

(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2017-522859

(P2017-522859A)

(43) 公表日 平成29年8月17日(2017.8.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 4
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 63 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-567501 (P2016-567501)	(71) 出願人	510334686 テクニッシュ ウニヴェルジテート ミュンヘン
(86) (22) 出願日	平成27年5月7日 (2015.5.7)		
(85) 翻訳文提出日	平成29年1月10日 (2017.1.10)		
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/060065	(74) 代理人	110001508 特許業務法人 津国
(87) 国際公開番号	W02015/173112		
(87) 国際公開日	平成27年11月19日 (2015.11.19)	(72) 発明者	プロツァー, ウルリケ ドイツ国、81735 ミュンヘン、アンツルグートシュトラッセ 45
(31) 優先権主張番号	14168107.2	(72) 発明者	ダーゲル, クリスティーナ ドイツ国、80796 ミュンヘン、エマールヌエルシュトラッセ 14
(32) 優先日	平成26年5月13日 (2014.5.13)	Fターム(参考)	4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA14
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グリピカン3に特異的なT細胞受容体、及び肝細胞癌の免疫療法のためのその使用

(57) 【要約】

本発明は、グリピカン3に特異的なT細胞受容体に関する。本発明はさらに、可溶性TCR構築物、キメラTCR、該TCR又はTCR構築物を含む二重特異的抗体、核酸、発現構築物、及び細胞に関する。本発明はさらに、好ましくは肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌の検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療における、医薬品としてのTCR、又は可溶性TCR構築物、又はキメラTCR、又は二重特異的抗体の使用に関する。本発明はさらに、肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌を検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療する方法に関する。本発明はさらに、グリピカン3エピトープ(群)を含むペプチド、及びそれらをコードするそれぞれの核酸、抗体、及び組成物、並びに、(ペプチド)ワクチンとしてのその使用に関する。本発明はさらに、ペプチド(群)を含むワクチンにも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 配列番号 1 のアミノ酸配列 (可変) 、
 又は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ酸配列、

又は、TCR 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 14 のアミノ酸配列を有するエピトープ (GPC3 ペプチド 367) 又はその HLA - A2 結合形と結合するその機能的能力を保持している)

を含む T 細胞受容体 鎖、

及び / あるいは

(i i) 配列番号 2 のアミノ酸配列 (可変) 、

又は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ酸配列、

又は、TCR 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 14 のアミノ酸配列を有するエピトープ (GPC3 ペプチド 367) 又はその HLA - A2 結合形と結合するその機能的能力を保持している)

を含む T 細胞受容体 鎖

を含む、T 細胞受容体 (TCR) 。

【請求項 2】

(i) 配列番号 3 のアミノ酸配列 (マウス) 、

又は、配列番号 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ酸配列

をさらに含む T 細胞受容体 鎖、

及び / あるいは

(i i) 配列番号 4 のアミノ酸配列 (マウス) 、

又は、配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ酸配列

をさらに含む T 細胞受容体 鎖、

及び / あるいは、

(i i i) 配列番号 5 のアミノ酸配列 (P2A)

又は、配列番号 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率を有するアミノ酸配列

を含むリンカー若しくはヒンジ領域

を含む、請求項 1 の T 細胞受容体 (TCR) 。

【請求項 3】

(i) 配列番号 1 (可変) 及び配列番号 3 (マウス) のアミノ酸配列を含むか、好ましくは配列番号 6 のアミノ酸配列 (可変 + マウス) を含むか、

又は、配列番号 6 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ酸配列、

又は、TCR 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 14 のアミノ酸配列を有するエピトープ (GPC3 ペプチド 367) 又はその HLA - A2 結合形と結合するその機能的能力を保持している)

を含む T 細胞受容体 鎖、

及び / あるいは

(i i) 配列番号 2 (可変) 及び配列番号 4 (マウス) のアミノ酸配列を含むか、好

10

20

30

40

50

ましくは配列番号7のアミノ酸配列(可変 + マウス)を含むか、
 又は、配列番号7のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、
 又は、TCR配列の任意の変異形(ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ(GPC3ペプチド367)又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している)、
 を含むT細胞受容体鎖
 を含むか、
 あるいは、配列番号8のアミノ酸配列(全TCR P1-1のアミノ酸配列)
 を含む、請求項1又は2のT細胞受容体(TCR)。

10

【請求項4】

(1)好ましくは互いに共有結合で連結されてTCRヘテロ二量体又は多量体を形成している、

請求項1又は3に定義されているT細胞受容体鎖(群)、
 請求項1又は3に定義されているT細胞受容体鎖(群)
 の少なくとも1つ、及び

(2)好ましくは、

Fc受容体及び/又はFcドメイン、
 サイトカイン、例えばIL-2又はIL-15、
 毒素、

20

抗体、例えば抗CD3抗体、抗CD28抗体、抗CD5抗体、抗CD16抗体、又は抗CD56抗体、
 又はその組合せ

から選択された融合成分(群)

を含む、可溶性T細胞受容体(sTCR)構築物であって、
 ここで、少なくとも1つのT細胞受容体鎖(1)は融合成分(群)(2)に結合し、
 ここで、可溶性T細胞受容体は、好ましくはさらに、標識、例えば放射性核種、フルオロフォア、金粒子を含む、可溶性T細胞受容体(sTCR)構築物。

30

【請求項5】

請求項1又は3に定義されているT細胞受容体鎖、
 請求項1又は3に定義されているT細胞受容体鎖、又は
 請求項1~3のいずれかのT細胞受容体
 の少なくとも1つを含む、キメラT細胞受容体であって、
 ここで、TCR鎖及び/又はTCR鎖は、CD3ゼータ鎖(群)及び/又は他のTCR刺激ドメイン、例えば細胞内CD28、CD137、又はCD134ドメインに、好ましくはリンカーを介して融合している、キメラT細胞受容体。

【請求項6】

好ましくはリンカーを介して、
 (b)リンパ球の表面上の抗原又はエピトープに対して指向される抗体又は一本鎖抗体断片(scFv)
 に融合している、
 a)互いに連結されている、請求項1又は3に定義されているTCRのT細胞受容体鎖及び鎖(群)、
 を含む、二重特異的抗体。

40

【請求項7】

請求項1~3のいずれか一項記載のT細胞受容体をコードしているか、又は請求項4記載の可溶性T細胞受容体構築物をコードしているか、又は請求項5記載のキメラT細胞受容体をコードしているか、又は請求項6記載の二重特異的抗体をコードしている、核酸。

【請求項8】

50

配列番号 1 (可変) 及び / 若しくは配列番号 2 (可変) のアミノ酸配列をコードしている核酸、

又は配列番号 9 (可変) 及び / 若しくは配列番号 10 (可変) のヌクレオチド配列、又はその相補的配列 (群)、

又は、配列番号 9 若しくは 10 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90 若しくは 95 若しくは 99% の同一率を有する配列 (群) を含むか、

あるいは、

配列番号 6 (可変 + マウス) 及び / 若しくは配列番号 7 (可変 + マウス) のアミノ酸配列をコードしている核酸、

配列番号 11 (可変 + マウス) 及び / 若しくは配列番号 12 (可変 + マウス) のヌクレオチド配列、

又は、その相補的配列 (群)、

又は、配列番号 11 若しくは 12 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90 若しくは 95 若しくは 99% の同一率を有する配列 (群) を含むか、

あるいは、

配列番号 8 のアミノ酸配列 (全 TCR P1-1 のアミノ酸配列) をコードしている核酸、

配列番号 13 のヌクレオチド配列 (全 TCR P1-1)、

又は、その相補的配列 (群)、

又は、配列番号 13 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90 若しくは 95 若しくは 99% の同一率を有する配列 (群)

を含む、請求項 7 の核酸。

【請求項 9】

好ましくはさらにプロモーター及び転写終結配列を含む、細胞内の請求項 1 ~ 6 のいずれか一項記載の、T細胞受容体、又は可溶性 T細胞受容体構築物、又はキメラ T細胞受容体、又は二重特異的抗体を発現させるための発現構築物。

【請求項 10】

細胞傷害性 Tリンパ球 (CTL)、CD8 + T細胞、CD4 + T細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、ナチュラルキラー T (NKT) 細胞、ガンマ / デルタ - T細胞を含むがこれらに限定されないリンパ球から選択された、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項記載の T細胞受容体、若しくは可溶性 T細胞受容体構築物、若しくはキメラ T細胞受容体、若しくは二重特異的抗体、又は請求項 7 若しくは請求項 8 の核酸、又は好ましくは請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載された T細胞受容体、若しくは可溶性 T細胞受容体構築物、若しくはキメラ T細胞受容体、若しくは二重特異的抗体を発現している請求項 9 の発現構築物、を含む、細胞。

【請求項 11】

(i) 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項の T細胞受容体；

(ii) 請求項 4 の可溶性 T細胞受容体構築物；

(iii) 請求項 5 のキメラ T細胞受容体；

(iv) 請求項 6 の二重特異的抗体；

(v) 請求項 7 若しくは 8 の核酸 (群) 又は請求項 9 の発現構築物；及び / 又は

(vi) 請求項 10 の細胞

の 1 つ以上、

及び場合により薬学的賦形剤 (群) を含む、医薬組成物。

【請求項 12】

遺伝子的に改変されたリンパ球、好ましくは T細胞、NK細胞、及び / 又は NKT細胞を作製するための、請求項 1 ~ 3 の T細胞受容体、請求項 5 のキメラ T細胞受容体、請求項 6 の二重特異的抗体、請求項 7 若しくは 8 の核酸、又は請求項 9 の発現構築物の使用で

10

20

30

40

50

あって、ここで、好ましくは作製された遺伝子的に改変されたリンパ球、好ましくはT細胞は、遺伝子免疫のために、より好ましくは肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療するために使用される、使用。

【請求項13】

医薬品としての使用のための、請求項1～3のT細胞受容体、請求項4の可溶性T細胞受容体構築物、請求項5のキメラT細胞受容体、請求項6の二重特異的抗体、請求項7若しくは8の核酸、請求項9の核酸構築物、又は請求項10の宿主細胞。

【請求項14】

肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌の検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療に使用するための、請求項1～3のT細胞受容体、請求項4の可溶性T細胞受容体構築物、請求項5のキメラT細胞受容体、請求項6の二重特異的抗体、請求項7若しくは8の核酸、請求項9の発現構築物、又は請求項10の宿主細胞。

10

【請求項15】

患者は好ましくはHLA-A2陽性である、養子免疫療法、標的細胞特異的免疫療法、又は遺伝子免疫の使用を含む、請求項13のT細胞受容体、核酸、発現構築物、又は細胞。

【請求項16】

(a) 患者又は血液ドナーのリンパ球を準備する工程；
 (b) (i) 請求項1～3のいずれかのT細胞受容体、又は請求項4の可溶性T細胞受容体構築物、又は請求項5のキメラT細胞受容体、又は請求項6の二重特異的抗体、
 (ii) 請求項7又は8のいずれかの核酸、
 (iii) 請求項9の発現構築物、
 (iv) 請求項10の細胞、及び
 (v) 請求項11の医薬組成物の1つ以上を準備する工程；
 (c) 工程(b)の(i)から(v)の1つ以上を、工程(a)のリンパ球に生体外で導入し、これにより、遺伝子的に改変されたリンパ球を得る工程、
 (d) 工程(c)の遺伝子的に改変されたリンパ球を、それを必要とする被験者又は患者に投与する工程、
 (e) 場合により、工程(b)から(d)のいずれかを、放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程
 を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療する方法であって、
 ここで、患者は、好ましくは、HLA-A2陽性であり、
 及び/又は、工程(a)で単離されたリンパ球は、好ましくはT細胞、より好ましくはCD8⁺T細胞、NK細胞、及び/又はNKT細胞であり、
 及び/又は、工程(c)の生体外での導入は好ましくは、電気穿孔法を介して、又はリポソームなどのトランスフェクション試薬によって行なわれる、方法。

20

30

【請求項17】

(a) (i) 請求項1～3のいずれかのT細胞受容体、又は請求項4の可溶性T細胞受容体構築物、又は請求項5のキメラT細胞受容体、又は請求項6の二重特異的抗体、
 (ii) 請求項7又は8のいずれかの核酸、
 (iii) 請求項9の発現構築物、
 (iv) 請求項10の細胞、及び
 (v) 請求項11の医薬組成物の1つ以上を準備する工程；
 (b) 工程(a)の(i)から(v)の1つ以上を、好ましくは注射又は注入を介して、それを必要とする被験者又は患者に直接適用する工程、
 (c) 場合により、工程(b)を放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程

40

50

を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び／又は治療する方法であって、

患者は好ましくはHLA-A2陽性である、方法。

【請求項18】

患者の（肝臓）癌細胞、特に肝細胞癌（HCC）細胞を、請求項4の可溶性T細胞受容体構築物を使用して検出及び／又は破壊する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を検出、診断、予後予測、予防及び／又は治療する方法であって、ここで、可溶性T細胞受容体は好ましくは、それぞれ、静脈内、皮下、若しくは筋肉内注入若しくは注射によって、又は、吸入若しくは噴霧によって気道粘膜に適用することによって適用され、

10

患者は好ましくはHLA-A2陽性である、方法。

【請求項19】

標識されている請求項4の可溶性T細胞受容体構築物を使用することによって、（肝臓）癌細胞、特に肝細胞癌（HCC）細胞をインビトロで染色する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を検出するための、請求項18の方法。

【請求項20】

配列番号14のアミノ酸配列（GPC3ペプチド367）を含む少なくとも1つのGPC3エピトープを含むペプチド。

【請求項21】

請求項20記載の少なくとも1つのペプチドをコードしている核酸分子、又は、少なくとも1つのこのような核酸分子を含むプラスミド。

20

【請求項22】

請求項20記載のペプチドに対する抗体。

【請求項23】

(i) 請求項20記載の少なくとも1つのペプチド又は請求項21記載の少なくとも1つの核酸、

(ii) 場合により、担体、

(iii) 場合により、アジュバント

を含み、

好ましくは請求項20記載の少なくとも2つのペプチド又は請求項21記載の少なくとも2つの核酸を含む、組成物。

30

【請求項24】

医薬に使用するための、好ましくはワクチンとして使用するための、より好ましくは肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び／又は治療するための、請求項20のペプチド、請求項21の核酸分子、又は請求項23の医薬組成物。

【請求項25】

(i) 請求項20記載の少なくとも1つのペプチド、又は請求項21記載の少なくとも1つの核酸、又は請求項23の組成物、

(ii) 場合により、賦形剤

を含む、ワクチン。

40

【請求項26】

肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）を予防及び／又は治療するための請求項25のワクチンの使用。

【請求項27】

請求項20のペプチド、請求項21の核酸分子、請求項23の医薬組成物、又は請求項25のワクチンを、それを必要とする被験者に投与する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌（HCC）、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び／又は治療する方法。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、グリピカン3に特異的なT細胞受容体に関する。本発明はさらに、可溶性TCR構築物、キメラTCR、該TCR又はTCR構築物を含む二重特異的抗体、核酸、発現構築物、及び細胞に関する。本発明はさらに、好ましくは肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌の検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療における、医薬品としてのTCR、又は可溶性TCR構築物、又はキメラTCR、又は二重特異的抗体の使用に関する。本発明はさらに、肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌を検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療する方法に関する。本発明はさらに、グリピカン3エピトープ(群)を含むペプチド、及びそれらをコードするそれぞれの核酸、抗体、及び組成物、並びに、(ペプチド)ワクチンとしてのその使用に関する。本発明はさらに、ペプチド(群)を含むワクチンにも関する。

10

【0002】

発明の背景

肝細胞癌(HCC)は最も一般的な原発性肝臓癌であり、世界中の癌関連死の3番目に多い原因である。B型肝炎又はC型肝炎に慢性的に感染した患者は、HCCを発症するリスクが高いが、アルコール乱用及び代謝疾患もHCCの発症につながり得る。

【0003】

40%未満の患者が、腫瘍摘出又は肝移植のような治療的処置のための基準を満たす。さらに、腫瘍の再発のリスクは高い。進行したHCCを有する患者は、局所的切除又は多標的キナーゼ阻害剤ソラフェニブなどの対症療法しか受けることができず、それにも関わらず、これらの処置により、患者の予想される寿命に対してわずかに有益な効果しかもたらされない。結果として、HCCの予後は依然として悪く、新規な療法が緊急に必要とされる。

20

【0004】

国際公開公報第2012/070468A1号は、GPC3を標的化することのできるグリピカン3(GPC3)に特異的な抗体及びヒトキメラ抗原受容体(CAR)を開示している。国際公開公報第2012/070468A1号はさらに、該抗体を使用して、肝臓癌などの脱調節されたGPC3の発現に関連した疾病を診断及び処置するための組成物及び方法を開示している。

30

【0005】

当技術分野において、例えば特異的なT細胞を介して又は免疫療法若しくはペプチドを基剤としたワクチンによって、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)を検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療するための改良された手段及び方法が必要とされる。

【0006】

発明の要約

本発明によると、この目的は、

(i) 配列番号1のアミノ酸配列(可変)、

又は、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

40

又は、TCR配列の任意の変異形(ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ(GPC3ペプチド367)又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している)

を含むT細胞受容体鎖、

及び/あるいは

(ii) 配列番号2のアミノ酸配列(可変)、

又は、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

50

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド367）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）

を含むT細胞受容体鎖

を含む、

T細胞受容体（TCR）によって解決する。

【0007】

本発明によると、この目的は、

(i) 配列番号18~20の群から選択されたアミノ酸配列（3×可変）、
又は、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号17のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド326）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）

を含むT細胞受容体の鎖、

及び/あるいは

(ii) 配列番号21のアミノ酸配列（可変）、

又は、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号17のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド326）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）

を含むT細胞受容体鎖

を含む、T細胞受容体（TCR）によって解決する。

【0008】

本発明によると、この目的は、

(1) 好ましくは互いに共有結合で連結されてTCRヘテロ二量体又は多量体を形成している、本明細書において定義されているT細胞受容体の鎖（群）及び/又は本明細書において定義されているT細胞受容体の鎖（群）の少なくとも1つ、

及び(2) 好ましくは、Fc受容体及び/又はFcドメイン、サイトカイン、例えばIL-2又はIL-15、毒素、抗体、例えば抗CD3抗体、抗CD28抗体、抗CD5抗体、抗CD16抗体、又は抗CD56抗体、又はその組合せから選択された融合成分（群）を含む、可溶性T細胞受容体（sTCR）構築物によって解決され、

ここで、少なくとも1つのT細胞受容体鎖（1）は、融合成分（群）（2）に結合している。

【0009】

本発明によると、この目的は、

本明細書において定義されているT細胞受容体の鎖、

本明細書において定義されているT細胞受容体の鎖、又は

本発明に記載のT細胞受容体

の少なくとも1つを含むキメラT細胞受容体によって解決され、ここで、TCR鎖及び/又はTCR鎖は、CD3-ゼータ鎖（群）及び/又は他のTCR刺激ドメイン、例えば細胞内CD28、CD137、又はCD134ドメインに好ましくはリンカーを介して融合している。

【0010】

本発明によると、この目的は、

好ましくはリンカーを介して、

(b) リンパ球の表面上の抗原又はエピトープに対して指向される抗体又は一本鎖抗体断

10

20

30

40

50

片 (s c F v)

に融合している、

a) 互いに連結されている、本明細書において定義されている T C R の T 細胞受容体 鎖及び 鎖 (群)、
を含む、二重特異的抗体によって解決する。

【 0 0 1 1 】

本発明によると、この目的は、本発明に記載の T 細胞受容体をコードしているか、又は本発明に記載の可溶性 T 細胞受容体構築物をコードしているか、又は本発明に記載のキメラ T 細胞受容体をコードしているか、又は本発明に記載の二重特異的抗体をコードしている、核酸によって解決する。

10

【 0 0 1 2 】

本発明によると、この目的は、細胞内で本発明に記載の T 細胞受容体、又は可溶性 T 細胞受容体構築物、又はキメラ T 細胞受容体、又は二重特異的抗体を発現させるための、発現構築物によって解決する。

