

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5650212号  
(P5650212)

(45) 発行日 平成27年1月7日(2015.1.7)

(24) 登録日 平成26年11月21日(2014.11.21)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 P
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76

請求項の数 15 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-518967 (P2012-518967)	(73) 特許権者	599082883 トランジェーヌ、ソシエテ、アノニム TRANSGENE S. A. フランス国イルキルシュ、グラフェンスタ デン、セデックス、パルク、ディノバスイ オン、プールパール、ゴンティエ、ダンデ ルナシュ
(86) (22) 出願日	平成22年7月6日(2010.7.6)	(74) 代理人	100117787 弁理士 勝沼 宏仁
(65) 公表番号	特表2012-533052 (P2012-533052A)	(74) 代理人	100091487 弁理士 中村 行孝
(43) 公表日	平成24年12月20日(2012.12.20)	(74) 代理人	100107342 弁理士 横田 修孝
(86) 国際出願番号	PCT/EP2010/059635	(74) 代理人	100111730 弁理士 伊藤 武泰
(87) 国際公開番号	W02011/003905		
(87) 国際公開日	平成23年1月13日(2011.1.13)		
審査請求日	平成25年4月1日(2013.4.1)		
(31) 優先権主張番号	09305672.9		
(32) 優先日	平成21年7月10日(2009.7.10)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 患者を選択するためのバイオマーカーおよび関連方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫原性組成物の投与を含んでなる治療方法に対して、肺癌患者が治療上の応答をするか否か評価するためのex-vivoの方法であって、

- 前記免疫原性組成物の投与前の患者から得た生体サンプル中のIL10およびIFN濃度を測定し、

- IL10 / IFN 比を算出し、かつ

- 前記IL10 / IFN 比と閾値レベルを比較すること

を含んでなり、ここで、低いIL10 / IFN 比は、5未満である場合、患者が免疫組成物に対して予防または治療上の応答を発現することを示し、かつ前記免疫原性組成物が少なくとも1つの標的抗原の全部または一部をコードする異種性ヌクレオチド配列をin vivoで発現するための少なくとも1つの組み換えウイルスベクターを含んでなる、方法。

【請求項 2】

前記の低いIL10 / IFN 比が4未満である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記IL10 / IFN 比が、IL10およびIFN それぞれに特異的な抗体を用いて決定される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記生体サンプルが、全血サンプル、血漿、または血清からなる群から選択される、請求項1~3のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記ウイルスベクターが複製可能である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記ウイルスベクターが複製欠損である、請求項 1 ~ 4 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記ウイルスベクターがアデノウイルス性である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記ウイルスベクターがワクシニアベクターである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【請求項 9】

前記ウイルスベクターが M V A ベクターである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記患者が化学療法剤により治療される患者である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記抗原が M U C 1 である、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記患者の応答が生存率の増加である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【請求項 13】

免疫原性組成物の投与によって、肺癌患者が予防または治療上の応答を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしての、前記免疫原性組成物の投与前の患者から得た生体サンプル中の I L 1 0 / I F N 比の使用であって、前記免疫原性組成物が少なくとも1つの標的抗原の全部または一部をコードする異種性ヌクレオチド配列を in vivo で発現するための少なくとも1つの組み換えウイルスベクターを含んでなる、使用。

## 【請求項 14】

免疫原性組成物の投与を含んでなる治療方法に対して、肺癌患者が治療上の応答をするか否かを評価するためのキットであって、前記免疫原性組成物の投与前の患者から得た生体サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を決定するための抗体を含み、ここで、低い I L 1 0 / I F N 比は、約 5 未満である場合、患者が免疫組成物に対して予防または治療上の応答を発現することを示し、かつ、前記免疫原性組成物が少なくとも1つの標的抗原の全部または一部をコードする異種性ヌクレオチド配列を in vivo で発現するための少なくとも1つの組み換えウイルスベクターを含んでなる、キット。

30

## 【請求項 15】

免疫原性組成物の投与後に、肺癌患者がより長く生存しやすいか否かを予測するための ex-vivo の方法であって、

- 前記免疫原性組成物の投与前の患者から得た生体サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、

- I L 1 0 / I F N 比を算出し、かつ

40

- 前記 I L 1 0 / I F N 比と閾値レベルを比較することを含んでなり、ここで低い I L 1 0 / I F N 比は、5 未満である場合、患者がより高い生存率を有することを示し、かつ、前記免疫原性組成物が少なくとも1つの標的抗原の全部または一部をコードする異種性ヌクレオチド配列を in vivo で発現するための少なくとも1つの組み換えウイルスベクターを含んでなる、方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は免疫学の分野、特に、例えば感染または癌により引き起こされる疾病に対する患者の免疫療法に関する。さらに詳細には、本発明はこのような免疫療法の後に、患者が

50

予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいか否かを予測するための方法に関する。本発明は、免疫原性組成物、特に治療用ワクチンにより治療される患者の生存率を改善するための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

免疫応答を誘導する抗原（例えばペプチド、タンパク質）の動物系への導入に関与し、これによって前記動物を例えば感染から保護する従来のワクチン接種技術が長年の間知られていた。これらの技術はさらに、生および不活化ワクチンの両方の開発を含んできた。生ワクチンは典型的には、感染病原体の病原型に対する免疫応答をプライミングできる、感染病原体の弱毒化された非病原型である。

10

【0003】

多くの研究グループもまた、様々な癌の型に対する潜在的な治療様式としてのワクチンの使用について研究を行ってきた。このワクチン戦略の特定の型は、一般に免疫療法と称される。

【0004】

近年、興味ある外来抗原をコードし、ベクターから発現する組み換えワクチン、特に組み換え生ワクチンの開発に進歩がみられる。なかでも組み換えウイルスに基づくベクターは、新しいワクチンの開発において大きな見込みを示し、重要な役割を果たしている。多くのウイルスが、外来病原体または腫瘍組織由来のタンパク質を発現し、かつそれらの抗原に対する特異的な免疫応答を *in vivo* で誘導する能力について研究されてきた。一般にこれらの遺伝子に基づくワクチンが、強力な液性および細胞性免疫応答を刺激できることから、ウイルスベクターは、抗原をコードする遺伝子の送達ならびに抗原提示の促進および増強の両方に対する有効な戦略であり得る。ワクチン担体として利用するために理想的なウイルスベクターは安全であり、かつ必要とされる病原体特異的抗原を免疫系へ効率的に提示できなければならない。さらにベクター系は、その大量産生を可能とする基準に合致しなければならない。このように、今日までに幾つかのウイルス性ワクチンベクターが出現し、それらは全て、提案される応用により、相対的な利点と限界を有している（組み換えウイルス性ワクチンについての総説は、例えば Harrop and Carroll, 2006, *Front Biosci.*, 11, 804-817 ; Yokoyana et al., 1997, *J Vet Med Sci.*, 59, 311-322 を参照されたい）。

20

30

【0005】

プラスミド DNA ベクターを *in vivo* で動物細胞へ直接トランスフェクトできるという 1990 年代初期の知見に続き、抗原をコードする DNA の動物への直接導入によって免疫応答を誘導する、DNA プラスミドの使用に基づいたワクチン接種技術開発のための著しい研究努力もまた企てられた。このような技術は DMA ワクチン接種と広く称されており、現在では多数の疾患モデルにおいて防御免疫応答を誘発するために用いられている。DNA ワクチンの総説として、Reyes-Sandoval and Ertl, 2001 (*Current Molecular Medicine*, 1, 217-243) を参照されたい。

【0006】

しかしながらワクチンの分野における一般的な問題は、感染および疾患からの防御および/または治療、ならびにそれによって致死的な疾病、例えば癌患者の生存を延長させるために、ワクチン接種される個体へ十分に強力な免疫応答を誘導する手法の同定である。

40

【0007】

従って、近年における主要な試みは、例えばワクチンによって誘導される免疫応答の増大に役立ち得る、免疫系の鍵となる特定の性状を刺激することによって作用する新規な薬品化合物の発見である。これらの化合物の多くは免疫応答修飾因子 (IRM) またはアジュバントと称され、種々の重要なサイトカイン（例えばインターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子など。例えば Schiller et al., 2006, *Exp Dermatol.*, 15, 331-341 を参照。）の生合成を誘導する、Toll 様受容体 (TLR) 経路の基本的な免疫系の機序を通じて作用すると考えられる。このような化合物は、特定の T 細胞、樹状細胞、また

50

は単球/マクロファージ由来のサイトカインの迅速な放出を刺激することが示されており、かつリンパ球の機能を刺激して、例えばB細胞に、IRM化合物の抗ウイルスおよび抗腫瘍活性において重要な役割を果たす抗体を分泌させることもできる。

【0008】

あるいは、ワクチン接種戦略の多くはプライム-ブーストワクチン接種計画に基づいて提案されている。これらの「プライム-ブースト」ワクチン接種プロトコルによれば、免疫系は患者へプライミング組成物を投与することによって最初に誘導され、次にブースト第2組成物の投与によってブーストされる(例えば、欧州特許第1411974号または米国特許出願公開第20030191076号を参照)。

【0009】

これはさらに、一つの治療が特定の患者群においてのみ有効となり得るといふ、保健医療の状況において示されている。従って医師が、最適な個別化された患者の治療法を調整する、すなわち的確な治療法を的確な患者への的確な時期に指示する、治療の高い成功率を提供する、治療への応答をモニターする、薬物の有効性および安全性を増大する、患者にとってその治療法が適切ではない不必要な治療を排除する、患者に不必要な毒性および副作用を与えない、患者および保険会社に対し、不必要または危険で効果のない薬物療法の費用を削減する、および患者の生活の質を改善して、最終的には癌を適切なフォローアップアッセイによって管理される疾患とすることを可能にし得る手段および方法を、彼らへ提供することが望ましい。

【0010】

これに関して文献は、例えば以下のような様々な手段および方法を提案している：

- 遺伝的な相違による作用としての、薬物に対する個別の応答についての研究からなる遺伝薬理学。これらの応答は、所定のいずれの個体において薬物がどのように作用するか、それがどのように代謝されるか、その毒性および投薬必要量に関わる。ヒトゲノム計画により、遺伝薬理学は薬理ゲノム学へと発展した。薬理ゲノム学は、薬物の発見および開発、標的の発見および検証、ならびに治験から用途を見出す可能性によって遺伝薬理学を超える；

- メタボロミクスもまた、予測的な医学の分野に応用できる。遺伝的因子に限定される遺伝薬理学とは異なり、薬理メタボロミクスは、遺伝的因子のみではなく非遺伝的因子、例えば患者体内のその他の薬物、患者の現在の健康状態などにも基づいて、薬物に対する個体の応答を予測することが可能である。

