

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-542539

(P2023-542539A)

(43)公表日 令和5年10月10日(2023.10.10)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
A 0 1 K 67/027 (2006.01)	A 0 1 K 67/027	4 B 0 6 5
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	

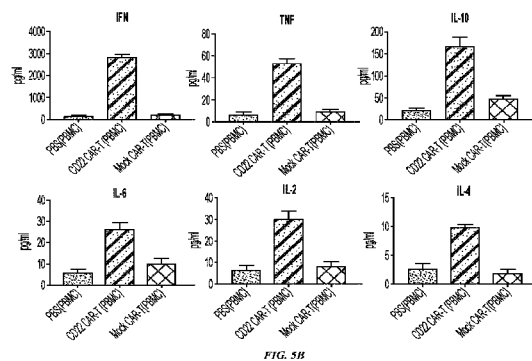
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全55頁)

(21)出願番号	特願2023-518849(P2023-518849)	(71)出願人	398066918 ザ ジャクソン ラボラトリー THE JACKSON LABORATORY
(86)(22)出願日	令和3年9月23日(2021.9.23)		
(85)翻訳文提出日	令和5年5月22日(2023.5.22)		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/051734		
(87)国際公開番号	WO2022/066894		アメリカ合衆国 メイン州 バー ハーバー メイン ストリート 6 0 0
(87)国際公開日	令和4年3月31日(2022.3.31)		
(31)優先権主張番号	63/083,003	(74)代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(32)優先日	令和2年9月24日(2020.9.24)	(74)代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(31)優先権主張番号	63/083,016	(74)代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(32)優先日	令和2年9月24日(2020.9.24)	(74)代理人	230113332
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫細胞療法を評価するためのヒト化マウスモデル

(57)【要約】

操作された免疫細胞療法の投与がサイトカイン放出症候群を誘発する可能性があるか否かを決定するためおよび／または抗疾患療法の有効性を決定するための、ヒト化マウスモデルおよび方法が本明細書に提供される。さらに、本明細書に提供されるモデルを使用して、様々な抗CRS療法の有効性を検査することができる。本開示の一部の態様は、ヒト免疫細胞およびヒト末梢血単核細胞(PBMC)を免疫不全マウスに投与するステップであって、ヒト免疫細胞が、罹患ヒト細胞における細胞表面抗原に特異的に結合する操作された受容体を含み、免疫不全マウスには、罹患ヒト細胞が移植されている、ステップと、かかる免疫不全マウスを、CRSの症状および／またはヒト免疫細胞の有効性についてアッセイするステップとを含む方法を提供する。



10

20

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ヒト免疫細胞およびヒト末梢血単核細胞（P B M C）を免疫不全マウスに投与するステップであって、前記ヒト免疫細胞が、罹患ヒト細胞における細胞表面抗原に特異的に結合する操作された受容体を含み、前記免疫不全マウスには、罹患ヒト細胞が移植されている、ステップと、

前記免疫不全マウスを、サイトカイン放出症候群（C R S）の症状および／または前記ヒト免疫細胞の有効性についてアッセイするステップとを含む、方法。

【請求項 2】

前記罹患ヒト細胞を免疫不全マウスに投与するステップをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ヒト免疫細胞が、T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー（N K）細胞、単球、樹状細胞および好中球から選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4】

前記ヒト免疫細胞が、ゲノム改変された免疫細胞である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記操作された受容体が、キメラ抗原受容体（C A R）である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記ヒト免疫細胞が、操作された C A R を有する T 細胞である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記操作された受容体が、T 細胞受容体（T C R）である、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記ヒト免疫細胞が、操作された T C R を有する T 細胞である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記ヒト免疫細胞が、調節性 T 細胞（T r e g）である、請求項 4 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記ヒト免疫細胞が、腫瘍浸潤リンパ球（T I L）である、請求項 4 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記罹患ヒト細胞が、血液細胞、筋肉細胞および神経細胞から選択される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記罹患ヒト細胞が、腫瘍細胞である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記腫瘍細胞が、初代腫瘍細胞である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記罹患ヒト細胞が、がん性細胞である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記罹患ヒト細胞が、非がん性細胞である、請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記 P B M C および前記ヒト免疫細胞が、自家である、先行する請求項のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の方法。

【請求項 17】

前記罹患ヒト細胞、前記 P B M C および前記ヒト免疫細胞が、自家である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記 P B M C および前記ヒト免疫細胞が、同種異系である、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記ヒト免疫細胞および前記ヒト P B M C を免疫不全マウスに投与するステップに先立ち、前記免疫不全マウスに照射するステップをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 20】

前記ヒト免疫細胞および前記ヒト P B M C が、同時に投与される、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記アッセイするステップに先立ち、前記免疫不全マウスに C R S を処置するための候補薬剤を投与するステップをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記マウスが、非肥満糖尿病 (N O D) マウスである、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記マウスが、P r k d c 遺伝子におけるヌル変異および I l 2 r g 遺伝子におけるヌル変異を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記マウスが、N O D - C g . - P r k d c ^{s c i d} I L 2 r g ^{t m 1 w j l} / S z J 遺伝子型を有する、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記マウスが、機能的な主要組織適合複合体 I (M H C I) および主要組織適合複合体 I I (M H C I I) を欠損している、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記マウスが、ヌル H 2 - A b 1 遺伝子を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 27】

前記マウスが、ヌル M H C クラス I H 2 - K 1 遺伝子を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記マウスが、ヌル M H C クラス I H 2 - D 1 遺伝子を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記マウスが、N O D . C g - P r k d c ^{s c i d} H 2 - K 1 ^{t m 1 B p e} H 2 - A b 1 ^{e m 1 M v w} H 2 - D 1 ^{t m 1 B p e} I l 2 r g ^{t m 1 W j l} / S z J マウス (N S G - (K b D b) ヌル (I A ヌル) マウス) である、請求項 23 ～ 28 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 30】

前記アッセイするステップが、インターロイキン (I L) - 6 、 I L 10 、インターフェロン (I F N) - γ 、単球走化性タンパク質 1 (M C P - 1) 、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F) 、腫瘍壊死因子 (T N F) 、 I L - 1 、 I L - 2 、 I L - 2 受容体アルファ (I L - 2 R α) 、 I L - 8 、 I L - 4 、 I L - 18 およびマクロファージ炎症性タンパク質 (M I P) 4 からなる群より選択されるサイトカインの循環レベルを測定するステップを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 31】

前記マウスにおけるヒトIFN- γ レベルが $\geq 1,800 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトIL-10レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトIL-6レベルが $\geq 25 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトIL-2レベルが $\geq 80 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトIL-4レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトTNF α レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトIL-8レベルが $\geq 15 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
前記マウスにおけるヒトMCP-1レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；およ

び／または

前記マウスにおけるヒトGM-CSFレベルが $\geq 600 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である場合に、CRS誘導の可能性が高いと決定するステップをさらに含む、請求項29に記載の方法。

【請求項 32】

前記マウスを、マクロファージ活性化症候群(MAS)についてアッセイするステップをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

MASの可能性が、IL-6、IL-1および／またはIFN- γ の循環レベルを測定することにより決定される、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

前記マウスを、神経毒性についてアッセイするステップをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

神経毒性の可能性が、IFN- γ 、IL-6および／またはTNF- α の循環レベルを測定することにより決定される、請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

肝臓・腎臓機能の血清生化学的解析を行うステップをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記血清生化学的解析が、次のマーカー：アスパラギン酸トランスアミナーゼ(ALT)、アルブミン、総ビリルビン、クレアチニンまたは血中尿素窒素のうち少なくとも1種のレベルを測定するステップを含む、請求項36に記載の方法。

【請求項 38】

前記候補薬剤が、1種または複数の循環サイトカインのレベルを低減させるか否かを決定するステップをさらに含む、請求項21～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

1種または複数のサイトカインの循環レベルが、前記候補薬剤なしで前記ヒト免疫細胞を投与されたマウスと比べて、前記ヒト免疫細胞および前記候補薬剤を投与されたマウスにおいて30～100%低減される場合に、前記候補薬剤が、前記1種または複数のサイトカインのレベルを低減させると決定するステップを含む、請求項38に記載の方法。

【請求項 40】

前記罹患ヒト細胞が、ヒト腫瘍細胞であり、前記アッセイするステップが、前記ヒト腫瘍細胞の成長を測定するステップを含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記ヒト腫瘍細胞の成長が、時間をわたって測定される、請求項40に記載の方法。

【請求項 42】

前記ヒト免疫細胞を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い腫瘍体積の低減が、有効性を指し示す、請求項40または41に記載の方法。

【請求項 43】

前記ヒト免疫細胞を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い

10

20

30

40

50

腫瘍負荷の低減が、有効性を指し示す、請求項 40～42 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

前記ヒト腫瘍細胞の成長が、無増悪生存、腫瘍体積倍加時間、相対的腫瘍体積、腫瘍成長阻害または腫瘍成長速度の決定に使用される、請求項 40～43 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、米国特許法第 119 条 (e) の下で、2020 年 9 月 24 日に出願された米国仮特許出願第 63 / 083, 003 号および 2020 年 9 月 24 日に出願された米国仮特許出願第 63 / 083, 016 号に基づく優先権を主張するものであり、これらの仮出願それぞれの内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

背景

キメラ抗原受容体 (CAR) 免疫細胞療法 (例えば、CAR T 細胞療法または CAR ナチュラルキラー細胞 (CAR-NK) 療法) 等の養子細胞療法 (ACT) は、画期的な新しいがん処置となった。これは、血液学的悪性疾患に対する有効な新しい処置であることが判明しており、現在、固形腫瘍がんを処置するために開発中である。ACT は、遺伝子移入を利用して、操作された抗原受容体を発現する免疫細胞を再プログラミングし、これにより、免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞および / またはナチュラルキラー (NK) 細胞) が、腫瘍細胞等の罹患細胞に特異的な細胞表面抗原を認識および標的化し (これに結合し)、さらには、抗原を保有する罹患細胞を排除することが可能になる。現在、3 種の食品医薬品局 (FDA) に承認された CAR T 細胞製品が存在しており、例えば：そのうち 2 種は、B 細胞リンパ腫の処置のためのものであり、1 種は、進行型マントル細胞リンパ腫 (MCL) の処置のためのものである。同様に、NK 細胞は、ウイルスに感染した細胞および悪性細胞に対する身体の最前線防御としての中心的な役割を果たす。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

概要

ACT (例えば、CAR T 細胞、CAR B 細胞および / または CAR NK 細胞療法) 等の免疫細胞療法の最も一般的な副作用は、サイトカイン放出症候群 (CRS) および脳症症候群 (神経毒性) であり、これらは、著しい罹患率および死亡率を生じ得る 2 種の主要な合併症である。CRS は、in vivo 免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) 活性化および拡大増殖 (expansion) の後に複数のサイトカインによって引き起こされる、サイトカイン媒介性全身性炎症性応答である。操作された抗原受容体を含む免疫細胞 (すなわち、操作された免疫細胞)、罹患細胞 (例えば、腫瘍細胞) および他の免疫細胞は、サイトカインを放出し、CRS の誘導に寄与することができる。CRS の病因に関連する主なサイトカインは、インターロイキン (IL) 6、IL10、インターフェロン (IFN) - γ 、単球走化性タンパク質 1 (MCP-1) および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を含む。腫瘍壊死因子 (TNF)、IL1、IL2、IL2 受容体アルファ (IL2R α) および IL8 を含むがこれらに限定されないいくつかの他のサイトカインもまた、CRS 発症に関係付けされている。CRS の機構は、未だ十分に理解されてはいないものの、この毒性に寄与するいくつかの因子は、キメラ抗原受容体の構造、高い腫瘍負荷、より高い操作された免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) 注入用量、ならびに炎症の既存の状態およびベースライン内皮活性化等の他の患者特異的因子を含む。CRS の毒性を克服するために、CRS 処置のためのアプローチの 1 つは、CRS 発症早期に抗サイトカイン療法を適用して、生命を脅かす高

度 CRS への発展 (developed) を防止することである。現在、トシリズマブ (IL 6 アンタゴニスト) は、重度のまたは生命を脅かす操作された免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) に誘導される CRS の処置のために FDA によって承認されている。

【0004】

CRS の前臨床モデルは、操作された免疫細胞 (例えば、CAR T 細胞、CAR B 細胞または CAR NK 細胞) のサイトカイン媒介性抗腫瘍効果に干渉しない、CRS 処置に有効な薬剤を同定するのに有用である。加えて、CRS の前臨床モデルは、どの操作された免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) (例えば、特異的 CAR 構築物を有する) が、最小の CRS を誘導し、治療上有効なままであるかについての評価に役立つ。

10

【0005】

さらなる必要性は、患者の群または集団にわたり同じ操作された免疫細胞が利用され、現在、利用できる安全性および有効性に関するプレスクリーニングが存在しない、一般的な同種異系の操作された免疫細胞 (例えば、CAR T 細胞、CAR B 細胞または CAR NK 細胞) 療法の進歩から生じた (例えば、Zhao J et al. Journal of Hematology & Oncology 2018; 11(132)) を参照; しかし、現在、これらの目的にかなう前臨床モデルは限定的である。利用できるモデルは、腫瘍微小環境における CRS 誘導に寄与する様々な型の免疫細胞の全てを代表するものではないか、または骨の折れるモデル開発および操作された免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) 産生を要求する。

【0006】

本明細書における用語「操作された免疫細胞」が、目的の細胞表面抗原に特異的に結合する操作された抗原受容体、すなわち、天然に存在しない受容体を含む (例えば、発現する) いずれかの免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞) を指すことを理解されたい。例えば、「CAR T 細胞」等の「CAR 免疫細胞」は、「操作された免疫細胞」とみなされる。操作された免疫細胞の他の例は、操作された T 細胞受容体 (TCR) を有する T 細胞、操作された (例えば、編集された) 腫瘍浸潤リンパ球 (eTIL) および操作された調節性 T 細胞 (eTreg) を含む。

20

【0007】

本開示の一部の態様は、ヒト免疫細胞およびヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を免疫不全マウスに投与するステップであって、ヒト免疫細胞が、罹患ヒト細胞における細胞表面抗原に特異的に結合する操作された受容体を含み、免疫不全マウスには、罹患ヒト細胞が移植されている、ステップと、かかる免疫不全マウスを、CRS の症状および／またはヒト免疫細胞の有効性についてアッセイするステップとを含む方法を提供する。

30

【0008】

一部の実施形態では、方法は、罹患ヒト細胞を免疫不全マウスに投与するステップをさらに含む。

【0009】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、単球、樹状細胞および好中球から選択される。

【0010】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ゲノム改変された免疫細胞である。

40

【0011】

一部の実施形態では、操作された受容体は、CAR である。

【0012】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、操作された CAR を有する T 細胞である。

【0013】

一部の実施形態では、操作された受容体は、T 細胞受容体 (TCR) である。

【0014】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、操作された TCR を有する T 細胞である。

【0015】

50

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、調節性T細胞（Treg）である。

【0016】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）である。

【0017】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞は、血液細胞、筋肉細胞および神経細胞から選択される。

【0018】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞は、腫瘍細胞である。

【0019】

一部の実施形態では、腫瘍細胞は、初代腫瘍細胞である。

10

【0020】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞は、がん性細胞である。

【0021】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞は、非がん性細胞である。

【0022】

一部の実施形態では、PBMCおよびヒト免疫細胞は、自家である。

【0023】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞、PBMCおよびヒト免疫細胞は、自家である。

【0024】

一部の実施形態では、PBMCおよびヒト免疫細胞は、同種異系である。

20

【0025】

一部の実施形態では、方法は、ヒト免疫細胞およびヒトPBMCを免疫不全マウスに投与するステップに先立ち、免疫不全マウスに照射するステップをさらに含む。

【0026】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞およびヒトPBMCは、同時に投与される。

【0027】

一部の実施形態では、方法は、アッセイするステップに先立ち、免疫不全マウスにCRSを処置するための候補薬剤を投与するステップをさらに含む。

【0028】

一部の実施形態では、マウスは、非肥満糖尿病（NOD）マウスである。

30

【0029】

一部の実施形態では、マウスは、Prkdc遺伝子におけるヌル変異およびIl2rg遺伝子におけるヌル変異を含む。

【0030】

一部の実施形態では、マウスは、NOD-Cg. -Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1wjl}/SzJ遺伝子型を有する。

【0031】

一部の実施形態では、マウスは、機能的な主要組織適合複合体I（MHC I）および主要組織適合複合体II（MHC II）を欠損している。

【0032】

一部の実施形態では、マウスは、ヌルH2-A b 1遺伝子を含む。

40

【0033】

一部の実施形態では、マウスは、ヌルMHCクラスI H2-K 1遺伝子を含む。

【0034】

一部の実施形態では、マウスは、ヌルMHCクラスI H2-D 1遺伝子を含む。

【0035】

一部の実施形態では、マウスは、NOD. Cg-Prkdc^{scid}H2-K 1^{tm1Bpe}H2-A b 1^{em1Mvw}H2-D 1^{tm1Bpe}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJマウス（NSG-（K^bD^b）ヌル（IAヌル）マウス）である。

【0036】

50

一部の実施形態では、アッセイするステップは、インターロイキン（IL）-6、IL-10、インターフェロン（IFN）- γ 、単球走化性タンパク質1（MCP-1）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、腫瘍壊死因子（TNF）、IL-1、IL-2、IL-2受容体アルファ（IL-2R α ）、IL-8、IL-4、IL-18およびマクロファージ炎症性タンパク質（MIP）4からなる群より選択されるサイトカインの循環レベルを測定するステップを含む。

【0037】

一部の実施形態では、方法は、

マウスにおけるヒトIFN- γ レベルが、 $\geq 1,800 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトIL-10レベルが、 $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトIL-6レベルが、 $\geq 25 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトIL-2レベルが、 $\geq 80 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトIL-4レベルが、 $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトTNF α レベルが、 $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトIL-8レベルが、 $\geq 15 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；

マウスにおけるヒトMCP-1レベルが、 $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；および／または

マウスにおけるヒトGM-CSFレベルが、 $\geq 600 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である場合に、CRS誘導の可能性が高いと決定するステップをさらに含む。

【0038】

一部の実施形態では、方法は、マウスを、マクロファージ活性化症候群（MAS）についてアッセイするステップをさらに含む。

【0039】

一部の実施形態では、MASの可能性は、IL-6、IL-1および／またはIFN- γ の循環レベルを測定することにより決定される。

【0040】

一部の実施形態では、方法は、マウスを、神経毒性についてアッセイするステップをさらに含む。

【0041】

一部の実施形態では、神経毒性の可能性は、IFN- γ 、IL-6および／またはTNF- α の循環レベルを測定することにより決定される。

【0042】

一部の実施形態では、方法は、肝臓・腎臓機能の血清生化学的解析を行うステップをさらに含む。

【0043】

一部の実施形態では、血清生化学的解析は、次のマーカー：アスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）、アルブミン、総ビリルビン、クレアチニンまたは血中尿素窒素のうち少なくとも1種のレベルを測定するステップを含む。

【0044】

一部の実施形態では、方法は、候補薬剤が、1種または複数の循環サイトカインのレベルを低減させるか否かを決定するステップをさらに含む。

【0045】

一部の実施形態では、方法は、1種または複数のサイトカインの循環レベルが、候補薬剤なしでヒト免疫細胞を投与されたマウスと比べて、ヒト免疫細胞および候補薬剤を投与されたマウスにおいて30～100%低減された場合、候補薬剤が、1種または複数の循環サイトカインのレベルを低減させると決定するステップを含む。

【0046】

一部の実施形態では、罹患ヒト細胞は、ヒト腫瘍細胞であり、アッセイするステップは、ヒト腫瘍細胞の成長を測定するステップを含む。

【0047】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、ヒト腫瘍細胞の成長は、時間をわたって測定される。

【0048】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い腫瘍体積の低減は、有効性を指し示す。

【0049】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い腫瘍負荷の低減は、有効性を指し示す。

【0050】

一部の実施形態では、ヒト腫瘍細胞の成長は、無増悪生存、腫瘍体積倍加時間、相対的腫瘍体積、腫瘍成長阻害または腫瘍成長速度の決定に使用される。

10

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1-1】図1Aは、照射されたMHCクラスI/Iノックアウト(KO)NSG(商標)マウスが、CD19 CAR T細胞処置後に、対照の照射されていないマウスと比較して、増加したサイトカイン放出を有したことを実証するデータを提示する。図1Bは、照射されていないマウス(D10)および照射されたマウス(D9)が、CAR T細胞処置時に同様の腫瘍負荷を有したことを実証するデータを提示する。

【図1-2】同上。

【0052】

【図2-1】図2Aは、低い腫瘍負荷を有するマウスにおけるCD22 CAR T細胞処置が、NSG(商標)およびRaji-Luc NSGクラスI/I KO(DKO)の両方においてRaji-Luc腫瘍成長を効率的に遮断したことを実証するデータを提示する。図2Bは、Raji-Luc NSG(商標)およびRaji-Luc NSG(商標)I/I KOモデルの両方における、CD22 CAR T細胞注入後の非常に低いレベルのヒトサイトカイン誘導を示すデータを提示する。

20

【図2-2】同上。

【0053】

【図3-1】図3Aは、増加したサイトカインレベルが、Raji-LucモデルにおけるCD19 CAR T細胞処置後の高い腫瘍負荷と相関したことを実証するデータを提示する。図3Bは、高い腫瘍負荷を有するマウスにおけるCD19 CAR T細胞処置の有効性は低かったが、より低い腫瘍負荷を有するマウスにおけるCD19 CAR T細胞処置が腫瘍進行を防止することができることを実証するデータを提示する。

30

【図3-2】同上。

【0054】

【図4】図4は、CD19 CAR T細胞処置単独(PBMCなし)またはPBMC移植単独(CAR T細胞なし)によるマウスと比較した、自家末梢血単核細胞(PBMC)移植/CD19 CAR T細胞処置後の、中等度の腫瘍負荷マウスからのサイトカイン放出の時間経過を示す。

【0055】

【図5-1】図5Aは、PBMCヒト化DKOマウスにおける自家CD22 CAR T細胞処置が、Raji-Luc腫瘍進行を遮断したことを実証するデータを提示する。図5Bは、PBMCヒト化DKOマウスにおける自家CD22 CAR T細胞処置が、モック(mock) T細胞処置と比較して、より高いヒトサイトカイン放出を誘導したことを実証するデータを提示する。

40

【図5-2】同上。

【0056】

【図6-1】図6Aは、PBMCヒト化なしでCD19 CAR T細胞を受けるマウスと比較した、CD19 CAR T細胞/PBMC処置後の中等度の腫瘍負荷を有するマウスからの増加したサイトカイン放出を示すデータを提示する。図6Bは、腫瘍負荷を定量的に測定するための平均ラジアンズを使用した、in vivoバイオルミネセンスイ

