

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-536843

(P2017-536843A)

(43) 公表日 平成29年12月14日(2017.12.14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	Z 2 G 0 4 5
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y 4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/48 (2006.01)	G 0 1 N 33/48	Z 4 C 0 8 7
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	A
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 35/17	Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-543291 (P2017-543291)
 (86) (22) 出願日 平成27年11月4日 (2015.11.4)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年6月29日 (2017.6.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/058939
 (87) 国際公開番号 WO2016/073550
 (87) 国際公開日 平成28年5月12日 (2016.5.12)
 (31) 優先権主張番号 62/075,856
 (32) 優先日 平成26年11月5日 (2014.11.5)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 500213834
 メモリアル スローン-ケタリング キャンサー センター
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 10065, ニューヨーク, ヨーク アベニュー 1275
 (74) 代理人 100097456
 弁理士 石川 徹
 (72) 発明者 リチャード ジェイ. オレイリ
 アメリカ合衆国 コネチカット州 06783-1909 ロクブリ ボックス 314 ルクム ロード 34

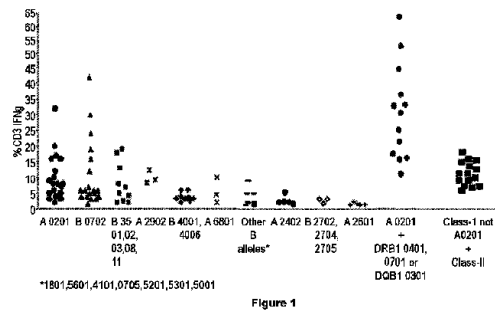
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 養子細胞療法のためのT細胞株及びそのドナーの選択方法

(57) 【要約】

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法が、本明細書に開示される。また、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者への治療的投与のための同種異系T細胞を得るためのドナーを選択する方法も開示される。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法であって：

(i) 複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii) 各々が該病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする表示を使用し、該病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、患者に対し同種異系であるT細胞株を選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、該相対活性は、該T細胞株により示される該病原体に対する又は該癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、

(A) 選択されたT細胞株は、該患者と又は該患者の罹患細胞と共通して、該T細胞株の認識が拘束されている該表示により同定されるHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、

(B) 該選択されたT細胞株が拘束される該HLAアレル又はHLAアレル組合せは、該患者と又は該患者の罹患細胞と共通していることがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、該表示におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる、前記方法。

【請求項 2】

前記選択する工程の前に、前記表示を作製する工程を更に含む、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記作製する工程の前に、前記相対活性を測定する工程を更に含む、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

前記選択する工程の前に、前記患者の又は前記患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

前記確定する工程が、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

前記表示が、前記相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストである、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

前記表示が、各々が相対活性を示すスコアに関連している、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベースである、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

前記表示が、スキャッタープロットである、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

前記スキャッタープロットの第一の軸が、その複数の中の前記HLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの異なるものを表し；並びに、スキャッタープロットの第二の軸が、それぞれのT細胞株に対し自己であり、且つ相対活性の指標として、前記病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドでロードされている抗原提示細胞による刺激時の、それに関する該相対活性の指標が前記表示において明らかにされている各T細胞株由来のインターフェロン- γ -分泌CD3⁺細胞の割合を表している、請求項8記載の方法。

【請求項 10】

前記相対活性が、前記病原体又は癌を有する患者の治療における前記T細胞株のインビボ臨床有効性である、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

10

20

30

40

50

前記表示が、データベース中に保存されている、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

前記方法が、コンピュータで実行される、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

前記患者が、病原体を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該病原体の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つここで前記相対活性は、該病原体に対する既知の活性の相対測定値である、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

前記病原体が、ウイルス、細菌、真菌、蠕虫又は原生生物である、請求項13記載の方法 10

【請求項15】

前記病原体が、ウイルスである、請求項14記載の方法。

【請求項16】

前記ウイルスが、CMVである、請求項15記載の方法。

【請求項17】

前記患者が、造血幹細胞移植(以後「HSCT」)を該患者が受けた後にCMV感染症を有するか又は有することが疑われている、請求項16記載の方法。

【請求項18】

前記抗原が、CMV pp65である、請求項16又は17記載の方法。 20

【請求項19】

前記抗原が、CMV IE1である、請求項16又は17記載の方法。

【請求項20】

前記ウイルスが、EBVである、請求項15記載の方法。

【請求項21】

前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C、LMP1、又はLMP2である、請求項20記載の方法。 20

【請求項22】

前記ウイルスが、BKV、JCV、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、ポックスウイルス、ラブドウイルス、又はパラミクソウイルスである、請求項15記載の方法。 30

【請求項23】

前記ウイルスが、ヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)又はヒトヘルペスウイルス-8(HHV-8)である、請求項15記載の方法。

【請求項24】

前記患者が、癌を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つここで前記相対活性は、該癌に対する既知の活性の相対測定値である、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項25】

前記癌が、血液の癌である、請求項24記載の方法。 40

【請求項26】

前記癌が、乳房、肺、卵巣、胃、脾臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆管、結腸、直腸、頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺、甲状腺、脳又は皮膚の癌である、請求項24記載の方法。

【請求項27】

前記抗原が、WT1である、請求項24記載の方法。

【請求項28】

前記癌が、リンパ増殖性疾患である、請求項24記載の方法。

【請求項29】

前記癌が、EBV-陽性移植後リンパ増殖性疾患である、請求項28記載の方法。 50

- 【請求項 3 0】
前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、又はEBNA3Cである、請求項29記載の方法。
- 【請求項 3 1】
前記抗原が、LMP1又はLMP2である、請求項29記載の方法。
- 【請求項 3 2】
前記癌が、EBV-陽性上咽頭癌である、請求項24記載の方法。
- 【請求項 3 3】
前記抗原が、EBNA1、LMP1、又はLMP2である、請求項32記載の方法。
- 【請求項 3 4】 10
病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法であって：
(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が該病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする表示を使用し、該患者に対し同種異系であるT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、該相対活性は、該T細胞株により示される該病原体に対する又は該癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、 20
(A)選択されたT細胞ドナーは、該患者と又は該患者の罹患細胞と共通して、少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、
(B)該患者又は該患者の罹患細胞と共通している少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せのひとつは、該患者と又は該患者の罹患細胞と共通していることがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、該表示におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる、前記方法。
- 【請求項 3 5】
前記選択する工程の前に、前記表示を作製する工程を更に含む、請求項34記載の方法。
- 【請求項 3 6】 30
前記作製する工程の前に、前記相対活性を測定する工程を更に含む、請求項35記載の方法。
- 【請求項 3 7】
前記選択する工程の前に、前記患者の又は前記患者の罹患細胞のHLA割当並びにT細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む、請求項34～36のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 3 8】
前記確定する工程が、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む、請求項37記載の方法。
- 【請求項 3 9】 40
前記表示が、前記相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストである、請求項34～38のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 4 0】
前記表示が、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベースである、請求項34～38のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 4 1】
前記表示が、スキャッタープロットである、請求項34～38のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 4 2】 50
前記スキャッタープロットの第一の軸が、その複数の中の前記HLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの異なるものを表し；並びに、スキャッタープロットの第二の軸が、それぞ

れのT細胞株に対し自己であり、且つ相対活性の指標として、前記病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドがロードされている抗原提示細胞による刺激時の、それに関する該相対活性の指標が前記表示において明らかにされている各T細胞株由来のインターフェロン- γ 分泌CD3⁺細胞の割合を表している、請求項41記載の方法。

【請求項43】

前記相対活性が、前記病原体又は癌を有する患者の治療における前記T細胞株のインビボ臨床有効性である、請求項34～41のいずれか一項記載の方法。

【請求項44】

前記表示が、データベース中に保存されている、請求項34～43のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項45】

前記方法が、コンピュータで実行される、請求項34～44のいずれか一項記載の方法。

【請求項46】

前記患者が、病原体を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該病原体の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つここで前記相対活性は、該病原体に対する既知の活性の相対測定値である、請求項34～45のいずれか一項記載の方法。

【請求項47】

前記病原体が、ウイルス、細菌、真菌、蠕虫又は原生生物である、請求項46記載の方法。

【請求項48】

前記病原体が、ウイルスである、請求項46記載の方法。

20

【請求項49】

前記ウイルスが、CMVである、請求項48記載の方法。

【請求項50】

前記患者が、HSCTを該患者が受けた後にCMV感染症を有するか又は有することが疑われている、請求項49記載の方法。

【請求項51】

前記抗原が、CMV pp65である、請求項49又は50記載の方法。

【請求項52】

前記抗原が、CMV IE1である、請求項49又は50記載の方法。

30

【請求項53】

前記ウイルスが、EBVである、請求項48記載の方法。

【請求項54】

前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C、LMP1、又はLMP2である、請求項53記載の方法。

【請求項55】

前記ウイルスが、BKV、JCV、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、ボックスウイルス、ラブドウイルス、又はパラミクソウイルスである、請求項48記載の方法。

【請求項56】

前記ウイルスが、ヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)又はヒトヘルペスウイルス-8(HHV-8)である、請求項48記載の方法。

40

【請求項57】

前記患者が、癌を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つここで前記相対活性は、該癌に対する既知の活性の相対測定値である、請求項34～45のいずれか一項記載の方法。

【請求項58】

前記癌が、血液の癌である、請求項57記載の方法。

【請求項59】

前記癌が、乳房、肺、卵巣、胃、膵臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆管、結腸

50

、直腸、頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺、甲状腺、脳又は皮膚の癌である、請求項57記載の方法。

【請求項60】

前記抗原が、WT1である、請求項57記載の方法。

【請求項61】

前記癌が、リンパ増殖性疾患である、請求項57記載の方法。

【請求項62】

前記癌が、EBV-陽性移植後リンパ増殖性疾患である、請求項61記載の方法。

【請求項63】

前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、又はEBNA3Cである、請求項62記載の方法

10

【請求項64】

前記抗原が、LMP1又はLMP2である、請求項62記載の方法。

【請求項65】

前記癌が、EBV-陽性上咽頭癌である、請求項57記載の方法。

【請求項66】

前記抗原が、EBNA1、LMP1、又はLMP2である、請求項65記載の方法。

【請求項67】

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法であって：

20

(i)複数のHLAアレルを同定し、並びに(ii)各々が該病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中の該HLAアレルの異なるものに拘束される、T細胞株の作製の相対頻度の指標を明らかにする表示を使用し、該患者又は該患者の罹患細胞と共通の1以上のHLAアレルを有する患者に対し同種異系のT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレルは、HLAアレルに拘束された該T細胞株の作製の相対頻度のそれぞれの指標と関連づけられ、

選択されたT細胞ドナーは、該患者又は該患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高い作製の頻度の指標と該表示において関連付けられる該患者又は該患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する、前記方法。

【請求項68】

前記選択する工程の前に、前記表示を作製する工程を更に含む、請求項67記載の方法。

30

【請求項69】

前記作製する工程の前に、前記相対頻度を測定する工程を更に含む、請求項68記載の方法。

【請求項70】

前記選択する工程の前に、前記患者の又は前記患者の罹患細胞に関するHLA割当並びに前記T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む、請求項67～69のいずれか一項記載の方法。

【請求項71】

前記確定する工程が、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む、請求項70記載の方法。

40

【請求項72】

前記表示が、前記相対頻度により等級化された複数のHLAアレルのリストである、請求項67～71のいずれか一項記載の方法。

【請求項73】

前記表示が、各々が相対頻度を示すスコアと関連づけられた、複数のHLAアレルをリスト化しているデータベースである、請求項67～71のいずれか一項記載の方法。

【請求項74】

前記表示が、データベース中に保存されている、請求項67～73のいずれか一項記載の方法。

50

- 【請求項 75】
前記方法が、コンピュータで実行される、請求項67～74のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 76】
前記患者が、病原体を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該病原体の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、請求項67～75のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 77】
前記病原体が、ウイルス、細菌、真菌、蠕虫又は原生生物である、請求項76記載の方法。
- 【請求項 78】 10
前記病原体が、ウイルスである、請求項76記載の方法。
- 【請求項 79】
前記ウイルスが、CMVである、請求項78記載の方法。
- 【請求項 80】
前記患者が、HSCTを該患者が受けた後にCMV感染症を有するか又は有することが疑われている、請求項79記載の方法。
- 【請求項 81】
前記抗原が、CMV pp65である、請求項79又は80記載の方法。
- 【請求項 82】 20
前記抗原が、CMV IE1である、請求項79又は80記載の方法。
- 【請求項 83】
前記ウイルスが、EBVである、請求項78記載の方法。
- 【請求項 84】
前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C、LMP1、又はLMP2である、請求項83記載の方法。
- 【請求項 85】
前記ウイルスが、BKV、JCV、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、ポックスウイルス、ラブドウイルス、又はパラミクソウイルスである、請求項78記載の方法。
- 【請求項 86】 30
前記ウイルスが、ヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)又はヒトヘルペスウイルス-8(HHV-8)である、請求項78記載の方法。
- 【請求項 87】
前記患者が、癌を有するか又は有することが疑われ、ここで前記T細胞株は、該癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、請求項67～75のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 88】
前記癌が、血液の癌である、請求項87記載の方法。
- 【請求項 89】 40
前記癌が、乳房、肺、卵巣、胃、膵臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆管、結腸、直腸、頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺、甲状腺、脳又は皮膚の癌である、請求項87記載の方法。
- 【請求項 90】
前記抗原が、WT1である、請求項87記載の方法。
- 【請求項 91】
前記癌が、リンパ増殖性疾患である、請求項87記載の方法。
- 【請求項 92】
前記癌が、EBV-陽性移植後リンパ増殖性疾患である、請求項91記載の方法。
- 【請求項 93】
前記抗原が、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、又はEBNA3Cである、請求項92記載の方法。