【 0 0 1 3 】

本発明によると、この目的は、本発明に記載の T 細胞受容体、若しくは可溶性 T 細胞受容体構築物、若しくはキメラ T 細胞受容体、若しくは二重特異的抗体、又は本発明に記載の核酸、又は本発明に記載の発現構築物を含む、細胞によって解決する。

【 0 0 1 4 】

本発明によると、この目的は、

20

(i) 本発明の T 細胞受容体 ;
(i i) 本発明の可溶性 T 細胞受容体構築物 ;
(i i i) 本発明のキメラ T 細胞受容体 ;
(i v) 本発明の二重特異的抗体 ;
(v) 本発明の核酸 (群) 又は本発明の発現構築物 ; 及び / 又は
(v i) 本発明の細胞
の 1 つ以上、
及び、場合により、薬学的賦形剤 (群)
を含む医薬組成物によって解決する。

【 0 0 1 5 】

30

本発明によると、この目的は、遺伝子的に改変されたリンパ球を作製するための、本発明の T 細胞受容体、本発明のキメラ T 細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、本発明の核酸、又は本発明の発現構築物の使用によって解決する。

【 0 0 1 6 】

本発明によると、この目的は、医薬品としての使用のための、本発明の T 細胞受容体、本発明のキメラ T 細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、本発明の核酸、又は本発明の発現構築物を提供することによって解決する。

【 0 0 1 7 】

本発明によると、この目的は、肝臓癌、特に肝細胞癌 (H C C)、又は G P C 3 を発現している他の癌の検出、診断、予後予測、予防及び / 又は治療に使用するための、本発明の T 細胞受容体、本発明のキメラ T 細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、本発明の核酸、又は本発明の発現構築物を提供することによって解決する。

40

【 0 0 1 8 】

本発明によると、この目的は、

(a) 患者又は血液ドナーのリンパ球を準備する工程 ;
(b) (i) 本発明の T 細胞受容体、又は本発明の可溶性 T 細胞受容体構築物、又は本発明のキメラ T 細胞受容体、又は本発明の二重特異的抗体、
(i i) 本発明の核酸、
(i i i) 本発明の発現構築物、
(i v) 本発明の細胞、及び

50

(v) 本発明の医薬組成物の1つ以上を準備する工程；

(c) 工程(b)の(i)から(v)の1つ以上を、工程(a)のリンパ球に生体外で導入し、これにより、遺伝子的に改変されたリンパ球を得る工程、

(d) 工程(c)の遺伝子的に改変されたリンパ球を、それを必要とする被験者又は患者に投与する工程、

(e) 場合により、工程(b)から(d)のいずれかを、放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療する方法によって解決する。

10

【0019】

本発明によると、この目的は、

(a) (i) 本発明のT細胞受容体、又は本発明の可溶性T細胞受容体構築物、又は本発明のキメラT細胞受容体、又は本発明の二重特異的抗体、

(ii) 本発明の核酸、

(iii) 本発明の発現構築物、

(iv) 本発明の細胞、及び

(v) 本発明の医薬組成物

の1つ以上を準備する工程；

(b) 工程(a)の(i)から(v)の1つ以上を、それを必要とする被験者又は患者に、好ましくは注射又は注入を介して直接適用する工程、

(c) 場合により、工程(b)を放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程

を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療する方法によって解決する。

20

【0020】

本発明によると、この目的は、患者の(肝臓)癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞を、本発明の可溶性T細胞受容体構築物を使用して検出及び/又は破壊する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療する方法によって解決する。

30

【0021】

本発明によると、この目的は、配列番号13のアミノ酸配列(GPC3ペプチド367)を含む、少なくとも1つのGPC3エピトープを含むペプチドによって解決する。

【0022】

本発明によると、この目的は、本発明に記載の少なくとも1つのペプチドをコードする核酸分子、又は少なくとも1つのこのような核酸分子を含む、プラスミドによって解決する。

【0023】

本発明によると、この目的は、本発明に記載のペプチドに対する抗体によって解決する。

40

【0024】

本発明によると、この目的は、

(i) 本発明に記載の少なくとも1つのペプチド、又は本発明に記載の少なくとも1つの核酸、

(ii) 場合により、担体、

(iii) 場合により、アジュバント

を含む、組成物によって解決する。

【0025】

本発明によると、この目的は、医薬に使用するための、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、又は本発明の医薬組成物を提供することによって解決する。

50

【 0 0 2 6 】

本発明によると、この目的は、ワクチンとして使用するための、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、又は本発明の医薬組成物を提供することによって解決する。

【 0 0 2 7 】

本発明によると、この目的は、

(i) 本発明に記載の少なくとも1つのペプチド、又は本発明に記載の少なくとも1つの核酸、又は本発明の組成物、

(i i) 場合により、賦形剤を含む、ワクチンによって解決する。

【 0 0 2 8 】

本発明によると、この目的は、肝臓癌、特に肝細胞癌 (H C C)、又は G P C 3 を発現している他の癌を予防及び / 又は治療するための、本発明のワクチンの使用によって解決する。

【 0 0 2 9 】

本発明によると、この目的は、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンを、それを必要とする被験者に投与する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌 (H C C)、又は G P C 3 を発現している他の癌を予防及び / 又は治療する方法によって解決する。

【 0 0 3 0 】

本発明の好ましい実施態様の説明

本発明を以下により詳細に記載する前に、本明細書に記載された特定の方法、プロトコール、及び試薬は変更され得るので本発明はこれらに限定されないことを理解されたい。また、本明細書において使用された用語は、単に特定の実施態様を説明する目的のためであり、本発明の範囲を制限する意図はなく、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ制限されるであろうことを理解されたい。特記しない限り、本明細書において使用された全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本発明の目的のために、本明細書に引用された全ての参考文献はその全体が参照により組み入れられる。

【 0 0 3 1 】

濃度、量、及び他の数値的データは、範囲の形式で本明細書に表現又は提示され得る。このような範囲の形式は、単に簡便性及び簡潔性のために使用され、したがって、範囲の限界として明確に列挙されている数値を含むだけでなく、各々の数値及び部分範囲が明確に列挙されているかのように、その範囲内に包含される全ての個々の数値又は部分範囲も含むと柔軟に解釈されるべきであることを理解されたい。一例として、「 5 ~ 5 0 アミノ酸」の数値の範囲は、 5 ~ 5 0 の明確に列挙された数値だけでなく、指定された範囲内の個々の数値及び部分範囲も含むと解釈されるべきである。したがって、この数値的範囲に含まれるのは、例えば 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、・・・、48、49、50 などの個々の数値、及び、 9 ~ 5 0、5 ~ 2 5、9 ~ 2 5、10 ~ 2 5、10 ~ 2 0、及び 1 5 ~ 2 5 などの部分範囲である。この同じ原則は、「少なくとも 8 つのアミノ酸」などの唯一の数値を列挙した範囲にも適用される。さらに、このような解釈は、範囲の広さ又は記載されている特徴に関係なく適用されるべきである。

【 0 0 3 2 】

G P C 3 に特異的な T 細胞受容体

上記に考察されているように、本発明は、 G P C 3 に特異的な T 細胞受容体 (T C R) を提供する。

【 0 0 3 3 】

大半の T 細胞は、いくつかのタンパク質の複合体として存在している T 細胞受容体 (T C R) を有する。実際の T 細胞受容体は、独立した T 細胞受容体 及び の遺伝子 (T C R 及び T C R) から産生され、かつ - T C R 鎖及び - T C R 鎖と呼ばれる、 2 つ

10

20

30

40

50

の(別々の)ペプチド鎖から構成される。 T細胞(ガンマデルタT細胞)は、その表面上に明確に異なるT細胞受容体(TCR)を有するT細胞の小さなサブセットを示す。しかしながら、 T細胞では、TCRは、1本の鎖と1本の鎖からなる。この群のT細胞は、 T細胞よりもはるかにより少ない(全T細胞の2%)。

【0034】

T細胞受容体の構造は、軽鎖及び重鎖の組み合わせられた抗体アームとして定義される領域である、免疫グロブリンFab断片に非常に類似している。TCRの各々の鎖は、免疫グロブリンスーパーファミリーの一員であり、1つのN末端の免疫グロブリン(Ig)可変(V)ドメイン、1つのIg定常(C)ドメイン、膜貫通/細胞膜貫通領域、及びC末端における短い細胞質側末端を有する。

10

【0035】

本発明によると、「T細胞受容体の可変領域」という用語は、TCR鎖の可変ドメインに関する。TCR鎖及び鎖の両方の可変ドメインは3つの超可変領域すなわち相補性決定領域(CDR)を有し、一方、鎖の可変領域は、抗原と通常は接触せず、それ故、CDRとは考えられない、追加の超可変領域(HV4)を有する。

【0036】

T細胞の活性化における最初のシグナルは、別の細胞上の主要組織適合性複合体(MHC)によって提示される短いペプチドへのT細胞受容体の結合によって提供される。これにより、そのペプチドに対して特異的なTCRを有するT細胞のみが確実に活性化される。

20

【0037】

肝細胞癌は、多くの他の腫瘍のように、腫瘍関連抗原を発現している。グリピカン-3(GPC3)及び-フェトプロテインは、健康なヒト肝臓には発現されないが、全ての肝細胞癌の最大で70%及び80%においてそれぞれ再活性化されている。

【0038】

GPC3ペプチド367に特異的なTCR

本発明者らは、今回、免疫優性GPC3エピトープ、すなわちHLA-A2に結合したGPC3ペプチド367を同定し、GPC3ペプチド367に対して特異的なTCRをクローニングした。

【0039】

好ましくは、本発明のGPC3に特異的なT細胞受容体(TCR)は、
 (1) 各々可変ドメイン及び定常ドメイン(群)を含む、鎖及び鎖を含み、
 (2) より高い発現レベルのためにコドンの最適化された可変ドメインを含み、
 (3) マウス化されている、すなわち、内因性TCR鎖と誤った対を形成することを回避することを助ける、マウス定常ドメインを含む、及び/又は
 (4) 鎖及び鎖を連結させるためのリンカー又はヒンジ領域を含む。

30

【0040】

上記に考察されているように、本発明のGPC3に特異的なTCRは、
 (i) 配列番号1のアミノ酸配列(可変)、
 又は、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、
 又は、TCR配列の任意の変異形(ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ(GPC3ペプチド367)又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している)
 を含むT細胞受容体鎖、
 及び/あるいは
 (ii) 配列番号2のアミノ酸配列(可変)、
 又は、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ

40

50

酸配列、

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド367）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）

を含むT細胞受容体鎖

を含む。

【0041】

本明細書において同義語として使用されているような、「TCR配列の任意の変異形、ただし、生物学的活性は保持されている」又は「TCR配列の任意の変異形、ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド367）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している」という用語は、好ましくはHLA-A2分子に結合している、GPC3ペプチド367のTCRによる認識に関してその機能的活性を保持している、本発明のTCR鎖（群）/受容体（群）のアミノ酸配列をいう。

10

【0042】

好ましい実施態様では、本発明のT細胞受容体（TCR）は、

(i) 配列番号3のアミノ酸配列（マウス）、

又は、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列

20

をさらに含むT細胞受容体鎖、

及び/あるいは

(ii) 配列番号4のアミノ酸配列（マウス）、

又は、配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列

をさらに含むT細胞受容体鎖

を含む。

【0043】

好ましい実施態様では、本発明のT細胞受容体（TCR）は、

(iii) 配列番号5のアミノ酸配列（P2A）又は配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率を有するアミノ酸配列を含む、リンカーからヒンジ領域を含む。

30

【0044】

好ましい実施態様では、本発明のT細胞受容体（TCR）は、

(i) 配列番号1（可変）及び配列番号3（マウス）のアミノ酸配列を含む、

好ましくは配列番号6のアミノ酸配列（可変+マウス）を含む若しくはからなる、

又は、配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

40

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド367）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）

を含むT細胞受容体鎖、

及び/あるいは

(ii) 配列番号2（可変）及び配列番号4（マウス）のアミノ酸配列を含み、

好ましくは配列番号7のアミノ酸配列（可変+マウス）を含む若しくはからなるか、

又は、配列番号7のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の同一率、より好ましくは少なくとも85%の同一率、より好ましくは90%若しくは95%の同一率を有するアミノ酸配列、

50

又は、TCR配列の任意の変異形（ただし、該変異形は、配列番号14のアミノ酸配列を有するエピトープ（GPC3ペプチド367）又はそのHLA-A2結合形と結合するその機能的能力を保持している）、を含むT細胞受容体鎖を含む。

【0045】

好ましい実施態様では、本発明のT細胞受容体（TCR）は、配列番号8のアミノ酸配列（全TCR P1-1のアミノ酸配列）を含むか又はからなる。

【0046】

配列番号1は、T細胞受容体鎖の可変領域のアミノ酸配列（可変）を示す。

10

【表1】

MLLELIPLLLGIHFVLRRTARAQSVTQPDIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQSPGQG
LQLLLKYFSGDTLVQGIKGFEEFKRSQSSFNLKPSVHWSDAAEYFCAVGVLNFGNEKLTF
GTGTRLTIIP

【0047】

配列番号2は、T細胞受容体鎖の可変領域のアミノ酸配列（可変）を示す。

【表2】

MLCSLLALLLLGTFFGVRSQTIHQWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPNLYWYRQAAGRGLQ
LLFYSVGIGQISSEVPQNLSASRPQDRQFILSSKLLLSDSGFYLCAWSEDTAYYGYTFGSG
TRLTVVE

20

【0048】

配列番号3は、マウス定常ドメインを含む、T細胞受容体鎖の定常領域のアミノ酸配列（マウス）を示す。

【表3】

IQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSSKNGAI
AWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNL SVMGLRILLKLVAG
FNLLMTLRLWSS

30

【0049】

配列番号4は、マウス定常ドメインを含む、T細胞受容体鎖の定常領域のアミノ酸配列（マウス）を示す。

【表4】

EDLRNVTTPKVSLEFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQA
YKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQVFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGR
ADCGITSASYHQVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNS

40

【0050】

配列番号5は、鎖と鎖を連結するリンカー又はヒンジ領域のアミノ酸配列を示す：

【表5】

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

【0051】

配列番号6は、T細胞受容体鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号1に下線が付されている）：

50

【表 6】

MLLELIPLLLGIHFVLRTARAQSVTQPDIIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQSPGQG
LQLLLKYFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFCAVGVLNFGNEKLTF
 GTGTRLTIIPIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMK
 AMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVSMG
 LRILLLLKVAGFNLLMTLRLWSS

【0052】

10

配列番号 7 は、T 細胞受容体 鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号 2 に下線が付されている）：

【表 7】

MLCSLLALLLGTFFGVRSQTIHQWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPPLYWYRQAAGRGLQ
LLFYSVGIGQISSEVPQNLSASRPQDRQFILSSKLLLSDSGFYLCAWSEDTAYYGYTFGSG
 TRLTVVVEEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSG
 VCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQNI
 SAEAWGRADCGITSASYHQVLSSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNS

20

【0053】

配列番号 8 は、鎖、リンカー、及び鎖を含む、T 細胞受容体の完全長アミノ酸配列を示す。

【表 8】

MLCSLLALLLGTFFGVRSQTIHQWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPPLYWYRQAAGRGLQ
LLFYSVGIGQISSEVPQNLSASRPQDRQFILSSKLLLSDSGFYLCAWSEDTAYYGYTFGSG
 TRLTVVVEEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSG
 VCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQNI
 SAEAWGRADCGITSASYHQVLSSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNSSGSGATN
FSLLKQAGDVEENPGMLELIPLLLGIHFVLRTARAQSVTQPDIIHITVSEGASLELRCNYSY
 GATPYLFWYVQSPGQGLQLLLKYFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEY
 FCAVGVLNFGNEKLTFGTGTRLTIIPIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKT
 MESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKS
 FETDMNLNFQNLVSMGLRILLLLKVAGFNLLMTLRLWSS*

30

【0054】

40

G P C 3 ペプチド 3 2 6 に対して特異的な T C R

本発明者らはさらに、G P C 3 ペプチド 3 2 6 に対して特異的な T C R をクローニングした。

【0055】

好ましくは、本発明の G P C 3 に特異的な T 細胞受容体（T C R）は、
 （1）各々が可変ドメイン及び定常ドメイン（群）を含んでいる鎖及び鎖を含み、
 （2）より高い発現レベルのためにコドンが最適化された可変ドメインを含み、
 （3）マウス化されている、すなわち、内因性 T C R 鎖との誤った対形成を回避することを助ける、マウス定常ドメインを含む、及び/又は
 （4）鎖と鎖を連結させるリンカー又はヒンジ領域を含む。

50

【 0 0 5 6 】

上記に考察されているように、本発明の G P C 3 に特異的な T C R は、
 (i) 配列番号 1 8 ~ 2 0 の群から選択されたアミノ酸配列 (3 × 可変) 、
 又は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 % 若しくは 9 5 % の同一率を有するアミノ酸配列、
 又は、T C R 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有するエピトープ (G P C 3 ペプチド 3 2 6) 又はその H L A - A 2 結合形と結合するその機能的能力を保持している)
 を含む T 細胞受容体 鎖、
 及び / あるいは
 (i i) 配列番号 2 1 のアミノ酸配列 (可変) 、
 又は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 % 若しくは 9 5 % の同一率を有するアミノ酸配列、
 又は、T C R 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有するエピトープ (G P C 3 ペプチド 3 2 6) 又はその H L A - A 2 結合形と結合するその機能的能力を保持している)
 を含む T 細胞受容体 鎖
 を含む。

10

20

【 0 0 5 7 】

本明細書において同義語として使用されているような、「T C R 配列の任意の変異形、ただし、生物学的活性は保持されている」又は「T C R 配列の任意の変異形、ただし、該変異形は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有するエピトープ (G P C 3 ペプチド 3 2 6) 又はその H L A - A 2 結合形と結合するその機能的能力を保持している」という用語は、好ましくは H L A A 2 分子に結合している、G P C 3 ペプチド 3 2 6 の T C R による認識に関してその機能的活性を保持している、本発明の T C R 鎖 (群) / 受容体 (群) のアミノ酸配列をいう。

【 0 0 5 8 】

好ましい実施態様では、本発明の T 細胞受容体 (T C R) は、
 (i) 配列番号 2 2 ~ 2 4 の群から選択されたアミノ酸配列 (3 × マウス) 、
 又は、配列番号 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 % 若しくは 9 5 % の同一率を有するアミノ酸配列
 をさらに含む T 細胞受容体 鎖、
 及び / あるいは
 (i i) 配列番号 2 5 のアミノ酸配列 (マウス) 、
 又は、配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 % 若しくは 9 5 % の同一率を有するアミノ酸配列
 をさらに含む T 細胞受容体 鎖
 を含む。

30

40

【 0 0 5 9 】

好ましい実施態様では、本発明の T 細胞受容体 (T C R) は、
 (i i i) 配列番号 5 のアミノ酸配列 (P 2 A) 、
 又は、配列番号 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率を有するアミノ酸配列を含む、リンカーからヒンジ領域を含む。

【 0 0 6 0 】

好ましい実施態様では、本発明の T 細胞受容体 (T C R) は、
 (i) (i - 1) 配列番号 1 8 (可変) 及び配列番号 2 2 (マウス) のアミノ酸配列

50

、
好ましくは、配列番号 26 のアミノ酸配列 (可変 + マウス) を含むか、若しくは、か
らなる、

又は、配列番号 26 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは
少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 又は 95% の同一率を有するアミノ酸
配列、

(i - 2) 配列番号 19 (可変) 及び配列番号 23 (マウス) のアミノ酸配列、
好ましくは配列番号 27 のアミノ酸配列 (可変 + マウス) を含むか、若しくは、か
らなる、

又は配列番号 27 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少
なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ
酸配列、

(i - 3) 配列番号 20 (可変) 及び配列番号 24 (マウス) のアミノ酸配列、
好ましくは配列番号 28 のアミノ酸配列 (可変 + マウス) を含むか、若しくは、か
らなる、

又は配列番号 28 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少
なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ
酸配列、

の群から選択されたアミノ酸配列、

又は、TCR 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 17 のアミノ酸配列 (
GPC3 ペプチド 326) を有するエピトープ又はそのHLA - A2 結合形と結合するそ
の機能的能力を保持している)

