

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2025-511409  
(P2025-511409A)

(43)公表日 令和7年4月15日(2025.4.15)

| (51)国際特許分類        |                               | F I     |        | テーマコード (参考) |                      |
|-------------------|-------------------------------|---------|--------|-------------|----------------------|
| C 1 2 N           | 5/10 (2006.01)                | C 1 2 N | 5/10   |             | 4 B 0 6 5            |
| C 1 2 N           | 5/0783(2010.01)               | C 1 2 N | 5/0783 | Z N A       | 4 C 0 8 4            |
| C 1 2 N           | 15/62 (2006.01)               | C 1 2 N | 15/62  | Z           | 4 C 0 8 5            |
| C 1 2 N           | 15/13 (2006.01)               | C 1 2 N | 15/13  |             | 4 C 0 8 7            |
| C 1 2 N           | 15/12 (2006.01)               | C 1 2 N | 15/12  |             |                      |
|                   |                               | 審査請求    | 未請求    | 予備審査請求      | 未請求 (全101頁) 最終頁に続く   |
|                   |                               |         |        |             |                      |
| (21)出願番号          | 特願2024-559046(P2024-559046)   |         |        | (71)出願人     | 519391608            |
| (86)(22)出願日       | 令和5年4月4日(2023.4.4)            |         |        |             | ガンマデルタ セラピューティクス リミ  |
| (85)翻訳文提出日        | 令和6年10月3日(2024.10.3)          |         |        |             | ティッド                 |
| (86)国際出願番号        | PCT/IB2023/053431             |         |        |             | GAMMADELTA THERAPE   |
| (87)国際公開番号        | WO2023/194911                 |         |        |             | UTICS LTD            |
| (87)国際公開日         | 令和5年10月12日(2023.10.12)        |         |        |             | イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー   |
| (31)優先権主張番号       | 2204927.4                     |         |        |             | ロンドン、キングダム ストリート 1   |
| (32)優先日           | 令和4年4月4日(2022.4.4)            |         |        |             | 1 Kingdom Street, W2 |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 英国(GB)                        |         |        |             | 6BD London, United   |
|                   |                               |         |        |             | Kingdom              |
| (31)優先権主張番号       | 63/482,752                    |         |        | (74)代理人     | 100136629            |
| (32)優先日           | 令和5年2月1日(2023.2.1)            |         |        |             | 弁理士 鎌田 光宜            |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                        |         |        | (74)代理人     | 100080791            |
|                   |                               |         |        |             | 弁理士 高島 一             |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ |         |        | (74)代理人     | 100125070            |
|                   |                               |         |        |             |                      |
| 最終頁に続く            |                               |         |        | 最終頁に続く      |                      |

(54)【発明の名称】 抗メソテリンC A Rを発現する細胞

(57)【要約】  
本開示のいくつかの態様は、メソテリンに特異的な異種標的化構築物を含む操作された自然リンパ球細胞及びその使用に関する。本開示のいくつかの態様は、ヒトメソテリンに特異的に結合するキメラ抗原受容体（C A R）をコードするポリヌクレオチド、本ポリヌクレオチドを含む宿主細胞、及びそれを使用した対象の疾患または状態を処置する方法に関する。  
【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

メソテリンに特異的な異種標的化構築物を含む、操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 2】

前記リンパ球細胞は、ナチュラルキラー（NK）細胞または  $\gamma\delta$  T 細胞である、請求項 1 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 3】

前記  $\gamma\delta$  T 細胞は、Vd1 +  $\gamma\delta$  細胞である、請求項 2 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 4】

前記異種標的化構築物は、キメラ抗原受容体（CAR）である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 5】

前記 CAR は、完全長 CAR または非シグナル伝達 CAR である、請求項 4 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 6】

前記 CAR は、武装化 CAR である、請求項 4 または請求項 5 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 7】

1 つ以上の薬学的または生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞を含む、医薬組成物。

## 【請求項 8】

請求項 1 から 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞または請求項 7 に記載の医薬組成物を使用して、処置を必要とする患者を処置する、方法。

## 【請求項 9】

対象の状態を処置するための、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞または請求項 7 に記載の医薬組成物の使用。

## 【請求項 10】

治療に使用するための、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞または請求項 7 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

請求項 1 から 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞を作製する方法。

## 【請求項 12】

請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の複数の操作された自然リンパ球細胞を含む、単離細胞集団。

## 【請求項 13】

前記細胞は、（a）IL-15R-ベータまたは（b）（i）IL-15 につながれた IL-15R-アルファもしくはそのバリエーション及び（ii）IL-15R-ベータを発現する、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 14】

前記細胞は、IL-15R-ベータを発現する、請求項 13 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 15】

前記細胞は、（i）IL-15 につながれた IL-15R-アルファまたはそのバリエーション及び（ii）IL-15R-ベータを発現する、請求項 13 に記載の操作された自然リンパ球細胞。

## 【請求項 16】

キメラ抗原受容体（CAR）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドであって、前記 CAR は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、前

10

20

30

40

50

記抗原結合ドメインは、可変重鎖（VH）ドメイン及び可変軽鎖（VL）ドメインを含み、前記VHは、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH－相補性決定領域3（CDR3）を含む、前記ポリヌクレオチド。

【請求項17】

前記CARは、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH－CDR2をさらに含む、請求項16に記載のポリヌクレオチド。

【請求項18】

前記CARは、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH－CDR3をさらに含む、請求項16または17に記載のポリヌクレオチド。

【請求項19】

前記CARは、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR1をさらに含む、請求項16から18のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項20】

前記CARは、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR2をさらに含む、請求項16から19のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項21】

前記CARは、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR3をさらに含む、請求項16から20のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項22】

前記CARは、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH－CDR1；配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH－CDR2；配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH－CDR3；配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR1；配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR2；及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL－CDR3を含む、請求項16から21のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項23】

前記VHは、配列番号7に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項16から22のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項24】

前記VHは、配列番号7に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項16から23のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項25】

前記VLは、配列番号8に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項16から24のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項26】

前記VLは、配列番号8に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項16から25のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項27】

前記VHは、配列番号7に記載の前記アミノ酸配列を含み、前記VLは、配列番号8に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項16から26のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項28】

前記CARは、（i）ヒンジ領域、（ii）膜貫通ドメイン、（iii）共刺激ドメイン、（iv）細胞内シグナル伝達ドメイン、または（v）それらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項16から27のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

## 【請求項 29】

前記CARは、(i) ヒンジ領域、(ii) 膜貫通ドメイン、(iii) 共刺激ドメイン、及び(iv) 細胞内シグナル伝達ドメインをさらに含む、請求項16から28のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 30】

前記ヒンジ領域は、CD8、CD28、または免疫グロブリン由来のヒンジ領域を含む、請求項28または29に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 31】

前記免疫グロブリンは、IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgE、IgM、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、請求項30に記載のポリヌクレオチド。

10

## 【請求項 32】

前記ヒンジ領域は、CD8ヒンジ領域由来である、請求項28から31のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 33】

前記ヒンジ領域は、配列番号9に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項28から32のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

20

## 【請求項 34】

前記ヒンジ領域は、配列番号9に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項28から33のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 35】

前記膜貫通ドメインは、CD8、KIRDS2、OX40、CD2、CD4、CD28、CD45、PD1、CD152、CD27、LFA-1 (CD11a、CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、NKP80 (KLRF1)、NKP44、NKP30、NKP46、CD160、CD19、IL2Rベータ、IL2Rガンマ、IL7Rα、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELP LG (CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C、CD19由来の膜貫通ドメインまたはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項28から34のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

30

40

## 【請求項 36】

前記膜貫通ドメインは、CD8膜貫通ドメイン由来である、請求項28から35のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 37】

前記膜貫通ドメインは、配列番号10に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項28から36のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド。

## 【請求項 38】

50

前記膜貫通ドメインは、配列番号 10 に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項 28 から 37 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 39】

前記共刺激ドメインは、4-1BB/CD137、インターロイキン-2 受容体 (IL-2R)、インターロイキン-12 受容体 (IL-12R)、IL-7、IL-21、IL-23、IL-15、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD27、CD28、CD30、CD40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、LIGHT、NKG2C、OX40、DAP10、B7-H3、Lck 結合が欠如した CD28 (ICA)、BTLA、GITR、HVEM、LFA-1、LIGHT、NKG2C、PD-1、TILR2、TILR4、TILR7、TILR9、Fc 受容体ガンマ鎖、Fc 受容体 ε 鎖、CD83 と特異的に結合するリガンドの共刺激ドメイン由来の共刺激ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 28 から 38 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

10

【請求項 40】

前記共刺激ドメインは、4-1BB 共刺激ドメイン由来である、請求項 28 から 39 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 41】

前記共刺激ドメインは、配列番号 11 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 28 から 40 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

20

【請求項 42】

前記共刺激ドメインは、配列番号 11 に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項 28 から 41 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 43】

前記細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ 活性化ドメイン、CD3δ 活性化ドメイン、CD3ε 活性化ドメイン、CD3η 活性化ドメイン、CD79A 活性化ドメイン、DAP12 活性化ドメイン、FCER1G 活性化ドメイン、DAP10/CD28 活性化ドメイン、ZAP70 活性化ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 28 から 42 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

30

【請求項 44】

前記細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ 活性化ドメインを含む、請求項 28 から 43 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 45】

前記細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号 12 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 28 から 44 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

40

【請求項 46】

前記共刺激ドメインは、配列番号 12 に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項 28 から 45 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 47】

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含み、前記 CAR は、  
(a) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと

50

、  
(b) (i) 配列番号 9 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域、

(b) (ii) 配列番号 10 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメイン、

(b) (iii) 配列番号 11 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメイン、

(b) (iv) 配列番号 12 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメイン、または

(b) (v) (b) (i) から (b) (iv) の任意の組み合わせとを含む、請求項 16 から 46 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 48】

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含み、前記 CAR は、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと、

(ii) 配列番号 9 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と、

(iii) 配列番号 10 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと、

(iv) 配列番号 11 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと、

(v) 配列番号 12 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項 16 から 47 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 49】

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードするヌクレオチド配列を含み、前記 CAR は、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと、

(ii) 配列番号 9 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と、

(iii) 配列番号 10 に記載の前記配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約

10

20

30

40

50

９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと、

（ｉｖ）配列番号１１に記載の前記配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと、

（ｖ）配列番号１２に記載の前記配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項１６から４８のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５０】

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードするヌクレオチド配列を含み、前記ＣＡＲは、

（ｉ）配列番号１に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号２に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、配列番号３に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号４に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号５に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号６に記載の前記アミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと、

（ｉｉ）配列番号９に記載の前記アミノ酸配列を含むヒンジ領域と、

（ｉｉｉ）配列番号１０に記載の前記アミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、

（ｉｖ）配列番号１１に記載の前記アミノ酸配列を含む共刺激ドメインと、

（ｖ）配列番号１２に記載の前記アミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項１６から４８のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５１】

アーマータンパク質をコードする第２のヌクレオチド配列をさらに含む、請求項１６から５０のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５２】

前記アーマータンパク質は、ＩＬ－１５Ｒβポリペプチド、ＩＬ－１５Ｒαポリペプチド、ＩＬ－２Ｒβポリペプチド、ＩＬ－１５ポリペプチド、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項５１に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５３】

前記アーマータンパク質は、ＩＬ－２Ｒβポリペプチドを含む、請求項５１または５２に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５４】

前記アーマータンパク質は、配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項５１から５３のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５５】

前記アーマータンパク質は、配列番号１５に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項５１から５４のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５６】

前記アーマータンパク質は、ＩＬ－２Ｒβポリペプチドを含み、前記アーマータンパク質は、ＩＬ－１５ＲαポリペプチドまたはＩＬ－１５ポリペプチドを含まない、請求項５１から５５のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５７】

前記アーマータンパク質は、（ｉ）ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドまたは（ｉｉ）ＩＬ－１５ポリペプチドにつながれたＩＬ－１５Ｒαポリペプチドを含む、請求項５１から５５のいずれか１項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項５８】

前記アーマータンパク質は、配列番号１７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％

10

20

30

40

50

、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55 及び 57 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 59】

前記アーマータンパク質は、配列番号 17 に記載の前記アミノ酸配列を含む IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55、57、及び 58 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 60】

10

前記アーマータンパク質は、IL-15 ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55 及び 57 から 59 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 61】

前記アーマータンパク質は、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む IL-15 ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55 及び 57 から 60 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 62】

20

前記アーマータンパク質は、配列番号 16 に記載の前記アミノ酸配列を含む IL-15 ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55 及び 57 から 61 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 63】

前記アーマータンパク質は、リンカーによって IL-15 ポリペプチドにつながれた IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、請求項 51 から 55 及び 57 から 62 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 64】

前記リンカーは、ペプチド結合を含む、請求項 63 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 65】

30

前記リンカーは、Gly-Ser リンカーを含む、請求項 63 または 64 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 66】

前記リンカーは、配列番号 20 ~ 25 から選択されるアミノ酸配列またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 63 から 65 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 67】

前記アーマータンパク質は、(i) IL-2 R $\beta$  ポリペプチド、(ii) 切断可能なリンカー、及び (iii) IL-15 ポリペプチドにつながれた IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、請求項 51 から 52 及び 57 から 60 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

40

【請求項 68】

前記切断可能なリンカーは、P2A 配列を含む、請求項 67 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 69】

前記切断可能なリンカーは、配列番号 18 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 %、または少なくとも約 99 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 67 または 68 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 70】

前記切断可能なリンカーは、配列番号 18 に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項 6

50

7 から 69 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 71】

(a) キメラ抗原受容体 (CAR) であって、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；

(i i) 配列番号 9 に記載の前記アミノ酸配列を含むヒンジ領域；

(i i i) 配列番号 10 に記載の前記アミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；

(i v) 配列番号 11 に記載の前記アミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに

(v) 配列番号 12 に記載の前記アミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、前記 CAR と、

(b) 配列番号 15 に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 16 から 70 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 72】

(a) キメラ抗原受容体 (CAR) であって、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；

(i i) 配列番号 9 に記載の前記アミノ酸配列を含むヒンジ領域；

(i i i) 配列番号 10 に記載の前記アミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；

(i v) 配列番号 11 に記載の前記アミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに

(v) 配列番号 12 に記載の前記アミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、前記 CAR と、

(b) 配列番号 15 に記載の前記アミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 16 から 71 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 73】

I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドまたは I L - 15 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含まない、請求項 71 または 72 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 74】

(a) キメラ抗原受容体 (CAR) であって、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；

(i i) 配列番号 9 に記載の前記アミノ酸配列を含むヒンジ領域；

(i i i) 配列番号 10 に記載の前記アミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；

(i v) 配列番号 11 に記載の前記アミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに

10

20

30

40

50

(v) 配列番号 12 に記載の前記アミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、前記 C A R と、

(b) アーマータンパク質であって、

(i) 配列番号 15 に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド；

(i i) 配列番号 18 に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び

(i i i) I L - 15 ポリペプチドにつながれた I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む、前記アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含み、

a. 前記 I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、

b. 前記 I L - 15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載の前記アミノ酸配列と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 16 から 55 及び 57 から 72 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 75】

(a) キメラ抗原受容体 (C A R) であって、

(i) 配列番号 1 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載の前記アミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載の前記アミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；

(i i) 配列番号 9 に記載の前記アミノ酸配列を含むヒンジ領域；

(i i i) 配列番号 10 に記載の前記アミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；

(i v) 配列番号 11 に記載の前記アミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに

(v) 配列番号 12 に記載の前記アミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、前記 C A R と、

(b) アーマータンパク質であって、

(i) 配列番号 15 に記載の前記アミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド；

(i i) 配列番号 18 に記載の前記アミノ酸配列を含むリンカー；及び

(i i i) I L - 15 ポリペプチドにつながれた I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む、前記アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含み、

a. 前記 I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載の前記アミノ酸配列を含み、

b. 前記 I L - 15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載の前記アミノ酸配列を含む、請求項 16 から 55 及び 57 から 72 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 76】

請求項 16 から 75 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクターまたはベクターのセット。

【請求項 77】

1 つ以上のプロモーターを含む、請求項 76 に記載のベクターまたはベクターのセット

10

20

30

40

50

。

【請求項 78】

レトロウイルスベクター、DNAベクター、マウス白血病ウイルスベクター、SFGベクター、プラスミド、RNAベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクチニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レンチウイルスベクター、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 76 または 77 に記載のベクターまたはベクターのセット。

【請求項 79】

請求項 16 から 75 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、ポリペプチド。

10

【請求項 80】

請求項 16 から 75 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド、請求項 76 から 78 のいずれか 1 項に記載のベクターもしくはベクターのセット、または請求項 79 に記載のポリペプチドを含む、宿主細胞。

【請求項 81】

免疫細胞である、請求項 80 に記載の宿主細胞。

【請求項 82】

前記免疫細胞は、自然リンパ球細胞である、請求項 81 に記載の宿主細胞。

【請求項 83】

前記免疫細胞は、T細胞、NK細胞、B細胞、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項 81 または 82 に記載の宿主細胞。

20

【請求項 84】

前記T細胞は、 $\gamma\delta$  T細胞、 $\alpha\beta$  T細胞、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項 83 に記載の宿主細胞。

【請求項 85】

前記T細胞は、V $\delta$ 1 T細胞及びV $\delta$ 2 T細胞から選択される、請求項 83 または 84 に記載の宿主細胞。

【請求項 86】

ヒト対象から得られる、請求項 80 から 85 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞。

30

【請求項 87】

ヒト対象から得られる血液サンプル、ヒト対象から得られる皮膚サンプル、ヒト対象から得られる腫瘍サンプル、ヒト対象から得られる腸組織サンプル、またはそれらの任意の組み合わせから得られる、請求項 80 から 86 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞。

【請求項 88】

人工多能性幹細胞（iPSC）から誘導される、請求項 80 から 86 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞。

【請求項 89】

請求項 80 から 88 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞を含む、細胞の集団。

【請求項 90】

前記細胞の集団の細胞の総数の少なくとも約10%、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%、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%、または少なくとも約99%は、前記宿主細胞から構成される、請求項 89 に記載の細胞の集団。

40

【請求項 91】

請求項 16 から 75 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド、請求項 76 から 78 のいずれか 1 項に記載のベクターもしくはベクターのセット、請求項 79 に記載のポリペプチド、請求項 80 から 88 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、または請求項 89 もしくは 90 に記載の細胞の集団と、薬学的に許容される賦形剤とを含む、医薬組成物。

50

## 【請求項 9 2】

処置を必要とする対象の疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項 1 6 から 7 5 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド、請求項 7 6 から 7 8 のいずれか 1 項に記載のベクターもしくはベクターのセット、請求項 7 9 に記載のポリペプチド、請求項 8 0 から 8 8 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞、請求項 8 9 もしくは 9 0 に記載の細胞の集団、または請求項 9 1 に記載の医薬組成物を投与することを含む、前記方法。

## 【請求項 9 3】

前記疾患または状態は、がんを含む、請求項 9 2 に記載の方法。

## 【請求項 9 4】

前記がんは、肺癌、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚もしくは眼内の悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門領域の癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸部癌、膣癌、外陰癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、慢性もしくは急性の白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、小児期の固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓もしくは尿管癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性 CNS リンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮細胞癌、T細胞リンパ腫、環境誘導性癌（アスベストにより誘導されたものを含む）、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 3 に記載の方法。

## 【請求項 9 5】

前記がんは、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 3 または 9 4 に記載の方法。

## 【請求項 9 6】

前記がんは、局所進行性である、請求項 9 3 から 9 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9 7】

前記がんは、転移性である、請求項 9 3 から 9 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9 8】

前記がんは、難治性または再発性である、請求項 9 2 から 9 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9 9】

追加の抗がん剤を投与することをさらに含む、請求項 9 2 から 9 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 0 0】

前記追加の抗がん療法は、化学療法、免疫療法、放射線療法、手術、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 9 に記載の方法。

## 【請求項 1 0 1】

前記追加の抗がん療法は、化学療法を含む、請求項 9 9 または 1 0 0 に記載の方法。

## 【請求項 1 0 2】

前記追加の抗がん療法は、免疫チェックポイント阻害剤を含む、請求項 9 9 から 1 0 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 0 3】

前記追加の抗がん療法は、PD-1 アンタゴニスト、PD-L1 アンタゴニスト、CTLA-4 アンタゴニスト、LAG-3 アンタゴニスト、GITR アンタゴニスト、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 9 8 から 1 0 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 0 4】

前記抗がん療法は、PD-1 に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む、請求項 9 9 から 1 0 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 1 0 5】

前記抗がん療法は、PD-L1 に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む、請求項 9 9 から 1 0 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本PCT出願は、2022年4月4日に出願された英国出願第GB2204927.4号、及び2023年2月1日に出願された米国仮出願第63/482,752号の優先権の利益を主張するものであり、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

## 【0002】

## EFS-Web経由で電子提出した配列表の参照

本出願とともに提出された、ASCIIテキストファイル（名称：3817\_\_165PC01\_\_Seqlisting\_\_ST26、サイズ：38,145バイト、及び作成日：2023年4月3日）で電子的に提出された配列表の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

## 【0003】

## 開示の分野

本発明は、メソテリンに特異的な異種標的化構築物を含む、操作された自然リンパ球細胞に関する。本発明はまた、前記操作された自然リンパ球細胞を含む医薬組成物、前記操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物を使用した処置の方法、及び治療に使用するための前記操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物に関する。本発明はまた、操作された自然リンパ球細胞を作製する方法、及び複数の前記操作された自然リンパ球細胞を含む単離細胞集団を含む。

## 【背景技術】

## 【0004】

ヒト染色体16p.13.3に位置するMSLN遺伝子によってコードされるメソテリンは、中皮細胞によって発現される細胞表面糖タンパク質に結合した40kDaのグリコホスファチジルイノシトール（GPI）である。メソテリンは、正常な中皮細胞の細胞表面に存在するが、卵巣癌、子宮頸癌、子宮癌、胃癌、膵臓癌、及び肺腺癌を含む、いくつかのヒト腫瘍でも過剰発現する。ゆえに、メソテリンは、標的がん療法の開発のための魅力的な候補である。

## 【0005】

したがって、メソテリン発現細胞を標的とすることができる治療法が必要とされている。

## 【発明の概要】

## 【0006】

本発明の第1の態様によれば、メソテリンに特異的な異種標的化構築物を含む、操作された自然リンパ球細胞が提供される。

## 【0007】

本発明のさらなる態様によれば、1つ以上の薬学的または生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて、本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞を含む、医薬組成物が提供される。

## 【0008】

本発明のさらなる態様によれば、処置を必要とする患者を本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物を使用して処置する方法が提供される。

## 【0009】

本発明のさらなる態様によれば、対象の状態を処置するための本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物の使用が提供される。

## 【0010】

本発明のさらなる態様によれば、治療に使用するための本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物が提供される。

## 【0011】

本発明のさらなる態様によれば、本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞を作製する方法が提供される。

## 【0012】

本発明のさらなる態様によれば、本明細書に記載の複数の操作された自然リンパ球細胞を含む、単離細胞集団が提供される。

## 【0013】

本開示のいくつかの態様は、キメラ抗原受容体（CAR）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関し、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、抗原結合ドメインは、可変重鎖（VH）ドメイン及び可変軽鎖（VL）ドメインを含み、VHは、配列番号3に記載されるアミノ酸配列を含むVH-相補性決定領域3（CDR3）を含む。いくつかの態様において、CARは、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2をさらに含む。いくつかの態様において、CARは、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3をさらに含む。いくつかの態様において、CARは、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1をさらに含む。いくつかの態様において、CARは、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2をさらに含む。いくつかの態様において、CARは、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3をさらに含む。

## 【0014】

いくつかの態様において、CARは、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1；配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2；配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3；配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1；配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2；及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む。

## 【0015】

いくつかの態様において、VHは、配列番号7に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、VHは、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【0016】

いくつかの態様において、VLは、配列番号8に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、VLは、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【0017】

いくつかの態様において、VHは、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含み、VLは、配列番号8に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【0018】

いくつかの態様において、CARは、（i）ヒンジ領域、（ii）膜貫通ドメイン、（iii）共刺激ドメイン、（iv）細胞内シグナル伝達ドメイン、または（v）それらの任意の組み合わせをさらに含む。いくつかの態様において、CARは、（i）ヒンジ領域、（ii）膜貫通ドメイン、（iii）共刺激ドメイン、及び（iv）細胞内シグナル伝達ドメインをさらに含む。

## 【0019】

いくつかの態様において、ヒンジ領域は、CD8、CD28、または免疫グロブリン由来のヒンジ領域を含む。いくつかの態様において、免疫グロブリンは、IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgE、IgM、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。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、

10

20

30

40

50

CD8 ヒンジ領域由来である。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、配列番号9に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含む。

【0020】

いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、CD8、KIRDS2、OX40、CD2、CD4、CD28、CD45、PD1、CD152、CD27、LFA-1 (CD11a、CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、NKp80 (KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2Rベータ、IL2Rガンマ、IL7R $\alpha$ 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C、CD19由来の膜貫通ドメインまたはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、CD8膜貫通ドメイン由来である。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、配列番号10に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む。

【0021】

いくつかの態様において、共刺激ドメインは、4-1BB/CD137、インターロイキン-2受容体 (IL-2R)、インターロイキン-12受容体 (IL-12R)、IL-7、IL-21、IL-23、IL-15、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD27、CD28、CD30、CD40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、LIGHT、NKG2C、OX40、DAP10、B7-H3、Lck結合が欠如したCD28 (ICA)、BTLA、GITR、HVEM、LFA-1、LIGHT、NKG2C、PD-1、TILR2、TILR4、TILR7、TILR9、Fc受容体ガンマ鎖、Fc受容体 $\epsilon$ 鎖、CD83と特異的に結合するリガンドの共刺激ドメイン由来の共刺激ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、共刺激ドメインは、4-1BB共刺激ドメイン由来である。いくつかの態様において、共刺激ドメインは、配列番号11に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、共刺激ドメインは、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む。

【0022】

いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 $\zeta$ 活性化ドメイン、CD3 $\delta$ 活性化ドメイン、CD3 $\epsilon$ 活性化ドメイン、CD3 $\eta$ 活性化ドメイン、CD79A活性化ドメイン、DAP12活性化ドメイン、FCER1G活性化ドメイン、DAP10/CD28活性化ドメイン、ZAP70活性化ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号1

2に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、共刺激ドメインは、配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む。

#### 【0023】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、キメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含み、CARは、(a)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(b)(i)配列番号9に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域、(b)(ii)配列番号10に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメイン、(b)(iii)配列番号11に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメイン、(b)(iv)配列番号12に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメイン、または(b)(v)(b)(i)から(b)(iv)の任意の組み合わせとを含む。

#### 【0024】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、キメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含み、CARは、(i)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii)配列番号9に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と；(iii)配列番号10に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと；(iv)配列番号11に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；(v)配列番号12に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0025】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、キメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含み、CARは、(i)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に