50

メージング（B L I）プロットを示す。図 6 C は、異なる実験日におけるこれらのマウスのバイオルミネセンス画像を示す。

【図 6 - 2】同上。

【図 6 - 3】同上。

【0057】

【図 7】図 7 A ~ 図 7 B は、腫瘍負荷（図 7 A、左）、マウス体重変化（図 7 A、右）およびサイトカイン放出（図 7 B）に対する C A R T 投薬量の効果を示すグラフである。

【0058】

【図 8 - 1】図 8 A ~ 図 8 C は、対照マウスと比較した、P B M C ヒト化マウスにおける C A R T 細胞療法由来のデータを示すグラフである。腫瘍負荷（図 8 A）、体重（図 8 B）、ならびにヒトインターフェロン（I F N）、腫瘍壊死因子（T N F）、インターロイキン - 10（I L - 10）および I L - 6 のレベル（図 8 C）を示す。

【図 8 - 2】同上。

【0059】

【図 9 - 1】図 9 A ~ 図 9 C は、R a j i _ L u c 腫瘍を有する異なる P B M C ヒト化マウス由来の同種異系 C D 19 C A R T の有効性を示すグラフである。腫瘍負荷イメージング（図 9 A）、C D 3 - C D 19 + 細胞集団のフロー解析（図 9 B）および体重減少（図 9 C）を示す。

【図 9 - 2】同上。

【図 9 - 3】同上。

【0060】

【図 10 - 1】図 10 A ~ 図 10 C は、2つの時点における、同種異系 C D 19 C A R T 処置後の R a j i _ L u c 腫瘍を有する異なる P B M C ヒト化マウスにおける I F N（図 10 A）、I L - 10（図 10 B）および I L - 6（図 10 C）のレベルを示すグラフである。

【図 10 - 2】同上。

【図 10 - 3】同上。

【0061】

【図 11 - 1】図 11 A ~ 図 11 D は、自家 C D 19 C A R T 処置後の異なる P B M C ヒト化マウスからのサイトカイン放出および毒性の変動を示す。プロトコルを図 11 A に模式的に示す。図 11 B は、処置後の C D 3 - C D 19 + 細胞のパーセンテージを示す。図 11 C は、体重を経時的に示し、図 11 D は、処置後のサイトカインレベルを描写する。

【図 11 - 2】同上。

【発明を実施するための形態】

【0062】

詳細な説明

キメラ抗原受容体（C A R）免疫細胞療法および他の操作された免疫細胞療法等の操作された免疫細胞療法は、遺伝子移入を使用して、少なくとも 1 種の操作された抗原受容体（例えば、C A R または T C R）を発現するように免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞、N K 細胞）を再プログラミングし、その結果生じる免疫細胞が、特定の疾患（例えば、がん）または細胞型に特異的な細胞表面抗原を認識および標的化することを可能にする。例えば、C A R T 細胞は、悪性細胞を認識およびこれに結合した後に悪性細胞を排除する。このように、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法は、血液学的悪性疾患の処置に使用されており、現在、固形腫瘍がんを処置するために開発中である。同様に、操作された免疫細胞を使用して、罹患細胞に特異的な細胞表面抗原（例えば、心血管疾患、代謝性疾患または他の病理学的状態に関連する）を標的化（例えば、これに結合）することができる。

【0063】

操作された T 細胞療法等の操作された免疫細胞療法は、サイトカイン放出症候群（C R

S) および T 細胞関連脳症症候群 (神経毒性) 等のいくつかの既知の副作用を有する。いずれか一方または両方の合併症が、著しい罹患率および死亡率を生じ得る。

【0064】

追加のまたは代替のがん免疫療法は、ナチュラルキラー細胞の再プログラミングに使用される CAR の使用を含む。NK 細胞は、厳密なヒト白血球抗原 (HLA) 適合を要求することも、移植片対宿主病のリスクを保有することもないため、CAR ナチュラルキラー細胞 (CAR NK) 療法は、すぐに入手可能な (off-the-shelf) (例えば、普遍的な) 療法であり得る。初代 NK 細胞単離、拡大増殖および形質導入は未だ改良中であるため、CAR NK 療法は開発途上にある。

【0065】

B 細胞、樹状細胞、単球 / マクロファージおよび好中球等の他の免疫細胞を、少なくとも 1 種の操作された抗原受容体 (例えば、CAR または TCR) を発現するように再プログラミングすることもできる。

【0066】

本明細書に記載されているマウスモデルを使用して、特定の操作された免疫細胞 (例えば、CAR または TCR 免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞)) 療法が、CRS または他の副作用を伴う可能性があるか否か評価することができる。本明細書に記載されているマウスモデルは、ヒト化されており、したがって、サイトカイン放出に寄与し得るヒト免疫細胞 (例えば、T 細胞、単球および NK 細胞) を含む。このように、本明細書に記載されているマウスモデルは、*in vivo* CRS 誘導をより正確に表し、ヒトサイトカイン放出のより厳密な評価を可能にする。本明細書に記載されているマウスモデルはまた、CAR を発現する免疫細胞等の操作された免疫細胞 (その治療効果は、多くの場合、サイトカインの放出によって媒介される) の治療有効性に干渉することなく CRS の処置に有効である薬剤の同定に有用である。同様に、本明細書に記載されているマウスモデルを使用して、CRS を誘導することのない、ある特定の疾患 (例えば、がん) の処置に有効な、操作された免疫細胞 (例えば、CAR 構築物を有する、例えば、CAR 免疫細胞) を同定することができる。

【0067】

操作された免疫細胞療法

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、罹患ヒト細胞における細胞表面抗原に特異的に結合する操作された受容体を含む。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、養子細胞療法 (ACT) において使用することができる細胞である。本明細書で使用される場合、「養子細胞療法」(ACT) は、輸注に先立ち *ex vivo* で拡大増殖された、遺伝子改変されたまたはされていない自家または同種異系免疫細胞の輸注に関する細胞に基づく免疫療法を指す。ヒト免疫細胞は、一部の実施形態では、操作された免疫細胞である。

【0068】

一部の実施形態では、操作された受容体は、操作された T 細胞受容体 (eTCR) である。本明細書に記載されている場合、「eTCR」は、主要組織適合複合体 (MHC) 分子によって提示される抗原の認識 (すなわち、MHC 分子の文脈における抗原認識) に典型的に関与するアルファ-ベータまたはガンマー-デルタ受容体を形成する二量体異種細胞表面シグナル伝達タンパク質を指す。これは、がん細胞の特異的な表面抗原に結合する抗体断片が使用される、CAR T 細胞療法とは異なる。一部の実施形態では、eTCR は、組織適合性抗原 1 (HA1)、ウィルムス腫瘍 1 (WT1)、サイトメガロウイルス (CMV)、黒色腫抗原 (MAGE)、糖タンパク質 100 (gp100)、MAR-1、ヒトパピローマウイルス-16 E6 タンパク質 (HPV-16 E6)、New York 食道扁平上皮癌 (NY-ESO-1)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、タンパク質 53 (P53)、癌胎児抗原 (CEA)、HPV E7、HIV gag 特異的ペプチド SL YNTVATL (SL9)、トランスフォーミング増殖因子-ベータ 2 (TGFβ2)、単球走化性タンパク質 (MCPyV)、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL)、黒色腫において優先的に発現される抗原 (PRAME)、エプスタイン・バーウィ

10

20

30

40

50

ルス (EBV)、またはカーステンラット肉腫ウイルス (KRAS) (Zhao et al., Front. Immunol., 11 October 2019) を標的化または認識するように改変される。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、eTCRを有するT細胞である。

【0069】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、操作された腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を含む。TIL療法 (または操作されたTIL療法、eTIL療法) において、TILは、対象の腫瘍から除去され (例えば、生検または外科的切除の際に)、インターロイキン-2 (IL-2) および／または他のサイトカインと共に *ex vivo* で育成および拡大増殖される。いくつかの腫瘍に天然に存在し、がん細胞を認識し死滅させることができるTILは次いで、対象に投与される (例えば、注入によって)。一部の実施形態では、TILは、腫瘍ホーミング能力、細胞傷害を増加させるように、および／または寿命を改善する (疲弊を防止する) ように改変された、操作されたTIL (eTIL) である (Jimenez-Reinoso et al., Front. Oncol., 16 February 2021)。例えば、一部の実施形態では、eTILは、TRAIL、IL-12、CXCL8および／またはCXCR2をトランスフェクトされ得る。

【0070】

一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、調節性T細胞 (Treg) である。本明細書で使用される場合、サプレッサーT細胞としても公知の「調節性T細胞」 (Treg) は、免疫系をモジュレートし、自己抗原に対する寛容を維持し、自己免疫性疾患を防止するT細胞の亜集団である。Tregは、 $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ であり、免疫抑制的であり、一般に、Tエフェクター細胞の誘導および増殖を抑制または下方調節する。一部の実施形態では、Tregの投与は、がんを処置または防止することができる。例えば、Tregの投与が、炎症を下方調節し、細菌誘発性結腸炎および結腸直腸がんの発症を遮断することが見出された (Poutahidis et al., Carcinogenesis, 2007 Dec;28(12):2614-23. doi:10.1093/carcin/bgm180. Epub 2007 Aug 27)。一部の実施形態では、Tregは、後述する通り、キメラ抗原受容体 (CAR) を含む (Mohseni et al., Front. Immunol., 24 July 2020)。本明細書に記載されている多くの実施形態は、がんの処置に関する細胞療法の効果の評価を対象にするが、本開示がそのようなものに限定されないことを理解されたい。本明細書に記載されているマウスモデルを使用して、無数の操作された免疫細胞療法、特に、CRSの誘導を伴う操作された免疫細胞療法を評価することができる。よって、一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトT細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトB細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトNK細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトCAR T細胞 (例えば、 $CD8^+$ または $CD4^+$ T細胞) である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトCAR B細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトCAR NK細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトeTCR T細胞である。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトeTILである。一部の実施形態では、ヒト免疫細胞は、ヒトeTregである。ヒト免疫細胞のうちいずれか1個または複数は、罹患ヒト細胞 (例えば、がん細胞、または心血管疾患、代謝性疾患もしくは他の病理学的状態に関連する他の細胞) における細胞表面抗原に特異的に結合する操作された受容体を含むことができる。

【0071】

キメラ抗原受容体 (CAR) 免疫細胞療法

「キメラ抗原受容体」は、罹患細胞 (例えば、腫瘍細胞) によって発現された抗原を認識しこれに結合するように操作された人工の免疫細胞受容体を指す。一般に、CARは、T細胞のために設計されており、T細胞受容体 (TCR) 複合体のシグナル伝達ドメインと、抗原認識ドメイン (例えば、抗体の単鎖断片 (scFv) または他の抗体断片) のキメラである (Enblad et al., Human Gene Therapy, 2015; 26(8):498-505)。CARを発現するT細胞は、「CAR T細胞」と称される。一部の実施形態では、T細胞は、Treg ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$) であり、その結果生じるCAR T

細胞は、「CAR Treg細胞」と称される。

【0072】

CARには5つの世代があり、各世代は、異なる構成成分を含有する。第一世代CARは、ヒンジおよび膜貫通ドメインを介して、抗体由来のscFvをT細胞受容体のCD3ゼータ（ ζ または z ）細胞内シグナル伝達ドメインに連結する。第二世代CARは、追加のドメイン、例えば、CD28、4-1BB（41BB）またはICOSを取り込んで、共刺激シグナルを供給する。第三世代CARは、TCR CD3- ζ 鎖と融合された2個の共刺激ドメインを含有する。第三世代共刺激ドメインは、例えば、CD3 z 、CD27、CD28、4-1BB、ICOSまたはOX40の組合せを含むことができる。CARは、一部の実施形態では、単鎖可変断片（scFv）に一般的に由来する外部ドメイン（例えば、CD3 ζ ）、ヒンジ、膜貫通ドメインおよび内部ドメイン（endodomain）と、CD3Zおよび／または共刺激分子に由来する1個（第一世代）、2個（第二世代）または3個（第三世代）のシグナル伝達ドメインを含有する（Maude et al., Blood. 2015; 125(26):4017-4023; Kakarla and Gottschalk, Cancer J. 2014; 20(2): 151-155）。

10

【0073】

一部の実施形態では、キメラ抗原受容体（CAR）は、第四世代CARとしても公知の、普遍的なサイトカインによる死滅のために再指向されたT細胞（T cell redirected for universal cytokine killing）（TRUCK）である。TRUCKは、標的化された組織、例えば、標的化された腫瘍組織中に蓄積するトランスジェニックサイトカイン、IL-12を産生および放出するためのビヒクルとして使用される、CARが再指向されたT細胞である。トランスジェニックサイトカインは、標的のCAR係合後に放出される。これは、標的化された部位に治療濃度をもたらす、全身性の毒性を回避することができる。

20

【0074】

一部の実施形態では、CAR T細胞は、第五世代CARまたは次世代CARである。第五世代CAR T細胞は、第二世代CARに基づき、サイトカイン受容体の追加の細胞内ドメインを有する。一部の実施形態では、追加の細胞内ドメインは、転写因子であるSTAT3／5の結合部位である、細胞質IL-2受容体（例えば、STAT3／5結合モチーフを有するIL-2R β ）である（Tokarew et al., British Journal of Cancer. 2019; 120: 26-37）。結合部位を含むことにより、CARは、完全T細胞活性化および増殖を生理的に駆動するのに必要な全3種の相乗的シグナルを産生することができる：TCR（CD3 ζ ドメインを介して）、共刺激（CD28ドメイン）およびサイトカイン（JAK-STAT3／5）シグナル伝達。

30

【0075】

CARは典型的に、その機能的な特性が異なる。T細胞受容体のCD3 ζ シグナル伝達ドメインは、係合されると、T細胞を活性化し、その増殖を誘導することになるが、アネルギー（末梢リンパ球寛容の直接的な誘導をもたらす、身体の防御機構による反応の欠如）を生じ得る。リンパ球は、特異的抗原に応答することができない場合、アネルギー性とみなされる。第二世代CARにおける共刺激ドメインの付加は、改変されたT細胞の複製能力および持続を改善した。同様の抗腫瘍効果が、CD28または4-1BB CARによりin vitroで観察されるが、前臨床in vivo研究は、4-1BB CARが、より優れた増殖および／または持続を生じ得ることを示唆する。臨床試験は、これらの第二世代CARの両方が、in vivoで実質的なT細胞増殖を誘導することができるが、4-1BB共刺激ドメインを含有するCARが、より長く持続すると思われることを示唆する。第三世代CARは、複数のシグナル伝達ドメイン（共刺激性）を組み合わせ、効力を増す。第四世代CARはその上、CAR T細胞によって放出されるトランスジェニックサイトカインのための構成的または誘導性発現カセットにより改変されて、T細胞応答をモジュレートする。例えば、Enblad et al., Human Gene Therapy. 2015; 26(8):498-505; Chmielewski and Hinrich, Expert Opinion on Biolog

40

50

ical Therapy, 2015;15(8): 1145-1154を参照されたい。上に記される通り、第五世代CARは、サイトカイン受容体ドメインをさらに含み、サイトカインシグナル伝達を誘発し、T細胞増殖および維持をさらに増強することができる (Tokarew et al., British Journal of Cancer, 2019; 120: 26-37)。

【0076】

CAR技術を使用して他の免疫細胞を再プログラミングすることができる。例えば、NK細胞、B細胞、樹状細胞、単球／マクロファージおよび好中球を再プログラミングして、少なくとも1種のCARを発現させることもできる。

【0077】

NK細胞は、骨髄に由来し、ウイルスから防御し、がんを防止する。NK細胞は、細胞 (例えば、ウイルス感染細胞) にとって致死的な化学物質の組合せを注射することにより、細胞を死滅させることができる。NK細胞は、がん免疫療法のために研究されている (Xie et al., EBioMedicine, 2020, 59: 102975; Wang et al., Cancer Letters, 2020, 472:175-180; Pfefferle et al., Cancers (Basel), 2020, 12(3): 76; Habib et al., Ochsner Journal, 2019, 19(3): 186-187)。

【0078】

B細胞 (B-リンパ球) は、骨髄において造血幹細胞から発生する免疫細胞であり、抗体を産生する。B細胞は、健康な組織に対する抗体を産生しないように「訓練」されており、外来性 (非自己) 材料に遭遇すると、形質細胞またはメモリー細胞へと成熟する。

【0079】

樹状細胞は、抗原材料をプロセッシングし、それをそれぞれの細胞表面においてT細胞に対して提示する抗原提示細胞である。このように、樹状細胞は、自然および適応免疫系の間の連絡役として作用する。CAR樹状細胞 (CAR-DC) は、CAR T細胞と併せて使用されて、抗がん細胞傷害を改善してきた (Suh et al., Journal of Clinical Oncology, 2018, 35(7): 144)。

【0080】

単球 (マクロファージ) は、あらゆる組織に見出される免疫系の貪食細胞である。単球 (マクロファージ) は、適応および自然免疫の両方において役割を果たし、一部の事例では、T細胞と協力して微生物を死滅させる。CARマクロファージ (CAR-M) は、卵巣がん細胞系における腫瘍細胞を低減または排除することが示されてきた (Klichinsky et al., Nature Biotechnology, 2020, 38: 947-53)。

【0081】

好中球 (多形核白血球、顆粒球) もまた、骨髄において発生し、血流から離れて、感染組織中に蓄積する。典型的には、感染の急性期において、好中球は、炎症部位へと遊走し、そこで、生物を消化して死滅させる。

【0082】

一部の実施形態では、操作された免疫細胞 (例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞) 療法は、自家である; すなわち、例えば、対象のT細胞が収集され、CAR T細胞の生成に使用され、後に、CAR T細胞は対象の処置に使用される。

【0083】

一部の実施形態では、操作された免疫細胞は、普遍的な同種異系の操作された免疫細胞 (例えば、「すぐに入手可能な」操作された免疫細胞) である。同種異系の操作された免疫細胞は、ドナー免疫細胞; すなわち、操作された免疫細胞 (例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞) 療法を受ける対象 (レシピエント) 以外の供給源由来の免疫細胞を使用する。一部の実施形態では、ドナー免疫細胞は、健康なヒト (例えば、成人または小児) に由来する。例えば、操作された免疫細胞が、対象の細胞における細胞表面HLAクラスIIおよびクラスII分子を「非自己」として認識し、これを攻撃する場合、同種異系の操作された免疫細胞 (例えば、CAR T細胞) は、投与後に対象において移植片対宿主病 (GVHD) を引き起こし得る。T細胞に関するこの問題を回避するために、遺伝子編集ツール (例えば、ジंकフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレア

10

20

30

40

50

ーゼまたはクラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（C R I S P R）／C R I S P R 関連タンパク質 9（C a s 9））を使用して、C A R T 細胞の T 細胞 $\alpha \beta$ 受容体（T C R $\alpha \beta$ ）をノックアウトすることができる（Kim et al., Biomolecules. 2020; 10(2):263）。このように、普遍的な同種異系 C A R T 細胞を任意の対象（レシピエント）に投与することもできる。

【0084】

一部の実施形態では、キメラ抗原受容体（C A R）は、抗原結合ドメインを含む細胞外ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、完全にヒトのものである。一部の実施形態では、C A R の抗原結合ドメインは、1 種または複数の抗原に特異的である。一部の実施形態では、「スパーサー」ドメインまたは「ヒンジ」ドメインは、C A R の細胞外ドメイン（抗原結合ドメインを含む）および膜貫通ドメインの間に、または C A R の細胞質ドメインおよび膜貫通ドメインの間に位置する。

「スパーサードメイン」は、ポリペプチド鎖において膜貫通ドメインを細胞外ドメインおよび／または細胞質ドメインに連結するように機能する、いずれかのオリゴペプチドまたはポリペプチドを指す。「ヒンジドメイン」は、C A R もしくはそのドメインに可撓性をもたらし、または C A R もしくはそのドメインの立体障害を防止するように機能するいずれかのオリゴペプチドまたはポリペプチドを指す。一部の実施形態では、スパーサードメインまたはヒンジドメインは、最大 300 アミノ酸（例えば、10～100 アミノ酸または 5～20 アミノ酸）を含むことができる。一部の実施形態では、1 個または複数のスパーサードメイン（複数可）が C A R の他の領域に含まれてよい。

【0085】

一部の実施形態では、本開示の C A R は、抗原（例えば、腫瘍抗原）に特異的な単鎖 F v（s c F v）等の抗原結合ドメインを含む。結合ドメインの選択は、標的細胞の表面を規定するリガンドの種類および数に依存する。例えば、抗原結合ドメインは、がん、心血管疾患、代謝性疾患、神経生物学的疾患または自己免疫性疾患等の特定の疾患状態に関連する標的細胞における細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択することができる。よって、本開示の C A R における抗原結合ドメインのリガンドとして作用することができる細胞表面マーカーの例は、がん細胞および／または他の形態の罹患細胞に関連する細胞表面マーカーを含む。一部の実施形態では、C A R は、エプスタイン・バーウイルス（E B V）またはパピローマウイルス粒子の表面抗原に特異的に結合する所望の抗原結合ドメインを操作することにより、目的の腫瘍抗原を標的化するように操作される。

【0086】

標的またはエピトープに「特異的に結合する」抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、当技術分野で理解される用語であり、そのような特異的結合を決定するための方法もまた、当技術分野で公知である。分子は、代替標的よりも高頻度に、より迅速に、より長い持続時間でおよび／またはより大きい親和性で、特定の標的抗原と反応または会合する場合、「特異的結合」を示すと言われる。第 1 の標的抗原に特異的に結合する抗原結合ドメイン（例えば、s c F v）は、第 2 の標的抗原に特異的に結合してもしなくてもよい。そのようなものとして、「特異的結合」は、排他的結合を必ずしも要求しない（ただしこれを含み得る）。

【0087】

一部の実施形態では、C A R を発現する免疫細胞は、複数の標的または抗原を認識するように遺伝子改変され、これにより、罹患細胞（例えば、腫瘍細胞）における特有の標的または抗原発現パターンの認識が可能になる。複数の標的に結合することができる C A R の例は、複数の抗原を発現する腫瘍に完全免疫細胞活性化を限定する「分割（split）シグナル C A R」；2 個の s c F v を有する外部ドメインを含有する「タンデム C A R」（T a n C A R）；およびタグ付けされたモノクローナル抗体（m A b）とインキュベートされた腫瘍細胞を認識するためにアビジンまたはフルオレセインイソチオシアネート（F I T C）特異的 s c F v を取り込む「普遍的な外部ドメイン C A R」を含む。

