

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成19年9月20日(2007.9.20)

【公表番号】特表2007-501602(P2007-501602A)

【公表日】平成19年2月1日(2007.2.1)

【年通号数】公開・登録公報2007-004

【出願番号】特願2006-522192(P2006-522192)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 0 7 K	16/46	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	14/02	(2006.01)
C 0 7 K	14/18	(2006.01)
C 0 7 K	14/025	(2006.01)
C 0 7 K	14/16	(2006.01)
C 0 7 K	14/035	(2006.01)
C 1 2 N	5/06	(2006.01)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	33/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/20	(2006.01)
A 6 1 P	31/14	(2006.01)
A 6 1 P	31/18	(2006.01)
A 6 1 P	31/22	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 0 7 K	16/46	
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	14/02	
C 0 7 K	14/18	
C 0 7 K	14/025	
C 0 7 K	14/16	
C 0 7 K	14/035	
C 1 2 N	5/00	E
C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	5/00	A
A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	33/00	

A 6 1 P 31/20  
A 6 1 P 31/14  
A 6 1 P 31/18  
A 6 1 P 31/22

【手続補正書】

【提出日】平成19年8月3日(2007.8.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

免疫応答ドメインおよび標的結合ドメインを含む免疫応答を引き出すためのキメラ抗原であって、該標的結合ドメインが抗体フラグメントを含む、キメラ抗原。

【請求項2】

前記抗体フラグメントが、異種型抗体フラグメントである、請求項1に記載のキメラ抗原。

【請求項3】

前記抗体フラグメントが、異種型抗体フラグメントでない、請求項1に記載のキメラ抗原。

【請求項4】

前記キメラ抗原が、二つ以上の免疫応答ドメインを含む、請求項1に記載のキメラ抗原。

【請求項5】

前記免疫応答ドメインが、HBVタンパク質、DHBVタンパク質およびHCVタンパク質からなる群から選択されるタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項1に記載のキメラ抗原。

【請求項6】

前記免疫応答ドメインが、HBV S1/S2、HBV S1/S2/S、HBV Core、HBV Core ctm およびHBVポリメラーゼからなる群から選択されるHBVタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項5に記載のキメラ抗原。

【請求項7】

前記免疫応答ドメインが、DHBV PreS/S、DHBV PreS、DHBV Core およびDHBVポリメラーゼからなる群から選択されるDHBVタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項5に記載のキメラ抗原。

【請求項8】

前記免疫応答ドメインが、HCV Core(1-191)、HCV Core(1-177)、HCV E1-E2、HCV E1、HCV E2、HCV NS3、HCV NS5A およびHCV NS4A からなる群から選択されるHCVタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項5に記載のキメラ抗原。

【請求項9】

前記免疫応答ドメインが、前記タンパク質に融合した6×Hisタグをさらに含む、請求項1～8のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項10】

前記免疫応答ドメインが、HPV、HIV、HSV、偏性細胞内寄生生物または癌抗原由來のタンパク質の一つ以上の抗原性部分を含む、請求項1～9のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項11】

前記標的結合ドメインが、抗原提示細胞に結合し得る、請求項1～10のいずれかに記載

のキメラ抗原。

【請求項 1 2】

前記抗原フラグメントが、免疫グロブリン重鎖フラグメントを含む、請求項 1 ~ 1 1 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 1 3】

前記免疫グロブリン重鎖フラグメントが、ヒンジ領域を含む、請求項 1 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 1 4】

前記キメラ抗原が、アミノ酸 V D K K I (配列番号 2 )をさらに含む、請求項 1 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 1 5】

前記免疫グロブリン重鎖フラグメントが、C H 2 ドメインおよびC H 3 ドメインを含む、請求項 1 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 1 6】

前記抗体フラグメントが、F c フラグメントである、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 1 7】

前記抗体フラグメントが、C H 1 領域の一部および抗体ヒンジ領域を含む、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 1 8】

前記免疫応答ドメインおよび前記標的結合ドメインを結合するためのリンカーをさらに含む、請求項 1 ~ 1 7 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 1 9】

前記リンカーが、共有ペプチド結合である、請求項 1 8 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 0】

前記ペプチド結合が、配列 S R P Q G G G S または配列 V R P Q G G G S (配列番号 1 )を含む、請求項 1 9 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 1】

