

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580026443.7

[51] Int. Cl.

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 14/82 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

[43] 公开日 2007年8月29日

[11] 公开号 CN 101027317A

[22] 申请日 2005.7.27

[21] 申请号 200580026443.7

[30] 优先权

[32] 2004.8.5 [33] GB [31] 0417430.6

[86] 国际申请 PCT/GB2005/002962 2005.7.27

[87] 国际公布 WO2006/013336 英 2006.2.9

[85] 进入国家阶段日期 2007.2.5

[71] 申请人 加的夫大学学院咨询有限公司

地址 英国加的夫

[72] 发明人 S·T·K·曼

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

代理人 李 瑛

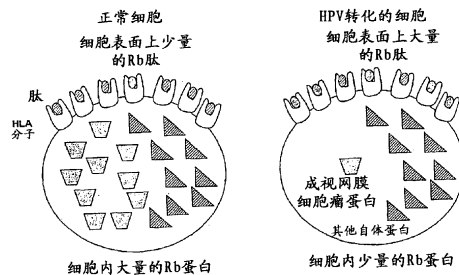
权利要求书 3 页 说明书 40 页 附图 6 页

## [54] 发明名称

含有来自宿主细胞蛋白的肽的 HPV 疫苗

## [57] 摘要

本发明涉及人乳头状瘤病毒 (HPV) 疫苗, 其包含来自宿主细胞蛋白的肽, 更具体地, 涉及对抗与 HPV 感染相关的癌症如宫颈癌、头颈癌和皮肤癌的疫苗。肽包括已经通过 HPV 蛋白如 E6 和 E7 靶向降解并在 HPV 感染细胞的表面上相对大量的呈递的宿主细胞蛋白的片段。这些肽可以由 CTL 识别并引发免疫应答, 因此是理想的肿瘤特异性标记。本发明还涉及新的肽: 肽复合物如肽/HLA 复合物及其在肿瘤特异性疫苗中的用途。



1. 一种疫苗，包含：至少一种分离的、纯化的、合成的或重组的肽，其中肽是已经通过人乳头状瘤病毒(HPV)癌蛋白降解，且给予哺乳动物时可以引发细胞毒性 T-淋巴细胞(CTL)应答的宿主细胞蛋白的片段。

2. 根据权利要求 1 的疫苗，其中哺乳动物是人。

3. 根据权利要求 1 或权利要求 2 的疫苗，其中癌蛋白是 E6 或 E7。

4. 根据之前任一项权利要求的疫苗，其中宿主细胞蛋白包括一种或多种表 3 中所示的蛋白。

5. 根据之前任一项权利要求的疫苗，其中肽是 HPV 特异性或肿瘤特异性的，意思是相对于正常细胞，在 HPV 转化的细胞或肿瘤细胞的细胞表面上大量呈递。

6. 根据之前任一项权利要求的疫苗，其中肽为 9-30 个氨基酸长。

7. 根据权利要求 6 的疫苗，其中肽是 9-11 个氨基酸长。

8. 根据之前任一项权利要求的疫苗，其中所述疫苗包含一种或多种表 4 中所示的肽(SEQ ID NO: 1-163)。

9. 根据之前任一项权利要求的疫苗，其中 CTL 应答是 HPV 特异性或肿瘤特异性的，意思是 CTL 可以识别表达所述疫苗的肽的 HPV 转化的细胞或肿瘤细胞。

10. 根据之前任一项权利要求的疫苗，进一步包含主要组织相容性复合体分子。

11. 根据权利要求 10 的疫苗，其中主要组织相容性复合体分子是 I 类分子。

12. 根据权利要求 10 或权利要求 11 的疫苗，其中主要组织相容性复合体分子是人白细胞抗原(HLA)。

13. 根据权利要求 10-12 任一项的疫苗，其中主要组织相容性复合体分子包括一种或多种表 1 中所示的那些。

14. 一种疫苗，包含：至少一种分离的、纯化的、合成的或重组

的肽，其中肽选自表 4 中所列的那些。

15. 一种疫苗，包含：至少一种选自表 4 的分离的、纯化的、合成的或重组的肽，和进而至少一种选自表 1 中所列那些的分离的、纯化的、合成的或重组的 HLA。

16. 一种疫苗，包含：至少一种分离的、纯化的、合成的或重组的核酸分子，该核酸分子编码根据权利要求 1-9 或 14 的疫苗的肽或根据权利要求 10-13 或 15 的疫苗的肽/HLA 复合物。

17. 根据权利要求 16 的疫苗，其中核酸分子在载体中并包括重组构建体。

18. 根据权利要求 17 的疫苗，其中所述构建体适于在所选宿主系统中所述肽或肽/HLA 复合物的表达。

19. 一种载体，包含核酸分子，该核酸分子编码选自表 4 中所列那些的肽和任选地选自表 1 中所列那些的 HLA。

20. 由根据权利要求 19 的载体转化或转染的宿主细胞。

21. 细胞、质粒、病毒、活的生物体或其他载体，其中含有可表达地掺入的核酸分子，该核酸分子编码选自表 4 中所列那些的肽和任选地选自表 1 中所列那些的 HLA。

22. 制造疫苗的方法，该方法包括：培养用根据权利要求 19 的载体转化或转染的宿主细胞；并分离/纯化所得到的构建体产物。

23. 鉴定 HPV 特异性或肿瘤特异性的 CTL 或其 CTL 受体的方法，包括：

(a) 用至少一种肽培养含有 CTL 的样品，这种肽表示用 HPV 转化或转染所述宿主细胞时通过 HPV 蛋白降解的该宿主细胞蛋白的片段，借此所述肽最终在病毒感染细胞的表面上呈递；和

(b) 选择通过与其结合而识别所述肽的 CTL，在待鉴定 CTL 受体的情况下，确定结合所述肽的受体的性质。

24. 根据权利要求 23 的方法，其中肽选自表 4 中所列的那些。

25. 根据权利要求 23 或权利要求 24 的方法，其中 CTL 是 CD8<sup>+</sup> 细胞。

26. 根据权利要求 1-18 任一项的疫苗的用于治疗 HPV 相关疾病的用途。

27. 根据权利要求 26 的疫苗的用途, 其中疾病是以下的任何一种: 宫颈癌、头颈鳞状上皮细胞癌、非黑素瘤皮肤癌、肝癌、间皮瘤或前列腺癌。

28. 一种治疗方法, 该方法包括将根据权利要求 1-18 任一项的疫苗给药于待治疗的哺乳动物。

29. 根据权利要求 28 的方法, 其中哺乳动物是人。

30. 选自表 4 中所列的肽或编码这种肽的核酸分子。

31. 根据权利要求 30 的肽用作疫苗的用途。

32. 一种复合物, 包含: 至少一种表 4 中所示的肽, 与 HLA 共呈递肽相结合。

33. 根据权利要求 32 的复合物, 其中 HLA 肽选自表 1 中所示的那些。

34. 根据权利要求 32 或权利要求 33 的复合物, 其中 HLA 肽是 HLA-A 结合蛋白。

35. 根据权利要求 32-34 任一项的复合物, 其中 HLA 肽是 HLA-A 0201。

36. HPV 特异性肽用于生产 HPV 疫苗的用途, 其中所述肽是已经通过人乳头状瘤病毒癌蛋白降解的哺乳动物细胞蛋白的片段, 且该片段与 HLA 结合, 在转化或转染的 HPV 细胞表面上呈递, 借此通过 CTL 对这种肽 HLA 复合物的识别来导致免疫应答的引发。

## 含有来自宿主细胞蛋白的肽的 HPV 疫苗

### 技术领域

本发明涉及含有来自宿主细胞蛋白的肽的人乳头状瘤病毒 (HPV) 疫苗, 更特别地, 但不是排他地, 涉及对抗与 HPV 感染相关的癌症如宫颈癌、头颈癌和皮肤癌的疫苗。肽包括已经通过 HPV 蛋白如 E6 和 E7 靶向降解的宿主细胞蛋白的片段。此外, 本发明涉及新肽的鉴定及其用途。此外, 本发明涉及新的肽: 肽复合物及其用途。

### 背景技术

人乳头状瘤病毒 (HPV) 是非常常见的引起足部、手部、声带、口部和生殖器官组织异常生长的病毒。已经鉴定出 60 多种类型的 HPV, 每种类型都感染身体的某些部位。HPV 主要通过接触感染个体的身体来传播。在大多数情况中, HPV 在 1-2 年内消失, 实际上, 在感染过程中可能是亚临床的; 个体可能没有察觉到它们的感染。然而, 在少数情况中, HPV 可以进展和发展成癌症。

存在两种由 HPV 引起的异常组织: 湿疣 (疣) 和发育异常 (癌症前期)。可以在任何感染部位发现疣样生长并可能引起搔痒、灼烧或轻微的出血。在这些情况下, 可以开抗病毒霜剂的药方, 或, 有时, 可以通过冻烙 (破坏组织的冷冻) 或热烙术 (用电器械或激光处理烧掉疣) 来排除或破坏生长。

如果 HPV 感染进展成癌症, 则通过外科手术、放疗和化疗的结合来治疗癌症患者。然而, 放疗和化疗具有不仅破坏恶性细胞也破坏健康细胞的缺点, 并因此可引起严重的副作用, 而外科手术是侵入性的并使患者易受到继发性感染。这些副作用和风险是不利的, 且与此相联系的事实是这些治疗通常不成功, 导致大部分患者开始复发并因此表现为疾病。

因此清楚的是需要更有效的治疗，已经有人提出免疫系统的特异性可以用来对抗病毒感染的细胞。已经将这种概念称为“免疫治疗”。

特别地，已经证实癌症患者具有能够识别其肿瘤细胞的 T 细胞，但是这些细胞不会分裂和分化成能够杀伤这些细胞的细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL)。

细胞毒性 T 淋巴细胞杀伤“靶”细胞，如病毒感染的细胞，且还参与癌细胞的“免疫监视”。大部分 CTL 属于 T 细胞的 CD8<sup>+</sup>-亚类，并具有 T-细胞受体 (TCR)。在与 I 类主要组织相容性复合体 (MHC) 分子结合的细胞表面上表达时，这些 TCR 能够识别肽。在人中，每类 MHC 由多于一个基因座来表示；将这些称为人白细胞抗原 (HLA)。I 类 HLA 基因座是 HLA-A、-B、-C、-E、-F 和 -G。此外，每个 HLA 具有不同的等位基因，表 1 中列出了迄今为止已经鉴定的那些等位基因。

当 CTL 遇到其 TCR 对其具有特异性的抗原/MHC 复合物时，它进入细胞周期并通过几轮的有丝分裂，接着分化成效应/杀伤细胞。分化包括形成大量的含有细胞杀伤蛋白穿孔素和颗粒酶的修饰溶酶体。一旦 CTL 已经杀伤靶细胞，其大部分将死亡，尽管小部分变成如果抗原再出现可以快速应答该抗原的记忆细胞。

已经证实肿瘤反应性细胞毒性 T 淋巴细胞介导动物模型 (1) 和人 (2) 中的肿瘤退化，因此对使用肿瘤特异性 CTL 作为用于人癌症的免疫治疗存在着兴趣。

在这方面，已经证实单克隆抗体针对一些癌症是有效的，尤其是白细胞癌，且瞄准与癌细胞相关的分子或受体。表 2 列出了这些抗体中的一些及其作用机制。

另外，树突细胞疫苗已经用于引发肿瘤特异性 CTL 应答。树突细胞是最有效的抗原呈递细胞且它们通过吞噬抗原，将其加工成肽并呈递给 T 细胞来起作用。为了制备树突细胞疫苗，收集树突细胞，体外暴露于与患者肿瘤类型相关的抗原，然后将它们再注射至患者体内。迄今为止，这些疫苗已经显示出对抗黑色素瘤、前列腺癌和淋巴瘤的一些成功的希望。

