

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-552773

(P2023-552773A)

(43)公表日 令和5年12月19日(2023.12.19)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
G 0 1 N	33/574 (2006.01)	G 0 1 N	33/574	A	2 G 0 4 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	Z N A	4 B 0 6 5
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17		4 C 0 7 6
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		4 C 0 8 4
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全131頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-534128(P2023-534128)				
(86)(22)出願日	令和3年12月3日(2021.12.3)				
(85)翻訳文提出日	令和5年8月4日(2023.8.4)				
(86)国際出願番号	PCT/US2021/061794				
(87)国際公開番号	WO2022/120160				
(87)国際公開日	令和4年6月9日(2022.6.9)				
(31)優先権主張番号	63/121,716				
(32)優先日	令和2年12月4日(2020.12.4)				
(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, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR, GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く				
(71)出願人	508027464 セルジーン コーポレーション CEL GENE CORPORATION アメリカ合衆国07901ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー8 6番				
(74)代理人	100145403 弁理士 山尾 憲人				
(74)代理人	100162684 弁理士 呉 英燦				
(74)代理人	100221523 弁理士 佐藤 涉				
(74)代理人	100126778 弁理士 品川 永敏				
(72)発明者	トンプソン, イーサン グリーン 最終頁に続く				

(54)【発明の名称】 炎症関連可溶性因子の阻害剤と組み合わせたキメラ抗原受容体 (C A R) T細胞療法の使用

(57)【要約】

がん (例えば、B細胞関連のがん、例えば、多発性骨髄腫) を治療するためのキメラ抗原受容体 (C A R) の使用が本明細書で提供される。

【選択図】なし

FIG. 1

Assay	No. of M9 PD ^c	No. of M9 R ^d	Wilcoxon AUC	P value	FDR*
PGF	43	40	0.76	< 0.001	0.0029
CD70	43	40	0.75	< 0.001	0.0038
TNFRSF4	43	40	0.71	< 0.001	0.020
TNFRSF9	43	40	0.71	< 0.001	0.020
DCN	43	40	0.70	0.0014	0.025
CD83	43	40	0.69	0.0025	0.037
IL10	43	40	0.69	0.0029	0.037
PDCD1	43	40	0.68	0.0043	0.049
IL12	43	40	0.67	0.0076	0.076
NCR1	43	40	0.67	0.0083	0.076

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトにおけるがんがキメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性であるかどうかを予測する方法であって、

（i）ヒトからの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程；次いで

（ii）（i）の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中のものと類似している場合に、治療有効用量の前記CAR T細胞を前記ヒトに投与する工程を含む、方法。

【請求項 2】

治療を必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、前記治療を必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、前記1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、前記治療を必要とするヒトが、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続き提供される、方法。

【請求項 3】

治療を必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、

a．前記治療を必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程；次いで

b．工程aにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、前記治療を必要とするヒトに引き続き提供する工程を含む、方法。

【請求項 4】

がんを治療する方法であって、がんに罹っていると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与する工程を含み、前記投与の前のヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法。

【請求項 5】

がんに罹っていると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、前記患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、前記患者が前記CAR T細胞のための候補となる、方法。

【請求項 6】

1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子が、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子が、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される、請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

がんが、多発性骨髄腫である、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

CAR T細胞が、BCMAを指向するCAR T細胞である、請求項1から8のいづ

10

20

30

40

50

れか一項に記載の方法。

【請求項 10】

BCMAを指向するCAR T細胞が、BCMA02、ABECMA（著作権）、JCARH125、JNJ-68284528（LCAR-B38M；10,934,363の配列番号265またはWO2018/028647の配列番号300を含み、シグナルペプチドを有するかまたは有しないタンパク質）（Janssen/Legend）、P-BCMA-101（Poseida）、PBCAR269A（Poseida）、P-BCMA-Allo1（Poseida）、Allo-715（Pfizer/Allogene）、CT053（Carsgen）、Descartes-08（Cartesian）、PHE885（Novartis）、およびCTX120（CRISPR Therapeutics）を含む群から選択される、請求項9に記載の方法。

10

【請求項 11】

BCMAを指向するCAR T細胞が、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ideecell）である、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、O-link IOアナライツアッセイによって決定される、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

治療を必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞、ならびにPGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子のアンタゴニストを前記ヒトに投与する工程を含む、方法。

20

【請求項 14】

炎症関連可溶性因子が、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される、請求項13に記載の方法。

【請求項 15】

炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者における炎症関連可溶性因子のレベルまでヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルを低減させるための治療有効量で前記ヒトに投与される、請求項13または14に記載の方法。

30

【請求項 16】

がんが、多発性骨髄腫である、請求項13から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

CAR T細胞が、BCMAを指向するCAR T細胞である、請求項13から16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

BCMAを指向するCAR T細胞が、BCMA02、ABECMA（著作権）、JCARH125、JNJ-68284528（LCAR-B38M；10,934,363の配列番号265またはWO2018/028647の配列番号300を含み、シグナルペプチドを有するかまたは有しないタンパク質）（Janssen/Legend）、P-BCMA-101（Poseida）、PBCAR269A（Poseida）、P-BCMA-Allo1（Poseida）、Allo-715（Pfizer/Allogene）、CT053（Carsgen）、Descartes-08（Cartesian）、PHE885（Novartis）、およびCTX120（CRISPR Therapeutics）を含む群から選択される、請求項17に記載の方法。

40

【請求項 19】

BCMAを指向するCAR T細胞が、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ideecell）である、請求項18に記載の方法。

【請求項 20】

炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前

50

記投与の前に投与される、請求項 13 から 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に投与される、請求項 13 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に投与される、請求項 13 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に投与される、請求項 13 から 20 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】

関連出願への相互参照

本出願は、2020年12月4日に出願した米国出願番号第63／121，716号の利益を主張する。この開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子的に提出した配列表への参照

本出願は、33，941バイトのサイズを有する、2021年11月23日に作成された、14247-617-228_SEQ_LISTING.txtと題するASCIIテキストファイルとして本出願と共に提出した配列表を参照により組み込む。

【0003】

1. 分野

本明細書に提示される開示は、がん（例えば、B細胞関連のがん、例えば、多発性骨髄腫）を治療するための方法に関する。より具体的には、本開示は、キメラ抗原受容体（CAR）を使用してがん（例えば、B細胞関連のがん、例えば、多発性骨髄腫）を治療するための改善された方法であって、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程、次いで、前記決定に基づき、抗体またはその抗原結合性断片（例えば、抗BCMA抗体またはその抗原結合性断片）を含むCARを投与する工程を含む、方法、ならびにこれらのCARを発現するように遺伝子改変された免疫エフェクター細胞（例えば、T細胞）に関する。

【背景技術】

【0004】

2. 背景

2.1. 背景

がんの治療にアプローチするために、例えば従来の化学療法的アプローチ、ならびに免疫療法、例えば、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞療法を含む多くの選択肢が現在利用可能である。ある特定の事例では、患者の血清中のある特定の因子（例えば、タンパク質またはバイオマーカー）のレベルは、CAR-T療法を投与すべきかどうかの決定に関連し得る。そのため、CAR-T療法を投与すべきかどうかの決定に関連し得る患者の血清中のある特定の因子（例えば、タンパク質またはバイオマーカー）に対する必要性が存在する。

【発明の概要】

【0005】

3. 簡単な概要

本開示は、概しては、キメラ抗原受容体（CAR）を使用してがん（例えばB細胞関連のがん、例えば、多発性骨髄腫）を治療する改善された方法であって、1つまたはそれ

10

20

30

40

50

上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程、および、決定に基づき、抗体またはその抗原結合性断片（例えば、抗BCMA抗体またはその抗原結合性断片）を含むCARを投与する工程を含む、方法、ならびにこれらのCARを発現するように遺伝子改変された免疫エフェクター細胞（例えば、T細胞）を提供する。

【0006】

1つの態様では、ヒトにおけるがんがキメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性であるかどうかを予測する方法であって、（i）ヒトからの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程；次いで（ii）（i）の1つまたはそれ以上の可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中のものと類似している場合に、治療有効用量のCAR T細胞をヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

10

【0007】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

20

【0008】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0009】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0010】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタッセイによって決定される。

30

【0011】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0012】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

40

50

【0013】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、それを必要とするヒトは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される、方法が本明細書で提供される。

【0014】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0015】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0016】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0017】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライトアッセイによって決定される。

【0018】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0019】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0020】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベ

10

20

30

40

50

ルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程；
b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0021】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

10

【0022】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0023】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cell）である。

20

【0024】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタアッセイによって決定される。

【0025】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0026】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

30

40

【0027】

1つの態様では、がんを治療する方法であって、がんにかかっていると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与する工程を含み、前記投与の前のヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法が本明

50

細書で提供される。

【0028】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

10

【0029】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0030】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0031】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタッセイによって決定される。

20

【0032】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0033】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

30

40

【0034】

1つの態様では、がんにかかっていると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、患者はCAR T細胞のための候補となる、方法が本明細書で提供される。

【0035】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70

50

、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0036】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0037】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライトアッセイによって決定される。

【0038】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cell）である。

【0039】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0040】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0041】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞ならびにPGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子のアンタゴニストをヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0042】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。

【0043】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者における炎症関連可溶性因子のレベルまでヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルを低減させるための治療有効量でヒトに投与される。

10

20

30

40

50

【0044】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0045】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。

【0046】

特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cell) である。

【0047】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

10

【0048】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に投与される。

20

【0049】

4. 図面の簡単な説明

【図面の簡単な説明】

【0050】

【図1】図1は、O-link IOアナライタアッセイでの9カ月時の非応答の相関を示す。AUC、曲線下面積；DCN、デコリン；FDR、偽発見率；IL-10、インターロイキン-10；IL-12、インターロイキン-12；IO、免疫腫瘍学；M、月；NCR1、天然細胞傷害性トリガー受容体1 (natural cytotoxicity triggering receptor 1)；NR、ノンレスポンドー；PD、進行性疾患；PDCD1、プログラム細胞死1；PGF、胎盤増殖因子；R、レスポンドー；TNFRSF、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー。AUC>0.5はNRにおいてより高いアッセイを指し示す；FDR<0.1を有するO-link IOパネルアナライタが示されている。^b AUC>0.5はNRにおいてより高いアッセイを指し示す；FDR<0.1を有するO-link IOパネルアナライタが示されている。^c M9 PDは、M9の前に進行したレスポンドーを指し示す。^d M9 Rは、 $\geq$ M9において依然として応答したレスポンドーを指し示す。^e FDR補正はBenjamini-Hochberg法によって決定した。

30

【図2】図2は、T細胞エフェクター機能を負にモジュレートし得る炎症関連可溶性因子は最適以下の応答と関連付けられたことを示す。図2の左上のグラフは、ノンレスポンドー (M3 NR) およびレスポンドー (M3 R) におけるide-cell注入後3カ月におけるCD83 log 倍数変化を示す。図2の右上のグラフは、ノンレスポンドー (M3 NR) およびレスポンドー (M3 R) におけるide-cell注入後3カ月におけるTNFRSF9 (sCD137) log 倍数変化を示す。図2の左下のグラフは、ノンレスポンドー (M9 NR) およびレスポンドー (M9 R) におけるide-cell注入後9カ月におけるPGF log 倍数変化を示す。図2の右下のグラフは、ノンレスポンドー (M9 NR) およびレスポンドー (M9 R) におけるide-cell注入後9カ月におけるCD70 log 倍数変化を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0051】

5. 配列番号の簡単な説明

50

配列番号 1～3 は、本明細書で企図される B C M A C A R のための例示的な軽鎖 C D R 配列のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 2 】

配列番号 4～6 は、本明細書で企図される B C M A C A R のための例示的な重鎖 C D R 配列のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 3 】

配列番号 7 は、本明細書で企図される B C M A C A R のための例示的な軽鎖配列のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 4 】

配列番号 8 は、本明細書で企図される B C M A C A R のための例示的な重鎖配列のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 5 】

配列番号 9 は、シグナルペプチド（アミノ酸 1～22）を有する、本明細書で企図される例示的な B C M A C A R のアミノ酸配列を記載する。B C M A 0 2 の成熟形態のアミノ酸配列は配列番号 37 に記載される。

【 0 0 5 6 】

配列番号 10 は、本明細書で企図される例示的な B C M A C A R をコードするポリヌクレオチド配列を記載する。

【 0 0 5 7 】

配列番号 11 はヒト B C M A のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 8 】

配列番号 12～22 は様々なリンカーのアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 5 9 】

配列番号 23～35 はプロテアーゼ切断部位および自己切断性ポリペプチド切断部位のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 6 0 】

配列番号 36 は、例示的な B C M A C A R をコードするベクターのポリヌクレオチド配列を記載する。表 1 を参照。

【 0 0 6 1 】

配列番号 37 は、本明細書で企図される例示的な成熟 B C M A C A R （すなわち、シグナル配列を有しない）のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 6 2 】

配列番号 38 は B C M A 0 2 s c F v のアミノ酸配列を記載する。

【 0 0 6 3 】

表 1：配列のリスト：

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

配列番号	配列
1	RASESVTILGSHLIH
2	LASNVQT
3	LQSR TIPRT
4	DYSIN
5	WINTETREPAYAYDFRG
6	DYSYAMDY
7	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSR TIPRTF GGG TKLEIK
8	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMG WINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALD YSYAMDYWGQGTSTVSS
9	MALPVTALLPLALLHAARPDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESV TILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRDFTLTID PVEEDDVAVYYCLQSR TIPRTFGGG TKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQ IQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMG WINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALD YSYAMDYWGQGTSTVSSAAATTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
10	atggcactccccgtcaaccgcccttcttgcacctcgcctgctgctgcatgctgccaggccccgacattgtgct cactcagtcacctcccagccctgccaatgagccfgggaaaaaggccaccatctcctgtagagccagtgagtc cgtcacaatcttggggagccatcttattcactggatcagcagaagccggcagcctccaacctcttattca gctcgcgtcaaacgtccagacgggtgtacctgccagattttctgtagcgggtcccgaactgattttactga ccatagatccagtggagaagacgatgtggcgtgtattgtctgcagagcagaacgattcctcgcacattf gggtgggggtactaagctggagattaaagggaagcacgtccggctcagggaagccgggtccggcgaggga gcacgaaggggcaattcagctgggtccagagcggacctgagctgaaaaacccggcgagactgttaagatc agttgtaagcatctgctataacctcaccgactacagcataaattgggtgaaacgggccccctggaaagggcc tcaaatggatgggttgatcaataccgaaactaggagcctgcttatgcatatgacttccggcgagattcgc

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

	ttttcactcgagacatctgcctctactgcttacctccaaataaacaacctcaagtatgaagatacagccacttactt ttggcccctcgactatagttacgccaatggactactggggacagggaaacctccgttaccgctcagttccgggcc gcaaccacaacacctgctccaaggccccccacacccgctccaactatagccagccaaccattgagcctcaga cctgaagcttgcagggccgcagcaggaggccgctccatcgcgagccctggacttcgctgtgatatattata tttggccccccttggccggaacatgtgggggtgtgcttctctcccttgatcactctgtattgtaagcggggag aaagaagctcctgtacatcttcaagcagccctttatgcgacctgtgcaaacctcaggaagaagatgggtgtt catgccgttccccgaggaggaagaaggagggtgtgaactgagggtgaaatttctagaagcggcgatgctc ccgcatatcagcagggtcagaatcagctctacaatgaattgaatctcggcagggcgagaagagtagcatgttct ggacaagagacggggcagggatcccgagatggggggaaagccccggagaaaaatctcagggagggtt gtacaatgagctgcagaaggacaagatggctgaagccfatagcgagatcggaatgaaaggcgaaagacgca gaggcaaggggcatgacggctgtaccaggggtctctctacagccaccaaggacacttatgatgcgttgcatat gcaagccttggcaccgccgctaata
11	MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSSTNPPLTCQRYCNASVTNSV KGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGM ANIDLEKSRTGDEHLPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDFHCFPLPAME EGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR
12	DGGGS
13	TGEKP
14	GGRR
15	GGGGS
16	EGKSSGSGSESQVD
17	KESGVSSEQLAQFRSLD
18	GGRRGGGS
19	LRQRDGERP
20	LRQKDGGGGERP
21	LRQKDGGSGGGSERP
22	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
23	EX₁X₂YX₃QX₄ X₁は任意のアミノ酸である X₂は任意のアミノ酸である X₃は任意のアミノ酸である X₄は Gly または Ser である

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

24	ENLYFQG
25	ENLYFQS
26	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
27	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
28	LLKLAGDVESNPGP
29	NFDLLKLAGDVESNPGP
30	QLNFDLLKLAGDVESNPGP
31	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
32	VTELLYRMKRAETYCPRLLAHPTEARHKQKIVAPVKQT
33	LNFDLLKLAGDVESNPGP
34	LLAIHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
35	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
36	tcgcgcgtttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgcagctcccggagacgggtcacagcttgtctgtaa gcggatgccgggagcagacaagcccgtcagggcgctcagcgggtgttggcgggtgtcggggctggctta actatcgggcatcagagcagattgtactgagagtgcaacctcatatgccagcctatgggtgacattgatttggac tagttattaatagtaataattacggggtcattagttcatagcccataatggagtccgggttacataacttacggt aaatggcccgcctggctgacggcccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagta acggcaantagggaactttccattgacgtcaatgggtggagatttaccggtaaactgcccaacttggcagtacatcaa gtgtatcatatgccaaagtacggcccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcattatgccagta catgaccttatgggaactttctacttggcagtacatctacgtattagtcacgtattaccatgggtgatcgggttttg gcagtacatcaatggcggtggatagcgggttgactcacgggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatg ggagtgtttttggcaccaaaatcaacggggaactttccaaaatgtcgttaacactccgcccattgacgcaaatg ggcggttagcggtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgttttagtgaaccgggtctctctggttagacc agatctgagccctgggagctctctgctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtg ctcaaatagtagtgtgcccgtctgttgtgtgactctggttaactagagatccctcagaccccttttagtcagtgtgga aaatctctagcagtggcgcgcgaacagggaacttgaagcgaaagttaaagccagaggagatctctcgacgca ggactcggcttgcgaagcgcgacggcaagaggcgaggggcgcgactggtgagtacgcaaaaattttg actagcggaggctagaaggagagtaggggtgcgagagcgctgggtattaaaggggggaattagataaat gggaaaaaattcggttaaggccagggggaagaaacaatataaactaaaacatatagttagggcaagcagg agctagaacgatttcgagttaatcctggccttttagagacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagcta caaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacaatagcagtcctctattgtgtgcatc aaaggatagatgtaaaagacaccaagggaagccttagataagatagagggaagcgaacaaagtaagaaa aaggcacagcaagcagcagctgacacagggaacaacagccaggtcagccaaaattaccctatagtcagaa

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

cctccaggggcaaatggatcatcagcccatatcacctagaactttaattaagacagcagtacaaatggcagta	
ttcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgagggggaaagaatagtagacataatag	
caacagacatacaaaactaagaattacaaaaaacaattacaaaaaattcaaaattttcgggtttattacagggaca	
gcagagatccagtttggaaaggaccagcaaaagctcctctggaaagggtgaaggggcagtagtaatacaagata	
atagtgcataaaagtagtgccaagaagaaaagcaaaagatcatcagggtattatggaaaacagatggcagggtg	
atgattgtgtggcaagtagacaggatgaggattaacacatggaaaagattagtaaacaccatagctctagag	
cgatcccgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataataataaagta	10
gtaaaaattgaaccattagtagtagcaccaccaaggcaagagagaagtggtgcagagagaaaaagagc	
agtggaataggagctttgttcttgggttcttgggagcagcagggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacg	
ctgacggtagcaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgcaggggtattgaggc	
gcaacagcatctgttgaactcacagctctgggcatcaagcagctccaggcaagaatcctgctgtggaag	
atacctaaaggatcaacagctcctggggtttgggggtgctctggaaaactcattgcaccactgctgtgcttgg	
gaatgctagtgtggagtaataatctctggaacagatttgaatcacagacctggatggagtgggacagagaa	
attaacaattacacaagcttggtaggtttaagaatagttttgtctgtactttctatagtgaataggttaggcagg	
atattcaccattatctgttcagaccacctccaaeccegggggaccgcagggcccgaaagatagaaga	20
agaagggtgagagagagacagagacagatccattcagattgtaacggatccatctgcagcgaatgaaga	
ccccacctgtaggtttggcaagctaggatcaagggttaggaacagagagacagcagaatatgggccaaacag	
gatatctgtgtgaagcagttctctgccccgctcagggccaaacagttggaacagcagaatatgggccaaa	
caggatattctgtgtgaagcagttctctgccccgctcagggccaaacagatgggtcccagatgcgggtccg	
ccctcagcagtttctagagaaccatcagatgtttccagggtgccccaggacctgaatgacctgtgcttatt	
tgaactaaccaatcagttcgttctctgttctgttctgttctgttctgttctgttctgttctgttctgttctgtt	
acccctcacteggcgcgattcaccctgaagcgtctacgccaccatggcactccccgtcaccgcccttcttggc	
cctcgcctgtgtgtgcatgtgtgccaggcccgacattgtgtcactcagtcacctccagcctggccatgagc	
ctgggaaaaaggccaccatctctgttagagccagtgagtcggtcacatcttggggagccatcttattcactg	30
gtatcagcagaagccgggagcctccaaaccttcttattcagctcgcgtcaaacgtccagacgggtgtacct	
gccagattttctgttagcgggtccgcactgattttacactgaccatagatccagtggaaagacgagtggtgc	
cgtgtattattgtctgcagagcagaacgatttctcgcacatttgggtgggggtactaagctggagattaaggga	
gcacgtccggctcagggaagccgggctccggcgagggaagcacgaaggggcaattcagctgtgtccaga	
gcggacctgagctgaaaaaacccggcgagactgttaagatcagttgttaaacatctggctataccttaccga	
ctacagcataaattgggtgaaacgggccccctggaaaaggcctcaaatggatgggttgatcaataccgaaact	
agggagcctgttatgcatatgacttccggggagattcgcccttttactcgagacatctgcctctactgttacc	
tccaataaacaacctcaagatgaagatacagccacttacttttgcgcctcgaactatagtacgccatggact	
actggggagacagggaacctccgttaccgtcagttctcggcgccgaaccacaacctgctccaaggccccc	40

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

acacccgctccaactatagccagccaaccattgagcctcagacctgaagcttgacagcccgacagagg	
cggcgctccatagcgaggcctggacttcggtgtgatattatattggccccccttgccggaaacatgtgggt	
gttcttctcctctgtgatcactctgtattgtaagcgccggagaaagaagctctgtacatcttcaagcagcct	
tttatgcacctgtgtcaaacactcaggaagaagatgggtgttcatgccgttccccgaggaggaagaaggga	
gggtgtgaactgagggtgaaattttctagaagcgggatgctccgcataatcagcagggtcagaatcagctct	
acaatgaattgaatctcgccagcgagaagagtagcatgttctggacaagagacggggcagggtatccggag	
atggggggaaagccccggagaaaaatcctcaggggggtgtacaatgagctgcagaaggacaagatgg	
ctgaagccatagcgagatcggaatgaaggcgaaagacgcagagggcaaggggcatgacggtctgtacca	
gggtctctctacagccaccaaggacacttatgatgcgttgcatatgcaagccttgccaccccgctaatgacagg	
tacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtatctttagccactttttaaaagaaaagggggactggaa	
gggctaattcactccaaagaagacaagatctgttttgcctgtactgggtctctctgttagaccagatctgag	
cctgggagctctctggctaactagggaaccactgcttaagcctcaatnaagcttgcccttgagtgcttcaatgtg	
tgtgtgtgtttttgtgtgtcgaattctagcgattctagcttgccgtaatacatggatagctgtttctgtgtgaa	
ttgttatccgctcacaattccacacacatacagccgggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgctaatgag	
tgagctaacacataaatttgcgttgcctcactgcccgtttccagtcgggaacctgtctgcccagctgcatt	
aatgaatcgcccaacgcgcggggagaggcggttgcgtatggcgctcttccgcttccctcgtcactgactc	
gctgcgtcggctgttgcgtcggcgagcgggtatcagctcactcaaaaggcgataatcgggtatccacagaa	
tcaggggataacgcaggaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccagggaaccgtaaaaaggcc	
gcgtgtcgtggcgttttccataggtcgcgcgcctcagcagcatcacaanaatgcagctcaagtcagagggt	
ggcgaaacccgacaggactataagataccaggcggtttcccccctggaagctccctcgtgcgtctcctgttcc	
gaacctgcgcgttaccggataacctgtccgctttctcccttccgggaagcgtggcgctttctatagctcacgctg	
taggtatctcagttcgggtgtaggtcgttgcctcaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttaccggacc	
gctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtcgaacccggtaagacacgacttatgccactggcagcagcc	
actggtaacaggattagcagagcgagggtatgtagcggtgtctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacg	
gctacactagaagaacagtatgtgtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttgtagct	
cttgatccggcaaacacacccgctggtagcgggtgtttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaa	
aaaggatctcaagaagatcctttgatctttctacggggctgacgctcagtggaacgaaaaactcacgttaagg	
gattttgtcatgagattatcaaaaaggatcttcaactagatccttttaattaaaaatgaagttttaaataatcta	
aagtatatatgagtaacttggctgacagttaccaatgcttaatacagtgaggcacctatctcagcgatctgtctat	
ttcgttcatcatagttgctgactccccgtgtgtagataactacgatacggggagggttaecatctggcccca	
gtgctgcaatgataccgcgagacccacgctaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaa	
ggggcgagcgacagaagtggtcctgcaactttatccgctccatccagcttattaatgttgcgggaagctaga	
gtaagtagttccagtttaatggttgcgcaacgttggccattgtctacaggcatcgtggtgtcacgctcgtcgt	

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

	ttggtatggettcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatggttgcaaaaaag cggtagctccttcggctcctcgatcggtgtcagaagtaagttggcgcagtggtatcactcatggttatggcagc actgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactggtagtactcaaccaagtcattctg agaatagtgtatggcgaccgagttgcttgcggcgcaatacgggataataccgcccacatagcaga actftaaaagtgtcatcattggaaaaagttcttcggggcgaaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatcc agttcgatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatctttactttcaccagcggttctgggtgagcaa aaacaggaaggcaaaaatgccgcaaaaaagggaataaggcgacacggaaatgttgaatactcactcttcc ttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatattgaatgtatttagaaaaataa acaaataggggttcggcgacatttcccgaaaaagtgccacctgggactagcttttgcaaaagcctaggcctc caaaaaagcctcctcactactcttggaatagctcagagcgcgaggcgccctcggcctctgcataaataaaaaa aattagtcagccatggggcgagaaatggcggaactggcgagtagggcgggatggcgcgagtagg ggcgggactatggtgctgactaattgagatgagcttgcacgacattgattattgactagtccttaagaac cattcttatcatgacattaacctataaaaaataggcgatcacgaggcccttctgc	10
37	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTF GGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCK ASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFS LETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSAA ATTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPFEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	20 30
38	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTF GGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCK ASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFS LETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	40

【0064】

6. 詳細な説明

6. 1. キメラ抗原受容体（CAR）T細胞を使用してがんを治療するための方法

本明細書に提示される開示は、概しては、キメラ抗原受容体（CAR）を使用してがん（例えばB細胞関連のがん、例えば、多発性骨髄腫）を治療する改善された方法であって、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程、および、決定に基づき、抗体またはその抗原結合性断片（例えば、抗BCMA抗体またはその抗原結合性断片）を含むCARを投与する工程を含む、方法、ならびにこれらのCARを発現するように遺伝子改変された免疫エフェクター細胞（例えば、T細胞）に関する。

【0065】

1つの態様では、ヒトにおけるがんがキメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性であるかどうかを予測する方法であって、（i）ヒトからの血清中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程；および（ii）（i）の1つまたはそれ以上の可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清中のものと類似している場合に、治療有効用量のCAR T細胞をヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0066】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0067】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0068】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0069】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタアッセイによって決定される。

【0070】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0071】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0072】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3

10

20

30

40

50

．25のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と
比べて約6.3のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と比べて
約6.3のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog
倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog
倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog
倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の
実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0
のlog倍数変化またはそれ未満である。

10

【0073】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、それを
必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを
決定する工程を含み、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原
受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以
上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、それを必要とするヒトは、治療
有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される、方法が本明細書
で提供される。

20

【0074】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70
、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD
83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特
定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、T
NFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つま
たはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRS
F9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、
IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つま
たはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD8
3の1つまたはそれ以上である。

30

【0075】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0076】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。
特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユー
セル細胞（ide-cel）である。

【0077】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link
IOアナライタアッセイによって決定される。

40

【0078】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の
範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 $150 \times$
 10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0079】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性
因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血
清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定され
た約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原
受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とす

50

るヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0080】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と比べて約6.3のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と比べて約6.3のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog倍数変化またはそれ未満である。

【0081】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程； b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0082】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0083】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0084】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

10

20

30

40

50

【0085】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタアッセイによって決定される。

【0086】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0087】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0088】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と比べて約6.3のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のTNFRSF9（sCD137）のレベルは、対照と比べて約6.3のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒトからの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog倍数変化またはそれ未満である。

【0089】

1つの態様では、がんを治療する方法であって、がんに従っていると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与する工程を含み、前記投与の前のヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法が本明細書で提供される。

【0090】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、T

N F R S F 9、および C D 8 3 からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、P G F、C D 7 0、T N F R S F 4、T N F R S F 9 (s C D 1 3 7 または s 4 - 1 B B)、D C N、C D 8 3、I L 1 0、P D C D 1、I L 1 2、および N C R 1 の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、P G F、C D 7 0、T N F R S F 9、および C D 8 3 の1つまたはそれ以上である。

【0091】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0092】

特定の実施形態では、C A R T細胞は、B C M Aを指向するC A R T細胞である。特定の実施形態では、B C M Aを指向するC A R T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (i d e - c e l) である。

【0093】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O - l i n k I Oアナライツアッセイによって決定される。

【0094】

特定の実施形態では、C A R T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、B C M A C A R T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0095】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体 (C A R) T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (C A R) T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体 (C A R) T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (C A R) T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体 (C A R) T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (C A R) T細胞を引き続いて提供される。

【0096】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の C D 8 3 のレベルは、対照と比べて約 3 . 2 5 の l o g 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の C D 8 3 のレベルは、対照と比べて約 3 . 2 5 の l o g 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の T N F R S F 9 (s C D 1 3 7) のレベルは、対照と比べて約 6 . 3 の l o g 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の T N F R S F 9 (s C D 1 3 7) のレベルは、対照と比べて約 6 . 3 の l o g 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の P G F のレベルは、対照と比べて約 8 . 6 の l o g 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の P G F のレベルは、対照と比べて約 8 . 6 の l o g 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の C D 7 0 のレベルは、対照と比べて約 5 . 0 の l o g 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の C D 7 0 のレベルは、対照と比べて約 5 . 0 の l o g 倍数変化またはそれ未満である。

10

20

30

40

50

【0097】

1つの態様では、がんにかかっていると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、患者はCAR T細胞のための候補となる、方法が本明細書で提供される。

【0098】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0099】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0100】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0101】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライツアッセイによって決定される。

【0102】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0103】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0104】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog倍数変化である。上記の実施形態のいずれか

10

20

30

40

50

の特定の実施形態では、患者からの血清試料中のCD83のレベルは、対照と比べて約3.25のlog 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のTNFRSF9 (sCD137) のレベルは、対照と比べて約6.3のlog 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のTNFRSF9 (sCD137) のレベルは、対照と比べて約6.3のlog 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のPGFのレベルは、対照と比べて約8.6のlog 倍数変化またはそれ未満である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog 倍数変化である。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、患者からの血清試料中のCD70のレベルは、対照と比べて約5.0のlog 倍数変化またはそれ未満である。

10

【0105】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、それを必要とするヒトは、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続き提供される、方法が本明細書で提供される。

20

【0106】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

30

【0107】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0108】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cel) である。

【0109】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタアッセイによって決定される。

40

【0110】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0111】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続き提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因

50

子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0112】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程；b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

10

【0113】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

20

【0114】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0115】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cell）である。

30

【0116】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0117】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライトアッセイによって決定される。

【0118】

特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程aにおける決定の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に実施される。

40

【0119】

特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程aにおける決定の約1週間、2週間、3週間、または4週間後に実施される。特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程aにおける決定の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に実施される。

【0120】

50

1つの態様では、がんを治療する方法であって、がんに関与していると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与する工程を含み、前記投与の前のヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法が本明細書で提供される。

【0121】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

10

【0122】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0123】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

20

【0124】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 1.5×10^6 細胞～ 4.5×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 1.5×10^6 細胞～ 4.5×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0125】

特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。

30

【0126】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、Olink IOAアナライタアッセイによって決定される。

40

【0127】

1つの態様では、がんに関与していると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、患者はCAR T細胞のための候補となる、方法が本明細書で提供される。

【0128】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD

50

83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0129】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

10

【0130】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0131】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0132】

1つの態様では、ヒトにおけるがんがキメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性であるかどうかを予測する方法であって、（i）血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程；および（ii）（i）の1つまたはそれ以上の可溶性因子のレベルが健康なヒトにおけるものと類似している場合に、治療有効用量のCAR T細胞をヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

20

【0133】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

30

【0134】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0135】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。

【0136】

特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

40

【0137】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0138】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、O-link IOアナライタアッセイによって決定される。

【0139】

50

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞ならびにPGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子のアンタゴニストをヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0140】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。

【0141】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、健康なヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルまでヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルを低減させるための治療有効量でヒトに投与される。

【0142】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者における炎症関連可溶性因子のレベルまでヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルを低減させるための治療有効量でヒトに投与される。

【0143】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0144】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。

【0145】

特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cell）である。

【0146】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0147】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、ヒトキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に投与される。

【0148】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞ならびにPGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子の阻害剤をヒトに投与する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0149】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。

【0150】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤は、健康なヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルまでヒトにおける炎症関連可溶性因子のレベルを低減させるための治療有効量でヒトに投与される。

【0151】

10

20

30

40

50

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0152】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。

【0153】

特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cell) である。

【0154】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0155】

特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤は、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤は、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤は、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に投与される。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤は、ヒトキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に投与される。

【0156】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第1のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルよりも高いことを決定する工程；b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量の炎症関連可溶性因子のアンタゴニストをヒトに引き続いて提供する工程；c. 工程bの後に、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルを決定する工程を含み；1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、それを必要とするヒトは、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続いて提供される、方法が本明細書で提供される。

【0157】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0158】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0159】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cell) である。

【0160】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 $150 \times$

10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0161】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0162】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される。

【0163】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a．それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルよりも高いことを決定する工程；b．工程aにおける決定に基づき、治療有効用量の炎症関連可溶性因子のアンタゴニストをヒトに引き続いて提供する工程；c．工程bの後に、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程；d．工程cにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

【0164】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0165】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0166】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0167】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 $150 \times$

10

20

30

40

50

10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0168】

特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程cにおける決定の約1週間、2週間、3週間、または4週間後に実施される。特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程cにおける決定の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に実施される。

【0169】

1つの態様では、がんを治療する方法であって、がんに罹っていると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与する工程を含み、患者が、治療有効用量の炎症関連可溶性因子のアンタゴニストを以前に投与されており、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の前の患者からの血清試料が、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法が本明細書で提供される。

【0170】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0171】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0172】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0173】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0174】

特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。

【0175】

1つの態様では、がんにかかっていると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、患者が、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のアンタゴニストを以前に投与されており、および患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、患者はCAR T細胞のための候補となる、方法が本明細書で提供される。

【0176】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0177】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0178】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cel）である。

【0179】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0180】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第1のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルよりも高いことを決定する工程；b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量の炎症関連可溶性因子の阻害剤をヒトに引き続いて提供する工程；c. 工程bの後に、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルを決定する工程を含み；1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、それを必要とするヒトは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を引き続いて提供される、方法が本明細書で提供される。

【0181】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0182】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0183】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cel) である。

【0184】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

10

【0185】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0186】

特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続いて提供される。特定の実施形態では、それを必要とするヒトは、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を引き続いて提供される。

20

【0187】

1つの態様では、それを必要とするヒトにおけるがんを治療する方法であって、a. それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルよりも高いことを決定する工程；b. 工程aにおける決定に基づき、治療有効用量の炎症関連可溶性因子の阻害剤をヒトに引き続いて提供する工程；c. 工程bの後に、それを必要とするヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の第2のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることを決定する工程；d. 工程cにおける決定に基づき、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程を含む、方法が本明細書で提供される。

30

【0188】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

40

50

【0189】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0190】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。
特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cel) である。

【0191】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

10

【0192】

特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程cにおける決定の約1週間、2週間、3週間、または4週間後に実施される。特定の実施形態では、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を、それを必要とするヒトに引き続いて提供する工程は、工程cにおける決定の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に実施される。

【0193】

1つの態様では、がんを治療する方法であって、がんに罹っていると診断されたヒト患者に治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞を投与する工程を含み、患者が、治療有効用量の炎症関連可溶性因子の阻害剤を以前に投与されており、および治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の前の患者からの血清試料が、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される、方法が本明細書で提供される。

20

【0194】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9 (sCD137またはs4-1BB)、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

30

【0195】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0196】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。
特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞 (ide-cel) である。

40

【0197】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0198】

特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体 (CAR) T細胞の前記投与の約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実

50

施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1週間、2週間、3週間、または4週間前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。特定の実施形態では、ヒト患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、治療有効用量のキメラ抗原受容体（CAR）T細胞の前記投与の約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月前に、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定される。

【0199】

1つの態様では、がんにかかっていると診断された患者がキメラ抗原受容体（CAR）T細胞を投与されるべきかどうかを決定する方法であって、患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルを決定する工程を含み、患者が、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子の阻害剤を以前に投与されており、および患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、健康なヒトからの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似している場合に、患者はCAR T細胞のための候補となる、方法が本明細書で提供される。

【0200】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1の1つまたはそれ以上である。特定の実施形態では、1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子は、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83の1つまたはそれ以上である。

【0201】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【0202】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞である。特定の実施形態では、BCMAを指向するCAR T細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞（ide-cell）である。

【0203】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、 1.50×10^6 細胞～ 4.50×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、 1.50×10^6 細胞～ 4.50×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。

【0204】

本明細書に提示される方法では、決定は、関連技術分野の当業者に周知の標準的な技術を使用して行われてもよい。追加的に、決定する工程は、炎症関連可溶性因子（例えば、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1）のレベルを決定するための標準的な技術、例えば血清検査または血漿検査または血液検査を利用することによって行われてもよい。例えば、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞（例えば、BCMA CAR T細胞、例えばide-cell）に対して応答性の患者または健康なヒトからの血液試料（例えば、末梢血試料）中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルは、関連技術分野の当業者に周知の標準的な技術、例えば血清検査、血液検査、または血漿検査、例えば実施例において使用されたアッセイを使用して決定されてもよい。健康なヒトは、例えば、疾患を有すると診断されていないヒト（例えば、がんを有しないヒト）であってもよい。

10

20

30

40

50

【0205】

特定の実施形態では、腫瘍またはがんは、リンパ腫、肺がん、乳がん、前立腺がん、副腎皮質癌、甲状腺癌、鼻咽頭癌、黒色腫、皮膚癌、結腸直腸癌、類腱腫、癒着性小円形細胞腫瘍、内分泌腫瘍、ユーイング肉腫、末梢原始神経外胚葉腫瘍、固形胚細胞腫瘍、肝芽腫、神経芽腫、非横紋筋肉腫軟組織肉腫、骨肉腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫、ウィルムズ腫瘍、神経膠芽腫、粘液腫、線維腫、脂肪腫慢性リンパ球性白血病（小リンパ球性リンパ腫）、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、ワルデンストロームマクログロブリン血症、脾性辺縁帯リンパ腫、形質細胞性骨髄腫、形質細胞腫、節外性辺縁帯B細胞リンパ腫、MALTLリンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大B細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大B細胞リンパ腫、脈管内大B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、バーキットリンパ腫、Tリンパ球前リンパ球性白血病、Tリンパ球大顆粒状リンパ球性白血病、侵襲性NK細胞白血病、成人Tリンパ球白血病／リンパ腫、節外NK／Tリンパ球白血病、鼻型・腸疾患型Tリンパ球リンパ腫、肝脾Tリンパ球リンパ腫、芽細胞性NK細胞リンパ腫、菌状息肉腫、セザリー症候群、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹腫、血管免疫芽球性Tリンパ球リンパ腫、末梢Tリンパ球リンパ腫（不特定）、未分化大細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、または多発性骨髄腫である。