記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 1 0 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと； ( i v ) 配列番号 1 1 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 1 2 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

10

#### 【 0 0 2 6 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、キメラ抗原受容体 ( C A R ) をコードするヌクレオチド配列を含み、 C A R は、 ( i ) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、 ( i v ) 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

20

#### 【 0 0 2 7 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、アーマータンパク質をコードする第 2 のヌクレオチド配列をさらに含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、 I L - 1 5 R  $\beta$  ポリペプチド、 I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチド、 I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド、 I L - 1 5 ポリペプチド、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

#### 【 0 0 2 8 】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、 I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列を含む。

30

#### 【 0 0 2 9 】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、 I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチドを含み、アーマータンパク質は、 I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドまたは I L - 1 5 ポリペプチドを含まない。

40

#### 【 0 0 3 0 】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、 ( i ) I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドまたは ( i i ) I L - 1 5 ポリペプチドにつながれた I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列を含む I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む。

50

## 【0031】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-15ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むIL-15ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含むIL-15ポリペプチドを含む。

## 【0032】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、リンカーによってIL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、リンカーは、ペプチド結合を含む。いくつかの態様において、リンカーは、Gly-Serリンカーを含む。いくつかの態様において、リンカーは、配列番号20~25から選択されるアミノ酸配列またはそれらの任意の組み合わせを含む。

## 【0033】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、(i) IL-2R $\beta$ ポリペプチド、(ii) 切断可能なリンカー、及び(iii) IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、P2A配列を含む。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、配列番号18に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【0034】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、(a) キメラ抗原受容体(CAR)であって、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii) 配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv) 配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v) 配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(b) 配列番号15に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含む。

## 【0035】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、(a) キメラ抗原受容体(CAR)であって、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii) 配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv) 配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v) 配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(b) 配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含む。

## 【0036】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドまたはIL-15ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含まない。

## 【0037】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、(a)キメラ抗原受容体(CAR)であって、(i)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、抗原結合ドメイン；(ii)配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii)配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv)配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v)配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(b)(i)配列番号15に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチド；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含み、(a)IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、(b)IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0038】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、(a)キメラ抗原受容体(CAR)であって、(i)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii)配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii)配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv)配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v)配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(b)(i)配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチド；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカー；及び(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするヌクレオチド配列を含み、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。

## 【0039】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドを含むベクターまたはベクターのセットに関する。いくつかの態様において、ベクターは、1つ以上のプロ

モーターを含む。いくつかの態様において、ベクターは、レトロウイルスベクター、DNAベクター、マウス白血病ウイルスベクター、SFGベクター、プラスミド、RNAベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクチニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)、レンチウイルスベクター、またはそれらの任意の組み合わせである。

【0040】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに関する。

【0041】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチド、本明細書で開示されるベクターもしくはベクターのセット、または本明細書で開示されるポリペプチドを含む宿主細胞に関する。

【0042】

いくつかの態様において、宿主細胞は、免疫細胞である。いくつかの態様において、免疫細胞は、自然リンパ球細胞である。いくつかの態様において、免疫細胞は、T細胞、NK細胞、B細胞、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの態様において、T細胞は、 $\gamma\delta$  T細胞、 $\alpha\beta$  T細胞、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの態様において、T細胞は、 $V\delta 1$  T細胞及び $V\delta 2$  T細胞から選択される。

【0043】

いくつかの態様において、宿主細胞は、ヒト対象から得られる。いくつかの態様において、宿主細胞は、ヒト対象から得られる血液サンプル、ヒト対象から得られる皮膚サンプル、ヒト対象から得られる腫瘍サンプル、ヒト対象から得られる腸組織サンプル、またはそれらの任意の組み合わせから得られる。いくつかの態様において、宿主細胞は、人工多能性幹細胞(iPSC)から誘導される。

【0044】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示される宿主細胞を含む細胞の集団に関する。いくつかの態様において、細胞の集団における細胞の総数の少なくとも約10%、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%、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%、または少なくとも約99%は、宿主細胞から構成される。

【0045】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチド、本明細書で開示されるベクターもしくはベクターのセット、本明細書で開示されるポリペプチド、本明細書で開示される宿主細胞、または本明細書で開示される細胞の集団と、薬学的に許容される賦形剤とを含む医薬組成物に関する。

【0046】

本開示のいくつかの態様は、処置を必要とする対象の疾患または状態を処置する方法であって、対象に、本明細書で開示されるポリヌクレオチド、本明細書で開示されるベクターもしくはベクターのセット、本明細書で開示されるポリペプチド、本明細書で開示される宿主細胞、本明細書で開示される細胞の集団、または本明細書で開示される医薬組成物を投与することを含む、方法に関する。

【0047】

いくつかの態様において、疾患または状態は、がんを含む。いくつかの態様において、がんは、肺癌、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚もしくは眼内の悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門領域の癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸部癌、膣癌、外陰癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、慢性もしくは急性の白

10

20

30

40

50

血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、小児期の固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓もしくは尿管癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮細胞癌、T細胞リンパ腫、環境誘導性癌（アスベストにより誘導されたものを含む）、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、がんは、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、中皮腫、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【0048】

いくつかの態様において、がんは、局所進行性である。いくつかの態様において、がんは、転移性である。いくつかの態様において、がんは、難治性または再発性である。

10

【0049】

いくつかの態様において、本方法は、追加の抗がん剤を投与することをさらに含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、化学療法、免疫療法、放射線療法、手術、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、化学療法を含む。

【0050】

いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、免疫チェックポイント阻害剤を含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、PD-1アンタゴニスト、PD-L1アンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、GITRアンタゴニスト、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、抗がん療法は、PD-1に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗がん療法は、PD-L1に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1】 Mes o + v e 標的に対するCAR操作された細胞の機能性に関する概念実証。（A）YP218抗メソテリンCAR構築物及び操作されていない血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（「GD X 0 1 2」）を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞を固形腫瘍標的OV CAR 3細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1:1、1:1:2.5及び1:5のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGD X 0 1 2を遺伝子操作すると、OV CAR 3細胞に対する $\gamma\delta$  T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上したことを示している。（B）YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（n=1）を培地単独でまたはIL-15を加えた培地（10 ng/ml）中において、2:1のE:T比でHeLa細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウounterを使用して生細胞をカウントした。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGD X 0 1 2を遺伝子操作することにより、HeLa腫瘍標的に対する $\gamma\delta$  T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上したこと、ならびにメソテリンCAR改変血液 $\gamma\delta$  T細胞の生存及び増殖にはCARシグナル伝達に加えてIL-15が必要とされることを示している。

30

40

【図2】 固形腫瘍を標的とする概念実証として、GD X 0 1 2をYP218抗メソテリンCAR構築物で遺伝子操作した。メソテリンは、さまざまながん適応症で過剰発現しており、メソテリンがさまざまな固形腫瘍モデル及び臨床試験において確立された標的であるため、このタンパク質を概念実証の固形腫瘍標的として選択した。健康な組織によるメソテリンの発現は非常に低く、それがメソテリンを理想的な固形腫瘍標的にする。表現型、細胞傷害性、増殖及びインビボ活性を理解して、固形腫瘍標的化を実証し、将来的な遺伝子操作製品に対する枠組みを確立するために抗MSLN  $\gamma\delta$  1生成物を機能的に試験し

50

た。

【図3】皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞とは異なりGDX01は、固形腫瘍標的を標的とする程度の固有の能力を示すが、遺伝子操作により向上させることができる。(A) GDX012 ( $n=3$ ) 及び皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) を、メソテリン<sup>+</sup>標的細胞株であるHeLa細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたGDX012及び皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。これらのデータは、皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞が固形腫瘍標的に対して固有の殺傷能力を有し、5:1のE:T比で腫瘍標的の80%超、2.5のE:T比で60%超、1.25のE:Tで50%超が溶解することを示している。GDX012による標的細胞溶解は、HeLa細胞に対してプロファイルされたすべてのE:T比で20%超の溶解を超えなかった。(B) YP218抗メソテリンCAR構築物及びGDX012を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞をOVCA3細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125:1のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGDX012を遺伝子操作すると、OVCA3腫瘍標的に対するV $\delta$  1 T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上し、5:1のE:T比で腫瘍標的の90%超、2.5:1のE:T比で75%超、1.1のE:T比で50%超及び1:2.5のE:T比で20%超が溶解していたが、GDX012による標的細胞溶解は、OVCA3細胞に対してプロファイルされたすべてのE:T比で30%を超えなかった。

【図4】メソテリンCAR改変血液V $\delta$  1 T細胞は、HeLa (A) 細胞及びOVCA3 (B) 細胞に対して確固とした細胞傷害性を示し、この細胞傷害性は、CAR改変 $\alpha\beta$  T細胞と同等であった。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) 及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) を、HeLa腫瘍細胞及びOVCA3腫瘍細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。

【図5】メソテリンCAR改変血液V $\delta$  1 T細胞は、メソテリンを過剰発現するよう改変されたHT29 (A) 及びA549 (B) に対して確固とした細胞傷害性を示し、この細胞傷害性は、CAR改変 $\alpha\beta$  T細胞と同等であった。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=2$ ) 及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) をHT29、MSLNに対する機能性に関して調べた。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) 及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) をA549、MSLN細胞に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。

【図6】固形腫瘍標的に対する反復抗原刺激 (RAS) アッセイの実験設計。エフェクター細胞を解凍し、IL-15を加えた培地 (10 ng/ml) 中で固形腫瘍標的がん細胞株と2:1のE:T比で共培養する。+2日目: 50%の培地交換により培養物にサイト

カインを補充する。+4日目：50%の培地交換により標的及びサイトカインを補充する。  
+7日目：培養物を回収する。エフェクターをカウントし、0日目に播いたのと同数のエフェクターを、標的細胞を含むIL-15を加えた培地（10mg/ml）に2：1のE：T比で再び播く。追加のエフェクターは、フローサイトメトリーによる表現型分析のために使用するか、または標的細胞を用いた24時間殺傷アッセイに播く。全体として、エフェクター細胞は、6回のアッセイ内標的細胞殺傷及び7回目の連続殺傷を証明する最後の24時間の殺傷アッセイとともに21日間の培養に供する。

【図7】HeLa細胞による6回の腫瘍曝露後にメソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞を増殖させ（A）、CAR発現に関して濃縮する（B）。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（n=2）を、IL-15を加えた培地（10ng/ml）中において2：1のE：T比でHeLa細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞をカウントした。回収したエフェクター細胞の細胞数を7日前に播いた細胞数で割って各時点におけるエフェクター細胞の増殖倍率を算出した。増殖倍率に前の増殖倍率を掛けることで合計または累積の増殖倍率を各時点において算出した。細胞は21日間にわたり60倍に増殖した。0、7、14及び21日目にフローサイトメトリーによってV $\delta$ 1 T細胞に対してCAR発現を測定した。CAR発現V $\delta$ 1 T細胞を21日間にわたり濃縮して、アッセイの終わりに20%超の発現から90%超の発現に増加させた。データは、2つの独立した実験の代表的なものである。

【図8】メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞を増殖させ（A）、RASアッセイにおけるOVCA3及びA549、MSLN細胞の連続殺傷に応じて濃縮する（B）。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（n=3）を、IL-15を加えた培地（10ng/ml）中において2：1のE：T比でOVCA3及びA549、MSLN細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞をカウントした。回収したエフェクター細胞の細胞数を7日前に播いた細胞数で割って各時点におけるエフェクター細胞の増殖倍率を算出した。増殖倍率に前の増殖倍率を掛けることで合計（累積）の増殖倍率を各時点において算出した。OVCA3細胞と培養した細胞は、21日間にわたり20倍に増殖した。A549、MSLN細胞と培養した細胞は、21日間にわたり400倍に増殖した。0、7、14及び21日目にフローサイトメトリーによってV $\delta$ 1 T細胞に対してCAR発現を測定した。OVCA3及びA549、MSLN細胞とともに培養したCAR発現V $\delta$ 1 T細胞を21日間にわたり濃縮して、21日目に95%超の発現に増加させた。Cは、V $\delta$ 1頻度が分析の過程で保持されたことを示す。

【図9】メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞は、HeLa腫瘍細胞に対するRASの21日後でも細胞傷害性のままである。（A）YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（n=2）を、IL-15を加えた培地（10ng/ml）中において2：1の比でHeLa細胞と21日間培養した。7、14及び21日目に、新しい標的細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞数を得た。標的細胞を $2 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播き、4時間付着させた。エフェクターを、回収し、カウントし、5：1、2.5：1、1.25：1、0.625：1及び0.3125のE：T比で18～24時間培地でサイトカインを加えずに付着標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出し、データは7回の連続殺傷の代表的なものである。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均±SDを示す。（B）HeLa細胞に対するRASアッセイの7、14、及び21日後の生CAR<sup>+</sup> $\gamma\delta$  T細胞のフローサイトメトリー分析。V $\delta$ 1 T細胞の表現型分析は、NKGD、CD56、NKp30、NKGD及びPD1発現が0日目から21日目までアップレギュレートされたと同時に、エフェクター状態を示すCD27がV $\delta$ 1 T細胞によって0日目から21日目までダウンレギュレートされたことを示した。データは、2つの独立した実験の代表的なものである。

【図10】メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞は、OVCA3及びA549、M

S L N細胞に対するR A Sの21日後でも細胞傷害性のままである。Y P 2 1 8抗メソテリンC A R構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) を、I L - 1 5を加えた培地 (1 0 n g / m l) 中において2 : 1の比でO V C A R 3 (A ~ C) 細胞及びA 5 4 9 . M S L N (D ~ F) 細胞と培養した。7 (A及びD)、14 (B及びE) 及び21 (C及びF) 日目に、新しい標的細胞を回収し、N C 2 5 0細胞カウンターを使用して生細胞数を得た。標的細胞を $2 \times 10^5$ 細胞 / ウェルで播き、4時間付着させた。エフェクターを、回収し、カウントし、5 : 1、2 . 5 : 1、1 . 2 5 : 1、0 . 6 2 5 : 1及び0 . 3 1 2 5のE : T比で18 ~ 24時間培地でサイトカインを加えずに付着標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均 $\pm$  S Dを示す。

10

【図11】メソテリンC A R改変血液V  $\delta$  1 T細胞は、無改変A 5 4 9 (A) 腫瘍細胞よりもM S L N発現A 5 4 9 (A) 腫瘍細胞に対して高い細胞傷害性を有する。Y P 2 1 8抗メソテリンC A R構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=4$ ) 及びY P 2 1 8抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) を、A 5 4 9腫瘍細胞及びM S L Nを過剰発現するように改変されたA 5 4 9腫瘍細胞に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたC A R改変血液V  $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5 : 1、2 . 5 : 1、1 . 2 5 : 1、0 . 6 2 5 : 1及び0 . 3 1 2 5のE : T比で18 ~ 24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均 $\pm$  S Dを示す。

20

【図12】皮膚由来のV d 1 +  $\gamma\delta$  T細胞は、M e s o - C A Rを効率的に形質導入することができる。皮膚常在性細胞を解凍し、M A C S選択によってすぐに処理して、 $\alpha\beta$  T細胞を除去した。次いで、得られたネガティブ選択された $\gamma\delta$  T細胞に、P 4またはY P 2 1 8抗メソテリンC A R構築物のいずれかをコードするベクターを形質導入した。次に、形質導入細胞をI L - 1 5 (8 0 n g / m l) 及びI L 2 1 (1 1 . 2 5 n g / m l) の存在下で14日間増殖させた後、回収し、凍結保存した。 $\gamma\delta$  T細胞の増殖倍率を、増殖培養の14日目に記録した (A)。各メソテリン特異的なC A Rが陽性の細胞のパーセンテージを、14日目にフローサイトメトリーにより測定した (B)。

【図13】皮膚由来 $\gamma\delta$  T細胞は、メソテリン陽性標的細胞であるH e L a細胞株に対して細胞傷害性である。皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を、図12 A ~ 12 Bに示されるとおりに形質導入し、増殖した。次いで、凍結保存細胞を解凍し、メソテリン<sup>+</sup> H e L a細胞株に対する機能性に関してすぐに試験した。細胞を、サイトカインを加えずにさまざまなエフェクター対標的比で17 ~ 20時間培養した。C e l l T i t r e G L O細胞カウントアッセイを使用してP 4 (A) 及びY P 2 1 8 (B) バインダーに関する特異的な細胞溶解を検出した。白丸は、未形質導入皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を示す。灰色の点は、メソテリン特異的なC A R形質導入皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を示す。

30

【図14】皮膚由来の $\gamma\delta$  T細胞は、メソテリン陽性標的細胞であるA 4 5 9に対して細胞傷害性である。Y P 2 1 8抗メソテリンC A R構築物を形質導入した皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を、メソテリン<sup>+</sup> A 5 4 9標的細胞株に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたY P 2 1 8 + 増殖皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、サイトカインを加えずに標的細胞とともにすぐに17 ~ 20時間培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

40

【図15】メソテリンC A R改変皮膚V  $\delta$  1 T細胞は、H T 2 9 . M S L N及びA 5 4 9 . M S L N腫瘍細胞に対して細胞傷害性である。Y P 2 1 8抗メソテリンC A R構築物を形質導入した皮膚常在性 $\gamma\delta$  及び $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) を、メソテリン<sup>+</sup> A 5 4 9標的細胞株に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたY P 2 1 8 + 増殖皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、サイトカインを加えずに標的H T 2 9 . M S L N (A) 及びA 5 4 9 . M S L N (B) 細胞とともにすぐに18 ~ 24時間培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。エラーバーは、各条件に関する三つ組のウェルの平均 $\pm$  S Dを示す。

50

【図16A】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。いずれかのバインダーを形質導入した $\gamma\delta$  T細胞が効果的な腫瘍抑制を示すことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図16B】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。抗MSLN CAR発現 $\gamma\delta$  T細胞が、わずか合計100万の細胞を投与された場合に、腫瘍増殖を抑制できたことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図16C】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。いずれかの抗MSLNバインダーを発現する全 $\gamma\delta$  T細胞が、評価したニッチの骨髄において同等のレベルまで持続したことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図16D】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。いずれかの抗MSLNバインダーを発現する全 $\gamma\delta$  T細胞が、評価したニッチの脾臓において同等のレベルまで持続したことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図16E】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。いずれかの抗MSLNバインダーを発現する全 $\gamma\delta$  T細胞が、評価したニッチの肺において同等のレベルまで持続したことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図16F】非武装化P4及びYP218 CAR  $\gamma\delta$  T細胞がNSGマウスの播種性A549腫瘍モデルにおいて有効であることを示すグラフ表示である。CARは、「バインダーY」（YP218）または「バインダーP」（P4）のいずれかの抗メソテリン結合ドメイン（示したとおり）、CD8ヒンジ領域、CD8膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 $\zeta$ 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。いずれかの抗MSLNバインダーを発現する全 $\gamma\delta$  T細胞が、評価したニッチの血液において同等のレベルまで持続したことを示すデータを提供する（「バインダーY」=YP218、「バインダーP」=P4）。

【図17A】生成された2つの新規の武装化構築物の概略図である。

【図17B】対応する多シストロン性ガンマレトロウイルスベクターの概略図であり、キメラ抗原受容体（CAR）コード配列が、野生型またはIL-15融合（つながれた）鎖

10

20

30

40

50

バリエーションをコードする個々の IL-15 受容体鎖構成要素とインフレーションで融合されている。

【図 18A】P4  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  コドン配列を形質導入した製剤に関するコドン最適化アルゴリズムに基づく  $V\delta 1$  CAR<sup>+</sup>武装化<sup>+</sup>細胞のパーセントを示す棒グラフである。

【図 18B】P4  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  コドン配列を形質導入した製剤に関するコドン最適化アルゴリズムに基づく武装化最大蛍光強度 (MFI) を示す棒グラフである。

【図 18C】YP218  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  コドン配列を形質導入した製剤に関するコドン最適化アルゴリズムに基づく  $V\delta 1$  CAR<sup>+</sup>武装化<sup>+</sup>細胞のパーセントを示す棒グラフである。

【図 18D】YP218  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  コドン配列を形質導入した製剤に関するコドン最適化アルゴリズムに基づく武装化最大蛍光強度 (MFI) を示す棒グラフである。

【図 18E】武装化されていない (Mes o-CAR) または mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  (Mes o-CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) で武装化されたメソテリン標的化 CAR 操作細胞の細胞傷害性を示す。

【図 19A】非武装化バインダー P 構築物または P4  $\beta$  構築物を形質導入した細胞に関する連続殺傷アッセイの結果のグラフ表示である。

【図 19B】非武装化バインダー P 構築物または P4  $\beta$  構築物を形質導入した細胞に関する増殖倍率のグラフ表示である。

【図 19C】非武装化バインダー P 構築物または P4  $\beta$  構築物を形質導入した細胞に関する CAR を発現している細胞の割合のグラフ表示である。

【図 20A】播種性 A549 腫瘍モデルにおいて非武装化ならびに mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化した Mes oCAR 改変  $V\delta 1$  T 細胞 (それぞれ P4 CAR 及び P4 CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) のインビボ性能を評価した概略図及び結果である。A549 細胞株を、メソテリンを発現するように操作する (A549-Mes o)。使用したモデルの概略図を示す。

【図 20B】播種性 A549 腫瘍モデルにおいて非武装化ならびに mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化した Mes oCAR 改変  $V\delta 1$  T 細胞 (それぞれ P4 CAR 及び P4 CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) のインビボ性能を評価した概略図及び結果である。A549 細胞株を、メソテリンを発現するように操作する (A549-Mes o)。試験した生成物のインビボにおける効力を示す。

【図 21A】凍結保存後に武装化されていない、mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) または IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\beta$ ) 2 つの異なるメソテリン標的化 CAR (YP218 (1) または P4 (2)) 改変  $V\delta 1$  T に対するインビトロにおける生存及び反復抗原曝露の影響を評価するグラフである。非武装化及び  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  武装化の CAR T 細胞の生存を示す。

【図 21B】凍結保存後に武装化されていない、mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) または IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\beta$ ) 2 つの異なるメソテリン標的化 CAR (YP218 (1) または P4 (2)) 改変  $V\delta 1$  T に対するインビトロにおける生存及び反復抗原曝露の影響を評価するグラフである。非武装化及び  $\alpha$  . 15 .  $\beta$  武装化の CAR T 細胞の生存を示す。

【図 21C】凍結保存後に武装化されていない、mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) または IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\beta$ ) 2 つの異なるメソテリン標的化 CAR (YP218 (1) または P4 (2)) 改変  $V\delta 1$  T に対するインビトロにおける生存及び反復抗原曝露の影響を評価するグラフである。さまざまな Mes o-CAR T 細胞生成物による処置後に経時的に GFP 蛍光を追跡することによって測定した腫瘍コンフルエンスを示す。

【図 21D】凍結保存後に武装化されていない、mb IL-15 及び IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\alpha$  . 15 .  $\beta$ ) または IL-15 R  $\beta$  で武装化された (CAR .  $\beta$ ) 2 つの異なるメソテリン標的化 CAR (YP218 (1) または P4 (2)) 改変  $V\delta 1$  T に対するインビトロにおける生存及び反復抗原曝露の影響を評価するグラフである

10

20

30

40

50

。反復抗原刺激アッセイ中に続くCAR T細胞の増殖倍率を示す。

【発明を実施するための形態】

【0052】

本開示のいくつかの態様は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合部分に関する。本開示のいくつかの態様は、キメラ抗原受容体（CAR）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関し、CARは、ヒトメソテリンに結合する抗原結合ドメインを含む。本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドを含む宿主細胞、例えば、免疫細胞、例えば、自然リンパ球細胞に関する。本開示のさらなる態様は、ポリヌクレオチド及び／または細胞を対象に投与することを含む、処置を必要とする対象を処置する方法に関する。

10

【0053】

I. 用語

本明細書をより容易に理解できるよう、特定の用語を最初に定義する。さらなる定義は、詳細な説明の全体をとおして記載されている。

【0054】

「a」要素または「an」要素という用語が、1つ以上のその要素を指すことに留意すべきであり、例えば、「ヌクレオチド配列（a nucleotide sequence）」は、1つ以上のヌクレオチド配列を表すものと理解される。そのため、「a」（または「an」）、「1つ以上」、及び「少なくとも1つ」という用語は、本明細書では互換的に使用することができる。

20

【0055】

さらに、本明細書で使用する場合、「及び／または」は、他方を伴うまたは伴わない2つの指定された特徴または構成成分を具体的に開示するものとして解釈するものとする。したがって、「及び／または」という用語は、「A及び／またはB」のような表現で 사용되는場合、「A及びB」、「AまたはB」、「A」（単独）、ならびに「B」（単独）を含むように意図されている。同様に、「及び／または」という用語は、「A、B、及び／またはC」のような表現で 사용되는場合、以下の態様の各々を包含するように意図されている：A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）。

【0056】

態様が「～を含む」という語を用いて本明細書で説明されている場合は常に、「～からなる」及び／または「本質的に～からなる」という用語で説明されている別の形で類似する態様も提供されるものと理解されたい。本明細書で 사용되는場合、「含む（comprise）」及び「含む（include）」という用語ならびにその変形（例えば、「含む（comprises）」、「含む（comprising）」、「含む（includes）」、及び「含む（including）」）は、明記された構成要素、特徴、要素、もしくはステップまたは構成要素、特徴、要素もしくはステップの群を含むことを示すが、いかなる他の構成要素、特徴、要素、もしくはステップまたは構成要素、特徴、要素、もしくはステップの群を排除することを示すものではないと理解される。「～を含む」、「本質的に～からなる」、及び「～からなる」という用語はいずれも、通常の意味を保持しながら、他の2つの用語のいずれかで置き換えることができる。

30

40

【0057】

別段の定義がない限り、本明細書で使用する全ての技術的用語及び科学的用語は、本開示が関連する技術分野の当業者によって一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。例えば、the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 及び the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revis

50

ed, 2000, Oxford University Press は、本開示で使用する多くの用語についての一般辞書を当業者に提供する。

【0058】

単位、接頭辞、及び記号は、国際単位系 (S I) が認める形で示される。数値範囲は、該範囲を画定する数値を含む。値の範囲が列挙されている場合、列挙されたその範囲の上限と下限間の各介在整数値、及びその各分数もまた、かかる値間の部分的な範囲の各々とともに具体的に開示されることを理解されたい。任意の範囲の上限及び下限は、独立して、該範囲に含まれる場合も該範囲から除外される場合もあり、上下限のいずれかが含まれる場合、いずれも含まれない場合、または両方とも含まれる場合の各範囲もまた、本開示に包含される。したがって、本明細書に列挙される範囲は、列挙される端点を含め、該範囲内の値のすべてに対する省略であると理解される。例えば、1~10の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むと理解される。

