

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 14.04.00.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 19.10.01 Bulletin 01/42.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : UNIVERSITE DE NANTES — FR.

⑦② Inventeur(s) : JOTEREAU FRANCINE, GERVOIS
NADINE, LABARRIERE NATHALIE, PANDOLFINO
LEVEQUE MARIE CHRISTINE et DIEZ ELISABETH.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET DAWIDOWICZ.

⑤④ AGENT ET PROCEDE POUR LA SIMULATION DE LYMPHOCYTES T SPECIFIQUES ET LYMPHOCYTES T
OBTENUS.

⑤⑦ L'invention concerne un agent induisant, dans une po-
pulation de cellules mononuclées du sang périphérique, en
présence de cytokines, une prolifération et/ ou une matura-
tion de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins
un antigène exprimé par une cellule cible telle qu'une cellule
cancéreuse d'une tumeur à traiter.

Cet agent est caractérisé en ce qu'il est constitué d'au
moins une cellule tumorale exprimant au moins une molé-
cule du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité), cette
cellule étant chargée en un peptide antigénique déterminé
en fonction de l'antigène exprimé par la cellule cible et pré-
sentant une bonne affinité/ avidité avec les lymphocytes T.

Application: immunothérapies adoptives ou actives.

FR 2 807 661 - A1



5

10

15 Agent et procédé pour la stimulation de lymphocytes T
spécifiques et lymphocytes T obtenus

La présente invention concerne un agent induisant, dans une population de cellules mononuclées du sang périphérique, dites PBL ou PBMC, en présence de cytokines, une prolifération de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible telle qu'une cellule cancéreuse d'une tumeur à traiter, une composition pharmaceutique et un vaccin incluant un tel agent ainsi qu'un procédé de stimulation de la croissance et de la multiplication de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'un antigène exprimé par des cellules cibles et les lymphocytes T obtenus par ce procédé.

30 La stimulation de lymphocytes, en particulier de lymphocytes T spécifiques d'antigène de tumeur, a fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières années. Toutefois, il n'existe à ce jour aucun procédé simple à mettre en oeuvre permettant l'obtention de lymphocytes T
35 spécifiques d'antigène de tumeur de forte avidité/réactivité, c'est-à-dire aptes à produire de l'interleukine 2 en réponse aux cellules tumorales à traiter. Pourtant, cette caractéristique des lymphocytes

est une condition nécessaire pour permettre en particulier la réalisation d'immunothérapie notamment d'immunothérapie adoptive spécifique.

- 5 La publication de Greenberg et al. Yee C., Savage P.A., Lee P.P., Davis M.M. and Greenberg P.D. Isolation of High Avidity Melanoma-Reaction CTL from Heterogeneous Populations Using Peptide-MHC Tetramers. J. Immunol. 1999. 162:2227-2234 décrit l'obtention de clones de lymphocytes T
10 spécifiques d'antigène de mélanome en vue de réaliser des immunothérapies adoptives. Ce procédé consiste à stimuler des lymphocytes du sang périphérique ou PBL par des cellules dendritiques matures autologues chargées en peptide. Les lymphocytes obtenus sont ensuite sélectionnés
15 en fonction de leur avidité/réactivité pour les cellules tumorales en procédant à un tri au cytofluoromètre en flux. Pour permettre ce tri, les lymphocytes sont marqués par des tétramères constitués de complexes MHC/peptides solubles couplés à la biotine, tétramérisés et marqués par
20 interaction avec de l'avidine couplée à un fluorochrome. Une fois ce tri réalisé, il est procédé à un clonage par dilution limitante des lymphocytes T sélectionnés. La capacité de ces lymphocytes T à reconnaître des cellules tumorales exprimant l'antigène est établie par des tests de
25 cytotoxicité. Toutefois, aucun résultat concernant la capacité de ces lymphocytes T à produire des cytokines, en particulier l'interleukine-2, en réponse aux cellules tumorales, n'a été décrit.
- 30 En outre, ce procédé est économiquement non viable car la production de cellules dendritiques matures aux normes GMP est très coûteuse. Cette production demande dix jours de culture et l'intervention d'un personnel spécialisé pendant plusieurs jours. Elle nécessite de plus la
35 réalisation d'un prélèvement de sang important sur le donneur.