- 【請求項 9 4】
前記抗原が、LMP1又はLMP2である、請求項92記載の方法。
- 【請求項 9 5】
前記癌が、EBV-陽性上咽頭癌である、請求項87記載の方法。
- 【請求項 9 6】
前記抗原が、EBNA1、LMP1、又はLMP2である、請求項95記載の方法。
- 【請求項 9 7】
前記患者が、HSCTのレシピエントである、請求項1～96のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 9 8】
前記HSCTが、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、又は臍帯血移植である、請求項97記載の方法。 10
- 【請求項 9 9】
前記患者が、固形臓器移植のレシピエントである、請求項1～96のいずれか一項記載の方法。
- 【請求項 1 0 0】
病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択するためのコンピュータシステムであって：
中央演算ユニット；
該中央演算ユニットに連結されたメモリーであって、請求項1～99のいずれか一項記載の方法の工程を実行するための命令を記憶している該メモリーを備える、コンピュータシステム。 20
- 【請求項 1 0 1】
請求項1～99のいずれか一項記載の方法の工程を実行するために、コンピュータで実行可能な命令を有するコンピュータ可読媒体。
- 【請求項 1 0 2】
病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者を治療する方法であって：
(a) 請求項1～33のいずれか一項記載の方法に従い、該患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択すること；並びに
(b) 該患者へ選択された該同種異系T細胞株由来のT細胞集団を投与することを含む、前記方法。 30
- 【請求項 1 0 3】
前記患者が、HSCTのレシピエントである、請求項102記載の方法。
- 【請求項 1 0 4】
前記HSCTが、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、又は臍帯血移植である、請求項103記載の方法。
- 【請求項 1 0 5】
前記患者が、固形臓器移植のレシピエントである、請求項102記載の方法。
- 【請求項 1 0 6】
病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を入手する方法であって： 40
(a) 請求項34～99のいずれか一項記載の方法に従い同種異系T細胞ドナーを選択すること；並びに
(b) 選択された該同種異系T細胞ドナーから、同種異系T細胞株であって、該病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する該同種異系T細胞株を得ることを含む、前記方法。
- 【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【0 0 0 1】
(関連出願の相互参照)
本願は、2014年11月5日に出願され、その全体が引用により本明細書中に組み込まれて 50

いる、米国特許仮出願第62/075,856号の恩典を主張するものである。

【0002】

(米国政府の権利に関する陳述)

本発明は、米国立衛生研究所(National Institutes of Health)により授与されたNCI Ca 23766、SR21 CA 162002、SP30-Ca08748-40、P01 Ca 106450、P01 Ca 52477-13 ; P01 Ca 54350の下で、米国政府の助成により成された。米国政府は、本発明に一定の権利を有する。

【0003】

(1. 分野)

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法が、本明細書に開示される。また、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るためのドナーを選択する方法も開示される。

10

【背景技術】

【0004】

(2. 背景)

抗ウイルス性CD8⁺ T細胞は、ウイルスゲノムによりコードされた可能性のあるペプチド決定基のわずかな画分に反応する。細胞傷害性T細胞は、T細胞受容体(TCR)の、主要組織適合(MHC)クラス-I分子に複合された8~11個のアミノ酸抗原性ペプチドとの相互作用により、感染した細胞を認識する。これらのMHC-ペプチド複合体は、内因性に合成されたウイルスタンパク質の細胞内プロセッシングから生じる(Saveanu, L.らの文献、Immunol Rev, 2005. 207: 42-59 ; Strehl, B.らの文献、Immunol Rev, 2005. 207: 19-30)。

20

【0005】

ペプチド決定基は、特定のHLA分子内の予想される結合モチーフと適合する。非常に多数のペプチドエピトープが作製され得るが、T細胞反応は選択された数のエピトープに集中され、これは免疫優性として公知の現象である(Sercarz, E.E.らの文献、Annu Rev Immunol, 1993. 11: 729-66 ; Yewdell, J.W.及びJ.R. Benninkの文献、Annu Rev Immunol, 1999. 17: 51-88)。高度に焦点が当てられた病原体に対するCD8⁺ T細胞反応の特質は、個々のエピトープは、それらのT細胞反応を誘導する能力が異なることを指摘している(Yewdell, J.W.及びJ.R. Benninkの文献、Annu Rev Immunol, 1999. 17: 51-88)。

30

【0006】

任意の所定の個体において最も顕著なT細胞反応を誘導するペプチドエピトープは、任意の特定のウイルスペプチドに対する全てのT細胞反応へのエピトープの比例的寄与を基に更に分類することができる。「免疫優性」エピトープは、最も豊富なコグネートT細胞集団により認識されるのに対し、「準優性」エピトープは、より豊富でないT細胞集団により認識される。従って、個々のエピトープは、総T細胞反応に対するそれらの相対寄与に応じて、優性、共優性、又は準優性として分類され、これにより免疫優性の階層を確立することができる。

【0007】

マウスのインフルエンザウイルス感染症の場合、CD8⁺ T細胞反応は、典型的には一握りの特異的エピトープのみに向けられている(La Gruta, N.L.らの文献、Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103: 994-999)。並びに特に極端な例において、マウスのパラインフルエンザウイルス(センダイウイルス)に対する全てのCD8⁺ T細胞反応は、単独のエピトープに向けられている(Cole, G.A.らの文献、Int Immunol, 1994. 6: 1767-1775 ; Kast, W.M.らの文献、Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88: 2283-2287)。

40

【0008】

ヒトT細胞反応は、いくつかのウイルス感染症について特徴付けられている。ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に対するT細胞反応の研究は、このウイルスの様々なタンパク質におけるいくつかのエピトープの同定につながり、且つこれらの研究はまた、免疫優性エピトープは、これらの白血球抗原(HLA)アレルを共遺伝する個体内のHLA A0301、B0702又はA0201

50

などのよく認められるヒトHLAアレルにより提示され得ることも示している (Day, C.L.らの文献、J Virol, 2001. 75: 6279-6291)。更に、複数のエピトープは、この感染症の異なる病期の期間に、これらの同じHLAアレルにより提示され得る (Yu, X.G.らの文献、J Virol, 2002. 76: 8690-8701)。ヒトサイトメガロウイルス (CMV) に対するT細胞反応の評価は、このウイルスの最も免疫原性のタンパク質、すなわちCMVpp65及びIE1内の、いくつかの免疫優性エピトープ、並びにそれらを提示しているHLAアレルの同定につながった。次にこれは、HLA B0702及びHLA A0201などの特定のHLAアレルを遺伝する個体で、これらのアレルにより示されたエピトープは、免疫優性エピトープを構成するという認識につながった。これらのアレルが共遺伝される場合、HLA B0702により提示されるエピトープは、免疫優性T細胞反応を構成する一方で、HLA A0201が提示したエピトープは、準優性である (Lacey, S.F.らの文献、Hum Immunol, 2003. 64: 440-452)。

10

【0009】

免疫優性は、抗原のプロセッシング及び提示、並びにT細胞活性化及びT細胞受容体の結合力を律する数多くの陽性因子及び陰性因子の最終産物を反映している (Yewdell, J.W.及びJ.R. Benninkの文献、Annu Rev Immunol, 1999. 17: 51-88)。これらの中で、こうしてこれまでほとんどの研究において評価された主要因子は、感染した個体の遺伝子HLAクラス-Iバックグラウンド、ウイルスタンパク質の配列及びウイルス感染の動態、更にはHLA結合溝 (groove) におけるペプチドエピトープの結合親和性及びペプチド-MHC複合体へのTCR親和性を含んでいる。

20

【0010】

ドナー由来のウイルス特異的T細胞を使用する養子免疫療法は、同種異系造血幹細胞移植 (HSCT) 後の、エプスタインバーウイルス (EBV) 及びCMVなどのウイルス感染を根絶するのに有効であり得る。ドナー由来のウイルス特異的T細胞を適時に入手することができないことが、この治療アプローチの適用成功の大きい制限となっている。更に、このような細胞は、血清反応陰性のドナー及び臍帯血ドナーからは作製することができない。このような場合には、予め作製された第三者ドナー由来のウイルス特異的T細胞が、そのような患者における重篤なウイルス感染症の治療のために容易に入手可能であろう。いくつかのグループが、2つ以上のHLAアレルのマッチを基に実験的に注入された細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) 株を使用する、EBV、CMV及びアデノウイルス (ADV) 感染症の治療に関する、第三者ドナー由来のウイルス特異的CTL株の安全で可能性のある有効性を明らかにしている (Haque, T,らの文献、Lancet, 2002. 360: 436-442; Barker, J. N.らの文献、Blood, 2010. 116: 5045-5049; Doubrovina, E.らの文献、Blood, 2012. 119: 2644-2656; Uhlin, M.らの文献、Clinical Infectious Diseases, 2012. 55: 1064-1073; Leen, A. M.らの文献、Blood, 2013. 121:5113-5123)。CTL治療の高度で一貫性のある有効性を確実にするために、CTL株を選択する方法が必要とされている。

30

【0011】

本明細書の参考文献の引用は、それらが本開示に対する先行技術であることの承認として構築されるものではない。

【発明の概要】

【0012】

40

(3. 発明の概要)

本発明は、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法、並びにかかる同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法を提供する。

【0013】

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法は：(i) 複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii) 各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする表示 (以後「活性の表示」という) を使

50

用し、病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、患者に対し同種異系であるT細胞株を選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞株は、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通して、該T細胞株の認識が拘束されている表示により同定されるHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)選択されたT細胞株が拘束されるHLAアレル又はHLAアレル組合せは、(患者又は患者の罹患細胞のHLA割当を基に)患者と又は患者の罹患細胞と共通していることがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、該表示におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる。

【0014】

いくつかの実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、選択する工程の前に、「活性の表示」を作製する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、作製する工程の前に、相対活性を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む。特定の実施態様において、確定する工程は、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。

【0015】

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得る同種異系T細胞ドナーを選択する方法は：(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする「活性の表示」を使用し、患者に対し同種異系であるT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞ドナーは、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通して、少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せのひとつは、患者と又は患者の罹患細胞と共通していることがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、「活性の表示」における、HLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる。

【0016】

いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、「活性の表示」を作製する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、作製する工程の前に、相対活性を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、患者又は患者の罹患細胞のHLA割当、及びT細胞ドナーのHLA割当を確定する工程を更に含む。特定の実施態様において、確定する工程は、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。

【0017】

一部の実施態様において、「活性の表示」は、相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストである。一部の実施態様において、「活性の表示」は、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられた、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベースである。一部の実施態様において、「活

性の表示」は、スキャッタープロットである。かかる実施態様の特定の態様において、スキャッタープロットの第一の軸は、その複数の中のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの異なるものを表し、並びにスキャッタープロットの第二の軸は、それぞれのT細胞株に対し自己であり、且つ該相対活性の指標として、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドをロードしている抗原提示細胞による刺激時の、それに関する相対活性の指標が表示において明らかにされている各T細胞株由来のインターフェロン- γ -分泌CD3⁺細胞の割合を表している。好ましい実施態様において、この相対活性は、病原体又は癌を有する患者の治療におけるT細胞株のインビボ臨床有効性である。一部の実施態様において、「活性の表示」は、データベース中に保存されている。

【0018】

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得る同種異系T細胞ドナーを選択する方法は：(i) 複数のHLAアレルを同定し、並びに(ii) 各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中の該HLAアレルの異なるものに拘束される、T細胞株の作製の相対頻度の指標を明らかにする表示(以後「頻度の表示」)を使用し、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)に共通の1以上のHLAアレルを有する患者に対し同種異系のT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、表示において各々同定されたHLAアレルは、HLAアレルに拘束された該T細胞株の作製の相対頻度のそれぞれの指標と関連づけられ、ここで：選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりも、より高い作製の頻度の指標と表示において関連付けられる、患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する。

【0019】

いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、「頻度の表示」を作製する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、作製する工程の前に、相対頻度を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当、並びに、T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む。特定の実施態様において、確定する工程は、少なくとも4つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。

【0020】

一部の実施態様において、「頻度の表示」は、相対頻度により等級化された複数のHLAアレルのリストである。一部の実施態様において、「頻度の表示」は、各々が相対頻度を示すスコアと関連づけられた、複数のHLAアレルをリスト化しているデータベースである。一部の実施態様において、「頻度の表示」は、データベースに保存されている。

【0021】

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者を治療する方法であって：(a)この開示に説明された方法に従い、患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択すること；並びに、(b)患者へ、選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団を投与することを含む方法も、本明細書において提供される。

【0022】

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を入手する方法であって：(a)本開示において説明された同種異系T細胞ドナーを選択する方法に従い、同種異系T細胞ドナーを選択すること；並びに、(b)選択された同種異系T細胞ドナーから、同種異系T細胞株であって、病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する該同種異系T細胞株を得ることを含む方法も、本明細書において説明される。

【0023】

10

20

30

40

50

様々な態様において、患者は、病原体を有するか又は有することが疑われ、ここでT細胞株は、病原体の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する。様々な実施態様において、病原体は、ウイルス、細菌、真菌、蠕虫又は原生生物である。いくつかの実施態様において、病原体は、ウイルスである。

【0024】

一部の実施態様において、ウイルスは、サイトメガロウイルス(CMV)である。特定の実施態様において、患者は、HSCTを患者が受けた後にCMV感染症を有するか又は有することが疑われている。特定の実施態様において、抗原は、CMV pp65である。特定の実施態様において、抗原は、CMV IE1である。

【0025】

一部の実施態様において、ウイルスは、エプスタイン-パールウイルス(EBV)である。特定の実施態様において、抗原は、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C、LMP1、又はLMP2である。

【0026】

一部の実施態様において、ウイルスは、BKV、JCV、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、ポックスウイルス、ラブドウイルス、又はパラミクソウイルスである。

【0027】

一部の実施態様において、ウイルスは、ヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)又はヒトヘルペスウイルス-8(HHV-8)である。