【0088】

一部の実施形態では、標的は、CD19である；すなわち、CARは、CD19 CARである。一部の実施形態では、標的は、CD22である；すなわち、CARは、CD22 CARである。一部の実施形態では、標的は、CD123である；すなわち、CARは、CD123 CARである。他の標的は、CD20、B細胞成熟抗原（BCMA）、C型レクチン様分子-1（CLL-1）、チロシンタンパク質キナーゼ膜貫通受容体1（ROR-1）、IL13R α 2、CD20、CD138、CD33、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、CD171、上皮増殖因子受容体バリエーションIII（EGFRvIII）、線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）、葉酸受容体（FR）、グリピカン-3、ヒト上皮増殖因子受容体2（HER2）、ムチン1、細胞表面関連（MUC1）、メソテリンおよびナチュラルキラー群2D（NKG2D）を含むがこれらに限定されない。一部の実施形態では、CARは、がん細胞の表面に見出されるいずれかの目的の標的または抗原に特異的である。他の実施形態では、CARは、罹患細胞の表面に見出されるいずれかの目的の標的または抗原に特異的である。

10

【0089】

CARは、2種の別個の抗原を認識する（2種の別個の抗原認識ドメインを有する）場合、「二重特異性」であるとみなされる。一部の実施形態では、二重特異性CARは、単一のトランスジェニック受容体にタンデムで存在する、2種の別個の抗原認識ドメインで構成される（TanCARと称される；例えば、参照により本明細書に組み込まれるGrada Z et al. *Molecular Therapy Nucleic Acids* 2013;2:e105を参照）。

20

【0090】

一部の実施形態では、CARは、例えば、腫瘍外（off-tumor）毒性の回避に使用することができる、抗原特異的阻害性CAR（iCAR）である（参照により本明細書に組み込まれる2013年12月11日にオンラインで公開されたFedorov, VD et al. *Sci. Transl. Med.*）。iCARは、例えば、腫瘍以外の（extratumor）標的発現に起因し得る、非特異的免疫抑制を遮断するための、抗原特異的阻害性受容体を含有する。iCARは、例えば、免疫抑制を遮断するために阻害性分子CTLA-4もしくはPD-1に、または白血球破壊を遮断するためにCD52等の汎白血球抗原に基づくことができる。一部の実施形態では、このようなiCARは、その内在性T細胞受容体または活性化CARのいずれかによって活性化されたT細胞からのT細胞応答を遮断する。

30

【0091】

一部の実施形態では、CARは、養子細胞移入における使用のために操作され、この場合、免疫細胞は、対象から除去され、抗原、例えば、腫瘍特異的抗原に特異的な受容体を発現するように改変される。改変された免疫細胞は、次にがん細胞を認識し、死滅させ得、対象に再導入される（それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、Pule, et al., *Cytotherapy*, 2003; 5(3): 211-226; Maude et al., *Blood*, 2015; 125(26): 4017-4023）。

【0092】

サイトカイン放出症候群

サイトカイン放出症候群（CRS）は、T細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞、ならびに他の免疫細胞集団（例えば、マクロファージ）の活性化により発生する。操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）の添加により、免疫細胞の活性化は、高レベルのサイトカインの放出ならびに下流の傷害およびおそらくは死亡をもたらし得る。T細胞およびNK細胞の両方が、ある特定の免疫調節薬に応答したCRSの供給源であることが見出された（Wing M.G. et al. (1995) *Ther. Immunol.* 2:183-190; Carson W.E., (1999) *J Immunol* 162:4943-4951）。異なる免疫調節薬および様々な免疫細胞集団の活性化により、CRSは、様々な活性化免疫細胞集団に伴い変動し得る、高レベルのサイトカイン放出により顕在化し得る。

40

【0093】

CRSの病因に関連する主なサイトカインは、インターロイキン-6（IL-6）、イ

50

ンターロイキン-10 (IL-10)、インターフェロン (IFN) - γ 、単球走化性タンパク質1 (MCP-1) および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を含む。TNF、IL1、IL2、IL-2受容体- α およびIL8を含むいくつかの他のサイトカインもまた、CRSに関連した。がん患者、特に、操作された免疫細胞 (例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞) 療法を受けているがん患者におけるCRS毒性に寄与するいくつかの因子は、CARの構造、高い腫瘍負荷、より高い免疫細胞注入用量、ならびに炎症の既存の状態およびベースライン内皮活性化等の他の患者特異的因子を含む。

【0094】

生命を脅かす高度CRS毒性を防止するためのアプローチの1つは、CRS発症早期に (例えば、対象がCRSの症状を最初に示したときに) 抗サイトカイン療法を投与することである。トシリズマブ (IL6アンタゴニスト) は、例えば、米国食品医薬品局 (FDA) によって、重度のまたは生命を脅かすCAR T細胞誘導性CRSの処置について承認された。CAR T細胞誘導性CRSのための他の処置は、抗IL-6抗体 (例えば、シルツキシマブ)、コルチコステロイド (例えば、メチルプレドニゾン)、抗TNF- α 薬 (例えば、エタネルセプト)、IL-1R阻害剤 (例えば、アナキンラ)、GM-CSF阻害剤および小分子阻害剤 (例えば、ルキシソリチニブ (JAK1/2阻害剤) およびブルトン型チロシンキナーゼ阻害剤) を含む。一部の実施形態では、本明細書に提供されるマウスモデルは、例えば、本明細書の他の箇所により詳細に記載されている通り、操作された免疫細胞 (例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞) 療法を受けている対象における、候補CRS処置に関連する治療有効性および/または副作用の評価に使用される。

【0095】

免疫不全マウスモデル

一部の実施形態では、免疫不全マウスモデルが本明細書に提供される。当技術分野で公知の通り、免疫不全マウスは、MHCクラスI、IIまたはその両方における特異的な欠乏、B細胞もしくはT細胞欠損またはその両方における欠損と共に、サイトカイン、サイトカイン受容体、TLR受容体ならびにシグナル伝達経路の種々のトランスデューサーおよび転写因子の遺伝子のノックダウンによる免疫不全等、損なわれたまたは破壊された免疫系を有する。免疫不全マウスモデルは、ヌードマウス (nu) 系統および重症複合免疫不全 (scid) 系統、非肥満糖尿病 (NOD) 系統、標的化された遺伝子欠失によるRAG (組換え活性化遺伝子) 系統等の単一遺伝子変異モデル、ならびに自然および適応免疫における追加の欠損を有する二重および三重変異マウス系統を交雑することにより生じた種々のハイブリッドを含む。

【0096】

自発的なおよびトランスジェニックの免疫不全マウスモデルの非限定的な例は、次のマウス系統を含む：

- ・ ヌード (nu) [Flanagan SP. Genet Res 1966; 8:295-309; およびNehls M et al. Nature 1994; 372: 103-7] ;
- ・ Scid (scid) [Bosma GC et al. Nature 1983;301:527-30; Mosier DE et al. Nature 1988; 335: 256-9; およびGreiner DL et al. StemCells 1998; 16: 166-77] ;
- ・ NOD [Kikutani H et al. Adv Immunol 1992;51: 285-322; およびAnderson MS et al. Ann Rev Immunol 2005; 23: 447-85] ;
- ・ RAG1およびRAG2 (rag) [Mombaerts P et al. Cell1992; 68: 869-77; Shinkai U et al. Cell 1992; 68: 855-67] ;
- ・ NOD-scid [Greiner DL et al. 1998; ShultzLD et al. J Immunol 1995; 154: 180-91; Melkus MW et al. Nature Med 2006; 12:1316-22; およびDenton PW et al. PLoS Med 2008; 4(12): e357] ;
- ・ IL2rg ヌル [DiSanto JP et al. Proc Natl AcadSci USA 1995; 92: 377-81] ;

10

20

30

40

50

- ・ B2mヌル [Christianson SW et al. J Immunol 1997; 158: 3578-86] ;
- ・ NOD-scid IL2ryヌル [Shultz LD et al. Nat Rev Immunol 2007; 7: 118-30; Ito M et al. Blood 2002; 100: 3175-82; Ishikawa I et al. Blood 2005; 106: 1565-73; および Macchiarini F et al. J Exp Med 2005; 202:1307-11] ;
- ・ NOD-scid B2mヌル [Shultz et al. 2007; Shultz LD et al. Transplantation 2003; 76: 1036-42; Islas-Ohlmayer MA et al. J Virol 2004; 78:13891-900; および Macchiarini et al. 2005] ; ならびに
- ・ HLAトランスジェニックマウス [Grusby MJ et al. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90(9): 3913-7; および Roy CJ et al. Infect Immun 2005; 73(4): 2452-60] 。例えば、Belizario JE The Open Immunology Journal, 2009; 2:79-85を参照されたい。
- ・ NSG-HLA-A2/HHD (Leonard D. Shultz et al. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107(29): 13022-27) 。
- ・ NSG-Tg (Hu-IL15) [0097]

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、NOD（非肥満糖尿病）遺伝子型を有する。NODマウス（例えば、NOD/ShiLtJマウス、Jackson Labs ストック#001976）は、高血糖および膵島炎、膵島細胞の白血球浸潤によって特徴付けられる、自己免疫性1型糖尿病のための多遺伝子性モデルである。NODマウスは、低インスリン血症性かつ高グルカゴン血症性であり、膵島ベータ細胞の選択的破壊を指し示す。NODマウスにおける糖尿病感受性の主要構成成分は、特有のMHCハプロタイプである。NODマウスは、欠損した抗原提示細胞免疫調節性機能、Tリンパ球レパートリーの調節の欠損、欠損したNK細胞機能、マクロファージからの欠損したサイトカイン産生（Fan et al., 2004）、および損なわれた創傷治癒を含む、複数の異常な免疫表現型も示す。NODマウスはまた、溶血性補体、C5を欠如する。NODマウスはまた、重度に聴力低下している。免疫不全を引き起こす種々の変異、サイトカイン遺伝子における標的化された変異と共に、免疫機能に影響する導入遺伝子が、NOD近交系系統バックグラウンドへと戻し交雑された。

[0098]

本開示の一部の態様では、NODバックグラウンドに基づく本明細書に提供される免疫不全マウスは、NOD-Cg.-PrkdcscidIL2rg^{tm1WjL}/SzJ (NSG)、NOD.Cg-Rag1^{tm1Mom}IL2rg^{tm1WjL}/SzJ (NRG) およびNOD.Cg-PrkdcscidIL2rg^{tm1Sug}/ShiJicから選択される遺伝子型を有することができる。例えば、マウスは、NOD-Cg.-PrkdcscidIL2rg^{tm1WjL}/SzJ (NOG) 遺伝子型を有することができる。他の免疫不全マウス系統が、本明細書に企図されている。

[0099]

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、NSG（商標）遺伝子型を有する。NSG（商標）マウス（例えば、Jackson Labs ストック番号：#005557）は、成熟T細胞、B細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞を欠如し、複数のサイトカインシグナル伝達経路を欠乏し、自然免疫に多くの欠損を有する、免疫不全マウスである（例えば、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、(Shultz, Ishikawa, & Greiner, 2007; Shultz et al., 2005; Shultz et al., 1995) を参照）。NODマウス系統NOD/ShiLtJに由来するNSマウス（例えば、参照により本明細書に組み込まれる (Makino et al., 1980) を参照）は、Prkdcscid変異（「重症複合免疫不全」変異または「scid」変異とも称される）およびIL2rg^{tm1WjL}標的化変異を含む。Prkdcscid変異は、ヒトPRKDC遺伝子のマウスホモログにおける機能喪失型（ヌル）変異である。この変異は、適応免疫を本質的に排除する（例えば、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、(Blunt et al., 1995; Greiner, He

sselton, & Shultz, 1998) を参照)。I l 2 r g^{tm1Wjl}変異は、インターロイキン2受容体ガンマ鎖 (I L 2 R γ、ヒトにおけるI L 2 R Gと相同) をコードする遺伝子におけるヌル変異であり、これは、NK細胞分化を遮断し、これにより、初代ヒト細胞の効率的な移植を防止する障壁を除去する (それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、(Cao et al., 1995; Greiner et al., 1998; Shultz et al., 2005))。

【0100】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、N R G遺伝子型を有する。N R Gマウス (例えば、J a c k s o n L a b s ストック# 0 0 7 7 9 9) は、極度に免疫不全である。このマウスは、N O D / S h i l t J 遺伝的バックグラウンドに2個の変異を有する; 組換え活性化遺伝子1 (R a g 1) における標的化されたノックアウト変異、およびI L 2 受容体共通ガンマ鎖の完全ヌル対立遺伝子 (I L 2 r g^{ヌル})。R a g 1^{ヌル}変異のため、マウスはB細胞およびT細胞が欠乏し、I L 2 r g^{ヌル}変異は、複数の受容体を介したサイトカインシグナル伝達を防止し、機能的なNK細胞の欠乏をもたらす。重度免疫不全により、ヒトC D 3 4 + 造血幹細胞 (H S C) および患者由来異種移植片 (P D X) を高効率で移植してマウスがヒト化されることが可能になる。免疫不全N R Gマウスは、D N A 修復酵素P r k d cにおいてs c i d変異を有するマウスよりも、照射および遺伝毒性薬物に対して抵抗性が高い。

【0101】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、N O G遺伝子型を有する。N O Gマウス (I t o m e t a l., Blood 2002) は、N O D / s c i dマウスおよびI L - 2 受容体γ鎖ノックアウト (I L 2 r y K O) マウス (O h b o K. e t a l., Blood 1996) を組み合わせることによって確立された、極度重症複合免疫不全マウスである。N O Gマウスは、T およびB細胞を欠如し、ナチュラルキラー (N K) 細胞を欠如し、低減した樹状細胞機能および低減したマクロファージ機能を示し、補体活性を欠如する。

【0102】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、N C G遺伝子型を有する。N C Gマウス (例えば、C h a r l e s R i v e r ストック# 5 7 2) は、N O D / N j uマウスにおけるP r k d cおよびI l 2 r g遺伝子座の逐次的なC R I S P R / C a s 9編集によって創出され、N O D / N j uに対してコアイソジェニック (coisogenic) なマウスを生成した。N O D / N j uは、外来性造血幹細胞の移植を可能にする、S i r p a (S I R P α) 遺伝子における変異を保有する。P r k d cノックアウトは、適切なT細胞およびB細胞形成を欠如するS C I D様表現型を生成する。I l 2 r g遺伝子のノックアウトは、S C I D様表現型をさらに増悪させる一方、その上、NK細胞産生の減少をもたらす。

【0103】

本明細書で使用される標準遺伝的命名法が、異なる齧歯類系統に特有の識別をもたらし、系統記号が、使用される系統またはストックの種類および当該系統の遺伝的内容に関する基本情報を伝えることも理解されたい。系統およびストックを記号化するための規則は、I n t e r n a t i o n a l C o m m i t t e e o n S t a n d a r d i z e d G e n e t i c N o m e n c l a t u r e f o r M i c eによって公表されている。規則は、オンラインで、M o u s e G e n o m e D a t a b a s e (M G D ; i n f o r m a t i c s . j a x . o r g) から入手でき、印刷された複写物で発表された (Lyon et al. 1996)。系統記号は典型的に、L a b o r a t o r y R e g i s t r a t i o n C o d e (L a b C o d e) を含む。レジストリは、N a t i o n a l A c a d e m y o f S c i e n c e s、W a s h i n g t o n, D. C. のI n s t i t u t e f o r L a b o r a t o r y A n i m a l R e s e a r c h (I L A R) において維持される。L a b C o d eは、I L A Rのウェブサイト (n a s . e d u / c l s / i l a r h o m e . n s f) において電子的に得ることができる。Davisson MT, Genetic and Phenotypic Definition of Laboratory Mice and Rats / What Constitutes an Acceptable Genetic-Phenotypic Definition, National Research Council (US) International Committee of the Institute for Laboratory Animal Research. Washington

10

20

30

40

50

(DC): National Academies Press (US); 1999も参照されたい。

【0104】

主要組織適合複合体クラスIおよびIIノックアウトマウス

一部の実施形態では、遺伝子改変された免疫不全マウス（例えば、NSG、NRGまたはNOGマウス）は、ゲノム改変を含み、ゲノム改変は、免疫不全マウスを、主要組織適合複合体クラスI（MHC I）および主要組織適合複合体クラスII（MHC II）が欠乏した状態にし、これにより、遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的なMHC Iを欠如し、機能的なMHC IIを欠如する。一部の実施形態では、MHCクラスIおよびMHCクラスIIが欠乏している遺伝子改変された免疫不全マウスは、NOD.Cg-Prkdcscl^dH2-K1tm1BpeH2-Ab1em1MvWH2-D1tm1BpeIl2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG-(K^bD^b)ヌル(IAヌル)マウスと省略、例えば、Jackson Labsストック#025216)である。NSG-(K^bD^b)ヌル(IAヌル)マウスは、H2-KおよびH2-D MHC Iαタンパク質サブクラスのホモ接合ヌル変異((K^bD^b)ヌルと省略)により、機能的なMHC Iを欠如し、MHC IIのH-2Aサブクラスのホモ接合ヌル変異(IAヌルと省略)により、機能的なMHC IIを欠如する。

10

【0105】

一部の実施形態では、MHCクラスIおよびMHCクラスIIが欠乏している遺伝子改変された免疫不全マウスは、NOD.Cg-B2mtm1UncPrkdcscl^dH2d1Ab1-EaIl2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG-B2Mヌル(IA IE)ヌルと省略、例えば、Jackson Labsストック#030547)マウスである。NSG-B2Mヌル(IA IE)ヌルマウスは、β2ミクログロブリンのホモ接合ヌル変異(B2Mヌルと省略)により、機能的なMHC Iを欠如する。NSG-B2Mヌル(IA IE)ヌルマウスは、MHC IIのH-2AおよびH-2Eサブクラスのホモ接合ヌル変異((IA IE)ヌルと省略)により、機能的なMHC IIを欠如する。

20

【0106】

一部の実施形態では、MHCクラスIおよびMHCクラスIIが欠乏している遺伝子改変された免疫不全マウスは、NSG(商標)バックグラウンドにおいてラットインスリンプロモーターの制御下でジフテリア毒素受容体を発現する、NOD.Cg-Prkdcscl^dH2-K1tm1BpeH2-Ab1em1MvWH2-D1tm1BpeIl2rg^{tm1Wjl}Tg(In2-HBEGF)6832Ugfm/Szトランスジェニックマウス(NSG-RIP-DTR(K^bD^b)ヌル(IAヌル)と省略、例えば、Jackson Labsストック#027976)である。ラットインスリンプロモーターの制御下でジフテリア毒素受容体を発現するマウスへのジフテリア毒素(DT)の注射は、マウス脾ベータ細胞死および高血糖をもたらす。NSG-RIP-DTR(K^bD^b)ヌル(IAヌル)系統は、マウス脾ベータ細胞の完全かつ特異的なアブレーションを可能にし、ストレプトゾトシン等の糖尿病誘発性薬物の幅広い毒性効果を回避する。

30

【0107】

ヒト化免疫不全マウスモデル

一部の実施形態では、ヒト化免疫不全マウスモデルは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法のスクリーニングに使用される。本明細書で使用される場合、用語「ヒト化マウス」、「ヒト化免疫欠損マウス(humanized immune deficient mouse)」、「ヒト化免疫不全マウス(humanized immunodeficient mouse)」およびこれらの複数形は、ヒト末梢血単核細胞(PBMC)の移植によってヒト化された免疫不全マウスを指すように互換的に使用される。ヒト化マウスは、免疫不全マウスから始め、必要であれば、あらゆる残っているマウス免疫細胞を枯渇させるおよび／または抑制する（例えば、化学的にまたは放射線により）ことによって生成される。すなわち、免疫不全マウスにおけるヒト免疫系の成功裏の生存は、GVHD(移植片対宿主病)拒絶を防止するためのマウスの免疫系の抑制を要求し得る。免疫不全マウスの免疫系が十分に抑制された後に、マウスに、

40

50

ヒト細胞（例えば、P B M C）が移植される。本明細書で使用される場合、「移植」は、ヒト細胞が、*in vivo*で目的の既存組織へと遊走し、その中に取り込まれる過程を指す。ヒト化免疫不全マウスに関して、移植されたヒトP B M Cは、機能的な成熟ヒト細胞（例えば、T細胞またはNK細胞等の免疫細胞）をもたらす。モデルは、G V H Dが始まる前の移植後4～5週間の特異的な時間枠を有する。モデルの寿命を増加させるために、上に記載されている通り、機能的なM H C IおよびM H C I Iを欠如する二重ノックアウト（D K O）マウスを使用することができる。

【0108】

照射

上に記載されている通り、一部の実施形態では、免疫不全マウスは、P B M Cの移植に先立ち照射される。免疫不全マウスの照射は、末梢血、脾臓および骨髄におけるマウス免疫細胞を破壊し、これにより、ヒトP B M C等のヒト細胞の移植（例えば、ヒトP B M C生存因子を増加させることにより）、ならびに免疫細胞および最終的には操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）の拡大増殖が容易となると考えられる。照射はまた、マウスモデルの「ヒト化」に要求される数のヒト免疫細胞の蓄積に要する時間を短縮する。

10

【0109】

免疫不全マウス（例えば、N S G（商標）マウス）のため、この調製は一般的に、全身ガンマ照射により達成される。照射装置は、その意図される用途に応じてサイズが変動し得る。動物は一般に、短い期間（15分間未満）照射される。照射装置の内側で過ごす時間の量は、放射性同位元素減衰チャート、必要とされる照射の量、および電離エネルギー源（すなわち、セシウムまたはコバルト源が必要とされる、X線対ガンマ線）に応じて変動する。

20

【0110】

骨髄破壊的照射線量は通常、700～1300 c G yであるが、一部の実施形態では、1～100 c G y（例えば、約2、5または10 c G y）または300～700 c G y等のより低い線量を使用することができる。

【0111】

例として、マウスは、100 c G y X線（または75 c G y～125 c G y X線）を照射される。一部の実施形態では、線量は、約1、2、3、4、5、10、20、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200もしくは1300 c G y、または100～300 c G y、200～500 c G y、600～1000 c G yもしくは700～1300 c G y等、本明細書に列挙された線量のうちいずれか2つの間である。一部の実施形態では、免疫不全マウスは、P B M Cおよび罹患細胞（例えば、細胞系または患者由来異種移植片に由来）の移植の約15分、30分、45分、1時間前にまたはそれよりも前に照射される。一部の実施形態では、免疫不全マウスは、照射の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17または18日後にP B M Cを移植される。

30

【0112】

P B M C 移植

上に記載されている通り、一部の実施形態では、照射された免疫不全マウスにP B M Cを移植し、マウスをヒト化する。照射の後かつ罹患細胞（例えば、腫瘍細胞）の移植の前に、照射および罹患細胞（例えば、腫瘍細胞）の移植の後かつ操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与される前に、または操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の投与と同時発生的に、P B M Cを移植することができる。

40

【0113】

用語「末梢血単核細胞（P B M C）」は、丸い核を有する末梢血液細胞を指す。この単核血液細胞は、組織と血液の間を再循環し、感染と戦い、侵入者に適応させるための、免疫系において重要な構成成分である。2つの主な型の単核細胞である、リンパ球および単