前記リンカーが、ロイシンジッパーおよびビオチン / アビジンからなる群から選択される、請求項 1 8 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 2】

前記キメラ抗原が、マンノースグリコシル化されている、請求項 1 ~ 2 1 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 2 3】

前記免疫応答ドメインが、マンノースグリコシル化されている、請求項 2 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 4】

前記標的結合ドメインが、マンノースグリコシル化されている、請求項 2 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 5】

前記キメラ抗原が、低マンノースグリコシル化されている、請求項 2 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 6】

前記キメラ抗原が、高マンノースグリコシル化されている、請求項 2 2 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 7】

前記標的結合ドメインが、アミノ酸配列 S R P Q G G G S (配列番号 1 )、V D K K I (配列番号 2 )、ならびにマウス免疫グロブリン重鎖定常領域の C H 2 ドメインおよびC H 3 ドメインを含む、請求項 1 に記載のキメラ抗原。

【請求項 2 8】

多エピトープ性応答を引き出す請求項 1 ~ 2 7 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 2 9】

前記免疫応答ドメインの少なくとも一つのエピトープに対する免疫応答を引き出す、請求項 1 に記載のキメラ抗原。

【請求項 3 0】

体液性免疫応答を引き出す、請求項 1 ~ 2 9 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 3 1】

細胞性免疫応答を引き出す、請求項 1 ~ 2 9 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 3 2】

T h 1 免疫応答、T h 2 免疫応答、C T L 応答またはそれらの組合せを引き出す、請求項 1 ~ 2 9 のいずれかに記載のキメラ抗原。

【請求項 3 3】

抗原提示細胞において抗原提示を増強する方法であって、該方法は、該抗原提示細胞を請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原を含む組成物と接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 3 4】

前記抗原提示細胞が、樹状細胞である、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記方法が、二つ以上のエピトープの抗原提示を増強する、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記方法が、前記免疫応答ドメインの少なくとも一つのエピトープの抗原提示を増強する、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 7】

抗原提示細胞を活性化する方法であって、該方法は、該抗原提示細胞を請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原と接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 3 8】

前記接触させる工程が、エキソビオで行われる、請求項 3 3 または 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記接触させる工程が、インビオで行われる、請求項 3 3 または 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記接触させる工程が、ヒトにおいて行われる、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

免疫応答を引き出す方法であって、該方法は、請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原を含む組成物を対象に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 4 2】

寛容を壊す方法であって、該方法は、抗原提示細胞を請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原に接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 4 3】

免疫治療可能な症状を治療するための方法であって、該方法は、請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原を、治療を必要とする対象に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 4 4】

前記免疫応答ドメイン単独の投与が、免疫応答を引き出さない、請求項 4 1 ~ 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 5】

前記キメラ抗原の投与が、免疫応答ドメイン単独の投与よりも高い免疫応答を引き出す請求項 4 1 ~ 4 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 6】

前記免疫応答が、前記対象に存在する抗原特異的な抗体の量によって測定される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記免疫応答が、前記キメラ抗原または免疫応答ドメインを単独で負荷した抗原提示細胞に曝された応答において、T細胞により分泌されたインターフェロンの量によって測定される、請求項45に記載の方法。

【請求項48】

前記免疫応答が、前記キメラ抗原または免疫応答ドメインを単独で負荷した抗原提示細胞に曝された応答において引き出された抗原特異的CD8+T細胞の量によって測定される、請求項45に記載の方法。

【請求項49】

前記対象が、感染または癌を有する請求項41~43のいずれかに記載の方法。

【請求項50】

前記感染が、ウイルス感染または寄生生物感染である、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

前記感染が、慢性のウイルス感染である、請求項50に記載の方法。

【請求項52】

前記慢性のウイルス感染が、慢性B型肝炎ウイルス感染もしくは慢性C型肝炎ウイルス感染、慢性ヒトパピローマウイルス感染、慢性ヒト免疫不全ウイルス感染、または慢性単純ヘルペスウイルス感染である、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

前記感染が、B型肝炎ウイルス感染であり、そして前記免疫応答ドメインが、HBV C coreタンパク質、HBV Sタンパク質、HBV S1タンパク質、およびHBV S2タンパク質、ならびにそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