10

【0206】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫、慢性リンパ球性白血病、または非ホジキンリンパ腫である。特定の実施形態では、がんは非ホジキンリンパ腫であり、非ホジキンリンパ腫はバーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病／小リンパ球性リンパ腫（CLL／SLL）、びまん性大B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、前駆細胞Bリンパ芽球性リンパ腫、またはマントル細胞リンパ腫である。特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。特定の実施形態では、多発性骨髄腫は高リスクの多発性骨髄腫または再発および難治性の多発性骨髄腫である。特定の実施形態では、多発性骨髄腫は高リスクの多発性骨髄腫であり、高リスクの多発性骨髄腫はR-ISSステージIIIの疾患および／または早期再発によって特徴付けられる疾患である。特定の実施形態では、多発性骨髄腫はR-ISSステージIIIの疾患ではない。

20

【0207】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、がんは、脳がん、膠芽細胞腫、骨がん、脾臓がん、皮膚がん、頭頸部がん、黒色腫、肺がん、子宮がん、卵巣がん、結腸直腸がん、肛門がん、肝がん、肝細胞癌、胃がん、精巣がん、内膜がん、子宮頸がん、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道がん、腸がん、甲状腺がん、副腎がん、膀胱がん、腎がん、乳がん、多発性骨髄腫、肉腫、肛門がんまたは扁平上皮細胞がんである。

30

【0208】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子は、胎盤増殖因子（PGF）、CD70、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4（TNFRSF4）、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9（TNFRSF9またはsCD137またはs4-1BB）、デコリン（DCN）、分化クラスター83（CD83）、インターロイキン10（IL-10）、プログラム細胞死1（PDCD1）、インターロイキン12（IL-12）、および天然細胞傷害性トリガー受容体1（NCR1）の1つまたはそれ以上である。

40

【0209】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤またはアンタゴニストは、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137もしくはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、またはNCR1の阻害剤またはアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤またはアンタゴニストは、PGFの阻害剤またはアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤またはアンタゴニストは、CD70の阻害剤またはアンタゴニストである。

50

10

20

30

40

50

）のアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、DCNのアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、CD83のアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、IL10のアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、PDCD1のアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、IL12のアンタゴニストである。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、NCR1のアンタゴニストである。

10

【0212】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子の阻害剤またはアンタゴニストは抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137もしくはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、またはNCR1に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、PGFに対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、CD70に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、TNFRSF4に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、DCNに対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、CD83に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、IL10に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、PDCD1に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、IL12に対する抗体である。特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、NCR1に対する抗体である。

20

30

【0213】

上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、IL-12のアンタゴニストはSTELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）である。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、100kg以下の体重の成人ヒトに最初におよび4週後に皮下に投与される約45mgの用量で、続いて12週毎に皮下に投与される45mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、100kgより高い体重の成人ヒトに最初におよび4週後に皮下に投与される約90mgの用量で、続いて12週毎に皮下に投与される90mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、60kg未満の体重の小児ヒト患者に約0.75mg/kgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、60kg～100kgの体重の小児ヒト患者に約45mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、100kgより高い体重の小児ヒト患者に約90mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、55kgまでの体重の成人ヒトに約260mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、55kg～85kgの体重の成人ヒトに約390mgの用量で投与される。特定の実施形態では、STELARA（登録商標）（ウステキヌマブ）は、85kgより高い体重の成人ヒトに約520mgの用量で投与される。

40

【0214】

50

因子（例えば、タンパク質）の阻害剤またはアンタゴニストはタンパク質トラップであってもよい。タンパク質トラップは、例えば、受容体の最初の3つのIgドメイン（すなわち、リガンド結合エレメント）をヒトIgG1の定常領域（Fc）に融合させることにより作製され得る。Holash et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Aug 20; 99(17):11393-11398を参照。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストはタンパク質トラップである。特定の実施形態では、タンパク質トラップは、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1からなる群から選択される炎症関連可溶性因子に結合する。特定の実施形態では、タンパク質トラップは、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137もしくはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、またはNCR1に結合する。特定の実施形態では、タンパク質トラップは、PGF、CD70、TNFRSF9、およびCD83からなる群から選択される炎症関連可溶性因子に結合する。特定の実施形態では、タンパク質トラップは、PGF、CD70、TNFRSF9、またはCD83に結合する。

10

20

30

40

50

【0215】

CAR T療法と組み合わせられてもよい、例えば、本明細書に記載される1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルまたは活性を低減させるためにCAR T療法の前に投与されてもよい、可溶性因子の例示的なアンタゴニストは、以下：IL-12に対するウステキヌマブならびにCD137に対するウレルマブおよびウトミルマブを含む。

【0216】

特定の実施形態では、対象は、CAR T細胞の対象への投与の前に、CAR T細胞の製造のためにPBMCを収集する白血球アフェレーシス手順を受ける。

【0217】

特定の実施形態では、CAR T細胞は静脈内注入によって投与される。

【0218】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、対象はヒト（例えば、ヒト患者）である。

【0219】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMA02、ABECMA（著作権）、JCARH125、JNJ-68284528（LCAR-B38M；10,934,363の配列番号265もしくはWO2018/028647の配列番号300を含み、シグナルペプチドを有するかもしくは有しないタンパク質）（Janssen/Legend）、P-BCMA-101（Poseida）、PBCAR269A（Poseida）、P-BCMA-Allo1（Poseida）、Allo-715（Pfizer/Allogene）、CT053（Carsgen）、Descartes-08（Cartesian）、PHE885（Novartis）、CTX120（CRISPR Therapeutics）；CD19 CAR T療法、例えば、Yescarta、Kymriah、Tecartus、リソカブタジェンマラリユーセル（liso-cell）、または他の任意の細胞表面マーカーを標的とするCAR T療法である。

【0220】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞療法は、BCMA02、ABECMA（著作権）、JCARH125、JNJ-68284528（LCAR-B38M；10,934,363の配列番号265もしくはWO2018/028647の配列番号300を含み、シグナルペプチドを有するかもしくは有しないタンパク質）（Janssen/Legend）、P-BCMA-101（Poseida）、PBCAR269A（Poseida）、P-BCMA-Allo1（Poseida）、Allo-715（Pfizer/Allogene）、CT053（Carsgen）、Descartes-08（Cartesian）、PHE885（Novar

tis)、CTX120 (CRISPR Therapeutics); CD19 CAR T療法、例えば、Yescarta、Kymriah、Tecartus、リソカブタジェンマラリユーセル (liso-cell)、または他の任意の細胞表面マーカーを標的とするCAR T療法である。

【0221】

特定の実施形態では、CAR T細胞は、BCMAを指向するCAR T細胞 (BCMA CAR T細胞) である。BCMAは腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーのメンバーである (例えばThompson et al., J. Exp. Medicine, 192(1): 129-135, 2000およびMackay et al., Annu. Rev. Immunol, 21: 231-264, 2003を参照)。BCMAは、B細胞活性化因子 (BAFF) および増殖誘導リガンド (APRIL) に結合する (例えばMackay et al., 2003およびKallied et al., Immunological Reviews, 204: 43-54, 2005を参照)。良性細胞の中で、BCMAは主として形質細胞および成熟B細胞のサブセットで発現されることが報告されている (例えばLaabi et al., EMO J., 77(1): 3897-3904, 1992; Laabi et al., Nucleic Acids Res., 22(7): 1147-1154, 1994; Kallied et al., 2005; O'Connor et al., J. Exp. Medicine, 199(1): 91-97, 2004; およびNg et al., J. Immunol., 73(2): 807-817, 2004を参照)。BCMAが欠乏したマウスは健康で、正常な数のB細胞を有しているが、長寿命の形質細胞の生存は障害されている (例えばO'Connor et al., 2004; Xu et al., Mol. Cell. Biol., 21(12): 4067-4074, 2001; およびSchiemann et al., Science, 293(5537): 2111-2114, 2001を参照)。BCMA RNAは多発性骨髄腫の細胞およびその他のリンパ腫において普遍的に検出されており、BCMAタンパク質は多発性骨髄腫患者由来の形質細胞の表面において何人かの研究者によって検出されている (例えばNovak et al., Blood, 103(2): 689-694, 2004; Neri et al., Clinical Cancer Research, 73(19): 5903-5909, 2007; Bellucci et al., Blood, 105(10): 3945-3950, 2005; およびMoreaux et al., Blood, 703(8): 3148-3157, 2004を参照)。

【0222】

特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、BCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARは、BCMAを標的とする抗体または抗体断片を含む。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、BCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARは一本鎖Fv抗体または抗体断片 (scFv) を含む。特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞はBCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARはBCMA02 scFv、例えば配列番号38を含む。

【0223】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、BCMAを指向するCARを含む。特定の実施形態では、BCMAを指向するCARは、BCMAを標的とする抗体または抗体断片を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞はBCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARは一本鎖Fv抗体または抗体断片 (scFv) を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞はBCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARは配列番号37を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞はBCMAを指向するCARを含み、BCMAを指向するCARはBCMA02 scFv、例えば配列番号38を含む。特定の実施形態では、BCMAを指向するCARは配列番号10によってコードされる。ある特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞は、BCMA CAR T、例えば配列番号9、配列番号37、または配列番号38のアミノ酸22~493または1~493を含むBCMA CAR Tをコードする核酸、例えばベクターを含むか、または配列番号10を含む核酸、例えばベクターを含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMA CAR T細胞はイデカブタジェンビクリユーセル細胞である。

【0224】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CAR T細胞療法（例えば、BCMAを指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞（BCMA CAR T細胞）、例えば、イデカブタゲンビクルユーセル（ide-cel）細胞）は、10%、5%、3%、2%または1%のCAR T細胞の老化集団、例えば、CD4 CAR T細胞（CD3+ / CD4+ / CAR+ / CD57+）を含む細胞の集団を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記組織試料は、血液、血漿または血清である。上記の態様または実施形態のいずれかの別の特定の実施形態では、BCMAを発現する細胞によって引き起こされる前記疾患は、多発性骨髄腫、慢性リンパ性白血病または非ホジキンリンパ腫（例えば、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病 / 小リンパ性リンパ腫（CLL / SLL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆体B-リンパ芽球性リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫）である。特定の実施形態では、疾患は、多発性骨髄腫、例えば、高リスクの多発性骨髄腫または再発および難治性の多発性骨髄腫である。他の特定の実施形態では、高リスクの多発性骨髄腫は、R-ISSステージIII疾患および / または早期再発によって特徴付けられる疾患（例えば、最後の治療レジメン、例えば、プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤および / またはデキサメタゾンを用いる最後の治療レジメンの日付から12カ月以内の進行性の疾患）である。特定の実施形態では、多発性骨髄腫は、R-ISSステージIII疾患ではない。特定の実施形態では、BCMAを発現する細胞によって引き起こされる前記疾患は、非ホジキンリンパ腫であり、非ホジキンリンパ腫は、バーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病 / 小リンパ性リンパ腫（CLL / SLL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆体B-リンパ芽球性リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫からなる群から選択される。

10

20

【0225】

一実施形態では、B細胞成熟抗原（BCMA）を指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現するT細胞（BCMA CAR T細胞）の投与の前に、腫瘍を有する対象は、腫瘍によるBCMAの発現について評価されている。

【0226】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞は、T細胞、例えば、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞または細胞傷害性Tリンパ球（CTL）、Tキラー細胞またはナチュラルキラー（NK）細胞である。別の特定の実施形態では、免疫細胞は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞の投与量で投与される。

30

【0227】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞（例えば、CAR T細胞、例えばBCMA CAR T細胞）は、 150×10^6 細胞～ 450×10^6 細胞、 300×10^6 細胞～ 600×10^6 細胞、 350×10^6 細胞～ 600×10^6 細胞、 350×10^6 細胞～ 550×10^6 細胞、 400×10^6 細胞～ 600×10^6 細胞、 150×10^6 細胞～ 300×10^6 細胞または 400×10^6 細胞～ 500×10^6 細胞の範囲の用量で投与される。一部の実施形態では、免疫細胞は、約 150×10^6 細胞、約 200×10^6 細胞、約 250×10^6 細胞、約 300×10^6 細胞、約 350×10^6 細胞、約 400×10^6 細胞、約 450×10^6 細胞、約 500×10^6 細胞または約 550×10^6 細胞の用量で投与される。一実施形態では、免疫細胞は、約 450×10^6 細胞の用量で投与される。一部の実施形態では、対象は、キメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞（例えば、CAR T細胞）の1回の注入を投与される。一部の実施形態では、CARを発現する免疫細胞の投与は反復される（例えば、免疫細胞の第2の用量が、対象に投与される）。一部の実施形態では、対象は、B細胞成熟抗原（BCMA）を指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞の1回の注入を投与される。一部の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞の投与は反復される（例えば、免疫細胞の第2の用量が、対象に投与される）。

40

【0228】

50

40

50

本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞（例えば、CAR T細胞）は、約 150×10^6 細胞～約 300×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 550×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを

発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 150×10^6 細胞～約 250×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 600×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 600×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 400×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 350×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 300×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 450×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 400×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 350×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞は、約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞はT細胞（例えば、自己T細胞）である。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、治療されている対象は、対象へのその投与の前にCARを発現する免疫細胞を製造するために自己免疫細胞を収集するために、白血球アフェレーシス手順を受ける。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞（例えば、T細胞）は、静脈内注入によって投与される。

【0230】

本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞（BCMA CAR T細胞）は、約 150×10^6 細胞～約 300×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 550×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 150×10^6 細胞～約 250×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現

する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 300×10^6 細胞～約 600×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 350×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 600×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 400×10^6 細胞～約 450×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 400×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 350×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 200×10^6 細胞～約 300×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 450×10^6 細胞～約 500×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 400×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞は、約 250×10^6 細胞～約 350×10^6 細胞の投与量で投与される。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞はT細胞（例えば、自己T細胞）である。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、治療されている対象は、対象へのその投与の前にBCMAを指向するCARを発現する免疫細胞を製造するために自己免疫細胞を収集するために、白血球除去アフエーシス手順を受ける。本明細書に記載される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、免疫細胞（例えば、T細胞）は、静脈内注入によって投与される。

【0231】

本明細書に開示される態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CARを発現する免疫細胞（例えば、CAR T細胞）の投与の前に、治療されている対象は、リンパ球枯渇（LD）化学療法を投与される。特定の実施形態では、LD化学療法は、フルダラビンおよび／またはシクロホスファミドを含む。特定の実施形態では、LD化学療法は、1、2、3、4、5、6または7日の期間（例えば、3日）の間、フルダラビン（例えば、静脈内投与には約 30 mg/m^2 ）およびシクロホスファミド（例えば、静脈内投与には約 300 mg/m^2 ）を含む。他の特定の実施形態では、LD化学療法は、節5.9に記載される化学療法剤のいずれも含む。特定の実施形態では、対象は、LD化学療法の投与の1、2、3、4、5、6または7日後に（例えば、LD化学療法の投与の2または3日後に）、キメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞を投与される。特定の

10

20

30

40

50

施形態では、対象は、LD化学療法の開始の前に、少なくとも1週間もしくはそれよりも長く、少なくとも2週間もしくはそれよりも長く（少なくとも14日もしくはそれよりも長く）、少なくとも3週間もしくはそれよりも長く、少なくとも4週間もしくはそれよりも長く、少なくとも5週間もしくはそれよりも長く、または少なくとも6週間もしくはそれよりも長く、いずれの療法も受けなかった。本明細書に開示される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、キメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞の投与の前に、治療されている対象は、単一の以前の治療レジメンのみを受けていた。

【0232】

本明細書に開示される態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、BCMAを指向するCARを発現する免疫細胞（例えば、BCMA CAR T細胞）の投与の前に、治療されている対象は、リンパ球枯渇（LD）化学療法を投与される。特定の実施形態では、LD化学療法は、フルダラビンおよび／またはシクロホスファミドを含む。特定の実施形態では、LD化学療法は、1、2、3、4、5、6または7日の期間（例えば、3日）の間、フルダラビン（例えば、静脈内投与には約30mg/m²）およびシクロホスファミド（例えば、静脈内投与には約300mg/m²）を含む。他の特定の実施形態では、LD化学療法は、節5.9に記載される化学療法剤のいずれも含む。特定の実施形態では、対象は、LD化学療法の投与の1、2、3、4、5、6または7日後に（例えば、LD化学療法の投与の2または3日後に）、B細胞成熟抗原（BCMA）を指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞を投与される。特定の実施形態では、対象は、LD化学療法の開始の前に、少なくとも1週間もしくはそれよりも長く、少なくとも2週間もしくはそれよりも長く（少なくとも14日もしくはそれよりも長く）、少なくとも3週間もしくはそれよりも長く、少なくとも4週間もしくはそれよりも長く、少なくとも5週間もしくはそれよりも長く、または少なくとも6週間もしくはそれよりも長く、いずれの療法も受けなかった。本明細書に開示される実施形態のいずれかの特定の実施形態では、B細胞成熟抗原（BCMA）を指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞の投与の前に、治療されている対象は、単一の以前の治療レジメンのみを受けていた。

【0233】

上記の実施形態のいずれかのために、対象は、前記免疫細胞、例えば、T細胞を収集し、単離するためにアフエーシスを受ける。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記対象は、前記アフエーシスの時点で以下を示す：M-タンパク質（血清タンパク質電気泳動[sPEP]または尿タンパク質電気泳動[uPEP]）：sPEP $\geq$ 0.5g/dLまたはuPEP $\geq$ 200mg/24時間；血清または尿において測定可能な疾患を伴わない、血清免疫グロブリン遊離軽鎖 $\geq$ 10mg/dLおよび異常な血清免疫グロブリンカップラムダ遊離軽鎖比を伴う軽鎖多発性骨髄腫；ならびに／または米国東海岸がん臨床試験グループ（Eastern Cooperative Oncology Group）（ECOG）活動状態 $\leq$ 1。より特定の実施形態では、前記対象は、アフエーシスの時点でさらに：プロテアソーム阻害剤、免疫調節剤（レナリドミドまたはポマリドミド）および抗CD38抗体を用いる以前の治療を含む、少なくとも3つの前記の以前の治療のラインを受けていた；治療のラインに対して進行性疾患が最良応答であるまで、以前の治療の前記の少なくとも3つのライン各々について少なくとも2の治療の連続周期を受けていた；以前の治療の最も最近のラインで、またはその60日以内で進行性疾患の証拠を有している；および／または前記の治療の以前のラインのうち少なくとも1つに対して応答（最小応答またはより良好なもの）に達していた。上記の実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記対象は、前記投与の時点で以下を示す：M-タンパク質（血清タンパク質電気泳動[sPEP]または尿タンパク質電気泳動[uPEP]）：sPEP $\geq$ 0.5g/dLまたはuPEP $\geq$ 200mg/24時間；血清または尿において測定可能な疾患を伴わない、血清免疫グロブリン遊離軽鎖 $\geq$ 10mg/dLおよび異常な血清免疫グロブリンカップラムダ遊離軽鎖比を伴う軽鎖多発性骨髄腫；ならびに／または米国東海岸がん臨床試験グループ（ECOG）活動状態 $\leq$ 1。別のより特定の実施形態では、

前記対象はさらに：１つの以前の抗骨髄腫治療レジメンのみを受けていた；以下の高リスク因子を有している：R-ISSステージIIIおよび（i）対象が誘導および幹細胞移植を受けている場合の、第１の移植の日付から１２カ月未満の進行性疾患（PD）；または（ii）対象が誘導のみを受けている場合の、最小でもプロテアソーム阻害剤、免疫調節剤およびデキサメタゾンを含むしていなくてはならない最後の治療レジメンの日付から１２カ月未満のPDとして定義される早期再発。

【０２３４】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CARは、BCMAを標的とする抗体または抗体断片を含む。より特定の実施形態では、前記CARは、一本鎖Fv抗体断片（scFv）を含む。より特定の実施形態では、前記CARは、BCMA 02 scFv、例えば、配列番号３８を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記免疫細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞である。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMA、例えば、BCMAを標的とするマウス一本鎖Fv抗体断片を含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMAポリペプチド、例えば、CD8αポリペプチド、CD8α膜貫通ドメイン、CD137（４－１BB）細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3ζ一次シグナル伝達ドメインを含むヒトBCMAポリペプチドヒンジドメインに結合するマウス抗BCMA scFvを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMA、例えば、scFvが配列番号９の抗BCMA 02 CARのものであるBCMAを標的とするマウスscFvを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号９または配列番号３７である、またはそれを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号９である、またはそれを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号３７である、またはそれを含む。本明細書における任意の実施形態のより特定の実施形態では、前記免疫細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル（ide-cel）細胞である。一実施形態では、免疫細胞は、BCMA、例えば、BCMAを標的とするマウス一本鎖Fv抗体断片を含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、BCMAポリペプチド、例えば、CD8αポリペプチド、CD8α膜貫通ドメイン、CD137（４－１BB）細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3ζ一次シグナル伝達ドメインを含むBCMA、ヒンジドメインに結合するマウス抗BCMA scFvを含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、配列番号９または配列番号３７である、またはそれを含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、配列番号３７である、またはそれを含むキメラ抗原受容体を含む。

【０２３５】

他の実施形態では、本明細書で企図される遺伝子改変された免疫エフェクター細胞は、B細胞関連状態、例えば、B細胞悪性腫瘍を有する患者に投与される。

【０２３６】

CAR T細胞療法、例えば、抗BCMA CAR T細胞療法の施行後の可溶性（すなわち、非膜結合型）BCMA（sBCMA）の量を使用して、対象をCAR T細胞療法に対して適切に応答すると予測できるか否か、または対象が異なる抗がん療法を施行されるべきであるか否かを決定できる。CAR T細胞療法の施行後の組織試料（例えば、血清、血漿、リンパまたは血液）におけるsBCMAレベルのより大きな低下は、より臨床上有益なアウトカム（例えば、極めて良好な部分奏効、完全奏効またはストリンジェントな完全奏効）と相関している。一態様では、例えば、対象から得た組織試料において可溶性BCMA（sBCMA）の第１のレベルを決定する工程；BCMAを指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞（BCMA CAR T細胞）を含む第１のBCMAベースの治療モダリティを対象に施行する工程、次いで、対象から得た組織試料において可溶性BCMA（sBCMA）の第２のレベルを決定する工程を含む、それを必要とする対象におけるB細胞成熟剤（BCMA）を発現する細胞によって惹起される疾患を治療する方法であって、sBCMAの前記第２のレベルが、sBCMAの前記第１のレ

ベルの約30%より大きい場合に、対象が引き続いて前記疾患を治療するための第2のBCMAベースの治療モダリティーを提供され、第1のBCMAベースの治療モダリティーおよび第2のBCMAベースの治療モダリティーが、異なったBCMAベースの治療モダリティーである、方法が本明細書で提供される。特定の実施形態では、免疫細胞は、イデカブタゲンビクルユーセル細胞である。ある特定の実施形態では、第2のBCMAベースの治療モダリティーは、イデカブタゲンビクルユーセル細胞ではない。ある特定の実施形態では、第2のBCMAベースの治療モダリティーは、イデカブタゲンビクルユーセル細胞を含まない。

【0237】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CAR T細胞療法（例えば、BCMAを指向するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する免疫細胞（BCMA CAR T細胞）、例えば、イデカブタゲンビクルユーセル（ide-cel）細胞）は、約10%、5%、3%、2%または1%の活性化CAR T細胞、例えば、活性化CD8 CAR T細胞（CD3+ / CD8+ / CAR+ / CD25+）を含む細胞の集団を含む。

【0238】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CARは、目的の抗原を標的とする抗体または抗体断片を含む。目的の抗原は任意の目的の抗原であり得、例えば、腫瘍細胞上の抗原であり得る。腫瘍細胞は、例えば、固形腫瘍中の細胞、または血液がんの細胞であってもよい。抗原は、任意の腫瘍またはがん種の細胞、例えば、リンパ腫、肺がん、乳がん、前立腺がん、副腎皮質癌、甲状腺癌、鼻咽頭癌、黒色腫、例えば、悪性黒色腫、皮膚癌、結腸直腸癌、類腱腫、癒着性小円形細胞腫瘍、内分泌腫瘍、ユーイング肉腫、末梢原始神経外胚葉腫瘍、固形胚細胞腫瘍、肝芽腫、神経芽腫、非横紋筋肉腫、軟組織肉腫、骨肉腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫、ウィルムズ腫瘍、神経膠芽腫、粘液腫、線維腫、または脂肪腫などの細胞上に発現される任意の抗原であり得る。より特定の実施形態では、前記リンパ腫は、慢性リンパ球性白血病（小リンパ球性リンパ腫）、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、ワルデンストロームマクログロブリン血症、脾性辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、形質細胞腫、節外性辺縁帯B細胞リンパ腫、MAL Tリンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大B細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大B細胞リンパ腫、脈管内大B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、パーキットリンパ腫、Tリンパ球前リンパ球性白血病、Tリンパ球大顆粒状リンパ球性白血病、侵襲性NK細胞白血病、成人Tリンパ球白血病 / リンパ腫、節外NK / Tリンパ球白血病、鼻型・腸疾患型Tリンパ球リンパ腫、肝脾Tリンパ球リンパ腫、芽細胞性NK細胞リンパ腫、菌状息肉症、セザリー症候群、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、血管免疫芽球性Tリンパ球リンパ腫、末梢Tリンパ球リンパ腫（不特定）、未分化大細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、または多発性骨髄腫であり得る。

【0239】

ある特定の実施形態では、抗原は腫瘍関連抗原（TAA）または腫瘍特異的抗原（TSA）である。様々な特定の実施形態では、限定なしに、腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、Her 2、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、アルファフエトプロテイン（AFP）、癌胎児性抗原（CEA）、がん抗原-125（CA-125）、CA19-9、カルレチニン、MUC-1、上皮膜タンパク質（EMA）、上皮腫瘍抗原（ETA）、チロシナーゼ、黒色腫関連抗原（MAGE）、CD19、CD20、CD34、CD45、CD99、CD117、クロモグラニン、サイトケラチン、デスミン、グリア線維性酸性タンパク質（GFAP）、グロス嚢胞性疾患流体タンパク質（GCDFP-15）、HMB-45抗原、高分子量黒色腫関連抗原（HMW-MAA）、タンパク質メラニン-A（MART-1）、myo-D1、筋肉特異的アクチン（MSA）、ニューロフィラメント、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）、胎盤アルカリホスファターゼ、シナプトフィシス（synaptophysin）、サイログロブリン、甲状腺転写因子-1、二量体形態のピルビン酸

キナーゼアイソエンザイムM2型（腫瘍M2-PK）、異常rasタンパク質、または異常p53タンパク質である。

【0240】

ある特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、がん／精巣（CT）抗原、例えば、BAGE、CAGE、CTAGE、FATE、GAGE、HCA661、HOM-TEST-85、MAGEA、MAGEB、MAGEC、NA88、NY-ESO-1、NY-SAR-35、OY-TEST-1、SPANXB1、SPA17、SSX、SYCP1、またはTPTEである。

【0241】

ある特定の他の実施形態では、TAAまたはTSAは、炭水化物またはガングリオシド、例えば、fuc-GM1、GM2（がん胎児性抗原-免疫原性-1；OFA-I-1）；GD2（OFA-I-2）、GM3、およびGD3などである。

【0242】

ある特定の他の実施形態では、TAAまたはTSAは、アルファ-アクチニン-4、Bage-1、BCR-ABL、Bcr-AbL融合タンパク質、ベーターカテニン、CA125、CA15-3（CA27.29\BCAA）、CA195、CA242、CA-50、CAM43、Casp-8、cdc27、cdk4、cdkn2a、CEA、coa-1、dek-can融合タンパク質、EBNA、EF2、エプスタインバーウイルス抗原、ETV6-AML1融合タンパク質、HLA-A2、HLA-A11、hsp70-2、KIAA0205、Mart2、Mum-1、2、および3、neo-PAP、ミオシンクラスI、OS-9、pml-RAR α 融合タンパク質、PTPRK、K-ras、N-ras、トリオースリン酸イソメラーゼ、Gage 3、4、5、6、7、GnTV、Herv-K-mel、Lage-1、NA-88、NY-Eso-1/Lage-2、SP17、SSX-2、TRP2-Int2、gp100（Pmel 17）、チロシナーゼ、TRP-1、TRP-2、MAGE-1、MAGE-3、RAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15（58）、RAGE、SCP-1、Hom/Mel-40、PRAME、p53、H-Ras、HER-2/neu、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、ヒトパピローマウイルス（HPV）抗原E6およびE7、TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72-4、CA19-9、CA72-4、CAM17.1、NuMa、K-ras、13-カテニン、Mum-1、p16、TAGE、PSMA、CT7、テロメラーゼ、43-9F、5T4、791Tgp72、13HCG、BCA225、BTAA、CD68\KP1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733（EpCAM）、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB\70K、NY-CO-1、RCA S1、SDCCAG16、TA-90、TAAL6、TAG72、TLP、TPS、CD19、CD22、CD27、CD30、CD70、GD2（ガングリオシドG2）、EGFRvIII（上皮増殖因子バリエーションIII）、精子タンパク質17（Sp17）、メソテリン、PAP（前立腺酸ホスファターゼ）、プロステイン、TARP（T細胞受容体ガンマ代替リーディングフレームタンパク質）、Trp-p8、STEAP1（6回膜貫通型前立腺上皮抗原1）、異常rasタンパク質、または異常p53タンパク質である。別の特定の実施形態では、前記腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、インテグリン α v β 3（CD61）、ガレクチン（galactin）、K-Ras（V-Ki-ras2 Ki-rstenラット肉腫ウイルスがん遺伝子）、またはRal-Bである。

【0243】

特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、CD20、CD123、CLL-1、CD38、CS-1、CD138、ROR1、FAP、MUC1、PSCA、EGFRvIII、EPHA2、またはGD2である。さらなる特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、CD123、CLL-1、CD38、またはCS-1である。特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはCS-1に結合する。さらなる特定の実施形態では、細胞

10

20

30

40

50

外ドメインは、一本鎖バージョンのエロツズマブおよび／またはエロツズマブの抗原結合性断片を含む。特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはCD20に結合する。より特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはscFvであるか、またはその抗原結合性断片はCD20に結合する。

【0244】

他の腫瘍関連および腫瘍特異的抗原は当業者に公知である。

【0245】

TSAおよびTAAに結合する抗体、およびscFvは、当技術分野で公知であり、それらをコードするヌクレオチド配列についても同様である。

【0246】

ある特定の実施形態では、抗原は、TSAまたはTAAであるとは考えられないが、それにもかかわらず腫瘍細胞、または腫瘍によって惹起される損傷と関連する抗原である。特定の実施形態では、抗原は腫瘍微環境関連抗原(TMAA)である。ある特定の実施形態では、例えば、TMAAは、例えば、増殖因子、サイトカインまたはインターロイキン、例えば、血管新生または脈管形成と関連する増殖因子、サイトカイン、またはインターロイキンである。そのような増殖因子、サイトカイン、またはインターロイキンは、例えば、血管内皮増殖因子(VEGF)、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)、血小板由来増殖因子(PDGF)、肝細胞増殖因子(HGF)、インスリン様増殖因子(IGF)、またはインターロイキン-8(IL-8)を含むことができる。腫瘍はまた、腫瘍に対して局所的な低酸素性環境を作り出すことができる。そのため、他の特定の実施形態では、TMAAは、低酸素関連因子、例えば、HIF-1 α 、HIF-1 β 、HIF-2 α 、HIF-2 β 、HIF-3 α 、またはHIF-3 β である。腫瘍はまた、正常組織に対して局在化した損傷を惹起して、損傷関連分子パターン分子(DAMP;アラミンとしても公知)として公知の分子の放出を惹起することができる。したがって、ある特定の他の特定の実施形態では、TMAAは、DAMP、例えば、熱ショックタンパク質、クロマチン関連タンパク質高移動度グループボックス1(HMGB1)、S100A8(MRP8、カルグラニユリンA)、S100A9(MRP14、カルグラニユリンB)、血清アミロイドA(SAA)であるか、またはデオキシリボ核酸、アデノシン三リン酸、尿酸、もしくはヘパリン硫酸であり得る。特定の実施形態では、TMAAは、VEGF-A、EGF、PDGF、IGF、またはbFGFである。

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CARは、目的の抗原を標的とする抗体または抗体断片を含む。より特定の実施形態では、前記CARは一本鎖Fv抗体断片(scFv)を含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、目的の抗原、例えば、腫瘍細胞上の抗原に結合するscFv、CD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン、CD8 α 膜貫通ドメイン、CD137(4-1BB)細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。腫瘍細胞は、例えば、固形腫瘍中の細胞、または血液がんの細胞であってもよい。抗原は、任意の腫瘍またはがん種の細胞上に発現される任意の抗原であり得る。一実施形態では、免疫細胞は、目的の抗原を標的とする一本鎖Fv抗体断片を含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、目的の抗原に結合するscFv、CD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン、CD8 α 膜貫通ドメイン、CD137(4-1BB)細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体を含む。

【0247】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記CARは、BCMAを標的とする抗体または抗体断片を含む。より特定の実施形態では、前記CARは一本鎖Fv抗体断片(scFv)を含む。より特定の実施形態では、前記CARは、BCMA02 scFv、例えば、配列番号38を含む。上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、前記免疫細胞はイデカブタゲンビクルユーセル細胞である。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMA、例えば、BCMAを標的とするマウス一本鎖Fv抗体断片を含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMAポリペプチド、例え

ば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv、CD8αポリペプチドを含むヒンジドメイン、CD8α膜貫通ドメイン、CD137(4-1BB)細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3ζ一次シグナル伝達ドメインを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は、BCMA、例えば、scFVが配列番号9または配列番号37の抗BCMA02 CARのものであるBCMAを標的とするマウスscFvを含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は配列番号9であるか、または配列番号9を含む。一実施形態では、キメラ抗原受容体は配列番号37であるか、または配列番号37を含む。本明細書における任意の実施形態のより特定の実施形態では、前記免疫細胞はイデカブタゲンビクルユーセル(id-e-cel)細胞である。一実施形態では、免疫細胞は、BCMA、例えば、BCMAを標的とするマウス一本鎖Fv抗体断片を含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、BCMAポリペプチド、例えば、BCMAに結合するマウス抗BCMA scFv、CD8αポリペプチドを含むヒンジドメイン、CD8α膜貫通ドメイン、CD137(4-1BB)細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3ζ一次シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、配列番号9であるか、または配列番号9を含むキメラ抗原受容体を含む。一実施形態では、免疫細胞は、配列番号37であるか、または配列番号37を含むキメラ抗原受容体を含む。

10

【0248】

他の実施形態では、本明細書で企図される遺伝子改変された免疫エフェクター細胞は、B細胞関連状態、例えば、B細胞またはB細胞悪性腫瘍と関連する自己免疫疾患を有する患者に投与される。

20

【0249】

本明細書に提示される主題の実施は、そうでないことが特に指し示されなければ、当技術分野の技術的範囲内である化学、生化学、有機化学、分子生物学、微生物学、組換えDNA技術、遺伝学、免疫学、および細胞生物学の従来の方法を用い、該方法の多くは実例の目的のために以下に記載される。そのような技術は、文献において十分に説明されている。例えば、Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd Edition, 2001); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); Maniatis et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (1982); Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, updated July 2008); *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Glover, *DNA Cloning: A Practical Approach*, vol. I & II (IRL Press, Oxford, 1985); Anand, *Techniques for the Analysis of Complex Genomes*, (Academic Press, New York, 1992); *Transcription and Translation* (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984); Perbal, *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984); Harlow and Lane, *Antibodies*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1998) *Current Protocols in Immunology* Q. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach and W. Strober, eds., 1991); *Annual Review of Immunology*; および *Advances in Immunology* などの学術誌におけるモノグラフを参照。

30

40

【0250】

6.2. 定義

他に定義されなければ、本明細書において使用されるすべての科学技術用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似または同等の任意の方法および材料が本開示の実施または試験において使用され得るが、組成物、方法および材料の好ましい実施形態が本明細書に記載される。本開示の目的のために、以下の用語が以下において定義される。

【0251】

50

冠詞「a」、「an」、および「the」は、冠詞の文法的対象の1つまたは1つより多く（すなわち、少なくとも1つ、または1つもしくは複数）を指すために本明細書において使用される。例として、「要素」（an element）は、1つの要素または1つもしくは複数の要素を意味する。

【0252】

選択肢（例えば、「または」）の使用は、選択肢のうちの1つ、両方、またはこれらの任意の組合せのいずれかを意味することが理解されるべきである。

【0253】

「および／または」という用語は、選択肢のうちの1つ、または両方のいずれかを意味することが理解されるべきである。

【0254】

本明細書で使用される場合、「約」または「おおよそ」という用語は、参照となる数量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さに対して15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%または1%程度だけ変動する数量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さを指す。一実施形態では、「約」または「おおよそ」という用語は、参照となる数量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さについて±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%、または±1%の数量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さの範囲を指す。

【0255】

本明細書の全体を通じて、文脈が他に要求しなければ、「含む」（comprise）、「含む」（comprises）および「含む」（comprising）という語は、記載される工程もしくは要素または工程もしくは要素の群を含むが、任意の他の工程もしくは要素または工程もしくは要素の群を除外しないことを含意することが理解される。「からなる」によって、「からなる」という語句に後続するどんなものでも含み、それに限定されることが意味される。そのため、「からなる」という語句は、列記される要素が要求されるかまたは義務的であること、および他の要素は存在してはならないことを指し示す。「から本質的になる」によって、該語句の後に列記される任意の要素を含み、および列記される要素について本開示において指定される活性または作用に干渉も寄与もしない他の要素に限定されることが意味される。そのため、「から本質的になる」という語句は、列記される要素が要求されるかまたは義務的であるが、列記される要素の活性または作用に実質的に影響する他の要素は存在しないことを指し示す。

【0256】

「1つの実施形態」、「一実施形態」、「特定の実施形態」、「関連する実施形態」、「ある特定の実施形態」、「追加の実施形態」、もしくは「さらなる実施形態」またはこれらの組合せに対する本明細書の全体を通じた言及は、該実施形態との繋がりで記載される特定の特色、構造または特徴が、本明細書に提示される開示の少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。そのため、本明細書の全体を通じた様々な箇所における以上の語句の登場は、必ずしもすべてが同じ実施形態を指すわけではない。さらには、特定の特色、構造、または特徴は、1つまたはそれ以上の実施形態では任意の好適な方式で組み合わせられてもよい。1つの実施形態における特色の積極的な記載は、特定の実施形態では該特色を除外するための基礎として役立つこともまた理解される。

【0257】

6.3. 投与の様式

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞ならびに炎症関連可溶性因子のアンタゴニスト（例えば、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1のアンタゴニスト）は、対象の血清中の炎症関連可溶性因子のレベルを、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの

10

20

30

40

50

血清における炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定されるレベルにするために適切なように、同時に（すなわち、同時投与）および／または逐次的に（すなわち、逐次投与）対象に投与されてもよい。

【0258】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞ならびに炎症関連可溶性因子のアンタゴニスト（例えば、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PD CD1、IL12、およびNCR1のアンタゴニスト）は同時に投与される。用語「同時投与」は、本明細書で使用される場合、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、約15分以下、例えば約10、5、または1分のいずれか以下の時間分離で投与されることを意味する。CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが同時に投与される場合、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、同じ組成物（例えば、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの両方を含む組成物）中または別々の組成物（例えば、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは別の組成物中に含有される）中に含有されてもよい。

10

【0259】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞ならびに炎症関連可溶性因子のアンタゴニスト（例えば、PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9（sCD137またはs4-1BB）、DCN、CD83、IL10、PD CD1、IL12、およびNCR1のアンタゴニスト）は逐次的に投与される。用語「逐次投与」は、本明細書で使用される場合、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが、約15分より大きい、例えば約20、30、40、50、60分またはより多くの分のいずれかより大きい時間分離で投与されることを意味する。CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストのいずれかが最初に投与され得る。CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、同じまたは異なるパッケージ中に含有されてもよい、別々の組成物中に含有される。

20

【0260】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は同時発生的であり、すなわち、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与期間は互いとオーバーラップする。

30

【0261】

一部の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、CAR T細胞の投与の前に少なくとも1サイクル（例えば、少なくとも2、3、または4サイクルのいずれか）にわたり投与される。特定の実施形態では、CAR T細胞の投与期間は、このアンタゴニストの投与に引き続いて、および炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清における炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日後に開始される。特定の実施形態では、CAR T細胞の投与期間は、このアンタゴニストの投与に引き続いて、および炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清における炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1週間、2週間、3週間、または4週間後に開始される。特定の実施形態では、CAR T細胞の投与期間は、このアンタゴニストの投与に引き続いて、および炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清における炎症関連可溶性因子のレベルと類似していると決定された約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、または6カ月後に開始される。

