

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年9月22日(22.09.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/196701 A1

(51) 国際特許分類:

C12M 1/34 (2006.01) G01N 33/483 (2006.01)
C12Q 1/06 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)
C12Q 1/6869 (2018.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2022/011710

(22) 国際出願日: 2022年3月15日(15.03.2022)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2021-042670 2021年3月16日(16.03.2021) JP

(71) 出願人: 国立大学法人大阪大学 (OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 Osaka (JP). K O T A I バイオテクノロジー株式会社 (KOTAI BIOTECHNOLOGIES, INC.) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘2-8 テクノアライアンスC棟 Osaka (JP).

(72) 発明者: 山 ▲ 崎 ▼ 晶 (YAMASAKI, Sho); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 陸 修遠 (LU, Xiuyuan); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 細野 裕貴 (HOSONO, Yuki); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 石塚 茂宜 (ISHIZUKA, Shigenari); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 山下 和男 (YAMASHITA, Kazuo); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘2-8 テクノアライア

ンスC棟 K O T A I バイオテクノロジー株式会社内 Osaka (JP). サックス ニコラ クロード ポール (SAX, Nicolas Claude Paul); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘2-8 テクノアライアンスC棟 K O T A I バイオテクノロジー株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 山本 秀策, 外 (YAMAMOTO, Shusaku et al.); 〒5300011 大阪府大阪市北区大深町3-1 グランフロント大阪 タワーC Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: NOVEL MEDICAL TECHNIQUE USING FOLLICULAR T-CELLS

(54) 発明の名称: 濾胞性T細胞を用いた新規医療技術

(57) Abstract: Provided is a novel medical technique using follicular T-cells. The present disclosure, based on finding a Public TfhTCR specific to a disease factor shared by many patients, provides a method for producing disease-specific follicular T-cells. The method includes: a step of identifying a disease-related factor or part thereof having the ability to elicit follicular T-cells specific to the disease-related factor; a step of eliciting disease-specific follicular T-cells using the disease-related factor or part thereof; and a step of obtaining the disease-specific follicular T-cells.

(57) 要約: 濾胞性T細胞を用いた新規医療技術を提供する。本開示は、さまざまな患者に共通の疾患要因に特異的なパブリックTfhTCR(Public TfhTCR)を見出したことに基づき、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部を同定する工程と、該疾患関連因子またはその一部を用いて疾患に特異的な濾胞性T細胞を惹起させる工程と、該疾患に特異的な濾胞性T細胞を得る工程とを含む、疾患に特異的な濾胞性T細胞を生産する方法を提供する。

添付公開書類：

一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称： 濾胞性Ｔ細胞を用いた新規医療技術

技術分野

[0001] 本開示は、濾胞性Ｔ細胞を用いた新規医療技術に関する。より詳細には、疾患を診断するために濾胞性Ｔ細胞を指標とする技術に関する。

背景技術

[0002] 種々の疾患の要因について後天性免疫応答が生じるが、これらについては多くの未知の点が存在する。このため、疾患要因に対する後天的な免疫応答を理解することは、長期的な免疫を予測し、ワクチンの設計に情報を提供するための鍵となる。

発明の概要

課題を解決するための手段

[0003] 本開示者らは、ある感染要因（ウイルスなど）が存在する場合、様々な患者に共通する感染要因に特異的なパブリックTfhTCR(Public TfhTCR)が存在することを見出した。本開示者らは、TCR α および β 鎖を再構成することにより、頻繁に見られる対立遺伝子によって提示される抗原が、T細胞エピトープであることを確認した。本開示者らは、このTCRクローン型を用いて診断に利用することができることを見出した。

[0004] したがって、本開示は以下を提供する。

[0005] (項目１)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベルまたは量を測定することを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法。

(項目２)

前記測定の結果に基づいて、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも１つを行うこと

をさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3)

前記被検体における前記疾患を検査または診断することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 4)

前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をすることをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 5)

前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をすることをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 6)

前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をすることをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 7)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベルまたは量を測定すること、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をすることをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 8)

前記測定は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析による、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 9)

測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 10)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 1 1)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 1 2)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 1 3)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための試薬またはデバイス。

(項目 1 4)

前記試薬またはデバイスは、濾胞性 T 細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 1 5)

前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 1 6)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 1 7)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 1 8)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 1 9)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスと、
該試薬またはデバイスによる測定結果を該疾患について評価する評価部とを含む、該被検体に対する該疾患を評価するためのシステム。

(項目 2 0)

前記評価部は、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも１つを行うように構成される、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 2 1)

前記被検体における前記疾患を検査または診断する検査・診断部をさらに含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 2 2)

前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をする感染履歴評価部をさらに含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 2 3)

前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をするワクチン有効性評価・再感染防御能評価部をさらに含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 2 4)

前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をするがん免疫薬剤有効性評価部をさらに含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 2 5)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量を測定する濾胞性Ｔ細胞測定部、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をする自己免疫疾患リスク評価、病態評価部を含む、上記項

目のいずれかに記載のシステム。

(項目 26)

前記試薬またはデバイスは、濾胞性 T 細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、上記項目のいずれかのいずれか一項に記載のシステム。

(項目 27)

前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 28)

測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較する比較部をさらに含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 29)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 30)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 31)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 32)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、

該濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を該疾患について評価する工程と

を含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法。

(項目 3 3)

前記評価する工程が、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも1つを行うことをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 4)

前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 5)

前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 6)

前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 7)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定すること、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 8)

前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 3 9)

前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被験体における

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目４０)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目４１)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目４２)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目４３)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、

該濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を該疾患について評価する工程と

を含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法を、コンピュータに実装するコンピュータ読み取り可能なコードを含むプログラム。

(項目４４)

前記評価する工程が、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも１つを行うことをさらに含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目４５)

前記方法が、前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目４６)

前記方法が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の

評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 4 7)

前記方法が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 4 8)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記方法が、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベルまたは量を測定すること、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をすることを含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 4 9)

前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 5 0)

前記方法が、前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被検体における被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 5 1)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 5 2)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 5 3)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記

載のプログラム。

(項目 5 4)

上記項目のいずれかに記載のプログラムを格納したコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

(項目 5 5)

上記項目のいずれかに記載のプログラムを格納したコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

本開示は、さらに以下の項目も提供する。

(項目 A 1)

疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を惹起する能力を有する、該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を含む、該疾患を治療または予防するための医薬組成物。

(項目 A 2)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を惹起する能力を有する、該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を含む、該疾患に対するワクチン。

(項目 A 3)

前記組成物またはワクチンは、濾胞性 T 細胞を優先的に誘導する、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 A 4)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を含む、前記疾患を治療または予防するための医薬組成物。

(項目 A 5)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を含む、前記疾患に対する細胞ワクチン。

(項目 A 6)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞は、少なくとも前記疾患関連因子に対して反応性である、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン

。

(項目 A 7)

前記疾患は、感染症またはがんである、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 A 8)

前記疾患はウイルス感染症である、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 A 9)

前記組成物は、HLA の型特異的に濾胞性 T 細胞を誘導する、前記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目 A 10)

前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物は、最大で 20 アミノ酸を含む、前記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目 A 11)

前記濾胞性 T 細胞は、パブリック濾胞性 T 細胞である、前記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目 A 12)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を惹起する能力を有する、前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を同定する工程と、
該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を用いて前記疾患に特異的な濾胞性 T 細胞を惹起させる工程と、
該疾患に反応性の濾胞性 T 細胞を得る工程と
を含む、前記疾患に反応性の濾胞性 T 細胞を生産する方法。

(項目 A 13)

前記疾患に反応性の濾胞性 T 細胞をスクリーニングする方法であって、
A) 濾胞性 T 細胞の集団を提供する工程と、
B) 該濾胞性 T 細胞の集団と前記疾患関連因子とを接触させる工程と、
C) 該濾胞性 T 細胞の該疾患関連因子への反応性を測定する工程と、

D) 該濾胞性T細胞の集団のうち、該疾患関連因子に対して所定値以上の反応性を示す濾胞性T細胞を選択する工程と

を含む、方法。

(項目A14)

前記C)の測定する工程が、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイにより実施される、前記項目に記載の方法。

(項目B1)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を提示するためのポリペプチド。

(項目B2)

前記ポリペプチドは、濾胞性T細胞を優先的に誘導する、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目B3)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞は、少なくとも前記疾患関連因子に対して反応性である、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目B4)

前記疾患は、感染症またはがんである、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目B5)

前記疾患はウイルス感染症である、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目B6)

前記ポリペプチドは、HLAの型特異的に濾胞性T細胞を誘導する、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目B7)

前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物は、最大で20アミ

ノ酸を含む、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目 B 8)

前記濾胞性 T 細胞は、パブリック濾胞性 T 細胞である、前記項目のいずれかに記載のポリペプチド。

(項目 C 1)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞を惹起する能力を有する、前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物と相互作用する T C R と特異的に結合する抗体。

(項目 C 2)

前記抗体は、濾胞性 T 細胞を優先的に誘導する、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 3)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞は、少なくとも前記疾患関連因子に対して反応性である、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 4)

前記疾患は、感染症またはがんである、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 5)

前記疾患はウイルス感染症である、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 6)

前記抗体は、H L A の型特異的に濾胞性 T 細胞を誘導する、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 7)

前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物は、最大で 20 アミノ酸を含む、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 C 8)

前記濾胞性 T 細胞は、パブリック濾胞性 T 細胞である、前記項目のいずれかに記載の抗体。

(項目 D 1)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞を惹起する能力を有する、該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を指標とする、該疾患を診断するための医薬組成物。

(項目Ｄ２)

前記医薬組成物は、濾胞性Ｔ細胞を優先的に誘導する、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ３)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞は、少なくとも前記疾患関連因子に対して反応性である、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ４)

前記疾患は、感染症またはがんである、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ５)

前記疾患はウイルス感染症である、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ６)

前記医薬組成物は、ＨＬＡの型特異的に濾胞性Ｔ細胞を誘導する、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ７)

前記疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物は、最大で２０アミノ酸を含む、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｄ８)

前記濾胞性Ｔ細胞は、パブリック濾胞性Ｔ細胞である、前記項目のいずれかに記載の医薬組成物。

(項目Ｅ１)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞を含む、前記疾患に対する免疫獲得を強化するための組成物。

(項目Ｅ２)

前記疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞は、少なくとも前記疾患関連因子に対して反応性である、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 E 3)

前記疾患は、感染症またはがんである、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 E 4)

前記疾患はウイルス感染症である、前記項目のいずれかに記載の組成物またはワクチン。

(項目 E 5)

前記濾胞性Ｔ細胞は、パブリック濾胞性Ｔ細胞である、前記項目のいずれかに記載の組成物。

(項目 X 1)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベルまたは量を測定すること、および

該レベルまたは量を所定の基準と比較すること

を含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法。

(項目 X 2)

前記基準が、前記疾患の履歴、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能、前記疾患の病態および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも１つに関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3)

前記基準が、前記被検体における前記疾患に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 4)

前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 5)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 6)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 7)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベルまたは量を測定することを含み、前記基準が、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 8)

前記測定は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析による、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 9)

前記比較は、測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 10)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 11)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 12)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 13)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための試薬またはデバイス。

(項目 X 1 4)

前記試薬またはデバイスは、濾胞性Ｔ細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 X 1 5)

前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 X 1 6)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 X 1 7)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 X 1 8)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載の試薬またはデバイス。

(項目 X 1 9)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性Ｔ細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスと、

該試薬またはデバイスによる測定結果を所定の基準と比較する比較部とを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するためのシステム。

(項目 X 2 0)

前記基準は、前記疾患の履歴、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能

、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも1つに関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X21)

前記基準が、前記被検体における前記疾患に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X22)

前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X23)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X24)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X25)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量を測定する濾胞性T細胞測定部をさらに含み、前記基準は、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X26)

前記試薬またはデバイスは、濾胞性T細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目X27)

前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、上記項目のい

ずれかに記載のシステム。

(項目 X 2 8)

前記比較部は、測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較する、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 X 2 9)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 X 3 0)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 X 3 1)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載のシステム。

(項目 X 3 2)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、

該濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を所定の基準と比較する工程と

を含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法。

(項目 X 3 3)

前記基準が、前記疾患の履歴、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも 1 つに関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 4)

前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 5)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 6)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 7)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベルまたは量を測定することを含み、前記基準が、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 8)

前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 3 9)

前記比較は、前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被験体における被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 4 0)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 4 1)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載の方法。

(項目 X 4 2)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかの方

法。

(項目 X 4 3)

被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、

該濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を所定の基準と比較する工程と

を含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法を、コンピュータに実装するコンピュータ読み取り可能なコードを含むプログラム。

(項目 X 4 4)

前記基準が、前記疾患の履歴、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも 1 つに関する基準である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 4 5)

前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 4 6)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 4 7)

前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 4 8)

前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記方法が、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベルまたは量を測定することを含み、前記基準が前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患の

スク、病態に関する基準である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 4 9)

前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 5 0)

前記比較が、前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被検体における被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性 T 細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 5 1)

前記疾患は、感染症またはがんである、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 5 2)

前記疾患はウイルス感染症である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 5 3)

前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、上記項目のいずれかに記載のプログラム。

(項目 X 5 4)

上記項目のいずれかに記載のプログラムを格納したコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

[0006] 本開示において、上記 1 または複数の特徴は、明示された組み合わせに加え、さらに組み合わせて提供されうることが意図される。本開示のなおさらなる実施形態および利点は、必要に応じて以下の詳細な説明を読んで理解すれば、当業者に認識される。

発明の効果

[0007] 本開示は、さまざまな患者に共通の疾患要因に特異的なパブリックTfhTCR(Public TfhTCR)を見出したことに基づき、濾胞性T細胞を誘導するための疾患要因に特異的なエピトープを含む組成物に特異的な濾胞性ヘルパーT細胞(Tfh)を提供する。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図1は、同定した、COVID-19患者に由来するTfh細胞に発現するTCRを示す図である。患者に由来するPBMCに由来する18661個のT細胞のUMAPプロジェクション。各ドットはシングルセルに対応している。標準的なTfh細胞マーカーであるCD200、ICOS、CD40LG、PDCD1、CXCL13、CXCR5を使用して、UMAPプロットに表示されたTfhクラスターをラベルした。

[図2]図2は、クローン1とクローン2のTCR CDR3配列のアラインメントを示す図である。

[図3-1]図3は、患者のTfh細胞からクローニングしたTCRが、SARS-CoV-2 Sタンパク質に由来するペプチドに対して反応性があることを示す図である。クローン型1/2（それぞれクローン1およびクローン2）のTCRを発現するT細胞ハイブリドーマは、対応するドナー由来のAPCの存在下（A）または非存在下（B）において、20時間にわたって、刺激しないまま（塗りつぶされたヒストグラム）、または不活化ウイルス（Sタンパク質1 μ g/ml相当）、組換えSタンパク質（1 μ g/ml）、SペプチドプールおよびM+Nペプチドプール（両方ともペプチドあたり1 μ g/ml）（それぞれ白抜きのヒストグラム）で刺激し、CD69発現について分析した（図3AおよびB）。

[図3-2]図3は、患者のTfh細胞からクローニングしたTCRが、SARS-CoV-2 Sタンパク質に由来するペプチドに対して反応性があることを示す図である。クローン1および2を、同一起源のAPCの存在下で、20時間にわたって、Sペプチドプール#1および#2（ペプチドあたり1 μ g/ml）で刺激した（図3C）。クローン1および2を、同じ起源のAPCの存在下で、20時間にわたって、Sペプチドプール#2およびSペプチドプールPepTivator（登録商標）（両方ともペプ

チドあたり $0.3\mu\text{g/ml}$)で刺激し、次いでCD69を染色した(図3D)。クローン1および2を、異なるドナー由来のAPCの存在下で、20時間にわたって、Sペプチドプール#2(ペプチドあたり $1\mu\text{g/ml}$)で刺激し、次いでCD69発現について分析した(図3E)。

[図4]図4は、ペプチドプールのカバー範囲の相対位置を示す図である。

[図5-1]図5は、同定した、Sタンパク質応答性TCRによって認識されるHLAおよびSタンパク質ペプチドを示す図である。同じDPまたは元の個体とのDR/DQ対立遺伝子を有する他のドナーPBMCに由来するAPCの存在下で、クローン型1/2(それぞれ、クローン1およびクローン2)のTCRを発現するT細胞ハイブリドーマを、Sペプチドプール#2(ペプチドあたり $0.3\mu\text{g/ml}$)で刺激した(図5A)。クローン1および2を、示されたHLAを発現するHEK293T細胞の存在下で、Sペプチドプール#2(ペプチドあたり $0.3\mu\text{g/ml}$)で刺激した(図5B)。

[図5-2]図5は、同定した、Sタンパク質応答性TCRによって認識されるHLAおよびSタンパク質ペプチドを示す図である。NetMHCによって予測された、クローン1および2のエピトープを含むSタンパク質の一部に、DRB1*15:01によって提示される可能性のあるペプチド(赤:強い結合ペプチド、灰色:弱い結合ペプチド)(図5C)。合成された2つの強力な結合ペプチドの配列(図5D)。異なる起源由来APCの存在下で、20時間にわたって、クローン1および2を、刺激しないまま(塗りつぶされたヒストグラム)、またはSペプチドプール#2($0.3\mu\text{g/ml}$ /ペプチド)および単一ペプチド($1\mu\text{g/ml}$)(白抜きのヒストグラム)で刺激し、次いでCD69を染色した(図5E)。

[図6-1]図6は、 $S_{864-882}$ は、健康な集団と回復期のCOVID-19患者により広く認識される、SARS-CoV-2特異的ペプチドである。クローン型1/2(それぞれ、クローン1およびクローン2)のTCRを発現するT細胞ハイブリドーマを、APCおよびHCoV-OC43 Sタンパク質(ペプチドあたり $0.3\mu\text{g/ml}$)に由来するペプチドプールと共培養した(図6A)。 $S_{864-882}$ ヒトコロナウイルスの対応領域のSARS-CoV-2への配列アラインメント(図6B)。NetMHC4.0サーバーにより予測される、ペプチド $S_{864-882}$ のDRB1*15:01および*15:02への結合能力(赤:強い結合

ペプチド、灰色：弱い結合ペプチド）（図6C）。

[図6-2]図6は、S₈₆₄₋₈₈₂は、健康な集団と回復期のCOVID-19患者により広く認識される、SARS-CoV-2特異的ペプチドである。DRB1*15:02を有するAPCの存在下で、クローン1および2を、単一ペプチドで刺激し、CD69発現について分析した（図6D）。健康なドナーおよび回復期のCOVID-19患者の公開データベースにおけるクローン型1/2の分布。上のパネル、両方の群でクローン型1/2を持っている個人のパーセンテージ、下のパネル、両方の群の各個人におけるクローン型1/2の増加（図6E）。

[図7]図7は、CD4陽性細胞およびEBV感染にて不死化した、患者由来のB細胞の混合物を、SARS-CoV-2 S₈₆₄₋₈₈₂ペプチドによって刺激した場合、刺激していない場合と比較して、培地中のIL-21濃度が高いことを示す。

[図8]図8は、システム1000の構成の一例を示す図である。

[図9]図9は、ユーザ装置100の構成の一例を示す図である。

[図10]図10は、サーバ装置200の構成の一例を示す。

発明を実施するための形態

[0009] 以下、本開示を最良の形態を示しながら説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞（例えば、英語の場合は「a」、「an」、「the」など）は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本開示の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定義を含めて）が優先する。

[0010] 以下に本明細書において特に使用される用語の定義および／または基本的技術内容を適宜説明する。

[0011] （定義等）

本明細書において「濾胞性Ｔ細胞」とは、Ｂ細胞の成熟と活性化、抗体産生を制御する、共有されるＴＣＲを有するヘルパーＴ細胞を意味する。濾胞性ヘルパーＴ細胞ともいい、濾胞性Ｔ細胞は濾胞性ヘルパーＴ細胞はと同じ意味を指すものとして本明細書において互換的に使用される。

[0012] 本明細書において、「特異的」は、抗体もしくはその断片またはそれらを含む細胞が、任意のその他の標的よりも高い親和性で標的を認識・結合することを意味する。

[0013] 本明細書において、（ある対象に対して）「反応性」（の濾胞性Ｔ細胞）とは、少なくともその対象と反応し、活性化する濾胞性Ｔ細胞をいい、その対象以外と反応するかどうかは問わず、その対象以外のものと反応するもの（交差反応性のもの）と、その対象以外のものとの反応性が低い（その対象に対して優先的なもの）またはないもの（その対象に対して特異性があるもの）を含む。

[0014] 本明細書において、「優先的に誘導する」とは、対象を、高い割合で誘導することをいい、例えば、５０％以上、５５％以上、６０％以上、６５％以上、７０％以上、７５％以上、８０％以上、８５％以上、９０％以上、９５％以上、１００％で誘導することをいう。