理想地，这些疫苗靶向在癌细胞，而不是健康细胞上表达的分子。然而，一直难以找到这样的肿瘤特异性抗原，因此目前使用的许多免疫剂也靶向健康细胞，希望这些细胞最终会复原。如同放疗和化疗一样，这种治疗也会引起严重的副作用，还导致自体免疫的潜能(3)。实际上，在端粒酶疫苗的情况中，这种蛋白还存在于骨髓的干细胞、生殖器官和可能其他组织中。此外，一些树突细胞所接触的抗原包括酪氨酸酶，发现于一些黑素细胞中，或前列腺酸性磷酸酶(PAP)，发现于前列腺细胞中。

因此清楚的是需要其他的病毒疗法，尤其是用于那些具有晚期疾病的未能响应常规病毒或癌症治疗的患者。

最近，许多研究已经表明肿瘤细胞中某些蛋白的高水平表达足以使得 CTL 能够区分肿瘤细胞和正常细胞(4, 5)。

避免肿瘤免疫治疗中自体免疫的一种方法是靶向 15%的与病毒相关的人恶性肿瘤。这些恶性肿瘤中最强烈相关的是宫颈癌和人乳头瘤状病毒，99.7%的宫颈癌含有 HPV DNA(6)。存在超过 25 种感染生殖器粘膜并引起恶性肿瘤如宫颈癌、头颈癌和皮肤癌的 HPV。这些“高危”HPV 的特征在于至少两个致癌基因产物：E6 和 E7，其发挥作用使上皮细胞在子宫颈中无限增殖和转化。认为这些蛋白的表达对保持癌细胞的转化表型是必要的，因此这些非自体病毒蛋白对于 CTL 介导的免疫治疗是有吸引力的靶。

可以通过接种疫苗来诱导有效对抗 HPV E6/E7 的 CTL(7)，且在癌变前的宫颈疾病(8)或癌症(9)患者中检测到这样的具有可变出现率的 CTL。然而，一直难以在体外产生这些 CTL，可能是因为它们以低频率出现(10)。使用这些蛋白作为肿瘤特异性靶的主要限制在于它们在癌细胞中以低水平表达(11)。此外，E6 和 E7 蛋白自身较小并含有很少的适于 CTL 识别的抗原决定部位(12)。

### 发明内容

本发明的目的在于通过以下方法克服这些问题，即，鉴定且然后

靶向由 CTL 识别的肽，该肽对 HPV 转化的细胞是特异性的且极不可能引起自体免疫。这些肽在 HPV 转化的细胞中是唯一呈递的或超量呈递的，且产生这些肽的蛋白在 HPV 转化的细胞中通常是不存在的或看来似乎以非常低的水平被表达。相反，这些蛋白在正常细胞中以正常或高水平出现。

本发明是基于 HPV E6 和 E7 癌蛋白用来介导宿主细胞蛋白特别是如成视网膜细胞瘤蛋白 (Rb)、C-MYC 和 HMCM7 (参见表 3) 的靶向降解的机理，所述的靶向降解发生于感染细胞的转化过程中。

众所周知，HPV 癌蛋白结合并促进宿主细胞蛋白如 Rb 的降解。因此，HPV 转化的宫颈癌的分析揭示了没有全长 Rb 蛋白的明显表达，而正常细胞具有高细胞水平的 Rb 蛋白，因为它通常不受蛋白水解性降解 (13)。

已经证实 Rb 蛋白通过遍在蛋白依赖性蛋白水解系统来降解 (13)，且新近，已经众所周知的是称为蛋白酶体的胞内细胞器与 E6 或 E7 癌蛋白相互作用后，在介导宿主细胞蛋白的降解 (18, 19) 中起作用。

我们已经认识到以下事实：例如遍在化蛋白底物通过蛋白酶体的降解可能是主要的机理，通过该机理产生由 CTL 识别的肽 (20, 21)。例如，在病毒感染的细胞中，细胞质中新合成的病毒蛋白通过蛋白酶体降解成肽片段。这些肽通过与抗原加工相关的转运蛋白 (TAP) 转运到内质网 (ER) 中。一旦在 ER 之内，肽将结合游离的 I 类 MHC 分子和  $\beta 2$  微球蛋白来形成成熟的 MHC/肽复合物。将这种复合物转运至细胞表面，在那里其可以被 CTL 所识别。图 1 显示了该过程的图示。

因此，本发明是基于以下的理论：在 HPV 转化的细胞中，Rb 蛋白 (和其他蛋白，参见表 3) 将被靶向而降解、加工，它的肽将作为可以被 CTL 识别的肽在细胞表面上得到呈递。在非 HPV 转化的细胞或正常细胞中，这些蛋白不会得到显著的降解，因此这些肽不能有效地供 CTL 识别。因此，与正常细胞相反，HPV 转化的细胞应当在肽 HLA 复合物中具有高水平的例如 Rb 衍生的肽，其通常在细胞表面上得到共同呈递，但是全长蛋白的胞内水平较低 (图 2)。

使用宿主细胞蛋白作为免疫治疗的靶不是新奇的。然而，之前的一切情况下，这种方法均依赖于与正常细胞相比较，肿瘤中蛋白的超表达。例如，宿主细胞蛋白如 p53(5)、Wilms 转录因子(WT1)、Her2/Neu(16)和 hTert(17)已被推荐为“肿瘤特异性”抗原，因为所有这些蛋白都在肿瘤细胞中得到超表达。据我们所知，这是第一次将 HPV 或癌症疫苗瞄准“肿瘤特异性”蛋白，更特别的是它的肽，与正常细胞相比较，它们以正常的、低的或不可检测的水平在 HPV 转化的细胞中得到表达。

之前，为了使 CTL 能够区分肿瘤细胞和正常细胞，认为高水平的抗原表达是有利的。

此外，到现在为止 HPV 疫苗包含由 HPV 产生的蛋白，而不是被该病毒靶向降解的宿主蛋白。

总而言之，本发明依赖于肽在细胞表面上相对高水平的呈递而不一定依赖于相应蛋白质在病毒感染的细胞中的相对高水平的表达或明显表达。实际上，肿瘤特异性蛋白的低水平表达或无表达通常表明该蛋白正在受到病毒蛋白的靶向降解，因此以低胞内水平存在，但降解后，在细胞膜上呈递，因此可用作 CTL 识别的肽。

因此，本发明的一方面中，提供了疫苗，包含：至少一种分离的、纯化的、合成的或重组的肽，其中肽是通过人乳头状瘤病毒癌蛋白降解，并给药于哺乳动物时可以引发 CTL 应答的宿主细胞蛋白的片段。

在此提及的已经通过人乳头状瘤病毒癌蛋白降解的细胞蛋白包括已经通过 HPV 癌蛋白选择性靶向降解的蛋白，并因此包括在 HPV 转化的细胞中将会得到选择性靶向降解的蛋白或以最典型地但非排他地通过遍在蛋白途径直接或间接被降解的方式受到人 HPV 癌蛋白作用的蛋白。

本发明优选的实施方案中，哺乳动物是人。

优选，癌蛋白是 E6 或 E7。

宿主细胞蛋白可以是被病毒蛋白如 E6 或 E7 降解的任何蛋白，且表 3 列出了目前已知的被 E6 或 E7 靶向降解的那些蛋白。

优选地，肽是 HPV-特异性的或肿瘤特异性的，意思是相对于正常细胞，其在 HPV 转化的细胞或肿瘤细胞的细胞表面上大量呈递。

更优选地，肽是 9 至 30 个氨基酸长。

或者，肽可以是 9 至 11 个氨基酸长。

CTL 应答优选是 HPV 特异性或肿瘤特异性的 CTL 应答，意思是 CTL 可以识别表达疫苗的肽的 HPV 转化的细胞或肿瘤细胞。

更优选地，疫苗含有一种或多种表 4 中所示的肽 (SEQ ID NO: 1-163)。

再更优选地，疫苗含有上述任一种肽加上含有主要组织相容性复合体分子的另一种蛋白或肽，理想地，I 类分子，更具体地，人白细胞抗原 (HLA)，再更理想地，选自表 1 的 HLA。

本发明的另一方面中，提供了疫苗，包含：至少一种分离的、纯化的、合成的或重组的肽，其中肽选自表 4 中所列的那些。

本发明的另一方面中，提供了疫苗，包含：至少一种选自表 4 的分离的、纯化的、合成的或重组的肽，和此外至少一种选自表 1 中所列那些的分离的、纯化的、合成的或重组的 HLA。

本发明另一方面中，提供了疫苗，包含：至少一种编码任一种如上所述的肽或肽/HLA 复合物的分离的、纯化的、合成的或重组的核酸分子。

该实施方案中，核酸分子可以是含有重组构建体的载体形式。理想地，所述构建体适于所述疫苗在所选宿主系统中的表达。宿主系统是细胞、质粒、病毒、活的生物体或其他相似的载体。

根据本发明的再一方面，提供了用本发明的载体转化或转染的宿主细胞。

此外，本发明提供了制造疫苗的方法，该方法包括：培养用如上所述的含有重组构建体的载体转化或转染的宿主细胞；并分离/纯化所得到的构建体产物。

本发明的肽还可以用于在体外产生和分离 HPV 特异性的或肿瘤特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞或其 T 细胞受体或编码所述受体的基因，

用于获得性免疫治疗中。例如这可以通过用至少一种上述的肽培养 T 淋巴细胞来进行。

根据本发明的再一方面，提供了鉴定 HPV 特异性或肿瘤特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的方法，包括：

(a) 用至少一种肽培养含有细胞毒性 T 淋巴细胞的样品，这种肽表示用 HPV 转化或转染所述宿主细胞时通过 HPV 蛋白降解的该宿主细胞蛋白的片段，借此所述肽最终在病毒感染细胞的表面上呈递；和

(b) 选择通过与其结合而识别所述肽的 CTL。

本发明优选的方法中，所述肽是选自表 4 中所示目录的一种。本发明另一优选的方法中，CTL 是 CD8<sup>+</sup> 细胞。

本领域技术人员清楚的是可以使用上述方法来进一步鉴定 CTL 受体。

本发明可以用于治疗 HPV 相关疾病，特别是癌症，优选宫颈癌、头颈鳞状上皮细胞癌、非黑素瘤皮肤癌、肝癌、间皮瘤或前列腺癌。

此外，本发明还提供了治疗方法，该方法包括将如上所述的疫苗给药于待治疗的哺乳动物。理想地，哺乳动物是人。

根据本发明的再一方面，提供了选自表 4 中所示目录的肽或编码这种肽的核酸分子。

本发明再一实施方案中，所述肽用作疫苗，特别是用作 HPV 疫苗来治疗 HPV 相关病症。

根据本发明的另一方面，提供了含有至少一种表 4 中所列的肽与 HLA 共呈递肽相结合的复合物。

更优选地，HLA 肽是表 1 中所列的肽之一，更具体地是 HLA-A 结合蛋白，再更具体地是 HLA-A 0201。

根据本发明的再一方面，提供了 HPV 特异性肽用于生产 HPV 疫苗的用途，其中所述肽是已经通过人乳头瘤状病毒癌蛋白降解的哺乳动物细胞蛋白的片段，并且其与 HLA 结合，在转化的或转染的 HPV 细胞的表面上呈递，借此通过细胞毒性 T 淋巴细胞对这种肽 HLA 复合物的识别来导致免疫应答的引发。