- バイオマーカーの役割は、治療方法の臨床開発においてますます重要になりつつある。バイオマーカーは、正常な生物学的過程、疾患過程、または治療的介入への薬理応答の指標となり得る。その役割は、レスポンド対ノンレスポンドの同定に役立つ患者集団の層別化から、治療方法の有効性の判定にまで及ぶ。バイオマーカーは、薬剤開発の費用を減少させ、かつ治療法を最も適切な患者集団へより早く届けることを可能にする、よりよい判断のための貴重な手段となり得る。

【0011】

本発明は、望まれる臨床転帰に関連する、実質的に信頼できる特徴であると判定された生物学的なマーカー(バイオマーカー)を用いた、患者への免疫原性組成物の投与を含む治療(すなわち免疫療法による治療)の有効性を予測するための材料および方法を提供する。このバイオマーカーは、前記の免疫原性組成物による治療の前に、患者から得た生体サンプル中に存在する。治療開始前にその臨床転帰を予測する能力により、医師および患者は、有効ではない治療法を同定して、それを放棄するかまたは代替治療法の実行を認めるかを含む、治療過程についての説明および決定を行うことができるであろう。

【0012】

本出願者はここに新しい手段およびワクチン接種戦略を同定した。さらに詳細には、本発明は、免疫原性組成物の投与によって、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのインターロイキン10/インターフェロンガンマ(IL10/IFN)比の使用に関する。代わりに、本

10

20

30

40

50

発明に従うバイオマーカーとしてインターフェロンガンマ/インターロイキン10 (IFN / IL10) 比を用いることもできるが、この場合には結果を適合させなければならない。

【0013】

Van den Boogaardt et al, 2006 (Transplantation, 82, 844-848) には、インターフェロンガンマ/インターロイキン10 (IFN / IL10) 比が、腎移植について拒絶される患者とされない患者を区別するための有用な手段であることが示されている。

【0014】

Jamal et al., 2007, (Tuberculosis, 87, 279-287) には、肺および肺外結核において、インターフェロンガンマ/インターロイキン10 (IFN / IL10) 比と疾病重症度の順位との間に直接の関連性がみられることが示されている。

10

【0015】

同様に、Gomes-Silva et al, 2007, (Clinical and Experimental Immunology, 149, 440-444) には、高いIFN および低いIL10が粘膜リーシュマニア症の重症度に関連することが示唆されている。

【0016】

第1の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患の患者を治療するための方法に関し、前記患者は低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から選択される。

【0017】

従って本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患の患者を治療するための方法であって、

20

- 低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から一患者を選択すること、
- 前記の選択された患者に、前記免疫原性組成物を投与することを含んでなる方法に関する。

【0018】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によって、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいか否かを予測するための方法であって、

- 患者から血液サンプルを得、
- 血液サンプル中のIL10およびIFN 濃度を測定し、かつ
- IL10 / IFN 比を算出することを含んでなり、ここで低いIL10 / IFN 比は、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいと予測されることを示す方法に関する。

30

【0019】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によって、予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすい患者を選択するための方法であって

- 患者から血液サンプルを得、
- 前記血液サンプル中のIL10およびIFN 濃度を測定し、かつ
- IL10 / IFN 比を算出することを含んでなり、ここで低いIL10 / IFN 比は、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいことを示す方法に関する。

40

【0020】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与を含んでなる治療に対して患者が陽性に応答しやすいか否かを予測するための方法であって、

- 患者から血液サンプルを得、
- 前記血液サンプル中のIL10およびIFN 濃度を測定し、かつ
- IL10 / IFN 比を算出することを含んでなり、ここで低いIL10 / IFN 比は、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいと予測されることを示す方法に関する。

50

## 【 0 0 2 1 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与を含んでなる治療に対して陽性に  
 応答しやすい患者を選択するための方法であって、

- 患者から血液サンプルを得、
- 前記血液サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、かつ
- I L 1 0 / I F N 比を算出することを含んでなり、ここで低い I L 1 0 / I F N 比は、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいことを示す方法に関する。

## 【 0 0 2 2 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与を含んでなる治療方法に対して、  
 患者が治療上の応答をするか否か評価するためのex-vivoの方法であって、

- 患者から血液サンプルを得、
- 前記血液サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、かつ
- I L 1 0 / I F N 比を算出することを含んでなり、ここで低い I L 1 0 / I F N 比は、患者が免疫組成物に対して予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現することを示す方法に関する。

## 【 0 0 2 3 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与により癌を治療する方法に対して、  
 患者が治療上の応答をするか否か評価するためのex-vivoの方法であって、

- 患者から血液サンプルを得、
- 前記血液サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、かつ
- I L 1 0 / I F N 比を算出する工程を含んでなり、ここで低い I L 1 0 / I F N 比は、患者が癌を治療する方法に対して応答することを示す方法に関する。

## 【 0 0 2 4 】

本発明はさらに、免疫原性組成物の投与を含んでなる治療のex-vivoの方法であって、  
 患者由来の生体サンプル、特に血液サンプル中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、  
 I L 1 0 / I F N 比を算出することを含んでなり、ここで低い I L 1 0 / I F N 比は、  
 患者が免疫組成物に対して予防または治療上の応答、特に免疫応答を発現することを示す方法に関する。

## 【 0 0 2 5 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、ここで患者は低い I L 1 0 / I F N 比を有する患者で構成される患者集団から選択される。

## 【 0 0 2 6 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に少なくとも1つの抗原に対する免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、ここで患者は低い I L 1 0 / I F N 比を有する患者で構成される患者集団から選択される。

## 【 0 0 2 7 】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、ここで前記患者は低い I L 1 0 / I F N 比を有する患者で構成される患者集団から選択され、前記の引き起こされた免疫応答は自然免疫応答である。自然免疫応答は病原体に対する身体の最初の防御であり、抗原提示細胞、すなわち「A P C」を含む様々な細胞によって誘発される。これらの細胞は、外来性の分子（例えば細菌性およびウイルス性の核酸、タンパク質、炭水化物）を認識する表面および細胞質受容体を発現する。これらのシグナルを検出することにより、樹状細胞およびマクロファージは、サイトカイン（インターフェロン、T N F アルファ、および I L - 1 2 を含む）ならびに未熟樹状細胞、マクロファージ、N K 細胞、および顆粒球のような細胞を攻撃の場へ誘引するケモカインの放出を含む、防御性の応答を誘発する。従って自然免疫応答は非特異的な保護を与え、一方で身体は適応型の

10

20

30

40

50

応答を発生する。

【0028】

従って本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、該方法は、

- 低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から一患者を選択し、
- 選択された患者に、前記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0029】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に少なくとも1つの抗原に対する免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、該方法は、

- 低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から一患者を選択し、
- 選択された患者に、前記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0030】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、ここで上記引き起こされた免疫応答は自然免疫応答であり、前記方法は、

- 低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から患者を選択し、
- 選択された患者に、前記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0031】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、該方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN 濃度を測定し、
- IL10 / IFN 比を算出し、かつ
- 患者が低いIL10 / IFN 比を有する場合、患者に上記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0032】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に少なくとも1つの抗原に対する免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、該方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN 濃度を測定し、
- IL10 / IFN 比を算出し、かつ
- 患者が低いIL10 / IFN 比を有する場合、患者に上記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0033】

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患を治療される患者に免疫応答（すなわち引き起こされた免疫応答）を誘導する方法に関し、ここで引き起こされた免疫応答は自然免疫応答であり、上記方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN 濃度を測定し、
- IL10 / IFN 比を算出し、かつ
- 患者が低いIL10 / IFN 比を有する場合、患者に上記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

【0034】

本出願の明細書全体を通して用いられる単数への言及（「a」および「an」）の語は、文脈に他の指示が無い限り、参照される化合物もしくは工程の「少なくとも1」、「少なくとも最初」、「1以上」、または「複数」を意味する。例えば「細胞（a cell）」との語には、それらの混合を含む、複数の細胞が含まれる。さらに詳細には、「少なくとも1」および「1以上」は、1または1よりも大きな数、特に1、2、もしくは3を好ましく意味する。

【0035】

本明細書のいずれの箇所でも用いられる「および/または」の語は、「および」、「ま

10

20

30

40

50

たは」、および「前記の語によって接続される要素の全て、またはその他の組み合わせのいずれも」との意味を含む。

【0036】

本明細書で用いられる「約」または「おおよそ」の語は、20%以内、好ましくは10%以内、さらに好ましくは5%以内を意味する。明確にするため、「約x」にはx特異的な値が含まれることを追加する。

【0037】

「患者」、「被験体」の語は、脊椎動物、特に哺乳類種のメンバーを意味し、家畜、競技動物、ヒトを含む霊長類、を含むがこれらに限定されない。

【0038】

本明細書で用いられる「治療」または「治療する」の語は、予防および/または治療法を包含する。従って、本発明の免疫原性組成物および方法は、治療への応用に限定されるものではなく、予防用にも使用できる。これは、本明細書の「予防用または治療用の免疫応答を発生させるため」との語によって包含される。「予防」は即時型の疾患（例えば感染症）の予防に限定されるものではなく、長期にわたるこれらの感染の結果、例えば肝硬変または癌の予防もさらに包含する。

【0039】

活性化化合物の「有効量」または「十分量」は、臨床上的の結果を含む、有益な、または望まれる結果をもたらすために十分な量である。有効量は、1以上の投与によって投与できる。「治療上有効な量」は、ウイルス性の感染に付随する1以上の症状の緩和、同様に疾患の予防（例えば感染の1以上の症状の予防）を含むがこれらに限定されない、有益な臨床上的の結果をもたらす量である。

【0040】

「低いIL10/IFN比を有する患者で構成される患者集団から選択される患者」との語は、インターロイキン10およびインターフェロンガンマの濃度を本明細書に開示されるように測定され、かつ低いIL10/IFN比を有する患者を意味するものとして理解されなければならない。試験される患者数が1を超える場合、前記患者は患者集団を形成する。

【0041】

特別な態様によれば、「患者が治療上の応答をし得る」または「患者が治療に対して陽性に応答し得る」との語は、前記患者の生存率が増加することを意味する（実施例部分を参照）。

【0042】

本発明の好ましい態様によれば、本発明の方法は、患者由来の生体サンプル中のインターロイキン10およびインターフェロンガンマ濃度を免疫原性組成物の投与前に測定することである、最初の工程を含んでなる。

【0043】

本発明によれば、インターロイキン10およびインターフェロンガンマの濃度は、患者から得た生体サンプルにおいて測定される。生体サンプルには、血液および生物由来のその他の液体サンプル、生検の検体のような固形組織サンプルが含まれるが、これらに限定されない。好ましい態様によれば、生体サンプルは血液、血漿、または血清であり、この場合患者からのサンプルは、比較的単純で非侵襲的な手順により得られる。血液または血清を得る方法は当該技術分野において公知であり、本発明の一部ではない。