De nombreuses autres publications décrivent d'autres

procédés pour obtenir des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de différents antigènes de tumeur. Toutefois, aucun procédé connu à ce jour ne permet l'obtention de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques présentant une réactivité/avidité suffisante pour produire de l'interleukine 2 en réponse aux cellules tumorales qui expriment naturellement l'antigène.

Un but de la présente invention est de proposer un agent induisant, dans une population de cellules mononuclées du sang périphérique, une prolifération et/ou une maturation de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible, telle qu'une cellule cancéreuse d'une tumeur à traiter, cet agent permettant l'obtention de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'avidité/réactivité suffisante pour produire des cytokines, en particulier de l'interleukine 2, en réponse aux cellules tumorales exprimant naturellement l'antigène.

20

Un autre but de la présente invention est de proposer un procédé de stimulation de la croissance et de la multiplication de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'un antigène exprimé par des cellules cibles, ce procédé étant simple à mettre en oeuvre et ne nécessitant qu'un prélèvement de sang limité sur le donneur.

Un autre but de la présente invention est de proposer un agent et un procédé universels induisant une prolifération et une stimulation des lymphocytes T quel que soit le sang du patient.

A cet effet, l'invention a pour objet un agent induisant, dans une population de cellules mononuclées du sang périphérique, dites PBL ou PBMC, en présence de cytokines, une prolifération et/ou une maturation de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible telle qu'une cellule cancéreuse d'une

tumeur à traiter, caractérisé en ce qu'il est constitué d'au moins une cellule tumorale exprimant au moins une molécule du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité), cette cellule tumorale étant chargée en un peptide
5 antigénique déterminé en fonction de l'antigène exprimé par la cellule cible et présentant une bonne affinité/avidité avec les lymphocytes T.

L'invention a encore pour objet une composition
10 thérapeutique, notamment pour la mise en oeuvre d'immunothérapies actives, en particulier pour le traitement de mélanomes, caractérisée en ce qu'elle contient comme substance active au moins un agent du type précité.

15 L'invention a encore pour objet un vaccin, caractérisé en ce qu'il contient comme substance active au moins un agent du type précité.

20 L'invention a encore pour objet un procédé de stimulation de la croissance et de la multiplication de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'un antigène exprimé par des cellules cibles, en particulier des cellules cancéreuses d'une tumeur à traiter, caractérisé en ce qu'on charge une
25 population de cellules tumorales exprimant en surface au moins une molécule du CMH en un peptide antigénique, fonction de l'antigène exprimé par la cellule cible, en ce qu'on met en présence les cellules tumorales chargées en peptides antigéniques avec des lymphocytes du sang
30 périphérique d'un patient à traiter et des cytokines pendant une durée fonction de la concentration finale de lymphocytes T spécifiques souhaitée.

L'invention a encore pour objet un lymphocyte T cytotoxique
35 spécifique d'un antigène exprimé par une cellule cible, en particulier une cellule cancéreuse d'une tumeur à traiter, caractérisé en ce qu'il est obtenu par la mise en oeuvre du procédé précité.

L'invention sera bien comprise à la lecture de la description suivante d'exemples de réalisation.

5 L'invention consiste, de manière générale, à induire dans une population de cellules mononuclées du sang périphérique en présence de cytokines, une prolifération de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible, telle qu'une cellule cancéreuse
10 d'une tumeur à traiter. Par cellules mononuclées du sang périphérique, on entend à la fois les lymphocytes du sang périphérique dits PBL (Peripheral Blood Lymphocytes) ou les cellules mononuclées du sang périphérique dites PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells).

15 Le principe de base de l'invention consiste à utiliser une cellule tumorale chargée en peptide antigénique pour stimuler les cellules mononuclées du sang périphérique alors même que les cellules tumorales sont considérées
20 jusqu'à ce jour comme de très mauvaises cellules présentatrices d'antigène. Il a été ainsi constaté de manière surprenante par les auteurs de la présente invention que les cellules tumorales chargées en peptide antigénique stimulaient de manière très importante les
25 cellules mononuclées du sang périphérique et permettaient d'obtenir des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'une forte réactivité à l'encontre des cellules tumorales qui expriment naturellement un tel antigène, cette forte réactivité se traduisant notamment par leur capacité à
30 sécréter de l'interleukine 2 en réponse à une stimulation par des lignées tumorales qui expriment naturellement l'antigène. Ces résultats n'avaient jamais été obtenus par les méthodes décrites à ce jour.