10

【0059】

値が明示的に列挙される場合、該列挙された値とほぼ同じ量 (q u a n t i t y) または量 (a m o u n t) の値もまた、本開示の範囲に含まれることが理解される。組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の部分的な組み合わせの各々もまた、具体的に開示され、本開示の範囲に含まれる。反対に、異なる要素または要素の群が個別に開示される場合、その組み合わせもまた開示される。ある開示の任意の要素が複数の選択肢を有して開示される場合、各選択肢が単独で、または他の選択肢と任意の組み合わせで除外されるその開示の例もまた、本明細書に開示される。ある開示の複数の要素がかかる除外を有する場合があり、かかる除外を有する要素のすべての組み合わせが本明細書に開示される。

20

【0060】

ヌクレオチドは、広く認められている1文字表記によって表される。特に明記しない限り、ヌクレオチド配列は、左から右に5'から3'の方向で書かれている。ヌクレオチドは、本明細書では、I U P A C - I U B B i o c h e m i c a l N o m e n c l a t u r e C o m m i s s i o nによって推奨された広く知られている1文字記号によって表される。したがって、「a」はアデニンを表し、「c」はシトシンを表し、「g」はグアニンを表し、「t」はチミンを表し、「u」はウラシルを表す。

30

【0061】

アミノ酸配列は、左から右にアミノからカルボキシ方向で書かれている。アミノ酸は、本明細書では、広く知られている3文字記号、またはI U P A C - I U B B i o c h e m i c a l N o m e n c l a t u r e C o m m i s s i o nによって推奨された1文字記号のいずれかによって表される。

【0062】

「約」という用語は、当業者による決定される場合、特定の値または組成に関し許容される誤差範囲内にある値または組成を指し、これは部分的には、値または組成の測定または判定方法、すなわち、測定システムの限界に依存することになる。例えば、「約」は、当該技術分野における慣例に従い、1以内のまたは1超の標準偏差を意味するばあいがある。あるいは、「約」は、最大10%の範囲を意味する場合がある。さらに、特に生物学的システムまたはプロセスに関しては、この用語は最大1桁分または最大5倍の値を意味することがある。本出願及び特許請求の範囲に特定の値または組成が示されている場合、別段の明記がない限り、「約」の意味は、その特定の値または組成について許容される誤差範囲内にあると見なされるべきである。

40

【0063】

「投与」、「投与すること」という用語、及びそれらの文法的変形は、本開示の組成物 (例えば、C A RをコードするポリヌクレオチドまたはC A Rを発現する細胞) を薬学的に許容される経路により対象に導入することを指す。本開示の組成物 (例えば、C A RをコードするポリヌクレオチドまたはC A Rを発現する細胞) の対象への導入は、腫瘍内、

50

経口、肺内、鼻腔内、非経口（静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下）、直腸、リンパ内、髄腔内、眼周囲または局所を含む任意の適した経路によるものである。

【0064】

投与は、自己投与及び他者による投与を含む。投与の適した経路は、組成物または薬剤がその意図された機能を果たすことを可能にする。例えば、適した経路が静脈内である場合、組成物は、組成物または薬剤を対象の静脈に導入することによって投与される。

【0065】

「抗原」という用語は、免疫応答を誘発する分子を指す。この免疫応答は、抗体産生、もしくは特定の免疫適格細胞の活性化、またはその両方を伴う場合がある。当業者であれば、実質的にすべてのタンパク質またはペプチドを含む任意の巨大分子が抗原として機能可能であることを容易に理解するであろう。さらに、抗原は、組み換えDNAまたはゲノムDNA由来の場合もある。

【0066】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗原結合部分、例えば、CARまたは抗体分子と特異的に相互作用する抗原の部分の部分を指す。本明細書でエピトープ決定基と呼ばれるそのような部分は、典型的には、アミノ酸側鎖または糖側鎖などの要素を含むか、またはその一部である。エピトープ決定基は、例えば、当技術分野において既知の方法によって、例えば、結晶学または水素・重水素交換によって画定することができる。エピトープ決定基と特異的に相互作用する抗体分子上の部分の少なくとも1つまたはいくつかは、一般にCDR（複数可）に位置する。一般に、エピトープは、特定の三次元構造特性を有する。一般に、エピトープは、特定の電荷特性を有する。いくつかのエピトープは線状エピトープであるが、その他は立体構造エピトープである。

【0067】

「自家」という用語は、後で再導入する個体と同じ個体に由来する任意の材料を指す。

【0068】

「キメラ抗原受容体」または「CAR」という用語は、本明細書で使用される場合、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、ならびに、任意に、細胞を活性化する活性化シグナル及び／または共刺激シグナルを伝播する細胞内ドメインを含む組み換えポリペプチド構築物を指す。いくつかの実施形態において、CARは、CAR融合タンパク質のN末端に任意のリーダー配列を含む。いくつかの実施形態において、CARは、細胞内（例えば、シグナル伝達）ドメインが欠如している。細胞、例えば、免疫細胞の表面上におけるCARの発現は、細胞が特定の抗原を標的とし、それに結合することを可能にする。いくつかの態様において、CARは、免疫細胞、例えば、 $\alpha\beta$  T細胞、 $\gamma\delta$  T細胞、またはNK細胞によって発現される。いくつかの態様において、抗原結合ドメインは、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、単鎖可変領域フラグメント（scFv）、単鎖抗体、VHH、vNAR、ナノボディ（シングルドメイン抗体）、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、CD8、CD4、またはCD28の膜貫通ドメインから選択される膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内ドメインは、共刺激ドメインまたはその部分を含む。いくつかの態様において、細胞内ドメインは、4-1BB共刺激ドメイン、CD3 $\zeta$ 、CD28共刺激ドメイン、CD27共刺激ドメイン、及びそれらの任意の組み合わせの細胞内ドメインからなる群から選択される共刺激ドメインを含む。CARは、「ヒンジ」または「スペーサー」ドメインをさらに含んでもよい。ヒンジ／スペーサードメインの非限定例としては、CD8ヒンジまたは免疫グロブリンヒンジ／スペーサードメイン、例えば、IgG1ヒンジドメイン、及びIgG2ヒンジドメイン、IgG3ヒンジドメイン、またはIgG4ヒンジドメインが挙げられる。

【0069】

本明細書で使用される用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、分子の細胞内部分を指す。細胞内シグナル伝達ドメインは、CARを含む細胞、例えば、本明細書に記載の抗RO1 CAR T細胞の免疫エフェクター機能を促進するシグナルを生じることができ

る。例えば、CAR T細胞の免疫エフェクター機能の非限定例としては、細胞溶解活性及びサイトカインの分泌を含む、ヘルパー活性が挙げられる。いくつかの態様において、細胞内シグナルドメインは、エフェクター機能シグナルを伝達し、特殊化した機能を細胞に実施するように促すタンパク質の部分である。

#### 【0070】

「相補性決定領域」または「CDR」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原特異性及び結合親和性を付与する抗原結合可変領域内のアミノ酸の配列を指す。例えば、一般に、各重鎖可変領域に3つのCDR（例えば、VH-CDR1、VH-CDR2、及びVH-CDR3）ならびに各軽鎖可変領域に3つのCDR（VL-CDR1、VL-CDR2、及びVL-CDR3）が存在する。所与のCDRの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (「Kabat」番号付けスキーム)、All-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948 (「Chothia」番号付けスキーム)によって示されているもの、またはそれらの組み合わせを含む、多くの周知のスキームのいずれかを使用して決定することができる。Kabat番号付けスキーム下で、いくつかの態様において、重鎖可変ドメイン(VH)内のCDRアミノ酸残基は、31~35 (VH-CDR1)、50~65 (VH-CDR2)、及び95~102 (VH-CDR3)と番号付けされ、軽鎖可変ドメイン(VL)内のCDRアミノ酸残基は、24~34 (VL-CDR1)、50~56 (VL-CDR2)、及び89~97 (VL-CDR3)と番号付けされる。Chothia番号付けスキームの下で、いくつかの態様において、VH内のCDRアミノ酸は、26~32 (VH-CDR1)、52~56 (VH-CDR2)、及び95~102 (VH-CDR3)と番号付けされ、VL内のCDRアミノ酸残基は、26~32 (VL-CDR1)、50~52 (VL-CDR2)、及び91~96 (VL-CDR3)と番号付けされる。KabatとChothiaとを合わせた番号付けスキームでは、いくつかの態様において、CDRは、Kabat CDR、Chothia CDR、またはその両方の一部であるアミノ酸残基に対応する。例えば、いくつかの態様において、CDRは、VH、例えば、哺乳動物VH、例えば、ヒトVH内のアミノ酸残基26~35 (VH-CDR1)、50~65 (VH-CDR2)、及び95~102 (VH-CDR3)、ならびにVL、例えば、哺乳動物VL、例えば、ヒトVL内のアミノ酸残基24~34 (VL-CDR1)、50~56 (VL-CDR2)、及び89~97 (VL-CDR3)に対応する。

#### 【0071】

いくつかの態様において、CARは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含み、抗原結合ドメイン及び膜貫通ドメインは、CARヒンジ/スペーサーによって連結される。いくつかの態様において、CARは、CARヒンジ/スペーサーにより膜貫通ドメインと連結された抗原結合ドメインならびに共刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、CARは、CARヒンジ/スペーサーにより膜貫通ドメインと連結された抗原結合ドメインならびに1つ以上の共刺激分子（複数可）由来の2つの機能的シグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、CARは、CARヒンジ/スペーサーにより膜貫通ドメインと連結された抗原結合ドメインならびに1つ以上の共刺激分子（複数可）由来の少なくとも2つの機能的シグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、CARは、CARのアミノ末端(N末端)に任意のリーダー配列を含む。いくつかの態様において、CARは、抗原結合ドメインのN末端にリーダー

配列をさらに含み、リーダー配列は、任意に、細胞プロセッシング及び細胞膜へのCARの局在化の間に抗原結合ドメイン（例えば、scFv）から切断される。

【0072】

本出願は、本開示の主題のさまざまな態様を説明するためにCARを使用することが多いが、本明細書で提供される関連する開示は、他のキメラの結合タンパク質にも同様に適用可能であることが当業者には明白であろう。本明細書で使用される場合、「キメラ結合タンパク質」という用語は、（例えば、抗原結合部分を含む）1つ以上の抗原に結合することができ、元は別々のタンパク質もしくはタンパク質のフラグメントまたは天然に生じない方向で連結された同じタンパク質の複数のフラグメントをコードする2つ以上の異種ポリヌクレオチドの連結により作製されるタンパク質を指す。他のキメラの結合タンパク質の非限定例としては、T細胞受容体（TCR）（例えば、操作されたTCR）、キメラ抗体-T細胞受容体（caTCR）、キメラシグナル伝達受容体（CSR）、T細胞受容体模倣物（TCR模倣物）、及びそれらの組み合わせが挙げられる。したがって、別段の指示がない限り、CARという用語は、いくつかの態様において、当該技術分野において既知の他の種類のキメラ結合タンパク質、例えば、本明細書に記載のものを包含することがある。

10

【0073】

本明細書で使用される場合、「親和性」という用語は、抗原または標的（例えば、エピトープ）の、その同族の結合ドメイン（例えば、パラトープ）との結合の強さの尺度を指す。本明細書で使用される場合、「アビディティ」という用語は、エピトープ及びパラトープ（すなわち、抗原及び抗原結合ドメイン）の集団間の複合体の全体的な安定性を指す。

20

【0074】

2つ以上の抗原結合部分に関する「同じエピトープに結合する」という用語は、抗原結合部分がアミノ酸残基の同じセグメントに結合することを意味する。「標的との結合に対して別の抗体と競合する」抗原結合部分は、標的との他の抗体の結合を（部分的または完全に）阻害する抗原結合部分を指す。

【0075】

本明細書で使用される場合、「特異的な結合」、「選択的な結合」、「選択的に結合する」、及び「特異的に結合する」という用語は、所定の抗原上のエピトープに結合する抗原結合部分（例えば、CAR）を指す。一般に、抗原結合部分（例えば、CAR）は、（i）標的ポリペプチドとして所定の抗原、例えば、ヒトメソテリン及びリガンドとしてCARを使用して、例えば、BIACORE（登録商標）2000装置において表面プラズモン共鳴（SPR）技術によって測定された場合に、およそ $10^{-7}$  M未満、例えば、およそ $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  Mまたは $10^{-10}$  M未満またはそれ以下の平衡解離定数（KD）で結合し、かつ（ii）所定の抗原または近縁の抗原以外の非特異的な抗原に対する結合の親和性よりも少なくとも2倍高い親和性で所定の抗原に結合する。したがって、「ヒトメソテリンに特異的に結合する」抗原結合部分（例えば、CAR）は、 $10^{-7}$  M以下、例えば、およそ $10^{-8}$  M未満、 $10^{-9}$  M未満、または $10^{-10}$  M未満のKDでヒトメソテリンに結合する抗原結合部分（例えば、CAR）を指す。

30

40

【0076】

本明細書で使用される場合、「操作された $\gamma\delta$  T細胞」という用語は、導入遺伝子（すなわち、操作された $\gamma\delta$  T細胞またはその親細胞に形質導入された遺伝子）を発現する $\gamma\delta$  T細胞を指す。

【0077】

本明細書で使用される場合、「刺激された $\gamma\delta$  T細胞」という用語は、培養条件によって影響を受けた開始集団（例えば、 $\gamma\delta$  T細胞の内在性集団）を指す。いくつかの例では、刺激された $\gamma\delta$  T細胞は、培養条件を経験する前の刺激されていないその対応物と比較して異なる機能的なウイルス侵入受容体プロファイルを有する。いくつかの実施形態において、刺激された $\gamma\delta$  T細胞の集団は、 $\gamma\delta$  T細胞の増殖集団である。

50

## 【0078】

本明細書で使用される場合、「 $\gamma\delta$ 細胞の増殖集団」は、 $\gamma\delta$ 細胞の増殖を引き起こす、すなわち、 $\gamma\delta$ 細胞数を増加させる条件及び期間で培養された $\gamma\delta$  T細胞を含む造血細胞の集団を指す。同様に、「 $V\delta 1$  T細胞の増殖集団」は、本明細書で使用される場合、 $V\delta 1$  T細胞の増殖を引き起こす、すなわち、 $V\delta 1$ 細胞数を増加させる条件及び期間で培養された $V\delta 1$  T細胞を含む造血細胞の集団を指す。同様に、「 $V\delta 2$  T細胞の増殖集団」は、本明細書で使用される場合、 $V\delta 2$  T細胞の増殖を引き起こす、すなわち、 $V\delta 2$ 細胞数を増加させる条件及び期間で培養された $V\delta 2$  T細胞を含む造血細胞の集団を指す。

## 【0079】

本明細書で使用される場合、 $\gamma\delta$  T細胞の「集団」は、3つ以上の $\gamma\delta$  T細胞（例えば、少なくとも $10$ 、少なくとも $10^2$ 、少なくとも $10^3$ 、少なくとも $10^4$ 、少なくとも $10^5$ 、少なくとも $10^6$ 、少なくとも $10^7$ 、少なくとも $10^8$ 、少なくとも $10^9$ 、少なくとも $10^{10}$ 、少なくとも $10^{11}$ 、少なくとも $10^{12}$ 、または少なくとも $10^{13}$ ） $\gamma\delta$  T細胞（例えば、操作された $\gamma\delta$  T細胞）の群を指す。特定の細胞種の集団（例えば、内在性 $\gamma\delta$  T細胞の集団、刺激された $\gamma\delta$  T細胞の集団、または操作された $\gamma\delta$  T細胞の集団）は、その種類の細胞を指し、より広い集団内の異なる種類の細胞は指さない。例えば、 $10^8$ のT細胞の開始集団の細胞の10%が $\gamma\delta$  T細胞である場合、 $\gamma\delta$  T細胞の開始集団は $10^7$ である。

## 【0080】

本明細書で使用される場合、「アーマータンパク質」は、免疫細胞、例えば、NK細胞または $\gamma\delta$  T細胞（例えば、CARを発現する $\gamma\delta$  T細胞）によって発現されたときに、例えば、シグナル伝達（例えば、サイトカインシグナル伝達）により、免疫細胞、例えば、NK細胞もしくは $\gamma\delta$  T細胞の持続性及び／または増殖、及び／または標的細胞に対する免疫細胞、例えば、NK細胞もしくは $\gamma\delta$  T細胞の細胞傷害性を高めて、例えば、細胞持続性、細胞生存性、活性化及び他の所望の特性を向上させる導入遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。アーマータンパク質は、膜結合タンパク質または可溶性タンパク質であってもよい。例えば、アーマータンパク質としては、膜結合タンパク質、例えば、膜結合受容体（例えば、IL-15R（例えば、IL-15R $\beta$ 及びIL-15R $\alpha$ またはそのフラグメント）及び／またはIL-2R（例えば、IL-2R $\beta$ またはそのフラグメント）、 $\alpha\beta$  TCR、天然の細胞傷害性受容体（例えば、Nkp30、Nkp44、またはNkp46）、サイトカイン受容体（例えば、IL-12受容体）、及び／またはケモカイン受容体（例えば、CCR2受容体）、及び／または膜結合リガンドもしくはサイトカイン（例えば、膜結合IL-15、膜結合IL-7、膜結合CD40L、膜結合4-1BB、膜結合4-1BBL、膜結合CCL19）が挙げられる。さらに、またはあるいは、アーマータンパク質は、可溶性タンパク質、例えば、可溶性リガンドまたはサイトカイン（例えば、可溶性IL-15、可溶性IL-7、可溶性IL-12、可溶性CD40L、可溶性4-1BBL、及び／または可溶性CCL19）であってもよい。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、抗原特異的ではない。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-2R $\beta$ ポリペプチドまたはそのフラグメントを含む。いくつかの態様において、IL-2R $\beta$ ポリペプチドは、組み換えポリペプチドである。いくつかの態様において、IL-2R $\beta$ ポリペプチドは、IL-2R $\alpha$ を伴わず、IL-15につながれて発現される。いくつかの態様において、IL-2R $\beta$ ポリペプチドは、IL-2R $\alpha$ を伴わず、IL-15につながれずに発現される。

## 【0081】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、2つのポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、融合された、すなわち、連続したポリペプチドとして2つのポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、結合して二量体を形成する2つのポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、(i) IL-15R $\alpha$ 及びIL-15を含む融合タンパク質ならびに（

10

20

30

40

50

i i) IL-2R $\beta$ を含む二量体を含む。

【0082】

本明細書で使用される場合、「IL-15」は、天然または組み換えIL-15または1つ以上のIL-15受容体(IL-15R)サブユニットに対するアゴニストとして働く等長部分に対して少なくとも70% (例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、例えば、少なくとも85%) の配列同一性を有するそのバリエーション(例えば、その変異タンパク質、類似体、サブユニット、受容体複合体、フラグメント、アイソフォーム、及びペプチド模倣物)を指す。IL-15は、IL-2と同様に、IL-2依存性細胞株、CTLL-2の増殖を補助することができる既知のT細胞増殖因子である。IL-15は、Grabstein et al. (Science 264, 5161:965-969, 1994) によって114アミノ酸の成熟タンパク質として最初に報告された。「IL-15」という用語は、本明細書で使用される場合、天然または組み換えIL-15及びその変異タンパク質、類似体、サブユニット、またはその複合体(例えば、PCT公報第WO2007/046006号に記載されている受容体複合体、例えば、sushiペプチド)を意味し、これらの各々が、CTLL-2細胞の増殖を刺激することができる。CTLL-2増殖アッセイでは、組み換え発現前駆体でトランスフェクトされた細胞の上清及び成熟形態のIL-15のインフレーション融合物は、CTLL-2細胞増殖を誘導することができる。本明細書で使用される場合、「mbIL-15」という用語は、IL-15につながれた膜結合IL-15R $\alpha$ を指す(例えば、図17Aを参照)。

10

20

【0083】

ヒトIL-15は、Grabstein et al. (Science 264, 5161:965-969, 1994) によって記載されている手順に従って、またはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)などの従来の手順によって得ることができる。ヒトIL-15 cDNAの寄託は、1993年2月19日にATCC(登録商標)で行われ、受託番号69245が割り当てられた。

【0084】

ヒトIL-15のアミノ酸配列(遺伝子ID3600)は、Genbankにおいて受託番号NP000576.1 GI: 10835153(アイソフォーム1)及びNP\_751915.1 GI: 26787986(アイソフォーム2)として見出される。マウス(Mus musculus)IL-15アミノ酸配列(遺伝子ID16168)は、Genbankにおいて受託番号NP\_001241676.1 GI: 363000984として見出される。

30

【0085】

IL-15はまた、例えば、ヒト、類人猿、ウシ、ブタ、ウマ、及びマウスを含む、さまざまな哺乳動物種由来のIL-15も指す場合もある。IL-15「変異タンパク質」は、本明細書で言及される場合、1つ以上のアミノ酸欠失、挿入、及び／または置換のため、天然の哺乳動物IL-15ポリペプチドとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。バリエーションは、保存的置換配列を含んでもよく、これは、所与のアミノ酸残基が類似の生理化学的特性を有する残基によって置換されていることを意味する。保存的置換の例としては、1つの脂肪族残基を別の残基に置換すること、例えば、Ile、Val、Leu、もしくはAlaを互いに置換すること、または1つの極性残基を別の残基に置換すること、例えば、LysとArg、GluとAspまたはGlnとAsnの間で置換することが挙げられる。他のそのような保存的置換、例えば、類似の疎水性特性を有する全領域の置換がよく知られている。天然に存在するIL-15バリエーションも、本発明に包含される。そのようなバリエーションの例は、選択的mRNAスプライシング事象またはIL-15タンパク質のタンパク質分解切断の結果生じるタンパク質であり、この場合、IL-15結合特性は保持される。mRNAの選択的スプライシングにより、切断型であるが生物学的に活性なIL-15タンパク質を得ることができる。タンパク質分解に起因する変異としては、例えば、IL-15タンパク質からの1つ以上の末端アミノ酸(一般に1

40

50

～10アミノ酸)のタンパク質分解除去による、異なるタイプの宿主細胞における発現時のN末端またはC末端の差が挙げられる。いくつかの実施形態において、タンパク質の末端は、例えば、ポリエチレングリコールなどの化学基で修飾して、その物理的特性を変えることができる(Yang et al. Cancer 76:687-694, 1995)。いくつかの実施形態において、タンパク質の末端または内部が、追加のアミノ酸で修飾されてもよい(Clark-Lewis et al. PNAS 90:3574-3577, 1993)。

#### 【0086】

本明細書で使用される場合、「IL-2受容体βサブユニット」、「IL-2Rβ」、「IL-15受容体βサブユニット」及び「IL-15Rβ」は、天然または組み換えIL-15Rβまたは1つ以上のIL-2もしくはIL-15に対する受容体として働く等長部分に対して少なくとも70%(例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、例えば、少なくとも85%)の配列同一性を有するそのバリエーション(例えば、その変異タンパク質、類似体、フラグメント、アイソフォーム、及びペプチド模倣物)を指す。IL-15Rβは、完全長及びそのフラグメントを含む。IL-15Rβとしても知られているIL-2Rβは、IL-2依存性細胞株、CTLL-2の増殖を補助することができる既知のT細胞増殖因子受容体である。IL-2Rβは、551アミノ酸の成熟タンパク質である。「IL-15Rβ」という用語は、本明細書で使用される場合、天然または組み換えIL-2Rβ及びその変異タンパク質、類似体、サブユニット、またはその複合体を意味する。

#### 【0087】

ヒトIL-2Rβ(遺伝子ID3560)のアミノ酸配列は、Genbankにおいて受託番号NP\_000869、NP\_001333151、及びNP\_001333152として見出される。マウス(Mus musculus)IL-2Rβアミノ酸配列(遺伝子ID16185)は、Genbankにおいて受託番号NP\_032394として見出される。

#### 【0088】

IL-15Rβはまた、例えば、ヒト、類人猿、ウシ、ブタ、ウマ、及びマウスを含む、さまざまな哺乳動物種由来のIL-15Rβも指す場合がある。IL-15Rβ「変異タンパク質」は、本明細書で言及される場合、1つ以上のアミノ酸欠失、挿入、及び／または置換のため、天然の哺乳動物IL-15Rβポリペプチドとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。バリエーションは、保存的置換配列を含んでもよく、これは、所与のアミノ酸残基が類似の生理化学的特性を有する残基によって置換されていることを意味する。保存的置換の例としては、1つの脂肪族残基を別の残基に置換すること、例えば、Ile、Val、Leu、もしくはAlaを互いに置換すること、または1つの極性残基を別の残基に置換すること、例えば、LysとArg、GluとAspまたはGlnとAsnの間で置換することが挙げられる。他のそのような保存的置換、例えば、類似の疎水性特性を有する全領域の置換がよく知られている。天然に存在するIL-15Rβバリエーションも、本発明に包含される。そのようなバリエーションの例は、選択的mRNAスプライシング事象またはIL-15Rβタンパク質のタンパク質分解切断の結果生じるタンパク質であり、この場合、IL-15Rβ結合特性は保持される。mRNAの選択的スプライシングにより、切断型であるが生物学的に活性なIL-15Rβタンパク質を得ることができる。タンパク質分解に起因する変異としては、例えば、IL-15Rβタンパク質からの1つ以上の末端アミノ酸(一般に1～10アミノ酸)のタンパク質分解除去による、異なるタイプの宿主細胞における発現時のN末端またはC末端の差が挙げられる。

#### 【0089】

本明細書で使用される場合、「IL-15受容体αサブユニット」及び「IL-15Rα」は、天然または組み換えIL-15RαまたはIL-15の受容体として働くそのバリエーション(例えば、その変異タンパク質、類似体、フラグメント、アイソフォーム、及びペプチド模倣物)を指す。IL-15Rαは、完全長及びそのフラグメントを含む。IL

IL-15R $\alpha$ は、既知のT細胞増殖因子受容体である。IL-15R $\alpha$ は、267アミノ酸の成熟タンパク質である。「IL-15R $\alpha$ 」という用語は、本明細書で使用される場合、天然または組み換えIL-15R $\alpha$ 及びその変異タンパク質、類似体、サブユニット、またはその複合体を意味する。IL-15R $\alpha$ のフラグメントとしては、可溶性フラグメント、例えば、PCT公報第WO2007/046006号に記載されているsushiペプチドが挙げられる。可溶性フラグメント（例えば、sushiペプチド、例えば、IL-15R $\alpha$ の残基31～95を含むフラグメントまたは等長部分に対して少なくとも70%（例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、例えば、少なくとも85%）の配列同一性を有するそのバリエーション）はまた、その変異タンパク質、類似体、フラグメント、アイソフォーム、及びペプチド模倣物も含む。いくつかの実施形態において、可溶性フラグメントは、Fcドメインに結合させられ、例えば、Fc-sushiまたはsushi-Fcである。

10

#### 【0090】

ヒトIL-15R $\alpha$ （遺伝子ID3601）のアミノ酸配列は、Genbankにおいて受託番号NP\_001230468、NP\_001243694、NP\_002180、NP\_751950、及びNP\_001338024として見出される。マウス（Mus musculus）IL-15R $\alpha$ アミノ酸配列（遺伝子ID16169）は、Genbankにおいて受託番号NP\_001258426として見出される。

