

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5977737号  
(P5977737)

(45) 発行日 平成28年8月24日 (2016. 8. 24)

(24) 登録日 平成28年7月29日 (2016. 7. 29)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 39/00 (2006. 01)

A 6 1 K 39/00

H

A 6 1 K 38/00 (2006. 01)

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 12 (全 54 頁)

|               |                               |           |                       |
|---------------|-------------------------------|-----------|-----------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2013-512128 (P2013-512128)  | (73) 特許権者 | 511020678             |
| (86) (22) 出願日 | 平成23年5月23日 (2011. 5. 23)      |           | アデュロ バイオテック           |
| (65) 公表番号     | 特表2013-530155 (P2013-530155A) |           | アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94  |
| (43) 公表日      | 平成25年7月25日 (2013. 7. 25)      |           | 710-2225, バークレー, スイート |
| (86) 国際出願番号   | PCT/US2011/037602             |           | 3シー, 626 バンクロフト ウェイ   |
| (87) 国際公開番号   | W02011/149852                 | (74) 代理人  | 100114775             |
| (87) 国際公開日    | 平成23年12月1日 (2011. 12. 1)      |           | 弁理士 高岡 亮一             |
| 審査請求日         | 平成26年5月15日 (2014. 5. 15)      | (72) 発明者  | ダベンスキー, トーマス, ダブリュー.  |
| (31) 優先権主張番号  | 61/347, 447                   |           | アメリカ合衆国, ワシントン州 9811  |
| (32) 優先日      | 平成22年5月23日 (2010. 5. 23)      |           | 2, イースト シアトル, 974 18番 |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                       |           | アベニュー                 |
| 前置審査          |                               | (72) 発明者  | ブロックステッド, ディルク, ジー.   |
|               |                               |           | アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94  |
|               |                               |           | 804, リッチモンド, 57 サウスウィ |
|               |                               |           | ンド サークル               |
|               |                               |           | 最終頁に続く                |

(54) 【発明の名称】 癌の補助薬物療法でリステリアを使用する方法および組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

脾臓癌又は非小細胞性肺癌 (NSCLC)を患っている哺乳類の治療において使用するための、

(a) 癌抗原のすべてまたは一部を発現するヒト細胞株由来の細胞の組成物であって、前記細胞が顆粒球マクロファージコロニー刺激因子を産生して分泌するように組み換え修飾されており、かつ前記細胞が分裂しないように修飾されている、細胞の組成物、および、

(b) メソテリンの発現可能な免疫学的に活性の部分をコードする、弱毒化された、代謝的に活性なリステリア、  
の組み合わせであって、前記リステリアは前記細胞の組成物の投与の後に投与されることを特徴とする、組み合わせ。

【請求項 2】

前記リステリアによって発現される癌抗原がメソテリンである、請求項 1 に記載の組み合わせ。

【請求項 3】

前記リステリアが act A in 1 B である、請求項 1 に記載の組み合わせ。

【請求項 4】

前記リステリアは死滅しているが、代謝的に活性である (「KBMA」)、請求項 1 に記載の組み合わせ。

## 【請求項 5】

脾臓癌又は非小細胞性肺癌（NSCLC）を患っている哺乳類の補助薬物療法を用いた癌治療において使用するための、癌抗原の発現可能な免疫学的に活性の部分にコードする弱毒化された、代謝的に活性なリステリアを含有する医薬組成物であって、前記哺乳類は、癌抗原を発現する癌細胞を除去または死滅させるために、前記哺乳類に施される放射線療法の前にもしくは後に補助薬物療法として前記医薬組成物を用いて治療され、ここで前記癌抗原はメソテリンのすべてまたは一部であることを特徴とする、医薬組成物。

## 【請求項 6】

前記哺乳類は、前記補助薬物療法の前に放射線療法を既に受けている哺乳類である、請求項 5 に記載の医薬組成物。

10

## 【請求項 7】

前記補助薬物療法は、前記リステリアを複数回の投与で投与することを含む、請求項 5 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 8】

前記リステリアが A c t A を不活性化する変異を有する、請求項 5 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 9】

前記リステリアが I n l B を不活性化する変異を有する、請求項 5 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 10】

20

前記リステリアが a c t A i n l B である、請求項 5 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

前記リステリアは死滅しているが、代謝的に活性である（「K B M A」）、請求項 5 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

前記哺乳類が、前記癌抗原のすべてまたは一部を発現するヒト細胞株由来の細胞をあらかじめ投与されており、前記細胞が顆粒球マクロファージコロニー刺激因子を産生して分泌するように組み換え修飾されており、かつ前記細胞が分裂しないように修飾されている、請求項 5 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

（優先権および利益の主張）

本発明は、2010年5月23日に出願された米国特許仮出願番号 61 / 347, 447 号の優先権を主張し、その表、図面および請求項をすべて含むその全体を本明細書に組み込むものとする。

## 【0002】

（連邦政府の支援による研究に関する記述）

40

米国政府は、国立癌研究所助成番号 N H I 1 K 2 3 C A 1 0 4 1 6 0 - 0 1 の条件によって規定されるように、本発明における一括払い方式の実施権と、妥当な条件に基づいて他に実施権を供与することを本特許所有者に要求する限定された状況下での権利とを有する。

## 【背景技術】

## 【0003】

特定の病原体に対して強い細胞性免疫を確立することは、望ましいと考えられる。同じワクチンによる反復投与（同種追加免疫）は、体液性応答の追加免疫に効果的であることが判明した。しかしながら、ベクターに対する事前免疫は、強い抗原提示と適切な炎症シグナルの生成を損なう傾向があるために、このアプローチは、細胞性免疫の追加免疫時に

50

比較的非効率的である。この問題を回避する一アプローチは、異なる抗原-送達系（異種追加免疫）を使用するワクチンの連続投与であった。この戦略は、「初回・追加免疫」と呼ばれる。

#### 【0004】

以下は、異種初回・追加免疫法の例である。DNA初回免疫を含む該療法としては、DNA初回免疫；ウイルス抗原に対するDNA初回免疫／細菌追加免疫（リステリア）（*Listeria*）（Boyer, ら（2005）*Virology* 333:88-101）；細菌抗原に対するDNA初回免疫／細菌ベクター（バチルス）（*Bacillus*）追加免疫（Ferraz, ら（2004）*Infection Immunity* 72:6945-6950）；腫瘍抗原に対するDNA初回免疫／ウイルスベクター追加免疫（Goldberg, ら（2005）*Clin. Cancer Res.* 11:8114-8121；Smith, ら（2005）*Int. J. Cancer* 113:259-266）；ウイルス抗原に対するDNA初回免疫／ウイルス追加免疫（Toussaint, ら（2005）*Vaccine* 23:5073-5081；Cebere, ら（2006）*Vaccine* 24:417-425；Coupar, ら（2006）*Vaccine* 24:1378-1388）；ウイルス抗原に対するDNA初回免疫／タンパク質追加免疫（Cristillo, ら（2006）*Virology* 346:151-168；Rasmussen, ら（2006）*Vaccine* 24:2324-2332）；寄生体抗原に対するDNA初回免疫／ウイルス追加免疫（寄生虫の抗原に対する）（Gilbert, ら（2006）*Vaccine* 24:4554-4561；Webster, ら（2005）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:4836-4841）；腫瘍抗原に対するDNA初回免疫／補助タンパク質追加免疫（腫瘍抗原（Prud'homme（2005）*J. Gene Med.* 7:3-17））；ウイルス抗原に対するDNA初回免疫／ウイルス追加免疫／プラスタンパク質追加免疫（Stambas, ら（2005）*Vaccine* 23:2454-2464）；およびウイルス抗原に対するDNA初回免疫（ナノ粒子）／タンパク質追加免疫（Castalidello, ら（2006）*Vaccine* 24:5655-5669）が挙げられる。

#### 【0005】

以下の異種初回・追加免疫法は、DNAを含んでいない初回組成物を使用する；細菌抗原に対する樹状細胞（DC）初回免疫／細菌（リステリア）追加免疫、およびDC初回免疫／ウイルス追加免疫（Badovinac, ら（2005）*Nat. Med.* 11:748-756）；細菌抗原に対する細菌ベクター（サルモネラ菌）（*Salmonella*）初回免疫／タンパク質追加免疫（Vindurampulle, ら（2004）*Vaccine* 22:3744-3750；Lasaro, ら（2005）*Vaccine* 23:2430-2438）；ウイルス抗原に対する補助タンパク質初回免疫／DNA追加免疫（Sugauchi, ら（2006）*J. Infect. Dis.* 193:563-572；Pal, ら（2006）*Virology* 348:341-353）；ウイルス抗原に対するタンパク質初回免疫／細菌ベクター（サルモネラ菌）追加免疫（Liu, ら（2006）*Vaccine* 24:5852-5861）；ウイルス抗原に対するタンパク質初回免疫／ウイルスベクター追加免疫（Peacock, ら（2004）*J. Virol.* 78:13163-13172）；ウイルス抗原または腫瘍抗原に対する、異なるウイルスベクターを用いる異種ウイルス初回免疫／ウイルス追加免疫（ウイルス抗原または腫瘍抗原に対する）（Ranasinghe, ら（2006）*Vaccine* 24:5881-5895；Kaufman, ら（2004）*J. Clin. Oncol.* 22:2122-2132；Grosenbach, ら（2001）*Cancer Res.* 61:4497-4505）；細菌抗原に対する異種初回免疫／リポドベシクルを用いる追加免疫（Luijkx, ら（2006）*Vaccine* 24:1569-1577）。

#### 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0006】

免疫系を調節するのに有用である試薬は、リステリアであり、具体的にはリステリア・モノサイトゲネス (*Listeria monocytogenes*) (*L. monocytogenes*) である。リステリア・モノサイトゲネスは、肝臓と脾臓、および小腸などの他の組織に対してある程度の自然指向性を有する (例えば、Dussurget, ら (2004) *Ann. Rev. Microbiol.* 58: 587 - 610; Gouin, ら (2005) *Curr. Opin. Microbiol.* 8: 35 - 45; Cossart (2002) *Int. J. Med. Microbiol.* 291: 401 - 409; azquez - Bolland, ら (2001) *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 584 - 640; Schluter, ら (1999) *Immunobiol.* 201: 188 - 195 を参照されたい)。細菌が腸内に留まる場合、血流への移動はActAおよびインターナリンAなどのリステリアタンパク質によって媒介される (例えば、Manohar, ら (2001) *Infection Immunity* 69: 3542 - 3549; Lecuit, ら (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 6152 - 6157; Lecuit and Cossart (2002) *Trends Mol. Med.* 8: 537 - 542 を参照されたい)。一旦、細菌が宿主細胞に入ると、リステリア・モノサイトゲネスのライフサイクルはファゴリソソームからサイトゾルへの脱出を含む。このライフサイクルは、ファゴリソソームの内部に残存するマイコバクテリアのそれと対照をなす (例えば、Clemens, ら (2002) *Infection Immunity* 70: 5800 - 5807; Schluter, ら (1998) *Infect. Immunity* 66: 5930 - 5938; Gutierrez, ら (2004) *Cell* 119: 753 - 766 を参照されたい)。ファゴリソソームからのリステリア・モノサイトゲネスの脱出は、リステリオリジン (LLO)、PI-PLCおよびPC-PLCなどのリステリアタンパク質によって媒介される (Portnoy, ら (2002) *J. Cell Biol* 158: 409 - 414 を参照されたい)。

## 【0007】

免疫療法が一次治療として用いられる上述の免疫療法アプローチと対照的に、補助療法とは、一次療法が原発腫瘍を除去または破壊することを目的とする手術または放射線照射などの一次療法の前に (「術前補助」) または該療法に続く (「補助」) 二次治療の使用を呼ぶ。例として、補助療法は、検出可能な疾患が除去されたが、潜在性疾患のために再発の統計的なリスクが残っている場合、手術後に行われ得る。補助全身療法および放射線療法は、大腸癌、肺癌、脾臓癌、乳癌、前立腺癌および一部の婦人科癌を含む多くの種類の癌の手術の後で、行われることが多い。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0008】

本発明は、癌の二次治療のためにリステリア属細菌を用いる補助療法戦略を提供する。1種類または複数種の一次治療を投与する前または後に、癌関連抗原を発現するリステリアワクチンの有効量を被験者に投与する。本発明は、好適な容器にパッケージされたリステリアベースのワクチンを含むキットを含み、かつ使用説明書を含むこともある。

## 【0009】

第1の態様では、本発明は、癌を患う哺乳類の補助薬物治療のための方法に関し、癌抗原を発現する癌細胞を除去するまたは死滅させるために、該哺乳類に投与される一次療法の前または後に、補助薬物療法として投与が与えられる場合、該方法は、癌抗原の発現できる、免疫学的に活性な部分をコードする、弱毒化された代謝的に活性のリステリアを含む有効量の組成物を該哺乳類に投与することを含む。

## 【0010】

上で述べたように、本発明の組成物は、術前補助療法として提供されてもよいが、しかし好ましい実施形態では、本発明の組成物は、一次療法の後に投与される。種々の実施形

態では、一次療法は、哺乳類から癌細胞を除去するための手術と、哺乳類において癌細胞を死滅させるための放射線照射と、または手術と放射線照射の両療法とを含む。

【0011】

リステリアは病原生物であり得るので、特に、免疫力がない場合、該投与ステップは、癌抗原の発現できる、免疫学的に活性な部分をコードする、弱毒化された代謝的に活性のリステリアを複数回投与で投与することを含むことが好ましい。「弱毒化」とは、細菌がその病原性を減少させる、または除去するが、関心の疾患に対する予防または治療として作用するその能力を保持するように修飾されるプロセスをいう。細菌弱毒化は、異なる機序によって達成されることができる。一例は、1つまたは複数の代謝経路に変異を一つ以上の代謝経路に導入することであり、その機能は細菌が疾患を引き起こすために生存して、*in vivo* で増殖するために不可欠である。リステリアの場合、特定の実施形態では、細菌は変異導入され、増殖して細胞内に拡散する能力を減少させる、または阻止される。好ましいリステリアは、*ActA* を不活性化する変異；*InlB* を不活性化する変異；または両変異を含むことができる。最も好ましくは、その未変性の *ActA* 遺伝子と *inlB* 陰電子の両方 (*actA inlB*) を欠失した、弱毒化された代謝的に活性なリステリアが本発明で用いられる。特定の実施形態では、該方法は、死滅したが、代謝的に活性である（「KBMA」）リステリアを用いる。

10

【0012】

種々の癌抗原のいずれかをコードする1つまたは複数の核酸が、組み換え発現のために本発明の組成物によって提供される。特定の実施形態では、癌抗原は、メソテリンのすべてまたは一部である。他の好適な抗原は、以下に詳述するが、治療される癌の種類と、その癌によって発現される抗原とに依存することがある。種々の実施形態では、治療される癌は、膵臓癌、非小細胞肺癌、卵巣癌および中皮腫からなる群から選択される。このリストは、限定することを意味するものではない。

20

【0013】

記述したように手術または放射線照射が好ましい一次療法に加えて、本発明の組成物は、初回・追加免疫法の一部として送達されてもよい。例えば、本発明のリステリア組成物の投与の前に、哺乳類は、関心の癌抗原を発現するヒト株細胞由来の細胞を前もって投与されてもよく、前述の細胞は、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子を産生して分泌するように組み換え修飾されており、かつ前述の細胞は、細胞分裂を防ぐために放射線照射によって修飾されている（すなわち、GVAX（登録商標）ワクチン、Cell Genesys, Inc.）。

30

【0014】

本発明は、構造の詳細および以下の説明に記載するまたは図面に示すコンポーネントの再配列へのその応用において限定されないことを理解すべきである。本発明は、記載された実施形態に加えて、種々の方法で実践され、実施される実施形態の能力がある。また、本明細書ならびに要約で用いられている表現および専門用語は、説明を目的としており、限定すると見なされるべきではないことを理解すべきである。

【0015】

このように、本開示が基づいている概念が、本発明のいくつかの目的を実施するための他の構造、方法およびシステムを設計の基本として容易に利用され得ることを当業者は認識するであろう。したがって、それらが本発明の精神および範囲から逸脱しない限り、請求項がそのような同等の構築体を含むと見なすことが重要である。

40

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1A】リステリ・モノサイトゲネスと、抗原を発現するワクシニアウイルスとを用いた初回・追加免疫法の結果生じた標的抗原（OVA）に対するOVA特異的細胞免疫応答を示すグラフである。ICSアッセイにおいて、OVA257-264ペプチド（SIIINFEKL（配列番号1））を用いてワクチン接種したC57BL/6マウスでOVA特異的応答が示された。

50

【図 1 B】リステリア・モノサイトゲネスと、標的抗原（ヒトメソテリン）を発現するアデノウイルスとを用いた初回・追加免疫レジメンの結果、生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答を示すグラフである。

【図 2】B a l b / c マウスにおいてリステリア・モノサイトゲネス、アデノウイルスおよびワクシニアウイルスを用いた初回・追加免疫レジメンの結果、生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答を示すグラフである。また、初回・追加免疫レジメンを図示する。

【図 3 A】C 5 7 B L / 6 (H L A - A 2 トランスジェニック) マウスにおいて初回免疫のアデノウイルスのレベルを増加し、追加免疫のリステリア・モノサイトゲネスのレベルを一定にして用いた、初回・追加免疫レジメンの結果、生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答を示すグラフである。（脾細胞をプールしたメソテリンペプチドで刺激した。）

10

【図 3 B】B a l b / c マウスにおいて初回免疫のアデノウイルスのレベルを増加し、追加免疫のリステリア・モノサイトゲネスのレベルを一定にして用いた、初回・追加免疫法の結果、生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答を示すグラフである。（脾細胞をプールしたメソテリンペプチドで刺激した。）、また、初回・追加免疫レジメンを図示する。

【図 4 A】アデノウイルスに対して既存の免疫を有するマウスにおいてアデノウイルスの初回免疫の結果生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答を左のグラフで示す。また、図 4 A（右のグラフ）は、クラス I H e x 3 エピトープ（アデノウイルス特異的エピトープ）を用いて測定したアデノウイルス特異的応答を示す。また、初回・追加免疫レジメンを図示する。

【図 4 B】アデノウイルスに対して既存の免疫を有するマウスにおいてアデノウイルスの初回免疫の結果、生じたヒトメソテリン特異的細胞免疫応答と、アデノウイルス特異的抗体を中和する力価とを示すグラフである。また、初回・追加免疫レジメンを図示する。

20

【図 5】G V A X（登録商標）（C E L L） G E N E S Y S , I N C .）または A H I をコードするリステリア・モノサイトゲネスのいずれかを初回免疫で、G V A X（登録商標）（C E L L） G E N E S Y S , I N C .）または A H I をコードするリステリア・モノサイトゲネスのいずれかを追加免疫で用いた結果、生じた A H I 特異的細胞免疫応答を示すグラフである。

【図 6 A】メソテリンペプチド 1 3 1 ~ 1 3 9 で刺激した樹状細胞またはヒトメソテリンをコードするアデノウイルスによる初回免疫と、ヒトメソテリンをコードするリステリア・モノサイトゲネスによる追加免疫との結果、生じたメソテリンのパーセント、すなわち C D 8 + T 細胞間の特異的応答を示すグラフである。初回免疫は、試験当日に行い、追加免疫は 8 日目に行った。脾細胞を 1 3 日目に採取した。

30

【図 6 B】メソテリンペプチド 1 3 1 ~ 1 3 9 で刺激した樹状細胞またはヒトメソテリンをコードするアデノウイルスによる初回免疫と、ヒトメソテリンをコードするリステリア・モノサイトゲネスによる追加免疫との結果生じた、1 脾臓あたりのメソテリン 1 3 1 - 1 3 9 特異的 C D 8 + T 細胞の絶対数を示すグラフである。初回免疫は、試験当日に行い、追加免疫は 8 日目に行った。脾細胞を 1 3 日目に採取した。

【図 6 C】メソテリンペプチド 1 3 1 ~ 1 3 9 で刺激した樹状細胞による初回免疫と、ヒトメソテリンをコードする、リステリア・モノサイトゲネス、アデノウイルスまたはワクシニアウイルスの病原体のうちの 1 つによる追加免疫との結果生じた、C D 8 + T 細胞間のメソテリン特異的応答のパーセントを示すグラフである。

40

【図 7 A】マウスメソテリンペプチドライブラリーの各ペプチドに対する免疫応答を評価した脾細胞におけるマウスメソテリン特異的免疫応答を示すグラフである。B a l b / c マウスに、マウスメソテリンをコードするネイキッド D N A ベクターによる初回免疫を、次いでマウスメソテリンをコードするリステリア・モノサイトゲネスによる追加免疫を投与した。

【図 7 B】マウスメソテリンペプチドライブラリーの各ペプチドに対する免疫応答を評価した脾細胞におけるマウスメソテリン特異的免疫応答を示すグラフである。B a l b / c マウスに、マウスメソテリンをコードするアデノウイルスによる初回免疫を、次いでマウスメソテリンをコードするリステリア・モノサイトゲネスによる追加免疫を投与した。ま

50

た、初回・追加免疫レジメンを図示する。

【図7C】マウスから採取した脾細胞（その研究結果を図7Bに示す）をメソテリンペプチド番号278（配列番号2）、279（配列番号3）または280（配列番号4）に曝露したエリスポットアッセイの結果を示す、ウェルの写真をハーフトーンで再生したものである。

【図8】初回免疫としてOVAをコードするKBMAリステリア・モノサイトゲネスを用い、追加免疫としてリステリア・モノサイトゲネス、ワクシニアウイルスまたは「生」リステリア・モノサイトゲネスを用いた初回・追加免疫レジメンの結果として生じたOVA特異的細胞免疫応答を示すグラフである。すべての「追加免疫」ベクターは、OVAをコードした。

10

【図9A】ワクチン接種したマウスにおけるAH特異的T細胞およびAH1/A5特異的T細胞の応答を示す。

【図9B】ワクチン接種したマウスにおけるメソテリン特異的T細胞の応答を示す。

【図9C】CT26腫瘍を投与された後の、ワクチン接種したマウスの関する生存データを示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

発明は、物質と、リステリア抗原でない標的抗原に対する免疫応答を誘発する方法とに関する。標的抗原は、好ましくは、疾患に関連するものであり、したがって該標的抗原に対する免疫応答が治療効果をもたらすことになる。本発明は、癌の補助薬物療法のためのワクチンのセットを提供する。リステリア・モノサイトゲネスをベースにした該ワクチンは、それが投与される宿主において発現する標的抗原の免疫学的に活性な部分をコードする代謝的に活性なリステリア・モノサイトゲネスである。

20

【0018】

本発明は、一部分において、いくつかの一次癌治療がメソテリンなどの癌関連の抗原をコードする弱毒化された生リステリア・モノサイトゲネスを含んだワクチンの補助的使用で増強され得るという所見に基づく。

【0019】

本発明の実践は、特に明記しない限り、分子生物学（組換え技術を含む）、免疫学、細胞生物学、生化学および薬務での従来技術を使用する。そのような技術は、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition, (Sambrookら); Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubelら, 編); Current Protocols in Immunology (John Wiley & Sons, Inc., N.Y.); Handbook of Pharmaceutical Excipients (Roweら, 編); Vaccines (Plotkin and Orenstein, 2003); および Vaccine Protocols (Methods in Molecular Medicine) (Robinsin, Cranage and Hudson, 2003)などの文献に十分に説明されている。

30

【0020】

定義

遺伝子における変異、または遺伝子を含む細菌における変異を示すのに用いられる省略形は、以下の通りである。例として、省略形「リステリア actA」とは、actA遺伝子の一部または全体が欠失したことを意味する。デルタ記号(Δ)は、欠失を意味する。上付きのマイナス符号(リステリア actA-)を含む省略形は、actA遺伝子が、例えば、欠失、点変異またはフレームシフト変異として変異したことを意味するが、これらの変異の種類に限定されるものではない。指数関数は、省略されることもあり、例えば、「3e7」は $3 \times 10^7$ を意味する。