40

【0262】

一部の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与はおおよそ同じ時間（例えば、1、2、3、4、5、6、または7日のいずれか1つ以内）に開始される。一部の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は、おおよそ同じ時間（例えば、1、2、3、4、5、6、または7

50

日のいずれか1つ以内)に終了される。一部の実施形態では、CAR T細胞の投与は、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与の終了後に(例えば、約1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、または12カ月のいずれか1つにわたり)継続される。一部の実施形態では、CAR T細胞の投与は、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与の開始後(例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12カ月のいずれか1つの後)に開始される。一部の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は、およそ同じ時間に開始および終了される。一部の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は、およそ同じ時間に中止され、ならびにCAR T細胞の投与は、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与の開始後(例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12カ月のいずれか1つの後)に開始される。

10

【0263】

上記の態様または実施形態のいずれかの特定の実施形態では、CAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は非同時発生的である。例えば、一部の実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストの投与は、CAR T細胞が投与される前に終了される。一部の実施形態では、CAR T細胞の投与は、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストが投与される前に終了される。これらの2つの非同時発生的な投与の間の期間は、約2～8週間、例えば約4週間の範囲に及び得る。

【0264】

本明細書に記載されるCAR T細胞および炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、経口、吸入、嚢内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、髄腔内、経粘膜、および経皮を含む、様々な経路を介して個体(例えばヒト、例えば、ヒト患者)に投与され得る。一部の実施形態では、組成物の持続連続放出製剤が使用されてもよい。1つの実施形態では、炎症関連可溶性因子のアンタゴニストは、経口的、筋肉内、経皮的、静脈内、吸入器または他の空気媒介デリバリーシステムを通じたものなどを含むが、これらに限定されない任意の許容される経路により投与され得る。

20

【0265】

6.4. キメラ抗原受容体

様々な実施形態では、免疫エフェクター細胞の細胞傷害性をB細胞に再指向させる遺伝子操作された受容体が提供される。これらの遺伝子操作された受容体は本明細書においてキメラ抗原受容体(CAR)として参照される。CARは、特異的な抗BCMA細胞免疫活性を呈するキメラタンパク質を生成するために、所望される抗原(例えば、BCMA)に対する抗体ベースの特異性をT細胞受容体活性化細胞内ドメインと組み合わせた分子である。本明細書で使用される場合、「キメラ」という用語は、異なる起源からの異なるタンパク質またはDNAの部分から構成されていることを記載する。

30

【0266】

本明細書に記載される実施形態が応用されるCAR T細胞療法は、任意のCAR T療法、例えばBCMA CAR T細胞療法、例えばBCMA02、ABECMA(著作権)、JCARH125、JNJ-68284528(LCAR-B38M;10,934,363の配列番号265またはWO2018/028647の配列番号300を含み、シグナルペプチドを有するかまたは有しないタンパク質)(Janssen/Legend)、P-BCMA-101(Poseida)、PBCAR269A(Poseida)、P-BCMA-Allo1(Poseida)、Allo-715(Pfizer/Allogene)、CT053(Carsgen)、Descartes-08(Cartesian)、PHE885(Novartis)、CTX120(CRISPR Therapeutics);CD19 CAR T療法、例えば、Yescarta、Kymriah、Tecartus、リソカブタジェンマラリュースセル(Lisocell)、および任意の他の細胞表面マーカーを標的とするCAR T療法を含む。

40

【0267】

50

ポリペプチドの細胞外ドメイン（結合性ドメインまたは抗原特異的結合性ドメインとしても参照される）は目的の抗原に結合する。ある特定の実施形態では、細胞外ドメインは、前記抗原に結合する受容体、または受容体の部分を含む。細胞外ドメインは、例えば、前記抗原に結合する受容体、または受容体の部分であってもよい。ある特定の実施形態では、細胞外ドメインは、抗体もしくはその抗原結合性部分を含むか、または抗体もしくはその抗原結合性部分である。特定の実施形態では、細胞外ドメインは一本鎖Fvドメインを含むか、または一本鎖Fvドメインである。一本鎖Fvドメインは、例えば、可動性リンカーによってV_Hに連結されたV_Lであって、前記V_LおよびV_Hが前記抗原に結合する抗体からのものであるものを含むことができる。

【0268】

ポリペプチドの細胞外ドメインが結合する抗原は、任意の目的の抗原であり得、例えば、腫瘍細胞上の抗原であり得る。腫瘍細胞は、例えば、固形腫瘍中の細胞、または血液がんの細胞であってもよい。抗原は、任意の腫瘍またはがん種の細胞、例えば、リンパ腫、肺がん、乳がん、前立腺がん、副腎皮質癌、甲状腺癌、鼻咽頭癌、黒色腫、例えば、悪性黒色腫、皮膚癌、結腸直腸癌、類腱腫、癒着性小円形細胞腫瘍、内分泌腫瘍、ユーイング肉腫、末梢原始神経外胚葉腫瘍、固形胚細胞腫瘍、肝芽腫、神経芽腫、非横紋筋肉腫軟組織肉腫、骨肉腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫、ウィルムズ腫瘍、神経膠芽腫、粘液腫、線維腫、または脂肪腫などの細胞上に発現される任意の抗原であり得る。より特定の実施形態では、前記リンパ腫は、慢性リンパ球性白血病（小リンパ球性リンパ腫）、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、ワルデンストロームマクログロブリン血症、脾性辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、形質細胞腫、節外性辺縁帯B細胞リンパ腫、MAL Tリンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大B細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大B細胞リンパ腫、脈管内大B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、バーキットリンパ腫、Tリンパ球前リンパ球性白血病、Tリンパ球大顆粒状リンパ球性白血病、侵襲性NK細胞白血病、成人Tリンパ球白血病／リンパ腫、節外NK／Tリンパ球白血病、鼻型・腸疾患型Tリンパ球リンパ腫、肝脾Tリンパ球リンパ腫、芽細胞性NK細胞リンパ腫、菌状息肉症、セザリー症候群、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、血管免疫芽球性Tリンパ球リンパ腫、末梢Tリンパ球リンパ腫（不特定）、未分化大細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、または多発性骨髄腫であり得る。

【0269】

ある特定の実施形態では、抗原は腫瘍関連抗原（TAA）または腫瘍特異的抗原（TSA）である。様々な特定の実施形態では、限定なしに、腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、Her2、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、アルファフェトプロテイン（AFP）、癌胎児性抗原（CEA）、がん抗原-125（CA-125）、CA19-9、カルレチニン、MUC-1、上皮膜タンパク質（EMA）、上皮腫瘍抗原（ETA）、チロシナーゼ、黒色腫関連抗原（MAGE）、CD19、CD20、CD34、CD45、CD99、CD117、クロモグラニン、サイトケラチン、デスミン、グリア線維性酸性タンパク質（GFAP）、グロス嚢胞性疾患流体タンパク質（GCDFP-15）、HMB-45抗原、高分子量黒色腫関連抗原（HMW-MAA）、タンパク質メラニン-A（MART-1）、myo-D1、筋肉特異的アクチン（MSA）、ニューロフィラメント、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）、胎盤アルカリホスファターゼ、シナプトフィシス、サイログロブリン、甲状腺転写因子-1、二量体形態のピルビン酸キナーゼアイソエンザイムM2型（腫瘍M2-PK）、異常rasタンパク質、または異常p53タンパク質である。

【0270】

ある特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、がん／精巣（CT）抗原、例えば、BAGE、CAGE、CTAGE、FATE、GAGE、HCA661、HOM-TES-85、MAGEA、MAGEB、MAGEC、NA88、NY-ESO-1、NY-SAR-35、OY-TES-1、SPANXB1、SPA17、SSX、SYCP1、ま

10

20

30

40

50

たはTPT Eである。

【0271】

ある特定の他の実施形態では、TAAまたはTSAは、炭水化物またはガングリオシド、例えば、fuc-GM1、GM2（がん胎児性抗原-免疫原性-1；OFA-I-1）；GD2（OFA-I-2）、GM3、およびGD3などである。

【0272】

ある特定の他の実施形態では、TAAまたはTSAは、アルファ-アクチニン-4、Bage-1、BCR-ABL、Bcr-Ab l融合タンパク質、ベーターカテニン、CA125、CA15-3（CA27.29\BCAA）、CA195、CA242、CA-50、CAM43、Casp-8、cdc27、cdk4、cdkn2a、CEA、coa-1、dek-can融合タンパク質、EBNA、EF2、エプスタインバーウイルス抗原、ETV6-AML1融合タンパク質、HLA-A2、HLA-A11、hsp70-2、KIAA0205、Mart2、Mum-1、2、および3、neo-PAP、ミオシンクラスI、OS-9、pml-RAR α 融合タンパク質、PTPRK、K-ras、N-ras、トリオースリン酸イソメラーゼ、Gage3、4、5、6、7、GnTV、Herv-K-mel、Lage-1、NA-88、NY-Eso-1/Lage-2、SP17、SSX-2、TRP2-Int2、gp100（Pmel17）、チロシナーゼ、TRP-1、TRP-2、MAGE-1、MAGE-3、RAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15（58）、RAGE、SCP-1、Hom/Mel-40、PRAME、p53、H-Ras、HER-2/neu、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、ヒトパピローマウイルス（HPV）抗原E6およびE7、TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72-4、CA19-9、CA72-4、CAM17.1、NuMa、K-ras、13-カテニン、Mum-1、p16、TAGE、PSMA、CT7、テロメラーゼ、43-9F、5T4、791Tgp72、13HCG、BCA225、BTAA、CD68\KP1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733（EpCAM）、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB\70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90、TAAL6、TAG72、TLP、TPS、CD19、CD22、CD27、CD30、CD70、GD2（ガングリオシドG2）、EGFRvIII（上皮増殖因子バリエーションIII）、精子タンパク質17（Sp17）、メソテリン、PAP（前立腺酸ホスファターゼ）、プロステイン、TARP（T細胞受容体ガンマ代替リーディングフレームタンパク質）、Trp-p8、STEAP1（6回膜貫通型前立腺上皮抗原1）、異常rasタンパク質、または異常p53タンパク質である。別の特定の実施形態では、前記腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、インテグリン $\alpha v \beta 3$ （CD61）、ガレクチン（galactin）、K-Ras（V-Kirras2 Kirstenラット肉腫ウイルスがん遺伝子）、またはRalbである。

【0273】

特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、CD20、CD123、CLL-1、CD38、CS-1、CD138、ROR1、FAP、MUC1、PSCA、EGFRvIII、EPHA2、またはGD2である。さらなる特定の実施形態では、TAAまたはTSAは、CD123、CLL-1、CD38、またはCS-1である。特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはCS-1に結合する。さらなる特定の実施形態では、細胞外ドメインは、一本鎖バージョンのエロツズマブおよび／またはエロツズマブの抗原結合性断片を含む。特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはCD20に結合する。より特定の実施形態では、CARの細胞外ドメインはscFvであるか、またはその抗原結合性断片はCD20に結合する。

【0274】

他の腫瘍関連および腫瘍特異的抗原は当業者に公知である。

【0275】

10

20

30

40

50

T S A および T A A に結合する抗体、および s c F v は、当技術分野で公知であり、それらをコードするヌクレオチド配列についても同様である。

【0276】

ある特定の実施形態では、抗原は、T S A または T A A であるとは考えられないが、それにもかかわらず腫瘍細胞、または腫瘍によって惹起される損傷と関連する抗原である。特定の実施形態では、抗原は腫瘍微環境関連抗原 (T M A A) である。ある特定の実施形態では、例えば、T M A A は、例えば、増殖因子、サイトカインまたはインターロイキン、例えば、血管新生または脈管形成と関連する増殖因子、サイトカイン、またはインターロイキンである。そのような増殖因子、サイトカイン、またはインターロイキンは、例えば、血管内皮増殖因子 (V E G F)、塩基性線維芽細胞増殖因子 (b F G F)、血小板由来増殖因子 (P D G F)、肝細胞増殖因子 (H G F)、インスリン様増殖因子 (I G F)、またはインターロイキン-8 (I L-8) を含むことができる。腫瘍はまた、腫瘍に対して局所的な低酸素性環境を作り出すことができる。そのため、他の特定の実施形態では、T M A A は、低酸素関連因子、例えば、H I F-1 α 、H I F-1 β 、H I F-2 α 、H I F-2 β 、H I F-3 α 、または H I F-3 β である。腫瘍はまた、正常組織に対して局在化した損傷を惹起して、損傷関連分子パターン分子 (D A M P; アラーミンとしても公知) として公知の分子の放出を惹起することができる。したがって、ある特定の他の特定の実施形態では、T M A A は、D A M P、例えば、熱ショックタンパク質、クロマチン関連タンパク質高移動度グループボックス1 (H M G B 1)、S 1 0 0 A 8 (M R P 8、カルグラニユリンA)、S 1 0 0 A 9 (M R P 1 4、カルグラニユリンB)、血清アミロイドA (S A A) であるか、またはデオキシリボ核酸、アデノシン三リン酸、尿酸、もしくはヘパリン硫酸であり得る。特定の実施形態では、T M A A は、V E G F-A、E G F、P D G F、I G F、または b F G F である。

10

20

【0277】

ある特定の実施形態では、細胞外ドメインは、前記膜貫通ドメインにリンカー、スペーサーまたはヒンジポリペプチド配列、例えば、C D 2 8 からの配列によって接合される。

【0278】

ある特定の実施形態では、本明細書で企図される C A R は、B C M A に結合する細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナル伝達ドメインを含む。標的細胞の表面上の B C M A との C A R の抗 B C M A 抗原結合性ドメインのエンゲージメントは、C A R のクラスター化をもたらし、C A R 含有細胞に活性化刺激をデリバリーする。C A R の主な特徴は、モノクローナル抗体、可溶性リガンドまたは細胞特異的補助受容体の細胞特異的標的化能力を活用して、免疫エフェクター細胞特異性を再指向させ、それによって、増殖、サイトカイン産生、ファゴサイトーシスまたは主要組織適合性 (M H C) 非依存性の方式において標的抗原発現細胞の細胞死を媒介できる分子の産生のトリガーとなるそれらの能力である。

30

【0279】

様々な実施形態では、C A R は、マウス抗 B C M A (例えば、ヒト B C M A) 特異的結合性ドメインを含む細胞外結合性ドメイン; 膜貫通ドメイン; 1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン; および一次シグナル伝達ドメインを含む。

40

【0280】

特定の実施形態では、C A R は、マウス抗 B C M A (例えば、ヒト B C M A) 抗体またはその抗原結合性断片を含む細胞外結合性ドメイン; 1つまたはそれ以上のヒンジドメインまたはスペーサードメイン; を含む膜貫通ドメイン; 1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン; および一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0281】

6. 4. 1. 結合ドメイン

特定の実施形態では、本明細書で企図される C A R は、B 細胞上に発現されるヒト B C M A ポリペプチドに特異的に結合するマウス抗 B C M A 抗体またはその抗原結合断片を含む細胞外結合ドメインを含む。本明細書で使用される場合、用語「結合ドメイン」、「細

50

胞外ドメイン」、「細胞外結合ドメイン」、「抗原特異的結合ドメイン」および「細胞外抗原特異的結合ドメイン」は、同義的に使用され、目的の標的抗原、例えば、BCMAに特異的に結合する能力を有するCARを提供する。結合ドメインは、天然、合成、半合成、または組換え供給源のいずれかに由来し得る。

【0282】

用語「特異的結合親和性」または「特異的に結合する」または「特異的に結合された」または「特異的結合」または「特異的に標的とする」とは、本明細書で使用される場合、バックグラウンド結合より大きな結合親和性での、抗BCMA抗体またはその抗原結合断片（またはそれを含むCAR）のBCMAへの結合を説明する。結合ドメイン（または結合ドメインを含むCARもしくは結合ドメインを含む融合タンパク質）は、例えば、約 10^5 M^{-1} 以上の親和性または K_a （すなわち、 $1/\text{M}$ の単位を有する特定の結合相互作用の平衡会合定数）でBCMAに結合する、またはそれと会合する場合に、BCMAに「特異的に結合する」。ある特定の実施形態では、結合ドメイン（またはその融合タンパク質）は、約 10^6 M^{-1} 、 10^7 M^{-1} 、 10^8 M^{-1} 、 10^9 M^{-1} 、 10^{10} M^{-1} 、 10^{11} M^{-1} 、 10^{12} M^{-1} 、または 10^{13} M^{-1} 以上の K_a で標的に結合する。「高親和性」結合ドメイン（またはその一本鎖融合タンパク質）とは、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、またはそれより大きい K_a を有するそれらの結合ドメインを指す。

【0283】

あるいは、親和性は、Mの単位（例えば、 $10^{-5} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ またはそれより小さい）を有する特定の結合相互作用の平衡解離定数（ K_d ）として定義され得る。本開示に従う結合ドメインポリペプチドおよびCARタンパク質の親和性は、従来技術を使用して、例えば、競合的ELISA法（酵素結合免疫吸着検定法）によって、または結合性会合によって、または標識されたリガンドを使用するディスプレイメントアッセイによって、または表面プラズモン共鳴デバイス、例えば、Biacore, Inc., ニュージャージー州、ピスカタウェイから入手可能であるBiacore T100、もしくは光学的バイオセンサー技術、例えば、それぞれCorningおよびPerkin Elmerから入手可能であるEPICシステムもしくはEnSpireを使用して容易に決定できる（例えば、Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660; および米国特許第5,283,173号; 同5,468,614号、または等価物も参照）。

【0284】

一実施形態では、特異的結合の親和性は、バックグラウンド結合よりも約2倍大きい、バックグラウンド結合よりも約5倍大きい、バックグラウンド結合よりも約10倍大きい、バックグラウンド結合よりも約20倍大きい、バックグラウンド結合よりも約50倍大きい、バックグラウンド結合よりも約100倍大きい、またはバックグラウンド結合よりも約1000倍大きい、またはそれよりも大きい。

【0285】

特定の実施形態では、CARの細胞外結合ドメインは、抗体またはその抗原結合断片を含む。「抗体」とは、抗原のエピトープ、例えば、抗原決定基を含有するペプチド、脂質、多糖または核酸、例えば、免疫細胞によって認識されるものを特異的に認識し、結合する、少なくとも軽鎖または重鎖免疫グロブリン可変領域を含むポリペプチドである結合剤を指す。

【0286】

「抗原 (Ag)」とは、動物において抗体の生成またはT細胞応答を刺激できる化合物、組成物、または物質を指し、動物中に注射または吸収される組成物（例えば、がん特異的タンパク質を含むもの）を含む。抗原は、異種抗原、例えば、開示される抗原によって誘導されるものを含む、特定の体液性または細胞性免疫の生成物と反応する。特定の実施形態では、標的抗原は、BCMAポリペプチドのエピトープである。

【0287】

「エピトープ」または「抗原決定基」とは、結合剤が結合する抗原の領域を指す。エピトープは、連続アミノ酸またはタンパク質の三次フォールディングによって並置される非連続アミノ酸の両方から形成され得る。連続アミノ酸から形成されたエピトープは、変性溶媒に対する曝露の際に通常保持されるが、三次フォールディングによって形成されたエピトープは、変性溶媒を用いる処理の際に通常失われる。エピトープは、独特の空間コンホメーションに少なくとも3個、より普通には、少なくとも5個、約9個、または約8～10個のアミノ酸を通常含む。

【0288】

抗体は、その抗原結合断片、例えば、ラクダIg、Ig NAR、Fab断片、Fab'断片、F(ab)₂'断片、F(ab)₃'断片、Fv、一本鎖Fvタンパク質（「scFv」）、ビス-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質（「dsFv」）および単ドメイン抗体（sdAb、ナノボディ）および抗原結合を担う全長抗体の部分を含む。この用語はまた、遺伝子操作された形態、例えば、キメラ抗体（例えば、ヒト化マウス抗体）、ヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二重特異性抗体）およびその抗原結合断片も含む。Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Immunology, 3rd Ed., W. H. Freeman & Co., New York, 1997も参照。

【0289】

当業者には理解されるように、また本明細書において別の場所に記載されるように、完全抗体は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む。各重鎖は、可変領域ならびに第1の、第2の、および第3の定常領域からなり、一方で、各軽鎖は、可変領域および定常領域からなる。哺乳動物重鎖は、 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ として分類される。哺乳動物軽鎖は、 λ または κ として分類される。 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ 重鎖を含む免疫グロブリンは、免疫グロブリン(Ig) A、Ig D、Ig E、Ig G、およびIg Mとして分類される。完全抗体は、「Y」形状を形成する。Yのステムは、一緒に結合された2つの重鎖の第2および第3の定常領域からなり(Ig EおよびIg Mについては、第4の定常領域)、ジスルフィド結合(鎖間)はヒンジにおいて形成される。重鎖 γ 、 α および δ は、3つのタンデム(一列の) Igドメインから構成される定常領域および加えられる可動性のためのヒンジ領域を有し；重鎖 μ および ϵ は、4つの免疫グロブリンドメインから構成される定常領域を有する。第2および第3の定常領域は、それぞれ「CH2ドメイン」および「CH3ドメイン」と呼ばれる。Yの各アームは、単一の軽鎖の可変および定常領域に結合された単一の重鎖の可変領域および第1の定常領域を含む。軽鎖および重鎖の可変領域は、抗原結合を担う。

【0290】

軽鎖および重鎖可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」とも呼ばれる3つの超可変領域によって中断された「フレームワーク」領域を含有する。CDRは、従来法によって、例えば、Kabat et al (Wu, TT and Kabat, E. A., J Exp Med. 132(2):211-50, (1970); Borden, P. and Kabat E. A., PNAS, 84: 2440-2443 (1987)に従う配列によって；(参照により本明細書に組み込まれる、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991も参照)、またはChothia et al (Chothia, C. and Lesk, A.M., J Mol. Biol., 196(4): 901-917 (1987)、Chothia, C. et al, Nature, 342: 877 - 883 (1989))に従う構造によって定義または同定できる。

【0291】

異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、種、例えば、ヒト内で比較的保存されている。成分である軽鎖および重鎖の組み合わせられたフレームワーク領域である抗体のフレームワーク領域は、三次元空間においてCDRを位置付け、整列させるように働く。CDRは、主に抗原のエピトープへの結合を担う。各鎖のCDRは、通常、N末端か

10

20

30

40

50

ら出発して連続して番号付けられ、CDR1、CDR2、およびCDR3と呼ばれ、また、通常、特定のCDRが位置付けられている鎖によって同定される。したがって、抗体の重鎖の可変ドメイン中に位置するCDRは、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3と呼ばれるが、抗体の軽鎖の可変ドメイン中に位置するCDRは、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3と呼ばれる。異なる特異性（すなわち、異なる抗原に対する異なる組み合わせられた部位）を有する抗体は、異なるCDRを有する。抗体ごとに異なるのはCDRであるが、CDR内の制限された数のアミノ酸位置が、抗原結合に直接関与する。CDR内のこれらの位置は、特異性決定残基（SDR）と呼ばれる。本明細書で企図されるヒト化BCMA CARを構築するのに適している軽鎖CDRの実例として、それだけには限らないが、配列番号1～3に示されるCDR配列が挙げられる。本明細書で企図されるヒト化BCMA CARを構築するのに適している重鎖CDRの実例として、それだけには限らないが、配列番号4～6に示されるCDR配列が挙げられる。

10

【0292】

「V_H」または「V_H」への言及は、抗体、Fv、scFv、dsFv、Fab、または本明細書に開示されるような他の抗体断片のものを含む、免疫グロブリン重鎖の可変領域を指す。「V_L」または「V_L」への言及は、抗体、Fv、scFv、dsFv、Fab、または本明細書に開示されるような他の抗体断片のものを含む、免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

【0293】

「モノクローナル抗体」は、Bリンパ球の単クローンによって、または単一抗体の軽鎖および重鎖遺伝子がトランスフェクトされている細胞によって生成された抗体である。モノクローナル抗体は、当業者に公知の方法によって、例えば、骨髓腫細胞の免疫脾臓細胞との融合からハイブリッド抗体形成細胞を作製することによって生成される。モノクローナル抗体は、ヒト化モノクローナル抗体を含む。

20

【0294】

「キメラ抗体」は、ある種、例えば、ヒトに由来するフレームワーク残基と、別の種、例えば、マウスに由来するCDR（一般に、抗原結合を与える）とを有する。特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、キメラ抗体またはその抗原結合断片である抗原特異的結合ドメインを含む。

【0295】

「ヒト化」抗体は、ヒトフレームワーク領域と、非ヒト（例えば、マウス、ラットまたは合成）免疫グロブリン由来の1つまたはそれ以上のCDRとを含む免疫グロブリンである。CDRを提供する非ヒト免疫グロブリンは、「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供するヒト免疫グロブリンは、「アクセプター」と呼ばれる。

30

【0296】

特定の実施形態では、マウス抗BCMA（例えば、ヒトBCMA）抗体またはその抗原結合断片は、それだけには限らないが、ラクダIg（ラクダ類抗体（VHH））、IgNAR、Fab断片、Fab'断片、F(ab)₂'断片、F(ab)₃'断片、Fv、一本鎖Fv抗体（「scFv」）、ビスscFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質（「dsFv」）および単ドメイン抗体（sdAb、ナノボディ）を含む。

40

【0297】

「ラクダIg」または「ラクダ類VHH」とは、本明細書で使用される場合、重鎖抗体の最も小さい公知の抗原結合単位を指す（Koch-Nolte, et al, FASEB J., 21: 3490-3498 (2007)）。「重鎖抗体」または「ラクダ類抗体」とは、2つのVHドメインを含有し、軽鎖を含有しない抗体を指す（Riechmann L. et al, J. Immunol. Methods 231:25-38 (1999); WO 94/04678; WO 94/25591; 米国特許第6,005,079号）。

【0298】

「免疫グロブリン新規抗原受容体」の「IgNAR」とは、1つの可変新規抗原受容体

50

(V N A R) ドメインおよび5つの定常新規抗原受容体 (C N A R) ドメインのホモ二量体からなるサメ免疫レパートリー由来の抗体のクラスを指す。I g N A R は、最も小さい公知の免疫グロブリンベースのタンパク質足場を表し、高度に安定であり、効率的な結合特徴を有する。固有の安定性は、(i) マウス抗体において見い出される従来の抗体 V H および V L ドメインと比較して相当な数の荷電親水性表面露出残基を表す、基礎となる I g 足場；ならびに (i i) ループ間ジスルフィド橋およびループ内水素結合のパターンを含む相補性決定領域 (C D R) ループにおける安定化構造特徴の両方に起因し得る。

【0299】

抗体のパパイン消化は、各々、単一の抗原結合部位を有する「F a b」断片と呼ばれる2つの同一の抗原結合性断片と、その名称が容易に結晶化するその能力を反映する、残りの「F c」断片をもたらす。ペプシン処理により、2つの抗原結合部位を有し、依然として抗原を架橋可能である F (a b') 2断片が生じる。

【0300】

「F v」は、完全抗原結合部位を含有する最小抗体断片である。一実施形態では、二本鎖 F v 種は、密接な、非共有結合性会合した1つの重鎖可変ドメインと1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。単鎖 F v (s c F v) 種では、1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインは、軽鎖および重鎖が、二本鎖 F v 種におけるものと類似した「二量体」構造で会合できるように可動性ペプチドリンカーによって共有結合性に連結され得る。各可変ドメインの3つの超可変領域 (H V R) が相互作用して、V H-V L 二量体の表面で抗原結合部位を定義するのは、この立体配置においてである。まとめると、6つの H V R が、抗体に抗原結合特異性を与える。しかし、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的な3つのみの H V R を含む F v の半分）でさえも、全結合部位よりも低い親和性であるが、抗原を認識し、結合する能力を有する。

【0301】

F a b 断片は、重鎖および軽鎖可変ドメインを含有し、また、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン (C H 1) も含有する。F a b' 断片は、抗体ヒンジ領域からの1つまたはそれ以上のシステインを含む、重鎖 C H 1 ドメインのカルボキシ末端での2、3の残基の追加によって F a b 断片とは異なっている。F a b'-S H は、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を有する F a b' の本明細書における名称である。F (a b') 2抗体断片は元々、それらの間にヒンジシステインを有する F a b' 断片の対として生成された。抗体断片の他の化学カップリングも公知である。

【0302】

用語「ダイアボディ」とは、断片が、同一ポリペプチド鎖中に軽鎖可変ドメイン (V L) に接続された重鎖可変ドメイン (V H) (V H-V L) を含む、2つの抗原結合部位を有する抗体断片を指す。短すぎて同一鎖上の2つのドメイン間の対形成を可能にできないリンカーを使用することによって、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインとの対形成を強いられ、2つの抗原結合部位を作出する。ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る。ダイアボディは、例えば、E P 4 0 4, 0 9 7; W O 1 9 9 3 / 0 1 1 6 1; H u d s o n et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); および H o l l i n g e r et al., P N A S U S A 9 0: 6 4 4 4-6 4 4 8 (1993) により十分に記載されている。トリアボディおよびテトラボディも H u d s o n et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。

【0303】

「単ドメイン抗体」または「s d A b」または「ナノボディ」とは、抗体重鎖の可変領域 (V H ドメイン) または抗体軽鎖の可変領域 (V L ドメイン) からなる抗体断片を指す (H o l t, L., et al, 2003, Trends in Biotechnology, 21(11): 484-490)。

【0304】

「単鎖 F v」または「s c F v」抗体断片は、抗体の V H および V L ドメインを含み、これらのドメインは、単一ポリペプチド鎖中に、いずれかの配向（例えば、V L-V H または V H-V L）で存在する。一般に、s c F v ポリペプチドは、V H および V L ドメインの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これによって、s c F v が抗原結合のため

の所望の構造を形成することが可能となる。s c F vの概要については、例えば、Pluckhuhn, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315を参照。

【0305】

ある特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、マウスs c F vである抗原特異的結合ドメインを含む。一本鎖抗体は、所望の標的に特異的なハイブリドーマのV領域遺伝子からクローニングされ得る。このようなハイブリッドベクターの生成は、日常的になっている。可変領域重鎖(VH)および可変領域軽鎖(VL)をクローニングするために使用できる技術は、例えば、Orlandi et al., PNAS, 1989; 86: 3833-3837に記載されている。

【0306】

特定の実施形態では、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウスs c F vである抗原特異的結合ドメイン。本明細書で企図されるBCMA CARを構築するのに適している重鎖可変鎖の実例として、それだけには限らないが、配列番号8に示されるアミノ酸配列が挙げられる。本明細書で企図されるBCMA CARを構築するのに適している軽鎖可変鎖の実例として、それだけには限らないが、配列番号7に示されるアミノ酸配列が挙げられる。

【0307】

本明細書で提供されるBCMA特異的結合ドメインはまた、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのCDRを含む。このようなCDRは、軽鎖のCDRL1、CDRL2およびCDRL3および重鎖のCDRH1、CDRH2およびCDRH3から選択される非ヒトCDRまたは変更された非ヒトCDRであり得る。ある特定の実施形態では、BCMA特異的結合ドメインは、(a) 軽鎖CDRL1、軽鎖CDRL2、および軽鎖CDRL3を含む軽鎖可変領域、ならびに(b) 重鎖CDRH1、重鎖CDRH2、および重鎖CDRH3を含む重鎖可変領域を含む。

【0308】

6. 4. 2. リンカー

ある特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、例えば、分子の適切なスペーシングおよびコンホメーションのために付加される、種々のドメインの間のリンカー残基を含み得る。特定の実施形態では、リンカーは、可変領域連結配列である。「可変領域連結配列」は、得られるポリペプチドが、同一の軽鎖および重鎖可変領域を含む抗体と同一の標的分子に対する特異的結合親和性を保持するように、VHとVLドメインを接続し、2つのサブ結合ドメインの相互作用に適合したスペーサー機能を提供するアミノ酸配列である。本明細書で企図されるCARは、1つ、2つ、3つ、4つ、または5つのリンカーを含み得る。特定の実施形態では、リンカーの長さは、約1~約25個のアミノ酸、約5~約20個のアミノ酸、または約10~約20個のアミノ酸、または任意の介在する長さのアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25個またはそれより多いアミノ酸長である。

【0309】

リンカーの実例として、グリシンポリマー(G)_n; グリシン-セリンポリマー(G₁~5S₁~5)_n(式中、nは、少なくとも1、2、3、4または5の整数である); グリシン-アラニンポリマー; アラニン-セリンポリマー; および当技術分野で公知の他の可動性リンカーが挙げられる。グリシンおよびグリシン-セリンポリマーは、相対的に不定形であり、したがって、本明細書に記載されるCARなどの融合タンパク質のドメイン間の中立的テザーとして働くことができる可能性がある。グリシンは、アラニンさえよりも相当に多くのファイブサイ空間にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりもはるかに制限されない(Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)を参照)。当業者ならば、CARの設計は、特定の実施形態では、すべてまたは部分的に可動性のリンカーを含む場合があり、その結果、リンカーは、可動性リンカーならびに所

10

20

30

40

50

望のCAR構造にあまり可動性ではない構造を与える1つまたはそれ以上の部分を含む場合があることを認識するであろう。

【0310】

他の例示的リンカーとして、それだけには限らないが、以下のアミノ酸配列が挙げられる：GGG；DGGGS（配列番号12）；TGEKP（配列番号13）（例えば、Liu et al., PNAS 5525-5530 (1997)を参照）；GGRR（配列番号14）（Pomerantz et al. 1995、前掲）；(GGGGS)_n（式中、n=1、2、3、4または5、GGGGSは、配列番号15として同定される（Kim et al., PNAS 93, 1156-1160 (1996.)）；EGKSSGSGSESKVD（配列番号16）（Chaudhary et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:1066-1070）；KESGSVSSEQLAQFRSLD（配列番号17）（Bird et al., 1988, Science 242:423-426）, GGRRGGGGS（配列番号18）；LRQRDGERP（配列番号19）；LRQKDGGSERP（配列番号20）；LRQKd(GGGGS)₂ERP（配列番号21）。あるいは、可動性リンカーは、DNA結合部位およびペプチド自体の両方をモデリング可能なコンピュータプログラムを使用して（Desjarlais & Berg, PNAS 90:2256-2260 (1993), PNAS 91:11099-11103 (1994)、またはファージディスプレイ法によって合理的に設計できる。一実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列を含む：GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号22）（Cooper et al., Blood, 101(4): 1637-1644 (2003)）。

10

20

【0311】

6.4.3. スペーサードメイン

特定の実施形態では、CARの結合ドメインに、1つまたはそれ以上の「スペーサードメイン」が続き、これは、抗原結合ドメインをエフェクター細胞表面から離して、適切な細胞／細胞接触、抗原結合および活性化を可能にする領域を指す。（Patel et al., Gene Therapy, 1999; 6: 412-419）。スペーサードメインは、天然、合成、半合成、または組換え供給源のいずれかに由来し得る。ある特定の実施形態では、スペーサードメインは、それだけには限らないが、1つまたはそれ以上の重鎖定常領域、例えば、CH2およびCH3を含む免疫グロブリンの部分である。スペーサードメインは、天然に存在する免疫グロブリンヒンジ領域または変更された免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含み得る。

30

【0312】

一実施形態では、スペーサードメインは、IgG1またはIgG4のCH2およびCH3ドメインを含む。

【0313】

6.4.4. ヒンジドメイン

CARの結合ドメインに、一般に、1つまたはそれ以上の「ヒンジドメイン」が続き、これは、適切な細胞／細胞接触、抗原結合および活性化を可能にするために、抗原結合ドメインをエフェクター細胞表面から離して位置付けることにおいて役割を果たす。CARは、一般に、結合ドメインと膜貫通ドメイン（TM）の間に1つまたはそれ以上のヒンジドメインを含む。ヒンジドメインは、天然、合成、半合成、または組換え供給源のいずれかに由来し得る。ヒンジドメインは、天然に存在する免疫グロブリンヒンジ領域または変更された免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含み得る。

40

【0314】

「変更されたヒンジ領域」とは、（a）最大30%のアミノ酸変化（例えば、最大25%、20%、15%、10%、または5%のアミノ酸置換または欠失）を有する天然に存在するヒンジ領域、（b）最大30%のアミノ酸変化（例えば、最大25%、20%、15%、10%、または5%のアミノ酸置換または欠失）を有する、少なくとも10個のアミノ酸（例えば、少なくとも12、13、14または15個のアミノ酸）長である天然に存在するヒンジ領域の一部分、または（c）コアヒンジ領域を含む天然に存在するヒンジ領域の一部分（4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、もしくは15

50

個、または少なくとも4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、もしくは15個のアミノ酸長であり得る)を指す。ある特定の実施形態では、天然に存在する免疫グロブリンヒンジ領域中の1つまたはそれ以上のシステイン残基は、1つまたはそれ以上の他のアミノ酸残基(例えば、1つまたはそれ以上のセリン残基)によって置換されてもよい。変更された免疫グロブリンヒンジ領域は、あるいは、またはさらに、別のアミノ酸残基(例えば、セリン残基)によって置換された野生型免疫グロブリンヒンジ領域のプロリン残基を有し得る。

【0315】

本明細書で記載されるCARにおいて使用するのに適した他の例示的ヒンジドメインとして、1型膜タンパク質、例えば、CD8 α 、CD4、CD28およびCD7の細胞外領域に由来するヒンジ領域があり、これは、これらの分子からの野生型ヒンジ領域である場合も、変更される場合もある。別の実施形態では、ヒンジドメインは、CD8 α ヒンジ領域を含む。

【0316】

6.4.5. 膜貫通ドメイン

膜貫通(TM)ドメインは、細胞外結合部分と細胞内シグナル伝達ドメインを融合するCARの部分であり、CARを免疫エフェクター細胞の細胞膜に繫留する。TMドメインは、天然、合成、半合成、または組換え供給源のいずれかに由来し得る。TMドメインは、T細胞受容体、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD-1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖に由来し得る(すなわち、少なくとも、その膜貫通領域を含み得る)。特定の実施形態では、TMドメインは、合成であり、疎水性残基、例えば、ロイシンおよびバリンを優勢に含む。

【0317】

一実施形態では、本明細書で企図されるCARは、CD8 α に由来するTMドメインを含む。別の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、CD8 α に由来するTMドメインおよびCARのTMドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結する、好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個の間のアミノ酸長の、短いオリゴまたはポリペプチドリンカーを含む。グリシン-セリンベースのリンカーは、特に適したリンカーを提供する。

【0318】

6.4.6. 細胞内シグナル伝達ドメイン

特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、細胞内シグナル伝達ドメインを含む。「細胞内シグナル伝達ドメイン」とは、ヒトBCMAポリペプチドへ結合する有効なBCMA CARのメッセージを免疫エフェクター細胞の内部へ伝達して、細胞外CARドメインへの抗原結合を用いて誘発される、CARが結合している標的細胞への細胞傷害性因子の放出、または他の細胞性応答を含む、エフェクター細胞機能、例えば、活性化、サイトカイン生成、増殖および細胞傷害活性を誘発することに関与するCARの一部を指す。

【0319】

用語「エフェクター機能」とは、免疫エフェクター細胞の特殊化された機能を指す。T細胞のエフェクター機能は、例えば、サイトカインの分泌を含む、細胞溶解活性またはヘルパー活性であり得る。したがって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」とは、エフェクター機能シグナルを伝達し、細胞が特殊化された機能を発揮するように指示するタンパク質の部分の部分を指す。普通、全細胞内シグナル伝達ドメインを使用できるが、多くの場合、必ずしも全ドメインを使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの末端切断型部分が使用される範囲において、このような末端切断型部分は、エフェクター機能シグナルを伝達する限り全ドメインの代わりに使用され得る。用語細胞内シグナル伝達ドメインは、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の

10

20

30

40

50

末端切断型部分を含むものとする。

【0320】

T C R単独によって生じたシグナルは、T細胞の完全活性化には不十分であることおよび続発的または共刺激シグナルも必要であることは公知である。したがって、T細胞活性化は、2つの別個のクラスの細胞内シグナル伝達ドメイン：T C R（例えば、T C R／C D 3複合体）によって抗原依存性一次活性化を開始する一次シグナル伝達ドメインおよび抗原非依存的に作用して、続発的または共刺激シグナルを提供する共刺激シグナル伝達ドメインによって媒介されるといわれることがある。ある特定の実施形態では、本明細書で企図されるC A Rは、1つまたはそれ以上の「共刺激シグナル伝達ドメイン」および「一次シグナル伝達ドメイン」を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

10

【0321】

一次シグナル伝達ドメインは、刺激的方法、または阻害的方法のいずれかでT C R複合体の一次活性化を調節する。刺激的方法で作用する一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはI T A Mとして知られるシグナル伝達モチーフを含有し得る。

