

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-518578
(P2023-518578A)

(43)公表日 令和5年5月2日(2023.5.2)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z	4 C 0 8 6
C 1 2 N	15/867(2006.01)	C 1 2 N	15/867	Z	4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全73頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-557922(P2022-557922)	(71)出願人	504200892		
(86)(22)出願日	令和3年3月22日(2021.3.22)		ザ・カウンスル・オヴ・ザ・クイーンズ		
(85)翻訳文提出日	令和4年11月21日(2022.11.21)		ランド・インスティテュート・オヴ・メ		
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/000158		ディカル・リサーチ		
(87)国際公開番号	WO2021/191677		オーストラリア国 4 0 0 6 クイーンズ		
(87)国際公開日	令和3年9月30日(2021.9.30)		ランド州 ハーストン ハーストン ロード		
(31)優先権主張番号	62/993,442		3 0 0		
(32)優先日	令和2年3月23日(2020.3.23)	(74)代理人	100107456		
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 池田 成人		
	米国(US)	(74)代理人	100162352		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		弁理士 酒巻 順一郎		
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(	(74)代理人	100123995		
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		弁理士 野田 雅一		
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR	(72)発明者	パロウズ, ジャクリーン		
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		オーストラリア連邦, キュー 4 0 3 5		
	最終頁に続く		最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 H P V 感染細胞を標的とするための組成物及び方法

(57)【要約】

H P V 関連癌などの癌の標的処置のための組成物及び方法が開示される。特に、抗原逃避が低下した癌細胞を標的として殺滅するために、養子細胞移入と共に使用することができる改変T細胞受容体 (T C R) T細胞が開示される。したがって、開示される T C R - T細胞の養子移入を含む、H P V 関連癌を有する対象において抗腫瘍免疫を提供する方法も開示される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトパピローマウイルス（HPV）16 に対する抗原特異性を有する T 細胞受容体（TCR）ポリペプチドであって、前記 TCR が、配列番号 13～52、又は 219～226 に記載のアミノ酸配列から選択される少なくとも 1 つの相補性決定領域 3α（CDR3α）アミノ酸配列と少なくとも 1 つの CDR3β アミノ酸配列を含む、T 細胞受容体ポリペプチド。

【請求項 2】

HPV 16 に対する抗原特異性を有する TCR ポリペプチドであって、前記 TCR が、配列番号 1～12、217 又は 218 に記載のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも 1 つのエピトープを含む抗原に対して特異的である、TCR ポリペプチド。 10

【請求項 3】

前記 TCR が、E6 及び E7 以外の HPV 16 ペプチドに対して抗原特異性を有する、請求項 1 又は 2 に記載の TCR ポリペプチド。

【請求項 4】

前記 TCR が、HPV 16 ペプチド E1、E2、E4、又は E5 のいずれか 1 つに対して抗原特異性を有する、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の TCR ポリペプチド。

【請求項 5】

前記 TCR が、配列番号 1～7 に記載のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも 1 つのエピトープを含む抗原に対して抗原特異性を有する、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の TCR ポリペプチド。 20

【請求項 6】

前記 TCR が、配列番号 13 及び 14、配列番号 25 及び 26、又は配列番号 51 及び 52 に記載の CDR3α アミノ酸配列及び CDR3β アミノ酸を含む、請求項 4 に記載の TCR ポリペプチド。

【請求項 7】

前記 TCR が、配列番号 59 及び 60、又は配列番号 61 及び 62 に記載の TCR β アミノ酸配列及び TCR α 鎖アミノ酸を含む、請求項 4 に記載の TCR ポリペプチド。

【請求項 8】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の TCR ポリペプチドをコードする核酸。 30

【請求項 9】

配列番号 53～58、227、228 に記載の核酸配列及び / 又はその断片のいずれか 1 つを含む、請求項 8 に記載の核酸。

【請求項 10】

配列番号 59～70、229～232、又は 209～216 から選択されるアミノ酸配列を含む TCR を含む 1 つ又は複数のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸。

【請求項 11】

発現ベクターである、請求項 8～10 のいずれか一項に記載の核酸。 40

【請求項 12】

前記発現ベクターがウイルスベクターである、請求項 11 に記載の核酸。

【請求項 13】

前記ウイルスベクターがレンチウイルス発現ベクターである、請求項 12 に記載の核酸。

【請求項 14】

請求項 8～13 のいずれか一項に記載の核酸を含む免疫細胞。

【請求項 15】

請求項 1～6 のいずれか一項に記載の TCR ポリペプチドを発現する免疫細胞。

【請求項 16】

白血球である、請求項 14 又は 15 に記載の免疫細胞。

【請求項 17】

リンパ球、単球、マクロファージ、樹状細胞、マスト細胞、好中球、好塩基球、又は好酸球である、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

【請求項 18】

$\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、ナチュラルキラー T (NKT) 細胞、B 細胞、自然リンパ球系細胞 (ILC)、サイトカイン誘導キラー (CIK) 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL)、リンホカイン活性化キラー (LAK) 細胞、制御性 T 細胞又はそれらの任意の組合せから選択されるリンパ球である、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

10

【請求項 19】

細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) である、請求項 18 に記載の免疫細胞。

【請求項 20】

ウイルス抗原感作 CTL である、請求項 18 又は 19 に記載の免疫細胞。

【請求項 21】

ヒトパピローマウイルス (HPV)、エプスタインバーウイルス (EBV)、サイトメガロウイルス (CMV)、B・K・ウイルス (BKV)、ジョンカニンガムウイルス (JCV)、ピコルナウイルス (例えば、A 型肝炎ウイルス)、ヘパドナウイルス (例えば、B 型肝炎ウイルス)、ヘパシウイルス (例えば、C 型肝炎ウイルス)、デルタウイルス (例えば、D 型肝炎ウイルス)、ヘペウイルス (例えば、E 型肝炎ウイルス)、又はそれらの任意の組合せのいずれか 1 つ由来のウイルス抗原に感作した CTL である、請求項 18 ~ 20 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

20

【請求項 22】

HPV 感作 CTL である、請求項 18 ~ 21 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

【請求項 23】

1 つ又は複数の免疫チェックポイント分子をもはや発現しないように遺伝的に改変されている、請求項 15 ~ 22 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞。

【請求項 24】

1 つ又は複数の免疫チェックポイント分子のドミナントネガティブ型も発現する、請求項 15 ~ 22 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞。

30

【請求項 25】

1 つ又は複数の免疫チェックポイント分子に特異的なスイッチ受容体も発現する、請求項 15 ~ 22 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞。

【請求項 26】

1 つ又は複数のチェックポイント分子によるシグナル伝達を遮断することができる抗体又はその機能的断片も発現する、請求項 15 ~ 22 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞。

【請求項 27】

前記免疫チェックポイント分子が、プログラム死 1 (PD-1)、プログラム死リガンド 1 (PD-L1)、プログラム死リガンド 2 (PD-L2)、細胞傷害性 T リンパ球抗原 - 4 (CTLA-4)、B 及び T リンパ球アテニュエータ (BTLA)、T 細胞免疫グロブリンムチン - 3 (TIM-3)、リンパ球活性化タンパク質 3 (LAG-3)、Ig 及び ITIM ドメインを有する T 細胞免疫受容体 (TIGIT)、白血球関連免疫グロブリン様受容体 1 (LAIR1)、ナチュラルキラー細胞受容体 2B4 (2B4)、CD160 及びトランスフォーミング成長因子 β (TGF- β) 受容体、から選択される、請求項 21 ~ 26 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞。

40

【請求項 28】

前記免疫チェックポイント分子が PD-1 及び / 又は CTLA-4 である、請求項 23 ~ 27 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

【請求項 29】

50

対象における H P V 関連癌又は前癌病変を処置する方法であって、請求項 1 4 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の T C R 発現細胞を含む養子免疫療法組成物の有効量を投与するステップを含む方法。

【請求項 3 0】

前記 H P V 関連癌が扁平上皮癌である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記 H P V 関連癌が、頭頸部癌（例えば、H N S C C など）及び子宮頸部、肛門、膣、外陰部、陰茎、舌根部、喉頭、及び扁桃の癌から選択される、請求項 2 9 又は 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記 H P V 関連前癌病変が、子宮頸部上皮内腫瘍（C I N）、扁平上皮内病変（S I L）、又は子宮頸部の疣贅から選択される異常細胞変化及び / 又は前癌細胞変化を含む、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記対象が、追加の抗癌療法を受けた、受けている、又は受ける予定である、請求項 2 9 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記追加の抗癌療法が、手術、放射線、化学療法、免疫療法、又はホルモン療法を含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記対象が、前記養子免疫療法組成物を投与する前に I F N γ を投与されている、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記養子免疫療法組成物が、胸膜内、静脈内、皮下、節内、腫瘍内、くも膜下腔内、腹腔内、頭蓋内、又は臓器への直接投与により投与される、請求項 2 9 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記対象がヒトである、請求項 2 9 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記養子免疫療法組成物の前記 T C R 発現細胞が、前記対象に由来する、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記養子免疫療法組成物の前記 T C R 発現細胞が、ドナー試料、又はドナー試料のバンク若しくはライブラリーに由来する、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 0】

少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤を投与することをさらに含む、請求項 2 9 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗 P D - 1 抗体、抗 P D - L 1 抗体、抗 P D - L 2 抗体、抗 C T L A - 4 抗体、又はそれらの組合せを含む、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、アンチセンス R N A 分子（a s R N A）、マイクロ R N A 分子（m i R N A）、ショートヘアピン R N A 分子（s h R N A）、又は低分子干渉 R N A 分子（s i R N A）などの R N A i 分子を含む、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、C R I S P R R N A（c r R N A）分子を含む、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、免疫チェックポイント分子のドミナントネガティブ型を含む、請求項 4 0 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 45】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、組換えスイッチ受容体を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 46】

免疫チェックポイント阻害剤が、前記免疫チェックポイント阻害剤をコードする核酸分子を含むベクターによって発現され、前記ベクターが、DNAベクター、RNAベクター、プラスミド又はウイルスベクターから選択される、請求項 40～45 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 47】

前記免疫チェックポイント阻害剤をコードする核酸分子を含む前記ベクターが、前記養子免疫療法組成物の前記 TCR 発現細胞において発現する、請求項 46 に記載の方法。 10

【請求項 48】

養子免疫療法のための細胞を含む細胞バンクであって、前記細胞が、請求項 14～28 のいずれか一項に記載の TCR 発現細胞であり、前記 TCR 発現細胞の HLA 拘束性が既知である、細胞バンク。

【請求項 49】

対象における HPV 関連癌又は前癌病変を処置する方法であって、請求項 48 に記載の細胞バンクから選択される TCR 発現細胞を含む養子免疫療法組成物の有効量を投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】 20

【関連出願】

【0001】

本出願は、2020年3月23日に出願された米国特許仮出願第 62/993,442 号に対する優先権の利益を主張するものであり、その全体が参照により組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

養子細胞移入 (ACT) は、特定の細胞、典型的には免疫細胞及び/又は免疫系由来の細胞 (例えば、感作リンパ球、改変リンパ球及び/又は操作されたリンパ球) を、疾患関連細胞を認識する、標的とする、破壊する目的で患者に移植又は注入することを含む。養子免疫療法 (例えば、T細胞療法) は、移植後のリンパ増殖性障害、感染症 (例えば、ウイルス感染症)、自己免疫疾患を含む、多くの疾患や障害の処置において有望なアプローチとなっている。また、養子 T細胞療法は、癌の処置法としても期待されており、臨床試験で有望な結果が得られている。転移性腫瘍から単離し、ex vivo で増殖させた腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の注入は、一部の患者において転移性黒色腫や子宮頸癌の完全な退縮に関連している。しかし、このような自己養子 T細胞療法の製造には時間がかかることが多く、末期患者への使用は限られている。したがって、養子 T細胞療法を迅速に提供するための「既製」の戦略を開発することが急務となっている。これは、キメラ抗原受容体 (CAR) や操作された T細胞受容体 (TCR) のような、腫瘍や疾患を標的とする部分を発現するようにリンパ球 (例えば、細胞傷害性 T細胞のような T細胞など) を遺伝子工学的に操作することで達成できる可能性がある。この戦略は、B細胞悪性腫瘍、黒色腫、滑膜細胞肉腫の臨床試験において、初期の段階から有望な結果を示している。しかし、このアプローチを上皮癌に拡大しようとする試みは、一般に腫瘍と健康組織の両方に共通する標的 (例えば、抗原) に依存しており、したがって T細胞が媒介する on-target、off-tumor の毒性によって制限されている。このような off-tumor 毒性は、健康組織では発現しない腫瘍抗原を標的とすることで回避できる可能性があるが、悪性細胞にのみ存在し、特定の上皮癌のファミリーで共通して発現する抗原はほとんどない。 30 40

【0003】

皮膚や粘膜への選択的感染は HPV の典型的な特徴であり、その複製はこれらの膜の細胞の成熟と密接な関係がある。世界的に見ると、HPV の感染は、年間 530,000 人 50

の子宮頸癌患者（約 270,000 人の死亡）の原因と推定され、その大半（患者の 86%、死亡者の 88%）は開発途上国で発生している。全体として、HPV は、全世界の癌罹患率の 5.2% を占める。米国では毎年、HPV に起因する新たな癌が 26,000 人、このうち女性約 17,000 人、男性約 9,000 人が発生していると推定されている。最も一般的な HPV の型は、リスクの低い HPV-6 と HPV-11 で、性器疣贅の 90% や、気道で腫瘍が成長する再発性呼吸器乳頭腫症として知られる疾患の原因になっている。また、慢性リンパ性白血病（CLL）や血液及び骨髄移植（BMT）患者における皮膚扁平上皮癌（SCC）を含む非黒色腫皮膚癌（NMSC）の発生にも HPV が関与している。特に HPV-16 と HPV-18 は、頭頸部癌（HNSCC）及び子宮頸部、肛門、膣、外陰部、陰茎、舌根部、喉頭、及び扁桃の癌の大部分を占める。HNSCC に対する現在の標準的な治療法の選択肢には、手術と放射線療法に化学療法（例：シスプラチン及び/又はセツキシマブ）を併用する方法がある。残念ながら、このような処置法では、処置後の患者への負担が大きく、永久的であり、嚥下障害、発声障害、口内乾燥、瘢痕及び醜形、並びに開口障害を含む可能性がある。しかし、外陰部、膣、肛門、陰茎、及び性器疣贅などの HPV 関連前癌病変は、一般に、凍結療法（すなわち、超低温を使用して組織を破壊する）、化学的焼灼（すなわち、化学薬品を使用して組織を破壊する）、及びレーザー又は外科的除去による物理的除去を使用して処置されている。特に、このような前癌病変では、物理的な除去だけではあまり効果がなく、20~30% 以上が再発し、HPV 除去の手順の失敗による既処置部位の病変と、新たな感染による新たな部位の病変の両方を伴う。このような場合、放射線治療や化学療法が行われ、比較的成功するが、それでも HPV 関連癌の患者の約 50% はこの疾患で死亡する。明らかに、HPV 関連癌の負担を制御するために、新しい処置戦略が緊急に必要である。

10

20

【発明の概要】

【0004】

本発明は、少なくとも部分的には、HPV 抗原、特に E6 及び E7 とは別の抗原が、HPV 関連疾患（例えば、頭頸部、胃腸、泌尿生殖器及び婦人科癌などの HPV 関連癌）の標的処置のために使用できることを発見したことに基づく。一部の態様では、HPV 抗原を標的とする操作された TCR を発現する免疫細胞（例えば、TCR-T 細胞、TCR-T）が本明細書で提供される。

【0005】

本明細書で開示される本発明の態様は、ヒトパピローマウイルス（HPV）16 に対する抗原特異性を有する T 細胞受容体（TCR）ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、前記 TCR は、表 1 及び/又は 13 に記載のアミノ酸配列から選択される少なくとも 1 つの相補性決定領域 3α（CDR3α）及び少なくとも 1 つの CDR3β アミノ酸配列を含む。本発明の一部の実施形態では、本明細書で開示される TCR ポリペプチドは、表 1、11 及び/又は 13 に記載のアミノ酸配列、例えば配列番号 1~12、217、又は 218 から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも 1 つのエピトープを含む抗原に対して特異的である。

30

【0006】

本発明の特定の態様では、対象における癌又は前癌病変を処置する方法であって、本明細書で企図される TCR ポリペプチドを発現する細胞を含む養子免疫療法組成物の有効量を投与することを含む方法が本明細書で開示される。好ましい実施形態では、癌又は病変は、HPV 関連癌又は病変である。本発明の一部の態様では、養子免疫療法用の細胞を含む細胞バンクが本明細書で開示される。一部の実施形態では、そのようなバンクの細胞は、本明細書で企図される TCR を発現する。特定の好ましい実施形態では、前記 TCR 発現細胞の HLA 拘束性は既知である。特定の実施形態では、本明細書で開示されるように、HPV 関連癌又は前癌病変を処置することは、本明細書に企図される細胞バンクから選択される TCR 発現細胞を含む養子免疫療法組成物の有効量を投与することを含む。

40

【図面の簡単な説明】

【0007】

50

【図 1】デュアルサイトカインキャプチャーアッセイによって検出された、二重陽性（IFN γ とTNF α ）の単一細胞によってソートされた、HPV16-E5-NLDエピトープ特異的CD8⁺T細胞を、96ウェルPCRプレートにソーティングする経路を示す図である。

【図 2】CDR3 α とCDR3 β を含むTCRセグメントのアガロースゲル電気泳動画像を示す図である。簡単に説明すると、個々の細胞に対してRT-PCRを行い、得られたcDNAを2ラウンドのネステッドPCRに供する。第1ラウンドでは、TCR α 及びTCR β 転写物の増幅は、外部プライマー、センスV α 及びV β セグメント特異的プライマー、アンチセンスC α 及びC β セグメント特異的プライマーの多重化した総合パネルで達成される。第1ラウンドのPCR産物は、(1)外部のセンスV α 及びアンチセンスC α セグメント特異的プライマーの多重化パネル、又は(2)外部センスV β 及びアンチセンスC β セグメント特異的プライマー、をそれぞれ組み込んだ2回の別々の第2ラウンドのPCRに供される。同じ細胞からの対のTCR α 及びTCR β 産物を隣接するレーンにロードし、対のラベル付きカラムで示した。陰性対照(H1-H12)PCR反応は最下段(右レーン)に示す。ラダーレーンでは、300bpのラベルが示されている。

10

【図 3】E2-TLQ-TCRアミノ酸配列(配列番号209)と関連する特徴を示す図である。

【図 4】E5-NLD-TCRアミノ酸配列(配列番号210)と関連する特徴を示す図である。

【図 5】例示的なレンチウイルス構築物(E5-NLD-TCR)と関連する特徴を示す図である。図5は、「SGSGリンカー」を配列番号233として開示する。

20

【図 6】E6-AFR-TCRアミノ酸配列(配列番号211)と関連する特徴を示す図である。

【図 7】E6-TIH-TCRアミノ酸配列(配列番号212)と関連する特徴を示す図である。

【図 8】E6-HDI-TCRアミノ酸配列(配列番号213)と関連する特徴を示す図である。

【図 9】E6-KQR-TCRアミノ酸配列(配列番号214)と関連する特徴を示す図である。

【図 10】E7-TPT-TCRアミノ酸配列(配列番号215)と関連する特徴を示す図である。

30

【図 11】E5-SAF-TCRアミノ酸配列(配列番号216)と関連する特徴を示す図である。

【図 12】Jurkat細胞へのHPV特異的TCRのレンチウイルス移入、フローサイトメトリーによるTCR発現の確認を示す図である。ドットプロットは、非導入対照と、(A)E2-TLQ-TCR、(B)E5-NLD-TCR、及び(C)E6-TIH-TCRで形質導入したJurkat細胞におけるTCR発現を示す。

【図 13A】HPV特異的TCRのJurkat細胞へのレンチウイルス移入が、抗原特異性を付与することを示す図である。レンチウイルスTCRを形質導入したJurkat細胞を、ペプチドパルスを加えたHLAマッチ又はミスマッチLCLと共にインキュベートした。24時間後、CD69の発現をフローサイトメトリーで確認した。サイトメトリー解析により、(A)E5-NLD-lentiTCR(HLA-C*05:01及びC*08:02拘束性)及び(B)E2-TLQ-lentiTCR(HLAA*02:01拘束性)を形質導入したJurkat細胞は、CD69を発現していることを示す。

40

【図 13B】HPV特異的TCRのJurkat細胞へのレンチウイルス移入が、抗原特異性を付与することを示す図である。レンチウイルスTCRを形質導入したJurkat細胞を、ペプチドパルスを加えたHLAマッチ又はミスマッチLCLと共にインキュベートした。24時間後、CD69の発現をフローサイトメトリーで確認した。サイトメトリー解析により、(A)E5-NLD-lentiTCR(HLA-C*05:01及びC*08:02拘束性)及び(B)E2-TLQ-lentiTCR(HLAA*02:01

50

拘束性)を形質導入したJurkat細胞は、CD69を発現していることを示す。

【図14】PBMCへのHPV特異的TCRのレンチウイルス移入が、TCR発現を付与することを示す図である。簡単に言えば、PBMCのレンチウイルス形質導入は、刺激後48時間実施した。8日目及び15日目(再刺激後7日目)に、TCR発現をフローサイトメトリーにより評価した。代表的なデータは、E5-NLD-TCR形質導入PBMCのTCR発現、すなわち、抗TCRV α 12.1陽性、CD8⁺細胞について示した。

【図15A】マルチパラメトリック細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによって評価した、遺伝子導入TCRの抗原特異性を示す図である。簡単に言えば、非形質導入及びE5-NLD-レンチウイルス形質導入PBMCを、E5抗原ペプチド(NLDペプチド;配列番号1)で刺激し、5時間インキュベートした。ドットプロットは、CD8⁺細胞及びCD4⁺細胞(最後の行)におけるCD107、IFN γ 、TNF α 及びIL-2の発現を示す。

10

【図15B】マルチパラメトリック細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによって評価した、遺伝子導入TCRの抗原特異性を示す図である。簡単に言えば、非形質導入及びE5-NLD-レンチウイルス形質導入PBMCを、E5抗原ペプチド(NLDペプチド;配列番号1)で刺激し、5時間インキュベートした。ドットプロットは、CD8⁺細胞及びCD4⁺細胞(最後の行)におけるCD107、IFN γ 、TNF α 及びIL-2の発現を示す。

【図15C】マルチパラメトリック細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによって評価した、遺伝子導入TCRの抗原特異性を示す図である。簡単に言えば、非形質導入及びE5-NLD-レンチウイルス形質導入PBMCを、E5抗原ペプチド(NLDペプチド;配列番号1)で刺激し、5時間インキュベートした。ドットプロットは、CD8⁺細胞及びCD4⁺細胞(最後の行)におけるCD107、IFN γ 、TNF α 及びIL-2の発現を示す。

20

【図16】リコールICSアッセイによって測定した同族抗原に対するTCR-T細胞の結合活性を示した図である。形質導入及び非形質導入のPBMCを、異なる濃度のペプチド(10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 及び 10^{-13} モル/L)でパルスしたHLA適合LCLで4時間刺激して、IFN γ 発現をICSアッセイによって測定した。折れ線グラフは、HLA適合(C*05:01及びC*08:02)LCLで刺激した後のE5-NLDレンチウイルス形質導入PBMCIFN γ 発現を示す。

30

【図17A】E2-TLQ-TによるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(A)、非形質導入T細胞によるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01+ve)についての細胞溶解(B)、E2-TLQ-T及び非形質導入T細胞によるSCC70細胞株(HPV16-ve及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(C)の図である。UT=非形質導入T細胞、E2TCR=E2-TLQ-TCR形質導入T細胞。

【図17B】E2-TLQ-TによるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(A)、非形質導入T細胞によるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01+ve)についての細胞溶解(B)、E2-TLQ-T及び非形質導入T細胞によるSCC70細胞株(HPV16-ve及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(C)の図である。UT=非形質導入T細胞、E2TCR=E2-TLQ-TCR形質導入T細胞。

40

【図17C】E2-TLQ-TによるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(A)、非形質導入T細胞によるCaSki細胞株(HPV16⁺及びHLA-A*02:01+ve)についての細胞溶解(B)、E2-TLQ-T及び非形質導入T細胞によるSCC70細胞株(HPV16-ve及びHLA-A*02:01⁺)についての細胞溶解(C)の図である。UT=非形質導入T細胞、E2TCR=E2-TLQ-TCR形質導入T細胞。

【発明を実施するための形態】

50

【 0 0 0 8 】

全般

操作された T C R 療法の使用は、いくつかの利点を与える。患者自身の T 細胞は、所望の特異性を備え、T 細胞の消耗を回避しつつ、短期間で十分な数の T 細胞を生成することが可能である。本発明の一部の実施形態では、本明細書で開示されるように、T C R は、中心記憶 T 細胞又は幹細胞特性を有する T 細胞などの免疫エフェクター細胞に形質導入されてもよく、これにより、形質移入時により優れた持続性及び機能が確保されることがある。好ましくは、T C R は細胞傷害性 T 細胞 (C D 8 + T 細胞 ; C T L) に形質導入される。このような T C R を操作した T 細胞 (T C R - T 細胞) は、化学療法又は放射線照射によってリンパ球減少症となった癌患者などの癌患者に注入することができ、効率的な生 10
着が可能であるが、免疫抑制が阻害される。本明細書で開示されるように、本発明は、少なくとも部分的に、H P V 抗原を標的とする人工 T 細胞受容体 (T C R) を組換え発現する免疫細胞に関する。

【 0 0 0 9 】

特に、H P V の腫瘍性タンパク質 E 6 と E 7 は構成的に発現し、H P V 関連癌の生存に重要であるが、健康組織には存在しない。少なくとも H N S C C では、H P V 1 6 が宿主ゲノムに組み込まれ、E 6 及び E 7 癌遺伝子発現の負の調節因子である E 2 初期遺伝子が破壊されることが報告されており、したがって E 6 及び E 7 抗原が研究の主要な焦点となっている。しかし、最近の H N S C C における癌ゲノムシーケンシングは、ハイブリッド 20
型エピソーム型 H P V を含むこのような癌 (例えば、腫瘍) の大部分は、E 6 と E 7 以外の他の H P V 抗原を含むことを示唆する。さらに、E 2 の発現が高いと E 6 及び E 7 の発現が抑制され、H P V 抗原の発現プロファイルがさらに変化し、それに続く腫瘍内の免疫 T 細胞の浸潤も変化する。さらに、H P V 腫瘍性タンパク質に対する養子 T 細胞療法は、通常、米国で最も一般的なクラス I アレルであり、ヨーロッパ系の人々の約 4 0 ~ 5 0 パーセントに発現する H L A - A * 0 2 : 0 1 に限定されている。残念ながら、H P V の感染は、H L A - C の発現に影響を与えることなく、感染細胞の表面から H L A - A と H L A - B を選択的に下方制御することができる。したがって、養子 T 細胞療法 (例えば、T C R - T 療法) により、E 6 及び E 7 抗原の代わりに、或いは E 6 及び E 7 と組み合わせ 30
て他の初期タンパク質を標的とし、E 6 及び E 7 のみを標的とするよりも優れた有効性を提供することがある。同様に、異なる初期抗原 (例えば、E 6 及び E 7 抗原以外、又はこれに加えて) に特異的で、H L A B 及び H L A - C アレル拘束性の T C R 配列は、種々の癌を含む H P V 関連疾患に対してより良い有効性及び予後を提供することがある。したがって、本明細書で開示される本発明の態様は、H P V 1 6 抗原、好ましくは初期 H P V 1 6 抗原 E 1、E 2、E 4、及び E 5 を、H L A - A、H L A - B 及び H L A - C アレルに限定して特異的に標的とする T C R を含む。また、前記抗原特異的 T C R (例えば、T C R - T) を発現するように遺伝子操作された免疫エフェクター細胞 (例えば、T 細胞) も本明細書で提供される。

【 0 0 1 0 】

一部の実施形態では、本明細書に記載の T C R - T 細胞は、例えば、限定されないが、P D - 1 シグナル伝達を抑制又は阻害することによって、悪性細胞微小環境 (例えば、腫 40
瘍微小環境) の任意の寛容性効果に対抗できるように操作される。特定の実施形態では、本明細書に記載の T C R は、ウイルス又は非ウイルス抗原に対して感作され、又は選択的に標的化されることがある。理想的な標的は、副作用 (例えば、o n t a r g e t / o f f t u m o r 又はバイスタンダー効果) を最小限に抑えるために、いかなる正常組織 / 臓器にも発現しない、又は少なくとも重要な正常組織 (心臓、肝臓、C N S、肺、及び一過性の損傷に特に敏感である可能性がある他の組織) にも、密接に関連する正常細胞の対応物 (例えば、幹細胞及び / 又は前駆細胞) にも発現しないことが望ましい。また、H P V 抗原 (例えば、野生型及び / 又は変異体 H P V 1 6) と選択的に結合する組換え T C R ポリペプチドを発現するように操作された、T 細胞又はナチュラルキラー (N K) 細胞などの免疫エフェクター細胞も本明細書で開示される。したがって、開示される T C R ポ 50

