

(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2010-512762

(P2010-512762A)

(43) 公表日 平成22年4月30日(2010.4.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 S	
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574 D	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願2009-541805 (P2009-541805)	(71) 出願人	506261523 ヨハネス グーテンベルク ユニベルジテ ート マインツ
(86) (22) 出願日	平成19年11月28日 (2007.11.28)		
(85) 翻訳文提出日	平成21年6月26日 (2009.6.26)		
(86) 国際出願番号	PCT/EP2007/010329		ドイツ, 5 5 1 2 2 マインツ, ザールシ ェトラーセ 2 1
(87) 国際公開番号	W02008/080468	(74) 代理人	100088904 弁理士 庄司 隆
(87) 国際公開日	平成20年7月10日 (2008.7.10)		
(31) 優先権主張番号	102006060824.0	(74) 代理人	100124453 弁理士 資延 由利子
(32) 優先日	平成18年12月21日 (2006.12.21)		
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)	(74) 代理人	100135208 弁理士 大杉 卓也
		(74) 代理人	100152319 弁理士 曾我 亜紀
		(74) 代理人	100163544 弁理士 平田 縁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 患者の個別化治療的ワクチン接種の主成分となる、腫瘍患者の腫瘍関連抗原 (TAA) に対する個々のT細胞反応パターンの検出

(57) 【要約】

本発明は以下の工程を含む腫瘍患者の抗腫瘍T細胞の選択的標的抗原を同定する方法に関する：a) 少なくとも1人の腫瘍患者の血液由来のT細胞を準備する工程、b) 前記腫瘍患者にとって自己由来であり、かつT細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) を発現する、樹状細胞 (DC) および/またはBリンパ球 (BLC) を準備する工程であって、前記DCおよびBLCがT細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) をコードする複数のmRNAの中から選択したものであらかじめトランスフェクトされた工程、c) 前記T細胞を前記DCおよび/またはBLCと接触させる工程、d) DCおよび/またはBLCの抗原を認識するそれらのT細胞を同定する工程、およびe) DCおよび/またはBLCの抗原を認識するT細胞に基づいて、少なくとも1人の腫瘍患者の抗腫瘍T細胞の優先的標的抗原を同定する工程。該方法はさらにDCおよび/またはBLCの抗原を認識するT細胞を増殖させる工程も含み得る。さらに本発明は個別の腫瘍ワクチンまたは個別の腫瘍治療用物質の生成法、ならびにその個別の腫瘍ワクチンまたは個別の腫瘍治療用物質を用いる腫瘍性疾患治療のための対応する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍患者の抗腫瘍 T 細胞の選択的標的抗原を同定する方法であって：

- a) 少なくとも 1 人の腫瘍患者の血液由来の腫瘍細胞系とのインビトロでの接触により刺激を受けない T 細胞を準備する工程、
 - b) 前記腫瘍患者にとって自己由来であり、かつ T 細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) を発現する、樹状細胞 (DC) および / または B リンパ球 (BLC) を準備する工程であって、前記 DC および BLC が T 細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) をコードする複数の mRNA の中から選択したものであらかじめトランスフェクトされた工程、
 - c) 前記 T 細胞を該 DC および / または BLC に接触させる工程、および
 - d) トランスフェクトした DC および / または BLC において、T 細胞によって認識された TAA を同定する工程
- を含む方法。

10

【請求項 2】

該 DC および / または BLC の抗原を認識する該 T 細胞の増殖をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

該 DC および / または BLC の抗原を認識する該 T 細胞に基づいて、少なくとも 1 人の腫瘍患者の抗腫瘍 T 細胞の選択的標的抗原を同定する工程をさらに含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

該 TAA に対する該 T 細胞の反応性についての対照アッセイをさらに含む、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

認識された TAA が提示されるための再連結 HLA 対立遺伝子を判定する工程をさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

該 T 細胞を前記腫瘍患者の末梢血液から単離する、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

該 mRNA がいくつかのカテゴリーの抗原、分化抗原、C / G 抗原、突然変異抗原および過剰発現抗原から選択される、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 8】

該抗原がチロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質 2 (TRP 2)、gp100、MAGE、GAGE、BAGE および melan NMART I などのメラニン細胞特異性タンパク質または C / G タンパク質から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

該突然変異抗原が融合タンパク質から選択される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 10】

腫瘍患者の個々の抗原発現パターンが同定される、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 11】

特定の腫瘍に罹患している腫瘍患者群の該抗原発現パターンが同定される、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

検出された該腫瘍が悪性メラノーマである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

構造的に正常な (「共通の」) TAA を発現する腫瘍患者群の抗原発現パターンが同定される、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

50

請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法、および判定された前記腫瘍患者の該抗原発現パターンに基づいて腫瘍を同定する工程、を含む患者の腫瘍の同定法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は以下の工程を含む腫瘍患者の抗腫瘍 T 細胞の選択的標的抗原を同定する方法に関する： a) 少なくとも 1 人の腫瘍患者の血液由来の腫瘍細胞系とのインビトロでの接触により刺激を受けない T 細胞を準備する工程、 b) 前記腫瘍患者にとって自己由来であり、かつ T 細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) を発現する、樹状細胞 (DC) および / または B リンパ球 (BLC) を準備する工程であって、前記 DC および BLC が T 細胞免疫原性腫瘍関連抗原 (TAA) をコードする複数の mRNA の中から選択したものであらかじめトランスフェクトされた工程、 c) 前記 T 細胞を前記 DC および / または BLC に接触させる工程、および d) トランスフェクトした DC および / または BLC において、T 細胞に認識された TAA を同定する工程。該方法はさらに DC および / または BLC の抗原を認識する T 細胞を増殖させる工程も含み得る。さらに本発明は個別の腫瘍ワクチンまたは個別の腫瘍治療用物質の生成法、ならびにその個別の腫瘍ワクチンまたは個別の腫瘍治療用物質を用いる腫瘍性疾患治療のための対応する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

癌細胞は多数の腫瘍関連抗原 (TAA) を発現する。腫瘍反応性細胞毒性 T リンパ球 (CTL) により TAA 由来オリゴペプチドが認識されると腫瘍細胞が破壊されることがヒトのインビトロモデルで判明した。細胞質が分解されたタンパク質に由来し、細胞表面上の主要な組織適合性複合体 (HLA クラス I および II) の分子によって提示される、オリゴペプチドを CTL は認識する。

20

【0003】

1 つの特定アプローチは具体的な活性的免疫療法に代表され、該療法は腫瘍細胞上の TAA に対する患者の免疫系を感作し、長期免疫を誘導するものである。従って、免疫療法の文脈上、ワクチンはそれぞれの TAA を有する患者に適用する。これまで癌免疫療法のアプローチは、腫瘍組織に通常発現し、ここから集団に最も高頻度で発生するそれらの HLA 対立遺伝子によりペプチドが提示される分化抗原および癌 / 生殖細胞系抗原 (C/G 抗原) のカテゴリーから 2、3 種の TAA を使用することに限られていた。そのため研究対象の患者らがワクチン接種抗原に対する免疫応答を通常起こし得るか否かは分析しなかった (Rosenberg ら、Nat. Med. 10: 909, 2004)。TAA 由来候補ペプチドに対する反応性についての末梢血リンパ球の発展試験により、肺癌患者および消化管腫瘍患者の TAA 由来ペプチドでワクチン接種を個別化することが日本の研究グループにより試みられた。反応性が示されたペプチドのみワクチン接種に使用した (Mine ら、Cancer Sci. 94: 548, 2003; Sato ら、Cancer Sci. 94: 802, 2003)。TAA 由来候補ペプチドの選択は HLA A2 および HLA A24 結合ペプチドに限定されていた。実際、これらはアジア人集団において最も高頻度で発生する HLA 対立遺伝子であるが、それゆえに HLA A2 および HLA A24 陽性患者にしか利用できない。別の HLA 対立遺伝子によって提示される同一の TAA 由来のペプチドに対する T 細胞応答は該方法では包含され得ない。さらに、該方法は候補ペプチドで患者の末梢 T 細胞を刺激することに基づいていた。一方、それらの方法は明らかにペプチド特異性 T 細胞を増殖させるが、該 T 細胞は腫瘍細胞を認識しないことが多いと示唆する研究もある。このことは、腫瘍細胞が TAA 由来ペプチドを処理および提示しないという事実、あるいは T 細胞が、刺激に使用される高ペプチド濃度のみ反応し、腫瘍細胞に自然に提示される非常に低濃度のペプチドには反応しないという事実のいずれかに基づいている。

30

40

【0004】

他のグループは、遺伝子の全体的な発現の差異、および腎摘出術後の腎癌患者における MHC クラス I ペプチドの提示の差異に関して、正常腎組織を腫瘍組織と比較した。「遺