を含むT細胞受容体 鎖、

及び/あるいは

(i i) 配列番号 21 (可変) 及び配列番号 25 (マウス) のアミノ酸配列、
好ましくは配列番号 29 のアミノ酸配列 (可変 + マウス) を含むか、若しくは、か
らなる、

又は配列番号 29 のアミノ酸配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少
なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90% 若しくは 95% の同一率を有するアミノ
酸配列、

又は、TCR 配列の任意の変異形 (ただし、該変異形は、配列番号 17 のアミノ酸配列を
有するエピトープ (GPC3 ペプチド 326) 又はそのHLA - A2 結合形と結合するそ
の機能的能力を保持している)

を含むT細胞受容体 鎖

を含む。

【 0061 】

好ましい実施態様では、本発明のT細胞受容体 (TCR) は、配列番号 30 ~ 32 (全
TCR P2 - 1 の 3 x アミノ酸配列) の群から選択されたアミノ酸配列を含むか又はか
らなる。

【 0062 】

配列番号 18 は、1つのT細胞受容体 鎖の可変領域のアミノ酸配列 (可変) を示す
。

【 表 9 】

MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSG
KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLIIRDSQPSDSATYLC AAKMKTSYDKVIFG
PGTSLSVIP

【 0063 】

配列番号 19 は、別のT細胞受容体 鎖の可変領域のアミノ酸配列 (可変) を示す。

10

20

30

40

50

【表 1 0】

MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSG
 KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAGYSGGGADGLTFG
 KGTHLIIQPEDLRNVTPX

【0064】

配列番号 2 0 は、別の T 細胞受容体 鎖の可変領域のアミノ酸配列（可変）を示す。

【表 1 1】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKR
 PQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAASNGQGAQKLVFGQ
 GTRLTIN

10

【0065】

配列番号 2 1 は、T 細胞受容体 鎖の可変領域のアミノ酸配列（可変）を示す。

【表 1 2】

MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGL
 QFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFCASSPPGGIGYEQYFG
 PGTRLTVTE

20

【0066】

配列番号 2 2 は、マウス定常ドメインを含む、T 細胞受容体 鎖の定常領域のアミノ酸配列（マウス）を示す。

【表 1 3】

IQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNGAI
 AWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL SVMGLRILLKLVAG
 FNLLMTLRLWSS

【0067】

配列番号 2 3 は、マウス定常ドメインを含む、T 細胞受容体 鎖の定常領域のアミノ酸配列（マウス）を示す。

30

【表 1 4】

EDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQA
 YKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGR
 ADCGITSASYHQVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKNS

【0068】

配列番号 5 は、鎖と 鎖を連結するリンカー又はヒンジ領域のアミノ酸配列を示す。

40

【表 1 5】

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

【0069】

配列番号 2 4 は、配列番号 1 8 及び 2 2 からなる T 細胞受容体 鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号 1 8 に下線が付されている）：

【表 16】

MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSG
 KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAAKMKTSYDKVIFG
 PGTSLSVIPIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKA
 MDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL SVMGL
 RILLKLVAGFNLLMTLRLWSS*

【0070】

10

配列番号25は、配列番号19及び22からなるT細胞受容体鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号19に下線が付されている）：

【表 17】

MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSG
 KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAGYSGGADGLTFG
 KGTHLI IQPEDLRNVTPXIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFIT
 DKCVLDMKAMD SKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLF
 QNL SVMGLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS*

20

【0071】

配列番号26は、配列番号20及び22からなるT細胞受容体鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号20に下線が付されている）：

【表 18】

MTSIRAVFI FLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKR
 PQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAASNGQGAQKLVFGQ
 GTRLTINIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD
 SKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL SVMGLRI
 LLLKVAGFNLLMTLRLWSS*

30

【0072】

配列番号27は、T細胞受容体鎖の完全長アミノ酸配列を示す（配列番号21に下線が付されている）：

【表 19】

MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQGL
 QFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFCASSPGGIGYEQYFG
 PGTRLTVTEEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVH
 SGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTTQ
 NISAEAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNS

40

【0073】

配列番号28は、鎖、リンカー、及び配列番号24の鎖を含む、1つのT細胞受容体の完全長アミノ酸配列を示す。

【表 2 0】

MGFRLLCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGL
 QFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSPGGIGYEQYFG
 PGTRLTVTEEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVH
 SGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQ
 NISAEAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNSGSGA
 TNFSLKQAGDVEENPGPMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNC
 TYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSA
 TYLCAAKMKTSDYKVI FGPGTSLSVIPIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPK
 TMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEK
 SFETDMNLNFQNL SVMGLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS*

10

【0074】

配列番号 29 は、鎖、リンカー、及び配列番号 25 の鎖を含む、別の T 細胞受容体の完全長アミノ酸配列を示す：

【表 2 1】

MGFRLLCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGL
 QFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSPGGIGYEQYFG
 PGTRLTVTEEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVH
 SGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQ
 NISAEAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSGLVLMAMVKKKNSGSGA
 TNFSLKQAGDVEENPGPMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNC
 TYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSA
 TYLCAGYSGGGADGLTFGKGTHLIIQPEDLRNVTPXIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTD
 FDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDV
 PCDATLTEKSFETDMNLNFQNL SVMGLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS*

20

30

【0075】

配列番号 30 は、鎖、リンカー、及び配列番号 26 の鎖を含む、別の T 細胞受容体の完全長アミノ酸配列を示す。

【表 2 2】

MGFRLLCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQGL
 QFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFCASSPGGIGYEQYFG
 PGTRLTVTEEDLRNVTPPKVSLFEP SKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELS WVVNGKEVH
 SGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNPRNHFR CQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV TQ
 NISAEAWGRADCGITSASYHQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SGLVLMAMVKKKNSGSGA
 TNFSLLKQAGDVEENPGPMTSIRAVFI FLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTY
 SDSASNYFPWYKQELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFS LHITETQPEDSAV
 YFCAASNGOGAQLVFGQGTRLTINIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTM
 ESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATL TEKSF
 ETDMNLNFQNL SVMGLRILL LKVAGFNLLM TLRLLWSS*

10

【0076】

可溶性 TCR (sTCR) 構築物

上記に考察されているように、本発明は、本発明の T 細胞受容体 / 鎖を含む、可溶性 T 細胞受容体 (sTCR) 構築物を提供する。

20

【0077】

前記の可溶性 T 細胞受容体 (sTCR) 構築物は、

(1) 好ましくは互いに共有結合で連結されて TCR ヘテロ二量体又は多量体を形成している、

本明細書において定義されている T 細胞受容体 鎖 (群)、

本明細書において定義されている T 細胞受容体 鎖 (群)

の少なくとも 1 つ、及び

(2) 好ましくは、

Fc 受容体及び / 又は Fc ドメイン、

サイトカイン、例えば IL - 2 又は IL - 15、

毒素、例えば外毒素、例えばシュードモナス外毒素、

抗体、例えば抗 CD 3 抗体、抗 CD 28 抗体、抗 CD 5 抗体、抗 CD 16 抗体、又は抗 CD 56 抗体、

30

又はその組合せ

から選択された融合成分 (群)

を含み、

ここで、少なくとも 1 つの T 細胞受容体鎖 (1) は融合成分 (群) (2) に結合している。

【0078】

好ましくは、可溶性 T 細胞受容体はさらに、可溶性 TCR に、例えば融合成分 (群) (2) に好ましくは共有結合で付着 / 結合している、標識、例えば放射性核種、金 (粒子)、フルオロフォア (例えばフルオレセイン) を含む。

40

【0079】

可溶性 TCR は、サイトカイン及び Fc ドメインなどの様々な融合成分 (2) を含む得る。

【0080】

TCR 鎖及び TCR 鎖は化学的修飾によって可溶化させることができ、互いに及び他の分子に、例えば Fc 受容体、サイトカイン、及び毒素に共有結合で連結させることができる (Boulter et al, 2005; Lunde et al 2010 に記載のように)。

【0081】

これらの可溶性 TCR 構築物は、T 細胞を必要とすることなく、肝臓癌細胞、例えば肝

50

細胞癌細胞の検出及び破壊のために直接使用するのに適している。これは、それぞれ静脈内、皮下、又は筋肉内注入若しくは注射による、又は吸入若しくは噴霧による気道粘膜への適用による、患者への可溶性T細胞受容体構築物の適用によって達成され得る。

【0082】

1つの実施態様では、本発明の可溶性TCR構築物は、組換えタンパク質として使用される。このような組換えタンパク質は、好ましくは大腸菌又は哺乳動物細胞において発現され、次いで、さらなる使用又は適用前に精製される。

【0083】

本発明は、発現され精製された可溶性TCR構築物を提供する。

【0084】

キメラTCR

上記に考察されているように、本発明は、本明細書において定義されているT細胞受容体鎖、本明細書において定義されているT細胞受容体鎖、又は本発明のT細胞受容体の少なくとも1つを含むキメラT細胞受容体を提供し、ここで、TCR鎖及び/又はTCR鎖は、CD3ゼータ鎖(群)及び/又は他のTCR刺激ドメイン、例えば細胞内CD28、CD137、又はCD134ドメイン、CD28、CD137、又はCD134のより細胞内のシグナル伝達ドメインに、好ましくはリンカーを介して融合している。

【0085】

1つの実施態様では、本発明のキメラTCRは、互いにリンカーを介して融合し、さらにCD3ゼータ鎖(群)に融合している、本発明のT細胞受容体鎖及び本発明のT細胞受容体鎖を含む。

【0086】

好ましいCD3ゼータ鎖(群)は、T細胞受容体のヒトCD3複合体のゼータ鎖(群)である。好ましいCD28、CD137、及びCD134シグナル伝達ドメインは、ヒトを起源とする。

【0087】

キメラTCRは、さらなる成分を含み得る。

【0088】

キメラT細胞受容体及びキメラ抗原受容体(CAR)は当技術分野において公知である。例えば、Han et al. 2013を参照されたい。

【0089】

二重特異的抗体

上記に考察されているように、本発明は、好ましくはリンカーを介して、(b)リンパ球の表面上の抗原又はエピトープに対して指向される抗体又は一本鎖抗体断片(scFv)

に融合している、

a)互いに連結されている、本明細書に定義されているTCRのT細胞受容体鎖及び鎖(群)

を含む、二重特異的抗体を提供する。

【0090】

1つの実施態様では、抗体又はscFvは、T細胞のCD3又はCD5受容体に対して指向される。

【0091】

この実施態様では、二重特異的抗体はT細胞に結合し、該T細胞をGPC3提示腫瘍細胞へと向け直す。

【0092】

別の実施態様では、抗体又はscFvは、T細胞上の共刺激CD28受容体に対して指向される。この実施態様では、二重特異的抗体は、T細胞に結合して共活性化し、該T細胞

10

20

30

40

50

胞を G P C 3 提示腫瘍細胞へと向け直す。

【 0 0 9 3 】

別の実施態様では、C D 3 又は C D 5 及び C D 2 8 に対する抗体又は s c F V は、四価抗体構築物において組み合わせられる。

【 0 0 9 4 】

1 つの実施態様では、抗体又は s c F v は N K 細胞の C D 5 6 受容体に対して指向される。この実施態様では、二重特異的抗体は N K 細胞に結合し、該 N K 細胞を G P C 3 提示腫瘍細胞へと向け直す。

【 0 0 9 5 】

別の実施態様では、抗体又は s c F v は、N K 細胞上の活性化受容体 C D 1 6 に対して指向される。この実施態様では、二重特異的抗体は N K 細胞に結合して活性化し、該 N K 細胞を G P C 3 提示腫瘍細胞へと向け直す。

10

【 0 0 9 6 】

別の実施態様では、C D 5 6 及び C D 1 6 に対する抗体又は s c F V は、四価抗体構築物において組み合わせられる。

【 0 0 9 7 】

例えば、二重特異的抗体は、抗癌薬としての使用のために研究されている人工的な二重特異的モノクローナル抗体のクラスである、二重特異的 T 細胞誘導抗体 (B i T E) であり得る。それらは、癌細胞に対して、宿主の免疫系、より具体的には T 細胞の細胞傷害活性を向ける。B i T E は、M i c r o m e t A G の登録商標である。B i T E は、異なる抗体の 2 つの一本鎖可変断片 (s c F v)、又は、約 5 5 k D a の 1 つのペプチド鎖上の 4 つの異なる遺伝子に由来するアミノ酸配列からなる融合タンパク質である。s c F v の一方は、例えば C D 3 受容体を介して T 細胞に、又は N K 細胞活性化のために C D 5 6 に結合し、他方は腫瘍特異的分子を介して腫瘍細胞に結合する (例えば Csoka et al., 1996 を参照されたい) 。

20

【 0 0 9 8 】

好ましくは、本発明の二重特異的抗体は、組換えタンパク質として使用される。このような組換えタンパク質は、好ましくは大腸菌又は哺乳動物細胞において発現され、次いでさらなる使用又は適用前に精製される。

【 0 0 9 9 】

本発明は、発現され精製された二重特異的抗体を提供する。

30

【 0 1 0 0 】

G P C 3 に特異的な T C R を含む核酸、発現構築物、及び細胞

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の T 細胞受容体をコードしている核酸を提供する。

【 0 1 0 1 】

G P C 3 ペプチド 3 6 7 に対して特異的である T C R についての核酸

好ましくは、核酸は、

配列番号 1 (可変) 及び / 又は配列番号 2 (可変) のアミノ酸配列をコードしている核酸、

40

又は、配列番号 9 (可変) 及び / 又は配列番号 1 0 (可変) のヌクレオチド配列

又は、その相補的配列 (群)

又は、配列番号 9 若しくは 1 0 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 若しくは 9 5 若しくは 9 9 % の同一率を有する配列 (群)

を含む。

【 0 1 0 2 】

配列番号 9 は、T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

【表 2 3】

ATGCTGCTGGAAGTATCCCTCTGCTGGGCATCCACTTCGTGCTGAGAACC GCCAGAGCCCAGAGCGTGACCCAG
 CCCGATATCCACATCACCGTGTCTGAGGGGCCAGCCTGGAAGTGCAGTACAGCTACGGCGCCACCCCC
 TACCTGTTTTTGGTACGTGCAGAGCCCCGGACAGGGCCTGCAGCTGCTGCTGAAGTACTTTAGCGGCGACACCCTG
 GTGCAGGGCATCAAGGGATTTCGAGGCCGAGTTCAAGCGGAGCCAGAGCAGCTTCAACCTGCGGAAGCCCTCCGTG
 CATTGGAGCGACGCCGCCGAGTACTTTTGTGCCGTGGGCGTGCTGAACTTCGGCAACGAGAAGCTGACCTTTGGC
 ACCGGCACCCGGCTGACCATCATCCCT

【0 1 0 3】

配列番号 1 0 は、T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

【表 2 4】

ATGCTGTGTTCTCTGCTGGCTCTGCTGCTGGGCACCTTCTTTGGAGTGCAGGAGCCAGACCATCCACCAGTGGCCT
 GCTACACTGGTGCAGCCTGTGGGCAGCCCTCTGAGCCTGGAATGTACCGTGAAGGCACCAGCAACCCCAACCTG
 TACTGGTACAGACAGGCCGCTGGCAGAGGCCTGCAGCTGCTGTTTTACAGCGTGGGCATCGGCCAGATCAGCAGC
 GAGGTGCCCCAGAATCTGAGCGCCAGCAGACCCCGAGCCGCGAGTTTATCCTGAGCAGCAAGAAGCTGCTGCTG
 AGCGACAGCGGCTTCTACCTGTGCGCTTGGAGCGAGGACACCCGCTACTACGGCTACACCTTTGGCAGCGGCACC
 CGGCTGACAGTGGTGGAA

【0 1 0 4】

1 つの実施態様では、核酸は、

配列番号 6 (可変 + マウス) 及び / 又は配列番号 7 (可変 + マウス) のアミノ酸
 配列をコードしている核酸、

配列番号 1 1 (可変 + マウス) 及び / 又は配列番号 1 2 (可変 + マウス) のヌク
 レオチド配列、

又は、その相補的配列 (群) 、

又は、配列番号 1 1 若しくは 1 2 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率
 、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 若しくは 9 5 若しくは
 9 9 % の同一率を有する配列 (群)

を含む。

【0 1 0 5】

配列番号 1 1 は、T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す (下線は可変領域
 / 配列番号 9 である) ；

【表 2 5】

ATGCTGCTGGAAGTATCCCTCTGCTGGGCATCCACTTCGTGCTGAGAACC GCCAGAGCCCAGAGCGTGACCCAG
CCCGATATCCACATCACCGTGTCTGAGGGGCCAGCCTGGAAGTGCAGTACAGCTACGGCGCCACCCCC
TACCTGTTTTTGGTACGTGCAGAGCCCCGGACAGGGCCTGCAGCTGCTGCTGAAGTACTTTAGCGGCGACACCCTG
GTGCAGGGCATCAAGGGATTTCGAGGCCGAGTTCAAGCGGAGCCAGAGCAGCTTCAACCTGCGGAAGCCCTCCGTG
CATTGGAGCGACGCCGCCGAGTACTTTTGTGCCGTGGGCGTGCTGAACTTCGGCAACGAGAAGCTGACCTTTGGC
ACCGGCACCCGGCTGACCATCATCCCTATCCAGAACCCCGAGCCCGCCGTGTACCAGCTGAAGGACCCCGAGAAGC
CAGGACAGCACCCCTGTGTCTGTTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCAAGACCATGGAAAGCGGCACC
TTCATCACCGATAAGTGCCTGCTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCCAAC
CAGACCAGCTTACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAACGCCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCCCTGTGAC
GCCACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCCTGAGCGTGATGGGCCTGCGG
ATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

【0 1 0 6】

配列番号 1 2 は、T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す (下線は可変領域

10

20

30

40

50

／配列番号 10 である)：

【表 26】

ATGCTGTGTTCTCTGCTGGCTCTGCTGCTGGGCACCTTCTTTGGAGTGCGGAGCCAGACCATCCACCAGTGGCCT
 GCTACACTGGTGCAGCCTGTGGGCAGCCCTCTGAGCCTGGAATGTACCGTGGAAGGCACCAGCAACCCCAACCTG
 TACTGGTACAGACAGGCCGCTGGCAGAGGCCTGCAGCTGCTGTTTTACAGCGTGGGCATCGGCCAGATCAGCAGC
 GAGGTGCCCCAGAATCTGAGCGCCAGCAGACCCCCAGGACCCGGCAGTTTTATCCTGAGCAGCAAGAAGCTGCTGCTG
 AGCGACAGCGGCTTCTACCTGTGCGCTTGGAGCGAGGACACCCGCTACTACGGCTACACCTTTGGCAGCGGCACC
 CGGCTGACAGTGGTGGAGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTTCGAGCCCAGCAAGGCC
 GAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAACACTGTCC
 TGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCCAGGCTTACAAAGAGAGCAACTACAGC
 TACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTG
 CAGTTCCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCCGTGACCCAGAATATCAGCGCC
 GAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACCAGCGCCAGCTACCACCAGGGGTGCTGAGCGCCACCATCCTG
 TACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATGGTCAAG
 AAGAAGAACAGC

10

【0107】

1つの実施態様では、核酸は、
 配列番号 8 のアミノ酸配列 (全 TCR P1-1 のアミノ酸配列) をコードしている核酸、
 配列番号 13 のヌクレオチド配列 (全 TCR P1-1)、
 又は、その相補的配列 (群)、
 又は、配列番号 13 のヌクレオチド配列に対して少なくとも 80% の同一率、より好ましくは少なくとも 85% の同一率、より好ましくは 90 若しくは 95 若しくは 99% の同一率を有する配列 (群)
 を含む。