前記感染が、C型肝炎ウイルス感染であり、そして前記免疫応答ドメインが、HCV C core(1-191)タンパク質、HCV C core(1-177)タンパク質、HCV E1タンパク質、HCV E2タンパク質、HCV E1-E2タンパク質、HCV NS3タンパク質、HCV NS5Aタンパク質およびそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む請求項52に記載の方法。

【請求項55】

ウイルス感染に対して対象にワクチン接種する方法であって、該方法は、請求項1~32のいずれかに記載のキメラ抗原を該対象に投与する工程を包含する、方法。

【請求項56】

前記対象が、既存のウイルス感染に対して治療的にワクチン接種される、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

前記対象が、ウイルス感染に対して予防的にワクチン接種される、請求項55に記載の方法。

【請求項58】

前記対象が、前記キメラ抗原の二つ以上のエピトープに対する免疫応答を発達させる、請求項55に記載の方法。

【請求項59】

前記対象が、前記免疫応答ドメインの二つ以上のエピトープに対する免疫応答を発達させる、請求項58に記載の方法。

【請求項60】

薬学的に受容可能な賦形剤と請求項1~32のいずれかに記載のキメラ抗原とを含む、薬学的組成物。

【請求項61】

前記薬学的組成物が、非経口投与のために処方されている、請求項60に記載の薬学的組成物。

【請求項62】

前記薬学的組成物が、経皮投与、皮内投与、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、鼻投与、肺投与または経口投与のために処方されている、請求項 6 0 に記載の薬学的組成物。

【請求項 6 3】

請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原と、該キメラ抗原の投与が必要な対象に対して該キメラ抗原を投与するための説明書とを備える、製品。

【請求項 6 4】

キメラ抗原を作製する方法であって、該方法は、以下：

( a ) 微生物または細胞株を提供する工程であって、該微生物または細胞株は、請求項 1 ~ 3 2 のいずれかに記載のキメラ抗原をコードするポリヌクレオチドを含む、工程；および

( b ) 該微生物または細胞株を、該キメラ抗原が発現される条件下で培養する工程、を包含する、方法。

【請求項 6 5】

前記微生物または細胞株が、真核細胞の微生物または細胞株である、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記微生物または細胞株が、酵母、植物細胞株または昆虫細胞株である、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記キメラ抗原が、マンノースグリコシル化を含むように翻訳後修飾されている、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 8】

キメラ抗原をコードするポリヌクレオチドであって、該ポリヌクレオチドは、免疫応答ドメインをコードする第一のポリヌクレオチド部分と標的結合ドメインをコードする第二のポリヌクレオチド部分とを含み、該標的結合ドメインが抗体フラグメントを含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 6 9】

前記免疫応答ドメインが、ウイルスタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む、請求項 6 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 0】

前記ウイルスタンパク質が、H B V タンパク質またはH C V タンパク質である、請求項 6 9 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 1】

前記抗体フラグメントが、異種型フラグメントである、請求項 6 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 2】

前記抗体フラグメントが、異種型フラグメントではない、請求項 6 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 3】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 2 6 のヌクレオチド 1 ~ 1 3 2 6 、配列番号 2 8 のヌクレオチド 1 ~ 2 0 0 4 、配列番号 3 0 のヌクレオチド 1 ~ 1 3 5 0 、配列番号 3 2 のヌクレオチド 1 ~ 1 2 9 3 、配列番号 3 4 のヌクレオチド 1 ~ 1 7 9 4 、配列番号 3 6 のヌクレオチド 1 ~ 1 5 8 1 、配列番号 3 8 のヌクレオチド 1 ~ 1 3 8 9 、配列番号 4 0 のヌクレオチド 1 ~ 1 3 4 7 、配列番号 4 2 のヌクレオチド 1 ~ 2 1 5 7 、配列番号 4 4 のヌクレオチド 1 ~ 1 3 9 5 、配列番号 4 6 のヌクレオチド 1 ~ 1 9 0 5 および配列番号 4 8 のヌクレオチド 1 ~ 2 4 8 4 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項 6 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7 4】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 2 7 のアミノ酸 1 ~ 4 4 2 、配列番号 2 9 のアミノ酸 1 ~ 6 6 8 、配列番号 3 1 のアミノ酸 1 ~ 4 5 0 、配列番号 3 3 のアミノ酸 1 ~ 4 3 1 、

