

(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2020-514413

(P2020-514413A)

(43) 公表日 令和2年5月21日(2020.5.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/82 (2006.01)	C07K 14/82	2G045
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 ZNAD	4C084
GO1N 33/68 (2006.01)	GO1N 33/68	4C085
GO1N 33/574 (2006.01)	GO1N 33/574 Z	4H045
A61K 38/08 (2019.01)	A61K 38/08	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 115 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-568814 (P2019-568814)	(71) 出願人 519316999 トレオス バイオ セットアールティー ハンガリー国、8200 ヴェスプレーム 、ヴィオラ ウツァ 2
(86) (22) 出願日 平成30年3月2日 (2018.3.2)	
(85) 翻訳文提出日 令和1年10月30日 (2019.10.30)	
(86) 国際出願番号 PCT/EP2018/055230	
(87) 国際公開番号 W02018/158455	(74) 代理人 100080791 弁理士 高島 一
(87) 国際公開日 平成30年9月7日 (2018.9.7)	
(31) 優先権主張番号 17159243.9	(74) 代理人 100136629 弁理士 鎌田 光宜
(32) 優先日 平成29年3月3日 (2017.3.3)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人 100125070 弁理士 土井 京子
(31) 優先権主張番号 17159242.1	(74) 代理人 100121212 弁理士 田村 弥栄子
(32) 優先日 平成29年3月3日 (2017.3.3)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人 100174296 弁理士 當麻 博文

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ペプチドワクチン

(57) 【要約】

本開示はポリペプチド、及び、がん、特に乳がん、卵巣がん、並びに結腸直腸がんの予防と治療において用途を見出すポリペプチドを含む医薬組成物に関連する。本開示は、そのペプチドを含む医薬組成物を投与することにより、被験者において細胞傷害性T細胞応答を誘導する又はがんを治療する方法、及び、治療のために被験者を同定するコンパニオン診断の方法にも関連する。そのペプチドは高いパーセンテージの患者において免疫原性であるT細胞エピトープを含む。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記(a)～(c)の最大50個の連続するアミノ酸の断片；

(a) TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、LEMD1、MAGE-A8、MAGE-A6、及びMAGE-A3から選択される結腸直腸がん関連抗原であって、該断片は配列番号21～40、及び234～250のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、結腸直腸がん関連抗原；

(b) PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TESS-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3から選択される卵巣がん関連抗原であって、該断片は配列番号272～301のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、卵巣がん関連抗原；及び/又は

(c) PIWIL-2、AKAP-4、EpCAM、BORIS、HIWI、SPAG9、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、RHOXF-2、PRAME、NY-SAR-35、MAGE-A9、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、HOM-TESS-85、及びNY-ESO-1から選択される乳がん関連抗原であって、該断片は配列番号1～20、24及び172～194のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、乳がん関連抗原；

を含むポリペプチドであって、

任意選択で、該断片は、乳がん、卵巣がん又は結腸直腸がん関連抗原の配列の一部ではない追加のアミノ酸がN末端及び/又はC末端に隣接している、ポリペプチド。

【請求項2】

前記ポリペプチドが、

a. TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、MAGE-A8、MAGE-A6、MAGE-A3、及びLEMD1から選択される結腸直腸がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号21～40、及び234～250のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、断片である；又は

b. TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、MAGE-A8、MAGE-A6、MAGE-A3、及びLEMD1から選択される1つ以上の結腸直腸がん関連抗原の2つ以上の断片を含むか、又は2つ以上の断片からなり、各断片は配列番号21～40、及び234～250のいずれか1つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている；又は

c. PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TESS-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3からなる群から選択される卵巣がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号272～301のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、断片である；又は

d. PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TESS-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3から選択される1つ以上の卵巣がん関連抗原の断片の2つ以上の断片を含むか、又は2つ以上の断片からなり、各断片は配列番号272～301のいずれか1つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている；又は

e. SPAG9、AKAP-4、BORIS、NY-SAR-35、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、PRAME、MAGE-A9、HOM-TESS-85、PIWIL-2、EpCAM、HIWI、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、RHOXF-2から選択される乳がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号1～20、24及び172～194のいずれか1つに由来するアミノ酸配列を含む、断片；又は

10

20

30

40

50

f . S P A G 9、A K A P - 4、B O R I S、N Y - S A R - 3 5、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、P R A M E、M A G E - A 9、H O M - T E S - 8、P I W I L - 2、E p C A M、H I W I、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、S P 1 7、R H O X F - 2 から選択される1つ以上の乳がん関連抗原の2つ以上の断片を含むか、又は2つ以上の断片からなり、各断片は配列番号1～20、24及び172～194のいずれか1つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている；

請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】

前記ポリペプチドが、少なくとも2つの異なるがん関連抗原の断片を含むか、又は少なくとも2つの異なるがん関連抗原の断片からなり、該がん関連抗原は、

(a) T S P 5 0、E p C A M、S P A G 9、C A G E 1、F B X O 3 9、S U R V I V I N、M A G E - A 8、M A G E - A 6、M A G E - A 3、及びL E M D 1；

(b) P I W I L - 4、W T 1、E p C A M、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、S P A G 9、P R A M E、H I W I、S U R V I V I N、及びA K A P - 3；及び/又は

(c) S P A G 9、A K A P - 4、B O R I S、N Y - S A R - 3 5、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、P R A M E、M A G E - A 9、H O M - T E S - 8、P I W I L - 2、E p C A M、H I W I、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、S P 1 7、及びR H O X F - 2；

から選択され、

各断片は、配列番号21～40及び234～250；配列番号272～301；及び/又は配列番号1～20、24、及び172～194から選択される異なるアミノ酸配列を含む、

請求項1又は請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項4】

配列番号41～80、251～271、302～331、及び196～233から選択される1つ以上のアミノ酸配列を含むか、又は1つ以上のアミノ酸配列からなる、請求項1～3のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項5】

配列番号81～142、332～346、及び435～449のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、又は1つ以上のアミノ酸配列からなる、請求項1～4のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項6】

(a) 各ポリペプチドが、配列番号21～40及び234～250から選択される異なるアミノ酸配列を含む；又は

(b) 各ポリペプチドが、配列番号272～301から選択される異なるアミノ酸配列を含む；又は

(c) 各ペプチドが、配列番号1～20、24、及び172～194から選択される異なるアミノ酸配列を含む；若しくは(c)各ペプチドが、配列番号1～40、234～250、272～301、及び172～194から選択される異なるアミノ酸配列を含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の2つ以上のポリペプチドのパネル。

【請求項7】

配列番号130、121、131、124、134、126のアミノ酸配列を有する6つのペプチドを含む、請求項6に記載のポリペプチドのパネル。

【請求項8】

請求項1～5のいずれか1項に記載の1つ以上のポリペプチド、又は請求項6若しくは7に記載のポリペプチドのパネル、又は配列番号21～40及び234～250；配列番号272～301；及び/又は配列番号1～20、24及び172～194から選択される少なくとも2つのアミノ酸配列を含むポリペプチドを有効成分として有する、医薬組成

10

20

30

40

50

物若しくはキット。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の医薬組成物を被験者に投与することを含む、被験者において免疫療法を提供する、又は細胞傷害性 T 細胞応答を誘導する、ワクチン接種の方法。

【請求項 10】

がん、任意選択で結腸直腸がん、卵巣がん、又は乳がん、を治療する方法である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

請求項 8 に記載の医薬組成物の投与に対して、細胞傷害性 T 細胞応答を示す可能性が高いであろうヒト被験者を同定する方法であって、

(i) 該医薬組成物の有効成分のポリペプチドが、該被験者の少なくとも 3 つの H L A クラス I 分子に結合することができる T 細胞エピトープである配列を含むことを決定する工程；及び

(i i) 該医薬組成物の投与に対して細胞傷害性 T 細胞応答を示す可能性が高いと該被験者を同定する工程、を含む、方法。

【請求項 12】

(a) T S P 5 0、E p C A M、S P A G 9、C A G E 1、F B X O 3 9、S U R V I V I N、L E M D 1、M A G E - A 8、M A G E - A 6、M A G E - A 3、P I W I L - 4、W T 1、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、P R A M E、H I W I、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、R H O X F - 2、N Y - S A R - 3 5、M A G E - A 9、N Y - B R - 1、M A G E - A 1 1、H O M - T E S - 8 5、N Y - E S O - 1、及び A K A P - 3 から選択される；及び

(b) i . 医薬組成物の有効成分のペプチドの断片である、及び

i i . 被験者の少なくとも 3 つの H L A クラス I 分子に結合することができる T 細胞エピトープである、

アミノ酸配列を含む、

各抗原についての集団発現データを用いて、該被験者のがん細胞により発現される 1 つ以上のポリペプチド抗原を標的とする細胞傷害性 T 細胞応答を該被験者が示すであろう可能性を決める工程をさらに含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 10 に記載の治療方法に対する臨床応答を示す可能性が高いであろう被験者を同定する方法であって、

(i) 該医薬組成物の有効成分のポリペプチドが、それぞれ

a . 該被験者の少なくとも 3 つの H L A クラス I 分子に結合することができる T 細胞エピトープ；及び

b . 該被験者のがん細胞により発現されるがん関連抗原の断片であって、任意選択で該がん関連抗原が該被験者から得られた試料中に存在する、断片

である、2 つ以上の異なるアミノ酸配列を含むことを決定する工程；及び

(i i) 該治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いと該被験者を同定する工程、を含む、方法。

【請求項 14】

請求項 10 に記載の治療方法に対する特定のヒト被験者が臨床応答を示すであろう可能性を決める方法であって、

1 つ以上の下記の因子；

(a) 有効成分のポリペプチド中での、それぞれが該被験者の少なくとも 3 つの H L A クラス I に結合することができる T 細胞エピトープである、より多数のアミノ酸配列、及び/又は異なるアミノ酸配列の存在；

(b) A . 有効成分のポリペプチドに含まれる；及び、

10

20

30

40

50

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープ、

の両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含む、より多数の標的ポリペプチド抗原であって、任意選択で、該標的ポリペプチド抗原は該被験者で発現され、さらに任意選択で、該標的ポリペプチド抗原は該被験者から得られた1つ以上の試料中に存在する、標的ポリペプチド抗原、

(c) 該被験者が標的ポリペプチド抗原を発現するより高い確率であって、任意選択で該標的ポリペプチド抗原の閾値の数であり、及び/又は任意選択で、

A．有効成分のポリペプチドに含まれる；及び、

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、

この両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含むと決定された標的ポリペプチド抗原である、確率；及び/又は、

(d) 被験者が発現すると予測されるより多数の標的ポリペプチド抗原であって、任意選択で該被験者が閾値確率で発現するより多数の標的ポリペプチド抗原、及び/又は任意選択で、

A．有効成分のポリペプチドに含まれる；及び

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、

この両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含むと決定された、より多数の標的ポリペプチド抗原；

が、臨床応答のより高い可能性に対応する、方法。

【請求項15】

(i) 有効成分のポリペプチドによって標的化されるどのポリペプチド抗原が、

A．有効成分のポリペプチドに含まれる；及び

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、

この両方であるアミノ酸配列を含むかを同定する工程；及び

(ii) 工程(i)において同定された各抗原についての集団発現データを用いて、該被験者が、工程(i)の少なくとも2つの異なるアミノ酸配列を共に含む、工程(i)で同定された1つ以上の抗原を発現する確率を決定する工程；及び

(iii) 該被験者が、該医薬組成物、キット又はポリペプチドのパネルの投与に対して臨床応答を示すであろう可能性を決定する工程であって、工程(ii)で決定されたより高い確率が、臨床応答の可能性がより高いことに対応する、工程を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

少なくとも2つの異なるアミノ酸配列が、有効成分のポリペプチドにより標的化される2つの異なるポリペプチド抗原のアミノ酸配列中に含まれる、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

被験者の治療方法として医薬組成物の投与を選択又は推奨することをさらに含み、任意選択で該医薬組成物を投与することにより該被験者を治療することをさらに含み、請求項13～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

被験者が、請求項13～16のいずれか1項に記載の方法による治療に対して臨床応答を示す可能性が高い、又は臨床応答を示す上記の最小の可能性の閾値を有すると同定された、請求項10に記載の治療方法。

【請求項19】

該治療が、化学療法、標的治療、又はチェックポイント阻害剤と組み合わせられて施される、請求項9、10、17、及び18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項20】

10

20

30

40

50

請求項10に記載の治療方法に対して臨床応答を示さないであろう可能性が高いヒト被験者を同定する方法であって、

(i) 該医薬組成物の有効成分のペプチドが、それぞれが該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである2つ以上の異なるアミノ酸配列を含まないことを決定する工程；及び

(ii) 該治療方法に対して臨床応答を示さない可能性が高いと該被験者を同定する工程、

を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

分野

本開示はがん、特にとりわけ乳がん、卵巣がん、及び結腸直腸がんの予防又は治療において用途を見出すポリペプチドとワクチンに関連する。

【背景技術】

【0002】

背景

既存の薬物では効果的な予防又は治療ができないため、世界的中で数百万人の人々ががんで亡くなっている。既存の免疫応答を再活性化する現在のチェックポイント阻害剤の免疫療法は、一部のがん患者に臨床的利益をもたらすことができる。新たな免疫応答を誘導する現在のがんワクチンは免疫原性が乏しく、ほとんどの患者に利益をもたらさない。

【0003】

広範囲に及ぶ個体間の腫瘍ゲノムの不均一のため、63,220のユニークな腫瘍の最近の解析によって、がんワクチンは各患者に特異的に作製する必要があることが明らかとなった(Hartmaier et al. Genome Medicine 2017 9:16)。最新技術を使用して、HLA特異的ながんワクチンを大規模な集団に拡大することは現在実現不可能である。

【発明の概要】

【0004】

抗原提示細胞(APC)において、タンパク質抗原は処理されてペプチドになる。これらのペプチドは、ヒト白血球抗原分子(HLA)に結合し、T細胞に対するペプチド-HLA複合体として細胞表面に提示される。異なる個体は異なるHLA分子を発現し、異なるHLA分子は異なるペプチドを提示する。よって本技術分野の先端技術によると、ペプチド、又はより大きなポリペプチドの断片は、特定のヒト被験者により発現されるHLA分子により提示された場合に、その被験者に対して免疫原性であると同定される。言い換えれば本技術分野の先端技術は、免疫原性ペプチドをHLA拘束性エピトープとして説明している。しかしながら、HLA拘束性エピトープは、そのHLA分子を発現する個体の一部においてのみT細胞応答を誘導する。ある個体でT細胞応答を活性化するペプチドは、HLA対立遺伝子のマッチングに関わらず、他の個体では非活性である。よって如何にして個体のHLA分子が、T細胞応答を積極的に活性化する抗原由来のエピトープを提示するかは以前には知られていなかった。

【0005】

本明細書中に提供されているように、個体によって発現されている複数のHLAは、T細胞応答を引き起こすために同じペプチドを提示する必要がある。よって特定の個体に対して免疫原性であるポリペプチド抗原の断片は、その個体により発現される複数のクラスI(細胞傷害性T細胞を活性化する)又はクラスII(ヘルパーT細胞を活性化する)HLAに結合することができるものである。例えば本発明者らは、被験者の少なくとも3つのHLA I型に結合するT細胞エピトープの存在は、その被験者においてポリペプチドに対する免疫応答を予測させると見出した。

【0006】

この発見に基づいて本発明者らは、高い割合の個体において少なくとも3つのクラスI

10

20

30

40

50

H L A に結合することができる、特定の乳がん、卵巣がん、及びノ又は結腸直腸がんに関連しているポリペプチド抗原（がん精巢抗原抗原（C T A））に由来する T 細胞エピトープを同定した。これらの T 細胞エピトープ、又はその T 細胞エピトープを含んでいる抗原の断片は、これらの抗原を発現している腫瘍細胞に対して特異的な免疫応答を誘導するのに、及びがんを治療又は予防するのに有用である。

【 0 0 0 7 】

第 1 の態様において本開示は、下記 (a) ~ (c) の最大 5 0 個の連続するアミノ酸の断片；

(a) T S P 5 0、E p C A M、S P A G 9、C A G E 1、F B X O 3 9、S U R V I V I N、L E M D 1、M A G E - A 8、M A G E - A 6、及び M A G E - A 3 から選択される結腸直腸がん関連抗原であって、該断片は配列番号 2 1 ~ 4 0 及び 2 3 4 ~ 2 5 0 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、結腸直腸がん関連抗原；

(b) P I W I L - 4、W T 1、E p C A M、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、S P A G 9、P R A M E、H I W I、S U R V I V I N、及び A K A P - 3 から選択される卵巣がん関連抗原であって、該断片は配列番号 2 7 2 ~ 3 0 1 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む、卵巣がん関連抗原；及びノ又は

(c) P I W I L - 2、A K A P - 4、E p C A M、B O R I S、H I W I、S P A G 9、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、S P 1 7、R H O X F - 2、P R A M E、N Y - S A R - 3 5、M A G E - A 9、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、H O M - T E S - 8 5、及び N Y - E S O - 1 から選択される乳がん関連抗原であって、該断片は配列番号 1 ~ 2 0、2 4 及び 1 7 2 ~ 1 9 4 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、乳がん関連抗原を含むポリペプチドを提供する。

【 0 0 0 8 】

特定の場合に本開示は、

(a) T S P 5 0、E p C A M、S P A G 9、C A G E 1、F B X O 3 9、S U R V I V I N、M A G E - A 8、M A G E - A 6、M A G E - A 3、及び L E M D 1 から選択される結腸直腸がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号 2 1 ~ 4 0 及び 2 3 4 ~ 2 5 0 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、断片である；又は

(b) T S P 5 0、E p C A M、S P A G 9、C A G E 1、F B X O 3 9、S U R V I V I N、M A G E - A 8、M A G E - A 6、M A G E - A 3、及び L E M D 1 から選択される 1 つ以上の結腸直腸がん関連抗原の 2 つ以上の断片を含むか、又は 2 つ以上の断片からなり、各断片は配列番号 2 1 ~ 4 0 及び 2 3 4 ~ 2 5 0 のいずれか 1 つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている；又は

(c) P I W I L - 4、W T 1、E p C A M、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、S P A G 9、P R A M E、H I W I、S U R V I V I N、及び A K A P - 3 から選択される卵巣がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号 2 7 2 ~ 3 0 1 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、断片である；又は

(d) P I W I L - 4、W T 1、E p C A M、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、S P A G 9、P R A M E、H I W I、S U R V I V I N、及び A K A P - 3 から選択される 1 つ以上の卵巣がん関連抗原の 2 つ以上の断片を含むか、又は 2 つ以上の断片からなり、各断片は配列番号 2 7 2 ~ 3 0 1 のいずれか 1 つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている；又は

(e) S P A G 9、A K A P - 4、B O R I S、N Y - S A R - 3 5、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、P R A M E、M A G E - A 9、H O M - T E S - 8 5、P I W I L - 2、E p C A M、H I W I、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F -

4、SP17、RHOXF-2から選択される乳がん関連抗原の断片であって、該断片は配列番号1~20、24及び172~194のいずれか1つに由来するアミノ酸配列を含む、断片；又は

(f) SPAG9、AKAP-4、BORIS、NY-SAR-35、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、PRAME、MAGE-A9、HOM-TEST-8、PIWIL-2、EpCAM、HIWI、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、RHOXF-2から選択される1つ以上の乳がん関連抗原の2つ以上の断片を含むか、又は2つ以上の断片からなり、各断片は配列番号1~20、24及び172~194のいずれか1つから選択される異なるアミノ酸配列を含み、任意選択で該断片は該ポリペプチド内で重複しているか又は端と端とを並べて配置されている、

10

【0009】

特定の場合には該ポリペプチドは、

(a) TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、MAGE-A8、MAGE-A6、MAGE-A3、及びLEMD1；

(b) PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TEST-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3；及び/又は

(c) SPAG9、AKAP-4、BORIS、NY-SAR-35、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、PRAME、MAGE-A9、HOM-TEST-8、PIWIL-2、EpCAM、HIWI、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、及びRHOXF-2；

20

の断片を含むか、又はその断片からなり、

各断片は、配列番号21~40及び234~250；配列番号272~301；及び/又は配列番号1~20、24、及び172~194から選択される異なるアミノ酸配列を含む。場合によって該ポリペプチドは、配列番号41~80、251~271、302~331、及び196~233から選択される1つ以上のアミノ酸配列を含むか、又は1つ以上のアミノ酸配列からなる。

【0010】

場合によって該ポリペプチドは、配列番号41~80、195~233、251~271、及び302~331から選択されるか、又は配列番号81~142、332~346、及び435~449から選択される、1つ以上のアミノ酸配列を含むか、又は1つ以上のアミノ酸配列からなる。

30

【0011】

さらなる態様において本開示は、上記で述べた2つ以上のポリペプチドのパネルを提供し、各ペプチドは、配列番号21~40及び234~250から選択される；又は配列番号272~301から選択される；又は配列番号1~20、24、及び172~194から選択される；又は配列番号1~40、234~250、272~301、及び172~194から選択される、異なるアミノ酸配列を含むか、又は異なるアミノ酸配列からなる。場合によってポリペプチドのパネルは、配列番号130、121、131、124、134、126及び/又は配列番号435~449のアミノ酸配列を含むか又はそのアミノ酸配列からなる、1つ以上のペプチドを含むか又は1つ以上のペプチドからなる。

40

【0012】

さらなる態様において本開示は、有効成分として上記で述べたポリペプチド若しくはペプチドのパネルを1つ以上有する、又は有効成分として配列番号21~40及び234~250；配列番号272~301；及び/又は配列番号1~20、24及び172~194から選択される；若しくは有効成分として配列番号130、121、131、124、134、126及び/又は435~449から選択される少なくとも2つアミノ酸配列を含むポリペプチドを有する、医薬組成物又はキットを提供する。

【0013】

50

さらなる態様において本開示は、免疫応答を誘導する（例えば被験者におけるワクチン接種、免疫療法の提供、又は細胞傷害性T細胞応答の誘導）方法を提供し、本方法は、上記で述べた医薬組成物、キット又はポリペプチドのパネルをその被験者に投与することを含む。本方法は、乳がん、卵巣がん、又は結腸直腸がん等のがんの治療方法であってもよい。

【0014】

さらなる態様において本開示は、

- 免疫応答を誘導する方法において使用するための、又はがんの治療方法において使用するための、上記で述べた医薬組成物、キット又はポリペプチドのパネルであって、任意選択で乳がん、卵巣がん、又は結腸直腸がんである；及び

- 免疫応答を誘導するための又はがんを治療するための医薬の製造における、上記で述べたペプチド又はペプチドのパネルの使用であって、任意選択で乳がん、卵巣がん、又は結腸直腸がんである、

を提供する。

【0015】

さらなる態様において本開示は、上記で述べた医薬組成物の投与により細胞傷害性T細胞応答を示す可能性が高いであろうヒト被験者を同定する方法を提供し、該方法は、

(i) 該医薬組成物の有効成分のポリペプチドが、該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである配列を含むことを決定する工程；及び

(ii) 該医薬組成物の投与に対して細胞傷害性T細胞応答を示す可能性が高いと該被験者を同定する工程を含む。

【0016】

さらなる態様において本開示は、上記で述べた治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いであろう被験者を同定する方法を提供し、該方法は、

(i) 有効成分のポリペプチドが2つ以上の異なるアミノ酸配列を含むことを決定する工程であって、各アミノ酸配列が、

a. 該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである；及び

b. 該被験者のがん細胞により発現されるがん関連抗原の断片である、

である；並びに、

(ii) 該治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いと該被験者を同定する工程を含む。

【0017】

さらなる態様において本開示は、請求項10に記載の治療方法に対する特定のヒト被験者が臨床応答を示すであろう可能性を決定する方法を提供し、

1つ以上の下記の因子；

(a) 有効成分のポリペプチド中での、それぞれが該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、より多数のアミノ酸配列及び/又は異なるアミノ酸配列の存在；

(b) A. 有効成分のポリペプチドに含まれる；及び、

B. 該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープ、

の両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含む、より多数の標的ポリペプチド抗原であって、任意選択で、該標的ポリペプチド抗原は該被験者で発現され、さらに任意選択で、該標的ポリペプチド抗原はその被験者から得られた1つ以上の試料中に存在する、標的ポリペプチド抗原、

(c) 該被験者が標的ポリペプチド抗原を発現するより高い確率、任意選択で該標的ポリペプチド抗原、及び/又は任意選択で、

A. 有効成分のポリペプチドに含まれる；及び、

10

20

30

40

50

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、
 この両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含むと決定された標的ポリペプチド抗原、の閾値の数；及び/又は、

(d)被験者が発現すると予測されるより多数の標的ポリペプチド抗原であって、任意選択で該被験者が閾値確率で発現するより多数の標的ポリペプチド抗原、及び/又は任意選択で、

A．有効成分のポリペプチドに含まれる；及び

B．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、
 この両方である少なくとも1つのアミノ酸配列を含むと決定された、より多数の標的ポリペプチド抗原、
 が臨床応答のより高い可能性に対応している方法を提供する。

【0018】

場合によって該がん関連抗原は、TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、LEMD1、MAGE-A8、MAGE-A6、MAGE-A3、PIWIL-4、WT1、BORIS、AKAP-4、OY-TES-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、PRAME、HIWI、PLU-1、TSGA10、ODF-4、RHOXF-2、NY-SAR-35、MAGE-A9、NY-BR-1、MAGE-A11、HOM-TES-85、NY-ESO-1、及びAKAP-3であってもよい。場合によって上記の方法は、該被験者のがん細胞により1つ以上のがん関連抗原が発現されていることを決定する工程を含む。該がん関連抗原は、該被験者から得られた1つ以上の試料中に存在してもよい。

【0019】

場合によって、該被験者の治療方法として、該医薬組成物又はキットの有効成分のポリペプチドの投与を選択してもよい。医薬組成物又は有効成分のポリペプチドの投与により、該被験者をさらに治療してもよい。

【0020】

さらなる態様において本開示は上記で述べた治療方法を提供し、該被験者は、上記で述べた方法による治療に対して、臨床応答を示す可能性が高い、又は臨床応答を示す上記の最小の可能性の閾値(threshold minimum likelihood)を有すると同定された。

【0021】

さらなる態様において本開示は、上記で述べた治療方法に対する臨床応答を示さない可能性が高いヒト被験者を同定する方法を提供し、該方法は、

(i)該医薬組成物の有効成分のポリペプチドが、それぞれが該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである、2つ以上の異なるアミノ酸配列を含まないことを決定する工程；及び

(ii)該治療方法に対して臨床応答を示さない可能性が高いと該被験者を同定する工程を含む。

【0022】

上記の方法は、その被験者のHLAクラスI遺伝子型を決定する工程を含んでもよい。

【0023】

ここで、本開示を、限定ではなく例示として、添付する図面を参照することにより、より詳細に説明する。この開示を与えられたときに、多くの均等な改変と変形は当業者にとって明らかであろう。従って、説明された開示の例示的な態様は例示であって、限定的ではないと見做される。本開示の範囲から逸脱することなく、述べられた態様に種々の変更を行うことができる。本明細書中で引用された全ての文書は、前後に関わらず、参照によりその全体が明示的に組み込まれる。

【0024】

本開示は、述べられた態様と好適な特徴の組み合わせを、かかる組み合わせは明らかに

10

20

30

40

50

容認できない場合、又は明示的に回避されると述べられた場合を除き、含む。本明細書及び添付された特許請求の範囲において使用されるように、単数形の“a”、“an”及び“the”は、その内容がそうではないことを明確に規定しない限り、複数形への言及を含む。よって、例えば、「ペプチド(a peptide)」への言及は、2つ以降のかかるペプチドを含む。

【0025】

本明細書では、セクションの見出しは便宜のためにのみ使用されており、決して限定するものと解釈されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】HLA拘束性PEPIバイオマーカーのROC曲線。

【図2】診断の正確度を決定するための、1以上のPEPI3+試験のROC曲線。

【図3A】CD8+T細胞応答アッセイで使用したペプチドプールの中で最新技術のアッセイにより測定された、CD8+T細胞応答と比較したHLAクラスI PEPI3+の分布。A：HLAクラスI拘束性PEPI3+。T細胞応答とPEPI3+ペプチドの間の全体的な一致パーセント(Overall Percent of Agreement: OPA)90%は、個体のワクチン誘導T細胞応答セットの予測のための、発明されたペプチドの有用性を示している。B：クラスI HLA拘束性エピトープ(PEPI3+)。予測されたエピトープとCD8+T細胞応答の間のOPAは28%であった(統計学的有意性なし)。最も暗い灰色：真陽性(TP)、ペプチドとT細胞応答の両者が検出された；明るい灰色：偽陰性(FN)、T細胞応答のみが検出された；最も明るい灰色：偽陽性(FP)、ペプチドのみが検出された；暗い灰色：真陰性(TN)：ペプチドもT細胞応答も検出されなかった。

【図3B】CD8+T細胞応答アッセイで使用したペプチドプールの中で最新技術のアッセイにより測定された、CD8+T細胞応答と比較したHLAクラスI PEPI3+の分布。A：HLAクラスI拘束性PEPI3+。T細胞応答とPEPI3+ペプチドの間の全体的な一致パーセント(Overall Percent of Agreement: OPA)90%は、個体のワクチン誘導T細胞応答セットの予測のための、発明されたペプチドの有用性を示している。B：クラスI HLA拘束性エピトープ(PEPI3+)。予測されたエピトープとCD8+T細胞応答の間のOPAは28%であった(統計学的有意性なし)。最も暗い灰色：真陽性(TP)、ペプチドとT細胞応答の両者が検出された；明るい灰色：偽陰性(FN)、T細胞応答のみが検出された；最も明るい灰色：偽陽性(FP)、ペプチドのみが検出された；暗い灰色：真陰性(TN)：ペプチドもT細胞応答も検出されなかった。

【図4】最新技術のアッセイで使用したペプチドプールの中で該アッセイにより測定された、CD4+T細胞応答と比較したHLAクラスII PEPIの分布。A：HLAクラスII拘束性PEPI4+。PEPI4+とCD4+T細胞応答の間のOPA67%(p=0.002)。B：クラスII HLA拘束性エピトープ。クラスII HLA拘束性エピトープとCD4+T細胞応答の間のOPAは66%であった(統計学的有意性なし)。最も暗い灰色：真陽性(TP)、ペプチドとT細胞応答の両者が検出された；明るい灰色：偽陰性(FN)、T細胞応答のみが検出された；最も明るい灰色：偽陽性(FP)、ペプチドのみが検出された；暗い灰色：真の陰性(TN)：ペプチドもT細胞応答も検出されなかった。

【図5】18人のVIN-3と5人の子宮頸癌の患者の、HPV-16LPVワクチン特異的なT細胞応答セットを規定する、複数のHLA結合ペプチド。各患者のLPV抗原に由来する、HLAクラスI拘束性PEPI3カウント(AとB)及びHLAクラスII拘束性PEPI3カウント(CとD)。明るい灰色：臨床試験の中でワクチン接種後に測定された免疫応答者；暗い灰色；臨床試験でワクチン接種後に測定された免疫非応答者。結果は、3つ以上のHLAクラスI結合ペプチドはCD8+T細胞応答性を予測し、4つ以上のHLAクラスII結合ペプチドはCD4+T細胞応答性を予測することを示している。

【図6】2人の患者のHPVワクチン特異的なT細胞応答セットを規定する複数のHLA

10

20

30

40

50

クラスI結合ペプチド。A：HPVワクチン中の4つのHPV抗原。ボックスはN末端からC末端までのアミノ酸配列の長さを表わす。B：2人の患者の複数のHLA結合ペプチドの同定プロセス：患者のIDの右側から4桁のHLA遺伝子型としてラベルされた患者のHLA配列。患者12-11と患者14-5のHLA(PEPI1+)のそれぞれに結合できる54つと91つのエピトープの1番目のアミノ酸の位置を線で示した。PEPI2は、患者の複数のHLAに結合できるPEPI1+から選択されたペプチドを表わす(PEPI2+)。PEPI3は、患者の3つ以上のHLAに結合できるペプチドを表わす(PEPI3+)。PEPI4は、患者の4つ以上のHLAに結合できるペプチドを表わす(PEPI4+)。PEPI5は、患者の5つ以上のHLAに結合できるペプチドを表わす(PEPI5+)。PEPI6は、患者の6つ以上のHLAに結合できるペプチドを表わす(PEPI6+)。C：2人の患者のDNAワクチン特異的なPEPI3+セットは、それらのワクチンに特異的なT細胞応答を特徴付ける。

【図7】臨床試験で決定されたペプチド標的の、1以上のPEPI3+のスコアとCTL応答率の間の相関関係。

【図8】免疫療法ワクチンの、1以上のPEPI3+のスコアと臨床の免疫応答率(IPR)の間の相関関係。破線：95%信頼区間。

【図9】免疫療法ワクチンの、2つ以上のPEPI3+のスコアと疾患制御率(DCR)の間の相関関係。点線：95%信頼区間。

【図10】ペプチドホットスポット解析例：モデル集団の433人の患者に関するPRAME抗原ホットスポット。y軸上にあるのはモデル集団の433人の患者であり、x軸上にあるのはPRAME抗原(CTA)のアミノ酸配列である。各データポイントは、特定されたアミノ酸位置で出発する、1人の患者の3つ以上のHLAクラスIにより提示されるPEPIを表す。PRAME抗原の2つの最も頻度が高いPEPI(最良PEPIと呼ばれる)を、暗い灰色で強調している(ペプチドホットスポット=PEPIホットスポット)。

【図11】ヒト乳がん組織中の腫瘍特異的な抗原(CTA)の発現頻度データを解析することにより計算されたCTA発現曲線(細胞株のデータは含まれていない)。

【図12】選択された10の異なるCTAの発現頻度に由来する複数抗原応答の計算に基づいた、乳がんについての抗原発現分布。A：発現した抗原数についての予測値(AG50)を計算するための非累積的分布。この値はおそらく6.14のワクチン抗原が乳がん細胞によって発現されるであろうことを示す。B：発現した抗原の最小数の累積的分布曲線(CTA発現曲線)。これは最小4つのワクチン抗原が、乳がん細胞の中で95%の確率で発現するであろうことを示している(AG95)。

【図13】PEPI提示抗原：乳がんワクチンに対する、1つ以上のPEPIを有する乳がんワクチン特異的なCTA抗原(「AP」と呼ばれる)の、モデル集団(n=433)内での分布。A：APの非累積的分布であって、ここでAPの平均数は：AP50=5.30であり、モデル集団の中で平均してほぼ6つのCTAがPEPIを有するであろうことを意味している。B：モデル集団(n=433)における、APの最小数の累積的分布曲線。これはモデル集団(n=433)の95%において、少なくとも1つのワクチン抗原がPEPIを有するであろうことを示している(AP95=1)。

【図14】乳がんについてのCTA発現率によって計算された、モデル集団(n=433)内での、PEPIが提示された発現抗原(腫瘍により発現された乳がんワクチン特異的なCTA抗原であり、それについて1つ以上のPEPIが予測され、「AGP」と呼ばれる)の分布。A：AGPの非累積的分布であって、ここでPEPIにより提示された発現したCTAの数についての予測値は、AGP50=3.37である。AGP50は、開示された乳がんワクチンが、選択されていない患者集団の中で乳がんを攻撃する有効性の指標である。AGP50=3.37は、少なくとも3つのワクチン由来のCTAがおそらく乳がん細胞によって発現され、モデル集団の中でPEPIを提示するであろうことを意味している。B：モデル集団(n=433)内でのAGPの最小数の累積的分布曲線は、集団の92%においてワクチンCTAの少なくとも1つがPEPIを提示し、集団の残りの

10

20

30

40

50

8%はAGPを全く有していないであろうことを示している (AGP95 = 0、AGP92 = 1)。

【図15】ヒト結腸直腸がん組織において腫瘍特異的抗原 (CTA) の発現頻度データを解析することにより計算されたCTA発現曲線 (細胞株のデータは含まれていない)。

【図16】選択された7つの異なるCTAの発現頻度に由来する複数抗原応答の計算に基づいた、結腸直腸がんについての抗原発現分布。A: 結腸直腸がんの中でのワクチン抗原の発現数 (AG50) について予測値を計算するための非累積的分布。B: 発現した抗原の最小数の累積的分布曲線 (CTA発現曲線)。これは最小3つの抗原が結腸直腸がん細胞の中に95%の確率で発現するであろうことを示す (AG95)。

【図17】結腸直腸がんについての、モデル集団 (n = 433) 内でPEPIが提示された抗原 (1つ以上のPEPIが予測される、結腸直腸がんワクチン特異的なCTA抗原。「AP」と呼ばれる) の分布。A: APの非累積的分布であってAPの平均数は: AP50 = 4.73であり、モデル集団の中でPEPIにより平均5つのCTAが提示されるであろうことを意味する。B: モデル集団 (n = 433) 内での、APの最小数の累積的分布曲線。これはモデル集団 (n = 433) の95%においてPEPIにより2つ以上の抗原が提示されるであろうことを示す (APG95 = 2)

【図18】結腸直腸がんについてのCTA発現率により計算された、モデル集団 (n = 433) 内でのPEPIが提示された発現抗原 (1つ以上のPEPIが予測される、腫瘍により発現された結腸直腸がんワクチン特異的なCTA抗原。「AGP」と呼ばれる) の分布。A: AGPの非累積的な分布であり、PEPIにより提示された発現CTAの数についての予測値はAGP50 = 2.54である。AGP50は、選択されていない患者集団内で開示された結腸直腸がんワクチンが、結腸直腸がんを攻撃する有効性の指標である。AGP50 = 2.54は、モデル集団内で、少なくとも2~3つのワクチン由来のCTAを結腸直腸がん細胞は発現しされ、PEPIを提示するであろうことを意味している。B: モデル集団 (n = 433) 内でのAGPの最小数の累積的分布曲線であり、少なくとも1つのワクチンCTAが発現し、集団の93%においてPEPIも提示するであろう (AGP93 = 1) ことを示している。

【図19】30merのペプチド内の、HLAクラスIとHLAクラスII結合エピートプ内で重複するアミノ酸の例示的な位置の概要を示している。

【図20】一般集団内でのポリPEPI1018CRCワクチンの抗原性。被験者におけるポリPEPI1018の抗原性はAPカウントにより決定され、それは被験者においてT細胞応答を誘導するワクチン抗原の数を示唆している。PEPI試験を使用して、モデル集団内の433人の各被験者についてポリPEPI1018のAPカウントを決定し、その後モデル集団についてAP50カウントを計算した。モデル集団内のポリPEPI1018のAP50は4.73である。一般集団におけるポリPEPI1018の中の免疫原性抗原 (すなわち、1つ以上のPEPIを有する抗原) の平均数は4.73である。略語: AP = 1つ以上のPEPIを有する抗原。左パネル: 累積的分布曲線。右パネル: 区別できる分布曲線。

【図21】一般集団におけるポリPEPI1018ワクチンの有効性。ワクチン内の中のPEPIが腫瘍細胞により提示されるときには、ワクチンにより誘導されるT細胞は腫瘍細胞を認識して殺すことができる。AGPの数 (PEPIを有する発現抗原) は個体におけるワクチンの有効性の指標であり、ポリPEPI1018の有効性と抗原性の両方に依存する。ポリPEPI1018の中の免疫原性CTAの平均数 (すなわちAP [1つ以上のPEPIを有する発現抗原]) は、モデル集団内で2.54である。モデル集団内の被験者において、ポリPEPI1018が複数の抗原に対するT細胞応答を誘導する可能性 (すなわちmAGP) は77%である。

【図22】XYZ患者の腫瘍細胞でのワクチン抗原の発現確率。ワクチン療法において12個の標的抗原のうち5個がこの患者の腫瘍で発現する確率は95%超である。その結果として、12個のペプチドワクチンを一緒に使用すると、95%の確率で少なくとも5個の卵巣がん抗原に対して免疫応答を誘導できる (AGP95)。各ペプチドが患者XYZ

10

20

30

40

50

における免疫応答を誘導するであろう確率は、84%である。AGP50は平均（期待値）であり7.9である（これは、XYZ患者の腫瘍への攻撃におけるワクチンの有効性の尺度である）。

【図23】個別化された（PIT）ワクチンで治療された患者XYZのMRI所見である。この後期の、かなりの程度まで予備治療された子宮癌患者は、PITワクチン治療後に予期されない客観的な反応を有した。これらのMRI所見から、化学療法と組み合わせたPITワクチンは、該患者の腫瘍負荷を有意に低減したことが示唆される。該患者は現在PITワクチン治療を継続している。

【図24】ABC患者の腫瘍細胞におけるワクチン抗原発現の確率。ワクチンにおいて、13つの標的抗原のうち4つが患者の腫瘍で発現する確率は95%を超える。その結果として、12つのペプチドワクチンを一緒に用いると、少なくとも4つの乳癌抗原に対して、95%の確率で免疫応答を誘導することができる（AGP95）。各ペプチドがABC患者における免疫応答を誘導するであろう確率は、84%である。AGP50は離散確率分布の平均（期待値）であり6.45である（これは、ABC患者の腫瘍への攻撃におけるワクチンの有効性の尺度である）。

【発明を実施するための形態】

【0027】

配列の説明

配列番号1～20は、表17に記載の9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号21～40は、表20に記載の9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号41～60は、表17の中に述べられた15merのT細胞エピトープを示す。

配列番号61～80は、表20に記載の15merのT細胞エピトープを示す。

配列番号81～111は、表18aに記載の乳がんワクチンペプチドを示す。

配列番号112～142は、表21aに記載の結腸直腸がんワクチンペプチドを示す。

配列番号143～158は、乳がん、結腸直腸がん、及び/又は卵巣がん関連抗原を示す。

配列番号159～171は、表10に記載の追加のペプチド配列を示す。

配列番号172～194は、表17に記載の9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号195～233は、表17に記載の15merのT細胞エピトープを示す。

配列番号234～250は、表20に記載のさらなる9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号251～271は、表20に記載のさらなる15merのT細胞エピトープを示す。

配列番号272～301は、表23に記載の9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号302～331は、表23に記載の15merのT細胞エピトープを示す。

