

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2024-520803  
(P2024-520803A)

(43)公表日 令和6年5月24日(2024.5.24)

|                   |                                                                                                                                                                   |         |           |                                                                                                                 |                   |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| (51)国際特許分類        |                                                                                                                                                                   | F I     |           | テーマコード (参考)                                                                                                     |                   |
| C 0 7 K           | 19/00 (2006.01)                                                                                                                                                   | C 0 7 K | 19/00     | Z N A                                                                                                           | 4 B 0 6 4         |
| C 0 7 K           | 16/28 (2006.01)                                                                                                                                                   | C 0 7 K | 16/28     |                                                                                                                 | 4 B 0 6 5         |
| C 0 7 K           | 14/705 (2006.01)                                                                                                                                                  | C 0 7 K | 14/705    |                                                                                                                 | 4 C 0 8 7         |
| C 1 2 N           | 15/867 (2006.01)                                                                                                                                                  | C 1 2 N | 15/867    | Z                                                                                                               | 4 H 0 4 5         |
| C 1 2 N           | 5/10 (2006.01)                                                                                                                                                    | C 1 2 N | 5/10      |                                                                                                                 |                   |
|                   |                                                                                                                                                                   | 審査請求    | 未請求       | 予備審査請求                                                                                                          | 未請求 (全76頁) 最終頁に続く |
| (21)出願番号          | 特願2023-575820(P2023-575820)                                                                                                                                       | (71)出願人 | 500213834 | メモリアル スローン ケタリング キャンサー センター<br>アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 6 5 ニューヨーク ヨーク アベニュー 1 2 7 5 オフィス オブ ジェネラル カウンセル ボックス 2 0 8 |                   |
| (86)(22)出願日       | 令和4年6月10日(2022.6.10)                                                                                                                                              | (71)出願人 | 399026731 |                                                                                                                 |                   |
| (85)翻訳文提出日        | 令和6年1月22日(2024.1.22)                                                                                                                                              | (71)出願人 | 522023761 |                                                                                                                 |                   |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2022/032954                                                                                                                                                 | (71)出願人 |           |                                                                                                                 |                   |
| (87)国際公開番号        | WO2022/261403                                                                                                                                                     |         |           | スローン - ケタリング・インスティテュート・フォー・キャンサー・リサーチ<br>アメリカ合衆国、ニューヨーク州 1 0 0 6 5、ニューヨーク、ヨーク・アベニュー 1 2 7 5                     |                   |
| (87)国際公開日         | 令和4年12月15日(2022.12.15)                                                                                                                                            |         |           |                                                                                                                 |                   |
| (31)優先権主張番号       | 63/209,940                                                                                                                                                        |         |           |                                                                                                                 |                   |
| (32)優先日           | 令和3年6月11日(2021.6.11)                                                                                                                                              |         |           |                                                                                                                 |                   |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                            |         |           | メモリアル ホスピタル フォー キャン                                                                                             |                   |
| (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                                                                                                          |                   |

(54)【発明の名称】 u P A R を標的とする抗原認識受容体及びその使用

(57)【要約】

本明細書に開示される主題は、u P A R を特異的に標的とする抗原認識受容体、及びかかるu P A R 標的抗原認識受容体を含む細胞を提供する。本明細書に開示される主題は、治療のためのu P A R 標的抗原認識受容体の使用を更に提供する。

【選択図】図 1

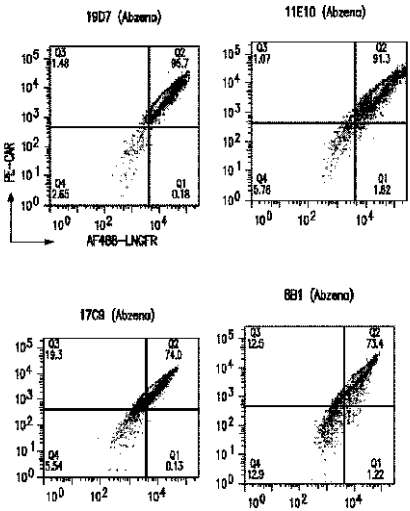


FIG. 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む抗原認識受容体であって、前記細胞外抗原結合ドメインが、u P A R に特異的に結合する、抗原認識受容体。

## 【請求項 2】

前記細胞外抗原結合ドメインが、単鎖可変断片 (s c F v) である、請求項 1 に記載の抗原認識受容体。

## 【請求項 3】

前記細胞外抗原結合ドメインが、ヒト s c F v である、請求項 2 に記載の抗原認識受容体。

10

## 【請求項 4】

前記細胞外抗原結合ドメインが、任意選択で架橋される F a b である、請求項 1 に記載の抗原認識受容体。

## 【請求項 5】

前記細胞外抗原結合ドメインが、F (a b)<sub>2</sub> である、請求項 1 に記載の抗原認識受容体。

## 【請求項 6】

前記 s c F v、F a b、及び F (a b)<sub>2</sub> のうちの 1 つ以上が、異種配列を有する融合タンパク質に含まれて、前記細胞外抗原結合ドメインを形成する、請求項 2 ～ 5 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

20

## 【請求項 7】

前記細胞外抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 3 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(b) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 9 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(c) 配列番号 13 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 15 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

30

(d) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 21 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(e) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 43 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、又は

(f) 配列番号 49 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 50 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 51 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3 を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

40

## 【請求項 8】

前記細胞外抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(b) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 12 若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

50

(c) 配列番号 16 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 18 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(d) 配列番号 22 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 23 若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 24 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、

(e) 配列番号 44 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3、又は

(f) 配列番号 52 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 54 に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含む C D R 3 を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

10

【請求項 9】

前記細胞外抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

20

(b) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

(c) 配列番号 13 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 16 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、(d) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 23 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

30

(e) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、又は

(f) 配列番号 49 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 50 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 51 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 52 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 54 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域を含む、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

40

【請求項 10】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 12 に記載

50

のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、請求項 9 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 1】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 4 7、又は配列番号 5 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、約 8 1 %、約 8 2 %、約 8 3 %、約 8 4 %、約 8 5 %、約 8 6 %、約 8 7 %、約 8 8 %、約 8 9 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、若しくは約 9 9 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 2】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 4 7、又は配列番号 5 5 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 3】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 2、配列番号 4 8、又は配列番号 5 6 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、約 8 1 %、約 8 2 %、約 8 3 %、約 8 4 %、約 8 5 %、約 8 6 %、約 8 7 %、約 8 8 %、約 8 9 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、若しくは約 9 9 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 4】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 2、配列番号 4 8、又は配列番号 5 6 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 5】

前記細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 4 7、又は配列番号 5 5 に記載の選択されたアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、約 8 1 %、約 8 2 %、約 8 3 %、約 8 4 %、約 8 5 %、約 8 6 %、約 8 7 %、約 8 8 %、約 8 9 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、若しくは約 9 9 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 2、配列番号 4 8、又は配列番号 5 6 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 8 0 %、約 8 1 %、約 8 2 %、約 8 3 %、約 8 4 %、約 8 5 %、約 8 6 %、約 8 7 %、約 8 8 %、約 8 9 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、若しくは約 9 9 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 6】

前記細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 4 7、又は配列番号 5 5 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 2、配列番号 4 8、又は配列番号 5 6 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 1 7】

前記細胞外抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 2 6 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(b) 配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 2 8 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(c) 配列番号 2 9 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 3 0 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(d) 配列番号 3 1 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 3 2 に記

10

20

30

40

50

載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(e) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、又は

(f) 配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 16 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 18】

前記細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 17 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 19】

前記細胞外抗原結合ドメインが、前記細胞外抗原結合ドメインの重鎖可変領域と軽鎖可変領域との間にリンカーを含む、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 20】

前記リンカーが、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、又は配列番号 67 に記載のアミノ酸配列からなる、請求項 19 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 21】

前記細胞外抗原結合ドメインが、前記細胞外抗原結合ドメインの 5' 末端に共有結合されたシグナルペプチドを含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 22】

前記膜貫通ドメインが、CD8 ポリペプチド、CD28 ポリペプチド、CD3ζ ポリペプチド、CD4 ポリペプチド、4-1BB ポリペプチド、OX40 ポリペプチド、ICOS ポリペプチド、CTLA-4 ポリペプチド、PD-1 ポリペプチド、LAG-3 ポリペプチド、2B4 ポリペプチド、BTLA ポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 23】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3ζ ポリペプチドを含む、請求項 1～22 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 24】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達領域を更に含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 25】

前記少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達領域が、CD28 ポリペプチド、4-1BB ポリペプチド、OX40 ポリペプチド、ICOS ポリペプチド、DAP-10 ポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む、請求項 24 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 26】

前記抗原認識受容体が、キメラ抗原受容体 (CAR)、T 細胞受容体 (TCR)、又は T 細胞様融合タンパク質である、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 27】

前記抗原認識受容体が、CAR である、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 28】

前記抗原認識受容体が、組換え的に発現される、請求項 1～27 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 29】

前記抗原認識受容体が、ベクターから発現される、請求項 1～28 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体。

【請求項 30】

10

20

30

40

50

前記ベクターが、 $\gamma$ レトロウイルスベクターである、請求項 29 に記載の抗原認識受容体。

【請求項 31】

請求項 1 ～ 30 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体を含む、細胞。

【請求項 32】

前記細胞に、前記抗原認識受容体が形質導入される、請求項 31 に記載の細胞。

【請求項 33】

前記抗原認識受容体が、前記細胞の表面上に構成的に発現される、請求項 31 又は 32 に記載の細胞。

【請求項 34】

前記細胞が、免疫応答性細胞である、請求項 31 ～ 33 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 35】

前記細胞が、リンパ系統の細胞又は骨髄系統の細胞である、請求項 31 ～ 34 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 36】

前記細胞が、T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、及びリンパ系細胞が分化され得る幹細胞からなる群から選択される、請求項 31 ～ 35 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 37】

前記細胞が、T細胞である、請求項 31 ～ 36 のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 38】

前記T細胞が、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）又は制御性T細胞である、請求項 36 又は 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記幹細胞が、多能性幹細胞である、請求項 36 に記載の細胞。

【請求項 40】

前記多能性幹細胞が、胚様幹細胞又は人工多能性幹細胞である、請求項 39 に記載の細胞。

【請求項 41】

請求項 1 ～ 30 のいずれか一項に記載の抗原認識受容体をコードする、核酸。

【請求項 42】

請求項 41 に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 43】

前記ベクターが、 $\gamma$ レトロウイルスベクターである、請求項 42 に記載のベクター。

【請求項 44】

請求項 41 に記載の核酸、又は請求項 42 若しくは 43 に記載のベクターを発現する、宿主細胞。

【請求項 45】

前記宿主細胞が、T細胞である、請求項 44 に記載の宿主細胞。

【請求項 46】

請求項 31 ～ 40 のいずれか一項に記載の細胞を含む、組成物。

【請求項 47】

薬学的に許容される担体を更に含む薬学的組成物である、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 48】

対象における疾患又は障害を治療又は緩和する方法であって、請求項 31 ～ 40 のいずれか一項に記載の本明細書に開示される細胞、又は請求項 46 若しくは 47 に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 49】

前記疾患又は障害が、腫瘍、老化関連病態、及び加齢に関連する組織減退からなる群から選択される、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

10

20

30

40

50

前記疾患又は障害が、老化関連病態である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

前記老化関連病態が、肺線維症、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、糖尿病、変形性関節症、肝線維症、慢性腎疾患、心臓線維症、及びパーキンソン病からなる群から選択される、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記疾患又は障害が、腫瘍である、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 53】

前記腫瘍が、乳がん、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん、胃がん (stomach cancer)、前立腺がん、胃がん (gastric cancer)、腎がん、膵がん、血液がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肝がん、尿路上皮がん、黒色腫、及び脳がんからなる群から選択される、請求項 52 に記載の方法。

10

【請求項 54】

前記血液がんが、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、骨髄線維症、真性多血症、骨髄異形成症候群、及び赤白血病からなる群から選択される、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 55】

前記腫瘍が、がんである、請求項 52～54 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させる方法であって、請求項 31～40 のいずれか一項に記載の細胞、又は請求項 46 若しくは 47 に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

20

【請求項 57】

前記免疫活性化サイトカインが、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-21、インターフェロン制御因子 7 (IRF7)、CCL1、CCL2、CCL3、CCL5、CCL7、CCL8、CCL13、CCL16、CXCL1、CXCL3、CXCL5、CXCL9、CXCL10、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 56 に記載の方法。

30

【請求項 58】

前記対象が、ヒトである、請求項 48～57 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 59】

対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるためのキットであって、請求項 31～40 のいずれか一項に記載の細胞、請求項 41 に記載の核酸、又は請求項 46 若しくは 47 に記載の組成物を含む、キット。

【請求項 60】

前記キットが、対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるために前記細胞又は組成物を使用するための書面による説明書を更に含む、請求項 59 に記載のキット。

40

【請求項 61】

請求項 1～30 のいずれか一項に記載の uPAR 標的抗原認識受容体を産生するための方法であって、前記細胞に、前記抗原認識受容体をコードする核酸を導入することを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

50

本出願は、2021年6月11日に出願された米国仮出願第63／209,940号に対する優先権を主張し、その内容は参照によりその全体が組み込まれ、優先権が主張される。

【0002】

#### 配列表

本出願は、EFS-Webを介してASCII形式で提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2022年6月10日に作成された当該ASCIIコピーは、072734.1361\_\_ST25.txtという名称であり、48,969バイトのサイズである。

【0003】

10

#### 1. 序論

本明細書に開示される主題は、免疫療法のための方法及び組成物を提供する。これは、uPARを特異的に標的とする抗原認識受容体（例えば、キメラ抗原受容体（CAR））、そのような受容体を含む細胞、及びそのような細胞を治療のために使用する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

#### 2. 背景技術

細胞ベースの免疫療法は、がんの治療のための治療可能性を有する療法である。T細胞及び他の免疫細胞は、選択された抗原に特異的なキメラ抗原受容体（CAR）と称される、抗原のための人工又は合成受容体をコードする遺伝物質の導入を通じて、腫瘍抗原を標的とするように改変され得る。CARを使用した標的T細胞療法は、最近、血液悪性腫瘍及び固形腫瘍の治療において臨床的な成功を示している。

20

【0005】

uPARは、乳がん、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん、胃がん、前立腺がん、腎がん、膵がん、直腸がん、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、及び急性骨髄性白血病（AML）を含む、様々な異なるタイプのがんにおける腫瘍成長又は転移に関連する。それはまた、加齢に関連する老化関連疾患との関連など、加齢においても役割を果たす。また、免疫応答及び細胞-マトリックス相互作用を調節し、腫瘍細胞の増殖及び休眠状態からの覚醒を促進することができる。

30

【0006】

様々な疾患又は障害におけるuPARの重要な役割を考慮すると、uPARを標的とする免疫療法（例えば、CAR）が望ましい。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

#### 3. 発明の概要

本明細書に開示される主題は、uPARを特異的に標的とする抗原認識受容体、及びかかるuPAR標的抗原認識受容体を含む細胞を提供する。本明細書に開示される主題は、治療のためのuPAR標的抗原認識受容体の使用を更に提供する。

40

【0008】

本明細書に開示される主題は、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む抗原認識受容体であって、細胞外抗原結合ドメインが、uPARに特異的に結合する、抗原認識受容体を提供する。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、単鎖可変断片（scFv）である。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、ヒトscFvである。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、任意選択で架橋されるFabである。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、F(ab)<sub>2</sub>である。ある特定の実施形態では、scFv、Fab、及びF(ab)<sub>2</sub>のうちの1つ以上は、異種配列を有する融合タンパク質に含まれて、細胞外抗原結合ドメインを形成する。

50

## 【0009】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、

(a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号3に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(b) 配列番号7に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号8に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号9に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(c) 配列番号13に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号14に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号15に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(d) 配列番号19に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号20に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号21に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(e) 配列番号41に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号43に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、又は

(f) 配列番号49に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号50に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号51に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3を含む重鎖可変領域を含む。

10

20

## 【0010】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、

(a) 配列番号4に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(b) 配列番号10に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号11に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号12若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(c) 配列番号16に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号17に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(d) 配列番号22に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号23若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号24に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、

(e) 配列番号44に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、又は

(f) 配列番号52に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号53若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号54に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3を含む。

30

40

## 【0011】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、

(a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、

(b) 配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、

50

重鎖可変領域、及び配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

(c) 配列番号 13 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 16 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

(d) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 23 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、

(e) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域、又は

(f) 配列番号 49 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 50 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 51 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 52 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 54 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域を含む。

#### 【0012】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、軽鎖可変領域を含む。

#### 【0013】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。

#### 【0014】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

#### 【0015】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、(a) 配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載の選択され

10

20

30

40

50

たアミノ酸配列と少なくとも約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、若しくは約 99 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、若しくは約 99 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖可変領域を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、(a) 配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

10

#### 【0016】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、

(a) 配列番号 25 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(b) 配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(c) 配列番号 29 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 30 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

20

(d) 配列番号 31 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 32 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、

(e) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、又は

(f) 配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

#### 【0017】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

30

#### 【0018】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、細胞外抗原結合ドメインの重鎖可変領域と軽鎖可変領域との間にリンカーを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号 62、配列番号 63、配列番号 64、配列番号 65、配列番号 66、若しくは配列番号 67 に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

#### 【0019】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、細胞外抗原結合ドメインの 5' 末端に共有結合されたシグナルペプチドを含む。ある特定の実施形態では、膜貫通ドメインは、CD8 ポリペプチド、CD28 ポリペプチド、CD3ζ ポリペプチド、CD4 ポリペプチド、4-1BB ポリペプチド、OX40 ポリペプチド、ICOS ポリペプチド、CTLA-4 ポリペプチド、PD-1 ポリペプチド、LAG-3 ポリペプチド、2B4 ポリペプチド、BTLA ポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む。ある特定の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ ポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達領域を更に含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達領域は、CD28 ポリペプチド、4-1BB ポリペプチド、OX40 ポリペプチド、ICOS ポリペプチド、DAP-10 ポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む。

40

#### 【0020】

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、キメラ抗原受容体 (CAR)、T 細胞受

50

容体（TCR）、又はT細胞様融合タンパク質である。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、CARである。

【0021】

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、組換え的に発現される。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ベクターから発現される。ある特定の実施形態では、ベクターは、γレトロウイルスベクターである。

【0022】

本明細書に開示される主題は、細胞が本明細書に開示される抗原認識受容体を含むことを提供する。ある特定の実施形態では、細胞に、抗原認識受容体が形質導入される。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、細胞の表面上に構成的に発現される。

10

【0023】

ある特定の実施形態では、細胞は、免疫応答性細胞である。ある特定の実施形態では、細胞は、リンパ系統の細胞又は骨髄系統の細胞である。ある特定の実施形態では、細胞は、T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、及びリンパ細胞が分化され得る幹細胞からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、細胞は、T細胞である。ある特定の実施形態では、T細胞は、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）又は制御性T細胞である。ある特定の実施形態では、幹細胞は、多能性幹細胞である。ある特定の実施形態では、多能性幹細胞は、胚様幹細胞又は人工多能性幹細胞である。

【0024】

本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される抗原認識受容体をコードする、核酸を更に提供する。本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される核酸分子を含む、ベクターを更に提供する。ある特定の実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。ある特定の実施形態では、ベクターは、γレトロウイルスベクターである。

20

【0025】

加えて、本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される核酸分子を発現する、宿主細胞を提供する。ある特定の実施形態では、宿主細胞は、T細胞である。

【0026】

本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される細胞を含む、組成物を更に提供する。ある実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体を更に含む薬学的組成物である。

30

【0027】

本明細書に開示される主題は、対象における疾患又は障害を治療又は緩和する方法を更に提供する。ある特定の実施形態では、本方法は、本明細書に開示される細胞又は組成物を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、uPARを発現する。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、uPARの過剰発現に関連する。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、腫瘍、老化関連病態、及び加齢に関連する組織減退からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、肺線維症、心臓線維症、肝線維症、アテローム性動脈硬化症、変形性関節症、糖尿病、慢性腎疾患、アルツハイマー病、及びパーキンソン病からなる群から選択される。

【0028】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、老化関連病態である。ある特定の実施形態では、老化関連病態は、肺線維症、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、糖尿病、変形性関節症、肝線維症、慢性腎疾患、心臓線維症、及びパーキンソン病からなる群から選択される。

40

【0029】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、腫瘍である。ある特定の実施形態では、腫瘍は、乳がん（トリプルネガティブ乳がんを含む）、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん）、胃がん（stomach cancer）、前立腺がん、胃がん（gastric cancer）、腎がん、膵がん、血液がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肝がん（例えば、胆管がん、肝細胞がん、及び線維層状型

50

肝細胞がん（fibrolamaellar hepatocellular carcinoma）、尿路上皮がん、黒色腫、及び脳がん（多形膠芽腫を含む）からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、血液がんは、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄線維症、真性多血症、骨髄異形成症候群、赤白血病からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、腫瘍は、がんである。

#### 【0030】

本明細書に開示される主題は、対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させる方法を更に提供する。ある特定の実施形態では、本方法は、本明細書に開示される細胞又は組成物を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、免疫活性化サイトカインは、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-21、インターフェロン制御因子7（IRF7）、CCL1、CCL2、CCL3、CCL5、CCL7、CCL8、CCL13、CCL16、CXCL1、CXCL3、CXCL5、CXCL9、CXCL10、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、対象は、ヒトである。

#### 【0031】

本明細書に開示される主題は、対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるためのキットであって、本明細書に開示される細胞、核酸、又は組成物を含む、キットを更に提供する。ある特定の実施形態では、本キットは、対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるために、本明細書に開示される細胞又は組成物を使用するための書面による説明書を更に含む。

#### 【0032】

加えて、本明細書に開示される主題は、uPAR標的抗原認識受容体を産生する方法であって、細胞に、抗原認識受容体をコードする核酸を導入することを含む、方法を提供する。

#### 【0033】

### 4. 図面の簡単な説明

以下の詳細な説明は、例として与えられるが、本明細書に開示される主題を説明される特定の実施形態に限定することを意図するものではなく、添付の図面と併せて理解される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0034】

【図1】RD114プロデューサー細胞上の、本明細書に開示される4つのuPARを標的とするCARの発現レベルを示す。11E10は、11E10 CARを表す。17C9は、17C9 CARを表す。8B1は、8B1 CARを表す。19D7は、19D7 CARを表す。

【図2-1】ヒトT細胞上の、本明細書に開示される4つのuPARを標的とするCARの発現レベルを示す。11E10は、11E10 CARを表す。17C9は、17C9 CARを表す。8B1は、8B1 CARを表す。19D7は、19D7 CARを表す。

#### 【図2-2】同上。

【図3A】本明細書に開示される4つのuPARを標的とするCARの細胞傷害活性を示す。11E10は、11E10 CARを表す。17C9は、17C9 CARを表す。8B1は、8B1 CARを表す。19D7は、19D7 CARを表す。

【図3B】本明細書に開示される4つのuPARを標的とするCARの細胞傷害活性を示す。11E10は、11E10 CARを表す。17C9は、17C9 CARを表す。8B1は、8B1 CARを表す。19D7は、19D7 CARを表す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0035】

## 5. 発明を実施するための形態

本明細書に開示される主題は、uPARを特異的に標的とする抗原認識受容体（例えば、キメラ抗原受容体（CAR））を提供する。本明細書に開示される主題は、かかる受容体を含む細胞を更に提供する。細胞は、免疫応答性細胞、例えば、遺伝子改変された免疫応答性細胞（例えば、T細胞又はNK細胞）であり得る。本明細書に開示される主題はまた、そのような細胞を、治療のために、例えば、疾患又は障害を治療及び／又は緩和するために使用する方法を提供する。

