

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年1月18日 (2018.1.18)

【公表番号】特表2017-504601(P2017-504601A)

【公表日】平成29年2月9日 (2017.2.9)

【年通号数】公開・登録公報2017-006

【出願番号】特願2016-541194(P2016-541194)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/705 Z N A

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成29年11月30日 (2017.11.30)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも、

腫瘍細胞の表面に発現している特異的リガンドを認識することができる細胞外リガンド結合ドメイン；

膜貫通ドメイン；

少なくとも活性化ドメインを含む細胞内ドメイン；および

酸素感受性ポリペプチドドメイン

を含み、かつ

4-1BBに由来する共刺激ドメインを含む、キメラ抗原受容体（CAR）。

【請求項 2】

前記酸素感受性ドメインが、HIF1 もしくはHIF3 の間で選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO：22、23、85もしくはSEQ ID NO：26、27と80％超、好ましくは90％、もしくはより好ましくは95％の同一性を有する、請求項1記載のCAR。

【請求項 3】

前記細胞外ドメインがヒンジをさらに含む、請求項1または2記載のCAR。

【請求項 4】

ヒンジが、CD8a、IgG1、もしくはEpoR-D2より選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO

: 39、40、もしくは41と80%超、好ましくは90%、もしくはより好ましくは95%の同一性を有する、請求項3記載のCAR。

【請求項5】

前記細胞外結合ドメインが、EGFRパリアントIII (EGFRvIII)、CD19、CD20、CD30、CD40、ジシアロガングリオシドGD2、GD3、C型レクチン様分子-1 (CLL-1)、管上皮ムチン (mucine)、gp36、TAG-72、スフィンゴ糖脂質、神経腫腫関連抗原、 α -ヒト絨毛性ゴナドトロピン、 α -フェトプロテイン (AFP)、レクチン反応性AFP、チログロブリン、RAGE-1、MN-CA IX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2 (AS)、腸カルボキシエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ (prostase)、プロスターゼ特異的抗原 (PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGA-1a、p53、プロテイン、PSMA、生存 (surviving) およびテロメラーゼ、前立腺癌腫瘍抗原-1 (PCTA-1)、MAGE、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、CD22、インシュリン増殖因子 (IGF1) -I、IGF-II、IGF1受容体、メソテリン、腫瘍特異的ペプチドエピトープを提示する主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、5T4、ROR1、Nkp30、NKG2D、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメインA (EDA) およびエクストラドメインB (EDB)、ならびにテネイシン-CのA1ドメイン (TnC A1) および線維芽細胞関連タンパク質 (fap)、LRP6、黒色腫腫関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (MCSP)、CD38/CS1、MART1、WT1、MUC1、LMP2、イディオタイプ、NY-ESO-1、Ras変異体、gp100、プロテイナーゼ3、bcr-abl、チロシナーゼ、hTERT、EphA2、ML-TAP、ERG、NA17、PAX3、ALK、アンドロゲン受容体；細胞系列特異的抗原または組織特異的抗原、例えばCD3、CD4、CD8、CD24、CD25、CD33、CD34、CD79、CD116、CD117、CD135、CD123、CD133、CD138、CTLA-4、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、エンドグリン、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、BCMA (CD269、TNFRSF17)、またはウイルス特異的抗原、例えばHIV特異的抗原 (例えば、HIV gp120)；EBV特異的抗原、CMV特異的抗原、HPV特異的抗原、ラッセ (Lasse) ウイルス特異的抗原、またはインフルエンザウイルス特異的抗原のエピトープに対して向けられるscFvを含む、請求項1～4のいずれか一項記載のCAR。

【請求項6】

前記細胞外結合ドメインが、EGFRvIII、CS1、CT83、GD3、MSCP、CD19、5T4、ROR1、CD123、またはCD33細胞標的抗原のエピトープに対して向けられるscFvを含む、請求項1～5のいずれか一項記載のCAR。

