

(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2017-523166

(P2017-523166A)

(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)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	4 C 0 8 4
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 5
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 52 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-501217 (P2017-501217)  
 (86) (22) 出願日 平成27年7月9日 (2015.7.9)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年3月7日 (2017.3.7)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/065726  
 (87) 国際公開番号 WO2016/005508  
 (87) 国際公開日 平成28年1月14日 (2016.1.14)  
 (31) 優先権主張番号 14176741.8  
 (32) 優先日 平成26年7月11日 (2014.7.11)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 512003825  
 ビオノー ル イミュノ エーエス  
 B I O N O R I M M U N O A S  
 ノルウェー、エヌー3702 シーエン、  
 ビー. オー. ボックス 2870、クロ  
 ステルガタ 33  
 K l o s t e r g a t a 3 3 , P . O  
 . B o x 2 8 7 0 , N - 3 7 0 2  
 S k i e n , N O R W A Y  
 (74) 代理人 100065248  
 弁理士 野河 信太郎  
 (74) 代理人 100159385  
 弁理士 甲斐 伸二  
 (74) 代理人 100163407  
 弁理士 金子 裕輔

最終頁に続く

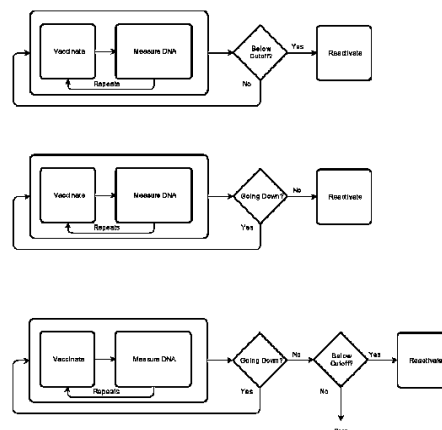
(54) 【発明の名称】 ヒト免疫不全ウイルス I (H I V) の病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群 (A I D S) を発症するリスクを低減させる方法

(57) 【要約】

本発明は、HIV感染及びAIDSの治療のための活性薬剤の新規組成物及び方法に関する。具体的には、本発明は、HIV感染の治療及びAIDSの予防のための方法に関する。

【選択図】 図 1

Fig. 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

次の工程：

a) 配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号 6 (Vacc-12) 及び配列番号 3 (Vacc-13) に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される 1 又は 2 以上のヒト免疫不全ウイルス I (HIV)-特異的ペプチドの有効量を 1 又は 2 以上の用量で 1 ~ 12 週間にわたって投与することからなる HIV-1 治療免疫相；

b) 同時に又はその後に、HIV 感染ヒト対象者の HIV-1 DNA レベルを 1 回又は 2 回以上測定する工程；及び、随意に

c) その後に、ウイルスリザーバ駆逐剤の有効量を投与することからなるウイルス再活性化相

を含んでなる、HIV 感染ヒト対象者において HIV の病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる方法。

## 【請求項 2】

次の工程：

a) 免疫相の後又は免疫相と同時に、ヒト免疫不全ウイルス I (HIV-1) 感染ヒト対象者の HIV-1 DNA レベルを 1 回又は 2 回以上測定する工程；

を含んでなる、HIV 感染ヒト対象者において HIV の病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる際における、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号 6 (Vacc-12) 及び配列番号 3 (Vacc-13) に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される 1 又は 2 以上の HIV-特異的ペプチドの有効量を 1 又は 2 以上の用量で 1 ~ 12 週間にわたって投与することからなる HIV-1 治療免疫相の効果をモニターする方法。

## 【請求項 3】

前記対象者が前記免疫相及び/又は前記ウイルス再活性化相の前及び/又は間及び/又は後に、抗レトロウイルス組合せ療法(cART)で治療される、請求項 1 又は 2 に記載の方法又は有効量。

## 【請求項 4】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、HIV-1 DNA レベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって、少なくとも 1、例えば少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000 又は 10000 HIV-1 DNA コピー/百万細胞であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2)；及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 5】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの少なくとも 10%、例えば少なくとも 15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、又は 95% であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2)；及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 6】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、HIV-1 DNA レベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって、百万細胞あたり 10000 HIV-1 DNA コピー未満、例えば 9000、8000、7000、6000、5000、4000、3000、2000、1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5、4、3、2 又は 1 HIV-1 DNA コピー未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者を工程 c) で治療することを更に含んでなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 7】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの 95% 未満、例えば 90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5% 未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者を工程 c) で治療することを更に含んでなる、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

## 【請求項 8】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、HIV-1 DNA レベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって、百万細胞あたり 100 HIV-1 DNA コピー未満、例えば 95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5、4、3、2 又は 1 HIV-1 DNA コピー未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

## 【請求項 9】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの 95% 未満、例えば 90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5% 未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 10】

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの 10% を超えて、例えば少なくとも 15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、

50

50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%又は95%を超えて減少するヒト対象者を選択する工程であって、工程 b)の後の工程b2)；及び、前記選択した対象者について工程 a)及び/又は b)及び/又は随意に工程 c)を繰り返すことを更に含んでなる、請求項 1～9のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 1 1】

工程 a)で 1又は 2以上の用量で投与することからなるHIV-1治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360又は370週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNAレベルが、前記免疫相の前のレベルの10%未満、例えば 9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満に減少するヒト対象者を選択する工程であって、工程 b)の後の工程b2)；及び、前記選択した対象者を工程 c)で治療することを更に含んでなる、請求項 1～10のいずれか 1項に記載の方法。

10

【請求項 1 2】

HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを測定する工程であって、工程 a)に先行する工程 a-1)を更に含んでなる、請求項 1～11のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 1 3】

配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号 6 (Vacc-12)及び配列番号 3 (Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される 1又は 2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を 2、3、4、5又は 6以上の用量で 1～12週間にわたって投与することを工程 a)に含んでなる、請求項 1～12のいずれか 1項に記載の方法。

20

【請求項 1 4】

アジュバント、例えば組換えヒト顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(rhuGM-CSF)、又は油中水アジュバント、例えばISA51若しくはISA720、又は水中油アジュバント、例えばProvac、がHIV-1治療免疫との組合せで、HIV-1治療免疫の前又はHIV-1治療免疫と同時に投与される、請求項 1～13のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 1 5】

リザーバ駆逐剤がHIV-1治療免疫相の少なくとも約 1、2、3又は 4週間後に連続 1、2、3又は 4週間にわたって投与される、請求項 1～14のいずれか 1項に記載の方法。

30

【請求項 1 6】

ウイルス再活性化相が、リザーバ駆逐剤の有効量を 1～10用量、例えば 2～10用量、例えば 3～10、例えば 4～10、例えば 5～10、例えば 6～10、例えば 7～10、例えば 8～10、例えば 9～10、例えば 10用量、又は 1～9用量、例えば 1～8用量、例えば 1～7、例えば 1～6、例えば 1～5、例えば 1～4、例えば 1～3、例えば 3用量で投与することを含む、請求項 1～15のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 1 7】

工程 a)及び/又は b)が独立して 1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10回、任意の順序で繰り返される、請求項 1～16のいずれか 1項に記載の方法。

【請求項 1 8】

リザーバ駆逐剤がHDAC阻害剤、例えばロミデプシン又はパノピノスタットである請求項 1～17のいずれか 1項に記載の方法。

40

【請求項 1 9】

リザーバ駆逐剤が 2.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 5 mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 7.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 10mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 12mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 12.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 14mg/m<sup>2</sup>まで、例えば 2.5mg/m<sup>2</sup>～7.5mg/m<sup>2</sup>、例えば約 5 mg/m<sup>2</sup>の用量で注入により投与されるロミデプシンである、請求項 1 8に記載の方法。

【請求項 2 0】

HIV-1潜伏リザーバに対する効果が、cARTによりウイルス学的に抑制されたHIV-感染患者におけるものである、請求項 1～19のいずれか 1項に記載の方法。

50

## 【請求項 2 1】

各ペプチドが0.1mg～10mg/投与、例えば0.1～10mg/投与、例えば0.1～9mg/投与、例えば0.1～8mg/投与、例えば0.1～7mg/投与、例えば0.1～6mg/投与、例えば0.1～5mg/投与、例えば0.1～4mg/投与、例えば0.1～3mg/投与、例えば0.1～2mg/投与、例えば0.1～1.2mg/投与、例えば0.1～0.9mg/投与、例えば0.1～0.6mg/投与、例えば0.1～0.4mg/投与の用量で与えられる、請求項 1～20のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 2 2】

HIV-1治療免疫相が 1～12週間にわたる、例えば 2～12週間にわたる、例えば 3～12週間にわたる、例えば 4～12週間にわたる、例えば 5～12週間にわたる、例えば 6～12週間にわたる、例えば 7～12週間にわたる、例えば 8～12週間にわたる、請求項 1～21のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 2 3】

HIV-1治療免疫相が 1～10用量、例えば 2～10用量、例えば 3～10、例えば 4～10、例えば 5～10、例えば 6～10、例えば 7～10、例えば 8～10、例えば 9～10、例えば10用量での投与を含む、請求項 1～22のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 2 4】

前記 1 又は 2 以上のペプチドが酢酸塩の形態である請求項 1～23のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 2 5】

前記塩のアセテート含量が 4%～18%、例えば 5%～17%、例えば 6%～16%、例えば 7%～15%、例えば 8%～14%、例えば 9%～14%、例えば 9%～13%、例えば10%～14%、例えば11%～14%、又は 5%～16%、例えば 5%～15%、例えば 5%～14%、例えば 6%～14%、例えば 6%～13%、例えば 7%～12%、例えば 7%～11%、例えば 8%～11%、例えば 9%～11%、又は 3%～18%、例えば 3%～17%、例えば 3%～16%、例えば 3%～15%、例えば 3%～14%、例えば 3%～13%、例えば 3%～11%、例えば 3%～10%、例えば 4%～10%、例えば 4%～9%、例えば 4%～8%、例えば 4%～7%、例えば 4%～6%、例えば 4%～5%である、請求項 2 4 に記載の方法。

20

## 【請求項 2 6】

1、2、3 又は 4 つのペプチドが HIV-1 治療免疫相に用いられる、請求項 1～25のいずれか 1 項に記載の方法。

30

## 【請求項 2 7】

酢酸塩としての 4 つ全てのペプチドが HIV-1 治療免疫相に用いられる、請求項 1～26のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 2 8】

前記ペプチドが式-C(O)NH<sub>2</sub>のアミド C-末端又はその酢酸塩を有する、請求項 1～27のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 2 9】

4 つ全てのペプチドが 1:1:1:1 の比(w/w)で用いられる、請求項 1～28のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 3 0】

前記 1、2、3 又は 4 つのペプチドが溶解液体状態である、請求項 1～29のいずれか 1 項に記載の方法。

40

## 【請求項 3 1】

前記液体が水である、請求項 3 0 に記載の方法。

## 【請求項 3 2】

免疫調節化合物及び第 2 のリザーバ駆逐剤、例えばヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、又は BET ファミリータンパク質阻害剤/拮抗剤から選択される 1 又は 2 以上の更なる治療活性薬剤を投与することを更に含んでなる、請求項 1～31のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 3 3】

50

前記免疫調節化合物が抗-PD1抗体、例えばMDX-1106(Merck)、サロミド(登録商標)(サリドマイド)、抗-PD1抗体、シクロホスファミド、レバミゾール、レナリドミド、CC-4047(ボマリドミド)、CC-11006(Celgene)及びCC-10015(Celgene)並びにWO2007028047、WO2002059106及びWO2002094180のいずれかに記載の免疫調節化合物から選択される、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

免疫調節化合物がレナリドミドである請求項33に記載の方法。

【請求項35】

リザーバ駆逐剤は、M344(4-(ジメチルアミノ)-N-[7-(ヒドロキシアミノ)-7-オキソヘプチル]ベンズアミド)、チダミド(CS055/HBI-800)、4SC-202, (4SC)、レスミノスタット(4SC)、ヒドロキサム酸、例えばポリノスタット(SAHA)、ベリノスタット(PXD101)、LAQ824、トリコスタチンA及びパノピノスタット(LBH589)；ベンズアミド、例えばエンチノスタット(MS-275)、C1994及びモセチノスタット(MGCD0103)、環状テトラペプチド(例えばトラポキシン、例えばトラポキシンB)、及びデプシペプチド、例えばロミデプシン(ISTODAX)、求電子性ケトン、及び脂肪族酸化合物、例えばフェニルブチレート、バルプロ酸、オキサムフラチン、ITF2357(ジェネリックのジピノスタット)、アピシジン、MC1293、CG05及びCG06；NF- $\kappa$ B、プロストラチン、オーラノフィン、プリオスタチン、非腫瘍形成性ホルモールエステル、DPP(12-デオキシホルモール-13-フェニルアセテート)、PMA及びホルモール12-ミリステート13-アセテート(PMA)を含む転写因子を活性化する化合物；P-TEF-bキナーゼ及びヘキサメチルピスアセトアミド(HMBA)を含むHIV mRNA伸長を活性化する化合物；IL-7；抗-CD3/CD28-T細胞刺激性Ab-を含むT細胞刺激因子；チルホスチンA、チルホスチンB及びチルホスチンCを含むキナーゼ阻害剤；SF1670(Echelon Bioscience)を含むPTEN(ホスファターゼ及びテンシンホモログ)遺伝子阻害剤、ジスルフィラム(DSF)、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ阻害剤、bpV(HOpic)、bpV(phen)及びbpV(pic)(Calbiochem；EMD Millipore)を含むタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、Toll様レセプター-9(TLR9)及びToll様レセプター-7(TLR7)アゴニストを含むToll様レセプターアゴニスト、ケルセチン、リポ酸、酪酸ナトリウム、TNF- $\alpha$ 、PHA、Tat、BETファミリータンパク質阻害剤/拮抗剤、例えばJQ1、I-BET、I-Bet151、MS417、GW841819X、及びチエノトリアゾロジアゼピン化合物、例えば米国特許出願公開第2010/0286127号に記載のものから選択される、請求項33又は34に記載の方法。

【請求項36】

次の工程：

a) 配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のヒト免疫不全ウイルスI(HIV)-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相；

b) 同時又はその後の、HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルの測定；及び随意に

c) その後の、リザーバ駆逐剤の有効量の投与からなるウイルス再活性化相

を含んでなる、HIV感染ヒトにおいてHIVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる方法における使用のための、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量。

【請求項37】

方法が請求項2~35のいずれか1項に記載のとおりである、請求項36に記載の有効量。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明はHIV感染及びAIDSの治療における新規方法に関する。具体的には、本発明は、

10

20

30

40

50

随意にリザーバ駆逐剤及び/又は免疫調節化合物と共に、或る投与計画で投与するHIV-特異的ワクチンペプチドでの処置を伴う方法であって、免疫相の進行又は効果がHIV DNAレベルの測定によりモニターされるか又は追跡される方法に関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

HIV-1感染は、今日、疾患を回避するためには生涯にわたる抗レトロウイルス組合せ療法(cART)が必要である不治の慢性ウイルス感染として認識されている。急性HIV感染の間の非常に初期に、潜伏リザーバ(latent reservoir)が確立され、有効なcARTにもかかわらず、HIV-1は潜伏感染細胞内で生き残る。治療中断に際して、このウイルスは急速に複製し、ウイルス血症が治療前レベルに回復する。非活動期には、静止状態の潜伏感染細胞は免疫系に認識されず、抗レトロウイルス薬に不応答である。リザーバサイズは個体間で変化するようであり、幾つかの異なる因子、例えば宿主の免疫体質、診断から開始までの時間、残留する免疫活性化のレベル、用いる抗レトロウイルス治療法及び治療に対する個々の応答により影響され得る。ウイルス増殖アッセイを用いた初期の研究により、複製コンピテントなウイルスを有する潜伏CD4 T細胞の数は、 $10^6$ 細胞あたり約1であることが示された。

10

【0003】

リザーバを定量する試みに広範な生体分析アッセイが用いられてきたが、根絶ストラテジの臨床研究において、HIV-1リザーバをモニターするためにどのアッセイを用いるべきかは現時点で不明である。活性化に際し、複製コンピテントな組み込まれたプロウイルスDNAを有する静止状態T細胞はHIV転写を再開することができる。提案されているHIV-1の治療方法の1つは、抗レトロウイルス療法の存在下で、潜伏感染細胞を活性化し、殺傷することである。組み込まれたHIV DNAの転写をブロックする分子機序のエピジェネティックな改変は、静止状態の感染メモリCD4 T細胞においてHIV-1発現を再活性化し、潜伏性を中断させることがある。ヒストンデアセチラーゼ阻害剤(HDACi)は、ヒストンでのリジン残基のアセチル化を促進することにより、遺伝子のスイッチを入れる。これによりクロマチン弛緩及び転写活性化が誘導される。HDACiロミデプシン(Celgene)は、潜伏感染細胞株及び初代T細胞においてHIV-1発現を強力に活性化する。

20

【0004】

Vacc-4xは、より緩徐な疾患進行及び改善されたウイルス制御と関連付けられていることから、p24Gagに対する免疫応答を改善することを目的とするペプチドベースのHIV-1治療ワクチンである。Vacc-4x免疫の主要な目的は、HIV p24に対する免疫系の応答を強化することである。Vacc-4xでの免疫後に増強したHIV-1に対する免疫応答は、機能的なHIV治療ストラテジの一部として宿主免疫系を改善し得る。

30

今日までに行われた最も大きな無作為化プラシーボ制御HIV治療ワクチン試験の1つ(study CT-BI/Vacc-4x/2007/1)において、Vacc-4x及びアジュバントとしてのrhuGM-CSF(Leukine(登録商標))は、プラシーボと比較してVacc-4x群において観測点でウイルス量(VL)の有意な減少を示し、より高いART前値がプラシーボと比較してVacc-4x群に存在するにもかかわらず、観測点でVLのART前値からの有意な低下を示した。加えて、Vacc-4xは免疫原性であり、CD4及びCD8 T細胞の両方で増殖応答を誘導することが示された。

40

【0005】

HIV偽陽性血清サンプルと真性に診断されたHIV陽性血清サンプルとの鑑別法に用いられる新たなHIV p24ペプチドがWO91/13360に記載されている。

Johnson R.P.ら, The Journal of Immunology, Vol.147, p.1512-1521, No.5, September 1, 1991は、3人のHIV-1血清陽性個体におけるgag-特異的CTL応答の繊細な特異性の分析を記載し、gag-特異的CTL応答がHLAクラスI制限されたCD3+CD8+リンパ球により媒介されることが判明した。

EP-A-0 356 007は抗原性決定基を開示する。具体的には、同文献は、HIV-1に存在するタンパク質に関連し、AIDSに対するワクチンの基礎として用いることができる合成ポリペ

50

プチド配列に関する。

【 0 0 0 6 】

Rosenberg E.S.ら, Science, Vol.278, 21 November 1997, p.1447-1450は、幾つかの慢性ウイルス感染においてウイルス特異的CD4+ Tヘルパーリンパ球が有効な免疫の維持に重要であるが、慢性ヒト免疫不全ウイルス-タイプ1 (HIV-1)感染では特性上検出不能であることを記載する。p24に対するHIV-1-特異的増殖応答は、ウイルス量に反比例的に関連する。著者らは、HIV-1-特異的ヘルパー細胞が免疫療法的介入及びワクチン開発において重要である可能性が高いと結論付けている。

EP 0 230 222、EP 0 270 114、DE 37 11 016及びGB 2 188 639(全てF. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft名義)は、HTLVIII Gag/Env遺伝子タンパク質又は融合タンパク質の組換え発現及び精製に関する。天然型配列からなるタンパク質は、均質にまで精製することができ、AIDSに関連するウイルスに対する抗体の検出用の診断検査の基礎として用いることができる。gag/envタンパク質はまた、予防免疫によるAIDSに対する保護のためのワクチンとして使用するために製剤化され得る。

国際出願WO00/52040は、例えばHIV gag p24の保存領域に基づくHIV特異的ペプチドの投与によるHIV感染の治療法を開示する。

HIV感染及びAIDSの治療が改善された方法を提供する必要性が存在する。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

発明の目的

HIV感染の治療及びAIDSの予防に使用することができる有効な方法を提供することが本発明の実施形態の目的である。

本発明は、HIV-特異的ワクチンペプチドが、随意に特定のリザーバ駆逐剤(reservoir purging agent)と共に、特定の投薬計画(ここで、HIV-1ウイルスDNAが該ワクチンの効果の尺度としてその後には又は同時にモニターされる)で用いられ得るという知見に基づく。本発明は、HIV感染及びAIDSの治療及び/又は根絶における有効な方法を提供し得る。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 8 】

本発明の要旨

特定の投薬計画で投与されたHIV-特異的ワクチンペプチドでの治療効果を、HIV-1ウイルスDNAの測定によりモニターし得ることが見出された。

そこで、本発明の第1の観点において、ヒト免疫不全ウイルスI (HIV)感染ヒト対象者において、HIVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる方法が提供される。該方法は、以下の工程：

a) 配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6 (Vacc-12)及び配列番号3 (Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相；

b) 同時に又はその後、前記HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを1回又は2回以上測定する工程；及び随意に、

c) その後、リザーバ駆逐剤の有効量を投与することからなるウイルス再活性化相を含んでなる。

幾つかの実施形態において、本発明の方法は、リザーバ駆逐剤、例えばヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤及び/又は免疫調節化合物の投与を含まない。