## 【0036】

本開示の非限定的な実施形態は、本明細書及び実施例によって説明されている。

## 【0037】

制限のためではなく、開示を明確にする目的で、この詳細な説明は、以下のサブセクションに分けられる。

- 5. 1. 定義、
- 5. 2. uPAR、
- 5. 3. 抗原認識受容体、
- 5. 4. 細胞、
- 5. 5. 核酸組成物及びベクター、
- 5. 6. ポリペプチド、
- 5. 7. 製剤及び投与、
- 5. 8. 治療方法、並びに
- 5. 9. キット

## 【0038】

## 5. 1. 定義

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、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。以下の参考文献は、本発明で使用される用語の多くの一般的な定義を当業者に提供する。Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994)、The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)、The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)、及びHale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。本明細書で使用される場合、以下の用語は、特に明記しない限り、以下にそれらに帰属する意味を有する。

## 【0039】

本明細書で使用される場合、「約」又は「およそ」という用語は、当業者によって決定される特定の値に対する許容誤差範囲内であることを意味し、それは、部分的には、その値がどのように測定又は決定されるか、すなわち、測定システムの限界に依存する。例えば、「約」は、当該技術分野における慣例に従って、3以内又は3を超える標準偏差を意味し得る。代替的に、「約」は、所与の値の20%まで、好ましくは10%まで、より好ましくは5%まで、及び更により好ましくは1%までの範囲を意味し得る。代替的に、特に生体系又はプロセスに関して、この用語は、値の1桁以内、好ましくは5倍以内、及びより好ましくは2倍以内であることを意味し得る。

## 【0040】

「免疫応答性細胞」とは、免疫応答又は前駆体、又はその子孫で機能する細胞を意味する。ある特定の実施形態では、免疫応答性細胞は、リンパ系統の細胞である。リンパ系統の細胞の非限定的な例としては、T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、B細胞、及び

10

20

30

40

50

リンパ系細胞が分化され得る幹細胞が挙げられる。ある特定の実施形態では、免疫応答性細胞は、骨髄系統の細胞である。

【0041】

「免疫応答性細胞を活性化させる」とは、免疫応答の開始をもたらす細胞内のシグナル伝達又はタンパク質発現の変化の誘導を意味する。例えば、リガンド結合及び免疫受容体チロシンベース抑制モチーフ（ITAM）に応答してCD3鎖がクラスター化すると、シグナル伝達カスケードが生成される。ある特定の実施形態では、内因性TCR又は外因性CARが抗原に結合すると、結合した受容体（例えば、CD4又はCD8、CD3 $\gamma/\delta/\epsilon/\zeta$ など）の近くに多くの分子がクラスター化することを含む免疫学的シナプスの形成が起こる。膜結合シグナル伝達分子のこのクラスターリングにより、CD3鎖内に含有されるITAMモチーフがリン酸化されることができる。このリン酸化は順に、T細胞活性化経路を開始し、最終的にNF- $\kappa$ B及びAP-1などの転写因子を活性化させる。これらの転写因子は、T細胞のグローバル遺伝子発現を誘導して、マスターレギュレーターT細胞タンパク質の増殖及び発現のためのIL-2産生を増加させて、T細胞媒介性免疫応答を開始する。

10

【0042】

「免疫応答性細胞を刺激する」とは、堅牢で持続的な免疫応答をもたらすシグナルを意味する。様々な実施形態では、これは、免疫細胞（例えば、T細胞）の活性化後に生じるか、又はCD28、4-1BB、OX40、CD40及びICOSを含むがこれらに限定されない受容体を介して同時に媒介される。複数の刺激シグナルを受信することは、堅牢で長期的なT細胞媒介性免疫応答を開始するために重要であり得る。T細胞は、すぐに阻害され、抗原に応答しなくなる可能性がある。これらの共刺激シグナルの効果は変化し得るが、それらは一般に、遺伝子発現の増加をもたらして、完全で持続的な根絶のために抗原に強く応答する長寿命かつ増殖性の抗アポトーシスT細胞を生成する。

20

【0043】

本明細書で使用される場合、「抗原認識受容体」という用語は、標的抗原（例えば、uPAR）を認識することができる受容体を指す。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、標的抗原に結合すると、免疫細胞又は免疫応答性細胞（例えば、T細胞）を活性化させることができる。

【0044】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、無傷の抗体分子だけではなく、免疫原結合能力を保持する抗体分子の断片も意味する。そのような断片も、当該技術分野で周知であり、通常、インビトロ及びインビボの両方で使用される。したがって、本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、無傷の免疫グロブリン分子だけでなく、周知の活性断片F(ab')<sub>2</sub>、及びFabも意味する。F(ab')<sub>2</sub>、及び無傷の抗体のF<sub>e</sub>断片を欠くFab断片は、循環からより迅速に排泄され、無傷の抗体の非特異的組織結合が、より少なくなる場合がある（Wahl et al., Nucl Med (1983); 24:316-325）。本明細書で使用する場合、天然の抗体全体、二重特異性抗体、キメラ抗体、Fab、Fab'、単鎖V領域断片(scFv)、融合ポリペプチド、及び従来のものではない抗体を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、ジスルフィド結合によって相互に接続された少なくとも2つの重(H)鎖及び2つの軽(L)鎖を含む糖タンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではV<sub>H</sub>と略される）及び重鎖定常(C<sub>H</sub>)領域で構成される。重鎖定常領域は、CH1、CH2及びCH3の3つのドメインで構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではV<sub>L</sub>と略される）及び軽鎖定常C<sub>L</sub>領域で構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメインC<sub>L</sub>で構成される。V<sub>H</sub>領域及びV<sub>L</sub>領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる、より保存された領域が点在する、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる、超可変性の領域へと更に細分することができる。各V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>は、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置された、3つのCDR及び4つのFRで構成される。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを

30

40

50

含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）、及び古典的な補体系の第1の構成成分（C1q）を含む、宿主組織又は因子に対する免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

【0045】

本明細書で使用される場合、「CDR」は、免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の超可変領域である抗体の相補性決定領域アミノ酸配列として定義される。例えば、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)、又はIMGT numbering system (Lefranc, The Immunologist (1999); 7:132-136、Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. (2003); 27:55-77)を参照されたい。ある特定の実施形態では、CDRは、[http://www.imgt.org/IMGT\\_vquest/input](http://www.imgt.org/IMGT_vquest/input)でアクセス可能なIMGT番号付けシステムを使用して識別される。一般に、抗体は、可変領域中に3つの重鎖及び3つの軽鎖のCDR又はCDR領域を含む。CDRは、抗原又はエピトープに対する抗体の結合のための接触残基の大部分を提供する。ある特定の実施形態では、CDRは、Kabat番号付けシステムを使用して描写される。ある特定の実施形態では、CDRは、Kabat番号付けシステム及びChothiaシステムに従って識別される。

【0046】

本明細書で使用される場合、「単鎖可変断片」又は「scFv」という用語は、V<sub>H</sub>:V<sub>L</sub>ヘテロ二量体を形成するように共有結合される免疫グロブリン（例えば、マウス又はヒト）の重鎖（V<sub>H</sub>）及び軽鎖（V<sub>L</sub>）の可変領域の融合タンパク質である。重鎖（V<sub>H</sub>）及び軽鎖（V<sub>L</sub>）は、直接的に接続されるか、又はペプチドをコードするリンカー（例えば、10、15、20、25個のアミノ酸）によって接続されるかのいずれかであり、V<sub>H</sub>のN末端をV<sub>L</sub>のC末端に接続するか、又はV<sub>H</sub>のC末端をV<sub>L</sub>のN末端に接続する。リンカーは通常、可撓性のためにグリシンが豊富であり、溶解性のためにセリン又はトレオニンが豊富である。リンカーは、細胞外抗原結合ドメインの重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を連結し得る。リンカーの非限定的な例は、Shen et al., Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008)及びWO2014/087010に記載されており、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ある特定の実施形態では、リンカーは、G4Sリンカーである。

【0047】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号62に記載のアミノ酸配列を含む。

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [配列番号62]

【0048】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号63に記載のアミノ酸配列を含む。

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [配列番号63]

【0049】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号64に記載のアミノ酸配列を含む。

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [配列番号64]

【0050】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号65に記載のアミノ酸配列を含む。

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS [配列番号65]

【0051】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号66に記載のアミノ

酸配列を含む。

G G G G S [配列番号 6 6]

【0052】

ある特定の実施形態では、リンカーは、以下に提供される配列番号 6 7 に記載のアミノ酸配列を含む。

G G G G S G G G G S [配列番号 6 7]

【0053】

定常領域の除去及びリンカーの導入にもかかわらず、s c F v タンパク質は、元の免疫グロブリンの特異性を保持する。単鎖 F v ポリペプチド抗体は、H u s t o n , e t a l . P r o c . N a t . A c a d . S c i . U S A , ( 1 9 8 8 ) ; 8 5 : 5 8 7 9 - 5 8 8 3 、米国特許第 5 , 0 9 1 , 5 1 3 号、同第 5 , 1 3 2 , 4 0 5 号及び同第 4 , 9 5 6 , 7 7 8 号、並びに米国特許公開第 2 0 0 5 / 0 1 9 6 7 5 4 号及び同第 2 0 0 5 / 0 1 9 6 7 5 4 号によって記載されるように、V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>をコードする配列を含む核酸から発現することができる。阻害活性を有する拮抗性 s c F v が記載されている（例えば、Z h a o e t a l . , H y r b i d o m a ( L a r c h m t ) ( 2 0 0 8 ) ; 2 7 ( 6 ) : 4 5 5 - 5 1 、P e t e r e t a l . , J C a c h e x i a S a r c o p e n i a M u s c l e ( 2 0 1 2 ) ; A u g u s t 1 2 、S h i e h e t a l . , J I m u n o l ( 2 0 0 9 ) ; 1 8 3 ( 4 ) : 2 2 7 7 - 8 5 、G i o m a r e l l i e t a l . , T h r o m b H a e m o s t ( 2 0 0 7 ) ; 9 7 ( 6 ) : 9 5 5 - 6 3 、F i f e e t a l . , J C l i n I n v s t ( 2 0 0 6 ) ; 1 1 6 ( 8 ) : 2 2 5 2 - 6 1 、B r o c k s e t a l . , I m m u n o t e c h n o l o g y 1 9 9 7 3 ( 3 ) : 1 7 3 - 8 4 、M o o s m a y e r e t a l . , T h e r I m m u n o l 1 9 9 5 2 ( 1 0 : 3 1 - 4 0 を参照されたい)。刺激活性を有する作動性 s c F v が記載されている（P e t e r e t a l . , J B i o l C h e m ( 2 0 0 3 ) ; 2 5 2 7 8 ( 3 8 ) : 3 6 7 4 0 - 7 、X i e e t a l . , N a t B i o t e c h 1 9 9 7 1 5 ( 8 ) : 7 6 8 - 7 1 、L e d b e t t e r e t a l . , C r i t R e v I m m u n o l ( 1 9 9 7 ) ; 1 7 ( 5 - 6 ) : 4 2 7 - 5 5 、H o e t a l . , B i o C h i m B i o p h y s A c t a ( 2 0 0 3 ) ; 1 6 3 8 ( 3 ) : 2 5 7 - 6 6 ) 。

【0054】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗原受容体」又は「CAR」という用語は、免疫応答性細胞を活性化させるか、又は刺激することができる細胞内シグナル伝達ドメインに融合された細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、を含む分子を指す。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインは、s c F v を含む。s c F v は、抗体の可変重領域及び可変軽領域を融合することから得ることができる。代替的に又は追加的に、s c F v は、F a b に由来し得る（抗体からの代わりに、例えば、F a b ライブラリから得られる）。ある特定の実施形態では、s c F v は、膜貫通ドメインに、次いで細胞内シグナル伝達ドメインに融合される。「実質的に同一」又は「実質的に相同」という用語は、参照アミノ酸配列（例えば、本明細書に記載のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つ）又は参照核酸配列（例えば、本明細書に記載の核酸配列のうちのいずれか 1 つ）に対して少なくとも約 5 0 % の相同性又は同一性を示すポリペプチド又は核酸分子を意味する。ある特定の実施形態では、そのような配列は、比較に使用されるアミノ酸又は核酸の配列と、少なくとも約 6 0 % 、少なくとも約 6 5 % 、少なくとも約 7 0 % 、少なくとも約 7 5 % 、少なくとも約 8 0 % 、少なくとも約 8 5 % 、少なくとも約 9 0 % 、少なくとも約 9 5 % 、少なくとも約 9 9 % 、若しくは少なくとも約 1 0 0 % 相同又は同一である。

【0055】

配列同一性は、配列分析ソフトウェア（例えば、Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group、University of Wisconsin Biotechnology Center、1710 University Avenue, Madi

son, Wis. 53705、BLAST、BESTFIT、GAP、又はPILEUP／PRETTYBOXプログラム)を使用して測定することができる。そのようなソフトウェアは、様々な置換、欠失、及び／又は他の修飾に対して相同性の程度を割り当てることによって、同一又は類似の配列を一致させる。保存的置換としては、典型的には、以下の群内の置換が含まれる：グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン；セリン、トレオニン；リジン、アルギニン；及びフェニルアラニン、チロシン。同一性の程度を決定するための例示的なアプローチでは、BLASTプログラムが使用されてもよく、 $e^{-3} \sim e^{-100}$ の確率スコアは、密接に関連する配列を示している。

#### 【0056】

本明細書で使用される場合、2つのアミノ酸配列間の相同性パーセントは、2つの配列間の同一性パーセントに相当する。2つの配列間の同一性パーセントは、それらの2つの配列の最適アライメントのために導入される必要のあるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮して、それらの配列によって共有された同一の位置の数の関数（すなわち、相同性% = 同一の位置の数 / 位置の総数  $\times 100$ ）である。配列の比較及び2つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。

#### 【0057】

2つのアミノ酸配列間の相同性パーセントは、PAM120重み残基表、ギャップ長ペナルティ12、及びギャップペナルティ4を使用した、ALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれたE. Meyers and W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:11-17 (1988))のアルゴリズムを使用して決定され得る。加えて、2つのアミノ酸配列間の相同性パーセントは、Blossum62行列又はPAM250行列のいずれか、及びギャップ重み16、14、12、10、8、6、又は4、及び長さ重み1、2、3、4、5、又は6を使用した、GCGソフトウェアパッケージ（www.gcg.comで利用可能）内のGAPプログラムに組み込まれたNeedleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48:444-453 (1970))のアルゴリズムを使用して決定され得る。

#### 【0058】

追加的に又は代替的に、本明細書に記載される主題のアミノ酸配列は、例えば、関連配列を特定するために、公開データベースに対する検索を行うための「問い合わせ配列」として更に使用され得る。かかる検索は、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10のXBLASTプログラム（バージョン2.0）を使用して実行され得る。本明細書に開示される指定された配列（例えば、scFv m903、m904、m905、m906、及びm900の重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列）と相同のアミノ酸配列を得るために、BLASTタンパク質検索が、XBLASTプログラム、スコア=50、文字長=3で実行され得る。比較目的のためにギャップドアライメントを得るために、ギャップドBLASTがAltschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402に記載されるように利用され得る。BLAST、Gapped BLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLAST及びNBLAST）のデフォルトパラメータを使用することができる。

#### 【0059】

「有効量」は、治療時に有益又は所望の臨床結果をもたらすのに十分な量である。有効量は、1回以上の用量で対象に投与され得る。ある特定の実施形態では、有効量は、疾患の進行を緩和するか、改善するか、安定化するか、逆行させるか、又は遅らせる、あるいは疾患の病理学的結果をその他の方法で減少させるのに十分な量であり得る。有効量は、症例ごとに医師によって決定され得、当業者の技能の範囲内である。いくつかの因子は、典型的には、有効量を達成するために適切な投薬量を決定する際に考慮される。これらの因子としては、対象の年齢、性別、及び体重、治療される状態、状態の重症度、並びに投与される細胞の形態及び有効濃度が挙げられる。

10

20

30

40

50

## 【0060】

本明細書で使用される場合、「内因性」という用語は、細胞又は組織において通常発現される核酸分子又はポリペプチドを指す。

## 【0061】

本明細書で使用される場合、「外因性」という用語は、細胞内に内因的に存在しない核酸分子又はポリペプチドを指す。したがって、「外因性」という用語は、外来性、異種性、並びに過剰発現核酸分子及びポリペプチド等の細胞内で発現される任意の組換え核酸分子又はポリペプチドを包含するであろう。「外因性」核酸とは、天然の野生型細胞に存在しない核酸を意味し、例えば、外因性核酸は、配列、位置／場所、又はその両方によって内因性の対応物とは異なり得る。明確にするために、外因性核酸は、その天然の内因性対応物と比較して同じ又は異なる配列を有してもよく、遺伝子操作によって細胞自体又はその前駆体に導入されてもよく、任意選択で、非天然プロモーター又は分泌配列などの代替調節配列に連結されてもよい。

10

## 【0062】

「異種核酸分子又はポリペプチド」という用語は、細胞、又は細胞から得られた試料中に通常は存在しない、核酸分子（例えば、cDNA、DNA、若しくはRNA分子）、又はポリペプチドを意味する。この核酸は、別の生物由来であってもよく、又は例えば、細胞若しくは試料において通常は発現しないmRNA分子であってもよい。

## 【0063】

「増加」とは、少なくとも約5%正に変化することを意味する。変化は、約5%、約10%、約25%、約30%、約50%、約75%、約100%、又はそれ以上であってもよい。

20

## 【0064】

「減少する」とは、少なくとも約5%負に変化することを意味する。変化は、約5%、約10%、約25%、約30%、約50%、約75%、又は更には約100%であってもよい。

## 【0065】

「単離された」、「精製された」、又は「生物学的に純粋な」という用語は、その天然状態で見られるように通常それに伴う成分から様々な程度に遊離している材料を指す。「分離する」は、元の供給源又は周囲からの分離の程度を示す。「精製する」は、単離よりも高い分離の程度を示す。「精製された」又は「生物学的に純粋な」タンパク質は、任意の不純物がタンパク質の生物学的特性に実質的に影響を及ぼさないか、又は他の有害な結果を引き起こさない程十分に他の材料を含まない。すなわち、核酸又はペプチドは、組換えDNA技法によって産生されたときに細胞物質、ウイルス物質、若しくは培養培地を実質的に含まないか、又は化学合成されたときに化学前駆体若しくは他の化学物質を実質的に含まない場合に精製されている。純度及び均一性は、典型的には、分析化学技術、例えば、ポリアクリルアミドゲル電気泳動又は高速液体クロマトグラフィーを使用して判定される。「精製された」という用語は、核酸又はタンパク質が電気泳動ゲルにおいて本質的に1つのバンドを生じることを示すことができる。修飾、例えば、リン酸化又はグリコシル化に供され得るタンパク質について、異なる修飾は、別々に精製され得る異なる単離されたタンパク質を生じ得る。

30

40

## 【0066】

「単離された細胞」という用語は、細胞に天然に伴う分子及び／又は細胞成分から分離される細胞を意味する。

## 【0067】

本明細書で使用される場合、「抗原結合ドメイン」という用語は、細胞上に存在する特定の抗原決定基又は抗原決定基のセットを特異的に結合することができるドメインを指す。

## 【0068】

「認識する」とは、標的に選択的に結合することを意味する。腫瘍を認識するT細胞は

50

、腫瘍抗原に結合する受容体（例えば、CAR）を発現することができる。

【0069】

「シグナル配列」又は「リーダー配列」とは、分泌経路への進入を指示する新たに合成されたタンパク質のN末端に存在するペプチド配列（例えば、5、10、15、20、25又は30個のアミノ酸）を意味する。

【0070】

「特異的に結合する」又は「～に特異的に結合する」又は「特異的に標的とする」とは、目的の生物学的分子（例えば、ポリペプチド、例えば、uPARポリペプチド）を認識し、かつ／あるいはそれに結合するが、試料、例えば、生物学的試料中の他の分子を実質的に認識せず、かつ／あるいはそれを結合しないポリペプチド又はその断片であって、本明細書に開示されるポリペプチド（例えば、uPARポリペプチド）を自然に含むポリペプチド又はその断片を意味する。

10

【0071】

「含む（comprises）」、「含む（comprising）」という用語は、米国特許法においてそれらに起因する広範な意味を有することが意図され、「含む（includes）」、「含む（including）」などを意味し得る。

【0072】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、治療される個体又は細胞の疾患経過を変更しようとする試みにおける臨床介入を指し、予防のために、又は臨床病理学の経過中のいずれかで実施することができる。治療の治療効果としては、限定されないが、疾患の発生若しくは再発を予防すること、症状の緩和、疾患の任意の直接的若しくは間接的な病理学的結果の軽減、転移を予防すること、疾患進行の速度を低減すること、疾患状態の改善若しくは緩和、並びに寛解又は改善された予後が挙げられる。疾患又は障害の進行を予防することによって、治療は、罹患したか、若しくは診断した対象、又は障害を有する疑いがある対象において、障害に起因する悪化を予防することができるだけでなく、治療は、障害のリスクがある対象、若しくは障害を有する疑いがある対象において、障害の発症又は障害の症状を予防することができる。

20

【0073】

本明細書における「個体」又は「対象」は、脊椎動物、例えば、ヒト又は非ヒト動物、例えば、哺乳動物である。哺乳動物には、ヒト、霊長類、家畜、スポーツ動物、げっ歯類、及びペットが含まれるが、これらに限定されない。非ヒト動物対象の非限定的な例としては、マウス、ラット、ハムスターなどのげっ歯類、並びにモルモット、ウサギ、イヌ、ネコ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ、並びに類人猿及びサルなどの非ヒト霊長類が挙げられる。本明細書で使用される場合、「免疫無防備状態の（immunocompromised）」という用語は、免疫不全（immunodeficiency）を有する対象を指す。対象は、通常、健全な免疫系を有するヒトにおいて疾患を引き起こさないが、機能不全又は抑制された免疫系を有する人々に影響を及ぼす可能性のある生物によって引き起こされる日和見感染症に対して非常に脆弱である。

30

【0074】

本明細書に開示される主題の他の態様は、以下の開示に記載され、本明細書に開示される主題の範囲内である。

40

【0075】

## 5.2. uPAR

CD87としても知られているuPAR（ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体）は、グリコシルホスファチジルイノシトール固定タンパク質である。uPARは、システインが豊富であり、ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子（uPA）を結合する3つのタンデムLUDメインからなる。（Kessler et al., J. Neurochem. (2017); 142: 7-18、Llinas et al., EMBO J. (2005); 24 (9): 1655-63、Huai et al., Science (2006); 311 (5761): 656-9、Chelsea et

50

al., Human Genomics (2016); 10:10)。uPARはまた、ビトロネクチン、uPAR関連タンパク質 (uPARAP)、及び膜タンパク質のインテグリンファミリーを含む他のいくつかのタンパク質と相互作用する。

【0076】

uPARは、乳がん (トリプルネガティブ乳がんを含む)、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん、胃がん (stomach cancer)、前立腺がん、腎がん、膵がん、直腸がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肝がん、胃がん (gastric cancer)、尿路上皮がん、黒色腫、脳がん (多形膠芽腫を含む)、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、及び急性骨髄性白血病 (AML) を含む、様々な異なるタイプのがんにおける腫瘍の成長又は転移に関連している。それはまた、加齢に関連する老化関連疾患との関連など、加齢においても役割を果たす。また、免疫応答及び細胞-マトリックス相互作用を調節し、腫瘍細胞の増殖及び休眠状態からの覚醒を促進することができる。