【0044】

加えて、インスタントバイオマーカーを含む、ポリペプチドを検出および定量するための方法が多数知られている。このような方法には、抗体に基づく方法、さらに詳細にはモノクローナル抗体に基づく方法が含まれるが、これらに限定されない。本発明にとって、インスタントバイオマーカーを検出および定量するための特定の方法は重要ではない。例えば、本発明の材料および方法は、Luminex技術（Luminex Corporation、オースティン、テキサス州）または酵素結合免疫吸着測定法（ELISA、多くのELISAキットが、

10

20

30

40

50

例えばCliniScience、Diaclone、Biosourceから市販されている)と共に用いられてよい。

【0045】

本発明の一態様によれば、インターロイキン10およびインターフェロンガンマの濃度は抗体を用いて判定される。

本発明の特定の一態様によれば、単数または複数の前記抗体はIL10またはIFNに特異的である。

本発明の特定の一態様によれば、前記抗体はモノクローナル抗体である。

【0046】

本発明の特定の一態様によれば、前記抗体は、例えば蛍光、放射標識、酵素、ビオチン、または前記抗体によって標識された細胞が検出可能となるように設計されたその他のいずれの方法によってもタグ化される。これらの技術は広く用いられており、当該技術分野において公知である。

【0047】

関連する態様によれば、この方法は、患者への免疫原性組成物の投与前に、患者におけるインターロイキン10およびインターフェロンガンマの濃度を判定すること；IL10/IFN比を算出すること；前記IL10/IFN比をカットオフ値に対して比較すること；および、カットオフ値に比較したIL10/IFN比の濃度に基づき、免疫療法による治療の有効性を予測することを含む。

【0048】

特別な態様によれば、前記カットオフ値は約5、好ましくは約4、さらに好ましくは約3、特に約2である。好ましい一態様によれば、前記カットオフ値は約3.7、さらに好ましくは3.7である。好ましい態様によれば、本発明による「低いIL10/IFN比」とは、約5未満、好ましくは約4未満、さらに好ましくは約3未満、特に約2未満のIL10/IFN比を指す。好ましい一態様によれば、本発明による前記「低いIL10/IFN比」とは、約3.7未満、さらに好ましくは3.7未満のIL10/IFN比を指す。好ましい態様によれば、インターロイキン10およびインターフェロンガンマの濃度は、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)により、Luminex(登録商標)分析により、ラブオンチップシステムにより、放射免疫測定法、または抗体もしくはその他の特異的分子を用いる、IL10およびIFNの特異的な分子認識に基づくその他のシステムにより測定される。

【0049】

本明細書で用いられる「免疫原性組成物」、「ワクチン組成物」、「ワクチン」の語、または類似の語は互換的に用いることができ、患者の免疫系を刺激し/誘導し/増大させて、現在の状態を寛解させる、例えば生存率を改善させるか、あるいは現在または将来の害もしくは感染(ウイルス性、細菌性、寄生虫性の感染)から保護するかまたはこれらを減少させるため、例えば腫瘍細胞の増殖もしくは生存の減少、患者における病原体の複製もしくは伝播の減少、または状態に付随する症状の検出可能な程度の減少、患者の生存の延長、に適した薬剤を意味する。前記免疫原性組成物は、(i)少なくとも1つの標的抗原の全部もしくは一部、および/または(ii)少なくとも1つの異種性ヌクレオチド配列、特に少なくとも1つの標的抗原の全部もしくは一部をコードする異種性ヌクレオチド配列の、全部もしくは一部をin vivoで発現する、少なくとも1つの組み換えベクターを少なくとも含むことができる。別の態様によれば、本発明の免疫原性組成物は、(iii)少なくとも1つの免疫応答修飾因子を、単独、または(i)および/もしくは(ii)と組み合わせて含んでなる。このような免疫応答修飾因子(immune response modifiers: IRM)の例には、CpGオリゴヌクレオチド(例えば米国特許第6,194,388号；米国特許出願公開第2006094683号；国際公開第2004039829号を参照)、リポ多糖、ポリイノシン・ポリシチジン酸複合体(Kadowaki, et al., 2001, J. Immunol. 166, 2291-2295)、ならびに樹状細胞および/または単球/マクロファージからのサイトカイン酸性を誘導することが知られているポリペプチドおよびタンパク質が含

10

20

30

40

50

まれる。このような免疫応答修飾因子（IRM）の例は、イミダゾキノリンアミン、イミダゾピリジンアミン、6,7-融合シクロアルキルイミダゾピリジンアミン、イミダゾナフチリジンアミン、オキサロキノリンアミン、チアゾロキノリンアミン、および1,2-架橋イミダゾキノリンアミンのような有機小分子である（例えば米国特許第4,689,338号；米国特許第5,389,640号；米国特許第6,110,929号；および米国特許第6,331,539号を参照）。別の態様によれば、免疫原性組成物は、癌のような疾病を治療するために患者の免疫応答を刺激する細胞を含んでなる。前記細胞は、抗原性の組成物（例えばDendreon Corporationにより開発されたProvenge）と組み合わせた、樹状細胞のような抗原提示細胞、腫瘍細胞（例えばCell Genesysにより開発されたGVAX）、またはリンパ球であってよい。

10

#### 【0050】

本明細書で用いられる「抗原」の語は、免疫応答の標的となることが可能な、複合体抗原（例えば腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、樹状細胞など）を含むいずれの物質も指す。抗原は、例えば患者により引き起こされた細胞性および/または液性免疫応答の標的であってよい。「抗原」の語は、ウイルス性抗原、腫瘍特異的または腫瘍関連抗原、細菌性抗原、寄生虫性抗原、アレルゲンなどの全部または一部を包含する：

- ウイルス性抗原は例えば、肝炎ウイルスA、B、C、DおよびE、HIV、疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、水痘帯状疱疹、パピローマウイルス、エプスタイン・バーウイルス、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、コクサッキーウイルス、ピコルナウイルス、ロタウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、ポックスウイルス、ライノウイルス、風疹ウイルス、パポバウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス由来の抗原を含む；公知のウイルス性抗原の限定されない幾つかの例は、以下：HIV-1、例えばtat、nef、gp120もしくはgp160、gp40、p24、gag、env、vif、vpr、vpu、rev、またはそれらの一部および/もしくは組み合わせ由来の抗原；ヒト疱疹ウイルス、例えばgH、gL、gM、gB、gC、gK、gE、もしくはgDまたはそれらの一部および/もしくは組み合わせ、または前初期タンパク質、例えばHSV1もしくはHSV2由来のICP27、ICP47、ICP4、ICP36由来の抗原；サイトメガロウイルス、特にヒトサイトメガロウイルス、例えばgBまたはその誘導体由来の抗原；エプスタイン・バーウイルス、例えばgp350またはその誘導体由来の抗原；水痘帯状疱疹ウイルス、例えばgp1、11、111およびIE63由来の抗原；肝炎ウイルス、例えばB型肝炎、C型肝炎、またはE型肝炎ウイルス抗原（例えばHCVのenvタンパク質E1もしくはE2、コアタンパク質、NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a、NS5b、p7、またはそれらの一部および/もしくは組み合わせ）由来の抗原；ヒトパピローマウイルス（例えばHPV6、11、16、18、例えばL1、L2、E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7、またはそれらの一部および/もしくは組み合わせ）由来の抗原；その他のウイルス性病原体、例えば呼吸器合胞体ウイルス（例えばFおよびGタンパク質またはそれらの誘導体）、パラインフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、フラビウイルス（例えば黄熱病ウイルス、デング熱ウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、日本脳炎ウイルス）またはインフルエンザウイルス細胞（例えばHA、NP、NA、もしくはMタンパク質、またはそれら

20

30

40

らの一部および/もしくは組み合わせ）由来の抗原を含む；

- 腫瘍特異的または関連抗原は、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病を含むがこれらに限定されない。このような癌のさらに詳細な例は、乳癌、前立腺癌、大腸癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、結腸直腸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、腎癌、肝臓癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌および様々な型の頭頸部癌、腎癌、悪性メラノーマ、咽頭癌、前立腺癌を含む。癌抗原とは、明らかに腫瘍特異的な免疫応答を、潜在的に刺激することができる抗原である。これらの抗原のあるものは正常細胞によりコードされるが、必ずしも発現しない。これらの抗原は、正常細胞においては通常サイレント（すなわち発現しない）であるもの、低レベルでのみ発現するかまたは分化の特定の段階に発現するもの、およ

50

び胚性および胎児性抗原のような一時的に発現するものとして特徴付けられる。その他の癌抗原は、癌遺伝子（例えば活性化 *ras* 癌遺伝子）、抑制遺伝子（例えば変異 *p53*）のような変異細胞遺伝子、内部欠失または染色体転座の結果としての融合タンパク質によりコードされる。さらにその他の癌抗原は、RNAおよびDNA腫瘍ウイルスにより保有されるような、ウイルス性遺伝子によってコードされ得る。腫瘍特異的または関連抗原の限定されない幾つかの例は、MART-1/Melan-A、gp100、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP-IV)、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質 (ADAbp)、シクロフィリンb、結腸直腸関連抗原 (CRC) - C017-1A/GA733、癌胎児性抗原 (CEA) ならびにその免疫原性エピトープ CAP-1およびCAP-2、*etv6*、*aml1*、前立腺特異的抗原 (PSA) ならびにその免疫原性エピトープ PSA-1、PSA-2、およびPSA-3、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、T細胞受容体/CD3ゼータ鎖、腫瘍抗原のMAGEファミリー（例えばMAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2 (MAGE-B2)、MAGE-Xp3 (MAGE-B3)、MAGE-Xp4 (MAGE-B4)、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5）、腫瘍抗原のGAGEファミリー（例えばGAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9）、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、*p53*、MUCファミリー

10

（例えばMUC-1）、HER2/neu、*p21ras*、RCAS1、アルファフェトプロテイン、E-カドヘリン、アルファカテニン、ベータカテニン、およびガンマカテニン、*p120ctn*、*gp100*、*supPme1117*、PRAME、NY-ESO-1、*cdc27*、大腸腺腫症タンパク質 (APC)、フォドリン、コネキシン37、Ig-イデオタイプ、*p15*、*gp75*、GM2およびGD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質のようなウイルス性産物、腫瘍抗原のSmadファミリー、*lmp-1*、P1A、EBVによりコードされる核抗原 (EBNA) - 1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2 (HOM-MEL-40)、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1およびCT-7、ならびに*c-erbB-2*を含む；