幾つかの実施形態において、本発明の方法は、免疫調節化合物の投与を含まない。

幾つかの実施形態において、本発明の方法は、リザーバ駆逐剤、例えばヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤の投与を含まない。

【 0 0 0 9 】

本発明の第2の観点において、ヒト免疫不全ウイルスI (HIV)感染ヒト対象者においてH

10

20

30

40

50

IVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる際における、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相の効果をモニターする方法が提供される；該方法は、次の工程：

a)前記免疫相の後又は前記免疫相と同時に、前記HIV-1感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを1回又は2回以上測定する工程を含んでなる。

【0010】

本発明の第3の観点において、ヒト免疫不全ウイルスI(HIV)感染ヒトにおいてHIVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる方法における使用のための、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量が提供される。該方法は次の工程：

a)配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相；

b)同時又はその後の、前記HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルの測定；及び随意に、

c)その後の、リザーバ駆逐剤の有効量の投与からなるウイルス再活性化相を含んでなる。

【0011】

本発明の幾つかの観点において、HIV-1治療免疫相は、アミノ酸配列：

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Xaa<sub>4</sub> Xaa<sub>5</sub> Xaa<sub>6</sub> Ala Xaa<sub>8</sub> Xaa<sub>9</sub> Gln Thr Pro Trp Xaa<sub>14</sub> Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Val Xaa<sub>20</sub> (配列番号1)

(式中、

- 1位のXaaはLys又はArgであり、
- 2位のXaaはAla、Gly、Ser又はArgであり、
- 3位のXaaはLeu又はMetであり、
- 4位のXaaはGly又はArgであり、
- 5位のXaaはPro、Thr、Val、Ser、Gln又はAlaであり、
- 6位のXaaはGly、Ala、Lys、Arg、Gln又はGluであり、
- 8位のXaaはThr又はSerであり、
- 9位のXaaはLeu又はIleであり、
- 14位のXaaはThr、Ser又はValであり、
- 15位のXaaはAla又はSerであり、
- 16位のXaaはCys又はSerであり、
- 17位のXaaはGln又はLeuであり、
- 18位のXaaはGly、Glu又はArgであり、
- 20位のXaaはGly又はArgである)；

【0012】

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Xaa<sub>4</sub> Xaa<sub>5</sub> Gly Leu Asn Pro Leu Val [Gly]<sub>n</sub> Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Tyr Xaa<sub>15</sub> Pro Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Ile Leu Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> (配列番号4)

(式中、

- 1位のXaaはArg、Lys若しくはAspであるか又は存在せず、
- 2位のXaaはTrp、Gly、Lys又はArgであり、
- 3位のXaaはIle、Leu、Val又はMetであり、
- 4位のXaaはIle、Val又はLeuであり、

10

20

30

40

50

5位のXaaはLeu、Met、Val又はProであり、  
 12位のXaaはArg又はLysであり、  
 13位のXaaはMet又はLeuであり、  
 15位のXaaはSer、Cys又はGlnであり、  
 17位のXaaはThr、Val、Ile、Ser又はAlaであり、  
 18位のXaaはSer、Gly又はThrであり、  
 21位のXaaはAsp、Glu、Cys又はGlyであり、  
 22位のXaaはGlyであるか又は存在せず、  
 n = 0、1、2又は3) ;

【 0 0 1 3 】

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Pro Ile Pro Xaa<sub>7</sub> Xaa<sub>8</sub> Xaa<sub>9</sub> Xaa<sub>10</sub> Xaa<sub>11</sub> Xaa<sub>12</sub> [Gly]<sub>n</sub> Xaa<sub>13</sub> Xaa<sub>14</sub> Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Xaa<sub>19</sub> Xaa<sub>20</sub> Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> Xaa<sub>23</sub> Xaa<sub>24</sub> (配列番号 9)  
 (式中、

1位のXaaはAsn、Ser、Gly、His、Ala、Pro若しくはArgであるか又は存在せず、  
 2位のXaaはAsn、Ala又はLysであり、  
 3位のXaaはPro、Gln、Gly、Ile又はLeuであり、  
 7位のXaaはVal又はAlaであり、  
 8位のXaaはGly又はLysであり、  
 9位のXaaはGlu、Asp、Lys、Phe又はThrであり、  
 10位のXaaはIle、Met、Val又はLeuであり、  
 11位のXaaはTyr若しくはLeuであるか又は存在せず、  
 12位のXaaはSerであるか又は存在せず、  
 13位のXaaはArgであるか又は存在せず、  
 14位のXaaはAsp、Arg、Trp若しくはAlaであるか又は存在せず、  
 15位のXaaはIleであるか又は存在せず、  
 16位のXaaはTyrであるか又は存在せず、  
 17位のXaaはLys又はArgであり、  
 18位のXaaはArg、Lys又はAspであり、  
 19位のXaaはTrp又はGlyであり、  
 20位のXaaはIle、Met、Val、Gln又はAlaであり、  
 21位のXaaはIle、Val又はAlaであり、  
 22位のXaaはLeu、Met又はValであり、  
 23位のXaaはGly又はCysであり、  
 24位のXaaはLeuであるか又は存在せず、  
 n = 1、2又は3) ; 及び

【 0 0 1 4 】

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Ile Ile Xaa<sub>5</sub> Xaa<sub>6</sub> Xaa<sub>7</sub> Xaa<sub>8</sub> Xaa<sub>9</sub> Leu Xaa<sub>11</sub> [Gly]<sub>n</sub> [Arg]<sub>m</sub> Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Xaa<sub>14</sub> Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Xaa<sub>19</sub> Xaa<sub>20</sub> Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> Xaa<sub>23</sub> Xaa<sub>24</sub> Xaa<sub>25</sub> (配列番号 15)

(式中、

1位のXaaはPro、Lys若しくはArgであるか又は存在せず、  
 2位のXaaはGlu、Arg、Phe又はLysであり、  
 5位のXaaはPro又はThrであり、  
 6位のXaaはMet、Thr又はNleuであり、  
 7位のXaaはPhe又はLeuであり、  
 8位のXaaはSer、Thr、Ala又はMetであり、  
 9位のXaaはAla、Glu又はLeuであり、  
 11位のXaaはSerであるか又は存在せず、  
 12位のXaaはAla若しくはArgであるか又は存在せず、  
 13位のXaaはIle若しくはLeuであるか又は存在せず、

10

20

30

40

50

14位のXaaはSer、Ala若しくはLeuであるか又は存在せず、  
 15位のXaaはTyr、Glu又はAspであり、  
 16位のXaaはGly又はAspであり、  
 17位のXaaはAla又はLeuであり、  
 18位のXaaはThr、Ile、Val、Leu又はAsnであり、  
 19位のXaaはPro、Thr又はSerであり、  
 20位のXaaはTyr、Phe、Nleu、His又はGlnであり、  
 21位のXaaはAsp、Asn、Leu又はAlaであり、  
 22位のXaaはLeu、Ile、Val又はAsnであり、  
 23位のXaaはAsn、Tyr、Cys又はGlyであり、  
 24位のXaaはThr、Met、Ile、Ala若しくはValであるか又は存在せず、  
 25位のXaaはGlyであるか又は存在せず、  
 互いに独立して  $n=1、2$  又は  $3$  及び  $m=0、1、2$  又は  $3$  )

(ここで、各HIV特異的ペプチドの末端部は、遊離のカルボキシル-若しくはアミノ-基、アミド、アシル又はアセチルであってもよく；各ペプチドは、随意に、酢酸塩の形態である)

の群より選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなり；及び随意に、その後の、リザーバ駆逐剤の有効量を投与することからなるウイルス再活性化相。

#### 【0015】

幾つかの実施形態において、1又は2以上のHIV-特異的ペプチドは、配列番号1、4、9及び15のアミノ酸配列の群より選択される；ここで、各HIV特異的ペプチドの末端部は遊離のカルボキシル-若しくはアミノ-基、アミド、アシル又はアセチルであってもよく；各ペプチドは酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、配列番号18に示すアミノ酸配列からなるペプチド(Vacc-10)は酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、配列番号11に示すアミノ酸配列からなるペプチド(Vacc-11)は酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、配列番号6に示すアミノ酸配列からなるペプチド(Vacc-12)は酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、配列番号3に示すアミノ酸配列からなるペプチド(Vacc-13)は酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、1、2、3又は4つのペプチド酢酸塩が本発明に従う方法で使用される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0016】

【図1】図1は、本発明に従う方法の種々の実施形態をフロー図で説明する。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0017】

発明の詳細な開示

本発明は、Vacc-4x免疫対象者において、HIV-1-特異的細胞傷害性Tリンパ球のレベル及び応答性の増大に起因してHIV-1リザーバサイズの顕著な減少を観察することができ、HIV-1 DNAレベルの測定により治療の進行をモニターし得るという知見に基づく。これは、治療成功をもたらすため、治療法開発の指針として、及びワクチン治療の利益を享受する患者の選択のために用い得る。

#### 【0018】

定義

「1(つ)の(one)」、「a」又は「an」のような用語は、本開示で使用する場合、特に示さない限り、「少なくとも1つ」又は「1又は2以上」を意味する。更に、用語「含んでなる」は「含む」を意味するものとし、よって明示されたもの以外の他の構成要素、特徴

10

20

30

40

50

、条件又は工程の存在を許容する。

「HIV」は、特に示さない限り、一般には、ヒト免疫不全ウイルスを指称する。

「HIV疾患」は、しばしばインフルエンザ様感染として顕在化する急性HIV感染並びに初期及び中間期ステージの症候性疾患(皮疹、疲労、寝汗、若干の体重減少、口の潰瘍並びに皮膚及び爪の真菌感染のような幾つかの非特徴的症状を有する)を含む幾つかのステージから構成される。ほとんどのHIV感染者は、これらのようなマイルドな症状を、より重篤な病気を発症する前に経験する。一般には、最初のマイルドな症状が現れるには5~7年かかると考えられている。HIV疾患が進行するにつれ、未だAIDSと診断されなくとも全く不健康になる個体もある(下記参照; HIV疾患の後期ステージ)。典型的な問題として、口又は膺の慢性瘡口瘡(真菌発疹又は斑)、口(口唇ヘルペス)又は生殖器の再発性ヘルペス水疱、持続的発熱、持続性下痢及び顕著な体重減少が挙げられる。「AIDS」は、後期ステージのHIV疾患であり、免疫系の効果を進行性に低下させ、個体を日和見感染及び腫瘍に罹患し易くする病的状態である。

10

【0019】

「HIVの病理学的影響を減少及び/又は遅延させる」は、本発明に関しては、本発明の方法の使用が、本発明に従って治療されるHIV感染個体で観察される罹患率の統計学的に有意な減少及び/又は遅延をもたらすことをいうものとする。すなわち、AIDSを特徴付ける疾患症状の発現時期が、非治療コントロールと比較してより遅く、及び/又は病理学的症状発現の数が、本発明の治療を受けないコントロールに対して減少する。

用語「ペプチド」は、本発明に関しては、2~10アミノ酸残基の短いペプチド、11~100アミノ酸残基のオリゴペプチド及び100アミノ酸残基を超えるポリペプチドのいずれもを意味するものとする。ペプチド中のアミノ酸に言及する場合、アミノ酸はその他の情報が提供されていなければL-アミノ酸であるものとする。

20

ペプチドの「バリエーション」又は「アナログ」とは、参照ペプチドと、代表的には天然型又は「親」ポリペプチドと実質的に同一であるアミノ酸配列を有するペプチドをいう。ペプチドバリエーションは、天然型アミノ酸配列内の或る特定位置に1又は2以上のアミノ酸置換、欠失及び/又は挿入を有していてもよい。

【0020】

「保存的」アミノ酸置換は、アミノ酸残基が同様な物理化学的性質の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。同様な側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該分野において公知であり、塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン)、非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン)、分枝側鎖を有するアミノ酸(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)及び芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を含む。保存的アミノ酸置換の特定の形態は、遺伝子コードによってコードされる通常の20アミノ酸ではないアミノ酸での置換を含む。本発明の好適な実施形態は合成ペプチドの使用を包含するので、本明細書に開示されたペプチドにおいてこのような「天然に存在しない」アミノ酸残基を提供することに問題はなく、よってアミノ酸残基の側鎖中の天然の飽和炭素鎖を、より短い又はより長い飽和炭素鎖と交換することが可能である - 例えば、リジンは側鎖 $-(CH_2)_nNH_3$ (式中、 $n$ は4ではない)を有するアミノ酸で置換し得、アルギニンは側鎖 $-(CH_2)_nNHC(=NH_2)NH_2$ (式中、 $n$ は3ではない)を有するアミノ酸で置換し得る、などである。同様に、酸性アミノ酸であるアスパラギン酸及びグルタミン酸は側鎖 $-(CH_2)_nCOOH$ (式中、 $n > 2$ )を有するアミノ酸残基で置換し得る。

30

40

【0021】

ペプチドの「レトロ形態」は、N末端 C末端方向のアミノ酸の順序が反転しているペプチドの形態である。例えば、ALDFRのレトロ形態はペプチドRFDLAである。

2つのアミノ酸配列に関して、用語「実質的に同一」は、該両配列が、最適に整列され

50

たとき(例えばデフォルトのギャップウェイトを用いるプログラムGAP又はBESTFITにより)、少なくとも約50、少なくとも約60、少なくとも約70、少なくとも約80、少なくとも約90、少なくとも約95、少なくとも約98又は少なくとも約99パーセントの配列同一性を有することを意味する。1つの実施形態において、同一でない残基位置は保存的アミノ酸置換によって異なる。配列同一性は、代表的には、配列解析ソフトウェアを用いて測定する。タンパク質解析ソフトウェアは、種々の置換、欠失及びその他の改変(保存的アミノ酸置換を含む)に割り当てられた類似性の尺度を使用して同様な配列を適合させる。例えば、公衆に利用可能なGCGソフトウェアは、デフォルトのパラメータで使用して、密接に関連するポリペプチド(例えば、異なる生物種からの相同ポリペプチド)間又は野生型タンパク質とそのムテインとの間の配列相同性又は配列同一性を決定することができる「Gap」及び「BestFit」のようなプログラムを含む。例えば、GCG Version 6.1を参照。ポリペプチド配列はまた、デフォルト又は推奨されるパラメータを適用してFASTA又はClustalWを用いて比較することができる。GCG Version 6.1.中のプログラムFASTA(例えば、FASTA2及びFASTA3)は、クエリー配列とサーチ配列との間で最良のオーバーラップ領域の整列(alignment)及びパーセント配列同一性を提供する(Pearson, Methods Enzymol. 1990;183:63-98; Pearson, Methods Mol. Biol. 2000;132:185-219)。配列を種々の生物からの多数の配列を含むデータベースと比較するとき又は推論するとき好適な別のアルゴリズムは、デフォルトパラメータを用いるコンピュータプログラムBLAST、特にblastpである。例えば、Altschulら, J. Mol. Biol. 1990;215:403-410; Altschulら, Nucleic Acids Res. 1997;25:3389-402(1997)(各々参照により本明細書に組み込まれる)を参照。2つの実質的に同一のアミノ酸配列中の「対応する」アミノ酸位置は、本明細書で言及したタンパク質解析ソフトウェアのいずれかにより(代表的には、デフォルトパラメータを用いて)整列させたときの位置である。

10

20

30

40

#### 【0022】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係に配置されている場合、「作動可能に連結している」。例えば、プレ配列又は分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合、該ポリペプチドのDNAに作動可能に連結している；プロモーター又はエンハンサーは、コーディング配列の転写に影響する場合、該コーディング配列に作動可能に連結している；又は、リボソーム結合部位は、コーディング配列の翻訳を促進するように位置する場合、該コーディング配列に作動可能に連結している。一般に、「作動可能に連結している」とは、連結しているDNA配列同士が連続していること、分泌リーダーの場合には連続しかつリーディングフェーズにあることを意味する。しかし、エンハンサーは連続している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプター又はリンカーを従来実務に従って用いる。

#### 【0023】

「単離(した)」分子は、それが見出される組成物中で、それが属する分子クラスに関して優勢な種である(すなわち、該組成物中で当該分子タイプの少なくとも約50%を構成し、代表的には該組成物中の当該分子種(例えばペプチド)の少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%又はそれ以上を構成する)分子である。通常、抗体分子の組成物は、該組成物中に存在する全てのペプチド種との関連では抗体分子に関して又は提案する使用との関連では少なくとも実質的に活性なペプチド種に関して、98%~99%の同質性を示す。

本発明に関して、「治療」又は「治療する(こと)」とは、文脈と矛盾しない限り、疾患又は障害の1又は2以上の症状又は臨床的に関連する症状発現を予防し、緩和させ、管理し(managing)、治癒させ又は減少させることをいう。例えば、疾患又は障害の症状も臨床的に関連する症状発現も同定されていない患者の「治療」は、予防治療である一方、疾患又は障害の症状又は臨床的に関連する症状発現が同定されている患者の「治療」は、一般には、予防治療を構成しない。

#### 【0024】

50

用語「抗原」は、免疫系の特異的認識成分(抗体、T細胞)によって認識される物質を指称する。

用語「免疫原」は、本発明に関しては、個体において該免疫原を標的する適応免疫応答を誘導し得る物質を指称するものとする。換言すれば、免疫原は、免疫を誘導し得る抗原である。

用語「エピトープ」、「抗原決定基」及び「抗原部位」は、本明細書で互換可能に使用され、抗原又は免疫原中の、抗体が認識する領域(抗体結合エピトープの場合には、「B細胞エピトープ」として知られる)又はエピトープがMHC分子と複合体化している場合にはT細胞レセプターが認識する領域(T細胞レセプター結合エピトープの場合には、すなわち「T細胞エピトープ」)を指称する。

10

用語「免疫原的有効量」は、当該分野における通常の意味を有する。すなわち、免疫原と免疫学的特徴を共有する病原因子と顕著に戦う(engage)免疫応答を誘導し得る該免疫原の量を意味する。

#### 【0025】

用語「ワクチン」は、免疫原を含んでなり、病的状態の発症リスクを低減し得る免疫応答を誘導することができるか又は病的状態の治癒(又は少なくともその症状の緩和)に役立つ治療的に有効な免疫応答を誘導することができる組成物に用いられる。

用語「医薬的に許容される」は当該分野における通常の意味を有する。すなわち、この用語は、問題の疾患の治療時にヒトに使用される医薬の一部として受容され得る物質に使用される。よって、この用語は、事実上、治療対象者の状態を改善するというよりむしろ悪化させる高度に毒性の物質の使用を排除する。

20

「Tヘルパーリンパ球エピトープ」( $T_H$ エピトープ)は、MHCクラスII分子に結合し、該MHCクラスII分子に結合した抗原提示細胞(APC)の表面に提示され得るペプチドである。「免疫学的キャリア」は、一般には、1つ又は多くの $T_H$ エピトープを含み、それと組み合わせられる抗原に対する免疫応答を、Tヘルパーリンパ球を確実に活性化し増殖させることによって増大させる物質である。公知の免疫学的キャリアの例は、破傷風及びジフテリア毒素並びにキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)である。

#### 【0026】

用語「アジュバント」はワクチン技術の分野における通常の意味を有する。すなわち、1)それ自体はワクチンの免疫原に対する特異的免疫応答を開始させ得ないが、2)にもかかわらず、該免疫原に対する免疫応答を増強し得る物質又は組成物である。換言すれば、アジュバント単独でのワクチン接種は免疫原に対する免疫応答をもたさず、免疫原でのワクチン接種は、該免疫原に対する免疫応答を生じさせ又はさせないかもしれないが、免疫原とアジュバントとの組合せのワクチン接種は、免疫原単独で誘導されるものより強力な免疫原に対する免疫応答を誘導する。

30

用語「HIV-1 DNAレベル」とは、本明細書で用いる場合、ヒト免疫不全ウイルス-1(HIV-1)感染患者から得た末梢血のCD4<sup>+</sup>T細胞 $10^6$ あたりの、非組込み形態、環状形態及び組込み形態の測定可能な細胞性HIV-1 DNAのコピー総数をいう。

#### 【0027】

本発明の具体的観点及び実施形態

40

本発明の1つの観点は、1又は2以上の上記HIV-特異的ペプチドの使用に関する。

特定の実施形態において、ペプチドはN-又はC-末端改変、例えば、アミド化、アシル化又はアセチル化を含んでなる。ペプチドのC-末端がアミドであるとき、適切なアミドは、式-C(O)-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>(式中、R<sup>x</sup>及びR<sup>y</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1-6</sub>アルキルから選択され、アルキル基は、1又は2以上のフッ素原子で置換されていてもよく、例えば-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>及び-CF<sub>3</sub>であり得る)を有するものを含む。言及し得る具体的なアミド基は-C(O)NH<sub>2</sub>である。ペプチドのN-末端がアセチル化されているとき、適切なアセチル化N-末端は、式-NH-C(O)R<sup>z</sup>(式中、R<sup>z</sup>は、水素、C<sub>1-6</sub>アルキル又はフェニルであり、アルキル基は、1又は2以上のフッ素原子で置換されていてもよく、例えば-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>及び-CF<sub>3</sub>であり得る)のものを含む。

50

## 【0028】

ペプチドは、ワクチン剤として企図されるので、特定の実施形態では、免疫原性キャリアのようなキャリア分子とカップリングされる。よって、ペプチドは、その他の分子に、組換え融合体として(例えば、CLIP技術を介して)又は化学結合により配向様式(例えば、ヘテロ二官能性架橋剤を用いて)若しくは非配向様式で連結され得る。例えばジフテリア毒素、ポリリジン構築物などのようなキャリア分子への連結は全て、本発明に従って可能である。