50

伝子プロファイリング」分析により、腫瘍特異的に発現した、または過剰発現した遺伝子が同定された。生化学的に精製されたHLAペプチドの質量分析により、腫瘍特異性タンパク質または過剰発現タンパク質の天然HLAリガンドが単離された(Weinschenkら、Cancer Res. 62: 5818, 2002)。腫瘍組織と正常組織の天然HLAペプチドリガンドの比較「遺伝子プロファイリング」および比較分析には両組織が大量に必要である。従ってこの方法は数種の腫瘍、および進行性腫瘍性疾患にのみ適している。上述の論文の著者らは、実際の総説において、彼らの方法の感受性は、最大4%の天然HLAリガンドを組織試料から同定できると推定している(Rammensee, Immunology and Cell Biology 84: 290, 2006)。また、この方法で同定されるペプチドのごくわずかしが、十分と思われる腫瘍特異性を実際に有しておらず、これらのペプチドがT細胞応答を誘発できるか否かは明らかではない。個々の特異的癌免疫療法のさらなる可能性は、患者自身の腫瘍細胞、または例えば熱ショックタンパク質/ペプチド複合体などの腫瘍細胞の生成物を用いて患者にワクチン接種することである(Srivastava, Curr. Opin Immunol. 18: 201, 2006)。腫瘍細胞は単独で、または樹状細胞と混合して注入可能である(O'Rourkeら、Cancer Immunol. Immunother. 52: 387, 2003)。さらに、遺伝子療法により適用するに先だって腫瘍細胞の免疫原性をより高め得る可能性が存在する。腫瘍細胞を単独で、または混合体で、またはTAAペプチドをそれぞれ結合させた樹状細胞もしくは腫瘍熱ショックタンパク質に融合させて免疫化を行うことはワクチン調製に大量の腫瘍物質を必要とする。臨床ルーチンでは、このことがこのような戦略の制限要因になっていることが多い。それらが即時に数種のTAAを発現することが癌の多くのタイプで示された。例えば、40%の乳房腫瘍、65%の悪性メラノーマおよび37~57%の肺腫瘍において、数種のC/G抗原の同時発現が存在し得る(Simpsonら、Nat. Rev. Cancer 5: 615, 2005)。悪性メラノーマの場合、90%を超える腫瘍が分化抗原を付加的に発現する(Boonら、Ann. Rev. Immunol. 24: 175, 2006)。従って一般的に、癌患者における腫瘍-宿主相互作用の個々の性質を考慮しているワクチン接種研究はわずかしがない。

10

20

【0005】

DE 10 2005 041 616には、CD8陽性細胞毒性Tリンパ球(CTL)によりペプチド抗原として認識され、腫瘍細胞のCTL誘導溶解および/またはアポトーシスを引き起こす特定のメラノーマ関連オリゴペプチドが記述されている。さらに、本発明は癌治療におけるこれらのメラノーマ関連オリゴペプチドの使用に関連する。

30

【0006】

DE 10 2005 013 846には、腫瘍に関連して発現した抗原およびこれらをコードする核酸を同定および提供するための戦略が記述されている。この戦略は、細胞表面に接触できる、潜在的癌特異性抗原に関する観点でのヒトタンパク質の分析および核酸データベースに基づいている。データマイニングにより、初めに、できる限り完全に既知の遺伝子すべてのリストを作成し、遺伝子からmRNA、mRNAからタンパク質といった基本原理に従って1つ以上の膜貫通ドメインの有無について試験する。この後、ホモロジー検索をし、検索でヒットしたものを組織特異的群(とりわけ腫瘍組織)に分類し、mRNAの実在について調べる。最後に、このように同定されたタンパク質を、例えば発現分析およびタンパク質化学法により腫瘍中の異常な活性化について評価する。

40

【0007】

患者の免疫系の選択的標的抗原についての知識は、効果的な治療ワクチン接種に使用可能な患者に合わせて作成するTAAワクチンの生成をもたらし得る。従って本発明の目的は、個々の患者の末梢血からの腫瘍特異性T細胞応答およびその標的抗原を同定する方法を提供することである。この方法に基づいて、本発明の有利な実施態様もさらに提供する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】DE 10 2005 041 616

50

【特許文献2】DE 10 2005 013 846

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Rosenbergら、Nat. Med. 10: 909, 2004

【非特許文献2】Mineら、Cancer Sci. 94: 548, 2003

【非特許文献3】Satoら、Cancer Sci. 94: 802, 2003

【非特許文献4】Weinschenkら、Cancer Res. 62: 5818, 2002

【非特許文献5】Rammensee, Immunology and Cell Biology 84: 290, 2006

【非特許文献6】Srivastava, Curr. Opin Immunol. 18: 201, 2006

【非特許文献7】O'Rourkeら、Cancer Immunol. Immunother. 52: 387, 2003

【非特許文献8】Simpsonら、Nat. Rev. Cancer 5: 615, 2005

【非特許文献9】Boonら、Ann. Rev. Immunol. 24: 175, 2006

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明の第1の態様では、T細胞免疫原性である腫瘍患者のそれらのTAAを同定する方法により本課題は解決され、前記方法には、a)少なくとも1人の腫瘍患者の血液由来T細胞を準備する工程、b)腫瘍患者にとって自己由来であり、かつT細胞免疫原性腫瘍関連抗原(TAA)を発現する、樹状細胞(DC)および/またはBリンパ球(BLC)を準備する工程であって、該DCおよびBLCがT細胞免疫原性腫瘍関連抗原(TAA)をコードする複数のmRNAの中から選択したものであらかじめトランスフェクトされた工程、c)T細胞をDCおよび/またはBLCと接触させる工程、d)DCおよび/またはBLCの抗原を認識するそれらのT細胞を同定する工程、およびe)DCおよび/またはBLCの抗原を認識するそれらのT細胞に基づいて、少なくとも1人の腫瘍患者の抗原発現様式を同定する工程が含まれる。

【0011】

MitchellおよびNair (MitchellおよびNair, RNA-transfected dendritic cells in cancer immunotherapy. J Clin Invest. 2000 Nov;106(9):1065-9)ならびにNairら (Induction of tumour-specific cytotoxic T lymphocytes in cancer patients by autologous tumour RNA-transfected dendritic cells. Ann Surg. 2002 Apr;235(4):540-9.)は腫瘍細胞の代用物として腫瘍(全体)mRNA(「腫瘍細胞の抗原性内容物をコードするmRNA」)でトランスフェクトした樹状細胞を使用する可能性についてふれている。ワクチン接種、生じたT細胞応答のモニタリング、および新たなTAAの同定にこれらの腫瘍細胞同等物を使用する。腫瘍患者のT細胞をエキソビボで刺激するため、RNAをトランスフェクトしたDCにより同一の抗原提示細胞(APC)を使用する場合を除いて、本発明には公開されたこの方法と共通するところはない。転移悪性腫瘍の患者が血液中に抗腫瘍T細胞応答を示すことは一連の患者モデルから公知である。これらのT細胞は大抵、腫瘍により発現されたTAAのうち非常に限られたサブセットしか認識せず、実際のペプチドエピトープおよびこれらのペプチドを認識するHLA対立遺伝子の観点では、認識は非常に個別特異的である。

【0012】

最先端技術の方法(上述のMitchellおよびNairに記述したものも含む)の多くが、腫瘍に特異的に発現し、その後癌免疫療法にとって潜在的標的として働く、遺伝子の同定にしている。それにもかかわらず、腫瘍抗原の発現はそれが免疫原性でもあるということの意味するものではない。発現に加えて、その免疫原性は、ペプチドが前記TAAタンパク質から処理され各々の患者の個々のHLA分子に結合し得るか否か、ならびに患者のT細胞受容体がHLAペプチド複合体を認識し得るか否かという事項に決定的に従属する。このことから当然に、少なくとも数十の(現在公知の)潜在的免疫原性TAAから、個々のTAA由来のほんの少数のペプチドのみしか実際に個々の患者のT細胞応答を誘起しないが、このことは不十分にしか予測できないということになる。この問題の解決策として、

10

20

30

40

50

本発明は本発明にしたがった刺激および試験アッセイを提供する。それは腫瘍細胞との相互作用を介して患者に生じ、活性化され得るそれらのT細胞応答を同定する。反応性はその後に行われるELISPOTアッセイで、抗原接触に対するサイトカイン放出により確認する。その後、続いて検出可能T細胞応答がワクチン接種により特異的に増幅され得る。

【0013】

このことによって、これまで行ってきたすべてのワクチン接種研究と比較して本質的差異が示される。これらワクチン接種研究は「所望の抗原」に対するそれぞれの応答の増幅および生成をターゲットにしたものであり、それぞれの腫瘍中で発現はその所望の抗原に対して実際に与えられたが、その所望の抗原がすべてワクチンを接種した患者に免疫原性であったか否かの証拠は無かった。上記の方法と対照的に、本発明にしたがった本方法は患者からの腫瘍細胞の生成には全く依存していない。