### 附图说明

现在将通过以下的实施例并参照以下的附图来描述本发明,其中:

图 1 显示了人乳头状瘤病毒转化的细胞中宿主细胞蛋白的 T 细胞识别的机理。

图 2 显示了正常细胞和 HPV 转化的细胞中宿主细胞肽呈递的差异。

图 3 显示了宿主蛋白衍生的肽的 HLA-A2 结合。具体地,用 100  $\mu$ g 测试肽孵育过夜后,用流式细胞计来监视 T2 细胞的 HLA-A\*0201 表达。每个肽重复测试四份。认为高于 50%的 HLA-A\*0201 表达提高%是显著的;

图 4 显示了对抗源自人 Rb 蛋白的肽的体内 T 细胞应答的产生。具体地,用 100  $\mu$ g 乳化于不完全弗氏佐剂中的测试肽使 HLA-A2/Kb 转基因小鼠免疫。每种肽测试两至四只小鼠。十至十一天后,将小鼠处死并在 ELISPOT 测定中测试脾细胞。这些测定测量了产生 IFN  $\gamma$  的对免疫肽特异的 T 细胞的数量(斑点)。在至少两个进一步重复实验中证实了阳性结果。显示了测试 M1<sub>58-66</sub>、Rb1、Rb7 和 BAK18 肽的 1 个实验的代表性数据;

图 5 显示了可以在健康 HLA-A2<sup>+</sup>捐献者中检测到识别 Rb7 的 CD8<sup>+</sup>T 细胞。具体地,用 Rb7(画面 C&D)或 Melan-A/Mart1<sub>26-35</sub>(画面 A&B)肽培养 CD8<sup>+</sup>T 细胞 14 天。在第 0 天和第 14 天,使用合适的荧光化肽:HLA-A2 五聚物来测量肽特异性 CD8<sup>+</sup>T 细胞的数量。在流式细胞器上分析这些细胞的数量并以门控细胞的%表示,不包括死细胞和 CD14<sup>+</sup>细胞。显示了捐献者 5 的结果(来自表 4);和

图 6 显示了在健康捐献者中可以检测到识别 Rb7 的功能性 CD8<sup>+</sup>T 细胞。具体地,富集来自 HLA-A2<sup>+</sup>健康捐献者的外周血淋巴细胞中的 CD8<sup>+</sup>T 细胞,然后用 Rb7 肽和抗原呈递细胞(APC)培养 14 天。收集培养过的细胞并在酶联免疫斑点(ELISPOT)测定中测试来测量能够响应 Rb7 肽而分泌 IFN  $\gamma$  的 T 细胞的数量。七名捐献者中的三名(A、B、C)能够产生显著的应答(T 细胞+Rb7+PBMC 的斑点数>超出 T 细胞+PBMC

的 2 个标准偏差)。

### 具体实施方式

#### 实施例 1

选择来自 15 种蛋白的 9 或 10 个氨基酸的候选肽来用于分析，参见表 4 中的肽的详尽目录。根据公开的算法 (33, 34)，选择了一百零二个预测结合 HLA-A\*0201 的肽。(表 4)。我们使用的算法以前已经成功地用于预测其他肿瘤特异性 CTL 抗原决定部位 (17)。我们选择了 HLA-A\*0201 作为共同呈递的肽，因为这是高加索人中最常见的 HLA 等位基因 (~40%)，且存在定义明确的体内和体外模型系统来帮助证实概念实验。从 102 种肽的初始目录中，合成了 62 种用于测试。

#### 测试肽与 HLA-A\*0201 的结合

CTL 识别结合细胞表面上的 HLA I 类分子的肽。因此，肽必须表明结合 HLA 是有用的。这可以使用基于细胞的测量由结合所致的 HLA-A\*0201 表达提高的测定法来测量。

将基于细胞的肽结合测定法 ((35)) 用来说明大部分 (43/62) 的候选肽能结合 HLA-A\*0201 (表 3, 图 3)。

#### 宿主蛋白衍生的肽的 HLA-A2 结合

用 100  $\mu$ g 测试肽孵育过夜后，用流式细胞计来监视 T2 细胞的 HLA-A\*0201 表达。将每种肽重复测试四份。认为高于 50% 的 HLA-A\*0201 表达的百分比提高是显著的。

可以将所观察到的结合水平分类为强或中等，并可与两个公知的 HLA-A\*0201 限制性 CTL 抗原决定部位 (流感 M1 和 EBV BMFL1) 相比较 (图 3)。

选择了 43 种显示出 HLA-A\*0201 表达的提高高于 50% 的肽作为在免疫原性实验中测试的候选物。

### 测试小鼠的体内免疫原性

我们已经使用 HLA\*A0201 转基因小鼠来测试可能的人疫苗 (36)。可以用肽和佐剂一起免疫这些小鼠来监视体内应答的发生。使用 ELISPOT 测定法检测这些应答来测量脾脏内分泌 IFN- $\gamma$  的肽特异性 T 细胞的数量。

使用来自 Rb (6)、Mupp1 (7)、BAK (3)、DLG (2)、AP (2) 蛋白的 20 种肽来进行测试。基于肽结合强度 (图 3) 来选择所有的肽。将来自流感的 M1<sub>58-66</sub> 肽, 一种已知的 HLA-A\*0201 结合剂, 用作阳性对照。与该阳性对照 M1<sub>58-66</sub> 肽 (7/12 小鼠) 和来自 Rb<sub>485-493</sub> (Rb7) 蛋白的肽 (7/10 小鼠) 相对比, 观察到显著的 T 细胞应答。结果显示于图 4 中。

### 使用人 T 淋巴细胞测试体外免疫原性

候选肽必须能够激活可以识别和杀伤癌细胞的人 T 淋巴细胞。我们在宫颈癌患者的外周血中检测到肽特异性 T 细胞。这证明了这类肽尽管源自“自体”蛋白但可以是免疫原性的概念。

### 肽特异性 T 细胞的检测

对抗本发明的肽的 T 细胞应当优先发现于 HLA-A2<sup>+</sup> 宫颈癌患者中。测试了 4 名患者的血样 (3 名患宫颈癌, 1 名患癌变前的疾病, CIN3) 中识别 Rb7 肽的 CD8<sup>+</sup> T 细胞的存在。将荧光化的多聚体 HLA-A2/肽复合物用于通过流式细胞计测量肽特异性 T 细胞的数量 (10)。该测定表明了可以在 2 名宫颈癌患者的血液检测到低出现率的 Rb7 肽特异性 T 细胞。这些出现率与以前对于 HPV16 E7 肽特异性 T 细胞获得的出现率相似 (10)。这提示了分离并繁殖 Rb 特异性 T 细胞用于进一步的实验应当是可能的。

使用上述的技术, 在健康捐献者中也可以容易地检测到识别某些“自体”肿瘤抗原如 melan-A 的 T 淋巴细胞 (50)。然而, 通常的情况是在健康捐献者中难以检测到识别“自体”抗原的 T 淋巴细胞。使用合适的荧光化多聚体 (五聚物), 测试了 8 名健康捐献者的血样 (全部

HLA-A2+) 中识别 Rb7 肽和 melan-A 肽的 CD8<sup>+</sup> T 细胞的存在。在所有 8 名健康捐献者中能够以可变的但通常较低频率检测到识别 Rb7 肽的 T 淋巴细胞(表 6)。相反, 针对 melan-A 的 T 淋巴细胞应答频率非常高, 证实了以前的报道(50)。在捐献者 5 中发现了 Rb7 特异性 T 淋巴细胞的最高出现率(图 5)。

上述测定表明在患者和健康捐献者中都可以检测到识别 Rb7 的人 T 细胞。将 ELISPOT 测定法用于确定来自健康捐献者的培养的 Rb7 肽特异性 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞是否能够分泌 IFN- $\gamma$ 。测试了七名健康捐献者, 其中 3 名捐献者显示了可检测数量的分泌 IFN- $\gamma$  的 T 淋巴细胞(图 5)。

全部这些结果表明通过 HPV 加工产生的宿主细胞蛋白片段, 如 Rb7 肽, 对于人 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞是免疫原性的, 并可以引发功能性(IFN- $\gamma$  分泌)应答。这提示了分离并繁殖大量 Rb 特异性 T 细胞用于实验或临床治疗用途应当是可能的。

### 于 2005 年 7 月确定的 HLA I 类等位基因的详尽目录

HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-E	HLA-F	HLA-G
A*01010101	B*070201	Cw*010201	E*01010101	F*010101	G*010101
A*01010102N	B*070202	Cw*010202	E*01010102	F*010102	G*010102
A*010102	B*070203	Cw*010203	E*01030101		G*010103
A*010103	B*070204	Cw*0103	E*01030102		G*010104
A*0102	B*0703	Cw*0104	E*010302		G*010105
A*0103	B*0704	Cw*0105	E*010303		G*010106
A*0104N	B*0705	Cw*0106	E*010304		G*010107
A*0106	B*0706	Cw*0107	E*0104		G*010108
A*0107	B*0707	Cw*0108			G*0102
A*0108	B*0708	Cw*0109			G*0103
A*0109	B*0709	Cw*0110			G*010401
A*0110	B*0710	Cw*0111			G*010402
A*0111N	B*0711	Cw*020201			G*010403
A*0112	B*0712	Cw*020202			G*0105N
A*0113	B*0713	Cw*020203			G*0106
A*0114	B*0714	Cw*020204			
A*0115N	B*0715	Cw*020205			
A*02010101	B*0716	Cw*0203			
A*02010102L	B*0717	Cw*0204			
A*020102	B*0718	Cw*0205			
A*020103	B*0719	Cw*0206			
A*020104	B*0720	Cw*0207			
A*020105	B*0721	Cw*0208			
A*020106	B*0722	Cw*0209			
A*020107	B*0723	Cw*0210			
A*020108	B*0724	Cw*0211			
A*020109	B*0725	Cw*0212			
A*020110	B*0726	Cw*030201			
A*020111	B*0727	Cw*030202			
A*0202	B*0728	Cw*030301			
A*020301	B*0729	Cw*030302			
A*020302	B*0730	Cw*030303			
A*0204	B*0731	Cw*030304			
A*0205	B*0732	Cw*030401			
A*020601	B*0733	Cw*030402			
A*020602	B*0734	Cw*030403			
A*020603	B*0735	Cw*0305			
A*0207	B*0736	Cw*0306			
A*0208	B*0737	Cw*0307			