【0322】

本明細書で提示される主題において特に使用される一次シグナル伝達ドメインを含有するI T A Mの実例として、T C R ζ 、F c R γ 、F c R β 、C D 3 γ 、C D 3 δ 、C D 3 ϵ 、C D 3 ζ 、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、およびC D 6 6 dに由来するものが挙げられる。特定の実施形態では、C A Rは、C D 3 ζ 一次シグナル伝達ドメインおよび1つまたはそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。細胞内一次シグナル伝達および共刺激シグナル伝達ドメインは、任意の順序でタンデムで膜貫通ドメインのカルボキシル末端に連結され得る。

20

【0323】

本明細書で企図されるC A Rは、C A R受容体を発現するT細胞の有効性および拡大増殖を増強する、1つまたはそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。本明細書で 사용되는場合、用語「共刺激シグナル伝達ドメイン」または「共刺激ドメイン」とは、共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインを指す。共刺激分子は、抗原への結合の際に効率的な活性化およびTリンパ球の機能にとって必要な第2のシグナルを提供する、抗原受容体またはF c受容体以外の細胞表面分子である。このような共刺激分子の実例として、C A R D 1 1、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4（I C A M）、C D 8 3、C D 1 3 4（O X 4 0）、C D 1 3 7（4-1 B B）、C D 1 5 0（S L A M F 1）、C D 1 5 2（C T L A 4）、C D 2 2 3（L A G 3）、C D 2 7 0（H V E M）、C D 2 7 3（P D-L 2）、C D 2 7 4（P D-L 1）、C D 2 7 8（I C O S）、D A P 1 0、L A T、N K D 2 C S L P 7 6、T R I M、およびZ A P 7 0が挙げられる。一実施形態では、C A Rは、C D 2 8、C D 1 3 7、およびC D 1 3 4からなる群から選択される1つまたはそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメイン、およびC D 3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

30

【0324】

別の実施形態では、C A Rは、C D 2 8およびC D 1 3 7共刺激シグナル伝達ドメインならびにC D 3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

40

【0325】

さらに別の実施形態では、C A Rは、C D 2 8およびC D 1 3 4共刺激シグナル伝達ドメインならびにC D 3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0326】

一実施形態では、C A Rは、C D 1 3 7およびC D 1 3 4共刺激シグナル伝達ドメインならびにC D 3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0327】

特定の実施形態では、本明細書で企図されるC A Rは、B細胞上に発現されたB C M Aポリペプチド、例えば、ヒトB細胞上に発現されたヒトB C M Aに特異的に結合するヒト

50

抗BCMA抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0328】

特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、B細胞上に発現されたBCMAポリペプチド、例えば、ヒトB細胞上に発現されたヒトBCMAに特異的に結合するマウス抗BCMA抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0329】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；T細胞受容体、CD3ε、CD3ζ、CD4、CD5、CD8α、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからの一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0330】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；T細胞受容体、CD3ε、CD3ζ、CD4、CD5、CD8α、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからなる群から選択されるポリペプチドからの1つまたはそれ以上の一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0331】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv、IgG1ヒンジ／CH2／CH3、IgG4ヒンジ／CH2／CH3、およびCD8αヒンジからなる群から選択されるヒンジドメイン；T細胞受容体、CD3ε、CD3ζ、CD4、CD5、CD8α、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞

内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからの一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0332】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；IgG1ヒンジ／CH2／CH3、IgG4ヒンジ／CH2／CH3、およびCD8 α ヒンジからなる群から選択されるヒンジドメイン；T細胞受容体、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからなる群から選択されるポリペプチドからの1つまたはそれ以上の一次シグナル伝達ドメインを含む。

10

20

【0333】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；IgG1ヒンジ／CH2／CH3、IgG4ヒンジ／CH2／CH3、およびCD8 α ヒンジからなる群から選択されるヒンジドメイン；T細胞受容体、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；CARのTMドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結する、好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個の間のアミノ酸長の、短いオリゴまたはポリペプチドリinker；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからの一次シグナル伝達ドメインを含む。

30

40

【0334】

一実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；IgG1ヒンジ／CH2／CH3、IgG4ヒンジ／CH2／CH3、およびCD8 α ヒンジからなる群から選択されるヒンジドメイン；T細胞受容体、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖からなる群から選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；CARのTMドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結する、好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10個の間のアミノ酸長の、短いオリゴま

50

たはポリペプチドリinker；ならびにCARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54（ICAM）、CD83、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD152（CTLA4）、CD223（LAG3）、CD270（HVEM）、CD273（PD-L2）、CD274（PD-L1）、CD278（ICOS）、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70からなる群から選択される共刺激分子からの1つまたはそれ以上の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにTCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからなる群から選択されるポリペプチドからの1つまたはそれ以上の一次シグナル伝達ドメインを含む。

10

【0335】

特定の実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；IgG1ヒンジ／CH2／CH3ポリペプチドおよびCD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン；約3～約10個のアミノ酸のポリペプチドリinkerを含むCD8 α 膜貫通ドメイン；CD137細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびにCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0336】

特定の実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；CD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン；約3～約10個のアミノ酸のポリペプチドリinkerを含むCD8 α 膜貫通ドメイン；CD134細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；およびCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

20

【0337】

特定の実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；CD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン；約3～約10個のアミノ酸のポリペプチドリinkerを含むCD8 α 膜貫通ドメイン；CD28細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；およびCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0338】

特定の実施形態では、CARは、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA scFv；CD8 α ポリペプチドを含むヒンジドメイン；CD8 α 膜貫通ドメイン；CD137（4-1BB）細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；およびCD3 ζ 一次シグナル伝達ドメインを含む。

30

【0339】

さらに、本明細書で企図されるCARの設計によって、非改変T細胞または他のCARを発現するように改変されたT細胞と比較して、CARを発現するT細胞における改善された拡大増殖、長期持続、および許容できる細胞傷害性特性が可能となる。

【0340】

6.5. ポリペプチド

本開示は、幾分かは、CARポリペプチドおよびその断片、細胞およびそれを含む組成物、ならびにポリペプチドを発現するベクターを企図する。特定の実施形態では、配列番号9に示されるような1つまたはそれ以上のCARを含むポリペプチドが提供される。

40

【0341】

「ポリペプチド」、「ポリペプチド断片」、「ペプチド」および「タンパク質」は、反して指定されない限り、従来の意味に従って、すなわち、アミノ酸の配列として同義的に使用される。ポリペプチドは、特定の長さに制限されない、例えば、それらは、全長タンパク質配列または全長タンパク質の断片を含む場合があり、ポリペプチドの翻訳後改変、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化など、ならびに天然に存在する、および天然に存在しない、両方の当技術分野で公知の他の改変を含む場合がある。種々の実施形態では、本明細書で企図されるCARポリペプチドは、タンパク質のN末端にシグナル（ま

50

たはリーダー)配列を含み、これは、タンパク質の移動を同時翻訳的に、または翻訳後に指示する。本明細書で開示されるC A Rにおいて有用な適したシグナル配列の実例として、それだけには限らないが、I g G 1重鎖シグナル配列およびC D 8 αシグナル配列が挙げられる。本明細書で提供されるのは、成熟タンパク質であるタンパク質であり、すなわち、それらはシグナルペプチドを含有しない。例えば、C A Rは成熟C A Rであってもよい。ポリペプチドは、様々な周知の組換えおよび／または合成技術のいずれかを使用して調製できる。本明細書で企図されるポリペプチドは、本明細書で開示されるようなC A Rの1個または複数のアミノ酸からの欠失、それへの付加および／またはその置換を有する本開示のC A Rまたは配列を具体的に包含する。

【0342】

「単離ペプチド」または「単離ポリペプチド」などは、本明細書で使用される場合、細胞環境からの、および細胞の他の構成成分との関連からのペプチドまたはポリペプチド分子のインビトロ単離および／または精製を指す、すなわち、インビボ物質と著しい関連はない。同様に、「単離細胞」とは、インビボ組織または臓器から得られており、細胞外基質を実質的に含まない細胞を指す。

【0343】

ポリペプチドは、「ポリペプチドバリエーション」を含む。ポリペプチドバリエーションは、1つまたはそれ以上の置換、欠失、付加および／または挿入で天然に存在するポリペプチドとは異なり得る。このようなバリエーションは、天然に存在する場合も、例えば、上記のポリペプチド配列のうち1つまたはそれ以上を改変することによって合成によって生成される場合もある。例えば、特定の実施形態では、C A Rポリペプチドの結合ドメイン、ヒンジ、T Mドメイン、共刺激シグナル伝達ドメインまたは一次シグナル伝達ドメインへ1つまたはそれ以上の置換、欠失、付加および／または挿入を導入することによってC A Rの結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。ある特定の実施形態では、このようなポリペプチドは、それに対して少なくとも約65%、70%、75%、85%、90%、95%、98%、または99%のアミノ酸同一性を有するポリペプチドを含む。

【0344】

ポリペプチドは、「ポリペプチド断片」を含む。ポリペプチド断片とは、天然に存在する、または組換えによって生成されたポリペプチドのアミノ末端欠失、カルボキシル末端欠失および／または内部欠失もしくは置換を有する単量体または多量体であり得るポリペプチドを指す。ある特定の実施形態では、ポリペプチド断片は、少なくとも5個〜約500個のアミノ酸長のアミノ酸鎖を含み得る。ある特定の実施形態では、断片は、少なくとも5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、55個、60個、65個、70個、75個、80個、85個、90個、95個、100個、110個、150個、200個、250個、300個、350個、400個、または450個のアミノ酸長であるということが認められよう。特に有用なポリペプチド断片は、抗体の抗原結合ドメインまたは断片を含む機能的ドメインを含む。マウス抗B C M A (例えば、ヒトB C M A)抗体の場合には、有用な断片として、それだけには限らないが、重鎖または軽鎖のC D R領域、C D R 3領域；重鎖または軽鎖の可変領域；2つのC D Rを含む抗体鎖または可変領域の一部などが挙げられる。

【0345】

ポリペプチドはまた、リンカーに、またはポリペプチドの合成、精製もしくは同定を容易にするために他の配列に(例えば、ポリH i s)、またはポリペプチドの固体支持体への結合を増強するために、インフレイムで融合またはコンジュゲートされ得る。

【0346】

上記のように、本開示のポリペプチドは、アミノ酸置換、欠失、末端切断、および挿入を含む種々の方法で変更され得る。このような操作の方法は、一般に当技術分野で公知である。例えば、参照ポリペプチドのアミノ酸配列バリエーションは、DNAにおける突然変異によって調製できる。変異原性およびヌクレオチド配列変更の方法は、当技術分野で周知である。例えば、Kunkel (1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 82: 488-492)、Kunkel et al., (1987, Methods in Enzymol, 154: 367-382)、米国特許第4,873,192号、Watson, J. D. et al., (Molecular Biology of the Gene, Fourth Edition, Benjamin/Cummings, Menlo Park, Calif., 1987)およびそれらに引用された参考文献を参照。目的のタンパク質の生物活性に影響を及ぼさない適切なアミノ酸置換についてのガイダンスは、Dayhoff et al., (1978) Atlas of Protein Sequence and Structure (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.)のモデルにおいて見い出すことができる。

10

【0347】

ある特定の実施形態では、バリエーションは、保存的置換を含有する。「保存的置換」は、アミノ酸が、ペプチド化学の当業者が、ポリペプチドの二次構造およびヒドロパシー性質が実質的に変化されないと予測するような同様の特性を有する別のアミノ酸と置換されているものである。改変は、本開示のポリヌクレオチドおよびポリペプチドの構造において行うことができ、望ましい特徴を有するバリエーションまたは誘導体ポリペプチドをコードする機能的分子が依然として得られる。等価物、さらには、改善されたバリエーションポリペプチドを作出するためにポリペプチドのアミノ酸配列を変更することが望ましい場合には、当業者は、例えば、表2に従うDNA配列をコードするコドンのうち1つまたはそれ以上を変えることができる。

20

【0348】

表2－アミノ酸コドン

30

40

50

【表 2】

アミノ酸	一文字 コード	三文字 コード	コドン					
アラニン	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCU		
システイン	C	Cys	UGC	UGU				
アスパラギン酸	D	Asp	GAC	GAU				
グルタミン酸	E	Glu	GAA	GAG				
フェニルアラニン	F	Phe	UUC	UUU				
グリシン	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGU		
ヒスチジン	H	His	CAC	CAU				
イソロイシン	I	Ile	AUA	AUC	AUU			
リシン	K	Lys	AAA	AAG				
ロイシン	L	Leu	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
メチオニン	M	Met	AUG					
アスパラギン	N	Asn	AAC	AAU				
プロリン	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCU		
グルタミン	Q	Gln	CAA	CAG				
アルギニン	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
セリン	S	Ser	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
トレオニン	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACU		
バリン	V	Val	GUA	GUC	GUG	GUU		
トリプトファン	W	Trp	UGG					
チロシン	Y	Tyr	UAC	UAU				

10

20

【0349】

生物活性を消失させることなく、どのアミノ酸残基を置換、挿入、または欠失できるかを決定することにおけるガイダンスは、当技術分野で周知のコンピュータプログラム、例えば、DNASTAR（商標）ソフトウェアを使用して見い出すことができる。好ましくは、本明細書で開示されるタンパク質バリエーションにおけるアミノ酸変化は、保存的アミノ酸変化、すなわち、同様に荷電した、または非荷電のアミノ酸の置換である。保存的アミノ酸変化は、その側鎖において関連するアミノ酸のファミリーのものの置換を含む。天然に存在するアミノ酸は、一般に、4つのファミリーに分けられる：酸性（アスパラギン酸、グルタミン酸）、塩基性（リシン、アルギニン、ヒスチジン）、非極性（アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、および非荷電極性（グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン、チロシン）アミノ酸。フェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシンは、芳香族アミノ酸として一緒に分類されることがある。ペプチドまたはタンパク質では、アミノ酸の適した保存的置換は、当業者に公知であり、一般に、得られる分子の生物活性を変更することなく行うことができる。この技術分野の当業者ならば、一般に、ポリペプチドの非必須領域における単一のアミノ酸置換は、生物活性を実質的に変更しないということは認識している（例えば、Watson et al. Molecular Biology of the Gene, 4th Edition, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p.224を参照）。例となる保存的置換は、その開示内容が参照により本明細書に組み込まれる、米国仮特許出願第61／241, 647号に記載されている。

30

40

【0350】

このような変化を行うことにおいて、アミノ酸のヒドロパシー指数が考慮され得る。タ

50

ンパク質への相互作用の生物学的機能の付与におけるヒドロパシーアミノ酸指数の重要性は、当技術分野で一般に理解されている（参照により本明細書に組み込まれる、Kyte and Doolittle, 1982）。各アミノ酸は、その疎水性および荷電特徴に基づいてヒドロパシー指数の割り当てられている（Kyte and Doolittle, 1982）。これらの値は、以下である：イソロイシン（+4.5）；バリン（+4.2）；ロイシン（+3.8）；フェニルアラニン（+2.8）；システイン／システイン（+2.5）；メチオニン（+1.9）；アラニン（+1.8）；グリシン（-0.4）；トレオニン（-0.7）；セリン（-0.8）；トリプトファン（-0.9）；チロシン（-1.3）；プロリン（-1.6）；ヒスチジン（-3.2）；グルタミン酸（-3.5）；グルタミン（-3.5）；アスパラギン酸（-3.5）；アスパラギン（-3.5）；リシン（-3.9）；およびアルギニン（-4.5）。

10

【0351】

ある特定のアミノ酸は、同様のヒドロパシー指数またはスコアを有する他のアミノ酸によって置換されてもよく、同様の生物活性を有するタンパク質を依然としてもたらし、すなわち、生物学的機能的に同等のタンパク質が依然として得られることは、当技術分野で公知である。このような変化を行うことにおいて、ヒドロパシー指数が±2以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±1以内のものは特に好ましく、±0.5以内のものはさらにより特に好ましい。また、同様のアミノ酸の置換は、親水性に基づいて効果的に行うことができることも当技術分野では理解される。

【0352】

米国特許第4,554,101号に詳述されるように、以下の親水性値がアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン（+3.0）；リシン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0±1）；グルタミン酸（+3.0±1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；トレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5±1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；トリプトファン（-3.4）。アミノ酸は、同様の親水性値を有する別のものと置換されてもよく、生物学的に同等な、特に、免疫学的に同等なタンパク質が依然として得られることは理解される。このような変化では、親水性値が±2以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±1以内のものは特に好ましく、±0.5以内のものはさらにより特に好ましい。

20

30

【0353】

上記で概説されるように、アミノ酸置換は、アミノ酸側鎖置換基、例えば、その疎水性、親水性、電荷、サイズなどの相対的な類似性に基づく場合がある。

【0354】

ポリペプチドバリエーションは、グリコシル化された形態、他の分子との凝集コンジュゲート、および無関係の化学部分（例えば、ペグ化分子）との共有結合コンジュゲートをさらに含む。当技術分野で公知であるように、共有結合バリエーションは、アミノ酸鎖において、またはNもしくはC末端残基で見い出される基に官能基を連結することによって調製できる。バリエーションはまた、対立遺伝子バリエーション、種バリエーションおよびムテインも含む。タンパク質の機能活性に影響を及ぼさない領域の末端切断または欠失もまたバリエーションである。

40

【0355】

2つまたはそれより多いポリペプチドの発現が望まれる一実施形態では、本明細書において別の場所で論じられるように、それらをコードするポリヌクレオチド配列をIRES配列によって分けることができる。別の実施形態では、2つまたはそれより多いポリペプチドは、1つまたはそれ以上の自己切断性ポリペプチド配列を含む融合タンパク質として発現され得る。

【0356】

本明細書で開示されるポリペプチドは、融合ポリペプチドを含む。ある特定の実施形態

50

では、融合ポリペプチドおよび融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、例えば、C A Rが提供される。融合ポリペプチドおよび融合タンパク質とは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9または10またはそれより多いポリペプチドセグメントを有するポリペプチドを指す。融合ポリペプチドは、通常、C末端対N末端で連結されるが、C末端対C末端、N末端対N末端、またはN末端対C末端で連結される場合がある。融合タンパク質のポリペプチドは、任意の順序、または特定の順序であり得る。融合ポリペプチドまたは融合タンパク質はまた、融合ポリペプチドの所望の転写活性が保存されている限り、保存的に改変されたバリエーション、多型バリエーション、対立遺伝子、突然変異体、部分配列、および種間相同体も含み得る。融合ポリペプチドは、化学合成法によって、または2つの部分間の化学的連結によって生成される場合も、または一般に、他の標準技術を使用して調製される場合もある。本明細書において別の場所で論じられるように、融合ポリペプチドを含むライゲートされたDNA配列は、適した転写または翻訳制御エレメントに作動可能に連結される。

10

【0357】

一実施形態では、融合パートナーは、天然組換えタンパク質よりも高い収率でのタンパク質の発現において補助する配列（発現エンハンサー）を含む。他の融合パートナーは、タンパク質の溶解度を増大するように、またはタンパク質が所望の細胞内コンパートメントへ標的化されることを可能にするように、または細胞膜を通る融合タンパク質の輸送を促進するように選択され得る。

20

【0358】

融合ポリペプチドは、本明細書で記載されるポリペプチドドメイン各々の間にポリペプチド切断シグナルをさらに含み得る。さらに、ポリペプチド部位を、任意のリンカーペプチド配列中に置くことができる。例となるポリペプチド切断シグナルとして、ポリペプチド切断認識部位、例えば、プロテアーゼ切断部位、ヌクレアーゼ切断部位（例えば、希少制限酵素認識部位、自己切断性リボザイム認識部位）、および自己切断性ウイルス性オリゴペプチド(deFelipe and Ryan, 2004. Traffic, 5(8); 616-26を参照)。

【0359】

適したプロテアーゼ切断部位および自己切断性ペプチドは、当業者に公知である(例えば、Ryan et al., 1997. J. Gener. Virol. 78, 699-722; Scymczak et al. (2004) Nature Biotech. 5, 589-594を参照)。例となるプロテアーゼ切断部位として、それだけには限らないが、ポティウイルスN I aプロテアーゼ（例えば、タバコエッチウイルスプロテアーゼ）、ポティウイルスH Cプロテアーゼ、ポティウイルスP 1 (P 3 5)プロテアーゼ、ビオウイルス(b y o v i r u s) N I aプロテアーゼ、ビオウイルスRNA-2によってコードされたプロテアーゼ、アフトウイルスLプロテアーゼ、エンテロウイルス2 Aプロテアーゼ、ライノウイルス2 Aプロテアーゼ、ピコルナ3 Cプロテアーゼ、コモウイルス2 4 Kプロテアーゼ、ネボウイルス2 4 Kプロテアーゼ、R T S V (イネタングロ球状(r i c e t u n g r o s p h e r i c a l)ウイルス) 3 C様プロテアーゼ、P Y V F (パースニップ黄斑ウイルス) 3 C様プロテアーゼ、ヘパリン、トロニン、第X因子およびエンテロキナーゼの切断部位が挙げられる。その高切断ストリンジェンシーのために、T E V (タバコエッチウイルス)プロテアーゼ切断部位が好ましい。一実施形態では、例えば、E X X Y X Q (G / S) (配列番号23)、例えば、E N L Y F Q G (配列番号24)およびE N L Y F Q S (配列番号25) (式中、Xは、任意のアミノ酸を表す) (T E Vによる切断は、QとGまたはQとSの間で生じる)。

30

40

【0360】

特定の実施形態では、自己切断性ペプチドは、ポティウイルスおよびカルジオウイルス2 Aペプチド、F M D V (口蹄疫ウイルス)、ウマ鼻炎Aウイルス、ゾセア・アシグナ(Th o s e a a s i g n a)ウイルスおよびブタテッシュウイルスから得られたポリペプチド配列を含む。

【0361】

ある特定の実施形態では、自己切断性ポリペプチド部位は、2 Aまたは2 A様部位、配

50

列またはドメインを含む (Donnelly et al., 2001. J. Gen. Virol. 82:1027-1041)。

【0362】

表3：例示的2A部位は、以下の配列を含む：

【表3】

配列番号26	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号27	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号28	LLKLAGDVESNPGP
配列番号29	NFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号30	QLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号31	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号32	VTELLYRMKRAETCYCPRPLLAHPTEARHKQKIVAPVKQT
配列番号33	LNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号34	LLAHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号35	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

10

【0363】

ある特定の実施形態では、本明細書で企図されるポリペプチドは、CARポリペプチドを含む。

20

【0364】

6. 6. ポリヌクレオチド

ある特定の実施形態では、1つまたはそれ以上のCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、例えば、配列番号10が提供される。本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」または「核酸」という用語は、メッセンジャーRNA (mRNA)、RNA、ゲノムRNA (gRNA)、正鎖RNA (RNA (+))、負鎖RNA (RNA (-))、ゲノムDNA (gDNA)、相補的DNA (cDNA) または組換えDNAを指す。ポリヌクレオチドは一本鎖および二本鎖ポリヌクレオチドを含む。好ましくは、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、本明細書に記載される参照配列 (例えば、配列表を参照) のいずれかに対して少なくとも約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチドまたはバリエーションを含み、典型的にはバリエーションは参照配列の少なくとも1つの生物活性を維持する。様々な実例的な実施形態では、本開示は、発現ベクター、ウイルスベクター、および移入プラスミドを含むポリヌクレオチド、ならびにそれを含む組成物、および細胞を部分的に企図する。

30

【0365】

特定の実施形態では、ポリペプチドの少なくとも約5、10、25、50、100、150、200、250、300、350、400、500、1000、1250、1500、1750、または2000個またはより多くの連続するアミノ酸残基の他に、すべての中間的長さの連続するアミノ酸残基をコードするポリヌクレオチドが本開示によって提供される。「中間的長さ」は、この文脈において、記載される値の間の任意の長さ、例えば6、7、8、9など、101、102、103など；151、152、153など；201、202、203などを意味することが容易に理解される。

40

【0366】

本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチドバリエーション」および「バリエーション」などの用語は、参照ポリヌクレオチド配列または以下において定義されるストリンジェントな条件下で参照配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドと実質的な配列同一性を示すポリヌクレオチドを指す。これらの用語は、1つまたはそれ以上のヌクレオチドが、参照ポリヌクレオチドと比較して付加もしくは欠失されているか、または異なるヌクレオチド

50

で置き換えられているポリヌクレオチドを含む。これに関して、突然変異、付加、欠失および置換を含むある特定の変更を参照ポリヌクレオチドに対して行って、それによって、変更されたポリヌクレオチドは参照ポリヌクレオチドの生物機能または活性を保持することができることが当技術分野でよく理解されている。

【0367】

「配列同一性」または、例えば、「～に対して50%同一の配列」を含むという記載は、本明細書で使用される場合、配列がヌクレオチド毎を基準としてまたはアミノ酸毎を基準として比較のウィンドウにかけて同一である程度を指す。そのため、「配列同一性のパーセンテージ」は、比較のウィンドウにかけて2つの最適にアライメントされた配列を比較し、同一の核酸塩基（例えば、A、T、C、G、I）または同一のアミノ酸残基（例えば、Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、CysおよびMet）が両方の配列中に存在する位置の数を決定して、マッチした位置の数を得、マッチした位置の数を比較のウィンドウ中の位置の総数（すなわち、ウィンドウサイズ）で割り、結果に100を掛けて配列同一性のパーセンテージを得ることによって算出されてもよい。本明細書に記載される参照配列のいずれかに対して少なくとも約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有するヌクレオチドおよびポリペプチドが含まれ、典型的にはポリペプチドバリエーションは参照ポリペプチドの少なくとも1つの生物活性を維持する。

【0368】

2つまたはより多くのポリヌクレオチドまたはポリペプチドの間の配列関係性を記載するために使用される用語は、「参照配列」、「比較ウィンドウ」、「配列同一性」、「配列同一性のパーセンテージ」、および「実質的な同一性」を含む。「参照配列」は、少なくとも12個であるが、頻繁には15~18個および多くの場合に少なくとも25個の、ヌクレオチドおよびアミノ酸残基を含む、単量体単位の長さである。2つのポリヌクレオチドはそれぞれ、(1) 2つのポリヌクレオチドの間で類似した配列（すなわち、完全なポリヌクレオチド配列の部分のみ）、および(2) 2つのポリヌクレオチドの間で異なる配列を含み得るので、2つ（またはより多く）のポリヌクレオチドの間の配列比較は、典型的には、2つのポリヌクレオチドの配列を「比較ウィンドウ」にかけて比較して、配列類似性の局所領域を同定および比較することによって実施される。「比較ウィンドウ」は、少なくとも6個、通常は約50~約100個、より通常は約100~約150個の連続する位置の概念上のセグメントであって、該セグメントにおいて、配列が同じ数の連続する位置の参照配列と、2つの配列が最適にアライメントされた後に比較されるものを指す。比較ウィンドウは、2つの配列の最適なアライメントのために参照配列（付加も欠失も含まない）と比較して約20%またはそれ未満の付加または欠失（すなわち、ギャップ）を含んでもよい。比較ウィンドウをアライメントするための配列の最適なアライメントは、アルゴリズムのコンピュータによるインプリメンテーション (Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, USA中のGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFAST) によってまたは検査および選択された様々な方法のいずれかによって生成される最良のアライメント（すなわち、比較ウィンドウにかけて最も高いパーセンテージの相同性をもたらすもの）によって実行されてもよい。例えばAltschul et al., 1997, Nucl. Acids Res. 25:3389によって開示されているBLASTファミリーのプログラムもまた参照され得る。配列解析の詳細な議論はAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15のUnit 19.3において見出され得る。

【0369】

本明細書で使用される場合、「単離されたポリヌクレオチド」は、天然に存在する状態

においてそれに隣接する配列から精製されているポリヌクレオチド、例えば、DNA断片に通常は隣接する配列から除去されている該断片を指す。「単離されたポリヌクレオチド」はまた、天然において存在せず、人間の手によって作られている相補的DNA (cDNA)、組換えDNA、または他のポリヌクレオチドを指す。

【0370】

ポリヌクレオチドの方向性を記載する用語は、5' (通常は遊離リン酸基を有するポリヌクレオチドの末端) および3' (通常は遊離ヒドロキシル (OH) 基を有するポリヌクレオチドの末端) を含む。ポリヌクレオチド配列は、5' から3' への方向性または3' から5' への方向性においてアノテーションされ得る。DNAおよびmRNAについて、5' から3' への鎖は、「センス」、「プラス」(正)、または「コード」鎖と呼称され、その理由は、その配列はプレメッセンジャー (pre-mRNA) の配列と同一 [DNA中のチミン (T) の代わりに、RNA中ではウラシル (U) であることを除く] であるからである。DNAおよびmRNAについて、RNAポリメラーゼによって転写される鎖である相補的な3' から5' への鎖は、「鋳型」、「アンチセンス」、「マイナス」(負)、または「非コード」鎖と呼称される。本明細書で使用される場合、「逆の方向性」という用語は、3' から5' への方向性において書かれた5' から3' への配列または5' から3' への方向性において書かれた3' から5' への配列を指す。

【0371】

「相補的」および「相補性」という用語は、塩基対合則によって関係付けられるポリヌクレオチド (すなわち、ヌクレオチドの配列) を指す。例えば、DNA配列5' A G T C A T G 3' の相補鎖は3' T C A G T A C 5' である。後者の配列は、左に5' 末端および右に3' 末端を有する逆相補鎖、5' C A T G A C T 3' として多くの場合にかかれる。その逆相補鎖に等しい配列はパリンδροーム配列であるといわれる。相補性は「部分的」であり得、その場合、核酸の塩基の一部のみが塩基対合則に従ってマッチしている。または、核酸の間に「完全な」または「全的な」相補性があることができる。

【0372】

さらに、遺伝コードの縮重の結果として、本明細書に記載されているポリペプチド、またはその断片もしくはバリエーションをコードする多くのヌクレオチド配列があることが当業者によって理解される。これらのポリヌクレオチドの一部は、任意のネイティブな遺伝子のヌクレオチド配列に対して最小の相同性を有する。それにもかかわらず、コドン用法における差異に起因して変動するポリヌクレオチドが本開示によって特に企図され、これは例えばヒトおよび／または霊長動物コドン選択のために最適化されたポリヌクレオチドである。さらに、本明細書で提供されるポリヌクレオチド配列を含む遺伝子のアレルもまた使用され得る。アレルは、1つまたはそれ以上の突然変異、例えばヌクレオチドの欠失、付加および／または置換の結果として変更された内因性遺伝子である。

【0373】

「核酸カセット」という用語は、本明細書で使用される場合、RNA、および引き続いてタンパク質を発現することができるベクター内の遺伝子配列を指す。核酸カセットは、目的の遺伝子、例えば、CARを含有する。核酸カセットは、カセット中の核酸がRNAに転写され、および必要な場合、タンパク質またはポリペプチドに翻訳され、形質転換された細胞中での活性のために要求される適切な翻訳後修飾を受け、適切な細胞内区画への標的化または細胞外区画への分泌によって生物活性のために適切な区画に移動することができるように、ベクター内で位置的および配列的に方向付けられる。好ましくは、カセットは、ベクターへの準備済みの挿入のために適合されたその3' および5' 末端を有し、例えば、それぞれの末端において制限エンドヌクレアーゼ部位を有する。一実施形態では、核酸カセットは、腫瘍またはがんを治療するために使用されるキメラ抗原受容体の配列を含有する。一実施形態では、核酸カセットは、B細胞悪性腫瘍を治療するために使用されるキメラ抗原受容体の配列を含有する。カセットは、除去され、プラスミドまたはウイルスベクターに単一の単位として挿入され得る。

10

20

30

40

50

【0374】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つの目的のポリヌクレオチドを含む。本明細書で使用される場合、「目的のポリヌクレオチド」という用語は、発現が所望される発現ベクターに挿入されたポリペプチド（すなわち、目的のポリペプチド）をコードするポリヌクレオチドを指す。ベクターは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の目的のポリヌクレオチドを含んでもよい。ある特定の実施形態では、目的のポリヌクレオチドは、疾患または障害の治療または予防において治療効果を提供するポリペプチドをコードする。目的のポリヌクレオチド、およびそれにコードされるポリペプチドは、野生型ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの他に、その機能的なバリエーションおよび断片をコードするポリヌクレオチドの両方を含む。特定の実施形態では、機能的なバリエーションは、対応する野生型参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に対して少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を有する。ある特定の実施形態では、機能的なバリエーションまたは断片は、対応する野生型ポリペプチドの生物活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%を有する。

10

【0375】

一実施形態では、目的のポリヌクレオチドは、ポリペプチドをコードしないが、miRNA、siRNA、またはshRNA、リボザイム、または他の阻害性RNAを転写するための鋳型として役立つ。様々な他の実施形態では、ポリヌクレオチドは、CARならびにsiRNA、miRNA、shRNA、およびリボザイムを含むが、これらに限定されない阻害性核酸配列を含むがこれに限定されない1つまたはそれ以上の追加の目的のポリヌクレオチドをコードする目的のポリヌクレオチドを含む。

20

【0376】

本明細書で使用される場合、「siRNA」または「短鎖干渉RNA」という用語は、動物において配列特異的な転写後遺伝子サイレンシング、翻訳阻害、転写阻害、またはエピジェネティックなRNAiのプロセスを媒介する短いポリヌクレオチド配列を指す（Zamore et al., 2000, Cell, 101, 25-33; Fire et al., 1998, Nature, 391, 806; Hamilton et al., 1999, Science, 286, 950-951; Lin et al., 1999, Nature, 402, 128-129; Sharp, 1999, Genes & Dev., 13, 139-141; および Straus, 1999, Science, 286, 886）。ある特定の実施形態では、siRNAは、同じ数のヌクレオシドを有する第1の鎖および第2の鎖を含み；しかしながら、第1および第2の鎖は、第1および第2の鎖上の2つの末端ヌクレオシドが相補鎖上の残基と対合しないようにオフセットされている。ある特定の事例において、対合しない2つのヌクレオシドはチミジン残基である。siRNAは、標的遺伝子に対して十分な相同性の領域を含むべきであり、ヌクレオチドの観点において十分な長さであるべきであり、その結果、siRNA、またはその断片は、標的遺伝子の下方調節を媒介することができる。そのため、siRNAは、標的RNAに少なくとも部分的に相補的な領域を含む。siRNAと標的との間に完璧な相補性があることは必要でないが、対応関係は、siRNA、またはその切断生成物が、配列特異的なサイレンシング、例えば標的RNAのRNAi切断によるものを指向させることを可能にするために十分でなければならない。相補性、または標的鎖との相同性の程度は、アンチセンス鎖において最も不可欠である。完璧な相補性が、特にアンチセンス鎖において、多くの場合に所望されるが、一部の実施形態は、標的RNAに対して1つまたはそれ以上の、好ましくは10、8、6、5、4、3、2個の、またはより少ないミスマッチを含む。ミスマッチは末端領域において最も許容され、存在する場合、好ましくは1つまたはそれ以上の末端領域中、例えば、5' および / または 3' 末端の6、5、4、または3ヌクレオチド以内にある。センス鎖は、分子の全体的な二本鎖の特徴を維持するためにアンチセンス鎖と十分に相補的であることのみ必要とされる。

30

40

【0377】

追加的に、siRNAは、修飾されているか、またはヌクレオシドアナログを含むものであってもよい。siRNAの一本鎖領域は、修飾されているか、またはヌクレオシドア

50

ナログを含むものであってもよく、例えば、ヘアピン構造の対合していない1つまたはそれ以上の領域、例えば、2つの相補的な領域を連結する領域は、修飾またはヌクレオシドアナログを有することができる。例えば、エキソヌクレアーゼに対して、*siRNA*の1つもしくは複数の3'もしくは5'末端を安定化させるため、またはアンチセンス*siRNA*がRISCに入ることを助長するための修飾もまた有用である。修飾は、C3（またはC6、C7、C12）アミノリンカー、チオールリンカー、カルボキシルリンカー、非ヌクレオチドスパーサー（C3、C6、C9、C12、脱塩基、トリエチレングリコール、ヘキサエチレングリコール）、ホスホロアミダイトとなり、およびRNA合成の間の複数のカップリングを可能とする別のDMT保護ヒドロキシル基を有する、特別なビオチンまたはフルオレセイン試薬を含むことができる。*siRNA*のそれぞれの鎖は、30、25、24、23、22、21、もしくは20個に等しいか、またはそれ未満のヌクレオチドの長さであり得る。鎖は好ましくは少なくとも19ヌクレオチドの長さである。例えば、それぞれの鎖は21～25ヌクレオチドの長さであり得る。好ましい*siRNA*は、17、18、19、29、21、22、23、24、または25個のヌクレオチドペアの二重鎖領域、および2～3ヌクレオチドの1つまたはそれ以上のオーバーハング、好ましくは2～3ヌクレオチドの1つまたは2つの3'オーバーハングを有する。

10

20

30

40

50

【0378】

本明細書で使用される場合、「*miRNA*」または「*microRNA*」という用語は、典型的には*pre-miRNA*として公知の約70ヌクレオチドの折り返されたRNA前駆体構造物から切除された、20～22ヌクレオチドの小さい非コードRNAを指す。*miRNA*は、*miRNA*と標的との間の相補性の程度に依存して2つの仕方のうちの1つにおいてそれらの標的を負に調節する。第1に、タンパク質コードmRNA配列に完璧なまたはほぼ完璧な相補性で結合する*miRNA*はRNA媒介性干渉（RNAi）経路を誘導する。それらのmRNA標的の3'非翻訳領域（UTR）内の不完全な相補的部位への結合によって調節効果を発揮する*miRNA*は、RNAi経路のために使用されるものと類似した、または場合によりそれと同一のRISC複合体を通じて、どうやら翻訳のレベルにおいて、転写後に標的遺伝子発現を抑止する。翻訳制御と合致して、この機序を使用する*miRNA*はそれらの標的遺伝子のタンパク質レベルを低減させるが、これらの遺伝子のmRNAレベルは最小限しか影響されない。*miRNA*は、天然に存在する*miRNA*の他に、任意のmRNA配列を特異的に標的とすることができる人工的に設計された*miRNA*の両方を包含する。例えば、一実施形態では、当業者は、ヒト*miRNA*（例えば、*miR-30*または*miR-21*）一次転写物として発現される短鎖ヘアピンRNA構築物を設計することができる。この設計は、ヘアピン構築物にDroshaプロセシング部位を付加し、ノックダウン効率を大きく増加させることが示されている（Pusch et al., 2004）。ヘアピンシステムは、22-ntのdsRNA（例えば、アンチセンスは、所望される標的に対して完璧な相補性を有する）およびヒト*miR*からの15～19-ntのループからなる。ヘアピンのいずれかまたは両方の側における*miR*ループおよび*miR30*隣接配列の付加は、*microRNA*を有しない従来のshRNA設計と比較した場合に、発現されるヘアピンのDroshaおよびDicerプロセシングにおける10倍より大きい増加をもたらす。増加したDroshaおよびDicerプロセシングは、より高い*siRNA*/*miRNA*製造および発現されるヘアピンについてのより高い効力に翻訳される。

【0379】

本明細書で使用される場合、「*shRNA*」または「短鎖ヘアピンRNA」という用語は、単一の自己相補的なRNA鎖によって形成される二本鎖構造を指す。標的遺伝子の、コード配列または非コード配列のいずれかの、部分と同一のヌクレオチド配列を含有するshRNA構築物は、阻害のために好ましい。標的配列と比べて挿入、欠失、および単一の点突然変異を有するRNA配列もまた、阻害のために有効であることが見出されている。阻害性RNAと標的遺伝子の部分との間の90%より高い配列同一性、またはさらには100%の配列同一性が好ましい。ある特定の好ましい実施形態では、shRNAの二重

鎖形成部分の長さは、少なくとも20、21または22ヌクレオチドの長さであり、例えば、Dicer依存性切断によって生成されるRNA生成物のサイズに対応する。ある特定の実施形態では、shRNA構築物は、少なくとも25、50、100、200、300または400塩基の長さである。ある特定の実施形態では、shRNA構築物は400～800塩基の長さである。shRNA構築物は、ループ配列およびループサイズにおける変形形態について高度に許容性である。

【0380】

本明細書で使用される場合、「リボザイム」という用語は、標的mRNAの部位特異的な切断の能力を有する触媒的に活性のRNA分子を指す。いくつかのサブタイプが記載されており、例えば、ハンマーヘッドおよびヘアピンリボザイムがある。リボザイムの触媒活性および安定性は、非触媒的な塩基におけるリボヌクレオチドをデオキシリボヌクレオチドで置換することによって向上され得る。部位特異的な認識配列においてmRNAを切断するリボザイムを使用して特定のmRNAを破壊することができるが、ハンマーヘッドリボザイムの使用が好ましい。ハンマーヘッドリボザイムは、標的mRNAと相補的な塩基対を形成する隣接領域によって指定される位置においてmRNAを切断する。唯一の要求は、標的mRNAが2塩基の以下の配列：5'-UG-3'を有することである。ハンマーヘッドリボザイムの構築および製造は当技術分野で周知である。