10

【0077】

uPARは、細胞老化のプロセス中に誘導され、ある特定のがん剤によって誘発され、加齢関連病態及び組織損傷病態の範囲に蓄積され得る (LIST)。老化細胞の除去は、療法の応答を改善し、線維症などを含む組織損傷病態の症状を緩和することができる。

【0078】

可溶性ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子受容体 (suPAR) は、上記のいくつかの病態において、また、慢性閉塞性肺疾患、喘息、肝不全、心不全、心血管疾患、及び関節リウマチにおいて上方調節されることが見出される。(Desmedt et al., Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. (2017); 54 (2): 117-133、Amor et al., Nature (2020 Jul); 583 (7814): 127-132)。したがって、uPAR (例えば、suPAR) は、疾患段階のバイオマーカーとして使用することができる。uPARは、老化細胞上で高度に発現されることが見出される。(Wagner et al., Nature (2020); 583 (7814): 37-38)。低酸素症などの多くの発がん性シグナル伝達経路及び腫瘍微小環境条件は、転写因子を活性化させ、次にuPARを調節することができる。uPARは、グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカーによって形質膜の外層と会合することによってタンパク質分解を調節することができるが、細胞表面から分泌されるか、又は脱落することがある。(Harvey et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol (2010); 11, 23-36)。uPAR発現は、子宮内膜がんの浸潤可能性と直接相関する。(Foca et al., Gynecol. Oncol. (2000); 79 (2): 244-50)。uPARは、いくつかの血液悪性腫瘍、特に急性白血病及び多発性骨髄腫に関与している。(Hata et al., Blood (1993); 81: 3357-3364、MC Bene et al., Leukemia (2004); 18, 394-400)。uPARは、乳がん患者における予後不良と関連することが報告されている。(Bo et al., Oncol. Rep. (2005); 14 (1): 105-12、Foekens et al., Cancer Res. (2000); 60 (3): 636-43)。

20

30

40

【0079】

ある特定の実施形態では、uPARは、UniProt参照番号Q03405-1 (配列番号61) のアミノ酸配列又はその断片を含むか、又はそれからなるヒトuPARである。配列番号61を以下に提供する。ある特定の実施形態では、uPARは、ドメイン1 (ドメインUPAR/Ly6 1)、ドメイン2 (ドメインUPAR/Ly6 2)、及びドメイン3 (ドメインUPAR/Ly6 3) の3つのドメインを含む。ある特定の実施形態では、ドメイン1は、配列番号61のアミノ酸23~114を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、ドメイン2は、配列番号61のアミノ酸115~213を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、ドメイン3は、配列番号61のアミノ酸214~305を含むか、又はそれからなる。

50

## 【化 1】

MGHPPLPLLL LLLHTCVPAS WGLRCMQCKT NGDCRVEECA LGQDLCRTTI VRLWEEGEEEL  
ELVEKSCTHS EKTNRTLSYR TGLKITSLTE VVCGLDLNQN GNSGRAVTYS RSRYLECISC  
GSSDMSCEG RHQSLQCRSP EEQCLDVVTH WIQEGEEGRP KDDRHLRGCG YLPGCPGSNG  
FHNNDTFHFL KCCNTTKCNE GPIELENLN QNGRQCYSCK GNSTHGCSSE ETFLIDCRGP  
MNQCLVATGT HEPKNQSYMV RGCATASMCQ HAHLGDAFSM NHIDVSCCTK SGCNHPDLDV  
QYRSGAAPQP GPAHLSTLIT LLMTARLWGG TLLWT [配列番号 61]

## 【0080】

ある特定の実施形態では、uPARは、配列番号 61 に記載のアミノ酸配列又はその断片と少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、又は少なくとも約 99 %、少なくとも約 100 % 同一であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

10

## 【0081】

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ヒト uPAR の一部分に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ドメイン 1、ドメイン 2、及びドメイン 3 のうちの少なくとも 1 つに結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ドメイン 2 に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ドメイン 3 に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、ドメイン 2 及びドメイン 3 の両方に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、配列番号 61 のアミノ酸 115 ~ 303 に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、配列番号 61 のアミノ酸 115 ~ 305 に結合する。

20

## 【0082】

## 5.3. 抗原認識受容体

本明細書に開示される抗原認識受容体は、uPAR を特異的に標的とするか、又は uPAR に結合する。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、キメラ抗原受容体 (CAR) である。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、T 細胞受容体 (TCR) である。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、TCR 様融合分子である。

## 【0083】

本明細書に開示される主題はまた、本明細書に開示される抗原認識受容体をコードする、核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、本明細書に開示される uPAR 標的抗原認識受容体のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

30

## 【0084】

## 5.3.1. T 細胞受容体 (TCR)

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、TCR である。TCR は、不変 CD3 鎖分子との複合体の一部として発現される 2 つの可変鎖からなるジスルフィド連結ヘテロ二量体タンパク質である。T 細胞の表面上に見出される TCR は、主要組織適合性複合体 (MHC) 分子に結合したペプチドとしての抗原の認識に関与する。ある特定の実施形態では、TCR は、アルファ鎖及びベータ鎖 (それぞれ、TRA 及び TRB によってコードされる) を含む。ある特定の実施形態では、TCR は、ガンマ鎖及びデルタ鎖 (それぞれ、TRG 及び TRD によってコードされる) を含む。

40

## 【0085】

TCR の各鎖は、2 つの細胞外ドメイン：可変 (V) 領域及び定常 (C) 領域から構成される。定常領域は、細胞膜の近位にあり、その後に膜貫通領域及び短い細胞質尾部が続く。可変領域は、ペプチド / MHC 複合体に結合する。両方の鎖の可変ドメインは、各々、3 つの相補性決定領域 (CDR) を有する。

## 【0086】

ある特定の実施形態では、TCR は、3 つの二量体シグナル伝達モジュール CD3  $\delta$  /  $\epsilon$ 、CD3  $\gamma$  /  $\epsilon$ 、及び CD247  $\zeta$  /  $\zeta$  又は  $\zeta$  /  $\eta$  と受容体複合体を形成することができる。TCR 複合体がその抗原及び MHC (ペプチド / MHC) と係合すると、TCR 複合体を発現する T 細胞が活性化される。

50

## 【0087】

ある特定の実施形態では、TCRは、内因性TCRである。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、天然に存在するTCRである。

## 【0088】

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、外因性TCRである。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、組換えTCRである。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、組換えTCRである。ある特定の実施形態では、組換えTCRは、少なくとも1つのアミノ酸残基が、任意の組換えTCRと異なる。ある特定の実施形態では、組換えTCRは、少なくとも約2個、約3個、約4個、約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約11個、約12個、約13個、約14個、約15個、約20個、約25個、約30個、約40個、約50個、約60個、約70個、約80個、約90個、約100個、又はそれ以上のアミノ酸残基が、任意の天然に存在するTCRと異なる。ある特定の実施形態では、組換えTCRは、少なくとも1つのアミノ酸残基が、天然に存在するTCRから修飾される。ある特定の実施形態では、組換えTCRは、少なくとも約2個、約3個、約4個、約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約11個、約12個、約13個、約14個、約15個、約20個、約25個、約30個、約40個、約50個、約60個、約70個、約80個、約90個、約100個、又はそれ以上のアミノ酸残基が、天然に存在するTCRから修飾される。

10

## 【0089】

## 5.3.2. キメラ抗原受容体 (CAR)

20

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、CARである。CARは、免疫エフェクター細胞上に目的の特異性を移植するか、又は付与する操作された受容体である。CARはモノクローナル抗体の特異性をT細胞に移植するために使用することができ、そのコード配列の移植はレトロウイルスベクターによって促進される。

## 【0090】

3世代のCARが存在する。「第1世代」のCARは、典型的には、細胞質／細胞内シグナル伝達ドメインに融合される膜貫通ドメインに融合される細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）で構成される。「第1世代」のCARは、新規な抗原認識を提供することができ、HLA媒介性抗原提示とは無関係に、単一の融合分子中のCD3ζ鎖シグナル伝達ドメインを介してCD4<sup>+</sup>及びCD8<sup>+</sup> T細胞の両方の活性化を引き起こすことができる。「第2世代」のCARは、様々な共刺激分子（例えば、CD28、4-1BB、ICOS、OX40）からの細胞内シグナル伝達ドメインをCARの細胞質尾部に付加して、T細胞に追加のシグナルを提供する。「第2世代」のCARは、共刺激（例えば、CD28又は4-1BB）及び活性化（CD3ζ）の両方を提供するものを含む。「第3世代」のCARは、複数の共刺激（例えば、CD28及び4-1BB）並びに活性化（CD3ζ）を提供するものを含む。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、第1世代のCARである。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、共刺激分子又はその断片の細胞内シグナル伝達ドメインを含まないCARである。ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、第2世代のCARである。

30

## 【0091】

ある特定の実施形態では、CARは、uPARに特異的に結合する細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

40

## 【0092】

## 5.3.2.1. CARの細胞外抗原結合ドメイン

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、scFvである。ある特定の実施形態では、scFvは、ヒトscFvである。ある特定の実施形態では、scFvは、ヒト化scFvである。ある特定の実施形態では、scFvは、マウスscFvである。ある特定の実施形態では、scFvは、scFvファージライブラリを抗原-Fc融合タンパク質でスクリーニングすることによって識別される。

## 【0093】

50

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、F a bである。ある特定の実施形態では、F a bは、架橋される。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、F ( a b )<sub>2</sub>である。

#### 【0094】

前述の分子のうちのいずれかは、異種配列を有する融合タンパク質に含まれて、細胞外抗原結合ドメインを形成し得る。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（具体化される、例えば、s c F v又はその類似体）は、結合親和性で、例えば、約 $1 \times 10^{-6}$  M以下、例えば、約 $1 \times 10^{-7}$  M以下、約 $1 \times 10^{-8}$  M以下、約 $1 \times 10^{-9}$  M以下、約 $1 \times 10^{-10}$  M以下、又は約 $1 \times 10^{-11}$  M以下の解離定数（K<sub>D</sub>）で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $1 \times 10^{-7}$  M以下のK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $1 \times 10^{-9}$  M～約 $1 \times 10^{-7}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $1 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $1.9 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $2 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $3 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $3.5 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $4 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $4.2 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $1 \times 10^{-7}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $9.5 \times 10^{-8}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $6 \times 10^{-9}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $7 \times 10^{-9}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインは、約 $6.6 \times 10^{-9}$  MのK<sub>D</sub>で、u P A R（例えば、ヒトu P A R）に結合する。

#### 【0095】

C A Rの細胞外抗原結合ドメインの結合は、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）、ラジオイムノアッセイ（R I A）、F A C S分析、バイオアッセイ（例えば、成長阻害）、又はウェスタンブロットアッセイによって確認することができる。これらのアッセイの各々は、一般に、目的の複合体に特異的な標識された試薬（例えば、抗体又はs c F v）を使用することによって、特定の目的のタンパク質-抗体複合体の存在を検出する。例えば、s c F vを放射性標識し、ラジオイムノアッセイ（R I A）で使用する（例えば、Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, March, 1986（参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。放射性同位体は、γカウンタ若しくはシンチレーションカウンタの使用、又は自己放射線検査のような手段によって検出され得る。ある特定の実施形態では、u P A R標的細胞外抗原結合ドメインは、蛍光マーカーで標識される。蛍光マーカーの非限定的な例としては、緑色蛍光タンパク質（G F P）、青色蛍光タンパク質（例えば、E B F P、E B F P 2、アズライト（A z u r i t e）、及びm K a l a m a 1）、シアン蛍光タンパク質（例えば、E C F P、セルリアン（C e r u l e a n）、及びC y

P e t)、並びに黄色蛍光タンパク質(例えば、Y F P、シトリン(C i t r i n e)、V e n u s、及びY P e t)が挙げられる。ある特定の実施形態では、u P A R 標的ヒト s c F v は、G F P で標識される。

【0096】

ある特定の実施形態では、C D R は、K a b a t システム、C h o t h i a システム、又はこれらの組み合わせに従って識別される。

【0097】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号1に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 1、配列番号2に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 2、及び配列番号3に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 3を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号1~3を表1に提供する。

10

【0098】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号4に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 1、配列番号5に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 3を含むV<sub>L</sub>を含む。配列番号4~6を表1に提供する。

【0099】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号1に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 1、配列番号2に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 2、配列番号3に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 3を含むV<sub>H</sub>と、配列番号4に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 1、配列番号5に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC D R 3を含むV<sub>L</sub>と、を含む。

20

【0100】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むC D R 1と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むC D R 2と、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むa C D R 3と、を含む、V<sub>H</sub>、及び配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むC D R 1と、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むC D R 2と、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むC D R 3と、を含む、V<sub>L</sub>を含む。

30

【0101】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号25に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%(例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%)相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号25と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号25に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号25のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号33に記載する。配列番号25及び33は、以下の表1に提供される。

40

【0102】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は、配列番号26に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%(例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%)相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン(例えば、s c F v)は

50

、配列番号 26 と約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは約 100 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V<sub>L</sub> を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を含む V<sub>L</sub> を含む。配列番号 26 のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号 34 に記載する。配列番号 26 及び 34 は、以下の表 1 に提供される。

【0103】

ある特定の実施形態では、CAR の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列を含む V<sub>H</sub> と、配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を含む V<sub>L</sub> と、を含む。ある特定の実施形態では、V<sub>H</sub> 及び V<sub>L</sub> は、リンカーを介して連結されている。

10

【0104】

ある特定の実施形態では、CAR の細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインの N 末端に重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CAR の細胞外抗原結合ドメインが s c F v である場合、可変領域は、N 末端から C 末端へと配置される：V<sub>H</sub> - V<sub>L</sub>。

【0105】

ある特定の実施形態では、CAR の細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインの N 末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CAR の細胞外抗原結合ドメインが s c F v である場合、可変領域は、N 末端から C 末端へと配置される：V<sub>L</sub> - V<sub>H</sub>。

20

【0106】

ある特定の実施形態では、s c F v は、「8 B 1」と称される。

【0107】

ある特定の実施形態では、表 1 に開示される C D R 配列は、K a b a t システム、又は K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。配列番号 2 ~ 6 は、K a b a t システムに従って識別される。配列番号 1 は、K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。

30

40

50

【表 1－1】

| 表 1                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                            |                   |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------------|
| CDRs                 | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 2                          | 3                 |
| V <sub>H</sub>       | GYTFTNYGMN[配列番号 1]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | WINTNTGEPTYAEKF KG[配列番号 2] | YEFAY[配列番号 3]     |
| V <sub>L</sub>       | RASENIYSNLA[配列番号 4]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | AATNLAD[配列番号 5]            | QHFWGTPWT[配列番号 6] |
| 完全 V <sub>H</sub>    | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMG WINTNTGEPTYAEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCGDYEF AYWGQGTILVTVSA[配列番号 25]                                                                                                                                                                                                                                       |                            |                   |
| 完全 V <sub>L</sub>    | DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCRASENIYSNLAWYQQKQKSPQLLVYAA TNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGSYYCQHFWGTPWTFGGGT KLEIK[配列番号 26]                                                                                                                                                                                                                                               |                            |                   |
| V <sub>H</sub> の DNA | CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAG ACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACTATG GAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGG GCTGGATAAACACCAACACTGGAGAGCCAACATATGCTGAAGAGTTCA AGGGACGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTG CAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGGGG ATTACGAGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGC A[配列番号 33] |                            |                   |
| V <sub>L</sub> の DNA | GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAG AAAGTGTCAACATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTAATTT AGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTAT GCTGCAACAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTG                                                                                                                                                              |                            |                   |

【表 1－2】

|  |                                                                                                                                          |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | GATCAGGCACACAGTATTCCCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGA TTTTGGGAGTTATTACTGTCAACATTTTGGGGTACTCCGTGGACGTTCTG GTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA[配列番号 34] |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

【0108】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号7に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号8に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号9に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号7～9を表2に提供する。

【0109】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号10に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号11に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号12に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>L</sub>を含む。配列番号10～12を表2に提供する。

【0110】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号7に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号8に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、配列番号9に記載のアミノ酸配列又

はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>H</sub>と、配列番号10に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号11に記載のアミノ酸配列又は保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号12に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>L</sub>と、を含む。

#### 【0111】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、V<sub>H</sub>、及び配列番号10に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号12に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、V<sub>L</sub>を含む。

10

#### 【0112】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号27に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。例えば、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号27と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号27に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号27のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号35に記載する。配列番号27及び35は、以下の表2に提供される。

20

#### 【0113】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号28に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。例えば、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号28と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号28に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。配列番号28のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号36に記載する。配列番号28及び36は、以下の表2に提供される。

30

#### 【0114】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号27に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>と、配列番号28に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>と、を含む。ある特定の実施形態では、V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>は、リンカーを介して連結されている。

40

#### 【0115】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>。

#### 【0116】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>。

50

## 【 0 1 1 7 】

ある特定の実施形態では、s c F v は、「 1 1 E 1 0 」と称される。

## 【 0 1 1 8 】

ある特定の実施形態では、表 2 に開示される C D R 配列は、K a b a t システム、又は K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。配列番号 8 ～ 1 2 は、K a b a t システムに従って識別される。配列番号 7 は、K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。

## 【 表 2 - 1 】

表 2

| CDRs                 | 1                                                                                                                                                                                                                                                        | 2                          | 3                     |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| V <sub>H</sub>       | GYTFTDYVIT[配列番号 7]                                                                                                                                                                                                                                       | EIYPRSGNTYYNAKF RG[配列番号 8] | GGYYDFDFFAMDY[配列番号 9] |
| V <sub>L</sub>       | RSSKSLHSNGNT YLY[配列番号 10]                                                                                                                                                                                                                                | RMSNLAS[配列番号 11]           | MQHLEYPYT[配列番号 12]    |
| 完全 V <sub>H</sub>    | QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKTSGYTFTDYVITWVKQRTGQGLEWIGE IYPRSGNTYYNAKFRGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGY YDFDFFAMDYWGQGTSTVTVSS[配列番号 27]                                                                                                                   |                            |                       |
| 完全 V <sub>L</sub>    | DIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLHSNGNTYLYWFLQRPQSPQLLI YRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK[配列番号 28]                                                                                                                                 |                            |                       |
| V <sub>H</sub> の DNA | CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTT CAGTGAAGATGTCCTGCAAGACTTCTGGATACACATTCAGTACTATGT TATAACCTGGGTGAAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAATGGATTGG AGAGATTTATCCTCGAAGTGGTAATACTTACTACAATGCGAAGTTCAGG GGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGC |                            |                       |

## 【 表 2 - 2 】

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      | AGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCTAG AGGGGGCTACTATGATTTCGACTTCTTTGCTATGGACTACTGGGGTCAA GGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA[配列番号 35]                                                                                                                                                                                                                           |
| V <sub>L</sub> の DNA | GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAG AGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAA TGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTC AGCTCCTGATATATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGGTGAGGAAGTCTTTCACACTGAGAATCAGTAGA GTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAAT ATCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGTTGGAAATAAAA[配列番号 36] |

## 【 0 1 1 9 】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 1 3 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 1 4 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V H を含む。配列番号 1 3 ～ 1 5 を表 3 に提供する。

## 【 0 1 2 0 】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 1 7 に

記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むVLを含む。配列番号16～18を表3に提供する。

【0121】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号13に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号14に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、配列番号15に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むVHと、配列番号16に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号17に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むVLと、を含む。

10

【0122】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号13に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号14に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、VH、及び配列番号16に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、VLを含む。

【0123】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号29に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。例えば、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号29と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号29に記載のアミノ酸配列を含むVHを含む。配列番号29のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号37に記載する。配列番号29及び37は、以下の表3に提供される。

20

30

【0124】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号30に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。例えば、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号30と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号30に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む。配列番号30のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号38に記載する。配列番号30及び38は、以下の表3に提供される。

40

【0125】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号29に記載のアミノ酸配列を含むVHと、配列番号30に記載のアミノ酸配列を含むVLと、を含む。ある特定の実施形態では、VH及びVLは、リンカーを介して連結されている。

【0126】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に重鎖可変領域（VH）が配置されるように、次々に連結されて

50

いなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>H</sub>－V<sub>L</sub>。

【0127】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>。

【0128】

ある特定の実施形態では、scFvは、「17C9」と称される。

【0129】

ある特定の実施形態では、表3に開示されるCDR配列は、Kabatシステム、又はKabatシステムとChothiaシステムとの組み合わせに従って識別される。配列番号14～18は、Kabatシステムに従って識別される。配列番号13は、KabatシステムとChothiaシステムとの組み合わせに従って識別される。

【表3－1】

表3

| CDRs              | 1                                                                                                        | 2                             | 3                  |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| V <sub>H</sub>    | GFTFSSYAMS[配列番号13]                                                                                       | EISSGGTYTYYPDTV<br>TG[配列番号14] | DDGFYAWFGY[配列番号15] |
| V <sub>L</sub>    | TSSQSLLSDGKT<br>YLN[配列番号16]                                                                              | LVSKLDS[配列番号<br>17]           | WQGTHFPRT[配列番号18]  |
| 完全 V <sub>H</sub> | EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQSPPEKRLQVVAEI<br>SSGGTYTYYPDVTGRTISRDNKNTLYLEMSSLRSEDTAMYVCARDGDF |                               |                    |

【表3－2】

|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | YAWFGYWGQGTLVTVSA[配列番号29]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 完全 V <sub>L</sub>       | DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCTSSQSLLSDGKTYLNLWLLQRPQGSPKRL<br>IYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYCWQGTHFPRTFG<br>GGTKLEIK[配列番号30]                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| V <sub>H</sub> の<br>DNA | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGG<br>TCCCTGAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGC<br>CATGTCTTGGGTTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCA<br>GAAATTAGTAGTGGTGGTACTTACACCTACTATCCAGACACTGTGACGG<br>GCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGGA<br>AATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGG<br>GATGATGGTTTCTACGCCTGGTTTGGTTACTGGGGCCAAGGACTCTGG<br>TCACTGTCTCTGCA[配列番号37] |
| V <sub>L</sub> の<br>DNA | GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGCGTTACCATTTGGACA<br>ACCAGCCTCCATCTCTTGCACGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGAT<br>GGAAAGACATATTTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAA<br>AGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAG<br>GTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTGAAAATCAGCAGA<br>GTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACATT<br>TTCCTCGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA[配列番号<br>38]                       |

【0130】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、

配列番号 19 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 21 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V H を含む。配列番号 19 ～ 21 を表 4 に提供する。

【0131】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 22 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 23 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 24 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V L を含む。配列番号 22 ～ 24 を表 4 に提供する。

10

【0132】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V H と、配列番号 22 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 23 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 24 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V L と、を含む。

【0133】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 20 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、V H、及び配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 23 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、V L を含む。

20

【0134】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 31 に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約 80 %（例えば、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、若しくは少なくとも約 95 %）相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 31 と約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは約 100 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 31 に記載のアミノ酸配列を含む V H を含む。配列番号 31 のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号 39 に記載する。配列番号 31 及び 39 は、以下の表 4 に提供される。

30

【0135】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 32 に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約 80 %（例えば、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、若しくは少なくとも約 95 %）相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 32 と約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは約 100 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 32 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む。配列番号 32 のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号 40 に記載する。配列番号 32 及び 40 は、以下の表 4 に提供される。

40

【0136】

50

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号31に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>と、配列番号32に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>と、を含む。ある特定の実施形態では、V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>は、リンカーを介して連結されている。

【0137】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>H</sub>－V<sub>L</sub>。

【0138】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメインがscFvである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>。