10

【0014】

本発明にしたがった方法がDCおよび/またはBLCの抗原を認識するT細胞の増殖をさらに含むことが好ましい。本発明にしたがった方法がTAAに対するT細胞の反応性についての対照アッセイをさらに含むことが、なお一層好ましい。それぞれの方法は当業者に公知であり、以下の実施例に例示的に記述されている(例えばIFN γ ELISPOTアッセイ)。本発明にしたがったなお一層好ましい方法は、認識されたものとしてTAAを提示する再連結HLA対立遺伝子の検出をさらに含む。好ましいHLA対立遺伝子はCw16; Cw6; Cw7; Cw2; Cw3; DP4; DR1; DR2; DR3; DR4; DR7; DR11; DR12; DR13; DR15; DR8; DR52; A1; A2; A3; A29; A24; A31; A34; B7; B13; B15; B35; B37; B51; B53; B57; B37; B18; B40; B44; B52; DQ6; DP4; DP1; DP10; およびA68から選択される。それぞれの方法は当業者に公知であり、以下の実施例に例示的に記述されている。本発明にしたがった方法には利点がある: 初期の方法と対照的に、本方法は、腫瘍特異性T細胞の増殖に初期に必要なとされた安定的な腫瘍細胞系の生成には依存していない。その代わり、T細胞免疫原性腫瘍関連抗原(TAA)をコードする複数のmRNAの中から選択したもの(「パネル」)であらかじめトランスフェクトしてある、好ましくは自己由来の樹状細胞(DC)またはBリンパ球(BLC)により、腫瘍患者の末梢血液由来細胞を刺激する。パネルはいくつかのカテゴリの複数の抗原、特に、分化および癌/生殖細胞系タイプの抗原を含む。本発明の文脈では、短期刺激プロトコールにおいて、腫瘍患者の末梢血液由来T細胞は35種以下の免疫原性TAAと個々に合わさって増殖した。それぞれの患者の樹状細胞またはB細胞を、抗原コードmRNAが付された抗原提示細胞として使用した。これらの刺激反応のレスポンスをこれらTAAの認識について試験し、それらのHLA制限要素を測定した。

20

30

【0015】

自己由来の腫瘍細胞の利便性に依存することなく、刺激および反応性アッセイにより抗腫瘍T細胞の標的抗原の個々のスペクトルを同定することが可能になる。これまでこれらの試験は少数の患者モデルでしか可能でなかった。それらのモデルでは、腫瘍反応性T細胞の刺激および増殖にその後使用されるそれぞれの腫瘍から安定増殖細胞系が確立され得る。このパネル由来のそれぞれの抗原を認識するT細胞を増殖することが好ましく、例えば本発明にしたがった付加的な方法に、および/または薬剤療法に使用可能である。予想どおり、T細胞の認識パターンはほとんど個々の患者に特異的であり; 個々の反応パターンは、個々の腫瘍の抗原発現パターン、個々のHLA表現型、およびそれぞれのHLAペプチド複合体に対する抗原特異的応答を生じさせるための個々のT細胞レパートリーの能力によって左右される。本明細書に記述されているその後の反応アッセイにおいては、刺激抗原に対するT細胞の反応性が確認可能であり、認識されたものとしてTAAペプチドを提示する再連結HLA対立遺伝子が検出できた。

40

【0016】

50

本発明にしたがった方法のさらなる態様では、T細胞は腫瘍患者の末梢血液から単離する。しかしT細胞の他の一般的な採取源もまた使用可能である。

【0017】

本発明にしたがった好ましい、方法では、DCまたはBLCにトランスフェクトしたmRNAはいくつかのカテゴリーの抗原、すなわち分化抗原、C/G抗原、突然変異抗原および過剰発現抗原から選択される。本発明者らは抗原型としてメッセンジャーRNA(mRNA)を選択した。mRNAは多種の細胞の一時的なトランスフェクションに適しており、完全長の抗原をコードし、よって可能性あるエピトープの全体を包含している。初期のいくつかの研究では、T細胞応答の検出に対するmRNAトランスフェクトDCの適合性が分析された(Brittenら、J Immunol Methods 287:125, 2004; Brittenら、Immunol Methods 299:165, 2005)。計画した試験では、インビトロ転写(IVT)TAAコードmRNAを、それぞれの患者の末梢血液由来mDCにトランスフェクトする。その後RNAトランスフェクトDCは刺激細胞として、TAA反応性T細胞の増殖に役立つであろう。

10

【0018】

それらの発現パターンに基づいて、腫瘍関連抗原(TAA)はいくつかのカテゴリーに分類できる(これに関しては<http://www.cancerimmunity.org/peptidedatabase/Tcell epitopes.htm>も参照)：

a) 分化抗原は、それらが生成される組織タイプの腫瘍および細胞にのみ発現する。例えば、悪性メラノーマ(MM)の分化抗原はチロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質2(TRP2)、gp100およびmelanA/MART1などのメラニン細胞特異性タンパク質である。

20

b) 配偶子およびトロホプラスト細胞とは別に、「癌/生殖細胞系」抗原(C/G抗原、「共通して腫瘍特異的」)は他の分化組織のいずれにも発現しない。悪性形質転換に起因する後成的変化は癌細胞にC/G抗原の異常な発現を招く。ほとんどの腫瘍細胞はいくつかのC/G抗原を同時に発現し、それらの発現は腫瘍進行の過程で維持される。また、C/G抗原はいくつかの組織構造の多数の腫瘍で発現する。

c) 「ミスセンス」点突然変異のある抗原、および遺伝子断片の腫瘍特異的転座を経て生成される融合タンパク質は突然変異した抗原のカテゴリーに分類される。ごく少数の例外は別として、現在まで公知である点突然変異抗原は、それらが発見された個々の腫瘍に特異的である。対照的に、例えば(慢性骨髄性白血病の)BCR/ABLなどの悪性腫瘍特異性融合タンパク質は血液癌性疾患に通常存在する。

30

d) TAAの第4のカテゴリーとして、過剰発現抗原は腫瘍に存在し得る。これらは分化正常組織の細胞中で厳密に調整されて発現するタンパク質を含む。なぜなら、これらの多くが増殖、細胞周期、アポトーシス等の機能を自身で調整するからである。

【0019】

チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質2(TRP2)、gp100およびmelanA/MART1などのメラニン細胞特異性タンパク質、またはMAGE、GAGE、BAGEなどのC/G抗原から分化抗原が選択される本発明にしたがった方法が好ましい(これに関しては、図1も参照)。融合タンパク質、例えばBCR/ABLおよび他の公知の癌関連融合物から突然変異抗原が選択される本発明にしたがった方法がさらに好ましい。本発明にしたがった方法のさらなる態様では、上記の方法に基づいて、腫瘍患者のT細胞による個別のTAA認識パターンが同定される。本発明に従って、この個々の抗原発現パターンは、患者に特異的な(「個別の」)腫瘍ワクチンの生成に不可欠な主成分として働く。そのようなワクチンは、特定の腫瘍に罹患している腫瘍患者群から本発明に従って同定される抗原発現パターンに対しても生成可能である。従って、ある患者群では腫瘍の特定のタイプが選択的に治療可能となる。例えば、腎臓、乳房、膵臓、胃、精巣、前立腺、結腸および/または皮膚癌の腫瘍が好適な群とされる。

40

【0020】

本発明のさらなる態様では、提示されたT細胞刺激アッセイにより、多人数の患者群において自己由来の抗腫瘍T細胞によって認識され得る構造的正常(「共通の」)抗原が検

50

出可能となる。従って、個々のHLA対立遺伝子全体を考慮し、確定したTAAの広範なスペクトルに対して試験を行う。これを介してのみ、これら抗原の十分な潜在力が活用される。患者の免疫系の選択的標的抗原についての知識によって、患者に対する治療的ワクチン接種に使用可能な、個々に合わせて作成するTAAワクチンの生成が可能になり得た。それゆえ、腫瘍が構造的に正常な(「共通の」)TAAを発現する腫瘍患者群の抗原発現パターンが同定される本発明にしたがった方法が特に好ましい。

【0021】

これらのTAAは用語「共通の抗原」によって分類し、その発現は組織の同じ起源の異なる腫瘍(例えばメラノーマ中の「分化抗原」)で、または異なる組織構造の腫瘍で検出された。「過剰発現抗原」およびいわゆる「癌/生殖細胞系抗原」(後者は「共通腫瘍特異的」としても指定されている)は全く異なる腫瘍に発現するTAAに属す。上述したように、用語「共通の」は異なる腫瘍に共通している抗原の発現にのみ関連し、それらの免疫原性には関連していない。異なるメラノーマ患者において、それらの腫瘍が4つのカテゴリー(癌/生殖細胞系抗原、分化抗原、過剰発現抗原および突然変異抗原)すべての多数の抗原を発現することが検出された。しかし、これらのうちのほんの一部、しかも全く異なるTAAだけがそれぞれの患者でT細胞免疫原性であった。また、T細胞応答の特異性(どのTAA由来ペプチドがどのHLA分子によって提示され、認識されるか)はそれぞれの患者に非常に特異的であった。従って、目的とする試験では、「共通の」抗原すべては潜在的に免疫原性であることから、対象となる。

【0022】

本発明の意味合いにおいて特に好ましい「共通の」抗原は(括弧内に位置を示す)、BAGE 1; GAGE 1, 2, 8; GAGE 3, 4, 5, 6, 7; GnTV(イントロン); HERV K MEL; KK LC 1; KM HN 1; LAGE 1; MAGE A1; MAGE A2; MAGE A3; MAGE A4; MAGE A6; MAGE A9; MAGE A10; MAGE A12; MAGE C2; ムチン; NA 88; NY ESO 1/LAGE 2; SAGE; Sp17; SSX 2、SSX 4; およびTRP2 INT2(イントロン2)である。

