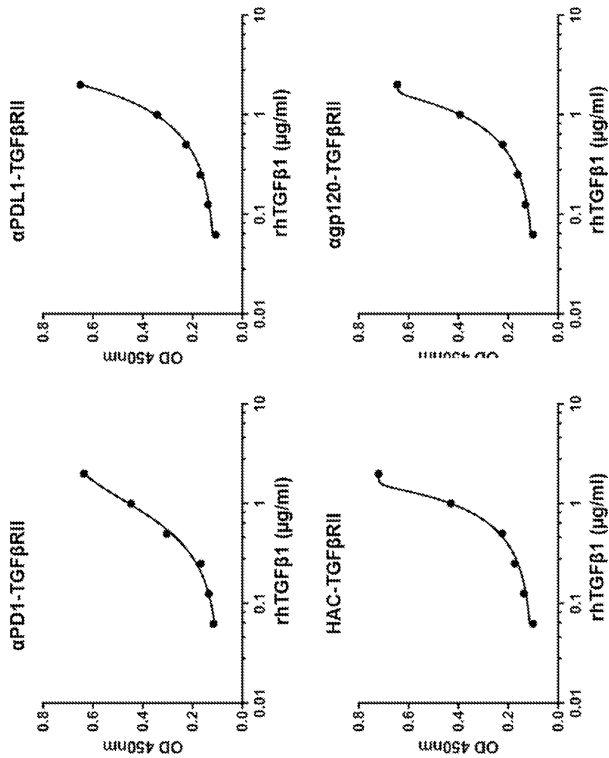
【 図 1 6 】



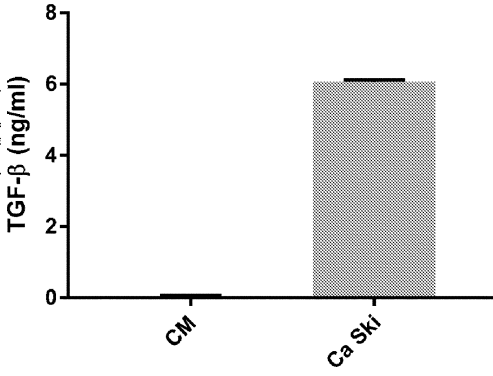
10

20

【 図 1 7 】



【 図 1 8 】

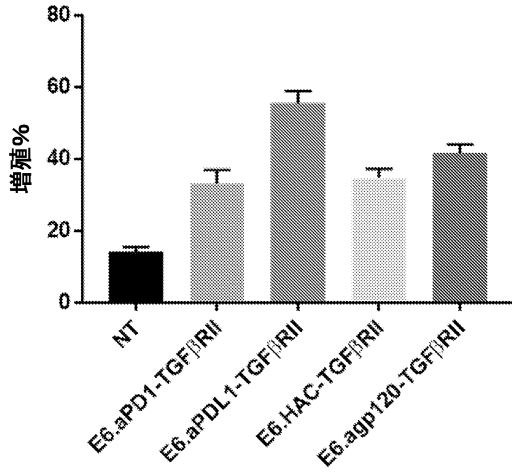


30

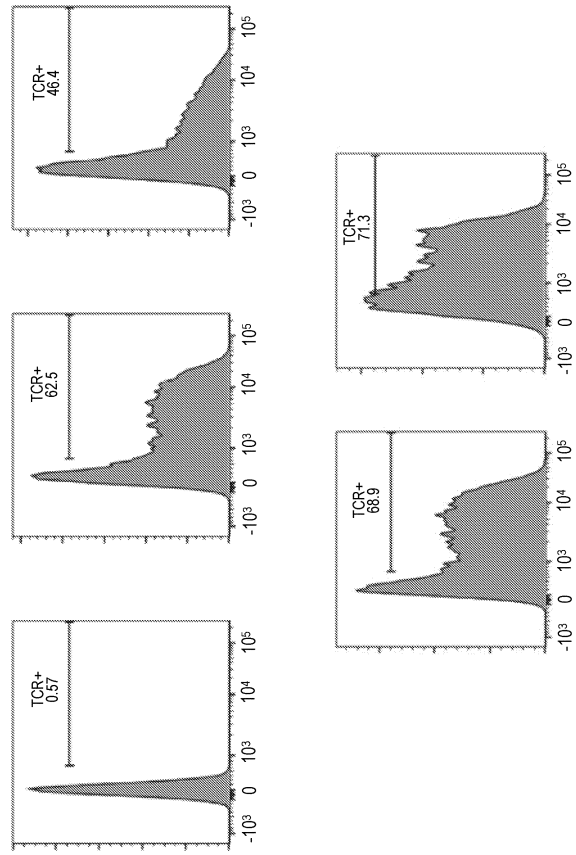
40

50

【 19 】



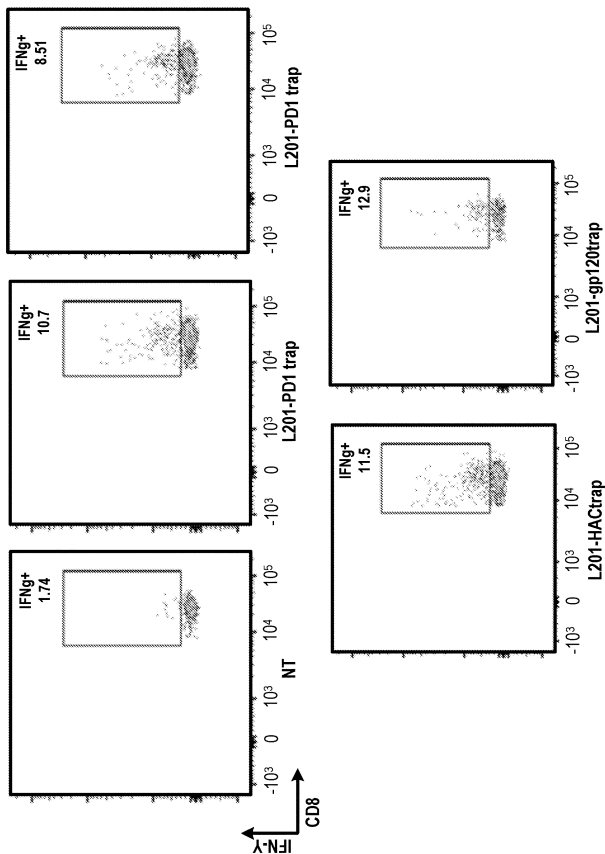
【 20 】



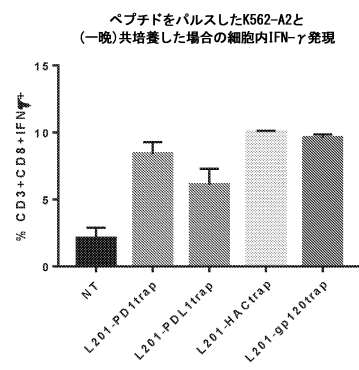
10

20

【 21 】

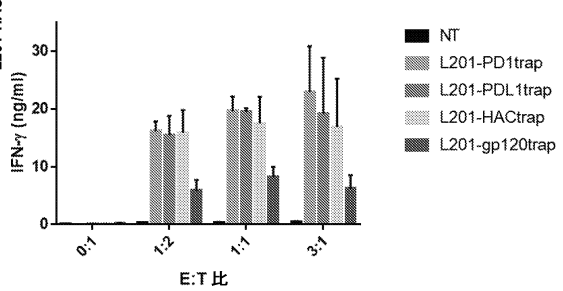


【 22 】



30

ペプチドをパルスしたK562-A2細胞と
(72時間)共培養したL201-trap TCR-T細胞のIFN-γ分泌

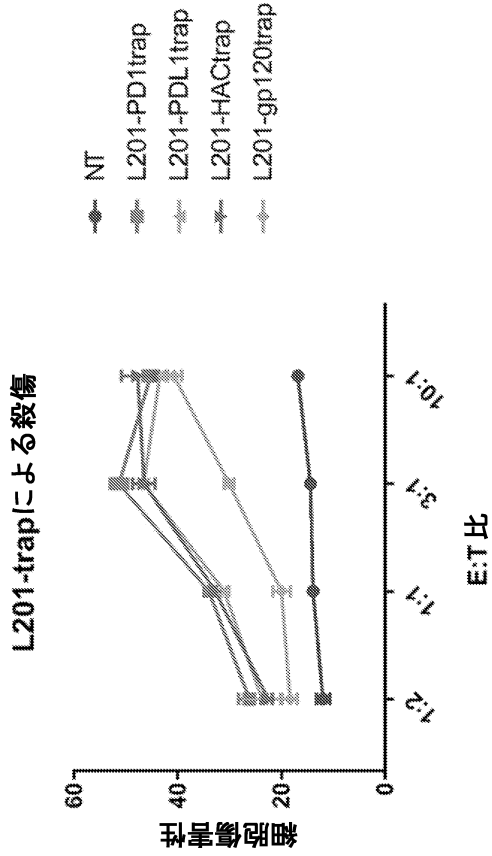


40

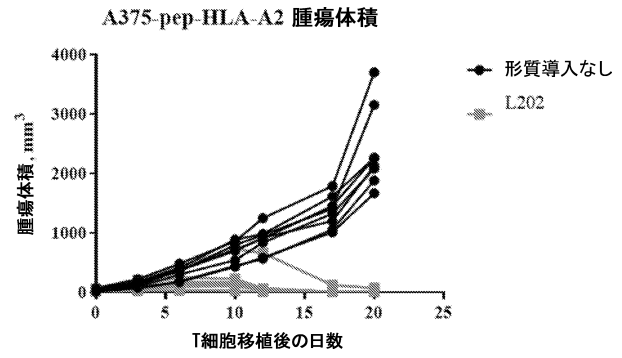
B

50

【 図 2 3 】



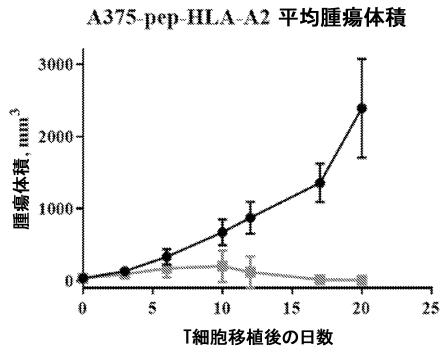
【 図 2 4 A 】



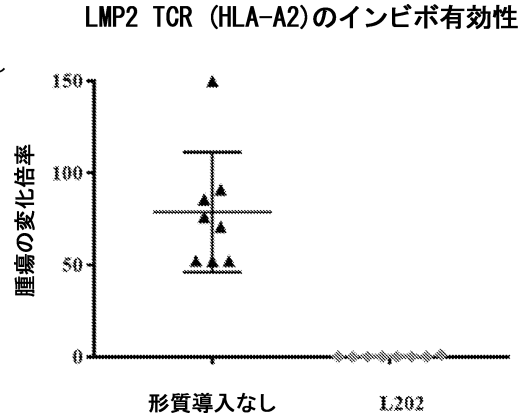
10

20