免疫原性キャリアは、好都合には、当該分野で従来使用されているもの(例えば、ジフテリア又は破傷風毒素、KLHなど)のようなキャリアタンパク質から選択されるが、集団内の多数でT細胞免疫を誘導することができる短いペプチド(Tヘルパーエピトープ)を使用することも可能である。このようなTヘルパーエピトープについての詳細は、例えば、WO 00/20027(参照により本明細書に組み込まれる)に見出すことができる - そこで議論されている全ての免疫学的キャリア及び「無差別」(すなわち普遍的)Tヘルパーエピトープは、本発明における免疫原性キャリアとして有用である。

## 【0029】

特定の実施形態において、キャリアは、ウイルス様粒子、すなわちピリオンの性質を有するが感染性のない粒子である。このようなウイルス様粒子は、化学的に(例えば、Jennings及びBachmann Ann Rev Pharmacol. Toxicol. 2009. 49:303-26 Immunodrugs: Therapeutic VLP-based vaccines for chronic diseases)又は融合タンパク質を作製するクローニング技術(例えば、Peabodyら, J. Mol. Biol. 2008; 380: 252-63. Immunogenic display of diverse peptides on virus-like particles of RNA phage MS2)を用いて提供され得る。別の1つの例は、Immune Response Corporationによって最初に作製された、放射線照射でウイルスゲノムを破壊したホルマリン不活化HIVからなるHIVワクチンたる「Remune」である。この会社は、同一技術を用いて、今日広く用いられている死滅ポリオワクチンを作製したJonas Salkによって設立された。

本発明の1つの観点は、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドの組成物を有効量のリザーバ駆逐剤との組合せで、随意に医薬的に許容される希釈剤又はビヒクル及び随意に1又は2以上の免疫学的アジュバントと共に含んでなる免疫原性組成物(例えばワクチン組成物)の使用に関する。

## 【0030】

本発明の上記観点は、共通して、全て、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドが上記のとおり配列番号1、4、9及び15のアミノ酸配列の群より選択される実施形態; 各HIV特異的ペプチドの末端部は遊離のカルボキシル-又はアミノ-基、アミド、アシル又はアセチルであってもよい実施形態; 及び酢酸塩の形態である実施形態を含む。

幾つかの実施形態において、前記HIV-特異的ペプチドの2又は3以上のCys残基は、鎖内若しくは鎖間ジスルフィド結合、 $-S-(CH_2)_p-S-$ 又は $-(CH_2)_p-$ 橋架け(式中、 $p=1\sim 8$ であり、随意に1又は2以上のヘテロ原子(例えばO、N及びS)が介在していてもよい)の一部を形成していてもよく、及び/又は前記ペプチド配列は固体支持体に不動態化されている。

幾つかの実施形態において、配列番号1のアミノ酸配列は、配列番号2及び配列番号3の群より選択される。

幾つかの実施形態において、配列番号4のアミノ酸配列は、配列番号5、配列番号6、配列番号7及び配列番号8の群より選択される。

幾つかの実施形態において、配列番号9のアミノ酸配列は、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13及び配列番号14の群より選択される。

幾つかの実施形態において、配列番号15のアミノ酸配列は、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19及び配列番号20の群より選択される。

幾つかの実施形態において、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドは、配列番号1、配列番号4、配列番号9及び配列番号15の群の各々から選択される少なくとも2、3又は4つのペプチドを含んでなる。

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態において、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドは、配列番号3、配列番号6、配列番号11及び配列番号18のペプチドからなるか又は該ペプチドを含んでなる。

#### 【0031】

免疫原性組成物の製造には、免疫学的アジュバントのような従来技術の成分の使用が含まれる。これらアジュバント(下記で例として詳述する)とは別に、免疫原性組成物は当該分野において一般に教示されているように製造する：

活性成分としてペプチド配列を含むワクチンの製造は、米国特許第4,608,251号；同第4,601,903号；同第4,599,231号；同第4,599,230号；同第4,596,792号；及び同第4,578,770号(参照により本明細書に組み込まれる)に例示されているように、当該分野において広く十分に理解されている。代表的には、このようなワクチンは、溶液又は懸濁液としての注射可能剤として製造する；注射前の液体への溶解又は懸濁に適切な固体形態もまた製造し得る。調製物はまた乳化され得る。免疫原性活性成分は、しばしば、医薬的に許容されかつ該活性成分と相溶性である賦形剤と混合される。適切な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど及びそれらの組合せである。加えて、所望であれば、ワクチンは、湿潤剤又は乳化剤、pH緩衝化剤又はワクチンの効力を増強するアジュバントのような少量の補助物質を含み得る；アジュバントについては下記で詳述する。

10

#### 【0032】

ワクチンは、従来のように、例えば皮下、皮内、真皮内、真皮下又は筋肉内に、注射により非経口投与する。その他の投与態様に適切な更なる製剤として、坐剤、幾つかの場合には、経口、経鼻、パッカル、舌下、腹腔内、膈内、肛門、硬膜外、脊髄及び頭蓋内製剤が挙げられる。坐剤については、従来結合剤及びキャリアとして、例えば、ポリアルキレングリコール又はトリグリセリドを挙げ得る；このような坐剤は、活性成分を0.5%~10%(w/w)、好ましくは1~2%(w/w)の範囲で含む混合物から形成し得る。経口製剤としては、例えば医薬グレードのマンニトール、ラクトース、スターチ、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどのような通常使用される賦形剤が挙げられる。これら組成物は、溶液、懸濁物、タブレット、ピル、カプセル、持続放出製剤又は粉剤の形態をとり、10~95%(w/w)、好ましくは25~70%(w/w)の活性成分を含有し得る。

20

30

ペプチドは、中性又は塩形態としてワクチンに製剤化され得る。医薬的に許容される塩としては、ペプチドの遊離アミノ基と、例えば塩酸若しくはリン酸のような無機酸又は酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸のような有機酸とで形成される酸付加塩などが挙げられる。遊離カルボキシル基と形成される塩は、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム又は水酸化第二鉄のような無機塩基及びイソプロピルアミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインのような有機塩基などにも由来し得る。

#### 【0033】

ワクチンは、剤形に適合する様式で、治療上有効であり免疫原性であるような量で投与する。投与すべき量は、治療すべき対象者に依存し、例えば、個体の免疫系が免疫応答を開始する能力及び所望する免疫の程度などに依存する。適切な投薬量の範囲は、ワクチン接種あたり数百マイクログラムオーダーの活性成分であり、好適な範囲は、約0.5 $\mu$ g~1,800 $\mu$ gの範囲、好ましくは1 $\mu$ g~1,500 $\mu$ gの範囲、特に約100 $\mu$ g~1200 $\mu$ gの範囲のような約0.1 $\mu$ g~2,000 $\mu$ gである(ただし、より高い1~10mg範囲の量も企図されている)。初回投与及びブースター注射の適切なレジメンも変わり得るが、代表的には、初回投与の後に複数回の接種又はその他の投与を続ける。

40

ワクチン中で十分に免疫原性であるペプチドもあるが、幾つかの場合には、ワクチンが更にアジュバント物質を含んでなるときに免疫原性が増強される。したがって、本明細書に記載の免疫原性分子は、アジュバントを用いて製剤化することができる：

#### 【0034】

50

組み合わせるべきアジュバントは、体液性応答を誘導することが知られており、次のものを包含する：i)塩懸濁物(例えば、アルミニウムイオン又はカルシウムイオンを含有する種々の塩)、ii)水中油エマルジョン(例えば、種々のスクアランベースの又はスクアレニベースのエマルジョン)、iii)油中水エマルジョン(例えば、Montanide ISA51又はISA720)、iv)中性リポソーム、v)カチオン性リポソーム、vi)ミクロスフェア、vii)免疫刺激性複合体(例えば、ISCOMs又はISCOMATRIX)、viii)パターン認識レセプターアゴニスト(例えば、C型レクチンレセプター(CLR)、NOD様レセプター(NLR)、RIG様ヘリカーゼ(RLH)、骨髄様細胞で発現するトリガリングレセプター(triggering receptor)(TREM)及びToll様レセプター(TLR)のアゴニスト)、ix)サポニン(すなわちシャボンノキ(*Quillaja saponaria*)又はキキョウ(*Platycodon grandiflorum*)に由来する任意のサポニン)、x)ピロゾーム/ウイルス様粒子、xi)エンテロトキシン(すなわちコレラ毒、CTA1-DD又は大腸菌(*Escherichia coli*)易熱性エンテロトキシン)並びにそれらの組合せ。

ワクチンの抗原性特性の更なる増強のために、周知のアジュバントを、経口免疫調整剤又はアジュバント、例えばCox-2阻害剤又は免疫調整化合物と組み合わせ得る。

#### 【0035】

本発明の1つの更なる観点は、アジュバント及び1又は2以上の更なる治療剤、例えば(経口)免疫調整剤及び/又は第2のリザーバ駆逐剤と組み合わせたワクチンの使用である。

用語「治療剤」、例えば「免疫調整剤」又は「ウイルスリザーバ駆逐剤」は、本明細書で用いる場合、サイトカイン、例えばインターフェロン、モノクローナル抗体、例えば抗-PD1抗体、シクロホスファミド、サリドマイド、レバミゾール及びレナリドミドを含むがこれらに限定されない。

「ウイルスリザーバ駆逐剤」は、オーラノフィン、IL-7、プロストラチン、プリオスタチン、HDAC阻害剤、例えばポリノスタット、ジスルフィラム並びにWO2013050422、WO2012051492 A3及びBartonら、*Clinical Pharmacology & Therapeutics*(2013); 93:1, 46-561のいずれかに記載の任意の適切な剤を含むがこれらに限定されず、PMA、プロストラチン、プリオスタチン及びTNF- $\alpha$ を含む群より選択されるNF- $\kappa$ B誘導剤、及び/又はb)TSA、SAHA、MS-275、アミノスベロイルヒドロキサム酸、M-カルボキシ桂皮酸ビスヒドロキサメート、LAQ-824、LBH-589、ベリノスタット(PXD-101)、パノビノスタット(LBH-589)、M-カルボキシ桂皮酸ビスヒドロキサメートの桂皮ヒドロキサム酸アナログ、IF2357、アリアルオキシアルカン酸ヒドロキサミド、デブシペプチド、アピシジン、環状ヒドロキサム酸含有ペプチド分子群、FK-228、red FK、ヒドロキサム酸に脂肪族鎖により連結した環状ペプチド模擬体、ブチレート、フェニルブチレート、酪酸ナトリウム、バルプロ酸、ピバロイルオキシメチルブチレート、5-NOX-275及びMGCD0103を含む異なるファミリー(ヒドロキサメート、環状ペプチド、脂肪族酸及びベンズアミド)から選択されるヒストンデアセチラーゼ阻害剤を含む。上記ウイルスリザーバ駆逐剤のいずれも単独で又は別の適切なウイルスリザーバ駆逐剤、例えば別のクラスのHIV誘導剤との組合せで用い得る。

#### 【0036】

DNAメチル化は、おそらくは抑制的ヒストン改変と共に、プロウイルスのサイレント状態での「固定」に寄与し得、活性状態への復帰を困難とする。これらの観察結果から、有効なcARTと併せたHDAC又はHMT又はDNAメチル化阻害剤は、潜伏リザーバのプールを、宿主免疫系が耐え得るレベルまで低下させ/排除することを目的とする良好な抗潜伏薬の候補を構成することが示唆される。

したがって、適切な免疫調節化合物又は(リザーバ)駆逐剤は、2つのクラス(非ヌクレオシド及びヌクレオシド脱メチル化剤)から選択されるDNAメチル化阻害剤であり得、5-アザシチジン(アザシチジン)、シネフンギン、5-アザ-2'-デオキシシチジン(5-アザ-CdR、デシタピン)、1-3-ダラビノフラノシル-5-アザシトシン(ファザラピン)及びジヒドロ-5-アゼシチジン(DHAC)、5-フルオロデオキシシチジン(FdC)、2-Hピリミジノン含有オリゴデオキシヌクレオチド二重鎖、ゼブラリン、アンチセンスオリゴデオキシヌクレオチド(ODN)、MG98、(-)-エピガロカテキン-3-ガレート、ヒドララジン、プロカイン及びプロカイン

アミドを含む。

【 0 0 3 7 】

本発明に従って用いる他の適切な免疫調節化合物又は(リザーバ)駆逐剤としては、異なるHDACIファミリー(ヒドロキサメート、環状ペプチド、脂肪族酸及びベンズアミド)から選択されるヒストンデアセチラーゼ阻害剤(TSA、SAHA、MS-275、アミノスベロイルヒドロキサム酸、M-カルボキシ桂皮酸ビスヒドロキサメート、LAQ-824、LBH-589、ベリノスタット(PXD-101)、パノビノスタット(LBH-589)、M-カルボキシ桂皮酸ビスヒドロキサメートの桂皮ヒドロキサム酸アナログ、IF2357、アリアルオキシアルカン酸ヒドロキサミド、デプシペプチド、アピシジン、環状ヒドロキサム酸含有ペプチド分子群、FK-228、red FK、ヒドロキサム酸に脂肪族鎖により連結した環状ペプチド模擬体、ブチレート、フェニルブチレート、酪酸ナトリウム、パルプロ酸、ピパロイルオキシメチルブチレート、5 NOX-275、MGCD0103を含む)、BETファミリータンパク質阻害剤/拮抗剤、例えばJQ1、I-BET、I-Bet151、MS417及びGW841819X(Nicodemら(2010) Nature 468:1119-1123; Filippakopoulosら(2010) Nature 468:1067-1073)及びチエノトリアゾロジアゼピン化合物、例えば米国特許出願公開第2010/0286127に記載のものが挙げられる。

10

本発明に従って用いる他の適切な免疫調節化合物又は(リザーバ)駆逐剤としては、ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤(ケトシン及びBIX-01294); Enhancers of Zeste 2(EZH2)阻害剤 - 例えば単独で又は他のクラスの免疫調節化合物又は(リザーバ)駆逐剤と併せて用いられる3-デアザネブラノシンA (DZNep)が挙げられる。

【 0 0 3 8 】

他の適切なアジュバントとしては、応答選択的C5aアゴニスト、例えばHung CYら, An agonist of human complement fragment C5a enhances vaccine immunity against *Coccidoides* infection. *Vaccine* (2012)及びKollessery Gら, Tumor-specific peptide based vaccines containing the conformationally biased, response-selective C5a agonists EP54 and EP67 protect against aggressive large B細胞 lymphoma in a syngeneic murine model. *Vaccine* (2011) 29: 5904-10に記載のEP54及びEP67が挙げられる。

20

【 0 0 3 9 】

よって、ワクチンについてアジュバント効果を達成する種々の方法は公知である。一般的な原理及び方法は、「The Theory and Practical Application of Adjuvants」1995, Duncan E.S. Stewart-Tull(編)、John Wiley & Sons Ltd, ISBN 0-471-95170-6及び「Vaccines: New Generation Immunological Adjuvants」1995, Gregoriadis Gら(編)、Plenum Press, New York, ISBN 0-306-45283-9(共に参照により本明細書に組み込まれる)に詳述されているが、幾つかの後の刊行物もまたアジュバントを組み込む技術を扱っている: Roestenberg Mら, PLoS One. 2008;3(12):e3960. Epub 2008 Dec 18; Relyveld E及びChermann JC, *Biomed Pharmacother.* 1994;48(2):79-83; Hsu FJら, *Blood.* 1997 May 1;89(9):3129-35; Galli Gら, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 May 12;106(19):7962-7. Epub 2009 Apr 27; Bojang KAら, *Lancet.* 2001 Dec 8;358(9297):1927-34; Odunsi Kら, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Jul 31;104(31):12837-42. Epub 2007 Jul 25; Patel GB and Sprott GD; *Crit Rev Biotechnol.* 1999;19(4):317-57. 概説; Agger EMら, PLoS One. 2008 Sep 8;3(9):e3116; Kirby DJら, *J Drug Target.* 2008 May;16(4):282-93; Florindo HFら, *Vaccine.* 2008 Aug 5;26(33):4168-77. Epub 2008 Jun 17; Sun HXら, *Vaccine.* 2009 May 28; Guy B, *Nat Rev Microbiol.* 2007 Jul;5(7):505-17. 概説; Vandepapeliere Pら, *Vaccine.* 2008 Mar 4;26(10):1375-86. Epub 2008 Jan 14; Ghochikyan Aら, *Vaccine.* 2006 Mar 20;24(13):2275-82. Epub 2005 Dec 5; Xie Yら, *Vaccine.* 2008 Jun 25;26(27-28):3452-60. Epub 2008 May 1; Chung YCら, *Vaccine.* 2008 Mar 28;26(15):1855-62. Epub 2008 Feb 25; Maier Mら, *Vaccine.* 2005 Oct 25;23(44):5149-59; Sundling Cら, *J Gen Virol.* 2008 Dec;89(Pt 12):2954-64.

30

40

【 0 0 4 0 】

本発明の方法及び組成物において、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチド及びリザーバ駆逐剤は、1又は2以上の更なる治療活性薬剤、例えばHIV及び/又はAIDS治療薬と組み合

50

わせて投与し得る。

抗レトロウイルス療法(ART)がHIV-1感染を根絶できないのは、HIV-1が潜伏リザーバで休止したまま残存するという事実にある。潜伏感染した静止状態のCD4+細胞(ナイーブ又は長寿のメモリ細胞)は、転写がサイレント状態であるHIV-1を保有し、HIV-1感染の優勢なリザーバである。他の細胞、例えばマクロファージ、樹状細胞及びアストロサイト(これらでは、HIV-1感染はCD4非依存的機序を介して起こる)もまた、リザーバとして働き得る(Alexakiら, 2008, *Curr. HIV Res.* 6:388-400に概説)。HIV-1感染根絶に向けた主要な難題となるのはこれら潜伏リザーバである。根絶に向けたアプローチには、放出ウイルスが近隣細胞に感染し複製しないように、ART存在下で、潜伏感染細胞(例えばメモリ細胞)を選択的に活性化してリザーバを駆逐する試みが含まれる(Richmanら, 2009, *Science* 323:1304-1307)。薬剤としては、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、IL-2及びIL-7のようなサイトカイン並びにプリオスタチン、プロテインキナーゼCアクチベータが挙げられる(Kovochichら, 2011, *PLoS ONE* 6(4):e18270)。治療ワクチンは、ARTがアクセスし難い場所、例えばウイルスが残存する領域であるリンパ組織(Pantaleoら, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:9838-42; Foxら, 1991, *J. Infect. Dis.* 164:1051-57)及び中枢神経系(Alexakiら, 2008, *Curr. HIV Res.* 6:388-400)に浸透することができるという利点を有する。このことは、ウイルス自体及びHIV関連免疫活性化の両方を標的する治療的介入に関連する。

#### 【 0 0 4 1 】

TNF- $\alpha$  の異常産生に関連する疾患の治療に安全で効果的に用いることができる化合物を提供することを目的とする研究が幾つか行われている(例えばMarriott, J.B.ら, *Expert Opin. Biol. Ther.* (4): 1-8(2001); G.W. Mullerら, *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(17): 3238-3240(1996); 及びG.W. Mullerら, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8: 2669-2674(1998)を参照)。幾つかの研究は、LPSで刺激されたPBMCによるTNF- $\alpha$ 産生を強力に阻害する能力について選択された化合物群に着目している(L.G. Corralら, *Ann. Rheum. Dis.*, 58(suppl 1): 1107-1113(1999))。これら化合物(免疫調節化合物とも呼ばれる)は、TNF- $\alpha$  の強力な阻害を示すだけでなく、LPSで誘導される単球IL1 $\beta$ 及びIL12産生の顕著な阻害を示す。LPSで誘導されるIL6もまた、部分的ではあるが、免疫調節化合物により阻害される。これら化合物は、LPSで誘導されるIL10の強力な刺激因子である。具体例としては、限定されないが、米国特許第6281230号及び同第6316471号に記載されるような置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)フタルイミド及び置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドールが挙げられる。単球/マクロファージの機能は、感染に対する防御の第1段階として働く先天免疫系の一部である。免疫調節化合物は、宿主の単球及びマクロファージをモジュレートすることにより、ウイルス感染(例えばインフルエンザ)に対する応答の動力学を変化させることができる。

#### 【 0 0 4 2 】

ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)は、ヒストンタンパク質上のN-アセチル化リジンアミノ酸からアセチル基を除去する酵素のクラスである。現在、哺乳動物では18のHDACが同定されている。それらは、細胞内での位置、機能及び配列類似性に基づいて4つのクラスに分けられている。クラスIには、主に核に見出されるHDAC1、HDAC2、HDAC3及びHDAC8が含まれる。クラスIIのHDAC(HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9及びHDAC10)は、主に細胞質に見出されるが、核と細胞質との間を行き来できる可能性がある; クラスIIaは4つのHDAC(HDAC4、HDAC5、HDAC7及びHDAC9)を含み、クラスIIbは細胞質でのみ発現される2つのHDAC(HDAC6及びHDAC10)を含む。HDAC11は、普遍的に発現され、クラスI及びクラスIIの両方のHDACと配列類似性を有し、クラスIVの代表である。クラスIII(「サーチュインファミリー」とも呼ばれる)は、原則としてヒストンに作用しないNAD<sup>+</sup>依存性タンパク質の一員である。

