



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3710576 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C12N 5/0783 (2010.01)

A61K 35/17 (2015.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.12.23
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.10.02
(86)	European Application Nr.	18827296.7
(86)	European Filing Date	2018.11.19
(87)	The European Application's Publication Date	2020.09.23
(30)	Priority	2017.11.17, US, 201762588044 P 2018.01.24, US, 201862621515 P 2018.11.05, US, 201862756038 P
(84)	Designated Contracting States	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
	Designated Extension States:	BA ; ME
	Designated Validation States	KH ; MA ; MD ; TN
(73)	Proprietor	Iovance Biotherapeutics, Inc., 825 Industrial Road Suite 400, San Carlos, CA 94070, USA
(72)	Inventor	SIMPSON-ABELSON, Michelle, 15908 Oakleaf Run Drive, Lithia, FL 33547, USA CHARTIER-COURTAUD, Cecile, 1357 Cowper Street, Palo Alto, CA 94301, USA
(74)	Agent or Attorney	Nordic Patent Service A/S, Bredgade 30, 1260 KØBENHAVN K, Danmark

(54) Title **TIL EXPANSION FROM FINE NEEDLE ASPIRATES AND SMALL BIOPSIES**

(56) References

Cited:

WO-A1-2018/182817, US-A1- 2017 224 734, US-A1- 2014 030 806

JIN J ET AL: "Simplified method of the growth of human tumor infiltrating lymphocytes in gas-permeable flasks to numbers needed for patient treatment", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 35, no. 3, April 2012 (2012-04-01), pages 283 - 292, XP008153078, ISSN: 1537-4513, DOI: 10.1097/CJI.0B013E31824E801F

TRAN K Q ET AL: "Minimally Cultured Tumor-infiltrating Lymphocytes Display Optimal Characteristics for Adoptive Cell Therapy", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 31, no. 8, October 2008 (2008-10-01), pages 742 - 751, XP055031158, ISSN: 1524-9557, DOI: 10.1097/CJI.0b013e31818403d5

BESSER M J ET AL: "Minimally cultured or selected autologous tumor-infiltrating lymphocytes after a lympho-depleting chemotherapy regimen in metastatic melanoma patients", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 32, no. 4, May 2009 (2009-05-01), pages 415 - 423, XP009511400, ISSN: 1537-4513, DOI: 10.1097/CJI.0B013E31819C8BDA

DUDLEY M E ET AL: "Generation of tumor-infiltrating lymphocyte cultures for use in adoptive transfer therapy for melanoma patients", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 26, no. 4, July 2003 (2003-07-01), pages 332 - 342, XP009089890, ISSN: 1524-9557

DONIA M ET AL: "Characterization and Comparison of 'Standard' and 'Young' Tumour-Infiltrating Lymphocytes for Adoptive Cell Therapy at a Danish Translational Research Institution", SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 75, no. 2, February 2012 (2012-02-01), pages 157 - 167, XP055560924, ISSN: 0300-9475, DOI: 10.1111/j.1365-3083.2011.02640.x

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

PATENTKRAV:

1. Fremgangsmåte for å ekspandere tumorinfiltrerende lymfocytter (TIL-er) til en terapeutisk populasjon av TIL-er omfattende:

5 (i) å utføre en første ekspansjon ved å dyrke en første populasjon av TIL-er fra minst ett finnålaspirat (FNA) eller minst én liten biopsi fra en tumor i en pasient i et cellekulturmedium omfattende IL-2 for å fremstille en andre populasjon av TIL-er, hvori cellekulturmediet suppleres med OKT-3 på en hvilken som helst av dagene 1–3, hvori den første ekspansjonen utføres i 3 dager til 12 dager for å oppnå den andre populasjonen av TIL-er, hvori den andre populasjonen av TIL-er omfatter minst 5×10^7 TIL-er etter 3 dager til 12 dager når den første
10 populasjonen av TIL-er er fra en liten biopsi; og

(ii) å utføre en andre ekspansjon ved å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, OKT-3 og antigenpresenterende celler (APC-er), for å fremstille en tredje populasjon av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er minst 25 ganger større i antall enn den andre populasjonen av TIL-er, og hvori den andre ekspansjonen
15 utføres i 3 dager til 12 dager for å oppnå den tredje populasjonen av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er en terapeutisk populasjon av TIL-er.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori cellekulturmediet omfattende IL-2 i trinn (i) videre omfatter OKT-3 og ikke valgfritt suppleres med OKT-3 på noen av dagene 1–3, hvori trinn (i)
20 er et primende første ekspansjonstrinn og trinn (ii) er en rask andre ekspansjon, hvori cellene eventuelt etter trinn (ii) fjernes fra cellekulturen og kryokonserves i et lagringsmedium.

3. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori trinn (i) til (ii) utføres i løpet av en periode på 17 dager til 24 dager, eventuelt innen en periode på 18 dager
25 til 22 dager, videre eventuelt innenfor en periode på 20 dager til 22 dager, og videre eventuelt innen en periode på 22 dager.

4. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori cellene i den terapeutiske populasjonen av TIL-er fra trinn (ii) uttrykker CD4, CD8 og TCR α β ved nivåer
30 tilsvarende nyhøstede celler.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori APC-ene er perifere mononukleære blodceller (PBMC-er), hvori PBMC-ene eventuelt tilsettes til cellekulturen i trinn (i) på en hvilken som helst av dagene 3 til 12 etter initiering av kulturen i trinn (i) og/eller i trinn (ii) på en hvilken som

helst av dagene 11 til 14 etter initiering av kulturen i trinn (i), videre eventuelt hvori APC-ene er kunstige APC-er (aAPC-er) eller autologe APC-er.

6. Fremgangsmåten ifølge kravene 2 til 5, hvori den tredje populasjonen av TIL-er omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den andre populasjonen av TIL-er, hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene i den terapeutiske populasjonen av TIL-er i trinn (ii) viser én eller flere egenskaper valgt fra gruppen som består av uttrykking av CD27, uttrykking av CD28, lengre telomerer, økt CD57-uttrykking og redusert CD56-uttrykking, i forhold til effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i den andre populasjonen av celler, hvori eventuelt effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene viser økt CD57-uttrykking og redusert CD56-uttrykking.

7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori den terapeutiske populasjonen av TIL-er er for infusjon i en pasient.

8. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den første ekspansjonen i trinn (i) utføres ved videre å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med OKT-3, IL-15, OX40-agonistisk antistoff og/eller 4-1BB-agonistisk antistoff og/eller den andre ekspansjonen i trinn (ii) utføres ved videre å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med IL-15, OX40-agonistisk antistoff og/eller 4-1BB-agonistisk antistoff.

9. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori FNA-et i trinn (i) omfatter minst 400 000 TIL-er.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den lille biopsien oppnås fra en tumor valgt fra gruppen som består av bukspyttkjertel, melanom, bryst og eggstokk og eventuelt hvori FNA-et oppnås fra en tumor valgt fra gruppen som består av lunge, melanom, hode og hals, livmorhals, eggstokk, bukspyttkjertel, glioblastom, kolorektal og sarkom, hvori eventuelt lungetumoren er et ikke-småcellet lungekarsinom (NSCLC), og eventuelt hvori pasienten tidligere har gjennomgått kirurgisk behandling.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den første populasjonen av TIL-er i trinn (i) oppnås fra et FNA, hvori FNA-et eventuelt oppnås ved å anvende en 25–18 gauge nål.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den første populasjonen av TIL-er i trinn (i) oppnås fra en liten biopsi, og eventuelt oppnås fra en kjernebiopsi, og videre eventuelt hvori den lille biopsien oppnås ved å anvende en 16–11 gauge nål.
- 5 13. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori trinn (ii) gjentas én til fire ganger for å oppnå tilstrekkelige TIL-er i den terapeutiske populasjonen av TIL-er for en terapeutisk effektiv dosering av TIL-ene, eventuelt hvor antallet av TIL-er tilstrekkelig for en terapeutisk effektiv dosering er fra $2,3 \times 10^{10}$ til $13,7 \times 10^{10}$.
- 10 14. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori den første ekspansjonen utføres i 3 dager til 10 dager.
- 15 15. Fremgangsmåten ifølge krav 14, som videre omfatter en ytterligere andre ekspansjon i trinn (ii) som utføres ved videre å supplere cellekulturmediet til den tredje populasjonen av TIL-er med IL-15, OX40-agonistisk antistoff og/eller 4-1BB-agonistisk antistoff.
16. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 15, som omfatter:
- (a) å tilsette den første populasjonen av TIL-er i et lukket system;
- (b) å utføre den første ekspansjonen ved å dyrke den første populasjonen av TIL-er i et
20 cellekulturmedium omfattende IL-2 for å fremstille en andre populasjon av TIL-er, hvori cellekulturmediet suppleres med OKT-3 på en hvilken som helst av dagene 1–3, hvori den første ekspansjonen utføres i 3 dager til 12 dager for å oppnå den andre populasjonen av TIL-er, hvori den andre populasjonen av TIL-er omfatter minst 5×10^7 TIL-er ved 3 dager til 12 dager når den første populasjonen av TIL-er er fra en liten biopsi, hvori den første ekspansjonen utføres i en
25 lukket beholder som tilveiebringer et første gasspermeabelt overflateareal, hvori den andre populasjonen av TIL-er er minst 25 ganger større i antall enn den første populasjonen av TIL-er, og hvori overgangen fra trinn (a) til trinn (b) forekommer uten å åpne systemet;
- (c) å utføre den andre ekspansjonen ved å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, OKT-3 og antigenpresenterende celler (APC-er),
30 for å fremstille en tredje populasjon av TIL-er, hvori den andre ekspansjonen utføres i ca. 3 til 12 dager for å oppnå den tredje populasjonen av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er en terapeutisk populasjon av TIL-er, hvori den andre ekspansjonen utføres i en lukket beholder som tilveiebringer et andre gasspermeabelt overflateområde, og hvori overgangen fra trinn (b) til trinn (c) forekommer uten å åpne systemet;

(d) å høste den terapeutiske populasjonen av TIL-er oppnådd fra trinn (c), hvori overgangen fra trinn (c) til trinn (d) forekommer uten å åpne systemet; og

(e) å overføre den høstede TIL-populasjonen fra trinn (d) til en infusjonspose, hvori overføringen fra trinn (d) til (e) forekommer uten å åpne systemet.