20

- 細菌性抗原は、例えば、TBおよびハンセン病の原因となるマイコバクテリア、肺炎球菌、好気性グラム陰性桿菌、マイコプラズマ、ブドウ球菌感染症、連鎖球菌感染症、サルモネラ、クラミジア、ナイセリア由来の抗原を含む；

30

- その他の抗原は、例えばマラリア、リーシュマニア症、トリパノソーマ症、トキソプラズマ症、住血吸虫症、フィラリア症由来の抗原を含む；

アレルゲンは、感受性の患者にアレルギー性または喘息性の応答を誘導できる物質を指す。アレルゲンのリストは非常に多く、花粉、昆虫毒、動物の鱗屑、真菌胞子、および薬物（例えばペニシリン）を含んでよい。天然の動物および植物アレルゲンの例は、以下の属：イヌ (*Canis familiaris*)；ダニ（例えば*Dermatophagoides farinae*)；ネコ (*Felis domesticus*)；ブタクサ (*Ambrosia artemisiifolia*)；ドクムギ（例えば*Lolium perenne*または*Lolium multiflorum*)；スギ (*Cryptomeria japonica*)；*Alternaria* (*Alternaria alternata*)；*Alder*；*Alnus* (*Alnus gultinoasa*)；カバノキ (*Betula verrucosa*)；カシ (*Quercus alba*)；オリーブ (*Olea europa*)；ヨモギ (*Artemisia vulgaris*)；オオバコ（例えば*Plantago lanceolata*)；ヒカゲミズ（例えば*Parietaria officinalis*または*Parietaria judaica*)；チャバネゴキブリ（例えば*Blattella germanica*)；ミツバチ（例えば*Apis multiflorum*)；イトスギ（例えば*Cupressus sempervirens*、*Cupressus arizonica*、および*Cupressus macrocarpa*)；ビャクシン（例えば*Juniperus sabinoides*、*Juniperus virginiana*、*Juniperus communis*、および*Juniperus ashei*)；クロベ（例えば*Thuya orientalis*)；ヒノキ（例えば*Chamaecyparis obtusa*)；ゴキブリ（例えば*Periplaneta americana*)；カモジグサ（例えば*Agropyron repens*)；ライ麦（例えば*Secale cereale*)；コムギ（例えば*Triticum aestivum*)；カモガヤ（例えば*Dactylis glomerata*)

40

50

; ウシノケグサ (例えば *Festuca elatior*) ; イチゴツナギ (例えば *Poa pratensis* または *Poa compressa*) ; カラスムギ (例えば *Avena sativa*) ; シラゲガヤ (例えば *Holcus lanatus*) ; ツノゴケ (例えば *Anthoxanthum odoratum*) ; オオカニツリ (例えば *Arrhenatherum elatius*) ; コヌカグサ (例えば *Agrostis alba*) ; アワガエリ (例えば *Phleum pratense*) ; クサヨシ (例えば *Phalaris arundinacea*) ; スズメノヒエ (例えば *Paspalum noratum*) ; モロコシ (例えば *Sorghum halepensis*) ; およびスズメノチャヒキ (例えば *Bromus inermis*) に特異的なタンパク質を含むがこれらに限定されない。

【0051】

特別な一態様によれば、前記抗原は異種性ヌクレオチド配列によりコードされ、組み換えベクターにより *in vivo* で発現する。

10

【0052】

特に好ましい態様によれば、本発明の異種性ヌクレオチド配列は、以下の抗原、HBV - Pre S1、Pre S2、および表面 env タンパク質、コア、および pol HIV - gp120、gp40、gp160、p24、gag、pol、env、vif、vpr、vpu、tat、rev、nef ; HPV - E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7、E8、L1、L2 (例えば国際公開第90/10459号、国際公開第98/04705号、国際公開第99/03885号を参照) ; HCV env タンパク質 E1 または E2、コアタンパク質、NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a、NS5b、p7 (例えば国際公開第WO2004111082号、国際公開第2005051420号を参照) ; Muc - 1 (例えば米国特許第5,861,381号 ; 米国特許第6,054,438号 ; 国際公開第98/04727号 ; 国際公開第98/37095号を参照) の全部または一部の1以上をコードする。

20

【0053】

本発明の変異形によれば、免疫原性組成物は、少なくとも2の抗原、または少なくとも2の抗原をコードする1の異種性ヌクレオチド配列、または少なくとも2の抗原をコードする少なくとも2の異種性ヌクレオチド配列、またはそれらのいずれの組み合わせも含む。

【0054】

別の特別な態様によれば、本発明の前記異種性ヌクレオチド配列は、HPVのE6初期コード領域、HPVのE7初期コード領域、およびそれらの誘導體または組み合わせからなる群から選択される、HPV抗原の全部または一部をコードする。

30

【0055】

本発明による、組み換えベクターによりコードされるHPV抗原は、HPV E6ポリペプチド、HPV E7ポリペプチド、またはHPV E6ポリペプチドおよびHPV E7ポリペプチドの両方からなる群から選択される。本発明は、変異しているかまたは少なくとも著しく減弱したp53に結合する、いずれのHPV E6ポリペプチドの使用、および/または変異しているかまたは少なくとも著しく減弱したRbに結合する、いずれのHPV E7ポリペプチドの使用も包含する (Munger et al., 1989, EMBO J. 8, 4099-4105; Crook et al., 1991, Cell 67, 547-556; Heck et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 4442-4446; Phelps et al., 1992, J. Virol. 66, 2148-2427)。本発明の目的に適した非発癌性のHPV - 16 E6変異体では、おおよそ位置118からおおよそ位置122におけるアミノ酸残基の1以上が欠失しており (+1は、天然HPV - 16 E6ポリペプチドの最初のメチオニン残基を表す)、特に好ましくは残基118から122 (CPEEK) が完全に欠失している。本発明の目的に適した非発癌性のHPV - 16 E7変異体では、おおよそ位置21からおおよそ位置26におけるアミノ酸残基の1以上が欠失しており (+1は、天然HPV - 16 E7ポリペプチドの最初のアミノ酸を表す)、特に好ましくは残基21から26 (DLICYE) が完全に欠失している。好ましい態様によれば、本発明で用いられる1以上のHPV - 16初期ポリペプチドは、MHCクラスIおよび/またはMHCクラスIIの提示を改善するために、かつ/または抗HPV免疫を刺激するために、さらに改変される。HPV E6およびE7ポリペプチド

40

50

は核タンパク質であり、以前に、膜提示によってそれらの治療上の有効性が改善されることが示されている（例えば、国際公開 99/03885号を参照）。従って、少なくとも1つのHPV初期ポリペプチドが細胞膜に固定されるように改変することが望ましいであろう。膜アンカーは、HPV初期ポリペプチド内に膜アンカー配列を取り込むことにより、天然ポリペプチドが分泌配列（すなわちシグナルペプチド）を持たない場合に容易に達成できる。膜アンカーおよび分泌配列は、当該技術分野において公知である。簡単に述べると、分泌配列は、膜提示されるかまたは分泌されるポリペプチドのN末端に存在し、それらの小胞体（ER）への通過を開始する。これらは通常15ないし35の、基本的には疎水性のアミノ酸を含んでなり、次にこれらのアミノ酸が、特異的なER局在のエンドペプチダーゼにより除去されて成熟ポリペプチドが得られる。膜アンカー配列は、通常、本来は高度に疎水性であり、ポリペプチドの細胞膜内への固定に役立つ（例えば、Branden and Tooze, 1991, in Introduction to Protein Structure p. 202-214, NY Garlandを参照）。

10

## 【0056】

本発明の文脈内で使用できる、膜アンカーおよび分泌配列の選択は非常に広い。これらは、それを含んでなるいずれの膜アンカーおよび/または分泌ポリペプチド（例えば、細胞性またはウイルス性ポリペプチド）、例えば狂犬病糖タンパク質、HIVウイルスエンペロー糖タンパク質、または麻疹ウイルスFタンパク質から得られてよいが、または合成であってよい。本発明によって用いられる初期HPV-16ポリペプチドそれぞれに挿入される膜アンカーおよび/または分泌配列は、共通または異なる起源を有してよい。分泌配列の好ましい挿入部位は翻訳開始コドン下流のN末端であり、膜アンカー配列の好ましい挿入部位はC末端、例えば終止コドンのすぐ上流である。

20

## 【0057】

本発明で用いられるHPV E6ポリペプチドは、麻疹Fタンパク質の分泌および膜アンカーシグナルの挿入によって好ましく改変される。任意に、または組み合わせで、本発明で用いられるHPV E7ポリペプチドは、狂犬病糖タンパク質の分泌および膜アンカーシグナルの挿入によって好ましく改変される。

## 【0058】

組み換えベクターの治療上の有効性はまた、免疫賦活ポリペプチドをコードする1以上の核酸の使用によっても改良できる。例えば、HPV初期ポリペプチドを、カルレチキユリン（Cheng et al., 2001, J. Clin. Invest. 108, 669-678）、結核菌熱ショックタンパク質70（HSP70）（Chen et al., 2000, Cancer Res. 60, 1035-1042）、ユビキチン（Rodriguez et al., 1997, J. Virol. 71, 8497-8503）、または細菌性毒素、例えば緑膿菌外毒素A（ETA（dIII））の転移ドメイン（Hung et al., 2001 Cancer Res. 61, 3698-3703）、のようなポリペプチドに連結することは有利であり得る。

30

## 【0059】

別の好ましい態様によれば、本発明の組み換えベクターは、上で定義した初期ポリペプチドの1以上、さらに詳細にはHPV-16および/またはHPV-I8初期E6および/またはE7ポリペプチドをコードする核酸を含んでなる。

## 【0060】

別の特別な好ましい態様によれば、本発明の前記異種性ヌクレオチド配列は、MUC1抗原またはその誘導体の全部もしくは一部をコードする。

40

## 【0061】

別の特別な好ましい態様によれば、本発明の前記異種性ヌクレオチド配列は、以下：HCvenvタンパク質E1またはE2、コアタンパク質、NS2、NS3、NS4a、NS4b、NS5a、NS5b、p7、またはそれらの誘導体の全部もしくは一部の1以上をコードする。別の特別な好ましい態様によれば、本発明の前記異種性ヌクレオチド配列は1以上の融合タンパク質をコードし、ここにおける配置は、少なくとも1つのNSポリペプチドの順序が、天然の配置の順序とは異なるようであるという意味で天然ではない。従って、融合タンパク質がNS3ポリペプチド、NS4Aポリペプチド、およびNS5