本発明の方法において、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドは、随意にリザーバ駆逐剤と共に、随意に別の免疫調節化合物及び/又は第2のリザーバ駆逐剤(例えば別のヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤)と併せて投与してもよい。

## 【0043】

免疫調節化合物は、抗-PD1抗体、例えばMDX-1106(Merck)、サロミド(登録商標)(サリドマイド)、抗-PD1抗体、シクロホスファミド、レバミゾール、レナリドミド、CC-4047(ボマリドミド)、CC-11006(Celgene)及びCC-10015(Celgene)及びWO2007028047、WO2002059106及びWO2002094180のいずれかに記載の免疫調節化合物から選択され得る。免疫調節化合物は、4-(アミノ)-2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-イソインドリン-1,3-ジオン及び3-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-ピペリジン-2,6-ジオンから選択され得る。具体的には、免疫調節化合物はレナリドミドである。免疫調節化合物は鏡像異性的に純粋であり得る。

第2のリザーバ駆逐剤、例えばヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤は、M344(4-(ジメチルアミノ)-N-[7-(ヒドロキシアミノ)-7-オキソヘプチル]ベンズアミド)、キダマイド(CS055/HBI-800)、4SC-202(4SC)、レスミノスタット(4SC)、ヒドロキサム酸、例えばポリノスタット(SAHA)、ペリノスタット(PXD101)、LAQ824、トリコスタチンA及びパノピノスタット(LBH589)；ベンズアミド、例えばエンチノスタット(MS-275)、C1994及びモセチノスタット(MGCD0103)、環状テトラペプチド(例えばトラボキシン、例えばトラボキシンB)、及びデプシペプチド、例えばロミデプシン(イストダックス(登録商標)(Celgene))、求電子性ケトン及び脂肪系酸化合物、例えばフェニルブチレート、バルプロ酸、オキサムフラチン、ITF2357(ジェネリックのジピノスタット)、アピシジン、MC1293、CG05及びCG06；NF- $\kappa$ B、プロストラチン、オーラノフィン、プリオスタチン、非腫瘍形成性ホルボールエステル、DPP(12-デオキシホルボール-13-フェニルアセテート)、PMA及びホルボール12-20  
ミリストレート13-アセテート(PMA)を含む、転写因子を活性化する化合物；P-TEF-bキナーゼ及びヘキサメチルビスアセトアミド(HMBA)を含む、HIV mRNA伸長を活性化する化合物；IL-7；抗-CD3/CD28-T細胞刺激Abを含むT細胞刺激因子；チルホスチンA、チルホスチンB及びチルホスチンCを含むキナーゼ阻害剤；SF1670(Echelon Bioscience)を含むPTEN(ホスファターゼ及びテンシンホモログ)遺伝子阻害剤、ジスルフィラム(DSF)、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ阻害剤、bpV(HOpic)、bpV(phen)及びbpV(pic)(Calbiochem；EMD Millipore)を含むタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、Toll様レセプター-9(TLR9)及びToll様レセプター-7(TLR7)のアゴニストを含むToll様レセプターアゴニスト、ケルセチン、リポ酸、酪酸ナトリウム、TNF- $\alpha$ 、PHA、Tatから選択される。

## 【0044】

本発明の方法において、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチド及び/又は1若しくは2以上の更なる治療活性薬剤の成分は、同時、逐次又は別々に任意の順序で投与し得る。

よって、本発明は、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチド及び/又は1若しくは2以上の更なる治療活性薬剤の1、2又は3以上の成分を、随意に1又は2以上の医薬的に許容されるアジュバント、希釈剤又はキャリアと組み合わせて含んでなる医薬組成物を提供する。

同様に、本発明はまた、各成分が医薬的に許容されるアジュバント、希釈剤又はキャリアと混合して製剤化されている、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチド及び/又は1若しくは2以上の更なる治療活性薬剤の成分を含んでなる組合せ製品を提供する。本発明のこの観点において、組合せ製品は単一(組合せ)医薬製剤であってもキットであってもよい。40  
キットにおいて、成分の幾つか又は全ては別々に製剤化されてもよく、各々がその他のものとの組合せ投与に適切な形態で提供されてもよい。

成分はまた、上記の1又は2以上の更なる成分との組合せで使用するために、例えば使用指示書と共に、提供されてもよい。

## 【0045】

本発明で使用するペプチドは、当該分野で認識されている方法を用いて合成生産されてもよい。このようなペプチドの合成生産についての更なる詳細は、実施例に見出せる。或いは、ペプチドは、可能であれば組換え産生されてもよい。本発明に用いるペプチドを形質転換細胞により組換え産生する場合、必須ではないが、発現産物を培養培地に輸出させるか又は形質転換細胞の表面に運ばせることが好都合である。

10

20

30

40

50

効果的な産生細胞が同定されている場合、その細胞を基にして、本発明のベクターを有し本発明の核酸フラグメントを発現する安定な細胞株を樹立することが好適である。好ましくは、この安定細胞株はペプチド発現産物を分泌するか又は保有することによりその精製を容易とする。

一般には、宿主細胞と適合性である種に由来する制御配列及びレプリコンを含有するプラスミドベクターを当該宿主と組み合わせて用いる。ベクターは、通常、複製部位及び形質転換細胞中で表現型選択を提供し得るマーキング配列を有する。例えば、大腸菌(*E. coli*)は、代表的には、大腸菌(*E. coli*)種に由来するプラスミドであるpBR322を用いて形質転換する(例えば、Bolivarら, 1977参照)。pBR322プラスミドは、アンピシリン及びテトラサイクリン耐性遺伝子を含有することにより、形質転換細胞の容易な同定手段を提供する。pBRプラスミド又は他の微生物プラスミド若しくはファージはまた、発現用原核微生物が使用できるプロモーターを含有しているか又は含有するように改変されていなければならない。

#### 【0046】

組換えDNA構築に最も一般的に用いられるプロモーターとしては、 $\beta$ -ラクタマーゼ(ペニシリナーゼ)及びラクトースプロモーター系(Changら, 1978; Itakuraら, 1977; Goeddelら, 1979)並びにトリプトファン(*trp*)プロモーター系(Goeddelら, 1979; EP-A-0 036 776)が挙げられる。これらが最も一般的に用いられるが、他の微生物プロモーターが見出されており、利用されている。それらのヌクレオチド配列の詳細は公開されている。

原核生物に加えて、酵母培養物のような真核微生物も用い得る。その場合にも、プロモーターは発現を駆動し得るべきものである。出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)又は一般的なパン酵母が、真核微生物の中で最も一般的に用いられるが、幾つかの他の系統も広く入手可能である。サッカロミセス(*Saccharomyces*)での発現のためには、例えばプラスミドYRp7が広く用いられる(Stinchcombら, 1979; Kingsmanら, 1979; Tschemperら, 1980)。

酵母ベクター中で適切なプロモーター配列としては、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ(Hitzmanら, 1980)又は他の糖分解酵素(Hessら, 1968; Hollandら, 1978)、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-リン酸イソメラーゼ、3-ホスホグリセリン酸ムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ及びグルコキナーゼのプロモーターが挙げられる。適切な発現プラスミドの構築においては、これら遺伝子に関連する終止配列も、mRNAのポリアダニル化及び終止を提供するために、発現ベクター中、発現を望む配列の3'側に組み込まれる。

#### 【0047】

転写が生育条件により制御されるという更なる利点を有する他のプロモーターは、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトクロムC、酸ホスファターゼ、窒素代謝に関連する分解酵素及び前記のグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、並びにマルトース及びガラクトースの利用を担う酵素のプロモーター領域である。酵母適合性プロモーター、複製起点及び終止配列を含有する任意のプラスミドベクターが適切である。

微生物に加えて、多細胞生物に由来する細胞培養物もまた、宿主として用い得る。原理上、任意の細胞培養物が、脊椎動物に由来するか又は無脊椎動物に由来するかにかかわらず機能する。有用な宿主細胞株の例は、VERO及びHeLa細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞株、W138、Per.C6、BHK、COS-7 293、ツマジロクサヨトウ(*Spodoptera frugiperda*; SF)細胞、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)細胞株(例えば、Schneider 2(S<sub>2</sub>))及びMDCK細胞株である。

このような細胞用の発現ベクターは、通常、(必要であれば)複製起点、発現すべき遺伝子の前に位置するプロモーター(任意の必要なりボソーム結合部位と共に)、RNAスプライス部位、ポリアダニル化部位及び転写終止配列を含む。

#### 【0048】

哺乳動物細胞での使用のためには、発現ベクターにおける制御機能は、しばしば、ウイ

10

20

30

40

50

ルス材料により提供される。例えば、一般に用いられるプロモーターは、ポリオーマ、アデノウイルス2、そして最も頻繁にはシミアンウイルス40(SV40)に由来する。SV40ウイルスの初期及び後期プロモーターが、共に、複製起点も含有するフラグメントとしてSV40ウイルスから容易に得られるので、特に有用である(Fiersら, 1978)。ウイルスの複製起点に位置するHindIII部位からBglII部位に向かって伸びる約250bp配列を含んでいれば、より小さい又はより大きいSV40フラグメントも用い得る。更に、所望の遺伝子配列と通常関連しているプロモーター又は制御配列(宿主細胞系と適合性であることが前提)を用いることも可能であり、望ましいことが多い。

複製起点は、外来の起点(例えば、SV40又は他のウイルス(例えば、他のポリオーマウイルス、アデノ、VSV、BPV)に由来してもよい)を含むようにベクターを構築することによって提供されてもよいし、宿主細胞の染色体複製機序によって提供されてもよい。ベクターが宿主細胞の染色体に組み込まれる場合、後者で十分であることが多い。

ポリペプチドベースワクチンの投与経路及び投与スキームについて上述したことは、本発明の核酸ワクチンにも適用可能であり、ポリペプチドの投与経路及び投与スキームに関して上記した全てのことが核酸にも必要な変更を行った上で当てはまる。加えて、核酸ワクチンは、静脈内及び動脈内に投与することもできる。更に、核酸ワクチンがいわゆる遺伝子銃の使用により及び/又はエレクトロポレーションの使用により投与可能であることは当該分野において周知である。よって、これら及び等価な投与態様も本発明の一部と見なされる。

#### 【0049】

通常の場合下では、核酸フラグメントは、発現がウイルスプロモーターの制御下にあるベクターの形態で導入される。本発明に従うベクターのより詳細な議論については、上記を参照。核酸ワクチンの製剤及び使用に関する詳細な開示も利用可能である。Donnelly JR, 1997, *Annu. Rev. Immunol.* 15: 617-648、及びDonnelly JJら, 1997, *Life Sciences* 60: 163-172(これら参考文献は共に参照により本明細書に組み込まれる)を参照。

ペプチド免疫原又は核酸免疫原の使用に代替するものは、生免疫原技術の使用である。これは、本発明の核酸フラグメント又はベクターで形質転換された非病原性微生物の投与を含む。非病原性微生物は、任意の適切な減弱化細菌系統(継代により、又は組換えDNA技術での病原性発現産物の除去による減弱化)、例えば、ウシ型結核菌(*Mycobacterium bovis*) BCG、非病原性レンサ球菌(*Streptococcus* spp.)、大腸菌(*E. coli*)、サルモネラ菌(*Salmonella* spp.)、コレラ菌(*Vibrio cholerae*)、赤痢菌(*Shigella*)などであることができる。従来技術の生ワクチンの製造を扱う概説は、例えば、Saliou P, 1995, *Rev. Prat.* 45: 14921496及びWalker PD, 1992, *Vaccine* 10: 977990(共に、参照により本明細書に組み込まれる)に見出すことができる。このような生ワクチンに用いられる核酸フラグメント及びベクターについての詳細は、下記を参照。

細菌性生免疫原の代替物として、本発明の核酸フラグメントは、ワクシニア系統又は任意の他の適切なポックスウイルスのような非毒性ウイルスワクチンベクターに組み込むことができる。

#### 【0050】

通常、非病原性微生物又はウイルスは、対象者に1回のみ投与するが、特定の場合には、保護免疫を維持するために、微生物/ウイルスを生涯において2回以上投与する必要がある。生又はウイルスワクチンを用いる場合、ポリペプチドワクチン接種について上記した免疫化スキームが有用である。

或いは、生又はウイルス免疫化は、事前又は事後のポリペプチド及び/又は核酸免疫化と組み合わせられる。例えば、生又はウイルスワクチンでの初回免疫の後に、ポリペプチド又は核酸アプローチを用いるブースター免疫化を行うことが可能である。

#### 【0051】

実施例の前文

本発明に従う使用のためのHIV-特異的ペプチド

本発明は、HIV gag p24の保存領域に基づくHIV-特異的ペプチドの使用を包含し、ここ

10

20

30

40

50

で、遊離形態又はキャリア結合形態の抗原は、少なくとも1つのHIV-特異的ペプチドを含んでなる。

本発明に従う使用のためのHIV-特異的ペプチドは、HIV-1コアタンパク質p24の4つの異なる保存領域に起源を有し、これらは、HIV-1-エピトープの独自性(感受性及び特異性)を維持するという特性を有する。更に、これらペプチドは、認識される細胞傷害性Tリンパ球(CTL)拮抗効果を有さず、少なくとも1つの可能なCTLエピトープを有する。

本発明に従う使用のための(上記の基準を満たす)HIV-特異的ペプチドは、上記のとおり、配列番号1、4、9及び15のアミノ酸配列の群より選択される；各HIV特異的ペプチドの末端部は遊離のカルボキシル-又はアミノ-基、アミド、アシル又はアセチルであってもよい；或いは、HIV特異的ペプチドのいずれかの酢酸塩であってもよい。

10

#### 【0052】

HIV-特異的ペプチドの配列は、配列番号1、配列番号4、配列番号9又は配列番号15の配列の群より選択される少なくとも1つのペプチドを含んでなる、特に良好な抗原として機能する能力を有する。抗原性は、異なるペプチドの比若しくは濃度又は(例えば二量体化若しくは多量体化による)ペプチドサイズを調節することによって、及び/又は固相への不動化によって適合させ得る。抗原は、橋架け、例えばCys残基同士の鎖間ジスルフィド橋架け又はC<sub>1</sub>~C<sub>8</sub>アルキレンのような橋架け(1又は2以上のヘテロ原子(例えばO、S又はN)が介在していてもよい)により連結している2又は3以上のポリペプチド配列を含んでなり得るが、ポリペプチド配列は連結していないことが好ましい。鎖は、固相に、単量体、二量体又はオリゴマー形態で不動化され得る。不動化を容易にする「腕」を得るために、更なるアミノ酸を末端に付加してもよい。

20

本発明のHIV-特異的ペプチドの全てのアミノ酸は、D体又はL体であることができるが、天然に存在するL体が好ましい。

#### 【0053】

HIV-特異的ペプチド配列のC-及びN-末端は、NH<sub>2</sub>-末端基及び/又はCOOH-末端基の修飾により天然配列から逸脱し得、例えば、アシル化され、アセチル化され、アミド化され、若しくは塩であってもよく；又は、キャリア若しくは別の分子用の結合部位を提供するように改変されていてもよい。ペプチドのC-末端がアミドであるとき、適切なアミドとしては、式-C(O)-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>(式中、R<sup>x</sup>及びR<sup>y</sup>は、独立して、水素及びC<sub>1-6</sub>アルキルから選択され、アルキル基は、1又は2以上のフッ素原子で置換されていてもよく、例えば-CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>及び-CF<sub>3</sub>であり得る)を有するものが挙げられ、言及し得る具体的なアミド基は-C(O)NH<sub>2</sub>である。ペプチドのN-末端がアセチル化されているとき、適切なアセチル化N-末端としては、式-NH-C(O)R<sup>z</sup>(式中、R<sup>z</sup>は、水素、C<sub>1-6</sub>アルキル又はフェニルであり、アルキル基は、1又は2以上のフッ素原子で置換されていてもよく、例えば-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>及び-CF<sub>3</sub>であり得る)のものが挙げられる。

30

本発明に従う使用のためのHIV-特異的ペプチドは、6~50アミノ酸、好ましくは10~30アミノ酸からなる。これらは、特定位置での天然のアミノ酸変動の全てをカバーする。

本発明に従う使用のためのポリペプチド抗原は、遊離形態又はキャリア結合形態である。随意にペプチドが結合していてもよいキャリア又は固相は、広範な公知キャリアから選択することができる。キャリア又は固相は、ワクチン中の免疫成分としての不動化ポリペプチドの意図する用途に関して選択すべきものである。

40

#### 【0054】

1つの好適な実施態様において、本発明に従う使用のためのHIV特異的ペプチドは、配列番号1、4、9及び15のペプチドを含有する抗原を含んでなり、より好ましくはペプチドは1:1:1:1の比(w/w)で存在する。

1つの更なる好適な実施態様において、本発明に従う使用のためのHIV特異的ペプチドは、以下のペプチドを含んでなる：

RALGPAATLQTPWTASLGVG(配列番号3)

RWLLLGLNPLVGGGRLYSPTSILG(配列番号6)

RAIPIPAGTLLSGGGRAIYKRTAILG(配列番号11)

50

及び

RFIIPNIFTALSGGRRALLYGATPYAIG(配列番号18)(6位のNIはノルロイシンである)

又はそれらの塩、特に酢酸塩。

幾つかの実施態様において、本発明に従う使用のためのHIV特異的ペプチドは、C-末端が以下のように改変されている：

RALGPAATLQTPWTASLGVG-NH<sub>2</sub>(配列番号3)

RWLLLGLNPLVGGGRLYSPTSILG-NH<sub>2</sub>(配列番号6)

RAIPIPAGTLLSGGGRAIYKRTAILG-NH<sub>2</sub>(配列番号11)

及び

RFIIPNIFTALSGGRRALLYGATPYAIG-NH<sub>2</sub>(配列番号18)

又はそれらの塩、特に酢酸塩(本願では、実施例において、Vacc-4xとも呼ぶ)。

10

【0055】

配列の1つは、B細胞エピトープを含有し、液性免疫系を活性化する一方、他の配列はCTL-エピトープで寄与し、結合増強を達成するように設計されるアミノ酸変化がCTL-エピトープの枠内で行われる。ペプチドの合成を容易にし及び/又はペプチドの可溶性を増大させる他のアミノ酸変化も行われる。

上述したとおり、本発明の幾つかの観点は、ヒト免疫不全ウイルスI(HIV)感染ヒト対象者においてHIVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させるための方法に関し、該方法は以下の工程：

a)配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相；

20

b)同時に又はその後、前記HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを1回又は2回以上測定する工程；及び、随意に

c)その後、ウイルスリザーバ駆逐剤の有効量を投与することからなるウイルス再活性化相を含んでなる。

【0056】

別の1つの観点は、免疫相の後又は免疫相と同時に、ヒト免疫不全ウイルスI(HIV-1)感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを1回又は2回以上測定する工程を含んでなる、前記HIV感染ヒト対象者においてHIVの病理学的影響を減少及び/若しくは遅延させるか又は後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症するリスクを低減させる際における、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を1又は2以上の用量で1~12週間にわたって投与することからなるHIV-1治療免疫相の効果モニターする方法に関する。

30

幾つかの実施形態において、対象者は、前記免疫相及び/又は前記ウイルス再活性化相の前及び/又は間及び/又は後に、組合せ抗レトロウイルス療法(cART)で治療される。

【0057】

40

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程a)で1又は2以上の用量で投与することからなるHIV-1治療免疫相の後に、HIV-1 DNAレベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360又は370週間にわたって、少なくとも1、例えば少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000又は10000 HIV-1 DNAコピー/百万細胞であるヒト対象者を選択する工程であって、工程b)の後の工程b2)；及び、前記選択した対象者について工程a)及び/又はb)及び/又

50

は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる。

【 0 0 5 8 】

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの少なくとも 10%、例えば少なくとも 15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、又は 95% であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる。

10

【 0 0 5 9 】

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、HIV-1 DNA レベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって、百万細胞あたり 10000 HIV-1 DNA コピー未満、例えば 9000、8000、7000、6000、5000、4000、3000、2000、1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5、4、3、2 又は 1 HIV-1 DNA コピー未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者を工程 c) で治療することを更に含んでなる。

20

【 0 0 6 0 】

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNA レベルが、前記免疫相の前のレベルの 95% 未満、例えば 90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5% 未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者を工程 c) で治療することを更に含んでなる。

30

幾つかの実施形態において、前記方法は、

工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、HIV-1 DNA レベルが、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって、百万細胞あたり 10000 HIV-1 DNA コピー未満、例えば 9000、8000、7000、6000、5000、4000、3000、2000、1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、95、90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、5、4、3、2 又は 1 HIV-1 DNA コピー未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる。

40

【 0 0 6 1 】

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で 1 又は 2 以上の用量で投与することからなる HIV-1 治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360 又は 370 週間にわたって測定した

50

とき、HIV-1 DNAレベルが、前記免疫相の前のレベルの95%未満、例えば90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%未満であるヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる。

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で1又は2以上の用量で投与することからなるHIV-1治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360又は370週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNAレベルが、前記免疫相の前のレベルの10%を超えて、例えば少なくとも15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%又は95%を超えて減少するヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者について工程 a) 及び/又は b) 及び/又は随意に工程 c) を繰り返すことを更に含んでなる。