A*0209	B*0738	Cw*0308			
A*0210	B*0739	Cw*0309			
A*0211	B*0740	Cw*0310			
A*0212	B*0741	Cw*0311			
A*0213	B*0742	Cw*0312			
A*0214	B*0743	Cw*0313			
A*0215N	B*080101	Cw*0314			
A*0216	B*080102	Cw*0315			
A*021701	B*0802	Cw*0316			
A*021702	B*0803	Cw*0317			
A*0218	B*0804	Cw*0318			
A*0219	B*0805	Cw*0319			
A*022001	B*0806	Cw*04010101			
A*022002	B*0807	Cw*04010102			
A*0221	B*0808N	Cw*040102			
A*0222	B*0809	Cw*040103			
A*0224	B*0810	Cw*0403			
A*0225	B*0811	Cw*040401			
A*0226	B*0812	Cw*040402			
A*0227	B*0813	Cw*0405			
A*0228	B*0814	Cw*0406			
A*0229	B*0815	Cw*0407			
A*0230	B*0816	Cw*0408			
A*0231	B*0817	Cw*0409N			
A*0232N	B*0818	Cw*0410			
A*0233	B*0819N	Cw*0411			
A*0234	B*0820	Cw*0412			
A*023501	B*0821	Cw*0413			
A*023502	B*0822	Cw*0414			
A*0236	B*0823	Cw*0415			
A*0237	B*0824	Cw*0416			
A*0238	B*0825	Cw*0417			
A*0239	B*1301	Cw*050101			
A*0240	B*130201	Cw*050102			
A*0241	B*130202	Cw*0502			
A*0242	B*1303	Cw*0503			
A*0243N	B*1304	Cw*0504			
A*0244	B*1306	Cw*0505			
A*0245	B*1307N	Cw*0506			
A*0246	B*1308	Cw*0507N			
A*0247	B*1309	Cw*0508			
A*0248	B*1310	Cw*0509			
A*0249	B*1311	Cw*0510			
A*0250	B*1312	Cw*0511			

A*0251	B*1313	Cw*0602			
A*0252	B*1401	Cw*0603			
A*0253N	B*140201	Cw*0604			
A*0254	B*140202	Cw*0605			
A*0255	B*1403	Cw*0606			
A*0256	B*1404	Cw*0607			
A*0257	B*1405	Cw*0608			
A*0258	B*140601	Cw*0609			
A*0259	B*140602	Cw*0610			
A*0260	B*1407N	Cw*0611			
A*0261	B*15010101	Cw*0612			
A*0262	B*15010102N	Cw*0613			
A*0263	B*150102	Cw*070101			
A*0264	B*150103	Cw*070102			
A*0265	B*150104	Cw*070103			
A*0266	B*150105	Cw*07020101			
A*0267	B*1502	Cw*07020102			
A*0268	B*1503	Cw*07020103			
A*0269	B*1504	Cw*0703			
A*0270	B*1505	Cw*070401			
A*0271	B*1506	Cw*070402			
A*0272	B*1507	Cw*0705			
A*0273	B*1508	Cw*0706			
A*027401	B*1509	Cw*0707			
A*027402	B*1510	Cw*0708			
A*0275	B*151101	Cw*0709			
A*0276	B*151102	Cw*0710			
A*0277	B*1512	Cw*0711			
A*0278	B*1513	Cw*0712			
A*0279	B*1514	Cw*0713			
A*0280	B*1515	Cw*0714			
A*0281	B*1516	Cw*0715			
A*0282N	B*15170101	Cw*0716			
A*0283N	B*15170102	Cw*0717			
A*0284	B*151702	Cw*0718			
A*0285	B*1518	Cw*0719			
A*0286	B*1519	Cw*0720			
A*03010101	B*1520	Cw*0721			
A*03010102N	B*1521	Cw*0722			
A*03010103	B*1523	Cw*0723			
A*030102	B*1524	Cw*0724			
A*030103	B*1525	Cw*0725			
A*030104	B*1526N	Cw*0726			
A*0302	B*1527	Cw*0727			

A*0303N	B*1528	Cw*0728		
A*0304	B*1529	Cw*0729		
A*0305	B*1530	Cw*0730		
A*0306	B*1531	Cw*080101		
A*0307	B*1532	Cw*080102		
A*0308	B*1533	Cw*0802		
A*0309	B*1534	Cw*0803		
A*0310	B*1535	Cw*0804		
A*0311N	B*1536	Cw*0805		
A*0312	B*1537	Cw*0806		
A*0313	B*1538	Cw*0807		
A*0314	B*1539	Cw*0808		
A*0315	B*1540	Cw*0809		
A*0316	B*1542	Cw*0810		
A*0317	B*1543	Cw*0811		
A*110101	B*1544	Cw*0812		
A*110102	B*1545	Cw*120201		
A*110103	B*1546	Cw*120202		
A*110104	B*1547	Cw*120203		
A*110105	B*1548	Cw*120301		
A*1102	B*1549	Cw*120302		
A*1103	B*1550	Cw*120303		
A*1104	B*1551	Cw*120401		
A*1105	B*1552	Cw*120402		
A*1106	B*1553	Cw*1205		
A*1107	B*1554	Cw*1206		
A*1108	B*1555	Cw*1207		
A*1109	B*1556	Cw*1208		
A*1110	B*1557	Cw*1209		
A*1111	B*1558	Cw*1210		
A*1112	B*1560	Cw*1211		
A*1113	B*1561	Cw*1212		
A*1114	B*1562	Cw*1213		
A*1115	B*1563	Cw*1214		
A*1116	B*1564	Cw*1215		
A*1117	B*1565	Cw*140201		
A*1118	B*1566	Cw*140202		
A*1119	B*1567	Cw*140203		
A*1120	B*1568	Cw*140204		
A*1121N	B*1569	Cw*1403		
A*1122	B*1570	Cw*1404		
A*1123	B*1571	Cw*1405		
A*2301	B*1572	Cw*1406		
A*2302	B*1573	Cw*1407N		

A*2303	B*1574	Cw*150201			
A*2304	B*1575	Cw*150202			
A*2305	B*1576	Cw*1503			
A*2306	B*1577	Cw*1504			
A*2307N	B*1578	Cw*150501			
A*2308N	B*1579N	Cw*150502			
A*2309	B*1580	Cw*150503			
A*2310	B*1581	Cw*150504			
A*2311N	B*1582	Cw*1506			
A*2312	B*1583	Cw*1507			
A*24020101	B*1584	Cw*1508			
A*24020102L	B*1585	Cw*1509			
A*240202	B*1586	Cw*1510			
A*240203	B*1587	Cw*1511			
A*240204	B*1588	Cw*1512			
A*240205	B*1589	Cw*1513			
A*240206	B*1590	Cw*1514			
A*240301	B*1591	Cw*160101			
A*240302	B*1592	Cw*160102			
A*2404	B*1593	Cw*1602			
A*2405	B*1594N	Cw*160401			
A*2406	B*1595	Cw*1606			
A*2407	B*1596	Cw*1607			
A*2408	B*1597	Cw*1701			
A*2409N	B*1598	Cw*1702			
A*2410	B*1599	Cw*1703			
A*2411N	B*180101	Cw*1801			
A*2413	B*180102	Cw*1802			
A*2414	B*1802				
A*2415	B*1803				
A*2417	B*1804				
A*2418	B*1805				
A*2419	B*1806				
A*2420	B*1807				
A*2421	B*1808				
A*2422	B*1809				
A*2423	B*1810				
A*2424	B*1811				
A*2425	B*1812				
A*2426	B*1813				
A*2427	B*1814				
A*2428	B*1815				
A*2429	B*1817N				
A*2430	B*1818				

A*2431	B*1819				
A*2432	B*1820				
A*2433	B*2701				
A*2434	B*2702				
A*2435	B*2703				
A*2436N	B*270401				
A*2437	B*270402				
A*2438	B*270502				
A*2439	B*270503				
A*2440N	B*270504				
A*2441	B*270505				
A*2442	B*270506				
A*2443	B*270507				
A*2444	B*270508				
A*2445N	B*270509				
A*2446	B*2706				
A*2447	B*2707				
A*2448N	B*2708				
A*2449	B*2709				
A*2450	B*2710				
A*2451	B*2711				
A*2452	B*2712				
A*2453	B*2713				
A*250101	B*2714				
A*250102	B*2715				
A*2502	B*2716				
A*2503	B*2717				
A*2504	B*2718				
A*260101	B*2719				
A*260102	B*2720				
A*260103	B*2721				
A*260104	B*2723				
A*2602	B*2724				
A*2603	B*2725				
A*2604	B*2726				
A*2605	B*2727				
A*2606	B*2728				
A*260701	B*2729				
A*260702	B*2730				
A*2608	B*350101				
A*2609	B*350102				
A*2610	B*350103				
A*2611N	B*350104				
A*2612	B*350201				

A*2613	B*350202				
A*2614	B*3503				
A*2615	B*350401				
A*2616	B*350402				
A*2617	B*3505				
A*2618	B*3506				
A*2619	B*3507				
A*2620	B*3508				
A*2621	B*350901				
A*2622	B*350902				
A*2623	B*3510				
A*2624	B*3511				
A*2625N	B*3512				
A*2626	B*3513				
A*29010101	B*351401				
A*29010102N	B*351402				
A*290201	B*3515				
A*290202	B*3516				
A*290203	B*3517				
A*2903	B*3518				
A*2904	B*3519				
A*2905	B*3520				
A*2906	B*3521				
A*2907	B*3522				
A*2908N	B*3523				
A*2909	B*3524				
A*2910	B*3525				
A*2911	B*3526				
A*2912	B*3527				
A*2913	B*3528				
A*2914	B*3529				
A*300101	B*3530				
A*300102	B*3531				
A*300201	B*3532				
A*300202	B*3533				
A*300203	B*3534				
A*3003	B*3535				
A*3004	B*3536				
A*3006	B*3537				
A*3007	B*3538				
A*3008	B*3539				
A*3009	B*3540N				
A*3010	B*3541				
A*3011	B*3542				

A*3012	B*3543				
A*3013	B*3544				
A*3014L	B*3545				
A*3015	B*3546				
A*310102	B*3547				
A*3102	B*3548				
A*3103	B*3549				
A*3104	B*3550				
A*3105	B*3551				
A*3106	B*3552				
A*3107	B*3553N				
A*3108	B*3554				
A*3109	B*3555				
A*3110	B*3556				
A*3111	B*3557				
A*3112	B*3558				
A*3201	B*3559				
A*3202	B*3560				
A*3203	B*3561				
A*3204	B*3701				
A*3205	B*3702				
A*3206	B*3703N				
A*3207	B*3704				
A*3208	B*3705				
A*3209	B*3706				
A*3210	B*3707				
A*3301	B*3708				
A*330301	B*3709				
A*330302	B*3801				
A*3304	B*380201				
A*3305	B*380202				
A*3306	B*3803				
A*3307	B*3804				
A*3308	B*3805				
A*3401	B*3806				
A*3402	B*3807				
A*3403	B*3808				
A*3404	B*3809				
A*3405	B*3810				
A*3406	B*3811				
A*3601	B*39010101				
A*3602	B*39010102L				
A*3603	B*390103				
A*3604	B*390104				

A*4301	B*390201				
A*6601	B*390202				
A*6602	B*3903				
A*6603	B*3904				
A*6604	B*3905				
A*680101	B*390601				
A*680102	B*390602				
A*680103	B*3907				
A*6802	B*3908				
A*680301	B*3909				
A*680302	B*3910				
A*6804	B*3911				
A*6805	B*3912				
A*6806	B*391301				
A*6807	B*391302				
A*6808	B*3914				
A*6809	B*3915				
A*6810	B*3916				
A*6811N	B*3917				
A*6812	B*3918				
A*6813	B*3919				
A*6814	B*3920				
A*6815	B*3922				
A*6816	B*3923				
A*6817	B*3924				
A*6818N	B*3925N				
A*6819	B*3926				
A*6820	B*3927				
A*6821	B*3928				
A*6822	B*3929				
A*6823	B*3930				
A*6824	B*3931				
A*6825	B*3932				
A*6826	B*3933				
A*6827	B*3934				
A*6828	B*400101				
A*6901	B*400102				
A*7401	B*400103				
A*7402	B*400104				
A*7403	B*400105				
A*7404	B*400201				
A*7405	B*400202				
A*7406	B*400203				
A*7407	B*4003				