50

球が存在する。P B M C のリンパ球集団は典型的に、T 細胞、B 細胞および N K 細胞を含む。

【0114】

P B M C は、例えば、全血試料から単離することができる（例えば、フィコール勾配）。一部の実施形態では、可能な投与のために操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法が考慮されている対象（例えば、ヒト対象）由来の P B M C を使用することができる。

【0115】

免疫不全マウスに P B M C を移植して、ヒト化マウスモデルを得る方法は、当技術分野で公知であり、腹腔内または静脈内注射を含むがこれらに限定されない (Shultz et al., J Immunol, 2015, 174:6477-6489; Pearson et al., CurrProtoc Immunol, 2008; 15-21; Kim et al., AIDS Res Hum Retrovirus, 2016, 32(2):194-2020; Yaguchi et al., Cell & Mol Immunol, 2018, 15:953-962)。一部の実施形態では、マウスに、 $0.5 \sim 3.0 \times 10^7$ 個の P B M C が移植される。例えば、マウスに、 0.5×10^7 、 0.6×10^7 、 0.7×10^7 、 0.8×10^7 、 0.9×10^7 、 1.0×10^7 、 1.1×10^7 、 1.2×10^7 、 1.3×10^7 、 1.4×10^7 、 1.5×10^7 、 1.6×10^7 、 1.7×10^7 、 1.8×10^7 、 1.9×10^7 、 2.0×10^7 、 2.5×10^7 、 3.0×10^7 個またはそれよりも多い P B M C が移植される。一部の実施形態では、マウスに、 $0.5 \sim 0.75 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.0 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.1 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.2 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.3 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $0.5 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.0 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.1 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.2 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.3 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $0.75 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.1 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.2 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.3 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.0 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.2 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.3 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.1 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.3 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.2 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.4 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.3 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 1.5 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.4 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 1.6 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 2.25 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 2.5 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 2.75 \times 10^7$ 、 $1.5 \sim 3.0 \times 10^7$ 、 $1.6 \sim 1.7 \times 10^7$ 、 $1.6 \sim 1.8 \times 10^7$ 、 $1.6 \sim 1.9 \times 10^7$ 、 $1.6 \sim 2.0 \times 10^7$ 、 $1.6 \sim$

2. 25×10^7 、1. $6 \sim 2.5 \times 10^7$ 、1. $6 \sim 2.75 \times 10^7$ 、1. $6 \sim 3.0 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 1.8 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 1.9 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 2.0 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 2.25 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 2.5 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 2.75 \times 10^7$ 、1. $7 \sim 3.0 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 1.9 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 2.0 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 2.25 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 2.5 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 2.75 \times 10^7$ 、1. $8 \sim 3.0 \times 10^7$ 、1. $9 \sim 2.0 \times 10^7$ 、1. $9 \sim 2.25 \times 10^7$ 、1. $9 \sim 2.5 \times 10^7$ 、1. $9 \sim 2.75 \times 10^7$ 、1. $9 \sim 3.0 \times 10^7$ 、2. $0 \sim 2.25 \times 10^7$ 、2. $0 \sim 2.5 \times 10^7$ 、2. $0 \sim 2.75 \times 10^7$ 、2. $0 \sim 3.0 \times 10^7$ 、2. $25 \sim 2.5 \times 10^7$ 、2. $25 \sim 2.75 \times 10^7$ 、2. $25 \sim 3.0 \times 10^7$ 、2. $5 \sim 2.75 \times 10^7$ 、2. $5 \sim 3.0 \times 10^7$ 、または2. $75 \sim 3.0 \times 10^7$ 個が移植される。一部の実施形態では、マウスに、 2×10^7 個のPBMCが移植される。一部の実施形態にしたがって、マウスに、 $4.5 \sim 5.5 \times 10^7$ ($4.5 \sim 5.0 \times 10^7$ 、 $5.0 \sim 5.5 \times 10^7$) 個のPBMCが移植される。

10

【0116】

一部の実施形態では、ヒトPBMCは、照射の5分、10分、15分、20分、25分、0.5時間、1時間、1.5時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間後にまたはそれよりも後に移植される。一部の実施形態では、ヒトPBMCは、照射の1～2時間、1～3時間、1～4時間、1～5時間、1～6時間、1～7時間、1～8時間、1～9時間、1～10時間、1～12時間、1～14時間、1～16時間、1～18時間、1～20時間、1～22時間、1～24時間、2～3時間、2～4時間、2～5時間、2～6時間、2～7時間、2～8時間、2～9時間、2～10時間、2～12時間、2～14時間、2～16時間、2～18時間、2～20時間、2～22時間、2～24時間、3～4時間、3～5時間、3～6時間、3～7時間、3～8時間、3～9時間、3～10時間、3～12時間、3～14時間、3～16時間、3～18時間、3～20時間、3～22時間、3～24時間、4～5時間、4～6時間、4～7時間、4～8時間、4～9時間、4～10時間、4～12時間、4～14時間、4～16時間、4～18時間、4～20時間、4～22時間、4～24時間、5～6時間、5～7時間、5～8時間、5～9時間、5～10時間、5～12時間、5～14時間、5～16時間、5～18時間、5～20時間、5～22時間、5～24時間、6～7時間、6～8時間、6～9時間、6～10時間、6～12時間、6～14時間、6～16時間、6～18時間、6～20時間、6～22時間、6～24時間、7～8時間、7～9時間、7～10時間、7～12時間、7～14時間、7～16時間、7～18時間、7～20時間、7～22時間、7～24時間、8～9時間、8～10時間、8～12時間、8～14時間、8～16時間、8～18時間、8～20時間、8～22時間、8～24時間、9～10時間、9～12時間、9～14時間、9～16時間、9～18時間、9～20時間、9～22時間、9～24時間、10～12時間、10～14時間、10～16時間、10～18時間、10～20時間、10～22時間、10～24時間、12～14時間、12～16時間、12～18時間、12～20時間、12～22時間、12～24時間、14～16時間、14～18時間、14～20時間、14～22時間、14～24時間、16～18時間、16～20時間、16～22時間、16～24時間、18～20時間、18～22時間、18～24時間、20～22時間、20～24時間または22～24時間後に移植される。

20

30

40

【0117】

罹患細胞移植

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、照射後に罹患細胞（例えば、細胞系または患者由来異種移植片に由来する）を投与／移植される。本明細書で使用される場合、用語「罹患細胞」は、罹患対象（例えば、がんを含む疾患または病理学的状態を患っている個体）において見出され、健康な対象（例えば、疾患または状態を患っていない個体）において見出される生理的細胞に特徴的な構造、機能、代謝およびゲノムを有する細胞と比較し

50

たその構造および／または機能および／または代謝および／またはゲノムの観点から異常である細胞を指す。罹患細胞の例は、がんまたは腫瘍細胞（後述する）、罹患血管平滑筋細胞、罹患内皮細胞（例えば、アテローム性動脈硬化の場合）、ウイルス等の病原体によって感染した罹患細胞（例えば、感染性疾患の場合）、および線維症を起こす罹患細胞（例えば、線維性疾患の場合）を含むがこれらに限定されない。罹患細胞の表現型、物理的側面または特徴は、疾患または状態（例えば、がん、アテローム性動脈硬化、線維性疾患および感染性疾患等）に応じて変動することになり、標準技法および知識（例えば、疾患特異的マーカーを使用）を使用して、疾患または状態に応じて非罹患または健康な細胞から罹患細胞を区別することができる。

【0118】

罹患細胞は、当技術分野で公知のいずれかの方法、例えば、静脈内（例えば、尾静脈注射）、皮下、大腿内（intrafemoral）、脳室内（intraventricular）、心臓内、腹腔内投与経路その他を使用して投与することができる。一部の実施形態では、投与経路は、静脈内注入である。

【0119】

患者由来異種移植片（PDX）細胞

一部の実施形態では、免疫不全マウスに、罹患細胞（例えば、腫瘍細胞）を含む患者由来異種移植片（PDX）が投与／移植される。PDXは、ヒトから除去された組織である。一部の実施形態では、PDXは、腫瘍細胞を含む。一部の実施形態では、腫瘍は、成人急性骨髄性白血病（AML）等の血液学的悪性疾患に由来する。一部の実施形態では、腫瘍は、膀胱がん、乳がん、子宮頸がん（cervical cancer）、結腸がん、直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん、口唇および口腔がん、肝臓がん、黒色腫、中皮腫、非小細胞肺がん、非黒色腫皮膚がん、卵巣がん、膵がん、前立腺がん、肉腫、小細胞肺がん、ならびに甲状腺がん由来するもの等、固形腫瘍である。

【0120】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、 $0.1 \sim 10 \times 10^6$ 個のヒト罹患（例えば、がん）細胞（例えば、 $0.1 \sim 5.0 \times 10^6$ 個のヒト罹患細胞）等、適切な数の患者由来細胞を注射される。一部の実施形態では、PDX細胞の適切な量は、 $0.1 \sim 0.2 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.3 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.3 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.25 \times$

10

20

30

40

50

10^6 、 $0.8 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.5 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.75 \sim 2.0 \times 10^6$ 個のがん細胞（例えば、 0.1×10^6 、 0.15×10^6 、 0.2×10^6 、 0.25×10^6 、 0.3×10^6 、 0.35×10^6 、 0.4×10^6 、 0.45×10^6 、 0.5×10^6 、 0.6×10^6 、 0.7×10^6 、 0.8×10^6 、 0.9×10^6 、 1.0×10^6 、 1.1×10^6 、 1.2×10^6 、 1.3×10^6 、 1.4×10^6 、 1.5×10^6 、 1.6×10^6 、 1.7×10^6 、 1.8×10^6 、 1.9×10^6 、 2.0×10^6 個またはそれよりも多い細胞）である。

10

【0121】

一部の実施形態では、PBMCが移植され、ヒト免疫細胞（例えば、ヒトBもしくはT細胞またはNK細胞）が出現する前に、PDXは、マウスに導入される。一部の実施形態では、PDXは、照射の直後にマウスに導入される。一部の実施形態では、PDXは、照射の5分、10分、15分、20分、25分、0.5時間、1時間、1.5時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間後にまたはそれよりも後に導入される。一部の実施形態では、腫瘍細胞は、照射の1～2時間、1～3時間、1～4時間、1～5時間、1～6時間、1～7時間、1～8時間、1～9時間、1～10時間、1～12時間、1～14時間、1～16時間、1～18時間、1～20時間、1～22時間、1～24時間、2～3時間、2～4時間、2～5時間、2～6時間、2～7時間、2～8時間、2～9時間、2～10時間、2～12時間、2～14時間、2～16時間、2～18時間、2～20時間、2～22時間、2～24時間、3～4時間、3～5時間、3～6時間、3～7時間、3～8時間、3～9時間、3～10時間、3～12時間、3～14時間、3～16時間、3～18時間、3～20時間、3～22時間、3～24時間、4～5時間、4～6時間、4～7時間、4～8時間、4～9時間、4～10時間、4～12時間、4～14時間、4～16時間、4～18時間、4～20時間、4～22時間、4～24時間、5～6時間、5～7時間、5～8時間、5～9時間、5～10時間、5～12時間、5～14時間、5～16時間、5～18時間、5～20時間、5～22時間、5～24時間、6～7時間、6～8時間、6～9時間、6～10時間、6～12時間、6～14時間、6～16時間、6～18時間、6～20時間、6～22時間、6～24時間、7～8時間、7～9時間、7～10時間、7～12時間、7～14時間、7～16時間、7～18時間、7～20時間、7～22時間、7～24時間、8～9時間、8～10時間、8～12時間、8～14時間、8～16時間、8～18時間、8～20時間、8～22時間、8～24時間、9～10時間、9～12時間、9～14時間、9～16時間、9～18時間、9～20時間、9～22時間、9～24時間、10～12時間、10～14時間、10～16時間、10～18時間、10～20時間、10～22時間、10～24時間、12～14時間、12～16時間、12～18時間、12～20時間、12～22時間、12～24時間、14～16時間、14～18時間、14～20時間、14～22時間、14～24時間、16～18時間、16～20時間、16～22時間、16～24時間、18～20時間、18～22時間、18～24時間、20～22時間、20～24時間または22～24時間後に導入される。

20

30

40

【0122】

細胞および細胞系

一部の実施形態では、免疫不全マウスに、初代細胞が移植される。ヒト初代細胞は、組織から直接的に単離され、その起源組織の形態学および機能的な特徴を保持する。一部の実施形態では、初代細胞は、がん細胞である。一部の実施形態では、初代細胞は、神経

50

細胞である。一部の実施形態では、初代細胞は、代謝性細胞である。一部の実施形態では、初代細胞は、心臓細胞である。他の初代細胞が本明細書に企図されている。

【0123】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、人工多能性幹細胞（iPSC）等の幹細胞を移植される。iPSCは、体細胞から直接的に生成され得る多能性幹細胞の1種である（例えば、Takahashi K et al. Cell. 2006; 126 (4): 663-76を参照）。

【0124】

一部の実施形態では、免疫不全マウスに、不死化細胞（不死化細胞系）が移植される。不死化細胞系は、無限に増殖するようにマニピュレートされた細胞であり、よって、長期間培養することができる。一般的に使用される不死化細胞系の非限定的な例は、3T3細胞、HeLa細胞、COS細胞、293/293T/HEK-293T細胞、MDCK細胞、CHO細胞、S2細胞、PC12細胞、Neuro-2a/N2a細胞およびSH-SY5Y細胞を含む。他の不死化細胞が本明細書に企図されており、後述する。

【0125】

一部の実施形態では、免疫不全マウスに、腫瘍細胞系由来の腫瘍細胞が移植される。腫瘍細胞系は、当技術分野で公知であり、例えば、ATCCまたは他のコレクションを介して公的にアクセス可能である。一部の実施形態では、細胞系は、ヒト腫瘍に由来する。一部の実施形態では、ヒトB細胞リンパ腫に関連する細胞系であるRajiが使用される。一部の実施形態では、ヒトマントル細胞リンパ腫に関連する細胞系であるJeko-1が使用される。腫瘍細胞系の例は、A549（SRCC768）、Calu-1（SRCC769）、Calu-6（SRCC770）、H157（SRCC771）、H441（SRCC772）、H460（SRCC773）、SKMES-1（SRCC774）、SW900（SRCC775）、H522（SRCC832）およびH810（SRCC833）等のヒト肺癌細胞系を含むがこれらに限定されない。

【0126】

一部の実施形態では、細胞系は、SRCC724（腺癌、これは「AdenoCa」と省略）（LT1）、SRCC725（扁平上皮癌、これは「SqCCa」と省略）（LT1a）、SRCC726（腺癌）（LT2）、SRCC727（腺癌）（LT3）、SRCC728（腺癌）（LT4）、SRCC729（扁平上皮癌）（LT6）、SRCC730（腺癌（adeno）／扁平上皮癌）（LT7）、SRCC731（腺癌）（LT9）、SRCC732（扁平上皮癌）（LT10）、SRCC733（扁平上皮癌）（LT11）、SRCC734（腺癌）（LT12）、SRCC735（腺癌／扁平上皮癌）（LT13）、SRCC736（扁平上皮癌）（LT15）、SRCC737（扁平上皮癌）（LT16）、SRCC738（扁平上皮癌）（LT17）、SRCC739（扁平上皮癌）（LT18）、SRCC740（扁平上皮癌）（LT19）、SRCC741（肺細胞癌、これは「LCCa」と省略）（LT21）、SRCC811（腺癌）（LT22）、SRCC825（腺癌）（LT8）、SRCC886（腺癌）（LT25）、SRCC887（扁平上皮癌）（LT26）、SRCC888（腺-BAC癌）（LT27）、SRCC889（扁平上皮癌）（LT28）、SRCC890（扁平上皮癌）（LT29）、SRCC891（腺癌）（LT30）、SRCC892（扁平上皮癌）（LT31）、SRCC894（腺癌）（LT33）等のヒト肺腫瘍に関連する。SRCC1125 [HF-000631]、SRCC1127 [HF-000641]、SRCC1129 [HF-000643]、SRCC1133 [HF-000840]、SRCC1135 [HF-000842]、SRCC1227 [HF-001291]、SRCC1229 [HF-001293]、SRCC1230 [HF-001294]、SRCC1231 [HF-001295]、SRCC1232 [HF-001296]、SRCC1233 [HF-001297]、SRCC1235 [HF-001299] および SRCC1236 [HF-001300] と命名されたヒト肺腫瘍も含まれる。

【0127】

一部の実施形態では、細胞系は、ヒト結腸がんに関連する。結腸がん細胞系の例は、S

W480 (腺癌、SRCC776)、SW620 (結腸腺癌のリンパ節転移、SRCC777)、Colo320 (癌腫、SRCC778)、HT29 (腺癌、SRCC779)、HM7 (ATCC結腸腺癌細胞系の高ムチン産生バリエーション、SRCC780)、CaWiDr (腺癌、SRCC781)、HCT116 (癌腫、SRCC782)、SKCO1 (腺癌、SRCC783)、SW403 (腺癌、SRCC784)、LS174T (癌腫、SRCC785)、Colo205 (癌腫、SRCC828)、HCT15 (癌腫、SRCC829)、HCC2998 (癌腫、SRCC830) および KM12 (癌腫、SRCC831) を含むがこれらに限定されない。初代結腸腫瘍は、CT2 (SRCC742)、CT3 (SRCC743)、CT8 (SRCC744)、CT10 (SRCC745)、CT12 (SRCC746)、CT14 (SRCC747)、CT15 (SRCC748)、CT16 (SRCC749)、CT17 (SRCC750)、CT1 (SRCC751)、CT4 (SRCC752)、CT5 (SRCC753)、CT6 (SRCC754)、CT7 (SRCC755)、CT9 (SRCC756)、CT11 (SRCC757)、CT18 (SRCC758)、CT19 (腺癌、SRCC906)、CT20 (腺癌、SRCC907)、CT21 (腺癌、SRCC908)、CT22 (腺癌、SRCC909)、CT23 (腺癌、SRCC910)、CT24 (腺癌、SRCC911)、CT25 (腺癌、SRCC912)、CT26 (腺癌、SRCC913)、CT27 (腺癌、SRCC914)、CT28 (腺癌、SRCC915)、CT29 (腺癌、SRCC916)、CT30 (腺癌、SRCC917)、CT31 (腺癌、SRCC918)、CT32 (腺癌、SRCC919)、CT33 (腺癌、SRCC920)、CT35 (腺癌、SRCC921) および CT36 (腺癌、SRCC922) と命名された結腸腺癌を含む。SRCC1051 [HF-000499]、SRCC1052 [HF-000539]、SRCC1053 [HF-000575]、SRCC1054 [HF-000698]、SRCC1142 [HF-000762]、SRCC1144 [HF-000789]、SRCC1146 [HF-000795] および SRCC1148 [HF-000811] と命名されたヒト結腸腫瘍も含まれる。

10

20

30

40

50

【0128】

一部の実施形態では、細胞系は、ヒト乳がんに関連する。ヒト乳癌細胞系の例は、例えば、HBL100 (SRCC759)、MB435s (SRCC760)、T47D (SRCC761)、MB468 (SRCC762)、MB175 (SRCC763)、MB361 (SRCC764)、BT20 (SRCC765)、MCF7 (SRCC766) および SKBR3 (SRCC767)、ならびに SRCC1057 [HF-000545] と命名されたヒト乳房腫瘍中心部 (center) を含む。SRCC1094、SRCC1095、SRCC1096、SRCC1097、SRCC1098、SRCC1099、SRCC1100、SRCC1101 と命名されたヒト乳房腫瘍、および SRCC893 [LT32] と命名されたヒト乳房-転移-肺-NS腫瘍 (breast-met-lung-NS tumor) も含まれる。

【0129】

一部の実施形態では、細胞系は、ヒト腎臓がんに関連する。ヒト腎臓腫瘍細胞系の例は、SRCC989 [HF-000611] および SRCC1014 [HF-000613] を含む。

【0130】

一部の実施形態では、細胞系は、ヒト精巣がんに関連する。ヒト精巣腫瘍中心部の例は、SRCC1001 [HF-000733] を含み、精巣腫瘍周縁部は、SRCC999 [HF-000716] を含む。

【0131】

一部の実施形態では、細胞系は、ヒト副甲状腺がんに関連する。ヒト副甲状腺腫瘍細胞系の例は、SRCC1002 [HF-000831] および SRCC1003 [HF-000832] を含む。

【0132】

他のヒト腫瘍細胞系が本明細書に企図されている。

【0133】

一部の実施形態では、免疫不全マウスは、がん細胞系に由来する適切な量の腫瘍細胞を注射される。一部の実施形態では、免疫不全マウスは、 0.25×10^6 個のがん細胞を注射される。一部の実施形態では、腫瘍細胞の適切な量は、 $0.1 \sim 0.2 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.3 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.1 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.3 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.2 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.4 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.3 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.5 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.4 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.6 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.7 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.6 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 0.8 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.7 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 0.9 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.8 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.0 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $0.9 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.25 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.0 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 1.5 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.25 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.5 \sim 1.75 \times 10^6$ 、 $1.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 、 $1.75 \sim 2.0 \times 10^6$ 個のがん細胞（例えば、 0.1×10^6 、 0.15×10^6 、 0.2×10^6 、 0.25×10^6 、 0.3×10^6 、 0.35×10^6 、 0.4×10^6 、 0.45×10^6 、 0.5×10^6 、 0.6×10^6 、 0.7×10^6 、 0.8×10^6 、 0.9×10^6 、 1.0×10^6 、 1.1×10^6 、 1.2×10^6 、 1.3×10^6 、 1.4×10^6 、 1.5×10^6 、 1.6×10^6 、 1.7×10^6 、 1.8×10^6 、 1.9×10^6 、 2.0×10^6 個またはそれよりも多い腫瘍細胞）である。

【0134】

一部の実施形態では、PBMCが移植され、ヒト免疫細胞（例えば、ヒトB細胞またはT細胞またはNK細胞）が出現する前に、がん細胞が、マウスに導入される。一部の実施形態では、腫瘍細胞は、照射の直後に導入される。一部の実施形態では、腫瘍細胞は、照射の5分、10分、15分、20分、25分、0.5時間、1時間、1.5時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間後にまたはそれよりも後に導入される。一部の実施形態では、腫瘍細胞は、照射の1～2時間、1～3時間、1～4時間、1～5時間、1～6時間、1～7時間、1～8時間、1～9時間、1～10時間、1～12時間、1～14時間、1～16時間、1～18時間、1～20時間、1～22時間、1～2