20

【0108】

配列番号 13 は、T 細胞受容体のヌクレオチド配列を示す (下線はリンカー又はヒンジ領域である)：

【表 27】

ATGCTGTGTTCTCTGCTGGCTCTGCTGCTGGGCACCTTCTTTGGAGTGCGGAGCCAGACCATCCACCAGTGGCCT
 GCTACACTGGTGCAGCCTGTGGGCAGCCCTCTGAGCCTGGAATGTACCGTGGAAGGCACCAGCAACCCCAACCTG
 TACTGGTACAGACAGGCCGCTGGCAGAGGCCTGCAGCTGCTGTTTTACAGCGTGGGCATCGGCCAGATCAGCAGC
 GAGGTGCCCCAGAATCTGAGCGCCAGCAGACCCCCAGGACCCGCGAGTTTATCCTGAGCAGCAAGAAGCTGCTGCTG
 AGCGACAGCGGCTTCTACCTGTGCGCTTGGAGCGAGGACACCCGCTACTACGGCTACACCTTTGGCAGCGGCACC
 CGGCTGACAGTGGTGAAGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTTCGAGCCCAGCAAGGCC
 GAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCAGTGAAGTGTCC
 TGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCCAGGCTTACAAAGAGAGCAACTACAGC
 TACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTG
 CAGTTCCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCCGTGACCCAGAATATCAGCGCC
 GAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACAGCGCCAGCTACCACCAGGGGTGCTGAGCGCCACCATCCTG
 TACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATGGTCAAG
 AAGAAGAACAGCGGCAGCGGCGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAAGCAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAACCCGGG
 CCCATGCTGCTGGAAGTATCCCTCTGCTGGGCATCCACTTCGTGCTGAGAACCGCCAGAGCCCAGAGCGTGACC
 CAGCCCCGATATCCACATCACCGTGTCTGAGGGCGCCAGCCTGGAAGTGCAGTGCAGTACAGCTACGGCGCCACC
 CCCTACCTGTTTTGGTACGTGCAGAGCCCCGGACAGGGCCTGCAGCTGCTGCTGAAGTACTTTAGCGGGCAGACC
 CTGGTGCAGGGCATCAAGGGATTTCGAGGCCGAGTTCAAGCGGAGCCAGAGCAGCTTCAACCTGCGGAAGCCCTCC
 GTGCATTGGAGCGACGCCCGGAGTACTTTTGTGCCGTGGGCGTGTGAACTTCGGCAACGAGAAGCTGACCTTT
 GGCACCGGCACCCGGCTGACCATCATCCCTATCCAGAACCCCCGAGCCCCCGTGTACCAGCTGAAGGACCCAGA
 AGCCAGGACAGCACCCCTGTGTCTGTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCCAAGACCATGGAAAGCGGC
 ACCTTCATCACCGATAAGTGCCTGCTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCC
 AACCAGACCAGCTTCACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAACGCCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCCCTGT
 GACGCCACCCTGACCGAGAAGTCCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCCTGAGCGTGTGGCCCTG
 CGGATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

10

20

30

【0109】

配列番号 9 ~ 13 のヌクレオチド配列は、cDNA に由来するか、又は DNA である。

【0110】

配列番号 9 ~ 13 のヌクレオチド配列はコドンが最適化されている。

【0111】

GPC3 ペプチド 326 に対して特異的である TCR についての核酸

好ましくは、核酸は、

配列番号 18 ~ 20 (3 × 可変) 及び / 又は配列番号 21 (可変) の 1 つのアミノ酸配列をコードしている核酸、

又は、配列番号 31 ~ 33 (3 × 可変) 及び / 又は配列番号 34 (可変) の 1 つのヌクレオチド配列、

又は、その相補的配列 (群)

又は、配列番号 31 ~ 34 の 1 つのヌクレオチド配列に対して少なくとも 80 % の同一率、より好ましくは少なくとも 85 % の同一率、より好ましくは 90 若しくは 95 若しくは 99 % の同一率を有する配列 (群)

を含む。

40

【0112】

配列番号 31 は、1 つの T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

【表 2 8】

ATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAGAAGGAGGTG
 GAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGT
 TCCCAGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATACTCCAATGGT
 GACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCC
 CAGCCCAGTGATTAGCCACCTACCTCTGTGCCGCGAAAATGAAAACCTCCTACGACAAGGTGATATTTGGGCCA
 GGGACAAGCTTATCAGTCATTCCA

【0 1 1 3】

配列番号 3 2 は、別の T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

10

【表 2 9】

ATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAGAAGGAGGTG
 GAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGT
 TCCCAGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATACTCCAATGGT
 GACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCC
 CAGCCCAGTGATTAGCCACCTACCTCTGTGCCGGGTATTAGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAA
 GGGACTCATCTAATCATCCAGCCCAGATCTGAGGAACGTGACCCCCC

【0 1 1 4】

配列番号 3 3 は、別の T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

20

【表 3 0】

ATGACATCCATTCGAGCTGTATTTATATTCCTGTGGCTGCAGCTGGACTTGGTGAATGGAGAGAATGTGGAGCAG
 CATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGGGAGACAGCGCTGTTATCAAGTGTACTTATTCAGACAGTGCCTCAAAC
 TACTTCCCTTGGTATAAGCAAGAAGCTTGGAAAAAGACCTCAGCTTATTATAGACATTCGTCAAATGTGGGCGAA
 AAGAAAGACCAACGAATTGCTGTTACATTGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTGCACATCACAGAGACCCAA
 CCTGAAGACTCGGCTGTCTACTTCTGTGCAGCAAGTAATGGGCAGGGAGCCCAGAAAGCTGGTATTTGGCCAAGGA
 ACCAGGCTGACTATCAAC

【0 1 1 5】

配列番号 3 4 は、T 細胞受容体 鎖の可変領域のヌクレオチド配列を示す：

30

【表 3 1】

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAA
 ACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGCTCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCT
 GTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCTCATTAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCA
 AAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCTGACTTGCACTCTGAACTAAACCTGAGCTCTCTG
 GAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCCCCGGGGGATCGGGTACGAGCAGTACTTCGGGCCG
 GGCACCAGGCTCACGGTCACAGAG

【0 1 1 6】

40

1 つの実施態様では、核酸は、

配列番号 2 4 ~ 2 6 (可変 + マウス) 及び / 又は配列番号 2 7 (可変 + マウス)
 の 1 つのアミノ酸配列をコードしている核酸、

配列番号 3 5 ~ 3 7 (可変 + マウス) 及び / 又は配列番号 3 8 (可変 + マウス)
 の 1 つのヌクレオチド配列、

又は、その相補的配列 (群)

又は、配列番号 3 5 ~ 3 8 の 1 つのヌクレオチド配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率
 、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 若しくは 9 5 若しくは
 9 9 % の同一率を有する配列 (群)

を含む。

50

【 0 1 1 7 】

配列番号 3 5 は、1 つの T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す（下線は可変領域 / 配列番号 3 1 である）：

【 表 3 2 】

ATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAGAAGGAGGTG
GAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGT
TCCCAGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATACTCCAATGGT
GACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCC
CAGCCCAGTGATTAGCCACCTACCTCTGTGCCGCGAAAATGAAAACCTCCTACGACAAGGTGATATTTGGGCCA
GGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAATCCAGAACCCCGAGCCCGCGGTGTACCAGCTGAAGGACCCAGAAGCCAG
GACAGCACCCCTGTGTCTGTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCAAGACCATGGAAAGCGGCACCTTC
ATCACCGATAAGTGCCTGTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCCAACAG
ACCAGCTTCACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAAACGCCACCTACCCCTCCAGCGACGTGCCCTGTGACGCC
ACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCTGAGCGTGATGGGCCTGCGGATC
CTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

10

【 0 1 1 8 】

配列番号 3 6 は、別の T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す（下線は可変領域 / 配列番号 3 2 である）：

【 表 3 3 】

ATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAGAAGGAGGTG
GAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGT
TCCCAGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATACTCCAATGGT
GACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCC
CAGCCCAGTGATTAGCCACCTACCTCTGTGCCGGGTATTAGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAA
GGGACTCATCTAATCATCCAGCCCGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCATCCAGAACCCCGAGCCCGCGGTGT
ACCAGCTGAAGGACCCAGAAGCCAGGACAGCACCCCTGTGTCTGTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGC
CCAAGACCATGGAAAGCGGCACCTTCATCACCGATAAGTGCCTGTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCA
ACGGCGCCATTGCCTGGTCCAACCAGACCAGCTTCACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAAACGCCACCTACC
CTTCCAGCGACGTGCCCTGTGACGCCACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGA
ACCTGAGCGTGATGGGCCTGCGGATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGT
GGTCCAGCTGA

30

【 0 1 1 9 】

配列番号 3 7 は、別の T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す（下線は可変領域 / 配列番号 3 3 である）：

【表 3 4】

ATGACATCCATTGAGCTGTATTTATATTCTGTGGCTGCAGCTGGACTTGGTGAATGGAGAGAATGTGGAGCAG
CATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGGGAGACAGCGCTGTTATCAAGTGTACTTATTCAGACAGTGCCTCAAAC
TACTTCCCTTGGTATAAGCAAGAAGCTTGGAAAAAGACCTCAGCTTATTATAGACATTCGTTCAAATGTGGGCGAA
AAGAAAGACCAACGAATTGCTGTTACATTGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTGCACATCACAGAGACCCAA
CCTGAAGACTCGGCTGTCTACTTCTGTGCAGCAAGTAATGGGCAGGGAGCCAGAAGCTGGTATTTGGCCAAGGA
ACCAGGCTGACTATCAACATCCAGAACCCCGAGCCCGCGTGTACCAGCTGAAGGACCCAGAAGCCAGGACAGC
ACCCTGTGTCTGTTACCCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCAAGACCATGGAAAGCGGCACCTTCATCACC
GATAAGTGCCTGCTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCCAACCAGACCAGC
TTCACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAACGCCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCCCTGTGACGCCACCCTG
ACCGAGAAGTCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCAGCGTGTATGGGCCTGCGGATCCTGCTG
CTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

10

【0 1 2 0】

配列番号 3 8 は、T 細胞受容体 鎖の完全長ヌクレオチド配列を示す（下線は可変領域 / 配列番号 3 4 である）：

【表 3 5】

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAA
ACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCT
GTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCCTCATTCAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCA
AAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCACCTCTGAACTAAACCTGAGCTCTCTG
GAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCCCCGGGGGATCGGGTACGAGCAGTACTTCGGGCCG
GGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTCGAGCCCAGC
AAGGCCGAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAA
CTGTCCCTGGTGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCAAGGCTTACAAAGAGAGCAAC
TACAGCTACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAACCCCGGAACCACTTCAGATGC
CAGGTGCAGTTCCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCCGTGACCCAGAATATC
AGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACAGCGCCAGCTACCACCAGGGGGTGTGAGCGCCACC
ATCCTGTACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATG
GTCAAGAAGAAGAACAGC

20

30

【0 1 2 1】

1 つの実施態様では、核酸は、
 配列番号 2 8 ~ 3 0（全 T C R P 2 - 1 の 3 × アミノ酸配列）の 1 つのアミノ酸配列を
 コードしている核酸、

配列番号 3 9 ~ 4 1（全 T C R P 2 - 1）の 1 つのヌクレオチド配列

又は、その相補的配列（群）

又は、配列番号 3 9 ~ 4 1 の 1 つのヌクレオチド配列に対して少なくとも 8 0 % の同一率
 、より好ましくは少なくとも 8 5 % の同一率、より好ましくは 9 0 若しくは 9 5 若しくは
 9 9 % の同一率を有する配列（群）

を含む。

【0 1 2 2】

配列番号 3 9 は、1 つの T 細胞受容体のヌクレオチド配列を示す（下線はリンカー又は
 ヒンジ領域である）：

40

【表 3 6】

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAA
 ACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCT
 GTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCCTCATTTCAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCA
 AAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCACCTCTGAACTAAACCTGAGCTCTCTG
 GAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCCCCGGGGGATCGGGTACGAGCAGTACTTCGGGCCG
 GGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTTCGAGCCCAGC
 AAGGCCGAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAA
 CTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCCAGGCTTACAAAGAGAGCAAC
 TACAGCTACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAACCCCCGGAACCCTTCAGATGC
 CAGGTGCAGTTCCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCCGTGACCCAGAATATC
 AGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACCAGCGCCAGCTACCACCAGGGGGTGTGAGCGCCACC
 ATCCTGTACGAGATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACCGCTGTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATG
 GTCAAGAAGAAGAACAGCGGCAGCGGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAAC
CCCGGGCCCATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAG
 AAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAGGGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACCTACAGT
 GACCGAGGTTCCAGTCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATAC
 TCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAAGCCAGCCAGTATGTTTTCTCTGCTCATC
 AGAGACTCCCAGCCCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGCGAAAATGAAAACCTCCTACGACAAGGTGATA
 TTTGGGCCAGGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAATCCAGAACCCCGAGCCCGCCGTGTACCAGCTGAAGGACCCC
 AGAAGCCAGGACAGCACCCCTGTGTCTGTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCCAAGACCATGGAAAGC
 GGCACCTTCATCACCGATAAGTGCCTGCTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCCTGG
 TCCAACCAGACCAGCTTACATGCCAGGACATCTCAAAGAGACAAACGCCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCC
 TGTGACGCCACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCTGAGCGTGATGGGC
 CTGCGGATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

10

20

30

【0 1 2 3】

配列番号 40 は、別の T 細胞受容体のヌクレオチド配列を示す（下線はリンカー又はヒンジ領域である）：

【表 3 7】

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAA
 ACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCT
 GTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCCTCATTTCAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCA
 AAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCACTCTGAACTAAACCTGAGCTCTCTG
 GAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCCCCGGGGGATCGGGTACGAGCAGTACTTCGGGCCG
 GGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTTCGAGCCCAGC
 AAGGCCGAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAA
 CTGTCTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCCAGGCTTACAAAGAGAGCAAC 10
 TACAGCTACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAAACCCCCGGAACCACTTCAGATGC
 CAGGTGCAGTTCCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCGTGACCCAGAATATC
 AGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACCAGCGCCAGCTACCACCAGGGGGTGTGAGCGCCACC
 ATCTGTACGAGATCCTGTGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATG
 GTCAAGAAGAAGAACAGCGGCAGCGGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAAC
CCCGGGCCCATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTAGTGATCCTGTGGCTTCAGTTGAGCTGGGTTTGGAGCCAACAG
 AAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAGGGAGCCATTGCCCTCTCTCAACTGCACCTACAGT
 GACCGAGGTTCCCAGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTTTCATATAC 20
 TCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATC
 AGAGACTCCCAGCCCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGGGTATTTCAGGAGGAGGTGCTGACGGACTCACC
 TTTGGCAAAGGGACTCATCTAATCATCCAGCCGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCATCCAGAACCCCGAGC
 CCGCCGTGTACCAGCTGAAGGACCCCAAGCCAGGACAGCACCCCTGTGTCTGTTCCACCGACTTCGACAGCCAGA
 TCAACGTGCCCAAGACCATGGAAAGCGGCACCTTCATCACCGATAAGTGCGTGCTGGACATGAAGGCCATGGACA
 GCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCCAACCAGACCAGCTTCACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAACG
 CCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCCCTGTGACGCCACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGA
 ATTTCCAGAACCTGAGCGTGATGGGCCTGCGGATCCTGCTGCTGAAAGTGCCGGGCTTCAACCTGCTGATGACCC
 TGCGGCTGTGGTCCAGCTGA 30

10

20

30

【0 1 2 4】

配列番号 4 1 は、別の T 細胞受容体のヌクレオチド配列を示す（下線はリンカー又はヒンジ領域である）：

【表 3 8】

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAA
 ACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCT
 GTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCCTCATTCAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCA
 AAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCACTCTGAACTAAACCTGAGCTCTCTG
 GAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCCCCGGGGGATCGGGTACGAGCAGTACTTCGGGCCG
 GGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGAAGATCTGAGGAACGTGACCCCCCAAGGTGTCCCTGTTTCGAGCCCAGC
 AAGGCCGAGATCGCCAACAAGCAGAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAA
 CTGTCTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACAGCGGAGTCTGCACCGACCCCCAGGCTTACAAAGAGAGCAAC
 TACAGCTACTGCCTGTCCAGCAGACTGCGGGTGTCCGCTACCTTCTGGCACAACCCCCGGAACCACTTCAGATGC
 CAGGTGCAGTTCACGGCCTGAGCGAAGAGGACAAGTGGCCCCGAGGGCAGCCCCAAGCCGTGACCCAGAATATC
 AGCGCCGAGGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCATCACCAGCGCCAGCTACCACCAGGGGGTGTGAGCGCCACC
 ATCCTGTACGAGATCCTGTGGCAAGGCCACCCTGTACCGTGTGGTGTCCGGACTGGTGTGATGGCCATG
 GTCAAGAAGAAGAACAGCGGCAGCGGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCCGGCGACGTGGAAGAGAAC
 CCCGGGCCCATGACATCCATTCGAGCTGTATTTATATTCCTGTGGCTGCAGCTGGACTTGGTGAATGGAGAGAAT
 GTGGAGCAGCATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGGGAGACAGCGCTGTTATCAAGTGTACTTATTCAGACAGT
 GCCTCAAACACTTCCCTTGGTATAAGCAAGAAGTGGAAAAAGACCTCAGCTTATTATAGACATTCGTTCAAAT
 GTGGGCGAAAAGAAAGACCAACGAATTGCTGTTACATTGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTGCACATCACA
 GAGACCCAACCTGAAGACTCGGCTGTCTACTTCTGTGCAGCAAGTAATGGGCAGGGAGCCCAGAAGCTGGTATTT
 GGCCAAGGAACCAGGCTGACTATCAACATCCAGAACCCCGAGCCCGCCGTGTACCAGCTGAAGGACCCCAGAAGC
 CAGGACAGCACCTGTGTCTGTTACCGACTTCGACAGCCAGATCAACGTGCCAAGACCATGGAAAGCGGCACC
 TTCATCACCGATAAGTGCCTGCTGGACATGAAGGCCATGGACAGCAAGAGCAACGGCGCCATTGCCTGGTCCAAC
 CAGACCAGCTTACATGCCAGGACATCTTCAAAGAGACAAACGCCACCTACCCTTCCAGCGACGTGCCCTGTGAC
 GCCACCCTGACCGAGAAGTCCTTCGAGACAGACATGAATCTGAATTTCCAGAACCTGAGCGTGATGGGCCTGCGG
 ATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

10

20

30

【0 1 2 5】

配列番号 3 1 ~ 4 1 のヌクレオチド配列は、c D N A に由来するか、又は D N A である。

【0 1 2 6】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の可溶性 T 細胞受容体構築物をコードしている核酸を提供する。

【0 1 2 7】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載のキメラ T 細胞受容体をコードしている核酸を提供する。

【0 1 2 8】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の二重特異的抗体をコードしている核酸を提供する。

40

【0 1 2 9】

本発明に記載の核酸は、D N A（例えば、d s D N A、s s D N A、c D N A）、R N A（例えば d s R N A、s s R N A、m R N A）、その組合せ又はその誘導体（例えば P N A）を含む。

【0 1 3 0】

好ましくは、本発明の核酸配列は、哺乳動物細胞における発現のために、好ましくはヒト細胞における発現のためにコドンが最適化されている。二重特異的抗体の作製のために、核酸配列はまた、細菌、酵母、又は昆虫細胞における発現のためにコドンが最適化されていてもよい。コドン最適化は、所与の種の高度に発現されている遺伝子において一般的

50

に稀である関心対象の配列中のコドンを、このような種の高度に発現されている遺伝子において一般的に頻繁に存在するコドン、例えば交換されるコドンと同じアミノ酸をコードしているコドンと交換することをいう。

【0131】

本発明の範囲内には、上記のヌクレオチド配列の遺伝子コードの縮重に起因して得られたヌクレオチド配列もある。

【0132】

上記に考察されているように、本発明は、細胞内で本発明に記載のT細胞受容体を発現させるための発現構築物を提供する。

【0133】

上記に考察されているように、本発明は、細胞内で本発明に記載の可溶性T細胞受容体構築物を発現させるための発現構築物を提供する。

【0134】

上記に考察されているように、本発明は、細胞内で本発明に記載のキメラT細胞受容体を発現させるための発現構築物を提供する。

【0135】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の二重特異的抗体を発現させるための発現構築物、並びに、発現され精製された二重特異的抗体を提供する。