リペプチドを発現するように操作された開示される免疫エフェクター細胞の養子移入を含む、HPV関連疾患又は悪性腫瘍を有する対象において標的免疫（例えば、抗腫瘍免疫）を提供するための方法もまた開示される。

【0011】

腫瘍の微小環境では、癌細胞と宿主の免疫細胞が相互作用し、癌の進行を促進又は抑制する可能性がある。理想的には、免疫系が癌細胞を識別し、癌を排除するために免疫応答を起動することである。残念ながら、T細胞レベルでは、PD-1やTim-3などの阻害性受容体の上方制御は、T細胞の機能障害と関連している。このことは、慢性HCV感染患者の循環及び肝臓において、C型肝炎ウイルス（HCV）特異的及びHCV非特異的CD8⁺T細胞の両方で観察されている。PD-1及びTim-3とそれぞれのリガンド（すなわち、PD-L1としても知られるB7-H1及びガレクチン-9）との結合を阻害することにより、T細胞増殖及びIFN- γ 分泌の部分的な回復がex vivoで達成され得る。さらに、近年、HCV持続感染の標準的治療法であるIFN- α の長期投与が、ナイーブT細胞のテロメア消失を促進することが報告されている。T細胞のテロメアの短縮と末端分化（増殖能の低下により特徴づけられる）との相関を考えると、IFN- α が誘導するT細胞の「消耗」は、おそらくHCV感染患者における免疫療法にとって大きな障壁となる。本明細書で開示される特定の態様では、本発明は、チェックポイント阻害戦略を採用する。チェックポイント阻害療法は、免疫応答を刺激又は阻害する免疫系の主要な調節因子を標的とする。このような免疫チェックポイントは、免疫系による攻撃を回避するために、癌の疾患状態において（例えば、腫瘍によって）利用され得る。チェックポイント阻害剤の研究では、PD-1阻害剤療法の活性が注目されており（El-Khoueiryら、（2017）「Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma（CheckMate 040）： an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial.」Lancet 389（10088）： 2492～2502）、FDAはニボルマブをHCCの第二選択治療として承認し、その客観的奏効率は20%である。

【0012】

定義

便宜上、本明細書、実施例及び添付の特許請求の範囲に採用されている特定の用語をここに集めた。

【0013】

本明細書では、冠詞「a」及び「an」は、冠詞の文法的対象の1つ又は複数（すなわち、少なくとも1つ）を指すために使用される。例として、「ある要素」は、1つの要素又は2つ以上の要素を意味する。

【0014】

本明細書で使用される場合、「投与」という用語は、医薬品又は医薬組成物を対象に提供することを意味し、医療専門家による投与及び自己投与が含まれるが、これらに限定されるものではない。このような薬剤は、例えば、本明細書に記載のペプチド、本明細書に提供される抗原提示細胞及び/又は本明細書に提供されるCTLを含むことができる。

【0015】

「アミノ酸」という用語は、天然であれ、合成であれ、アミノ官能基及び酸官能基の両方を含み、天然に存在するアミノ酸のポリマー内に含まれることが可能な、全ての分子を包含することが意図される。例示的なアミノ酸は、天然に存在するアミノ酸；これらのアナログ、誘導体、及び同族体；バリエーション側鎖を有するアミノ酸アナログ；並びに前出のうちのいずれかの、全ての立体異性体を含む。

【0016】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、無傷の抗体とその抗原結合断片の両方を指す場合がある。無傷の抗体は、ジスルフィド結合によって相互に連結された少な

10

20

30

40

50

くとも2つの重(H)鎖及び2つの軽(L)鎖を含む糖タンパク質である。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではVHと略される)及び重鎖定常領域を含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではVLと略される)及び軽鎖定常領域を含む。VH及びVL領域は、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変性の領域と、フレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保存性の高い散在した領域とにさらに細分化され得る。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)及び古典的補体系の第一成分(C1q)を含む宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介する場合がある。「抗体」という用語は、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)、単鎖抗体及び抗原結合抗体断片を含む。 10

【0017】

本明細書で使用される、抗体の「抗原結合断片」及び「抗原結合部分」という用語は、抗原に結合する能力を保持する抗体の1つ又は複数の断片を指す。抗体の「抗原結合断片」という用語に包含される結合断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、ジスルフィド結合Fv、Fd、ダイアボディ、単鎖抗体、ラクダ科抗体、単離CDRH3、Designed Ankyrin Repeat Protein(DARPin)、及び無傷の抗体の可変領域の少なくとも一部分を保持している他の抗体断片が含まれる。これらの抗体断片は、通常の組換え技術及び/又は酵素技術を用いて得ることができ、無傷の抗体と同様の方法で抗原結合をスクリーニングすることができる。 20

【0018】

「抗原結合部位」という用語は、抗原のエピトープ(複数可)と特異的に結合する抗体やT細胞の部位を指す。

【0019】

「結合」又は「相互作用」という用語は、2つの分子間、例えば、ペプチドと結合パートナー又は薬剤、例えば、低分子との間の、例えば、静電、疎水、イオン及び/又は水素結合相互作用による、生理条件下での、安定な会合である場合のある会合を指す。

【0020】

「生物学的試料」、「組織試料」、又は単に「試料」という用語は、それぞれ、対象の組織から得られた細胞の集合体を指す。組織試料の供給源は、新鮮、凍結及び/又は保存された器官、組織試料、生検、又は吸引物からのような固体組織；血液又は任意の血液成分、血清、血液；脳脊髄液、羊水、腹水又は間質液、尿、唾液、便、涙などの体液；又は対象の妊娠又は発生の任意の時点の細胞であってもよい。 30

【0021】

本明細書で使用される場合、「癌」という用語は、固形腫瘍及び血液由来腫瘍を含むが、これらに限定されるものではない。癌という用語は、皮膚、組織、器官、骨、軟骨、血液、及び血管の疾患を含み、子宮頸部、肛門、膣、外陰部、陰茎、舌根部、喉頭、及び扁桃を含む。「癌」という用語は、原発性癌及び転移性癌をさらに包含する。

【0022】

「キメラ分子」という用語は、本来別々に存在する2つ以上の分子を結合して作られた単一の分子を指す。単一のキメラ分子は、その構成分子全てが所望の機能を有する。キメラ分子の一種は融合タンパク質である。 40

【0023】

「エピトープ」という用語は、抗体や免疫細胞(例えば、T細胞)に特異的に結合することができるタンパク質の決定基を意味する。エピトープは通常、アミノ酸や糖の側鎖など、化学的に活性な分子の表面グループからなる。ある種のエピトープは、T細胞受容体(TCR)や抗体が結合することができる特定のアミノ酸配列によって定義され得る。

【0024】

「融合タンパク質」という用語は、あるポリペプチドのアミノ末端と別のポリペプチドのカルボキシル末端との間に形成されるペプチド結合を介して、2つ以上のポリペプチド 50

が結合することにより形成されるポリペプチドを指す。融合タンパク質は、構成ポリペプチドの化学的結合によって形成することも可能であり、単一の近接する融合タンパク質をコードする核酸配列から単一のポリペプチドとして発現させることも可能である。一本鎖融合タンパク質は、単一の近接するポリペプチド骨格を有する融合タンパク質である。融合タンパク質は、分子生物学の従来技術により、フレーム内の2つの遺伝子を1つの核酸に結合させ、その核酸を適切な宿主細胞で融合タンパク質が生産される条件下で発現させることにより調製することができる。

【0025】

「遺伝子構築物」とは、ポリペプチドの「コード配列」を含む、又は生物学的に活性なRNA（例えば、アンチセンス、デコイ、リボザイムなど）に転写可能なベクター、プラスミド、ウイルスゲノムなどの核酸を指し、細胞、例えば哺乳動物細胞にトランスフェクトすることができ、構築物でトランスフェクトした細胞でコード配列が発現することができる。遺伝子構築物は、コード配列に作動可能に連結された1つ又は複数の調節要素、並びにイントロン配列、ポリアデニル化部位、複製起点、マーカー遺伝子などを含むことがある。

10

【0026】

「リンカー」という用語は、当技術分野で認識されており、2つの化合物、例えば2つのポリペプチドを連結する分子又は分子群を指す。リンカーは、単一の連結分子で構成されてもよいし、連結分子とスペーサー分子で構成されてもよく、連結分子と化合物を特定の距離で分離することが意図されている。

20

【0027】

「作動可能に連結された」という用語は、核酸と他の核酸配列との機能的関係を指す。プロモーター、エンハンサー、転写及び翻訳停止部位、及び他のシグナル配列は、他の配列に作動可能に連結された核酸配列の例である。例えば、DNAと転写制御エレメントとの作動可能な連結とは、DNAを特異的に認識し、結合し、転写するRNAポリメラーゼによって、そのようなDNAの転写がプロモーターから開始されるようなDNAとプロモーターとの間の物理的及び機能的関係を指す。

【0028】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という表現は、健全な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症なしに、合理的な利益／リスク比に見合ったヒト及び動物の組織との接触での使用に適している薬剤、化合物、材料、組成物及び／又は剤形、を指す。

30

【0029】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という表現は、ある器官又は体の一部から別の器官又は体の一部へ薬剤を運搬又は輸送するのに関わる、液体又は固体充填剤、希釈剤、賦形剤又は溶媒カプセル化材料などの薬学的に許容される材料、組成物又はビヒクルを意味する。それぞれの担体は、製剤の他の成分と適合し、患者に害を与えないという意味で「許容できる」ものでなければならない。薬学的に許容される担体として機能することができる物質の例としては、(1)ラクトース、グルコース、スクロースなどの糖類；(2)コーンスターチ、ポテトスターチなどのデンプン；(3)セルロース、及びカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、酢酸セルロースなどのセルロース誘導体；(4)粉末トラガカント；(5)麦芽；(6)ゼラチン；(7)タルク；(8)ココアバター、座薬用ワックスなどの賦形剤；(9)ピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、大豆油などの油；(10)プロピレングリコールなどのグリコール類(11)グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコールなどのポリオール類；(12)オレイン酸エチル、ラウリン酸エチルなどのエステル類；(13)寒天；(14)水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；(15)アルギン酸、(16)パイロジェンフリーの水；(17)等張生理食塩水(18)リンゲル液(19)エチルアルコール(20)pH緩衝液(21)ポリエステル、ポリカーボネート、及び／又はポリ無水物、並びに(22)その他医薬製剤に用

40

50

いられる非毒性の適合性物質、が挙げられる。

【 0 0 3 0 】

「ポリヌクレオチド」及び「核酸」という用語は、互換的に使用される。これらは、あるヌクレオチドの 3' 位と別のヌクレオチドの 5' 位のリン酸基によって連結された単一のヌクレオチド又は 2 つ以上のヌクレオチドを含む、天然若しくは合成分子、又はそれらの組合せを指す。ヌクレオチドの重合形態は長さによって限定されず、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチドのいずれか、又はそれらのアナログを含むことができる。ポリヌクレオチドは、任意の三次元構造を有していてもよく、任意の機能を発揮することができる。以下は、ポリヌクレオチドの非限定的な例である：遺伝子又は遺伝子断片のコード領域又は非コード領域、連鎖分析から定義される遺伝子座（複数可）、エクソン、イントロン、メッセンジャー RNA（mRNA）、転移 RNA、リボソーム RNA、リボザイム、cDNA、組換えポリヌクレオチド、分岐ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離 DNA、任意の配列の単離 RNA、核酸プローブ及びプライマー。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びヌクレオチドアナログなどの改変ヌクレオチドを含んでいてもよい。存在する場合、ヌクレオチド構造への改変は、ポリマーの会合の前又は後に付与されてもよい。ポリヌクレオチドは、例えば、標識成分とのコンジュゲーションによって、さらに改変されてもよい。本明細書で提供される全ての核酸配列において、Uヌクレオチドは、Tヌクレオチドと互換的である。ポリヌクレオチドは、必ずしも、その核酸が自然界で見出される細胞に関連し、及び/又は自然界でそれが連結されるポリヌクレオチドに作動可能に連結されるとは限らない。

10

20

【 0 0 3 1 】

「ポリペプチド」又は「単離されたポリペプチド」という用語は、特定の実施形態では、組換え DNA 若しくは RNA、又は合成起源、又はそれらのいくつかの組合せから調製された、（１）天然において通常一緒に見出されるタンパク質と関連していない、（２）通常それが生じる細胞から単離される、（３）同じ細胞源から他のタンパク質がなく単離される、（４）異なる種に由来する細胞により発現される、又は（５）天然には存在しない、ポリペプチドを指す。

【 0 0 3 2 】

「ポリペプチド断片」又は「断片」という用語は、特定のポリペプチドに関して用いられる場合、参照ポリペプチド自体と比較してアミノ酸残基が欠失したポリペプチドを指すが、残りのアミノ酸配列は、通常、参照ポリペプチドのものと同一である。このような欠失は、参照ポリペプチドのアミノ末端又はカルボキシ末端、或いはその両方で起こる場合がある。断片は、典型的には、少なくとも約 5、6、8 又は 10 アミノ酸長、少なくとも約 14 アミノ酸長、少なくとも約 20、30、40 又は 50 アミノ酸長、少なくとも約 75 アミノ酸長、又は少なくとも約 100、150、200、300、500 又はそれ以上のアミノ酸長である。断片は、参照ポリペプチドの生物学的活性の 1 つ又は複数を保持することができる。様々な実施形態では、断片は、参照ポリペプチドの酵素活性及び/又は相互作用部位を含んでいてもよい。他の実施形態では、断片は、免疫原性を有する場合がある。

30

【 0 0 3 3 】

「前癌病変」又は「前癌状態」という用語は、癌のリスク上昇と関連する異型細胞及び/又は組織を指す。「前癌病変」という用語は、例えば、異形成、良性新生物、又は *in situ* 癌を指す場合がある。

40

【 0 0 3 4 】

本明細書で使用される場合、状態を「予防する」治療薬は、障害又は状態の発症前に統計的試料に投与された場合、未処置の対照試料と比較して、処置試料における障害又は状態の発生を低減する、又は未処置対照試料と比較して、障害又は状態の 1 つ又は複数の症状の発症を遅延又は重症度を低減する、化合物を指す。

【 0 0 3 5 】

本明細書で使用される場合、「特異的結合」とは、抗体又は TCR が所定の抗原に結合

50

する能力、又はペプチドがその所定の結合パートナーに結合する能力を指す。典型的には、抗体又はペプチドは、約 10^{-7} M 以下の K D に相当する親和性でその所定の抗原又は結合パートナーに特異的に結合し、非特異的及び無関係な抗原 / 結合パートナー（例えば、B S A、カゼイン）への結合に対する親和性よりも少なくとも 10 倍、少なくとも 100 倍又は少なくとも 1000 倍低い親和性（K D で表される）で所定の抗原 / 結合パートナーに結合する。

【0036】

本明細書で使用される「スペーサー」とは、融合タンパク質を含むタンパク質を結合させるペプチドを指す。一般に、スペーサーは、タンパク質を結合すること、或いはタンパク質間の最小距離や他の空間的関係を維持すること以外には、特定の生物学的活性を有さない。しかし、スペーサーの構成アミノ酸は、分子のフォールディング、正味の電荷、疎水性など、分子の何らかの性質に影響を与えるように選択されることがある。

10

【0037】

本明細書で使用される「特異的に結合する」又は「特異的結合」という用語は、ポリペプチド（抗体を含む）又は受容体に言及する場合、タンパク質や他の生物製剤の異種集団におけるタンパク質又はポリペプチド又は受容体の存在を決定的にする結合反応を指す。したがって、指定された条件下（例えば、抗体の場合はイムノアッセイ条件）で、特定のリガンド又は抗体は、試料中に存在する他のタンパク質、又はリガンド若しくは抗体が生体内で接触し得る他のタンパク質と有意な量で結合しない場合に、その特定の「標的」（例えば、抗体は内皮抗原に特異的に結合する）に「特異的に結合」する。一般に、第2の分子に「特異的に結合する」第1の分子は、その第2の分子と約 10^5 M^{-1} （例えば、 10^6 M^{-1} 、 10^7 M^{-1} 、 10^8 M^{-1} 、 10^9 M^{-1} 、 10^{10} M^{-1} 、 10^{11} M^{-1} 、及び 10^{12} M^{-1} 以上）超の親和定数（K a）を有している。例えば、T C R が M H C 上に提示されたペプチドに結合する能力の場合（例えば、クラス I M H C 又はクラス II M H C）；典型的には、T C R はそのペプチド / M H C に少なくとも約 10^{-4} M 以下の K D の親和性で特異的に結合し、非特異的及び無関係なペプチド / M H C 複合体（例えば、B S A ペプチド又はカゼインペプチドを含むもの）への結合に対する親和性よりも少なくとも 10 倍、少なくとも 100 倍又は少なくとも 1000 倍低い親和性（K D で表される）で所定の抗原 / 結合パートナーに結合する。

20

【0038】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、処置又は治療のために選択されたヒト又は非ヒト動物を意味する。

30

【0039】

「形質転換」、「トランスフェクション」又は「形質導入」という用語は、核酸、例えば、発現ベクターをレシピエント細胞（例えば、哺乳動物細胞）に導入することを意味し、前記細胞の染色体 D N A への核酸の導入を含む。

【0040】

本明細書で使用される場合、「処置」という用語は、臨床病理の経過中に処置を受けている個体の自然な経過を変えるように設計された臨床介入を指す。処置の望ましい効果には、特定の疾患、障害、又は状態の進行速度の低下、病的状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善が含まれる。例えば、特定の疾患、障害、又は状態に関連する1つ又は複数の症状が緩和又は除去される場合、その個体は順調に「処置」される。

40

【0041】

「バリエーション」という用語は、保存的アミノ酸置換、非保存的アミノ酸置換（例えば、変性バリエーション）、アミノ酸をコードする各々のコドン（例えば、D N A や R N A）のゆらぎ位置内での置換、ペプチドの C 末端へのアミノ酸付加、又は参照配列に対して 60% 、 70% 、 80% 、 90% 、 95% 、 96% 、 97% 、 98% 、 99% の配列同一性を有するペプチドを有するアミノ酸又はペプチド配列を指す。

【0042】

「ベクター」という用語は、核酸を生物、細胞、又は細胞構成要素の間で増殖及び / 又

50

は転移させることができる手段を指す。ベクターには、核酸が結合されたプラスミド、ウイルス、バクテリオファージ、プロウイルス、ファージミド、トランスポゾン、人工染色体などが含まれ、自律的に複製することや、宿主細胞の染色体に組み込まれることができて、できなくてもよい。このようなベクターは、細胞による発現に適した形態（例えば、転写制御エレメントに連結された）の遺伝子構築物を含む任意のベクター（例えば、プラスミド、コスミド又はファージ染色体）を含んでもよい。

【0043】

特定の実施形態では、本発明の薬剤は、単独で使用されてもよいし、別の種類の治療剤と併用投与されてもよい。本明細書で使用される場合、「併用投与」又は「併用して投与された」という表現は、先に投与された治療剤が体内でまだ有効である間に第2の薬剤が投与される（例えば、2つの薬剤が対象で同時に有効であり、2つの薬剤の相乗効果を含む場合がある）ように、2つ以上の異なる治療剤（例えば、本明細書で開示されるTCR-T細胞及び免疫チェックポイントの阻害剤を含む組成物）の任意の形態の投与を指す。例えば、異なる治療剤は、同じ製剤で、又は別々の製剤で、同時又は順次に投与することができる。一部の好ましい実施形態では、TCR-T細胞は、さらなる治療剤を発現する（例えば、細胞表面上に存在する、又は分泌する）。特定の実施形態では、異なる治療剤（例えば、TCR-T及び免疫チェックポイント遮断分子）は、互いに約1時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約72時間、又は約1週間以内に投与され得る。同様に、一部の実施形態では、本明細書に記載されるような組成物は、処置される特定の疾患、状態、損傷、又は障害に適した他の処置、療法、又は介入と組み合わせた治療レジメンにおいて併用して使用される場合がある。したがって、本発明の治療剤及び組成物は、1つ又は複数の処置様式、例えば、化学療法、放射線療法、手術、又はそれらの任意の組合せと組み合わせて、同時又は順次に投与することができる。例えば、限定するものではないが、本発明の異なる治療剤及び組成物（例えば、TCR-T単独又は免疫チェックポイント阻害分子との組合せ）は、化学療法、放射線療法又は手術の間、約1時間以内、約12時間以内、約24時間以内、約36時間以内、約48時間以内、約72時間以内、又は約1週間以内に投与することが可能である。したがって、このような処置を受ける対象は、異なる治療剤及び様式の複合効果から利益を得ることができる。

【0044】

T細胞受容体（TCR）

TCRは、免疫グロブリンスーパーファミリーの細胞表面タンパク質のヘテロ二量体で、CD3複合体の不変タンパク質と関連し、シグナル伝達を仲介する。TCRには $\alpha\beta$ 型と $\gamma\delta$ 型があり、構造的には類似しているが、解剖学的位置と機能は異なる。天然 $\alpha\beta$ TCRの細胞外ドメインは2つのポリペプチド（ α 鎖と β 鎖）からなり、それぞれが膜近位の定常ドメインと膜遠位の可変ドメインからなり、鎖内のジスルフィド結合を含む。免疫グロブリンのヒンジ領域に相当する短いセグメントは、免疫グロブリン様ドメインと膜を（膜貫通領域を介して）つなぎ、鎖間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含む。

【0045】

可変ドメインには相補性決定領域（CDR）と呼ばれる多型性の高いループがあり、ペプチドを提示する主要組織適合複合体（MHC）との結合に関与している。可変ドメインの中で、天然ヘテロ二量体 $\alpha\beta$ TCRの α 鎖と β 鎖はそれぞれ、可変領域、結合領域、定常領域を含み、 β 鎖はまた通常、可変領域と結合領域との間に短い多様性領域を含むが、この多様性領域は結合領域の一部と考えられることが多い。それぞれの可変領域はフレームワーク配列に埋め込まれた3つのCDR（Complementarity Determining Regions）を含み、1つはCDR3という超可変領域で、MHC上に提示された抗原の認識を担う主要なCDRである。 α 鎖可変領域（ $V\alpha$ ）と β 鎖可変領域（ $V\beta$ ）にはいくつかの種類があり、フレームワーク、CDR1配列、CDR2配列、及び部分的に定義されたCDR3配列によって区別されている。

【0046】

本発明の一部の態様では、特定の標的に対する活性（例えば、抗腫瘍活性）を高めるために免疫エフェクター細胞で発現させることができる操作されたTCRが本明細書で提供される。本明細書で提供されるTCR配列は、HPVエピトープを含む抗原性ペプチドを特異的に結合することができる（すなわち、抗原特異性を有する）。このような操作されたTCRを発現するT細胞（例えば、細胞傷害性T細胞；CTL）は、HPV感染、及び／又は癌（例えば、HPVエピトープを発現する癌）、及び／又は前癌病変の予防及び／又は処置において有用である。一部の実施形態では、TCR配列（及びそれが特異的に結合するHPVエピトープ配列）は、表1に列挙される配列を含む。したがって、一部の実施形態では、本発明の抗原認識構築物（例えば、TCR）は、CDR3配列と共にそれぞれの可変鎖アレルを表示する組合せのCDR1、CDR2及びCDR3配列を含む。本発明の好ましい実施形態は、表1及び13に示されるCDR3（例えば、配列番号13～52、又は219～226）、又はそのバリエーション（例えば、アミノ酸配列に保存的置換を有する、例えば、1～5個のそのような保存的置換）を少なくとも1つ又は複数含むTCR構築物を含むが、より好ましくは、3つのCDR配列CDR1、CDR2及びCDR3全てを含む。一部のそのような実施形態では、前記TCRは、配列番号13～52、又は219～226に記載のアミノ酸配列から選択される少なくとも1つの相補性決定領域3α（CDR3α）及び少なくとも1つのCDR3βアミノ酸配列を含む。特定の好ましい実施形態では、TCRポリペプチドは、配列番号13及び14、配列番号15及び16、配列番号17及び18、配列番号25及び26、配列番号27及び28、配列番号29及び30、配列番号51及び52、配列番号219及び220、又は配列番号225及び226に記載のCDR3αアミノ酸配列及びCDR3βアミノ酸を含む。

10

20

【0047】

一部の実施形態では、本明細書で開示されるTCRポリペプチドは、HPV抗原、好ましくはE6及びE7以外のHPVペプチドに由来するHPV抗原に特異的である。本発明の特に好ましい実施形態では、本明細書で開示されるTCRポリペプチドは、HPV16ペプチドE1、E2、E4、E5、又はそれらの組合せのいずれか1つに対して抗原特異性を有する。最も好ましいのは、TCRポリペプチドは、配列番号1～12、217、又は218に記載のアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも1つのエピトープを含む抗原に対して特異的である。

【0048】

30

40

50

【表 1】

表 1: HPV 特異的 TCR 配列

抗原	エピトープ	HLA 制限	集団 カバー度	CDR3 配列	TCRα 及び TCRβ 遺伝子
HPV1 6-E5	NLDTASTTL (配列番号 1)	C*05:01, C*08:02 & C*04:01	42.40% (15.33%, 7.88% & 23.24%)	CDR3α 配列: CALSEGGGSQGNLIF (配列番号 13)	TRAV19-01
					TRAJ42-01
				CDR3β 配列: CASSPELAGPQETQYF (配列番号 14)	TRBV7-6*01
					TRBJ2-5*01
					TRBD2*01
				CDR3α 配列: CAVSDRHDMRF (配列番号 15)	TRAV8-4*07
					TRAJ43*01
				CDR3β 配列: CASSYSPEHEQFF (配列番号 16)	TRBV6-5*01
					TRBJ2-1*01
					TRBD2*01
HPV1 6-E6	HDIILECVY (配列番号 2)	B*18:01 (B44 スー パーファミ リー)	8.03%	CDR3α 配列: CIVRDRSYGQNFVF (配列番号 19)	TRAV26-1*01
					TRAJ26*01
				CDR3β 配列: CSAREGYRSYF (配列番号 20)	TRBV20-1*01
					TRBJ2-1*01
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CARGLENAGNMLTF (配列番号 21)	TRAV17*01
					TRAJ39*01
				CDR3β 配列: CATSVRGTPQHFF (配列番号 22)	TRBV27*01
					TRBJ1-5*01
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CALSERGSFGFKTIF (配列番号 23)	TRAV19*01
					TRAJ9*01
				CDR3β 配列: CASSSGEKGQGAPVSSYE QYFF (配列番号 24)	TRBV7-8*01, TRBJ2-7*01
					TRBD1*01

10

20

30

40

50

HPV1 6-E2	TLQDVSLEVYL (配列番号 3)	A*02:01	47.41%	CDR3α 配列: CAFTYGGSQGNLIF (配列番号 25)	TRAV38- 01*03
					TRAJ42*01
				CDR3β 配列: CASRASVGVGTGELFF (配 列番号 26)	TRBV2*01
					TRBJ2-2*01
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CALSGNMLTF (配列番号 27)	TRAV38-1*01
					TRAJ39*01
				CDR3β 配列: CASSEGVGQRDEQFF (配列番号 28)	TRBV11-2*03
					TRBJ2-1*01
	TRBD2*01				
	CDR3α 配列: CAASWEGGGADGLTF (配列番号 29)	TRAV27*01			
	TRAJ45*01				
	CDR3β 配列: CASRGQGVYRSSYNEQFF (配列番号 30)	TRBV27*01			
	TRBJ2-1*01				
	TRBD1*01				
HPV1 6-E6	TIHDIILECV (配列番号 4)	A*02:01	47.41%	CDR3α 配列: CAVRDTGYGQNFVF (配列番号 31)	TRAV1-2*01
					TRAJ26*01
				CDR3β 配列: CASSPQGRINSPLHF (配列番号 32)	TRBV27*01
					TRBJ1-6*02
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CILSAHDYKLSF (配列番号 33)	TRAV26-2*01
					TRAJ20*01
				CDR3β 配列: CASSQGGLNSPLHF (配列番号 34)	TRBV10-2*01
					TRBJ1-6*02
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CAMRVAEGSQGNLIF (配列番号 35)	TRAV14/DV4 *03
					TRAJ42*01
				CDR3β 配列: CASSPWGRGGSPLHF (配列番号 36)	TRBV5-8*01
	TRBJ1-6*02				
	TRBD1*01				
	CDR3α 配列: CAVKFNTDQGGKLIF (配列番号 37)	TRAV12-2*01			
	TRAJ23*01				
	CDR3β 配列: CASSPQGRINSPLHF (配列番号 38)	TRBV9*01,			
	TRBJ2-3*01				
	TRBD2*01				

