

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 4 年 3 月 30 日(2022.3.30)

【公開番号】特開 2022-40287(P2022-40287A)

【公開日】令和 4 年 3 月 10 日(2022.3.10)

【年通号数】公開公報(特許)2022-043

【出願番号】特願 2022-5510(P2022-5510)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/17(2015.01)

10

A 6 1 K 35/15(2015.01)

A 6 1 K 35/28(2015.01)

A 6 1 K 35/26(2015.01)

A 6 1 K 35/51(2015.01)

A 6 1 K 35/13(2015.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

A 6 1 P 37/04(2006.01)

A 6 1 P 37/02(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

20

A 6 1 P 31/00(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

A 6 1 P 29/00(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/0786(2010.01)

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

C 1 2 N 15/867(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 35/17 Z

30

A 6 1 K 35/15 Z

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/26

A 6 1 K 35/51

A 6 1 K 35/13

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 35/00

40

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 29/00

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 5/0786

C 1 2 N 5/0783

C 1 2 N 15/867 Z

C 1 2 N 15/62 Z

【手続補正書】

50

【提出日】令和4年3月18日(2022.3.18)

【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】

T細胞治療薬を製造するための方法であって、

(a) T細胞および抗原提示細胞(APC)を含む末梢血単核細胞(PBMC)の集団を、
i) 外因性インターロイキン - 2 (IL - 2)、
ii) 可溶性抗 CD 3 抗体またはその
CD 3 結合性断片、および
iii) 可溶性抗 CD 2 8 抗体またはその CD 2 8 結合性断片
を含む細胞培養培地中で、形質導入前の 1 2 時間 ~ 2 4 時間にわたって培養するステップ
であって、前記培養が前記 T細胞を活性化および刺激する、ステップと、

(b) ステップ a) で活性化された前記 PBMC の集団を、抗 B 細胞成熟抗原(BCM A)
キメラ抗原受容体(CAR)をコードするポリヌクレオチドを含むレンチウイルスベク
ターを用いて形質導入するステップと、

(c) 前記 PBMC の集団を外因性 IL - 2 を含む細胞成長培地中で培養して、前記形質
導入した T細胞を増大させるステップと

を含み、それにより、前記 T細胞治療薬を製造する、方法。

【請求項2】

(a) 前記 PBMC が白血球アフェレーシスを含む方法により採取または得られる；

(b) 前記 PBMC が沈降を含む方法により単離される；または

(c) 前記 PBMC が半自動フロースルー遠心分離機を使用して実施される沈降を含む方
法により単離される、

請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(a) 前記 PBMC の集団を、緩衝液または細胞培養培地中で洗浄するステップ；

(b) 前記 PBMC の集団を、IL - 2 を含有する T細胞成長培地(TCGM)中で洗浄
するステップ；または

(c) 前記 PBMC の集団を、250 IU / mL の IL - 2 を含有する T細胞成長培地(
TCGM)中で洗浄するステップ

をさらに含む、請求項1または請求項2に記載の方法。

【請求項4】

(a) 前記 PBMC の集団を、50 ng / mL の濃度の可溶性抗 CD 3 抗体、および、可
溶性抗 CD 2 8 抗体とともに培養する；または

(b) 前記 PBMC の集団を、可溶性抗 CD 3 抗体、および、50 ng / mL の濃度の可
溶性抗 CD 2 8 抗体とともに培養する、

請求項1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記 IL - 2 の濃度が約 250 IU / mL である、請求項1 ~ 4 のいずれか一項に記載の
方法。

【請求項6】

(a) 前記 PBMC の集団を、50 ng / mL の濃度の可溶性抗 CD 3 抗体、および、可
溶性抗 CD 2 8 抗体とともに培養する；または

(b) 前記 PBMC の集団を、可溶性抗 CD 3 抗体、および、50 ng / mL の濃度の可
溶性抗 CD 2 8 抗体とともに培養する、

請求項1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

(a) ステップ a) の前記 PBMC を、形質導入前に約 1 6 時間 ~ 約 3 2 時間培養する；

(b) ステップ a) の前記 P B M C を、形質導入前に約 20 時間～約 24 時間培養する；
 (c) ステップ a) の前記 P B M C を、形質導入前に少なくとも 18 時間培養する；または
 (d) ステップ a) の前記 P B M C を、形質導入前に少なくとも 24 時間培養する、
 請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