【0028】

様々な態様において、患者は、癌を有するか又は有することが疑われ、ここでT細胞株は、癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する。一部の実施態様において、癌は、乳房、肺、卵巣、胃、膵臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆管、結腸、直腸、頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺、甲状腺、脳又は皮膚の癌である。一部の実施態様において、癌は、血液の癌である。特定の実施態様において、癌は、リンパ増殖性疾患である。

【0029】

一部の実施態様において、癌は、WT1-陽性癌である。一部の実施態様において、抗原は、WT1である。

【0030】

一部の実施態様において、癌は、EBV-陽性移植後リンパ増殖性疾患(EBV-PTLD)である。特定の実施態様において、抗原は、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、又はEBNA3Cである。特定の実施態様において、抗原は、LMP1又はLMP2である。

【0031】

一部の実施態様において、癌は、EBV-陽性上咽頭癌である。特定の実施態様において、抗原は、EBNA1、LMP1、又はLMP2である。

【0032】

様々な実施態様において、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する方法は、コンピュータで実行される。様々な実施態様において、本開示に説明された同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、コンピュータで実行される。

【0033】

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択するコンピュータシステムであって：中央演算ユニット；中央演算ユニットに連結されたメモリーであって、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する任意の方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する任意の方法の工程を実行するための命令を記憶している該メモリーを備える、コンピュータシステムも、本明細書において提供される。

【0034】

本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する任意の方法又は同種異系T細胞ドナーを

10

20

30

40

50

選択する任意の方法の工程を実行するために、コンピュータで実行可能な命令を有するコンピュータ可読媒体も、本明細書において提供される。

【0035】

様々な実施態様において、患者は、造血幹細胞移植(HSCT)のレシピエントである。特定の実施態様において、HSCTは、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、又は臍帯血移植である。様々な実施態様において、患者は、固形臓器移植(SOT)のレシピエントである。

【0036】

本開示において言及される患者は、ヒト患者である。

【図面の簡単な説明】

【0037】

(4. 図面の簡単な説明)

【図1】図1は、実施例のセクション6.2.3に説明されたそれらのそれぞれのHLAアレル又はHLAアレル組合せによりクラス化された、免疫優性エピトープを提示しているHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束される119種のCMV-特異的CTL株のバンクの各T細胞株に関する、インターフェロン- γ -分泌CD3+細胞の割合を示す表示である。

【発明を実施するための形態】

【0038】

(5. 詳細な説明)

本発明は、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法、及びかかる同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法を提供する。本発明に従い、遺伝されかつ発現された他のものを上回り特定のHLAアレルに拘束されたエピトープ-特異的T細胞の優先的増殖につながる免疫優性エピトープを提示しているHLAアレルの階層が存在する。本発明は、治療のための同種異系T細胞株を選択するため、及び同種異系T細胞株を得るためのドナーを選択するために、(抗-病原体又は抗-癌活性により反映される)この増殖の階層を反映する表示を使用する。

【0039】

同じく、遺伝されかつ発現された他のものを上回り特定のHLAアレルに拘束されたエピトープ-特異的T細胞の優先的作製につながる免疫優性エピトープを提示しているHLAアレルの階層も存在する。本発明は、T細胞株を得るためのドナーを選択するために、(作製の頻度により反映される)この作製の階層を反映する表示を使用する。

【0040】

(5.1. 養子細胞療法のためのT細胞株の選択)

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法が、本明細書において提供される。

【0041】

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択する方法は：(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする表示(以後「「活性の表示」」)を使用し、病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、患者に対し同種異系であるT細胞株を選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞株は、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通して、該T細胞株の認識が拘束されている表示により同定されるHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)選択されたT細胞株が拘束されるHLAアレル又はHLAアレル組合せは、(患者又は患者の罹患細胞のHLA割当を基に)患者と又は患者の罹患細胞と共通しているこ

10

20

30

40

50

とがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、該表示における、HLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる。HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株が、何らかの理由のために治療的投与について不適切であることがわかっている場合には、そのHLAアレル又はHLAアレル組合せは、「それ以外は不適格である」とみなされる。例えば、暫定的に選択されたT細胞株が、細胞株試料中に生存細胞を有さないか又はごくわずかしが有さないことが観察される場合、HLAアレル又はHLAアレル組合せ(それに対しかかるT細胞株が拘束されている)は、不適格であるとみなし得る。しかし別の例のように、「活性の表示」中の相対活性が、活性のインビトロ又はエキスピボアッセイに基づくものであり、且つ特定のHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対インビボ活性が、「活性の表示」の作製に使用される相対インビトロもしくはエキスピボアッセイと相関せず、結果的に「活性の表示」における最高相対活性は、最高の相対インビボ活性ではないことがわかっている場合、この特定のHLAアレル又はHLAアレル組合せ(それに対しかかるT細胞株が拘束されている)は、不適格であるとみなし得る。例えば、HLA-B35に拘束されたT細胞株に関するヒト患者におけるCMV感染症に対するインビボ活性は、臨床的に無効(従って無視できるほどの相対インビボ活性)であることが観察されているが、HLA-B35に拘束されたT細胞株由来のインターフェロン- γ 分泌CD3⁺ T細胞の割合は、はるかに高い相対活性を示し；従って、CMV感染症の治療の状況において、HLA-B35に拘束されたT細胞株が暫定的に選択される場合、好ましくはHLA-B35は、「それ以外は不適格である」ことが認められている。本特許請求された方法の使用により、選択されるT細胞株は、患者におけるHLAアレル又はHLAアレル組合せの中の最高活性と関連づけられる、患者により共有されたHLAアレル又はHLAアレル組合せにより提示される、病原体又は癌のエピトープに対し特異的である。関連した特定の実施態様において、HLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株(複数可)が、病原体又は癌を有する患者の治療において臨床的に無効であることがわかっている場合に、不適格であるとみなされる。

10

20

30

40

【0042】

別の実施態様において、本発明により提供される方法は、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための候補同種異系T細胞株を選択する方法であり：これは、(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする「活性の表示」を使用し、病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する、患者に対し同種異系であるT細胞株を選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞株は、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通して、該T細胞株の認識が拘束されている表示により同定されるHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)選択されたT細胞株が拘束されるHLAアレル又はHLAアレル組合せは、(患者又は患者の罹患細胞のHLA割当を基に)患者と又は患者の罹患細胞と共通していることがわかっている、該表示における、HLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる。

【0043】

いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、「活性の表示」を作製する工程を更に含む。「活性の表示」を作製するために使用することができる方法は、以下に説明される。いくつかの実施態様において、本方法は、作製する工程の前に、相対活性を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む。

【0044】

特定の実施態様において、選択されたT細胞株は、病原体又は癌の抗原の少なくとも1種

50

のエピトープを認識し、該少なくとも1種のエピトープは、患者と又は患者の罹患細胞と共通であるHLAアレル又はHLAアレル組合せにより提示され、ここでHLAアレル又はHLAアレル組合せは、患者又は患者の罹患細胞におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と関連づけられる(並びに先に説明されたようにそれ以外は不適格ではない)。かかる実施態様の好ましい態様において、相対活性は、病原体又は癌を有する患者の治療におけるT細胞株のインビボでの臨床有効性である。

【0045】

本明細書に記載された方法の特定の実施態様において、少なくとも1種のエピトープは、少なくとも1種の免疫優性エピトープである。

【0046】

本発明の方法のいくつかの実施態様において、選択されたT細胞株は、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通の、それに対するT細胞株の認識が拘束されている「活性の表示」により同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する。一部の実施態様において、患者は、移植レシピエントである。患者が移植レシピエントである特定の実施態様において、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌性のもしくは病原体に感染した)と共通であるHLAアレル(複数可)又はHLAアレル組合せ(複数可)とは、移植前及び/又は後の患者と共通であるHLAアレル(複数可)又はHLAアレル組合せ(複数可)をいう。一部の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者へ与えられた移植片に由来し、従って移植片のHLAアレルを発現し;そのような実施態様において、患者の罹患細胞のHLA割当の決定は、患者に与えられた移植片のHLAアレルのタイピングにより行うことができる。他の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者に与えられた移植片に由来せず、従ってその移植前の患者のHLA割当を有する。特定の実施態様において、移植は、HSCT又は固形臓器移植である。

【0047】

(5.1.1. T細胞株の作製)

治療的投与を選択するための及び/又は表示の作製に関する情報を得るために使用するためのT細胞株は、本明細書に記載されたように製造することができる。病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識するT細胞株は、当該技術分野において公知の任意の方法によるか又は本明細書に記載のように作製することができる。病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識するT細胞株を作製する方法の非限定的例は、Trivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801; Koehne, G.らの文献、Blood, 2000. 96: 109-117; Koehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740; Doubrovina, E.らの文献、Blood, 2012. 119: 2644-2656; Barker, J. N.らの文献、Blood, 2010. 116: 5045-5049; O'Reilly, R. J.らの文献、Immunol Res, 2007. 38: 237-250; 及び、O'Reilly, R. J.らの文献、Best Practice & Research Clinical Haematology, 2011. 24: 381-391において認めることができる。

【0048】

いくつかの実施態様において、T細胞株は、(患者の)病原体又は癌の抗原性を示している抗原(複数可)の1種以上のペプチドを提示している抗原提示細胞により、血清反応陽性ドナー由来のT細胞を刺激することによって作製される。好ましくは、この抗原提示細胞は、そのT細胞に対し自己であり(従って、そのT細胞のドナー由来である)。特定の実施態様において、T細胞は、病原体又は癌の1種以上の抗原のペプチドプールをロードした樹状細胞により刺激される。一部の実施態様において、樹状細胞は、そのT細胞のドナー由来である。特定の実施態様において、T細胞は、病原体又は癌の1種以上の抗原のペプチドプールをロードしたサイトカイン-活性化された単球(CAMS)により刺激される。一部の実施態様において、CAMSは、そのT細胞のドナー由来である。特定の実施態様において、T細胞は、病原体又は癌の1種以上の抗原のペプチドのプールをロードした末梢血単核細胞(PBMC)により刺激される。一部の実施態様において、PBMCは、そのT細胞のドナー由来である。いくつかの実施態様において、T細胞株は、病原体又は癌の1種以上の抗原のペプチドプールをロードしたBリンパ球細胞株(BLCL)によるT細胞の刺激により作製される。一部の実施

10

20

30

40

50

態様において、BLCLは、そのT細胞のドナー由来である。特定の実施態様において、BLCLは、そのT細胞のドナー由来のEBV-形質転換されたBLCLである。いくつかの実施態様において、T細胞株は、病原体又は癌の1種以上の抗原のペプチドプールをロードした人工の抗原-提示細胞(AAPC)によるT細胞の刺激により作製される。

【0049】

様々な実施態様において、ペプチドプールは、病原体又は癌の抗原にまたがり重複しているペプチドのプールである。様々な実施態様において、ペプチドプールは、病原体又は癌の2種以上の抗原にまたがり重複しているペプチドのプールである。特定の実施態様において、重複しているペプチドのプールは、重複しているペプタデカペプチドのプールである。

10

【0050】

いくつかの実施態様において、T細胞株は、病原体の少なくとも1種の免疫原性ペプチド又はタンパク質を発現するように遺伝子操作されたAAPCにより、T細胞を刺激することにより作製される。いくつかの実施態様において、T細胞株は、ウイルスにより形質転換されたBLCLにより、T細胞を刺激することにより作製され、ここでウイルスは病原体である。

【0051】

一部の実施態様において、T細胞は、培養物中で28~40日の期間刺激される。特別な実施態様において、T細胞は、IL-2の存在下で刺激される。様々な実施態様において、刺激後、T細胞株は、貯蔵のために凍結保存される。特定の実施態様において、T細胞株が凍結保存される特許請求された方法に従い選択される場合、T細胞株は、治療的投与前に解凍される。更なる特定の実施態様において、解凍されたT細胞株は任意に、治療的投与前に培養において増殖される。

20

【0052】

様々な実施態様において、T細胞株の作製に使用されるT細胞は、当該技術分野において公知の方法により精製される。いくつかの実施態様において、T細胞は、PBMCから分離された末梢血リンパ球から豊富化される。一部の実施態様において、T細胞は、接着性単球の枯渇、それに続くナチュラルキラー細胞の枯渇により、PBMCから分離された末梢血リンパ球から豊富化される。

【0053】

病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識するT細胞株を作製するためのT細胞を刺激するために使用することができる樹状細胞は、サイトカイン-活性化された単球(CAMS)に由来することができる。一部の実施態様において、CAMSは、PBMCを、サイトカイン、例えばGM-CSF、IL-4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、及び/又はプロスタグランジン-E2と一緒にインキュベーションすることにより作製される。

30

【0054】

病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識するT細胞株を作製するためのT細胞を刺激するために使用することができるBLCLは、当該技術分野において公知の任意の方法、例えばKoehne, G.らの文献、Blood, 2000. 96: 109-117、又はKoehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740に説明された方法を使用し、PBMCから作製することができる。

40

【0055】

病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する作製されたT細胞株の各々がそれに対し拘束されるHLAアレル又はHLAアレル組合せは、当該技術分野において公知の任意の方法、例えばTrivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801; Barker, J. N.らの文献、Blood, 2010. 116: 5045-5049; Hasan, A.N.らの文献、J Immunol, 2009. 183: 2837-2850; 又は、Dobrovina, E.らの文献、Blood, 2012. 120: 1633-1646に説明された方法により、決定することができる。

【0056】

(5.1.2. HLA割当の確定)