35 Pour induire une telle prolifération de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible, telle qu'une cellule cancéreuse d'une tumeur à traiter, il convient dans un premier temps de

charger une lignée de cellules tumorales, clonales ou non, exprimant en surface au moins une molécule du CMH en un peptide antigénique choisi en fonction de l'antigène exprimé naturellement par la cellule cible. De préférence, 5 les cellules tumorales chargées en peptide antigénique sont issues d'une lignée sécurisée.

Il est ainsi décrit ci-après à titre d'exemple le chargement en peptide de la lignée de mélanome M17 dont une 10 banque mère a été sécurisée par vérification de l'absence de contaminants viraux, humains, porcins et bovins. Les cellules M17 sont des cellules adhérentes qui adhèrent au fond des récipients de culture. Elles sont donc décollées en utilisant une protéase. Ces cellules sont ensuite 15 irradiées à 70 Grays pour en limiter les capacités de multiplication puis elles sont incubées avec une suspension de peptide antigénique dans le milieu de culture approprié à une concentration de 0,1 à 50 μ m, selon le peptide, en présence de β 2 microglobuline. Le peptide devant être 20 chargé sur la cellule tumorale est déterminé en fonction de l'antigène exprimé par la cellule cible. Ce peptide doit présenter une bonne affinité/avidité avec les lymphocytes T. A titre d'exemple, dans le cas de traitement de mélanome, les peptides antigéniques utilisés peuvent être 25 dérivés de l'antigène Melan-A/Mart-1 décrit en particulier dans Kawakami Y., Eliyahu S., Delgado C.H., Robbins P.F., Rivoltini L., Topalian S.L., Miki T. and Rosenberg S.A. « Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into 30 tumor » (Proc. Natl. Acad. Sci. USA - 1994. 91:3515-3519), Coulie P.G., Bruchard V. Van Pel A., Wölfel T., Schneider J., Traversari C., Mattei S., De Plaen E., Lurquin C., Szikara J-P, Renauld J-C and Boon T. « A new Gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous 35 cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas » (J. Exp. Med. 1994 - 180:35-42), et de l'antigène NA17-A Guilloux Y., Lucas S., Brichard V.G., Van Pel A., Viret C., De Plaen E., Brasseur F., Lethé B., Jotereau F. and Boon T, « A peptide

recognized by human cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas is encoded by an intron sequence of the N-Acetylglucosaminyltransferase V gene », (J. Exp. Med. 1996. 183:1173-1183).

5

Ces antigènes sont en effet bien connus dans la littérature comme étant des antigènes exprimés naturellement par les cellules de mélanome.

- 10 Une fois le chargement en peptides antigéniques des cellules tumorales effectué, ces cellules sont mises en présence de lymphocytes du sang périphérique d'un patient à traiter de manière à stimuler la production de lymphocytes T cytotoxiques. On constate que cette stimulation est
15 inefficace en l'absence de cytokines.

Il est à noter que, de préférence, la cellule tumorale chargée en peptide antigénique utilisée doit exprimer, outre une molécule du CMH à un bon niveau, au moins la
20 molécule ICAM-1 et la molécule LFA3.

Les lymphocytes du sang périphérique ou PBL ou PBMC sont quant à eux obtenus à partir du sang d'un donneur atteint de la tumeur, ce sang étant centrifugé sur un milieu de
25 séparation classique. La quantité de sang à prélever est de l'ordre de 50 à 100 ml, quantité relativement faible pour ne pas gêner le donneur.

La mise en présence des cellules tumorales chargées en
30 peptides antigéniques avec des lymphocytes du sang périphérique en vue d'obtenir une croissance et une multiplication des lymphocytes T cytotoxiques peut s'effectuer de la manière suivante. Les cellules M17 chargées en peptides obtenues comme indiqué ci-dessus sont
35 lavées trois fois pour éliminer l'excès de peptide resté dans le surnageant. Elles sont alors mélangées aux lymphocytes du sang périphérique auquel elles vont présenter leur peptide sur une molécule du CMH de classe 1.

Cette stimulation peut être réalisée dans différents récipients de culture. Les mieux adaptés sont les plaques de 24 puits. On place alors dans chaque puits 2 ml de milieu de culture contenant 1×10^6 PBL et environ 200 000
5 cellules M17 chargées en peptide.

