【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和2年3月5日(2020.3.5)

【公表番号】特表2019-511244(P2019-511244A)
【公表日】平成31年4月25日(2019.4.25)
【年通号数】公開・登録公報2019-016
【出願番号】特願2018-558493(P2018-558493)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/62　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　19/00　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/30　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/705　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/12　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/85　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　48/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　37/04　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/15　(2015.01)
Ａ６１Ｋ　47/68　(2017.01)
Ｃ１２Ｎ　5/0784　(2010.01)
Ｃ１２Ｎ　5/0786　(2010.01)
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/62　Ｚ
Ｃ０７Ｋ　19/00　ＺＮＡ
Ｃ０７Ｋ　16/30
Ｃ０７Ｋ　14/705
Ｃ１２Ｎ　15/13
Ｃ１２Ｎ　15/12
Ｃ１２Ｎ　15/85　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　5/10
Ａ６１Ｐ　35/00
Ａ６１Ｋ　48/00
Ａ６１Ｐ　37/04
Ａ６１Ｋ　35/15　Ｚ
Ａ６１Ｋ　47/68
Ｃ１２Ｎ　5/0784
Ｃ１２Ｎ　5/0786
Ａ６１Ｋ　39/395　Ｔ

【手続補正書】
【提出日】令和2年1月24日(2020.1.24)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】

【特許請求の範囲】
【請求項１】
(i)がん細胞の膜分子に特異的な細胞外抗体ドメイン、
(ii)少なくとも1つの膜貫通ドメイン及び少なくとも1つの細胞内ドメインを含むタンパク質ドメインであって、前記タンパク質ドメインは、増殖因子受容体、C-Cケモカイン受容体、又は接着分子受容体に由来する配列から選択される、タンパク質ドメイン、並びに
(iii)任意選択で、抗原提示細胞において発現された場合、抗原提示細胞の細胞膜への細胞外小胞内在化受容体(EVIR)の輸送を増大させる細胞膜輸送ドメイン
を含む、組換え細胞外小胞内在化受容体(EVIR)。
【請求項２】
細胞外抗体ドメインがscFvである、請求項1に記載のEVIR。
【請求項３】
細胞外抗体ドメインがヒト上皮増殖因子受容体2(HER2)に特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、請求項1又は2に記載のEVIR。
【請求項４】
細胞外抗体ドメインがチロシナーゼ関連タンパク質-1(TYRP1)、がん胎児性抗原(CEA)、メソテリン、PMEL(gp100)、ガングリオシド(GD2、GD3)、又はムチンに特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、請求項1又は2に記載のEVIR。
【請求項５】
細胞外抗体ドメインが配列番号27、配列番号28、配列番号29及び配列番号30から選択される配列又はその変異体を含む、請求項1～3のいずれか一項に記載のEVIR。
【請求項６】
細胞外抗体ドメインがチロシナーゼ関連タンパク質-1(TYRP1)又はガングリオシド(GD2)に特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、請求項4に記載のEVIR。
【請求項７】
細胞外抗体ドメインが配列番号113及び配列番号114から選択される配列を含む、請求項6に記載のEVIR。
【請求項８】
タンパク質ドメインが、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40及び配列番号41などの神経成長因子受容体(NGFR)、受容体チロシンキナーゼ(CD135とも呼ばれる、FLT3)、C-Cケモカイン受容体2型(CCR2)、インテグリンベータ鎖ベータ2受容体(ITGB2)、コロニー刺激因子-2受容体B(CSF2RB)、C-Cケモカイン受容体1型(CCR1)、C-Cケモカイン受容体5型(CCR5)、ケモカイン受容体CXCR4、及びP-セレクチン糖タンパク質-1リガンド受容体(SELPLG)、又はその相同な変異体から選択される、請求項1～7のいずれか一項に記載のEVIRであって、前記変異体は元のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、前記EVIR。
【請求項９】
IgKドメインを含む細胞膜輸送ドメインを含む、請求項1～8のいずれか一項に記載のEVIR。
【請求項１０】
配列番号42のIgKドメイン又はその相同な変異体を含む細胞膜輸送ドメインを含む、請求項9に記載のEVIRであって、前記変異体は元のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、前記EVIR。
【請求項１１】
配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、配列番号62、配列番号63及び配列番号64から選択されるアミノ酸配列又はその相同な変異体を含む、請求項1～3、5、8又は9～10のいずれか一項に記載のEVIRであって、前記変異体は元のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、前記EVIR。
【請求項１２】