【0139】

ある特定の実施形態では、scFvは、「19D7」と称される。

【0140】

ある特定の実施形態では、表4に開示されるCDR配列は、Kabatシステム、又はKabatシステムとChothiaシステムとの組み合わせに従って識別される。配列番号20～24は、Kabatシステムに従って識別される。配列番号19は、KabatシステムとChothiaシステムとの組み合わせに従って識別される。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4

| CDRs                 | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 2                          | 3                    |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| V <sub>H</sub>       | GYTFSTYWIE[配列番号 19]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | EILPGSGSTNYNEKFKG[配列番号 20] | GNGLRRYAMDY[配列番号 21] |
| V <sub>L</sub>       | KASQSVSNDVT[配列番号 22]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | YASNRYT[配列番号 23]           | QQDYSSPFT[配列番号 24]   |
| 完全 V <sub>H</sub>    | QVQLQLSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSTYWIEWVKQRPGHGLEWIGELPGSGSTNYNEKFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGNGLRRYAMDYWGQGTSTVTVSS[配列番号 31]                                                                                                                                                                                                                                                    |                            |                      |
| 完全 V <sub>L</sub>    | SIVMTQTPKFLLSAGDRVITITCKASQSVSNDVTWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPFTFGSGTLEIK[配列番号 32]                                                                                                                                                                                                                                                                  |                            |                      |
| V <sub>H</sub> の DNA | CAGGTTTCAGCTGCAGCTGTCTGGAGCTGAGCTGATGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTACTGGCTACACATTCAGTACCTACTGGATAGAGTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTTTACCTGGAAGTGGTAGTACTAATACTACAATGAGAAATTCAAAAGCAAGGCCACATTCAGTCTGATACATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTGCAAGAGGGAACGGATTACGACGGTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAACCGTCTCCTCA[配列番号 39] |                            |                      |
| V <sub>L</sub> の DNA | AGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTTGTCTCAGCAGGAGACAGGGTTACCATAACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTAACCTTGGTACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAACTGCTGATATACATATGCATCCAATCGCTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATTTCACCTTACCATCAGCACTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCATTCACGTTCTCGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA[配列番号 40]                                          |                            |                      |

10

20

30

## 【0141】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号41に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号43に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号41～43を表5に提供する。

## 【0142】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号44に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>L</sub>を含む。配列番号44～46を表5に提供する。

40

## 【0143】

ある特定の実施形態では、CARの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、scFv）は、配列番号41に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR3を含むV<sub>H</sub>と、配列番号44に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含むC

50

D R 3を含むV<sub>L</sub>と、を含む。

【0144】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むC D R 1と、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むC D R 2と、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むC D R 3と、を含む、V<sub>H</sub>、及び配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むC D R 1と、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むC D R 2と、配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むC D R 3と、を含む、V<sub>L</sub>を含む。

【0145】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号47に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。例えば、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号47と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>を含む。配列番号47のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号57に記載する。配列番号47及び57は、以下の表5に提供される。

【0146】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号48に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約80%（例えば、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%）相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。例えば、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号48と約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同又は同一であるアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>を含む。配列番号48のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号58に記載する。配列番号48及び58は、以下の表5に提供される。

【0147】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>H</sub>と、配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むV<sub>L</sub>と、を含む。ある特定の実施形態では、V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>は、リンカーを介して連結されている。

【0148】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインがs c F vである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>H</sub>－V<sub>L</sub>。

【0149】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインがs c F vである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>。

【0150】

ある特定の実施形態では、s c F vは、「6 C 8」と称される。

【0151】

ある特定の実施形態では、表 5 に開示される C D R 配列は、K a b a t システム、又は K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。配列番号 4 2 ～ 4 6 は、K a b a t システムに従って識別される。配列番号 4 1 は、K a b a t システムと C h o t h i a システムとの組み合わせに従って識別される。

【表 5】

表 5

| CDRs                 | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 2                          | 3                     |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| V <sub>H</sub>       | GFTFTNYGMS[配列番号 41]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | TTNSNGGATYYPDVK G[配列番号 42] | DRDYYGGSM DY[配列番号 43] |
| V <sub>L</sub>       | KSSQSLLYSSDQK NYLA[配列番号 44]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | WASTRES[配列番号 45]           | QQYYSYPFT[配列番号 46]    |
| 完全 V <sub>H</sub>    | EVQLVESGGGLVQPGGSLKISCAASGFTFTNYGMSWVRQTPDKRLELVATT NSNGGATYYPDVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLKSEDTAMYFCTRDRD YYGGSM DYWGQGTSVTVSS[配列番号 47]                                                                                                                                                                                                                                                        |                            |                       |
| 完全 V <sub>L</sub>    | DIVMSQSPSSLAVSVGERVSMCKSSQSLLYSSDQKNYLAWYQQKPGQSPE LLIYWASTRESGVPDRFTGSGGTDFLTISSVKAEDLAIYYCQQYYSYPFTF GSGTKLEIK[配列番号 48]                                                                                                                                                                                                                                                                 |                            |                       |
| V <sub>H</sub> の DNA | GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGG TCCCTGAAAATCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCACTAACTATGG CATGTCTTGGGTTCCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTTGGTCGCA ACAACTAATAGTAATGGTGGTGCCACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGG GCCGATTCACCATTTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTGTACCTACA AATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTCTGTACAAGA GATCGAGATTACTACGGGGGGTCTATGGACTACTGGGGTCAGGGAACCT CAGTCACCGTCTCCTCA[配列番号 57] |                            |                       |
| V <sub>L</sub> の DNA | GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTCGGTTGGAGA GAGGGTTTCTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGC GATCAAAAGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCT CCTGAACTGCTGATTTACTGGGCTTCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTG ATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAG CAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAATTTATTACTGTCAGCAATATTAT AGTTATCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA[配列番号 58]                        |                            |                       |

## 【0152】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 4 9 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 5 0 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 5 1 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V<sub>H</sub> を含む。配列番号 4 9 ～ 5 1 を表 6 に提供する。

## 【0153】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 5 2 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 5 3 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 5 4 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V<sub>L</sub> を含む。配列番号 5 2 ～ 5 4 を表 6 に提供する。

## 【0154】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、

配列番号 49 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 50 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、配列番号 51 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V H と、配列番号 52 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 1、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 2、及び配列番号 54 に記載のアミノ酸配列又はその保存的修飾を含む C D R 3 を含む V L と、を含む。

【0155】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 49 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 50 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 51 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、V H、及び配列番号 52 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 53 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 54 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 3 と、を含む、V L を含む。

10

【0156】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 55 に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約 80 %（例えば、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、若しくは少なくとも約 95 %）相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 55 と約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは約 100 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V H を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む V H を含む。配列番号 55 のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号 59 に記載する。配列番号 55 及び 59 は、以下の表 6 に提供される。

20

【0157】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 56 に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約 80 %（例えば、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、若しくは少なくとも約 95 %）相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。例えば、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 56 と約 80 %、約 81 %、約 82 %、約 83 %、約 84 %、約 85 %、約 86 %、約 87 %、約 88 %、約 89 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは約 100 % 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む V L を含む。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む。配列番号 56 のアミノ酸配列をコードする例示的なヌクレオチド配列を、配列番号 60 に記載する。配列番号 56 及び 60 は、以下の表 6 に提供される。

30

【0158】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む V H と、配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む V L と、を含む。ある特定の実施形態では、V H 及び V L は、リンカーを介して連結されている。

40

【0159】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインの N 末端に重鎖可変領域（V H）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメインが s c F v である場合、可変領域は、N 末端から C 末端へと配置される：V H－V L。

【0160】

ある特定の実施形態では、C A R の細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインの N 末端に軽鎖可変領域（V L）が配置されるように、次々に連結されて

50

いなければならない。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインがs c F vである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>。

【0161】

ある特定の実施形態では、s c F vは、「14C5」と称される。

【0162】

ある特定の実施形態では、表6に開示されるC D R配列は、K a b a tシステムに従って識別される。

【表6】

表6

| CDRs                | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 2                         | 3                  |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|
| V <sub>H</sub>      | GFSLTSYGVH[配列番号 49]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | VLWAGGSTDYNSALMS[配列番号 50] | GGLRQVFAY[配列番号 51] |
| V <sub>L</sub>      | RSSQSIVYSNGNTYLE[配列番号 52]                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | KVSNRFS[配列番号 53]          | FQGSHVPYT[配列番号 54] |
| 完全 V <sub>H</sub>   | QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVLWAGGSTDYNSALMSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAMY YCARGGLRQVFAYWGQGILVTVSA[配列番号 55]                                                                                                                                                                                                                            |                           |                    |
| 完全 V <sub>L</sub>   | DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGTKLEMK[配列番号 56]                                                                                                                                                                                                                                   |                           |                    |
| V <sub>H</sub> のDNA | CTGGGTTCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTTTATGTTGGGCTGGTGGAAGCACAGATTATAATTCGGCTCTCATGTCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACA ACTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATGTACTACTGTGCCAGAGGGGGATTACGACAGGTGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA[配列番号 59]                                                                                           |                           |                    |
| V <sub>L</sub> のDNA | GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTATATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTTACATGTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATGAAA[配列番号 60] |                           |                    |

【0163】

本明細書で使用される場合、「保存的配列修飾」という用語は、アミノ酸配列を含む本明細書に開示されるu P A R標的C A R（例えば、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン）の結合特徴に有意に影響しないか、又は変化させないアミノ酸修飾を指す。保存的修飾は、アミノ酸置換、付加、及び欠失を含み得る。修飾は、部位特異的変異誘発及びP C R媒介性変異誘発などの当該技術分野で既知の標準的な技術によって、本明細書に開示されるC A Rの細胞外抗原結合ドメインに導入することができる。アミノ酸は、電荷及び極性などの物理化学的特性に従って、グループに分類することができる。保存的アミノ酸置換は、アミノ酸残基が同じグループ内のアミノ酸で置き換えられたものである。例えば、アミノ酸は、電荷によって分類することができ、正に帯電したアミノ酸としては、リジン、アルギニン、ヒスチジンが挙げられ、負に帯電したアミノ酸としては、アスパラギン酸、グルタミン酸が挙げられ、中性電荷のアミノ酸としては、アラニン、アスパラギン、システイン、グルタミン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、及びバリンが挙げられる。加えて、アミノ酸は、極性によって分類することができ、極性アミノ酸としては、アルギ

ニン（塩基性極性）、アスパラギン、アスパラギン酸（酸性極性）、グルタミン酸（酸性極性）、グルタミン、ヒスチジン（塩基性極性）、リジン（塩基性極性）、セリン、トレオニン、及びチロシンが挙げられ、非極性アミノ酸としては、アラニン、システイン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、及びバリンが挙げられる。したがって、CDR領域内の1つ以上のアミノ酸残基を、同じグループからの他のアミノ酸残基と置き換えることができ、改変された抗体を、本明細書に記載の機能的アッセイを使用して、保持された機能（すなわち、上の（c）～（l）に示される機能）について試験することができる。ある特定の実施形態では、指定された配列又はCDR領域内の1つ以下、2つ以下、3つ以下、4つ以下、5つ以下の残基が改変される。

10

#### 【0164】

特定の配列（複数可）（例えば、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号47、配列番号48、配列番号55、又は配列番号56）に対して少なくとも約80%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、若しくは少なくとも約95%（例えば、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、若しくは約99%）の相同性又は同一性を有するV<sub>H</sub>アミノ酸配列及び／又はV<sub>L</sub>アミノ酸配列は、指定された配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含み得るが、uPARに結合する能力を保持し得る。ある特定の実施形態では、合計1～10個のアミノ酸が、特定の配列（例えば、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号47、配列番号48、配列番号55、又は配列番号56）内で置換、挿入、及び／又は欠失される。ある特定の実施形態では、置換、挿入、又は欠失は、細胞外抗原結合ドメインのCDRの外側の領域（例えば、FR）で生じる。ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号47、配列番号48、配列番号55、又は配列番号56（その配列（配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号47、配列番号48、配列番号55、又は配列番号56）の翻訳後修飾を含む）から選択されるV<sub>H</sub>配列及び／又はV<sub>L</sub>配列を含む。

20

30

#### 【0165】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるCARの細胞外抗原結合ドメインは、uPAR（例えば、ヒトuPAR）への結合について、例えば、本明細書に開示されるscFv（例えば、8B1、11E10、17C9、19D7、6C8、及び14C5）のうちのいずれか1つのV<sub>H</sub> CDR1、CDR2、及びCDR3配列と、V<sub>L</sub> CDR1、CDR2、及びCDR3配列と、を含む参照抗体又はその抗原結合断片と交差競合する。ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるCARの細胞外抗原結合ドメインは、uPAR（例えば、ヒトuPAR）への結合について、例えば、本明細書に開示されるscFv（例えば、8B1、11E10、17C9、19D7、6C8、及び14C5）のうちのいずれか1つのV<sub>H</sub>配列及びV<sub>L</sub>配列を含む参照抗体又はその抗原結合部分と交差競合する。

40

#### 【0166】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるCARの細胞外抗原結合ドメインは、uPAR（例えば、ヒトuPAR）への結合について、scFv 8B1のV<sub>H</sub> CDR1、CDR2、及びCDR3配列と、V<sub>L</sub> CDR1、CDR2、及びCDR3配列と、を含む参照抗体又はその抗原結合部分と交差競合する。例えば、本明細書に開示されるCARの細胞外抗原結合ドメインは、uPAR（例えば、ヒトuPAR）への結合について、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むCDR3を含むV<sub>H</sub>と、配

50

列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 5 に記載の配列を有するアミノ酸を含む C D R 2、及び配列番号 6 に記載の配列を有するアミノ酸を含む C D R 3 を含む V<sub>L</sub> と、を含む参照抗体又はその抗原結合部分と交差競合する。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される C A R の細胞外抗原結合ドメインは、u P A R（例えば、ヒト u P A R）への結合について、s c F v 8 B 1 の V<sub>H</sub> 配列及び V<sub>L</sub> 配列を含む参照抗体又はその抗原結合部分と交差競合する。例えば、本明細書に開示される C A R の細胞外抗原結合ドメインは、u P A R（例えば、ヒト u P A R）への結合について、配列番号 2 5 に記載の配列を有するアミノ酸を含む V<sub>H</sub> と、配列番号 2 6 に記載の配列を有するアミノ酸を含む V<sub>L</sub> と、を含む参照抗体又はその抗原結合部分と交差競合する。

【0167】

ある特定の実施形態では、細胞外抗原結合ドメインは、参照抗体又はその抗原結合部分と同じ u P A R（例えば、ヒト u P A R）上のエピトープ領域に結合する。例えば、本明細書に開示される C A R の細胞外抗原結合ドメインは、例えば、本明細書に開示される s c F v（例えば、8 B 1、1 1 E 1 0、1 7 C 9、1 9 D 7、6 C 8、及び 1 4 C 5）のうちのいずれか 1 つの V<sub>H</sub> C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列と、V<sub>L</sub> C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 配列と、を含む参照抗体又はその抗原結合部分と同じ u P A R（例えば、ヒト u P A R）上のエピトープ領域に結合する。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される C A R の細胞外抗原結合ドメインは、例えば、本明細書に開示される s c F v（例えば、8 B 1、1 1 E 1 0、1 7 C 9、1 9 D 7、6 C 8、及び 1 4 C 5）のうちのいずれか 1 つの V<sub>H</sub> 配列及び V<sub>L</sub> 配列を含む参照抗体又はその抗原結合部分と同じ E M R 2（例えば、ヒト E M R 2）上のエピトープ領域に結合する。

【0168】

u P A R（例えば、ヒト u P A R）への結合について、参照抗体若しくはその抗原結合部分と交差競合するか、又は競合する細胞外抗原結合ドメインは、限定されないが、E L I S A、ラジオイムノアッセイ（R I A）、B i a c o r e、フローサイトメトリー、ウェスタンブロッティング、及び任意の他の好適な定量的又は定性的抗体結合アッセイを含む、当該技術分野で既知の通常の方法を使用することによって識別され得る。競合 E L I S A は、J. W a l k e r によって編集された、M o r r i s, “E p i t o p e M a p p i n g o f P r o t e i n A n t i g e n s b y C o m p e t i t i o n E L I S A”, The Protein Protocols Handbook (1996), pp 595-600 に記載されており、これは参照によりその全体が組み込まれる。ある特定の実施形態では、抗体結合アッセイは、参照抗体の u P A R ポリペプチドへの初期結合を測定することと、参照抗体を試験細胞外抗原結合ドメインと混合することと、試験細胞外抗原結合ドメインの存在下で参照抗体の u P A R ポリペプチドへの第 2 の結合を測定することと、参照抗体の第 2 の結合と初期結合を比較することと、を含み、参照抗体の u P A R ポリペプチドへの第 2 の結合が、初期結合と比較して減少したことは、試験細胞外抗原結合ドメインが、u P A R への結合について、参照抗体、例えば、同一若しくは実質的に同一のエピトープ、重複エピトープ、又は隣接エピトープを認識する抗体と交差競合することを示す。ある特定の実施形態では、参照抗体は、例えば、蛍光色素、ビオチン、又はペルオキシダーゼで標識される。ある特定の実施形態では、u P A R ポリペプチドは、細胞内、例えば、フローサイトメトリー試験において発現される。ある特定の実施形態では、u P A R ポリペプチドは、（例えば、B i a c o r e 試験における）B i a c o r e シップを含む表面、又は表面プラズモン共鳴分析に適した他の媒体上に固定される。（u P A R に結合しない）完全に無関係な抗体の存在下での参照抗体の結合は、高値対照として機能し得る。低値対照は、標識された参照抗体を標識されていない参照抗体とともにインキュベートすることによって得ることができ、標識された参照抗体の競合及び結合減少が生じるであろう。ある特定の実施形態では、参照抗体の u P A R ポリペプチドへの結合を少なくとも約 20%、少なくとも約 30%、少なくとも約 40%、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、又は少なくとも約 95% 減少させる試験細胞外抗原結合ドメインは、u P

10

20

30

40

50

A Rへの結合について、参照抗体と相互競合する細胞外抗原結合ドメインであると考えられる。ある特定の実施形態では、アッセイは、室温で実行される。

【0169】

ある特定の実施形態では、抗体結合アッセイは、試験細胞外抗原結合ドメインのu P A Rポリペプチドへの初期結合を測定することと、試験細胞外抗原結合ドメインを参照抗体と混合することと、参照抗体の存在下での試験細胞外抗原結合ドメインのu P A Rポリペプチドへの第2の結合を測定することと、試験細胞外抗原結合ドメインの第2の結合と初期結合を比較することと、を含み、試験細胞外抗原結合ドメインのu P A Rポリペプチドへの第2の結合が、初期結合と比較して減少したことは、試験細胞外抗原結合ドメインが、u P A Rへの結合について、参照抗体、例えば、同一若しくは実質的に同一のエピトープ、重複エピトープ、又は隣接エピトープを認識する抗体と交差競合することを示す。ある特定の実施形態では、試験細胞外抗原結合ドメインは、例えば、蛍光色素、ビオチン、又はペルオキシダーゼで標識される。ある特定の実施形態では、u P A Rポリペプチドは、細胞内、例えば、フローサイトメトリー試験において発現される。ある特定の実施形態では、u P A Rポリペプチドは、（例えば、B i a c o r e試験における）B i a c o r eシップを含む表面、又は表面プラズモン共鳴分析に適した他の媒体上に固定される。（u P A Rに結合しない）完全に無関係な抗体の存在下での試験細胞外抗原結合ドメインの結合は、高値対照として機能し得る。低値対照は、標識された試験細胞外抗原結合ドメインを標識されていない試験細胞外抗原結合ドメインとともにインキュベートすることによって得ることができ、標識された試験細胞外抗原結合ドメインの競合及び結合減少が生じるであろう。ある特定の実施形態では、u P A Rポリペプチドへの結合が、参照抗体の存在下で、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%減少される試験細胞外抗原結合ドメインは、u P A Rへの結合について、参照抗体と交差競合する細胞外抗原結合ドメインであるとみなされる。ある特定の実施形態では、アッセイは、室温で実行される。

10

20

【0170】

ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示されるC A Rの細胞外抗原結合ドメインは、細胞外抗原結合ドメインの重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を接続するリンカーを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号62に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号63に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号64に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号65に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号66に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、リンカーは、配列番号67に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

30

【0171】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインがs c F vである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>H</sub>－V<sub>L</sub>。

40

【0172】

ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメイン内の可変領域は、細胞外抗原結合ドメインのN末端に軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）が配置されるように、次々に連結されていなければならない。ある特定の実施形態では、C A Rの細胞外抗原結合ドメインがs c F vである場合、可変領域は、N末端からC末端へと配置される：V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>。

【0173】

加えて、細胞外抗原結合ドメインは、新生タンパク質を内皮小胞体内に導くリーダー又はシグナルペプチドを含むことができる。C A Rがグリコシル化され、細胞膜内に固定さ

50

れる場合、シグナルペプチド又はリーダーは、必須であり得る。シグナル配列又はリーダーは、分泌経路への侵入を指示する新たに合成されたタンパク質のN末端に存在するペプチド配列（約5個、約10個、約15個、約20個、約25個、又は約30個のアミノ酸長）であり得る。ある特定の実施形態では、シグナルペプチドは、細胞外抗原結合ドメインの5'末端に共有結合されている。ある特定の実施形態では、シグナルペプチドは、CD8ポリペプチドを含み、例えば、CARは、切断型CD8シグナルペプチドを含む。

【0174】

#### 4.3.2.2. CARの膜貫通ドメイン

ある特定の非限定的な実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、膜の少なくとも一部分にまたがる疎水性アルファヘリックスを含む。異なる膜貫通ドメインは、異なる受容体安定性をもたらす。抗原認識後、受容体がクラスター化し、シグナルが細胞に伝達される。本明細書に開示される主題によれば、CARの膜貫通ドメインは、CD8の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD28の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD3ζの天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD4の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、4-1BBの天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、OX40の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、その断片、ICOSの天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD84の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD166の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD8aの天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD8bの天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、ICAM-1の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CTLA-4の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン又はその断片、CD27の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン若しくはその断片、CD40の天然若しくは修飾膜貫通ドメイン若しくはその断片、NKGD2若しくはその断片、あるいはこれらの組み合わせを含み得る。

【0175】

ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、CD8ポリペプチド（例えば、CD8の膜貫通ドメイン又はその断片）を含む。ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、ヒトCD8の膜貫通ドメイン又はその断片を含む。ある特定の実施形態では、CD8ポリペプチドは、NCBI参照番号NP\_001139345.1（配列番号68）を有するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保守的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の実施形態では、CD8ポリペプチドは、少なくとも20個、若しくは少なくとも30個、若しくは少なくとも40個、若しくは少なくとも50個、及び最大235個のアミノ酸長である、配列番号68の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD8ポリペプチドは、配列番号68のアミノ酸1~235、1~50、50~100、100~150、150~200、137~209、若しくは200~235のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、配列番号68のアミノ酸137~209を含むか、又はそれからなるCD8ポリペプチドを含む。配列番号68を以下に提供する。

MALPVTALLLPALLHAARPSQFRVSPLDRTWNLGETVE  
LK CQVLLSNPTSGCSWLFQPRGAAASPTFLLYLSQNKPKA  
AEGLD TQRFS GKRLGDTFVLTLSDFRRENEGYYFC SALS N  
SIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTTPAPT IASQPLSLR  
PEACRPAAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL  
VITLYCNHRNRRRVCKCPRPVVKSGDKPSLSARYV [配列番号  
68]

【0176】

ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、マウスCD8の膜貫通ドメイン又はその断片を含む。ある特定の実施形態では、CD8ポリペプチドは、NCBI参照番号AAA92533.1（配列番号69）を有するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保守的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の実施形態では、CD8ポリペプチドは、配列番号69の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなり、少なくとも約20個、又は少なくとも約30個、又は少なくとも約40個、又は少なくとも約50個、又は少なくとも約60個、又は少なくとも約70個、又は少なくとも約100個、又は少なくとも約200個、及び最大247個のアミノ酸長である。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD8ポリペプチドは、配列番号69のアミノ酸1～247、1～50、50～100、100～150、150～200、151～219、若しくは200～247のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、配列番号69のアミノ酸151～219を含むか、又はそれからなるCD8ポリペプチドを含む。配列番号69を以下に提供する。