50

## 【 0 0 2 1 】

添付の特許請求の範囲を含めて、本明細書で使用される場合、単数形「a」、「an」および「the」などの語は、文脈で明記しない限り、それらの対応する複数形の参照を含む。本明細書に引用したすべての参照は、個々の刊行物、GenBank受入番号によって利用できる配列、特許出願、特許、配列表、配列表中のヌクレオチド配列またはオリゴペプチドもしくはポリペプチド配列、ならびに前述の刊行物および特許文献中の図および図面が、参照によって具体的に、かつ個別に組み込まれることがあかもの示されているかのように同じ程度に、それら全体を参照により組み込まれる。

## 【 0 0 2 2 】

「投与」とは、ヒト、哺乳類、哺乳類被験者、動物、獣医学的被験者、プラセボ被験者、研究被験者、実験被験者、細胞、組織、器官または生体液に適用する場合、外因性リガンド、試薬、プラセボ、小分子、医薬品、治療薬、診断薬または組成物を被験者、細胞、組織、臓器または生体液などに接触させることをいう、がこれらに限定されない。「投与」は、例えば、治療方法、予防方法、薬物動態的方法、研究方法、プラセボ方法、および実験的方法を指すことがあり得る。細胞への「投与」は、細胞への試薬の接触、ならびに体液が細胞と接触している場合、該体液への試薬の接触を包含する。また、「投与」は、試薬、結合組成物による、または別の細胞による、例えば、細胞の*in vitro*および*ex vivo*での方法を包含する。投与の結果は、プラセボ投与または無投与と比較すると、例えば、生存期間の増加（例えば、生命にかかわる増殖障害に対して）、腫瘍の大きさの減少、腫瘍の数の減少、特定の組織からの転移の減少、特定の組織への転移の減少、感染体などの力価の減少によって評価されることができる。「治療」は、予想される有効性がある投与を含む。「治療」は、防止的（予防的）および治療的な投与を含む。

## 【 0 0 2 3 】

「抗原提示細胞」（APC）は、抗原をT細胞に提示するために使用される免疫系の細胞である。APCとしては、樹状細胞、単球、マクロファージ、辺縁帯Kupffer細胞、ミクログリア、ランゲルハンス細胞、T細胞およびB細胞が挙げられる（例えば、Rodriguez-Pinto and Moreno (2005) Eur. J. Immunol. 35:1097-1105を参照されたい）。樹状細胞は、少なくとも2つの系統で生じる。第1の系統は、プレDC1、骨髄DC1および成熟DC1を包含する。第2の系統は、CD34++CD45RA-初期前駆多能性細胞、CD34++CD45RA+細胞、CD34++CD45RA++CD4+IL-3++プロDC2細胞、CD4+CD11c形質細胞様プレDC2、リンパ様ヒトDC2、形質細胞様由来DC2および成熟DC2を包含する（例えば、Gilliet and Liu (2002) J. Exp. Med. 195:695-704; Bauer, ら (2001) J. Immunol. 166:5000-5007; Arpinati, ら (2000) Blood 95:2484-2490; Kadowaki, ら (2001) J. Exp. Med. 194:863-869; Liu (2002) Human Immunology 63:1067-1071; McKenna, ら (2005) J. Virol. 79:17-27; O'Neill, ら (2004) Blood 104:2235-2246 Ross and Youn (2005) J. Immunol. 175:1373-1381 Bancheureau and Palucka (2005 Nat. Rev. Immunol. 5:296-306を参照されたい)。

## 【 0 0 2 4 】

「弱毒」および「弱毒化された」とは、宿主に対する毒性を低減するように修飾された細菌、ウイルス、寄生虫、感染性微生物、腫瘍細胞、感染性微生物中の遺伝子などを包含する。宿主は、ヒトもしくは動物宿主、または臓器、組織、もしくは細胞であり得る。非限定例を挙げると、細菌を弱毒化して、宿主細胞に対する結合を減少させる、一宿主細胞から別の宿主細胞への拡散を減少させる、細胞外増殖を減少させる、または宿主細胞において細胞内増殖を減少させることができる。弱毒化は、例えば、毒性、50%致死量、臓器からのクリアランスの速度、または競合指標を測定することによって評価することがで

10

20

30

40

50

きる（例えば、Auerbuch,ら(2001) Infect. Immunity 69: 5953-5957を参照されたい）。一般的には、弱毒化は、50%致死量の少なくとも25%の増加；より一般的には少なくとも50%；最も一般的には少なくとも100%（2倍）；通常は、少なくとも5倍；より通常は、少なくとも10倍；最も通常は、少なくとも50倍；しばしば少なくとも100倍；より頻繁には、少なくとも500倍；および最も頻繁には、少なくとも1000倍；通常、少なくとも5000倍；より通常は、少なくとも10,000倍；および最も通常は、少なくとも50,000倍；および最も頻繁には、少なくとも100,000倍の増加をもたらす。

【0025】

「弱毒化された遺伝子」とは、宿主、宿主内での増殖、または宿主内での生存に対して、毒性、病状、または病原性を媒介する遺伝子を包含し、遺伝子は毒性、病状または病原性を軽減する、減少させる、または排除する方法で変異される。「変異型遺伝子」とは、遺伝子の調節領域、遺伝子のコード領域、遺伝子の非コード領域またはその任意の組み合わせにおける欠失、点変異、挿入変異およびフレームシフト変異を包含する。

10

【0026】

「癌状態」および「癌障害」とは、いずれの限定を意味することなく、癌、腫瘍、転移、腫瘍の血管新生、および異形成などの前癌性障害を包含する。癌、腫瘍、前癌性状態、前癌性障害または癌性障害などの哺乳類被験者とは、癌、前癌性障害または腫瘍を含む哺乳類被験者を包含するだけでなく、腫瘍が除去されている、癌が明らかに排除されている（例えば、化学療法もしくは手術によって、または被験者の免疫系だけによって）哺乳類被験者も包含する。

20

【0027】

治療で用いる場合、「有効量」とは、医学的状态または障害の症状または兆候を寛解させる、逆転させる、軽減する、または予防することができる量を包含するが、これらに限定されるものではない。明白にまたはその逆に、特に明記されない限り、「有効量」とは、状態を寛解させるのに十分な必要最低限量に、または、状態の最適な寛解または最大の寛解をもたらす量に限定されない。初回免疫および/または追加免疫の投与の脈絡の中で、「有効量」は、哺乳類において免疫応答を引き起こす量である。

【0028】

「細胞外液」とは、例えば、血清、血漿、血液、組織液、脳脊髄液、分泌液、リンパ液、胆汁、汗、排泄物および尿を包含する。「細胞外液」は、コロイドまたは懸濁液、例えば全血を含み得る。

30

【0029】

リステリア菌の「増殖」とは、リステリアの分野の用語であり、リステリア菌の細胞内の増殖、すなわち哺乳類細胞などの宿主細胞内部の増殖を包含する。リステリア菌の細胞内増殖（「増殖」）は、光学顕微鏡法、蛍光顕微鏡法またはコロニー形成単位（CFU）アッセイで測定されることができ、増殖は、いずれの測定技法によっても限定されることはない。リステリア抗原の量、リステリア核酸配列、またはリステリア菌に脂質特異的ななどの生化学的パラメータを用いて、増殖を評価することができる。増殖を媒介する遺伝子は、特に細胞内増殖を媒介する遺伝子である。特に細胞内増殖を媒介する遺伝子は、その遺伝子の不活性化が細胞内増殖の速度を低下させるが、細胞外増殖（例えばブロス内の増殖）の速度を検出可能な程度に低下させない遺伝子、またはその遺伝子の不活性化が細胞内増殖の速度を、それが細胞外増殖の速度を低下させるよりもより大きな程度まで低下させる遺伝子を包含するが、これらに限定されるものではない。非限定例を示すと、細胞内増殖を媒介する遺伝子は、その欠失が細胞内増殖を50%未満まで、40%未満まで、30%未満まで、20%未満まで、または10%未満まで下げる遺伝子であり、該細胞内増殖は野生型リステリアによって示される。さらに非限定例を示すと、細胞内増殖を媒介する遺伝子は、その欠失が、野生型リステリアの細胞内増殖の50%未満まで下げるが、野生型リステリアで見られる、細胞外増殖を約95%、90%、85%または80%まで下げるだけである遺伝子を包含する。これに関連して、用語「約」とは、±5%を指す。

40

50

## 【 0 0 3 0 】

「死滅しているが代謝的に活性な」(K B M A)細菌とは、例えば、ゲノム修飾がコロニー形成を防止するのには十分であるが、ゲノム修飾が実質的には代謝を防止または損なうのに十分ではない修飾ゲノムを含むいずれの細菌を包含する。K B M A細菌は、例えば、寒天上、または宿主細胞内で *i n v i v o* で測定可能であるコロニーを形成することができない。非限定例を示すと、ゲノムは、ソラレンなどの架橋剤で修飾されることができる。非限定例を示すと、代謝で全く損なわれないK B M A細菌は、調節的機能、コーディング機能、構造機能または生体機能を持たない遺伝子間領域のみにゲノムが架橋を含む細菌である。これは、コロニーを形成することができる「生」細菌と対照的であるが、しかし一部の実施形態では、生細菌は弱毒化されることがある。

10

## 【 0 0 3 1 】

「試料」とは、ヒト、動物、プラセボに由来する試料、または研究試料、例えば、細胞、組織、臓器、体液、気体、エアゾール、スラリー、コロイドまたは凝固した物質を指す。また、「試料」は、例えば、体液試料もしくは組織試料を含む細胞、または体液試料もしくは組織試料から分離される細胞を指す。また、「試料」は、ヒトもしくは動物から新鮮に採取される細胞、組織、臓器もしくは体液を指す、または処理もしくは保存された細胞、組織、臓器または体液を指す。

## 【 0 0 3 2 】

細菌の「拡散」とは、「細胞間拡散」、すなわち第1の宿主細胞から第2の宿主細胞に、ベシクルによって一部は媒介される細胞の伝染を含有する。拡散に関する機能としては、例えば、アクチンテールの形成、仮足様の伸長の形成、および二重膜液胞の形成が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

20

## 【 0 0 3 3 】

「初回免疫用量」または「初回免疫投与量」の「有効量」は、抗原投与の非存在下の哺乳類被験者における免疫応答と比較して、哺乳類被験者において測定可能な免疫応答を誘発する標的抗原の量を指す。

## 【 0 0 3 4 】

本明細書で用いる場合、「ワクチン」とは、該ワクチンが哺乳類に投与されると、異種タンパク質が免疫応答を誘発する目的で、哺乳類内で発現するように、異種タンパク質を含む組成物、または異種タンパク質をコードする核酸を含む組成物を指す。免疫応答は、体液性、細胞性、またはその両方であり得る。

30

## 【 0 0 3 5 】

本明細書で用いる場合、「初回免疫ワクチン」とは、関心の抗原に対して免疫応答を誘発するようにその有効量を被験者または宿主に投与される薬剤(1種または複数種)を含むワクチンを指す。初回免疫ワクチンは、抗原をコードしてもよく、かつGM-CSFなどの、抗原提示細胞を動員して活性化するように作用する種々の免疫刺激サイトカインをコードしてもよい。

## 【 0 0 3 6 】

本明細書で用いる場合、「追加免疫ワクチン」とは、標的抗原の免疫学的に活性の部分を含む抗原をコードする薬剤を含むワクチンを指し、かつ標的抗原を含んでもよく、その断片でもよく、および/または通常、標的抗原に存在しない領域に連結される標的抗原の少なくとも免疫学的に活性の部分を含む融合ポリペプチドでもよい。「追加免疫用量」または「追加免疫投与量」の「有効量」とは、標的抗原の初回免疫用量を前もって投与されている哺乳類に投与されると該標的抗原に対して免疫応答を誘発する抗原の量を指す。

40

## 【 0 0 3 7 】

本明細書で用いる場合、「ベクターセット」または「ワクチンセット」とは、初回免疫ベクターまたは初回免疫ワクチンと、追加免疫ベクターまたは追加免疫ワクチンとを含み、各々は、共有免疫原性決定基、交差反応免疫原性決定基、共有抗原、免疫原性タンパク質もしくはペプチド、またはその断片のうちの少なくとも1つをコードする。

## 【 0 0 3 8 】

50

「抗原」とは、体液性抗原特異的応答および／または細胞性抗原特異的反応を生成するために、哺乳類の免疫系などの宿主の免疫系を刺激する、１つまたは複数のエピトープ（直鎖状、立体構造のいずれか、または両方）または免疫原性決定基を含む分子を指す。この用語は、用語「免疫原」と互換的に用いられる。抗原は、総タンパク質、切断型タンパク質、タンパク質の断片またはペプチドであり得る。抗原は、天然起源、遺伝子操作したタンパク質の変異体であってもよく、または特定の哺乳類の被験者もしくは宿主での発現に最適化されてコドンであってもよい。通常、Ｂ細胞エピトープは、少なくとも約５個のアミノ酸を含むが、３～４ほどの小さいアミノ酸であり得る。ＣＴＬエピトープなどのＴ細胞エピトープは、少なくとも約７～９のアミノ酸を含み、およびヘルパーＴ細胞エピトープは、少なくとも約１２～２０のアミノ酸を含むであろう。通常、エピトープは、７と１５との間のアミノ酸、例えば、９、１０、１２または１５のアミノ酸を含む。用語「抗原」とは、両サブユニットの抗原を意味する（すなわち、抗原が本来関連するある生物全体から離れて、分散している抗原）。抗イディオタイプ抗体などの抗体、またはその断片、および合成ペプチドミモトープ（すなわち、抗原もしくは抗原決定基を模倣することができる合成ペプチド）も、本明細書で用いる場合、抗原の定義下に入る。本発明の目的として、抗原は、いくつかの既知の病原性ウイルス、細菌、寄生体および菌類のいずれかに由来することができる。抗原は、癌に由来することもあり得る。さらに、本発明の目的として、「抗原」とは、本明細書に定義するように、タンパク質が免疫応答を誘発する応力を維持する限り、通常、天然起源の配列に対して本来は保存的である、欠失、添加および置換などの修飾を含むタンパク質を指す。部位特異的変異誘発を介する場合、これらの修飾は、計画的であり得、または例えば、抗原を生成する宿主の変異を介してなどと偶発的であり得る。本発明の抗原は、宿主において抗原の発現または免疫原性を改善するために、当技術分野で既知の方法によって最適化されたコドンであってもよい。本明細書で用いる場合、「交差反応」抗原決定基とは、関連するが、同一ではない抗原決定基に対して免疫応答を誘発することができる、決定基、エピトープまたは抗原を指し、例えば、ＨＩＶに対する交差反応決定基は、クレードにわたるＨＩＶ抗原の２メンバーもしくは複数メンバーもしくはすべてのメンバーに対して免疫応答を誘発することができる抗原であろう、【００３９】

抗原、またはベクターもしくはワクチンもしくは該抗原を含む組成物に対する「免疫学的応答」または「免疫応答」とは、哺乳類被験者において、１つの抗原またはベクターセット中に存在する複数の抗原に対する体液性免疫応答および／または細胞性免疫応答の発現である。「細胞性免疫応答」は、Ｔリンパ球および／または、これらに限定されないが、ナチュラルキラー細胞とマクロファージを含む他の白血球によって媒介される免疫応答である。本発明のＴリンパ球は、Ｔ細胞を発現する - Ｔ細胞受容体サブユニットまたは - Ｔ細胞受容体を発現するＴ細胞を含み、かつエフェクターＴ細胞またはサプレッサーＴ細胞のいずれかであり得る。「Ｔリンパ球」または「Ｔ細胞」は、免疫系の細胞媒介アームの一部を構成する非抗体産生リンパ球である。Ｔ細胞は骨髄から胸腺に移動する未成熟のリンパ球から生じ、胸腺でＴ細胞は、胸腺ホルモンの働きの下で成熟過程を経る。成熟Ｔ細胞は、特異的抗原を認識して結合するそれらの能力に基づいて、免疫適格になる。免疫適格Ｔ細胞の活性化は、抗原がリンパ球表面受容体と結合すると、引き起こされる。Ｔ細胞応答を生成するために、抗原は細胞内で合成される、または細胞に導入され、その後プロテアソーム複合体によって低分子ペプチドにプロセッシングされ、次いで主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）クラスⅠタンパク質との最終的な結合のために、小胞体／ゴルジ複合体分泌経路に移動しなくてはならないことが知られている。機能的に、細胞性免疫は、抗原特異的細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＴＬ）を含む。本明細書で用いる場合、抗原特異的Ｔ細胞、ＣＴＬ、または細胞傷害性Ｔ細胞は、主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）によって、またはタンパク質がヒトにおいて参照される場合はヒト白血球抗原（ＨＬＡ）によってコードされるタンパク質に結合して提示されるペプチド抗原に対する特異性を有する細胞を指す。本発明のＣＴＬは、ＭＨＣと関連して特異的抗原によって引き起こされた活性化ＣＴＬ；および抗原への再曝露の結果、再活性化されたＴ細胞を参照するメモリ

10

20

30

40

50

ーCTLまたはリコールCTLならびに交差反応CTLを含む。本発明のCTLは、CD4+T細胞およびCD8+T細胞を含む。本発明の活性化した抗原特異的CTLは、病原体に感染した被験者の細胞またはとりわけCTLが特異的である癌細胞の破壊および/または溶解、これらに限定されないがマクロファージ炎症性タンパク質1a(MIP-1a)、MIP-1BおよびRANTESを含むケモカインとサイトカインの分泌;および疾患状態を抑制する可溶性因子の分泌を促進する。また、本発明の細胞性免疫は、T細胞のTヘルパーサブセットによってもたらされる抗原特異的応答を指す。ヘルパーT細胞は、その表面でMHC分子と結合するペプチドを表示する細胞に対して非特異的エフェクター細胞の機能を刺激するのに役立ち、かつ該エフェクター細胞の活性に集中するように作用する。また、細胞性免疫応答は、サイトカイン、ケモカインの産生ならびに活性化T細胞および/またはCD4T細胞とCD8T細胞とNK細胞とに由来するものを含む他の白血球によって産生される他の分子の産生を指す。細胞性免疫応答を誘発する初回免疫用量もしくは追加免疫用量、または初回免疫用量もしくは追加免疫用量を含む組成物もしくはワクチンは、細胞表面でMHC分子と結合する抗原を提示することによって哺乳類被験者を感作するのに役立ち得る。細胞性免疫応答は、細胞表面で抗原を提示する細胞で、またはその近に向けられる。加えて、抗原特異的Tリンパ球が生成され、免疫された宿主の今後の防御を可能にすることができる。細胞性免疫応答を刺激する特定の抗体の能力は、当技術分野で既知のいくつかのアッセイ、たとえば、リンパ球増殖(リンパ球活性化)アッセイ、CTL細胞傷害性細胞アッセイによって、または感作された被験者においてTリンパ球特異的抗原をアッセイすることによって決定され得る。そのようなアッセイは、周知の技術である。例えば、Erickson,らJ.Immunol.(1993)151:4189-4199;Doe,らEur.J.Immunol.(1994)24:2369-2376を参照されたい。細胞性免疫応答を測定する方法は、細胞内サイトカインまたはサイトカイン分泌のT細胞集団による測定、またはエピトープ特異的T細胞の測定(例えば、テトラマー技術によって)を含む(McMichael,A.J.,and O'Callaghan,C.A.,J.Exp.Med.187(9)1367-1371,1998;Mcheyzer-Williams,M.G.,ら,Immunol.Rev.150:5-21,1996;Lalvani,A.,ら,J.Exp.Med.186:859-865,1997に概説されている)。本明細書で用いる場合、免疫学的応答または免疫応答は、CTLの産生、および/またはヘルパーT細胞および/もしくは抗体媒介免疫応答の生成もしくは活性化を刺激する応答を包含する。

#### 【0040】

本明細書で用いる場合、「免疫学的応答」または「免疫応答」は、以下の効果の少なくとも1つまたは複数を包含する：B細胞による抗体の産生;および/またはサプレッサーT細胞および/または関心のベクター、組成物もしくはワクチンに存在する抗体に特に向けられるT細胞の活性化。一部の実施形態では、「免疫学的応答」または「免疫応答」は、サプレッサーT細胞の不活性化を含む。本明細書で用いる場合、「増強された追加免疫応答」とは、初回免疫用量の単回投与によって誘発される応答と比較して、より大きな測定可能な免疫応答を誘発するワクチンによる追加免疫用量の投与を指す。

#### 【0041】

「医薬的に許容される」または「薬理学的に許容される」によって、生物学的にまたは他の点では望ましくないものではない物質を意味する。

#### 【0042】

本明細書で用いる場合、用語「キット」とは、互いに、しかし必ずしも同時ではなく、使用されるようにパッケージされ、および/またはマークを付けられた構成成分を指す。キットは、別々の容器に初回免疫ワクチンおよび追加免疫ワクチンを含んでもよい。キットは、別々の容器に初回免疫ワクチンおよび/または追加免疫ワクチンの構成成分を含むこともある。キットは、哺乳類への投与に好適な免疫原性組成物を処方するために、構成成分を混合するための説明書を含むこともある。

#### 【0043】

「治療効果」とは、ワクチン（１種または複数種）が投与される疾患に付随する１つまたは複数の症状を緩和することである。「予防効果」とは、ワクチン（１種または複数種）が投与される疾患に付随する１つまたは複数の症状を抑制することである。

【００４４】

本明細書で用いる場合、「哺乳類被験者」または「宿主」とは、脊椎動物亜門のいずれのメンバーを意味し、これらに限定されないが、チンパンジーおよび他の類人猿などの非ヒト霊長類と、サル種とを含むヒトおよび他の霊長類；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギおよびウマなどの家畜；イヌおよびネコなどの家庭内哺乳類；マウス、ラットおよびモルモットなどの齧歯動物を含む実験動物が挙げられる。この用語は、特定の年齢を意味しない。このように、成人個人および新生児個人の両方を包含することを意図する。

10

【００４５】

本明細書で用いる場合、「放射線治療」または「放射線療法」は、悪性細胞を制御するために、癌治療の一部として電離放射線の医学的用途を指す。放射線療法は、根本的治療、補助薬物療法または緩和療法で用いられ得る。適切な種類の放射線療法としては、従来の外部照射放射線療法、定位放射線治療（例えば、Axesse、サイバーナイフ、ガンマナイフ、Novalis、Primatom、シナジー、X-ナイフ、TomotherapyまたはTrilogy）強度変調放射線療法、粒子線治療（例えば陽子線治療）、密封小線源療法、ラジオアイソトープ送達などが挙げられる。このリストは限定することを意図としない。

【００４６】

20

標的抗原に対する免疫応答を誘発する方法

【００４７】

本発明は、哺乳類において免疫応答を誘発する方法を包含する。標的抗原は、疾患状態と関連した抗原、例えば癌細胞または病原体上に存在することが特定された抗原であり得る。一次癌治療の後に、標的抗原の免疫学的に活性な部分をコードし、かつ発現させる代謝的に活性な弱毒化リステリアを含むワクチンが投与される。

【００４８】

１．標的抗原

本発明の治療レジメンで用いられ得る標的抗原の例は、以下の表に記載する。標的抗原は、表に記載した抗原の免疫学的に活性な部分を含む融合ポリペプチドの断片であってもよい。

30

【００４９】

【表１】

表１．抗原

| 抗原    | 参照   |
|-------|--|
| 腫瘍抗原  |  |
| メソテリン | GenBank 受入番号 NM_005823; U40434; NM_013404; BC003512<br>(例えば、Hassan, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:3937-3942; Muminova<br>ら (2004) BMC Cancer 4:19; Iacobuzio-Donahue, ら<br>(2003) Cancer Res. 63:8614-8622 も参照されたい). |