【0381】

ある特定の実施形態では、可溶性因子のアンタゴニストは、siRNA、miRNA、shRNA、またはリボザイムである。

【0382】

ある特定の実施形態では、siRNA、miRNA、shRNA、またはリボザイムを含む目的のポリヌクレオチドのデリバリーの方法は、本明細書の他の箇所において記載されるように、1つまたはそれ以上の調節配列、例えば、強い構成的なpol III、例えば、ヒトU6 snRNAプロモーター、マウスU6 snRNAプロモーター、ヒトおよびマウスH1 RNAプロモーターならびにヒトtRNA-valプロモーター、または強い構成的なpol IIプロモーターなどを含む。

【0383】

本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、コード配列自体の長さにかかわらず、本明細書の他の箇所に開示されるように、または当技術分野で公知のように、他のDNA配列、例えばプロモーターおよび／またはエンハンサー、非翻訳領域(UTR)、シグナル配列、Kozak配列、ポリアデニル化シグナル、追加の制限酵素部位、マルチプルクロニングサイト、内部リボソーム進入部位(IRES)、リコンビナーゼ認識部位(例えば、LoxP、FRT、およびAtt部位)、終止コドン、転写終結シグナル、ならびに自己切断性ポリペプチド、エピトープタグをコードするポリヌクレオチドと組み合わせられてもよく、その結果、それらの全体的長さはかなり変動してもよい。したがって、ほぼ任意の長さのポリヌクレオチド断片が用いられてもよいことが企図され、全長は、好ましくは、意図される組換えDNAプロトコールにおける調製および使用の容易さによって限定される。

【0384】

ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知のおよび利用可能な様々なよく確立された技術のいずれかを使用して調製、操作および／または発現され得る。所望されるポリペプチドを発現させるために、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は適切なベクターに挿入され得る。ベクターの例は、プラスミド、自律複製配列、および転位可能なエレメントである。追加の例示的なベクターは、限定なしに、プラスミド、ファージミド、コスミド、人工染色体、例えば酵母人工染色体(YAC)、細菌人工染色体(BAC)、またはP1由来人工染色体(PAC)、バクテリオファージ、例えばラムダファージまたはM13ファージ、および動物ウイルスを含む。ベクターとして有用な動物ウイルスのカテゴリの例は、限定なしに、レトロウイルス(レンチウイルスを含む)、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス(例えば、単純ヘルペスウイルス)、ポックスウイル

ス、バキュロウイルス、パピローマウイルス、およびパポバウイルス（例えば、SV40）を含む。発現ベクターの例は、哺乳動物細胞中での発現用のpCleoベクター（Promega）；哺乳動物細胞におけるレンチウイルス媒介性遺伝子移入および発現用のpLenti4/V5-DEST（商標）、pLenti6/V5-DEST（商標）、およびpLenti6.2/V5-GW/lacZ（Invitrogen）である。特定の実施形態では、本明細書に開示されるキメラタンパク質のコード配列は、哺乳動物細胞中でのキメラタンパク質の発現のためにそのような発現ベクターにライゲートされ得る。

【0385】

一実施形態では、本明細書で企図されるCARをコードするベクターは、配列番号36に記載されるポリヌクレオチド配列を含む。

【0386】

特定の実施形態では、ベクターは、エピソームベクターまたは染色体外に維持されるベクターである。本明細書で使用される場合、「エピソーム」という用語は、宿主の染色体DNAへの組み込みなしに、および分裂する宿主細胞からの段階的な喪失なしに複製が可能なベクターを指し、前記ベクターは染色体外でまたはエピソーム的に複製されることもまた意味する。ベクターは、リンパ球向性ヘルペスウイルスもしくはガンマヘルペスウイルス、アデノウイルス、SV40、ウシパピローマウイルス、または酵母からのDNA複製起点または「ori」、特にEBVのoriPに対応するリンパ球向性ヘルペスウイルスまたはガンマヘルペスウイルスの複製起点をコードする配列を宿すように操作される。特定の態様では、リンパ球向性ヘルペスウイルスは、エプスタインバーウイルス（EBV）、カポジ肉腫ヘルペスウイルス（KSHV）、ヘルペスウイルスサイミリ（HS）、またはマレック病ウイルス（MDV）であってもよい。エプスタインバーウイルス（EBV）およびカポジ肉腫ヘルペスウイルス（KSHV）はまたガンマヘルペスウイルスの例である。典型的には、宿主細胞は、複製を活性化させるウイルス複製トランスアクチベータータンパク質を含む。

【0387】

発現ベクター中に存在する「制御エレメント」または「調節配列」は、転写および翻訳を実行する宿主細胞タンパク質と相互作用するベクターの非翻訳領域（複製起点、選択カセット、プロモーター、エンハンサー、翻訳開始シグナル（Shine Dalgarno配列またはKozak配列）、イントロン、ポリアデニル化配列、5'および3'非翻訳領域）である。そのようなエレメントは強度および特異性において様々であり得る。利用されるベクターシステムおよび宿主に依存して、遍在性プロモーターおよび誘導性プロモーターを含む、任意の数の好適な転写および翻訳エレメントが使用されてもよい。

【0388】

特定の実施形態では、本明細書における利用のためのベクターは、発現ベクターおよびウイルスベクターを含むが、これらに限定されず、外因性、内因性、または異種制御配列、例えばプロモーターおよび／またはエンハンサーを含む。「内因性」制御配列は、ゲノム中の所与の遺伝子と天然に連結した制御配列である。「外因性」制御配列は、遺伝子操作（すなわち、分子生物学技術）の手段によって遺伝子に隣接して置かれており、その結果、その遺伝子の転写が、連結されたエンハンサー／プロモーターによって指向されるような制御配列である。「異種」制御配列は、遺伝学的に操作されている細胞とは異なる種からの外因性配列である。

【0389】

「プロモーター」という用語は、本明細書で使用される場合、RNAポリメラーゼが結合するポリヌクレオチド（DNAまたはRNA）の認識部位を指す。RNAポリメラーゼは、プロモーターに作動可能に連結したポリヌクレオチドをイニシエートおよび転写する。特定の実施形態では、哺乳動物細胞中で作動可能なプロモーターは、転写が開始される部位から約25～30塩基上流に位置するATリッチ領域および／または転写の開始から70～80塩基上流に見出される別の配列、CNCAAT領域（ここでNは任意のヌクレ

オチドであってもよい)を含む。

【0390】

「エンハンサー」という用語は、増強された転写を提供する能力を有する配列を含有するDNAのセグメントを指し、一部の事例において、別の制御配列と比べたそれらの方向性から独立して機能することができる。エンハンサーは、プロモーターおよび／または他のエンハンサーエレメントと協同的にまたは付加的に機能することができる。「プロモーター／エンハンサー」という用語は、プロモーターおよびエンハンサーの両方の機能を提供する能力を有する配列を含有するDNAのセグメントを指す。

【0391】

「作動可能に連結した」という用語は、記載される複数の構成要素が、それらがそれらの意図される方式において機能することを許容する関係性にある並置状態を指す。一実施形態では、該用語は、核酸発現制御配列（例えばプロモーター、および／またはエンハンサー）と第2のポリヌクレオチド配列、例えば、目的のポリヌクレオチドとの間の機能的な連結であって、発現制御配列が第2の配列に対応する核酸の転写を指向させるものを指す。

10

【0392】

本明細書で使用される場合、「構成的な発現制御配列」という用語は、作動可能に連結した配列の転写を絶えずまたは連続的に可能とするプロモーター、エンハンサー、またはプロモーター／エンハンサーを指す。構成的な発現制御配列は、多様な細胞および組織種において発現を可能とする「遍在的な」プロモーター、エンハンサー、もしくはプロモーター／エンハンサーまたは制限された種類の細胞および組織種それぞれにおいて発現を可能とする「細胞特異的な」、「細胞種特異的な」、「細胞系列特異的な」、もしくは「組織特異的な」プロモーター、エンハンサー、もしくはプロモーター／エンハンサーであってもよい。

20

【0393】

本明細書に提示される特定の実施形態における使用のために好適な実例的な遍在的な発現制御配列は、サイトメガロウイルス(CMV)最初期プロモーター、ウイルスシミアンウイルス40(SV40)(例えば、早期または後期)、モロニー Maus 白血病ウイルス(MoMLV)LTRプロモーター、ラウス肉腫ウイルス(RSV)LTR、単純ヘルペスウイルス(HSV)(チミジンキナーゼ)プロモーター、ワクシニアウイルスからのH5、P7.5、およびP11プロモーター、伸長因子1-アルファ(EF1a)プロモーター、初期増殖応答1(early growth response 1; EGR1)、フェリチンH(FerH)、フェリチンL(FerL)、グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)、真核翻訳開始因子4A1(EIF4A1)、熱ショック70kDaタンパク質5(HSPA5)、熱ショックタンパク質90kDaベータ、メンバー1(HSP90B1)、熱ショックタンパク質70kDa(HSP70)、β-キネシン(β-KIN)、ヒトROSA 26座位(Irions et al., Nature Biotechnology 25, 1477-1482 (2007))、ユビキチンCプロモーター(UBC)、ホスホグリセリン酸キナーゼ-1(PGK)プロモーター、サイトメガロウイルスエンハンサー／ニワトリβ-アクチン(CAG)プロモーター、β-アクチンプロモーターおよび骨髄増殖性肉腫ウイルスエンハンサー、負制御領域欠失、dl587revプライマー結合性部位置換(MND)プロモーター(Challita et al., J Virol. 69(2):748-55 (1995))を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0394】

一実施形態では、本開示のベクターはMNDプロモーターを含む。

【0395】

一実施形態では、本開示のベクターは、ヒトEF1a遺伝子の第1のイントロンを含むEF1aプロモーターを含む。

【0396】

一実施形態では、本開示のベクターは、ヒトEF1a遺伝子の第1のイントロンを欠い

50

た E F 1 a プロモーターを含む。

【0397】

特定の実施形態では、T細胞特異的プロモーターからCARを含むポリヌクレオチドを発現させることが望ましいことがある。

【0398】

本明細書で使用される場合、「条件的な発現」は、誘導性発現；抑制性発現；特定の生理学的、生物学的、または疾患状態を有する細胞または組織中での発現などを含むが、これらに限定されない任意の種類の条件的な発現を指すことができる。この定義は、細胞種または組織特異的な発現を除外することは意図されない。ある特定の実施形態は、目的のポリヌクレオチドの条件的な発現を提供し、例えば、発現は、ポリヌクレオチドが発現されることを惹起するか、または目的のポリヌクレオチドによってコードされるポリヌクレオチドの発現における増加もしくは減少を惹起する処理または条件に細胞、組織、生物などを供することによって制御される。

【0399】

誘導性プロモーター／システムの実例は、ステロイド誘導性プロモーター、例えばグルココルチコイドまたはエストロゲン受容体をコードする遺伝子用のプロモーター（対応するホルモンでの処理によって誘導可能）、メタロチオネイン (metallothionine) プロモーター（様々な重金属での処理によって誘導可能）、MX-1プロモーター（インターフェロンによって誘導可能）、「Gene Switch」ミフェプリストン調節可能システム (Sirin et al., 2003, Gene, 323:67)、cumate 誘導性遺伝子スイッチ（国際公開第2002/088346号パンフレット）、テトラサイクリン依存性調節システムなどを含むが、これらに限定されない。

【0400】

条件的な発現はまた、部位特異的DNAリコンビナーゼを使用することによって達成され得る。ある特定の実施形態によれば、ベクターは、部位特異的リコンビナーゼによって媒介される組換えのための少なくとも1つ（典型的には2つ）の部位を含む。本明細書で使用される場合、「リコンビナーゼ」または「部位特異的リコンビナーゼ」という用語は、1つまたはそれ以上の組換え部位（例えば、2、3、4、5、7、10、12、15、20、30、50個など）を伴う組換え反応に関与する切除または組込みタンパク質、酵素、補因子または関連タンパク質を含み、これは、野生型タンパク質 (Landy, Current Opinion in Biotechnology 3:699-707 (1993)を参照)、またはその突然変異体、誘導体（例えば、組換えタンパク質配列もしくはその断片を含有する融合タンパク質）、断片、およびバリエーションであってもよい。本明細書における使用のために好適なリコンビナーゼの実例は、Cre、Int、IHF、Xis、Flp、Fis、Hin、Gin、ΦC31、Cin、Tn3リゾルバーゼ、TndX、XerC、XerD、TnpX、Hjc、Gin、SpCCE1、およびParAを含むが、これらに限定されない。

【0401】

ベクターは、多様な部位特異的リコンビナーゼのいずれかのための1つまたはそれ以上の組換え部位を含んでもよい。部位特異的リコンビナーゼのための標的部位は、ベクター、例えば、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターの組込みのために要求される任意の部位に対して追加的であることが理解されるべきである。本明細書で使用される場合、「組換え配列」、「組換え部位」、または「部位特異的組換え部位」という用語は、リコンビナーゼが認識して結合する特定の核酸配列を指す。

【0402】

例えば、Creリコンビナーゼのための1つの組換え部位はloxPであり、これは、8塩基対コア配列に隣接する2つの13塩基対逆位反復（リコンビナーゼ結合性部位として役立つ）を含む34塩基対の配列である (Sauer, B., Current Opinion in Biotechnology 5:521-527 (1994)のFIG. 1を参照)。他の例示的なloxP部位は、lox511 (Hoess et al., 1996; Bethke and Sauer, 1997)、lox5171 (Lee and Saito, 1998)、lox2272 (Lee and Saito, 1998)、m2 (Langer

et al., 2002)、 lox71 (Albert et al., 1995)、および lox66 (Albert et al., 1995) を含むが、これらに限定されない。

【0403】

FLPリコンビナーゼのための好適な認識部位は、FRT (McLeod, et al., 1996)、 F_1 、 F_2 、 F_3 (Schlake and Bode, 1994)、 F_4 、 F_5 (Schlake and Bode, 1994)、FRT (LE) (Senecoff et al., 1988)、FRT (RE) (Senecoff et al., 1988) を含むが、これらに限定されない。

【0404】

認識配列の他の例は、 attB 、 attP 、 attL 、および attR 配列であり、これらは、リコンビナーゼ酵素 λ インテグラーゼ、例えば、 phi-c31 によって認識される。 phi-c31 SSR は、ヘテロタイプな部位 attB (34bpの長さ) と attP (39bpの長さ) との間でのみ組換えを媒介する (Groth et al., 2000)。それぞれ細菌およびファージゲノム上のファージインテグラーゼ用の取付け部位のために命名された attB および attP の両方は、 phi-c31 ホモ二量体によって結合されるらしい不完全な逆位反復を含有する (Groth et al., 2000)。生成部位、 attL および attR は、さらなる phi-c31 媒介性組換えに対して有効に不活性であり (Belteki et al., 2003)、反応を不可逆的とする。挿入を触媒するために、 attB 保有DNAはゲノム attP 部位に、 attP 部位がゲノム attB 部位に挿入されるよりも容易に挿入されることが見出されている (Thyagarajan et al., 2001; Belteki et al., 2003)。そのため、典型的な戦略は、定義される座位に相同組換えによって attP 保有「ドッキング部位」を配置し、該部位を次に、挿入のために attB 保有の入ってくる配列とパートナー形成させる。

【0405】

本明細書で使用される場合、「内部リボソーム進入部位」または「IRES」は、シストロン (タンパク質コード領域) の開始コドン、例えばATGへの直接的な内部リボソーム進入を促進し、それによって遺伝子のcap非依存性翻訳に繋がるエレメントを指す。例えば、Jackson et al., 1990. Trends Biochem Sci 15(12):477-83) および Jackson and Kaminski, 1995. RNA 1(10):985-1000を参照。特定の実施形態では、本明細書で企図されるベクターは、1つまたはそれ以上のポリペプチドをコードする1つまたはそれ以上の目的のポリヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、複数のポリペプチドのそれぞれの効率的な翻訳を達成するために、ポリヌクレオチド配列は、1つまたはそれ以上のIRES配列または自己切断性ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列によって分離され得る。

【0406】

本明細書で使用される場合、「Kozak配列」という用語は、リボソームの小サブユニットへのmRNAの初期結合を大きく促し、翻訳を増加させる短いヌクレオチド配列を指す。コンセンサスKozak配列は (GCC) R C C A T G Gであり、ここでRはプリン (AまたはG) である (Kozak, 1986. Cell. 44(2):283-92、およびKozak, 1987. Nucleic Acids Res. 15(20):8125-48)。特定の実施形態では、本明細書で企図されるベクターは、コンセンサスKozak配列を有し、所望されるポリペプチド、例えば、CARをコードする、ポリヌクレオチドを含む。

【0407】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドを宿す細胞は、直接的な毒性および／または制御されない増殖のリスクを低減させるための誘導性自殺遺伝子を含む、自殺遺伝子を利用する。特定の態様では、自殺遺伝子は、ポリヌクレオチドまたは細胞を宿す宿主に対して免疫原性ではない。使用され得る自殺遺伝子のある特定の例は、カスパーゼ-9もしくはカスパーゼ-8またはシトシンデアミナーゼである。カスパーゼ-9は、特定の二量体化化学誘導因子 (chemical inducer of dimerization; CID) を使用して活性化され得る。

【0408】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、ベクターは、本開示の免疫エフェクター細胞、例えば、T細胞が、インビボで陰性選択に対して感受性となることを惹起する遺伝子セグメントを含む。「陰性選択」によって、注入された細胞が、個体のインビボ条件における変化の結果として排除され得ることが意味される。陰性選択可能な表現型は、投与された剤、例えば、化合物に対する感受性を付与する遺伝子の挿入の結果としてもたらされてもよい。陰性選択可能な遺伝子は当技術分野で公知であり、特に以下：ガンシクロビル感受性を付与する単純ヘルペスウイルスI型チミジンキナーゼ（HSV-I TK）遺伝子（Wigler et al., Cell 11:223, 1977）；細胞ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HPR T）遺伝子、細胞アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（APRT）遺伝子、および細菌シトシンデアミナーゼ（Mullen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. US A, 89:33 (1992))を含む。

10

【0409】

一部の実施形態では、遺伝子改変された免疫エフェクター細胞、例えばT細胞は、インビトロで陰性選択可能な表現型の細胞の選択を可能にする陽性マーカーをさらに含むポリヌクレオチドを含む。陽性選択可能なマーカーは、宿主細胞に導入されると、優性表現型を発現してその遺伝子を有する細胞の陽性選択を可能にする遺伝子であってもよい。この種類の遺伝子は当技術分野で公知であり、特に、ハイグロマイシンBに対する耐性を付与するハイグロマイシン-Bホスホトランスフェラーゼ遺伝子（hph）、抗生物質G418に対する耐性をコードするTn5からのアミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ遺伝子（neoまたはaph）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子、アデノシデアミナーゼ遺伝子（ADA）、および多剤耐性（MDR）遺伝子を含む。

20

【0410】

好ましくは、陽性選択可能なマーカーおよび陰性選択可能なエレメントは、陰性選択可能なエレメントの喪失が必然的に陽性選択可能なマーカーの喪失も伴うように連結される。よりいっそう好ましくは、陽性および陰性選択可能なマーカーは、一方の喪失が義務的に他方の喪失に繋がるように融合される。上記される所望される陽性選択および陰性選択の両方の特徴を付与するポリペプチドを発現生成物としてもたらず融合されたポリヌクレオチドの例はハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼチミジンキナーゼ融合遺伝子（HyTK）である。この遺伝子の発現は、インビトロでの陽性選択のためのハイグロマイシンB耐性、およびインビボでの陰性選択のためのガンシクロビル感受性を付与するポリペプチドをもたらず。Lupton S. D., et al, Mol. and Cell. Biology 11:3374-3378, 1991を参照。追加的に、ある特定の実施形態では、キメラ受容体をコードするポリヌクレオチドは、融合された遺伝子、特にインビトロでの陽性選択のためのハイグロマイシンB耐性、およびインビボでの陰性選択のためのガンシクロビル感受性を付与する融合された遺伝子を含むレトロウイルスベクター、例えばLupton, S. D. et al. (1991)、上掲に記載されるHyTKレトロウイルスベクター中にある。優性の陽性選択可能なマーカーを陰性選択可能なマーカーと融合させることに由来する二機能性の選択可能な融合遺伝子の使用を記載する、S. D. LuptonによるPCT US91/08442およびPCT/US94/05601の公開公報もまた参照。

30

【0411】

陽性選択可能なマーカーは、例えば、hph、nco、およびgptからなる群から選択される遺伝子に由来することができ、ならびに陰性選択可能なマーカーは、例えば、シトシンデアミナーゼ、HSV-I TK、VZV TK、HPR T、APRTおよびgptからなる群から選択される遺伝子に由来することができる。特定の実施形態では、マーカーは、二機能性の選択可能な融合遺伝子であり、ここで陽性選択可能なマーカーはhphまたはneoに由来し、陰性選択可能なマーカーはシトシンデアミナーゼもしくはTK遺伝子または選択可能なマーカーに由来する。

40

【0412】

ウイルスベクター

特定の実施形態では、細胞（例えば、免疫エフェクター細胞）は、CARをコードする

50

レトロウイルスベクター、例えば、レンチウイルスベクターを用いて形質導入される。例えば、免疫エフェクター細胞は、CD3 ζ 、CD28、4-1BB、Ox40、またはこれらの任意の組合せの細胞内シグナル伝達ドメインと共に、BCMAポリペプチド、例えば、ヒトBCMAポリペプチドに結合するマウス抗BCMA抗体またはその抗原結合性断片を含むCARをコードするベクターを用いて形質導入される。代替的に、免疫エフェクター細胞は、CD3 ζ 、CD28、4-1BB、Ox40、またはこれらの任意の組合せの細胞内シグナル伝達ドメインと共に、細胞外抗原、例えば、腫瘍抗原に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含むCARをコードするベクターを用いて形質導入される。そのため、これらの形質導入された細胞は、CAR媒介性細胞傷害性応答を誘発することができる。

10

【0413】

レトロウイルスは、遺伝子デリバリーのための一般的なツールである（Miller, 2000, Nature, 357: 455-460）。特定の実施形態では、レトロウイルスは、キメラ抗原受容体（CAR）をコードするポリヌクレオチドを細胞にデリバリーするために使用される。本明細書で使用される場合、「レトロウイルス」という用語は、そのゲノムRNAを直鎖状二本鎖DNAコピーに逆転写し、引き続いてそのゲノムDNAを宿主ゲノムに共有結合的に組み込むRNAウイルスを指す。ウイルスが宿主ゲノムに一旦組み込まれると、それは「プロウイルス」として参照される。プロウイルスは、RNAポリメラーゼIIのための鋳型として役立ち、新たなウイルス粒子を製造するために必要とされる構造タンパク質および酵素をコードするRNA分子の発現を指向させる。

20

【0414】

特定の実施形態における使用のために好適な実例的なレトロウイルスは、モロニーマウス白血病ウイルス（MMuLV）、モロニーマウス肉腫ウイルス（MoMSV）、ハーベイマウス肉腫ウイルス（HaMuSV）、マウス乳腺腫瘍ウイルス（MuMTV）、テナガザル白血病ウイルス（GaLV）、ネコ白血病ウイルス（FLV）、スプーマウイルス、フレンドマウス白血病ウイルス、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）およびラウス肉腫ウイルス（RSV）およびレンチウイルスを含むが、これらに限定されない。

【0415】

本明細書で使用される場合、「レンチウイルス」という用語は、複合レトロウイルスの群（または属）を指す。実例的なレンチウイルスは、HIV（ヒト免疫不全ウイルス；HIV 1型、およびHIV 2型を含む）；ビスナーマエディウイルス（VMV）ウイルス；ヤギ関節炎-脳炎ウイルス（CAEV）；ウマ感染性貧血ウイルス（EIAV）；ネコ免疫不全ウイルス（FIV）；ウシ免疫不全ウイルス（BIV）；ならびに類人猿免疫不全ウイルス（SIV）を含むが、これらに限定されない。一実施形態では、HIVベースのベクター骨格（すなわち、HIVシス作用性配列エレメント）が利用される。特定の実施形態では、レンチウイルスが、CARを含むポリヌクレオチドを細胞にデリバリーするために使用される。

30

【0416】

レトロウイルスベクター、より詳細にはレンチウイルスベクターが、本明細書に開示される特定の実施形態の実施において使用されてもよい。よって、「レトロウイルス」または「レトロウイルスベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、それぞれ「レンチウイルス」および「レンチウイルスベクター」を含むことが意味される。

40

【0417】

「ベクター」という用語は、別の核酸分子を移入または輸送する能力を有する核酸分子を指すために本明細書において使用される。移入される核酸は、ベクター核酸分子に一般に連結される、例えば、挿入される。ベクターは、細胞中での自律複製を指向させる配列を含んでもよい、または宿主細胞DNAへの組込みを可能とするために十分な配列を含んでもよい。有用なベクターは、例えば、プラスミド（例えば、DNAプラスミドまたはRNAプラスミド）、トランスポゾン、コスミド、細菌人工染色体、およびウイルスベクターを含む。有用なウイルスベクターは、例えば、複製欠陥性レトロウイルスおよびレン

50

チウイルスを含む。

【0418】

当業者に明らかなように、「ウイルスベクター」という用語は、典型的には核酸分子の移入もしくは細胞のゲノムへの組み込みを促すウイルス由来核酸エレメントを含む核酸分子（例えば、移入プラスミド）または核酸移入を媒介するウイルス粒子のいずれかを指すために広く使用される。ウイルス粒子は、典型的には、様々なウイルス成分および場合により核酸に加えて宿主細胞成分も含む。

【0419】

ウイルスベクターという用語は、核酸を細胞中にまたは移入される核酸自体に移入する能力を有するウイルスまたはウイルス粒子のいずれかを指すことができる。ウイルスベクターおよび移入プラスミドは、主にウイルスに由来する構造的なおよび／または機能的な遺伝子エレメントを含有する。「レトロウイルスベクター」という用語は、主にレトロウイルスに由来する、構造的なおよび機能的な遺伝子エレメント、またはその部分を含有するウイルスベクターまたはプラスミドを指す。「レンチウイルスベクター」という用語は、主にレンチウイルスに由来するLTRを含む、構造的なおよび機能的な遺伝子エレメント、またはその部分を含有するウイルスベクターまたはプラスミドを指す。「ハイブリッドベクター」という用語は、レトロウイルスの、例えば、レンチウイルスの、配列および非レンチウイルスのウイルス配列の両方を含有するベクター、LTRまたは他の核酸を指す。一実施形態では、ハイブリッドベクターは、逆転写、複製、組み込みおよび／またはパッケージングのためのレトロウイルスの、例えば、レンチウイルスの、配列を含むベクターまたは移入プラスミドを指す。

【0420】

特定の実施形態では、「レンチウイルスベクター」および「レンチウイルス発現ベクター」という用語は、レンチウイルス移入プラスミドおよび／または感染性レンチウイルス粒子を指すために使用され得る。エレメント、例えばクロニングサイト、プロモーター、調節エレメント、異種核酸などへの参照が本明細書においてなされる場合、これらのエレメントの配列は、本開示のレンチウイルス粒子中にRNA形態で存在し、本開示のDNAプラスミド中にDNA形態で存在することが理解されるべきである。

【0421】

プロウイルスのそれぞれの末端において、「長鎖末端反復」または「LTR」と呼ばれる構造物が存在する。「長鎖末端反復（LTR）」という用語は、それらの天然配列の文脈において、直接的な反復であり、ならびにU3、RおよびU5領域を含有する、レトロウイルスDNAの末端に位置する塩基対のドメインを指す。LTRは、レトロウイルス遺伝子の発現にとって基礎的な機能（例えば、促進、開始および遺伝子転写物のポリアダニル化）ならびにウイルス複製にとって基礎的な機能を一般に提供する。LTRは、転写制御エレメント、ポリアダニル化シグナルならびにウイルスゲノムの複製および組み込みのために必要とされる配列を含む多数の調節シグナルを含有する。ウイルスLTRは、U3、RおよびU5と呼ばれる3つの領域に分割される。U3領域はエンハンサーおよびプロモーターエレメントを含有する。U5領域は、プライマー結合性部位とR領域との間の配列であり、ポリアダニル化配列を含有する。R（反復；repeat）領域はU3およびU5領域に隣接している。LTRは、U3、RおよびU5領域から構成され、ウイルスゲノムの5'末端および3'末端の両方に存在する。5'LTRに隣接して、ゲノムの逆転写のために必要な配列（tRNAプライマー結合性部位）および粒子中へのウイルスRNAの効率的なパッケージングのために必要な配列（プサイ部位）がある。

【0422】

本明細書で使用される場合、「パッケージングシグナル」または「パッケージング配列」という用語は、ウイルスカプシドまたは粒子へのウイルスRNAの挿入のために要求されるレトロウイルスゲノム内に位置する配列を指す。例えば、Clever et al., 1995, J. of Virology, Vol. 69, No. 4; pp. 2101-2109を参照。いくつかのレトロウイルスベクターは、ウイルスゲノムのカプシド被包のために必要とされる最小のパッケージング

シグナル（プサイ〔Ψ〕配列としても参照される）を使用する。そのため、本明細書で
使用される場合、「パッケージング配列」、「パッケージングシグナル」、「プサイ」とい
う用語および記号「Ψ」は、ウイルス粒子形成の間にレトロウイルスRNA鎖のカプシド
被包のために要求される非コード配列への参照において使用される。

【0423】

様々な実施形態では、ベクターは、改変された5'LTRおよび／または3'LTR
を含む。LTRのいずれかまたは両方は、1つまたはそれ以上の欠失、挿入、または置換
を含むが、これらに限定されない1つまたはそれ以上の改変を含んでもよい。3'LTR
の改変は、多くの場合に、ウイルスを複製欠陥性とすることによってレンチウイルスま
たはレトロウイルスシステムの安全性を向上させるためになされる。本明細書で使用され
る場合、「複製欠陥性」という用語は、完全な、有効な複製の能力を有さず、その結果、
感染性ビリオンが産生されないようなウイルス（例えば、複製欠陥性のレンチウイルスの
子孫）を指す。「複製コンピテント」という用語は、複製する能力を有し、その結果、ウ
イルスのウイルス複製が感染性ビリオンを産生する能力を有するような野生型ウイルスま
たは突然変異体ウイルス（例えば、複製コンピテントのレンチウイルスの子孫）を指す。

10

【0424】

「自己不活性化」（self-inactivating；SIN）ベクターは、U3領域として公知
の、右（3'）LTRエンハンサープロモーター領域が、ウイルス複製の第1のラウン
ドを越えてウイルス転写を防止するように（例えば、欠失または置換によって）改変され
ている複製欠陥性ベクター、例えば、レトロウイルスまたはレンチウイルスベクターを指
す。これは、右（3'）LTR U3領域はウイルス複製の間に左（5'）LTR U3領
域のための鋳型として使用され、そのため、ウイルス転写物はU3エンハンサープロモ
ーターなしでは作られ得ないからである。さらなる実施形態では、3'LTRは、U5
領域が、例えば、理想的なポリ（A）配列で置き換えられるように改変される。LTRに
対する改変、例えば3'LTR、5'LTR、または3'LTRおよび5'LTRの両
方への改変もまた本明細書に含まれることが留意されるべきである。

20

【0425】

追加の安全性増強は、5'LTRのU3領域を異種プロモーターで置き換えて、ウイ
ルス粒子の製造の間のウイルスゲノムの転写を駆動することによって提供される。使用さ
れ得る異種プロモーターの例は、例えば、ウイルスシミアンウイルス40（SV40）（
例えば、早期または後期）、サイトメガロウイルス（CMV）（例えば、最初期）、モロ
ニー Maus 白血病ウイルス（MoMLV）、ラウス肉腫ウイルス（RSV）、および単純
ヘルペスウイルス（HSV）（チミジンキナーゼ）プロモーターを含む。典型的なプロモ
ーターは、Tat非依存性の方式において高いレベルの転写を駆動することができる。こ
の置換は、組換えが複製コンピテントウイルスを生成する可能性を低減させ、その理由は
、ウイルス製造システム中に完全なU3配列がないからである。ある特定の実施形態では
、異種プロモーターは、ウイルスゲノムが転写される方式の制御において追加の利点を有
する。例えば、異種プロモーターは誘導性であり得、その結果、ウイルスゲノムの全体ま
たは部分の転写は、誘導因子が存在する場合にのみ起こる。誘導因子は、1つまたはそれ
以上の化学的化合物または生理学的条件、例えば宿主細胞が培養される温度もしくはpH
を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0426】

一部の実施形態では、ウイルスベクターはTARエレメントを含む。「TAR」という
用語は、レンチウイルス（例えば、HIV）LTRのR領域中に位置する「トランス活性化
応答」遺伝子エレメントを指す。このエレメントは、レンチウイルストランスアクチベ
ーター（tat）遺伝子エレメントと相互作用してウイルス複製を増強する。しかしなが
ら、このエレメントは、5'LTRのU3領域が異種プロモーターによって置き換えら
れている実施形態では要求されない。

【0427】

「R領域」は、キャッピング基の開始（すなわち、転写の開始）において始まり、ポリ

50

Aトラクトの開始の直前で終わるレトロウイルスLTR内の領域を指す。R領域はまた、U3およびU5領域に隣接しているとして定義される。R領域は、逆転写の間にゲノムの1つの末端から他の末端への新生DNAの移動を許容することにおいて役割を果たす。

【0428】

本明細書で使用される場合、「FLAPエレメント」という用語は、その配列がレトロウイルス、例えば、HIV-1またはHIV-2の中央ポリプリントラクトおよび中央終結配列(cPPTおよびCTS)を含む核酸を指す。好適なFLAPエレメントは、米国特許第6,682,907号明細書およびZennou, et al., 2000, Cell, 101:173において記載されている。HIV-1逆転写の間に、中央ポリプリントラクト(cPPT)におけるプラス鎖DNAの中央開始および中央終結配列(CTS)における中央終結は、3鎖DNA構造:HIV-1中央DNAフラップの形成に繋がる。いかなる理論によっても縛られることを望まないが、DNAフラップは、レンチウイルスゲノム核内輸送のシス活性決定因子として作用し得る、および／またはウイルスの力価を増加させ得る。特定の実施形態では、レトロウイルスまたはレンチウイルスベクター骨格は、ベクター中の目的の異種遺伝子の上流または下流に1つまたはそれ以上のFLAPエレメントを含む。例えば、特定の実施形態では、移入プラスミドはFLAPエレメントを含む。一実施形態では、ベクターは、HIV-1から単離されたFLAPエレメントを含む。

【0429】

一実施形態では、レトロウイルスまたはレンチウイルス移入ベクターは1つまたはそれ以上のエクスポートエレメントを含む。「エクスポートエレメント」という用語は、細胞の核から細胞質へのRNA転写物の輸送を調節するシス作用性転写後調節エレメントを指す。RNAエクスポートエレメントの例は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV) rev応答エレメント(RRE)(例えば、Cullen et al., 1991, J. Virol. 65: 1053;およびCullen et al., 1991, Cell 58: 423を参照)、ならびにB型肝炎ウイルス転写後調節エレメント(HPRE)を含むが、これらに限定されない。一般に、RNAエクスポートエレメントは、遺伝子の3'UTR内に置かれ、1つまたはそれ以上のコピーとして挿入され得る。

【0430】

特定の実施形態では、ウイルスベクター中の異種配列の発現は、転写後調節エレメント、効率的なポリアデニル化部位、および適宜、転写終結シグナルをベクターに組み込むことによって増加される。様々な転写後調節エレメントは、タンパク質における異種核酸の発現を増加させることができ、例えば、ウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE; Zufferey et al., 1999, J. Virol., 73:2886); B型肝炎ウイルス中に存在する転写後調節エレメント(HPRE)(Huang et al., Mol. Cell. Biol., 5:3864); など(Liu et al., 1995, Genes Dev., 9:1766)がある。特定の実施形態では、ベクターは、転写後調節エレメント、例えばWPREまたはHPREを含むことができる。

【0431】

特定の実施形態では、ベクターは、転写後調節エレメント(PTE)、例えばWPREまたはHPREを欠いているか、または含まず、その理由は、一部の事例において、これらのエレメントは、細胞形質転換のリスクを増加させ、および／または実質的にもしくは有意にmRNA転写物の量を増加させることも、mRNA安定性を増加させることもないからである。したがって、一部の実施形態では、ベクターは、PTEを欠いているか、または含まない。他の実施形態では、ベクターは、追加の安全性対策としてWPREまたはHPREを欠いているか、または含まない。

【0432】

異種核酸転写物の効率的な終結およびポリアデニル化を指向させるエレメントは異種遺伝子発現を増加させる。転写終結シグナルはポリアデニル化シグナルの下流に一般に見出される。特定の実施形態では、ベクターは、発現されるべきポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの3'にポリアデニル化配列を含む。「ポリA部位」または「ポリA配列

」という用語は、本明細書で使用される場合、終結およびRNAポリメラーゼIIによる新生RNA転写物のポリアデニル化の両方を指向させるDNA配列を表す。ポリアデニル化配列は、コード配列の3'末端へのポリAテイルの付加によってmRNA安定性を促進することができ、そのため、翻訳効率の増加に寄与することができる。ポリAテイルを欠いた転写物は不安定であり、急速に分解されるので、組換え転写物の効率的なポリアデニル化は望ましい。本明細書におけるベクターにおいて使用され得るポリAシグナルの実例は、理想的なポリA配列（例えば、AATAAA、ATTAAA、AGTAAA）、ウシ成長ホルモンポリA配列（BGHPA）、ウサギβ-グロビンポリA配列（rβgpA）、または当技術分野で公知の別の好適な異種もしくは内因性ポリA配列を含む。

【0433】

ある特定の実施形態では、レトロウイルスまたはレンチウイルスベクターは、1つまたはそれ以上のインシュレーターエレメントをさらに含む。インシュレーターエレメントは、ゲノムDNA中に存在するシス作用性エレメントによって媒介されて、移入された配列の調節されない発現に繋がり得る組込み部位効果（すなわち、位置効果；例えば、Burgess-Beusse et al., 2002, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 99:16433; および Zhan et al., 2001, Hum. Genet., 109:471を参照）からの、レンチウイルス発現配列、例えば、治療用ポリペプチドの保護に寄与し得る。一部の実施形態では、移入ベクターは、3' LTRに1つまたはそれ以上のインシュレーターエレメントを含み、宿主ゲノムへのプロウイルスの組込みで、プロウイルスは、3' LTRの複製を理由として、5' LTRまたは3' LTRの両方において1つまたはそれ以上のインシュレーターを含む。本明細書における使用のための好適なインシュレーターは、ニワトリβ-グロビンインシュレーターを含むが、これに限定されない（Chung et al., 1993, Cell 74:505; Chung et al., 1997, PNAS 94:575; および Bell et al., 1999, Cell 98:387を参照；これらは参照によって本明細書に組み込まれる）。インシュレーターエレメントの例は、β-グロビン座位からのインシュレーター、例えばニワトリHS4を含むが、これに限定されない。

【0434】

ある特定の実施形態によれば、ウイルスベクター骨格配列のほとんどまたはすべては、レンチウイルス、例えば、HIV-1に由来する。しかしながら、レトロウイルスおよび／またはレンチウイルス配列の多くの異なる供給源が使用可能、または組合せ可能であり、ある特定のレンチウイルス配列における多数の置換および変更が、本明細書に記載される機能を行う移入ベクターの能力を損なうことなく適応され得ることが理解されるべきである。さらに、様々なレンチウイルスベクターが当技術分野で公知である。Naldini et al., (1996a、1996b、および1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998、米国特許第6,013,516号明細書；ならびに同第5,994,136号明細書を参照。これらの多くは、本開示のウイルスベクターまたは移入プラスミドを製造するために適合されてもよい。

【0435】

様々な実施形態では、本明細書に記載されるベクターは、CARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結したプロモーターを含むことができる。ベクターは、1つまたはそれ以上のLTRを有してもよく、いずれかのLTRは、1つまたはそれ以上の改変、例えば1つまたはそれ以上のヌクレオチドの置換、付加、または欠失を含んでもよい。ベクターは、1つまたはそれ以上の、形質導入効率を増加させるためのアクセサリエレメント（例えば、cPPT／FLAP）、ウイルスパッケージング（例えば、プサイ（Ψ）パッケージングシグナル、RRE）、および／または治療遺伝子発現を増加させる他のエレメント（例えば、ポリ（A）配列）をさらに含んでもよく、適宜WPREまたはHPREを含んでもよい。