10

20

30

40

50

HPV1 6-E6	AFRDL CIVY (配列番号 5)	C*07:02	25.32%	CDR3α 配列: CALGSSGTYKYI (配列番号 39)	TRAV19*01
					TRAJ40*01
				CDR3β 配列: CASSGPGQGHNPQH (配列番号 40)	TRBV25-1*01
					TRBJ1-5*01
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CAMREANDMRF (配列番号 41)	TRAV14/DV4 *03
					TRAJ43*01
				CDR3β 配列: CASSFLVLAVSYNEQFF (配列番号 42)	TRBV11-2*01
HPV1 6-E6	KQRFHNIRGRWT GRC (配列番号 6)	DQB1*03: 01 /DRB1*15: 01	24.73%		TRBJ2-1*01
				CDR3α 配列: CAETLGLDQGGKLIF (配列番号 43)	TRAV13- 2*01,
					TRAJ23*01
				CDR3β 配列: CSTAGETDTQYF (配列番号 44)	TRBV20-1*03
					TRBJ2-3*01
					TRBD2*01
				CDR3α 配列: CATDEGTASKLTF (配列番号 45)	TRAV17*01
					TRAJ49*01
				CDR3β 配列: CSVEWTSGSGETQYF (配列番号 46)	TRBV29- 1*01,
					TRBJ2-5*01,
					TRBD2*02
				CDR3α 配列: CATDAGSDYKLSF (配列番号 47)	TRAV17*01,
HPV1 6-E4	WPTTPRPI (配列番号 7)	B*07:02	23.23%		TRAJ20*01
				CDR3β 配列: CASSLEPQYF (配列番号 48)	TRBV28*01,
					TRBJ2-3*01,
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CATDEGTGNQFYF (配列番号 49)	TRAV17*01,
					TRAJ49*01
				CDR3β 配列: CASSWDTGTETQYF (配列番号 50)	TRBV7-2*01,
					TRBJ2-5*01,
HPV1 6-E4	WPTTPRPI (配列番号 7)	B*07:02	23.23%		TRBD1*01
				CAFPSSGTYKYIF (配列番号 51)	TRAV24*01
					TRAJ40*01
				CASTAGTDTQYF (配列番号 52)	TRBV27*01
HPV1 6-E4	WPTTPRPI (配列番号 7)	B*07:02	23.23%		TRBJ2-3*01
					TRBD1*01

10

20

30

40

50

HPV1 6-E7	TPTLHEYMLDLQ PETTDLY (配列番号 217)	DRB1*03: 01/ DQB1*02: 01	41.63%	CDR3α 配列: CLVGPYFGGGSYQLTF (配列番号 219)	TRAV4*01
					TRAJ28*01
				CDR3β 配列: CASSQGTGRGNTEAFF (配列番号 220)	TRBV3-1*01
					TRBJ1-1*01
					TRBD1*01
				CDR3α 配列: CAVREKGTGNQFYF (配列番号 221)	TRAV3*01
					TRAJ49*01
				CDR3β 配列: CASSLPQGTPEYQYF (配列番号 222)	TRBV5-4*01
					TRBJ2-5*01
					TRBD1*01
HPV1 6-E5	SAFRCFIVY (配列番号 218)	B*35:01	11.87%	CDR3α 配列: CGLSWGDKTDKLIF (配列番号 223)	TRAV8-6*02
					TRAJ34*01
				CDR3β 配列: CASSPSLAGVVPGEIFF (配列番号 224)	TRBV14*01
					TRBJ2-2*01
					TRBD2*01
				CDR3α 配列: CAFMPKPDGSGNTGKLIF (配列番号 225)	TRAV38-1*01
					TRAJ37*01
				CDR3β 配列: CASSLGQGAVGTDYQYF (配列番号 226)	TRBV7-2*01
					TRBJ2-3*01
					TRBD1*01

10

20

30

40

50

【 0 0 4 9 】

本明細書で開示される本発明の T 細胞受容体を含む α 鎖及び β 鎖は、当業者に公知の組換え方法論及び戦略によって製造することができる。例えば、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる、Walchliら、(2011)、A Practical Approach to T-Cell Receptor Cloning and Expression、PLOS ONE 6(11): e27930を参照されたい。

本発明の TCR の α 鎖及び β 鎖を構築する際に使用され得る遺伝子配列は、当業者に知られており、例示的な目的及び制限なしに本明細書で参照される、国際イムノジェネティクス (Immunogenetics) 情報システム (登録商標) (IMGT (登録商標)) などの免疫遺伝学及び免疫情報学データベースで見つけることができる。このような遺伝子は、本発明の TCR のために本明細書で提供される配列を挿入するためのフレームワークとして使用することができる。TCR が免疫細胞 (例えば、T 細胞、又はその前駆細胞) の細胞表面で発現されることを知る関連技術分野の当業者は、シグナルペプチド配列 (すなわち、局在配列) が一般的に (例えば、アミノ末端に) 含まれることを理解する。シグナルペプチドを含むポリペプチドが細胞表面で発現されると、シグナルペプチドは、一般に、例えば小胞体におけるポリペプチドのプロセッシング及び細胞表面への移行の間にタンパク質分解的に除去されていることが理解される。したがって、本明細書で開示される TCR のようなポリペプチドは、一般にシグナルペプチドを欠いた成熟タンパク質として細胞表面に発現されるが、ポリペプチドの前駆体はシグナルペプチドを含む。シグナルペプチドは、受容体の天然に存在するシグナルペプチドであることも、代替的に、異なるタンパク質由来のもの、又は合成されたものであることも可能である。

【 0 0 5 0 】

好ましくは、本発明の TCR のヌクレオチド配列 (例えば、α 鎖及び β 鎖) は、例えば、ベクターインサートとしてベクターにクローン化される。前記インサート配列は、ヒト組織における発現のために最適化されたコドンであってもよい。一部のそのような実施形態では、本発明の TCR は完全なヒト TCR である。本発明の TCR は、部分的にマウス化されていてもよい (例えば、それぞれの TCR α 鎖及び β 鎖の定常領域のアミノ酸は、

マウスの定常領域のアミノ酸と置換されていてもよい)。好ましくは、ベクターインサートは、TCRの α 鎖及び β 鎖が単一の近接するオープンリーディングフレームから合成されるように設計される。このようなベクターインサートは、TCRの α 鎖及び β 鎖をコードする配列が、フレーム内にある自己切断2Aオリゴヌクレオチド配列を含むリンカーなどのリンカー配列によって分離されている、近接するオープンリーディングフレームを含んでいてもよい。特定の好ましい実施形態では、そのような自己切断リンカーは、フューリン切断部位をさらに含む。例えば、限定するものではないが、本明細書で企図されるTCR構築物のヌクレオチド配列、及びそれらの配列の特徴は、表2～9に記載されている。

【0051】

【表2】

10

表2: E5-NLD-TCR 構築物の特徴

E5-NLD-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 53)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7316 ... 8176
pUC 複製起点プロモーター	8377 ... 8917
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5921 ... 6155
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6730 ... 7185
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6358 ... 6571
WPRE 配列	5242 ... 5838
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
フューリン	4308 ... 4319
SGSG リンカー(配列番号 233)	4320 ... 4331
F2A	4332 ... 4403
コザック配列	3363 ... 3371
TCR β	3372 ... 4307
TCR α	4404 ... 5234

20

30

【0052】

40

50

【表 3】

表 3: E6-HDI-TCR 構築物の特徴

E6-HDI-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 54)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7307 ... 8167
pUC 複製起点プロモーター	8368 ... 8908
RSV プロモーター	7... 235
3'LTR	5912 ... 6146
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6721 ... 7176
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6349 ... 6562
WPRE 配列	5233 ... 5829
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 2328
イントロン	2361 ... 3303
<u>フューリン</u>	4323 ... 4334
<u>SGSG リンカー</u> (配列番号 233)	4335 ... 4346
F2A リンカー	4347 ... 4418
<u>コザック配列</u>	3363 ... 3371
<u>TCRβ</u>	3372 ... 4322
<u>TCRα</u>	4419 ... 5225

10

20

【0053】

【表 4】

表 4: E2-TLQ-TCR 構築物の特徴

E2-TLQ-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 55)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7319 ... 8179
pUC 複製起点プロモーター	8380 ... 8920
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5924 ... 6158
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6733 ... 7188
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6361 ... 6574
WPRE 配列	5245 ... 5841
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
<u>フューリン</u>	4314 ... 4325
<u>SGSG リンカー</u> (配列番号 233)	4326 ... 4337
F2A リンカー	4338 ... 4409
<u>コザック配列</u>	3363 ... 3371
<u>TCRβ</u>	3372 ... 4313
<u>TCRα</u>	4410 ... 5237

30

40

【0054】

50

【表 5】

表 5: E6-TIH-TCR 構築物の特徴

E6-TIH-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 56)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7286 ... 8146
pUC 複製起点プロモーター	8347 ... 8887
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5891 ... 6125
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6700 ... 7155
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6328 ... 6541
WPRE 配列	5212 ... 5808
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
<u>フューリン</u>	4302 ... 4313
<u>SGSG リンカー(配列番号 233)</u>	4314 ... 4325
F2A リンカー	4326 ... 4397
<u>コザック配列</u>	3363 ... 3371
<u>TCRβ</u>	3372 ... 4301
<u>TCRα</u>	4398 ... 5204

10

20

【0055】

【表 6】

表 6: E6-AFR-TCR 構築物の特徴

E6-AFR-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 57)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7307 ... 8167
pUC 複製起点プロモーター	8368 ... 8908
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5912 ... 6146
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6721 ... 7176
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6349 ... 6562
WPRE 配列	5233 ... 5829
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
<u>フューリン</u>	4305 ... 4316
<u>SGSG リンカー(配列番号 233)</u>	4317 ... 4328
F2A リンカー	4329 ... 4400
<u>コザック配列</u>	3363 ... 3371
<u>TCRβ</u>	3372 ... 4304
<u>TCRα</u>	4401 ... 5225

30

40

【0056】

50

【表 7】

表 7: E6-KQR-TCR 構築物の特徴

E6-KQR-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 58)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7328 ... 8188
pUC 複製起点プロモーター	8389 ... 8929
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5933 ... 6167
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6742 ... 7197
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6370 ... 6583
WPRE 配列	5254 ... 5850
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
フューリン	4326 ... 4337
SGSG リンカー(配列番号 233)	4338 ... 4349
F2A リンカー	4350 ... 4421
コザック配列	3363 ... 3371
TCRβ	3372 ... 4325
TCRα	4422 ... 5246

10

20

【0057】

【表 8】

表 8: E7-TPT-TCR 構築物の特徴

E7-TPT-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 227)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7295 ... 8155
pUC 複製起点プロモーター	8356 ... 8896
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5900 ... 6134
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6709 ... 7164
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6337 ... 6550
WPRE 配列	5221 ... 5817
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
フューリン	4305 ... 4316
SGSG リンカー(配列番号 233)	4317 ... 4328
F2A リンカー	4329 ... 4400
コザック配列	3363 ... 3371
TCRβ	3372 ... 4304
TCRα	4401 ... 5213

30

40

【0058】

50

【表 9】

表 9: E5-SAF-TCR 構築物の特徴

E5-SAF-TCR レンチウイルス構築物(配列番号 228)	
特徴	位置(nt)
Amp(R)	7340 ... 8200
pUC 複製起点プロモーター	8401 ... 8941
RSV プロモーター	7 ... 235
3'LTR	5945 ... 6179
イントロン	526 ... 1690
f1 複製起点	6754 ... 7209
5' LTR	236 ... 416
SV40 複製起点	6382 ... 6595
WPRE 配列	5266 ... 5862
ヒト EF1a プロモーター	1933 ... 3322
イントロン	2361 ... 3303
<u>フューリン</u>	4326 ... 4337
<u>SGSG リンカー(配列番号 233)</u>	4338 ... 4349
<u>F2A リンカー</u>	4350 ... 4421
<u>コザック配列</u>	3363 ... 3371
<u>TCRβ</u>	3372 ... 4325
<u>TCRα</u>	4422 ... 5258

10

20

【0059】

同様に、本明細書で企図される構築物によってコードされる例示的な TCR（例えば、TCRα/β ペプチド鎖）は、図 3、4、及び 6～11 に記載されている。一部の実施形態では、細胞表面で発現する TCR は、表 10 に記載されるアミノ酸配列を含む少なくとも 1 つの TCR 鎖を含む。好ましい実施形態では、そのような TCR は、表 10 に記載のアミノ酸配列をそれぞれ含む TCRα 鎖及び TCRβ 鎖を含む。例えば、TCR は、配列番号 59 に記載のアミノ酸配列を有する TCRβ 鎖及び配列番号 60 に記載のアミノ酸配列を有する TCRα 鎖；又は配列番号 61 に記載のアミノ酸配列を有する TCRβ 鎖及び配列番号 62 に記載のアミノ酸配列を有する TCRα 鎖を含んでもよい。

30

【0060】

40

50

【表 10】

表 10: 操作された TCR α 鎖及び β 鎖

TCR 構築物	α/β 鎖	アミノ酸配列
E2-TLQ-TCR	TCR β	EPEVTQTPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHLYFYWYRQILG QKVEFLVSFYNNSEISEKSEIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRST KLEDSAMYFCASRASVGVGTGELFFGEGSRLTVLEDLKNV FPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWW NGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATF WQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEA WGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA LMAMVKRKDSRG (配列番号 59)
	TCR α	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLCTYDTSESNYLFWYKQP PSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSLKISD SQLGDTAMYFCAFTYGGSGGNLIFGKGTKLSVKPNIQNP PAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDT FFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS (配列番号 60)
E5-NLD-TCR	TCR β	GVSQSPRYKVTKRGQDVALRCDPISGHVSLYWYRQALGQ GPEFLTYFNIEAQQDKSGLPNDRFSAERPEGSISTLTQRT EQRDSAMYRCASSPELAGPQETQYFGPGTRLLVLEDLKNV FPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWW NGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATF WQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEA WGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA LMAMVKRKDF (配列番号 61)
	TCR α	AQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDCVYETRDITYLFWYKQP PSGELVFLIRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITA SQVVDNAVYFCALSEGGSQGNLIFGKGTKLSVKPNIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYIT DKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPED TFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA AGFNLLMTLRLWSS (配列番号 62)

10

20

30

40

50

E6-AFR-TCR	TCR β	MTIRLLCYMGFYFLGAGLMEADYQTPRYLVIGTGKKITL ECSQTMGHDKMYWYQQDPGMELHLIHYSYGVNSTEKG DLSSESTVSRIRTEHFPLTLESARPSHTSQYLCASSGPG QGHNQPHFGDGTROLSILEDLNKVFPPEVAVFEPSKAEI AHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVCT DPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCG ITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDF (配列番号 63)	10
	TCR α	QKVTQAQTEISVVEKEDVTLDVCYETRDTTYLFWYKQP PSGELVFLIRRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTIT ASQVVDASAVYFCALGSSGTYKYIFGTGTRLKVLANIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVY ITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSII PEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRI LLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 64)	20
E6-TIH-TCR	TCR β	QVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDP GLGLRQIYYSMNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLIL ESPSPNQTSLYFCASSPQGRINSPLHFGNGTRLTVTEDL NKVFPPEVAVFEPSKAEIAHTQKATLVCLATGFFPDHVE LSWWWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNPRNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKP VTQIVSAEAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKA TLYAVLVSALVLMAMVKRKDF (配列番号 65)	30
	TCR α	QNIDQPTMTATEGAIVQINCTYQTSGFNGLFWYQQHA GEAPTFLSYNVLDGLEEKGRFSSFLSRSGYSYLLKEL QMKDSASYLCAVRDTGYGQNFVFGPGTRLSVLPYIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVY ITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSII PEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRI LLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 66)	40

E6-HDI-TCR	TCR β	GSGLGAVVSQHPSSWICKSGTSSVKIECRSLDFQATTMF WYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHA SLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSAREGYRSYFGPGTRLT VLEDLKNVFPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFFP DHVELSWWWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQD RAKPVTQIVSAEAWGRADCGITSASYHQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRKDSRG (配列番号 67)	10
	TCR α	KTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIH SQGPQYIIHGLKNNETNEMASLIITEDRKSSSTLILPHATLR DTAVYYCIVRDRSYGQNFVFGPGTRLSVLPYIQNPDAV YQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDK CVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPED TFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLFQNLSVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 68)	20
E6-KQR-TCR	TCR β	GSGLGAVVSQHPSSWICKSGTSSVKIECRSLDFQATTMF WYRQFPKQSLMLMATSNEGCKATYEQGVEKDKFLINHA SLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSTAGETDTQYFGPGTRLT VLEDLKNVFPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFFP DHVELSWWWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQD RAKPVTQIVSAEAWGRADCGITSASYHQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRKDSRG (配列番号 69)	30
	TCR α	ESVGLHLPTLSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQES GKGPQFIIDIRSNMDKRQGQRVTVLLNKTVKHLSLQIAAT QPGDSAVYFCAETLGLDQGGKLIFGQGTELSVKPNIQNP DSVKPNPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANA FNNSIIPEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLFQNLS VIGFRILLKVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 70)	40

E7-TPT-TCR	TCR β	DTAVSQTPKYLVTQMGNDSIKCEQNLGHDTMYWYKQ DSKKFLKIMFSYNNKELIINETVPNRFSKSPDKAHLNLHI NSLELGDSAVYFCASSQGTGRGNTEAFFGQGTRLTVVE DLNKVFPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFYPDH VELSWWWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLS SRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRA KPVTQIVSAEAWGRADCGITSASYHQQGVLSATILYEILLG KATLYAVLVLSALVLMAMVKRKDF (配列番号 229)	10
	TCR α	LAKTTQPISMDSYEGQEVNITCSHNNIATNDYITWYQQF PSQGPRFIIQGYKTKVTNEVASLFIPADRSSTLSLPRVS LSDTAVYYCLVGPYFGGGSYQLTFGKGTKLSVIPNIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVY ITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSII PEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI LLLKVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 230)	20
E5-SAF-TCR	TCR β	GAGVSQSPSNKVTEKGKDVELRCDPISGHTALYWYRQSL GQGLEFLIYFQNSAPDKSGLPSDRFSAERTGGSVSTLIQ RTQQEDSAVYLCASSLGQGAVGTDQYFGPGTRLTVLED RKTLLKNVFPPEVAVFEPKAEIAHTQKATLVCLATGFYPDH VELSWWWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVT QIVSAEAWGRADCGITSASYHQQGVLSATILYEILLGKATLYA VLVSALVLMAMVKRKDSRG (配列番号 231)	30
	TCR α	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSTYDTSENNYYLFWYK QPPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSL KISDSQLGDTAMYFCAFMKPDGSGNTGKLIFGQGTTLQ VKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVS QSKDSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSSDVPCDVKLVEKSFETDTNLF QNLVIGFRILLKVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 232)	40

【 0 0 6 1 】

同様に、本発明の実施形態は、操作された T C R を発現するようにそのような構築物で形質導入された免疫エフェクター細胞（例えば、T 細胞）を含む。

【 0 0 6 2 】

一部の実施形態では、本明細書で開示される T C R は、表 1 1 に列挙されるエピトープを特異的に結合する。

【 0 0 6 3 】

【表 1 1】

表 11: HPV 特異的エピトープ

抗原	エピトープ	HLA 制限
HPV16-E1	YLHNRLVVF (配列番号 8)	B*08:01
HPV16-E1	ALDGNLVSM DV (配列番号 9)	A*02:01
HPV18-E6	TVLELTEVFEF (配列番号 10)	A*02:01
HPV18-E5	SPATAFTVY (配列番号 11)	B*35:01
HPV16-E7	VQSTHVDIRTLEDLLMGTL (配列番号 12)	DQB1*03:01

10

【0064】

特定の実施形態では、TCR（例えば、操作されたTCRを発現する免疫エフェクター細胞）は、当技術分野で既知の複数の戦略を使用して適用及び／又は投与され得る。例えば（限定するものではないが）、TRUCK（普遍的なサイトカイン殺滅のためにリダイレクトされたT細胞）は、改変された（例えば、人工／組換え／外因性）TCRと抗腫瘍サイトカインとを共発現する。サイトカインの発現は、構成的であってもよいし、T細胞の活性化によって誘導されてもよい。TCR特異性により標的とされた炎症促進性サイトカインの局所的な産生は、内在性免疫細胞を腫瘍部位に動員し、抗腫瘍応答を増強することがある。

20

【0065】

或いは、同種TCR-T細胞は、内因性T細胞受容体（TCR）及び／又は主要組織適合複合体（MHC）分子をもはや発現しないように、当技術分野で既知の手段によって操作され、それによって、外因性TCRの発現及び／又は機能を改善し、及び／又は移植片対宿主病（GVHD）や拒絶反応をそれぞれ防止又は低減することがある。

【0066】

TCR-T細胞は、TCRと腫瘍リガンドに結合するケモカイン受容体を共発現するように操作されてもよく、それによって腫瘍のホーミングを促進することがある。

30

【0067】

免疫抑制に耐性を持つように操作されたTCR-T細胞は、様々な免疫チェックポイント分子（例えば、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4（CTLA4）又はプログラム細胞死タンパク質1（PD-1））をもはや発現しないように遺伝的に改変されることがある。例示的な「ノックダウン」及び「ノックアウト」技術には、RNA干渉（RNAi）（例えば、asRNA、miRNA、shRNA、siRNAなど）及びCRISPR干渉（CRISPRi）（例えば、CRISPR-CAS9）などがあるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、TCR-T細胞は、チェックポイント分子のドミナントネガティブ型を発現するように操作される。一部のそのような実施形態では、免疫チェックポイント分子の細胞外リガンド結合ドメイン（すなわち、エクドメイン）は、リガンド結合を競合させるために、膜貫通膜に融合される。例えば、PD-1の細胞外リガンド結合ドメインは、CD8膜貫通ドメインに融合され、したがって、標的細胞からPD-1リガンドを競合させることがある。一部の実施形態では、TCR-T細胞は、標的細胞上に存在する阻害性免疫チェックポイントリガンドを利用するために、免疫チェックポイントスイッチ受容体を発現するように操作される。そのような実施形態では、免疫チェックポイント分子の細胞外リガンド結合ドメインは、シグナル伝達、刺激、及び／又は共刺激ドメインに融合される。例えば、PD-1の細胞外リガンド結合ドメインは、CD28ドメインに融合されてもよく、したがって、PD-1シグナル伝達をブロックしながらCD28

40

50

共刺激を提供することがある。さらなる実施形態では、TCR-T細胞は、免疫チェックポイントシグナル伝達をブロックするアプタマー又はモノクローナル抗体を投与されてもよい。一部のそのような実施形態では、TCR-T細胞（例えば、TCR-T細胞療法）は、PD-1/PD-L1拮抗アプタマー又は抗PD-1/PD-L1抗体による投与などのPD-1遮断方法と組み合わせられる。好ましい実施形態では、TCR-T細胞とPD-1経路遮断抗体とが併用して投与される。さらなる実施形態では、TCR-T細胞は、抗PD-1若しくは抗PD-L1などの免疫チェックポイント遮断抗体又はその断片を発現又は発現及び分泌するように操作される。さらにさらなる実施形態では、TCR-T細胞は、本明細書に記載の免疫チェックポイント遮断分子を発現するベクター（例えば、操作されたウイルス）を用いて投与される。

10

【0068】

自己破壊型TCR-T細胞は、例えば遺伝子改変リンパ球におけるチミジンキナーゼへのガンシクロビル結合や低分子二量体によるヒトカスパーゼ9の活性化によるT細胞の誘導性アポトーシスを利用して設計することができる。

【0069】

マークされたTCR-T細胞は、改変されたTCRと既存のモノクローナル抗体薬剤が結合する腫瘍エピトープを発現する。許容不可能な副作用がある場合、モノクローナル抗体を投与すると、TCR-T細胞が除去され、症状が緩和され、off-tumorの影響が追加されることはない。

【0070】

二重特異性TCR-T細胞は、腫瘍抗原を含む他の癌関連抗原など、第1の改変TCRに対して異なる抗原/リガンド結合標的を有する別のTCR又はキメラ抗原受容体(CAR)をさらに発現してもよい。

20

【0071】

腫瘍抗原には、免疫応答、特にT細胞媒介免疫応答を誘発する腫瘍細胞によって産生されるタンパク質が含まれる。追加の抗原結合ドメインは、抗体又は腫瘍抗原の天然リガンドであり得る。追加の抗原結合ドメインの選択は、処置される特定のタイプの癌に依存する。腫瘍抗原は当技術分野でよく知られており、例えば、グリオーマ関連抗原、癌胎児抗原(CEA)、EGFRvIII、IL-11Ra、IL-13Ra、EGFR、FAP、B7H3、Kit、CALX、CS-1、MUC1、BCMA、bcr-abl、HER2、β-ヒト絨毛性ゴナドトロピン、αフェトプロテイン(AFP)、ALK、代替的及び/又は特異的CD19エピトープ、TIM3、サイクリンB1、レクチン反応型AFP、Fos関連抗原1、ADRB3、チログロブリン、EphA2、RAGE-1、RU1、RU2、SSX2、AKAP-4、LCK、OY-TES1、PAX5、SART3、CLL-1、フコシルGM1、GloboH、MN-CAX、EPCAM、EVT6-AML、TGS5、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ポリシアル酸、PLAC1、RU1、RU2(AS)、腸内カルボキシルエステラーゼ、Lewis Y、sLe、LY6K、HSP70、HSP27、mut hsp70-2、M-CSF、MYCN、RhoC、TRP-2、CYP1B1、BORIS、プロスターゼ、前立腺特異的抗原(PSA)、PAX3、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、LMP2、NCAM、p53、p53変異体、Ras変異体、gp100、プロステイン、OR51E2、PANX3、PSMA、PSCA、Her2/neu、hTERT、HMWMAA、HAVCR1、VEGFR2、PDGFR-β、サバイピン及びテロメラーゼ、レグマイン、HPV E6、E7、精子タンパク質17、SSEA-4、チロシナーゼ、TARP、WT1、前立腺癌腫瘍抗原1(PCTA-1)、ML-IAP、MAGE、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-C1、MAGE-C2、アネキシンA2、MAD-CT-1、MAD-CT-2、メラナ/MART1、XAGE1、ELF2M、ERG(TMPRSS2 ETS融合遺伝子)、NA17、好中球エラスターゼ、肉腫転座ブレークポイント、NY-BR-1、エフリンB2、CD20、CD22、CD24、CD30、TIM3、CD38、CD44v6、CD97、CD171、CD179a、アンドロゲン受容体、

30

40

50

FAP、インスリン成長因子(IGF)-I、IGFII、IGF-I受容体、GD2、
 o-アセチル-GD2、GD3、GM3、GPRC5D、GPR20、CXORF61、
 葉酸受容体(FRa)、葉酸受容体β、ROR1、Flt3、TAG72、TN Ag、
 Tie2、TEM1、TEM7R、CLDN6、TSHR、UPK2、及びメソテリン、
 が挙げられる。特定の好ましい実施形態では、腫瘍抗原は、葉酸受容体(FRa)、メソ
 セリン、EGFRvIII、IL-13Ra、CD123、CD19、TIM3、BCMA、
 GD2、CLL-1、CA-IX、MUC1、HER2及びそれらの任意の組合せか
 ら選択される。

【0072】

腫瘍抗原のさらなる非限定的な例としては、以下のものが挙げられる：チロシナーゼ、
 TRP-1、TRP-2などの分化抗原、MAGE-1、MAGE-3、BAGE、GA
 GE-1、GAGE-2、p15などの腫瘍特異的多系列抗原；CEAなどの過剰発現
 胚抗原；p53、Ras、HER-2/neuなどの過剰発現癌遺伝子や突然変異腫瘍抑
 制遺伝子；BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-
 RARなどの染色体転座に起因する固有の腫瘍抗原；並びにエプスタインバーウイルス抗
 原EBVA、及びヒトパピローマウイルス(HPV)抗原E6及びE7などのウイルス抗
 原などである。他の大きなタンパク質ベースの抗原としては、SCCA、GP73、FC
 -GP73、TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、RAGE、
 NY-ESO、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H
 1、PSA、CA19-9、CA72-4、CAM17.1、NuMa、K-ras
 s、βカテニン、CDK4、Mum-1、p15、p16、43-9F、5T4、791
 Tgp72、αフェトプロテイン、β-HCG、BCA225、BTAA、CA125、
 CA15-3\CA27.29\BCAA、CA195、CA242、CA-50
 、CAM43、CD68\P1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733\E
 pCAM、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB
 /70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90\Mac-2
 結合タンパク質\シクロフィリンC関連タンパク質、TAAL6、TAG72、TLP、
 TPS、GPC3、MUC16、TAG-72、LMP1、EBMA-1、BARF-1
 、CS1、CD319、HER1、B7H6、L1CAM、IL6、及びMETが挙げら
 れる。