【0023】

本発明のさらなる態様では、それは上述した方法を含む患者の腫瘍を初めに同定する方法、および規定した腫瘍患者の抗原発現パターンに基づいて腫瘍を同定する方法に関する。本発明のさらなる態様では、それは上述した方法を含む個別の腫瘍ワクチンを生成する方法、および同定したTAA(単数)/TAA(複数)を腫瘍ワクチン中に処方する方法に関する。本発明の別のさらなる態様では、それは上述した方法を含む個別の腫瘍治療用物質を生成する方法、および増殖させて同定した自己由来のDCおよび/またはBLCを腫瘍治療用物質中に処方する方法に関する。原則として、免疫原性腫瘍抗原の選択から、特定の患者に免疫原性である抗原を選択的に取り除く。これらの抗原はその後それぞれの患者の治療的免疫化のための多エピトープワクチンに使用可能であることが好ましい。これらの抗原を用いた治療的ワクチン接種によって、個々のケースで免疫応答が仮にも可能であるか否かが明確ではない抗原を用いたワクチン接種よりも著しく良好な臨床成績が保証される。アッセイには腫瘍細胞は必要ないことから、そのアッセイはパネル抗原またはその一部を発現する腫瘍の患者すべてに広く利用可能である。腫瘍細胞に依存しなければ、腫瘍が臨床的にないが、腫瘍性疾患再発のリスクは高い患者にもそのアッセイが使用可能となる。特にこれらの患者は治療的ワクチン接種の理想的な対象と考えられる。

【0024】

従って、治療すべき腫瘍性疾患には、例えば腎臓、乳、膵臓、胃、精巣および/または皮膚癌が含まれる。従って腫瘍性疾患の列挙は例示にすぎず、使用範囲を限定するわけではない。特定のペプチドに特異的である特別に生成されたT細胞は効果的かつ選択的に腫瘍細胞を死滅させ得ることは最先端技術では公知である。概して、いくつかの適用形態では腫瘍ワクチンに腫瘍関連抗原が使用可能である。このようにしてTigheら(Gene vaccination: plasmid DNA is more than just a blueprint, Immunol. Today 19(2):89-97, 19

10

20

30

40

50

98) は、それぞれ好適なアジュバントもしくは担体系と結びついた組み換えタンパク質として、あるいはプラスミドベクター中で抗原をコードする cDNA として抗原は投与可能であることを報告した。これらの場合、抗原は必ず患者の体内の抗原提示細胞 (APC) により処理され、提示され、それにより免疫応答を誘発する。Meliefら (Peptide-based cancer vaccines, Curr. Opin. Immunol. 8:651-657, 1996) はさらなる可能性、すなわち合成ペプチドをワクチンとして使用することを示した。また、(多エピトープ) ワクチンとして T 細胞により認識された TAA RNA (単数または複数) の投与も可能である。RNA は直接的に、またはトランスフェクトした DC の形態で使用可能である。

【0025】

従って、好ましい実施態様では、TAA RNA または TAA ペプチドはアジュバントを添加して使用可能であるか、または単独でも使用可能である。アジュバントとして、例えば顆粒球 マクロファージ コロニー刺激因子 (GM-CSF) が使用可能である。さらにこのようなアジュバントの例には水酸化アルミニウム、例えばフロイントアジュバントなどの鉱油のエマルジョン、サポニンまたはシリコン化合物が含まれる。アジュバントと共に使用することにより、誘発された免疫応答が増幅可能になり、および/またはワクチンが安定化するという利点をもたらされる。

10

【0026】

その付加的な態様における本発明は、同定された 1 種以上の TAA RNA または TAA ペプチドを含む医薬組成物にさらに関する。この組成物は、例えば非経口投与に、または例えば皮下、皮内もしくは筋肉内投与に、または経口投与に役立つ。従って、医薬的に許容でき、好ましくは水性である担体中に RNA またはペプチドを溶解または懸濁する。また、該組成物は例えばバッファー、結合剤、希釈剤等の賦形剤を含有することが可能である。

20

【0027】

RNA またはペプチドはまた、例えばサイトカインなどの免疫刺激物質と共に投与が可能である。例えば A. Kibbe, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第 3 版、2000, American Pharmaceutical Association and pharmaceutical press ではこのような組成物中に使用可能な助剤を包括的に示している。

【0028】

従って該薬剤は腫瘍性疾患の防止、予防および/または治療に使用可能である。

30

【0029】

従って、ペプチド (単数) またはペプチド (複数) または RNA (単数または複数) はそれぞれ医薬組成物中に治療有効量で存在する。よって該組成物に含まれた RNA によってコードされたペプチド (単数) またはペプチド (複数) は少なくとも 2 種の異なるタイプの HLA に結合することもできる。

【0030】

個別の単一のワクチンまたは治療用物質である腫瘍ワクチンまたは腫瘍治療用物質が多エピトープワクチンまたは治療用物質である本発明にしたがった方法が特に好ましい。従って腫瘍ワクチンまたは腫瘍治療用物質は、患者中の腫瘍 (単数) または腫瘍 (複数) と効果的に闘うことができる患者または患者群に特異的に適応している TAA または T 細胞を含む。従って、腫瘍治療の個別化におけるすべての形態と同様に、個々のケースにおいて治療が成功する機会が増える。

40

【0031】

本発明のさらなる態様では、それは、上述した方法、および同定した抗原発現パターンに基づいた腫瘍性疾患の治療、を含む腫瘍性疾患の治療法に関する。最終的に、本発明は、上述した方法、および生成した腫瘍ワクチンまたは腫瘍治療用物質に基づいた腫瘍性疾患の治療、を含む腫瘍性疾患の治療法に関する。従って治療対象の腫瘍性疾患には、上述したように例えば腎臓、乳房、膵臓、胃、精巣および/または皮膚癌が含まれる。効果的な治療および投与経路に必要な有効量は患者特異的なパラメーターに基づいて担当医が容易に決定できる。

50

【図面の簡単な説明】

【0032】

本発明はこれから添付の実施例に基づいて以下にさらに説明するがそれらに限定されない。本明細書で引用された参考文献すべては、本発明の目的のため、全体が参照により援用される。以下に図を説明する：

【図1】患者モデルM Z 2で同定された腫瘍関連抗原の概略図。出典参考文献：M A G E A 1 : Traversari Cら、J Exp Med 1992; 176: 1453-7、van der Bruggen Pら、Eur J Immunol 1994a; 24: 2134-40 ; M A G E A 3 Gaugler Bら、J Exp Med 1994; 179 : 921-30 ; B A G E Boel Pら、Immunity 1995; 2: 167-75 ; G A G E 1, 2, 8 Van den Eynde Bら、J Exp Med 1995; 182: 689-98 ; G A G E 3, 4, 5, 6, 7 De B 10
acker Oら、Cancer Res 1999; 59: 3157-65 ; チロシナーゼ Brichard V Gら、Eur J Immu
nol 1996; 26: 224-230およびM A G E A 6 Vantomme Vら、Cancer Immun [serial
online] 2003; 3: 17

【図2】刺激アッセイの図式的概略図。

【図3】腫瘍細胞（図3）、非トランスフェクトDC（図3）およびT A A RNAトランスフェクトDC（図4、5）で刺激された、患者M Z 2のCD8 + T細胞の反応分析；腫瘍細胞で刺激されたT細胞はM A G E A 1 / H L A C w 1 6トランスフェクト体のみ認識した（図3、上図）；非トランスフェクトDCで刺激したT細胞はトランスフェクト体を何ら認識しなかった（図3、下図）；M A G E A 1をトランスフェクトしたDCで刺激したT細胞は反応アッセイ中、M A G E A 1 / H L A A 1トランスフェクト体 20
およびM A G E A 1 / H L A C w 1 6トランスフェクト体を認識した（図4、左上図）；B A G EをトランスフェクトしたDCで刺激したT細胞はB A G E / H L A B 4 4トランスフェクト体およびB A G E / H L A C w 1 6トランスフェクト体を認識した（図4、右上図）；G A G E 1をトランスフェクトしたDCで刺激したT細胞はG A G E 1 / H L A C w 6トランスフェクト体を認識した（図4、下図）；他の刺激T細胞は反応アッセイ中のT A A / H L Aトランスフェクト体を何ら認識しなかった（図5）。

