(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-537170
(P2024-537170A)
(43)公表日　令和6年10月10日(2024.10.10)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	19/00	ZNA	4B065
C07K	*16/00*	*(2006.01)*	C07K	16/00		4C076
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		4H045
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全62頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-520862(P2024-520862)
(86)(22)出願日　令和4年10月5日(2022.10.5)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月14日(2024.5.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/077610
(87)国際公開番号　WO2023/060126
(87)国際公開日　令和5年4月13日(2023.4.13)
(31)優先権主張番号　63/252,850
(32)優先日　令和3年10月6日(2021.10.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　399052796
デイナ ファーバー キャンサー インスティチュート，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１５， ボストン，ブルックライン アベニュー ４５０
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100205707
弁理士　小寺 秀紀
(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
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　調整可能な養子細胞療法のための操作されたサイトカイン受容体

(57)【要約】
受容体サイトカインスイッチ、それらを含有する免疫細胞、及び制御可能な養子細胞療法のためのそれらの使用が開示される。

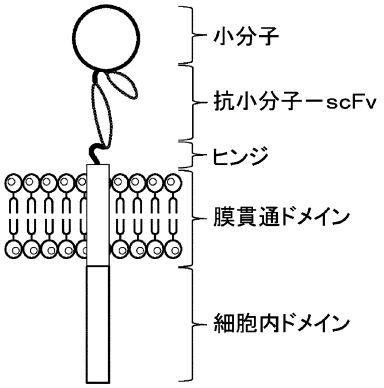
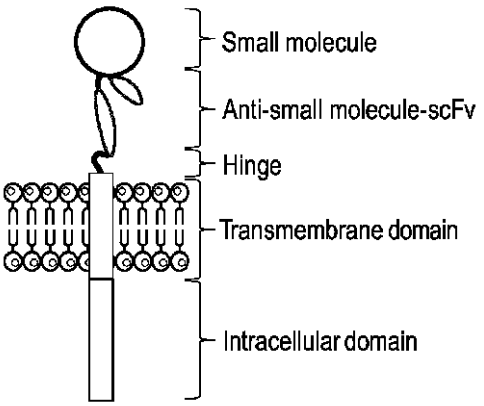


FIG. 1A



【特許請求の範囲】
【請求項１】
シグナルペプチドと、
合成の実質的に非免疫原性の小分子（「合成小分子」）に特異的に結合する、一本鎖抗体断片（ｓｃＦｖ）と、
ヒンジドメインと、
膜貫通ドメインと、
第１のサイトカイン受容体の天然型のものである又はそれに由来する、細胞内ドメインと
を含む、サイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２】
前記シグナルペプチドが、第２のサイトカイン受容体の天然型のものであり、
前記第１及び第２のサイトカイン受容体が、同じであるか又は異なる、
請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９Ｒ、ＩＬ－１５ＲＡ、又はＩＬ－２１Ｒの天然型のものである、請求項２に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項４】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－２ＲＡの天然型のものであり、配列番号１の核酸配列及び配列番号２のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項５】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－２ＲＢの天然型のものであり、配列番号３の核酸配列及び配列番号４のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項６】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－２ＲＧの天然型のものであり、配列番号５の核酸配列及び配列番号６のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項７】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－４ＲＡの天然型のものであり、配列番号７の核酸配列及び配列番号８のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項８】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－７ＲＡの天然型のものであり、配列番号９の核酸配列及び配列番号１０のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項９】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－９Ｒの天然型のものであり、配列番号１１の核酸配列及び配列番号１２のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１０】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－１５ＲＡの天然型のものであり、配列番号１３の核酸配列及び配列番号１４のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１１】
前記シグナルペプチドが、ＩＬ－２１Ｒの天然型のものであり、配列番号１５の核酸配列及び配列番号１６のアミノ酸配列を有する、請求項３に記載のサイトカイン受容体スイッチ。

【請求項１２】
前記ｓｃＦｖが、フルオレセイン若しくはフルオレセイン誘導体、４－［（６－メチルピラジン－２－イル）オキシ］ベンゾエート（ＭＰＯＢ）、アントラキノン－２－カルボキシレート（ＡＱ）、又はテトラキセタン（ＤＯＴＡ）に結合する、請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１３】
前記ｓｃＦｖが、フルオレセイン及びフルオレセイン誘導体に結合し、配列番号５１の核酸配列及び配列番号５２のアミノ酸配列を有する、請求項１２に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１４】
前記ｓｃＦｖが、ＭＰＯＢに結合し、配列番号５３の核酸配列及び配列番号５４のアミノ酸配列を有する、請求項１２に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１５】
前記ｓｃＦｖが、ＡＱに結合し、配列番号５５の核酸配列及び配列番号５６のアミノ酸配列を有する、請求項１２に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１６】
前記ｓｃＦｖが、ＤＯＴＡに結合し、配列番号５７の核酸配列及び配列番号５８のアミノ酸配列を有する、請求項１２に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１７】
前記ヒンジドメインが、表面抗原分類８（ＣＤ８）に由来する、請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１８】
ヒンジドメインペプチドが、配列番号４９の核酸配列及び配列番号５０のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項１９】
前記膜貫通ドメインが、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９ＲＡ、ＩＬ－１５ＲＡ、又はＩＬ－２１Ｒに由来する、請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２０】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－２ＲＡに由来し、配列番号１７の核酸配列及び配列番号１８のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２１】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－２ＲＢに由来し、配列番号１９の核酸配列及び配列番号２０のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２２】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－２ＲＧに由来し、配列番号２１の核酸配列及び配列番号２２のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２３】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－４ＲＡに由来し、配列番号２３の核酸配列及び配列番号２４のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２４】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－７ＲＡに由来し、配列番号２５の核酸配列及び配列番号２６のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２５】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－９Ｒに由来し、配列番号２７の核酸配列及び配列番号２８のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２６】
膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－１５ＲＡに由来し、配列番号２９の核酸配列及び配列番号３０のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２７】

膜貫通ドメインペプチドが、ＩＬ－２１Ｒに由来し、配列番号３１の核酸配列及び配列番号３２のアミノ酸配列を有する、請求項１９に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２８】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９ＲＡ、ＩＬ－１５ＲＡ、又はＩＬ－２１Ｒに由来する、請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項２９】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－２ＲＡに由来し、配列番号３３の核酸配列及び配列番号３４のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３０】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－２ＲＢに由来し、配列番号３５の核酸配列及び配列番号３６のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３１】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－２ＲＧに由来し、配列番号３７の核酸配列及び配列番号３８のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３２】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－４ＲＡに由来し、配列番号３９の核酸配列及び配列番号４０のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３３】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－７ＲＡに由来し、配列番号４１の核酸配列及び配列番号４２のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３４】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－９Ｒに由来し、配列番号４３の核酸配列及び配列番号４４のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３５】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－１５ＲＡに由来し、配列番号４５の核酸配列及び配列番号４６のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３６】
前記細胞内ドメインが、ＩＬ－２１Ｒに由来し、配列番号４７の核酸配列及び配列番号４８のアミノ酸配列を有する、請求項２８に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３７】
抗フルオレセイン－ＩＬ２－ＲＡサイトカイン受容体スイッチであり、配列番号５９のアミノ酸配列を有する、請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチ。
【請求項３８】
請求項１に記載のサイトカイン受容体スイッチをコードする、核酸。
【請求項３９】
請求項３８に記載の核酸を含有する免疫細胞を含む、組成物。
【請求項４０】
前記免疫細胞が、前記核酸のうちの少なくとも２つを更に含み、
前記２つの核酸が、
異なるシグナルペプチド、異なる膜貫通ドメイン、及び／又は前記サイトカイン受容体の異なる細胞内ドメインを含む、異なるサイトカイン受容体スイッチ
をコードする、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４１】
少なくとも２つの前記サイトカイン受容体スイッチが、異なるｓｃＦｖを含む、請求項４０に記載の組成物。
【請求項４２】
前記サイトカイン受容体スイッチが、同じｓｃＦｖを含む、請求項４０に記載の組成物。
【請求項４３】

少なくとも２つの前記サイトカイン受容体スイッチが、
ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、ＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む、第１のサイトカイン受容体スイッチと、
ＩＬ－７ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－７ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－７ＲＡ細胞内ドメインを含む、第２のサイトカイン受容体スイッチと
を含む、請求項４０に記載の組成物。
【請求項４４】
前記免疫細胞が、前記第１及び第２のサイトカイン受容体スイッチとは異なる第３のサイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも第３の核酸を更に含む、請求項４０に記載の組成物。
【請求項４５】
少なくとも３つの前記サイトカイン受容体スイッチが、
ＩＬ－２ＲＢシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＢ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＢ細胞内ドメインを含む、第１のサイトカイン受容体スイッチと、
ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む、第２のサイトカイン受容体スイッチと、
ＩＬ－１５ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－１５ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－１５ＲＡ細胞内ドメインを含む、第３のサイトカイン受容体スイッチと
を含む、請求項４４に記載の組成物。
【請求項４６】
前記免疫細胞が、Ｔ細胞又はＮＫ細胞である、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４７】
前記Ｔ細胞が、ＣＤ８$^{+}$又はＣＤ４$^{+}$である、請求項４６に記載の組成物。
【請求項４８】
前記免疫細胞が、細胞表面抗原に対して向けられたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を更に含む、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４９】
前記細胞表面抗原が、ＣＤ１９、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）、又は上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、ムチン１（ＭＵＣ１）、又はＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー１３Ｂ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ）である、請求項４８に記載の組成物。
【請求項５０】
免疫細胞が、キメラ抗原受容体（ＢＡＴ－ＣＡＲ）をコードするバイナリー活性化Ｔ細胞である、請求項４６に記載の組成物。
【請求項５１】
免疫細胞が、キメラ抗原受容体をコードする核酸を含むバイナリー活性化ＮＫ細胞である、請求項４６に記載の組成物。
【請求項５２】
請求項３９に記載の組成物中の免疫細胞を刺激するための方法であって、前記免疫細胞を、増殖を促進するのに十分な濃度の合成小分子と接触させることを含む、方法。
【請求項５３】
前記接触させることが、前記免疫細胞の表現型の変化も促進する、請求項５２に記載の方法。
【請求項５４】
処理が、記憶表現型、細胞傷害性表現型、及び調節性表現型から選択される表現型の変

化を促進する、請求項５３に記載の方法。
【請求項５５】
前記合成小分子が、フルオレセイン若しくはフルオレセイン誘導体、ＭＰＯＢ、ＡＱ、又はＤＯＴＡである、請求項５２に記載の方法。
【請求項５６】
前記合成小分子が、担体にコンジュゲートされている、請求項５２に記載の方法。
【請求項５７】
前記担体にコンジュゲートされた前記合成小分子が、高親和性プレート、ディッシュ、又はフラスコに結合されている、請求項５６に記載の方法。
【請求項５８】
前記担体が、ウシ若しくはヒト血清アルブミン、デキストラン、又は抗体である、請求項５６に記載の方法。
【請求項５９】
前記合成小分子が、ポリマーである、請求項５２に記載の方法。
【請求項６０】
前記ポリマーが、モノポリマー、ヘテロポリマー、又は分岐ポリマーである、請求項５９に記載の方法。
【請求項６１】
前記抗体が、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＥＧＦＲ抗体、抗ＢＣＭＡ、又は抗ＣＤ１９抗体である、請求項５８に記載の方法。
【請求項６２】
前記抗体が、ペルツズマブ、セツキシマブ、ベレンタマブ、Ｊ６Ｍ０、又はダラツズマブである、請求項６１に記載の方法。
【請求項６３】
前記合成小分子の濃度が、前記組成物の総体積に基づいて０．１～１０００μｇ／ｍＬの範囲である、請求項５２又は５３に記載の方法。
【請求項６４】
前記合成小分子の濃度が、前記組成物の総体積に基づいて０．１～１００μｇ／ｍＬの範囲である、請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記免疫細胞を十分な濃度の前記合成小分子で最大２週間以上処理する、請求項５２に記載の方法。
【請求項６６】
前記免疫細胞を十分な濃度の前記合成小分子で１週間処理する、請求項５２に記載の方法。
【請求項６７】
前記免疫細胞を前記合成小分子とエクスビボで接触させる、請求項５２に記載の方法。
【請求項６８】
前記免疫細胞を前記合成小分子とインビボで接触させる、請求項５２に記載の方法。
【請求項６９】
前記免疫細胞を前記合成小分子と全身的に接触させる、請求項６８に記載の方法。
【請求項７０】
前記免疫細胞を前記合成小分子と局所的に接触させる、請求項６８に記載の方法。
【請求項７１】
疾患又は障害を治療するための方法であって、
その治療を必要とする対象に、治療有効量の請求項３９に記載の組成物を投与することと、
担体にコンジュゲートされた十分な濃度の少なくとも１つの合成小分子を前記対象に投与し、それによって前記組成物中の前記免疫細胞を刺激することと
を含む、方法。

【請求項７２】
前記合成小分子が、フルオレセイン若しくはフルオレセイン誘導体、ＭＰＯＢ、ＡＱ、又はＤＯＴＡである、請求項７１に記載の方法。
【請求項７３】
前記担体が、ヒト血清アルブミン又は抗体である、請求項７１に記載の方法。
【請求項７４】
前記抗体が、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＥＧＦＲ抗体、抗ＢＣＭＡ抗体、又は抗ＣＤ１９抗体である、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記抗体が、ペルツズマブ、セツキシマブ、ベレンタマブ、Ｊ６Ｍ０、又はダラツズマブである、請求項７４に記載の方法。
【請求項７６】
前記疾患又は障害が、がんである、請求項７１に記載の方法。
【請求項７７】
前記がんが、乳がん、卵巣がん、多発性骨髄腫、肺がん、又は多形性神経膠芽腫である、請求項７６に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
前記関連出願の相互参照本出願は、２０２１年１０月６日に出願された米国特許仮出願第６３／２５２，８５０号に対する米国特許法第１１９条（ｅ）の下での優先権の利益を主張するものであり、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
政府による実施権
本開示は、米国国立衛生研究所によって授与された助成金番号１ＤＰ１　ＤＫ１０５６０２－０１に基づく政府の支援を受けて行われた。政府は、本発明に一定の権利を有する。
【０００３】
配列表
本出願は、ＸＭＬ形式で電子的に提出されている配列表を含有し、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。２０２２年８月２７日に作成された当該ＸＭＬコピーの名称は、５２０９５－６３１００１ＷＯ＿ＳＴ．ｘｍｌであり、サイズは６９キロバイトである。
【背景技術】
【０００４】
開示の背景
養子細胞移入（adoptive cell transfer、ＡＣＴ）を使用する免疫療法は、免疫を刺激又は抑制することを目的とする。ＡＣＴの最も有望なアプローチの１つは、抗原特異的Ｔ細胞又はキメラ抗原受容体－Ｔ（chimeric antigen receptor-T、ＣＡＲ　Ｔ）細胞の投与である。Ｂ細胞抗原ＣＤ１９を標的とするＣＡＲ　Ｔ細胞は、Ｂ細胞悪性腫瘍を有する患者において顕著な臨床応答を有した（Ｄａｖｉｌａ　ａｎｄ　Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ，Ｃｌｉｎ．Ａｄｖ．Ｈｅｍａｔｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１４（１０）：８０２－８０８（２０１６）（非特許文献1）、Ｈａｌｉｍ　ａｎｄ　Ｍａｈｅｒ，Ｔｈｅｒ．Ａｄｖ．Ｖａｃｃｉｎｅｓ　Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．８：１－１７（２０２０）（非特許文献2））。血液がんにおける成功にもかかわらず、固形腫瘍に対するＣＡＲ－Ｔ細胞の効果は、注入後のＣＡＲ－Ｔ細胞の限定された持続性、生存、増殖、及び有効性のために部分的に限定されている（Ｋｏｓｔｉ，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：１１０４－９（２０１８）（非特許文献3）；Ｊａｆａｒｚａｄｅｈ，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１，７０２－１７（２０２０（非特許文献4））。

【０００５】
メモリーＴ細胞の生成は、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法の長期持続に必須である。それらの形成は、３つのシグナル、すなわち、抗原、共刺激及び炎症促進性サイトカインを必要とする。サイトカインは、様々な免疫細胞の発生、増殖、生存、及び分化において重要な役割を有する（Ｆｏｓｔｅｒ，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｐａｔｈｏｌ．８２（３）：１７１，１９２（２００１）（非特許文献5））。サイトカイン標的免疫療法は、特定の免疫細胞機能を促進又は阻害することによって免疫応答を調節することができる。インターロイキン－２（Interleukin-2、ＩＬ－２）は、Ｔ細胞の発生及び生存を刺激する。高用量ＩＬ－２療法は、転移性黒色腫及び腎臓がんの治療のために、米国食品医薬品局（Food and Drug Administration、ＦＤＡ）によって承認された（Ｊｉａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，Ｏｎｃｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　５（６）：ｅ１１６３４６２－１０（２０１６）（非特許文献6））。しかしながら、サイトカインの全身投与は、制御されないサイトカイン放出症候群及び耐えられない毒性のために、大部分が不成功であった。したがって、特定の細胞におけるサイトカインシグナル伝達の制御可能な活性化が、全身性毒性を予防し、操作された免疫細胞駆動性有効性を改善するために必要である。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００６】
【非特許文献１】Ｄａｖｉｌａ　ａｎｄ　Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ，Ｃｌｉｎ．Ａｄｖ．Ｈｅｍａｔｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．１４（１０）：８０２－８０８（２０１６）
【非特許文献２】Ｈａｌｉｍ　ａｎｄ　Ｍａｈｅｒ，Ｔｈｅｒ．Ａｄｖ．Ｖａｃｃｉｎｅｓ　Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．８：１－１７（２０２０）
【非特許文献３】Ｋｏｓｔｉ，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：１１０４－９（２０１８）
【非特許文献４】Ｊａｆａｒｚａｄｅｈ，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１，７０２－１７（２０２０
【非特許文献５】Ｆｏｓｔｅｒ，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｐａｔｈｏｌ．８２（３）：１７１，１９２（２００１）
【非特許文献６】Ｊｉａｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，Ｏｎｃｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　５（６）：ｅ１１６３４６２－１０（２０１６）
【発明の概要】
【０００７】
開示の概要
本開示の第１の態様は、シグナルペプチドと、合成の実質的に非免疫原性の小分子に特異的に結合する一本鎖抗体断片（single chain antibody fragment、ｓｃＦｖ）（以下、「合成小分子」）と、ヒンジドメインと、膜貫通ドメインと、サイトカイン受容体の細胞内ドメインとを含む、サイトカイン受容体スイッチに関する。
【０００８】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、サイトカイン受容体の天然型（native）のものであるか、又はそれに由来し、この場合、シグナルペプチド及び細胞内ドメインは、異なるサイトカイン受容体の天然型のものであるか、又はそれに由来し得る。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、インターロイキン－２受容体アルファ鎖（interleukin-2 receptor alpha chain、ＩＬ－２ＲＡ）、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９Ｒ、ＩＬ－１５ＲＡ、若しくはＩＬ－２１Ｒの天然型のものであるか、又はそれらに由来する。他の実施形態では、シグナルペプチドは、表面抗原分類８（cluster of differentiation 8、ＣＤ８）の天然型のものであるか、又はそれに由来する。
【０００９】
いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖに特異的に結合する合成小分子は、フルオレセイン、例えば、フルオレセインイソチオシアネート（fluorescein isothiocyanate、ＦＩ

ＴＣ）、４－［（６－メチルピラジン－２－イル）オキシ］ベンゾエート（ＭＰＯＢ）、アントラキノン－２－カルボキシレート（ＡＱ）、テトラキセタン（ＤＯＴＡ）、又はポリヒスチジンタグ（Ｈｉｓタグ）である。

【００１０】

いくつかの実施形態では、ヒンジドメインは、ＣＤ８の天然型のものであるか、又はそれに由来する。

【００１１】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは、各々独立して、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９Ｒ、ＩＬ－１５ＲＡ、若しくはＩＬ－２１Ｒの天然型のものであるか、又はそれらに由来する。

【００１２】

本開示の別の態様は、本明細書に記載されるサイトカイン受容体スイッチをコードする核酸に関する。

【００１３】

更なる態様は、サイトカイン受容体スイッチをコードする外因性核酸を含む免疫細胞を含む組成物に関する。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞などのＴ細胞である。他の実施形態では、免疫細胞は、ＮＫ細胞である。

【００１４】

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、

異なるサイトカイン受容体由来の異なるシグナルペプチド、異なる膜貫通ドメイン、及び／又はサイトカイン受容体の異なる細胞内ドメインを含む、異なるサイトカイン受容体スイッチ

をコードする少なくとも２つの核酸を含む。

【００１５】

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、細胞表面抗原に対するキメラ抗原受容体（chimeric antigen receptor、ＣＡＲ）をコードする外因性核酸を含有する。いくつかの実施形態では、細胞表面抗原は、ＣＤ１９、Ｂ細胞成熟抗原（B-cell maturation antigen、ＢＣＭＡ）、ヒト上皮成長因子受容体２（human epidermal growth factor receptor 2、ＨＥＲ２）、上皮成長因子受容体（epidermal growth factor receptor、ＥＧＦＲ）、ムチン１（mucin 1、ＭＵＣ１）、又はＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー１３Ｂ（TNF receptor superfamily member 13B、ＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ）である。

【００１６】

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、バイナリー活性化キメラ抗原受容体（binary activated chimeric antigen receptor、ＢＡＴ－ＣＡＲ）をコードする核酸を含む。

【００１７】

いくつかの態様では、本開示は、サイトカイン受容体スイッチをコードする外因性核酸を含む免疫細胞を刺激するための方法であって、免疫細胞を十分な濃度の合成小分子と接触させることを含み、接触が免疫細胞の増殖を促進する、方法、に向けられている。それはまた、免疫細胞の表現型（例えば、記憶表現型、細胞傷害性表現型、及び調節性表現型）の変化を促進し得る。

【００１８】

いくつかの実施形態では、接触させることは、エクスビボで行われる。サイトカイン受容体スイッチをコードする外因性核酸を含有する免疫細胞を、好適な培地に入れ、培地の総体積に基づいて、有効濃度、例えば０．１～１０００μｇ／ｍＬの合成小分子と接触させる。いくつかの実施形態では、合成小分子の濃度は、培地の総体積に基づいて０．１～１００μｇ／ｍＬの範囲である。接触（本明細書では「処理」又は「処理すること」とも称される）の持続期間は、数時間、数日及び数週間（例えば、１、２、３、４週間以上）ほどであり得る。いくつかの実施形態では、接触は、合成小分子が担体にコンジュゲートされている高親和性プレート、ディッシュ、又はフラスコ中で行われてもよく、担体は本

質的にポリマーであってもよく、例えば、その表面に固定されたウシ血清アルブミン（bovine serum albumin、ＢＳＡ）であってもよい。

【００１９】

いくつかの他の実施形態では、免疫細胞を合成小分子とインビボで接触させる。いくつかの実施形態では、免疫細胞を合成小分子と全身的に接触させる。他の実施形態では、免疫細胞は、ＣＡＲの結合特異性に起因して、特異的な細胞表面抗原（例えば、腫瘍表面抗原）に向けられ、したがって、免疫細胞の局所刺激を可能にする、ＣＡＲ含有免疫細胞である。本開示の更なる態様は、がんを治療する方法に関する。いくつかの実施形態では、エクスビボ刺激された免疫細胞を含有する治療的有効濃度の組成物が対象に投与される。他の実施形態では、方法は、治療的有効濃度の免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することと、有効濃度の合成小分子を好適な期間にわたって対象に投与し、それによって免疫細胞を刺激することと、合成モノマー小分子又は合成ポリマー小分子を含有する組成物を対象に投与することによって、免疫細胞の刺激を減少させることと、を含む。刺激を最適化するために、合成小分子は、多量体として、例えば、小分子の単量体がＢＳＡなどの担体にコンジュゲートされている多量体として、投与するのが有利である。

【００２０】

いくつかの実施形態では、がんは、白血病、リンパ腫又は多発性骨髄腫などの血液がんである。いくつかの実施形態では、がんは、乳がん、卵巣がん、肺がん、又は脳のがん例えば多形性神経膠芽腫、などの固形腫瘍の存在を特徴とする。

【００２１】

サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞を刺激する方法は、例えば、米国特許第５，７４７，２９２号並びに国際公開第２０１８／１１１８３４号及び国際公開第２０１９／１９３１９７号に記載されているように、当技術分野で既知であり、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞を作製及び刺激する方法は、以下の文献にも記載されている：Ｎｅｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６９（６４７８）：３３３－３３６（１９９４）、Ｇｅｒｈａｒｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７１：１２９９１－１２９９８（１９９６）、Ｓｏｃｋｏｌｏｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１８，３５９（６３７９）：１０３７－１０４２（１９９６）、Ｃｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．１４（３）：３１７－３２４（２０１８）、Ｌｅｕｎｇ ｅｔ ａｌ．，ＪＣＩ Ｉｎｓｉｇｈｔ ４（１１）：ｅ１２４４３０－１８（２０１９）、及びＹａｎｇ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ １１８：ｅ２１０６６１２１１８－１２（２０２１）。

【００２２】

本発明のサイトカイン受容体スイッチは、既知のキメラサイトカイン受容体とは異なる。例えば、米国特許第５，７４７，２９２号に教示されるキメラ受容体は、天然の（natural）受容体と交差反応する内因性タンパク質によって活性化される。国際公開第２０１９／１９３１９７号に教示されるキメラ受容体は、実質的に非免疫原性ではない細菌タンパク質（例えば、ＧＦＰ及びｍＣｈｅｒｒｙ）によって活性化される（すなわち、細菌タンパク質ＧＦＰ及びｍＣｈｅｒｒｙは免疫原性である）。

【００２３】

本開示は、それらの天然リガンドとは無関係に、制御可能なサイトカイン受容体シグナル伝達を所望の一連の免疫細胞に向ける組成物及び方法を提供する。先行技術とは対照的に、本開示は、人工リガンドとして及び天然型サイトカインの代替物として機能しかつ実質的に非免疫原性でもある合成小分子の使用を必要とする。したがって、サイトカイン受容体スイッチは、外因性部分、すなわち合成小分子の制御下にあり、エクスビボ及びインビボの両方において、サイトカイン受容体の活性化又は刺激及びその後のシグナル伝達の正確な制御を可能にする。基本的に、合成小分子は、オン／オフスイッチとして作用する。