【0073】

一般に、本明細書で開示される方法に関して、CAR-T細胞に適用されるほぼ全ての
 戦略が、本明細書で開示されるTCR-T細胞に適用され得る。

【0074】

核酸及びベクター

また、開示される免疫エフェクター細胞におけるHPV抗原特異的TCRの発現を可能
 にする、開示されるHPV抗原特異的TCRをコードするポリヌクレオチド及びポリヌク
 レオチドベクターが開示される。一部の実施形態では、本明細書で開示されるポリヌク
 レオチド及びポリヌクレオチドベクターは、表2~9に記載される核酸配列のいずれか1つ
 を含む。本発明の特定の態様では、TCRα及び/又はTCRβ鎖を含むペプチド(複数
 可)をコードするヌクレオチド配列を含む単離された核酸が本明細書で提供される。一部
 の実施形態では、本明細書で開示される核酸によってコードされるペプチドは、配列番号
 13~52、59~70、209~216のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列又
 はその断片を含む。

【0075】

開示されるTCR及びその領域をコードする核酸配列は、例えば、遺伝子を発現する細
 胞からライブラリーをスクリーニングすることによって、それらを含むことが知られてい
 るベクターから遺伝子を導出することによって、又は標準的な技術を使用してそれらを含
 む細胞及び組織から直接単離することによって、当技術分野で知られている組換え方法を
 使用して得ることができる。或いは、目的の遺伝子は、クローン化するのではなく、合成

10

20

30

40

50

的に生産することも可能である。

【0076】

TCRをコードする核酸の発現は、典型的には、TCRポリペプチドをコードする核酸をプロモーターに作動可能に連結し、その構築物を発現ベクターに組み込むことにより達成される。典型的なクローニング及び/又は発現ベクターは、転写及び翻訳ターミネーター、開始配列、及び所望の核酸配列の発現を調節するのに有用なプロモーターを含む。

【0077】

本発明のTCRの α 鎖及び β 鎖をコードする核酸配列は、当技術分野において既知の方法によって単一の発現ベクターに配置することができる。例えば、限定するものではないが、本明細書に記載のTCRをコードする核酸配列は、2Aペプチドをコードする配列のようなりボソームスキップ配列をコードする核酸配列を含んでいてもよい。2Aペプチドは、ピコルナウイルスのサブグループのアフトウイルス(Aphthovirus)において同定され、コドンによってコードされる2つのアミノ酸の間にペプチド結合を形成することなく、あるコドンから次へとリボソーム「スキップ」を引き起こす。したがって、ポリペプチドがフレーム内にある2Aオリゴペプチド配列によって分離されている場合(例えば、TCRの α 鎖と β 鎖が2Aオリゴペプチド配列によって分離されている場合)、mRNA内の単一の近接するオープンリーディングフレームから2つのポリペプチドが合成され得る。このようなりボソームの「スキップ」又は「自己切断」機構は当技術分野でよく知られており、単一のメッセンジャーRNAによってコードされるいくつかのタンパク質の発現のために、いくつかのベクターによって使用されていることが知られている。例えば、2Aオリゴペプチド配列は、フューリン切断認識部位と共に使用してもよい。好ましくは、フューリン認識部位は、2Aオリゴペプチド配列の上流にある。最も好ましくは、フューリン認識部位配列と2Aオリゴペプチド配列は、GSGリンカーによって分離されている。フューリン切断部位、及び2Aリボソームスキップペプチドが続くアミノ酸スペーサーを組み合わせたこのようなバイシストロニックレンチウイルスベクターは、当技術分野で知られている。例えば、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる、Yangら、(2008)、Development of optimal bicistronic lentiviral vectors facilitates high-level TCR gene expression and robust tumor cell recognition, Gene Therapy、15巻、1411~1423頁、を参照されたい。自己切断フューリン-スペーサー-2A部位から上流に生じたペプチドは、そのカルボキシ末端にフューリン認識配列(例えば、図3、4、及び6~11に示されるFURIN切断部位配列)を保持することができる。同様に、シグナルペプチド配列の除去のような翻訳後修飾がない場合、自己切断フューリン-スペーサー-2A部位から下流に生じたペプチドは、そのアミノ末端にアミノ酸(例えば、図3、4、及び6~11に示されるF2Aリンカー配列の末端プロリン)を保持することができる。或いは、 α 鎖及び β 鎖はそれぞれ別の発現ベクターに配置されてもよい。

【0078】

開示される核酸は、多数のタイプのベクターにクローン化することができる。例えば、核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス、及びコスミドを含むがこれらに限定されないベクターにクローン化することができる。特に注目されるベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プロンプ生成ベクター、シーケンシングベクターなどが挙げられる。

【0079】

さらに、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に提供されてもよい。ウイルスベクター技術は当技術分野でよく知られており、例えば、Sambrookら、(2001、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)、及び他のウイルス学や分子生物学のマニュアルに記載されている。ベクターとして

有用なウイルスには、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルスが含まれるが、これらに限定されない。一般に、好適なベクターは、少なくとも1つの生物において機能する複製起点、プロモーター配列、都合のよい制限エンドヌクレアーゼ部位、及び1つ又は複数の選択可能なマーカーを含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドベクターは、レンチウイルスベクター又はレトロウイルスベクターである。

【0080】

哺乳動物細胞への遺伝子移入のために、多くのウイルスに基づくシステムが開発されてきた。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達システムのための便利なプラットフォームを提供する。選択した遺伝子をベクターに挿入し、当技術分野で知られている技術を使用してレトロウイルス粒子にパッケージ化することができる。次いで、組換えウイルスを単離し、*in vivo*又は*ex vivo*のいずれか対象の細胞に送達することができる。好ましくは、遺伝子移入は哺乳動物細胞（例えば、PBMC）へ行う。

10

【0081】

好適なプロモーターの1つの例は、最初期サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター配列である。このプロモーター配列は、それに作動的に連結された任意のポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモーター配列である。好適なプロモーターの別の例は、伸長成長因子-1 α （EF-1 α ；EF1a）である。しかし、他の構成的プロモーター配列も使用してもよく、これには、サルウイルス40（SV40）初期プロモーター、MND（骨髄増殖性肉腫ウイルス）プロモーター、マウス乳腺腫瘍ウイルス（MMTV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）長末端リピート（LTR）プロモーター、MoMuLVプロモーター、鳥白血病ウイルスプロモーター、エプスタインバーウイルス最初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、並びに、これらに限定しないがアクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、ヘモグロビンプロモーター、及びクレアチンキナーゼプロモーターなどのヒト遺伝子プロモーター、が含まれるが、これらに限定されない。プロモーターは、代替的に、誘導性プロモーターであり得る。誘導性プロモーターの例には、メタロチオニンプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター、及びテトラサイクリンプロモーターが含まれるが、これらに限定されない。

20

【0082】

追加のプロモーター要素、例えばエンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。典型的には、これらは開始点から30～110bp上流の領域に存在するが、最近、多くのプロモーターが開始点の下流にも機能的な要素を含むことが示されている。また、プロモーター要素同士の間隔は、要素を反転させたり、相対的に移動させたりしてもプロモーターの機能が維持されるよう、柔軟であることが多い。

30

【0083】

TCRポリペプチド又はその一部の発現を評価するために、細胞に導入する発現ベクターは、ウイルスベクターを介してトランスフェクト又は感染させようとする細胞集団から発現細胞の同定及び選択を容易にするために、選択可能なマーカー遺伝子又はレポーター遺伝子のいずれか、或いは両方を含むことも可能である。他の態様では、選択可能なマーカーは、DNAの別の部分に担持され、共トランスフェクション手順で使用されてもよい。選択マーカーとレポーター遺伝子の両方は、宿主細胞での発現を可能にするために適切な制御配列で挟まれていてもよい。有用な選択可能なマーカーとしては、例えば、抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。

40

【0084】

レポーター遺伝子は、トランスフェクションされた可能性のある細胞を同定したり、制御配列の機能性を評価したりするために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物又は組織には存在しないか、発現しない遺伝子であり、その発現が何らかの容易に検出できる特性、例えば、酵素活性によって明示されるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、DNAがレシピエント細胞に導入された後、

50

適当な時期にアッセイされる。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼ、又は緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードする遺伝子を挙げることができる。好適な発現系はよく知られており、既知の技術を用いて調製してもよいし、市販のもの入手してもよい。一般に、レポーター遺伝子の最高レベルの発現を示す最小の5'フランキング領域を有する構築物は、プロモーターとして同定される。このようなプロモーター領域をレポーター遺伝子に連結し、プロモーター駆動型転写を調節する能力を有する薬剤を評価するために使用することができる。

【0085】

遺伝子を細胞に導入し発現させる方法は、当技術分野で知られている。発現ベクターの文脈では、ベクターは、宿主細胞、例えば、哺乳動物、細菌、酵母、又は昆虫細胞に、当技術分野の任意の方法によって容易に導入され得る。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的、又は生物学的手段によって宿主細胞内に転移することができる。

【0086】

ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入する物理的方法としては、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、粒子衝撃法、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが挙げられる。ベクター及び/又は外来核酸を含む細胞を製造する方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、Sambrookら、(2001、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)を参照されたい。

【0087】

目的のポリヌクレオチドを宿主細胞に導入する生物学的方法には、DNAベクターやRNAベクターの使用がある。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物、例えば、ヒトの細胞に遺伝子を挿入する方法として最も広く使用されている。

【0088】

ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための化学的手段としては、高分子複合体、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズ、及び水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル、及びリポソームなどの脂質ベースのシステムなどのコロイド分散システムがある。in vitro及びin vivoで送達ビヒクルとして使用するための例示的なコロイドシステムは、リポソーム(例えば、人工膜小胞)である。

【0089】

非ウイルス送達システムが利用される場合、例示的な送達ビヒクルは、リポソームである。別の態様では、核酸は、脂質と会合してもよい。脂質と会合した核酸は、リポソームの水性内部にカプセル化されてもよく、リポソームの脂質二重層内に分散してもよく、リポソームとオリゴヌクレオチドの両方に会合した連結分子を介してリポソームに付着してもよく、リポソームに封入されてもよく、リポソームと複合体化してもよく、脂質を含む溶液に分散してもよく、脂質と混合されてもよく、脂質と組み合わせてもよく、脂質中に懸濁物として含まれてもよく、ミセルと含有又は複合化してもよく、又は脂質と会合してもよい。脂質、脂質/DNA又は脂質/発現ベクター関連組成物は、溶液中の特定の構造に限定されない。例えば、それらは二層構造で、ミセルとして、又は「崩壊した」構造で存在することがある。また、単に溶液中に散在していてもよく、場合によっては大きさや形状が均一でない凝集体を形成していることもある。脂質は、天然に存在する脂質であっても合成脂質であってもよい脂肪性物質である。例えば、脂質には、細胞質内に天然に存在する脂肪滴のほか、脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、アルデヒドなどの長鎖脂肪族炭化水素及びその誘導体を含む化合物のクラスが含まれる。使用に適した脂質は、商業的な供給源から得ることができる。例えば、ジミリスチルホスファチジルコリン(「DMPC」)はSigma、St. Louis、Mo.から得ることができ;ジセチルリン酸(「DCP」)はK&K Laboratories(Plainview、N.Y.)から得ることができ;コレステロール(「Choi」)はCalbiochem-Behringから入手することができ;ジミリスチルホスファチジルグリセロール

10

20

30

40

50

(「DMPG」)及び他の脂質はAvanti Polar Lipids, Inc、(Birmingham, Ala.)から入手することができる。

【0090】

免疫細胞

本明細書で開示される本発明のTCRの α 鎖及び β 鎖は、異なる宿主細胞において独立して発現されてもよいし、同じ宿主細胞において発現されてもよい。好ましい実施形態では、 α 鎖及び β 鎖は、機能的なT細胞受容体の形成を可能にするために、同じ宿主細胞内に導入される。最も好ましくは、本発明の開示されるTCRの全て又は一部を発現するように操作された宿主細胞は、免疫細胞(例えば、免疫エフェクター細胞)を含む。このような細胞は、処置される対象(すなわち、ドナー)から得てもよい(すなわち、自己細胞) 10。しかし、一部の実施形態では、対象者自身の細胞以外の免疫細胞株又はドナー細胞(すなわち、同種細胞)が使用される。免疫エフェクター細胞は、末梢血単核細胞(PBMC)、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含む多くの供給源から得ることができる。免疫エフェクター細胞は、フィコール(Ficoll)(商標)分離など、当業者に知られている任意の多くの技術を使用して、対象及び/又はドナーから採取した血液から得ることができる。例えば、個体の循環血液由来の細胞は、アフエーシスによって得ることができる。一部の実施形態では、赤血球を溶解し、単球を枯渇させることによって、例えば、パーコール(PERCOLL)(商標)勾配による遠心分離や対向流遠心溶出法によって、末梢血リンパ球から免疫エフェクター細胞を分離する。免疫エフェクター細胞の特定の亜集団は、陽性又は陰性 20選択技術によってさらに単離することができる。例えば、免疫エフェクター細胞は、陽性選択された細胞に特有の表面マーカーに対する抗体の組合せを使用して、例えば、抗体結合ビーズと所望の免疫エフェクター細胞の陽性選択に十分な時間インキュベートすることによって、単離することができる。或いは、免疫エフェクター細胞集団の濃縮は、陰性選択された細胞に特有の表面マーカーに対する抗体の組合せを使用した陰性選択によって達成することができる。

【0091】

一部の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、感染症及び異物に対する体の防御に關与する任意の白血球を含む。例えば、免疫エフェクター細胞は、リンパ球、単球、マクロファージ、樹状細胞、マスト細胞、好中球、好塩基球、好酸球、又はそれらの任意の組合 30せを含むことができる。例えば、免疫エフェクター細胞は、Tリンパ球、好ましくは細胞傷害性Tリンパ球(CTL)を含むことができる。

【0092】

T細胞又はTリンパ球は、細胞表面にT細胞受容体(TCR)が存在することによって、B細胞やナチュラルキラー細胞(NK細胞)など他のリンパ球と区別することができる。T細胞は胸腺で成熟するため(一部は扁桃腺でも成熟するが)、T細胞と呼ばれている。T細胞にはいくつかのサブセットがあり、それぞれが明確な機能を有する。

【0093】

ヘルパーT細胞(T_H 細胞)は、B細胞のプラズマ細胞及びメモリーB細胞への成熟、細胞傷害性T細胞及びマクロファージの活性化など、免疫学的過程において他の白血球を 40補助する。これらの細胞は、表面にCD4糖タンパク質を発現するため、CD4⁺T細胞としても知られている。ヘルパーT細胞は、抗原提示細胞(APC)の表面に発現しているMHCクラスII分子によってペプチド抗原を提示されると活性化される。活性化されると、急速に分裂し、能動免疫応答において調節や補助を行うサイトカインと呼ばれる低分子タンパク質を分泌する。これらの細胞は、 T_H1 、 T_H2 、 T_H3 、 T_H17 、 T_H9 、又は T_{FH} などのいくつかのサブタイプの1つに分化し、異なるサイトカインを分泌して異なるタイプの免疫応答を促進することができる。

【0094】

細胞傷害性T細胞(T_C 細胞、又はCTL)は、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞を破壊し、移植拒絶反応にも関与している。これらの細胞は、その表面にCD8糖タンパク質を発 50

現するため、 $CD8^+$ T細胞としても知られている。これらの細胞は、全ての有核細胞の表面に存在するMHCクラスI分子に関連する抗原と結合することによって、標的を認識する。制御性T細胞が分泌するIL-10、アデノシン及び他の分子を通じて、 $CD8^+$ 細胞を不活性化して反応不顕性状態にし、自己免疫疾患を予防することができる。

【0095】

メモリーT細胞は、抗原特異的T細胞のサブセットであり、感染症が治った後も長期にわたって存続する。メモリーT細胞は、同族抗原に再びさらされると、速やかに大量のエフェクターT細胞に増殖するため、過去の感染に対する「記憶」を免疫系に与える。メモリー細胞は、 $CD4^+$ 又は $CD8^+$ のいずれかであってもよい。メモリーT細胞は、通常、細胞表面タンパク質であるCD45ROを発現する。

10

【0096】

制御性T細胞(Treg細胞)は、以前はサプレッサーT細胞として知られていたが、免疫寛容の維持に極めて重要な役割を担っている。その主な役割は、免疫反応の終結に向けてT細胞媒介免疫を停止させ、胸腺における陰性選択過程を逃れた自己反応性T細胞を抑制することである。 $CD4^+$ Treg細胞には、天然Treg細胞と適応Treg細胞の2つの主要なクラスが存在することが報告されている。

【0097】

ナチュラルキラーT(NKT)細胞(ナチュラルキラー(NK)細胞と混同しないように)は、適応免疫系と自然免疫系を橋渡しする。従来のT細胞は主要組織適合複合体(MHC)分子が提示するペプチド抗原を認識するが、NKT細胞はCD1dと呼ばれる分子が提示する糖脂質の抗原を認識する。

20

【0098】

一部の実施形態では、T細胞は、 $CD4^+$ 細胞の混合物を含む。他の実施形態では、T細胞は、細胞表面発現に基づく1つ又は複数のサブセットに対して濃縮される。例えば、ある場合には、T細胞は、細胞傷害性 $CD8^+$ Tリンパ球を含む。一部の実施形態では、T細胞は、 α 鎖及び β 鎖の代わりに1つの γ 鎖及び1つの δ 鎖を有する別個のT細胞受容体(TCR)を有する $\gamma\delta$ T細胞を含む。

【0099】

ナチュラルキラー(NK)細胞は、 $CD56^+CD3^-$ 大顆粒リンパ球で、ウイルス感染細胞や形質転換細胞を殺滅することができ、自然免疫系の重要な細胞サブセットを構成する(Godfrey Jら、Leuk Lymphoma、2012、53:1666~1676)。細胞傷害性 $CD8^+$ Tリンパ球とは異なり、NK細胞は事前の感作を必要とせず腫瘍細胞に対して細胞傷害性を示し、MHC-I陰性細胞を根絶することができる(Narni-Mancinelli Eら、Int Immunol、2011、23:427~431)。NK細胞は、サイトカINSTORM(Morgan RAら、Mol Ther、2010、18:843~851)、腫瘍崩壊症候群(Porter DLら、N Engl J Med、2011、365:725~733)及びon-target、off-tumor効果による致命的な合併症を回避できるため、より安全なエフェクター細胞である。NK細胞は、癌細胞を殺滅する細胞としてよく知られており、NK細胞の機能障害は、多発性骨髄腫(MM)の進行に重要であることが広く報告されているが(Godfrey Jら、Leuk Lymphoma 2012 53:1666~1676; Fauriat Cら、Leukemia、2006、20:732~733)、TCRが開示されるまでは、NK細胞を媒介した抗MM活性を高める方法はほとんど研究されていなかった。

30

40

【0100】

HPVの初期感染制御には自然免疫応答が重要な役割を果たすが、長期的な防御は体液性免疫と細胞性免疫を含む適応免疫応答に依存している。免疫応答性が保たれている人では、HPV感染の大部分は初感染から2年以内に除去される。 $CD4^+$ 及び $CD8^+$ T細胞の浸潤は、自然消退する病変で頻繁に観察される。HPVワクチンは予防的に作用し、L1タンパク質に基づいているが、このウイルス抗原はHPV関連疾患の処置には妥当で

50

ない。L1タンパク質は、HPV複製の後期に、特に末期分化角化細胞にのみ発現する。一方、HPVの複製サイクルに関連する他のタンパク質、すなわち、E1、E2、E4、E5、E6、及びE7は、免疫療法戦略の重要な標的となることがある。これは主に、これらのタンパク質の発現が感染の複数の段階を通じて保持されているという事実によるものである。免疫療法戦略の設計では、E6及びE7抗原に重点が置かれているが、他の初期タンパク質もHPV複製に関与しており、したがって、これらのタンパク質の発現は感染の複数の段階を通じて保持されることを理解することが重要である。このことは、病変形成の段階にかかわらず、持続的にHPVに感染した細胞を排除することを目的とした免疫療法の可能性のある標的として、これらのタンパク質の重要性を浮き彫りにしている。実際、動物モデル（イヌ及びウサギ）を使用したこれまでの研究で、コドン最適化したE1又はE2遺伝子をコードするDNAワクチンの接種により、パピローマが完全に退縮することが示されている。これらの動物モデルにおける防御の主要な様式は、E1及びE2抗原に対する有効なT細胞応答の誘導を介するものである。HPV誘導子宮頸部病変（C1N1からC1N3）を有するヒト対象における、E2をコードする改変ワクシニアアンカラ（Ankara）ベクターを使用したさらなる臨床研究では、子宮頸部病変の完全除去からC1N3からC1N1への退縮、HPVウイルス量の有意な減少が実証された。ここでもまた、E2特異的T細胞免疫の誘導が臨床応答と強く相関していた。抗ベクター抗体の発生により、ブースター免疫の応答が悪くなり、試験終了後に病変の再発を認めた患者もいた。さらにこの療法は、有効性のために子宮組織へのベクター直接注入を必要とするため、一般集団への使用は限られた。

10

20

【0101】

したがって、自己又は同種のHPV特異的TCR発現細胞（例えば、本明細書に記載のTCR-T細胞）の養子移入によるHPV関連疾患及び癌の予防及び処置方法が本明細書で提供される。このような方法は、ペプチド特異的T細胞（例えば、CTL、CD8⁺T細胞、及び/又はCD4⁺T細胞）の作製及び/又は使用を含むことがある。ペプチド特異的T細胞の作製は当技術分野で知られており、例えば、T細胞を含む試料（例えば、PBMC試料、濃縮試料、又は単離T細胞の試料）を、抗原性ペプチド（すなわち、T細胞エピトープを含むペプチド）、又はそのようなT細胞エピトープの1つ若しくは複数を表示する抗原提示細胞（APC）（例えば、クラスI MHC複合体上のCTLEピトープを含むペプチドを表示するAPC）とインキュベートし、それによってペプチド特異的T細胞の感作（例えば、活性化及び増殖）を誘発させることを含む場合がある。一部の実施形態では、抗原性ペプチドは、任意のウイルスタンパク質（すなわち、抗原）の配列を含む。例えば、限定されないが、免疫細胞（例えば、CTL）は、ヒトパピローマウイルス（HPV）、エプスタインバーウイルス（EBV）、サイトメガロウイルス（CMV）、B.K.ウイルス（BKV）、ジョンカニンガムウイルス（JCV）、ピコルナウイルス（例えば、A型肝炎ウイルス）、ヘパドナウイルス（例えば、B型肝炎ウイルス）、ヘパシウイルス（例えば、C型肝炎ウイルス）、デルタウイルス（例えば、D型肝炎ウイルス）、ヘペウイルス（例えば、E型肝炎ウイルス）、又はそれらの任意の組合せのいずれか1つ由来のウイルス抗原に感作している。好ましい実施形態では、CTLを含む試料（すなわち、PBMC試料）は、抗原性ペプチド（例えば、表1、11及び13に開示されるような抗原性HPV16ペプチド）又は本明細書で提供する抗原提示細胞（APC）（例えば、クラスI MHC複合体上に、本明細書に記載のHPVエピトープを含む前記ペプチドを表示する「ペプチドパルス」細胞）と共にインキュベートされる。一部の実施形態では、APCは、T細胞が得られた対象に対して自己のものである。一部の実施形態では、T細胞を含む試料は、本明細書で提供されるAPCと2回以上インキュベートされる。一部の実施形態では、T細胞は、少なくとも1つのサイトカインの存在下でAPCとインキュベートされる。一部の実施形態では、サイトカインは、IL-4、IL-7及び/又はIL-15である。APCを使用してT細胞の増殖を誘導するための例示的な方法は、例えば、米国特許出願公開第2015/0017723号に記載されており、参照によって本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、抗原は、E6及びE7以外のHPV抗

30

40

50

原である。

【0102】

一部の態様では、本明細書で提供されるTCR-T細胞を含む組成物（例えば、予防及び/又は治療用組成物）が本明細書で提供される。一部の実施形態では、そのような組成物は、有効量の組成物を対象に投与することによって、対象における癌、及び/又は前癌病変、及び/又はHPV感染を処置及び/又は予防するために使用される。一部の実施形態では、操作されたTCR-T細胞は、対象に対して自己ではない。一部の実施形態では、TCR-T細胞は、対象に対して自己である。一部の実施形態では、TCR-T細胞は、対象に投与される前に細胞バンクに保存される。したがって、一部の実施形態では、本発明の操作されたTCRポリペプチドの1つ又は複数を含む開示される免疫エフェクター細胞は、同種又は自己の免疫エフェクター細胞である。好ましくは、そのようなTCR-T細胞のアレルHLA拘束性（すなわち、特定のHLA-A、HLA-B、又はHLA-Cアレルへの拘束性）は、既知である。一部の実施形態では、本発明のTCR-T細胞を作製するために使用されるT細胞は、ペプチド特異的（すなわち、ウイルスペプチドのような抗原性ペプチドに感作されている）である。一部の実施形態では、本発明のTCR-T細胞の作製に使用されるT細胞は、多機能性T細胞、すなわち、複数の免疫エフェクター機能を誘導できるT細胞であり、例えば、単一の免疫エフェクター（例えば、サイトカイン又はCD107aなどの単一のバイオマーカー）のみを生成する細胞よりも病原体に対して効果的に免疫応答を提供するものである。低多機能性、単機能性、又はさらに「疲弊した」T細胞は、慢性感染中に免疫応答を支配し、したがって、ウイルス関連合併症に対する防御に負の影響を与える場合がある。さらに好ましい実施形態では、本発明のTCR-T細胞は多機能性である。特定の実施形態では、本発明のTCR-T細胞を作製するために使用されるT細胞の少なくとも50%は、CD4⁺T細胞である。一部のそのような実施形態では、前記T細胞は、50%未満のCD4⁺T細胞である。さらにさらなる実施形態では、前記T細胞は、CD4⁺T細胞が主体である。一部の実施形態では、本発明のTCR-T細胞を作製するために使用されるT細胞の少なくとも50%は、CD8⁺T細胞である。一部のそのような実施形態では、前記T細胞は、50%未満のCD8⁺T細胞である。さらにさらなる実施形態では、前記T細胞は、CD8⁺T細胞が主体である。一部の実施形態では、T細胞（例えば、本明細書に記載のドナー試料、感作T細胞、及び/又はTCR-T細胞）は、対象に投与される前に細胞ライブラリー又はバンクに保存される。

【0103】

一部の実施形態では、開示されるTCRを発現する操作されたTCR-T細胞は、免疫チェックポイント遮断を引き起こすドミナントネガティブ突然変異をさらに発現する（例えば、PD-1などの免疫チェックポイント分子のドミナントネガティブ型を発現する）。網羅的なリストであることを意図することなく、免疫チェックポイント分子は、プログラム死1（PD-1）、細胞傷害性Tリンパ球抗原-4（CTLA-4）、B及びTリンパ球アテニニューータ（BTLA）、T細胞免疫グロブリンムチン-3（TIM-3）、リンパ球活性化タンパク質3（LAG-3）、Ig及びITIMドメインを有するT細胞免疫受容体（TIGIT）、白血球関連免疫グロブリン様受容体1（LAIR1）、ナチュラルキラー細胞受容体2B4（2B4）、及びCD160から選択される。免疫チェックポイント分子はまた、トランスフォーミング成長因子β（TGF-β）受容体であってもよい。特定の好ましい実施形態では、免疫チェックポイント分子は、CTLA-4である。特に好ましい実施形態では、免疫チェックポイント分子は、PD-1である。

【0104】

治療方法

開示されるTCRを発現する免疫エフェクター細胞は、HPV抗原を発現する癌細胞（例えば、HPV関連癌）に対する治療上有益な免疫応答を誘発することができる。例えば、開示されるTCR改変免疫エフェクター細胞によって誘発される抗腫瘍免疫応答は、能動的な免疫応答であっても受動的な免疫応答であってもよい。さらに、TCR媒介免疫応

答は、T C R 改変免疫エフェクター細胞が H P V 抗原、好ましくは E 6 及び E 7 抗原以外の、又はそれに加えて H P V 抗原に特異的な免疫応答を誘導する養子免疫療法アプローチの一部であってもよい。

【 0 1 0 5 】

操作された T C R を発現する免疫エフェクター細胞の養子移入は、有望な抗癌療法である。したがって、本発明の一部の態様では、対象における H P V 関連癌又は前癌病変を処置する方法であって、本明細書で企図される T C R 発現細胞を含む養子免疫療法組成物の有効量を投与することを含む方法が本明細書で提供される。患者の免疫エフェクター細胞を採取した後、その細胞を、開示される H P V 抗原特異的 T C R を発現するように遺伝子操作して、前記免疫エフェクター細胞（例えば、T 細胞）の特定の抗原性を調整し、患者に再び注入してもよい。さらに、患者以外のドナーから得られた（すなわち、患者に対して同種）免疫エフェクター細胞は、開示される H P V 抗原特異的 T C R を発現するように遺伝子操作されてもよく、次いで、T C R を含む細胞が患者に注入される。ある特定の実施形態では、抗 H P V 抗原 T C R ポリペプチドを含む免疫エフェクター細胞は、同種 H P V 特異的細胞傷害性 T 細胞である。

