

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年7月11日(2019.7.11)

【公表番号】特表2018-516586(P2018-516586A)

【公表日】平成30年6月28日(2018.6.28)

【年通号数】公開・登録公報2018-024

【出願番号】特願2017-564369(P2017-564369)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0783

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 37/04

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 35/17 Z

C 0 7 K 16/28

【手続補正書】

【提出日】令和1年6月5日(2019.6.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下を含む、サンプル内のV $\alpha$ 2-TCR $\alpha$ <sup>+</sup>T細胞を増殖する方法：

(1) インターロイキン4-様活性(interleukin-4-like activity)を有する成長因子、およびT細胞マイトージェンを含む第1の培地中のサンプル中の細胞を、インターロイキン15-様活性を有する成長因子の非存在下で培養すること；および

(2) インターロイキン4-様活性を有する成長因子の非存在下で、インターロイキン15-様活性を有する成長因子およびT細胞マイトージェンを含む第2の培地中で、ステップ(1)で得られた細胞を培養すること。

【請求項2】

インターロイキン4-様活性を有する成長因子がインターロイキン-4である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

インターロイキン15-様活性を有する成長因子が、インターロイキン15、インターロ

イキン - 2 またはインターロイキン - 7 である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

第 1 または第 2 の培地、または両方の培地が、さらに第 2 の成長因子を含み、好ましくは前記成長因子がインターフェロン - またはそのミメティック、または機能的な等価物である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

第 1 または第 2 の培地、または両方の培地が、さらに第 2 および第 3 の成長因子を含み、好ましくは前記成長因子がインターフェロン - 、インターロイキン - 2 1、またはそれらのミメティック、または機能的な等価物である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

第 1 または第 2 の培地、または両方の培地が、さらに第 2、第 3 および第 4 の成長因子を含み、好ましくは前記成長因子がインターフェロン - 、インターロイキン - 2 1、インターロイキン - 1、またはそれらのミメティック、または機能的な等価物である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

第 1 または第 2 の培地、または両方の培地が、さらに V 2 - T C R + T 細胞の共刺激性分子を含み、好ましくは該共刺激性分子が、S L A M レセプターの分子リガンドまたはアゴニスト、または C D 2 7 レセプターの分子リガンドまたはアゴニスト、または C D 7 レセプターの分子リガンドまたはアゴニストのいずれかである、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

第 1 および第 2 の培地がさらに血清または血漿を含む、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

ステップ ( 1 ) に先立って、サンプル中の細胞の T 細胞が富化される、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 0】

ステップ ( 1 ) に先立って、サンプル中の細胞の T C R + T 細胞が富化される、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 1】

ステップ ( 1 ) に先立って、サンプル中の細胞の T C R + T 細胞を消耗させる、請求項 1 から 1 0 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 2】

ステップ ( 1 ) に先立って、サンプル中の細胞の T C R + T 細胞を最初に消耗させ、次に C D 3 + 細胞が富化される、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 3】

ステップ ( 1 ) に先立って、サンプル中の細胞の非 T C R + T 細胞を消耗させる、請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 4】

サンプルが血液または組織またはそのフラクションであり、好ましくはサンプルが、末梢血、臍帯血、リンパ組織、上皮、胸腺、骨髄、ひ臓、肝臓、ガン組織、感染した組織、リンパ節組織またはそのフラクションから選ばれ、より好ましくは出発サンプルが人間の末梢血またはそのフラクションである、請求項 1 から 1 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 5】

サンプルが低密度単核細胞 ( L D M C ) または末梢血単核細胞 ( P B M C s ) から成る、請求項 1 から 1 4 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 6】

第 1 の培地中に、T 細胞マイトージェンが約 1 0 から約 5 0 0 0 ナノグラム / m l の量で存在し、インターロイキン 4 - 様活性を有する成長因子が約 1 から約 1 0 0 0 ナノグラム