10

#### 【0062】

幾つかの実施形態において、前記方法は、工程 a) で1又は2以上の用量で投与することからなるHIV-1治療免疫相の後に、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360又は370週間にわたって測定したとき、HIV-1 DNAレベルが、前記免疫相の前のレベルの10%未満、例えば9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%未満に減少するヒト対象者を選択する工程であって、工程 b) の後の工程 b2) ; 及び、前記選択した対象者を工程 c) で治療することを更に含んでなる。

20

幾つかの実施形態において、前記方法は、HIV感染ヒト対象者のHIV-1 DNAレベルを測定する工程であって、工程 a) に先行する工程 a-1) を更に含んでなる。

幾つかの実施形態において、前記方法は、配列番号18(Vacc-10)、配列番号11(Vacc-11)、配列番号6(Vacc-12)及び配列番号3(Vacc-13)に示すアミノ酸配列からなるリストより選択される1又は2以上のHIV-特異的ペプチドの有効量を2、3、4、5又は6以上の用量で1~12週間にわたって投与することを工程 a) に含んでなる。

30

幾つかの実施形態において、アジュバント、例えば組換えヒト顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(rhuGM-CSF)、又は油中水アジュバント、例えばISA51若しくはISA720、又は水中油アジュバント、例えばProvaxはHIV-1治療免疫との組合せで、HIV-1治療免疫の前又はHIV-1治療免疫と同時に投与される。

#### 【0063】

幾つかの実施形態において、リザーバ駆逐剤はHIV-1治療免疫相の少なくとも約1、2、3又は4週間後に連続1、2、3又は4週間にわたって投与される。

幾つかの実施形態において、ウイルス再活性化相は、リザーバ駆逐剤の有効量を1~10用量、例えば2~10用量、例えば3~10、例えば4~10、例えば5~10、例えば6~10、例えば7~10、例えば8~10、例えば9~10、例えば10用量、又は1~9用量、例えば1~8用量、例えば1~7、例えば1~6、例えば1~5、例えば1~4、例えば1~3、例えば3用量で投与することを含む。

40

幾つかの実施形態において、工程 a) 及び/又は b) は独立して1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10回、任意の順序で繰り返される。

幾つかの実施形態において、リザーバ駆逐剤はHDAC阻害剤、例えばロミデプシン又はパノピノスタットである。

幾つかの実施形態において、リザーバ駆逐剤は2.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば7.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば10mg/m<sup>2</sup>まで、例えば12mg/m<sup>2</sup>まで、例えば12.5mg/m<sup>2</sup>まで、例えば14mg/m<sup>2</sup>まで、例えば2.5mg/m<sup>2</sup>~7.5mg/m<sup>2</sup>、例えば約5mg/m<sup>2</sup>の用量で注入により投与

50

されるロミデプシンである。

幾つかの実施形態において、HIV-1潜伏リザーバに対する効果は、cARTによりウイルス学的に抑制されたHIV-感染患者におけるものである。

【0064】

幾つかの実施形態において、各ペプチドは0.1mg~10mg/投与、例えば0.1~10mg/投与、例えば0.1~9mg/投与、例えば0.1~8mg/投与、例えば0.1~7mg/投与、例えば0.1~6mg/投与、例えば0.1~5mg/投与、例えば0.1~4mg/投与、例えば0.1~3mg/投与、例えば0.1~2mg/投与、例えば0.1~1.2mg/投与、例えば0.1~0.9mg/投与、例えば0.1~0.6mg/投与、例えば0.1~0.4mg/投与の用量で与えられる。

幾つかの実施形態において、HIV-1治療免疫相は、1~12週間にわたる、例えば2~12週間にわたる、例えば3~12週間にわたる、例えば4~12週間にわたる、例えば5~12週間にわたる、例えば6~12週間にわたる、例えば7~12週間にわたる、例えば8~12週間にわたる。

幾つかの実施形態において、HIV-1治療免疫相は、1~10用量、例えば2~10用量、例えば3~10、例えば4~10、例えば5~10、例えば6~10、例えば7~10、例えば8~10、例えば9~10、例えば10用量での投与を含む。

幾つかの実施形態において、1又は2以上のペプチドは酢酸塩の形態である。

幾つかの実施形態において、塩のアセテート含量は4%~18%、例えば5%~17%、例えば6%~16%、例えば7%~15%、例えば8%~14%、例えば9%~14%、例えば9%~13%、例えば10%~14%、例えば11%~14%、又は5%~16%、例えば5%~15%、例えば5%~14%、例えば6%~14%、例えば6%~13%、例えば7%~12%、例えば7%~11%、例えば8%~11%、例えば9%~11%、又は3%~18%、例えば3%~17%、例えば3%~16%、例えば3%~15%、例えば3%~14%、例えば3%~13%、例えば3%~11%、例えば3%~10%、例えば4%~10%、例えば4%~9%、例えば4%~8%、例えば4%~7%、例えば4%~6%、例えば4%~5%である。

【0065】

幾つかの実施形態において、1、2、3又は4つのペプチドがHIV-1治療免疫相に用いられる。

幾つかの実施形態において、酢酸塩としての4つ全てのペプチドがHIV-1治療免疫相に用いられる。

幾つかの実施形態において、ペプチドは式-C(O)NH<sub>2</sub>のアミドC-末端又はその酢酸塩を有する。

幾つかの実施形態において、4つ全てのペプチドは1:1:1:1の比(w/w)で用いられる。

幾つかの実施形態において、1、2、3又は4つのペプチドは溶解液体状態である。

幾つかの実施形態において、液体は水である。

幾つかの実施形態において、前記方法は、免疫調節化合物及び第2のリザーバ駆逐剤、例えばヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、又はBETファミリータンパク質阻害剤/拮抗剤、例えばJQ1、I-BET、I-Bet151、MS417、GW841819X、及びチエノトリアゾロジアゼピン化合物、例えば米国特許出願公開第2010/0286127に記載のものから選択される1又は2以上の更なる治療活性薬剤を投与することを更に含んでなる。

幾つかの実施形態において、免疫調節化合物は、抗-PD1抗体、例えばMDX-1106(Merck)、サロミド(登録商標)(サリドマイド)、抗-PD1抗体、シクロホスファミド、レバミゾール、レナリドミド、CC-4047(ポマリドミド)、CC-11006(Celgene)及びCC-10015(Celgene)並びにWO2007028047、WO2002059106及びWO2002094180のいずれかに記載の免疫調節化合物から選択される。

【0066】

幾つかの実施形態において、免疫調節化合物はレナリドミドである。

幾つかの実施形態において、リザーバ駆逐剤は、M344(4-(ジメチルアミノ)-N-[7-(ヒドロキシアミノ)-7-オキソヘプチル]ベンズアミド)、チダミド(CS055/HBI-800)、4SC-202、(

4SC)、レスミノスタット(4SC)、ヒドロキサム酸、例えばポリノスタット(SAHA)、ペリノスタット(PXD101)、LAQ824、トリコスタチンA及びパノビノスタット(LBH589);ベンズアミド、例えばエンチノスタット(MS-275)、CI994及びモセチノスタット(MGCD0103)、環状テトラペプチド(例えばトラポキシン、例えばトラポキシンB)、及びデブシペプチド、例えばロミデブシン(ISTODAX)、求電子性ケトン、及び脂肪族酸化合物、例えばフェニルブチレート、バルプロ酸、オキサムフラチン、ITF2357(ジェネリックのジビノスタット)、アピシジン、MC1293、CG05及びCG06;NF- $\kappa$ B、プロストラチン、オーラノフィン、プリオスタチン、非腫瘍形成性ホルボールエステル、DPP(12-デオキシホルボール-13-フェニルアセテート)、PMA及びホルボール12-ミリステート13-アセテート(PMA)を含む転写因子を活性化する化合物;P-TEF-bキナーゼ及びヘキサメチルビスアセトアミド(HMBA)を含むHIV mRNA伸長を活性化する化合物;IL-7;抗-CD3/CD28-T細胞刺激性Ab-を含むT細胞刺激因子;チルホスチンA、チルホスチンB及びチルホスチンCを含むキナーゼ阻害剤;SF1670(Echelon Bioscience)を含むPTEN(ホスファターゼ及びテンシンホモログ)遺伝子阻害剤、ジスルフィラム(DSF)、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ阻害剤、bpV(HOpic)、bpV(p hen)及びbpV(pic)(Calbiochem;EMD Millipore)を含むタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、Toll様レセプター-9(TLR9)及びToll様レセプター-7(TLR7)アゴニストを含むToll様レセプターアゴニスト、ケルセチン、リボ酸、酪酸ナトリウム、TNF- $\alpha$ 、PHA及びTatから選択される。

10

#### 【0067】

##### ペプチドの製造の説明

20

本発明のペプチドは、直鎖アミノ酸配列を製造する任意の公知の方法、例えば組換えDNA技法により製造することができる。本発明のペプチド又は該ペプチドの多量体をコードする核酸配列を発現ベクターに導入する。適切な発現ベクターは、例えば、複製及び発現に必要な制御領域を含むプラスミド、コスミド、ウイルス及びYAC(酵母人工染色体)である。発現ベクターは宿主細胞において発現するように刺激してもよい。適切な宿主細胞は、例えば細菌、酵母細胞及び哺乳動物細胞である。このような技法は、当該分野で周知であり、例えばSambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989に記載される。他の周知技法は、液相又は好ましくは固相(樹脂)で、例えばいわゆるMerrifield合成により、アミノ酸残基を1つつカップリングする合成又は分解である。例えば、Barany及びMerrifield, *Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*, Vol.2, E. Gross及びMeinhofer編(Acad.Press, N.Y., 1980)、Kneib-Coronier及びMullen, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 30, p.705-739 (1987)、並びにFields及びNoble, *Int.J.Peptide Protein Res.*, 35, p.161-214 (1990)を参照。

30

連結ペプチド又は環状ペプチドが所望である場合、適切な直鎖アミノ酸配列を合成し、アミノ酸配列を化学的酸化工程に付して、1又は2つのペプチド配列間の2つのシステイン残基を環化又は連結する。Akajiら, *Tetrahedron Letter*, 33, 8, p.1073-1076, 1992を参照。

#### 【0068】

##### 合成の一般的説明

40

アミノ酸誘導体は、Bachem AG, Switzerlandより供給を受けた。

本明細書に記載のペプチドは、好ましくは、N-末端に遊離アミノ基を有し、C-末端がアミド化されている。本明細書に記載の全てのペプチドの対イオンは、荷電官能基(すなわち、グアニジノ側鎖 アルギニン及びリジンの $\epsilon$ -アミノ基[Vacc-11]、及びアルギニンの側鎖[Vacc-10、Vacc-12及びVacc-13])にイオン形態で結合するアセテートである。アキラルなグリシンを除く全てのアミノ酸残基はL体である。

本明細書に記載のペプチドは、三環式アミドリナー樹脂上で、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)ストラテジを利用して製造した。

簡潔には、三環式アミドリナー樹脂を固相ペプチド合成(SPPS)反応器に攪拌しながら移す。その後、下記の一般的説明に従って、樹脂の9-フルオレニルメチルオキシカルボニ

50

ル(Fmoc)-脱保護により合成を開始し、続いてFmoc-Gly-OHを用いるカップリング手順を行う。この工程に続けて、再び、Fmoc-脱保護の後、配列に応じたアミノ酸誘導体、ペプチド又はジペプチドのカップリングを行う。最後のカップリング工程は、側鎖を保護したFmoc-Arg-OHを用いて行う。最後のFmoc-脱保護後、デシケータ内で減圧下にペプチド樹脂を乾燥させる。

#### 【 0 0 6 9 】

Fmoc-脱保護手順：

工程 1：洗浄；

工程 2：Fmoc-脱保護；

工程 3～9：洗浄。

10

各工程は溶媒/試薬の添加、室温での攪拌及び濾過からなる。

ペプチド樹脂を、脱イオン水及び1,2-エタンジチオール(EDT)(Vacc-10及びVacc-13)又はトリイソプロピルシラン(TIS)(Vacc-11及びVacc-12)の存在下に冷TFAで約2～3時間、室温にて処理する。樹脂の濾取及びTFAでの洗浄後、ペプチドをジイソプロピルエーテル(IPE)中で沈降させる。その後、ペプチドを濾取し、IPEで洗浄し、デシケータ内で減圧下に乾燥させる。

前の段階で得られた物質を、アセトニトリル(ACN)グラジエント溶出を用いる逆相カラムでの分取HPLCにより精製し、TEAP及び/又はTFA系を用いて $\lambda=220$ ナノメートル(nm)で紫外線(UV)検出する。Vacc-10のみTFA系で精製する。

Vacc-13については、TEAP及びTFA系を用いる前に、分取HPLC精製用のパークロレート系を導入した。原材料として過塩素酸ナトリウムを挙げる。

20

#### 【 0 0 7 0 】

Vacc-4x酢酸塩の製造の最終段階は、イオン交換による、第3段階で得られるTFA塩から酢酸塩への交換である。1回の又は数回組み合わせた分取HPLCの凍結乾燥物質を、個々のペプチドの性質に応じて種々の濃度の酢酸又は精製水に溶解させる。溶解したペプチドをイオン交換樹脂(アセテート形態)にロードし、5%酢酸(又はVacc-13については20%精製水)で平衡化させる。5%酢酸(又はVacc-13については精製水)で溶出を行い、薄層クロマトグラフィー(TLC)により検証し、0.2 $\mu$ mメンブレンフィルターにより濾過し、凍結乾燥して、白色～オフホワイトの粉体として最終生成物を得る。

Vacc-4x製剤はイオン性賦形剤を含有しないが、ペプチド及びその対イオン(アセテート)が浸透圧の原因である。10～100mOsm/kgの範囲は、技術的サンプルについて得られた結果に基づいて規定した。4つのペプチドに起因する可能な変動性を考慮する。医薬品については、4つのVacc-4xペプチドの各々を約1mg用いた。凍結乾燥物を0.30mLのWFIで再構成する。表1に列挙したペプチドの酢酸含量を考慮すれば、Vacc-4xの酢酸含量は、0.30mLの溶液中約0.40mgである。理論上の浸透圧は、計算によれば約23mOsmol/Lであり、これはVacc-4xバッチで測定した値(20～23mOsmol/kg)と良好に相関する。

30

#### 【 0 0 7 1 】

##### 【表1】

表1 4つのペプチド(GMPグレード材料、各2バッチ)の酢酸含量

40

活性物質	Vacc-4xバッチ1011584 及び1012951に用いた ペプチドバッチ	酢酸含量 [%]	Vacc-4xバッチ 1018724に用いた ペプチドバッチ	酢酸含量 [%]
Vacc-10 アセテート	1008290	11.3	1015501	12.2
Vacc-11 アセテート	1009945	17.2	1015502	14.8
Vacc-12 アセテート	1008294	9.9	1015503	10.0
Vacc-13 アセテート	1008296	4.6	1015504	5.1

50

## 【実施例】

## 【0072】

## 実施例1

K A L G P G A T L Q T P W T A C Q G V G - NH<sub>2</sub>(配列番号2)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

R A L G P A A T L Q T P W T A S L G V G(配列番号3)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

分子式： $C_{88}H_{144}O_{25}N_{26}$

W I I P G L N P L V G G G K L Y S P T S I L C G - NH<sub>2</sub>(配列番号5)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

質量分析：理論分子量：2454.9

実験的分子量：2454.8 ES+

## 【0073】

R W L L L G L N P L V G G G R L Y S P T S I L G(配列番号6)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

分子量(遊離塩基)：2552

分子式： $C_{119}H_{195}O_{29}N_{33}$

K I L L G L N P L V G G G R L Y S P T S I L G(配列番号7)、R L L L G L N P L V G G G R L Y S P T T I L G(配列番号8)及びN I P I P V G D I Y G G G D I Y K R W Q A L C L(配列番号21)の製造

これらペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成する。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認する。

R N I P I P V G D I Y G G G D I Y K R W Q A L C L(配列番号10)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

質量分析：理論分子量：2817.3

実験的分子量：2813.7 ES+

## 【0074】

R A I P I P A G T L L S G G G R A I Y K R W A I L G(配列番号11)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

分子量(遊離塩基)：2707

分子式： $C_{125}H_{208}O_{29}N_{38}$

A L P I P A G F I Y G G G R I Y K R W Q A L G(配列番号12)、K I P I P V G F I G G

G W I Y K R W A I L G (配列番号13)及びK I P I P V G T L L S G G G R I Y K R W A I L G (配列番号14)の製造

これらペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成する。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認する。

K F I I P N I F S A L G G A I S Y D L N T N I L N C I (配列番号16)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。配列中のNIはノルロイシンである。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

質量分析：理論分子量：2783.3

実験的分子量：2783.3 ES+

【0075】

K F I I P N I F S A L S G G G A I S Y D L N T F L N C I G (配列番号17)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。配列中のNIはノルロイシンである。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

質量分析：理論分子量：2932.4

実験的分子量：2931.8 ES+

R F I I P N I F T A L S G G R R A L L Y G A T P Y A I G (配列番号18)の製造

このペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成した。配列中のNIはノルロイシンである。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認した。

分子量(遊離塩基)：2894

分子式： $C_{137}H_{217}O_{32}N_{37}$

K I I P N I F S A L G G G R L L Y G A T P Y A I G (配列番号19)、R I I P N I F T A L S G G G R L L Y G A T P Y A I G (配列番号20)及びW I I P N I F S A L G G A I S Y D L N T N I L N C I (配列番号22)の製造

これらペプチドは、合成の一般的説明に従い、対応する出発物質からアミド形態で合成する。純度はHPLC分析により決定し、構造はアミノ酸分析及び質量分析(LDI-MS)により確認する。

【0076】

実施例 2

配列番号 3、6、11及び18のペプチドを含んでなるワクチンを製造した(Vacc-4xとも呼ぶ)。凍結乾燥ペプチドを滅菌水に最終濃度 4 mg/mlで溶解した。最終塩濃度は0.9%であった。顆粒細胞-マクロファージ-コロニー刺激因子(GM-CSF)製剤も、製造業者の使用指示書に従って、最終濃度0.3mg/mlで製造した。この2つの溶液を皮内投与する。代表的な注射用量は100 µlである。

実施例 3

抗原溶液又は懸濁液を、等量部の完全又は不完全フロイントアジュバント(Behring)と混合した後、注射シリンジに吸引して激しく押出すことにより又はホモジネータを用いて微細乳化する。エマルジョンは、少なくとも30分間は安定なままでなければならない。抗原-アジュバントエマルジョンは、最良には、デポーとして皮下注射する。

【0077】

実施例 4

毒性試験は、実施例 2 のワクチンのペプチド組成物についてマウス及びラットで行った。2番目に一般的に用いられるげっ歯動物種のデータと比較するための毒性試験にはマウ

10

20

30

40

50

スを選択した。試験物質は4つのペプチドの混合物であり、生理食塩水で再構成する凍結乾燥物質を含む1バイアルとして供給した。用量レベルは総ペプチド量で表わした。個々のペプチドは、各ペプチドの用量レベルが0.0075mg/kg体重、0.075 mg/kg体重及び0.75 mg/kg体重(意図するヒト用量の最大500倍)となるように、1:1:1:1の比(w/w)で存在した。試験動物を各10匹(雄5匹及び雌5匹)の4群に分けた;生理食塩水コントロール群、並びに低用量、中用量及び高用量群。試験組成物は、投与速度3ml/分の尾静脈内注入で1回投与した。15日目及び16日目に、ペントバルビトンナトリウムの腹腔内注射により動物を屠殺した。

この試験結果から、マウス及びラットに投与した用量レベルは有害反応を誘発せず、有害な影響のないレベルは3mg/kgを超えることが示された。

10

【0078】

#### 実施例5

HIV-1により誘導される抗体を検出するイムノアッセイ

磁性粒子試薬を製造業者が推奨するプロトコルに従い製造する。用いるDynabeadsはDyna al ASが製造したものである。リガンドをコートした磁性粒子を試薬1と呼ぶ。本発明に従うペプチドを、予め活性化させた磁性粒子表面に共有結合的にカップリングさせる。磁性粒子表面にペプチドを物理的に吸着させることも可能である。試薬1の粒子濃度は、1mg/ml~15mg/mlの範囲内である。粒子サイズは0.2µm~15µmの間で変化する。ペプチド濃度は0.01mg/mg粒子~1mg/mg粒子の範囲内である。

抗-ヒトIgアルカリホスファターゼ(AP)接合抗体試薬をDako ASの推奨プロトコルに従って製造する。このプロトコルは当該分野で標準の手順である。この試薬を試薬2と呼ぶ。

20

フェノールフタレイン-モノホスフェート基質溶液を、Fluka AGの推奨プロトコルに従って製造する。このプロトコルは当該分野で標準の手順である。この基質溶液を試薬3と呼ぶ。

用いる洗浄及びインキュベーション緩衝液は、次の更なる化合物を含む標準の0,05M Tris-塩基緩衝液である;Tween 20(0.01%~0.1%)、グリセロール(0.1%~10%)及び塩化ナトリウム(0.2%~0.1%)。