La stimulation est inefficace en l'absence de cytokines, c'est pourquoi il est nécessaire d'ajouter dans le milieu de culture par exemple de l'interleukine 6 à 20 ng/ml ou un
10 mélange d'interleukine 6 et d'interleukine 12 à 20 ng/ml et 5 ng/ml respectivement.

Au jour 8, puis tous les 7 jours si nécessaire, on répète la stimulation. Pour cela, on retire la moitié du
15 surnageant de culture et on rajoute des cellules M17 fraîchement irradiées et chargées en peptide comme précédemment et une nouvelle cytokine, l'IL-2, à la concentration de 50 UI/ml (Unités Internationales/ml).

20 La stimulation est répétée autant de fois que nécessaire en fonction de la concentration finale de lymphocytes T spécifiques souhaitée. Sept jours après la deuxième, troisième ou quatrième stimulation, on peut ainsi détecter dans certains puits de quelques pour-cent à quelques
25 dizaines de pour-cent de lymphocytes T CD8 spécifiques du peptide. Les pourcentages obtenus après de telles stimulations n'ont jamais été obtenus à ce jour avec les méthodes classiques en un temps si court.

30 L'étape suivante du procédé consiste à trier les lymphocytes T spécifiques d'un antigène des cellules cibles en vue de l'obtention d'une population pure de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques dudit antigène, notamment pour la mise en oeuvre d'immunothérapie adoptive. Au cours de
35 l'étape de tri, on sélectionne les lymphocytes T cytotoxiques spécifiques aptes à sécréter une cytokine d'intérêt, puis on purifie les lymphocytes T sélectionnés par application de la méthode du clonage par dilution

limitante.

Le principe consiste donc à mesurer, dans chaque puits de stimulation, par un cytofluoromètre, le pourcentage de lymphocytes T capables de sécréter les cytokines IFN- γ et IL-2 quand on les stimule par des cellules déficientes en TAP (Transporter Associated Protein) chargées en peptide (1 à 10 μ m). Pour cela, on prélève un aliquot de chaque puits de culture contenant de l'ordre de 2×10^5 lymphocytes, on lave ces lymphocytes et on les mélange à raison de 10^5 par puits dans un volume de 100 μ l de milieu de culture avec 30×10^5 cellules déficientes en TAP (Transporter Associated Protein) chargées ou non en peptide pendant 6 heures. La sécrétion de cytokine qui révèle les lymphocytes T spécifiques est recherchée par marquage intra-cellulaire de la cytokine. Pour réaliser ce marquage, on bloque la sécrétion de cytokines par les lymphocytes stimulés en ajoutant dès le début de la stimulation un inhibiteur de la sécrétion, tel que de la bréfeldine ou de la chloroquine. Six heures plus tard, on fixe les lymphocytes à l'aide de formaldéhyde, on perméabilise leur membrane à l'aide de saponine, puis on les lave et on les marque avec un anticorps du commerce, spécifique de la cytokine étudiée, et couplé à un fluorochrome. On peut alors déterminer, en utilisant un cytomètre en flux, le pourcentage de lymphocytes marqués qui sécrètent les cytokines étudiées. Les lymphocytes stimulés par les cellules TAP- non chargées en peptide servent de témoin négatif.

Une fois que les lymphocytes T, aptes à sécréter une cytokine d'intérêt, ont été sélectionnés, on peut alors procéder à une purification de ces lymphocytes T spécifiques obtenus. Plusieurs méthodes sont possibles. Le clonage par dilution limitante est la solution préférée car il n'existe pas actuellement de méthode de tri plus simple répondant aux normes GMP pour la purification des lymphocytes à usage clinique.

Le clonage est réalisé en plaque de 96 puits à fond rond. On distribue d'abord dans les puits de 5 à 6 plaques de culture des cellules nourricières irradiées constituées d'un mélange de 20 000 cellules d'une lignée B EBV
5 sécurisée, la lignée LA2, et de 100 000 PBL d'un donneur de sang et de l'EFS régulièrement contrôlé pour l'absence de contamination par des agents infectieux transmissibles. On distribue alors les lymphocytes à cloner dans les puits à raison de un tous les trois puits. On a aussi ajouté au
10 milieu de culture de ces puits de l'IL2, facteur de croissance des lymphocytes T, à la concentration de 50 UI/ml et un agent mitogène, la phytohémagglutinine : PHA, à la concentration de 15 µg/ml.

15 Dix jours plus tard, on repère au microscope les colonies à priori clonales de lymphocytes et 5 à 6 jours plus tard, on teste la spécificité de ces colonies pour repérer les clones spécifiques de l'antigène utilisé.