/mlの量で存在し、好ましくは第1の培地中に、T細胞マイトージェンが約20から約2000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン4-様活性を有する成長因子が約5から約500ナノグラム/mlの量で存在し、より好ましくは第1の培地中に、T細胞マイトージェンが約50から約1000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン4-様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在し、さらに好ましくは第1の培地が、T細胞マイトージェンを70ナノグラム/mlで含み、インターロイキン4-様活性を有する成長因子を100ナノグラム/mlで含む、請求項1から15のいずれか1項記載の方法。

【請求項17】

第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.1から約50 $\mu$ g/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約1から約1000ナノグラム/mlの量で存在し、好ましくは第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.3から約10 $\mu$ g/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約2から約500ナノグラム/mlの量で存在し、より好ましくは第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.5から約5 $\mu$ g/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在し、さらに好ましくは第2の培地が、T細胞マイトージェンを1 $\mu$ g/mlで含み、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子を70ナノグラム/mlの量で含む、請求項1から12のいずれか1項記載の方法。

【請求項18】

第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約1から約1000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン-1-様活性を有する成長因子およびインターロイキン-21-様活性を有する成長因子が1から約500ナノグラム/mlの量で存在し、好ましくは第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約2から約500ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン-1-様活性を有する成長因子およびインターロイキン-21-様活性を有する成長因子が2から約200ナノグラム/mlの量で存在し、より好ましくは第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン-1-様活性を有する成長因子およびインターロイキン-21-様活性を有する成長因子が5から約100ナノグラム/mlの量で存在し、さらに好ましくは第1または第2の培地、または両方の培地がさらに、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子を70ナノグラム/ml、インターロイキン-21-様活性を有する成長因子を2から15ナノグラム/ml、インターロイキン-1-様活性を有する成長因子を15ナノグラム/mlで含む、請求項1から13のいずれか1項記載の方法。

【請求項19】

T細胞マイトージェンが抗体またはそのフラグメントであり、好ましくは抗体がCD3またはそのフラグメントに結合する、請求項1から18のいずれか1項記載の方法。

【請求項20】

血清または血漿が約0.5から約25体積%の量で存在し、好ましくは血清または血漿が約2から約20体積%の量で存在し、より好ましくは血清または血漿が約2.5から約10体積%の量で存在し、さらに好ましくは血清または血漿が約5体積%の量で存在する、請求項8から19のいずれか1項記載の方法。

【請求項21】

請求項1から20のいずれか1項記載の方法によって調製された、TCR $\alpha\beta$ +T細胞が富化された細胞調製物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0180

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0180】

注：いくつかの製品はEUおよび/または米国での使用のための公認された医療器具として販売されている。他の全ての製品は臨床検査のための細胞ベースの製品として販売されている。臨床試験用の新医薬品承認制度（IND）または医療機器承認制度（IDE）の下で臨床試験用に使用する事ができる。

本発明は以下の実施態様を包含する。

実施態様第1項： サンプル内のV $\beta$ 2-TCR $\alpha$ +T細胞を増殖する方法：

(1) インターロイキン4-様活性(interleukin-4-like activity)を有する少なくとも1つの成長因子、およびT細胞マイトージェンを含む第1の培地中のサンプル中の細胞を、インターロイキン15-様活性を有する成長因子の非存在下で培養すること；および  
(2) インターロイキン4-様活性を有する成長因子の非存在下で、インターロイキン15-様活性を有する少なくとも1つの成長因子およびT細胞マイトージェンを含む第2の培地中で、ステップ(1)で得られた細胞を培養すること。

実施態様第2項： インターロイキン4-様活性を有する成長因子がインターロイキン-4であることを特徴とする実施態様第1項記載の方法。

実施態様第3項： インターロイキン15-様活性を有する成長因子が、インターロイキン15、インターロイキン-2またはインターロイキン-7であることを特徴とする実施態様第1または2項記載の方法。