【請求項7】

前記細胞外結合ドメインが、SEQ ID NO: 32、35、38；SEQ ID NO: 33；SEQ ID NO: 34；SEQ ID NO: 36またはSEQ ID NO: 37と80%超、好ましくは90%、またはより好ましくは95%の同一性を有するポリペプチドを含むscFvを含む、請求項1～6のいずれか一項記載のCAR。

【請求項8】

膜貫通ドメインが、CD8a、4-1BB、DAP10、CD28、またはFcεRIより選択され、それぞれSEQ ID NO: 42、43、44、45、および46と80%超、好ましくは90%、またはより好ましくは95%の同一性を有する、請求項1～7のいずれか一項記載のCAR。

【請求項9】

細胞内ドメインが、CD3、FcεRIg、CD28、4-1BB、OX40、DAP10、CD28、CD275、HVEM、LIGHT、CD40L、GITR、TIM1、SLAM、CD2、TLT-2、LAG3、DAP12、CD84、CD244、CD229、LTBR、およびCD278の中で選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO: 47～70と80%超、好ましくは90%、もしくはより好ましくは95%の同一性を有するリンカーを含む、請求項1～8のいずれか一項記載のCAR。

【請求項10】

活性化ドメインがCD3である、請求項1～9のいずれか一項記載のCAR。

【請求項11】

単鎖CARである、請求項1～10のいずれか一項記載のCAR。

【請求項12】

多鎖CARである、請求項1～10のいずれか一項記載のCAR。

【請求項 1 3】

多鎖CARが、

それぞれSEQ ID NO：7、3、および4と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、またはより好ましくは95%の同一性を有する、Fc受容体に由来する 鎖、 鎖、および 鎖の一部

を含む、請求項12記載のCAR。

【請求項 1 4】

鎖が、細胞外にCD8ヒンジ、膜貫通ドメインとしてFcR、および細胞内にHIF1 またはHIF3 サブユニットと組み合わされたFcR の一部を含み、

鎖が、細胞外ドメインおよび膜貫通ドメインとしてFcR、ならびに細胞内共刺激ドメインとして ITAM-41BBを含み、

鎖が、膜貫通ドメインとしてFcR、および細胞内活性化ドメインとして ITAM-CD3を含む、

請求項13記載のCAR。

【請求項 1 5】

(a) 免疫細胞を準備する工程；

(b) 少なくとも2種類のインプットシグナルの組み合わせによって少なくとも第1のトランスミッタードメインと第2のトランスミッタードメインの組み合わせが誘導されるように、該免疫細胞が該少なくとも2種類のインプットシグナルに対して感受性になるように該免疫細胞を操作する工程であって、該組み合わせによって該免疫細胞の活性化シグナルが生じ、

第1のインプットシグナルが低酸素であり、

第2のインプットシグナルが、請求項1～14のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体(CAR)による特異的リガンドの認識によって生じ、

それぞれのトランスミッタードメインが単独で該免疫細胞を活性化しない、工程；ならびに

(c) 該操作された免疫細胞を増殖させる工程

を含む、細胞を特異的に標的とするために免疫細胞を操作する方法。

【請求項 1 6】

低酸素誘導性プロモーターの制御下にあることにより、トランスミッタードメインが低酸素に対して感受性になる、請求項15記載の方法。

【請求項 1 7】

低酸素状態に対する感受性が、低酸素誘導因子1(HIF-1)または低酸素誘導因子3(HIF-3)によって誘発される、請求項15または16記載の方法。

【請求項 1 8】

HIF-1 ポリペプチド配列が、SEQ ID NO：5もしくはSEQ ID NO：22～23と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、もしくはより好ましくは95%の同一性を有するか、またはHIF-3 ポリペプチド配列が、SEQ ID NO：26～27と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、もしくはより好ましくは95%の同一性を有する、請求項17記載の方法。