50

HLA割当を確定する工程(すなわち、HLA遺伝子座のタイピング)は、当該技術分野において公知の任意の方法により実行することができる。HLA割当を確定する方法の非限定的例は、Lange, V.らの文献、BMC Genomics, 2014. 15: 63 ; Erlich, H.の文献、Tissue Antigens, 2012. 80:1-11 ; Bontadini, A.の文献、Methods, 2012. 56:471-476 ; Dunn, P.P.の文献、Int J Immunogenet, 2011 38:463-473 ; 及び、Hurley, C.K.の文献、「移植のためのHLAのDNA-ベースのタイピング(DNA-based typing of HLA for transplantation)」、Leffell, M.S.ら編集、Handbook of Human Immunology, 1997. ボカラトン: CRC Press社において認めることができる。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、少なくとも4つのHLA遺伝子座、好ましくはHLA-A、HLA-B、HLA-C、及びHLA-DRB1のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、4つのHLA遺伝子座、好ましくはHLA-A、HLA-B、HLA-C、及びHLA-DRB1のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、少なくとも6つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、6つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、少なくとも8つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、8つのHLA遺伝子座のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、全ての既知のHLA遺伝子座のタイピングを含む。一部の実施態様において、HLA割当を確定する工程は、全てよりも少ない既知のHLA遺伝子座のタイピングを含む。

10

【0057】

概して、より多くのHLA遺伝子座がタイピングされると、選択された同種異系T細胞株が、患者又は患者の罹患細胞と共通のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する他の同種異系T細胞株と比較して最高の活性を有する可能性がより大きくなるので、より多くのHLA遺伝子座のタイピングが、本発明の実践には好ましい。

20

【0058】

(5.1.3. T細胞株選択のための「活性の表示」の作製)

「活性の表示」は、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(i)各々が(患者の)病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つ(ii)その複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする。「活性の表示」において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値である。

30

【0059】

T細胞株の相対活性は、当該技術分野において公知のインビトロ方法、エクスピボ方法、又はインピボ方法のいずれかにより得ることができる。

【0060】

好ましい実施態様において、相対活性は、病原体又は癌を有する患者の治療における、T細胞株のインピボ臨床有効性として測定される。かかる実施態様の特定の態様において、相対活性は、T細胞株による治療後に完全寛解(CR)を達成する、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者の割合として測定することができる。特定の実施態様において、相対活性は、T細胞株による治療後にCR又は部分寛解(PR)を達成する、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われる患者の割合として測定される。

40

【0061】

一部の実施態様において、相対活性は、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドを提示している抗原提示細胞による刺激時の、各T細胞株由来のインターフェロン- γ -産生CD3⁺細胞の割合として測定される。特定の実施態様において、抗原がCMV又はEBVのものである場合、相対活性は、Koehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740又はWaldrop, S.L.らの文献、J Clin Invest, 1997. 99: 1739-1750から改変されたか又はそれに記載された方法により測定される。

【0062】

50

一部の実施態様において、相対活性は、当該技術分野において公知の方法に従い実行される細胞傷害アッセイにおいて、各T細胞株への曝露時に溶解される、病原体又は癌の抗原を発現している細胞の割合として測定される。

【0063】

本発明に従い、相対活性は、エピトープを提示しているHLAアレルに対するそれぞれのT細胞株により認識されたエピトープの結合親和性としては測定されない。

【0064】

一部の態様において、「活性の表示」は、相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストである。一部の実施態様において、同種異系T細胞株を選択する工程は、相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストを下降し(go down)、ここでリスト中の最高等級は最高相対活性の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通であることがわかっている最高等級化されたHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びにそのHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束された同種異系T細胞株を選択することにより、実行される。例として、特定の実施態様において、「活性の表示」は、表6に示したリストである。

10

【0065】

一部の態様において、「活性の表示」は、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベース(例えば、表)である。一部の実施態様において、同種異系T細胞株を選択する工程は、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベースを進み(go through)、ここでデータベースの最高スコアは最高相対活性の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通であることがわかっている最高スコア化されたHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びにそのHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束された同種異系T細胞株を選択することにより、実行される。特定の実施態様において、かかるデータベースである「活性の表示」を使用し、同種異系T細胞株を選択する工程は、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないデータベース中の全てのHLAアレル及びHLAアレル組合せを最初にフィルタリング(除外)し、並びに次に残存するものの中で、最高相対活性の指標に関連したHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びに次にこのHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束された同種異系T細胞株を選択することにより、実行することができる。

20

30

【0066】

一部の態様において、「活性の表示」は、スキャッタープロットである。いくつかの実施態様において、スキャッタープロットの第一の軸は、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せ中のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの異なるものを表す。いくつかの実施態様において、スキャッタープロットの第二の軸は、相対活性を表す。特定の実施態様において、スキャッタープロットの第二の軸は、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上の抗原の1種以上のペプチドを提示している抗原提示細胞による刺激時に、それに関する相対活性の指標が「活性の表示」に明らかにされている各T細胞株由来のインターフェロン- γ 分泌CD3⁺細胞の割合を表す。特別な実施態様において、この刺激は、それぞれのT細胞株に対し自己であり、且つ該相対活性の指標として、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドをロードした抗原提示細胞による。例として、特定の実施態様において、「活性の表示」は、図1に示したようなスキャッタープロットである。

40

【0067】

一部の実施態様において、「活性の表示」は、データベースにおいて保存される。

【0068】

様々な実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、セクション5.6に説明されたようなコンピュータシステムを使用し、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、同種異系T細胞株を選択する方法は、セクション5.6に説明された様なコンピュータ可読媒体を使用し、コンピュータで実行される。

50

【0069】

一旦追加のデータが利用可能であれば、「活性の表示」を更新するために、追加のデータを使用することができる。

【0070】

(5.2. 選択されたT細胞株の治療的使用)

同じく、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者を治療する方法であって：(a)セクション5.1に記載されたような同種異系T細胞株を選択する任意の方法に従い、患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択すること；並びに、(b)患者へ選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団を投与することを含む方法も、本明細書において提供される。従って、癌を有する患者において、本発明は、癌を治療する方法を提供し；病原体を有する患者において、本発明は、病原体の存在に関連した疾患、障害、又は状態を治療する方法を提供する。

10

【0071】

いくつかの実施態様において、投与は、選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団の注入によるものである。一部の実施態様において、投与は、選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団のポラス静脈内注入によるものである。投与されるべき量は、患者の状態及び医師の知識を基に決定されることができる。いくつかの実施態様において、投与は、患者へ少なくとも約 1×10^5 個T細胞/kg/用量/週を投与することを含み、ここでT細胞集団は、選択された同種異系T細胞株由来である。一部の実施態様において、投与は、患者へ約 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 個T細胞/kg/用量/週を投与することを含み、ここでT細胞集団は、選択された同種異系T細胞株由来である。一部の実施態様において、投与は、患者へ約 1×10^6 個細胞/kg/用量/週を投与することを含み、ここでT細胞集団は、選択された同種異系T細胞株由来である。一部の実施態様において、投与は、患者へ約 2×10^6 個T細胞/kg/用量/週を投与することを含み、ここでT細胞集団は、選択された同種異系T細胞株由来である。いくつかの実施態様において、先に説明した薬物投与計画は、少なくとも3用量が投与されるように、少なくとも3週間実行される。一部の実施態様において、先に説明した薬物投与計画は、3用量が投与されるように、3週間実行される。一部の実施態様において、先に説明した薬物投与計画は、6用量が投与されるように、6週間実行される。いくつかの実施態様において、先に説明した薬物投与計画は、3用量が投与されるように、3週間実行され、引き続き少なくとも1週間にわたる別の薬物投与計画により、選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団が投与され、ここで第二の薬物投与計画は、約 1×10^7 個T細胞/kg/用量/週である。いくつかの実施態様において、先に説明した薬物投与計画は、3用量が投与されるように、3週間実行され、引き続き3週間にわたる別の薬物投与計画により、選択された同種異系T細胞株由来のT細胞集団が投与され、ここで第二の薬物投与計画は、約 1×10^7 個T細胞/kg/用量/週である。いくつかの実施態様において、患者が癌を有する場合、用量約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 個T細胞/kg/用量/週の5回の反復注入が、投与される。

20

30

【0072】

(5.3. 養子細胞療法のためのT細胞ドナーの選択)

また、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法も、本明細書において提供される。

40

【0073】

(5.3.1. 「活性の表示」を基にしたT細胞ドナーの選択)

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法は：(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする「活性の表示」を使用し、患者に対し同種異系であるT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、該表示において、各々同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又

50

はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞ドナーは、患者と又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通して、少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せのひとつは、患者と又は患者の罹患細胞と共通していることがわかっており、且つそれ以外は不適格ではない、「活性の表示」におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と該表示において関連付けられる。HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株が、何らかの理由で治療的投与に不適切であることがわかっている場合、そのHLAアレル又はHLAアレル組合せは、「それ以外は不適格である」と見なされる。例えば、「活性の表示」における相対活性は、活性のインビトロ又はエクスピボアッセイを基にし、且つ特定のHLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対インビボ活性は、「活性の表示」の作製に使用される相対インビトロ又はエクスピボアッセイと相関せず、結果的に「活性の表示」における最高相対活性は、最高相対インビボ活性ではないことがわかっている場合、この特定のHLAアレル又はHLAアレル組合せ(それに対しかかるT細胞株が拘束された)は、不適格であるとみなされ得る。例えば、HLA-B35に拘束されたT細胞株について、ヒト患者におけるCMV感染症に対するインビボ活性は、臨床的に無効(従って無視できる相対インビボ活性)であることが観察されているが、HLA-B35に拘束されたT細胞株由来のインターフェロン- γ 分泌CD3⁺T細胞の割合は、はるかに高い相対活性を示し；従って、CMV感染症を治療する状況において、HLA-B35を有するT細胞ドナーが暫定的に選択される場合、好ましくはHLA-B35は、「それ以外は不適格である」ことが認められている。関連した特定の実施態様において、HLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株(複数可)が、病原体又は癌を有する患者の治療において臨床的に無効であることがわかっている場合に、不適格であるとみなされるであろう。

10

20

30

40

50

【0074】

別の実施態様において、本発明により提供される方法は、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を得るための候補同種異系T細胞ドナーを選択する方法であって：(i)複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中のHLAアレル又はHLAアレル組合せの異なるものに拘束される、T細胞株の相対活性の指標を明らかにする「活性の表示」を使用し、患者に対し同種異系であるT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、表示において、各同定されたHLAアレル又はHLAアレル組合せは、HLAアレル又はHLAアレル組合せに拘束されたT細胞株の相対活性のそれぞれの指標と関連づけられ、この相対活性は、T細胞株により示される病原体に対する又は癌に対する既知の活性の相対測定値であり；ここで、(A)選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通の、少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し；並びに、(B)患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せのひとつは、患者と又は患者の罹患細胞と共通していることがわかっている「活性の表示」におけるHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と表示において関連付けられる。

【0075】

いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、「活性の表示」を作製する工程を更に含む。「活性の表示」の作製に使用することができる方法は、セクション5.1.3において説明されている。いくつかの実施態様において、本方法は、作製する工程の前に、相対活性を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞のHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、患者又は患者の罹患細胞のHLA割当、及びT細胞ドナーに関するHLA割当を確定す

る工程を更に含む。

【0076】

特定の実施態様において、選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通である少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有し、ここで少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せのひとつは、患者のHLAアレル及びHLAアレル組合せの中での最高の相対活性の指標と関連づけられる(並びに先に説明されたようにそれ以外は不適格ではない)。かかる実施態様の好ましい態様において、相対活性は、病原体又は癌を有する患者の治療におけるT細胞株のインビボでの臨床有効性である。

【0077】

本明細書記載の方法の特定の実施態様において、少なくとも1種のエピトープは、少なくとも1種の免疫優性エピトープである。

10

【0078】

本発明の方法のいくつかの実施態様において、選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通の少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する。一部の実施態様において、患者は、移植レシピエントである。患者が移植レシピエントである特定の実施態様において、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体に感染した)と共通であるHLAアレル(複数可)又はHLAアレル組合せ(複数可)とは、移植の前及び/又は後の患者と共通であるHLAアレル(複数可)又はHLAアレル組合せ(複数可)をいう。一部の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者に与えられた移植片に由来し、従って移植片のHLAアレルを発現し;かかる実施態様において、患者の罹患細胞のHLA割当の決定は、患者へ与えられた移植片のHLAアレルのタイピングにより行うことができる。他の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者へ与えられた移植片に由来せず、従って移植前の患者のHLA割当を有する。特定の実施態様において、移植は、HSCT又は固形臓器移植である。

20

【0079】

「活性の表示」を作製するためのT細胞株は、セクション5.1.1に説明されたように作製することができる。

【0080】

HLA割当を確定する工程は、セクション5.1.2に説明されたように実行することができる。概して、より多くのHLA遺伝子座がタイピングされると、選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する他のT細胞ドナー由来の他の同種異系T細胞株に比べ、最高の活性を有する同種異系T細胞株を得る可能性がより大きくなるので、より多くのHLA遺伝子座のタイピングが、本発明の実践には好ましい。

30

【0081】

(5.3.1.1. ドナー選択のための「活性の表示」の作製)

「活性の表示」は、セクション5.1.3に考察されたものと同じであり、且つそこに記載されたように作製することができる。

【0082】

一部の態様において、「活性の表示」は、相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストである。一部の実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する工程は、相対活性により等級化された複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せのリストを下降し、ここでリスト中の最高等級は最高相対活性の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通であることがわかっている最高等級化されたHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びにそのHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する同種異系T細胞ドナーを選択することにより、実行される。例として、特定の実施態様において、「活性の表示」は、表6に示したリストである。

40

【0083】

一部の態様において、「活性の表示」は、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベース(例え

50

ば表)である。一部の実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する工程は、各々が相対活性を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せをリスト化しているデータベースを進み、ここでデータベース中の最高スコアは最高相対活性の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通であることがわかっている最高スコア化されたHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びにそのHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する同種異系T細胞ドナーを選択することにより、実行される。特定の実施態様において、かかるデータベースである「活性の表示」を使用し、同種異系T細胞ドナーを選択する工程は、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないデータベース中の全てのHLAアレル及びHLAアレル組合せを最初にフィルタリング(除外)し、並びに次に残存するものの中での、最高相対活性の指標に関連したHLAアレル又はHLAアレル組合せを決定し、並びに次にこのHLAアレル又はHLAアレル組合せを有する同種異系T細胞ドナーを選択することにより、実行することができる。