配列番号 35 のアミノ酸 1 ~ 598、配列番号 37 のアミノ酸 1 ~ 527、配列番号 39 のアミノ酸 1 ~ 463、配列番号 41 のアミノ酸 1 ~ 449、配列番号 43 のアミノ酸 1 ~ 719、配列番号 45 のアミノ酸 1 ~ 465、配列番号 47 のアミノ酸 1 ~ 635 および配列番号 49 のアミノ酸 1 ~ 828 からなる群から選択される、全アミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一性であるキメラ抗原をコードする、請求項 68 に記載のポリヌクレオチド。

#### 【請求項 75】

前記ポリヌクレオチドが、ストリンジエントな条件下で、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 38、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 44、配列番号 46 および請求項 48 からなる群から選択されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズする、請求項 68 に記載のポリヌクレオチド。

#### 【請求項 76】

請求項 68 に記載のポリヌクレオチドを含む、微生物または細胞株。

#### 【請求項 77】

請求項 68 に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

#### 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

#### 【0003】

(C. 背景)

健康な宿主（ヒトまたは動物）が、細菌、ウイルスおよび／または寄生生物由来のタンパク質等の外来抗原に出会うと、宿主は通常は免疫応答を開始する。この免疫応答は体液性応答および／または細胞性免疫応答でありうる。体液性応答において、抗体は、B 細胞により作られ、抗原刺激に対して血液および／またはリンパに分泌される。次に、抗体は、抗原、例えばウイルスを、その表面上の抗原に特異的に結合して、食作用細胞および／もしくは補体仲介機構による破壊のためにそれをマークすることによって、または結合をロックするか、もしくは循環からの遊離抗原の排除を増強することによって、中和する。細胞性応答は、抗原を含有する細胞を直接または間接的に除去することのできる特定のヘルパー T 細胞および細胞傷害性 T リンパ球の選択と増殖により特性付けられる。

#### 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

#### 【0005】

感染因子が宿主免疫機構を侵す機構は明確には確立されていないが、宿主免疫系への適当な外来抗原の提示の欠如が慢性的な感染の進展に寄与する因子であろう。抗原提示細胞（APC）は、抗原の局在性に基づきながら出会った抗原を種々に処理する。外因性の抗原はエンドサイトーシスを受け、引き続いて抗原提示細胞のエンドソーム内で処理される。外因性の抗原から生じたペプチドフラグメントは主要組織適合複合体（MHC）クラス I と複合した細胞表面に提示される。この複合体の CD4<sup>+</sup> T 細胞への提示は、CD4<sup>+</sup> T ヘルパー細胞を刺激して、外因性の抗原に対して抗体を産生する B 細胞を刺激するサイトカインを分泌させる（体液性応答）。一方、細胞内抗原は処理され、抗原提示細胞の表面上の MHC クラス I との複合体として提示される。CD8<sup>+</sup> T 細胞への抗原提示は、抗原を有する宿主細胞に対する細胞傷害性 T 細胞（CTL）の免疫応答をもたらす。

#### 【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

ウイルスまたは寄生生物の慢性的な感染を有する対象において（この生物は生活環中のある時点<sub>で</sub>宿主細胞内に住む）、抗原は宿主細胞により作られ、宿主細胞中に発現され、そして分泌された抗原は、循環中に存在する。例として、慢性的なヒトB型肝炎ウイルス（HBV）キャリアの場合、ビリオンおよびHBV表面抗原および（e抗原の形態の）コア抗原の代用物が、血液中で検出され得る。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

本発明の一つの特徴は、免疫応答を引き出す方法であって、本発明のキメラ抗原を含有する組成物を対象に投与する工程を包含する方法を提供する。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本発明のもう一つの特徴は、寛容を壊す方法であって、本発明のキメラ抗原を対象に投与する工程を包含する方法を提供する。好ましい実施態様において、上記対象は、ウイルスまたは偏性細胞内寄生生物に慢性感染している。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

本発明の一つの特徴は、免疫治療が可能な症状を治療する方法であって、治療的有効量の本発明のキメラ抗原を、治療を必要とする対象に投与する工程を包含する方法を提供する。好ましい実施態様において、免疫治療が可能な症状は感染、特に慢性感染または癌である。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明のさらにもう一つの特徴は、感染に対して対象をワクチン接種する方法であって、本発明のキメラ抗原を対象に投与する工程を包含する方法を提供する。上記対象は、予防的または治療的にワクチン接種され得る。好ましい実施態様において、上記対象は、キメラ抗原の二つ以上のエピトープ、そしてより好ましくは免疫応答ドメインの二つ以上のエピトープに対する免疫応答を発達させる。好ましくは、上記感染は、ウイルス感染または偏性細胞内寄生生物の感染である。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