【００２４】

本開示は、特にＣＡＲ－Ｔ細胞に関連して、いくつかの更なる利点を提供し得る。異なるサイトカイン受容体スイッチとＣＡＲとの組み合わせは、記憶表現型、エフェクター表現型、又は調節性表現型を有するＴ細胞をプレコンディショニングし得、それによりＣＡＲ　Ｔ細胞の持続性及び細胞傷害性を大幅に改善し得る。それらの活性化又は刺激を制御することに加えて、サイトカイン受容体スイッチを含有するＣＡＲ－Ｔ細胞は、固形腫瘍微小環境に特徴的な免疫抑制環境に対してより大きい抵抗性を示し得る。以下の実施例に示されるように、メモリーマーカーを発現するＴ細胞サブセットは、本開示の組成物を使用することにより増加した。合成小分子の使用は、特にサイトカイン受容体スイッチを含有するＣＡＲ－Ｔ細胞のエクスビボ増殖に関して、すなわち抗体及び組換えサイトカインの使用と比較したコストの点で、更なる利点を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００２５】

【図１Ａ】図１Ａ～１Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの構造及び一次配列を示す画像である。図１Ａは、サイトカイン受容体スイッチのコンポーネントを示す画像である。合成小分子は、サイトカイン受容体の天然サイトカインの代わりに人工リガンドとして機能する。

【図１Ｂ】図１Ａ～１Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの構造及び一次配列を示す画像である。図１Ｂは、非免疫原性足場又は抗体にコンジュゲートされた小分子による、サイトカイン受容体スイッチの全身的及び局所的活性化を示す画像である。サイトカイン受容体スイッチは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）と組み合わせることができる。同じ低分子に対する（homotargeted）合成低分子（ｓｃＦｖ）又は異なる低分子に対する（heterotargeted）異なるｓｃＦｖのいずれかを、サイトカイン受容体スイッチ又はＣＡＲに融合させた。

【図１Ｃ】図１Ａ～１Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの構造及び一次配列を示す画像である。図１Ｃは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの代表的な一次配列を示す画像である。

【図１Ｄ】図１Ａ～１Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの構造及び一次配列を示す画像である。図１Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチの一次配列を示す画像である。

【図２】培養プレート上にコーティングされたウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）に結合したフルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）によって刺激された初代ヒトＴ細胞上に発現されたサイトカイン受容体スイッチを示す画像である。

【図３Ａ】図３Ａ～３Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＴ細胞上のエフェクター及びセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。図３Ａは、本発明のＩＬ２ＲＡ及びＩＬ１５ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞上のエフェクターメモリーマーカーを増加させ、ＩＬ２ＲＡ－、ＩＬ２ＲＢ－、ＩＬ２ＲＧ－、ＩＬ７ＲＡ－、及びＩＬ１５ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のエフェクターメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。

【図３Ｂ】図３Ａ～３Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＴ細胞上のエフェクター及びセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。図３Ｂは、本発明のＩＬ２ＲＡ及びＩＬ７ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。

【図３Ｃ】図３Ａ～３Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＴ細胞上のエフェクター及びセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。図３Ｃは、本発明のサイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激なしではエフェクターメモリーマーカーＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞にほとんど影響を及ぼさなかったことを示す一連のグラフである。

【図３Ｄ】図３Ａ～３Ｄは、本発明のサイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＴ細胞上のエフェクター及びセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。図３Ｄは、本発明のＩＬ７ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激なしでＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞上のセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す一連のグラフである。
【図４】ＣＡＲによる、又はキメラ抗原受容体（ＢＡＴ－ＣＡＲ）をコードする核酸を含むバイナリー活性化Ｔ細胞による、本発明のサイトカイン受容体スイッチの使用を示す画像である。
【図５Ａ】図５Ａ～５Ｃは、高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣが、フルオレセイン特異的ＢＡＴ－ＣＡＲ－Ｔ細胞を効率的に刺激したことを示す一連のグラフである。図５Ａは、通常の組織培養プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣ（プレート結合（通常））、高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣ（プレート結合　高親和性）、及び細胞に直接添加したＢＳＡ－ＦＩＴＣ溶液（フリー）によって刺激されたＢＡＴ－ＣＡＲ－ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞におけるインターロイキン－２の発現を示すグラフである。
【図５Ｂ】図５Ａ～５Ｃは、高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣが、フルオレセイン特異的ＢＡＴ－ＣＡＲ－Ｔ細胞を効率的に刺激したことを示す一連のグラフである。図５Ｂは、通常の組織培養プレート上に結合させたＢＳＡ－ＦＩＴＣ、高親和性プレート上に結合させたＢＳＡ－ＦＩＴＣ、及び細胞に直接添加したＢＳＡ－ＦＩＴＣ溶液によって刺激されたＢＡＴ－ＣＡＲ－ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞におけるインターフェロンγ（ＩＦＮｇ）$^{+}$の発現を示すグラフである。
【図５Ｃ】図５Ａ～５Ｃは、高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣが、フルオレセイン特異的ＢＡＴ－ＣＡＲ－Ｔ細胞を効率的に刺激したことを示す一連のグラフである。図５Ｃは、通常の組織培養プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣ、高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣ、及び細胞に直接添加されたＢＳＡ－ＦＩＴＣ溶液によって刺激されたＢＡＴ－ＣＡＲ－ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のＣＤ６９の発現を示すグラフである。
【図６Ａ】図６Ａ～６Ｂは、本発明のサイトカイン受容体が、活性化ＮＫ細胞をスイッチすることを示す一連のグラフである。図６Ａは、本発明のＩＬ１５ＲＡ－、ＩＬ２ＲＢ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチの組み合わせが、ヒトナチュラルキラー（natural killer、ＮＫ）細胞、ＮＫ９２の細胞増殖を促進したことを示す線グラフである。
【図６Ｂ】図６Ａ～６Ｂは、本発明のサイトカイン受容体が、活性化ＮＫ細胞をスイッチすることを示す一連のグラフである。図６Ｂは、本発明のＩＬ７ＲＡ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチの組み合わせが、ＮＫ９２細胞上の活性化マーカーＣＤ６９の発現を増加させたことを示す棒グラフである。
【発明を実施するための形態】
【００２６】
開示の詳細な説明
別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本主題が属する当業者に通常理解される意味と同じ意味を有する。本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、別段の定めがない限り、以下の用語は、本開示の理解を容易にするために示される意味を有する。
【００２７】
本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」、及び「その（ｔｈｅ）」は、文脈が明らかに他のことを示さない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「１つの組成物（a composition）」への言及は、２つ以上のかかる組成物の混合物を包含し、「１つの阻害剤（an inhibitor）」への言及は、２つ以上のかかる阻害剤の混合物を包含する、などである。
【００２８】
特に明記しない限り、「約」という用語は、「約」という用語によって修飾される特定

の値の１０％以内（例えば、５％、２％又は１％以内）を意味する。
【００２９】
「含む（including）」、「含有する（containing）」、又は「によって特徴付けられる（characterized by）」と同義である移行句「含む（comprising）」は、包括的又はオープンエンドであり、追加の列挙されていない要素又は方法ステップを除外しない。対照的に、移行句「からなる」は、特許請求の範囲に明記されていない任意の要素、ステップ、又は成分を除外する。移行句「から本質的になる」は、特許請求の範囲の範囲を、特許請求される開示の特定の材料又はステップ「と、基本的かつ新規の特徴に実質的に影響を及ぼさないものと」に限定する。
【００３０】
本明細書で使用される場合、「免疫細胞」は、自然免疫応答及び／又は適応免疫応答の開始及び／又は実行に機能的に関与する造血系起源の細胞を指す。免疫細胞の代表的な例としては、Ｔ細胞及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が挙げられる。本明細書で使用される「免疫細胞」という用語は、幹細胞に由来する細胞をも指す。幹細胞は、成熟幹細胞、非ヒト胚性幹細胞、より具体的には非ヒトの幹細胞、臍帯血幹細胞、前駆細胞、骨髄幹細胞、人工多能性幹細胞、全能性幹細胞又は造血幹細胞であり得る。
【００３１】
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞及びＣＤ４$^+$Ｔ細胞の組み合わせである。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＮＫ細胞である。
【００３２】
用語「記憶表現型」は、本明細書で使用される場合、本発明のサイトカイン受容体スイッチをコードする外因性核酸を含む免疫細胞が、ナイーブ免疫細胞（外因性核酸を含有しない）よりも迅速に抗原に応答する準備ができていることを指す。
【００３３】
本明細書で使用される「細胞傷害性表現型」という用語は、毒性である免疫細胞（すなわち、腫瘍細胞、感染細胞、又はそうでなければ損傷のある若しくは機能不全である細胞などの他の細胞の死を誘導する免疫細胞）を指す。例えば、細胞傷害性Ｔ細胞は、同族抗原を有する標的細胞（例えば、がん細胞）の溶解を媒介する。細胞傷害性Ｔ細胞は、一般に、標的細胞の表面上のＭＨＣ分子と会合している場合のみ抗原ペプチドを認識するという点で、抗原特異的かつ主要組織適合性複合体（major histocompatibility complex、ＭＨＣ）拘束性である。ＮＫ細胞は、ストレスを受けた、ウイルス若しくは微生物に感染した細胞又は悪性細胞を含む異常細胞を標的とし、かつ死滅させる。
【００３４】
用語「抗体」は、本明細書において最も広い意味で使用され、ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を含み、それらには、インタクトな抗体及び機能的（抗原結合）抗体断片、断片抗原結合（fragment antigen binding、Ｆａｂ）断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆａｂ’断片、Ｆｖ断片、組換えＩｇＧ（recombinant IgG、ｒＩｇＧ）断片、抗原に特異的に結合することができる可変重鎖（heavy chain、ＶＨ）領域、単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）を含む単鎖抗体断片、並びに単一ドメイン抗体（例えば、ｓｄＡｂ、ｓｄＦｖ、ナノボディ）断片が含まれる。ｓｃＦｖは、抗体のＶＨ及び軽鎖（light chain、ＶＬ）の可変領域を含み、典型的には、最大約５０個（例えば、約１０個）のアミノ酸残基を含む。リンカーは、ＶＨのＮ末端をＶＬのＣ末端と接続するか、又はその逆のいずれかであり得る。ｓｃＦｖは、当技術分野で既知の方法に従って調製することができる（例えば、Ｂｉｒｄｅｔ　ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ２４２：４２３－４２６（１９８８）及びＨｕｓｔｏｎｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：５８７９－５８８３（１９８８）を参照）。いくつかの実施形態では、リンカー配列は、アミノ酸グリシン及びセリンを含み、いくつかの場合において、（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｎ（式中、ｎは１以上の整数である）などの、グリシン及びセリン反復のセットを含む。リンカ

ーの長さ及びアミノ酸組成は、例えば、機能的エピトープを作製するためのＶＨとＶＬとの間の最適な折り畳み及び相互作用を達成するために変更され得る。例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０，６４４４－６４４８（１９９３）を参照。「抗体」という用語は、イントラボディ、ペプチボディ、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、及びヘテロ接合抗体、多重特異性、例えば二重特異性抗体、ナノボディ、ダイアボディ、トリアボディ、及びテトラボディ、タンデムジ－ｓｃＦｖ、タンデムトリ－ｓｃＦｖなどの免疫グロブリンの遺伝子操作された形態及び／又は他の方法で改変された形態を包含する。特に明記しない限り、「抗体」という用語は、その機能的抗体断片を包含すると理解されるべきである。この用語はまた、ＩｇＧ及びそのサブクラス、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、並びにＩｇＤを含む任意のクラス又はサブクラスの抗体を含む、インタクトな抗体又は全長抗体を包含する。

【００３５】

本明細書中で使用される場合、「合成の実質的に非免疫原性の小分子」とは、対象において有意な免疫応答を惹起することなく、本発明のサイトカイン受容体スイッチ上のｓｃＦｖに結合し得、単官能性であり、約５０ダルトン～約１０，０００ダルトン、通常は約５０ダルトン～約５０００ダルトン、より通常は約１００ダルトン～約１０００ダルトンのサイズの範囲である、有機分子又は化合物を指す。

【００３６】

本明細書で使用される実質的に非免疫原性の小分子の例としては、フルオレセイン及びフルオレセイン誘導体（例えば、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ））、４－［（６－メチルピラジン－２－イル）オキシ］ベンゾエート（ＭＰＯＢ）、アントラキノン－２－カルボキシレート（ＡＱ）、テトラキサン（ＤＯＴＡ）、又はポリヒスチジン－タグ（Ｈｉｓ－タグ）が挙げられる。「顕著な免疫」応答は、本開示の教示に従って使用される合成小分子のインビボ有用性を限定又は制限する任意の免疫応答である。検出可能な免疫応答は、必ずしも「顕著な免疫応答」ではない。すなわち、「実質的に非免疫原性」は、検出可能であるが顕著ではない免疫応答を包含する。いくつかの実施形態では、実質的に非免疫原性の小分子は、担体にコンジュゲートされている。

【００３７】

本明細書に記載される合成小分子に関して、及びそれらを更に記載するために以下の用語が本明細書で使用される範囲で、以下の定義が適用される。

【００３８】

「特異的結合」という用語は、合成小分子と単鎖抗体断片（ｓｃＦｖ）との間の相互作用に関する場合、合成小分子と他の内因性の実体（タンパク質性及び非タンパク質性など）との結合が検出可能であるが機能的に重要ではない場合があるという点で実質的に特異的である分子間相互作用を指す。

【００３９】

サイトカイン受容体スイッチ、ＣＡＲ及びＢＡＴ－ＣＡＲのコンポーネントの文脈において本明細書で使用される場合、「～に由来する」（また、「～に由来する、例えば、～の天然型のものである」とも称される）という用語は、天然遺伝子中のそのコンポーネントの配列と同一の配列の少なくとも一部を有するコンポーネント、例えばＩＬ－２ＲＡ受容体と天然に関連するシグナルペプチド（例えば、ＩＬ－２ＲＡ受容体に対して「天然型の」シグナルペプチド）、及び少なくとも１つの修飾、例えばアミノ酸置換、付加（例えば、いずれか又は両方の末端）又は欠失（例えば、「～に由来する」）の点で天然配列とは異なる、非天然配列を有するコンポーネントを包含するが、ただし、修飾は、コンポーネントがサイトカイン受容体スイッチの一部として行う機能を損なわないことを条件とする。いくつかの実施形態では、タンパク質に由来するサイトカイン受容体スイッチ、ＣＡＲ、及びＢＡＴ－ＣＡＲのエレメントは、天然遺伝子からの１つ以上の改変を有する天然遺伝子の一部分の配列を含むか、又はある範囲のアミノ酸若しくは核酸について天然遺伝子と同一であり得るが、同一配列の範囲外の改変、置換、又は欠失を有する。

【００４０】

本明細書で使用される場合、「十分な濃度」という用語は、合成小分子が使用されている状況において（例えば、インビトロ又はインビボで）、サイトカインスイッチを活性化するのに必要な合成小分子の濃度を指す。

【００４１】

サイトカイン受容体スイッチ

本開示の重要な態様は、サイトカイン受容体の天然型のものであるか、又はそれに由来するシグナルペプチド、例えば、合成小分子に特異的に結合する単鎖抗体断片（ｓｃＦｖ）と、ヒンジドメインと、膜貫通ドメインと、サイトカイン受容体の細胞内ドメインとを含む、サイトカイン受容体スイッチを対象とする（図１Ａ、図１Ｃ、及び図１Ｄ）。本明細書に記載のサイトカイン受容体スイッチの代表的なコンポーネントのＤＮＡ及びアミノ酸配列を表１に記載する。