配列番号332～346は、表24に記載の卵巣がんワクチンペプチドを示す。

配列番号347～361は、乳がん、結腸直腸がん、及び/又は卵巣がん関連抗原を示す。

配列番号362～374は、表38に記載の患者XYZのために設計された個別化されたワクチンペプチドを示す。

配列番号375～386は、表41に記載の患者ABCのために設計された個別化されたワクチンペプチドを示す。

配列番号387～434は、表32に記載のさらなる9merのT細胞エピトープを示す。

配列番号435～449は、表18aに記載のさらなる乳がんワクチンペプチドを示す。

【0028】

詳細な説明

H L A 遺伝子型

10

20

30

40

50

H L A はヒトゲノムの最も多型な遺伝子によりコードされている。各人は、3つのH L A クラスI分子(H L A - A *、H L A - B *、H L A - C *)と4つのH L A クラスII分子(H L A - D P *、H L A - D Q *、H L A - D R B 1 *、H L A - D R B 3 * / 4 * / 5 *)の、母方及び父方の対立遺伝子を有する。実際には、各人は、同じタンパク質抗原由来の異なるエピトープを提示する、6つのH L A クラスI分子と8つのH L A クラスII分子の異なる組み合わせを発現する。H L A 分子の機能はT細胞応答を制御することである。しかしながら、最新の知識でも、如何にしてヒトのH L A がT細胞の活性化を制御するかは不明であった。

【0029】

H L A 分子のアミノ酸配列を指定するのに使用される命名法は以下のとおりである：遺伝子名*対立遺伝子：タンパク質番号であり、例えば、H L A - A * 0 2 : 2 5 のようになる。この例において、「0 2」は対立遺伝子を指す。ほとんどの場合、対立遺伝子は血清型により定義され、所定の対立遺伝子のタンパク質は他の血清学的アッセイにおいて互いに反応しないであろうことを意味する。タンパク質番号(上記の例では「2 5」)は、タンパク質が発見されると連続して割り当てられる。新しいタンパク質番号は、異なるアミノ酸配列を有する全てのタンパク質に割り当てられる(例えば、配列中の1つのアミノ酸の変化でさえ、異なるタンパク質番号であると見做される)。所定の遺伝子座の核酸配列についてのさらなる情報を、H L A の命名法に付加してもよいが、かかる情報は本明細書に記載の方法には必要とされない。

10

【0030】

個体のH L A クラスI遺伝子型又はH L A クラスII遺伝子型は、個体の各クラスI又はクラスII H L A の実際のアミノ酸配列を指すことがあり、又は上記のように、最小限各H L A 遺伝子の対立遺伝子及びタンパク質番号を指定する、命名法を指すこともある。H L A 遺伝子型は任意の適した方法を用いて決定され得る。例えば、配列は、本技術分野で既知の方法及びプロトコルを用いたH L A の遺伝子座のシーケンシングを介して、決定され得る。あるいは、本技術分野で既知の方法を用いて、個体のH L A セットがデータベース中に貯蔵され、アクセスされ得る。

20

【0031】

一部の被験者は、同じH L A 分子をコードする2つのH L A 対立遺伝子を有し得る(例えば、同型接合体の場合には、H L A - A * 0 2 : 2 5 の2つのコピー)。これらの対立遺伝子によってコードされるH L A 分子は、同じT細胞エピトープの全てに結合する。本開示の目的のために、本明細書で使用される「被験者の少なくとも2つのH L A 分子に結合すること」は、1人の被験者における2つの同一のH L A 対立遺伝子によってコードされるH L A 分子に結合することを包含する。言い換えれば、「被験者の少なくとも2つのH L A 分子に結合すること」などは、他に「被験者の少なくとも2つのH L A 対立遺伝子によりコードされるH L A 分子に結合すること」と表現され得る。

30

【0032】

ポリペプチド

本開示はC T A から得られ、ヒト集団の高い割合に対して免疫原性であるポリペプチドに関連する。

40

【0033】

本明細書で使用される「ポリペプチド」との用語は、一続き(string)のアミノ酸として特徴付けられた全長タンパク質、タンパク質の一部、又はペプチドを指す。本明細書で使用される「ペプチド」との用語は、2、又は3、又は4、又は5、又は6、又は7、又は8、又は9、又は10、又は11、又は12、又は13、又は14、又は15と、10、又は11、又は12、又は13、又は14、又は15、又は20、又は25、又は30、又は35、又は40、又は45、又は50、又は55、又は60との間のアミノ酸を含む短いポリペプチドをいう。

【0034】

明細書で使用される「断片」又は「ポリペプチドの断片」との用語は、参照ポリペプチ

50

ドと比較して典型的には長さが短く、共通する部分について該参照ポリペプチドと同一のアミノ酸配列を含む一続き (string) のアミノ酸又はアミノ酸配列を指す。本開示によるかかる断片は、適切な場合、構成成分であるより大きなポリペプチドに含まれていてもよい。場合によって該断片は、そのポリペプチドの全長例えば、その全ポリペプチド (9 アミノ酸ペプチドなど) が単一の T 細胞エピトープ、を含んでもよい。場合によって明細書で言及される断片は、2、又は3、又は4、又は5、又は6、又は7、又は8、又は9と、20、又は25、又は30、又は35、又は40、又は50アミノ酸の間であってもよい。

【0035】

本明細書で使用される「エピトープ」又は「T細胞エピトープ」との用語は、1つ以上のHLAに対する結合親和性を有する (結合することができる)、タンパク質抗原内に含まれる連続するアミノ酸の配列を指す。エピトープはHLA及び抗原特異的であるが (既知の方法で予測される、HLA-エピトープの対)、被験者特異的ではない。エピトープ、T細胞エピトープ、ポリペプチド、ポリペプチドの断片、又はポリペプチド若しくはその断片を含む組成物は、それが特定のヒト被験者においてT細胞応答 (細胞傷害性T細胞応答又はヘルパーT細胞応答) を誘導することができる場合には、その被験者に対して「免疫原性」である。場合によっては、ヘルパーT細胞応答は、Th1型ヘルパーT細胞応答である。場合によっては、エピトープ、T細胞エピトープ、ポリペプチド、ポリペプチドの断片、又はポリペプチド若しくはその断片を含む組成物が、特定のヒト被験者のわずか1つのHLA分子に結合することができる異なるT細胞エピトープ (又は場合によっては2つのそれぞれ異なるT細胞エピトープ) よりも、該被験者におけるT細胞応答又は免疫応答を誘導する可能性が高い場合には、それは該被験者に対して免疫原性である。

10

20

【0036】

「T細胞応答」及び「免疫応答」との用語は、本明細書中で互換的に使用され、1つ以上のHLA-エピトープ結合対の認識後のT細胞の活性化、及び/又は1つ以上のエフェクター機能の誘導を指す。場合によっては、HLAクラスII分子は、長く続くCTL応答と抗体応答の両者の誘導に関連するヘルパー応答を刺激するため、「免疫応答」には抗体応答が含まれる。エフェクター機能には細胞傷害性、サイトカイン産生、及び増殖が含まれる。本開示によれば、エピトープ、T細胞エピトープ、又はポリペプチドの断片が、特定の被験者の少なくとも2つ、若しくは場合によっては少なくとも3つのクラスI、又は少なくとも2つ、若しくは場合によっては少なくとも3つ若しくは少なくとも4つのクラスIIのHLAに結合することができる場合には、それは該被験者に対して免疫原性である。

30

【0037】

本開示の目的のために、「個人用エピトープ (personalepitope)」、又は「PEPI」との用語を作り出し、HLA特異的なエピトープと被験者特異的なエピトープとを区別した。「PEPI」は、特定のヒト被験者の1つ以上のHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープであるポリペプチドの連続するアミノ酸の配列からなるポリペプチドの断片である。他の場合では、「PEPI」は、特定のヒト被験者の1つ以上のHLAクラスII分子に結合することができるT細胞エピトープであるポリペプチドの連続するアミノ酸の配列からなるポリペプチドの断片である。言い換えれば、「PEPI」は、特定の個体のHLAセットにより認識されるT細胞エピトープであり、従ってHLAと抗原に加えて被験者に特異的である。HLAと抗原のみに対して特異的な「エピトープ」とは対照的に、異なる個体は、それぞれ異なるT細胞エピトープに結合する異なるHLA分子を有するため、PEPIは個体に特異的である。PEPIのこの被験者特異性によって、個別化されたがんワクチンを作ることが可能となる。

40

【0038】

本明細書で使用される「PEPI1」は、個体の1つのHLAクラスI分子 (又は、特定の分脈ではHLAクラスII分子) に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。「PEPI1+」は、個体の1つ以上のHLAクラスI分子に結合できるペプチド又

50

はポリペプチドの断片を指す。

【0039】

「PEPI2」は、個体の2つのHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。「PEPI2+」は、個体の2つ以上のHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片、すなわち、本開示の方法に従って同定される断片を指す。

【0040】

「PEPI3」は、個体の3つのHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。「PEPI3+」は、個体の3つ以上のHLAクラスI（又はII）分子に結合することができるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。

10

【0041】

「PEPI4」は、個体の4つのHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。「PEPI4+」は、個体の4つ以上のHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。

【0042】

「PEPI5」は、個体の5つのHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。「PEPI5+」は、個体の5つ以上のHLAクラスI（又はII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。

【0043】

「PEPI6」は、個体の6つ全てのHLAクラスI（又は6つのHLAクラスII）分子に結合できるペプチド又はポリペプチドの断片を指す。

20

【0044】

一般的に言えば、HLAクラスI分子により提示されるエピート-プは約9アミノ酸長であり、HLAクラスII分子により提示されるエピート-プは約15アミノ酸長である。しかしながら、この開示の目的のために、エピート-プは、該エピート-プがHLAに結合することができる限り、9つよりも多い若しくは少ないアミノ酸長であってもよく（HLAクラスIの場合）、又は15つのアミノ酸長であってもよい（HLAクラスIIの場合）。例えば、クラスIHLAに結合することができるエピート-プは7又は8又は9と、9又は10又は11との間のアミノ酸長であってもよい。クラスIIHLAに結合することができるエピート-プは、13又は14又は15と、15又は16又は17との間のアミノ酸長であってもよい。

30

【0045】

被験者の所定のHLAは、APC内でのタンパク質抗原のプロセッシングによって生成される、限られた数の異なるペプチドをT細胞に提示するであろう。本明細書で使用される「表示（display）」又は「提示（present）」は、HLAとの関連で使用されるときには、ペプチド（エピート-プ）とHLAとの間の結合を指す。これに関して、ペプチドを「表示する」又は「提示する」ことは、ペプチドを「結合」することと同義である。

【0046】

本技術分野で既知の技術を用いて、既知のHLAに結合するであろうエピート-プを決定することは可能である。同じ方法が直接比較される複数のHLA-エピート-プに結合する対を決定するために使用されることを前提として、任意の適切な方法が使用され得る。例えば生化学的な解析が使用され得る。所定のHLAにより結合されることが既知のエピート-プのリストを使用することも可能である。どのエピート-プが所定のHLAにより結合され得るかを決定するために、予測ソフトウェア又はモデリングソフトウェアを使用することも可能である。例を表1に示す。場合によっては、5000nM未満、2000nM未満、1000nM未満、又は500nM未満のIC50又は予測されたIC50を有する場合に、T細胞エピート-プは所定のHLAに結合することができる。

40

【0047】

【表 1】

表 1. エピトープ-HLA 結合を決定するためのソフトウェアの例

エピトープ予測ツール	ウェブアドレス
BIMAS, NIH	www.bimas.cit.nih.gov/molbio/hla_bind/
PPAPROC, Tubingen Univ.	
MHCPred, Edward Jenner Inst. of Vaccine Res.	
EpiJen, Edward Jenner Inst. of Vaccine Res.	http://www.ddg-pharmfac.net/epijen/EpiJen/EpiJen.htm
NetMHC, Center for Biological Sequence Analysis	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHC/
SVMHC, Tubingen Univ.	http://abi.inf.uni-tuebingen.de/Services/SVMHC/
SYFPEITHI, Biomedical Informatics, Heidelberg	http://www.syfpeithi.de/bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm
ETK EPITOOLKIT, Tubingen Univ.	http://etk.informatik.uni-tuebingen.de/epipred/
PREDEP, Hebrew Univ. Jerusalem	http://margalit.huji.ac.il/Teppred/mhc-bind/index.html
RANKPEP, MIF Bioinformatics	http://bio.dfci.harvard.edu/RANKPEP/
IEDB, Immune Epitope Database	http://tools.immuneepitope.org/main/html/tcell_tools.html
エピトープデータベース	ウェブアドレス
MHCBN, Institute of Microbial Technology, Chandigarh, INDIA	http://www.imtech.res.in/raghava/mhcbn/
SYFPEITHI, Biomedical Informatics, Heidelberg	http://www.syfpeithi.de/
AntJen, Edward Jenner Inst. of Vaccine Res.	http://www.ddg-pharmfac.net/antijen/Antijen/antijenhomepage.htm
EPIMHC database of MHC ligands, MIF Bioinformatics	http://immunax.dfci.harvard.edu/epimhc/
IEDB, Immune Epitope Database	http://www.iedb.org/

10

20

【0048】

態様によって本開示のペプチドは、1つ以上のCTAの1つ以上の断片を含むか、1つ以上の断片からなってもよい。CTAは典型的には、健康な細胞の胚発生を過ぎると発現しない。健康な成人では、CTAの発現は、HLAを発現せず、T細胞に抗原を提示できない男性生殖細胞に限定される。よって、CTAは、がん細胞で発現した場合には、発現性のネオアンチゲンであると考えられる。

【0049】

CTAの発現は、(i)腫瘍細胞に対して特異的であり、(ii)原発腫瘍よりも転移腫瘍でより頻度が高く、(iii)同じ患者の転移腫瘍間で保存されている(Gajewski et al. Targeted Therapeutics in Melanoma. Springer New York. 2012)ので、CTAは癌ワクチンの標的として良い選択である。

30

【0050】

本開示のペプチドは、SPAG9(配列番号143)、AKAP-4(配列番号144)、BORIS(配列番号145)、NY-SAR-35(配列番号146)、NY-BR-1(配列番号147)、SURVIVIN(配列番号148)、MAGE-A11(配列番号149)、PRAME(配列番号150)、MAGE-A9(配列番号151)、HOM-TESS-85(配列番号152)、PIWIL-2(配列番号349)、EpCAM(配列番号154)、HIWI(配列番号350)、PLU-1(配列番号351)、TSGA10(配列番号351)、ODF-4(配列番号352)、SP17(配列番号354)、RHOXF-2(配列番号355)、及びNY-ESO-1(配列番号356)から選択される1つ以上の乳がん関連抗原; PIWIL-4(配列番号357)、WT1(配列番号358)、EpCAM(配列番号154)、BORIS(配列番号145)、AKAP-4(配列番号144)、OY-TESS-1(配列番号359)、SP17(配列番号354)、PIWIL-2(配列番号349)、PIWIL-3(配列番号360)、SPAG9(配列番号143)、PRAME(配列番号150)、HIWI(配列番号350)、SURVIVIN(配列番号148)、及びAKAP-3(配列番号361)から選択される1つ以上の卵巣がん関連抗原; 及び/又は、TSP50(配列番号153)、EpCAM(配列番号154)、SPAG9(配列番号143)、CAGE1(配列番号155)、FBXO39(配列番号156)、SURVIVIN(配列番号148)、MAGE-A8(配列番号157)、MAGE-A6(配列番号158)、L

40

50

EMD1 (配列番号348) 及びMAGE-A3 (配列番号347) から選択される1つ以上の結腸直腸がん関連抗原、の1つ以上の断片を含むか、又は1つ以上の断片からなってもよい。場合によってペプチドは、配列番号41~80、又はT細胞の活性化/集団に亘る全ての型のHLAへの結合に最適化された配列番号41~80から、又は配列番号41~80、195~233、251~271、及び302~331から選択される1つ以上のアミノ酸配列を含むか、又は1つ以上のアミノ酸配列からなる。

【0051】

場合によってアミノ酸配列は、標的ポリペプチド抗原の配列の一部ではない、追加のアミノ酸が、N末端及び/又はC末端に隣接しており、言い換えればそれは、標的ポリペプチド抗原の中の選択された断片に隣接して見出される連続するアミノ酸と同じ配列ではない。場合によって配列は、最大41又は35又は30又は25又は20又は15又は10又は9又は8又は7又は6又は5又は4又は3又は2又は1つの追加のアミノ酸が、N末端及び/又はC末端に隣接しているか、又は標的ポリペプチド抗原の断片の間にある。他の場合には、各ポリペプチドは、標的ポリペプチド抗原の断片からなるか、又は単一のペプチド内で端と端とを並べて配置されている(ペプチドの端から端に連続して配置されている)若しくは重複する(2つ以上の断片は部分的に重複する配列を含み、例えば同じポリペプチド内の2つのPEPIがお互いに50アミノ酸以内にある)2つ以上の断片からなるか、のいずれかである。

10

【0052】

異なるポリペプチドの断片、又は同じポリペプチドの異なる領域に由来する断片が改変されたペプチド内で共に接続された場合、該接続部(join)又は接合部(junction)の周りにネオエピトープが生成される可能性がある。かかるネオエピトープは、接続部又は接合部のいずれかの側の各断片に由来する少なくとも1つのアミノ酸を包含し、本明細書では接合部の(junctional)アミノ酸配列とする場合がある。ネオエピトープは健康な細胞に対する望ましくないT細胞応答(自己免疫)を誘導し得る。正常で健康なヒト細胞で発現するタンパク質の断片に相当するネオエピトープ、及び/又は被験者の少なくとも2つ、場合によっては少なくとも3つ、若しくは少なくとも4つのHLAクラスI分子に結合することができる、又は場合によってはその被験者の少なくとも2つ、少なくとも3つ、又は4つ、若しくは5つのHLAクラスII分子に結合することができるネオエピトープを回避、除去、又は最小化するために、ペプチドを設計してもよく、又はスクリーニングしてもよい。場合によってはペプチドを設計し、又はポリペプチドをスクリーニングして、治療意図集団内のヒト被験者の閾値を超えるパーセンテージで、集団の個々の被験者により発現される少なくとも2つのHLAクラスI分子に結合することを可能とする、接合部の(junctional)ネオエピトープを有するポリペプチドを除外する。場合によって閾値は、前記集団の20%、又は15%、又は10%、又は5%、又は2%、又は1%、又は0.5%である。アラインメントは、BLASTアルゴリズムなどの既知の方法を用いて決定され得る。BLAST解析を行うためのソフトウェアは、国立生物工学情報センター(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を介して公開されている。

20

30

【0053】

ワクチン又は免疫療法組成物の中に、個体の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができる少なくとも2つのポリペプチド断片(エピトープ)の存在(2つ以上のPEPI3+)が、臨床応答を予測する。言い換えれば、2つ以上のPEPI3+がワクチン又は免疫療法組成物の有効成分のポリペプチド内で同定できる場合には、個体は臨床応答者である可能性が高い。組成物ポリペプチドの少なくとも2つの複数HLA結合PEPIは、両方とも単一の抗原(例えば、ワクチンにより標的化される単一の腫瘍関連抗原に由来する2つの複数のHLA結合PEPIを含むポリペプチドワクチン)を標的とし得、又は異なる抗原(例えば、1つの腫瘍関連抗原に由来する1つの複数HLA結合PEPI、及び異なる腫瘍関連抗原に由来する第2の複数HLA結合PEPIを含むポリペプチドワクチン)を標的とし得る。

40

【0054】

50

理論に拘束されることを望むものではないが、本発明者は、少なくとも2つの複数のHLA結合PEPIを含むワクチン/免疫療法から臨床的利益が得られる可能性が増加する1つの理由は、がん若しくは腫瘍細胞又はHIVなどのウイルス若しくは病原体に感染した細胞などの罹患細胞集団は、影響を受けた被験者内及び被験者間の両方でしばしば不均一であると信じている。例えば特定のがん患者は、ワクチンの特定のがん関連標的ポリペプチド抗原を発現又は過剰発現し得るし、又は発現し得なく、又はそれらのがんは不均一な細胞集団を含み得るが、その一部は抗原を(過剰)発現し、一部は発現しない。加えて、患者は標的PEPIの変異を介して組成物に対する耐性ができる可能性が低くなるため、より多数のHLA結合PEPIがワクチン/免疫療法に含まれるか又は標的とされる場合には、耐性ができる可能性が低下する。

10

【0055】

現在、ほとんどのワクチン及び免疫療法組成物は、単一のポリペプチド抗原のみを標的としている。しかしながら本開示によれば、場合によっては2つ以上の異なるポリペプチド抗原を標的とする医薬組成物を提供することが有益である。例えばほとんどのがんと腫瘍は不均一性であり、これは、被験者の異なるがん又は腫瘍細胞は異なる抗原を(過剰に)発現することを意味する。異なるがん患者の腫瘍細胞はまた、腫瘍関連抗原の様々な組み合わせを発現する。有効である可能性が最も高い抗がん免疫原性組成物は、腫瘍によって発現される複数の抗原、(従って個々のヒト被験者において又は集団において、より多くのがん又は腫瘍細胞)によって発現される複数の抗原を標的とするものである。

20

【0056】

単一の治療の中で複数の最良PEPIを組み合わせること(共に複数のPEPIを含む1つ以上の医薬組成物の投与)の有益な効果は、下記の実施例15と16の中で述べられている個別化されたワクチンポリペプチドによって説明される。卵巣がんにおける例示的なCTA発現の確率は下記の通りである: BAGE: 30%; MAGE A9: 37%; MAGE A4: 34%; MAGE A10: 52%。患者XYZがBAGE及びMAGE A9のみにPEPIを含むワクチンで治療された場合、mAGP(PEPIを有する複数の発現した抗原)を有する確率は11%となる。患者XYZがMAGE A4及びMAGE A10についてのPEPIのみを含むワクチンで治療された場合、multiAGPを有する確率は19%となる。しかしながら、ワクチンがこれら4つのCTA(BAGE、MAGE A9、MAGE A4、及びMAGE A10)の全てを含んでいる場合、mAGPを有する確率は50%となる。言い換えれば効果は、両方の2つのPEPI治療のmAGPの複合確率(BAGE/MAGEについてのmAGPの確率+MAGE A4とMAGE A10についてのmAGPの確率)よりも高くなる。実施例21に記載の患者XYZのPITワクチンはさらに9つのPEPIを含み、よってmAGPを有する確率は99.95%超である。

30

【0057】

同様に、乳がんにおける例示的なCTA発現の確率は以下の通りである: MAGE C2: 21%; MAGE A1: 37%; SPC1: 38%; MAGE A9: 44%。MAGE C2: 21%及びMAGE A1のみにPEPIを含むワクチンによる患者ABCの治療は、7%のmAGPの確率を示す。SPC1: 38%; MAGE A9のみにPEPIを含むワクチンによる患者ABCの治療は、11%のmAGPの確率を示す。MAGE C2: 21%; MAGE A1: 37%; SPC1: 38%; MAGE A9にPEPIを含むワクチンでの患者ABCの治療は、44%(44>7+11)のmAGPの確率を有する。実施例22に記載の患者ABCのPITワクチンは、さらに8つのPEPIを含み、よってmAGPを有する確率は99.93%超である。

40

【0058】

従って場合によっては、本開示のポリペプチド若しくはポリペプチドのパネル、又は本開示の医薬組成物若しくはキットの有効成分のポリペプチドは、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24若しくは25個の上記で議論したCTAなどの腫瘍関

50

連抗原の又はCTAの、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、
 12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24若し
 くは25の断片の任意の組み合わせを含むか、又はその組み合わせからなってもよい。各
 断片は、配列番号1～40から選択される；若しくは配列番号1～20から選択される；
 若しくは配列番号21～40から選択される；若しくは配列番号1～20、24、及び1
 72～194から選択される；若しくは配列番号21～40、及び234～250から選
 択される；若しくは配列番号272～301から選択される；若しくは配列番号1～40
 、172～194、及び234～250から選択される；若しくは配列番号21～40、
 234～250、及び272～301から選択される；若しくは配列番号1～20、24
 、172～194、及び272～301から選択される；若しくは配列番号1～40、1
 72～194、234～250、及び272～301から選択される；若しくは配列番号
 41～60、64、及び195～233から選択される；若しくは配列番号61～80、
 及び251～271から選択される；若しくは配列番号302～331から選択される；
 若しくは配列番号41～80、195～233、及び251～271から選択される；若
 しくは配列番号61～80、251～271、及び302～331から選択される；若し
 くは配列番号41～60、64、191～233、及び302～331から選択される；
 若しくは配列番号41～80、195～233、251～271、及び
 332～346から選択される；若しくは配列番号1～20、24、41～60、64、
 172～194、及び195～233から選択される；若しくは配列番号21～40、6
 1～80、234～250、及び251～271から選択される；若しくは配列番号27
 1～331から選択される；若しくは配列番号1～80、172～194、195～23
 3、234～250、及び251～271から選択される；若しくは配列番号21～40
 、61～80、234～250、251～271、272～301、及び302～331
 から選択される；若しくは配列番号1～80、172～233、234～271、及び2
 72～331から選択される；若しくは配列番号81～111、及び435～449から
 選択される；若しくは配列番号112～142から選択される；若しくは配列番号332
 ～346から選択される；若しくは配列番号81～142から選択される；若しくは配列
 番号112～142、及び332～346から選択される；若しくは配列番号81～11
 1、435～449、及び332～346から選択される；若しくは配列番号81～14
 2、及び332～346から選択される；若しくは配列番号41～60、
 64、81～111、435～449、及び195～233から選択される；若しくは配
 列番号61～80、112～142、及び251～271から選択される；若しくは配列
 番号302～346から選択される；若しくは配列番号41～142、195～233、
 及び251～271から選択される；若しくは配列番号61～80、112～142、2
 51～271、及び302～346から選択される；若しくは配列番号41～60、64
 、81～111、435～449、195～233、及び302～346から選択される
 ；若しくは配列番号41～142、195～233、251～271、及び302～34
 6から選択される；若しくは配列番号1～20、24、41～60、64、81～111
 、435～449、及び172～233から選択される；若しくは配列番号21～40、
 61～80、112～142、若しくは234～271から選択される；若しくは配列番
 号272～346から選択される；若しくは配列番号1～142、及び172～271か
 ら選択される；若しくは配列番号21～40、61～80、112～142、及び234
 ～346から選択される；若しくは配列番号1～20、24、41～60、64、81～
 111、435～449、172～233、及び272～346から選択される；若しく
 は配列番号1～142、及び172～346から選択される；若しくは配列番号1～2、
 若しくは1～3、若しくは4、若しくは5、若しくは6、若しくは7、若しくは8、若し
 くは9、若しくは10、若しくは11、若しくは12、若しくは13、若しくは14、若
 しくは15、若しくは16、若しくは17、若しくは18、若しくは19、若しくは配列
 番号20～21、若しくは20～22、若しくは23、若しくは24、若しくは25、若
 しくは26、若しくは27、若しくは28、若しくは29、若しくは30、若しくは31

、若しくは32、若しくは33、若しくは34、若しくは35、若しくは36、若しくは37、若しくは38、若しくは39から選択されるアミノ酸配列を有する異なる標的エピトープ；又は配列番号41～80、若しくは配列番号41～60、若しくは配列番号61～80；若しくは配列番号41～42、若しくは41～43、若しくは41～44、若しくは41～45、若しくは41～46、若しくは41～47、若しくは41～48、若しくは41～49、若しくは50、若しくは51、若しくは52、若しくは53、若しくは54、若しくは55、若しくは56、若しくは57、若しくは58、若しくは59、配列番号60～61、若しくは60～62、若しくは60～63、若しくは60～64、若しくは60～65、若しくは60～66、若しくは60～67、若しくは60～68、若しくは60～69、若しくは60～70、若しくは60～71、若しくは60～72、若しくは60～73、若しくは60～74、若しくは60～75、若しくは60～76、若しくは60～77、若しくは60～78、若しくは60～79から選択される異なるアミノ酸配列；配列番号81～142から選択される；若しくは配列番号81～82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、105、106、107、108、109、110、若しくは111から選択される；若しくは配列番号81～105から選択される；若しくは配列番号99、100、92、93、101、103、104、105、及び98から選択される；若しくは配列番号112～142から選択される；若しくは配列番号112～113、114、115、116、117、118、119、120、121、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141若しくは142から選択される；若しくは配列番号112～134から選択される；若しくは配列番号121、124、126、127、130、131、132、133、及び134から選択される；若しくは配列番号1～2、若しくは1～3、若しくは4、若しくは5、若しくは6、若しくは7、若しくは8、若しくは9、若しくは10、若しくは11、若しくは12、若しくは13、若しくは14、若しくは15、若しくは16、若しくは17、若しくは18、若しくは19、若しくは配列番号20～21、若しくは20～22、若しくは23、若しくは24、若しくは25、若しくは26、若しくは27、若しくは28、若しくは29、若しくは30、若しくは31、若しくは32、若しくは33、若しくは34、若しくは35、若しくは36、若しくは37、若しくは38、若しくは39から選択される異なるアミノ酸配列；又は配列番号41～80、若しくは配列番号41～60、若しくは配列番号61～80；若しくは配列番号41～42、若しくは41～43、若しくは41～44、若しくは41～45、若しくは41～46、若しくは41～47、若しくは41～48、若しくは41～49、若しくは50、若しくは51、若しくは52、若しくは53、若しくは54、若しくは55、若しくは56、若しくは57、若しくは58、若しくは59、配列番号60～61、若しくは60～62、若しくは60～63、若しくは60～64、若しくは60～65、若しくは60～66、若しくは60～67、若しくは60～68、若しくは60～69、若しくは60～70、若しくは60～71、若しくは60～72、若しくは60～73、若しくは60～74、若しくは60～75、若しくは60～76、若しくは60～77、若しくは60～78、若しくは60～79から選択される異なるアミノ酸配列；配列番号81～142から選択される；若しくは配列番号81～82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、105、106、107、108、109、110若しくは111から選択される；若しくは配列番号81～105から選択される；若しくは配列番号99、100、92、93、101、103、104、105、及び98から選択される；若しくは配列番号112～142から選択される；若しくは配列番号112～113、114、115、116、117、118、119、120、121、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、若しくは142から選択

される；若しくは配列番号112～134から選択される；若しくは配列番号121、124、126、127、130、131、132、133、及び134から選択される；若しくは配列番号130、121、131、124、134、126から選択される；若しくは配列番号435～449から選択される；若しくは配列番号12、32、19及び/又は39、及び/又は配列番号21、41、23、及び/又は43、及び/又は配列番号172、177、195及び/又は203、及び/又は配列番号1、41及び/又は197、及び/又は配列番号4、44及び/又は201、及び/又は配列番号1、4、44、197及び/又は201、及び/又は配列番号1、41、197、184及び/又は212、及び/又は配列番号3、43及び/又は200、及び/又は配列番号3、43、200、7及び/又は47、及び/又は配列番号10、50及び/又は220、及び/又は配列番号24、64及び/又は202、及び/又は配列番号6、46及び/又は209、及び/又は配列番号182、210、185及び/又は213、及び/又は配列番号14、54、225並びに226、及び/又は配列番号190、218、11、51及び/又は219、及び/又は配列番号12、224及び/又は52、及び/又は配列番号197、227及び/又は228、及び/又は配列番号17、229、230及び/又は57、及び/又は配列番号21、252、61及び/又は253、及び/又は配列番号23、63及び/又は256、及び/又は配列番号21、252、61、253、23、63及び/又は256、及び/又は配列番号237及び/又は238、及び/又は配列番号26及び/又は240、及び/又は配列番号242、244、263及び/又は265、及び/又は配列番号29、69及び/又は259、及び/又は配列番号24、64及び/又は255、及び/又は配列番号236、257及び/又は258、及び/又は配列番号27、67、241及び/又は262、及び/又は配列番号252、249及び/又は264、及び/又は配列番号35、250及び/又は75、及び/又は配列番号252、249、264、35、250及び/又は75、及び/又は配列番号36、266及び/又は76、及び/又は配列番号36、266、76、39及び/又は79、及び/又は配列番号38、268及び/又は78、及び/又は配列番号38、268、78、246及び/又は270、及び/又は配列番号245、269、及び/又は248、及び/又は配列番号245、269、248、40及び/又は80、及び/又は配列番号272、302、281及び/又は311、及び/又は配列番号276、306、300及び/又は330、及び/又は配列番号276、306、289及び/又は319、及び/又は配列番号277、307、283及び/又は313、及び/又は配列番号277、307、290及び/又は320、及び/又は配列番号282、312、297及び/又は327を除くこれらの群の配列の何れかより選択される異なるアミノ酸配列、又は配列番号143～158及び347～351；及び/又は配列番号18、19及び/又は20及び/又は配列番号34～40；及び/又は12%、若しくは13%、若しくは14%、若しくは17.6%、若しくは17.8%、若しくは18%、若しくは20%、若しくは21%、若しくは22%、若しくは22.2%、若しくは24%、若しくは25%、若しくは27%、若しくは28%、若しくは30%、若しくは31%、若しくは31.5%、若しくは32%、若しくは32.5%、若しくは35%未満のN%*B%値を有する表17、20及び/又は23に示されるペプチドに相当する配列番号、の抗原の何れか1つ以上において互いに50～60アミノ酸以内にある、本明細書に開示された配列の任意の他の組み合わせの配列、を含むか又はそれからなる。場合によってはポリペプチドのパネルは、配列番号130、121、131、124、134、126及び/又は配列番号435～449のアミノ酸配列を含む、又はそれらのアミノ酸配列からなる、1個以上のポリペプチドを含む又はそのポリペプチドからなる。

【0059】

場合によって本開示は、任意の2つ以上のペプチドのパネル、又は上記で述べたペプチドの群を提供する。例えばそのパネルは、そのようなペプチドを2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25個以上含んでもよい。場合によってそのパネルは、配列番号9

9、100、92、93、101、103、104、105及び98のアミノ酸配列；又は配列番号121、124、126、127、130、131、132、133及び134のアミノ酸配列の全て若しくは任意の組み合わせを含むか又はそれからなるペプチド、を含むか又はそれからなる。場合によってそのパネルは、配列番号130、121、131、124、134、126及び又は配列番号435～449のアミノ酸配列の全て若しくは任意の組み合わせを含むか又はそれからなるペプチドを含むか又はそれからなる。

【0060】

医薬組成物、治療方法及び投与方法

いくつかの態様において本開示は、有効成分として1つ以上のポリペプチドを有する、上記の医薬組成物、キット又はポリペプチドのパネルに関する。これらは、被験者に対する、免疫応答の誘導、治療、ワクチン接種、又は免疫療法を提供する方法において使用するものでもよく、医薬組成物はワクチン又は免疫療法組成物であってもよい。かかる治療は、1つ以上のポリペプチド又は治療の有効成分のポリペプチドの全てを共に含む医薬組成物を、被験者に投与することを含む。複数のポリペプチド又は医薬組成物を一緒に又は順次投与してもよく、例えば全ての医薬組成物又はポリペプチドを1年、又は6か月、又は3か月、又は60日、又は50日、又は40日、又は30日の期間内に被験者に投与してもよい。

10

【0061】

本明細書で使用される「有効成分 (active ingredient)」との用語は、免疫応答を誘導することを意図するポリペプチドを指し、被験者への投与後にインビボで産生されるワクチン又は免疫療法組成物のポリペプチド産物を含み得る。DNA又はRNAの免疫療法組成物において、ポリペプチドは、組成物が投与された被験者の細胞によりインビボで産生され得る。細胞ベースの組成物において、ポリペプチドは、組成物の細胞、例えば、ポリペプチドでパルスされた (pulsed with)、又はポリペプチドをコードする発現コンストラクトを含む自家の樹状細胞又は抗原提示細胞、によって処理され及び/又は提示され得る。医薬組成物は、1つ以上の有効成分のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド又は細胞を含んでもよい。

20

【0062】

組成物/キットは、任意選択で少なくとも1つの薬学的に許容可能な希釈剤、担体、若しくは保存剤、及び/又は如何なるPEPIも含まない追加のポリペプチドをさらにも含む。ポリペプチドは改変されたものでもあっても、又は非自然発生のものであってもよい。キットは、それぞれが1つ以上の有効成分のペプチドを含む1つ以上の別個の容器を含んでもよい。組成物/キットは、がんなどの個体の疾患を予防、診断、緩和、治療、又は治療するための個別化された医薬であってもよい。

30

【0063】

本明細書に記載の免疫原性若しくは医薬組成物又はキットは、1つ以上の免疫原性ペプチドに加えて、薬学的に許容可能な賦形剤、担体、希釈剤、緩衝剤、安定化剤、保存剤、アジュバント、又は当業者によく知られた他の材料を含んでもよい。かかる材料は、好ましくは非毒性であり、好ましくは有効成分の薬学的活性に干渉しない。薬学的担体又は希釈剤は、例えば、水含有溶液であってもよい。担体又は他の材料の正確な性質は投与経路、例えば、経口、静脈内、皮膚又は皮下、鼻、筋肉内、皮内、及び腹腔内の経路、に依存し得る。

40

【0064】

本開示の医薬組成物は1つ以上の「薬学的に許容可能な担体」を含んでもよい。これらは典型的には、タンパク質、糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、高分子アミノ酸、アミノ酸共重合体、スクロース (Paoletti et al., 2001, Vaccine, 19:2118)、トレハロース (WO 00/56365)、ラクト-ス、及び脂質凝集体 (油滴又はリポソームなど) などの大きく、ゆっくりと代謝される高分子である。かかる担体は、当業者によく知られている。医薬組成物はまた、水、生理食塩水、グリセロール等の希釈剤も含んでもよい。さらに、湿潤剤又は乳化剤、pH緩衝物質などの補助物質が存在してよい。無菌の発熱物質を含ま

50

ないリン酸緩衝生理食塩水は、典型的な担体である (Gennaro, 2000, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition, ISBN:0683306472)。

【 0 0 6 5 】

本開示の医薬組成物は、凍結乾燥されてもよいし、又は水性の形態、即ち溶液又は懸濁液であってもよい。この型の液体製剤は、水性媒体中で再構成する必要なく、組成物をそれらが包装された形態から直接投与することを可能にし、よって注射に理想的である。医薬組成物は、バイアルに入れて提供されてもよく、又は予め充填されたシリンジに入れて提供されてもよい。シリンジは針付きで、又は針なしで供給されてもよい。シリンジは単回投与量を含むが、一方バイアルは単回投与量又は複数回投与量を含み得る。

【 0 0 6 6 】

本開示の液体製剤は、凍結乾燥された形態から他の薬剤を再構成するのにも適している。医薬組成物がそのような即時の再構成のために使用される場合には、本開示は、2つのバイアルを含み得る、又は1つの予め充填されたシリンジ及び1つのバイアルを含み得るキットを提供し、シリンジの内容物は注射の前にバイアルの内容物を再構成するために使用される。

【 0 0 6 7 】

本開示の医薬組成物は、特に複数回投与の形式で包装される場合、抗菌剤を含んでもよい。2 - フェノキシエタノール又はパラベン (メチル、エチル、プロピルパラベン) 等の抗菌剤を使用してもよい。任意の保存剤は、低レベルで存在することが好ましい。保存剤は外から添加されてもよく、及び/又は、混合された組成物を形成するバルク抗原の成分であってもよい (例えば百日咳抗原中に保存剤として存在する)。

【 0 0 6 8 】

本開示の医薬組成物は、洗浄剤、例えば、T w e e n (ポリソルベート)、D M S O (ジメチルスルホキシド)、D M F (ジメチルホルムアミド) を含んでもよい。洗浄剤は一般的には例えば0.01%未満の低レベルで存在するが、例えば0.01~50%のより高いレベルで使用してもよい。

【 0 0 6 9 】

本開示の医薬組成物は、ナトリウム塩 (例えば塩化ナトリウム)、及び (例えばリン酸緩衝液の使用により) 遊離のリン酸イオンを溶液中に含んでもよい。

【 0 0 7 0 】

特定の態様において、医薬組成物は、ペプチドを抗原提示細胞に送達するため、又は安定性を増加させるため、のいずれかのために適切な媒体 (vehicle) 中にカプセル化されてもよい。当業者に理解されるように、本開示の医薬組成物を送達するために様々な媒体が適している。適切に構築された流体送達システムの非限定的な例として、ナノ粒子、リポソーム、マイクロエマルジョン、ミセル、 dendriマー、及び他のリン脂質含有システムが含まれ得る。医薬組成物を送達媒体に組み込む方法は、本技術分野で既知である。

【 0 0 7 1 】

組成物の免疫原性を増加させるために、医薬組成物は1つ以上のアジュバント及び/又はサイトカインを含んでもよい。

【 0 0 7 2 】

適切なアジュバントとして、水酸化アルミニウム又はリン酸アルミニウムなどのアルミニウム塩が挙げられるが、カルシウム、鉄若しくは亜鉛の塩であってもよく、又はアシル化チロシン若しくはアシル化糖の不溶性懸濁液であってもよく、又はカチオン性若しくはアニオン性の誘導体化糖類、ポリホスファゼン、生分解性マイクロスフェア、モノホスホリル脂質 A (M P L)、(例えば毒性が低減された) 脂質 A 誘導体、3 - O - デアセチル化 M P L [3 D - M P L]、クイル (quill) A、サポニン、Q S 2 1、フロイント不完全アジュバント (D i f c o L a b o r a t o r i e s、デトロイト、ミシガン州)、メルクアジュバント 6 5 (M e r c k a n d C o m p a n y , I n c . , ローウェイ、ニュージャージー州)、A S - 2 (S m i t h - K l i n e B e e c h a m、フィラデルフィア、ペンシルバニア州)、C p G オリゴヌクレオチド、生体接着剤及び粘膜接着剤、

10

20

30

40

50

微粒子、リポソーム、ポリオキシエチレンエーテル製剤、ポリオキシエチレンエステル製剤、ムラミルペプチド又はイミダゾキノロン化合物（例えば、イミキモド（imiquamod）及びその同族体）であってもよい。本開示においてアジュバントとしての使用に適しているヒトの免疫調節剤としては、インターロイキン（例えば、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12等）、マクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）、腫瘍壊死因子（TNF）、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）などのサイトカインが挙げられる。