本発明の一つの特徴は、本発明のキメラ抗原と、治療が必要な対象に対するキメラ抗原を投与するための説明書とを含む製品を提供する。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

「抗原」とは、適当な細胞との接触の結果、感受性および／または免疫応答性の状態を誘導し、インビボまたはエキソビボで感作対象の抗体および／または免疫細胞に明白な方法で反応する任意の物質をいう。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

「細胞傷害性Tリンパ球」とは、外来細胞、およびウイルス性抗原を作る感染因子に感染した宿主細胞を破壊することのできる、特化された型のリンパ球である。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0043

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0043】

本明細書において使用される場合、「免疫治療が可能な症状」との語句は、対象の免疫応答を引き出すか、または調節することにより防止、抑制あるいは緩和することのできる症状または病気をいう。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0046

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0046】

「ペプチド結合」は、1つのアミノ酸のアミノ基と別のアミノ酸のカルボキシル基との間の置換アミド結合により共有結合した二つ以上のアミノ基をいう。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0052

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0052】

「対象」との用語は、温血動物、好ましくはヒトをいう。

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0056

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0056】

「治療的有効量」とは、抗原に対して効果的なB細胞、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)および／またはヘルパーTリンパ球(Th)の応答を引き出して、病気または疾患の症状および／または合併症を阻止するか、または治療するか、もしくは少なくとも部分的に抑制するか、もしくは遅らせるのに十分なキメラ抗原の量またはキメラ抗原をコードするポリヌクレオチドの量をいう。

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0057

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0057】

本明細書中で使用される場合、「治療する」および「治療」との用語は、動物(特に、ヒト)においてキメラ抗原により治療可能な症状の任意の治療を包含し、(i)症状が起こりやすいが、その症状があるとはまだ診断されていない対象にこの症状が起こることを妨ぐ、(ii)症状の抑制(例えば、その進展を停止または遅らせる)；または(iii)症状の緩和(例えば、症状またはその徴候の低減を引き起こすこと)を含む。

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0060

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0060】

本発明の好ましい実施態様において、キメラ抗原は体液性免疫応答および／または細胞性免疫応答を誘導することができる。細胞性免疫応答として、Th1応答、Th2応答および／または細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答を挙げることができる。さらに別の好ましい実施態様において、キメラ抗原は多エピトープ性免疫応答を引き出す。多エピトープ性免疫応答としては、免疫応答ドメインの少なくとも一つのエピトープに対する応答および／または標的結合ドメインの少なくとも一つのエピトープに対する応答を挙げができる。あるいは、多エピトープ性応答は免疫応答ドメインの二つ以上のエピトープに対する応答に限定してもよい。

【手続補正18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0061

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0061】

本発明のキメラ抗原は、二つの部分、すなわち、抗原性配列(ウイルス抗原等)を含む免疫応答ドメインと、抗体フラグメントを含む標的結合ドメインとを含む(図1)。好ましい実施態様において、上記免疫応答ドメインは、当業者に公知の任意の方法によって標的結合ドメインに結合させることができる。免疫応答ドメインを標的結合ドメインに結合させるためのリンカーとしては、共有ペプチド結合、化学接合、ロイシンジッパーおよびビオチン／アビジンが挙げられるが、これらに限定されない。好ましい実施態様において、上記免疫応答ドメインおよび標的結合ドメインは、単一の融合タンパク質としてクローニングすることができる。融合タンパク質の共有ペプチド結合は、付加的なペプチド配列、例えばS R P Q G G G SまたはV R P Q G G G S(配列番号1)を含んでよい。さらに別の好ましい実施態様において、多様な免疫応答ドメインがビオチン化され、そして標的結合ドメインは、ストレプトアビジンを有する融合タンパク質として作られて、キメラ抗