【0079】

アッセイ手順は、各ウェルで1滴の試薬1を2滴の洗浄緩衝液と混合するインキュベーション工程を含んでなる。混合後、30µlのサンプルを加え、溶液を5分間インキュベートする。磁性粒子は磁石で捕捉可能であり、液体の除去後に磁石を離す。次いで、ウェルを4滴の洗浄溶液で2回洗浄した後に、試薬2とインキュベートする。1滴の試薬2を2滴の洗浄緩衝液に加え、溶液を5分間インキュベートする。磁性粒子は磁石で捕捉可能であり、液体の除去後に磁石を離す。次いで、洗浄工程を繰り返した後、試薬3とインキュベートする。2滴の試薬3を各ウェルに加え、溶液を3分間インキュベートする。結果は白色背景に対して読み取り可能である。陽性は赤色(3+=強い赤色)である一方、陰性は、ネガティブコントロールで得られるような透明な淡黄/褐色の溶液である。

30

HIVウイルス又はHIV-特異的ペプチド若しくはタンパク質(例えば、本発明のペプチド)により誘導された抗体の検出には、イムノアッセイキットを用いることができる。

上記実施例は、本発明の説明としてのみ意図されるに過ぎない。当業者は、特許請求の範囲に記載される本発明の思想及び範囲を逸脱することなく、本明細書に記載したペプチド、抗原及びワクチンを改変することができることを理解すべきである。

40

【0080】

本発明のポリペプチドは、抗原、又はヒト免疫不全ウイルスタイプ1(HIV-1)に対する保護の提供を意図する予防若しくは治療ワクチンの活性成分を形成するために、配列番号1、4、9及び15の各配列群から選択される少なくとも1つのペプチドの組合せで用いることができる。ワクチンは、宿主(ヒト又は脊椎動物)の免疫系の保護又は刺激に有益な効果を有する化合物、例えばインターロイキン、インターフェロン、顆粒球-マクロファージ増殖因子、造血性増殖因子などを含んでいてもよい。好ましくは、ワクチン組成物はアジュバント又はビヒクルを更に含有し、より好ましくは、アジュバント又はビヒクルは、

50

場合によってはミョウバン、フロイントアジュバント(完全又は不完全)又は水酸化アルミニウムと組み合わせられた、モノホスホリルリピド A (MPL(登録商標))である。アジュバント/ビヒクルの最適量は選択したタイプに依存する。

ペプチド又はワクチン製剤は保存前に凍結乾燥可能である。ワクチンは、使用可能状態の1又は2以上の投薬単位を含むアンプル中で、好ましくは低温にて保存し得る。当業者は、適切な用量が患者の体重、疾患のタイプ、状態の重篤度、投与経路及び他の幾つかの因子に依存し得ることを理解する。ワクチンは注射により最大12回投与し得、代表的には約6回投与する。注射液の製造では、ペプチドを滅菌水又は塩化ナトリウム溶液に、ペプチドあたり1~3mg/mlの最終濃度及び0~0.9%塩化ナトリウムで溶解する。代表的には、注射容量は100 $\mu$ l~200 $\mu$ l(2 $\times$ 100 $\mu$ l)である。ペプチドは、好ましくは、適切なアジュバント及び/又は顆粒球-マクロファージ成長因子(例えば、Leucomax(登録商標)(Shering Plough))と共に投与する。適切な投与は、皮内、皮下、静脈内、経口、筋肉内、鼻内、粘膜又は他の任意の適切な経路であり得る。保護を維持するために、ブースタ投与が必要とされ得る。

#### 【0081】

##### 実施例6

Vacc-4x免疫により生じる抗-HIV p24免疫応答は、ARTとの組合せで、健常CD4レベル(>600 $\times$ 10<sup>6</sup>/L)に十分に復帰していない患者において、免疫再構成を改善し得る。免疫再構成が不完全な対象者におけるVacc-4xの利益として、p24及びHIVに対する免疫応答の持続的な改善が可能であることを挙げ得る。

可能性のあるリスクとして、免疫に関連する不快感及び不便並びにVacc-4x及びロイカイン(rhu-GM-CSF)への曝露に対する既知又は未知の副作用リスク(最も一般的には注射部位での局所反応及び疲労感を含む)が挙げられる(この可能性は未だ決定されていない)。

マウス及びラットにおける非臨床的単回用量試験の結果から、静脈内Vacc-4xの用量レベルが有害反応を誘発せず、有害な影響のないレベルが3mg/kgを超える(安全限界が計画したヒト用量レベルの500倍を超える)ことが示される。

Vacc-4xの影響を、ウサギ試験において、臨床プログラムで用いたアジュバントであるGM-CSFの同時存在下で評価した。局所皮内反応(例えば、紅斑及び浮腫)が見出されたが、同様な影響は、コントロール動物において肉眼観察でも組織的観察でも見出された。これら局所反応はVacc-4x処置動物で僅かに顕著であった。この試験で全身反応はなかった。これらデータから、Vacc-4xが、提案する臨床試験に関連するモデルにおいて毒性学的に制限されないことが示される。

#### 【0082】

治療ワクチン候補のVacc-4xを、1回の第I相臨床試験及び3回の第II相臨床試験で調べた。第I相試験には、ARTを受けている9人を含む11人のHIV陽性対象者が参加した。(ARTが開始されている場合)対象者はARTを続けた;全対象者に、26週間にわたって0.4mg/注射の用量で12回、Vacc-4x免疫処置を行った。免疫は、アジュバントとしてのrhu-GM-CSF(Leucomax(登録商標)[molgramostim])の注射に引き続いて行った。全対象者が1又は2以上の有害事象(AE)を経験した;9人は処置に関連すると判定された事象を経験した。報告された有害反応の重篤度は、1人が重篤な局所反応を示したことを除き、軽度又は中程度であった。毒性反応又は処置関連AEに起因して脱落した対象者はいなかった;重篤な有害事象(SAE)は生じなかった。2人以上で観察された処置関連事象として、注射の痛み(7人)、倦怠感-めまい(4人)、インフルエンザ様症状(2人)及び注射部位の皮膚刺激(2人)が挙げられる。

全対象者が、遅延型過敏症(DTH)皮膚反応により測定される細胞媒介免疫応答を経験した。45%の対象者について、酵素結合免疫吸着スポットアッセイ(ELISPOT)を用いるIFN放出により測定される細胞媒介免疫応答が幾らか報告された;Vacc-4xペプチドに対する抗体応答は観察されなかった。

#### 【0083】

第II相用量決定試験(CTN B-HIV 2/2001)には40人のHIV陽性対象者が参加し、そのうち3

10

20

30

40

50

8人が試験を完了した。対象者はARTを続け、26週間にわたって注射あたり0.4mg(20人)又は1.2mg(20人)の用量で10回、Vacc 4x免疫処置を受けた。Vacc 4xでの免疫は、局所アジュバントとしてのrhu-GM-CSF(Leucomax[molgramostim])の注射に引き続いて行った。ARTを第26週から第30週まで中断し、対象者自身のウイルスへの曝露(自家免疫)を可能とした。ARTを第30週から第38週まで再開し、Vacc 4xペプチド及び対象者自身のウイルスに対する免疫応答を成熟させた。ARTを第38週から(この試験を正式に終了した)第52週まで中断した。20人の対象者(0.4mg群の8人及び1.2mg群の12人)で治療関連AEが観察された。免疫期間中、SAEは報告されなかった。1人が、第26週及び第38週の免疫及びDTH検査に関連して一過性の血管迷走神経反応を経験した。2人目が、第52週のDTH検査に関連して血管迷走神経反応を経験した。臨床検査パラメータ、バイタルサイン及び一般状態については免疫に帰せられる変化は何も観察されなかった。HIV RNA、CD4細胞数及びCD8細胞数の変化は、免疫に関連する安全上の懸念がないことを示した。

全対象者について、DTH陽性反応として報告された免疫学的応答が観察された。全体として、硬結及び紅斑の両方の陽性応答は、高用量(HD、1.2mg Vacc-4x)群で、低用量(LD、0.4 mg Vacc 4x)群より統計学的に有意に高かった。DTH反応の用量依存的な差は本試験を通して維持された。T細胞増殖は第12週後に安定したようであり、DTHの結果と一致して、HDが有利であることが証明された。ARTを第38週で中断し、CD4数が200/ $\mu$ L未満に低下したとき又はAIDS若しくはHIVに関連する事象が観察されたとき(すなわち臨床実務)に再開する計画とした。Vacc-4xに対するDTH応答(第38週に測定した高応答対低応答)は、本試験の終了時(第52週)のウイルス量の減少及び対応するCD4数の改善に関連付けられた。

#### 【0084】

免疫期間の間、CD4数は安定であるか又は増加した。ARTの中断はCD4数の減少をもたらした。しかし、最後のART中断の14週間後(第52週)には、平均CD4数は依然として $200 \times 10^6$ 細胞/Lを上回っていた。LD群とHD群との間に差は観察されなかった。過半数の対象者は、本研究の完了(第52週)後もARTが中断されたままであった；ARTの再開まで対象者を追跡する許可を得た。治療中断の期間はペプチドに対する免疫応答性に関係した。対象者を、オランダでの類似の対象者(Vacc-4xの投与なしで治療を停止)と比較すると、Vacc-4x対象者でCD4細胞の緩徐であるが有意な減少が見出された。Vacc-4x第II相臨床試験に参加した全対象者について実施した治療中断期間のメジアン値は、31ヶ月であった。

CTN BI Vacc-4x/2009/1は、CTN B-HIV-2/2001試験の非盲検フォローアップ試験であり、Vacc-4xを用いる再ブースター免疫がCTN B-HIV-2/2001試験で行った免疫期間中に得られた免疫応答を再活性化又は増強することができるかどうかを決定する試験であった。副次的な目的は、DTHの評価及びDTH応答と初期試験でのDTHとの比較によりVacc-4xのインビボ免疫原性を評価すること；CD4数、CD8数及びHIVウイルスRNAに対するVacc-4xの影響を評価すること；並びに、Vacc-4xの安全性及び忍容性を評価することであった。この試験に参加した26人全員が2回のVacc-4xブースター投与を受けた。

#### 【0085】

合計74のAEが23人の対象者から報告された。ほとんどの有害事象(n=60)は研究対象の処置に多分/十中八九は関連していると判定された。関連する有害事象の大部分(98%)は軽度であった。研究対象の処置に関連する2つの有害事象(一方は頭痛、他方は注射部位の硬結)が中程度と判定された。痒み(注射部位の搔痒感)は本研究対象の処置に関連して最も頻繁に報告された有害事象であった。19人の患者(73%)がこの有害事象を少なくとも1回報告した。このうち10人の患者が両方の免疫に関連する痒みを報告した一方、他の9人については1回だけであった。5人の患者は免疫に関連する膨潤を報告した。このうち3人の患者は2回の免疫後とも膨潤を報告した。本研究の間に死亡した患者はいなかった。重篤な有害事象を報告した患者はおらず、臨床的に関連する変化も記録されなかった。

この研究により、Vacc-4xペプチドが7年間持続するT細胞応答を誘導することが証明された。再ブースター免疫により、殺傷マーカーを増加させることが可能であった。このことから、T細胞のHIV感染細胞を殺傷する能力が増大したことが再び示される。再ブースター免疫の前に、全患者が、主たる試験においてATRを停止する前のレベルと類似するC

10

20

30

40

50

D4、CD8及びウイルス量のレベルに復帰していた。再ブースター免疫は、患者のCD4、CD8及びウイルス量に対してネガティブな効果を示さなかった。これら患者の再ブースター免疫の結果として安全上の懸念は報告されなかった。

【0086】

第II相試験CT-BI Vacc-4x 2007/1(EudraCT Number 2007-006302-13)は、米国及び欧州(英国、ドイツ、スペイン及びイタリア)で行われた。この研究は、ARTに対する妥当な応答を維持するHIV-1感染患者におけるVacc-4x 対 プラシーボの多施設無作為化二重盲検での免疫原性研究であった。主目的は、CD4数、T細胞機能(ELISPOT、T細胞増殖応答及び細胞内サイトカイン染色)及びART中断の応答に対するVacc-4x免疫 対 プラシーボの影響の評価であった。CD4数の減少又はウイルス量増加に起因する、第28週のART中断と第52週の試験終了の間でARTを再開する必要性を、主要な効力指標の1つとしてモニターした。

10

ITT解析集団において、Vacc-4xは、プラシーボとの比較で、第28週のART休止後にART再開が必要となった対象者の割合を減少させないと結論付けられた。プラシーボとの比較で、第28週とART再開前最後のCD4評価時の間でCD4数のパーセンテージ変化に対する影響はなかった。ARTの再開時は、Vacc-4x対象は及びプラシーボ処置対象者で同様であった。

【0087】

ART休止後のウイルス量は対象者間で異なり、Vacc-4x免疫がプラシーボを上回る好都合な効果を明らかにした。データに、ARTを受けていたか又は受けていなかったかにかかわらず、全ての評価可能な対象者を含ませた場合、第4週～第52週にわたるウイルス量の反復測定ANOVAに有意差はなかった。第52週までARTを休止したままの対象者群において、平均ウイルス量は、Vacc-4x処置対象者でプラシーボ群より低かった。事後解析により、第52週(最終観察値補完法: Last Observation Carried Forward [LOCF])のウイルス量は、Vacc-4x群で、プラシーボ群より統計学的に有意に低いことが示された。

20

第28週から第52週までのHIV-1 RNA変化の解析から、群間にVacc-4xに有利な統計学的有意差が明白となった。第52週でARTを休止したままの対象者のAUCは、Vacc-4x群でプラシーボ群より低かった。事後解析から、このAUCの差が統計学的に有意であると示された。

この研究の間に安全上の懸念は生じなかった。本研究は、Data Safety Monitoring Board(DSMB)の監督を受けた。

【0088】

実施例 7

30

増殖、多機能性、IL-2分泌及びIFN- $\gamma$  産生の増大に関するIMiDを伴うペプチドの試験

本発明に従って用いるペプチドと予めインキュベートした樹状細胞での刺激による多機能性HIV-特異的T細胞の拡大は、Keersmaeckerら(J. Virol., 2012 86:9351-9360)が記載した方法及び参照した方法により調べることができ、HIVタンパク質Gag又はNef、樹状細胞を本発明に従って用いるペプチドとのインキュベーション後、共培養でT細胞を刺激するために用いる。

Keersmaeckerらは、Gag-又はNef-特異的ペプチドを提示する樹状細胞でのT細胞のインビトロ刺激の間のIMiD(レナリドミド(IMiD3; CC-5013)及びボマリドミド(IMiD1; CC-4047))の存在が、幾つかのT細胞機能改善をもたらすことを見出した: とりわけ、抗原刺激後の、溶菌能が増大し、より多くのGag抗原エピトープを認識し、より低い抗原ペプチド濃度での多機能性HIV特異的CD8<sup>+</sup> T細胞、多機能性CD4<sup>+</sup> T細胞数の増加を伴うCD4<sup>+</sup> T細胞増殖の減少、CD8<sup>+</sup> T細胞によるIL-2産生の増大、CD8<sup>+</sup> T細胞及びCD4<sup>+</sup> T細胞による検出可能なIFN- $\gamma$  産生。

40

「Expansion of Polyfunctional HIV-Specific T Cells upon Stimulation with mRNA Electroporated Dendritic Cells in the Presence of Immunomodulatory Drugs」 Brenda De Keersmaecker, Sabine D. Allard, Patrick Lacor, Rik Schots, Kris Thielemans及びJoe ri L. Aerts, J. Virol. September 2012 86:9351-9360; 印刷に先立って2012年6月20日に公開(doi:10.1128/JVI.00472-12)

【0089】

実施例 8

50

レナリドミド及びHDAC阻害剤との組合せでの、4つのペプチドを含んでなるペプチド組成物の試験のために示唆される臨床試験プロトコル

下記：

- 1) ペプチド組成物並びにアジュバントとしてのGM-CSF及びレナリドミド(CC-5013)、又は
  - 2) ペプチド組成物並びにアジュバントとしてのGM-CSF及びレナリドミド(CC-5013)のプラシーボ
  - 3) プラシーボ
- のいずれかによる、第1週、第2週、第3週及び第4週での免疫並びに第12週及び第13週でのブースター免疫(4回の初回免疫及び2回のブースター免疫)

10

示唆用量：

ペプチド組成物：0.6、0.9、1.2及び1.5mg(等モル量の各ペプチド)

レナリドミド：5、10及び25mg。

【0090】

レナリドミド(CC-5013)投与群に無作為に分類された対象者に、ペプチド組成物での免疫の前2日間毎日及び各免疫当日にレナリドミド(CC-5013)の単回経口投与をする。

この臨床試験計画に従って用いるペプチド組成物は、配列番号3、配列番号6、配列番号11及び配列番号18からなる。

第20週から、全ての試験群の対象者に、ARTを続けながら、8週間の間(第28週まで)一週間おきに1、3及び5日目に(すなわち、週に3回)、20mgのパノピノスタット(LBH589)の経口投与をする。その後、24週間のフォローアップ期間(第52週まで)を設ける。試験完了の際に、ARTを中断してウイルス抑制に対する研究対象処置の効果を評価する更なる観察試験への参加を対象者に勧めてもよい。この部分の研究への参加は任意であり、潜伏HIV-1リザーバに対する試験対象処置の効果によって決定する(最大治療中断期間：16週)。

20

【0091】

まとめると：

試験群1：ペプチド組成物 + IMiD + HDAC(パノピノスタット)

試験群2：ペプチド組成物 + HDAC(パノピノスタット)

試験群3：HDAC(パノピノスタット)

30

本発明に従う組合せ治療の結果としてのウイルスリザーバの涵濁は、例えば、Lehrmanら(The Lancet(366), 2005, pp. 549-555)及びそこで参照された文献に記載される手順に従って定量し得る。簡潔には、定量は、治療の前、間及び後に得た患者血液のサンプルにおいて、刺激された潜伏感染細胞からのp24発現、血漿HIV RNA濃度(ウイルス量)及びリアルタイムPCR分析による組み込みHIV DNAを測定することを含む。

【0092】

実施例9

DC/T細胞増殖アッセイ

樹状細胞(DC)は、健常血液ドナーのパフィコート調製物から単離した単球から作製した。簡潔には、末梢血単核細胞を密度勾配遠心分離により分離した後、Dynabeads Untouched Human Monocytes(Invitrogen, Carlsbad, CA)を製造業者の指示書に従って用いて、単球をネガティブ選択により単離した。X-VIVO15培地(Lonza, Basel, Switzerland)においてIL-4(20ng/ml; Immunotools, Friesoythe; Germany)及びGM-CSF(100ng/ml; Immunotools)と共に5~6日間単球を培養して未成熟DCを生じさせた。サイトカインを2~3日毎に補充した。IFN- $\gamma$ (1000IU/ml)、TNF- $\alpha$ (50ng/ml)、IL-1 $\beta$ (25ng/ml)、IFN- $\gamma$ (3000IU/ml)を用いて24時間、細胞を成熟させた。成熟後、10 $\mu$ g/mlのペプチドを用いて2時間37 $^{\circ}$ CにてDCをパルスし、次いで、徹底的に洗浄し、蛍光色素(VPD450, BD biosciences, San Jose, CA)で標識した末梢血単核細胞(PBMC)と共培養した。種々のDC:T細胞比を適切なコントロールと共に試験した。共培養開始時に、IMiDを含むか又は含まないウェルにIL-2(50U/ml)及びIL-7(50ng/mL)(共にImmunotools)を添加した。6~10日目に、フローサイトメトリ

40

50

によりT細胞増殖レベルを分析した。共培養ウェルの上清をLuminex技術を用いて調べ、サプレッサー活性を確かめた。

【0093】

#### 実施例10

下記実施例で用いる本発明に従うペプチドは、Schafer-Nが、Sheppard(1978) J.Chem.Soc., Chem. Commun., 539のFmoc-ストラテジを用いて、C-末端アミドとして合成した。

#### 細胞浸透アッセイ

##### ビオチン化ペプチドの細胞内染色

96ウェルU底ポリスチレンプレート(NUNC, カタログ番号: 163320)をヒトPBMCの染色に用いた。簡潔には、8  $\mu$ lのN-又はC-末端ビオチン化した本発明に従うペプチド(すなわち、各ペプチドについて5 mM、2.5mM及び1.25mMを試験)を、血液ドナーの40  $\mu$ lのPBMC( $12.5 \times 10^6$ 細胞/ml)と37  $^{\circ}$ Cにて2時間インキュベートした。次いで、150  $\mu$ lのCellwash(BD, カタログ番号: 349524)で細胞を3回洗浄し、続いて、100  $\mu$ lのトリプシン-EDTA(Sigma, カタログ番号: T4424)で各細胞ペレットを再懸濁し、その後37  $^{\circ}$ Cにて5分間インキュベートした。次いで、トリプシン処理細胞を150  $\mu$ lのCellwash(BD, カタログ番号: 349524)で3回洗浄し、BD Cytotfix/Cytoperm<sup>TM</sup>プラス(BD, カタログ番号: 554715)で再懸濁した後、製造業者の指示に従って4  $^{\circ}$ Cにて20分間インキュベートした。次いで、細胞を、150  $\mu$ lのPermWash(BD, カタログ番号: 554715)で2回洗浄した。次いで、ビオチン化ペプチド及び樹状細胞を可視化するため、細胞を、それぞれストレプトアビジン-APC(BD, カタログ番号: 554067)及び抗-hCD11c(eBioscience, カタログ番号: 12-0116)を製造業者の指示に従って用いて4  $^{\circ}$ Cにて30分間染色した。次いで、細胞を150  $\mu$ lのPermWashで3回洗浄し、続いて染色緩衝液(BD, カタログ番号: 554656)に再懸濁した後、フローサイトメトリを行った。樹状細胞は、リンパ球領域外のCD11c+事象(すなわち、リンパ球より高いFSC及びSSCシグナル)としてゲートを通させた。HTSローダーを備えるFACSCanto IIフローサイトメーターで計200,000細胞を取得し、全細胞及び樹状細胞の両方について、ペプチド-蛍光に関するヒストグラムを作成した(すなわちGeoMean)。