【0073】

いくつかの実施態様において、組成物は、Montanide ISA-51（Sep pic, Inc.、フェアフィールド、ニュージャージー州、アメリカ合衆国）、QS-21（Aquila Biopharmaceuticals, Inc.、レキシントン、マサチューセッツ州、アメリカ合衆国）、GM-CSF、シクロホスファミド（cyclophosphamide）、カルメット-ゲラン桿菌（BCG）、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン（azimezone）、イソプリニゾン（isoprinizone）、ジニトロクロロベンゼン（DNCB）、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）、フロイントアジュバント（完全又は不完全）、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム（Alum）、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素（DT）からなる群から選択されるアジュバントを含む。

【0074】

例としてサイトカインは、TGF- β 及びTGF- α など（ただしこれらに限定されない）のトランスフォーミング増殖因子（TGF）（；インスリン様成長因子-I及び/又はインスリン様成長因子-II；エリスロポエチン（EPO）；骨誘導因子；インターフェロン- α 、 β 、及び γ など（ただしこれらに限定されない）のインターフェロン（IFN）；マクロファージ-CSF（M-CSFなど（ただしこれらに限定されない）のコロニー刺激因子（CSF）；顆粒球-マクロファージ-CSF（GM-CSF）；及び顆粒球-CSF（G-CSF）からなる群から選択されてもよい。いくつかの態様において、サイトカインは、NGF- β などの神経成長因子；血小板成長因子；TGF- β 及びTGF- α など（ただしこれらに限定されない）のトランスフォーミング増殖因子（TGF）；インスリン様成長因子-I及びインスリン様成長因子-II；エリスロポエチン（EPO）；骨誘導因子；（IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ など（ただしこれらに限定されない）のインターフェロン；マクロファージ-CSF（M-CSF）、顆粒球-マクロファージ-CSF（GM-CSF）、及び顆粒球-CSF（G-CSF）などのコロニー刺激因子（CSF）；IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18など（ただしこれらに限定されない）のインターロイキン（IL）；LIF；kitリガント又はFLT-3；アンジオスタチン；トロンボスポンジン；エンドスタチン；腫瘍壊死因子（TNF）；及びLTからなる群から選択される。

【0075】

アジュバント又はサイトカインを、1投与当たり約0.01mg～約10mgの用量で、好ましくは1投与当たり約0.2mgから約5mgの用量で添加され得ると予想される。あるいは、アジュバント又はサイトカインは、約0.01～50%の濃度、好ましくは約2%～30%の濃度であり得る。

【0076】

特定の態様において、本開示の医薬組成物は、既知の技術に従って適切な滅菌条件下で、アジュバント及び/又はサイトカインを本開示のペプチドと物理的に混合することによって調製され、最終生成物が作製される。

【0077】

本発明のポリペプチド断片の適切な組成物及び投与方法の例は、Esseku and Adeyeye (2011)及びVan den Mooter G. (2006)で提供されている。ワクチン及び免疫療法組成物の

10

20

30

40

50

調製は一般的に、Vaccine Designの“The subunit and adjuvant approach” (Powell M. F. & Newman M. J. 編集 (1995) Plenum Press New York)に記載されている。同様に想定されるリポソーム内へのカプセル化は、Fullerton、米国特許4,235,877に記載されている。

【0078】

いくつかの実施態様において、本明細書に開示された組成物は、核酸ワクチンとして調製される。いくつかの実施態様において、核酸ワクチンはDNAワクチンである。いくつかの実施態様において、DNAワクチン又は遺伝子ワクチンは、プロモーター、並びに適切な転写及び翻訳制御要素、並びに1つ以上の本開示のポリペプチドをコードする核酸配列を有するプラスミドを含む。いくつかの実施態様において、プラスミドは、例えば発現レベル、細胞内標的化、又はプロテアソームプロセッシングを強化するための配列も含む。いくつかの実施態様において、DNAワクチンは、本開示の1つ以上のポリペプチドをコードする核酸配列を含むウイルスベクターを含む。追加の態様において、本明細書で開示された組成物は、生体試料と免疫応答性を有すると決定されたペプチドをコードする1つ以上の核酸を含む。例えば、いくつかの実施態様において、組成物は、患者の少なくとも3つのHLAクラスI分子及び/又は少なくとも3つのHLAクラスII分子に結合することができるT細胞エピトープである断片を含む1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20又はそれ以上のペプチドをコードする1つ以上の核酸配列を含む。いくつかの実施態様において、ペプチドは、がんが発現する抗原に由来する。いくつかの実施態様において、DNA又は遺伝子ワクチンは、ワクチンの効果の増強、免疫システムの刺激又は免疫抑制の低減などがもたらされる免疫応答を操作するための免疫調節分子もコードする。DNAワクチン又は遺伝子ワクチンの免疫原性を増強するための戦略として、異種のバージョンの抗原のコード化、抗原のT細胞を活性化又は連合認識 (associative recognition) を引き起こす分子への融合、DNAベクターによるプライミングとそれに続くウイルスベクターによるブースト、及び免疫調節分子の使用が挙げられる。いくつかの実施態様において、DNAワクチンは、数ある形態の中で特に、針、遺伝子銃、エアロゾル注入器により、パッチ (patch) で、マイクロニードルを介して、擦過傷 (abrasion) によって導入される。いくつかの形態において、DNAワクチンはリポソーム又は他の形態のナノボディに組み込まれる。いくつかの実施態様において、DNAワクチンとして、トランスフェクション剤；プロタミン；プロタミンリポソーム；多糖類粒子；カチオン性ナノエマルジョン；カチオン性ポリマー；カチオン性ポリマーリポソーム；カチオン性ナノ粒子；カチオン性脂質及びコレステロールのナノ粒子；カチオン性脂質、コレステロール及びPEGナノ粒子； dendriマナーナノ粒子からなる群から選択される送達システムが挙げられる。いくつかの実施態様において、DNAワクチンは、吸入又は摂取によって投与される。いくつかの実施態様において、DNAワクチンは、血液、胸腺、脾臓、皮膚、筋肉、腫瘍、又は他の部位に導入される。

【0079】

いくつかの実施態様において、本明細書に開示された組成物は、RNAワクチンとして調製される。いくつかの実施態様において、RNAは非複製mRNA、又はウイルス由来の自己増幅RNAである。いくつかの実施態様において、非複製mRNAは、本明細書に開示されたペプチドをコードし、5'及び3'の非翻訳領域 (UTR) を含む。いくつかの実施態様において、ウイルス由来の自己増幅RNAは、本明細書に開示されるペプチドのみならず、細胞内RNA増幅及び豊富なタンパク質発現を可能とするウイルス複製機構もコードする。いくつかの実施態様において、RNAは個体に直接導入される。いくつかの実施態様において、RNAは化学的に合成されるか、又はインビトロで転写される。いくつかの実施態様において、mRNAは、T7、T3、又はSp6ファージRNAポリメラーゼを用いて直鎖状DNA鋳型から作製され、得られる生成物は、本明細書に開示されるペプチドをコードするオープンリーディングフレーム、隣接するUTR、5'キャップ、及びポリ(A)テールを含む。いくつかの実施態様において、ワクシニアウイルスのキ

10

20

30

40

50

ャッピング酵素を用いるか、又は合成キャップ若しくは抗リバーシキャップアナログ (anti-reverse cap analog) を組み込むことにより、転写反応中又はその後、種々のパー
 ジョンの 5' キャップが付加される。いくつかの実施態様において、最適な長さのポリ (A) テールが、コード化 DNA 鋳型から直接又はポリ (A) ポリメラーゼを使用するかの
 いずれかにより、mRNA に付加される。RNA は、患者の少なくとも 3 つの HLA クラ
 ス I 及び / 又は少なくとも 3 つの HLA クラス II 分子に結合することができる T 細胞エ
 ピトープである断片を含む 1 つ以上のペプチドをコードする。いくつかの実施態様におい
 て、断片は、がんが発現する抗原に由来する。いくつかの実施態様において、RNA は、
 安定性及び翻訳を強化するためのシグナルを含む。いくつかの実施態様において、RNA
 は、半減期を増加するための非天然ヌクレオチド、又は免疫刺激プロファイルを変える修
 飾ヌクレオチドも含む。いくつかの実施態様において、RNA は、数ある形態の中で特に
 、針、遺伝子銃、エアロゾル注入器により、パッチ (patch) で、マイクロニードルを介
 して、擦過傷 (abrasion) によって導入される。一部の形態において、RNA ワクチンは、
 RNA の細胞内取り込みを促進し、それを分解から保護するリボソーム又は他の形態の
 ナノボディに組み込まれる。いくつかの実施態様において、RNA ワクチンとして、トラ
 ンスフェクション剤；プロタミン；プロタミンリボソーム；多糖類粒子；カチオン性ナノ
 エマルジョン；カチオン性ポリマー；カチオン性ポリマーリボソーム；カチオン性ナノ粒
 子；カチオン性脂質及びコレステロールナノ粒子；カチオン性脂質、コレステロール及び
 PEG ナノ粒子； dendrimer ナノ粒子；及び / 又は裸の (naked) mRNA；インビボ
 の電位ポレーションによる裸の mRNA；プロタミンと複合体を形成した mRNA
 ；正に荷電した水中油型カチオン性ナノエマルジョンに関連した mRNA；化学修飾され
 た dendrimer に関連し、ポリエチレングリコール (PEG) - 脂質と複合体を形成した
 mRNA；PEG - 脂質ナノ粒子の中でプロタミンと複合体を形成した mRNA；ポリエ
 チレンイミン (PEI) 等のカチオン性ポリマーに関連した mRNA；PEI 及び脂質成
 分等のカチオン性ポリマーに関連した mRNA；多糖類 (例えばキトサン) 粒子又はゲル
 に関連した mRNA；カチオン性脂質ナノ粒子 (例えば、1, 2 - ジオレオイルオキシ -
 3 - トリメチルアンモニウムプロパン (DOTAP) 又はジオレオイルホスファチジルエ
 タノールアミン (DOPE) 脂質) 中の mRNA；カチオン性脂質及びコレステロールと
 複合体を形成した mRNA；又はカチオン性脂質、コレステロール及び PEG - 脂質と複
 合体を形成した mRNA からなる群から選択される送達システムが挙げられる。いくつか
 の実施態様において、RNA ワクチンは、吸入又は摂取によって投与される。いくつかの
 実施態様において、RNA は、血液、胸腺、脾臓、皮膚、筋肉、腫瘍、若しくは他の部位
 に、及び / 又は、皮内、筋肉内、皮下、鼻腔内、節内、静脈内、脾臓内、腫瘍内、若しく
 は他の送達経路により導入される。

10

20

30

40

50

【0080】

ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチド成分は、裸の (naked) ヌクレオチド配列で
 あってもよく、又はカチオン性脂質、ポリマー、若しくは標的化システムと組み合わせ
 てもよい。それらは、任意の利用可能な技術によって送達され得る。例えば、ポリヌクレ
 オチド又はオリゴヌクレオチドは、針注射によって、好ましくは皮内、皮下、又は筋肉内に
 導入され得る。あるいは、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、粒子に媒介され
 る遺伝子送達等の送達装置を使用して、皮膚を横切って直接送達してもよい。ポリヌクレ
 オチド又はオリゴヌクレオチドは、例えば経鼻、経口、又は直腸内投与によって、皮膚、
 又は筋肉表面に局所的に投与してもよい。

【0081】

ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドのコンストラクトの取り込みは、いくつかの
 既知のトランスフェクション技術、例えばトランスフェクション剤の使用を含むもの、に
 より強化されてもよい。これらの薬剤の例として、カチオン性薬剤、例えば、リン酸カル
 シウム、及び DEAE - デキストラン、並びにリポフェクタント、例えばリポフェクタム
 及びトランスフェクタムが挙げられる。投与されるポリヌクレオチド又はオリゴヌクレ
 オチドの投与量は変更することができる。

【0082】

典型的には、投与は「予防的有効量」又は「治療的有効量」（場合によって、予防が治療と見做され得る）であり、これは個体に臨床応答をもたらすか又は臨床的利益、例えば、疾患若しくは状態の発症を予防若しくは遅延、1つ以上の症状の改善、寛解の誘導若しくは延長、又は再燃（relapse）若しくは再発（recurrence）の遅延、を示すのに十分である。

【0083】

投与量は様々なパラメーター、特に使用される物質；治療を受ける個体の年齢、体重、並びに状態；投与の経路；及び必要とされる投与療法、によって決定される。各投与量における抗原の量は、免疫応答を誘導する量として選択される。医師は任意の特定の個体に必要とされる投与経路と投与量を決定することができるであろう。投与量は単回投与量として提供されてもよく、複数回投与量として、例えば規則的な間隔を空けて、例えば1時間に2回、3回、又は4回の投与量とし、提供されてもよい。典型的にはペプチド、ポリヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、粒子に媒介された送達のため、1 pg から 1 mg、より典型的には 1 pg から 10 µg の範囲内で、他の経路のため、1 µg から 1 mg、より典型的には 1 ~ 100 µg、より典型的には 5 ~ 50 µg の範囲内で投与される。一般的には、各投与量は 0.01 ~ 3 mg の抗原を含むと予想される。特定のワクチンについての最適量は、被験者の免疫応答の観察に関する研究によって確認することができる。

10

【0084】

上記の技術とプロトコルの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 第20版, 2000年, 出版 Lippincott, Williams & Wilkinsに見い出すことができる。

20

【0085】

本開示によるいくつかの場合において、複数のペプチド又はペプチドの組成物が投与される。2つ以上の医薬組成物は、一緒に/同時に、及び/又は異なる時間に若しくは順次投与され得る。よって本開示は、医薬組成物のセット及びその使用を含む。異なるペプチド、任意選択で異なる抗原を標的とするペプチド、の組み合わせを使用することは、腫瘍の遺伝的異質性と個体のHLAの異質性の課題を克服するために重要である。本開示のペプチドを組み合わせで使用することは、ワクチン接種から臨床上の利益を受けることができる個体の群を拡大する。ある治療方法に使用するために製造された本開示のペプチドの複数の医薬組成物が製剤を定義し得る。

30

【0086】

投与経路として、経鼻内、経口、皮下、皮内、及び筋肉内が挙げられるが、それらに限定される訳ではない。皮下投与は特に好適である。皮下投与は、例えば、腹部、上腕又は太腿の側面及び前面、背中の肩甲骨領域、又は上部腹背両面の臀部領域への注射であってもよい。

【0087】

本開示の組成物は1回又はそれ以上の投与量で、及び他の投与経路によって投与され得る。例えば、かかる他の経路として、皮内、静脈内、血管内、動脈内、腹腔内、髄腔内、気管内、心臓内、肺葉内（intralobally）、骨髓内、肺内、及び腔内投与が挙げられる。治療を所望する期間に依って、本開示による組成物は、1回又は数回、断続的に、例えば数か月又は数年間、月1回、異なる投与量で投与され得る。

40

【0088】

経口投与のための固体制剤として、カプセル、錠剤、カプレット、丸薬、粉末、ペレット、及び顆粒が挙げられる。かかる固体の剤形において、有効成分は通常、1つ以上の薬学的に許容可能な賦形剤と組み合わせられており、その例を上記で詳述した。経口製剤はまた、水性懸濁液、エリキシル剤、又はシロップとして投与され得る。これらについて、有効成分は様々な甘味剤又は香味剤、着色剤、及び必要に応じて乳化剤及び/又は懸濁剤、並びに水、エタノール、グリセリン、及びそれらの組み合わせ等の希釈剤と組み合わせられてもよい。

50

【 0 0 8 9 】

本開示の1つ以上の組成物を投与してもよく、本開示による治療のための方法及び使用を、単独で又は他の医薬組成物又は治療、例えば化学療法及び/又は免疫療法及び/又はワクチンと組み合わせて行ってもよい。他の治療用組成物又は治療は、例えば本明細書中で議論したものの1つ以上であってもよく、本開示の組成物又は治療と同時に又は順次（前又は後）のいずれかで投与してもよい。

【 0 0 9 0 】

場合によっては、チェックポイント阻害療法、共刺激抗体、化学療法、及び/又は放射線療法、標的療法、又はモノクローナル抗体療法と組み合わせて治療を行ってもよい。化学療法は、ワクチン接種により誘導される腫瘍特異的な細胞傷害性T細胞によって殺傷される腫瘍を感作することが実証されている（Ramakrishnan et al. J Clin Invest. 2010; 120(4):1111-1124）。チェックポイント阻害剤の例は、CTLA-4阻害剤、イピリムマブ、及びプログラム細胞死-1/プログラム細胞死リガンド-1（PD-1/PD-L1）シグナル伝達阻害剤、ニボルマブ（Nivolumab）、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、及びデュルバルマブである。化学療法剤の例として、メクロレタミン（NH₂）、シクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン（L-サルコリシン）、及びクロラムブシルなどのナイトロジェンマスタードを含むアルキル化剤；アントラサイクリン；エポチロン；カルムスチン（BCNU）、ロムスチン（CCNU）、セムスチン（メチル-CCNU）、及びストレプトゾシン（ストレプトゾトシン）などのニトロソウレア；ダカルバジン（decarbazine）（DTIC；ジメチルトリアゼノイミダゾール-カルボキサミド）などのトリアゼン；ヘキサメチルメラニン、チオテパなどのエチレンイミン/メチルメラミン；ブスルファンなどのスルホン酸アルキル；メトトレキサート（アメトプテリン）などの葉酸類似体を含む代謝拮抗剤；アルキル化剤、代謝拮抗剤、フルオロウラシル（5-フルオロウラシル；5-FU）、フロキシウリジン（フルオロデオキシウリジン；FdR）及びシタラピン（シトシンアラビノシド）などのピリミジン類似体；メルカプトプリン（6-メルカプトプリン；6-MP）、チオグアニン（6-チオグアニン；TG）及びペントスタチン（2'-デオキシコホルマイシン）などのプリン類似体及び関連阻害剤；エピドフィロトキシン；L-アスパラギナーゼなどの酵素；INF、IL-2、G-CSF、及びGM-CSFなどの生物学的応答調節物質；シスプラチン（cis-DDP）、オキサリプラチン及びカルボプラチンなどの白金配位錯体；ミトキサントロン及びアントラサイクリンなどのアントラセンジオン；ヒドロキシ尿素などの置換尿素；プロカルバジン（N-メチルヒドラジン、MIH）及びプロカルバジンを含むメチルヒドラジン誘導體；ミトタン（o,p'-DDD）及びアミノグルテチミド等の副腎皮質抑制剤；タキソール及び類似体/誘導體；プレドニゾン及び同等物、デキサメタゾン及びアミノグルテチミドなどのアドレノコルチコステロイド拮抗薬、カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン及び酢酸メゲストロールなどのプロゲステン、ジエチルスチルベストロール及びエチニルエストラジオール同等物などのエストロゲン、タモキシフェンなどの抗エストロゲン剤、プロピオン酸テストステロン及びフルオキシメステロン/同等物を含むアンドロゲン、フルタミド、ゴナドトロピン関連ホルモン類似体及びロイプロリドなどの抗アンドロゲン、及びフルタミド等の非ステロイド抗アンドロゲン剤を含むホルモン並びにアゴニスト/アンタゴニスト；ビンブラスチン（VLB）及びビンクリスチンなどのピンカルカロイド、エトポシド及びテニポシドなどのエピドフィロトキシン、ダクチノマイシン（アクチノマイシンC）、ダウノルピシン（ダウノマイシン；ルピドマイシン）、ドキシソルピシン、プレオマイシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びマイトマイシン（マイトマイシンD）などの抗生物質；L-アスパラギナーゼなどの酵素、及びインターフェロンアルフェノンなどの生物学的応答調節物質を含む天然物が挙げられる。

【 0 0 9 1 】

場合によって本治療方法は、ワクチン接種の方法又は免疫療法を提供する方法である。本明細書で使用される「免疫療法」は、個体の免疫応答を誘導又は増強することによる、

10

20

30

40

50

疾患又は状態の予防又は治療である。特定の実施態様において、免疫療法は、個体に1つ以上の薬物を投与してT細胞応答を誘発することを含む療法を指す。特定の態様において、免疫療法は、1つ以上のPEPIを含むポリペプチドの個体への投与又は発現により、クラスI HLAと併せてそれらの細胞表面上に1つ以上のPEPIを提示する細胞を認識して殺傷するT細胞応答を誘発することを含む療法を指す。他の特定の実施態様において、免疫療法は、1つ以上のPEPIを個体に投与して、それらの細胞表面上に1つ以上のPEPIを含む腫瘍関連抗原(TAA)又はがん精巢抗原(CTA)を提示する細胞に対する細胞傷害性T細胞応答を誘発することを含む療法を指す。他の実施態様において、免疫療法は、クラスII HLAにより提示される1つ以上のPEPIを含むポリペプチドの個体への投与又は発現により、Tヘルパー応答を誘発して、クラスI HLAと併せてそれらの細胞表面上に1つ以上のPEPIを提示する罹患細胞を認識して殺傷する細胞傷害性T細胞に共刺激を提供することを含む療法を指す。さらなる他の特定の実施態様において、免疫療法は、1つ以上の薬物の個体への投与により既存のT細胞を再活性化して標的細胞を殺傷することを含む療法を指す。理論は、細胞傷害性T細胞応答が1つ以上のPEPIを提示する細胞を除去し、それによって個体の臨床的状态を改善するというものである。場合によっては、免疫療法は腫瘍を治療するために用いられ得る。他の例では免疫療法は、細胞内病原体に基づく疾患又は障害を治療するために用いられ得る。

10

【0092】

場合によって本開示は、がんの治療又は固形腫瘍の治療に関する。場合によって治療は、乳がん、卵巣がん、又は結腸直腸がんの治療である。他の場合にはその治療は、本明細書に述べられた本ペプチドの標的腫瘍関連抗原を発現する任意の他のがん又は固形腫瘍、又はかかる標的ポリペプチド抗原が被験者の幾らかの又は高いパーセンテージで発現している任意のがんの治療であってもよい。治療は、任意の細胞、組織、又は器官の型のがん又は悪性若しくは良性腫瘍のものであってもよい。がんは転移性であっても、転移性でなくてもよい。例示的ながんとして、がん腫、肉腫、リンパ腫、白血病、胚細胞腫瘍、又は芽細胞腫が挙げられる。がんはホルモンに関連若しくは依存するがん(例えば、エストロゲン又はアンドロゲン関連のがん)であってもなくてもよい。

20

【0093】

ポリペプチドと患者の選択

特定のポリペプチド抗原、特に、ワクチン接種及び免疫療法で一般的に使用されている、かかる抗原に由来する短いペプチドは、ごく一部のヒト被験者においてのみ免疫応答を誘導する。本開示のポリペプチドは、一般集団の高い割合において免疫応答を誘導するように特に選択されるが、HLA遺伝子型の不均一性のために、それらは全ての個体に有効ではない可能性がある。HLA遺伝子型集団の不均一性は、本明細書に記載のワクチンに対する免疫応答率又は臨床応答率が異なるヒトの亜集団間で異なるであろうことを意味する。場合によって本明細書に記載のワクチンは、特定の又は標的の亜集団、例えばアジア人の集団、又はベトナム人、中国人、及び/又は日本人の集団を治療するために使用される。

30

【0094】

本開示はまた、本開示のペプチドを含む医薬組成物の投与に対する細胞傷害性T細胞応答を示すであろう可能性が高いヒト被験者(予想される応答者)を同定する方法、及び被験者が細胞傷害性T細胞応答を示すであろう可能性を予測する方法を提供する。

40

【0095】

本明細書で提供されるように、被験者の複数のHLAによるT細胞エピトープの提示は、通常はT細胞応答を引き起こすために必要である。本発明者らによって決定されたように、所与のポリペプチドに対する細胞傷害性T細胞応答を最良の予測因子は、被験者の3つ以上のHLAクラスIにより提示される少なくとも1つのT細胞エピトープの存在である(1 PEPI3+)。従って、被験者の少なくとも3つのHLAに結合することができる1つ以上のT細胞エピトープの、医薬組成物の有効成分のペプチド内での存在は、医薬組成物の投与に対して細胞傷害性T細胞応答を示す被験者を予測する。該被験者は免

50

疫応答者である可能性が高い。

【0096】

場合によって、被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープは、配列番号1~40、又は配列番号1~40、172~194、234~250、及び272~301のいずれか1つアミノ酸配列を有する。他の場合には、T細胞エピトープは、医薬組成物の1つ以上のペプチド内に異なるアミノ酸配列を有してもよい。

【0097】

本発明者らはさらに、個体の少なくとも3つのHLAに結合することができる少なくとも2つのエピトープの、ワクチン又は免疫療法組成物中での存在が、臨床応答を予測することを発見した。言い換えれば、個体がワクチン又は免疫療法組成物の有効成分のポリペプチド内に合計で2つ以上のPEPI3+を有し、これらのPEPI3+が該個体で実際に発現する抗原配列に由来する場合（例えば、該個体の標的腫瘍細胞が、標的腫瘍関連抗原を発現する場合）には、該個体は臨床応答者（すなわち、臨床的に関連する免疫応答者）である可能性が高い。

10

【0098】

従って本開示の幾つかの態様は、本開示に従った治療方法に対して臨床応答を示すであろう被験者を同定する方法、又は被験者が臨床応答を示すであろう可能性を予測する方法に関連する。本明細書で使用される「臨床応答」又は「臨床的利益（clinical benefit）」とは、疾患若しくは状態の発症の予防若しくは遅延、1つ以上の症状の改善、寛解の誘導若しくは延長、又は再燃（relapse）若しくは再発（recurrence）若しくは悪化の遅延、又は被験者の疾患状態における任意の他の改善若しくは安定化であり得る。適切な場合には「臨床応答」は、固形腫瘍における応答評価基準（Response Evaluation Criteria In Solid Tumors）（RECIST）ガイドラインで定義された「疾患の制御」又は「客観的応答」と相関関係を有し得る。

20

【0099】

態様によって本方法は、SPAG9、AKAP-4、BORIS、NY-SAR-35、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、PRAME、MAGE-A9、HOM-TES-85、TSP50、EpCAM、CAGE1、FBXO39、MAGE-A8、及びMAGE-A6から選択される1つ以上のがん関連抗原が、がんにより発現されていると決定することを含む。例えばがん関連抗原の発現は、本技術分野で既知の方法を使用して、被験者から得た試料、例えば腫瘍生検の中で検出されてもよい。

30

【0100】

本発明者らは、ワクチン又は免疫療法組成物が、患者のがん又は腫瘍細胞により発現される抗原を標的とすること、及び抗原の標的配列が患者のHLAクラスIに結合できること（HLA拘束性エピトープ）だけでは不十分であることを発見した。本組成物は、標的抗原を発現し、該標的抗原の単一のT細胞エピトープに結合する3つ以上のHLAクラスIを有することの両方である患者においてのみ有効である可能性が高い。さらに上記のように、患者の少なくとも3つのHLAに結合する少なくとも2つのエピトープは、一般的に、臨床的に関連する免疫応答を誘導するために必要とされる。

40

【0101】

よって本方法は、医薬組成物の有効成分のペプチドが、それぞれa)上記のように決定された、被験者のがん細胞により発現されるがん関連抗原の断片であり；及びb)該被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープ、である2つ以上の異なるアミノ酸配列を含むことを決定することをさらに含む。

【0102】

場合によっては、被験者の少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープは、配列番号1~40、又は配列番号1~40、172~194、234~250、及び272~301のいずれか1つのアミノ酸配列を有する。他の場合には、T細胞エピトープは、医薬組成物の1つ以上のペプチド内に異なるアミノ酸配列を有して

50

もよい。

【 0 1 0 3 】

場合によっては、被験者が、本明細書に記載したようなペプチドワクチン又は免疫療法組成物に対して臨床応答を示すであろう可能性を、被験者のがん又は腫瘍細胞で標的抗原が発現するかどうかを知ることなく、及び/又は被験者のHLAクラスI遺伝子型を決定することなく、決定することができる。疾患における既知の抗原発現頻度（例えば、乳がん又は結腸直腸がんのような腫瘍の種類でのMAGE-A3）、及び/又は標的集団中の被験者のHLAクラスIとクラスII遺伝子型についての既知の頻度（例えば、民族集団、一般集団、罹患集団）を代わりに使用してもよい。さらに、本明細書で同定及び説明したように、疾患において複数の頻度で発現する標的抗原中の、集団全体で最も高い頻度で提示されたPEPI（最良PEPI）を標的とするペプチドを組み合わせることにより、患者の高い割合で有効であるがんワクチンレジーム（regime）を設計することが可能である。しかしながら、本明細書に記載のコンパニオン診断法を用いて、臨床応答を示す可能性が最も高い患者を予め選択することは、治療される患者の臨床応答率を増加させるであろう。

10

【 0 1 0 4 】

(i) 有効成分のポリペプチド中のより多数のHLA結合PEPIの存在；(ii) より多くの標的ポリペプチド抗原中のPEPIの存在；及び(iii) 被験者において又は該被験者の罹患細胞における標的ポリペプチド抗原の発現によって、被験者が治療に応答するであろう可能性は増加する。場合によっては、例えば、標的ポリペプチド抗原が被験者から得られた試料中に存在する場合、該被験者における標的ポリペプチド抗原の発現は既知であってもよい。他の場合には、特定の被験者、又は特定の被験者の罹患細胞が、特定の標的ポリペプチド抗原又はその任意の組み合わせを（過剰）発現する確率は、集団発現頻度データ（population expression frequency data）、例えば乳がん、結腸直腸がん、卵巣がんの中に抗原が発現する確率を用いて決定してもよい。集団発現頻度データは、被験者 - 及び/又は疾患に適合した集団又は治療意図集団（intent-to-treat population）に関連し得る。例えば、特定のがん（例えば乳がん）における、又は特定のがんを有する被験者における、特定のがん関連抗原の発現の頻度又は確率は、腫瘍（例えば乳がんの腫瘍試料）中の抗原を検出することによって決定することができる。場合によってはかかる発現頻度を、公開された数値と科学論文から決定してもよい。場合によっては本開示の方法は、関連する集団における関連する標的ポリペプチド抗原の発現頻度を決定する工程を含む。

20

30

【 0 1 0 5 】

個々のヒト被験者及びヒト被験者の集団におけるワクチンの活性/効果を予測する様々な薬力学的バイオマーカーが開示されている。これらのバイオマーカーは、より効果的なワクチンの開発を促進し、開発費用も削減し、様々な組成物を評価及び比較するために使用できる。バイオマーカーの例は下記の通りである。

【 0 1 0 6 】

・AG95 - ワクチンの効力：特定の腫瘍型が95%の確率で発現するがんワクチンにおける抗原の数。AG95はワクチンの効力の指標であり、ワクチン抗原の免疫原性には依存しない。AG95は腫瘍抗原発現率のデータから計算される。かかるデータは、論文審査がある（peer reviewed）科学雑誌に公表された実験から取得できる。技術的には、AG95はワクチン中の抗原の二項分布から決定され、可能性がある全ての変動と発現率を考慮に入れる。

40

【 0 1 0 7 】

・PEPI3 + カウント - 被験者におけるワクチンの免疫原性：ワクチンに由来するPEPI3 + は、被験者の少なくとも3つのHLAに結合し、T細胞応答を誘導する個人用（personal）エピトープである。PEPI3 + は、完全な4桁の（4-digit）HLA遺伝子型が知られている被験者においてPEPI3 + 試験を使用して決定できる。

【 0 1 0 8 】

50

・ A P カウント - 被験者におけるワクチンの抗原性： P E P I 3 + を有するワクチン抗原の数。ワクチンは罹患細胞により発現される標的ポリペプチド抗原に由来する配列を含む。 A P カウントは、 P E P I 3 + を含むワクチン中の抗原の数であり、 A P カウントは、被験者で T 細胞応答を誘導できるワクチン中の抗原の数を表す。 A P カウントは、被験者の H L A 遺伝子型に依存し、被験者の疾患、年齢、及び薬物には依存しないため、被験者のワクチン抗原特異的な T 細胞応答を特徴付ける。正しい値は、 0 (抗原により P E P I が提示されない) と抗原の最大数 (すべての抗原が P E P I を提示する) との間である。

【 0 1 0 9 】

・ A P 5 0 - 集団内のワクチンの抗原性：集団内の P E P I を有するワクチン抗原の平均数。 A P 5 0 は、集団内の被験者の H L A 遺伝子型に依存するため、所定の集団内のワクチン - 抗原特異的な T 細胞応答を特徴付けに適している。

10

【 0 1 1 0 】

・ A G P カウント - 被験者におけるワクチンの有効性： P E P I を用いて腫瘍で発現するワクチン抗原の数である。 A G P カウントは、ワクチンが認識し、それに対する T 細胞応答を誘導する (標的に命中する) 腫瘍抗原の数を示す。 A G P カウントは、被験者の腫瘍におけるワクチン - 抗原発現率と、被験者の H L A 遺伝子型に依存する。正しい値は、 0 (発現した抗原により P E P I が提示されない) と抗原の最大数 (すべての抗原が発現して P E P I を提示する) との間である。

【 0 1 1 1 】

・ A G P 5 0 - 集団におけるがんワクチンの有効性：集団内の P E P I で示された腫瘍で発現するワクチン抗原 (即ち、 A G P) の平均数。 A G P 5 0 は、ワクチンにより誘導された T 細胞応答が認識できる腫瘍抗原の平均数を示す。 A G P 5 0 は、示された腫瘍型における抗原の発現率と、標的集団における抗原の免疫原性に依存している。 A G P 5 0 は、異なる集団におけるワクチンの有効性を評価することができ、同じ集団における異なるワクチンを比較するために使用できる。 A G P 5 0 の計算は、発現されたワクチン抗原に対して被験者における P E P I 3 + の出現により発現が重み付けられることを除いて、 A G 5 0 に使用されるものと類似している。各被験者が各ワクチン抗原に由来する P E P I を有する理論上の集団においては、 A G P 5 0 は A G 5 0 と等しくなる。被験者が如何なるワクチン抗原に由来する P E P I も有さない他の理論上の集団においては、 A G P 5 0 は 0 になる。一般的には下記の記載が有効である： 0 A G P 5 0 A G 5 0 。

20

30

【 0 1 1 2 】

・ m A G P - 可能性の高い応答者を選択するためのバイオマーカー候補：がんワクチンが、示された腫瘍で発現した複数の抗原に対する T 細胞応答を誘導する可能性。 m A G P は、腫瘍内のワクチン抗原の発現率、及び被験者におけるワクチン由来 P E P I の存在から計算される。技術的には A G P 分布に基づいて、 m A G P は複数の A G P (2 つ以上の A G P) の確率の合計である。

【 0 1 1 3 】

上記の予測の結果を、被験者の治療に関する医師の決定を知らせるために使用してもよい。従って、場合によって本開示の方法は、被験者が、本明細書に記載の治療に対する T 細胞応答及び / 又は臨床応答を示すこと、又は示す可能性が高いことを予測し、本方法は該ヒト被験者のための治療を選択することをさらに含む。場合によっては、標的ポリペプチド抗原 (任意選択でその標的ポリペプチド抗原が発現する (発現すると予測される)) の予め規定された数で標的化された被験者の応答の可能性が、予め決定された閾値を上回っている場合には、治療のために被験者が選択される。場合によっては、標的ポリペプチド抗原又はエピトープの数は 2 である。場合によっては、標的ポリペプチド抗原又はエピトープの数は、 3、又は 4、又は 5、又は 6、又は 7、又は 8、又は 9、又は 10 である。本方法は、ヒト被験者に治療を施すことをさらに含んでもよい。あるいは、本方法は、被験者が免疫応答及び / 又は臨床応答を示さないことを予測し得、該被験者のための異なる治療を選択することをさらに含み得る。

40

50

【 0 1 1 4 】

本開示のさらなる態様 - (1)

1 . 1 つ以上のペプチドを含む医薬組成物であって、各ペプチドは、配列番号 1 1 2 ~ 1 4 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【 0 1 1 5 】

2 . 2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、又は 6 つ以上のペプチドを含む、項 1 の医薬組成物。

【 0 1 1 6 】

3 . 2 つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号 1 2 1 と 1 2 4 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 1 の医薬組成物。

10

【 0 1 1 7 】

4 . 4 つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号 1 2 6 、 1 3 0 、 1 3 1 、 及び 1 3 4 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 1 の医薬組成物。

【 0 1 1 8 】

5 . 6 つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号 1 2 1 、 1 2 4 、 1 2 6 、 1 3 0 、 1 3 1 、 及び 1 3 4 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 1 の医薬組成物。

【 0 1 1 9 】

6 . T S P 5 0 、 E p C A M 、 S P A G 9 、 C A G E 1 、 F B X O 3 9 、 S U R V I V I N 、 M A G E - A 8 、 及び M A G E - A 6 から選択される抗原の断片を含む、少なくとも 1 つの追加ペプチドをさらに含む、項 5 の医薬組成物。

20

【 0 1 2 0 】

7 . 1 つ以上の追加ペプチドを含み、その 1 つ以上の追加ペプチドはそれぞれ、配列番号 1 1 2 ~ 1 2 0 、 1 2 2 、 1 2 3 、 1 2 5 、 1 2 7 ~ 1 2 9 、 1 3 2 、 1 3 3 、 及び 1 3 5 ~ 1 4 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 5 の医薬組成物。

【 0 1 2 1 】

8 . 薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項 1 の医薬組成物。

【 0 1 2 2 】

9 . アジュバントが、M o n t a n i d e I S A - 5 1 、 Q S - 2 1 、 G M - C S F 、 シクロホスファミド (cyclophosphamide) 、 カルメット - ゲラン桿菌 (B C G) 、 コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン (azimezone) 、 イソプリニゾン (isoprinosone) 、 ジニトロクロロベンゼン (D N C B) 、 キーホールリンペットヘモシアニン (K L H) 、 フロイントアジュバント (完全) 、 フロイントアジュバント (不完全) 、 ミネラルゲル、水酸化アルミニウム (A l u m) 、 リソレシチン、ブルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素 (D T) 、 及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項 8 の医薬組成物。

30

【 0 1 2 3 】

1 0 . 1 つ以上のペプチドをコードする 1 つ以上の核酸分子を含み、各ペプチドは、配列番号 1 1 2 ~ 1 4 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【 0 1 2 4 】

40

1 1 . 項 1 の医薬組成物の投与に対して臨床応答を示す可能性が高いであろう、がんを有するヒト被験者を同定及び治療する方法であって、該方法は、

(i) 該被験者の生体試料をアッセイして、該被験者の H L A 遺伝子型を決定する工程 ;

(i i) 該医薬組成物が、該被験者の少なくとも 3 つの H L A クラス I 分子に結合することができる T 細胞エピトープである 2 つ以上の配列を含むと決定する工程 ;

(i i i) 各抗原について集団発現データ (population expression data) を使用して、該被験者の腫瘍が、工程 (i i) で同定された T 細胞エピトープに対応する 1 つ以上の抗原を発現する確率を決定し、該被験者が該医薬組成物の投与に対して臨床応答を示す可能性を同定する工程 ; 及び

(i v) 項 1 の組成物を同定された被験者に投与する工程、

50

を含む方法。

【0125】

12．被験者が結腸直腸がんを有する、項11の方法。

【0126】

13．医薬組成物が、2つ以上のペプチド、3つ以上のペプチド、4つ以上のペプチド、5つ以上のペプチド、又は6つ以上のペプチドを含む、項11の方法。

【0127】

14．医薬組成物が2つのペプチドを含み、各ペプチドが、配列番号121と124のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項11の方法。

【0128】

15．医薬組成物が4つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号126、130、131、及び134のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項11の方法。

【0129】

16．医薬組成物が6つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号121、124、126、130、131、及び134のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項11の方法。

【0130】

17．医薬組成物が、TSP50、EpCAM、SPAG9、CAGE1、FBXO39、SURVIVIN、MAGE-A8、及びMAGE-A6から選択される抗原の断片を含む、少なくとも1つの追加ペプチドをさらに含む、項11の方法。

【0131】

18．医薬組成物が1つ以上の追加ペプチドをさらに含み、その1つ以上の追加ペプチドはそれぞれ、配列番号112～120、122、123、125、127～129、132、133、及び135～142のいずれか1つのアミノ酸配列の異なる1つを含む、項11の方法。

【0132】

19．医薬組成物が薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項11の方法。

【0133】

20．アジュバントが、Montanide ISA-51、QS-21、GM-CSF、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン(azimezone)、イソプリニゾン(isoprinisone)、ジニトロクロロベンゼン(DNCB)、キーホールリンペットヘモシアン(KLH)、フロイントアジュバント(完全)、フロイントアジュバント(不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム(Alum)、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素(DT)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項19の方法。

【0134】

21．化学療法剤、チェックポイント阻害剤、標的療法、放射線療法、他の免疫療法、又はそれらの組み合わせを、同定された被験者に投与する工程をさらに含む、項11の方法。

【0135】

22．投与工程の前に、
 (i) 被験者に由来する腫瘍試料をアッセイして、医薬組成物の3つ以上のペプチドが2つ以上の異なるアミノ酸配列を含むと決定する工程であって、各アミノ酸配列は、
 a．工程(i)で決定されたように、該被験者のがん細胞により発現されたがん関連抗原の断片である、及び
 b．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである、
 である、決定する工程；及び

10

20

30

40

50

(i i) 該被験者は、該治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いと確認する工程、をさらに含む、項 1 3 の方法。

【 0 1 3 6 】

本開示のさらなる態様 - (2)

乳がん

1 . 1 つ以上のペプチドを含む医薬組成物であって、各ペプチドは、配列番号 8 1 ~ 1 1 1 及び 4 3 5 ~ 4 4 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【 0 1 3 7 】

2 . 2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、6 つ以上のペプチド、7 つ以上のペプチド、8 つ以上のペプチド、9 つ以上のペプチド、1 0 個以上のペプチド、1 1 個以上のペプチド、又は 1 2 個以上のペプチドを含む、項 1 の医薬組成物。

10

【 0 1 3 8 】

3 . 9 つのペプチドを含み、各ペプチドは、配列番号 9 2、9 3、9 8、9 9 ~ 1 0 1、及び 1 0 3 ~ 1 0 5 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 1 の医薬組成物。