50

Bポリペプチドを含んでなる場合、天然の立体配置は、NS3がN末端、およびNS5BがC末端に位置する、NS3 - NS4A - NS5Bであり得る。一方で非天然の配置は、NS5B - NS3 - NS4A、NS5B - NS4A - NS3、NS4A - NS3 - NS5B、NS4A - NS5B - NS3、またはNS3 - NS5B - NS4Aであり得る。特に、本発明の融合タンパク質は、以下の少なくとも1を含んでなる：

NS3ポリペプチドのN末端へ、直接またはリンカーを通して融合するNS4Aポリペプチド；

NS5BポリペプチドのN末端へ、直接またはリンカーを通して融合するNS3ポリペプチド；

NS5BポリペプチドのN末端へ、直接またはリンカーを通して融合するNS4Bポリペプチド；

NS4BポリペプチドのN末端へ直接またはリンカーを通して融合するNS3ポリペプチドのN末端へ、直接またはリンカーを通して融合するNS4Aポリペプチド；および/または

NS5BポリペプチドのN末端へ直接またはリンカーを通して融合するNS4BポリペプチドのN末端へ、直接またはリンカーを通して融合するNS3ポリペプチド。

#### 【0062】

本発明の融合タンパク質のこのような特別な部分において、NSポリペプチドはそれぞれ独立して天然であってよいが、または改変できる。例えば、NS4A - NS3の部分に含まれるNS4Aポリペプチドは天然であってよいが、NS3ポリペプチドは、以下に述べる少なくとも1つの改変を含んでなる。

#### 【0063】

必要であれば、本発明で用いられる核酸分子は、標的抗原（例えばHPV初期ポリペプチド）を特定の宿主細胞または生命体、例えばヒト宿主細胞または生命体内に高レベルで発現させるため、最適化されてよい。典型的には、哺乳類宿主細胞ではあまり用いられないコドンに相当する1以上の「天然」（例えばKPV）コドンを、同じアミノ酸をコードし、より頻繁に用いられる1以上のコドンによって置換することにより、コドンの最適化が行われる。これは従来の変異誘発または化学合成技術（例えば核酸を合成する）により達成できる。部分的な置換でも発現の増大は達成できることから、あまり用いられないコドンに相当する天然コドンの全てを置換する必要はない。さらに、単数または複数の制限酵素部位を導入するため、最適化コドンの使用へ厳格に固執することから幾らかは逸脱してもよい。

#### 【0064】

ここで用いられる「組み換えベクター」の語は、染色体外（例えばエピソーム）、マルチコピー、および組み込みベクター（すなわち宿主染色体内に取り込まれる）を含む、ウイルス性および非ウイルス性のベクターを指す。本発明の文脈において特に重要であるのは、遺伝子治療法に使用するためのベクター（すなわち宿主生命体へ核酸を送達できるもの）、および様々な発現システムにおいて使用するための発現ベクターである。適切な非ウイルス性のベクターには、pREP4、pCEP4（Invitrogene）、pCI（Promega）、pCDM8（Seed, 1987, Nature 329, 840）、pVAX、およびpgWiz（Gene Therapy System Inc; Himoudi et al., 2002, J. Virol. 76, 12735-12746）のようなプラスミドが含まれる。適切なウイルスベクターは、様々な異なるウイルス（例えばレトロウイルス、アデノウイルス、AAV、ポックスウイルス、疱疹ウイルス、麻疹ウイルス、泡沫状ウイルスなど）に由来してよい。本明細書で用いられる「ウイルスベクター」の語は、ベクターのDNA/RNA、および産生されたそのウイルス粒子を包含する。ウイルスベクターは複製可能であるか、または複製欠損もしくは複製障害であるように、遺伝的に無効にすることができる。本明細書で用いられる「複製可能」の語は、特定の宿主細胞（例えば腫瘍細胞）内でより良く、または選択的に複製できるように改変された、複製選択的および条件的に複製可能なウイルスベクターを包含する。

#### 【0065】

一態様によれば、本発明で用いられる組み換えベクターは組み換えアデノウイルスベクターである（総説として、"Adenoviral vectors for gene therapy", 2002, Ed D. Curie I and J. Douglas, Academic Pressを参照）。これは様々なヒトまたは動物源由来であってよく、かつアデノウイルス血清型の1ないし51からのいずれの血清型も用いられてよく、特にヒトアデノウイルス2 (Ad2)、5 (Ad5)、6 (Ad6)、11 (Ad11)、24 (Ad24) および35 (Ad35) が好ましい。このようなアデノウイルスは、アメリカ合衆国培養細胞系統保存機関 (ATCC、ロックビル、メリーランド州) から入手でき、それらの配列、構成、および産生方法を記載した多数の出版物の主題となっていることから、熟練者によるそれらの使用が可能である（例えば米国特許第6,133,028号；米国特許第6,110,735号；国際公開第02/40665号；国際公開第00/50573号；欧州特許第1016711号；Vogels et al., 2003, J. Virol. 77, 8263-8271を参照）。

10

#### 【0066】

本発明で用いられるアデノウイルスベクターは、複製可能であってよい。複製可能なアデノウイルスベクターの多くの例が、当業者には容易に入手可能である（例えばHernandez-Alcoceba et al., 2000, Human Gene Ther. 11, 2009-2024; Nemunaitis et al., 2001, Gene Ther. 8, 746-759; Alemany et al., 2000, Nature Biotechnology 18, 723-727を参照）。例えば、これらは野生型アデノウイルスゲノムから、E1A CR2ドメインの欠失により（例えば国際公開第00/24408号を参照）、および/または、天然E1および/またはE4プロモーターを、組織、腫瘍、または細胞の状態に特異的なプロモーターで置換することにより（例えば米国特許第5,998,205号、国際公開第99/25860号、米国特許第5,698,443号、国際公開第00/46355号、国際公開第00/15820号、および国際公開第01/36650号を参照）変更できる。

20

#### 【0067】

あるいは、本発明で用いられるアデノウイルスベクターは、複製欠損である（例えば国際公開第94/28152号；Lusky et al., 1998, J. Virol. 72, 2022-2032を参照）。好ましい複製欠損アデノウイルスベクターは、E1欠陥（例えば米国特許第6,136,594号および米国特許第6,013,638号を参照）であり、これはおおよそ位置459ないし3328、またはおおよそ位置459ないし3510から伸展するE1の欠失による（受入番号M73260によりGeneBankに開示されるヒトアデノウイルスタイプ5の配列、およびChroboczek et al., 1992, Virol. 186, 280-285への参照による）。クローニング能は、アデノウイルスゲノムのさらなる部分（非必須のE3領域、またはその他の必須のE2、E4領域の、全部もしくは一部）の欠失によってさらに改良できる。アデノウイルスベクターのいずれの位置への核酸の挿入も、Chartier et al. (1996, J. Virol. 70, 4805-4810)に記載される相同組み換えを通して行うことができる。例えば、HPV-16 E6ポリペプチドをコードする核酸はE1領域を置換するために挿入でき、HPV-16 E7ポリペプチドをコードする核酸はE3領域を置換するために挿入でき、その逆もまた同じである。

30

#### 【0068】

別の好ましい態様によれば、本発明で用いられるベクターはポックスウイルスベクターである（例えばCox et al. in "Viruses in Human Gene Therapy" Ed J. M. Hos, Carolina Academic Pressを参照）。別の好ましい態様によれば、これはワクシニアウイルスからなる群から選択され、適切なワクシニアウイルスは、コペンハーゲン株 (Goebel et al., 1990, Virol. 179, 247-266 および 517-563; Johnson et al., 1993, Virol. 196, 381-401)、ワイス株、およびそれら由来の、MVAを含む高度に弱毒化されたウイルス（総説としてMayr, A., et al., 1975, Infection 3, 6-14を参照）ならびにそれらの誘導體（例えばMVAワクシニア株575 (ECACC V00120707 - 米国特許第6,913,752号)、NYVAC (国際公開第92/15672号 - Tartaglia et al., 1992, Virology, 188, 217-232を参照)を含むがこれらに限定されない。MVAゲノム

40

50

の完全な配列の決定、およびコペンハーゲンVVゲノムとの比較により、MVAゲノムにおける7の欠失（IないしVII）の正確な同定が可能となり（Antoine et al., 1998, *Virology* 244, 365-396）、それらのいずれも抗原をコードする核酸を挿入するために使用できる。ベクターはまた、その他のいずれのポックスウイルス科のメンバー、特に鶏痘（例えばTROVAC、Paoletti et al, 1995, *Dev Biol Stand.*, 84, 159-163を参照）；カナリア痘（例えばALVAC、国際公開第95/27780号、Paoletti et al, 1995, *Dev Biol Stand.*, 84, 159-163）；鳩痘；豚痘などからも取得され得る。例として当業者は、このような異種性ヌクレオチド配列、特に抗原をコードするヌクレオチド配列を発現できるポックスウイルスに基づいた発現ベクターの産生について記載されている、国際公開第92 15672号（参照により取り込まれる）を参照してよい。

10

## 【0069】

特別な態様によれば、前記ウイルスは複製可能なポックスウイルス、特に複製可能なワクシニアウイルスであってよい。これらのウイルスの例は、国際公開第9531105号（例えば製剤JX594、VV TK - GMC SF、またはJX963、VV TK - VGF - GMC SF）、国際公開第0073479号、国際公開第2009/065547号、国際公開第2009/065546号に提供される。

## 【0070】

ポックスウイルスゲノム内における発現に必要な、核酸および付随する調節性エレメントの挿入のための基本的技術は、当業者が利用できる多数の文書に記載されている（Paul et al., 2002, *Cancer gene Ther.* 9, 470-477; Piccini et al., 1987, *Methods of Enzymology* 153, 545-563; 米国特許第4, 769, 330号; 米国特許第4, 772, 848号; 米国特許第4, 603, 112号; 米国特許第5, 100, 587号、および米国特許第5, 179, 993号）。これは通常、ウイルス性ゲノムおよび挿入する核酸を保有するプラスミドの両方に存在する重複配列（すなわち望まれる挿入部位）間の相同組み換えを通して進められる。

20

## 【0071】

本発明の抗原をコードする核酸は、組み換えポックスウイルスが生存可能かつ感染可能なままであるように、ポックスウイルスゲノムの非必須の遺伝子座へ好ましく挿入される。非必須の領域は、非コードの遺伝子間領域であるか、またはその不活性化もしくは欠失がウイルスの増殖、複製、または感染を有意に損なわない、いずれの遺伝子でもある。欠損した機能が、ウイルス粒子産生の途中に、例えばポックスウイルスゲノム内で欠失したそれらに対応する補完配列を保有するヘルパー細胞株を用いることにより供給されるという条件で、必須のウイルス性遺伝子座への挿入も想定され得る。

