(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7612617号
(P7612617)

(45)発行日　令和7年1月14日(2025.1.14)

(24)登録日　令和6年12月27日(2024.12.27)

(51)国際特許分類

Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)	Ｃ１２Ｎ	5/10	ＺＮＡ
Ａ６１Ｐ　31/18　(2006.01)	Ａ６１Ｐ	31/18	
Ａ６１Ｋ　35/17　(2025.01)	Ａ６１Ｋ	35/17	
Ｃ１２Ｎ　5/0783(2010.01)	Ｃ１２Ｎ	5/0783	
Ｃ１２Ｎ　15/12　(2006.01)	Ｃ１２Ｎ	15/12	

ＦＩ

請求項の数　14　（全39頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-574918(P2021-574918)
(86)(22)出願日　令和2年6月17日(2020.6.17)
(65)公表番号　特表2022-536935(P2022-536935A)
(43)公表日　令和4年8月22日(2022.8.22)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/038177
(87)国際公開番号　WO2020/257309
(87)国際公開日　令和2年12月24日(2020.12.24)
審査請求日　令和5年6月7日(2023.6.7)
(31)優先権主張番号　62/862,432
(32)優先日　令和1年6月17日(2019.6.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　521020712
レノヴァロ バイオファーマ インコーポレイテッド
アメリカ合衆国カリフォルニア州９００６７．ロサンゼルス．スイート９０６．センチュリー・パーク・イースト２０８０
(74)代理人　100127926
弁理士　結田 純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林 則幸
(72)発明者　セルハト・グムルーク
アメリカ合衆国カリフォルニア州９００６７．ロサンゼルス．スイート９０６．センチュリー・パーク・イースト２０８
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　細胞性免疫及び体液性免疫を誘導するための同種異系Ｔ細胞ベースのＨＩＶワクチン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

異種ＣＤ４０Ｌタンパク質及び異種ＣＸＣＬ１３タンパク質を含むＣＤ４＋Ｔ細胞であって、さらに、少なくとも１つのヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）タンパク質をコードする少なくとも１つの核酸を有する、前記ＣＤ４＋Ｔ細胞。

【請求項２】

請求項１に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞であって、さらにヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）核酸を含む異種核酸分子を含み、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する、前記ＣＤ４＋Ｔ細胞。

【請求項３】

請求項１に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞であって、前記ＨＩＶタンパク質が、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせのうちの１つ以上である、前記ＣＤ４＋Ｔ細胞。

【請求項４】

対象においてＨＩＶを治療する方法で使用するための医薬組成物であって、前記医薬組成物は、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードする核酸配列を含む異種核酸分子を含む、有効量の請求項１～３のいずれか１項のＣＤ４＋Ｔ細胞を含むものであって、そして、前

記ＣＤ４＋Ｔ細胞は、さらに、少なくとも１つのヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）タンパク質をコードする第２のおよび／または第３の核酸を含む、前記医薬組成物。
【請求項５】
前記ＣＤ４０Ｌが、配列番号４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記ＣＸＣＬ１３が、配列番号３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項６】
前記細胞がＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を異種発現する、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項７】
前記細胞が単離された細胞である、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項８】
前記第２の核酸は、ＨＩＶゲノム核酸を含み、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項９】
前記ＨＩＶタンパク質が、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせのうちの１つ以上である、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項１０】
少なくとも１つのＨＩＶタンパク質は、弱毒化された複製欠損ＨＩＶを含む、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項１１】
前記組成物が、静脈内にまたは注入によって投与される、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項１２】
前記細胞が前記対象に対して同種異系であるか、または前記対象に対してＨＬＡ適合していない、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項１３】
前記細胞が前記対象に対して自系である、請求項４に記載の医薬組成物。
【請求項１４】
前記組成物中の細胞の投与量が、約1×10^6～約5×10^6である、請求項４～１３のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１９年６月１７日に出願された米国仮特許出願第６２／８６２，４３２号に対する優先権を主張するものであり、参照により、その全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本明細書で提供されるのは、ＣＤ４＋Ｔ細胞などの組換え同種異系細胞をさらに含む細胞組成物を投与することを含む、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）の患者を治療するための方法である。本発明はさらに、細胞性免疫及び体液性免疫の両方を誘導する同種異系Ｔ細胞ベース防御ＨＩＶワクチンを作成するための組成物及び方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
ＨＩＶの流行に対しては大きな進歩が見られている。しかし、現在でも年間１７０万人が新たに感染し、世界中で７７万人が死亡している。最も成功した治療法である抗レトロウイルス療法（ＡＲＴ）は、１年あたり１８，０００ドル～４０，０００ドルの費用がか

かる場合がある。２０００年から２０１６年までにＨＩＶに費やされた合計は、５６２０億ドルであって、ほぼ１年に５００億ドルである。したがって、ワクチン及び治療法がひどく必要とされている。

【発明の概要】

【０００４】

特定の実施形態では、本明細書に提供されるのは、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードするヌクレオチド配列を含む異種核酸分子を含む細胞である。

【０００５】

追加の実施形態では、ＣＤ４０Ｌは、配列番号４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ＣＸＣＬ１３は、配列番号３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０００６】

さらなる実施形態では、細胞は、Ｔ細胞である。

【０００７】

さらなる実施形態では、細胞は、異種タンパク質をコードする第２及び／または第３の核酸で形質導入またはトランスフェクトされている。

【０００８】

さらなる実施形態では、第２の核酸は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含み、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素の変異を含み、さらに、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。

【０００９】

特定の実施形態では、本明細書に提供されるのは、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードする１つ以上の異種核酸分子を含むＣＤ４＋細胞である。

【００１０】

さらなる実施形態では、ＣＤ４０Ｌは、配列番号４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ＣＸＣＬ１３は、配列番号３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１１】

特定の実施形態では、本明細書に提供されるのは、異種ＣＤ４０Ｌタンパク質及び異種ＣＸＣＬ１３タンパク質を含むＣＤ４＋細胞である。

【００１２】

さらなる実施形態では、ＣＤ４＋細胞はさらに、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含む異種核酸分子を含み、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。

【００１３】

特定の実施形態では、本明細書に提供されるのは、対象においてＨＩＶを治療する方法であって、組成物を対象に投与することを含み、有効量の本明細書において上記される任意の細胞を投与することを含む方法である。

【００１４】

特定の実施形態では、本明細書に提供されるのは、免疫応答の増大を必要とする対象においてそれを行うための方法であって、有効量の本明細書において上記される任意の細胞を投与することを含む方法である。

【００１５】

追加の実施形態では、細胞は対象に対して同種異系である。

【００１６】

追加の実施形態では、細胞は、患者とＨＬＡ適合していない。

【００１７】

追加の実施形態では、細胞の投与量は、約$1 \sim 5 \times 10^{6}$の範囲である。

【００１８】
追加の実施形態では、ウイルス感染は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）によって引き起こされる。
【００１９】
さらなる実施形態では、対象において移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）が減少または排除される一方で、移植片対ウイルス（ＧＶＶ）は、増大される。
【００２０】
追加の実施形態では、治療または免疫応答の増大は、対象が改善、減少もしくは検出不可能なウイルス力価を示すか、または安定／非進行性の疾患を示す限り、維持治療として毎週１回から２週間ごとに１回、３週間ごとに１回、月に１回、２ヶ月ごとに１回、３ヶ月ごとに１回、４ヶ月ごとに１回、５ヶ月ごとに１回、６ヶ月ごとに１回、または７ヶ月ごとに１回、または８ヶ月ごとに１回、または９ヶ月ごとに１回、または１０ヶ月ごとに１回、または１１ヶ月ごとに１回、または毎年１回という時間枠で定期的に繰り返される。
【００２１】
さらなる実施形態では、細胞性及び体液性免疫は、対象において誘導される。
【図面の簡単な説明】
【００２２】
【図１Ａ】ヒト及びマカクの構築物を作製するための非限定的なベクターマップを示している。
【図１Ｂ】ヒト及びマカクの構築物を作製するための非限定的なベクターマップを示している。
【図２】本明細書で提供されるマカクの実施形態を使用するスキームを示す。
【図３】本明細書で提供される実施形態を使用するためのスキームを示す。
【図４】本明細書で提供される実施形態を使用するためのスキームを示す。
【図５】本明細書で提供される免疫細胞組成物の増強された細胞毒性を示すデータを示す。
【図６】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＮＫ細胞の増大を示す。
【図７】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＮＫＴ細胞の増大を示す。
【図８】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＮＫ細胞活性化の増大を示す。
【図９】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＮＫ細胞活性化液性応答の増大を示す。
【図１０】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＢ細胞活性化の増大を示す。
【図１１】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＴ細胞活性化の増大を示す。
【図１２】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＴ細胞活性化の増大を示す。
【図１３】本明細書で提供される細胞でのＰＢＭＣのワクチン接種後のＣＤ８Ｔ細胞活性化の増大を示す。
【発明を実施するための形態】
【００２３】
略号：
抗体依存性細胞傷害：ＡＤＣＣ
【００２４】
分化抗原群３：ＣＤ３
【００２５】
移植片対腫瘍効果：ＧＶＴ
【００２６】

移植片対宿主病：ＧＶＨＤ
【００２７】
移植片対ウイルス：ＧＶＶ
【００２８】
ガンマデルタＴ細胞：ＧＤＴ細胞、またγδＴ細胞。
【００２９】
ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）：後天性免疫不全症候群を引き起こすレンチウイルス。
【００３０】
インバリアントナチュラルキラーＴ細胞：Ｉ型または古典的ＮＫＴ細胞としても公知のｉＮＫ　Ｔ細胞は、インバリアントのａβＴ細胞受容体（ＴＣＲ）及び多くの細胞表面分子をナチュラルキラー（ＮＫ）細胞と共通して発現するＴ細胞の別個の集団である。
【００３１】
ナチュラルキラー細胞：ＮＫ細胞
【００３２】
ＨＩＶから保護するために十分な免疫応答を誘発するための効果的な努力は限られている。中和抗体の有意な力価を達成し、非ヒト霊長類は感染を防ぎ得るが、これまでのところ、体液性ワクチンのヒトの成功への移行は困難なものであった。細胞応答を促進するワクチンは、いくつかが現在ヒトの治験中であるとおり、動物では有望であることが示されている。しかし、これまでのデータでは、有効性は限られていることが示されている。
【００３３】
強力な体液性応答と細胞性応答を効果的に組み合わせ得るワクチンは、強力なアプローチとなる。そのようなワクチンが防御ワクチンとして失敗したとしても、それは治療ワクチンとしての有効性を持っている場合がある。
【００３４】
本発明は、細胞性免疫及び体液性免疫の両方を誘導する同種異系（または特定の実施形態では自家）Ｔ細胞ベースの防御的ＨＩＶワクチンを作製するための組成物及び方法に関する。これらの方法及び組成物の一般的な概要は次のとおりである：
【００３５】
ドナーまたは細胞株由来のＴ細胞は、複製能力のないＨＩＶ、または生きた弱毒化ＨＩＶ株に感染している。
【００３６】
宿主に注入されると、注入された細胞集団が非常に多くない限り、宿主免疫系は、拒絶反応の過程でアロＴ細胞と係合する機会を体液性免疫系に与えることなく、細胞毒性免疫応答によってのみ、生の弱毒化ＨＩＶ感染Ｔ細胞集団全体を容易に拒絶する。したがって、体液性免疫は誘発されない。宿主Ｂ細胞の拒絶プロセスへの動員を確実にするために、感染したアロＴ細胞は、ウイルスまたは非ウイルスの遺伝子改変ツールによって、ヒトＣＤ４０Ｌ及びヒトＣＸＣＬ１３を発現するように遺伝子改変される。（図１Ａ、ベクターマップを発現するｈＣＤ４０Ｌ及びｈＣＸＣＬ１３の例を参照のこと）。
【００３７】
ｈＣＤ４０Ｌ及びｈＣＸＣＬ１３分子の発現は、アロＴ細胞のＢ細胞特異的拒絶を促進し、アロＴ細胞及びアロＴ細胞によって運ばれるＨＩＶゲノムに対する体液性免疫系の活性化を確実にする。
【００３８】
したがって、これらの構築物は、ＨＩＶゲノムを同種異系Ｔ細胞からピギーバックすることによってＨＩＶに対する体液性免疫及び細胞性免疫を誘発するのに役立ち、ミスマッチの宿主に注入された場合、その拒絶は確実である。
【００３９】
最終的なアロＴ細胞生成物は、ＨＩＶに対する予防ワクチンとして使用される。細胞は数回注入され、初回はプライマーとして機能し、次の１回以上の注入はブースターショットとして機能する。投薬オプション、及び安全な用量／注入された細胞の数の最適化、な

らびに注入回数、及びそれらのタイミングは、さらに安全性／有効性研究によって決定されることが期待される。

【００４０】

本発明をより容易に理解できるように、特定の技術的用語及び科学的用語を以下に具体的に定義する。本文書において特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術的及び科学的用語は、本発明が属する当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。

【００４１】

本明細書で使用され、特に明記されていない限り、「約」という用語は、それが修飾する値の±５％ことを意図している。したがって、約１００とは９５～１０５を意味する。さらに、「約」という用語は、「約１、２、３、４、または５」などの一連の用語において、ある用語を修飾する。「約」という用語は、リストの各メンバーを修飾することを理解するべきであり、その結果、「約１、２、３、４、または５」とは、「約１、約２、約３、約４、または約５」を意味すると理解され得る。「少なくとも」という用語または「より小さい」、「より大きい」などであるがこれらに限定されない他の定量する修飾子によって修飾されるリストについても同じことが当てはまる。

【００４２】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用する場合、単数形「ａ」「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、文脈が別に指示しない限り複数の言及を含む。

【００４３】

本明細書で使用する場合、用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「有する（ｈａｖｅ）」、「有する（ｈａｓ）」及び「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」ならびにそれらの活用形とは、本明細書において用いる場合、「を含むがこれに限定されるものではない」を意味する。さまざまな組成物及び方法は、さまざまな構成要素またはステップを「含んでいる」という観点で説明されるが（「含むが、これらに限定されない」を意味すると解釈される）、この組成物、方法、及びデバイスはまた、さまざまな構成要素及びステップ「から本質的に構成され」てもよいし、または「からなって」もよく、そのような用語は、本質的にメンバーが制限されているグループを定義するものとして解釈されるべきである。

【００４４】

ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１３（ＣＸＣＬ１３）は、Ｂリンパ球化学誘引物質（ＢＬＣ）またはＢ細胞誘引ケモカイン１（ＢＣＡ－１）とも呼ばれ、ヒトではＣＸＣＬ１３遺伝子によってコードされるタンパク質リガンドである。ＣＸＣＲ５は、ＣＸＣＬ１３の受容体である。ケモカインの発現は、リンパ球の動員及び刺激の正のループを開始する。腸上皮細胞でＣＸＣＬ１３を過剰発現させると、固有層のＢ細胞数の著しい増加、ならびに小腸のリンパ濾胞のサイズ及び数の増加を促進した。これらの結果によって、炎症状態の間の腸におけるＣＸＣＬ１３の過剰発現が、免疫調節及び修復機能を有するＢ細胞ならびにＬＴｉ及びＮＫ細胞の動員に有利に働くことが示唆されている。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＬ１３は、以下の配列を含む核酸分子によってコードされる：
ＡＴＧＡＡＧＴＴＣＡＴＣＴＣＧＡＣＡＴＣＴＣＴＧＣＴＴＣＴＣＡＴＧＣＴＧＣＴＧＧ
ＴＣＡＧＣＡＧＣＣＴＣＴＣＴＣＣＡＧＴＣＣＡＡＧＧＴＧＴＴＣＴＧＧＡＧＧＴＣＴＡ
ＴＴＡＣＡＣＡＡＧＣＴＴＧＡＧＧＴＧＴＡＧＡＴＧＴＧＴＣＣＡＡＧＡＧＡＧＣＴＣＡ
ＧＴＣＴＴＴＡＴＣＣＣＴＡＧＡＣＧＣＴＴＣＡＴＴＧＡＴＣＧＡＡＴＴＣＡＡＡＴＣＴ
ＴＧＣＣＣＣＧＴＧＧＧＡＡＴＧＧＴＴＧＴＣＣＡＡＧＡＡＡＡＧＡＡＡＴＣＡＴＡＧＴ
ＣＴＧＧＡＡＧＡＡＧＡＡＣＡＡＧＴＣＡＡＴＴＧＴＧＴＧＴＧＴＧＧＡＣＣＣＴＣＡＡ
ＧＣＴＧＡＡＴＧＧＡＴＡＣＡＡＡＧＡＡＴＧＡＴＧＧＡＡＧＴＡＴＴＧＡＧＡＡＡＡＡ
ＧＡＡＧＴＴＣＴＴＣＡＡＣＴＣＴＡＣＣＡＧＴＴＣＣＡＧＴＧＴＴＴＡＡＧＡＧＡＡＡ
ＧＡＴＴＣＣＣ（配列番号１）。

【００４５】

核酸配列のＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号はＮＭ＿００６４１９．２であり、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＬ

１３のアミノ酸配列は、
ＭＫＦＩＳＴＳＬＬＬＭＬＬＶＳＳＬＳＰＶＱＧＶＬＥＶＹＹＴＳＬＲＣＲＣＶＱＥＳＳ
ＶＦＩＰＲＲＦＩＤＲＩＱＩＬＰＲＧＮＧＣＰＲＫＥＩＩＶＷＫＫＮＫＳＩＶＣＶＤＰＱ
ＡＥＷＩＱＲＭＭＥＶＬＲＫＲＳＳＳＴＬＰＶＰＶＦＫＲＫＩＰ（配列番号３）である。
【００４６】
遺伝子コードの縮重に起因して、配列番号１の配列は単に非限定的な例であり、他の核酸配列を使用してＣＸＣＬ１３を発現し得る。いくつかの実施形態では、配列番号３をコードする核酸配列は、配列番号１と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＬ１３のタンパク質は、配列番号３に対して少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。この配列は、ＣＸＣＬ１３の活性に影響を与えない保存的置換（変異）を含んでもよい。
【００４７】
ＣＤ１５４とも呼ばれるＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ）は、分子のＴＮＦスーパーファミリーのメンバーであるタンパク質である。これは、抗原提示細胞（ＡＰＣ）のＣＤ４０に結合し、標的細胞の種類に応じて多くの効果をもたらす。合計で、ＣＤ４０Ｌには３つの結合パートナーがある：ＣＤ４０、α５β１インテグリン及びαＩＩｂβ３。ＣＤ１５４は共刺激分子として機能し、濾胞ヘルパーＴ細胞（ＴＦＨ細胞）と呼ばれるＴ細胞のサブセットで特に重要である。ＴＦＨ細胞では、ＣＤ４０Ｌは、Ｂ細胞表面でＣＤ４０と結合することにより、Ｂ細胞の成熟及び機能を促進し、それによって細胞間コミュニケーションを促進する。ＣＤ４０Ｌの安定した発現により、組換え同種異系ＣＤ４＋がＩＬ－１２を産生して、免疫抑制を克服すること、及びメモリーＴ細胞の分化を誘発することが可能になる。いくつかの実施形態では、ＣＸＣＬ１３は、以下の配列を含む核酸分子によってコードされる：
ＡＴＧＡＴＣＧＡＡＡＣＡＴＡＣＡＡＣＣＡＡＡＣＴＴＣＴＣＣＣＣＧＡＴＣＴＧＣＧＧ
ＣＣＡＣＴＧＧＡＣＴＧＣＣＣＡＴＣＡＧＣＡＴＧＡＡＡＡＴＴＴＴＴＡＴＧＴＡＴＴＴ
ＡＣＴＴＡＣＴＧＴＴＴＴＴＣＴＴＡＴＣＡＣＣＣＡＧＡＴＧＡＴＴＧＧＧＴＣＡＧＣＡ
ＣＴＴＴＴＴＧＣＴＧＴＧＴＡＴＣＴＴＣＡＴＡＧＡＡＧＧＴＴＧＧＡＣＡＡＧＡＴＡＧ
ＡＡＧＡＴＧＡＡＡＧＧＡＡＴＣＴＴＣＡＴＧＡＡＧＡＴＴＴＴＧＴＡＴＴＣＡＴＧＡＡ
ＡＡＣＧＡＴＡＣＡＧＡＧＡＴＧＣＡＡＣＡＣＡＧＧＡＧＡＡＡＧＡＴＣＣＴＴＡＴＣＣ
ＴＴＡＣＴＧＡＡＣＴＧＴＧＡＧＧＡＧＡＴＴＡＡＡＡＧＣＣＡＧＴＴＴＧＡＡＧＧＣＴ
ＴＴＧＴＧＡＡＧＧＡＴＡＴＡＡＴＧＴＴＡＡＡＣＡＡＡＧＡＧＧＡＧＡＣＧＡＡＧＡＡ
ＡＧＡＡＡＡＣＡＧＣＴＴＴＧＡＡＡＴＧＣＡＡＡＡＡＧＧＴＧＡＴＣＡＧＡＡＴＣＣＴ
ＣＡＡＡＴＴＧＣＧＧＣＡＣＡＴＧＴＣＡＴＡＡＧＴＧＡＧＧＣＣＡＧＣＡＧＴＡＡＡＡ
ＣＡＡＣＡＴＣＴＧＴＧＴＴＡＣＡＧＴＧＧＧＣＴＧＡＡＡＡＡＡＧＧＡＴＡＣＴＡＣＡＣ
ＣＡＴＧＡＧＣＡＡＣＡＡＣＴＴＧＧＴＡＡＣＣＣＴＧＧＡＡＡＡＴＧＧＧＡＡＡＣＡＧ
ＣＴＧＡＣＣＧＴＴＡＡＡＡＧＡＣＡＡＧＧＡＣＴＣＴＡＴＴＡＴＡＴＣＴＡＴＧＣＣＣ
ＡＡＧＴＣＡＣＣＴＴＣＴＧＴＴＣＣＡＡＴＣＧＧＧＡＡＧＣＴＴＣＧＡＧＴＣＡＡＧＣ
ＴＣＣＡＴＴＴＡＴＡＧＣＣＡＧＣＣＴＣＴＧＣＣＴＡＡＡＧＴＣＣＣＣＣＧＧＴＡＧＡ
ＴＴＣＧＡＧＡＧＡＡＴＣＴＴＡＣＴＣＡＧＡＧＣＴＧＣＡＡＡＴＡＣＣＣＡＣＡＧＴＴ
ＣＣＧＣＣＡＡＡＣＣＴＴＧＣＧＧＧＣＡＡＣＡＡＴＣＣＡＴＴＣＡＣＴＴＧＧＧＡＧＧ
ＡＧＴＡＴＴＴＧＡＡＴＴＧＣＡＡＣＣＡＧＧＴＧＣＴＴＣＧＧＴＧＴＴＴＧＴＣＡＡＴ
ＧＴＧＡＣＴＧＡＴＣＣＡＡＧＣＣＡＡＧＴＧＡＧＣＣＡＴＧＧＣＡＣＴＧＧＣＴＴＣＡ
ＣＧＴＣＣＴＴＴＧＧＣＴＴＡＣＴＣＡＡＡＣＴＣ（配列番号２）。
【００４８】
核酸配列のＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号は、ＮＭ＿０００７４．２であり、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌのアミノ酸配列は、
ＭＩＥＴＹＮＱＴＳＰＲＳＡＡＴＧＬＰＩＳＭＫＩＦＭＹＬＬＴＶＦＬＩＴＱＭＩＧＳＡ

ＬＦＡＶＹＬＨＲＲＬＤＫＩＥＤＥＲＮＬＨＥＤＦＶＦＭＫＴＩＱＲＣＮＴＧＥＲＳＬＳＬＬＮＣＥＥＩＫＳＱＦＥＧＦＶＫＤＩＭＬＮＫＥＥＴＫＫＥＮＳＦＥＭＱＫＧＤＱＮＰＱＩＡＡＨＶＩＳＥＡＳＳＫＴＴＳＶＬＱＷＡＥＫＧＹＹＴＭＳＮＮＬＶＴＬＥＮＧＫＱＬＴＶＫＲＱＧＬＹＹＩＹＡＱＶＴＦＣＳＮＲＥＡＳＳＱＡＰＦＩＡＳＬＣＬＫＳＰＧＲＦＥＲＩＬＬＲＡＡＮＴＨＳＳＡＫＰＣＧＱＱＳＩＨＬＧＧＶＦＥＬＱＰＧＡＳＶＦＶＮＶＴＤＰＳＱＶＳＨＧＴＧＦＴＳＦＧＬＬＫＬ（配列番号４）である。

【００４９】

遺伝子コードの縮重に起因して、配列番号２の配列は単に非限定的な例であり、他の核酸配列を使用してＣＤ４０Ｌを発現してもよい。いくつかの実施形態では、配列番号４をコードする核酸配列は、配列番号２と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌのタンパク質は、配列番号４に対して少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。この配列は、ＣＤ４０Ｌの活性に影響を与えない保存的置換（変異）を含んでもよい。

【００５０】

本明細書で使用される場合、細胞内の核酸分子を指す場合の「異種」という用語は、その細胞が同じタンパク質または配列をコードする類似の配列または遺伝子配列を有する場合でも、核酸分子が天然に存在する細胞のゲノムに天然ではないことを意味する。例えば、ＣＤ４０Ｌ及び／またはＣＸＣＬ１３をコードする異種核酸分子を含む細胞は、ＣＤ４０Ｌ及び／またはＣＸＣＬ１３をコードする核酸分子（複数可）を含むように改変された細胞を指す。これは、トランスフェクションもしくは形質導入、またはＣＲＩＳＰＲなどであるがこれらに限定されない他のゲノム編集技術によって行ってもよい。「異種」という用語が細胞内のタンパク質に関して使用される場合、それは異種核酸分子によってコードされるタンパク質を指す。したがって、細胞は、同じタンパク質であって、細胞にとって天然であるタンパク質（異種核酸分子によってコードされていないタンパク質である）、及び細胞に対して異種であるタンパク質（異種核酸分子によってコードされているタンパク質である）を含んでもよい。異種核酸分子は、細胞のゲノムに挿入されることによって、または細胞内のエピソームプラスミドの存在によって、細胞内に一時的に存在してもよいし、または細胞内に安定して存在してもよい。異種核酸分子はまた、ウイルス形質導入を介して細胞に導入されてもよく、これはまた、細胞のゲノムに安定して組み込まれてもよい。

【００５１】

異種タンパク質を発現する組換え細胞はまた、免疫応答が生成されることが望まれる標的抗原を発現するように改変されてもよい。例えば、標的抗原は、ＨＩＶタンパク質またはその抗原性断片であってもよい。いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌ及び／またはＣＸＣＬ１３を異種発現するＴ細胞またはＣＤ４＋Ｔ細胞などの細胞はまた、標的抗原を異種発現する。いくつかの実施形態では、追加の核酸分子は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含む。いくつかの実施形態では、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。いくつかの実施形態では、標的抗原は、１つ以上のＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、Ｖｉｆなど、またはそれらの任意の組み合わせである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、任意のＨＩＶタンパク質である。いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌ及び／またはＣＸＣＬ１３を異種発現する細胞は、各ＨＩＶタンパク質を発現する。いくつかの実施形態では、細胞は、少なくとも、または正確に、１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個のＨＩＶタンパク質、またはその断片を異種発現する。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）である。いくつか

の実施形態では、標的抗原はＨＩＶ　Ｒｅｖである。いくつかの実施形態では、標的抗原はＨＩＶ　Ｐｏｌである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　ＧＰ１２０である。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　ＧＰ１６０である。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　ＧＰ４１である。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　ｅｎｖである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｇａｇである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｇａｇ－Ｐｏｌである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｎｅｆである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｖｐｒである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｖｐｕである。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶ　Ｖｉｆである。これらの抗原はいずれも、ＣＤ４０Ｌ及び／またはＣＸＣＬ１３を異種発現している細胞で異種発現され得る。いくつかの実施形態では、ＨＩＶ抗原の代わりに、ＳＨＩＶ抗原を使用し、本明細書で提供される抗原の代わりに同等の抗原を使用してもよい。

【００５２】

ＨＩＶゲノムが使用される場合、ＨＩＶゲノムプラスミドは市販されており、例示的な変異及びシステムは、例えば、Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ．２０１７　Ａｕｇ　２；２５（８）：１７９０－１８０４に記載されている。同様に、中国のＨＩＶ－１サブタイプＣ／Ｂ＝ｅｎｖ及びｇａｇ遺伝子を１つのプラスミド中に、ならびに融合タンパク質を発現するように設計されたｐｏｌ及びｎｅｆ／ｔａｔ構築物を第２のプラスミド中に保持する市販のプラスミド骨格ｐＶＡＸ１（プラスミドは１：１の比で混合）も利用可能である（参照Ａｄｖａｘ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ及びＣｌｉｎｉｃａｌ　ａｎｄ　Ｖａｃｃｉｎｅ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌｕｍｅ　２０　Ｎｕｍｂｅｒ　３，Ｍａｒｃｈ　２０１３，ｐ．３９７－４０８。）これは非限定的な例であり、他の構築物を使用してもよい。

【００５３】

組換え同種異系ＣＤ４＋細胞を作製するために使用される例示的な構築物のベクターマップを図１及び図１Ｂに示しており、及びこれらの構築物を試験するための概要及び概略図を図２、図３、及び図４に示している。

【００５４】

「同時投与（ｃｏ－ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ）」などの用語は、単独の患者への選択した治療剤の投与を包含することを意味し、薬剤を、同一のもしくは異なる投与経路によって、または同一のもしくは異なる時点で投与するという治療レジメンを含むものとする。

【００５５】

本明細書で使用される場合、「アゴニスト」という用語は、その存在がタンパク質の天然に存在するリガンドの存在から生じる生物学的活性と同じであるタンパク質の生物学的活性をもたらす化合物を指す。

【００５６】

本明細書で使用される場合、「部分アゴニスト」という用語は、その存在が、タンパク質の天然に存在するリガンドの存在から生じるものと同じタイプだが、その程度がより低い、タンパク質の生物学的活性を生じる化合物を指す。

【００５７】

本明細書で使用される場合、「アンタゴニスト」という用語は、その存在がタンパク質の生物学的活性の程度の減少をもたらす化合物を指す。特定の実施形態では、アンタゴニストの存在は、タンパク質の生物学的活性の完全な阻害をもたらす。特定の実施形態では、アンタゴニストは阻害剤である。

【００５８】

治療組成物（例えば、同種異系Ｔ細胞ベースの防御ＨＩＶワクチン、組換え同種異系ＣＤ４＋ベースのワクチン及びこれらの生成物を含む組成物）と組み合わせて使用される場合、「投与する」とは、治療剤を直接標的組織に投与するか、または治療剤を患者に投与して、それによって標的となる組織に治療上プラスの影響を与えることを意味する。

【００５９】

本明細書で使用される「対象」または「患者」という用語は、限定するものではないが、ヒト及び非ヒト脊椎動物、例えば、野生動物、家畜、及び農場動物を含む。いくつかの実施形態では、交換可能に使用することができる対象または患者は、非ヒト霊長類であり得る。特定の実施形態では、本明細書に記載の対象または患者は動物である。特定の実施形態では、対象または患者は哺乳動物である。特定の実施形態では、対象はヒトである。特定の実施形態では、対象または患者は非ヒト動物である。特定の実施形態では、対象または患者は非ヒト哺乳動物である。特定の実施形態では、対象または患者は、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、またはヤギなどの家畜である。特定の実施形態では、対象または患者は、犬または猫などのコンパニオンアニマルである。特定の実施形態では、対象または患者は、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、またはヤギなどの家畜である。特定の実施形態では、対象または患者は動物園の動物である。別の実施形態では、対象または患者は、げっ歯類、イヌ、または非ヒト霊長類などの研究動物である。特定の実施形態では、対象または患者は、トランスジェニックマウスまたはトランスジェニックブタなどの非ヒトトランスジェニック動物である。

【００６０】

「阻害する」という用語は、症状の発症を予防する、症状を軽減する、または疾患、状態、もしくは障害を排除するための、本明細書の実施形態の治療剤の投与を含む。

【００６１】

「薬学的に許容される」とは、担体、希釈剤、または賦形剤が、治療剤の他の成分と適合しなければならず、かつそのレシピエントにとって有害ではないことを意味する。

【００６２】

本明細書で使用される「治療する」、「治療される」、または「治療すること」という用語は、治療的な処置及び予防的または防止的措置の両方を指し、この目的は、望ましくない生理学的状態、障害もしくは疾患を阻害、予防もしくは減速（軽減）すること、または改善、阻害、もしくはその他の方法で有益なもしくは望ましい臨床結果を取得することである。本発明の目的に関して、有益または所望の臨床結果としては、限定するものではないが、症状の改善または軽減、状態、障害または疾患の程度の減少、状態、障害もしくは疾患の状態の安定化（すなわち、悪化しないこと）、状態、障害もしくは疾患の発現の遅延または進行の減速、状態、障害もしくは疾患状態の改善、ならびに検出可能または検出不可能にかかわらず状態、障害または疾患の寛解（部分的または完全）、または向上もしくは改善が挙げられる。治療には、過剰なレベルの副作用なしに臨床的に有意な反応を引き出すことを含む。「治療」とはまた、治療を受けない場合の予測生存期間と比較して、生存期間を延長することも含む。

【００６３】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、抗原と特異的に結合する免疫グロブリン分子を指す。抗体は、天然源または組換え源に由来するインタクトな免疫グロブリンであってもよく、インタクトな免疫グロブリンの免疫反応性部分であってもよい。抗体は、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、Ｆｖ、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ）２、ならびに単鎖抗体及びヒト化抗体を含むさまざまな形態で存在し得る。

【００６４】

「抗体フラグメント」という用語は、インタクトな抗体の一部を指し、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体断片の例としては、限定するものではないが、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２及びＦｖフラグメント、線状抗体（ｌｉｎｅａｒ　ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）、ｓｃＦｖ抗体、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【００６５】

本明細書で使用される「抗原」という用語は、免疫応答を誘発する分子として定義される。この免疫応答には、抗体産生、もしくは特定の免疫学的コンピテント細胞の活性化のいずれか、またはその両方が含まれ得る。当業者は、事実上全てのタンパク質またはペプチドを含む任意の高分子が抗原として機能し得ることを理解するであろう。さらに、抗原は、組換えＤＮＡまたはゲノムＤＮＡに由来し得る。当業者は、免疫応答を誘発するタン

パク質をコードするヌクレオチド配列または部分ヌクレオチド配列を含む任意のＤＮＡが、したがって、その用語が本明細書で使用される場合、ある「抗原」をコードすることを理解するであろう。さらに、当業者は、抗原が遺伝子の全長ヌクレオチド配列によってのみコードされる必要はないことを理解する。この実施形態が２つ以上の遺伝子の部分的ヌクレオチド配列の使用を含むがこれに限定されないこと、及びこれらのヌクレオチド配列が所望の免疫応答を誘発するためにさまざまな組み合わせで配置されることは容易に明らかである。さらに、当業者は、抗原が「遺伝子」によってコード化される必要が全くないことを理解する。抗原は生成して合成されてもよいし、または生物学的試料から誘導されてもよいことは容易に明らかである。そのような生物学的試料としては、限定するものではないが、組織試料、ウイルスを含むことが疑われる組織試料、細胞、または生体液が含まれ得る。