【0094】

##### ビオチン化ペプチドの細胞外染色

96ウェルU底ポリスチレンプレート(NUNC, カタログ番号: 163320)をヒトPBMCの染色に用いた。簡潔には、8  $\mu$ lのN-又はC-末端ビオチン化した表1に従うペプチド(すなわち、各ペプチドについて5 mM、2.5mM及び1.25mMを試験; 全ペプチドを供給業者が固相合成により製造)を、血液ドナーの40  $\mu$ lのPBMC( $12.5 \times 10^6$ 細胞/ml)と37  $^{\circ}$ Cにて2時間インキュベートした。次いで、150  $\mu$ lのCellwash(BD, カタログ番号: 349524)で細胞を3回洗浄した後、ビオチン化ペプチド及び樹状細胞を可視化するため、細胞を、それぞれストレプトアビジン-APC(BD, カタログ番号: 554067)及び抗-hCD11c(eBioscience, カタログ番号: 12-0116)を製造業者の指示に従って用いて4  $^{\circ}$ Cにて30分間染色した。次いで、細胞を150  $\mu$ lのCellwash(BD, カタログ番号: 349524)で3回洗浄し、続いて染色緩衝液(BD, カタログ番号: 554656)に再懸濁した後、フローサイトメトリを行った。樹状細胞は、リンパ球領域外のCD11c+事象(すなわち、リンパ球より高いFSC及びSSCシグナル)としてゲートを通させた。HTSローダーを備えるFACSCanto IIフローサイトメーターで計200,000細胞を取得し、全細胞及び樹状細胞の両方について、ペプチド-蛍光に関するヒストグラムを作成した(すなわちGeoMean)。

本発明に従うCMIペプチドは、天然型対応物と比べ、細胞に進入する能力が改善していることが明確に理解された。

データは、FACS Duvuソフトウェアにより算出される、各試験ペプチドのgeomean値である。Geomean値は、トリプシン処理/Cytotfix/Cytopermによる:

【0095】

#### 実施例11

ELISPOTアッセイによるヒトIFN-  $\gamma$  細胞傷害性T細胞(CTL)応答

或いは、陽性CTL応答はELISPOTアッセイによりアッセイしてもよい。

簡潔には、1日目に、単球を付着させるため、HCV患者のPBMCサンプルを、フラスコにおいて(430 000 PBMC/cm<sup>2</sup>)、被覆量の培養培地(L-グルタミン(MedProbe カタログ番号13E 17-605E)、10%胎仔ウシ血清(FBS)(Fisher Scientific カタログ番号A15-101)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Fisher Scientific カタログ番号P11-010)を補ったRPMI 1640(Fisher Scientific ; カタログ番号PAAE15-039)中、2時間37 °Cにて5% CO<sub>2</sub>でインキュベートした。非接着性細胞を単離し、洗浄し、更なる使用までFBS中10% V/V DMSOで凍結させた。接着性細胞を培養培地で注意深く洗浄し、3日目まで、最終濃度2 µg/mlのhrGM-CSF(Xiamen amoytop biotech co. , カタログ番号 : 3004.9090.90)及び1 µg/mlのhrIL-4(Invitrogen , カタログ番号 : PHC0043)及び随意に免疫調節剤(IMiD)を含む培養培地中で37 °Cにてインキュベートした。この手順を6日目に繰り返した。7日目に、0.5 µg/ウェルの抗-ヒト インターフェロンをコートしたELISPOTプレート(Millipore multiscreeen HTS)に、培養樹状細胞(5 000 ~ 10 000/ウェル)を、融解した自家非接着性細胞(200 000/ウェル)、抗原サンプル(ペプチド抗原の最終濃度1 ~ 8 µg/ml ; コンカナバリンA(Sigma , カタログ番号 : C7275)又はPHA(Sigma , カタログ番号 : L2769)の最終濃度5 µg/ml)、抗-アネルギー抗体(抗-PD-1(eBioscience , カタログ番号 : 16-9989-82)及び抗-PD-L1(eBioscience , カタログ番号 : 16-5983-82)の両方の最終濃度0.03 ~ 0.05 µg/ml)と共に添加した。プレートを一晚インキュベートし、製造業者の指示に従ってスポットを発色させた。ELISPOTリーダー(CTL-ImmunoSpot(登録商標) S5 UV Analyzer)でスポットを読み取った。

10

20

30

40

50

【0096】

#### 実施例12

#### ELISPOTアッセイ

1日目に、血液ドナーのPBMCサンプルを融解し、温培地で洗浄し、融解後の細胞を回復させるため、フラスコにおいて(250000PBMC/cm<sup>2</sup>)、被覆量の培養培地(ウルトラ-グルタミン(Lonza , BE12-702F701) ; 10%胎仔ウシ血清(FBS)(Fisher Scientific カタログ番号A15-101) ; ペニシリン/ストレプトマイシン(Fisher Scientific カタログ番号P11-010)を含むRPMI 1640)中、24時間37 °Cにて5% CO<sub>2</sub>でインキュベートした。2日目に、細胞を、96ウェル平底Falcon Microtest組織培養プレートに、容量200 µlの全培地中500 000細胞/ウェルで添加した。並列するウェルに、示した刺激及び随意に免疫調節剤(IMiD)を2連で加え又はコントロールとして培地のままで6日間37 °Cにて5% CO<sub>2</sub>で放置した。6日間のインキュベーション後、100 µlの細胞懸濁液を、1 µg/mlの天然型インフルエンザM2eタンパク質をコートしたELISPOTプレート(Millipore multiscreeen HTS)に移した。24時間のインキュベーション後、プレートを、PBS + 0.05% Tween20で4回、PBSで5回洗浄した(200 µl/ウェル)。マウス抗-ヒトIgG又はIgMビオチン(Southern Biotech 9040-08及び9020-08)を0.5% FBSを含むPBSに希釈し、90分間37 °Cにてインキュベートした。洗浄を上記のとおり繰り返した後、80 µlのストレプトアビジン-アルカリホスファターゼ(Sigma Aldrich , S289)を各ウェルに添加し、暗所で室温にて60分間インキュベートした。次いで、ウェルをPBS + 0.05% Tween20で2回、PBSで4回洗浄した後(200 µl/ウェル)、Vector Blue Alkaline Phosphatase Substrate kit III(Vector Blue , SK-5300)の基質を添加し、7分間室温で発色させた。反応を流水で停止させ、プレートを乾燥させ、ELISPOTリーダー(CTL-ImmunoSpot(登録商標) S5 UV Analyzer)によりスポットを数えた。

【0097】

#### ELISA

100 µlの上記抗原(8 µg/mlを、冷コーティング緩衝液(0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pH9.6)(CBと呼ぶ)中で1~3日間予めインキュベート)又はCB単独(バックグラウンドコントロール)を用いて、マイクロタイタープレートのウェルを4回でコートした。次いで、マイクロタイタープレートを洗浄緩衝液(PBS + 1% v/v Triton-X100 ; WBと呼ぶ)で3回洗浄し、続いて200 µl/ウェルのブロッキング緩衝液(PBS + 1% w/v BSA)で2時間室温(RT)にてブロックした。次いで、プレートをWBで3回洗浄し、続いて、添加した50~70 µl/ウェルのヒト(又はウサギ若しくはヒツジ)血清(希釈緩衝液(PBS + 1% v/v Triton-X100 + 1% w/v BSA

;DBと呼ぶ)中1:5~1:250の系列希釈物)と37℃で1時間インキュベートした。次いで、プレートをWBで6回洗浄し、続いて、70µl/ウェルのアルカリホスファターゼ接合プロテインG(DB中3µg/ml;Calbiochem 539305)又はヤギ抗マウスIgGビオチン(1µg/ml,Southern Biotech,1030-08)とRTで1時間インキュベートした。ヤギ抗マウスIgGビオチンの場合、プレートを余分の1工程で上記のとおり洗浄した後、100µlのストレプトアビジン-アルカリ-ホスファターゼ(1µg/ml,Sigma Aldrich,S289)を添加し、1時間RTでインキュベートした。次いで、プレートをWBで6回洗浄し、続いて、100µl/ウェルの0.3% w/vフェノールフタレインモノホスフェート(Sigma P-5758)と室温で10~60分間インキュベートした。最後に、プレートを、100µl/ウェルのクエンチ溶液(0.1M TRIS+0.1M EDTA+0.5M NaOH+0.01% w/v NaN<sub>3</sub>;pH14)の添加によりクエンチし、続いて、ELISAリーダー(ASYS UVM 340)で550nmにて測定した。次いで、血清の強度、すなわち液性免疫応答の大きさを、記載の光学密度(OD)値を生じる血清希釈率又は示した血清希釈率でのOD値として記録した。

10

【0098】

実施例13

臨床試験プロトコル - cARTでウイルスが抑制されたHIV-1感染成人のウイルスリザーバに対する、Vacc-4x + rhuGM-CSFを用いるHIV-1治療免疫及びロミデプシンを用いるHIV-1再活性化の影響を評価する第I/IIa相試験

主目的は、cARTでウイルスが抑制されたHIV感染患者のHIV-1潜伏リザーバに対するVacc-4x + rhuGM-CSFでの処置及び環状ロミデプシン治療の影響を測定することである。

20

エンドポイント(評価項目):

プライマリーエンドポイント:

- 1)有害事象(AE)、有害反応(AR)、重篤な有害事象(SAE)、重篤な有害反応(SAR)、重篤な予想外の有害反応(SUSAR)により評価した安全性及び忍容性の評価
- 2)下記によりCD4+ T細胞において評価した潜伏リザーバサイズ
  - a)HIV-1ウイルス増殖アッセイ(10<sup>6</sup>の静止メモリCD4+ T細胞中のHIV-1 RNA(RUPM))
  - b)組み込まれたHIV-1 DNA(10<sup>6</sup>のCD4+ T細胞あたりのコピー数)
  - c)総HIV-1 DNA(10<sup>6</sup>のCD4+ T細胞あたりのコピー数)

30

【0099】

セカンダリーエンドポイント パートB

- 1)cART再開までの期間
- 2)cART休止中にウイルス血漿が検出されるまでの期間
- 3)細胞関連非スプライスHIV-1 RNAとして評価したHIV転写(10<sup>6</sup>のCD4+ T細胞あたりのコピー数)
- 4)ELISpot、増殖及び/又は細胞内サイトカイン染色により評価したHIV特異的T細胞応答
- 5)血漿HIV-1ウイルス量
- 6)リンパ球において評価したヒストンH3アセチル化
- 7)T細胞数及び表現型
- 8)ELISAにより評価したVacc-4xペプチド及びp24に対する抗体力価。

40

cARTによりウイルスが抑制されているHIV-1感染成人のウイルスリザーバに対する、Vacc-4x + rhuGM-CSFを用いるHIV-1治療免疫及びロミデプシンを用いるHIV-1再活性化の効果の評価する第I/IIa相オープン試験。この試験は、Vacc-4x + rhuGM-CSFの、ロミデプシンに対するアジュバント療法としての安全性/忍容性を評価するため並びに潜伏HIVリザーバに対する影響及び解析的治療中断の間にウイルス量を抑制する能力を査定するために行う(n=20、すなわち20人の患者)。

標的集団: cARTにより現時点でウイルスが抑制されているHIV-1感染成人(pVL < 50コピー/mL)

【0100】

50

## 試験手順/頻度：

- 1．潜伏HIV-1リザーバの安定性を確認し、ベースラインのHIV-1 Tリンパ球特異的免疫を測定する4週間の前治療相(通院1～通院2)。
- 2．通院2、3、4、5、6及び7にVacc-4xをrhuGM-CSFと共に投与する12週間のHIV-1治療免疫相(通院2～通院7)、続く2週間のフォローアップ期(通院8～通院9)。
- 3．1サイクルのロミデプシン注入(用量5 mg/m<sup>2</sup>)からなる3週間のウイルス再活性化相(通院10～通院12)。
- 4．潜伏HIV-1リザーバサイズに対する研究対象処置の効果を査定する8週間程度の治療後観察相(通院13～通院14)。
- 5．16週間の解析的治療中断相(通院15～34)。

10

## 試験対象医薬品：

Vacc-4x：1.2mgを0、7、14、21、77及び84日目(通院2、3、4、5、6及び7)に皮内投与する。

rhuGM-CSF：Leukine(登録商標)(Sanofi) 0.06mgを、0、7、14、21、77及び84日目(通院2、3、4、5、6及び7)に、Vacc-4x投与の10分前に皮内投与する。

ロミデプシン：Istodax(登録商標)(Celgene) 5 mg/m<sup>2</sup>を、連続3週間(105、112及び119日目)(通院10、11b及び12)、静脈内注入により投与する(28日間の1サイクルに相当)。

【0101】

## 試験計画：

- 1．潜伏HIV-1リザーバの安定性を確認し、ベースラインのHIV-1 Tリンパ球特異的免疫を測定する4週間の前治療相(通院1～通院2)。
- 2．通院2、3、4、5、6及び7にVacc-4xをrhuGM-CSFと共に投与する12週間のHIV-1治療免疫相(通院2～通院7)、続く2週間のフォローアップ期(通院8～通院9)。
- 3．1サイクルのロミデプシン注入(用量5 mg/m<sup>2</sup>)からなる3週間のウイルス再活性化相(通院10～通院12)。
- 4．潜伏HIV-1リザーバサイズに対するロミデプシンの効果を査定する8週間程度の治療後観察相(通院13～通院14)。
- 5．16週間の解析的治療中断相(通院15～34)。

20

30

## 治療

## Vacc-4x

Vacc-4xは、4つの合成ペプチド(Vacc-10アセテート、Vacc-11アセテート、Vacc-12アセテート及びVacc-13アセテート)からなり、各々は、それぞれ残基166～185、残基252～69、残基264～284及び残基335～354を有する天然型Gag領域である、HIV-1 p24キャプシドタンパク質の保存ドメインに相当する。

Vacc-4xは、適正製造基準(GMP)に従って製造し、凍結乾燥した白色粉体の滅菌バイアルとして供給する。本品には追加成分は存在しない。

【0102】

rhuGM-CSF(サルグラモスチム, Leukine(登録商標), Sanofi)

Leukine(登録商標)はSanofiが製造し、Genzymeが供給する。Leukine(登録商標)は、分子量19,500、16,800及び15,500ダルトンの3つの主要な分子種によって特徴付けられる127アミノ酸の糖タンパク質である。液体Leukine(登録商標)製剤は、バイアルに滅菌保存状態(1.1%ベンジルアルコール)の注射用溶液(500mcg/mL)として調製されている。凍結乾燥Leukine(登録商標)は、1mLの滅菌注射水(USP)又は1mLの静菌注射水(USP)での再構成を必要とする、保存剤不含の滅菌白色粉体(250mcg)である。液体Leukine(登録商標)はpH範囲が6.7～7.7であり、凍結乾燥Leukine(登録商標)のpH範囲は7.1～7.7である。

40

更なる情報については、IB(Leukine(登録商標)を規定する情報)を参照。

【0103】

ロミデプシン(Istodax(登録商標), Celgene)

50

Istodax(登録商標)はCelgene Corporationが製造する。このヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤は二環式デブシペプチドである。室温で、ロミデブシンは白色粉体であり、化学的には、(1S,4S,7Z,10S,16E,21R)-7-エチリデン-4,21-ビス(1-メチルエチル)-2-オキサ-12,13-ジチア-5,8,20,23-テトラアザピシクロ[8.7.6]トリコス-16-エン-3,6,9,19,22-ペントンとして記述される。実験式はC<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>である。Istodax(登録商標)は、2つのバイアルを含むキットとして供給される。注射用Istodax(登録商標)(ロミデブシン)は、滅菌凍結乾燥白色粉体であり、10mgのロミデブシン及び20mgのポビドン(USP)を含む単回使用バイアルで供給される。Istodax(登録商標)の希釈剤は、滅菌澄明溶液であり、2 mL送達容量を含む単回使用バイアルで供給される。Istodax(登録商標)用希釈剤は、80%(v/v)プロピレングリコール(USP)及び20%(v/v)脱水アルコール(USP)を含む。

10

更なる情報については、ロミデブシンのIBを参照。

#### 【0104】

##### Vacc-4x

Vacc-4xの各用量(12mg/mL溶液の0.1mL)を、アジュバントとしてのrhuGM-CSF(Leukine(登録商標))の皮内投与の後に、皮内注射により投与する。HIV-1治療ワクチン接種相で計6回のVacc-4x/rhuGM-CSF免疫を計画する(通院3、4、5、6、7及び8)。

Vacc-4xの各投与の約10分前に、rhuGM-CSFをアジュバントとして皮内投与する。Vacc-4xは、この試験では、同腕の三角筋表層でrhuGM-CSFと同じ部位に皮内投与しなければならない。

皮内注射に際しては、皮下に注射することのないように最大限の注意を払わなければならない。正確に注射できた場合には、皮膚穿刺後に少量を注射することにより小さな水疱が出現するはずである。表面に近すぎる注射は、注射の間又は抜針後に注射部位からサンプル漏れを生じるので、回避しなければならない。

20

#### 【0105】

##### rhuGM-CSF

rhuGM-CSFの各用量(0.60mg/mL溶液の0.1mL)を、HIV-1治療ワクチン接種相の間、アジュバントとして、皮内投与によるVacc-4x免疫の10分前に皮内注射により投与する(通院3、4、5、6、7及び8)。rhuGM-CSFは、この試験では、同腕の三角筋表層でVacc-4xと同じ部位に皮内投与しなければならない。

皮内注射に際しては、皮下に注射することのないように最大限の注意を払わなければならない。正確に注射できた場合には、皮膚穿刺後に少量を注射することにより小さな水疱が出現するはずである。表面に近すぎる注射は、注射の間又は抜針後に注射部位からサンプル漏れを生じるので、回避しなければならない。

30

##### ロミデブシン

用量は5 mg/m<sup>2</sup>であり、28日サイクルの1、8及び15日目(通院10、11及び12)に4時間にわたって静脈内投与する。

#### 【0106】

試験評価：

臨床検査科目評価

生化学的検査：

ルーチンの生化学的検査には、血液学的パラメータ(ヘモグロビン、白血球数の総数及び変化量、血小板数)、ALAT、ビリルビン、アルカリホスファターゼ、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、リン、マグネシウム、カルシウム、尿素、アルブミン及びCRPが含まれる。

40

HIVウイルス学的検査：

HIV-1ウイルス増殖(10<sup>6</sup>の静止メモリCD4<sup>+</sup> T細胞あたりのHIV-1 RNA(RUPM))：潜伏しているが複製コンピテントなウイルスを保有する静止CD4<sup>+</sup> T細胞の頻度を測定するために用いる標準アッセイは、患者から高度精製した静止CD4<sup>+</sup> T細胞とHIV陰性ドナーのPBMCと

50

の共培養に基き、百万細胞あたりの感染単位 (IUPM) として測定する [Finzi 1999, Chun 2007]。

組み込まれた HIV-1 DNA ( $10^6$  の CD4+ T 細胞あたりのコピー数) : 感染細胞内で、HIV DNA は、鎖状の非組み込み形態、環状形態及び組み込みプロウイルスとして存在することができる。有効な cART を受けている患者では、HIV DNA の多くは静止状態の潜伏感染 CD4+ T 細胞に組み込まれる。組み込みウイルスを含む細胞の数を定量するために最も広く用いられている技法は、Alu-LTR PCR アッセイ [Sonza 1996] である。

トータル HIV-1 DNA ( $10^6$  の CD4+ T 細胞あたりのコピー数) : トータル HIV DNA は、組み込み及び非組み込み DNA 並びに潜伏及び欠損ウイルスを数量化する。cART を受けている患者ではトータル HIV DNA と組み込まれた HIV DNA との間に強い相関が存在し、よって細胞関連 HIV DNA は、潜伏感染細胞総数の良好な代替マーカーである可能性が高い [Koelsch 2008]。

#### 【 0 1 0 7 】

非スプライス HIV-1 RNA ( $10^6$  の CD4+ T 細胞あたりのコピー数) : HIV 転写は、デジタルドロップレット PCR を用いて細胞関連非スプライス HIV-1 RNA のコピー数 /  $10^6$  の CD4+ T 細胞として測定する。

NAT スクリーニングによる血漿 HIV-1 RNA 検出 : 転写媒介増幅 (TMA) ベースの方法 (通常、核酸試験 (NAT) スクリーニングと呼ばれる) により測定する (PROCLEIX ULTRIO Plus, Genprobe)。

血漿 HIV RNA、定量的ウイルス量 : Roche VL (ルーチンの臨床アッセイ) により測定。

ヒストン H3 アセチル化 : 新鮮な単離 PBMC について細胞内サイトカイン染色によるフローサイトメトリを用いてリンパ球において測定する。

T 細胞数 (CD4 及び CD8)

系統発生的分析

免疫学的検査 :