30

## 【0072】

コペンハーゲンワクシニアウイルスを用いる際に、抗原をコードする核酸は、チミジンキナーゼ遺伝子（tk）内へ好ましく挿入される（Hruby et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 80, 3411-3415; Weir et al., 1983, *J. Virol.* 46, 530-537）。しかしながらその他の挿入部位、例えば赤血球凝集素遺伝子内（Guo et al., 1989, *J. Virol.* 63, 4189-4198）、K1L遺伝子座内、u遺伝子内（Zhou et al., 1990, *J. Gen. Virol.* 71, 2185-2190）、または文献上で様々な自発性または改変された欠失が報告されている、ワクシニアウイルスゲノムの左端（Altenburger et al., 1989, *Archives Virol.* 105, 15-27; Moss et al. 1981, *J. Virol.* 40, 387-395; Panicali et al., 1981, *J. Virol.* 37, 1000-1010; Perkus et al, 1989, *J. Virol.* 63, 3829-3836; Perkus et al, 1990, *J. Virol.* 179, 276-286; Perkus et al, 1991, *J. Virol.* 180, 406-410)もまた適切である。

40

## 【0073】

MVAを用いる際に、抗原をコードする核酸は、同定されたIないしVIIの欠失のいずれか1の内、およびD4R遺伝子座内に挿入されてよいが、欠失IIまたはIII内への挿入が好ましい（Meyer et al., 1991, *J. Gen. Virol.* 72, 1031-1038; Sutter et al., 1994, *Vaccine* 12, 1032-1040）。

50

## 【 0 0 7 4 】

鶏痘ウイルスを用いる際にはチミジンキナーゼ遺伝子内への挿入が考慮され得るが、抗原をコードする核酸は、ORF 7と9の間の遺伝子間領域内へ好ましく導入される（例えば欧州特許第314569号および米国特許第5,180,675号を参照）。

## 【 0 0 7 5 】

特別な一態様によれば、前記組み換えベクターは、組み換えプラスミドDNAまたは組み換えウイルスベクターである。

## 【 0 0 7 6 】

別の特別な態様によれば、前記組み換えウイルスベクターは組み換えワクシニアベクターである。

## 【 0 0 7 7 】

別の特別な態様によれば、前記組み換えワクシニアベクターは組み換えMVAベクターである。

## 【 0 0 7 8 】

好ましくは、本発明で用いられる抗原をコードする核酸は、宿主細胞または生命体内でのその発現に適した形であり、これは抗原をコードする核酸配列が、宿主細胞または生命体内でのその発現に必要な1以上の調節性配列の制御下に配置されることを意味する。本明細書で用いられる「調節性配列」の語は、複製、重複、転写、スプライシング、翻訳、安定、および/または核酸もしくはその誘導体のうちの一つ（すなわちmRNA）の宿主細胞内への輸送を含む、所定の宿主細胞内での核酸の発現を可能にするか、これに寄与するか、または調節するいずれの配列も指す。当業者は、調節性配列の選択が、宿主細胞、ベクター、および望まれる発現レベルのような因子に依存し得ることを理解するであろう。抗原をコードする核酸は、真核細胞内での抗原核酸の発現を導く遺伝子発現配列へ機能的に連結される。遺伝子発現配列は、それが機能的に連結する抗原核酸の効率的な転写および翻訳を促進する、プロモーター配列またはプロモーター-エンハンサーの組み合わせのような調節性ヌクレオチド配列のいずれでもある。遺伝子発現配列は、例えば、恒常的もしくは誘導性プロモーターのような、哺乳類またはウイルス性プロモーターであってよい。恒常的哺乳類プロモーターには、以下の遺伝子に対するプロモーター：ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ（hypoxanthine phosphoribosyl transferase：HPRT）、アデノシンデアミナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、b-アクチンプロモーター、およびその他の恒常的プロモーターが含まれるが、これらに限定されない。真核細胞内で恒常的に機能する典型的なウイルス性プロモーターには、例えば、サイトメガロウイルス（cytomegalovirus：CMV）、サルウイルス（例えばSV40）、パピローマウイルス、アデノウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（human immunodeficiency virus：HIV）、ラウス肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、モロニー白血病ウイルスの末端反復配列（long terminal repeats：LTR）およびその他のレトロウイルス由来のプロモーター、ならびに単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼプロモーターが含まれる。その他の恒常的プロモーターは、当業者に公知である。本発明の遺伝子発現配列として有用なプロモーターには、誘導性プロモーターもまた含まれる。誘導性プロモーターは、誘導因子の存在下で発現する。例えばメタロチオネインプロモーターは、特定の金属イオンの存在下で転写および翻訳の促進が誘導される。その他の誘導性プロモーターは、当業者に公知である。一般に遺伝子発現配列は、TATAボックス、キャッピング配列、CAAT配列などのような、転写および翻訳それぞれの開始に関わる5'非転写および5'非翻訳配列を含み得ることが必要である。特にこのような5'非転写配列は、機能的に連結された抗原核酸の転写制御のためのプロモーター配列を含む、プロモーター領域を含み得る。遺伝子発現配列は、所望により、エンハンサー配列または上流の活性化因子配列を任意に含む。ボックスウイルスベクターにおける使用のために好ましいプロモーター（以下を参照）には、ワクシニアプロモーター7.5K、H5R、TK、p28、p11、およびK1L、初期および後期ボックスウイルスプロモーターのキメラプロモーター、ならびに Chakrabarti et al. (1997, Biotechniques 23, 1094-1097), Hammond et al. (1997, J.

10

20

30

40

50

Virological Methods 66, 135-138)および Kumar and Boyle (1990, Virology 179, 151-158)に記載されるような合成プロモーターが含まれるが、これらに限定されない。

【0079】

プロモーターは特に重要であり、本発明は、多くの型の宿主細胞内で核酸の発現を導く恒常的プロモーター、および特定の宿主細胞においてのみか、または特異的な現象もしくは外来性の因子(例えば温度、栄養性添加物、ホルモン、またはその他のリガンド)に反応して発現を導くプロモーターの使用を包含する。適切なプロモーターは文献に広く記載されており、RSV、SV40、CMV、およびMLPプロモーターのようなウイルス性プロモーターがより詳細に引用され得る。ボックスウイルスベクターにおける使用のために好ましいプロモーターには、ワクシニアプロモーター7.5K、H5R、TK、p28、p11、およびK1L、初期および後期ボックスウイルスプロモーターのキメラプロモーター、ならびにChakrabarti et al. (1997, Biotechniques 23, 1094-1097), Hammond et al. (1997, J. Virological Methods 66, 135-138)および Kumar and Boyle (1990, Virology 179, 151-158)に記載されるような合成プロモーターが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0080】

当業者は、本発明の核酸分子の発現を制御する調節性エレメントが、転写の適切な開始、調節、および/または終結(例えばポリA転写終結配列)、mRNA輸送(例えば核局在化シグナル配列)、プロセッシング(例えばスプライシングシグナル)、および安定(例えば、イントロンおよび非コード5'および3'配列)、翻訳(例えば、ペプチドシグナル、プロペプチド、三部からなるリーダー配列(tripartite leader sequences)、リボゾーム結合部位、シャイン-ダルガーノ配列など)のための追加エレメントを、宿主細胞または生命体内へさらに含んでなり得ることを理解するであろう。

20

【0081】

あるいは、本発明で用いられる組み換えベクターは、少なくとも1つのサイトカインをコードする少なくとも1つの核酸をさらに含んでなるとよい。適切なサイトカインには、限定はされないが、インターロイキン(例えば、IL-2、IL-7、IL-15、IL-18、IL-21)およびインターフェロン(例えば、IFN、INF)が含まれ、特にIL-2が好ましい。本発明の組み換えワクチンがサイトカインを発現する核酸を含んでなる場合、前記核酸は、1以上の抗原をコードする組み換えベクターによって、または同じかもしくは異なる由来であってよい、独立した組み換えベクターによって保有され得る。

30

【0082】

最も好ましい一態様によれば、本発明で用いられる組み換えベクターは、MUC1抗原の全部もしくは一部、および上に記載したサイトカインの少なくとも1、好ましくはインターロイキン、特にIL2をコードする。好ましくは、本発明で用いられる組み換えベクターは、MUC1抗原の全部もしくは一部、および上に記載したサイトカインの少なくとも1、好ましくはインターロイキン、特にIL2をコードするMVAである。

【0083】

上記の組み換えウイルスベクターを含んでなる感染性のウイルス粒子は、ルーチンの手順により産生することができる。典型的な手順は：

40

- a. ウイルスベクターを適切な細胞株へ導入する工程、
- b. 前記感染性ウイルス粒子の産生が可能になるように、前記細胞株を適切な条件下で培養する工程、
- c. 前記細胞株の培養から産生された感染性ウイルス粒子を回収する工程、および
- d. 任意に、前記の回収された感染性ウイルス粒子を精製する工程を含んでなる。

【0084】

アデノウイルスベクターの伝播に適した細胞は、例えば293細胞、PERC6細胞、HER96細胞、または国際公開第94/28152号、国際公開第97/00326号、米国特許第6,127,175号に開示される細胞である。

50

## 【 0 0 8 5 】

ボックスウイルスベクターの伝播に適した細胞は鳥類細胞であり、最も好ましくは、受精卵から得たニワトリ胚より調製された、初代ニワトリ胚線維芽細胞 (chicken embryo fibroblasts: C E F) である。

## 【 0 0 8 6 】

感染性ウイルス粒子は、培養上清、または溶解 (例えば、化学的手段、凍結 / 融解、浸透圧ショック、機械的ショック、超音波処理などによる) 後の細胞から回収され得る。ウイルス粒子は、プラーク精製の連続ラウンドから回収でき、次に当該分野の技術 (クロマトグラフィー法、塩化セシウムまたはショ糖勾配による超遠心分離法) を用いて精製される。

10

## 【 0 0 8 7 】

所望により、本発明によるヒト疾患の患者を治療するための方法または使用 (すなわち、少なくとも1つの抗原を含んでなる免疫原性組成物を投与すること) は、選択された患者において、1以上の従来の治療様式 (例えば、照射、化学療法、および / または外科手術) と併用して実行することができる。複数の治療アプローチによって、選択された患者に、より広範な介入が行われる。一態様によれば、本発明によるヒト疾患の患者を治療するための方法または使用は、外科的介入に先立つか、またはそれに続いてよい。別の態様によれば、これは放射線療法 (例えばガンマ線照射) に先立つか、またはそれに続いてよい。当業者は、使用できる適切な放射線療法のプロトコルおよびパラメーターを容易に考案できる (例えば、当業者に容易に明らかとなり得る適切な適応および改変を用いる、Pe rez and Brady, 1992, Principles and Practice of Radiation Oncology, 2nd Ed. JB Lippincott Coを参照)。さらに別の態様によれば、本発明の方法または使用は、1以上の薬物 (例えば、ウイルス感染、ウイルスに関連する病的状態、癌などの治療または予防のために慣習的に用いられる薬物) による化学療法に付随する。