40

|  |   |
|--|---|
| ウィルス腫瘍-1<br>関連タンパク質 (Wt-1) - 1)<br>、<br>イソ型 A;イソ型 B;<br>イソ型 C; イソ型 D を含む | WT-I イソ型 A (GenBank 受入番号 <u>NM_000378</u> ; NP_000369).<br>WT-I イソ型 B (GenBank 受入番号 <u>NM_1024424</u> ; NP_077742).<br>WT-I イソ型 C (GenBank 受入番号. <u>NM_024425</u> ; NP_077743).<br>WT-I イソ型 D (GenBank 受入番号. <u>NM_024426</u> ; NP_077744).                                       |
| 角質層キモトリプシン酵素<br>(SCCE)およびその変異体   | GenBank 受入番号 <u>NM_005046</u> ; <u>NM_139277</u> ; <u>AF332583</u> . , 例えば ,<br>Bondurant ら (2005) Clin. Cancer Res. 11:3446-3454; Santin<br>ら (2004) Gynecol.Oncol.94:283-288; Shigemasa ら (2001)<br>Int. J. Gynecol.Cancer 11:454-461; Sepehr ら(2001) Oncogene<br>20:7368-7374. |
| MHC クラス I<br>鎖関連タンパク質 A<br>(MICA); MHC クラス I 鎖<br>関連タンパク質 A (MICB).      | 例えば Groh ら(2005) Proc. Natl.Acad. Sci. USA 102:6461-<br>6466; GenBank 受入番号 <u>NM_000247</u> ; <u>BC_016929</u> ; <u>AY750850</u> ; <u>NM_005931</u> を参照されたい。  |
| ガストリン由来のガスト<br>リンとペプチド;ガストリ<br>ン/CCK-2 受容体 (別名<br>CCK-B).                | Harris ら (2004) Cancer Res. 64:5624-5631; Gilliam ら (2004)<br>Eur. J. Surg. Oncol.30:536-543; Laheru and Jaffee (2005) Nature<br>Reviews Cancer 5:459-467.  |
| グリピカン-3 (例えば、肝<br>細胞癌および黒色種の抗原   | GenBank 受入番号 <u>NM_004484</u> . Nakatsura ら(2003) Biochem. Biophys.<br>Res. Commun. 306:16-25; Capurro ら (2003) Gastroenterol. 125:89-97;<br>Nakatsura ら(2004) Clin. Cancer Res.<br>10:6612-6621).  |
| コアクトシン様タンパク質.  | Nakatsura ら(2002) Eur. J. Immunol.32:826-836; Laheru and<br>Jaffee (2005) Nature Reviews Cancer 5:459-467.  |
| 前立腺幹細胞抗原 (PSCA).   | GenBank 受入番号 <u>AF043498</u> ; <u>AR026974</u> ; <u>AR302232</u> (例えば , Argani<br>ら(2001) Cancer Res. 61:4320-4324; Christiansen ら(2003) Prostate<br>55:9-19; Fuessel ら(2003) 23:221-228 も参照されたい).  |
| 前立腺酸性フォスファ<br>ターゼ (PAP); 前立腺特<br>異的抗原 (PSA); PSM;<br>PSMA.               | Small ら(2000) J. Clin. Oncol. 18:3894-3903; A1twein and<br>Luboldt (1999) Urol.Int. 63:62-71; Chan ら (1999) Prostate 41:99-<br>109; Ito ら(2005) Cancer 103:242-250; Schmittgen ら (2003)<br>Int. J. Cancer 107:323-329; Millon ら (1999) Eur. Urol.36:278-<br>285.                  |
| 前立腺6膜貫通上皮抗原<br>(STEAP).  | 例えば,Machlenkin ら (2005) Cancer Res. 65:6435-6442;<br>GenBank 受入番号 <u>NM_018234</u> ; <u>NM_001008410</u> ; <u>NM_182915</u> ;<br><u>NM_024636</u> ; <u>NM_012449</u> ; <u>BC011802</u> を参照されたい。   |
| 前立腺癌腫瘍抗原--<br>1 (PCTA-1).  | 例えば , Machlenkin ら(2005) Cancer Res. 65:6435-6442;<br>GenBank 受入番号 <u>L78132</u> を参照されたい。   |
| 前立腺腫瘍誘発遺伝子<br>-1 (PTI-1).  | 例えば, Machlenkin ら (2005) Cancer Res. 65:6435-6442)を参照されたい。  |
| Gタンパク質結合受容体と<br>の類似性を有する前立腺特<br>異的遺伝子.                                   | 例えば,Machlenkin ら(2005) Cancer Res. 65:6435-6442)を参照されたい。  |

10

20

30

40

|   |  |
|---|--|
| 前立腺 (アンドロゲン調節セリンプロテアーゼ).  | 例えば、Machlenkin, ら (2005) Cancer Res. 65:6435-6442; GenBank 受入番号 BC096178; BC096176; BC096175 を参照されたい。.   |
| プロテイナーゼ 3.  | GenBank Acc. No. X55668.   |
| 精巣癌抗原, 例えば, NY-ESO-1; SCP-1; SSX-1; SSX-2; SSX-4; GAGE, CT7; CT8; CT10; MAGE-1; MAGE-2; MAGE-3; MAGE-4; MAGE-6 . LAGE- 1. | GenBank 受入番号 NM_001327 (NY-ESO-1) (例えば, Li, ら (2005) Clin. Cancer Res. 11:1809-1814; Chen, ら (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 101(25):9363-9368; Kubuschok, ら (2004) Int. J. Cancer. 109:568-575; Scanlan, ら (2004) Cancer Immun. 4:1; Scanlan, ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047; Scanlan, ら (2000) Cancer Lett. 150:155-164; Dalerba, ら (2001) Int. J. Cancer 93:85-90; Ries, ら (2005) Int. J. Oncol. 26:817-824 も参照されたい。. |
| MAGE-A1, MAGE-A2; MAGE-A3; MAGE-A4; MAGE-A6; MAGE-A9; MAGE-A10; MAGE-A12; GAGE-3/6; NT-SAR-35; BAGE; CA125.               | Otte, ら (2001) Cancer Res. 61:6682-6687; Lee, ら (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:2651-2656; Sarcevic, ら (2003) Oncology 64:443-449; Lin, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:5708-5716.   |
| GAGE-1; GAGE-2; GAGE-3; GAGE-4; GAGE-5; GAGE-6; GAGE-7; GAGE-8; GAGE-65; GAGE-11; GAGE-13; GAGE-7B.                       | De Backer, ら (1999) Cancer Res. 59:3157-3165; Scarcella, ら (1999) Clin. Cancer Res. 5:335-34 1.  |
| HIP1R; LMNA; KIAA1416; Seb4D; KNSL6; TRIP4; MBD2; HCAC5; MAGEA3.  | Scanlan, ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.  |
| DAM ファミリーの遺伝子、例えば, DAM-1;DAM-6.   | Fleishhauer, ら (1998) Cancer Res. 58:2969-2972.  |
| RCAS1.  | Enoji, ら (2004) Dig. Dis. Sci. 49:1654-1656.   |
| RU2.  | Van Den Eynde, ら (1999) J. Exp. Med. 190:1793-1800.  |
| CAMEL.  | Slager, ら (2004) J. Immunol. 172:5095-5102; Slager, ら (2004) Cancer Gene Ther. 11:227-236.   |
| 抗原関連結腸癌、例えば、NY-CO-8; NY-CO-9; NY-CO-13; NY-CO-16; NY-CO-20; NY-CO-38;   | Scanlan, ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.  |

10

20

30

40

|  |    |   |
|--|----|---|
| NY-CO-45;<br>NY-CO-9/HDAC5;<br>NY-CO-41/MBD2;<br>-CO-42/TRIP4;<br>NY-CO-95/KIAA1416;<br>KNSL6; seb4D.                                | NY |   |
| N-アセチルグルコサミン転移酵素 V (GnT-V).  |    | Dosaka-Akita, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:1773-1779.  |
| 伸長因子 2 変異型 (ELF2M).  |    | Renkvist, ら (2001) Cancer Immunol Immunother. 50:3-15.  |
| HOM-MEL-40/SSX2  |    | Neumann, ら (2004) Int. J. Cancer 112:661-668; Scanlan, ら (2000) Cancer Lett. 150:155-164.   |
| BRDT.  |    | Scanlan, ら (2000) Cancer Lett. 150:155-164.   |
| SAGE;HAGE.   |    | Sasaki, ら (2003) Eur. J. Surg. Oncol. 29:900-903.   |
| RAGE.  |    | 例えば, Li, et al. (2004) Am. J. Pathol. 164:1389-1397; Shirasawa, ら (2004) Genes to Cells 9: 165-174 を参照されたい。   |
| MUM-1 (黒色腫偏在性変異); MUM-2; MUM-2 Arg-Gly 変異; MUM-3.  |    | Gueguen, ら (1998) J. Immunol. 160:6188-6194; Hirose, ら (2005) Int. J. Hematol. 81:48-57; Baurain, ら (2000) J. Immunol. 164:6057-6066; Chiari, ら (1999) Cancer Res. 59:5785-5792.                            |
| LDLR/FUT 黒色腫の融合タンパク質抗原.  |    | Wang, ら (1999) J. Exp. Med. 189:1659-1667.  |
| NY -REN 腎癌抗原の系列  |    | Scanlan, ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047; Scanlan, ら (1999) Cancer Res. 59:456-464.   |
| NY -BR 乳癌抗原の系列, NY-BR-62; NY-BR-75; NY-BR-85; NY-BR-62; NY-BR-85.  |    | Scanlan, ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047; Scanlan, ら (2001) Cancer Immunity 1:4.  |
| BRCA-1; BRCA-2.  |    | Stolier, ら (2004) Breast J. 10:475-480; Nicoletto, ら (2001) Cancer Treat Rev. 27:295-304.   |
| DEK/CAN 融合タンパク質  |    | Von Lindem, ら (1992) Mol. Cell. Biol. 12:1687-1697.   |
| Ras, 例えば, 野生型 ras, コドン位 12, 13, 59 または 61 に変異を有する ras, 例えば, G 12C; G12D; G12R; G12S; G12V; G13D; A59T; Q61H. K-RAS; H-RAS; N-RAS の変異 |    | GenBank 受入番号. P01112; P01116; M54969; M54968; P01111; P01112; K00654. 例えば, GenBank 受入番号 M26261; M34904; K01519; K01520; BC006499; NM_006270; NM_002890; NM_004985; NM_033360; NM_176795; NM_005343 を参照されたい。 |

10

20

30

40

|  |  |
|--|--|
|  |  |
| BRAF (RAF のイソ型).   | Tannapfel , ら (2005) Am. J. Clin. Pathol. 123:256-2601; Tsao and Sober (2005) Dermatol. Clin. 23:323-333.  |
| HST-2 黒色腫細胞抗原を含む黒色腫抗原  | GenBank 受入番号 NM 206956; NM 206955; NM 206954・NM_206953; NM_006115; NM_005367; NM_004988; AY148486; UI0340; UI0339; M7748 1. 例えば, Suzuki, ら (1999) J. Immunol. 163:2783-2791 を参照されたい。   |
| サバイビン  | GenBank 受入番号 AB028869; U75285 (例えば, Tsuruma , ら (2004) J. Translational Med. 2:19 (11 pages); Pisarev , ら (2003) Clin. Cancer Res. 9:6523-6533; Siegel, ら (2003) Br. J. Haematol. 122:911-914; Andersen , ら (2002) Histol. Histopathol. 17:669-675 を参照されたい)。 |
| MDM-2  | NM 002392; NM 006878 (例えば, Mayo , ら (1997) Cancer Res. 57:5013-5016; Demidenko and Blagosklonny (2004) Cancer Res. 64:3653-3660 を参照されたい)。  |
| Methyl-CpG 結合タンパク質 (MeCP2; MBD2).  | Muller , ら (2003) Br. J. Cancer 89:1934-1939; Fang , ら (2004) World J. Gastroenterol. 10:3394-3398.  |
| NA88- A.   | Moreau-Aubry, ら (2000) J. Exp. Med. 191:1617-1624.   |
| ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) , 例えば, HDAC5.  | Waltregny, ら (2004) Eur. J. Histochem. 48:273-290; Scanlan , ら (2002) Cancer Res. 62:4041-4047.  |
| シクロフィリン B (Cyp-B).   | Tamura , ら (2001) Jpn. J. Cancer Res. 92:762-767.  |
| CA 15-3; CA 27.29.   | Clinton , ら (2003) Biomed. Sci. Instrum. 39:408-414.   |
| 熱ショックタンパク質 Hsp70.  | Faure, ら (2004) Int. J. Cancer 108:863-870.  |
| GAGE/PAGEファミリー, 例えば, PAGE-1; PAGE-2; PAGE-3; PAGE-4; XAGE-1; XAGE-2; XAGE-3. | Brinkmann, ら (1999) Cancer Res. 59:1445-1448.  |
| MAGE-A, B, C と D ファミリー MAGE-B5; MAGE-B6; MAGE-C2; MAGE-C3; MAGE-3; MAGE-6.   | Lucas , ら (2000) Int. J. Cancer 87:55-60; Scanlan , ら (2001) Cancer Immun. 1:4.  |
| キネシン 2; TATA エレメント調節因子 1; 腫瘍タンパク質 D53; NY                                    | Scanlan , ら (2001) Cancer Immun. 30:1-4.   |

10

20

30

40

|   |  |
|---|--|
| αフェトプロテイン (AFP)                                       | Grimm, ら (2000) Gastroenterol. 119:1104-1112.  |
| SART1; SART2; SART3; ART4.                            | Kumamuru, ら (2004) Int. J. Cancer 108:686-695; Sasatomi, ら (2002) Cancer 94:1636-1641; Matsumoto, ら (1998) Jpn. J. Cancer Res. 89:1292-1295; Tanaka, ら (2000) Jpn. J. Cancer Res. 91:1177-1184.  |
| 黒色腫の優先的に発現される抗原 (PRAME).                              | Matsushita, ら (2003) Leuk. Lymphoma 44:439-444; Oberthuer, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:4307-4313.  |
| 癌胎児性抗原 (CEA), CAP 1-6D エンハンサーアゴニストペプチド.               | GenBank 受入番号 M29540; E03352; X98311; M17303 (例えば, Zaremba (1997) Cancer Res. 57:4570-4577; Sarobe, ら (2004) Curr. Cancer Drug Targets 4:443-454; Tsang, ら (1997) Clin. Cancer Res. 3:2439-2449; Fong, ら (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:8809-8814 を参照されたい). |
| HER-2/neu.  | Disis, ら (2004) J. Clin. Immunol. 24:571-578; Disis and Cheever (1997) Adv. Cancer Res. 71:343-371.  |
| Cdk4; cdk6; p16 (INK4); R タンパク質                       | Ghazizadeh, ら (2005) Respiration 72:68-73; Ericson, ら (2003) Mol. Cancer Res. 1:654-664.   |
| TEL; AML1; TEL/AML1.                                  | Stams, ら (2005) Clin. Cancer Res. 11:2974-2980.  |
| テロメラーゼ (TERT).  | Nair, ら (2000) Nat. Med. 6:1011-1017.  |
| 707-AP.   | Takahashi, ら (1997) Clin. Cancer Res. 3:1363-1370.   |
| アネキシン例えばネキシン II                                       | Zimmerman, ら (2004) Virchows Arch. 445:368-374.  |
| BCR/ABL; BCR/ABL p210; BCR/ABL p190; CML-66; CML-28.  | Cobaldd, ら (2000) Blood 95: 1007-1013; Hakansson, ら (2004) Leukemia 18:538-547; Schwartz, ら (2003) Semin. Hematol. 40:87-96; Lim, ら (1999) Int. J. Mol. Med. 4:665-667.  |
| BCL2; BLC6; CD 10 タンパク質.                              | Iqbal, ら (2004) Am. J. Pathol. 165:159-166.  |
| CDC27 (これは黒色腫抗原である。).                                 | Wang, ら (1999) Science 284: 1351-1354.   |
| 精子タンパク質 17 (SP17); 14-3-3-zeta; 11.5 KIAA0471; TC2 1. | Arora, ら (2005) Mol. Carcinog. 42:97-108.  |
| チロシナーゼ関連タンパク質 1 と 2 (TRP-1 と TRP-2).                  | GenBank 受入番号 NM_001922. (例えば, Bronte, ら (2000) Cancer Res. 60:253-258 を参照されたい)。.   |
| Gp 100/pmel-17 .                                      | GenBank 受入番号 AH003567; U31798; U31799; U31807; U31799 (例えば, Bronte, ら (2000) Cancer Res. 60:253-258 も参照されたい)。.   |
| TARP.   | 例えば, Clifton, ら (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:10166-10171; Virok, ら (2005) Infection Immunity 73:1939-1946 を参照。  |
| チロシナーゼ関連タンパク質 1 と 2 (TRP-1 と TRP-2).                  | GenBank 受入番号 NM_001922. (例えば, Bronte, ら (2000) Cancer Res. 60:253-258 を参照されたい)。.   |
| 黒色腫 1 受容体 (MC1R); MAGE-3; gp100; チロシナーゼ;              | Salazar-Onfray, ら (1997) Cancer Res. 57:4348-4355; Reynolds, ら (1998) J. Immunol. 161:6970-6976; Chang, ら (2002) Clin. Cancer Res. 8:1021-1032.  |

10

20

30

40

|   |   |
|---|---|
| ドバクロームトートメラ<br>ーゼ(TRP-2);<br>MART-1   |   |
| MUC-1;MUC-2.  | 例えば Davies ら(1994) Cancer Lett. 82:179-184; Gambus ら (1995) Int. J. Cancer 60:146-148; McCool ら (1999) Biochem. J.341:593-600 を参照されたい。  |
| Spas-1  | Allison らに付与された米国特許出願番号 0020150588 号。   |
| CASP-8; FLICE;<br>MACH.   | Mandruzzato ら(1997) J. Exp. Med. 186:785-793.   |
| CEACAM6; CAP- 1.  | Duxbury ら(2004) Biochem. Biophys. Res. Commun. 317:837-843; Morse ら(1999) Clin. Cancer Res. 5:1331-1338.  |
| HMGB1 (DNA<br>結合タンパク質およびサ<br>イトカイン.   | Brezniceanu ら(2003) FASEB J. 17:1295-1297.  |
| ETV6/AML1.  | Codrington ら(2000) Br. J. Haematol. 111:1071-1079.  |
| 大腸ポリポーシス (A P<br>C) の変異型および野生<br>型; $\beta$ カテニン; c-met;<br>p53; E-カドヘリン; シ<br>クロオキシゲナーゼ- 2<br>(COX-2). | Clements ら(2003) Clin. Colorectal Cancer 3:113-120; Gulmann , ら<br>(2003) Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 11:230-237; Jungck ら<br>(2004) Int. J. Colorectal. Dis. 19:438-445; Wang ら(2004) J. Surg. Res.<br>120:242-248; Abutaily ら(2003) J. Pathol. 201:355-362; Liang ら (2004)<br>Br. J. Surg. 91:355-361; Shirakawa<br>ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:4342-4348.   |
| mAB G250 によって結合さ<br>れた腎細胞癌抗原.   | Mulders ら(2003) Urol. Clin. North Am. 30:455-465; Steffens ら<br>(1999) Anticancer Res. 19:1197-1200.  |
| EphA2   | 例えば米国特許公 開 番 号 2005/0281783 A1 号; Genbank<br>受入番号 NM 004431 (human); Genbank 受入番号 No. NM 010139 (マウス); Genbank 受入番号 AB038986 (ニワトリ , 部分配列); GenBank<br>受 入 番 号 Nos. NP 004422 AAH37166<br>および AAA53375 (ヒト); GenBank 受入番号 NP 034269 (マウ<br>ス) AAH06954 (マウス) XP_345597 (ラット) および BAB63910 (ニ<br>ワトリ)。   |
| 野兔病菌抗原  |   |
| 野兔病菌AおよびB   | 亜種 Schu S4(GenBank 受入番号 AJ749949)の全ゲノム; 亜種 Schu 4<br>(GenBank 受入番号 NC 006570)の全ゲノム。外膜タンパク質(43 kDa)<br>Bevanger ら(1988) J. Clin. Microbiol. 27:922-926; Porsch-Ozcurumez ,<br>ら(2004) Clin. Diagnostic. Lab. Immunol. 11:1008-1015). 野兔病の抗<br>原成分としては、例えば、10 kDa および 60 kDa シャペロン(Havlasova ,<br>ら(2002) Proteomics 2:857-86) ,ヌクレオシド二リン酸キナーゼイソク<br>エン酸脱水素酵素 , RNA 結合タンパク質 Hfq シャペロン ClpB (Havlasova ,<br>ら(2005) Proteomics 5:2090-2103)を含む 8 0 種の抗原が挙げられる。例<br>えば Oyston and Quarry(2005) Antonie Van Leeuwenhoek 87:277-281;<br>Isherwood ら(2005) Adv. Drug Deliv. Rev. 57:1403-1414; Biagini ら<br>(2005) Anal. Bioanal. Chem. 382:1027-1034 も参照されたい。 . |
| マラリア抗原  |   |

10

20

30

40

|   |  |
|---|--|
| スポロゾイト周囲タンパク質 (CSP); SSP2; HEP17; 熱帯熱マラリア原虫で見られる Exp-1 オルソログ; および LSA-1.  | 例えば, Haddad, ら (2004) <i>Infection Immunity</i> 72:1594-1602; Hoffman, ら (1997) <i>Vaccine</i> 15:842-845; Oliveira-Ferreira and Daniel-Ribeiro (2001) <i>Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro</i> 96:221-227. CSP (例えば, GenBank 受入番号 AB121024). SSP2 (例えば, GenBank 受入番号 AF249739). LSA-1 (例えば, GenBank 受入番号 Z30319) を参照されたい。   |
| 輪状体感染赤血球表面タンパク質 (RESA); メロゾイト表面タンパク質 2 (MSP2); Spf66; メロゾイト表面タンパク質 1 (MSP1); 195A; BVp42.                                     | 例えば, Stirnadel, ら (2000) <i>Int. J. Epidemiol.</i> 29:579-586; Krzych, ら (1995) <i>J. Immunol.</i> 155:4072-4077 を参照。また, Good, ら. (2004) <i>Immunol. Rev.</i> 201:254-267; Good, ら (2004) <i>Ann. Rev. Immunol.</i> 23:69-99. MSP2 (例えば, GenBank 受入番号 X96399; X96397). MSP1 (例えば, GenBank 受入番号 X03371). RESA 例えば GenBank 受入番号 X05181; X05182) を参照されたい。   |
| 頂端膜抗原 1 (AMA1).   | 例えば, Gupta, ら (2005) <i>Protein Expr. Purif.</i> 41:186-198. AMA1 (例えば, GenBank 受入番号 A、13; AJ494905; AJ490565) を参照。  |
| ウイルスおよびウイルス抗原   |  |
| A 型肝炎   | GenBank 受入番号, 例えば, NC_001489; AY644670; X83302; K02990; M14707.。   |
| B 型肝炎   | 全ゲノム (例えば, GenBank 受入番号 AB214516; NC_003977; AB205192; AB205191; AB205190; AJ748098; AB198079; AB198078; AB198076; AB074756 を参照されたい。).   |
| C 型肝炎   | 全ゲノム (例えば, GenBank 受入番号 NC_004102; AJ238800; AJ238799; AJ132997; AJ132996; AJ000009; D84263 を参照。)  |
| D 型肝炎   | GenBank 受入番号, 例えば NC_001653; AB118847; AY261457.   |
| 全 200+サブタイプ (16 グループに分類する) (高リスクサブタイプ 16, 18, 30, 31, 33, 45 など) を含むヒトパピローマウイルス   | 例えば, Trimble, ら (2003) <i>Vaccine</i> 21:4036-4042; Kim, ら (2004) <i>Gene Ther.</i> 11:1011-1018; Simon, ら (2003) <i>Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.</i> 109:219-223; Jung, ら (2004) <i>J. Microbio l.</i> 42:255-266; Damasus-Awatai and Freeman-Wang (2003) <i>Curr. Opin. Obstet. Gynecol.</i> 15:473-477; Jansen and Shaw (2004) <i>Annu. Rev. Med.</i> 55:319-331; Roden and Wu (2003) <i>Expert Rev. Vaccines</i> 2:495- 516; de Villiers, ら (2004) <i>Virology</i> 324:17-24; Hussain and Paterson (2005) <i>Cancer Immunol. Immunother.</i> 54:577-586; Molijn, ら (2005) <i>J. Clin. Virol.</i> 32 (Suppl. 1) S43-S5 1. GenBank 受入番号 AY686584; AY686583; AY686582; NC_006169; NC_006168; NC_006164; NC_001355; NC_001349; NC_005351; NC_001596 を参照。 |
| ヒト T 細胞リンパ球向性ウイルス (HTLV) I 型および II 型, HTLVI 型 (亜型 コスモポリタン型, 地中央アフリカ型, オーストロ-メラネシア型) および HTLVII 型 (亜型 lia, lib, lic, lid) を含む。 | 例えば, Capdepon, ら (2005) <i>AIDS Res. Hum. Retrovirus</i> 21:28- 42; Bhigjee, ら (1999) <i>AIDS Res. Hum. Restrovirus</i> 15:1229-1233; Vandamme, ら (1998) <i>J. Virol.</i> 72:4327-4340; Vallejo, ら (1996) <i>J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retroviro l.</i> 13:384-391. HTLV I 型 (例えば, GenBank 受入番号 AY563954; AY563953. HTLV II 型 (例えば, GenBank 受入番号 L03561; 13051; AF139382) を参照されたい。  |
| コロナウイルス,  | 例えば, Brian and Baric (2005) <i>Curr. Top. Microbio l. Immunol</i> を参   |