10

## 【化2】

```
1 MASPLTRFLS LNLLLMGESI ILGSGEAKPQ APELRIFPKK MDAELGQKVD LVCEVLGSVS
61 QGCSWLQFNS SSKLPQPTFV VYMASSHNKI TWDEKLNSSK LFSAVRDTNN KYVLTNLNKS
121 KENEGYYFCS VISNSVMYFS SVVPVLQKVN STTTKPVLR TSPVHPTGTS QPQRPEDCRP
181 RGSVKGTGLD FACDIYIWAP LAGICVAPLL SLIITLICYP RSRKRVCKCP RPLVRQEGKP
241 RPSEKIV [配列番号69]
```

20

## 【0177】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるCARの膜貫通ドメインは、CD28ポリペプチド（例えば、CD28の膜貫通ドメイン又はその断片）を含む。

## 【0178】

ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、ヒトCD28の膜貫通ドメイン又はその断片を含む。ある特定の実施形態では、CD28ポリペプチドは、NCBI参照番号NP\_006130（配列番号70）を有するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは100%相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保守的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の非限定的な実施形態では、CD28ポリペプチドは、少なくとも20個、若しくは少なくとも30個、若しくは少なくとも40個、若しくは少なくとも50個、及び最大220個のアミノ酸長である配列番号70の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD28ポリペプチドは、配列番号70のアミノ酸1～220、1～50、50～100、100～150、150～200、153～179、若しくは200～220のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、配列番号70のアミノ酸153～179を含むか、又はそれからなるCD28ポリペプチドを含む。配列番号70を以下に提供する。

30

40

## 【化3】

```
1 MLRLLLLALNL FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSK KYSYNLFSRE FRASLHKGLD
61 SAVEVCVVYG NYSQQLQVYS KTGFNCDGKL GNESVTFYLQ NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP
121 PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL CPSPLFPGPS KPFWVLVVVG GVLACYSLLV TVAFIIFWVR
181 SKRSRLHSD YMNMTPRRPG PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS [配列番号70]
```

## 【0179】

ある特定の実施形態では、CARの膜貫通ドメインは、CD28ポリペプチド（例えば、マウスCD28の膜貫通ドメイン又はその断片）を含む。ある特定の実施形態では、CD28ポリペプチドは、NCBI参照番号NP\_031668.3（配列番号71）を有

50

するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約 85 %、約 90 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、若しくは 100 % 相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大 1 つ、若しくは最大 2 つ、若しくは最大 3 つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の非限定的な実施形態では、CD28 ポリペプチドは、少なくとも 20 個、若しくは少なくとも 30 個、若しくは少なくとも 40 個、若しくは少なくとも 50 個、及び最大 218 個のアミノ酸長である、配列番号 71 の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD28 ポリペプチドは、配列番号 71 のアミノ酸 1～220、1～50、50～100、100～150、150～200、151～177、若しくは 200～218 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CAR の膜貫通ドメインは、配列番号 71 のアミノ酸 151～177 を含むか、又はそれからなる CD28 ポリペプチドを含む。配列番号 71 を以下に提供する。

10

#### 【化 4】

```
1 MTLRLLFLAL NFFSVQVTEN KILVKQSPLL VVDSNEVSLS CRYSYNLLAK EFRASLYKGV
61 NSDVEVCVGN GNFTYQPQFR SNAEFNCDGD FDNETVTFRL WNLHVNHTDI YFCKIEFMYP
121 PPYLDNERSN GTIIHIKEKH LCHTQSSPKL FWALVVVAGV LFCYGLLVTV ALCVIWTNSR
181 RNRLQLSDYM NMTPRRPGLT RKPYPYAPA RDFAAYRP [配列番号 71]
```

#### 【0180】

ある特定の非限定的な実施形態では、CAR は、細胞外抗原結合ドメインを膜貫通ドメインに連結するスペーサー領域を更に含む。スペーサー領域は、CAR の活性化活性を維持しながら抗原認識を促進するために抗原結合ドメインを異なる方向に配向させるのに十分な柔軟性を有することができる。

20

#### 【0181】

ある特定の実施形態では、CAR のヒンジ／スペーサー領域は、CD8 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD28 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD3ζ の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD40 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、4-1BB の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、OX40 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD84 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD166 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD8a の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD8b の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、ICOS の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、ICAM-1 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CTLA-4 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD27 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、CD40 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、NKGD2 の天然若しくは修飾ヒンジ領域又はその断片、(免疫応答に関連するタンパク質をベースとしない) 合成ポリペプチド、あるいはこれらの組み合わせを含む。ヒンジ／スペーサー領域は、IgG1 からのヒンジ領域、又は免疫グロブリンの CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> 領域及び CD3 の一部分、CD28 ポリペプチドの一部分 (例えば、配列番号 70 若しくは 71 の一部分)、CD8 ポリペプチドの一部分 (例えば、配列番号 68 若しくは 69 の一部分)、それと少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、若しくは少なくとも約 100 % 相同若しくは同一である前述のうちのいずれかの変形、又は合成スペーサー配列であり得る。

30

40

#### 【0182】

##### 4.3.2.3. CAR の細胞内シグナル伝達ドメイン

ある特定の実施形態では、CAR は、細胞内シグナル伝達ドメインを含む。ある特定の非限定的な実施形態では、CAR の細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ ポリペプチドを含む。CD3ζ は、細胞 (例えば、リンパ系統の細胞、例えば、T 細胞) を活性化させるか、又は刺激することができる。野生型 (「天然」) CD3ζ は、3 つの機能性免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ (ITAM)、3 つの機能性塩基性リッチ伸長 (basic-rich stretch、BRS) 領域 (BRS1、BRS2 及び BRS3

50

）を含む。CD3ζは、抗原が結合した後、活性化シグナルを細胞（例えば、リンパ系統の細胞、例えば、T細胞）に伝達する。CD3ζ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインは、内因性TCRからのシグナルの主要伝達物質である。

#### 【0183】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、天然CD3ζポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、CD3ζポリペプチドは、NCBI参照番号NP\_932170（配列番号72）を有するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくは約100%相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の非限定的な実施形態では、CD3ζポリペプチドは、少なくとも20個、若しくは少なくとも30個、若しくは少なくとも40個、若しくは少なくとも50個、及び最大164個のアミノ酸長である、配列番号72の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD3ζポリペプチドは、配列番号72のアミノ酸1～164、1～50、50～100、52～164、100～150、若しくは150～164のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号72のアミノ酸52～164を含むか、又はそれからなるCD3ζポリペプチドを含む。配列番号72を以下に提供する。

#### 【化5】

```
1  MKWKALFTAA ILQAQLPITE AQSFGLLDPK LCYLLDGILF IYGVILTALF LRVKFSRSAD
61  APAYQQGQNG LYNELNLGRR EYDVLDKRR GRDPEMGKKP QRRKNPQEG LYNELQKDKMA
121 EAYSEIGMKG ERRRGKGHDG LYQGLSTATK DTYDALHMQA LPPR [配列番号72]
```

#### 【0184】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、修飾CD3ζポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、1、2、又は3個のITAMを含む。ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、天然ITAM1を含む。ある特定の実施形態では、天然ITAM1は、以下に提供される配列番号74に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

QNQLYNELNLGRREEYDVLDKR [配列番号74]

#### 【0185】

配列番号74のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号75に記載する。

CAGAACCCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAAGAGAGGAGGTACGATGTTTTGGACAAGAGA [配列番号75]

#### 【0186】

ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、1つ以上の機能喪失変異を含むITAM1バリエーションを含む。ある特定の実施形態では、ITAM1バリエーションは、2つの機能喪失変異を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、1つ以上（例えば、2つ）の機能喪失変異の各々は、ITAM1におけるチロシン残基の変異を含む。ある特定の実施形態では、ITAM1バリエーションは、2つの機能喪失変異からなる。ある特定の実施形態では、ITAM1バリエーションは、以下に提供される配列番号76に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

QNQLFNEELNLGRREEFDVLDKR [配列番号76]

#### 【0187】

配列番号76のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号77に記載する。

CAGAACCCAGCTCTTTTAAACGAGCTCAATCTAGGACGAAAGAGAGGAGTTCGATGTTTTGGACAAGAGA [配列番号77]

## 【0188】

ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、天然ITAM2を含む。ある特定の実施形態では、天然ITAM2は、以下に提供される配列番号78に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K [配列番号78]

## 【0189】

配列番号78のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号79に記載する。

C A G G A A G G C C T G T A C A A T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G  
C G G A G G C C T A C A G T G A G A T T G G G A T G A A A [配列番号79]

10

## 【0190】

ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、ITAM2バリエーションを含む。ある特定の実施形態では、ITAM2バリエーションは、1つ以上の機能喪失変異を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、ITAM2バリエーションは、2つの機能喪失変異を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、1つ以上（例えば、2つ）の機能喪失変異の各々は、ITAM2におけるチロシン残基の変異を含む。ある特定の実施形態では、ITAM1バリエーションは、2つの機能喪失変異からなる。ある特定の実施形態では、ITAM2バリエーションは、以下に提供される配列番号80に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

Q E G L F N E L Q K D K M A E A F S E I G M K [配列番号80]

20

## 【0191】

配列番号80のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号81に記載する。

C A G G A A G G C C T G T T C A A T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G  
C G G A G G C C T T C A G T G A G A T T G G G A T G A A A [配列番号81]

## 【0192】

ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、天然ITAM3を含む。ある特定の実施形態では、天然ITAM3は、以下に提供される配列番号82に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q [配列番号82]

30

## 【0193】

配列番号82のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号83に記載する。

C A C G A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G  
A C A C C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G [配列番号83]

## 【0194】

ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、ITAM3バリエーションを含む。ある特定の実施形態では、ITAM3バリエーションは、2つの機能喪失変異を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、1つ以上（例えば、2つ）の機能喪失変異の各々は、ITAM3におけるチロシン残基の変異を含む。ある特定の実施形態では、ITAM3バリエーションは、2つの機能喪失変異を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、ITAM3バリエーションは、以下に提供される配列番号84に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。

40

H D G L F Q G L S T A T K D T F D A L H M Q [配列番号84]

## 【0195】

配列番号84のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号85に記載する。

C A C G A T G G C C T T T T C C A G G G G C T C A G T A C A G C C A C C A A G G  
A C A C C T T C G A C G C C C T T C A C A T G C A G [配列番号85]

## 【0196】

50

様々な修飾CD3ζポリペプチド及び修飾CD3ζポリペプチドを含むCARは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第WO2019/133969号に開示されている。

【0197】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、天然のITAM1と、1つ以上（例えば、2つ）の機能喪失変異を含むか又はそれからなるITAM2バリエーションと、1つ以上（例えば、2つ）の機能喪失変異を含むか又はそれからなるITAM3バリエーションと、を含む、修飾CD3ζポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、天然ITAM1と、2つの機能喪失変異からなるITAM2バリエーションと、2つの機能喪失変異からなるITAM3バリエーションと、を含む、修飾CD3ζポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号74に記載のアミノ酸配列からなる天然ITAM1と、配列番号78に記載のアミノ酸配列からなるITAM2バリエーションと、配列番号84に記載のアミノ酸配列からなるITAM3バリエーションと、を含む、修飾CD3ζポリペプチドを含む。ある特定の実施形態では、CARは、「1XX」と称される。ある特定の実施形態では、修飾CD3ζポリペプチドは、配列番号86に記載のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。配列番号86を以下に提供する。

RVKFSRSADA PAYQQGQNQL YNELNLGRRE EYDVLDK  
RRG RDP E M G G K P R R K N P Q E G L F N E L Q K D K M A E A F S E  
I G M K G E R R R G K G H D G L F Q G L S T A T K D T F D A L H M Q A L P  
P R [配列番号86]

【0198】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号86若しくはその断片と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、若しくは少なくとも約99%、少なくとも約100%同一のアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなる修飾CD3ζポリペプチドを含み、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。

【0199】

配列番号86のアミノ酸配列をコードする例示的な核酸配列を、以下に提供される配列番号87に記載する。

AGAGTGAAGTTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACC  
AGCAGGGCCAGAACCCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGG  
ACGAAGAGAGGAGGTACGATGTTTTTGGACAAGAGACGTGGC  
CGGGACCCCTGAGATGGGGGGGAAAGCCGAGAAAGGAAGAACCC  
CTCAGGAAGGCCCTGTTCAATGAACCTGCAGAAAGATAAGAT  
GGCGGAGGCCCTTCAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGC  
CGGAGGGGGCAAGGGGGCACGATGGCCCTTTTCCAGGGGGCTCA  
GTACAGCCACCAAGGACACCTTCGACGCCCTTCAACATGCA  
GGCCCTGCCCCCTTCGC [配列番号87]

【0200】

ある特定の非限定的な実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、少なくとも共刺激シグナル伝達領域を更に含む。ある特定の実施形態では、共刺激シグナル伝達領域は、少なくとも1つの共刺激分子又はその断片を含む。ある特定の実施形態では、共刺激シグナル伝達領域は、少なくとも1つの共刺激分子の細胞内ドメイン又はその断片を含む。

【0201】

本明細書で使用される場合、「共刺激分子」は、抗原に対するリンパ球の効率的な応答を提供することができる、抗原受容体又はそのリガンド以外の細胞表面分子を指す。ある特定の実施形態では、共刺激分子は、最適なリンパ球活性化を提供することができる。共

刺激分子の非限定的な例としては、CD28、4-1BB、OX40、ICOS、DAP-10、CD27、CD40、NKGD2、CD2、FN14、HVEM、LTBR、CD28H、TNFR1、TNFR2、BAFF-R、BCMA、TACI、TROY、RANK、CD40、CD27、CD30、EDAR、XEDAR、GITR、DR6、及びNGFR、並びにこれらの組み合わせが挙げられる。共刺激分子は、共刺激リガンドに結合することができ、これは、その受容体に結合すると、共刺激応答、すなわち、抗原認識受容体（例えば、キメラ抗原受容体（CAR））がその標的抗原に結合するときに提供される刺激に影響を与える細胞内応答を生成する、細胞表面上に発現されるタンパク質である。一例として、4-1BBリガンド（すなわち、4-1BBL）は、CARシグナルと組み合わせてCAR<sup>+</sup> T細胞のエフェクター細胞機能を誘導する細胞内シグナルを提供するために、4-1BBに結合し得る。

10

#### 【0202】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、CD28ポリペプチド、例えば、CD28の細胞内ドメイン又はその断片を含む共刺激シグナル伝達領域を含む。CD28ポリペプチドは、配列番号70に記載のアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、若しくは少なくとも約99%、少なくとも約100%相同若しくは同一のアミノ酸配列を含むか、若しくはそれを有し得、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。ある特定の非限定的な実施形態では、CD28ポリペプチドは、少なくとも20個、若しくは少なくとも30個、若しくは少なくとも40個、若しくは少なくとも50個、及び最大220個のアミノ酸長である、配列番号70の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD28ポリペプチドは、配列番号70のアミノ酸1~220、1~50、50~100、100~150、114~220、150~200、180~220、若しくは200~220のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号70のアミノ酸180~220のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなるCD28ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域を含む。

20

#### 【0203】

ある特定の実施形態では、CD28ポリペプチドは、配列番号71に記載のアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、若しくは少なくとも約99%、少なくとも約100%相同若しくは同一のアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大1つ、若しくは最大2つ、若しくは最大3つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。非限定的なある特定の実施形態では、CD28ポリペプチドは、少なくとも約20個、若しくは少なくとも約30個、若しくは少なくとも約40個、若しくは少なくとも約50個、及び最大218個のアミノ酸長である、配列番号71の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、CD28ポリペプチドは、配列番号71のアミノ酸1~218、1~50、50~100、100~150、150~218、178~218、若しくは200~218のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるCARの共刺激シグナル伝達領域は、配列番号71のアミノ酸178~218を含むか、又はそれからなるCD28ポリペプチドを含む。

30

40

#### 【0204】

ある特定の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、4-1BBポリペプチド、例えば、4-1BBの細胞内ドメイン又はその断片を含む共刺激シグナル伝達領域を含む。4-1BBポリペプチドは、NCBI参照番号NP\_001552（配列番号73）を有するアミノ酸配列若しくはその断片と少なくとも約80%、少なくとも約85

50

%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、若しくは少なくとも約 99%、少なくとも約 100% 相同若しくは同一であるアミノ酸配列を含むか、若しくはそれからなり、かつ／又は任意選択で、最大 1 つ、若しくは最大 2 つ、若しくは最大 3 つの保存的アミノ酸置換を含んでもよい。非限定的なある特定の実施形態では、4-1BB ポリペプチドは、少なくとも 20 個、若しくは少なくとも 30 個、若しくは少なくとも 40 個、若しくは少なくとも 50 個、若しくは少なくとも 100 個、若しくは少なくとも 150 個、若しくは少なくとも 150 個、及び最大 255 個のアミノ酸長である、配列番号 73 の連続部分であるアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。代替的に又は追加的に、非限定的な様々な実施形態では、4-1BB ポリペプチドは、配列番号 73 のアミノ酸 1~255、1~50、50~100、100~150、150~200、又は 200~255 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる。ある特定の実施形態では、CAR の細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号 73 のアミノ酸 214~255 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる 4-1BB ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域を含む。配列番号 73 を以下に提供する。

【化 6】

10

```

1  MGNSCYNIVA TLLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP NSFSSAGGQR
61  TCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC
121 CFGTFNDQKR GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE
181 PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTLRF SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG
241 CSCRFPEEEE GGCEL [配列番号 73]

```

20

#### 【0205】

ある特定の実施形態では、CAR の細胞内シグナル伝達ドメインは、2 つ以上の共刺激分子の細胞内ドメイン又はその部分（例えば、CD28 の細胞内ドメイン又はその断片及び 4-1BB の細胞内ドメイン若しくはその断片、又は CD28 の細胞内ドメイン若しくはその断片及び OX40 の細胞内ドメイン若しくはその断片）を含む共刺激シグナル伝達領域を含む。

#### 【0206】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示される CAR は、ヒト細胞内で核酸配列を発現するための誘導性プロモーターを更に含む。CAR 遺伝子の発現に使用するためのプロモーターは、ユビキチン C (Ub i C) プロモーターなどの構成的プロモーターであり得る。

30

#### 【0207】

##### 5.3.3. TCR 様融合分子

ある特定の実施形態では、抗原認識受容体は、TCR 様融合分子である。TCR 融合分子の非限定的な例としては、HLA 非依存性 TCR ベースのキメラ抗原受容体（別名「HIT-CAR」、例えば、国際特許出願第 PCT/US19/017525 号（その全体が参照により組み込まれる）に開示されているもの）、及び T 細胞受容体融合構築物 (TRuC)（例えば、Baeuerle et al., "Synthetic TRuC receptors engaging the complete T cell receptor for potent anti-tumor response," Nature Communications volume 10, Article number: 2087 (2019)（その全体が参照により組み込まれる）に開示されているもの）が挙げられる。

40

#### 【0208】

ある特定の実施形態では、TCR 様融合分子は、細胞外抗原結合ドメイン及び定常ドメインを含む抗原結合鎖を含み、TCR 様融合分子は、HLA 非依存的な方法で抗原に結合する。ある特定の実施形態では、定常ドメインは、天然又は修飾 TRAC ペプチド、天然又は修飾 TRBC ペプチド、天然又は修飾 TRDC ペプチド、天然又は修飾 TRGC ペプチド、及びそれらの任意のバリエーション又は機能的断片からなる群から選択される T 細胞受容体定常領域を含む。ある特定の実施形態では、定常ドメインは、天然又は修飾 TRAC

50

ペプチドを含む。ある特定の実施形態では、定常ドメインは、天然又は修飾 T R B C ペプチドを含む。ある特定の実施形態では、定常ドメインは、ホモ二量体又はヘテロ二量体を別の定常ドメインとともに形成することができる。ある特定の実施形態では、抗原結合鎖は、C D 3 ㄱポリペプチドと会合することができる。ある特定の実施形態では、抗原結合鎖は、抗原に結合すると、抗原結合鎖に会合する C D 3 ㄱポリペプチドを活性化させることができる。ある特定の実施形態では、C D 3 ㄱポリペプチドの活性化は、免疫応答性細胞を活性化させることができる。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子は、C D 3 複合体と組み合わせさせて、H L A 非依存性抗原認識を提供することができる。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子は、C D 3 / T C R 複合体における内因性 T C R を置き換える。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、別の細胞外抗原結合ドメインで二量体化することができる。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、細胞表面受容体用のリガンド、細胞表面リガンド用の受容体、抗体若しくはその断片の抗原結合部分、又は T C R の抗原結合部分を含む。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、1 つ又は 2 つの免疫グロブリン可変領域を含む。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、抗体の重鎖可変領域 ( V <sub>H</sub> ) を含む。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、抗体の軽鎖可変領域 ( V <sub>L</sub> ) を含む。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、別の細胞外抗原結合ドメインで二量体化することができる。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、抗体の V <sub>H</sub> を含み、V <sub>H</sub> は、抗体の V <sub>L</sub> を含む別の細胞外抗原結合ドメインで二量体化し、可変断片 ( f r a g m e n t v a r i a b l e 、 F v ) を形成することができる。ある特定の実施形態では、T C R 様融合分子の細胞外抗原結合ドメインは、抗体の V <sub>L</sub> を含み、V <sub>L</sub> は、抗体の V <sub>H</sub> を含む別の細胞外抗原結合ドメインで二量体化し、可変断片 ( F v ) を形成することができる。

10

20

30

40

50

【 0 2 0 9 】

#### 5 . 4 . 細胞

本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される u P A R 標的抗原認識受容体 (例えば、セクション 4 . 3 に開示されているもの) を含む、細胞を提供する。ある特定の実施形態では、細胞は、リンパ系統の細胞及び骨髄系統の細胞からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、細胞は、免疫応答性細胞である。ある特定の実施形態では、免疫応答性細胞は、リンパ系統の細胞である。

【 0 2 1 0 】

ある特定の実施形態では、本細胞は、リンパ系統の細胞である。リンパ系統の細胞は、抗体の産生、細胞免疫系の調節、血液中の外来物質の検出、宿主にとって外来の細胞の検出などを提供することができる。リンパ系統の細胞の非限定的な例としては、T 細胞、ナチュラルキラー ( N K ) 細胞、B 細胞、樹状細胞、リンパ系細胞が分化され得る幹細胞が挙げられる。ある特定の実施形態では、幹細胞は、多能性幹細胞 (例えば、胚性幹細胞) である。

【 0 2 1 1 】

ある特定の実施形態では、細胞は、T 細胞である。T 細胞は、胸腺内で成熟し、主に細胞媒介性免疫に関与するリンパ球であり得る。T 細胞は、適応免疫系に関与している。本明細書に開示される主題の T 細胞は、ヘルパー T 細胞、細胞傷害性 T 細胞、メモリー T 細胞 (セントラルメモリー T 細胞、幹細胞様メモリー T 細胞 (又は幹細胞様メモリー T 細胞) )、及び 2 つのタイプのエフェクターメモリー T 細胞、例えば、T E M 細胞及び T E M R A 細胞、調節性 T 細胞 (サブプレッサー T 細胞としても知られる) 、腫瘍浸潤リンパ球 ( T I L ) 、ナチュラルキラー T 細胞、粘膜関連インバリアント T 細胞、及び  $\gamma \delta$  T 細胞を含むが、これらに限定されない、任意のタイプの T 細胞であり得る。細胞傷害性 T 細胞 ( C T L 又はキラー T 細胞) は、感染した体細胞又は腫瘍細胞の死を誘導することができる T リンパ球のサブセットである。患者自身の T 細胞は、抗原認識受容体、例えば、C A R の導入を通じて、特定の抗原を標的とするように遺伝子改変され得る。ある特定の実施形