1×10^9 T U ～ 2×10^9 T U のレンチウイルスベクターを使用して、 1×10^8 個の
 播種 P B M C への形質導入を行う、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

(a) 前記レンチウイルスベクターを、総培養体積の 20 % v / v まで希釈する；
 (b) 前記レンチウイルスベクターを、総培養体積の 40 % ～ 50 % v / v まで希釈する；
 (c) 前記 P B M C の集団を 18 ～ 48 時間にわたって形質導入する；
 (d) 前記 P B M C の集団を 18 ～ 36 時間にわたって形質導入する；または
 (e) 前記 P B M C の集団を 24 時間にわたって形質導入する、
 請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 C A R が、
 (a) B C M A に結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む細胞外ドメイン；
 (b) C D 8 ； C D 4 、 C D 2 8 、 C D 4 5 、 P D 1 および C D 1 5 2 からなる群より
 選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン；
 (c) C D 2 8 、 C D 5 4 (I C A M) 、 C D 1 3 4 (O X 4 0) 、 C D 1 3 7 (4 1 B
 B) 、 C D 1 5 2 (C T L A 4) 、 C D 2 7 3 (P D - L 2) 、 C D 2 7 4 (P D - L 1
) および C D 2 7 8 (I C O S) からなる群より選択される 1 種または複数種の細胞内共
 刺激シグナル伝達ドメイン；ならびに
 (d) C D 3 シグナル伝達ドメイン
 をさらに含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記抗 B C M A C A R が、以下の特徴；
 (a) B C M A に結合する前記抗体または抗原結合性断片が単鎖可変断片 (s c F v) で
 ある；
 (b) 前記膜貫通ドメインが C D 8 または C D 2 8 に由来する；
 (c) 前記 1 種または複数種の細胞内共刺激シグナル伝達ドメインが、C D 2 8 、 C D 1
 3 4 および C D 1 3 7 からなる群より選択される；
 (d) 前記 C A R がヒンジ領域ポリペプチドをさらに含む；
 (e) 前記 C A R が I g G 1 または C D 8 ヒンジ領域ポリペプチドをさらに含む；
 (f) 前記 C A R がシグナルペプチドをさらに含む；あるいは
 (g) 前記 C A R が I g G 1 重鎖シグナルポリペプチド、C D 8 シグナルポリペプチド
 、またはヒト G M - C S F 受容体 シグナルポリペプチドをさらに含む、
 を備える、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記抗 B C M A C A R が、C D 8 シグナルポリペプチド、B C M A に結合する s c F
 v 、 C D 8 ヒンジ領域ポリペプチド、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 細胞内共刺
 激シグナル伝達ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む、請求項 1 ～
 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

(a) ステップ (c) の前記 P B M C の集団を、増大させるために、細胞培養バッグ中で
 5 日～8 日にわたって培養する；
 (b) ステップ (c) の前記 P B M C の集団を、増大させるために、細胞培養バッグ中で
 5 日にわたって培養し、次いで、バイオリアクター中で 3 日にわたって培養する；または

10

20

30

40

50

(c) ステップ(c)の前記P B M Cの集団を、増大させるために、バイオリクター中で5日～8日にわたって培養する、
請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

(a) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも50倍増大させる；
(b) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも100倍増大させる；
(c) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも300倍増大させる；
(d) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも400倍増大させる；
(e) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも500倍増大させる；
または

10

(f) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも600倍増大させる、
請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

前記製造されたT細胞治療薬を回収するステップをさらに含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

前記T細胞治療薬を回収するステップは、ステップ(c)で増大させた前記細胞を濃縮および洗浄することを含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記T細胞治療薬を、対象への投与前に凍結保存する、請求項1～16のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項18】

前記P B M Cがヒト対象から得られる、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

30

40

50