A*7408	B*4004				
A*7409	B*4005				
A*7410	B*40060101				
A*7411	B*40060102				
A*8001	B*400602				
	B*4007				
	B*4008				
	B*4009				
	B*4010				
	B*4011				
	B*4012				
	B*4013				
	B*401401				
	B*401402				
	B*401403				
	B*4015				
	B*4016				
	B*4018				
	B*4019				
	B*4020				
	B*4021				
	B*4022N				
	B*4023				
	B*4024				
	B*4025				
	B*4026				
	B*4027				
	B*4028				
	B*4029				
	B*4030				
	B*4031				
	B*4032				
	B*4033				
	B*4034				
	B*4035				
	B*4036				
	B*4037				
	B*4038				
	B*4039				
	B*4040				
	B*4042				
	B*4043				
	B*4044				
	B*4045				

	B*4046				
	B*4047				
	B*4048				
	B*4049				
	B*4050				
	B*4051				
	B*4052				
	B*4053				
	B*4054				
	B*4055				
	B*4056				
	B*4057				
	B*4058				
	B*4059				
	B*4060				
	B*4061				
	B*4101				
	B*4102				
	B*4103				
	B*4104				
	B*4105				
	B*4106				
	B*4107				
	B*4201				
	B*4202				
	B*4204				
	B*420501				
	B*420502				
	B*4206				
	B*44020101				
	B*44020102S				
	B*440202				
	B*440203				
	B*440301				
	B*440302				
	B*4404				
	B*4405				
	B*4406				
	B*4407				
	B*4408				
	B*4409				
	B*4410				
	B*4411				
	B*4412				

	B*4413				
	B*4414				
	B*4415				
	B*4416				
	B*4417				
	B*4418				
	B*4419N				
	B*4420				
	B*4421				
	B*4422				
	B*4423N				
	B*4424				
	B*4425				
	B*4426				
	B*4427				
	B*4428				
	B*4429				
	B*4430				
	B*4431				
	B*4432				
	B*4433				
	B*4434				
	B*4435				
	B*4436				
	B*4437				
	B*4438				
	B*4439				
	B*4440				
	B*4441				
	B*4442				
	B*4501				
	B*4502				
	B*4503				
	B*4504				
	B*4505				
	B*4506				
	B*4507				
	B*4601				
	B*4602				
	B*4603				
	B*4604				
	B*4605				
	B*47010101				
	B*47010102				

	B*4702				
	B*4703				
	B*4704				
	B*4705				
	B*4801				
	B*4802				
	B*4803				
	B*4804				
	B*4805				
	B*4806				
	B*4807				
	B*4808				
	B*4809				
	B*4810				
	B*4811				
	B*4812				
	B*4813				
	B*4901				
	B*4902				
	B*4903				
	B*4904				
	B*5001				
	B*5002				
	B*5004				
	B*510101				
	B*510102				
	B*510103				
	B*510104				
	B*510105				
	B*510106				
	B*510107				
	B*510201				
	B*510202				
	B*5103				
	B*5104				
	B*5105				
	B*5106				
	B*5107				
	B*5108				
	B*5109				
	B*5110				
	B*5111N				
	B*5112				
	B*511301				

	B*511302				
	B*5114				
	B*5115				
	B*5116				
	B*5117				
	B*5118				
	B*5119				
	B*5120				
	B*5121				
	B*5122				
	B*5123				
	B*5124				
	B*5126				
	B*5127N				
	B*5128				
	B*5129				
	B*5130				
	B*5131				
	B*5132				
	B*5133				
	B*5134				
	B*5135				
	B*5136				
	B*5137				
	B*5138				
	B*520101				
	B*520102				
	B*520103				
	B*520104				
	B*5202				
	B*5203				
	B*5204				
	B*5205				
	B*5206				
	B*5207				
	B*5208				
	B*530101				
	B*530102				
	B*530103				
	B*5302				
	B*5303				
	B*5304				
	B*5305				
	B*5306				

	B*5307				
	B*5308				
	B*5309				
	B*5310				
	B*5401				
	B*5402				
	B*5403				
	B*5404				
	B*5405N				
	B*5406				
	B*5407				
	B*550101				
	B*550102				
	B*5502				
	B*5503				
	B*5504				
	B*5505				
	B*5507				
	B*5508				
	B*5509				
	B*5510				
	B*5511				
	B*5512				
	B*5513				
	B*5514				
	B*5515				
	B*5516				
	B*5517				
	B*5518				
	B*5519				
	B*5601				
	B*5602				
	B*5603				
	B*5604				
	B*560501				
	B*560502				
	B*5606				
	B*5607				
	B*5608				
	B*5609				
	B*5610				
	B*5611				
	B*5612				
	B*5613				

	B*5614				
	B*5615				
	B*5616				
	B*570101				
	B*570102				
	B*570103				
	B*5702				
	B*570301				
	B*570302				
	B*5704				
	B*5705				
	B*5706				
	B*5707				
	B*5708				
	B*5709				
	B*5801				
	B*5802				
	B*5804				
	B*5805				
	B*5806				
	B*5807				
	B*5808				
	B*5809				
	B*5810N				
	B*5811				
	B*5901				
	B*670101				
	B*670102				
	B*6702				
	B*7301				
	B*7801				
	B*780201				
	B*780202				
	B*7803				
	B*7804				
	B*7805				
	B*8101				
	B*8102				
	B*8201				
	B*8202				
	B*8301				
	B*9501				
	B*9502				
	B*9503				
	B*9504				

表 2: 用于治疗癌症的单克隆抗体, 它们的靶和作用机制

单克隆抗体的名称	靶/作用机制
美罗华 (Rituxan®)	用于治疗 B-细胞淋巴瘤, 通过结合存在于所有 B 细胞上的 CD20 分子来起作用。
Herceptin®	结合 HER2, 发现于一些肿瘤细胞如乳癌和淋巴瘤细胞上的一种生长因子受体。
阿仑单抗 (MabCampath®)	用于治疗慢性淋巴细胞白血病。结合在所有白细胞上发现的 CD52 分子。
Lym-1 (Oncolym®)	用于治疗淋巴瘤。结合在淋巴瘤细胞上发现的组织相容性抗原。
贝伐单抗 (Avastin®)	用于治疗肿瘤。结合血管内皮细胞生长因子, 其发现于健康细胞以及恶性细胞中。
西妥昔单抗 (Erbix®)	用于治疗结肠直肠癌。结合表皮生长因子受体, 其也发现于正常上皮细胞上。
端粒酶抗体	一般用于治疗癌症。结合端粒酶, 这是引起癌细胞使通常的凋亡机制无效的蛋白。该蛋白也存在于正常细胞上。

表 3: 已知结合 HPV E6 或 E7 蛋白后被靶向降解的宿主细胞蛋白。

宿主细胞*	HPV 蛋白	其他名称	基因名称	登录号	功能	位置	参考文献
成视网膜细胞瘤 1	E7	成视网膜细胞瘤易感性蛋白	RB1	M15400	细胞周期调节, 肿瘤抑制因子	核	(19)
E6AP	E6	人乳头状瘤病毒 E6 相关蛋白 (E6AP), 在蛋白连接酶 E3A (UBE3A)	UBE3A	AF002224	蛋白水解, 结合 HPV16&18 E6 来靶向 p53 降解, 还可以靶向自身来通过化和降解	胞质	(24)
C-MYC	E6	v-myc 髓细胞组织增生病毒致癌基因同源物 (鸟类), myc 原致癌基因产物	MYC	AY214166	细胞周期, 基因转录	核	(25)
HSCRIB	E6	Scribbled 同源物, vartul	SCRIB	AY062238	细胞周期	膜	(26)
HMM7	E6	微型染色体维持缺陷 7, CDC47	MCM7	AB004270	DNA 复制	核	(27)
MAGI1	E6	膜相关鸟苷酸激酶, 含有 WW 和 PDZ 结构域的 1, BAIAP1, BAP1, MAGI-1, AIP3	MAGI1	AB010894	信号传导, 紧密连接, 细胞粘附	膜	(28)
SIPALL1	E6	信号诱导的增殖相关 1 例如 1, E6 靶向蛋白 1 (E6TP1)	SIPALL1	AB007900	GTP 酶激活蛋白	膜	(29)
DLG1	E6	圆盘, 大的同源物 1 (DLG1, HDLG), 突触相关蛋白 97 (SAP97), hdlg	DLG1	U13897	细胞生长, 粘附, 信号传导	膜	(30)
BAK	E6	BCL2-拮抗剂/杀伤者 1	BAK1	U23765	促凋亡的, 在合适的刺激物存在下, 结合 BCL-2 来加速细胞死亡	膜	(31)
MPDZ	E6	多个 PDZ 结构域蛋白 (MUPP1)	MPDZ	AF093419	形成紧密连接	膜	(32)
MCM7	E6	0-6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶	MCM7	M29971	DNA 修复	核	(33)
MAGI-2	E6	膜相关鸟苷酸激酶, 含有 WW 和 PDZ 结构域的 2, 活化素受体相互作用蛋白 1 (ARIP1)	MAGI2	AB014605	与 magi-1 相同	膜	(34)
MAGI-3	E6	膜相关鸟苷酸激酶, 含有 WW 和 PDZ 结构域的 3	MAGI3	AF213259	与 magi-1 相同	膜	(34)
马铃薯球蛋白	E6	结节性硬化症 2 (TSC2)	TSC2	AB014460	肿瘤抑制因子, GTP 酶信号传导	膜	(35)
N-MYC	E6	v-myc 髓细胞组织增生病毒相关致癌基因, 成神经细胞瘤产生的 (鸟类), N-MYC 原致癌基因蛋白	MYCN	M13228	肿瘤抑制因子	膜	(25)

\*以其一致同意的标准名称而不是公布的名称来列出蛋白质。

表 4: 宿主细胞蛋白和 HLA-A\*0201 结合肽

蛋白质	起始位置	序列	T0.5	编号
成视网膜细胞瘤	563	WLSDsPLFDL	5375	1
成视网膜细胞瘤	475	KLLNdNIFHM	858	2
成视网膜细胞瘤	75	WLTWeKVSSV	736	3
成视网膜细胞瘤	646	SLSLFYKKV	396	4
成视网膜细胞瘤	447	KLGVrLYYRV	365	5
成视网膜细胞瘤	218	LMLCvLDYFI	261	6
成视网膜细胞瘤	485	SLLACALEV	257	7
成视网膜细胞瘤	157	VLFALFSKL	255	8
成视网膜细胞瘤	648	SLFYkKVYRL	182	9
成视网膜细胞瘤	824	KMTPrSRILV	176	10
成视网膜细胞瘤	679	IiWTIFQHTL	157	11
成视网膜细胞瘤	188	ALVLKVSWI	132	12
成视网膜细胞瘤	76	LTWEKVSSV	129	13
成视网膜细胞瘤	703	IMMCSMYGI	109	14
成视网膜细胞瘤	900	KLAEmTSTRT	107	15
成视网膜细胞瘤	219	MLCVLDYFI	98	16
BAK	150	FLGQvTRFVv	761	17
BAK	129	ALLGFGYRL	300	18
BAK	188	ILNVVVLGV	272	19
BAK	182	NLGNgPILNV	160	20
BAK	195	VLLGQFVv	91	21
BAK	191	VLVvIGVvLL	84	22
BAK	145	GLTGFLGQV	79	23
DLG	355	ALYDRLADV	2099	24
DLG	275	NLHGvFVAEV	608	25
DLG	345	GLPGDSFYI	333	26
DLG	148	QLLEfNGINL	324	27
DLG	666	VLWIPACPL	301	28
DLG	497	VLILgPLLDV	272	29
DLG	301	LILEyGSLDV	247	30
DLG	480	SLAYqRVQKV	160	31
DLG	498	LILGPLLDV	138	32
DLG	178	ILAQYNPHV	118	33
E6AP	127	YLTEeKVYEI	453	34
E6AP	449	FINEPLNEV	415	35
E6AP	748	YLFRpEEIEL	364	36
E6AP	657	VLYQSLKDL	267	37
E6AP	785	VLIREFWEI	253	38