態では、免疫応答性細胞は、T細胞である。T細胞は、 $CD4^{+}$  T細胞又は $CD8^{+}$  T細胞であり得る。ある特定の実施形態では、T細胞は、 $CD4^{+}$  T細胞である。ある特定の実施形態では、T細胞は、 $CD8^{+}$  T細胞である。

【0212】

ある特定の実施形態では、細胞は、NK細胞である。ナチュラルキラー（NK）細胞は、細胞媒介性免疫の一部であり、先天性免疫応答中に作用するリンパ球であり得る。NK細胞は、標的細胞に対する細胞傷害性効果を実行するために、事前の活性化を必要としない。

【0213】

本明細書に開示される主題のヒトリンパ球の種類には、限定されないが、末梢ドナーリンパ球が含まれる。例えば、Sadelain et al., Nat Rev Cancer (2003); 3:35-45 (CARを発現するように遺伝子改変された末梢ドナーリンパ球を開示する)、Morgan, R. A., et al. 2006 Science 314:126-129 ( $\alpha$ 及び $\beta$ ヘテロ二量体を含む完全長の腫瘍抗原認識T細胞受容体複合体を発現するように遺伝子改変された末梢ドナーリンパ球を開示する)、Panelli et al., J Immunol (2000); 164:495-504、Panelli et al., J Immunol (2000); 164:4382-4392 (腫瘍生検における腫瘍浸潤リンパ球(TIL)に由来するリンパ球培養物を開示する)、並びにDupont et al., Cancer Res (2005); 65:5417-5427、Papanicolaou et al., Blood (2003); 102:2498-2505 (人工抗原提示細胞(AAPC)又はパルス樹状細胞を使用する選択的にインビトロ増殖された抗原特異的末梢血白血球を開示する)である。

【0214】

細胞(例えば、T細胞)は、自己、非自己(例えば、同種異系)、又は操作された前駆細胞若しくは幹細胞にインビトロで由来し得る。

【0215】

本明細書に開示される主題の細胞は、骨髄系統の細胞であり得る。骨髄系統の細胞の非限定的な例としては、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好中球、好酸球、巨核球、肥満細胞、赤血球、血小板、及び骨髄細胞が分化され得る幹細胞が挙げられる。ある特定の実施形態では、幹細胞は、多能性幹細胞(例えば、胚性幹細胞又は人工多能性幹細胞)である。

【0216】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示される細胞は、腫瘍微小環境を調節することができる。腫瘍は、免疫認識及び排除から自身を保護するための悪性細胞による一連のメカニズムを伴う、宿主の免疫応答に対して敵対的な微小環境を有する。この「敵対的腫瘍微小環境」は、浸潤制御性 $CD4^{+}$  T細胞(Treg)、骨髄由来サプレッサー細胞(MDSC)、腫瘍関連マクロファージ(TAM)、 $TGF-\beta$ を含む免疫抑制サイトカイン、及び活性化T細胞によって発現される免疫抑制受容体(CTLA-4及びPD-1)を標的とするリガンドの発現を含む様々な免疫抑制因子を含む。これらの免疫抑制メカニズムは、寛容の維持及び不適切な免疫応答の抑制において役割を果たすが、腫瘍微小環境内では、これらのメカニズムは、有効な抗腫瘍免疫応答を妨げる。集合的に、これらの免疫抑制因子は、標的腫瘍細胞との遭遇時に、養子移植されたCAR修飾T細胞の著しいエネルギー又はアポトーシスのいずれかを誘導することができる。

【0217】

ある特定の実施形態では、細胞が抗原認識受容体を発現するように、細胞に、本明細書に開示されるuPAR標的抗原認識受容体が形質導入され得る。

【0218】

## 5.5. 核酸組成物及びベクター

本開示の主題(The present discloses subject ma

10

20

30

40

50

t t e r) は、本明細書で開示される u P A R 標的抗原認識受容体 (例えば、セクション 4.3 に開示されるもの) をコードする、核酸を提供する。更に、本明細書に開示される核酸を含む、核酸組成物が提供される。かかる核酸組成物を含む、細胞もまた提供される。

#### 【0219】

ある特定の実施形態では、核酸組成物は、本明細書に開示される u P A R 標的抗原認識受容体に作動可能に連結されるプロモーターを更に含む。

#### 【0220】

ある特定の実施形態では、プロモーターは、内因性又は外因性である。ある特定の実施形態では、外因性プロモーターは、伸長因子 (E F) - 1 プロモーター、サイトメガロウイルス前初期プロモーター (c y t o m e g a l o v i r u s i m m e d i a t e - e a r l y p r o m o t e r, C M V) プロモーター、シミアンウイルス 40 初期プロモーター (S V 40) プロモーター、ホスホグリセリン酸キナーゼ (P G K) プロモーター、及びメタロチオネインプロモーターから選択される。ある特定の実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。ある特定の実施形態では、誘導性プロモーターは、N F A T 転写応答エレメント (T R E) プロモーター、C D 69 プロモーター、C D 25 プロモーター、及び I L - 2 プロモーターから選択される。

#### 【0221】

組成物及び核酸組成物は、当該技術分野で知られている方法によって、又は本明細書に記載されるように、対象に投与されるか、かつ／細胞に送達されることができる。細胞 (例えば、T 細胞又は N K 細胞) の遺伝子改変は、組換え DNA 構築物を実質的に均質な細胞組成物に形質導入することによって達成することができる。ある特定の実施形態では、レトロウイルスベクター (例えば、ガンマレトロウイルスベクター又はレンチウイルスベクター) は、DNA 構築物を細胞に導入するために用いられる。例えば、抗原認識受容体をコードするポリヌクレオチドを、レトロウイルスベクターにクローニングすることができ、発現を、その内因性プロモーター、レトロウイルス長末端反復、又は目的の標的細胞型に特異的なプロモーターから駆動することができる。非ウイルスベクターも同様に使用され得る。

#### 【0222】

本明細書に開示される u P A R 標的抗原認識受容体 (例えば、C A R) を含むための細胞の初期遺伝子改変のために、レトロウイルスベクターを形質導入のために使用することができるが、任意の他の好適なウイルスベクター又は非ウイルス送達系を使用することができる。抗原認識受容体は、単一のマルチシストロン発現カセット、単一のベクターの複数の発現カセット、又は複数のベクターにおいて構築することができる。ポリシストロン発現カセットを作成するエレメントの例としては、限定されないが、様々なウイルス及び非ウイルスの内部リボソームエンタリー部位 (I R E S、例えば、F G F - 1 I R E S、F G F - 2 I R E S、V E G F I R E S、I G F - I I I I R E S、N F - κ B I R E S、R U N X 1 I R E S、p 53 I R E S、A 型肝炎 I R E S、C 型肝炎 I R E S、ペストウイルス I R E S、アフトウイルス I R E S、ピコルナウイルス I R E S、ポリオウイルス I R E S、及び脳心筋炎ウイルス I R E S)、並びに切断可能なリンカー (例えば、2 A ペプチド、例えば、P 2 A、T 2 A、E 2 A 及び F 2 A ペプチド) が挙げられるが、これらに限定されない。レトロウイルスベクターと適切なパッケージ化ラインとの組み合わせも好適であり、カプシドタンパク質はヒト細胞に感染するために機能するであろう。P A 12 (M i l l e r e t a l., (1985) M o l C e l l B i o l (1985); 5: 431-437)、P A 317 (M i l l e r, e t a l., M o l C e l l B i o l (1986); 6: 2895-2902)、及び C R I P (D a n o s e t a l., P r o c N a t l A c a d S c i U S A (1988); 85: 6460-6464) を含むが、これらに限定されない様々な両種性ウイルス産生細胞株が知られている。非両種性粒子、例えば、V S V G、R D 114 又は G A L V エンベロープ及び当該技術分野で既知の任意の他のもので偽型化された粒子も好適であ

る。

【0223】

可能な形質導入方法としてはまた、細胞とプロドューサー細胞との直接共培養 (Bregni et al., Blood (1992); 80:1418-1422)、あるいはウイルス上清単独、又は適切な成長因子及びポリカチオンを含むか若しくは含まない濃縮ベクターストックを用いた培養 (Xu et al., Exp Hemat (1994); 22:223-230、及び Hughes et al. J Clin Invest (1992); 89:1817) が挙げられる。

【0224】

他の形質導入ウイルスベクターを使用して、細胞を修飾することができる。ある特定の  
実施形態では、選択されたベクターは、高い感染効率並びに安定した組み込み及び発現を  
示す (例えば、Cayouette et al., Human Gene Therapy 8:423-430, 1997、Kido et al., Current Eye  
Research 15:833-844, 1996、Bloomer et al., Journal of Virology 71:6641-6649, 1997、  
Naldini et al., Science 272:263-267, 1996、  
及び Miyoshi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94:10319, 1997 を参照されたい)。使用することができる他のウイルス  
ベクターとしては、例えば、アデノウイルス、レンチウイルス、及びアデナ随伴ウイルス  
ベクター、ワクシニアウイルス、ウシパピローマウイルス、又はエプスタインバーウイルス  
などのヘルペスウイルスが挙げられる (また、例えば、Miller, Human Gene Thera (1990); 15-14、Friedman, Science 244:1275-1281, 1989、Eglitis et al., BioTechniques (1988); 6:608-614、Tolstoshev et al., Cur Opin Biotechnol (1990); 1:55-61、Sharp, The Lancet (1991); 337:1277-78、Cornetta et al., Nucleic Acid Research and Molecular Biology 36:311-22, 1987、Anderson, Science (1984); 226:401-409; Moen, Blood Cells 17:407-16, 1991、Miller et al., Biotechnol (1989); 7:980-90、LeGal La Salle et al., Science (1993); 259:988-90、及び Johnson, Chest (1995) 107:77S-83S のベクターも参照されたい)。レトロウイルスベクターは、特に  
十分に開発され、臨床現場で使用されている (Rosenberg et al., N Engl J Med (1990); 323:370, 1990、Anderson et al., 米国特許第 5,399,346 号)。

【0225】

非ウイルスアプローチもまた、細胞の遺伝子改変のために使用することができる。例  
えば、核酸分子は、リポフェクションの存在下で (Feigner et al., Proc Natl Acad Sci U. S. A. (1987); 84:7413、Ono  
et al., Neurosci Lett (1990); 17:259、Brigham et al., Am J Med Sci (1989); 298:278、Staubinger et al., Methods in Enzymol (1983); 101:512、Wu et al., J Biol Chem (1988); 263:14621、Wu et al., J Biol Chem (1989); 264:16985)、又は外科的条件下での微量注射により (Wolff et al., Science (1990); 247:1465)、核酸を投与することによって細胞に導入することが  
できる。遺伝子移入のための他の非ウイルス手段としては、リン酸カルシウム、DEAE  
デキストラン、エレクトロポレーション、及びプロトプラスト融合を使用したインビ  
トロでのトランスフェクションが挙げられる。リポソームはまた、DNA の細胞への送達

10

20

30

40

50

に潜在的に有益であり得る。正常な遺伝子の、対象の罹患組織への移植は、正常な核酸をエクスピボで培養可能な細胞型（例えば、自己若しくは異種の一次細胞又はその子孫（*progeny*））に移入することによっても達成され得、その後、細胞（又はその子孫（*descendant*））を標的組織に注射するか、又は全身的に注射する。組換え受容体は、トランスポザーゼ又は標的ヌクレアーゼ（例えば、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、若しくは *T A L E* ヌクレアーゼ、*C R I S P R*）を使用して誘導又は取得することもできる。一過性発現は、*R N A* エレクトロポレーションによって得られ得る。

#### 【0226】

任意の標的ゲノム編集方法を使用して、本明細書に開示される抗原認識受容体を細胞又は対象に送達することもできる。ある特定の実施形態では、*C R I S P R* システムは、本明細書に開示される本明細書に開示される抗原認識受容体を送達するために使用される。ある特定の実施形態では、ジンクフィンガーヌクレアーゼは、抗原認識受容体を送達するために使用される。ある特定の実施形態では、*T A L E N* 系が、本明細書に開示される抗原認識受容体を送達するために使用される。

#### 【0227】

クラスター化して規則的な配置の短い回文配列（*C R I S P R*）系は、原核細胞で発見されたゲノム編集ツールである。ゲノム編集に利用される場合、*C R I S P R* 系は、*C a s 9*（*c r R N A* をガイドとして利用して *D N A* を修飾することができるタンパク質）、*C R I S P R R N A*（*c r R N A*、*C a s 9* と活性複合体を形成する *t r a c r R N A*（一般にヘアピンループ形態）に結合する領域とともに、*C a s 9* を宿主 *D N A* の正しい部分に導くために *C a s 9* によって使用される *R N A* を含む）、トランス活性化 *c r R N A*（*t r a c r R N A*、*c r R N A* に結合し、*C a s 9* と活性複合体を形成する）、及び *D N A* 修復テンプレートの任意の部分（特定の *D N A* 配列の挿入を可能にする細胞修復プロセスを導く *D N A*）を含む。*C R I S P R* / *C a s 9* は、標的細胞にトランスフェクトするためにプラスミドを用いることが多い。*c r R N A* は、*C a s 9* が細胞内の標的 *D N A* を識別し、それに直接結合するために使用する配列であるため、各用途ごとに設計される必要がある。*C A R* 発現カセットを担持する修復テンプレートは、切断の両側の配列と重複し、挿入配列をコードする必要があるため、各用途ごとに設計する必要もある。複数の *c r R N A* 及び *t r a c r R N A* を一緒にパッケージ化して、単一ガイド *R N A*（*s g R N A*）を形成することができる。この *s g R N A* は、*C a s 9* 遺伝子と一緒に接合され、細胞にトランスフェクトするためにプラスミドに作製され得る。

#### 【0228】

ジンクフィンガーヌクレアーゼ（*Z F N*）は、ジンクフィンガー *D N A* 結合ドメインを *D N A* 開裂ドメインと組み合わせることによって生成される人工制限酵素である。ジンクフィンガードメインは、ジンクフィンガードメインがゲノム内の所望の配列を標的とするのを可能にする特定の *D N A* 配列を標的とするように操作され得る。個々の *Z F N* の *D N A* 結合ドメインは、典型的には、複数の個々のジンクフィンガー反復を含有し、各々が複数の塩基対を認識することができる。新しいジンクフィンガードメインを生成する最も一般的な方法は、既知の特異性のより小さいジンクフィンガー「モジュール」を組み合わせることである。*Z F N* における最も一般的な切断ドメインは、*I I* 型制限エンドヌクレアーゼ *F o k I* からの非特異的切断ドメインである。内因性相同組換え（*H R*）機構及び *C A R* 発現カセットを担持する相同 *D N A* テンプレートを使用して、*Z F N* を使用して、*C A R* 発現カセットをゲノムに挿入することができる。標的配列が *Z F N* によって切断されるとき、*H R* 機構は、損傷した染色体と相同 *D N A* テンプレートとの間の相同性を探索し、次いで、染色体の2つの壊れた末端の間の鑄型の配列をコピーし、それによって相同 *D N A* テンプレートがゲノムに組み込まれる。

#### 【0229】

転写活性化因子様エフェクタヌクレアーゼ（*T A L E N*）は、*D N A* の特定の配列を切断するように操作することができる制限酵素である。*T A L E N* 系は、*Z F N* とほぼ同じ

10

20

30

40

50

原理で動作する。これらは、転写活性化因子様エフェクターDNA結合ドメインをDNA切断ドメインと組み合わせることによって生成される。転写活性化因子様エフェクター（T A L E）は、特定のヌクレオチドを強く認識する2つの可変位置を有する33～34個のアミノ酸反復モチーフで構成される。これらのT A L Eのアレイを組み立てることによって、T A L E DNA結合ドメインは、所望のDNA配列を結合し、それによってヌクレアーゼをゲノム内の特定の場所で切断するよう誘導するように操作され得る。ポリヌクレオチド療法方法で使用するためのcDNA発現は、任意の好適なプロモーター（例えば、ヒトサイトメガロウイルス（CMV）、シミアンウイルス40（SV40）、又はメタロチオネインプロモーター）から指示され、任意の適切な哺乳動物調節エレメント又はイントロン（例えば、伸長因子1aエンハンサー／プロモーター／イントロン構造）によって調節され得る。例えば、必要に応じて、特定の細胞型における遺伝子発現を優先的に指示することが知られているエンハンサーを使用して、核酸の発現を指示することができる。使用されるエンハンサーは、限定されないが、組織又は細胞特異的エンハンサーとして特徴付けられるものを含むことができる。代替的に、ゲノムクローンが治療用構築物として使用される場合、調節は、同族の調節配列によって、又は必要に応じて、上述のプロモーター又は調節エレメントのうちのいずれかを含む、異種源に由来する調節配列によって媒介され得る。

10

#### 【0230】

ゲノム編集剤／系を送達するための方法は、必要性に応じて変化し得る。ある特定の実施形態では、選択されたゲノム編集方法の構成成分は、1つ以上のプラスミド中のDNA構築物として送達される。ある特定の実施形態では、構成成分は、ウイルスベクターを介して送達される。一般的な送達方法には、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、遺伝子銃、インパレフェクション、静水圧、連続注入、音波処理、マグネトフェクション、アデノ随伴ウイルス、ウイルスベクターのエンベロープタンパク質偽型化、複製コンピテントベクターシス及びトランス作用エレメント、単純ヘルペスウイルス、及び化学ビヒクル（例えば、オリゴヌクレオチド、リポプレックス、ポリマーソーム、ポリプレックス、デンドリマー、無機ナノ粒子、及び細胞透過性ペプチド）が含まれるが、これらに限定されない。

20

#### 【0231】

#### 5.6. ポリペプチド

30

本明細書に開示される主題は、配列における変化を生成することによって、アミノ酸配列又は核酸配列を最適化するための方法を提供する。そのような変化は、ある特定の変異、欠失、挿入、又は翻訳後修飾を含み得る。本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される任意の天然に存在するポリペプチド（uPAR、CD8、CD28、4-1BB、及びCD3を含むが、これらに限定されない）の類似体を更に含む。類似体は、アミノ酸配列の差異、翻訳後修飾、又はその両方が、本明細書に開示される天然に存在するポリペプチドと異なり得る。類似体は、本明細書に開示される主題の天然に存在するアミノ酸配列の全部又は一部に対して、少なくとも約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、若しくはそれ以上の相同性又は同一性を示すことができる。配列長の比較は、少なくとも5アミノ酸残基、10アミノ酸残基、15アミノ酸残基、又は20アミノ酸残基、例えば、少なくとも25アミノ酸残基、50アミノ酸残基、若しくは75アミノ酸残基、又は100アミノ酸残基を超える。再び、同一性の程度を決定するための例示的なアプローチでは、BLASTプログラムが使用されてもよく、 $e^{-3} \sim e^{-100}$ の確率スコアは、密接に関連する配列を示している。修飾は、ポリペプチドのインビボ及びインビトロの化学的誘導体化、例えば、アセチル化、カルボキシル化、リン酸化、又はグリコシル化を含み、かかる修飾は、ポリペプチドの合成中、又は処理中、又は単離された修飾酵素による処理の後に生じ得る。類似体はまた、一次配列の変化によって、天然に存在するポリペプチドとは異なり得る。これらには、天然の遺伝子バリエーションと誘導された遺伝子バリエーション（例えば、Sambrook, Fritsch and Maniatis, Molecular

40

50

C l o n i n g : A L a b o r a t o r y M a n u a l ( 2 d e d . ) , C S H P r e s s , 1 9 8 9、又はA u s u b e l e t a l . ( 前 掲 ) に 記 載 さ れ る よ う に、放射線照射若しくはエタンメチルサルフェートへの曝露によるランダム変異誘発から、又は部位特異的変異誘発によって生じるもの)が含まれる。L-アミノ酸以外の残基、例えば、D-アミノ酸、又は天然に存在しない若しくは合成されたアミノ酸、例えば、 $\beta$ 若しくは $\gamma$ アミノ酸を含有する環化ペプチド、分子、及び類似体も含まれる。

【0232】

完全長ポリペプチドに加えて、本明細書に開示される主題はまた、本明細書に開示されるポリペプチドのうちのいずれかの断片を提供する。本明細書で使用される場合、「断片」という用語は、少なくとも5、10、13、又は15個のアミノ酸を意味する。ある特定の実施形態では、断片は、少なくとも20個の連続アミノ酸、少なくとも30個の連続アミノ酸、又は少なくとも50個の連続アミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、断片は、少なくとも60~80個、100個、200個、300個、又はそれ以上の連続アミノ酸を含む。断片は、当業者に既知の方法によって生成され得るか、又は通常のタンパク質処理(例えば、生物学的活性に必要とされない新生ポリペプチドからのアミノ酸の除去、又は代替のmRNAスプライシング若しくは代替のタンパク質処理イベントによるアミノ酸の除去)から生じ得る。

【0233】

5.7. 製剤及び投与

本明細書に開示される主題は、本明細書に開示される細胞を含む、組成物を提供する。ある特定の実施形態では、本組成物は、薬学的に許容される担体を更に含む薬学的組成物である。本明細書に開示される細胞を含む組成物は、滅菌液体調製物、例えば、等張水溶液、懸濁液、エマルション、分散液、又は粘性組成物として便利に提供することができ、これらは、選択されたpHに緩衝化されてもよい。液体調製物は、通常、ゲル、他の粘性組成物、及び固体組成物よりも調製が容易である。追加的に、液体組成物は、特に注射によって投与することがいくらかより便利である。一方、粘性組成物は、特定の組織とのより長い接触期間を提供するのに適切な粘度範囲内で製剤化することができる。液体又は粘性組成物は、担体を含むことができ、担体は、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)、及びそれらの好適な混合物を含有する溶媒又は分散媒であり得る。

【0234】

滅菌注射可能溶液は、必要な量の適切な溶媒に、必要に応じて様々な量の他の成分とともに遺伝子改変された細胞を組み込むことによって調製することができる。そのような組成物は、滅菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロースなどの好適な担体、希釈剤、又は賦形剤との混合物中であってもよい。組成物を凍結乾燥することもできる。組成物は、投与経路及び所望の調製物に応じて、湿潤剤、分散剤、又は乳化剤(例えば、メチルセルロース)、pH緩衝剤、ゲル化剤若しくは粘度増強添加剤、防腐剤、香料剤、色素などの補助物質を含有することができる。“REMITTINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE”, 17th edition, 1985(参照により本明細書に組み込まれる)などの標準的なテキストを、過度の実験なしに好適な調製物を調製するために参照してもよい。

【0235】

組成物の安定性及び無菌性を向上させる様々な添加剤(抗菌防腐剤、酸化防止剤、キレート剤、及び緩衝剤を含む)を添加することができる。微生物の活動の予防は、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などの種々の抗菌剤及び抗真菌剤によって確実にすることができる。注射可能医薬品の吸収の延長は、吸収を遅延させる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンの使用によってもたらされ得る。しかしながら、本明細書に開示される主題によれば、使用される任意のビヒクル、希釈剤、又は添加剤は、遺伝子改変細胞と適合性でなければならない。