[0015] 本明細書において「疾患要因」とは、ウイルスなどの感染源のほか、がんなど新生物、自己免疫疾患の場合の免疫異常を引き起こす要因なども含む。

[0016] 本明細書において、「エピトープ」とは、抗原決定基としても知られる、抗体、Ｂ細胞またはＴ細胞などの免疫系によって認識される分子または部分であり、あるいは、抗体またはリンパ球レセプターが結合する抗原分子中の部位をいうこともできる。本明細書中で使用する場合、「エピトープ」は、本明細書に記載されるような結合部分（例えば抗体またはその抗原結合断片）と結合することが可能な分子である。エピトープは、通常、アミノ酸または糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面の基からなり、通常、特定の三次元構造特徴、および特定の電荷特徴を有する。本明細書において、エピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、

核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。本明細書において「抗原」(antigen)とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」(immunogen)とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

[0017] 本明細書において、「エピトープをHLAに提示させたプローブ」とは、HLAにエピトープを提示するためのプローブを指し、これを用いてアッセイすることにより、当該プローブに結合する細胞の有無により免疫系の確立の有無を調べることが可能である。プローブであるものの、ポリペプチドとしてHLAとエピトープペプチドが一体になっている場合もあるが、一体ではなく、HLAにペプチドが乗っているものもあり得る。

[0018] 本明細書において、「TCRと特異的に結合する」とは、T細胞受容体(TCR)と特異的に結合することをいう。

[0019] 本明細書において、「免疫獲得を強化する」とは、抗原に対する、自然免疫および獲得免疫などの免疫の獲得を促進することをいい、例えば、濾胞性T細胞によるB細胞の成熟と活性化、抗体産生の制御の促進などが挙げられる。

[0020] 本明細書において、「防御抗体」とは、能動免疫または受動免疫において観察される、感染病原体に対する免疫、特にウイルス感染阻止能を担う抗体をいう。

[0021] 本明細書において、「パブリック濾胞性T細胞」は、B細胞の成熟と活性化、抗体産生を制御する、個人間で共有されるTCRを有するヘルパーT細胞を意味する。パブリック濾胞性ヘルパーT細胞、パブリックTfh細胞と互換的に使用される。

[0022] 本明細書において、「作動可能に連結」とは、核酸にコードされたポリペプチドが、プロモーターなどのエレメントによる制御下に当該ポリペプチドの生物学的活性を示す状態で発現するようにエレメントに連結されていることを意味する。

[0023] 本明細書において「疾患」(disease)とは、本開示において「障害」(disorder)や「症状」(condition)と交換可能に用いられ、再広義に解釈され、人間や動物の心や体に不調または不都合が生じた状態をいい、病気、障害、種々の症状等、具体的に定義されていない健康な状態とは言えない任意の状態を指す。

[0024] 本明細書において、疾患等の「評価」とは、その対象となる疾患について何らかの側面について、物事・性質・能力などの良し悪しなどを調べて価値または意義などを定めることをいい、例えば、疾患の履歴の評価、疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、疾患に対する治療剤（例えば、がんであれば、免疫チェックポイント剤などのがん免疫薬剤）の有効性の評価、疾患の再罹患（例えば、感染症であれば再感染）に対する防御能の評価、疾患（例えば、がん、感染症、自己免疫疾患やアレルギー）の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価などを含むがこれらに限定されない。

[0025] 本明細書において「疾患関連因子」とは、疾患直接引き起こす因子の他、その直接の因子を引き起こす因子等の間接的に原因となる因子の他、疾患の結果生じる結果的因子、並行して起こる因子、相関して生じる因子等、ある被検体において疾患状態ではないときと比べてその疾患状態において変化が生じる任意の因子をいう。疾患を引き起こす因子は「疾患原因因子」といい、この場合、例えば、感染症であれば、病原因子または感染因子であるウイルス、細菌、原虫、マイコプラズマなどを指し、アレルギーなどの自己免疫疾患であれば、アレルゲンなどの免疫原となる物質（原因物質）、新生物であれば腫瘍細胞、毒物などを挙げることができる。他方、疾患の結果生じる因子は「疾患結果因子」ともいい、この場合、被検体における免疫反応に関する因子や代謝物等を含む。

[0026] 本明細書において「疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞」における「反応性」とは、疾患関連因子に対して、濾胞性T細胞が相互作用しうる条件におかれたときに、その因子の不存在下と比較してその因子の存在下においてその別の因子に変化が生じることをいう。疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞と

は、その疾患関連因子と相互作用しうる状態におかれたときに、その濾胞性T細胞が何らかのプラスまたはマイナスの変化が生じることをいう。

[0027] 本明細書において、濾胞性T細胞の「レベル」とは、そのT細胞の機能の程度を意味し、濾胞性T細胞の「量」とは、そのT細胞の物理的な量の程度を意味する。

[0028] 本明細書において「ウイルス抗原」とは、免疫反応を惹起させたい対象であるウイルスの一部または全部を言い、ホストに投与した時に免疫反応が惹起されるものをいう。ペプチドや全体（ライゼート）等を用いることができる。あるいは、ウイルス様粒子（VLP）を形成させて利用してもよい。ウイルス抗原の対象としては、HIV、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、コロナウイルス、ノロウイルス、ロタウイルス、狂犬病ウイルス、ウエストナイルウイルス、パピローマウイルス、ジカウイルス、風疹ウイルス、サイトメガロウイルス、インフルエンザウイルス、鳥インフルエンザウイルスの抗原等が挙げられるが、これに限定されない。

[0029] 本明細書において「細菌抗原」とは、免疫反応を惹起させたい対象である細菌の一部または全部を言い、ホストに投与した時に免疫反応が惹起されるものをいう。ペプチドや全体（ライゼート）等を用いることができる。細菌抗原の対象としては、*Bacillus anthracis*、*Bordetella pertussis*、*Borrelia burgdorferi*、*Brucella abortus*、*Brucella canis*、*Brucella melitensis*、*Brucella suis*、*Burkholderia mallei*、*Burkholderia pseudomallei*、*Campylobacter jejuni*、*Chlamydia pneumoniae*、*Chlamydia trachomatis*、*Chlamydophila psittaci*、*Clostridium botulinum*、*Clostridium difficile*、*Clostridium perfringens*、*Clostridium tetani*、*Corynebacterium d*

iptheriae, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, enterotoxigenic Escherichia coli, enteropathogenic Escherichia coli, Escherichia coli) 157:H7, Francisella tularensis, Haemophilus influenza, Helicobacter pylori, Legionella pneumophila, Leptospira interrogans, Listeria monocytogenes, Mycobacterium leprae, Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Pseudomonas aeruginosa, Rickettsia rickettsia, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Treponema pallidum, Vibrio choleraeおよびYersinia pestisに由来する抗原が挙げられるが、これに限定されない。

[0030] 本明細書において「真菌抗原」とは免疫反応を惹起させたい対象である真菌の一部または全部を言い、ホストに投与した時に免疫反応が惹起されるものをいう。ペプチドや全体（ライゼート）等を用いることができる。真菌抗原の対象としては、Aspergillus clavatus, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus nidulans, Aspergillus

s niger、Aspergillus terreus、Blastomyces dermatitidis、Candida albicans、Candida dubliniensis、Candida glabrata、Candida parapsilosis、Candida rugosa、Candida tropicalis、Cryptococcus albidus、Cryptococcus gattii、Cryptococcus laurentii、Cryptococcus neoformans、Histoplasma capsulatum、Microsporum canis、Pneumocystis carinii、Pneumocystis jirovecii、Sporothrix schenckii、Stachbotrys chartarum、Tinea barbae、Tinea capitis、Tinea corporis、Tinea cruris、Tinea faciei、Tinea incognito、Tinea nigra、Tinea versicolor、Trichophyton rubrum及びTrichophyton tonsuransに由来する抗原が挙げられるが、これに限定されない。

[0031] 本明細書において「免疫異常」とは、少なくとも部分的に免疫系の異常によって生じるまたは生じることが疑われる任意の疾患、障害または状態をさす。免疫に何らかの原因によって異常が起こり、感染症にかかりやすくなったりアレルギー反応を起こしたりする状態をいう。免疫異常には、アレルギー、自己免疫疾患等が挙げられるがそれらに限定されない。自己の抗原に対する場合は概して自己免疫疾患といい、外的な抗原に対してはアレルギーという。免疫応答が強い場合は、自己の抗原に対しては自己免疫疾患状態となり、非自己の抗原に対してはアレルギー状態となる一方で、免疫応答が弱い場合は、自己の抗原に対してはがん状態となり、非自己の抗原に対しては感染症となるということができる。

[0032] 本明細書において「感染症」は任意の感染症であり得、ウイルス感染症（

一本鎖又は二本鎖のDNAウイルス、RNAウイルス等任意のウイルス形態を含む）、細菌感染症、原虫感染症、マイコプラズマ感染症など任意の感染症の種類が含まれ、例えば、結核、コロナウイルス、マラリア、黄熱ウイルス、天然痘ウイルス、種痘、麻疹／風疹、ポリオ、流行性耳下腺炎（おたふく）／MUMPS、ロタウイルス感染、水痘（みずぼうそう）、黄熱病、エボラ、西ナイル熱、ヒブ感染症、肺炎球菌感染症、百日せき、日本脳炎、髄膜炎菌感染症、サルモネラ感染症、病原性大腸菌、トキソプラズマ、ジカウイルス、ヘルペスウイルス1型、EBV／エプスタインバーウイルス（ヘルペスウイルス4型）、CMV／サイトメガロウイルス（ヘルペスウイルス5型）、インフルエンザ、MARS、狂犬病およびジフテリアなどであり得る。

[0033] 本明細書において「がん」とは、当該分野において通常使用されるのと同じ意味で用いられ、異型性が強く、増殖が正常細胞より速く、周囲組織に破壊性に浸潤し得あるいは転移をおこし得る悪性腫瘍またはそのような悪性腫瘍が存在する状態をいう。本開示においては、がんは固形がんおよび造血器腫瘍を含むがそれらに限定されず、本明細書において「新生物」および「腫瘍」と交換可能に使用される。がん、新生物、腫瘍は、固形新生物だけでなく造血系新生物も包含するものとする。新生物の例には、黒色腫、非小細胞肺、小細胞肺、肺、肝癌腫、網膜芽細胞腫、星状細胞種、膠芽腫、歯肉、舌、白血病、神経芽細胞腫、頭部、頸部、胸部、脾臓、前立腺、腎臓、骨、精巣、卵巣、中皮腫、肉腫、子宮頸部、胃腸、リンパ腫、脳、結腸、膀胱、骨髄腫、または他の悪性もしくは良性新生物が含まれるが、これらに限定されるわけではない。より具体的には、新生物は、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、骨髄異形成症候群、慢性骨髄単球性白血病、若年性骨髄単球性白血病、多発性骨髄腫、および慢性リンパ性白血病からなる群より選択される造血系新生物であってもよい。

[0034] 本明細書において「自己免疫疾患」とは、自己成分（例えば、免疫グロブリンなど）に対する自己抗体（例えば、抗Sm抗体、抗dsDNA抗体、リ

ウマチ因子)が検出され、自己免疫が病態に関与している疾患を指す。自己免疫疾患としては、臓器特異的自己免疫疾患(例えば、慢性甲状腺炎、原発性粘膜水腫、甲状腺中毒症、悪性貧血、グッドパスチャー症候群、急性進行性糸球体腎炎、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、インスリン抵抗性糖尿病、若年性糖尿病、アジソン病、萎縮性胃炎、男性不妊症、早発性更年期、水晶体原性ぶどう膜炎、交感性脈炎、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、原発性胆汁性肝硬変、慢性活動性肝炎、自己免疫性溶血性貧血、発作性血色素尿症、突発性血小板減少性紫斑病、およびシェーグレン症候群など)、および、臓器非特異的自己免疫疾患(例えば、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、円板状エリテマトーデス、多発性筋炎、強皮症、および混合結合組織病など)が挙げられるが、これに限定されない。関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、円板状エリテマトーデス、多発性筋炎、強皮症および混合結合組織病は、膠原病として知られている。すなわち膠原病は、全身性自己免疫疾患に含まれるものである。

[0035] 本明細書において「アレルギー」とは、免疫反応が特定の非自己の抗原に対して過剰に起こることをいい、「アレルゲン」に対して免疫反応が生じる疾患である。「アレルゲン」は、アレルギー疾患を有する被験者の抗体と反応し得る抗原をいい、樹木類の花粉に由来するアレルゲン(アカシア、ハンノキ、ビロードアオダイモ、セイヨウブナ、白樺、カエデ、山スギ、赤スギ、ハコヤナギ、ヒノキ、アメリカニレ、アキニレ、トガサワラ、ゴムの木、ユーカリの木、エノキ、ヒッコリー、アメリカシナノキ、サトウカエデ、メスキート、カジノキ、コナラ属、オリーブ、ペカン、コショウ、マツ、イボタツキ、ロシアオリーブ、アメリカスズカケ、ニワウルシ、クロクルミ、クロヤナギ等)、草木類の花粉に由来するアレルゲン(ワタ、ギョウギシバ、ナガハグサ、スズメノチャヒキ、トウモロコシ、ヒロハウシノケグサ、セイバンモロコシ、カラスムギ、カモガヤ、コヌカグサ、ホソムギ、コメ、ハルガヤ、オオアワガエリ、ヒユ、アカザ、オナモミ、ギシギシ、セイトカアワダチソウ、イソホウキ、シロザ、キンセンカ、イラクサ、アオビエ、ヘラオ

オバコ、オオブタクサ、ブタクサ、ブタクサモドキ、ノハラヒジキ、ヤマヨモギ、エニシダ、ヒメスイバ等)、虫由来のアレルゲン(カイコ、ダニ、ミツバチ、スズメバチ、アリ、ゴキブリ等)、菌由来のアレルゲン(アルテルナリア、アスペルギルス、ボツリヌス、カンジダ、セファロスポリウム、カーブラリア属、エピコッカム菌、表皮菌、フザリウム属、ヘルミントスポリウム属、連鎖クラドスポリウム、ケカビ、ペニシユリウム、ファーマ属、ブルラリアプルランス、クモノスカビ等)、動物の体毛由来のアレルゲン(犬、猫、鳥等)、ハウスダスト由来のアレルゲンタンパク質、食物由来のアレルゲン(ＯＶＡ等)等が例として挙げられるが、これらに限定されない。「アレルギー」の代表的な疾患としては、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎(花粉症等)、アレルギー性結膜炎、アレルギー性胃腸炎、気管支喘息、小児喘息、食物アレルギー、薬物アレルギー又は蕁麻疹などが挙げられる。

[0036] 本明細書において「炎症性疾患」とは、異常な炎症(例えば、疾患に罹患していない健康な人などの対照と比較した炎症のレベルの上昇)を特徴とする疾患または状態を指す。炎症性疾患の非限定的な例として、アトピー、喘息、自己炎症性疾患、過敏症、小児アレルギー性喘息、アレルギー性喘息、炎症性腸疾患、セリアック病、クローン病、大腸炎、潰瘍性大腸炎、膠原性大腸炎、リンパ球性大腸炎、憩室炎、過敏性腸症候群、短腸症候群、盲係蹄症候群、慢性持続性下痢、乳児期の難治性下痢、旅行者下痢、免疫増殖性小腸疾患、慢性前立腺炎、腸炎後症候群、熱帯性スプルー、ウィップル病、ウォルマン病、関節炎、関節リウマチ、ベーチェット病、ぶどう膜炎、壊疽性膿皮症、結節性紅斑、外傷性脳損傷、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス(SLE)、重症筋無力症、若年発症糖尿病、1型糖尿病、ギラン・バレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、強直性脊椎炎、乾癬、シェーグレン症候群、血管炎、糸球体腎炎、自己免疫性甲状腺炎、水疱性類天疱瘡、サルコイドーシス、魚鱗癬、グレーブス眼症、アジソン病、白斑、尋常性ざ瘡、骨盤炎症性疾患、再灌流傷害、サルコイドーシス、移植片拒絶反応、間質性膀胱炎、アテローム性動脈硬化症、およ

びアトピー性皮膚炎が挙げられる。

[0037] 本開示の技術の適用においては、HLA拘束性も考慮すべきである。細胞傷害性（キラー）T細胞が疾患要因を認識して、これを傷害することにより排除する際に、キラーT細胞が認識する疾患要因抗原由来のペプチドとHLAクラスⅠ分子の複合体が同定されており、このようなクラスの情報を用いることができる。特定の疾患要因では、共通の抗原に共通するHLA型があり、この手法を本開示の樹状細胞製剤の特定の cohorts に用いる抗原ペプチドの同定に用いることができる。この特定のHLA型のトランスジェニックマウスに、これらの合成ペプチドを免疫した後に、キラーT細胞に免疫応答を誘導できるペプチドを同定することができ、これを利用することができる。同様の手法とHLA抗原のT_gmを利用して、日本人集団で最も頻度が高いHLAの特定の分子に結合する疾患要因の抗原由来のペプチドを特定することができ、この手法を本開示の樹状細胞製剤の特定の cohorts に用いる抗原ペプチドの同定に用いることができる（手法として以下を参照することができる：Chen, Y. -Z., Liu, G., Senju, S., Wang, Q., Irie, A., Haruta, M., ...Nishimura, Y. (2010). Identification of SARS-COV Spike Protein-Derived and HLA-A2-Restricted Human CTL Epitopes by Using a New Muramyl Dipeptide-Derivative Adjuvant. International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 165-177. <https://doi.org/10.1177/039463201002300115>）。このような情報を用いて、疾患要因の排除に寄与するキラーT細胞が認識する特定のHLA型（特定したもの以外のHLAタイプについては、別途特定することで同定したものに特有なHLAタイプ）と結合するウイルス抗原を同定することができ、これらHLAを発現するヒトのES細胞から樹状細胞を分化誘導の手法

を用いて製造された本開示の樹状細胞ワクチンを用いると、キラーT細胞を抗原特異的に活性化がなされ、サイトカインストームなどによる重症化を防ぐことが期待される。本開示で使用される代表的な抗原ペプチドはHLA拘束性のものであり得、あるいはHLA非拘束性のものであり得る。拘束性にする場合シングルペプチドなどでも対応可能であるが、非拘束性にする場合、overlapさせた複数のpeptideを使用するか、ウイルス核酸をelectroporationすることが好ましい。

[0038] なお、T細胞には大きく分けて2種類が存在している。CD8+T細胞とCD4+T細胞である。この2種類のT細胞は認識する抗原が本質的に異なっている。CD8+T細胞はクラスIと呼ばれる種類のHLA（MHC）に結合した、代表的には9つのアミノ酸でできたペプチドを認識する。他方CD4+T細胞はクラスIIと呼ばれるMHCに結合するペプチドを認識する。HLA（MHC）クラスIIに結合するペプチドの長さは、例として、15～24つ（これに限定されない）のアミノ酸と考えられている。HLA（MHC）クラスI分子はすべての体細胞に発現しており、自己細胞が産生しているタンパク質断片を結合させて提示する。HLA（MHC）クラスII分子はマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞やB細胞など限られた細胞に発現している。通常体細胞と異なり、抗原提示細胞は外界からタンパク質を取り込み分解した後にHLA（MHC）クラスI、II分子と結合させて提示する。したがって、CD8+T細胞は主に体細胞上の内因性HLA（MHC）クラスI拘束性抗原を認識し、CD4+T細胞は抗原提示細胞上の外来性HLA（MHC）クラスII拘束性抗原を認識している。ヒトでは、MHCクラスIはHLA A、B、Cであり、MHCクラスIIはHLA DR、DQ、DPである。

[0039] 本明細書において「医薬（組成物）」の剤形は特に限定されず、固形状、半固形状、又は液状製剤のいずれであってもよく、その利用目的等に応じて選択することができる。細胞製剤の場合は、液状製剤として提供されることが通常であるが、凍結あるいは凍結乾燥されて提供されてもよい。医薬組成

物の剤形としては、例えば、第十七改正日本薬局方製剤総則または各国における同等物等に記載の剤形が挙げられる。

[0040] 本明細書において「ワクチン」とは抗原または細胞を含み、生体内に投与されて、抗体を産生しうる因子、細胞性免疫能を増強しうる因子をいい、またはかかる因子を産生しうる物質をいう。抗原とは、選択された物質をいい、その物質に対する免疫応答をヒトなどの脊椎動物において誘発するための組成物をいう。

[0041] 本明細書において「薬剤」、「剤」または「因子」（いずれも英語では *agent* に相当する）は、広義には、交換可能に使用され、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、光、放射能、熱、電気などのエネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子が挙げられるがそれらに限定されない。

[0042] 本明細書において「治療」とは、疾患もしくは症状の治癒又は改善、或いは症状の抑制を意味する。そのような状態になった場合に、そのような疾患または障害の悪化を防止、好ましくは、現状維持、より好ましくは、軽減、さらに好ましくは消退させることをいい、患者の疾患、もしくは疾患に伴う1つ以上の症状の、症状改善効果あるいは予防効果を発揮しうることを含む。事前に診断を行って適切な治療を行うことは「コンパニオン治療」または「テーラーメイド治療」といい、そのための診断薬を「コンパニオン診断薬」ということがある。