【 0 1 3 9 】

4 . P I W I L - 2、A K A P - 4、E p C A M、B O R I S、H I W I、S P A G 9、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、S P 1 7、R H O X F - 2、P R A M E、N Y - S A R - 3 5、M A G E - A 9、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、H O M - T E S - 8 5、及び N Y - E S O - 1 から選択される抗原の断片を含む、少なくとも 1 つの追加ペプチドをさらに含む、項 1 の医薬組成物。

20

【 0 1 4 0 】

5 . 抗原の断片が、配列番号 1 ~ 2 0、2 4、及び 1 7 2 ~ 1 9 4 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、項 4 の医薬組成物。

【 0 1 4 1 】

6 . 抗原の断片が、配列番号 4 1 ~ 6 0、及び 1 9 5 ~ 2 3 3 のいずれか 1 つから選択させるアミノ酸配列を含む、項 4 の医薬組成物。

【 0 1 4 2 】

7 . 薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項 1 の医薬組成物。

30

【 0 1 4 3 】

8 . アジュバントが、各アミノ酸配列は、M o n t a n i d e I S A - 5 1、Q S - 2 1、G M - C S F、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、カルメット - ゲラン桿菌 (B C G)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン (azimezone)、イソプリニゾン (isoprinesone)、ジニトロクロロベンゼン (D N C B)、キーホールリンペットヘモシアニン (K L H)、フロイントアジュバント (完全)、フロイントアジュバント (不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム (A l u m)、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素 (D T)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項 7 の医薬組成物。

40

【 0 1 4 4 】

9 . 1 つ以上のペプチドをコードする 1 つ以上の核酸分子を含み、各ペプチドは、配列番号 8 1 ~ 1 1 1 及び 4 3 5 ~ 4 4 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【 0 1 4 5 】

1 0 . 1 つ以上の核酸分子が、2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、6 つ以上のペプチド、7 つ以上のペプチド、8 つ以上のペプチド、9 つ以上のペプチド、1 0 個以上のペプチド、1 1 個以上のペプチド、又は 1 2 個以上のペプチドをコードする、項 9 の医薬組成物。

【 0 1 4 6 】

50

11. 1つ以上の核酸分子が9つのペプチドをコードし、各ペプチドが、配列番号92、93、98、99～101、及び103～105のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項9の医薬組成物。

【0147】

12. 1つ以上の核酸分子が、PIWIL-2、AKAP-4、EpCAM、BORIS、HIWI、SPAG9、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、RHOXF-2、PRAME、NY-SAR-35、MAGE-A9、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、HOM-TES-85、及びNY-ESO-1から選択される抗原の断片を含む、少なくとも1つの追加ペプチドをコードする、項9の医薬組成物。

10

【0148】

13. 抗原の断片が、配列番号1～20、24、及び172～194のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、項12の医薬組成物。

【0149】

14. 抗原の断片が、配列番号41～60、及び195～233のいずれか1つから選択させるアミノ酸配列を含む、項12の医薬組成物。

【0150】

15. 薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項9の医薬組成物。

【0151】

16. アジュバントが、Montanide ISA-51、QS-21、GM-CSF、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン(azimezone)、イソプリニゾン(isoprinisone)、ジニトロクロロベンゼン(DNCB)、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)、フロイントアジュバント(完全)、フロイントアジュバント(不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム(Alum)、リソレシチン、ブルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素(DT)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項15の医薬組成物。

20

【0152】

17. 項1の医薬組成物の投与に対して臨床応答を示す可能性が高いであろう、がんを有するヒト被験者を同定及び治療する方法であって、

30

(i) 該被験者の生体試料をアッセイして、該被験者のHLA遺伝子型を決定する工程；

(ii) 該医薬組成物が、該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである2つ以上の配列を含む、と決定する工程；

(iii) 各抗原についての集団発現データ(population expression data)を用いて、被験者の腫瘍が、工程(ii)で同定されたT細胞エピトープに対応する1つ以上の抗原を発現する確率を決定し、該被験者が該医薬組成物の投与に対して臨床応答を示す可能性を同定する工程；及び

(iv) 項1の組成物を同定された被験者に投与する工程、を含む方法。

40

【0153】

18. 被験者が乳がんを有する、項17の方法。

【0154】

19. 医薬組成物が2つ以上のペプチド、3つ以上のペプチド、4つ以上のペプチド、5つ以上のペプチド、6つ以上のペプチド、7つ以上のペプチド、8つ以上のペプチド、9つ以上のペプチド、10個以上のペプチド、11個以上のペプチド、又は12個以上のペプチドを含む、項17の方法。

【0155】

20. 医薬組成物が9つのペプチドを含み、各ペプチドが、配列番号92、93、98、99～101、及び103～105のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項17の方法

50

。

【0156】

21. 医薬組成物が、PIWIL-2、AKAP-4、EpCAM、BORIS、HIWI、SPAG9、PLU-1、TSGA10、ODF-4、SP17、RHOXF-2、PRAME、NY-SAR-35、MAGE-A9、NY-BR-1、SURVIVIN、MAGE-A11、HOM-TES-85、及びNY-ESO-1から選択される抗原の断片を含む、少なくとも1つの追加ペプチドをさらに含む、項17の方法。

【0157】

22. 抗原の断片が、配列番号1~20、24、及び172~194のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、項21の方法。

10

【0158】

23. 抗原の断片が、配列番号41~60、及び195~233のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、項21の方法。

【0159】

24. 医薬組成物が薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項17の方法。

【0160】

25. アジュバントが、Montanide ISA-51、QS-21、GM-CSF、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン(azimezone)、イソプリニゾン(isoprinisone)、ジニトロクロロベンゼン(DNCB)、キーホールリンペットヘモシアン(KLH)、フロイントアジュバント(完全)、フロイントアジュバント(不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム(Alum)、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素(DT)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項24の方法。

20

【0161】

26. 化学療法剤、チェックポイント阻害剤、標的療法、放射線療法、他の免疫療法、又はそれらの組み合わせを同定された被験者に投与する工程をさらに含む、項17の方法

。

【0162】

27. 投与工程の前に、

(iii) 被験者に由来する腫瘍試料をアッセイして、医薬組成物の3つ以上のペプチドが、2つ以上の異なるアミノ酸配列を含むと決定する工程であって、各アミノ酸配列は、

a. 工程(i)で決定されたように、該被験者のがん細胞により発現されたがん関連抗原の断片である、及び

b. 該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである；及び

(iv) 該被験者は、該治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いと確認する工程、をさらに含む、項17の方法。

30

【0163】

28. 項1の医薬組成物の投与に対して、免疫応答を示す可能性が高いであろう、がんを有するヒト被験者を同定及び治療する方法であって、

(i) 該被験者の生体試料をアッセイして、該被験者のHLA遺伝子型を決定する工程；

(ii) 医薬組成物が、該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである1つ以上の配列を含むと決定する工程；及び

(iii) 項1の組成物を同定された被験者に投与する工程、

を含む方法。

40

【0164】

29. a. 1つ以上のペプチドを含む第1の医薬組成物であって、各ペプチドが、配列番号81~111及び435~449のいずれか1つのアミノ酸配列の異なる1つを含む

50

第 1 の医薬組成物；及び

b . 1 つ以上のペプチドを含む第 2 の異なる医薬組成物であって、各ペプチドが、配列番号 8 1 ~ 1 1 1 及び 4 3 5 ~ 4 4 9 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む第 2 の異なる医薬組成物、を含むキット。

【 0 1 6 5 】

3 0 . 2 つ以上のポリペプチドを発現する核酸分子を含む医薬組成物であって、各ポリペプチドは、P I W I L - 2、A K A P - 4、E p C A M、B O R I S、H I W I、S P A G 9、P L U - 1、T S G A 1 0、O D F - 4、S P 1 7、R H O X F - 2、P R A M E、N Y - S A R - 3 5、M A G E - A 9、N Y - B R - 1、S U R V I V I N、M A G E - A 1 1、H O M - T E S - 8 5、及び N Y - E S O - 1 から選択される抗原の最大 5 0 個の連続するアミノ酸の断片を含み、各断片が、配列番号 1 ~ 2 0、2 4、及び 1 7 2 ~ 1 9 4 のいずれか 1 つから選択される異なるアミノ酸配列を含む、医薬組成物。

10

【 0 1 6 6 】

3 1 . 1 つ以上のペプチドを含む医薬組成物であって、各ペプチドが配列番号 3 3 2 ~ 3 4 6 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【 0 1 6 7 】

3 2 . 2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、6 つ以上のペプチド、7 つ以上のペプチド、8 つ以上のペプチド、9 つ以上のペプチド、1 0 個以上のペプチド、1 1 個以上のペプチド、1 2 個以上のペプチド、1 3 個以上のペプチド、1 4 個以上のペプチド、又は 1 5 個以上のペプチドを含む、項 3 1 の医薬組成物。

20

【 0 1 6 8 】

3 3 . 1 5 個のペプチドを含み、各ペプチドが配列番号 3 3 2 ~ 3 4 6 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 3 1 の医薬組成物。

【 0 1 6 9 】

3 4 . P I W I L - 4、W T 1、E p C A M、B O R I S、A K A P - 4、O Y - T E S - 1、S P 1 7、P I W I L - 2、P I W I L - 3、S P A G 9、P R A M E、H I W I、S U R V I V I N、及び A K A P - 3 から選択される抗原の断片を含む、少なくとも 1 つの追加のペプチドをさらに含む、項 3 1 の医薬組成物。

30

【 0 1 7 0 】

3 5 . 該断片が配列番号 2 7 2 ~ 3 0 1 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、項 3 4 の医薬組成物。

【 0 1 7 1 】

3 6 . 該断片が配列番号 3 0 2 ~ 3 3 1 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、項 3 4 の医薬組成物。

【 0 1 7 2 】

3 7 . 薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項 3 1 の医薬組成物。

【 0 1 7 3 】

3 8 . アジュバントが、M o n t a n i d e I S A - 5 1、Q S - 2 1、G M - C S F、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、カルメット - ゲラン桿菌 (B C G)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン (azimezone)、イソプリニゾン (isoprinisone)、ジニトロクロロベンゼン (D N C B)、キーホールリンペットヘモシアニン (K L H)、フロイントアジュバント (完全)、フロイントアジュバント (不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム (A l u m)、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素 (D T)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項 3 7 の医薬組成物。

40

【 0 1 7 4 】

3 9 . 1 つ以上のペプチドをコードする 1 つ以上の核酸分子を含み、各ペプチドが、配

50

列番号 332 ~ 346 のいずれか 1 つのアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、医薬組成物。

【0175】

40. 1 つ以上の核酸分子が、2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、6 つ以上のペプチド、7 つ以上のペプチド、8 つ以上のペプチド、9 つ以上のペプチド、10 個以上のペプチド、11 個以上のペプチド、12 個以上のペプチド、13 個以上のペプチド、14 個以上のペプチド、又は 15 個以上のペプチドをコードする、項 39 の医薬組成物。

【0176】

41. 1 つ以上の核酸分子が 15 個のペプチドをコードし、各ペプチドが配列番号 332 ~ 346 のアミノ酸配列の異なる 1 つを含む、項 39 の医薬組成物。

10

【0177】

42. 1 つ以上の核酸分子が、PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TESS-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及び AKAP-3 から選択される抗原の断片を含む、少なくとも 1 つの追加のペプチドをコードする、項 39 の医薬組成物。

【0178】

43. 該断片が、配列番号 272 ~ 301 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、項 42 の医薬組成物。

【0179】

44. 該断片が、配列番号 302 ~ 331 のいずれか 1 つから選択されるアミノ酸配列を含む、項 42 の医薬組成物。

20

【0180】

45. 薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項 39 の医薬組成物。

【0181】

46. アジュバントが、Montanide ISA-51、QS-21、GM-CSF、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、カルメット-ゲラン桿菌 (BCG)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン (azimezone)、イソプリニゾン (isoprinosone)、ジニトロクロロベンゼン (DNCB)、キーホールリンペットヘモシアニン (KLH)、フロイントアジュバント (完全)、フロイントアジュバント (不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム (Alum)、リソレシチン、ブルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素 (DT)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項 45 の医薬組成物。

30

【0182】

47. 項 28 の医薬組成物の投与に対して、臨床応答を示す可能性が高いであろう、がんを有するヒト被験者を同定及び治療する方法であって、

(i) 該被験者の生体試料をアッセイして、該被験者の HLA 遺伝子型を決定する工程；

(ii) 該医薬組成物が、該被験者の少なくとも 3 つの HLA クラス I 分子に結合することができる T 細胞エピトープである 2 つ以上の配列を含む、と決定する工程；

(iii) 各抗原についての集団発現データ (population expression data) を用いて、該被験者の腫瘍が、工程 (ii) で同定された T 細胞エピトープに対応する 1 つ以上の抗原を発現する確率を決定し、該被験者が該医薬組成物の投与に対して臨床応答を示す可能性を同定する工程；及び

40

(iv) 項 28 の組成物を同定された被験者に投与する工程、を含む方法。

【0183】

48. 該被験者が卵巣がんを有する、項 47 の方法。

【0184】

49. 医薬組成物が、2 つ以上のペプチド、3 つ以上のペプチド、4 つ以上のペプチド、5 つ以上のペプチド、6 つ以上のペプチド、7 つ以上のペプチド、8 つ以上のペプチド

50

、9つ以上のペプチド、10個以上のペプチド、11個以上のペプチド、12個以上のペプチド、13個以上のペプチド、14個以上のペプチド、又は15個以上のペプチドを含む、項47の方法。

【0185】

50．医薬組成物が15個のペプチドを含み、各ペプチドが配列番号332～346のアミノ酸配列の異なる1つを含む、項47の方法。

【0186】

51．医薬組成物が、PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OY-TES-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3から選択される抗原の断片を含む、少なくとも1つの追加のペプチドをさらに含む、項47の方法。

10

【0187】

52．該断片が、配列番号272～301のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、項51の方法。

【0188】

53．該断片が、配列番号302～331のいずれか1つから選択されるアミノ酸配列を含む、項51の方法。

【0189】

54．薬学的に許容可能なアジュバント、希釈剤、担体、保存剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、項47の方法。

20

【0190】

55．アジュバントが、Montanide ISA-51、QS-21、GM-CSF、シクロホスファミド(cyclophosphamide)、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)、コリネバクテリウム・パルバム、レバミソール、アジメゾン(azimezone)、イソプリニゾン(isoprinisone)、ジニトロクロロベンゼン(DNCB)、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)、フロイントアジュバント(完全)、フロイントアジュバント(不完全)、ミネラルゲル、水酸化アルミニウム(Alum)、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、油乳剤、ジニトロフェノール、ジフテリア毒素(DT)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、項54の方法。

【0191】

56．化学療法剤、チェックポイント阻害剤、標的療法、放射線療法、他の免疫療法、又はそれらの組み合わせを、同定された被験者に投与する工程をさらに含む、項47の方法。

30

【0192】

57．投与工程の前に、

被験者に由来する腫瘍試料をアッセイして、医薬組成物の3つ以上のペプチドが2つ以上の異なるアミノ酸配列を含むと決定する工程であって、各アミノ酸配列は、

a．工程(i)で決定されたように、該被験者のがん細胞により発現されるがん関連抗原の断片である、及び

b．該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである；及び

40

該被験者は、該治療方法に対して臨床応答を示す可能性が高いと確認する工程、をさらに含む、項47の方法。

【0193】

58．項31の医薬組成物の投与に対して、免疫応答を示す可能性が高いであろう、がんを有するヒト被験者を同定及び治療する方法であって、

(i)該被験者の生体試料をアッセイして、該被験者のHLA遺伝子型を決定する工程；

(ii)該医薬組成物が、該被験者の少なくとも3つのHLAクラスI分子に結合することができるT細胞エピトープである1つ以上の配列を含むと決定する工程；及び

(iii)項31の組成物を同定された被験者に投与する工程、

50

を含む方法。

【0194】

59. a. 1つ以上のペプチドを含む第1の医薬組成物であって、各ペプチドが、配列番号332~346のいずれか1つのアミノ酸配列の異なる1つを含む第1の医薬組成物；及び

b. 1つ以上のペプチドを含む第2の異なる医薬組成物であって、各ペプチドが、配列番号332~346のいずれか1つのアミノ酸配列の異なる1つを含む第2の異なる医薬組成物、を含むキット。

【0195】

60. 2つ以上のポリペプチドを発現する核酸分子を含む医薬組成物であって、各ポリペプチドが、PIWIL-4、WT1、EpCAM、BORIS、AKAP-4、OYTES-1、SP17、PIWIL-2、PIWIL-3、SPAG9、PRAME、HIWI、SURVIVIN、及びAKAP-3から選択される抗原の最大50個の連続するアミノ酸の断片を含み、

各断片は、配列番号272~301のいずれか1つから選択される異なるアミノ酸配列を含む、医薬組成物。

【実施例】

【0196】

実施例1 HLA-エピトープ結合の予測プロセスと検証

特定のHLAとエピトープ(9merのペプチド)との間の予測された結合は、エピトープ予測のための免疫エピトープデータベースのツール(www.iedb.org)に基づいている。

【0197】

HLA I-エピト-プの結合の予測プロセスを、実験室での実験により決定されたHLA I-エピト-プ対との比較により検証した。データセットは、論文審査がある刊行物又は公共の免疫学的データベースで報告されたHLA I-エピト-プ対に従った。

【0198】

実験的に決定したデータセットとの一致の割合を決定した(表2)。データセットの結合HLA I-エピト-プ対は、93%の確率で正しく予測された。偶然にも、非結合HLA I-エピト-プ対も93%の確率で正しく予測された。

【0199】

【表2】

表2 HLA-エピトープ結合予測プロセスの解析的特異度及び感度

HLA-エピトープ対	真のエピトープ (n=327) (バインダーマッチ)	偽のエピトープ (n=100) (非バインダーマッチ)
HIV	91% (32)	82% (14)
ウイルス	100% (35)	100% (11)
腫瘍	90% (172)	94% (32)
その他 (真菌、細菌等)	100% (65)	95% (36)
全体	93% (304)	93% (93)

【0200】

複数のHLA結合エピトープの予測の正確度を測定した。真陽性及び真陰性の両者の予

10

20

30

40

50

測についての93%の確率と、偽陽性及び偽陰性の予測についての7% (= 100% - 93%)の確率を使用した解析の特異度及び感度に基づいて、ヒトにおける複数のHLA結合エピトープの存在確率を計算することができる。エピトープに複数のHLAが結合する確率は、エピトープに結合するHLAの数と実際の結合の予測された最小数の関係を示す。PEPIの定義ごとに、3はエピトープに結合するHLAの予測最小数である(太字)。

【0201】

【表3】

表3 複数のHLA結合エピトープ予測の正確度

実際のHLA結合の予測最小数	エピトープに結合するHLAの予測数						
	0	1	2	3	4	5	6
1	35%	95%	100%	100%	100%	100%	100%
2	6%	29%	90%	99%	100%	100%	100%
3	1%	4%	22%	84%	98%	100%	100%
4	0%	0%	2%	16%	78%	96%	99%
5	0%	0%	0%	1%	10%	71%	94%
6	0%	0%	0%	0%	0%	5%	65%

10

20

【0202】

検証されたHLA-エピトープ結合予測プロセスを使用して、以下の実施例で記載の全てのHLA-エピトープ結合対を決定した。

【0203】

実施例2 複数のHLAによるエピトープ提示は、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答を予測する

個体の1つ以上のHLA Iによるポリペプチド抗原の1つ以上のエピトープの提示は、CTL応答が予測されることを決定した。

30

【0204】

研究を、71人のがん患者と9人のHIV感染患者について行われた、6件の臨床試験の遡及的解析により行った(表4)¹⁻⁷。これらの研究の患者を、HPVワクチン、3つの異なるNY-ESO-1特異的ながんワクチン、1つのHIV-1ワクチン、及びメラノーマ患者でNY-ESO-1抗原に対するCTLを再活性化することが示されたCTLA-4特異的なモノクローナル抗体(イピリムマブ)で治療した。これらの臨床試験の全てにおいて、ワクチン接種後の研究被験者で抗原特異的なCD8+CTL応答(免疫原性)を測定した。場合によっては、CTL応答と臨床応答の相関関係が報告された。

40

【0205】

データの入手可能性以外の如何なる理由でも、遡及研究から患者を除外しなかった。157の患者データセット(表4)を標準的な乱数発生器で無作為化し、訓練と評価研究のための2つの独立したコーホートを作成した。場合によってコーホートは、同じ患者からの複数のデータセットを含み、48人の患者からの76のデータセットの訓練コーホートと、51人の患者からの81のデータセットの試験/検証コーホートをもたらした。

【0206】

【表4】

表4 患者のデータセットの概要

臨床試験	免疫療法	標的抗原	疾患	患者数*	データセット数 (抗原数 × 患者数)	臨床試験で行われた免疫アッセイ**	HLA遺伝子型決定法	参考文献
1	VGX-3100	HPV16-E6 HPV16-E7 HPV18-E6 HPV18-E7 HPV16/18	子宮頸がん	17/18	5 x 17	IFN- γ ELISPOT	高分解能SBT	1
2	HIVIS ワクチン	HIV-1 Gag HIV-1 RT	エイズ	9/12	2 x 9	IFN- γ ELISPOT	低-中分解能SSO	2
3	rNY-ESO-1	NY-ESO-1	乳がん、 卵巣がん、 メラノーマと肉腫	18/18	1 x 18	インビボ 及びエク スビボの IFN- γ ELISPOT	高分解能SBT	3 4
4	イピリムマブ	NY-ESO-1	転移性メラノーマ	19/20	1 x 19	T細胞刺激後のICS	低-中分解能タイピング、ゲノムDNAのSSP、高分解能配列決定	5
5	NY-ESO-1f	NY-ESO-1 (91-110)	食道がん、 非小細胞肺がん、 及び胃がん	10/10	1 x 10	T細胞刺激後のICS	SSOプロービング及びゲノムDNAのSSP	6
6	NY-ESO-1 重複ペプチド	NY-ESO-1 (79-173)	食道がん 及び肺がん、 悪性メラノーマ	7/9	1 x 7	T細胞刺激後のICS	SSOプロービング及びゲノムDNAのSSP	7
合計	6	7		80	157	N/A		

*臨床試験の元来の患者数から適切的解析で使用した患者の数

**免疫アッセイは、抗原特異的なペプチドプールによるT細胞の刺激に基づいており、種々の技術で放出されたサイトカインを定量化する。

CT: 臨床試験; SBT: 配列に基づいたタイピング; SSO: 配列特異的なオリゴヌクレオチド; ICS: 細胞内サイトカイン染色; SSP: 配列特異的なプライミング

【0207】

訓練データセットの報告されたCTL応答を、ワクチン抗原のエピトープ(9mer)のHLA I拘束プロファイル(HLA I restriction profile)と比較した。各患者の抗原配列及びHLA I遺伝子型を、公開されたタンパク質配列のデータベース又は論文審査がある刊行物から取得し、HLA I-エピトープ結合の予測プロセスを、患者の臨床CTL応答データに対して盲検とした。各患者の少なくとも1つ(PEPI1+)、又は少なくとも2つ(PEPI2+)、又は少なくとも3つ(PEPI3+)、又は少なくとも4つ(PEPI4+)、又は少なくとも5つ(PEPI5+)、又は全6つ(PEPI6)のHLAクラスI分子に結合すると予測される各抗原由来のエピトープの数を決定し、結合したHLAの数を報告されたCTL応答についての分類指標(classifier)として使用した。真の陽性率(感度)と真の陰性率(特異度)を、各分類指標(HLA結合の数)についての訓練データセットから個別に決定した。

【0208】

各分類指標に対してROC解析を行った。ROC曲線において、真の陽性率（感度）を、種々のカットオフポイントについて、偽陽性率（1 - 特異度）の関数としてプロットした（図1）。ROC曲線の各ポイントは、特定の決定閾値（エプトープ（PEPI）カウント）に対応する感度/特異度の対を表す。ROC曲線の下領域（AUC）を、分類指標が2つの診断群（CTL応答者又は非応答者）をいかに良く区別できるかの基準である。

【0209】

分析により、被験者の複数のクラスI HLAによる予測されるエプトープ提示（PEPI2+、PEPI3+、PEPI4+、PEPI5+、又はPEPI6）は、いずれも場合にも、単に1つのみ又は複数のHLAクラスIによるエプトープ提示よりも、より良好な予測指標であることが明らかとなった（PEPI1+、AUC = 0.48、表5）。

10

【0210】

【表5】

表5 ROC解析によるPEPIバイオマーカーの診断値の決定

分類指標	AUC
PEPI1+	0.48
PEPI2+	0.51
PEPI3+	0.65
PEPI4+	0.52
PEPI5+	0.5
PEPI6+	0.5

20

【0211】

個体のCTL応答は、個体の少なくとも3つのHLAクラスIにより提示され得る抗原のエプトープを考慮することによって、最も良く予測された（PEPI3+、AUC = 0.65、表5）。陽性のCTL応答を最も良く予測したPEPI3+の閾値カウント（個体の3つ以上のHLAにより提示される抗原特異的なエプトープの数）は1であった（表6）。言い換えれば、少なくとも1つの抗原由来のエプトープが、被験者の少なくとも3つのHLAクラスIにより提示され（1 PEPI3+）、次いで該抗原は少なくとも1つのCTLクローンを引き起こし、そして該被験者はCTL応答者である可能性が高い。1以上のPEPI3+の閾値を使用して、可能性の高いCTL応答者を予測することにより（「1 PEPI3+ 試験」）、76%の診断感度が提供された（表12）。

30

【0212】

【表6】

表6 訓練データセットにおける可能性の高いCTL応答者を予測するための1以上のPEPI3+の閾値の決定

	PEPI3+カウント											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
感度:	0.76	0.60	0.3	0.26	0.14	0.02	0	0	0	0	0	0
1-特異度:	0.59	0.24	0.2	0.15	0.09	0.06	0.06	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

40

【0213】

50

実施例 3 1 以上の P E P I 3 + 試験の検証

51人の患者からの81のデータセットの試験コーホートを使用して、抗原特異的なCTL応答を予測するための1以上のPEPI3+の閾値を検証した。試験コーホートの各データセットについて、1以上のPEPI3+閾値が満たされるかどうかを決定した(個体の少なくとも3つのクラスIHLAにより提示される、少なくとも1つの抗原由来エピトープ)。これを、臨床試験から報告された実験的に決定したCTL応答と比較した(表7)。

【0214】

臨床的検証により、PEPI3+ペプチドは、個体においてCTL応答を84%の確率で誘導することが実証された。84%は、PEPI3+予測の解析検証で決定されたのと同じ値であり、個体の少なくとも3つのHLAに結合するエピトープである(表3)。これらのデータは、個体においてPEPIにより免疫応答が誘導されるという強力な証拠を提供する。

【0215】

【表7】

表7 1以上のPEPI3+試験の診断の性能特性 (n=81)

性能特性	説明	結果
陽性的中率 (positive predictive value; PPV)	100% $[A / (A + B)]$ 1以上のPEPI3+の閾値を満たす個体が、免疫療法による治療後の抗原特異的なCTL応答を示す可能性	84%
感度	100% $[A / (A + C)]$ 1以上のPEPI3+の閾値を満たし、免疫療法による治療後の抗原特異的なCTL応答を示す被験者の割合	75%
特異度	100% $[D / (B + D)]$ 1以上のPEPI3+の閾値を満たさず、免疫療法による治療後の抗原特異的なCTL応答を示さない被験者の割合	55%
陰性的中率 (NPV)	100% $[D / (C + D)]$ 1以上のPEPI3+の閾値を満たさない個体が、免疫療法による治療後に抗原特異的なCTL応答を示さない可能性	42%
全体一致率 (Overall percent agreement : OPA)	100% $[(A + D) / N]$ 陽性か陰性かにかかわらず、実験的に決定された結果と合致する1以上のPEPI3+の閾値に基づく予測のパーセンテージ	70%
フィッシャーの正確確率 (p)		0.01

【0216】

PEPI3+カウントをカットオフ値として使用して、ROC解析は診断の正確度を決定した(図2)。AUC値は0.73であった。ROC解析では、0.7~0.8のAUCが一般的に公正な診断であると考えられる。

【0217】

少なくとも1のPEPI3+のカウント(1PEPI3+)は、試験データセットにおいてCTL応答を最もよく予測した(表8)。この結果により、訓練中に決定された閾値が確認された(表5)。

【0218】

【表 8】

表8 試験/検証データセットにおいて可能性の高いCTL応答者を予測するための、1以上のPEPI3+の閾値の確認

	PEPI3+カウント											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
感度:	0.75	0.52	0.26	0.23	0.15	0.13	0.08	0.05	0	0	0	0
1-特異度:	0.45	0.15	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0

10

【0219】

実施例4 1以上のPEPI3+試験はCD8+CTL応答性を予測する

1以上のPEPI3+試験を、ペプチド抗原に対する特定のヒト被験者のCTL応答を予測するために以前報告された方法と比較した。

【0220】

2つの異なる臨床試験でHPV-16合成ロングペプチドワクチン(LPV)を投与された28人の子宮頸がん及びVIN-3の患者のHLA遺伝子型を、DNA試料から決定した^{8 8 9 10}。LPVは、HPV-16ウイルスの腫瘍性タンパク質E6とE7を覆うロングペプチドからなる。これらの刊行物からLPVのアミノ酸配列を取得した。刊行物は、ワクチンの重複ペプチドのプールに対する各ワクチン接種した患者のT細胞応答も報告している。

20

【0221】

各患者について、少なくとも3つの患者のクラスI HLA (PEPI3+)により提示されたLPVのエピトープ(9mer)を同定し、ペプチドプール間のそれらの分布を決定した。少なくとも1つのPEPI3+(1PEPI3+)を含むペプチドは、CTL応答を誘導すると予測された。PEPI3+を含まないペプチドは、CTL応答を誘導しないと予測された。

【0222】

1以上のPEPI3+試験は、ワクチン接種後に測定された512の陰性CTL応答のうち489を正しく予測し、40の陽性CTL応答のうち8を正しく予測した(図3A)。全体として、1以上のPEPI3+試験と実験的に決定されたCD8+T細胞応答の応答性との一致は90%であった($p < 0.001$)。

30

【0223】

各患者について、少なくとも1つの患者のクラスI HLA (1PEPI1+、HLA拘束性エピトープの予測、先行技術の方法)により提示されたエピトープのペプチドプール間の分布も決定した。1PEPI1+は、ワクチン接種後に測定された512の陰性CTL応答のうち116を正しく予測し、40の陽性CTL応答のうち37を正しく予測した(図3B)。全体として、HLA拘束性エピトープの予測(1PEPI1+)及びCD8+T細胞応答性との一致は28%であった(有意差なし)。

40

【0224】

実施例5 HLAクラスII拘束性CD4+ヘルパーT細胞エピトープの予測

2つの異なる臨床試験(実施例4で詳しく述べた)でHPV-16合成ロングペプチドワクチン(LPV)を投与された、28人の子宮頸がんとVIN-3患者のLPVワクチン接種後のCD4+Tヘルパー応答について調査した。最新のツールは107のうち84の陽性応答(ヒトのDP対立遺伝子についてのペプチドプールに対する陽性CD4+T細胞応答性)を予測したため(感度=78%)、HLAクラスII拘束性エピトープの予測の感度は78%であった。31のうち7の陰性応答を除外できるため、特異度は22%であった。全体として、HLA拘束性クラスIIエピトープ予測とCD4+T細胞応答性と

50

の一致は66%であり、統計学的に有意ではなかった。

【0225】

実施例6

1以上のPEPI3+試験は全長LPVポリペプチドに対するT細胞応答を予測する

実施例4及び5で報告したのと同じ試験を使用して、1以上のPEPI3+試験を用いて、LPVワクチンの全長E6及びE7ポリペプチド抗原に対する患者のCD8+及びCD4+のT細胞応答を予測した。結果を、実験的に決定された応答と比較し、報告した。試験は、陽性のCD8+T細胞応答性の試験結果を示す15人のVIN-3患者のうち、11人のCD8+T細胞応答性(PEPI3+) (感度73%、PPV85%)と、5人の子宮頸がん患者のうち2人のCD8+T細胞応答性を正しく予測した(感度40%、PPV100%)。CD4+T細胞の応答性は(PEPI4+)、VIN-3及び子宮頸がんの患者の両方で100%正しく予測された(図5)。

10

【0226】

クラスI及びクラスIIのHLA拘束性PEPI3+カウントが、LVPのワクチン接種された患者に対する報告された臨床的利益と相関することも観察された。より高いPEPI3+カウントを示す患者は、3か月には既に完全な又は部分的な応答の何れかを示した。

【0227】

実施例7 事例研究

pGX3001は、リンカーを間に挟んだ全長E6及びE7抗原を含むHPV16ベースのDNAワクチンである。pGX3002は、リンカーを間に挟んだ全長E6及びE7抗原を含むHPV18ベースのDNAワクチンである。フェーズIIの臨床試験では、pGX3001とpGX3002の両方のワクチンを接種した(VGX-3100ワクチン接種)¹子宮頸がんを有する17人のHPV感染患者のT細胞応答を調査した。

20

【0228】

図5~図6は、2人の例示的な患者(患者12-11及び患者14-5)について、2つのHPV-16及び2つのHPV-18抗原の全長配列内に、これらの患者の少なくとも1つ(PEPI1+)、少なくとも2つ(PEPI2+)、少なくとも3つ(PEPI3+)、少なくとも4つ(PEPI4+)、少なくとも5つ(PEPI5+)、又は全6つ(PEPI6)のクラスIHLAによって提示された各エピープ(9mer)の位置を示す。

30

【0229】

患者12-11は混合ワクチンについて、全体で54のPEPI1+カウントを示した(1つ以上のクラスIHLAにより提示された54つのエピープ)。患者14-5は91のPEPI1+カウントを示した。よって患者14-5は4つのHPV抗原に関して、患者12-11よりも高いPEPI1+カウントを示す。PEPI1+は、患者12-11及び14-5の異なるワクチン抗原特異的なHLA拘束性エピープセットを表す。これら2人の患者の間で27つのPEPI1+のみが共通していた。

【0230】

PEPI3+カウント(3つ以上の患者のクラスIHLAによって提示されたエピープの数)の場合、患者12-11及び14-5の結果は逆転した。患者12-11が示すPEPI3+カウントは8であり、4つのHPV16/18抗原のそれぞれに少なくとも1つのPEPI3+が含まれていた。患者14-5が示すPEPI3+カウントは0であった。

40

【0231】

これら2人の患者の報告された免疫応答は、PEPI1+カウントではなく、PEPI3+カウントと一致した。患者12-11は、ELISpotにより測定されたように、ワクチン接種後に4つの抗原のそれぞれに対する免疫応答を発生させ、一方、患者14-5はワクチンの4つの抗原の何れに対しても免疫応答を発生させなかった。試験における17人の患者全てのPEPI1+及びPEPI3+のセットを比較した場合、類似したパ

50

ターンが観察された。PEPI1+カウントと、臨床試験から報告された実験的に決定されたT細胞応答の間に相関関係は無かった。しかし、1以上のPEPI3+試験により予測されたT細胞免疫と、報告されたT細胞免疫との間には相関関係が観察された。1以上のPEPI3+試験は、HPV DNAワクチンに対する免疫応答者を予測した。

【0232】

さらに、患者のPEPI3+セットの多様性は、がんワクチンの試験で通常見られるT細胞応答の多様性に類似していた。患者12-3及び12-6は、患者14-5と類似し、HPVワクチンがT細胞免疫を引き起こすことができないと予測するPEPI3+を有していなかった。他の全ての患者は、HPVワクチンがT細胞免疫を引き起こすことができる可能性を予測する少なくとも1つのPEPI3+を有していた。11人の患者は、HPVワクチンがポリクローン性のT細胞応答を引き起こす可能性が高いと予測する複数のPEPI3+を有していた。患者15-2及び15-3は、両方のHPVのE6に対するより高いT細胞免疫を開始することができたが、E7に対する免疫は低かった。他の患者である15-1及び12-11は、それぞれHPV18及びHPV16のE7に対して同じ大きさの応答を示した。

【0233】

実施例8 インシリコ試験を実施して大規模集団の正確なワクチン標的の候補を同定するためのモデル集団の設計

完全な4桁(digit)のHLAクラスI遺伝子型(2xHLA-A*x*x;x*x;2xHLA-B*x*x;x*x;2xHLA-C*x*x;x*x)及び人口統計情報(demographic information)を有する433人の被験者のインシリコヒト試験コーホートを実施した。このモデル集団は、現在知られている対立遺伝子G群の85%超を代表する合計152の異なるHLA対立遺伝子を有する、民族が混合した被験者を有する。

【0234】

4桁のHLA遺伝子型と人口統計情報で特徴付けられる7189人の被験者を含む「大集団(Big Population)」のデータベースも確立した。大集団は328の異なるHLAクラスI対立遺伝子を有する。モデル集団のHLA対立遺伝子の分布は、大集団と有意に関連していた(表9)(ピアソンp<0.001)。よって、433人の患者モデル集団は、16倍大きな集団を代表している。

【0235】

モデル集団は、HLAの多様性及びHLAの頻度により与えられる人類の85%を代表している。

【0236】

【表9】

表9 「モデル集団」対「大集団」におけるHLA分布の統計学的な解析

群名1	群名2	ピアソンR値	相関関係	P値
433人のモデル集団	7189人の大集団	0.89	強い	P<0.001

【0237】

実施例9 複数のHLA結合エピトープの同定に基づくインシリコ試験は、報告された臨床試験のT細胞応答率を予測する

この研究の目的は、実施例8に記載したようなモデル集団を、ワクチンのCTL応答率を予測するのに使用(例えば、インシリコ有効性試験で使用)できるかどうかを決定することであった。

【0238】

被験者の亜集団でT細胞応答を誘導したがん抗原に由来する12のペプチドワクチンを、論文審査がある刊行物から同定した。これらのペプチドは、合計で172人の患者(4つの民族)を登録した臨床試験で調査されている。ワクチンペプチドによって誘導された

10

20

30

40

50

T細胞応答は、血液検体から決定され、報告されている。臨床試験で測定された陽性のT細胞応答を示す研究対象のパーセントとしての免疫応答率を決定した(図7)。

【0239】

【表10】

表10 ペプチドワクチンで実施された臨床試験

ペプチドワクチン	抗原起源	ペプチド長	T細胞アッセイ	集団 (pop.) (n)	民族	参考文献
MMNLMQPKTQQTYTYD	JUP	16mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
GRGSTTTNYLLDRDDYRNTSD	ADA17	21mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
LKKGADGGKLDGNAKLNRSK	BAP31	22mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
FPPKDDHTLKFLYDDNQRPYPP	TOP2A	22mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
RYRKPDYTLDDGHLLRFKST	Abl-2	21mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
QRPPFSQLHRFLADALNT	DDR1	18mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
ALDQCKTSCALMQHYDQTSFSSP	ITGB8	25mer	マルチマー染色	18	カナダ人	¹²
STAPPAHGVTAPDTRPAPGSTAPP	MUC-1	25mer	増殖	80	カナダ人	¹³
YLEPGPVTA	gp100	9mer	テトラマー	18	US	¹⁴
MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVV	MUC-1	21mer	細胞傷害性	10	イスラエル人	¹⁵
SSKALQRPV	Bcr-Abl	9mer	ELISPOT	4	US	¹⁶
RMFPNAPYL	WT-1	9mer	マルチマー染色	24	US	¹⁷
RMFPNAPYL (HLA-A*0201)	WT-1	9mer	サイトカイン染色	18	CEU	¹⁸

10

20

30

40

【0240】

実施例8に記載のモデル集団の433人の各被験者において、1以上のPEPI3+試験で、12のペプチドを調査した。各ペプチドの「1以上のPEPI3+スコア」は、被験者に特異的な少なくとも3つのHLAクラスI(1以上のPEPI3+)に結合できる少なくとも1つのワクチン由来のエピトープを有するモデル集団の被験者割合として計算された。対応する臨床試験が患者をHLA対立遺伝子で選択した集団について階層化した場合、モデル集団もまた、それぞれの対立遺伝子を有する被験者についてフィルタリングされた(filtered)(例えば:WT1、HLA-A*0201)。

【0241】

50

試験から報告された実験的に決定された応答率を、1以上のPEPI3+スコアと比較した。対となるデータに基づき全体一致率(OPA)を計算した(表11)。1以上のPEPI3+スコアと応答率の間に線形相関関係が観察された($R^2 = 0.77$)(図7)。この結果は、個体の複数のHLAに結合すると予測されたペプチドの同定は、臨床試験の結果をインシリコで予測するのに有用であることを示している。

【0242】

【表11】

表11 12のペプチドワクチンの1以上のPEPI3+スコアとCTL応答率の比較

ペプチドワクチン	抗原起源	応答率 (臨床試験)	≥ 1 PEPI3+の スコア* (モデル集団)	OPA
MMNMQPKTQQTYTYD	JUP	0%	22%	NA
GRGSTTTNYLLDRDDYRNTSD	ADA17	11%	18%	61%
LKKGAAADGGKLDGNAKLNRSK	BAP31	11%	7%	64%
FPPKDDHTLKFYDDNQRPYPP	TOP2A	11%	39%	28%
RYRKPDYTLDDGHLLRFKST	Abl-2	17%	12%	71%
QRPPFSQLHRFLDALNT	DDR1	17%	5%	29%
ALDQCKTSCALMQQHYDQTSCFSSP	ITGB8	28%	31%	90%
STAPPAHGVTAPDTRPAPGSTAPP	MUC-1	20%	2%	10%
YLEPGPVTA	gp100	28%	4%	14%
MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVV	MUC-1	90%	95%	95%
SSKALQRPV	Bcr-Abl	0%	0%	100%
RMFPNAPYL	WT-1	100%	78%	78%
RMFPNAPYL (HLA-A*0201)	WT-1	81%	61%	75%

*PEPI3由来のワクチンが1以上のモデル集団における被験者の割合(%)

【0243】

実施例10 複数のHLA結合エピトープの同定に基づくインシリコ試験は、臨床試験Iの報告されたT細胞応答率を予測する

ペプチド又はDNAベースのワクチンで実施された、公表された免疫応答率(IRR)を使用した19の臨床試験を同定した(表19)。これらの試験には、604人の患者(9つの民族)が関与し、腫瘍及びウイルス抗原に由来する38のワクチンをカバーしている。ワクチン抗原特異的なCTL応答を各試験患者で測定し、臨床試験集団の応答率を計算して報告した。

【0244】

19の臨床試験の各ワクチンペプチドを、モデル集団の各被験者において、1以上のPEPI3+試験で調査した。各ペプチドについての1以上のPEPI3+スコアを、少なくとも1つのワクチン由来のPEPI3+を有するモデル集団の被験者の割合として計算した。試験から報告された実験的に決定した応答率を、実施例9のようにPEPIスコアと比較した(表20)。応答率と1以上のPEPI3+スコアの間、線形相関関係(R

² = 0.70) が観察された (図 8)。この結果により、個体の複数の H L A に結合すると予測されたペプチドの同定により、被験者の T 細胞応答を予測することができ、インシリコ試験で臨床試験の結果を予測できることが確認された。

【 0 2 4 5 】

【 表 1 2 】

表 1 2 臨床試験で公表された応答率					
免疫療法	型	CTL アッセイ	集団 (n)	人種/民族	参考文献
StimuVax	ペプチド	増殖	80	カナダ人	13
gp100 ワクチン	DNA	テトラマー	18	US	14
IMA901 フェーズ I	ペプチド	ELISPOT	64	CEU	19
IMA901 フェーズ II	ペプチド	マルチマー染色	27	CEU	
ICT107	ペプチド	ICC	15	US	20
ProstVac	DNA	ELISPOT	32	CEU87%, アフリカ系アメリカ人12%, ヒスパニック1%	21
シンクロトープ (Synchrotope) TA2M	DNA	テトラマー	26	US	22
MELITAC 12.1	ペプチド	ELISPOT	167	US	23
WT1 ワクチン	ペプチド	テトラマー	22	日本人	24
イピリムマブ (NY-ESO-1)	チェックポイント阻害剤**	ICC	19	US	5
VGX-3100	DNA	ELISPOT	17	US	1
HIVIS-1	DNA	ELISPOT	12	CEU98%, アジア人1%, ヒスパニック.1%	2
イムムチン (ImMucin)	ペプチド	細胞傷害性	10	イスラエル人	15
NY-ESO-1 OLP	ペプチド	I F N-ガンマ	7	日本人	7
GVX301	ペプチド	増殖	14	CEU	25
WT1 ワクチン	ペプチド	ELISPOT	12	US	26
WT1 ワクチン	ペプチド	ICC	18	CEU	18
DPX-0907*	ペプチド	マルチマー染色	18	カナダ人	12
メラノーマペプチド ワクチン	ペプチド	ELISPOT	26	白人	27

【 0 2 4 6 】

10

20

30

40

【表 1 3】

表 1 3 P E P I スコアと応答率の間の線形相関関係 ($R^2 = 0.7$).