10

【 0 1 0 6 】

開示される T C R 改変免疫エフェクター細胞は、単独で、又は希釈剤と組み合わせて、及び/又は I L - 2、I L - 15、若しくは他のサイトカイン若しくは細胞集団のような他の成分と組み合わせて医薬組成物として投与されてもよい。簡単に言えば、医薬組成物は、1 つ又は複数の薬学的又は生理学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤と組み合わせて、本明細書に記載の標的化細胞集団を含んでいてもよい。そのような組成物は、中性緩衝食塩水、リン酸緩衝食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールのような炭水化物；タンパク質；ポリペプチド又はグリシンのようなアミノ酸；抗酸化物質；E D T A 又はグルタチオンのようなキレート剤；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。開示される方法において使用するための組成物は、一部の実施形態では、静脈内投与用に製剤化される。医薬組成物は、任意の適切な方法で M M を処置するために投与されてもよい。投与の量及び頻度は、患者の状態、並びに患者の疾患の重症度などの要因によって決定されるが、適切な投与量は臨床試験によって決定され得る。

20

【 0 1 0 7 】

「免疫学的有効量」、「抗腫瘍有効量」、「腫瘍抑制有効量」、又は「治療量」が示されている場合、投与される本発明の組成物の正確な量は、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍サイズ、感染又は転移の程度、及び状態の個人差を考慮して医師によって決定され得る。

30

【 0 1 0 8 】

特定の実施形態では、対象に活性化 T 細胞を投与し、次いで、続いて血液を再採取し（又はアフエレーシスを行い）、開示される方法に従ってその中から T 細胞を活性化し、これらの活性化及び増殖させた T 細胞を患者に再注入することが望まれることがある。この工程は、数週間ごとに複数回実施することができる。特定の実施形態では、T 細胞は、10 c c ~ 400 c c の採血から活性化され得る。特定の実施形態では、T 細胞は、20 c c、30 c c、40 c c、50 c c、60 c c、70 c c、80 c c、90 c c、又は100 c c の採血から活性化される。この複数回の採血/複数回の再注入プロトコルを使用することは、T 細胞の特定の集団を選択するのに役立つことがある。

40

【 0 1 0 9 】

開示される組成物の投与は、注射、輸血、又は移植によるものを含む、任意の便利な方法で実施され得る。本明細書に記載の組成物は、器官への直接投与、皮下、皮内、腫瘍内、髄腔内、節内（i n t r a n o d a l l y）、髄内、筋肉内、胸腔内、頭蓋内、静脈内（i . v .）注射、又は腹腔内によって患者に投与されてもよい。一部の実施形態では、開示される組成物は、皮内又は皮下注射によって患者に投与される。一部の実施形態では、開示される組成物は、静脈内注射によって投与される。組成物はまた、腫瘍、リンパ節

50

、又は感染部位に直接注射されてもよい。

【 0 1 1 0 】

特定の実施形態では、本明細書で提供される医薬組成物を対象に投与することを含む、対象における H P V 感染、及び / 又は癌、及び / 又は前癌病変を処置する方法が本明細書で提供される。

【 0 1 1 1 】

一部の実施形態では、対象における H P V 感染を処置する方法が本明細書で提供される。特定のそのような実施形態では、処置される対象は、免疫不全である。例えば、対象は、T 細胞欠損を有していてもよい。対象は、白血病、リンパ腫、又は多発性骨髄腫を有していてもよい。一部の実施形態では、対象は、H I V に感染しており、及び / 又は A I D S を有している。さらなる実施形態では、対象は、組織、臓器及び / 又は骨髄の移植を受けている。一部のそのような実施形態では、対象は、免疫抑制剤を投与されている。一部の実施形態では、対象は、化学療法を受けた及び / 又は受けている。一部の実施形態では、対象は、放射線療法を受けた、及び / 又は受けている。

10

【 0 1 1 2 】

特定の実施形態では、開示される T C R 改変免疫エフェクター細胞は、サリドマイド、デキサメタゾン、ボルテゾミブ、及びレナリドミドを含むがこれらに限定されない任意の数の関連処置様式と組み合わせて（例えば、前、同時、又は後に）患者に投与される。さらなる実施形態では、T C R 改変免疫エフェクター細胞は、化学療法、放射線、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノレート、及び F K 5 0 6 のような免疫抑制剤、抗体、又は C A M P A T H などのその他の免疫切除剤、抗 C D 3 抗体若しくは他の抗体療法、サイトキシン、フルダラビン、シクロスポリン、F K 5 0 6、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、F R 9 0 1 2 2 8、サイトカイン、及び放射線照射と組み合わせて使用されてもよい。一部の実施形態では、T C R 改変免疫エフェクター細胞は、骨髄移植、フルダラビンなどの化学療法剤、外部ビーム放射線療法（X R T）、シクロホスファミド、又は O K T 3 若しくは C A M P A T H などの抗体のいずれかを使用した T 細胞切除療法と併せて（例えば、前、同時又は後に）、患者に投与される。他の実施形態では、本発明の細胞組成物は、C D 2 0 と反応する薬剤、例えば、リツキサンなどの B 細胞切除療法に続いて投与される。例えば、一部の実施形態では、対象は、高用量化学療法による標準的な処置と、それに続く末梢血幹細胞移植を受けてもよい。特定の
実施形態では、移植の後、対象は本発明の増殖した免疫細胞の注入を受ける。増殖した細胞は、手術の前又は後に投与されてもよい。一部の実施形態では、対象は、H P V の複製を阻害する抗ウイルス剤も投与される。例えば、一部の実施形態では、対象は、ポドフィロックス、イミキモド、シネカテキン、ポドフィリン樹脂、トリクロロ酢酸、又は二塩化酢酸を投与される。一部の実施形態では、対象は、H P V 感染病変及び / 又は H P V 関連腫瘍に物理的に影響を与える介入でも処置される。例えば、一部の実施形態では、病変は、外科的切除、化学的切除、凍結療法、又は焼灼で処置される。

20

30

【 0 1 1 3 】

開示される方法の癌は、対象において無秩序な増殖、浸潤、又は転移が起こっている任意の H P V 感染細胞（例えば、任意の H P V 抗原発現細胞）であり得る。一部の実施形態では、対象は、癌又は前癌病変を有する。本明細書に記載される方法は、任意のそのような癌又は前癌病変を処置するために使用されることがある。一部の実施形態では、癌及び / 又は前癌病変は、本明細書で提供される H P V エピトープ（例えば、表 1、1 1 及び 1 3 に列挙される H P V エピトープ）の 1 つ又は複数を発現する。一部の実施形態では、前癌病変は、異常細胞変化及び / 又は前癌細胞変化を含む。本明細書で提供される方法及び組成物によって処置され得る前癌病変には、子宮頸部上皮内腫瘍（C I N）、扁平上皮内病変（S I L）、又は子宮頸部の疣贅が含まれるが、これらに限定されない。H P V 抗原を発現する癌は当技術分野で知られており、扁平上皮癌及び固形腫瘍が含まれる。本明細書で提供される方法及び組成物によって処置され得る癌には、限定されないが、子宮頸部、肛門、膣、外陰部、陰茎、舌根部、喉頭、扁桃、膀胱、血液、骨、骨髄、脳、乳房、結

40

50

腸、食道、胃腸、歯肉、頭部、腎臓、肝臓、肺、鼻咽頭、首、卵巣、前立腺、皮膚、非黒色腫皮膚癌（NMSC）、皮膚扁平上皮癌（SCC）、胃、精巣、舌、子宮からの癌細胞が挙げられる。さらに、具体的には、癌は以下の組織型であってもよいが、これらに限定されるものではない：新生物、悪性；癌；癌、未分化、巨細胞癌、紡錘細胞癌；小細胞癌；乳頭状癌；扁平上皮癌；リンパ上皮癌；基底細胞癌；毛母癌；移行細胞癌；乳頭状移行細胞癌；腺癌；ガストリノーマ、悪性；胆管癌；肝細胞癌；肝細胞癌と胆管癌の複合癌；小柱状腺癌；腺様嚢胞癌；腺腫様ポリプの腺癌；腺癌、家族性大腸ポリポーシス；固形癌；カルチノイド腫瘍、悪性；細気管支肺腺癌；乳頭状腺癌；色素嫌性癌；好酸球癌；好酸性腺癌；好塩基球癌；明細胞腺癌；顆粒細胞癌；濾胞状腺癌；乳頭状及び濾胞状腺癌；非被包性硬化性癌；副腎皮質癌；類内膜癌；皮膚付属器癌；アポクリン腺癌；皮脂腺癌；耳垢腺癌；粘液性類表皮癌；嚢胞腺癌；乳頭状嚢胞腺癌；乳頭状漿液嚢胞腺癌；粘液性嚢胞腺癌；粘液性腺癌；印環細胞癌；浸潤性導管癌；髓様癌；小葉癌；炎症性癌；乳腺パジェット病；腺房細胞癌；腺扁平上皮癌；扁平上皮化生随伴腺癌；悪性胸腺腫；悪性卵巣間質腫瘍；悪性莢膜腫；悪性顆粒膜細胞腫；及び悪性ロブラストーマ（*roblastoma*）；セルトリ細胞癌；悪性ライディッヒ細胞腫；悪性脂質細胞腫；悪性傍神経節腫；悪性乳房外傍神経節腫；褐色細胞腫；血管球血管肉腫；悪性黒色腫；無色素性黒色腫；表在拡大型黒色腫；巨大色素性母斑の悪性黒色腫；類上皮細胞黒色腫；悪性青色母斑；肉腫；線維肉腫；悪性線維性組織球腫；粘液肉腫；脂肪肉腫；平滑筋肉腫；横紋筋肉腫；胚性横紋筋肉腫；胞巣状横紋筋肉腫；間質性肉腫；悪性混合腫瘍；ミューラー性混合腫瘍；腎芽細胞腫；肝芽腫；癌肉腫；悪性間葉腫；悪性ブレンナー腫瘍；悪性乳腺葉状腫瘍；滑膜肉腫；悪性中皮腫；未分化胚細胞腫；胎児性癌；悪性奇形腫；悪性卵巣甲状腺腫；絨毛癌；悪性中腎腫；血管肉腫；悪性血管内皮腫；カボジ肉腫；悪性血管外皮腫；リンパ管肉腫；骨肉腫；傍骨骨肉腫；軟骨肉腫；悪性軟骨芽細胞腫；間葉性軟骨肉腫；骨巨細胞腫；ユーイング肉腫；悪性歯原性腫瘍；エナメル芽細胞歯牙肉腫；悪性エナメル上皮腫；エナメル芽細胞線維肉腫；悪性松果体腫；脊索腫；悪性神経膠腫；脳室上衣細胞腫；星細胞腫；原形質性星細胞腫；線維性星細胞腫；星芽腫；神経膠芽細胞腫；乏突起神経膠腫；乏突起膠芽細胞腫；未分化神経外胚葉性；小脳肉腫；神経節神経芽腫；神経芽腫；網膜芽細胞腫；嗅神経腫瘍；悪性髄膜腫；神経線維肉腫；悪性神経鞘腫；悪性顆粒細胞腫；悪性リンパ腫；ホジキン病；ホジキンリンパ腫；側肉芽腫；小リンパ球性悪性リンパ腫；びまん性大細胞性悪性リンパ腫；濾胞性悪性リンパ腫；菌状息肉腫；その他の特定非ホジキンリンパ腫；悪性組織球増殖症；多発性骨髄腫；マスト細胞肉腫；免疫増殖性小腸病；白血病；リンパ性白血病；形質細胞性白血病；赤白血病；リンパ肉腫細胞白血病；骨髄性白血病；好塩基球性白血病；好酸球性白血病；単球性白血病；マスト細胞性白血病；巨核芽球性白血病；骨髄肉腫；及びヘアリー細胞白血病。

【0114】

開示されるTCR改変免疫エフェクター細胞（例えば、TCR-T細胞）は、細胞傷害性又は細胞増殖抑制性の効果を有する任意の化合物、部分又は基と組み合わせて使用することができる。薬剤部位には、微小管阻害剤、有糸分裂阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤、又はDNAインターカレーターとして機能し得る化学療法剤、特に癌治療に使用されるものが含まれる。例示的な抗癌剤には、アレムツズマブ（キャンパス（*Campath*）（登録商標））、アリトレチノイン（パンレチン（*Panretin*）（登録商標））、アナストロゾール（アリミデックス（*Arimidex*）（登録商標））、ペバシズマブ（アバスチン（*Avastin*）（登録商標））、ベキサロテン（タルグレチン（*Targretin*）（登録商標））、ボルテゾミブ（ベルケイド（*Velcade*）（登録商標））、ボスチニブ（ボスリフ（*Bosulif*）（登録商標））、ブレンツキシマブベドチン（アドセトリス（*Adcetris*）（登録商標））、カボザンチニブ（コメトリク（*Cometriq*）（商標））、カーフィルゾミブ（カイプロリス（*Kyprolis*）（商標））、セツキシマブ（アービタックス（*Erbitux*）（登録商標））、クリゾチニブ（ザルコリ（*Xalkori*）（登録商標））、ダサチニブ（スプリセル（*Sprycel*）（登録商標））、デニロイキンジフチトクス（オンタック（*Ontak*）（登録商標））、

) (登録商標))、エルロチニブ塩酸塩 (タルセバ (Tarceva) (登録商標))、
 エベロリムス (アフィニトール (Afinitor) (登録商標))、エキセメスタン (ア
 ロマシン (Aromasin) (登録商標))、フルベストラント (ファスロデックス
 (Faslodex) (登録商標))、ゲフィチニブ (イレッサ (Iressa) (登録
 商標))、イブリツモマブチウキセタン (ゼヴァリン (Zevalin) (登録商標))
 、イマチニブメシレート (グリベック (Gleevec) (登録商標))、イピリムマブ
 (ヤーボイ (Yervoy) (商標))、ラパチニブジトシレート (タイケルブ (Tyk
 erb) (登録商標))、レトロゾール (フェマール (Femara) (登録商標))、
 ニロチニブ (タシグナ (Tasigna) (登録商標))、オフアツムマブ (アーゼラ (Ar
 zerra) (登録商標))、パニツムマブ (ベクティビックス (Vectibix) (登録商標))、
 パゾパニブ塩酸塩 (ヴォトリエント (Votrient) (登録商標))、ペルツズマブ (パー
 ジェタ (Perjeta) (商標))、プララトレキサート (フォロチン (Foloty
 n) (登録商標))、レゴラフェニブ (スチバーガ (Stiv
 arga) (登録商標))、リツキシマブ (リツキサン (Rituxan) (登録商標))、
 ロミデプシン (イストダックス (Istodax) (登録商標))、ソラフェニブト
 シレート (ネクサバル (Nexavar) (登録商標))、スニチニブマレート (スー
 テント (Sutent) (登録商標))、タモキシフェン、テムシロリムス (トリセル (Tor
 isel) (登録商標))、トレミフェン (ファレストン (Fareston) (登録商標))、
 トシツモマブ及び131Iトシツモマブ (ベキサール (Bexxar) (登録商標))、
 トラスツズマブ (ハーセプチン (Herceptin) (登録商標))、
 トレチノイン (ベサノイド (Vesanoide) (登録商標))、バンデタニブ (カプレ
 ルサ (Caprelsa) (登録商標))、ベムラフェニブ (ゼルボラフ (Zelbor
 af) (登録商標))、ポリノスタット (ゾリンザ (Zolinz) (登録商標))、
 及びジブ - アフリベルセプト (ザルトラップ (Zaltrap) (登録商標))、が含ま
 れるが、これらに限定されない。さらなる化学療法剤の例としては、限定されないが、チ
 オテパ及びシクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン
 及びピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ (me
 turedopa) 及びウレドパ (uredopa) などのアジリジン；アルトレタ
 ミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミ
 ド、及びトリメチローロメラミン (trimethylolomelamine) などの
 エチレンイミン及びメチルアメラミン (methylamelamine) ；アセトゲニ
 ン (特にプラタシン及びプラタシノン) ；カンプトテシン (合成アナログトポテカンを含
 む) ；プリオスタチン；カリスタチン；CC - 1065 (そのアドゼレシン、カルゼレシ
 ン及びビゼレシン合成アナログを含む) ；クリプトフィシン (特にクリプトフィシン1及
 びクリプトフィシン8) ；ドラスタチン；デュオカルマイシン (合成アナログ、KW - 2
 189 及びCB1 - TM1を含む) ；エリュテロピン；パンクラチスタチン；サルコジク
 チイン；スポンジスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド (c
 holophosphamide) 、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミ
 ン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンビチン (novembich
 in) 、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードな
 どのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムス
 チン、ニムスチン、及びラニムスチンなどのニトロソウレア；エンジン系抗生物質 (例
 えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシンγII及びカリケアマイシンωII；ジ
 ネマイシンAを含むジネマイシン；クロドロネートなどビスホスホネート；エスペラミシ
 ；並びに、ネオカルジノスタチンクロモフォア及び関連するクロモプロテイエンジン抗
 生物質クロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アウスラマイシン、アザ
 セリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノ
 フィリン (carzinophilin) 、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノ
 ルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシソルピシン
 (モルホリノ - ドキシソルピシン、シアノモルホリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ド

10

20

30

40

50

キソルピシン及びデオキシドキシソルピシンを含む)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン(que l a m y c i n)、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン;メトトレキサート、5-フルオロウラシル(5-FU)などの代謝拮抗剤;デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸アナログ;フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリンアナログ;アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノキタピン、フロクスウリジンなどのピリミジンアナログ;カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン;アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗アドレナル(anti-adrenal);フォリン酸などの葉酸補充剤(replenisher);アセグラトン;アルドホスファミドグリコシド;アミノレブリン酸;エニルウラシル;アムサクリン;ベストラブシル(bestrabucil);ピサントレン;エダトラキサート(edatraxate);デフォファミン(defofamine);デメコルチン;ジアジクオン;エルホルミチン(elformithine);酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate);エボチロン;エトグルシド;硝酸ガリウム;ヒドロキシウレア;レンチナン;ロニダイニン(lonidainine);メイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド;ミトグアゾン;ミトキサントロン;モピダンモール(mopidanmol);ニトラエリン(nitraerine);ペントスタチン;フェナメット;ピラルピシン;ロソキサントロン;ポドフィリン酸;2-エチルヒドラジド;プロカルバジン;PSKポリサッカライド複合体;ラゾキサン;リゾキシン;シゾフラン(sizofuran);スピロゲルマンニウム;テヌアゾン酸;トリアジコン;2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン;トリコテセン(特にT-2トキシン、ベラキュリン(verracurin)A、ロリジンA及びアンギジン);ウレタン;ビンデシン;ダカルバジン;マンノムスチン;ミトブロニトール;ミトラクトール;ピボプロマン;ガシトシン;アラビノシド(「Ara-C」);シクロホスファミド;チオテパ;タキソイド、例えば、パクリタキセル及びドキシセタキセル;クロラムブシル;ゲムシタピン;6-チオグアニン;メルカプトプリン;メトトレキサート;シスプラチン、オキサリプラチン及びカルボプラチンなどの白金配位錯体;ピンブラスチン;白金;エトボシド(VP-16);イホスファミド;ミトキサントロン;ピンクリスチン;ピノレルピン;ノバントロン;テニボシド;エダトレキサート;ダウノマイシン;アミノプテリン;ゼローダ;イバンドロネート;イリノテカン(例えば、CPT-11);トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000;ジフルオロメチルオルニチン(DMFO);レチノイン酸などのレチノイド;カベシタピン;及び上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体などがある。

【0115】

一部の実施形態では、対象はまた、免疫療法剤を投与される。免疫療法は、対象の免疫系を使用して癌を処置する処置を指し、例えば、癌ワクチン、サイトカイン、癌特異的抗体の使用、T細胞療法、及び樹状細胞療法が挙げられる。

【0116】

一部の実施形態では、対象はまた、免疫調節タンパク質を投与される。免疫調節タンパク質の例としては、これらに限定されないが、Bリンパ球化学誘引物質(「BLC」)、C-Cモチーフケモカイン11(「エオタキシン-1」)、好酸球走化性タンパク質2(「エオタキシン-2」)、顆粒球コロニー刺激因子(「G-CSF」)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(「GM-CSF」)、1-309、細胞間接着分子1(「ICAM-1」)、インターフェロン γ (「IFN- γ 」)、インターロイキン-1 α (「IL-1 α 」)、インターロイキン-1 β (「IL-1 β 」)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト(「IL-1ra」)、インターロイキン-2(「IL-2」)、インタ

ーロイキン - 4 (「IL - 4」)、インターロイキン - 5 (「IL - 5」)、インターロイキン - 6 (「IL - 6」)、インターロイキン - 6 可溶性受容体 (「IL - 6 sR」)、インターロイキン - 7 (「IL - 7」)、インターロイキン - 8 (「IL - 8」)、インターロイキン - 10 (「IL - 10」)、インターロイキン - 11 (「IL - 11」)、インターロイキン - 12 のサブユニット β (「IL - 12 p40」又は「IL - 12 p70」)、インターロイキン - 13 (「IL - 13」)、インターロイキン - 15 (「IL - 15」)、インターロイキン - 16 (「IL - 16」)、インターロイキン - 17 (「IL - 17」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 2 (「MCP - 1」)、マクロファージコロニー刺激因子 (「M - CSF」)、 γ インターフェロンにより誘導されるモノカイン (「MIG」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 2 (「MIP - 1 α 」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 4 (「MIP - 1 β 」)、マクロファージ炎症性タンパク質 - 1 - δ (「MIP - 1 δ 」)、血小板由来成長因子サブユニット B (「PDGF - BB」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 5、活性化により調節される正常 T 細胞発現及び分泌 (Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted (「RANTES」))、TIMP メタロペプチダーゼ阻害剤 1 (「TIMP - 1」)、TIMP メタロペプチダーゼ阻害剤 2 (「TIMP - 2」)、腫瘍壊死因子、リンホトキシン - α (「TNF α 」)、腫瘍壊死因子、リンホトキシ - β (「TNF β 」)、可溶性 TNF 受容体 1 型 (「sTNFRI」)、sTNFRIIAR、脳由来神経栄養因子 (「BDNF」)、塩基性線維芽細胞成長因子 (「bFGF」)、骨形態形成タンパク質 4 (「BMP - 4」)、骨形態形成タンパク質 5 (「BMP - 5」)、骨形態形成タンパク質 7 (「BMP - 7」)、神経成長因子 (「b - NGF」)、上皮成長因子 (「EGF」)、上皮成長因子受容体 (「EGFR」)、内分泌腺由来血管内皮成長因子 (「EG - VEGF」)、線維芽細胞成長因子 4 (「FGF - 4」)、角化細胞成長因子 (「FGF - 7」)、成長分化因子 15 (「GDF - 15」)、グリア細胞由来神経栄養因子 (「GDNF」)、成長ホルモン、ヘパリン結合 EGF 様成長因子 (「HB - EGF」)、肝細胞成長因子 (「HGF」)、インスリン様成長因子結合タンパク質 1 (「IGFBP - 1」)、インスリン様成長因子結合タンパク質 2 (「IGFBP - 2」)、インスリン様成長因子結合タンパク質 3 (「IGFBP - 3」)、インスリン様成長因子結合タンパク質 4 (「IGFBP - 4」)、インスリン様成長因子結合タンパク質 6 (「IGFBP - 6」)、インスリン様成長因子 1 (「IGF - 1」)、インスリン、マクロファージコロニー刺激因子 (「M - CSF R」)、神経成長因子受容体 (「NGF R」)、ニューロトロフィン - 3 (「NT - 3」)、ニューロトロフィン - 4 (「NT - 4」)、破骨細胞形成抑制因子「オステオプロテゲリン」、血小板由来成長因子受容体 (「PDGF - AA」)、ホスファチジルイノシトール - グリカン生合成 (「PIGF」)、Skp、カリン、F - box 含有複合体 (「SCF」)、幹細胞因子受容体 (「SCF R」); トランスフォーミング成長因子 α (「TGF α 」)、トランスフォーミング成長因子 β - 1 (「TGF β 1」)、トランスフォーミング成長因子 β - 3 (「TGF β 3」)、血管内皮成長因子 (「VEGF」); 血管内皮成長因子受容体 2 (「VEGFR 2」)、血管内皮成長因子受容体 3 (「VEGFR 3」)、VEGF - D 6 C k i n e、チロシン - プロテインキナーゼ受容体 UFO (「Ax1」)、ベータセルリン (「BTC」)、粘膜関連上皮ケモカイン (「CCL 28」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 27 (「CTACK」)、ケモカイン (C - X - C モチーフ) リガンド 16 (「CXCL 16」)、C - X - C モチーフケモカイン 5 (「ENA - 78」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 26 (「エオタキシン - 3」)、顆粒球走化性タンパク質 2 (「GCP - 2」)、GRO、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 14 (「HCC - 1」)、ケモカイン (C - C モチーフ) リガンド 16 (「HCC - 4」)、インターロイキン - 9 (「IL - 9」)、インターロイキン - 17 F (「IL - 17 F」)、インターロイキン - 18 - 結合タンパク質 (「IL - 18 BP a」)、インターロイキン - 28 A (「IL - 28 A」)、インターロイキン 29 (「IL - 29」)、インターロイキン 31 (「IL - 31」)、C

- X - Cモチーフケモカイン10 (「IP - 10」)、ケモカイン受容体CXCR3 (「I - TAC」)、白血病抑制因子 (「LIF」)、Light、ケモカイン (Cモチーフ) リガンド (「リンホタクチン」)、単球化学誘引タンパク質2 (「MCP - 2」)、単球化学誘引タンパク質3 (「MCP - 3」)、単球化学誘引タンパク質4 (「MCP - 4」)、マクロファージ由来ケモカイン (「MDC」)、マクロファージ遊走阻止因子 (「MIF」)、ケモカイン (C - Cモチーフ) リガンド20 (「MIP - 3 α 」)、C - Cモチーフケモカイン19 (「MIP - 3 β 」)、ケモカイン (C - Cモチーフ) リガンド23 (「MPIF - 1」)、マクロファージ刺激タンパク質 α 鎖 (「MSP α 」)、ヌクレオソーム集合タンパク質1様4 (「NAP - 2」)、分泌性リントタンパク質1 (「オステオポンチン」)、肺及び活性化制御サイトカイン (「PARC」)、血小板因子4 (「PF4」)、間質細胞由来因子 - 1 α (「SDF - 1 α 」)、ケモカイン (C - Cモチーフ) リガンド17 (「TARC」)、胸腺発現ケモカイン (「TECK」)、胸腺間質リンパ球新生因子 (TSLP 4 - IBB)、CD166抗原 (「ALCAM」)、分化クラスター80 (「B7 - 1」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー17 (「BCMA」)、分化クラスター14 (「CD14」)、分化クラスター30 (「CD30」)、分化クラスター40 (「CD40リガンド」)、癌胎児抗原関連細胞接着分子1 (胆汁糖タンパク質) (「CEACAM - 1」)、デスレセプター6 (「DR6」)、デオキシチミジンキナーゼ (「Dtk」)、1型膜糖タンパク質 (「エンドグリン」)、受容体チロシンプロテインキナーゼerbB - 3 (「ErbB3」)、内皮白血球接着分子1 (「E - セレクチン」)、アポトーシス抗原1 (「Fas」)、Fms様チロシンキナーゼ3 (「Flt - 3L」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー1 (「GITR」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー14 (「HVEM」)、細胞間接着分子3 (「ICAM - 3」)、IL - 1 R4、IL - 1 RI、IL - 10 R β 、IL - 17R、IL - 2 R γ 、IL - 21R、リソソーム膜タンパク質2 (「IMPII」)、好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン (「リポカリン - 2」)、CD62L (「L - セレクチン」)、リンパ管内皮 (「LYVE - 1」)、MHCクラスIポリペプチド関連配列A (「MICA」)、MHCクラスIポリペプチド関連配列B (「MICB」)、NRG1 - β 1、 β 型血小板由来成長因子受容体 (「PDGFR β 」)、血小板内皮細胞接着分子 (「PECAM - 1」)、RAGE、A型肝炎ウイルス受容体1 (「TIM - 1」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバーIOCC (「TRAIL R3」)、トラップイン (Trap pin) タンパク質トランスグルタミナーゼ結合ドメイン (「トラップイン - 2」)、ウロキナーゼ受容体 (「uPAR」)、血管細胞接着タンパク質1 (「VCAM - 1」)、XEDAR、アクチピンA、アグーチ関連タンパク質 (「AgRP」)、リボヌクレアーゼ5 (「アンジオゲニン」)、アンジオポエチン1、アンジオスタチン、カテプシンS、CD40、クリプティックファミリータンパク質IB (「クリプト - 1」)、DAN、ディックコブフ関連タンパク質1 (「DKK - 1」)、E - カドヘリン、上皮細胞接着分子 (「EpCAM」)、Fasリガンド (FasL又はCD95L)、Fc γ RIIB/C、フォリスタチン、ガレクチン - 7、細胞間接着分子2 (「ICAM - 2」)、IL - 13 R1、IL - 13 R2、IL - 17B、IL - 2 Ra、IL - 2 Rb、IL - 23、LAP、神経細胞接着分子 (「NrcAM」)、プラスミノーゲンアクチベーター阻害剤 - 1 (「PAI - 1」)、血小板由来成長因子受容体 (「PDGFR - AB」)、レジスチン、間質細胞由来因子1 (「SDF - 1 β 」)、sgp130、分泌性フリズルド関連タンパク質2 (「ShhN」)、シアル酸結合免疫グロブリン型レクチン (「シグレック - 5」)、ST2、トランスフォーミング成長因子 - β 2 (「TGF β 2」)、タイ - 2、トロノポエチン (「TPO」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー10D (「TRAIL R4」)、骨髓系細胞に発現するトリガー受容体1 (「TREM - 1」)、血管内皮成長因子C (「VEGF - C」)、VEGFR1、アディポネクチン、アディプシン (Adipsin) (「AND」)、 α フェトプロテイン (「AFP」)、アンジオポエチン様4 (「ANGPTL4」)、 β - 2 - ミクログロブリン (「B2M」)、基底細胞接着分子 (BCAM)、炭水化物抗原1