【請求項 1 9】

CARが請求項1～14のいずれか一項記載のものである、請求項15～18のいずれか一項記載の方法。

【請求項 2 0】

CARがウイルス形質導入後に免疫細胞において発現される、請求項15～19のいずれか一項記載の方法。

【請求項 2 1】

ウイルス形質導入がレンチウイルスによって実施される、請求項20記載の方法。

【請求項 2 2】

請求項15～21のいずれか一項記載の方法によって入手可能な免疫細胞。

【請求項 2 3】

治療組成物として使用するための、請求項15～21のいずれか一項記載の方法によって入手可能な免疫細胞。

【請求項 2 4】

癌を処置するための、請求項22または23記載の単離された免疫細胞。

【請求項 2 5】

固形腫瘍を処置するための、請求項24記載の単離された免疫細胞。

【請求項 2 6】

(a) 請求項22～25のいずれか一項記載の免疫細胞を準備する工程；

(b) 該免疫細胞を患者に投与する工程

を含む、それを必要とする対象を処置するための方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 7】

本発明は、論理「ANDゲート」などの合成生物学の原理を免疫細胞技術に適用して、少なくとも2種類のインプットシグナルが組み合わせられた時にしか免疫細胞が刺激および/または活性化されないようにするために作成された(図1)。特に、本発明は、免疫細胞を少なくとも2種類のインプットシグナルの組み合わせに対して感受性にすることによって、免疫療法のために免疫細胞を操作する方法に関する。前記インプットシグナルは低酸素などの外部刺激でもよく、リガンドの認識、好ましくは、前記リガンドを認識することができる特異的キメラ抗原受容体を細胞表面に発現させることによるリガンドの認識でもよい。本発明によれば、インプットシグナルが認識されると、免疫細胞応答を活性化する、好ましくは、シグナル伝達タンパク質を介して免疫細胞応答を活性化する少なくとも2種類のトランスミッタードメインの組み合わせが可能になる。それぞれのトランスミッタータンパク質は単独では不活性であり、従って、免疫細胞応答を活性化しない。これらの2種類のトランスミッタードメインが組み合わせられた時だけ、T細胞が活性化される。トランスミッタードメインは、非限定的な例として、プロテアーゼと、シグナル伝達タンパク質に連結されているプロテアーゼ切断部位を含む固定された膜基質ドメイン、スプリットタンパク質、スキャフォールドタンパク質、二量体化可能なドメイン、抑制を回復することができる化合物を伴う自己抑制タンパク質、前もって不活化された遺伝子の補完でもよい。本発明はまた、キメラ抗原受容体の新たな設計、前記キメラ抗原受容体を含む細胞または本発明の方法によって得られた細胞、および前記操作された免疫細胞を用いた治療的処置にも関する。

[本発明1001]

少なくとも、

腫瘍細胞の表面に発現している特異的リガンドを認識することができる細胞外リガンド結合ドメイン；

膜貫通ドメイン；

少なくとも活性化ドメインを含む細胞内ドメイン；および

酸素感受性ポリペプチドドメイン

を含む、キメラ抗原受容体(CAR)。

[本発明1002]

酸素感受性ドメインが、HIF1 もしくはHIF3 の間で選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO: 22、23、85もしくはSEQ ID NO: 26、27と80%超、好ましくは90%、もしくははより好ましくは95%の同一性を有する、本発明1001のCAR。

[本発明1003]

細胞外ドメインがヒンジをさらに含む、本発明1001または1002のCAR。

[本発明1004]

ヒンジが、CD8a、IgG1、もしくはEpoR-D2より選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO : 39、40、もしくは41と80%超、好ましくは90%、もしくはより好ましくは95%の同一性を有する、本発明1003のCAR。

[本発明1005]

細胞外結合ドメインが、EGFRvIII、CS1、CT83、GD3、MSCP、CD19、5T4、ROR1、CD123、またはCD33細胞標的抗原のエピトープに対して向けられるscFvを含む、本発明1001～1004のいずれかのCAR。

[本発明1006]