免疫療法	臨床試験応答率	1 以上の P E P I 3 + スコア*	OPA
StimuVax (フェーズ III で有効性を示せなかった)	20%	2%	10%
gp100 ワクチン	28%	4%	14%
IMA901 フェーズ I	74%	48%	65%
IMA901 フェーズ II	64%	48%	75%
ICT107	33%	52%	63%
ProstVac	45%	56%	80%
シンクロトープ TA2M	46%	24%	52%
MELITAC 12.1	49%	47%	96%
WT1 ワクチン	59%	78%	76%
イピリムマブ (NY-ESO-1*)	72%	84%	86%
VGX-3100	78%	87%	90%
HIVIS-1	80%	93%	86%
イムムチン	90%	95%	95%
NY-ESO-1 OLP	100%	84%	84%
GVX301	64%	65%	98%
WT1 ワクチン	83%	80%	96%
WT1 ワクチン	81%	61%	75%
DPX-0907	61%	58%	95%
メラノーマペプチドワクチン	52%	42%	81%

*P E P I 3 由来のワクチンが 1 以上のモデル集団における被験者の割合 (%)

【 0 2 4 7 】

実施例 1 1 複数のペプチドワクチン中の複数の H L A 結合エピトープの同定に基づくインシリコ試験は、報告された臨床試験の免疫応答率を予測する

I M A 9 0 1 は、ヒトがん組織内に自然に存在する腫瘍関連ペプチド (T U M A P) に由来する 9 つのペプチドを含む腎細胞がん (R C C) 用の治療ワクチンである。進行した R C C を有する合計 9 6 人の H L A - A * 0 2 + 被験者を、2 つの独立した臨床試験 (フェーズ I とフェーズ I I) において I M A 9 0 1 で治療した。I M A 9 0 1 の 9 つのペプチドのそれぞれは、H L A - A 2 拘束性エピトープとして先行技術において同定した。現在受け入れられている標準に基づく、それらの存在は腎臓がん患者で検出されており、試験患者はペプチドのそれぞれを提示することができる少なくとも 1 つの H L A 分子を有するように特別に選択されているため、それらは全て、試験被験者の腎臓がんに対する T 細胞応答をブーストする強力な候補ペプチドである。

【 0 2 4 8 】

モデル集団の中の各被験者について、I M A 9 0 1 ワクチンの 9 つのペプチドのうち 3 つ以上の H L A に結合することができるペプチドの数を決定した。I M A 9 0 1 ワクチンの各ペプチドは 9 m e r であるため、これは P E P I 3 + カウントに対応する。結果を、

フェーズ I 及びフェーズ II の臨床試験で報告された免疫応答率と比較した (表 14)。

【0249】

【表 14】

表 14 モデル集団及び IMA901 に対する 2 つの臨床試験における免疫応答率

TUMAP に対する免疫応答	モデル集団 (HLA-A2+) (n=180)	フェーズ I (n=27)*	フェーズ II (n=64)*
ペプチドなし	39%	25%	36%
1 つのペプチド	34%	44%	38%
2 つ以上のペプチド	27% (複数 P E P I スコア)	29%	26%
3 つ以上のペプチド	3%	ND	3%

*免疫応答について評価された患者の数

10

20

【0250】

フェーズ I 及びフェーズ II の研究結果は、異なる試験コーホートにおける同じワクチンに対する免疫応答の変動性を示している。しかしながら、全体として、2 以上の P E P I 3 + 試験により予測された応答率と、報告された臨床応答率の間には良好な一致があった。

【0251】

遡及的解析において、上記の試験の臨床研究者は、IMA901 ワクチンの複数のペプチドに反応した被験者は、1 つのペプチドのみに反応した、又は反応しなかった被験者よりも、疾患の制御 (安定疾患 (stable disease)、部分奏効 (partial response)) を経験する可能性が有意に高い ($p = 0.019$) ことを見出した。複数のペプチドに反応した 8 人の被験者のうち 6 人 (75%) は、0 個及び 1 個のペプチドの反応者のそれぞれ 14% 及び 33% とは対照的に、試験で臨床的利益を経験した。無作為化フェーズ II 試験では、複数の TUMAP に対する免疫応答がより長い全生存期間と関連することが確かめられた。

30

【0252】

P E P I の存在は TUMAP に対する反応者を正確に予測したため、IMA901 に対する臨床反応者は TUMAP 由来の 2 つ以上の P E P I を提示できる可能性が高い患者である。この亜集団は H L A - A * 02 で選択された患者の 27% のみにすぎず、臨床試験の結果によれば、この亜集団の 75% が臨床的利益を経験すると予測される。同じ臨床試験の結果は、患者の選択が TUMAP 由来の 3 つ以上の P E P I に基づいた場合、この集団は H L A - A * 02 で選択された患者集団の 3% のみを代表するに過ぎないとしても、100% の患者が臨床的利益を経験することを示唆している。これらの結果は、疾患制御率 (安定疾患又は部分奏効) は、IMA901 臨床試験で研究された患者集団において 3% と 27% の間であることを示唆している。完全奏効が存在しない場合、これらの患者の一部のみが生存の利益を経験できる。

40

【0253】

これらの結果は、IMA901 のフェーズ III 臨床試験において生存率の改善が無いことを説明する。また、これらの結果は、研究集団の H L A - A * 02 の富化は、IMA901 のフェーズ III 試験における主要な全生存期間のエンドポイント (endpoint) に到達するには十分ではないことも実証した。IMA901 の試験研究者が指摘したように

50

、ペプチドワクチンに対する可能性が高い応答者を選択するためのコンパニオン診断（CDx）の開発の必要性がある。これらの結果は、2つ以上のTUMAP特異的なPEPIを有する患者の選択は、IMA901の有意な臨床的利益を示すのに十分な富化（enrichment）を提供し得ることも示唆している。

【0254】

実施例12 ワクチン由来の複数のHLA結合エピトープの同定に基づくインシリコ試験は、報告された実験的臨床応答率を予測する

実施例8に記載のモデル集団で決定された免疫療法ワクチンの2以上のPEPI3+スコアと、臨床試験で決定された報告された疾患制御率（DCR、完全奏効（complete response）及び部分奏効及び安定疾患を有する患者の比率）との間の相関関係を決定した。

【0255】

公表された疾患制御率（DCR）又は奏効率（objective response rate）（ORR）を有する、ペプチド-及びDNA-ベースの免疫療法ワクチンを用いて実施された17の臨床試験を、論文審査がある科学雑誌から同定した（表15）。これらの試験には594人の患者（5つの民族）が関与し、29の腫瘍及びウイルスの抗原をカバーした。臨床試験のための現在の標準である、固形腫瘍における応答評価基準（RECIST）に従ってDCRを決定したが、臨床応答は最大の断面寸法の変化に基づいている⁴²、⁴³、⁴⁴。DCRのデータを手に入れない場合には、RECISガイドラインに従って定義された、奏効率（ORR）のデータを使用した。

【0256】

表16は、モデル集団の各ワクチンについて2以上のPEPI3+スコアを、公表されたDCR又はORRと比較している。予測されたDCRと測定されたDCRの間の相関関係が観察され、癌ワクチンの免疫原性のみならず効力も、個体の複数のHLA配列に依存する（R² = 0.76）というさらなる証拠を提供している（図9）。

【0257】

【表15 - 1】

表15 疾患制御率（DCR）予測のために選択された臨床試験

免疫療法	抗原	スポンサー	疾患	集団 (n)	研究集団/民族	HLA拘束	投与形態	用量 (mg)	投与スケジュール	評価時間 (週)	参考文献
IMA901 フェーズI	9 TAA's	Immatics	腎細胞がん	28	CEU	A02	皮下投与	0.4	10週間で8回	12	19
IMA901 フェーズII	9 TAA's	Immatics	腎細胞がん	68	CEU	A02	皮下投与	0.4	5週間で7回、その後3週間で10回	24	19
イピリムマブ	NY-ESO-1	MSKCC	メラノーマ	19	US	なし	静脈内投与	0.3 3 10	3週間毎に4回	24	5
HPV-SLP*	HPV-16 E6, E7	ライデン大学	HPV関連子宮頸がん	20	CEU	なし	皮下投与	0.3	3週間毎に3回	12	9
HPV-SLP*	HPV-16 E6, E7	ライデン大学	HPV関連子宮頸がん	5	CEU	なし	皮下投与	0.3	3週間毎に3回	12 (OR)	10
gp100-2ペプチド*	gp100	BMS	メラノーマ	136	US	A*0201	皮下投与	1	3週間毎に4回	12	28
イムムチン	Muc-1	VaxilBio	骨髄腫	15	イスラエル人	なし	皮下投与	0.1	2週間毎に6回	12**	29
StimuVax	Muc-1	メルク	NSCLC	80	カナダ人	なし	皮下投与	1	毎週8回、その後6週間毎	12	13, 30
VGX-3100	HPV-16&18	Inovio	HPV関連子宮頸がん	125	US	なし	筋肉内投与	6	0, 4, 12週	36	31
TSPV ペプチドワクチン	テミジル酸シンターゼ	シエナ大学	CRC, NSCLC, 胆嚢がん, 乳がん, 胃がん	21	CEU	なし	皮下投与	0.1 0.2 0.3	3回を3週間	12	32

10

20

30

40

【表 15 - 2】

表 15 疾患制御率 (DCR) 予測のために選択された臨床試験

免疫療法	抗原	スポンサー	疾患	集団 (n)	研究集団/ 民族	HLA 拘束	投与形態	用量 (mg)	投与スケジュール	評価時間 (週)	参考文献
KIF20A-66 ペプチドワクチン*	KIF20A	千葉徳洲会病院	転移性膵臓がん	29	日本人	A*2402	皮下投与	1 3	1, 8, 15, 22 日を 2 サイクル、その後 2 週間毎	12 (OR)	33
ペプチドワクチン*	3 TAAs	熊本大学	HNSCC	37	日本人	A*2402	皮下投与	1	毎週 8 回、その後 4 週間毎	12	34
7-ペプチドカクテルワクチン*	7 TAAs	近畿大学	転移性結腸直腸がん	30	日本人	A*2402	皮下投与	1	サイクル: 毎週 5 回、その後 1 週間の休止	10 (OR)	35
GVX301*	hTERT	ジェノヴァ大学	前立腺及び腎臓癌	14	日本人	A02	皮下投与	0.5	1, 3, 5, 7, 14, 21, 35, 63 日	12	25
MAGE-A3 Trojan*	MAGE-A3	アブラムソンがんセンター	多発性骨転移	26	US	なし	皮下投与	0.3	14, 42, 90, 120, 150 日	24	36
PepCan	HPV-16 E6	アーカンソー大学	CIN2/3	23	US	なし	筋肉内投与	0.05 0.1 0.25 0.5	4 回を 3 週間	24	37
メラノーマペプチドワクチン*	チロシナーゼ、gp100	バージニア大学	メラノーマ	26	US	A1, A2 又は A3	皮下投与	0.1	6 サイクル: 0, 7, 14, 28, 35, 42 日	6	27

*アジュバントとして Montanide ISA51 VG

**国際ミエローマワーキンググループ(International Myeloma Working Group)の応答基準に従って疾患応答を評価した⁴⁵

10

【 0 2 5 8 】

20

【表 16】

表 16 17の臨床試験における疾患制御率 (DCR) 及びMultiPEPIスコア (予測DCR)

免疫療法	DCR	MultiPEPIスコア (予測DCR)	全体の一致のパーセンテージ	
IMA901 フェーズ I	43%	27%	61%	
IMA901 フェーズ II	22%	27%	81%	10
イピリムマブ	60%	65%	92%	
HPV-SLP	60%	70%	86%	
HPV-SLP	62%	70%	89%	
gp100-2 ペプチド	15%	11%	73%	
イムムチン	73%	59%	81%	
StimuVax	0%	0%	100%	
VGX-3100	50%	56%	89%	
TSPP ペプチドワクチン	48%	31%	65%	20
KIF20A-66 ペプチドワクチン	26%	7%	27%	
ペプチドワクチン	27%	10%	37%	
7-ペプチドカクテルワクチン	10%	9%	90%	
GVX301	29%	7%	24%	
MAGE-A3 Trojan	35%	10%	29%	
PepCan	52%	26%	50%	
メラノーマペプチドワクチン	12%	6%	50%	30

【0259】

実施例 13 大集団のための乳がんワクチンの設計と組成物

我々は上記で述べたPEPI3+試験を用いて、患者の大きなパーセンテージに有効な乳がんワクチンにおいて使用するためのペプチドを、腫瘍の抗原と患者のHLAの両者の不均一性を考慮して設計した。

【0260】

乳がんのCTAを同定し、論文審査がある刊行物の中で報告されたように、乳がん腫瘍試料内に見い出される抗原の全般的な発現頻度に基づいてランク付けした(Chen et al. Multiple Cancer/Testis Antigens Are Preferentially Expressed in Hormone-Receptor Negative and High-Grade Breast Cancers. Plos One 2011; 6(3): e17876.; Kanojia et al. Sperm-Associated Antigen 9, a Novel Biomarker for Early Detection of Breast Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009; 18(2):630 -639.; Saini et al. A Novel Cancer Testis Antigen, A-Kinase Anchor Protein 4 (AKAP4) Is a Potential Biomarker for Breast Cancer. Plos One 2013; 8(2): e57095)。

【0261】

ランク付けされた発現率に基づいて我々は、最も高い頻度で発現したCTAを、乳がん

10

20

30

40

50

ワクチンのための標的抗原として選択した。選択された乳がん特異的なCTAの発現率を図11に描く。

【0262】

標的CTAから免疫原性のペプチドを選択するために我々はPEPI3+試験と実施例8の中で述べたモデル集団を使用して、モデル集団内の個体の少なくとも3つのHLAにより最も高い頻度で提示される9merのエピトープ(PEPI3+)を同定した。我々は本明細書でそれらのエピトープを「最良EPI」と称する。PRAME抗原についての「PEPI3+ホットスポット」の解析と最良EPIの同定の実例を、図10に示す。

【0263】

我々は、各CTAについて報告された発現頻度を、モデル集団内のPEPI3+ホットスポットの頻度により乗じ、個体の最も高い割合において乳がん抗原に対する免疫応答を誘導するであろうT細胞エピトープ(9mer)を同定した(表17)。我々はその後選択された9merをそれぞれ含んでいる15merを選択した(表17)。下記の実施例19の中で述べるプロセスを使用して、最も多い被験者の最も多いHLAクラスIIに結合するように15merを選択した。それらの15merは、最も高い割合の被験者において、CTLとTヘルパー応答の両方を誘導することができた。

【0264】

【表 17 - 1】

表 17 ワクチン組成物のための乳がんペプチドを選択するための最良 EPI のリスト (9mer 下線)。N% : 結腸直腸がんにおける抗原発現頻度 ; B% : 最良 EPI の頻度、すなわち、モデル集団 (433 人の被験者) 内の被験者の少なくとも 3 つの HLA クラス I に結合するエピトープを有する個体のパーセンテージ ; HLA I I ** : 正常なドナー (n = 400) 内で CD4 + T 細胞特異的な P E P I 4 + を有している個体のパーセンテージ ; N% * B% : B% により乗ぜられた N%。

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化さ れた 位置	B%	HLAII ** (CD4)	B%*N%
172	195	PIWIL-2	94%	<u>FVASINLTLTKWYSR</u>	760	67%	93%	64%
173	196	PIWIL-2	94%	<u>RNFYDPTSAMVLQQH</u>	341	60%	49%	57%
1	41	AKAP4	85%	<u>DQVNIDYLMNRPQNL</u>	161	52%	46%	44%
1	197	AKAP4	85%	<u>VNIDYLMNRPQNLRL</u>	163	52%	57%	44%
174	198	EpCam	84%	<u>RTYWI I I E L K H K A R E</u>	140	51%	100%	43%
2	42	AKAP4	85%	<u>MMAYSDDTTMMSDDID</u>	1	49%	0%	41%
3	43	BORIS	71%	<u>MFTSSRMSSFNHRMK</u>	263	57%	66%	40%
3	199	BORIS	71%	<u>VCMFTSSRMSSFNHRH</u>	261	57%	96%	40%
175	200	HIWI	100%	<u>HAFDGTILFLPKRLQ</u>	161	39%	83%	39%
4	201	AKAP4	85%	<u>SDLQYALGFQHALS</u>	116	46%	81%	39%
4	44	AKAP4	85%	<u>LQYALGFQHALSPS</u>	118	46%	88%	39%
24	64	SPAG9	88%	<u>GTGKLGFSFVRITAL</u>	1137	44%	94%	39%
24	202	SPAG9	88%	<u>KLGFVSFVRITALMVS</u>	1140	44%	100%	39%
5	45	SPAG9	88%	<u>AQKMSSLLPTMWLGA</u>	962	43%	69%	38%
176	203	PIWIL-2	94%	<u>YSRVVFQMPHQEIVD</u>	772	40%	77%	38%
177	204	HIWI	100%	<u>GFTTSILQYENSIML</u>	251	37%	86%	37%
178	205	PLU-1	82%	<u>LRYRYTLDDLPMN</u>	732	45%	84%	37%
179	206	TSGA10	70%	<u>YSSNAYHMSSTMKPN</u>	653	48%	33%	34%
180	207	TSGA10	70%	<u>LQKQFEKVSALADL</u>	494	46%	97%	32%
181	208	PLU-1	82%	<u>NRTSYLHSPFSTGRS</u>	1321	38%	37%	31%
6	46	SPAG9	88%	<u>GNILDSFTVCNSHVL</u>	779	36%	4%	31%
6	209	SPAG9	88%	<u>LDSFTVCNSHVL CIA</u>	782	36%	6%	31%

【 0 2 6 5 】

【表 17 - 2】

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15 mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化された 位置	B%	HLAII ** (CD4)	B%*N%
7	47	BORIS	71%	<u>NMAFVTSGELVRHRR</u>	319	44%	75%	31%
182	210	ODF-4	63%	<u>NSPLPFQWRITHSFR</u>	63	49%	35%	30%
183	211	SP17	47%	<u>AFAAAYFESLLEKRE</u>	37	65%	100%	30%
184	212	AKAP4	85%	<u>DLSFYVNRLSSLVIQ</u>	216	36%	100%	30%
185	213	ODF-4	63%	<u>QDGRLLSSTLSLSSN</u>	41	47%	75%	29%
186	214	RHOXF-2	60%	<u>WEEAYTFEGARYYIN</u>	62	48%	79%	29%
187	215	PLU-1	82%	<u>EKAMARLQELLTVSE</u>	955	34%	69%	28%
188	216	HIWI	100%	<u>RSIAGFVASINEGMT</u>	642	28%	57%	28%
8	48	PRAME	53%	<u>LERLAYLHARLRELL</u>	457	52%	100%	28%
189	217	RHOXF-2	60%	<u>SDYAVHPMSPVGRS</u>	132	43%	5%	26%
190	218	NY-SAR-35	55%	<u>MMQMFGGLGAISLILV</u>	184	46%	69%	25%
11	51	NY-SAR-35	55%	<u>FSSSGTTSEKCFAPF</u>	163	45%	0%	25%
11	219	NY-SAR-35	55%	<u>LRHKCCFSSSGTTSF</u>	157	45%	1%	25%
9	49	SPAG9	88%	<u>SGAVMSERVSGLAGS</u>	16	28%	9%	25%
10	220	BORIS	71%	<u>RFTQSGTMKIHILQK</u>	406	35%	69%	25%
10	50	BORIS	71%	<u>HTRFTQSGTMKIHIL</u>	404	35%	80%	25%
191	221	EpCam	84%	<u>QTLIYYVDEKAPEFS</u>	246	28%	34%	24%
13	222	NY-SAR-35	55%	<u>FVLANGHILPNSENA</u>	97	42%	6%	23%
13	53	NY-SAR-35	55%	<u>CSGSSYFVLANGHIL</u>	91	42%	78%	23%
13	223	NY-SAR-35	55%	<u>SSYFVLANGHILPNS</u>	94	42%	85%	23%
12	224	MAGE-A9	44%	<u>FMFQEALKLKVAELV</u>	102	49%	100%	22%
12	52	MAGE-A9	44%	<u>QLEFMFQEALKLKVA</u>	99	49%	100%	22%
14	54	PRAME	53%	<u>RHSQTLKAMVQAWPF</u>	64	37%	38%	20%
14	225	PRAME	53%	<u>HSQTLKAMVQAWPFT</u>	65	37%	37%	20%
14	226	PRAME	53%	<u>QTLKAMVQAWPFTCL</u>	67	37%	85%	20%
15	55	NY-BR-1	47%	<u>YSCDSRSLFESSAKI</u>	424	39%	0%	18%

10

20

30

【 0 2 6 6 】

【表 17 - 3】

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15 mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化さ れた 位置	B%	HLAII ** (CD4)	B%*N%
16	56	Survivin	66%	<u>TAKKVRRAIEQLAAM</u>	127	26%	26%	17%
192	227	MAGE-A11	59%	<u>SHSYVLVTSLNLSYD</u>	286	26%	100%	15%
192	228	MAGE-A11	59%	<u>TSHSYVLVTSLNLSY</u>	285	26%	100%	15%
17	229	MAGE-A11	59%	<u>AMDAIFGSLSEDEGSG</u>	184	23%	0%	14%
17	230	MAGE-A11	59%	<u>ESFSPTAMDAIFGSL</u>	178	23%	0%	14%
17	57	MAGE-A11	59%	<u>SPTAMDAIFGSLSEDE</u>	181	23%	0%	14%
18	58	HOM-TES-8 5	47%	<u>MASFRKLTLSSEKVP</u>	1	29%	51%	13%
19	59	MAGE-A9	44%	<u>SSISVYYTLWSQFDE</u>	67	30%	97%	13%
20	231	NY-BR-1	47%	<u>KPSAFEPATEMQKSV</u>	582	27%	0%	12%
20	60	NY-BR-1	47%	<u>PGKPSAFEPATEMQK</u>	580	27%	0%	12%
193	232	NY-ESO-1	9%	<u>SRLLEFYLPMPFATP</u>	85	52%	98%	5%
194	233	NY-ESO-1	9%	<u>FYLAMPFATPMEDEL</u>	90	51%	96%	5%

10

20

【0267】

その後我々は31の30merペプチドを設計した(表18a)。30merはそれぞれ2つの最適化された15mer断片からなり、それらは一般的に異なる頻度が高いCTAに由来し、端と端とを並べて配置され、各断片は表17からの9mer(最良EPI)の1つを含んでいる。これらの30merペプチドの9つをペプチドのパネルのために選択し、ポリPEPI915と称する(表18b)。ポリPEPI915により標的化された10個のCTAの発現頻度を、単独で又は組み合わせて図11に示す。

30

【0268】

【表 18 a - 1】

表 18 a - 3 0 m e r の乳がんワクチンペプチド

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* (CD4)
81	BCV900-2-1	AKAP4	LQKYALGFQHALSPSMMAYSDTTMMSDDID	69%	88%
82	BCV900-2-2	BORIS/AKAP4	VCMFTSSRMSSFNRHVNIIDYLMNRPQNLRL	76%	97%
83	BCV900-2-3	BORIS	NMAFVTSGELVRHRRHTRFTQSGTMKIHIL	57%	92%
84	BCV900-2-4	SPAG9	LDSFTVCNSHVLCAIACLGFSFVRITALMVS	58%	100%
85	BCV900-2-5	SPAG9/NY-SAR-35	AQKMSSLLPTMWLGAMMQMFLGAIISLILV	66%	83%
86	BCV900-2-6	PRAME	LERLAYLHARLRELLQTLKAMVQAWPFTCL	71%	100%
87	BCV900-2-7	NY-SAR-35	SSYFVLANGHILPNSLRHKCCFSSSGTTSF	64%	85%
88	BCV900-2-8	Survivin/MAGE-A9	TAKKVRRAIEQLAAMQLEFMFQEALKLKVA	58%	100%
89	BCV900-2-9	MAGE-A11/NY-BR-1	TSHSYVLVTSLNLSYSCDSRSLFESSAKI	65%	100%
90	BCV900-3-1	SPAG9/BORIS	LDSFTVCNSHVLCAIACMFTSSRMSSFNRH	65%	96%
91	BCV900-3-2	NY-SAR-35/PRAME	LRHKCCFSSSGTTSFQTLKAMVQAWPFTCL	59%	85%
92	BCV900-3-3	NY-BR-1/SURVIVIN	YSCDSRSLFESSAKITAKKVRRAIEQLAAM	55%	26%
93	BCV900-3-4	AKAP-4/BORIS	MMAYSDTTMMSDDIDHTRFTQSGTMKIHIL	72%	80%
94	BCV900-3-5	SPAG9/AKAP-4	AQKMSSLLPTMWLGALQKYALGFQHALSPS	64%	92%
95	BCV900-3-6	MAGE-A11/BORIS	TSHSYVLVTSLNLSYNMAFVTSGELVRHRR	61%	100%
96	BCV900-3-7	NY-SAR-35/AKAP-4	MMQMFGLGAIISLILVVNIIDYLMNRPQNLRL	71%	84%
97	BCV900-3-8	NY-SAR-35/SPAG-9	SSYFVLANGHILPNSKLGFSFVRITALMVS	65%	100%
98	BCV900-3-9	PRAME/MAGE-A9	LERLAYLHARLRELLQLEFMFQEALKLKVA	73%	100%
99	BCV900-4-1	SPAG9/AKAP4	GNILDSFTVCNSHVLQKYALGFQHALSPS	53%	88%
100	BCV900-4-2	BORIS/NY-SAR-35	NMAFVTSGELVRHRRFSSSGTTSFKCFAPF	65%	75%
101	BCV900-4-5	SPAG9/BORIS	AQKMSSLLPTMWLGAMFTSSRMSSFNRHMK	72%	87%
102	BCV900-4-6	MAGE-A11/PRAME	TSHSYVLVTSLNLSYHSQTLKAMVQAWPFT	60%	100%
103	BCV900-5-6	HomTes85/MageA11	MASFRKLTLEKVPSPPTAMDAIFGSLSDE	45%	51%
104	BCV900-5-7	AKAP4/PRAME	DQVNIDYLMNRPQNLRHSQTLKAMVQAWPF	64%	67%
105	BCV900-5-8	NYSAR/SPAG9	CSGSSYFVLANGHILSGAVMSERVSGLAGS	46%	78%
106	BCV900-S-2	AKAP-4/MAGE-A9	DLSFYVNRLSSLVIQSSISVYYTLWSQFDE	60%	100%
107	BCV900-S-4	SPAG9/NY-ESO-1	SGAVMSERVSGLAGSSRLLEFYLPMPFATP	59%	98%
108	BCV900-S-6	HOM- TES-85/MAGE-A1 1	MASFRKLTLEKVPPEFSPTAMDAIFGSL	46%	51%
109	BCV900-S-7	NY-ESO-1/NY-BR-1	FYLAMPFATPMEAEKPSAFEPATEMQKSV	60%	96%

10

20

30

40

【表 18 a - 2】

配列 番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* * (CD4)
110	BCV900-T-2 7	MAGE-A11/PRAME	AMDAIFGSLSDDEGSGHSQTLKAMVQAWPFT	54%	37%
111	BCV900-T-2 8	NY-SAR-35/SPAG9	FVLANGHILPNSENAGTGKLGFSFVRITAL	61%	94%
435	BCV900-6-1	TSGA10 / PIWIL-2	YSSNAYHMSSTMKPNFVASINLTITKWYSR	80%	95%
436	BCV900-6-2	PIWIL-2 / AKAP4	RNFYDPTSAMVLQQHMMAYSDDTTMMSDDID	88%	49%
437	BCV900-6-3	PLU-1 / RHOXF-2	LRYRYTLDDLPMNSDYAVHPMSPVGRS	67%	85%
438	BCV900-6-4	SPAG9 / EpCam	SGAVMSERVSGLAGSRTYWI I IELKHKARE	60%	100%
439	BCV900-6-5	AKAP4 / PLU-1	DLSFYVNRSLSLVIQNRSYLHSPFSTGRS	66%	100%
440	BCV900-6-6	AKAP4 / HIWI	VNIDYLMNRPQNLRLHAFDGTILFLPKRLQ	70%	94%
441	BCV900-6-7	AKAP4 / PLU-1	SDLQKYALGFQHALSEKAMARLQELLTVSE	56%	92%
442	BCV900-6-8	HIWI / ODF-4	GFTTSLQYENSIMLQDGRLLSSTLSLSSN	61%	94%
443	BCV900-6-9	PIWIL-2 / BORIS	YSRVVFQMPHQEIVDNMAFVTSGELVRHRR	61%	85%
444	BCV900-6-1 0	SP17 / BORIS	AFAAAYFESLLEKREMFSSRMSSFNRHMK	82%	100%
445	BCV900-6-1 1	ODF-4 / HIWI	NSPLPFQWRITHSFRRSIAGFVASINEGMT	60%	69%
446	BCV900-6-1 2	NY-SAR-35 / RHOXF-2	SSYFVLANGHILPNSWEEAYTFEGARYYIN	74%	93%
447	BCV900-6-1 3	TSGA10 / PRAME	LQKVQFEKVSALADLLERLAYLHARLRELL	68%	100%
448	BCV900-6-1 4	MAGE-A11 / MAGE-A9	SHSYVLVTSNLNSYDFMFQEALKLKV AELV	65%	100%
449	BCV900-6-1 5	BORIS / EpCam	RFTQSGTMKIHILQKQTLIYYVDEKAPEFS	53%	80%

10

20

30

【 0 2 7 0 】

【表 18b】

表 18b - ポリ PEPI915 パネル/組成物のために選択された乳がんワクチンペプチド

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* (CD4)
99	BCV900-4-1	SPAG9/AKAP4	GNILDSFTVCNSHVLQKYALGFQHALSPS	53%	75%
100	BCV900-4-2	BORIS/NY-SAR-35	NMAFVTSGELVRRHRFFSSSGTTSFKCFAPF	65%	46%
92	BCV900-3-3	NY-BR-1/SURVIVIN	YSCDSRSLFESSAKITAKKVRRAIEQLAAM	55%	11%
93	BCV900-3-4	AKAP-4/BORIS	MMAYSDDTTMMSDDIDHTRFTQSGTMKIHIL	72%	45%
101	BCV900-4-5	SPAG9/BORIS	AQKMSSLLPTMWLGAMFTSSSRMSSFNRHMK	72%	50%
103	BCV900-5-6	HomTes85/MageA1	MASFRKLTLSEKVPSPPTAMDAIFGSLSD	45%	16%
104	BCV900-5-7	AKAP4/PRAME	DQVNIDYLMNRPQNLRSQTLKAMVQAWPF	64%	33%
105	BCV900-5-8	NYSAR/SPAG9	CSGSSYFVLANGHILSGAVMSERVSLAGS	46%	48%
98	BCV900-3-9	PRAME/MAGE-A9	LERLAYLHARLRELLQLEFMFQEALKLVA	73%	100%
ポリ PEPI915 (9 ペプチド共に)				96%	100%

* HLAクラス I モデル集団 (n = 433) の中で CD8 + T 細胞特異的な PEPI3+ を有している個体のパーセンテージ

** 正常ドナー (n = 400) の中で CD4 + T 細胞特異的な PEPI4+ を有している個体のパーセンテージ

【0271】

ポリ PEPI915 の特性解析

ワクチン又は免疫療法の治療方法の中で複数の CTA を標的とするペプチド配列を含むことにより、腫瘍の不均一性に対処することができる。ポリ PEPI915 組成物は 10 個の異なる CTA を標的とする。これら 10 個の CTA についての抗原発現率に基づいて、がん細胞の中で発現する抗原の予測される平均数 (AG50) 及び 95% の可能性で発現する抗原の最小数 (AG95) をモデル化した。図 12 の抗原発現曲線によって示されるように、95% の個体が、10 個の標的抗原の最小 4 つ (AG95 = 4) を発現した。

【0272】

上記で述べた AG 値は標的 patient 集団からは独立に、ワクチンの特徴付ける。それらは、特定のがん (例えば乳がん) が、特定のワクチン又は免疫療法組成物により標的化される抗原を発現する可能性を予測するのに使用できる。AG 値は既知の腫瘍不均一性に基づくが、HLA の不均一性は考慮に入れていない。

【0273】

ある集団の HLA 不均一性は、免疫療法又はワクチン組成物の観点から、PEPI3+ を提示している抗原の数により特徴付けることができる。これらはワクチン特異的な CTA 抗原であって、これらについて 1 つ以上の PEPI3+ が予測され、本明細書では「AP」と称する。PEPI3+ を有する抗原の平均数 (AP50) は、如何にしてワクチンがその組成物により標的化される抗原に対する免疫応答を誘導できるかを示す (乳がんワクチン特異的な免疫応答)。ポリ PEPI915 組成物は平均 5.3 個のワクチン抗原に対して免疫応答を誘導することができ (AP50 = 5.30)、95% のモデル集団は少なくとも 1 つのワクチン抗原に対して免疫応答を誘導することができる (AP95 = 1)

(図13)。

【0274】

さらにワクチンを、「PEPI」を有する抗原を示すAGP値によって特徴付けることもできる。このパラメーターは先の2つのパラメーターの組み合わせであり：(1)AGは特定の腫瘍型における抗原発現頻度に依存するが、集団の中の個体のHLA遺伝子型には依存せず、(2)APは抗原の発現頻度を考慮することなく、集団の中の個体のHLA遺伝子型に依存する。AGPは疾患内のワクチン抗原の発現頻度と集団内の個体のHLA遺伝子型の両者に依存する。

【0275】

乳がんのAGとモデル集団内のAPのデータを組み合わせることにより、我々はポリPEPI915のAGP値を決定し、その値は乳がんの中で発現している抗原に対する免疫応答を誘導するワクチン抗原の確率分布を表わす。ポリPEPI915について、モデル集団内のAGP50値は3.37である。AGP92=1は、少なくとも1つの発現したワクチン抗原に対して、モデル集団内の92%の被験者が免疫応答を誘導することを意味する(図14)。

10

【0276】

実施例14 乳がんワクチンのためのコンパニオン診断を用いた患者の選択

特定の患者が1つ以上のがんワクチンペプチドによる治療に対して、免疫応答又は臨床応答を示すであろう可能性を、例えば上記で述べたように、(i)ワクチンペプチド内のPEPI3+の同定(患者の少なくとも3つのHLAに結合することができる9merエピトープ)；及び/又は(ii)例えば腫瘍生検により測定されるような、患者のがん細胞内に発現する標的抗原の決定、に基づいて決定することができる。理想的には両方のパラメーターが決定され、その患者の治療において使用するために、最適なワクチンペプチドの組み合わせが選択される。しかしながら、例えば生検による発現した腫瘍抗原の決定が、不可能であったり、勧められなかったり、生検の誤りによって信頼できないならば(例えば、腫瘍の少ない部分又は転移した腫瘍から採取された生検の組織試料は、患者内で発現するCTAの完全なレポトリを表現さない)、PEPI3+解析を単独で使用してもよい。

20

【0277】

実施例15 ポリPEPI915と競合的乳癌ワクチンとの比較

我々は上記で述べたインシリコ臨床試験を使用して、臨床試験で研究された競合的乳がんワクチンの免疫応答率を予測した(表19)。これらの製品の免疫応答率は3%と91%の間であった。

30

【0278】

単一のペプチドワクチンは3%~23%の個体で免疫原性であった。比較して配列番号81~111から選択されたアミノ酸配列を有するペプチドは、同じコーホートの44%~73%の個体で免疫原性であった。この結果は、ポリPEPI915内の各ペプチドの免疫原性が実質的に改善されていることを表わしている。

【0279】

競合的な混合ペプチド製品の免疫応答率は10~62%の間であった。本発明のポリPEPI915の組み合わせ製品では、モデル集団内で96%、乳がん患者内で93%であり、免疫原性の改善を表わしている。

40

【0280】

【表 19】

表 19 競合的乳がんワクチンの予測された免疫応答率

乳がんワクチン	スポンサー	標的抗原	予測された免疫応答率*	
			433人の正常なドナー (モデル集団)	乳がんを有する 90人の患者
DPX0907 マルチペプチド	イムノワクチンテクノロジーズ	7	58%	62%
マルチペプチドワクチン	バージニア大学	5	22%	31%
Ad-sig-hMUC-1/ecdCD40L	シンガポール CRI	1	91%	80%
NY-ESO-1 IDC-G305	イムンデザイン	1	84%	84%
6 HER2 ペプチドをパルスした DC	ペンシルバニア大学	1	29%	36%
HER-2 B 細胞ペプチド	オハイオ州立大学	1	18%	23%
HER-2/neu ID タンパク質	ワシントン大学	1	10%	11%
NeuVax ペプチド	ガレナ・バイオファーマ	1	6%	3%
StimuVax*(L-BLP25) ペプチド	EMD セロノ	1	6%	8%
ポリ P E P I 9 1 5	トレオス・バイオ	10	96%	93%

*1つ以上の P E P I 3 + を有する被験者の割合

10

20

【0281】

ポリ P E P I 9 1 5 ワクチンを使用することによる他の改善は、腫瘍回避の機会がより少ないことである。ポリ P E P I 9 1 5 ワクチン内の各 30mer ペプチドは2つの腫瘍抗原を標的とする。より多くの腫瘍抗原に対する CTL は、単一の腫瘍抗原に対する CTL よりも、不均一性の腫瘍細胞に対してより効果的である。

【0282】

他の改善は、ポリ P E P I 9 1 5 ワクチンは、ワクチン接種に対して反応する可能性が高い個体を、それらの H L A 遺伝子型 (配列)、及び任意選択で本明細書に述べられた方法を使用したそれらの腫瘍内の抗原発現に基づいて同定できるというものである。ポリ P E P I ワクチンを有する医薬組成物は、その H L A がそのワクチンに由来する如何なる P E P I 3 も提示できない個体に対しては投与されないであろう。臨床試験の間に、ポリ P E P I 9 1 5 治療方法における m A G P 又は A G P の数と、個体の応答の持続時間の間の相関関係が作成されるであろう。1を超える A G P を有するワクチンの組み合わせは、不均一ながん細胞を破壊するのに必要とされる可能性が最も高い。ポリ P E P I ワクチンを有する医薬組成物は、H L A がそのワクチンに由来する如何なる P E P I 3 も提示することができない個体には投与されないであろう。

30

【0283】

実施例 16 結腸直腸がんワクチンの設計と組成物

我々は、上記で述べたのと同じ設計方法を使用した、結腸直腸がんワクチン組成物に関する他の実施例を示す。我々は上記で述べた P E P I 3 + 試験を使用し、腫瘍抗原と患者の H L A の両方の不均一性を考慮して、患者の大きなパーセンテージで有効な、結腸直腸がんワクチンにおいて使用するためのペプチドを設計した。

40

【0284】

結腸直腸がんの C T A を同定し、論文審査がある刊行物の中で報告されたような乳がん腫瘍試料内に見出される全体的な抗原の発現頻度に基づいてランク付けした (図 15) (Choi J, Chang H. The expression of MAGE and Ssx, and correlation of COX2, VEGF, and survivin in colorectal cancer. Anticancer Res 2012. 32(2):559-564.; Goossens-Beumer IJ, Zeestraten EC, Benard A, Christen T, Reimers MS, Keijzer R, Sier CF, Liefers GJ, Morreau H, Putter H, Vahrmeijer AL, van de Velde CJ, Kuppen PJ. Clini

50

cal prognostic value of combined analysis of Aldh1, Survivin, and EpCAM expression in colorectal cancer. Br J Cancer 2014. 110(12):2935-2944.; Li M, Yuan YH, Han Y, Liu YX, Yan L, Wang Y, Gu J. Expression profile of cancer-testis genes in 121 human colorectal cancer tissue and adjacent normal tissue. Clinical Cancer Res 2005. 11(5):1809-1814).