20 Cette spécificité peut à nouveau être établie de plusieurs façons : soit par un test de cytotoxicité, soit par un test de sécrétion de cytokines en réponse à des cellules déficientes en TAP, chargées ou non en peptides. Les clones sont ensuite multipliés par dédoublement du puits initial
25 dans 25 puits d'une plaque de 96 puits en réalisant un transfert sur cellules nourricières irradiées et une stimulation par le PHA comme réalisée lors du clonage.

Les clones de lymphocytes T spécifiques du peptide sont
30 ensuite testés pour leur niveau de réactivité, en particulier leur avidité et leur affinité, à des cellules tumorales qui expriment naturellement l'antigène à un niveau variable mais toujours faible en comparaison à des cellules déficientes en TAP chargées en peptide. Seuls les
35 clones les plus fortement réactifs aux cellules tumorales seront conservés pour la réalisation de thérapies adoptives. Ces clones sont repérés par leur capacité à sécréter de l'interleukine 2 en réponse à une stimulation

par des lignées tumorales qui expriment naturellement l'antigène. La mise en évidence de cette sécrétion peut être réalisée de différentes façons, en particulier par test ELISA, par marquage intracytoplasmique de la cytokine
5 comme décrit précédemment ou par dosage biologique de l'interleukine 2 sécrétée par les lymphocytes stimulés dans le surnageant de culture.

La première étape du procédé décrit ci-dessus peut être
10 mise en oeuvre in vitro ou in vivo. En effet, il est possible de mettre au point un agent constitué d'au moins une cellule tumorale exprimant au moins la cellule du CMH, cette cellule étant chargée en un peptide antigénique déterminé en fonction de l'antigène exprimé par les
15 cellules cibles et présentant une bonne affinité/avidité avec les lymphocytes. Cet agent peut être utilisé sur des populations de cellules mononuclées in vivo, notamment pour la réalisation d'immunothérapies actives, ou sur une population de cellules mononuclées in vitro comme cela a
20 été décrit ci-dessus dans le procédé, notamment pour la réalisation d'immunothérapie passive. De tels agents pourront ainsi être incorporés à des compositions thérapeutiques pour le traitement de différentes tumeurs, en particulier pour le traitement de mélanome, ou être
25 incorporés à des compositions vaccinales de manière à induire une réponse immunitaire spécifique de manière préventive.

REVENDICATIONS

1. Agent induisant, dans une population de cellules mononuclées du sang périphérique, dites PBL ou PBMC, en
5 présence de cytokines, une prolifération et/ou une maturation de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'au moins un antigène exprimé par une cellule cible telle qu'une cellule cancéreuse d'une tumeur à traiter, caractérisé en ce qu'il est constitué d'au moins une
10 cellule tumorale exprimant au moins une molécule du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité), cette cellule tumorale étant chargée en un peptide antigénique déterminé en fonction de l'antigène exprimé par la cellule cible et présentant une bonne affinité/avidité avec les lymphocytes
15 T.

2. Agent selon la revendication 1, caractérisé en ce que la cellule tumorale chargée en peptide antigénique exprime, outre la molécule du CMH à un
20 bon niveau, au moins la molécule ICAM-1 et la molécule LFA3.

3. Agent selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que la cellule tumorale chargée en
25 peptide antigénique est issue d'une lignée sécurisée.

4. Agent selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est actif sur une population de cellules mononuclées du sang périphérique in vivo,
30 notamment pour la réalisation d'immunothérapie active.

5. Agent selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est actif sur une population de cellules mononuclées du sang périphérique in vitro,
35 notamment pour la réalisation d'immunothérapie passive.

6. Composition thérapeutique, notamment pour la mise en oeuvre d'immunothérapies actives, en particulier pour le

traitement de mélanomes,
caractérisée en ce qu'elle contient comme substance active
au moins un agent conforme à l'une des revendications 1 à
4.

5

7. Vaccin,
caractérisé en ce qu'il contient comme substance active au
moins un agent conforme à l'une des revendications 1 à 4.