【0436】

特定の実施形態では、移入ベクターは、左（5'）レトロウイルスLTR；中央ポリブリントラクト／DNAフラップ（cPPT／FLAP）；レトロウイルスエクスポートエ

10

20

30

40

50

メント；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；および右（3'）レトロウイルスLTR；および適宜WP REまたはHP REを含む。

【0437】

特定の実施形態では、移入ベクターは、左（5'）レトロウイルスLTR；レトロウイルスエクスポートエレメント；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；右（3'）レトロウイルスLTR；およびポリ（A）配列；および適宜WP REまたはHP REを含む。別の特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、左（5'）LTR；cPPT／FLAP；RRE；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；右（3'）LTR；およびポリアデニル化配列；および適宜WP REまたはHP REを含むレンチウイルスベクターである。

10

【0438】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、左（5'）HIV-1 LTR；プサイ（Ψ）パッケージングシグナル；cPPT／FLAP；RRE；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；右（3'）自己不活性化（SIN） HIV-1 LTR；およびウサギβ-グロビンポリアデニル化配列；および適宜WP REまたはHP REを含むレンチウイルスベクターである。

20

【0439】

別の実施形態では、本明細書で提供されるのは、少なくとも1つのLTR；中央ポリブリントラクト／DNAフラップ（cPPT／FLAP）；レトロウイルスエクスポートエレメント；および本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；および適宜WP REまたはHP REを含むベクターである。

【0440】

特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、少なくとも1つのLTR；cPPT／FLAP；RRE；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；およびポリアデニル化配列；および適宜WP REまたはHP REを含むベクターである。

30

【0441】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、少なくとも1つのSIN HIV-1 LTR；プサイ（Ψ）パッケージングシグナル；cPPT／FLAP；RRE；本明細書で企図されるCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した、T細胞において活性のプロモーター；およびウサギβ-グロビンポリアデニル化配列；および適宜WP REまたはHP REである。

【0442】

様々な実施形態では、ベクターは組込み型ウイルスベクターである。

【0443】

様々な他の実施形態では、ベクターはエピソームまたは非組込み型ウイルスベクターである。

40

【0444】

様々な実施形態では、本明細書で企図されるベクターは、非組込み型または組込み型欠陥性レトロウイルスを含む。一実施形態では、「組込み型欠陥性」レトロウイルスまたはレンチウイルスは、宿主細胞のゲノムにウイルスゲノムを組み込む能力を欠いたインテグラーゼを有するレトロウイルスまたはレンチウイルスを指す。様々な実施形態では、インテグラーゼタンパク質は、そのインテグラーゼ活性を特異的に減少させるために突然変異される。組込み型インコンピテントレンチウイルスベクターは、インテグラーゼタンパク質をコードするpol遺伝子を改変して、組込み型欠陥性インテグラーゼをコードする突

50

然変異型 pol 遺伝子を得ることによって得られる。そのような組込み型インコンピテントウイルスベクターは、特許出願国際公開第 2006/010834 号パンフレット（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【0445】

インテグラーゼ活性を低減させるために好適な HIV-1 pol 遺伝子における実例的な突然変異は、H12N、H12C、H16C、H16V、S81R、D41A、K42A、H51A、Q53C、D55V、D64E、D64V、E69A、K71A、E85A、E87A、D116N、D116I、D116A、N120G、N120I、N120E、E152G、E152A、D35E、K156E、K156A、E157A、K159E、K159A、K160A、R166A、D167A、E170A、H171A、K173A、K186Q、K186T、K188T、E198A、R199c、R199T、R199A、D202A、K211A、Q214L、Q216L、Q221L、W235F、W235E、K236S、K236A、K246A、G247W、D253A、R262A、R263A および K264H を含むが、これらに限定されない。

10

【0446】

インテグラーゼ活性を低減させるために好適な HIV-1 pol 遺伝子における実例的な突然変異は、D64E、D64V、E92K、D116N、D116I、D116A、N120G、N120I、N120E、E152G、E152A、D35E、K156E、K156A、E157A、K159E、K159A、W235F、および W235E を含むが、これらに限定されない。

20

【0447】

特定の実施形態では、インテグラーゼは、アミノ酸、D64、D116 または E152 のうちの 1 つまたはそれ以上において突然変異を含む。一実施形態では、インテグラーゼは、アミノ酸、D64、D116 および E152 において突然変異を含む。特定の実施形態では、欠陥性 HIV-1 インテグラーゼは D64V 突然変異を含む。

【0448】

「宿主細胞」は、本明細書に開示される組換えベクターまたはポリヌクレオチドを用いてインビボ、エクスピボ、またはインビトロで電気穿孔、トランスフェクト、感染、または形質導入された細胞を含む。宿主細胞は、パッケージング細胞、プロデューサー細胞、およびウイルスベクターを感染させた細胞を含んでもよい。特定の実施形態では、本明細書に開示されるウイルスベクターを感染させた宿主細胞は、治療を必要とする対象に投与される。ある特定の実施形態では、「標的細胞」という用語は宿主細胞と交換可能に使用され、所望される細胞種のトランスフェクト、感染、または形質導入された細胞を指す。特定の実施形態では、標的細胞は T 細胞である。

30

【0449】

大スケールのウイルス粒子製造が、合理的なウイルス力価を達成するために多くの場合に必要である。ウイルス粒子は、ウイルス構造および／もしくはアクセサリ遺伝子、例えば、gag、pol、env、tat、rev、vif、vpr、vpu、vpX、もしくは nef 遺伝子または他のレトロウイルス遺伝子を含むパッケージング細胞系に移入ベクターをトランスフェクトすることによって製造される。

40

【0450】

本明細書で使用される場合、「パッケージングベクター」という用語は、パッケージングシグナルを欠いており、ならびに 1、2、3、4 つまたはより多くのウイルス構造および／またはアクセサリ遺伝子をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターまたはウイルスベクターを指す。典型的には、パッケージングベクターは、パッケージング細胞中に含まれ、トランスフェクション、形質導入または感染を介して細胞に導入される。トランスフェクション、形質導入または感染の方法は当業者に周知である。本明細書に開示されるレトロウイルス／レンチウイルス移入ベクターは、プロデューサー細胞または細胞系を生成するために、トランスフェクション、形質導入または感染を介してパッケージング細胞系に導入され得る。本明細書に開示されるパッケージングベクターは、例えば、リ

50

ン酸カルシウムトランスフェクション、リポフェクションまたは電気穿孔を含む、標準的な方法によってヒト細胞または細胞系に導入され得る。一部の実施形態では、パッケージングベクターは、優性選択可能なマーカー、例えばネオマイシン、ハイグロマイシン、ピュロマイシン、ブラストサイジン、ゼオシン、チミジンキナーゼ、DHFR、GlnシテターゼまたはADAと共に細胞に導入され、続いて適切な薬物の存在下での選択およびクローンの単離が行われる。選択可能なマーカー遺伝子は、例えば、IRESまたは自己切断性ウイルスペプチドによって、パッケージングベクターによってコードされる遺伝子に物理的に連結され得る。

【0451】

ウイルスエンベロープタンパク質 (env) は、細胞系から生成される組換えレトロウイルスによって最終的に感染および形質転換され得る宿主細胞の範囲を決定する。レンチウイルス、例えばHIV-1、HIV-2、SIV、FIVおよびEIVの場合、envタンパク質はgp41およびgp120を含む。好ましくは、本明細書に開示されるパッケージング細胞によって発現されるウイルスenvタンパク質は、以前に記載されているように、ウイルスgagおよびpol遺伝子とは別々のベクター上にコードされる。

【0452】

本明細書において用いられ得るレトロウイルス由来env遺伝子の実例は、MLVエンベロープ、10A1エンベロープ、BAEV、FeLV-B、RD114、SSAV、エボラ、センダイ、FPV（家禽ペストウイルス）、およびインフルエンザウイルスエンベロープを含むが、これらに限定されない。同様に、RNAウイルス（例えば、ピコルナウイルス科、カリシウイルス科、アストロウイルス科、トガウイルス科、フラビウイルス科、コロナウイルス科、パラミクソウイルス科、ラブドウイルス科、フィロウイルス科、オルトミクソウイルス科、ブニヤウイルス科、アレナウイルス科、レオウイルス科、ビルナウイルス科、レトロウイルス科のRNAウイルスファミリー）の他に、DNAウイルス（ヘパドナウイルス科、サーコウイルス科、パルボウイルス科、パポバウイルス科、アデノウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、およびイリドウイルス科のファミリー）からのエンベロープをコードする遺伝子が利用されてもよい。代表的な例は、FeLV、VEE、HFVW、WDSV、SFV、狂犬病、ALV、BIV、BLV、EBV、CAEV、SNV、ChTLV、STLV、MPMV、SMRV、RAV、FuSV、MH2、AEV、AMV、CT10、およびEIAVを含む。

【0453】

他の実施形態では、本開示との繋がりでウイルスをシュードタイプ化するためのエンベロープタンパク質は、以下のウイルス：インフルエンザA、例えばH1N1、H1N2、H3N2およびH5N1（鳥インフルエンザ）、インフルエンザB、インフルエンザCウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、ロタウイルス、ノーウォークウイルス群の任意のウイルス、腸管アデノウイルス、パルボウイルス、デング熱ウイルス、サルポックス、モノネガウイルス目、リッサウイルス、例えば狂犬病ウイルス、ラゴスコウモリウイルス、モコラウイルス、ドゥベンヘイジウイルス、ヨーロッパコウモリウイルス1&2およびオーストラリアコウモリウイルス、エフェメロウイルス、ベシクロウイルス、水胞性口内炎ウイルス (VSV)、ヘルペスウイルス、例えば単純ヘルペスウイルス1および2型、水痘帯状疱疹、サイトメガロウイルス、エプスタインバーウイルス (EBV)、ヒトヘルペスウイルス (HHV)、ヒトヘルペスウイルス6および8型、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、パピローマウイルス、マウスガンマヘルペスウイルス、アレナウイルス、例えばアルゼンチン出血熱ウイルス、ボリビア出血熱ウイルス、サビア関連出血熱ウイルス、ベネズエラ出血熱ウイルス、ラッサ熱ウイルス、マチュポウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、ブニヤウイルス科、例えばクリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ハンタウイルス、腎臓症候群を伴う出血熱を惹起するウイルス、リフトバレー熱ウイルス、エボラ出血熱およびマールブルク出血熱を含むフィロウイルス科 (フィロウイルス)、キャサヌル森林病ウイルス、オムスク出血熱ウイルス、ダニ媒介性脳炎惹起ウイルスを含むフラビウイルス科

10

20

30

40

50

ならびにパラミクソウイルス科、例えばヘンドラウイルスおよびニパウイルス、大痘瘡および小痘瘡（天然痘）、アルファウイルス、例えばベネズエラウマ脳炎ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、SARS 関連コロナウイルス（SARS-CoV）、ウエストナイルウイルス、ならびに任意の脳炎惹起ウイルスからの任意のものを含むが、これらに限定されない。

【0454】

一実施形態では、本明細書で提供されるのは、VSV-G糖タンパク質でシュードタイプ化された組換えレトロウイルス、例えば、レンチウイルスを産生するパッケージング細胞である。

【0455】

「シュードタイプ」または「シュードタイプ化する」という用語は、本明細書で使用される場合、そのウイルスエンベロープタンパク質が、好ましい特徴を有する別のウイルスのウイルスエンベロープタンパク質で置換されているウイルスを指す。例えば、HIVは、水胞性口内炎ウイルスG-タンパク質（VSV-G）エンベロープタンパク質でシュードタイプ化することが可能であり、これは、HIVがより広い範囲の細胞に感染することを可能とし、その理由は、HIVエンベロープタンパク質（env遺伝子によってコードされる）は、通常、ウイルスをCD4+提示細胞に標的化させるからである。一実施形態では、レンチウイルスエンベロープタンパク質は、VSV-Gでシュードタイプ化される。一実施形態では、本明細書で提供されるのは、VSV-Gエンベロープ糖タンパク質でシュードタイプ化された組換えレトロウイルス、例えば、レンチウイルスを産生するパッケージング細胞である。

【0456】

本明細書で使用される場合、「パッケージング細胞系」という用語は、パッケージングシグナルを含有しないが、ウイルス粒子の正確なパッケージングのために必要なウイルス構造タンパク質および複製酵素（例えば、gag、polおよびenv）を安定的にまたは一過的に発現する細胞系に関して使用される。任意の好適な細胞系が、本開示との繋がりでパッケージング細胞を調製するために用いられ得る。一般に、細胞は哺乳動物細胞である。特定の実施形態では、パッケージング細胞系を製造するために使用される細胞はヒト細胞である。使用され得る好適な細胞系は、例えば、CHO細胞、BHK細胞、MDCK細胞、C3H 10T1/2細胞、FLY細胞、プサイ-2細胞、BOSC 23細胞、PA317細胞、WEHI細胞、COS細胞、BSC 1細胞、BSC 40細胞、BMT 10細胞、VERO細胞、W138細胞、MRC5細胞、A549細胞、HT1080細胞、293細胞、293T細胞、B-50細胞、3T3細胞、NIH3T3細胞、HepG2細胞、Saos-2細胞、Huh7細胞、HeLa細胞、W163細胞、211細胞、および211A細胞を含む。特定の実施形態では、パッケージング細胞は、293細胞、293T細胞、またはA549細胞である。別の特定の実施形態では、細胞はA549細胞である。

【0457】

本明細書で使用される場合、「プロデューサー細胞系」という用語は、パッケージング細胞系およびパッケージングシグナルを含む移入ベクター構築物を含む、組換えレトロウイルス粒子を産生する能力を有する細胞系を指す。感染性ウイルス粒子およびウイルスストック溶液の製造は、従来技術を使用して実行されてもよい。ウイルスストック溶液を調製する方法は当技術分野で公知であり、例えば、Soneoka et al. (1995) Nucl. Acid Res. 23:628-633、およびN. R. Landau et al. (1992) J. Virol. 66:5110-5113に示されている。感染性ウイルス粒子は、従来技術を使用してパッケージング細胞から収集されてもよい。例えば、感染性粒子は、当技術分野で公知のように、細胞溶解、または細胞培養物の上清の収集によって収集され得る。適宜、収集されたウイルス粒子は、所望される場合に精製されてもよい。好適な精製技術は当業者に周知である。

【0458】

トランスフェクションではなくウイルス感染の手段によるレトロウイルスまたはレンチ

10

20

30

40

50

ウイルスベクターを使用する遺伝子または他のポリヌクレオチド配列のデリバリーは、「形質導入」として参照される。一実施形態では、レトロウイルスベクターは、感染およびプロウイルス組込みを通じて細胞に形質導入される。ある特定の実施形態では、標的細胞、例えば、T細胞は、ウイルスまたはレトロウイルスベクターを使用する感染によって細胞にデリバリーされた遺伝子または他のポリヌクレオチド配列を含む場合に、「形質導入されている」。特定の実施形態では、形質導入された細胞は、その細胞ゲノム中にレトロウイルスまたはレンチウイルスベクターによってデリバリーされた1つまたはそれ以上の遺伝子または他のポリヌクレオチド配列を含む。

【0459】

特定の実施形態では、1つまたはそれ以上のポリペプチドを発現する本明細書に開示されているウイルスベクターを用いて形質導入された宿主細胞は、B細胞悪性腫瘍を治療および／または予防するために対象に投与される。本明細書におけるある特定の実施形態に従って利用され得る、遺伝子療法におけるウイルスベクターの使用に関する他の方法は、例えば、Kay, M. A. (1997) Chest 111(6 Supp.):138S-142S; Ferry, N. and Heard, J. M. (1998) Hum. Gene Ther. 9:1975-81; Shiratory, Y. et al. (1999) Liver 19:265-74; Oka, K. et al. (2000) Curr. Opin. Lipidol. 11:179-86; Thule, P. M. and Liu, J. M. (2000) Gene Ther. 7:1744-52; Yang, N. S. (1992) Crit. Rev. Biotechnol. 12:335-56; Alt, M. (1995) J. Hepatol. 23:746-58; Brody, S. L. and Crystal, R. G. (1994) Ann. N.Y. Acad. Sci. 716:90-101; Strayer, D. S. (1999) Expert Opin. Investig. Drugs 8:2159-2172; Smith-Arica, J. R. and Bartlett, J. S. (2001) Curr. Cardiol. Rep. 3:43-49; および Lee, H. C. et al. (2000) Nature 408:483-8において見出され得る。

【0460】

6. 7. 遺伝子改変された細胞

特定の実施形態では、本明細書に開示されるのは、腫瘍またはがんの治療における使用のための、本明細書で企図されるCARを発現するように遺伝子改変された細胞である。特定の実施形態では、本明細書に開示されるのは、B細胞関連状態の治療における使用のための本明細書で企図されるCARを発現するように遺伝子改変された細胞である。本明細書で使用される場合、「遺伝子操作された」または「遺伝子改変された」という用語は、細胞中の全遺伝材料への、DNAまたはRNAの形態の追加の遺伝材料の追加を指す。「遺伝子改変された細胞」、「改変された細胞」、および、「再指向された細胞」という用語は交換可能に使用される。本明細書で使用される場合、「遺伝子療法」という用語は、遺伝子の発現を回復させ、矯正し、もしくは改変するか、または治療用ポリペプチド、例えば、CARを発現させる目的のための、細胞中の全遺伝材料への、DNAまたはRNAの形態の追加の遺伝材料の導入を指す。

【0461】

特定の実施形態では、本明細書で企図されるCARは、免疫エフェクター細胞の特異性を目的の標的抗原、例えば、BCMAポリペプチドに再指向させるように該細胞に導入され、該細胞中で発現される。「免疫エフェクター細胞」は、1つまたはそれ以上のエフェクター機能（例えば、細胞傷害性細胞殺滅活性、サイトカインの分泌、ADCCおよび／またはCDCの誘導）を有する免疫系の任意の細胞である。

【0462】

本開示の免疫エフェクター細胞は、自己由来／自家（「自己」）または非自己由来（「非自己」、例えば、同種異系、同系もしくは異種）であり得る。

【0463】

「自家」は、本明細書で使用される場合、同じ対象からの細胞を指す。

【0464】

「同種」は、本明細書で使用される場合、比較される細胞と遺伝学的に異なる同じ種の細胞を指す。

【0465】

10

20

30

40

50

「同系」は、本明細書で使用される場合、比較される細胞と遺伝学的に同一の異なる対象の細胞を指す。

【0466】

「異種」は、本明細書で使用される場合、比較される細胞とは異なる種の細胞を指す。ある特定の実施形態では、本開示の細胞は同種である。

【0467】

本明細書で企図されるCARと共に使用される実例的な免疫エフェクター細胞はTリンパ球を含む。「T細胞」または「Tリンパ球」という用語は当技術分野で認識されており、胸腺細胞、未熟Tリンパ球、成熟Tリンパ球、静止Tリンパ球、または活性化Tリンパ球を含むことが意図される。T細胞は、ヘルパーT (Th) 細胞、例えばヘルパーT1 (Th1) またはヘルパーT2 (Th2) 細胞であり得る。T細胞は、ヘルパーT細胞 (HTL; CD4⁺ T細胞) CD4⁺ T細胞、細胞傷害性T細胞 (CTL; CD8⁺ T細胞)、CD4⁺CD8⁺ T細胞、CD4⁻CD8⁻ T細胞、またはT細胞の任意の他のサブセットであり得る。特定の実施形態における使用のために好適な他の実例的なT細胞の集団はナイーブT細胞およびメモリーT細胞を含む。

10

【0468】

当業者に理解されるように、他の細胞もまた、本明細書に記載されているCARと共に免疫エフェクター細胞として使用されてもよい。特に、免疫エフェクター細胞はまた、NK細胞、NKT細胞、好中球、およびマクロファージを含む。免疫エフェクター細胞はまた、エフェクター細胞の前駆細胞を含み、そのような前駆細胞は、インビボまたはインビトロで免疫エフェクター細胞に分化するように誘導され得る。そのため、特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、免疫エフェクター細胞の前駆細胞、例えば臍帯血、骨髄または動員された末梢血に由来する細胞のCD34⁺集団内に含有される造血幹細胞 (HSC) であって、対象における投与で成熟免疫エフェクター細胞に分化するか、または成熟免疫エフェクター細胞に分化するようにインビトロで誘導され得るものを含む。

20

【0469】

本明細書で使用される場合、BCMA特異的CARを含有するように遺伝子操作された免疫エフェクター細胞は、「BCMA特異的な再指向された免疫エフェクター細胞」として参照され得る。

【0470】

「CD34⁺細胞」という用語は、本明細書で使用される場合、その細胞表面上にCD34タンパク質を発現する細胞を指す。「CD34」は、本明細書で使用される場合、多くの場合に細胞-細胞接着因子として作用し、リンパ節へのT細胞エントランスに関与する細胞表面糖タンパク質 (例えば、シアロムチンタンパク質) を指す。CD34⁺細胞集団は造血幹細胞 (HSC) を含有し、HSCは、患者への投与で分化し、T細胞、NK細胞、NKT細胞、好中球および単球/マクロファージ系列の細胞を含む、すべての造血系列に寄与する。

30

【0471】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、本明細書で企図されるCARを発現する免疫エフェクター細胞を作製するための方法である。一実施形態では、方法は、個体から単離された免疫エフェクター細胞へのトランスフェクトまたは形質導入を行い、その結果、免疫エフェクター細胞が、本明細書に記載されている1つまたはそれ以上のCARを発現するようにする工程を含む。ある特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、個体から単離され、インビトロでのさらなる操作なしに遺伝子改変される。そのような細胞は次に、個体に直接的に再投与され得る。さらなる実施形態では、免疫エフェクター細胞は、CARを発現するように遺伝子改変される前に最初にインビトロで活性化され、増殖するように刺激される。これに関して、免疫エフェクター細胞は、遺伝子改変される (すなわち、本明細書で企図されるCARを発現させるために形質導入またはトランスフェクトされる) 前および/または後に培養されてもよい。

40

【0472】

50

特定の実施形態では、本明細書に記載される免疫エフェクター細胞のインビトロ操作または遺伝子改変の前に、細胞の供給源が対象から得られる。特定の実施形態では、CAR改変免疫エフェクター細胞はT細胞を含む。T細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染の部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、および腫瘍を含むが、これらに限定されない多数の供給源から得られ得る。ある特定の実施形態では、T細胞は、いくつもの当業者に公知の技術、例えば沈降、例えば、FICOLL（商標）分離を使用して対象から収集された血液の単位から得られ得る。一実施形態では、個体の循環する血液からの細胞はアフエーシスによって得られる。アフエーシス生成物は、典型的には、T細胞、単球、顆粒細胞、B細胞、他の有核白血球を含む、リンパ球、赤血球細胞、および血小板を含有する。一実施形態では、アフエーシスによって収集された細胞は、血漿画分を除去するためおよび引き続いての処理のために適切なバッファーまたは培地中に細胞を置くために洗浄されてもよい。細胞は、PBSを用いて、またはカルシウム、マグネシウム、および他のすべてではないにしてもほとんどの二価陽イオンを欠いた別の好適な溶液を用いて洗浄され得る。当業者に理解されるように、洗浄工程は、当業者に公知の方法によって、例えば半自動化フロースルー遠心分離機を使用することによって達成されてもよい。例えば、Cobe 2991 cell processor、またはBaxter CytoMateなど。洗浄後に、細胞は、様々な生体適合性のバッファー中にまたはバッファーを含むもしくは含まない他の食塩水溶液中に再懸濁されてもよい。ある特定の実施形態では、アフエーシス試料の望ましくない成分は、細胞を直接的に再懸濁された培養培地中で除去されてもよい。

10

20

【0473】

ある特定の実施形態では、T細胞は、赤血球細胞を溶解させ、および例えば、PERCOLL（商標）勾配を通じた遠心分離によって、単球を枯渇させることによって、末梢血単核細胞（PBMC）から単離される。以下のマーカー：CD3、CD28、CD4、CD8、CD45RA、およびCD45ROのうちの1つまたはそれ以上を発現する、T細胞の特定の亜集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離され得る。一実施形態では、CD3、CD28、CD4、CD8、CD45RA、およびCD45ROを発現するT細胞の特定の亜集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離される。例えば、陰性選択によるT細胞集団の濃縮は、陰性選択される細胞に独特の表面マーカーを指向する抗体の組合せを用いて達成され得る。本明細書における使用のための1つの方法は、陰性選択される細胞上に存在する細胞表面マーカーを指向するモノクローナル抗体のカクテルを使用する陰性磁気免疫接着またはフローサイトメトリーを介する細胞選別および／または選択である。例えば、陰性選択によってCD4⁺細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。フローサイトメトリーおよび細胞選別もまた、本開示による使用のための目的の細胞集団を単離するために使用されてもよい。

30

【0474】

PBMCは、本明細書で企図される方法を使用してCARを発現するように直接的に遺伝子改変されてもよい。ある特定の実施形態では、PBMCの単離後に、Tリンパ球はさらに単離され、ある特定の実施形態では、細胞傷害性Tリンパ球およびヘルパーTリンパ球の両方は、遺伝子改変および／または拡大増殖の前または後のいずれかにおいてナイーブ、メモリー、およびエフェクターT細胞亜集団に選別され得る。

40

【0475】

CD8⁺細胞は、標準的な方法を使用することによって得られ得る。一部の実施形態では、CD8⁺細胞は、ナイーブ、セントラルメモリー、およびエフェクター細胞に、それらの種類のCD8⁺細胞のそれぞれと関連する細胞表面抗原を同定することによってさらに選別される。

【0476】

ある特定の実施形態では、ナイーブCD8⁺ Tリンパ球は、CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127、およびCD45RAを含むナイーブT細胞の表現型マ

50

ーカーの発現によって特徴付けられる。

【0477】

特定の実施形態では、メモリーT細胞は、CD8⁺末梢血リンパ球のCD62L⁺サブセットおよびCD62L⁻サブセットの両方に存在する。PBMCは、抗CD8および抗CD62L抗体を用いた染色後にCD62L⁻CD8⁺およびCD62L⁺CD8⁺画分に選別される。一部の実施形態では、セントラルメモリーT細胞の表現型マーカーの発現は、CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3、およびCD127を含み、ならびにグランザイムBについて陰性である。一部の実施形態では、セントラルメモリーT細胞は、CD45RO⁺、CD62L⁺、CD8⁺T細胞である。

【0478】

一部の実施形態では、エフェクターT細胞は、CD62L、CCR7、CD28、およびCD127について陰性であり、ならびにグランザイムBおよびパーフォリンについて陽性である。

【0479】

ある特定の実施形態では、CD4⁺T細胞は亜集団にさらに選別される。例えば、CD4⁺Tヘルパー細胞は、細胞表面抗原を有する細胞集団を同定することによってナイーブ、セントラルメモリー、およびエフェクター細胞に選別され得る。CD4⁺リンパ球は、標準的な方法によって得られ得る。一部の実施形態では、ナイーブCD4⁺Tリンパ球は、CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺CD4⁺T細胞である。一部の実施形態では、セントラルメモリーCD4⁺細胞はCD62L陽性およびCD45RO陽性である。一部の実施形態では、エフェクターCD4⁺細胞はCD62LおよびCD45RO陰性である。

【0480】

免疫エフェクター細胞、例えばT細胞は、公知の方法を使用して単離後に遺伝子改変され得るか、または免疫エフェクター細胞は、遺伝子改変される前にインビトロで活性化および拡大増殖（もしくは前駆細胞の場合に分化）され得る。特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞、例えばT細胞は、本明細書で企図されるキメラ抗原受容体で遺伝子改変され（例えば、CARをコードする核酸を含むウイルスベクターを用いて形質導入され）、次にインビトロで活性化および拡大増殖される。様々な実施形態では、T細胞は、例えば、米国特許第6,352,694号明細書；同第6,534,055号明細書；同第6,905,680号明細書；同第6,692,964号明細書；同第5,858,358号明細書；同第6,887,466号明細書；同第6,905,681号明細書；同第7,144,575号明細書；同第7,067,318号明細書；同第7,172,869号明細書；同第7,232,566号明細書；同第7,175,843号明細書；同第5,883,223号明細書；同第6,905,874号明細書；同第6,797,514号明細書；同第6,867,041号明細書；および米国特許出願公開第20060121005号明細書に記載されている方法を使用して、CARを発現させるための遺伝子改変の前または後に活性化および拡大増殖され得る。

【0481】

一般に、T細胞は、CD3TCR複合体関連シグナルを刺激する剤およびT細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドを取り付けられた表面との接触によって拡大増殖される。T細胞集団は、表面上に固定化された抗CD3抗体、もしくはその抗原結合性断片、もしくは抗CD2抗体との接触によって、またはカルシウムイオノフォアと組み合わせてプロテインキナーゼC活性化剤（例えば、ブリオスタチン）との接触によって刺激されてもよい。T細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激もまた企図される。

【0482】

特定の実施形態では、PBMCまたは単離されたT細胞は、適切なサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、および／またはIL-15を含む培養培地中で、ビーズまたは他の表面に一般に取り付けられた、刺激剤および共刺激剤、例えば抗CD3および抗CD28抗体と接触される。CD4⁺T細胞またはCD8⁺T細胞のいずれかの増殖を刺激

するために、抗CD3抗体および抗CD28抗体。抗CD28抗体の例は、9.3、B-T3、XR-CD28 (Diациone、Besancon、France)を含み、これらは使用可能であり、当技術分野で一般的に公知の他の方法も使用され得る (Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9): 13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999)。同じビーズに取り付けられた抗CD3および抗CD28抗体は「代理」抗原提示細胞 (APC) として役立つ。他の実施形態では、T細胞は、米国特許第6040177号明細書；米国特許第5827642号明細書；および国際公開第2012129514号パンフレットに記載されている方法などの方法を使用してフィーダー細胞ならびに適切な抗体およびサイトカインを用いて活性化され、増殖のために刺激されてもよい。

10

【0483】

他の実施形態では、様々な共刺激分子およびサイトカインの安定的な発現および分泌を指向させるためにK562、U937、721.221、T2、およびC1R細胞を操作することによって人工的なAPC (aAPC) が作製される。特定の実施形態では、K32またはU32 aAPCは、AAPC細胞表面上の1つまたはそれ以上の抗体ベース刺激分子の提示を指向させるために使用される。aAPC上の遺伝子の様々な組合せの発現は、ヒトT細胞活性化要件の精密な決定を可能にし、その結果、aAPCは、特定の増殖要件および確固とした機能を有するT細胞サブセットの最適な繁殖のために適応され得る。aAPCは、天然のAPCの使用とは対照的に、外因性サイトカインの追加を要求することなく機能的なヒトCD8 T細胞のエキスポ増殖および長期拡大増殖をサポートする。T細胞の集団は、CD137L (4-1BBL)、CD134L (OX40L)、および／またはCD80またはCD86を含むが、これらに限定されない様々な共刺激分子を発現するaAPCによって拡大増殖され得る。最後に、aAPCは、遺伝子改変されたT細胞を拡大増殖するためおよびCD8 T細胞上のCD28発現を維持するための効率的なプラットフォームを提供する。国際公開第03/057171号パンフレットおよび米国特許出願公開第2003/0147869号明細書において提供されるaAPCは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0484】

一実施形態では、CD34⁺細胞は、本開示による核酸構築物を用いて形質導入される。ある特定の実施形態では、形質導入されたCD34⁺細胞は、対象、一般に細胞が元々単離された対象への投与後にインビボで成熟免疫エフェクター細胞に分化する。別の実施形態では、CD34⁺細胞は、以前に記載された方法 (Asheuer et al., 2004, PNAS 101(10):3557-3562; Imren, et al., 2004) に従って、以下のサイトカイン：FLT3リガンド (FLT3)、幹細胞因子 (SCF)、巨核球増殖および分化因子 (TPO)、IL-3ならびにIL-6のうちの1つまたはそれ以上を用いて、曝露の前に、または本明細書に記載されているCARで遺伝子改変された後にインビトロで刺激されてもよい。

30

【0485】

ある特定の実施形態では、本明細書で提供されるのは、腫瘍またはがんの治療のための改変された免疫エフェクター細胞の集団であって、改変された免疫エフェクター細胞が、本明細書に開示されているCARを含む、集団である。例えば、改変された免疫エフェクター細胞の集団は、本明細書に記載されるB細胞悪性腫瘍を有すると診断された患者 (自家ドナー) から得られた末梢血単核細胞 (PBMC) から調製される。PBMCは、CD4⁺、CD8⁺、またはCD4⁺およびCD8⁺であり得るTリンパ球の不均質集団を形成する。

40

【0486】

PBMCはまた、他の細胞傷害性リンパ球、例えばNK細胞またはNKT細胞を含むことができる。本明細書で企図されるCARのコード配列を有する発現ベクターは、ヒトドナーT細胞、NK細胞またはNKT細胞の集団に導入され得る。発現ベクターを有する成

50

功裏に形質導入されたT細胞は、CD3陽性T細胞を単離するためにフローサイトメトリーを使用して選別可能であり、次に、抗CD3抗体およびもしくは抗CD28抗体およびIL-2または本明細書の他の箇所において記載されている当技術分野で公知の任意の他の方法を使用する細胞活性化に加えて、これらのCARタンパク質発現T細胞の数を増加させるためにさらに繁殖され得る。貯蔵および／またはヒト対象における使用のための調製のために標準手順がCARタンパク質を発現するT細胞の凍結保存のために使用される。一実施形態では、T細胞のインビトロ形質導入、培養および／または拡大増殖は、非ヒト動物由来生成物、例えばウシ胎仔血清およびウシ胎仔血清 (fetal calf serum and fetal bovine serum) の非存在下で実施される。PBMCの不均質集団は遺伝子改変されるので、得られる形質導入された細胞は、本明細書で企図されているCAR (例えば、BCMA標的CAR) を含む改変された細胞の不均質集団である。

10

【0487】

さらなる実施形態では、例えば、1、2、3、4、5つまたはより多くの、異なる発現ベクターの混合物が、免疫エフェクター細胞のドナー集団の遺伝子改変において使用可能であり、それぞれのベクターは、本明細書で企図されている異なるキメラ抗原受容体タンパク質をコードする。得られる改変された免疫エフェクター細胞は、改変された細胞の混合された集団を形成し、ある比率の改変された細胞は1つより多くの異なるCARタンパク質を発現する。

【0488】

一実施形態では、本明細書で提供されるのは、BCMAタンパク質を標的とする遺伝子改変されたマウス、ヒトまたはヒト化CARタンパク質発現免疫エフェクター細胞を貯蔵する方法であって、免疫エフェクター細胞が解凍時に生存したままであるように該細胞を凍結保存する工程を含む、方法である。CARタンパク質を発現する免疫エフェクター細胞の画分は、腫瘍またはがんまたはB細胞関連状態に罹患した患者の将来的な治療のためのそのような細胞の永久的な供給源を提供するために当技術分野で公知の方法によって凍結保存され得る。必要な場合、凍結保存された形質転換された免疫エフェクター細胞は、解凍され、生育され、およびより多くのそのような細胞のために拡大増殖され得る。

20

【0489】

本明細書で使用される場合、「凍結保存する」は、零下の温度、例えば (典型的には) 77 Kまたは-196 °C (液体窒素の沸点) に冷却することによる細胞の保存を指す。凍結保護剤は、保存されている細胞が、低い温度での凍結または室温への温めに起因して損傷することから防止するために零下の温度において多くの場合に使用される。凍結保存剤および最適な冷却速度は細胞傷害からの保護が可能である。使用され得る凍結保護剤は、ジメチルスルホキシド (DMSO) (Lovelock and Bishop, Nature, 1959; 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, Nature, 1961; 190: 1204-1205)、グリセロール、ポリビニルピロリドン (Rinfret, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960; 85: 576)、およびポリエチレングリコール (Sloviter and Ravdin, Nature, 1962; 196: 48) を含むがこれらに限定されない。好ましい冷却速度は1 °C ~ 3 °C / 分である。少なくとも2時間後に、T細胞は-80 °Cの温度に達しており、長期極低温貯蔵容器中などでの永久的な貯蔵のために液体窒素 (-196 °C) に直接的に入れられ得る。

30

40

【0490】

6.8. T細胞製造プロセス

本明細書で企図される方法によって製造されたT細胞は、改善された養子免疫療法組成物を提供する。任意の特定の理論に捉われようとは思わないが、本明細書で企図される方法によって製造されたT細胞組成物は、生存の増大、分化の相対的非存在下での拡大増殖およびインビボでの持続性を含む優れた特性を有していると考えられる。一実施形態では、T細胞を製造する方法は、細胞を、PI3K細胞シグナル伝達経路をモジュレートする1つまたはそれ以上の薬剤と接触させる工程を含む。一実施形態では、T細胞を製造する方法は、細胞を、PI3K / Akt / mTOR細胞シグナル伝達経路をモジュレートする1つまたはそれ以上の薬剤と接触させる工程を含む。種々の実施形態では、T細胞は、任

50

意の供給源から取得し、製造プロセスの活性化および／または拡大増殖相の際に薬剤と接触させることができる。得られたT細胞組成物は、増殖し、以下のバイオマーカー：CD62L、CCR7、CD28、CD27、CD122、CD127、CD197およびCD38のうち1つまたはそれ以上を発現する能力を有する発生的に強力なT細胞において濃縮されている。一実施形態では、1つまたはそれ以上のPI3K阻害剤を用いて治療されているT細胞を含む細胞の集団は、以下のバイオマーカー：CD62L、CD127、CD197およびCD38のうち1つもしくは複数、またはすべてを同時発現するCD8+T細胞の集団について濃縮されている。

【0491】

一実施形態では、維持されたレベルの増殖および減少した分化を含む改変されたT細胞が製造される。特定の実施形態では、T細胞は、1つもしくは複数の刺激性シグナルおよびPI3K細胞シグナル伝達経路の阻害剤である薬剤の存在下でT細胞を刺激して、活性化にし、増殖させることによって製造される。

【0492】

次いで、T細胞をCAR（例えば、BCMA標的化CAR）を発現するように改変できる。一実施形態では、T細胞は、T細胞を、本明細書で企図されるCAR（例えば、抗BCMA CAR）を含むウイルスベクターで形質導入することによって改変される。ある特定の実施形態では、T細胞は、PI3K細胞シグナル伝達経路の阻害剤の存在下での刺激および活性化の前に改変される。別の実施形態では、T細胞は、PI3K細胞シグナル伝達経路の阻害剤の存在下での刺激および活性化後に改変される。特定の実施形態では、T細胞は、PI3K細胞シグナル伝達経路の阻害剤の存在下での刺激および活性化の12時間、24時間、36時間または48時間以内に改変される。

【0493】

T細胞が活性化された後、増殖させるために細胞が培養される。T細胞は、少なくとも1、2、3、4、5、6または7日間、少なくとも2週間、少なくとも1、2、3、4、5、または6カ月間またはそれより長く培養され、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10またはそれより多いラウンドの拡大増殖を有する場合がある。

【0494】

種々の実施形態では、T細胞組成物は、PI3K経路の1つまたはそれ以上の阻害剤の存在下で製造される。阻害剤は、経路における1つもしくは複数の活性またはシグナル活性を標的とし得る。任意の特定の理論に捉われようとは思わないが、製造プロセスの刺激、活性化、および／または拡大増殖相の間に、T細胞をPI3K経路の1つもしくは複数の阻害剤を用いて治療することまたはそれと接触させる工程は、若いT細胞を優先的に増大させ、それによって、優れた治療用T細胞組成物を生成すると企図される。

【0495】

特定の実施形態では、操作されたT細胞受容体を発現するT細胞の増殖を増大する方法が提供される。このような方法は、例えば、対象からT細胞の供給源を回収する工程、PI3K経路の1つまたはそれ以上の阻害剤の存在下でT細胞を刺激し、活性化する工程、CAR（例えば、抗BCMA CAR、より詳しくは、抗BCMA02 CAR）を発現するようにT細胞を改変する工程、およびT細胞を培養で拡大増殖させる工程を含み得る。

【0496】

ある特定の実施形態では、T細胞の集団を生成するための方法は、以下のバイオマーカー：CD62L、CCR7、CD28、CD27、CD122、CD127、CD197、およびCD38のうち1つまたはそれ以上の発現について濃縮した。一実施形態では、若いT細胞は、以下のバイオマーカー：CD62L、CD127、CD197、およびCD38のうち1つもしくは複数、またはすべてを含む。一実施形態では、CD57、CD244、CD160、PD-1、CTLA4、TIM3およびLAG3の発現を欠く若いT細胞が提供される。本明細書において別の場所で論じられるように、若いT細胞バイオマーカーの発現レベルは、より分化したT細胞または免疫エフェクター細胞集団における