【0136】

好ましくは、発現構築物はさらに、プロモーター及び転写終結配列を含む。

【0137】

「発現構築物又は遺伝子構築物」（両方の用語は、本明細書全体を通して同義語として使用される）は、特定の遺伝子配列を標的細胞に導入するために使用される、核酸構築物、通常発現ベクター又は発現プラスミドをいう。一旦、発現構築物又は遺伝子構築物が細胞内に入ると、遺伝子によってコードされるタンパク質が細胞内の転写及び翻訳機械によって産生される。発現構築物又は遺伝子構築物は、エンハンサー及びプロモーター領域として作用し、構築物上に保有されている遺伝子の効率的な転写をもたらすそれぞれの調節配列、例えばプロモーター及び転写終結配列を含有するように設計されている。良く設計された発現構築物又は遺伝子構築物の目標は、大量の安定mRNA、それ故、タンパク質の産生である。あるいは、RNAは合成されるか又はインビトロで転写され、タンパク質の発現のために直接細胞内に導入される。

【0138】

当業者は、発現構築物又は遺伝子構築物のさらに他の適切な成分を選択することができる。

【0139】

適切な発現構築物の例は、ウイルスベクター、例えば
- レトロウイルスベクター (Verra et al, 2004; Porter et al, 2011に記載)、例えばMP71ベクター (Engels et al., 2003に記載)、又はレトロウイルスSINベクター (Yu et al., 1986に記載); 及び
- レンチウイルスベクター (Josef et al, 2008に記載) 又はMiyoshi et al., 1998に記載のようなレンチウイルスSINベクターである。TCRをコードしている遺伝子を含有しているウイルスベクターは、リンパ球に感染して、感染したリンパ球において機能的なTCRを発現することができる。好ましいのはSINベクター構築物である。

【0140】

適切な発現構築物の別の例は、眠れる森の美女 (SB) トランスポゾントランスポザーゼDNAプラスミドシステム、SB DNAプラスミド (Maiti et al., 2013に記載) である。

【0141】

本発明の核酸及び/又は特に発現構築物はまた、一過性RNAトランスフェクションによっても細胞内に導入することができる。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 2 】

本発明の核酸及び / 又は特に発現構築物は、適切な宿主細胞内で本発明の T C R の合成 / 発現を指令することができる。

【 0 1 4 3 】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の T 細胞受容体、又は本発明に記載の可溶性 T 細胞受容体構築物、又は本発明のキメラ T 細胞受容体、又は本発明の二重特異的抗体、又は本発明の核酸 (群)、又は本発明の発現構築物を含む、細胞を提供する。

【 0 1 4 4 】

好ましくは、細胞は、本発明の T 細胞受容体を発現する。

10

【 0 1 4 5 】

好ましくは、細胞は、本発明の可溶性 T 細胞受容体構築物を発現する。

【 0 1 4 6 】

好ましくは、細胞は、本発明に記載のキメラ T 細胞受容体を発現する。

【 0 1 4 7 】

好ましくは、細胞は、本発明に記載の二重特異的抗体を発現する。

【 0 1 4 8 】

好ましくは、細胞は、細胞傷害性リンパ球 (C T L)、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、ナチュラルキラー (N K) 細胞、ナチュラルキラー T (N K T) 細胞、 / - T 細胞を含むがこれらに限定されない、リンパ球から選択される。

20

【 0 1 4 9 】

好ましくは、可溶性 T 細胞受容体又は二重特異的抗体の発現のための細胞は、多量の組換えタンパク質を発現する、大腸菌、昆虫細胞、又は哺乳動物細胞、例えば H E K 2 9 3 細胞から選択される。

【 0 1 5 0 】

例えば (レトロ) ウイルスベクター、S B D N A による、又は一過性 R N A トランスフェクションによる、(初代) T 細胞への G P C 3 特異的 T C R 遺伝子の導入は、G P C 3 抗原特異的 T 細胞を作製するための有望な手段及び方法を示す。このような工学操作された T 細胞の宿主への養子移植は、肝臓癌、特に肝細胞癌、又は G P C 3 を発現している他の癌の免疫療法のための有望なアプローチを示す。

30

【 0 1 5 1 】

G P C 3 に特異的な二重特異的抗体又は可溶性 T 細胞受容体の適用は、向け直された T 細胞により、又は可溶性 T 細胞受容体構築物により、G P C 3 陽性腫瘍細胞を標的化するための代替的で有望な手段及び方法を示す。これは、肝臓癌、特に肝細胞癌、又は G P C 3 を発現している他の癌の免疫療法のための有望なアプローチを示す。

【 0 1 5 2 】

医薬組成物

上記に考察されているように、本発明は、

- (i) 本発明の T 細胞受容体 ;
- (i i) 本発明の可溶性 T 細胞受容体構築物 ;
- (i i i) 本発明のキメラ T 細胞受容体 ;
- (i v) 本発明の二重特異的抗体 ;
- (v) 請求項 7 ~ 1 0 のいずれか一項の核酸 (群) 又は本発明の発現構築物 ; 及び / 又は
- (v i) 本発明の細胞

40

の 1 つ以上、

及び場合により、薬学的賦形剤 (群) を含む、医薬組成物を提供する。

【 0 1 5 3 】

G P C 3 に特異的な T C R の医療使用

上記に考察されているように、本発明は、遺伝子的に改変されたリンパ球を作製するための、本発明の T 細胞受容体、本発明のキメラ T 細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、

50

本発明の核酸、又は本発明の発現構築物の使用を提供する。

【0154】

好ましくは、遺伝子的に改変されたリンパ球はT細胞、NK細胞、及び/又はNK T細胞である。

【0155】

1つの実施態様では、作製された遺伝子的に改変されたリンパ球、好ましくはT細胞及び/又はNK細胞は、遺伝子免疫のために、好ましくは肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療するために使用される。

【0156】

例えば(レトロ)ウイルスベクターによる又は一過性RNAトランスフェクションによる(初代)T細胞へのGPC3に特異的なTCR遺伝子の導入は、GPC3抗原特異的T細胞を作製するための有望な手段及び方法を示す。このような工学操作されたT細胞の宿主への養子移植は、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌の免疫療法のための有望なアプローチを示す。新規な治療アプローチは、肝細胞癌の養子T細胞療法である。導入されたT細胞は腫瘍抗原を認識することができ、これにより、腫瘍細胞を特異的に排除することができる。肝細胞癌は、T細胞療法のための可能性ある標的である。なぜなら、肝細胞癌は、多くの他の腫瘍のように、腫瘍関連抗原、例えばグリピカン-3(GPC3)を発現しているからである。

10

【0157】

1つの実施態様では、本発明のキメラT細胞受容体(群)は、遺伝子的に改変されたリンパ球、好ましくはNK細胞及び/又はT細胞、例えばCD8⁺T細胞を作製するために使用される。

20

【0158】

CD3ゼータ鎖に連結されたGPC3特異的TCR遺伝子の全部又は一部を含有しているキメラ受容体の、初代NK細胞への、例えば(レトロ)ウイルスベクターによる又は一過性RNAトランスフェクションによる導入は、GPC3抗原特異的NK細胞を作製するための有望な手段及び方法を示す。宿主へのこのような工学操作されたNK細胞の養子移植は、肝細胞、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌の免疫療法のための有望なアプローチを示す。

【0159】

上記に考察されているように、本発明は、医薬品として使用するための、本発明のT細胞受容体、本発明の可溶性T細胞受容体構築物、本発明のキメラT細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、本発明の核酸、本発明の発現構築物、又は本発明の宿主細胞を提供する。

30

【0160】

上記に考察されているように、本発明は、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌の検出、診断、予後予測、予防及び/又は治療に使用するための、本発明のT細胞受容体、本発明の可溶性T細胞受容体構築物、本発明のキメラT細胞受容体、本発明の二重特異的抗体、本発明の核酸、本発明の発現構築物、又は本発明の宿主細胞を提供する。

40

【0161】

Baumhoer et al., 2008によって記載のようなGPC3を発現している他の癌又は腫瘍も例示されているが、以下に限定されない:

- 肺扁平上皮癌、
- 精巣非セミノーマ胚細胞腫瘍、
- 脂肪肉腫、
- 子宮頸部上皮内腫瘍。

【0162】

好ましくは、用途は、養子免疫療法、標的細胞特異的免疫療法、又は遺伝子免疫を含む。

50

【0163】

患者は好ましくはHLA-A2陽性である。

【0164】

肝臓癌、特に肝細胞癌、又はGPC3を発現している他の癌を検出、予防及び/又は治療する方法

上記に考察されているように、本発明は、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び/又は治療する方法を提供する。

【0165】

1つの実施態様では、前記方法は、

(a) 患者又は血液ドナーのリンパ球を準備する工程；

(b) (i) 本発明のT細胞受容体、又は可溶性T細胞受容体構築物、又は本発明のキメラT細胞受容体、又は本発明の二重特異的抗体、

(ii) 本発明の核酸、

(iii) 本発明の発現構築物、

(iv) 本発明の細胞、及び

(v) 本発明の医薬組成物

の1つ以上を準備する工程；

(c) 工程(b)の(i)から(v)の1つ以上を、工程(a)のリンパ球に生体外で導入し、これにより、遺伝子的に改変されたリンパ球を得る工程、

(d) 工程(c)の遺伝子的に改変されたリンパ球を、それを必要とする被験者又は患者に投与する工程、

(e) 場合により、工程(b)から(d)のいずれかを、放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程

を含む。

【0166】

1つの実施態様では、前記方法は、

(a) (i) 本発明のT細胞受容体、又は可溶性T細胞受容体構築物、又は本発明のキメラT細胞受容体、又は本発明の二重特異的抗体、

(ii) 本発明の核酸、

(iii) 本発明の発現構築物、

(iv) 本発明の細胞、及び

(v) 本発明の医薬組成物

の1つ以上を準備する工程；

(b) 工程(a)の(i)から(v)の1つ以上を、好ましくは注射又は注入を介して、それを必要とする被験者又は患者に直接適用する工程、

(c) 場合により、工程(b)を放射線照射、チェックポイント阻害剤、又は癌化学療法と組み合わせる工程

を含む。

【0167】

この実施態様では、好ましくは本発明の二重特異的抗体又は可溶性TCR構築物が利用される。好ましくは、本発明の二重特異的抗体又は可溶性TCR構築物は、組換えタンパク質として使用される。

【0168】

この実施態様では、工程(b)では工程(a)の(i)から(v)の1つ以上が組換えタンパク質として使用される。

【0169】

本発明の組換えタンパク質、好ましくは二重特異的抗体又は可溶性TCR構築物を、好ましくは大腸菌又は哺乳動物細胞において発現させ、次いで適用前に精製する。

【0170】

T細胞は、特に抗原に長期間曝露された後に、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4(CT

10

20

30

40

50

L A - 4) 又はプログラム化細胞死 1 (P D - 1) などの抑制性受容体を発現する。 C T L A - 4 及び P D - 1 のリガンドであるそれぞれ B 7 及び P D - L 1 、並びに、 T I M - 3 のリガンドであるガレクチン 9 は、腫瘍組織上に頻繁に発現され、 T 細胞寛容誘導に関与し、したがって免疫チェックポイントと呼ばれる。導入された G P C 3 特異的 T 細胞のサイレンシングを回避するために、抗 C T L A 4 抗体、抗 P D - L 1 抗体、又は抗 P D - 1 抗体によって例示されるがこれらに限定されない、チェックポイント阻害剤又は免疫チェックポイント阻害剤を使用して、腫瘍微小環境内の T 細胞の抑制を回避することができる (Hamid et al. (2013) に記載) 。

【 0 1 7 1 】

被験者又は患者は好ましくは H L A - A 2 陽性である。

10

【 0 1 7 2 】

好ましくは、工程 (a) で提供されたリンパ球は、 T 細胞、 N K 細胞、及び / 又は N K T 細胞、好ましくは C D 8 + T 細胞である。

【 0 1 7 3 】

工程 (a) で提供されたリンパ球は、被験者又は患者から、例えば血液から、又は同種血液ドナーのリンパ球除去によって得ることができる。

【 0 1 7 4 】

好ましくは、工程 (c) の生体外での導入は、本発明の核酸若しくは本発明の発現構築物の電気穿孔法を介して、又はトランスフェクション試薬、例えばリポソームによって、又は一過性 R N A トランスフェクションによって行なわれる。

20

【 0 1 7 5 】

発現構築物は、好ましくは、上記のように、

- ウイルス構築物、好ましくはレンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、又は他の当技術分野の最新技術のウイルスベクターである。

【 0 1 7 6 】

適切な発現構築物の例は、ウイルスベクター、例えば

- レトロウイルスベクター (Verra et al, 2004; Porter et al, 2011 に記載) 、例えば M P 7 1 ベクター (Engels et al., 2003 に記載) 、又はレトロウイルス S I N ベクター (Yu et al., 1986 に記載) ; 及び

- レンチウイルスベクター (Josef et al, 2008 に記載) 又は Miyoshi et al., 1998 に記載のレンチウイルス S I N ベクターである。

30

【 0 1 7 7 】

適切な発現構築物の別の例は、眠れる森の美女 (S B) トランスポゾントランスポザーゼ D N A プラスミドシステム、 S B D N A プラスミド (Maiti et al., 2013 に記載) である。

【 0 1 7 8 】

上記に考察されているように、本発明は、肝臓癌、特に肝細胞癌 (H C C) 、又は G P C 3 を発現している他の癌を検出、診断、予後予測、予防及び / 又は治療する方法を提供する。前記方法は、本発明の可溶性 T 細胞受容体構築物を使用して、患者の肝臓癌細胞、特に肝細胞癌 (H C C) 細胞、又は G P C 3 を発現している他の癌の癌細胞の検出及び / 又は破壊を含む。

40

【 0 1 7 9 】

好ましくは、可溶性 T 細胞受容体構築物は、患者に、静脈内、皮下、若しくは筋肉内注入若しくは注射によってそれぞれ、又は吸入若しくは噴霧による気道粘膜への適用によって適用される。

【 0 1 8 0 】

可溶性 T 細胞受容体構築物は、患者に

- 静脈内注入によって、
- 皮下注射又は注入によって、
- 筋肉内注射によって、

50

- 気道粘膜表面への吸入又は噴霧によって、適用され得る。

【0181】

可溶性T細胞受容体構築物の適用のために適切な用量範囲は、適用法及び適用部位に依存して1mgから10000mgの間で変動する。可溶性T細胞受容体は、そのHLA-A2分子上にGPC3ペプチドを発現している細胞に、すなわち肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、(又はGPC3を発現している他の癌の細胞)(GPC3ペプチド367又はGPC3ペプチド326が、MHC I分子によって提示されている)に結合することができる。可溶性T細胞受容体は、連結された放射性核種による放射線照射、又は、シュードモナス外毒素などの毒素による殺滅などの様々な方法を介して細胞の破壊を誘導することができる。さらに、Fcドメインに連結された可溶性T細胞受容体は、肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞の溶解のために、NK細胞及び/又は単球に向け直しそして活性化することができる。同様に、抗CD3抗体に連結された可溶性T細胞受容体は、肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞の溶解のために、T細胞に向け直しそして活性化することができる。

10

【0182】

1つの実施態様では、本発明の方法は、標識されている本発明の可溶性T細胞受容体構築物を使用することによって、肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞をインビトロで染色する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌(HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を検出するためのものである。

20

【0183】

標識は、フルオロフォア(群)、金、及び/又は放射性核種(群)であり得る。

【0184】

フルオレセインなどの蛍光分子に連結された可溶性T細胞受容体を使用して、インビトロで肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞を染色することができる。この目的のために、肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞を、インビトロで、可溶性T細胞受容体構築物と共にインキュベートし、細胞表面上でHLA-A2/GPC3ペプチド複合体を発現している細胞を、蛍光活性化細胞選別機(FACS)によるその蛍光に従って又は顕微鏡によって検出することができる。

30

【0185】

あるいは、(例えばフルオロクロム、金、又は放射性核種を用いて)標識された可溶性T細胞受容体構築物を被験者又は患者に注射し、GPC3陽性腫瘍、腫瘍転移、又は腫瘍摘出後の極小の残留疾病の検出及び続けて破壊を可能とする。

【0186】

本発明の可溶性TCR構築物は、T細胞を必要とすることなく、肝臓癌細胞、特に肝細胞癌(HCC)細胞、又はGPC3を発現している他の癌の細胞の検出及び破壊のために直接使用するのに適している。

【0187】

被験者又は患者は、好ましくはHLA-A2陽性である。

40

【0188】

GPC3エピトープ及びペプチド及びワクチン及びその使用

上記に考察されているように、本発明は、少なくとも1つのGPC3エピトープを含むペプチドを提供する。

【0189】

本発明者らは、免疫優性GPC3エピトープ、特にHLA-A2に結合したGPC3ペプチド367を同定した。

【0190】

少なくとも1つのGPC3エピトープは、配列番号14のアミノ酸配列(GPC3ペプチド367)を含むか又はからなる。

50

【 0 1 9 1 】

配列番号 1 4 は、G P C 3 ペプチド 3 6 7 のアミノ酸配列を示す：

【 表 3 9 】

FIDKKVLKV

【 0 1 9 2 】

グリピカン - 3 は、ヒトにおいて G P C 3 遺伝子によってコードされるタンパク質である。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、グリピカンファミリーの一員である。GenBank アクセション番号：NM_004484.3、580 アミノ酸。UniProt アクセション番号：P51654。

【 0 1 9 3 】

【 表 4 0 】

MAGTVRTACLVVAMLLSLDFPGQAQPPPPPPDATCHQVRSFFQRLQPGLKWPETPVPGSDLQVCLPKGP
 TCCSRKMEEKYQLTARLNMEQLLQSASMELEKFLIIQNAAVFQEAFEIVVRHAKNYTNAMFKNNYPSLTPQ
 AFEFVGEFFTDVSLYILGSDINVDDMVNELFDSLFPVIYTLQLMNPGLPDSALDINECLRGARRDLKVFGN
 FPKLIMTQVSKSLQVTRIFLQALNLGIEVINTTDHLKFSKDCGRMLTRMWYCSYQGLMMVKPCGGYCNV
 VMQGCMAGVVEIDKYWREYILSLEELVNGMYRIYDMENVLLGLFSTIHDSIQYVQKNAGKLTITIGKLCA
 HSQQRQYRSAYYPEDLFIIDKKVLKVAHVEHEETLSSRRRELIQKLKSFISFYALPGYICSHSPVAENDT
 LCWNGQELVERYSQKAARNGMKNQFNLHELKMKGPEPVVSIIDKCLKHINQLLRTMSMPKGRVLDKNLDE
 EGFESGDCGDEDECIGSGDGMIKVKNQLRFLAELAYDLVDVDDAPGNSQQATPKDNEISTFHNLGNVHS
 PLKLLTSMASVVCFFFLVH