蛋白质	起始位置	序列	T0.5	编号
E6AP	226	KLGPDDVSV	243	39
E6AP	283	YLNLFIIIGM	200	40
E6AP	785	VLIReFWEIV	153	41
E6AP	477	FMTCPFILNA	144	42
E6AP	262	YLSPnVECDL	98	43
C-MYC	133	CMWSgFSAAA	113	44
C-MYC	68	GLCSpSYVAV	104	45
C-MYC	177	YLQDLSAAA	94	46
C-MYC	133	CMWSGFSA	57	47
MUPP1	745	LLPGdRLMFV	1496	48
MUPP1	692	AMWEaGIQHI	590	49
MUPP1	607	LLGENHQDV	485	50
MUPP1	981	YLLEQSSLA	347	51
MUPP1	1650	LLGAIHHEV	272	52
MUPP1	814	GLADkPLFRA	272	53
MUPP1	606	TLLGeNHQDV	257	54
MUPP1	1547	SLLKtAKMTV	257	55
MUPP1	1772	ILMVNGEDV	214	56
MUPP1	1524	KVGdQILAV	201	57
MUPP1	1766	LMQGdQILMV	196	58
MUPP1	592	KLFSGDELL	136	59
MUPP1	87	TLQNESFLL	124	60
MUPP1	312	GMSSeQVAQV	116	61
MUPP1	751	LMFVNDVNL	97	62
E6TP1	855	SMGAIVWAV	867	63
E6TP1	886	VLIEqETKSV	485	64
E6TP1	960	GLGQLGFHV	403	65
E6TP1	877	LLGIsNEFIV	281	66
E6TP1	1009	QMIDILRTSV	206	67
E6TP1	1592	VLFSsTYPST	202	68
E6TP1	783	FLLAKVINA	194	69
E6TP1	45	SLGSsVMAPV	160	70
E6TP1	641	FLQLGERV	157	71
E6TP1	339	ILFDLNEAI	132	72
E6TP1	1522	KLIDLESPT	107	73
MAGI-1	69	LLLevQGVRV	1794	75
MAGI-1	262	TLQEIALPPV	656	76
MAGI-1	1054	KVGDRILAV	201	77
MAGI-1	161	FLTVkEFLDL	187	78
MAGI-1	80	GLPRyDVLGV	160	79
MAGI-1	717	LLVQrGGLPV	118	80
MAGI-1	527	VLGHThAQV	118	81

蛋白质	起始位置	序列	T0.5	编号
MCM7		356 RLAQHITYV	880	82
MCM7		335 LLSRfDLLWL	459	83
MCM7		60 KMQEHSQV	353	84
MCM7		259 VLADqGVCCI	167	85
MCM7		439 ALARIRMVDV	160	86
MCM7		381 KLMRrYIAMC	148	87
MCM7		178 LLLLLVGGV	131	88
MCM7		481 ALDEyEELNV	114	89
MCM7		273 KMAEaDRTAI	108	90
Vartul		713 KLLEvNGVAL	1134	91
Vartul		99 SLPAsLSFLV	403	92
Vartul		348 YLLPQQPPL	364	93
Vartul		229 ILTErLLMAL	342	94
Vartul		244 KLTKJTNLNV	243	95
Vartul		15 FMQLVELDV	231	96
Vartul		1199 KLDYrALAAV	224	97
Vartul		68 ALNDvSLQAL	201	98
Vartul		63 SLAHIALNDV	160	99
Vartul		992 ILAVNGQDV	118	100
Vartul		849 VLSINGVDV	118	101
Vartul		129 ALPNIRELWL	117	102
MGMT		98 VLWKLKVV	925	
MGMT		161 GLAVKEWLL	160	
MGMT		167 WLLAheGHRL	364	
MGMT		89 FQQEsFTRQV	101	
N-Myc	421	VILKkATEYV	162	
	440	LLLEkEKLQA	128	
	446	KLQArQQQLL	75	
MAGI-2	65	LLLEvNETPV	1794	
	993	KLIKdAGLSV	243	
	970	KVGDRILAV	201	
	43	YLGEvKPGKV	171	
	76	GLTirDVLAV	160	
	528	AIMERPPPV	145	
	751	AIYESRQQV	125	
	481	VLGHThADV	118	
	639	GLCEGDLIV	117	
	65	LLLEvNETPV	1794	
	993	KLIKdAGLSV	243	
	970	KVGDRILAV	201	
	43	YLGEvKPGKV	171	
	76	GLTirDVLAV	160	
	528	AIMERPPPV	145	
	751	AIYESRQQV	125	
	481	VLGHThADV	118	
	639	GLCEGDLIV	117	

MAGI-3		70 VLLEvNGTPV	1794
		502 FQLVpVNQYV	660
		503 QLVPVNQYV	383
		11 WLSKvQECAV	320
		923 KVGDHISAV	201
		726 KLDPSEVYL	164
		654 NLTHIQVVEV	160
		200 FQPDPVDQV	150
		1067 NMGLFILRL	135
		1121 LLLLrPGTGL	134
		1122 LLLRPGTGL	134
		499 VQMFQLVPV	102
		70 VLLEvNGTPV	98
		502 FQLVpVNQYV	91
		503 QLVPVNQYV	85
		11 WLSKvQECAV	79
马铃薯球蛋白	464	KVLDVLSFV	4088
	176	FLLVLVNLV	2723
	1060	WLVGnKLVTV	736
	291	LLRGAVFFV	659
	1702	IVSDrNLPFV	537
	80	ALWKAVADL	408
	1208	WLMSLENPL	364
	688	LLFRvLLQCL	309
	117	GVLRaLFFKV	248
	1065	KLVTVTTSV	243
	464	KVLDvLSFVL	236
	155	YLEEeLADFV	226
	258	KLMRNLLGT	222
	1033	YVFSNFTAV	197
	235	SLPLFIVTL	187
	612	LQAFdFLFLL	187
	617	FLFLIRADSL	178
	506	KLATqLLVDL	172
	360	ILLNIIERL	151

表 5: 肽结合的汇总表

来源蛋白	肽结合的数目
BAK	6/7
DLG	7/10
CMYC	2/4
E6AP	9/10
MUPP1	13/15
成视网膜细胞瘤	6/16
总计	43/62

表 6: 健康志愿者中识别 Rb 肽的 CD8<sup>+</sup> T 细胞的出现率

富集来自 HLA-A2<sup>+</sup>健康捐献者的外周血淋巴细胞中的 CD8<sup>+</sup>T 细胞，然后用 Rb7 肽和抗原呈递细胞 (APC) 或 Melan-A (Mart1<sub>26-35</sub>) 肽培养 14 天。收获细胞并用 HLA-A2/Rb7 五聚物或 HLA-A2/Melan-A 五聚物来测试。用流式细胞计来测量 CD8<sup>+</sup>五聚物<sup>+</sup>T 淋巴细胞的数量，不包括死细胞和 CD14<sup>+</sup>细胞。

CD8<sup>+</sup>五聚物<sup>+</sup>细胞的出现率

捐献者	Rb	Melan A
1	1/2500	1/24
2	1/1000	1/4
3	1/1000	1/3
4	1/909	1/3
5	1/120	1/4
6	1/3333	1/208
7	1/2000	1/3
8	1/2500	1/3

## 参考文献

1. Mandelboim, O., E. Vadai, M. Fridkin, A. Katz-Hillel, M. Feldman, G. Berke, and L. Eisenbach. 1995. Regression of established murine carcinoma metastases following vaccination with tumour-associated antigen peptides. *Nature Medicine*. 1:1179.
2. Heslop, H. E., and C. M. Rooney. 1997. Adoptive cellular immunotherapy for EBV lymphoproliferative disease. *Immunological Reviews* 157:217.
3. Overwijk, W. W., D. S. Lee, D. R. Surman, K. R. Irvine, C. E. Touloukian, C. C. Chan, M. W. Carroll, B. Moss, S. A. Rosenberg, and N. P. Restifo. 1999. Vaccination with a recombinant vaccinia virus encoding a "self" antigen induces autoimmune vitiligo and tumor cell destruction in mice: requirement for CD4(+) T lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:2982.
4. Gao, L., I. Bellantuono, A. Elsassner, S. B. Marley, M. Y. Gordon, J. M. Goldman, and H. J. Stauss. 2000. Selective elimination of leukemic CD34(+) progenitor cells by cytotoxic T lymphocytes specific for WT1. *Blood* 95:2198.
5. Theobald, M., J. Biggs, D. Dittmer, A. J. Levine, and L. A. Sherman. 1996. Targeting p53 as a general tumour antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:11993.
6. Walboomers, J. M., M. V. Jacobs, M. M. Manos, F. X. Bosch, J. A. Kummer, K. V. Shah, P. J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, and N. Munoz. 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *Journal of Pathology* 189:12.
7. Borysiewicz, L. K., A. Fiander, M. Nimako, S. Man, G. W. G. Wilkinson, D. Westmoreland, A. S. Evans, M. Adams, S. N. Stacey, M. E. G. Bournsnel, E. Rutherford, J. K. Hickling, and S. C. Inglis. 1996. A recombinant vaccinia virus encoding human papillomavirus type 16 and type 18, e6 and e7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 347:1523.
8. Nimako, M., A. N. Fiander, G. W. Wilkinson, L. K. Borysiewicz, and S. Man. 1997. Human papillomavirus-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Cancer Res* 57:4855.
9. Evans, E. M., S. Man, A. S. Evans, and L. K. Borysiewicz. 1997. Infiltration of cervical cancer tissue with human papillomavirus-specific cytotoxic T-lymphocytes. *Cancer Res* 57:2943.
10. Youde, S. J., P. R. Dunbar, E. M. Evans, A. N. Fiander, L. K. Borysiewicz, V. Cerundolo, and S. Man. 2000. Use of fluorogenic histocompatibility leukocyte antigen-A\*0201/HPV 16 E7 peptide complexes to isolate rare human cytotoxic T-lymphocyte-recognizing endogenous human papillomavirus antigens. *Cancer Res* 60:365.
11. Frazer, I. H., R. Thomas, J. Zhou, G. R. Leggatt, L. Dunn, N. McMillan, R. W. Tindle, L. Filgueira, P. Manders, P. Barnard, and M. Sharkey. 1999. Potential strategies utilised by papillomavirus to evade host immunity. *Immunological Reviews* 168:131.