このようなマーカーの発現レベルに対して相対的である。

【0497】

一実施形態では、末梢血単核細胞（P B M C）は、本明細書で企図されるT細胞製造法においてT細胞の供給源として使用される。P B M Cは、C D 4⁺、C D 8⁺、またはC D 4⁺およびC D 8⁺であり得るTリンパ球の不均一な集団を形成し、他の単核細胞、例えば、単球、B細胞、NK細胞およびNK T細胞を含む場合がある。本明細書で企図される操作されたT C RまたはC A Rをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、ヒトドナーT細胞、NK細胞またはNK T細胞の集団中に導入することができる。発現ベクターを保持する成功裏に形質導入されたT細胞は、抗C D 3抗体およびまたは抗C D 2 8抗体ならびにI L - 2、I L - 7および／またはI L - 1 5を使用する、または本明細書において別の場所に記載されるような当技術分野で公知の任意の他の方法を使用する細胞活性化に加えて、フローサイトメトリーを使用して選別し、C D 3陽性T細胞を単離し、次いで、さらに増殖させて改変されたT細胞数を増大できる。

10

【0498】

本明細書で企図される製造方法は、ヒト対象における使用のための保存および／または調製のための改変されたT細胞の凍結保存をさらに含み得る。T細胞は、細胞が解凍の際に生存可能なままであるように低温保存される。必要とされる時点で、低温保存された形質転換された免疫エフェクター細胞が、解凍され、増殖され、より多くのこのような細胞のために拡大増殖され得る。本明細書で使用される場合、「凍結保存すること」とは、ゼロ度未満の温度、例えば、（通常）77 Kまたは-196℃（液体窒素の沸点）へ冷却することによる細胞の保存を指す。凍結保護剤は、保存されている細胞を低温での凍結または室温への加温による損傷から防ぐためにゼロ度未満の温度で使用されることが多い。凍結保存剤および最適冷却速度は、細胞傷害に対して保護し得る。使用できる凍結保護剤として、それだけには限らないが、ジメチルスルホキシド（D M S O）（Lovelock and Bishop, Nature, 1959; 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, Nature, 1961; 190: 1204-1205）、グリセロール、ポリビニルピロリドン（Rinfret, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960; 85: 576）、およびポリエチレングリコール（Sloviter and Ravdin, Nature, 1962; 196: 48）が挙げられる。好ましい冷却速度は、1℃～3℃／分である。少なくとも2時間後、T細胞は、-80℃に到達し、例えば、長期低温貯蔵保存容器中で永久保存のために液体窒素中（-196℃）に直接入れることができる。

20

30

【0499】

6.9. T細胞

本開示は、改善されたC A R T細胞組成物の製造を企図する。C A R T細胞製造のために使用されるT細胞は、自己由来／自家（「自己」）または非自己由来（「非自己」、例えば、同種異系、同系または異種）であり得る。ある特定の実施形態では、T細胞は哺乳動物対象から得られる。より特定の実施形態では、T細胞は、霊長類対象から得られる。好ましい実施形態では、T細胞は、ヒト対象から得られる。

【0500】

T細胞は、それだけには限らないが、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染の部位からの組織、腹水、胸腔滲出液、脾臓組織および腫瘍を含むいくつかの供給源から得ることができる。ある特定の実施形態では、T細胞は、沈降、例えば、F I C O L L（商標）分離などの当業者に公知の任意の数の技術を使用して対象から収集された血液の単位から得ることができる。一実施形態では、個体の循環血液からの細胞は、アフエレーシスによって得られる。アフエレーシス生成物は、通常、T細胞、単球、顆粒球、B細胞を含むリンパ球、他の有核白血球細胞、赤血球および血小板を含有する。一実施形態では、アフエレーシスによって収集された細胞を洗浄して、血漿画分を除去し、細胞をその後の処理のための適切なバッファーまたは培地中に入れてもよい。細胞を、P B Sで、またはカルシウム、マグネシウム、およびほとんどの、すべてではないが他の二価カチオンを欠く別の適した溶液で洗浄することができる。当業者には理解されるであろうが、洗浄工程は、当業者に公知の方法によって、例えば、半自動化フロースルー遠心分

40

50

離機を使用することによって達成できる。例えば、C o b e 2991細胞プロセッサー、B a x t e r C y t o M a t e など。洗浄後、細胞を様々な生体適合性バッファーまたはバッファーを含むか含まない他の生理食塩水溶液で再懸濁してもよい。ある特定の実施形態では、アフエーシス試料の望ましくない構成成分は、細胞が直接再懸濁される培養培地で除去され得る。

【0501】

特定の実施形態では、本明細書で企図される製造方法においてT細胞を含む細胞の集団、例えば、P B M C が使用される。他の実施形態では、本明細書で企図される製造方法においてT細胞の単離または精製された集団が使用される。細胞は、赤血球を溶解し、例えば、P E R C O L L (商標) 勾配を介した遠心分離によって単球を枯渇させることによって末梢血単核細胞 (P B M C) から単離することができる。一部の実施形態では、P B M C の単離後、細胞傷害性およびヘルパーTリンパ球の両方を、活性化、拡大増殖および／または遺伝子改変の前または後のいずれかでナイーブ、メモリーおよびエフェクターT細胞亜集団に選別できる。

【0502】

以下のマーカー：C D 3、C D 4、C D 8、C D 28、C D 45 R A、C D 45 R O、C D 62、C D 127、およびH L A - D Rのうち1つまたはそれ以上を発現するT細胞の特定の亜集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離され得る。一実施形態では、(i) C D 62 L、C C R 7、C D 28、C D 27、C D 122、C D 127、C D 197；または(ii) C D 38もしくはC D 62 L、C D 127、C D 197、およびC D 38からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上を発現するT細胞の特定の亜集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離される。種々の実施形態では、製造されたT細胞組成物は、以下のマーカー：C D 57、C D 244、C D 160、P D - 1、C T L A 4、T I M 3、およびL A G 3のうち1つまたはそれ以上を発現しない、または実質的に発現しない。

【0503】

一実施形態では、C D 62 L、C D 127、C D 197、およびC D 38からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上の発現は、P I 3 K阻害剤を用いずに活性化および拡大増殖されたT細胞の集団と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍またはそれより多く増大される。

【0504】

一実施形態では、C D 57、C D 244、C D 160、P D - 1、C T L A 4、T I M 3、およびL A G 3からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上の発現は、P I 3 K阻害剤を用いて活性化および拡大増殖されたT細胞の集団と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍またはそれより多く減少される。

【0505】

一実施形態では、本明細書で企図される製造方法は、ナイーブまたは発生的に強力なT細胞の1つまたはそれ以上のマーカーを含むC A R T細胞数を増大する。任意の特定の理論に捉われようとは思わないが、本発明者らは、T細胞を含む細胞の集団を、1つまたはそれ以上のP I 3 K阻害剤を用いて治療することは、発生的に強力なT細胞の拡大増殖の増大をもたらし、既存のC A R T細胞療法と比較してより頑強な、有効な養子C A R T細胞免疫療法を提供すると考える。

【0506】

本明細書で企図される方法を使用して製造されたT細胞において増大されたナイーブまたは発生的に強力なT細胞のマーカーの実例として、それだけには限らないが、C D 62 L、C D 127、C D 197、およびC D 38が挙げられる。特定の実施形態では、ナイ

ープT細胞は、以下のマーカー：CD57、CD244、CD160、PD-1、BTLA、CD45RA、CTLA4、TIM3、およびLAG3のうち1つまたはそれ以上を発現しない、または実質的に発現しない。

【0507】

T細胞に関して、本明細書で企図される種々の拡大増殖方法論に起因するT細胞集団は利用される条件次第で様々な特定の表現型特性を有し得る。種々の実施形態では、拡大増殖されたT細胞集団は、以下の表現型マーカー：CD62L、CD127、CD197、CD38およびHLA-DRのうち1つまたはそれ以上を含む。

【0508】

一実施形態では、このような表現型マーカーは、CD62L、CD127、CD197およびCD38のうち1つもしくは複数、またはすべての発現の増強を含む。特定の実施形態では、CD62L、CD127、CD197およびCD38を含むナイーブT細胞の表現型マーカーの発現を特徴とするCD8⁺ Tリンパ球が拡大増殖される。

【0509】

特定の実施形態では、CD45RO、CD62L、CD127、CD197およびCD38を含むセントラルメモリーT細胞の表現型マーカーの発現を特徴とし、グランザイムBについて陰性であるT細胞が拡大増殖される。一部の実施形態では、セントラルメモリーT細胞は、CD45RO⁺、CD62L⁺、CD8⁺ T細胞である。

【0510】

ある特定の実施形態では、CD62Lを含むナイーブCD4⁺細胞の表現型マーカーの発現を特徴とし、CD45RAおよび／またはCD45ROの発現について陰性であるCD4⁺ Tリンパ球が拡大増殖される。一部の実施形態では、CD62Lを含むセントラルメモリーCD4⁺細胞の表現型マーカーの発現を特徴とし、CD45RO陽性であるCD4⁺細胞。一部の実施形態では、エフェクターCD4⁺細胞は、CD62L陽性およびCD45RO陰性である。

【0511】

ある特定の実施形態では、T細胞は、個体から単離され、インビトロで増殖するように活性化され、刺激され、その後、CAR（例えば、抗BCMA CAR）を発現するように遺伝子改変される。この関連で、T細胞は、遺伝子改変される（すなわち、本明細書で企図されるCAR、例えば、抗BCMA CARを発現するように形質導入またはトランスフェクトされる）前および／または後に培養され得る。

【0512】

6.9.1. 活性化および拡大増殖

T細胞組成物の十分な治療用量に達成するために、T細胞は、1または複数ラウンドの刺激、活性化および／または拡大増殖に付されることが多い。T細胞は、一般に、例えば、各々、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第6,352,694号；同6,534,055号；同6,905,680号；同6,692,964号；同5,858,358号；同6,887,466号；同6,905,681号；同7,144,575号；同7,067,318号；同7,172,869号；同7,232,566号；同7,175,843号；同5,883,223号；同6,905,874号；同6,797,514号；および同6,867,041号に記載されるような方法を使用して活性化され、拡大増殖され得る。CAR（例えば、抗BCMA CAR）を発現するように改変されたT細胞は、T細胞が改変される前および／または後に活性化され、拡大増殖され得る。さらに、T細胞は、活性化および／または拡大増殖の前、その間および／またはその後に、PI3K細胞シグナル伝達経路をモジュレートする1つまたはそれ以上の薬剤と接触させることができる。一実施形態では、本明細書で企図される方法によって製造されたT細胞は、1、2、3、4または5またはそれより多いラウンドの活性化および拡大増殖を起こし、その各々は、PI3K細胞シグナル伝達経路をモジュレートする1つまたはそれ以上の薬剤を含み得る。

【0513】

一実施形態では、共刺激リガンドは、T細胞上の同族共刺激分子に特異的に結合する抗原提示細胞（例えば、aAPC、樹状細胞、B細胞など）上に提示され、それによって、例えば、TCR／CD3複合体の結合によって提供される一次シグナルに加えて、所望のT細胞応答を媒介するシグナルを提供する。適した共刺激リガンドとして、それだけには限らないが、CD7、B7-1（CD80）、B7-2（CD86）、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、誘導性共刺激リガンド（ICOS-L）、細胞間接着分子（ICAM）、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、リンホトキシンベータ受容体、ILT3、ILT4、Tollリガンド受容体に結合するアゴニストまたは抗体およびB7-H3と特異的に結合するリガンドが挙げられる。

10

【0514】

特定の実施形態では、共刺激リガンドは、それだけには限らないが、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原1（LFA-1）、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、およびCD83と特異的に結合するリガンドを含む、T細胞上に存在する共刺激分子に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0515】

適した共刺激リガンドは、標的抗原をさらに含み、これは、可溶性形態で提供される場合も、改変されたT細胞上に発現された操作されたTCRまたはCARに結合するAPCまたはaAPC上に発現される場合もある。

20

【0516】

種々の実施形態では、本明細書で企図されるT細胞を製造するための方法は、T細胞を含む細胞の集団を活性化する工程およびT細胞の集団を拡大増殖する工程を含む。T細胞活性化は、T細胞TCR／CD3複合体を介した、またはCD2表面タンパク質の刺激による一次刺激シグナルを提供することによって、およびアクセサリー分子、例えば、CD28を介した二次共刺激シグナルを提供することによって達成され得る。

【0517】

TCR／CD3複合体は、T細胞に適したCD3結合剤、例えば、CD3リガンドまたは抗CD3モノクローナル抗体と接触させることによって刺激され得る。CD3抗体の実例として、それだけには限らないが、OKT3、G19-4、BC3および64.1が挙げられる。

30

【0518】

別の実施形態では、CD2結合剤を使用して、T細胞に一次刺激シグナルを提供できる。CD2結合剤の実例として、それだけには限らないが、CD2リガンドおよび抗CD2抗体、例えば、T11.1またはT11.2抗体と組み合わせたT11.3抗体（Meuer, S. C. et al. (1984) Cell 36:897-906）および9-1抗体と組み合わせた9.6抗体（TI 1.1と同一のエピトープを認識する）（Yang, S. Y. et al. (1986) J. Immunol. 137:1097-1100）が挙げられる。上記の抗体のいずれかと同一のエピトープに結合する他の抗体も使用できる。さらなる抗体または抗体の組合せは、本明細書において別の場所で開示されるような標準技術によって調製および同定できる。

40

【0519】

T細胞応答の誘導は、TCR／CD3複合体を介して、またはCD2によって提供された一次刺激シグナルに加えて、二次、共刺激シグナルを必要とする。特定の実施形態では、CD28結合剤を使用して共刺激シグナルを提供できる。CD28結合剤の実例として、それだけには限らないが、天然CD28リガンド、例えば、CD28の天然リガンド（例えば、タンパク質のB7ファミリーのメンバー、例えば、B7-1（CD80）およびB7-2（CD86）；および抗CD28モノクローナル抗体またはCD28分子と架橋可能なその断片、例えば、モノクローナル抗体9.3、B-T3、XR-CD28、KOLT-2、15E8、248.23.2およびEX5.3D10が挙げられる。

【0520】

50

一実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば、TCR／CD3複合体もしくはCD2を介して刺激を提供する分子および共刺激分子は、同一表面にカップリングされる。

【0521】

ある特定の実施形態では、刺激性および補助刺激性シグナルを提供する結合剤は、細胞の表面に位置付けられる。これは、細胞表面でのその発現に適した形態で結合剤をコードする核酸を用いて細胞をトランスフェクトまたは形質導入することによって、あるいは、結合剤を細胞表面にカップリングすることによって達成できる。

【0522】

別の実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば、TCR／CD3複合体またはCD2を介して刺激を提供する分子および共刺激分子は、抗原提示細胞上にディスプレイされる。

【0523】

一実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば、TCR／CD3複合体またはCD2を介して刺激を提供する分子および共刺激分子は、別個の表面上に提供される。

【0524】

ある特定の実施形態では、刺激性および補助刺激性シグナルを提供する結合剤の一方は、可溶性であり（溶液中で提供される）、他の薬剤（複数可）は、1つまたはそれ以上の表面上に提供される。

【0525】

特定の実施形態では、刺激性および補助刺激性シグナルを提供する結合剤は、両方とも可溶性形態で提供される（溶液中で提供される）。

【0526】

種々の実施形態では、本明細書で企図されるT細胞を製造するための方法は、T細胞を抗CD3および抗CD28抗体を用いて活性化する工程を含む。

【0527】

本明細書で企図される方法によって製造されたT細胞組成物は、PI3K細胞シグナル伝達経路を阻害する1つまたはそれ以上の薬剤の存在下で活性化および／または拡大増殖されたT細胞を含む。CAR（例えば、抗BCMA CAR）を発現するように改変されたT細胞は、T細胞が改変される前および／または後に活性化および拡大増殖され得る。特定の実施形態では、T細胞の集団は、CAR（例えば、抗BCMA CAR）を発現するように活性化され、改変され、次いで、拡大増殖のために培養される。

【0528】

一実施形態では、本明細書で企図される方法によって製造されたT細胞は、高い増殖能および自己複製する能力を示すマーカーを発現するが、T細胞分化のマーカーを発現しない、または検出不可能なマーカーを実質的に発現する、増大した数のT細胞を含む。これらのT細胞は、頑強な様式で反復して活性化および拡大増殖される場合があり、それによって、改善された治療用T細胞組成物を提供する。

【0529】

一実施形態では、PI3K細胞シグナル伝達経路を阻害する1つまたはそれ以上の薬剤の存在下で活性化および拡大増殖されたT細胞の集団は、PI3K阻害剤を用いずに活性化および拡大増殖されたT細胞の集団と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも250倍、少なくとも500倍、少なくとも1000倍、またはそれより多く拡大増殖される。

【0530】

一実施形態では、PI3K細胞シグナル伝達経路を阻害する1つまたはそれ以上の薬剤の存在下で活性化および拡大増殖されたマーカー若いT細胞の発現を特徴とするT細胞の

10

20

30

40

50

集団は、P I 3 K 阻害剤を用いずに活性化および拡大増殖された T 細胞の集団と比較して、少なくとも 1.5 倍、少なくとも 2 倍、少なくとも 3 倍、少なくとも 4 倍、少なくとも 5 倍、少なくとも 6 倍、少なくとも 7 倍、少なくとも 8 倍、少なくとも 9 倍、少なくとも 10 倍、少なくとも 25 倍、少なくとも 50 倍、少なくとも 100 倍、少なくとも 250 倍、少なくとも 500 倍、少なくとも 1000 倍、またはそれより多く拡大増殖される。

【0531】

一実施形態では、本明細書で企図される方法によって活性化された T 細胞を拡大増殖することは、T 細胞を含む細胞の集団を数時間（約 3 時間）～約 7 日間～約 28 日間またはその間の任意の時間単位の整数値の間培養することをさらに含む。別の実施形態では、T 細胞組成物は、14 日間培養され得る。特定の実施形態では、T 細胞は、約 21 日間培養される。別の実施形態では、T 細胞組成物は、約 2～3 日間培養される。数サイクルの刺激／活性化／拡大増殖が望ましい場合もあり、その結果、T 細胞の培養時間は、60 日またはそれより長い場合がある。

【0532】

特定の実施形態では、T 細胞培養にとって適切な条件は、適切な培地（例えば、最小必須培地または RPMI 培地 1640 または X-vivo 15、(Lonza)）およびそれだけには限らないが、血清（例えば、胎児ウシまたはヒト血清）、インターロイキン-2 (IL-2)、インスリン、IFN- γ 、IL-4、IL-7、IL-21、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β および TNF- α または当業者に公知の細胞の増殖に適した任意の他の添加物を含む、増殖および生存能にとって必要な 1 つまたはそれ以上の因子を含む。

【0533】

細胞培養培地のさらなる実例として、それだけには限らないが、血清不含であるか、または適切な量の血清（または血漿）もしくは定義されたホルモンのセットおよび／もしくは T 細胞の増殖および拡大増殖にとって十分なサイトカイン（複数可）の量を補給した、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウムおよびビタミンが添加された、RPMI 1640、Clicks、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo 15 および X-Vivo 20、Optimizer が挙げられる。

【0534】

T 細胞拡大増殖のための他の添加剤の実例として、それだけには限らないが、界面活性剤、ピアスマネート (piasmanate)、pH 緩衝液、例えば、HEPES および還元剤、例えば、N-アセチル-L-システイン および 2-メルカプトエタノールが挙げられる。

【0535】

抗生物質、例えば、ペニシリン および ストレプトマイシンは、実験的培養物においてのみ含まれ、対象中に注入される予定である細胞の培養物には含まれない。標的細胞は、増殖を支持するのに必要な条件、例えば、適切な温度（例えば、37℃）および雰囲気（例えば、大気および 5% CO₂）下で維持される。

【0536】

特定の実施形態では、PBMC または単離された T 細胞は、適切なサイトカイン、例えば、IL-2、IL-7 および／または IL-15 を有する培養培地中で、一般に、ビーズまたは他の表面に付着された刺激剤および共刺激剤、例えば、抗 CD3 および抗 CD28 抗体と接触される。

【0537】

他の実施形態では、人工 APC (aAPC) は、様々な共刺激分子およびサイトカインの安定な発現および分泌を指示するように K562、U937、721.221、T2 および C1R 細胞を操作することによって作製され得る。特定の実施形態では、K32 または U32 aAPC が、aAPC 細胞表面上での 1 つまたはそれ以上の抗体ベースの刺激分子のディスプレイを指示するために使用される。T 細胞の集団は、それだけには限らないが、CD137L (4-1BBL)、CD134L (OX40L) および／または CD

80またはCD86を含む様々な共刺激分子を発現するaAPCによって拡大増殖され得る。最後に、aAPCは、遺伝子改変されたT細胞を拡大増殖し、CD8T細胞上でのCD28発現を維持する効率的なプラットフォームを提供する。WO03/057171およびUS2003/0147869において提供されるaAPCは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0538】

6.9.2. 薬剤

種々の実施形態では、T細胞を細胞においてPI3K経路をモジュレートする薬剤と接触させる工程を含む、未分化の、または発生的に強力なT細胞を拡大増殖するT細胞を製造するための方法が提供される。種々の実施形態では、T細胞を細胞においてPI3K/AKT/mTOR経路をモジュレートする薬剤と接触させる工程を含む、未分化の、または発生的に強力なT細胞を拡大増殖するT細胞を製造するための方法が提供される。細胞は、活性化および拡大増殖の前に、その間におよび／またはその後に接触され得る。T細胞組成物は、分化の実質的な増大を伴わずに複数ラウンドの拡大増殖を受けることができるように十分なT細胞能力を保持する。

【0539】

本明細書で使用される場合、用語「モジュレートする」、「モジュレーター」または「モジュレート剤」または同等の用語は、細胞シグナル伝達経路の変化を誘発する薬剤の能力を指す。モジュレーターは、経路構成成分の量、活性を増大もしくは減少し得る、または細胞シグナル伝達経路の所望の効果もしくはアウトプットを増大もしくは減少し得る。一実施形態では、モジュレーターは阻害剤である。別の実施形態では、モジュレーターはアクチベーターである。

【0540】

「薬剤」とは、PI3K/AKT/mTOR経路のモジュレーションにおいて使用される化合物、小分子、例えば、小有機分子、核酸、ポリペプチドまたはその断片、アイソフォーム、バリエーション、アナログまたは誘導体を指す。

【0541】

「小分子」とは、約5kD未満、約4kD未満、約3kD未満、約2kD未満、約1kD未満または約.5kD未満の分子量を有する組成物を指す。小分子は、核酸、ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣薬、ペプトイド、炭水化物、脂質、その構成成分または他の有機もしくは無機分子を含み得る。化学的および／または生物学的混合物、例えば、真菌、細菌または藻類抽出物のライブラリーが当技術分野で公知であり、本開示のアッセイのいずれかをを用いてスクリーニングされ得る。分子ライブラリーの合成のための方法は、当技術分野で公知である（例えば、Carell et al., 1994a; Carell et al., 1994b; Cho et al., 1993; DeWitt et al., 1993; Gallop et al., 1994; Zuckermann et al., 1994を参照）。

【0542】

「アナログ」とは、本開示の所望の活性を有する化合物、ヌクレオチド、タンパク質またはポリペプチドまたは化合物と同様または同一の活性または機能（複数可）を有するが、好ましい実施形態の配列または構造と同様または同一である配列または構造を必ずしも含む必要はない小有機化合物、ヌクレオチド、タンパク質またはポリペプチドを指す。

【0543】

「誘導体」とは、アミノ酸残基置換、欠失もしくは付加の導入によって変更されている親タンパク質またはポリペプチドのアミノ酸配列を含む化合物、タンパク質またはポリペプチド、またはヌクレオチド置換もしくは欠失、付加もしくは突然変異のいずれか導入によって改変されている核酸もしくはヌクレオチドを指す。誘導体核酸、ヌクレオチド、タンパク質またはポリペプチドは、親ポリペプチドと同様または同一の機能を有する。

【0544】

種々の実施形態では、PI3K経路をモジュレートする薬剤は、経路の構成成分を活性化する。「アクチベーター」または「アゴニスト」とは、制限するものではないが、PI

10

20

30

40

50

3 Kの1つまたはそれ以上の活性を阻害する分子を含む、PI3K/AKT/mTOR経路における分子の1つまたはそれ以上の活性を促進する、増大する、または誘導する薬剤を指す。

【0545】

種々の実施形態では、PI3K経路をモジュレートする薬剤は、経路の構成成分を阻害する。「阻害剤」または「アンタゴニスト」とは、制限するものではないが、PI3Kを含む、PI3K経路における分子の1つまたはそれ以上の活性を阻害する、減少させる、または低減する薬剤を指す。一実施形態では、阻害剤は、二重分子阻害剤である。特定の実施形態では、阻害剤は、同一または実質的に同様の活性を有する分子のクラスを阻害し得る（汎阻害剤）、または分子の活性を特異的に阻害し得る（選択的または特異的阻害剤）。阻害はまた、不可逆性または可逆性であり得る。

10

【0546】

一実施形態では、阻害剤は、少なくとも1 nM、少なくとも2 nM、少なくとも5 nM、少なくとも10 nM、少なくとも50 nM、少なくとも100 nM、少なくとも200 nM、少なくとも500 nM、少なくとも1 μM、少なくとも10 μM、少なくとも50 μMまたは少なくとも100 μMのIC50を有する。IC50決定は、当技術分野で公知の任意の従来技術を使用して達成できる。例えば、IC50は、ある範囲の濃度の研究下の阻害剤の存在下で、所与の酵素の活性を測定することによって決定できる。酵素活性の実験的に得られた値を、次いで、使用された阻害剤濃度に対してプロットする。50%の酵素活性（任意の阻害剤の不在下での活性と比較して）を示す阻害剤の濃度を、「IC50」値ととる。類似して、活性の適切な決定によって他の阻害濃度を定義できる。

20

【0547】

種々の実施形態では、T細胞は、少なくとも1 nM、少なくとも2 nM、少なくとも5 nM、少なくとも10 nM、少なくとも50 nM、少なくとも100 nM、少なくとも200 nM、少なくとも500 nM、少なくとも1 μM、少なくとも10 μM、少なくとも50 μM、少なくとも100 μMまたは少なくとも1 Mの濃度のPI3K経路の1つまたはそれ以上のモジュレーターと接触される、またはそれを用いて治療される、またはそれと共に培養される。

【0548】

特定の実施形態では、T細胞は、少なくとも12時間、18時間、少なくとも1、2、3、4、5、6、または7日間、少なくとも2週間、少なくとも1、2、3、4、5、または6カ月またはそれより長く、PI3K経路の1つまたはそれ以上のモジュレーターと接触され、またはそれを用いて治療され、またはそれと共に培養され、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10またはそれより多いラウンドの拡大増殖を有する場合がある。

30

【0549】

6.9.3. PI3K/Akt/mTOR経路

ラパマイシン経路のホスファチジル-イノシトール-3キナーゼ/Akt/哺乳動物標的は、増殖因子シグナル伝達を、細胞増殖、分化、代謝および生存と統合するための導管として働く。PI3Kは、高度に保存された細胞内脂質キナーゼのファミリーである。クラスIA PI3Kは、増殖因子受容体チロシンキナーゼ(RTK)によって、直接的に、またはアダプター分子のインスリン受容体基質ファミリーとの相互作用を介して活性化される。この活性は、セリン/トレオニンキナーゼAktのレギュレーターであるホスファチジル-イノシトール-3, 4, 5-トリホスフェート(PIP3)の生成をもたらす。mTORは、各々、別個の活性を与える結合パートナーを特徴とする、2つの別個の複合体による標準的なPI3K経路を介して作用する。mTORC1(PRAS40、rapTORおよびmLST8/GβLとの複合体中のmTOR)は、PI3K/Aktシグナル伝達の下流エフェクターとして作用し、増殖因子シグナルを、タンパク質翻訳、細胞増殖、増殖および生存と関連付ける。mTORC2(riCTOR、mSIN1、proTORおよびmLST8との複合体中のmTOR)は、Aktの上流アクチベーターとし

40

50

て作用する。

【0550】

PI3Kの増殖因子受容体によって媒介された活性化の際、Aktは、PIP3とのそのプレクストリン相同性ドメインの相互作用を介して膜に補充され、したがって、その活性化ループを露出させ、構成的に活性なホスホイノシチド依存性タンパク質キナーゼ1 (PDK1) によるトレオニン308 (Thr308) でのリン酸化を可能にする。最大活性化のために、Aktはまた、そのC末端疎水性モチーフのセリン473 (Ser473) でmTORC2によってリン酸化される。DNA-PKおよびHSPはまた、Akt活性の調節において重要であると示されている。Aktは、TSC2の阻害性リン酸化を介してmTORC1を活性化し、これは、TSC1と共に、mTORC1の正のレギュレーターであるRheb GTPアーゼを阻害することによって、mTORC1を負に調節する。mTORC1は、2つの十分に定義された基質、p70S6K (本明細書において以下、S6K1と呼ばれる) および4E-BP1を有し、それらの両方ともタンパク質合成を決定的に調節する。したがって、mTORC1は、PI3Kの重要な下流エフェクターであり、増殖因子シグナル伝達をタンパク質翻訳および細胞増殖と関連付ける。

10

【0551】

6.9.4. PI3K阻害剤

本明細書で使用される場合、用語「PI3K阻害剤」とは、PI3Kに結合し、その少なくとも1つの活性を阻害する核酸、ペプチド、化合物または小有機分子を指す。PI3Kタンパク質は、3つのクラス、クラス1 PI3K、クラス2 PI3Kおよびクラス3 PI3Kに分けることができる。クラス1 PI3Kは、4つのp110触媒サブユニット (p110 α 、p110 β 、p110 δ およびp110 γ) のうち1つおよび調節サブユニットの2つのファミリーのうち1つからなるヘテロ二量体として存在する。特定の実施形態では、本開示のPI3K阻害剤は、クラス1 PI3K阻害剤を標的とする。一実施形態では、PI3K阻害剤は、クラス1 PI3K阻害剤の1つまたはそれ以上のアイソフォームに対する選択性 (すなわち、p110 α 、p110 β 、p110 δ およびp110 γ またはp110 α 、p110 β 、p110 δ およびp110 γ のうち1つもしくは複数に対する選択性) を示すであろう。別の態様では、PI3K阻害剤は、アイソフォーム選択性を示さず、「汎PI3K阻害剤」と考えられる。一実施形態では、PI3K阻害剤は、PI3K触媒ドメインへの結合についてATPと競合する。

20

30

【0552】

ある特定の実施形態では、PI3K阻害剤は、例えば、PI3KならびにPI3K-AKT-mTOR経路中のさらなるタンパク質を標的とし得る。特定の実施形態では、mTORおよびPI3Kの両方を標的とするPI3K阻害剤は、mTOR阻害剤またはPI3K阻害剤のいずれかと呼ばれる場合がある。PI3Kのみを標的とするPI3K阻害剤は、選択的PI3K阻害剤と呼ばれる場合がある。一実施形態では、選択的PI3K阻害剤は、mTORおよび／または経路中の他のタンパク質に関する阻害剤のIC50よりも、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも30倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも1000倍またはそれよりも多く低いPI3Kに関する50%阻害濃度を示す薬剤を指すと理解することができる。

40

【0553】

特定の実施形態では、例となるPI3K阻害剤は、約200 nM以下、好ましくは、約100 nM以下、さらにより好ましくは、約60 nM以下、約25 nM、約10 nM、約5 nM、約1 nM、100 μ M、50 μ M、25 μ M、10 μ M、1 μ Mまたはそれより小さいIC50 (活性の50%を阻害する濃度) でPI3Kを阻害する。一実施形態では、PI3K阻害剤は、約2 nM～約100 nM、より好ましくは、約2 nM～約50 nM、さらにより好ましくは、約2 nM～約15 nMのIC50でPI3Kを阻害する。

【0554】

本明細書で企図されるT細胞製造方法において使用するのに適したPI3K阻害剤の実例として、それだけには限らないが、BKM120 (クラス1 PI3K阻害剤、Nov

50

artis)、XL147(クラス1 PI3K阻害剤、Exelixis)、(汎PI3K阻害剤、GlaxoSmithKline)およびPX-866(クラス1 PI3K阻害剤;p110 α 、p110 β およびp110 γ アイソフォーム、Oncothyreon)が挙げられる。

【0555】

選択的PI3K阻害剤の他の実例として、それだけには限らないが、BYL719、GSK2636771、TGX-221、AS25242、CAL-101、ZSTK474およびIPI-145が挙げられる。

【0556】

汎PI3K阻害剤のさらなる実例として、それだけには限らないが、BEZ235、LY294002、GSK1059615、TG100713およびGDC-0941が挙げられる。

【0557】

6.9.5. AKT阻害剤

本明細書で使用される場合、用語「AKT阻害剤」とは、AKTの少なくとも1つの活性を阻害する核酸、ペプチド、化合物または小有機分子を指す。AKT阻害剤は、脂質ベースの阻害剤(例えば、AKTが細胞膜に局在化することを妨げるAKTのプレクストリン相同性ドメインを標的とする阻害剤)、ATP競合阻害剤およびアロステリック阻害剤を含むいくつかのクラスにグループ化できる。一実施形態では、AKT阻害剤は、AKT触媒部位への結合によって作用する。特定の実施形態では、Akt阻害剤は、下流AKT標的、例えば、mTORのリン酸化を阻害することによって作用する。別の実施形態では、AKT活性は、例えば、AKTのDNA-PK活性化、AKTのPDK-1活性化および/またはAktのmTORC2活性化を阻害することによってAktを活性化するためのインプットシグナルを阻害することによって阻害される。

【0558】

AKT阻害剤は、3種のAKTアイソフォームすべて、AKT1、AKT2、AKT3を標的とすることができ、またはアイソフォーム選択的であり、AKTアイソフォームのうち1つまたは2つのみを標的とする場合もある。一実施形態では、AKT阻害剤は、AKTならびにPI3K-AKT-mTOR経路中のさらなるタンパク質を標的とすることができる。AKTのみを標的とするAKT阻害剤は、選択的AKT阻害剤と呼ばれる場合がある。一実施形態では、選択的AKT阻害剤は、経路中の他のタンパク質に関する阻害剤のIC50よりも、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも30倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも1000倍またはそれより多く低いAKTに関する50%阻害濃度を示す薬剤を指すと理解することができる。

【0559】

特定の実施形態では、例となるAKT阻害剤は、約200nM以下、好ましくは、約100nM以下、さらにより好ましくは、約60nM以下、約25nM、約10nM、約5nM、約1nM、100 μ M、50 μ M、25 μ M、10 μ M、1 μ Mまたはそれより小さいIC50(活性の50%を阻害する濃度)でAKTを阻害する。一実施形態では、AKTは、約2nM~約100nM、より好ましくは、約2nM~約50nM、さらにより好ましくは、約2nM~約15nMのIC50でAKTを阻害する。

【0560】

アウリスタチンベースの抗体-薬物コンジュゲートと組み合わせて使用するためのAKT阻害剤の実例として、例えば、ペリフォシン(Keryx)、MK2206(Merck)、VQD-002(VioQuest)、XL418(Exelixis)、GSK690693、GDC-0068およびPX316(PROLX Pharmaceuticals)が挙げられる。

【0561】

選択的Akt1阻害剤の非限定な実例として、A-674563がある。

【0562】

10

20

30

40

50

選択的 A k t 2 阻害剤の非限定な実例として、C C T 1 2 8 9 3 0 がある。

【0563】

特定の実施形態では、A k t 阻害剤 A k t の D N A - P K 活性化、A k t の P D K - 1 活性化、A k t の m T O R C 2 活性化または A k t の H S P 活性化。

【0564】

D N A - P K 阻害剤の実例として、それだけには限らないが、N U 7 4 4 1、P I - 1 0 3、N U 7 0 2 6、P I K - 7 5 および P P - 1 2 1 が挙げられる。

【0565】

6. 9. 6. m T O R 阻害剤

用語「m T O R 阻害剤」または「m T O R を阻害する薬剤」とは、その基質（例えば、p 7 0 S 6 キナーゼ 1、4 E - B P 1、A K T / P K B および e E F 2）の少なくとも 1 つに対する m T O R タンパク質の少なくとも 1 つの活性、例えば、セリン / トレオニンタンパク質キナーゼ活性などを阻害する核酸、ペプチド、化合物または小有機分子を指す。m T O R 阻害剤は、m T O R C 1、m T O R C 2 または m T O R C 1 および m T O R C 2 の両方に直接的に結合し、阻害できる。

【0566】

m T O R C 1 および / または m T O R C 2 活性の阻害は、P I 3 K / A k t / m T O R 経路のシグナル伝達の低減によって決定できる。多種多様なリードアウトを利用して、このようなシグナル伝達経路のアウトプットの低減を確立できる。いくつかの限定されない例となるリードアウトとして、（1）それだけには限らないが、5 4 7 3 および T 3 0 8 を含む残基での A k t のリン酸化の減少；（2）例えば、それだけには限らないが、F o x 0 1 / O 3 a T 2 4 / 3 2、G S K 3 a / β ; S 2 1 / 9 および T S C 2 T 1 4 6 2 を含む A k t 基質のリン酸化の低減によって証明されるような、A k t の活性化の減少；（3）それだけには限らないが、リボソーム S 6 S 2 4 0 / 2 4 4、7 0 S 6 K T 3 8 9 および 4 E B P 1 T 3 7 / 4 6 を含む、m T O R のシグナル伝達分子下流のリン酸化の減少；ならびに（4）がん性細胞の増殖の阻害が挙げられる。

【0567】

一実施形態では、m T O R 阻害剤は、活性部位阻害剤である。これらは、m T O R の A T P 結合部位（A T P 結合ポケットとも呼ばれる）に結合し、m T O R C 1 および m T O R C 2 両方の触媒活性を阻害する m T O R 阻害剤である。本明細書で企図される T 細胞製造方法において使用するのに適した活性部位阻害剤の 1 つのクラスは、P I 3 K および m T O R の両方を標的とし、直接的に阻害する二重特異性阻害剤である。二重特異性阻害剤は、m T O R および P I 3 K の A T P 結合部位両方に結合する。このような阻害剤の実例として、それだけには限らないが、イミダゾキナゾリン、ワートマニン、L Y 2 9 4 0 0 2、P I - 1 0 3（C a y m a n C h e m i c a l）、S F 1 1 2 6（S e m a f o r e）、B G T 2 2 6（N o v a r t i s）、X L 7 6 5（E x e l i x i s）および N V P - B E Z 2 3 5（N o v a r t i s）が挙げられる。

【0568】

本明細書で企図される方法において使用するのに適した別のクラスの m T O R 活性部位阻害剤は、1 つまたはそれ以上の I 型ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ、例えば、P I 3 キナーゼ α 、 β 、 γ または δ に対して、m T O R C 1 および m T O R C 2 活性を選択的に阻害する。これらの活性部位阻害剤は、m T O R の活性部位に結合するが、P I 3 K には結合しない。このような阻害剤の実例として、それだけには限らないが、ピラゾロピリミジン、T o r i n 1（G u e r t i n a n d S a b a t i n i）、P P 2 4 2（2 -（4 - アミノ - 1 - イソプロピル - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - d] ピリミジン - 3 - イル） - 1 H - インドール - 5 - オール）、P P 3 0、K u - 0 0 6 3 7 9 4、W A Y - 6 0 0（W y e t h）、W A Y - 6 8 7（W y e t h）、W A Y - 3 5 4（W y e t h）および A Z D 8 0 5 5（L i u e t a l., N a t u r e R e v i e w, 8, 6 2 7 - 6 4 4, 2 0 0 9）が挙げられる。

【0569】

10

20

30

40

50

一実施形態では、選択的mTOR阻害剤とは、I型PI3キナーゼのうち1、2、3またはそれより多くのI型PI3キナーゼまたはすべてに関する阻害剤のIC50よりも、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも1000倍またはそれよりも多く低いmTORC1および／またはmTORC2に関する50%阻害濃度（IC50）を示す薬剤を指す。