【 0 2 8 5 】

ランク付けした発現率に基づいて我々は、結腸直腸がんワクチンのための標的抗原として最も発現頻度が高いCTAを選択した。選択された乳がん特異的なCTAの発現率を図15の中に描く。

【 0 2 8 6 】

最も高い頻度で発現した結腸直腸がんのCTAから免疫原性のペプチドを選択するために、我々はPEPI3+試験と実施例8の中で述べたモデル集団を使用して「最良EPI」を同定した。

【 0 2 8 7 】

各CTA(N%)について報告された発現頻度を、モデル集団内のPEPI3+のホットスポット(B%)の頻度により乗じ、個体の最も高い比率で結腸直腸がん抗原に対する免疫応答を誘導するであろうT細胞エピトープ(9mer)を同定した(表20)。我々はその後、選択された9merをそれぞれ含んでいる15merを選択した(表20)。下記の実施例19の中で述べられるプロセスを使用して、最も多くの被験者の最も多くのHLAクラスII対立遺伝子に結合する15merを選択した。これらの15merは、被験者の最も高い割合でCTLとTヘルパー応答の両方を誘導することができた。

【 0 2 8 8 】

10

20

【表 20 - 1】

表 20 ワクチン組成物のための結腸直腸がんペプチドを選択するための最良 EPI のリスト (9mer 下線)。N% : 結腸直腸がんにおける抗原発現頻度 ; B% : 最良 EPI の頻度、すなわち、モデル集団 (433 人の被験者) 内の被験者の少なくとも 3 つの HLA クラス I に結合するエピトープを有する個体のパーセンテージ ; HLA I I ** : 正常なドナー (n = 400) 内で CD4 + T 細胞特異的な P E P I 4 + を有している個体のパーセンテージ ; N% * B% : B% により乗ぜられた N%。

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15 mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化さ れた 位置	B%	HLAII* * (CD4)	B%*N%
234	251	TSP50	89%	<u>VCSMEGTWYLVGLVS</u>	315	58%	72%	52%
21	252	TSP50	89%	<u>GFSYEQDPTLRDPEA</u>	105	51%	0%	45%
21	61	TSP50	89%	<u>RSCGFSYEQDPTLRD</u>	102	51%	0%	45%
21	253	TSP50	89%	<u>YRSCGFSYEQDPTLR</u>	101	51%	0%	45%
22	62	EpCAM	88%	<u>VRTYWIIIEELKHKAR</u>	139	51%	100%	45%
235	254	EpCAM	88%	<u>LLAAATATFAAAQEE</u>	12	39%	28%	34%
24	255	SPAG9	74%	<u>KLGFSFRITALMVS</u>	1140	44%	100%	33%
23	63	TSP50	89%	<u>PSTTMETQFPVSEGK</u>	83	36%	0%	32%
24	64	SPAG9	74%	<u>GTGKLGSFVRITAL</u>	1137	44%	94%	32%
23	256	TSP50	89%	<u>LPSTTMETQFPVSEG</u>	82	36%	0%	32%
25	65	SPAG9	74%	<u>AQKMSSLLPTMWLGA</u>	962	43%	69%	32%
26	66	CAGE1	74%	<u>LASKMHSLLALMVGL</u>	613	42%	99%	31%
27	67	FBX039	39%	<u>KFMNPYNAVLTKKFQ</u>	95	78%	43%	30%
28	68	CAGE1	74%	<u>PKSMTMPALFKENR</u>	759	37%	87%	27%
238	257	SPAG9	74%	<u>LDSFTVCNSHVLCIA</u>	782	36%	6%	27%
236	258	SPAG9	74%	<u>GNILDSFTVCNSHVL</u>	779	36%	4%	26%
29	69	EpCAM	88%	<u>YVDEKAPEFSMQGLK</u>	251	28%	0%	25%
29	259	EpCAM	88%	<u>QTLIYYVDEKAPEFS</u>	246	28%	34%	25%
30	70	FBX039	39%	<u>FKKTMSTFHNLVSLN</u>	216	58%	92%	23%
31	71	Survivin	86%	<u>TAKKVRRAIEQLAAM</u>	127	26%	26%	22%

10

20

30

【 0 2 8 9 】

【表 2 0 - 2】

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15 mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化さ れた 位置	B%	HLAII* * (CD4)	B%*N%
237	260	TSP50	89%	SRTLLLALPLPLSLL	368	24%	100%	21%
32	72	SPAG9	74%	SGAVMSERVSGLAGS	16	28%	9%	21%
238	260	TSP50	89%	SRTLLLALPLPLSLL	368	23%	100%	20%
34	74	FBX039	39%	KVNFFFERIMKYERL	284	46%	100%	18%
33	73	TSP50	89%	SRYRAQRFWSWVQQA	190	20%	88%	18%
239	261	LEMD1	56%	FIIVVFVYLTVENKS	164	30%	97%	17%
240	66	CAGE1	74%	LASKMHSLLALMVGL	613	22%	99%	16%
241	262	FBX039	39%	RNSIRSSFISLSFF	142	40%	100%	16%
242	263	CAGE1	74%	NIENYSTNALIQPVD	97	21%	14%	16%
243	264	Survivin	86%	MGAPTLPPAWQPFLK	1	17%	0%	15%
244	265	CAGE1	74%	RQFETVCKFHWEAF	119	18%	45%	13%
35	75	Survivin	86%	KDHRISTFKNWPFLK	15	15%	83%	13%
36	266	MAGE-A8	44%	PEEAIWEALSVMGLY	220	20%	78%	9%
36	76	MAGE-A8	44%	SRAPPEAIWEALSVM	217	20%	6%	9%
37	77	MAGE-A8	44%	DEKVAELVRFLRKY	113	18%	95%	8%
37	267	MAGE-A8	44%	EKVAELVRFLRKYQ	114	18%	99%	8%
38	268	MAGE-A6	28%	KLLTQYFVQENYLEY	244	27%	98%	8%
38	78	MAGE-A6	28%	QYFVQENYLEYRQVP	248	27%	93%	8%
40	80	MAGE-A6	28%	IGHVYIFATCLGLSY	172	25%	82%	7%
39	79	MAGE-A8	44%	EFLWGPRLAETSIV	273	16%	44%	7%
245	269	MAGE-A3	23%	IGHLYIFATCLGLSY	172	28%	85%	6%
246	270	MAGE-A3	23%	KLLTQHFVQENYLEY	244	27%	77%	6%
247	271	MAGE-A8	44%	ASSSSTLIMGTLEEV	39	14%	19%	6%
248	269	MAGE-A3	23%	IGHLYIFATCLGLSY	172	25%	85%	6%
249	264	Survivin	86%	MGAPTLPPAWQPFLK	1	5%	0%	4%
250	75	Survivin	86%	KDHRISTFKNWPFLK	15	4%	83%	3%

【0290】

その後我々は31の30merペプチドを設計した(表21a)。30merはそれぞれ2つの最適化された15mer断片からなり、全般的に異なる頻度が高いCTAに由来し、それぞれの各30merは全般的に少なくとも1つの頻度が高いHLAクラスII結合PEPIを含んでいる。その15mer断片は端と端とが配置され、それぞれは上記で述べた表20に由来する9mer(最良EPI)の1つを含んでいる。これらの30merペプチドの9つをペプチドワクチンのパネルのために選択し、ポリPEPI1015と称する(表21b)。ポリPEPI1015により標的化される8つのCTAの発現頻度を、単独で又は組み合わせで図15に示す。

【0291】

10

20

30

40

【表 2 1 a - 1】

表 2 1 a 3 0 m e r の結腸直腸がんワクチンペプチド

配列 番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* * (CD4)
112	CCV1000-1-1	TSP50	VCSMEGTWYLVGLVSYRSCGFSYEQDPTLR	71%	72%
113	CCV1000-1-2	EpCAM/TSP50	VRTYWIIEELKHKARLPSTTMETQFPVSEG	62%	100%
114	CCV1000-1-4	Survivin	TAKKVRRAIEQLAAMMGAPTLPPAWQPFLK	39%	26%
115	CCV1000-1-5	CAGE1	LASKMHSLLALMVGLPKSMTMPALFKENR	68%	99%
116	CCV1000-1-6	Spag9	KLGFVFRITALMVSLDSFTVCNSHVLCAIA	58%	100%
117	CCV1000-1-7	FBX039	KFMNPYNAVLTKKFQFKKTMSTFHNLVSLN	91%	92%
118	CCV1000-1-8	Spag9/FBX039	AQKMSSLLPTMWLGAKVNFVFERIMKYERL	75%	100%
119	CCV1000-1-9	Survivin/Mage- A8	KDHRISTFKNWPFLPEEAIWEALSVMGLY	39%	93%
120	CCV1000-2-1	TSP50	YRSCGFSYEQDPTLRVCSMEGTWYLVGLVS	71%	72%
121	CCV1000-2-2	EpCAM/Survivin	VRTYWIIEELKHKARTAKKVRRAIEQLAAM	57%	100%
122	CCV1000-2-4	TSP50/Spag9	LPSTTMETQFPVSEGKLGFSVFRITALMVS	61%	100%
123	CCV1000-2-5	Survivin/Mage- A8	MGAPTLPPAWQPFLKPEEAIWEALSVMGLY	40%	78%
124	CCV1000-2-6	CAGE1/Survivin	LASKMHSLLALMVGLKDHRISTFKNWPFLPE	58%	99%
125	CCV1000-2-7	CAGE1/Spag9	PKSMTMPALFKENRLDSFTVCNSHVLCAIA	61%	87%
126	CCV1000-2-8	FBX039	KFMNPYNAVLTKKFQKVNFFERIMKYERL	90%	100%
127	CCV1000-2-9	Spag9/FBX039	AQKMSSLLPTMWLGAFKKTSTFHNLVSLN	67%	92%
128	CCV1000-3-1	TSP50	GFSYEQDPTLRDPEAVCSMEGTWYLVGLVS	71%	72%
129	CCV1000-3-7	CAGE1/Spag9	PKSMTMPALFKENRGNILDSFTVCNSHVL	61%	87%
130	CCV1000-5-1	TSP50	PSTTMETQFPVSEGKSRVRAQRFWSWVGQA	53%	88%
131	CCV1000-5-3	EpCAM /Mage-A8	YVDEKAPEFSMQGLKDEKVAELVRFLLRKY	43%	95%
132	CCV1000-5-4	TSP50/Spag9	RSCGFSYEQDPTLRDGTGKLGFSVFRITAL	67%	94%
133	CCV1000-5-5	Mage-A8/Mage-A 6	SRAPEEAIWEALSVMQYFVQENYLEYRQVP	45%	94%
134	CCV1000-5-7	CAGE1/Spag9	PKSMTMPALFKENRSGAVMSERVSLAGS	57%	87%
135	CCV1000-S-1	SPAG9/FBX039	SGAVMSERVSLAGSRNSIRSSFISLSFF	64%	100%

10

20

30

【 0 2 9 2 】

【表 2 1 a - 2】

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* (CD4)
136	CCV1000-S-2	CAGE1/MAGE-A8	NIENYSTNALIQPVDEKVAELVRFLLRKYQ	28%	99%
137	CCV1000-S-3	CAGE1/MAGE-A6	RQFETVCKFHWEAFKLLTQYFVQENYLEY	46%	98%
138	CCV1000-S-5	MAGE-A8/MAGE-A3	EFLWGPRLAETSIVKLLTQHFVQENYLEY	39%	91%
139	CCV1000-S-6	MAGE-A8/EpCAM	ASSSSTLIMGTLEEVQTLIYYVDEKAPEFS	41%	41%
140	CCV1000-S-7	TSP50/MAGE-A3	SRTLLALPLPLSLLIHLYIFATCLGLSY	60%	100%
141	CCV1000-S-9	LEMD1/MAGE-A6	FIIIVFVYLTVENKSIGHVYIFATCLGLSY	51%	99%
142	CCV1000-S-17	EPCAM	LLAAATATFAAAQEEQTLIYYVDEKAPEFS	52%	54%

*モデル集団 (n = 433) 内のCD8+T細胞特異的なPEP I 3+を有する個体のパーセンテージ

**正常ドナー (n = 400) 内のCD4+細胞特異的なPEP I 4+を有する個体のパーセンテージ

10

【0293】

【表 2 1 b】

表 2 1 b ポリPEP I 1 0 1 5 組成物のために選択された結腸直腸がんワクチンペプチド

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド(30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII* (CD4)
130	CCV1000-5-1	TSP50	PSTMETQFPVSEGKSRYRAQRFWSWVGQA	53%	53%
121	CCV1000-2-2	EpCAM/Survivin	VRTYWII IELKHKARTAKKVRRAIEQLAAM	57%	98%
131	CCV1000-5-3	EpCAM /MAGE-A8	YVDEKAPEFSMQGLKDEKVAELVRFLLRKY	43%	72%
132	CCV1000-5-4	TSP50/Spag9	RSCGFSYEQDPTLRDGTGKLGFSFVRITAL	67%	82%
133	CCV1000-5-5	MAGE-A8/MAGE-A6	SRAPEEAIWEALSVMQYFVQENYLEYRQVP	45%	76%
124	CCV1000-2-6	CAGE1/Survivin	LASKMHSLLALMVGLKDHRI STFKNWPFLE	58%	95%
134	CCV1000-5-7	CAGE1/Spag9	PKSMTMPALFKENRSGAVMSERVSGLAGS	57%	57%
126	CCV1000-2-8	FBX039	KFMNPYNAVLTKKFQKVNFFFERIMKYERL	90%	98%
127	CCV1000-2-9	Spag9/FBX039	AQKMSSLLPTMWLGAFKKTMTSFHNLVSLN	67%	66%
PolyPEP I 1 0 1 5 (9 ペプチド共に)				100%	99%

*モデル集団 (n = 433) 内のCD8+T細胞特異的なPEP I 3+を有する個体のパーセンテージ

**正常ドナー (n = 400) 内のCD4+細胞特異的なPEP I 4+を有する個体のパーセンテージ

20

30

40

【0294】

ポリPEP I 1 0 1 5 結腸直腸がんワクチンの特性解析

腫瘍の不均一性：ポリPEP I 1 0 1 5 組成物は8つの異なるCTAを標的とする(図15)。これら8つのCTAについての抗原発現率に基づき、AG50 = 5.22とAG95 = 3(図16)である。患者の不均一性：AP50 = 4.73とAP95 = 2(AP95 = 2)(図17)。腫瘍と患者の両方の不均一性：AGP50 = 3.16とAGP95 = 2

50

5 = 1 (モデル集団) (図18)。

【0295】

実施例17 結腸直腸がんワクチンペプチドと競合性結腸直腸がんワクチンの比較

我々は上記で述べたインシリコ臨床試験を使用して、最新技術であり最近開発されたCRCペプチドワクチンのT細胞応答者の比率を決定し、ポリPEPI1015のその値と比較した(表22)。我々のPEPI3+試験は、競合性のワクチンは一部の被験者(2%~77%)において、1つの腫瘍抗原に対する免疫応答を誘導できることを示した。しかしながら2競合性複数抗原ワクチンについての複数抗原(複数PEPI)応答の決定は、応答者が無いか又は2%であるという結果となった。ワクチン組成物の1つの抗原の場合、又は2、3、4若しくは5つの抗原について、応答者の*%は、HLA I (CD8+T細胞応答)について1つ以上のPEPI3+を有するモデル集団由来の被験者の比率である。複数PEPI応答は腫瘍ワクチンにより誘導される臨床応答と相関し、競合性ワクチンのいずれも98%の患者において臨床的利益を示すことはありそうにない。対照的に、我々は95%の被験者において複数PEPI応答を予測し、患者の大多数における臨床的利益の可能性を示している。

【0296】

【表22】

表22 ポリPEPI1015と競合性結腸直腸がんワクチンの予測された免疫応答率

結腸直腸がんワクチン	スポンサー	433人の被験者内のCD8+T細胞応答者の%*					
		ワクチン抗原 (Ags)	複数抗原に対する応答者の%				
			1抗原	2抗原	3抗原	4抗原	5抗原
Stimuvax® (L-BLP25) ペプチドワクチン	ヨハネス・グーテンベルク大学マインツ	1	6%	-	-	-	-
WT1 複数ペプチドワクチン	信州大学、日本	1	79%	-	-	-	-
複数エピトープペプチドカクテルワクチン	近畿大学	7	5%	2%	0%	0%	0%
p53 合成長鎖ペプチドワクチン	ライデン大学メディカルセンター	1	77%	-	-	-	-
HER-2B細胞ペプチドワクチン	オハイオ州立大学総合がんセンター	1	18%	-	-	-	-
NY-ESO-1 ペプチドパルスした樹状細胞ワクチン	ヨンソン総合がんセンター	1	0%	-	-	-	-
OCV-C02	大塚製薬株式会社	2	2%	0%	-	-	-
PolyPEPI 1015	トレオスバイオ	8	100%	95%	87%	70%	54%

【0297】

実施例18 卵巣がんワクチンの設計と組成物

我々はPEPI3+試験を使用して、上記の実施例13と16の中で述べられたのと本質的に同じ設計方法を使用して、卵巣がんワクチンにおいて使用するためのペプチドを設計した。

【0298】

我々は卵巣がんに関連したCTAの報告された発現頻度(N%)を、モデル集団の内のPEPI3+ホットスポットの頻度(B%)により乗じ、もっとも高い割合の個体で卵巣

がん抗原に対する免疫応答を誘導するであろうT細胞エピートープ(9mer)を同定した(表23)。その後我々は選択された9merのそれぞれを包含している15merを選択した(表23)。下記の実施例20で述べるプロセスを用いて、最大数の被験者の最大数のHLAクラスII対立遺伝子に結合するように15merを選択した。

【0299】

【表23-1】

表23 ワクチン組成物のための卵巣がんペプチドを選択するための最良EPIのリスト(9mer下線)。N%:結腸直腸がんにおける抗原発現頻度;B%:最良EPIの頻度、すなわち、モデル集団(433人の被験者)内の被験者の少なくとも3つのHLAクラスIIに結合するエピートープを有する個体のパーセンテージ;HLAII** :正常なドナー(n=400)中でCD4+T細胞特異的なPEPI4+を有する個体のパーセンテージ;N%*B%:B%により乗ぜられたN%。

配列番号 9mer	配列番号 15mer	抗原		最良EPI及び最適化された15mer				
		抗原	N%	最適化された15mer	最適化された位置	B%	HLAII** (CD4)	B%*N%
272	302	PIWIL-4	90%	QGMMSIATKIAMQM	585	79%	72%	71%
273	303	PIWIL-4	90%	KAKAFDGAILFLSQK	153	62%	80%	56%
274	304	WT1	63%	SSGQARMFPNAPYLP	121	78%	0%	49%
275	305	EpCam	92%	RTYWIIEELKHKARE	140	51%	100%	47%
276	306	BORIS	82%	MFTSSRMSSFNRHMK	263	57%	66%	46%
277	307	AKAP4	88%	QVNIDYLMNRPQNLIR	162	52%	46%	46%
278	308	OY-TES-1	65%	STPMIMENIQELIRS	277	67%	82%	43%
279	309	AKAP4	88%	MMAYSDTTMMSDDID	1	49%	0%	43%
280	310	SP17	65%	AFAAAYFESLLEKRE	37	65%	100%	42%
281	311	PIWIL-4	90%	RAIQQYVDPDVLVLM	534	46%	5%	42%
282	312	PIWIL-2	61%	GFVASINLTLTKWYS	759	67%	93%	41%
283	313	AKAP4	88%	DLQKYALGFQHALSP	117	46%	82%	40%
284	314	PIWIL-3	88%	GYVTSVLQYENSITL	266	44%	54%	39%
285	315	SPAG9	90%	VREEAQKMSSLLPTM	958	43%	1%	39%
286	316	PIWIL-3	88%	MSLKGHLQSVTAPMG	523	42%	17%	37%
287	317	PIWIL-3	88%	QKSIAGFVASTNAEL	663	42%	37%	37%
288	318	PIWIL-2	61%	RNFYDPTSAMVLQQH	341	60%	49%	37%
289	319	BORIS	82%	NMAFVTSSELVRRHR	319	44%	75%	36%
290	320	AKAP4	88%	LSFYVNRSLSLVIQM	217	36%	100%	31%

【0300】

10

20

30

【表 2 3 - 2】

配列 番号 9mer	配列 番号 15mer	抗原		最良 EPI 及び最適化された 15mer				
		抗原	N%	最適化された 15mer	最適 化さ れた 位置	B%	HLAII ** (CD4)	B%*N%
291	321	PRAME	59%	LERLAYLHARLRELL	457	52%	100%	30%
292	322	BORIS	82%	RFTQSGTMKIHILQK	406	35%	69%	29%
293	323	HIWI	68%	HAFDGTILFLPKRLQ	161	39%	83%	27%
294	324	EpCam	92%	YVDEKAPEFSMQGLK	251	28%	0%	26%
295	325	SPAG9	90%	SGAVMSERVSGLAGS	16	28%	9%	25%
296	326	HIWI	68%	GFTTSILQYENSIML	251	37%	86%	25%
297	327	PIWIL-2	61%	YSRVVFQMPHQEIVD	772	40%	77%	24%
298	328	PRAME	59%	RHSQTLKAMVQAWPF	64	37%	38%	22%
299	329	Survivin	84%	AKKVRRAIEQLAAMD	128	26%	25%	22%
300	330	BORIS	82%	ERSDEIVLTVSNSNV	210	25%	2%	21%
301	331	WT1	63%	RTPYSSDNLQMTSQ	218	32%	0%	20%

10

【0301】

その後我々は15の30merペプチドを設計した(表24)。

20

【0302】

【表 2 4】

表 2 4 30mer の卵巣がんワクチンペプチド

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド(30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII** (CD4)
332	OC1212-0 1	OY-TES-1/PIWIL-4	STPMIMENIQELIRSQGMMSIATKIAMQM	94%	98%
333	OC1212-0 2	PIWIL-2/PIWIL-4	RNFYDPTSAMVLQGHKAKAFDGAIFLSQK	89%	90%
334	OC1212-0 3	BORIS/AKAP4	NMAFVTSSELVRRHRMMAYSDDTTMMSDDID	68%	75%
335	OC1212-0 4	WT1/WT1	SSGQARMFPNAPYLPRTPYSSDNLVQMTSQ	84%	0%
336	OC1212-0 5	BORIS/HIWI	MFTSSRMSSFNHRMHKAFDGTILFLPKRLQ	67%	94%
337	OC1212-0 6	PIWIL-2/EpCam	YSRVVFMMPHQEIVDRTYWIIELKHKARE	67%	100%
338	OC1212-0 7	AKAP4/PIWIL-4	LSFYVNRSLVLIQMRAIQYVDPDVLVM	71%	100%
339	OC1212-0 8	AKAP4/ SP17	QVNIDYLMNRPQNLRAFAAAAYFESLLEKRE	78%	100%
340	OC1212-0 9	PIWIL-3/PIWIL-3	GYVTSVLQYENSITLQKSIAGFVASTNAEL	64%	65%
341	OC1212-1 0	SPAG9/BORIS	VREEAQKMSSLLPTMRFTQSGTMKIHLQK	62%	69%
342	OC1212-1 1	PIWIL-2/EpCam	GFVASINLTLTKWYSYVDEKAPEFSMQGLK	74%	93%
343	OC1212-1 2	PIWIL-3/SPAG9	MSLKGHLQSVTAPMGSGAVMSERVSGLAGS	52%	19%
344	OC1212-1 3	AKAP4/PRAME	DLQKYALGFQHALSPLERLAYLHARLRELL	67%	100%
345	OC1212-1 4	HIWI/BORIS	GFTTSILQYENSIMLERSDEIVLTVSNSNV	49%	86%
346	OC1212-1 5	PRAME/Survivin	RHSQTLKAMVQAWPFAKKVRRRAIEQLAAMD	48%	42%

*モデル集団 (n = 433) 内でCD8 + T細胞特異的なPEPI3 +を有する個体のパーセンテージ

**正常ドナー (n = 400) 内でCD4 +細胞特異的なPEPI4 +を有する個体のパーセンテージ

【0303】

実施例 19 ポリPEPI1018 結腸直腸がんのために例示された設計手順による有効性

ポリPEPI1018 結腸直腸がん (CRC) ワクチン (ポリPEPI1018) 組成物は、インビトロのコンパニオン診断試験 (CDx) を使用して可能性が高い応答者と同定された患者において、標準治療のCRC治療の選択肢に対する追加免疫治療として使用されることを意図するペプチドワクチンである。転移性結腸直腸がん患者においてポリPEPI1018を評価するために、臨床試験が米国とイタリアで進行中である。その製品は6つのペプチド (実施例16と17の中で述べられたポリPEPI1015の30merペプチドの6つ) を含み、モンタナイダジュバントと混合されている。その6つのペプチドは、CRCで最も頻度が高く発現している7つのがん精巢抗原 (CTA) に由来する12個のエピトープに対するT細胞応答を誘導するように選択された。その6つのペプチドは、長期間続くCRC特異的なT細胞応答を誘導するのに最適化されている。その腫

10

20

30

40

50

瘍内に発現した複数CTAに対するT細胞応答を示す可能性が高い患者を、コンパニオン診断(CDx)で選択することができる。この実施例は、ポリPEPI1018を設計するのに使用される正確なプロセスを述べている。このプロセスは、他のがんと疾患に対するワクチンを設計するのに適用することができる。

【0304】

A. 複数抗原標的の選択

腫瘍抗原の選択は、がんワクチンの安全性と有効性のために必須である。良い抗原の特徴として、正常な組織内で発現が制限されており、それによって自己免疫が防がれる。幾つかのカテゴリの抗原がこの要件を満たし、それには、独特に変異した抗原(例えばp53)、ウイルス抗原(例えば子宮頸がんにおけるヒトパピローマウイルス抗原)、及び分化抗原(例えばB細胞リンパ腫におけるCD20)が含まれる。

10

【0305】

がん精巣抗原(CTA)は種々の型の腫瘍細胞と精巣細胞において発現しているが、如何なる他の正常体細胞組織又は細胞においては発現していないからために、本発明者らは標的抗原として複数のがん精巣抗原(CTA)を選択した。CTAは少なくとも下記の理由のために、ワクチンのための望ましい標的である。

- ・組織学的により高い等級であり、臨床的により後期の段階の腫瘍は、より頻度が高いCTAの発現を示す。
- ・腫瘍細胞の亜集団のみがあるCTAを発現する。
- ・異なる型のがんは、それらのCTA発現の頻度において顕著に異なっている。
- ・CTAについて陽性である腫瘍はしばしば、1つ以上のCTAの同時発現を示す。
- ・細胞表面抗原であると思われるCTAは無く、よって、それらはがんワクチンのための独特の標的である(それらは抗体に基づいた免疫療法のために適した標的ではない)。

20

【0306】

ポリPEPI1018のための標的CTAを同定するために、本発明者らはCTA発現の知識基盤を構築した。この知識基盤は、発現率の順序でランク付けされた、CRCの中に発現したCTAを含む。本発明者らによって実施された相関関係の研究(実施例11を見よ)は、腫瘍細胞内に発現する複数の抗原に対してCTL応答を誘導するワクチンは、患者に利益をもたらすことができると示している。よってCRCの中で高い発現率を有する7つのCTAが選択され、ポリPEPI1018の開発において包含された。詳細を表25に述べる。

30

【0307】

【表 25 - 1】

表 25 ポリPEP I 1018CRCワクチンの中の標的CTA

CTA 名前	発現率	特性解析
TSP50	89.47%	<p>精巣特異的なプロテアーゼ様タンパク質50は、細胞増殖、細胞侵入、及び腫瘍成長を誘導する癌遺伝子である。それは胃がん、乳がん、子宮頸がん、及び結腸直腸がんの試料の中に頻りに発現し、精巣の精母細胞を除いては、正常なヒト組織の中には殆ど発現していない。</p> <p>上皮細胞接着分子は腫瘍関連抗原であり、結腸がんの中に発現し、種々のヒト癌腫の中で過剰発現している。がんが開始している幹細胞内でのEpCAMの高発現は、それを、がんワクチンのための価値ある標的にしている。EpCAMは正常な上皮細胞の中でも、扁平上皮、肝細胞とケラチノサイトを例外として、低い又は無視できるレベルで発現している。</p>
EpCAM	88.35%	
サバイピン	87.28%	<p>サバイピン（バキュロウイルスのIAP繰り返し含有タンパク質5）は、細胞増殖を促進しアポトーシスを阻害するマルチタスクのタンパク質である。それは胎児組織の中に強く発現し、正常な発達に必要であるが、それは多くの成人組織内には発現していない。サバイピンはがん腫を含む種々のがんの中に発現している。低レベルでサバイピンを発現する正常な組織には胸腺、VD34⁺骨髄由来幹細胞、及び基底結腸上皮が含まれる。正常組織と比較してのサバイピンの劇的な過剰発現は、肺、乳房、結腸、胃、食道、膵臓、膀胱、子宮、卵巣における腫瘍、大細胞非ホジキンリンパ腫、白血病、神経芽細胞腫、メラノーマ及び非メラノーマ皮膚癌において観察される。</p>
CAGE1	74.47%	<p>癌関連遺伝子1タンパク質は典型的なCTAであり、細胞増殖と腫瘍形成に役割を果たしているかもしれない。CAGE1は結腸直腸がん組織において高発現しており、隣接している正常な結腸直腸粘膜における発現は弱い。加えてCAGE1はメラノーマ、肝癌、及び乳がんの中に発現している。精巣以外の健康なヒト組織の中では、CAGE1タンパク質は検出されない。</p>

10

20

30

【0308】

【表 2 5 - 2】

CTA 名前	発現率	特性解析
SPAG9	74.36%	精子関連抗原 9 は c-JUN の N 末端のキナーゼの情報伝達に関与しており、足場タンパク質として機能し、よって、細胞の生存、増殖、アポトーシス、及び腫瘍増殖において重要な役割を果たしている。SPAG9 の発現は上皮卵巣がん (90%)、乳がん (88%)、子宮頸がん (82%)、腎細胞がん (88%)、及び結腸直腸がん (74%) の患者において検出されている。隣接した非癌性組織は抗原の発現を示さなかった。SPAG9 の発現は精巣に限定されている。
FBX039	38.60%	FBX039 (BCP-20) は精巣特異的なタンパク質であり、E3 ユビキチンリガーゼ複合体の重要な部分である。それはユビキチン化に寄与し、細胞周期、免疫応答、シグナル伝達、及びタンパク質のプロテアソーム分解を制御するのに役割を果たしている。FBX039 は結腸癌と乳癌において発現している。FBX039 の発現は卵巣、胎盤、及び肺でも検出されている。FBX039 の発現は正常な組織と比較して、精巣では 100 倍高く、結腸直腸がんでは 1000 倍高い。
MAGEA8	43.75%	メラノーマ関連抗原 8 の機能は知られていないが、胚の発達と、腫瘍形成又は腫瘍発達の側面において役割を果たしている。MAGE-A8 遺伝子は CRC と肝細胞がんの中に発現している。正常組織における MAGE-A8 の発現は精巣と胎盤に限定されている。

10

20

【0309】

B . P E P I 3 + バイオマーカーに基づいたワクチン設計により正確な標的化が達成される

上記で述べたように P E P I 3 + バイオマーカーは、被験者のワクチンに誘導された T 細胞応答を予測する。本発明者らは抗原配列と H L A 遺伝子型 (実施例 1、2、3) から P E P I を正確に同定するために、試験を開発して検証した。P E P I 試験アルゴリズムを使用して、ポリ P E P I 1 0 1 8 C R C ワクチンの中に含まれるべき 7 つの標的 C T A から、優勢な (dominant) P E P I (最良 E P I) を同定した。

30

【0310】

ここに述べられたプロセスにより同定された優勢な P E P I は、最大の割合の被験者において C T L 応答を誘導することができる：

- i . モデル集団内の 4 3 3 人のそれぞれの被験者について、7 つの C T A 標的から、全ての H L A クラス I 結合 P E P I を同定し、
- i i . 最も大きな亜集団内に存在する P E P I である優勢な P E P I (最良 E P I) を同定する。

40

【0311】

ポリ P E P I 1 0 1 8 内の 7 つの C T A に由来する 1 2 個の優勢な P E P I を表 2 6 に示す。モデル集団内の P E P I % は、示された P E P I を有する 4 3 3 人の被験者の割合、すなわち示された P E P I が C T L 応答を誘導できる被験者の割合を示す。同定のプロセスの中で最適化の工程を使用したのに関わらず、優勢な P E P I の C T L 応答の誘導には非常に高い変動性があった (18% ~ 78%)。

【0312】

【表 2 6】

表 2 6 ポリ P E P I 1 0 1 8 内の C R C 特異的な H L A クラス I に結合する優勢な P E P I

CRC患者内のポリ P E P I 1 0 1 8 の中の 7 つの各 C T A についての優勢な P E P I 3 +			
ポリ P E P I 1 0 1 8 の中のペプチド	C R C 抗原	優勢な P E P I 3 +	モデル集団の中の P E P I 3 + %
CRC-P1	TSP50	TTMETQFPV	36%
		YRAQRFWSW	20%
CRC-P2	EpCAM サバイピン	RTYWIIIEL	51%
		RAIEQLAAM	26%
CRC-P3	EpCAM MAGE-A8	YVDEKAPEF	28%
		KVAELVRFL	18%
CRC-P6	CAGE1 サバイピン	KMHSLALM	42%
		STFKNWPFL	15%
CRC-P7	CAGE1 SPAG9	KSMTMPAL	37%
		VMSERVSGL	28%
CRC-P8	FBX039	FMNPYNAVL	78%
		FFFERIMKY	46%

10

【 0 3 1 3】

20

本発明者らは、最も多い患者の最も多くの H L A クラス I I 対立遺伝子に結合するように、それぞれの優勢な P E P I を最適化した。それは C D 8 + C T L 応答を増強できる C D 4 + ヘルパー細胞を誘導し、長く続く T 細胞応答に寄与すると考えられるので、これは効率を促進するべきである。図 4 に示された実施例は、3 つ以上の H L A クラス I I 対立遺伝子に結合する P E P I は T ヘルパー細胞を活性化する可能性が最も高いことを表わしているからである。

【 0 3 1 4】

ここで述べられたプロセスにより選ばれた 1 5 m e r ペプチドは、H L A クラス I とクラス I I の両方に結合する優勢な P E P I を含む。よってこれらのペプチドは、最も高い割合の被験者において C T L と T ヘルパー応答の両方を誘導することができる。

30

【 0 3 1 5】

プロセス：

- 1 . 4 0 0 人の正常なドナーの H L A クラス I I 遺伝子型の同定 *
- 2 . 起源抗原とマッチするアミノ酸による、各 9 m e r の優勢なペプチド (表 2 0) の両側における伸長
- 3 . I E D B アルゴリズムを使用した、4 0 0 人の正常ドナーの H L A クラス I I の P E P I の予測
- 4 . 最も高い割合の被験者が H L A クラス I I 結合 P E P I を有する、1 5 m e r ペプチドの選択
- 5 . 2 つの 1 5 m e r ペプチドを接合する (joining) ときに、各ワクチンペプチド内に 1 つの優勢な H L A クラス I I の P E P I が存在することの保証

40

【 0 3 1 6】

ポリ P E P I 1 0 1 8 内の 7 つの C T A から得られた、1 2 個の最適化された 1 5 m e r ペプチドを表 2 7 に表す。これらのペプチドは、異なる H L A クラス I I 結合特性を有している。そのように最適化され、個別化されたワクチンを設計したにも関わらず、これらのペプチドの間には P E P I 生成能 (3 つ以上の H L A 結合) において高い変動性 (0 % ~ 1 0 0 %) があつた。

【 0 3 1 7】

【表 27】

表 27 ポリ P E P I 1 0 1 8 内の抗原特異的な H L A クラス I I 結合 P E P I

Nr.	CRC 抗原	H L A クラス I I 結合対立遺伝子の平均	1 つ以上の H L A クラス I I 結合を有する被験者の%	2 つ以上の H L A クラス I I 結合を有する被験者の%	3 つ以上の H L A クラス I I 結合を有する被験者の%	4 つ以上の H L A クラス I I 結合を有する被験者の%
CRC-P1	TSP50 (83-97)	0	0%	0%	0%	0%
	TSP50 (190-204)	4	100%	99%	88%	53%
CRC-P2	EPCAM (139-153)	5	100%	100%	100%	98%
	サバイビン (SURVIVIN) (127-141)	2	84%	58%	26%	11%
CRC-P3	EPCAM (251-265)	0	0%	0%	0%	0%
	MAGE-A8 (113-127)	4	100%	100%	95%	72%
CRC-P6	CAGE1 (613-627)	5	100%	100%	99%	95%
	サバイビン (SURVIVIN) (15-29)	3	100%	97%	83%	45%
CRC-P7	CAGE1 (759-773)	3	100%	98%	87%	56%
	SPAG9 (16-30)	1	66%	35%	9%	2%
CRC-P8	FBX039 (95-109)	3	100%	94%	43%	13%
	FBX039 (284-298)	5	100%	100%	100%	98%

10

20

【 0 3 1 8 】

30mer のワクチンペプチドは、より短いペプチドと比較して下記の利点を有する：

(i) 複数の正確に選択された腫瘍特異的な免疫原：各 30mer は、関連集団（モデル集団に類似している）の大多数において、CTL と T ヘルパー 応答を誘導することができる、2 つの正確に選択されたがん特異的な免疫原性ペプチドを含んでいる。

(i i) 天然の抗原提示を保証する。30mer 長のポリペプチドをプロドラッグと見ることにも可能であり：それらはそれら自体では生物学的に活性ではないが、処理されて（processed）より小さなペプチド（9 から 15 アミノ酸長）になり、プロフェッショナル抗原提示細胞の H L A 分子内に搭載（loaded）される。長いペプチドのワクチン接種からもたらされる抗原提示は、H L A クラス I とクラス I I 分子の両方において提示されるための生理学的な経路を反映している。加えて細胞内での長いペプチドのプロセッシングは、大きな無傷タンパク質のプロセッシングよりもずっと効率が良い。

(i i i) T 細胞応答の寛容化の誘導を除外する。9mer ペプチドは、プロフェッショナル抗原提示細胞によるプロセッシングを必要とせず、よって H L A クラス I 分子の外側に結合する。よって注入された短いペプチドは、表層 H L A クラス I を有する全ての有核細胞の H L A クラス I 分子に数多く結合するであろう。それに対して、20mer 未満の長さのペプチドは、H L A クラス I に結合する前に、抗原提示細胞によって処理される。よって長いペプチドをワクチン接種することは寛容をもたらす可能性が低く、望みの抗腫瘍活性を促進するであろう。

(i v) 複数の H L A クラス I I 分子に結合することにより T ヘルパー 応答を刺激できるから、長く続く T 細胞応答を誘導する。

(v) 有用性。少数のペプチドの G M P 製造、製剤、品質管理、及び投与（それぞれが上記の全ての特徴を有している）は、様々な特性を供給する複数のペプチドよりも実現可能性が高い。

【 0 3 1 9 】

ポリ P E P I 1 0 1 8 内の各 30mer ペプチドは、2 つの H L A クラス I 結合優勢 P E P I と、少なくとも 1 つの強力な H L A クラス I I 結合 P E P I からなる。強力に結合

50

する P E P I は、50%超の個体において4つの H L A クラス I 対立遺伝子に結合する。よってワクチンペプチドは、(C R C ワクチン設計のための関連集団である) 一般集団内の個々の被験者の H L A クラス I とクラス I I 対立遺伝子の両方に適合 (tailored) している。

【 0 3 2 0 】

上記で述べたように、被験者の中で H L A 遺伝子型の変動性が高いことは、ポリ P E P I 1 0 1 8 により誘導される T 細胞応答における高い変動性をもたらす。これにより、可能性が高い応答者を決定する C D x の共発症が正当化される。実施例 1 1 と 1 2 の中で詳細に述べたように、P E P I 3 + と 2 つ超の P E P I 3 + のバイオマーカーにより、ポリ P E P I 1 0 1 8 によりワクチン接種された被験者の免疫応答と臨床応答をそれぞれ予測することができた。これらのバイオマーカーは、ポリ P E P I 1 0 1 8 C R C ワクチンに対する可能性が高い応答者を予測する、C D x を共発症するのに使用されるであろう。

10

【 0 3 2 1 】

実施例 2 0 ポリ P E P I 1 0 1 8 C R C ワクチンの組成物と免疫原性の解析

ポリ P E P I 1 0 1 8 組成物について選択されたペプチドを表 2 8 に示す。

【 0 3 2 2 】

【 表 2 8 】

表 2 8 ポリ P E P I 1 0 1 8 組成物のために選択された結腸直腸癌ワクチンペプチド

配列番号	TREOSID	抗原起源	ペプチド (30mer)	HLAI* (CD8)	HLAII** (CD4)
130	CCV1000-5-1	TSP50	PSTTMTQFPVSEGKSRVRAQRFWSVWGQA	53%	88%
121	CCV1000-2-2	EpCAM/Survivin	VRTYWIIEELKHKARTAKKVRRAIEQLAAM	57%	100%
131	CCV1000-5-3	EpCAM /Mage-A8	YVDEKAFEFMSQGLKDEKVAELVRFLLRKY	43%	95%
124	CCV1000-2-6	Cage/Survivin	LASKMHSLALMVGLKDHRISTPKNWPFFLE	58%	99%
134	CCV1000-5-7	Cage/Spag9	PKSMTMPALFKENRSGAVMSERVSGLAGS	57%	87%
126	CCV1000-2-8	FBX039	KFMNPNYAVLTKKFKVNFVFFERIMKYERL	90%	100%
			PolyPEPI1018 (6 ペプチド共に)	98%	100%