【0236】

10

20

30

40

50

これらの組成物は、等張であることができ、すなわち、それらは、血液及び涙液と同じ浸透圧を有することができる。組成物の所望の等張性は、塩化ナトリウム、又はデキストロース、ホウ酸、酒石酸ナトリウム、プロピレングリコール、又は他の無機若しくは有機溶質などの他の薬学的に許容される薬剤を使用して達成され得る。塩化ナトリウムは、特に、ナトリウムイオンを含有する緩衝液用であり得る。

#### 【0237】

組成物の粘度は、必要に応じて、薬学的に許容される増粘剤を使用して、選択されたレベルで維持することができる。例えば、メチルセルロースは、容易かつ経済的に入手可能であり、取り扱いが容易である。他の好適な増粘剤として、例えば、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボマーなどが挙げられる。増粘剤の濃度は、選択された薬剤に依存する。重要な点は、選択した粘度を達成する量を使用することである。明らかに、好適な担体及び他の添加剤の選択は、正確な投与経路及び特定の剤形、例えば、液体剤形の性質（例えば、組成物が溶液、懸濁液、ゲル、又は時間放出形態若しくは液体充填形態などの別の液体形態に製剤化されるかどうか）に依存する。

#### 【0238】

本明細書に開示される細胞を含む組成物は、疾患又は障害を治療又は緩和するために、対象に全身的に又は直接的に提供することができる。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される細胞又はそれを含む組成物は、目的の臓器（例えば、新生物形成に罹患した臓器）に直接注射される。代替的に、本明細書に開示される細胞又はそれを含む組成物は、例えば、循環系（例えば、腫瘍血管系）への投与によって、目的の臓器に間接的に提供される。増殖剤及び分化剤は、インビトロ又はインビボで細胞（例えば、T細胞又はNK細胞）の産生を増加させるために、細胞又は組成物の投与前、投与中又は投与後に提供することができる。

#### 【0239】

本明細書に開示される細胞は、任意の生理学的に許容されるビヒクルにおいて、通常は血管内に投与され得るが、それらはまた、骨又は他の好都合な部位に導入され得、そこで細胞は、再生及び分化のための適切な部位（例えば、胸腺）を見出すことができる。

#### 【0240】

投与される細胞の量は、治療されている対象によって異なることができる。ある特定の実施形態では、約 $10^4$ ～約 $10^{10}$ 、約 $10^4$ ～約 $10^7$ 、約 $10^5$ ～約 $10^7$ 、約 $10^5$ ～約 $10^9$ 、又は約 $10^6$ ～約 $10^8$ の本明細書に開示される細胞が、対象に投与される。より効果的な細胞は、更に少ない数で投与されてもよい。通常、少なくとも約 $1 \times 10^5$ 個の細胞が投与され、最終的に約 $1 \times 10^{10}$ 個以上に達する。ある特定の実施形態では、少なくとも約 $1 \times 10^5$ 個、 $5 \times 10^5$ 個、 $1 \times 10^6$ 個、約 $5 \times 10^6$ 個、約 $1 \times 10^7$ 個、約 $5 \times 10^7$ 個、約 $1 \times 10^8$ 個、又は約 $5 \times 10^8$ 個の本明細書に開示される細胞が、対象に投与される。ある特定の実施形態では、約 $1 \times 10^6$ 個の本明細書に開示される細胞が、対象に投与される。有効用量とみなされるものの正確な決定は、特定の対象のサイズ、年齢、性別、体重、及び状態を含む、各対象に個々の要因に基づいてもよい。投与量は、本開示及び当業者の知識から当業者によって容易に確認され得る。

#### 【0241】

本明細書に開示される細胞は、精製された細胞集団を含むことができる。当業者は、蛍光活性化細胞選別（FACS）などの様々な周知の方法を使用して、集団における本明細書に開示される細胞のパーセンテージを容易に決定することができる。本明細書に開示される免疫応答性細胞を含む集団における純度の好適な範囲は、約50%～約55%、約5%～約60%、及び約65%～約70%である。ある特定の実施形態では、純度は、約70%～約75%、約75%～約80%、又は約80%～約85%である。ある特定の実施形態では、純度は、約85%～約90%、約90%～約95%、及び約95%～約100%である。投与量は、当業者によって容易に調整することができる（例えば、純度を低下させるには、投与量を増加させることが必要であり得る）。細胞は、注射、カテーテルな

どによって導入され得る。

【0242】

当業者は、組成物中の細胞並びに任意の添加剤、ビヒクル、及び／又は担体の量を容易に決定し、方法において投与することができる。典型的には、任意の添加剤（活性細胞（複数可）及び／又は薬剤（複数可）に加えて）は、リン酸緩衝生理食塩水溶液中に0.001～50%（重量）溶液の量で存在し、有効成分は、約0.0001～約5重量%、約0.0001～約1重量%、約0.0001～約0.05重量%、又は約0.001～約20重量%、約0.01～約10重量%、又は約0.05～約5重量%などのマイクログラム～ミリグラムのオーダーで存在する。動物又はヒトに投与される任意の組成物について、以下を決定することができる：例えば、好適な動物モデル、例えば、マウスなどのげっ歯類における致死量（LD）及びLD50を決定することによる毒性、好適な応答を誘発する組成物（複数可）の投与量、組成物における構成成分の濃度、並びに組成物（複数可）の投与時期。そのような決定は、当業者の知識、本開示、及び本明細書で引用される文献からの過度の実験を必要としない。また、連続投与の時間は、過度の実験をすることなく確認することができる。

10

【0243】

ある特定の実施形態では、組成物は、本明細書に開示される細胞と、薬学的に許容される担体と、を更に含む、薬学的組成物である。

【0244】

組成物の投与は、自己又は異種であり得る。例えば、細胞は、1対象から得て、同じ対象又は異なる適合性の対象に投与することができる。末梢血由来細胞又はそれらの子孫（例えば、インビボ、エクスビボ、又はインビトロ由来）を投与することができる。本明細書に開示される組成物（例えば、本明細書に開示される細胞を含む薬学的組成物）を投与する場合、それは、単位用量の注射可能な形態（溶液、懸濁液、エマルジョン）で製剤化され得る。

20

【0245】

本明細書に開示される細胞及び組成物は、経口投与、静脈内投与、皮下投与、結節内投与、腫瘍内投与、髄腔内投与、硝子体内投与、胸膜内投与、骨内投与、腹腔内投与、胸膜投与、及び対象への直接投与を含むが、これらに限定されない、当該技術分野で既知の任意の方法によって投与され得る。

30

【0246】

## 5.8. 治療方法

本明細書に開示される細胞及びそれを含む組成物は、対象における疾患又は障害を治療又は緩和するために使用することができる。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、uPARと関連する。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、uPARの過剰発現と関連する。ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、腫瘍、老化関連病態、及び加齢に関連する組織減退からなる群から選択される。老化関連病態の非限定的な例としては、肺線維症、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、糖尿病、変形性関節症、肝線維症、慢性腎疾患、心臓線維症、及びパーキンソン病が挙げられる。

【0247】

ある特定の実施形態では、本方法は、それを必要とする対象に、本明細書に開示される細胞又はそれを含む組成物を投与することを含む。ある特定の実施形態では、細胞は、T細胞である。T細胞は、CD4<sup>+</sup> T細胞又はCD8<sup>+</sup> T細胞であり得る。ある特定の実施形態では、T細胞は、CD4<sup>+</sup> T細胞である。

40

【0248】

治療のために、投与量は、所望の効果を生み出すのに有効な量である。有効量は1回の投与又は一連の投与で提供され得る。有効量は、ボーラスで、又は連続灌流によって提供することができる。

【0249】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、腫瘍である。ある特定の実施形態では、本

50

明細書に開示される細胞及び組成物は、対象における腫瘍負荷を低減し、腫瘍細胞の数を減少させ、腫瘍サイズを減少させ、かつ／又は腫瘍を根絶し、かつ／又は対象の生存を増加若しくは延長することができる。

【0250】

腫瘍の非限定的な例としては、乳がん（トリプルネガティブ乳がんを含む）、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん）、胃がん（stomach cancer）、前立腺がん、胃がん（gastric cancer）、腎がん、膵がん、血液がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肝がん（例えば、胆管がん、肝細胞がん、及び線維層状型肝細胞がん（fibrolamellar hepatocellular carcinoma））、尿路上皮がん、黒色腫、並びに脳がん（多形膠芽腫を含む）を含む。ある特定の実施形態では、血液がんは、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄線維症、真性多血症、骨髄異形成症候群、及び赤白血病からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、腫瘍は、がんである。ある特定の実施形態では、がんは、再発がん又は難治性がんである。ある特定の実施形態では、がんは、がん療法、例えば、化学療法に耐性である。

10

【0251】

更に、本明細書に開示される主題は、対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させる方法を提供する。ある特定の実施形態では、本方法は、本明細書に開示される細胞及び組成物を対象に投与することを含む。免疫活性化サイトカインの非限定的な例としては、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-21、インターフェロン制御因子7（IRF7）、CCL1、CCL2、CCL3、CCL5、CCL7、CCL8、CCL13、CCL16、CXCL1、CXCL3、CXCL5、CXCL9、CXCL10、及びこれらの組み合わせを含む。

20

【0252】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、老化関連病態である。ある特定の実施形態では、対象は、健常な対照対象において観察される細胞と比較して、老化細胞の蓄積の増加を示す。ある特定の実施形態では、老化関連病態は、肺線維症、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、糖尿病、肝線維症、慢性腎疾患、変形性関節症、心臓線維症、及びパーキンソン病からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、老化細胞は、細胞老化関連分泌現象（SASP）を示す。細胞老化関連分泌現象は、複製、がん遺伝子（例えば、HRASG12D、NRASG12D、NRASG12Dなど）、放射線、化学療法、又は薬物（例えば、CDK4／6阻害剤、MEK阻害剤、化学療法薬など）によって誘導されてもよい。MEK阻害剤の非限定的な例としては、トラメチニブ、コビメチニブ、ピニメチニブ、セルメチニブ、PD-325901、TAK-733、CI-1040（PD184352）、PD0325901、MEK162、AZD8330、GDC-0623、リファメチニブ、ピマセルチビ、R04987655、R05126766、WX-554、HL-085、CINQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、R05068760、U0126、及びSL327が挙げられる。CDK4／6阻害剤の非限定的な例としては、パルボシクリブ、リボシクリブ、及びアベマシクリブが挙げられる。化学療法薬の非限定的な例としては、シスプラチン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、及びエトポシドが挙げられる。

30

40

【0253】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害を治療又は緩和するための本明細書に開示される方法は、腫瘍特異的モノクローナル抗体を対象に投与することを更に含み、対象は、老化誘導療法（例えば、化学療法）を受けている／受けた。ある特定の実施形態では、腫瘍特異的モノクローナル抗体は、細胞又はそれを含む組成物の投与後に投与される。特定の老化誘導療法の非限定的な例としては、ドキソルビシン、電離放射線療法、MEK阻害剤

50

及びCDK4／6阻害剤との併用療法、CDC7阻害剤及びmTOR阻害剤との併用療法などが挙げられる。CDK4／6阻害剤の例としては、パルボシクリブ、リボシクリブ、及びアベマシクリブが挙げられる。MEK阻害剤の非限定的な例としては、トラメチニブ、コビメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、PD-325901、TAK-733、CI-1040（PD184352）、PD0325901、MEK162、AZD8330、GDC-0623、リファメチニブ、ピマセルチビ、R04987655、R05126766、WX-554、HL-085、CINQ-03、G-573、PD184161、PD318088、PD98059、R05068760、U0126、及びSL327が挙げられる。mTOR阻害剤の非限定的な例としては、ラパマイシン、セルトラリン、シロリムス、エベロリムス、テムシロリムス、リダフォロリムス、及びデフォロリムスが挙げられる。CDC7阻害剤の例としては、TAK-931、PHA-767491、XL413、1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン、2,3-ジヒドロチエノ[3,2-d]ピリミジン-4(1H)-オン、フラノン誘導体、トリ置換チアゾール、ピロロピリジノンなどが挙げられる。

10

【0254】

ある特定の実施形態では、腫瘍特異的モノクローナル抗体は、細胞又はそれを含む組成物の投与後に投与される。

【0255】

ある特定の実施形態では、対象はヒトである。

20

【0256】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害を治療又は緩和するための本明細書に開示される方法は、がん療法を対象に投与することを更に含む。ある特定の実施形態では、がん療法は、化学療法、放射線療法、免疫療法、モノクローナル抗体、抗がん核酸又はタンパク質、抗がんウイルス又は微生物、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【0257】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害を治療又は緩和するための本明細書に開示される方法は、対象にサイトカインを投与することを更に含む。ある特定の実施形態では、サイトカインは、細胞又はそれを含む組成物の投与前、投与中、又は投与後に投与される。ある特定の実施形態では、サイトカインは、インターフェロン $\alpha$ 、インターフェロン(3、インターフェロン $\gamma$ 、補体C5 $\alpha$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、CD4OL、IL12、IL-23、IL15、IL17、CCL1、CCL11、CCL12、CCL13、CCL14-1、CCL14-2、CCL14-3、CCL15-1、CCL15-2、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL19、CCL2、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23-1、CCL23-2、CCL24、CCL25-1、CCL25-2、CCL26、CCL27、CCL28、CCL3、CCL3L1、CCL4、CCL4L1、CCL5、CCL6、CCL7、CCL8、CCL9、CCR10、CCR2、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR11、CCR12、CX3CL1、CX3CR、CXCL1、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL9、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CXCR5、CXCR6、CXCR7、及びXCL2からなる群から選択される。

30

40

【0258】

ある特定の実施形態では、化学療法は、化学療法剤を対象に投与することを含む。化学療法剤の非限定的な例としては、窒素マスタード、エチレンイミン誘導体、アルキルスルホネート、ニトロソウレア、ゲムシタビン、トリアゼン、葉酸類似体、アントラサイクリン、タキサン、COX-2阻害剤、ピリミジン類似体、プリン類似体、抗生物質、酵素阻害剤、エピボドフィロトキシン、白金配位錯体、ピンカアルカロイド、置換尿素、メチルヒドラジン誘導体、副腎皮質抑制剤、ホルモン拮抗薬、エンドスタチン、タキソール、カ

50

ンプトテシン、S N - 3 8、ドキシソルピシン、ドキシソルピシン類似体、代謝拮抗物質、アルキル化剤、抗分裂剤、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤、m T O R 阻害剤、熱ショックタンパク質 (H S P 9 0) 阻害剤、プロテオソーム阻害剤、H D A C 阻害剤、アポトーシス促進剤 (p r o - a p o p t o t i c a g e n t)、メトトレキサート、及び C P T - 1 1 が挙げられる。

【0259】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、肺線維症であり、本方法は、対象に、ピルフェニドン、ニンテダニブ、酸素療法、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾン）、ミコフェノール酸モフェチル／ミコフェノール酸、及びアザチオプリンからなる群から選択される少なくとも1つの療法を、順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

10

【0260】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、アテローム性動脈硬化症であり、本方法は、対象に、スタチン（例えば、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチンカルシウム、シンバスタチン）、フィブラート（例えば、ゲムフィブロジル、フェノフィブラート）、ナイアシン、エゼチミブ、胆汁酸隔離剤 (b i l e a c i d s e q u e s t r a n t s)（例えば、コレステラミン、コレステポール、コレセベラム）、プロタンパク質変換酵素サブチリシンケキシン9型 (P C S K 9) 阻害剤、抗血小板薬（例えば、アスピリン、クロピドグレル、タカグレロール、ワルファリン、プラスグレル）、ベータ遮断薬、アンジオテンシン転換酵素 (A C E) 阻害剤、カルシウムチャネル遮断薬、及び利尿薬からなる群から選択される少なくとも1つの療法を順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

20

【0261】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、アルツハイマー病であり、本方法は、対象に、ドネペジル、ガランタミン、メマンチン、リバステグミン、メマンチン持続放出及びドネペジル (N a m z a r i c)、アドカヌマブ、ソラネズマブ、インスリン、ベルベセスタット、A A D v a c 1、C S P - 1 1 0 3、及びインテピルジンからなる群から選択される少なくとも1つの療法を、順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

【0262】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、糖尿病であり、本方法は、対象に、インスリン、メトホルミン、アミリン類似体、グルカゴン、スルホニル尿素（例えば、グリメピリド、グリピジド、グリブリド、クロルプロパミド、トラザミド、トルブタミド）、メグリチニド（例えば、ナテグリニド、レパグリニド）、チアゾリジンジオン（例えば、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン）、アルファグルコシダーゼ阻害剤（例えば、アカルボース、ミグリトール）、ジペプチジルペプチダーゼ (D P P - 4) 阻害剤（例えば、アログリプチン、リナグリプチン、シタグリプチン、サキサグリプチン）、ナトリウム-グルコース共輸送体 2 (S G L T 2) 阻害剤（例えば、カナグリフロジン、ダパグリフロジン、エンパグリフロジン、エルツグリフロジン (e r t u g l i f l o z i n)）、及びインクレチン模倣薬（例えば、エキセナチド、リラグルチド、デュラグルチド、リキシセナチド、セマグルチド）からなる群から選択される少なくとも1つの療法を順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

30

40

【0263】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、変形性関節症であり、本方法は、対象に、鎮痛剤（例えば、アセトアミノフェン、トラマドール、オキシコドン、ヒドロコドン）、非ステロイド性抗炎症薬（例えば、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ）、シクロオキシゲナーゼ-2 阻害剤、コルチコステロイド、及びヒアルロン酸からなる群から選択される少なくとも1つの療法を順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

【0264】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、肝線維症であり、本方法は、対象に、A C E 阻害剤（例えば、ベナゼプリル、リシノプリル、ラミプリル）、a - トコフェロール、

50

インターフェロナーα、PPAR拮抗薬、コルヒチン、コルチコステロイド、エンドセリン阻害剤、インターロイキン-10、ペントキシフィリン、ホスファチジルコリン、S-アデノシル-メチオニン、及びTGF-β1阻害剤からなる群から選択される少なくとも1つの療法を、順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

#### 【0265】

ある特定の実施形態では、疾患又は障害は、慢性腎臓病であり、本方法は、対象に、ACE阻害剤（例えば、ベナゼプリル、リシノプリル、ラミプリル）、スタチン（例えば、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチンカルシウム、シンバスタチン）、フロセミド、エリスロポエチン、リン酸結合剤（例えば、酢酸カルシウム、炭酸カルシウム）、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、及びシクロホスファミドからなる群から選択される少なくとも1つの療法を、順次、別個に、又は同時に投与することを更に含む。

10

#### 【0266】

更なる修飾を、uPAR特異的CARを発現する操作された免疫細胞（例えば、T細胞）に導入して、免疫学的合併症（「悪性T細胞形質転換」として知られる）、例えば、移植片対宿主病（GVHD）のリスクを回避又は最小化することができる。操作された免疫細胞の修飾は、自殺遺伝子をuPAR特異的CAR発現T細胞内に操作することを含み得る。好適な自殺遺伝子としては、単純ヘルペスウイルススチミジンキナーゼ（HSV-tk）、誘導性カスパーゼ9自殺遺伝子（iCasp-9）、及び切断型ヒト上皮成長因子受容体（EGFRt）ポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、自殺遺伝子は、EGFRtポリペプチドである。EGFRtポリペプチドは、抗EGFRモノクローナル抗体（例えば、セツキシマブ）を投与することによって、T細胞排除を可能にすることができる。EGFRtは、uPAR特異的CARの細胞内ドメインのC末端に共有結合することができる。自殺遺伝子は、本明細書に開示されるuPAR特異的CARをコードする核酸を含むベクター内に含むことができる。本明細書に開示されるuPAR特異的CARに自殺遺伝子を組み込むことにより、非常に短い期間内に大部分のCAR T細胞を排除する能力を伴う更なる安全性レベルが得られる。自殺遺伝子を組み込まれた本明細書に開示される操作された免疫細胞（例えば、T細胞）は、CAR T細胞注入後の所与の時点で先制的に排除されるか、又は最も初期の毒性徴候で根絶され得る。

20

30

#### 【0267】

##### 5.9. キット

本明細書に開示される主題は、対象における疾患又は障害を又は緩和するためのキットを提供する。ある特定の実施形態では、本キットは、本明細書に開示される細胞又はそれを含む組成物を含む。ある特定の実施形態では、キットは、滅菌容器を含み、そのような容器は、箱、アンプル、ボトル、バイアル、チューブ、バッグ、パウチ、プリスターパック、又は当該技術分野で既知の他の好適な容器形態であり得る。そのような容器は、プラスチック、ガラス、積層紙、金属ホイル、又は医薬品を保持するのに適した他の材料で作製することができる。ある特定の非限定的な実施形態では、本キットは、本明細書に開示されるuPAR標的抗原認識受容体（例えば、CAR）をコードする核酸分子を含む。

40

#### 【0268】

必要に応じて、細胞及び／又は核酸分子は、疾患又は障害を有するか、又はそれを発症するリスクがある対象に細胞又は核酸分子を投与するための説明書とともに提供される。説明書は、一般に、腫瘍又は新生物を治療及び／又は予防するための組成物の使用に関する情報を含む。ある特定の実施形態では、説明書は、治療剤の説明、腫瘍若しくは新生物の治療若しくは予防のための投薬スケジュール及び投与、予防措置、警告、適応症、対抗適応症、過剰投与情報、有害反応、動物薬理学、臨床研究、並びに／又は参考事項のうちの少なくとも1つを含む。説明書は、容器に直接（存在する場合）、又は容器に適用されるラベルとして、又は容器内若しくは容器とともに供給される別個のシート、パンフレット、カード、若しくはフォルダとして印刷され得る。

50

## 【0269】

## 5.10. 例示的な実施形態

A1. ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む抗原認識受容体であって、細胞外抗原結合ドメインが、uPARに特異的に結合する、抗原認識受容体を提供する。

## 【0270】

A2. 細胞外抗原結合ドメインが、単鎖可変断片 (scFv) である、前述のA1の抗原認識受容体。

## 【0271】

A3. 細胞外抗原結合ドメインが、ヒトscFvである、前述のA2の抗原認識受容体。

## 【0272】

A4. 細胞外抗原結合ドメインが、任意選択で架橋されるFabである、前述のA1の抗原認識受容体。

## 【0273】

A5. 細胞外抗原結合ドメインが、F(ab)<sub>2</sub>である、前述のA1の抗原認識受容体。

## 【0274】

A6. ScFv、Fab、及びF(ab)<sub>2</sub>のうちの1つ以上が、異種配列を有する融合タンパク質に含まれて、細胞外抗原結合ドメインを形成する、前述のA2～A5のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0275】

A7. 細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号3に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(b) 配列番号7に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号8に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号9に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(c) 配列番号13に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号14に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号15に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(d) 配列番号19に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号20に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号21に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(e) 配列番号41に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号43に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、又は(f) 配列番号49に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号50に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号51に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3を含む重鎖可変領域を含む、前述のA1～A6のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0276】

A8. 細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号4に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(b) 配列番号10に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号11に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号12若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(c) 配列番号16に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号17に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列若しくはそ

10

20

30

40

50

の保存的修飾を含むCDR3、(d)配列番号22に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号23若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号24に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、(e)配列番号44に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3、又は(f)配列番号52に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR1、配列番号53に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR2、及び配列番号54に記載のアミノ酸配列若しくはその保存的修飾を含むCDR3を含む軽鎖可変領域を含む、前述のA1～A7のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

10

【0277】

A9．細胞外抗原結合ドメインが、(a)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、(b)配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号10に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号12に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、(c)配列番号13に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号14に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号16に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、(d)配列番号19に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号20に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号21に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号22に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号23に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号24に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、(e)配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域、又は(f)配列番号49に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号50に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号51に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号52に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号53に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号54に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、軽鎖可変領域を含む、前述のA1～A8のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