20

## 【 0 0 8 8 】

従って本発明は、化学療法剤を用いた化学療法が行われている癌患者の治療を改善する方法に関し、該方法は、

- 低い I L 1 0 / I F N 比を有する患者で構成される患者集団から患者を選択し、
- 前記の選択された患者に、本発明による免疫原性組成物および化学療法剤を投与することを含んでなる。

30

## 【 0 0 8 9 】

従って本発明は、化学療法剤を用いた化学療法が行われている癌患者の治療を改善する方法に関し、該方法は、

- 患者由来の生体サンプル (例えば血液または血漿もしくは血清) 中の I L 1 0 および I F N 濃度を測定し、
- I L 1 0 / I F N 比を算出し、かつ
- 患者が本発明による低い I L 1 0 / I F N 比を有する場合、患者に免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

## 【 0 0 9 0 】

一態様によれば、前記化学療法剤の投与は免疫原性組成物の投与前に行われる。別の態様によれば、前記化学療法剤の投与は免疫原性組成物の投与後に行われる。別の態様によれば、前記化学療法剤の投与は免疫原性組成物の投与と同時に進行される。一態様によれば、化学療法剤はシスプラチンおよび / もしくはゲムシタビン、または類似物である。

40

## 【 0 0 9 1 】

本発明はさらに、低い I L 1 0 / I F N 比を有する患者で構成される患者集団から選択される患者を、本発明による免疫原性組成物によって同時に治療することを含んでなる、細胞傷害性薬物 (すなわち化学療法剤) または放射線療法による細胞傷害性の有効性を改善する方法に関する。

## 【 0 0 9 2 】

50

別の態様によれば、本発明の方法または免疫原性組成物の使用は、1以上のプライマー組成物および1以上のブースター組成物の連続投与を含んでなる、プライムブーストの治療様式により実行される。典型的には、プライミングおよびブースティング組成物には、少なくとも1つの共通する抗原性ドメインを含んでなるか、またはコードする、異なるエピトープが使用される。プライミング免疫原性組成物は宿主生命体へ最初に投与され、1日ないし12か月の期間後、ブースティング免疫原性組成物が同じ宿主生命体へ続いて投与される。本発明の方法は、1ないし10回のプライミング組成物の連続投与と、それに続く1ないし10回のブースティング組成物の連続投与を含んでなり得る。望ましくは、注射の間隔はおおよそ1週間ないし6か月である。さらに、プライミングおよびブースティング組成物は、同じ部位または別の部位に、同じ投与経路または異なる投与経路によって投与できる。

10

**【0093】**

特別な態様によれば、望まれる臨床的な利点はワクチンに対する実証可能な免疫応答に依存しない。

**【0094】**

特別な態様によれば、本発明は上記の方法に関し、ここで前記ヒト疾患は癌である。

**【0095】**

好ましい態様によれば、前記癌は、例えば乳癌、大腸癌、腎癌、直腸癌、肺癌、頭頸部癌、腎臓癌、悪性メラノーマ、咽頭癌、卵巣癌、子宮頸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、血液癌、胃癌、骨髄腫である。

20

**【0096】**

特別な態様によれば、本発明は上記の方法に関し、ここで前記ヒト疾患は感染症である。

**【0097】**

好ましい態様によれば、前記感染症は、例えばHIV、HCV、HBV、HPVなどにより誘導される疾患のようなウイルス誘導性疾患である。

**【0098】**

さらなる態様によれば、特定の患者集団であって、前記集団の患者が低いIL10/IFN比を有する患者集団において、ヒト疾患の患者を治療する薬剤の製造のために標的とされる抗原の全部または一部を含んでなる免疫原性組成物の使用が提供される。

30

**【0099】**

さらなる態様によれば、特定の患者集団であって、前記集団の患者が低いIL10/IFN比を有する患者集団において、ヒト疾患を治療する患者に免疫応答(すなわち引き起こされた免疫応答)を誘導する薬剤を製造するための免疫原性組成物の使用が提供される。

**【0100】**

別の態様によれば、特定の患者集団であって、前記集団の患者が低いIL10/IFN比を有する患者集団において、ヒト疾患を治療する患者に少なくとも1つの抗原に対する免疫応答(すなわち引き起こされた免疫応答)を誘導する薬剤を製造するための免疫原性組成物の使用が提供される。

40

**【0101】**

別の態様によれば、特定の患者集団であって、前記集団の患者が低いIL10/IFN比を有する患者集団において、ヒト疾患を治療する患者に標的抗原に対する免疫応答(すなわち引き起こされた免疫応答)を誘導する薬剤を製造するための免疫原性組成物の使用が提供される。

**【0102】**

別の態様によれば、特定の患者集団であって、前記集団の患者が低いIL10/IFN比を有する患者集団において、ヒト疾患を治療する患者に免疫応答(すなわち引き起こされた免疫応答)を誘導する薬剤を製造するための免疫原性組成物の使用が提供され、ここで前記の引き起こされた免疫応答は自然免疫応答である。

50

## 【0103】

特別な一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、腫瘍特異的もしくは関連抗原、および/またはウイルス性抗原へ向けられる。一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、異なる抗原へ向けられる。特別な一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、MUC1抗原の全部または一部へ向けられる。別の特別な一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、T細胞免疫応答、好ましくはCD8+（細胞傷害性Tリンパ球）免疫応答である。別の特別な一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、非特異的免疫応答、またはワクチン製剤中に含まれない疾病関連抗原に対する免疫応答、または現在の技術で測定できない疾病関連抗原に対する免疫応答である。別の特別な一態様によれば、前記患者集団における前記の「引き起こされた免疫応答」は、自然免疫応答の刺激である。

10

## 【0104】

動物またはヒト生命体への投与によって免疫応答を誘導または刺激する能力は、*in vitro*または*in vivo*のいずれかにおいて、当該技術分野において標準である様々なアッセイを用いて評価することができる。免疫応答の開始および活性化を評価するために利用できる技術についての一般的な記述は、例えば Coligan et al. (1992 and 1994, Current Protocols in Immunology ; ed J Wiley & Sons Inc, National Institute of Health)を参照されたい。細胞性免疫の測定は、CD4+およびCD8+ T細胞由来の細胞を含む、活性化エフェクター細胞により分泌されるサイトカインプロファイルの測定（例えば、ELISPOTによるIL-10またはIFNガンマ産生細胞の定量化）により、免疫エフェクター細胞の活性化状態の判定（例えば、古典的な<sup>3</sup>Hチミジン取り込みによるT細胞増殖アッセイ）により、感作された患者における抗原特異的T細胞のアッセイ（例えば、細胞毒性アッセイにおけるペプチド特異的な溶解）により、または蛍光MHCおよび/もしくはペプチド多量体（例えば四量体）による抗原特異的T細胞の検出により行うことができる。液性応答を刺激する能力は、抗体結合および/または結合の競合により判定され得る（例えば、Harlow, 1989, Antibodies, Cold Spring Harbor Pressを参照）。本発明の方法はまた、抗原に対する免疫応答の誘導または増強を反映する抗腫瘍活性を判定するため、適切な腫瘍誘導剤（例えばMUC1を発現するマウス腫瘍細胞）を投与された動物モデルにおいて、さらに検証することもできる。

20

30

## 【0105】

従って本発明はさらに、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患、例えば癌を治療される患者の生存率を延長するための方法に関し、該方法は、

- 低いIL10 / IFN 比を有する患者で構成される患者集団から患者を選択し、
- 前記の選択された患者に、前記免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

## 【0106】

本発明はさらに、免疫原性組成物の投与によってヒト疾患、例えば癌を治療される患者の生存率を延長するための方法に関し、該方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN 濃度を測定し、
- IL10 / IFN 比を算出し、かつ
- 患者が低いIL10 / IFN 比を有する場合、患者に免疫原性組成物を投与することを含んでなる。

40

## 【0107】

本発明はさらに、免疫原性組成物および化学療法剤（上記参照）の投与によってヒト疾患、例えば癌を治療される患者の生存率を延長するための方法に関し、該方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN 濃度を測定し、
- IL10 / IFN 比を算出し、かつ
- 患者が低いIL10 / IFN 比を有する場合、患者に免疫原性組成物および化学療法剤を投与することを含んでなる。

## 【0108】

50

別の態様によれば、本発明は、免疫原性組成物の投与によって、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのIL10/IFN比の使用に関する。

【0109】

さらに詳細には、本発明は、免疫原性組成物の投与によって、患者が予防または治療上の免疫応答を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのIL10/IFN比の使用に関し、ここで低いIL10/IFN比は、患者が予防または治療上の応答、好ましくは免疫応答を発現しやすいと予測されることを示す。

【0110】

言い換えれば本発明は、免疫原性組成物の投与後に、患者がより長く生存しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのIL10/IFN比の使用に関し、ここで低いIL10/IFN比は、患者が、より高いIL10/IFN比を有する治療された患者に比較して、より高い生存率を有すると予測されることを示す。

10

【0111】

言い換えれば本発明は、免疫原性組成物の投与後に、患者がより長く生存しやすいか否かを予測するためのex-vivoの方法に関し、該試験方法は、患者由来の生体サンプル（例えば血液または血漿もしくは血清）中のIL10およびIFN濃度を測定する工程、IL10/IFN比を算出する工程を含んでなり、ここで低いIL10/IFN比は、患者がより高い生存率を有し得ることを示す。

【0112】

従って本発明はさらに、化学療法剤を用いた化学療法が行われている患者が、免疫原性組成物の投与後に予防または治療上の免疫応答（例えばより長い生存のための）を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのIL10/IFN比の使用に関する。

20

【0113】

従って本発明はさらに、化学療法剤を用いた化学療法が行われている患者が、免疫原性組成物の投与後に予防または治療上の免疫応答（例えばより長い生存のための）を発現しやすいか否かを予測するためのバイオマーカーとしてのIL10/IFN比の使用に関し、ここで低いIL10/IFN比は、患者が予防または治療上の免疫応答を発現しやすいと予測されることを示す。

30

【0114】

従って本発明は、化学療法剤を用いた化学療法が行われている癌患者の治療を改善する方法に関し、該方法は、

- 患者におけるIL10およびIFN濃度を測定し、
- IL10/IFN比を算出し、かつ
- 患者が本発明による低いIL10/IFN比を有する場合、患者に免疫原性組成物および化学療法剤を投与することを含んでなる。