10

20

30

40

|  |  |
|--|--|
| SARS- コロ ナ ウ イ ル ス (SARS-CoV) , および トロ ウ イ ル ス などの コロ ナ ウ イ ル ス を 含む。  | 287: 1-30; Gonzalez , ら (2003) Arch. Virol. 148:2207-2235; Smits, ら (2003) J. Virol. 77:9567-9577; Jamieson , ら (1998) J. Infect. Dis. 178:1263-1269 (GenBank 受入番号 AY348314; NC_004718; AY394850).   |
| 風疹ウイルス   | GenBank 受入番号 NC_001545; AF435866.  |
| 遺伝子型 A, C, D, G, H を 含む. 流行性耳下腺炎   | 例えば, Orvell , ら (2002) J. Gen. Virol. 83:2489-2496 を参照。例え ば, GenBank 受入番号 AY681495; NC_002200; AY685921; AF201473 を参照。   |
| コクサッキーA ウイルス, セロタイプ 1, 11, 13, 15, 19, 20, 21, 22 および 24 (別名: ヒトエンテロ ウイルス C; HEV-C)  | 例えば, Brown , ら (2003) J. Virol. 77:8973-8984. GenBank 受入番号. AY421768; AY790926: X67706 を参照されたい。  |
| コクサッキーB ウイルス, 亜型 1 ～ 6 を含む。  | 例えば, Ahn , ら (2005) J. Med. Virol. 75:290-294; Patel , ら (2004) J. Virol. Methods 120:167-172; Rezig , ら (2004) J. Med. Virol. 72:268-274. GenBank 受入番号 X05690 を参照されたい。  |
| ヒトエンテロウイルス, 例 えば, ヒトエンテロウイル ス A (HEV-A , CAV2 to CAV8, CAV10 , CAV12, CAV14, CAV16, EV71) およ び HEV-B (CAV9, CBV1 to CBV6, E1～E7, E9, E11～ E21, E24～E27 , E29 ～ E33, EV69 と E73) , な らびに HEV を含む。 . | 例えば, Oberste, ら (2004) J. Virol. 78:855-867. ヒトエンテロウイル ス A (GenBank 受入番号 NC_001612); ヒトエンテロウイルス B (NC_001472); ヒトエンテロウイルス C (NC_001428); ヒトエンテロウイル ス D (NC_001430). サルエンテロウイルス A (GenBank 受入番号 NC_003988) を参照されたい。   |
| ポリオウイルス (PV1, PV2 と PV3. を含む)  | 例えば, He, ら (2003) J. Virol. 77:4827-4835; Hahsido , ら (1999) Microbiol. Immunol. 43:73-77. GenBank 受入番号 AJ132961 (1 型); AY278550 (2 型); X04468 (3 型) を参照されたい。  |
| ウイルス性脳炎 ( ウマ脳 炎; ベネズエラウマ脳炎 (VEE) (亜型 IA, IB, IC, ID, IIIC, IIID) , 東部ウマ脳炎 (EEE) , 西部ウマ脳炎 (WEE) , セン トルイス脳炎 , マレー溪谷脳炎 (オーストラリア脳炎)   | 例えば, Hoke (2005) Mil. Med. 170:92-105; Estrada- Franco , ら (2004) Emerg. Infect. Dis. 10:2113-2121; Das, ら (2004) Ant ら iviral Res. 64:85-92; Aguilar , ら (2004) Emerg. Infect. Dis. 10:880-888; Weaver , ら (2004) Arch. Virol. Suppl. 18:43-64; Weaver , ら (2004) Annu. Rev. Entomol. 49: 141-174. 東部ウマ脳炎 (GenBank 受入番号 NC_003899; AY722102); 西部ウマ脳炎 (NC_003908). |

10

20

30

40

|  |  |
|--|--|
| ，日本脳炎および<br>ダニ脳炎を含む)   |  |
| ヒトヘルペスウイルス (サイトメガロウイルス (CMV)，エプスタイン・バーウイルス (EBV)，ヒトヘルペスウイルス-1 (HHV -1)，HHV-2，HHV-3，HHV-4，HHV-5，HHV-6，HHV-7，HHV-8，ヘルペス B ウイルス，単純ヘルペスウイルス 1 型と 2 型 (HSV-1，HSV-2)，および水痘帯状疱疹 (VZV) を含む)。 | See, e.g., Studahl, ら (2000) Scand. J. Infect. Dis. 32:237-248; Padilla, ら (2003) J. Med. Virol. 70 (Suppl. 1) S103-S110; Jainkittivong and Langlais (1998) Oral Surg. Oral Med. 85:399-403. GenBank Nos. NC_001806 (ヘルペスウイルス 1 型); NC_001798 ヘルペスウイルス 2 型); X04370 and NC_001348 (ヘルペスウイルス 3 型); NC_001345 (ヘルペスウイルス 4 型); NC_001347 (ヘルペスウイルス 5 型); X83413 and NC_000898 (ヘルペスウイルス 6 型); NC_001716 (ヘルペスウイルス 7 型).<br>ヒトヘルペスウイルス 6 型および 7 型 (HHV-6; HHV-7) は、例えば、Padilla, ら (2003) J. Med. Virol. 70 (Suppl. 1) S103-S110 によって開示されている。亜型 A-E を含むヒトヘルペスウイルス 8 型 (HHV-8) は、例えば、Treumicht, ら (2002) J. Med. Virol. 66:235-240 に開示されている。 |
| HIV-1 (グループ M (亜型 A，B，C，D，E，F1，F2，G，H，I，J，K，L，M，N，O，P，Q，R，S，T，U，V，W，X，Y，Z) を含む) と、グループ O (いづれの識別可能な亜型を含む) とを含む)，HIV-2 (亜型 A～E を含む)。  | 例えば、Smith, ら (1998) J. Med. Virol. 56:264-268 を参照。例えば、GenBank 受入番号 DQ054367; NC_001802; AY968312; DQ011180; DQ011179; DQ011178; DQ011177; AY588971; AY588970; AY781127; AY781126; AY970950; AY970949; AY970948; X61240; AJ006287; AJ508597 および AJ508596 も参照されたい。   |
| エプスタイン・バーウイルス (EBV) (亜型 A および B を含む)。  | 例えば、Peh, ら (2002) Pathology 34:446-450. Epstein-Barr virus strain B95-8 (GenBank 受入番号 V01555) を参照されたい。   |
| レオウイルス (セロタイプ および系統 1，2 および 3，1 型 Lang，2 型 Jones，および 3 型 Dearing を含む)。   | 例えば、Barthold, ら (1993) Lab. Anim. Sci. 43:425-430; Roner, ら (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:12362-12366; Kedl, ら (1995) J. Virol. 69:552-559. GenBank 受入番号 K02739 (σ-3 遺伝子表面タンパク質)。   |
| CMV 亜型 1-VII を含むサイトメガロウイルス (CMV) 亜型  | 例えば、Chem, ら (1998) J. Infect. Dis. 178:1149-1153; Vilas Boas, ら (2003) J. Med. Virol. 71:404-407; Trincado, ら (2000) J. Med. Virol. 61:481-487. GenBank 受入番号 X17403.   |
| ライノウイルス (すべてのセロタイプを含む)   | ヒトライノウイルス 2 型 (GenBank 受入番号 X02316); ヒトライノウイルス B 型 (GenBank 受入番号 NC_001490); ヒトライノウイルス 89 (GenBank 受入番号 NC_001617); ヒトライノウイルス 39 (GenBank 受入番号 AY751783).  |
| すべてのセロタイプを含むアデノウイルス  | AY803294; NC_004001; AC_000019; AC_000018; AC_000017; AC_000015; AC_000008; AC_000007; AC_000006; AC_000005; AY737798; AY737797; NC_003266; NC_002067; AY594256; AY594254; AY875648; AJ854486; AY163756; AY594255; AY594253; NC_001460; NC_001405; AY598970; AY458656; AY487947; NC_001454; AF534906; AY45969; AY128640; L19443; AY339865; AF532578.   |
| 水痘帯状疱疹 (   | 例えば、Loparev, ら (2004) J. Virol. 78:8349-8358; Carr, ら  |

10

20

30

40

|   |   |
|---|---|
| 系統およびゲノタイプ Oka, Dumas, European, Japanese, および Mosaic を含む)  | (2004) J. Med. Virol. 73: 131-136; Takayama and Takayama (2004) J. Clin. Virol. 29: 113-119.  |
| フィロウィルス (マールブルグウィルスとエボラウィルス, 株, エボラサードン (EBO-S), エボラザイル (EBO-Z), およびエボラレストン (EBO-R) などの系統, を含む)                                       | 例えば, Geisbert and Jahrling (1995) Virus Res. 39: 129-150; Hutchinson, ら (2001) J. Med. Virol. 65: 561-566. マールブルグウィルス (例えば, GenBank 受入番号 NC_001608 を参照). エボラウィルス (例えば, GenBank 受入番号 NC_006432; AY769362; NC_002549; AF272001; AF086833).  |
| アレナウィルス (リンパ性腺絡髄膜炎 (LCM) ウィルス, ラッサウィルス, フニンウィルスおよびマチュポウィルスを含む)  | フニンウィルス, セグメント S (GenBank 受入番号 NC_005081); フニンウィルス, セグメント L (GenBank 受入番号 NC_005080).   |
| 狂犬病ウィルス   | 例えば, GenBank 受入番号 NC_001542; AY956319; AY705373; AF499686; AB128149; AB085828; AB009663.  |
| アルボウィルス (西ナイルウィルス, デングウィルス 1 型, ~ 4 型, シコロダニ熱ウィルス, シンドビスウィルス, トガウィルス科, フラビウィルス科, プニヤウィルス科, レオウィルス科, ラブドウィルス科, オルトミクソウィルス科などを含む)       | デングウィルス 1 型 (例えば, GenBank 受入番号 AB195673; AY762084 を参照). デングウィルス 2 型 (例えば, GenBank 受入番号 NC_001474; AY702040; AY702039; AY702037 を参照). デングウィルス 3 型 (例えば, GenBank 受入番号 AY923865; AT858043 を参照). デングウィルス 4 型 (例えば, GenBank 受入番号 AY947539; AY947539; AF326573 を参照). シンドビスウィルス (例えば, GenBank 受入番号 NC_001547; AF429428; J02363; AFI03728 を参照). 西ナイルウィルス (例えば, GenBank 受入番号 NC_001563; AY603654 を参照). |
| ボックスウィルス (オルソボックスウィルス (痘瘡ウィルス, サル痘ウィルス, ワクシニアウィルス, ウシ痘ウィルス), ヤタボックスウィルス (タナボックスウィルス, ヤバサル腫瘍ウィルス), パラボックス」ウィルスおよびモルシボックスウィルスを含む). 黄熱病. | 痘瘡ウィルス (例えば, GenBank 受入番号 NC_001611; Y16780; X72086; X69198 を参照されたい).   |
| ハンタウィルス (セロタイプ HTN), ソウル (SEO), ドブラバ (DOB), シンノンブル (SN), プーマラ (PUU), ドブラバ様サーレーマー  | (2005) Virus Genes 30: 157-180. GenBank 受入番号 NC_005222 and NC_005219 (ハンタウィルス). 例えば, GenBank 受入番号 NC_005218; NC_005222; NC_005219.  |

10

20

30

40

|  |  |
|--|--|
| (SAAV).  |  |
| フラビウイルス (デングウイルス, 日本脳炎ウイルス, 西ナイルウイルスおよびお黄熱病ウイルスを含む) .                        | 例えば, Mukhopadhyay, ら (2005) Nature Rev. Microbio 1. 3:13-22. GenBank 受入番号 NC_001474 and AY702040 (デング). GenBank 受入番号 NC_001563 and AY603654. を参照されたい.  |
| 麻疹.  | 例えば, GenBank 受入番号 AB040874 および AY486084 を参照.   |
| ヒトパラインフルエンザウイルス (HPV) (HPV 1~5 6 型を含む)                                       | ヒトパラインフルエンザ 2 型 (例えば, GenBank 受入番号 AB176531; NC003443 を参照). ヒトパラインフルエンザ 3 型 (例えば, GenBank 受入番号 NC_001796).   |
| インフルエンザウイルス (インフルエンザウイルス A 型, B 型および C 型を含む)                                 | インフルエンザヌクレオカプシド (例えば, GenBank 受入番号 AY626145 を参照). インフルエンザ赤血球凝集素 (例えば, GenBank 受入番号 AY627885; AY555153 を参照). インフルエンザノイラミニダーゼ (例えば, GenBank 受入番号 AY555151; AY577316 を参照). インフルエンザマトリックスタンパク質 2 (例えば, GenBank 受入番号 AY626144 を参照). インフルエンザ塩基性タンパク質 1 (例えば, GenBank 受入番号 AY627897 を参照). インフルエンザポリメラーゼ酸性タンパク質 (例えば, GenBank 受入番号 AY627896 参照). インフルエンザぬクレオタンパク質 (例えば GenBank 受入番号 AY627895 を参照). |
| A 型インフルエンザウイルスサブタイプ, 例えば, ブルエンザウイルス (SIV): H1N1 A 型インフルエンザおよび「ブタ」インフルエンザウイルス | H1N1 の赤血球凝集素 (GenBank 受入番号 S67220). A 型インフルエンザウイルスマトリックスタンパク質 (GenBank 受入番号 AY700216). A 型インフルエンザウイルス H5H1 核タンパク質 (GenBank 受入番号 AY646426). H1N1 赤血球凝集素 (GenBank 受入番号 D00837). GenBank 受入番号 BD006058; BD006055; BD006052 も参照されたい. 例えば, Wentworth, ら (1994) J. Virol. 68:2051-2058; Wells, ら (1991) を参照されたい. J. A. M. A. 265:478-48 1.   |
| 呼吸器多核体ウイルス (RSV) (サブグループ A およびサブグループ B を含む).                                 | 呼吸器多核体ウイルス (RSV) (例えば, GenBank 受入番号 AY353550; NC_001803; NC001781 を参照されたい).  |
| ロタウイルス (ヒトロタウイルス A~E, ウシロタウイルス, アカゲザルロタウイルスおよびヒト RVV 再集合を含む) .               | ヒトロタウイルス C 群セグメント 8 (GenBank 受入番号 AJ549087); ヒトロタウイルス G9 株 外側プシドタンパク質 (例えば, GenBank 受入番号 DQ056300); ヒトロタウイルス B 株 非構造タンパク質 4 (例えば, GenBank 受入番号 AY548957); ヒトロタウイルス A 株 主要な内側カプシドタンパク質 (例えば, GenBank 受入番号 AY601554 を参照されたい).  |
| ポリオーマウイルス (サルウイルス 40 (SV40), JC ウイルス (JCV) および BK ウイルス (BKV) を含む)            | 例えば, Engels, ら (2004) J. Infect. Dis. 190:2065-2069; Vilchez and Butel (2004) Clin. Microbiol. Rev. 17:495-508; Shivapurkar, ら (2004) Cancer Res. 64:3757-3760; Carbone, ら (2003) Oncogene 2:5173-5180; Barbanti-Brodano, ら (2004) Virology 318:1-9) (SV40 全ゲノム, 例えば, GenBank 受入番号 NC_001669; AF168994; AY271817; AY271816; AY120890; AF345344; AF332562 において).                            |

10

20

30

|  |   |
|--|---|
| <p>コルティウイルス (コロナドダニ熱ウイルス, Eyach ウイルスを含む) .</p> | <p>Attoui , ら (1998) J. Gen. Virol. 79:2481-2489. Eyach ウイルスのセグメント (例えば, GenBank 受入番号. AF282475; AF282472; AF282473; AF282478; AF282476; NC 003707; NC 003702; NC 003703; NC 003704; NC 003705; NC 003696; NC 003697; NC 003698; NC 003699; NC 003701; NC 003706; NC 003700; AF282471; AF282477).</p> |
|--|---|

|   |   |
|---|---|
| <p>カリシウイルス (遺伝子型 Norwalk, Snow Mountain 群 (SMA), および Saaporo を含む)</p>   | <p>Snow Mountain virus (例えば, GenBank 受入番号 AY 134748 を参照されたい).</p>   |
| <p>パルボウイルス科 (ディペンドウイルス, パルボウイルス (パルボウイルス B19 を含む), および エリスロウイルスを含む)</p> | <p>例えば, Brown (2004) Dev. Biol. (Basel) 118:71-77; Alvarez- Lafuente , ら (2005) Ann. Rheum. Dis. 64:780-782; Ziyaeyan, ら (2005) Jpn. J. Infect. Dis. 58:95-97; Kaufman, ら (2005) Virology 332: 189-198 を参照されたい。</p> |

10

## 【 0 0 5 0 】

## 2 . 初回・追加免疫アプローチで用いた薬剤

初回・追加免疫アプローチでは、補助療法は哺乳類に初回免疫ワクチンの有効量を投与することを含んでもよい。初回ワクチンは、好ましくは、標的抗原をコードする代謝的に活性なナリステリアを含まない。そのようなワクチンは、標的抗原それ自体、例えば、アジュバントを含むもしくは含まないタンパク質、腫瘍細胞溶解物、照射腫瘍細胞、標的抗原のペプチドで刺激した抗原提示細胞（例えば樹状細胞）のいずれかを含んでもよく、またはワクチンは標的抗原をもたらす薬剤を含んでもよい。標的抗原をもたらす好適な薬剤は、組み換えベクター、例えば細菌、ウイルスおよびネイキッド DNA を含む。組み換えベクターは、当技術分野で既知の標準技術を用いて調製され、かつ標的抗原をコードするヌクレオチド配列に機能可能に連結した好適な調節領域を含む。例えば、Plotkin, ら (編) (2003) Vaccines, 第4版, W. B. Saunders, Co., Phila., PA.; Sikora, ら (編) (1996) Tumor Immunology Cambridge University Press, Cambridge, UK; Hackett and Harn (編) Vaccine Adjuvants, Humana Press, Totowa, NJ; Isaacson (編) (1992) Recombinant DNA Vaccines, Marcel Dekker, NY, NY; Morse, ら (編) (2004) Handbook of Cancer Vaccines, Humana Press, Totowa, NJ), Liao, ら (2005) Cancer Res. 65:9089-9098; Dean (2005) Expert Opin. Drug Deliv. 2:227-236; Arlen, ら (2003) Expert Rev. Vaccines 2:483-493; Dela Cruz, ら (2003) Vaccine 21:1317-1326; Johansen, ら (2000) Eur. J. Pharm. Biopharm. 50:413-417; Excler (1998) Vaccine 16:1439-1443; Disisi, ら (1996) J. Immunol. 156:3151-3158) を参照されたい。ペプチドワクチンは記述されている（例えば、McCabe, ら (1995) Cancer Res. 55:1741-1747; Minev, ら (1994) Cancer Res. 54:4155-4161; Snyder, ら (2004) J. Virology 78:7052-7060 を参照されたい。

20

30

40

## 【 0 0 5 1 】

ウイルス由来ベクターとしては、ウイルス、修飾ウイルスおよびウイルス粒子が挙げられる（例えば、表2を参照されたい）。ウイルス由来ベクターは、哺乳類被験者に直接投与されることができ、または *ex vivo* で抗原提示細胞（APC）に導入されることができ、次いで APC は哺乳類被験者に投与される。

## 【 0 0 5 2 】

50

ウイルスベクターは、例えば、アルファウイルスおよびフラビウイルスを含むトガウイルス；アルファウイルス、例えば、シンドビスウイルス、シンドビス株S A A R 8 6、セムリキ森林ウイルス（S F V）、ベネズエラウマ脳炎ウイルス（V E E）、東部ウマ脳炎ウイルス（E E E）、西部ウマ脳炎ウイルス、ロスリバーウイルス、S a g i y a m iウイルス、O ' N y o n g - n y o n gウイルス、ハイランドJウイルスなどに基づき得る。フラビウイルス、例えば黄熱病ウイルス、黄熱病株17D、日本脳炎、セントルイス脳炎、ダニ媒介脳炎、デングウイルス、西ナイルウイルス、クンジンウイルス（西ナイルウイルスの亜型）など；アルテリウイルス、例えば、ウマ動脈炎ウイルスなど；およびルビウイルス、例えば、風疹ウイルス、ヘルペスウイルス、修飾ワクチニアアンカラ（M V A）など；トリボックスウイルスベクター；鶏痘ベクター；ワクチニアウイルスベクター；インフルエンザウイルスベクター；アデノウイルスベクター；ヒトパピローマウイルスベクター；ウシパピローマウイルスベクターなど。ウイルスベクターは、オルソボックスウイルス、例えば、痘瘡ウイルス（天然痘）、ワクチニアウイルス（天然痘に対するワクチン）、アンカラ（M V A）またはコペンハーゲン株、ラクダ痘、サル痘または牛痘などに基づき得る。ウイルスベクターは、鶏痘ウイルスまたはカナリアボックスウイルスなどのトリボックスウイルスのウイルスに基づき得る。

#### 【0053】

アデノウイルスベクターおよびアデノ随伴ウイルスベクター（A A V）が利用可能であり、アデノウイルスベクターとしては、アデノウイルスセロタイプ5（アデノ5；A d 5）、アデノ6、アデノ11およびアデノ35が挙げられる。6つの亜群（亜群A、B、C、D、EおよびF）に分類される、少なくとも51のヒトアデノウイルスセロタイプが利用可能である。例えば、「空」アデノウイルスベクターに対する免疫応答の評価に有用なアデノウイルスタンパク質としては、ヘキソン3タンパク質、線維タンパク質およびペントンベースタンパク質などのヘキソンタンパク質が挙げられ、およびアデノウイルスタンパク質に対するヒト免疫応答が記載されている（例えば、Wuら、（2002）J . V i r o l . 7 6 : 1 2 7 7 5 - 1 2 7 8 2 ; M a s c o l a ( 2 0 0 6 ) N a t u r e 4 4 1 : 1 6 1 - 1 6 2 ; R o b e r t s ら、（2006）N a t u r e 4 4 1 : 2 3 9 - 2 4 3 を参照されたい）。