細胞外結合ドメインが、SEQ ID NO : 32、35、38 ; SEQ ID NO : 33 ; SEQ ID NO : 34 ; SEQ ID NO : 36またはSEQ ID NO : 37と80%超、好ましくは90%、またはより好ましくは95%の同一性を有するポリペプチドを含むscFvを含む、本発明1001～1005のいずれかのCAR。

[本発明1007]

膜貫通ドメインが、CD8a、4-1BB、DAP10、CD28、またはFcεRIより選択され、それぞれSEQ ID NO : 42、43、44、45、および46と80%超、好ましくは90%、またはより好ましくは95%の同一性を有する、本発明1001～1006のいずれかのCAR。

[本発明1008]

細胞内ドメインが、
CD3、FcεRIγ、CD28、4-1BB、OX40、DAP10、CD28、CD275、HVEM、LIGHT、CD40L、GITR、TIM1、SLAM、CD2、TLT-2、LAG3、DAP12、CD84、CD244、CD229、LTBR、およびCD278の中で選択されるか、またはそれぞれSEQ ID NO : 47～70と80%超、好ましくは90%、もしくはより好ましくは95%の同一性を有するリンカーを含む、本発明1001～1007のいずれかのCAR。

[本発明1009]

活性化ドメインがCD3である、本発明1001～1008のいずれかのCAR。

[本発明1010]

共刺激ドメイン、例えば、4-1BBまたはCD28に由来する共刺激ドメインをさらに含む、本発明1001～1009のいずれかのCAR。

[本発明1011]

単鎖CARである、本発明1001～1010のいずれかのCAR。

[本発明1012]

多鎖CARである、本発明1001～1010のいずれかのCAR。

[本発明1013]

多鎖CARが、
それぞれSEQ ID NO : 7、3、および4と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、またはより好ましくは95%の同一性を有する、Fc受容体に由来する鎖、鎖、および鎖の一部を含む、本発明1012のCAR。

[本発明1014]

鎖が、細胞外にCD8ヒンジ、膜貫通ドメインとしてFcR、および細胞内にHIF1またはHIF3サブユニットと組み合わされたFcRの一部を含み、

鎖が、細胞外ドメインおよび膜貫通ドメインとしてFcR、ならびに細胞内共刺激ドメインとしてITAM-41BBを含み、

鎖が、膜貫通ドメインとしてFcR、および細胞内活性化ドメインとしてITAM-CD3を含む、

本発明1013のCAR。

[本発明1015]

(a) 免疫細胞を準備する工程 ;

(b) 少なくとも2種類のインプットシグナルの組み合わせによって少なくとも第1のトランスミッタードメインと第2のトランスミッタードメインの組み合わせが誘導されるよう

に、該免疫細胞が該少なくとも2種類のインプットシグナルに対して感受性になるように該免疫細胞を操作する工程であって、該組み合わせによって該免疫細胞の活性化シグナルが生じ、

第1のインプットシグナルが低酸素であり、

第2のインプットシグナルが、特異的リガンドを認識することができる細胞外リガンド結合ドメイン、および他方のトランスミッタードメインと組み合わせて該免疫細胞を活性化することができるトランスミッタードメインを含む細胞内ドメインを含む、免疫細胞の表面に発現しているキメラ抗原受容体 (CAR) による特異的リガンドの認識によって生じ、

それぞれのトランスミッタードメインが単独で該免疫細胞を活性化しない、工程；ならびに

(c) 該操作された免疫細胞を増殖させる工程

を含む、細胞を特異的に標的とするために免疫細胞を操作する方法。

[本発明1016]

低酸素誘導性プロモーターの制御下にあることにより、トランスミッタードメインが低酸素に対して感受性になる、本発明1015の方法。

[本発明1017]

低酸素状態に対する感受性が、低酸素誘導因子1 (HIF-1) または低酸素誘導因子3 (HIF-3) によって誘発される、本発明1015または1016の方法。

[本発明1018]