原の広い類別の產生に役立つ。あるいは、免疫応答ドメインと標的結合ドメインはそれぞれ、ロイシンジッパー部分との融合物として発現させることができ、キメラ抗原の二つの部分は混合の際に会合させられる。最後に、免疫応答ドメインと標的結合ドメインを別個に発現させて、次に当業者に公知の方法を用いて化学的に接合させることができる。例示的な方法は、それら2つのドメインを共有結合させるスペルイミノ酸ジメチル等のタンパク質架橋剤の使用を含む。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0068

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0068】

(D. キメラ抗原を利用する新規な方法)

本発明は、免疫応答を引き出す方法を包含し、この方法は、本発明のキメラ抗原を含有する組成物を、対象に投与する工程を包含する。

【手続補正20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0069

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0069】

抗原の十分な提示を提供するために、本発明者らは、免疫応答ドメインと標的結合ドメインとを含む新規のキメラ抗原を開発している。この標的結合ドメインは、抗体フラグメントを含む。発明の特別な理論に限定されるわけではないが、この分子は、その抗体フラグメントのおかげで、抗原提示細胞上の特定のレセプターに結合し、ウイルス抗原が主要組織適合複合体(MHC)クラスIおよびクラスIIと複合化するように処理、提示される。MHCクラスIによるそのような処理と抗原提示は、細胞傷害性Tリンパ球による増強応答を引き出して、結果として免疫応答ドメインの抗原に会合する任意の感染因子の除去をもたらす。さらに、MHCクラスII分子による抗原提示は、感染細胞および/または循環から抗原のクリアランスをも助ける体液性応答を引き出す。

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0070

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0070】

また、本発明は、寛容を壊す方法を包含し、この方法は、本発明のキメラ抗原を対象に投与する工程を包含する。キメラ抗原を用いることによって細胞性免疫応答および/または体液性免疫応答を引き出すための抗原の提示において、慢性的な感染の間に「自己」として扱われた抗原は、「外来性」として認識される。したがって、宿主の免疫系はCTL応答を開始させて感染細胞を除去する。同時に、キメラ抗原に対する応答において誘発された抗体は、感染因子に結合し、感染因子を循環から除去するか、または宿主細胞に対する感染因子の結合を阻止する。したがって、本来は宿主免疫系により寛容化される慢性的な感染を有する対象において、広い免疫応答を誘導しうるキメラ抗原を作るように、本発明は設計される。好ましい実施態様において、上記キメラ抗原は、ウイルスまたは寄生生物等の感染因子により慢性的に感染しているか、または癌を有する対象において、抗原に対する寛容を破壊する。さらに好ましくは、感染因子はその生活環中のある時点で宿主細胞に内在する。

【手続補正22】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 3

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0 0 7 3】

また、本発明は、免疫治療が可能な症状を治療する方法を提供し、この方法は、治療的有効量の本発明のキメラ抗原を、治療を必要とする対象に投与する工程を包含する。好ましい実施態様において、免疫治療が可能な症状は感染または癌である。上記感染は、ウイルス感染、寄生生物感染または細菌感染であってよい。好ましくは、この感染は、感染因子が宿主細胞内に見られる段階を有する。さらに好ましくは、免疫治療が可能な症状は慢性のウイルス感染である。最も好ましくは、免疫治療が可能な症状は慢性B型肝炎ウイルス（HBV）感染または慢性C型肝炎ウイルス（HCV）感染である。HBVの治療のために、上記免疫応答ドメインは、好ましくは、HBV Coreタンパク質、HBV Sタンパク質、HBV S1タンパク質、HBV S2タンパク質およびそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む。HCVの治療のために、上記免疫応答ドメインは好ましくはHCV Core（1-191）タンパク質、HCV Core（1-177）タンパク質、HCV E1タンパク質、HCV E2タンパク質、HCV E1-E2タンパク質、HCV NS3Aタンパク質、HCV NS5Aタンパク質およびそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の少なくとも一つの抗原性部分を含む。

【手続補正2 3】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 4

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0 0 7 4】

好ましい実施態様において、キメラ抗原の投与は免疫応答ドメインのみの投与よりもさらに高い免疫応答を引き出す。免疫応答の大きさは、例えば、(i) 対象に存在する抗原特異的な抗体の量により、(ii) キメラ抗原または免疫応答ドメインのみを負荷した抗原提示細胞に対して曝されることに応答してT細胞により分泌されたインターフェロンの量により、または(iii) キメラ抗原または免疫応答ドメインのみを負荷した抗原提示細胞に対して曝されることに応答してもたらされた抗原特異的なCD8<sup>+</sup>T細胞の量により、測定され得る。