12. Khammanivong, V., X. S. Liu, W. J. Liu, S. J. Rodda, G. R. Leggatt, R. W. Tindle, I. H. Frazer, and G. J. Fernando. 2003. Paucity of functional CTL epitopes in the E7 oncoprotein of cervical cancer associated human papillomavirus type 16. *Immunol Cell Biol* 81:1.
13. Scheffner, M., Munger K, Huibregtse JM, and H. PM. 1992. Targeted degradation of the retinoblastoma protein by human papillomavirus E7-E6 fusion proteins. *European Molecular Biology Organisation Journal* 11:2425.
14. Scheffner, M., B. A. Werness, J. M. Huibregtse, A. J. Levine, and P. M. Howley. 1990. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63:1129.
15. Higashitsuji, H., K. Itoh, T. Nagao, S. Dawson, K. Nonoguchi, T. Kido, R. J. Mayer, S. Arii, and J. Fujita. 2000. Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic ankyrin-repeat protein overexpressed in hepatomas. *Nature Medicine* 6:96.
16. Rongcun, Y., F. Salazar-Onfray, J. Charo, K. Malmberg, K. Evrin, H. Maes, K. Kono, C. Hising, M. Petersson, O. Larsson, L. Lan, E. Appella, A. Sette, E. Celis, and R. Kiessling. 1999. Identification of New HER2/neu-Derived Peptide Epitopes That Can Elicit Specific CTL Against Autologous and Allogeneic Carcinomas and Melanomas 1. *The Journal of Immunology*,,: 163:1037–1044.
17. Vonderheide, R. H., W. C. Hahn, J. L. Schultze, and L. M. Nadler. 1999. The telomerase catalytic subunit is a widely expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 10:673.
18. Berezutskaya, E., and S. Bagchi. 1997. The human papillomavirus E7 oncoprotein functionally interacts with the S4 subunit of the 26 S proteasome *J Biol Chem* 272:30135.
19. Boyer, S. N., D. E. Wazer, and V. Band. 1996. E7 protein of human papilloma virus 16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin proteasome pathway. *Cancer research* 56:4620.
20. Michalek, M. T., E. P. Grant, C. Gramm, A. L. Goldberg, and K. L. Rock. 1993. A role for the ubiquitin-dependent proteolytic pathway in MHC class I-restricted antigen presentation. *Nature* 363:552.
21. Cerundolo, V., A. Benham, V. Braud, S. Mukherjee, K. Gould, B. Macino, J. Neefjes, and A. Townsend. 1997. The proteasome-specific inhibitor lactacystin blocks presentation of cytotoxic T lymphocyte epitopes in human and murine cells. *Eur J Immunol* 27:336.
22. Vierboom, M., S. Zwaveling, G. Bos, M. Ooms, G. Kriete-meijer, C. Melief, and R. Offringa. 2000. High Steady-State Levels of p53 Are Not a Prerequisite for Tumor Eradication by Wild-Type p53-specific Cytotoxic T Lymphocytes. *Cancer Research* 60:5508–5513.
23. Vierboom, M. P., H. W. Nijman, R. Offringa, E. I. van der Voort, T. van Hall, L. van den Broek, G. J. Fleuren, P. Kenemans, W. M. Kast, and C. J. Melief. 1997. Tumor eradication by wild-type p53-specific cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine* 186:695.

24. Kao, W. H., S. L. Beaudenon, A. L. Talis, J. M. Huibregtse, and P. M. Howley. 2000. Human Papillomavirus Type 16 E6 Induces Self-Ubiquitination of the E6AP Ubiquitin-Protein Ligase. *J. Virol.* 74:6408.
25. Gross-Mesilaty, S., E. Reinstein, B. Bercovich, K. E. Tobias, A. L. Schwartz, C. Kahana, and A. Ciechanover. 1998. Basal and human papillomavirus E6 oncoprotein-induced degradation of Myc proteins by the ubiquitin pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:8058.
26. Nakagawa, S., and J. M. Huibregtse. 2000. Human scribble (Vartul) is targeted for ubiquitin-mediated degradation by the high-risk papillomavirus E6 proteins and the E6AP ubiquitin- protein ligase. *Mol Cell Biol* 20:8244.
27. Kuhne, C., and L. Banks. 1998. E3-ubiquitin ligase/E6-AP links multicopy maintenance protein 7 to the ubiquitination pathway by a novel motif, the L2G box. *J Biol Chem* 273:34302.
28. Glaunsinger, B. A., S. S. Lee, M. Thomas, L. Banks, and R. Javier. 2000. Interactions of the PDZ-protein MAGI-1 with adenovirus E4-ORF1 and high- risk papillomavirus E6 oncoproteins. *Oncogene* 19:5270.
29. Gao, Q., L. Singh, A. Kumar, S. Srinivasan, D. E. Wazer, and V. Band. 2001. Human papillomavirus type 16 E6-induced degradation of E6TP1 correlates with its ability to immortalize human mammary epithelial cells. *J Virol* 75:4459.
30. Pim, D., M. Thomas, R. Javier, D. Gardiol, and L. Banks. 2000. HPV E6 targeted degradation of the discs large protein: evidence for the involvement of a novel ubiquitin ligase *Oncogene* 19:719.
31. Thomas, M., and L. Banks. 1998. Inhibition of Bak-induced apoptosis by HPV-18 E6. *Oncogene* 17:2943.
32. Lee, S., B. Glaunsinger, F. Mantovani, L. Banks, and R. Javier. 2000. Multi-PDZ Domain Protein MUPP1 Is a Cellular Target for both Adenovirus E4-ORF1 and High-Risk Papillomavirus Type 18 E6 Oncoproteins. *Journal of Virology* 74:9680–9693.
33. Srivenugopal, K. S., and F. Ali-Osman. 2002. The DNA repair protein, O(6)-Methylguanine-DNA methyltransferase is a proteolytic target for the E6 human papillomavirus oncoprotein. *Oncogene* 21:5940.
34. Thomas, M., R. Laura, K. Hepner, E. Guccione, C. Sawyers, L. Lasky, and L. Banks. 2002. Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the MAGI-2 and MAGI-3 proteins for degradation. *Oncogene* 21:5088.
35. Lu, Z., X. Hu, Y. Li, L. Zheng, Y. Zhou, H. Jiang, T. Ning, Z. Basang, C. Zhang, and Y. Ke. 2004. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein interferences with insulin signaling pathway by binding to tuberin. *J Biol Chem In press*.
36. Parker, K. C., M. A. Bednarek, L. K. Hull, U. Utz, B. Cunningham, H. J. Zweerink, W. E. Biddison, and J. E. Coligan. 1992. Sequence motifs important for peptide binding to the human MHC class I molecule, HLA-A2. *Journal of Immunology* 149:3580.
37. Engelhard, V. H. 1994. Structure of peptides associated with MHC class I molecules. *Current Opinion in Immunology* 6:13.

38. Ellis, J. R., P. J. Keating, J. Baird, E. F. Hounsell, D. V. Renouf, M. Rowe, D. Hopkins, M. F. Duggan-Keen, J. S. Bartholomew, L. S. Young, and P. L. Stern. 1995. The association of an HPV16 oncogene variant with HLA-B7 has implications for vaccine design in cervical cancer. *Nature Medicine* 1:464.
39. Faulkner, L., L. K. Borysiewicz, and S. Man. 1998. The use of human leucocyte antigen class I transgenic mice to investigate human immune function. *J Immunol Methods* 221:1.
40. Dunbar, P., J. Chen, D. Chao, N. Rust, H. Teisserenc, G. Ogg, P. Romero, P. Weynants, and V. Cerundolo. 1999. Rapid cloning of tumour specific CTL suitable for adoptive immunotherapy of melanoma. *Journal of Immunology* 162:6959.
41. Rooney, C. M., C. A. Smith, C. Y. C. Ng, S. K. Loftin, J. W. Sixbey, Y. Gan, D. K. Srivastava, L. C. Bowman, R. A. Krance, M. K. Brenner, and H. E. Heslop. 1998. Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of epstein-barr virus-induced lymphoma in allogeneic transplant recipients *Blood* 92:1549.
42. Stanislawski, T., R. H. Voss, C. Lotz, E. Sadovnikova, R. A. Willemsen, J. Kuball, T. Ruppert, R. L. Bolhuis, C. J. Melief, C. Huber, H. J. Stauss, and M. Theobald. 2001. Circumventing tolerance to a human MDM2-derived tumor antigen by TCR gene transfer. *Nat Immunol* 2:962.
43. Shah, K. V. 1998. Do human papillomavirus infections cause oral cancer? *J Natl Cancer Inst* 90:1585.
44. Shamanin, V., H. zur Hausen, D. Lavergne, C. M. Proby, I. M. Leigh, C. Neumann, H. Hamm, M. Goos, U.-F. Haustein, E. G. Jung, G. Plewig, H. Wolff, and E.-M. de Villiers. 1996. Human papillomavirus infections in nonmelanoma skin cancers from renal transplant recipients and nonimmunosuppressed patients. *Journal of the National Cancer Institute* 88:802.
45. Kiviat, N. B. 1999. Papillomaviruses in non-melanoma skin cancer: epidemiological aspects. *Semin Cancer Biol* 9:397.
46. Man, S., and A. Fiander. 2001. Immunology of human papillomavirus infection in lower genital tract neoplasia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 15:701.
47. Palefsky, J. M. 1997. Cutaneous and genital HPV-associated lesions in HIV-infected patients. *Clin Dermatol* 15:439.
48. De Luca, A., A. Baldi, V. Esposito, C. M. Howard, L. Bagella, P. Rizzo, M. Caputi, H. I. Pass, G. G. Giordano, F. Baldi, M. Carbone, and A. Giordano. 1997. The retinoblastoma gene family pRb/p105, p107, pRb2/p130 and simian virus-40 large T-antigen in human mesotheliomas *Nature Medicine* 3:913.
49. Li, B., and Q. P. Dou. 2000. Bax degradation by the ubiquitin/proteasome-dependent pathway: involvement in tumor survival and progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:3850.
50. Pittet, M. J., Valmori, D., Dunbar, P. R., Speiser, D. E., Linard, D., Lejeune, F., Fleischhauer, K., Cerundolo, V., Cerottini, J. C., and Romero, P. 1999. High Frequencies of Naive Melan-A/MART-1-specific CD8(+) T

Cells in a Large Proportion of Human. Histocompatibility Leukocyte Antigen (HLA)-A2 Individuals. *Journal of Experimental Medicine* 190:705-716.