#### 【0054】

#### 【表2】

表2. ウイルス由来のワクチンベクター

|   |   |
|---|---|
| アデノウイルスベクター<br>およびアデノ随伴ウイルス<br>ベクター(AAV). | Polo and Dubensky (2002) Drug Discovery Today 7:719-727; Xin , ら (2005) Gene Ther. 12:1769-1777; Morenweiser (2005) Gene Ther. 12 (Suppl. 1) S103-S110; Casimiro, ら.(2005) J. Virol. 79:15547-15555; Ferreira, ら(2005) Gene Ther. 12 Suppl. 1:S73-S83; Baez-Astua, ら (2005) J. Virol. 79:12807-12817; Vanniasinkam and Ertl (2005) Curr. Gene Ther. 5:203-212; Tatsis and Ertl (2004) Mol. Ther. 10:616-629; Santosuosso , ら(2005) Viral Immunol. 18:283-291; Zhou , ら(1996) J. Virol. 70:7030-7038; Zhou , ら |
|---|---|

|   |  |
|---|--|
|   | (2002) J. Gene Med. 4:498-509.   |
| ワクシニアウイルス   | Kim, ら (2005) Hum. Gen. Ther. 16:26-34; Kaufman, ら (2005) J. Clin. Invest. 115:1903-1912; Kaufman, ら (2004) J. Clin. Oncol. 22:2122-2132; Marshall, ら (2005) J. Clin. Invest. 23:720-731; Hwang and Sanda (1999) Curr. Opin. Mol. Ther. 1:471-479; Baldwin, ら (2003) Clin. Cancer Res. 9:5205-5213;  |
| 修飾型ワクシニアアンカラ (MVA)  | Mackova, ら (2006) Cancer Immunol. Immunother. 55:39-46; Meyer, ら (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:453-467; Palmowski, ら (2002) J. Immunol. 168:4391-4398;   |
| ワクシニア誘導体 NYVAC  | Paoletti (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11349-11353;  |
| 鶏頭およびカナリアボックスなどのトリボックスを含むボックスウイルス                           | Kaufman (2005) J. Clin. Oncol. 23:659-661; Kudo-Saito, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:1090-1099; Greiner, ら (2002) Cancer Res. 62:6944-6951; Marshall, ら (2005) J. Clin. Invest. 23:720-731; Hwang and Sanda (1999) Curr. Opin. Mol. Ther. 1:471-479; Hodge, ら (1997) Vaccine 15:759-768; Skinner, ら (2005) Expert Rev. Vaccines 4:63-76; Rosenberg, ら (2003) Clin. Cancer Res. 9:2973-2980.  |
| ウイルス由来のベクターで形質導入された抗原提示細胞                                   | Di Nicola, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:5381-5390;  |
| アルファウイルス由来のベクター、例えば、シンドビスウイルス、セムリキ森林ウイルスおよびベネズエラウマ脳炎 (VEE). | Polo and Dubensky (2002) Drug Discovery Today 7:719-727; Polo, ら (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:4598-4603; Schlesinger (2001) Expert Opin. Biol. Ther. 1:177-191; Pan, ら (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11581-11588; Lundstrom (2003) Expert Rev. Vaccines 2:447-459; Shafferman, ら (1996) Adv. Exp. Med. Biol. 397:41-47; Yamanaka (2004) Int. J. Oncol. 24:919-923; Atkins, ら (2004) Curr. Cancer Drug Targets 4:597-607. |
| キメラアルファウイルスなどのキメラウイルス由来ベクター                                 | Sindbis virus/Venezuelan equine encephalitis virus (SINV/VEEV) (例えば Perri, ら (2003) J. Virol. 77:10394-10403; Paessler, ら (2003) J. Virol. 77:9278-9286 を参照されたい)   |
| 単純ヘルペスおよび Epstein-Barr 由来ベクターを含むヘルペスウイルス                    | Hellebrand, ら (2006) Gene Ther. 13:150-162; Lauterbach, ら (2005) J. Gen. Virol. 86:2401-2410; Zibert, ら (2005) Gene Ther. 12:1707-1717; Thiry, ら (2006) Vet. Microbio 1. 113:171-177; Trapp, ら (2005) J. Virol. 79:5445-5454.  |
| ライノウイルス   | Dollenmaier, et al. (2001) Virology 281:216-230; Arnold, ら (1996) Intervirology 39:72-78.  |
| レンチウイルス   | DePolo, ら (2000) Mol. Ther. 2:218-222; Pellinen, ら (2004) Int. J. Oncol. 25: 1753-1762; Esslinger, ら (2003) J. Clin. Invest 111:1673-1681; Kikuchi, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:1835-1842; Kim, ら (2005) Hum. Gene Ther. 16:1255-1266.   |

10

20

30

40

|            |  |
|------------|--|
| ウイルス粒子ワクチン | Polo and Dubensky (2002) Drug Discovery Today 7:719-727; Cheng, ら (2002) Hum. Gene Ther. 13:553-568; Lin, ら (2003) Mol. Ther. 8:559-566; Balasuriya, ら (2000) J. Virol. 74:10623-10630; Goldberg, ら (2005) Clin. Cancer Res. 11:8114-8121; Johnston, ら (2005) Vaccine 23:4969-4979; Quinnan, ら (2005) J. Virol. 79:3358-3369; Cassetti, ら (2004) Vaccine 22:520-527; Williamson, ら (2003) AIDS Res. Hum. Retroviruses 19:133-144; Perri, ら (2003) J. Virol. 77:10394-10403; Da Silva, ら (2003) Vaccine 21:3219-3227; |
|------------|--|

## 【0055】

10

抗原提示細胞 (APC) ベクター、例えば樹状細胞 (DC) は、抗原を負荷された、腫瘍溶解物を負荷された、または核酸を含む組成物を形質移入された細胞を含み、核酸は例えば、プラスミド、mRNA またはウイルスであり得る。DC / 腫瘍融合ワクチンも、使用され得る。例えば、Di Nicola, ら (2004) Clin. Cancer Res. 10:5381-5390; Cerundolo, ら (2004) Nature Immunol. 5:7-10; Parmiani, ら (2002) J. Natl. Cancer Inst. 94:805-818; Kao, ら (2005) Immunol. Lett. 101:154-159; Geiger, ら (2005) J. Transl. Med. 3:29; Osada, ら (2005) Cancer Immunol. Immunother. Nov. 5, 1-10 [epub ahead of print]; Malowany, ら (2005) Mol. Ther. 13:766-775; Morse and Lyerly (2002) World J. Surg. 26:819-825; Gabrilovich (2002) Curr. Opin. Mol. Ther. 4:454-458; Morse, ら (2003) Clin. Breast Cancer 3 Suppl. 4:S164-S172; Morse, ら (2002) Cancer Chemother Biol. Response Modif. 20:385-390; Arlen, ら (2003) Expert Rev. Vaccines 2:483-493; Morse and Lyerly (1998) Expert Opin. Investig. Drugs 7:1617-1627; Hirschowitz, ら (2004) J. Clin. Oncol. 22:2808-2815; Vasir, ら (2005) Br. J. Haematol. 129:687-700; Koido, ら (2005) Gynecol. Oncol. 99:462-471 を参照されたい。

20

30

## 【0056】

腫瘍細胞、例えば、自己腫瘍細胞および同種腫瘍細胞は、ワクチンとして利用可能である (Arlen, ら (2005) Semin. Oncol. 32:549-555)。ワクチンは、修飾腫瘍細胞、例えば、腫瘍細胞溶解物または照射された腫瘍細胞も含み得る。また、腫瘍細胞は、サイトカイン (GM-CSF、IL-12、IL-15、など)、NKGD配位子、CD40L、CD80、CD86、などの分子をコードする核酸を組み込むことによって修飾され得る (例えば、Dranooff (2002) Immunol. Rev. 188:147-154; Jain, ら (2003) Ann. Surg. Oncol. 10:810-820; Borrello and Pardoll (2002) Cytokine Growth Factor Rev. 13:185-193; Chen, ら (2005) Cancer Immunol. Immunother. 27:1-11; Kjaergaard, ら (2005) J. Neurosurg. 103:156-164; Tai, ら (2004) J. Biomed. Sci. 11:228-238; Schwaab, ら (2004) J. Urol. 171:1036-1042; Friese, ら (2003) Cancer Res. 63:8996-9006; Biondes, ら (2002) Cancer Res. 62:3195-3199; Vieg and DannuU (2003) Urol. Clin. North Am. 30:633-643; Mincheff, ら (2001) Crit. Rev. Oncol

40

50

．Hematol. 39: 125 - 132を参照されたい)。

【0057】

ワクチンは、ネイキッドDNAベクターおよびネイキッドRNAベクターを含むこともある。核酸を含有するこれらのワクチンは、遺伝子銃、電気穿孔法、細菌ゴースト、マイクロスフェア、微小粒子、リボソーム、ポリカチオンナノ粒子などによって投与され得る(例えば、Donnelly, ら(1997) Ann. Rev. Immunol. 15: 617 - 648; Mincheff, ら(2001) Crit. Rev. Oncol. Hematol. 39: 125 - 132; Song, ら(2005) J. Virol. 79: 9854 - 9861; Estcourt, ら(2004) Immunol. Rev. 199: 144 - 155を参照されたい)。

10

【0058】

ネイキッド核酸の投与のための試薬および方法論は、例えば、遺伝子銃法、内皮法、筋肉内法および電気穿孔法によって利用可能である。核酸ワクチンは、ロックド核酸(LNA)を含んでもよく、LNAは、官能部分のプラスミドDNAへの付着を可能にし、該官能部分は、アジュバントであり得る(例えば、Fensterle, ら(1999) J. Immunol. 163: 4510 - 4518; Strugnell, ら(1997) Immunol. Cell Biol. 75: 364 - 369; Hertoughs, ら(2003) Nucleic Acids Res. 31: 5817 - 5830; Trimble, ら(2003) Vaccine 21: 4036 - 4042; Nishitani, ら(2000) Mol. Urol. 4: 47 - 50; Tutting (1999) Curr. Opin. Mol. Ther. 1: 216 - 225)。核酸ワクチンは、未成熟の樹状細胞がそのワクチンに向かって移動するのを促進する複数の試薬と、成熟DCが、初回免疫が生じることが出来る流入領域リンパ節へ移動するのを促進するある試薬とを組み合わせで用いられることができ、これらの試薬はMIP-1 およびFlt3Lを包含する(例えば、Kutzler and Weine (2004) J. Clin. Invest. 114: 1241 - 1244; Sumida, ら(2004) J. Clin. Invest. 114: 1334 - 1342を参照されたい)。

20

【0059】

細菌ベクターとしては、例えば、サルモネラ菌(Salmonella)、赤痢菌(Shigella)、エルシニア(Yersinia)、乳酸桿菌(Lactobacillus)、連鎖球菌(Streptococcus)、カルメット ゲラン桿菌(Bacille Calmette - Guerin)、炭疽菌(Bacillus anthracis)および大腸菌(Escherichia coli)が挙げられる。細菌は、腫瘍、癌細胞または感染体に由来する組換え抗原、異種抗原または抗原をコードする核酸を含むために操作され得る。さらに、細菌は、弱毒化されるように修飾され得る。別の態様では、非リステリア細菌ワクチンは、組換え抗原をコードするいずれの核酸も不在であり得る(例えば、Xu, ら(2003) Vaccine 21: 644 - 648; Pasetti, ら(2003) J. Virol. 77: 5209 - 5219; Loessner and Weiss (2004) Expert Opin. Biol. Ther. 4: 157 - 168; Grangette, ら(2002) Vaccine 20: 3304 - 3309; Byrd, ら(2002) Vaccine 20: 2197 - 2205; Edelman, ら(1999) Vaccine 17: 904 - 914; Domenech, ら(2005) Microbes and Infection 7: 860 - 866を参照されたい)。

30

40

【0060】

死滅しているが代謝的に活性な(「KBMA」)細菌および特に、KBMAリステリアは、DNA架橋剤(例えばソラレン)で処理することによっておよび/またはDNA修復、例えば、組み換え修復遺伝子(例えば、recA)もしくは紫外線損傷修復遺伝子(例えば、uvrA、uvrB、uvrAB、uvrC、uvrD、phrA、phrB)を媒介する少なくとも1つの遺伝子を不活性化することによって生細菌から調製されること

50

ができる（例えば、Dubenskyらの米国特許公開番号2004/0228877号および同2004/0197343号を参照されたい。それぞれその全体を参照によって本明細書に組み入れる）。

#### 【0061】

KBMAリステリアの1種類は、異種抗原を発現させるように操作されたリステリアuvrABであり、該操作された細菌は、核酸架橋剤、ソラレン化合物、マスタード化合物、4'-(4-アミノ-2-オキサ)ブチル-4,5',8-トリメチルソラレン、またはアラニン、N-(アクリジン-9-イル)、2-[ビス(2-クロロエチル)アミノ]エチルエステルで処理される。また、例えば、Dubensky,らの米国特許出願番号2004/0197343号、「MODIFIED FREE-LIVING MICROBES, VACCINE COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF」; Brockstedt,ら(2005) Nature Med. 11: 853-860を参照されたい。

10

#### 【0062】

一部の実施形態では、初回免疫ワクチンは、ワクシニアウイルス(VV)ベクター、樹状細胞(DC)ベクター、アデノウイルスベクター、ネイキッドDNAベクターおよびGVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)からなる群から選択される媒介物を含む。

#### 【0063】

##### 3. 補助療法で用いられるリステリア

20

特定の実施形態では、本発明はリステリア細菌の使用を含み、該リステリアは弱毒化されている。弱毒化は、病原性因子、例えば、actA、インターナリンB(B)、p60(自己溶菌酵素)、リステイオリジンO(LLO; hly遺伝子)、ホスファチジルコリンホスホリパーゼC(PC-PLC)、ホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼC(PI-PLC; plcA遺伝子)、リポ酸タンパク質リガーゼならびにCerus Corporationに付与された米国特許番号11/395,197号「ENGINEERED LISTERIA AND METHODS OF USE THEREOF」(出願日2006年3月30日)に開示される遺伝子などをコードする1つまたは複数の遺伝子を変異させることからもたらされ得る。本発明の方法は、1種類または複数種類のリステリア種およびその中で特定された株の使用を含むが、これに限定されるものではない。例えば、本発明は、リステリア属細菌、すなわちリステリア・モノサイトゲネス、またはリステリア・モノサイトゲネスに由来する細菌の使用を包含する。また、リステイオリジン(hly遺伝子; LLO)、plcA、plcB、または病原性遺伝子もしくは宿主細胞内への侵入を媒介する遺伝子などの他の遺伝子のうちの1つまたは複数を発現するように操作されたL.イノキウなどの他のリステリア種も有用である(例えば、Johnson,ら(2004) Appl. Environ Microbiol. 70: 4256-4266; Slaghuis,ら(2004) J. Infect. Dis. 189: 393-401; Milohanic,ら(2003) Mol. Microbiol. 47: 1613-1625を参照されたい)。追加免疫ワクチンでの使用に適したリステリアの弱毒化された株は、PCT/US2004/003429号およびPCT/US2004/044080号に記述されるように調製され得る。上記の出願のすべては、それら全体を参照によって本明細書に組み込まれる。

30

40

#### 【0064】

弱毒化されたリステリアの非限定的な例は、例えば、以下の特許公報に記述されており、各々は、その全体を参照によって本明細書に組み込まれる：米国特許公開番号2004/0228877号；米国特許公開番号2004/0197343号；および米国特許公開番号2005/0249748号。非限定的な例は、例えば、2006年3月30日に出願された米国特許出願番号11/395,197号に提供されており、その全体を参照によって本明細書に組み込まれる。

50

## 【 0 0 6 5 】

## 4 . ワクチン組成物

上記の媒介物に加えて、本発明のワクチン組成物は、さまざまな賦形剤、アジュバント、担体、補助物質、調節剤などをさらに含み得る。随意に存在する担体は、分子であり、それ自体は、ワクチン組成物を投与される個人に有害な抗体の産生を誘発しない。好適な担体は、典型的に大きな、ゆっくり新陳代謝する巨大分子であり、例えばタンパク質、多糖、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、重合アミノ酸、アミノ酸コポリマー、脂質凝集体（例えば、油滴またはリポソーム）および不活性ウイルス粒子である。微粒子担体の例は、ポリメチルメタクリレートポリマーに由来するもの、ならびにポリ（ラクチド）および P L C として知られているポリ（ラクチド - c o - グルコリド）由来の微粒子が挙げられる。例えば、Jeffery ら, Pharm. Res. ( 1 9 9 3 ) 1 0 : 3 6 2 - 3 6 8 ; McGee J P , ら, J Microencapsul. 1 4 ( 2 ) : 1 9 7 - 2 1 0 , 1 9 9 7 ; O ' Hagan D T , ら, Vaccine 1 1 ( 2 ) : 1 4 9 - 5 4 , 1 9 9 3 を参照されたい。そのような担体は、当業者にとって周知である。さらに、これらの担体は、免疫刺激剤（「アジュバント」）として機能し得る。さらに、抗原は、ジフテリア、破傷風コレラなどに由来するトキソイドなどの細菌トキソイド、ならびに大腸菌由来の毒素にコンジュゲートされ得る。そのようなアジュバントとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されるものではない：（１）アルミニウム塩類（ミョウバン）、例えば水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムなど；

（２）水中油型乳剤製剤（他の特異的免疫刺激剤を含む、もしくは含まない、例えば、ムラミルペプチド（下記参照）または細菌細胞壁成分）、例えば、（a）Model HOY マイクロフルイダイザー（Microfluidics, Newton, Mass.）などのマイクロフルイダイザーを用いてサブミクロン粒子に製剤化された、スクアレンを 5 %、Tween 8 0 を 0 . 5 % および Span 8 5 を 0 . 5 %（随意に、種々の量の MTP - PE（以下参照）を含むが必要ではない）を含む MF 5 9（国際公開番号 WO 9 0 / 1 4 8 3 7 号）、（b）スクアレンを 1 0 %、Tween 8 0 を 0 . 4 %、プルロニックブロックポリマー L 1 2 1 を 5 % 含む SAF、および大きな粒子径の乳濁液を生成するためにサブミクロン乳濁液にマイクロフルイダイズした、もしくはボルテックスした MDP、および（c）スクアレンを 2 %、Tween 8 0 を 0 . 2 %、モノホスホリリピド A（MPL）、トレハロースジミコレート（TDM）および細胞壁骨格（CWS）からなる群からの 1 つまたは複数の細菌細胞壁成分、好ましくは MPL + CWS（Detoxu）を含む Ribi（商標）アジュバント系（RAS）（Ribi Immunochem, Hamilton, MT）；（３）Stimulon（商標）（Cambridge Bioscience, Worcester, Mass.）などのサポニンアジュバントを用いてもよく、またはそれ由来の ISCOM（免疫刺激複合体）などの生成された粒子；（４）

フロイント完全アジュバント（CFA）およびフロイント不完全アジュバント（IFA）；（５）インターロイキン（IL - 1、IL - 2 など）などのサイトカイン、マクロファージコロニー刺激因子（M - CSF）、腫瘍壊死因子（TNF）、ケモカイン（MIP、1 - ランテス、1 - ランテスなど）；（６）例えばコレラ毒素（CT）、百日咳毒素（PT）または大腸菌熱不安定性毒素（LT）などの細菌 ADP リボシル化毒素の解毒化変異体、特に LT - K 6 3（リシンが 6 3 位で野生型アミノ酸と置き換わる）、LT - R 7 2（アルギニンが 7 2 位で野生型アミノ酸と置き換わる）、CT - S 1 0 9（セリンが 1 0 9 位で野生型アミノ酸と置き換わる）、および PT - K 9 / G 1 2 9（リジンが 9 位で野生型アミノ酸と置き換わり、グリシンが 1 2 9 位で置き換わる）（例えば、国際公開番号 WO 9 3 / 1 3 2 0 2 号および同 WO 9 2 / 1 9 2 6 5 号を参照されたい）；および（７）組成物の効果を増強するために、免疫刺激剤として作用する他の物質。

## 【 0 0 6 6 】

## 5 . ワクチン組成物の調製

ワクチンは、当業者に既知の方法で調製される。通常、上述の薬剤（初回免疫ワクチン

10

20

30

40

50

または追加免疫ワクチンで使用する)のうちの1つまたは複数を、所望の量の薬剤と、医薬的に許容される賦形剤とを混合することで調製する。医薬的に許容される賦形剤としては、滅菌蒸留水、生理食塩水、リン酸塩緩衝液、アミノ酸ベースの緩衝液または重炭酸塩緩衝液が挙げられるがこれらに限定されるものではない。

#### 【0067】

##### 6. ワクチン投与

単一用量または複数用量のワクチンで供給されるべき初回免疫ベクターまたは追加免疫ベクターの有効量は、当業者によって決定されることができる。そのような量は、ルーチンの試験を通して決定され得る範囲に収まるであろう。

#### 【0068】

初回免疫ワクチンおよび追加免疫ワクチンは、以下の経路のいずれか1つでまたは組み合わせによって投与され得る。一態様では、初回免疫ワクチンおよび追加免疫ワクチンは、同じ経路で投与される。別の態様では、初回免疫ワクチンおよび追加免疫ワクチンは、異なる経路で投与される。用語「異なる経路」とは、体の異なる部位、例えば、口腔、非口腔、腸内、非経口、直腸、節間(リンパ節)、静脈内、動脈内、皮下、筋肉内、腫瘍内、腫瘍周辺、腫瘍内、点滴、粘膜、鼻腔、脳脊髄腔または脳脊髄液など、ならびに異なる様式によって、例えば、経口、静脈内および筋肉内が挙げられるがこれらに限定されるものではない。

#### 【0069】

初回免疫ワクチンまたは追加免疫ワクチンの有効量は、一用量で与えられてもよいが、一用量に限定されない。したがって、投与は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20またはそれ以上のワクチン投与であり得る。ワクチンを複数回投与する場合、該投与は、1分、2分、3分、4分、5分、6分、7分、8分、9分、10分またはそれ以上の時間間隔を空けて、約1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、19時間、20時間、21時間、22時間、23時間、24時間などの間隔を空けることができる。時間の関連で、用語「約」とは、任意の時間間隔 $\pm 30$ 分以内を意味する。複数回投与の場合、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日およびその組み合わせの日数間隔で空けることも可能である。本発明は、時間を均等に空ける投与間隔に限定されるものではなく、非限定例だけを示すと、1日目、4日目、7日目および25日目での投与からなる初回免疫スケジュールなどの非等間隔での投与を包含する。

#### 【0070】

初回免疫ワクチンおよび追加免疫ワクチンの相対的タイミングを決定する際に以下を考慮に入れてもよい。抗原または抗原をコードする核酸を投与すると、抗原特異的免疫細胞の増殖を刺激し、結果として抗原特異的免疫細胞数のピーク、それに続いて収縮が生じることが判明している(例えば、Badovinac, ら(2002) Nature Immunol. 3: 619-626を参照されたい)。ピークに達する前に、ピークと同時に、またはピーク後に追加免疫ワクチン接種を開始することができる。

#### 【0071】

抗原特異性免疫細胞の集団が、最終的には達成される抗原特異的免疫細胞の最高数の少なくとも20%まで; 少なくとも30%まで; 少なくとも40%まで; 少なくとも50%まで; 少なくとも60%まで; 少なくとも70%まで; 少なくとも80%まで; 少なくとも90%まで; 少なくとも95%まで; 最終的には達成される抗原特異的免疫細胞の最高数の少なくとも95%まで増殖した(数が増加する)ときに、追加免疫ワクチン接種の投与を開始することができる。初回・追加免疫ワクチンの追加スケジュールは、例えば、抗原特異的細胞の集団が抗原特異的細胞の最高数の90%未満まで; 80%未満まで; 70%未満まで; 60%未満まで; 50%未満まで; 40%未満まで; 30%未満まで; 20%未満まで;