【手続補正2 4】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 6

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0 0 7 6】

さらに、本発明は、感染に対して対象をワクチン接種する方法を包含し、本方法は、本発明のキメラ抗原を対象に投与する工程を包含する。上記対象は、予防的または治療的にワクチン接種され得る。好ましくは、上記感染はウイルス感染である。分子の二官能性の性質は、抗原提示細胞、例えば樹状細胞を抗原の標的とするのに役立ち、抗体に対して抗原の最も効果的な化学量にて特異的に抗原提示細胞を標的とすることによって、慢性的な感染疾患の治療において独自のアプローチとなる。これは、B型肝炎、C型肝炎、ヒト免疫不全ウイルス、ヒトパピローマウイルスおよび単純ヘルペスウイルス等の慢性的ウイルス感染、偏性細胞内寄生生物感染を治療する治療ワクチンの開発に有用であり、癌および自己免疫疾患等の病気におけるすべての自己抗原に適用可能でもあり得る。これらの融合タンパク質の投与は、細胞性および体液性の両方の応答を含め、宿主から広い免疫応答を引き出すことができる。よって、これら融合タンパク質は、特別な感染を発症させる危険のある対象を免疫するための予防ワクチンとして有用であることに加えて、既存の感染に対し

て免疫寛容性である対象を治療する治療ワクチンとして使用することができる。

【手続補正25】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0099

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0099】

(G. 本発明の薬学的組成物)

本発明の一つの特徴は、免疫応答ドメインと、抗体フラグメントを含む標的結合ドメインとを含むキメラ抗原および薬学的に受容可能な賦形剤を含む薬学的組成物に関する。治療利用において、上記薬学的組成物は、抗原に対する効果的なB細胞、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)および/またはヘルパーTリンパ球(Th)の応答を引き起こし、かつ感染を遮断するか、あるいは症状および/もしくは合併症もしくは病気もしくは疾患を治療するか、または少なくとも部分的に抑制または遅らせるのに十分な量で、対象に投与され得る。この使用に効果的な量は、例えば、投与される特定の組成物、投与方法、処置される病気の段階と重症度、その対象の体重および健康の一般的な状態、ならびに処方する医師の判断に依存する。

【手続補正26】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0100

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0100】

(キメラ抗原による)最初の治療的免疫化のための投薬量は、一般的には、低い値が約1ng、5ng、50ng、500ngまたは1,000ngであり、高い値が約10,000μg、20,000μg、30,000μgまたは50,000μgであるような単位投薬量範囲に存在する。ヒト用の投薬量値は、対象70キログラムあたり典型的には約500ng～約50,000μgの範囲にある。数週間～数ヶ月にわたる追加免疫レジメンに準じる約1.0ng～約50,000μgの間のキメラ抗原の追加免疫投薬量が、対象の応答と状態に基づきながら投与され得る。少なくとも、臨床的な症状または実験室試験から、症状が防止されるか、抑止されるか、遅らされるか、またはなくなることが示されるまで、そしてその後のある期間にわたって、投与は継続されなければならない。投薬量、投与経路および投与計画は、当該分野で公知の方法にしたがって調節される。

【手続補正27】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0101

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0101】

キメラ抗原のヒト単位用量形態は、典型的には、ヒト単位用量の受容可能なキャリア(1つの実施態様においては、水性キャリア)を含有する薬学的組成物中に含まれ、そしてこのようなポリペプチドのヒトへの投与に有用であることが当業者に公知である体積/量で投与される(例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第20版, A. Gennaro, Editor, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2000を参照)。当業者により理解されるように、多様な因子が、特定の場合における理想的な用量に影響を及ぼしうる。そのような因子としては、例えば、キメラ抗原の半減期、キメラ抗原の結合親和性、組成物の免疫原性、所望の定常状態の濃度レベル、投与経路、治療頻度、および本発明の治療方法と組み合わせて使用される他の物質の影響、ならびに特定の対象の健康状態が挙げられる。

**【手続補正 2 8】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0 1 0 6**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0 1 0 6】**