10

20

G P C 3 のアミノ酸配列はまた、配列番号 1 5 に示される。

【 0 1 9 4 】

【表 4 1】

ATGGCCGGGACCGTGCGCACCGCTGCTTGGTGGTGGCGATGCTGCTCAGCTTGGACTTCCCGGGACAGG
 CGCAGCCCCCGCCGCCGCCGGACGCCACCTGTACCAAGTCCGCTCCTTCTTCCAGAGACTGCAGCC
 CGGACTCAAGTGGGTGCCAGAACTCCCGTGCCAGGATCAGATTTGCAAGTATGTCTCCCTAAGGGCCCA
 ACATGCTGCTCAAGAAAGATGGAAGAAAAATACCAACTAACAGCACGATTGAACATGGAACAGCTGCTTC
 AGTCTGCAAGTATGGAGCTCAAGTTCTTAATTATTTCAGAATGCTGCGGTTTTTCCAAGAGGCCTTTGAAAT
 TGTTGTTCCGCATGCCAAGAACTACACCAATGCCATGTTCAAGAACAACCTACCCAAGCCTGACTCCACAA
 GCTTTTGTAGTTTGTGGGTGAATTTTTTACAGATGTGTCTCTCTACATCTTGGGTTCTGACATCAATGTAG
 ATGACATGGTCAATGAATTGTTTACAGCCTGTTTCCAGTCATCTATAACCAGCTAATGAACCCAGGCCT
 GCCTGATTCAGCCTTGGACATCAATGAGTGCCTCCGAGGAGCAAGACGTGACCTGAAAGTATTTGGGAAT
 TTCCCCAAGCTTATTATGACCCAGGTTTCCAAGTCACTGCAAGTCACTAGGATCTTCTTCAGGCTCTGA
 ATCTTGGAAATTGAAGTATCAACACAACCTGATCACCTGAAGTTCAGTAAGGACTGTGGCCGAATGCTCAC
 CAGAATGTGGTACTGCTCTTACTGCCAGGGACTGATGATGGTTAAACCCTGTGGCGGTTACTGCAATGTG
 GTCATGCAAGGCTGTATGGCAGGTGTGGTGGAGATTGACAAGTACTGGAGAGAATACATTCTGTCCCTTG
 AAGAACTTGTGAATGGCATGTACAGAATCTATGACATGGAGAACGTACTGCTTGGTCTCTTTTCAACAAT
 CCATGATTCTATCCAGTATGTCCAGAAGAATGCAGGAAAGCTGACCACCCTATTGGCAAGTTATGTGCC
 CATTCTCAACAACGCCAATATAGATCTGCTTATTATCCTGAAGATCTCTTTATTGACAAGAAAGTATTAA
 AAGTTGCTCATGTAGAACATGAAGAAACCTTATCCAGCCGAAGAAGGGAACTAATTCAGAAGTTGAAGTC
 TTTTCATCAGCTTCTATAGTGCTTTGCCTGGCTACATCTGCAGCCATAGCCCTGTGGCGGAAAACGACACC
 CTTTGTGGAATGGACAAGAACCTCGTGGAGAGATACAGCCAAAAGGCAGCAAGGAATGGAATGAAAAC
 AGTTCAATCTCCATGAGCTGAAAATGAAGGGCCCTGAGCCAGTGGTCAAGTCAATTTATTGACAACTGAA
 GCACATTAACCAGCTCCTGAGAACCATGTCTATGCCAAAGGTAGAGTCTGGATAAAAACCTGGATGAG
 GAAGGGTTTGAAGTGGAGACTGCGGTGATGATGAAGATGAGTGCATTGGAGGCTCTGGTATGGAATGA
 TAAAAGTGAAGAATCAGCTCCGCTTCCCTTGCAGAACTGGCCTATGATCTGGATGTGGATGATGCGCCTGG
 AAACAGTCAGCAGGCAACTCCGAAGGACAACGAGATAAGCACCTTTCACAACCTCGGGAACGTTTCATTCC
 CCGCTGAAGCTTCTCACCAGCATGGCCATCTCGGTGGTGTGCTTCTTCTTCCCTGGTGCCTGA

10

20

30

G P C 3 のヌクレオチド配列はまた、配列番号 1 6 に示される。

【 0 1 9 5 】

1 つの実施態様では、エピトープのアミノ酸配列は、少なくとも 8 アミノ酸の長さを有する。1 つの実施態様では、エピトープのアミノ酸配列は、9 アミノ酸の長さを有する。好ましくは、エピトープのアミノ酸配列は、8、9、又は 10 アミノ酸の長さを有する。

【 0 1 9 6 】

1 つの実施態様では、ペプチドは、5 ~ 50 アミノ酸、好ましくは 8 ~ 25 アミノ酸、より好ましくは 8 ~ 15 アミノ酸、又は 9 ~ 15 アミノ酸の範囲内の長さを有する。1 つの実施態様では、ペプチドは、ノナメア (nonamere) であり、すなわち 9 アミノ酸の長さを有する。

40

【 0 1 9 7 】

1 つの実施態様では、(好ましい実施態様である) M H C I での提示のために、ペプチドは 8 ~ 10 アミノ酸、好ましくは 9 アミノ酸の長さを有する。1 つの実施態様では、M H C I I での提示のために、ペプチドは 15 ~ 24 アミノ酸、好ましくは 18、19、又は 20 アミノ酸の長さを有する。

【 0 1 9 8 】

1 つの実施態様では、本発明のペプチドはさらに、G P C 3 エピトープ (群)、例えば配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含むか又はからなる G P C 3 エピトープ (G P C 3 ペプチ

50

ド 3 2 6) を含む。

【 0 1 9 9 】

例えば、本発明のペプチドは、配列番号 1 4 のアミノ酸配列 (G P C ペプチド 3 6 7) 及び配列番号 1 7 のアミノ酸配列 (G P C 3 ペプチド 3 2 6) を含むか又はからなり得る。

【 0 2 0 0 】

配列番号 1 7 は、G P C 3 ペプチド 3 2 6 のアミノ酸配列を示す：

【 表 4 2 】

TIHDSIQYV

10

【 0 2 0 1 】

1 つの実施態様では、ペプチドはさらに、例えば

- タグ (群)、例えば 6 - H i s - タグ、F l a g - タグ
 - リンカー、例えばあるペプチド / エピトープを別のペプチド / エピトープに連結させるポリリンカー、
 - 標識 (群)、例えば放射性同位体、酵素、金、発光標識、又は蛍光標識、
 - N 末端及び / 又は C 末端の修飾 (群)、例えば N 末端及び / 又は C 末端のアセチル化及び / 又はアミド化を含む、
 - 薬物 (群)、例えば腫瘍化学療法剤、キナーゼ阻害剤、
 - 薬剤 (群)、
- 及び / 又はその組合せを含む。

20

【 0 2 0 2 】

当業者は適切なさらに他の成分を選択することができるだろう。

【 0 2 0 3 】

前記のさらに他の成分 (群) は、ワクチンのペプチドに共有結合で付着させることができる。

【 0 2 0 4 】

1 つの実施態様では、ペプチドは、修飾されたアミノ酸 (群)、非天然アミノ酸 (群)、又はペプチド模倣体 (群) を含む。

【 0 2 0 5 】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載の少なくとも 1 つのペプチドをコードしている核酸分子、又は、少なくとも 1 つのこのような核酸分子を含むプラスミドを提供する。

30

【 0 2 0 6 】

上記に考察されているように、本発明は、本発明に記載のペプチドに対する抗体を提供する。

【 0 2 0 7 】

上記に考察されているように、本発明は、

- (i) 本発明に記載の少なくとも 1 つのペプチド、又は本発明に記載の少なくとも 1 つの核酸、
 - (i i) 場合により、担体、
 - (i i i) 場合により、アジュバント
- を含む組成物を提供する。

40

【 0 2 0 8 】

好ましくは、前記組成物は、本発明に記載の少なくとも 2 つのペプチド、又は本発明に記載の少なくとも 2 つの核酸を含む。

【 0 2 0 9 】

本発明に記載の組成物はさらに、

- 担体、及び / 又は
- アジュバント

50

を含むことができる。

【0210】

適切なアジュバントは当技術分野において公知である。

【0211】

ペプチドは通常、不十分な免疫原であるので、ペプチドを基剤としたワクチンの効力は、免疫系へのエピトープの適切な提示に依存する。当業者は、適切な担体（群）及び／又はアジュバント（群）を選択することができるだろう。

【0212】

1つの実施態様では、担体は、ウイルス粒子又はその一部、ウイルスベクター又はウイルス粒子のエンベロープタンパク質、ミセル構造でペプチド（群）を包んでいるナノキャリア又はリポソーム化合物である。

10

【0213】

上記に考察されているように、本発明は、医薬に使用するための、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、又は本発明の医薬組成物を提供する。

【0214】

上記に考察されているように、本発明は、ワクチンとして使用するための、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、又は本発明の医薬組成物を提供する。

【0215】

上記に考察されているように、本発明は、本発明の少なくとも1つのペプチド、本発明の核酸分子、又は本発明の医薬組成物を含むワクチンを提供する。

20

【0216】

ワクチンは好ましくはペプチドを基剤としたワクチンである。

【0217】

本発明のワクチンはさらに、様々な投与計画（例えば、皮下又は皮内などの注射を介して）にとって必要であり得る、賦形剤（群）、例えば薬学的に許容される賦形剤（群）を含むことができる。

【0218】

さらに他の適切な賦形剤（群）は当業者には公知である。

【0219】

本発明のペプチド又は本発明のワクチンに含まれるペプチドは、完全長のグリピカン - 3 (GPC3) タンパク質を含まない。

30

【0220】

上記に考察されているように、本発明は、肝臓癌、特に肝細胞癌 (HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び／又は治療するための本発明のワクチンの使用を提供する。

【0221】

上記に考察されているように、本発明は、本発明のペプチド、本発明の核酸分子、本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンを、それを必要とする被験者に投与する工程を含む、肝臓癌、特に肝細胞癌 (HCC)、又はGPC3を発現している他の癌を予防及び／又は治療する方法を提供する。

40

【0222】

好ましい実施態様のさらなる説明

本発明者らは、グリピカン - 3を発現している細胞を特異的に認識し、サイトカインの産生及び標的細胞の効果的な殺滅などのエフェクター機能を示す、T細胞クローンを同定した。T細胞クローンは、ペプチド又はmRNAによりパルスされた樹状細胞 (DC) を用いてのT細胞の同種拘束性刺激を使用して作製された。

【0223】

機能的T細胞クローンの成功裡の作製及び特徴付けの後、T細胞受容体 (TCR) 配列をシークエンスし、続いてレトロウイルスベクター構築物にクローニングした。レトロウイルスベクターに基づいた以前にクローニングされたT細胞受容体の導入を使用して、G

50

P C 3 特異的なエフェクター機能を T 細胞に装備させることができる。形質導入された T 細胞の機能をインビトロで評価した。

【 0 2 2 4 】

同定された G P C 3 特異的 T C R は、肝細胞癌の養子 T 細胞療法に適している。肝細胞癌は、多くの他の腫瘍と同じように腫瘍関連抗原 (T A A) を発現し、その中の 1 つがグリピカン - 3 (G P C 3) である。T A A に天然に応答するであろう T 細胞は、T 細胞の発達中にネガティブセレクションと呼ばれるプロセスで系から除去される。なぜなら、T A A は、自己組織に由来するからである。それにも関わらず、T 細胞を、T A A 特異的 T 細胞受容体のより正確な挿入を遺伝子工学操作することによって腫瘍に対して再活性化させることができる。

10

【 0 2 2 5 】

本発明の T C R を有する T 細胞は、G P C を発現している腫瘍細胞を認識し特異的に排除することができる。本発明の G P C 3 特異的 T C R をコードしている遺伝子を、患者の T 細胞に挿入することにより、それらの T 細胞が癌細胞、特に肝細胞癌を認識して死滅させることを可能とする。腫瘍組織への T 細胞の遊走を改善し、増殖を増強するか、又は腫瘍に由来する免疫抑制因子に対する抵抗性を増強するための、本発明の T C R の遺伝子的改変は任意選択である。さらに、導入された T 細胞の排除を可能とする自殺遺伝子の挿入は、有利であり得る。本発明の T C R を生体外で具備した T 細胞を、患者に戻すことができ、そこでそれらはその抗腫瘍活性を発揮することができる。

20

【 0 2 2 6 】

本発明によると、M H C - 1 によって提示された G P C 3 ペプチド 3 6 7 は、本発明の T 細胞受容体を有する T 細胞によって認識されるか、又は M H C - 1 によって提示された G P C 3 ペプチド 3 2 6 は、本発明の T 細胞受容体を有する T 細胞によってそれぞれ認識される。さらに、G P C 3 + ヒト肝細胞腫細胞は、該 T 細胞によって効果的に死滅することが示された。したがって、本発明の T C R を用いての T 細胞養子免疫療法は、グリピカン - 3 (G P C 3) を発現している悪性細胞の認識、並びに、細胞傷害性排除を可能とし、これにより本発明の T C R は、肝細胞癌患者を処置する非常に有望なツールとなっている。

【 0 2 2 7 】

免疫優性 G P C 3 ペプチドの同定

G P C 3 のための免疫優性エピトープはまだ記載されていない。この研究では、本発明者らは、Q Exactive 質量分析計とオンラインで連結された Ultra Nano HPLC を使用して、G P C 3 及び H L A - A 2 陽性肝細胞腫細胞株から網羅的な H L A クラス I のペプチドームを得た。得られたデータを、MaxQuant バイオインフォマティクスプラットフォームを使用して分析した。

30

【 0 2 2 8 】

H L A - A 2 に結合した 2 つの G P C 3 ペプチドが同定され、これらは「G P C ペプチド 3 6 7」(G P C 3_{3 6 7} : FIDKKVLKV) 及び「G P C ペプチド 3 2 6」(G P C 3_{3 2 6} : TIHDSIQYV) と称され、G P C 3 ペプチド 3 2 6 は、Komori et al., 2006 に記載されている。

40

【 0 2 2 9 】

これらの 2 つのペプチドの知識は、本発明者らが、G P C 3 陽性 H C C 細胞上に提示された G P C 3 エピトープを標的化することを可能とする。図 2 も参照されたい。

【 0 2 3 0 】

ペプチド G P C 3_{3 6 7} に対して特異的な T 細胞及び T 細胞受容体

本発明者らは、それぞれの T 細胞クローンから G P C 3 ペプチド 3 6 7 に対して特異的な T 細胞受容体 (T C R) を同定しクローニングした。この T C R はまた、P 1 - 1 とも称される。P 1 A の 鎖及び 鎖の可変部分をコードしている T 細胞受容体配列は、T 細胞へのウイルスによる導入後の発現レベルを高めるためにコドンが最適化された。さらに、定常ドメインをマウス定常ドメインと交換して、内因性 T C R 鎖との誤った対形成を回

50

避し、従って、最適な発現を確実なものとした（図5参照）。

【0231】

この最適化されたGPC3に特異的なTCR P1-1を移植されたT細胞は、強力なGPC3とMHCとストレプタマー（streptamer）の結合を示した。GPC3ペプチドが積載された標的細胞又はGPC3を発現している肝細胞腫細胞株（HepG2）と共に培養した場合、TCR P1-1の形質導入されたT細胞は、IFN、TNF及びIL2を分泌し、脱顆粒マーカーLamp-1を非局在化させた（図6A及び図8参照）。

【0232】

細胞傷害性は、GPC3及びHLA-A2陽性であるHepG2細胞の殺滅によって観察された。細胞傷害性作用は、HLA-A2上のGPC3ペプチド提示に依存する。なぜなら、HLA-A2-GPC3+HuH7細胞には殺滅が全く観察されなかったからである（図6B参照）。標的細胞の殺滅はすでに、0.1:1という低いエフェクター:標的（E:T）比で起こり、1:1のE:T比が使用された場合に最大60%の殺滅に達した。殺滅能のより詳細な研究は、1:1又はより高いE:T比が使用された場合に標的細胞の約90%の非常に迅速な殺滅を示した。より低いE:T比では、標的細胞の約50%が、P1-1を具備したT細胞によって死滅した（図7A）。

10

【0233】

TCRへの結合力を分析するために、TCR P1-1の形質導入されたT細胞を、様々な濃度のペプチドGPC3₃₆₇が積載されたT2細胞と共にインキュベートした。明瞭な濃度依存的なIFN分泌が観察され、これは、本発明のTCRの中程度の結合力を示した（図7B）。

20

【0234】

ペプチドGPC3₃₂₆に対して特異的なTCR

本発明者らは、それぞれのT細胞クローンからGPC3ペプチド326に対して特異的なT細胞受容体（TCR）を同定しクローニングした。このTCRはP2-1とも称される。

【0235】

以下の実施例及び図面は本発明を説明するが、しかしながら本発明を制限するものではない。

30

【図面の簡単な説明】

【0236】

【図1A】TCR P1-1鎖の配列。TCR鎖のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列：下線は可変領域である。

【図1B】TCR P1-1鎖の配列。TCR鎖のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列：下線は可変領域である。

【図1C】TCR P1-1配列のヌクレオチド配列：下線はリンカー領域である。

【図1D】TCR P1-1配列のアミノ酸配列：下線はリンカー領域である。

【図1E】1つのTCR P2-1のヌクレオチド配列：下線はTCR鎖である。

【図1F】1つのTCR P2-1のアミノ酸配列：下線はTCR鎖である。

【図1G】別のTCR P2-1のヌクレオチド配列：下線はTCR鎖である。

40

【図1H】別のTCR P2-1のアミノ酸配列：下線はTCR鎖である。

【図1I】第三のTCR P2-1のヌクレオチド配列：下線はTCR鎖である。

【図1J】第三のTCR P2-1のアミノ酸配列：下線はTCR鎖である。

【図2】HepG2細胞上のMHC Iに結合したペプチドの質量分析の図解。MHC-Iペプチド複合体を、セファロースに結合させた抗MHC I抗体によって全細胞溶解液から単離した。濃縮後、ペプチドをMHC Iから溶出し、続いてQ Exactive質量分析計にオンラインで連結されたUltra Nano HPLCを使用して分析した。

【図3】T細胞の同種拘束性刺激のためのタイムスケジュール。Wilde et al., 2012によると、樹状細胞を新鮮な血液から調製し、成熟させ、HLA-A2 RNAを用いて電気穿孔した。GPC3を、ペプチドの形態で積載させることができるか、又は、GPC3

50

mRNAをHLA-A2と一緒に電気穿孔することができる。電気穿孔から10時間後、DCを、同じHLA-A2陰性ドナーに由来するCLTと共にインキュベートした。14日目及び21日目に、GPC3に特異的なHLA-A2拘束性T細胞培養液を多量体を用いて染色し、蛍光活性化細胞選別を介して選別した。選別されたT細胞を限界希釈培養液にクローニングするか、又は大量な系として増殖させる。その特異的エフェクター機能の評価のための機能的アッセイを行なう。

【図4】A) 刺激されたT細胞、対応するT細胞株、及び1つの例示的なT細胞クローンのストレプトマーによる染色(P1; 367)。ストレプトマーに結合しているT細胞集団は、初代共培養液における0.6%から、T細胞株における57%まで強化された。T細胞クローンは、強力なストレプトマーへの結合を示した。B) P1又はP2に対して特異的なT細胞クローンが、IFN分泌アッセイにおいて同定された。特定のT細胞クローンは、GPC3ペプチドの積載されたT2細胞上でIFNを放出したが、対照ペプチドを含む又は含まないT2細胞上では放出しなかった。

【図5】TCRの改変：1) より高い発現レベルのためのコドン最適化。2) 内因性TCR鎖との誤った対形成を回避するためにマウス化された定常ドメイン。

【図6】A) P1-1の形質導入されたT細胞は、GPC3ペプチド367の積載されたT2細胞と共にインキュベートした場合にはIFNを特異的に分泌したが、他の標的細胞上には分泌しなかった。B) GPC3₃₆₇特異的TCR P1-1の移植されたT細胞によるGPC3+ヒト肝細胞腫細胞の殺滅。GPC3+HLA-A2+He p G2細胞及びGPC3+HLA-A2-Hu h7細胞を、様々なエフェクター標的(E:T)比でP1-1の形質導入されたT細胞と共にインキュベートした。P1-1は、T細胞が、HLA-A2依存的に低いE:T比で標的細胞を効果的に殺滅することを可能とする。

【図7A】GPC3₃₆₇特異的TCR P1-1の移植されたT細胞によるGPC3+ヒト肝細胞腫細胞の殺滅。GPC3+HLA-A2+He p G2細胞を、様々なエフェクター標的(E:T)比で、P1-1の形質導入されたT細胞と共にインキュベートし、標的細胞の生存率を経時的に測定した。P1-1は、T細胞が、低いE:T比で標的細胞を迅速に殺滅することを可能とする。

【図7B】P1-1の形質導入されたT細胞は、GPC3ペプチド367の積載されたT2細胞と共にインキュベートされた場合に、ペプチド濃度依存的にIFNを分泌する。

【図8】P1-1の形質導入されたT細胞は、GPC3ペプチド367の積載されたT2細胞と共にインキュベートされた場合、IFN、IL-2及びTNF- α を特異的に分泌し、脱顆粒マーカーLAMP-1を非局在化させるが、偽ペプチドの積載された標的細胞上では起こらない。