[0043] 本明細書において「予防」とは、疾患又は症状の発現を未然に防ぐことを意味する。

[0044] 本明細書において「処置」とは、疾患または症状に対する任意の処置を意味し、治療および予防を含む。

[0045] 本明細書において「診断」とは、被験体における疾患、障害、状態（例えば、がん、ウイルス感染など）などに関連する種々のパラメータを同定し、そのような疾患、障害、状態の現状または未来を判定することをいう。本開示の方法、装置、システムを用いることによって、体内の状態を調べることができ、そのような情報を用いて、被験体における疾患、障害、状態、投与すべき処置または予防のための処方物または方法などの種々のパラメータを選定することができる。本明細書において、狭義には、「診断」は、現状を診断することをいうが、広義には「早期診断」、「予測診断」、「事前診断」等を含む。本開示の診断方法は、原則として、身体から出たものを利用することができ、医師などの医療従事者の手を離れて実施することができることから、産業上有用である。本明細書において、医師などの医療従事者の手を離れて実施することができることを明確にするために、特に「予測診断、事前診断もしくは診断」を「支援」と称することがある。

[0046] 本明細書において「被験体（者）」とは、本開示の診断または検出、あるいは治療等の対象となる対象（例えば、ヒト等の生物または生物から取り出した細胞、血液、血清等）をいう。

[0047] 本明細書において「試料」とは、被験体等から得られた任意の物質をいい、例えば、血清等が含まれる。当業者は本明細書の記載をもとに適宜好ましい試料を選択することができる。

[0048] 本明細書において「キット」とは、通常2つ以上の区画に分けて、提供されるべき部分（例えば、検査薬、診断薬、治療薬、抗体、標識、説明書など）が提供されるユニットをいう。安定性等のため、混合されて提供されるべきでなく、使用直前に混合して使用することが好ましいような組成物の提供を目的とするときに、このキットの形態は好ましい。そのようなキットは、好ましくは、提供される部分（例えば、検査薬、診断薬、治療薬をどのように使用するか、あるいは、試薬をどのように処理すべきかを記載する指示書ま

たは説明書を備えていることが有利である。本明細書においてキットが試薬キットとして使用される場合、キットには、通常、検査薬、診断薬、治療薬、抗体等の使い方などを記載した指示書などが含まれる。

[0049] 本明細書において「指示書」は、本開示を使用する方法を医師または他の使用者に対する説明を記載したものである。この指示書は、本開示の検出方法、診断薬の使い方、または医薬などを投与することを指示する文言が記載されている。また、指示書には、投与部位として、経口、食道への投与（例えば、注射などによる）することを指示する文言が記載されていてもよい。この指示書は、本開示が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書（package insert）であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体（例えば、インターネットで提供されるホームページ、電子メール）のような形態でも提供され得る。

[0050] 本明細書において「機能的等価物」とは、対象となるもとの実体に対して、目的となる機能が同じであるが構造が異なる任意のものをいう。従って、「疾患関連因子」またはその一部の機能的等価物は、疾患関連因子またはその一部自体ではないが、疾患関連因子またはその一部の変異体または改変体（例えば、核酸アナログ、アミノ酸配列改変体等）であって、疾患関連因子またはその一部の持つ生物学的作用を有するもの、ならびに、作用する時点において、疾患関連因子またはその一部自体またはこの疾患関連因子またはその一部の変異体もしくは改変体に変化することができるもの（例えば、疾患関連因子またはその一部自体または疾患関連因子またはその一部の変異体もしくは改変体をコードする核酸、およびその核酸を含むベクター、ウイルス、リポソーム、細胞等を含む）が包含されることが理解される。本開示において、疾患関連因子質またはその一部の機能的等価物は、格別に言及していなくても、疾患関連因子またはその一部と同様に用いられうることを理解される。機能的等価物は、データベース等を検索することによって、見出す

ことができる。本明細書において「検索」とは、電子的にまたは生物学的あるいは他の方法により、ある核酸塩基配列を利用して、特定の機能および／または性質を有する他の核酸塩基配列を見出すことをいう。電子的な検索としては、BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990))、FASTA (Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:2444-2448 (1988))、Smith and Waterman法 (Smith and Waterman, J. Mol. Biol. 147:195-197 (1981))、およびNeedleman and Wunsch法 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970))などが挙げられるがそれらに限定されない。生物学的な検索としては、ストリンジェントハイブリダイゼーション、ゲノムDNAをナイロンメンブレン等に貼り付けたマクロアレイまたはガラス板に貼り付けたマイクロアレイ（マイクロアレイアッセイ）、PCRおよびinsituハイブリダイゼーションなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において、本開示において使用される遺伝子には、このような電子的検索、生物学的検索によって同定された対応遺伝子も含まれるべきであることが意図される。

[0051] 本明細書において「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）が包含される。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然アミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプチド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。本明細書において、「アミ

ノ酸」は、アミノ基とカルボキシル基を持つ有機化合物の総称である。本開示の実施形態に係る抗体が「特定のアミノ酸配列」を含むとき、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸が化学修飾を受けていてもよい。また、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸が塩、または溶媒和物を形成していてもよい。また、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸がL型、またはD型であってもよい。それらのような場合でも、本開示の実施形態に係る蛋白質は、上記「特定のアミノ酸配列」を含むといえる。蛋白質に含まれるアミノ酸が生体内で受ける化学修飾としては、例えば、N末端修飾（例えば、アセチル化、ミリスチル化等）、C末端修飾（例えば、アミド化、グリコシルホスファチジルイノシトール付加等）、または側鎖修飾（例えば、リン酸化、糖鎖付加等）等が知られている。アミノ酸は、本開示の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。

[0052] 本明細書において「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「オリゴヌクレオチド誘導体」または「ポリヌクレオチド誘導体」を含む。「オリゴヌクレオチド誘導体」または「ポリヌクレオチド誘導体」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチルリボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-P5' ホスホロアミデート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5プロピニルウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5チアゾールウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロ

ピニルシトシンで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、DNA中のリボースが2' -O-プロピルリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体およびオリゴヌクレオチド中のリボースが2' -メトキシエトキシリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体などが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る (Batzer et al., Nucleic Acid Res.19:5081(1991);Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260: 2605-2608(1985);Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994))。本明細書において「核酸」はまた、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと互換可能に使用される。本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。

[0053] 本明細書において「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいい、「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」をさすことがある。

[0054] 本明細書において遺伝子の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいい、一般に「相同性」を有するとは、同一性または類似性の程度が高いことをいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ま

しくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。従って本明細書において「相同体」または「相同遺伝子産物」は、本明細書にさらに記載する複合体のタンパク質構成要素と同じ生物学的機能を発揮する、別の種、好ましくは哺乳動物におけるタンパク質を意味する。このような相同体はまた、「オルソログ遺伝子産物」とも称されることもある。本開示の目的に合致する限り、このような相同体、相同遺伝子産物、オルソログ遺伝子産物等も用いることができることが理解される。

[0055] アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるBLASTを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。同一性の検索は例えば、NCBIのBLAST2.2.28 (2013.4.2発行あるいはより最近のものであってもよい)を用いて行うことができる。本明細書における同一性の値は通常は上記BLASTを用い、デフォルトの条件でアラインした際の値をいう。ただし、パラメータの変更により、より高い値が出る場合は、最も高い値を同一性の値とする。複数の領域で同一性が評価される場合はそのうちの最も高い値を同一性の値とする。類似性は、同一性に加え、類似のアミノ酸についても計算に入れた数値である。

[0056] 本開示の一実施形態において「数個」は、例えば、8、7、6、5、4、3、または2個であってもよく、それらいずれかの値以下であってもよい。1または数個のアミノ酸残基の欠失、付加、挿入、または他のアミノ酸による置換を受けたポリペプチドが、その生物学的活性を維持することは知られている (Mark et al., Proc Natl Acad Sci USA, 1984 Sep;81(18): 5662-5666., Zoller et al., Nucleic Acids Res. 1982 Oct 25;10(20):6487-6500., Wang et al., Science. 1984 Jun 29;224(4656):1431-1

433.)。欠失等がなされた適宜の方法で活性を測定することで機能的等価物かどうかを判定することができる。

[0057] 本開示の一実施形態において「90%以上」は、例えば、90、95、96、97、98、99、または100%以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。上記「相同性」は、2つもしくは複数間のアミノ酸配列において相同なアミノ酸数の割合を、当該技術分野で公知の方法に従って算定してもよい。割合を算定する前には、比較するアミノ酸配列群のアミノ酸配列を整列させ、同一アミノ酸の割合を最大にするために必要である場合はアミノ酸配列の一部に間隙を導入する。整列のための方法、割合の算定方法、比較方法、およびそれらに関連するコンピュータプログラムは、当該技術分野で従来からよく知られている(例えば、BLAST、GENETYX等)。本明細書において「相同性」は、特に断りのない限りNCBIのBLASTによって測定された値で表すことができる。BLASTでアミノ酸配列を比較するときのアルゴリズムには、Blastpをデフォルト設定で使用できる。測定結果はPositivesまたはIdentitiesとして数値化される。

[0058] 本開示の物質は精製されたものであってもよく、本明細書において「精製された」物質または生物学的因子(例えば、核酸またはタンパク質など)とは、その物質または生物学的因子に天然に随伴する因子の少なくとも一部が除去されたものをいう。従って、通常、精製された生物学的因子におけるその生物学的因子の純度は、その生物学的因子が通常存在する状態よりも高い(すなわち濃縮されている)。本明細書中で使用される用語「精製された」は、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。本開示で用いられる物質または生物学的因子は、好ましくは「精製された」物質である。本明細書で使用される「単離された」物質または生物学的因子(例えば、核酸またはタンパク質など)とは、その物質または生物学的因子に天然に随伴する因子が実質的に除去されたものをいう。本明細書中で使用される用語

「単離された」は、その目的に応じて変動するため、必ずしも純度で表示される必要はないが、必要な場合、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。本開示で用いられる物質は、好ましくは「単離された」物質または生物学的因子である。

[0059] 本明細書において「対応する」アミノ酸または核酸あるいは部分とは、あるポリペプチド分子またはポリヌクレオチド分子（例えば、スパイクタンパク質をコードするポリヌクレオチド等）において、比較の基準となるポリペプチドまたはポリヌクレオチドにおける所定のアミノ酸またはヌクレオチドあるいは部分と同様の作用を有するか、または有することが予測されるアミノ酸またはヌクレオチドをいい、特に酵素分子にあっては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸をいい、複合分子にあっては対応する部分（例えば、ヘパラン硫酸等）をいう。例えば、アンチセンス分子であれば、そのアンチセンス分子の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり得る。対応するアミノ酸は、例えば、システイン化、グルタチオン化、S-S結合形成、酸化（例えば、メチオニン側鎖の酸化）、ホルミル化、アセチル化、リン酸化、糖鎖付加、ミリスチル化などがされる特定のアミノ酸であり得る。あるいは、対応するアミノ酸は、二量体化を担うアミノ酸であり得る。このような「対応する」アミノ酸または核酸は、一定範囲にわたる領域またはドメインであってもよい。従って、そのような場合、本明細書において「対応する」領域またはドメインと称される。このような対応する領域またはドメインは、本明細書において複合分子を設計する場合に有用である。

[0060] 本明細書において「対応する」遺伝子（例えば、ポリヌクレオチド配列または分子）とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子（例えば、ポリヌクレオチド配列または分子）をいい、そのような作用を有する遺伝

子が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子に対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログであり得る。従って、ヒトの特定の遺伝子は、それぞれ、他の動物（特に哺乳動物）において、対応する特定の遺伝子を見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。従って、例えば、ある動物（例えば、マウス）における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺伝子（例えば、Sタンパク質等）は、基準となる遺伝子の配列をクエリ配列として用いてその動物の配列を含むデータベースを検索することによって見出すことができる。

[0061] 本明細書において「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド（長さが n ）に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、このようなフラグメントは、例えば、全長のものがマーカーまたは標的分子として機能する場合、そのフラグメント自体もまたマーカーまたは標的分子としての機能を有する限り、本開示の範囲内に入ることが理解される。

[0062] 本開示に従って、用語「活性」は、本明細書において、最も広い意味での分子の機能を指し、機能的等価物の評価に参酌することができる。活性は、限定を意図するものではないが、概して、分子の生物学的機能、生化学的機能、物理的機能または化学的機能を含む。活性は、例えば、酵素活性、他の分子と相互作用する能力、および他の分子の機能を活性化するか、促進する

か、安定化するか、阻害するか、抑制するか、または不安定化する能力、安定性、特定の細胞内位置に局在する能力を含む。適用可能な場合、この用語はまた、最も広い意味でのタンパク質複合体の機能にも関する。

[0063] 本明細書において「生物学的機能」とは、ある遺伝子またはそれに関する核酸分子もしくはポリペプチドについて言及するとき、その遺伝子、核酸分子またはポリペプチドが生体内において有し得る特定の機能をいい、これには、例えば、特異的な抗体の生成、酵素活性、抵抗性の付与等を挙げることができるがそれらに限定されない。本明細書において、生物学的機能は、「生物学的活性」によって発揮され得る。本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリヌクレオチド、タンパク質など）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能（例えば濾胞性T細胞惹起能）を発揮する活性が包含され、例えば、ある分子との相互作用によって別の分子が活性化または不活化される活性も包含される。2つの因子が相互作用する場合、その生物学的活性は、その二分子の間の結合およびそれによって生じる生物学的変化であり得、そして、例えば、一つの分子を抗体を用いて沈降させたときに他の分子も共沈するとき、2分子は結合していると考えられる。従って、そのような共沈を見ることが一つの判断手法として挙げられる。例えば、ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。そのような生物学的活性は、当該分野において周知の技術によって測定することができる。従って、「活性」は、結合（直接的または間接的のいずれか）を示すかまたは明らかにするか；応答に影響する（すなわち、いくらかの曝露または刺激に応答する測定可能な影響を有する）、種々の測定可能な指標をいい、例えば、本開示のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに直接結合する化合物の親和性、または例えば、いくつかの刺激後または事象後の上流または下流のタンパク質の量あるいは他の類似の機能の尺度が挙げられる。

[0064] 本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現

」とは、その遺伝子などがインビボで一定の作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレオチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製されることもまた発現の一態様である。したがって、本明細書において「発現産物」とは、このようなポリペプチドもしくはタンパク質、またはmRNAを含む。より好ましくは、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。

[0065] 本開示の機能的等価物としては、アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加されたものを用いることができる。本明細書において、「アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加」とは、部位特異的突然変異誘発法等の周知の技術的方法により、あるいは天然の変異により、天然に生じ得る程度の複数個の数のアミノ酸の置換等により改変がなされていることを意味する。改変アミノ酸配列は、例えば1〜30個、好ましくは1〜20個、より好ましくは1〜9個、さらに好ましくは1〜5個、特に好ましくは1〜2個のアミノ酸の挿入、置換、もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加がなされたものであることができる。改変アミノ酸配列は、好ましくは、そのアミノ酸配列が、ウイルスのSタンパク質などのアミノ酸配列において1または複数個（好ましくは1もしくは数個または1、2、3、もしくは4個）の保存的置換を有するアミノ酸配列であってもよい。ここで「保存的置換」とは、タンパク質の機能を実質的に改変しないように、1または複数個のアミノ酸残基を、別の化学的に類似したアミノ酸残基で置換えることを意味する。例えば、ある疎水性残基を別の疎水性残基によって置換する場合、ある極性残基を同じ電荷を有する別の極性残基によって置換する場合などが挙げられる。このような置換を行うことができる機能的に類似のアミノ酸は、アミノ酸毎に当該分野において公知である。具体例を挙げると、非極性（疎水性）アミノ酸としては、アラニン、バリン、イソロイシン、ロイシン、プロリン、トリプトファン、

フェニルアラニン、メチオニンなどが挙げられる。極性（中性）アミノ酸としては、グリシン、セリン、スレオニン、チロシン、グルタミン、アスパラギン、システインなどが挙げられる。陽電荷をもつ（塩基性）アミノ酸としては、アルギニン、ヒスチジン、リジンなどが挙げられる。また、負電荷をもつ（酸性）アミノ酸としては、アスパラギン酸、グルタミン酸などが挙げられる。

[0066] （好ましい実施形態）

以下に本開示の好ましい実施形態を説明する。以下に提供される実施形態は、本開示のよりよい理解のために提供されるものであり、本開示の範囲は以下の記載に限定されるべきでない。したがって、当業者は、本明細書中の記載を参酌して、本開示の範囲内で適宜改変を行うことができることは明らかである。また、本開示の以下の実施形態は単独でも使用されあるいはそれらを組み合わせて使用することができる。

[0067] 本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法、これに関連する組成物、システム、プログラム、これを格納する記録媒体など任意の医療技術に関する。

[0068] 本開示において、本開示の医療技術は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量の測定の結果に基づいて、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも1つを行うことをさらに含む。

[0069] 1つの実施形態において、これらの評価は、例えば、感染履歴の評価、ワクチン有効性評価(Tfh誘導の有無)、再感染防御能の評価、がん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価、自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価などを含むがこれらに限定されない。

[0070] 一局面において、本開示は、ある疾患の疾患関連因子に特異的な濾胞性T

細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部を同定する工程と、該疾患関連因子またはその一部を用いて疾患に特異的な濾胞性T細胞を惹起させる工程と、該疾患に特異的な濾胞性T細胞を得る工程とを含む、疾患に特異的な濾胞性T細胞を生産する方法を提供する。

[0071] 一局面において、本開示は、疾患に反応性の濾胞性T細胞をスクリーニングする方法であって、A) 濾胞性T細胞の集団を提供する工程と、B) 該濾胞性T細胞の集団と疾患関連因子とを接触させる工程と、C) 該濾胞性T細胞の該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物への反応性を測定する工程と、D) 該濾胞性T細胞の集団のうち、該疾患関連因子に対して所定値以上の反応性を示す濾胞性T細胞を選択する工程とを含む、方法を提供する。

[0072] 一実施形態において、A) 濾胞性T細胞の集団を提供する工程は、被験体から採血、または生検などによって行うことができる。

[0073] 一実施形態において、B) 該濾胞性T細胞の集団と疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物とを接触させる工程は、例えば、濾胞性T細胞の集団を培養する培養液に、疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を添加し、必要に応じてその後培養、インキュベーションまたは静置することにより行うことができる。

[0074] 一実施形態において、C) 該濾胞性T細胞の該疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物への反応性を測定する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により実施することができる。

[0075] 一実施形態において、所定値として、疾患に罹患していない被験体における、濾胞性T細胞の疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物に対する反応性の平均値または中央値をしてもよい。

<診断>

[0076] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベ

ルまたは量を測定することを含む、疾患を検査または診断するための方法を提供する。

[0077] 他の局面において、本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定すること、および該レベルまたは量を所定の基準と比較することを含む、該被検体に対する該疾患を試験するための方法を提供する。一部の実施形態において、所定の基準は、健常者の濾胞性T細胞のレベルまたは量の平均値または中央値であり得る。他の実施形態において、所定の基準は、論文の参考値であり得る。

[0078] 別の局面において、本開示は、疾患の感染履歴の評価をするための方法、疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をするための方法、疾患のがん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価をするための方法または自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価をするための方法を提供する。これらの方法は疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む。

[0079] 一部の実施形態において、前記測定は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われてもよい。

[0080] 一実施形態において、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することは、例えば、以下のように実施することができる。

[0081] 被検体に由来する末梢血を、感染源特異的なエピトープを含むプローブと接触させ、プローブに結合する末梢血中の濾胞性T細胞の量をELISPOTやフローサイトメトリーにより測定することができ、ELISPOTやフローサイトメトリーは本明細書において他の場所において例示されている。

[0082] 本開示で用いるELISPOTを用いることができる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞(PBMC)をウェルに加え、感染源由来抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャ

プチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、感染源由来抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

[0083] 本開示において、フローサイトメトリーを利用することができ、これは、末梢血単核細胞（PBMC）を感染源由来抗原を用いて36時間刺激する。FSC SS C gating、PI negative gating、CD3 positive gatingを行い、CD4, CXCR5のdouble positive分画およびまたは、さらに感染源由来抗原と結合したHLAテトラマーのtriple positive分画のFCM解析を行う。感染源由来抗原による刺激を加えないサンプルをネガティブコントロールとして用い比較する。

[0084] 特定の実施形態において、測定した疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を、所定値（例えば、ネガティブコントロールの測定値や健常者の測定値）と比較することで、疾患を検査または診断することができる。

[0085] 他の局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、疾患の感染履歴の評価をするための方法を提供する。抗体による感染履歴評価はよく行われているが、抗体に比べ特異的免疫細胞は長期間維持されるため、感染履歴を調べる上で、感染源特異的な免疫細胞を同定することが有益である。

[0086] 疾患の感染履歴の評価の一実施形態において、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することは、例えば、以下のように実施することができる。

被検体に由来する末梢血を、感染源特異的なエピトープを含むプローブと接触させ、プローブに結合する末梢血中の濾胞性T細胞の量をELISPOTやフローサイトメトリーにより測定することができ、ELISPOTやフローサイトメトリーは本明細書において他の場所において例示されている。

[0087] 特定の実施形態において、測定した疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を、所定値（例えば、ネガティブコントロールの測定値や健常者の測定値）と比較することで、疾患の感染履歴の評価をすることがで

きる。

[0088] 別の局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をするための方法を提供する。抗体に比べ感染源特異的免疫細胞は長期間維持され、再感染時に迅速に応答しうる点で免疫細胞の防御能を評価することができる。

[0089] 疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量の測定の一実施形態において、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することは、例えば、以下のように実施することができる。

[0090] 被検体に由来する末梢血を、感染源特異的なエピトープを含むプローブと接触させ、プローブに結合する末梢血中の濾胞性T細胞の量をELISPOTやフローサイトメトリーにより測定することができ、ELISPOTやフローサイトメトリーは本明細書において他の場所において例示されている。

[0091] 特定の実施形態において、測定した疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を、所定値（例えば、ネガティブコントロールの測定値や健常者の測定値）と比較することで、疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をすることができる。

[0092] 一部の局面において、本開示は、がん関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、疾患のがん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価をするための方法を提供する。

[0093] がん関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量の測定の一実施形態において、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することは、例えば、以下のように実施することができる。

[0094] 被検体に由来する末梢血を、感染源特異的なエピトープを含むプローブと接触させ、プローブに結合する末梢血中の濾胞性T細胞の量をELISPOTやフローサイトメトリーにより測定することができ、ELISPOTやフローサイトメトリーは本明細書において他の場所において例示されている。

[0095] 特定の実施形態において、測定した疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞

のレベルまたは量を、所定値（例えば、ネガティブコントロールの測定値や健常者の測定値）と比較することで、疾患のがん免疫薬剤（免疫チェックポイントなど）有効性評価をすることができる。

[0096] 特定の局面において、本開示は、自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価（未病時）、病態評価をするための方法を提供する。自己抗体を伴う自己免疫疾患は多いが、その中でも自己抗体が病原性を持つと考えられる疾患（例えばANCA関連血管炎）においては、自己抗体を産生するB細胞と相互作用する濾胞性T細胞の有無・増減が、B細胞の成熟に伴う発症や病態悪化/再燃につながる事が考えられる。

[0097] 自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量の測定の一実施形態において、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することは、例えば、以下のように実施することができる。

[0098] 被検体に由来する末梢血を、感染源特異的なエピトープを含むプローブと接触させ、プローブに結合する末梢血中の濾胞性T細胞の量をELISPOTやフローサイトメトリーにより測定することができ、ELISPOTやフローサイトメトリーは本明細書において他の場所において例示されている。

[0099] 特定の実施形態において、測定した疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を、所定値（例えば、ネガティブコントロールの測定値や健常者の測定値）と比較することで、自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価（未病時）、病態評価をすることができる。

[0100] 具体的な実施形態では、上述した各種量またはレベルを測定することにより、診断または検査を行うことができる。診断・検査としては自己免疫疾患や他の疾患（神経変性疾患など）、免疫レパトアが変化するものは適用され得る、以下のような具体例が想定され得る。

1. 感染履歴の評価
2. ワクチン有効性評価（Tfh誘導の有無）
3. 再感染防御能の評価

4. がん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価

5. 自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価

[0101] 一つの実施形態において、本開示は、感染履歴の評価技術を提供することができる。

抗体による感染履歴評価はよく行われているが、抗体に比べ特異的免疫細胞は長期間維持されるため、感染履歴を調べる上で、感染源特異的な免疫細胞を同定することが有益である。感染源特異的なエピトープを含むプローブを用いたT細胞検出法は、簡便に感染後成立し維持された免疫細胞を検出する方法として有益である。プローブに反応するT細胞の有無は末梢血単核細胞(PBMC)を用いたELISPOTやフローサイトメトリーを用いた系によって容易に検出することが可能である。プローブ反応性のT細胞が検出されれば過去に感染したと判定され得る。それ以外にも、健常者と比較して多くのプローブ反応性のT細胞

が検出されれば過去に感染したと判定することができる。

[0102] ・感染の診断への応用

免疫細胞による特異的応答は感染後数日から2週間程度で成立し、それ以降長期に維持されることが知られている。そのため、選択されたエピトープを用いれば感染後、感染症の病原体が体内から排除された後、あるいは検出できないほど抑制された状態でも、免疫状態から感染履歴を判断することができる。

[0103] ・感染履歴の評価の具体的な手順

特定感染症に関連するエピトープと患者または回復者で特定感染症に対する獲得免疫が成立していると考えられる検体を用いて、濾胞性T細胞の反応性を確認し、濾胞性T細胞を誘導するエピトープを同定する。ここで、特定感染症に特異的な免疫細胞による応答であることを担保するため、エピトープの他の感染症抗原や疾患関連抗原との配列保存性、望ましくは実際に検体やエピトープ反応性T細胞を用いて交差反応性を評価し、興味ある特定感染症に特異的なエピトープを選択する。これにより、特定感染症に感染履歴を持つ場

合にのみ選択されたエピトープに反応することが担保され、感染履歴の評価に用いることができる。

[0104] 一つの実施形態において、本開示は、ワクチン有効性評価・再感染防御能の評価を提供する。

抗体に比べ感染源特異的免疫細胞は長期間維持され、再感染時に迅速に応答しうる点で免疫細胞の防御能を評価することができる。また、濾胞性T細胞は多くのT細胞分画の中でも液性免疫の誘導と強化(親和性成熟)に重要な分画であるため、特に濾胞性T細胞を誘導する当該感染源エピトープを含むプローブと反応するT細胞を持つ被験者はより強い、あるいは質的に優位な感染防御能を有すると判断される。免疫細胞による特異的応答はワクチン抗原にのみ反応するため、当該エピトープによる反応性を見ることで、ワクチン接種後にワクチン対象疾患に対する免疫の有無や強度が判断できる。

・ワクチン有効性評価・再感染防御能の具体的な手順

ワクチンに含まれるT細胞エピトープの中で、ワクチン対象疾患の患者または回復者でワクチン対象疾患に対する獲得免疫が成立していると考えられる検体を用いて、濾胞性T細胞の反応性を確認し、濾胞性T細胞を誘導するエピトープを同定する。ここで、ワクチン抗原に特異的な免疫細胞による応答であることを担保するため、エピトープの他の感染症抗原や疾患関連抗原との配列保存性、望ましくは実際に検体やエピトープ反応性T細胞を用いて交差反応性を評価し、ワクチンに特異的な濾胞性T細胞エピトープを選択する。これにより、ワクチン対象疾患に感染履歴を持つ場合およびワクチン接種でのみ選択されたエピトープに反応することが担保され、ワクチン有効性の評価に用いることができる。免疫細胞による特異的応答はワクチン抗原にのみ反応するため、当該エピトープによる反応性を見ることで、ワクチン接種後にワクチン対象疾患に対する免疫の有無や強度が判断できる。これにより、ワクチン有効性評価・再感染防御能を評価することができる。

[0105] 以上のように、感染後やワクチン摂取後に成立した免疫評価法として、PBM Cに対しプローブ反応性の細胞を調べることが有効であると考えられる。評価

法は上記と同様にELISPOTやフローサイトメトリーを用いることができる。これらの方法は、検出サイトカインを変更したり、表面抗原プローブを組み合わせることで、エピトーププローブに反応したT細胞が実際に濾胞性T細胞であったか、どの程度の割合がそうであったかを検出することもでき、検出感度や判定基準に応じて実験系を設計することができる。

[0106] 濾胞性T細胞は表面抗原や放出するサイトカインにより特徴付けられる。従って、ELISPOTであればエピトープとの反応後、細胞から放出される濾胞性T細胞特有のサイトカイン、具体的にはIL-21などを検出することにより、フローサイトメトリーであればCXCR5など濾胞性T細胞に特徴的な細胞表面抗原を捕捉することにより、反応したT細胞が濾胞性T細胞であったかを確認できる。さらに、他のT細胞に特有のサイトカインや表面抗原を合わせて捕捉することによりエピトープごとに誘導されたT細胞における濾胞性T細胞の優位性を評価できる。ここで、放出サイトカインはエピトープ刺激前との比較や、あらかじめコントロールとして用意したpositive/negative controlと比較することにより、当該エピトープ特異的濾胞性T細胞の誘導能を評価し、さらにその値を基準に、感染後やワクチン接種後に成立した免疫の評価を行うことができる。

[0107] 本開示では、別の実施形態では、再感染防御能の評価を行うことができる。

[0108] ワクチン抗原、あるいは感染症抗原特異的な濾胞性T細胞の応答を上記のELISPOTやフローサイトメトリーにより検出することで、免疫記憶として維持されている興味ある感染症に対する免疫の強度を理解できる。厳密には大規模な疫学的検討が必要になる場合もあるが、濾胞性T細胞の応答のレベルまたは量の測定値と感染防御あるいは重症化予防(被験者の一定期間の感染有無を評価し、感染があった人数と被験者の濾胞性T細胞の応答のレベルまたは量の測定値の相関を評価)との関連を見出すことで、再感染防御能の指標として用いることができる。

[0109] 一つの実施形態において、本開示は、がん免疫薬剤(免疫チェックポイント

など)有効性評価を提供する。

[0110] がん抗原に対する液性免疫応答が惹起されれば、より高い抗腫瘍性が期待される。そのため、抗腫瘍液性免疫応答が誘導される濾胞性T細胞がより多く検出される被験者は、被験者の抗腫瘍免疫が活性化しやすく、免疫チェックポイント阻害剤など被験者の抗腫瘍免疫を強化する薬剤がより有効であると考えられる。

[0111] 個々の患者の腫瘍特異的なT細胞は末梢においては極めて微量でex vivoでの検出は非常に困難であるが、患者腫瘍との共培養など、腫瘍特異的T細胞を濃縮する方法により腫瘍に対する応答を検出することが可能である。細胞障害性(CD8+)T細胞の応答がより強く出ることが想定されるため、末梢からCD8+T細胞を除き、CD4+T細胞と抗原提示細胞(不死化したB細胞など)を患者腫瘍あるいは患者由来腫瘍細胞株と共培養することにより腫瘍特異的濾胞性T細胞の応答を見やすくし、濾胞性T細胞の応答のレベルまたは量の測定値に基づき、被験者の抗腫瘍免疫を評価することができる。より好ましくは、がん免疫薬剤投与前に行われた手術あるいは生検検体を用いて、腫瘍局所あるいは腫瘍微小環境に存在する濾胞性T細胞のex vivoでの評価が行える。ここでは濾胞性T細胞の数やサイトカインのレベルだけでなく、将来濾胞性T細胞を誘導すると考えられるCXCL13などのケモカイン、さらに予後との良い相関が示唆される3次リンパ様構造に関連するIL-7などや逆に負の相関が示唆されるIL-10など抑制性サイトカインのレベルも合わせて評価することでより精度の高い有効性評価が行えると考えられる。

[0112] 腫瘍生検検体や末梢血から得られたT細胞とエピトーププローブとの反応性を評価することで、被験者の抗腫瘍免疫の活動度を評価し、治療法選択に役立てることが考えられる。また、エピトーププローブとフローサイトメトリーを組み合わせ、薬剤投与中のエピトープ特異的濾胞性T細胞(腫瘍特異的濾胞性T細胞)の活性化や疲弊度を評価することで、抗腫瘍免疫の活動が維持されているかどうか調べることを期待される。これは免疫チェックポイント阻害剤が今後も有効であるか、治療を中断し別の治療法を模索すべきか等の判

断に有効である。

[0113] 個々の濾胞性T細胞の活性化は例えばIL-21やICOSの発現、IL-21の産性能で評価される。疲弊度はPD-1による評価が一般的だが、他の疲弊マーカーであるLAG3, TIM3, TIGITなども使うことが可能である。

[0114] 本明細書において使用されるT細胞の疲弊度の評価方法は、当該分野で公知の任意の手法について実施することができる。例えば、T細胞の疲弊度はフローサイトメトリーおよび同等の試験によるPD-1陽性細胞の(興味ある細胞分画における)割合により評価することができる。疲弊度は、20%から100%まで様々であり得る。限定するものではないが、疲弊度の測定は、” PD-1BlockadeTherapy Promotes Novel Infiltration of Tumor-Specific T-CellClonotypes ” https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3796528) に記載の方法に基づき測定することができる。

[0115] 一つの実施形態において、本開示は、自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価を提供する。

[0116] 自己抗体を伴う自己免疫疾患は多いが、その中でも自己抗体が病原性を持つと考えられる疾患(例えばANCA関連血管炎)においては、自己抗体を産生するB細胞と相互作用する濾胞性T細胞の有無・増減が、B細胞の成熟に伴う発症や病態悪化/再燃につながることを考えられる。そのため、疾患特異的な自己抗原由来のエピトープを提示する濾胞性T細胞を検出することにより、疾患リスク(発症前)や疾患活動度を評価することができると考えられる。

[0117] 自己免疫疾患の原因となる自己抗体由来のエピトープを提示する濾胞性T細胞を検出する事により評価できる。試験方法としては被験者から採取したPBMCに対しプローブ反応性の細胞をELISPOTやフローサイトメトリーを用いて調べることが考えられる。

[0118] ネガティブコントロールと比較して濾胞性T細胞の増加が確認された場合、疾患リスク(発症前)や疾患活動度が高いと判断できる。

[0119] (抗原の製造法)

本開示のペプチドなどは、化学合成、遺伝子工学により微生物などにより

製造させる方法などの種々の方法を用いて製造することができる。

[0120] 当業者は、本開示および当該技術分野における知識から、抗原を作製する種々の方法があることを理解する。一般に、抗原はインビトロまたはインビボのいずれでも作製し得る。抗原はインビトロでペプチドまたはポリペプチドとして作製されてもよく、次にそれが個別化された新生物ワクチン又は免疫原性組成物に製剤化され、対象に投与されてもよい。本明細書にさらに詳細に記載するとおり、かかるインビトロ作製は、例えば、ペプチド合成または種々の細菌、真核生物、もしくはウイルス組換え発現系のいずれかにおけるDNA、もしくはRNA分子からのペプチド／ポリペプチドの発現と、続く発現したペプチド／ポリペプチドの精製など、当業者に公知の種々の方法によって行われ得る。あるいは、抗原は、抗原をコードする分子（例えば、DNA、RNA、ウイルス発現系など）を対象に導入し、導入後にコードされた抗原が発現することによりインビボで作製されてもよい。抗原のインビトロおよびインビボ作製方法はまた、本明細書において、それが医薬組成物及び併用療法の送達方法に関するとときさらに記載される。

[0121] インビトロペプチド／ポリペプチド合成

タンパク質またはペプチドは、標準的な分子生物学的技法によるタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの発現、天然供給源からのタンパク質、インビトロ翻訳、またはペプチドの単離、またはタンパク質またはペプチドの化学合成を含め、当業者に公知の任意の技法によって作製することができる。様々な遺伝子に対応するヌクレオチドおよびタンパク質、ポリペプチド及びペプチド配列は既の開示されており、当業者に公知のコンピュータ化されたデータベースを参照することができる。一つのかかるデータベースは、国立衛生研究所（National Institutes of Health）ウェブサイトにある国立バイオテクノロジー情報センター（National Center for Biotechnology Information）のGenbankおよびGenPeptデータベースである。既知の遺伝子のコード領域は、本明細書に開示される技法を用いて、ま

たは当業者に公知であるとおりに増幅しおよび／または発現させることができる。あるいは、様々な市販のタンパク質、ポリペプチドおよびペプチド調製物が当業者に公知である。

[0122] ペプチドは、夾雑細菌又は動物性物質を含有しない試薬を利用して容易に化学的に合成することができる (Merrifield RB: 「固相ペプチド合成 I. テトラペプチドの合成 (Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide)」, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54, 1963)。特定の実施形態において、抗原ペプチドの調製は、(1) 均一合成および開裂条件を用いたマルチチャネル機器でのパラレル固相合成; (2) RP-HPLCカラムでのカラムストリッピングによる精製; およびペプチド間での再洗浄、但し交換なし; 続いて (3) 最も情報価値の高い、限られた一組のアッセイによる分析によって行われる。個々の患者の一組のペプチドに関して、医薬品の製造管理および品質管理に関する基準 (GMP) のフットプリントを定義付けることができ、従ってスイート切り替え手順が必要となるのは、異なる患者のペプチド合成間のみである。

[0123] あるいは、本開示の抗原ペプチドをコードする核酸 (例えばポリヌクレオチド) を使用して、抗原ペプチドをインビトロで作製してもよい。ポリヌクレオチドは、例えば、DNA、cDNA、PNA、CNA、RNA、一本鎖および／または二本鎖のいずれかの、または天然のもしくは安定化した形態のポリヌクレオチド、例えばホスホロチオエート (phosphorothiate) 骨格を有するポリヌクレオチドなど、またはそれらの組み合わせであってよく、それがペプチドをコードする限りはイントロンを含んでも、または含まなくてもよい。一実施形態では、インビトロ翻訳を用いてペプチドが作製される。当業者が利用し得る多くの例示的システムが存在する (例えば、Retic Lysate IVTキット、Life Technologies、Waltham、MA)。

[0124] ポリペプチドの発現能を有する発現ベクターもまた調製することができる

。種々の細胞型に対する発現ベクターが当該技術分野において周知されており、過度の実験を行うことなく選択し得る。概して、DNAがプラスミドなどの発現ベクターに、発現に適切な向きおよび正しいリーディングフレームで挿入される。必要であれば、DNAは、所望の宿主（例えば、細菌）によって認識される適切な転写及び翻訳調節制御ヌクレオチド配列に連結されてもよく、しかしかかる制御は概して発現ベクターにおいて利用可能である。次にベクターは、標準的な技法を用いてクローニング用の宿主細菌に導入される（例えば、Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y. を参照）。

[0125] 単離ポリヌクレオチドを含む発現ベクター、ならびに発現ベクターを含む宿主細胞もまた企図される。抗原ペプチドは、所望の抗原ペプチドをコードするRNAまたはcDNA分子の形態で提供され得る。本開示の1つ以上の抗原ペプチドが、単一の発現ベクターによって提供され得る。

[0126] 一局面において、本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定すること、および該レベルまたは量を所定の基準と比較することを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法を提供する。

[0127] 一部の実施形態において、基準が、疾患の履歴、疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、疾患に対する治療剤の有効性、疾患の再罹患に対する防御能、疾患の病態および疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも1つに関する基準である。

[0128] 一部の実施形態において、基準は、前記被検体における前記疾患に関する基準であり、基準として健常なヒトの疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量の平均値または中央値を用いることができる。基準より高い場合、被験体が疾患を有する可能性がある。

[0129] 一部の実施形態において、基準は、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関

する基準であり、基準として感染源特異的な免疫細胞の有無を用いることができる。感染源特異的な免疫細胞がある場合、感染歴がある可能性がある。

[0130] 一部の実施形態において、基準は、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準であり、基準として感染源特異的な免疫細胞の有無を用いることができる。感染源特異的な免疫細胞がある場合、ワクチンが有効であり、再感染防御能があると判断できる。

[0131] 一部の実施形態において、基準は、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準であり、基準として抗腫瘍（エピトープ）活性を有する免疫細胞のレベルを用いることができ、エピトープ特異的濾胞性T細胞（腫瘍特異的濾胞性T細胞）の活性化や疲弊度も併せて基準として用いることができる。エピトープ特異的濾胞性T細胞の活性が増加している場合、がん免疫薬剤が有効であると判断できる。

[0132] 一部の実施形態において、疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含み、基準が、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である。基準として自己免疫疾患関連因子特異的な免疫細胞の有無を用いることができる。自己免疫疾患関連因子特異的な免疫細胞がある場合、自己免疫疾患である可能性がある。

[0133] 一局面において、本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスと、該試薬またはデバイスによる測定結果を所定の基準と比較する比較部とを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するためのシステムを提供する。

[0134] 一局面において、本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、該濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を所定の基準と比較する工程とを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法を提供する。

[0135] 一局面において、本開示は、被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、該濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を所定の基準と比較する工程とを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法を、コンピュータに実装するコンピュータ読み取り可能なコードを含むプログラムを提供する。

[0136] 一局面において、本開示は、上記のプログラムを格納したコンピュータ読み取り可能な記録媒体を提供する。

[0137] <プローブ>

一局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部を提示するためのポリペプチドを提供する。このようなポリペプチドは、本開示の検査または診断に用いることができ、プローブとも呼ばれる。

[0138] <プローブ：変法>

他の局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部と相互作用するTCRと特異的に結合する抗体を提供する。このような抗体は、本開示の検査または診断に用いることができ、プローブとも呼ばれる。

[0139] (治療および予防、医薬およびワクチン)

本開示は医薬として提供されることができ、医薬または医薬組成物に含まれる成分は、薬剤などと称され得る。本開示の医薬は、ワクチン（細胞ワクチンを含む）またはプローブとして提供され得る。

[0140] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部を含む、疾患を治療または予防するための医薬組成物を提供する。

[0141] 別の局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部を含む、疾患に対するワクチンを提供する。

- [0142] 他の局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を含む、疾患を治療または予防するための医薬組成物を提供する。
- [0143] 一部の局面において、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を含む、疾患に対する細胞ワクチンを提供し得る。
- [0144] 一実施形態において、疾患は、感染症またはがんであり得る。別の実施形態において、疾患はウイルス感染症であり得る。特定の実施形態において、本開示の組成物は、HLAの型特異的に濾胞性T細胞を誘導し得る。一部の実施形態において、疾患関連因子は、アミノ酸、核酸、ウイルスまたは細胞であり得る。他の実施形態において、疾患関連因子は、疾患の直接的または間接的な原因となる因子であってもよく、疾患を発症した結果生じる因子であってもよい。例えば、疾患がウイルス疾患である場合、疾患関連因子は、ウイルス疾患を引き起こすウイルスであり得る。一部の実施形態において、疾患関連因子またはその一部は、最大で20アミノ酸を含む。特定の実施形態において、本開示の濾胞性T細胞は、パブリック濾胞性T細胞であり得る。
- [0145] ある局面において、本開示は、TCR-T細胞療法に関する。
- [0146] 一部の局面において、例えば、本開示は、疾患関連因子に特異的な濾胞性T細胞を含む、疾患に対する免疫獲得を強化するための組成物を提供する。
- [0147] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を含む、疾患を治療または予防するための医薬組成物を提供する。
- [0148] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を含む、疾患に対するワクチンを提供する。一実施形態において、前記組成物またはワクチンは、濾胞性T細胞を優先的に誘導してもよいし、濾胞性T細胞以外の細胞を誘導しつつ、濾胞性T細胞を誘導してもよい。
- [0149] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を含む、疾患を治療または予防するための医薬組成物を提供する。
- [0150] 一局面において、本開示は、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を含む

、疾患に対する細胞ワクチンを提供する。

[0151] 一実施形態において、本開示は前記疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞は、少なくとも疾患関連因子に対して反応性である。他の実施形態において、前記疾患は、感染症またはがんである特定の実施形態において、前記疾患はウイルス感染症である。別の実施形態において、前記組成物は、HLAの型特異的に濾胞性T細胞を誘導する。一部の実施形態において、濾胞性T細胞は、パブリック濾胞性T細胞である。

[0152] 本開示が投与される場合、経口投与の場合、錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、カプセル剤等の種々の形状に製剤化して用いてもよく、製剤中に一般に使用される結合剤、包含剤、賦形剤、滑沢剤、崩壊剤、湿潤剤のような添加剤を含有させてもよい。また、これらのほか、経口投与の場合における製剤は、内用水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤等の液体状態として製剤化してもよく、使用時に再溶解される乾燥状態のものとして製剤化してもよい。

[0153] 非経口投与の場合、単位投与量アンプルもしくは多投与量容器またはチューブ内に収容された状態に製剤化してもよく、また、安定剤、緩衝剤、保存剤、等張化剤等の添加剤も含有させてもよい。また、非経口投与の場合における製剤は、使用時に、適当な担体（滅菌水等）で再溶解可能な粉体に製剤化されてもよい。

[0154] 本明細書における「有効成分」は、本開示の組成物などが目的とする治療、予防または進行抑制などの効果を得るために必要な量で含有される成分を指し、効果が所望のレベル未満にまで損なわれない限りにおいて、他の成分も含有されてよい。また、本開示の医薬、組成物などは製剤化されたものであってもよい。また、本開示の医薬、組成物などの投与経路は、経口または非経口のいずれであってもよく、製剤の形態等に応じて適宜設定することができる。

[0155] 薬学的に許容可能な塩は例えば無機酸塩（塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、および硫酸塩など）、または有機酸の塩（酢酸塩、プロピオン酸塩、マロン酸塩、および安息香酸塩など）が用いられ得る。

- [0156] 医薬組成物中の薬学的に許容可能な塩はさらに液体（水、生理的食塩水、グリセロールおよびエタノール）を含んでいる。さらに補助剤（湿潤剤、乳化剤またはpH緩衝剤など）が組成物に存在し得る。担体は被験体によって摂取されるための、錠剤、丸剤、糖衣錠、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤および懸濁剤として医薬組成物を調合させることを可能にする。
- [0157] 本開示の範囲は、投与のいくつかの形態において存在する組成物であり；当該形態としては非経口投与（例えば、注射または注入（例えば大量瞬時投与または連続注入））のための好適な形態が挙げられるがこれらに限定されない。生成物が注射または注入される場合、油性又は水性のビヒクルにおける懸濁液、溶液または乳液の形態で与えられ得、調合剤（懸濁剤、安定化剤および／または分散剤）を含み得る。あるいは、適切な滅菌液を用いた使用の前の再構成のために、乾燥形態であり得る。
- [0158] いったん調合されると、本開示の組成物は、被験体に直接投与され得る。一実施形態において組成物は哺乳類（例えばヒトの被験体）への投与のために適用される。
- [0159] 本開示の医薬組成物は任意の数の経路（経口、静脈内、筋肉内、動脈内、髄内、腹膜内、鞘内、心（脳）室内（intraventricular）、経皮、経皮膚、局所、皮下、鼻腔内、経腸、舌下、腔内、または直腸の経路が挙げられるがこれらに限定されない）。ハイポスプレーもまた、本開示の医薬組成物を投与するために用いられ得る。典型的に治療組成物は、液体の溶液または懸濁液のいずれとしても注射可能なように調製され得る。注射の前の液体のビヒクル中の溶液または懸濁液に、好適な固体の形態が調製され得る。
- [0160] 組成物の直接的な送達は一般的に皮下、腹膜内、静脈内、筋肉内の注射によって達成されるか、組織の間質性の空間に送達される。組成物は、病変に投与され得る。投与処置は単回投与の計画または複数回投与の計画であり得る。医薬は投与の回数に関連する指示（例えば、毎日、毎週、毎月送達されるべきかどうかなど）を提供する。また、回数および用量は症状の重症度に依存し得る。

[0161] 本開示の組成物は、種々の形態において調製され得る。例えば、組成物は液体の溶液または懸濁液のいずれかとして、注射可能薬物として調製され得る。注射の前の液体ビヒクル中の溶液または懸濁液に好適な固体の形が調製され得る（防腐剤を含んでいる滅菌水を用いて再構成するための、凍結乾燥組成物（例えば、Synagis（登録商標）およびHerceptin（登録商標）など））。組成物は、例えば、軟膏、クレームまたは粉末として局所投与のために調製され得る。組成物は例えば、錠剤またはカプセル剤として、スプレー剤として、またはシロップ剤（任意で風味をつけた）として経口投与のために調製され得る。組成物は例えば細粉末またはスプレーを用いて、吸入剤としての肺投与のために調製され得る。組成物は坐剤または膣坐剤として調製され得る。組成物は例えば滴剤として鼻、耳、または目の投与のために調製され得る。組成物は、組み合わせられた組成物が被験体への投与の直前に再構成されるように設計された、キットの形態であり得る。例えば、凍結乾燥された抗体が滅菌水または滅菌緩衝液を備えたキットの形態において提供され得る。

[0162] 別の局面において、本開示はワクチンとして提供されることができ。そして、本開示は、一部の局面でワクチンなどを用いて疾患等を予防する方法を提供する。

[0163] 一部の実施形態において、本開示の医薬組成物は、免疫を増強するために、ヒトに投与するためのワクチン組成物であり得る。ワクチン組成物は、1つまたは複数のアジュバントをさらに含んでもよい。ワクチン組成物に含まれてよいアジュバントの例は、本明細書において下記に提供される。一部の実施形態において、ワクチン組成物は、細胞ワクチンを包含し得る。例示的な実施形態において、適切なアジュバントの例としては、（1）（ムラミルポリペプチドまたは細菌細胞壁構成要素などの他の特定の免疫刺激性物質を含むまたは含まない）水中油型エマルジョン製剤、例えば、MF 59（商標）（5%スクアレン、0.5% Tween 80、および0.5% トリオlein酸ソルビタンを含有する）およびSAF（10%スクアレン、0.4% T

ween 80、5%プルロニック（登録商標）ブロックポリマーL121、およびトレオニル（threr）MDPを含有する）、（2）サポニンアジュバント、例えば、QS21、STIMULON（商標）（Cambridge Bioscience、Worcester、MA）、Abisco（登録商標）（Isconova、Sweden）、または Iscomatrix（登録商標）（Commonwealth Serum Laboratories、Australia）、（3）完全フロイントアジュバント（CFA）および不完全フロイントアジュバント（IFA）、（4）シトシンがメチル化されていない CpG モチーフを含む、すなわち、少なくとも1つの CGジヌクレオチドを含有する、オリゴヌクレオチド（例えば、Krieg、Vaccine（2000）19：618～622；Krieg、Curr Opin Mol Ther（2001）3：15～24；WO98/40100、WO98/55495、WO98/37919、およびWO98/52581）、ならびに（5）アルミニウム塩（ミョウバン、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウムなど）を含む、金属塩、（6）サポニンおよび水中油型エマルジョン（例えば、WO99/11241）が挙げられる。

[0164] 一局面において、本開示の、疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞を惹起する能力を有する、疾患関連因子またはその一部あるいは機能的等価物を含む、疾患を治療または予防するための医薬組成物を、疾患に罹患しているまたは罹患するリスクのある被験体に投与ことにより、疾患を治療または予防することができる。

[0165] 本開示の治療または予防は、同定した濾胞性T細胞エピトープ、もしくはその機能的等価物を含むものを1. B細胞誘導などを目的とした他のワクチン抗原/核酸に結合させる、あるいは2. ウイルスベクターやVLPに別の抗原と独立に発現させる3. 細胞障害性T細胞エピトープなど、B細胞+Tfhとは別の免疫惹起を目的としたものを組み合わせたものといった方法でワクチンを設計する。ワクチン有効性はHLAヒト化マウスなどで上記の組み合わせ、提示する抗原の数やバランス、組み合わせるアジュバントの最適化を行う。ある程度動物モ

デルで薬効を評価できるが、完全にヒト免疫を再現することは難しく、ここがT細胞を標的とする際の難しい点である。投与方法は、腫瘍の場合、腫瘍局所がもっとも有望であるがそれに限定されない。

一局面において、本開示の治療または予防は、

- 1) 同定した濾胞性T細胞エピトープ、もしくはその機能的等価物を含むものを、他のワクチン抗原/核酸に結合させる、またはウイルスベクターもしくはVLPに独立に発現させるステップと、
- 2) (細胞障害性T細胞エピトープなどの) B細胞またはTfhとは別の免疫惹起を引き起こすものと混合するステップと、
- 3) 2) により得られたものを投与するステップとを
行うことで実施することができる

[0166] (被検体に対する該疾患を評価技術のコンピュータプログラムもしくはこれを格納する記録媒体、およびシステムあるいはそのシステムの一部を構成するユーザ機器)

本開示の一局面において、被検体に対する該疾患を評価するための方法、これを実現するためのコンピュータプログラムもしくはこれを格納する記録媒体、およびシステムあるいはそのシステムの一部を構成するユーザ機器などが提供される。

[0167] システム1000は、少なくとも1つのユーザ装置100と、少なくとも1つのユーザ装置100にネットワーク400を介して接続されているサーバ装置200と、サーバ装置200に接続されているデータベース部300とを含む(図8)。

[0168] ユーザ装置100は、専用の医療機器の他、スマートフォン、タブレットコンピュータ、スマートウォッチ、ラップトップコンピュータ、デスクトップコンピュータ、医療用ウェアブル装置等の任意の端末装置であり得る。ユーザ装置100は、ネットワーク400を介してサーバ装置200と通信することができる。ここで、ネットワーク400の種類は問わない。例えば、ユーザ装置100は、インターネットを介してサーバ装置200と通信して

もよいし、LANを介してサーバ装置200と通信してもよい。図8には3つのユーザ装置100が描写されているが、ユーザ装置100の数はこれに限定されない。ユーザ装置100の数は、同一または異なる1以上の任意の数であり得る。

[0169] サーバ装置200は、ネットワーク400を介して少なくとも1つのユーザ装置100と通信することができる。また、サーバ装置200は、サーバ装置200に接続されているデータベース部300と通信することができる。

[0170] 例えば、サーバ装置200に接続されているデータベース部300には、事前を取得された複数の対象の濾胞性T細胞に関する情報、被検体に関する任意の健康、医学的情報などが格納され得る。格納された複数の情報は、例えば、学習済モデルを構築するために利用され得る。例えば、データベース部300には、構築された学習済モデルが格納されるようにしてもよい。

[0171] 図9は、ユーザ装置100の構成の一例を示す。

[0172] ユーザ装置100は、通信インターフェース部110と、入力部120と、表示部130と、メモリ部140と、プロセッサ部150とを備える。

[0173] 通信インターフェース部110は、ネットワーク400を介した通信を制御する。ユーザ装置100のプロセッサ部150は、通信インターフェース部110を介して、ユーザ装置100の外部から情報を受信することが可能であり、ユーザ装置100の外部に情報を送信することが可能である。例えば、ユーザ装置100のプロセッサ部150は、通信インターフェース部110を介して、サーバ装置200から情報を受信することが可能であり、サーバ装置200に情報を送信することが可能である。通信インターフェース部110は、任意の方法で通信を制御し得る。

[0174] 入力部120は、ユーザが情報をユーザ装置100に入力することを可能にする。入力部120が、どのような態様で、ユーザが情報をユーザ装置100に入力することを可能にするかは問わない。例えば、入力部120がタッチパネルである場合には、ユーザがタッチパネルにタッチすることによっ

て情報を入力するようにしてもよい。あるいは、入力部120がマウスである場合には、ユーザがマウスを操作することによって情報を入力するようにしてもよい。あるいは、入力部120がキーボードである場合には、ユーザがキーボードのキーを押下することによって情報を入力するようにしてもよい。あるいは、入力部120がマイクである場合には、ユーザが音声で情報を入力するようにしてもよい。

[0175] 表示部130は、情報を表示するための任意のディスプレイであり得る。

[0176] メモリ部140には、ユーザ装置100における処理を実行するためのプログラムやそのプログラムの実行に必要とされるデータ等が格納されている。メモリ部140には、例えば、対象の疾患の履歴の評価、疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、疾患に対する治療剤の有効性の評価、疾患の再罹患に対する防御能の評価、疾患の病態評価および疾患の罹患リスク評価の医療技術の評価するためのプログラムの一部または全部が格納されている。メモリ部140には、任意の機能を実装するアプリケーションが格納されていてもよい。メモリ部140には、例えば、濾胞性T細胞に関する生化学的な情報を測定することにより濾胞性T細胞のレベルまたは量に関する情報を取得するためのアプリケーションが格納されていてもよい。これにより、ユーザ装置100は、濾胞性T細胞に関する情報の測定を実現する部分を有することになる。メモリ部140には、例えば、濾胞性T細胞に関する生化学的な情報から濾胞性T細胞のレベルまたは量の情報を取得するためのアプリケーションが格納されていてもよい。これにより、ユーザ装置100は、眼電位を測定する機能を実現する部分を有することになる。その他、メモリ部140には、他の手段によって眼球情報を取得するためのアプリケーションが格納され得る。ここで、プログラムをどのようにしてメモリ部140に格納するかは問わない。例えば、プログラムは、メモリ部140にプリインストールされていてもよい。あるいは、プログラムは、ネットワーク400を経由してダウンロードされることによってメモリ部140にインストールされるようにしてもよい。メモリ部140は、任意の記憶手段によって実装され

得る。

[0177] プロセッサ部150は、ユーザ装置100全体の動作を制御する。プロセッサ部150は、メモリ部140に格納されているプログラムを読み出し、そのプログラムを実行する。これにより、ユーザ装置100を所望のステップを実行する装置として機能させることが可能である。プロセッサ部150は、単一のプロセッサによって実装されてもよいし、複数のプロセッサによって実装されてもよい。

[0178] ユーザ装置100は、上述した構成に加えて、データ取得部160を備えることができる。データ取得部160は、E L I S A等の生化学的手段などに例示される濾胞性T細胞の生化学的情報を取得するための任意の手段である。データ取得部160は、例えば、E L I S Aを実現する機器である。データ取得部160は、例えば、ユーザ装置100に内蔵の吸光手段であってもよいし、ユーザ装置100に取り付けられる外部F A C S機器であってもよい。

[0179] ユーザ装置100は、上述した構成に加えて、または、上述したデータ取得部160に代えて、あるいはこれに加えて、追加情報取得手段170を備えることができる。追加情報取得手段170は、追加の情報を取得するための任意の手段である。追加情報取得手段170は、例えば、感染症、ワクチン、がん、アレルギー、自己免疫疾患に関する情報を取得する手段である。例えば、追加情報取得手段170は、ユーザ装置100に感染症を同定するP C Rなどのバイオテクノロジー機器であってもよいし、ユーザ装置100に取り付けられる抗原抗体反応測定装置であってもよい。例えば、ユーザ装置100が他の医療機器と組み合わせられる場合は、その他の医療機器を追加情報取得手段170として利用することができる。

[0180] 図9に示される例では、ユーザ装置100の各構成要素がユーザ装置100内に設けられているが、本開示はこれに限定されない。ユーザ装置100の各構成要素のいずれかがユーザ装置100の外部に設けられることも可能である。例えば、入力部120、表示部130、メモリ部140、プロセッ

サ部150、撮像手段160のそれぞれが別々のハードウェア部品で構成されている場合には、各ハードウェア部品が任意のネットワークを介して接続されてもよい。このとき、ネットワークの種類は問わない。各ハードウェア部品は、例えば、LANを介して接続されてもよいし、無線接続されてもよいし、有線接続されてもよい。ユーザ装置100は、特定のハードウェア構成には限定されない。例えば、プロセッサ部150をデジタル回路ではなくアナログ回路によって構成することも本開示の範囲内である。ユーザ装置100の構成は、その機能を実現できる限りにおいて上述したもの限定されない。

[0181] 図10は、サーバ装置200の構成の一例を示す。

[0182] サーバ装置200は、通信インターフェース部210と、メモリ部220と、プロセッサ部230とを備える。

[0183] 通信インターフェース部210は、ネットワーク400を介した通信を制御する。また、通信インターフェース部210は、データベース部300との通信も制御する。サーバ装置200のプロセッサ部230は、通信インターフェース部210を介して、サーバ装置200の外部から情報を受信することが可能であり、サーバ装置200の外部に情報を送信することが可能である。サーバ装置200のプロセッサ部230は、通信インターフェース部210を介して、ユーザ装置100から情報を受信することが可能であり、ユーザ装置100に情報を送信することが可能である。通信インターフェース部210は、任意の方法で通信を制御し得る。

[0184] メモリ部220には、サーバ装置200の処理の実行に必要とされるプログラムやそのプログラムの実行に必要とされるデータ等が格納されている。例えば、濾胞性T細胞の分析やこれをもとに疾患を評価するためのプログラムの一部または全部が格納されている。メモリ部220には、例えば、濾胞性T細胞のレベルまたは量の情報を取得するためのアプリケーション、対象の疾患の履歴の評価、疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、疾患に対する治療剤の有効性の評価、疾患の再罹患に対する防御能の評価、疾患

の病態評価および疾患の罹患リスク評価の医療技術の評価するためのアプリケーションが格納されていてもよい。メモリ部220には、例えば、他の手段によって濾胞性T細胞や他の医療技術の情報を取得するためのアプリケーションが格納され得る。メモリ部220は、任意の記憶手段によって実装され得る。

[0185] プロセッサ部230は、サーバ装置200全体の動作を制御する。プロセッサ部230は、メモリ部220に格納されているプログラムを読み出し、そのプログラムを実行する。これにより、サーバ装置200を所望のステップを実行する装置として機能させることが可能である。プロセッサ部230は、単一のプロセッサによって実装されてもよいし、複数のプロセッサによって実装されてもよい。

[0186] 図10に示される例では、サーバ装置200の各構成要素がサーバ装置200内に設けられているが、本開示はこれに限定されない。サーバ装置200の各構成要素のいずれかがサーバ装置200の外部に設けられることも可能である。例えば、メモリ部220、プロセッサ部230のそれぞれが別々のハードウェア部品で構成されている場合には、各ハードウェア部品が任意のネットワークを介して接続されてもよい。このとき、ネットワークの種類は問わない。各ハードウェア部品は、例えば、LANを介して接続されてもよいし、無線接続されてもよいし、有線接続されてもよい。サーバ装置200は、特定のハードウェア構成には限定されない。例えば、プロセッサ部230をデジタル回路ではなくアナログ回路によって構成することも本開示の範囲内である。サーバ装置200の構成は、その機能を実現できる限りにおいて上述したものに限定されない。

[0187] 図8～10に示される例では、データベース部300は、サーバ装置200の外部に設けられているが、本開示はこれに限定されない。データベース部300をサーバ装置200の内部に設けることも可能である。このとき、データベース部300は、メモリ部220を実装する記憶手段と同一の記憶手段によって実装されてもよいし、メモリ部220を実装する記憶手段とは

別の記憶手段によって実装されてもよい。いずれにせよ、データベース部300は、サーバ装置200のための格納部として構成される。データベース部300の構成は、特定のハードウェア構成に限定されない。例えば、データベース部300は、単一のハードウェア部品で構成されてもよいし、複数のハードウェア部品で構成されてもよい。例えば、データベース部300は、サーバ装置200の外付けハードディスク装置として構成されてもよいし、ネットワークを介して接続されるクラウド上のストレージとして構成されてもよい。

(一般技術)

- [0188] 本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、Current Protocols in Molecular Biology (<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471142727>) およびMolecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) (<http://www.molecularcloning.com>) などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。
- [0189] 本明細書において「または」は、文章中に列挙されている事項の「少なくとも1つ以上」を採用できるときに使用される。「もしくは」も同様である。本明細書において「2つの値」の「範囲内」と明記した場合、その範囲には2つの値自体も含む。
- [0190] 本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考として援用される。
- [0191] 以上、本開示を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本開示を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本開示を限定する目的で提供したのではない。従って、本開示の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態にも実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される

。

実施例

[0192] 本実施例では、ヘルシンキ宣言に基づき、被験体から必要なインフォームドコンセントを得たうえで大学で規定される倫理規定を遵守して下記実験を行った。使用される試薬は、実施例に記載したものその他、和光純薬やシグマアルドリッチ等から入手したものも使用可能である。

[0193] (実施例1：ウイルス事例（一般事例の場合）)

本実施例において、単一細胞ベースのRNAシーケンスプラットフォーム(10xGenomics社のChromium)を使用して、SARS-CoV-2特異的T細胞サブセットとそのクローン型を分析する。

[0194] (末梢血単核細胞(PBMC)の分離と血漿採取)

末梢血単核球(PBMC)を、健康なドナーおよびウイルス感染患者(例えば、インフルエンザウイルス感染患者)を含む6人の個人から調製する。調製は以下の様に行う。全血をヘパリンコーティングチューブに収集し、1500rpmで10分間遠心分離して、細胞画分と血漿を分離した。血漿を細胞ペレットから除去し、-80℃で保存する。次に、PBMCを密度勾配沈降によって分離し、ACK溶解バッファーを使用して赤血球を溶解する。分離したPBMCを、STEM-CELLBANKER(Zenobio Resource)で-80℃で凍結保存する。

[0195] 凍結保存したPBMCを解凍し、5%ヒトAB血清を添加したRPMI1640培地で洗浄する。5×10⁵個のPBMCを、1μg/mlのSタンパク質、組換えSタンパク質(1μg/ml)、Sペプチドプール(1μg/ml/ペプチド)またはM+Nペプチドプール(1μg/ml)を含む不活化ウイルス(例えば、インフルエンザウイルス)で刺激する。(刺激タンパクは、ウイルスによって適宜選択する。組換えウイルスのタンパク質は公知の文献に基づき調製する)。PepMixインフルエンザウイルス(各種タンパク質)などは、市販のものをを用いてもよい。(例えば、funakoshi社)。37℃で20時間、続いて抗ヒトCD3(HIT3a)、CD69(FN50)、CD137(4B4-1)およびTotalSe(商標)-Cハッシュタグ(全て、バイオレジェンド社から購入)で染色する。CD3+CD69+またはCD3+CD137+細胞を、セルソ

ーターSH-800Sセル (SONY) によってソートし、以下に記載するようにシングルセルV D J - R N A - s e q分析によってRNA発現とともにTCR配列を分析する。

[0196] (シングルセルベースのトランスクリプトームおよびTCRレパトア分析)

以下の試薬を使用して、単一細胞の捕捉とライブラリーの調製を行った。Chromium Single Cell 5' Library & Gel Bead Kit、PN-1000165; Chromium Next GEM Chip G Single Cell Kit、PN-1000120; Chromium Single Index Kit T Set A、PN-1000213 ; Chromium Single Cell 5' Feature Barcode Library Kit、PN-1000080; Single Index Kit N Set A、PN-1000212; Chromium シングルセルV (D) J濃縮キット、ヒトT細胞、PN-1000005。約 2×10^4 個の細胞を含む単一細胞懸濁液をChromiumマイクロ流体チップにロードし、製造元の指示に従ってChromiumコントローラー (10X Genomics) を使用して単一細胞のゲルビーズインエマルジョンを生成する。続いて、各サンプルのバーコード付き細胞由来のRNAを、Veriti Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific) を使用して、ゲルビーズインエマルジョン内で逆転写し、単一細胞ライブラリーを生成するための後続のすべてのステップを、cDNA増幅のために14サイクルで、製造元のプロトコルに従って実行する。次に、約50ngのcDNAを、TCRライブラリーのcDNA濃縮およびライブラリー構築と並行して14サイクルの遺伝子発現ライブラリー増幅に使用する。ライブラリーのフラグメントサイズは、Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent) で確認する。ライブラリーは、ペアエンドモード (read1: 28bp; read2: 91bp) としてIllumina NovaSeq6000でシーケンスした。生のリードは、Cell Ranger 3.1.0 (10X Genomics) によって処理する。遺伝子発現ベースのクラスタリングは、Seurat Rパッケージを使用した実施する (v3.1、Hafemeister, C., Satija, R. Normalization and variance stabilization of single-cell RNA-seq data using regularized negative binomial regression. Genome Biol 20, 296 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1874-1>)。簡単に説明すると、ミトコンドリア含有量が10%を

超える細胞、検出された遺伝子が200未満、または4000を超える細胞を、外れ値（それぞれ、死にかけている細胞、空の液滴、ダブレット）と見なし、フィルターで除外する。正規化にはSeuratSCTransform関数を使用し、すべてのサンプルを同時に処理したため、バッチ効果補正を実行せずにデータを統合する。HashTagオリゴ逆多重化を、CLRで正規化されたHashTagUMIカウントで実行し、クローン型を、Pythonスクリプトを使用して、液滴バーコードを介して遺伝子発現データと照合する。単一のハッシュタグとベータチェーンクローンタイプが割り当てられた細胞のみが、ダウンストリーム分析のために保持する。

[0197] (バルクTCRシーケンス)

1~3×10⁵個のPBMCをQIAzolで溶解し、次に、SMARTerテクノロジー（Takara Bio）を使用して完全長cDNAを合成し、TRAC/TRBC特異的プライマーを使用してTCR α および β 遺伝子の可変領域を増幅する。可変領域アンプリコンのシーケンシング後、MiXCRソフトウェアを使用して(Bolotin, D., Poslavsky, S., Mitrophanov, I. et al. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. Nat Methods 12, 380–381 (2015). <https://doi.org/10.1038/nmeth.3364>)、リードの各ペアにクローン型 (TR (A/B) VおよびTR (A/B) J遺伝子、および相補性決定領域 (C D R) 3として定義) を割り当てる。各アルファ/ベータクローン型について、拡張を、そのクローンの読み取りの割合をアルファ/ベータ鎖のリードの総数でそれぞれ割ったものとして定義し、プロットと統計分析のために割合をlog10に変換する。

[0198] UMAPプロットとシングルセル遺伝子発現により、循環TfhクラスターがCD200、PDCD1、ICOS、CXCL13、CD40LGなどのTfh関連遺伝子を発現する細胞で構成されていることを確認する。さらに、Tfhクラスター内で、1100以上のペアのTCRを特定する。

[0199] これらの中で、患者間で共有されるTCR $\alpha\beta$ ペアを検出する。

これらのTCR $\alpha\beta$ ペアを、それぞれ同一のV α 、J α 、V β 、およびJ β の使用

を共有する、患者X 1 およびX 2 に由来するクローン1および2として指定する。さらに、クローン1および2のCDR3 α 配列は同一であり、CDR3 β は1つのアミノ酸を除いて同一であることがわかることもある。

[0200] 患者X 2 において、クローン2を、完全に同一のTCRシーケンスを共有する2つの異なるバーコードセルとして検出する。

[0201] TCR、クローン型1および2の抗原特異性を調べるために、それぞれのTCR α および β 鎖をTCR欠損T細胞ハイブリドーマにトランスフェクトし、TCR再構成CD3+細胞を樹立する。

[0202] 対応する各患者に由来するエプスタインバーウイルス（EBV）で形質転換したB細胞の存在下で、これらのTCRトランスフェクタントをさまざまな抗原で刺激する。

クローン1および2は、応答性を確認する。これは、単一細胞分析で明らかになった初期抗原特異性と一致することが確認できる。

[0203] 抗原提示細胞の非存在下で活性化が排除されたため、活性化はMHC分子によって媒介されることを確認する。

[0204] プールされた2つのうち、後者のプールのみがクローン1と2を刺激したことから、抗原ペプチドが後者のものに特異的な位置に含まれていることが分かる。

[0205] しかしながら、多数のペプチドが含まれている、別の利用可能なペプチドプールは、クローン1および2を活性化しないことを確認する。

[0206] これらの結果から、クローン1およびクローン2の抗原エピトープの位置を確認することができる。

[0207] ついで、エピトープのペプチド候補の数をさらに減らすために、クローン1および2を拘束するHLA対立遺伝子を決定する。

[0208] 患者X 1 とX 2 との両方からの抗原提示細胞（APC）がクローン1と2を活性化できることを見出す。これは、APCが相互に交換可能であることを示す。

[0209] したがって、DRB1*15 : 01、DPA1*02 : 02-DPB1*05 : 01、DQA1*01 : 02-DQB1*06など、X 1 とX 2 との間で共有されるMHCクラスII対立遺伝子のそれぞれを

、HLAの候補とする。次いで、クローン1および2によるSペプチドの認識を調べるために、これらの対立遺伝子を個別にトランスフェクトする。

[0210] クローン1と2との両方がDRA*01 : 01とDRB1*15 : 01の存在下でのみSペプチドプール#2に応答し、DRAは単形性であるため、応答性はDRB1*15 : 01によって決定されることを示唆する。

[0211] そこで、NetMHCサーバーソフトウェア (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCIIpan/>) を使用して、DRA-DRB1*15 : 01に結合すると予測される候補ペプチドを検索する。

[0212] いくつかの強力なバインダーを、特定のウイルスタンパク質の絞り込まれた領域内の候補として予測する。このため、2つのペプチドを合成してクローン1および2を刺激することで、特定のペプチドをクローン1と2の両方のエピトープとして決定することができる。

クローン1および2のTCRはCDR3内の1つのアミノ酸で異なることが判明したりする。この場合、両方のTCRは、同一のMHC分子によって提示される同じエピトープを認識し、異なるドナーに由来するものであるため、クローン1および2がパブリッククローンであることを示唆すると解釈され得る。このエピトープは、他のインフルエンザウイルスの対応するアミノ酸配列との相溶性が低いと解釈することができる。

[0213] 実際、クローン1も2も、DRA-DRB1*15 : 01を発現するAPCの存在下で、他のウイルスタンパク質に由来するペプチドプールおよび全タンパク質に全く応答しないことを見出すことができる。さらに、クローン1/2が関連するインフルエンザウイルスと交差反応する可能性は低いことが示唆される。

[0214] 次に、DRB1*15 : 01以外のMHCクラスII対立遺伝子が、クローン1/2によって認識されるこの抗原ペプチドを提示できるかどうかを調べる。

[0215] その結果、特定のアミノ酸領域を、DRB1*15 : 02および15:01への強力なバインダーとしても予測することができる。さらに、DRB1*15 : 01と*15 : 02の間のアミノ酸配列同一性は99.6%である。したがって、DRB1*15 : 02もエピトープ認識に責任のある対立遺伝子であると推測し、DRB1*15 : 02を有しているが

DRB1*15 : 01を有していない別の個人由来のAPCをテストすることができる。

その結果、DRB1*15 : 02は、この特定のペプチドの存在下でクローン1と2の両方を刺激可能であることと同定することができる。

日本人集団におけるDRB1*15 : 02 (10.6%) および*15 : 01 (7.7%) の頻度を考慮すると (<http://hla.or.jp/>)、これらのクローン型が存在する場合、人口の18.3%において、クローン1および2はこのペプチドに応答すると予想することができる。他のHLA型についても同様の拘束特異性を検査することができる。

[0216] 次いで、インフルエンザウイルスに感染していないと思われるコホートにおけるクローン2/3のクローン型の発生を調べたところ、一定程度の人数のクローン1/2のTCR β クローン型を有していたことが分かる。これは、本実施例の割合と同様である。

[0217] 次に、クローン1/2がTfhプロファイルを示すこのウイルス特異的T細胞であることを考慮し、防御的な体液性免疫促進のために、クローン1/2が感染時にクローン的に増殖したと仮定し、以下のように調べる。

[0218] DRB1*15 : 01/15 : 02は世界においてマイナーな対立遺伝子ではないため (参照、<http://www.allelefrequencies.net/tools/Report.aspx>)、米国市民の公開データベース (COVID-19イベントに対する免疫応答アクション; ImmuneRace、<https://immunerace.adaptivebiotech.com/>) において、健康な個人および感染から回復した個人におけるクローン1/2のクローン型の発生頻度を調べる。クローン型を、健康な群と回復群のそれぞれにおいて、一定程度の頻度で検出する。特に、各個人間のこのクローン型の頻度は、健康な対照と比較して回復群で有意に増加したことを観察することから、この特定のタンパク質特異的クローンが感染時に異なる個体においてクローン的に拡大したことが示唆される。興味深いことに、回復した患者におけるクローン1/2のクローン型の発生頻度は、世界中のDRB1*15 : 01または15:02の対立遺伝子頻度 (11.3%) よりも大きいため、クローン1/2が、他のHLA対立遺伝子によって提示される他のこのウイルス由来エピトープを認識する可能性が考えられる。

[0219] まとめると、SARS-CoV-2とそのエピトープを認識するパブリックT細胞クローンの最初の特定は、診断の戦略または選択肢と次世代ワクチンの開発に貢献すると考えられる。

[0220] (実施例2：ウイルス事例 (SARS-CoV-2の場合))

本実施例において、単一細胞ベースのRNAシーケンスプラットフォーム (10xGenomics社のChromium) を使用して、SARS-CoV-2 特異的T細胞サブセットとそのクローン型を分析した。

[0221] (末梢血単核細胞 (PBMC) の分離と血漿採取)

末梢血単核球 (PBMC) を、健康なドナーおよび回復期のCOVID-19患者を含む6人の個人から調製した (表1および2)。調製は以下の様に行った。全血をヘパリンコーティングチューブに収集し、1500rpmで10分間遠心分離して、細胞画分と血漿を分離した。血漿を細胞ペレットから除去し、-80°Cで保存した。次に、PBMCを密度勾配沈降によって分離し、ACK溶解バッファーを使用して赤血球を溶解した。分離したPBMCを、STEM-CELLBANKER (Zenoaq Resource) で-80°Cで凍結保存した。

表1：参加者の特徴

[表1]

	COVID19 Patients	Unexposed
	N = 5	N = 1
年齢 (歳)	A-B (Median = C, IQR = D)	31
性別		
男性 (%)	E% (F/G)	100% (1/1)
女性 (%)		N/A
国籍		
日本 (%)		100% (1/1)
日本以外 (%)		N/A
ピーク重症度 ^a		
軽症	N/A	N/A
中等症 I	20% (1/5)	N/A
中等症 II	20% (1/5)	N/A
重症	60% (3/5)	N/A

表 2：日本におけるCOVID-19疾患重症度分類

[表2]

	経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO ₂)	臨床症状および病態
軽症	SpO ₂ ≥ 96%	呼吸器症状なし
		咳のみ、呼吸困難なし
中等症 I	93% < SpO ₂ < 96%	胸部X線またはコンピューター断層撮影での呼吸困難または異常な影
中等症 II	SpO ₂ ≤ 93%	酸素投与が必要
重症		集中治療室レベルのケアまたは人工呼吸器が必要

凍結保存したPBMCを解凍し、5%ヒトAB血清を添加したRPMI1640培地で洗浄した。5×10⁵個のPBMCを、1 μg/mlのSタンパク質、組換えSタンパク質（1 μg/ml）、Sペプチドプール（1 μg/ml/ペプチド）またはM+Nペプチドプール（1 μg/ml）を含む不活化SARS-CoV-2で刺激した。（不活化SARS-CoV-2ウイルスは塩田氏と中山氏（大阪大学微生物病研究所）から提供された。組換えSARS-CoV-2Sタンパク質はAmanat F, et al. bioRxiv.2020.に記載されたように調製された。PepMix SARS-CoV-2（スパイク糖タンパク質）（プール#1および#2を含む）は、JPT PeptideTechnologiesから購入した。PepTivator SARS-CoV-2 Prot_Mおよび_Nは、MiltenyiBiotecから購入した。）37℃で20時間、続いて抗ヒトCD3（HIT3a）、CD69（FN50）、CD137（4B4-1）およびTotalSeq（商標）-Cハッシュタグ（全て、バイオレジェンド社から購入）で染色した。CD3+CD69+またはCD3+CD137+細胞を、セルソーターSH-800Sセル（SONY）によってソートし、以下に記載するようにシングルセルVDJ-RNA-seq分析によってRNA発現とともにTCR配列を分析した。

（シングルセルベースのトランスクリプトームおよびTCRレパトア分析）

以下の試薬を使用して、単一細胞の捕捉とライブラリーの調製を行った。Cromium Single Cell 5' Library & Gel Bead Kit、PN-1000165; Chromium Next GEM Chip G Single Cell Kit、PN-1000120; Chromium Single Index Kit T Set A、PN-1000213 ; Chromium Single Cell 5' Feature Barcode Library Kit、PN-1000080 ; Single Index Kit N Set A、PN-1000212 ; Chromium シングルセルV (D) J濃縮キット、ヒトT細胞、PN-1000005。約 2×10^4 個の細胞を含む単一細胞懸濁液をChromiumマイクロ流体チップにロードし、製造元の指示に従ってChromiumコントローラー (10XGenomics) を使用して単一細胞のゲルビーズインエマルジョンを生成した。続いて、各サンプルのバーコード付き細胞由来のRNAを、Veriti Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific) を使用して、ゲルビーズインエマルジョン内で逆転写し、単一細胞ライブラリーを生成するための後続のすべてのステップを、cDNA増幅のために14サイクルで、製造元のプロトコルに従って実行した。次に、約50ngのcDNAを、TCRライブラリーのcDNA濃縮およびライブラリー構築と並行して14サイクルの遺伝子発現ライブラリー増幅に使用した。ライブラリーのフラグメントサイズは、Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent) で確認した。ライブラリーは、ペアエンドモード (read1: 28bp ; read2: 91bp) としてIllumina NovaSeq6000でシーケンスした。生のリードは、Cell Ranger 3.1.0 (10XGenomics) によって処理した。遺伝子発現ベースのクラスタリングは、Seurat Rパッケージを使用した実施した (v3.1、Hafemeister, C., Satija, R. Normalization and variance stabilization of single-cell RNA-seq data using regularized negative binomial regression. *Genome Biol* 20, 296 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1874-1>)。簡単に説明すると、ミトコンドリア含有量が10%を超える細胞、検出された遺伝子が200未満、または4000を超える細胞を、外れ値 (それぞれ、死にかけている細胞、空の液滴、ダブレット) と見なし、フィルターで除外した。正規化にはSeuratSCTransform関数を使用し、すべてのサンプルを同時に処理したため、バッチ効果補正を実行せずに

データを統合した。HashTagオリゴ逆多重化を、CLRで正規化されたHashTagUMIカウントで実行し、クローン型を、Pythonスクリプトを使用して、液滴バーコードを介して遺伝子発現データと照合した。単一のハッシュタグとベータチェーンクロノタイプが割り当てられた細胞のみが、ダウンストリーム分析のために保持した。

[0222] (バルクTCRシーケンス)

1~3×10⁵個のPBMCをQIAzolで溶解し、次に、SMARTerテクノロジー (Takara Bio) を使用して完全長cDNAを合成し、TRAC/TRBC特異的プライマーを使用してTCR α および β 遺伝子の可変領域を増幅した。可変領域アンプリコンのシーケンシング後、MiXCRソフトウェアを使用して(Bolotin, D., Poslavsky, S., Mitrophanov, I. et al. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. Nat Methods 12, 380–381 (2015). <https://doi.org/10.1038/nmeth.3364>)、リードの各ペアにクローン型 (TR (A/B) VおよびTR (A/B) J遺伝子、および相補性決定領域 (CDR) 3として定義) を割り当てた。各アルファ/ベータクローン型について、拡張を、そのクローンの読み取りの割合をアルファ/ベータ鎖のリードの総数でそれぞれ割ったものとして定義し、プロットと統計分析のために割合をlog10に変換した。

[0223] UMAPプロットとシングルセル遺伝子発現により、循環TfhクラスターがCD200、PDCD1、ICOS、CXCL13、CD40LGなどのTfh関連遺伝子を発現する細胞で構成されていることを確認した (図1A)。さらに、Tfhクラスター内で、120のペアのTCRを特定した (表3)。

[表3-1]