【００４２】

（表１）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
IL2RAシグナルペプチド	ATGGACAGCTACCTGCTGATGTGGGGCCTGCTGACCTTCATCATGGTGCCTGGCTGTCAGGCC（配列番号１）	MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQA（配列番号２）
IL2RBシグナルペプチド	ATGGCTGCTCCAGCTCTGTCTTGGAGACTGCCCCTGCTGATTCTGCTGCTGCCTCTGGCTACATCTTGGGCCTCTGCC（配列番号３）	MAAPALSWRLPLLILLLPLATSWASA（配列番号４）
IL2RGシグナルペプチド	ATGCTGAAGCCCAGCCTGCCTTTTACCAGCCTGCTGTTCCTGCAGCTGCCTCTGCT TGGCGTGGGA（配列番号５）	MLKPSLPFTSLLFLQLPLLGVG（配列番号６）
IL4RAシグナルペプチド	ATGGGGTGGCTTTGCTCTGGGCTCCTGTTCCCTGTGCTGCCTGGTCCTGCTGCAGGTGGCAAGCTCTGGGAAC（配列番号７）	MGWLCSGLLFPVSCLVLLQVASSGN（配列番号８）
IL7RAシグナルペプチド	ATGACAATCCTGGGCACCACCTTCGGCATGGTGTTCAGTCTGCTGCAGGTCGTG TCTGGC（配列番号９）	MTILGTTFGMVFSLLQVVSG（配列番号１０）
IL9Rシグナルペプチド	TGGGACTGGGCAGATGCATCTGGGAAGGCTGGACCTTGGAGAGTGAGGCCCTGAGGCGAGACATGGGCACTGGCTCCTGGCCTGCATCTGCATCTGCACCTGTGTCTGCTTGGGAGTC（配列番号１１）	MGLGRCIWEGWTLESEALRRDMGTWLLACICICTCVCLGV（配列番号１２）
IL15RAシグナルペプチド	ATGGCTCCTCGGAGAGCCAGAGGCTGTAGAACACTTGGACTGCCCGCTCTGCTGCTGCTCCTGCTTCTTAGACCTCCTGCCACAAGAGGC（配列番号１３）	MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRG（配列番号１４）
IL21Rシグナルペプチド	ATGCCAAGAGGATGGGCCGCTCCTCTTCTCCTGTTGCTGCTTCAAGGCGGCTGG GGC（配列番号１５）	MPRGWAAPLLLLLLQGGWG（配列番号１６）
IL2RA膜貫通ドメイン	GTGGCCGTGGCCGGATGTGTGTTTCTGCTGATCTCTGTGCTGCTGCTGAGCGGC CTG（配列番号１７）	VAVAGCVFLLISVLLLSGL（配列番号１８）
IL2RB膜貫通ドメイン	ATCCCCTGGCTGGGACATCTGCTTGTTGGACTGTCTGGCGCCTTCGGCTTCATCATCCTGGTGTATCTGCTGATC（配列番号１９）	IPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLI（配列番号２０）
IL2RG膜貫通ドメイン	GTGGTCATCTCTGTGGGCTCTATGGGCCTGATCATCTCCCTGCTGTGTGTGTACT TTTGGCTG（配列番号２１）	VVISVGSMGLIISLLCVYFWL（配列番号２２）
IL4RA膜貫通ドメイン	CTCCTGCTGGGCGTCAGCGTTTCCTGCATTGTCATCCTGGCCGTCTGCCTGTTGTGCTATGTCAGCATCACC（配列番号２３）	LLLGVSVSCIVILAVCLLCYVSIT（配列番号２４）
IL7RA膜貫通ドメイン	CCCATCCTGCTGACAATCAGCATCCTGAGCTTTTTCAGCGTGGCCCTGCTGGTCATCCTGGCCTGTGTGCTGTGG（配列番号２５）	PILLTISILSFFSVALLVILACVLW（配列番号２６）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
IL9R膜貫通ドメイン	GGCAACACCCTTGTTGCTGTGTCCATCTTTCTCCTGCTGACTG GCCCGACCTACCTCCTGTTC （配列番号27）	GNTLVAVSIFLLLTG PTYLLF （配列番号28）
IL15RA膜貫通ドメイン	GTGGCCATCAGCACAAGCACCGTTCTGCTGTGTGGCCTGTCA GCCGTTAGCCTGC TGGCTTGCTACCTG （配列番号29）	VAISTSTVLLCGLSA VSLLACYL （配列番号30）
IL21R膜貫通ドメイン	GGCTGGAATCCTCATCTGTTGTTGTTGCTCCTCCTGGTCATCG TGTTCATCCCCGC CTTTTGG （配列番号31）	GWNPHLLLLLLLVIV FIPAFW （配列番号32）
IL2RA細胞内ドメイン	ACTTGGCAAAGACGGCAGAGAAAGAGCCGGCGGACCATC （配列番号33）	TWQRRQRKSRRTI （配列番号34）
IL2RB細胞内ドメイン	AACTGCCGGAACACAGGCCCTTGGCTGAAGAAAGTGCTGAA GTGCAACACCCCTGATCCGAGCAAGTTCTTTAGCCAGCTGAG CAGCGAGCATGGCGGCGACGTTCAGAAATGGCTGTCTAGCC CATTTCCTAGCAGCAGCTTCAGCCCAGGTGGACTGGCCCCTG AGATTAGCCCTCTGGAAGTGCTGGAACGGGACAAAGTGACCC AGCTGCTCCTCCAGCAGGATAAGGTGCCAGAACCTGCCAGC CTGTCCAGCAATCACAGCCTGACCAGCTGCTTTACCAACCAG GGCTACTTCTTCTTCCATCTGCCTGACGCTCTGGAAATCGAG GCCTGCCAGGTGTACTTCACCTACGATCCCTACAGCGAAGAG GACCCCGATGAAGGTGTTGCTGGCGCCCCTACAGGATCTTCT CCACAGCCTCTGCAACCTCTGAGCGGCGAGGATGATGCCTAC TGCACCTTTCCAAGCAGGGACGACCTGCTCCTGTTCAGCCCA TCTCTGCTCGGAGGACCATCTCCTCCATCTACAGCTCCAGGC GGATCTGGCGCTGGCGAGGAAAGAATGCCACCTAGCCTGCA AGAGCGGGTGCCCAGAGATTGGGATCCTCAACCTCTCGGCC CTCCAACACCTGGCGTGCCAGATCTCGTGGACTTTCAGCCTC CTCCAGAGCTGGTGCTGAGAGAAGCTGGCGAAGAAGTGCCA GACGCTGGCCCTAGAGAGGGCGTTAGCTTTCCTTGGAGCAGA CCTCCTGGACAGGGCGAGTTTAGGGCCCTGAATGCAAGACTG CCTCTGAACACCGACGCCTACCTGTCTCTGCAAGAACTGCAG GGACAAGACCCCACACACCTGGTG （配列番号35）	NCRNTGPWLKKVLK CNTPDPSKFFSQLS SEHGGDVQKWLSSP FPSSSFSPGGLAPEI SPLEVLERDKVTQLL LQQDKVPEPASLSS NHSLTSCFTNQGYFF FHLPDALEIEACQVY FTYDPYSEEDPDEG VAGAPTGSSPQPLQ PLSGEDDAYCTFPS RDDLLLFSPSLLGGP SPPSTAPGGSGAGE ERMPPSLQERVPRD WDPQPLGPPTPGVP DLVDFQPPPELVLR EAGEEVPDAGPREG VSFPWSRPPGQGEF RALNARLPLNTDAYL SLQELQGQDPTHLV （配列番号36）
IL2RG細胞内ドメイン	GAACGGACCATGCCTCGGATCCCCACACTGAAGAACCTGGA AGATCTGGTCACCGAGTACCACGGCAACTTCAGTGCTTGGAG CGGCGTGTCAAAAGGACTGGCCGAAAGCCTGCAGCCTGACT ACTCCGAGAGACTGTGCCTGGTGTCTGAGATCCCTCCTAAAG GCGGCGCTCTCGGAGAAGGACCTGGTGCCTCTCCATGCAATC AGCACAGCCCTTATTGGGCCCCTCCTTGCTACACCCTGAAAC CTGAGACA （配列番号37）	ERTMPRIPTLKNLED LVTEYHGNFSAWSG VSKGLAESLQPDYS ERLCLVSEIPPKGGA LGEGPGASPCNQHS PYWAPPCYTLKPET （配列番号38）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
IL4RA細胞内ドメイン	AAGATTAAGAAAGAATGGTGGGATCAGATTCCCAACCCAGCC CGCAGCCGCCTCGTGGCTATAATAATCCAGGATGCTCAGGGG TCACAGTGGGAGAAGCGGTCCCGAGGCCAGGAACCAGCCAA GTGCCCACACTGGAAGAATTGTCTTACCAAGCTCTTGCCCTG TTTTCTGGAGCACAACATGAAAAGGGATGAAGATCCTCACAA GGCTGCCAAAGAGATGCCTTTCCAGGGCTCTGGAAAATCAGC ATGGTGCCCAGTGGAGATCAGCAAGACAGTCCTCTGGCCAGA GAGCATCAGCGTGGTGCGATGTGTGGAGTTGTTTGAGGCCCC GGTGGAGTGTGAGGAGGAGGAGGAGGTAGAGGAAGAAAAAG GGAGCTTCTGTGCATCGCCTGAGAGCAGCAGGGATGACTTCC AGGAGGGAAGGGAGGGCATTGTGGCCCGGCTAACAGAGAGC CTGTTCCTGGACCTGCTCGGAGAGGAGAATGGGGGCTTTTGC CAGCAGGACATGGGGGAGTCATGCCTTCTTCCACCTTCGGGA AGTACGAGTGCTCACATGCCCTGGGATGAGTTCCCAAGTGCA GGGCCCAAGGAGGCACCTCCCTGGGGCAAGGAGCAGCCTCT CCACCTGGAGCCAAGTCCTCCTGCCAGCCCGACCCAGAGTC CAGACAACCTGACTTGCACAGAGACGCCCCTCGTCATCGCAG GCAACCCTGCTTACCGCAGCTTCAGCAACTCCCTGAGCCAGT CACCGTGTCCCAGAGAGCTGGGTCCAGACCCACTGCTGGCC AGACACCTGGAGGAAGTAGAACCCGAGATGCCCTGTGTCCC CCAGCTCTCTGAGCCAACCACTGTGCCCCAACCTGAGCCAGA AACCTGGGAGCAGATCCTCCGCCGAAATGTCCTCCAGCATGG GGCAGCTGCAGCCCCCGTCTCGGCCCCCACCAGTGGCTATC AGGAGTTTGTACATGCGGTGGAGCAGGGTGGCACCCAGGCC AGTGCGGTGGTGGGCTTGGGTCCCCCAGGAGAGGCTGGTTA CAAGGCCTTCTCAAGCCTGCTTGCCAGCAGTGCTGTGTCCCC AGAGAAATGTGGGTTTGGGGCTAGCAGTGGGGAAGAGGGGT ATAAGCCTTTCCAAGACCTCATTCCTGGCTGCCCTGGGGACC CTGCCCCAGTCCCTGTCCCCTTGTTCACCTTTGGACTGGACA GGGAGCCACCTCGCAGTCCGCAGAGCTCACATCTCCCAAGC AGCTCCCCAGAGCACCTGGGTCTGGAGCCGGGGGAAAAGGT AGAGGACATGCCAAAGCCCCCACTTCCCCAGGAGCAGGCCA CAGACCCCCTTGTGGACAGCCTGGGCAGTGGCATTGTCTACT CAGCCCTTACCTGCCACCTGTGCGGCCACCTGAAACAGTGTC ATGGCCAGGAGGATGGTGGCCAGACCCCTGTCATGGCCAGT CCTTGCTGTGGCTGCTGCTGTGGAGACAGGTCCTCGCCCCCT ACAACCCCCCTGAGGGCCCCAGACCCCTCTCCAGGTGGGGT TCCACTGGAGGCCAGTCTGTGTCCGGCCTCCCTGGCACCCTC GGGCATCTCAGAGAAGAGTAAATCCTCATCATCCTTCCATCC TGCCCCTGGCAATGCTCAGAGCTCAAGCCAGACCCCCAAAAT CGTGAACTTTGTCTCCGTGGGACCCACATACATGAGGGTCTC T （配列番号39）	KIKKEWWDQIPNPA RSRLVAIIIQDAQGS QWEKRSRGQEPAK CPHWKNCLTKLLPC FLEHNMKRDEDPHK AAKEMPFQGSGKSA WCPVEISKTVLWPE SISVVRCVELFEAPV ECEEEEEVEEEKGS FCASPESSRDDFQE GREGIVARLTESLFL DLLGEENGGFCQQD MGESCLLPPSGSTS AHMPWDEFPSAGPK EAPPWGKEQPLHLE PSPPASPTQSPDNL TCTETPLVIAGNPAY RSFSNSLSQSPCPR ELGPDPLLARHLEEV EPEMPCVPQLSEPT TVPQPEPETWEQILR RNVLQHGAAAAPVS APTSGYQEFVHAVE QGGTQASAVVGLGP PGEAGYKAFSSLLA SSAVSPEKCGFGAS SGEEGYKPFQDLIPG CPGDPAPVPVPLFTF GLDREPPRSPQSSH LPSSSPEHLGLEPG EKVEDMPKPPLPQE QATDPLVDSLGSGIV YSALTCHLCGHLKQ CHGQEDGGQTPVMA SPCCGCCCGDRSSP PTTPLRAPDPSPGG VPLEASLCPASLAPS GISEKSKSSSSFHPA PGNAQSSSQTPKIV NFVSVGPTYMRVS （配列番号40）
IL7RA細胞内ドメイン	AAGAAGCGGATCAAGCCCATCGTGTGGCCCAGCCTGCCTGA CCACAAGAAAACCCTGGAACACCTGTGCAAGAAGCCCCGGA AGAACCTGAACGTGTCCTTCAATCCCGAGAGCTTCCTGGACT GCCAGATCCACAGAGTGGACGACATCCAGGCCAGGGACGAA GTGGAAGGCTTTCTGCAGGACACATTCCCTCAGCAGCTGGAA GAGAGCGAGAAGCAGAGACTCGGAGGCGACGTGCAGAGCCC TAATTGCCCTTCTGAGGACGTCGTGATCACCCCTGAGAGCTT CGGCAGAGATAGCAGCCTGACATGTCTGGCCGGCAATGTGTC CGCCTGTGATGCCCCTATCCTGAGCAGCAGCAGAAGCCTGGA TTGCAGAGAGAGCGGCAAGAACGGCCCTCACGTGTACCAGG ATCTGCTCCTGAGCCTGGGAACCACCAATAGCACACTGCCTC CACCATTCAGCCTGCAGAGCGGCATCCTGACACTGAACCCTG TTGCTCAGGGCCAGCCAATCCTGACCAGCCTGGGCAGCAATC AAGAAGAGGCCTACGTCACCATGAGCAGCTTCTACCAGAACC AG （配列番号41）	KKRIKPIVWPSLPDH KKTLEHLCKKPRKN LNVSFNPESFLDCQI HRVDDIQARDEVEG FLQDTFPQQLEESE KQRLGGDVQSPNCP SEDVVITPESFGRDS SLTCLAGNVSACDA PILSSSRSLDCRESG KNGPHVYQDLLLSL GTTNSTLPPPFSLQS GILTLNPVAQGQPILT SLGSNQEEAYVTMS SFYQNQ （配列番号42）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
IL9R細胞内ドメイン	AAGCTGTCACCTAGAGTGAAGCGCATATTCTATCAGAATGTG CCCAGCCCTGCGATGTTCTTCCAGCCATTGTATAGCGTACAC AATGGCAATTTCCAGACCTGGATGGGCGCCCACGGAGCTGGT GTTTTGTTGTCTCAAGATTGTGCAGGGACGCCCCAAGGCGCG TTGGAGCCTTGTGTCCAGGAAGCAACCGCTCTTCTCACATGT GGCCCTGCTAGGCCATGGAAAAGCGTGGCTTTGGAGGAGGA GCAAGAGGGCCCAGGCACGAGACTTCCAGGAAACCTCTCCA GCGAGGACGTTCTGCCCGCTGGATGCACAGAATGGCGAGTG CAGACGCTGGCTTATTTGCCTCAGGAGGACTGGGCCCCAACA AGCCTTACCAGACCCGCGCCACCAGATTCAGAGGGAAGCCG ATCCAGTTCTAGCTCCTCATCAAGCAACAATAACAATTATTGC GCTCTGGGATGTTATGGTGGATGGCACTTGAGCGCGTTGCCA GGCAACACGCAATCATCTGGTCCCATACCCGCGCTTGCATGC GGACTGAGTTGCGACCATCAGGGTCTCGAAACTCAGCAAGGT GTTGCGTGGGTCCTGGCGGGTCATTGCCAAAGACCTGGCCTG CACGAGGATCTTCAGGGAATGCTTTTGCCAAGTGTGCTCTCC AAGGCTCGATCTTGGACGTTC （配列番号４３）	KLSPRVKRIFYQNVP SPAMFFQPLYSVHN GNFQTWMGAHGAG VLLSQDCAGTPQGA LEPCVQEATALLTCG PARPWKSVALEEEQ EGPGTRLPGNLSSE DVLPAGCTEWRVQT LAYLPQEDWAPTSL TRPAPPDSEGSRSS SSSSSSNNNNYCAL GCYGGWHLSALPGN TQSSGPIPALACGLS CDHQGLETQQGVAW VLAGHCQRPGLHED LQGMLLPSVLSKAR SWTF （配列番号４４）
IL15RA細胞内ドメイン	AAGTCCAGACAGACACCTCCTCTGGCCAGCGTGGAAATGGAA GCCATGGAAGCTCTGCCAGTGACCTGGGGCACCTCCAGCAG AGATGAGGATCTGGAAAACTGCAGCCACCACCTGTGATGA （ 配列番号４５）	KSRQTPPLASVEME AMEALPVTWGTSSR DEDLENCSHHL （配列番号４６）
IL21R細胞内ドメイン	AGCCTGAAAACACACCCTCTGTGGCGGCTGTGGAAGAAAATC TGGGCCGTGCCATCTCCTGAGCGGTTCTTCATGCCTCTGTAC AAGGGCTGCAGCGGCGACTTCAAGAAATGGGTCGGAGCCCC TTTTACCGGCAGCTCTCTGGAACTTGGACCTTGGAGCCCTGA AGTGCCCAGCACACTGGAAGTGTACAGCTGTCACCCTCCTAG AAGCCCCGCCAAGAGACTGCAGCTCACAGAGCTGCAAGAGC CTGCCGAGCTGGTGGAATCTGATGGCGTGCCCAAGCCTAGCT TCTGGCCCACCGCTCAAAATTCTGGCGGCAGCGCCTACAGCG AGGAAAGAGATAGACCTTACGGCCTGGTGTCCATCGACACCG TGACAGTGCTGGATGCCGAGGGACCTTGTACCTGGCCTTGTA GCTGCGAGGACGATGGCTACCCTGCTCTGGATCTGGACGCAG GACTGGAACCTTCTCCAGGCCTCGAAGATCCTCTGCTGGACG CCGGAACAACAGTGCTGTCTTGTGGCTGTGTGTCCGCCGGAT CTCCTGGACTTGGAGGACCTCTGGGAAGCCTGCTGGACAGAC TGAAACCTCCTCTGGCCGATGGCGAAGATTGGGCTGGTGGAC TTCCTTGGGGCGGAAGATCTCCAGGCGGAGTGTCTGAATCTG AGGCCGGTTCTCCACTGGCCGGCCTGGATATGGATACCTTCG ATAGCGGCTTCGTGGGCAGCGATTGCAGCAGCCCTGTGGAAT GCGACTTCACATCTCCTGGCGACGAGGGCCCACCTAGAAGCT ATCTCAGACAGTGGTCGTGATCCCTCCACCTCTGTCTAGTCCT GGACCACAGGCCAGC （配列番号４７）	SLKTHPLWRLWKKI WAVPSPERFFMPLY KGCSGDFKKWVGAP FTGSSLELGPWSPE VPSTLEVYSCHPPR SPAKRLQLTELQEP AELVESDGVPKPSF WPTAQNSGGSAYSE ERDRPYGLVSIDTVT VLDAEGPCTWPCSC EDDGYPALDLDAGL EPSPGLEDPLLDAG TTVLSCGCVSAGSP GLGGPLGSLLDRLK PPLADGEDWAGGLP WGGRSPGGVSESEA GSPLAGLDMDTFDS GFVGSDCSSPVECD FTSPGDEGPPRSYL RQWVVIPPPLSSPG PQAS （配列番号４８）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
CD8ヒンジ	ACAACAACCCCTGCTCCTCGGCCTCCTACACCAGCTCCTAC AATTGCCAGCCAGCCACTGTCTCTGAGGCCCGAAGCTTGTA GACCTGCTGCAGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTGGA CTTCGCCTGTGAC （配列番号49）	TTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLD FACD （配列番号50）
抗フルオレセインscFv 4M5.4	GACGTGGTCATGACACAGACCCCTCTGTCTCTGCCTGTGTCT CTGGGAGATCAGGCCAGCATCAGCTGCAGATCTAGCCAGAG CCTGGTGCACAGCAACGGCAACACCTACCTGCGGTGGTATCT GCAGAAGCCCGGCCAGTCTCCTAAGGTGCTGATCTACAAGGT GTCCAACAGAGTGTCCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAG CGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAATAGAGTGGA AGCCGAGGACCTGGGCGTGTACTTCTGTAGCCAGTCTACCCA CGTGCCATGGACCTTTGGCGGCGGAACAAAGCTGGAAATCAA GAGCAGCGCCGACGACGCCAAGAAGGACGCCGCTAAGAAGG ATGACGCCAAAAAAGACGATGCCAAAAAGGATGGCGGCGTG AAGCTGGACGAAACAGGCGGAGGACTTGTTCAGCCTGGCGG AGCCATGAAGCTGAGCTGTGTGACCAGCGGCTTCACCTTCGG CCACTACTGGATGAACTGGGTCCGACAGAGCCCTGAGAAAG GCCTGGAATGGGTCGCCCAGTTCAGAAACAAGCCCTACAACT ACGAAACCTACTACAGCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCA TCAGCCGGGACGACAGCAAGTCCAGCGTGTACCTGCAGATG AACAACCTGCGCGTGGAAGATACCGGCATCTACTACTGTACC GGCGCCAGCTACGGCATGGAATATCTCGGCCAGGGCACCAG CGTGACCGTGTCT （配列番号51）	DVVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQS LVHSNGNTYLRWYL QKPGQSPKVLIYKVS NRVSGVPDRFSGSG SGTDFTLKINRVEAE DLGVYFCSQSTHVP WTFGGGTKLEIKSSA DDAKKDAAKKDDAK KDDAKKDGGVKLDE TGGGLVQPGGAMKL SCVTSGFTFGHYWM NWVRQSPEKGLEW VAQFRNKPYNYETYY SDSVKGRFTISRDDS KSSVYLQMNNLRVE DTGIYYCTGASYGME YLGQGTSVTVS （配列番号52）
抗MPOB scFv	CAAGTGCGGCTGCAAGAGTCTGGACCTAGCCTGGTCAAGCCC AGCCAGACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGC CTGACCAACTACTATGTCGGCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGA AAAGCTCTTGAGTGGGTCGGAGTGATGGATAGCGGCGGAGG CACCTACTACAACCCCGCTCTGAAAAGCCGGCTGAGCATCAC CAGAGACACCAGCAAGTCTCAGGTGTCCCTGAGCCTGTCTAG CGTGACCACAGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGCTT CAGCTTCGGCAGAGACTGGAATTATTGGGGCCCTGGCCTGCT GCTGACAATCCCTTCTGAGGGCAAGTCTAGCGGCAGCGGCTC TGAGAGCAAGGTGGACAGCTATGAGCTGACCCAGCCTAGCA GCGTGTCCAGATCTCTGGGCCAGTCCGTGTCCATCACCTGTA GCGGAAGCAGCAGCAATGTCGGCTACGGCAATTACGTCGGCT GGTTCCAGCAGGTCCCAGGCTCTGCTCCTAAGCTGCTGATCT ACGACGCCACCTCTAGAGCCAGCGGCGTGCCAGATAGATTCA GCGGCAGCAGAAGCAGCAACACCGCCACACTGACAATCAGC AGTCTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGATTACTATTGTGCCCAC TGGGACAGCAGCGCCAATATCGCCATCTTTGGCTCCGGCAGC AGGCTGACAGTTCTGGGA （配列番号53）	QVRLQESGPSLVKP SQTLSLTCTVSGFSL TNYYVGWVRQAPGK ALEWVGVMDSGGGT YYNPALKSRLSITRD TSKSQVSLSLSSVTT EDTAVYYCASFSFGR DWNYWGPGLLLTIP SEGKSSGSGSESKV DSYELTQPSSVSRS LGQSVSITCSGSSSN VGYGNYVGWFQQVP GSAPKLLIYDATSRA SGVPDRFSGSRSSN TATLTISSLQAEDEA DYYCAHWDSSANIAI FGSGSRLTVLG （配列番号54）

ドメイン	DNA配列	アミノ酸配列
抗アントラキノンscFv	CAAGTTCGGCTGCAAGGCTCTGGACCTAGCCTGGTCAAGCCT AGCCAGACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGTCCGGCTTCAGC CTGACAAGCAACGCTGTGGACTGGGTCCGACAGGCTCCTGG AAAAGTGCCTGAGTGGCTGGGCTTCATCAGAGGCGGCGGAA GCACCTTCTACAACAGCGCCCTGAAGTCCAGACTGAGCATCA CCAGAGACACCAGCAAGAGCCAGGTGTCCCTGAGCCTGTCTA GCGTGACCACAGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGA GCCAGCTGTAGCGGCGACATCTACACAGACACCTGTGGCATC GACTACTGGGGCCCTGGACTGCTGGTTACCGTTAGCTCTGAG GGCAAGTCTAGCGGCAGCGGAAGCGAGAGCAAAGTGGACCA GTCTGCCCTGACACAGCCTAGCAGCGTGTCCAGATCTCTGGG CCAGTCCGTGTCCATCACCTGTTCTGGCAGCAGCTCTAACGT CGGCGCTGGCAACTACGTGAACTGGTTCAGACTGATCCCTGG CAGCGCCCCTAAGAGCCTGATCTACGCTGCCACAACAAGAG CCTCTGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGCTCTAGAAGCGGCA ACACCGCCACACTGACAATCAGCAGTCTGCAGGCCGAGGAC GAGGCCGACTACTACTGTAGCAGCTACGACATCACAGCCGTG AACCTGTTCGGCTCCGGCACCAGACTGACAGTTCTTGGA （配列番号55）	QVRLQGSGPSLVKP SQTLSLTCTVSGFSL TSNAVDWVRQAPGK VPEWLGFIRGGGSTF YNSALKSRLSITRDT SKSQVSLSLSSVTT EDTAVYYCARASCS GDIYTDTCGIDYWGP GLLVTVSSEGKSSG SGSESKVDQSALTQ PSSVSRSLGQSVSIT CSGSSSNVGAGNYV NWFRLIPGSAPKSLI YAATTRASGVPDRF SGSRSGNTATLTISS LQAEDEADYYCSSY DITAVNLFGSGTRLT VLG （配列番号56）
抗DOTA scFv	GCCTCTCACGTGAAGCTGCAAGAGTCTGGACCTGGCCTGGTG CAGCCTAGCCAAAGCCTGTCTCTGACCTGTACCGTGTCCGGC TTCAGCCTGACAGATTACGGCGTGCACTGGGTCCGACAGAGC CCTGGAAAAGGACTGGAATGGCTGGGAGTGATTTGGAGCGGC GGAGGCACAGCCTATAACACAGCCCTGATCAGCAGACTGAA CATCTACCGGGACAACAGCAAGAACCAGGTGTTCCTGGAAAT GAACTCCCTGCAGGCCGAGGACACCGCCATGTACTACTGTGC CAGAAGAGGCAGCTACCCCTACAACTACTTCGACGCCTGGGG CTGTGGCACCACCGTGACAGTTTCTAGCGGAGGCGGAGGATC TGGTGGCGGAGGTAGTGGTGGCGGTGGATCTCAGGCCGTGG TCATCCAAGAAAGCGCCCTGACAACACCTCCTGGCGAGACA GTGACACTGACCTGTGGATCTTCTACAGGCGCCGTGACCGCC AGCAACTACGCCAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACTG CTTCACAGGCCTGATCGGCGGCCACAACAATAGACCTCCAGG CGTGCCAGCCAGATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGC CGCTCTGACAATCGCCGGCACACAGACAGAGGACGAGGCCA TCTACTTTTGCGCCCTGTGGTACAGCGACCACTGGGTTATCG GCGGAGGAACCAGACTGACAGTGCTCGGCGGATCTGAGCAG AAGCTGATCTCCGAAGAGGACCTG （配列番号57）	ASHVKLQESGPGLV QPSQSLSLTCTVSG FSLTDYGVHWVRQS PGKGLEWLGVIWSG GGTAYNTALISRLNIY RDNSKNQVFLEMNS LQAEDTAMYYCARR GSYPYNYFDAWGCG TTVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQAVVIQ ESALTTPPGETVTLT CGSSTGAVTASNYA NWVQEKPDHCFTGL IGGHNNRPPGVPAR FSGSLIGDKAALTIA GTQTEDEAIYFCALW YSDHWVIGGGTRLTV LGGSE QKLISEEDL （配列番号58）

【００４３】

シグナルペプチドは、新生タンパク質を小胞体に向かわせる。いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチに含まれるシグナルペプチドは、インターロイキン－２受容体アルファ鎖（ＩＬ－２ＲＡ）、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９Ｒ、ＩＬ－１５ＲＡ、若しくはＩＬ－２１Ｒの天然型のものであるか、又はそれらに由来する。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＣＤ８の天然型のもの、すなわち、ＣＤ８シグナルペプチドである。いくつかの実施形態では、シグナルペプチド及び細胞内ドメインは、同じサイトカイン受容体の天然型のものである。いくつかの実施形態では、シグナルペプチド及び細胞内ドメインは、異なるサイトカイン受容体の天然型のものである。

【００４４】

いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－２ＲＡの天然型のものであり、配列番号１の核酸配列及び配列番号２のアミノ酸配列を有する。

【００４５】

いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－２ＲＢの天然型のものであり、配列番号３の核酸配列及び配列番号４のアミノ酸配列を有する。

【００４６】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－２ＲＧの天然型のものであり、配列番号５の核酸配列及び配列番号６のアミノ酸配列を有する。
【００４７】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－４ＲＡの天然型のものであり、配列番号７の核酸配列及び配列番号８のアミノ酸配列を有する。
【００４８】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－７ＲＡの天然型のものであり、配列番号９の核酸配列及び配列番号１０のアミノ酸配列を有する。
【００４９】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－９Ｒの天然型のものであり、配列番号１１の核酸配列及び配列番号１２のアミノ酸配列を有する。
【００５０】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－１５ＲＡの天然型のものであり、配列番号１３の核酸配列及び配列番号１４のアミノ酸配列を有する。
【００５１】
いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、ＩＬ－２１Ｒの天然型のものであり、配列番号１５の核酸配列及び配列番号１６のアミノ酸配列を有する。
【００５２】
ｓｃＦｖは、合成小分子に結合している。本明細書で使用される「合成小分子」という用語は、単官能性であり、サイズが約５０～約１０，０００ダルトン、通常は約５０～約５０００ダルトン、より通常は約１００～約１０００ダルトンの範囲である、有機分子又は化合物を指す。
【００５３】
合成小分子の代表的な例としては、フルオレセイン及びフルオレセイン誘導体（例えば、ＦＩＴＣ、５－カルボキシフルオレセイン、６－カルボキシフルオレセイン、５／６－カルボキシフルオレセイン、ＮＨＳ－フルオレセイン（５（６）－カルボキシフルオレセインＮ－ヒドロキシスクシンイミドエステル）、５－（ヨードアセトアミド）フルオレセイン、５－（［４，６－ジクロロトリアジン－２－イル］アミノ）フルオレセイン塩酸塩、５－（ブロモメチル）フルオレセイン、及びフルオレセイン５－カルバモイルメチルチオプロパン酸）、４－［（６－メチルピラジン－２－イル）オキシ］ベンゾエート（ＭＰＯＢ）、アントラキノン－２－カルボキシレート（ＡＱ）、及びテトラキセタン（ＤＯＴＡ）が挙げられる。いくつかの実施形態では、合成小分子は、ポリマーであり、ポリマーは、モノポリマー、ヘテロポリマー、又は分岐ポリマーである。ポリマー合成小分子の代表的な例は、約６～約９個のヒスチジン（Ｈｉｓ）残基を有するポリヒスチジンタグ（Ｈｉｓタグ）である。例示的な６Ｈｉｓタグは、約８００ダルトンの分子量を有する。
【００５４】
いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、フルオレセイン及びフルオレセイン誘導体、４－［（６－メチルピラジン－２－イル）オキシ］ベンゾエート（ＭＰＯＢ）、アントラキノン－２－カルボキシレート（ＡＱ）、テトラキセタン（ＤＯＴＡ）、ポリヒスチジンタグ（Ｈｉｓタグ）である合成小分子に結合する。
【００５５】
この合成小分子は、実質的に非免疫原性である。いくつかの実施形態では、合成小分子は、非免疫原性であり、その結果、それ単独で動物に注射された場合、その動物に抗体又はそれに対して反応性のＴ細胞を産生させない。いくつかの実施形態では、合成小分子は、動物においてＩｇＭ抗体を生成するが、抗体クラススイッチを引き起こさない。いくつかの実施形態では、合成小分子は、合成小分子が中和されることなく１つ以上のサイトカイン受容体スイッチに依然として結合し得るように、動物において低レベルの抗体を生成する。いくつかの実施形態では、合成小分子は、顕著な免疫応答を生じない。「顕著な免疫」応答は、本開示の教示に従って使用される合成小分子のインビボ有用性を限定又は制

限する任意の免疫応答である。
【００５６】
フルオレセインに結合するｓｃＦｖの代表的な例は、配列番号５１の核酸配列及び配列番号５２のアミノ酸配列を有する。
【００５７】
ＭＰＯＢに結合するｓｃＦｖの代表的な例は、配列番号５３の核酸配列及び配列番号５４のアミノ酸配列を有する。
【００５８】
ＡＱに結合するｓｃＦｖの代表的な例は、配列番号５５の核酸配列及び配列番号５６のアミノ酸配列を有する。
【００５９】
ＤＯＴＡに結合するｓｃＦｖの代表的な例は、配列番号５７の核酸配列及び配列番号５８のアミノ酸配列を有する。
【００６０】
膜貫通（transmembrane、ＴＭ）ドメインは、サイトカイン受容体スイッチが免疫細胞の細胞膜に安定的に固定されることを可能にする。膜貫通ドメインは、サイトカイン受容体スイッチの他のドメインが由来する同じタンパク質又は異なるタンパク質に由来し得る。膜貫通ドメインは、天然由来又は組換え由来に由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。
【００６１】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９ＲＡ、ＩＬ－１５ＲＡ、又はＩＬ－２１Ｒに由来する。
【００６２】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２ＲＡに由来し、配列番号１７の核酸配列及び配列番号１８のアミノ酸配列を有する。
【００６３】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２ＲＢに由来し、配列番号１９の核酸配列及び配列番号２０のアミノ酸配列を有する。
【００６４】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２ＲＧに由来し、配列番号２１の核酸配列及び配列番号２２のアミノ酸配列を有する。
【００６５】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－４ＲＡに由来し、配列番号２３の核酸配列及び配列番号２４のアミノ酸配列を有する。
【００６６】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－７ＲＡに由来し、配列番号２５の核酸配列及び配列番号２６のアミノ酸配列を有する。
【００６７】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－９Ｒに由来し、配列番号２７の核酸配列及び配列番号２８のアミノ酸配列を有する。
【００６８】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－１５ＲＡに由来し、配列番号２９の核酸配列及び配列番号３０のアミノ酸配列を有する。
【００６９】
いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２１Ｒに由来し、配列番号３１の核酸配列及び配列番号３２のアミノ酸配列を有する。
【００７０】
サイトカイン受容体スイッチは、ｓｃＦｖに間接的に連結されている膜貫通ドメインを含むように設計することができる。かかる実施形態では、膜貫通ドメインは、ヒンジドメ

インを介してｓｃＦｖに結合している。本明細書で使用される場合、「ヒンジドメイン」という用語は、細胞外結合ドメインを膜貫通ドメインに連結し、細胞外結合ドメインに柔軟性を付与し得るドメインを指す。いくつかの実施形態では、ヒンジドメインは、細胞外ドメインを免疫細胞の原形質膜の近くに配置して、抗体又はその結合断片による認識の可能性を最小限にする。ヒンジドメインは、天然（例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジ）又は合成であり得る。ヒンジドメインの供給源としては、ヒトＩｇ（免疫グロブリン）ヒンジ（例えば、ＩｇＧ４ヒンジ、ＩｇＤヒンジ）、及びＣＤ８（例えば、ＣＤ８αヒンジ）が挙げられる。