【００６６】

「自己抗原」という用語は、免疫系によって異物であると誤って認識される任意の自己抗原を意味する。自己抗原は、細胞タンパク質、リン酸化タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞脂質、核酸、糖タンパク質、例としては、細胞表面受容体を含むが、これらに限定されない。

【００６７】

本明細書で使用される場合、「自己、自家（ａｕｔｏｌｏｇｏｕｓ）」という用語は、後に個体に再導入される、同じ個体に由来する任意の材料を指すことを意味する。

【００６８】

本明細書で使用される「同種異系（の）」という用語は、抗原的に異なるＨＬＡまたはＭＨＣ遺伝子座を指す。したがって、同じ種から移された細胞または組織は、抗原的に区別され得る。同系マウスは１つ以上の遺伝子座で異なり得（コンジェニック）、同種異系マウスは同じバックグラウンドを有し得る。

【００６９】

本明細書で使用される「抗原」という用語は、免疫応答を誘発する分子として定義される。この免疫応答には、抗体産生、もしくは特定の免疫学的コンピテント細胞の活性化のいずれか、またはその両方が含まれ得る。

【００７０】

「異種」とは、異なる種の動物に由来する移植片を指す。

【００７１】

「ドナー」という用語は、患者のレシピエントではない哺乳動物、例えば、ヒトを指す。ドナーは、例えば、レシピエントとのＨＬＡ同一性を有してもよいし、またはレシピエントとの部分的またはより大きなＨＬＡ格差を有してもよい。

【００７２】

細胞、細胞型及び／または細胞系統に関して使用される「ハプロタイプ一致」という用語は、本明細書において、ハプロタイプを共有する細胞、または１つの染色体上の密接に関連する遺伝子のセットにおいて実質的に同じ対立遺伝子を有する細胞を指す。ハプロタイプ一致のドナーは、レシピエントとの完全なＨＬＡ同一性を有さず、部分的なＨＬＡ格差がある。

【００７３】

Ｔ細胞及び活性化Ｔ細胞（ＣＤ３＋細胞を含む）：Ｔ細胞（Ｔリンパ球とも呼ばれる）は、リンパ球と呼ばれる白血球のグループに属する。リンパ球は一般的に細胞媒介性免疫に関与している。「Ｔ細胞」の「Ｔ」とは、胸腺（ｔｈｙｍｕｓ）に由来する細胞、または胸腺の影響を受けて成熟する細胞を指す。Ｔ細胞は、Ｔ細胞受容体として公知の細胞表面タンパク質の存在によって、Ｂ細胞及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞等の他のリンパ球の種類と区別され得る。本明細書で使用される「活性化Ｔ細胞」という用語は、クラスＩＩ主要組織適合遺伝子（ＭＨＣ）マーカーの文脈で提示される抗原決定基の認識によって、免疫応答（例えば、活性化Ｔ細胞のクローン増殖）を生じるように刺激されたＴ細胞を指す。Ｔ細胞は、抗原決定基、サイトカイン及び／またはリンホカインならびに分化抗

原群細胞表面タンパク質（例えば、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８など及びそれらの組み合わせ）の存在によって活性化される。分化抗原群のタンパク質を発現する細胞は、Ｔ細胞の表面でのそのタンパク質の発現に対して「陽性」であると言われることが多い（例えば、ＣＤ３またはＣＤ４の発現に陽性の細胞は、ＣＤ３＋またはＣＤ４＋と呼ばれる）。ＣＤ３及びＣＤ４タンパク質は、細胞表面受容体または補助受容体であり、Ｔ細胞のシグナル伝達に直接及び／または間接的に関与し得る。

【００７４】

本明細書で使用される「末梢血」という用語は、血液の循環プールから得られるかまたは調製され、リンパ系、脾臓、肝臓または骨髄内に隔離されない、血液の細胞成分（例えば、赤血球、白血球、及び血小板）を指す。

【００７５】

「末梢血単核細胞」、「ＰＢＭＣ」または「単核細胞」とは、抗がん免疫療法に通常使用される末梢血から分離された単核細胞を指す。末梢血単核細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ－Ｈｙｐａｑｕｅ密度勾配法などの公知の方法を使用して収集されたヒト血液から取得され得る。

【００７６】

本発明の１つの例示的な実施形態によれば、「末梢血単核細胞」は、任意の適切な人から得られ得る。本明細書で使用される末梢血単核細胞などの供給源を含むドナーリンパ球細胞の供給源は、以下を含む所望のリンパ球細胞の単離のために、レシピエント患者に対して同種異系であっても、または自己由来であってもよい：ＣＤ４＋細胞、ＮＫ細胞、γδＴ細胞、ｉＮＫＴ細胞、ＣＤ３　Ｔ細胞、または本発明による抗ＨＩＶ、防御及び／または治療の方法で使用するための他の組み合わせ。特定の実施形態では、組換え細胞は同種異系であり、他の実施形態では、それらは自己由来であってもよい。

【００７７】

本明細書で使用される場合、「エクスビボ」という用語は、体の「外側」を指す。

【００７８】

「疾患」とは、対象が恒常性を維持することができず、疾患が改善されない場合、動物の健康が悪化し続けるという、対象の健康状態である。対照的に、対象における「障害」とは、その対象が恒常性を維持し得るが、対象の健康状態が、その障害がない場合よりも不利である健康状態である。治療せずに放置すると、障害は必ずしも対象の健康状態をさらに低下させるとは限らない。

【００７９】

本明細書で使用される「有効量」とは、治療的または予防的利益を提供する量を意味する。

【００８０】

「エンコーディング」とは、遺伝子、ｃＤＮＡ、またはｍＲＮＡなどのポリヌクレオチド中のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性を指し、定義されたヌクレオチド（すなわち、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ及びｍＲＮＡ）の配列または定義されたアミノ酸配列及びそれから生じる生物学的特性のいずれかを有する生物学的プロセスにおける他のポリマー及び高分子の合成のためのテンプレートとして機能する。したがって、その遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳が、細胞または他の生物学的システムにおいてタンパク質を産生する場合、その遺伝子はそのタンパク質をコードする。ヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり、通常は配列リストに記載されているコード鎖と、遺伝子またはｃＤＮＡの転写のテンプレートとして使用される非コード鎖との両方とも、その遺伝子またはｃＤＮＡのタンパク質または他の産物をコードすると言ってもよい。

【００８１】

本明細書で使用される場合、「内因性」とは、生物、細胞、組織もしくは系からの、またはその内部で生成される、任意の物質を指す。

【００８２】

本明細書で使用される場合、「外因性」という用語は、生物、細胞、組織もしくは系から導入されるか、またはその外部で生成された任意の物質を指す。細胞内の異種核酸分子

は、外因性の核酸分子である。
【００８３】
本明細書で使用される「発現」という用語は、特定のヌクレオチド配列の、そのプロモーターによって駆動される転写及び／または翻訳として定義される。
【００８４】
「発現ベクター」とは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現に十分なシス作用性エレメントを含み、発現のための他のエレメントは、宿主細胞によって、またはインビトロ発現系において供給され得る。発現ベクターとしては、組換えポリヌクレオチドを組み込んだ、コスミド、プラスミド（例えば、裸またはリポソームに含まれる）、及びウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）などの当該分野で公知の全てのベクターが挙げられる。
【００８５】
「相同」とは、２つのポリペプチド間または２つの核酸分子間の配列類似性または配列同一性を指す。２つの比較された配列の両方の位置が同じ塩基またはアミノ酸モノマーサブユニットによって占められている場合、例えば、２つのＤＮＡ分子のそれぞれの位置がアデニンによって占められている場合、分子はその位置で相同である。２つの配列間の相同性のパーセントとは、２つの配列によって共有される一致するまたは相同な位置の数を比較した位置の数で割り、１００でかけた関数である。例えば、２つの配列の１０個の位置のうち６個が一致または相同であるならば、その２つの配列は６０％相同である。例として、ＤＮＡ配列ＡＴＴＧＣＣとＴＡＴＧＧＣは、５０％の相同性を共有している。一般に、比較は、最大の相同性を与えるように２つの配列が整列されているときに行われる。
【００８６】
本明細書で使用される「免疫グロブリン」または「Ｉｇ」という用語は、抗体として機能するタンパク質のクラスとして定義される。Ｂ細胞によって発現される抗体は、ＢＣＲ（Ｂ細胞受容体）または抗原受容体と呼ばれることもある。このクラスのタンパク質に含まれる５つのメンバーは、ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、及びＩｇＥである。
【００８７】
「単離された」とは、自然の状態から変化または取り出されたことを意味する。例えば、生きている動物に自然に存在する核酸またはペプチドは「単離」されていないが、その天然状態の共存物質から部分的または完全に分離された同じ核酸またはペプチドは「単離」されている。単離された核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形で存在してもよく、または、例えば、宿主細胞などの非天然環境に存在してもよい。「単離された」生物学的構成要素（核酸、タンパク質または細胞など）は、他の生物学的構成要素（細胞破片、他のタンパク質、核酸または細胞型など）から実質的に分離または精製して取り出されている。「単離された」生物学的構成要素としては、標準的な精製方法によって精製された構成要素が挙げられる。
【００８８】
疾患の予防、治療、または改善：疾患の「予防」とは、疾患の完全な発症を阻害することを指す。「治療すること」とは、疾患または病的状態の徴候または症状をそれが発症し始めた後に改善する治療的介入を指す。「改善する」とは、疾患の徴候または症状の数または重症度の低減を指す。
【００８９】
本明細書で使用される場合、組換え体は一般に以下を指す：組換え核酸またはタンパク質とは、天然に存在しない配列を有するか、または配列の２つの他の方法で分離されたセグメントの人工的な組み合わせによって作製される配列を有するものである。この人工的な組み合わせは、化学合成によって、または核酸の単離されたセグメントの人工的な操作によって、例えば、遺伝子工学技術によってしばしば達成される。
【００９０】
本明細書で使用される場合、一般的に存在する核酸塩基の以下の略語を使用する。「Ａ

」はアデノシン、「Ｃ」はシトシン、「Ｇ」はグアノシン、「Ｔ」はチミジン、「Ｕ」はウリジンを指す。

【００９１】

本明細書で使用される「白血球（ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ）」または「白血球（ｗｈｉｔｅ ｂｌｏｏｄ ｃｅｌｌ）」という用語は、単球、好中球、好酸球、好塩基球、及びリンパ球を含む任意の免疫細胞を指す。本明細書で使用される「リンパ球」という用語は、リンパ球に一般的に見られる細胞を指し、ナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）、Ｔ細胞、及びＢ細胞を含む。上記の免疫細胞型をさらなるサブセットに分割することができることは、当業者によって理解されるであろう。

【００９２】

本明細書で使用される「腫瘍浸潤性白血球」という用語は、固形腫瘍に存在する白血球を指す。

【００９３】

本明細書で使用される「血液試料」という用語は、血漿、血液から単離された血球などの血液から調製された任意の試料を指す。

【００９４】

本明細書で使用される「精製された試料」という用語は、１つ以上の細胞サブセットが濃縮されている任意の試料を指す。試料は、サイズ、タンパク質発現などの特性に基づいて細胞を除去または単離することによって精製され得る。

【００９５】

本開示において有用な薬学的に許容される担体（ビヒクル）は従来のものである。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｅ．Ｗ．Ｍａｒｔｉｎ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．，１５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ（１９７５）は、１つ以上の治療用組成物、及び追加の薬剤の医薬送達に適した組成物及び製剤について説明している。

【００９６】

本明細書で提供される組成物及び細胞は、任意の適切な方法によって投与され得る。本明細書で提供される実施形態の組成物及び細胞は、さまざまな形態であり得る。これらとしては、例えば、液体及び半固体、例えば、液体溶液（例えば、注射可能及び注入可能な溶液）、分散液または懸濁液、リポソーム及び坐剤が挙げられる。この形態は、意図された投与様式及び治療用途に依存する。いくつかの実施形態では、組成物は、注射可能または注入可能な溶液の形態である。いくつかの実施形態では、投与の様式は、非経口的である（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）。いくつかの実施形態では、治療用組成物（医薬組成物）は、静脈内注入または注射によって投与される。いくつかの実施形態では、治療用分子は、筋肉内注射または皮下注射によって投与される。いくつかの実施形態では、治療用組成物は、例えば、標的部位への注射によって、局所的に投与される。「非経口投与」及び「非経口的に投与される」という句は、本明細書において用いる場合、通常は注射による、腸内及び局所の投与以外の投与様式を意味し、限定するものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、及び胸骨内注射ならびに吸入を含む。

【００９７】

一般に、送達に適した担体またはビヒクルの性質は、使用される特定の投与様式に依存する。例えば、非経口製剤は、通常、ビヒクルとして、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、デキストロース水溶液、グリセロールなどのような薬学的及び生理学的に許容される流体を含む注射可能な流体を含む。固体組成物（例えば、粉末、丸剤、錠剤、またはカプセル形態）の場合、従来の非毒性固体担体としては、例えば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムが挙げられる。生物学的に中性の担体に加えて、投与される医薬組成物は、湿潤剤または乳化剤、防腐剤、及びｐＨ緩衝剤など、例えば酢酸ナトリウムまたはモノラウレートなどの少量の非毒性補助物質を含

んでもよい。
【００９８】
いくつかの実施形態では、組成物は、溶液、懸濁液またはその他の形態のいずれかで、以下のうちの１つ以上を含み得る：ＤＭＳＯ、滅菌希釈液、例えば、注射用水、生理溶液、好ましくは生理食塩水、リンゲル液、等張性塩化ナトリウム、不揮発性油、例えば、合成のモノまたはジグリセリド（溶媒または懸濁媒体として機能し得る）、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の溶媒等、抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン、抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム、キレート剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸、緩衝液、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、またはリン酸塩、ならびに等張性調節のための薬剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース。
【００９９】
本明細書に記載の組成物及び方法が治療し得る疾患としては、ウイルス感染症などの微生物感染症が挙げられる。
【０１００】
本明細書で使用される場合、「ウイルス感染症」とは、体内にウイルスが存在することによって引き起こされる感染症を意味する。ウイルス感染症としては、慢性または持続性のウイルス感染症が挙げられ、これは、宿主に感染し得、致命的となる前に、通常は数週間、数ヶ月、または数年という長期間にわたって宿主の細胞内で増殖し得るウイルス感染症である。慢性感染症を引き起こすウイルスとしては、例えば、ヒト乳頭腫ウイルス（ＨＰＶ）、単純ヘルペス、及び他のヘルペスウイルス、Ｂ型肝炎及びＣ型肝炎のウイルス、ならびに他の肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、及びはしかウイルス（全てが重要な臨床疾患を生じ得る）が挙げられる。感染が長引くと、最終的には疾患の誘発につながる場合があり、例えば、Ｃ型肝炎ウイルスの肝臓癌の場合、患者にとって致命的となり得る。本発明に従って治療され得る他の慢性ウイルス感染症としては、エプスタインバーウイルス（ＥＢＶ）、ならびに腫瘍に関連し得るウイルスなどの他のウイルスが挙げられる。
【０１０１】
組換え同種異系ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞または本明細書に記載のそのような細胞を含む組成物及び方法で治療または予防され得るウイルス感染の例としては、限定するものではないが、レトロウイルス（例えば、ヒトＴ細胞リンパ球栄養性ウイルス（ＨＴＬＶ））によって引き起こされるウイルス感染、特にＩ型及びＩＩ型、ならびにヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）が挙げられる。ウイルス感染の治療及び／または予防には、限定するものではないが、当該感染に関連する１つ以上の症状の緩和、ウイルス複製及び／もしくはウイルス負荷の阻害、減少もしくは抑制、及び／または免疫応答の強化が挙げられる。
【０１０２】
本明細書で使用される場合、「免疫不全」とは、免疫系の少なくとも１つの本質的な機能を欠いていることを意味する。本明細書で使用される場合、「免疫不全対象」（ヒトなど）とは、免疫系の特定の構成要素を欠くか、または免疫系の特定の構成要素（例えば、Ｂ細胞、Ｔ細胞、ＮＫ細胞またはマクロファージなど）の機能を欠く対象である。場合によっては、免疫不全の対象は、機能的な免疫細胞（Ｂ細胞、Ｔ細胞またはＮＫ細胞など）の発達を防止または阻害する１つ以上の遺伝的変化を含む。いくつかの例では、遺伝的変化はＩＬ１７またはＩＬ１７受容体にある。
【０１０３】
本明細書で使用される場合、「免疫抑制された」とは、免疫系の活性または機能の低下を指す。対象は、例えば、免疫抑制剤化合物による治療に起因して、または疾患もしくは障害の結果として、免疫抑制され得る（例えば、ＨＩＶ感染または遺伝的欠陥に起因する免疫抑制）。場合によっては、免疫抑制は、Ｔ細胞などの機能的な免疫細胞の発達を防止または阻害する遺伝子変異の結果として発生する。
【０１０４】
本発明のいくつかの実施形態では、「治療有効量」とは、組換えＴ細胞（例えば、ＣＤ

４＋Ｔ細胞）ワクチン細胞、または本発明のそのような細胞を含む組成物を投与されていない動物または動物のグループ（例えば、２、３、５、１０またはそれ以上の動物）におけるウイルス力価または微生物力価と比較して、組換え同種異系ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞またはそのような細胞を含む組成物を投与され、本明細書に記載の関連する方法で治療された、対象／患者／動物において、ウイルス力価の少なくとも２．５％、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２５％、少なくとも３５％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％の減少をもたらす、本明細書に記載の標的抗原、例えば、ＨＩＶタンパク質、ワクチン細胞、またはそのような細胞を含む組成物を含む、ＣＤ４＋のような、組換え同種異系または自家Ｔ細胞の量である。