実施態様第4項： インターロイキン-15-様活性を有する成長因子が、インターロイキン-15であることを特徴とする実施態様第3項記載の方法。

実施態様第5項： 第1または第2の培地、または両方の培地が、さらに第2の成長因子を含む、実施態様第1から4のいずれか1項記載の方法。

実施態様第6項： 前記成長因子がインターフェロン- $\gamma$ またはそのミメティック、または機能的な等価物であることを特徴とする実施態様第5項記載の方法。

実施態様第7項： 第1または第2の培地、または両方の培地が、さらに第2および第3の成長因子を含む、実施態様第1から4のいずれか1項記載の方法。

実施態様第8項： 前記成長因子がインターフェロン- $\gamma$ 、インターロイキン-21、またはそれらのミメティック、または機能的な等価物であることを特徴とする実施態様第7項記載の方法。

実施態様第9項： 第1または第2の培地、または両方の培地が、さらに第2、第3および第4の成長因子を含む、実施態様第1から4のいずれか1項記載の方法。

実施態様第10項： 前記成長因子がインターフェロン- $\gamma$ 、インターロイキン-21、インターロイキン-1、またはそれらのミメティック、または機能的な等価物であることを特徴とする実施態様第9項記載の方法。

実施態様第11項： 第1または第2の培地、または両方の培地、さらにV $\beta$ 2-TCR $\alpha$ +T細胞の共刺激性分子を含む、実施態様第1から4のいずれか1項記載の方法。

実施態様第12項： 共刺激性分子が、SLAMレセプターの分子リガンドまたはアゴニスト、またはCD27レセプターの分子リガンドまたはアゴニスト、またはCD7レセプターの分子リガンドまたはアゴニストのいずれかであることを特徴とする実施態様第11項記載の方法。

実施態様第13項： 第1および第2の培地が血清または血漿を含むことを特徴とする実施態様第1から12のいずれか1項記載の方法。

実施態様第14項： ステップ(1)に先立って、サンプル中の細胞のT細胞が富化されることを特徴とする実施態様第1から13のいずれか1項記載の方法。

実施態様第15項： ステップ(1)に先立って、サンプル中の細胞のTCR $\alpha$ +T細胞が富化されることを特徴とする実施態様第1から14のいずれか1項記載の方法。

実施態様第16項： ステップ(1)に先立って、サンプル中の細胞がTCR $\alpha$ +T細胞を消耗させることを特徴とする実施態様第1から15のいずれか1項記載の方法。

実施態様第17項： ステップ(1)に先立って、サンプル中の細胞がTCR $\alpha$ +T細胞

胞を最初に消耗され、次にCD3<sup>+</sup>細胞が富化されることを特徴とする実施態様第1から16のいずれか1項記載の方法。

実施態様第18項： ステップ(1)に先立って、サンプル中の細胞が非TCR<sup>+</sup>T細胞を消耗されることを特徴とする実施態様第1から17のいずれか1項記載の方法。

実施態様第19項： サンプルが血液または組織またはそのフラクションであることを特徴とする実施態様第1から18のいずれか1項記載の方法。

実施態様第20項： サンプルが、末梢血、臍帯血、リンパ組織、上皮、胸腺、骨髄、ひ臓、肝臓、ガン組織、感染した組織、リンパ節組織またはそのフラクションから選ばれることを特徴とする実施態様第19項記載の方法。

実施態様第21項： 出発サンプルが人間の末梢血またはそのフラクションであることを特徴とする実施態様第19または20項記載の方法。

実施態様第22項： サンプルが低密度単核細胞(LDMC)または末梢血単核細胞(PBMCs)から成ることを特徴とする実施態様第1から21のいずれか1項記載の方法。

実施態様第23項： 第1の培地中に、T細胞マイトージェンが約10から約5000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン4-様活性を有する成長因子が約1から約1000ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第1から22のいずれか1項記載の方法。