25 (「CA125」)、癌抗原15-3 (「CA15-3」)、癌胎児抗原 (「CEA」)、cAMP受容体タンパク質 (「CRP」)、ヒト上皮成長因子受容体2 (「Erbb2」)、フォリスタチン、卵胞刺激ホルモン (「FSH」)、ケモカイン (C-X-Cモチーフ) リガンド1 (「GRO α 」)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (「 β HCG」)、インスリン様成長因子1受容体 (「IGF-1sR」)、IL-1sRII、IL-3、IL-18Rb、IL-21、レプチン、マトリックスメタロプロテイナーゼ-1 (「MMP-1」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-2 (「MMP-2」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-3 (「MMP-3」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-8 (「MMP-8」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-9 (「MMP-9」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-10 (「MMP-10」)、マトリックスメタロプロテイナーゼ-13 (MMP-13)、神経細胞接着分子 (「NCAM-1」)、エンタクチン (「ナイドジェン-1」)、ニューロン特異的エノラーゼ (「NSE」)、オンコスタチンM (「OSM」)、プロカルシトニン、プロラクチン、前立腺特異的抗原 (「PSA」)、シアル酸結合Ig様レクチン9 (シグレック-9)、ADAM17エンドペプチダーゼ (「TACE」)、チログロブリン、メタロプロテイナーゼ阻害剤4 (「TIMP-4」)、TSH2B4、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼドメイン含有タンパク質9 (「ADAM-9」)、アンジオポエチン2、腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー13 / 酸性ロイシンリッチ核リントタンパク質32ファミリーメンバーB (「APRIL」)、骨形態形成タンパク質2 (「BMP-2」)、骨形態形成タンパク質9 (「BMP-9」)、補体成分5a (「C5a」)、カテプシンL、CD20、CD97、ケメリン、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー6B (DcR3)、脂肪酸結合タンパク質2 (「FABP2」)、線維芽細胞活性化タンパク質 α (「FAP」)、線維芽細胞成長因子19 (「FGF-19」)、ガレクチン-3、肝細胞成長因子受容体 (「HGF R」)、IFN- α / β R2、インスリン様成長因子2 (「IGF-2」)。インスリン様成長因子2受容体 (「IGF-2 R」)、インターロイキン1受容体6 (「IL-1 R6」)、インターロイキン24 (「IL-24」)、インターロイキン33 (「IL-33」)、カリクレイン14、アスパラギニルエンドペプチダーゼ (「レグマイン」)、酸化低密度リポタンパク質受容体1 (「LOX-1」)、マンノース結合レクチン (「MBL」)、ネプリライシン (「NEP」)、ノッチホモログ1、転座関連 (ドロソフィラ属 (Drosophila)) (「ノッチ-1」)、腎芽細胞腫過剰発現 (「NOV」)、オステオアクチビン、プログラム細胞死タンパク質1 (「PD-1」)、N-アセチルムラモイル-L-アラニンアミダーゼ (「PGRP-5」)、セルピンA4、分泌性フリズルド関連タンパク質3 (「sFRP-3」)、トロンボモジュリン、トール様受容体2 (「TLR2」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー10A (「TRAIL R1」)、トランスフェリン (「TRF」)、WIF-1ACE-2、アルブミン、AMICA、アンジオポエチン4、B細胞活性化因子 (「BAFF」)、炭水化物抗原19-9 (「CA19-9」)、CD163、クラスタリン、CRTAM、ケモカイン (C-X-Cモチーフ) リガンド14 (「CXCL14」)、シスタチンC、デコリン (「DCN」)、ディックコプフ関連タンパク質3 (「Dkk-3」)、 δ 様タンパク質1 (「DLL1」)、フェチュインA、ヘパリン結合成長因子1 (「aFGF」)、葉酸受容体 α (「FOLR1」)、フューリン、GPCR関連ソーティングタンパク質1 (「GASP-1」)、GPCR関連ソーティングタンパク質2 (「GASP-2」)、顆粒球コロニー刺激因子受容体 (「GCSF R」)、セリンプロテアーゼヘプシン (「HAI-2」)、インターロイキン-17B受容体 (「IL-17B R」)、インターロイキン27 (「IL-27」)、リンパ球活性化遺伝子3 (「LAG-3」)、アポリポプロテインA-V (「LDL R」)、ペプシノーゲンI、レチノール結合タンパク質4 (「RBP4」)、SOST、ヘパラン硫酸プロテオグリカン (「シンデカン-1」)、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー13B (「TACI」)、組織因子経路阻害剤 (「TFPI」)、TSP-1、腫瘍壊死因子受容体スー

パーファミリーメンバー 10b (「TRAIL R2」)、TRANCE、トロポニン I、ウロキナーゼプラスミノーゲンアクチベーター (「uPA」)、カドヘリン 5 2 型又は CD144 (「VE - カドヘリン」) としても知られる VE - カドヘリン (血管内皮)、WNT1 誘導性シグナル伝達経路タンパク質 1 (「WISP - 1」)、及び核因子 κ B の受容体アクチベーター (「RANK」) が挙げられる。特定の好ましい実施形態では、対象は、IFN - γ (IFNγ) も投与される。特に好ましい実施形態では、対象は、本明細書で開示される TCR 改変免疫エフェクター細胞 (例えば、本明細書で開示される TCR - T 細胞を含む本明細書で開示される養子免疫療法組成物) を投与する前に、IFNγ で、例えば低用量の IFNγ であらかじめ処置される。

【0117】

10

開示される TCR は、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用することができる。免疫チェックポイント阻害とは、広義には、癌細胞が免疫応答を阻止又は下方制御するために生成することができるチェックポイントを阻害することを指す。2 つの既知の免疫チェックポイント経路は、細胞傷害性 T リンパ球抗原 - 4 (CTLA - 4) 及びプログラム死 1 (PD - 1) 受容体を介したシグナル伝達を含む。これらのタンパク質は、CD28 - B7 ファミリーの共同シグナル伝達分子のメンバーであり、T 細胞機能の全ての段階において重要な役割を担っている。PD - 1 受容体 (CD279 としても知られる) は、活性化 T 細胞の表面に発現する。そのリガンドである PD - L1 (B7 - H1; CD274) 及び PD - L2 (B7 - DC; CD273) は、樹状細胞やマクロファージなどの APC の表面に発現する。PD - L1 が優勢なリガンドであるのに対し、PD - L2 の発現パターンはより限定的である。リガンドが PD - 1 に結合すると、T 細胞に抑制シグナルが伝達され、サイトカイン産生を低下させ、T 細胞の増殖を抑制する。チェックポイント阻害剤は、これらに限定されないが、PD - 1 (ニボルマブ (BMS - 936558 又は MDX - 1106)、CT - 011、MK - 3475、AMP - 514)、PD - L1 (MDX - 1105 (BMS - 936559)、MPDL3280A、MSB0010718C)、PD - L2 (rHlgM12B7、AMP - 224)、CTLA - 4 (イピリムマブ (MDX - 010)、トレメリムマブ (CP - 675, 206))、IDO、B7 - H3 (MGA271)、B7 - H4、TIM3、LAG - 3 (BMS - 986016) を阻害するアプタマーや抗体などが挙げられる。

20

【0118】

30

プログラム死 1 (PD - 1) に対するヒトモノクローナル抗体、及び抗 PD - 1 抗体を単独で又は他の免疫療法剤と組み合わせて使用して癌を処置する方法は、米国特許第 8, 008, 449 号に記載されており、これらの抗体について、参照により組み込まれる。抗 PD - L1 抗体及びその使用は、米国特許第 8, 552, 154 号に記載されており、これらの抗体について、参照により組み込まれる。抗 PD - 1 抗体又は抗 PD - L1 抗体を含む抗癌剤は、米国特許第 8, 617, 546 号に記載されており、これらの抗体について、参照により組み込まれる。

【0119】

一部の実施形態では、PD - 1 阻害剤は、BMS - 936559 (Bristol - Myers Squibb) 又は MPDL3280A (Roche) などの PD - 1 と特異的に結合する抗体を含む。一部の実施形態では、PD - 1 阻害剤は、ランプロリズマブ (Merck)、ニボルマブ (Bristol - Myers Squibb)、又は MEDI4736 (AstraZeneca) などの、PD - 1 と特異的に結合する抗体を含む。PD - 1 に対するヒトモノクローナル抗体、及び抗 PD - 1 抗体を単独で又は他の免疫療法剤と組み合わせて使用して癌を処置する方法は、米国特許第 8, 008, 449 号に記載されており、これらの抗体について、参照により組み込まれる。抗 PD - L1 抗体及びその使用は、米国特許第 8, 552, 154 号に記載されており、これらの抗体について、参照により組み込まれる。抗 PD - 1 抗体又は抗 PD - L1 抗体を含む抗癌剤は、米国特許第 8, 617, 546 号に記載されており、これらの抗体について、この特許は参照により組み込まれる。

40

50

【 0 1 2 0 】

開示される T C R は、他の癌免疫療法と組み合わせて使用することができる。免疫療法には 2 つの異なるタイプがある：受動的免疫療法は、必ずしも患者において免疫応答を開始させることなく、免疫系の構成要素を用いて、癌細胞に対する標的細胞傷害活性を誘導するものであり、能動的免疫療法は内因性の免疫応答を積極的に誘発するものである。受動的戦略には、特定の抗原に应答して B 細胞が産生するモノクローナル抗体 (m A b) の使用が含まれる。1970 年代にハイブリドーマ技術が開発され、腫瘍特異的抗原が同定されたことにより、腫瘍細胞を特異的に標的として免疫系が破壊する m A b の医薬開発が可能になった。その中でも、リツキシマブ (リツキサン、 G e n e n t e c h) は、非ホジキンリンパ腫 (N H L) などの B 細胞悪性腫瘍の表面に高発現している C D 2 0 タンパク質に結合するものである。リツキシマブは、N H L 及び慢性リンパ性白血病 (C L L) の処置のために、化学療法との併用で F D A に承認されている。もう一つの重要な m A b は、トラスツズマブ (ハーセプチン ; G e n e n t e c h) であり、H E R 2 (ヒト上皮成長因子受容体 2) の発現を標的とすることによって、H E R 2 陽性乳癌の処置に革命を起こした。

10

【 0 1 2 1 】

最適な「キラー」C D 8 T 細胞応答を生成するには、T 細胞受容体の活性化と共刺激も必要であり、これは O X 4 0 (C D 1 3 4) や 4 - 1 B B (C D 1 3 7) を含む腫瘍壊死因子受容体ファミリーメンバーのライゲーションによって提供され得る。O X 4 0 は、活性化 (アゴニスト) 抗 O X 4 0 m A b による処置が T 細胞の分化と細胞溶解機能を増強し、様々な腫瘍に対する抗腫瘍免疫の強化につながることから、特に注目されている。

20

【 0 1 2 2 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、メトトレキサート、6 - メルカプトプリン、6 - チオグアニン、シタラビン、フルダラビン、5 - フルオロウラシル、デカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、ゲムシタビン又はクラドリビンなどの代謝拮抗剤から選択されることがある。

【 0 1 2 3 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、メクロレタミン、チオテパ、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン (B S N U)、ロムスチン (C C N U)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、ダカルバジン (D T I C)、プロカルバジン、マイトマイシン C、シスプラチン及びカルボプラチンのような他の白金誘導体などのアルキル化剤から選択されることがある。

30

【 0 1 2 4 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、タキサン系、例えばドセタキセル、及びパクリタキセル、並びにピンカルカロイド、例えばビンデシン、ピンクリスチン、ピンブラスチン、及びビノレルビンなどの抗有糸分裂剤から選択されることがある。

【 0 1 2 5 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、トポテカン又はイリノテカンなどのトポイソメラーゼ阻害剤、又はエトポシド及びテニポシドなどの細胞増殖抑制剤から選択されることがある。

40

【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、例えば、E r b B 1 (E G F R) の阻害剤 (例えば、E G F R 抗体、例えばザルツムマブ、セツキシマブ、パニツムマブ若しくはニモツズマブ又は他の E G F R 阻害剤、例えばゲフィチニブ若しくはエルロチニブ)、E r b B 2 (H E R 2 / n e u) の別の阻害剤 (例えば、H E R 2 抗体、例えばトラスツズマブ、トラスツズマブ - D M 1 若しくはベルツズマブ) 又は E G F R 及び H E R 2 両方の阻害剤、例えばラパチニブなどの成長因子阻害剤から選択されることがある。

【 0 1 2 7 】

一部の実施形態では、そのような追加の治療剤は、イマチニブ (グリベック、グリベック S T I 5 7 1) 又はラパチニブなどのチロシンキナーゼ阻害剤から選択されることがあ

50

る。

【0128】

したがって、一部の実施形態では、開示される抗体は、オフアツムマブ、ザノリムマブ、ダラツムマブ、ラニビズマブ、ニモツズマブ、パニツムマブ、h u 8 0 6、ダクリズマブ（ゼナバックス）、バシリキシマブ（シムレクト）、インフリキシマブ（レミケード）、アダリムマブ（ヒュミラ）、ナタリズマブ（タイサブリ）、オマリズマブ（ゾレア）、エファリズマブ（ラブティバ）、及び／又はリツキシマブと組み合わせて使用される。

【0129】

一部の実施形態では、上記のような障害を処置するためにTCRと組み合わせて使用するための治療剤は、抗癌サイトカイン、ケモカイン、又はそれらの組合せであってもよい。好適なサイトカイン及び成長因子の例には、IFN γ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-23、IL-24、IL-27、IL-28a、IL-28b、IL-29、KGF、IFN α （例えば、INF α 2b）、IFN β 、GM-CSF、CD40L、Flt3リガンド、幹細胞因子、アンセスチム及びTNF α が含まれる。適切なケモカインは、ヒトCXCL及びC-CケモカインファミリーのIP-10、MCP-3、MIG、及びSDF-1 α などのGlu-Leu-Arg（ELR）陰性ケモカインが含まれることがある。好適なサイトカインとしては、サイトカイン誘導体、サイトカインバリエーション、サイトカイン断片、及びサイトカイン融合タンパク質が挙げられる。

【0130】

一部の実施形態では、上記のような障害を処置するためにCARと組み合わせて使用するための治療剤は、細胞周期制御／アポトーシス調節因子（又は「調節剤」）であってもよい。細胞周期制御／アポトーシス調節因子は、（i）cdc-25（NSC663284など）、（ii）細胞周期を過剰に刺激するサイクリン依存性キナーゼ（フラボピリドール（L868275、HMR1275など）、7-ヒドロキシスタウロスポリン（UCN-01、KW-2401）、及びロスコピチン（R-ロスコピチン、CYC202））、及び（iii）テロメラーゼ調節剤（BIBR1532、SOT-095、GRN163及び例えば米国特許第6,440,735号及び米国特許第6,713,055号に記載の組成物など）のような細胞周期制御／アポトーシス調節剤を標的にして調節する分子を含んでもよい。アポトーシス経路を妨害する分子の非限定的な例としては、TNF関連アポトーシス誘導リガンド（TRAIL）／アポトーシス-2リガンド（Apo-2L）、TRAIL受容体を活性化する抗体、IFN、及びアンチセンスBcl-2などが挙げられる。

【0131】

一部の実施形態では、上記のような障害を処置するためにTCRと組み合わせて使用するための治療剤は、抗アンドロゲン及び抗エストロゲン療法に有用な薬剤などのホルモン調節剤（例えば、ホルモン療法）であってもよい。そのようなホルモン調節剤の例は、タモキシフェン、イドキシフェン、フルベストラント、ドロキシフェン、トレミフェン、ラロキシフェン、ジエチルスチルベストロール、エチニルエストラジオール／エスティニル、抗アンドロゲン（フルタミド／ユーレキシニンなど）、プロゲステロン（例えば、カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、メドロキシプロゲステロン／プロベラ、酢酸メゲストロール／メゲースなど）、副腎皮質ホルモン（ヒドロコルチゾン、プレドニゾンなど）、黄体形成ホルモン放出ホルモン（及びそのアナログ、プセレリン、ゴセレリンなど他のLHRHアゴニスト）、アロマターゼ阻害剤（アナストロゾール／アリミデックス、アミノグルテチミド／シトラデン、エキセメスタンなど）又はホルモン阻害剤（オクトレオチド／サンドスタチンなど）である。

【0132】

一部の実施形態では、上記のような障害を処置するためにTCRと併用して使用するための治療剤は、抗癌核酸又は抗癌阻害性RNA分子であってもよい。

【0133】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、開示される T C R は、放射線療法と併用して投与される。放射線療法は、放射線を含んでいてもよく、又は患者への放射性医薬品の関連投与が提供される。放射線源は、処置される患者の外部又は内部のいずれであってもよい（放射線処置は、例えば、外部ビーム放射線療法（E B R T）又は近接照射療法（B T）の形態であってもよい）。このような方法の実施に使用され得る放射性元素としては、例えば、ラジウム、セシウム 137、イリジウム 192、アメリシウム 241、金 198、コバルト 57、銅 67、テクネチウム 99、ヨウ化物 123、ヨウ化物 131、及びインジウム 111 が挙げられる。

【0134】

一部の実施形態では、開示される T C R は、手術と併用して投与される。

10

【実施例】

【0135】

実施例 1：HPV 特異的 T 細胞株の作製。

H N S C C 患者からの凍結保存された HPV + P B M C を洗浄し、完全な R P M I 培地に再懸濁し、一晚インキュベートした（すなわち、37℃、6.5% CO₂）。細胞（5 × 10⁶）を、1 μg / ml の濃度の HPV 16 抗原エピトープで刺激し、1 時間インキュベートした。次いで、細胞を洗浄し、さらに 24 ウェルプレートで 14 日間成長させた（すなわち、インキュベートした）。この培養物に、200 IU / ml のインターロイキン - 2（I L - 2）を含む R 10 培地を 2 日目に、その後 3 日ごとに補充し、14 日まで培養した。14 日目に、生存している T 細胞をトリパンブルー排除によって計数し、その後、液体窒素中で凍結保存した。

20

【0136】

実施例 2：デュアルサイトカインキャプチャーアッセイによる抗原特異的 C T L のソーティング。

凍結保存した T 細胞（10 × 10⁶）を急速解凍し、洗浄後、120 IU / ml の I L - 2 を含む 10 ml の完全培地に再懸濁し、一晚インキュベートした。一晚培養した細胞の 1 ml アリコートをし、「刺激因子」（例えば、抗原提示）集団として使用した。刺激因子培養物に、1 μg / ml の抗原性ペプチド（例えば、配列番号 1 ~ 12、217、及び 218 から選択される対応するペプチド）を添加し、1 時間インキュベートした；次いで、完全培地で 3 回洗浄した。次いで、刺激因子を C T L（すなわち、「レスポンドー」細胞）に 1 : 9 の比率で、48 ウェルに添加し（1 ウェル当たり約 5 ~ 10 × 10⁶）、3 時間インキュベートした。インキュベーション後、C T L を氷冷バッファー（P B S、2 mM E D T A、0.5% B S A）で洗浄し、400 g で 10 分間、4℃で遠心分離を行った。次いで、細胞を 80 μl の冷却した完全培地と、10⁶ 細胞当たり 10 μl の I F N γ 及び T N F α キャッチ試薬（細胞表面特異的抗体と結合した抗サイトカイン抗体、M i l t e n y i B i o t e c、B e r g i s c h G l a d b a c h、G e r m a n y）に再懸濁し、氷上で 5 分間インキュベートした。次いで、加温した完全培地で細胞を遠心分離し、10⁵ 細胞 / ml に希釈した後、チューブを 37℃のインキュベーターで 45 分間穏やかに混合した（例えば、5 分ごとに手でチューブを回す、又はミルテニー M A C S m i x（M i l t e n y i M A C S m i x）（商標）のような回転ミキサーで低回転設定にするなど）。インキュベーション後、それぞれのチューブに氷冷したバッファーを補充し、遠心分離（300 g、10 分、4℃）を行った後、冷却したバッファーでさらに 1 回洗浄した。細胞を 10⁶ 当たり、2.5 μl の抗 C D 3 B V 4 2 1、1 μl の抗 C D 8 p e r C P C y 5.5、2.5 μl の抗 C D 4 P E、0.2 μl の N I R 生 - 死、10 μl の I F N γ 検出抗体 P E、10 μl の T N F α 検出抗体 A P C を含む、80 μl の冷却したバッファーに再懸濁し、10 分間氷上でインキュベートした後、氷冷バッファーで洗浄した。次いで、細胞を 300 μl の冷却したバッファーに再懸濁し、フィルター（0.45 μm）でろ過し、蛍光活性化セルソーティング（F A C S）に使用した。単一、I F N γ 及び T N F α 二重陽性の HPV 特異的 C D 8 + T 細胞を、96 ウェル P C R プレーットの個々のウェルにソーティングし（図 1）、最後の列のウェルは P C R 陰性

30

40

50

対照として使用するために空のままとした。ソーティング後、プレートを下流の処理まで - 80 で保存した。

【0137】

実施例3：RT-PCR、マルチプレックス、ネステッドPCR、及びシーケンシング
相補的DNA (cDNA) は、スーパースクリプト (SuperScript) (商標)
) VILLO (商標) cDNA Synthesis Kit (インビトロジェン (Invitrogen) (商標)、Thermo Fisher Scientific; MA、U.S.A.) を使用して、96ウェルPCRプレート内の単一細胞から合成し、2.5 µl 反応ミックスは、それぞれ0.5 µl の5×VILLO反応ミックス、0.25 µl の10×SuperScript逆転写酵素、及び0.1% Triton X-100を 10
含んでいた。

【0138】

それぞれの細胞からのTCR転写物を、2.5 µl のcDNAを含む25 µl の反応ミックス中で、マルチプレックス、ネステッドPCRにより増幅した。17~23塩基対の長さのプライマーを、関連するV遺伝子のそれぞれのファミリーとTRAC及びTRBC遺伝子を標的として、3塩基対まで縮重できるように設計した。センスTRAV、27のセンスTRBV、アンチセンスTRAC及びTRBCのそれぞれ1つの遺伝子セグメント特異的プライマーの外部/内部ペアを合計40組作製した(表12)。ネステッドPCRに含めるために、TRAV及びTRBVプライマーをそれぞれのプライマーについて5 µMの濃度に多重化し、TRAC及びTRBCプライマーを5 µMの濃度に再構築した。第 20
1ラウンド(外部)PCRは、0.75 UのTaq DNAポリメラーゼ、2.5 µl の10×PCRバッファー(KCl、(NH₄)₂SO₄、及び15 mM MgCl₂を含有する)、0.5 µl の10 mMデオキシヌクレオチド三リン酸(dNTP)、それぞれ0.1 µMの外部センスTRAV(T細胞受容体α可変)及びTRBV(T細胞受容体β可変)プライマー、並びに表12に列挙したそれぞれの外部アンチセンスTRAC(T細胞受容体α定常)及びTRBC(T細胞受容体β定常)プライマーを使用して実施した。外部PCR産物のアリコート(2.5 µl)を、25 µl 反応中の2つの別々の第2ラウンド(内部)PCRのテンプレートとし、それぞれ、

(i) 内部センスTRAVプライマー及び内部アンチセンスTRACプライマー又は

(ii) 表12に列挙した、内部センスTRBVプライマー及び内部アンチセンスTRBCプライマー 30

のいずれかを組み込んだ。

【0139】

10×PCRバッファーの代わりに、第2ラウンドのPCRではゲルローディング用に2種類のマーカー色素を含むコラルロード(Coral Load)(登録商標)PCRバッファー(Qiagen GmbH; Hilden, Germany)を使用した。内部PCR産物(5 µl)を2%アガロースゲルで、80 Vで泳動し、陽性ウェルを選択し、さらに解析を行った(図2)。

【0140】

40

【表 1 2】

表 12: PCR プライマー

遺伝子 名称	外部 PCR プライマー配列	配列 番号	内部 PCR プライマー配列	配列 番号
TRAV1	AACTGCACGTACCAGACAT C	71	GCACCCACATTTCTKTCTTA C	140
TRAV2	GATGTGCACCAAGACTCC	72	CACTCTGTGTCCAATGCTTA C	141
TRAV3	AAGATCAGGTCAACGTTGC	73	ATGCACCTATTCAGTCTCTG G	142
TRAV4	CTCCATGGACTCATATGAA GG	74	ATTATATCACGTGGTACCAA CAG	143
TRAV5	CTTTTCCTGAGTGTCCGAG	75	TACACAGACAGCTCCTCCA C	144
TRAV6	CACCCTGACCTGCAACTAT AC	76	TGGTACCGACAAGATCCAG	145
TRAV7	AGCTGCACGTACTCTGTCA G	77	ACAATTTGCAGTGGTACAG G	146
TRAV8-1	CTCACTGGAGTTGGGATG	78	GTCAACACCTTCAGCTTCTC	147
TRAV8-2	GCCACCCTGGTTAAAGG	79	AGAGTGAAACCTCCTTCCA C	148
TRAV8-3	CACTGTCTCTGAAGGAGC C	80	TTTGAGGCTGAATTTAAGAG G	149
TRAV8-6	GAGCTGAGGTGCAACTAC TC	81	AACCAAGGACTCCAGCTTC	150
TRAV8-7	CTAACAGAGGCCACCCAG	82	ATCAGAGGTTTTGAGGCTG	151
TRAV9-1	TGGTATGTCCAATATCCTG G	83	GAAACCACTTCTTCCACTT G	152
TRAV10	CAAGTGGAGCAGAGTCCT C	84	GAAAGAACTGCACTCTTCAA TG	153
TRAV12-1	CARTGTTCCAGAGGGAGC	85	AAGATGGAAGGTTTACAGC AC	154
TRAV13-1	CATCCTTCAACCCTGAGTG	86	TCAGACAGTGCCTCAAAC AC	155
TRAV13-2	CAGCGCCTCAGACTACTTC	87	CAGTGAAACATCTCTCTCTG C	156
TRAV14	AAGATAACTCAAACCCAAC CAG	88	AGGCTGTGACTCTGGACTG	157
TRAV16	AGTGGAGCTGAAGTGCAA C	89	GTCCAGTACTCCAGACAAC G	158
TRAV17	GGAGAAGAGGATCCTCAG G	90	CCACCATGAACTGCAGTTA C	159
TRAV18	TCCAGTATCTAAACAAAGA GCC	91	TGACAGTTCCTTCCACCTG	160
TRAV19	AGGTAACCTAAGCGCAGA C	92	TGTGACCTTGGACTGTGTG	161
TRAV20	CACAGTCAGCGGTTTAAGA G	93	TCTGGTATAGGCAAGATCC TG	162
TRAV21	TTCCTGCAGCTCTGAGTG	94	AACTTGGTTCTCAACTGCAG	163
TRAV22	GTCCCTCCAGACCTGATTCT C	95	CTGACTCTGTGAACAATTTG C	164