ELISpot、増殖及び/又は細胞内サイトカイン染色により評価する HIV-特異的 T 細胞応答

#### 【 0 1 0 8 】

実施例 14

全体試験計画

研究 CT-BI Vacc-4x 2012/1 (EudraCT 番号 : 2012-002281-12) は、CT-BI Vacc-4x 2007/1 試験 (EudraCT 番号 2007-006302-13) で Vacc-4x 活性化及び ART 停止 (第 28 週) による免疫療法を以前に終了した対象者についての多施設非盲検のフォローアップ及び再追加免疫の試験である。ART 再開は要しない。対象者は、2 週間間隔で Vacc-4x、1.2mg ペプチド (12mg/mL) による 2 回の再追加免疫を受ける (通院 2 及び通院 3)。

CD4 数  $350 \times 10^6$  /L である対象者には、通院 5 で、(受けている場合には) ART 治療を 16 週間中止する。第 29 週で、治験担当医師及び対象者の決定に従って ART を再開し、対象者を更に 8 週間追跡する (試験終了時 ; 通院 10)。

DTH は通院 2 及び通院 4 で測定する (2 回目の再追加免疫の 3 週間後)。

ウイルス量、CD4 数及び CD8 数は、この研究のための全ての通院時に測定する。T 細胞応答は、通院 2、4、6、9 及び 10 (研究終了時) に ELISPOT、T 細胞増殖アッセイ及び細胞内サイトカイン染色により測定する。

バイタルサイン及び臨床検査はこの研究のための全ての通院時に測定する。

AE 及び併用薬物を ICF 署名時から試験終了まで継続してモニターする。

#### 【 0 1 0 9 】

Vacc-4x 免疫を受け、第 28 週に ART を停止した 88 人の対象者が以前の試験 (CT-BI Vacc-4x 2007/1) を完了した。これら対象者のうち約 30 ~ 40 人がこのフォローアップ再追加免疫試験に適格であると推定された。

安全性解析セットには、この再追加免疫試験に参加した 33 人全ての対象者が含まれていた。3 人の対象者を ITT (Intention To Treat) 解析から除外した。これは、いずれも、スクリーニングから第 12 週まで ART を受けておらず、よってプロトコルが要求する第 12 週で

10

20

30

40

50

のART中断が不可能であったためである。同じ3人の対象者及び第12週でARTを中断しなかった別の3人の対象者をPP解析セットから除外した。参加した患者について、以前の試験(CT-BI Vacc-4X 2007/1)での最後の免疫から本試験での最初の免疫までの平均期間は約197週間であった。

【0110】

#### プロウイルスDNA

HIV-1 DNAレベルは、HIV-1 gag遺伝子を標的するリアルタイムPCR(Taqman)アッセイにより測定する。簡潔には、各対象者のDNAを通院2、4、6、9及び10にトータルPBMC(1~4百万細胞)から抽出し、適切な保存緩衝液に溶出し、定量し、使用まで-20で保存する。等量のDNA(約300ng)を用いてgag及びアルブミン遺伝子を定量して、百万細胞あたりのHIV-DNAのコピー数を測定する。

プロウイルスDNAレベルは、幾何平均に基けば、ARTを継続しつつ行った免疫後に約50%減少した。このことから、Vacc-4xでの再追加免疫による免疫ベースの感染細胞殺傷が示唆される。パープロトコル(per protocol)(PP)解析セットは、2回のVacc-4x再追加免疫を受け、(計画通り)第12週でARTを中断し、且つデータの妥当性が疑われることになりそのような重大なプロトコル逸脱(違反)がなかった全対象者からなる。

【0111】

【表2】

コピー/mL	PP (N = 27)
ベースライン	
n	26
平均	98.4
幾何平均	22.3
SD	146.69
メジアン	57.0
Q1~Q3	0.0~114.0
最小~最大	0~598
第4週	
n	27
平均	100.8
幾何平均	12.9
SD	176.64
メジアン	45.0
Q1~Q3	0.0~90.0
最小~最大	0~769

幾何平均は(平均 $\log_{10}$  VL値+1)の逆対数-1として計算した。

2012/1試験におけるベースライン及び第4週のプロウイルスDNAの比較を表3にまとめる。PP解析セットにおいてベースラインから第4週までに50%減少した。これは統計学的に有意であった。

【0112】

【表3】

表3 CT-BI Vacc-4x 2012/1におけるベースライン及び第4週のプロウイルスDNA分析	
コピー/mL	PP
ベースライン	
n	26
平均	98.4
幾何平均	22.3
SD	146.69
メジアン	57.0
Q1~Q3	0.0~114.0
最小~最大	0~598
第4週	
n	26
平均	93.9
幾何平均	11.4
SD	176.36
メジアン	34.5
Q1~Q3	0.0~89.0
最小~最大	0~769
幾何平均比(第4週/ベースライン) [a]	0.5
95% CI	0.31~0.93
p値 [b]	0.030
n	26

10

20

幾何平均は(平均 $\log_{10}$  VL値+1)の逆対数-1として算出している。

[a] {平均[( $\log_{10}$  第4週+1)-( $\log_{10}$  ベースライン+1)]}の逆対数として算出

[b] ノンパラメトリックWilcoxon符号付順位検定

## 【0113】

30

HIV-1 DNAレベルの測定アッセイ：

組み込まれたHIV-1 DNA( $10^6$ のCD4+ T細胞あたりのコピー数)：感染細胞内で、HIV DNAは、鎖状の非組み込み形態、環状形態及び組み込みプロウイルスとして存在することができる。有効なcARTを受けている患者では、HIV DNAの多くは静止状態の潜伏感染CD4+T細胞に組み込まれる。組み込みウイルスを含む細胞の数を定量するために最も広く用いられている技法は、Alu-LTR PCRアッセイである[Sonza ; J Virol. Jun 1996 ; 70(6) : 3863-3869][Liszewski ; Methods April 2009 ; 47(4) : 254-260]。代替法は、Graaf , Deeks & CO for integrated PCR : 「repetitive-sampling Alu-gag PCR」 , doi:10.1016/j.ymeth.2009.01.002に記載されている。幾つかの実施形態において、HIV-1 DNAレベルは、Graf , E. H. , A. M. Mexasら(2011)「Elite Suppressors Harbor Low Levels of Integrated HIV DNA and High Levels of 2-LTR Circular HIV DNA Compared to HIV+ Patients On and Off HAART.」 PLoS Pathog 7(2)に記載されているように測定する。

40

トータルHIV-1 DNA( $10^6$ のCD4+ T細胞あたりのコピー数)：トータルHIV DNAは、組み込み及び非組み込みDNA並びに潜伏及び欠損ウイルスを数量化する。cARTを受けている患者ではトータルHIV DNAと組み込まれたHIV DNAとの間に強い相関が存在し、よって細胞関連HIV DNAは、潜伏感染細胞総数の良好な代理マーカーである可能性が高い[Koelsch ; J Infect Dis. 2008 Feb 1 ; 197(3):411-9. doi: 10.1086/525283]。

## 【0114】

1つの例において、トータルHIV-1 DNAレベルは下記のように測定してもよい：

HIV-1 DNAレベルは、HIV-1 gag遺伝子を標的するリアルタイムPCR(Taqman)アッセイに

50

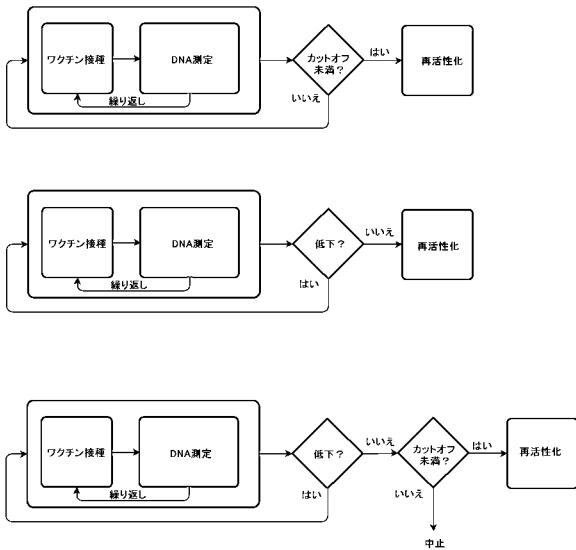
より測定してもよい。簡潔には、各対象者のDNAをトータルPBMC(1～4百万細胞)から抽出し、適切な保存緩衝液に溶出し、定量し、使用まで-20で保存する。等量のDNA(約300ng)を用いてgag及びアルブミン遺伝子を定量して、百万細胞あたりのHIV-DNAのコピー数を測定する。明細書及び下記の特許請求の範囲を通して、文脈がそうでないことを要求していなければ、語「含んでなる」は、言及した数値、工程、数値群又は工程群を包含し、その他の数値、工程、数値群又は工程群を排除しないことを示すものと理解される。

本明細書で引用する全ての特許及び特許出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

本明細書及び特許請求の範囲がその一部を構成する本願は、後の出願において優先権の基礎として使用され得る。後願の特許請求の範囲は、本明細書に記載された任意の特徴及び特徴の組合せに関するものであり得る。それらは、物、組成物、方法又は使用クレームの形態であり得、例としてであり限定するものではないが、本明細書に添付の特許請求の範囲に記載された発明を含み得る。

10

【図1】



【配列表】

2017523166000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/065726

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K39/21 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
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, BIOSIS, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RICHARD B POLLARD ET AL: "Safety and efficacy of the peptide-based therapeutic vaccine for HIV-1, Vacc-4x: a phase 2 randomised, double-blind, placebo-controlled trial", THE LANCET INFECTIOUS DISEASES, vol. 14, no. 4, 1 April 2014 (2014-04-01), pages 291-300, XP055134453, ISSN: 1473-3099, DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70343-8 the whole document ----- -/--	1-37
<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		*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
*E* earlier application or patent but published on or after the international filing date		*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
*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)		*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
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
2 September 2015	25/09/2015	
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  Rojo Romeo, Elena	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/065726

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>W0 00/52040 A1 (BIONOR IMMUNO AS [NO]; SOERENSEN BIRGER [NO]) 8 September 2000 (2000-09-08) page 1 1.1.1 The query sequence SEQ ID NO:18 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 27 positions in a common overlap (range (q:s): 1-27:1-27) with subject GSP:AAB18710 (length: 27) from W0200052040-A1 published on 2000-09-08. The query sequence SEQ ID NO:11 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 26 positions in a common overlap (range (q:s): 1-26:1-26) with subject GSP:AAB18703 (length: 26) from W0200052040-A1 published on 2000-09-08. The query sequence SEQ ID NO:6 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 21 positions in a common overlap (range (q:s): 4-24:3-23) with subject GSP:AAB18699 (length: 23) from W0200052040-A1 published on 2000-09-08. The query sequence SEQ ID NO:3 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 20 positions in a common overlap (range (q:s): 1-20:1-20) with subject GSP:AAB18695 (length: 20) from W0200052040-A1 published on 2000-09-08. see examples, in particular, examples 2, 4, 13, 16, -&amp; "Non-patent literature cited during the examination procedure submitted on 14.10.2005; Report - Clinical data phase II", INTERNET CITATION, 14 October 2005 (2005-10-14), pages 1-10, XP002717712, Retrieved from the Internet: URL:https://register.epo.org/application?number=EP00911492&amp;lng=en&amp;tab=doclist [retrieved on 2013-12-10] ----- -/--</p>	1-37

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/065726

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>W0 2013/182660 A1 (BIONOR IMMUNO AS [NO]) 12 December 2013 (2013-12-12)</p> <p>1.1.1 The query sequence SEQ ID NO:18 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 27 positions in a common overlap (range (q:s): 1-27:1-27) with subject GSP:BBA59405 (length: 27) from W02013182660-A1 published on 2013-12-12. The query sequence SEQ ID NO:11 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 26 positions in a common overlap (range (q:s): 1-26:1-26) with subject GSP:BBA59398 (length: 26) from W02013182660-A1 published on 2013-12-12. The query sequence SEQ ID NO:6 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 24 positions in a common overlap (range (q:s): 1-24:1-24) with subject GSP:BBA59393 (length: 24) from W02013182660-A1 published on 2013-12-12. The query sequence SEQ ID NO:3 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 20 positions in a common overlap (range (q:s): 1-20:1-20) with subject GSP:BBA59390 (length: 20) from W02013182660-A1 published on 2013-12-12. corresponding SEQ ID NO: 49, 52, 57 and 64 page 48, last paragraph - page 49, paragraph 2 page 49, paragraph 3 examples 9, 5, 10, 11, 18, 20,24 field of the invention page 30, paragraph 3</p> <p>-----</p>	1-37
X,P	<p>W0 2015/007337 A1 (BIONOR IMMUNO AS [NO]) 22 January 2015 (2015-01-22)</p> <p>The query sequence SEQ ID NO:18 has 100.00 % identity (100.00 % similarity) over 27 positions in a common overlap (range (q:s): 1-27:1-27) with subject GSP:BBU07340 (length: 27) from W02015007337-A1 published on 2015-01-22. claim 1 page 21, line 8 - line 24 page 46, line 27 - line 35 page 55, line 31 - line 33 figure 5</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-37

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/065726

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>Anker Lundemose: "Exploring the Path Towards a Functional Cure for HIV",  27 November 2013 (2013-11-27),  XP055134825,  Retrieved from the Internet:  URL:<a href="http://www.bionorpharma.com/filestore/BionorNov2013.pdf">http://www.bionorpharma.com/filestore/BionorNov2013.pdf</a>  [retrieved on 2014-08-14]  In particular, slides 11-14, 17, 19, 21  -----</p>	1-13, 15-37
A	<p>CAROL PACHL ET AL: "Rapid and Precise Quantification of HIV-1 RNA in Plasma Using a Branched DNA Signal Amplification Assay.",  JOURNAL OF ACQUIRED IMMUNE DEFICIENCY SYNDROMES &amp; HUMAN RETROVIROLOGY,  vol. 8, no. 5, 15 April 1995 (1995-04-15),  pages 446-454, XP055191159,  the whole document  -----</p>	1-15
A	<p>Anonymous: "Clinical Trials Register - EudraCT Number: 2012-002281-12",  6 August 2012 (2012-08-06), XP055191387,  Retrieved from the Internet:  URL:<a href="https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2012-002281-12/DE">https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2012-002281-12/DE</a>  [retrieved on 2015-05-26]  the whole document  -----</p>	1-15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/065726

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date			
WO 0052040	A1	08-09-2000	AT 397014 T 15-06-2008			
			AU 771827 B2 01-04-2004			
			AU 3335800 A 21-09-2000			
			BR 0008741 A 08-01-2002			
			CA 2363947 A1 08-09-2000			
			CN 1346367 A 24-04-2002			
			CN 101328208 A 24-12-2008			
			CN 101328209 A 24-12-2008			
			CN 101328210 A 24-12-2008			
			CY 1108299 T1 12-02-2014			
			CZ 20013195 A3 13-02-2002			
			DK 1159298 T3 25-08-2008			
			EP 1159298 A1 05-12-2001			
			ES 2307496 T3 01-12-2008			
			HK 1044778 A1 24-04-2009			
			HU 0200265 A2 29-06-2002			
			ID 30497 A 13-12-2001			
			JP 5313998 B2 09-10-2013			
			JP 5695010 B2 01-04-2015			
			JP 5695012 B2 01-04-2015			
			JP 2002541069 A 03-12-2002			
			JP 2011074081 A 14-04-2011			
			JP 2013032384 A 14-02-2013			
			JP 2013032386 A 14-02-2013			
			JP 2014043468 A 13-03-2014			
			NO 991078 A 05-09-2000			
			NZ 514619 A 31-10-2003			
			NZ 525751 A 29-10-2004			
			NZ 525752 A 29-10-2004			
			NZ 525753 A 29-10-2004			
			PT 1159298 E 04-09-2008			
			SK 12402001 A3 05-02-2002			
			US 6706859 B1 16-03-2004			
			US 2004259797 A1 23-12-2004			
			US 2008107669 A1 08-05-2008			
			US 2008107670 A1 08-05-2008			
			WO 0052040 A1 08-09-2000			
			ZA 200107072 A 27-11-2002			
			WO 2013182660	A1	12-12-2013	AU 2013273481 A1 18-12-2014
						AU 2013273483 A1 11-12-2014
CA 2874936 A1 12-12-2013						
CA 2875624 A1 12-12-2013						
CN 104717974 A 17-06-2015						
EP 2858665 A1 15-04-2015						
EP 2858667 A1 15-04-2015						
IL 235890 A 29-01-2015						
JP 2015520179 A 16-07-2015						
KR 20150029678 A 18-03-2015						
US 2015132255 A1 14-05-2015						
US 2015174235 A1 25-06-2015						
WO 2013182660 A1 12-12-2013						
WO 2013182662 A1 12-12-2013						
WO 2015007337	A1	22-01-2015	NONE			

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 K 38/15 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	S
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/4045 (2006.01)	A 6 1 K 38/15	
A 6 1 K 31/454 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/4045	
A 6 1 K 31/429 (2006.01)	A 6 1 K 31/454	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/429	
C 0 7 K 7/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
	A 6 1 P 43/00	1 2 1
	C 0 7 K 7/00	Z N A

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

(74)代理人 100166936

弁理士 稲本 潔

(74)代理人 100174883

弁理士 富田 雅己

(72)発明者 ルンデモース, アンカー

ノルウェー、エヌオー - 0 1 1 6 ヴィカ、ピー . オー . ボックス 1 4 7 7、クロンプリンセス  
マーサ プラス 1、シーノオー ビオノール ファーマ エーエスエー

(72)発明者 オクヴィスト, マツ

ノルウェー、エヌオー - 0 1 1 6 ヴィカ、ピー . オー . ボックス 1 4 7 7、クロンプリンセス  
マーサ プラス 1、シーノオー ビオノール ファーマ エーエスエー

(72)発明者 ホヴデン, アント オーヴェ

ノルウェー、エヌオー - 0 1 1 6 ヴィカ、ピー . オー . ボックス 1 4 7 7、クロンプリンセス  
マーサ プラス 1、シーノオー ビオノール ファーマ エーエスエー

(72)発明者 グロンヴォルド, マハ ソメルフェルト

ノルウェー、エヌオー - 0 1 1 6 ヴィカ、ピー . オー . ボックス 1 4 7 7、クロンプリンセス  
マーサ プラス 1、シーノオー ビオノール ファーマ エーエスエー

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA17 AA19 AA20 BA01 BA08 BA16 BA26 BA27 DC32  
MA02 MA05 NA05 ZB072 ZB331 ZB332 ZC202 ZC412 ZC551 ZC751  
4C085 AA03 AA13 AA14 AA38 BB11 CC23 CC32 DD51 EE01 EE03  
EE06 FF13 FF21 GG01 GG02 GG05  
4C086 AA01 AA02 BC13 BC22 CB27 DA35 GA07 MA02 MA03 MA04  
MA05 NA05 ZB07 ZB33 ZC20 ZC55 ZC75  
4H045 AA30 BA17 CA05 DA86 EA31 FA10

专利名称(译)	一种减少和/或延迟人类免疫缺陷病毒I ( HIV ) 病理影响或降低患上获得性免疫缺陷综合症 ( AIDS ) 风险的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2017523166A</a>	公开(公告)日	2017-08-17
申请号	JP2017501217	申请日	2015-07-09
[标]申请(专利权)人(译)	比奥诺尔免疫有限公司		
申请(专利权)人(译)	Bionoru Imyuno Eesu		
[标]发明人	ルンデモースアンカー オクヴィストマツ ホヴデンアールトオーヴェ グロンヴォルドマハソメルフェルト		
发明人	ルンデモース,アンカー オクヴィスト,マツ ホヴデン,アールト オーヴェ グロンヴォルド,マハ ソメルフェルト		
IPC分类号	A61K39/00 A61P37/04 A61P31/18 A61K39/39 A61K39/395 A61K45/00 A61K38/15 A61K45/06 A61K31/4045 A61K31/454 A61K31/675 A61K31/429 G01N33/53 A61P43/00 C07K7/00		
CPC分类号	A61K38/162 A61K31/4045 A61K31/454 A61K38/12 A61K38/15 A61K39/12 A61K39/21 A61K45/06 A61K2039/55522 A61K2121/00 A61K2300/00 C12N2740/16034 C12N2740/16234		
FI分类号	A61K39/00.H A61P37/04 A61P31/18 A61K39/39 A61K39/395.D A61K39/395.U A61K39/395.S A61K45/00 A61K38/15 A61K45/06 A61K31/4045 A61K31/454 A61K31/675 A61K31/429 G01N33/53.M A61P43/00.121 C07K7/00.ZNA		
F-TERM分类号	4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/AA19 4C084/AA20 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA16 4C084/BA26 4C084/BA27 4C084/DC32 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/NA05 4C084/ZB072 4C084/ZB331 4C084/ZB332 4C084/ZC202 4C084/ZC412 4C084/ZC551 4C084/ZC751 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA38 4C085/BB11 4C085/CC23 4C085/CC32 4C085/DD51 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/EE06 4C085/FF13 4C085/FF21 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG05 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC13 4C086/BC22 4C086/CB27 4C086/DA35 4C086/GA07 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086/NA05 4C086/ZB07 4C086/ZB33 4C086/ZC20 4C086/ZC55 4C086/ZC75 4H045/AA30 4H045/BA17 4H045/CA05 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/FA10		
代理人(译)	清稻本潤一 富田雅美		
优先权	2014176741 2014-07-11 EP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及用于治疗HIV感染和AIDS的新型活性剂组合物和方法。具体地，本发明涉及用于治疗HIV感染和预防AIDS的方法。[选  
型图]图1

Fig. 1