10

【0084】

一部の態様において、「活性の表示」は、スキャッタープロットである。いくつかの実施態様において、スキャッタープロットの第一の軸は、複数のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの中のHLAアレル及び任意にHLAアレル組合せの異なるものを表す。いくつかの実施態様において、スキャッタープロットの第二の軸は、相対活性を表す。特定の実施態様において、スキャッタープロットの第二の軸は、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上の抗原の1種以上のペプチドを提示している抗原提示細胞による刺激時に、それに関する相対活性の指標が、「活性の表示」で明らかにされている、各T細胞株由来のインターフェロン- γ -分泌CD3⁺細胞の割合を表す。特別な実施態様において、この刺激は、それぞれのT細胞株に対し自己であり、且つ該相対活性の指標として、病原体又は癌の抗原性を示している1種以上のペプチドをロードした抗原提示細胞による。例として、特定の実施態様において、活性の表示は、図1に示したようなスキャッタープロットである。

20

【0085】

一部の実施態様において、「活性の表示」は、データベースにおいて保存される。

【0086】

様々な実施態様において、本明細書に記載されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、本明細書に記載されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、セクション5.6に説明されたような、コンピュータシステムを使用し、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、セクション5.3.1に説明されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、セクション5.6に説明されたようなコンピュータ可読媒体を使用し、コンピュータで実行される。

30

【0087】

一旦追加のデータが利用可能となれば、追加のデータを、「活性の表示」の作製に使用することができる。

【0088】

(5.3.2. 「頻度の表示」を基にしたT細胞ドナーの選択)

様々な態様において、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のために、同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択する方法は：(i)複数のHLAアレルを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中の該HLAアレルの異なるものに拘束される、T細胞株の作製の相対頻度の指標を明らかにする表示(以後「頻度の表示」)を使用し、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通の1種以上のHLAアレルを有する患者に対し同種異系のT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、表示において各々同定されたHLAアレルは、HLAアレルに拘束された該T細胞株の作製の相対頻度のそれぞれの指標と関連づけられ、ここで：選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高い作製の頻度の指標と表示において関連付けられる患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する。

40

50

【0089】

別の実施態様において、本発明により提供される方法は、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与の同種異系T細胞株を得るための候補同種異系T細胞ドナーを選択する方法であって、これは：(i)複数のHLAアレルを同定し、並びに(ii)各々が病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、且つその複数の中の該HLAアレルの異なるものに拘束される、T細胞株の作製の相対頻度の指標を明らかにする「頻度の表示」を使用し、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体に感染した)と共通の1種以上のHLAアレルを有する患者に対し同種異系のT細胞ドナーを選択することを含み；ここで、表示において各々同定されたHLAアレルは、HLAアレルに拘束された該T細胞株の作製の相対頻度のそれぞれの指標と関連づけられ、ここで：選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高い作製の頻度の指標と表示において関連付けられる患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する。

10

【0090】

いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、「頻度の表示」を作製する工程を更に含む。「頻度の表示」を作製するために使用することができる方法は、以下に説明されている。いくつかの実施態様において、本方法は、作製する工程の前に、相対頻度を測定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞に関するHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む。いくつかの実施態様において、本方法は、選択する工程の前に、患者の又は患者の罹患細胞に関するHLA割当、並びに、T細胞ドナーに関するHLA割当を確定する工程を更に含む。

20

【0091】

本明細書に記載された方法の特定の実施態様において、少なくとも1種のエピトープは、少なくとも1種の免疫優性エピトープである。

【0092】

本発明の方法のいくつかの実施態様において、選択されたT細胞ドナーは、患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高い作製の頻度の指標と「頻度の表示」において関連付けられる患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体の存在に関連した)と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する。一部の実施態様において、患者は、移植レシピエントである。患者が移植レシピエントである特定の実施態様において、患者又は患者の罹患細胞(例えば、癌の、又は病原体に感染した)と共通であるHLAアレル(複数可)とは、移植の前及び/又は後の患者と共通であるHLAアレル(複数可)をいう。一部の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者に与えられた移植片由来であり、従って移植片のHLAアレルを発現し；かかる実施態様において、患者の罹患細胞のHLA割当の決定は、患者に与えられた移植片中のHLAアレルのタイピングにより行うことができる。他の実施態様において、患者の罹患細胞は、患者に与えられた移植片に由来せず、従って移植前の患者のHLA割当を有する。特定の実施態様において、移植は、HSCT又は固形臓器移植である。

30

40

【0093】

「頻度の表示」の作製のためのT細胞株は、セクション5.1.1に説明されたように作製することができる。

【0094】

HLA割当を確定する工程は、セクション5.1.2に説明されたように実行することができる。概して、より多くのHLA遺伝子座のタイピングが、本発明の実践には好ましい。

【0095】

HLA割当を確定する工程は、セクション5.1.2に説明されたように実行することができる。

【0096】

50

(5.3.2.1. ドナー選択のための「頻度の表示」の作製)

「頻度の表示」は、複数のHLAアレルを同定し、且つ(i)各々が(患者の)病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識し、並びに(ii)HLAアレルの異なるものに拘束されたT細胞株の作製の相対頻度の指標を明らかにしている。「頻度の表示」において、各々同定されたHLAアレルは、そのHLAアレルに拘束されたT細胞株の作製の相対頻度のそれぞれの指標と関連づけられる。

【0097】

一部の態様において、「頻度の表示」は、相対頻度により等級化された複数のHLAアレルのリストである。一部の実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する工程は、相対頻度により等級化された複数のHLAアレルのリストを下降し、ここでリスト中の最高等級は最高相対頻度の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高い等級を伴うリストと関連づけられる患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する同種異系T細胞ドナーを選択することにより、実行される。

10

【0098】

一部の態様において、「頻度の表示」は、各々が相対頻度を示すスコアと関連づけられる、複数のHLAアレルをリスト化しているデータベース(例えば表)である。一部の実施態様において、同種異系T細胞ドナーを選択する工程は、各々が相対頻度を示すスコアと関連づけられる、HLAアレルをリスト化しているデータベースを進み、ここでデータベース中の最高スコアは最高相対頻度の指標であり、並びに患者又は患者の罹患細胞と共通ではないドナーのHLAアレルよりもより高いスコアを伴うデータベースと関連づけられる患者又は患者の罹患細胞と共通の少なくとも1種のHLAアレルを有する同種異系T細胞ドナーを選択することにより、実行される。

20

【0099】

一部の実施態様において、「頻度の表示」は、データベースにおいて保存される。

【0100】

様々な実施態様において、この開示で説明されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、この開示で説明されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、セクション5.6に説明されたようなコンピュータシステムを使用し、コンピュータで実行される。一部の実施態様において、この開示で説明されたような同種異系T細胞ドナーを選択する方法は、セクション5.6で説明されたようなコンピュータ可読媒体を使用し、コンピュータで実行される。

30

【0101】

一旦追加のデータが利用可能となれば、追加のデータを、「頻度の表示」の更新に使用することができる。

【0102】

(5.4. T細胞株の入手)

病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を入手する方法であって：(a)セクション5.3において説明された方法に従い同種異系T細胞ドナーを選択すること；並びに、(b)選択された同種異系T細胞ドナーから、同種異系T細胞株であって病原体又は癌の抗原の少なくとも1種のエピトープを認識する該同種異系T細胞株を得ることを含む方法も、本明細書において説明される。

40

【0103】

(5.5. 患者)

本開示において言及される患者は、ヒト患者である。

【0104】

様々な実施態様において、患者は、移植のレシピエントである。特定の実施態様において、移植は、HSCTである。いくつかの実施態様において、HSCTは、骨髄移植(BMT)である。いくつかの実施態様において、HSCTは、末梢血幹細胞移植(PBSCT)である。いくつかの実施態様において、HSCTは、臍帯血移植(CBT)である。特定の実施態様において、移植は

50

、固形臓器移植である。

【0105】

様々な実施態様において、患者は、移植のレシピエントではない。特定の実施態様において、患者は、HSCTのレシピエントではない。特定の実施態様において、患者は、固形臓器移植のレシピエントではない。

【0106】

様々な態様において、患者は、病原体を有するか又は有することが疑われる。特定の実施態様において、患者は、病原体を有する。特定の実施態様において、患者は、病原体について血清反応陽性であり、且つ病原体による感染症の症状を有する。病原体は、ウイルス、細菌、真菌、蠕虫又は原生生物であることができる。いくつかの実施態様において、病原体は、ウイルスである。

10

【0107】

一部の実施態様において、ウイルスは、サイトメガロウイルス(CMV)である。特定の実施態様において、患者は、HSCTを患者が受けた後にCMV感染症を有するか又は有することが疑われている。特別な実施態様において、CMVの抗原は、CMV pp65である。特別な実施態様において、CMVの抗原は、CMV IE1である。

【0108】

一部の実施態様において、ウイルスは、エプスタイン-バールウイルス(EBV)である。特別な実施態様において、EBVの抗原は、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、EBNA3C、LMP1、又はLMP2である。

20

【0109】

一部の実施態様において、ウイルスは、ポリオーマBKウイルス(BKV)、ジョン・カニンガムウイルス(JCV)、ヘルペスウイルス、アデノウイルス(ADV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、ポックスウイルス、ラブドウイルス、又はパラミクソウイルスである。特別な実施態様において、ウイルスは、BKVである。特別な実施態様において、ウイルスは、JCVである。特別な実施態様において、ウイルスは、ADVである。特別な実施態様において、ウイルスは、ヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)又はヒトヘルペスウイルス-8(HHV-8)である。

【0110】

一実施態様において、患者は、抗ウイルス剤(小型分子)の薬物療法に反応しないウイルス感染を有する。

30

【0111】

様々な態様において、患者は、癌を有するか又は有することが疑われる。特定の実施態様において、患者は、癌を有する。癌は、血液、乳房、肺、卵巣、胃、膵臓、喉頭、食道、精巣、肝臓、耳下腺、胆管、結腸、直腸、頸部、子宮、子宮内膜、腎臓、膀胱、前立腺、甲状腺、脳又は皮膚の癌を含むことができる。一部の実施態様において、癌は、血液の癌である。特定の実施態様において、癌は、リンパ増殖性疾患である。他の実施態様において、癌は、脳の癌である。

【0112】

一部の実施態様において、癌は、WT1-陽性癌である。特定の実施態様において、癌の抗原は、WT1である。

40

【0113】

一部の実施態様において、癌は、EBV-陽性移植後リンパ増殖性疾患(EBV-PTLD)である。特定の実施態様において、EBV-PTLDの抗原は、EBNA1、EBNA2、EBNA3A、EBNA3B、又はEBNA3Cである。更なる特定の実施態様において、抗原は、LMP1又はLMP2である。

【0114】

一部の実施態様において、癌は、EBV-陽性上咽頭癌腫である。特定の実施態様において、EBV-陽性上咽頭癌腫の抗原は、EBNA1、LMP1、又はLMP2である。

【0115】

本明細書に記載される癌の抗原は、癌-特異抗原又は癌-関連抗原であることができ、従

50

ってその発現が、非-癌性組織又は非-癌性細胞におけるものよりも癌組織又は癌細胞においてより高いペプチド又はタンパク質であるか、或いは非-癌性組織又は非-癌性細胞に比べ、癌組織又は癌細胞において独自に発現されるペプチド又はタンパク質であることができる。

【0116】

(5.6. コンピュータシステム及びコンピュータ可読媒体)

様々な実施態様において、コンピュータシステム又はコンピュータ可読媒体は、本開示に説明されたように、同種異系T細胞株を選択する任意の方法、及び同種異系T細胞ドナーを選択する任意の方法を実行するために、構成される。

【0117】

同じく、病原体又は癌を有するか又は有することが疑われるヒト患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択するコンピュータシステムも本明細書において提供される。特定の実施態様において、かかるコンピュータシステムは：中央演算ユニット；中央演算ユニットに連結されたメモリーであって、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する任意の方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する任意の方法の工程(複数可)を実行するための命令を記憶している該メモリーを備える。一部の実施態様において、コンピュータシステムは更に、中央演算ユニットと操作可能に通信するディスプレイ装置も備える。

【0118】

同じく、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する任意の方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する任意の方法の工程(複数可)を実行するためのコンピュータでファイル実行可能な命令を有するコンピュータ可読媒体が本明細書において提供される。

【0119】

一部の実施態様において、当該技術分野において標準であるソフトウェアコンポーネントが、コンピュータシステム又はコンピュータ可読媒体へ読み込まれている。ソフトウェアコンポーネントは、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する方法に従いコンピュータシステムを集合的に機能させる。一部の実施態様において、当該技術分野において標準であるソフトウェアコンポーネント、及び本発明に特別である1以上のコンピュータプログラム製品が、コンピュータシステム又はコンピュータ可読媒体に、読み込まれている。特定の実施態様において、1以上のコンピュータプログラム製品は、本開示に説明された同種異系T細胞株を選択する方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する方法に従いコンピュータシステムを機能させる。特定の実施態様において、1以上の本発明に特別であるコンピュータプログラム製品及び当該技術分野において標準であるソフトウェアコンポーネントは、本明細書に説明された同種異系T細胞株を選択する方法又は同種異系T細胞ドナーを選択する方法に従いコンピュータシステムを集合的に機能させる。

【0120】

いくつかの実施態様において、コンピュータシステム又はコンピュータ可読媒体は、高く一貫した有効性について患者への治療的投与のための同種異系T細胞株を選択するように構成される。いくつかの実施態様において、コンピュータシステム又はコンピュータ可読媒体は、高く一貫した有効性について患者へ治療的投与するために、同種異系T細胞株を得るための同種異系T細胞ドナーを選択するように構成される。