HIF-1 ポリペプチド配列が、SEQ ID NO: 5もしくはSEQ ID NO: 22~23と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、もしくははより好ましくは95%の同一性を有するか、またはHIF-3 ポリペプチド配列が、SEQ ID NO: 26~27と80%超の同一性、好ましくは90%の同一性、もしくははより好ましくは95%の同一性を有する、本発明1017の方法。

[本発明1019]

CARが本発明1001~1014のいずれかのものである、本発明1015~1018のいずれかの方法。

[本発明1020]

本発明1015~1019のいずれかの方法によって入手可能な免疫細胞。

[本発明1021]

治療組成物として使用するための、本発明1001~1008のいずれかによって入手可能な免疫細胞。

[本発明1022]

癌を処置するための、本発明1001~1011のいずれかの単離された免疫細胞。

[本発明1023]

固形腫瘍を処置するための、本発明1012の単離された免疫細胞。

[本発明1024]

(a) 本発明1020~1023のいずれかの免疫細胞を準備する工程；

(b) 該免疫細胞を患者に投与する工程

を含む、それを必要とする対象を処置するための方法。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

非限定的な例として、標的のリガンドは、腫瘍関連表面抗原、例えば、ErbB2 (HER2/neu)、癌胎児抗原 (CEA)、上皮細胞接着分子 (EpCAM)、上皮増殖因子受容体 (EGFR)、EGFRバリアントIII (EGFRvIII)、CD19、CD20、CD30、CD40、ジシアロガングリオシドGD2、GD3、C型レクチン様分子-1 (CLL-1)、管上皮ムチン (mucine)、gp36、TAG-72、スフ

インゴ糖脂質、神経膠腫関連抗原、 α -ヒト絨毛性ゴナドトロピン、 α -フェトプロテイン (AFP)、レクチン反応性AFP、チログロブリン、RAGE-1、MN-CA IX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2 (AS)、腸カルボキシルエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ (prostase)、プロスターゼ特異的抗原 (PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGA-1a、p53、プロステイン (prostein)、PSMA、生存 (surviving) およびテロメラーゼ、前立腺癌腫瘍抗原-1 (PCTA-1)、MAGE、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、CD22、インシュリン増殖因子 (IGF1) -I、IGF-II、IGF1受容体、メソテリン、腫瘍特異的ペプチドエピートを提示する主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、5T4、ROR1、Nkp30、NKG2D、腫瘍間質抗原、フィブロネクチンのエクストラドメイン (extra domain) A (EDA) およびエクストラドメインB (EDB)、ならびにテネイシン-CのA1ドメイン (TnC A1) および線維芽細胞関連タンパク質 (fap) ; LRP6、黒色腫関連コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (MCP)、CD38/CS1、MART1、WT1、MUC1、LMP2、イディオタイプ、NY-ESO-1、Ras変異体、gp100、プロテイナーゼ3、bcr-abl、チロシナーゼ、hTERT、EphA2、ML-TAP、ERG、NA17、PAX3、ALK、アンドロゲン 受容体 ; 細胞系列特異的抗原または組織特異的抗原、例えば、CD3、CD4、CD8、CD24、CD25、CD33、CD34、CD79、CD116、CD117、CD135、CD123、CD133、CD138、CTLA-4、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、エンドグリン、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子、BCMA (CD269、TNFRSF17)、またはウイルス特異的表面抗原、例えば、HIV特異的抗原 (例えば、HIV gp120) ; EBV特異的抗原、CMV特異的抗原、HPV特異的抗原、ラッセ (Lasse) ウイルス特異的抗原、インフルエンザウイルス特異的抗原、ならびにこれらの表面マーカーの任意の誘導體または変種でもよい。特定の場合において、キメラ抗原受容体が認識するリガンドは、標的細胞、特に、癌細胞またはウイルス細胞の表面に存在する。一部の態様において、キメラ抗原受容体が認識するリガンドは腫瘍微小環境内に存在する。本発明の一部の局面において、キメラ抗原受容体が認識するリガンドは増殖因子である。