20

30

【0278】

A10．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、重鎖可変領域、及び配列番号10に記載のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号12に記載のアミノ酸配列を含むCDR3と、を含む、前述のA9の抗原認識受容体。

40

【0279】

A11．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号47、又は配列番号55に記載のアミノ酸配列と少なくとも約80%、約81%、約82%、約83%、約84%、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96

50

%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、前述の A1～A10 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

【0280】

A12．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、前述の A1～A11 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

【0281】

A13．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前述の A1～A12 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

10

【0282】

A14．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前述の A1～A13 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

【0283】

A15．細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載の選択されたアミノ酸配列と少なくとも約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、若しくは約 99% 相同又は同一であるアミノ酸配列を含む、軽鎖可変領域を含む、前述の A1～A14 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

20

【0284】

A16．細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号 25、配列番号 27、配列番号 29、配列番号 31、配列番号 47、又は配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び (b) 配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 48、又は配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、A1～A15 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体。

30

【0285】

A17．細胞外抗原結合ドメインが、(a) 配列番号 25 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、(b) 配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、(c) 配列番号 29 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 30 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、(d) 配列番号 31 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 32 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、(e) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、又は (f) 配列番号 55 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 56 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前述の A16 の抗原認識受容体。

40

【0286】

A18．細胞外抗原結合ドメインが、配列番号 27 に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、及び配列番号 28 に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、前述の A17 の抗原認識受容体。

50

## 【0287】

A19. 細胞外抗原結合ドメインが、細胞外抗原結合ドメインの重鎖可変領域と軽鎖可変領域との間にリンカーを含む、前述のA1～A18のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0288】

A20. リンカーが、配列番号62、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、又は配列番号67に記載のアミノ酸配列からなる、前述のA19の抗原認識受容体。

## 【0289】

A21. 細胞外抗原結合ドメインが、細胞外抗原結合ドメインの5'末端に共有結合されたシグナルペプチドを含む、前述のA1～A20のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

10

## 【0290】

A22. 膜貫通ドメインが、CD8ポリペプチド、CD28ポリペプチド、CD3ζポリペプチド、CD4ポリペプチド、4-1BBポリペプチド、OX40ポリペプチド、ICOSポリペプチド、CTLA-4ポリペプチド、PD-1ポリペプチド、LAG-3ポリペプチド、2B4ポリペプチド、BTLAポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む、前述のA1～A21のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0291】

A23. 細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3ζポリペプチドを含む、前述のA1～A22のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

20

## 【0292】

A24. 細胞内シグナル伝達ドメインが、少なくとも1つの共刺激シグナル伝達領域を更に含む、前述のA1～A23のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0293】

A25. 少なくとも1つの共刺激シグナル伝達領域が、CD28ポリペプチド、4-1BBポリペプチド、OX40ポリペプチド、ICOSポリペプチド、DAP-10ポリペプチド、又はこれらの組み合わせを含む、前述のA24の抗原認識受容体。

## 【0294】

A26. 抗原認識受容体が、キメラ抗原受容体(CAR)、T細胞受容体(TCR)、又はT細胞様融合タンパク質である、前述のA1～A25のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

30

## 【0295】

A27. 抗原認識受容体が、CARである、前述のA1～A26のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0296】

A28. 抗原認識受容体が、組換え的に発現される、前述のA1～A27のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

## 【0297】

A29. 抗原認識受容体が、ベクターから発現される、前述のA1～A28のうちのいずれか1つの抗原認識受容体。

40

## 【0298】

A30. ベクターが、γレトロウイルスベクターである、前述のA29の抗原認識受容体。

## 【0299】

B1. ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、A1～A30のうちのいずれか1つの抗原認識受容体を含む、細胞を提供する。

## 【0300】

B2. 細胞に、抗原認識受容体が形質導入される、前述のB1の細胞。

## 【0301】

50

B 3 . 抗原認識受容体が、細胞の表面上に構成的に発現される、前述の B 1 又は B 2 の細胞。

【 0 3 0 2 】

B 4 . 細胞が、免疫応答性細胞である、前述の B 1 ～ B 3 のうちのいずれか 1 つの細胞。

【 0 3 0 3 】

B 5 . 細胞が、リンパ系統の細胞又は骨髄系統の細胞である、前述の B 1 ～ B 4 のうちのいずれか 1 つの細胞。

【 0 3 0 4 】

B 6 . 細胞が、T 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、及びリンパ系細胞が分化され得る幹細胞からなる群から選択される、前述の B 1 ～ B 5 のうちのいずれか 1 つの細胞。

【 0 3 0 5 】

B 7 . 細胞が、T 細胞である、前述の B 1 ～ B 6 のうちのいずれか 1 つの細胞。

【 0 3 0 6 】

B 8 . T 細胞が、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 又は制御性 T 細胞である、前述の B 6 又は B 7 の細胞。

【 0 3 0 7 】

B 9 . 幹細胞が、多能性幹細胞である、前述の B 6 の細胞。

【 0 3 0 8 】

B 1 0 . 多能性幹細胞が、胚様幹細胞又は人工多能性幹細胞である、前述の B 9 の細胞。

【 0 3 0 9 】

C 1 . ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、A 1 ～ A 3 0 のうちのいずれか 1 つの抗原認識受容体をコードする、核酸を提供する。

【 0 3 1 0 】

D 1 . ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、C 1 の核酸分子を含む、ベクターを提供する。

【 0 3 1 1 】

D 2 . ベクターが、γ レトロウイルスベクターである、前述の D 1 のベクター。

【 0 3 1 2 】

E 1 . ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、C 1 の核酸又は D 1 若しくは D 2 のベクターを発現する、宿主細胞を提供する。

【 0 3 1 3 】

E 2 . 宿主細胞が、T 細胞である、前述の E 1 の宿主細胞。

【 0 3 1 4 】

F 1 . ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、B 1 ～ B 1 0 のうちのいずれか 1 つの細胞を含む、組成物を提供する。

【 0 3 1 5 】

F 2 . 薬学的に許容される担体を更に含む薬学的組成物である、前述の F 1 の組成物。

【 0 3 1 6 】

G 1 . ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、対象における疾患又は障害を治療又は緩和する方法であって、対象に、B 1 ～ B 1 0 のうちのいずれか 1 つの本明細書に開示される細胞、又は請求項 F 1 若しくは F 2 の組成物を投与することを含む、方法を提供する。

【 0 3 1 7 】

G 2 . 疾患又は障害が、腫瘍、老化関連病態、及び加齢に関連する組織減退からなる群から選択される、前述の G 1 の方法。

【 0 3 1 8 】

G 3 . 疾患又は障害が、老化関連病態である、前述の G 2 の方法。

【 0 3 1 9 】

10

20

30

40

50

G 4. 老化関連病態が、肺線維症、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、糖尿病、変形性関節症、肝線維症、慢性腎疾患、心臓線維症、及びパーキンソン病からなる群から選択される、前述の G 3 の方法。

【0320】

G 5. 疾患又は障害が、腫瘍である、前述の G 1 の方法。

【0321】

G 6. 腫瘍が、乳がん、子宮内膜がん、卵巣がん、結腸がん、直腸がん、肺がん、胃がん (stomach cancer)、前立腺がん、胃がん (gastric cancer)、腎がん、膵がん、血液がん、子宮頸がん、頭頸部がん、肝がん、尿路上皮がん、黒色腫、及び脳がんからなる群から選択される、前述の G 5 の方法。

10

【0322】

G 7. 血液がんが、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髄性白血病 (AML)、骨髄線維症、真性多血症、骨髄異形成症候群、及び赤白血病からなる群から選択される、前述の G 6 の方法。

【0323】

G 8. 腫瘍が、がんである、前述の G 5 ~ G 7 のうちのいずれか 1 つの方法。

【0324】

H 1. ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させる方法であって、B 1 ~ B 10 のうちのいずれか 1 つの細胞、又は F 1 若しくは F 2 の組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

20

【0325】

H 2. 免疫活性化サイトカインが、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-21、インターフェロン制御因子 7 (IRF7)、CCL1、CCL2、CCL3、CCL5、CCL7、CCL8、CCL13、CCL16、CXCL1、CXCL3、CXCL5、CXCL9、CXCL10、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、前述の H 1 の方法。

【0326】

30

H 3. 対象が、ヒトである、前述の G 1 ~ H 2 のうちのいずれか 1 つの方法。

【0327】

I 1. ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるためのキットであって、B 1 ~ B 10 のうちのいずれか 1 つの細胞、請求項 C 1 の核酸、又は請求項 F 1 若しくは F 2 の組成物を含む、キットを提供する。

【0328】

I 2. キットが、対象における疾患若しくは障害を治療若しくは緩和するため、及び／又は対象における腫瘍細胞に応答して免疫活性化サイトカインの産生を増加させるために細胞又は組成物を使用するための書面による説明書を更に含む、前述の I 1 のキット。

40

【0329】

J 1. ある特定の非限定的な実施形態では、本明細書に開示される主題は、A 1 ~ A 30 のうちのいずれか 1 つの uPAR 標的抗原認識受容体を産生するための方法であって、抗原認識受容体をコードする核酸を細胞に導入することを含む、方法を提供する。

【実施例】

【0330】

6. 実施例

以下の実施例は、当業者に、本明細書に開示される主題の細胞及びそれを含む組成物、並びに方法をどのように作製及び使用するかに関する完全な開示及び説明を提供するため

50

に提示されており、発明者らが本明細書に開示される主題とみなすことの範囲を限定することを意図するものではない。上記に提供される一般的な説明を考慮すると、様々な他の実施形態が実施され得ることが理解される。

#### 【0331】

##### 実施例1－抗uPAR scFvの生成

R & Dからの組換えuPAR ([https://www.rndsystems.com/products/recombinant-human-upar-protein\\_807-uk](https://www.rndsystems.com/products/recombinant-human-upar-protein_807-uk))を使用して、本明細書に開示されるscFvを生成した。この組換えuPARは、C末端6-hisタグを有するヒトuPARタンパク質 (Leu23-Arg303) である。6つのクローン8B1、11E10、17C9、19D7、6C8、及び14C5を産生した。

10

#### 【0332】

##### 実施例2－CAR T細胞のインビトロ研究

H. 19-H. 28zを発現するヒトRD114細胞におけるLNGFR及び4つの本明細書に開示されるuPARを標的とするCAR、並びに4つのCARの発現レベルを測定した。4つのCARは、11E10 scFvを含むCAR、CD28ポリペプチドを含む膜貫通ドメイン、CD3ζポリペプチドを含む細胞内ドメイン、及びCD28ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域 (「11E10 CAR」と称される)、17C9 scFvを含むCAR、CD28ポリペプチドを含む膜貫通ドメイン、CD3ζポリペプチド、及びCD28ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域 (「17C9 CAR」と称される)、8B1 scFvを含むCAR、CD28ポリペプチドを含む膜貫通ドメイン、CD3ζポリペプチドを含む細胞内ドメイン、及びCD28ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域 (「8B1 CAR」と称される)、又は19D7 scFvを含むCAR、CD28ポリペプチドを含む膜貫通ドメイン、CD3ζポリペプチドを含む細胞内ドメイン、及びCD28ポリペプチドを含む共刺激シグナル伝達領域 (「19D7 CAR」と称される) であった。発現レベルを非形質導入RD114細胞と比較した。H. 19-H. 28zを陽性対照として使用した。フローサイトメトリーを用いて発現レベルを測定した。2つの独立した実験を実施した。結果を図1に示す。図1に示されるように、4つ全ての試験されたuPARを標的とするCARをヒトRD114細胞上で発現させた。

20

30

#### 【0333】

更に、H. 19-H. 28z、11E10 CAR、17C9 CAR、8B1 CAR、又は19D7 CARを発現するヒトT細胞におけるLNGFRの発現レベルを測定し、非形質導入ヒトT細胞と比較した。2つの独立した実験を実施した。結果を図2に示す。図2に示されるように、4つ全ての試験されたuPARを標的とするCARをヒトT細胞上で発現させた。

#### 【0334】

次に、11E10 CAR、17C9 CAR、8B1 CAR、及び19D7 CARの細胞傷害性活性を測定した。NALM6-ヒトuPAR及びNALM6野生型細胞に、H. 19-H. 28z、11E10 CAR、17C9 CAR、8B1 CAR、又は19D7 CARを形質導入した。18時間の生体発光アッセイを用いて、ヒトuPARを標的細胞として過剰発現したFFL発現NALM6野生型又はNALM6細胞におけるホタルルシフェラーゼ (FFL) シグナルを検出及び測定した。2つの独立した実験を、技術的に3重に実行した。結果を図3A (NALM6-ヒトuPAR細胞について) 及び図3B (NALM6野生型細胞について) に示す。図3A及び3Bに示すように、11E10 CAR、17C9 CAR、及び19D7 CARは、NALM6野生型と比較して、ヒトuPARを過剰発現するNALM6において細胞傷害性の増加を示した。

40

#### 【0335】

##### 本明細書に開示される主題の実施形態

上記の説明から、様々な用途及び条件にそれを採用するために、本明細書に開示される

50

主題に対して変形及び修正が行われ得ることが明らかになるであろう。このような実施形態もまた、以下の特許請求の範囲の範囲内である。

【0336】

本明細書における変数の任意の定義における要素のリストの記載は、列挙された要素の任意の単一の要素若しくは組み合わせ（又はサブコンビネーション）としてのその変数の定義を含む。本明細書における実施形態の記載は、任意の単一の実施形態として、又は任意の他の実施形態若しくはその一部分と組み合わせで、その実施形態を含む。

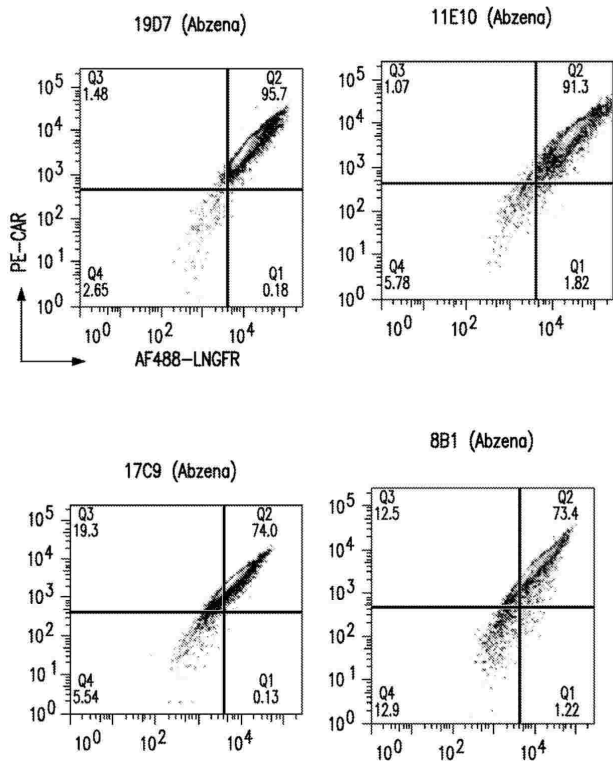
【0337】

本明細書に記載されている全ての特許及び刊行物は、それぞれの独立した特許及び刊行物が参照により組み込まれることが具体的及び個別に示された場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【図面】

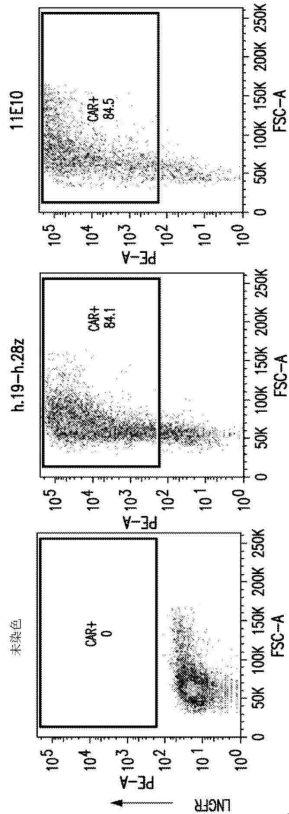
【図1】

【図1】



【図2-1】

【図2】



10

20

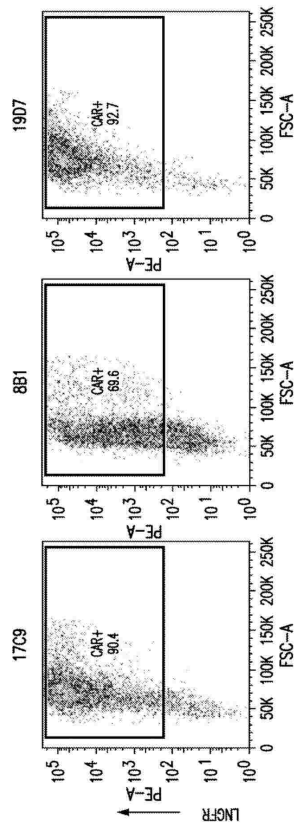
30

40

50

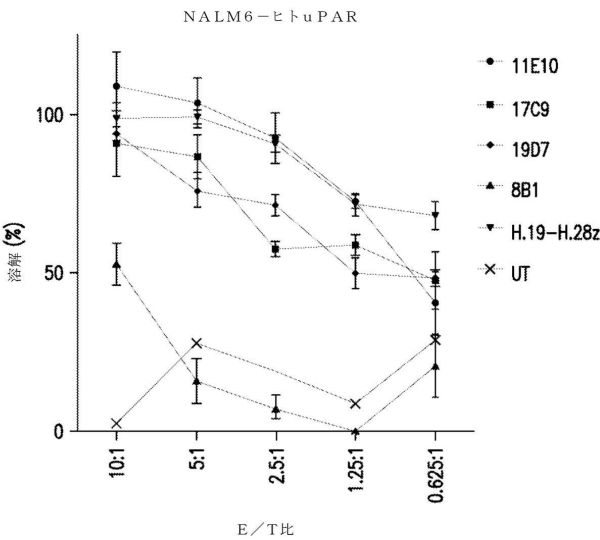
【図 2 - 2】

【図 2】 (続き)



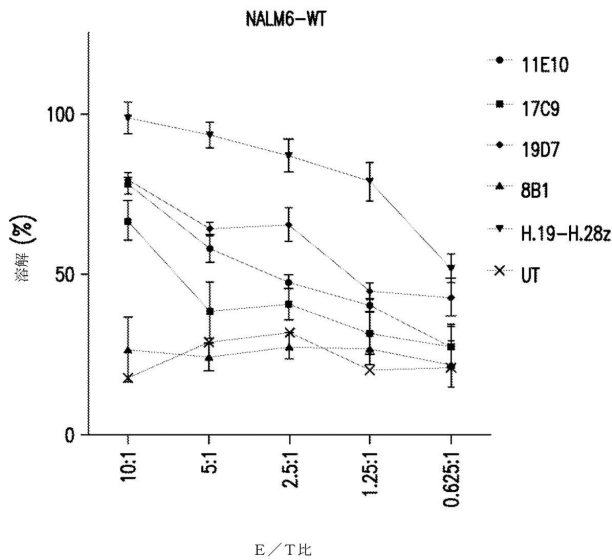
【図 3 A】

【図 3 A】



【図 3 B】

【図 3 B】



【配列表】

2024520803000001.app

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/032954

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - A61K 35/17 (2022.01)

ADD. - A61K 39/395; C07K 14/705; C07K 16/28; C07K 19/00; C12N 5/0783 (2022.01)

CPC - INV. - A61K 35/17; C07K 14/705 (2022.08)

ADD. - C07K 2319/03 (2022.08)

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         | WO 2020/160518 A1 (MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER) 06 August 2020 (06.08.2020) entire document | 1-6                   |
| A         | US 2013/0052128 A1 (CRAIK et al) 28 February 2013 (28.02.2013) entire document                         | 1-6                   |
| A         | US 2014/0161803 A1 (SIDENIUS et al) 12 June 2014 (12.06.2014) entire document                          | 1-6                   |
| A         | US 2018/0031566 A1 (SPRING BIOSCIENCE CORPORATION) 01 February 2018 (01.02.2018) entire document       | 1-6                   |

☐ 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 August 2022

Date of mailing of the international search report

SEP 14 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Taina Matos

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2022/032954

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Box No. I                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet) |
| <p>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:</p> <p>a. <input type="checkbox"/> forming part of the international application as filed:</p> <p style="margin-left: 40px;"><input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file.</p> <p style="margin-left: 40px;"><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.</p> <p>c. <input checked="" type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:</p> <p style="margin-left: 40px;"><input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).</p> <p style="margin-left: 40px;"><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).</p> <p>2. <input checked="" type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.</p> <p>3. Additional comments:</p> |                                                                                        |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/032954

**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.: 7-81  
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:

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.:

**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.

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

## テーマコード (参考)

|         |                  |         |        |       |
|---------|------------------|---------|--------|-------|
| C 1 2 N | 1/21 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/21   |       |
| C 1 2 N | 1/19 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/19   |       |
| C 1 2 N | 1/15 (2006.01)   | C 1 2 N | 1/15   |       |
| C 1 2 N | 5/0783(2010.01)  | C 1 2 N | 5/0783 |       |
| C 1 2 N | 15/62 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/62  | Z     |
| C 1 2 P | 21/00 (2006.01)  | C 1 2 P | 21/00  | C     |
| A 6 1 P | 3/10 (2006.01)   | A 6 1 P | 3/10   |       |
| A 6 1 P | 1/16 (2006.01)   | A 6 1 P | 1/16   |       |
| A 6 1 P | 11/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 11/00  |       |
| A 6 1 P | 9/10 (2006.01)   | A 6 1 P | 9/10   | 1 0 1 |
| A 6 1 P | 13/12 (2006.01)  | A 6 1 P | 13/12  |       |
| A 6 1 P | 19/02 (2006.01)  | A 6 1 P | 19/02  |       |
| A 6 1 P | 25/16 (2006.01)  | A 6 1 P | 25/16  |       |
| A 6 1 P | 25/28 (2006.01)  | A 6 1 P | 25/28  |       |
| A 6 1 P | 35/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 35/00  |       |
| A 6 1 P | 35/02 (2006.01)  | A 6 1 P | 35/02  |       |
| A 6 1 P | 9/00 (2006.01)   | A 6 1 P | 9/00   |       |
| A 6 1 K | 35/17 (2015.01)  | A 6 1 K | 35/17  |       |
| A 6 1 K | 35/545 (2015.01) | A 6 1 K | 35/545 |       |

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,N  
E,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,  
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,J  
O,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,M  
Z,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

サー アンド アライド ディジージェズ

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 6 5 , ニューヨーク, ヨーク アベニュー 1 2 7 5

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ロウ, スコット ダブリュー.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 6 5 , ニューヨーク, イースト 6 8 ティーエイチ スト  
リート 4 1 7 , ゼットアールシー 1 1 0 4

(72)発明者 サデライン, ミチエル

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 2 4 , ニューヨーク, ウェスト 8 4 ティーエイチ スト  
リート 1 5 , アpartment 2 シー

(72)発明者 アモル ベガス, コリーナ

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 1 7 2 4 , コールド スプリング ハーバー, バングタウン ロ  
ード 1

(72)発明者 ジャン, ゼダ

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 2 5 , ニューヨーク, セントラル パーク ウェスト 3 9  
2 , アpartment 6 エイチ

F ターム (参考) 4B064 AG01 AG20 AG27 CA19 CC24 DA01  
4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA44

---

|            |       |                                                   |
|------------|-------|---------------------------------------------------|
| F ターム (参考) | 4C087 | AA01 AA02 BB43 BB65 CA04 MA52 MA55 MA66 NA14 ZA02 |
|            |       | ZA16 ZA36 ZA45 ZA59 ZA75 ZA81 ZA96 ZB26 ZB27 ZC35 |
|            | 4H045 | AA10 AA30 BA09 BA41 DA50 DA75 EA20 FA74           |