* モデル集団 (n = 4 3 3) 内の H L A クラス I 結合 P E P I 3 + を有する個体のパーセンテージ

**モデル集団 (n = 4 3 3) 内の H L A クラス I I 結合 P E P I 3 + を有する個体のパーセンテージ

20

【 0 3 2 3 】

ポリ P E P I 1 0 1 8 のペプチドは、2つの混合物の中に調剤され、配列番号 1 3 0 、 1 3 1 のペプチドを含んでいる M I X 1 と、配列番号 1 2 1 、 1 2 4 、 1 3 4 、 1 2 6 ペプチドを含んでいる M I X 2 である。M I X 1 と M I X 2 を連続的に投与してもよい。

30

【 0 3 2 4 】

免疫原性の特性解析

本発明者らは P E P I 3 + 試験を使用して、完全な H L A 遺伝子型データを有する 3 7 人の C R C 患者のコーホートにおいて、ポリ P E P I 1 0 1 8 の免疫原性を特性解析した。臨床試験において使用されるであろうものと同じ 9 m e r のペプチドに対する、各患者における T 細胞応答を予測した。これらのペプチドは、ポリ P E P I 1 0 1 8 内の 1 2 個の優勢な P E P I 3 + を表している。9 m e r を表 2 6 に示す。

【 0 3 2 5 】

P E P I 3 + 予測の特異度と感度は、特定のエピトープに結合すると予測される H L A の実際の数に依存する。特に本発明者らは、1つの H L A に拘束性エピトープが、被験者において T 細胞応答を誘導する確率は典型的には 4 % であると決定し、それにより、H L A 拘束性エピトープ予測に基づく最先端の予測方法の感受性の乏しさが説明される。P E P I 3 + の方法論を適用し本発明者らは、37人の C R C 患者において、ポリ P E P I 1 0 1 8 により、それぞれの優勢な P E P I 3 + に対する特異的な T 細胞応答が誘導されるであろう確率を決定した。この解析からの結果を表 2 9 に要約する。

40

【 0 3 2 6 】

【表 29 - 1】

表 29 37人のCRC患者における、ポリPEPI1018の6つのペプチドの中の優勢PEPIの確率

CRC患者	CRC-P1		CRC-P2		CRC-P3		CRC-P6		CRC-P7		CRC-P8		予測されたPEPIの数
	TSP50 (83-97)	TSP50 (190-204)	EpCAM (139-153)	サバイピン (127-141)	EpCAM (251-265)	MAGEA8 (113-127)	CAGE1 (613-627)	サバイピン (15-29)	CAGE1 (759-773)	SPAG9 (16-30)	FBX039 (95-109)	FBX039 (284-298)	
CRC-01	22%	4%	22%	4%	22%	22%	100%	1%	98%	84%	100%	22%	5.01
CRC-02	22%	1%	22%	22%	22%	22%	100%	1%	98%	22%	100%	98%	5.29
CRC-03	84%	22%	84%	22%	22%	22%	84%	22%	22%	22%	100%	22%	5.29
CRC-04	22%	84%	22%	4%	22%	4%	98%	4%	4%	22%	100%	84%	4.70
CRC-05	22%	22%	4%	4%	22%	4%	98%	1%	4%	4%	100%	84%	3.68
CRC-06	84%	22%	4%	84%	98%	4%	22%	4%	4%	4%	100%	98%	5.27
CRC-07	22%	22%	22%	22%	22%	4%	98%	1%	22%	22%	100%	84%	4.41
CRC-08	22%	22%	22%	98%	84%	22%	84%	22%	22%	22%	100%	84%	6.04
CRC-09	22%	84%	84%	84%	84%	22%	100%	4%	22%	22%	98%	84%	7.10
CRC-10	4%	98%	22%	22%	4%	4%	4%	22%	22%	22%	98%	84%	4.06
CRC-11	22%	22%	4%	4%	22%	4%	84%	1%	4%	4%	98%	84%	3.53
CRC-12	84%	22%	4%	22%	4%	4%	84%	4%	84%	4%	100%	22%	4.38
CRC-13	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	1%	4%	100%	98%	5.07
CRC-14	22%	84%	4%	4%	22%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	84%	4.16
CRC-15	84%	22%	22%	22%	22%	4%	84%	4%	22%	4%	100%	84%	4.74
CRC-16	4%	84%	4%	4%	22%	4%	84%	1%	4%	22%	100%	84%	4.16
CRC-17	84%	84%	4%	84%	84%	4%	4%	4%	4%	4%	100%	22%	4.82
CRC-18	84%	22%	22%	84%	84%	4%	22%	22%	4%	4%	100%	84%	5.36
CRC-19	22%	22%	22%	22%	22%	4%	98%	4%	22%	22%	100%	84%	4.45

10

【0327】

【表 29 - 2】

20

CRC患者	CRC-P1		CRC-P2		CRC-P3		CRC-P6		CRC-P7		CRC-P8		予測されたPEPIの数
	TSP50 (83-97)	TSP50 (190-204)	EpCAM (139-153)	サバイピン (127-141)	EpCAM (251-265)	MAGEA8 (113-127)	CAGE1 (613-627)	サバイピン (15-29)	CAGE1 (759-773)	SPAG9 (16-30)	FBX039 (95-109)	FBX039 (284-298)	
CRC-20	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	98%	5.10
CRC-21	22%	22%	22%	22%	84%	22%	98%	4%	4%	22%	100%	84%	5.06
CRC-22	22%	98%	84%	4%	22%	22%	84%	22%	84%	22%	98%	22%	5.84
CRC-23	84%	84%	84%	84%	84%	22%	84%	84%	84%	4%	100%	84%	8.82
CRC-24	22%	22%	4%	4%	22%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	84%	3.55
CRC-25	22%	84%	22%	4%	22%	4%	84%	4%	22%	4%	100%	84%	4.56
CRC-26	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	84%	4.97
CRC-27	22%	22%	4%	4%	22%	4%	98%	1%	4%	4%	100%	84%	3.68
CRC-28	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	98%	5.10
CRC-29	84%	84%	4%	22%	22%	4%	84%	1%	22%	22%	100%	84%	5.33
CRC-30	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	98%	5.10
CRC-31	22%	84%	22%	4%	4%	4%	22%	1%	4%	4%	98%	84%	3.53
CRC-32	84%	84%	4%	84%	22%	4%	4%	4%	4%	4%	98%	84%	4.80
CRC-33	84%	22%	4%	22%	84%	4%	84%	1%	4%	4%	100%	98%	5.10
CRC-34	22%	22%	22%	22%	22%	4%	84%	1%	22%	4%	100%	84%	4.09
CRC-35	22%	4%	4%	1%	22%	4%	4%	1%	4%	4%	84%	84%	2.37
CRC-36	22%	4%	4%	1%	22%	4%	4%	1%	4%	4%	84%	84%	2.37
CRC-37	22%	4%	4%	1%	22%	4%	4%	1%	4%	4%	84%	84%	2.37

略語：CRC＝結腸直腸がん；PEPI＝個人用エピトープ
注釈：パーセンテージはポリPEPI1018により誘導されるCD8＋T細胞応答の可能性を表わす。

30

【0328】

全体としてこれらの結果は、ポリPEPI1018内で最も免疫原性が高いペプチドはCRC-P8であることを示し、それは最も多くの患者において3つ超のHLAに結合すると予測される。最も免疫原性が小さいペプチドであるCRC-P3は、多くの患者において1つ超のHLAに結合し、T細胞応答を誘導する機会を22%有していた。T細胞応答を検出するのに使用されたバイオアッセイはPEPI3+よりも正確性が低いので、この計算はCRC患者におけるT細胞応答の最も正確な特性解析かもしれない。MAGE-A8とSPAG9はワクチンの設計のために使用されたモデル集団内で免疫原性であったが、MAGE-A8特異的なPEPI3+は37人のCRC患者の中に存在せず、1人の患者(3%)のみがSPAG9特異的なPEPI3+を有していた。

50

【0329】

さらに実施例8において述べられたモデル集団内と、既知のHLAクラスI遺伝子型を有する295人のCRC患者内の、予測されたポリPEPI1018応答率の特性解析を表30と表31に示す。

【0330】

【表30】

表30 モデル集団(433人の正常ドナー)におけるポリPEPI1018応答率

PolyPEPI1018 応答率	>=1	>=2	>=3	>=4	>=5	>=6	>=7	>=8	>=9
複数PEPI	98%	94%	83%	70%	52%	38%	27%	18%	11%
複数ペプチド	98%	91%	73%	52%	30%	12%	N/D	N/D	N/D
複数抗原	98%	92%	72%	49%	31%	14%	6%	N/D	N/D

10

【0331】

【表31】

表31 295人のCRC患者についてのポリPEPI1018応答率

PolyPEPI1018 応答率	>=1	>=2	>=3	>=4	>=5	>=6	>=7	>=8	>=9
複数PEPI	99%	96%	92%	85%	69%	53%	40%	32%	25%
複数ペプチド	99%	93%	86%	71%	49%	29%	N/D	N/D	N/D
複数抗原	99%	93%	86%	72%	49%	32%	13%	N/D	N/D

20

【0332】

毒性の特性解析 - immunoblast

自己免疫などの有害な免疫応答を誘発する可能性を決定するために、任意の抗原を決定することができる方法を開発した。該方法を本明細書ではimmunoblastと言う。ポリPEPI1018は、6つの30merのポリペプチドを含む。各ポリペプチドはCRCで発現する抗原に由来する2つの15merペプチド断片からなる。ネオエピトープは、2つの15merペプチドの接続領域で生成される可能性があり、健康な細胞に対する望ましくないT細胞応答(自己免疫)を誘導し得る。Immunoblastの方法論を使用してこれを評価した。

30

【0333】

ポリPEPI1018の30merの各成分に関する16merのペプチドを設計した。各16merは、30merの最初の15残基の末端から8つのアミノ酸と、30merの第2の15残基の始点から8つのアミノ酸を含み、よって2つの15merの接続領域に正確に広がる。次いで、これらの16merを解析し、タンパク質配列を配列データベースと比較して一致の統計学的な有意性を計算するBLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)を用いて、ヒト配列と部分的に類似する交差反応領域を同定した。8merはペプチドがエピトープを形成するために必要とされる最小の長さを表し、HLA結合中のアンカーポイント間の距離であるため、16merの中の8merを試験長として選択した。

40

【0334】

図19に示すように、ポリペプチド内のアミノ酸の位置に番号付けをした。HLAに結合しネオエピトープを形成できる潜在的な9merペプチドの開始位置は、8位~15位の8アミノ酸である。薬学的に活性なエピトープを形成できる15merに含まれる腫瘍抗原由来のペプチドの開始位置は、1位~7位と16位-22位での7+7=14アミノ酸である。可能性のあるネオエピトープ生成ペプチドの比率は36.4%(8/22)である。

50

【 0 3 3 5 】

PEPI3+試験は、接合領域の中の9merエピトープの間で、ネオエピトープとネオPEPIを同定するためのものであった。ポリPEPI1018が望まれないT細胞応答を誘導する危険性を、接続領域の9mer中のPEPI3+を有する被験者の割合を決定することにより、モデル集団の433人の被験者で評価した。ネオエピトープ/ネオPEPI解析の結果を表32に要約する。モデル集団の433人の被験者の中で、細胞内プロセッシングにより生成され得ると平均予想エピトープの数は、40.12であった。ネオエピトープは頻りに生成された；40.12のうちの11.61(28.9%)のエピトープはネオエピトープである。ほとんどのペプチドをネオエピトープとして同定することができたが、ネオエピトープを提示する被験者の数は様々であった。

10

【 0 3 3 6 】

ポリPEPI1018が有するエピトープは、平均で5.21のPEPI3+を作成する。これらのPEPIは、被験者のT細胞を活性化できる。潜在的なネオPEPIの量は、ネオエピトープよりもはるかに少なかった(3.7%)。一部の被験者では、これらのネオPEPIがT細胞活性化に関してPEPIと競合する可能性が僅かにある。重要なことに、活性化されたネオPEPI特異的なT細胞は、健康な組織に標的を有さなかった。

【 0 3 3 7 】

【表32-1】

表32 PolyPEPI1018の潜在的なネオエピトープの同定

ポリPEPI1018ペプチドID:	潜在的なネオエピトープ	モデル集団の433人の被験者中のエピトープ & PEPI3+結合							
		エピトープ結合 (1 x HLA)				PEPI3+ 結合 (3 x HLA)			
		亜集団の数	亜集団の%	ネオEPI	ネオEPIカウント	亜集団の数	亜集団の%	ネオPEPI	ネオPEPIカウント
CRC-P1	QFPVSEGKS	0	0.0%		7	0	0.0%		3
	FPVSEGKSR	160	37.0%	X		1	0.2%	X	
	PVSEGKSR	150	34.6%	X		0	0.0%		
	VSEGKSR	194	44.8%	X		1	0.2%	X	
	SEGKSR	113	26.1%	X		0	0.0%		
	EGKSR	77	17.8%	X		0	0.0%		
	GKSR	37	8.5%	X		0	0.0%		
	KSR	337	77.8%	X		33	7.6%	X	
CRC-P2	IELKHKART	32	7.4%	X	7	0	0.0%		1
	ELKHKARTA	63	14.5%	X		0	0.0%		
	LKHKARTAK	59	13.6%	X		0	0.0%		
	KHKARTAKK	166	38.3%	X		1	0.2%	X	
	HKARTAKKV	0	0.0%			0	0.0%		
	KARTAKKVR	70	16.2%	X		0	0.0%		
	ARTAKKVR	134	30.9%	X		0	0.0%		
	RTAKKVRRA	41	9.5%	X		0	0.0%		
CRC-P3	EFSMQGLKD	0	0.0%		5	0	0.0%		1
	FSMQGLKDE	188	43.4%	X		0	0.0%		
	SMQGLKDEK	138	31.9%	X		0	0.0%		
	MQGLKDEKV	16	3.7%	X		0	0.0%		
	QGLKDEKVA	0	0.0%			0	0.0%		
	GLKDEKVAE	0	0.0%			0	0.0%		
	LKDEKVAEL	186	43.0%	X		3	0.7%	X	
	KDEKVAELV	51	11.8%	X		0	0.0%		

20

30

40

【 0 3 3 8 】

【表 3 2 - 2】

表 3 2 PolyPEPI1018 の潜在的なネオエピトープの同定

ポリ PEPI1018 ペプチド ID:	潜在的なネ オエピトープ	モデル集団の 4 3 3 人の被験者中のエピトープ & PEPI3+結合							
		エピトープ結合 (1 x HLA)				PEPI3+ 結合 (3 x HLA)			
		亜集団 の数	亜集団 の%	ネオ EPI	ネオ EPI カ ウント	亜集 団の 数	亜集 団の%	ネオ PEPI	ネオ PEPI カ ウント
CRC-P6	LLALMVGLK	252	58.2%	X	7	0	0.0%		1
	LALMVGLKD	86	19.9%	X		0	0.0%		
	ALMVGLKDH	65	15.0%	X		0	0.0%		
	LMVGLKDHR	97	22.4%	X		0	0.0%		
	MVGLKDHRI	67	15.5%	X		0	0.0%		
	VGLKDHRIIS	0	0.0%			0	0.0%		
	GLKDHRIIS	4	0.9%	X		0	0.0%		
	LKDHRISTF	195	45.0%	X		5	1.2%	X	
CRC-P7	PALFKENRS	0	0.0%		5	0	0.0%		1
	ALFKENRSG	0	0.0%			0	0.0%		
	LFKENRSGA	41	9.5%	X		0	0.0%		
	FKENRSGAV	114	26.3%	X		0	0.0%		
	KENRSGAVM	261	60.3%	X		0	0.0%		
	ENRSGAVMS	0	0.0%			0	0.0%		
	NRSGAVMSE	227	52.4%	X		0	0.0%		
	RSGAVMSER	197	45.5%	X		2	0.5%	X	
CRC-P8	AVLTKKFQK	181	41.8%	X	7	0	0.0%		3
	VLTKKFQKV	208	48.0%	X		2	0.5%	X	
	LTKKFQKVN	0	0.0%			0	0.0%		
	TKKFQKVN	25	5.8%	X		0	0.0%		
	KKFQKVNFF	250	57.7%	X		12	2.8%	X	
	KFQKVNFFF	273	63.0%	X		23	5.3%	X	
	FQKVNFFFE	163	37.6%	X		0	0.0%		
	QKVNFFFER	110	25.4%	X		0	0.0%		

略語：CRC=結腸直腸がん；HLA=ヒト白血球抗原；PEPI=個人用エピトープ

【0339】

標的CTAを除き、接合領域における8merはいずれのヒトタンパク質ともマッチしなかったために、ポリPEPI1018内の各30merペプチドを臨床試験のために放出した。

【0340】

活性/効果の特性解析

本発明者らは個々のヒト被験者内のみならず、ヒト被験者の集団内においてワクチンの活性/効果を予測する薬力学バイオマーカーを開発した。これらのバイオマーカーは、より効果的なワクチンの開発を促進し、開発費用も低減させる。本発明者らは下記のツールを有している：

【0341】

抗原発現の知識基盤：本発明者らは論文審査がある(peer reviewed)科学専門誌に公表された実験から、腫瘍細胞により発現される腫瘍抗原に関するデータを収集し、腫瘍型により体系化してCTA発現レベルのデータベース(CTAデータベース、CTADB)を作成した。2017年4月現在で、CTADBは41,132の腫瘍標本に由来する145のCTAに由来するデータを含んでおり、異なる型のがんの中のCTA発現頻度により体系化された。

【0342】

10

20

30

40

50

インシリコ治験集団；本発明者らは幾つかの異なるモデル集団のHLA遺伝子型に関するデータも採取した。その集団内のそれぞれの個体は、完全な4桁のHLA遺伝子型と民族性のデータを有している。その集団を表33に要約する。

【0343】

【表33】

表33 インシリコ治験集団

集団	被験者の数	包含基準
モデル集団	433	完全なHLAクラスI遺伝子型 多様な民族性
CRC診断	37	完全なHLAクラスI遺伝子型 CRC診断、未知の民族性
「大」集団	7,189	完全なHLAクラスI遺伝子型 多様な民族性
中国人の集団	234	完全なHLAクラスI遺伝子型 中国の民族
アイルランド人の 集団	999	完全なHLAクラスI遺伝子型 アイルランドの民族

略語：CRC=結腸直腸がん；HLA=ヒト白血球抗原

10

【0344】

これらのツール（又は潜在的に同等のデータベース若しくはモデル集団）を使用して、下記のマーカーを評価することができる：

20

【0345】

・AG95 - ワクチンの効力：特定の腫瘍型が95%の確率で発現するがんワクチンにおける抗原の数。AG95はワクチンの効力の指標であり、ワクチン抗原の免疫原性には依存しない。AG95はCTADBの中に収集されている腫瘍抗原発現率のデータから計算される。技術的には、AG95はCTAの二項分布から決定され、可能性のある全ての変動と発現率を考慮に入れる。本研究においてAG95は、発現した抗原のある数の確率を、抗原の最も広い範囲で積算することにより計算され、確率の合計は95%以下である。正しい値は0（95%の確率で発現しないと予測される）と抗原の最大数（95%の確率で全ての抗原が発現している）の間である。

30

【0346】

・PEPI3+カウント - 被験者におけるワクチンの免疫原性：ワクチンに由来するPEPI3+は、被験者においてT細胞応答を誘導する個人用（personal）エピトープである。PEPI3+は、完全な4桁の（4-digit）HLA遺伝子型が知られている被験者においてPEPI3+試験を使用して決定できる。

【0347】

・APカウント - 被験者におけるワクチンの抗原性：PEPI3+を有するワクチン抗原の数。ポリPEPI1018の様なワクチンは、腫瘍細胞により発現される抗原に由来する配列を含む。APカウントはPEPI3+を含むワクチンの中の抗原の数であり、APカウントは、被験者の中でT細胞応答を誘導できるワクチンの中の抗原の数を表す。APカウントは、被験者のHLA遺伝子型にのみ依存し、被験者の疾患、年齢、及び薬物には依存しないため、被験者のワクチン抗原特異的なT細胞応答を特徴付ける。正しい値は、0（抗原によりPEPIが提示されない）と抗原の最大数（すべての抗原がPEPIを提示する）との間である。

40

【0348】

・AP50 - 集団内のワクチンの抗原性：集団内のPEPIを有するワクチン抗原の平均数。AP50は、集団内の被験者のHLA遺伝子型に依存するため、所定の集団内のワクチン - 抗原特異的なT細胞応答を特徴付けに適している。技術的にはAPカウントはモデル集団の中で計算され、その結果の二項分布を使用してAP50を計算する。

50

【0349】

・AGPカウント - 被験者におけるワクチンの有効性：PEPIを用いて腫瘍で発現するワクチン抗原の数である。AGPカウントは、ワクチンが認識し、それに対するT細胞応答を誘導する（標的に命中する）腫瘍抗原の数を示す。AGPカウントは、被験者の腫瘍におけるワクチン - 抗原発現率と、被験者のHLA遺伝子型に依存する。正しい値は、0（発現した抗原によりPEPI提示されない）と抗原の最大数（すべての抗原が発現してPEPIを提示する）との間である。

【0350】

・AGP50 - 集団におけるがんワクチンの有効性：集団内のPEPIで示された腫瘍で発現するワクチン抗原（即ち、AGP）の平均数。AGP50は、ワクチンにより誘導されたT細胞応答が認識できる腫瘍抗原の平均数を示す。AGP50は、示された腫瘍型における抗原の発現率と、標的集団における抗原の免疫原性に依存している。AGP50は、異なる集団におけるワクチンの有効性を評価することができ、同じ集団における異なるワクチンを比較するために使用できる。AGP50の計算は、発現されたワクチン抗原に対して被験者におけるPEPI3+の出現により発現が重み付けられることを除いて、AG50に使用されるものと類似している。各被験者が各ワクチン抗原に由来するPEPIを有する理論上の集団においては、AGP50はAG50と等しくなる。被験者が如何なるワクチン抗原に由来するPEPIも有さない他の理論上の集団においては、AGP50は0になる。一般的には下記の記載が有効である：0 AGP50 AG50。

10

【0351】

・mAGP - 可能性の高い応答者を選択するためのバイオマーカー候補：がんワクチンが、示された腫瘍で発現した複数の抗原に対するT細胞応答を誘導する可能性。mAGPは、CRC内のワクチン抗原の発現率、及び被験者におけるワクチン由来PEPIの存在から計算される。技術的にはAGP分布に基づいて、mAGPは複数のAGP（2つ以上のAGP）の確率の合計である。

20

【0352】

CRCを有する個々の患者においてポリPEPI1018の抗原性と有効性を評価するための、これらのバイオマーカーの適用

表34は、37人のCRC患者において、APとAGP50をそれぞれ使用した、ポリPEPI1018の抗原性と有効性を示す。ポリPEPI1018特異的なT細胞応答の高い変動性（表29をみよ）から予測されたように、APとAGP50は高い変動性を有する。ポリPEPI1018の中で最も抗原性が高い抗原はFOXO39であり；各患者はPEPI3+を有していた。しかしながら、FOXO39はCRC腫瘍の39%のみに発現し、61%の患者はその腫瘍を認識しないFOXO39特異的な応答を示すであろうことを示唆している。最も免疫原性が低い抗原はMAGE-A8であり；CRC腫瘍の44%においてその抗原は発現しているにも関わらず、37人のCRC患者の何れもPEPI3+を有さなかった。これらの結果は、がんワクチンの有効性を決定するとき、抗原の発現と免疫原性の両方を考慮に入れ得ることを示している。

30

【0353】

AGP50は、PEPIを有するCRC腫瘍内に発現している抗原の平均数を示す。より高いAGP50値は、CRC細胞の中で発現しているより多くの抗原に対してワクチンがT細胞応答を誘導できることを示唆しているため、より高い値のAGP50を有する患者はポリPEPI1018に反応する可能性がより高い。

40

【0354】

表32の最後のカラムは、37人の各CRC患者におけるmAGPの確率（複数AGP；すなわち、少なくとも2つのAGP）を示している。CRCを有する患者における平均mAGPは66%であり、CRC患者が腫瘍の中に発現した複数の抗原に対してT細胞応答を誘導するであろう可能性は66%であることを示唆している。

【0355】

【表 3 4 - 1】

表 3 4 37人のCRC患者における、ポリPEPI1018の抗原性（APカウント）、有効性（AGP50カウント）、及びmAGP

PolyPEPI1018 の中の抗原 (CTA)	TSP50	EpCAM	サバイ ピン (Surviv in)	CAGE1	SPAG9	FBX039	MAGE-A8	APの数(AP カウント)	AGP50の 数 (AGP50カ ウント)	mAGP
発現比率	89%	88%	87%	74%	74%	39%	44%			
CRC患者										
CRC-01	0	0	0	1	1	1	0	3	1.87	90%
CRC-02	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	85%
CRC-03	1	1	0	1	0	1	0	4	2.91	97%
CRC-04	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	91%
CRC-05	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	78%
CRC-06	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	99%
CRC-07	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	84%
CRC-08	0	1	1	1	0	1	0	4	2.89	98%
CRC-09	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	99%
CRC-10	1	0	0	0	0	1	0	2	1.28	86%
CRC-11	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	79%
CRC-12	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	88%
CRC-13	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-14	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	87%
CRC-15	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	90%
CRC-16	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	85%
CRC-17	1	1	1	0	0	1	0	4	3.04	96%
CRC-18	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-19	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	85%
CRC-20	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-21	0	1	0	1	0	1	0	3	2.01	93%
CRC-22	1	1	0	1	0	1	0	4	2.91	97%
CRC-23	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	99%
CRC-24	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	82%

【 0 3 5 6 】

10

20

30

【表 3 4 - 2】

PolyPEPI1018 の中の抗原 (CTA)	TSP50	EpCAM	サバイ ビン (Surv ivin)	CAGE1	SPAG9	FBX039	MAGE-A8	AP の数 (AP カウント)	AGP50 の 数 (AGP50 カ ウント)	mAGP
発現比率	89%	88%	87%	74%	74%	39%	44%			
CRC 患者										
CRC-25	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	89%
CRC-26	1	1	0	1	0	1	0	4	2.91	95%
CRC-27	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	78%
CRC-28	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-29	1	0	0	1	0	1	0	3	2.03	92%
CRC-30	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-31	1	0	0	0	0	1	0	2	1.28	80%
CRC-32	1	0	1	0	0	1	0	3	2.15	91%
CRC-33	1	1	1	1	0	1	0	5	3.78	98%
CRC-34	0	0	0	1	0	1	0	2	1.13	82%
CRC-35	0	0	0	0	0	1	0	1	0.39	55%
CRC-36	0	0	0	0	0	1	0	1	0.39	55%
CRC-37	0	0	0	0	0	1	0	1	0.39	55%

略語：CRC=結腸直腸がん；PEPI=個用エピトープ；CTA=がん精巢抗原；AP=1つ

以上のPEPIを有する発現抗原

【0357】

これらのバイオマーカーは、侵襲的な生検を必要としないので、ワクチン開発と日常的な臨床業務において即時の有用性を有する。抗原発現のデータは達成された腫瘍標本から得られ、データベース内で体系化することができる。4桁のHLA遺伝子型は唾液標本から決定することができる。これは移植と父親確定試験のために、全世界の認定された研究所によって行われている検証された試験である。これらの評価は薬物の開発者と医師が、免疫原性と腫瘍応答の活性、及びあり得る耐性の出現についてより深い洞察をすることを可能とするであろう。

【0358】

集団内のポリPEPI1018の抗原性と有効性を評価するための、これらのバイオマーカーの適用

一般集団におけるポリPEPI1018CRCワクチンの抗原性

被験者におけるポリPEPI1018の抗原性をAPカウントにより決定し、それは被験者においてT細胞応答を誘導するワクチン抗原の数を示唆している。ポリPEPI1018のAPカウントを、PEPI試験を使用して、モデル集団内の433人の各被験者について決定し、その後そのモデル集団についてAP50カウントを計算した。図20に見られるように、モデル集団におけるポリPEPI1018のAP50は3.62である。よって一般集団における、ポリPEPI1018内の免疫原性抗原（すなわち1つ以上のPEPIを有する抗原）の平均数は3.62である。

【0359】

一般集団におけるポリPEPI1018CRCワクチンの有効性

ワクチン内のPEPIが腫瘍細胞により提示される場合には、ワクチンにより誘導されたT細胞は腫瘍細胞を認識して殺すことができる。AGP（PEPIを有する発現抗原）の数は個体におけるワクチンの有効性の指標であり、ポリPEPI1018の効力と免疫原性の両方に依存している。図21に見られるように、ポリPEPI1018内の免疫原性CTAの平均数（即ち、AP[1つ以上のPEPIを有する発現抗原]）は、モデル集団では2.54である。モデル集団内の被験者において、ポリPEPI1018が複数抗

原に対する T 細胞応答を誘導する可能性（即ち m A G P ）は 77% である。

【0360】

異なる集団におけるポリPEPI1018CRCワクチン活性の比較

表35～37は、異なる集団におけるポリPEPI1018の免疫原性、抗原性、及び有効性の比較を示す。

【0361】

【表35】

表35 異なる亜集団における、ポリPEPI1018の免疫原性、抗原性、及び有効性の比較

集団	被験者の数	PEPI3+の数		APの数		AGP50の数	
		平均	SD	平均	SD	平均	SD
CRC	37	5.16	1.98	3.19	1.31	2.21	1.13
モデル	433	5.02	2.62	3.62	1.67	2.54	1.25
大集団	7,189	5.20	2.82	3.75	1.74	2.66	1.30
中国人	324	5.97	3.16	4.28	1.78	3.11	1.30
アイルランド人	999	3.72	1.92	2.86	1.46	1.94	1.10

略語：CRC＝結腸直腸がん；PEPI＝個人用エピトープ；SD＝標準偏差；AP＝1つ以上のPEPIを有する発現抗原

10

【0362】

PEPI3+とAPの平均数の結果は、全ての集団においてポリPEPI1018は免疫原性と抗原性が高いことを示した；ポリPEPI1018は、2.9～3.7個のCRC抗原に対して、平均で3.7～6.0個のCRC特異的なT細胞クローンを誘導することができる。ポリPEPI1018の免疫原性はCRCを有する患者と平均集団において類似しており（ $p > 0.05$ ）、この類似性はCRC集団の規模が小さいことに依るのかもしれない。追加の解析は、ポリPEPI1018は、アイルランド人又は一般集団と比較して、中国人の集団では免疫原性が顕著に高い（ $p < 0.0001$ ）ことを示唆する。免疫原性におけるこの差は、AGP50により特徴付けられるワクチンの有効性にも反映され；ポリPEPI1018は中国人の集団において最も有効であり、アイルランド人の集団では有効性が低い。CDxはポリPEPI1018に対する可能性が高い反応者を選択するのに使用されるであろうから、民族性による差は、アイルランド人の個体と比べて治療に適しているのかもしれない、中国人の個体のより高いパーセンテージにおいてのみ反映されるであろう。

20

30

【0363】

【表36】

表36 ポリPEPI1018ワクチン、複数CRC抗原に対する予測された免疫応答率

集団	被験者数	PolyPEPI1018 複数抗原 CTL 応答					
		≥3	≥4	≥5	≥6	7	
CRC 患者	ベトナム人	211	91%	81%	56%	38%	17%
	US	44	57%	34%	20%	5%	0%
	コーカサス人	83	75%	51%	30%	17%	4%
正常ドナー	US	400	61%	39%	25%	12%	3%
	ヨーロッパ人	1,386	55%	30%	18%	7%	1%
	中国人	324	84%	68%	45%	26%	15%
	沖縄人(日本)	104	81%	57%	36%	16%	13%
	日本人	45	77%	55%	34%	16%	13%

40

【0364】

【表 3 7】

表 3 7 ポリPEPI1018ワクチン、複数CRC抗原に対する予測された免疫応答率

集団		被験者の数	PEPIの数		APの数		AGP50の数	
			平均	SD	平均	SD	平均	SD
CRC患者	ベトナム人	211	6.96	3.01	4.81	1.58	3.47	1.16
	US	44	4.05	2.05	3.00	1.46	2.05	1.12
	コーカサス人	83	4.75	2.39	3.57	1.76	2.50	1.27
正常ドナー	US	400	4.30	2.50	3.19	1.74	2.17	1.30
	ヨーロッパ人	1,386	3.84	2.01	2.94	1.51	2.00	1.14
	中国人	324	5.97	3.16	4.28	1.78	3.11	1.30
	沖縄人(日本)	104	5.29	2.58	4.01	1.63	2.91	1.19
	日本人	45	5.31	3.27	3.67	1.77	2.66	1.29

10

【0365】

実施例 2 1 卵巣がんの治療のための個別化された免疫療法組成物

この実施例は、個別化された免疫療法組成物による卵巣がん患者の治療を説明するが、組成物は、本明細書に記載の開示に基づく患者のHLA遺伝子型に基づいて、患者のために特別に設計された。この実施例及び以下の実施例 2 2 は、本開示に基づく細胞傷害性T細胞応答を誘導するための被験者の複数のHLAによるエピトープの結合に関する原理を支持する臨床データを提供する。

20

【0366】

転移性卵巣腺がん患者XYZのHLAクラスI及びクラスII遺伝子型を唾液試料から決定した。

【0367】

患者XYZのために個別化された医薬組成物を作製するために、次の2つの基準をそれぞれ満たす13個のペプチドを選択した：(i)論文審査がある科学刊行物で報告されているように、卵巣がんで見出される抗原に由来する；及び(ii)患者XYZの少なくとも3つのHLAクラスIに結合することができるT細胞エピトープである断片を含む、(表38)。加えて各ペプチドは、患者のHLAクラスIIの最大数に結合するように最適化される。

30

【0368】

【表 3 8】

表 3 8 XYZ 卵巣がん患者の個別化されたワクチン

XYZ のワクチン	標的抗原	抗原発現	20mer ペプチド	最大の HLA クラス I	最大の HLA クラス II
POC01_P1	AKAP4	89%	NSLQKQLQAVLQWIAASQFN	3	5
POC01_P2	BORIS	82%	SGDERSDEIVLTVSNSNVEE	4	2
POC01_P3	SPAG9	76%	VQKEDGRVQAFGWSLPQKYK	3	3
POC01_P4	OY-TES-1	75%	EVESTPMIMENIQELIRSAQ	3	4
POC01_P5	SP17	69%	AYFESLLEKREKTNFDPAEW	3	1
POC01_P6	WT1	63%	PSQASSGQARMFPNAPYLPS	4	1
POC01_P7	HIWI	63%	RRSIAGFVASINEGMTRWFS	3	4
POC01_P8	PRAME	60%	MQDIKMLKMQVQLDSIEDLE	3	4
POC01_P9	AKAP-3	58%	ANSVSDMMVSIMKTLKIQV	3	4
POC01_P10	MAGE-A4	37%	REALSNKVDELAHFLLRKYR	3	2
POC01_P11	MAGE-A9	37%	ETSYEKVINYLMLNAREPI	3	4
POC01_P12a	MAGE-A10	52%	DVKEVDPTGHSFVLVTSGLL	3	4
POC01_P12b	BAGE	30%	SAQLLQARLMKEESPVSWR	3	2

10

【0369】

20

表 3 に示す P E P I 試験の検証によれば、この免疫療法組成物中の 11 個の P E P I 3 ペプチドは 84% の確率で、2 つの P E P I 4 ペプチド (P O C 0 1 - P 2 及び P O C 0 1 - P 5) は 98% の確率で X Y Z において T 細胞応答を誘導することができる。T 細胞応答は、卵巣がんが発現する 13 個の抗原を標的とした。患者 X Y Z におけるこれらのがん抗原の発現は試験しなかった。代わりに、がん細胞を成功裡に殺傷する確率を、患者のがん細胞での抗原発現の確率及び、1 P E P I 3 + 試験 (AGP カウント) の陽性的中率に基づいて決定した。AGP カウントは、被験者におけるワクチンの有効性を予測する：P E P I を有する患者の腫瘍 (卵巣腺がん) で発現するワクチン抗原の数。AGP カウントは、ワクチンが認識し、患者の腫瘍に対する T 細胞応答を誘導する (標的に的中する) 腫瘍抗原の数を示す。AGP カウントは、被験者の腫瘍におけるワクチン抗原の発現率と、

30

【0370】

患者 X Y Z が 12 個の抗原の 1 個以上を発現するであろう確率を、図 22 に示す。AGP 95 = 5、AGP 50 = 7.9、mAGP = 100%、AP = 13。

【0371】

個体の少なくとも 3 つの H L A に結合できる少なくとも 2 つのポリペプチド断片 (エピト - プ) のワクチン又は免疫療法組成物中の存在 (2 P E P I 3 +) は、臨床応答を予測すると決定されたため、患者 X Y Z のための医薬組成物は、13 個のペプチド (表 3 8) のうち少なくとも 2 個からなってもよい。ペプチドは合成され、薬学的に許容可能な溶媒に溶解され、注射の前にアジュバントと混合される。少なくとも 2 つのペプチドワクチンによる個別化された免疫療法を受けることが患者には望ましいが、がん細胞を殺傷する確率を高めて再発の可能性を減らすことがより好ましい。

40

【0372】

患者 X Y Z の治療のために、12 個のペプチドを、4 x 3 / 4 ペプチド (P O C 0 1 / 1、P O C 0 1 / 2、P O C 0 1 / 3、P O C 0 1 / 4) として製剤化した。1 回の治療サイクルは、13 個全てのペプチドを 30 日以内に投与するものと規定された。

【0373】

患者の病歴：

50

診断：転移性卵巣腺がん

年齢：51

家族の既往歴：結腸がんと卵巣がん（母親）、乳がん（祖母）

腫瘍の病理

B R C A I - 1 8 5 d e l A G、B R A F - D 5 9 4 Y、M A P 2 K 1 - P 2 9 3 S、N O T C H I - S 2 4 5 0 N

・2011：卵巣腺がんの最初の診断；ウェルトヘイム（Wertheim）手術と化学療法；リンパ節除去

・2015：心膜脂肪組織における転移、切除

・2016：肝臓転移

・2017：後腹膜及び腸間膜のリンパ節が進行した；少量の腹水を伴う初期腹膜癌

過去の治療

・2012：パクリタキセル - カルボプラチン（6 x）

・2014：カエリクス（caelyx） - カルボプラチン（1 x）

・2016 - 2017（9か月）：リムパーザ（Lymparza）（オラパリブ）2 x 400 mg / 日、経口

・2017：ハイカムチン注入 5 x 2 . 5 mg（3 x 1シリーズ / 月）

2017年4月21日にPITワクチン治療の開始

【0374】

【表39】

表39 患者XYZのペプチド治療のスケジュール

ロット番号		ワクチン接種			
		1回目のサイクル	2回目のサイクル	3回目のサイクル	4回目のサイクル
POC01/1	N1727	21.04.2017	16.06.2017	30.08.2017	19.10.2017
POC01/2	N1728	28.04.2017	31.05.2017		
POC01/3	N1732		16.06.2017	02.08.2017	20.09.2017
POC01/4	N1736	15.05.2017	06.07.2017		

【0375】

患者の腫瘍MRI所見（基準日 2016年4月15日）

・疾患は主として肝臓とリンパ節に限られていた。MRIの使用は肺(pulmonary)転移の検出を制限する。

・2016年5月 - 2017年1月：オラパリブ治療

・2016年12月25日（PITワクチン治療前）：FU2で得られた応答の確認により腫瘍量が劇的に減少した

・2017年1月 - 3月：TOPOプロトコール（トポイソメラーゼ）

・2017年4月6日：FU3は、既存の病変の再成長と疾患の進行に至る新たな病変の出現を示した

・2017年4月21日：PIT開始

・2017年7月21日（PITの2回目のサイクル後）：FU4は病変の継続的な成長、脾臓の全般的な拡大、及び腹水の増加を伴う異常な膵傍シグナル（para pancreatic signal）を示した

・2017年7月26日：CBP + Gem + アバスチン

・2017年9月20日（PITの3回目のサイクル後）：FU5は病変成長の反転及び膵臓 / 膵傍シグナルの改善を示した。この所見は偽進行（pseudo progression）を示唆する

・2017年11月28日（PITの4回目のサイクルの後）：FU6は、非標的病変の解決と共に最良の応答を示した

患者XYZのMRIのデータを表40及び図23に示す。

10

20

30

40

50

【 0 3 7 6 】

【 表 4 0 】

表 4 0 病変応答の概要の表

病変/ 時点	ベースラ イン (ベース ラインか らの%Δ)	FU1 (ベース ライン からの %Δ)	FU2 (ベース ライン からの %Δ)	FU3 (ベース ライン からの %Δ)	FU4 (ベース ライン からの %Δ)	FU5 (ベース ライン からの %Δ)	FU6 (ベース ライン からの %Δ)	最良の 応答サ イクル	PD 時点
TL1	NA	-56.1	-44.4	-44.8	+109.3	-47.8	-67.3	FU6	FU4
TL2	NA	-100.0	-100.0	-47.1	-13.1	-100.0	-100.0	FU1	FU3
TL3	NA	-59.4	-62.3	-62.0	-30.9	-66.7	-75.9	FU6	FU4
TL4	NA	-65.8	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	FU2	NA
合計	NA	-66.3	-76.0	-68.9	-23.5	-78.2	-85.2	FU6	FU4

10

【 0 3 7 7 】

実施例 2 2 乳がんの治療のための個別化された免疫療法組成物の設計

転移性乳がん患者 A B C の H L A クラス I 及びクラス I I の遺伝子型を唾液試料から決定した。患者 A B C のための個別化された医薬組成物を作製するために、それぞれ次の 2 つの基準を満たす 1 2 個のペプチドを選択した：(i) 論文審査がある科学刊行物で報告されているような乳がんが発現する抗原に由来；及び(i i) 患者 A B C の少なくとも 3 つの H L A クラス I に結合することができる T 細胞エピトープである断片を含む(表 4 1)。さらに、各ペプチドは、患者の H L A クラス I I の最大数に結合するように最適化する 1 2 個のペプチドは 1 2 個の乳がん抗原を標的とする。患者 A B C が 1 2 個の抗原の 1 個以上を発現するであろう確率を図 2 4 に示す。