【０１０５】

特定の実施形態では、組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞またはそのような細胞を含む組成物は、抗菌性剤、抗ウイルス剤及び／または他の治療剤と同時に投与してもよい。あるいは、そのような細胞を含む組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞または組成物は、抗菌、抗ウイルス、及び他の治療剤が投与された時間より前の選択された時間で投与され得る。

【０１０６】

本明細書で提供されるように、組換えＴ細胞（例えば、ＣＤ４＋細胞）は、いくつかの実施形態では、細胞を投与される患者と比較して同種異系であってもよいし、またはそれらは自己であっても、もしくはＨＬＡ適合であってもよい。

【０１０７】

細胞源

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）は、廃棄された非特定化白血球減少フィルター（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｒｅｄ　Ｃｒｏｓｓ）から得られた試料のＦｉｃｏｌｌ－Ｈｙｐａｑｕｅ密度勾配遠心分離、またはインフォームドコンセントを得た健康なボランティアからの献血によって分離され得る。細胞集団、供給源、及び所望の細胞型を選択または濃縮するための方法の説明は、例えば、米国特許第９，３４７，０４４号に見出され得る。哺乳動物を治療するための本明細書に記載の方法における使用のための細胞の集団は、ヒト細胞のように、適合した種でなければならない。細胞は、動物、例えば、ヒトの患者から得てもよい。細胞が動物から得られた場合、それらは最初に培養で、例えば形質転換によって樹立された場合があり、またはより好ましくは、それらは予備精製法に供された場合がある。例えば、細胞集団は、細胞表面マーカーの発現に基づく正または負の選択によって操作されてもよく、インビトロもしくはインビボで１つ以上の抗原で刺激されてもよく、インビトロもしくはインビボで１つ以上の生物学的修飾因子で処理されてもよく、またはこれらのいずれかまたは全ての組み合わせであってもよい。例示的な実施形態では、細胞集団は、非Ｔ細胞及び／または特定のＴ細胞サブセットの枯渇のために陰性選択に供する。陰性選択は、ＣＤ１９及びＣＤ２０、単球マーカーＣＤ１４、ＮＫ細胞マーカーＣＤ５６などのＢ細胞マーカーを含むさまざまな分子の細胞表面発現に基づいて実行され得る。あるいは、細胞集団を、非ＣＤ３４＋造血細胞及び／または特定の造血細胞サブセットの枯渇のために陰性選択に供してもよい。陰性選択は、例えば、ＭＡＣＳまたはカラム分離などを通して他の細胞型の分離に使用され得る、抗体のカクテル（例えば、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１４、ＣＤ１５、ＣＤ１６、ＣＤ１９、ＣＤ５６、ＣＤ１２３、及びＣＤ２３５ａ）など、さまざまな分子の細胞表面発現に基づいて実行され得る。

【０１０８】

細胞の集団としては、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、混合集団を含む全血またはその画分、脾臓細胞、骨髄細胞、腫瘍浸潤リンパ球、白血球アフェレーシスによって得られた細胞、生検組織、リンパ節、例えば、腫瘍から流入するリンパ節が挙げられる。適切なドナーとしては、免疫化されたドナー、免疫化されていない（ナイーブ）ドナー、治療されたまたは未治療のドナーが挙げられる。「治療された」ドナーとは、１つ以上の生物学的修飾剤に曝露されたドナーである。「未治療」のドナーとは、１つ以上の生物学的修飾剤に

曝露されていない。

【０１０９】

Ｔ細胞を含む細胞の集団を取得する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）は、当該技術分野で公知の方法に従って記載されるように得ることができる。そのような方法の例は、実施例に記載されており、Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）、Ｂｉｓｗａｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９０）、Ｂｉｓｗａｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）によって考察されている。

【０１１０】

対象から細胞試料を取得し、それを所望の細胞型について濃縮することも可能である。例えば、ＰＢＭＣは、本明細書に記載されるように血液から単離され得る。向流遠心分離（水簸）を使用して、ＰＢＭＣからＴ細胞を濃縮し得る。細胞は、所望の細胞型の細胞表面のエピトープに結合する抗体による分離及び／または活性化などのさまざまな技術を使用して他の細胞から分離され得、例えば、一部のＴ細胞分離キットでは、抗体結合ビーズを使用して細胞を活性化し、次いで同じビーズでカラム分離を行う。使用され得る別の方法としては、細胞表面マーカーに対する抗体を使用して、受容体の関与によって細胞を活性化することなく特定の細胞型を選択的に濃縮する陰性選択が挙げられる。

【０１１１】

骨髄細胞は、腸骨稜、大腿骨、脛骨、脊椎、肋骨、または他の骨髄腔から得てもよい。骨髄は患者から取り出して、さまざまな分離と洗浄手順によって分離し得る。骨髄細胞を分離するための公知の手順は、以下のステップを含む：ａ）骨髄懸濁液を３つの画分に遠心分離し、中間画分、すなわちバフィーコートを収集すること、ｂ）ステップ（ａ）のバフィーコート画分を、分離液、通常はＦｉｃｏｌｌ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｆｉｎｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ　ＡＢの商標））でもう一度遠心分離し、骨髄細胞を含む中間画分を収集する、ｃ）再輸血可能な骨髄細胞の回収のために、ステップ（ｂ）から収集された画分を洗浄すること。

【０１１２】

Ｔ細胞が豊富な細胞の集団を使用したい場合、そのような細胞の集団は、連続フローセルセパレーターを使用する白血球アフェレーシス及び機械的アフェレーシスによって、細胞の混合集団から得てもよい。例えば、Ｔ細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ－Ｈｙｐａｑｕｅ（商標）勾配での分離、Ｐｅｒｃｏｌｌ勾配での分離、または水簸など、任意の公知の方法でバフィーコートから分離され得る。

【０１１３】

ウイルスベクター媒介の遺伝子導入の方法

特定の実施形態では、導入遺伝子は、細胞への遺伝子導入を媒介するためにウイルス粒子に組み込まれる。通常、ウイルスは、生理的条件下で適切な宿主細胞に単にさらされ、ウイルスの取り込みが可能になる。（米国特許第９，０８９，５２０号を参照）本発明の方法は、以下に論じられるように、またレンチウイルスベクターも含むさまざまなウイルスベクターを使用して有利に使用される。

【０１１４】

１．アデノウイルス

アデノウイルスは、中型のＤＮＡゲノム、操作の容易さ、高力価、広い標的細胞範囲、及び高い感染力のおかげで、遺伝子導入ベクターとしての使用に特に適している。おおよそ３６ｋｂのウイルスゲノムは、１００～２００塩基対（ｂｐ）の逆方向末端反復（ＩＴＲ）に囲まれており、ウイルスＤＮＡの複製及びパッケージングに必要なシス作用エレメントが含まれている。異なる転写ユニットを含むゲノムの初期（Ｅ）及び後期（Ｌ）領域は、ウイルスＤＮＡ複製の開始によって分割される。

【０１１５】

Ｅ１領域（Ｅ１Ａ及びＥ１Ｂ）は、ウイルスゲノム及びいくつかの細胞遺伝子の転写調節に関与するタンパク質をコードする。Ｅ２領域（Ｅ２Ａ及びＥ２Ｂ）の発現により、ウイルスＤＮＡ複製用のタンパク質が合成される。これらのタンパク質は、ＤＮＡ複製、後

期遺伝子発現、及び宿主細胞の遮断に関与している（Ｒｅｎａｎ，Ｍ．Ｊ．（１９９０）Ｒａｄｉｏｔｈｅｒ Ｏｎｃｏｌ．，１９，１９７－２１８）。ウイルスキャプシドタンパク質の大部分を含む後期遺伝子（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｌ４、及びＬ５）の産物は、主要な後期プロモーター（ＭＬＰ）によって生じた単一の一次転写産物の有意なプロセシング後にのみ発現される。ＭＬＰ（１６．８マップ単位に位置）は、感染後期に特に効率的であり、このプロモーターから生じる全てのｍＲＮＡは、５’三分節リーダー（ＴＬ）配列を持っており、翻訳に役立つものとなる。

【０１１６】

アデノウイルスを遺伝子治療に最適化するためには、ＤＮＡの大きなセグメントを含めることができるように積載能力を最大化する必要がある。特定のアデノウイルス産物に関連する毒性及び免疫反応を低減することも非常に望ましい。２つの目標は、アデノウイルス遺伝子の除去が両方に役立つという点で、ある程度は同じ範囲にある。本発明の方法を実践することにより、比較的容易に治療構築物を操作する能力を保持したままで、これらの両方の目標を達成することが可能である。

【０１１７】

ウイルスＤＮＡ複製に必要なシスエレメントは全て、線形ウイルスゲノムのどちらかの末端の逆方向末端反復（ＩＴＲ）（１００～２００ｂｐ）には局在しているので、ＤＮＡの大きな置換が可能である。ＩＴＲを含むプラスミドは、欠陥のないアデノウイルスの存在下で複製し得る（Ｈａｙ，Ｒ．Ｔ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９８４Ｊｕｎ．５；１７５（４）：４９３－５１０）。したがって、これらの要素をアデノウイルスベクターに含めると、複製が可能になる場合がある。

【０１１８】

さらに、ウイルスカプセル化のパッケージングシグナルは、ウイルスゲノムの左端で１９４～３８５ｂｐ（０．５～１．１マップ単位）の間に局在している（Ｈｅａｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．（１９８７）Ｖｉｒｏｌ．，６７，２５５５－２５５８）。このシグナルは、バクテリオファージラムダＤＮＡのタンパク質認識部位を模倣しており、左端に近いが粘着末端配列の外側にある特定の配列が、ヘッド構造へのＤＮＡの挿入に必要なタンパク質への結合を媒介する。ＡｄのＥ１置換ベクターによって、ウイルスゲノムの左端にある４５０ｂｐ（０～１．２５マップ単位）断片が２９３細胞にパッケージングを指示し得ることが示されている（Ｌｅｖｒｅｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ，１０１：１９５－２０２，１９９１）。

【０１１９】

以前には、アデノウイルスゲノムの特定の領域が哺乳動物細胞のゲノムに組み込まれ、それによってコードされる遺伝子が発現され得ることが示されている。これらの細胞株は、この細胞株によってコードされるアデノウイルス機能を欠くアデノウイルスベクターの複製をサポートし得る。野生型ウイルスまたは条件付き欠損変異体などのベクターを「助ける」ことによる複製欠損アデノウイルスベクターの補完の報告もある。

【０１２０】

複製欠損アデノウイルスベクターは、ヘルパーウイルスによってトランスで補完され得る。この観察だけでは、複製欠損ベクターの単離は可能ではないが、複製機能を提供するために必要なヘルパーウイルスの存在は、あらゆる調製物を汚染する。したがって、複製欠損ベクターの複製及び／またはパッケージングに特異性を追加する、追加のエレメントが必要であった。そのエレメントは、アデノウイルスのパッケージング機能に由来する。

【０１２１】

アデノウイルスのパッケージングシグナルは、従来のアデノウイルスマップの左端に存在することが示されている（Ｔｉｂｂｅｔｔｓ ｅｔ．ａｌ．（１９７７）Ｃｅｌｌ，１２，２４３－２４９）。後の研究では、ゲノムのＥ１Ａ（１９４～３５８ｂｐ）領域に欠失がある変異体は、初期（Ｅ１Ａ）機能を補完する細胞株でも成長が不十分であることが示された（Ｈｅａｒｉｎｇ ａｎｄ Ｓｈｅｎｋ，（１９８３）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１６７，８０９－８２２）。補償的なアデノウイルスＤＮＡ（０～３５３ｂｐ）が変異体の

右端に再結合されたとき、ウイルスは正常にパッケージングされた。さらなる突然変異分析により、Ａｄ５ゲノムの左端にある短い繰り返しの位置依存エレメントを特定した。リピートの１つのコピーは、ゲノムのいずれかの端に存在する場合は効率的なパッケージングに十分であることがわかったが、Ａｄ５　ＤＮＡ分子の内部に向かって移動した場合は十分ではない（Ｈｅａｒｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．（１９８７）Ｖｉｒｏｌ．，６７，２５５５－２５５８）。

【０１２２】

パッケージングシグナルの変異バージョンを使用することにより、さまざまな効率でパッケージ化されているヘルパーウイルスを作成することが可能である。通常、変異とは点突然変異または欠失である。低効率のパッケージングを伴うヘルパーウイルスが、ヘルパー細胞で増殖する場合、野生型ウイルスと比較して速度は遅いが、ウイルスはパッケージングされ、それによってヘルパーの増殖が可能になる。ただし、これらのヘルパーウイルスが野生型パッケージングシグナルを含むウイルスとともに細胞内で増殖する場合、野生型パッケージングシグナルは、変異バーションよりも優先的に認識される。パッケージングファクターの量が限られていることを考えれば、ヘルパーと比較した場合、野生型シグナルを含むウイルスは選択的にパッケージ化される。選好が十分に大きければ、均質に近いストックが達成され得る。

【０１２３】

特定の組織または種に対するＡＤＶ構築物の向性を改善するために、受容体結合繊維配列をアデノウイルス分離株間で置換し得る場合が多い。例えば、アデノウイルス５に見られるコクサッキー－アデノウイルス受容体（ＣＡＲ）リガンドは、アデノウイルス３５のＣＤ４６結合繊維配列の代わりに使用でき、ヒト造血細胞に対する結合親和性が大幅に向上したウイルスになる。結果として生じる「シュードタイプ（ｐｓｅｕｄｏｔｙｐｅｄ）」ウイルス、Ａｄ５ｆ３５は、いくつかの臨床的に開発されたウイルス分離株の基礎となっている。さらに、標的細胞へのウイルスの再標的化を可能にするためにファイバーを改変するためのさまざまな生化学的方法が存在する。方法には、二機能性抗体の使用（一端がＣＡＲリガンドに結合し、一端が標的配列に結合する）、及びカスタマイズされたアビジンベースのキメラリガンドとの会合を可能にするファイバーの代謝性ビオチン化が含まれる。あるいは、リガンド（例えば、ヘテロ二官能性リンカーによる抗ＣＤ２０５（例えば、ＰＥＧ含有）を、アデノウイルス粒子に結合させてもよい。

【０１２４】

２．レトロウイルス

レトロウイルスとは、逆転写のプロセスによって感染細胞内でＲＮＡを二本鎖ＤＮＡに変換する能力を特徴とする一本鎖ＲＮＡウイルスの群である（Ｃｏｆｆｉｎ，（１９９０）Ｉｎ：Ｖｉｒｏｌｏｇｙ，ｅｄ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ，ｐｐ．１４３７－１５００）。次いで、得られたＤＮＡを、プロウイルスとして細胞染色体に安定して組み込み、ウイルスタンパク質の合成を指示する。組み込みにより、レシピエント細胞とその子孫にウイルス遺伝子配列が保持される。レトロウイルスゲノムには、それぞれ、キャプシドタンパク質、ポリメラーゼ酵素、及びエンベロープ成分をコードする３つの遺伝子（ｇａｇ、ｐｏｌ、及びｅｎｖ）が含まれている。ｐｓｉと呼ばれるｇａｇ遺伝子の上流に見出される配列は、ゲノムをビリオンにパッケージングするためのシグナルとして機能する。２つのロングターミナルリピート（ＬＴＲ）配列は、ウイルスゲノムの５’及び３’末端に存在する。これらは強力なプロモーター及びエンハンサー配列を含み、宿主細胞ゲノムへの組み込みにも必要である（Ｃｏｆｆｉｎ，１９９０）。

【０１２５】

レトロウイルスベクターを構築するために、プロモーターをコードする核酸を、特定のウイルス配列の代わりにウイルスゲノムに挿入して、複製欠損しているウイルスを生成する。ビリオンを生成するために、ｇａｇ、ｐｏｌ、及びｅｎｖ遺伝子を含むが、ＬＴＲ及びｐｓｉ成分を含まないパッケージング細胞株を構築する（Ｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８３）Ｃｅｌｌ，３３，１５３－１５９）。ヒトｃＤＮＡを含む組換えプラスミドが、

レトロウイルスＬＴＲ及びｐｓｉ配列とともにこの細胞株に導入されると（例えばリン酸カルシウム沈殿により）、ｐｓｉ配列によって、組換えプラスミドのＲＮＡ転写物をウイルス粒子にパッケージングすることが可能になり、これは、その後、培養培地に分泌される（Ｎｉｃｏｌａｓ，Ｊ．Ｆ．，　ａｎｄ　Ｒｕｂｅｎｓｔｅｉｎ，Ｊ．Ｌ．Ｒ．，（１９８８）Ｉｎ：Ｖｅｃｔｏｒｓ：ａ　Ｓｕｒｖｅｙ　ｏｆ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｖｅｃｔｏｒｓ　ａｎｄ　Ｔｈｅｉｒ　Ｕｓｅｓ，Ｒｏｄｒｉｑｕｅｚ　ａｎｄ　Ｄｅｎｈａｒｄｔ，Ｅｄｓ．）。Ｎｉｃｏｌａｓ　ａｎｄ　Ｒｕｂｅｎｓｔｅｉｎ；Ｔｅｍｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８６）Ｇｅｎｅ　Ｔｒａｎｓｆｅｒ，Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉ（ｅｄ．），Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：Ｐｌｅｎｕｍ　Ｐｒｅｓｓ，ｐｐ．１４９－１８８；Ｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８３）。組換えレトロウイルスを含む培地を収集し、必要に応じて濃縮し、遺伝子導入に使用する。レトロウイルスベクターは、多種多様な細胞型に感染し得る。しかし、多くの種類のレトロウイルスの組み込み及び安定した発現には、宿主細胞の分裂が必要である（Ｐａｓｋｉｎｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９７５）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ，６７，２４２－２４８）。レトロウイルスベクターの特異的標的化を可能にするように設計されたアプローチは、最近、ウイルスエンベロープへのガラクトース残基の化学的付加によるレトロウイルスの化学修飾に基づいて開発された。この改変は、アシアロ糖タンパク質受容体を介した肝細胞などの細胞の特異的感染を可能にする場合があり、これが望ましい場合がある。