配列番号132及び配列番号133から選択されるアミノ酸配列又はその相同な変異体を含む、請求項1～2、4、6～8又は9～10のいずれか一項に記載のEVIRであって、前記変異体は元のアミノ酸配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、前記EVIR。

【請求項１３】

請求項1～12のいずれか一項に記載のEVIRをコードする単離された核酸。

【請求項１４】

配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70、配列番号71、配列番号72、配列番号73、配列番号74及び配列番号75から選択される配列を含む、請求項13に記載の単離された核酸。

【請求項１５】

配列番号130及び配列番号131から選択される配列を含む、請求項13に記載の単離された核酸。

【請求項１６】

請求項13～15のいずれか一項に記載の少なくとも1つの核酸を含むベクター。

【請求項１７】

単球、マクロファージ及び/又は樹状細胞における生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員を促進する機能性タンパク質、或いは抗原提示細胞(APC)の分化、生存、活性化及び/又は交差提示を誘導し得るタンパク質か、又はT細胞を誘引及び/又は活性化し得るタンパク質をコードする少なくとも1つの核酸をさらに含む、請求項16に記載のベクター。

【請求項１８】

抗原提示細胞(APC)又はその幹/前駆細胞において、請求項1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRの発現を誘導するex vivoでの方法であって、

(i)前記細胞に、請求項1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRをコードするベクターをex vivoで形質導入するステップ、及び、

(ii)細胞分化、成熟又は活性化を任意選択で誘導するステップ

を含む、前記方法。

【請求項１９】

ベクターが請求項13～15のいずれか一項に記載の核酸を含むか、又は請求項16若しくは17に記載のベクターである、請求項18に記載の方法。

【請求項２０】

請求項1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRを発現する単離された抗原提示細胞(APC)又はその幹細胞若しくは前駆細胞。

【請求項２１】

EVIR発現TAA提示細胞を調製するex vivoでの方法であって、

(i)がんの対象から得られた少なくとも1つのがん細胞又は少なくとも1つのがん細胞由来細胞外小胞(EV)を提供するステップ、

(ii)請求項20に記載のEVIR発現細胞を提供するステップ、

(iii)(ii)で提供されたEVIR発現細胞を、(i)で提供された前記の少なくとも1つのがん細胞又はEVとex vivoで接触させるステップ、

(iv)ステップ(iii)から前記EVIR発現細胞を回収するステップ

を含み、

(iv)で得られた細胞が、前記対象に投与された場合に、EVIRを発現せず(iii)のように処理した細胞と比較して、前記のがんの対象由来のT細胞腫瘍関連抗原(TAA)を提示する増大された能力を有する、

前記方法。

【請求項２２】

請求項1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRをコードする少なくとも1つのベクター又は請求項20に記載の細胞又は請求項18若しくは21に記載の方法から取得可能な細胞、及び少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤又はそれらの賦形剤を含