【図4】同上

【図5】同上

【実施例】

【0033】

この数年、本発明者らは、メラノーマ患者のいくつかの腫瘍モデルにおいてT細胞で認識されたT A Aを発見し、その特徴を明らかにした。これについての前提条件は、各患者の安定増殖する腫瘍細胞系、および患者の末梢血液から単離したリンパ球であった。インビトロで自己由来の腫瘍細胞系でT細胞を刺激することにより、本発明者らは腫瘍反応性T細胞集団およびT細胞クローンを生成することができた。これらはT A Aの同定に使用した。このことにより、T A A / H L Aを組み合わせたものの個々のスペクトルが、試験した各患者の抗腫瘍T細胞により認識されることが分かった。あらゆるケースで、分化抗原、C / G抗原ならびに突然変異抗原の新たなペプチドエピトープが認識された。例外的なケースでのみ、文献からすでに公知のペプチド / H L A複合体が確認された。明らかに、腫瘍特異的T A A発現パターン、個々のH L Aタイプ、および所与の抗原を組み合わせたものに対して反応する高度に可変なT細胞レパートリーの能力を組み合わせると個々に特異的な反応パターンがもたらされる。現在、非常に少数の患者のみから得られた自己由来のT細胞をインビトロで刺激するための腫瘍細胞系を生成することが可能であることから、これらの腫瘍 宿主相互作用の固有性は個々の患者モデルで分析のみ可能である。しかし、刺激なしには患者血液由来の腫瘍反応性T細胞は現行の方法で検出ができない。何故なら末梢血液でのそれら頻度は非常に小さいためである。そのため本発明者らは、腫瘍患者の末梢血液由来T細胞をT A Aで刺激するための腫瘍細胞系の代用品を探し始めた。未成熟樹状細胞（iDC）はインビトロで末梢血液単球から生成し、成熟DC（mDC）に分化させることが可能である。mDCは効果的にT細胞を刺激し得る専門的抗原提示細胞である。8種（モデルM Z 2）および13種（D O 5 G S）のT細胞認識抗原が公知 40
50

である2つのメラノーマモデルにおいて、本発明者らは、それぞれの抗原および対照抗原 (D05 GS) で患者のmDCをトランスフェクトし、そのトランスフェクトDCで患者の末梢血液由来T細胞を刺激した。本発明者らは抗原型としてメッセンジャーRNA (mRNA) を選択した。mRNAは多種の細胞の一時的なトランスフェクションに適しており、抗原を完全長でコードしており、よって可能性あるエピトープ全体を含んでいる。初期のいくつかの研究では、mRNAトランスフェクトDCのT細胞応答検出への適合性を試験した (Brittenら、J Immunol Methods 287:125, 2004; Brittenら、J Immunol Methods 299:165, 2005)。計画したアッセイでは、インビトロで転写した (IVT) TAAをコードするmRNAはそれぞれの患者の末梢血液由来mDCにトランスフェクトするはずである。RNAトランスフェクトDCはTAA反応性T細胞の増殖に刺激細胞として働くことが好ましい。後者はIFN ELISPOTアッセイで確認すべきである。原則として刺激アッセイを利用し、抗原が部分的に発現することが公知のある種の腫瘍を有する各患者中のTAAに対するT細胞反応性を同定することが可能である。認識した抗原をその後使用し、例えば多エピトープワクチンの形態で患者に治療的免疫化を行うことができた。

10

【0034】

TAAをコードするmRNAを有する患者由来成熟樹状細胞の生成およびトランスフェクション：

「従来の」成熟DC (成熟DCはmDC) ならびにいわゆるfast DCの両方 (mfDC; 成熟短期培養DC) を使用し、RNAトランスフェクトDCでT細胞を刺激した。mDCをJonuleitら (Eur. J. Immunol. 1997; 27 (12): 3135-42) の方法に記載の患者のPBMCの単球、およびDauerら (J. Immunol. 2003; 170 (8): 4069-76) の方法に記載のmfDCから生成した。TAA RNAによるトランスフェクションでは、transmessenger RNA トランスフェクション試薬 (Qiagen, Hilden) を用いて、 2×10^5 個のDCを反応ごとに $0.8 \mu\text{g}$ のインビトロ転写RNAでトランスフェクトした。その後その細胞をインキュベーター中で3時間インキュベートした。

20

【0035】

トランスフェクトしたDCによる患者のT細胞の刺激：

インキュベーター中で3時間インキュベートした直後、トランスフェクトしたDCを使用し、事前に単離した患者のCD8⁺T細胞を刺激した。これにより24ウェル細胞培養プレートの培養単位 (CU) ごとに、 1×10^5 個のトランスフェクトDCおよび 2×10^5 個のCD8陰性細胞 (いわゆる「支持細胞」、100グレイで照射) により $1 \sim 1.5 \times 10^6$ 個のCD8⁺T細胞を刺激した。ヒト組み換えインターロイキン 2 (IL2; 25 IU/ml) をT細胞成長因子として添加した。10%のヒト血清 (健常ドナーのプール血清) を追加したAIM-V培地 (Invitrogen, Karlsruhe) を培地として使用した。対照実験では、自己由来のメラノーマ細胞 (1×10^5) ならびに非トランスフェクトDCでT細胞を刺激した。実験開始後7日目に、同じプロトコールに従ってT細胞を再度刺激し、その後の4~5日目にTAAの認識について分析した。

30

【0036】

刺激に使用したTAAに対するT細胞の反応性の判定：

実験の11日目または12日目にCD8⁺T細胞を、刺激TAAに対するそれらの反応性および認識におけるHLA制限について試験した。例えばDCに対する自己反応性T細胞の非特異的反応性を排除するため、反応アッセイ用の抗原提示細胞として293T細胞またはCOS7細胞を使用した。これらはTAAをコードするcDNAを含む真核細胞発現ベクターでトランスフェクトした。個々の反応中、各TAA cDNAは患者の各HLA対立遺伝子のcDNAで同時トランスフェクトし、24時間後、IFN ELISPOTアッセイでT細胞によるトランスフェクト体の認識を試験した。トランスフェクションのためLipofectamine 2000 (Invitrogen, Karlsruhe) を使用した。Lennerzら (PNAS 2005; 102 (44): 16013-16018) が報告したプロトコールに従ってアッセイを行った。提示した方法を2つの良好に特徴付けた患者モデルで試験した：

40

50

【 0 0 3 7 】

I : モデル M Z 2 M E L

初期に、8種のT細胞認識TAA/HLAを組み合わせたものをモデルM Z 2で同定した(図1): MAGE A1/HLA A1 (Traversari C.ら、J. Exp. Med. 1992; 176: 1453-7)、MAGE A3/HLA A1 (Gaugler B.ら、J. Exp. Med. 1994; 179: 921-30)、MAGE A1/HLA Cw16 (van der Bruggen P.ら、Eur. J. Immunol. 1994a; 24: 2134-4)、BAGE 1/HLA Cw16 (Boel P.ら、Immunity 1995; 2: 167-75)、GAGE 1, 2, 8/HLA Cw6 (Van den Eynde B.ら、J. Exp. Med. 1995; 182: 689-98)、チロシナーゼ/HLA B44 (Brichard V.G.ら、Eur. J. Immunol. 1996; 26: 224-230)、GAGE 3, 4, 5, 6, 7/HLA A29 (De Backer O.ら、Cancer Res. 1999; 59: 3157-65)、およびMAGE A6/HLA Cw16 (Vantomme V.ら、Cancer Immun. [serial online] 2003; 3: 17)。CD8⁺T細胞を患者のPBMCから単離し、上述の方法に従って各々8種のTAAでトランスフェクトしたDCで刺激した(図2)。次の反応アッセイでは、4/8 T細胞特異性が検出できた(図4~5)。また、未だ発見されていなかったある種のTAAが同定された: BAGE 1/HLAB44(図4)。非トランスフェクトDCならびに自己由来のメラノーマ細胞でもT細胞を同時に刺激した。しかし非トランスフェクトDCによる刺激ではTAA特異的T細胞応答は増幅せず、メラノーマ細胞による刺激ではRNA DCによる刺激と同一のTAAスペクトルが認識された。