【０１２６】

組換えレトロウイルスを標的とする別のアプローチを設計し、レトロウイルスエンベロープタンパク質及び特定の細胞受容体に対するビオチン化抗体を使用した。ストレプトアビジンを使用することにより、ビオチン成分を介して抗体を結合させた（Ｒｏｕｘ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８６，９０７９－９０８３）。主要組織適合遺伝子複合体クラスＩ及びクラスＩＩ抗原に対する抗体を使用して、これらの表面抗原を保有するさまざまなヒト細胞の感染を、インビトロでのエコトロピックウイルスで実証した（Ｒｏｕｘ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９）。

【０１２７】

３．アデノ随伴ウイルス

ＡＡＶは、約４７００塩基対の直鎖の一本鎖ＤＮＡを利用する。逆方向末端反復はゲノムに隣接している。ゲノム内には２つの遺伝子が存在し、多くの異なる遺伝子産物を生み出す。最初のｃａｐ遺伝子は、ＶＰ－１、ＶＰ－２、及びＶＰ－３と呼ばれる３つの異なるビリオンタンパク質（ＶＰ）を生成する。第２のｒｅｐ遺伝子は、４つの非構造タンパク質（ＮＳ）をコードする。これらのｒｅｐ遺伝子産物のうち１つ以上は、ＡＡＶ転写のトランス活性化を担う。

【０１２８】

ＡＡＶの３つのプロモーターは、ゲノム内のマップ単位での位置によって指定される。これらは、左から右に、ｐ５、ｐ１９、及びｐ４０である。転写は６つの転写物を生じ、２つは３つのプロモーターのそれぞれで開始され、各ペアの１つがスプライシングされる。マップ単位４２～４６から派生したスプライス部位は、各転写産物で同じである。４つの非構造タンパク質は長い方の転写物に明らかに由来し、３つのビリオンタンパク質は全て最小の転写物から生じる。

【０１２９】

ＡＡＶはヒトの病的状態とは関係ない。興味深いことに、効率的な複製のために、ＡＡＶは、単純ヘルペスウイルスＩ及びＩＩ、サイトメガロウイルス、仮性狂犬病ウイルス、そしてもちろんアデノウイルスなどのウイルスからの「ヘルプ」機能を必要とする。ヘルパーの最も特徴的な特徴はアデノウイルスであり、このウイルスの多くの「初期」機能が、ＡＡＶ複製を支援することが示されている。ＡＡＶ　ｒｅｐタンパク質の発現が低レベルであれば、ＡＡＶの構造的発現を抑制していると考えられており、ヘルパーウイルス感染はこのブロックを取り除くと考えられている。

【０１３０】

ＡＡＶベクターの末端反復は、ＡＡＶまたは改変されたＡＡＶゲノムを含むｐ２０１などのプラスミドの制限エンドヌクレアーゼ消化によって（Ｓａｍｕｌｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，６１：３０９６－３１０１（１９８７））、またはＡＡＶの公開された配列に基づく末端反復の化学的または酵素的合成を含むがこれらに限定されない他の方法によって、得てもよい。その末端反復は、例えば、欠失分析によって、機能、すなわち、安定した部位特異的組み込みを可能にするために必要とされるＡＡＶ ＩＴＲの最小配列または一部が決定され得る。また、安定した部位特異的組み込みを指示する末端反復の能力を維持しながら、配列のどの小さな変更を許容できるかを決定することも可能である。

【０１３１】

ＡＡＶベースのベクターは、インビトロでの遺伝子送達のための安全かつ効果的なビヒクルであることが証明されており、これらのベクターは、エキソビボ及びインビボの両方で、潜在的な遺伝子治療における幅広い応用について、前臨床及び臨床段階で開発及び試験されている。（Ｃａｒｔｅｒ及びＦｌｏｔｔｅ，（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，７７０；７９－９０；Ｃｈａｔｔｅｉｊｅｅ，ｅｔ ａｌ．，（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，７７０，７９－９０；Ｆｅｒｒａｒｉ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，７０，３２２７－３２３４；Ｆｉｓｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，７０，５２０－５３２；Ｆｌｏｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０，１０６１３－１０６１７，（１９９３）；Ｇｏｏｄｍａｎ ｅｔ ａｌ．（１９９４），Ｂｌｏｏｄ，８４，１４９２－１５００；Ｋａｐｌｉｔｔ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）Ｎａｔ’ｌ Ｇｅｎｅｔ．，８，１４８－１５３；Ｋａｐｌｉｔｔ，Ｍ．Ｇ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ Ｔｈｏｒａｃ Ｓｕｒｇ．１９９６ Ｄｅｃｅｍｂｅｒ；６２（６）：１６６９－７６；Ｋｅｓｓｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９３，１４０８２－１４０８７；Ｋｏｅｂｅｒｌ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９４，１４２６－１４３１；Ｍｉｚｕｋａｍｉ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ，２１７，１２４－１３０）。

【０１３２】

肺におけるＡＡＶを介した効率的な遺伝子導入及び発現は、嚢胞性線維症の治療のための臨床試験につながっている（Ｃａｒｔｅｒ ａｎｄ Ｆｌｏｔｔｅ，１９９５；Ｆｌｏｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０，１０６１３－１０６１７，（１９９３））。同様に、骨格筋へのジストロフィン遺伝子のＡＡＶ媒介遺伝子送達による筋ジストロフィーの治療、脳へのチロシンヒドロキシラーゼ遺伝子送達によるパーキンソン病の治療、肝臓への第ＩＸ因子遺伝子送達による血友病Ｂの治療、及び可能性として心臓への血管内皮増殖因子遺伝子による心筋梗塞の治療についての見込みは、これらの臓器におけるＡＡＶを介した導入遺伝子の発現が非常に効率的であることが最近示されたため、有望であるように思われる（Ｆｉｓｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，７０，５２０－５３２；Ｆｌｏｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９９３；Ｋａｐｌｉｔｔ ｅｔ ａｌ．，１９９４；１９９６；Ｋｏｅｂｅｒｌ ｅｔ ａｌ．，１９９７；ＭｃＣｏｗｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｂｒａｉｎ Ｒｅｓ．，７１３，９９－１０７；Ｐｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｍｉｃｒｏｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ，３，２２５－２２８；Ｘｉａｏ ｅｔ ａｌ．，（１９９６）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，７０，８０９８－８１０８）。

【０１３３】

４．レンチウイルスベクター

特定の実施形態では、ＣＸＣＬ１３及びＣＤ４０Ｌは、ＣＤ４ Ｔ細胞、Ｔ細胞サブセット及び／またはＴ細胞前駆細胞に、レンチウイルス、ガンマレトロウイルス、アルファレトロウイルスまたはアデノウイルスを用いて、エレクトロポレーションにより、または核酸、タンパク質、部位特異的ヌクレアーゼ、自己複製ＲＮＡウイルスもしくは組み込み欠損レンチウイルスベクターのトランスフェクションによって、形質導入される。（その

ようなベクターについては、米国特許第１０，１３１，８７６号を参照のこと）。
【０１３４】
特定の実施形態では、ＣＤ４　Ｔ細胞、Ｔ細胞サブセット及び／またはＴ細胞前駆細胞の組換え改変は、形質導入、トランスフェクション、またはエレクトロポレーションによって実施され得る。
【０１３５】
好ましくは、形質導入は、レンチウイルス、ガンマ、アルファレトロウイルスもしくはアデノウイルスを用いて、あるいは核酸（ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、拮抗薬、ＯＤＮ）、タンパク質、部位特異的ヌクレアーゼ（ジンクフィンガーヌクレアーゼ、ＴＡＬＥＮ、ＣＲＩＳＰ／Ｒ）、自己複製ＲＮＡウイルス（例えば、馬脳症ウイルス）または組み込み欠損レンチウイルスベクターによるエレクトロポレーションもしくはトランスフェクションを用いて行われる。
【０１３６】
より優先的には、ＣＤ４　Ｔ細胞、Ｔ細胞サブセット及び／またはＴ細胞前駆体の組換え改変は、このような細胞を、レンチウイルスベクターを用いて形質導入することによって行ってもよい（Ｃｏｃｋｒｅｌｌ　Ａｄａｍ　Ｓ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｇｅｎｅ　ｄｅｌｉｖｅｒｙ　ｂｙ　ｌｅｎｔｉｖｉｒｕｓ　ｖｅｃｔｏｒｓ”，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．３６，Ｎｏ．３，Ｊｕｌ．２００７を参照のこと。）
【０１３７】
ＶＳＶＧのシュードタイプを有するレンチウイルスベクターは、自動化された製造方法の下で効率的な形質導入を可能にする。しかし、本発明の方法は、あらゆるタイプのレンチウイルスベクター（例えば、はしかウイルス（ＭＬ－ＬＶ）、テナガザル白血病ウイルス（ＧＡＬＶ）、ネコ内在性レトロウイルス（ＲＤ１１４）、ヒヒ内在性レトロウイルス（ＢａＥＶ）由来シュードタイプエンベロープ）の使用に完全に適している。ガンマまたはアルファレトロウイルスベクターなどの他のウイルスベクターを使用してもよい。形質導入エンハンサー試薬を、本発明に記載の自動製造を使用して、必要に応じて加えてもよい。
【０１３８】
５．その他のウイルスベクター
他のウイルスベクターを、本発明の方法及び組成物における発現構築物として使用してもよい。ワクシニアウイルスなどのウイルスに由来するベクター（Ｒｉｄｇｅｗａｙ，（１９８８）Ｉｎ：Ｖｅｃｔｏｒｓ：Ａ　ｓｕｒｖｅｙ　ｏｆ　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｃｌｏｎｉｎｇ　ｖｅｃｔｏｒｓ　ａｎｄ　ｔｈｅｉｒ　ｕｓｅｓ，ｐｐ．４６７－４９２；Ｂａｉｃｈｗａｌ　ａｎｄ　Ｓｕｇｄｅｎ，（１９８６）Ｉｎ，Ｇｅｎｅ　Ｔｒａｎｓｆｅｒ，ｐｐ．１１７－１４８；Ｃｏｕｐａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ，６８：１－１０，１９８８）カナリア痘ウイルス、及びヘルペスウイルスが採用されている。これらのウイルスは、さまざまな哺乳動物細胞への遺伝子導入に使用するためのいくつかの機能を提供する。
【０１３９】
構築物が細胞に一旦送達されれば、導入遺伝子をコードする核酸は、異なる部位に配置され、発現される。特定の実施形態では、導入遺伝子をコードする核酸は、細胞のゲノムに安定的に組み込まれる。この組み込みは、相同組換え（遺伝子置換）を介して同族の位置及び方向にあるか、またはランダムな非特異的な位置に組み込まれる（遺伝子増強）。さらに別の実施形態では、核酸は、ＤＮＡの別個のエピソームセグメントとして細胞内で安定に維持される。そのような核酸セグメントまたは「エピソーム」は、宿主細胞周期とは独立して、またはそれと同期して、維持及び複製を可能にするのに十分な配列をコードする。発現構築物が細胞にどのように送達されるか、及び細胞内のどこに核酸が残るかは、使用される発現構築物のタイプに依存する。
【０１４０】
異種核酸分子を細胞に導入するこれらの方法は、非限定的であり、任意の方法を使用してもよい。これらを用いて、ＣＤ４０Ｌ、ＣＸＣＬ１３、及び／または標的抗原（本明細

書で提供されるようなＨＩＶタンパク質であり得る）を非相同的に発現してもよい。
【０１４１】
疾患を治療するための方法
本発明の方法はまた、例えば、注入による細胞の投与が有益であり得る疾患の治療または予防の方法を包含する。いくつかの実施形態では、この疾患はウイルス感染である。いくつかの実施形態では、感染は、ＨＩＶ感染である。いくつかの実施形態では、この方法は、本明細書に提供されるような組成物または細胞を、ウイルス感染を有する対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、体液性免疫応答及び／または細胞性免疫応答などの免疫応答を増大させる。いくつかの実施形態では、免疫応答は、ＨＩＶ感染に対する。
【０１４２】
いくつかの実施形態では、対象においてＨＩＶを治療する方法が提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、組成物を対象に投与することを含み、有効量の本明細書で提供される任意の細胞を投与することを含む。いくつかの実施形態では、この組成物は、医薬組成物と呼んでもよい。本明細書で示すとおり、この組成物は、任意の適切な経路によって投与され得る。いくつかの実施形態では、この組成物は、静脈内にまたは注入によって投与される。いくつかの実施形態では、細胞は、対象に対して同種異系であるか、またはＨＬＡ適合ではない。いくつかの実施形態では、この細胞は、対象に対して自系である。いくつかの実施形態では、組成物中の細胞の投与量は、約1×10^6～約5×10^6である。
【０１４３】
いくつかの実施形態では、免疫応答の増大を必要とする対象においてそれを行う方法が提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、有効量の本明細書で提供される任意の細胞を投与することを含む。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、標的抗原に対するものである。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、体液性免疫応答及び／または細胞性免疫応答である。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、ＮＫ細胞における増大である。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、ＮＫＴ細胞における増大である。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、活性化ＮＫ細胞における増大である。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、活性化Ｂ細胞における増大である。いくつかの実施形態では、この免疫応答の増大は、活性化ＣＤ８Ｔ細胞における増大である。いくつかの実施形態では、免疫応答の増大は、ＣＤ３＋及びＣＤ３８＋細胞のパーセントによって測定されるとおり、活性化されたＴ細胞の増大である。いくつかの実施形態では、免疫応答の増大は、ＣＤ３＋及びＣＤ２５＋細胞のパーセントによって測定されるとおり、活性化されたＴ細胞の増大である。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ＨＩＶタンパク質である。いくつかの実施形態では、ＨＩＶタンパク質は、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせのうちの１つ以上である。いくつかの実施形態では、標的抗原は、異種核酸分子からのものなど、ＨＩＶゲノム全体として発現される。いくつかの実施形態では、ＨＩＶゲノム核酸は、変異をレトロウイルス逆転写酵素に含み、さらに、ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。いくつかの実施形態では、ＨＩＶゲノムは、複製可能なＨＩＶウイルス粒子を生成しない。いくつかの実施形態では、ＨＩＶゲノムは、Ｔ細胞に感染し得るＨＩＶウイルス粒子を産生しない。いくつかの実施形態では、細胞は対象に対して同種異系である。いくつかの実施形態では、細胞は、患者とＨＬＡ適合していない。いくつかの実施形態では、細胞の投与量は、約1×10^6～約1×10^6細胞である。いくつかの実施形態では、免疫応答は、ウイルス感染に対するものであり、ウイルス感染は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症であってもよい。
【０１４４】

いくつかの実施形態では、この方法は、組成物を２回以上投与することを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、毎週１回から、２週間ごとに１回まで、３週間ごとに１回まで、１ヶ月に１回まで、２ヶ月ごとに１回まで、３ヶ月ごとに１回まで、４ヶ月ごとに１回まで、５ヶ月ごとに１回まで、６ヶ月ごとに１回まで、または７ヶ月ごとに１回、または８ヶ月ごとに１回、または９ヶ月ごとに１回、または１０ヶ月ごとに１回、または１１ヶ月ごとに１回、または毎年１回、維持療法として投与される。この組成物は、例えば、対象がウイルス力価、または治療されている安定／非進行性疾患の改善、低下または検出不能を示す限り、投与されてもよい。

【０１４５】

例えば、組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞などの細胞またはそのような細胞を含む組成物は、細胞治療に使用してもよい。細胞は、ドナー由来のものであってもよいし、または患者から得られた細胞であってもよい。細胞は、例えば、再生において、例えば、罹患細胞の機能を置き換えるために使用され得る。細胞はまた、異種遺伝子を発現するように改変されてもよく、その結果、生物学的因子が、例えば、罹患した骨髄または転移性沈着物などの特定の微小環境に送達され得る。間葉系間質細胞はまた、例えば、免疫抑制活性を提供するために使用されており、移植片対宿主病及び自己免疫障害の治療に使用されてもよい。

【０１４６】

他の実施例では、組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞またはそのような細胞を含む組成物を使用して、さまざまな疾患及び状態を治療する。

【０１４７】

「単位剤形」という用語は、接種材料に関連する場合、哺乳動物のための、単位の投薬（ｕｎｉｔａｒｙ　ｄｏｓａｇｅｓ）として適した物理的に個別的な単位を指し、ここで各単位は、必要とされる希釈液に関連して所望の免疫原性効果を生み出すように算出された、既定量の医薬組成物を含有する。接種材料の単位用量の仕様は、医薬組成物の固有の特性及び達成される特定の免疫原性効果によって決定され、それらに依存している。

【０１４８】

組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞を含む医薬組成物またはそのような細胞を含む組成物の有効量は、ＨＩＶ感染細胞の６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９７％超が殺滅されるような量である。この用語は「十分な量」とも同義である。

【０１４９】

任意の特定の適用に関する有効量は、治療される疾患または状態、投与される特定の組成物、対象のサイズ、及び／または疾患もしくは状態の重症度などの要因に応じて変化し得る。過度の実験を必要とせずに、有効量の本明細書に提示される特定の組成物を経験的に決定し得る。