む医薬組成物。
【請求項２３】
前記組成物がワクチン組成物である、請求項22に記載の医薬組成物。
【請求項２４】
がんの予防及び/又は処置において使用するための、請求項22又は23に記載の医薬組成物。
【請求項２５】
請求項1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIR、又は請求項16若しくは17に記載の少なくとも1つの組換え発現ベクター、又は請求項20に記載の少なくとも1つのEVIR発現細胞を含むキット。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２７】
統計的p値は、Prism(GraphPad Software)で算出され、図面では以下のように示されている。$^{*}p<0.05$、$^{**}p<0.01$、$^{***}p<0.001$。
本発明はまた、以下に関する。
［項目１］
(i)がん細胞の膜分子に特異的な細胞外抗体ドメイン、
(ii)少なくとも1つの膜貫通ドメイン及び少なくとも1つの細胞内ドメインを含むタンパク質ドメイン、並びに
(iii)任意選択で、抗原提示細胞において発現された場合、抗原提示細胞の細胞膜への細胞外小胞内在化受容体(EVIR)の輸送を増大させる細胞膜輸送ドメイン
を含む、組換え細胞外小胞内在化受容体(EVIR)。
［項目２］
細胞外抗体ドメインがscFvである、項目1に記載のEVIR。
［項目３］
細胞外抗体ドメインがヒト上皮増殖因子受容体2(HER2)に特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、項目1又は2に記載のEVIR。
［項目４］
細胞外抗体ドメインがチロシナーゼ関連タンパク質-1(TYRP1)、がん胎児性抗原(CEA)、メソテリン、PMEL(gp100)、ガングリオシド(GD2、GD3)、又はムチンに特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、項目1又は2に記載のEVIR。
［項目５］
細胞外抗体ドメインが配列番号27、配列番号28、配列番号29及び配列番号30から選択される配列又はその変異体を含む、項目1～3のいずれか一項に記載のEVIR。
［項目６］
細胞外抗体ドメインがチロシナーゼ関連タンパク質-1(TYRP1)又はガングリオシド(GD2)に特異的な抗体又はそのフラグメントの配列を含む、項目4に記載のEVIR。
［項目７］
細胞外抗体ドメインが配列番号113及び配列番号114から選択される配列を含む、項目6に記載のEVIR。
［項目８］
タンパク質ドメインが配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40及び配列番号41又はその変異体から選択される、項目1～7のいずれか一項に記載のEVIR。
［項目９］
IgKドメインを含む細胞膜輸送ドメインを含む、項目1～8のいずれか一項に記載のEVIR

。
［項目１０］
配列番号42のIgKドメイン又はその誘導体を含む細胞膜輸送ドメインを含む、項目9に記載のEVIR。
［項目１１］
配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、配列番号62、配列番号63及び配列番号64から選択されるアミノ酸配列又はその変異体を含む、項目1～3、5、8又は9～10のいずれか一項に記載のEVIR。
［項目１２］
配列番号132及び配列番号133から選択されるアミノ酸配列又はその変異体を含む、項目1～2、4、6～8又は9～10のいずれか一項に記載のEVIR。
［項目１３］
項目1～12のいずれか一項に記載のEVIRをコードする単離された核酸配列。
［項目１４］
配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号70、配列番号71、配列番号72、配列番号73、配列番号74及び配列番号75から選択される配列又はそれらの変異体を含む、項目13に記載の単離された核酸。
［項目１５］
配列番号130及び配列番号131から選択される配列又はそれらの変異体を含む、項目13に記載の単離された核酸。
［項目１６］
項目13～15のいずれか一項に記載の少なくとも1つの核酸配列を含むベクター。
［項目１７］
単球、マクロファージ及び/又は樹状細胞における生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員を促進する機能性タンパク質、或いは抗原提示細胞(APC)の分化、生存、活性化及び/又は交差提示を誘導し得るタンパク質か、又はT細胞を誘引及び/又は活性化し得るタンパク質をコードする少なくとも1つの核酸をさらに含む、項目16に記載のベクター。
［項目１８］
抗原提示細胞(APC)又はそれらの幹/前駆細胞において、項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRの発現を誘導するex vivoでの方法であって、
(i)前記細胞に、項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRをコードするベクターをex vivoで形質導入するステップ、及び、
(ii)細胞分化、成熟又は活性化を任意選択で誘導するステップ
を含む、前記方法。
［項目１９］
ベクターが項目13～15のいずれか一項に記載の核酸配列を含むか、又は項目16若しくは17に記載のベクターである、項目18に記載の方法。
［項目２０］
項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRを発現する単離された抗原提示細胞(APC)又はそれらの幹細胞若しくは前駆細胞。
［項目２１］
EVIR発現TAA提示細胞を調製するex vivoでの方法であって、
(i)がんの対象から得られた少なくとも1つのがん細胞又は少なくとも1つのがん細胞由来EVを提供するステップ、
(ii)項目20に記載のEVIR発現細胞を提供するステップ、
(iii)(ii)で提供されたEVIR発現細胞を、(i)で提供された前記の少なくとも1つのがん細胞又はEVとex vivoで接触させるステップ、
(iv)ステップ(iii)で得られた細胞を回収するステップ
を含み、