【0237】

実施例

1. 材料及び方法

1.1 PMBC及び細胞株

健康なヒトドナーからの末梢血単核細胞(PBMC)を、フィコール密度勾配遠心分離によって単離した。T2は、IFN放出アッセイにおいて標的として使用された、HLA-A2+TAP欠損ヒトリンパ腫細胞株である。LCL-B27は、非特異的なT細胞再刺激のためのフィーダー細胞株として使用された、HLA-B27+Bリンパ芽球様細胞株である。ヒト胚性腎臓293(293T)細胞は、T細胞形質導入のためのウイルス上清の産生細胞株として使用された。He p G2は、殺滅アッセイにおいて標的として使用された、HLA-A2及びGPC3を発現しているヒト肝細胞腫細胞株である。哺乳動物細胞培養を無菌細胞培養条件下で行ない、細胞を37及び5%CO₂でインキュベートした。

【0238】

1.2 培地

全てのT細胞培養液を、10%ヒト血清、4mMのL-グルタミン、100IU/mlのペニシリン、100µg/mlのストレプトマイシン、6µg/mlのゲンタマイシン、1mMのピルピ

10

20

30

40

50

ン酸ナトリウム、及び1×非必須アミノ酸(NEAA)の補充されたRPMI 1640培地から構成されるヒトT細胞培地(hTCM)に維持した。ヒト血清を、健康なドナーから本発明者らの研究室において単離した。樹状細胞培養液を、1.5%ヒト血清、100 IU/mlのペニシリン、及び100 µg/mlのストレプトマイシンの補充された非常に低い内毒素のRPMI 1640培地からなるDC培地に維持した。LCL及びT2細胞を、10%ウシ胎児血清、4mMのL-グルタミン、100 IU/mlのペニシリン、100 µg/mlのストレプトマイシン、1mMのピルビン酸ナトリウム、及び1×NEAAの補充されたRPMI 1640に維持した。HepG2細胞を、10%ウシ胎児血清、4mMのL-グルタミン、100 IU/mlのペニシリン、100 µg/mlのストレプトマイシン、1mMのピルビン酸ナトリウム、及び1×NEAAの補充されたDMEM培地に維持した。

10

【0239】

1.3 サイトカイン、ペプチド多量体、及び抗体

組換えヒトIL-4及びIL-6をGellGenixから入手した。組換えヒトGM-CSF、IL-7、IL-15、TNF、IL-1、PGE₂、及びIL-2を、それぞれ、Genzyme、Promokine、Peprotech、Miltenyi Biotec、R&D、Pfizer及びNovartisから購入した。GPC3(367:FIDKKVLKV; 326:TIHDSIQYV)由来の規定のエピトープを示すHLA-A2拘束性ペプチドはibaによって合成された。HLA-A2-GPC3多量体は、AG Busch、Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene、TU Munc (Knabel et al., 2002)によって作製された。MHC-I多量体の標識のためのStrap-Tactin PEはibaから購入した。抗ヒトCD8抗体-APC、抗CD8抗体-PE、抗CD14抗体、抗CD83抗体、及び抗CD80抗体は、それぞれ、BD、Immunotools、eBioscience及びImmunotechから入手した。ヨウ化プロビジウム(1mg/ml)はRothから入手した。抗ヒトCD3抗体(OKT3)は親切にも、AG Kremmer、Institute for Molecular Immunology、Helmholtz Zentrum Munichによって提供された。

20

【0240】

1.4 T細胞刺激のための樹状細胞(DC)の作製

DCを作製するために、健康なHLA-A2陰性ドナーからのPBMCをDC培地に再懸濁し、1つの75cm²NUNC培養プラスチックあたり5×10⁶個の細胞で播種した。37で1.5時間インキュベートした後、接着していない細胞を、十分な洗浄によって除去した。残留している接着している単球を、100ng/mlのGM-CSF及び20ng/mlのIL-4を含有している培地中で24時間培養した。2日目に未成熟なDCを、培養液への成熟サイトカイン(10ng/mlのTNF、10ng/mlのIL-1、15ng/mlのIL-6、及び1µg/mlのPGE₂)の直接的な添加によって分化させた。DCを、さらに1日間インキュベートし、その後、成熟DCを収集した。成熟は、抗CD14抗体、抗CD83抗体、及び抗CD80抗体を用いての染色、続いて、フローサイトメトリーFACS Cantor II(BD Biosciences)によって確認された。

30

【0241】

成熟DCに、RNA電気穿孔法によってGPC3及びHLA-A2をトランスフェクトした。2×10⁶個の細胞を、OptiMEM I培地200µlに再懸濁し、HLA-A2 RNA 25µg及びGPC3 RNA 50µgと混合した。DC-RNA混合物を0.4cmの電気穿孔用キュベットに入れ、氷上で3分間インキュベートした。電気穿孔を、300V及び150µFで指数関数的な電気穿孔プロトコールを使用してGene Pulser Xcell(Bio-Rad)を用いて行なった。HLA-A2 RNA及びGPC3 RNAを、mMESSA GE mMACHINE T7キット及びPoly(A) tailingキット(どちらもAmbion)を使用して製造業者の説明書に従ってインビトロ(ivt)で転写した。HLA-A2及びGPC3の発現をフローサイトメトリーを介して評価した。

40

【0242】

1.5 T細胞の同種拘束性刺激

CD8+Tリンパ球を、InvitrogenのDynabeads(登録商標)Untouched(商標)ヒトCD8T細胞キットを使用してネガティブセレクションを介して全PBMCから濃縮した。

50

初代培養液は、24ウェルの組織培養プレートの1ウェルあたり、hTCM培地 2ml中に、 1×10^6 個のCD8 + T細胞、及び 1×10^5 個のHLA - A2及びGPC3 i v t - RNAでパルスされた成熟DCを含有していた。5 ng/mlのIL - 7を、0日目に直ちに刺激のために加えた。50 IU/mlのIL - 2を2日目に加え、その後、3日間毎に加えた。初回刺激されたT細胞を、新たに作製されたi v t - RNAでパルスされた成熟DCを使用して7日後に再刺激した。

【0243】

1.6 多量体の染色及びT細胞のクローニング

T細胞刺激から14日後、HLA - A2拘束性GPC3特異的T細胞を、MHC - I - 多量体の染色によって検出した。GPC3 MHC - 多量体を、染色前にstreptactin-PEを用いて標識した。各々の 1×10^6 個のT細胞のために、PEで標識されたGPC3 MHC - 多量体 0.2 μ gを使用した。T細胞を、氷上及び暗所で、PBS 50 μ l + 0.5%ヒト血清中で20分間、PEで標識されたGPC3 MHC - 多量体と共にインキュベートした。APCで標識された抗ヒトCD8抗体を加え、さらに20分間インキュベートし、その後、洗浄し、フローサイトメトリーによって分析した。死滅細胞を、ヨウ化プロピジウム染色によって排除した。選別するために、最大 10×10^6 個の細胞を上記のように染色し、FACS Aria選別装置 (BD Biosciences) で選別した。選別されたCD8 + GPC3 MHC - 多量体 + T細胞を、限界希釈によってクローニングした。それ故、0.3 CD8 + GPC3 MHC - 多量体 + T細胞を、96ウェル丸底プレートの1ウェルあたりに播種した。さらに、各ウェルは、hTCM 200 μ l中に、 1×10^5 個の同種PBMC (35 Gyまで照射)、 1×10^4 個のLCL - B27 (50 Gyまで照射)、30 ng/mlのOKT3、及び50 IU/mlのIL - 2からなるフィーダー混合物を含有していた。37 で2週間インキュベートした後、増殖中の細胞を含有しているウェルのアリコート、IFN - 放出アッセイにおいて及び上記のような多量体染色によってそのGPC3特異性に関して分析した。GPC3特異的CD8 + GPC3 MHC多量体 + T細胞をさらに、記載のようなフィーダー混合物を用いての再刺激によって増殖させた。

【0244】

1.7 IFN - 放出アッセイ

標的として使用された、T2細胞に、GPC3ペプチド 5 μ Mを1.5時間かけて積載し、その後、T細胞と共にインキュベートした。 2×10^3 個のT細胞を、 1×10^4 個のペプチドの積載されたT2細胞と共に、丸底96ウェルプレート中で共インキュベートし、それにより、0.2 : 1というエフェクターと標的の比が得られた。偽ペプチドの積載されたT2細胞と共にインキュベートされたT細胞は、陰性対照として作用した。24時間の共培養後、上清を収集し、標準的な抗ヒトIFN - 抗体のELISA (BioLegend) によって調べた。

【0245】

1.8 T細胞受容体 (TCR) の分析及び反応性TCRのクローニング

GPC3特異的T細胞クローンのTCR分析のために、RNAをトリアゾールを用いてT細胞クローンから抽出し、cDNAを、superscript II逆転写酵素 (Invitrogen) を使用して合成した。鎖及び鎖の可変部分を、TCR可変遺伝子セグメントファミリーの99%を網羅する変性プライマー (表1) を用いて増幅し、続いてアガロースゲルで精製し、DNAシーケンスにかけた (GATC)。

【0246】

10

20

30

40

【表 4 3】

表 1:

	正方向	逆方向
α	5' ヒト panVa (“VPANHUM”): 5' - TGAGTGTCCCPGAPGG2P-3' (P = A 又は G; 2 = A, G 又は T) [配列番号 42]	3' ヒト CA2: 5' -GTGACACATTTGTTTGAGAATC-3' [配列番号 43]
β	VP1: GCIITKTIYTGGTAYMGACA [配列番号 44] 又は VP2: CTITKTWTTGGTAYCIKCAG (I = イノシン, W = A/T, M = A/C, Y = C/T, K = G/T) [配列番号 45]	CP1: GCACCTCCTTCCCATTAC [配列番号 46]

10

【 0 2 4 7 】

G P C 3 特異的 T C R の 鎖及び 鎖の可変部分は、改善された遺伝子発現のためにコドンが最適化され (Geneart)、E c o R I 及び N o t I 制限酵素部位を介してレトロウイルスベクター p M P 7 1 にクローニングされた。トランスジェニック T C R の対形成を改善するために定常鎖はマウス化され、鎖及び鎖は P 2 A 配列を介して連結された。

20

【 0 2 4 8 】

1 . 9 ヒト P B M C へのレトロウイルスによる T C R の導入

2 9 3 T 細胞に、レトロウイルスプラスミド p M P 7 1 - G P C 3 - T C R 2 μ g、p c D N A 3 . 1 - M o - M L V 1 μ g、p A L F - 1 0 A 1 1 μ gを用いて同時トランスフェクトし、後者は、それぞれ g a g / p o l 及び e n v についてのレトロウイルス遺伝子を有するプラスミドを示している。トランスフェクションは、標準的なリポフェクタミントランスフェクションプロトコールに従って、リポフェクタミン 1 0 μ lを用いて行なわれた。新たに単離されたヒト P B M C を、抗 C D 2 8 抗体及び O K T 3 でコーティングされた 2 4 ウェルプレート上の、3 0 0 I U / m l の I L - 2 の補充された h T C M 中で、2 日間かけて活性化した。活性化された P B M C を 2 回、3 日目と 4 日目に形質導入した。トランスフェクトされた 2 9 3 T 細胞のウイルス含有上清を、トランスフェクションから 2 日後に収集し、RetroNectin でコーティングされた 2 4 ウェル培養プレートに加えた。ウイルスを、3 2 及び 2 0 0 0 g で 2 時間かけて遠心にかけた。遠心分離後、培地を、1 0 0 I U / m l の I L - 2 の補充された h T C M 中の $1 \times 1 0^6$ 個の活性化 T 細胞 / ウェルと交換した。T 細胞を、3 2 で 1 0 分間、1 0 0 0 g で遠心にかけた。2 4 時間インキュベートした後、培地を、5 0 I U / m l の I L 2 を含有している新鮮な培地と交換し、T 細胞をさらに 4 8 時間インキュベートした。形質導入された P B M C を G P C 3 M H C - 多量体の染色によって及び機能的アッセイにおいて複数の時点でアッセイした。

30

40

【 0 2 4 9 】

1 . 1 0 機能的アッセイ

形質導入された P B M C を、上記のように様々な標的細胞との共インキュベート後に、その I F N - 分泌能に関して分析した。ペプチド濃度及びエフェクター対標的の比は変化させた。形質導入された P B M C の殺滅能を評価するために、細胞を、E-plate 96 培養プレート (Roche) 上に播種された H e p G 2 細胞と共にインキュベートした。標的細胞の生存率を経時的に XCelligence (Roche) で測定した。あるいは、cell titre blue アッセイを、共インキュベートの 2 4 時間後に行なった。

【 0 2 5 0 】

50

2. 結果

2.1 ヒト肝細胞腫細胞のMHCクラスI分子上に提示された免疫優性GPC3ペプチドの同定

GPC3についての免疫優性エピトープはまだ記載されていない。この研究において、本発明者らは、Q Exactive質量分析計とオンラインで連結されたUltra Nano HPLCを使用して、GPC3及びHLA-A2陽性肝細胞腫細胞株から網羅的なHLAクラスIペプチドームを得た。得られたデータを、MaxQuantバイオインフォマティクスプラットフォームを使用して分析した。HLA-A2に結合した2つのGPC3ペプチドを同定することができ、本明細書において

- GPC3ペプチド367又はGPC3₃₆₇又はGPC3-P1:

10

FIDKKVLKV [配列番号14]

及び、GPC3ペプチド326又はGPC3₃₂₆又はGPC3-P2: (Komori et al., 2006に記載)

TIHDSIQYV [配列番号16]と称する。これらの2つのペプチドの知識により本発明者らは、GPC3陽性HCC細胞上に提示されるGPC3エピトープを標的化することが可能となる。

【0251】

2.2 グリピカン3 mRNAのインビトロでの産生、及びmRNAの電気穿孔後の樹状細胞におけるGPC3の発現

GPC3を含有している構築物をクローニングし、これからGPC3 mRNAを産生することができる。グリピカン3の発現が、293T細胞のトランスフェクション後にプラスミドpcDNA3.1(-)GPC3から示された。樹状細胞の電気穿孔後のこの構築物からのGPC3の発現を最適化した。本発明者らは、樹状細胞の電気穿孔後にGPC3を検出することができた。GPC3はまた、HLA-A2と共に電気穿孔した場合にも発現された。HLA-A2の発現は、少なくとも24時間安定であった。これに対して、GPC3は、電気穿孔から2時間後までしか検出することができず、その後は迅速に分解した。

20

【0252】

2.3 T細胞の同種拘束性刺激

腫瘍反応性の高い結合力のT細胞を単離するために、同種拘束性刺激アプローチ(図3参照)を、Wilde et al., 2012に記載のように使用した。ナイーブT細胞の刺激のために、自己樹状細胞に、GPC3及びHAL-A2 RNAを同時トランスフェクトし、抗原提示細胞として使用した。HLA-A2陰性ドナーのナイーブT細胞レパトリーからのT細胞を、これらのHLA-A2+GPC3+DCと共に培養し、その上で増殖させた。2週間後、両方の標的化されたGPC3エピトープに対して特異的なMHCストレプタマー陽性CD8+T細胞を検出した(1%未満)。本発明者らは、これらの細胞集団を、さらに57%のGPC3-P1-MHCストレプタマー陽性T細胞株及び35%のGPC3-P2-MHCストレプタマー陽性T細胞株まで強化することができ、それらからT細胞クローンを増殖させた。GPC3-P1/-P2ペプチドの積載されたT2細胞との共培養において、本発明者らは、IFN 分泌によって特定のエフェクター機能を示しているT細胞クローンを同定した(図4参照)。特定のエフェクター機能は、IFN 及びTNF についての細胞内サイトカイン染色で確認することができた。さらに、T細胞クローンは、HLA-A2+GPC3+肝細胞腫細胞(He p G2)と共に培養した場合にIFN を分泌した。機能的なT細胞クローンは、強力なGPC3とMHCとストレプタマーの結合を示した。

30

40

【0253】

2.4 ペプチドGPC3₃₆₇に対して特異的なT細胞

本発明者らは、本発明者らのT細胞クローンからGPC3ペプチド367に対して特異的なT細胞受容体(TCR)を同定しクローニングした。このTCRはまたP1-1とも称される。P1-1の鎖及び鎖の変換部分をコードしているT細胞受容体配列は、T

50

細胞へのウイルスによる導入後に発現レベルを高めるためにコドンが最適化された。さらに、内因性 T C R 鎖との誤った対形成を回避し、したがって、最適な発現を確実にするために、定常ドメインをマウス定常ドメインと交換した(図 5 参照)。

【 0 2 5 4 】

この最適化された G P C 3 特異的 T C R の移植された T 細胞は、強力な G P C 3 と M H C とストレプトマーの結合を示した。G P C 3 ペプチドの積載された標的細胞又は G P C 3 を発現している肝細胞腫細胞株 (H e p G 2) と共に培養した場合、G P C 3 T C R の形質導入された T 細胞は、I F N 、 T N F 、 I L 2 、及び脱顆粒マーカー L a m p - 1 を分泌した(図 6 A 参照、データは示されていない)。さらに、細胞傷害性は、H e p G 2 細胞の最大 6 0 % の殺滅によって観察された(図 6 B 参照)。

10

【 0 2 5 5 】

前記の明細書、特許請求の範囲、及び/又は添付の図面に開示された特徴は、別々に及びそのいずれかの組合せの両方において、その多様な形態で本発明を実現するための材料であり得る。

【 0 2 5 6 】

参考文献

【表 4 4】

Baumhoer D, Tornillo L, Stadlmann S, Roncalli M, Diamantis EK, Terracciano LM. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4,387 tissue samples. *Am J Clin Pathol*. 2008 Jun;129(6):899-906.

Boulter JM and Jakobsen BK. Stable, soluble, high-affinity, engineered T cell receptors: novel antibody-like proteins for specific targeting of peptide antigens. *Clin Exp Immunol*. 2005; 142(3): 454–460. 10

Csoka M, Strauss G, Debatin KM, Moldenhauer G. Activation of T cell cytotoxicity against autologous common acute lymphoblastic leukemia (cALL) blasts by CD3xCD19 bispecific antibody. *Leukemia* 1996 Nov;10(11):1765-72.

Engels B, Cam H, Schüler T, Indraccolo S, Gladow M, Baum C, Blankenstein T, Uckert W. Retroviral vectors for high-level transgene expression in T lymphocytes. *Hum Gene Ther*. 2003 Aug 10;14(12):1155-68. 20

Hamid O et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 2013 Jul 11;369(2):134-44.

Han EQ, Li XL, Wang CR, Li TF, Han SY. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for cancer immunotherapy: progress and challenges. *J Hematol Oncol*. 2013 Jul 8;6:47. 30

Knabel, M., Franz, T.J., Schiemann, M., Wulf, A., Villmow, B., Schmidt, B., Bernhard, H., Wagner, H. and Busch, D. Reversible MHC multimer staining for functional isolation of T-cell populations and effective adoptive transfer. *Nature Medicine* 2002, 8 (6), 631-637.

Komori H, Nakatsura T, Senju S, Yoshitake Y, Motomura Y, Ikuta Y, Fukuma D, Yokomine K, Harao M, Beppu T, Matsui M, Torigoe T, Sato N, Baba H, Nishimura Y. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2006 May 1;12(9):2689-97. 40

Lunde E, Løset GÅ, Bogen B, Sandlie I. Stabilizing mutations increase secretion of functional soluble TCR-Ig fusion proteins. *BMC Biotechnology* 2010, 10:61

Maiti SN, Huls H, Singh H, Dawson M, Figliola M, Olivares S, Rao P, Zhao YJ, Multani A, Yang G, Zhang L, Crossland D, Ang S, Torikai H, Rabinovich B, Lee DA, Kebriaei P, Hackett P, Champlin RE, Cooper LJ. Sleeping beauty system to redirect T-cell specificity for human applications. *J Immunother.* 2013 Feb;36(2):112-23.

Miyoshi H, Blömer U, Takahashi M, Gage FH, Verma IM. Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J Virol.* 1998 Oct;72(10):8150-7.