【 図 2 4 B 】



【 図 2 4 C 】



30

40

50

【配列表】

0007571021000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 C 1 2 N 15/62 (2006.01)
 C 1 2 N 15/63 (2006.01)
 C 0 7 K 14/725 (2006.01)
 C 1 2 N 15/38 (2006.01)
 C 1 2 N 15/37 (2006.01)

F I

A 6 1 K 39/395 E
 A 6 1 K 39/395 T
 A 6 1 K 48/00
 C 1 2 N 15/62 Z
 C 1 2 N 15/63 Z
 C 0 7 K 14/725
 C 1 2 N 15/38
 C 1 2 N 15/37

(74)代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 リ シ

アメリカ合衆国 9 1 8 0 1 カリフォルニア州 アルハンブラ ノース フォース ストリート 1 3
 4 アパートメント ディー

(72)発明者 ブライソン ポール

アメリカ合衆国 9 1 8 0 1 カリフォルニア州 アルハンブラ ノース エル モリーノ ストリート
 4 0 1

(72)発明者 アレキサンダー ピーター

アメリカ合衆国 2 7 7 0 7 ノースカロライナ州 ダーラム ウェルズ ストリート 1 0 2 2

(72)発明者 チェン ルイ

アメリカ合衆国 2 7 7 0 5 ノースカロライナ州 ダーラム リディントン ドライブ 4 1 0 4

審査官 林 康子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 7 / 1 4 7 3 8 3 (W O , A 1)

特表 2 0 1 7 - 5 0 6 2 1 7 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 7 / 1 3 3 1 7 5 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 0 5 / 0 7 0 9 5 9 (W O , A 2)

J of Immunotherapy , 2008年06月 , Vol.31, No.5 , pp.500-505

Oncoimmunology , 2018年02月14日 , Vol.7, No.5, e1426519 , pp.1-14

Cancer Immunology Research , 2015年 , Vol.3, No,10 , pp.1138-1147

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 K

C 1 2 N 5 / 0 0

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q
U n i P r o t / G e n e S e q