適當な賦形剤のいくつかの例としては、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアゴム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、滅菌水、シロップおよびメチルセルロースが挙げられるが、これらに限定されない。これらの処方物はさらに、タルク、ステアリン酸マグネシウムおよび鈴油等の潤滑剤、湿潤剤、乳化懸濁剤、メチルベンゾエートおよびプロピルヒドロキシベンゾエート等の保存剤、甘味剤、ならびに調味剤が挙げられ得る。本発明の組成物は、当該分野で公知の操作を用いることにより、対象に投与した後にキメラ抗原の即効性放出、徐放性放出または遅延性放出を提供するように処方され得る。例えば、Remington(前出)の903~92ページおよび1015~1050ページを参照のこと。

**【手続補正 2 9】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0 1 1 2**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0 1 1 2】**

さらなる物質が、上記組成物の品質を向上または保護するために、本発明の注射可能な組成物中に含まれ得る。したがって、加えられた物質は、溶解性に影響を与え得、対象の快適さを提供し得、化学安定性を増強し得るか、または微生物の増殖に対して調製物を保護し得る。よって、この組成物は、適當な可溶化剤、抗酸化剤として働く物質および微生物の成長を妨げる保存剤として働く物質を含有し得る。これらの物質は、それらの機能に適切であるが、組成物の作用に悪影響を与えないような量で存在する。適當な抗微生物剤の例としては、チメロサール、塩化ベンゼトニウム、塩化ベンズアルコニウム、フェノール、p-ヒドロキシ安息香酸メチルおよびp-ヒドロキシ安息香酸プロビルが挙げられる。適當な抗酸化剤は、Remington(前出)、1015~1017ページに見出され得る。

**【手続補正 3 0】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0 1 1 3**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0 1 1 3】**

ある実施態様において、リポソーム、ナノカプセル、マイクロカプセル、液体粒子、ビヒクル等が、本発明のキメラ抗原の投与ために用いられる。特に、本発明の組成物は、送達のために、液体粒子、リポソーム、ベシクル、ナノスフェアまたはナノ粒子等にカプセル化されて処方され得る。あるいは、本発明の組成物は、共有結合または非共有結合のいずれかにより、このようなキャリアアビヒクルの表面に結合され得る。

**【手続補正 3 1】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0 1 4 1**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0 1 4 1】**

(2. 迅速または遅延抗原提示アッセイ)

迅速抗原提示アッセイ( A P A )のために、抗原を、未成熟 D C に単離の 4 ~ 2 4 時間に加えた。さらに 2 4 時間後に、抗原を負荷した未成熟単球を、P G E<sub>2</sub> ( 1 μM )、I L - 1 ( 1 0 n g / m l ) および T N F - ( 1 0 n g / m l ) とともに 2 4 時間培養することにより誘導して成熟させた。次に、成熟 D C を自己の T 細胞とともに共培養した(一回目の刺激)。この T 細胞は、磁気 T 細胞単離キット( D y n a l )を製造者の指示に従って用いるネガティブ選択を用いて、D C として同一の P B M C から作製された。

【手続補正 3 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 9 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 9 9】

【図 1 A】図 1 A は、本発明のキメラ抗原の単量体としての構造を示す略図であり、このキメラ抗原は二つの部分(すなわち、免疫応答ドメインおよび標的結合ドメイン)を有する。この略図はまた、ヒンジ領域が存在する好ましい実施態様も示している。

【図 1 B】図 1 B は、二量体として組み立てられた正常な状態での本発明のキメラ抗原の構造を示す略図である。この略図は、キメラ抗原が免疫応答ドメインと標的結合とに加えて 6 × H i s タグおよびペプチドリンカーを含む特に好ましい実施態様を示す。

【図 2】図 2 は、H B V S 1 / S 2 - T B D による T 細胞の刺激が、H B V S 1 タンパク質由来のエピトープに対する細胞傷害性 T 細胞( C T L )応答を特異的に発生させることを示す。

【図 3】図 3 は、H B V S 1 / S 2 - T B D による T 細胞の刺激が、H B V S 2 タンパク質由来のエピトープに対する細胞傷害性 T 細胞( C T L )応答を特異的に発生させることを示す。

【図 4】図 4 は、樹状細胞を成熟させることによる H B V S 1 / S 2 - T B D 、I g G 1 および I g G 2 の取り込みの比較を濃度の関数として示す。

【図 5】図 5 は、C D 3 2 への H B V S 1 / S 2 - T B D の結合と樹状細胞上の C D 2 0 6 発現との相関を示す。