Yu SF, von Rüden T, Kantoff PW, Garber C, Seiberg M, Rütter U, Anderson WF, Wagner EF, Gilboa E. Self-inactivating retroviral vectors designed for transfer of whole genes into mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 May;83(10):3194-8.

Wilde S, Geiger C, Milosevic S, Mosetter B, Eichenlaub S, Schendel DJ. Generation of allo-restricted peptide-specific T cells using RNA-pulsed dendritic cells: A three phase experimental procedure. *Oncoimmunology.* 2012 Mar 1;1(2):129-140.

10

20

【 図 1 A 】

TCR PI-1のTCR α鎖のヌクレオチド配列

ATGCTGCTGAACTGATCCCTCTGCTGGGCATCCACTTCTGCTGAGAACCCGCCAGAGCCAGAGCGTGAACCCAG
 CCCGATATCCACATACCCGTGTCTGAGGGCCAGCCCTGGAACTGCGGTGCAACTACAGCTAGCGGCCACCC
 TACCTGTTTGGTACGTGCAGAGCCCGGACAGGCGCTGCAGCTGCTGTAAGTACTTTAGGGGACACCCCTG
 GTCCAGGGCANTCAGGGATTCAGGGCCGAGTTCAAGCGGAGCCAGAGCAGTTCAACCTGCGGAGCCCTCCGTTG
 CATTTGAGCCAGCCCGCCGAGTACTTTTGTGCGTGGGGTGTGAACTTTGGCAACGAGAACTGACCTTTGGC
 ACCGGCACCCGGTGAACCATCCCTATCCAGAACCCCGAGCCCGCGGTGTACAGCTGAAGGACCCAGAAAGC
 CAGGACAGCACCCCTGTGTCTTACCAGACTTCACAGCCAGATCAACGTGCCAAAGACCATGGAAGCGGCAAC
 TTTCATCACGATAAGTGCCTGTGACATGAGCCATGACAGCAAGCAACCGCGCATTTGCTGTGTCGAAC
 CAGACAGCTTTCATGTCAGAGGACATCTTCAAAGAGACAAACCCACCTTCCAGCAGCTGCCCTGTGAC
 GCCACTGTACCCAGAACTCTTTCAGAGACACATGAATCTGAAATTTCCAGAACTGAGCGTGTGATGGGCTGGG
 ATCCTGCTGCTGAAAGTGGCCGCTTCAACCTGCTGATGACCCCTGCGGCTGTGCTCAGCTGA

アミノ酸配列

MLELIPELLGHFVLRARAQSVTPDHIITVSEGLASLELRCNYSYATPYLFWYVQSPQGLQLLLKLYFSGD
 TLVQGIKGFEEAFKRSOSSFNLRKPSVHMSDAEYFCAVGLNFGNEKLFGTGTRLTIIPIQNPEPAVYOLK
 DPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKVLLDMKAMDSKNGAIAMSNQTSFTQDIFKETAIPYS
 SDVPCDATLTKESFETDMNLNFQNLVSMGLRIILLKLVAGFNLLMLTRLWSS*

【 図 1 B 】

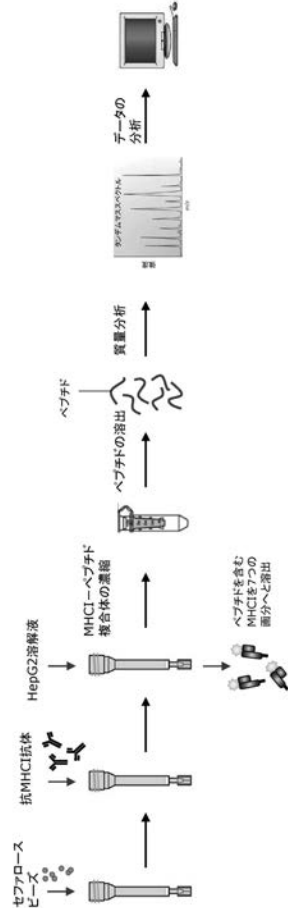
TCR PI-1のTCR β鎖のヌクレオチド配列

ATGCTGTTCTCTGCTGGCTCTGCTGGGCACCTTCTTGGAGTGGAGCCAGACCATCCACAGTGGCCT
 GCTACACTGGTGCAGCCTGTGGCAGCCCTCTGAGCTTGGAAATGTACCGTGGAAAGGCACGACCAACCCCTG
 TACTGTGTACAGACAGGCGCTGGCAGAGGCTGCAGCTGCTGTTTACAGCGTGGGCAITCGGCCAGATCAGCAGC
 GAGTGGCCCCAGAACTTACGCGCAGCAGCCAGCCGAGCAGTTTACTTGGCAGCAAGAGTGTGCTGTG
 AGCGACAGCGGCTTCTACCTGTGGCTTGGAGCAGGACACCCCTACTACGGCTACACTTTGGCAGCGGACCC
 CGGTGACAGTGTGGAAAGAGATCTGAGGAACGTGACCCCGCCAAAGGTGTCCTCTTTCGAGCCCAAGGCC
 GAGATCGCCAAACAGCAAGAACCCCTGCTGTGCTGGCCAGAGGCTTCTTCCCGACCAAGTGAAGTGTCC
 TGGTGGGTCAACCGCAAGAGGTTGCAGCGAGTCTGCACCGACCCCGAGGCTTACAAAGAGAGCAACTACAGC
 TACTGCTGTCCAGACAGCTGCGGTGTCGCTTACCTTTCGACCAACCCCGGAACTTCCAGATGCCAGGTG
 CAGTTCCAGCGCTGACGAAAGGACAAAGTGGCCCGGAGGAGCCCAAGCCCGTGAACCAAGATATCAGGCC
 GAGCCTGGGGCAGAGCCGATTTGGCATCACCGCCAGCTACCAAGGGGGTGTGAGCGCCACCATCTCTG
 TAGAGATCTGCTGGGCAAGGCCACCCCTGTACGCCGTGTGCTGCTCCGACTGCTGATGGCCATGGTCAAG
 AAGAAAGAACAGC

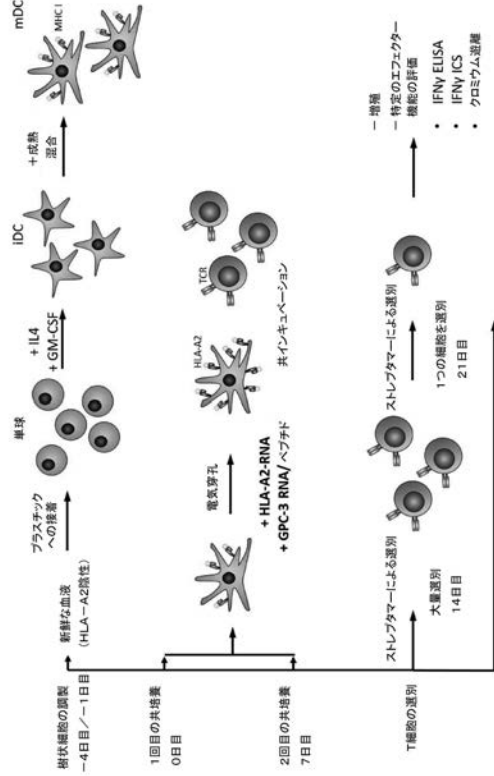
アミノ酸配列

MLCSLALLLFFGVRSOTIHOWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPNLYWROAAGRGLQLLFYSVIGIGI
 SSEVFQNLASRPDQRQIFILSSKLLLSDDSFYLCAWSEDTAYGTYFGSGTRLIVVEEDLRNTPPKVSLFE
 PSKAIANKQKATLVLCARGFPPDHVELSWMVKEVHSGVCTDPOAYKESNYSYLSRRLRSVATFWHNP
 HPRCQVQPHLSEEDKWFEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITISASYHGVLSATLLYELLGKATLYAVLVSG
 IYLVMAVKKKNS

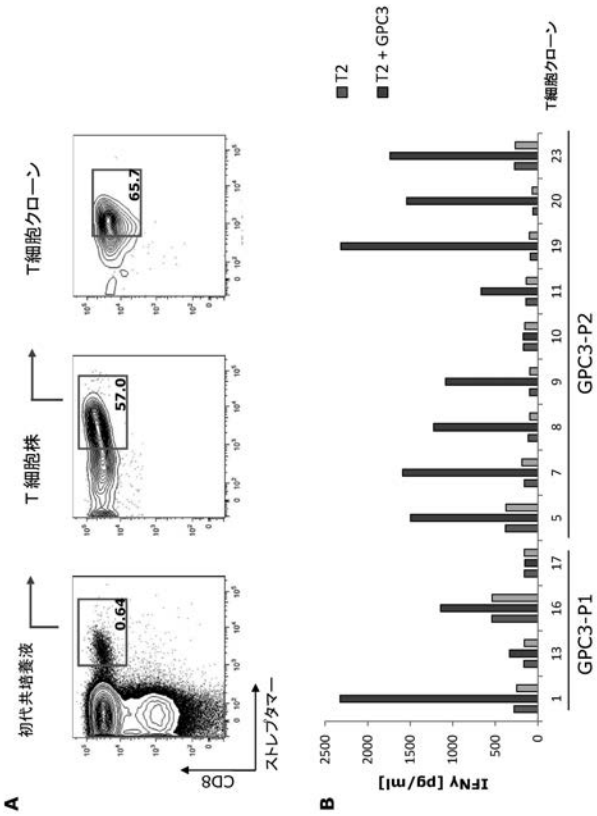
【 図 2 】



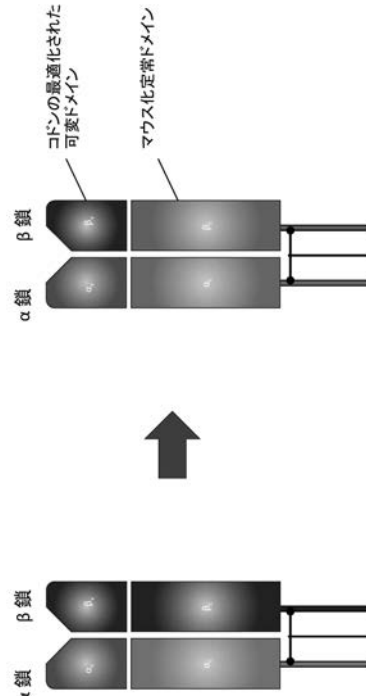
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【配列表】

2017522859000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/EP2015/060065
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. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	
2. <input type="checkbox"/> 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. <input type="checkbox"/> 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. <input checked="" type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.	
2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.	
3. <input type="checkbox"/> 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. <input type="checkbox"/> 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	<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. <input type="checkbox"/> 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. <input checked="" type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/060065

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/725 A61K38/00 A61K39/00 C07K7/06 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) C07K		
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, WPI Data, Sequence Search, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/217122 A1 (KAPLAN DAVID E [US]) 22 August 2013 (2013-08-22) sequence 21 claim 11 paragraph [0074] figure 7	1-27
X	----- DARGEL C ET AL: "P64. T cell re-direction against Glypican-3 for immunotherapy of hepatocellular carcinoma", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 2, 12 March 2014 (2014-03-12), page P38, XP021179613, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S2-P38 the whole document ----- -/--	1-19
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" 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 2 September 2015		Date of mailing of the international search report 11/09/2015
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 Schmitz, Till

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/060065

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Darge1 ET AL: "098 T-CELL RE-DIRECTION AGAINST GLYPICAN-3 FOR IMMUNOTHERAPY OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA (HCC)", 1 April 2014 (2014-04-01), XP055147974, Retrieved from the Internet: URL:http://ac.els-cdn.com/S0168827814601008/1-s2.0-S0168827814601008-main.pdf?tid=020f7252-5918-11e4-a9ec-00000aacb360&acdnat=1413892217_d5d7b554fcf1414401d5354351a30efa [retrieved on 2014-10-21] the whole document	1-19
A	----- DATABASE EMBL [Online] 1 April 2014 (2014-04-01), "Homo sapiens (human) Betula verrucosa antigen 1-specific T cell receptor beta chain", XP002731625, retrieved from EBI accession no. EMBL:AFQ38859 sequence	1-19
A	----- WO 2012/038055 A1 (UNICELL GMBH [DE]; UNIVERSITAETSMEDIZIN DER JOHANNES GUTENBERG UNI MAI) 29 March 2012 (2012-03-29) sequence 82	1-19
A	----- WO 2012/054825 A1 (US HEALTH [US]; MORGAN RICHARD A [US]; CHINNASAMY NACHIMUTHU [US]; ROS) 26 April 2012 (2012-04-26) sequence 62	1-19
X	----- O'BEIRNE JAMES ET AL: "Generation of functional CD8+ T Cells by human dendritic cells expressing glypican-3 epitopes", JOURNAL OF EXPERIMENTAL & CLINICAL CANCER RESEARCH, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON UK, vol. 29, no. 1, 13 May 2010 (2010-05-13), page 48, XP021083455, ISSN: 1756-9966, DOI: 10.1186/1756-9966-29-48 the whole document	1-19
A	----- WO 2006/129085 A2 (AVIDEX LTD [GB]; JAKOBSEN BENT KARSTEN [GB]; LIDDY NATHANIEL ROSS [GB]) 7 December 2006 (2006-12-07) sequence 40	1-19

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/060065

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2013217122	A1	22-08-2013	NONE

WO 2012038055	A1	29-03-2012	AU 2011304728 A1 14-03-2013
		CA 2812153 A1	29-03-2012
		CN 103249430 A	14-08-2013
		EP 2618835 A1	31-07-2013
		JP 2013541332 A	14-11-2013
		US 2013273647 A1	17-10-2013
		WO 2012038055 A1	29-03-2012

WO 2012054825	A1	26-04-2012	NONE

WO 2006129085	A2	07-12-2006	AU 2006253941 A1 07-12-2006
		BR P10611326 A2	31-08-2010
		CA 2610786 A1	07-12-2006
		CN 101189261 A	28-05-2008
		EA 200702677 A1	30-06-2008
		EP 1893642 A2	05-03-2008
		JP 2008545426 A	18-12-2008
		US 2008292549 A1	27-11-2008
		WO 2006129085 A2	07-12-2006
		ZA 200710009 A	25-09-2008

International Application No. PCT/ EP2015/ 060065

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-19

TCR comprising SEQ ID NOs 1 or 2 and binding GPC3. Further soluble and chimeric TCRs, bispecific antibodies, nucleic acids, constructs, cells, pharmaceutical compositions, uses, methods based on said TCR.

2. claims: 20-27

Peptide according to SEQ ID NO:14 (GPC3 peptide 367). Further nucleic acids, antibodies, compositions, vaccines, uses and methods based on said peptide.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/725 (2006.01)	C 0 7 K 14/725	4 C 0 8 7
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 H 0 4 5
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K 38/17	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	Z
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	D
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	

(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, T J, 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, R O, 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, H N, 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

Fターム(参考) 4B065 AA94X AA94Y AA99Y AB01 AC14 BA03 CA24 CA45 CA46
 4C084 AA02 AA07 AA13 BA01 BA08 BA21 BA22 CA26 DA39 NA14
 ZA751 ZA752 ZB261 ZB262
 4C085 AA14 BB01 CC23 EE01
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA75 ZB26
 4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 NA14 ZA75 ZB26
 4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA50 DA76 EA22 EA28 EA51
 FA74

专利名称(译)	磷脂酰肌醇蛋白聚糖3特异性T细胞受体及其用于肝细胞癌免疫治疗的用途		
公开(公告)号	JP2017522859A	公开(公告)日	2017-08-17
申请号	JP2016567501	申请日	2015-05-07
[标]申请(专利权)人(译)	慕尼黑工业大学		
申请(专利权)人(译)	丹麦科技海胆韦利济泰特慕尼黑		
[标]发明人	プロツァーウルリケ ダーゲルクリスティーナ		
发明人	プロツァー,ウルリケ ダーゲル,クリスティーナ		
IPC分类号	C12N15/09 C12N1/19 C12N1/21 C12N1/15 C12N5/10 C07K14/725 C07K16/46 C07K19/00 C07K16/28 A61K38/17 A61K39/395 A61K35/17 A61P43/00 A61P35/00 A61P1/16 A61K48/00 A61K31/7088 G01N33/574 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	A61P1/16 A61P35/00 A61P43/00 C07K14/4725 C07K14/7051 C07K2319/00 C07K2319/21 C07K2319/43 A61K35/17 A61K39/0011 A61K39/001174 C07K14/705 C07K16/18 C07K2317/31 C07K2317/622 C07K2319/70 C12N5/0636 C12N2510/00 G01N33/57438 G01N2333/705		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N1/19 C12N1/21 C12N1/15 C12N5/10 C07K14/725 C07K16/46 C07K19/00 C07K16/28 A61K38/17 A61K39/395.N A61K35/17.Z A61P43/00.111 A61P35/00 A61P1/16 A61K48/00 A61K31/7088 G01N33/574.D G01N33/53.Y C12P21/08		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA14 4B065/AA94X 4B065/AA94Y 4B065/AA99Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA03 4B065/CA24 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA21 4C084/BA22 4C084/CA26 4C084/DA39 4C084/NA14 4C084/ZA751 4C084/ZA752 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/BB01 4C085/CC23 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA75 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB37 4C087/BB65 4C087/NA14 4C087/ZA75 4C087/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	2014168107 2014-05-13 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及对甘草聚糖3特异的T细胞受体。本发明进一步涉及可溶性TCR构建体，嵌合TCR，包含TCR或TCR构建体的双特异性抗体，核酸，表达构建体和细胞。本发明进一步优选地是肝癌，特别是肝细胞癌，或其他表达GPC3的癌症的检测，诊断，预后，预防和/或治疗，TCR作为药物或可溶性TCR构建体，或者，使用嵌合TCR或双特异性抗体。本发明进一步涉及一种检测，诊断，预后，预防和/或治疗肝癌，尤其是肝细胞癌或其他表达GPC3的癌症的方法。本发明进一步涉及含有glypican 3表位的肽，以及各自的核酸，抗体和编码它们的组合物，以及它们作为(肽)疫苗的用途。本发明进一步涉及包含所述肽的疫苗。

(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2017-522859 (P2017-522859A) (43) 公表日 平成29年8月17日 (2017. 8. 17)
(51) Int. Cl. C 1 2 N 1 5 / 0 9 (2006. 01) C 1 2 N 1 / 1 9 (2006. 01) C 1 2 N 1 / 2 1 (2006. 01) C 1 2 N 1 / 1 5 (2006. 01) C 1 2 N 5 / 1 0 (2006. 01)	F I C 1 2 N 1 5 / 0 0 Z N A A C 1 2 N 1 / 1 9 C 1 2 N 1 / 2 1 C 1 2 N 1 / 1 5 C 1 2 N 5 / 1 0 C 1 2 N 5 / 1 0	テーマコード (参考) 4 B 0 6 4 4 B 0 6 5 4 C 0 8 4 4 C 0 8 5 4 C 0 8 6 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 63 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号 特願2016-567501 (P2016-567501) (86) (22) 出願日 平成27年5月7日 (2015. 5. 7) (85) 翻訳文提出日 平成29年1月10日 (2017. 1. 10) (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/060065 (87) 国際公開番号 W02015/173112 (87) 国際公開日 平成27年11月19日 (2015. 11. 19) (31) 優先権主張番号 14168107. 2 (32) 優先日 平成26年5月13日 (2014. 5. 13) (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)	(71) 出願人 510334686 テクニッシュ ウニヴェルジテート ミュンヘン ドイツ連邦共和国 8 0 3 3 3 ミュンヘン, アルツィスシュトラッセ 2 1 (74) 代理人 110001508 特許業務法人 津田 プロツァー, ウルリケ ドイツ国, 8 1 7 3 5 ミュンヘン, アンツルグートシュトラッセ 4 5 (72) 発明者 14168107. 2 ダーゲル, クリスティーナ ドイツ国, 8 0 7 9 6 ミュンヘン, エマヌエルシュトラッセ 1 4 Fターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA14	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グリピカン3に特異的なT細胞受容体、及び肝細胞癌の免疫療法のためのその使用