#### 【0091】

IL-15R $\alpha$ はまた、例えば、ヒト、類人猿、ウシ、ブタ、ウマ、及びマウスを含む、さまざまな哺乳動物種由来のIL-15R $\alpha$ も指す場合がある。IL-15R $\alpha$ 「変異タンパク質」は、本明細書で言及される場合、1つ以上のアミノ酸欠失、挿入、及び／または置換のため、天然の哺乳動物IL-15R $\alpha$ ポリペプチドとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。バリエーションは、保存的置換配列を含んでもよく、これは、所与のアミノ酸残基が類似の生理化学的特性を有する残基によって置換されていることを意味する。保存的置換の例としては、1つの脂肪族残基を別の残基に置換すること、例えば、Ile、Val、Leu、もしくはAlaを互いに置換すること、または1つの極性残基を別の残基に置換すること、例えば、LysとArg、GluとAspまたはGlnとAsnの間で置換することが挙げられる。他のそのような保存的置換、例えば、類似の疎水性特性を有する全領域の置換がよく知られている。天然に存在するIL-15R $\alpha$ バリエーションも、本発明に包含される。そのようなバリエーションの例は、選択的mRNAスプライシング事象またはIL-15R $\alpha$ タンパク質のタンパク質分解切断の結果生じるタンパク質であり、この場合、IL-15R $\alpha$ 結合特性は保持される。mRNAの選択的スプライシングにより、切断型であるが生物学的に活性なIL-15R $\alpha$ タンパク質を得ることができる。タンパク質分解に起因する変異としては、例えば、IL-15R $\alpha$ タンパク質からの1つ以上の末端アミノ酸（一般に1～10アミノ酸）のタンパク質分解除去による、異なるタイプの宿主細胞における発現時のN末端またはC末端の差が挙げられる。いくつかの実施形態において、タンパク質の末端は、例えば、ポリエチレングリコールなどの化学基で修飾して、その物理的特性を変えることができる（Yang et al. Cancer 76:687-694, 1995）。いくつかの実施形態において、タンパク質の末端または内部が、追加のアミノ酸で修飾されてもよい（Clark-Lewis et al. PNAS 90:3574-3577, 1993）。

20

30

40

#### 【0092】

「ポリペプチド」は、少なくとも2つの連続して連結されたアミノ酸残基を含む鎖を指し、鎖の長さには上限はない。タンパク質の1つ以上のアミノ酸残基は、以下に限定されないが、グリコシル化、リン酸化、またはジスルフィド結合形成などの改変を含んでもよい。「タンパク質」は、1つ以上のポリペプチドを含んでもよい。

#### 【0093】

「メソテリン」または「CAK1抗原」という用語は、本明細書で使用される場合、細胞接着に関与するグリコシルホスファチジルイノシトールによってアンカーされた膜ポリ

50

ペプチドを指す（UNIPROT参照番号Q13421を参照）。メソテリンの過剰発現は、さまざまなタイプのがんで観察されており、それによりメソテリンがCAR-T療法の有望な標的になる。

【0094】

「核酸分子」という用語は、本明細書で使用される場合、DNA分子及びRNA分子を含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であってもよく、cDNAであってもよい。

【0095】

「保存的アミノ酸置換」とは、類似の側鎖を有するアミノ酸残基でアミノ酸残基を置換することを指す。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸が挙げられる。いくつかの態様において、メソテリン結合部分（例えば、抗メソテリンCAR）における予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーの別のアミノ酸残基で置換される。

【0096】

「テザー」または「つながれた」という用語は、本明細書で使用される場合、存在するとき、2つ以上のポリペプチド（例えば、IL-15Rαまたはそのフラグメント（例えば、sushiドメイン）及びIL-15またはそのバリエーション）を連結するポリペプチドを指す。一般に、テザーは、例えば、約1～100（例えば、5～50、5～30、5～20、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、または100）アミノ酸長であってもよい。いくつかの実施形態において、テザーは、高度に柔軟であり、グリシン（G）及び／またはセリン（S）残基を多く含む場合があり、GSリピートの形態で存在する場合もある。いくつかの実施形態において、テザーは、第1のタンパク質のC末端を第2のタンパク質のN末端に連結することができる。他の実施形態において、テザーは、第2のタンパク質のC末端を第1のタンパク質のN末端に結合させることができる。

【0097】

本明細書で使用される場合、「同一性パーセント（％）」という用語は、最大の同一性パーセントを実現するよう、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入した後（すなわち、最適なアラインメントのために候補配列及び参照配列の一方または両方にギャップが導入されてもよく、比較のために非相同配列を無視することができる）の、参照配列、例えば、野生型IL-15Rβポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列、例えば、VH、VL、またはIL-15Rβバリエーションのアミノ酸残基のパーセンテージを指す。同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、ALIGN、またはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当該技術分野の技術の範囲内にあるさまざまな方法で達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。いくつかの実施形態において、所与の参照配列に対する、所与の参照配列との、または所与の参照配列と比較した、所与の候補配列のアミノ酸配列同一性パーセント（あるいは、所与の参照配列に対して、所与の参照配列と、または所与の参照配列と比較して特定のアミノ酸配列同一性パーセントを有するか、または含む所与の候補配列と表現されることもある）は、以下のとおり算出される：

10

20

30

40

50

### 100×(A/Bの割合)

式中、Aは、候補配列と参照配列のアラインメントにおいて同一であると記録されたアミノ酸残基の数であり、Bは、参照配列中のアミノ酸残基の総数である。候補配列の長さが参照配列の長さとは等しくない、いくつかの実施形態では、参照配列に対する候補配列のアミノ酸配列同一性パーセントは、候補配列に対する参照配列のアミノ酸配列同一性パーセントとは等しくないであろう。

#### 【0098】

本明細書で使用される場合、「2Aペプチド」は、Xが任意のアミノ酸であるD×E×NPGPのコア配列モチーフを共有する18～22アミノ酸長のペプチドのクラスを指す。2Aペプチドは、口蹄疫ウイルス18 2A(F2A)ペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス2A(E2A)ペプチド、ブタテッショウウイルス-1 2A(P2A)ペプチド、またはゾセアアシグナ(thosea assigna) ウイルス2A(T2A)ペプチドであってもよい。

#### 【0099】

「自殺遺伝子」は、細胞に自身を殺傷させる遺伝子を指す。いくつかの態様において、自殺遺伝子は、アポトーシスにより細胞に自身を殺傷させる。自殺遺伝子の非限定例としては、ウイルスチミジンキナーゼ、シトシンデアミナーゼ、抗酸化酵素(AOE)に対する細胞内抗体、細菌ニトロレダクターゼ、カスパーゼ及びDNアーゼが挙げられる。

#### 【0100】

1つの態様において、自殺遺伝子は、ウイルスチミジンキナーゼ(TK)である。チミジンキナーゼは、デオキシチミジンをデオキシチミジン5'-リン酸に変換するATP-チミジン5'-ホスホトランスフェラーゼであり、デオキシチミジン5'-リン酸は、デオキシチミジン二リン酸に、その後、デオキシチミジン三リン酸に、それぞれウイルスチミジンキナーゼ及びヌクレオシド二リン酸キナーゼによってさらにリン酸化される。デオキシチミジン三リン酸は、DNAポリメラーゼによって合成DNA分子に組み込まれる。2'-デオキシグアノシンの合成類似体であるガンシクロビル(GCV)などのいくつかのdNTP類似体は、合成DNAへの取り込み時にDNA合成を終了させる能力を有する。合成の終結は、アポトーシスシグナルカスケードを誘発する。GCVはヒトチミジンキナーゼによって認識されないが、単純ヘルペスウイルス-1チミジンキナーゼ(HSV-TK)などの一部のウイルスチミジンキナーゼの基質として認識される。結果的に、HSV-TKを発現するヒト細胞は、GCVをGCVリン酸に変換し、それがさらにリン酸化され、合成DNAに組み込まれて、合成の終結及びアポトーシスに至る。HSV-TKのバリエーションは、限定されないが、HSV-TKは、例えば、TK007である(Preuss et al., Hum Gene Ther. 2010 Aug; 21(8): 929-41を参照)。

#### 【0101】

いくつかの態様において、自殺遺伝子は、シトシンデアミナーゼである。シトシンデアミナーゼは、シトシンをウラシルに加水分解し、アンモニアを放出する。生理学的条件では、修飾部位はエンドヌクレアーゼによって認識され、次いでDNA中のホホジエステル結合が破壊されて、新たなシトシンの組み込みによって修復が開始される。ただし、シトシンデアミナーゼは、5-フルオロシトシンを5-フルオロウラシル(5-FU)に変換することもできる。したがって、無毒性のプロドラッグ5-FCの提供時に、シトシンデアミナーゼは、それを高毒性の5-FU(チミジル酸シンターゼの自殺阻害剤)に変換して、細胞増殖の抑制及びアポトーシスをもたらす。

#### 【0102】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を輸送することが可能な核酸分子を指すように意図される。ベクターの一種は「プラスミド」であり、これは、追加のDNA断片がライゲーションされ得る環状二本鎖DNAループを指す。別の種類のベクターは、追加のDNA断片がウイルスゲノムにライゲーションされ得るウイルスベクターである。特定のベクターは、それらが導入されている宿主細胞内で自律複製

が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノム内に組み込まれ得、それによって宿主ゲノムとともに複製される。さらに、ある種のベクターは、それらが作動可能に連結された遺伝子の発現を誘導することができる。そのようなベクターは、本明細書において、「組み換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」）と称される。一般に、組み換えDNA技法において有用である発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。本明細書では、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドがベクターの最も一般的に使用される形態であるため、互換的に使用され得る。ただし、同等の機能を果たすウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス）などの他の形態の発現ベクターも含まれる。

10

#### 【0103】

「組み換え宿主細胞」（または単位「宿主細胞」）という用語は、本明細書で使用される場合、細胞内に天然には存在しない核酸を含む細胞を指すことが意図され、これは、組み換え発現ベクターが導入された細胞であり得る。当然のことながら、そのような用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の後代も指すことが意図される。変異または環境的影響のいずれかに起因して後続世代においてある特定の改変が生じる場合があるため、そのような後代は、実際には親細胞と同一ではない可能性があるが、本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語の範囲内に依然として含まれる。

#### 【0104】

「免疫応答」とは、当技術分野で理解されている通りであり、概して、外来の媒介物または異常なもの（例えば、がん性細胞）に対する脊椎動物内の生物学的応答を指し、この応答は、このような媒介物及びこれらによって引き起こされる疾患から生物を保護する。免疫応答は、免疫系の1つ以上の細胞（例えば、Tリンパ球、Bリンパ球、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、樹状細胞、または好中球）と、これらの細胞または肝臓により産生される可溶性の巨大分子（抗体、サイトカイン、及び補体を含む）との作用によって媒介され、この作用は、侵入病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん性細胞もしくは他の異常細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合には正常なヒト細胞もしくは組織の選択的標的化、結合、損傷、破壊、及び／または脊椎動物の体内からの排除をもたらす。免疫反応としては、例えば、T細胞（例えば、エフェクターT細胞、Th細胞、CD4+細胞、CD8+T細胞、もしくはTreg細胞）の活性化もしくは阻害、または免疫系の任意の他の細胞（例えば、NK細胞）の活性化もしくは阻害が挙げられる。

20

30

#### 【0105】

「免疫療法」は、免疫系または免疫応答を誘導、強化、抑制、または他の方法による改変を含む方法により、疾患に罹患している対象、または疾患が再発するか、もしくはそれに苦しむリスクがある対象を治療することを指す。

#### 【0106】

本明細書で使用される場合、対象の疾患または状態、例えば、がんを処置することと関連して使用されるとき「処置する」、「処置」、または「～の処置」という用語は、疾患病状の低減、疾患症状の低減もしくは除去、生存率の増加の促進、及び／または不快感の低減を指す。例えば、処置することは、対象に施されたときに1つ以上の疾患症状、徴候、または原因を低減する治療の能力を指すことができる。処置することはまた、1つ以上の臨床症状の軽減もしくは低減及び／または状態の進行の抑制もしくは遅延及び／または疾患もしくは病気の発症の予防もしくは遅延を指す。

40

#### 【0107】

本明細書で使用される場合、「がん」は、体内における異常な細胞の制御不能な増殖を特徴とする、疾患の広範な群を指す。制御不能な細胞分裂は、隣接する組織に侵入し、リンパ系または血流を介して体の遠隔部分に転移することがある悪性腫瘍または細胞を形成する可能性がある。

50

## 【0108】

本明細書で使用される場合、投与される治療物質、例えば、CARをコードするポリヌクレオチドを含む免疫細胞の「有効量」または「治療有効量」という用語は、具体的に明記されるか、または意図される目的、例えば、がんを処置することまたはがんの処置を行うのに十分な量である。「有効量」は、明記される目的に関する通常の手法で実験的に決定することができる。

## 【0109】

本明細書で使用される場合、「対象」、「個体」、または「患者」という用語は、診断、予後、または治療が所望される任意の対象、特に、哺乳動物対象を指す。哺乳動物対象としては、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、クマなどが挙げられる。

10

## 【0110】

本明細書で使用される場合、「ug」及び「uM」という用語は、それぞれ「μg」及び「μM」と互換的に使用される。

## 【0111】

本明細書に記載のさまざまな態様について、以下のサブセクションでさらに詳細に説明する。

## 【0112】

## II. 本開示の組成物

本開示のいくつかの態様は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合部分に関する。本開示のいくつかの態様は、キメラ抗原受容体(CAR)をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに関し、CARは、ヒトメソテリンに結合する抗原結合ドメインを含む。本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドを含む宿主細胞、例えば、免疫細胞、例えば、自然リンパ球細胞に関する。本開示のさらなる態様は、ポリヌクレオチド及び／または細胞を対象に投与することを含む、処置を必要とする対象を処置する方法に関する。

20

## 【0113】

本発明の第1の態様によれば、メソテリンに特異的な異種標的化構築物を含む、操作された自然リンパ球細胞が提供される。

## 【0114】

ヒト染色体16p.13.3に位置するMSLN遺伝子によってコードされるメソテリンは、中皮細胞によって発現される細胞表面糖タンパク質に結合した40kDaのグリコホスファチジルイノシトール(GPI)である。MSLN遺伝子は、アルギニン295(Arg295)で巨核球増強因子(MPF)と呼ばれる31KDの可溶性N末端タンパク質とメソテリンの2つの産物に切断される71KDの前駆体をコードする。

30

## 【0115】

一実施形態において、自然リンパ球細胞は、ナチュラルキラー(NK)細胞である。別の実施形態では、自然リンパ球細胞は、ガンマデルタ(γδ)T細胞である。別の実施形態において、γδT細胞は、Vd1+γδ細胞である。

## 【0116】

本明細書における「異種標的化構築物」の言及は、細胞によって通常発現されない任意の標的化構築物に関する。

40

## 【0117】

一実施形態において、異種標的化構築物は、キメラ抗原受容体(CAR)である。CARは、ペプチドリンカーによって融合された抗体可変重(VH)鎖及び可変軽(VL)鎖からなる単鎖可変フラグメント(scFv)から構成される。CARのこの抗原結合scFvは、細胞内CD3ζシグナル伝達ドメインに連結される。第1世代のCARはCD3ζのみを含むが、第2世代のキメラ抗原受容体は、CD28または4-1BBなどの追加のシグナル伝達ドメインを含む。複数の共刺激シグナル伝達モジュールを含む第3世代のCARも報告されている。

50

## 【0118】

別の実施形態において、CARは、完全長CARまたは非シグナル伝達CARである。本明細書における「完全長キメラ抗原受容体」または「完全長CAR」または「FL CAR」の言及は、細胞内シグナル伝達ドメインを含むCARに関する。本明細書における「非シグナル伝達キメラ抗原受容体」、「非シグナル伝達CAR」、「裸のキメラ抗原受容体」、「裸のCAR」または「NKD CAR」の言及は、一般にCARに存在する細胞内CD3シグナル伝達ドメインが欠如したCARに関する。

## 【0119】

別の実施形態において、CARは、武装化CARである。本明細書における「武装化キメラ抗原受容体」または「武装化CAR」の言及は、サイトカインを分泌するか、あるいは内在性免疫細胞、例えば、樹状細胞(DC)、マクロファージもしくは制御性T細胞(Treg細胞)を増強するか、またはそれらと相互作用することがわかっているリガンドを発現するように操作されたCAR細胞に関する。「アーマー」は、CARの細胞傷害性及び特異性を増強し、免疫抑制を回避し、宿主拒絶を避け、CAR治療半減期を延長することができる。

## 【0120】

## II. A. キメラ抗原受容体

本開示のいくつかの態様は、CARをコードする異種核酸を含む自然リンパ球細胞(例えば、血液または皮膚由来のVd1<sup>+</sup>γδ細胞)に関し、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、CARをコードする異種核酸分子を含む血液由来Vd1<sup>+</sup>γδ細胞であり、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む(例えば、抗原結合ドメインは、配列番号1~8、41~48のいずれかの配列を含む)。いくつかの態様において、細胞は、4-1BB及びCD3ゼータドメインをさらに含む。さらに別の態様において、細胞は、CARをコードする異種核酸を含むγδ T細胞を含むγδ T細胞の集団(例えば、血液または皮膚由来のVd1<sup>+</sup>γδ細胞の集団)に関し、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み(例えば、抗原結合ドメインは、配列番号1~8、41~48のいずれかの配列を含む)、γδ T細胞は、CD8膜貫通ドメインをさらに含む。さらに別の態様において、細胞は、CARをコードする異種核酸を含むγδ T細胞を含むγδ T細胞の集団(例えば、血液または皮膚由来のVd1<sup>+</sup>γδ細胞の集団)を対象とし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み(例えば、抗原結合ドメインは、配列番号1~8、41~48のいずれかの配列を含む)、γδ T細胞は、(a) IL-15R-ベータまたは(b) (i) IL-15につながれたIL-15R-アルファもしくはそのバリエーション及び(ii) IL-15R-ベータをさらに含む。別の態様において、本明細書に記載のγδ T細胞は、CARをコードする異種核酸を含み、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み(例えば、抗原結合ドメインは、配列番号1~8、41~48のいずれかの配列を含む)、4-1BB及びCD3ゼータドメイン及び／またはCD8膜貫通ドメインならびに(a) IL-15R-ベータまたは(b) (i) IL-15につながれたIL-15R-アルファもしくはそのバリエーション及び(ii) IL-15R-ベータをさらに含んでもよい。いくつかの態様において、IL-2Rβポリペプチドは、IL-2Rαを伴わず、IL-15につながれて発現される。いくつかの態様において、IL-15Rβポリペプチドは、IL-2Rαを伴わず、IL-15につながれずに発現される。

## 【0121】

いくつかの態様において、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインは、可変重(VH)相補性決定領域-1(CDR1)、VH-CDR2、VH-CDR3、可変軽鎖(VL)CDR-1、VL-CDR2、及びVL-CDR3を含む。いくつかの態様において、VH-CDR3は、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、VH-CDR2は、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、VH-CDR1は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様

において、 $V L-C D R 1$  は、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、 $V L-C D R 2$  は、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、 $V L-C D R 3$  は、配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む。

【0122】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、 $C A R$  をコードする異種核酸分子を含む血液由来  $V d 1^{+} \gamma \delta$  細胞であり、 $C A R$  は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、 $C A R$  は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む  $V H-C D R 1$  ; 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む  $V H-C D R 2$  ; 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む  $V H-C D R 3$  ; 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む  $V L-C D R 1$  ; 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む  $V L-C D R 2$  ; 及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む  $V L-C D R 3$  を含む。

10

【0123】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、 $C A R$  をコードする異種核酸分子を含む血液由来  $V d 1^{+} \gamma \delta$  細胞であり、 $C A R$  は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、 $C A R$  は、(i) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75 %、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 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む  $V H$ 、(ii) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75 %、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 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む  $V L$ 、または (iii) (i) 及び (ii) の両方を含む。

20

【0124】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、 $C A R$  をコードする異種核酸分子を含む血液由来  $V d 1^{+} \gamma \delta$  細胞であり、 $C A R$  は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、 $C A R$  は、(i) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む  $V H$ 、(ii) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む  $V L$ 、または (iii) (i) 及び (ii) の両方を含む。

【0125】

いくつかの態様において、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインは、P 4 抗原結合ドメイン (表 1) を含む。

30

【0126】

40

50

【表 1】

表 1：抗原結合ドメインアミノ酸配列

|         |                                                                                                                                                     |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P4      |                                                                                                                                                     |
| HC-CDR1 | GDSVSSNSAT (配列番号 1)                                                                                                                                 |
| HC-CDR2 | TYYRSKWYN (配列番号 2)                                                                                                                                  |
| HC-CDR3 | ARGMMTTYYYGMDV (配列番号 3)                                                                                                                             |
| LC-CDR1 | SGINVGPIYR (配列番号 4)                                                                                                                                 |
| LC-CDR2 | YKSDSDK (配列番号 5)                                                                                                                                    |
| LC-CDR3 | MIWHSSAAV (配列番号 6)                                                                                                                                  |
| VH      | QVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGR<br>TYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARG<br>MMTTYYYGMDVWGQGTITVTVSSGILGS (配列番号 7) |
| VL      | QPVLTQSSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIYRIYWYQQKPGSPQYLLNYK<br>SDSDKQQSGVPSRFSKSDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAA<br>VFGGGTQLTVLS (配列番号 8)                  |
| YP218   |                                                                                                                                                     |
| HC-CDR1 | FYFYAC (配列番号 41)                                                                                                                                    |
| HC-CDR2 | CIYTAGSGSTYYASWAKG (配列番号 42)                                                                                                                        |
| HC-CDR3 | TANTRSTYYLNLW (配列番号 43)                                                                                                                             |
| LC-CDR1 | ASQRISSYLS (配列番号 44)                                                                                                                                |
| LC-CDR2 | GASTLAS (配列番号 45)                                                                                                                                   |
| LC-CDR3 | SYAYFDSNNWHAF (配列番号 46)                                                                                                                             |
| VH      | MEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAASGFDLGFYFYACWVRQAPGKGLEWV<br>SCIYTAGSGSTYYASWAKGRFTISRDNSTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR<br>STANTRSTYYLNLWGQGTITVTV (配列番号 47)      |
| VL      | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQRISSYLSWYQQKPGKVPKLLIYGAST<br>LASGVPSRFSKSGSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQSYAYFDSNNWHAFGGG<br>TKVEI (配列番号 48)                     |

10

20

30

## 【0127】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、CARをコードする異種核酸分子を含む血液由来  $V\delta 1 + \gamma\delta$  細胞であり、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1；配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2；配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3；配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1；配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2；及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む。

40

## 【0128】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、CARをコードする異種核酸分子を含む血液由来  $V\delta 1 + \gamma\delta$  細胞であり、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、(i) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75%、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%、もしくは少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH、(ii) 配列番号 48 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 75%、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 %、もしくは少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL、または ( i i i ) ( i ) 及び ( i i ) の両方を含む。

【 0 1 2 9 】

いくつかの態様において、自然リンパ球細胞は、CAR をコードする異種核酸分子を含む血液由来 V d 1 + γ δ 細胞であり、CAR は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CAR は、( i ) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む VH、( i i ) 配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む VL、または ( i i i ) ( i ) 及び ( i i ) の両方を含む。

【 0 1 3 0 】

#### II. A. 1. ヒンジ領域

いくつかの態様において、CAR は、メソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと膜貫通ドメインの間にヒンジ領域をさらに含む。いくつかの態様において、ヒンジは、免疫グロブリン由来（例えば、ヒンジ領域またはループ領域由来）である。特定の態様において、これらのヒンジは、例えば、I g A 1、I g A 2、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g D、I g E、もしくは I g M ヒンジ領域、それらのフラグメント（単独または追加の配列、例えば、C H 1 もしくは C H 2 領域の配列によってキャッピングされた）、または I g A 1、I g A 2、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g D、I g E、もしくは I g M ヒンジ領域のフラグメントの組み合わせを含む。いくつかの態様において、ヒンジは、例えば、I g A 1、I g A 2、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g D、I g E、もしくは I g M 定常ドメインループ領域、それらのフラグメント（単独または例えば、隣接する β 鎖からの追加の配列によってキャッピングされた）、または I g A 1、I g A 2、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g D、I g E、もしくは I g M ループ領域のフラグメントの組み合わせを含む。いくつかの態様において、本開示のヒンジは、ヒンジ領域由来の配列、ループ領域由来の配列、またはそれらの組み合わせを含む。

【 0 1 3 1 】

いくつかの態様において、ヒンジ領域は、C D 8 ヒンジ、C D 2 8 ヒンジ、及び免疫グロブリンヒンジから選択される。いくつかの態様において、ヒンジは、C D 8 ヒンジを含む。いくつかの態様において、CAR は、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジを含む（表 2）。

【 0 1 3 2 】

【表 2】

表 2：CAR 配列

| エレメント               | アミノ酸配列                                                                                                                                 |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ヒンジ領域(CD8)          | TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL<br>(配列番号 9)                                                                                   |
| TM ドメイン(CD8)        | DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (配列番号 10)                                                                                                |
| 共刺激領域(4-1BB)        | KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL<br>(配列番号 11)                                                                                |
| 細胞内シグナル伝達ドメイン(CD3z) | RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPR<br>RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT<br>YDALHMQALPPR<br>(配列番号 12) |

## 【0133】

したがって、いくつかの態様において、本開示は、CAR（またはCARをコードするポリヌクレオチド）を提供し、CARは、（i）メソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗メソテリンscFv）、（ii）CD8のヒンジ領域を含むヒンジ領域、（iii）膜貫通ドメイン、及び（iv）細胞内ドメインを含む。いくつかの態様において、本開示は、CAR（またはCARをコードするポリヌクレオチド）を提供し、CARは、（i）メソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗メソテリンscFv）、（ii）配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域、（iii）膜貫通ドメイン、及び（iv）細胞内ドメインを含む。

## 【0134】

10

## II. A. 2. 膜貫通ドメイン

いくつかの態様において、CARは、膜貫通ドメインをさらに含む。膜貫通ドメインは、天然源、または組み換え源のいずれかに由来してもよい。供給源が天然の場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質または膜貫通タンパク質由来であってもよい。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、本開示のCARが標的に結合した場合は常に、細胞内ドメイン（複数可）にシグナル伝達することができる。

## 【0135】

いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、例えば、CD8、KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1（CD11a、CD18）、ICOS（CD278）、4-1BB（CD137）、GITR、CD40、BAFFR、HVEM（LIGHTR）、SLAMF7、Nkp80（KLRF1）、Nkp44、Nkp30、Nkp46、CD160、CD19、IL2Rベータ、IL2Rガンマ、IL7R $\alpha$ 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1（CD226）、SLAMF4（CD244、2B4）、CD84、CD96（Tactile）、CEACAM1、CRTAM、Ly9（CD229）、CD160（BY55）、PSGL1、CD100（SEMA4D）、SLAMF6（NTB-A、Ly108）、SLAM（SLAMF1、CD150、IPO-3）、BLAME（SLAMF8）、SELP LG（CD162）、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C、またはCD19の少なくとも膜貫通領域（複数可）を含んでもよい。