4 時間、2 ～ 3 時間、2 ～ 4 時間、2 ～ 5 時間、2 ～ 6 時間、2 ～ 7 時間、2 ～ 8 時間、2 ～ 9 時間、2 ～ 10 時間、2 ～ 12 時間、2 ～ 14 時間、2 ～ 16 時間、2 ～ 18 時間、2 ～ 20 時間、2 ～ 22 時間、2 ～ 24 時間、3 ～ 4 時間、3 ～ 5 時間、3 ～ 6 時間、3 ～ 7 時間、3 ～ 8 時間、3 ～ 9 時間、3 ～ 10 時間、3 ～ 12 時間、3 ～ 14 時間、3 ～ 16 時間、3 ～ 18 時間、3 ～ 20 時間、3 ～ 22 時間、3 ～ 24 時間、4 ～ 5 時間、4 ～ 6 時間、4 ～ 7 時間、4 ～ 8 時間、4 ～ 9 時間、4 ～ 10 時間、4 ～ 12 時間、4 ～ 14 時間、4 ～ 16 時間、4 ～ 18 時間、4 ～ 20 時間、4 ～ 22 時間、4 ～ 24 時間、5 ～ 6 時間、5 ～ 7 時間、5 ～ 8 時間、5 ～ 9 時間、5 ～ 10 時間、5 ～ 12 時間、5 ～ 14 時間、5 ～ 16 時間、5 ～ 18 時間、5 ～ 20 時間、5 ～ 22 時間、5 ～ 24 時間、6 ～ 7 時間、6 ～ 8 時間、6 ～ 9 時間、6 ～ 10 時間、6 ～ 12 時間、6 ～ 14 時間、6 ～ 16 時間、6 ～ 18 時間、6 ～ 20 時間、6 ～ 22 時間、6 ～ 24 時間、7 ～ 8 時間、7 ～ 9 時間、7 ～ 10 時間、7 ～ 12 時間、7 ～ 14 時間、7 ～ 16 時間、7 ～ 18 時間、7 ～ 20 時間、7 ～ 22 時間、7 ～ 24 時間、8 ～ 9 時間、8 ～ 10 時間、8 ～ 12 時間、8 ～ 14 時間、8 ～ 16 時間、8 ～ 18 時間、8 ～ 20 時間、8 ～ 22 時間、8 ～ 24 時間、9 ～ 10 時間、9 ～ 12 時間、9 ～ 14 時間、9 ～ 16 時間、9 ～ 18 時間、9 ～ 20 時間、9 ～ 22 時間、9 ～ 24 時間、10 ～ 12 時間、10 ～ 14 時間、10 ～ 16 時間、10 ～ 18 時間、10 ～ 20 時間、10 ～ 22 時間、10 ～ 24 時間、12 ～ 14 時間、12 ～ 16 時間、12 ～ 18 時間、12 ～ 20 時間、12 ～ 22 時間、12 ～ 24 時間、14 ～ 16 時間、14 ～ 18 時間、14 ～ 20 時間、14 ～ 22 時間、14 ～ 24 時間、16 ～ 18 時間、16 ～ 20 時間、16 ～ 22 時間、16 ～ 24 時間、18 ～ 20 時間、18 ～ 22 時間、18 ～ 24 時間、20 ～ 22 時間、20 ～ 24 時間または 22 ～ 24 時間後に導入される。

10

20

30

40

50

【0135】

免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞）療法の有効性を評価するための方法

一部の実施形態では、方法は、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞）療法の有効性を評価するためのものである。一部の実施形態では、PBMCHito マウス疾患モデルは、照射された免疫不全マウスに罹患細胞（例えば、PD X 由来の細胞）を移植することにより確立することができる。in vivo で十分な量の時間にわたり罹患細胞が成長した後に、マウスは、有望な（prospective）操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞）療法および PBMCHito で処置される。一部の実施形態では、PBMCHito マウスがんモデルは、照射された免疫不全マウスに腫瘍細胞（例えば、腫瘍細胞系または PD X 由来の細胞）を移植することにより確立することができる。in vivo で十分な時間にわたり腫瘍が成長した後に、マウスは、有望な操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞）療法および PBMCHito で処置される。「十分な時間」とは、腫瘍が、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞）療法の効果を研究するのに必要とされるサイズであるかもしくはそれに必要とされる腫瘍細胞の数を有することを意味するか、または非がん疾患マウスモデルの場合は、「十分な時間」は、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または NK 細胞）療法の効果を研究するのに必要な罹患細胞の数を得るのに必要とされる時間の量を指す。

【0136】

がんマウスモデルに関して、腫瘍細胞をマウスにおいて成長させて、種々の腫瘍負荷を確立することができる（例えば、マウスが処置されずにいる時間が長いほど、腫瘍負荷は高くなる）。本明細書で使用される場合、「腫瘍負荷」は、モデルマウスにおけるがん細胞の総数または腫瘍（複数可）の総サイズを指す。腫瘍負荷は、低いか、中等度であるかまたは高くあり得、マウスの総体重のパーセンテージとして表現することができる。高い腫瘍負荷は、マウスの体重の > 5 % である（例えば、5 %、5.1 %、5.2 %、5.3 %、5.4 %、5.5 %、5.6 %、5.7 %、5.8 %、5.9 %、6 % またはそれよりも多い）。一部の実施形態では、高い腫瘍負荷は、5 ～ 5.2 %、5 ～ 5.3 %、5 ～ 5.4 %、5 ～ 5.5 %、5 ～ 5.6 %、5 ～ 5.8 %、5 ～ 5.9 %、5 ～ 2 %、5.5 ～ 5.2 %、5.5 ～ 5.3 %、5.5 ～ 5.4 %、5.5 ～ 5.5 %

、5.5～5.6%、5.5～5.7%、5.5～5.8%、5.5～5.9%、5.5～2%、5.2～5.3%、5.2～5.4%、5.2～5.5%、5.2～5.6%、5.2～5.7%、5.2～5.8%、5.2～5.9%、5.2～2%、5.3～5.4%、5.3～5.5%、5.3～5.6%、5.3～5.7%、5.3～5.8%、5.3～5.9%、5.3～2%、5.4～5.5%、5.4～5.6%、5.4～5.7%、5.4～5.8%、5.4～5.9%、5.4～2%、5.5～5.6%、5.5～5.7%、5.5～5.8%、5.5～5.9%、5.5～6%、5.6～5.7%、5.6～5.8%、5.6～5.9%、5.6～2%、5.7～5.8%、5.7～5.9%、5.7～2%、5.8～5.9%、5.8～2%または5.9～6%である。中等度の腫瘍負荷は、マウスの体重の1～5%である（例えば、1%、1.25%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、1.95%、1.96%、1.97%、1.98%、1.99%、2%、2.25%、2.5%、2.75%、3%、3.25%、3.5%、3.75%、4%、4.25%、4.5%、4.75%）。一部の実施形態では、中等度の腫瘍負荷は、1.5～1.6%、1.5～1.7%、1.5～1.8%、1.5～1.9%、1.6～1.7%、1.6～1.8%、1.6～1.9%、1.7～1.8%、1.7～1.9%または1.8～1.9%である。一部の実施形態では、中等度の腫瘍負荷は、1～2%、1～2.25%、1～2.5%、1～2.75%、1～3%、1～3.25%、1～3.5%、1～3.75%、1～4%、1～4.25%、1～4.5%、1～4.75%、2～2.25%、2～2.5%、2～2.75%、2～3%、2～3.25%、2～3.5%、2～3.75%、2～4%、2～4.25%、2～4.5%、2～4.75%、2.5～2.75%、2.5～3%、2.5～3.25%、2.5～3.5%、2.5～3.75%、2.5～4%、2.5～4.25%、2.5～4.5%、2.5～4.75%、3～3.25%、3～3.5%、3～3.75%、3～4%、3～4.25%、3～4.5%、3～4.75%、3.5～3.75%、3.5～4%、3.5～4.25%、3.5～4.5%、3.5～4.75%、4～4.25%、4～4.5%、4～4.75%または4.5～4.75%である。低い腫瘍負荷は、マウスの体重の1%未満である（例えば、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.45%、0.46%、0.47%、0.48%または0.49%）。一部の実施形態では、低い腫瘍負荷は、0.1～0.2%、0.1～0.3%、0.1～0.4%、0.2～0.3%、0.2～0.4%または0.3～0.4%である。

10

20

30

【0137】

一部の実施形態では、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法は、マウスが罹患細胞（例えば、腫瘍細胞）を注射されてから1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日（例えば、1～2日、1～3日、1～4日、1～5日、1～6日、1～7日、1～8日、1～9日、1～10日、1～11日、1～12日、1～13日、1～14日、2～3日、2～4日、2～5日、2～6日、2～7日、2～8日、2～9日、2～10日、2～11日、2～12日、2～13日、2～14日、3～4日、3～5日、3～6日、3～7日、3～8日、3～9日、3～10日、3～11日、3～12日、3～13日、3～14日、4～5日、4～6日、4～7日、4～8日、4～9日、4～10日、4～11日、4～12日、4～13日、4～14日、5～6日、5～7日、5～8日、5～9日、5～10日、5～11日、5～12日、5～13日、5～14日、6～7日、6～8日、6～9日、6～10日、6～11日、6～12日、6～13日、6～14日、7～8日、7～9日、7～10日、7～11日、7～12日、7～13日、7～14日、8～9日、8～10日、8～11日、8～12日、8～13日、8～14日、9～10日、9～11日、9～12日、9～13日、9～14日、11～12日、11～13日、11～14日、12～13日、12～14日または13～14日）後に投与される。必要に応じて、ヒトPBMCは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法と共に投与することができる（例えば、同じ用量でまたは異なる用量で同時に）。本明細書に記載されている操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）構築物のいずれかを含むことができる操作された免疫

40

50

細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法は、 $1 \sim 20 \times 10^6$ 個の操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）細胞、例えば、 $1 \sim 2 \times 10^6$ 、 $1 \sim 3 \times 10^6$ 、 $1 \sim 4 \times 10^6$ 、 $1 \sim 5 \times 10^6$ 、 $1 \sim 6 \times 10^6$ 、 $1 \sim 7 \times 10^6$ 、 $1 \sim 8 \times 10^6$ 、 $1 \sim 9 \times 10^6$ 、 $1 \sim 10 \times 10^6$ 、 $1 \sim 12 \times 10^6$ 、 $1 \sim 14 \times 10^6$ 、 $1 \sim 16 \times 10^6$ 、 $1 \sim 18 \times 10^6$ 、 $1 \sim 20 \times 10^6$ 、 $2 \sim 3 \times 10^6$ 、 $2 \sim 4 \times 10^6$ 、 $2 \sim 5 \times 10^6$ 、 $2 \sim 6 \times 10^6$ 、 $2 \sim 7 \times 10^6$ 、 $2 \sim 8 \times 10^6$ 、 $2 \sim 9 \times 10^6$ 、 $2 \sim 10 \times 10^6$ 、 $2 \sim 12 \times 10^6$ 、 $2 \sim 14 \times 10^6$ 、 $2 \sim 16 \times 10^6$ 、 $2 \sim 18 \times 10^6$ 、 $2 \sim 20 \times 10^6$ 、 $3 \sim 4 \times 10^6$ 、 $3 \sim 5 \times 10^6$ 、 $3 \sim 6 \times 10^6$ 、 $3 \sim 7 \times 10^6$ 、 $3 \sim 8 \times 10^6$ 、 $3 \sim 9 \times 10^6$ 、 $3 \sim 10 \times 10^6$ 、 $3 \sim 12 \times 10^6$ 、 $3 \sim 14 \times 10^6$ 、 $3 \sim 16 \times 10^6$ 、 $3 \sim 18 \times 10^6$ 、 $3 \sim 20 \times 10^6$ 、 $4 \sim 5 \times 10^6$ 、 $4 \sim 6 \times 10^6$ 、 $4 \sim 7 \times 10^6$ 、 $4 \sim 8 \times 10^6$ 、 $4 \sim 9 \times 10^6$ 、 $4 \sim 10 \times 10^6$ 、 $4 \sim 12 \times 10^6$ 、 $4 \sim 14 \times 10^6$ 、 $4 \sim 16 \times 10^6$ 、 $4 \sim 18 \times 10^6$ 、 $4 \sim 20 \times 10^6$ 、 $5 \sim 6 \times 10^6$ 、 $5 \sim 7 \times 10^6$ 、 $5 \sim 8 \times 10^6$ 、 $5 \sim 9 \times 10^6$ 、 $5 \sim 10 \times 10^6$ 、 $5 \sim 12 \times 10^6$ 、 $5 \sim 14 \times 10^6$ 、 $5 \sim 16 \times 10^6$ 、 $5 \sim 18 \times 10^6$ 、 $5 \sim 20 \times 10^6$ 、 $6 \sim 7 \times 10^6$ 、 $6 \sim 8 \times 10^6$ 、 $6 \sim 9 \times 10^6$ 、 $6 \sim 10 \times 10^6$ 、 $6 \sim 12 \times 10^6$ 、 $6 \sim 14 \times 10^6$ 、 $6 \sim 16 \times 10^6$ 、 $6 \sim 18 \times 10^6$ 、 $6 \sim 20 \times 10^6$ 、 $7 \sim 8 \times 10^6$ 、 $7 \sim 9 \times 10^6$ 、 $7 \sim 10 \times 10^6$ 、 $7 \sim 12 \times 10^6$ 、 $7 \sim 14 \times 10^6$ 、 $7 \sim 16 \times 10^6$ 、 $7 \sim 18 \times 10^6$ 、 $7 \sim 20 \times 10^6$ 、 $8 \sim 9 \times 10^6$ 、 $8 \sim 10 \times 10^6$ 、 $8 \sim 12 \times 10^6$ 、 $8 \sim 14 \times 10^6$ 、 $8 \sim 16 \times 10^6$ 、 $8 \sim 18 \times 10^6$ 、 $8 \sim 20 \times 10^6$ 、 $9 \sim 10 \times 10^6$ 、 $9 \sim 12 \times 10^6$ 、 $9 \sim 14 \times 10^6$ 、 $9 \sim 16 \times 10^6$ 、 $9 \sim 18 \times 10^6$ 、 $9 \sim 20 \times 10^6$ 、 $10 \sim 12 \times 10^6$ 、 $10 \sim 14 \times 10^6$ 、 $10 \sim 16 \times 10^6$ 、 $10 \sim 18 \times 10^6$ 、 $10 \sim 20 \times 10^6$ 、 $12 \sim 14 \times 10^6$ 、 $12 \sim 16 \times 10^6$ 、 $12 \sim 18 \times 10^6$ 、 $12 \sim 20 \times 10^6$ 、 $14 \sim 16 \times 10^6$ 、 $14 \sim 18 \times 10^6$ 、 $14 \sim 20 \times 10^6$ 、 $16 \sim 18 \times 10^6$ 、 $16 \sim 20 \times 10^6$ 、 $18 \sim 20 \times 10^6$ 個の操作された免疫細胞の用量で投与することができる。一部の実施形態では、マウスは、 1×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 10×10^6 、 11×10^6 、 12×10^6 、 13×10^6 、 14×10^6 、 15×10^6 、 16×10^6 、 17×10^6 、 18×10^6 、 19×10^6 、 20×10^6 個またはそれよりも多い操作された免疫細胞の用量を投与される。一部の実施形態では、マウスは、1用量の操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法を投与される。一部の実施形態では、マウスは、 $1 \sim 2$ 、 $1 \sim 3$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 5$ 、 $2 \sim 3$ 、 $2 \sim 4$ 、 $2 \sim 5$ 、 $3 \sim 4$ 、 $3 \sim 5$ または $4 \sim 5$ 用量（例えば、2、3、4、5またはそれよりも多い用量）の操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法を投与される。一部の実施形態では、初期用量は、副作用のリスクを軽減するために、2回またはそれよりも多い、より少ない用量へと分けられる（例えば、1回の初期用量を投与する代わりに、初期用量の半分が2回投与される）。投与間の時間は、例えば、12時間、1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間またはそれよりも長い時間となることができる。一部の実施形態では、投与間の時間は、 $1 \sim 2$ 日間、 $1 \sim 3$ 日間、 $1 \sim 4$ 日間、 $1 \sim 5$ 日間、 $1 \sim 6$ 日間、 $1 \sim 7$ 日間、 $1 \sim 8$ 日間、 $1 \sim 9$ 日間、 $1 \sim 10$ 日間、 $2 \sim 3$ 日間、 $2 \sim 4$ 日間、 $2 \sim 5$ 日間、 $2 \sim 6$ 日間、 $2 \sim 7$ 日間、 $2 \sim 8$ 日間、 $2 \sim 9$ 日間、 $2 \sim 10$ 日間、 $3 \sim 4$ 日間、 $3 \sim 5$ 日間、 $3 \sim 6$ 日間、 $3 \sim 7$ 日間、 $3 \sim 8$ 日間、 $3 \sim 9$ 日間、 $3 \sim 10$ 日間、 $4 \sim 5$ 日間、 $4 \sim 6$ 日間、 $4 \sim 7$ 日間、 $4 \sim 8$ 日間、 $4 \sim 9$ 日間、 $4 \sim 10$ 日間、 $5 \sim 6$ 日間、 $5 \sim 7$ 日間、 $5 \sim 8$ 日間、 $5 \sim 9$ 日間、 $5 \sim 10$ 日間、 $6 \sim 7$ 日間、 $6 \sim 8$ 日間、 $6 \sim 9$ 日間、 $6 \sim 10$ 日間、 $7 \sim 8$ 日間、 $7 \sim 9$ 日間、 $7 \sim 10$ 日間、 $8 \sim 9$ 日間、 $8 \sim 10$ 日間または $9 \sim 10$ 日間である。

10

20

30

40

50

【0138】

一部の実施形態では、方法は、本明細書に記載されている操作された免疫細胞のうちいずれか1種の有効性および／または毒性を評価するステップを含む。一部の実施形態では

、2、3、4、5または6種の異なる種類の操作された免疫細胞療法が同時に評価される。

【0139】

一部の実施形態では、ヒトPBM Cは、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の前に移植される。例えば、一部の実施形態では、ヒトPBM Cは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の直前に移植される。一部の実施形態では、ヒトPBM Cは、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与される0.5～6日前に、例えば、0.5日、1日、1.5日、2日、2.5日、3日、3.5日、4日、4.5日、5日、5.5日または6日前に移植される。一部の実施形態では、ヒトPBM Cは、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与される1～2日、1～3日、1～4日、1～5日、1～6日、2～3日、2～4日、2～5日、2～6日、3～4日、3～5日、3～6日、4～5日、4～6日または5～6日前に投与される。

10

【0140】

当業者であれば認めるであろうが、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法は、いずれかの適用可能な投与経路を使用してPBM Cヒト化マウスに投与することができる。例示的な投与経路は、静脈内（例えば、尾静脈経由）、皮下、大腿内、脳室内、心臓内、腹腔内投与経路を含むがこれらに限定されない。一部の実施形態では、投与経路は、尾静脈経由の静脈内注射である。

【0141】

一部の実施形態では、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法のためのPBM Cおよび免疫細胞は、同じ対象に由来する（2種の細胞型は、自家である）。他の実施形態では、PBM Cおよび免疫細胞は、異なる対象に由来する（2種の細胞型は、同種異系である）。例えば、本明細書に記載されているモデルを使用して、普遍的な同種異系の操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法を検査することができる。一部の実施形態では、PBM C、免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）および腫瘍細胞は、同じ対象に由来する。一部の実施形態では、PBM C、免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）および腫瘍細胞は、2つまたはそれよりも多い対象に由来する（例えば、PBM Cおよび免疫細胞は、ある1つの対象に由来し、腫瘍細胞は、異なる対象に由来する；PBM Cおよび腫瘍細胞は、ある1つの対象に由来し、免疫細胞は、異なる対象に由来する；または免疫細胞および腫瘍細胞は、ある1つの対象に由来し、PBM Cは、異なる対象に由来する）。一部の実施形態では、PBM Cおよび／または免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）が得られる対象は、ヒト対象である。他の哺乳動物が本明細書に企図されている。

20

30

【0142】

操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の投与後に、CRS処置（例えば、抗サイトカイン処置）に有効な候補薬剤を投与することができる（例えば、CRSの効果を防止または低減させるために）。一部の実施形態では、マウスモデルを使用して、候補CRS処置が、本明細書に記載されている通り、特異的な操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法に応答してCRSを排除または低減させるか否かを決定する。一部の実施形態では、CRS処置は、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法と同時に投与される。一部の実施形態では、CRS処置は、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与されてから1分、2分、3分、4分、5分、6分、7分、8分、9分、10分、15分、20分、25分、30分、35分、40分、45分、50分、55分、1時間、1.5時間、2時間、2.5時間、3時間、3.5時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日後にまたはそれよりも後に投与される。一部の実施形態では、CRS処置は、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与されてから1～5分、1～10分、1～15分、1～20分、1～

40

50

30分、1～45分、1～60分、2～5分、2～10分、2～15分、2～20分、2
 ～30分、2～45分、2～60分、3～5分、3～10分、3～15分、3～20分、
 3～30分、3～45分、3～60分、4～5分、4～10分、4～15分、4～20分
 、4～30分、4～45分、4～60分、5～10分、5～20分、5～30分、5～4
 5分、5～60分、10～20分、10～30分、10～40分、10～50分、10～
 60分、15～30分、15～45分、15～60分、30～45分、30～60分、1
 ～2時間、1～3時間、1～4時間、1～5時間、1～6時間、1～7時間、1～8時間
 、1～9時間、1～10時間、1～11時間、1～12時間、2～3時間、2～4時間、
 2～5時間、2～6時間、2～7時間、2～8時間、2～9時間、2～10時間、2～1
 1時間、2～12時間、3～4時間、3～5時間、3～6時間、3～7時間、3～8時間
 、3～9時間、3～10時間、3～11時間、3～12時間、4～5時間、4～6時間、
 4～7時間、4～8時間、4～9時間、4～10時間、4～11時間、4～12時間、5
 ～6時間、5～7時間、5～8時間、5～9時間、5～10時間、5～11時間、5～1
 2時間、6～7時間、6～8時間、6～9時間、6～10時間、6～11時間、6～12
 時間、7～8時間、7～9時間、7～10時間、7～11時間、7～12時間、8～9時
 間、8～10時間、8～11時間、8～12時間、9～10時間、9～11時間、9～1
 2時間、10～11時間、10～12時間、11～12時間、12～16時間、12～1
 8時間、12～20時間、12～24時間、1～2日、1～3日、1～4日、1～5日、
 1～6日、1～7日、1～8日、1～9日、1～10日、1～11日、1～12日、2～
 3日、2～4日、2～5日、2～6日、2～7日、2～8日、2～9日、2～10日、2
 ～11日、2～12日、3～4日、3～5日、3～6日、3～7日、3～8日、3～9日
 、3～10日、3～11日、3～12日、4～5日、4～6日、4～7日、4～8日、4
 ～9日、4～10日、4～11日、4～12日、5～6日、5～7日、5～8日、5～9
 日、5～10日、5～11日、5～12日、6～7日、6～8日、6～9日、6～10日
 、6～11日、6～12日、7～8日、7～9日、7～10日、7～11日、7～12日
 、8～9日、8～10日、8～11日、8～12日、9～10日、9～11日、9～12
 日、10～11日、10～12日または11～12日後に投与される。一部の実施形態で
 は、CRS処置は、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法
 が投与される1分、2分、3分、4分、5分、6分、7分、8分、9分、10分、15分
 、20分、25分、30分、35分、40分、45分、50分、55分、1時間、1.5
 時間、2時間、2.5時間、3時間、3.5時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8
 時間、9時間、10時間、11時間、12時間、1日、2日、3日または4日前等、予防
 的に投与される。一部の実施形態では、CRS処置は、操作された免疫細胞（例えば、T
 細胞、B細胞またはNK細胞）療法が投与される1～5分、1～10分、1～15分、1
 ～20分、1～30分、1～45分、1～60分、2～5分、2～10分、2～15分、
 2～20分、2～30分、2～45分、2～60分、3～5分、3～10分、3～15分
 、3～20分、3～30分、3～45分、3～60分、4～5分、4～10分、4～15
 分、4～20分、4～30分、4～45分、4～60分、5～10分、5～20分、5～
 30分、5～45分、5～60分、10～20分、10～30分、10～40分、10～
 50分、10～60分、15～30分、15～45分、15～60分、30～45分、3
 0～60分、1～2時間、1～3時間、1～4時間、1～5時間、1～6時間、1～7時
 間、1～8時間、1～9時間、1～10時間、1～11時間、1～12時間、2～3時間
 、2～4時間、2～5時間、2～6時間、2～7時間、2～8時間、2～9時間、2～1
 0時間、2～11時間、2～12時間、3～4時間、3～5時間、3～6時間、3～7時
 間、3～8時間、3～9時間、3～10時間、3～11時間、3～12時間、4～5時間
 、4～6時間、4～7時間、4～8時間、4～9時間、4～10時間、4～11時間、4
 ～12時間、5～6時間、5～7時間、5～8時間、5～9時間、5～10時間、5～1
 1時間、5～12時間、6～7時間、6～8時間、6～9時間、6～10時間、6～11
 時間、6～12時間、7～8時間、7～9時間、7～10時間、7～11時間、7～12
 時間、8～9時間、8～10時間、8～11時間、8～12時間、9～10時間、9～1