10

20

30

40

50

TRAV23	TGCTTATGAGAACTGCG	96	TGCATTATTGATAGCCATAC G	165
TRAV24	CTCAGTCACTGCATGTTCA G	97	TGCCTTAACTGGTACAGAT G	166
TRAV25	GGACTTCACCACGTACTGC	98	TATAAGCAAAGGCCTGGTG	167
TRAV26- 1	GCAAACCTGCCTTGTATC	99	CGACAGATTCACTCCCAG	168
TRAV26- 2	AGCCAAATTCAATGGAGAG	100	TTCACTTGCCTTGTAAACCAC	169
TRAV27	TCAGTTTCTAAGCATCCAA GAG	101	CTCACTGTGTACTGCAACTC C	170
TRAV29	GCAAGTTAAGCAAAATTCA CC	102	CTGCTGAAGGTCCTACATT C	171
TRAV30	CAACAACCACTGCAGAGT C	103	AGAAGCATGGTGAAGCAC	172
TRAV34	AGAACTGGAGCAGAGTCC TC	104	ATCTCACCATAAACTGCACG	173
TRAV35	GGTCAACAGCTGAATCAGA G	105	ACCTGGCTATGGTACAAGC	174
TRAV36	GAAGACAAGGTGGTACAA AGC	106	ATCTCTGGTTGTCCACGAG	175
TRAV38- 1	GCACATATGACACCAGTGA G	107	CAGCAGGCAGATGATTCTC	176
TRAV39	CTGTTCTGAGCATGCAG	108	TCAACCACTTCAGACAGACT G	177
TRAV40	GCATCTGTGACTATGAACT GC	109	GGAGGCGGAAATATTAAAG AC	178
TRAV41	AATGAAGTGGAGCAGAGT CC	110	TTGTTTATGCTGAGCTCAGG	179
TRAC	GACCAGCTTGACATCACAG	111	TGTTGCTCTTGAAGTCCATA G	180
TRBV2	TCGATGATCAATTCTCAGT TG	112	TTCACTCTGAAGATCCGGT C	181
TRBV3-1	CAAAATACCTGGTCACACA G	113	AATCTTCACATCAATTCCCT G	182
TRBV4-1	TCGCTTCTCACCTGAATG	114	CCTGCAGCCAGAAGACTC	183
TRBV5-1	GATTCTCAGGKCKCCAGTT C	115	CTTGGAGCTGGRSGACTC	184
TRBV5-5	GTACCAACAGGYCCTGGG T	116	TCTGAGCTGAATGTGAACG	185
TRBV6-1	ACTCAGACCCCAAAATTCC	117	GTGTRCCCAGGATATGAAC C	186
TRBV6-4	ACTGGCAAAGGAGAAGTC C	118	TGGTTATAGTGTCTCCAGA GC	187
TRBV7-1	TRTGATCCAATTTCAAGTCA A	119	TCYACTCTGAMGWTCCAGC G	188
TRBV7-4	GSWTCTYTGAGARAGGC C	120	TGRMGATYCAGCGCACA	189
TRBV9	GATCACAGCAACTGGACA G	121	GTACCAACAGAGCCTGGAC	190

10

20

30

40

50

TRBV10-1	TGTWCTGGTATCGACAAG ACC	122	TCCYCCTCACTCTGGAGTC	191
TRBV11-1	CGATTTTCTGCAGAGACGC	123	GACTCCACTCTCAAGATCC A	192
TRBV12-3	ARGTGACAGARATGGGAC AA	124	CYACTCTGARGATCCAGCC	193
TRBV13	AGCGATAAAGGAAGCATC C	125	CATTCTGAACTGAACATGAG C	194
TRBV14	CCAACAATCGATTCTTAGC TG	126	ATTCTACTCTGAAGGTGCA GC	195
TRBV15	AGTGACCCTGAGTTGTTCT C	127	ATAACTTCCAATCCAGGAG G	196
TRBV16	GTCTTTGATGAAACAGGTA TGC	128	GAAAGATTTTCAGCTAAGTG CC	197
TRBV17	CAGACCCCCAGACACAAG	129	TGTTCACTGGTACCGACAG	198
TRBV18	CATAGATGAGTCAGGAATG CC	130	CGATTTTCTGCTGAATTTCC	199
TRBV19	AGTTGTGAACAGAATTTGA ACC	131	TTCCTCTCACTGTGACATCG	200
TRBV20-1	AAGTTTCTCATCAACCATG C	132	ACTCTGACAGTGACCAGTG C	201
TRBV23-1	GCGATTCTCATCTCAATGC	133	GCAATCCTGTCCTCAGAAC	202
TRBV24-1	CCTACGGTTGATCTATTAC TCC	134	GATGGATACAGTGTCTCTC GA	203
TRBV25-1	ACTACACCTCATCCACTAT TCC	135	CAGAGAAGGGAGATCTTTC C	204
TRBV27	TGGTATCGACAAGACCCA G	136	TTCYCCCTGATYCTGGAGT C	205
TRBV29-1	TTCTGGTACCGTCAGCAAC	137	TCTGACTGTGAGCAACATG AG	206
TRBV30	TCCAGCTGCTCTTCTACTC C	138	AGAATCTCTCAGCCTCCAG AC	207
TRBC	TAGAACTGGACTTGACAGC G	139	TTCTGATGGCTCAAACACA G	208

10

20

30

【 0 1 4 1 】

これらの陽性PCR産物を精製し、色素ターミネーターシーケンシング用のテンプレートとして使用した。0.5 μMのTRAC又はTRBC内部プライマーを含むそれぞれの反応混合物を、約7 μlの精製PCR産物（約20 μl全量/ウェル）を含む96ウェルプレートに加え、反応物をPCRサーモサイクリングにかけた。伸長シーケンシング産物をエタノール沈殿で精製し、試料をキャピラリー電気泳動シーケンシングに使用した。TCRα及びTCRβプレートからの配列を、国際的なイムノジェネティクス情報システム（ImmunoGenetics information system）（登録商標）（IMGT（登録商標））ホームページからオンラインで入手できる、免疫グロブリン及びT細胞受容体ヌクレオチド配列の統合アライメントツールであるIMGT/V-QUESTによって解析した。簡単に言えば、配列決定されたそれぞれのウェルからのヌクレオチド配列をT細胞受容体（TR）ヌクレオチド配列としてIMGT/V-QUESTオンラインツールに入力し、IMGT/V-QUESTは入力配列とIMGT参照ディレクトリのアライメントによってCDR3領域、V、D、J遺伝子、及びアレルを同定した。配列決定されたクローンのうち、最大共発現のTCRα及びTCRβ配列を選択し、TCRレンチウイルス構築物を作製するために使用した。

40

【 0 1 4 2 】

結果

Jurkat細胞（一次スクリーニング）及びPBMC（二次スクリーニング）で発現

50

及び機能活性を確認した、同定及び配列決定されたクローン（すなわち、HPV特異的TCRアミノ酸配列）を、以下の表13に示す。

【0143】

【表13】

表13: HPV特異的TCR配列

HPV16 抗原	エピトープ	HLA 制限	TCR α 遺伝子	TCR β 遺伝子	CDR3 配列(α/β)
E2	TLQDVSLEVYL (配列番号 3)	A*02:01	TRAV38-01*03		CDR3 α 配列: CAFTYGGSQGNLIF (配列番号 25)
			TRAJ42-01		
				TRBV2*01	CDR3 β 配列: CASRASVGVGTGEL FF (配列番号 26)
				TRBJ2-2*01	
				TRBD1*01	
E5	NLDTASTTL (配列番号 1)	C*05:01 & C*08:02	TRAV19-01		CDR3 α 配列: CALSEGGSQGNLI F (配列番号 13)
			TRAJ42-01		
				TRBV7-6*01	CDR3 β 配列: CASSPELAGPQETQ YF (配列番号 14)
				TRBJ2-5*01	
				TRBD2*01	
E6	AFRDLCIVY (配列番号 5)	C*07:02	TRAV19*01		CDR3 α 配列: CALGSSGTYKYI (配列番号 39)
			TRAJ40*01		
				TRBV25-1*01	CDR3 β 配列: CASSGPGQGHNP QHF (配列番号 40)
				TRBJ1-5*01	
				TRBD1*01	
E6	TIHDIILECV (配列番号 4)	A*02:01	TRAV1-2*01		CDR3 α 配列: CAVRDTGYGQNFVF (配列番号 31)
			TRAJ26*01		
				TRBV27*01	CDR3 β 配列: CASSPQGRINSPLHF (配列番号 32)
				TRBJ1-6*02	
				TRBD1*01	

10

20

30

40

50

E6	HDIILECVY (配列番号 2)	B*18:01 (B44 スーパーファミリー)	TRAV26-1*01		CDR3α 配列: CIVRDRSYGQNFVF (配列番号 19)
			TRAJ26*01		
				TRBV20-1*01	
				TRBJ2-1*01	
E6	KQRFHNIRGRWTG RC (配列番号 6)	DQB1*03:01 /DRB1*15:01	TRAV13-2*01,		CDR3β 配列: CSAREGYRSYF (配列番号 20)
			TRAJ23*01		
				TRBV20-1*03	
				TRBJ2-3*01	
				TRBD1*01	CDR3α 配列: CAETLGLDQGGKLIF (配列番号 43)
				TRBD2*01	CDR3β 配列: CSTAGETDTQYF (配列番号 44)

10

20

【 0 1 4 4 】

実施例 4 : T C R レンチウイルス構築物。

T C R ヌクレオチド配列を合成し、ベクターインサートを p L V レンチウイルス骨格にクローン化した。インサート配列は、ヒト組織における発現のために最適化されたコドンであった。ヒトの定常領域を部分的にマウス化するために、いくつかのアミノ酸をマウスの定常領域に置き換えた。T 細胞受容体 α 定常領域について、アミノ酸 P r o 9 1、G l u 9 2、S e r 9 3、S e r 9 4 (国際的なイムノジェネティクス情報システム (I n t e r n a t i o n a l I m m u n o G e n e T i c s i n f o r m a t i o n s y s t e m) (登録商標)、受入番号 X 0 2 8 8 3 | T R A C * 0 1 | ホモサピエンス参照) をそれぞれ S e r、A s p、V a l、P r o アミノ酸に置換した。T 細胞受容体 β 定常領域について、G l u 1 8、S e r 2 2、P h e 1 3 3、G l u 1 3 6、G l n 1 3 9 (国際的なイムノジェネティクス情報システム (I n t e r n a t i o n a l I m m u n o G e n e T i c s i n f o r m a t i o n s y s t e m) (登録商標)、受入番号 M 1 2 8 8 7 | T R B C 1 * 0 1 | ホモサピエンス及び M 1 2 8 8 8 | T R B C 2 * 0 1 | ホモサピエンス参照) をそれぞれ L y s、A l a、I l e、A l a、H i s アミノ酸に置換した。鎖間ジスルフィド結合を追加した構築物では、α 鎖の T h r 4 8 と β 鎖の S e r 5 7 の代わりにシステインに置換した。ベクターインサートはまた、フューリン - 2 A 自己切断ペプチドによって連結された同定された T C R の α 鎖及び β 鎖 (それぞれの T C R 鎖の定常領域は部分的にマウス化されている) をコードするように設計された。

30

【 0 1 4 5 】

それぞれの T C R レンチウイルス構築物のヌクレオチド配列、及びその関連する特徴を、表 2 ~ 1 1 に例示する。同様に、それぞれの発現 T C R 構築物のアミノ酸配列、及びその配列の特徴を、それぞれ、図 3、図 4、及び図 6 ~ 図 1 1 に記載する。

40

【 0 1 4 6 】

実施例 5 : 異なる H P V 抗原 (E 2、E 5、E 6) から 1 a H P V - T C R を発現するように操作した J u r k a t 細胞及び抗原認識の表示 (一次スクリーニング)。

T C R p L V ベクターとパッケージングプラスミド (p V S V、p M D L、p R E V) を 2 9 3 T 細胞に共トランスフェクションし、T C R レンチウイルス上清を作製した。トランスフェクションから 2 日後、T C R レンチウイルス上清を採取した。

【 0 1 4 7 】

50

96 ウェルプレートに40 μ l 中40,000個のJurkat細胞にレンチウイルスを形質導入した(50の感染多重度(MOI))。形質導入後3日目に、フローサイトメトリーでTCRの発現を測定することにより、形質導入を確認した。

【0148】

形質導入されたJurkat細胞について、さらに、操作されたTCRの抗原特異性とHLA拘束性を有することを確認した。簡単に言えば、リンパ芽球様細胞(LCL)をR-0(FBSなし)培地中のペプチド(1 μ g/ml)で刺激し、1時間インキュベートした。次いで、刺激された抗原提示LCLを、完全RPMI培地で、2300rpmで2分間洗浄した(5回)。次いで、形質導入したJurkat細胞(2×10^5 /ウェル)を、96ウェルU底プレート中の完全培地中で同数のペプチドパルスLCL(HLAマッ

10

【0149】

サイトメトリー解析のために、細胞を、2%FBSを含むPBS(洗浄バッファー)で洗浄し、ペレットを、FITC結合抗V α 12.1(E5-NLDTCR、クローン-6D6.6;ThermoFisher)又はPE結合抗V β 2(E6-HDI、クローン-MPB2D5、Beckman Coulter)、抗V β 11(E6-AFR-TCR、C21;Beckman Coulter)、抗V β 14(E6-TIH-TCR、クローン-REA557;Miltenyi Biotec)、又は抗V β 22(E2-TLQ-TCR、クローン-IMMU546;Beckman Coulter)、及び

20

【0150】

結果

E2-TLQ-TCR、E5-NLDTCR、E6-TIH-TCRレンチウイルスを形質導入して3日目までに、Jurkat細胞は抗V β 22、V α 12.1、及びV β 14抗体によってそれぞれ検出されるTCR発現を示した(図12を参照)。

【0151】

同様に、E5-NLDTCR(HLA-C*05:01及びC*08:02拘束性)及びE2-TLQ-TCR(HLA-A*02:01拘束性)を形質導入したJurkat細胞は、ペプチドパルスLCLとの共インキュベーション後にCD69発現(抗ヒトCD69抗体、クローン-FN50を用いて検出)を示す(図13を参照)。

30

【0152】

実施例6:E5抗原からのTCRを発現するように操作したT細胞(E5-NLDTCR)は、多機能活性と高い機能結合活性を示した(二次スクリーニング)。

ヒト末梢血単核細胞(PBMC)を健康なドナーから単離した。形質導入前に、2日間、PBMCをCD3及びCD28アゴニストと共に完全培地で培養し、最適且つ効率的なT細胞の活性化及び増殖のための一次及び共刺激シグナルを提供した。

【0153】

レンチウイルス上清(最大80~90 μ l/ウェル)をレトロネクチン(RetroNectin)(登録商標)コート96ウェルプレート(Takara Bio USA, Inc.; CA, U.S.A.)に加えることにより形質転換を実施した。プレートを2,000g、32で2時間遠心分離した。上清を廃棄し、プレートをPBSで洗浄した。PBMCを添加し(20,000/ウェル)、プレートを1,500rpm、32で10分間遠心分離した。約16時間後、細胞を24ウェルの組織培養処理プレートに移し、IL-2(200 IU/ml)存在下で7日間培養した。8日目に、形質導入したT細胞を、エフェクター対標的の比率が2:1になるようにペプチドパルス自己PBMCで再刺激し、完全RPMI培地中で培養した。2日目にIL-2を200 IU/mlで添加し、その後21日まで3日ごとに添加した。再刺激後の7日目と14日目に、生存してい

40

50

る T 細胞をトリパンブルー排除により目視で計数し、T C R 発現研究と機能アッセイに使用した。残った細胞は全て凍結保存した。

【 0 1 5 4 】

形質転換された T 細胞を、モネンシン、ブレフェルジン及び抗 C D 1 0 7 a 抗体を含む R 1 0 培地中で同族ペプチド抗原と共にインキュベートした。4 時間のインキュベーション後、細胞を、2 % F B S を含む P B S (洗浄バッファー) で洗浄し、ペレットを I F N γ 解析のために F I T C 結合抗 C D 4 抗体及び P e r C P - C y 5 . 5 結合抗 C D 8 抗体を含む洗浄バッファーに再懸濁し、又は P e r C P - C y 5 . 5 結合抗 C D 8 及び P E - C y 7 結合抗 C D 4 と共に、4 で 3 0 分間インキュベーションした。次いで、細胞を P B S で 2 回洗浄し、固定し、2 0 分間透過処理した。次いで、細胞を洗浄し、P E 標識抗 I L - 2、A l e x a F l u o r 7 0 0 結合抗 I F N γ 及び A P C 結合抗 T N F と共に 4 で 3 0 分間インキュベートした。染色した細胞を、透過処理洗浄バッファーで 2 回洗浄し、1 % パラホルムアルデヒドを含む P B S に再懸濁し、フローサイトメトリーで解析した。

10

【 0 1 5 5 】

結果

データは、P B M C における E 5 - N L D - T C R の形質導入が成功したことを示す (図 1 4 を参照) 。さらに、同じペプチドで刺激した非形質導入細胞と比較して、形質導入 C D 8 $^{+}$ T 細胞は、高い C D 1 0 7、I F N γ 、T N F α 及び I L - 2 発現を示した (図 1 5 を参照) 。形質転換 C D 4 $^{+}$ T 細胞は、C D 8 $^{+}$ T 細胞と比較的同等の T N F α 及び I L - 2 発現を示した。しかし、I F N γ 及び C D 1 0 7 は、C D 4 $^{+}$ T 細胞において顕著に低く、これは標的結合における C D 8 共受容体の寄与を示唆するものである。

20

【 0 1 5 6 】

実施例 7 : E 5 抗原からの T C R を発現するように操作した T 細胞 (E 5 - N L D - T C R) は、高い機能結合活性を示した (二次スクリーニング) 。

形質導入 T 細胞及び非形質導入 T 細胞を、モネンシン及びブレフェルジンを含む R 1 0 培地中、3 7、6 . 5 % C O $_2$ で 4 時間、異なる濃度の同族抗原ペプチド (すなわち、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 及び 10^{-13} モル / L) でパルスした H L A 適合 L C L で刺激した。次いで、細胞を洗浄し、ペレットを F I T C 結合抗 C D 4 抗体及び P e r C P - C y 5 . 5 結合抗 C D 8 抗体を含む洗浄バッファーに再懸濁した。結合抗体と 4 で 3 0 分間インキュベートした後、細胞を洗浄し、固定し、2 0 分間透過処理した。次いで、細胞を洗浄し、P E - 抗 I F N γ と 4 で 3 0 分間インキュベートした。染色した細胞をさらに洗浄し、1 % パラホルムアルデヒドを含む P B S に再懸濁し、フローサイトメトリーで解析した。

30

【 0 1 5 7 】

結果

図 1 6 に示すように、H L A 適合 (C * 0 5 : 0 1 及び C * 0 8 : 0 2)、パルス L C L で刺激した E 5 - N L D - レンチ形質導入 P B M C で I F N γ 発現が誘導された。特に、C D 8 $^{+}$ T 細胞が、わずか $10 \text{ pmol} / \text{L}$ の N L D ペプチドでパルスされた L C L の認識を示した (配列番号 1) 。これは、本質的に、腫瘍の退縮を媒介する、他の遺伝子治療試験で使用された、T C R 遺伝子が操作された T 細胞よりも高い機能結合活性を示す (D r a p e r ら、C l i n C a n c e r R e s、2 1 : 4 4 3 1 ~ 4 4 3 9、2 0 1 5 ; D o r a n ら、J o u r n a l o f C l i n i c a l O n c o l o g y、2 0 1 9、3 7 : 3 0、2 7 5 9 ~ 2 7 6 8) 。

40

【 0 1 5 8 】

実施例 8 : E 2 抗原からの T C R を発現するように操作した T 細胞 (E 5 - T L Q - T C R) は、H L A - A 2 $^{+}$ H P V - 1 6 $^{+}$ 腫瘍細胞を特異的に認識し、死滅させた。 (i n v i t r o での細胞溶解)

E 2 - T L Q - T C R - T 細胞を媒介した腫瘍細胞株の細胞溶解を、エフェクター対標的 (E / T) 比 1 0 : 1 及び 5 : 1 にて実施した。簡単に言えば、1 ウェル当たり 2×1

50

0⁴ 標的細胞 (CaSki (HPV⁺) 及び SCC70 (HPV⁻)) を播種し、一晚 (17 時間) 培養した。エフェクター T 細胞 (E2-TLQ-TCR-T 細胞) を、細胞指数が定常に達した時点で指示した比率 (図 17 参照) で添加し、約 4 日間共培養して経時的に細胞溶解を評価した。IFN γ 処置 (100 μ /ml) した標的細胞も対照として含めた; IFN γ を標的細胞培養物に添加して 24 時間おき、アッセイの前に培養物を完全 RPMI 培地で洗浄した。

【0159】

標的細胞の溶解は、実験終了まで 15 分ごとにそれぞれのウェルの付着細胞の電気インピーダンスを通じたりアルタイム細胞分析によって評価した。結果を細胞指数値として報告する。

10

【0160】

CaSki 細胞株 (HPV16⁺; HLA-A*02:01⁺) を E2-TLQ-TCR-T 細胞 (図 17、A) と「非形質導入」対照 T 細胞 (図 17、B) でチャレンジした。E2-TLQ-TCR-T 細胞 (HLA-A*02:01 拘束性) は、E2-TLQ-TCR-T 細胞の添加後の細胞指数の低下によって示されるように、HPV16⁺ の癌細胞株 (CaSki) の細胞溶解を誘導した。IFN γ 処置した標的細胞 (CaSki) は、未処置に比べてより大きな細胞溶解が観察され、抗原処理及び MHC 分子の発現の増強に関連していると思われる。しかし、非形質導入 T 細胞は、同じエフェクター対標的の比率で添加した場合、細胞溶解を示さなかった。

【0161】

対照細胞株 SCC70 (HPV16⁻ 及び HLA-A*02:01⁺) を E2-TLQ-TCR-T 細胞及び非形質導入 T 細胞 (UT) の両方でチャレンジした。エフェクター対標的比 10:1 の HPV16⁻ 細胞株 (SCC70) では細胞溶解が観察されなかったもので、E2-TLQ-T 細胞は、抗原特異的な細胞溶解を誘導する (図 17、C)。

20

【0162】

参照による組み込み

本明細書に記載された全ての刊行物、特許、特許出願及び配列アクセッション番号は、個々の刊行物、特許又は特許出願が参照により組み込まれることが具体的且つ個別に示されているかのように、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。不一致の場合は、本明細書のいかなる定義も含めて、本出願が優先される。

30

【0163】

均等物

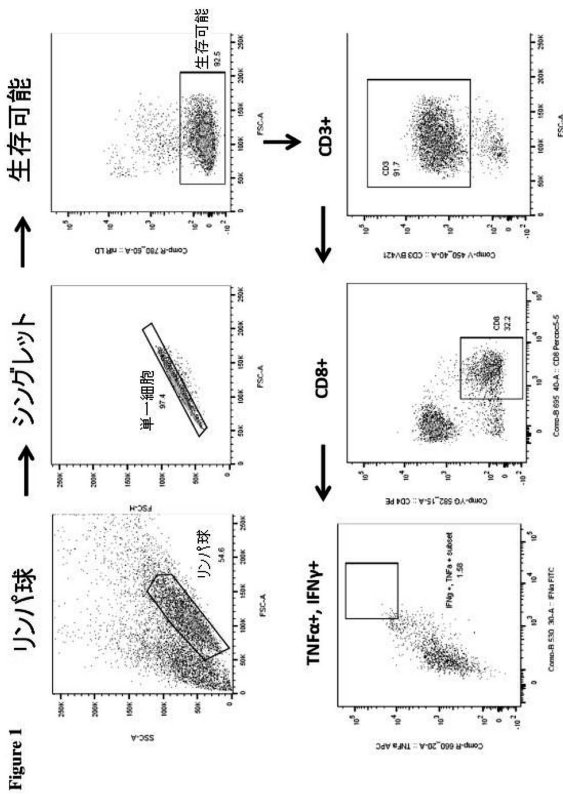
本発明の多数の実施形態について記載した。それにもかかわらず、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、様々な改変がなされ得ることが理解されよう。したがって、他の実施形態は、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。別に定義されない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、開示される発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されているものと同じ意味を有する。

【0164】

当業者は、本明細書に記載の特定の発明の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、又は単なる日常的な実験を用いて確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

40

【図面】
【図 1】



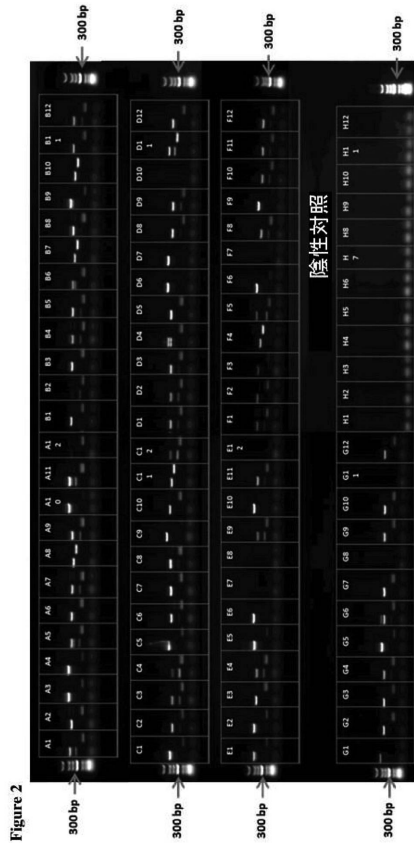
【図 3】

Figure 3

E2-TLQ-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1...314
TCR β シグナルペプチド 配列	1...19
TCR β 抗原特異的部位	111...126
TCR α 鎖	347...366
TCR α シグナルペプチド 配列	347...600
TCR α 抗原特異的部位	458...471
フュージョン切断部位	315...318
SGSG リンカー (配列番号233)	319...322
F2A リンカー	323...346
マウス化アミノ酸	53, 57, 68, 71, 74, 572...575
システイン架橋変化	192, 520

1 MDTWLVCAWAI FSLKAGL TEPEVTQT PSHOV TQMGQEV LRCVP I SNHLY FYWYRQ ILGO
61 KVEFLVS FYNNE ISEKSE I FDDQFSVER PPGSNFT LKTRSTKLEDSAMY F CASRASVGVG
121 TGE LFRGSGSRL TVL RDLKNV PPEVA VFPSPSKAB I AHTQKAT LVCLATG FFPD HVELSW
181 WVNGKEVHSGV I DPEQPLKEQ PALNDSRYCLSSRLVRSATFWONPRNHFRCQVQFYGLSE
241 NDEWTQDRAKPTQIVSAEAWGRADCGITSA SYHOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA
301 LVLMAMVKKRDSRGRKRS GSGGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMTRVSLIMAVVYST
361 CLESGMACTVTSQSPEMSVOQEAETVTL SCTYDTSESNYLFWYKOPPSRQMLIVIROEAY
421 KOQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDTAMY ECAPTYGGSQGNL I FGKGTKL SVK
481 PNIGNPDPAYVQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSOKSDVYITD IGLDMSMDPKS
541 NSAVANSKSDFCANAFNNIS I IPEDTFFPSSDVP CDVKLVEKSFETDTNLNPNQLSVIG
601 FRILLKVGAFNLLMTLR LWS (配列番号209)

【図 2】



【図 4】

Figure 4

E5-NLD-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1...312
TCR β シグナルペプチド 配列	1...21
TCR β 抗原特異的部位	111...126
TCR α 鎖	347...599
TCR α シグナルペプチド 配列	347...364
TCR α 抗原特異的部位	456...470
フュージョン切断部位	313...317
SGSG リンカー (配列番号233)	318...322
F2A リンカー	323...346
マウス化アミノ酸	153, 157, 268, 271, 274
システイン架橋変化	192, 528

1 MGTSLLCWVVLGFLGTDHTGAGVSQSPRYKVTKRGQDVALRCDPTISGHVSLYWRQALGO
61 GPEFLTYFNVEAQQDKSGLPNDRFSAERPEGSISTLT I QRTORDSAMYRCASSPELAGP
121 QSTQYFGPGRLLVLEDLKNVFPPEVA VFPSPSKAB I AHTQKAT LVCLATG FFPD HVELSW
181 WVNGKEVHSGV I DPEQPLKEQ PALNDSRYCLSSRLVRSATFWONPRNHFRCQVQFYGLSE
241 NDEWTQDRAKPTQIVSAEAWGRADCGITSA SYHOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA
301 LVLMAMVKKRDFRKRSGSGGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMITASILRAVTASTCV
361 VSSMAQKVTQATQETISVVEKEDVTLDVYVETRTTYLFWYKOPPSGELVFLIRNSFDE
421 QNEISGRYSWNFOKSTSSFNFTITASQVVDNAVYFCALSGGGSQGNL I FGKGTKL SVKP
481 NIQNPDPAYVQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSOKSDVYITD IGLDMSMDPKSN
541 SAVANSKSDFCANAFNNIS I IPEDTFFPSSDVP CDVKLVEKSFETDTNLNPNQLSVIG
601 RILLKVGAFNLLMTLR LWS (配列番号210)

10

20

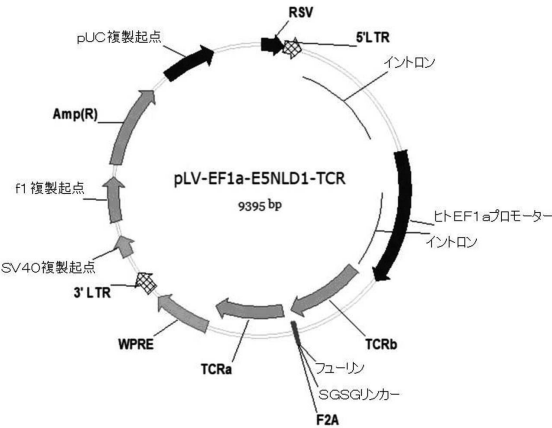
30

40

50

【 図 5 】

Figure 5



【 図 6 】

Figure 6

E6-AFR-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 311
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 21
TCR β 抗原特異的部位	110 ... 125
TCR α 鎖	344 ... 596
TCR α シグナルペプチド配列	344 ... 364
TCR α 抗原特異的部位	455 ... 466
フューリン切断部位	312 ... 315
SGSGリナー (配列番号233)	316 ... 319
F2Aリナー	320 ... 343
マウス化アミノ酸	52, 56, 267, 270, 273, 568 ... 571
システイン架橋変化	101, 525