20

30

## 【0136】

いくつかの態様において、TMDメインは、CD8、CD2、CD4、CD28、CD45、PD1、CD152、またはそれらの任意の組み合わせ由来である。いくつかの態様において、TMDメインは、CD8由来である。

## 【0137】

いくつかの態様において、TMDメインは、配列番号10と少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の態様において、TMDメインは、配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む。

40

## 【0138】

## II. A. 3. 共刺激ドメイン

いくつかの態様において、CARは、共刺激ドメインをさらに含む。いくつかの態様において、共刺激ドメインは、4-1BB/CD137、インターロイキン-2受容体（IL-2R）、インターロイキン-12受容体（IL-12R）、IL-7、IL-21、IL-23、IL-15、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD27、CD28、CD30、CD40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、LIGHT、NKG2C、OX40、DAP10、B7-H3、Lck結合が欠如したCD28

50

(ICA)、BTLA、GITR、HVEM、LFA-1、LIGHT、NKG2C、PD-1、TILR2、TILR4、TILR7、TILR9、Fc受容体ガンマ鎖、Fc受容体ε鎖、CD83と特異的に結合するリガンドの共刺激ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、CARは、4-1BB共刺激ドメインを含む。

#### 【0139】

いくつかの態様において、共刺激ドメインは、配列番号11と少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の態様において、TMドメインは、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0140】

##### II. A. 4. 細胞内シグナル伝達ドメイン

いくつかの態様において、CARは、細胞内シグナル伝達ドメインをさらに含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ活性化ドメイン、CD3δ活性化ドメイン、CD3ε活性化ドメイン、CD3η活性化ドメイン、CD79A活性化ドメイン、DAP12活性化ドメイン、FCER1G活性化ドメイン、DAP10/C D28活性化ドメイン、ZAP70活性化ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ζ活性化ドメインを含む。

20

#### 【0141】

いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号12と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号12に記載の配列を含む。

#### 【0142】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、共刺激ドメインをさらに含む。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

30

#### 【0143】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号10と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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

40

50

も約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iii) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iii) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、共刺激ドメインをさらに含む。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

10

#### 【0144】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 配列番号 11 と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

20

30

#### 【0145】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) ヒンジ領域と；(iii) 膜貫通ドメインと；(iv) 共刺激ドメインと；(v) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原

40

50

結合ドメインと；（i i）配列番号 9 と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（i i i）膜貫通ドメインと；（i v）共刺激ドメインと；（v）CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CAR は、（i）配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（i i）配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（i i i）膜貫通ドメインと；（i v）共刺激ドメインと；（v）CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

10

#### 【0146】

いくつかの態様において、CAR は、（i）配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（i i）CD8 ヒンジ領域と；（i i i）CD8 膜貫通ドメインと；（i v）4-1BB 共刺激ドメインと；（v）CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

20

#### 【0147】

いくつかの態様において、CAR は、（i）配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（i i）配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と；（i i i）配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと；（i v）配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；（v）配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

30

40

#### 【0148】

いくつかの態様において、CAR は、（i）配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（i i）配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（i i i）配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、（i v）配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；（v）配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

50

## 【0149】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) CD8ヒンジ領域と；(iii) CD8膜貫通ドメインと；(iv) 4-1BB共刺激ドメインと；(v) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

## 【0150】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号7に記載のアミノ酸配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、及び配列番号8に記載のアミノ酸配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号9と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(iii) 配列番号10に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iv) 配列番号11に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；(v) 配列番号12に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

## 【0151】

いくつかの態様において、CARは、(i) ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインであって、CARは、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む、抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(iii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iv) 配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(v) 配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

## 【0152】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号8に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) CD8ヒンジ領域と；(iii) CD8膜貫通ドメインと；(iv) 4-1BB共刺激ドメインと；(v) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

## 【0153】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、共刺激ドメインをさらに含む

。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

【0154】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号10と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iii) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iii) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、共刺激ドメインをさらに含む。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

【0155】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 配列番号11と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に

結合する抗原結合ドメインと；(i i) 膜貫通ドメインと；(i i i) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(i v) CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、ヒンジ領域をさらに含む。

#### 【0156】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) ヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0157】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) CD8 ヒンジ領域と；(i i i) CD8 膜貫通ドメインと；(i v) 4-1BB 共刺激ドメインと；(v) CD3 $\zeta$ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0158】

いくつかの態様において、CARは、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と；(i i i) 配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なく

とも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと；(iv) 配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；(v) 配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0159】

いくつかの態様において、CAR は、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(iii) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、(iv) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(v) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0160】

いくつかの態様において、CAR は、(i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) CD8 ヒンジ領域と；(iii) CD8 膜貫通ドメインと；(iv) 4-1BB 共刺激ドメインと；(v) CD3ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0161】

いくつかの態様において、CAR は、(i) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH、及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号 9 と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(iii) 配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iv) 配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；(v) 配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0162】

いくつかの態様において、CAR は、(i) ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインであって、CAR は、配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む VH 及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む VL を含む、抗原結合ドメインと；(ii) 配列番

号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（i i i）配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；（i v）配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；（v）配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0163】

いくつかの態様において、CAR は、（i）配列番号 47 に記載のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（i i）C D 8 ヒンジ領域と；（i i i）C D 8 膜貫通ドメインと；（i v）4-1 B B 共刺激ドメインと；（v）C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

10

【0164】

I I . A . 4 . 武装化

いくつかの態様において、本明細書で開示される改変された免疫細胞（例えば、本開示の CAR を発現する NK 細胞または  $\gamma \delta$  T 細胞）は、アーマータンパク質をさらに発現する。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、アーマータンパク質を発現しない同様に改変された免疫細胞と比較して、改変された免疫細胞の持続性を高める。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、アーマータンパク質を発現しない同様に改変された免疫細胞と比較して、改変された免疫細胞の増殖を増加させる。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、アーマータンパク質を発現しない同様に改変された免疫細胞と比較して、改変された免疫細胞の細胞傷害性を高める。

20

【0165】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、膜結合ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、膜結合受容体を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、I L-15 R（例えば、I L-15 R  $\beta$  及び I L-15 R  $\alpha$ ）を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、I L-2 R（例えば、I L-2 R  $\beta$ ）を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、 $\alpha \beta$  T C R を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、天然の細胞傷害性受容体（例えば、N K p 30、N K p 44、または N K p 46）を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、サイトカイン受容体（例えば、I L-12 受容体）を含む。いくつかの態様において、膜結合受容体は、ケモカイン受容体（例えば、C C R 2 受容体）を含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、膜結合リガンドまたはサイトカインを含む。いくつかの態様において、膜結合リガンドまたはサイトカインは、膜結合 I L-15、膜結合 I L-7、膜結合 C D 40 L、膜結合 4-1 B B、膜結合 4-1 B B L、膜結合 C C L 19、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

30

【0166】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、可溶性ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、可溶性タンパク質は、可溶性リガンドを含む。いくつかの態様において、可溶性タンパク質は、サイトカインを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、可溶性 I L-15、可溶性 I L-7、可溶性 I L-12、可溶性 C D 40 L、可溶性 4-1 B B L、可溶性 C C L 19、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

40

【0167】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、膜結合ポリペプチド及び可溶性ポリペプチドを含む。

【0168】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、I L-2 R  $\beta$  ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む（表 3）。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、配列番号 15 に記載のアミノ酸

50

配列を含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、シグナルペプチドをさらに含み、シグナルペプチドは、翻訳後に切断される。任意のシグナルペプチドが使用されてもよい。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-2R $\beta$ ポリペプチドを含み、アーマータンパク質は、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドまたはIL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む構築物を含まない。

【0169】

【表3】

表3：武装タンパク質

| 武装タンパク質         | 配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IL-2R $\beta$   | AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWPDRRRWNQT<br>CELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQ<br>DFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLS<br>PGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSP<br>WSQPLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFILVYLLINCRNTGP<br>WLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSFPSSSFSPGGLAPEIS<br>PLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFHLPDAL<br>EIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPS<br>RDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLG<br>PPTPGVPDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFR<br>ALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPHTLV (配列番号 15) | 10 |
| IL-15           | NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVI<br>SLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQS<br>FVHIVQMFINTS (配列番号 16)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 20 |
| IL-15R $\alpha$ | ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKA<br>TNVAHWTTPSLKCIKDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA<br>ASSPSSNNTAATTAAIVPGSQLMPSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAK<br>NWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSR<br>QTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLNCSHHL (配列番号 17)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 30 |
| P2A リンカー        | GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号 18)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGS (配列番号 19)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGGS (配列番号 20)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGSGGGGS (配列番号 21)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 22)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 23)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 40 |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (配列番号 24)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
| Gly-Ser リンカー    | GGGGSGGGSGGGGS (配列番号 25)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |

【0170】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-15ポリペプチドにつながれ

10

20

30

40

50

た I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む構築物を含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、( i ) I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド及び ( i i ) I L - 1 5 ポリペプチドにつながれた I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、( i ) I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド及び ( i i ) I L - 1 5 ポリペプチドにつながれた I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む構築物を含む。

【 0 1 7 1 】

いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 1 7 に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、シグナルペプチド配列を含む。

10

【 0 1 7 2 】

いくつかの態様において、I L - 1 5 ポリペプチドは、配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L - 1 5 ポリペプチドは、配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L - 1 5 ポリペプチドは、シグナルペプチド配列を含む。

20

【 0 1 7 3 】

いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、リンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、リンカーは、1 つ以上のペプチド結合を含む。いくつかの態様において、リンカーは、ペプチドリンカーを含む。いくつかの態様において、ペプチドリンカーは、柔軟なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、剛直なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、切断可能なリンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、G l y - S e r リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、配列 G G G S、G G G S ( 配列番号 1 9 )、またはそれらの組み合わせの 1 つ以上のリピートを含む。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 0 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 1 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 2 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。いくつかの態様において、I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列を含むリンカーによって I L - 1 5 ポリペプチドにつながれている。

30

40

【 0 1 7 4 】

いくつかの態様において、I L - 1 5 ポリペプチドにつながれた I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む構築物は、N 末端から C 末端に以下の順序に従って配置される：( i ) N 末端、( i i ) I L - 1 5 ポリペプチド、( i i i ) 本明細書で開示されるペプチドリンカー ( 例えば、G G G S、G G G S ( 配列番号 1 9 ) を含むポリペプチド、またはそれらの組み合わせ )、( i v ) I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチド、( v ) C 末端。いくつかの態様において、I L - 1 5 ポリペプチドにつながれた I L - 1 5 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む構築物は、N 末端から C 末端に以下の順序に従って配置される：( i ) N 末端、( i i ) 配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列を含む I L - 1 5 ポリペプチド、( i i i ) 本明細書で開示

50

されるペプチドリinker（例えば、GGGS、GGGS（配列番号19）、またはそれらの組み合わせを含むポリペプチド）、（i v）配列番号17に記載のアミノ酸配列を含むIL-15R $\alpha$ ポリペプチド、（v）C末端。

#### 【0175】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、単一のポリペプチドとして発現される。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、（i）IL-2R $\beta$ ポリペプチド、（ii）リンカー、及び（iii）IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む単一のポリペプチドとして発現される。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、（i）IL-2R $\beta$ ポリペプチド、（ii）切断可能なリンカー、及び（iii）IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む単一のポリペプチドとして発現される。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、P2A配列を含む。いくつかの態様において、リンカーは、配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、（i）IL-2R $\beta$ ポリペプチド、（ii）配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカー、及び（iii）IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む単一のポリペプチドとして発現される。

10

#### 【0176】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、（i）配列番号15に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドと；（ii）配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカーと；（iii）IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドとを含む単一のポリペプチドとして発現され、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

30

#### 【0177】

いくつかの態様において、アーマータンパク質は、（i）配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドと；（ii）配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカーと；（iii）IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドとを含む、単一のポリペプチドとして発現され、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。

40

#### 【0178】

##### II. B. 核酸分子

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるCAR、すなわち、メソテリンに特異的に結合するCARをコードするポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットに関する。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを

50

含み、C A R は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3 ; 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; 及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む。

【 0 1 7 9 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む V H を含む。

10

【 0 1 8 0 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む。

20

【 0 1 8 1 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、( i ) ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H ; 及び ( i i ) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む。

30

【 0 1 8 2 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、( i ) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む V H 及び ( i i ) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む。

40

【 0 1 8 3 】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示される C A R、すなわち、メソテリンに特異的に結合する C A R をコードするポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットに関する。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、C A R は、配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1 ; 配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2 ; 配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3 ; 配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1 ; 配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2 ; 及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む。

50

## 【0184】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号47に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むVHを含む。

10

## 【0185】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号48に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む。

20

## 【0186】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i)ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、配列番号47に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH；及び(ii)配列番号48に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む。

30

## 【0187】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインを含み、CARは、(i)配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むVH及び(ii)配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む。

## 【0188】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i)本明細書で開示されるメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン、(ii)本明細書で開示される膜貫通ドメイン、及び(iii)本明細書で開示される細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i)本明細書で開示されるメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン、(ii)CD8膜貫通ドメイン、及び(iii)本明細書で開示される細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i)本明細書で開示されるメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン、(ii)CD8膜貫通ドメイン、及び(iii)CD3ζ細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i)本明細書で開示されるメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン、(ii)CD8膜貫通ドメイン、及び(iii)CD3ζ細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

40

50

## 【0189】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i) 本明細書で開示される抗原結合ドメイン、(ii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン、及び(iii) 本明細書で開示される細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i) 本明細書で開示される抗原結合ドメイン、(ii) 本明細書で開示される膜貫通ドメイン、及び(iii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i) 本明細書で開示される抗原結合ドメイン、(ii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン、及び(iii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

10

20

## 【0190】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、本明細書で開示されるヒンジ領域をさらに含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、CD8ヒンジ領域を含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、配列番号9に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ヒンジ領域は、配列番号9に記載のアミノ酸配列を含む。

30

## 【0191】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、本明細書で開示される共刺激領域をさらに含む。いくつかの態様において、共刺激領域は、4-1BB共刺激領域を含む。いくつかの態様において、共刺激領域は、配列番号11に記載のアミノ酸配列と少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、共刺激領域は、配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む。

40

## 【0192】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、CARをコードし、CARは、(i) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) 膜貫通ドメインと；(iii) 共刺激ドメインと；(iv) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、CAR

50

は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 膜貫通ドメインと；(i i i) 配列番号 1 1 と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(i v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 膜貫通ドメインと；(i i i) 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(i v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、ヒンジ領域をさらに含む。

10

#### 【0193】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) ヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

20

30

40

#### 【0194】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、(i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配

50

列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) C D 8 ヒンジ領域と； ( i i i ) C D 8 膜貫通ドメインと； ( i v ) 4 - 1 B B 共刺激ドメインと； ( v ) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【 0 1 9 5 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 1 0 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと； ( i v ) 配列番号 1 1 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 1 2 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【 0 1 9 6 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、( i v ) 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【 0 1 9 7 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) C D 8 ヒンジ領域と； ( i i i ) C D 8 膜貫通ドメインと； ( i v ) 4 - 1 B B 共刺激ドメインと； ( v ) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【 0 1 9 8 】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H、及び配列番号 8 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %

、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと； ( i v ) 配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

10

20

30

40

50

#### 【0199】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、C A R をコードし、C A R は、( i ) ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインであって、C A R は、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む、抗原結合ドメインと； ( i i ) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と； ( i i i ) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと； ( i v ) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと； ( v ) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0200】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む V L を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) C D 8 ヒンジ領域と； ( i i i ) C D 8 膜貫通ドメインと； ( i v ) 4-1 B B 共刺激ドメインと； ( v ) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0201】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、( i ) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 膜貫通ドメインと； ( i i i ) 共刺激ドメインと； ( i v ) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、( i ) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと； ( i i ) 膜貫通ドメインと； ( i i i ) 配列番号 11 と少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、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 %、または少なくとも約 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと； ( i v ) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、( i ) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D

R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 膜貫通ドメインと；(i i i) 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(i v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、ヒンジ領域をさらに含む。

【0202】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、(i) 配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) ヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、(i) 配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 と少なくとも約 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 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様において、C A R は、(i) 配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(i i i) 膜貫通ドメインと；(i v) 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0203】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、(i) 配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) C D 8 ヒンジ領域と；(i i i) C D 8 膜貫通ドメインと；(i v) 4 - 1 B B 共刺激ドメインと；(v) C D 3 ζ 活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0204】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、C A R をコードし、C A R は、(i) 配列番号 4 1 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 1、配列番号 4 2 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 2、配列番号 4 3 に記載のアミノ酸配列を含む V H - C D R 3、配列番号 4 4 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 1、配列番号 4 5 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 2、及び配列番号 4 6 に記載のアミノ酸配列を含む V L - C D R 3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(i i) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 9 0 %、少なくとも約

９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、ヒンジ領域と；（ｉｉｉ）配列番号１０に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、膜貫通ドメインと；（ｉｖ）配列番号１１に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；（ｖ）配列番号１２に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

10

#### 【０２０５】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、ＣＡＲをコードし、ＣＡＲは、（ｉ）配列番号４１に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４２に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、配列番号４３に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号４４に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号４５に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（ｉｉ）配列番号９に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（ｉｉｉ）配列番号１０に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと、（ｉｖ）配列番号１１に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；（ｖ）配列番号１２に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

20

#### 【０２０６】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、ＣＡＲをコードし、ＣＡＲは、（ｉ）配列番号４１に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１、配列番号４２に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、配列番号４３に記載のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、配列番号４４に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、配列番号４５に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び配列番号４６に記載のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（ｉｉ）ＣＤ８ヒンジ領域と；（ｉｉｉ）ＣＤ８膜貫通ドメインと；（ｉｖ）４－１ＢＢ共刺激ドメインと；（ｖ）ＣＤ３ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

30

#### 【０２０７】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、ＣＡＲをコードし、ＣＡＲは、（ｉ）配列番号４７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号４８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；（ｉｉ）配列番号９と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；（ｉｉｉ）配列番号１０に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；（ｉｖ）配列番号１１に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメインと；（ｖ）配列番号１２に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配

40

50

列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0208】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、CARをコードし、CARは、(i) ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインであって、CARは、配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む、抗原結合ドメインと；(ii) 配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域と；(iii) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインと；(iv) 配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメインと；(v) 配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0209】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドのセットのポリヌクレオチドは、CARをコードし、CARは、(i) 配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメインと；(ii) CD8ヒンジ領域と；(iii) CD8膜貫通ドメインと；(iv) 4-1BB共刺激ドメインと；(v) CD3ζ活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0210】

本開示のいくつかの態様は、アーマータンパク質、すなわち、本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットに関する。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、アーマータンパク質をコードし、アーマータンパク質は、IL-2Rβポリペプチド（例えば、組み換えIL-2Rβポリペプチド）を含む（例えば、アーマータンパク質は、組み換えIL-2Rβポリペプチドを含み、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15Rαポリペプチドを発現しない）。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、アーマータンパク質をコードし、これは、配列番号15に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むアーマータンパク質をコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、アーマータンパク質をコードし、アーマータンパク質は、(i) シグナルペプチド及び(ii) IL-2Rβポリペプチドを含み、シグナルペプチドは、翻訳後に切断される。いくつかの態様において、アーマータンパク質は、IL-2Rβポリペプチドを含み、アーマータンパク質は、IL-15RαポリペプチドまたはIL-15ポリペプチドにつながれたIL-15Rαポリペプチドを含む構築物を含まない。

【0211】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、(i) 本明細書で開示されるIL-2Rβポリペプチドをコードし、(ii) IL-15RαポリペプチドまたはIL-15ポリペプチドにつながれたIL-15Rαポリペプチドを含む構築物をコードしない。

【0212】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、(i) 本明細書で開示されるIL-2Rβポリペプチド、及び(ii) 本明細書で開示されるIL-15Rαポリペプチドまたは本明細書で開示されるIL-15ポリペプチドにつながれたIL-15Rαポリペプチドを含む構築物をコードする。

【0213】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、IL-15Rαポリペプチドを含むアーマータンパク質をコードする。いくつかの態様におい

10

20

30

40

50

て、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含むアーマータンパク質をコードする。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、(i) I L-2 R $\beta$  ポリペプチド及び (i i) I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含むアーマータンパク質をコードする。

【0214】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含むアーマータンパク質をコードし、I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードする配列のすぐ上流のシグナルペプチドをコードする。

10

【0215】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、I L-15 ポリペプチドを含むアーマータンパク質をコードし、I L-15 ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、I L-15 ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、I L-15 ポリペプチドをコードする配列のすぐ上流のシグナルペプチドをコードする。

20

【0216】

いくつかの態様において、本開示の単一のポリヌクレオチドは、リンカーによって I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードする。いくつかの態様において、リンカーは、1つ以上のペプチド結合を含む。いくつかの態様において、リンカーは、G l y-S e r リンカーである。いくつかの態様において、リンカーは、配列 G G G S、G G G S (配列番号19)、またはそれらの組み合わせの1つ以上のリピートを含む。いくつかの態様において、本開示の単一のポリヌクレオチドは、リンカーによって I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードし、リンカーは、配列番号20~25から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

【0217】

いくつかの態様において、本開示の単一のポリヌクレオチドは、(i) I L-2 R $\beta$  ポリペプチド、(i i) リンカー、及び (i i i) I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードする。いくつかの態様において、単一のポリヌクレオチドは、(i) I L-2 R $\beta$  ポリペプチド、(i i) 切断可能なリンカー、及び (i i i) I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードする。いくつかの態様において、切断可能なリンカーは、P 2 A 配列を含む。いくつかの態様において、リンカーは、配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、本開示の単一のポリヌクレオチドは、(i) I L-2 R $\beta$  ポリペプチド、(i i) 配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカー、及び (i i i) I L-15 ポリペプチドにつながれた I L-15 R $\alpha$  ポリペプチドをコードする。

40

【0218】

いくつかの態様において、本開示単一のポリヌクレオチドは、(i) 配列番号15に記

50

載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドと；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカーと；(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドとをコードし、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0219】

いくつかの態様において、本開示の単一のポリヌクレオチドは、(i)配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチドと；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカーと；(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドとをコードし、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。

20

#### 【0220】

いくつかの態様において、(i)CAR及び(ii)アーマータンパク質はともに、単一のポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの態様において、(i)CARをコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列及び(ii)アーマータンパク質をコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列は、IRESによって分離されている。いくつかの態様において、(i)CARをコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列及び(ii)アーマータンパク質をコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列は、同じプロモーター配列の制御下で発現される。いくつかの態様において、(i)CARをコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列は、第1のプロモーターの制御下で発現され、(ii)アーマータンパク質をコードする単一のポリヌクレオチドの核酸配列は、第2のプロモーターの制御下で発現される。いくつかの態様において、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、同じである。いくつかの態様において、第1のプロモーターと第2のプロモーターは、異なる。

30

#### 【0221】

本開示のいくつかの態様は、(A)(i)配列番号1に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号3に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号4に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号6に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii)配列番号9に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii)配列番号10に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv)配列番号11に記載の配列と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約98%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメ

40

50

イン；ならびに（v）配列番号１２に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む、C A Rと、（B）（i）配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＩＬ－２Ｒβポリペプチド；（i i）配列番号１８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び（i i i）ＩＬ－１５ポリペプチドにつながれたＩＬ－１５Ｒαポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドは、配列番号１７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ＩＬ－１５ポリペプチドは、配列番号１６に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

20

#### 【０２２２】

本開示のいくつかの態様は、（A）（i）配列番号７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV H及び配列番号８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV Lを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；（i i）配列番号９に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域；（i i i）配列番号１０に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；（i v）配列番号１１に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメイン；ならびに（v）配列番号１２に記載の配列と少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９８％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む、C A Rと、（B）（i）配列番号１５に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＩＬ－２Ｒβポリペプチド；（i i）配列番号１８に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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％、または少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び（i i i）ＩＬ－１５ポリペプチドにつながれたＩＬ－１５Ｒαポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、ＩＬ－１５Ｒαポリペプチドは、配列番号１７に記載のアミノ酸配列と少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも

30

40

50

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%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、IL-15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0223】

本開示のいくつかの態様は、(A) (i) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 3 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに (v) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CAR と、(B) (i) 配列番号 15 に記載のアミノ酸配列を含む IL-2R $\beta$  ポリペプチド；(ii) 配列番号 18 に記載のアミノ酸配列を含むリンカー；及び (iii) IL-15 ポリペプチドにつながれた IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列を含む。

【0224】

本開示のいくつかの態様は、(A) (i) 配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含む VH 及び配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む VL を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii) 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv) 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに (v) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CAR と、(B) (i) 配列番号 15 に記載のアミノ酸配列を含む IL-2R $\beta$  ポリペプチド；(ii) 配列番号 18 に記載のアミノ酸配列を含むリンカー；及び (iii) IL-15 ポリペプチドにつながれた IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、IL-15 R $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列を含む。

【0225】

本開示のいくつかの態様は、(A) (i) 配列番号 41 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR1、配列番号 42 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR2、配列番号 43 に記載のアミノ酸配列を含む VH-CDR3、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR1、配列番号 45 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR2、及び配列番号 46 に記載のアミノ酸配列を含む VL-CDR3 を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii) 配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv) 配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメイン；ならびに (v) 配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、ま

たは少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む、C A R と、( B ) ( i ) 配列番号 15 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド；( i i ) 配列番号 18 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び( i i i ) I L - 15 ポリペプチドにつながれた I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、I L - 15 ポリペプチドは、配列番号 16 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 2 2 6 】

本開示のいくつかの態様は、( A ) ( i ) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H 及び配列番号 48 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；( i i ) 配列番号 9 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むヒンジ領域；( i i i ) 配列番号 10 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；( i v ) 配列番号 11 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、共刺激ドメイン；ならびに( v ) 配列番号 12 に記載の配列と少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 98%、少なくとも約 98%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、細胞内シグナル伝達ドメインを含む、C A R と、( B ) ( i ) 配列番号 15 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 2 R  $\beta$  ポリペプチド；( i i ) 配列番号 18 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むリンカー；及び( i i i ) I L - 15 ポリペプチドにつながれた I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、I L - 15 R  $\alpha$  ポリペプチドは、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列と少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、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%、または少なくとも約 99% の

配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、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%、または少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

#### 【0227】

本開示のいくつかの態様は、(A)(i)配列番号41に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR1、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR2、配列番号43に記載のアミノ酸配列を含むVH-CDR3、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR1、配列番号45に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR2、及び配列番号46に記載のアミノ酸配列を含むVL-CDR3を含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii)配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii)配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv)配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v)配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(B)(i)配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチド；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカー；及び(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。