10

20

30

40

50

1 時間、9 ～ 12 時間、10 ～ 11 時間、10 ～ 12 時間、11 ～ 12 時間、12 ～ 16 時間、12 ～ 18 時間、12 ～ 20 時間、12 ～ 24 時間、1 ～ 2 日、1 ～ 3 日、1 ～ 4 日、2 ～ 3 日、2 ～ 4 日または3 ～ 4 日前に投与される。

【0143】

P B M C ヒト化マウスに操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法（および必要に応じて C R S 処置）を投与した後に、マウスを観察して、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法の有効性を評価する。本明細書で使用される場合、「有効性」は、対象において治療効果を生じる、対象に投与された療法の能力を指す。一部の実施形態では、療法は、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法を含む。一部の実施形態では、療法は、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法および抗サイトカイン療法を含む。一部の実施形態では、マウスモデルを使用して、候補 C R S 処置が、本明細書に記載されている通り、特異的な操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法に応答して C R S を排除または低減させるか否かを決定する。「排除する」とは、C R S 処置が、マウスにおける操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法後の循環サイトカインのレベルを、操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法の投与前のマウスに存在する循環サイトカインのレベルまで、または操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法を受けていない対照マウスにおける循環サイトカインのレベルまで低減させることを意味する。「低減させる」とは、C R S 処置が、マウスにおける操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法後の循環サイトカインのレベルを、C R S 処置なしで操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法を投与されたマウスにおいて見出されられると思われるレベルよりも低いレベルまで低減させることを意味する。一部の実施形態では、C R S 処置は、循環サイトカインレベル（例えば、1 種または複数のサイトカインのサイトカインレベル）を 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 % またはそれよりも多く低減させる。一部の実施形態では、マウスにおける循環サイトカインレベル（例えば、1 種または複数のサイトカイン）は、10 ～ 20 %、10 ～ 30 %、10 ～ 40 %、10 ～ 50 %、10 ～ 60 %、10 ～ 70 %、10 ～ 80 %、10 ～ 90 %、10 ～ 100 %、20 ～ 30 %、20 ～ 40 %、20 ～ 50 %、20 ～ 60 %、20 ～ 70 %、20 ～ 80 %、20 ～ 90 %、20 ～ 100 %、30 ～ 40 %、30 ～ 50 %、30 ～ 60 %、30 ～ 70 %、30 ～ 80 %、30 ～ 90 %、30 ～ 100 %、40 ～ 50 %、40 ～ 60 %、40 ～ 70 %、40 ～ 80 %、40 ～ 90 %、40 ～ 100 %、50 ～ 60 %、50 ～ 70 %、50 ～ 80 %、50 ～ 90 %、50 ～ 100 %、60 ～ 70 %、60 ～ 80 %、60 ～ 90 %、60 ～ 100 %、70 ～ 80 %、70 ～ 90 %、70 ～ 100 %、80 ～ 90 %、80 ～ 100 % または 90 ～ 100 % 低減される。

【0144】

操作された免疫細胞（例えば、T 細胞、B 細胞または N K 細胞）療法の有効性を決定するために、腫瘍成長は、例えば、本明細書に記載されている *in vivo* バイオルミネセンスイメージング（B L I）、ゲノム研究、組織学研究、または腫瘍の体積を測定もしくは概算する他のいずれかの方法によりモニターすることができる。有効性は、固形がんに対する治療効果判定基準（Response Evaluation Criteria in Solid Tumors）（R E C I S T）基準、3 カテゴリー方法、4 応答 m R E C I S T 基準および 5 カテゴリー方法を使用することにより決定することができる（Eisenhauer et al., Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-247; Bertotti et al., Nature. 2015; 526(7572): 263-7; Gao et al., Nat Med. 2015; 21(11): 1318-25; Houghton et al., Pediatr Blood Cancer. 2007; 49(7): 928-40）。他の有効性測定は、腫瘍体積に関し、無増悪生存、腫瘍体積倍加時間、相対的腫瘍体積（R T V）、腫瘍成長阻害（初期腫瘍体積と比べた腫瘍体積の変化）および腫瘍成長速度を含むがこれらに限定されない。無増悪生存

10

20

30

40

50

は、対象が疾患を有するが悪化していない、処置中および処置後の時間の長さである（例えば、腫瘍が成長しない、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法中および療法後の時間の量）。腫瘍体積倍加時間（DT）は、腫瘍体積が倍加するのに要する時間の量であり（より速い倍加時間は、より悪性の腫瘍を指し示す）、典型的に、DTと匹敵するまたはそれよりも短い測定時間間隔による2つの体積推定から決定される。相対的腫瘍体積は、経時的な相対的腫瘍体積であり、（X日目の絶対的腫瘍体積）×（100 / 0日目の絶対的腫瘍体積）として計算される。0日目は、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法が始まる日である。同様に、パーセンテージとして表現される腫瘍成長阻害（TGI）は、式：（1 - （処置された腫瘍の平均体積） / （対照腫瘍の平均体積））× 100 %を使用して、初期腫瘍体積と比べた腫瘍体積の変化を試験する。腫瘍成長速度は、種々の異なるモデルを使用して推定される。指数関数的に成長している腫瘍について、成長速度は、その体積に比例する：（1 / V）×（dV / dt）（式中、Vは、腫瘍の体積であり、dVおよびdtは、それぞれ体積および時間の変化である）。

10

【0145】

腫瘍体積は、時間経過実験を通して任意の回数測定することができる（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10回またはそれよりも多い回数）。一部の実施形態では、腫瘍体積は、1～2回、1～3回、1～4回、1～5回、1～6回、1～7回、1～8回、1～9回、1～10回、2～4回、2～6回、2～8回、2～10回、3～6回、3～8回、3～10回、4～6回、4～8回、4～10回、5～8回、5～10回、6～8回、6～10回、7～10回、8～10回または9～10回測定される。腫瘍体積は、例えば、腫瘍細胞の移植の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21日後またはそれよりも後に、時間をわたって測定することができる。一部の実施形態では、腫瘍体積は、1～2日間、1～3日間、1～4日間、1～5日間、1～6日間、1～7日間、1～8日間、1～9日間、1～10日間、1～11日間、1～12日間、2～3日間、2～4日間、2～5日間、2～6日間、2～7日間、2～8日間、2～9日間、2～10日間、2～11日間、2～12日間、3～4日間、3～5日間、3～6日間、3～7日間、3～8日間、3～9日間、3～10日間、3～11日間、3～12日間、4～5日間、4～6日間、4～7日間、4～8日間、4～9日間、4～10日間、4～11日間、4～12日間、5～6日間、5～7日間、5～8日間、5～9日間、5～10日間、5～11日間、5～12日間、6～7日間、6～8日間、6～9日間、6～10日間、6～11日間、6～12日間、7～8日間、7～9日間、7～10日間、7～11日間、7～12日間、8～9日間、8～10日間、8～11日間、8～12日間、9～10日間、9～11日間、9～12日間、10～11日間、10～12日間、10～14日間、10～16日間、10～18日間、10～20日間、10～21日間、12～14日間、12～16日間、12～18日間、12～20日間、12～21日間、14～16日間、14～18日間、14～20日間、14～21日間、15～16日間、15～18日間、15～20日間、15～21日間、16～18日間、16～20日間、16～21日間、17～19日間、17～21日間、18～19日間、18～20日間、18～21日間、19～20日間、19～21日間または20～21日間測定される。

20

30

40

【0146】

一部の実施形態では、腫瘍体積の変化は、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法（および必要に応じてCRS処置）の有効性を指し示す。一部の実施形態では、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法で処置されたマウスにおける腫瘍体積は、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法で処置されなかったマウスにおける腫瘍体積と比較することができる。一部の実施形態では、腫瘍体積は、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法を受けなかったマウスと比べて、またはより初期の時点と比べて、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、

50

50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれよりも多く低減される。一部の実施形態では、腫瘍体積は、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法を受けなかったマウスと比べて、またはより初期の時点と比べて、10~20%、10~30%、10~40%、10~50%、10~60%、10~70%、10~80%、10~90%、10~100%、20~30%、20~40%、20~50%、20~60%、20~70%、20~80%、20~90%、20~100%、30~40%、30~50%、30~60%、30~70%、30~80%、30~90%、30~100%、40~50%、40~60%、40~70%、40~80%、40~90%、40~100%、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%または90~100%低減される。

10

【0147】

急性毒性は、有意なマウス体重減少に関連するため、CRS誘導は、体重測定によりモニターすることもできる。さらに、臨床観察は、CRSを指し示すことができる。CRSに関連する臨床観察の例は、つま先立ちの／異常な歩行による背中を丸めた姿勢、活動性低減（例えば、刺激されない限り動かない）および／または接触に対する非応答性を含む。生存率（および生存時間）を使用して、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法（および／または抗CRS処置）の有効性を評価することもできる。

20

【0148】

有効性は、サイトカイン誘導性肝臓および腎臓損傷を試験することにより評価することもできる。この損傷は、例えば、アスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）、アルブミン、総ビリルビン、クレアチニンおよび血中尿素窒素のレベルの測定等の肝臓・腎臓機能の血清生化学的解析によって決定することができる。

【0149】

一部の実施形態では、前臨床マウスモデルの肝臓重量の変化は、操作されたヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法（および必要に応じてCRS処置）の有効性を指し示す。健康なマウスの肝臓重量は、その体重のおよそ5%である。腫瘍細胞（例えば、Raji-Luc細胞）の注射は、肝臓への腫瘍細胞の播種をもたらし、肝臓重量を増加させる。操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法（および／または抗CRS処置）の後に肝臓の重量を測定することにより、処置が、肝臓における腫瘍細胞蓄積を有効に排除または低減させたか否かを決定することができる。

30

【0150】

CAR免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）療法の副作用を評価するための方法

一部の実施形態では、本明細書に記載されている方法を使用して、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の可能性のある副作用を評価することができる。可能性のある副作用は、サイトカイン放出症候群（CRS）、マクロファージ活性化症候群（MAS）、神経毒性（脳症症候群）、腫瘍溶解症候群（TLS）、アナフィラキシー、オンターゲット（on-target）、腫瘍外毒性およびB細胞形成不全を含むがこれらに限定されない。

40

【0151】

CRSに関して、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法および／またはCRS処置の投与後のPBMCヒト化マウスモデル由来の血液試料において、ある特定のサイトカインを測定することができる。例えば、サイトカインは、IFN- γ 、IL-10、IL-6、IL-2、IL-4およびTNF α からなる群より選択することができる。測定されるサイトカインのレベルは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の免疫毒性の重症度を指し示す。一部の実施形態では、方法は、マウスにおけるIFN- γ レベルが $\geq 1,800$ pg/ml $\pm 10\%$ である；

50

マウスにおけるIL-10レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるIL-6レベルが $\geq 25 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるIL-2レベルが $\geq 80 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるIL-4レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるTNF α レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるMCP-1レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；マウスにおけるGM-CSFレベルが $\geq 600 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；およびマウスにおけるIL8レベルが $\geq 15 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である場合に、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の免疫毒性の重症度が高い（例えば、CRS誘導の可能性が高い）と決定するステップをさらに含む。

【0152】

肝臓機能障害、増加したフェリチンレベルおよび一部の事例では、減少したフィブリノーゲンレベルとして臨床的に顕在化する、マクロファージ活性化症候群（MAS）または血球貪食性リンパ組織球症（HLH）は、本明細書に記載されているマウスモデルを使用して試験することもできる。マクロファージは、IL-6、IL-1およびIFN- γ を含むサイトカインの大量産生を媒介し、その活性化（MAS）は、CRSにおける役割を果たすと考えられる（Hao et al., Experimental Hematology & Oncology, 2020, 9:15）。したがって、マウスモデルにおけるこの3種のサイトカインの上昇したレベルは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の、MASをもたらし得ることを指し示すことができる。同様に、マウスにMAS処置を投与して、処置が、ヒト対象においてMASを防止または低減させるか否かを決定することができる。MAS処置の例は、グルココルチコイド（例えば、メチルプレドニゾン、デキサメタゾン）、シクロスポリンA、エトポシド、免疫グロブリンおよびシクロホスファミドを含むがこれらに限定されない。

【0153】

神経毒性（脳症症候群）または免疫エフェクター細胞関連神経毒性症候群（ICANS）は、ヒトにおける操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法のおよそ5～17日後に発症し得る（Herlopian et al., Neurology, 2018, 91(5): 227-229）。これは、全般的脳症、失語症、発作／発作様活動、鈍麻、振戦／ミオクローヌスおよび幻覚によって特徴付けされる。神経毒性を有する対象は、高レベルのIFN- γ 、IL-6およびTNF- α も有する。マウスモデルにおけるこの3種のサイトカインの上昇したレベルは、操作された免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞またはNK細胞）療法の、神経毒性をもたらし得ることを指し示すことができる。したがって、一部の実施形態では、マウスに神経毒性処置を投与して、処置が、ヒト対象において神経毒性を防止または低減させるか否かを決定することができる。神経毒性処置の例は、コルチコステロイド（例えば、デキサメタゾン、プレドニゾン）、抗IL-6抗体（例えば、シルツキシマブ）および血小板過剰輸注（hypertransfusion）を含むがこれらに限定されない。

【0154】

追加の実施形態

本開示の使用に関する追加の実施形態は、下の番号を付けた段落に提供される：

【0155】

1. 免疫不全マウスに腫瘍細胞を移植するステップと、
マウスにヒト末梢血単核細胞（PBMC）を移植するステップと、
腫瘍細胞における細胞表面抗原を特異的に標的化するキメラ抗原受容体（CAR）を発現するように操作されたヒト免疫細胞（ヒトCAR免疫細胞）をマウスに投与するステップと、
マウスを、サイトカイン放出症候群（CRS）の誘導、および／または腫瘍細胞の処置に関するヒトCAR免疫細胞の有効性についてアッセイするステップとを含む、方法。

【0156】

2. マウスに、腫瘍細胞を含む患者由来異種移植片（PDX）を移植するステップを含む

10

20

30

40

50

、段落 1 に記載の方法。

【0157】

3. マウスに、 $0.1 \sim 5.0 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞を移植する、段落 1 または段落 2 に記載の方法。

【0158】

4. マウスに、 $0.25 \sim 0.5 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞を移植する、段落 3 に記載の方法。

【0159】

5. 腫瘍細胞が、腫瘍細胞系または患者由来異種移植片 (PDX) に由来する、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0160】

6. マウスに照射するステップをさらに含む、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0161】

7. マウスに、マウスに照射するステップの直後に腫瘍細胞が移植される、段落 6 に記載の方法。

【0162】

8. マウスに、マウスに照射するステップの 4 ~ 24 時間後に腫瘍細胞が移植される、段落 6 に記載の方法。

【0163】

9. マウスに、 $0.5 \sim 3.0 \times 10^7$ 個の PBMC が移植される、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0164】

10. マウスに、 1.5×10^7 個の PBMC が移植される、段落 9 に記載の方法。

【0165】

11. マウスに、マウスに照射するステップの直後に PBMC が移植される、段落 6 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0166】

12. マウスに、マウスに照射するステップの 4 ~ 24 時間後に PBMC が移植される、段落 6 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0167】

13. マウスに、同時に、PBMC が移植され、ヒト CAR 免疫細胞が投与される、段落 1 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0168】

14. マウスに、腫瘍細胞移植の 6 ~ 12 日後に CAR 免疫細胞 (例えば、T 細胞、B 細胞、NK 細胞) 療法が投与される、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0169】

15. マウスに、 $1.0 \sim 5.0 \times 10^6$ 個のヒト CAR 免疫細胞が投与される、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0170】

16. PBMC およびヒト CAR 免疫細胞が、異なるドナー対象に由来する、先行する段落のいずれか 1 つに記載の方法。

【0171】

17. PBMC およびヒト CAR 免疫細胞が、同じドナー対象に由来する、段落 1 ~ 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0172】

18. 腫瘍細胞、PBMC およびヒト CAR 免疫細胞が、同じドナー対象に由来する、段落 17 に記載の方法。

【0173】

19. サイトカイン放出症候群 (CRS) の処置に有効な候補薬剤をマウスに投与するス

10

20

30

40

50

テップと、次いで、マウスを、CRSの誘導、および腫瘍細胞の処置に関するヒトCAR免疫細胞の有効性についてアッセイするステップをさらに含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0174】

20. CRSの処置に有効な候補薬剤が、ヒトCAR免疫細胞が投与された直後～12日後に投与される、段落19に記載の方法。

【0175】

21. CRSの処置に有効な候補薬剤が、ヒトCAR免疫細胞が投与されてから5～9日後に投与される、段落20に記載の方法。

【0176】

22. CRSの処置に有効な候補薬剤が、ヒトCAR免疫細胞が投与される1～3日前に投与される、段落20に記載の方法。

【0177】

23. 候補薬剤が、IL-6アンタゴニスト、抗IL-6抗体、コルチコステロイド、抗TNF- α 薬、IL-1R阻害剤、GM-CSF阻害剤および小分子阻害剤からなる群より選択される、段落20～22のいずれか1つに記載の方法。

【0178】

24. IL-6アンタゴニストが、トシリズマブである、段落23に記載の方法。

【0179】

25. 腫瘍細胞、PBMCおよびヒトCAR免疫細胞が、尾静脈注射によりマウスに投与される、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0180】

26. マウスが、100～1300 cGyで照射される、段落6～25のいずれか1つに記載の方法。

【0181】

27. マウスが、非肥満糖尿病(NOD)マウスである、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0182】

28. マウスが、Prkdc遺伝子におけるヌル変異およびIl2rg遺伝子におけるヌル変異を含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0183】

29. マウスが、NOD-Cg.-PrkdcscidIl2rgtm1wJl/SzJ遺伝子型を有する、段落28に記載の方法。

【0184】

30. マウスが、機能的な主要組織適合複合体I(MHC I)および主要組織適合複合体II(MHC II)を欠如する、段落28または29に記載の方法。

【0185】

31. マウスが、ヌルH2-Ab1遺伝子を含む、段落30に記載の方法。

【0186】

32. マウスが、ヌルMHCクラスI H2-K1遺伝子を含む、段落30または31に記載の方法。

【0187】

33. マウスが、ヌルMHCクラスI H2-D1遺伝子を含む、段落30～32のいずれか1つに記載の方法。

【0188】

34. マウスが、NOD.Cg-Prkdcscid H2-K1tm1Bpe H2-Ab1em1Mvw H2-D1tm1Bpe Il2rgtm1Wjl/SzJマウス(NSG-(Kb Db)ヌル(IAヌル)マウス)である、段落33に記載の方法。

【0189】

35. マウスをCRSの誘導についてアッセイするステップが、インターロイキン(IL

10

20

30

40

50

)-6、IL10、インターフェロン(IFN)- γ 、単球走化性タンパク質1(MCP-1)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、腫瘍壊死因子(TNF)、IL-1、IL-2、IL-2受容体アルファ(IL-2R α)、IL-8、IL-4、IL-18およびマクロファージ炎症性タンパク質(MIP)4からなる群より選択されるサイトカインの循環レベルを測定するステップを含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0190】

36. マウスにおけるヒトIFN- γ レベルが $\geq 1,800 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトIL-10レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトIL-6レベルが $\geq 25 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトIL-2レベルが $\geq 80 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトIL-4レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトTNF α レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトIL-8レベルが $\geq 15 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；
マウスにおけるヒトMCP-1レベルが $\geq 120 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である；および/
または

マウスにおけるヒトGM-CSFレベルが $\geq 600 \text{ pg/ml} \pm 10\%$ である
場合に、CRS誘導の可能性が高いと決定するステップをさらに含む、段落31に記載の方法。

【0191】

37. マウスを、マクロファージ活性化症候群(MAS)についてアッセイするステップをさらに含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0192】

38. MASの可能性が、IL-6、IL-1および/またはIFN- γ の循環レベルを測定することにより決定される、段落37に記載の方法。

【0193】

39. マウスを、神経毒性についてアッセイするステップをさらに含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0194】

3640. 神経毒性の可能性が、IFN- γ 、IL-6および/またはTNF- α の循環レベルを測定することにより決定される、段落39に記載の方法。

【0195】

41. 肝臓・腎臓機能の血清生化学的解析を行うステップをさらに含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0196】

42. 血清生化学的解析が、次のマーカー：アスパラギン酸トランスアミナーゼ(ALT)、アルブミン、総ビリルビン、クレアチニンまたは血中尿素窒素のうち少なくとも1種のレベルを測定するステップを含む、段落41に記載の方法。

【0197】

43. CRSの処置に有効な候補薬剤が、1種または複数の循環サイトカインのレベルを低減させるか否かを決定するステップをさらに含む、段落19～42のいずれか1つに記載の方法。

【0198】

44. 1種または複数のサイトカインの循環レベルが、候補薬剤なしでヒトCAR免疫細胞(例えば、T細胞、B細胞、NK細胞)療法を投与されたマウスと比べて、ヒトCAR免疫細胞(例えば、T細胞、B細胞、NK細胞)療法および候補薬剤を投与されたマウスにおいて30～100%低減される場合、CRSの処置に有効な候補薬剤が、1種または複数の循環サイトカインのレベルを低減させると決定するステップを含む、段落43に記載の方法。