【0115】

本発明はまた、本明細書に記載される方法を実施するためのパーツを含むキット（すなわちコンパニオンテスト）も提供し、これは本明細書に示される実施例から明らかになるであろう。パーツのキット（1または複数）は、IL10およびIFNの回収、および/またはIL10およびIFNの血清濃度を測定するための試薬を含んでよい。このような試薬は抗体を含んでよい。キットは、生体サンプルの回収および/またはプロセッシングのための機器をさらに含んでよい。キットはまた、使用のための説明書、カットオフ値（上記参照）および/またはそれらの判定のための説明書、ならびにキットの使用により得られたデータの解釈のための説明書も含むと考えられる。

40

【0116】

特別な一態様によれば、上記パーツのキット、またはキットは、上に開示した、および/または以下の実施例部分に開示する免疫原性組成物をさらに含んでよい。

【0117】

50

本発明はさらに、治験、IL10およびIFNの濃度、ならびにIL10およびIFN比をモニターするため、これらの比が閾値レベルよりも上であるか下であるかを判定するため、および/または免疫療法に対する患者の応答を改善する治療を推奨するためのコンピュータプログラムおよび/またはアルゴリズムを提供する。コンピュータプログラムおよびアルゴリズムは、必要なハードウェア、例えばキットまたは装置の形と共に提供されてよく、これは生体サンプルもまた受け入れてよく、それらに存在するIL10およびIFNの相対濃度を測定し、かつIL10およびIFNの比を算出する。上記のコンピュータプログラムおよび/または装置は、医師または臨床検査室へ、適切な説明書および抗体を含む試薬と共に提供されると考えられる。

#### 【0118】

免疫原性組成物による免疫療法に対する患者の応答を改善する治療へ改変を推奨するためのアルゴリズムの生成における、IL10およびIFN濃度の使用。

#### 【0119】

本発明は例示的な様式にて記載されており、使用されている専門用語は、限定としての性質よりも、記述のための語としての性質を意図していることが理解されなければならない。明らかに、本発明の多くの改変および変動は、上記の教示に鑑みて可能である。従って、添付の請求項の範囲内で、本発明は、本明細書の詳細な記載とは異なる方法において実施されてよいことが理解されなければならない。

#### 【0120】

上に引用された特許、出版物、およびデータベースエントリーの開示の全ては、あたかもこれら個々の特許、出版物、およびデータベースエントリーが、参照により取り込まれることを詳細かつ個別に示していたかのように、それらの全体が同じ範囲で、参照により本明細書に詳細に取り込まれる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0121】

【図1】肺癌におけるワクチン免疫療法を表す生存曲線：治療前に、血漿における比がIL10/IFN  $\leq$  または  $> 3.7$  である患者を示した図である。 - 群1：血漿IL-10/IFNの比が低い患者におけるワクチン（すなわち免疫原性組成物）+化学療法。低血漿IL-10/IFN比は $\leq 3.7$ と定義する。40患者。生存期間中央値 = 21.2か月。-----群2：血漿IL-10/IFNの比が高い患者におけるワクチン+化学療法。高血漿IL-10/IFN比は $> 3.7$ と定義する。21患者。生存期間中央値 = 5.6か月。ログランクにより有意差あり：p = 0.007 コンプリート + センサード

【図2】肺癌における化学療法を表す生存曲線：治療前に、血漿における比がIL10/IFN  $\leq$  または  $> 3.7$  である患者を示した図である。 - 群1：血漿IL-10/IFNの比が低い患者における化学療法。低血漿IL-10/IFN比は $\leq 3.7$ と定義する。57患者。生存期間中央値 = 10.8か月。-----群2：血漿IL-10/IFNの比が高い患者における化学療法。高血漿IL-10/IFN比は $> 3.7$ と定義する。11患者。生存期間中央値 = 8.4か月。ログランクにより有意差なし：p = 0.92 コンプリート + センサード

#### 【0122】

治療前のIL10/IFNgの比が $\leq 3.7$ である患者の中でも、TG4010+化学療法により治療された患者（生存期間中央値 = 21.2か月）は、化学療法のみで治療された患者（生存期間中央値 = 10.8か月）よりも有意に長く生存した（ログランク試験により、p = 0.03）。血漿IL-10/IFN比に依存しない患者間の生存期間中央値に有意な違いはみられなかった：TG4010および化学療法により治療された患者では10.7か月；化学療法のみにより治療された患者では10.3か月。

#### 【0123】

#### 実施例1

免疫原性組成物である、著名なワクチンTG4010を、非小細胞肺癌（non-small ce

10

20

30

40

50

II lung cancer : N S C L C ) 患者の治療のために、標準的な化学療法と組み合わせて用いた。

【 0 1 2 4 】

T G 4 0 1 0 は、I L 2 および腫瘍関連抗原 M U C 1 の両方を発現する、組み換え改変ウイルスアンカラ (Modified Virus Ankara : M V A ) である (Rochlitz et al., 2003, J. Gene Med., 5, 690-699を参照)。

【 0 1 2 5 】

任意抽出された 1 4 8 人の患者が :

- 化学療法 (シスプラチン  $75 \text{ mg} / \text{m}^2$  を 1 日目、ゲムシタピン  $1250 \text{ mg} / \text{m}^2$  を 1 日目および 8 日目、3 週間おきに 6 サイクルまで) を単独 (研究治療群 2)、または
  - T G 4 0 1 0 による化学療法との併用 (研究治療群 1)
- を受けた。

10

【 0 1 2 6 】

腫瘍を 6 週間おきに評価した (W H O 基準)。エンドポイントは、6 か月目の無進行生存 (progression-free survival : P F S)、および I T T (intent to treat) 解析による全生存であった。

【 0 1 2 7 】

1 日目 (最初の治療日) の治療前に血液サンプルを採取し、これを直ちに中央免疫検査室へ輸送して血漿を分離し、分析まで凍結保存した。

【 0 1 2 8 】

中央検査室にて、Luminexマルチアナライトプロファイリングシステムを用いて血漿サンプルのサイトカインについて評価した。

20

【 0 1 2 9 】

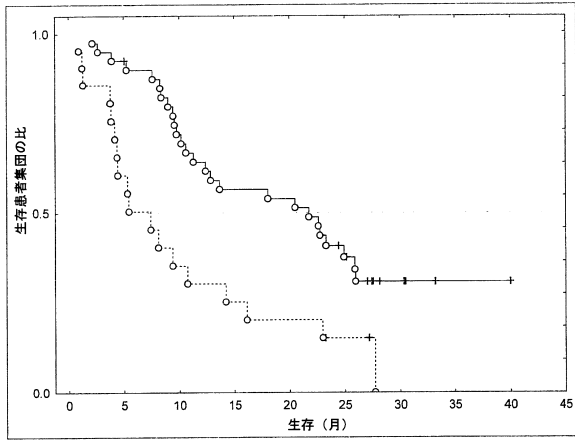
図 1 は、治療前に血漿濃度の比が  $I L 1 0 / I F N \leq 3.7$  であった患者 (生存期間中央値 = 21.2 か月) は、治療前に血漿濃度の比が  $I L 1 0 / I F N > 3.7$  であった患者 (生存期間中央値 5.6 か月) よりも長く生存することを示す [治療群 1 (T G 4 0 1 0 + 化学療法)]。

【 0 1 3 0 】

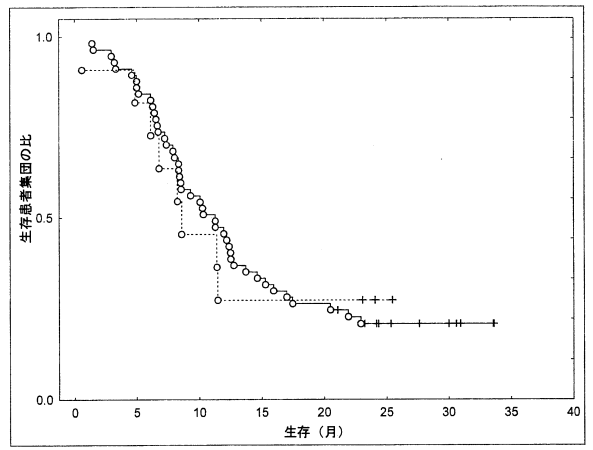
図 2 により、T G 4 0 1 0 による治療前の血漿濃度の比がインターロイキン 1 0 / インターフェロンガンマ < または > 3.7 である患者は同等の生存予想を有することが示されることから、図 2 のデータは、治療前の血漿濃度の比がインターロイキン 1 0 / インターフェロンガンマ < 3.7 であることに基づいて患者を選択することの効果は、ワクチンを投与される患者に限定されることを実証する。

30

【図 1】



【図 2】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00

(74)代理人 100126099

弁理士 反町 洋

(72)発明者 ブルース、エーカース  
フランス国ストラスブール、リュ、ジャン、エルマン、10

(72)発明者 ブノウ、グレリエ  
フランス国ストラスブール、リュ、デ、ロゼ、24

審査官 赤坂 祐樹

(56)参考文献 がん再発予防を期待する患者の免疫力改善におけるシイタケ菌糸体の有効性を確認，ニュー  
スリリース，2009年 4月30日，URL，[http://www.kobayashi.co.jp/corporate/news/2009/090430\\_01/index.html](http://www.kobayashi.co.jp/corporate/news/2009/090430_01/index.html)

Ariaki Nagayama et al, The ratio of IFN-gamma/IL-10 productions is a useful prognostic  
indicator and it was improved by mushroom extract in patients with malignant diseases  
, 100th AACR Annual Meeting, 2009年 4月

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 3 3 / 5 3 - 3 3 / 5 7 4

专利名称(译)	用于选择患者的生物标志物和相关方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP5650212B2</a>	公开(公告)日	2015-01-07
申请号	JP2012518967	申请日	2010-07-06
[标]申请(专利权)人(译)	特朗斯吉有限公司		
申请(专利权)人(译)	陈德良基因, 兴业, ANONYME		
当前申请(专利权)人(译)	陈德良基因, 兴业, ANONYME		
[标]发明人	ブルースエーカーズ ブノワグレリエ		
发明人	ブルース、エーカーズ ブノワ、グレリエ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/574 A61K31/7088 A61K48/00 A61K35/76 A61P35/00		
CPC分类号	A61P35/00 G01N33/6866 G01N33/6869 G01N2333/5428 G01N2333/57 G01N2800/52 A61K38/1738 A61K39/0011 A61K39/285 C12N2710/24111 G01N33/574 A61K39/00117		
FI分类号	G01N33/53.P G01N33/574.A A61K31/7088 A61K48/00 A61K35/76 A61P35/00		
代理人(译)	中村KoTakashi 反町隆史博		
优先权	2009305672 2009-07-10 EP		
其他公开文献	JP2012533052A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明涉及生物标志物及其用于确定受试者在这种治疗后是否易于发展预防性或治疗性免疫应答的用途。

【图1】