【００７１】

いくつかの実施形態では、ヒンジドメインは、表面抗原分類８（ＣＤ８）に由来する。

【００７２】

いくつかの実施形態では、ヒンジドメインペプチドは、配列番号４９の核酸配列及び配列番号５０のアミノ酸配列を有する。

【００７３】

本明細書で使用される場合、「細胞内ドメイン」という用語は、Ｔ細胞などの免疫細胞に、例えば、活性化、増殖、分化、及び／又はサイトカイン分泌などの細胞応答を媒介するシグナルを提供するシグナル伝達部分を指す。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＩＬ－２ＲＡ、ＩＬ－２ＲＢ、ＩＬ－２ＲＧ、ＩＬ－４ＲＡ、ＩＬ－７ＲＡ、ＩＬ－９ＲＡ、ＩＬ－１５ＲＡ、若しくはＩＬ－２１Ｒの天然型のものであるか、又はそれらに由来する。

【００７４】

いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＩＬ－２ＲＡに由来し、配列番号３３の核酸配列及び配列番号３４のアミノ酸配列を有する。

【００７５】

いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、ＩＬ－２ＲＢに由来し、配列番号３５の核酸配列及び配列番号３６のアミノ酸配列を有する。

【００７６】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２ＲＧに由来し、配列番号３７の核酸配列及び配列番号３８のアミノ酸配列を有する。

【００７７】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－４ＲＡに由来し、配列番号３９の核酸配列及び配列番号４０のアミノ酸配列を有する。

【００７８】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－７ＲＡに由来し、配列番号４１の核酸配列及び配列番号４２のアミノ酸配列を有する。

【００７９】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－９Ｒに由来し、配列番号４３の核酸配列及び配列番号４４のアミノ酸配列を有する。

【００８０】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－１５ＲＡに由来し、配列番号４５の核酸配列及び配列番号４６のアミノ酸配列を有する。

【００８１】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインペプチドは、ＩＬ－２１Ｒに由来し、配列番号４７の核酸配列及び配列番号４８のアミノ酸配列を有する。

【００８２】

代表的なサイトカイン受容体スイッチには、上記で開示したシグナルペプチド、ｓｃＦｖ、膜貫通ドメイン、ヒンジドメイン及び細胞内ドメインの配列の組み合わせが含まれる。

【００８３】

いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチは、ＩＬ－２ＲＢシグナルペプ

チド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＢ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＢ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチは、ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、ＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチは、ＩＬ－７ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－７ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－７ＲＡ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチは、ＩＬ－１５ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－１５ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－１５ＲＡ細胞内ドメインを含む。

【００８４】

いくつかの実施形態では、本開示のサイトカイン受容体スイッチは、抗フルオレセイン－ＩＬ２－ＲＡサイトカイン受容体スイッチであり、以下のアミノ酸配列（配列番号５９）を有する：

```
  1 mdsyllmwgl ltfimvpgcq advvmtqtpl slpvslgdqa siscrssqsl vhsngntylr
 61 wylqkpgqsp kvliykvsnr vsgvpdrfsg sgsgtdftlk inrveaedlg vyfcsqsthv
121 pwtfgggtkl eikssaddak kdaakkddak kddakkdggv kldetggglv qpggamklsc
181 vtsgftfghy wmnwvrqspe kglewvaqfr nkpynyetyy sdsvkgrfti srddskssvy
241 lqmnnlrved tgiyyctgas ygmeylgqgt svtvstttpa prpptpapti asqplslrpe
301 acrpaaggav htrgldfacd vavagcvfll isviilsglt wqrrqrksrr ti
```

。

【００８５】

本発明のサイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞

いくつかの態様では、本開示は、サイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも１つの核酸を含む免疫細胞を含む組成物に関する。本開示において有用な免疫細胞は、哺乳動物、好ましくは霊長類の免疫細胞、例えばサル及びヒト由来の免疫細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、ＮＫ細胞である。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、レシピエント対象と同種異系であり（同じ種に由来するが、異なるドナーに由来する）、いくつかの実施形態では、免疫細胞は、自己由来であり（ドナー及びレシピエントは同じである）、いくつかの実施形態では、免疫細胞は、同系である（ドナー及びレシピエントは異なるが、一卵性双生児である）。ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞は、養子がん免疫療法のための重要なエフェクター細胞型である。Ｔ細胞と同様に、いくつかの実施形態では、本開示において有用なＮＫ細胞は、同種異系、自己、又は同系である。例えば、いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、ＣＤ８$^{+}$又はＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、ＮＫ細胞は、ＣＤ５６^{dim}ＣＤ１６$^{+}$ＮＫ細胞である。いくつかの実施形態では、ＮＫ細胞は、ＣＤ５６^{bright}ＣＤ１６$^{-}$ＮＫ細胞である。いくつかの実施態様において、ＮＫ細胞は、初代ＮＫ細胞、メモリー様ＮＫ細胞、又は誘導メモリー様ＮＫ細胞である。組成物は、核酸によってコードされる同じ又は異なるサイトカイン受容体スイッチを含む２つ以上のタイプの免疫細胞の組み合わせを含み得る。

【００８６】

いくつかの実施形態では、組成物は、配列番号５９のアミノ酸配列を有する抗フルオレセイン－ＩＬ２－ＲＡサイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞を含む。

【００８７】

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、少なくとも２つのサイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも２つの核酸を含み、それぞれのシグナルペプチド、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインのうちの少なくとも１つは異なる。

【００８８】

例えば、いくつかの実施形態では、少なくとも２つのサイトカイン受容体スイッチは、異なるｓｃＦｖを含む。

【００８９】
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、少なくとも２つのサイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも２つの核酸を含み、核酸は、
ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、ＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む第１のサイトカインスイッチと、
ＩＬ－７ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－７ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－７ＲＡ細胞内ドメインを含む第２のサイトカインスイッチと
をコードする。
【００９０】
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、少なくとも３つのサイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも３つの核酸を含み、それぞれのシグナルペプチド、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインのうちの少なくとも１つは異なる。
【００９１】
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、
ＩＬ－２ＲＢシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＢ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＢ細胞内ドメインを含む第１のサイトカインスイッチ、
ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む第２のサイトカインスイッチ、並びに、
ＩＬ－１５ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－１５ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－１５ＲＡ細胞内ドメインを含む第３のサイトカインスイッチを含む少なくとも３つのサイトカイン受容体スイッチをコードする少なくとも３つの核酸を含む。
【００９２】
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell、ｉＰＳＣ）、臍帯血、又は末梢血単核細胞（peripheral blood mononuclear cell、ＰＢＭＣ）に由来する。ｉＰＳＣの前駆体採取、生成、及び維持は、当技術分野において既知である。例えば、米国特許第９，２６０，６９６号、同第１０，２１４，７２２号、同第１０，４２８，３０９号、同第１０，８４４，３５６号、及び同第１１，１９３，１０８号を参照のこと。ｉＰＳＣと同様に、臍帯血から幹細胞を採取、生成、及び維持するための方法も、当技術分野において既知である。米国特許第６，３３８，９４２号、同第７，３１１，９０５号、同第８，８８９，４１１号及び同第９，２６０，６９６号を参照のこと。同様に、ＰＢＭＣから免疫細胞を採取、生成、及び維持するための方法も、当技術分野において既知である。米国特許第９，４７６，０２８号、同第１１，１６２，０７２号、同第１１，２２９，６８９号及び米国特許公開第２０１７／００５１２５２号を参照のこと。Ｔ細胞及びＮＫ細胞を前駆細胞、多能性細胞又は幹細胞から所望の細胞サブセットに分化及び単離するための方法は、当技術分野において既知である。
【００９３】
キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－免疫細胞
いくつかの実施形態では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－免疫細胞（例えば、ＣＡＲ－Ｔ細胞）であり、細胞表面抗原に対するＣＡＲも含有する（図１Ｂ、図４）。
【００９４】
本明細書で使用される「キメラ抗原受容体」（ＣＡＲ）という用語は、疾患又は障害に関連する細胞抗原（「細胞関連抗原」）に結合しかつスペーサードメインを介してＴ細胞の細胞内ドメインに連結される、抗体若しくはその結合断片、ナノボディ又は他のタンパク質配列を含む細胞外結合ドメインを含む、合成的に設計された受容体を指す。スペーサードメインは、膜貫通ドメインを含み、いくつかの実施形態ではヒンジドメインを含む。
【００９５】
細胞外結合ドメイン

本明細書で使用される場合、細胞外結合ドメインは、標的抗原、すなわち腫瘍関連抗原などの細胞表面抗原に特異的に結合する部分である。細胞外結合ドメインは、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、又はペプチドを含み得る。細胞外結合ドメインは、天然に存在するもの、合成、半合成、又は組換え産生されたものであってもよい。

【００９６】

いくつかの実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍細胞上の細胞関連抗原（「腫瘍関連抗原」（tumor associated antigen、ＴＡＡ））に結合する。

【００９７】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲの細胞外結合ドメインは、抗体の一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）である（上で定義したとおり）。

【００９８】

ＣＡＲのコンポーネントとして有用であり得る、細胞関連抗原に対する特異性を有する他のタイプの抗体断片としては、Ｆｖ、Ｆａｂ、及び（Ｆａｂ）$_2$断片が含まれる。例えば、米国特許第４，９４６，７８８号を参照。

【００９９】

かかる細胞外結合ドメインの代表例を表２に示す。

【０１００】

（表２）

TAA	標的指向部分	給源
ACVR1	mAb C－5	Santa Cruz Biotechnology
ALK	抗体又はその断片	Mino－Kenudson et al., Clin. Cancer Res. 16(5):1561－1571(2010)
B7H3(CD276としても知られる)	MGA271	Macrogenics
BCMA	抗体又はその断片、ベランタマブ(MMAF分裂促進剤とコンジュゲートした抗BCMA抗体)、抗BCMA抗体J6M0(ベランタマブバイオシミラー)。	Friedman et al., Hum. Gene Ther. 29(5):585－601(2018)、Raje et al., N Engl. J. Med., 380(18):1726－1737(2019)、国際公開第2010104949(A2)号及び国際公開第2003014294(A2)号、Abeomics
BST2(CD317としても知られる)	抗CD317抗体、モノクローナル[3H4]	Antibodies－Online
BST2(CD317としても知られる)	抗CD317抗体、モノクローナル[696739]	R&D Systems
CAIX	抗体クローン303123	R&D Systems
CEA	抗体又はその断片	Chmielewski et al., Gastoenterology 143(4):1095－1107(2012)
CLDN6	抗体IMAB027	Ganymed Pharmaceuticals、clinicaltrial. gov／show／NCT02054351
CS1	抗体又はその断片、エロツズマブ	国際公開第2004100898(A2)号
CYP1B1	抗体又はその断片	Maecker et al., Blood 102(9):3287－3294(2003)
EGFR	セツキシマブ、パニツムマブ、ザルツムマブ、ニモツズマブ、マツズマブ	供給業者
EPCAM	MT110、EpCAM－CD3二重特異性Ab	clinicaltrials. gov／ct2／show／NCT00635596)
EPCAM	エドレコロマブ、3622W94、ING－1、及びアデカツムマブ(MT201)	供給業者
EphA2	抗体又はその断片	Yu et al., Mol. Ther. 22(1):102－111(2014)
エフリンB2	抗体又はその断片	Abengozar et al., Blood 119(19):4565－4576(2012)
ERBB2(HER2／neu)	トラスツズマブ、又はペルツズマブ	供給業者
FAP	抗体又はその断片	Ostermann et al., Clinical Cancer Research 14:4584－4592(2008)
FAP	シブロツズマブ	Hofheinz et al., Oncology Research and Treatment 26:44－48 (2003)、及びTran et al., J. Exp. Med. 210(6):1125－1135(2013)
FCAR	CD89／FCAR抗体(カタログ番号10414－H08H)	Sino Biological Inc.
葉酸受容体α	抗体IMGN853	供給業者
葉酸受容体α	抗体又はその断片	米国特許出願公開第20120009181号、米国特許第4,851,332号及び米国特許第5,952,484号
Fos関連抗原1	抗体12F9	Novus Biologicals
フコシルGM1	抗体又はその断片	米国特許出願公開第20100297138号、国際公開第2007067992号

TAA	標的指向部分	給源
GD2	抗体又はその断片	Mujoo et al., Cancer Res. 47(4):1098－1104(1987)、Cheung et al., Cancer Res. 45(6):2642－2649(1985)、Cheung et al., J. Clin. Oncol. 5(9):1430－1440(1987)、Cheung et al., J. Clin. Oncol. 16(9):3053－3060(1998)、Handgretinger et al., Cancer Immunol. Immunother. 35(3):199－204(1992)、米国公開第20100150910号、国際公開第2011160119号
GD2	mAb 14.18、14G2a、ch14.18、hul4.18、3F8、hu3F8、3G6、8B6、60C3、10B8、ME36.1、及び8H9、又はその断片	国際公開第2012033885号、国際公開第2013040371号、国際公開第2013192294号、国際公開第2013061273号、国際公開第2013123061号、国際公開第2013074916号、及び国際公開第201385552号
GD3	抗体又はその断片	米国特許第7，253，263号、米国特許第8，207，308号、米国特許出願公開第20120276046号、EP第1013761号、国際公開第2005035577号、及び米国特許第6，437，098号
GD3	抗体又はその断片	米国特許第7，253，263号、米国特許第8，207，308号、米国特許出願公開第20120276046号、EP第1013761(A3)号、米国特許出願公開第20120276046号、国際公開第2005035577号、米国特許第6，437，098号、
GloboH	抗体又はその断片	Kudryashov et al., Glycoconj J. 15(3):243－9(1998)、Lou et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 111(7):2482－2487(2014)
GloboH	抗体MBr1	Bremer et al., J. Biol. Chem. 259:14773－14777(1984)
GM3	抗体CA 2523449(mAb 14F7)	供給業者
Gp100	抗体HMB45、NKIbetaB	供給業者
Gp100	抗体又はその断片	国際公開第2013165940号、米国特許出願公開第20130295007号
GPC3	抗体hGC33	Nakano et al., Anticancer Drugs 21(10):907－916(2010)
GPC3	抗体MDX－1414、HN3、YP7	Feng et al., FEBS Lett. 588(2):377－382(2014)
GPRC5D	抗体FAB6300A	R&D Systems
GPRC5D	抗体LS－A4180	Lifespan Biosciences
HER2	抗体又はその断片、トラスツズマブ、ペルツズマブ	米国特許第8，591，897(B2)号、国際公開第2001000245号
HMWMAA	mAb9.2.27	Kmiecik et al., Oncoimmunology 3(1):e27185－3(2014)
HMWMAA	抗体又はその断片	米国特許第6，528，481号、国際公開第2010033866号、米国特許出願公開第20140004124号、
ヒトテロメラーゼ逆転写酵素	抗体カタログ番号:LS－B95－100	Lifespan Biosciences
IGF－1	抗体又はその断片	米国特許第8，344，112(B2)号、EP第2322550(A1)号、国際公開第2006138315号、国際公開第2006138315号

TAA	標的指向部分	給源
IL－11Rα	抗体又はその断片	Abcam（登録商標）（カタログ番号ab55262）、Novus Biologicals（カタログ番号EPR5446）
IL－11Rα	ペプチド	Huang et al., Cancer Res. 72(1):271－281(2012)
IL－13Rα2	抗体又はその断片	国際公開第2008146911号、国際公開第2004087758号、いくつかの市販のカタログ抗体、及び国際公開第2004087758号
腸カルボキシルエステラーゼ	抗体4F12：カタログ番号：LS－B6190－50	Lifespan Biosciences
KIT（CD117としても知られる）	抗体又はその断片	米国特許第7,915,391号、米国特許出願公開第20120288506号、及びいくつかの市販のカタログ抗体
LewisY	Hu3S193 Ab(scFv)	Kelly et al., Cancer Biother. Radiopharm. 23(4):411－423(2008)
LewisY	NC10 scFv	Dolezal et al., Protein Engineering 16(1):47－56(2003)
LMP2	抗体又はその断片	米国特許第7,410,640号 米国特許出願公開第20050129701号
MAD－CT－2	抗体又はその断片	Rodman et al., J. Exp. Med. 1(167):1228－46(1988)、米国特許第7,635,753号
MAGE－A1	抗体又はその断片	Willemsen et al., J. Immunol. 174(12):7853－7858(2005)
MelanA／MART1	抗体又はその断片	EP第2514766(A2)号、米国特許第7,749,719号
メソテリン	抗体又はその断片	Morello et al., Cancer Discov. 6:133－46(2016)、Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 119:e2202439119－9(2022)
MUC1	抗体SAR566658	供給業者
MUC1c	抗体又はその断片	Kufe, Oncogene 32:1073－1081(2013)
MUC1*（短縮型、膜結合型）	抗体又はその断片	米国特許出願公開第20200239594(A1)号
Mut hsp70－2	モノクローナル：カタログ番号：LS－C133261－100	Lifespan Biosciences
NCAM、CD56としても知られる	抗体クローン2－2B：MAB5324、ロルボツズマブ	EMD Millipore
NY－BR－1	抗体又はその断片	Jager et al., Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 15(1):77－83(2007)
o－アセチル－GD2	抗体8B6	供給業者
PDGFR－β	ab32570	Abcam（登録商標）
PDGFRα	mAb APA5amAb 16A1、オララツマブ	Invitrogen（商標）、Biolegend、米国特許第8,128,929(B2)号
PLAC1	抗体又はその断片	Ghods et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 61(3):363－369(2013)
ポリシアル酸	抗体又はその断片	Nagae et al., J. Biol. Chem. 288(47):33784－33796(2013)
PRSS21	抗体又はその断片	米国特許第8,080,650号
PSCA	scFv 7F5	Morgenroth et al., Prostate 67(10):1121－1131(2007)
PSCA	scFv C5－II	Nejatollahi et al., J. of Oncology article ID 839831－8(2013)
PSCA	抗体又はその断片	米国特許出願公開第20090311181号

TAA	標的指向部分	給源
PSMA	抗体又はその断片	Parker et al., Protein Expr. Purif. 89(2):136－145(2013)
PSMA	J591 ScFv	米国特許出願公開第20110268656号
PSMA	scFvD2B	Frigerio et al., European J. Cancer 49(9):2223－2232(2013)
PSMA	mAb 3／A12、3／E7及び3／F11並びに単鎖抗体断片scFv A5及びD7	国際公開第2006125481号
RAGE－1	抗体MAB5328	EMD Millipore
ROR1	抗体又はその断片	Hudecek et al., Clin. Cancer Res. 19(12):3153－3164(2013);国際公開第2011159847号、及び米国特許出願公開第20130101607号
肉腫転座切断点	抗体又はその断片	Luo et al., EMBO Mol. Med. 4(6):453－461(2012)
sLe	抗体G193(ルイスYについて)	Scott et al., Cancer Res. 60:3254－3261(2000)、Neeson et al., J. Immunol. 190(1 Supplement):177. 10(2013)
精子タンパク質17	抗体又はその断片	Song et al., Target Oncol. 9(3):263－272(2013)、Song et al., Med. Oncol. 29(4):2923－2931(2012)
SSEA－4	抗体MC813	Cell Signaling; 他の市販の抗体
TAG72	抗体又はその断片	Hombach et al., Gastroenterology 113(4):1163－1170(1997)
TAG72	Ab691	Abcam(登録商標)
TEM1／CD248	抗体又はその断片	Marty et al., Cancer Lett. 235(2):298－308 (2006)、Zhao et al., J. Immunol. Methods 363(2):221－232(2011)
Tie2	抗体AB33	Cell Signaling Technology
Tn抗原	抗体又はその断片	米国特許第8,440,798号、Brooks et al., PNAS 107(22):10056－10061(2010)、及びStone et al., OncoImmunology 1(6):863－873(2012)
TNFRSF13B(TACI)	抗体又はその断片	国際公開第2020247618(A1)号
TRP－2	抗体又はその断片	Wang et al., J. Exp. Med. 184(6):2207－2216(1996)
TSHR	抗体又はその断片	米国特許第8,603,466号、米国特許第8,501,415号、米国特許第8,309,693号
チロシナーゼ	抗体又はその断片	米国特許第5,843,674号、米国特許第5,843,674号
VEGFR2	抗体又はその断片	Chinnasamy et al., J. Clin. Invest. 120(11):3953－3968(2010)
WT－1	抗体176ra33	Dao et al., Sci. Transl. Med. 5(176):176ra33－22(2013)
WT－1	抗体又はその断片	国際公開第2012135854号

【０１０１】

脳のがんの治療を伴ういくつかの実施形態では、例えば、標的指向リガンドは、脳腫瘍関連抗原に結合する。例えば、ＧＢＭ細胞上に存在する腫瘍関連抗原としては、ＡＣＶＲ１、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＩＬ１３Ｒα２及びＨＥＲ２が挙げられる。例えば、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＩＬ１３Ｒα２及びＨＥＲ２を同時に標的とする多重化アプローチを使用して脳のがんを治療することができる。脳のがんに関与しており、本開示の二官能性化合物によって標的化され得る他のタンパク質としては、ＥｐｈＡ２、ＣＳＰＧ４、ＧＤ２、ＰＤＧＦＲα及びＧＲＰ７８が挙げられる。脳腫瘍関連抗原に結合する抗体及び／又はその機能的断片は、当技術分野において既知である。例えば、とりわけ、ＡＣＶＲ１、ＰＤＧＦＲα、ＧＤ２及びＥｐｈＡ２に結合する抗体及び／又はその断片を記載する上記表１を参照

。ＰＤＧＦＲαに結合する標的指向部分は、オララツマブ（及びその結合変異体）に基づくｓｃＦｖを含み得る。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、標的指向リガンドは、乳がん、肺がん、結腸直腸がん、脳腫瘍、卵巣がん、及び膵臓がんなどのＨＥＲ２$^{+}$悪性腫瘍上のＨＥＲ２に結合する。ＨＥＲに結合し、本開示において有用であり得る代表的な標的指向リガンドとしては、それぞれ、ＨＥＲの細胞外ドメインＩＶ及びＩＩに結合するトラスツズマブ及びペルツズマブ、並びにそれらのＨＥＲ結合断片（例えば、ｓｃＦｖ）が挙げられる。

【０１０３】

ＥＧＦＲｖＩＩＩに結合する抗体断片は、Ｏ’Ｒｏｕｒｋｅ，ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．９（３９９）：ｅａａａ０９８４－３０（２０１７）に記載されている。ＥＧＦＲｖＩＩＩに結合する他の抗体又はその断片は、市販のシルツキシマブ及びｍＡｂ　ＤＨ８．３（Ｎｏｖｕｓ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）である。本開示において有用であり得る、ＥＧＦＲｖＩＩＩを標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許出願公開第２０１５／０２５９４２３号に記載されている。

【０１０４】

ＩＬ１３Ｒα２に結合する抗体断片は、Ｂｒｏｗｎ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３７５（２６）：２５６１－２５６９（２０１６）に記載されている。ＩＬ１３Ｒα２に結合する他の抗体又はその断片は、Ａｂｎｏｖａ及びＭｉｌｌｉｐｏｒｅから市販されている。

【０１０５】

ＨＥＲ２に結合する抗体断片は、Ａｈｍｅｄ，ｅｔ　ａｌ．，ＪＡＭＡ　Ｏｎｃｏｌ．３（８）：１０４９－１１０１（２０１７）に記載されている。トラスツズマブ及びＦＲＰ５を含む、ＨＥＲ２に結合する他の抗体又はその断片が、市販されている。本開示において有用であり得る、ＨＥＲ２を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許出願公開第２０１１／０３１３１３７号に記載されている。

【０１０６】

ＥｐｈＡ２に結合する抗体断片の別の例は、Ｃｈｏｗ，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．２１（３）：６２９－６３７（２０１３）に記載されている。ＥｐｈＡ２に結合する更に他の抗体又はその断片は、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ（ｍＡｂ４Ｈ５及びｍＡｂ１Ｃ１１Ａ１２）及びＲＮＤ　Ｓｙｓｔｅｍｓから市販されている。本開示において有用であり得る、ＥｐｈＡ２を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許出願公開第２０１０／４３６７８３号に記載されている。

【０１０７】

ＣＳＰＧ４に結合する抗体断片は、Ｐｅｌｌｅｇａｔｔａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．，１０：ｅａａｏ２７３１－３３（２０１８）に記載されている。ＣＳＰＧ４に結合する別の抗体は、Ｆｅｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｏｎｃｏｌ．Ｒｅｓ．２２（２）：１１７－２１（２０１５）に記載されている。ＣＳＰＧ４に結合する他の抗体又はその断片は、市販のベバシズマブ及びＣｒｅａｔｉｖｅ　Ｂｉｏｌａｂｓ　ｍＡｂ２２５．２８である。ＣＳＰＧ４に結合する更に他の抗体又はその断片は、Ａｖｉｖａ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　Ｂｉｏｌｏｇｙから市販されている。本開示において有用であり得る、ＣＳＰＧ４を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許第９，８０１，９２８号及び米国特許出願公開第２０１９／０００８９４０号に記載されている。

【０１０８】

ＧＤ２に結合する抗体断片の別の例は、Ｍｏｕｎｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．２４，５７２－５７９（２０１８）に記載されている。ＧＤ２に結合する他の抗体又はその断片としては、ジヌツキシマブ、ｍＡｂ　３Ｆ８、ｍＡｂ　１４ｇ２ａ、及びｍＡｂ

１４．１８が挙げられる。本開示において有用であり得る、ＧＤ２を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許第４，６７５，２８７号に記載されている。

【０１０９】

ＰＤＧＦＲαに結合する抗体断片の別の例は、Ｂｒｅｎｎａｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ，４（１１）：ｅ７７５２－１０（２００９）に記載されている。ＰＤＧＦＲαに結合する他の抗体又はその断片は、Ａｂｃａｍ、ＬｉｆｅＳｐａｎ　Ｂｉｏ、Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ（ｓｃ－３３８）及びＴｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ（ｍＡｂ　ＡＰＡ５）から市販されている。本開示において有用であり得る、ＰＤＧＦＲαを標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許出願公開第２０１２／００２７７６７号に記載されている。

【０１１０】

ＧＲＰ７８に結合する抗体断片は、Ｋａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｒｅｐ．６，３４９２２－７（２０１６）に記載されている。ＧＲＰ７８に結合する他の抗体又はその断片は、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ（ＰＡ１－０１４Ａ）及びＡｂｃａｍ（Ｎ－２０）から市販されている。本開示において有用であり得る、ＧＲＰ７８を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許第１０，２５９，８８４号に記載されている。

【０１１１】

脳のがんに関与しており、本開示の二官能性化合物によって標的化され得る他のタンパク質としては、神経細胞接着分子（neural cell adhesion molecule、ＮＣＡＭ）、表面抗原分類２７６（cluster of differentiation 276、ＣＤ２７６）、及び神経外胚葉幹細胞マーカー（ネスチン）が挙げられる。

【０１１２】

ＮＣＡＭに結合する抗体は、Ｍｏｄａｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．６１，４０４８－４０５４（２００１）に記載されている。ＮＣＡＭに結合する他の抗体又はその断片は、ｍＡｂ　ＵＪ１３Ａ及びｍＡｂ　ＥＲＩＣ－１である。本開示において有用であり得る、ＮＣＡＭを標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、米国特許第７，４０２，５６０号に記載されている。

【０１１３】

ネスチンに結合する抗体又はその断片は、Ａｂｃａｍ（ａｂ６１４２）及びＮｏｖｕｓ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ（ＮＢ１００－１６０４）から市販されている。βＩＩＩ－チューブリンに結合する抗体又はその断片は、Ａｂｃａｍ（２Ｇ１０）及びＲＮＤ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（ｍＡＢ１１９５）から市販されている。

【０１１４】

ＣＳ－１に結合する抗体断片の別の例は、Ｃｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，１２２：１４（２０１３）に記載されている。ＣＳ－１に結合する他の抗体又はその断片は市販されており、ＲＥＡ１５０（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）又は１６２．１（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）が挙げられる。本開示において有用であり得る、ＣＳ－１を標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、国際公開第２００４／１００８９８（Ａ２）号に記載されている。

【０１１５】

ＢＣＭＡに結合する抗体断片の別の例は、Ｒａｊｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３８０（１８）：１７２６－１７３７（２０１９）に記載されている。ＢＣＭＡに結合する他の抗体又はその断片は市販されており、ＲＥＡ３１５（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）、Ｊ６Ｍ０（Ａｂｅｏｍｉｃｓ）（ベランタマブコンジュゲーション組成物に含まれる抗ＢＣＭＡ）、及び１９Ｆ２（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）が挙げられる。本開示において有用であり得る、ＢＣＭＡを標的とするｓｃＦｖをコードするアミノ酸又は遺伝子配列の更なる代表例は、国際公開第２０１０／１０４９４９（Ａ２）号及び国際公開第２００３／０１４２９４（Ａ２）号に記載されている。

【０１１６】
いくつかの実施形態では、細胞表面抗原は、ＣＤ１９、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、ＣＤ３８、ＣＳ１（ＳＬＡＭファミリーメンバー７（SLAM family member 7、ＳＬＡＭＦ７））、Ｇタンパク質共役受容体クラスＣグループ５メンバーＤ（G Protein-Coupled Receptor Class C Group 5 Member D、ＧＰＲＣ５Ｄ）、又はＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ（ＴＡＣＩ）である。
【０１１７】
膜貫通（ＴＭ）ドメインは、ＣＡＲが免疫細胞の細胞膜に安定的に固定されることを可能にする。膜貫通ドメインは、ＣＡＲの他のドメインが由来する同じタンパク質又は異なるタンパク質に由来してもよい。膜貫通ドメインは、天然由来又は組換え由来に由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。本開示において有用であり得る膜貫通ドメインの代表的な例としては、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４の膜貫通領域が挙げられる。
【０１１８】
ＣＡＲは、細胞外結合ドメインに間接的に連結されている膜貫通ドメインを含むように設計することができる。かかる実施形態では、膜貫通ドメインは、ヒンジドメインを介してＣＡＲの細胞外領域に結合している。本明細書で使用される場合、「ヒンジドメイン」という用語は、細胞外結合ドメインを膜貫通ドメインに連結し、細胞外結合ドメインに柔軟性を付与し得るドメインを指す。いくつかの実施形態では、ヒンジドメインは、細胞外ドメインを免疫細胞の原形質膜の近くに配置して、抗体又はその結合断片による認識の可能性を最小限にする。ヒンジドメインは、天然（例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジ）又は合成であり得る。ヒンジドメインの供給源としては、ヒトＩｇ（免疫グロブリン）ヒンジ（例えば、ＩｇＧ４ヒンジ、ＩｇＤヒンジ）、及びＣＤ８（例えば、ＣＤ８αヒンジ）が挙げられる。
【０１１９】
いくつかの実施形態では、ヒンジドメインは、表面抗原分類８（ＣＤ８）、例えば配列番号５０に由来する。
【０１２０】
細胞内シグナル伝達ドメインは、標的細胞上の細胞関連抗原へのＣＡＲ（例えば、第２世代、第３世代、操作されたＴ細胞受容体（T cell receptor、ＴＣＲ））の結合時に免疫細胞活性化を補助する。かかるドメインは当技術分野で既知であり、一般に第２、第３及び第４世代ＣＡＲ並びに操作されたＴ細胞受容体（ＴＣＲ）と称される。細胞内シグナル伝達ドメインは一般に、ＣＡＲが導入されている免疫細胞の正常なエフェクター機能の少なくとも１つを活性化する役割を担っている。細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、ＴＣＲの細胞質配列及び抗原受容体結合後にシグナル伝達を開始するように協力して作用する共受容体が挙げられる。当技術分野で知られているように、ＴＣＲ単独を介して生成されるシグナルは、Ｔ細胞の完全な活性化には不十分であり、したがって、二次又は共刺激シグナルも必要とされる。したがって、Ｔ細胞活性化は、２つの異なるクラスの細胞質シグナル伝達配列、すなわち、ＴＣＲを介して抗原依存的一次活性化を開始するもの（すなわち、一次細胞内シグナル伝達ドメイン）及び、抗原非依存的に作用して二次シグナル又は共刺激シグナルを提供するもの（すなわち、二次細胞質ドメイン又は共刺激ドメイン）によって媒介される。一次シグナル伝達ドメインは、刺激的に又は阻害的にのいずれかでＴＣＲ複合体の一次活性化を調節する。刺激的に作用する一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based activation motif、ＩＴＡＭ）として知られるシグナル伝達モチーフを含有し得る。本開示における使用に好適であり得るＩＴＡＭ含有一次細胞内シグナル伝達ドメインの代表的な例としては、ＣＤ３ζ、一般的なＦｃＲγ（ＦＣＥＲ１Ｇ）、Ｆｃ－γＲＩＩ

ａ、ＦｃＲ－β（Ｆｃ－εＲ１ｂ）、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、及びＣＤ３εのものが挙げられる。いくつかの実施形態では、ＣＡＲは、ＣＤ３ζの一次シグナル伝達ドメインを含有する細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【０１２１】

ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインはまた、少なくとも１つの他の細胞内シグナル伝達又は共刺激ドメインを含み得る。共刺激分子は、効率的なリンパ球の抗原への応答に必要な、抗原受容体又はそのリガンド以外の細胞表面分子である。本開示のＣＡＲにおいて有用であり得る共刺激ドメインの代表的な例としては、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ－１、ＩＣＯＳ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、リンパ球機能関連抗原－１（lymphocyte function-associated antigen-1、ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、及びＢ７－Ｈ３が挙げられる。例えば、ＣＤ２７共刺激は、ヒトＣＡＲ　Ｔ細胞のインビトロの増殖、エフェクター機能、及び生存を増強し、ヒトＴ細胞の持続性及び抗腫瘍活性をインビボで増大させることが実証されている（Ｓｏｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１１９（３）：６９６－７０６（２０１２）を参照）。

【０１２２】

細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上、例えば、１、２、３、４、５、又はそれ以上、の共刺激シグナル伝達ドメインを含むように設計することができ、これらは、指定された順序又はランダムな順序で、任意選択でリンカー分子を介して互いに連結することができる。長さが約１～１０アミノ酸であるポリペプチドリンカーは、連続した細胞内シグナル伝達配列を連結し得る。かかるリンカーの例としては、Ｇｌｙ－Ｓｅｒなどのダブレット、並びに単一アミノ酸、例えばＡｌａ及びＧｌｙが挙げられる。Ｔ細胞活性化ドメインを構成し得る組み合わせは、Ｔ細胞の生存及び増殖を増強するように働くＣＤ２８、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＯＸ４０及びＨＶＥＭの細胞質領域、並びにＴ細胞活性化を誘導するＣＤ３、ＣＤ３ζ及びＦｃＲεに基づき得る。例えば、３つのＩＴＡＭを含有するＣＤ３ζは、ＣＡＲの最も一般的に使用される細胞内ドメインコンポーネントであり、抗原が結合した後にＴ細胞に活性化シグナルを伝達する。しかしながら、更なる共刺激シグナル伝達を提供するために、ＣＡＲ免疫細胞が増殖／生存シグナルを伝達することを可能にするＣＤ２８及びＯＸ４０ドメインをＣＤ３ζと共に使用することができる。

【０１２３】

本開示において使用され得るＣＡＲ及びそれらを作製する方法は、当技術分野において既知であり、例えば、米国特許出願公開第２０１８／０１６９１０９号に記載されており、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。有用であり得る更なるＣＡＲは、ＦＤＡによって承認されており、チサゲンレクルユーセル（キムリア（商標））、アキシカブタゲンシロロイセル（イエスカルタ（商標））、イデカブタゲンビクルユーセル（アベクマ（登録商標））、及びリソカブタゲンマラルユーセル（ブレヤンジ（登録商標））、ブレクスカブタゲンオートルーセル（テカルタス）、及びシルタカブタジンオートルーセル（カービクティ）が挙げられる。

【０１２４】

例示的なサイトカイン受容体スイッチ及びＣＡＲ構築物を以下の表３に示す。

【０１２５】

（表３）サイトカイン受容体スイッチ及びＣＡＲ構築物

	CAR						サイトカイン受容体スイッチ				
scFv	FL	MPOB	AQ	DOTA	His	その他*	FL	MPOB	AQ	DOTA	His
1	CAR										
2		CAR									
3			CAR								
4				CAR							
5					CAR						
6						CAR					
7							IL2RA				
8							IL2RB				
9							IL2RG				
10							IL4RA				
11							IL7RA				
12							IL9R				
13							IL15RA				
14							IL21R				
15	CAR						IL2RA				
16	CAR						IL2RB				
17	CAR						IL2RG				
18	CAR						IL4RA				
19	CAR						IL7RA				
20	CAR						IL9R				
21	CAR						IL15RA				
22	CAR						IL21R				
23		CAR					IL2RA				
24		CAR					IL2RB				
25		CAR					IL2RG				
26		CAR					IL4RA				
27		CAR					IL7RA				
28		CAR					IL9R				
29		CAR					IL15RA				
30		CAR					IL21R				

	CAR						サイトカイン受容体スイッチ				
scFv	FL	MPOB	AQ	DOTA	His	その他*	FL	MPOB	AQ	DOTA	His
31						CAR	IL2RA				
32						CAR	IL2RB				
33						CAR	IL2RG				
34						CAR	IL4RA				
35						CAR	IL7RA				
36						CAR	IL9R				
37						CAR	IL15RA				
38						CAR	IL21R				
39							IL2RA IL2RB				
40							IL2RA IL2RB IL2RG				
41							IL2RB IL2RG				
42							IL4R IL2RG				
43							IL7R IL2RG				
44							IL9R IL2RG				
45							IL15RA IL2RB IL2RG				
46							IL21R IL2RG				
47							IL2RB IL2RG	IL2RA			
48							IL2RG	IL4RA			
49							IL2RG	IL7RA			
50							IL2RG	IL9R			
51							IL2RB IL2RG	IL15RA			
52							IL2RG	IL21R			
53							IL2RG	IL2RA		IL2RB	
54							IL2RG	IL4RA			
55							IL2RG	IL7RA			
56							IL2RG	IL9R			
57							IL2RG	IL15RA		IL2RB	
58							IL2RG	IL21R			
59						CAR	IL2RG	IL2RA		IL2RB	
60						CAR	IL2RG	IL4RA			
61						CAR	IL2RG	IL7RA			
62						CAR	IL2RG	IL9R			
63						CAR	IL2RG	IL15RA		IL2RB	
64						CAR	IL2RG	IL21R			

＊ＣＤ１９－、ＢＣＭＡ－、ＨＥＲ２－、及びＥＧＦＲ－ＣＡＲを含むＣＡＲ。

【０１２６】

表３は、免疫細胞中に存在し得る、同じ又は異なるｓｃＦｖを有するＣＡＲ及びサイトカイン受容体スイッチの例示的な組み合わせを例解する。

【０１２７】

ＢＡＴ－ＣＡＲ

いくつかの実施形態では、免疫細胞は、キメラ抗原受容体（ＢＡＴ－ＣＡＲ）をコードする核酸を含むバイナリー活性化Ｔ細胞である。ＢＡＴ－ＣＡＲは、設計、及び各スペーサードメイン（例えば、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメイン）に関してＣＡＲと実質的

に同一である。しかしながら、腫瘍関連抗原などの細胞関連抗原に直接結合するように操作されているＣＡＲ　Ｔ細胞とは対照的に、ＢＡＴ－ＣＡＲ細胞は、正常細胞又はがん細胞上に存在しない合成抗原（マスクされたプロ抗原、又はマスクされていないもの、であり得る）に結合する。合成抗原は、送達され、そして細胞関連抗原に結合する抗体又はその断片とのコンジュゲートの形態で細胞関連抗原に付着される。ＢＡＴ－ＣＡＲ細胞は、異なる細胞関連抗原に結合する抗体又は断片を含有する単一のコンジュゲート又は複数のコンジュゲートと共に対象に投与することができる。腫瘍細胞標的化と腫瘍細胞殺傷とを分けることによって、（合成抗原又はマスクされていないプロ抗原に対する）単一の特異性を有するＣＡＲ　Ｔ細胞は、複数の腫瘍関連抗原を同時に標的指向することができる。したがって、ＢＡＴ－ＣＡＲ免疫細胞の設計は、細胞外結合ドメインに関して、それだけではないが、主にＣＡＲ免疫細胞とは異なっている。

【０１２８】

ＢＡＴ－ＣＡＲの細胞外ドメインは、典型的には、アミノ末端に存在し、免疫細胞の表面上に提示される。その特異性を除いて、ＢＡＴ－ＣＡＲの細胞外ドメインは、典型的には、抗体又はその抗原結合断片、例えばｓｃＦｖである。

【０１２９】

合成抗原の代表的な例としては、フルオレセイン及びフルオレセイン誘導体（例えば、ＦＩＴＣ）が挙げられる。フルオレセイン及びＦＩＴＣに結合する細胞外結合ドメインの代表的な例は、（サイトカイン受容体スイッチ自体に関連して）上記のとおりである。ＢＡＴ－ＣＡＲにおいて細胞外結合ドメインとして有用であり得る他の結合部分の代表的な例は、例えば４Ｍ５．３　ＳｃＦｖ（Ｍｉｄｅｌｆｏｒｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４３：６８５－７０１（２００４）に開示）及び２Ｄ１２．５、２Ｄ１２．５ｄｓ、又はＣ８．２．５（Ｏｒｃｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．３８（２）：２２３－２３３（２０１１）に開示）である。マスクされたプロ抗原の代表的な例は、当技術分野で既知であり、例えば、国際公開第２０１７／１４３０９４号、国際公開第２０１８／２００７１３号、国際公開第２０１９／２３６５２２号、及び国際公開第２０２０／００６３１２号、これらの各々は参照により本明細書に組み込まれる。

【０１３０】

マスクされたプロ抗原及びＢＡＴ－ＣＡＲの代表例は、マスクされたフルオレセインプロ抗原及びフルオレセインに対する特異性を有するＢＡＴ－ＣＡＲである。刺激（例えばＵＶ光）は、マスクされたフルオレセイン分子をアンマスクし、それによってフルオレセイン特異的ＢＡＴ－ＣＡＲを発現する細胞を活性化する。例えば、Ｋｏｂａｙａｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，ＣｈｅｍＭｅｄＣｈｅｍ１７：ｅ２０２１００７２２－５（２０２２）を参照されたい。いくつかの実施形態では、合成抗原は、１つ以上の５－カルボキシメトキシ－２－ニトロベンジル（ＣＭＮＢ）ケージング基の付加によってマスクされる。

【０１３１】

本開示において使用され得るＢＡＴ－ＣＡＲ及びそれらを作製する方法は、当技術分野において既知であり、例えば、国際公開第２０１７／１４３０９４号、国際公開第２０１８／２００７１３号、国際公開第２０１９／２３６５２２号、及び国際公開第２０２０／００６３１２号に記載されており、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１３２】

ＢＡＴ－ＣＡＲ抗ＦＬ　ＣＡＲ－ＣＤ２８－４－１ＢＢ－ＣＤ３ζをコードするポリヌクレオチドの代表的な例は、配列番号６０として指定される配列を有する：

```
   1 atggctctgc ctgtgacagc tctgctgctg cctctggctc tgcttctgca tgccgccaga
  61 cctgacgtgg tcatgacaca gacacctctg agcctgcctg tgtctctggg agatcaggcc
 121 agcatcagct gcagatctag ccagagcctg gtgcacagca acggcaacac ctacctgcgg
 181 tggtatctgc agaagcccgg ccagtctcct aaggtgctga tctacaaggt gtccaacaga
 241 gtgtccggcg tgccccgatag attttctggc agcggctctg gcaccgactt caccctgaag
 301 atcaatagag tggaagccga ggacctgggc gtgtacttct gtagccagtc tacccacgtg
 361 ccatggacct ttggcggcgg aacaaagctg gaaatcaaga gcagcgccga cgacgccaag
 421 aaggacgccg ctaagaagga tgacgccaaa aaagacgatg ccaaaaagga tggcggcgtg
 481 aagctggacg aaacaggcgg aggacttgtt cagcctggcg gagccatgaa gctgagctgt
 541 gtgaccagcg gcttcacctt cggccactac tggatgaact gggtccgaca gagccctgag
 601 aaaggcctgg aatgggtcgc ccagttcaga aacaagccct acaactacga aacctactac
 661 agcgacagcg tgaagggcag attcaccatc agccgggacg acagcaagtc cagcgtgtac
 721 ctgcagatga acaacctgcg cgtggaagat accggcatct actactgtac cggcgccagc
 781 tacggcatgg aatatctcgg ccagggcacc agcgtgaccg tgtctacaac aaccccctgct
 841 cctcggcctc ctacaccagc tcctacaatt gccagccagc cactgtctct gaggcccgaa
 901 gcttgtagac ctgctgcagg cggagccgtg catacaagag gactggattt cgcctgcgac
 961 ttctgggtgc tcgtggttgt tggcggagtg ctggcttgtt actccctgct ggttaccgtg
1021 gccttcatca tcttttgggt ccgaagcaag cggagccggc tgctgcacag cgactacatg
1081 aacatgaccc ctagacggcc cggacctacc agaaagcact accagcctta cgctcctcct
1141 agagacttcg ccgcctacag atccaagcgg ggcagaaaga agctgctgta catcttcaag
1201 cagcccttca tgcggcccgt gcagaccaca caagaggaag atggctgctc ctgcagattc
1261 cccgaggaag aagaaggcgg ctgcgagctg agagtgaagt tcagcagatc cgccgacgct
1321 cctgcctatc agcagggaca gaaccagctg tacaacgagc tgaacctggg gagaagagaa
1381 gagtacgacg tgctggacaa gcggagaggc agagatcctg agatgggcgg aaagccccag
1441 cggagaaaga atcctcaaga gggcctgtat aatgagctgc agaaagacaa gatggccgag
1501 gcctacagcg agatcggaat gaagggcgag cgcagaagag gcaagggaca cgatggactg
1561 taccagggcc tgagcaccgc caccaaggat acctatgatg ccctgcacat gcaggccctg
1621 ccacctagat gatga
```

。

【０１３３】

サイトカイン受容体スイッチをコードするポリヌクレオチドの免疫細胞への導入

Ｔ細胞などの免疫細胞は、既知の技術に従って、発現サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含むように操作することができる。一般に、サイトカイン受容体スイッチをコードするポリヌクレオチドベクターが構築され、このベクターが免疫細胞集団に導入される（例えば、トランスフェクトされる、又は形質導入される）。次いで、細胞を、サイトカイン受容体スイッチをコードするポリヌクレオチドの発現を促進する条件下で増殖させる。首尾よいトランスフェクション（又はウイルス媒介遺伝子組み込みを指す形質導入）及びサイトカイン受容体スイッチの提示は、標準的な技術を介して行うことができる。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、選択されたサイトカイン受容体スイッチをコードするレトロウイルスベクターを最初に構築することによって、サイトカイン受容体スイッチを産生するように操作され得る。レトロウイルス形質導入は、既知の技術を使用して実施され得る（例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１１４：５３５－５４６（２００９））。トランスフェクトされた免疫細胞上のサイトカイン受容体スイッチの表面発現は、例えば、フローサイトメトリーによって測定することができる。

【０１３４】

サイトカイン受容体スイッチをコードする発現ベクターは、１つ以上のＤＮＡ分子又は構築物として導入され得、そこに、構築物を含む宿主細胞の選択を可能にする少なくとも１つのマーカーが存在してもよい。

【０１３５】

ＤＮＡ構築物は、標的細胞又は組織への導入（すなわち、トランスフェクション又は形質導入）のための核酸の人工的に構築されたセグメントである。本明細書で使用される「核酸」という用語は、ヌクレオチドのポリマーを指し、その各々は、ヌクレオシド（核酸塩基及び五炭糖）及びリン酸からなる有機分子である。ヌクレオチドという用語には、特に明記されない限り、又は文脈から明らかでない限り、リボース糖（すなわち、リボ核酸、ＲＮＡを形成するリボヌクレオチド）、又は２’－デオキシリボース糖（すなわち、デ

オキシリボ核酸、ＤＮＡを形成するデオキシリボヌクレオチド）を有するヌクレオシドが含まれる。ヌクレオチドは、核酸ポリマー又はポリヌクレオチドのモノマー単位として働く。ＤＮＡ中の４つの核酸塩基は、グアニン（Ｇ）、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）及びチミン（Ｔ）である。ＲＮＡ中の４つの核酸塩基は、グアニン（Ｇ）、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）及びウラシル（Ｕ）である。核酸は、１つのヌクレオチドのホスホリル基と、隣接するヌクレオチド中の糖（すなわち、リボース又は２’－デオキシリボース）のヒドロキシル基との間の一連のエステル結合によって化学的に結合されたヌクレオチドの直鎖（例えば、少なくとも３つのヌクレオチド）である。

【０１３６】

核酸は、少なくともサイトカイン受容体スイッチタンパク質をコードする。用語「タンパク質」及び「ポリペプチド」は、本明細書中で使用される場合、アミド結合によって連結された一連のアミノ酸（代表的には、少なくとも１０アミノ酸長以上）を指す。タンパク質は、通常、生物由来であるが、これに限定されず、例えば、人工的に設計された配列から構成されていてもよい。また、天然由来のタンパク質、合成タンパク質又は組換えタンパク質のいずれであってもよい。

【０１３７】

サイトカイン受容体スイッチの個々のコンポーネントを所望の順序でライゲーションし、適切なクローニング宿主にクローニングし、制限酵素若しくは配列決定によって解析するか又は他の便利な手段で解析し得る従来の方式で、構築物を調製することができる。特に、ＰＣＲを使用すると、機能単位の全部又は部分を含む個々の断片を単離することができ、「プライマー修復」、ライゲーション、インビトロ変異誘発などを適宜使用して、１つ以上の変異を導入することができる。一旦完成し、適切な配列を有することが実証された構築物は、次いで、好適なベクターにパッケージングされ得、次いで、このベクターは、任意の簡便な手段によって免疫細胞（すなわち、Ｔ細胞）に導入される。有用なエレメント、例えば、細菌又は酵母の複製起点、選択可能及び／又は増幅可能なマーカー（例えば、ヒポキサンチン－グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（phosphoribosyltransferase、ｈｐｒｔ）、ネオマイシン耐性、チミジンキナーゼ、ハイグロマイシン耐性など）、原核生物又は真核生物における発現のためのプロモーター／エンハンサーエレメント、核酸配列の挿入のための１つ以上の好適な部位、例えば、マルチクローニング部位（multiple cloning site、ＭＣＳ）などを含む、構築物ＤＮＡのストックを調製するため及びトランスフェクションを実施するために使用され得るベクターは、当該分野で周知であり、多くが市販されている。

【０１３８】

細胞への感染や形質導入のために、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（Adeno-associated virus、ＡＡＶ）、単純ヘルペスウイルス（Herpes simplex virus、ＨＳＶ）などの非複製型の欠陥ウイルスゲノムへと、又はレトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを含む他のものへと、構築物が組み込まれかつパッケージ化されてもよい。構築物は、必要に応じて、トランスフェクションのためのウイルス配列を含み得る。代替的に、構築物は、融合、エレクトロポレーション、バイオリスティック法、トランスフェクション、リポフェクションなどによって導入されてもよい。宿主免疫細胞を構築物を導入する前に培養物中で増殖及び増大（expand）させ、その後、構築物を導入し、構築物を組み込むための適切な処理を行うことができる。次に、細胞を増大させ、構築物中に存在するマーカーによってスクリーニングする。

【０１３９】

いくつかの例では、構築物が特定の遺伝子座に組み込まれることが望まれる場合、構築物は、相同組換えのための標的部位を有するように操作され得る。例えば、内因性遺伝子をノックアウトし、相同組換えについて当技術分野で知られている材料及び方法を使用して、それを（同じ遺伝子座又は他の場所で）構築物によってコードされる遺伝子で置き換えることができる。相同組換えのために、ＯＭＥＧＡ又はＯ－ベクターのいずれかを使用することができる。例えば、Ｔｈｏｍａｓ ａｎｄ Ｃａｐｅｃｃｈｉ，Ｃｅｌｌ ５１

：５０３－５１２（１９８７）、Ｍａｎｓｏｕｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３３６：３４８－３５２（１９８８）、及びＪｏｙｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３３８：１５３－１５６（１９８９）を参照のこと。

【０１４０】

いくつかの実施形態では、ベクターは、レンチウイルスベクター又は組換えレンチウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、非組込み型かつ非複製型の組換えレンチウイルスベクターである。例示的なレンチウイルスベクターとしては、例えば、Ｏｘｆｏｒｄ　ＢｉｏＭｅｄｉｃａからのＬｅｎｔｉＶｅｃｔｏｒ及びＬｅｎｔｉＳｔａｂｌｅ、ＧｉｂｃｏからのＬＶ－Ｍａｘなどが挙げられる。レンチウイルスベクターの構築は、例えば、米国特許第５，６６５，５７７号、同第５，９８１，２７６号、同第６，０１３，５１６号、同第７，０９０，８３７号、同第８，１１９，１１９号及び同第１０，９５４，５３０号に記載されている。

【０１４１】

製剤及び使用方法

サイトカイン受容体スイッチ含有免疫細胞を含有する製剤

本発明の免疫細胞は、薬学的に受容可能なビヒクル又は担体中に製剤化され得、その選択及び量は、投与の様式に依存して決定され得る。製剤の治療有効量は、製剤の全体積中の細胞の濃度に依存し得る。対象に投与される本発明の免疫細胞の数は、例えば、がんの位置、タイプ、及び重症度、並びに治療される個体の年齢及び状態を含む様々な要因に依存して、広い範囲で変動し得、治療する医師の技術レベルの範囲内である。一般に、製剤は、約1×10^{4}～約1×10^{10}個の本発明の免疫細胞を含有する。いくつかの実施形態では、製剤は、約1×10^{5}～約1×10^{9}個の本発明の免疫細胞、約5×10^{5}～約5×10^{8}個の本発明の免疫細胞、又は約1×10^{6}～約1×10^{7}個の本発明の免疫細胞を含有する。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０２０／００６３１２号を参照されたい。

【０１４２】

本発明の免疫細胞の製剤は、許容される医療行為に従って、それを必要とする対象に投与することができる。例示的な投与様式は静脈内注射である。他の投与様式には、腫瘍内、皮内、皮下（ｓ．ｃ．、ｓ．ｑ．、ｓｕｂ－Ｑ、Ｈｙｐｏ）、筋肉内（ｉ．ｍ．）、腹腔内（ｉ．ｐ．）、動脈内、髄内、心臓内、関節内（関節）、滑液内（関節液領域）、頭蓋内（対流増強送達を含む）、脊髄内、及び髄腔内（髄液）が含まれ得る。製剤の非経口注射又は注入に有用な任意の既知のデバイスを使用して、かかる投与様式に影響を及ぼすことができる。代表的なビヒクル及び担体としては、中性緩衝化生理食塩水、リン酸緩衝化生理食塩水などの緩衝液が挙げられる。組成物は、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤を更に含んでもよい。かかる賦形剤の例としては、グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物、タンパク質、ポリペプチド又はアミノ酸、例えばグリシン、抗酸化剤、キレート剤、例えばＥＤＴＡ又はグルタチオン、アジュバント、例えば、水酸化アルミニウム、及び防腐剤が挙げられる。

【０１４３】

合成小分子を含有する製剤

本発明の免疫細胞をインビボで刺激するために、治療有効量の合成小分子を、それを必要とする対象に、許容される医療行為に従って投与することができる。合成小分子は、薬学的に許容されるビヒクル又は担体中に製剤化することができ、その選択及び量は、投与様式に応じて決定することができる。例示的な投与様式は静脈内注射である。他の様式としては、腫瘍内、皮内、皮下（ｓ．ｃ．、ｓ．ｑ．、ｓｕｂ－Ｑ、Ｈｙｐｏ）、ｉ．ｍ．、ｉ．ｐ．、動脈内、髄内、心臓内、関節内、滑液嚢内、頭蓋内、髄腔内、及びくも膜下腔内が挙げられる。製剤の非経口注射又は注入に有用な任意の既知のデバイスを使用して、合成小分子の投与を行うことができる。薬学的に受容可能なビヒクル又は担体の代表的な例は、血清アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン）、デキストラン、及び抗体である。

【０１４４】
一般に、合成小分子の量は、組成物の総体積に基づいて０．１～１０００μｇ／ｍＬの範囲である。いくつかの実施形態では、合成小分子の量は、組成物の総体積に基づいて約０．１～１００μｇ／ｍＬの範囲である。小分子の総量は、ビヒクル又は担体に応じて異なり得る。例えば、インビボ注射の場合、注射された小分子の全てが腫瘍に送達され得るわけではないので、有効用量はエクスビボより高くてもよい。
【０１４５】
本発明のサイトカイン受容体スイッチを発現する免疫細胞を刺激するための方法
広義には、本発明の方法は、免疫細胞を、十分な濃度の合成小分子で処理又はそれと接触させることを必要とする。
【０１４６】
いくつかの実施形態では、本方法はエクスビボで行われる。サイトカイン受容体スイッチをコードする外因性核酸を含有する免疫細胞を、好適な容器、好適な培地に入れ、培地の総体積に基づいて、例えば０．１～１０００μｇ／ｍＬの量で、合成小分子と接触させる。いくつかの実施形態では、合成小分子の量は、培地の総体積に基づいて約０．１～１００μｇ／ｍＬの範囲である。本方法の実施において使用され得る好適な培地の代表的な例としては、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｇｉｂｃｏ（商標））及びＸ－ＶＩＶＯ（商標）１５（ＢｉｏＷｈｉｔｔａｋｅｒ（商標））が挙げられる。
【０１４７】
接触（本明細書では「処理」又は「処理すること」又は「刺激すること」とも称される）の持続期間は、数時間、数日及び数週間（例えば、１、２、３、４週間以上）ほどであり得る。いくつかの実施形態では、接触は、高親和性プレート、ディッシュ、又はフラスコ中で行われ得、低分子は、容器の表面に固定された担体にコンジュゲートされている。担体の代表的な例としては、ウシ又はヒト血清アルブミン、デキストラン、及び抗体（例えば、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＥＧＦＲ抗体、抗ＢＣＭＡ抗体、及び抗ＣＤ１９抗体）が挙げられる。いくつかの実施形態では、ペルツズマブ、セツキシマブ、ベレンタマブ、Ｊ６Ｍ０、又はダラツズマブである。
【０１４８】
いくつかの実施形態では、刺激は、免疫細胞の増殖又は表現型の変化を促進する。例えば、刺激は、刺激された免疫細胞の集団の増加を、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、１００％、又はそれ以上促進し得る。
【０１４９】
いくつかの実施形態では、免疫細胞刺激は、免疫細胞の表現型の変化を促進する。例示的な表現型としては、記憶表現型、細胞傷害性表現型、及び調節性表現型が挙げられる。
【０１５０】
いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞は、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下で、漸増用量のフルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）（０、０．１、１、１０、１００、及び１０００μｇ／ｍＬ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲートウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）コーティングプレート上で、最大２週間刺激される。ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のセントラルメモリー（ＣＤ４５ＲＡ－、Ｃ－Ｃケモカイン受容体７型（ＣＣＲ７）$^{+}$）マーカー、及びエフェクターメモリー（ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＣＣＲ７$^{-}$）マーカーは、フローサイトメトリーによって評価することができる。
【０１５１】
いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞は、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下又は非存在下で、漸増用量のＦＩＴＣ（０、０．１、１、１０、１００、及び１０００μｇ／ｍＬ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲートＢＳＡコーティングプレート上で、最大２週間刺激される。ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のエフェクターメモリー（ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＣＣＲ７$^{-}$）マーカー、セントラルメモリー（

ＣＤ４５ＲＡ－、ＣＣＲ７$^{+}$）マーカー、及び活性化（ＣＤ６９）マーカーは、フローサイトメトリーによって評価することができる。

【０１５２】

いくつかの実施形態では、サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含む免疫細胞は、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下で、漸増用量のカルボキシフルオレセイン（０、０．１、１、１０、１００、及び１０００μｇ／ｍＬ）を用いて、カルボキシフルオレセインコンジュゲートＢＳＡコーティングプレート上で、最大２週間刺激される。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、異なるサイトカイン受容体スイッチの１つ又は組み合わせを有するか又は有さないＣＡＲをコードする核酸を含む免疫細胞は、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下又は非存在下で、漸増用量（０、０．１、１、１０、及び１００μｇ／ｍＬ）の小分子コンジュゲートを用いて、小分子コンジュゲート抗体コーティングプレート上で、刺激される。ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞におけるＩＬ－２、ＩＦＮ－γ及びＣＤ６９の発現は、フローサイトメトリーによって評価することができる。

【０１５４】

刺激された免疫細胞を培地から単離し、次いで、対象への送達のために製剤化することができる。いくつかの実施形態では、免疫細胞は、インビボで刺激される。

【０１５５】

これらの実施形態は、治療有効量の本明細書に記載の組成物を、それを必要とする対象に投与すること、及び治療有効量の合成小分子を対象に投与すること、を伴う。合成小分子及び免疫細胞は、同じ又は異なる製剤を介して、実質的に同時に又は連続して投与され得る。方法は、刺激を減少させる働きをする合成モノマー又はポリマー小分子の製剤を対象に投与することを更に含み得る。

【０１５６】

エクスビボで活性化された免疫細胞の投与及びインビボ免疫細胞の活性化は、典型的には、疾患又は障害、すなわちがんを治療する状況において行われる。

【０１５７】

本明細書で使用される「対象」（又は「患者」）という用語には、示された疾患又は障害に罹患しやすいか又は罹患している動物界の全ての構成生物が含まれる。いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、ヒト又は非ヒト哺乳動物である。本方法はまた、イヌ及びネコなどの愛玩動物、並びにウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタなどの家畜、並びに他の家畜化された動物及び野生動物にも適用可能である。本開示による治療「を必要とする」対象は、特定の疾患又は障害「に罹患しているか又は罹患している疑いがある」対象であってもよく、陽性と診断されていてもよく、又はそうでなければ、対象が疾患又は障害に罹患していると医療専門家が診断又は疑うことができるような、十分な数の危険因子、又は十分な数若しくは組み合わせの、徴候若しくは症状を呈していてもよい。したがって、特定の疾患又は障害に罹患している対象及び罹患している疑いのある対象は、必ずしも２つの異なる群である必要はない。

【０１５８】

広義には、本方法は、がん腫（原発性腫瘍及び転移性腫瘍の両方を含む固形腫瘍）、肉腫、黒色腫、並びに白血病、リンパ腫、及び多発性骨髄腫などの血液がん（リンパ球、骨髄、及び／又はリンパ節を含む血液に影響を及ぼすがん）の治療において有効であり得る。成人腫瘍／がん、及び小児腫瘍／がんも含まれる。がんは、血管新生されているか、又はまだ実質的に血管新生されていないか、又は血管新生されていない腫瘍であり得る。

【０１５９】

がんの代表例としては、副腎皮質がん、エイズ関連がん（例えば、カポジ及びエイズ関連リンパ腫）、虫垂がん、小児がん（例えば、小児小脳星細胞腫、小児脳星細胞腫）、基底細胞がん、皮膚がん（非黒色腫）、胆道がん、肝外胆管がん、肝内胆管がん、膀胱がん、泌尿器膀胱がん、脳のがん（例えば、脳幹神経膠腫、妊娠性絨毛腫瘍神経膠腫、小脳星細胞腫、脳星細胞腫／悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉腫瘍、視

覚路及び視床下部神経膠腫などの神経膠腫及び神経膠芽腫）、乳がん、気管支腺腫／カルチノイド、カルチノイド腫瘍、神経系がん（例えば、中枢神経系がん、中枢神経系リンパ腫）、子宮頸がん、慢性骨髄増殖性障害、結腸直腸がん（例えば、結腸がん、直腸がん）、リンパ系新生物、真菌症、セザリー症候群、子宮内膜がん、食道がん、頭蓋外胚細胞腫瘍、顎外胚細胞腫瘍、肝外胆管がん、眼のがん、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、胆嚢がん、消化器がん（胃がん、小腸がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（gastrointestinal stromal tumor、ＧＩＳＴ））、胆管がん、胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、頭頸部がん、神経内分泌腫瘍、ホジキンリンパ腫、アナーバー病期ＩＩＩ期及びＩＶ期の小児非ホジキンリンパ腫、ＲＯＳ１陽性難治性非ホジキンリンパ腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、眼球がん、膵島細胞腫瘍（膵内分泌腫瘍）、腎がん（例えば、ウィルム腫瘍、腎細胞がん）、肝臓がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん、及び小細胞肺がん）、ＡＬＫ陽性未分化大細胞リンパ腫、ＡＬＫ陽性進行性悪性固形新生物、ワルデンストーム巨細胞腫、黒色腫、眼内（眼の）黒色腫、メルケル細胞がん、中皮腫、原発不明転移性扁平上皮頸部がん、多発性内分泌腫瘍（multiple endocrine neoplasia、ＭＥＮ）、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性疾患、上咽頭がん、神経芽細胞腫、口腔（oral）がん（例えば、口腔（mouth）がん、口唇がん、口腔（oral cavity）がん、舌がん、中咽頭がん、咽頭（throat）がん、喉頭がん）、卵巣がん（例えば、卵巣上皮がん、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍）、膵臓がん、膵島細胞膵臓がん、副鼻腔及び鼻腔がん、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭（pharyngeal）がん、褐色細胞腫、松果体芽細胞腫、転移性甲状腺未分化がん、甲状腺未分化がん、甲状腺乳頭がん、下垂体腫瘍、形質細胞新生物／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、前立腺がん、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺がん、子宮がん（例えば、子宮内膜子宮がん、子宮肉腫、子宮体がん）、扁平上皮がん、精巣がん、胸腺腫、胸腺がん、甲状腺がん、若年性黄色肉芽腫、腎盂・尿管及び他の泌尿器の移行細胞がん、尿道がん、妊娠性絨毛腫瘍、膣がん、外陰がん、肝芽腫、横紋体腫瘍、並びにウィルムス腫瘍が挙げられる。

【０１６０】

本開示の方法で治療可能であり得る肉腫としては、軟組織及び骨肉腫の両方が同様に挙げられ、その代表例としては、骨肉種又は骨原性肉腫（骨）（例えば、ユーイング肉腫）、軟骨肉腫（軟骨組織）、平滑筋肉腫（平滑筋）、横紋筋肉腫（骨格筋）、中皮肉腫又は中皮種（体腔の膜性被覆）、線維肉腫（線維組織）、血管肉腫又は血管内皮腫（血管）、脂肪肉腫（脂肪組織）、神経膠腫又は星状膠細胞腫（脳に見出される神経性結合組織）、粘液肉腫（原始胚結合組織）、間葉腫瘍又は混合中胚葉腫瘍（混合結合組織型）、及び組織球性肉腫（免疫性のがん）が挙げられる。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、血液系、肝臓、脳、肺、結腸、膵臓、前立腺、卵巣、乳房、皮膚、及び子宮内膜の細胞増殖性疾患又は障害を有する対象の治療を伴う。

【０１６２】

本明細書で使用される場合、「血液系の細胞増殖疾患又は障害」としては、リンパ種、白血病、骨髄性新生物、肥満細胞性新生物、骨髄異形成、良性単クローン性免疫グロブリン血症、リンパ腫様丘疹症、真性赤血球増加症、原因不明骨髄化生、及び本態性血小板血症が挙げられる。したがって、血液がんの代表例としては、多発性骨髄腫、リンパ腫（Ｔ細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（diffuse large B-cell lymphoma、ＤＬＢＣＬ）、濾胞性リンパ腫（follicular lymphoma、ＦＬ）、マントル細胞リンパ腫（mantle cell lymphoma、ＭＣＬ）及びＡＬＫ＋未分化大細胞リンパ腫（例えば、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（例えば、胚中心Ｂ細胞様びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫又は活性化Ｂ細胞様びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫）、バーキットリンパ腫／白血病、マントル細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、リンパ球形質細胞性リンパ腫／ワルデンシュトレーム・マクログロブリン血症、転移性膵臓腺がん、難治性Ｂ細胞性非

ホジキンリンパ腫、及び再発性Ｂ細胞性非ホジキンリンパ腫から選択されるＢ細胞性非ホジキンリンパ腫、小児リンパ腫、及びリンパ球由来及び皮膚由来のリンパ腫、例えば小リンパ球性リンパ腫、小児白血病を含む白血病、毛様細胞性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄球性白血病、急性骨髄性白血病（例えば、急性単球性白血病）、慢性リンパ性白血病、小リンパ球性白血病、慢性骨髄球性白血病、慢性骨髄性白血病、及び肥満細胞白血病、骨髄性新生物及び肥満細胞新生物が挙げられ得る。

【０１６３】

多発性骨髄腫は、血液系の細胞増殖性疾患又は障害である。多発性骨髄腫は、形質細胞新生物である。健康な形質細胞は、病原体を認識し攻撃する抗体を産生する。多発性骨髄腫では、がん性形質細胞が骨髄に蓄積し、健康な血液細胞を排除する。がん性骨髄腫形質細胞は、抗体を産生するのではなく、合併症を引き起こし得る異常なタンパク質を産生する。形質細胞の過剰増殖はまた、正常な血液形成細胞の密集をもたらし、血球数の低下並びに血小板減少症及び白血球減少症をもたらす。骨髄腫形質細胞は、モノクローナル免疫グロブリン、モノクローナルタンパク（Ｍタンパク）、Ｍスパイク、又はパラタンパクとして知られる異常な抗体を産生する。

【０１６４】

多発性骨髄腫基準を満たさない他の形質細胞腫としては、重要性不明の単クローン性免疫グロブリン血症（monoclonal gammopathy of uncertain significance、ＭＧＵＳ）、くすぶり型多発性骨髄腫（smoldering multiple myeloma、ＳＭＭ）、孤立性形質細胞腫、及び軽鎖アミロイドーシスが挙げられる。微小残存病変（minimal residual disease、ＭＲＤ）は、従来の形態学的評価で利用可能な検出限界未満の少数の悪性細胞を指す。多発性骨髄腫におけるＭＲＤは、臨床応答（clinical response、ＣＲ）を測定した後に骨髄中に存在し、対象が寛解状態にある骨髄腫細胞を指す。これらの残存骨髄腫細胞は、疾患の進行及び再発をもたらし得るため、臨床的に重要である。

【０１６５】

本明細書中で使用される場合、「肝臓の細胞増殖性疾患又は障害」は、肝臓に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害を含む。肝臓の細胞増殖障害には、肝臓がん（例えば、肝細胞がん、肝内胆管がん及び肝芽腫）、肝臓の前がん又は前がん状態、肝臓の良性増殖又は病変、及び肝臓の悪性増殖又は病変、並びに肝臓以外の体内の組織及び器官における転移性病変が含まれ得る。肝臓の細胞増殖性障害には、肝臓での過形成、化生及び異形成が含まれ得る。

【０１６６】

本明細書中で使用される場合、「脳の細胞増殖性疾患又は障害」には、脳に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。脳の細胞増殖性障害としては、脳のがん（例えば神経膠腫、神経膠芽腫、髄膜腫、下垂体腺腫、前庭神経鞘腫、及び原始神経外胚葉性腫瘍（髄芽腫））、脳の前がん又は前がん状態、脳の良性増殖又は病変、及び脳の悪性増殖又は病変、並びに脳以外の体内の組織及び器官における転移性病変が含まれ得る。脳の細胞増殖性障害は中枢神経系（central nervous system、ＣＮＳ）腫瘍とも呼ばれ、星状細胞腫瘍、オリゴデンドログリア腫瘍、混合神経膠腫、上衣腫瘍、髄芽細胞腫、松果体実質腫瘍、髄膜腫瘍、胚細胞腫瘍、頭蓋咽頭腫（グレードＩ）が含まれる。脳の細胞増殖性障害には、脳での過形成、化生及び異形成が含まれ得る。脳に広がったがんは、転移性脳腫瘍と称される。転移性脳腫瘍のおよそ半分は肺腫瘍に由来する。脳に広がる傾向を有する他の腫瘍としては、例えば、メラノーマ、乳がん、結腸がん、腎がん、及び上咽頭がんが挙げられる。

【０１６７】

神経膠芽腫（Glioblastoma、ＧＢＭ）は、グレードＩＶ星状細胞腫とも称され、脳の、急速に成長する侵襲性の細胞増殖性障害である。ＧＢＭは、星状細胞（グリア細胞型）で始まる星状細胞腫瘍であり、神経膠腫と呼ばれることもある。ＧＢＭは、近くの脳組織に侵入するが、一般に、離れた器官には広がらない。ＧＢＭは、脳内でデノボで生じ得るか、又は低悪性度の星状細胞腫から発生し得る。

【０１６８】
本明細書中で使用される場合、「肺の細胞増殖性疾患又は障害」は、肺細胞に影響を及ぼす細胞増殖性障害の全ての形態を含む。肺の細胞増殖性障害としては、肺がん、肺の前がん及び前がん状態、肺の良性増殖又は病変、肺での過形成、化生、及び異形成、並びに肺以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられる。肺がんには、全ての形態の肺がん、例えば悪性肺新生物、上皮内がん腫、典型的なカルチノイド腫瘍、及び非定型カルチノイド腫瘍が含まれる。肺がんには、小細胞肺がん（「small cell lung cancer、ＳＬＣＬ」）、非小細胞肺がん（「non-small cell lung cancer、ＮＳＣＬＣ」）、腺がん、小細胞がん、大細胞がん、扁平上皮がん、及び中皮腫が含まれる。肺がん細胞には、「�瘢痕がん」、細気管支肺胞上皮がん、巨細胞がん、紡錘細胞がん、及び大細胞神経内分泌がんが含まれ得る。肺がんはまた、組織学的及び超微細構造不均一性（例えば、混合細胞型）を有する肺新生物を含む。いくつかの実施形態では、本開示の化合物は、非転移性又は転移性肺がん（例えば、ＮＳＣＬＣ、ＡＬＫ陽性ＮＳＣＬＣ、ＲＯＳ１再構成を有するＮＳＣＬＣ、肺腺がん、及び扁平上皮細胞肺がん）を治療するために使用され得る。

【０１６９】
本明細書で使用される場合、「結腸の細胞増殖性疾患又は障害」には、結腸がん、結腸の前がん又は前がん状態、結腸の腺腫性ポリープ及び結腸の異時性病変を含む、結腸細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。結腸がんとしては、散発性及び遺伝性結腸がん、悪性結腸新生物、上皮内がん腫、定型カルチノイド腫瘍、及び非定型カルチノイド腫瘍、腺がん、扁平上皮がん、及び扁平上皮がんが挙げられる。結腸がんは、遺伝性非ポリポーシス大腸がん、家族性大腸腺腫、ＭＹＨ関連ポリポーシス、Ｇａｒｄｎｅｒ症候群、Ｐｅｕｔｚ－Ｊｅｇｈｅｒｓ症候群、Ｔｕｒｃｏｔ症候群及び若年性ポリポーシスなどの遺伝性症候群に関連し得る。結腸の細胞増殖性障害はまた、結腸での過形成、化生、又は異形成によって特徴付けられ得る。

【０１７０】
本明細書で使用される場合、「膵臓の細胞増殖性疾患又は障害」には、膵臓細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。膵臓の細胞増殖性障害としては、膵臓がん、膵臓の前がん又は前がん状態、膵臓での過形成、膵臓での異形成、膵臓の良性増殖又は病変、及び膵臓の悪性増殖又は病変、並びに膵臓以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられ得る。膵臓がんには、管腺がん、腺扁平上皮がん、多形性巨細胞がん、粘液性腺がん、破骨細胞様巨細胞がん、粘液性嚢胞腺がん、腺房がん、未分類大細胞がん、小細胞がん、膵臓芽細胞腫、乳頭状腫瘍、粘液性嚢胞腺腫、乳頭状嚢胞腺腫、及び漿液性嚢胞腺腫、並びに組織化学的及び超微細構造的異質性（例えば混合性）を有する膵臓新生物を含む、全ての形態の膵臓がんが含まれる。

【０１７１】
本明細書中で使用される場合、「前立腺の細胞増殖性疾患又は障害」には、前立腺に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。前立腺の細胞増殖性障害としては、前立腺がん、前立腺の前がん又は前がん状態、前立腺の良性増殖又は病変、及び前立腺の悪性増殖又は病変、並びに前立腺以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられ得る。前立腺の細胞増殖性障害には、前立腺での過形成、化生及び異形成が含まれ得る。

【０１７２】
本明細書中で使用される場合、「卵巣の細胞増殖性疾患又は障害」には、卵巣の細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。卵巣の細胞増殖障害には、一方若しくは両方の卵巣、ファロピウス管、又は腹腔内の器官を覆う組織において形成される細胞の増殖が含まれる（例えば、嚢胞腺がん、卵巣胎児性がん、卵巣腺がん）。卵巣の細胞増殖性障害としては、卵巣の前がん又は前がん状態、卵巣の良性増殖又は病変、卵巣がん、並びに卵巣以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられ得る。卵巣の細胞増殖性障害としては、卵巣での過形成、化生及び異形成が挙げられ得る。卵巣の細胞増殖

性障害としては、卵巣上皮がん（上皮性卵巣がん）、胚細胞腫瘍、及び間質細胞腫瘍が挙げられる。上皮性卵巣がんは、最も一般的なタイプの卵巣がんである。これらのがんの約８５％～９０％は、卵巣の外表面を覆う細胞を含む。それらは、一般に、最初に骨盤及び腹部の内層及び器官に広がり、次いで身体の他の部分に広がる。このタイプの卵巣がんを有する女性のほぼ７０％が、進行期であると診断される。卵巣上皮がん、卵管がん、及び原発性腹膜がんは、上皮性卵巣がんである。

【０１７３】

本明細書中で使用される場合、「乳房の細胞増殖性疾患又は障害」には、乳房細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。乳房の細胞増殖性障害には、乳がん、乳房の前がん又は前がん状態、乳房の良性増殖又は病変、並びに乳房以外の体内の組織及び器官における転移性病変が含まれ得る。乳房の細胞増殖性障害は、乳房の細胞が制御不能に成長する障害の群である。乳房の細胞増殖性障害としては、乳房での過形成、化生及び異形成が挙げられ得る。乳房の細胞増殖性障害は、乳房の異なる部分で始まり得る。乳房は、３つの主要部分：小葉、腺管、及び結合組織から構成される。小葉は、乳汁を産生する腺である。腺管は、乳を乳首に運ぶ管である。結合組織（これは、線維組織及び脂肪組織からなる）は、乳房組織を取り囲み、かつ連結させる。ほとんどの乳がんは、腺管又は小葉で始まる。浸潤性腺管がん及び浸潤性小葉がんは、乳がんの２つの最も一般的なタイプである。浸潤性腺管がんでは、がん細胞は腺管で発生し、次いで腺管の外側で乳房組織の他の部分に拡散又は転移する。浸潤性小葉がんでは、がん細胞は小葉に由来し、次いで小葉から近くにある乳房組織に広がる。本明細書中で使用される場合、「皮膚の細胞増殖性疾患又は障害」には、皮膚細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。皮膚の細胞増殖性障害としては、皮膚の前がん又は前がん状態、皮膚の良性増殖又は病変、黒色腫、悪性黒色腫又は皮膚の他の悪性増殖又は病変、並びに皮膚以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられ得る。皮膚の細胞増殖性障害には、皮膚での過形成、化生及び異形成が含まれ得る。

【０１７４】

本明細書中で使用される場合、「子宮内膜の細胞増殖性疾患又は障害」には、子宮内膜の細胞に影響を及ぼす全ての形態の細胞増殖性障害が含まれる。子宮内膜の細胞増殖性障害としては、子宮内膜の前がん又は前がん状態、子宮内膜の良性増殖又は病変、子宮内膜がん、並びに子宮内膜以外の体内の組織及び器官における転移性病変が挙げられ得る。子宮内膜の細胞増殖性障害としては、子宮内膜での過形成、化生及び異形成が挙げられ得る。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、がんは、乳がん、卵巣がん、多発性骨髄腫、肺がん、又は多形性神経膠芽腫である。本開示の治療方法は、単独で、又は他の治療と組み合わせて、いずれの抗がん治療もまだ受けていない患者における「第一選択」、すなわち、初期治療であり得る。本開示の治療方法は、少なくとも１つの以前の抗がん治療レジメン、例えば、化学療法、放射免疫療法、毒素療法、プロドラッグ活性化酵素療法、抗体療法、外科的療法、免疫療法、放射線療法、標的療法又はそれらの任意の組み合わせを、単独で又は他の治療と組み合わせて受けた患者に投与されるという点で、「第二選択」療法として有利に使用され得る。場合によっては、以前の療法は不成功であったか又は部分的に成功している場合があるが、これは患者が特定の治療に対して不耐性になった場合、特に、抗原喪失／エスケープが理由で最前線の療法がもはや有効ではない場合である。

【０１７６】

併用療法

ある特定の実施形態では、がんを治療する本発明の方法は、併用療法の一部であり得、対象は間接的又は直接的な効果を発揮する別の薬剤でも治療される。ＢＡＴ－ＣＡＲ免疫細胞の投与の場合、他の薬剤は、腫瘍関連抗原などの細胞表面抗原に結合する結合部分にコンジュゲートされる合成抗原である。ＢＡＴ－ＣＡＲ免疫細胞は、合成抗原に結合するＢＡＴ－ＣＡＲの細胞外結合ドメインを介して間接的に細胞表面抗原に結合する。合成抗

原及びそのコンジュゲートの代表的な例は、例えば、国際公開第２０１７／１４３０９４号、国際公開第２０１８／２００７１３号、及び国際公開第２０２０／００６３１２号に記載されており、これらは各々、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、合成抗原は、ＢＡＴ－ＣＡＲの細胞外結合ドメインに結合することができないようにマスク又はケージされている（「プロ抗原」）。これらの実施形態は、ＢＡＴ－ＣＡＲの細胞外結合ドメインと相互作用することができるように、抗原を脱マスキング又は脱ケージングする更なる薬剤の投与を必要とする。この特徴は、本発明の方法に更に別のレベルの制御を加える。合成抗原及びそのコンジュゲートの代表的な例は、例えば、国際公開第２０１７／１４３０９４号、国際公開第２０１８／２００７１３号、及び国際公開第２０２０／００６３１２号に記載されており、これら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、合成抗原は、１つ以上のＣＭＮＢケージング基の付加によってマスクされ、脱マスキング剤はＵＶ光である。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、方法は、別の抗がん剤の投与を伴う。「抗がん」剤は、例えば、がん細胞を殺傷すること、がん細胞のアポトーシスを誘導すること、がん細胞の増殖率を減少させること、転移の発生率若しくは数を減少させること、腫瘍サイズを減少させること、腫瘍増殖を阻害すること、腫瘍若しくはがん細胞への血液供給を減少させること、がん細胞若しくは腫瘍に対する免疫応答を促進すること、がんの進行を防止若しくは阻害すること、又はがんを有する対象の寿命を延ばすことにより、対象のがんに悪影響を与えることができる。より一般的には、これらの他の組成物は、細胞の殺傷又は増殖を阻害するのに有効な組み合わせ量で提供される。このプロセスは、がん細胞を、発現構築物及び薬剤又は複数の因子と同時に接触させることを含み得る。これは、細胞を、単一の組成物又は両方の薬剤を含む薬理学的製剤と接触させることによって、又は細胞を、同時に２つの異なる組成物（一方の組成物は発現構築物を含み、もう１つの組成物は第２の薬剤を含む。）又は製剤と接触させることによって、達成され得る。

【０１７８】

化学療法剤及び放射線療法剤に対する腫瘍細胞の耐性は、臨床腫瘍学における主要な問題である。現在のがん研究の１つの目標は、化学療法及び放射線療法を、他の療法と組み合わせることで、その効果を改善する方式を見つけることである。本発明との関連で、細胞療法は、化学療法、放射線療法、又は免疫療法の介入、並びにアポトーシス促進剤又は細胞周期調節剤と併せて同様に使用され得ると考えられる。

【０１７９】

代替的に、本発明の療法は、数分から数週間の範囲の間隔で、他の薬剤の治療に先行又は後行することができる。他の薬剤と本発明が個別に適用される実施形態では、一般に、薬剤及び本発明の療法が、依然として細胞に対して有利に併用効果を発揮することができるように、各送達時間の間に著しい期間が経過しないことを確実にする。そのような場合、互いに約１２～２４時間以内、より好ましくは互いに約６～１２時間以内に両方のモダリティと細胞を接触させ得ることが企図される。いくつかの状況では、それぞれの投与の間に、数日（２、３、４、５、６、又は７日）～数週間（１、２、３、４、５、６、７、又は８週）が経過する場合、治療期間を著しく延長することが望ましいことがある。

【０１８０】

治療サイクルは必要に応じて繰り返されることが予想される。また、本発明の細胞療法と組み合わせて、様々な標準的な療法、並びに外科的介入を適用することができると考えられる。

【０１８１】

本明細書に記載の本発明の療法との併用に好適な複数の骨髄腫治療剤としては、ベランタマブマホドチン－ｂｌｍｆ（ブレンレップ（登録商標））、ボルテゾミブ（ベルケイド（登録商標））、カルフィルゾミブ（カイプロリス（登録商標））、カルムスチン（ＢｉＣＮＵ（登録商標））、シルタカブタゲン・オートロイセル（カービクティ（登録商標））、シクロホスファミド、ダラツムマブ（ダラザレックス（登録商標））、ダラツムマブ

及びヒアルロニダーゼ－ｆｉｈｊ（ダラザレックス・ファスプロ（登録商標））、ドキソルビシン塩酸塩リポソーム（ドキシル（登録商標））、エロツズマブ（エムプリシティ（登録商標））、イデカブタゲン・ビクルユーセル（アベクマ（登録商標））、イサツキシマブ－ｉｒｆｃ（サークリサ（登録商標））、イキサゾミブクエン酸塩（ニンラーロ（登録商標））、レナリドミド（レブリミド）、メルファラン及びメルファラン塩酸塩（アルケラン（登録商標）錠、注射用アルケラン（登録商標）、エボメラ（登録商標））、パミドロン酸ジナトリウム（アレディア（登録商標））、プレリキサホル（モゾビル（登録商標））、ポマリドミド（ポマリスト（登録商標））、セリネクソール（キシポビオ（登録商標））、サリドマイド（サロミド（登録商標））、ゾレドロン酸（ゾメタ（登録商標））、並びにボルテゾミブ（ＰＳ－３４１）、ドキソルビシン塩酸塩（アドリアマイシン（登録商標））及びデキサメタゾンのＰＡＤ併用が挙げられる。

【０１８２】

本明細書に記載される本発明の療法との組み合わせに好適な乳がん予防及び治療剤としてはまた、ラロキシフェン及びタモキシフェンクエン酸塩（ソルタモックス（登録商標））、アベマシクリブ（ベルゼニオ（登録商標））、パクリタキセル（アブラキサン（登録商標））、アドトラスツズマブエムタンシン（カドサイラ（登録商標））、エパロリムス（アフィニトール（登録商標）、ゾートレス（登録商標）、アフィニトール・ジスペルツ（登録商標））、アルペリシブ（ピクレイ（登録商標））、アナストロゾール（アリミデックス（登録商標））、パミドロン酸ジナトリウム（アレディア（登録商標））、エキセメスタン（アロマシン（登録商標））、シクロホスファミド、ドキソルビシン塩酸塩、エピルビシン塩酸塩（エレンス（登録商標））、ｆａｍ－トラスツズマブ・デラクステカン－ｎｘｋｉ（エンハーツ（登録商標））、フルオロウラシル（５－ＦＵ；アドルシル（登録商標））、トレミフェン（フェアストン（登録商標））、レトロゾール（フェマーラ（登録商標））、ゲムシタビン（ジェムザール（登録商標）、インフジェム（登録商標））、メシル酸エリブリン（ハラベン（登録商標））、トラスツズマブ及びヒアルロニダーゼ－ｏｙｓｋ（ハーセプチン・ハイレクタ（登録商標））、トラスツズマブ（ハーセプチン（登録商標））、パルボシクリブ（イブランス（登録商標））、イクサベピロン（イグゼンプラ（登録商標））、ペンブロリズマブ（キイトルーダ（登録商標））、リボシクリブ（キスカリ（登録商標））、オラパリブ（リムパーザ（登録商標））、マルゲツキシマブ－ｃｍｋｂ（マルゲンザ（登録商標））、マレイン酸ネラチニブ（ネルリンクス（登録商標））、ペルツズマブ（パージェタ（登録商標））、ペルツズマブトラスツズマブ及びヒアルロニダーゼ－ｚｚｘｆ（フェスゴ（登録商標））、トシル酸タラゾパリブ（ターゼナ（登録商標））、ドセタキセル（タキソテール（登録商標））、アテゾリズマブ（テセントリク（登録商標））、チオテパ（テパディナ（登録商標））、メトトレキサートナトリウム（トレキサール（登録商標））、サシツズマブゴビテカン－ｈｚｉｙ（トロデルビ（登録商標））、ツカチニブ（ツキサ（登録商標））、ラパチニブジトシレート（チケルブ（登録商標））、ビンブラスチン硫酸塩、カペシタビン（ゼローダ（登録商標））、及びゴセレリン酢酸塩（ゾラデックス（登録商標））が挙げられ得る。

【０１８３】

本明細書に記載される本発明の療法との組み合わせに好適な卵巣がん治療剤としては、メルファラン（アルケラン（登録商標））、ベバシズマブ（アリムシス（登録商標）、アバスチン（登録商標）、ムバシ（登録商標）、ジラベブ（登録商標））、シスプラチン、シクロホスファミド、ドキソルビシン塩酸塩、ドキソルビシン塩酸塩リポソーム（ドキシル（登録商標））、ゲムシタビン塩酸塩（ジェムザール（登録商標）、インフジェム（登録商標））、塩酸トポテカン（ハイカムチン（登録商標））、オラパリブ（リムパーザ（登録商標））、カルボプラチン（パラプラチン（登録商標））、カンシル酸ルカパリブ（ルブラカ（登録商標））、チオテパ（テパディナ（登録商標））、及びトシル酸ニラパリブ１水和物（ゼジューラ（登録商標））が挙げられる。上皮性卵巣がんを治療するために承認された薬剤は、卵巣胚細胞がんに適用され得る。

【０１８４】

本明細書に記載の本発明の療法との組み合わせに好適な脳のがん治療剤としては、ベルツチファン（Ｗｅｌｉｒｅｇ）、ベバシズマブ（アリムシス、アバスチン、ムバシ、ジラベブ）、カルムスチン（ＢｉＣＮＵ）、カルムスチンインプラント（ジラデル・ウェファー）、エベロリムス（アフィニトール、アフィニトール・ジスペルツ）、ロムスチン、ナキシタマブ－ｇｑｇｋ（ダニエルザ）、及びテモゾロミド（テモダール）が挙げられる。

【０１８５】

免疫療法

チェックポイント阻害剤（例えば、ペンブロリズマブ（キイトルーダ（登録商標））、ニボルマブ（オプジーボ（登録商標））、セミプリマブ（リブタヨ（登録商標））、アテゾリズマブ（テセントリク（登録商標））、アベルマブ（バベンシオ（登録商標））、デュルバルマブ（イミフィンジ（登録商標））又は他の免疫調節抗体若しくは試薬もまた、併用療法の一部として、本発明の遺伝子療法と併せて使用され得る。

【０１８６】

化学療法

がん療法には、化学物質と放射線に基づく治療の両方を用いた様々な併用療法も含まれる。併用化学療法としては、例えば、アブラキサン（登録商標）、アルトレタミン、ドセタキセル、ハーセプチン（登録商標）、メトトレキサート、ノバントロン（登録商標）、ゾラデックス（登録商標）、シスプラチン（ＣＤＤＰ）、カルボプラチン、プロカルバジン、メクロレタミン、シクロホスファミド、カンプトテシン、イホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン、ニトロスウレア、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、プリコマイシン、マイトマイシン、エトポシド（ＶＰ１６）、タモキシフェン、ラロキシフェン、エストロゲン受容体結合剤、タキソール（登録商標）、ゲムシタビエン、ナベルビン（登録商標）、ファルネシルプロテインタンスフェラーゼ阻害剤、トランスプラチナム（transplatinum）、５－フルオロウラシル、ビンクリスチン、ビンブラスチン及びメトトレキサート、又は前述の任意の類似体若しくは誘導体のバリアント、及びこれらの組み合わせが挙げられる。

【０１８７】

特定の実施形態では、個体に対する化学療法は、本開示と組み合わせて、例えば、本開示の投与の前、間、及び／又は後に採用される。

【０１８８】

放射線療法

ＤＮＡ損傷を引き起こし、広く使用されている他の要因としては、γ線、Ｘ線として一般に知られているもの、及び／又は腫瘍細胞への放射性同位元素の誘導送達が挙げられる。マイクロ波及び紫外線照射など、他の形態のＤＮＡ損傷因子も考えられる。これらの要因の全てが、ＤＮＡ、ＤＮＡの前駆体、ＤＮＡの複製と修復、染色体の組み立てと維持に広範囲の損傷を与える可能性が最も高い。Ｘ線の線量範囲は、長期間（３～４週間）についての１日の線量５０～２００レントゲンから、単回線量の２０００～６０００レントゲンまでである。放射性同位元素の線量範囲は大きく異なり、同位元素の半減期、放出される放射線の強度とタイプ、新生細胞による取り込みに依存する。

【０１８９】

遺伝子

更に別の実施形態では、二次治療は、本開示の臨床的実施形態の前、後、又は同時に治療用ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡ又はレプリコンなどの治療用ＲＮＡ）が投与される遺伝子療法である。細胞増殖の誘導物質、細胞増殖の阻害剤、又はプログラムされた細胞死の制御因子を含む、様々な発現産物が本開示に包含される。

【０１９０】

手術

がん患者の約６０％は、予防的、診断的、病期診断的、治癒的及び緩和的手術を含む、ある種の手術を受ける。治癒的手術は、本開示の治療、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、遺伝子療法、免疫療法及び／又は代替療法などの他の療法と組み合わせて使用され

得るがん治療である。

【０１９１】

治癒的手術には、がん性組織の全部又は一部が物理的に除去され、切り取られ、及び／又は破壊される切除が含まれる。腫瘍切除とは、腫瘍の少なくとも一部を物理的に除去することを指す。腫瘍の切除に加えて、手術による治療には、レーザ手術、凍結手術、電気手術、及び顕微鏡下手術（モース術）が含まれる。本開示は、表在がん、前がん、又は付随的な量の正常組織の除去と組み合わせて使用され得ることが更に企図される。

【０１９２】

がん性細胞、組織、又は腫瘍の全て又は一部を切除すると、体内に空洞が形成されることがある。治療は、灌流、直接注射、又は追加の抗がん療法によるその部位への局所適用によって達成され得る。このような治療は、例えば、１、２、３、４、５、６、若しくは７日ごと、又は１、２、３、４、及び５週間ごと、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、若しくは１２か月ごとに繰り返すことができる。これらの治療は、同様に様々な投与量のものであり得る。

【０１９３】

他の薬剤

更なる薬剤が、本発明の方法において使用され得る。これらの追加の薬剤には、免疫調節剤、細胞表面受容体とＧＡＰ結合の上方制御に影響を与える薬剤、細胞増殖抑制剤と分化剤、細胞接着阻害剤、又はアポトーシス誘導物質に対する過剰増殖細胞の感受性を高める薬剤が含まれる。免疫調節剤としては腫瘍壊死因子、Ｆ４２Ｋ及び他のサイトカイン類似体、又はＭＩＰ－１、ＭＩＰ－１β、ＭＣＰ－１、ＲＡＮＴＥＳ、及び他のケモカインが挙げられる。細胞表面受容体又はそれらのリガンド、例えば、Ｆａｓ／Ｆａｓリガンド、ＤＲ４又はＤＲ５／ＴＲＡＩＬの上方制御は、過剰増殖細胞に対するオートクリン又はパラクリン効果の確立により、本発明の組成物及び方法のアポトーシス誘導能力を増強し得る。ＧＡＰ結合の数を増やすことによって、細胞間シグナル伝達を増加させると、隣接する過剰増殖細胞集団に対する抗過剰増殖効果が増加し得る。したがって、他の実施形態では、細胞増殖抑制剤又は分化剤は、本開示と組み合わせて使用して、抗過剰増殖効力を更に増強し得る。細胞接着阻害剤もまた、本開示の有効性を増強し得る。細胞接着阻害剤の例は、焦点接着キナーゼ（focal adhesion kinase、ＦＡＫ）阻害剤及びロバスタチンである。アポトーシスに対する過剰増殖性細胞の感受性を増加させる更に他の薬剤（例えば、抗体ｃ２２５）が使用され得る。

【０１９４】

本開示のこれら及び他の態様は、本開示のある特定の具体的な実施形態を例解することが意図されるが、特許請求の範囲によって定義されるその範囲を限定することは意図されない、以下の実施例を考慮すると更に理解されるであろう。

【実施例】

【０１９５】

実施例１：ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の有無における、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞に対する本発明のサイトカイン受容体スイッチの効果

サイトカイン受容体スイッチをコードする核酸を含むＴ細胞を、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下又は非存在下で、漸増用量のＦＩＴＣ（０、０．１、１、１０、１００、及び１０００μｇ／ｍＬ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲートＢＳＡコーティングプレート（図２）上で、最大２週間刺激した。ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞上のエフェクターメモリー（ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$ＣＣＲ７$^{-}$）マーカー、セントラルメモリー（ＣＤ４５ＲＡ$^{-}$、ＣＣＲ７$^{+}$）マーカー、及び活性化（ＣＤ６９）マーカーをフローサイトメトリーによって評価した。

【０１９６】

図３Ａは、ＩＬ２ＲＡ－ＩＬ２ＲＢ－、ＩＬ２ＲＧ－、ＩＬ７ＲＡ－及びＩＬ１５ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ８＋Ｔ細胞上のエフェクターメモリーマーカーを増加させたことを示す。ＩＬ２ＲＡ及びＩＬ１５Ｒ

Ａ－サイトカイン受容体スイッチはまた、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ４＋Ｔ細胞上のエフェクターメモリーマーカーを増加させた。

【０１９７】

図３Ｂは、ＩＬ２ＲＡ及びＩＬ７ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激有りの場合にＣＤ８＋Ｔ細胞上のセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す。

【０１９８】

図３Ｃは、サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激なしでは、Ｔ細胞上のエフェクターメモリーマーカーにほとんど影響を及ぼさなかったことを示す。

【０１９９】

図３Ｄは、ＩＬ７ＲＡ－サイトカイン受容体スイッチが、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激がなくてもＣＤ４＋Ｔ細胞上のセントラルメモリーマーカーを増加させたことを示す。

【０２００】

実施例２：高親和性プレート上に結合したＢＳＡ－ＦＩＴＣは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－Ｔ細胞を効率的に刺激した

抗フルオレセインＣＡＲをコードする核酸を含むＴ細胞を、ＣＤ３／ＣＤ２８共刺激の存在下又は非存在下で、漸増用量のＦＩＴＣ（０、０．１、１、１０、及び１００μｇ／ｍＬ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲート抗体でコーティングした通常の（通常）若しくは高親和性（高親和性）プレート又は抗体－ＦＩＴＣ溶液（フリー）上で刺激した。ＣＤ８＋Ｔ細胞におけるＩＬ－２、ＩＦＮ－γ及びＣＤ６９の発現をフローサイトメトリーによって評価した。

【０２０１】

図５Ａは、ＩＬ－２の発現がＣＡＲ　Ｔ細胞においてＦＩＴＣ用量依存的様式で増加したことを示す。高親和性プレートに結合した抗体－ＦＩＴＣは、通常のプレートに結合した又は溶液中の抗体－ＦＩＴＣよりも効果的にＣＡＲ－Ｔ細胞を刺激した。

【０２０２】

図５Ｂは、ＩＦＮ－γの発現がＣＡＲ　Ｔ細胞においてＦＩＴＣ用量依存的様式で増加したことを示す。高親和性プレートに結合した抗体－ＦＩＴＣは、通常のプレートに結合した又は溶液中の抗体－ＦＩＴＣよりも効果的にＣＡＲ－Ｔ細胞を刺激した。

【０２０３】

図５Ｃは、ＣＤ６９の発現がＣＡＲ　Ｔ細胞においてＦＩＴＣ用量依存的様式で増加したことを示す。高親和性プレートに結合した抗体－ＦＩＴＣは、通常のプレートに結合した又は溶液中の抗体－ＦＩＴＣよりも効果的にＣＡＲ－Ｔ細胞を刺激した。

【０２０４】

実施例３：ＮＫ細胞に対する本発明のサイトカイン受容体スイッチの効果

異なる組み合わせのサイトカイン受容体スイッチ（ＩＬ２ＲＢ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチ、又はＩＬ１５ＲＡ－、ＩＬ２ＲＢ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチ）を発現するヒトナチュラルキラー（ＮＫ）細胞株、ＮＫ９２を、漸増用量のＦＩＴＣ（０、０，１、１、１０、１００μＭ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲートＢＳＡコーティングプレート上で、最大７日間刺激した。生存細胞の増加倍率を細胞増殖アッセイによって評価した。ＮＫ９２細胞上の活性化マーカーＣＤ６９をフローサイトメトリーによって評価した。図６Ａは、本発明のＩＬ１５ＲＡ－、ＩＬ２ＲＢ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチの組み合わせが、ＮＫ９２細胞の細胞増殖を促進したことを示す。これらのＮＫ９２細胞は、

ＩＬ－２ＲＢシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＢ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＢ細胞内ドメインを含む第１のサイトカインスイッチ、

ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む第２のサイトカインスイッチ、並びに

ＩＬ－１５ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－１５ＲＡ

膜貫通ドメイン、及びＩＬ－１５ＲＡ細胞内ドメインを含む第３のサイトカインスイッチを含む３つのサイトカイン受容体スイッチをコードする３つの核酸を含む。

【０２０５】

異なる組み合わせのサイトカイン受容体スイッチ（ＩＬ７ＲＡ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチ又はＩＬ２ＲＢ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチ）を発現するＮＫ９２細胞を、漸増用量のＦＩＴＣ（０、０，１、１、１０、１００、１０００μＭ）を用いて、ＦＩＴＣコンジュゲートＢＳＡコーティングプレート上で、最大７日間刺激した。ＮＫ９２細胞上の活性化マーカーＣＤ６９をフローサイトメトリーによって評価した。図６Ｂは、本発明のＩＬ７ＲＡ及びＩＬ２ＲＧ－サイトカイン受容体スイッチの組み合わせが、ＮＫ９２細胞上の活性化マーカーＣＤ６９の発現を増加させたことを示す。これらのＮＫ９２細胞は、

ＩＬ－２ＲＧシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－２ＲＧ膜貫通ドメイン、ＩＬ－２ＲＧ細胞内ドメインを含む第１のサイトカインスイッチ、並びに

ＩＬ－７ＲＡシグナルペプチド、抗小分子ｓｃＦｖ、ＣＤ８ヒンジ、ＩＬ－７ＲＡ膜貫通ドメイン、及びＩＬ－７ＲＡ細胞内ドメインを含む第２のサイトカインスイッチ

を含む２つのサイトカイン受容体スイッチをコードする２つの核酸を含む。

【０２０６】

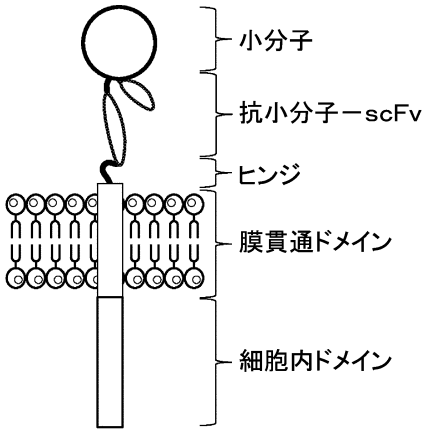
全ての特許公報及び非特許公報は、本開示が関係する当業者の技術レベルを示す。全てのこれらの刊行物（参照されるその任意の特定の部分を含む）は、各個々の刊行物が参照により組み込まれるものとして具体的かつ個別に示される場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２０７】

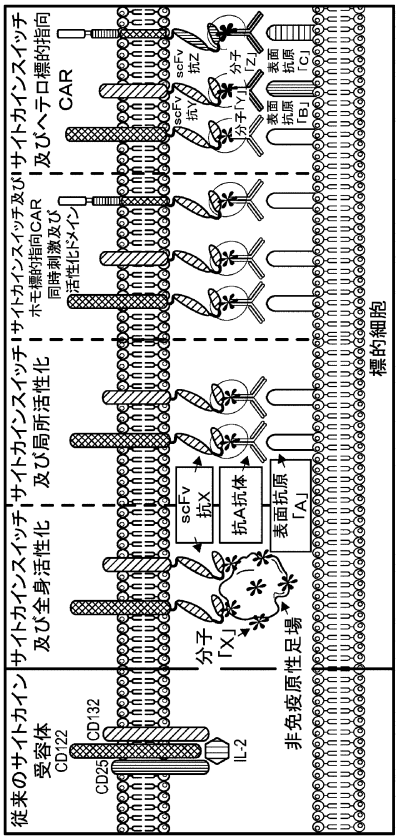
本明細書の開示は、具体的な実施形態を参照して説明されてきたが、これらの実施形態は、本開示の原理及び用途の単なる例解であることを理解されたい。したがって、添付の特許請求の範囲によって定義される本開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく、例解的な実施形態に対して多数の修正を行うことができ、他の構成を考案することができることを理解されたい。

【図面】

【図１Ａ】


小分子
抗小分子－scFv
ヒンジ
膜貫通ドメイン
細胞内ドメイン

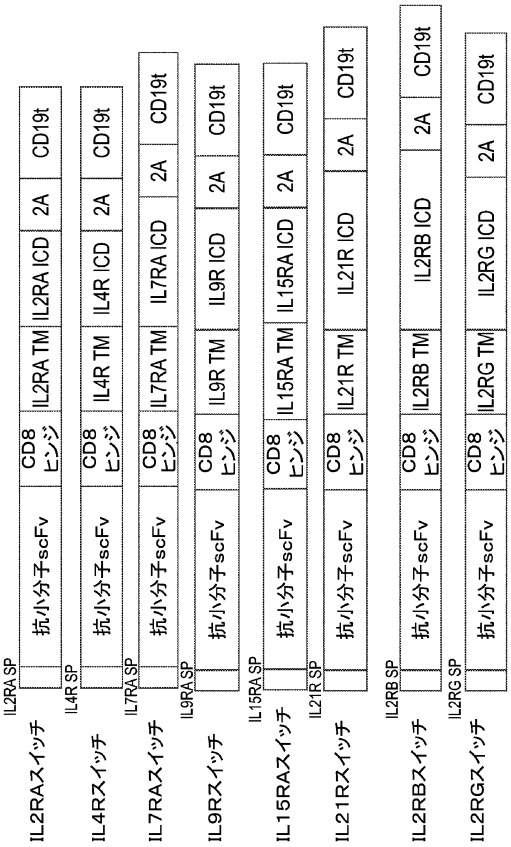
【図１Ｂ】


サイトカインスイッチ及び同時刺激及び活性化ドメイン
ホモ標的指向CAR
サイトカインスイッチ及びヘテロ標的指向CAR
scFv 抗Z
scFv 抗Y
分子「Y」
分子「Z」
表面抗原「C」
表面抗原「B」
サイトカインスイッチ及び局所活性化
サイトカインスイッチ及び全身活性化
scFv 抗X
抗A抗体
表面抗原「A」
分子「X」
標的細胞
従来のサイトカイン受容体
CD122
CD132
CD25
IL-2
非免疫原性足場

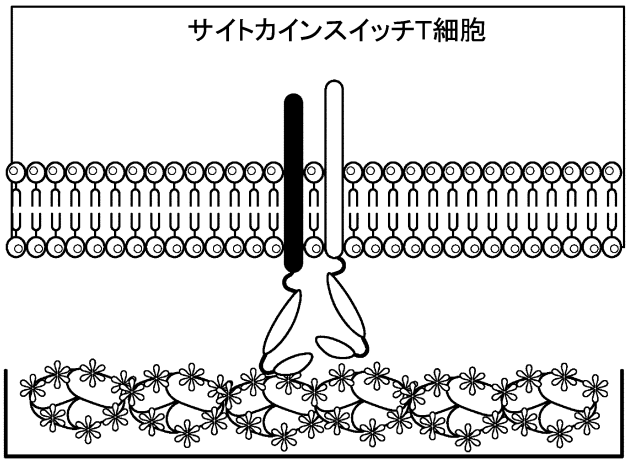
【図１Ｃ】



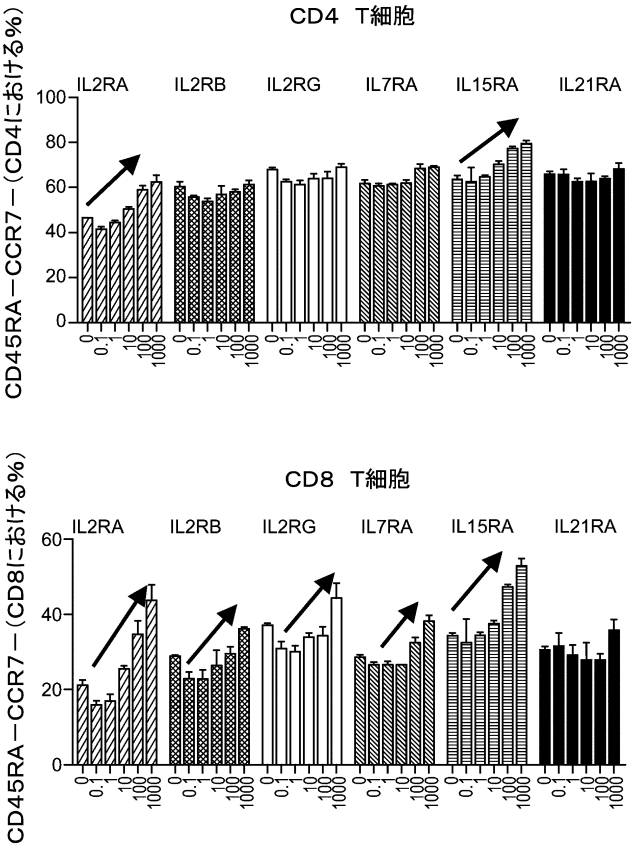
【図１Ｄ】



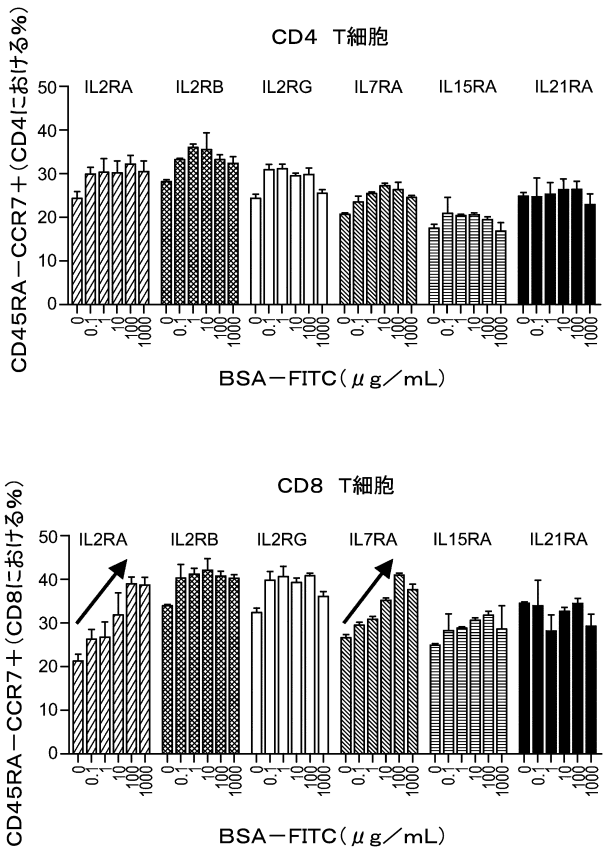
【図２】



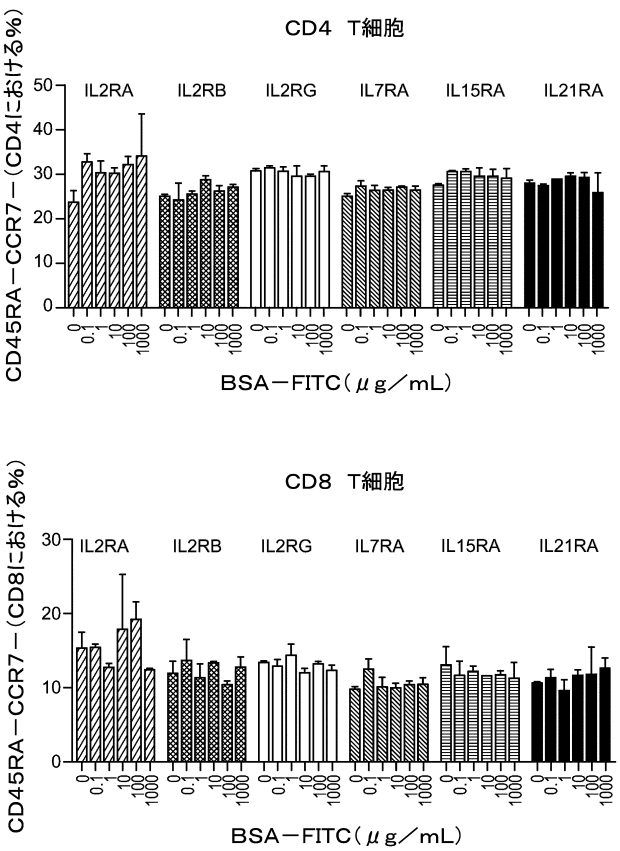
【図３Ａ】



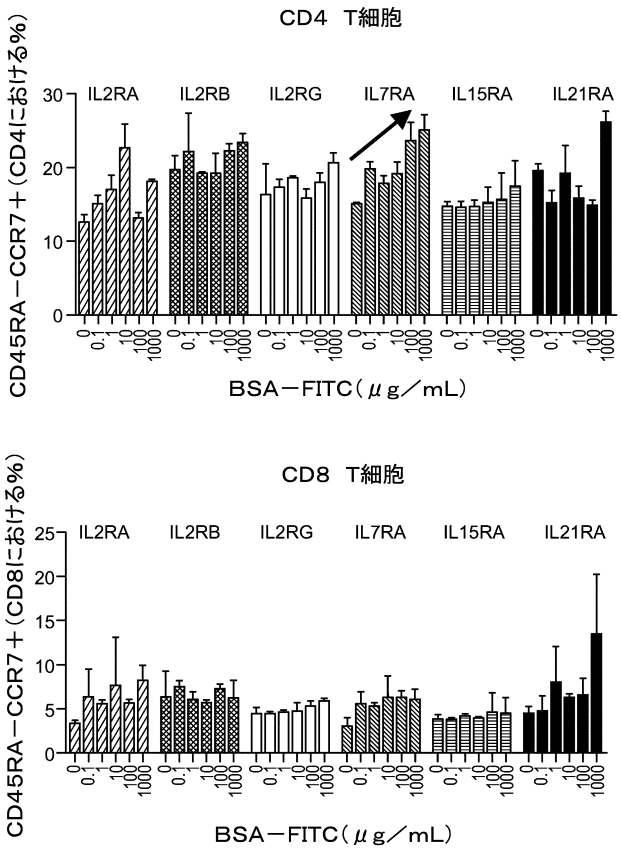
【図３Ｂ】



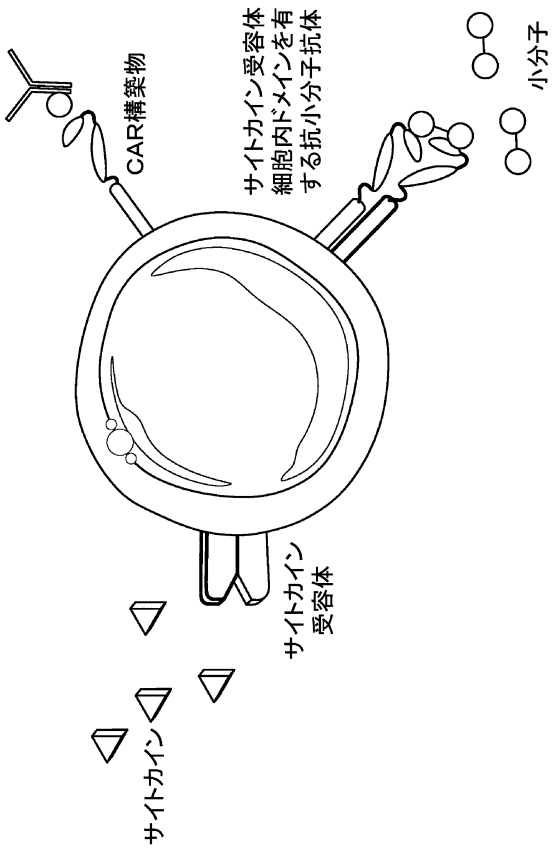
【図３Ｃ】



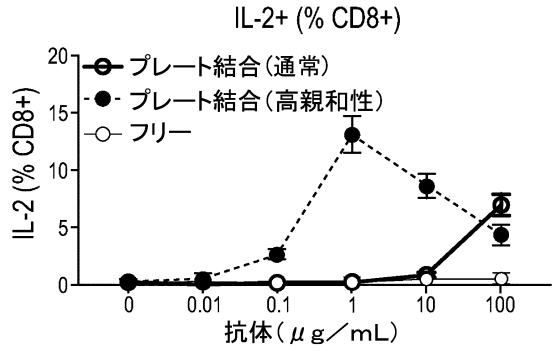
【図３Ｄ】



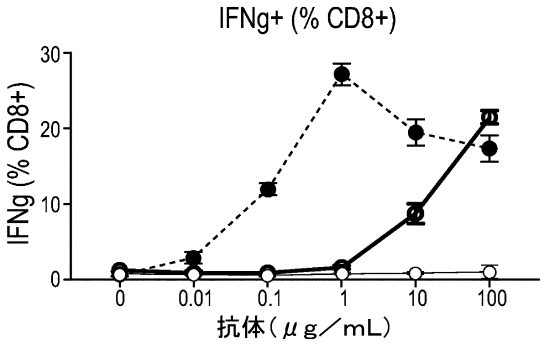
【図４】



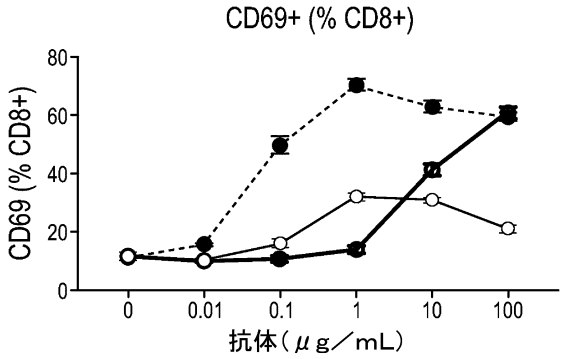
【図５Ａ】



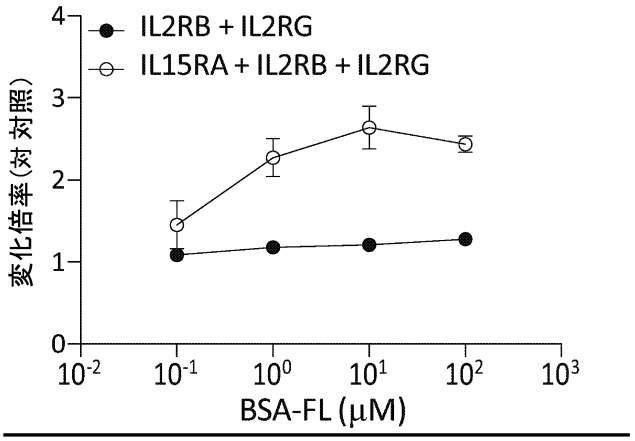
【図５Ｂ】



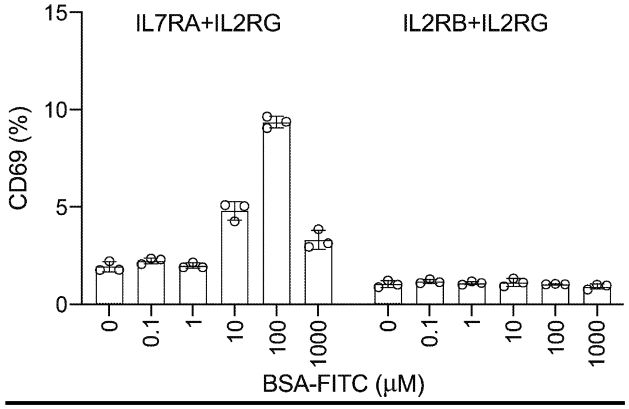
【図５Ｃ】



【図６Ａ】



【図６Ｂ】



【配列表】

<u>2024537170000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/77610

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C07K 14/705 (2023.01)
ADD. C07K 14/715 (2023.01)
CPC - INV. C07K 2317/622, C07K 2319/75
ADD. C12N 5/0636, A61K 39/0011, C07K 16/3007, C07K 14/7051
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y -- A	US 2020/0102370 A1 (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 02 April 2020 (02.04.2020); para [0216], [0230], [0247], [0321], [0346], [0540], [0549], [0553], [0593]	1-2, 12, 17, 19, 28 --- 3 --- 4, 13, 18, 29
Y	US 2016/0362476 A1 (AXIOMX, INC.) 15 December 2016 (15.12.2016) para [0003], [0072], [0501]	3
A	WO 2016/170176 A1 (CUREVAC AG) 27 October 2016 (27.10.2016) abstract; pg 24, ln 9-10	4
A	US 9,061,059 B2 (MODERNA THERAPEUTICS, INC. et al.) 23 June 2015 (23.06.2015) abstract	29
A	WO 2016/174461 A1 (UCL BUSINESS PLC) 03 November 2016 (03.11.2016) abstract	29
A	WO 2019/236522 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE) 12 December 2019 (12.12.2019) abstract; para [0126]	13, 18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 January 2023	FEB 17 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/77610

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed.

   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/77610

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
---See Supplemental Box —

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 12-13, 17-19 and 28-29 limited to SEQ ID NOs: 1-2, 33-34, 51-52

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/77610

Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-37 directed to a cytokine receptor switch (protein, encoded by nucleic acid) composition, the switch comprising a signal peptide, a single chain antibody fragment (scFv) that binds a nonimmunogenic synthetic small molecule, a CD8-derived hinge domain peptide having a nucleic acid sequence SEQ ID NO: 49 and amino acid sequence SEQ ID NO: 50, a transmembrane domain, and a cytokine receptor-derived intracellular domain. The first named cytokine receptor switch composition will be searched to the extent that the signal peptide is native to IL-2RA, and has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 1 and amino acid sequence SEQ ID NO: 2, the scFv binds fluorescein and has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 51 and amino acid sequence SEQ ID NO: 52, a transmembrane domain derived from IL-2RA, and an intracellular domain derived from IL-2RA that has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 33 and amino acid sequence SEQ ID NO 34. This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. It is believed that claims 1-4, 12-13, 17-19 and 28-29 limited to said cytokine receptor switch encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that cytokine receptor switch encompasses said sequence elements. Additional cytokine receptor switch molecules will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected cytokine receptor switch molecules. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a cytokine receptor switch comprising a signal peptide is native to IL-2RB, and has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 3 and amino acid sequence SEQ ID NO: 4, the scFv binds MPOB and has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 53 and amino acid sequence SEQ ID NO: 54, the transmembrane domain is derived from IL-2RB and has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 19 and amino acid sequence SEQ ID NO 20, and an intracellular domain derived from IL-2RB that has nucleic acid sequence SEQ ID NO: 35 and amino acid sequence SEQ ID NO 36.(claims 1-3, 5, 12, 14, 19-20, 28 and 30).

Group II: Claims 38-51, drawn to a composition comprising a nucleic acid encoding one or more cytokine receptor switches and an immune cell comprising the nucleic acid[s], wherein the one or more nucleic acid[s] each comprise a signal peptide, a single chain antibody fragment (scFv) that binds a non-immunogenic synthetic small molecule, a hinge domain, a transmembrane domain, and a cytokine receptor-derived intracellular domain.

Group III: Claims 52-70, drawn to method for stimulating immune cells comprising contacting immune cells comprising one or more cytokine receptor switches with a synthetic small molecule sufficient to promote proliferation, wherein the one or more cytokine receptor switches each comprise a signal peptide, a single chain antibody fragment (scFv) that binds said synthetic small molecule, a hinge domain, a transmembrane domain, and a cytokine receptor-derived intracellular domain.

Group IV: Claims 71-77, drawn to a method for treating a disease or disorder comprising administering to a subject immune cells comprising one or more cytokine receptor switches, and further administering to the subject an immune cell-stimulating synthetic small molecule conjugated to a carrier, wherein the one or more cytokine receptor switches each comprise a signal peptide, a single chain antibody fragment (scFv) that binds said synthetic small molecule, a hinge domain, a transmembrane domain, and a cytokine receptor-derived intracellular domain.

The inventions listed as Groups I+, II, III and IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

No technical features are shared between the nucleic and amino acid sequences of the cytokine receptor switch molecules of Group I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if the inventions listed as Group I+ were considered to share technical features, these shared technical features are previously disclosed by the prior art, as further discussed below.

Group I+ requires an isolated cytokine receptor switch composition having specified nucleic acid and amino acid sequences for a signal peptide, scFv, hinge domain, transmembrane domain and intracellular domain, not required by Groups II, III, IV.

Group II requires a composition comprising a nucleic acid encoding one or more cytokine receptor switches and an immune cell comprising the nucleic acid[s], not required by Groups I+, III, IV.

Group III requires a method of for stimulating immune cells comprising contacting immune cells comprising one or more cytokine receptor switches with a synthetic small molecule sufficient to promote proliferation, not required by Groups I+, II, IV.

Group IV requires a method for treating a disease or disorder comprising administering to a subject immune cell comprising one or more cytokine receptor switches, and further administering to the subject an immune cell-stimulating synthetic small molecule conjugated to a carrier, not required by Groups I+, II, III.

—See next Supplemental Box —

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/77610

Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Common Technical Features

The feature shared by Groups I+, II, III, and IV is one or more cytokine receptor switch molecules (encoded by nucleic acid molecules) each comprising a signal peptide, a single chain antibody fragment (scFv) that binds a nonimmunogenic synthetic small molecule, a hinge domain, a transmembrane domain, and a cytokine receptor-derived intracellular domain.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by the article entitled "Engineered Cytokine Signaling to Improve CAR T Cell Effector Function", by Bell et al. (hereinafter 'Bell') (Frontiers in Immunology, 4 June 2021, Vol 12, Article No 684642, pp 1-16). Bell teaches said cytokine receptor switch molecules (pg 6, col 2, para 3 "Chimeric cytokine receptors or switch receptors, which convert one cytokine signal into another, are actively being explored", see Fig. 3C), and further teaches deriving said cytokine receptor switch molecules from chimeric antigen receptors- CARS (pg 1, col 1, para 1 "CARs consist of four components: I) an extracellular antigen recognition domain, most commonly a single chain variable fragment (scFv), II) structural components, such as hinge and transmembrane domains, III) a costimulatory domain that provides signals to sustain CAR T cell effector functions, and iv) a CD3z activation domain", See Fig. 2 and legend, pg 6, col 2, para 3 "Chimeric cytokine receptors or switch receptors, which convert one cytokine signal into another, are actively being explored to hijack immunosuppressive cytokines produced by tumor or tumor-associated cells to provide proliferative signals to CAR T cells, I. e., Switch receptors comprise CAR molecules that switch one cytokine signal into another.).

The common technical feature shared by Groups II-III, is immune cells comprising one or more cytokine receptor switches.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by Bell (pg 6, col 2, para 3 "Chimeric cytokine receptors or switch receptors, which convert one cytokine signal into another, are actively being explored to hijack immunosuppressive cytokines produced by tumor or tumor-associated cells to provide proliferative signals to CAR T cells (Figure 3C). An IL-4/IL-7 switch receptor, which binds IL-4 but activates IL-7 signaling pathways, allowed PSCA-CAR T cells to maintain their cytolytic and proliferative capabilities in vitro and improved in vivo antitumor activity").

Another feature shared by Groups I+, II, III, and IV is a synthetic small molecule that binds a cytokine receptor switch molecule, e.g. binds to the extracellular scFv (e.g. a chimeric Switch receptor having the regions found in a CAR).

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by US 2019/0256597 A1 to Dana Farber Cancer Institute Inc (hereinafter 'DFCI') in view of Bell. DFCI teaches synthetic small molecules that have tumor-specific activation of CARs (para [0039] "the current invention is composed of three essential parts (1) a tumor-targeting binding molecule. (2) a masked small molecule, and (3) a CAR T cell specific for the small molecule.", para [0040] "A series of binary events determines whether CAR T cells will be activated by the synthetic small molecule. These Binary Activated T cells using Chimeric Antigen Receptors (BAT-CARs) should be completely inert in the absence of the small molecule and activated only at sites where the small molecule is unmasked", see Fig. 1, para [0056] "Preferably the small molecule is non-immunogenic", para [0010] "a chimeric antigen receptor (CAR) comprising an intracellular signaling domain, a transmembrane domain and an extracellular domain ... a scFV") thus, DFCI teaches a non-immunogenic synthetic small molecule able to activate a CAR). DFCI does not expressly teach that the CAR may be a cytokine receptor switch molecule, however, since Bell teaches Chimeric cytokine receptors or switch receptors, which convert one cytokine signal into another (pg 6, col 2, para 3 "Chimeric cytokine receptors or switch receptors, which convert one cytokine signal into another, are actively being explored to hijack immunosuppressive cytokines produced by tumor or tumor-associated cells to provide proliferative signals to CAR T cells"), it would have been obvious to an artisan of ordinary skill in the art to experiment with activating the switch chimeric receptors of Bell with non-immunogenic synthetic small molecules of DFCI, such as to create signaling effective to control the unwanted suppressive activity of immune cells (e.g. T-cells) against a specific tumor.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I+, II, III, and IV therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
C07K	*16/30*	*(2006.01)*	C07K	16/30	
C07K	*17/08*	*(2006.01)*	C07K	17/08	
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00	

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

弁理士　井上 隆一
(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤 利光
(74)代理人　100188433
弁理士　梅村 幸輔
(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　100114340
弁理士　大関 雅人
(74)代理人　100214396
弁理士　塩田 真紀
(74)代理人　100121072
弁理士　川本 和弥
(74)代理人　100221741
弁理士　酒井 直子
(74)代理人　100114926
弁理士　枝松 義恵
(72)発明者　ノヴィナ カール
アメリカ合衆国 ０２４５９ マサチューセッツ州 ニュートン ワード ストリート ３１９
(72)発明者　小林 綾
アメリカ合衆国 ０２４４６ マサチューセッツ州 ブルックライン ビールス ストリート ９１ ユニット ２
(72)発明者　ディステル ロバート ジェイ.
アメリカ合衆国 ０１７０２ マサチューセッツ州 フラミンガム ガスライト レーン ２１
(72)発明者　ノビリ アルベルト
アメリカ合衆国 ０２４４６ マサチューセッツ州 ブルックライン ワシントン ストリート ５０４ ＃２
(72)発明者　ネイヤー スティーブン
アメリカ合衆国 ０２４５３ マサチューセッツ州 ウォルサム オルダー ストリート ９０ ＃４

Ｆターム（参考）　4B065　AA94X AB01 AC14 CA24 CA44
4C076　AA95 CC27 CC41 EE41 EE59
4H045　AA10 AA11 AA30 BA09 BA41 DA76 EA20 FA74