10

【 0 0 3 8 】

I I : モデル D 0 5 G S

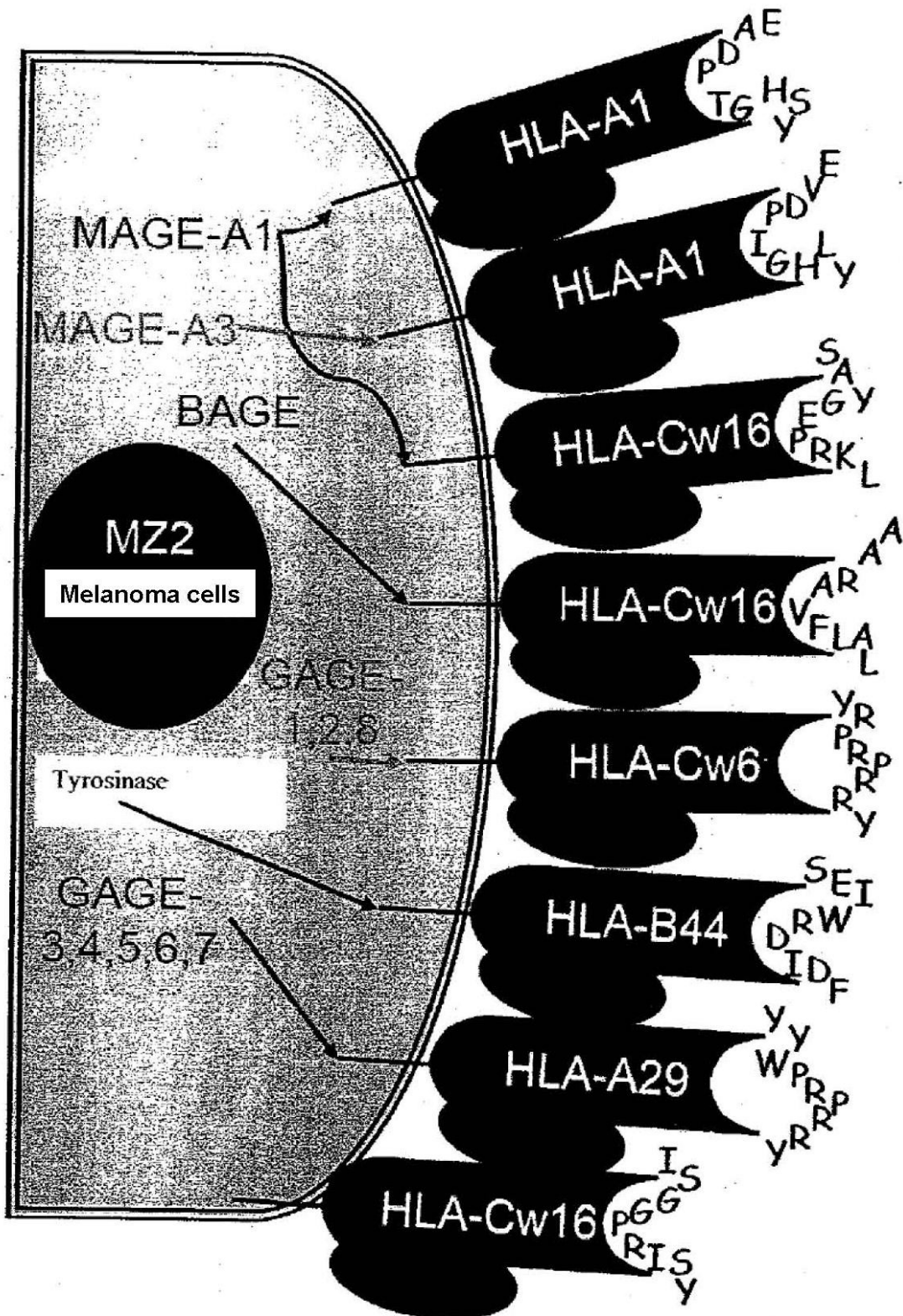
刺激アッセイ時、このモデルで16種のT細胞認識TAAが同定された。上述の方法から転用して、実験では、事前に単離したCD8⁺T細胞の代わりにPBMCを使用した。このこと以外では上述のプロトコールに従って実験を行った: 一定量のPBMC(1.2 × 10⁶/反応)を、各TAA RNAでトランスフェクトしたDC、ならびに非トランスフェクトDC、およびメラノーマ細胞で刺激した。7日目に再度刺激した後、12日目に反応アッセイにてT細胞を使用した。メラノーマ細胞で刺激したT細胞は16種の公知の抗原中、11種を認識した。非トランスフェクトDCで刺激したT細胞は抗原を全く認識しなかった。このことから非特異的TAA反応性は生じないことが分かる。TAA RNA刺激T細胞により4つの公知の反応性が再度認識された。また、ある種の特異性が新たに発見され(MAGE C2/HLA A2)、この特異性は、追加実験で分かるように、腫瘍クローンはMAGE C2を発現しないためメラノーマ刺激アプローチで使用された腫瘍細胞クローン(クローン6)による刺激で検出できた。しかし、クローン6が単離され、患者D05 GSにワクチン接種するために長年使用されたメラノーマ細胞系にMAGE C2は発現する。このことにより、患者の末梢血液のMAGE C2反応性T細胞の存在が明らかになり得る。これらT細胞がMAGE C2 RNAトランスフェクトDCによる刺激を経て検出され得るという事実により、刺激アッセイの効率および特異性が明確に示されている。