1 MTIRLLCYMGFYFLGAGLMEADYQTPRYLVIGTGKKITLCSQTMGHDKMYWYQQDPGM
61 ELHLTHYSYGVNSTEKGDLSSESTVSRIETHEFPILESARPSHTSQYLCASSGPGQGHV
121 QPOHFGDGTSLILEDLNKVFPEVAVFEPKAEIHTOKATLVCLATGFFPDHVELSWW
181 VNGKEVHSGVETDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWONPRNHFRQVQFYGLSEN
241 DEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGITSAHYHOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAI
301 VLMAMVKRKDFRAKRSKSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMLTASLRAVIASICVV
361 SMSAQKVTOAQTEISVVEKEDVTLDCVYETRDITYYLFWKOPPSGELVFLTRNSFDEQ
421 NETSGRYSWNFKSTSSNFETITASQVVDASVYFCALGSSGTYYIFETGTRLRKLVIANIQ
481 NPDPAVYQLRDSKSDSKVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKVLDMSMDFKSNSAV
541 AWSNKSDFACANAFNNIIIPEDTFFPSSDVPDVKLVKESFETDTNLNFQNLVIGFRLL
601 LLKVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号211)

【 図 7 】

Figure 7

E6-TIH-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 310
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 21
TCR β 抗原特異的部位	110 ... 124
TCR α 鎖	343 ... 589
TCR α シグナルペプチド配列	343 ... 360
TCR α 抗原特異的部位	447 ... 460
フューリン切断部位	311 ... 314
SGSGリナー (配列番号233)	315 ... 318
F2Aリナー	319 ... 342
マウス化アミノ酸	151, 155, 266, 269, 272, 561 ... 564
システイン架橋変化	100, 518

1 MGPOLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRLVITVTGKKLTVTCSONNMHEYMSWYRODPGL
61 GLRQIYYSMNVEVTDKGDVPEGYKVSRRKRNFPILLESFSPNQTSLYFCASSPQGRINS
121 PLHFGNGTRLTIVTEDLNKVFPEVAVFEPKAEIHTOKATLVCLATGFFPDHVELSWWV
181 NGKEVHSGVETDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWONPRNHFRQVQFYGLSEN
241 EWTODRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGITSAHYHOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAI
301 LAMAMVKRKDFRAKRSKSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMLTASLRAVIASICVV
361 QNIDQPTMTATEGAIVQINCTYQTSNGFLFWYQOAHAGEAPTFLSYNVLGLEPKGRFS
421 SFLSRSGKGYSYLLKLQMKDSASYLCAVDRDTGYGQNFVFGPGTRLVSLVPIQNPDPAVY
481 QLRDSKSDSKVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKVLDMSMDFKSNSAVAWSNKS
541 FACANAFNNIIIPEDTFFPSSDVPDVKLVKESFETDTNLNFQNLVIGFRLLKVAGF
601 NLLMTLRLWSS (配列番号212)

【 図 8 】

Figure 8

E6-HDI-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 317
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 21
TCR β 抗原特異的部位	119 ... 129
TCR α 鎖	350 ... 596
TCR α シグナルペプチド配列	350 ... 368
TCR α 抗原特異的部位	454 ... 467
フューリン切断部位	318 ... 321
SGSGリナー (配列番号233)	322 ... 325
F2Aリナー	326 ... 349
マウス化アミノ酸	155, 159, 271, 274, 277, 568 ... 571
システイン架橋変化	105, 525

1 MLLLLLLGPGISLLLPGLAGSGLGAVVSQHPVSWICKSGTSYKIECRSLDFQATTMEW
61 YRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVKDKFLINHASITLSTLVTAHPEDSSFYICG
121 AREGYSYFGPGTRLIVLEDLNKVFPEVAVFEPKAEIHTOKATLVCLATGFFPDHVE
181 LSWWVNGKEVHSGVETDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWONPRNHFRQVQFYGLSEN
241 LSENDEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGITSAHYHOGVLSATILYEILLGKATLYAVI
301 VSAVLVLMAMVKRKDRKRAKRSKSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMLVARVTVFL
361 TEGTIIIDAKTTPPMSDCAGRAANLPCNHSTISGNEYVYWRQIHSQGPQYIIHGLKNN
421 ETNEMASLITTEDRKSSSTLLPHATLRDTAVYCIVRDRSYGQNFVFGPGTRLVSLVPIQ
481 NPDPAVYQLRDSKSDSKVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKVLDMSMDFKSNSAV
541 AWSNKSDFACANAFNNIIIPEDTFFPSSDVPDVKLVKESFETDTNLNFQNLVIGFRLL
601 LLKVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号213)

10

20

30

40

50

【 図 9 】

Figure 9

E6-KQR-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 318
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 21
TCR β 抗原特異的領域	119 ... 130
TCR α 鎖	351 ... 608
TCR α シグナルペプチド配列	351 ... 371
TCR α 抗原特異的領域	460 ... 474
フーリン切断部位	319 ... 322
SGSGリンカー (配列番号233)	323 ... 326
F2Aリンカー	327 ... 350
マウス化アミノ酸	137, 141, 272, 275, 278, 580 ... 583
システイン架橋変化	106, 537

1 MLLLLLLGPGISLLLPGLAGSLGAVVSQHPESWICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFV
61 YRQFPKOSLMMATSNEGCKATYEQGVKDKFLTNHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICS
121 TAGETDQYFGPGTRITVLEDLKNVFPPEVAVFEPKAEIAHTOKATLVCLATGFFPDHV
181 ELSWWVNGKEVHSGVLDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPNNHFRQVOFY
241 GLSENDEWTDRAKPVTOIVSABAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYETLLGKATLYAV
301 LVSAVLMMVKKRDSRGRKRSGSGAPVKOTLNFDLLKLAGDVESNPGPMAGIRALFMY
361 LWLQLDWSVRGESVGLHPLTSLVQEGDNSIINCAYSNASDYPINVKQESGKGPQFIIDI
421 RSNMDRQSGRVTVLNNKTVKHLSLQTAATQPGDSAVYFCAETLGLDQGGKLTFGQTEI
481 SVKENIQNPDSVKPNPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKGULD
541 MRSMDPKSNSAVANSKSDPACANAFNNISITPEDTFFPSDVPDVKLVKESFETDTNLN
601 FQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLLRWSS (配列番号24)

【 図 10 】

Figure 10

E7-TPT-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 311
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 19
TCR α 鎖	344 ... 614
TCR α シグナルペプチド配列	344 ... 360
フーリン切断部位	312 ... 315
SGSGリンカー (配列番号233)	316 ... 319
F2Aリンカー	320 ... 343
マウス化アミノ酸	152, 156, 267, 270, 273, 564 ... 567
システイン架橋変化	101, 521

1 MGRILLCCVVFCLIQAGPLDTAVSOTPKYLVTOGMNDKSIKCEQNLGHDTMYWYKQDSKK
61 FLKIMFYSNNKELINETVFNRFSPKSPDKAHLNLHINSLELGDSAVYFCASSQGTGRGN
121 TPAFFGQGTRLTVVEDLNKVFPEVAVFEPKAEIAHTOKATLVCLATGFFPDHVELSWW
181 VNGKEVHSGVLDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPNNHFRQVOFY
241 DEWTDRAKPVTOIVSABAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYETLLGKATLYAVLSAL
301 VLMAMVKKRDPRAKRSQSGAPVKOTLNFDLLKLAGDVESNPGPMQROVARVIVETLSTLS
361 LAKTQPIIEMDSYEGQEVNITCSHNNIATNDYITWYQQFSPQGPPIITQGYKTKVTNEVA
421 SLFTPADRKSSSTLSLPRVSLSDTAVYQCLVGPYFGGGSYOLTFGKGTKLSPINIQNPDP
481 AVYQLDRSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKGULDMSMDPKSNSAVANS
541 KSDPACANAFNNISITPEDTFFPSDVPDVKLVKESFETDTNLNQNLSVIGFRILLKLV
601 AGFNLLMTLLRWSS (配列番号215)

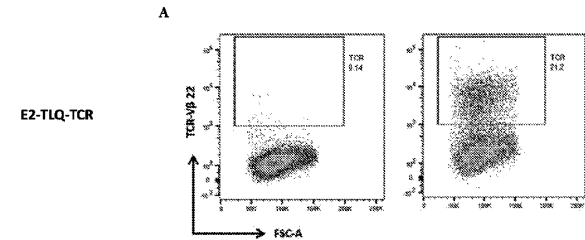
【 図 11 】

Figure 11

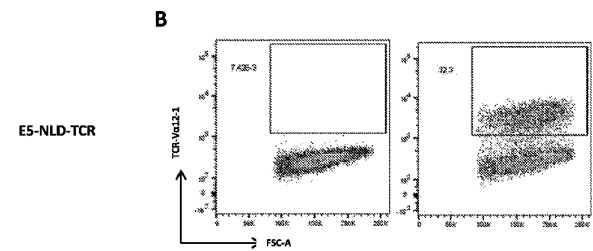
E5-SAF-TCR アミノ酸配列	
TCR β 鎖	1 ... 318
TCR β シグナルペプチド配列	1 ... 19
TCR α 鎖	351 ... 629
TCR α シグナルペプチド配列	351 ... 370
フーリン切断部位	319 ... 322
SGSGリンカー (配列番号233)	323 ... 326
F2Aリンカー	327 ... 350
マウス化アミノ酸	157, 161, 272, 275, 278, 579 ... 582
システイン架橋変化	106, 536

1 MGRILLFWVAFCLLGADHTGAGVSQSPSNKVTEKGDVLEKCDPISGHTALYWRQSLGQ
61 GLEFLTYFQGNAPDKSGLPSDRFSAERTGGSVSTLTQRTQQEDSAVYLCASSLGQAV
121 GTDQYFGPGTRITVLEDRKTLKNVFPPEVAVFEPKAEIAHTOKATLVCLATGFFPDHV
181 ELSWWVNGKEVHSGVLDPOPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPNNHFRQVOFY
241 GLSENDEWTDRAKPVTOIVSABAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYETLLGKATLYAV
301 LVSAVLMMVKKRDSRGRKRSGSGAPVKOTLNFDLLKLAGDVESNPGPMRVSLWAV
361 VVSTICLESMAQVUTQSDPENSVOEASTVTLSGTDVDSNNVYLVFWYRQPSBROWLITIR
421 QEAYKQONATENAFSUNFOKAASPSLAKISDSQLGDTAMIECAFMKPDGSGNTCKLIRGQ
481 GTTLQKENIQNPDPATYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKGULD
541 RSNMDPKSNSAVANSKSDPACANAFNNISITPEDTFFPSDVPDVKLVKESFETDTNLN
601 QNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLLRWSS (配列番号216)

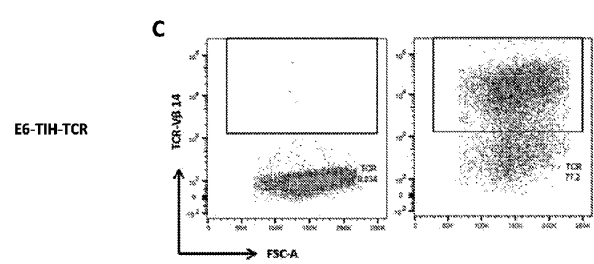
【 図 12 A 】



【図 1 2 B】

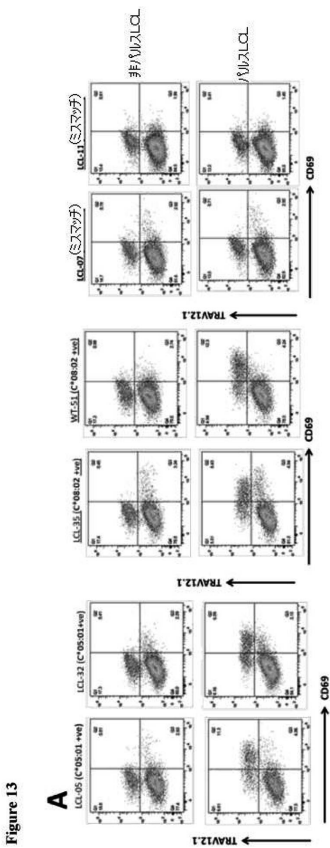


【図 1 2 C】

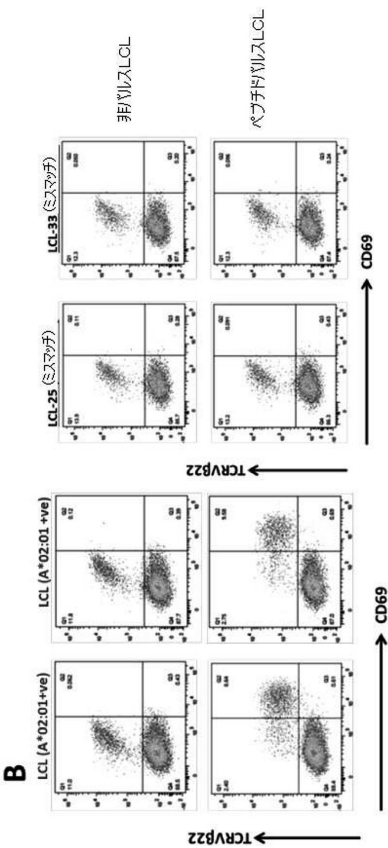


10

【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



20

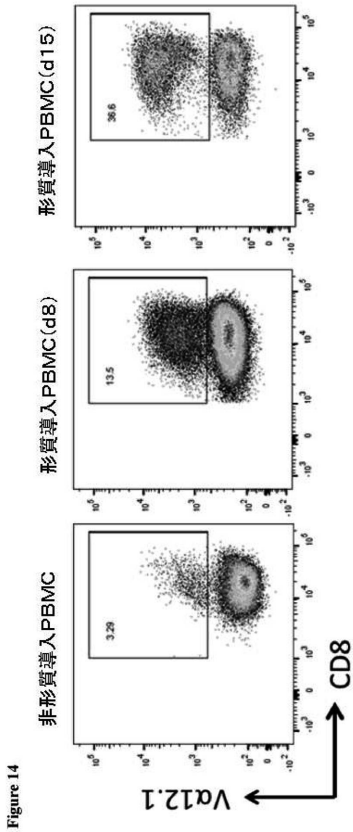
30

Figure 13 cont.

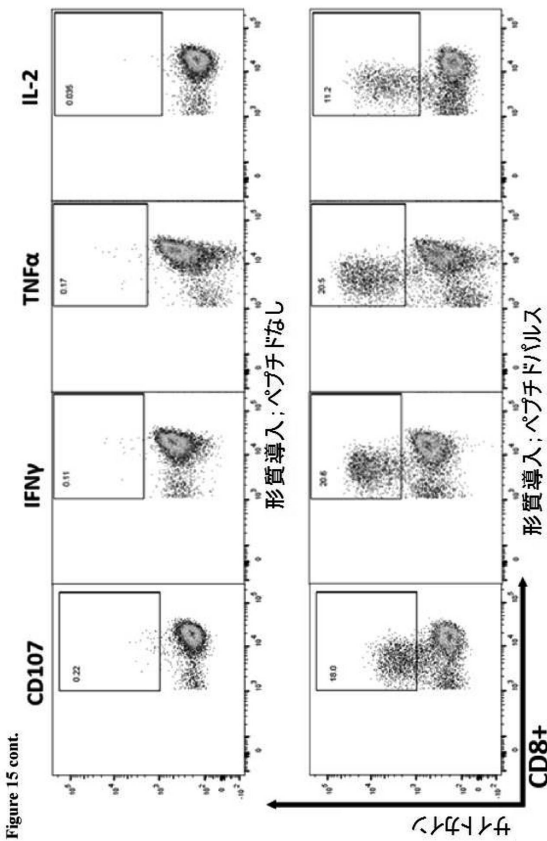
40

50

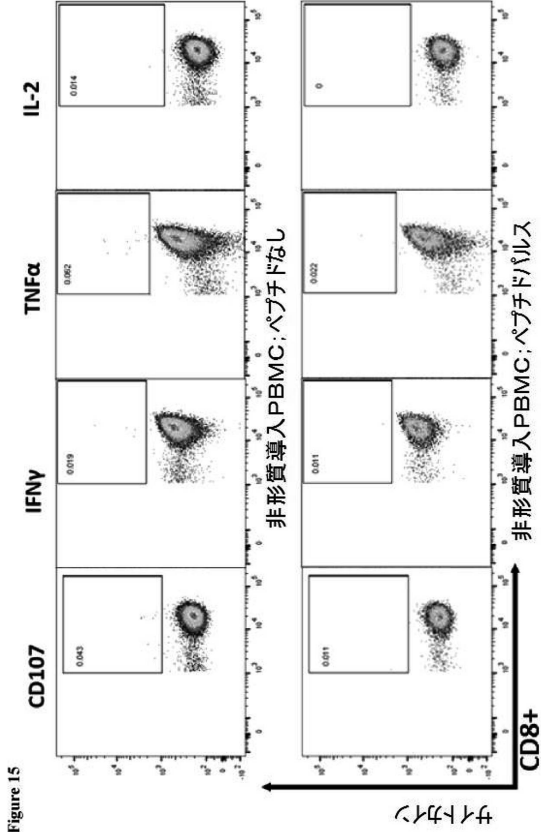
【図 1 4】



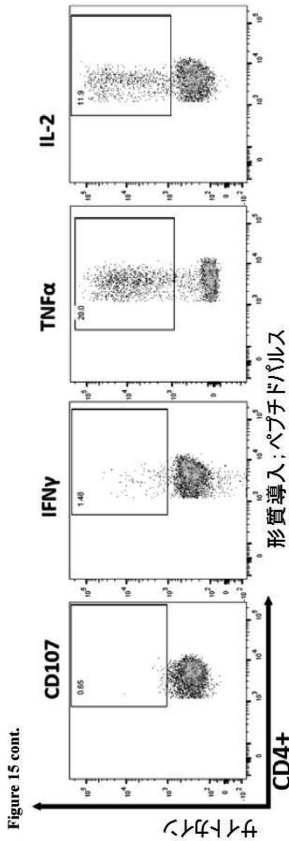
【図 1 5 B】



【図 1 5 A】



【図 1 5 C】



10

20

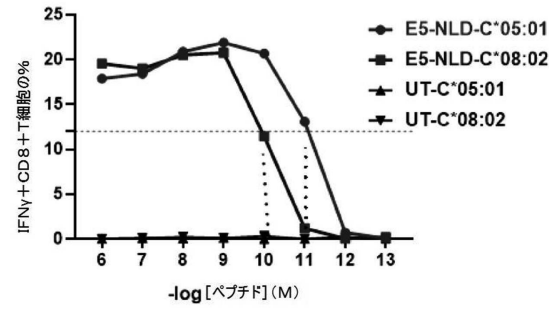
30

40

50

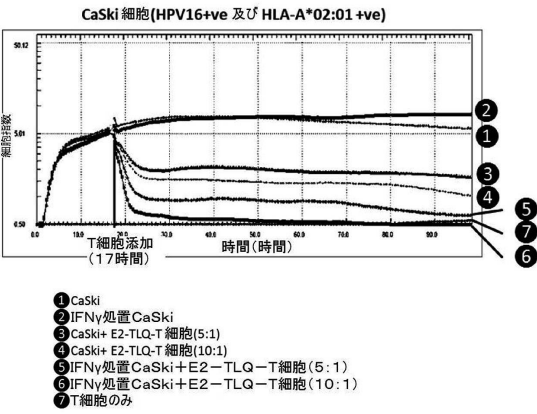
【 図 1 6 】

Figure 16



【 図 1 7 A 】

Figure 17
A

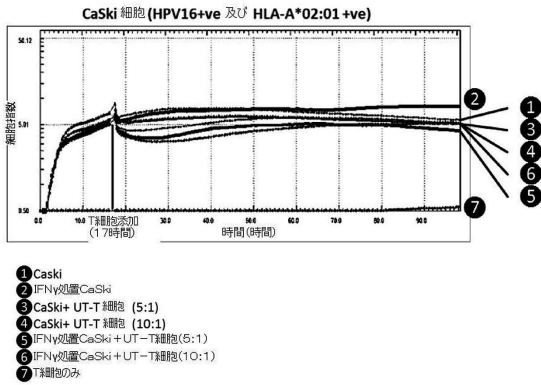


10

20

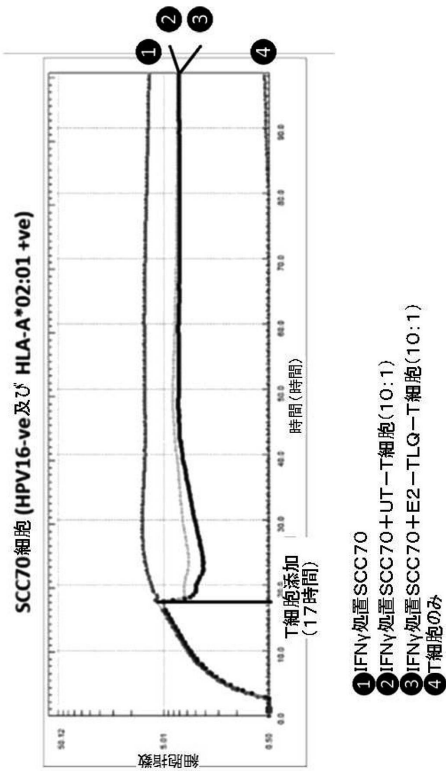
【 図 1 7 B 】

Figure 17 cont.
B



【 図 1 7 C 】

Figure 17 cont.
C



30

40

50

【配列表】
2023518578000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/000158			
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 35/17 (2015.01) C07K 16/08 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01) C12N 15/86 (2006.01)					
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)					
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)					
EPODOC, WPIAP, CAPLUS, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, WPIDS: Human Papillomavirus 16, epitope, T-cell receptor, antigenic determinant, peptides of SEQ ID NOs: 1-12, 217 and 218, C07K16 and the like terms					
STN file Registry/CAPLUS search based on sequences SEQ ID NOs: 1-12, 217 and 218					
GenomeQuest: SEQ ID NOs: 1-12, 217 and 218; 13-52 and 219-226; 59-70 and 229-232; 209-216					
Patentscope, PubMed, Internal IP Australia databases: Inventor (KHANNA R. or BURROWS J. or BHATT K.H.) and Applicant (THE COUNCIL OF THE QUEENSLAND INSTITUTE OF MEDICAL RESEARCH)					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.			
Documents are listed in the continuation of Box C					
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ See patent family annex					
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%; vertical-align: top;"> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="width: 33%; vertical-align: top;"> "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 </td> <td style="width: 33%;"></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family				
Date of the actual completion of the international search 4 June 2021	Date of mailing of the international search report 04 June 2021				
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustalia.gov.au	Authorised officer Nathalie Tochon-Danguy AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61262833101				

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/IB2021/000158
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/195486 A1 (JUNO THERAPEUTICS, INC) 10 October 2019 abstract, pages 58, 60, 115, and 153, Tables 1, 3, 4A, 4B, and E1-E3, Examples 1-3 and 6, claim 47, and SEQ ID NOS: 268, 270, 27, 273, 274	1, 2, 5-30, 36,39, 48
X	WO 2019/070541 A1 (JUNO THERAPEUTICS, INC) 11 April 2019 abstract, pages 107, 115, 289, 307-308, and 310-311, Tables 1, 23, 28, and 30, Examples 6-14, SEQ ID NOS: 233, 234, 236, 238, 239	1, 2, 5-30, 36,39, 48
X	WO 2015/009606 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) 22 January 2015 abstract, Table A, Examples 1-6	1-28, 48
X	WO 2016/146618 A1 (MAX-DELBRUCK-CENTRUM FUR MOLEKULARE MEDIZIN et al.) 22 September 2016 abstract, pages 13, 26, and 28, Figures 8b, 9b, and 10-12, Examples 1; 2.2-2-3, Tables 1 and 2, SEQ ID NO: 1	1-28, 48
X	WO 2017/064198 A1 (MAX-DELBRUCK-CENTRUM FUR MOLEKULARE MEDIZIN IN DER HELMHOLTZ-GEMEINSCHAFT) 20 April 2017 abstract, Table 1, SEQ ID NOS: 1-6, Examples 1-9, Figures 2-7	1-28, 48
X	WO 2019/145792 A1 (THE COUNCIL OF THE QUEENSLAND INSTITUTE OF MEDICAL RESEARCH) 01 August 2019 Table 1, examples 2, 3, and 6-7, [0081]-[0083], SEQ ID NOS: 2-4, 9, 11-13, 15, 30, and 31	1-22, 48
X	DORAN S.L. <i>et al.</i> , "T-Cell Receptor Gene Therapy for Human Papillomavirus-Associated Epithelial Cancers: A First-in-Human, Phase I/II Study", Journal of Clinical Oncology, 2019, vol. 37, no. 30, pages 2759-2768, DOI:10.1200/JCO.18. 02424 Abstract, Table 1, Procedures and Treatment, Results	1, 2, 5-49
P,X	FAKHR E. <i>et al.</i> , "Recent Developments in Immunotherapy of Cancers Caused by Human Papillomaviruses", Immunology, May 2021, vol. 163, no. 1, pages 33-45, Epub 2020 December 06, DOI:10.1111/imm.13285 CELL-BASED THERAPIES: pages 39-43	1-49
T	NAGARSHETH N. B. <i>et al.</i> , "TCR-Engineered T-cells Targeting E7 for Patients with Metastatic HPV-Associated Epithelial Cancers", Nature Medicine, March 2021, vol. 27, pages 419-425, Epub 2021 February 08, DOI:10.1038/s41591-020-01225-1 Abstract, Table 1, Figures 1 and 2, Results.	1-49
Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)		

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2021/000158

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:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/IB2021/000158	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2019/195486 A1	10 October 2019	None	
WO 2019/070541 A1	11 April 2019	None	
WO 2015/009606 A1	22 January 2015	None	
WO 2016/146618 A1	22 September 2016	WO 2016146618 A1	22 Sep 2016
		AU 2016232280 A1	12 Oct 2017
		AU 2016232280 B2	31 May 2018
		CA 2979493 A1	22 Sep 2016
		CN 107636152 A	26 Jan 2018
		EP 3271382 A1	24 Jan 2018
		EP 3271382 B1	12 Feb 2020
		HK 1248736 A1	19 Oct 2018
		JP 2018509911 A	12 Apr 2018
		KR 20170126500 A	17 Nov 2017
		SG 11201707540Q A	30 Oct 2017
		US 2018073013 A1	15 Mar 2018
		US 11001830 B2	11 May 2021
WO 2017/064198 A1	20 April 2017	WO 2017064198 A1	20 Apr 2017
		AU 2016336817 A1	31 May 2018
		AU 2016336817 B2	04 Feb 2021
		CA 3001395 A1	20 Apr 2017
		CN 108135998 A	08 Jun 2018
		EP 3156067 A1	19 Apr 2017
		EP 3362090 A1	22 Aug 2018
		JP 2018535668 A	06 Dec 2018
		US 2019062398 A1	28 Feb 2019
WO 2019/145792 A1	01 August 2019	WO 2019145792 A1	01 Aug 2019
		AU 2019213286 A1	30 Jul 2020
		CA 3088837 A1	01 Aug 2019
		CN 111868074 A	30 Oct 2020
		EP 3743436 A1	02 Dec 2020
		JP 2021511054 A	06 May 2021
		US 2021046114 A1	18 Feb 2021
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.			
Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2019)			

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
Information on patent family members		PCT/IB2021/000158
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.		
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s
Publication Number	Publication Date	Publication Number Publication Date
End of Annex		
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2019)		

10

20

30

40

50

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 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 K	35/15 (2015.01)	A 6 1 K	35/15		
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17		
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T	
A 6 1 K	31/7088 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
A 6 1 K	31/7105 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088		
A 6 1 K	31/713 (2006.01)	A 6 1 K	31/7105		
		A 6 1 K	31/713		

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T R I T O N

クイーンズランド州 , アルバニー クリーク , オークモント クレセント 2 7

(72)発明者 バット , クナル , エイチ .

オーストラリア連邦 , 4 0 3 0 クイーンズランド州 , ウィンザー , メイガー ストリート 4
7 , ユニット 2

(72)発明者 カンナ , ラジブ

オーストラリア連邦 , 4 0 0 6 クイーンズランド州 , ハ - ストン , アバーレイ ロード 5 9

F ターム (参考) 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44
4C084 AA19 MA17 MA56 MA65 MA66 NA05 NA14 ZB26 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB31 CC23 DD62 EE03 GG01
4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 MA17 MA56 MA65 MA66 NA05
NA14 ZB26 ZC75
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 MA17 MA56 MA65 MA66 NA05 NA14
ZB26
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA50 DA76 EA20 EA22 EA28
FA74