图1

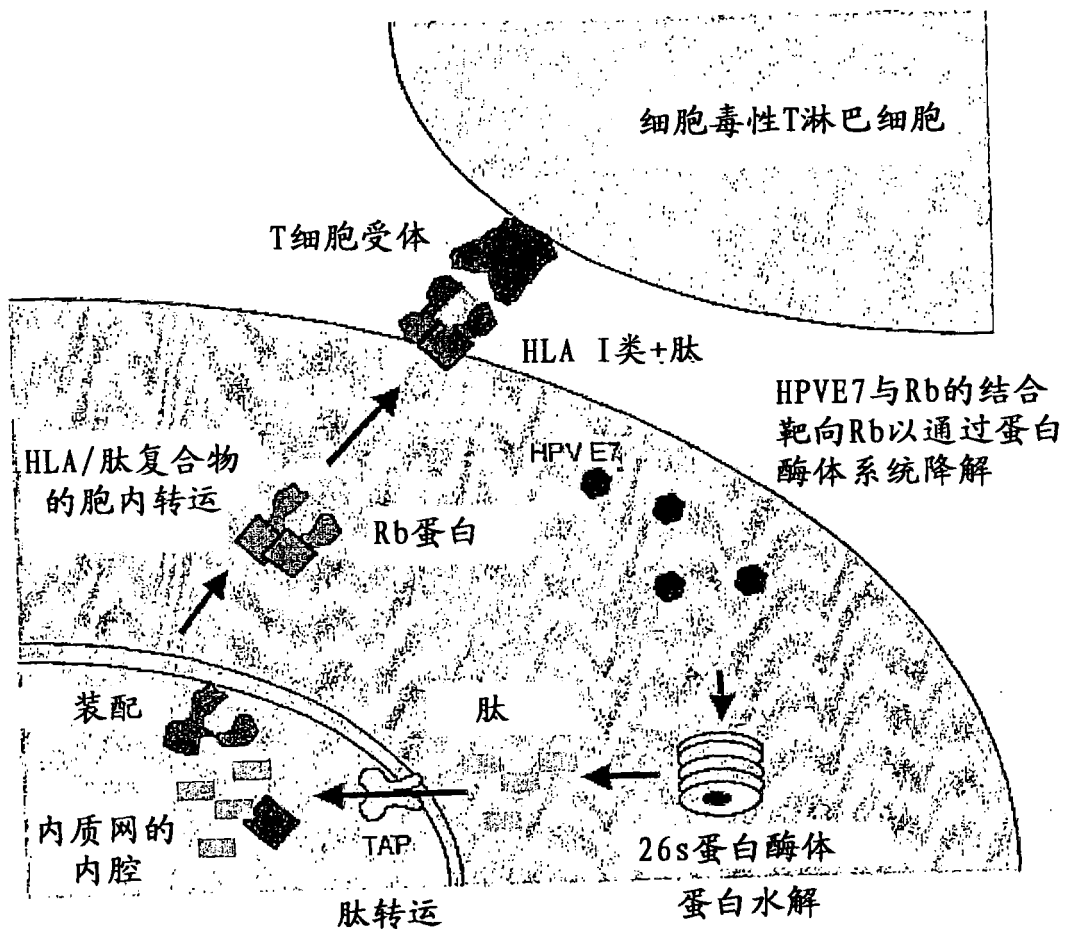


图2

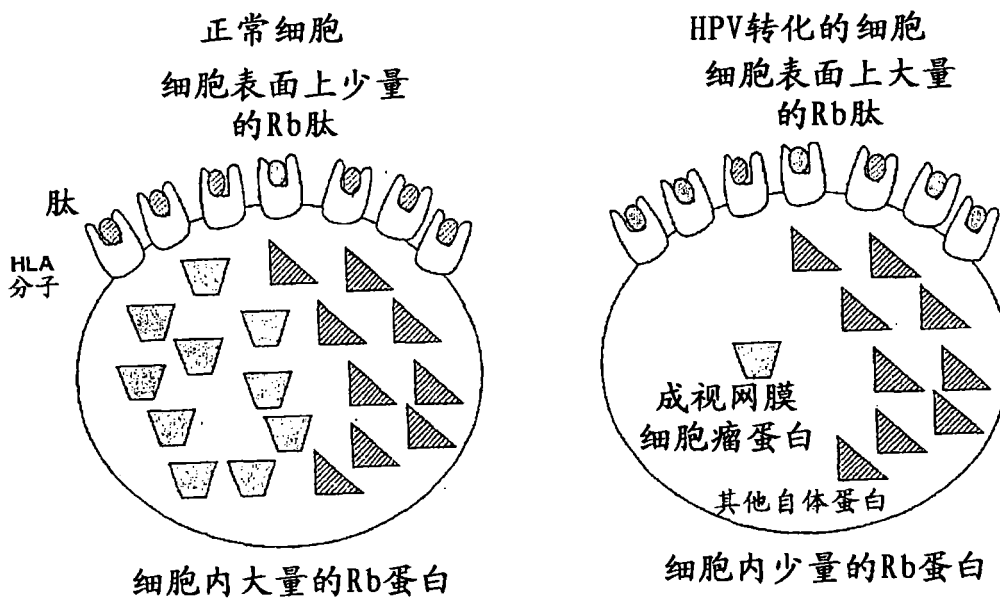


图3

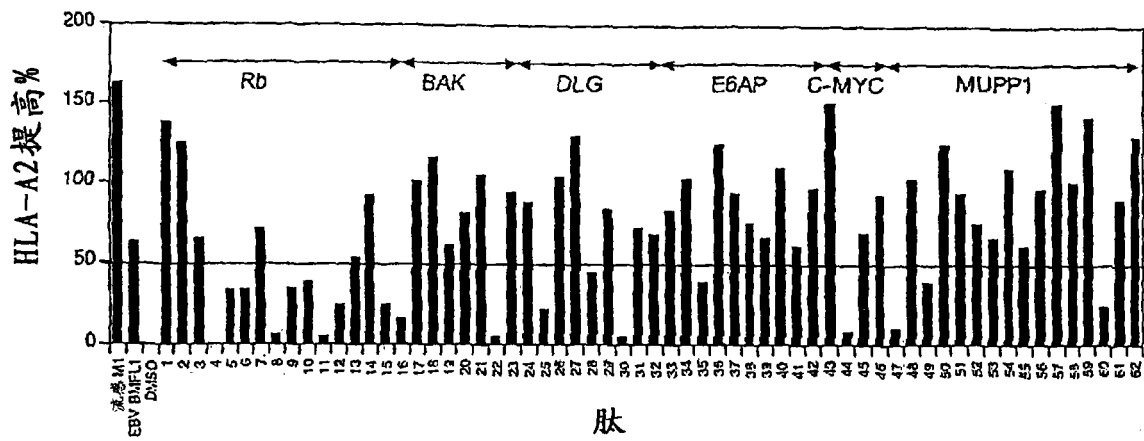


图 4

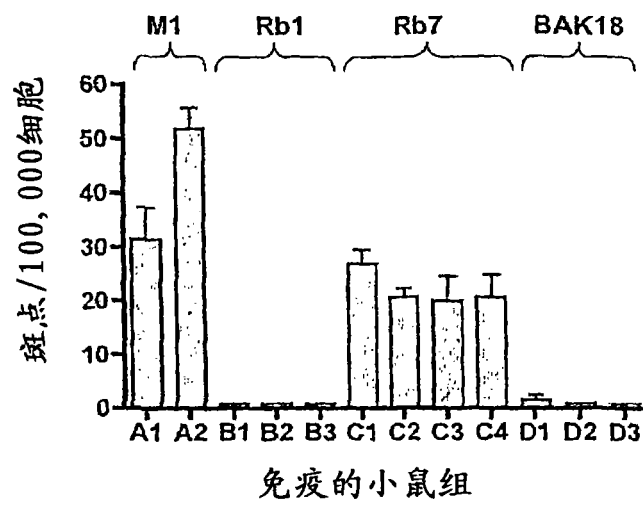


图5

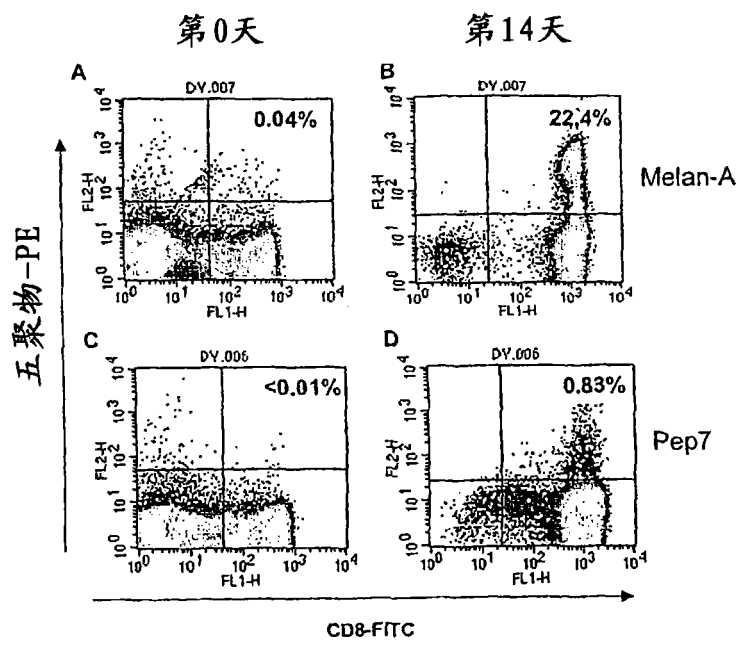
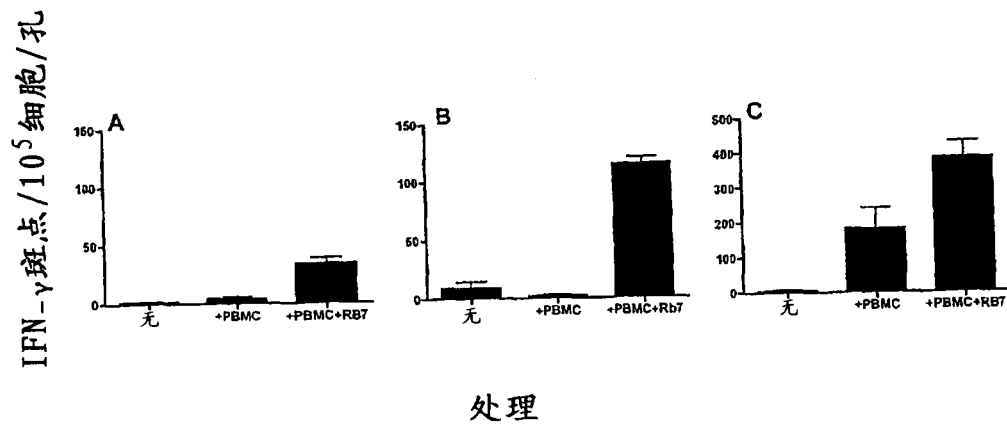


图6



专利名称(译)	含有来自宿主细胞蛋白的肽的HPV疫苗		
公开(公告)号	<a href="#">CN101027317A</a>	公开(公告)日	2007-08-29
申请号	CN200580026443.7	申请日	2005-07-27
申请(专利权)人(译)	加的夫大学学院咨询有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	加的夫大学学院咨询有限公司		
[标]发明人	STK曼		
发明人	S·T·K·曼		
IPC分类号	C07K14/47 C07K14/82 C07K14/705 A61K39/00 G01N33/53 A61K38/00 C07K14/025		
CPC分类号	A61K2039/5256 C12N2710/20022 A61K38/00 C07K14/005		
代理人(译)	李瑛		
优先权	2004017430 2004-08-05 GB		
其他公开文献	CN101027317B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及人乳头瘤病毒(HPV)疫苗，其包含来自宿主细胞蛋白的肽，更具体地，涉及对抗与HPV感染相关的癌症如宫颈癌、头颈癌和皮肤癌的疫苗。肽包括已经通过HPV蛋白如E6和E7靶向降解并在HPV感染细胞的表面上相对大量的呈递的宿主细胞蛋白的片段。这些肽可以由CTL识别并引发免疫应答，因此是理想的肿瘤特异性标记。本发明还涉及新的肽：肽复合物如肽/HLA复合物及其在肿瘤特异性疫苗中的用途。