#### 【0228】

本開示のいくつかの態様は、(A)(i)配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むVH及び配列番号48に記載のアミノ酸配列を含むVLを含む、ヒトメソテリンに特異的に結合する抗原結合ドメイン；(ii)配列番号9に記載のアミノ酸配列を含むヒンジ領域；(iii)配列番号10に記載のアミノ酸配列を含む膜貫通ドメイン；(iv)配列番号11に記載のアミノ酸配列を含む共刺激ドメイン；ならびに(v)配列番号12に記載のアミノ酸配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、CARと、(B)(i)配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むIL-2R $\beta$ ポリペプチド；(ii)配列番号18に記載のアミノ酸配列を含むリンカー；及び(iii)IL-15ポリペプチドにつながれたIL-15R $\alpha$ ポリペプチドを含む、アーマータンパク質とをコードするポリヌクレオチドに関し、IL-15R $\alpha$ ポリペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列を含み、IL-15ポリペプチドは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を含む。

#### 【0229】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットは、本明細書で開示される自殺遺伝子をさらに含む。いくつかの態様において、自殺遺伝子は、ウイルスチミジンキナーゼ、シトシンデアミナーゼ、抗酸化酵素(AOE)に対する細胞内抗体、細菌ニトロレダクターゼ、カスパーゼ及びDNアーゼをコードする。

#### 【0230】

本開示のいくつかの態様は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含むベクターに関する。いくつかの態様において、本開示は、本明細書に記載のCARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターまたはベクターのセットに関する。いくつかの態様において、ベクターのセットは、第1のベクター及び第2のベクターを含み、第1のベクターは、本明細書で開示されるCARをコードする核酸配列を含み、第2のベクターは、本明細書で開示される武装タンパク質をコードする核酸配列を含む。いくつかの態様において、本開示は、(i)本明細書で開示されるCARをコードする核酸配列及び(ii)本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードする核酸配列を含むベクターに関する。

#### 【0231】

あらゆるベクターが本開示に適している可能性がある。いくつかの態様において、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの態様において、ベクターは、レトロウイルス

スペクター、DNAベクター、マウス白血病ウイルスベクター、SFGベクター、プラスミド、RNAベクター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクチニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レンチウイルスベクター、またはそれらの任意の組み合わせである。

【0232】

#### II. C. 操作された細胞

本開示のいくつかの態様は、(i) 本明細書で開示されるCARをコードするポリヌクレオチド、(ii) 本明細書で開示されるCAR、(iii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチド、(iv) 本明細書で開示されるアーマータンパク質または(v) (i) ~ (iv) の任意の組み合わせを含む操作された細胞に関する。いくつかの態様において、操作された細胞は、免疫細胞である。いくつかの態様において、操作された細胞は、自然リンパ球細胞である。いくつかの態様において、操作された細胞は、T細胞、NK細胞、B細胞、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。いくつかの態様において、T細胞は、 $\gamma\delta$  T細胞である。いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 1$  T細胞である。いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 2$  T細胞である。いくつかの態様において、T細胞は、 $\alpha\beta$  T細胞である。いくつかの態様において、操作された細胞は、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）である。

【0233】

操作された細胞は、細胞を操作する前に任意の供給源から得ることができる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、ヒト対象から得られる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、健康なヒト対象から得られる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、疾患または状態に罹患したヒト対象から得られる。いくつかの態様において、疾患または状態は、対象における免疫応答の活性化を伴った。いくつかの態様において、疾患または状態は、がんを含む。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、ヒト対象の腫瘍サンプルから得られる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、ヒト対象の末梢血から得られる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、ヒト対象から得られた皮膚サンプルから得られる。いくつかの態様において、操作前の細胞、例えば、自然リンパ球細胞は、対象から得られた腸組織サンプルから得られる。

【0234】

いくつかの態様において、操作された細胞は、T細胞を含み、T細胞は、本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、操作された細胞は、T細胞を含み、T細胞は、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0235】

いくつかの態様において、操作された細胞は、 $\gamma\delta$  T細胞を含み、 $\gamma\delta$  T細胞は、本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、操作された細胞は、 $\gamma\delta$  T細胞を含み、 $\gamma\delta$  T細胞は、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0236】

いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 1$  T細胞を含み、 $V\delta 1$  T細胞は、本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 1$  T細胞を含み、 $V\delta 1$  T細胞は、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコ

ードするポリヌクレオチドを含む。

【0237】

いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 2$  T細胞を含み、 $V\delta 2$  T細胞は、本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、操作された細胞は、 $V\delta 2$  T細胞を含み、 $V\delta 2$  T細胞は、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0238】

いくつかの態様において、操作された細胞は、NK細胞を含み、NK細胞は、本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、操作された細胞は、NK細胞を含み、NK細胞は、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0239】

いくつかの態様において、操作された細胞は、人工多能性幹細胞(iPSC)から誘導される。いくつかの態様において、iPSCは、自然リンパ球細胞、例えば、T細胞(例えば、 $\gamma\delta$  T細胞)またはNK細胞の1つ以上のマーカーを発現する細胞に分化させられる。いくつかの態様において、iPSCは、自然リンパ球細胞、例えば、T細胞(例えば、 $\gamma\delta$  T細胞)またはNK細胞の1つ以上のマーカーを発現する細胞への分化前に、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び/または(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドをトランスフェクトされる。いくつかの態様において、iPSCは、自然リンパ球細胞、例えば、T細胞(例えば、 $\gamma\delta$  T細胞)またはNK細胞の1つ以上のマーカーを発現する細胞への分化後に、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び/または(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドをトランスフェクトされる。いくつかの態様において、iPSCは、自然リンパ球細胞、例えば、T細胞(例えば、 $\gamma\delta$  T細胞)またはNK細胞の1つ以上のマーカーを発現する細胞への分化中に、(i) 本明細書で開示されるCAR、例えば、抗メソテリンCARをコードするポリヌクレオチド、及び/または(ii) 本明細書で開示されるアーマータンパク質をコードするポリヌクレオチドをトランスフェクトされる。

【0240】

本発明のさらなる態様によれば、本明細書に記載の複数の操作された自然リンパ球細胞を含む、単離細胞集団が提供される。本開示のいくつかの態様は、本明細書に記載の複数の操作された自然リンパ球細胞を含む細胞の集団に関する。

【0241】

いくつかの実施形態において、操作された自然リンパ球細胞は、単離細胞集団における細胞の総数の10%超、20%超、30%超、40%超、50%超、60%超、70%超、80%超、または90%超に相当する場合もある。いくつかの態様において、細胞の集団における細胞の少なくとも約10%、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%、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%、または少なくとも約99%が、本明細書で開示される操作された自然リンパ球細胞である。

【0242】

II. D. 医薬組成物

本発明のさらなる態様によれば、1つ以上の薬学的または生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて、本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞を

10

20

30

40

50

含む、医薬組成物が提供される。そのような組成物は、緩衝液、例えば、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水など；炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン、マンニトール；タンパク質；ポリペプチドまたはグリシンなどのアミノ酸；抗酸化剤；キレート剤、例えば、EDTAまたはグルタチオン；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び防腐剤を含んでもよい。本発明の医薬組成物に使用され得る凍結保存溶液としては、例えば、DMSOが挙げられる。組成物は、例えば、静脈内投与用に製剤化されてもよい。

#### 【0243】

##### III. 本開示の方法

本発明のさらなる態様によれば、本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物を使用した、処置を必要とする患者を処置する方法が提供される。本開示のいくつかの態様は、処置を必要とする対象の疾患または状態を処置する方法であって、対象に本明細書で開示される操作された自然リンパ球細胞を投与することを含む、方法に関する。

10

#### 【0244】

本発明のさらなる態様によれば、対象の状態を処置するための本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物の使用が提供される。

#### 【0245】

本発明のさらなる態様によれば、治療に使用するための本明細書に記載の操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物が提供される。

20

#### 【0246】

操作された自然リンパ球細胞または医薬組成物は、がんの処置に有用であり得る。「がん」は、本明細書で使用される場合、細胞の異常な増殖または分裂を指す。一般に、がん細胞の増殖及び／または寿命は、その周囲の正常な細胞及び組織の増殖及び／または寿命を上回り、それらと協調しない。がんは、良性、前悪性、または悪性であり得る。がんは、口腔（例えば、口、舌、咽頭など）、消化器系（例えば、食道、胃、小腸、結腸、直腸、肝臓、胆管、胆嚢、膵臓など）、呼吸器系（例えば、喉頭、肺、気管支など）、骨、関節、皮膚（例えば、基底細胞、扁平細胞、髄膜腫など）、乳房、生殖器系、（例えば、子宮、卵巣、前立腺、精巣など）、泌尿器系（例えば、膀胱、腎臓、尿管など）、眼、神経系（例えば、脳など）、内分泌系（例えば、甲状腺など）、及び造血系（例えば、リンパ腫、骨髄腫、白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病など）が含まれる、種々の細胞及び組織において発生する。

30

#### 【0247】

いくつかの態様において、疾患または状態は、がんを含み、例えば、対象はがん罹患している。いくつかの態様において、がんは、固形腫瘍タイプのがんを含む。いくつかの態様において、がんは、肺癌（例えば、小細胞肺癌（SCLC）、非小細胞肺癌（NSCLC））、肺腺癌、中皮腫、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚または眼内の悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門領域の癌、胃癌、精巣癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸部癌、膣癌、外陰癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、慢性もしくは急性の白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓もしくは尿管癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS）の新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮細胞癌、T細胞リンパ腫、環境誘導性癌（アスベストにより誘導されたものを含む）、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、がんは、局所進行性である。いくつかの態様において、がんは、転移性である。いくつかの態様において、がんは、難治性である。いくつかの態様において、がんは、再発性である。いくつかの態様において、がんは、1つ以上の事前の抗がん療法後の難治性または再発性である。いくつかの態様において、1つ以上の事前の抗がん療法は、標準治療を含む。

40

50

## 【0248】

いくつかの態様において、本明細書中で開示されている組成物は、追加の抗がん療法と組み合わせて投与される。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、化学療法、免疫療法、放射線療法、手術、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、化学療法を含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、免疫チェックポイント阻害剤を含む。いくつかの態様において、追加の抗がん療法は、PD-1アンタゴニスト、PD-L1アンタゴニスト、CTLA-4アンタゴニスト、LAG-3アンタゴニスト、GITRアンタゴニスト、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様において、抗がん療法は、PD-1に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、抗がん療法は、PD-L1に特異的に結合し、それを阻害する抗体またはその抗原結合部分を含む。

10

## 【0249】

いくつかの態様において、本方法は、免疫細胞の集団を投与する前に対象を前処置することをさらに含む。いくつかの態様において、対象は、免疫細胞の集団を投与する前に化学療法が施される。いくつかの態様において、対象は、免疫細胞の集団を投与する前に免疫除去化学療法が施される。いくつかの態様において、免疫除去化学療法は、シクロホスファミド、フルダラビン、またはその両方を含む。

## 【0250】

いくつかの態様において、本方法は、対象に(i)本明細書で開示される操作された自然リンパ球細胞及び(ii)サイトカインを投与することを含む。いくつかの態様において、サイトカインは、IL-2、その類似体、そのバリエーション、またはそのフラグメントを含む。

20

## 【0251】

いくつかの態様において、本開示の細胞は、少なくとも約 $1 \times 10^6$ 細胞、少なくとも約 $2 \times 10^6$ 細胞、少なくとも約 $3 \times 10^6$ 細胞、少なくとも約 $4 \times 10^6$ 細胞、少なくとも約 $5 \times 10^6$ 細胞、 $1 \times 10^7$ 細胞、少なくとも約 $2 \times 10^7$ 細胞、少なくとも約 $3 \times 10^7$ 細胞、少なくとも約 $4 \times 10^7$ 細胞、少なくとも約 $5 \times 10^7$ 細胞、 $1 \times 10^8$ 細胞、少なくとも約 $2 \times 10^8$ 細胞、少なくとも約 $3 \times 10^8$ 細胞、少なくとも約 $4 \times 10^8$ 細胞、少なくとも約 $5 \times 10^8$ 細胞、 $1 \times 10^9$ 細胞、少なくとも約 $2 \times 10^9$ 細胞、少なくとも約 $3 \times 10^9$ 細胞、少なくとも約 $4 \times 10^9$ 細胞、または少なくとも約 $5 \times 10^9$ 細胞の用量で対象に投与される。

30

## 【0252】

本開示の実施は、別段の指示がない限り、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランスジェニック生物学、微生物学、組換えDNA、及び免疫学の従来技法を用い、このような技法は当業者の技能範囲内である。このような技法は、文献内で十分に説明されている。例えば、Sambrook et al., ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; Mullis et al. 米国特許第4,683,195号; Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the

40

50

treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N. Y.) ; Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory) ; Wu et al., eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 ; Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London) ; Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV ; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., (1986) ; Crooke, Antisense drug Technology: Principles, Strategies and Applications, 2<sup>nd</sup> Ed. CRC Press (2007) ; 及び Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.) を参照。

10

#### 【0253】

上記で引用された全ての参考文献、及び本明細書で引用された全ての参考文献は、その全体が参照により本明細書に援用される。

20

#### 【0254】

以下の実施例は、限定としてではなく、例として提供するものである。

#### 【実施例】

#### 【0255】

材料及び方法

細胞培養

レトロウイルス形質導入

Retronectionコーティング (20 mg/mL) 細胞増殖バッグ (PermaLifeバッグ、OriGen Biomedical) 内において定義された感染多重度 (MOI) で増殖する  $\gamma\delta$  T細胞にレトロウイルスベクターを形質導入した。MOI は、形質導入中に1細胞あたりに付加された感染性粒子の数 (フローサイトメトリーによって測定) を指す。ウイルスベクターを、CTS Optimizer培地中で希釈した。フローサイトメトリーを使用して形質導入の3日後に一定間隔で形質導入効率を求めた。

30

#### 【0256】

フローサイトメトリー

BD FACSLyric (商標) フローサイトメトリー機器を使用して免疫表現型検査を実施した。死んだ細胞を、LIVE/DEAD™ Fixable Aqua Dead Cell Stainキットを使用して排除した (Invitrogen Flowデータを、生きた単一のPan  $\gamma\delta$  +、V $\delta$ 1+、CAR+イベントでゲーティングする。

40

#### 【0257】

抗MSLNキメラ抗原受容体をコードするガンマレトロウイルスベクターによる形質導入

RetroNectin (20  $\mu$ g/mL) の存在下で細胞を増殖させ、メソテリン (MSLN) 標的化キメラ抗原受容体構築物をコードする  $\gamma$ -レトロウイルスベクターを形質導入した。ウイルスベクターをCTS Optimizer中で希釈した免疫細胞と一晩、37℃で混合した。形質導入の4から9日後に形質導入効率をフローサイトメトリーによって求めた。

#### 【0258】

50

### 凍結保存細胞生成物の解凍

凍結されたクライオバイアルを37℃の水浴中で解凍し、予め温めたOptimiser + 2.5%同種の血漿に添加した。細胞を300gで7分間遠心沈殿し、カウントし、生存率について評価した後、表現型検査及びダウンストリームアッセイのために1mL当たり $2 \times 10^6$ 細胞を再懸濁させた。

#### 【0259】

##### 生存アッセイ

IL-15の非存在下において96ウェルプレートで13日間細胞を培養し、各条件から二つ組のウェルを3、7、10及び13日目に回収した。生存Pan- $\gamma\delta$  +、CAR +細胞を、BD FACS Lyriscを使用してフローサイトメトリーによって定量した。

10

#### 【0260】

##### 反復抗原刺激アッセイ

製剤を解凍し、Incucyte内の24ウェルプレート(300,000エフェクター対150,000標的)において2:1のE:T比で(1ng/mLのIL-15の非存在下または存在下)A549-MSLN-fluc-GFP細胞と共培養して、腫瘍細胞溶解の代用として経時的にGFP蛍光を追跡した。培養の2日目及び9日目に、細胞に新しい培地プラスまたはマイナス1ng/mLのIL-15を供給し、遠心分離後に注意深く吸引することによってウェル体積の50%を交換した。培養の4日目及び11日目に、細胞に、標的(1ウェル当たり150,000)プラスまたはマイナス1ng/mLのIL-15を含む新しい培地を供給し、遠心分離後に注意深く吸引することによってウェル体積の50%を交換した。7日目にすべてのウェルを回収し、カウントし、0日目と同様に2:1のE:Tで再び播いた。

20

#### 【0261】

##### インビボ試験

試験1(図16):6~8週齢のNSGマウスに、静脈内(IV)注射により $1 \times 10^6$ のA549-MSLN-fluc-GFP細胞を移植した。移植後19日目に、マウスにビヒクル( $n=7$ 、Cryostor CS5、群1)、マウス1匹当たり合計1000万、300万、もしくは100万細胞のYP218  $\gamma\delta$  CAR T細胞( $n=7$ 、群2~4)、またはマウス1匹当たり合計1000万細胞のP4  $\gamma\delta$  CAR T細胞を注射した。19日目から、さらにマウスに1ugのヒトIL-15をIP注射により毎日投与した。150mg/kgのd-ルシフェリンの腹腔内(IP)注射後にIVISカメラを使用して週に2回マウスを画像化した。

30

#### 【0262】

試験2(図20):6~8週齢のNSGマウスに、静脈内(IV)注射により $1 \times 10^6$ のA549-MSLN-fluc-GFP細胞を移植した。移植後19日目に、マウスにビヒクル( $n=7$ 、Cryostor CS5、群1)、マウス1匹当たり合計1000万細胞のP4非武装化 $\gamma\delta$  CAR T細胞( $n=7$ 、群2)、マウス1匹当たり合計1000万細胞のP4  $\alpha$ .15.  $\beta$   $\gamma\delta$  CAR T細胞( $n=7$ 、群3)、またはマウス1匹当たり合計1000万細胞のP4  $\beta$   $\gamma\delta$  CAR T細胞( $n=7$ 、群4)を注射した。150mg/kgのd-ルシフェリンの腹腔内(IP)注射後にIVISカメラを使用して週に2回マウスを画像化した。群4マウスにIP注射により1ugのIL-15を毎日投与した。

40

#### 【0263】

##### 実施例1

YP218抗メソテリンCAR構築物及び操作されていない血液由来のV $\delta$ 1細胞(「GDx012」)を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞を固形腫瘍標的OV-CAR3細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1:1、1:1:2.5及び1:5のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍

50

光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した（図 1 A）。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGDX012を遺伝子操作すると、OVCA R3に対する $\gamma\delta$  T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上したことを示している。

#### 【0264】

YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（ $n=1$ ）を培地単独でまたはIL-15を加えた培地（ $10\text{ ng/ml}$ ）中において、2:1のE:T比でHeLa細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞をカウントした（図 1 B）。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGDX012を遺伝子操作することにより、HeLa腫瘍標的に対する $\gamma\delta$  T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上したこと、ならびにメソテリンCAR改変血液 $\gamma\delta$  T細胞の生存及び増殖にはCARシグナル伝達に加えてIL-15が必要とされることを示している。

#### 【0265】

固形腫瘍を標的とする概念実証として、GDX012をYP218抗メソテリンCAR構築物で遺伝子操作した（図 2）。メソテリンは、さまざまながん適応症で過剰発現しており、メソテリンがさまざまな固形腫瘍モデル及び臨床試験において確立された標的であるため、このタンパク質を概念実証の固形腫瘍標的として選択した。健康な組織によるメソテリンの発現は非常に低く、それがメソテリンを理想的な固形腫瘍標的にする。表現型、細胞傷害性、増殖及びインビボ活性を理解して、固形腫瘍標的化を実証し、将来的な遺伝子操作製品に対する枠組みを確立するために抗MSLN  $\gamma\delta$  1生成物を機能的に試験した。

#### 【0266】

皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞とは異なりGDX01は、固形腫瘍標的を標的とする中程度の固有の能力を示すが、遺伝子操作により向上させることができる。GDX012（ $n=3$ ）及び皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞（ $n=3$ ）を、メソテリン<sup>+</sup>標的細胞株であるHeLa細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたGDX012及び皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した（図 3 A）。これらのデータは、皮膚常在性 $\gamma\delta$  T細胞が固形腫瘍標的に対して固有の殺傷能力を有し、5:1のE:T比で腫瘍標的の80%超、2.5のE:T比で60%超、1.25のE:Tで50%超が溶解することを示している。GDX012による標的細胞溶解は、HeLa細胞に対してプロファイルされたすべてのE:T比で20%超の溶解を超えなかった。YP218抗メソテリンCAR構築物及びGDX012を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞をOVCA R3細胞に対する機能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液 $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125:1のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した（図 3 B）。これらのデータは、メソテリン-CARを発現するようにGDX012を遺伝子操作すると、OVCA R3腫瘍標的に対する $\gamma\delta$  T細胞の固有の殺傷能力が有意に向上し、5:1のE:T比で腫瘍標的の90%超、2.5:1のE:T比で75%超、1.1のE:T比で50%超及び1:2.5のE:T比で20%超が溶解していたが、GDX012による標的細胞溶解は、OVCA R3細胞に対してプロファイルされたすべてのE:T比で30%を超えなかった。

#### 【0267】

メソテリンCAR改変血液 $\gamma\delta$  1 T細胞は、HeLa細胞及びOVCA R3細胞に対して確固とした細胞傷害性を示し、この細胞傷害性は、CAR改変 $\alpha\beta$  T細胞と同等であった。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞（ $n=3$ ）及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞（ $n=1$ ）を、HeLa腫瘍細胞（図 4 A）及びOVCA R3腫瘍細胞（図 4 B）に対する機

能性に関して調べた。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

#### 【0268】

メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞は、メソテリンを過剰発現するよう改変されたHT29 (図5A) 及びA549 (図5B) に対して確固とした細胞傷害性を示し、この細胞傷害性は、CAR改変 $\alpha\beta$  T細胞と同等であった。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=2$ ) 及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) をHT29、MSLNに対する機能性に関して調べた。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) 及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞 ( $n=1$ ) をA549、MSLN細胞に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

#### 【0269】

##### 固形腫瘍標的に対する反復抗原刺激 (RAS) アッセイ

エフェクター細胞を解凍し、IL-15を加えた培地 (10 ng/ml) 中で固形腫瘍標的がん細胞株と2:1のE:T比でと共培養する (図6)。+2日目: 50%の培地交換により培養物にサイトカインを補充する。+4日目: 50%の培地交換により標的及びサイトカインを補充する。+7日目: 培養物を回収する。エフェクターをカウントし、0日目に播いたのと同数のエフェクターを、標的細胞を含むIL-15を加えた培地 (10 mg/ml) に2:1のE:T比で再び播く。追加のエフェクターは、フローサイトメトリーによる表現型分析のために使用するか、または標的細胞を用いた24時間殺傷アッセイに播く。全体として、エフェクター細胞は、6回のアッセイ内標的細胞殺傷及び7回目の連続殺傷を証明する最後の24時間の殺傷アッセイとともに21日間の培養に供する。

#### 【0270】

HeLa細胞による6回の腫瘍曝露後にメソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞を増殖させ、CAR発現に関して濃縮する。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=2$ ) を、IL-15を加えた培地 (10 ng/ml) 中において2:1のE:T比でHeLa細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞をカウントした。回収したエフェクター細胞の細胞数を7日前に播いた細胞数で割って各時点におけるエフェクター細胞の増殖倍率を算出した。増殖倍率に前の増殖倍率を掛けることで合計または累積の増殖倍率を各時点において算出した。細胞は21日間にわたり60倍に増殖した (図7A)。0、7、14及び21日目にフローサイトメトリーによってV $\delta$ 1 T細胞に対してCAR発現を測定した。CAR発現V $\delta$ 1 T細胞を21日間にわたり濃縮して、アッセイの終わりに20%超の発現から90%超の発現に増加させた (図7B)。

#### 【0271】

メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞を増殖させ、RASアッセイにおけるOVCA R3及びA549、MSLN細胞の連続殺傷に応じて濃縮する。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞 ( $n=3$ ) を、IL-15を加えた培地 (10 ng/ml) 中において2:1のE:T比でOVCA R3及びA549、MSLN細胞と培養した。7、14及び21日目に、細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞をカウントした。回収したエフェクター細胞の細胞数を7日前に播いた細胞数で割って各時点におけるエフェクター細胞の増殖倍率を算出した。増殖倍率に前の増殖倍率を掛けることで合計 (累積) の増殖倍率を各時点において算出した。OVCA R3細胞とともに培養した細胞は21日間にわたり20倍に増殖し、A549、MSL

N細胞とともに培養した細胞は21日間にわたり400倍に増殖した(図8A)。0、7、14及び21日目にフローサイトメトリーによってV $\delta$ 1 T細胞に対してCAR発現を測定した。OVCA R3及びA549、MSLN細胞とともに培養したCAR発現V $\delta$ 1 T細胞を21日間にわたり濃縮して、21日目に95%超の発現に増加させた(図8B)。

#### 【0272】

YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞( $n=2$ )を、IL-15を加えた培地(10 ng/ml)中において2:1の比でHeLa細胞と21日間培養した。7、14及び21日目に、新しい標的細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞数を得た。標的細胞を $2 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播き、4時間付着させた。エフェクターを、回収し、カウントし、5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに付着標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出し、データは7回の連続殺傷の代表的なものである(図9A)。HeLa細胞に対するRASアッセイの7、14、及び21日後の生CAR $^{+}$  $\gamma\delta$  T細胞のフローサイトメトリー分析を行った。V $\delta$ 1 T細胞の表現型分析は、NKGD2、CD56、NKp30、NKGD2C及びPD1発現が0日目から21日目までアップレギュレートされたと同時に、エフェクター状態を示すCD27がV $\delta$ 1 T細胞によって0日目から21日目までダウンレギュレートされたことを示した(図9B)。

10

20

#### 【0273】

メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞は、OVCA R3及びA549、MSLN細胞に対するRASの21日後でも細胞傷害性のままである。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞( $n=3$ )を、IL-15を加えた培地(10 ng/ml)中において2:1の比でOVCA R3細胞及びA549、MSLN細胞と21日間培養した。7、14及び21日目に、新しい標的細胞を回収し、NC250細胞カウンターを使用して生細胞数を得た。標的細胞を $2 \times 10^5$ 細胞/ウェルで播き、4時間付着させた。エフェクターを、回収し、カウントし、5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに付着標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した(図10A~10F)。

30

#### 【0274】

メソテリンCAR改変血液V $\delta$ 1 T細胞は、無改変A549(図11A)腫瘍細胞よりもMSLN発現A549(図11B)腫瘍細胞に対して高い細胞傷害性を有する。YP218抗メソテリンCAR構築物を形質導入した血液由来の $\gamma\delta$  T細胞( $n=4$ )及びYP218抗メソテリン構築物を形質導入した血液由来の $\alpha\beta$  T細胞( $n=1$ )を、A549腫瘍細胞及びMSLNを過剰発現するように改変されたA549腫瘍細胞に対する機能性に関して試験した。凍結保存されたCAR改変血液V $\delta$  T細胞を解凍し、すぐに5:1、2.5:1、1.25:1、0.625:1及び0.3125のE:T比で18~24時間培地でサイトカインを加えずに標的細胞と培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