20

30

【 図 1 】

Figure 1



【 図 2 】

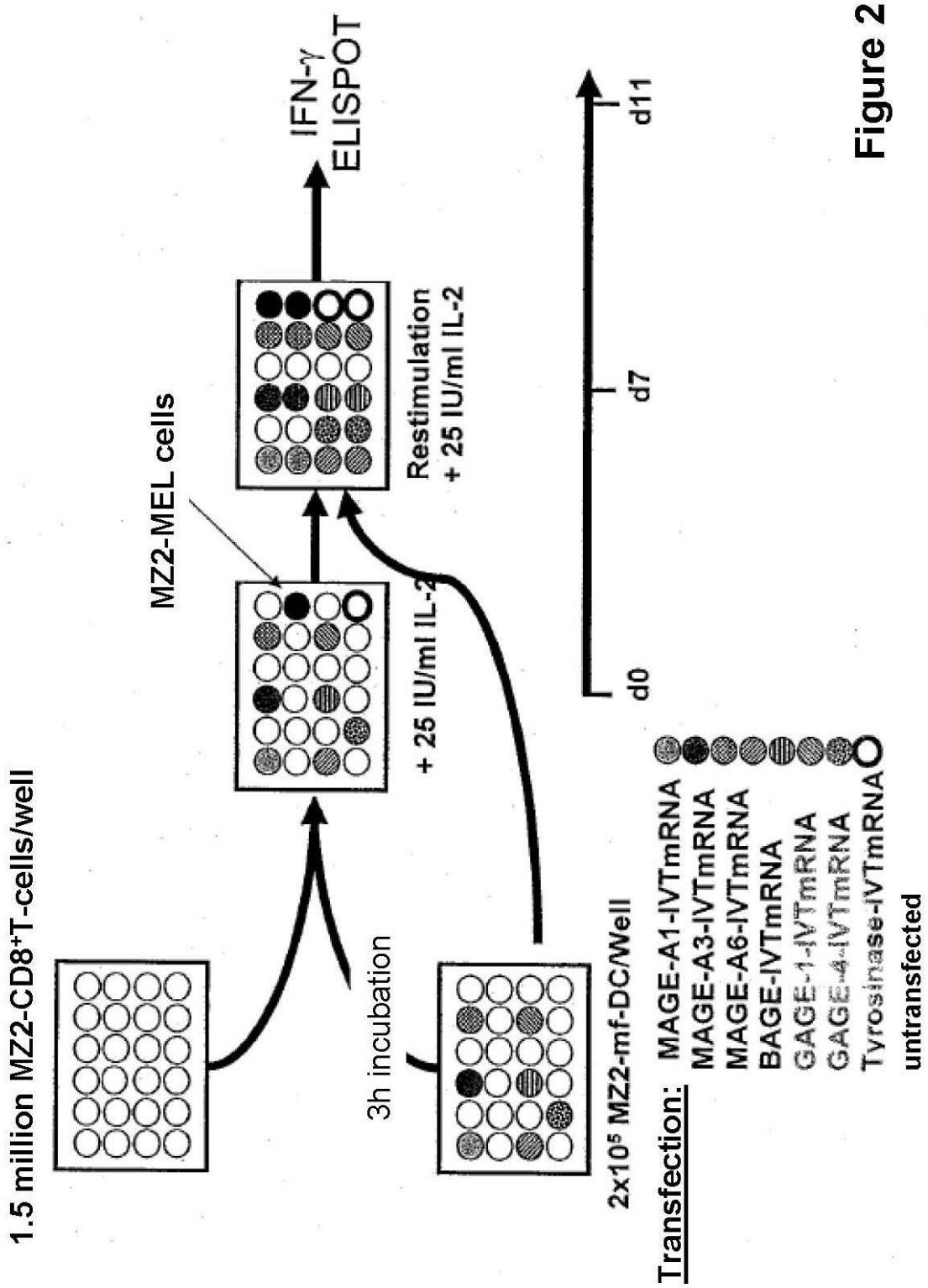


Figure 2

【 3 】

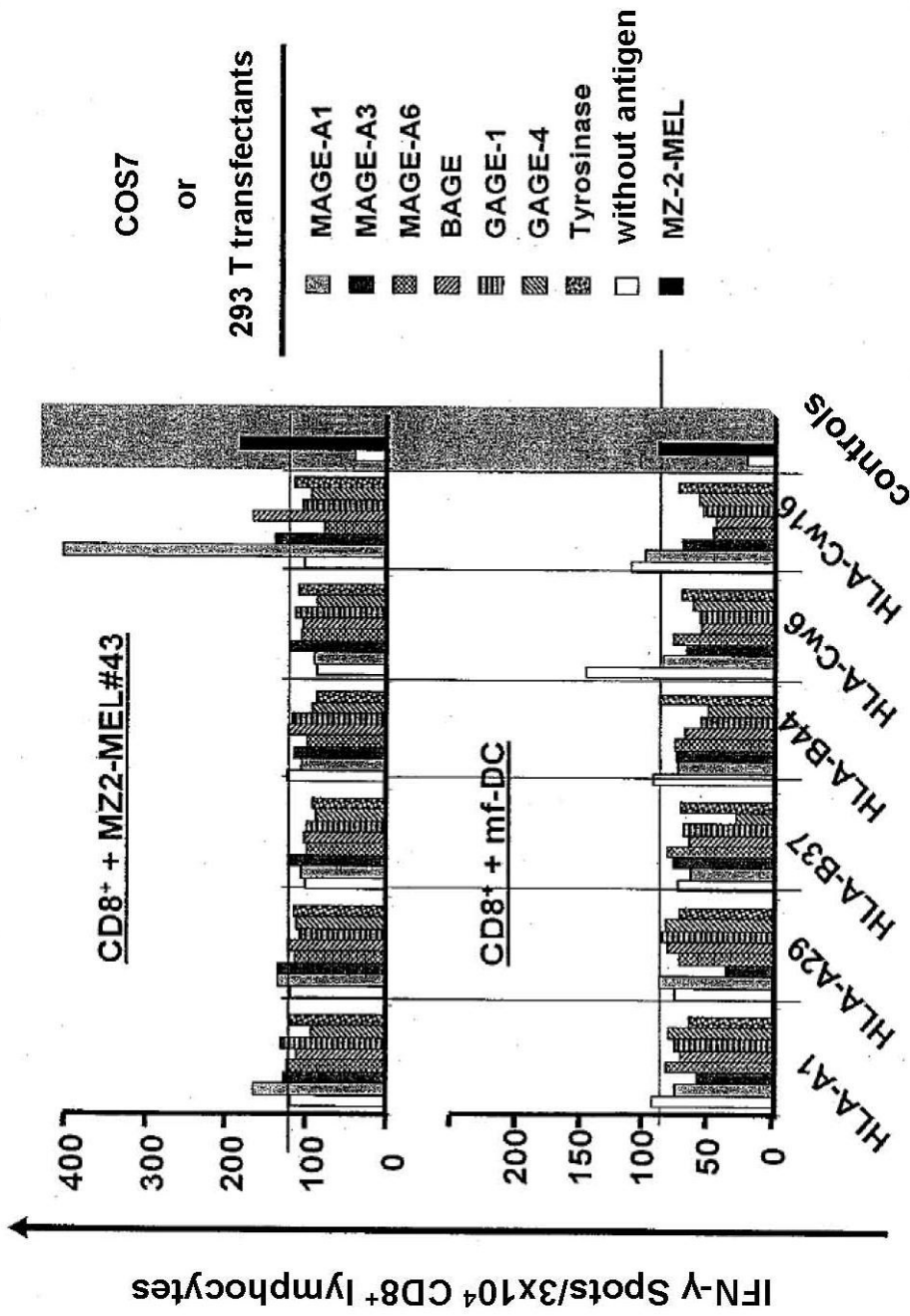


Figure 3

【 図 4 】

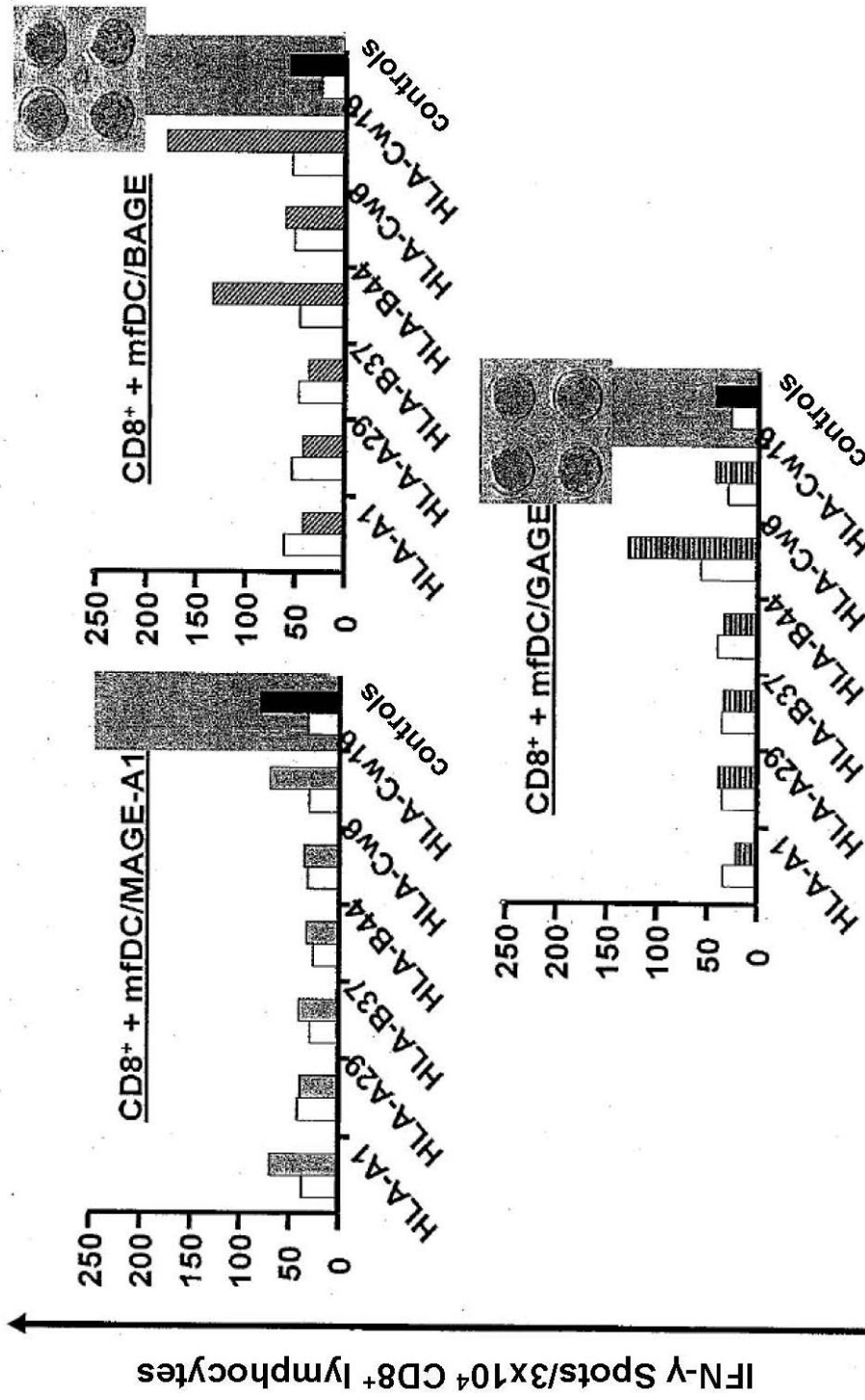


Figure 4

【 図 5 】

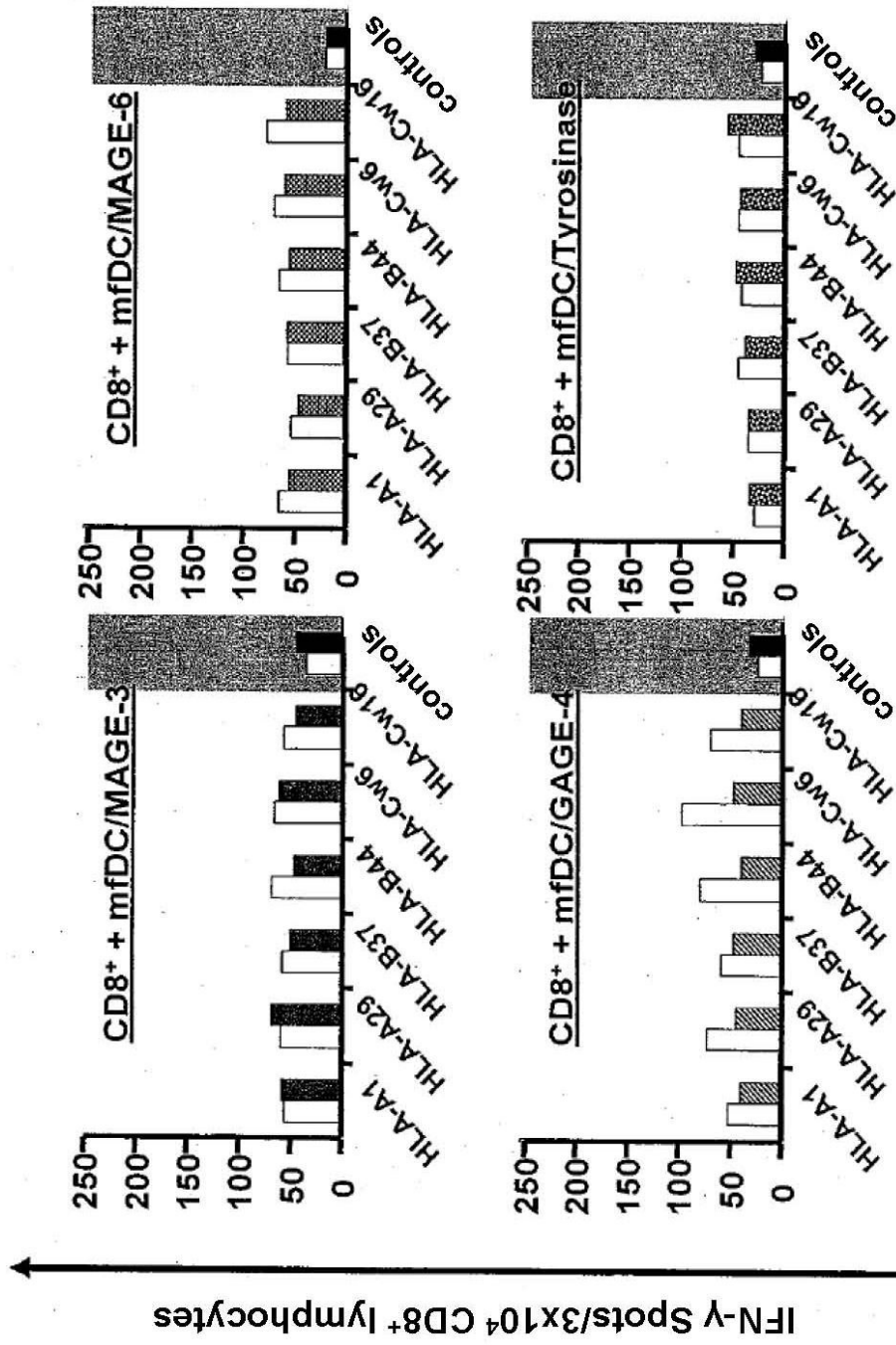


Figure 5

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/EP2007/010329
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/47 G01N33/50		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K G01N		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	DE 10 2005 041616 A1 (JOHANNES GUTENBERG UNI MAINZ [DE]) 8 March 2007 (2007-03-08) cited in the application paragraph [0016] paragraph [0039] - paragraph [0040] paragraph [0064] paragraph [0078] table 1	1-14