10

20

30

40

50

10%未満まで；5%未満まで；1.0%未満まで；0.5%未満まで；0.1%未満まで；0.05%未満まで；または抗原特異的細胞の最高数の0.01%未満まで収縮したときに、追加免疫ワクチン接種を開始することができる。抗原特異的細胞は、ベクター特異的抗原（空のベクターに特異的である）に特異的である、または該ベクターに含まれる核酸によって発現される異種抗原に特異的であると特定されることができる。

#### 【0072】

別の態様では、追加免疫ワクチン接種の投与を、初回免疫ワクチン接種から約5日後に開始することができる；初回免疫ワクチン接種から約10日後に開始する；約15日後に；約20日後に；約25日後に；約30日後に；約35日後に；約40日後に；約45日後に；約50日後に；約55日後に；約60日後に；約65日後に；約70日後に；約75日後に；約80日後に；約6カ月後に、および初回免疫ワクチン接種から約1年後に開始する。

10

#### 【0073】

追加免疫ワクチン接種を、初回免疫ワクチン接種から5～10日後に；初回免疫ワクチン接種から10～15日後に；初回免疫ワクチン接種から15～20日後に；初回免疫ワクチン接種から20～25日後に；初回免疫ワクチン接種から25～30日後に；初回免疫ワクチン接種から30～40日後に；初回免疫ワクチン接種から40～50日後に；初回免疫ワクチン接種から50～60日後に；初回免疫ワクチン接種から60～70日後などに投与することができる。

#### 【0074】

20

初回免疫ワクチン接種の開始と、追加免疫ワクチン接種を開始するまでの期間は、当業者が決定することができる。例えば、期間は、初回免疫化が生じた後に測定されるは生理的パラメータに反応するアルゴリズムに基づき得る。

#### 【0075】

投与量およびレジメンが決定されることになり、少なくとも部分的には、様式の効力、使用されるワクチン送達法、被験者の必要性により決定され、かつ実行者の判断に依存するであろう。

#### 【0076】

例えば、本発明で用いられるワクチン中のリステリアは、用量または投与量で投与されることができるが、各用量は、体重70kgあたり $10^7 \sim 10^8$ の間のリステリア；体重70kgあたり $2 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ の間のリステリア；体重70kgあたり $5 \times 10^7 \sim 5 \times 10^8$ の間のリステリア；体重70kgあたり $10^8 \sim 10^9$ の間のリステリア；70kgあたり $2.0 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^9$ の間のリステリア；70kgあたり $5.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$ の間のリステリア；70kgあたり $10^9 \sim 10^{10}$ の間のリステリア；70kgあたり $2 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$ の間のリステリア；70kgあたり $5 \times 10^9 \sim 5 \times 10^{10}$ の間のリステリア；70kgあたり $10^{11} \sim 10^{12}$ の間のリステリア；70kgあたり $2 \times 10^{11} \sim 2 \times 10^{12}$ の間のリステリア；70kgあたり $5 \times 10^{11} \sim 5 \times 10^{12}$ の間のリステリア；70kgあたり $10^{12} \sim 10^{13}$ の間のリステリア；70kgあたり $2 \times 10^{12} \sim 2 \times 10^{13}$ の間のリステリア；70kgあたり $5 \times 10^{12} \sim 5 \times 10^{13}$ の間のリステリア；などを湿重量あたりで含む。また、上記の各用量は、表面積1,7平方メートルあたりの基準または肝臓重量1.5kgの基準に基づき提供される。本発明のリステリア投与時のマウス肝臓は約1.5グラムの重さであることに留意するべきである。ヒト肝臓は、約1.5キログラムの重さである。

30

40

#### 【0077】

本発明の一部の実施形態では、リステリアの追加免疫投与は、初回免疫投与による免疫応答を少なくとも2倍、時には約3～5倍の間、もしくは5～10倍、または10～100倍もしくはそれ以上増強するであろう。本発明の一部の実施形態では、初回免疫投与および追加免疫投与は、免疫応答に対して相乗効果を及ぼすであろう。本発明の一部の実施形態では、増強された免疫応答はT細胞応答を含み、一部の実施形態では、そのT細胞応

50

答はCD8+T細胞応答であろう。本発明の一部の実施形態では、初回免疫投与および追加免疫投与は、標的抗原に対する哺乳類の免疫寛容誘発状態を壊すことになる。これらの実施形態のすべの例を以下に示す。

#### 【0078】

##### 7. 免疫応答を測定する方法

当技術分野では、体液性免疫応答および細胞性免疫応答を測定することを含む、免疫応答を測定するための種々の*in vitro*および*in vivo*でのアッセイが、知られており、RIA、ELISAアッセイなどの標準イムノアッセイ；細胞内染色アッセイ；例えば、リンパ球増殖（リンパ球活性化）アッセイ、CTL細胞傷害性細胞アッセイを含むT細胞アッセイ、または感作された被験者においてTリンパ球特異的抗原をアッセイすることによるアッセイが挙げられるが、これらに限定されるものではない。そのようなアッセイは、周知の技術である。例えば、Ericksonら、J. Immunol. (1993) 151: 4189-4199; Doeら、Eur. J. Immunol. (1994) 24: 2369-2376を参照されたい。細胞性免疫応答を測定する最近の方法は、細胞内サイトカインまたはサイトカイン分泌のT細胞集団による測定、またはエピトープ特異的T細胞の測定（例えば、テトラマー技術によって）を含む（McMichael, A. J., and O'Callaghan, C. A., J. Exp. Med. 187 (9) 1367-1371, 1998; Mcheyzer-Williams, M. G., ら、Immunol. Rev. 150: 5-21, 1996; Lalvani, A., ら、J. Exp. Med. 186: 859-865, 1997に概説されている）。本明細書に開示される例示的な実施形態では、酵素結合免疫スポット（ELISPOT）アッセイを用いて、インターフェロン-（IFN-）を分泌する個々の細胞を検出して分析する。ELISPOT IFN- アッセイおよび試薬は、BD Biosciences 2350 Qume Drive San Jose, CA, 95131から入手可能である。ELISPOTアッセイは、活性化ナイーブT細胞およびメモリーT細胞の集団からサイトカイン生成細胞を検出することが可能であり、かつ高親和性の捕捉抗体と検出抗体および酵素増幅を用いることでその特異性と感受性を引き出す。ELISPOTアッセイを用いることに関するさらなる情報は、J. Immunol. Methods. 2001, 254 (1-2): 59に記載されている。動物モデル、例えば非ヒト霊長類は、当技術分野で知られている。例えば、マウスは、ヒト免疫応答の認められているモデルである。腫瘍に対するマウスNK細胞応答は、腫瘍に対するヒトNK細胞応答の認められているモデルである。さらに、マウスT細胞は、ヒトT細胞のモデルであり、マウス樹状細胞（DC）は、ヒトDCのモデルであり、マウスNKT細胞は、ヒトNKT細胞のモデルであり、マウス生得的反応は、ヒト生得的反応の認められているモデルなどがある。モデル研究は、例えば、CD8+T細胞、セントラルメモリーT細胞およびエフェクターメモリーT細胞（例えば、Walzer, ら（2002）J. Immunol. 168: 2704-2711を参照されたい）；NK細胞の2つのサブセット（例えば、Chakir, ら（2000）J. Immunol. 165: 4985-4993; Smith, ら（2000）J. Exp. Med. 191: 1341-1354; Ehrlich, ら（2005）J. Immunol. 174: 1922-1931; Peritt, ら（1998）J. Immunol. 161: 5821-5824を参照されたい）；NKT細胞（例えば、Couedel, ら（1998）Eur. J. Immunol. 28: 391-4397 Sakamoto, ら（1999）J. Allergy Clin. Immunol. 103: S445-S451; Saikh, ら（2003）J. Infect. Dis. 188: 1562-1570; Emoto, ら（1997）Infection Immunity 65: 5003-5009; Taniguchi, ら（2003）Annu. Rev. Immunol. 21: 483-513; Sidobre, ら（2004）Proc. Natl. Acad. Sci. 101: 12254-12259を参照されたい）；単球/マクロファージ（Sunderkotter, ら（2004）J. Immunol. 172: 4410-4417）；DCの2系統（Boons

10

20

30

40

50

tra, ら (2003) J. Exp. Med. 197: 101 - 109; Donnerberg, ら (2001) Transplantation 72: 1946 - 1951; Becke (2003) Virus Genes 26: 119 - 130; Carine, ら (2003) J. Immunol. 171: 6466 - 6477 Penna, ら (2002) J. Immunol. 69: 6673 - 6676; Alferink, ら (2003) J. Exp. Med. 197: 585 - 599) に関して開示されている。開示されるように、トール様受容体 (TLR) を含むマウス生得的反応は、ヒト生得的免疫応答のモデルである (例えば、Janssens and Beyaert (2003) Clinical Microb. Revs. 16: 637 - 646 を参照されたい)。マウス好中球は、ヒト好中球の認められているモデルである (例えば、Kobayashi, ら (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 10948 - 10953; Torres, ら (2004) 72: 2131 - 2139; Sibelius, ら (1999) Infection Immunity 67: 1125 - 1130 Tvinnereim, ら (2004) J. Immunol. 173: 1994 - 2002 を参照されたい)。リステリアに対するマウス免疫応答は、リステリアに対するヒト応答の認められているモデルである (例えば、Kolb - Maurer, ら (2000) Infection Immunity 68: 3680 - 3688; Brzoza, ら (2004) J. Immunol. 173: 2641 - 2651 を参照されたい)。

【0079】

#### 8. 初回・追加免疫レジメンの使用

癌および感染症は、免疫系を調節する試薬を投与することによって治療および/または阻害され得る。本発明の範囲内に包含される初回・追加免疫法は、アップレギュレートされる免疫応答を引き起こし、かつ自己抗原に対する耐性を壊すことを含む。このように、これらの初回・追加免疫法は、癌の増殖を阻害するのに、および/または癌に随伴する1つまたは複数の症状を寛解させるのに有用であることが予想される。また、初回・追加免疫法は、病原体に起因する疾患の予防および/または治療に有用であることが予想される。

【0080】

上記に加えて、これらのレジメンを用いて、哺乳類が治療に反応するかどうか決定することができる。

例えば、特異性抗原に対する初回・追加免疫レジメンを用いる場合、追加免疫後に有意な免疫応答を得られないと、その哺乳類が標的抗原に対して非反応性であることが示唆され、かつ代替治療様式を追求すべきである。本実施例は、癌または病原体の遺伝的背景が、標的抗原が不在であり、または標的抗体と交差反応しない方法で修飾されるような場合であり得る。

【0081】

#### 実施例

本発明は本明細書に開示される特定の実施例に限定されず、または変わり得ると理解されるべきである。本発明の範囲は、添付した特許請求の範囲によって説明されるので、これらの実施例は限定することを意図するものではないことも理解されるべきである。

【0082】

#### [ 実施例で使用した方法についての一般事項 ]

ワクチンに対する免疫応答は、T細胞および樹状細胞 (DC) を含む免疫系の細胞を提供する源である脾細胞を採取することによって評価した。抗原特異的免疫応答は、脾細胞を1つまたは複数のペプチドとともにインキュベートし、次いで免疫細胞の活性を測定することで測定し、活性は細胞内染色アッセイ (ICS) とエリスポットアッセイで決定した。一部のアッセイでは、わずかに単一のペプチドを添加し、該ペプチドは、腫瘍抗原の1つのエピトープだけを含んでいた。他のアッセイでは、該抗原の全長を含むペプチドの全ライブラリーを添加した。

【0083】

ICSアッセイは、脾細胞を透過処理することと、免疫細胞の内部に蓄積したサイトカインに結合する抗体によって処理することを含み、該抗体は蛍光タグ付けをすることが可能である。プレフェルジンは、タンパク質輸送を妨害し、かつ免疫細胞内でサイトカインの蓄積を誘発する。

【0084】

エリスポット（酵素結合免疫スポット）アッセイは、分泌されたタンパク質に感受性があり、該タンパク質はウェル中に置かれた免疫細胞からある期間にわたり分泌される。捕捉抗体は、分泌されたサイトカインを固定化したウェルに結合している。分泌期間の後、免疫細胞を取り出して、検出抗体を用いて、固定化したサイトカインを検出する。捕捉抗体および検出抗体は、サイトカインの異なる領域に結合する。ICSアッセイおよびエリスポットアッセイの方法論的な詳細は、開示されている（例えば、2005年11月10日に公開されたDubenskyらの米国特許出願公開番号2005/0249748号を参照されたい）。

10

【0085】

投与されたベクターが、オボアルブミンをコードする核酸を含んでいる場合、ICSアッセイまたはエリスポットアッセイの方法によるいずれの誘発された免疫応答の分析は、オボアルブミン、OVA257-264（S I I N F E N L（配列番号1））由来の標準ペプチドを使用した。該ペプチドは、調製された脾細胞に添加して脾細胞とともにインキュベートした。

【0086】

20

以下の構築物で用いたヒトメソテリンの核酸配列は、2006年3月30日に出願され、Cerus Corporationに付与された米国特許番号11/395,197号、「ENGINEERED LISTERIA AND METHODS OF USE THEREOF」に特定されたものであった。ヒトメソテリンの全長にわたったメソテリンペプチドライブラリーは、153個のペプチド（各15塩基長）からなり、各15塩基長は次の15塩基長と11個のアミノ酸が重複していた。

【0087】

以下の実施例で用いたリステリア・モノサイトゲネスの構築物であるLm-hMes o 38を表1に特定する。また、2006年3月30日に出願された米国特許番号11/395,197号、「ENGINEERED LISTERIA AND METHODS OF USE THEREOF」を参照されたい。Lm-mMes oは、完全長のヒトメソテリン配列が完全長のマウスメソテリン配列と置換されていることを除いて、Lm-hMes o 38と同じ構築物である。完全長マウス配列は、GenBank受入番号NM\_018857から利用可能である。

30

【0088】

## 【表 3】

表 3. リステリア・モノサイトゲネスー h M e s o 3 8 ( L m - h M e s o 3 8 )

| 株<br>(慣用名) | 構築物   | 遺伝的背景                 | 組み込み遺<br>伝子座 | 抗原発現カセ<br>ットで機能可<br>能に連結した<br>プロモーター | 分泌<br>配列 (SS) |
|------------|---|-----------------------|--------------|--------------------------------------|---------------|
| Lm-hMeso38 | ActA-N100-hmeso<br>[ΔSS]。ヒトメソ<br>テリン配列は、そ<br>のシグナル配列で<br>除去されたが、そ<br>の GPI アンカーで<br>は除去されなかつ<br>た。「ActA-N100」<br>は、ActA の最初の<br>100 アミノ酸であ<br>り、これらのアミ<br>ノ酸の最初の 29<br>のアミノ酸はシグ<br>ナル配列である。 | Δ actA Δ inlB<br>inlB | inlB         | ActA                                 | ActA-N100     |

10

20

OVA (「Lm-OVA」) をコードするリステリア・モノサイトゲネスの調製は、米国特許出願番号 2004/0197343 号 (米国特許番号 10/773,618 号) に記述された通りであった。

## 【0089】

30

完全長のオポアルブミンをコードする核酸を含む、ワクシニアウイルス由来のベクター (VV-OVA) は、記述されたように N. P. Restifo によって調製されて提供された (Overwijk, ら (1998) J. Exp. Med. 188:277-286)。

## 【0090】

アデノウイルスに基づくベクターは、完全長ヒトメソテリンまたは完全長のマウスメソテリンをコードする核酸を含んだ (Ad-hMeso または Ad-mMeso)。異種抗原をコードしない対照 Ad ベクター (別名「空の Ad ベクター」としても知られている) も用いた。すべての対照および抗原をコードする Ad ベクターは、E1 と E3 の領域を欠失したアデノウイルスセロタイプ 5 に基づいており、かつ Stratagen (San Diego, CA) から入手した「AdEasy」系を利用して引き出し、供給者によって記述された方法によって引き出した。抗原は、E1 座位でクローン化した。異種抗原をコードする核酸は、CMV プロモーターと機能可能な連結で、AdEasy のシャトルベクターに組み込んだ。

40

## 【0091】

GVAX (登録商標) は、マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) をコードする核酸を含む不活性化腫瘍細胞を指し、該腫瘍細胞系は、gp70 を発現する細胞系、CT26 細胞であった。AH1 は、CT26 細胞の免疫優性抗原である gp70 のエピトープである。GVAX (登録商標) (CELL GENESYS, INC.) を開示されているように調製して投与した (例えば、Yoshimura, ら (200

50

6) Cancer Res. 66:1096-1104; Jain, ら (2003) Annals Surgical Oncol. 10:810-820; Zhou, ら (2005) Cancer Res. 65:079-1088 Chang, ら (2000) Int. J. Cancer 86:725-730; Borrello and Pardoll (2002) Cytokine Growth Factor Rev. 13:185-193; Thomas, ら (1998) Human Gene Ther. 9:835-843を参照されたい)。

#### 【0092】

死滅しているが代謝的に活性なLm(「KBMA-Lm」)は、uvrC遺伝子産物との組み合わせでのその発現がヌクレオチド除去修復に必要とされるエキソヌクレアーゼを形成するuvrAB遺伝子の欠失した生Lmをソラレンおよび紫外線で処理して、少量のゲノムの架橋結合をもたらすことによって調製した(例えば、Dubenskyらの米国特許番号10/773,618号、同公開番号2004/0197343号「MODIFIED FREE-LIVING MICROBES, VACCINE COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF」; Brockstedt, ら (2005) Nature Med. 11:853-860を参照されたい)。

#### 【0093】

##### [実施例1]

試験当日、C57BL/6マウス(1群あたり3匹)に、OVAをコードするワクシニアウイルス(「VV」) $1 \times 10^6$  pfu(プラーク形成単位)、またはactAおよびinlB病原性決定基を欠失し、OVAをコードする組み換えリステリア・モノサイトゲネス(「Lm」) $5 \times 10^6$  cfu(コロニー形成単位)のいずれかで免疫した。21日目に、マウスにVVまたはLmのいずれかの追加免疫投与を、いずれの場合にも、初回免疫用量と同じ用量で投与した。27日目に、該マウスを犠牲にして、脾細胞を採取した。単回免疫化の後のワクチン誘発OVA特異的CD8+T細胞の大きさを評価するために、20日目に対照マウスにVVまたはLmによる単回免疫だけを投与し、27日目にマウスを犠牲にして脾細胞を採取した。OVA特異的CD8+T細胞の応答を、ISCアッセイでOVA257-264ペプチドを用いて決定した。

#### 【0094】

初回・追加免疫レジメンでもたらされたOVA特異的CD8+T細胞の免疫応答を図1Aに示す。図に示すように、VV初回免疫/Lm追加免疫を使用する初回・追加免疫レジメンは、Lm初回免疫/VV追加免疫と比較して、OVA特異的CD8+T細胞のパーセンテージでほぼ2倍をもたらした。加えて、VV初回免疫/Lm追加免疫では、OVA特異的CD8+細胞のパーセンテージが、同種のLm初回免疫/Lm追加免疫よりも約3倍高く、同種のVV初回免疫/VV追加免疫よりも約9倍高かった。このデータは、Lm追加免疫を用いる系で得た優れた結果によって、異種初回・追加免疫レジメンでの方向性のエビデンスを提供する。

#### 【0095】

##### [実施例2]

試験当日に、1群あたり3匹のBalb/cマウスに、ヒトメソテリンをコードするアデノウイルス(「AV」または「アデノ-hMes o」) $3 \times 10^7$  pfuまたはヒトメソテリンをコードするLm actA/inlB(「Lm-hMes o38」) $5 \times 10^6$  cfuのいずれかを注射した。21日目に、マウスにAVまたはLm-hMes o38のいずれかの追加免疫投与を、いずれの場合にも、初回免疫用量と同じ用量で投与した。27日目にマウスを犠牲にして、脾細胞を採取した。単回免疫化の後のワクチン誘発OVA特異的CD8+T細胞の大きさを評価するために、20日目に対照マウスにAVおよびLm-hMes o38だけを投与し、27日目にマウスを犠牲して脾細胞を採取した。

#### 【0096】

初回・追加免疫レジメンでもたらされたワクチン誘発ヒトメソテリン特異的CD4+およびCD8+T細胞の免疫応答を図1Bに示す。AV初回免疫/Lm-hMes o38追

加免疫は、L m初回免疫 / A V追加免疫レジメンを与えたマウスのコホートと比較すると、ヒトメソテリン (「h M e s o」) に特異的な脾臓 C D 8 + 細胞のパーセンテージが約 10 倍高い大きさをもたらした。異種追加免疫レジメンにおける方向性が、コードされた抗原に特異的なワクチン誘発細胞性免疫の大きさに影響することと、その優れた結果は L m追加免疫を用いる系から得られることとの両方を示した。

【 0 0 9 7 】

[ 実施例 3 ]

B a l b / c マウス ( 1 群あたり 3 匹 ) に、初回免疫投与および追加免疫投与を投与して、ヒトメソテリンに対する免疫応答を誘発した。図 2 に示すように、初回および追加免疫レジメンは、すべてヒトメソテリンをコードした、表示したベクターを用いたものであった。I C S アッセイの結果が示すように、A V初回免疫 / L m追加免疫のレジメンは、L m初回免疫 / A V追加免疫がもたらしたよりも 3 ~ 4 倍高いパーセンテージのヒトメソテリン (「h M e s o」) 特異的 C D 8 + 細胞をもたらした。加えて、図 2 の結果は、A V初回免疫 / L m追加免疫が、試験した他の異種初回・追加免疫レジメンのいずれよりも有意に高かったことも示している。

【 0 0 9 8 】

[ 実施例 4 ]

異種 A V初回・追加免疫において、一定の L m追加免疫に対する異なる A V初回免疫投与の、ワクチンに誘発された脾臓 h M e s o 特異的 C D 4 + T 細胞および C D 8 + T 細胞の免疫の大きさへの影響を試験した。すべてのベクターは、ヒトメソテリンをコードした。H B S S を対照として用いた。利用した初回免疫および追加免疫のレジメンは、図 3 A に示すように、各実験コホートが 3 匹の C 5 7 B L / 6 マウスからなっていた。これらの研究では、I C S アッセイの前に、完全長メソテリンに相当する、4 アミノ酸をオフセットした 15 アミノ酸長のペプチドからなるメソテリンペプチドのプールライブラリー (「15 x 11 ライブラリー」) を用いて免疫したマウスから採取した脾細胞を 5 時間刺激した。初回・追加免疫レジメンにおいて A V の滴定からもたらされたヒトメソテリン特異的細胞性免疫応答を図 3 A に示す。この図に示すように、著しく増強した特異的 T 細胞応答は、より多い量の A V で得られ、かつ C D 8 + T 細胞の応答が C D 4 + の応答よりも大きかった。

【 0 0 9 9 】

[ 実施例 5 ]

実施例 4 で用いたものに類似する免疫化プロトコルを B a l b / c マウスで用いた ( 図 3 B を参照 ) が、ただし、初回免疫と追加免疫との間隔は 38 日であり、対照マウスには h M e s o 38 で免疫したが、初回免疫は A V ではなかった。図 3 B に示すように、著しく増強した特異的 T 細胞応答は、A V のより多い量の範囲にわたっていた。ここでも、C D 8 + T 細胞応答は、C D 4 + のそれよりも大きかった。B a l b / c マウスにおいて、 $1 \times 10^4$  p f u までの低い A V 初回免疫投与で、 $5 \times 10^6$  c f u の L m h M e s o 38 の追加免疫の後に、かなりのレベルの h M e s o 特異的 C D 8 + T 細胞が誘発された。

【 0 1 0 0 】

[ 実施例 6 ]