TRBV	CDR3 β アミノ酸	TRB J	TRAV	CDR3 α アミノ酸	TRA J	CLUS TER	患者	刺激	4- 1BB.1 v1	IFNG v1	CD69 v1	Seurat barcode
TRBV2 0-1	CSASPGLNNTDTQ YF	TRB J2-3	TRAV8- 8	CAVLTGCGYNKLI F	TRA J4	47605	HC	recombinant ant S protein	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL TGGTTAGAGC GCCTTG
TRBV2 0-1	CSASGTGEVGEL FF	TRB J2-2	TRAV4	CLVARGGYQKV TF	TRA J13	48063	HC	Peptide pool M+N	Low/ Nega	Low/ Nega	High	DBL AACTCCCGTC CTGCTT
TRBV3 0	CAWKQGWTEAFF	TRB J1-1	TRAV8- 4	CAVSDLYGNRR LAF	TRA J7	25270	HC	Peptide pool S	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL AGCGTCGTCA GCTCTC
TRBV7 7	CASSTSGNTGELF F	TRB J2-3	TRAV8- 4	CAVSDSGAGSY QLTF	TRA J28	35098	HC	inactivated virus	High	Medium	Medium	DBL ATGTGTGAGG AGTACC
TRBV7 6	CASSLTGLPIYNE QFF	TRB J2-1	TRAV25	CAGLGAGNMILT F	TRA J39	22074	HC	recombinant ant S protein	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL TTCCCGTCAT GTCCCTC
TRBV2 0-1	CSATDRANYGYT F	TRB J1-2	TRAV35	CAASGINAGKST F	TRA J27	47996	HC	Peptide pool M+N	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL TGTTCGGGTC CTCCAT
TRBV2 7	CASSSPGQCAYN EQFF	TRB J2-1	TRAV2	CAVGPPGENKF YF	TRA J21	22783	HC	Peptide pool M+N	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL CATCGAACAC GGTAGA
TRBV6 5	CASRTVNTTEAFP	TRB J1-1	TRAV25	CAISGNARLMF	TRA J31	27505	HC	recombinant ant S protein	Low/ Nega	Low/ Nega	Medium	DBL CCAATCCAGT GGTAGC
TRBV1 8	CASSLCQVYEYQ F	TRB J2-7	TRAV26 -2	CILRESKAGNM LTF	TRA J39	45929	HC	Peptide pool S	Low/ Nega	Low/ Nega	Low/ Nega	DBL CCAGCGATCT ATCCCG

[表3-2]

TRBV2	CATEAGETQYF	TRB J2-5	TRAV1-2	CAVRALTGGGN KLT	TRA J10	28997	HC	Peptide pool S	Mediu m	Low/ Nega	Low/ Nega	DB1_TCGGCAGGTT GCTCCT
TRBV5-1	CASSIVSDYEQYF	TRB J2-7	TRAV17	CATDEGDYKLS F	TRA J20	43708	HC	Peptide pool M+N	Low/ Nega	High	Low/ Nega	DB1_CTCCTAGCAC TGCCAG
TRBV6-5	CASSQTGVVEQ YF	TRB J2-7	TRAV8-4	CAVEDRIKAAG NKLT	TRA J17	37974	HC	recombin ant S protein				

[表3-3]

TRBV7-7	CASSLRVGGELFF	TRB J2-2	TRAV36 /DV7	CAVDSGTYKYIF	TRA J40	40982	patie nt#2	recombin ant
---------	---------------	----------	-------------	--------------	---------	-------	------------	--------------

[表3-4]

TRBV5-1	CASSSSVQMNTE AFF	TRB J1-1			14219	patie nt#3	recombinant
---------	---------------------	-------------	--	--	-------	---------------	-------------

[表3-5]

TRBV5-1	CASSLIGVRDGE QFF	TRB J2-1	TRAV25	CAGPLGSNFGN
---------	---------------------	----------	--------	-------------

[表3-6]

TRBV1 2-5	CASGLFRTGSLEK LFF	TRB J1-4	TRAV6	CALGSNARLMF	TRA J31	14613
--------------	----------------------	-------------	-------	-------------	------------	-------

[表3-7]

TRBV7-9	CASSLGDSCNTTY F	TRB J1-3	TRAV8-4	CAVINSQ
---------	--------------------	-------------	---------	---------

[表3-8]

TRBV6-2	CASTRGVTDITQY F	TRB J2-3	TRAV36 /DV7	CADLTQGGSEK LV
---------	--------------------	----------	-------------	-------------------

[表3-9]

TRBV1 1-2	CASSLCHDEQFF	TRB J2-1	TRAV23 /DV6	CAAKGGSQGNL IF	TRA J42</
--------------	--------------	-------------	----------------	-------------------	--------------

真菌性肺炎の場合

抗原として、標準菌株(KWIK-STIK 2pack) *Aspergillus fumigatus* derived from ATCC 204305 01021P (アズワン) を用いる。

[0257] (プロトコール)

被検体の末梢血中の感染源特異的な免疫細胞の有無をELISPOTアッセイで調べる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞 (PBMC) をウェルに加え、上記の抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャプチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、感染源由来抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

(結果)

IL-21の分泌が確認された場合、感染歴があると判断できる。

[0258] (実施例6：ワクチン有効性評価・再感染防御能の評価)

本実施例では、ワクチン有効性評価・再感染防御能の評価を行う。

感染源特異的な免疫細胞は、抗体に比べて長期間維持され、再感染時に迅速に応答しうるため、免疫細胞の防御能を評価に用いることができる。また、濾胞性T細胞は多くのT細胞分画の中でも液性免疫の誘導と強化(親和性成熟)に重要な分画であるため、特に濾胞性T細胞を誘導する当該感染源エピトープを含むプローブと反応するT細胞を持つ被験者はより強い、あるいは質的に優位な感染防御能を有すると判断される。そのため、感染後やワクチン摂取後に成立した免疫評価法として、PBMCにおいて、プローブ反応性の細胞の有無を調べるのが有効であると考えられる。評価法は上記と同様にELISPOTやフローサイトメトリーを用いることができる。これらの方法は、検出するサイトカインを変更したり、表面抗原プローブを組み合わせることで、エピトーププローブに反応したT細胞が実際に濾胞性T細胞であったか、どの程度の割合がそうであったかを検出することもでき、検出感度や判定基準に応じて実

験系を設計することができる。

[0259] (材料および方法)

(材料)

インフルエンザウイルスの場合

抗原として、InfluenzaA, Hemagglutinin, Brisbane (funakoshi) を用いる。
。

腸管出血性大腸菌感染症の場合

抗原として、大腸菌0157由来リポポリサッカリド (Wako) を用いる。

真菌性肺炎の場合

抗原として、標準菌株(KWIK-STIK 2pack) *Aspergillus fumigatus* derived from ATCC 204305 01021P (アズワン) を用いる。

(プロトコール)

被検体の末梢血中の感染源特異的な免疫細胞の有無をELISPOTアッセイで調べる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞 (PBMC) をウェルに加え、上記の抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャプチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、感染源由来抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

(結果)

IL-21の分泌が確認された場合、免疫細胞の防御能が有効であると判断できる。
。

[0260] (実施例7：がん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価)

本実施例では、がん免疫薬剤(免疫チェックポイントなど)有効性評価を行う。

がん抗原に対する液性免疫応答が惹起されれば、より高い抗腫瘍性が期待される。そのため、抗腫瘍液性免疫応答を誘導する濾胞性T細胞がより多く検

出される被験者は、被験者の抗腫瘍免疫が活性化しやすく、免疫チェックポイント阻害剤など被験者の抗腫瘍免疫を強化する薬剤がより有効であると考えられる。

腫瘍生検検体や末梢血から得たT細胞とエピトーププローブとの反応性を評価することで、被験者の抗腫瘍免疫の活動度を評価し、治療法選択に役立てることが考えられる。また、エピトーププローブとフローサイトメトリーを組み合わせ、薬剤投与中のエピトープ特異的濾胞性T細胞(腫瘍特異的濾胞性T細胞)の活性化や疲弊度を評価することで、抗腫瘍免疫の活動が維持されているかどうか調べることが期待される。これは免疫チェックポイント阻害剤が今後も有効であるか、治療を中断し別の治療法を模索すべきか等の判断に有効である。

[0261] (材料および方法)

(材料)

肺がんの場合

抗原として、肺がんマーカーであるCEAを用いる。

胃がんの場合

抗原として、胃がんマーカーであるCA19-9を用いる。

[0262] (プロトコール)

被検体の末梢血中の抗原特異的な免疫細胞の有無をELISPOTアッセイで調べる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞(PBMC)をウェルに加え、上記の抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャプチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

[0263] (結果)

ネガティブコントロールと比較してIL-21の分泌の増加が確認された場合、がん免疫薬剤が有効に作用すると判断することができる。

[0264] (実施例8：自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価)

本実施例では、自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価(未病時)、病態評価を行う。

自己抗体を伴う自己免疫疾患は多いが、その中でも自己抗体が病原性を持つと考えられる疾患(例えばANCA関連血管炎)においては、自己抗体を産生するB細胞と相互作用する濾胞性 T細胞の有無・増減が、B細胞の成熟に伴う発症や病態悪化/再燃につながることを考えられる。そのため、疾患特異的な自己抗原由来のエピトープを提示する濾胞性T細胞を検出することにより、疾患リスク(発症前)や疾患活動度を評価することができると考えられる。

試験方法としては被験者から採取したPBMCに対しプローブ反応性の細胞をELISPOTやフローサイトメトリーを用いて調べることが考えられる。

[0265] (材料および方法)

(材料)

アトピー性皮膚炎の場合

アトピー性皮膚炎を引き起こす自己抗体を、抗原として用いる。

アレルギー性鼻炎の場合

アレルギー性鼻炎を引き起こす自己抗体を、抗原として用いる。

喘息の場合

喘息を引き起こす自己抗体を、抗原として用いる。

[0266] (プロトコール)

被検体の末梢血中の抗原特異的な免疫細胞の有無をELISPOTアッセイで調べる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞(PBMC)をウェルに加え、上記の抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャプチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

[0267] (結果)

ネガティブコントロールと比較してIL-21の分泌の増加が確認された場合、疾患リスク(発症前)や疾患活動度が高いと判断できる。

[0268] (実施例9：デジタルヘルス応用例)

これまでの実施例で述べてきたように、エピトープ特異的濾胞性T細胞応答は様々な疾患に適用しうる。一方で、エピトープや抗原自身が不明な疾患があることも事実であり、そのためにもさまざまな患者における既知の疾患関連エピトープを含む様々なエピトープに対する濾胞性T細胞応答のデータを研究期間内で共有し、ビッグデータとして新たな知見を得るための基盤として運用することが考えられる。試験方法としては被験者から採取したPBMCに対しプローブ反応性の細胞をELISPOTやフローサイトメトリーを用いて調べることが考えられる。

(材料および方法)

(材料)

明確な抗原が不明な全身性エリテマトーデスを対象疾患として考える。

これに対し、既知の感染症等の抗原由来エピトープやランダムに準備したエピトープをパネル化して用いて、濾胞性T細胞の個々のエピトープに対する応答やレベルを評価する。

(プロトコール)

被検体の末梢血中の抗原特異的な免疫細胞の有無をELISPOTアッセイで調べる。ここで使用されるELISPOTアッセイでは、濾胞性T細胞が産生するIL-21を検出できる抗体をコートしたプレートを用いる。末梢血単核細胞(PBMC)をウェルに加え、上記の抗原を用いて36時間刺激する。分泌されたIL-21は、産生細胞の周辺にあるキャプチャー用抗体と結合する。洗浄により細胞を除去した後、検出用のサイトカイン抗体を添加し、スポットを検出する。ネガティブコントロールとして、抗原による刺激を行わないアッセイを行う。

[0269] (結果)

ネガティブコントロールと各エピトープのIL-21の分泌量の情報と臨床情報

をデータとして共有・保管し、将来の診断法開発や疾患の細分化・治療法選択法の開発に用いる。

[0270] なお、本開示は上記実施例に限定されるものではなく、本開示の要旨の範囲内において、種々の変形実施が可能である。

[0271] (注記)

以上のように、本開示の好ましい実施形態を用いて本開示を例示してきたが、本開示は、この実施形態に限定して解釈されるべきものではない。本開示は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。当業者は、本開示の具体的な好ましい実施形態の記載から、本開示の記載および技術常識に基づいて等価な範囲を実施することができることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。本出願は、日本国特許庁に、2021年3月16日に出願された特願2021-42670に対する優先権主張を伴うものであり、その内容は、その全体が本願において参考として援用される。

産業上の利用可能性

[0272] 本開示は、ワクチン開発、細胞療法、診断技術などの分野において利用可能である。

請求の範囲

- [請求項1] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定すること、および該レベルまたは量を所定の基準と比較することを含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法。
- [請求項2] 前記基準が、前記疾患の履歴、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能、前記疾患の病態および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも1つに関する基準である、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記基準が、前記被検体における前記疾患に関する基準である、請求項1または2に記載の方法。
- [請求項4] 前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴に関する基準である、請求項1に記載の方法。
- [請求項5] 前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能に関する基準である、請求項1に記載の方法。
- [請求項6] 前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価に関する基準である、請求項1に記載の方法。
- [請求項7] 前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含み、前記基準が、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である、請求項1に記載の方法。
- [請求項8] 前記測定は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析による、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項9] 前記比較は、測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレ

ベル、空間的分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較することをさらに含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

[請求項10] 前記疾患は、感染症またはがんである、請求項1～6および8～9のいずれか一項に記載の方法。

[請求項11] 前記疾患はウイルス感染症である、請求項1～6および8～9のいずれか一項に記載の方法。

[請求項12] 前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

[請求項13] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための試薬またはデバイス。

[請求項14] 前記試薬またはデバイスは、濾胞性T細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、請求項13に記載の試薬またはデバイス。

[請求項15] 前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、請求項13に記載の試薬またはデバイス。

[請求項16] 前記疾患は、感染症またはがんである、請求項13～15のいずれか一項に記載の試薬またはデバイス。

[請求項17] 前記疾患はウイルス感染症である、請求項13～15のいずれか一項に記載の試薬またはデバイス。

[請求項18] 前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、請求項13～15のいずれか一項に記載の試薬またはデバイス。

[請求項19] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量を測定する試薬またはデバイスと、
該試薬またはデバイスによる測定結果を該疾患について評価する評価

部と

を含む、該被検体に対する該疾患を評価するためのシステム。

- [請求項20] 前記評価部は、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも1つを行うように構成される、請求項19に記載のシステム。
- [請求項21] 前記被検体における前記疾患を検査または診断する検査・診断部をさらに含む、請求項19または20に記載のシステム。
- [請求項22] 前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をする感染履歴評価部をさらに含む、請求項19に記載のシステム。
- [請求項23] 前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をするワクチン有効性評価・再感染防御能評価部をさらに含む、請求項19に記載のシステム。
- [請求項24] 前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をするがん免疫薬剤有効性評価部をさらに含む、請求項19に記載のシステム。
- [請求項25] 前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量を測定する濾胞性T細胞測定部、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をする自己免疫疾患リスク評価、病態評価部を含む、請求項19に記載のシステム。
- [請求項26] 前記試薬またはデバイスは、濾胞性T細胞に対して特異的に反応する試薬を含む、請求項19～25のいずれか一項に記載のシステム。
- [請求項27] 前記デバイスは、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析を行うためのデバイスである、請求項19～25のいずれか一項に記載のシステム。
- [請求項28] 測定した前記疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的

分布または量を、疾患に罹患していない被験体における疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量の平均値または中央値と比較する比較部をさらに含む、請求項19～27のいずれか一項に記載のシステム。

[請求項29] 前記疾患は、感染症またはがんである、請求項19～24および26～28のいずれか一項に記載のシステム。

[請求項30] 前記疾患はウイルス感染症である、請求項19～24および26～28のいずれか一項に記載のシステム。

[請求項31] 前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、請求項19～24および26～28のいずれか一項に記載のシステム。

[請求項32] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、
該濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を所定の基準と比較する工程と
を含む、該被検体に関する該疾患に関する事項を試験するための方法。

[請求項33] 前記基準が、前記疾患の履歴の有無、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性、前記疾患に対する治療剤の有効性、前記疾患の再罹患に対する防御能の有無、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスクからなる群より選択される少なくとも1つに関する基準である、請求項32に記載の方法。

[請求項34] 前記基準が、前記被検体の前記疾患の感染履歴の有無に関する基準である、請求項32に記載の方法。

[請求項35] 前記基準が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性・再感染防御能の有無に関する基準である、請求項32に記載の方法。

[請求項36] 前記基準が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性に関する基準である、請求項32に記載の方法。

[請求項37] 前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記測定は該自

己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含み、前記基準が、前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク、病態に関する基準である、請求項32に記載の方法。

[請求項38] 前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、請求項32～37のいずれか一項に記載の方法。

[請求項39] 前記比較は、前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被験体における被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、請求項32～38のいずれか一項に記載の方法。

[請求項40] 前記疾患は、感染症またはがんである、請求項32～36および38～39のいずれか一項に記載の方法。

[請求項41] 前記疾患はウイルス感染症である、請求項32～36および38～39のいずれか一項に記載の方法。

[請求項42] 前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、請求項32～41のいずれか一項に記載の方法。

[請求項43] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、
該濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を該疾患について評価する工程と
を含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法を、コンピュータに実装するコンピュータ読み取り可能なコードを含むプログラム。

[請求項44] 前記評価する工程が、前記疾患の履歴の評価、前記疾患に対する予防剤またはワクチンの有効性の評価、前記疾患に対する治療剤の有効性

の評価、前記疾患の再罹患に対する防御能の評価、前記疾患の病態評価および前記疾患の罹患リスク評価からなる群より選択される少なくとも1つを行うことをさらに含む、請求項43に記載のプログラム。

[請求項45] 前記方法が、前記被検体の前記疾患の感染履歴の評価をすることを含む、請求項43に記載のプログラム。

[請求項46] 前記方法が、前記被検体の前記疾患のワクチン有効性評価・再感染防御能の評価をすることを含む、請求項43に記載のプログラム。

[請求項47] 前記方法が、前記被検体の前記疾患のがん免疫薬剤の有効性評価をすることを含む、請求項43に記載のプログラム。

[請求項48] 前記疾患関連因子は、自己免疫疾患関連因子であり、前記方法が、前記測定は該自己免疫疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定すること、ならびに前記被検体の自己抗体を伴う自己免疫疾患のリスク評価、病態評価をすることを含む、請求項43に記載のプログラム。

[請求項49] 前記情報を提供する工程は、ELISPOT、フローサイトメトリー、末梢血単核細胞(PBMC)の再刺激アッセイ、次世代シーケンサー/遺伝子検査(レパトア解析)、免疫染色(病理組織検査)、in situ解析により行われるものである、請求項43～48のいずれか一項に記載のプログラム。

[請求項50] 前記方法が、前記被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を、疾患に罹患していない被験体における被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報の平均値または中央値と比較することをさらに含む、請求項43～49のいずれか一項に記載のプログラム。

[請求項51] 前記疾患は、感染症またはがんである、請求項43～47および49～50のいずれか一項に記載のプログラム。

[請求項52] 前記疾患はウイルス感染症である、請求項43～47および49～5

0のいずれか一項に記載のプログラム。

[請求項53] 前記疾患はアレルギーまたは自己免疫疾患である、請求項43～50のいずれか一項に記載のプログラム。

[請求項54] 請求項43～53のいずれか一項に記載のプログラムを格納したコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

[請求項55] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベルまたは量を測定することを含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法。

[請求項56] 被検体における疾患の疾患関連因子に反応性の濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を提供する工程と、
該濾胞性T細胞のレベル、空間的分布または量に関する情報を該疾患について評価する工程と
を含む、該被検体に対する該疾患を評価するための方法。

[図1]