【実施例】

【0121】

(6. 実施例)

本明細書に提供されるいくつかの実施態様は、免疫優性ウイルスペプチドを示すドナーとレシピエントにより共有されたHLAアレルの階層を基にしたCMV感染症治療のための、バンク登録されたHLAが部分的にマッチした第三者ドナー-由来のT細胞株からの治療的活性のあるCMVpp65-特異的T細胞の最適化された選択を可能にする技術を明らかにしている、以下の非限定的実施例により例示される。

【0122】

(6.1. 方法：)

(6.1.1. CMV CTLバンクの確立：)

全ての細胞製品は、標準業務手順書(SOP)及びFDA準拠プロトコールに従い、メモリアル・スローン・ケタリング癌センター(MSKCC)のGMP施設において処理された。

【0123】

(6.1.1.1. 自己サイトカイン-活性化単球(CAMS)の作製：)

末梢血単核細胞(PBMC)を、血清反応陽性ドナーの血液から、フィコールハイバックを使用する密度勾配遠心分離により、単離した。

【0124】

1%自己血清を含むRPMI-1640中に浮遊させた濃度 10^7 /mlのPBMCを、6ウェル組織培養プレートに、37℃で2時間接着させ、その後非接着単核細胞を穏やかに除去した。接着した単球を、1ウェルにつき2mlの血清非含有IMDMと共に培養し、GM-CSF 2000IU(50 μ l)及びIL-4のIL-4 1000U(25 μ l)を隔日で、5日目まで補充した。5日目に、腫瘍壊死因子- α (SIGMA社、セントルイス)の最終濃度10ng/mlを達成するよう、インターロイキン-1の400IU/ml、インターロイキン-6(R&D systems社、ミネアポリス、MN USA)の1000IU/ml、及びプロスタグランジン-E2(Calbiochem社、ラホヤ、CA USA)の25ng/mlとなるよう、添加し、CAMSの最終成熟を誘導した。7日目に、成熟CAMSを収集し、FACS計測によりHLAクラスII、CD14及び共刺激分子のそれらの発現を特徴付け、アリコートとし、以下に詳述するT細胞株の感作に使用した。

10

【0125】

20

(6.1.1.2. 自己形質転換されたBリンパ球細胞株(BLCL)の作製：)

各ドナー由来のEBV-BLCLを、先に説明されたような、EBV株B95.8によるPBMCの感染により作製した(Koehne, G.らの文献、Blood, 2000. 96: 109-117; Koehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740)。これらの細胞を、10%ウシ胎仔血清(FCS)、及びアシクロビルを補充した、RPMI 1640(Invitrogen社、カールスバッド、CA USA)において維持した。

【0126】

(6.1.1.3. CMVpp65特異的T細胞の作製：)

T細胞を、接着単球の枯渇、それに続く免疫磁気CD56プレコートされたマイクロビーズ(Miltenyi Biotech社)によるCD56⁺細胞の免疫磁気分離を使用する、ナチュラルキラー細胞の枯渇により、PBMCから分離した末梢血リンパ球から豊富化した。次に精製したT細胞を、先に説明されたように(Trivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801)、重複するペプタデカペプチドのGMP等級プールをロードした照射自己CAMS(PL CAMs)と共培養した。T細胞を、IL-2(5~40U/ml)の存在下で、28~40日間培養し、先に説明されたように(Trivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801)、エフェクター対刺激因子比20:1で、照射した自己ペプチドをロードしたCAMSにより毎週再刺激した。

30

【0127】

(6.1.2. CMVpp65特異的T細胞の特徴決定：)

(6.1.2.1. 四量体分析：)

CMVpp65エピトープ特異的T細胞の割合を、各々ペプチド配列

【化1】

40

NLVPMVATV, QYDPVAALF及びTPRVTGGGAM

を持つ、HLA A0201、A2402及びB0702について、市販のCMVpp65 MHC - ペプチド四量体を用い、HLA - ペプチド四量体使用により定量した(Beckman Coulter社、フルラトン、CA)。T細胞を、CD3 FITC、CD8 PE、CD4 PerCP(BD Bioscience社、サンノゼ、CA)及びAPC複合した四量体複合体と共に、氷上で20分間インキュベーションし、洗浄し、引き続きFACS(BD LSR II)により分析した。データは、Flowjoソフトウェア(Tree Star社、アッシュランド、OR)を用いて解析した。培養物中のCD4及びCD8⁺ T細胞の割合、並びにHLA - ペプチド四量体に結合しているCD3⁺及びCD8⁺ T細胞の割合を、決定した。

【0128】

50

(6.1.2.2. TCR V レポートリー)

CMVペプチド-HLA四量体+T細胞を、製造業者により提供される手順に従い、ヒトTCRのV領域の24種のサブファミリーに対する抗体を含む市販のキット(10 Test(登録商標)Beta Mark, Beckman Coulter社、仏国)を使用するフローサイトメトリーを介して、TCRのVレポートリーについて、分析した(Wei, S.らの文献、Immunogenetics, 1994. 40: 27-36)。

【0129】

(6.1.2.3. CMV特異的及びアロ反応性のIFN- γ 産生T細胞の定量)

各CMV特異的T細胞株の発生の開始時及び数個の時点で、濃度 1×10^6 /mLのドナーTリンパ球を、エフェクター：刺激因子細胞比5：1で、CMVpp65ペプチドプール(20ug/ml)をロードした自己CAMSと混合した。いずれのペプチドもロードしないエフェクター細胞及びPBMCを含む対照チューブを、並行して設定した。プレフェルジンAを、非刺激試料及びペプチド刺激試料へ、濃度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 細胞で添加した。チューブを、加湿した5%CO₂のインキュベーター内で、37℃で、一晩かけ16時間インキュベーションした。

【0130】

バルク非刺激培養物のアリコート及び刺激培養物のアリコートを、モノクローナル抗体による染色のためにチューブに移した。細胞を、5 μL のアロフィコシアニン(APC)で標識したモノクローナル抗-CD3及び10 μL の抗-CD8ペリジックロロフィルタンパク質(PerCP)又は抗-CD4 PerCP(BD Biosciences社、サンノゼ、CA)により染色し、室温暗所で、20分間インキュベーションした。細胞を、2mLのリン酸-緩衝食塩水(PBS) - ウシ血清アルブミン(BSA) - アジ化物(AZ)(PBS + 0.5%BSA + 0.1%AZ)で洗浄した。細胞を遠心分離し、上清を廃棄し、且つ100 μL の試薬A(Fix & Perm細胞透過処理試薬A及びB; Caltag Laboratories社、パーリングーム、CA)を、各チューブに添加し、細胞を固定した。次にこれらの細胞を、15分間インキュベーションした。細胞を、PBS + BSA + AZにより洗浄し、100 μL の試薬B(Caltag Laboratories社)を、透過処理のために添加した。10 μL のマウスIgG1アイソタイプ対照フルオレセインイソチオシアネート(FITC)又はIFN- γ FITC(BD Pharmingen社、サンディエゴ、CA)のモノクローナル抗体の添加により、細胞内染色を行った。細胞を、室温、暗所で20分間インキュベーションし、2回洗浄し、更に1%ホルマリンで固定した。

【0131】

染色し固定した細胞を引き続き、10-色性能の3レーザーを装備したLSR IIフローサイトメーター(BD Biosciences社)を用いて獲得し、Flowjoソフトウェアを用いて解析した。細胞を最初に、フォワード及びサイド光スキャッターにより、次にサイドスキャッタードットプロットに対するCD3 APC中のCD3⁺細胞のゲーティングにより同定した。20000~50000事象を、組合せたゲートで獲得した。これらの細胞の更なる同定のために、CD3⁺CD8⁺細胞又はCD3⁺CD4⁺細胞のゲーティングを行った。四分画マーカーを、非刺激対照チューブ及びアイソタイプ対照チューブの分析を基に確立した。

【0132】

(6.1.3. 階層確立：異なるCMVpp65エピトープに対する抗ウイルス性CD8⁺T細胞反応の定量)

(6.1.3.1. 重複15アミノ酸ペプチドのライブラリーを使用するエピトープマッピング)

CMVpp65内の特異的ペプチドに対するT細胞反応を、Koehneらにより改変された(Koehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740)Waldropらの技術(Waldrop, S.L.らの文献、J Clin Invest, 1997. 99: 1739-1750)に従い、関心対象のペプチド又はペプチドプール(PL)をロードした自己APCによる二次刺激時に生成されたIFN γ 陽性T細胞の数を測定することにより、同定し、定量した。重複ペプチドプールのグリッドは、特定のエピトープが誘導するT細胞反応の同定を可能にした。T細胞ドナーに対し自己であるペプチド-ロードしたPBMC、T細胞ドナーに対し自己であるCAMS、又はT細胞ドナーに対し自己であるBLCLを、エピトープマッピングのために反応性T細胞を刺激するAPCとして使用した。

【0133】

(6.1.3.2. インビトロ細胞傷害活性) 全てのT細胞株を、先に説明されたような標準⁵

¹クロム放出アッセイ(Koehne, G.らの文献、Blood, 2002. 99: 1730-1740 ; Trivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801)を使用し、CMVpp65ロードした標的を溶解するそれらの能力について評価した。全ての実験に使用した標的は、EBV-BLCLの一団からなり、各々は単独のHLAアレルを所定のドナーのT細胞と共有している。これらの細胞は、所定の実験について特定されたように、CMVpp65ペプチドの完全なプール、又はそれらの特異的サブ-プール、単独のペプタデカペプチド、又はそのアレルにより示されることがわかっているCMVpp65九量体(例えば、HLA A0201について

【化2】

NLVPMVATV

、HLA A2402について

【化3】

QYDPVAALF

、並びにHLA B0702について

【化4】

TPRVTGGGAM及びRPHERNGFTV

)をロードした(Trivedi, D.らの文献、Blood, 2005. 105: 2793-2801 ; Hasan, A.N.らの文献、J Immunol, 2009. 183: 2837-2850)。共有されたHLAアレルにより示されないペプチドをロードした標的を、対照として使用した。HLA拘束は、特異的に共有されたHLAアレル上に示された同定されたペプチドエピトープでパルスした標的に対する反応性、及び他の共有したアレルを持つEBV BLCLもしくは完全にミスマッチのEBV BLCLのいずれかをロードしたペプチドに対する反応性の非存在により同定した。

【0134】

(6.2. データ)

(6.2.1. HLAアレルの多様なアレイを遺伝する異種遺伝子型のドナー集団から作製されたGMP等級CMV CTLバンク)

総計119種のCMVpp65特異的CTL株が、同種異系HSCTレシピエントにおけるCMVウイルス血症の治療のためにドナーから得られたCMVpp65特異的T細胞を使用する臨床試験の開始から、7年の期間にわたり、作製された。

【0135】

CTL株の作製に使用したドナーのプールは、ニューヨークの多人種集団に広くみられる共通のHLAアレルを代表する180種の異なるHLAアレルを遺伝させた。ドナーCTLプールにおけるHLAアレルの分布もまた、各々33%対25%及び21%対8.7%を示しているHLA A0201及びB0702を除いて、白人、アジア系及び黒人を含む人種集団の各々で示されたHLAアレル頻度と密接に相関していた(表1)。119名のドナー中の遺伝したHLAクラス-Iアレルの頻度の順番は、以下であった：A0201(n=39)、A0301(n=28)、B0702(n=25)、B44(n=24)、HLA B0801(n=22)、B3501-11(n=19)、A1101(n=16)、A2402(n=14)、B1501-17(n=14)、B1801-07(n=12)、A3201-03(n=11)、A3301-04(n=10)、B4001-06(n=9)、及びA2601(n=9)、B5701(n=9)。他のHLAクラス-Iアレルは、より少ない頻度で表され、例えばHLA B5201(n=8)、B3801(n=6)、A6801-09(n=5)、B5801(n=5)であった。HLAクラス-IIアレルに関して、一般集団においてそれらのより高い頻度が予想される、高度に示された6種のHLA DRB1アレルが存在した(表1)。これらは、頻度の順に、DRB1 1501-08、0401-32、0301-13、0701-04、1101-20、1301-34である。

【0136】

表1：一般集団におけるHLAアレル頻度及び119種のCMVpp65特異的CTL株の特徴決定

10

20

30

40

【表 1】

HLA アレル	一般集団におけるHLAアレル頻度			CTL株 = 119		
	白人	黒人	東洋人	アレルを遺伝させるCTL株	T細胞の細胞傷害性反応を拘束するHLAアレル	
					数	CTL株(%)
A0101	14.07	4.85	3.66	23	3	12
A0201	25.01	15.75	3.22	39	32	82
A0301	11.9	6.48	3.23	29	0	0
A1101	6.87	1.45	16.33	16	1	6.2
A2301-05	2.5	11.77	0.8	4	0	0
A2402-07	10.3	3.14	23.97	16	3	18.7
A2501	2.12	0.45	0.46	2	0	0
A2601	4.22	3.33	3.85	9	4	44.4
A2901-02	3.01	3.94	0.86	8	2	25
A3001-10	3.39	14.48	2.1	6	1	16.7
A3101-10	2.52	1.88	4.62	7	0	0
A3201-10	3.92	2.03	0.62	10	0	0
A3301-10	2.72	5.72	5.13	9	0	0
A6801-02	3.99	9.68	1.29	6	2	33
A6901	3.99	9.68	1.29	1	0	0
A7401-09				2	0	0
B0702	8.67	7.71	3.37	25	25	100
B0801	7.41	4.83	1.4	22	1	4.5
B1301-09	3.12	1.05	7.45	3	0	0
B1401-09	3.29	3.45	0.68	7	0	0
B1501-09	4.06	0.92	8.43	13	0	0
B1801-09	6.31	4.62	0.92	11	1	9
B2701-05	3.71	1.46	3.62	5	2	40
B3501-3511	10.33	5.53	5.03	19	9	47.4
B3801	2.41	0.35	2.1	5	0	0
B4001-4006	3.12	0.45	9.03	11	2	18.2
B4201-02	0.14	5.06	0.06	3	3	100
B4401-03	11.19	5.75	3.59	22	4	18.2
DRB1 0301	11.1	13.99	5.02	27	5	18.5
DRB1 0401-04	12.82	10.51	12.99	23	4	17.4
DRB1 0701	13.17	9.23	5.77	28	3	10.7
DRB1 1101-04	13.36	15.74	7.74	26	8	30.8
DRB1 1501-02	10.73	9.91	14.35	31	5	16