-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
1 Februar 2008		13/03/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bayer, Martin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/010329

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>NAIR SMITA K ET AL: "Induction of tumor-specific cytotoxic T lymphocytes in cancer patients by autologous tumor RNA-transfected dendritic cells." ANNALS OF SURGERY APR 2002, vol. 235, no. 4, April 2002 (2002-04), pages 540-549, XP002467170 ISSN: 0003-4932 cited in the application the whole document</p>	1-14
Y	<p>LENNERZ V ET AL: "The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 102, no. 44, 1 November 2005 (2005-11-01), pages 16013-16018, XP002408502 ISSN: 0027-8424 the whole document</p>	1-14
Y	<p>LIAO XINSHENG ET AL: "Transfection of RNA encoding tumor antigens following maturation of dendritic cells leads to prolonged presentation of antigen and the generation of high-affinity tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes" MOLECULAR THERAPY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA,, US, vol. 9, no. 5, May 2004 (2004-05), pages 757-764, XP008080544 ISSN: 1525-0016 the whole document</p>	1-14
Y	<p>WO 2005/028505 A (HADASIT MED RES SERVICE [IL]; YISSUM RES DEV CO [IL]; GAVISH GALILEE B) 31 March 2005 (2005-03-31) page 6 page 54 - page 55 example 2</p>	1-14
Y	<p>JAVOROVIC M ET AL: "RNA transfer by electroporation into mature dendritic cells leading to reactivation of effector-memory cytotoxic T lymphocytes: a quantitative analysis" MOLECULAR THERAPY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA,, US, vol. 12, no. 4, October 2005 (2005-10), pages 734-743, XP002353825 ISSN: 1525-0016 the whole document</p>	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/010329

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 102005041616 A1	08-03-2007	WO 2007025760 A2	08-03-2007
WO 2005028505 A	31-03-2005	EP 1678203 A2	12-07-2006
		US 2006246095 A1	02-11-2006

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

		Internationales Aktenzeichen PCT/EP2007/010329
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV: C07K14/47 G01N33/50		
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) C07K G01N		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM-ABS Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	DE 10 2005 041616 A1 (JOHANNES GUTENBERG UNI MAINZ [DE]) 8. März 2007 (2007-03-08) in der Anmeldung erwähnt Absatz [0016] Absatz [0039] - Absatz [0040] Absatz [0064] Absatz [0078] Tabelle 1 ----- -/-	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 1. Februar 2008		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 13/03/2008
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo.nl Fax. (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Bayer, Martin

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/010329

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>NAIR SMITA K ET AL: "Induction of tumor-specific cytotoxic T lymphocytes in cancer patients by autologous tumor RNA-transfected dendritic cells." ANNALS OF SURGERY APR 2002, Bd. 235, Nr. 4, April 2002 (2002-04), Seiten 540-549, XP002467170 ISSN: 0003-4932 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p>	1-14
Y	<p>LENNERZ V ET AL: "The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, Bd. 102, Nr. 44, 1. November 2005 (2005-11-01), Seiten 16013-16018, XP002408502 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument</p>	1-14
Y	<p>LIAO XINSHENG ET AL: "Transfection of RNA encoding tumor antigens following maturation of dendritic cells leads to prolonged presentation of antigen and the generation of high-affinity tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes" MOLECULAR THERAPY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA,, US, Bd. 9, Nr. 5, Mai 2004 (2004-05), Seiten 757-764, XP008080544 ISSN: 1525-0016 das ganze Dokument</p>	1-14
Y	<p>WO 2005/028505 A (HADASIT MED RES SERVICE [IL]; YISSUM RES DEV CO [IL]; GAVISH GALILEE B) 31. März 2005 (2005-03-31) Seite 6 Seite 54 - Seite 55 Beispiel 2</p>	1-14
Y	<p>JAVOROVIC M ET AL: "RNA transfer by electroporation into mature dendritic cells leading to reactivation of effector-memory cytotoxic T lymphocytes: a quantitative analysis" MOLECULAR THERAPY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA,, US, Bd. 12, Nr. 4, Oktober 2005 (2005-10), Seiten 734-743, XP002353825 ISSN: 1525-0016 das ganze Dokument</p>	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/010329

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102005041616 A1	08-03-2007	WO 2007025760 A2	08-03-2007
WO 2005028505 A	31-03-2005	EP 1678203 A2	12-07-2006
		US 2006246095 A1	02-11-2006

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ファトー, マルティナ
ドイツ, 5 5 2 8 6 ヴォルシュタット, カスターニエンリング 2 7アー

(72)発明者 ヴェサルグ, エマニュエル
ドイツ, 6 4 2 9 5 ダルムシュタット, ハンナ アレント ヴェグ 3 1

(72)発明者 レネルツ, ヴォルカー
ドイツ, 5 5 2 7 0 オバー オルム, アン デル シュヴァルツェン ヘック 1 5

(72)発明者 ヴァン デル プリュッヘン, ピエール
ベルギー, ベー 1 2 0 0 プリュッセル, アベニュー ヒポクラテ 7 4, ユーシーエル 7 4
5 9, ルートヴィヒ インスティテュート フォー キャンサー リサーチ プリュッセル

(72)発明者 ヴェルフエル, トマス
ドイツ, 5 5 1 2 8 マインツ, アルパヌスシュトラッセ 4 7

(72)発明者 デボ, セレナ
ドイツ, 5 5 1 2 9 マインツ, フェルドガルテンエステーエール. 1 8

Fターム(参考) 4B063 QA05 QA18 QQ08 QQ13 QQ79 QR08 QR32 QR48 QR56 QR62
QR69 QR77 QR80 QS24 QS25 QS34 QS36 QX02

专利名称(译)	检测肿瘤患者肿瘤相关抗原 (TAA) 的个体T细胞反应模式 , 这是患者个体化治疗性疫苗接种的主要成分		
公开(公告)号	JP2010512762A	公开(公告)日	2010-04-30
申请号	JP2009541805	申请日	2007-11-28
[标]申请(专利权)人(译)	古腾堡海胆Beruji大老美因茨		
申请(专利权)人(译)	古腾堡Uniberujiteto美因茨		
[标]发明人	ファトーマルティナ ヴェサルグエマニユエル レネルツヴォルカー ヴァンデルブリュッヘンピエール ヴェルフェルトマス デボセレナ		
发明人	ファトー,マルティナ ヴェサルグ,エマニユエル レネルツ,ヴォルカー ヴァン デル ブリュッヘン,ピエール ヴェルフェル,トマス デボ,セレナ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12Q1/02 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	C07K14/4748 G01N33/505 G01N2333/70539		
FI分类号	C12Q1/68.A C12Q1/02 G01N33/53.S G01N33/574.D		
F-TERM分类号	4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ79 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR69 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02		
代理人(译)	庄司隆 Shinobe百合子		
优先权	102006060824 2006-12-21 DE		
其他公开文献	JP5431952B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种方法，用于识别选择性靶抗原抗肿瘤T细胞在肿瘤患者，包括以下步骤：a) 提供至少一种肿瘤患者的血液衍生的T细胞，b) 将肿瘤患者用于制备自体的和是表达的T细胞的免疫原性的肿瘤相关抗原 (TAA) ，树突细胞 (DC) 和/或B淋巴细胞 (BLC) 到DC和BLC是一个过程其预先由mRNA编码的T细胞免疫原性的肿瘤相关抗原 (TAA) 中进行选择转染的多个步骤，c) 将所述T细胞与DC和/或BLC，d) 接触识别DC和/或它们的BLC T细胞识别的抗原，并基于E) DC和/或T细胞识别BLC的抗原，至少一种肿瘤患者的抗肿瘤T细胞鉴定优先靶抗原。该方法可以进一步包括培养识别DC和/或BLC抗原的T细胞的步骤。产生单个肿瘤疫苗或单独的肿瘤治疗剂的本发明进一步的方法，以及一种用于使用所述个体肿瘤疫苗或单独的肿瘤治疗剂的肿瘤疾病的相应方法。