実施態様第24項： 第1の培地中に、T細胞マイトージェンが約20から約2000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン4-様活性を有する成長因子が約5から約500ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第23記載の方法。

実施態様第25項： 第1の培地中に、T細胞マイトージェンが約50から約1000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン4-様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第24記載の方法。

実施態様第26項： 第1の培地が、T細胞マイトージェンを70ナノグラム/ml含み、インターロイキン4-様活性を有する成長因子を100ナノグラム/ml含む、実施態様第25記載の方法。

実施態様第27項： 第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.1から約50µg/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約1から約1000ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第1から22のいずれか1項記載の方法。

実施態様第28項： 第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.3から約10µg/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約2から約500ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第27記載の方法。

実施態様第29項： 第2の培地中に、T細胞マイトージェンが約0.5から約5µg/mlの量、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第28記載の方法。

実施態様第30項： 第2の培地が、T細胞マイトージェンを1µg/mlで含み、およびインターロイキン15-様活性を有する成長因子を70ナノグラム/mlの量で含む、実施態様第29記載の方法。

実施態様第31項： 第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約1から約1000ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン-1 $\beta$ -様活性を有する成長因子およびインターロイキン-21-様活性を有する成長因子が1から約500ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第1から30のいずれか1項記載の方法。

実施態様第32項： 第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約2から約500ナノグラム/mlの量で存在し、インターロイキン-1 $\beta$ -様活性を有する成長因子およびインターロイキン-21-様活性を有する成長因子が2から約200ナノグラム/mlの量で存在する、実施態様第31記載の方法。

実施態様第33項： 第1または第2の培地、または両方の培地中に、インターフェロン- $\gamma$ -様活性を有する成長因子が約20から約200ナノグラム/mlの量で存在し、イ

インターロイキン - 1 - 様活性を有する成長因子およびインターロイキン - 2 1 - 様活性を有する成長因子が 5 から約 1 0 0 ナノグラム / m l の量で存在する、実施態様第 3 2 記載の方法。

実施態様第 3 4 項： 第 1 または第 2 の培地、または両方の培地がさらに、インターフェロン - 様活性を有する成長因子を 7 0 ナノグラム / m l、インターロイキン - 2 1 - 様活性を有する成長因子を 2 から 1 5 ナノグラム / m l、インターロイキン - 1 - 様活性を有する成長因子を 1 5 ナノグラム / m l で含む、実施態様第 3 3 記載の方法。

実施態様第 3 5 項： T 細胞マイトージェンが抗体またはそのフラグメントであることを特徴とする実施態様第 1 から 3 4 のいずれか 1 項記載の方法。

実施態様第 3 6 項： 抗体が C D 3 またはそのフラグメントに結合することを特徴とする実施態様第 3 5 項記載の方法。

実施態様第 3 7 項： 血清または血漿が約 2 から約 2 0 積 % の量で存在することを特徴とする実施態様第 1 から 3 6 のいずれか 1 項記載の方法。

実施態様第 3 8 項： 血清または血漿が約 0 . 5 から約 2 5 体積 % の量で存在することを特徴とする、実施態様第 3 7 記載の方法。

実施態様第 3 9 項： 血清または血漿が約 2 . 5 から約 1 0 体積 % の量で存在することを特徴とする、実施態様第 3 8 記載の方法。

実施態様第 4 0 項： 血清または血漿が 5 体積 % の量で存在することを特徴とする、実施態様第 3 9 記載の方法。

実施態様第 4 1 項： 実施態様第 1 から 3 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製された、T C R + T 細胞が富化された細胞調製物。

実施態様第 4 2 項： 細胞の合計の 8 0 % 以上が T C R + T 細胞であることを特徴とする T C R + T 細胞が富化された細胞調製物。

実施態様第 4 3 項： 細胞の合計の 9 0 % 以上が T C R + T 細胞であることを特徴とする実施態様第 4 1 または 4 2 項記載の細胞調製物。