【 0 1 3 7 】

(6.2.2. CMVpp65特異的T細胞反応は、限られた数のHLAクラス-I及びクラス-IIアレルにより示されたエピトープにより支配される)

119種のCTL株中103種(87%)において、免疫優性T細胞反応が、HLAクラス-Iアレルにより拘束され、並びに16種のCTL株において、HLAクラス-IIアレルにより拘束された。CTL株の54%においては、免疫優性T細胞反応は、3種のHLAクラス-Iアレル：A0201(25%)、B0702(21%)及びB3501-11(8%)により拘束された。免疫優性エピトープを示している他のアレルは、HLA A2402、B4001、B4006、B4202、B4204、B4402、B4403、DRB1 0401及び0404、DRB1 1101、DRB1 1202であった。従って、このバンクにおいて表示されたクラス-I及びクラス-II HLAアレルの広範な並びにもかかわらず、これらのアレルのわずかに19種のみが、免疫優性T細胞反応を誘発するエピトープを示した。更に、何らかの検出可能なレベルのT

細胞反応は、このバンクのドナーにより遺伝された180種のHLAアレルの49種によってのみ示されたエピトープに特異的であった。

【0138】

(6.2.3. 免疫優性エピトープを示しているHLAアレルは、特定のハプロタイプを共遺伝している個体内の階層順番に存在する)

このバンクのT細胞株の評価もまた、エピトープ特異的IFN + T細胞の定量及びそれらのHLA拘束の確認により測定した場合、特定のHLAアレルにより示されたエピトープは、一貫して優性であることを明らかにした。先行する研究は、HLA B0702により示されたCMVpp 65のエピトープは、HLA A0201とB0702を共遺伝している患者において優性であることの証拠を提供している(Lacey, S.F.らの文献、Hum Immunol, 2003. 64: 440-452)。一連のこの実施例において、HLA B0702は一貫して、このアレルを遺伝させているバンク内の25名のドナー全て(100%)において、免疫優性T細胞反応を拘束するアレルであり、その中の9名はHLA A0201を共遺伝していた。従って、HLA B0702により拘束された反応は、遺伝された他のHLAクラス-I及びクラス-IIアレルに関わりなく、優性であった。

10

【0139】

他方で、HLA A0201を遺伝させている39名のドナー中30名(77%)において、免疫優性T細胞反応は、HLA A0201により拘束された。残りの9名のドナーは、HLA A0201とB0702を共遺伝したドナーであり、並びにこれらの9名のドナーの各々において、免疫優性T細胞反応は、HLA B0702により拘束された。従って、HLA A0201は、HLA B0702と共遺伝された場合を除き、いずれか他のHLAクラス-I又はクラス-IIアレルと共遺伝された場合に、免疫優性T細胞反応を拘束するアレルであった。例えば、HLA B44アレルを遺伝させている22名のドナーの中で、4名のみが、このアレルにより拘束された優性反応を誘発した。これらのアレル(B4401、B4402、B4403)がHLA A0201と共遺伝される場合、かかるドナー12名中の11名(91.6%)において、免疫優性CTL反応は、HLA A0201により拘束され；残りのドナーは、HLA B0702も共遺伝し、且つHLA B0702拘束された反応を誘発した。

20

【0140】

HLA B0702又はA0201を遺伝させているドナーにおけるT細胞反応の特筆すべき他の特徴は、観察された反応は、専らこれらのアレルにより示されたエピトープに対するものであったという事実であった。対照的に、他のHLAアレルにより免疫優性エピトープに対する反応が拘束されたT細胞株においては、他のエピトープに特異的で且つ他のHLAアレルにより拘束されたT細胞の準優性集団が、通常観察された。この分析は、図1に示したように免疫優性エピトープを提示しているHLAアレルの階層クラスタ化の認識を可能にした。

30

【0141】

免疫優性エピトープを示すHLAアレルの階層は、専らペプチド刺激に対する反応におけるそれらの機能活性のレベルを基にした。HLA結合に関するペプチドの親和性と免疫優性T細胞反応を誘発するその能力の間に、相関関係は存在しなかった(表2)。

【0142】

表2：免疫優性エピトープを提示しているHLAアレルの特徴決定

【表 2】

番号	エピトープ	提示している HLA アレル	反応するCTL株の数	免疫優性エピトープの CTL株の数	予想された 結合スコア (SYFPEITHI)
HLAクラスI					
1	NLVPMVATV	A0201	31	30	30
2	TPRVTGGGAM	B0702	16	13	19
3	RIPHERNGFTV	B0702	12	7	17
4	HERNGFTVL	B4001 & 4006, B4201 & 4202, B4403, A2601, A0101	11	10	23 23 23 8 4
5	EVQAIRETVE	B3501, B3502, B3503, B3508, B3511	7	5	2
6	QYDPVAALF	A2402, 2407	5	5	24
7	INVHHYPSAA	A2601 A0101	3 1	3 1	6 0
8	YSEHPTFTS	B0801 A0101	4	3	0 13
9	QMWQARLTV	B5201 B3502	3 1	2 1	認められず 1

10

20

10	VYALPLKMLN	A2402 A6801 B3501	1 1 1	3	14 5 11
11	FVFPTKDVAL	A2402 B3501	2 2	2 2	21 13
HLAクラスII					
11	EHPTFTSQYRIQG KL	DRB1 1101, DRB1 1104, DRB1 1501	8	7	3 3 4
12	KYQEFFWDAND	DRB1 1101, DQB1 0501	6	5	1 18
13	QPFMRHERNGF	DRB1 0301 DRB1 1501	3	2	認められず 認められず
HLAクラスI及びクラスII (共有)					
1	KYQEFFWDANDI YRI	B1801, DRB1 1101, DQB1 0501	1 6 1	1 5 0	認められず 1 18
2	QIFLEVQAIRETVE	B3501-3511, DRB1 1501	7 1	5 0	2 14
3	QPFMRHERNGF	A0101, B0801 DRB1 0301 DRB1 1501	1 1 2 1	1 1 2 0	1 認められず 認められず 認められず
4	AGILARNLVPMV ATV	A0201 DRB1 0401, DRB1 0402, DRB1 0404 DQB1 0301	31 2 1 1 1	30 1 1 0 1	30 14 14 14 認められず
5	PQYSEHPTFTSQY RI	A0101, B0801 DRB1 0301	2 2 2	2 2 2	13 0 0

10

20

30

40

50

【 0 1 4 3 】

(6.2.4. CMV CTLバンクを構成するエピトープレパートリー及びHLAアレルは、多様な患者集団の治療に使用することができる)

T細胞反応を誘発する免疫優性CMVpp65エピトープの非常に限定されたレパートリーは、GMPバンクを構成する119種のCTL株内で発見され、これらは限定された数のHLAアレルにより示された。T細胞反応がこのような優れた特異性により規定されるならば；第三者の設定で臨床的に有効である抗原特異的T細胞について、選択されたT細胞は、患者により共有されたHLAアレルにより示されるエピトープに対し反応性であることが必要であろう。これらのパラメータ内で、このバンクからのCTLを使用し治療される可能性がある人種的に多様な患者の割合を、分析した。

【 0 1 4 4 】

最近3~5年にわたりメモリアル・スローン・ケタリング癌センターにおいて実施された、関連又は非関連のHLAマッチ又はHLAミスマッチのいずれかであるドナー、並びに臍帯血ドナーからの一連の継続的T細胞枯渇移植を、検証した。センターでの一連の239例のHLA

マッチした関連又は非関連の移植において、かかる症例の86%において、患者と共有されたHLAアレルにより拘束されたCMV T細胞反応を伴い、且つ1~2種の追加のHLAアレルがマッチしているCTL株を、同定することができた。同様に、一連の137例のHLAミスマッチの移植、及び70例の臍帯血移植において、各々症例の93%及び81%において、適切に拘束されたCTL株を同定することができた。従ってこのCTLバンクにおけるHLAアレルの広範な表示にもかかわらず、HLAアレルの限定されたレパートリーにより拘束されたT細胞が、同定され、且つこれをこの人種的に多様な群のほとんどの患者の治療に使用することができる。

【 0 1 4 5 】

(6.2.5. 新たに規定されたエピトープ及びHLA拘束基準を使用する、移植ドナー又は第三者ドナー由来の治療のために選択されたCMV CTLの臨床活性)

総計54名の評価可能な患者が、抗ウイルス薬に対する反応に失敗した臨床感染症又は持続性ウイルス血症の治療として、CMV CTLを受け取った。これらのうち、19名は、それらのHCTドナー由来のCMVpp65-特異的T細胞(NCT01646645)を、及び35名は、3種以上のHLAアレルがマッチした第三者ドナー由来のT細胞を受け取った。結果は、表3及び表4にまとめている。この分析において、CRは、臨床感染症のクリアランス及び/又は血液からの検出可能なCMVのクリアランスと定義される。PRは、血液中のCMVの $>2 \log_{10}$ の減少と定義される。SDは、安定した臨床状態を伴い、且つCMVの $<2 \log_{10}$ 減少した患者と定義される。PODは、ウイルス血症及び臨床疾患の進行が継続していると定義される。

【 0 1 4 6 】

表3：投与されたCMVpp65-特異的T細胞のHLA拘束による反応

【表 3】

T細胞のHLA拘束(エピトープ)	治療した評価可能な数	反応			
		CR	PR	SD	POD
HLA-A0201 (NLVPMVATV)	19	12	2	3	2
HLA-B0702 (TPRVTGGGAM or RPHERNGFTV)	8	8	0	0	0
HLA-B0801 (DVEEDLTMT)	3	3	0	0	0
HLA B4401-3/B4001 (HERNGFTVL)	5	2	1	1	0
HLA-B3501 (N=3) (IPSINVHHY) HLA-B3502 (N=3) (QMQRLLTVS) HLA-B3508 (N=1) (EVQAIRETVE)	7	0	0	0	7
HLA-A2601 (INVHHYPSAA)	3	0	0	0	3

【 0 1 4 7 】

表4：投与された他のCMVpp65特異的T細胞において検出された免疫優性HLAアレル

【表 4】

HLAアレル拘束(エピトープ)	評価可能な数	反応			
		CR	PR	SD	POD
A2407 (QYDPVAALF)	1	0	0	0	1
A2902 (VCSMENTRAT)	1	1	0	0	0
A3001 (RVSQPSLIL)	1	0	1	0	0
B0705 (GVMTRGRLKA)	1	1	0	0	0
B1801 (KYQEFFWDAN)	1	0	1	0	0
B2704 (VSVNVHNPT)	1	1	0	0	0
DRB1 0301 (QPFMRPHERNG)	1	0	0	0	1
DRB1 0701 (SGKLFMHVTLG)	1	0	0	0	1
DRB1 1101 (FTSQYRIQGKL)	1	0	1	0	0

10

【0148】

認めることができるように、HLA A201により示されたCMVpp65エピトープに特異的なT細胞を受け取った患者19名のうち14名が、CR又はPRを達成した。HLA B0702により示される免疫優性エピトープに特異的なT細胞で治療した9名のうち8名が、CRを達成した。同様に、HLA A2402(N=2)及びB0801(N=3)により拘束された免疫優性T細胞は、治療した5症例の各々において、CRを誘導した。

20

【0149】

対照的に、HLA B35のアレルパリアントにより示された免疫優性エピトープに特異的なCMVpp65-特異的T細胞のレシピエントである7名全員(7/7)は、反応に失敗した。同様に、A2601(N=3)、A2407(N=1)及びB5001(N=1)のエピトープに特異的な免疫優性T細胞は、感染症のクリアランス又はウイルス血症の減少に失敗した。

30

【0150】

これらのプロスペクティブな結果は、特異的HLAアレルにより示された免疫優性エピトープが、インビボにおいてより良い治療活性を有するT細胞を誘導することの証拠を提供している。

【0151】

同じくHLA適合性HCTを提供する個体以外の個体において使用するためのバンクにドナーのCMVpp65-特異的T細胞が含まれることにも同意したドナーから移植を受け取った患者もまた、レトロスペクティブに試験した。その理由は、血清反応陽性ドナーの血液中のIFN⁺ CMV特異的T細胞の頻度は循環T細胞の0.1~1%の範囲であるので、通常レシピエント体重1kgあたり2~8×10³個T細胞を含むかかるドナーからのT細胞枯渇した移植片は、少数の免疫優性CMV-特異的T細胞も提供するからであった。この最初の分析の結果は、表5に提示している。

40

【0152】

表5：第三者ドナーとしてバンクの細胞にも寄与したHLA適合ドナーからの移植片を受け取った患者における、CMV-指向療法に対するCMV再活性化、疾患及び最終的反応の分析

【表5】

HLAアレル	数	CMV 再活性化のレベル			CMV 疾患	Rx T 細胞	疾患の種類	最終的無反応
		なし	低 (2-13/スライド ≤1000)	高 (≥100/スライド >スライド)				
B0702	25	9	7	9	0	6	-	0
A0201	36	14	12	10	1	7	BAL + L.P.	0
B0702なし	29	11	12	6	1	-	BAL + L.P.	
B0801 B0702なし	16	8	4	4	1	-	その他	0
B35 A02又はB07なし	13	2	3	8	7	-	1 髄膜腫 1 肝炎 3 肺炎 2 その他	6
A1101 A02又はB7なし	13	4	2	7	2	-	1 肺炎 1 大腸炎	2
A2601	9	3	3	3	3	-	2 その他 1 肺炎	1
A0101 A2又はB7なし	16	9	3	4	3	-	1 髄膜腫 1 その他 1 肺炎	2
A2402 A2又はB7なし	13	5	3	5	2	-	1 肺炎	1
A0301 A2又はB7なし	8	3	2	3	1	-	1 CSF+	0