【0199】

45. マウスを、腫瘍細胞の処置に関するヒトCAR免疫細胞の有効性についてアッセイするステップが、腫瘍細胞の成長を測定するステップを含む、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0200】

46. 腫瘍細胞の成長が、時間をわたって測定される、段落45に記載の方法。

【0201】

47. ヒトCAR免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）療法を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い腫瘍体積の低減が、有効性を指し示す、段落45または46に記載の方法。

【0202】

48. ヒトCAR免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、NK細胞）療法を投与されなかった対照マウスと比べて20%またはそれよりも多い腫瘍負荷の低減が、有効性を指し示す、段落45または段落46に記載の方法。

【0203】

49. 腫瘍細胞の成長が、無増悪生存、腫瘍体積倍加時間、相対的腫瘍体積、腫瘍成長阻害または腫瘍成長速度の決定に使用される、段落45～48のいずれか1つに記載の方法。

【0204】

50. ヒトCAR免疫細胞が、普遍的な同種異系ヒトCAR免疫細胞である、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0205】

51. 免疫不全マウスに照射するステップと、

マウスに腫瘍細胞を移植するステップと、

マウスにヒト末梢血単核細胞（PBMC）を移植するステップと、

腫瘍細胞における細胞表面抗原を特異的に標的化するキメラ抗原受容体（CAR）を発現するように操作された普遍的な同種異系ヒト免疫細胞（普遍的な同種異系ヒトCAR免疫細胞）をマウスに投与するステップと、

マウスを、サイトカイン放出症候群（CRS）の誘導、および／または腫瘍細胞の処置に関する普遍的な同種異系ヒトCAR免疫細胞の有効性についてアッセイするステップとを含む、方法。

【0206】

52. ヒト免疫細胞が、T細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞、単球、樹状細胞および好中球からなる群より選択される、先行する段落のいずれか1つに記載の方法。

【0207】

53. ヒト免疫細胞が、T細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞、単球、樹状細胞および好中球のうち少なくとも2種を含む、段落52に記載の方法。

【実施例】

【0208】

（実施例1）

CAR T19処置後のサイトカイン放出に対する照射の効果を試験した。6～7週齢の雌MHCクラスI／II KO NSG（商標）マウスは、100 cGyの照射を受けた。次に、照射の少なくとも4時間後に、照射されていないおよび照射されたMHCクラスI／II KO NSG（商標）に、Raji_Luc 0.25×10⁶/マウスをIV注射で移植した。Raji_Luc腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング（BLI）によってモニターした。次に、照射されたマウスおよび照射されていないマウスは、10×10⁶個のCD19 CAR Tまたは10×10⁶個のモックT CAR Tを受けた。マウスは、同様の腫瘍負荷を有することが見出された。CAR T処置の2日後にマウスを出血させ、循環サイトカイン濃度をBDサイトメトリービーズアレイ（CBA）Th1/Th2 IIキットによって測定した。CAR T処置後に毎日の体重および臨床観察を行った。CAR T有効性に有意差はなかったが、照射された

10

20

30

40

50

マウスは、CAR T誘導性サイトカイン放出に対する感受性がより高かった。本データは、照射されたMHCクラスI／II KO NSG（商標）マウスが、CAR T19処置後に、対照の照射されていないマウスと比較して、増加したサイトカイン放出を有したことを実証した（図1A～図1B）。

【0209】

（実施例2）

低い腫瘍負荷を有するマウスに対するCD22 CAR T細胞療法の効果を試験した。照射されたDKO NSG（商標）およびNSG（商標）マウスに、 0.25×10^6 個のRaji-Luc細胞を移植し（0日目、D0）、続いて、D6に 3×10^6 個のCD22 CAR T処置を行った。図2Aに示す通り、腫瘍負荷を定量的に測定するための平均ラジアンズを使用して作成されたin vivoバイオルミネセンスイメージング（BLI）プロットによって実証される通り、CD22 CAR Tは、DKOマウスおよびNSG（商標）マウスの両方において同様の有効性を有する。DKOおよびNSG（商標）マウスの両方が、CAR T処置の際に非常に少ない量のサイトカイン放出を有することが見出された。CAR T処置の2日後にマウスを出血させ、循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって測定した（図2B）。本データは、低い腫瘍負荷を有するマウスにおけるCD22 CAR T処置が、優れた有効性を有し、非常に低いレベルのヒトサイトカインを誘導することを実証した（図2A～図2B）。

10

【0210】

（実施例3）

高い腫瘍負荷を有するマウスに対するCD19 CAR T細胞療法の効果を試験した。照射されたDKO NSG（商標）に、 0.25×10^6 個のRaji-Luc細胞を移植し（D0）、続いて、D9またはD11に 5×10^6 個のCD19 CAR Tまたは 5×10^6 個のモックT処置を行った。CAR T／モックT処置の2日後にマウス血清を収集した。Raji-Luc腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング（BLI）によってモニターした。より高い腫瘍負荷を有するマウス（D11）は、CD19 CAR T処置後に、相対的に低い腫瘍負荷を有するマウスと比較して増加したヒトサイトカイン（INF- γ 、TNF α 、IL10、IL6およびIL4）を有した（図3A）。低いRaji-Luc腫瘍負荷を有するDKOマウスにおけるCD19 CAR T処置は、腫瘍成長を有意に阻害し、マウス体重減少を防止した；高い腫瘍負荷を有するDKOマウスにおけるCD19 CAR T処置は、不十分な有効性をもたらす（図3B）。両方のCAR T処置群が、PBS処置群と比較して、マウス体重減少を防止した。1群あたり5匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。本データは、より高い腫瘍負荷を有するマウスにおけるCD19 CAR T処置が、不十分な有効性および高いCRS誘導を有することを実証した（図3A～図3B）。

20

30

【0211】

（実施例4）

自家PBMC／CD19 CAR T処置後の中等度の腫瘍負荷からのサイトカイン放出の時間経過を行った。照射後に（D0）、NSG（商標）マウスに、 0.5×10^6 ／マウスのIV注射を用いて移植した。Raji-Luc腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング（BLI）によってモニターした。マウスを、9日目から始めて、PBSまたは 5×10^6 個のCD19 CAR T、 15×10^6 個のPBMCまたは 5×10^6 個のCD19 CAR Tおよび 15×10^6 個のPBMCで静脈内処置した。CD19 CAR TおよびPBMCは、同じドナーに由来した。CAR T／PBMC処置後の異なる日（D1、D2、D3）に、マウス血清を収集した。循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって測定した。CD19 CAR Tバッチ1およびPBMCは、同じドナーに由来した。1群あたり4匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。PBMC／CAR T同時処置マウスは、CD19 CAR T単独を受けているマウスと比較して増加したヒトINF

40

50

ー γ 、TNFおよびIL6を有した(図4)。本データは、CAR T細胞療法が、PBM Cを受けなかった対照マウスと比較して、PBM Cヒト化マウスにおいてより高いレベルのヒトサイトカインを誘導したことを実証した。

【0212】

(実施例5)

腫瘍進行およびサイトカインレベルに対するPBM Cヒト化DKOマウスの自家CD22 CAR T処置の効果を試験した。CD22 CAR TおよびPBM Cは、同じドナーに由来した。照射後に(D0)、MHCクラスI/II KO NSGマウスに、 0.5×10^6 /マウスのIV注射で移植した。Raji__Luc腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)によってモニターした。Raji__Luc移植の2日後に、マウスは、 1.5×10^6 PBM Cを受けた。Raji__Luc移植の6日後に、マウスは、1) PBS; 2) 5×10^6 個のCD19 CAR T; または3) 5×10^6 個のモックTを受けた。CAR T/モック処置の2日後にマウスを出血させ、循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって測定した。CAR T処置後に毎日の体重および臨床観察を行った。図5Aの上部に示す通り、腫瘍負荷を定量的に測定するための平均ラジアンズを使用して、in vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)をプロットした。図5Aの下部は、マウス毎の背側(D)および腹側(V)画像を提示する。1群あたり4~5匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。CAR T有効性は、PBSまたはモックCAR T処置により観察される有効性を上回ると決定された。PBM Cヒト化による自家CD22 CAR T処置は、PBM Cヒト化マウスにおけるモックT処置と比較して、より高いヒトサイトカイン((INF- γ 、TNF α 、IL10、IL6、IL4およびIL2)を誘導した(図5B)。本データは、PBM Cヒト化DKOマウスにおける自家CD22 CAR T処置が、Raji__Luc腫瘍進行を遮断し、モックT処置と比較して、より高いヒトサイトカインを誘導したことを実証する(図5A~図5B)。したがって、CAR T細胞薬物用量範囲を使用して、一部の事例では、サイトカイン誘導および毒性が少ない効果的な用量を決定することができる。さらに、データは、一部の事例では、処置に先立ち、個体における毒性を予測することができ、これにより、対象を、サイトカイン誘導を低減させるための薬物で前処置することができることを実証する。

【0213】

(実施例6)

PBM Cヒト化DKOマウスモデルを使用して、有効性およびサイトカイン放出を試験した。Raji__Luc(マウスあたり 0.25×10^6 個)の6日後に、PBM Cヒト化マウスまたは対照(PBM Cなし)マウスを、PBSまたは 5×10^6 個のCD19 CAR T細胞または 5×10^6 個のモックT細胞でIV処置した。CD19 CAR T細胞およびPBM Cは、同じドナーに由来した。CAR T/PBM C処置の2日後に血清を収集し、サイトカインレベル(D8)をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって解析した。1群あたり5匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。図6Aに示される、PBM Cヒト化なしでCD19 CAR Tを受けているマウスと比較した、CD19 CAR T/PBM C処置後の中等度の腫瘍負荷マウスからの増加したサイトカイン放出。図6Bは、腫瘍負荷を定量的に測定するための平均ラジアンズを使用してプロットされた、in vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)を示す。PBM Cヒト化ありおよびなしで、CAR T有効性が観察されたが、12日目においてPBM Cヒト化による完全奏効は明らかであった。異なる実験日におけるこれらのマウスのバイオルミネセンス画像を図6Cに示す。全てのマウスを同一のカメラ設定で画像化した。それぞれ、背側(D)および腹側(V)画像を示す。1群あたり5匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。本データは、PBM Cヒト化DKOマウスモデルが、有効性(イメージング)およびサイトカイン放出の両方を評価するための特有のプラットフォームを提供することを実証する(図6A~図6C)。

【0214】

(実施例7)

自家PBMC/CD19 CART 処置後の中等度の腫瘍負荷からの有効性およびサイトカイン放出を試験した。照射後に(D0)、DKO NSG (商標)マウスに、 0.25×10^6 /マウスを静脈内注射で移植した。Raji__Luc 腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)によってモニターした。マウスを、8日目から始めて、PBSまたは 15×10^6 個のPBMCまたは 1×10^6 個のCD19 CART および 15×10^6 個のPBMC、 3×10^6 個のCD19 CART および 15×10^6 個のPBMCまたは 5×10^6 個のCD19 CART および 15×10^6 個のPBMCで静脈内処置した。CD19 CART およびPBMCは、同じドナーに由来した。CART/PBMC処置の2日後にマウス血清を収集した。循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって測定した。1群あたり5匹のマウスが存在しており、データは、図7A~図7Bにおいて平均±SEMとして提示される。PBMC/CART同時処置マウスは、用量依存的に増加したレベルのヒトIFN- γ を有することが見出された(図7B)。高いCART用量は、より低いCART用量処置と比較して改善された有効性(腫瘍負荷)を有した(図7A、左グラフ)一方、両方のCART用量は、Raji__Luc 腫瘍成長によるマウス体重減少をレスキューすることが観察された(図7A、右グラフ)。本データは、CART細胞療法が、用量依存的様式で、PBMCヒト化マウスにおいてより高いレベルのヒトサイトカインを誘導したことを実証した。

10

20

【0215】

(実施例8)

自家PBMC/CD19 CART 処置後の、PBMCを受けなかった対照マウスと比較した、PBMCヒト化マウスのヒトサイトカインレベルに対するCART細胞療法の効果を試験した。新しいCD19 CART構築物および新しいPBMCドナー(ドナー9534)を使用して、CD19 CART細胞を生成した。照射後に(D0)、DKO NSG (商標)マウスに、 0.25×10^6 /マウスを静脈内注射で移植した。Raji__Luc 腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)によってモニターした。マウスを、8日目から始めて、PBSまたは 15×10^6 個のPBMCまたは 5×10^6 個のCD19 CART 単独または 5×10^6 個のCD19 CART および 15×10^6 個のPBMCで静脈内処置した。CD19 CART およびPBMCは、同じドナーに由来した。CART/PBMC処置の2日後にマウス血清を収集した。循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1/Th2 IIキットによって測定した。1群あたり5匹のマウスが存在しており、データは、平均±SEMとして提示される。PBMC/CART同時処置マウスおよびCART単独処置マウスは、減少した腫瘍負荷を有しており(図8A)、有意に体重を減らさなかった(図8B)。さらに、PBMC/CART同時処置マウスは、CART単独で処置されたマウスと比較して、高レベルのヒトIFNおよびTNF放出を有した(図8C)。

30

【0216】

(実施例9)

Raji__Luc 腫瘍を有する異なるPBMCヒト化マウスからの同種異系CD19 CART処置の有効性を試験した。改変されたCD19 CART構築物および新しいPBMCドナーを使用して、同種異系CD19 CART細胞を生成した。照射後に(D0)、DKO NSG (商標)マウスに、 0.25×10^6 /マウスを静脈内注射で移植した。Raji__Luc 腫瘍成長を、in vivoバイオルミネセンスイメージング(BLI)によってモニターした。マウスを、8日目から始めて、PBSまたは 15×10^6 個のPBMCまたは 5×10^6 個のCD19 CART 単独または 5×10^6 個のCD19 CART および 15×10^6 個のPBMCで静脈内処置した。2つの異なるドナーのPBMC(PBMC 8058またはPBMC 9601)をヒト化のために使用した。同種異系CARTは、腫瘍負荷イメージング(図9A)およびフロー解析CD3-CD

40

50

19+細胞集団（図9B）により、ある程度のレベルの有効性を示した。同種異系CD19 CART処置は、Raji-Luc腫瘍発達によって誘導される体重減少を遮断した（図9C）。

【0217】

（実施例10）

同種異系CD19 CART処置後のRaji-Luc腫瘍を有する異なるPBMCヒト化マウスからのサイトカイン放出の変動を試験した。新しいCD19 CAR構築物および新しいPBMCドナーを使用して、新しい同種異系CD19 CART細胞を生成した。照射後に（D0）、DKO NSG（商標）マウスに、 0.25×10^6 / マウスを静脈内注射で移植した。Raji-Luc腫瘍成長をin vivoバイオルミネセンスイメージング（BLI）によってモニターした。マウスを、8日目から始めて、PBSまたは 15×10^6 個のPBMCまたは 5×10^6 個のCD19 CAR T単独または 5×10^6 個のCD19 CAR Tおよび 15×10^6 個のPBMCで静脈内処置した。2つの異なるPBMCドナー（PBMC 8058またはPBMC 9601）をヒト化のために使用した。CAR T / PBMC処置後の異なる日（D2、D3）にマウス血清を収集した。循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1 / Th2 IIキットによって測定した。CD19 CART / PBMC 9601処置によるマウスは、CD19 CART / PBMC 8508で処置されたマウスと比較して、より高いレベルのIL10およびIL6放出を有しており（図10A～図10C）、ドナー特異的用量応答を実証する。

【0218】

（実施例11）

自家CD19 CART処置後の異なるPBMCヒト化マウスからのサイトカイン放出および毒性の変動を試験した。PBMCドナー9534またはPBMCドナー9531のいずれかに由来する新しいCD19 CAR構築物（実施例8で使用された）を使用して、自家CD19 CART細胞を生成した。照射後に（D0）、DKO NSG（商標）マウスに、PBMC 15×10^6 / マウスを静脈内注射で移植した。マウスを、6日目から始めて、PBSまたは 5×10^6 個のモックTまたは 5×10^6 個の自家CD19 CAR Tで静脈内処置した。CAR T / PBMC処置後の異なる日にマウス血清を収集した（図11A）。循環サイトカイン濃度をBD CBA Th1 / Th2 IIキットによって測定した。CAR T処置の6日後に、CD3-CD19+集団のフロー解析のために、全てのマウスから全血および脾臓を収集した。両方の自家CD19 CART試料は、優れた有効性を示し、対応するPBS対照およびモックT処置マウスと比較して、CD3-CD19+集団を減少させた（図11B）。対照的に、PBMC 9534ヒト化マウスは、自家CART処置後に、PBMC 9531ヒト化マウスと比較して、有意な体重減少（図11C）ならびに有意により高いレベルのIL-10およびIL-4を有しており（図11D）、ドナー特異的応答を実証する。

【0219】

本明細書に開示されているあらゆる参考文献、特許および特許出願は、それぞれが引用されている主題に関して参照により本明細書に組み込まれ、これは、一部の事例では、文書の全体を包含し得る。

【0220】

不定冠詞「1つの(a)」および「1つの(an)」は、明細書および特許請求の範囲において本明細書で使用される場合、それとは反対のことが明らかに指示されない限り、「少なくとも1つの」を意味することを理解されたい。

【0221】

それとは反対のことが明らかに指示されない限り、2つ以上のステップまたは行為を含む、本明細書で請求されるいずれかの方法において、方法のステップまたは行為の順序が、方法のステップまたは行為が列挙されている順序に必ずしも限定されないことも理解されたい。

【0222】

特許請求の範囲および上述の明細書において、「を含む (comprising)」、「を含む (including)」、「を保有する」、「を有する」、「を含有する」、「が関与する」、「を保持する」、「で構成される」その他等のあらゆる移行句は、オープンエンドであることを、すなわち、「を含むがこれらに限定されない」を意味することを理解されたい。United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03において示される通り、移行句「からなる」および「から本質的になる」のみを、それぞれクローズドまたはセミクローズド (semi-closed) な移行句とする。

【0223】

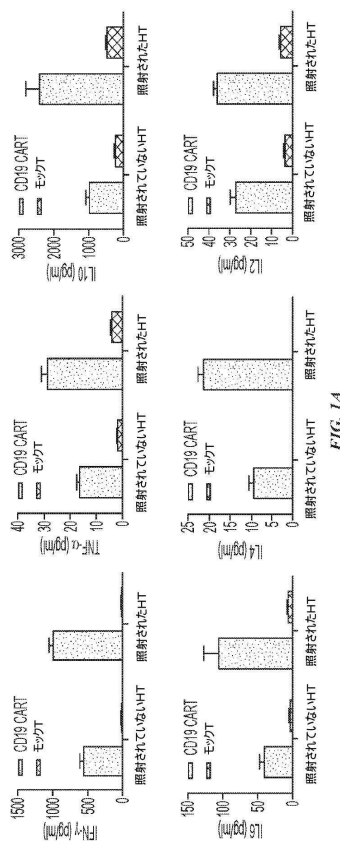
数値に先行する用語「約」および「実質的に」は、列挙される数値の $\pm 10\%$ を意味する。

【0224】

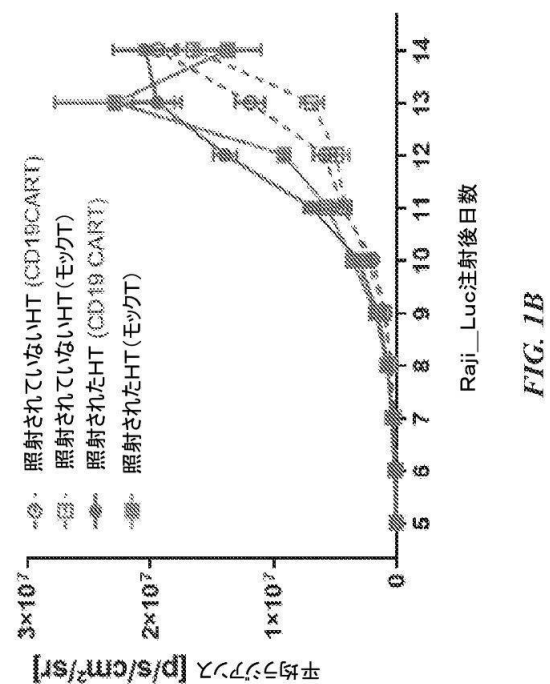
値の範囲が提示される場合、範囲の上端および下端の間の各値が、本明細書において具体的に企図および記載されている。