【０１５０】

「接触される」及び「曝露される」という用語は、細胞、組織または生物体に適用される場合、医薬組成物及び／または別の薬剤、例えば、化学療法剤または放射線療法剤が標的細胞、組織もしくは生物に送達されるか、または標的細胞、組織もしくは生物体と直接並置されるプロセスを説明するために本明細書では使用される。細胞の殺滅または停滞を達成するために、医薬組成物及び／または追加の薬剤（複数可）は、細胞（複数可）を殺すか、またはそれらが分裂するのを防ぐのに有効な合計量で１つ以上の細胞に送達される。医薬組成物の投与は、他の薬剤（複数可）に先行してもよく、同時であってもよく、及び／または数分から数週間の間隔でその後であってもよい。医薬組成物及び他の薬剤（複数可）が細胞、組織または生物に別々に適用される実施形態では、一般に、各送達の時間の間に有意な期間が満了しないことを確実にし、その結果、医薬組成物及び薬剤（複数可）がそれでも、細胞、組織、または生物体に対して有利に組み合わされた効果を発揮し得る。例えば、そのような場合、細胞、組織または生物体を、医薬組成物と実質的に同時に（すなわち、約１分以内に）２、３、４、またはそれ以上の様式で接触させ得ると考えら

れる。他の態様では、１つ以上の薬剤は、実質的に同時に、約１分から、約２４時間から、約７日から、約１～約８週間以上、及びその中で導出可能な任意の範囲の範囲内で、発現ベクター投与前に及び／または投与した後に投与されてもよい。さらに、本明細書に提示される医薬組成物と１つ以上の薬剤とのさまざまな組み合わせレジメンを使用してもよい。

【０１５１】

患者への投与のための処方及び経路

臨床応用が企図される場合、意図された適用に適切な形態で、医薬組成物（発現構築物、発現ベクター、融合タンパク質、トランスフェクトまたは形質導入細胞）を調製する必要がある。一般に、これは、本質的にパイロジェン、及びヒトまたは動物に有害であり得る他の不純物を含まない組成物を調製することを伴う。

【０１５２】

組換え同種異系または自家ＣＤ４＋ＨＩＶワクチン細胞またはそのような細胞を含む組成物は、例えば、１用量あたり約１～５百万個の細胞という用量で送達されてもよい。例えば、約０．２５ｍｌ～約１０ｍｌ、例えば、約０．２５、０．５、１、１．５、２、２．５、３、３．５、４、４．５、５、５．５、６、６．５、７、７．５、８、８．５、９、９．５、または１０ｍｌ、例えば約２ｍｌという１バイアルあたりの容量で組換え細胞を含むバイアルまたは他の容器を提供してもよい。

【０１５３】

組換え細胞が患者に導入されるとき、一般に適切な塩及び緩衝液を使用することが望ましい場合がある。フレーズ「薬学的にまたは薬理的に許容し得る」とは、動物またはヒトに投与される際に、有害反応、アレルギー反応、または他の不必要な反応を生じない分子実体及び組成物を指す。薬学的に許容される担体としては、任意及び全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張及び吸収遅延剤等が挙げられる。薬学的活性物質のためにこのような媒体及び薬剤を使用することは、公知である。任意の従来の媒体または剤は、ベクターまたは細胞と適合性がない場合を除き、治療組成物で使用されることが企図される。補助的な有効成分もまた、組成物中に組み込んでもよい。

【０１５４】

溶液は、配合されたら、その剤形と適合した様式により、治療上有効な量で、投与される。その製剤は、注射液、薬物放出カプセル剤などのようなさまざまな剤形で容易に投与される。水溶液での非経口投与の場合、例えば、溶液を必要に応じて好適に緩衝化してもよく、最初に十分な生理食塩水またはグルコースで液体希釈剤を等張にしてもよい。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下及び腹腔内の投与に特に好適である。これに関連して、滅菌水性媒体を使用してもよい。例えば、１用量を１ｍｌのＮａＣｌ等張液中に溶解し、１０００ｍｌの皮下注射液に加えてもよいし、予定注射部位に注射してもよい（例えば、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」１５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ｐａｇｅｓ １０３５－１０３８及び１５７０－１５８０を参照のこと）。治療がなされる対象の状態に応じて、用量には、ある程度の変動が必然的に生じる。いずれにせよ、投与を担当する者が個々の対象に適切な用量を決定する。さらに、ヒトへの投与の場合、調製物は、ＦＤＡ生物製剤評価オフィス（ＦＤＡ Ｏｆｆｉｃｅ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ ｓｔａｎｄａｒｄｓ）が要求する、無菌性、発熱性、一般的安全性及び純度の基準を満たし得る。

【０１５５】

さらに、特定の患者では、この治療が定期的に繰り返され、残りのウイルス／ビリオンに対する免疫系の反応をブーストすることが期待される。このような定期的な治療は、患者の疾患が安定または検出不能であることを達成する必要がある限り、維持療法として毎週１回から、２週間ごとに１回、３週間ごとに１回、１ヶ月に１回、２ヶ月ごとに１回まで、３ヶ月ごとに１回まで、４ヶ月ごとに１回まで、５ヶ月ごとに１回まで、６ヶ月ごとに１回まで、または７ヶ月ごとに１回、または８ヶ月ごとに１回、または９ヶ月ごとに１回、または１０ヶ月ごとに１回、または１１ヶ月ごとに１回、または毎年１回に変化して

もよい。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるのは、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードするヌクレオチド配列を含む核酸でトランスフェクトまたは形質導入された単離された細胞である。

【０１５７】

いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌは、配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ＣＸＣＬ１３は、配列番号１に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、細胞は、Ｔ細胞である。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、細胞は、異種タンパク質をコードする第２及び／または第３の核酸で形質導入またはトランスフェクトされる。

【０１６０】

いくつかの実施形態では、第２の核酸は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含み、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素の変異を含み、さらに、ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるのは、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードする１つ以上の異種核酸分子を含むＣＤ４＋細胞である。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、ＣＤ４０Ｌは、配列番号２に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ＣＸＣＬ１３は、配列番号１に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるのは、異種ＣＤ４０Ｌタンパク質及び異種ＣＸＣＬ１３タンパク質を含むＣＤ４＋細胞である。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、ＣＤ４＋細胞はさらに、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含む異種核酸分子を含み、このＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるのは、対象においてＨＩＶを治療する方法であって、組成物を対象に投与することを含み、有効量の本明細書において上記される任意の細胞を投与することを含む方法である。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるのは、免疫応答の増大を必要とする対象においてそれを行うための方法であって、有効量の本明細書において上記される任意の細胞を投与することを含む方法である。

【０１６７】

いくつかの実施形態では、細胞は対象に対して同種異系である。

【０１６８】

いくつかの実施形態では、細胞は、患者とＨＬＡ適合していない。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、細胞の投与量は、約１～５×10^6の範囲である。

【０１７０】

いくつかの実施形態では、ウイルス感染は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）によって

引き起こされる。
【０１７１】
いくつかの実施形態では、対象において移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）が減少または排除される一方で、移植片対ウイルス（ＧＶＶ）は、増大される。
【０１７２】
いくつかの実施形態では、治療または免疫応答の増大は、対象が改善、減少もしくは検出不可能なウイルス力価を示すか、または安定／非進行性の疾患を示す限り、維持治療として毎週１回から、２週間ごとに１回まで、３週間ごとに１回まで、月に１回まで、２ヶ月ごとに１回まで、３ヶ月ごとに１回まで、４ヶ月ごとに１回まで、５ヶ月ごとに１回まで、６ヶ月ごとに１回まで、または７ヶ月ごとに１回、または８ヶ月ごとに１回、または９ヶ月ごとに１回、または１０ヶ月ごとに１回、または１１ヶ月ごとに１回、または毎年１回という時間枠で定期的に繰り返される。
【０１７３】
いくつかの実施形態では、細胞性免疫及び体液性免疫は、対象において誘導される。
【０１７４】
いくつかの実施形態では、本明細書で提供される実施形態はまた、以下を含むが、これらに限定されない：
【０１７５】
１．　ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３をコードするヌクレオチド配列を含む異種核酸分子を含む細胞。
【０１７６】
２．実施形態１の細胞であって、前記ＣＤ４０Ｌが、配列番号４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記ＣＸＣＬ１３が、配列番号３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記細胞。
【０１７７】
３．　ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を異種発現する、実施形態１に記載の細胞。
【０１７８】
４．　単離された細胞である、実施形態１に記載の細胞。
【０１７９】
５．　ＣＤ４＋Ｔ細胞などのＴ細胞である、実施形態１に記載の細胞。
【０１８０】
６．異種タンパク質または標的抗原をコードする第２の及び／または第３の核酸で形質導入またはトランスフェクトされている、実施形態１に記載の細胞。
【０１８１】
７．実施形態６に記載の細胞であって、前記第２の核酸は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含み、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素の変異を含み、さらに、前記ＨＩＶゲノム核酸が、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する、前記細胞。
【０１８２】
８．　前記標的抗原がＨＩＶタンパク質である、実施形態６に記載の細胞。
【０１８３】
９．　実施形態８に記載の細胞であって、前記ＨＩＶタンパク質が、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせである、前記細胞。
【０１８４】
１０．ＣＤ４＋Ｔ細胞である、実施形態１～９のいずれか１項に記載の細胞。
【０１８５】
１１．配列番号３に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列及び／または配列番号４に対して少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列をコード

する１つ以上の異種核酸分子を含むＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１８６】
１２．ＣＤ４０Ｌを発現する、実施形態１１に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１８７】
１３．ＣＸＣＬ１３を発現する、実施形態１１及び１２に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１８８】
１４．ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を発現する、実施形態１１に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１８９】
１５．単離されたＣＤ４＋Ｔ細胞である、実施形態１１に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９０】
１６．異種ＣＤ４０Ｌタンパク質及び異種ＣＸＣＬ１３タンパク質を含むＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９１】
１７．実施形態１６に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞であって、さらにヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）ゲノムを含む異種核酸分子を含み、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルス逆転写酵素に変異を含み、さらに、前記ＨＩＶゲノム核酸は、レトロウイルスパッケージングシグナルをコードせず、無効化されたＨＩＶゲノム構築物を作成する、前記ＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９２】
１８．標的抗原をコードする異種核酸分子をさらに含む、実施形態１６に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９３】
１９．前記標的抗原がＨＩＶタンパク質である、実施形態１８に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９４】
２０．実施形態１９に記載のＣＤ４＋Ｔ細胞であって、前記ＨＩＶタンパク質が、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせである、前記ＣＤ４＋Ｔ細胞。
【０１９５】
２１．対象においてＨＩＶを治療する方法であって、組成物を前記対象に投与することを含み、有効量の実施形態１～２０のいずれか１項の任意の細胞を投与することを含む、前記方法。
【０１９６】
２２．前記組成物が、医薬組成物である、実施形態２２に記載の方法。
【０１９７】
２３．前記組成物が、静脈内にまたは注入によって投与される、実施形態２１に記載の方法。
【０１９８】
２４．前記細胞が前記対象に対して同種異系であるか、または前記対象に対してＨＬＡ適合していない、実施形態２１～２３のいずれか１項に記載の方法。
【０１９９】
２５．前記細胞が前記対象に対して自系である、実施形態２１～２３のいずれか１項に記載の方法。
【０２００】
２６．実施形態２１～２５のいずれか１項に記載の方法であって、前記組成物中の細胞の投与量が、約1×10^{6}～約5×10^{6}である、前記方法。
【０２０１】
２７．有効量の実施形態１～２０のいずれか１項に記載の任意の細胞を投与することを含む、免疫応答の増大を必要とする対象においてそれを行うための方法。

【０２０２】
２８．前記増大した免疫応答が標的抗原に対するものである、実施形態２７に記載の方法。
【０２０３】
２９．前記標的抗原がＨＩＶタンパク質である、実施形態２８に記載の方法。
【０２０４】
３０．実施形態２９に記載の方法であって、前記ＨＩＶタンパク質が、ＨＩＶ　Ｔａｔ（全長または長さが７２及び１０１アミノ酸のアイソフォーム）、Ｒｅｖ、Ｐｏｌ、ＧＰ１２０、ＧＰ１６０、ＧＰ４１、ｅｎｖ、Ｇａｇ、Ｇａｇ－Ｐｏｌ、Ｎｅｆ、Ｖｐｒ、Ｖｐｕ、もしくはＶｉｆ、またはそれらの任意の組み合わせである、前記方法。
【０２０５】
３１．前記細胞が対象に対して同種異系である、実施形態２７～２９のいずれかに記載の方法。
【０２０６】
３２．前記細胞が患者とＨＬＡ適合されていない、実施形態２７～２９のいずれかに記載の方法。
【０２０７】
３３．前記細胞の投与量が約１～５×10^6の範囲である、実施態様２７～３２のいずれかに記載の方法。
【０２０８】
３４．実施形態２７～３３のいずれかに記載の方法であって、前記免疫応答は、ウイルス感染に対するものであり、前記ウイルス感染は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症であり得る、前記方法。
【０２０９】
３５．実施形態２１～３４のいずれかに記載の方法であって、前記治療または免疫応答の増大は、前記対象が改善、減少もしくは検出不可能なウイルス力価を示すか、または安定／非進行性の疾患を示す限り、維持治療として、毎週１回から、２週間ごとに１回まで、３週間ごとに１回まで、月に１回まで、２ヶ月ごとに１回まで、３ヶ月ごとに１回まで、４ヶ月ごとに１回まで、５ヶ月ごとに１回まで、６ヶ月ごとに１回まで、または７ヶ月ごとに１回、または８ヶ月ごとに１回、または９ヶ月ごとに１回、または１０ヶ月ごとに１回、または１１ヶ月ごとに１回、または毎年１回という時間枠で定期的に繰り返される、前記方法。
【０２１０】
３６．細胞性免疫及び体液性免疫が前記対象において誘導される、実施形態２１～３５のいずれかに記載の方法。
【０２１１】
以下の実施例は、本明細書に記載の化合物、及び方法の例示であるが、限定されない。当業者に公知の他の適切な修正及び適合は、以下の実施形態の範囲内である。
【実施例】
【０２１２】
実施例１
【０２１３】
ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３で形質導入されたＣＤ４＋細胞を構築し、ＨＩＶゲノムをさらにロードする
【０２１４】
ステップ　１：ＣＤ４細胞（または他のＴ細胞）を、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３（Ｂ細胞誘引分子）を過剰発現するレンチウイルス／アデノウイルスで形質導入し、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を発現する組換え同種異系ＣＤ４＋Ｔ細胞を産生する。この組換え同種異系ＣＤ４＋細胞は、宿主内で機能して、ＣＤ４細胞の前の領域にＢ細胞を誘引する。
【０２１５】

ステップ２：ＣＤ４＋ＣＤ４０Ｌ＋ＣＸＣＬ１３＋細胞へのＨＩＶゲノムのプラスミドトランスフェクション及び／またはトランスポゾン送達。ＣＤ４＋ＣＤ４０Ｌ＋ＣＸＣＬ１３＋細胞には、無機能のＨＩＶ（複製能力のない、または生の弱毒化されたゲノム）をロードする。好ましい実施形態では、逆転写酵素（ＲＴ）が少なくとも１つの突然変異（または欠失）を含み、それを機能しないようにし、さらにパッケージングシグナルに変異（または完全な欠失）がある（複製能力のないＨＩＶゲノムを作成するが、そうでなければ完全なゲノムを作成する）、完全なＨＩＶゲノムを利用する。

【０２１６】

複製能力のないＨＩＶゲノム構築物を作成するために、次の理論的根拠及びオプションが利用される（ＲＴ変異及びパッケージングシグナル変異）

・ＲＴは感染を無能にする

・パッケージングシグナル変異（パッケージングシグナル変異がない場合でも、ＣＤ４はビリオンを生成する）。組換えＣＤ４細胞は、空のビリオンを出芽させる－エンベロープ糖タンパク質は、中和抗体を誘導する（体液性応答を生み出す）ゲノムの一部である。

・特定の実施形態では、構築物は、異なるエンベロープタンパク質の異なる株をコードする核酸をさらに含み得る。

・特定の実施形態では、構築物は、複数の可変エンベロープ領域を担持し得る。複数の糖タンパク質（ｇｐ）構造を作成する（糖タンパク質の多様性を作成する）。

・したがって、ＣＤ４＋ＣＤ４０Ｌ＋ＣＸＣＬ１３＋細胞には次のものをロードする：

〇ＨＩＶプラスミド、ＲＴ変異あり、パッケージングシグナルなしまたは無効化、複数のエンベロープタンパク質、ＣＤ４０Ｌ＋ＣＸＣＬ１３＋を発現し、ＨＩＶエンベロープ及び糖タンパク質を発現して、患者による体液性免疫応答を生成するＣＤ４＋細胞の作成。

〇ＨＩＶワクチンビヒクルとして同種異系ＣＤ４細胞を作成する。

【０２１７】

実施例２

【０２１８】

ＨＩＶの予防及び治療ワクチン候補としてのマカクにおけるＥＮＯＢ　ＨＶ－１１及びＥＮＯＢ　ＨＶ－１２の評価

【０２１９】

概念実証として、２つの発現カセット（ＣＤ４０Ｌ＆ＣＸＣＬ１３）のヒト及び非ヒト霊長目（ＮＨＰ）の両方の配列を、レンチウイルスベクター（ＬＶ）を使用して試験し、非ヒト霊長類（マカク）に対するＥＮＯＢ　ＨＶ－１１予防ＨＩＶワクチン及びＥＮＯＢ　ＨＶ－１２治療ＨＩＶワクチンの生物活性を調査し、概念実証データを提供する。

【０２２０】

同種異系細胞は、免疫応答の強力な刺激である。高レベルのＢ細胞プロモーターＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を発現するように遺伝子改変されたＨＩＶ抗原を発現する同種異系Ｔ細胞は、防御または治療ワクチンとして有効な強力な細胞性及び体液性応答を誘導すると期待される。そのような組換え同種異系細胞は、宿主の免疫系によって急速に死滅し、十分に少ない数で提供された場合、移植片対宿主の疾患を誘発しないはずである。

【０２２１】

概念実証（ＰＯＣ）として本明細書に記載されている実施例では、非ヒト霊長類に、非複製の弱毒化ＳＨＩＶを含むプラスミドでトランスフェクトされている、ヒトまたはマカクいずれかの配列ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３で遺伝子改変された数百万（例えば１～５×10^6）の同種異系Ｔ細胞を連続的に皮下注射する。サル／ヒト免疫不全ウイルス（ＳＨＩＶ）は、実験室で作成された一連のキメラであり、その遺伝物質は、サル免疫不全ウイルス（ＳＩＶ）遺伝子及びＨＩＶ遺伝子の組み合わせである。このウイルスは、ＳＩＶに感染する可能性のあるほぼあらゆる種類の非ヒト霊長類に感染し得る。

【０２２２】

中和抗体の力価を測定する。保護レベルが一旦達成されれば、動物の粘膜でＳＨＩＶを用いて惹起する。動物が感染から保護されていない場合、それらは静脈内で惹起する。対

照コホートを含め、感染したマカクは、複製しない弱毒化ＳＨＩＶに感染した同じカセット（すなわち、ヒト対マカク）で改変されたＴ細胞による治療的ワクチン接種を受ける。（ヒトＣＸＣＬ１３及びヒトＣＤ４０Ｌを形質導入するための）ＨＶ－１１のベクター構築物を、図１Ａに示す。（マカクＣＸＣＬ１３及びマカクＣＤ４０Ｌを形質導入するための）ＨＶ－１２のベクター構築物を図１Ｂに示す。

【０２２３】

研究デザインの投薬及びスケジュールの詳細（図２～４を参照のこと）：

９匹のマカク；ｎ＝１群ごとに３匹；ＥＮＯＢ　ＨＶ－１１及びＥＮＯＢ　ＨＶ－１２にまたがる潜在的に２段階の調査：

⇒３匹は、弱毒化され複製能のないＳＨＩＶを含むプラスミドでトランスフェクトされ、ヒトベクターで形質導入された、完全ＭＬＡ／ＨＬＡミスマッチ（ＣＤ４＋）Ｔ細胞を受け取る（コホートＡ）（図１Ａ）。

⇒３匹は、弱毒化され複製能のないＳＨＩＶを含むプラスミドでトランスフェクトされ、マカクベクターで形質導入された、完全ミスマッチＣＤ４＋Ｔ細胞を受け取る（コホートＢ）（図１Ｂ）。

⇒３匹は、対照群（生成物を受け取っていない）（コホートＣ）になる。

【０２２４】

ＥＮＯＢ　ＨＶ－１１（図３）

注射／投与／評価スケジュール（コホートＡ及びＢ）

・１週あたり５００万個の細胞を４週間にわたって皮下に；最初の注射後に反応がある場合は、用量を１週あたり２００万個の細胞に減らす。

・４回目の注射後、その４回目の注射の７日後に中和抗体価を測定する。

・所望の力価が達成されない場合は、１０日ごとに２００万個の細胞を用いる４回のｓ．ｃ．注射で第２のサイクルの投与を行い、次いで、必要であれば、１５日ごとに２００万個の細胞を用いる４回のｓ．ｃ．注射で第３のサイクルの投与を行う。

・所望の力価が一旦達成されれば、ＳＨＩＶウイルスを用いて粘膜で惹起を行う。粘膜での惹起が感染を引き起こさない場合は、静脈内での惹起を行う。

・各試験の対象ごとに、毎週のモニタリング、抗体価及び安全性ラボがある。

【０２２５】

ＥＮＯＢ　ＨＶ－１２（図４）

コホートＡ、Ｂ、Ｃの感染したマカクは、３ヶ月間、ウイルス抑制（＜５０コピー／ｍｌ）を達成するまでＡＲＴを受ける。抑制を達成した後、それらのマカクは、以下及び図２～４に示すように、複製能力のない弱毒化ＳＨＩＶ及びマッチングベクター（すなわち、コホートＡはヒトベクターを受け取り、コホートＢはマカクベクターを受け取る）でパルスされた完全ＭＬＡミスマッチのＣＤ４＋Ｔ細胞による治療ワクチン接種を受ける。選択肢は、ＨＶ－１１に使用されたのと同じ投与計画をＨＶ－１２に利用することである。

【０２２６】

コホートＡ及びＢの場合、Ｔ細胞は、予防ワクチンとは異なる、ミスマッチのドナーからのものになる。

・注射／投与／評価スケジュール（コホートＡ、Ｂ及びＣ）

〇４週間にわたる皮下の１週あたり５００万個の細胞は、最初の注射後に反応がある場合は、用量を１週あたり２００万個の細胞に減らす。選択肢は、ウイルス血症のピーク時に投薬を開始することである。（例えば、ｎ－３の対照動物におけるピークウイルス血症、防御ワクチンなしであるが惹起した）。

〇４回目の注射から７日後に血漿ウイルス血症を測定する。１ｍｌあたり１コピー未満でない場合、４週間ごとに２００万個の細胞の皮下注射を開始する

〇４回目（合計８回目）の注射後、血漿ウイルス血症を測定する。１ｍｌあたりコピー未満でない場合、４週間にわたって毎週２００万個の細胞のサイクルを繰り返す

〇６ヶ月間の毎週のモニタリング

〇血漿ウイルス血症、リンパ球サブセット及び安全性ラボ

〇各サイクルの最後の皮下注射から７日後
〇血漿ウイルス血症、リンパ球サブセット、安全性ラボ、ＧＡＬＴ生検
【０２２７】
経過観察期間：
ＨＶ－１１またはＨＶ－１２のいずれかを最後に注射してから１年。ＳＨＩＶの存在とリンパ腫などの毒性の全身評価のためにマカクを　　殺する。
【０２２８】
概念実証（ＰＯＣ）研究中の毒性モニタリング
〇使用されたＲＯＡによる毒性。
〇注射された生成物及び関連する発現の持続性。
〇注射された生成物の生体内分布。
〇注入された生成物に対する免疫応答（体液性及び細胞性）
〇腫瘍形成性。
〇体重及び行動などの巨視的観察。
〇顕微鏡的な組織病理。
〇その他
【０２２９】
実施例３：ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３で形質導入されたＴ細胞は、細胞毒性を増強し、免疫細胞の活性化を増大する。標的抗原であるＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を発現する操作された同種異系エフェクター細胞と組み合わせたワクチン接種は、抗原に対する細胞毒性活性を増強する。インビトロのモデルは、インビボの細胞毒性を模倣するために開発された。Ｊｕｒｋａｔ－ＧＦＰ発現株は、エフェクターの特定の殺滅活性を定量的に測定するための細胞毒性の標的として機能するように作成された。次に、正常なドナーＰＢＭＣを取得して、３セットの細胞をワクチン接種し、Ｊｕｒｋａｔ細胞に対する特異的な免疫応答を作成した。簡単に言うと、ＰＢＭＣは組換え体で「ワクチン接種」される。（ａ）ＰＢＭＣに非形質導入Ｊｕｒｋａｔ細胞（「ＵＴＤ　Ｊｕｒｋａｔ」）をワクチン接種し、（ｂ）ＰＢＭＣにＧＦＰ形質導入Ｊｕｒｋａｔ細胞（非特異的ベクター形質導入対照として機能する）をワクチン接種し、（ｃ）ＰＢＭＣに、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を形質導入したＪｕｒｋａｔ細胞（ＨＶ１１）をワクチン接種した。この実施例での「ワクチン接種」とは、ＰＢＭＣを上記のＪｕｒｋａｔ細胞と混合することを指す。これは、組換えＣＤ４　Ｔ細胞にＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を注入し、ＨＩＶを有するまたはＨＩＶのリスクがある患者に注入することに類似しており、ここでは、ＧＦＰを、ＰＢＭＣのトレーニング抗原となるＨＩＶタンパク質に置き換える。Ｊｕｒｋａｔ特異的Ｔ細胞の増殖を可能にするＰＢＭＣワクチン接種の９日後、Ｊｕｒｋａｔ－ＧＦＰ発現標的細胞を「ワクチン接種」ＰＢＭＣ細胞（エフェクター細胞）と１８時間共培養して、特異的細胞溶解活性をアッセイした。細胞溶解機能をフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）分析で測定し、共培養後のＧＦＰ陽性細胞の変化を確認した。このデータによって、ＧＦＰ発現細胞が、非形質導入Ｊｕｒｋａｔ及びＧＦＰのみ形質導入のＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞の両方と比較して、ＧＦＰ及びＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を発現するＴ細胞でワクチン接種されたＰＢＭＣでより効果的に殺滅されたことが示されている。このデータは図５に示されている。このデータは細胞溶解機能の増強を示しており、用量依存性であることがわかった。すなわち、ＰＢＭＣにＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３細胞の量を増やしてワクチンを接種すると、ＰＢＭＣの細胞毒性が増大した。さまざまな種類の免疫細胞への影響も測定された。図６に示されるように、ＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３を異種発現するＴ細胞でワクチン接種されたＰＢＭＣは、ＮＫ細胞（図６）、ＮＫＴ細胞（図７）、ＮＫ細胞活性化（図８）、ＮＫ細胞体液性活性化（図９）、Ｂ細胞活性化（図１０）、図１０）、ＣＤ３＋及びＣＤ３８＋細胞のパーセントによって測定されるＴ細胞活性化（図１１）、ＣＤ３＋及びＣＤ２５＋細胞のパーセントによって測定されるＴ細胞活性化（図１２）、及びＣＤ８Ｔ細胞活性化（図１３）における有意かつかなりの増大を示した。細胞及び活性化は、図に示されている表面マーカーを使用してフローサイトメトリーによって測定された。したがっ

て、これらの実施形態及びデータによって、Ｔ細胞にＣＤ４０Ｌ及びＣＸＣＬ１３、またはそれらの活性断片とともに抗原を発現させることにより、特定の抗原に対する細胞毒性を増強し得るＴ細胞を作製する能力の驚くべき予想外の結果が実証される。

【０２３０】

実施例４：標準的な方法

分子生物学の標準的な方法は、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｆｒｉｔｓｃｈ ａｎｄ Ｍａｎｉａｔｉｓ（１９８２ ＆ １９８９ ２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，２００１ ３ｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｒｕｓｓｅｌｌ（２００１）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，３ｒｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ、Ｗｕ（１９９３）Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ＤＮＡ，Ｖｏｌ．２１７，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）に記載されている。標準的な方法は、Ａｕｓｂｅｌ，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌｓ．１－４，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ（細菌細胞におけるクローニングを記載（Ｖｏｌ．１））、（哺乳細胞及び酵母におけるクローニングを記載（Ｖｏｌ．２））、（複合多糖及びタンパク質発現を記載（Ｖｏｌ．３））、及び（バイオインフォマティクスを記載（Ｖｏｌ．４））にも見られる。

【０２３１】

免疫沈降、クロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離、及び結晶化を含むタンパク質精製の方法は記載されている（Ｃｏｌｉｇａｎ，ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｖｏｌ．１，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）。化学分析、化学修飾、翻訳後修飾、融合タンパク質の生成、タンパク質のグリコシル化は説明されている（例えば、Ｃｏｌｉｇａｎ，ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｖｏｌ．２，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ａｕｓｕｂｅｌ，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．３，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ，ＮＹ，ｐｐ．１６．０．５－１６．２２．１７、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｃｏ．（２００１）Ｐｒｏｄｕｃｔｓ ｆｏｒ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ；ｐｐ．４５－８９、Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ（２００１）ＢｉｏＤｉｒｅｃｔｏｒｙ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎ．Ｊ．，ｐｐ．３８４－３９１を参照のこと）。ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体の産生、精製、及び断片化は記載されている（Ｃｏｌｉｇａｎ，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（１９９９）Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ、Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，上記）。リガンド／受容体相互作用を特徴付けるための標準的な技術が利用可能である（例えば、Ｃｏｌｉｇａｎ，ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．４，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋを参照のこと）。

【０２３２】

本明細書に記述される全ての参照は、あたかも各々の個々の刊行物、データベース入力（例えば、Ｇｅｎｂａｎｋ配列またはＧｅｎｅＩＤエントリ）、特許出願または特許が明確かつ個別に参照により組み込まれることが示されているのと同程度まで、参照により組み込まれる。参照によるこの組み込みの声明は、米国特許法第１．５７条（ｂ）（１）に

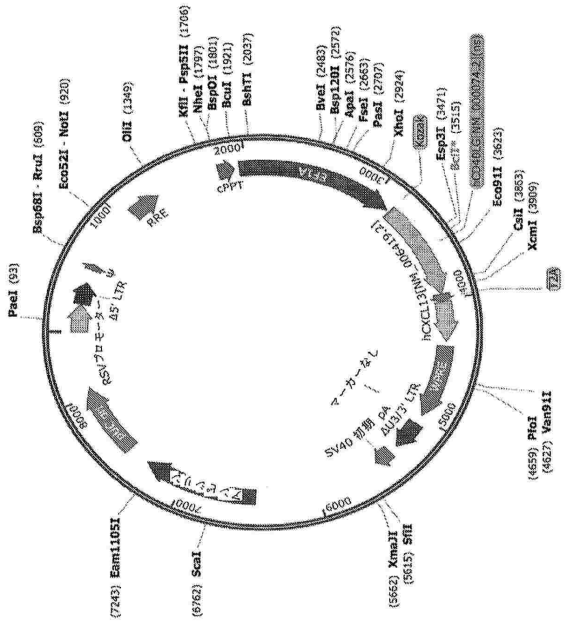
従って、出願人が各々のかつあらゆる個々の刊行物、データベースエントリ（Ｇｅｎｂａｎｋ配列またはＧｅｎｅＩＤエントリ）、特許出願、または特許に関連することを意図しており、そのような引用が参照による特化した組み込みの声明に直接隣接していなくても、そのそれぞれが米国特許法第１．５７条（ｂ）（２）に準拠して明確に識別されている。参照による組み込みの特化した声明を含めることは、本明細書内にもしあっても、参照によるこの一般的な組み込み声明を決して弱めるものではない。本明細書での参考文献の引用は、この参考文献が関連する先行技術であることを認めることを意図するものではなく、これらの出版物または文書の内容または日付に関するいかなる承認を構成するものでもない。

【０２３３】

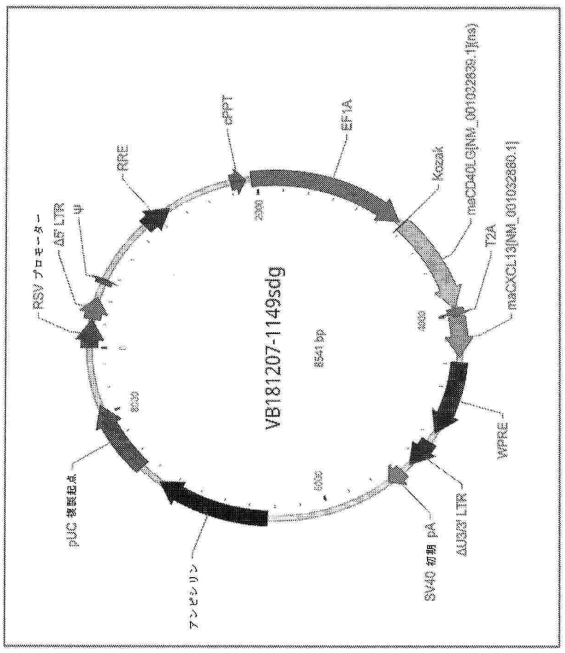
本発明の実施形態は、本明細書に記載の特定の実施形態によって範囲を限定されるものではない。実際には、本明細書中に記載される改変に加えて本発明のさまざまな改変が、上記の説明及び添付の図面から当業者に明らかとなるだろう。かかる改変は、本明細書に示される実施形態及び添付の特許請求の範囲内に含まれることを意図する。

【図面】

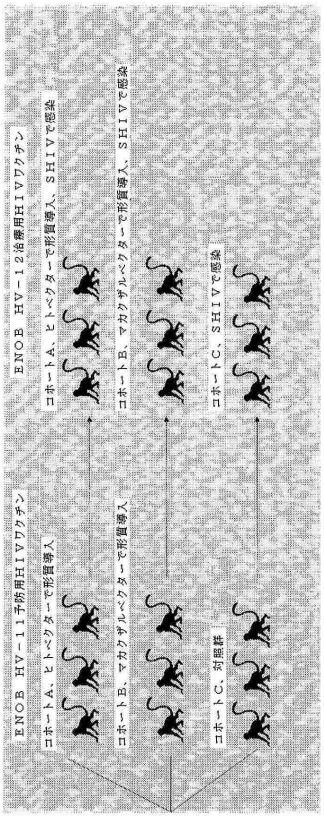
【図１Ａ】



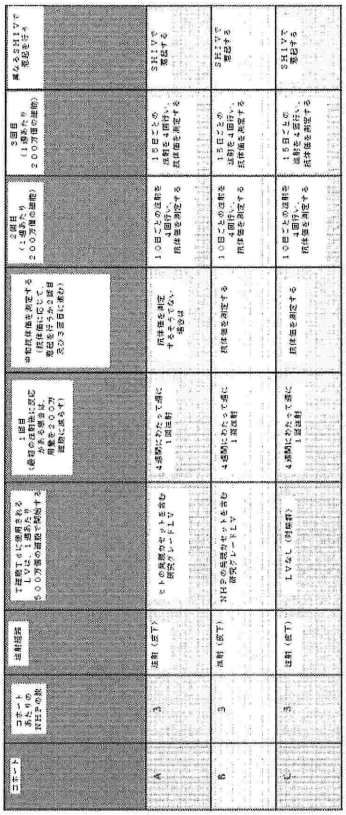
【図１Ｂ】



【図２】

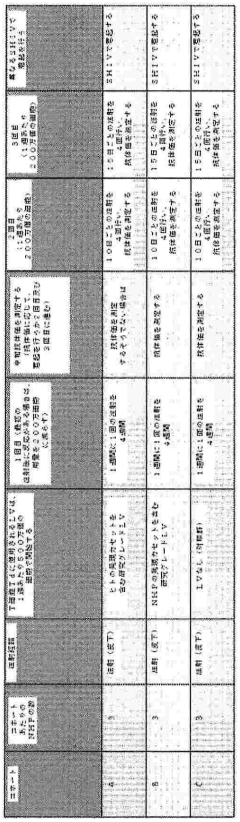


【図３】

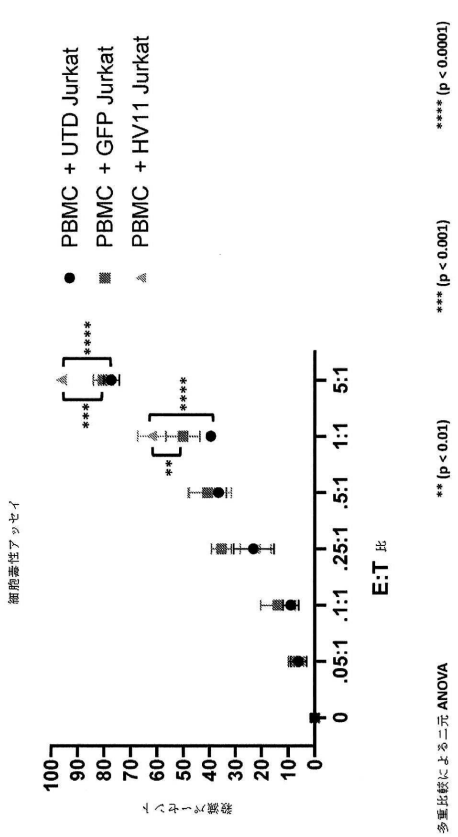


コホート	コホートの説明	追跡期間	主要評価項目	1回目（感染の2週間前）に次の用量を投与する	中和抗体価を測定する（任意）（1回または2回）（感染の2週間前および2週間後に実施）	2回目（1回目の2週間後）に次の用量を投与する	3回目（1回目の200万個の細胞）	実験動物はSHIVで感染させる
A	3.	追跡（ET）	ヒトの免疫細胞セットを含む研究グレードHIV	4歳児にかたって同じ1回目	抗体価を測定する	10日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	15日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	SHIVで感染する
B	3	追跡（ET）	非ヒト霊長類セットを含む研究グレードHIV	4歳児にかたって同じ1回目	抗体価を測定する	10日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	15日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	SHIVで感染する
C	3.	追跡（ET）	HIVなし（対照群）	4歳児にかたって同じ1回目	抗体価を測定する	10日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	15日ごとの追跡を4回行い、抗体価を測定する	SHIVで感染する

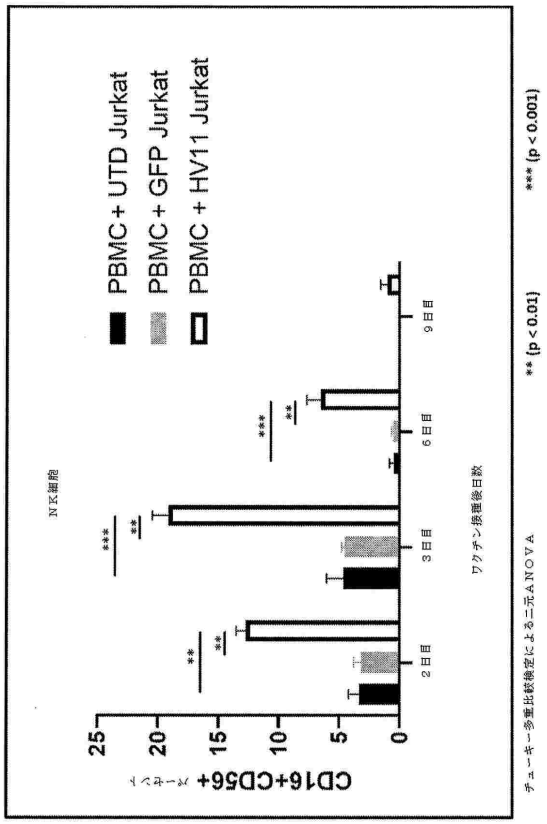
【図４】



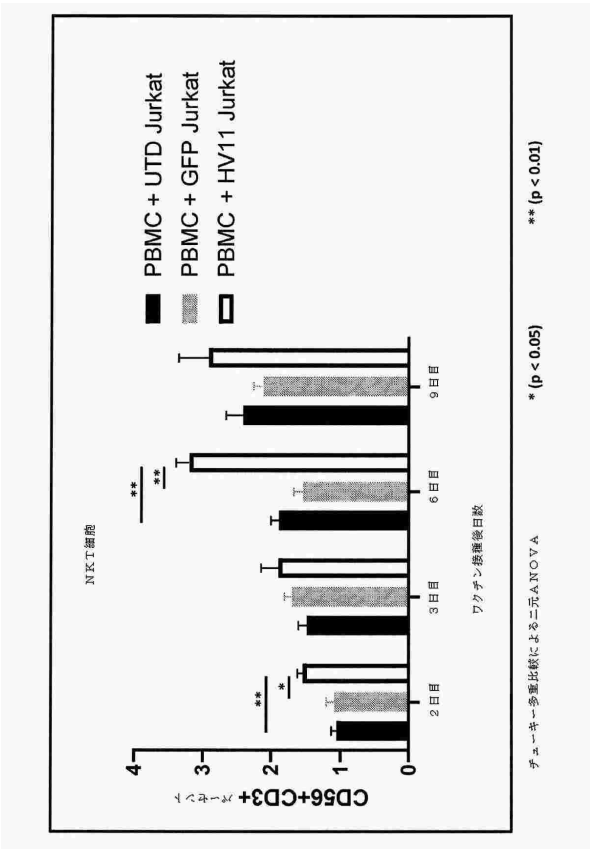
【図５】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
細胞毒性アッセイ
E:T 比
0 .05:1 .1:1 .25:1 .5:1 1:1 5:1
多重比較による二元 ANOVA
** (p < 0.01)
*** (p < 0.001)
**** (p < 0.0001)

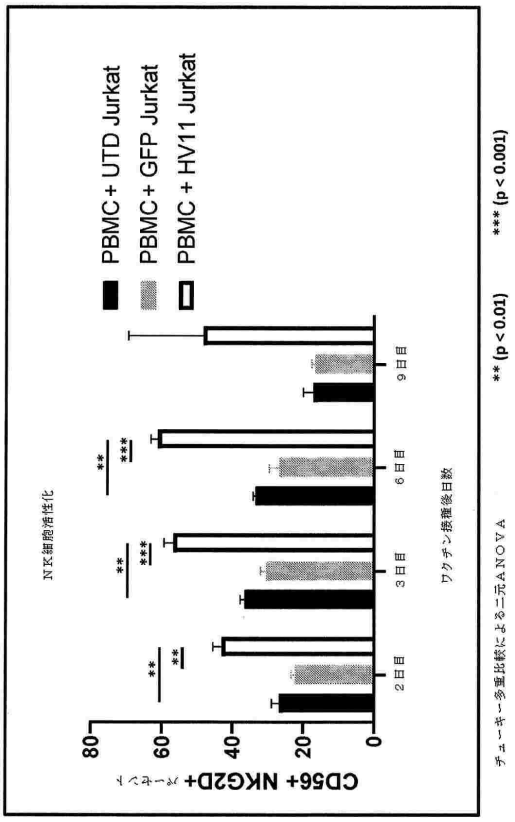
【図６】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
NK細胞
CD16+CD56+ マーカー
2日目 3日目 6日目 9日目
ワクチン接種後日数
チューキー多重比較検定による二元ANOVA
** (p < 0.01)
*** (p < 0.001)

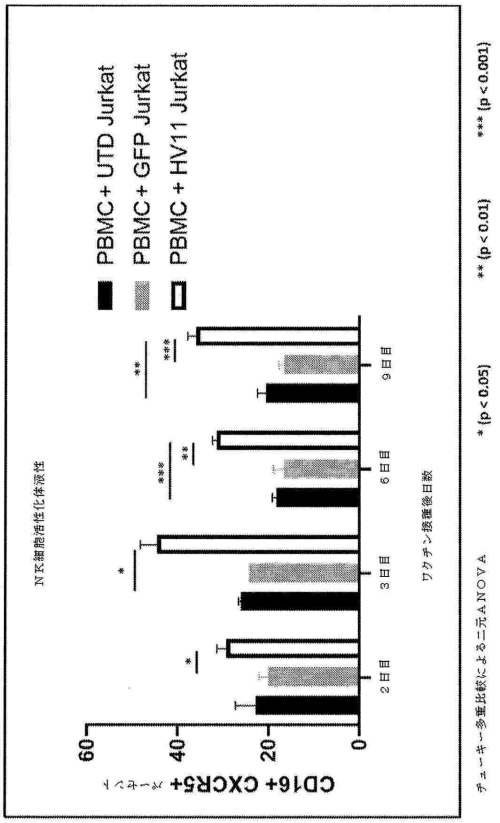
【図７】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
NK細胞
CD56+CD3+ マーカー
2日目 3日目 6日目 9日目
ワクチン接種後日数
チューキー多重比較による二元ANOVA
* (p < 0.05)
** (p < 0.01)

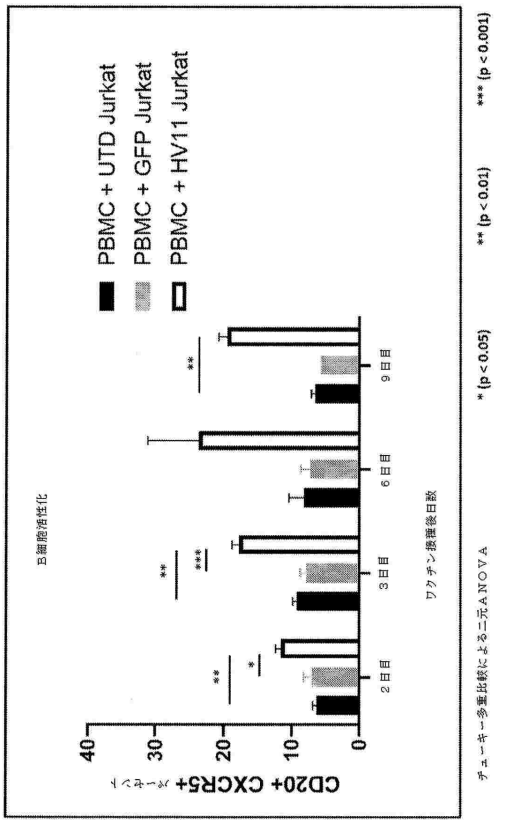
【図８】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
NK細胞活性化
CD56+ NKG2D+ マーカー
ワクチン接種後日数
2日目
3日目
6日目
9日目
チューキー多重比較による二元ANOVA
** (p < 0.01)
*** (p < 0.001)

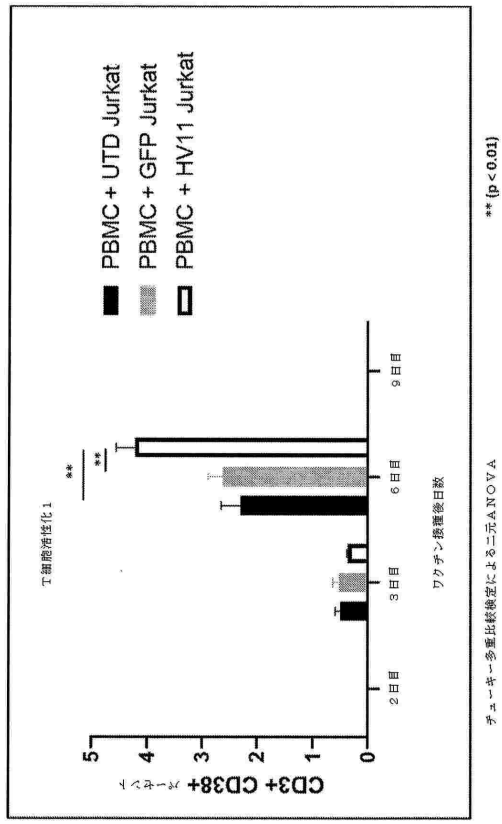
【図９】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
NK細胞活性化体液性
CD16+ CXCR5+ マーカー
ワクチン接種後日数
2日目
3日目
6日目
9日目
チューキー多重比較による二元ANOVA
* (p < 0.05)
** (p < 0.01)
*** (p < 0.001)

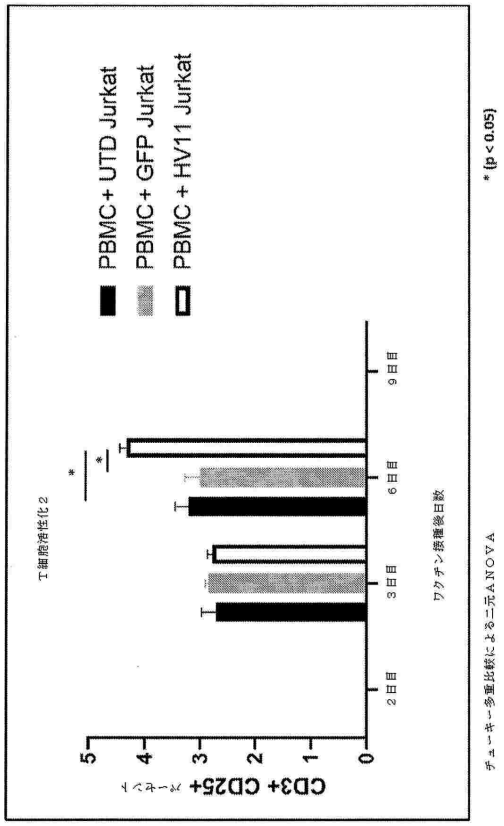
【図１０】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
B細胞活性化
CD20+ CXCR5+ マーカー
ワクチン接種後日数
2日目
3日目
6日目
9日目
チューキー多重比較による二元ANOVA
* (p < 0.05)
** (p < 0.01)
*** (p < 0.001)

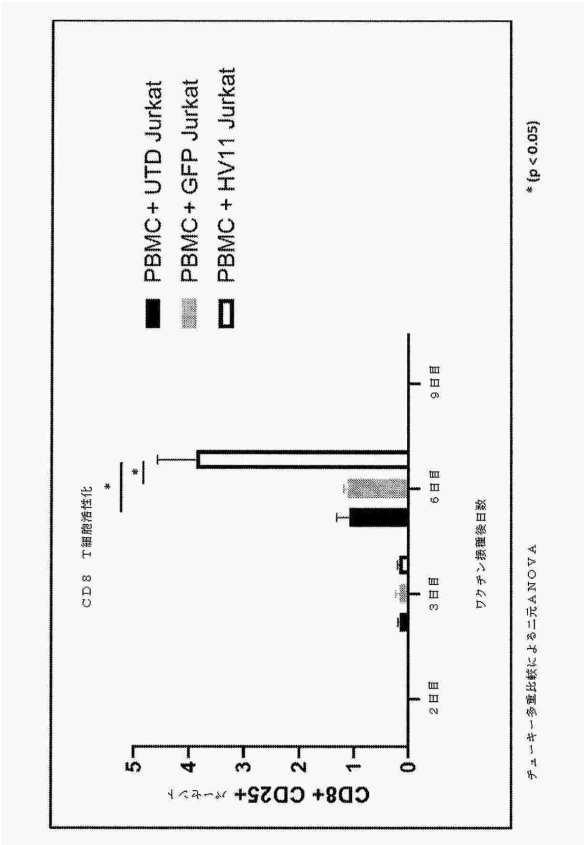
【図１１】


PBMC + UTD Jurkat
PBMC + GFP Jurkat
PBMC + HV11 Jurkat
T細胞活性化１
CD3+ CD38+ マーカー
ワクチン接種後日数
2日目
3日目
6日目
9日目
チューキー多重比較検定による二元ANOVA
** (p < 0.01)

【図１２】



【図１３】



【配列表】

0007612617000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ｃ１２Ｎ　15/49　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/705 (2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/52　(2006.01)

ＦＩ
Ｃ１２Ｎ　15/49
Ｃ０７Ｋ　14/705
Ｃ０７Ｋ　14/52

０．センチュリー・シティ・メディカル・プラザ

審査官　田ノ上 拓自

(56)参考文献
特表２００８－５１５４３９（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０１２／０２４４１８１（ＵＳ，Ａ１）
定形綾香，T細胞受容体及びCD40リガンドの3遺伝子導入T細胞による腫瘍の実験的治療（要旨），東京大学・博士論文，2004年，pp.1-4
Gene Therapy，2011年，Vol.18，pp.364-371，DOI: 10.1038/gt.2010.144

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ　５／１０
Ａ６１Ｐ　３１／１８
Ａ６１Ｋ　３５／１７
Ｃ１２Ｎ　５／０７８３
Ｃ１２Ｎ　１５／００－１５／９０
Ｃ０７Ｋ　１４／７０５
Ｃ０７Ｋ　１４／５２
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）