10

20

【0153】

更に、CMVpp65-特異的T細胞により治療された患者において認められるように、HLA B0702及びA0201アレルを共有するドナー由来の移植片のレシピエントは、CMV疾患の発症のリスクが低く、並びにウイルス血症は治療に一貫して反応したのに対し、これらのアレルを欠くドナーからの移植片を受け取ったレシピエントは、顕性感染症の有意な発生を有した。これはまた、HLA B0702又はA0201のいずれかを欠いているHLA B35のバリエーションを有する患者において、特に認められた。

30

【0154】

この臨床データは、「活性の表示」の例として、本発明者らが、CMVpp65の誘発するペプチド-特異的T細胞反応の免疫優性エピトープを示すいくつかのHLAアレルの階層を決定することを可能にした(表6参照)。

【0155】

表6: CMVpp65の誘発するペプチド-特異的T細胞反応の免疫優性エピトープを示すHLAアレルの階層

【表6】

T細胞株の拘束性 HLA	ランク ^a
HLA-B0702	1
HLA-A0201	2
HLA-B0801	3
HLA-B4401	4

40

a より高い等級は、抗ウイルス薬に対する反応に失敗したCMV感染症又は持続性ウイルス血症を有する患者の治療におけるHLAアレルにより拘束されたT細胞株のより大きい臨床有効性に対応している。

【0156】

本発明者らのデータは、HLA-B35バリエーションは、使用されるべきではない(従ってこの表

50

示においてHLAアレルの中で「不適格である」とみなされる)ことを指摘した。

【0157】

(6.3. データの示唆すること)

1. CMVpp65エピトープの限定されたレポーターは、機能性CMV特異的細胞傷害性T細胞反応を誘発し、且つこのCTLバンク内で表示される181種のHLAアレル中の総計49種のアレルは、これらの免疫優性CMVpp65エピトープを示す。

【0158】

2. 同定されたペプチドエピトープは、有効なポリペプチドワクチンの開発のために使用されるか、又は将来の養子免疫療法のための高度に機能性のCMV CTLの作製のための限定されたペプチドプールとして使用され得る。

10

【0159】

3. 治療のためのCTL株の選択におけるHLA階層の分析を組み込むことで、第三者CTL治療のより高くより一貫した有効性を促進すべきである。

【0160】

(6.4. 臨床所見及び実験所見のまとめ)

有効であるように、養子移入されるウイルス-特異的T細胞は、ウイルスに感染された宿主細胞により発現されるウイルスペプチドエピトープ、並びに感染宿主細胞及びそれを通じHLA-拘束されたドナーT細胞がウイルスエピトープを認識するドナーT細胞により発現されたHLAアレルにより示されるウイルスペプチドエピトープの両方に特異的でなければならない。

20

【0161】

CMVによる一次感染の消散後に、反応するT細胞の最初の広範なレポーターは緊縮し、その結果限られた数の免疫優勢エピトープのみに対して特異的なT細胞が維持される。結果として、潜在的に感染した、CMV血清反応陽性の正常ドナーから増殖されたCMVpp65-特異的T細胞株は、通常ドナーにより発現されるわずかに1~2種のHLAアレルにより示されるわずかに1~2の免疫優性CMVpp65ペプチドに特異的である。

【0162】

本発明者らは、CMVpp65誘発するペプチド-特異的T細胞反応の免疫優性エピトープを示すHLAアレルの階層が存在し、これは遺伝され且つ発現された全ての他のアレルに勝る特異的HLAアレルにより示されるCMVpp65-特異的T細胞の選択的増殖につながることを発見した。この階層は、示しているアレルへのペプチドの結合親和性を基にはしていない。このHLA拘束の階層の結果として：

30

【0163】

1. インビトロで増殖されたT細胞株において検出されたCMVpp65-特異的T細胞を誘発する免疫優性エピトープは、限定された数のHLAアレルによってのみ示される。

【0164】

2. 更に、免疫優性ペプチドエピトープを示すHLAアレルのこの限定されたレポーターからの2種以上のHLAアレルを遺伝させている個体の中で、いくつかのHLAアレル(例えば、HLA B0702又はHLA A0201)は、他のアレルの除外に対する反応を誘発するエピトープを一貫して示す。

40

【0165】

臨床試験第II相の初期の結果は、更に、抗ウイルス薬療法に失敗し、その後宿主の感染細胞により発現されるHLAアレルにより拘束された第三者ドナー-由来のCMVpp65-特異的T細胞により治療される、CMV感染症又は持続性ウイルス血症の患者に関して、その階層における同じ最高のHLAアレル(例えば、HLA B0702又はHLA A0201)により拘束されているCMVpp65-特異的T細胞を受け取るこれらの患者は、一貫して反応するが、その階層のより低いHLAアレルにより拘束されたCMVpp65-特異的T細胞による治療は、感染症をクリアリングすることができ、反応は一貫性が少ないことを示している。

【0166】

(7. 参考文献の組込み)

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/058939

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	
INV. A61K35/17 C12N5/0783 G01N33/50 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) A61K C12N G01N	
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, WPI Data	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
	Relevant to claim No.
Y	HASAN AISHA NASREEN ET AL: "Generation and Characterization of a Third Party GMP Grade Bank of CMV Specific T-Cells for Adoptive Immunotherapy of CMV Infections in Recipients of HSCT from Cord Blood or Seronegative Donors", BIOLOGY OF BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION, vol. 20, no. 2, 1 February 2014 (2014-02-01), XP028828135, ISSN: 1083-8791, DOI: 10.1016/J.BBMT.2013.12.201 the whole document ----- -/--
	1-106
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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	Date of mailing of the international search report
28 January 2016	10/02/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Offermann, Stefanie

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2015/058939**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).

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.:

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 SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/058939

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>Aisha Hasan ET AL: "Generation and Characterization Of a Third Party GMP Grade Bank Of CMV Specific T-Cells For Adoptive Immunotherapy Of CMV Infections In Recipients Of HSCT From Cord Blood Or Seronegative Donors", Blood Journal, 15 November 2013 (2013-11-15), XP055244322, Retrieved from the Internet: URL:http://www.bloodjournal.org/content/122/21/2021.full.pdf [retrieved on 2016-01-25] the whole document</p> <p>-----</p>	1-106
Y	<p>D. TRIVEDI ET AL: "Generation of CMV-specific T lymphocytes using protein-spanning pools of pp65-derived overlapping pentadecapeptides for adoptive immunotherapy", BLOOD, vol. 105, no. 7, 28 October 2004 (2004-10-28), pages 2793-2801, XP055244386, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2003-05-1433 the whole document</p> <p>-----</p>	1-106
Y	<p>J. N. BARKER ET AL: "Successful treatment of EBV-associated posttransplantation lymphoma after cord blood transplantation using third-party EBV-specific cytotoxic T lymphocytes", BLOOD, vol. 116, no. 23, 2 December 2010 (2010-12-02), pages 5045-5049, XP055245031, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2010-04-281873 the whole document</p> <p>-----</p>	1-106
T	<p>Anonymous: "Banked, GMP Grade Third Party T-Cell Lines Specific for CMVpp65 Epitopes Presented By Certain Prevalent HLA Alleles More Consistently Clear CMV Infections in a Genetically Heterogeneous Population of HSCT Recipients", Blood Journal, 6 December 2014 (2014-12-06), XP055244276, Retrieved from the Internet: URL:http://www.bloodjournal.org/content/124/21/309.full.pdf [retrieved on 2016-01-25]</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/058939

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	SUSAN PROCKOP ET AL: "Third Party Donor Derived CMV Specific T Cells for the Treatment of Refractory CMV Viremia and Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplant", 56TH ASH ANNUAL MEETING AND EXPOSITION, 7 December 2014 (2014-12-07), XP055244282, -----	
T	SUSAN PROCKOP ET AL: "Successful Treatment of Refractory CMV Chorioretinitis and Meningoencephalitis with Adoptive Transfer of Third Party CMVpp65 Specific T-Cell Lines", 57TH ANNUAL MEETING & EXPOSITION, 6 December 2015 (2015-12-06), XP055244333, -----	

International Application No. PCT/ US2015/ 058939

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-106

adoptive cell therapy and, in particular, methods for identifying allogeneic T-cell lines (CTLs; "off-the-shelf T-cells")/ allogeneic donors for T-cell lines for therapeutic use. These methods are based on a hierarchical representation of different HLA alleles in combination with the relative activity of the respectively restricted T-cell line or the relative frequencies of generation of T-cell lines.

1.1. claims: 1-66, 102-105(completely); 100, 101, 106(partially)

method for selecting T-cells based on the relative activity of T-cell lines correlated with the different HLA-alleles.

1.2. claims: 67-99

method for selecting an allogeneic T cell donor based on the relative frequency of generation of T-cell lines.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 33/02 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 31/16 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 11/04	
A 6 1 P 27/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 13/10 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 13/10	
A 6 1 P 5/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 5/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
	A 6 1 P 35/02	

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

- (72)発明者 エカテリーナ ドウブロピナ
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 4 7 1 ブロンクス スペンサー テラス 6 2 1 9
- (72)発明者 ギュンター コーネ
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 8 0 3 ペルハム ユニット 3 1 4 ファースト ストリート 5 5
- (72)発明者 アイシャ エヌ . ハサン
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 0 6 5 ニューヨーク 1 1アール番 イースト 6 3 ルド ストリート 5 0 4
- (72)発明者 スーザン イー . プロコブ
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 0 0 1 1 ニューヨーク アプト . 6エー ウェスト 1 7 トフ ストリート 1 2 1

Fターム(参考) 2G045 AA02 AA40 CA18 JA01
 4B063 QA01 QA20 QQ08 QR32 QR48 QS33
 4C087 AA01 AA02 BB37 NA14 ZA02 ZA34 ZA59 ZA66 ZA75 ZA81
 ZA89 ZB26 ZB27 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38

专利名称(译)	用于过继细胞疗法的T细胞系和选择其供体的方法		
公开(公告)号	JP2017536843A	公开(公告)日	2017-12-14
申请号	JP2017543291	申请日	2015-11-04
[标]申请(专利权)人(译)	纪念斯隆-凯特琳癌症中心		
申请(专利权)人(译)	纪念斯隆 - 凯特琳癌症中心		
[标]发明人	リチャードジェイオレイリ エカテリーナドゥブロピナ ギユンターコーネ アイシャエヌハサン スーザンイープロコブ		
发明人	リチャード ジェイ.オレイリ エカテリーナ ドゥブロピナ ギユンター コーネ アイシャ エヌ.ハサン スーザン イー.プロコブ		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/48 A61K35/17 A61P35/00 A61P31/12 A61P31/04 A61P33/00 A61P33/02 A61P31/20 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P15/00 A61P11/00 A61P1/04 A61P1/18 A61P11/04 A61P1/16 A61P27/16 A61P13/12 A61P13/10 A61P13/08 A61P5/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P35/02 G16B45/00		
CPC分类号	A61K35/17 G01N33/505 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P5/00 A61P11/00 A61P11/04 A61P13/08 A61P13/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P27/16 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P31/20 A61P33/00 A61P33/02 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/04 G16B35/00 G16B45/00 G16C20/60 A61K2039/572 A61K39/0011 A61K39/001153 A61K39/25 A61K2039/5158 C12Q1/6881 C12Q2600/136 C12Q2600/172 G01N33/574 G01N33/57407 G01N2333/03 G01N2333/045 G01N2333/05		
FI分类号	C12Q1/68.Z G01N33/53.Y G01N33/48.Z A61K35/17.A A61K35/17.Z A61P35/00 A61P31/12 A61P31/04 A61P33/00 A61P33/02 A61P31/20 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P15/00 A61P11/00 A61P1/04 A61P1/18 A61P11/04 A61P1/16 A61P27/16 A61P13/12 A61P13/10 A61P13/08 A61P5/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P35/02		
F-TERM分类号	2G045/AA02 2G045/AA40 2G045/CA18 2G045/JA01 4B063/QA01 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QS33 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB37 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA34 4C087/ZA59 4C087/ZA66 4C087/ZA75 4C087/ZA81 4C087/ZA89 4C087/ZB26 4C087/ZB27 4C087/ZB33 4C087/ZB35 4C087/ZB37 4C087/ZB38		
代理人(译)	石川彻		
优先权	62/075856 2014-11-05 US		
其他公开文献	JP2017536843A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文公开了选择同种异体T细胞系用于对患有或怀疑患有病原体或癌症的患者进行治疗性给药的方法。还公开了一种选择供体以获得同种异体T细胞用于对患有或怀疑患有病原体或癌症的患者进行治疗性给药的方法。[选型图]图1

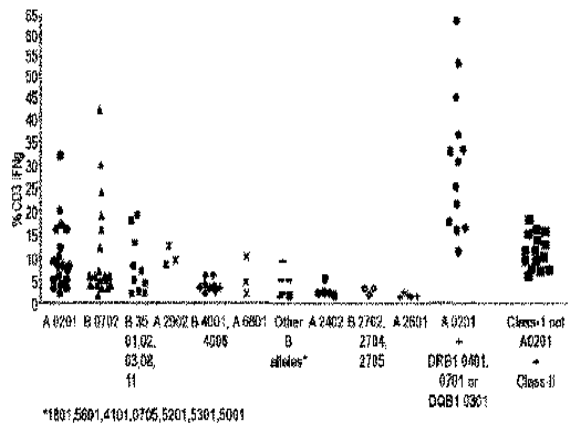


Figure 1