A V に対する既存の免疫の存在下での A V 初回免疫 / L m追加免疫の効果を試験した。第 1 の研究では、既存のアデノウイルス特異的免疫の存在下での A V 免疫化への応答性を、図 4 A に示すプロトコルを用いて試験した。ヒトメソテリンをコードする A V での免疫化の 28 日前に、図に示すように種々のレベルの「空 A d ベクター」でマウスを免疫することによって、既存のアデノウイルス特異的免疫を誘発した。本研究では、1 群あたり B a l b / C マウスを 5 匹用いた。マウスに、空の A d 粒子を試験当日に、その後の 28 日目にヒトメソテリンをコードする A V (「A d - h M e s o」) のいずれかを注射した。35 日目に、脾細胞を採取して、I C S アッセイで用いた。A d 空ベクターおよび A d - h M e s o ベクターは、両方ともセロタイプ 5 であった。メソテリン特異的免疫応答を、

ヒトメソテリンペプチドプールで脾細胞を刺激することによって測定し、A V特異的免疫応答は、クラスIのHex3エピトープを用いて測定した。図4Aに示す結果は、既存のAd5特異的細胞性免疫の存在下では、マウスにヒトメソテリンをコードする同じAd5ベクターで免疫した場合、わずかに低いhMes o特異的応答が誘発され得ることを示している。

#### 【0101】

第2の研究は、A V免疫が既存する(図4BのX軸上に投与したA Vブランク形成単位の量で示した)マウスにA V初回/Lm追加免疫レジメン後のhMes o特異的細胞性免疫応答を試験した。使用したプロトコル(図4Bに示す)は、A Vでの初回免疫から20日後、マウスにLm-hMes o38で追加免疫を与え、かつA V特異的T細胞免疫応答を測定する代わりにブランク減少アッセイでA V特異的中和抗体を決定したことを除いて、初回免疫を試験するためのプロトコルと同じであった。図4Aと比較して、図4Bの結果は、A Vセロタイプ5に対する既存の中和免疫が存在するにも関わらず、A V初回免疫に続いてLm-hMes o38の追加免疫を組み合わせると、hMes o特異的細胞性免疫に著しい増加を誘発する結果をもたらしたことを示している。

#### 【0102】

##### [実施例7]

腫瘍細胞初回免疫/Lm追加免疫を用いる異種初回免疫-追加免疫を、以下のように行った。該レジメンは、GVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)初回免疫/Lm-AH1-A5追加免疫を用いた。「GVAX」は、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)をコードする核酸を含む不活性腫瘍細胞をいう。投与したリステリア・モノサイトゲネスは、Lm-actA-OVA-AH1-A5であった。Lm-actA-OVA-AH1-A5は、actA遺伝子において1つの欠失によって弱毒化され、かつリステリアゲノム中に抗原発現カセットの単一コピーを含み、tRNAArg遺伝子座に組み込まれた組換えリステリア・モノサイトゲネスであり、該発現カセットは、オボアルブミン内のオンフレイムに挿入されたAH1-A5を含む(Brockstedt, ら(2004)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:13832-13837)。AH1-A5は、CT26腺癌細胞系によって発現されるgp70内在性拒絶抗原のAH1-Ld免疫優性エピトープの変化したT細胞リガンドであり、かつ腫瘍抗原、gp70に対する免疫応答の研究で従来から用いられている(Slansky, ら(2000)Immunity 13:529-538 Jain, ら(2003)Annals Surgical Oncol. 10:810-820)。

#### 【0103】

異種初回免疫/追加免疫のために、1群あたり3匹のマウスに、初回免疫としてGVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)( $1 \times 10^6$ 細胞)(皮下注射)を、および追加免疫としてLm-OVA-AH1-A5( $5 \times 10^6$ 細胞)(静脈内)を投与した。GVAXによる同種初回免疫/追加免疫ワクチンのために、マウスに、初回と追加の両免疫に対して、GVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)初回免疫( $1 \times 10^6$ 細胞)(皮下)を投与した。Lmだけによる同種初回免疫/追加免疫のワクチンのために、初回と追加の両免疫に対して、Lm-OVA-AH1-A6( $5 \times 10^6$ cfu)(静脈内)を投与した。別々の同種初回免疫/追加免疫の試験を行い、Lmだけを皮下、筋肉内または静脈内に投与した。すべての場合において、初回免疫をt = 試験当日に投与し、追加免疫をt = 21日目に投与し、t = 29日目に脾細胞を採取した。また、図に示すように、マウスを単回投与単一ワクチン(GVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)のみ; Lm-OVA-AH1-A5のみ)で処置した。

#### 【0104】

結果は、GVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)初回免疫とそれに続くLm-actA-OVA-AH1-A5追加免疫が、いずれの投与経路による

10

20

30

40

50

いずれの同種初回・追加免疫レジメンよりも大きなA H 1 特異的免疫応答を誘発したことを示している。

【 0 1 0 5 】

[ 実施例 8 ]

A V 初回免疫 / L m 追加免疫と樹状細胞 ( 「 D C 」 ) 初回免疫 / L m 追加免疫との比較を以下のように行った。1 群あたり 5 匹の B a l b / c マウスを用いた。樹状細胞を  $2 \times 10^6$  樹状細胞の量で投与した ( 静脈内 ) 。ヒトメソテリンをコードする核酸を含むアデノウイルス由来のベクターを  $1 \times 10^8$  c f u の用量で投与した ( 筋肉内 ) 。L m - h M e s o 3 8 を  $5 \times 10^6$  c f u の量で投与した ( 静脈内 ) 。ペプチド刺激 D C を  $2 \times 10^6$  D C の用量で投与した ( 静脈内 ) 。D C と L m の初回免疫および追加免疫を 8 日あけて、A V と L m の初回免疫および追加免疫を 1 4 日あけた。すべてのマウスにおいて、脾臓メソテリン 1 3 1 - 1 3 9 特異的 C D 8 + T 細胞を、L m - h M e s o 3 8 による追加免疫の翌日までに測定した。図 6 A および図 6 B に対照を示した。

【 0 1 0 6 】

ペプチド刺激 D C を以下のように調製した。D C を h M e s o 1 3 1 - 1 3 9 ( S G P Q A C T R F ) で刺激した。D C は、高濃度の G M - C S F ( 2 0 n g / m L マウス G M - C S F ) ( R & D S y s t e m s , M i n n e a p o l i s , M N ) を用いて、B a l b / c マウスの全骨髄から調製した。最初のプレティングおよび G M - C S F 集積培養から 8 日目に、浮遊細胞を収集して、骨髄樹状細胞 ( C D 1 1 c h i ) であるかを表現型的に確認した。D C を、リボ多糖体 ( L P S ) で ( 2 4 時間 ) 処理して、1 . 0 マイクロモルペプチド ( h M e s o 1 3 1 - 1 3 9 ) ( 0 . 0 0 1 m M ) で 1 時間刺激した。ペプチドを負荷した D C を 2 回洗浄してから、 $1 \times 10^6$  D C をレシピエントの B a l b / c マウスに注射した。

【 0 1 0 7 】

図 6 A に示した I C S アッセイの結果は、D C - h M e s o 1 3 1 - 1 3 9 初回免疫 / L m - h M e s o 3 8 追加免疫による異種初回免疫 / 追加免疫および異種アデノ - h M e s o 初回免疫 / L m - h M e s o 3 8 追加免疫が、それぞれメソテリン特異的細胞性免疫応答を誘発したことを示し、免疫応答のレベルは、両初回免疫 / 追加免疫レジメンの場合、ほぼ同じであった。

【 0 1 0 8 】

図 6 B に示すエリスポットアッセイの結果は、D C - h M e s o 1 3 1 - 1 3 9 初回免疫 / L m - h M e s o 3 8 追加免疫による異種初回免疫 / 追加免疫および異種アデノ - h M e s o 初回免疫 / L m - h M e s o 3 8 追加免疫が、それぞれメソテリン特異的細胞性免疫応答を誘発したことを示し、免疫応答のレベルは、両初回免疫 / 追加免疫レジメンの場合、ほぼ同じであった。

【 0 1 0 9 】

[ 実施例 9 ]

D C 初回免疫後の追加免疫としての L m 、A V および V V の比較を以下のように行った。試験当日に、B a l b / c マウス ( 1 群あたり 5 匹 ) に、 $1 \times 10^6$  骨髄由来樹状細胞を静脈内にワクチン接種した ( 初回免疫 ) 。実施例 8 で記述したように、D C を調製した。2 1 日目に、マウスに追加免疫を与え、該追加免疫は以下のうちの 1 つであった：L m - h M e s o 3 8 (  $5 \times 10^6$  c f u 、静脈内 ) 、A d h M e s o (  $1 \times 10^7$  p f u 、筋肉内 ) またはワクシニアウイルス - h M e s o ( 「 V V - h M e s o 」 ) (  $1 \times 10^6$  p f u 、腹腔内 ) 。別のマウスの群に、追加免疫ワクチンの代わりに H B S S を投与した。追加免疫ワクチン接種から 5 日後に C D 8 + T 細胞応答を細胞内サイトカイン染色 ( I C S ) で決定した。

【 0 1 1 0 】

図 6 C に示す結果は、A V - h M e s o が、h M e s o 細胞特異的応答に対して著しい追加免疫を与えたのだが、追加免疫剤として L m を用いることによって約 5 倍も高い結果が達成されたことを示している。

## 【 0 1 1 1 】

## [ 実施例 1 0 ]

追加免疫として L m を用いた異種初回・追加免疫レジメンにおいて初回免疫としての A V および ネイキッド D N A の比較を行った。加えて、マウスメソテリンは、異種初回・追加免疫レジメンで耐性を弱めることが可能だったかどうか決定するためにヒトメソテリンと置き換わった。この研究では、B a l b / c マウスを用いた。全メソテリンペプチドライブラリーを用いて、異種 D N A 初回免疫 / L m 追加免疫および異種 A d 初回免疫 / L m 追加免疫ワクチンを投与して、メソテリン特異的免疫応答を評価した。D N A 初回免疫 / L m 追加免疫は、D N A - m M e s o ( 0 . 1 m g ) ( 筋肉内 ) 初回免疫 / L m - m M e s o 3 8 ( 5 × 1 0 <sup>6</sup> c f u ) ( 静脈内 ) 追加免疫であった ( 図 7 A )。A d 初回免疫 / L m 追加免疫は、A d - m M e s o ( 1 × 1 0 <sup>8</sup> p f u ) ( 筋肉内 ) 初回免疫 / L m - m M e s o 3 8 ( 5 × 1 0 <sup>6</sup> c f u ) ( 静脈内 ) 追加免疫であった ( 図 7 B )。ネイキッド D N A ベクター ( D N A - m M e s o ) を以下のように調製した。完全長マウスメソテリンをコードする核酸を、真核細胞発現ベクターの p C D N A 3 ( I n v i t r o g e n C p o r p . , C a r l s b a d , C A ) に挿入した。

10

## 【 0 1 1 2 】

試験当日に初回免疫を投与し、13日目に追加免疫を投与し、18日目に脾細胞を採取した。採取した脾細胞を、マウスメソテリン ( 「 m M e s o t h e l i n 」 ) ペプチドライブラリー由来のペプチドで処理し、脾細胞を含有する各ウェルにユニークなペプチドを添加し、および免疫応答をエリスポットアッセイで評価した。完全長のマウスメソテリンタンパク質を網羅するユニークなペプチド類 ( 4 アミノ酸をオフセットした 1 5 アミノ酸長 ) を用いることができ、T細胞反応性マウスメソテリンペプチドを特定することを可能にするように、免疫化マウス由来の脾細胞を含む十分なウェルを利用した。

20

## 【 0 1 1 3 】

図 7 A の結果は、m M e s o t h e l i n ペプチドライブラリーの各ペプチドについて免疫応答を別々に評価したとき、D N A - m M e s o 初回免疫 / L m - m M e s o 3 8 追加免疫が、比較的少ない免疫応答を誘発したことを示している。対照的に、図 7 B の結果は、A d - m M e s o 初回免疫 / L m - m M e s o 3 8 追加免疫が、マウスメソテリンペプチドライブラリー由来のマウスメソテリンペプチド番号 2 7 8、2 7 9 および 2 8 0 に対して比較的高い免疫応答を誘発したことを示している。マウスメソテリンペプチドライブラリー由来の他のペプチドを用いた場合、免疫応答が比較的少ないことが判明した。図 7 C は、脾細胞をメソテリンペプチド番号 2 7 8、2 7 9 または 2 8 0 にさらしたウェルの写真である。この写真はエリスポットアッセイからのスポットを示している。このように、図 7 B および図 7 C に示す結果は、A V 初回 / L m 追加免疫レジメンが m M e s o t h e l i n に対して特異的な細胞性免疫応答をもたらしたことを示している。さらに、これらの結果は、A V ベクターおよび L m ベクターからなり、両ベクターがマウスメソテリンをコードする、初回免疫および追加免疫レジメンを与えたマウスにおいて、マウスメソテリン内在性抗原に対する耐性を壊すことも示している。

30

## 【 0 1 1 4 】

## [ 実施例 1 1 ]

初回免疫剤としておよび / または追加免疫剤として K B M A - L m の有効性を評価した。試験当日に、C 5 7 B L / 6 マウス ( 1 群あたり 3 匹 ) に、初回免疫として K B M A - L m を投与した。以下のうちの 1 つの追加免疫を 1 4 日目に投与した : 「 生 」 L m、K B M A - L m または V V。14日目に対照の K B M A - L m および生 L m も投与した。19日目にマウスを犠牲にして、脾細胞を採取した。

40

## 【 0 1 1 5 】

リステリア構築物は、B a P A 分泌配列に機能可能に連結された h l y プロモーターとオボアルブミンとを有し、t R N A A r g 遺伝子座にゲノムが組み込まれている。

## 【 0 1 1 6 】

注射した K B M A リステリア・モノサイトゲネス a c t A u v r A B - O V A ( K

50

B M S A - L m) の数は、 $3 \times 10^8$  細菌粒子であった。K B M A - L m は、ソラレンおよび紫外線であらかじめ処理しておいた。投与した「生」リステリア・モノサイトゲネス (L m - a c t A - u v r A B - O V A) の量は、 $1 \times 10^6$  c f u であった。投与したワクシニアウイルス由来ベクター (V V - O V A) の数は、 $1 \times 10^6$  p f u であった。

#### 【0117】

免疫反応は、オボアルブミン (O V A 2 5 7 - 2 6 4) 由来の標準オクタペプチドのペプチドで脾細胞をペプチド刺激することによって、およびオボアルブミン特異的免疫応答を I F N -  $\gamma$  に対する細胞内染色 (I C S) アッセイ法で測定することによって決定した。

10

#### 【0118】

図 8 に示す結果が示すように、K B M A - L m は初回免疫剤として活性であった。K B M A - L m 初回免疫 / 生 L m 追加免疫は、最も高いレベルの免疫応答を誘発し、より少ないレベルの免疫応答は、異種 K B M A - L m 初回免疫 / V V 追加免疫ワクチンで生じた。

#### 【0119】

##### [ 実施例 1 2 ]

1 群あたり 1 5 匹の B a l b / c マウスに、 $1 \times 10^8$  p f u の空のアデノウイルス (すなわち、A H 1、A H 1 / A 5、もしくは m M e s o t h e l i n を発現しないアデノウイルス) または A H 1 / A 5 もしくはマウスメソテリン (m M e s o t h e l i n) を発現するアデノウイルスを筋肉内にワクチン接種した。2 1 日後に、マウスに、異種抗原をコードしない L m または A H 1 / A 5 もしくは m M e s o t h e l i n を発現する L m を  $5 \times 10^6$  c f u 筋肉内に追加免疫した。A H 1 / A 5 は記述されている (例えば、B r o c k s t e d t, r a (2 0 0 4) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 1 0 1 : 1 3 8 3 2 - 1 3 8 3 7 を参照されたい)。5 日後に、1 群あたり 5 匹のマウスに由来する脾臓を採取して A H 1 / A 5 (図 9 A) および m M e s o t h e l i n (図 9 B) の免疫応答を評価した。追加ワクチン接種から 1 週間後に、残りのマウスに  $4 \times 10^5$  の C T 2 6 細胞を静脈内に投与した。マウスの生存をモニターした (図 9 C)。図 9 A ~ 9 C において、「A d」は、空のアデノウイルスを意味し、「L m」は、異種抗原をコードしないリステリア・モノサイトゲネスを意味し、「A d - A H 1 / A 5」は、A H 1 / A 5 を発現するアデノウイルスを意味し、「A d - m M e s o」は、マウスメソテリンを発現するアデノウイルスを意味し、「L m - m M e s o」は、マウスメソテリンをコードするリステリア・モノサイトゲネスを意味する。

20

30

#### 【0120】

図 9 A に示すように、I C S アッセイによる、A d - A H 1 / A 5 初回免疫および A H 1 / A 5 追加免疫による初回免疫 / 追加免疫は、かなりの抗原特異的 C D 8 + T 細胞免疫応答をもたらした。A H 1 ペプチドおよび A H 1 / A 5 ペプチドは、C T 2 6 腫瘍細胞の内在性タンパク質である g p 7 0 に由来する。示したように、脾細胞インキュベーション混合物に、A H 1 ペプチドまたは A H 1 / A 5 ペプチドを追加した。g p 7 0 は、C T 2 6 の内因性タンパク質である。添加した A H 1 / A 5 ペプチドとともに脾細胞をインキュベートした場合、C D 8 + T 細胞の免疫応答はより多く、添加した A H 1 ペプチドとともに脾細胞をインキュベートした場合、C D 8 + T 細胞の免疫応答はより少なかった。

40

#### 【0121】

以下のような免疫応答の特異性が示された。空のアデノウイルスおよび異種抗原をコードしない L m による初回免疫 / 追加免疫は、検出可能な C D 8 + T 細胞免疫応答をもたらさなかった。また、マウスメソテリンを発現するベクターによる初回免疫 / 追加免疫は、検出可能な A H 1 または A H 1 / A 5 特異的 C D 8 + T 細胞免疫応答をもたらさなかった。ここでも免疫応答の特異性を示した (図 9 A)。

#### 【0122】

図 9 B に示すデータは、別の異種抗原、すなわちメソテリンに対する免疫応答の初回免疫 / 追加免疫の刺激を示し、かつその免疫応答がこの抗原に特異的であったことを示す。

50

空の A d 初回免疫 / L m (異種抗原をコードしない) 追加免疫、または A d A H 1 / A 5 初回免疫 / L m A H 1 / A 5 追加免疫が、m M e s o t h e l i n 特異的 C D 8 + T 細胞免疫応答を刺激できなかったことによって特異性を示した。

#### 【 0 1 2 3 】

図 9 C に示したデータは、A d - A H 1 / A 5 初回免疫 / L m - A H 1 / A 5 追加免疫が、C T 2 6 腫瘍細胞の投与に対する生存を増加させたことを示している。また、この図は、A d - m M e s o 初回免疫 / L m - m M e s o 追加免疫が C T 2 6 腫瘍細胞の投与に対して生存時間を増加させたことを示している。空のベクター (空の A d ; 異種抗原をコードしない L m) による初回免疫 / 追加免疫の処理は、H B S S による処理と比較して、生存時間に変化がなかった (図 9 C) 。

#### 【 0 1 2 4 】

##### [ 実施例 1 3 ]

治験薬 (C R S - 2 0 7) は、腫瘍抗原メソテリンをコードする細胞内細菌リステリア・モノサイトゲネス (L M) の生の弱毒化株からなる (L m a c t A / i n l B / h M e s o)。C R S - 2 0 7 の投与は、悪性中皮腫、非小細胞肺癌 (N S C L C) および脾臓と卵巣の癌腫などの癌の細胞表面に発現されるメソテリンに対して作られる細胞媒介免疫 (C M I) を誘発することによって抗腫瘍応答を誘発することを目的とする。C R S - 2 0 7 は、野生型 L m のゲノムに由来する 2 つの病原性決定基遺伝子の全コード配列を取り除くことによって得られた。2 つの病原性決定基遺伝子、i n l B と a c t A の産物は、非食細胞の L m 侵襲および細胞間拡散をそれぞれ促進する。これらの 2 つのコード配列を組み合わせることで、マウスにおいて病理性を評価すると、1, 0 0 0 倍以上の弱毒化をもたらす。しかしながら、マクロファージおよび他の食細胞による C R S - 2 0 7 の肝臓および脾臓への取り込みは、保持されて、局所炎症反応と活性化をもたらし、ナチュラルキラー (N K) 細胞および T 細胞などの免疫エフェクター細胞を肝臓に動員させる。食細胞 (D C およびマクロファージを含む) による C R S - 2 0 7 の取り込みの後、メソテリンが発現し、サイトゾルコンパートメントに放出され、続いて内因性 M H C クラス I の提示経路を介してプロセッシングされ、抗メソテリン細胞性免疫 (C M I) が活性化される。メソテリン特異的 C M I を活性化する他の機序としては、C R S - 2 0 7 による感染またはアポトーシスの後、マクロファージおよび / または他の細胞型からの A P C による抗原の取り込みまたは交差提示が挙げられる。

#### 【 0 1 2 5 】

C R S - 2 0 7 を、高用量および低用量の 2 種類の濃度で製剤化した。臨床試験で予想される用量範囲の調製を容易にするために、2 種類の濃度を選択した。C R S - 2 0 7 治験薬の製剤については、表 1 a および 1 b を参照されたい。

#### 【 0 1 2 6 】

##### 【表 4】

表 1 a C R S - 2 0 7 高用量製剤

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 弱毒化リステリア・モノサイトゲネス<br>( $\Delta$ actA/ $\Delta$ inIB 株 hMes038) | 5x10 <sup>10</sup> cfu/mL |
| 以下を含むダルベッコリン酸緩衝生理食塩水   |                           |
| 塩化ナトリウム, USP   | 8 g/L                     |
| 塩化カリウム, USP  | 0.2 g/L                   |
| リン酸水素ナトリウム, USP  | 1.15 g/L                  |
| リン酸二水素カリウム, USP<br>NF/FCCIEP/BP                                | 0.2 g/L                   |
| グリセロール, USP  | 9% (v/v)                  |

## 【表 5】

表 1 b CRS-207 低用量製剤

| 成分  | 濃度                     |
|---|------------------------|
| 弱毒化リステリア・モノサイトゲネス<br>( $\Delta actA/\Delta inIB$ 株 hMes038) | $1 \times 10^8$ cfu/mL |
| 以下を含むダルベッコリン酸緩衝生理食塩水  |                        |
| 塩化ナトリウム, USP  | 8 g/L                  |
| 塩化カリウム, USP   | 0.2 g/L                |
| リン酸水素ナトリウム, USP   | 1.15 g/L               |
| リン酸二水素カリウム,<br>NF/FCCIEP/BP                                 | 0.2 g/L                |
| グリセロール, USP   | 9% (v/v)               |

## 【0127】

- 75 またはそれ以下で冷凍保存される CRS-207。CRS-207 は、1.5 mL のダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (DPBS) および 9% v/v のグリセロール中に懸濁した弱毒化 Lm からなる。各高用量バイアルは、 $5 \times 10^{10}$  cfu/mL の濃度であり、および各低用量バイアルは、 $1 \times 10^8$  cfu/mL の濃度である。

## 【0128】

標準的治療が効を奏さなかった、または標準的治療の志願者ではなかった、卵巣もしくは膵臓の進行癌、非肺小細胞癌または悪性中皮腫癌のヒト被験者 (18 歳以上) に CRS-207 を送達した。被験者は、本研究の登録のため以下の試験対象患者基準のすべてを満たしていた：

組織学的に、または細胞学的に実証された悪性中皮腫、膵臓の腺癌、またはメソテリン発現非小細胞性肺癌 (NSCLC) または標準治療が効を奏さないもしくは標準的治療の志願者ではない卵巣癌

ECOG パフォーマンススコアが 0 ~ 1 またはカルノフスキーパフォーマンスステータス (KPS) が 80% ~ 100%

予想される平均余命が本研究の持続期間よりも大きい

妊娠の可能性のある女性被験者およびすべての男性被験者は、本研究の全期間にわたり、および CRS-207 の投与から 28 日間、極めて有効な医学的に許容される方法 (経口ホルモン避妊薬、コンドーム + 殺精子薬またはホルモンインプラント) を用いることに同意しなければならない。他の方法に関わらず、避妊のバリアー法は含まなければならない。