(iv)で得られた細胞が、前記対象に投与された場合に、EVIRを発現せず(iii)のように処理した細胞と比較して、前記のがんの対象由来のTAAを提示する増大された能力を有する、
前記方法。
［項目２２］
項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRをコードする少なくとも1つのベクター又は項目20に記載の細胞又は項目18若しくは21に記載の方法から取得可能な細胞、及び少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤又はそれらの賦形剤を含む医薬組成物。
［項目２３］
前記組成物がワクチン組成物である、項目22に記載の医薬組成物。
［項目２４］
がんの予防及び/又は処置において使用するための、項目22又は23に記載の医薬組成物。
［項目２５］
項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIR、又は項目16若しくは17に記載の少なくとも1つの組換え発現ベクター、又は項目20に記載の少なくとも1つのEVIR発現細胞を含むキット。
［項目２６］
有効量の項目20に記載のEVIR発現細胞又は項目16若しくは17に記載の少なくとも1つの組換えベクターを、それを必要とする対象に投与することを含む、がんを予防及び/又は処置する方法。
［項目２７］
それを必要とする対象において、APC又はその幹/前駆細胞での項目1～12のいずれか一項に記載の少なくとも1つのEVIRの発現をin vivoで誘導する方法であって、
(i)項目16又は17に記載のEVIRをコードするベクターを前記対象に、対象のAPC又はその幹/前駆細胞のin vivoでの前記ベクターによる形質導入を誘導する適切な条件下で投与するステップ、及び
(ii)任意選択で、APCの分化、成熟又は活性化をin vivoで誘導するステップ
を含む、前記方法。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３４】
特に、タンパク質ドメインを形成する「膜貫通ドメイン」及び「細胞内ドメイン」は、それらが由来する天然膜結合タンパク質からの対応するドメインであってもよいし、いくつかのトランケーション、及び/又は細胞膜へのそれらの固定能力に影響しない相同な配列修飾、例えば、内在性シグナルペプチドの除去を介した、それらに由来するドメインであってもよい。例えば、特定の態様によれば、タンパク質ドメインは、例えば、特定の膜タンパク質、例えばCCR1、-2、-4及び-5で確認される、細胞外「非ヒンジ」ドメイン(天然膜タンパク質中の2つの「膜貫通ドメイン」を架橋するペプチドフラグメント)によって互いに連結されている2つ以上の膜貫通ドメインを含み得る。EVIRの細胞内ドメインがシグナル伝達能力を有する(例えば、シグナル伝達ペプチド部分を含む)場合、「シグナル伝達ドメイン」と呼ぶことができ、また、EVIRの細胞内ドメインがシグナル伝達能力を有していない場合、「不活性細胞内ドメイン」と呼ぶことができる。特定の態様によれば、タンパク質ドメインは、細胞内ドメインによって連結されている2つ以上の膜貫通ドメインを含み得る。EVIR、特に様々なタイプのタンパク質ドメインに関する構築物の様々な例を図13に示す。本発明によるEVIRのタンパク質ドメインは、「膜貫通ドメイン」、「細胞内

ドメイン」を含み、任意選択でさらに、同一の又は異なるタンパク質に由来する膜貫通ドメインを連結している「細胞外非ヒンジドメイン」を含み得る。膜貫通ドメイン、細胞内ドメイン、及び任意選択の細胞外非ヒンジドメインは、以下の機能:細胞生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能の少なくとも1つを誘導する任意のタンパク質に由来し得る。好ましくは、それは、単球及び/又はマクロファージ及び/又はDC細胞の生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能を誘導する任意のタンパク質フラグメントを含む(Holliger et al., 2005、前掲; Palucka et al., 2012、前掲; Kastenmueller et al.、前掲)。タンパク質ドメイン、又は膜貫通/細胞内の非ヒンジドメイン、及び任意選択のそれらの細胞外非ヒンジドメインの例は、膜結合性タンパク質のドメイン、例えば、増殖因子受容体、Fcγ受容体ファミリー、トール様受容体、C-Cケモカイン受容体、並びに任意の細胞表面上で発現され、単球及び/又はマクロファージ及び/又はDC細胞の生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員及び特に他の機能を促進し得る天然又は組換えの他のタンパク質分子が挙げられる。これらのドメインの特定の例としては、FcγRIIIA受容体(先天性免疫系の細胞によって発現されるFcγ受容体ファミリーのメンバー)、受容体チロシンキナーゼ(FLT3、CD135とも呼ばれる)、トール様受容体4(TLR4)、C-Cケモカイン受容体2型(CCR2)、インテグリンベータ鎖ベータ2受容体(ITGB2)、コロニー刺激因子-2受容体B(CSF2RB)、C-Cケモカイン受容体1型(CCR1)、C-Cケモカイン受容体5型(CCR5)、ケモカイン受容体CXCR4、及びP-セレクチン糖タンパク質-1リガンド受容体(SELPLG)、又はヒト神経成長因子受容体(NGFR)のフラグメントが挙げられる。

【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７２】
さらに特定の実施形態において、増殖因子受容体、Fcγ受容体ファミリー、トール様受容体、C-Cケモカイン受容体、或いは、単球及び/又はマクロファージ及び/又はDC細胞の生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能を促進し得る他のシグナル伝達受容体から選択される受容体由来の少なくとも1つの膜貫通ドメイン及び少なくとも1つの細胞内ドメインを含み、任意選択で少なくとも1つの細胞外非ヒンジドメイン、任意選択でヒンジドメインを含むタンパク質ドメインを含む、本発明によるEVIRを提供する。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１０９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０９】
別の実施形態によれば、細胞、好ましくは単球、マクロファージ及び/又はDCにおいて、生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、M1分極、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能を促進する機能性タンパク質、又はAPCの分化、生存、活性化、及び/又は交差提示(例えばCD40(分化のクラスター40))、GM-CSF(CSF2、コロニー刺激因子2)、I型及びII型インターフェロン(例えばインターフェロンガンマ(IFNγ)、LIN28、若しくはRab34)を誘導し得るか、T細胞(例えば、IL-2又はCXCL9(ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド9))を誘引及び/又は活性化し得るタンパク質をコードする核酸配列を含む、本発明によるEVIRをコードする単離された核酸分子が提供される。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０１２４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１２４】
一実施形態において、本発明は、細胞、好ましくは単球、マクロファージ及び/又はDCにおいて、生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能を促進する機能性タンパク質をコードする少なくとも1つの核酸分子を含む、組換え発現ベクターを提供する。
【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１２５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１２５】
一実施形態において、本発明は、本発明の1つ又は2つ以上のEVIR配列をコードする核酸分子を含み、さらに、細胞、好ましくは単球、マクロファージ及び/又はDCにおいて、生存、分化、増殖、活性化、成熟、貪食作用、エンドサイトーシス、抗原プロセシング及び提示、T細胞動員、特に他の機能を促進する機能性タンパク質をコードする少なくとも1つの核酸分子をさらに含む、組換え発現ベクターを提供する。