20

【 0 3 7 8 】

【 表 4 1 】

表 4 1 乳がん患者 A B C のための 1 2 個のペプチド

BRC09 ワクチン ペプチド	標的抗原	抗原発現	20mer ペプチド	最大の HLA ク ラス I	最大の HLA ク ラス II
PBRC01_cP1	FSIP1	49%	ISDTKDYFMSKTLGIGRLKR	3	6
PBRC01_cP2	SPAG9	88%	FDRNTESLFEELSSAGSGLI	3	2
PBRC01_cP3	AKAP4	85%	SQKMDMSNIVLMLIQKLLNE	3	6
PBRC01_cP4	BORIS	71%	SAVFHERYALIQHQKTHKNE	3	6
PBRC01_cP5	MAGE-A11	59%	DVKEVDPTSHSYVLVTSNL	3	4
PBRC01_cP6	NY-SAR-35	49%	ENAHGQSLEEDSAEALLNF	3	2
PBRC01_cP7	HOM-TES-85	47%	MASFRKLTSEKVPNHPSPR	3	5
PBRC01_cP8	NY-BR-1	47%	KRASQYSGQLKVLIAENTML	3	6
PBRC01_cP9	MAGE-A9	44%	VDPAQLEFMFQEALKLKVAE	3	8
PBRC01_cP10	SCP-1	38%	EYEREETRQVYMDLNNIEK	3	3
PBRC01_cP11	MAGE-A1	37%	PEIFGKASESLQLVFGIDVK	3	3
PBRC01_cP12	MAGE-C2	21%	DSESSFTYTLDEKVAELVEF	4	2

30

40

【 0 3 7 9 】

予測される効力：A G P 9 5 = 4；P I T ワクチンが B R C 0 9 の乳がん細胞で発現する 4 つの C T A に対する C T L 応答を誘導する 9 5 % の可能性。追加の効力パラメーター：A G P 5 0 = 6 . 3、m A G P = 1 0 0 %、A P = 1 2。

【 0 3 8 0 】

1 2 個全てのペプチドの初回ワクチン接種後に検出された効力：腫瘍代謝活性の 8 3 % の低下 (P E T C T データ)

50

【0381】

患者ABCの治療のために、12個のペプチドを、4×3ペプチド(PBR01/1、PBR01/2、PBR01/3、PBR01/4)として製剤化した。1回の治療サイクルを、30日以内に12個の異なるペプチドワクチンを全て投与することと定義した。

【0382】

患者の病歴

診断：両側性転移性乳がん：右乳房はER陽性、PR陰性、Her2陰性であり；左乳房はER、PR、及びHer2陰性である。

最初の診断：2013年(PITワクチン治療の4年前)

2016年：横隔膜の上下両方にリンパ節転移を伴う広範な転移性疾患。複数の肝臓及び肺転移。

2016年 - 2017年治療：エトロゾール、イブランス(パルボシクリブ)及びゾラデックス

【0383】

結果

2017年3月7日：PITワクチン治療の前

総胆管の起点の真の外因性圧迫及び肝内胆管全体の大規模な拡張を伴う、肝臓の多発性転移疾患。腹腔、肝門、及び後腹膜の腺症。

2017年5月26日：PITの1サイクルの後

検出された効力：肝臓、肺リンパ節、及びその他の転移での腫瘍代謝活性(PET CT)の83%減少。

検出された安全性：皮膚応答

ワクチン投与後48時間以内の注射部位での局所的な炎症

【0384】

追跡調査：

RBC-09を5サイクルのPITワクチンで治療した。彼女は非常に気分がよく、2017年9月にPET CT検査を拒否した。11月に彼女は症状を示し、PET CTスキャンにより進行性疾患が示されたが、彼女は全ての治療を拒否した。加えて彼女の腫瘍医は、彼女がパルボシクリブを春/夏以降服用していなかったことを見い出した。患者ABCは2018年1月に死亡した。

【0385】

パルボシクリブ(pablocyclib)と個別化されたワクチンの組み合わせは、ワクチンの投与後に観察された顕著な初期応答の原因である可能性が高かった。パルボシクリブは、HLAによるCTA提示を増加させ、Tregの増殖を減少させることにより、免疫療法の活性を改善することが示されている(Goel et al. Nature. 2017:471-475)。最大の効果を得るための最新の療法へのアドオンとしてPITワクチンを使用してもよい。

【0386】

実施例23 末期の転移性乳がん患者の治療のための個別化された免疫療法組成物

患者BRC05は、右乳房に広範囲のがん性リンパ管炎(lymphangiosis carcinomatosa)を有する炎症性乳がんと診断された。炎症性乳がん(IBC)は稀であるが、局所的に進行した乳がんの攻撃的な形態である。その主症状は腫れと発赤であるため、炎症性乳がんと呼ばれる(乳房はしばしば炎症を起こしているように見える)。ほとんどの炎症性乳がんは、侵襲性の腺管がんである(乳管で発生)。この型の乳がんは、危険性が高いヒトパピローマウイルスのがんタンパク質の発現と関連している¹。実際、この患者の腫瘍でHPV16のDNAが診断された。

【0387】

2011年の患者のステージ(PITワクチン治療の6年前)

T4：胸壁及び/又は皮膚への直接的な拡張を有する任意の大きさの腫瘍(潰瘍又は皮膚結節)

pN3a：10以上の腋窩リンパ節への転移(少なくとも1つの2.0mm超の腫瘍沈着

10

20

30

40

50

; 又は鎖骨下リンパ(レベル I I I の腋窩リンパ) 節への転移

【 0 3 8 8 】

1 4 個のワクチンペプチドを患者 R B C 0 5 のために設計して調製した(表 4 2)。集団発現データに基づいて、ペプチド R B R C 0 5 - P 0 1 - P 1 0 をこの患者のために作製した。表 4 2 の最後の 3 つのペプチド(S S X - 2、M O R C、M A G E - B I)は、この患者の腫瘍で発現が直接測定された抗原から設計した。

【 0 3 8 9 】

【表 4 2】

表 4 2 患者 B R C 0 5 のためのワクチンペプチド

BRC05 ワクチンペプチド	標的抗原	抗原発現	20mer ペプチド	最大の HLA クラス I	最大の HLA クラス II
PBRC05_P1	SPAG9	88%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	4
PBRC05_P2	AKAP4	85%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	4
PBRC05_P3	MAGE-A11	59%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P4	NY-SAR-35	49%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P5	FSIP1	49%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P6	NY-BR-1	47%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	4
PBRC05_P7	MAGE-A9	44%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P8	SCP-1	38%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	6
PBRC05_P9	MAGE-A1	37%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P10	MAGE-C2	21%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3
PBRC05_P11	MAGE-A12	13%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	4
PBRC05_P12	SSX-2	6%	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	1
PBRC05_P13	MORC	ND	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	4
PBRC05_P14	MAGE-B1	ND	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	3	3

注釈: 太字赤は CD 8 P E P I を意味し、下線は CD 4 対立遺伝子への最良の結合を意味する。

10

20

【 0 3 9 0 】

T 細胞応答は、ペプチド P B R C 0 5 __ P 1、P B R C 0 5 __ P 2、P B R C 0 5 __ P 3、P B R C 0 5 __ P 4、P B R C 0 5 __ P 5、P B R C 0 5 __ P 6、P B R C 0 5 __ P 7 の混合物による初回ワクチン接種の 2 週間後に末梢単核細胞の細胞を測定した。

30

【 0 3 9 1 】

【表 4 3】

表 4 3 抗原特異的な T 細胞応答: スポットの数 / 3 0 0, 0 0 0 P B R C

抗原	刺激	実験 1	実験 2	平均
SPAG9	PBRC05_P1	2	1	1.5
AKAP4	PBRC05_P2	11	4	7.5
MAGE-A11	PBRC05_P3	26	32	29
NY-SAR-35	PBRC05_P4	472	497	484.5
FSIP1	PBRC05_P5	317	321	319
NY-BR-1	PBRC05_P6	8	12	10
MAGE-A9	PBRC05_P7	23	27	25
なし	陰性対照(DMSO)	0	3	1.5

40

【 0 3 9 2 】

結果から、7 つのペプチドによる単回の免疫接種は、7 つのペプチドのうち 3 つに対して強力な T 細胞応答を誘導することが示され、強力な M A G E - A 1 1、N Y - S A R - 3 5、F S I P I 及び M A G E - A 9 に特異的な T 細胞応答を示す。A K A P 4 と N Y -

50

B R - 1 に対する弱い応答があり、S P A G 9 に対する応答はなかった。

【 0 3 9 3 】

参照文献

- ¹ Bagarazzi et al. Immunotherapy against HPV16/18 generates potent TH1 and cytotoxic cellular immune responses. *Science Translational Medicine*. 2012; 4(155):155ra138.
- ² Gudmundsdottir et al. Amplified antigen-specific immune responses in HIV-1 infected individuals in a double blind DNA immunization and therapy interruption trial. *Vaccine*. 2011; 29(33):5558-66.
- ³ Bioley et al. HLA class I - associated immunodominance affects CTL responsiveness to an ESO recombinant protein tumor antigen vaccine. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(1):299-306. 10
- ⁴ Valmori et al. Vaccination with NY-ESO-1 protein and CpG in Montanide induces integrated antibody/Th1 responses and CD8 T cells through cross-priming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104(21):8947-52.
- ⁵ Yuan et al. Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8+ T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(40):16723-16728.
- ⁶ Kakimi et al. A phase I study of vaccination with NY-ESO-1 peptide mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen. *Int J Cancer*. 2011;129(12):2836-46. 20
- ⁷ Wada et al. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen. *J Immunother*. 2014;37(2):84-92.
- ⁸ Welters et al. Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clin. Cancer Res*. 2008; 14(1):178-87.
- ⁹ Kenter et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med*. 2009; 361(19):1838-47. 30
- ¹⁰ Welters et al. Success or failure of vaccination for HPV16-positive vulvar lesions correlates with kinetics and phenotype of induced T-cell responses. *PNAS*. 2010; 107(26):11895-9.
- ¹¹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/mhc/main.fcgi?cmd=init>The MHC database, NCBI (Accessed Mar 7, 2016).
- ¹² Karkada et al. Therapeutic vaccines and cancer: focus on DPX-0907. *Biologics*. 2014;8:27-38.
- ¹³ Butts et al. Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(27):6674-81.
- ¹⁴ Yuan et al. Safety and immunogenicity of a human and mouse gp100 DNA vaccine in a phase I trial of patients with melanoma. *Cancer Immun*. 2009;9:5. 40
- ¹⁵ Kovjazin et al. ImMucin: a novel therapeutic vaccine with promiscuous MHC binding for the treatment of MUC1-expressing tumors. *Vaccine*. 2011;29(29-30):4676-86.
- ¹⁶ Cathcart et al. A multivalent bcr-abl fusion peptide vaccination trial in patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2004;103:1037-1042.
- ¹⁷ Chapuis et al. Transferred WT1-reactive CD8+ T cells can mediate antileukemic activity and persist in post-transplant patients. *Sci Transl Med*. 2013;5(174):174ra27.
- ¹⁸ Keilholz et al. A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene p 50

- roduct 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS. *Blood*; 2009; 113(26):6541-8.
- ¹⁹ Walter et al. Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat Med*. 2012;18(8):1254-61.
- ²⁰ Phuphanich et al. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2013;62(1):125-35.
- ²¹ Kantoff et al. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(7):1099-105. 10
- ²² Tagawa et al. Phase I study of intranodal delivery of a plasmid DNA vaccine for patients with Stage IV melanoma. *Cancer*. 2003;98(1):144-54.
- ²³ Slingluff et al. Randomized multicenter trial of the effects of melanoma-associated helper peptides and cyclophosphamide on the immunogenicity of a multi-peptide melanoma vaccine. *J Clin Oncol*. 2011;29(21):2924-32.
- ²⁴ Kaida et al. Phase 1 trial of Wilms tumor 1 (WT1) peptide vaccine and gemcitabine combination therapy in patients with advanced pancreatic or biliary tract cancer. *J Immunother*. 2011;34(1):92-9.
- ²⁵ Fenoglio et al. A multi-peptide, dual-adjuvant telomerase vaccine (GX301) is highly immunogenic in patients with prostate and renal cancer. *Cancer Immunol Immunother*; 2013; 62:1041-1052. 20
- ²⁶ Krug et al. WT1 peptide vaccinations induce CD4 and CD8 T cell immune responses in patients with mesothelioma and non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*; 2010; 59(10):1467-79.
- ²⁷ Slingluff et al. Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells. *J Clin Oncol*; 2003; 21(21):4016-26.
- ²⁸ Hodi et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*; 2010;363(8):711-23. 30
- ²⁹ Carmon et al. Phase I/II study exploring ImMucin, a pan-major histocompatibility complex, anti-MUC1 signal peptide vaccine, in multiple myeloma patients. *Br J Haematol*. 2014; 169(1):44-56.
- ³⁰ <http://www.merckgroup.com/en/media/extNewsDetail.html?newsId=EB4A46A2AC4A52E7C1257AD9001F3186&newsType=1> (Accessed Mar 28, 2016)
- ³¹ Trimble et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet*. 2015;386(10008):2078-88. 40
- ³² Cusi et al. Phase I trial of thymidylate synthase poly epitope peptide (TSPP) vaccine in advanced cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*; 2015; 64:1159-1173.
- ³³ Asahara et al. Phase I/II clinical trial using HLA-A24-restricted peptide vaccine derived from KIF20A for patients with advanced pancreatic cancer. *J Transl Med*; 2013;11:291.
- ³⁴ Yoshitake et al. Phase II clinical trial of multiple peptide vaccination for advanced head and neck cancer patients revealed induction of immune responses and improved OS. *Clin Cancer Res*; 2014;21(2):312-21.
- ³⁵ Okuno et al. Clinical Trial of a 7-Peptide Cocktail Vaccine with Oral Chemoth 50

erapy for Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Anticancer Res*; 2014; 34: 3045-305.

³⁶ Rapoport et al. Combination Immunotherapy after ASCT for Multiple Myeloma Using MAGE-A3/Poly-ICLC Immunizations Followed by Adoptive Transfer of Vaccine-Primed and Costimulated Autologous T Cells. *Clin Cancer Res*; 2014; 20(5): 1355-1365.

³⁷ Greenfield et al. A phase I dose-escalation clinical trial of a peptide-based human papillomavirus therapeutic vaccine with Candida skin test reagent as a novel vaccine adjuvant for treating women with biopsy-proven cervical intraepithelial neoplasia 2/3. *Oncoimmunol*; 2015; 4:10, e1031439.

³⁸ Snyder et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371(23):2189-99. 10

³⁹ Van Allen et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science*; 2015; 350:6257.

⁴⁰ Li et al. Thrombocytopenia caused by the development of antibodies to thrombopoietin. *Blood*; 2001; 98:3241-3248

⁴¹ Takedatsu et al. Determination of Thrombopoietin-Derived Peptides Recognized by Both Cellular and Humoral Immunities in Healthy Donors and Patients with Thrombocytopenia. 2005; 23(7): 975-982

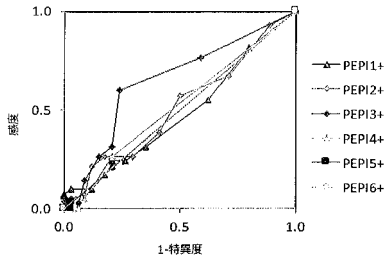
⁴² Eisenhauer et al. New response evaluation criteria in solid tumors: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*; 2009; 45(2):228-47. 20

⁴³ Therasse et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors: European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst*; 2000; 92:205-216.

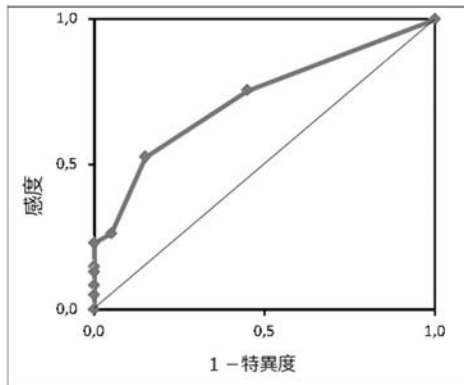
⁴⁴ Tsuchida & Therasse. Response evaluation criteria in solid tumors (RECIST): New guidelines. *Med Pediatr Oncol*. 2001; 37:1-3.

⁴⁵ Durie et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*; 2006;20:1467-1473.

【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 A 】

患者ID	エビトープ番号/HPV-16 E6/E7抗体									
	1-19	11-29	21-39	31-49	41-59	61-79	71-89	81-98	141-158	111-129
1	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
2	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
3	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
6	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
7	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
8	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
9	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
10	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
11	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
13	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
16	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
18	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
22	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
23	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
27	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
28	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
29	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
30	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
100	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
102	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
103	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
105	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
107	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN

【 図 3 B 】

患者ID	エビトープ番号/HPV-16 E6/E7抗体									
	1-19	11-29	21-39	31-49	41-59	61-79	71-89	81-98	141-158	111-129
1	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN	TN
2	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
3	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
6	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
7	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
8	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
9	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
10	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
11	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
13	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
16	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
18	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
22	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
23	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
27	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
28	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
29	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
30	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
100	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
102	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
103	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
105	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN
107	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN	FN

【 図 4 】

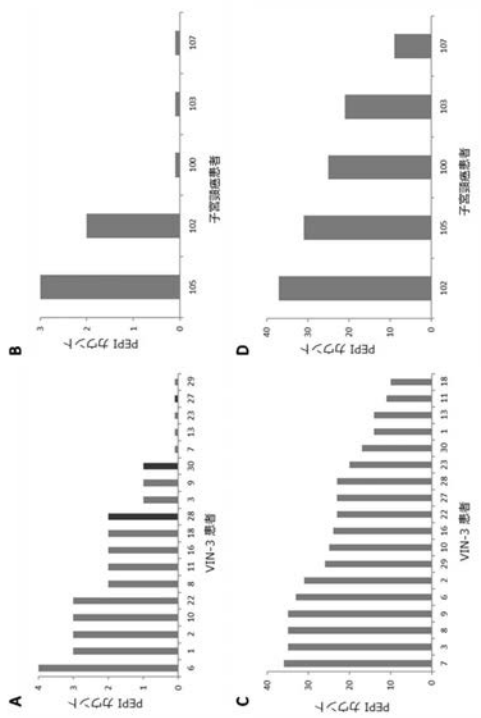
図 4 A

患者ID	PEP1番号/HPV-16 E6				E7	
	E6.1	E6.2	E6.3	E6.4	E7.1	E7.2
1	FP	TP	TP	FN	TN	FN
2	FP	TP	TP	TN	TN	TP
3	TP	TP	TP	TP	TN	TP
6	TP	TP	TP	FN	TP	TP
7	TP	TP	TP	TP	TN	TP
8	TP	TP	TP	FN	FP	TP
9	TP	TP	TP	FN	FP	TP
10	FP	TP	TP	FN	TN	TP
11	TP	TP	FN	FN	TN	TP
13	TP	TP	FN	FN	TN	FN
16	TP	TP	TP	FN	FN	TP
18	FP	TP	FN	FN	FN	TP
22	TP	TP	TP	FN	FN	FN
23	FP	TP	TP	FN	TN	TN
27	TP	TP	TP	FN	FN	FN
28	TP	TP	TP	FN	TN	FN
29	FP	TP	TP	FN	FP	TP
30	FP	FP	TN	TN	FN	FN
100	TP	TP	TP	FN	TN	TP
102	TP	TP	TP	FN	FN	TP
103	TP	TP	TP	FN	TN	TN
105	TP	TP	TP	TP	TN	TN
107	TP	TP	FP	FN	TN	FN

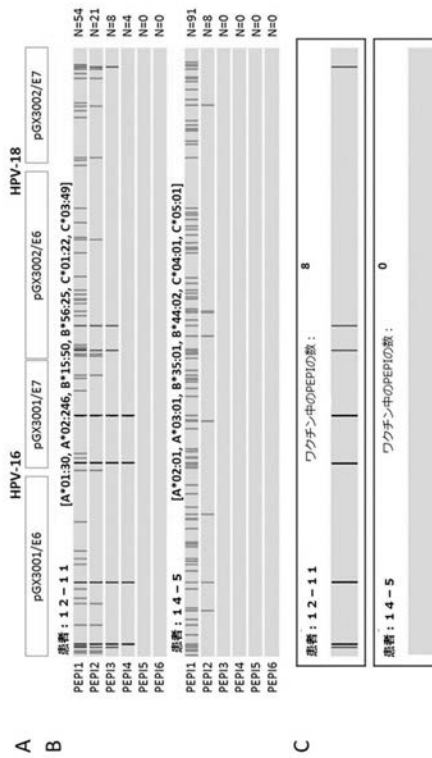
図 4 B

患者ID	エビトープ番号/HPV16 E6&E7抗体					
	E6.1	E6.2	E6.3	E6.4	E7.1	E7.2
1	FP	TP	TP	FN	FP	TP
2	FP	TP	TP	TN	TN	TP
3	TP	TP	TP	FN	FP	TP
6	TP	TP	TP	FN	TP	TP
7	TP	TP	TP	FN	FP	TP
8	TP	TP	TP	FN	FP	TP
9	TP	TP	TP	FN	FP	TP
10	FP	TP	TP	FN	FP	TP
11	TP	TP	TP	FN	FP	TP
13	TP	TP	TP	FN	TN	TP
16	TP	TP	TP	FN	TN	TP
18	FP	TP	TP	FN	FN	TP
22	TP	TP	TP	FN	TP	TP
23	FP	TP	TP	FN	FP	FP
27	TP	TP	TP	FN	TP	TP
28	TP	TP	TP	FN	FP	TP
29	FP	TP	TP	FN	FP	TP
30	FP	FP	FP	TN	FN	TP
100	TP	TP	TP	FN	FN	TP
102	TP	TP	TP	FN	TP	TP
103	TP	TP	TP	FN	TN	FP
105	TP	TP	TP	FN	TN	FP
107	TP	TP	TP	FN	FP	TP

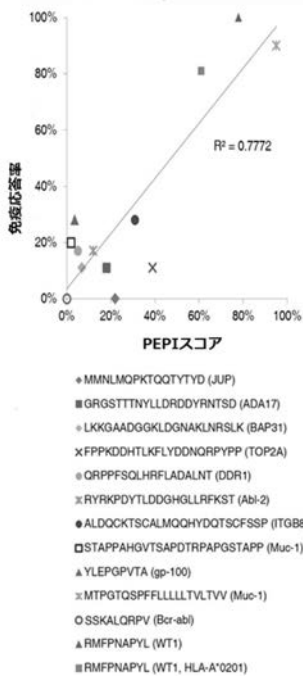
【 図 5 】



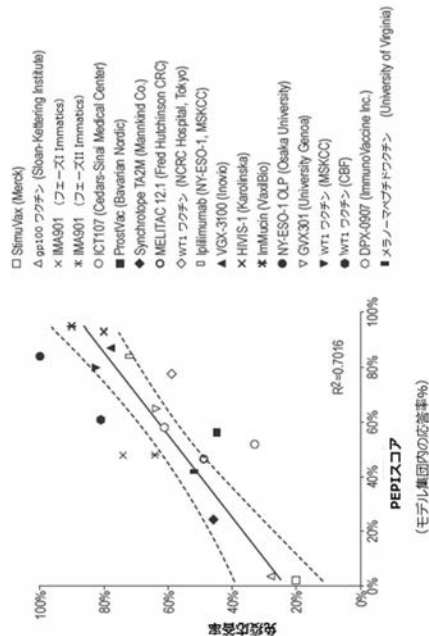
【 図 6 】



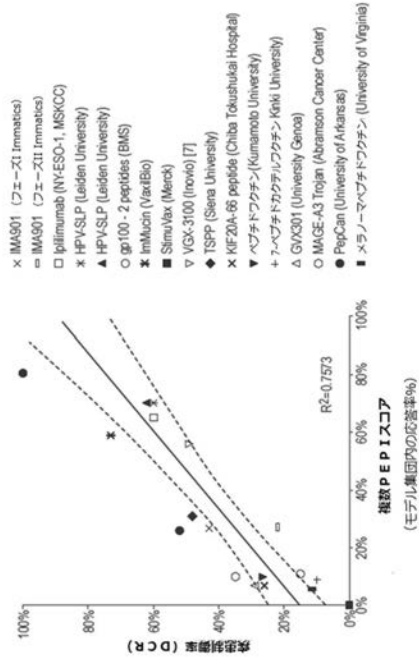
【 図 7 】



【 図 8 】



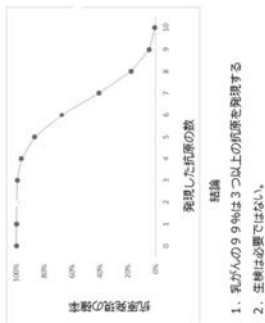
【 図 9 】



【 図 10 】

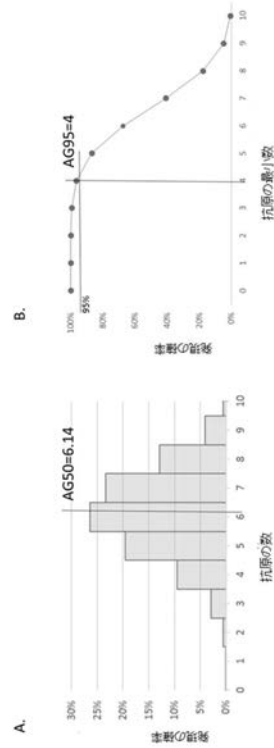


【 図 11 】

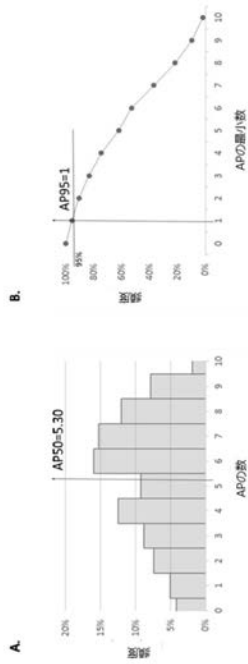


抗体	発現率
がん関連抗体	1,053例の腫瘍試料から決定した
AKAP-4	85%
BORIS	71%
SPAG9	88%
PRAME	55%
NY-SAR-35	48%
MAGE-A9	44%
NY-BR-1	47%
SURVIVIN	71%
MAGE-A11	59%
HOM-TES-85	47%

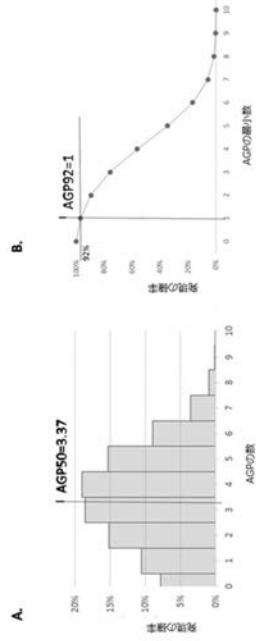
【 図 12 】



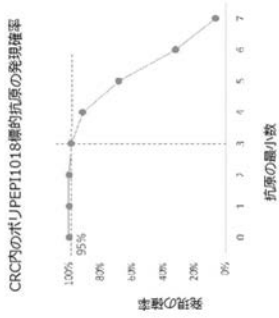
【 図 1 3 】



【 図 1 4 】



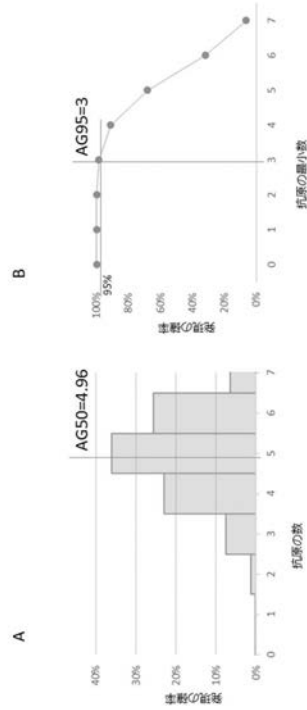
【 図 1 5 】



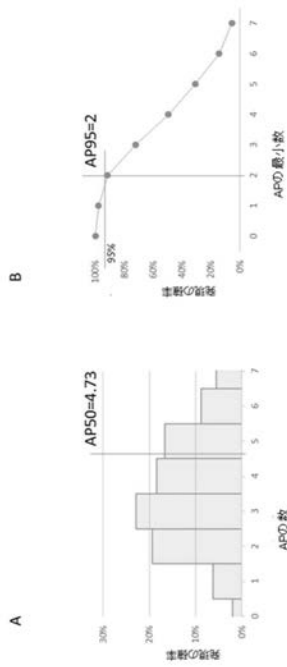
CRC内のホリPEP11018標的抗原の発現率

TSP50	89.47%
EpCAM	88.35%
Survivin	87.28%
CAGE1	74.47%
SPAG9	74.36%
FBXO39	38.60%
MAGE-A8	43.75%

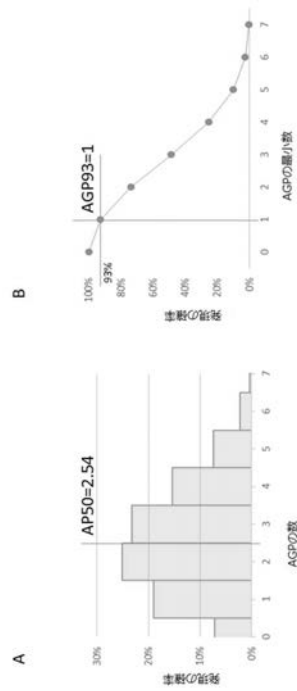
【 図 1 6 】



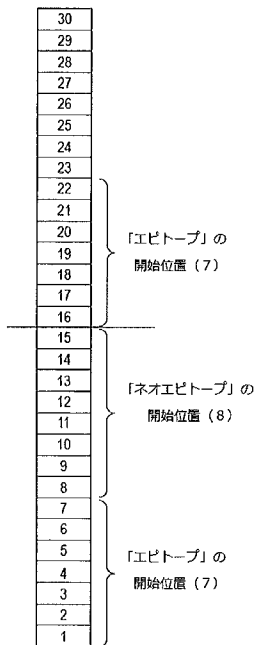
【 図 1 7 】



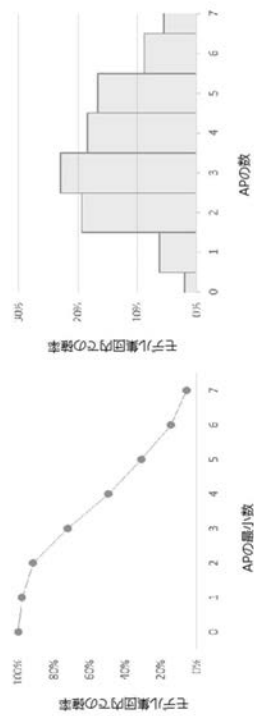
【 図 1 8 】



【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



【配列表】

2020514413000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2018/055230

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/569 A61K38/00 ADD.		
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) G01N 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, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2016/172722 A1 (NANTOMICS LLC [US]; NANT HOLDINGS IP LLC [US]) 27 October 2016 (2016-10-27) page 5, paragraph 0016 - paragraph 0017 page 9, paragraph 0029 page 11, paragraph 0033 - page 14, paragraph 0040; sequence 1048484 -----	1-3,7-20
Y	WEI JINGYAN ET AL: "Screening of single-chain variable fragments against TSP50 from a phage display antibody library and their expression as soluble proteins", JOURNAL OF BIOMOLECULAR SCREENING, vol. 11, no. 5, August 2006 (2006-08), pages 546-552, XP002779536, ISSN: 1087-0571 page 547, right-hand column, paragraph 3 ----- -/--	1-3,7-20
<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 application or patent 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 26 March 2018		Date of mailing of the international search report 08/06/2018
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 Montero Lopez, B

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2018/055230

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 2016/090177 A1 (VERIK BIO INC [US]) 9 June 2016 (2016-06-09) page 5, line 8 - line 23 page 7, line 15 - page 8, line 7 page 22, line 10 - page 23, line 9 page 36, line 25 - page 40, line 2 page 55, line 7 - page 57, line 3 page 59, line 5 - page 75 -----</p>	1-3,7-20
A	<p>US 2010/074925 A1 (CARMON LIOR [IL]) 25 March 2010 (2010-03-25) page 3, paragraph 0033 - page 4, paragraph 0050; table 1 page 6, paragraph 00787 - page 7, paragraph 110 page 8, paragraph 0131 - paragraph 0135 page 11, paragraph 0159 - paragraph 0167 -----</p>	1-3,7-20
A	<p>WO 00/18238 A1 (LONG ISLAND JEWISH RES INST [US]) 6 April 2000 (2000-04-06) page 7, line 5 - line 7 page 38, line 27 - page 40, line 4 -----</p>	1-3,7-20
A	<p>ZHENG LEI ET AL: "High Expression of Testes-Specific Protease 50 Is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Carcinoma", PLOS ONE, vol. 6, no. 7, July 2011 (2011-07), XP002779537, ISSN: 1932-6203 abstract page 6, right-hand column, paragraph 2 -----</p>	1-3,7-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2018/055230**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-3, 7-20(all partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2018/ 055230

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3, 7-20(all partially)

Polypeptide comprising a fragment of up to 50 consecutive aminoacids of a TSP50 colorectal cancer cancer-associated antigen, wherein the fragment comprises SEQ ID NO:21 or 130, a panel of at least two polypeptides comprising a polypeptide comprising SEQ ID NO:21 or 130, pharmaceutical composition or kit comprising such a polypeptide or panel and its use for vaccination; method for identifying a subject likely or not likely to have a T cell response or clinical response to administration of the pharmaceutical composition

2-72. claims: 1-4, 7-20(all partially)

Polypeptide comprising a fragment of up to 50 consecutive aminoacids of a colorectal cancer-associated antigen, wherein the fragment comprises either SEQ ID NO:22-40, 234-250, 251-271, 121, 131, 124, 134, or 126, a panel of at least two polypeptides comprising a polypeptide comprising of either SEQ ID NO:22-40, 234-250, 251-271, 121, 131, 124, 134, or 126, pharmaceutical composition or kit comprising such a polypeptide or panel and its use for vaccination; method for identifying a subject likely or not likely to have a T cell response or clinical response to administration of the pharmaceutical composition

73-147. claims: 1-6, 8-20(all partially)

Polypeptide comprising a fragment of up to 50 consecutive aminoacids of an ovarian-cancer associated antigen, wherein the fragment comprises either SEQ ID NO:272-301, 302-331 or 332-346, a panel of at least two polypeptides comprising a polypeptide comprising either SEQ ID NO:272-301, 302-331 or 332-346, pharmaceutical composition or kit comprising such a polypeptide or panel and its use for vaccination; method for identifying a subject likely or not likely to have a T cell response or clinical response to administration of the pharmaceutical composition

200-346. claims: 1-6, 8-20(all partially)

Polypeptide comprising a fragment of up to 50 consecutive aminoacids of a breast cancer-associated antigen, wherein the fragment comprises either SEQ ID NO:1-20, 24, 172-194, 41-80, 81-142, 196-233, or 435-449, a panel of at least two polypeptides comprising a polypeptide comprising either SEQ ID NO:1-20, 24, 172-194, 41-80, 81-142, 196-233, or 435-449, pharmaceutical composition or kit comprising such a

International Application No. PCT/ EP2018/ 055230

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

polypeptide or panel and its use for vaccination; method for
identifying a subject likely or not likely to have a T cell
response or clinical response to administration of the
pharmaceutical composition

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2018/055230

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016172722 A1	27-10-2016	AU 2016253145 A1	04-01-2018
		CA 2988388 A1	27-10-2016
		EP 3286361 A1	28-02-2018
		JP 2018513187 A	24-05-2018
		US 2018141998 A1	24-05-2018
		WO 2016172722 A1	27-10-2016
WO 2016090177 A1	09-06-2016	AU 2015358387 A1	15-06-2017
		CA 2969231 A1	09-06-2016
		EP 3227679 A1	11-10-2017
		US 2016161486 A1	09-06-2016
		WO 2016090177 A1	09-06-2016
US 2010074925 A1	25-03-2010	AU 2007298494 A1	27-03-2008
		CA 2665816 A1	27-03-2008
		EP 2089423 A1	19-08-2009
		US 2010074925 A1	25-03-2010
		US 2017072036 A1	16-03-2017
		WO 2008035350 A1	27-03-2008
WO 0018238 A1	06-04-2000	AU 6273199 A	17-04-2000
		US 6617434 B1	09-09-2003
		US 2005100914 A1	12-05-2005
		WO 0018238 A1	06-04-2000

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 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 K 7/06 (2006.01)	C 0 7 K 7/06	

(31) 優先権主張番号 1703809.2

(32) 優先日 平成29年3月9日(2017.3.9)

(33) 優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. T W E E N

2. プルロニック

(74) 代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74) 代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(72) 発明者 リシエヴィッチ、ジュリアナ

ハンガリー国、8 2 2 0 バラトンアルマーディ、ゾロシ ウート 1 3

(72) 発明者 モルナー、レヴェンテ

ハンガリー国、2 3 6 3 フェルスパコニー、コシュート ラヨシュ ユー . 2 0 .

(72) 発明者 トゥケ、エニク

ハンガリー国、2 3 6 3 フェルスパコニー、コシュート ラヨシュ ユー . 2 0 .

(72) 発明者 トート、ヨーゼフ

ハンガリー国、9 0 1 2 ジェール、ジクート ユー . 7 2

(72) 発明者 ロリンツ、オルショヤ

ハンガリー国、1 0 4 7 ブダペスト、アッティラ ユー . 2 7、1 3 階

(72) 発明者 シゾヴスキー、ゾルト

ハンガリー国、1 1 1 9 ブダペスト、4 / 9、ピクザディ ユー . 1 2 / エー

(72) 発明者 ソモギー、エステル

ハンガリー国、8 2 2 0 バラトンアルマーディ、ボルガダ ユー . 3

(72) 発明者 パンヤ、カタリン

ハンガリー国、1085 ブダペスト、ユッリョーイ ウート 16 / ビー 2 . イーエム . 9
/ ビー

(72)発明者 メジェシ、モニカ

ハンガリー国、3441 メゼケレステス、ターンチチ ミハーイ ユー . 63

Fターム(参考) 2G045 AA26 AA34 AA40 DA36 JA01

4C084 AA01 AA02 AA07 AA19 BA17 BA18 BA19 CA27 NA05 NA14

ZA661 ZA811 ZB091 ZB261 ZC751

4C085 AA03 BB01 BB11 CC03 EE03 GG01 GG03 GG04 GG05

4H045 AA11 AA30 BA10 BA15 BA16 BA17 CA40 DA86 EA20 EA31

EA50 EA51 FA10 FA71

专利名称(译)	肽疫苗		
公开(公告)号	JP2020514413A	公开(公告)日	2020-05-21
申请号	JP2019568814	申请日	2018-03-02
发明人	リシエヴィッチ、ジュリアナ モルナー、レヴェンテ トゥケ、エニク トート、ヨージェフ ロリンツ、オルショヤ シゾヴスキー、ゾルト ソモギー、エステル パンヤ、カタリン メジェシ、モニカ		
IPC分类号	C07K14/82 G01N33/53 G01N33/68 G01N33/574 A61K38/08 A61K38/10 A61K38/16 A61P35/00 A61P1/00 A61P15/00 A61K39/00 A61P37/04 A61K45/00 A61P43/00 C07K7/06		
CPC分类号	A61K39/0011 A61P35/00 G01N33/505 G01N33/56977 G01N2800/52 A61K39/39 A61K39/39558 A61K47/6415 A61K47/646 A61K2039/53 A61K2039/585 G01N33/574		
FI分类号	C07K14/82 G01N33/53.ZNA.D G01N33/68 G01N33/574.Z A61K38/08 A61K38/10 A61K38/16 A61P35/00 A61P1/00 A61P15/00 A61K39/00.H A61P37/04 A61K45/00 A61P43/00.121 C07K7/06		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/AA34 2G045/AA40 2G045/DA36 2G045/JA01 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA19 4C084/BA17 4C084/BA18 4C084/BA19 4C084/CA27 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA661 4C084/ZA811 4C084/ZB091 4C084/ZB261 4C084/ZC751 4C085/AA03 4C085/BB01 4C085/BB11 4C085/CC03 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA31 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/FA10 4H045/FA71		
代理人(译)	高岛肇 当麻 博文		
优先权	2017159243 2017-03-03 EP 2017159242 2017-03-03 EP 2017003809 2017-03-09 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本公开涉及多肽和包含所述多肽的药物组合物，所述多肽和药物组合物可用于预防和治疗癌症，特别是乳腺癌，卵巢癌和结肠直肠癌。本公开公开了一种通过给予包含所述肽的药物组合物在受试者中诱导细胞毒性T细胞应答或治疗癌症的方法，以及用于鉴定待治疗受试者的伴随诊断方法。也有关。该肽含有在高百分比的患者中具有免疫原性的T细胞表位。[选择图]无

(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2020-514413 (P2020-514413A) 令和2年5月21日(2020.5.21)
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考)
C07K 14/82 (2006.01)	C07K 14/82	2G045
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53	ZNA D
G01N 33/68 (2006.01)	G01N 33/68	4C084
G01N 33/574 (2006.01)	G01N 33/574	4C085
A61K 38/08 (2018.01)	A61K 38/08	4H045
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 115 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号	特願2019-568814 (P2019-568814)	(71) 出願人
(86) (22) 出願日	平成30年3月2日(2018.3.2)	トレオス バイオ セットアルティー
(85) 翻訳文提出日	令和1年10月30日(2019.10.30)	ハンガリー国、8200 ヴェスプレーム
(88) 国際出願番号	PCT/EP2018/055230	、ウイオラ ウツァ 2
(87) 国際公開番号	W02018/158455	(74) 代理人
(87) 国際公開日	平成30年9月7日(2018.9.7)	弁理士 高島 一
(31) 優先権主張番号	17159243.9	(74) 代理人
(32) 優先日	平成29年3月3日(2017.3.3)	弁理士 鎌田 光宣
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74) 代理人
(31) 優先権主張番号	17159242.1	弁理士 土井 京子
(32) 優先日	平成29年3月3日(2017.3.3)	(74) 代理人
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	弁理士 田村 弥栄子
		(74) 代理人
		弁理士 當麻 博文

(54) 【発明の名称】 ペプチドワクチン

最終頁に続く