【0570】

本開示において使用するための別のクラスのmTOR阻害剤は、「ラパログ（rapalog）」と本明細書において呼ばれる。本明細書で使用される場合、用語「ラパログ」は、mTOR FRBドメイン（FKBPラパマイシン結合ドメイン）に特異的に結合し、ラパマイシンと構造的に関連し、mTOR阻害特性を保持する化合物を指す。用語ラパログは、ラパマイシンを含まない。ラパログには、ラパマイシンのエステル、エーテル、オキシム、ヒドラゾンおよびヒドロキシルアミンならびに例えば、還元または酸化によってラパマイシンコア構造上の官能基が改変されている化合物が含まれる。このような化合物の薬学的に許容される塩も、ラパマイシン誘導体であると考えられる。本明細書で企図される方法において使用するのに適したラパログの実例として、制限するものではないが、テムシロリムス（CC1779）、エベロリムス（RAD001）、デフォロリムス（AP23573）、AZD8055（AstraZeneca）およびOSI-027（OSI）が挙げられる。

【0571】

一実施形態では、薬剤は、mTOR阻害剤ラパマイシン（シロリムス）である。

【0572】

特定の実施形態では、本明細書において使用するための例となるmTOR阻害剤は、約200nM以下、好ましくは、約100nM以下、さらにより好ましくは、約60nM以下、約25nM、約10nM、約5nM、約1nM、100μM、50μM、25μM、10μM、1μMまたはそれより小さいIC50（活性の50%を阻害する濃度）で、mTORC1、mTORC2またはmTORC1およびmTORC2の両方のいずれかを阻害する。一態様では、本明細書において使用するためのmTOR阻害剤は、約2nM～約100nM、より好ましくは、約2nM～約50nM、さらにより好ましくは、約2nM～約15nMのIC50で、mTORC1、mTORC2またはmTORC1およびmTORC2の両方のいずれかを阻害する。

【0573】

一実施形態では、例となるmTOR阻害剤は、約200nM以下、好ましくは、約100nM以下、さらにより好ましくは、約60nM以下、約25nM、約10nM、約5nM、約1nM、100μM、50μM、25μM、10μM、1μMまたはそれより小さいIC50（活性の50%を阻害する濃度）で、PI3KおよびmTORC1もしくはmTORC2またはmTORC1およびmTORC2の両方およびPI3Kのいずれかを阻害する。一態様では、本明細書において使用するためのmTOR阻害剤は、約2nM～約100nM、より好ましくは、約2nM～約50nM、さらにより好ましくは、約2nM～約15nMのIC50で、PI3KおよびmTORC1もしくはmTORC2またはmTORC1およびmTORC2の両方およびPI3Kを阻害する。

【0574】

本明細書で企図される特定の実施形態における使用に適したmTOR阻害剤のさらなる実例として、それだけには限らないが、AZD8055、INK128、ラパマイシン、PF-04691502およびエベロリムスが挙げられる。

【0575】

mTORは、ウエスタンブロッティングにおいてリン光体特異的抗体によって測定されるような、生理学的基質タンパク質、p70S6リボソームタンパク質キナーゼI（p70S6K1）およびeIF4E結合タンパク質1（4EBP1）に向けた、頑強な、特定の触媒活性を実証すると示されている。

【0576】

10

20

30

40

50

一実施形態では、PI3K/AKT/mTOR経路の阻害剤は、BI-D1870、H89、PF-4708671、FMKおよびAT7867からなる群から選択されるs6キナーゼ阻害剤である。

【0577】

6.10. 組成物および製剤

本明細書で企図される組成物は、本明細書で企図されるような、同一の遺伝子改変された免疫エフェクター細胞などを含む、1つまたはそれ以上のポリペプチド、ポリヌクレオチド、ベクターを含み得る。組成物には、それだけには限らないが、医薬組成物が含まれる。「医薬組成物」とは、単独で、または1つもしくは複数の他の治療モダリティと組み合わせて細胞または動物へ投与するための、薬学的に許容されるまたは生理学的に許容される溶液中で製剤化された組成物を指す。必要に応じて、本開示の組成物は、同様に他の薬剤、例えば、サイトカイン、増殖因子、ホルモン、小分子、化学療法薬、プロドラッグ、薬物、抗体または他の種々の薬学的に活性な薬剤などと組み合わせて投与され得るということは理解されるであろう。さらなる薬剤が意図される療法をデリバリーする組成物の能力に悪影響を及ぼさない限り、組成物中に同様に含まれ得る他の構成成分には実質的に制限はない。

【0578】

語句「薬学的に許容される」は、合理的な利益／リスク比に見合った、過剰の毒性、刺激作用、アレルギー反応または他の問題または合併症を伴わない、ヒトおよび動物の組織との接触において使用するのに適した、正当な医学的判断の範囲内にある化合物、材料、組成物および／または投与形を指すように本明細書において使用される。

【0579】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤」は、制限するものではないが、ヒトまたは飼育動物において使用するために許容されていると米国食品医薬品局によって承認されている、任意のアジュバント、担体、賦形剤、流動促進剤、甘味剤、希釈剤、防腐剤、色素／着色剤、香味料エンハンサー、界面活性剤、湿潤剤、分散剤、沈殿防止剤、安定剤、等張剤、溶媒、界面活性剤または乳化剤を含む。例となる薬学的に許容される担体として、それだけには限らないが、糖、例えば、ラクトース、グルコースおよびスクロース；デンプン、例えば、トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプン；セルロースおよびその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよびセルロースアセテート；トラガント；麦芽；ゼラチン；タルク；ココアバター、ワックス、動物および植物性脂肪、パラフィン、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、酸化亜鉛；油状物、例えば、ピーナッツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油およびダイズ油；グリコール、例えば、プロピレングリコール；ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコール；エステル、例えば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；寒天；緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム；アルギン酸；発熱物質不含水；等張性生理食塩水；リンゲル溶液；エチルアルコール；リン酸バッファー溶液；および医薬品製剤中に使用される任意の他の適合する物質が挙げられる。

【0580】

特定の実施形態では、本明細書で提示される組成物は、ある量の本明細書で企図されるCARを発現する免疫エフェクター細胞を含む。本明細書で使用される場合、用語「量」とは、臨床結果を含む、有益なまたは所望の予防的または治療的結果を達成するための、遺伝子改変された治療用細胞、例えば、T細胞の「有効な量」または「有効量」を指す。

【0581】

「予防的有効量」とは、所望の予防的結果を達成するために有効な、遺伝子改変された治療用細胞の量を指す。通常、必ずしもではないが、予防的用量は、疾患の前に、または疾患のより早期段階で対象において使用されるので、予防的有効量は治療有効量未満である。

【0582】

遺伝子改変された治療用細胞の「治療有効量」とは、個体の疾患段階、年齢、性別および体重などの因子ならびに個体において所望の応答を誘発する幹細胞および前駆細胞の能力に従って変わり得る。治療有効量はまた、治療上有益な効果が、ウイルスまたは形質導入された治療用細胞の任意の毒性または有害な効果を上回るものである。用語「治療有効量」は、対象（例えば、患者）を「治療する」ために有効である量を含む。治療量が示される場合には、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍サイズ、感染または転移の程度および状態における個々の相違を考慮して医師によって投与されるべき本開示の組成物の正確な量を決定できる。一般に、本明細書に記載されるT細胞を含む医薬組成物は、それらの範囲内のすべての整数値を含む、 $10^2 \sim 10^{10}$ 細胞/kg体重、好ましくは、 $10^5 \sim 10^6$ 細胞/kg体重の投与量で投与できると述べるができる。細胞の数は、組成物に含まれる細胞の種類と同様に、組成物が意図される最終使用に応じて変わる。本明細書で提供される使用のためには、細胞は、一般に、1リットル以下の容量である、500mL以下、さらには250mLまたは100mLまたはそれより少ないものであり得る。したがって、所望の細胞の密度は、通常、 10^6 細胞/mLより大きく、一般に、 10^7 細胞/mLより大きく、一般に、 10^8 細胞/mLまたはそれより大きい。免疫細胞の臨床上適切な数を、累積して 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} または 10^{12} 細胞に等しい、またはそれを超える複数回の注入に配分することができる。一部の態様では、特に、すべての注入された細胞が特定の標的抗原（例えば、 κ または λ 軽鎖）にリダイレクトされるので、 10^6 /キログラム（患者当たり $10^6 \sim 10^{11}$ 個）の範囲のより少ない数の細胞が投与され得る。CARを発現する細胞組成物は、これらの範囲内の投与量で複数回投与され得る。細胞は、療法を受けている患者にとって同種異系の、同系、異種の、または自己である場合がある。必要に応じて、治療はまた、免疫応答の誘導を増強するために本明細書に記載されるように、マイトジェン（例えば、PHA）またはリンホカイン、サイトカインおよび／またはケモカイン（例えば、IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF- α 、IL-18およびTNF- β 、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 α など）の投与も含み得る。

10

20

【0583】

一般に、本明細書に記載されるような活性化され、拡大増殖された細胞を含む組成物を、免疫低下している個体において生じる疾患の治療および予防において利用できる。特に、本明細書で企図されるCAR改変T細胞を含む組成物は、腫瘍もしくはがんの治療において、またはB細胞悪性腫瘍の治療において使用される。本開示のCAR改変T細胞は、単独で、または担体、希釈剤、賦形剤と、および／または他の構成成分、例えば、IL-2もしくは他のサイトカインもしくは細胞集団と組み合わせて医薬組成物としてのいずれかで投与され得る。特定の実施形態では、本明細書で企図される医薬組成物は、1つまたはそれ以上の薬学的にまたは生理学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と組み合わせて、ある量の遺伝子改変されたT細胞を含む。

30

【0584】

CARを発現する免疫エフェクター細胞集団、例えば、T細胞を含む本開示の医薬組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などといったバッファー；炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン、マンニトール；タンパク質；ポリペプチドまたはアミノ酸、例えば、グリシン；抗酸化物質；キレート化剤、例えば、EDTAまたはグルタチオン；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；および保存料を含み得る。ある特定の態様では、本開示の組成物は、非経口投与、例えば、血管内（静脈内または動脈内）、腹腔内または筋肉内投与のために製剤化される。

40

【0585】

液体医薬組成物は、それらが溶液、懸濁液または他の同様の形態であろうと、以下：滅菌希釈剤、例えば、注射用水、生理食塩溶液、好ましくは、生理食塩水、リンゲル溶液、等張性塩化ナトリウム、固定油、例えば、溶媒または懸濁媒体として働く合成モノまたはジグリセリド、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の

50

溶媒；抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化物質、例えば、アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム；キレート化剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸；酢酸、クエン酸またはリン酸などのバッファーおよび張力の調整のための薬剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロースのうち1つまたはそれ以上を含み得る。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、ディスポーザブルシリンジまたは複数回用量バイアル中に封入され得る。注射用医薬組成物は、好ましくは、無菌である。

【0586】

1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルが、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞に対して応答性を示す患者からの血清試料中の1つまたはそれ以上の炎症関連可溶性因子のレベルと類似していることが一旦決定されたら、CAR T細胞（例えば、BCMA CAR T細胞）の投与は、第2の剤を投与する工程（例えば、CAR T細胞（例えば、BCMA CAR T細胞）および第2の剤を併用療法として投与する工程）を伴ってもよい。

【0587】

特定の実施形態では、本明細書で企図される組成物は、有効量のCARを発現する免疫エフェクター細胞を、単独で、または1つもしくは複数の治療剤と組み合わせて含む。したがって、CARを発現する免疫エフェクター細胞組成物は、単独で、または他の公知のがん治療、例えば、放射線療法、化学療法、移植、免疫療法、ホルモン療法、光線力学的療法などと組み合わせて投与され得る。組成物はまた、抗生物質と組み合わせて投与され得る。このような治療剤は、本明細書で記載されるような特定の疾患状態、例えば、特定のがんの標準治療として当技術分野で受け入れられる場合がある。企図される例となる治療剤として、サイトカイン、増殖因子、ステロイド、NSAID、DMARD、抗炎症剤、化学療法薬、放射線治療法、治療用抗体または他の活性および補助的薬剤が挙げられる。

【0588】

ある特定の実施形態では、本明細書で開示されるCARを発現する免疫エフェクター細胞を含む組成物は、任意の数の化学療法薬、例えば、抗がん剤と共に対象に投与され得る。ある特定の実施形態では、本明細書において別の場所に記載されるCAR T細胞療法が対象にとって治療上有益ではないことを示すある特定の条件が生じる場合には、化学療法薬、例えば、抗がん剤が、CAR T細胞療法、例えば、BCMA CAR T細胞療法の施行後に対象に投与される。化学療法剤の実例として、アルキル化剤、例えば、チオテパおよびシクロホスファミド（シトキサン（商標））；アルキルスルホネート、例えば、ブスルファン、インプロスルファンおよびビボスルファン；アジリジン、例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ（methuredopa）およびウレドーパ（uredopa）；エチレンジアミンおよびアルトレタミンを含むメチルアメラミン（methyllamelamine）、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスファオルアミド（trihylenethiophosphoramide）およびトリメチロメラミンレジューム（trimethylolomelamine resume）；ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン（例えば、メルファラン塩酸）、ノベンビチン（novembichin）、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン；抗生物質、例えば、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（authramycin）、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カラビシン（carbacin）、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン（detorubicin）、6-ジアゾ-5-オキソ-2-ノルロイシン、ドキソルピシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシ

10

20

30

40

50

ン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (potfiromycin)、ピューロマイシン、ケラマイシン (quelamycin)、ロドルビシン (rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；代謝拮抗剤、例えば、メトトレキサートおよび5-フルオロウラシル (5-FU)；葉酸アナログ、例えば、デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート；プリンアナログ、例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジンアナログ、例えば、アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、5-FU；アンドロゲン、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗アドレナル、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充剤 (replenisher)、例えば、フロリニックアシッド (frolinic acid)；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；アムサクリン；ベストラブシル (bestrabucil)；ビサントレン；エダトラキセート (edatraxate)；デフォファミン (defofamine)；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン (elformithine)；酢酸エリプチニウム (elliptinium acetate)；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット (phenamet)；ピラルビシン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK (登録商標)；ラゾキサ

ン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2"-トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン (gacytosine)；アラビノシド (「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えば、パクリタキセル (タキソール (登録商標)、Bristol-Myers Squibb Oncology、ニュージャージー州、プリンストン) およびドキシタキセル (doxetaxel) (タキソテル (登録商標)、Rhône-Poulenc Rohrer、フランス、アントニー)；クロラムブシル；ゲムシタビン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；白金アナログ、例えば、シスプラチンおよびカルボプラチン；ビンブラスチン；白金；エトポシド (VP-16)；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ビノレルビン；ナベルビン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤 RFS 2000；ジフルオロメチロミチン (DMFO)；レチノイン酸誘導体、例えば、タルグレチン (商標) (ベキサロテン)、Panretin (商標) (アリトレチノイン)；ONTAK (商標) (デニロイキンジフチトクス)；エスペラミシン；カペシタビン；および上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられる。また、この定義では、がんに対するホルモン作用を調節または阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害性 4 (5)-イミダゾール、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストンおよびトレミフェン (フェアストン) を含む、例えば、抗エストロゲン；および抗アンドロゲン、例えば、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、リユープロリドおよびゴセレリン；および上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が含まれる。

【0589】

様々な他の治療剤は、本明細書に記載される組成物と共に使用され得る。一実施形態では、CARを発現する免疫エフェクター細胞を含む組成物は、抗炎症剤と共に投与される。抗炎症剤または抗炎症薬として、それだけには限らないが、ステロイドおよびグルココルチコイド (ベタメタゾン、ブデソニド、デキサメタゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾ

ン、トリアムシノロンを含む)、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、メトトレキサート、スルファサラジン、レフルノミド、抗TNF医薬、シクロホスファミドおよびミコフェノレートを含む非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)が挙げられる。

【0590】

他の例となるNSAIDは、イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、Cox-2阻害剤、例えば、VIOXX(登録商標)(ロフェコキシブ)およびCELEBREX(登録商標)(セレコキシブ)およびシアリレートからなる群から選択される。例となる鎮痛薬は、アセトアミノフェン、オキシコドン、トラマドールおよび塩酸プロポキシフェンからなる群から選択される。例となるグルココルチコイドは、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロンおよびプレドニゾンからなる群から選択される。例となる生物反応修飾物質として、細胞表面マーカー(例えば、CD4、CD5など)に対して向けられる分子、サイトカイン阻害剤、例えば、TNFアンタゴニスト(例えば、エタネルセプト(エンブレル(登録商標))、アダリムマブ(ヒュミラ(登録商標))およびインフリキシマブ(レミケード(登録商標))、ケモカイン阻害剤および接着分子阻害剤が挙げられる。生物反応修飾物質は、モノクローナル抗体ならびに分子の組換え形態を含む。例となるDMARDとして、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、メトトレキサート、ペニシラミン、レフルノミド、スルファサラジン、ヒドロキシクロロキン、金(経口(オーラノフィン)および筋肉内)およびミノサイクリンが挙げられる。

【0591】

本明細書で企図されるCAR改変T細胞との組合せに適した治療用抗体の実例として、それだけには限らないが、バビツキシマブ、ベバシズマブ(アバスタチン)、ビバツズマブ、ブリナツモマブ、コナツムマブ、ダラツムマブ、デュリゴツマブ(duligotumab)、ダセツズマブ、ダロツズマブ、エロツズマブ(HuLuc63)、ゲムツズマブ、イブリツモマブ、インダツキシマブ(indatuximab)、イノツズマブ、ロルボツズマブ、ルカツムマブ、ミラツズマブ、モキセツモマブ、オカラツズマブ(occaratuzumab)、オフアツムマブ、リツキシマブ、シルツキシマブ、テプロツムマブおよびウブリツキシマブが挙げられる。

【0592】

PD-1または、PD-L1および/またはCTLA-4に対する抗体は、本明細書で開示されるCART細胞、例えば、BCMA CAR T細胞、例えば、BCMA-2一本鎖Fv断片を含むキメラ抗原受容体を発現するCAR T細胞、例えば、イデカブタゲンビクルユーセル細胞と組み合わせて使用され得る。特定の実施形態では、PD-1抗体は、ニボルマブ、ペムブロリズマブおよびピディリズマブからなる群から選択される。特定の実施形態では、PD-L1抗体は、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブおよびBMS-986559からなる群から選択される。特定の実施形態では、CTLA-4抗体は、イピリムマブおよびトレメリムマブからなる群から選択される。

【0593】

ある特定の実施形態では、本明細書で記載される組成物は、サイトカインと共に投与される。「サイトカイン」とは、本明細書で使用される場合、別の細胞に対して細胞間メディエーターとして作用する1つの細胞集団によって放出されるタンパク質の総称を意味する。このようなサイトカインの例として、リンホカイン、モノカインおよび伝統的なポリペプチドホルモンがある。サイトカインの中に、成長ホルモン、例えば、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモンおよびウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；レラキシン；プロレラキシン；糖タンパク質ホルモン、例えば、卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)および黄体形成ホルモン(LH)；肝臓増殖因子；線維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；腫瘍壊死因子アルファおよびベータ；ミューラー管抑制因子；マウスゴナドトロピン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン(TPO)；神経増殖因子、例えば、NGF-ベータ；血小板増殖因子；形質

転換性増殖因子（TGF）例えば、TGF-αおよびTGF-β；インスリン様増殖因子-Iおよび-II；エリスロポエチン（EPO）；骨誘導因子；インターフェロン、例えば、インターフェロン-α、β、およびγ；コロニー刺激因子（CSF）、例えば、マクロファージ-CSF（M-CSF）；顆粒細胞-マクロファージ-CSF（GM-CSF）；ならびに顆粒細胞-CSF（G-CSF）；インターロイキン（IL）、例えば、IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-15、IL-21、腫瘍壊死因子、例えば、TNF-αまたはTNF-β；ならびにLIFおよびkitリガンド（KL）を含む他のポリペプチド因子が含まれる。本明細書で使用される場合、用語サイトカインは、天然供給源由来の、または組換え細胞培養由来のタンパク質、および天然配列サイトカインの生物学的に活性な等価物を含む。

10

【0594】

ある特定の実施形態では、本明細書で記載される組成物は、サイトカイン放出症候群（CRS）を治療するための療法と共に投与される。CRSは、ある特定の生物学的治療薬、例えば、キメラ抗原受容体を発現するT細胞またはNK細胞（CAR T細胞またはCAR NK細胞）、例えば、BCMA CAR T細胞の投与後に生じる可能性がある全身炎症性免疫応答である。CRSは、以下のとおり、同様の臨床表現型およびバイオマーカーシグネチャーを有する状態であるサイトカインストームと区別され得る。CRSでは、T細胞は、腫瘍抗原の認識の際に活性化になるが、サイトカインストームでは、免疫系は、腫瘍標的化とは独立して活性化される；CRSでは、IL-6が重要なメディエーターであり、したがって、症状は、抗IL-6または抗IL-6受容体（IL-6R）阻害剤を使用して軽減され得るが、サイトカインストームでは、腫瘍壊死因子α（TNFα）およびインターフェロンγ（IFNγ）が重要なメディエーターであり、症状は、抗炎症療法、例えば、副腎皮質ステロイドを使用して軽減され得る。CRSを管理するためにトシリズマブなどの抗IL-6受容体（IL-6R）抗体を使用してもよく、支持療法を用いてもよい。CRSを管理するためにシルツキシマブなどの抗IL-6抗体を付加的または代替的に使用してもよく、支持療法を用いてもよい。CAR T細胞またはCAR NK細胞を注入された患者が、グレード1、グレード2、グレード3またはグレード4のCRSのいずれかを示すが、通常、より重度のグレード（例えば、グレード3またはグレード4）について保留されている場合に、IL-6遮断（例えば、抗IL-6R抗体または抗IL-6抗体を使用して）を使用できる。CRSと併発する、またはCRSによって惹起される神経細胞毒性を管理するために、またはIL-6遮断を用いて治療された患者に、副腎皮質ステロイドを投与できるが、一般に、CRSの第一選択治療としては使用されない。CRSの管理のための他の様式は、例えば、Shimabukuro-Vornhagen et al., “Cytokine Release Syndrome,” J. Immunother. Cancer 6:56 (2018)に記載されている。

20

30

【0595】

表4：CRSは、Pennグレード分類尺度を使用してグレード分類できる：

40

50

【表 4】

グレード	症状	管理
1	軽度反応(発熱、悪心、疲労、頭痛、筋肉痛、倦怠感)	支持療法、例えば、制吐剤、解熱剤
2	中程度の反応(臓器不全のいくつかの徴候、例えば、グレード2のクレアチニンまたはグレード3の肝臓機能検査(LFT))	好中球減少を伴う発熱のための入院
3	重度な反応(臓器不全の悪化の徴候、例えば、グレード4のLFT、グレード3のクレアチニン、凝固障害、呼吸困難または低酸素)	静脈内輸液、低用量血管抑制剤、新鮮凍結血漿または濃縮フィブリノゲン、酸素またはCPAPの提供のうち1つまたはそれ以上のための入院
4	命を脅かす反応(低血圧、低酸素)	血管抑制剤、機械的人工呼吸のための入院

10

【0596】

表5：CRSはまた、CTCAE(国立がん研究所の有害事象に関する共通用語基準(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events))v4.0によってグレード分類できる：

20

【表 5】

グレード	症状	管理
1	軽度反応(発熱、悪心、疲労、頭痛、筋肉痛、倦怠感)	支持療法、例えば、制吐剤、解熱剤-注入中断は指示されない
2	中程度の反応;患者は、支持療法、例えば、抗ヒスタミン剤、NSAID、麻酔、静脈内輸液に対して迅速に応答する	注入の中断
3	長期の反応;患者は、支持療法、例えば、抗ヒスタミン剤、NSAID、麻酔、静脈内輸液に対して迅速に応答しない;初期改善後の症状の再発;腎機能障害および/または肺浸潤	注入の中断;後遺症のための入院
4	命を脅かす反応(低血圧、低酸素)	昇圧剤、機械的人工呼吸のための入院

30

【0597】

表6：CRSはまた、Lee et al. (「Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome」, Blood, 2014, 124:188-195)のシステムによってグレード分類できる：

40

【表 6】

グレード	症状	管理
1	命を脅かさない症状(発熱、悪心、疲労、頭痛、筋肉痛、倦怠感)	支持療法、例えば、制吐剤、解熱剤
2	中程度の反応;症状は治療介入を必要とする、患者は治療介入に応答する	O ₂ 必要性<40%、低血圧のための流体、昇圧剤
3	より重度の反応(例えば、低酸素および/または低血圧;グレード3の臓器毒性、グレード4の高トランスアミナーゼ血症);症状は積極的な治療介入を必要とし、応答する。	O ₂ 必要性> 40%;低血圧のための高用量昇圧剤
4	命を脅かす反応(低血圧、低酸素)	昇圧剤、機械的人工呼吸のための入院

10

【0598】

特定の実施形態では、組成物は、本明細書で開示されるようなPI3K阻害剤の存在下で培養され、以下のマーカー：CD3、CD4、CD8、CD28、CD45RA、CD45RO、CD62、CD127およびHLA-DRのうち1つまたはそれ以上を発現し、陽性または陰性選択技術によってさらに単離され得る、本明細書で企図されるCAR T細胞を含む。一実施形態では、組成物は、CD62L、CCR7、CD28、CD27、CD122、CD127、CD197およびCD38またはCD62L、CD127、CD197およびCD38からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上を発現し、陽性または陰性選択技術によってさらに単離される、T細胞の特定の亜集団を含む。種々の実施形態では、組成物は、以下のマーカー：CD57、CD244、CD160、PD-1、CTLA4、TIM3およびLAG3のうち1つまたはそれ以上を発現しない、または実質的に発現しない。

20

【0599】

一実施形態では、CD62L、CD127、CD197およびCD38からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上の発現は、PI3K阻害剤を用いずに活性化および拡大増殖されたT細胞の集団と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍またはそれより多く増大される。

30

【0600】

一実施形態では、CD57、CD244、CD160、PD-1、CTLA4、TIM3およびLAG3からなる群から選択されるマーカーのうち1つまたはそれ以上の発現は、PI3K阻害剤を用いて活性化および拡大増殖されたT細胞の集団と比較して、少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍、少なくとも25倍またはそれより多く減少される。

40

【0601】

6.11. 治療方法

本明細書で企図される遺伝子改変された免疫エフェクター細胞は、腫瘍もしくはがんの治療における、またはそれだけには限らないが、免疫調節状態および血液悪性腫瘍を含むB細胞関連状態の治療における使用のための養子免疫療法の改善された方法を提供する。

【0602】

本明細書で引用した全ての出版物、特許出願、および発行された特許は、それぞれの個

50

別の出版物、特許出願、または発行された特許が具体的かつ個別に参照により組み込まれると指示されているかのように、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0603】

上記の発明は、理解を明確にする目的のために説明および例としていくらか詳細に記載しているが、本発明の教示に照らして、添付した特許請求の精神または範囲から逸脱することなく、ある種の変更および改変をこれに加えることができることは、当業者には容易に明らかになる。以下の実施例は説明のためのみに提供され、限定のためではない。当業者であれば、本質的に同様の結果を得るために変更または改変することができる種々の重要なパラメーターを容易に認識することになる。

【実施例】

【0604】

7. 実施例

7. 1. 実施例 1：例示的な BCMA CAR の構築

抗 BMCA scFv に作動可能に連結した MND プロモーター、CD8 α からのヒンジおよび膜貫通ドメインならびに CD137 共刺激ドメインの後に CD3 ζ 鎖の細胞内シグナル伝達ドメインを含有するように CAR 含有抗 BCMA scFv 抗体を設計した。国際公開第 2016/094304 号パンフレットを参照。該文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれ、特に BCMA CAR およびそれらの特徴付けの開示が組み込まれる。国際公開第 2016/094304 号パンフレットの図 1 に示される BCMA CAR は、免疫エフェクター細胞上の表面発現のための CD8 α シグナルペプチド (SP) 配列を含む。例示的な BCMA CAR のポリヌクレオチド配列は配列番号 10 (抗 BCMA02 CAR のポリヌクレオチド配列) に記載されており；BCMA CAR の例示的なポリペプチド配列は配列番号 9 (抗 BCMA02 CAR のポリペプチド配列) に記載されており；例示的な CAR 構築物のベクターマップは国際公開第 2016/094304 号パンフレットの図 1 に示されている。表 9 は、国際公開第 2016/094304 号パンフレットの図 1 に示されている BCMA CAR 構築物を含む BCMA CAR レンチウイルスベクターの様々なヌクレオチドセグメントについての素性、GenBank 参照番号 (適用可能な場合)、ソース名 (Source Name) および参考資料 (Citation) を示す。

【0605】

表 9.

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

ヌクレオチド	同定	GenBank参照番号	ソース名	参考資料
1-185	pUC19プラスミド骨格	アクセッション #L09137.2 nt 1 - 185	pUC19	New England Biolabs
185-222	リンカー	該当せず	合成	該当せず
223-800	CMV	該当せず	pHCMV	Yee, et al., (1994) PNAS 91: 9564-68
801-1136	R、U5、PBS、および パッケージング配列	アクセッション #M19921.2 nt 454-789	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
1137-1139	Gag 開始 コドン (ATG) が停止コドン (TAG) に変更されて いる	該当せず	合成	該当せず
1140-1240	HIV-1 gag配列	アクセッション #M19921.2 nt 793-893	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
1241-1243	HIV-1 gag配列が第2 の停止コドンに変更 されている	該当せず	合成	該当せず
1244-1595	HIV-1 gag配列	アクセッション #M19921.2 nt 897-1248	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
1596-1992	HIV-1 pol cPPT/CTS	アクセッション #M19921.2 nt 4745-5125	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
1993-2517	HIV-1、分離株HXB3 env領域 (RRE)	アクセッション #M14100.1 nt 1875-2399	PgTAT-CMV	Malim, M. H. Nature (1988) 335:181-183
2518-2693	HIV-1 env 配 列 S/A	アクセッション #M19921.2 nt 8290-8470	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
2694-2708	リンカー	該当せず	合成	該当せず
2709-3096	MND	該当せず	pccl-c- MNDU3c-x2	Challita et al. (1995) J. Virol. 69: 748-755

10

20

30

40

50

【表 7-2】

3097-3124	リンカー	該当せず	合成	該当せず
3125-3187	シグナルペプチド	アクセッション# NM_001768	CD8aシグナル ペプチド	該当せず
3188-3934	BCMA02 scFv	該当せず	合成	該当せず
3935-4141	CD8aヒンジおよびTM	アクセッション# NM_001768	CD8aヒンジお よびTM	Milone et al (2009) Mol Ther 17(8):1453-64
4144-4269	CD137 (4-1BB)シグ ナル伝達ドメイン	アクセッション# NM_001561	CD137シグナ ル伝達ドメイ ン	Milone et al (2009) Mol Ther 17(8):1453-64
4270-4606	CD3-シグナル伝達 ドメイン	アクセッション# NM_000734	CD3-シグナ ル伝達ドメイ ン	Milone et al (2009) Mol Ther 17(8):1453-64
4607-4717	HIV-1 pptおよび3' U3の部分	アクセッション #M19921.2 nt 9005-9110	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
4718-4834	HIV-1 U3 (399bp欠 失)およびRの部分	アクセッション #M19921.2 nt 9511-9627	pNL4-3	Maldarelli, et.al. (1991) J Virol: 65(11):5732- 43
4835-4858	合成ポリA	該当せず	合成	Levitt, N. Genes & Dev (1989) 3:1019-1025
4859-4877	リンカー	該当せず	合成	該当せず
4878-7350	pUC19骨格	アクセッション #L09137.2 nt 2636-2686	pUC19	New England Biolabs

10

20

30

【0606】

7.2 実施例2：T細胞エフェクター機能を負にモジュレートし得る炎症関連可溶性因子は、IDE-CELL治療に対する最適以下の応答と関連付けられた

この実施例は、ide-cell治療の前に多発性骨髄腫患者におけるある特定の可溶性因子の高いレベルと治療に対する最適以下の応答との間の相関の発見を記載する。

【0607】

方法：PGF、CD70、TNFRSF4、TNFRSF9、DCN、CD83、IL10、PDCD1、IL12、およびNCR1を含む、いくつかの可溶性因子の治療前レベルを、KarMMA試験（NCT03361748）においてide-cellで治療され、ide-cell注入後3または9カ月において応答性または非応答性であった多発性骨髄腫患者からレトロスペクティブに得た。因子のレベルはスクリーニング期間の間に測定され、スクリーニング手順は白血球アフェレーシスの前28日以内に完了された。

40

【0608】

可溶性因子のレベルを測定された血清試料は以下のように得た。ide-cell注入の3または9カ月後に応答性または非応答性であった約128人の患者の末梢血から血清を単離し、O-link IOアナライトアッセイ（<https://www.olink.com/products/immuno-oncology/>）を使用して血清中の可溶性因子のレベルを測定した。O-link

50

i n k 技術は、P C Rを使用して、標的アナライトに結合した抗体を検出し、結果を l o g 2 倍数変化単位で表す。2 群間の値は、パッケージ R 内のウィルコクソン検定を使用して比較した。

【0609】

図1は、O - l i n k I O アナライトアッセイでの9カ月時の非応答の相関を示す。第2列および第3列は、患者の2つの群の各々においてどれほど多くの試料があったのかを明記する。「W i l c o x A U C」の列は、0 ~ 1 の範囲に及ぶ一種のウィルコクソン統計量を与える。それは以下のように解釈され得る：2 群間のすべての可能な一対比較（そのため、表の例において $43 \times 40 = 1720$ の比較ペア）を取った場合に、W i l c o x A U C は、第1群からの試料が第2群からの試料よりも高い値を有した比較のパーセンテージである。そのため、1 の A U C は、M9 P D のあらゆるものが、M9 レスポンダーのあらゆるものよりも高い値を有したことを意味する。最後の2列は、この統計量と関連付けられる p 値（R により提供される）および複数のアナライトが試験されたという事実について補正（すべてのアナライトにかけて B e n j a m i n i - H o c h b e r g 補正）された p 値である。

10

【0610】

可溶性因子のレベルを次に、i d e - c e l 療法後3カ月または9カ月のいずれかにおけるレスポナーまたはノンレスポナーの関数として、いくつかの図表中にプロットし、これを図2に記載している。これらの結果は、免疫調節因子の治療前レベルは、最適以下の応答を有する患者の血清において上昇していたことを示す。T 細胞エフェクター機能を負にモジュレートし得る炎症関連可溶性因子は、i d e - c e l に対する最適以下の応答と関連付けられる。

20

【0611】

一般に、以下の請求項において、使用される用語は、本明細書および請求項に開示される特定の実施形態に請求項を限定すると解釈されるべきではなく、そのような請求項が権利を与えられる均等物の全範囲と共にすべての可能な実施形態を含むと解釈されるべきである。よって、請求項は本開示によって限定されない。本明細書において参照されるすべての参考文献は、特許文献または非特許文献のいずれであれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

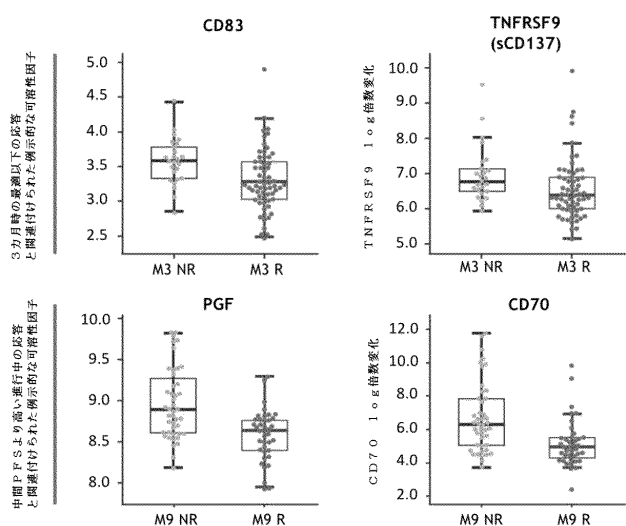
【図面】

30

【図1】

アッセイ	M9 PD数 ^c	M9 R数 ^d	Wilcox AUC	P値	FDR ^e
PGF	43	40	0.76	< 0.001	0.0029
CD70	43	40	0.75	< 0.001	0.0038
TNFRSF4	43	40	0.71	< 0.001	0.020
TNFRSF9	43	40	0.71	< 0.001	0.020
DCN	43	40	0.70	0.0014	0.025
CD83	43	40	0.69	0.0025	0.037
IL10	43	40	0.69	0.0029	0.037
PDCD1	43	40	0.68	0.0043	0.049
IL12	43	40	0.67	0.0076	0.076
NCR1	43	40	0.67	0.0083	0.076

【図2】



40

50

【配列表】

2023552773000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/061794

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/574 A61K35/17
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N A61K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ENBLAD GUNILLA ET AL: "A Phase I/IIa Trial Using CD19-Targeted Third-Generation CAR T Cells for Lymphoma and Leukemia", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 24, no. 24, 10 August 2018 (2018-08-10), pages 6185-6194, XP055887439, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0426 abstract abstract ----- -/--	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 March 2022

Date of mailing of the international search report

16/05/2022

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rosin, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/061794

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FRAIETTA JOSEPH A ET AL: "Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia", NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP US, NEW YORK, vol. 24, no. 5, 30 April 2018 (2018-04-30), pages 563-571, XP036513457, ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/s41591-018-0010-1 [retrieved on 2018-04-30] abstract -----	1-12
A	ALEXANDRE V. HIRAYAMA ET AL: "The response to lymphodepletion impacts PFS in patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma treated with CD19 CAR T cells", BLOOD, vol. 133, no. 17, 25 April 2019 (2019-04-25), pages 1876-1887, XP055626703, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2018-11-887067 abstract -----	1-12
X	WO 2016/191755 A1 (BOT ADRIAN [US]; WIEZOREK JEFFREY S [US] ET AL.) 1 December 2016 (2016-12-01)	1-8, 12
Y	paragraph [0002] paragraph [0052] -----	9-11
Y	ROEX GILS ET AL: "Safety and clinical efficacy of BCMA CAR-T-cell therapy in multiple myeloma", JOURNAL OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY, vol. 13, no. 1, 1 December 2020 (2020-12-01), XP055860174, DOI: 10.1186/s13045-020-01001-1 Retrieved from the Internet: URL:https://jhoonline.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13045-020-01001-1.pdf> abstract -----	9-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2021/061794

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/061794**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

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

10

20

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-12 (partially)

30

40

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/US2021/061794

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-12 (partially)

Methods encompassing potential application of CAR T cells in cancer patients involving inflammation-related soluble factors, wherein the factor is PGF.

2-10. claims: 1-12 (partially)

Methods encompassing potential application of CAR T cells in cancer patients involving inflammation-related soluble factors, wherein the factor is CD70 (invention 2) ... up to ... NCR1 (invention 10).

11. claims: 13-23

Cancer treatment with CAR T cells and a second active encompassing an antagonist of an inflammation-related soluble factor.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/061794

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016191755 A1	01-12-2016	AU 2016268863 A1	07-12-2017
		BR 112017025120 A2	07-08-2018
		CA 2986793 A1	01-12-2016
		CL 2017003005 A1	11-05-2018
		CN 107921064 A	17-04-2018
		DO P2017000272 A	15-02-2018
		EA 201792642 A1	31-10-2018
		EP 3302507 A1	11-04-2018
		HK 1246150 A1	07-09-2018
		HK 1251960 A1	03-05-2019
		JP 6917903 B2	11-08-2021
		JP 2018516919 A	28-06-2018
		JP 2021121625 A	26-08-2021
		KR 20180011251 A	31-01-2018
		MA 45281 A	11-04-2018
		PH 12017502153 A1	28-05-2018
		SG 10201913620Q A	30-03-2020
		SG 10201913623P A	30-03-2020
		US 2018344767 A1	06-12-2018
		WO 2016191755 A1	01-12-2016

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 9/08 (2006.01)

A 6 1 K 9/08

4 C 0 8 7

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

N

G 0 1 N 33/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/68

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

C 1 2 N 15/62

Z

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

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州シアトル、デクスター・アベニュー・ノース 4 0 0、スウ
ィート 1 2 0 0

(72)発明者 カイザー、シャリ エム

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州シアトル、デクスター・アベニュー・ノース 4 0 0、スウ
ィート 1 2 0 0

(72)発明者 マーティン、ネイサン トーマス

アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州シアトル、デクスター・アベニュー・ノース 4 0 0、スウ
ィート 1 2 0 0

F ターム (参考) 2G045 DA36

4B065 AA93X AB01 BA02 CA25 CA44

4C076 AA11 BB13 CC27 FF11

4C084 AA19 MA02 MA16 MA17 MA66 NA05 NA14 ZB26 ZC75

4C085 AA14 EE03 GG02

4C087 AA01 AA02 BB37 MA02 MA16 MA17 MA66 NA05 NA14 ZB26
ZC75