【図面】

【図1-1】



【図1-2】



10

20

30

40

50

【図 2 - 1】

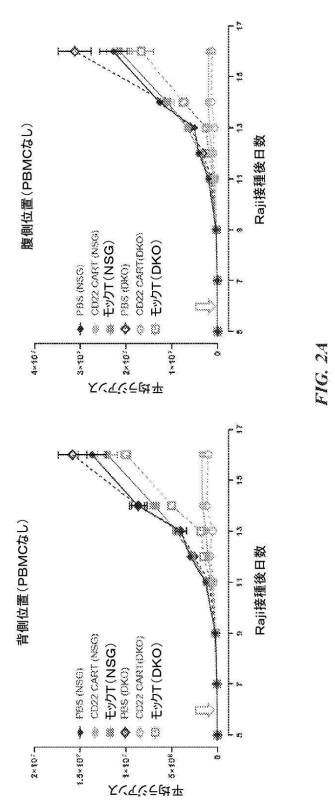


FIG. 2A

【図 2 - 2】

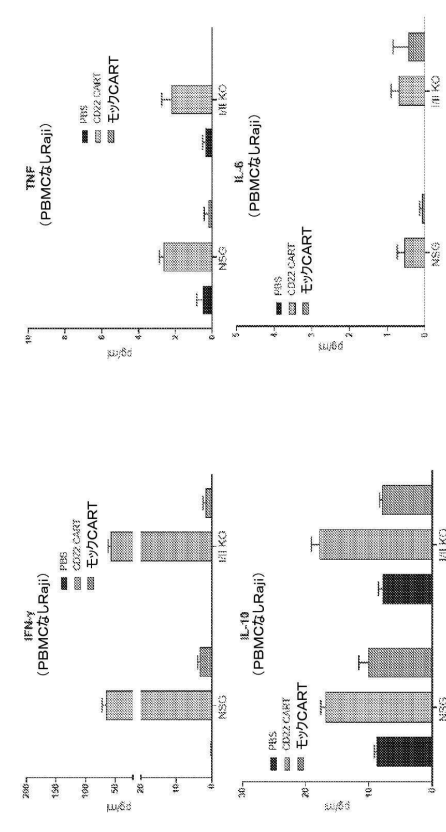


FIG. 2B

【図 3 - 1】

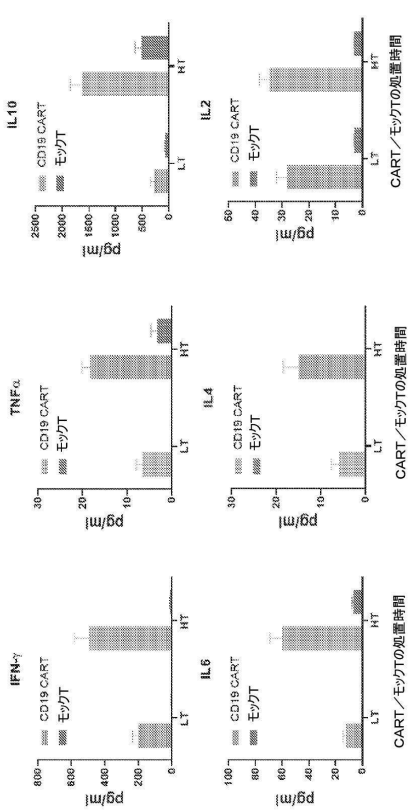


FIG. 3A

【図 3 - 2】

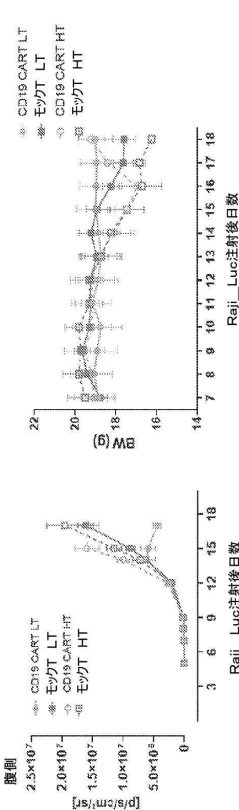


FIG. 3B

10

20

30

40

50

【図 4】

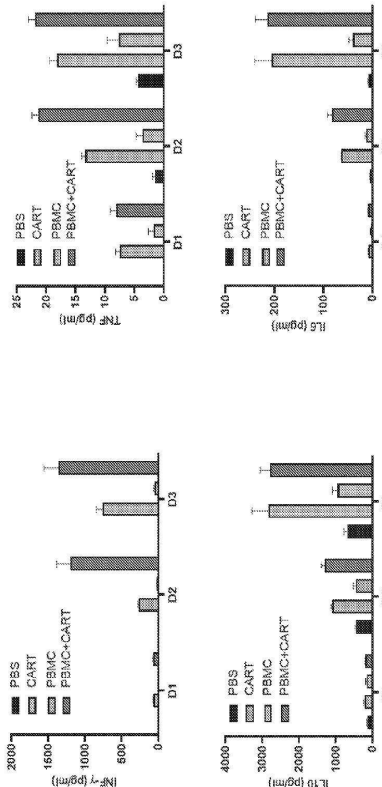


FIG. 4

【図 5 - 1】

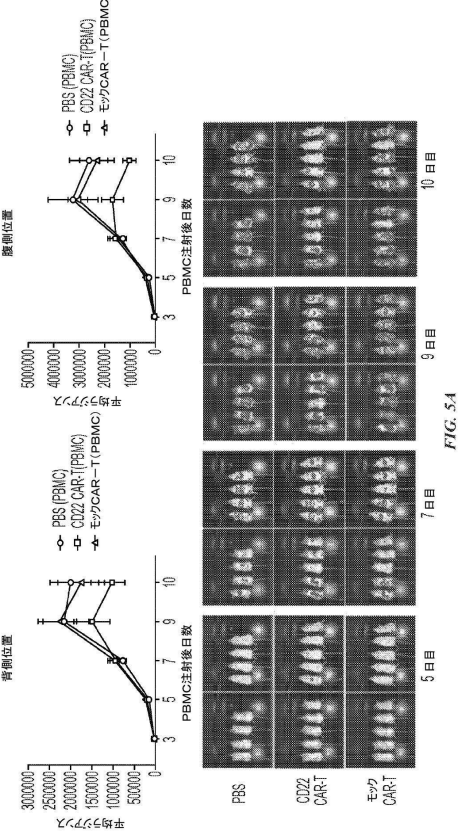


FIG. 5.1

【図 5 - 2】

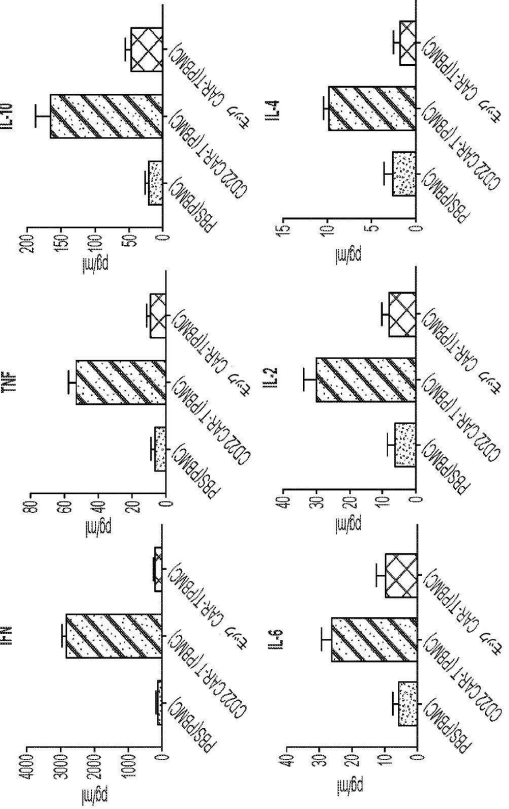


FIG. 5.2

【図 6 - 1】

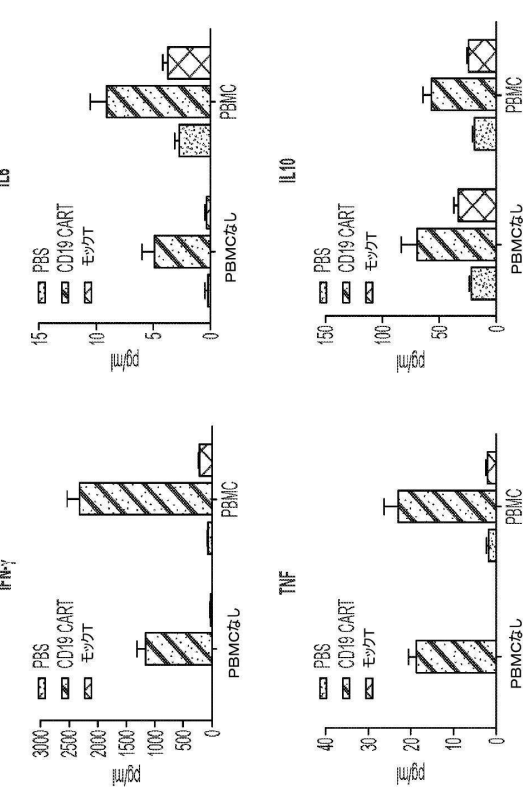


FIG. 6.1

10

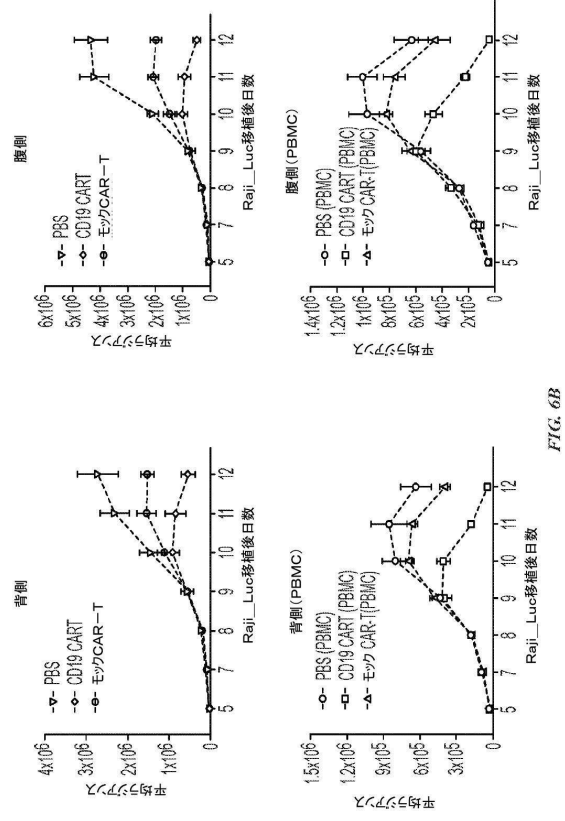
20

30

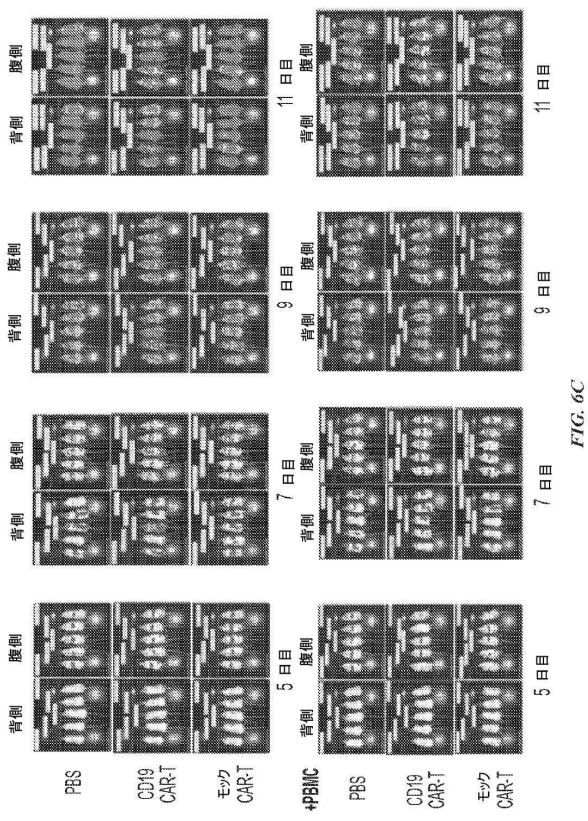
40

50

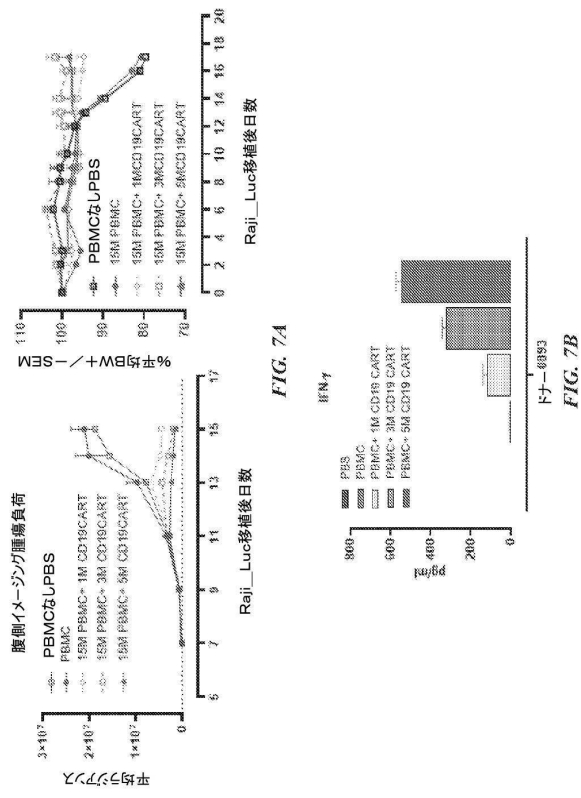
【図 6 - 2】



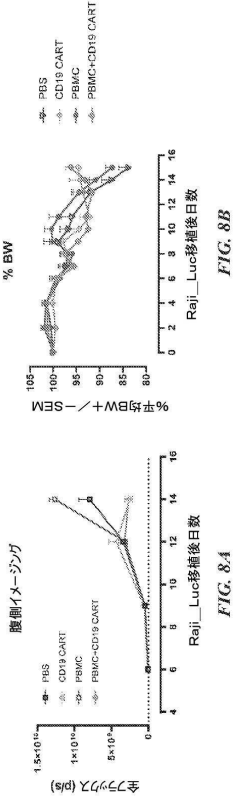
【図 6 - 3】



【図 7】



【図 8 - 1】



10

20

30

40

50

【図 8 - 2】

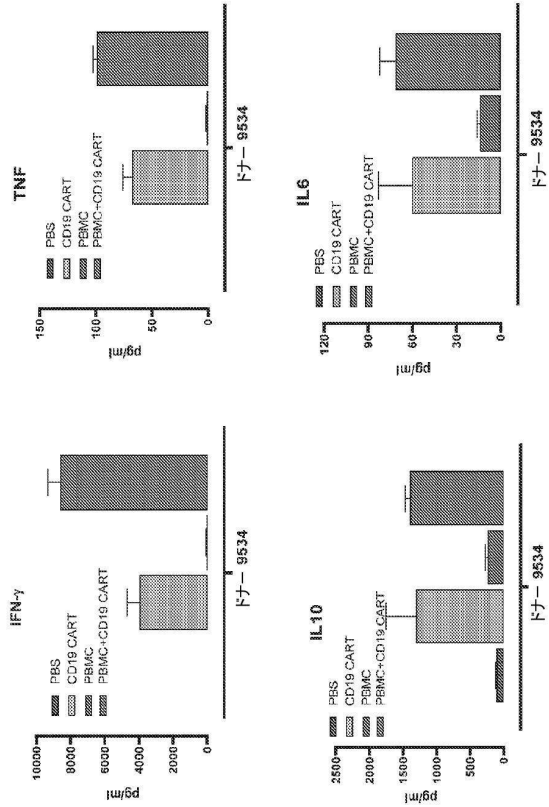


FIG. 8C

【図 9 - 1】

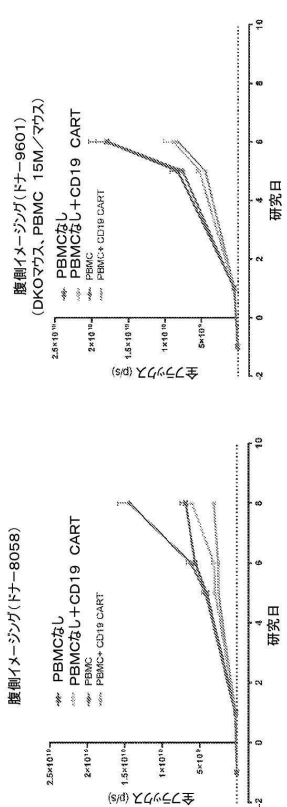


FIG. 9A

【図 9 - 2】

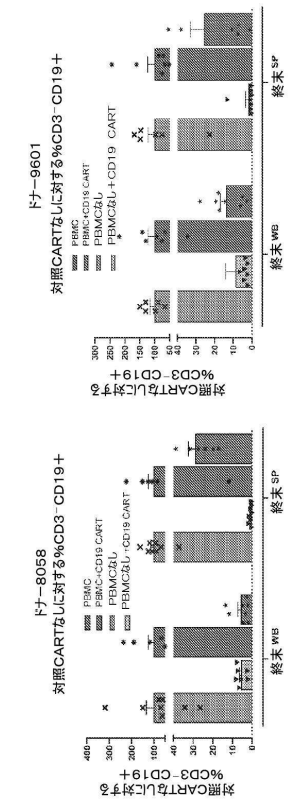


FIG. 9B

【図 9 - 3】

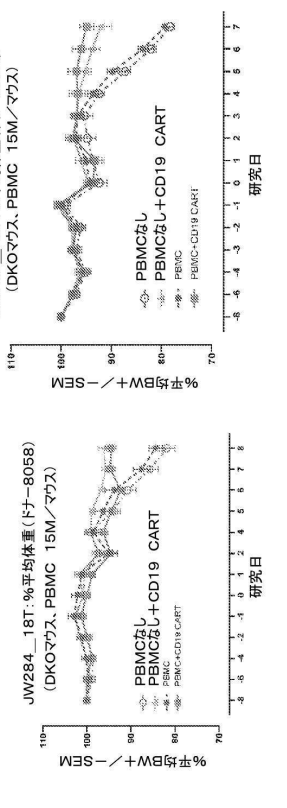


FIG. 9C

【図 10-1】

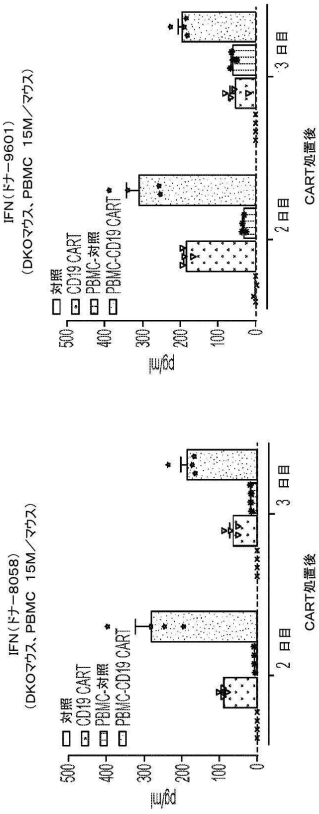


FIG. 10A

【図 10-2】

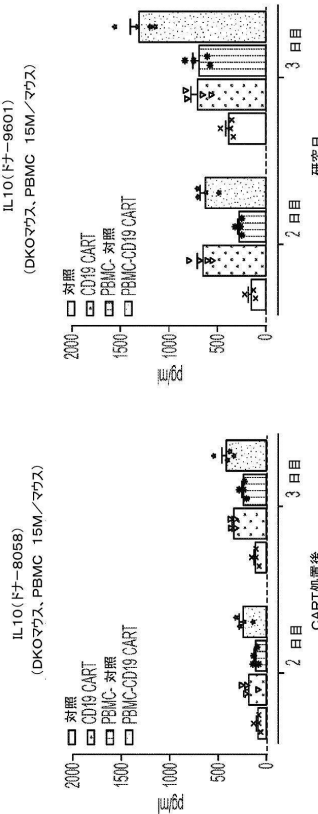


FIG. 10B

【図 10-3】

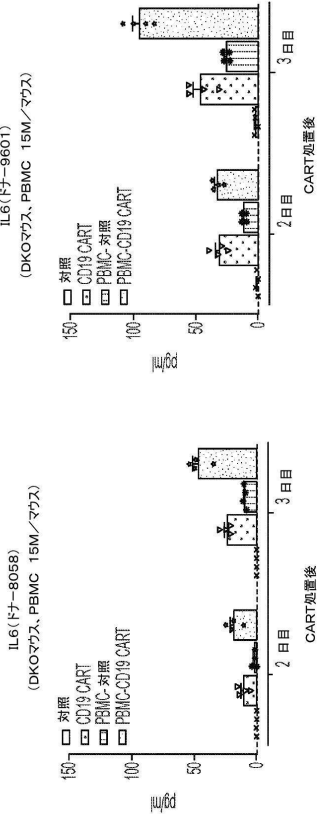
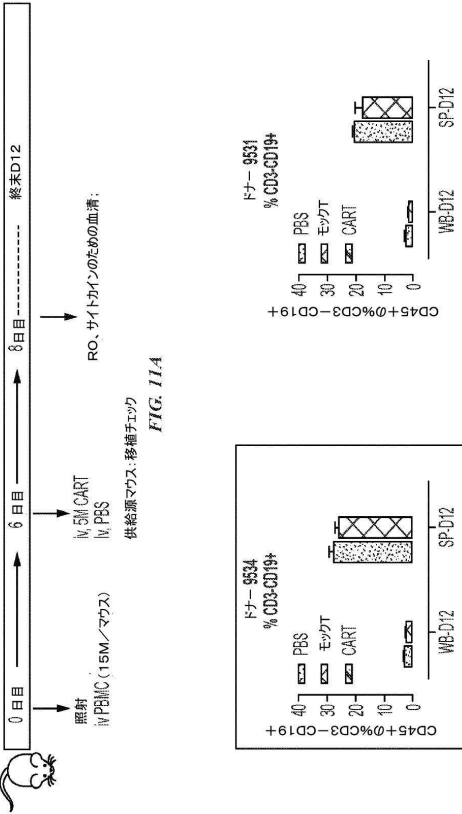
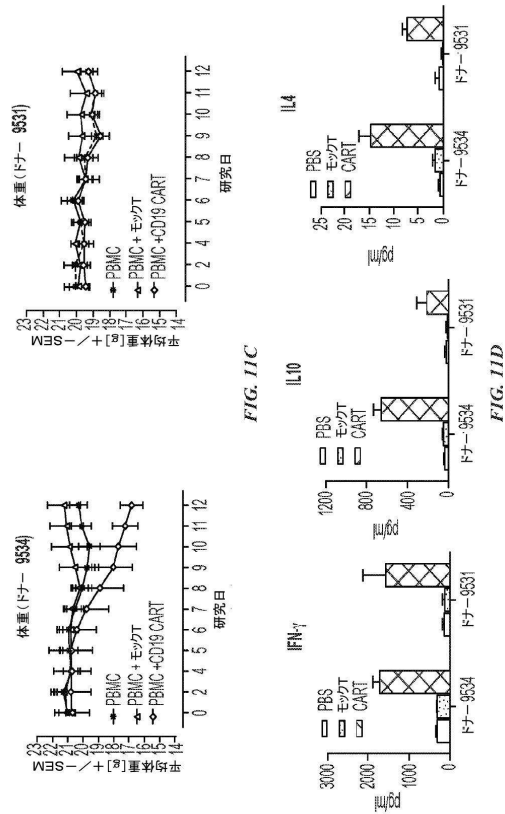


FIG. 10C

【図 11-1】



【図 11-2】



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/051734

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 35/17; A61K 67/027; C07K 14/705; C12N 5/00 (2021.01) CPC - A01K 2207/12; A01K 2207/15; A01K 2227/105; C07K 14/7051; C07K 2319/03; C07K 2319/70 (2021.08)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) see Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched see Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) see Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018/0187210 A1 (THE JACKSON LABORATORY) 05 July 2018 (05.07.2018) entire document	1-4
A	WO 2019/141251 A1 (BEIJING BIOCYTOGEN CO. LTD) 25 July 2019 (25.07.2019) entire document	1-4
A	US 2013/0316326 A1 (FILINOVA) 28 November 2013 (28.11.2013) entire document	1-4
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 November 2021		Date of mailing of the international search report DEC 27 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Harry Kim Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/051734

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 5-44
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

フロントページの続き

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,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,KE,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,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ケック, ジェイムズ

アメリカ合衆国 メイン 04609, バー ハーバー, メイン ストリート 600

(72)発明者 ジャオ, ジン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139, ケンブリッジ, ハーバード ストリート 29
5, アpartment 902

(72)発明者 イェ, チュンティン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 95678, ローズビル, アラベスク サークル 753

F ターム (参考) 4B063 QQ02 QS28 QX01

4B065 AA94X AB01 BA01 CA24 CA44