40

#### 【0275】

皮膚由来のV $\delta$ 1+  $\gamma\delta$  T細胞は、Meso-CARを効率的に形質導入することができる。皮膚常在性細胞を解凍し、MACS選択によってすぐに処理して、 $\alpha\beta$  T細胞を除去した。次いで、得られたネガティブ選択された $\gamma\delta$  T細胞に、P4またはYP218抗メソテリンCAR構築物のいずれかをコードするベクターを形質導入した。次に、形質導入細胞をIL-15(80 ng/ml)及びIL21(11.25 ng/ml)の存在下で14日間増殖させた後、回収し、凍結保存した。 $\gamma\delta$  T細胞の増殖倍率を、増殖培養の14日目に記録した(図12A)。各メソテリン特異的なCARが陽性の細胞のパーセンテージを、14日目にフローサイトメトリーにより測定した(図12B)。

#### 【0276】

50

皮膚由来の  $\gamma\delta$  T細胞は、メソテリン陽性標的細胞である HeLa 細胞株に対して細胞傷害性である（図 13A～13B）。皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を、図 12A～12B に示されるとおりに形質導入し、増殖した。次いで、凍結保存細胞を解凍し、メソテリン<sup>+</sup> HeLa 細胞株に対する機能性に関してすぐに試験した。細胞を、サイトカインを加えずにさまざまなエフェクター対標的比で 17～20 時間培養した。Cell Titre Glo 細胞カウントアッセイを使用して特異的な細胞溶解を検出した。白丸は未形質導入皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を表し、灰色の点はメソテリン特異的な CAR 形質導入皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を表す。

【0277】

皮膚由来の  $\gamma\delta$  T細胞は、メソテリン陽性標的細胞である A459 に対して細胞傷害性である（図 14）。YP218 抗メソテリン CAR 構築物を形質導入した皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を、メソテリン<sup>+</sup> A549 標的細胞株に対する機能性に関して試験した。凍結保存された YP218 + 増殖皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、サイトカインを加えずに標的細胞とともにすぐに 17～20 時間培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

【0278】

メソテリン CAR 改変皮膚  $\gamma\delta$ 1 T細胞は、HT29、MSLN（図 15A）及び A549、MSLN（図 15B）腫瘍細胞に対して細胞傷害性である。YP218 抗メソテリン CAR 構築物を形質導入した皮膚常在性  $\gamma\delta$  及び  $\alpha\beta$  T細胞（n=1）を、メソテリン<sup>+</sup> A549 標的細胞株に対する機能性に関して試験した。凍結保存された YP218 + 増殖皮膚常在性  $\gamma\delta$  T細胞を解凍し、サイトカインを加えずに標的 HT29、MSLN 及び A549、MSLN 細胞とともにすぐに 18～24 時間培養した。ルシフェラーゼベースの蛍光細胞カウントアッセイにより特異的な細胞溶解を検出した。

【0279】

#### 実施例 2

血液由来の  $\gamma\delta$ 1 +  $\gamma\delta$  に P4 抗原結合ドメイン（例えば、抗原結合ドメインは、配列番号 1～8 のいずれかの配列を含む）を含む抗メソテリン CAR をコードする導入遺伝子を形質導入する。任意に、細胞はまた、4-1BB 及び CD3 ゼータドメインを発現するように形質導入してもよい。任意に、細胞はまた、CD8 膜貫通ドメイン及びヒンジ領域を発現するように形質導入してもよい。細胞を、（a）IL-15R-ベータまたは（b）（i）IL-15 につながれた IL-15R-アルファもしくはそのバリエーション及び（ii）IL-15R-ベータを発現するようにさらに改変される。CAR 発現細胞を、標的細胞結合及び溶解に関してアッセイする。

【0280】

#### 実施例 3

YP218 または P4 抗メソテリン CAR 構築物（抗メソテリンバインダー、CD8 ヒンジ領域、CD8 膜貫通ドメイン、4-1BB 共刺激ドメイン、及び CD3 細胞内シグナル伝達ドメインを含む）のいずれかを形質導入した血液由来の  $\gamma\delta$  T細胞を、播種性 A549 腫瘍モデルにおいて機能性に関して評価した。図 16A は、いずれかのバインダーを形質導入した  $\gamma\delta$  T細胞が効果的な腫瘍抑制を示すことを示している。図 16B は、抗 MSLN CAR 発現  $\gamma\delta$  T細胞が、わずか合計 100 万の細胞を投与された場合に、腫瘍増殖を抑制できたことを示している。製剤投与の 18 日後に、すべてのマウスを処理し、両大腿骨からの骨髓吸引物、脾臓、肺及び末梢血（リチウムヘパリンチューブに採取）を回収した。図 16C～16F は、いずれかの抗 MSLN バインダーを発現する  $\gamma\delta$  T細胞が、評価したニッチにおいて同等のレベルまで持続したことを示している。

【0281】

#### 実施例 4

低 IL-15 濃度の存在下またはその非存在下のいずれかでの  $\gamma\delta$ 1  $\gamma\delta$  CAR T細胞の生存を向上させるために、YP218 及び P4 の両バインダーを利用して一連の新規の武装化構築物を設計及び評価した。キメラ抗原受容体（CAR）コード配列を IL

10

20

30

40

50

ー15受容体鎖構成要素とインフレーションで融合した多シストロン性ガンマレトロウイルスベクターを生成した。図17Aは、CAR及び武装部分（複数可）を共発現するために使用される武装方法の概略図を示す。図17Bは、ガンマレトロウイルスベクターをコードする従来の武装化CARのドメイン構造を示す。IL-15Rβのみを形質導入した細胞を「β」と称し、IL-15Rβ+IL-15につながれたIL-15Rαを形質導入した細胞を「α.15.β」と称する。

【0282】

#### 実施例5

α.15.βで武装化されたP4及びYP218バインダーのそれぞれに関して、さまざまな最適化アルゴリズムを使用して生成された2つの異なるコドン最適化配列を、これが、武装カセットの各構成要素の頻度及び相対的なタンパク質発現に影響を与える可能性があるか否かを判定するために調べた。4つの異なるベクター（P4 α.15.βコドン配列1、P4 α.15.βコドン配列2、YP218 α.15.βコドン配列1、YP218 α.15.βコドン配列2）のそれぞれを使用して四角のドナー1及び丸のドナー2の2人の白血球除去ドナーから製剤を生成した。P4 α.15.βコドン配列1及び2をコードするベクターを形質導入した製剤は、ともに発現パーセンテージ（図18A）及びタンパク質の相対的なレベル（図18B）に関して各武装構成要素がほぼ同等に発現していた。対照的に、YP218 α.15.βコドン配列2を形質導入した製剤は、YP218 α.15.βコドン配列1よりも高い割合の各武装構成要素を発現する細胞を示した（図18C）。タンパク質発現の相対的なレベルもまた、コドン配列1と比較してコドン配列2を有するIL15Rβ及びIL15Rαの両方で増加した（図18D）。

【0283】

つながれたIL-15及びIL-15R β共発現細胞による細胞傷害性の有意な増強が、抗原発現腫瘍標的を標的とする場合に直ちに観察された（図18E）。

【0284】

#### 実施例6

1 ng/mL IL-15の存在下におけるβ武装化バインダーPのその非武装化対応物と比較した反復抗原曝露に対する応答を調べた。経時的にGFP蛍光を測定することによって腫瘍コンフルエンスを調べた。β武装化バインダーP4構築物は、14日間の反復曝露アッセイにわたり優れた腫瘍抑制を示した。これらの結果は、IL-2Rβのアップレギュレーションによってもたらされた外来性IL-15に対する感受性の増強が、優れた機能性を有するγδ CAR T製剤をもたらしことを示している（図19A）。この強化された機能性は、非武装化対応物と比較して、低レベルの外来性IL-15（1 ng/mL）に反応するより高い増殖能と有意に相関し、これは、可溶性の外来性IL-15に対する感受性の増強を反映している（図19B）。CAR改変細胞の濃縮は、アッセイ全体を通して増加し、これは、CAR形質導入細胞が腫瘍を制御する主要集団であることを示している（図19C）。

【0285】

P4 α.15.β及びP4 βを形質導入した血液由来のγδ T細胞を、播種性A549腫瘍モデルにおける機能性に関して評価した（図20A）。図20Bのデータは、α.15.β武装化γδ CAR T細胞がIL-15の補助がない状態で非武装化対応物よりも高い腫瘍抑制をもたらすことを示し、P4 α.15.β処置マウスは、試験終了時（投与19日後）に非武装化細胞が投与されたマウスよりも平均して10分の1以下のBLIシグナルを有している。インビトロ実験と一致して、IL-15の存在下では、β武装化γδ CAR T細胞は、初期のより速い腫瘍消失動態を示すが、全体的にはα.15.β武装化（IL-15補助なし）γδ CAR T処置群と同等の腫瘍抑制を示す。

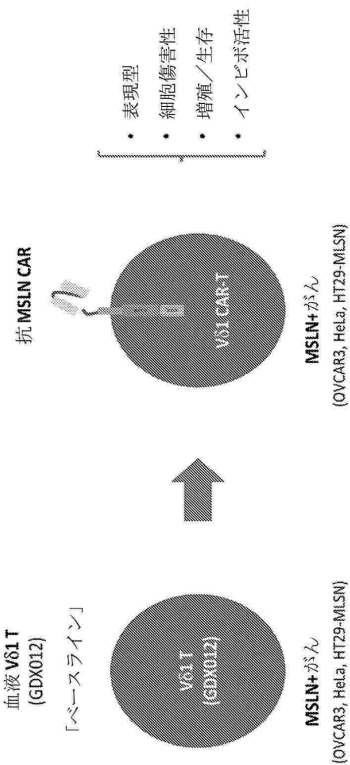
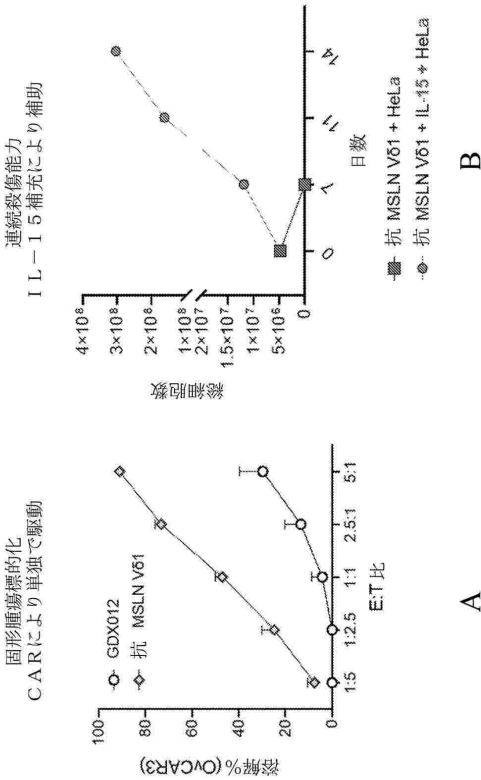
【0286】

#### 実施例7

IL-15につながれたIL-15R $\alpha$ 及びIL-15R $\beta$ を共発現するメソテリン標的化血液由来CAR $\gamma\delta$ T細胞は、凍結保存の14日後まで生存したが、非武装構築物は急速に衰退する。これは、使用した2つの異なるMes o-CARバインダー、YP218 CAR (図21A) 及びP4 CAR (図21B) 間で調査した場合に当てはまる。図21Cは、IL-15につながれたIL-15R $\alpha$ 及びIL-15R $\beta$ 鎖武装化Mes o-CAR T細胞が、外来性IL-15の非存在下における反復抗原刺激アッセイの過程で腫瘍を優位に抑制することができることを示している。また、この機能性は、使用したCARバインダー (YP218またはP4) に関係なく観察される。さらに、IL-15につながれたIL-15R $\alpha$ 及びIL-15R $\beta$ 鎖武装化CAR T細胞によって示される腫瘍抑制の増強は、必ずしも増殖能と相関する訳ではない。代わりに、増殖能は、CAR分子によって駆動され、使用されるバインダーに特異的な機能性であるようである。YP218バインダーを使用した場合に増殖が観察されたが、P4バインダーでは観察されなかった (図21D)。

【図面】  
【図1】

【図2】



10

20

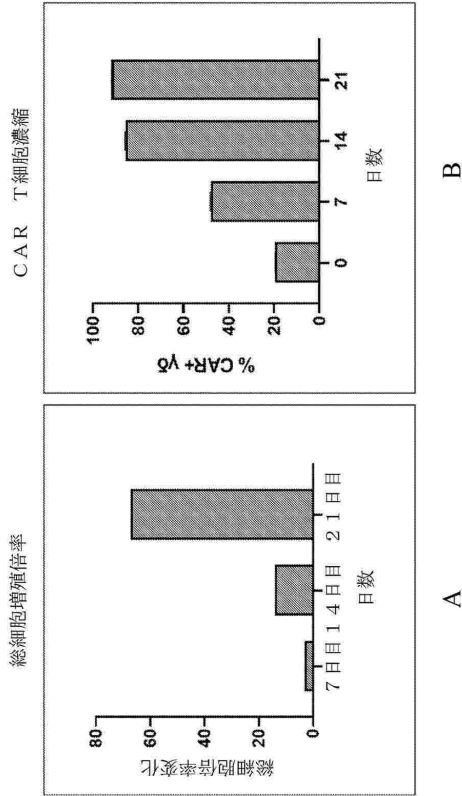
30

40

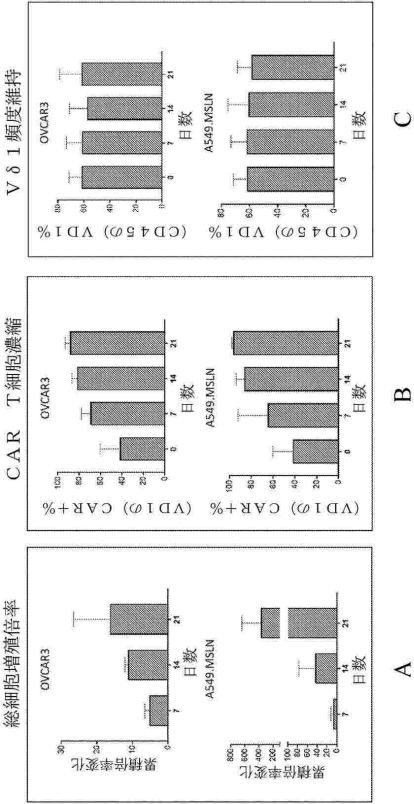
50



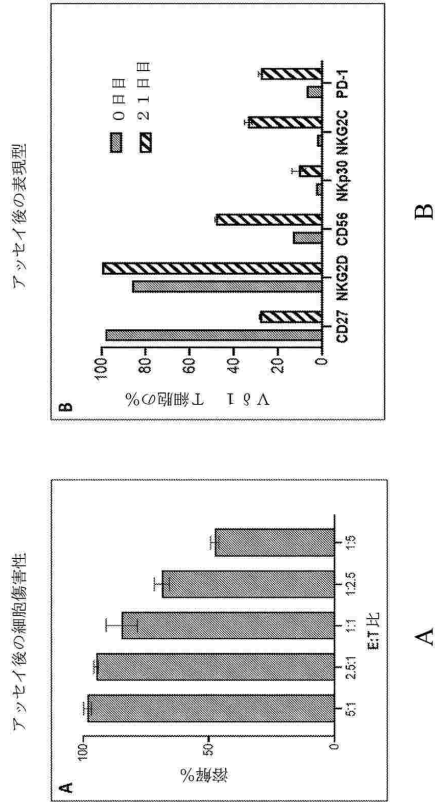
【図 7】



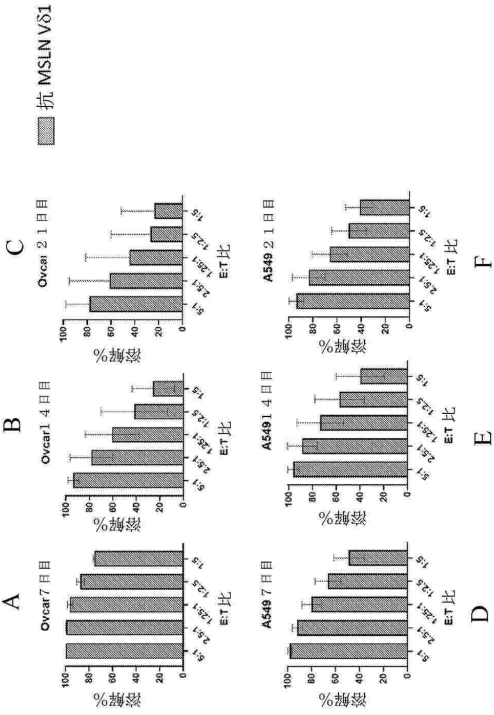
【図 8】



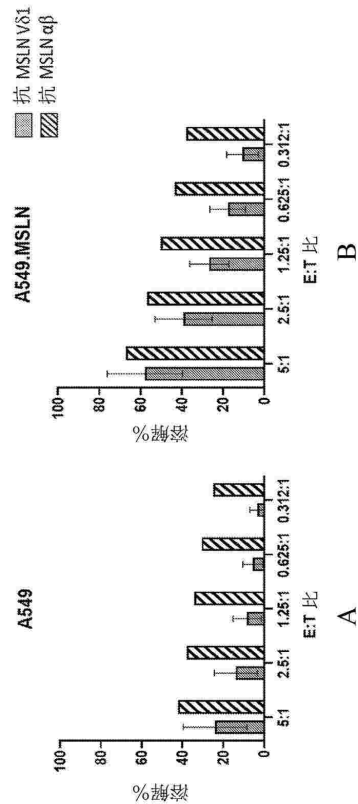
【図 9】



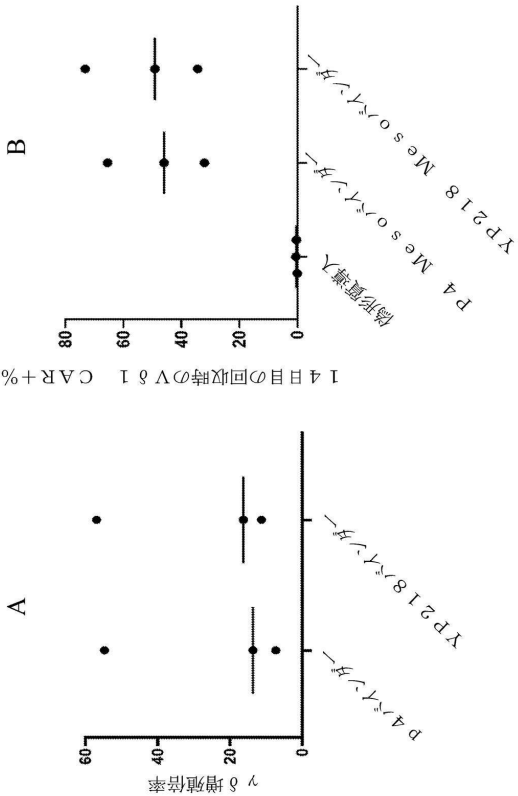
【図 10】



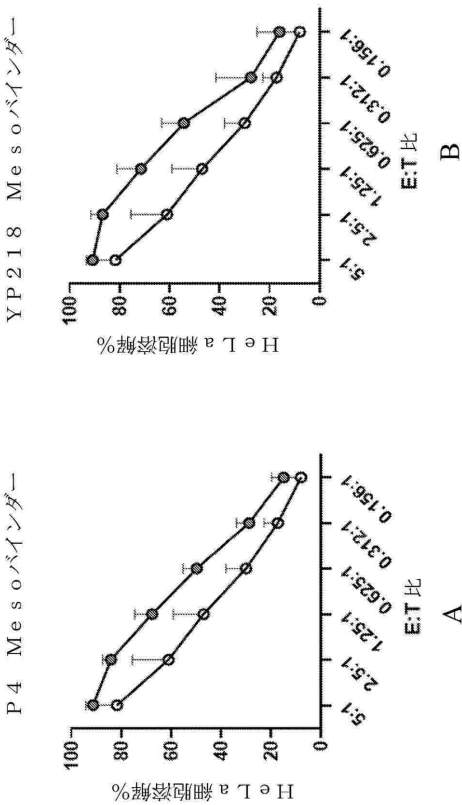
【図 1 1】



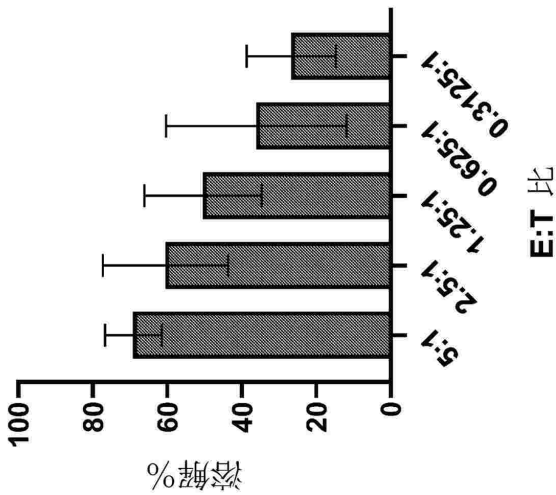
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



10

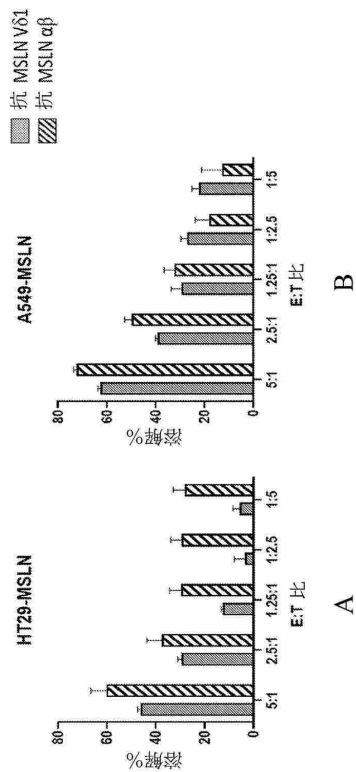
20

30

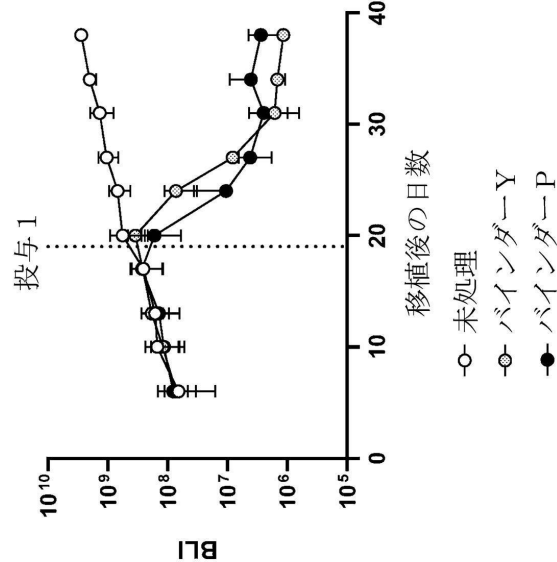
40

50

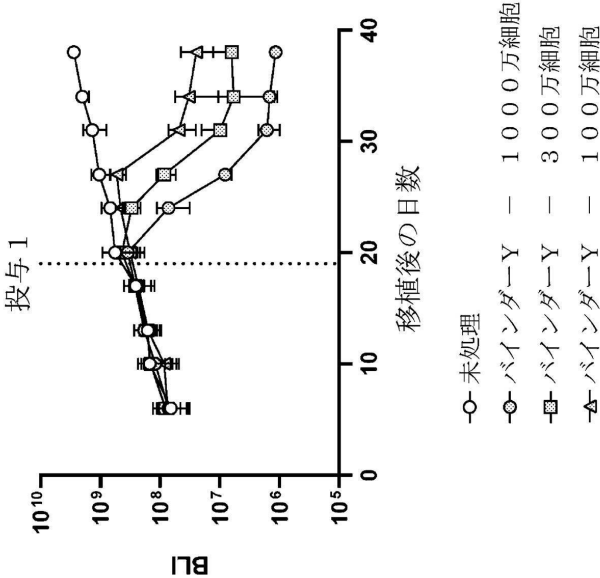
【図 1 5】



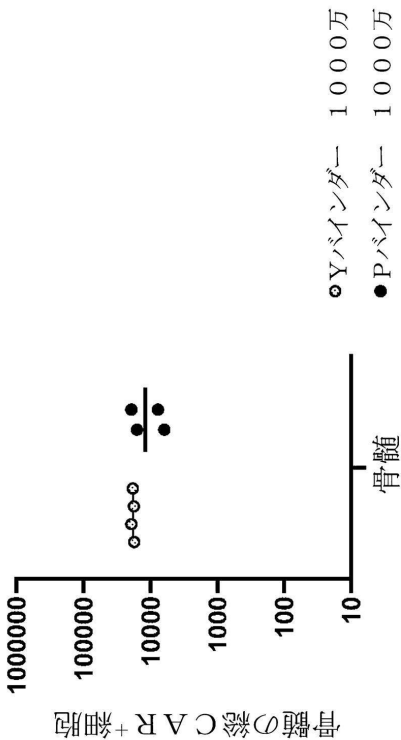
【図 1 6 A】



【図 1 6 B】



【図 1 6 C】



10

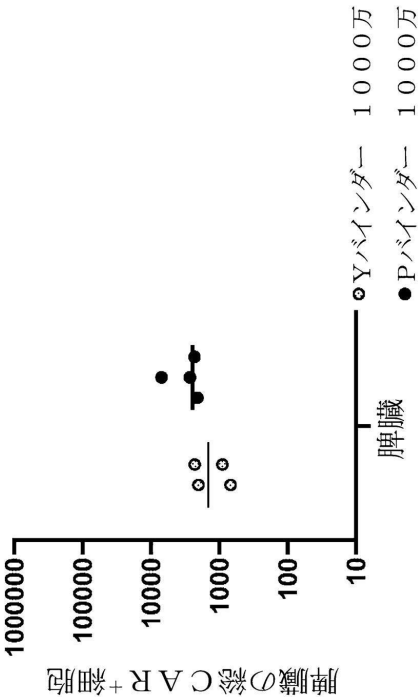
20

30

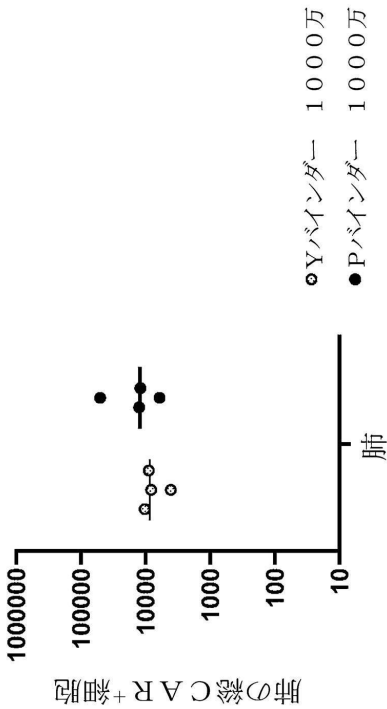
40

50

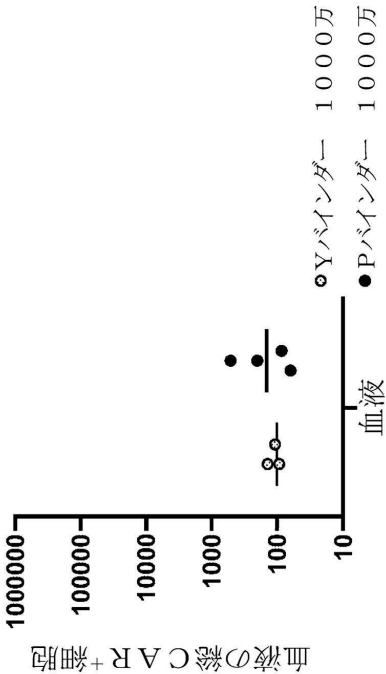
【図 1 6 D】



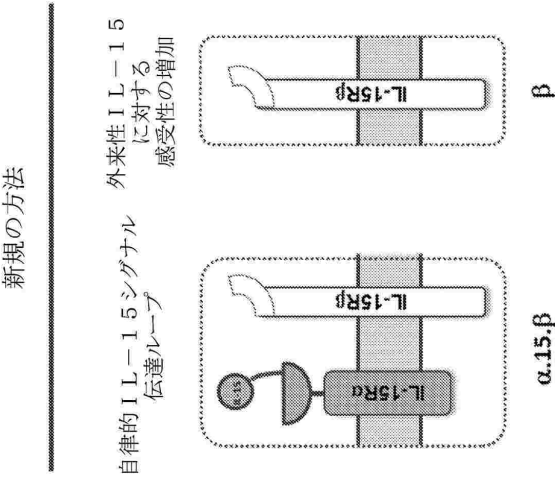
【図 1 6 E】



【図 1 6 F】



【図 1 7 A】



10

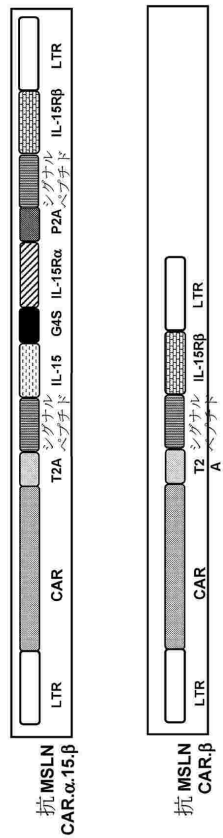
20

30

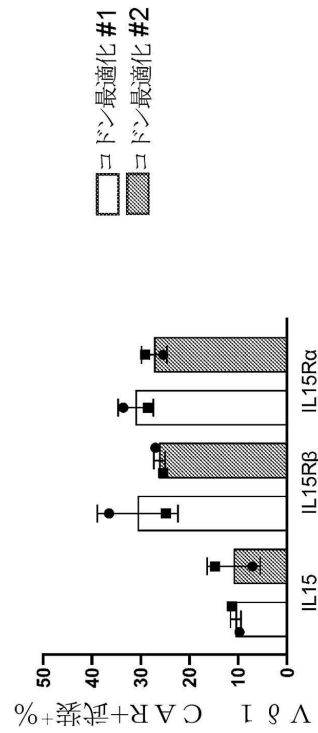
40

50

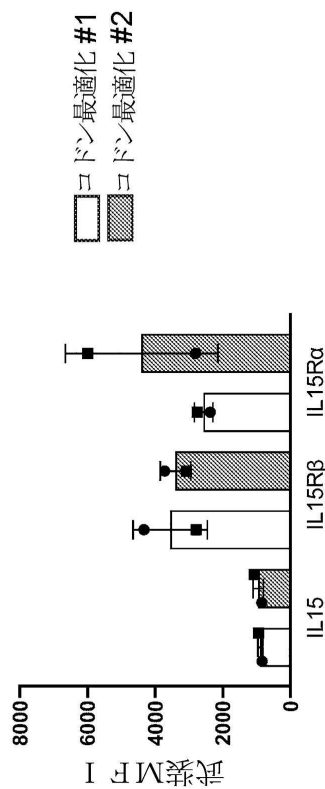
【図 1 7 B】



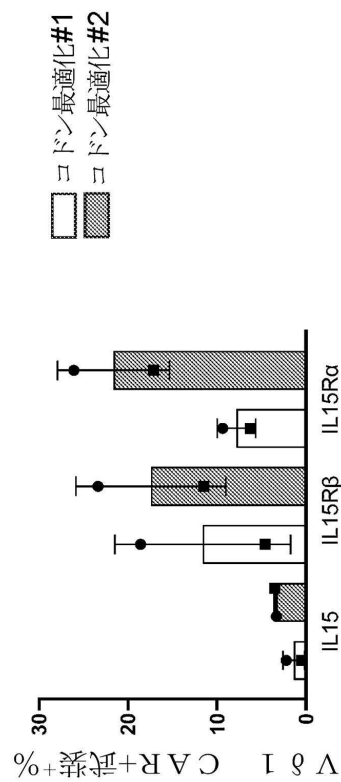
【図 1 8 A】



【図 1 8 B】



【図 1 8 C】



10

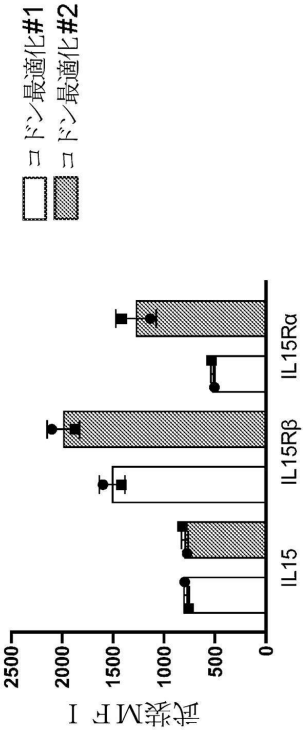
20

30

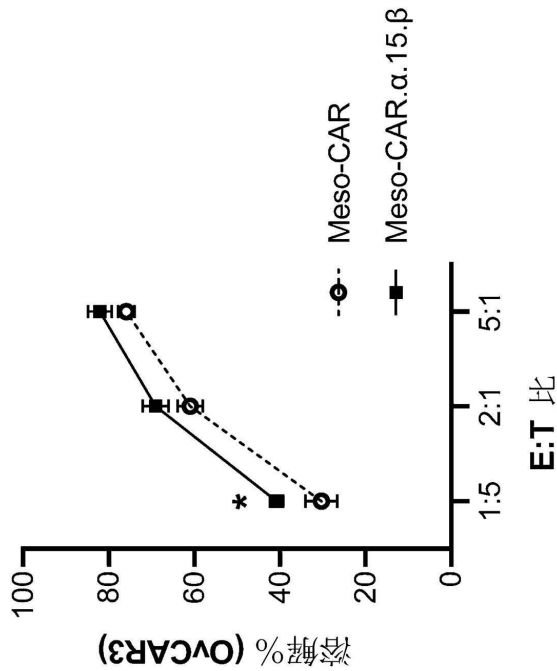
40

50

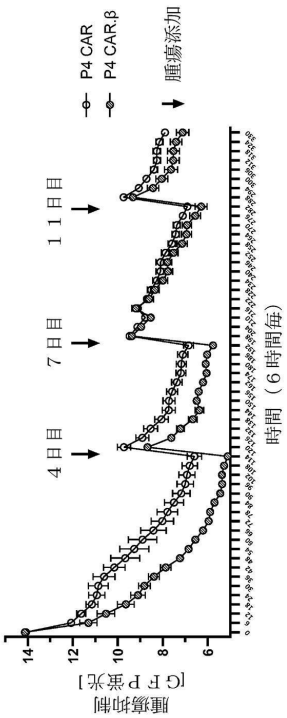
【図 1 8 D】



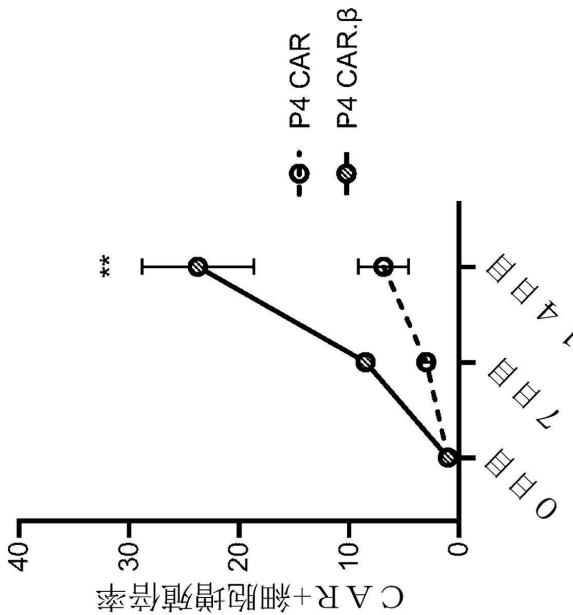
【図 1 8 E】



【図 1 9 A】



【図 1 9 B】



10

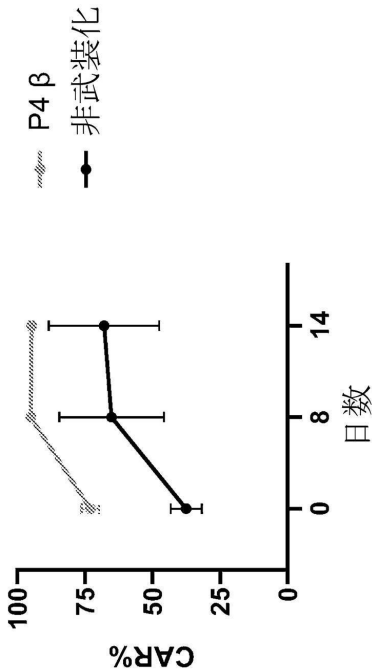
20

30

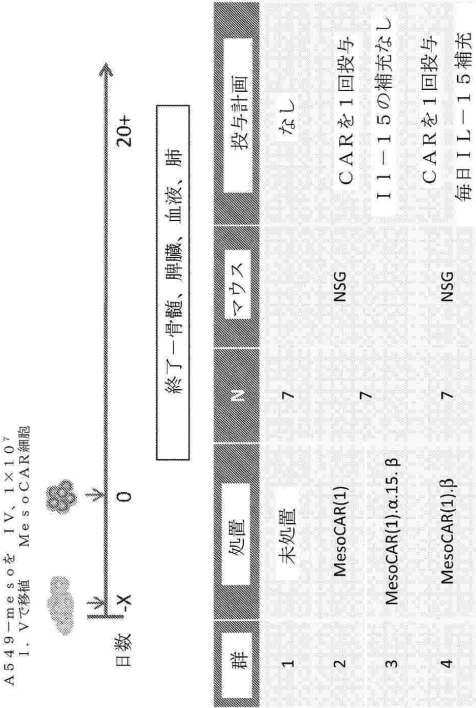
40

50

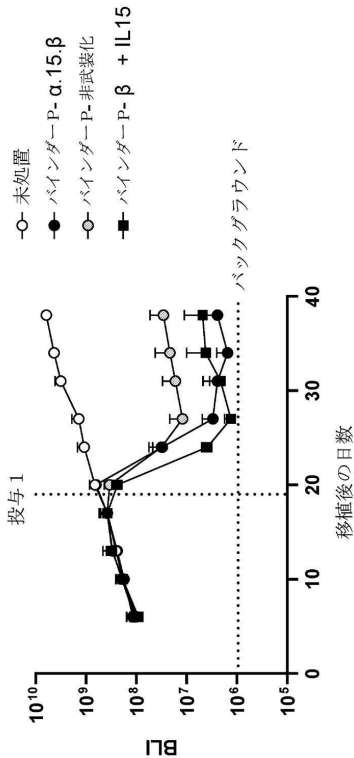
【図 19 C】



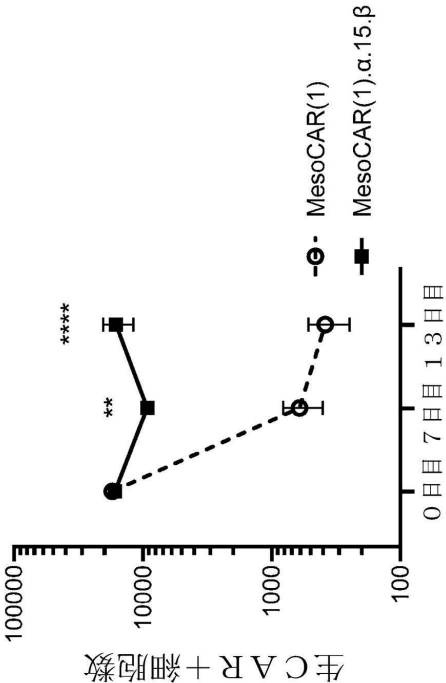
【図 20 A】



【図 20 B】



【図 21 A】



10

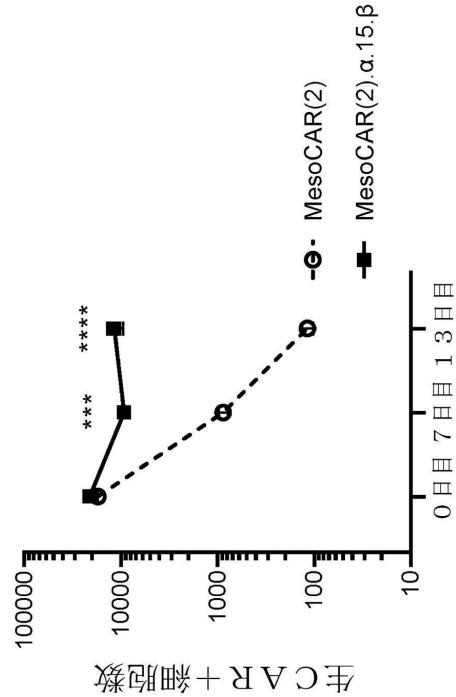
20

30

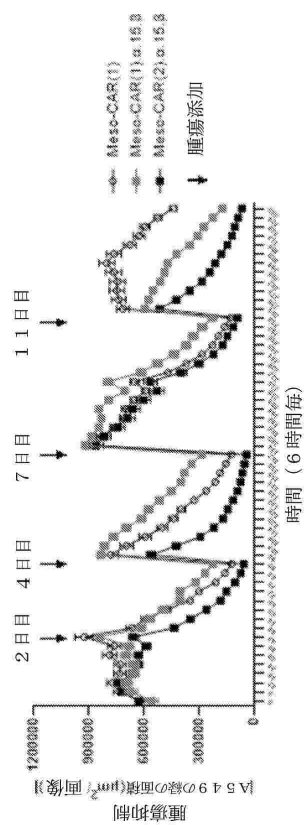
40

50

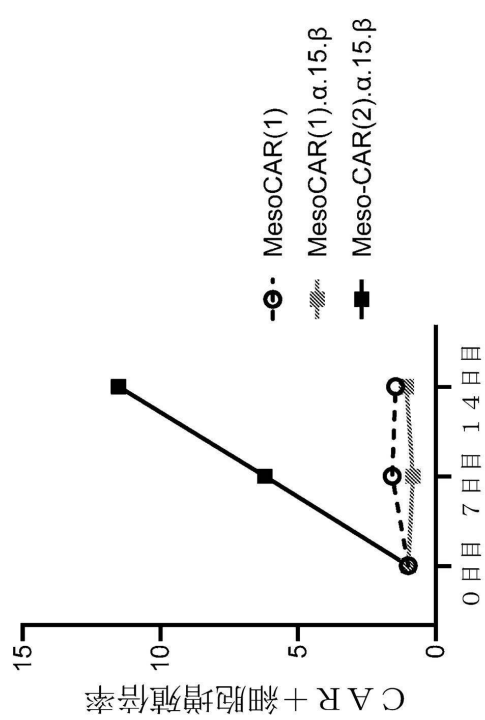
【図 2 1 B】



【図 2 1 C】



【図 2 1 D】



10

20

30

40

50

【配列表】

2025511409000001.xml

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
**PCT/IB2023/053431**

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

INV. **A61P35/00 A61K39/00 C07K14/715**  
ADD.

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)

**A61P A61K C07K**

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

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

**EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE**

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>A</b>  | <b>A. MORELLO ET AL: "Mesothelin-Targeted<br/>CARs: Driving T Cells to Solid Tumors",<br/>CANCER DISCOVERY,<br/>vol. 6, no. 2,<br/>26 October 2015 (2015-10-26), pages<br/>OF1-OF15, XP055239486,<br/>US<br/>ISSN: 2159-8274, DOI:<br/>10.1158/2159-8290.CD-15-0583<br/>Retrieved from the Internet:<br/>URL: <a href="http://cancerdiscovery.aacrjournals.org/content/6/2/133.full-text.pdf">http://cancerdiscovery.aacrjournals.org/content/6/2/133.full-text.pdf</a><br/>the whole document<br/>in particular, pages 6-8<br/>-----<br/>-/-</b> | <b>1-15</b>           |

☒ 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

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

**5 July 2023**

Date of mailing of the international search report

**01/09/2023**

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

**Pérez-Mato, Isabel**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2023/053431

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                       |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Relevant to claim No. |
| X                                                    | WO 2021/259237 A1 (NANJING LEGEND BIOTECH CO LTD [CN]) 30 December 2021 (2021-12-30)<br>the whole document<br>in particular, pages 3-4, 12-14<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                | 1, 2, 4-12            |
| X                                                    | AU 2021 245 153 A1 (CELLENGENE INC [KR])<br>24 February 2022 (2022-02-24)<br>the whole document<br>in particular, pages 11-14<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1, 2, 4, 5,<br>7-12   |
| X                                                    | WO 2020/172555 A1 (UNIV MINNESOTA [US])<br>27 August 2020 (2020-08-27)<br>the whole document<br>in particular, pages 24-25 and figure 12<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                     | 1, 2, 4, 5,<br>7-12   |
| X                                                    | WO 2022/049550 A1 (GAMMADELTA THERAPEUTICS LTD [GB]) 10 March 2022 (2022-03-10)<br>the whole document<br>in particular, pages 85 and 89 and figure 19<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                        | 1-5, 12               |
| X                                                    | CAO BIHUI ET AL: "Use of chimeric antigen receptor NK-92 cells to target mesothelin in ovarian cancer",<br>BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM NL, vol. 524, no. 1,<br>22 January 2020 (2020-01-22), pages 96-102, XP086076904,<br>ISSN: 0006-291X, DOI:<br>10.1016/J.BBRC.2020.01.053<br>[retrieved on 2020-01-22]<br>the whole document<br>in particular, pages 98-99<br>----- | 1, 2, 4, 5,<br>8-10   |
| X                                                    | WO 2019/160956 A1 (NOVARTIS AG [CH]; UNIV PENNSYLVANIA [US])<br>22 August 2019 (2019-08-22)<br>the whole document<br>in particular, pages 1-2 and example 1<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                  | 1, 2, 4, 5,<br>7-12   |
| Y                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 13-15                 |
| Y                                                    | EP 3 822 342 A1 (UNIV KYOTO [JP]; TAKEDA PHARMACEUTICALS CO [JP])<br>19 May 2021 (2021-05-19)<br>the whole document<br>in particular, pages 2-3 and 14 and examples 6-8<br>-----<br>-/--                                                                                                                                                                                                                              | 13-15                 |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2023/053431

## C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Y         | <p>MONIEK A. DE WITTE ET AL: "NK Cells and<br/>??T Cells for Relapse Protection after<br/>Allogeneic Hematopoietic Cell<br/>Transplantation (HCT)",<br/>CURRENT STEM CELL REPORTS,<br/>vol. 3, no. 4,<br/>16 October 2017 (2017-10-16), pages<br/>301-311, XP055555665,<br/>DOI: 10.1007/s40778-017-0106-4<br/>the whole document<br/>in particular, point 1.3.2<br/>-----</p>                              | 13-15                 |
| Y         | <p>VAN ACKER HELEEN H. ET AL: "The role of<br/>the common gamma-chain family cytokines in<br/>[gamma][delta] T cell-based anti-cancer<br/>immunotherapy",<br/>CYTOKINE &amp; GROWTH FACTOR REVIEWS,<br/>vol. 41, 16 May 2018 (2018-05-16), pages<br/>54-64, XP093008263,<br/>GB<br/>ISSN: 1359-6101, DOI:<br/>10.1016/j.cytogfr.2018.05.002<br/>the whole document<br/>in particular, page 61<br/>-----</p> | 13-15                 |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2023/053431

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/IB2023/053431**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**see additional sheet**

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 an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:  
**1-15**

30

40

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/IB2023 /053431

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

## 1. claims: 1-15

directed to an engineered innate lymphoid cell comprising a heterologous targeting construct specific for mesothelin, to pharmaceutical compositions comprising said cells, to medical uses thereof and to methods of making said cells.

---

## 2. claims: 16-105

directed to a polynucleotide encoding an anti-mesothelin CAR, to a vector comprising said polynucleotide, to the polypeptide encoded by said polynucleotide, to host cells comprising said polynucleotide, vector or polypeptide, to pharmaceutical compositions comprising said polynucleotides/vectors/cells/polypeptides and to medical uses thereof.

---

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2023/053431

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| <b>WO 2021259237 A1</b>                   | <b>30-12-2021</b>   | <b>CN 115996733 A</b>      | <b>21-04-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>EP 4189074 A1</b>       | <b>07-06-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>US 2023226181 A1</b>    | <b>20-07-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>WO 2021259237 A1</b>    | <b>30-12-2021</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| <b>AU 2021245153 A1</b>                   | <b>24-02-2022</b>   | <b>AU 2021245153 A1</b>    | <b>24-02-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>CA 3133678 A1</b>       | <b>14-01-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>CN 114364702 A</b>      | <b>15-04-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>EP 4194467 A1</b>       | <b>14-06-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>JP 7138989 B1</b>       | <b>20-09-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>JP 2022543333 A</b>     | <b>12-10-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>US 2023151082 A1</b>    | <b>18-05-2023</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| <b>WO 2020172555 A1</b>                   | <b>27-08-2020</b>   | <b>US 2022088074 A1</b>    | <b>24-03-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>WO 2020172555 A1</b>    | <b>27-08-2020</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| <b>WO 2022049550 A1</b>                   | <b>10-03-2022</b>   | <b>AU 2021336118 A1</b>    | <b>04-05-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>BR 112023004023 A2</b>  | <b>04-04-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>CA 3193148 A1</b>       | <b>10-03-2022</b>   |
|                                           |                     | <b>CN 116096863 A</b>      | <b>09-05-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>CO 2023003868 A2</b>    | <b>29-05-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>EP 4208535 A1</b>       | <b>12-07-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>IL 300786 A</b>         | <b>01-04-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>KR 20230084155 A</b>    | <b>12-06-2023</b>   |
|                                           |                     | <b>WO 2022049550 A1</b>    | <b>10-03-2022</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| <b>WO 2019160956 A1</b>                   | <b>22-08-2019</b>   | <b>EP 3752203 A1</b>       | <b>23-12-2020</b>   |
|                                           |                     | <b>US 2020399383 A1</b>    | <b>24-12-2020</b>   |
|                                           |                     | <b>WO 2019160956 A1</b>    | <b>22-08-2019</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |
| <b>EP 3822342 A1</b>                      | <b>19-05-2021</b>   | <b>AU 2019302207 A1</b>    | <b>04-03-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>BR 112021000437 A2</b>  | <b>06-04-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>CA 3106089 A1</b>       | <b>16-01-2020</b>   |
|                                           |                     | <b>CN 112513256 A</b>      | <b>16-03-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>CO 2021001064 A2</b>    | <b>08-02-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>EP 3822342 A1</b>       | <b>19-05-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>IL 280041 A</b>         | <b>01-03-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>JP WO2020013315 A1</b>  | <b>02-08-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>KR 20210030373 A</b>    | <b>17-03-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>SG 11202100260Q A</b>   | <b>25-02-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>TW 202020145 A</b>      | <b>01-06-2020</b>   |
|                                           |                     | <b>US 2021130777 A1</b>    | <b>06-05-2021</b>   |
|                                           |                     | <b>WO 2020013315 A1</b>    | <b>16-01-2020</b>   |
| <hr/>                                     |                     |                            |                     |

## 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 | 15/63 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/63  | Z       |
| C 1 2 N | 15/113 (2010.01) | C 1 2 N | 15/113 | Z       |
| C 1 2 N | 15/867 (2006.01) | C 1 2 N | 15/867 | Z       |
| C 1 2 N | 15/86 (2006.01)  | C 1 2 N | 15/86  | Z       |
| C 1 2 N | 15/864 (2006.01) | C 1 2 N | 15/864 | 1 0 0 Z |
| A 6 1 K | 35/17 (2025.01)  | A 6 1 K | 35/17  |         |
| A 6 1 K | 45/00 (2006.01)  | A 6 1 K | 45/00  | 1 0 1   |
| 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 | 35/04 (2006.01)  | A 6 1 P | 35/04  |         |
| A 6 1 P | 43/00 (2006.01)  | A 6 1 P | 43/00  | 1 2 1   |
| A 6 1 K | 39/395 (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 | D       |
| A 6 1 K | 39/00 (2006.01)  | A 6 1 K | 39/395 | N       |
|         |                  | A 6 1 K | 39/00  | H       |

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

弁理士 土井 京子

(74)代理人 100121212

弁理士 田村 弥栄子

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100152308

弁理士 中 正道

(74)代理人 100201558

弁理士 亀井 恵二郎

(72)発明者 コヴァチ、イシュトヴァン

イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー ロンドン、キングダム ストリート 1、ガンマデルタ セ  
ラピューティクス リミティッド内

(72)発明者 シモエス、アンドレ ゴンサロ ド エスピリト サント

イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー ロンドン、キングダム ストリート 1、ガンマデルタ セ  
ラピューティクス リミティッド内

(72)発明者 イリングワース、サム

イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー ロンドン、キングダム ストリート 1、ガンマデルタ セ  
ラピューティクス リミティッド内

(72)発明者 ヌスバウマー、オリヴァー

イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー ロンドン、キングダム ストリート 1、ガンマデルタ セ  
ラピューティクス リミティッド内

(72)発明者 エドワーズ、サラ

イギリス国、ダブリュ2 6ビーディー ロンドン、キングダム ストリート 1、ガンマデルタ セ  
ラピューティクス リミティッド内

F ターム (参考) 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 BC01 CA24 CA44

4C084 AA19 NA05 ZB261 ZB262 ZC751

Fターム (参考) 4C085 AA02 AA13 BB01 BB11 EE03  
4C087 BB65 MA02 NA05 NA14 ZB26 ZC75