5

17. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori cellekulturmediet omfattende IL-2 i trinn (b) videre omfatter OKT-3 og ikke valgfritt suppleres med OKT-3 på noen av dagene 1–3, og hvori trinn (b) er et primende første ekspansjonstrinn og trinn (c) er et raskt andre ekspansjonstrinn, hvori eventuelt fremgangsmåten videre omfatter trinnet med å kryokonservere infusjonsposen

10 omfattende den høstede TIL-populasjonen i trinn (e) ved å anvende en kryokonserveringsprosess.

18. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 16 eller 17, hvori APC-ene er perifere mononukleære blodceller (PBMC-er) hvori PBMC-ene eventuelt er bestrålt og allogene

15 og eventuelt hvori PBMC-ene tilsettes til cellekulturen på én av dagene 3 til og med 12 av den første perioden i trinn (b) og/eller én av dagene 3 til 12 i den andre perioden i trinn (c).

19. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori den første ekspansjonen i trinn (b) utføres ved videre å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med OKT-3, IL-15,

20 OX40-agonistisk antistoff og/eller 4-1BB-agonistisk antistoff og/eller hvori den andre ekspansjonen i trinn (c) utføres ved videre å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med IL-15, OX40-agonistisk antistoff og/eller 4-1BB-agonistisk antistoff.

20. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori TIL-ene i trinn (a) oppnås fra et FNA, og eventuelt hvori FNA-et i trinn (a) omfatter minst 400 000 TIL-er videre eventuelt hvori FNA-et oppnås ved å anvende en 25–18 gauge nål, og videre eventuelt hvori FNA-et oppnås fra en tumor valgt fra gruppen som består av lunge, melanom, hode og hals, livmorhals, eggstokk, bukspyttkjertel, glioblastom, kolorektal og sarkom, hvori lungetumoren eventuelt er et ikke-småcellet

30 lungekarsinom (NSCLC), og eventuelt hvori individet tidligere har gjennomgått kirurgisk behandling.

21. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori den første populasjonen av TIL-er i trinn (a) oppnås fra en liten biopsi og eventuelt hvori den lille biopsien oppnås fra en tumor valgt fra

gruppen som består av bukspyttkjertel, melanom, bryst og eggstokk og videre eventuelt hvori den lille biopsien oppnås ved å anvende en 16–11 gauge nål.

22. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori høstingen i trinn (d) utføres ved å anvende et LOVO[®]-cellebehandlingssystem, hvori cellekulturmediet eventuelt tilveiebringes i en beholder valgt fra gruppen som består av en G-beholder[™]- og en Xuri[™]-cellepose og videre eventuelt hvori infusjonsposen i trinn (e) er en hypotermosol infusjonspose.

23. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori trinn (a) til (e) utføres innen en periode på 17 dager til 24 dager, eventuelt hvori trinn (a) til (e) utføres innen en periode på 18 dager til 22 dager, videre eventuelt hvori trinn (a) til (e) utføres innen en periode på 20 dager til 22 dager.

24. Fremgangsmåten ifølge krav 16, hvori trinn (a) til (e) og eventuelt kryokonservering utføres i løpet av 22 dager eller mindre.

25. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 16 til 24, hvori den terapeutiske populasjonen av TIL-er høstet i trinn (d) omfatter tilstrekkelige TIL-er for en terapeutisk effektiv dosering av TIL-ene, eventuelt hvori antallet av TIL-er tilstrekkelig for en terapeutisk effektiv dosering er fra $2,3 \times 10^{10}$ til $13,7 \times 10^{10}$.

26. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 16 til 25, hvori trinn (a) til (d) utføres i en enkelt beholder, hvori å utføre trinn (a) til (d) i en enkelt beholder resulterer i en økning i TIL-utbytte per resektert tumor sammenlignet med å utføre trinn (a) til (d) i mer enn én beholder, eventuelt hvori de antigenpresenterende cellene tilsettes TIL-ene under den andre ekspansjonen i trinn (c) uten å åpne systemet, hvori eventuelt den tredje populasjonen av TIL-er omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den andre populasjonen av TIL-er, hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene i den terapeutiske populasjonen av TIL-er viser én eller flere egenskaper valgt fra gruppen som består av å uttrykke CD27+, uttrykke CD28+, lengre telomerer, økt CD57-uttrykking og redusert CD56-uttrykking i forhold til effektor-T-celler, og/eller sentralhukommelses-T-celler oppnådd fra den andre populasjonen av celler, og videre eventuelt hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene oppnådd fra den tredje populasjonen av TIL-er viser økt CD57-uttrykking og redusert CD56-uttrykking i forhold til effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler oppnådd fra den andre populasjonen av

celler.