10 8. Procédé de stimulation in vitro de la croissance et de
la multiplication de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques
d'un antigène exprimé par des cellules cibles, en
particulier des cellules cancéreuses d'une tumeur à
traiter,

15 caractérisé en ce qu'on charge une population de cellules
tumorales exprimant en surface au moins la molécule du CMH
en un peptide antigénique fonction de l'antigène exprimé
par la cellule cible, en ce qu'on met en présence les
cellules tumorales chargées en peptides antigéniques avec
20 des lymphocytes du sang périphérique d'un patient à traiter
et des cytokines, pendant une durée fonction de la
concentration finale de lymphocytes T spécifiques
souhaitée.

25 9. Procédé selon la revendication 8,
caractérisé en ce qu'après prolifération, on trie les
lymphocytes T spécifiques d'un antigène des cellules cibles
en vue de l'obtention d'une population pure de lymphocytes
T cytotoxiques spécifiques dudit antigène, notamment pour
30 la mise en oeuvre d'immunothérapie adoptive.

10. Procédé selon la revendication 9,
caractérisé en ce que, au cours de l'étape de tri, on
sélectionne les lymphocytes T cytotoxiques spécifiques
35 aptes à sécréter une cytokine d'intérêt, puis on purifie
les lymphocytes T sélectionnés par application de la
méthode du clonage par dilution limitante.

11. Procédé selon l'une des revendications 9 et 10,
caractérisé en ce que, à l'issue du tri, on teste la
réactivité des clones de lymphocytes T pour des cellules
tumorales exprimant naturellement l'antigène par mesure de
5 la production d'interleukine 2 par lesdits lymphocytes en
présence desdites cellules tumorales.

12. Lymphocyte T cytotoxique spécifique d'un antigène
exprimé par une cellule cible, en particulier une cellule
10 cancéreuse d'une tumeur à traiter,
caractérisé en ce qu'il est obtenu par la mise en oeuvre du
procédé selon l'une des revendications 8 à 11.

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2807661

N° d'enregistrement
national

FA 591417
FR 0004839

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	GERVOIS N ET AL: "High avidity melanoma-reactive cytotoxic T lymphocytes are efficiently induced from peripheral blood lymphocytes on stimulation by peptide- pulsed melanoma cells." CLINICAL CANCER RESEARCH, (2000 APR) 6 (4) 1459-67. , XP000971636 * le document en entier * ---	1-12	A61K35/12 A61K39/00 A61K35/14 A61P35/00 C12N5/08
X	GERVOIS NADINE ET AL: "Suboptimal activation of melanoma infiltrating lymphocytes (TIL) due to low avidity of TCR/MHC-tumor peptide interactions." JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 183, no. 5, 1996, pages 2403-2407, XP000971653 ISSN: 0022-1007 * le document en entier * ---	1-12	
X	LE GUINER SOIZIC ET AL: "LFA-3 co-stimulates cytokine secretion by cytotoxic T lymphocytes by providing a TCR-independent activation signal." EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 28, no. 4, avril 1998 (1998-04), pages 1322-1331, XP000971564 ISSN: 0014-2980 * le document en entier * ---	1-12	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) C12N A61K
X	WO 97 19169 A (SCHWEIGHOFFER TAMAS ;BIRSTIEL MAX (AT); BUSCHLE MICHAEL (AT); SCH) 29 mai 1997 (1997-05-29) * le document en entier * --- -/--	1-7	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
20 décembre 2000		Niemann, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

2807661

N° d'enregistrement
national

FA 591417
FR 0004839

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	KIRKIN ALEXEI F ET AL: "Establishment of gp100 and MART-1/Melan-A-specific cytotoxic T lymphocyte clones using in vitro immunization against preselected highly immunogenic melanoma cell clones." CANCER IMMUNOLOGY IMMUNOTHERAPY, vol. 48, no. 5, août 1999 (1999-08), pages 239-246, XP000971620 ISSN: 0340-7004 * le document en entier *		
A	STEVENS EMILY J ET AL: "Generation of tumor-specific CTLs from melanoma patients by using peripheral blood stimulated with allogeneic melanoma tumor cell lines. Fine specificity and MART-1 melanoma antigen recognition." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 154, no. 2, 1995, pages 762-771, XP002156018 ISSN: 0022-1767 * le document en entier *		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
D,A	YEE C. ET AL.: "isolation of high avidity melanoma reactive CTL from heterogeneous populations using peptide-MHC tetramers" THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 162, no. 4, - 15 février 1999 (1999-02-15) pages 2227-2234, XP002156019 * le document en entier *		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
20 décembre 2000		Niemann, F	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

1

EPO FORM 1503 12.98 (P04C14)