被験者はインフォームドコンセントを提出して、すべての検査処置に自発的に応じ、および該検査処置に応じることができる。

適切な臓器機能は、以下の通りに定義される：

血液系

血小板  $100 \times 10^9 / L$

ヘモグロビン 9.0 g/dL

総 WBC 数  $3.5 \times 10^9 / L$

ANC  $1.5 \times 10^9 / L$

総リンパ球数  $> 0.8 \times 10^9 / L$

PT/INR および PTT  $1.3 \times$  臨床検査 ULN

肝臓

ビリルビン  $1.5 \times$  臨床検査 ULN

AST および ALT  $2.5 \times$  臨床検査 ULN ( $3.5 \times$  臨床検査 ULN は、膵臓腺癌患者に受け入れられる)

G G T 5 × 臨床検査 U L N

アルカリホスファターゼ 2 . 5 × 臨床検査 U L N

腎臓

血清クレアチニン < 1 . 5 × 臨床検査 U L N

【 0 1 2 9 】

加えて、被験者は以下の除外基準のいずれも有してはならない：

中枢神経系にへの既知の転移。

リステリア症の病歴またはリステリアベースのワクチンによるワクチン接種。

ペニシリンに対する既知のアレルギー。

臨床的に重大な心臓疾患（抑制されないアンギナ、3 ヶ月以内の心筋梗塞、ニューヨーク心臓協会 I I I または I V のうっ血性心不全）。 10

A H A ガイドラインに一致する、心内膜炎の予防のために抗生物質の予防的投与を必要とする心臓弁膜症の個人（D a j a n i r a C i r c u l a t i o n , 1 9 9 9 ）。

パルスオキシメータで測定する場合、室内空気の O 2 飽和 < 9 2 %。

病歴および健康診断に基づいて、肺機能不全を有すると疑われたことがあるまたは疑われている研究被験者は、V C、D L C O および F E V 1 が予想される値の > 6 0 % を実証しない限り研究の参加に適格でない。

全身治療を必要とする活性な、臨床的に重大な自己免疫疾患または自己免疫疾患の病歴。

C T C A E 臨床代謝 / 検査異常値グレード 3 または 4 に相当する臨床検査結果。 20

肝硬変または臨床的に関連のある腹水または閉塞性黄疸のかなりのリスクがある個人（例えば、肝門部腫瘍の圧迫によって）。

容易に摘出することができない人工（補綴）関節または他の人工移植植物または装置。

移植植物の感染症の病歴および移植植物と関連した臨床的に重大な有害事象がない場合、歯科インプラントおよび豊胸術は許される。

既知の凝固障害または抗凝固薬の投与。

ひと月に 2 回以上頻繁に定期的な輸血を必要とする患者。

白血球減少および放射線療法を受けている場合を除き、研究参加から 1 4 日以内の輸血。

いずれの免疫不全症または免疫不全の状態（例えば、免疫抑制剤の使用； 30

C R S 1 0 7 の投与前の 2 8 日以内、または C R S 2 0 7 の投与後 2 8 日以内の予定された化学療法または放射線療法）。

2 日間以上の、C R S 2 0 7 の投与前の 2 8 日以内の、または C R S 2 0 7 投与から研究期間内に予定した、全身的に活性なステロイドの使用。

C R S 2 0 7 の投与から 1 4 日以内のいずれの全身的なステロイドの使用。

妊娠している、または授乳中である女性被験者。

妊娠の可能性のある女性被験者は、陰性 - h C G テスト（血清または尿）を受けなければならない。

アルコール依存症の病歴または研究方法または要件の順守を潜在的に妨げる違法薬物の使用（例えば、オピオイド、コカイン、アンフェタミン、幻覚剤など）。 40

【 0 1 3 0 】

被験者に、C R S 2 0 7 を 2 時間にわたり静脈内に投与することで処置した。用量は、以下の表に示すように、各連続的な用量群ごとに増やした：

用量コホート 用量 ( c f u )

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1 | $1 \times 10^8$    |
| 2 | $1 \times 10^9$    |
| 3 | $1 \times 10^{10}$ |
| 4 | $3 \times 10^{10}$ |

本研究の一部である用量の増加期間中、C R S - 2 0 7 は、2 1 日の投与間隔で投与される。

## 【 0 1 3 1 】

被験者は、CRS 207 による最初の投薬から > 15 ヶ月の生存期間を有する被験者と、CRS 207 による最初の投薬から < 15 ヶ月の生存期間を有する被験者とにグループ化した。以下の表は、これらの2つの群における人口統計学を表す：

## 【 0 1 3 2 】

## 【表 6】

|  | 生存期間>15 ヶ月                     | 生存期間<15 ヶ月                               |    |
|--|--------------------------------|--|----|
| 同意時年齢(平均±SD)                                       | 59.8±3.2                       | 62±8.4                                   |    |
| 人種   | 100% 白人                        | 100% 白人                                  |    |
| 民族性  | 100%ヒスパニック<br>または<br>ラティーノではない | 100%ヒスパニック<br>または<br>ラティーノではない           | 10 |
| 性別   | 25% 男性<br>75% 女性               | 55% 男性<br>45% 女性                         |    |
| プロトコル基準をすべて<br>満たした被験者の%                           | 50%                            | 82%                                      |    |
| 癌の種類   | 50% 肺癌<br>33% NSCLC<br>17% 中皮腫 | 36% 肺癌<br>36% 中皮腫<br>18% 卵巣癌<br>9% NSCLC | 20 |
| 研究前に ECOG ステータスが<br>0であった被験者の%                     | 83%                            | 36%                                      |    |
| 前療法の数<br>(平均値±SD)                                  | 4.0±0.7                        | 3.5±2.5                                  |    |
| コホート別被験者の数   |                                |  |    |
| 1×108 CFU  | 3                              | 3  |    |
| 1×109 CFU  | 2                              | 4  |    |
| 1×1010 CFU   | 0                              | 1  |    |
| 3×108 CFU  | 1                              | 3  | 30 |
| 投与された投与数<br>(平均値±SD)                               | 3.5±0.8                        | 2.6±0.9                                  |    |
| 4 投与をすべて投与された<br>被験者の%                             | 83%                            | 27%                                      |    |
| ワクチンで LL0 特異的<br>免疫応答を誘発した<br>被験者の%                | 100% (5/5)                     | 0% (3/3)                                 |    |
| IHC によって主要な腫瘍<br>組織がメソテリン陽性であった<br>被験者の%           | 100% (4/4)                     | 100% (3/3)                               | 40 |
| 4/15/10 現在、第1の<br>CRS-207 投与からの生存期間<br>月数 (平均値±SD) | 19.4±3.0                       | 4.5±1.6                                  |    |

[ 0160 ] 生存期間は、CRS 207 が補助薬物療法であった被験者において改善された：

## 【 0 1 3 3 】

【表 7】

|               | 生存期間>15 ヲ月 | 生存期間<15 ヲ月 |
|---------------|------------|------------|
| 以前に免疫療法を受けた%  | 67%        | 9%         |
| 以前に放射線照射を受けた% | 83%        | 9%         |
| 以前に手術を受けた%    | 83%        | 73%        |

## 【0134】

第II相臨床試験で、以前にGVAX(登録商標)(CELL GENESYS, INC.)を投与された被験者において、生存は、後にCRS207を送達することによって改善した。

10

【表 8】

|  | 全被験者       | その後に CRS-207 を<br>投与した被験者 | その後に CRS-207 を<br>投与しなかった被験者 |
|--|------------|---------------------------|------------------------------|
| 被験者数                                       | 13         | 2                         | 11                           |
| HLA-2 である<br>被験者%                          | 31% (4/13) | 50% (1/2)                 | 27% (3/11)                   |
| Erbixux を投与された<br>(すなわち、過敏反応<br>を有さない)被験者% | 62% (8/13) | 0% (0/2)                  | 73% (8/11)                   |
| 診断からの生存期間<br>月数 (平均値±SD)                   | 26.3±12.1  | 43.0±2.0                  | 23.3±9.9                     |
| 同意からの生存期間<br>月数 (平均値±SD)                   | 12.2±6.4   | 28.0±8.0                  | 9.3±3.4                      |

20

## 【0135】

当業者が容易に認識することは、本発明は、目的を実施して、記載される目標および利点、ならびに本発明に特有のものを得るために本発明が十分に適応していることである。本明細書に示した実施例は、好ましい実施形態を代表するものであり、典型的なものであって、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

30

## 【0136】

本発明は、当業者がそれを作製して使用するために十分に詳細に記述され、かつ例示されているが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく種々の変更、修飾および改良が明白であろう。本明細書に示した実施例は、好ましい実施形態を代表するものであり、典型的なものであって、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。実施例中の修飾および他の用途を当業者は思いつくであろう。これらの修飾は、本発明の精神の範囲内に含まれ、かつ特許請求の範囲によって定義されている。

## 【0137】

本発明の範囲および精神から逸脱することなく、様々な置換および修飾が本明細書に開示される本発明になされ得ることは、当業者にとって容易に明らかとなる。

40

## 【0138】

本明細書に記述したすべての特許と刊行物は、本発明が関係する当業者のレベルを表している。あたかも個々の刊行物が参照によって組み込まれることが具体的に、かつ個々に示されているかのように、すべての特許および刊行物は同じ程度まで参照によって本明細書に組み込まれる。

## 【0139】

本明細書に説明的に記述した本発明は、本明細書に具体的に開示されていない、いずれの要素もしくは複数の要素、限定もしくは複数の限定がない場合でも、実施され得る。したがって、例えば、本明細書の各例では、用語「含む」、「実質的になる」

50

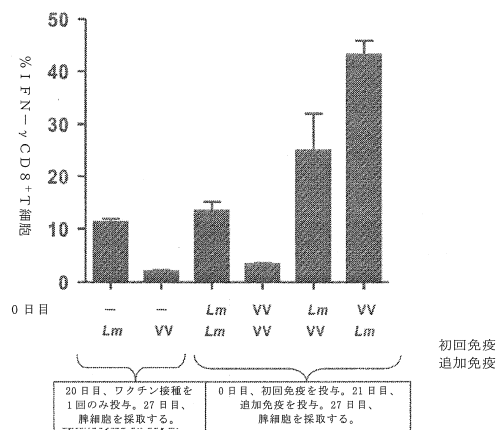
および「からなる」のいずれも、他の2つの用語のいずれかと置き換えられ得る。使用した用語および表現は、説明の用語として用いており、限定するものではない。そのような用語および表現の使用において、表示しかつ記述した特徴またはその部分のいかなる当等物も除外することを意図しておらず、種々の修飾は、主張する本発明の範囲内にあり得ることが認識される。したがって、本発明は好ましい実施形態および随意の特徴によって具体的に開示されてはいるが、本明細書に開示する概念の修飾および変形は当業者にとって、または当業者によって頼られ得る、およびそのような修飾および変形は添付した特許請求の範囲に定義されるように、本発明の範囲内と考えられることを理解すべきである。

【0140】

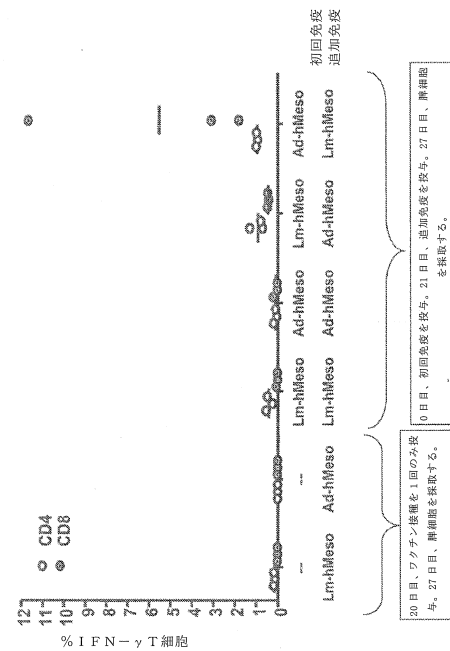
その他の実施形態は以下の特許請求の範囲に記載する。

10

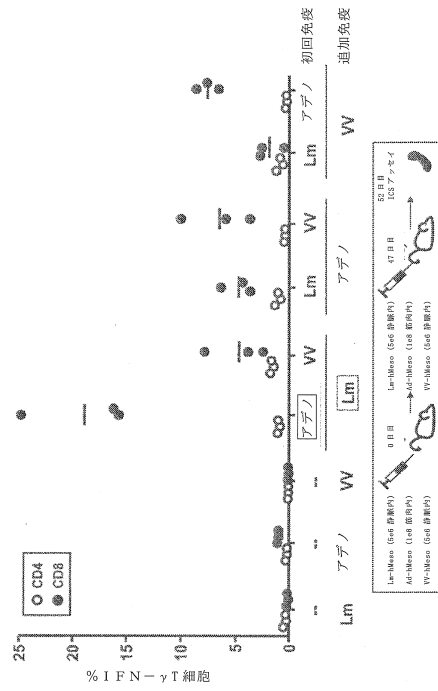
【図1A】



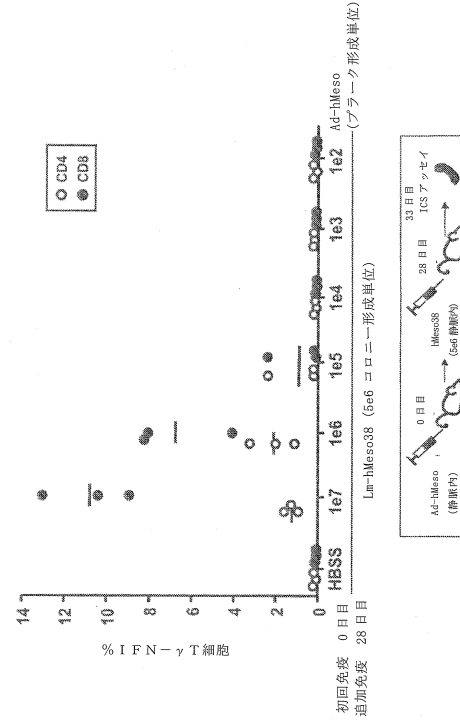
【図1B】



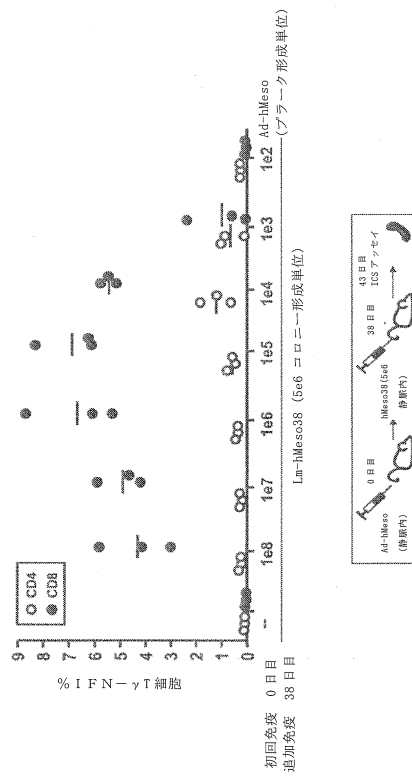
【図 2】



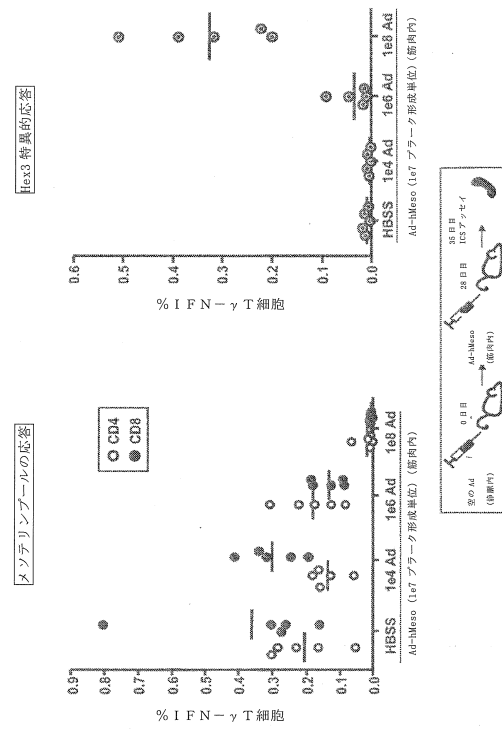
【図 3 A】



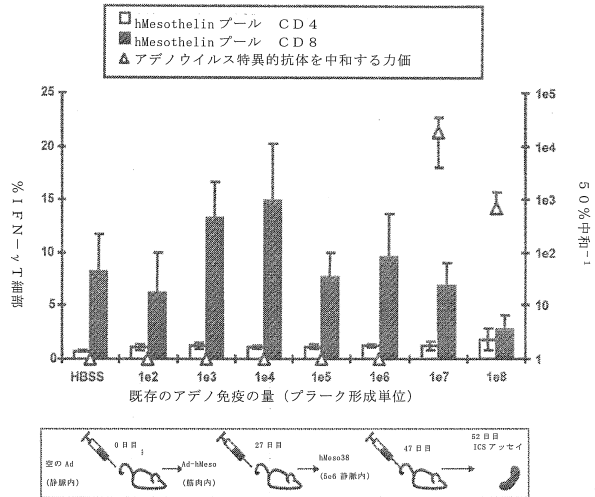
【図 3 B】



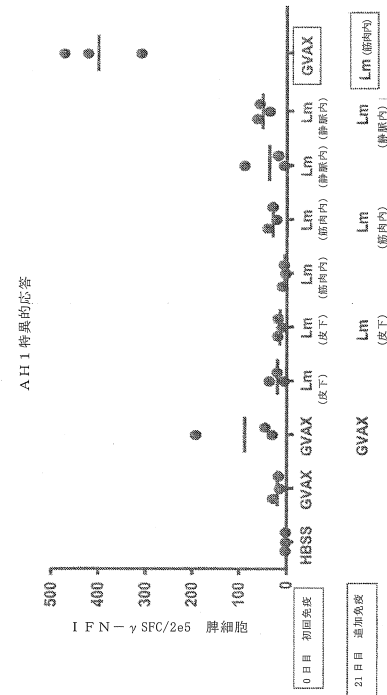
【図 4 A】



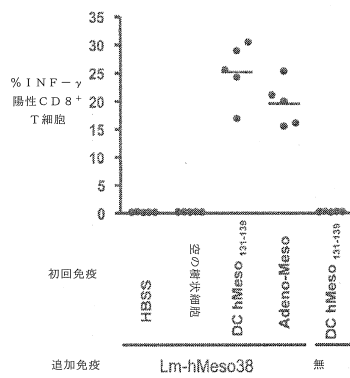
【図 4 B】



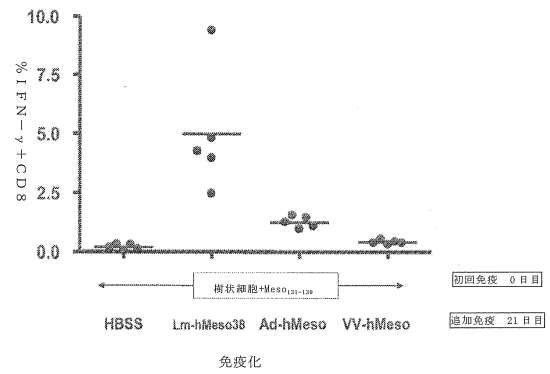
【図 5】



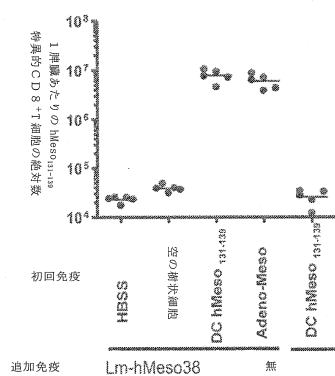
【図 6 A】



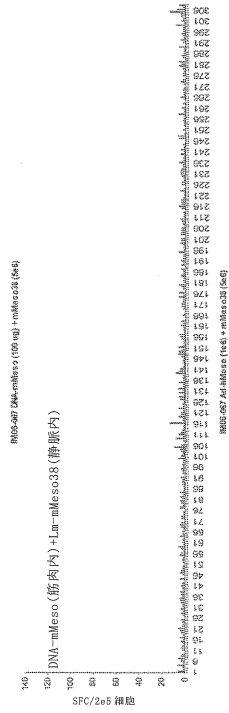
【図 6 C】



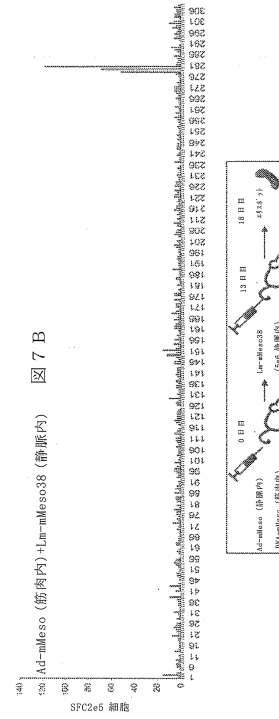
【図 6 B】



【図 7 A】



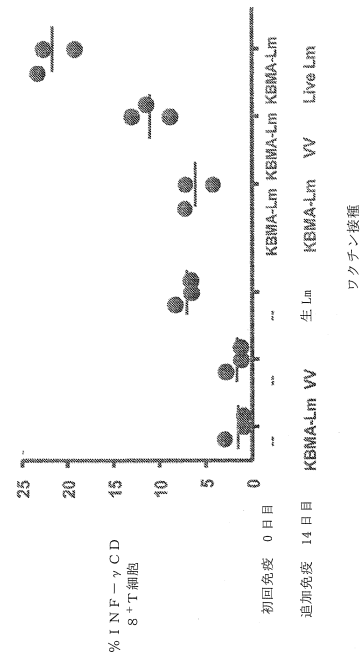
【図 7 B】



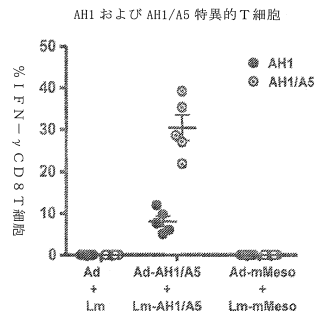
【図 7 C】



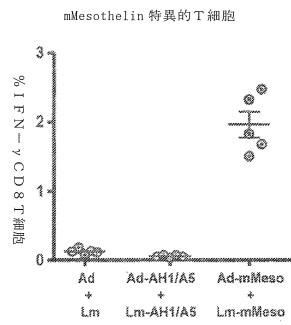
【図 8】



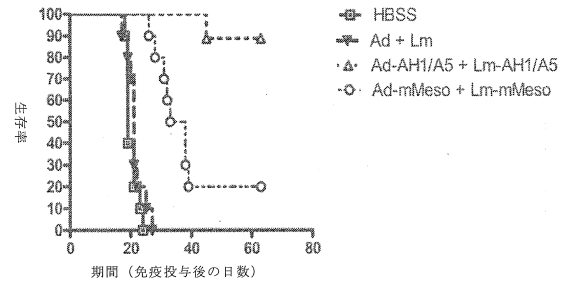
【図 9 A】



【図 9 B】



【図 9 C】



---

フロントページの続き

(72)発明者 レオンゲ, メレディス

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94611, オークランド, 6615 サロニ ドライブ

(72)発明者 バージャット, キース, エス.

アメリカ合衆国, オレゴン州 97229, ポートランド, 7025 エヌダブリュー サミット  
ビュー ドライブ

審査官 山中 隆幸

(56)参考文献 国際公開第2009/143085(WO, A1)

特表2006-521090(JP, A)

肝胆膵, 59(5), (2009), 1055-1063

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )