

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第1区分  
 【発行日】令和6年9月2日(2024.9.2)

【国際公開番号】WO2022/043315  
 【公表番号】特表2023-540022(P2023-540022A)  
 【公表日】令和5年9月21日(2023.9.21)  
 【年通号数】公開公報(特許)2023-178  
 【出願番号】特願2023-513271(P2023-513271)  
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/12(2006.01)  
 C 1 2 N 15/62(2006.01)  
 C 1 2 N 15/13(2006.01)  
 C 1 2 N 15/19(2006.01)  
 C 0 7 K 19/00(2006.01)  
 C 0 7 K 14/725(2006.01)  
 C 0 7 K 16/28(2006.01)  
 C 1 2 N 5/10(2006.01)  
 A 6 1 P 35/00(2006.01)  
 A 6 1 P 35/02(2006.01)  
 A 6 1 P 35/04(2006.01)  
 A 6 1 K 35/17(2015.01)  
 A 6 1 K 35/545(2015.01)

20

## 【F I】

C 1 2 N 15/12  
 C 1 2 N 15/62           Z Z N A  
 C 1 2 N 15/13  
 C 1 2 N 15/19  
 C 0 7 K 19/00  
 C 0 7 K 14/725  
 C 0 7 K 16/28  
 C 1 2 N 5/10  
 A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 P 35/02  
 A 6 1 P 35/04  
 A 6 1 K 35/17  
 A 6 1 K 35/545

30

## 【手続補正書】

【提出日】令和6年8月23日(2024.8.23)

40

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

(a) キメラ抗原受容体(CAR)をコードする第一核酸配列領域と、  
 (b) チェックポイント阻害分子をコードする第二核酸配列領域と、  
 (c) 免疫刺激性サイトカインをコードする第三核酸配列領域と、

50

を含み、

前記免疫刺激性サイトカインはIL-15及び/又はIL-15RAである、  
組換え核酸発現構築物。

【請求項2】

前記CARをコードする前記第一核酸配列領域及び前記チェックポイント阻害分子をコードする前記第二核酸配列領域は少なくとも、前記CAR及び前記チェックポイント阻害分子のポリペプチド配列のコーディング領域を含む多シストロン性mRNAをコードするように構成されており、ポリペプチド切断部位を含むアミノ酸配列は、前記CARポリペプチドと前記チェックポイント阻害分子ポリペプチドとの間に配置されており、前記ポリペプチド切断部位は、P2A、T2A、E2A、及びF2Aからなる群より選択される、請求項1に記載の組換え核酸発現構築物。

10

【請求項3】

前記第二核酸配列領域がコードする前記チェックポイント阻害分子は、免疫チェックポイントタンパク質を阻害及び/又は遮断する、ドミナントネガティブポリペプチド及び/又は抗体であって、前記チェックポイント阻害分子は、ドミナントネガティブ切断型PD1ポリペプチド又はPD1抗体である、請求項1又は2に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項4】

前記構築物は、ケモカイン受容体をコードする追加の核酸配列領域を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項5】

前記ケモカイン受容体は、C-Cケモカイン受容体4型(CCR4)である、請求項4に記載の組換え核酸発現構築物。

20

【請求項6】

前記構築物は、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼをコードする更なる核酸配列領域を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項7】

前記チェックポイント阻害分子は、ドミナントネガティブ切断型PD1ポリペプチド又はPD1抗体である、及び  
前記免疫刺激性サイトカインはIL-15RA及びIL-15ポリペプチド配列を含む、  
請求項1～6のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

30

【請求項8】

前記第一核酸配列領域がコードするCARの細胞外抗原結合ドメインは、ヒトCD44v6を特異的に認識する、請求項1～7のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項9】

前記CARは、

CARシグナル配列と、

CD44v6を特異的に認識するCARの抗原結合ドメインと、

CARの免疫グロブリン重鎖細胞外定常領域と、

膜貫通ドメインを含むCD28シグナル伝達ドメインと、

CD3ゼータシグナル伝達ドメインと、

40

を含む、請求項8に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項10】

前記CARは、

配列番号14に記載のCARシグナル配列と、

配列番号15及び配列番号19に記載の、CD44v6を特異的に認識するCARの抗原結合ドメインと、

配列番号23に記載のCARの免疫グロブリン重鎖細胞外定常領域と、

配列番号24に記載のCD28シグナル伝達ドメインであって、前記CD28シグナル伝達ドメインは、配列番号25に記載の膜貫通ドメインを含む、ドメインと、

配列番号26に記載の、CD3ゼータシグナル伝達ドメインと、

50

を含む、請求項 9 に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項 1 1】

前記チェックポイント阻害分子は、  
 ドミナントネガティブ切断型のチェックポイントタンパク質を含み、  
 前記チェックポイントタンパク質は、前記 CAR ポリペプチドから前記チェックポイント阻害分子を切り離すためのポリペプチド切断部位に隣接して位置する、  
 請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項 1 2】

前記ドミナントネガティブ切断型のチェックポイントタンパク質は、配列番号 28 に記載のドミナントネガティブ切断型 PD1 であり、前記切断部位は、P2A、T2A、E2A、及び F2A からなる群より選択される、請求項 1 1 に記載の組換え核酸発現構築物。

10

【請求項 1 3】

前記免疫刺激性サイトカインは、  
 シグナル配列と、  
 N 末端 IL15RA ポリペプチドと、  
 連結ループ配列と、  
 IL-15 ポリペプチドと、

を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項 1 4】

前記免疫刺激性サイトカインは、  
 配列番号 29 に記載のシグナル配列と、  
 配列番号 30 に記載の N 末端 IL15RA ポリペプチドと、  
 配列番号 31 に記載の連結ループ配列と、  
 配列番号 32 に記載の IL-15 ポリペプチドと、

を含む、請求項 1 3 に記載の組換え核酸発現構築物。

20

【請求項 1 5】

前記構築物は、  
 ヒト CD44v6 を特異的に認識する CAR と、  
 チェックポイント阻害分子であるドミナントネガティブ切断型 PD1 ポリペプチドと、  
 シグナル配列、N 末端 IL15RA ポリペプチド、連結ループ配列、及び IL-15 ポリペプチドを含む免疫刺激性サイトカインと、  
 をコードする核酸配列領域を含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物。

30

【請求項 1 6】

前記チェックポイント阻害分子は、前記 CAR ポリペプチドから前記チェックポイント阻害分子を切り離すためのポリペプチド切断部位 P2A に隣接して位置する、請求項 1 5 に記載の組換え核酸発現構築物。

【請求項 1 7】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物がコードする、キメラ抗原受容体 (CAR) ポリペプチド。

40

【請求項 1 8】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物、又は請求項 1 7 に記載の CAR ポリペプチドを含む、遺伝子改変細胞。

【請求項 1 9】

前記細胞は、人工多能性幹細胞 (iPSC) 、 iPSC 株 ND50039、NK-92 細胞及び YT 細胞を含む不死化免疫細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞を含む初代免疫細胞、NK T 細胞、サイトカイン誘導型キラー細胞 (CIK)、T リンパ球から選択される、請求項 1 8 に記載の遺伝子改変細胞。

【請求項 2 0】

CD44v6 を発現する病原性細胞の存在と関連する医学的障害の治療に使用するための

50

、請求項 1 8 又は 1 9 に記載の遺伝子改変細胞を含む薬剤であって、該薬剤はそれを必要とする対象に投与されることを含む、遺伝子改変細胞含む薬剤。

【請求項 2 1】

前記医学的障害は、CD44v6を発現する癌細胞を含む、請求項 2 0 に記載の薬剤。

【請求項 2 2】

前記CD44v6を発現する癌細胞は、固形又は液体悪性腫瘍の癌幹細胞、結腸癌、直腸癌、肺癌、乳癌、肝臓癌、膵癌、白血病、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫、胃癌、及び卵巣癌の癌細胞、又は、CD44v6陽性の転移性腫瘍細胞から選択される、請求項 2 1 に記載の薬剤。

【請求項 2 3】

前記遺伝子改変細胞は、前記細胞が送達される患者に関して同種免疫細胞、同種T細胞、同種NK細胞、若しくは同種Treg細胞、又は自家免疫細胞である、請求項 2 1 又は 2 2 に記載の薬剤。

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の核酸構築物をin vitroで細胞に送達する又は移入することを含む、請求項 1 8 又は 1 9 に記載の遺伝子改変細胞を生成する方法であって、該方法は、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、アルファウイルスベクター、化学的形質移入、電気穿孔法、及びmRNA形質移入から選択される1種以上の遺伝子移入技法を用いる、方法。

【請求項 2 5】

組換え核酸技法を用いて、細胞外抗原結合ドメインをコードする核酸配列を、CARをコードする前記核酸配列領域内から、異なる抗原特異性を持つ細胞外抗原結合ドメインをコードする異なる核酸配列に置き換えることを含む、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の組換え核酸発現構築物を生成及び/又は改変する方法。

【請求項 2 6】

治療用細胞産物の形態で、請求項 1 8 又は 1 9 に記載の遺伝子改変細胞と、薬学上許容される担体とを含む、医薬組成物。

10

20

30

40

50