実施態様第 4 4 項： 細胞の合計の 9 5 % 以上が T C R + T 細胞であることを特徴とする実施態様第 4 1 から 4 3 のいずれか 1 項記載の細胞調製物。

実施態様第 4 5 項： V 1 + T C R + T 細胞および V 2 + T C R + T 細胞の両方を含む、実施態様第 4 1 から 4 4 のいずれか 1 項記載の細胞調製物。

実施態様第 4 6 項： 調製物中の合計の T C R + T 細胞に対して、約 5 5 - 9 0 % の V 1 + T C R + T 細胞および約 1 - 1 0 % の V 2 + T C R + T 細胞を含む、実施態様第 4 5 項記載の細胞調製物。

実施態様第 4 7 項： 調製物中の合計の T C R + T 細胞に対して、約 6 0 - 8 0 % の V 1 + T C R + T 細胞および約 1 - 5 % の V 2 + T C R + T 細胞を含む、実施態様第 4 5 項記載の細胞調製物。

実施態様第 4 8 項： 実施態様第 1 から 4 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製されたか、実施態様第 4 1 から 4 7 のいずれか 1 項記載の細胞調製物から得られた T C R + T 細胞の、免疫反応を調整するための医薬品の製造のための使用。

実施態様第 4 9 項： 実施態様第 1 から 4 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製されたか、実施態様第 4 1 から 4 7 のいずれか 1 項記載の細胞調製物から得られた T C R + T 細胞の、感染を治療するための医薬品の製造のための使用。

実施態様第 5 0 項： 実施態様第 1 から 4 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製されたか、実施態様第 4 1 から 4 7 のいずれか 1 項記載の細胞調製物から得られた T C R + T 細胞の、癌を治療するための医薬品の製造のための使用。

実施態様第 5 1 項： 癌は慢性リンパ球性白血病であることを特徴とする実施態様第 5 0 項記載の使用。

実施態様第 5 2 項： 実施態様第 1 から 4 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製されたか、実施態様第 4 1 から 4 7 のいずれか 1 項記載の細胞調製物から得られた T C R + T 細胞の、ワクチンの製造のための使用。

実施態様第 5 3 項： 実施態様第 1 から 4 0 のいずれか 1 項記載の方法によって調製され

たか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞の、抗原認識、活性化、信号伝達または機能を研究するための使用。

実施態様第54項： 免疫反応を調整する方法において使用するために、実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞。

実施態様第55項： 感染の治療方法において使用するために、実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞。

実施態様第56項： 癌の治療方法において使用するために、実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞。

実施態様第57項： 癌は慢性リンパ球性白血病であることを特徴とする実施態様第55項記載の使用のためのTCR<sup>+</sup>T細胞。

実施態様第58項： 動物に予防注射をする方法において使用するための、実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞。

実施態様第59項： 実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞を、必要とする動物に有効量を投与することを含む、免疫反応を調整する方法。

実施態様第60項： 実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞を、必要とする動物に有効量を投与することを含む、感染の治療方法。

実施態様第61項： 実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞を、必要とする動物に有効量を投与することを含む、癌の治療方法。

実施態様第62項： 癌は慢性リンパ球性白血病である、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、またT細胞およびB細胞白血病、リンパ腫（ホジキンのおよび非ホジキン）、リンパ増殖性障害、形質細胞腫、組織球腫、黒色腫、腺腫、肉腫、健全な組織の癌、低酸素性の腫瘍、リン状細胞癌、尿生殖器の癌（頸部および膀胱癌）、造血器癌、頭頸部癌、また神経系癌である、実施態様第60項記載の方法。

実施態様第63項： 実施態様第1から40のいずれか1項記載の方法によって調製されたか、実施態様第41から47のいずれか1項記載の細胞調製物から得られたTCR<sup>+</sup>T細胞を、必要とする動物に有効量を投与することを含む、動物に予防注射をする方法。

。