Fig 1

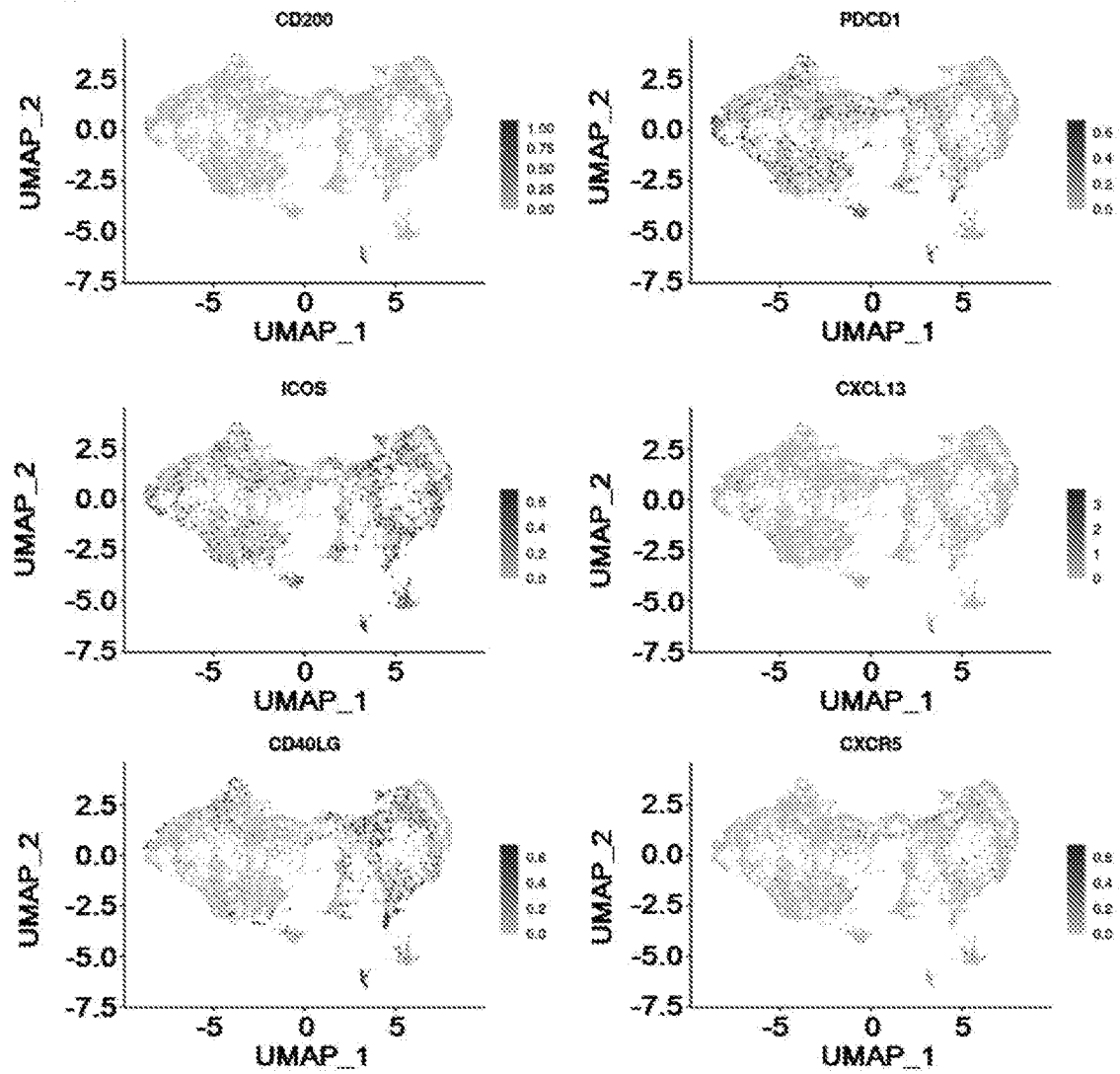
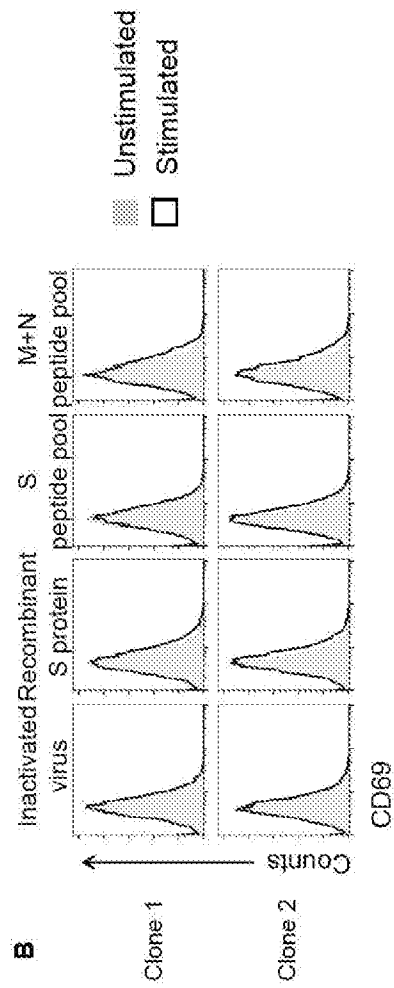
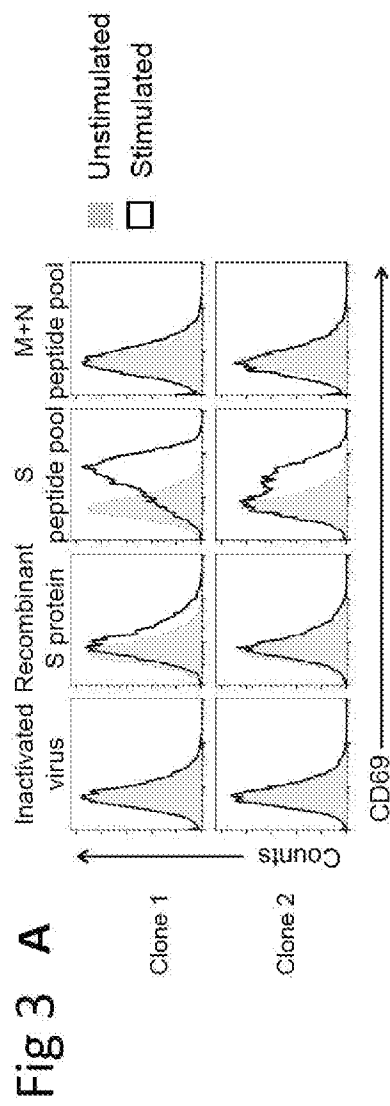


Fig 2

Clone 1	TRBV11-2	TRBJ2-7
	TCGCTCAGAGATCTCA	TCGCTCAGAGATCTCA
	C A S S Q T Y E Q Y F	C A S S Q T Y E Q Y F

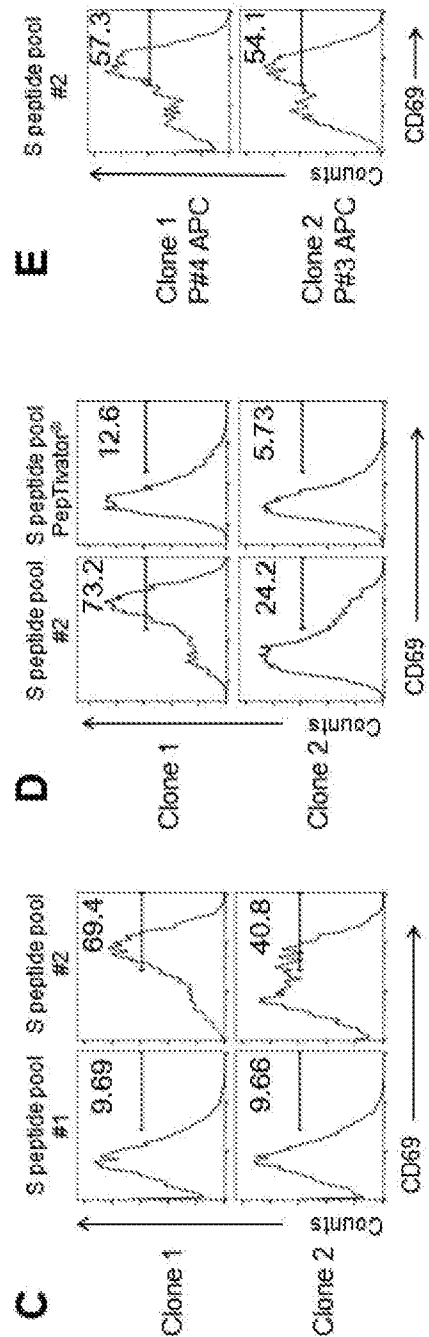
Clone 2	TRBV11-2	TRBJ2-7
	TCGCTCAGAGATCCCT	TCGCTCAGAGATCTCA
	C A S S P T Y E Q Y F	C A S S P T Y E Q Y F

[図3-1]



[図3-2]

Fig 3



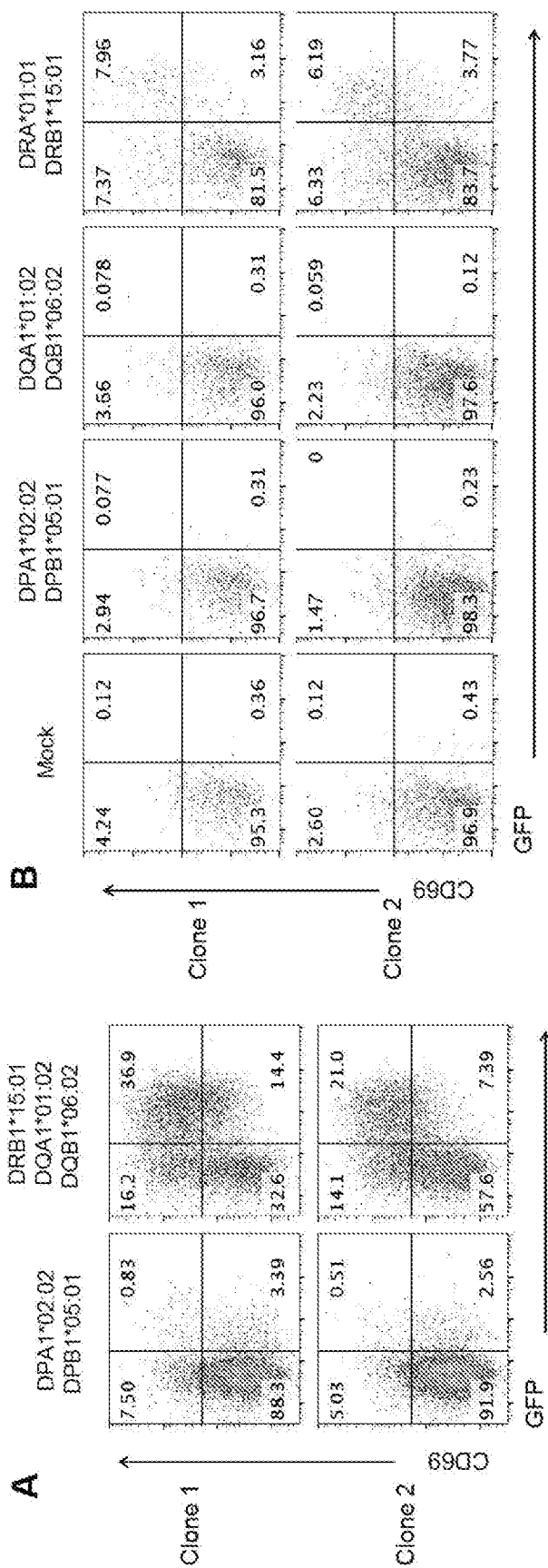
[図4]

Fig 4

PepMix™
S peptide poolPepTivator®
S peptide pool

[図5-1]

Fig 5



[図5-2]

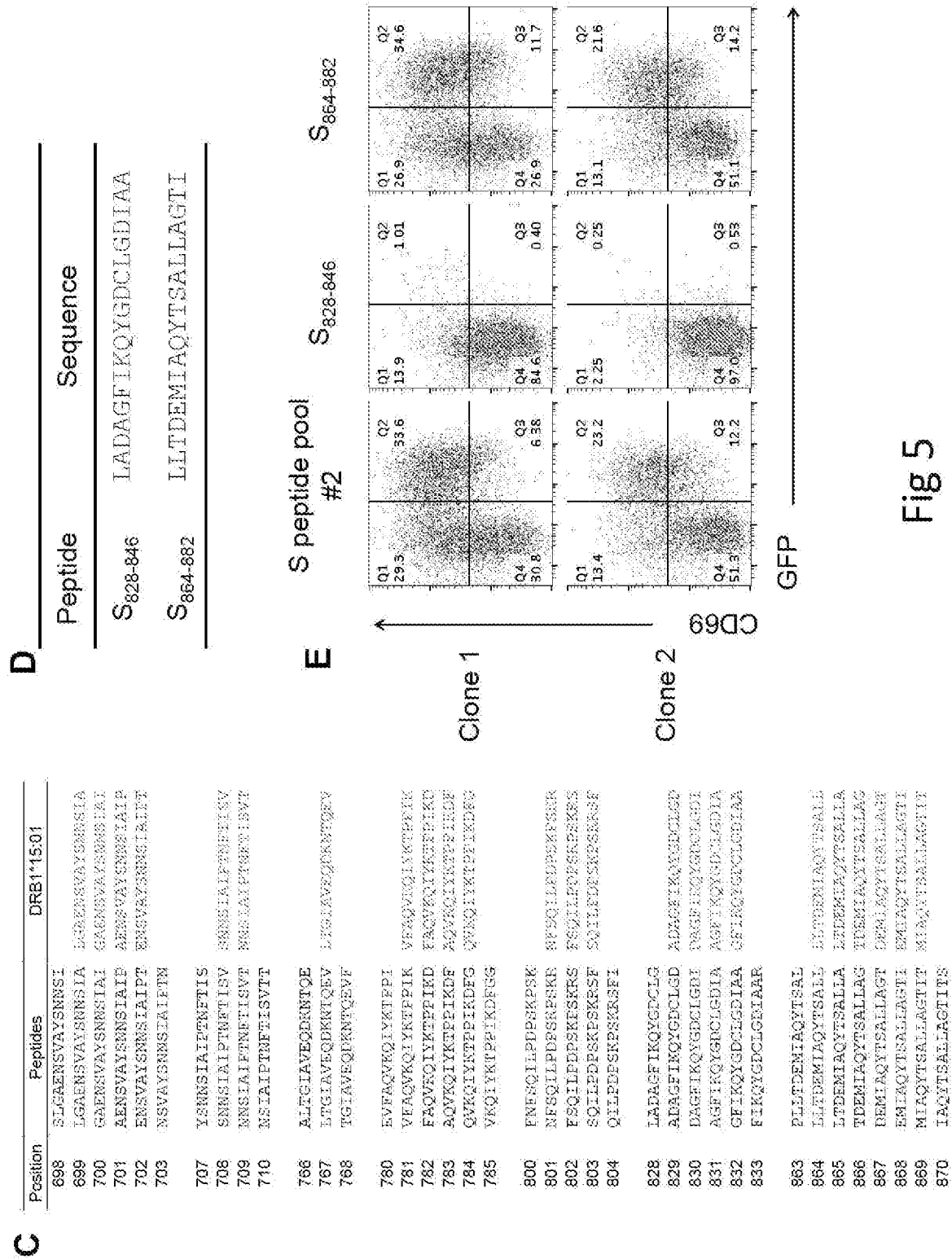


Fig 5

[図6-1]

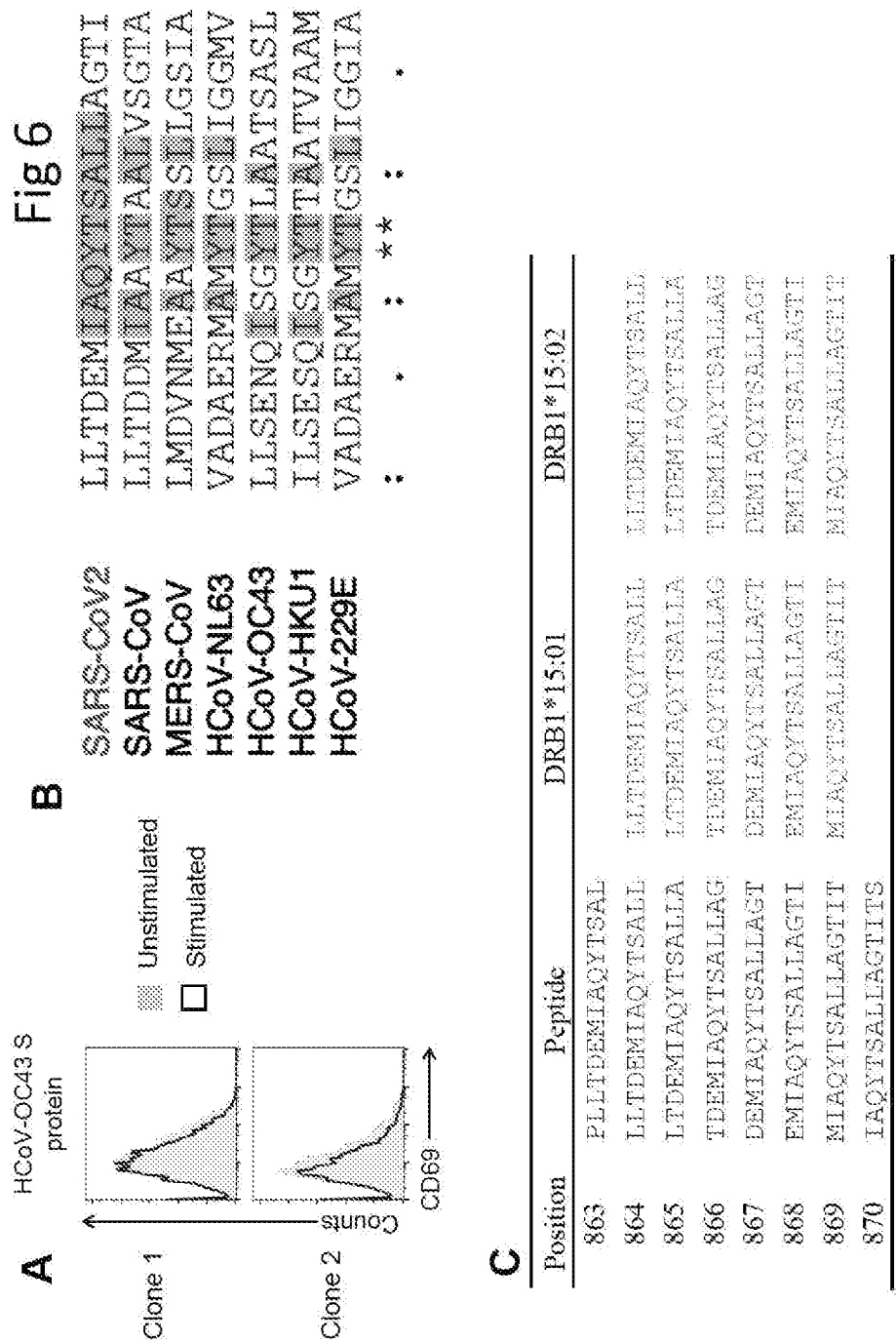


Fig 6

LLTDEMIAQYTSALLAGTI

LLTDDMIAATIAVSGTA

LMDVNMEAATSSILGSIA

VADAERMAMVTGSIIGMV

LLSENQISGYHLAATSASL

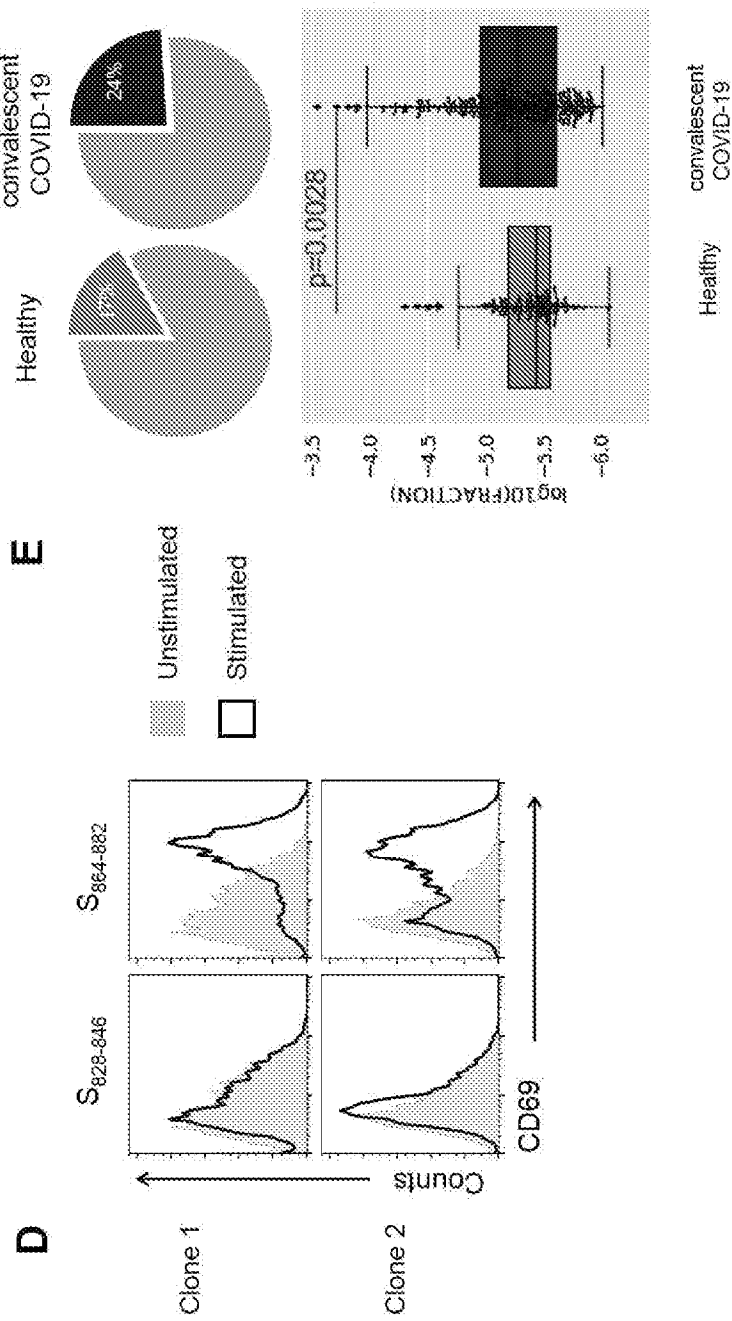
ILSESQISGYTTATVAAM

VADAERMAMVTGSIIGGIA

: . : ** : .

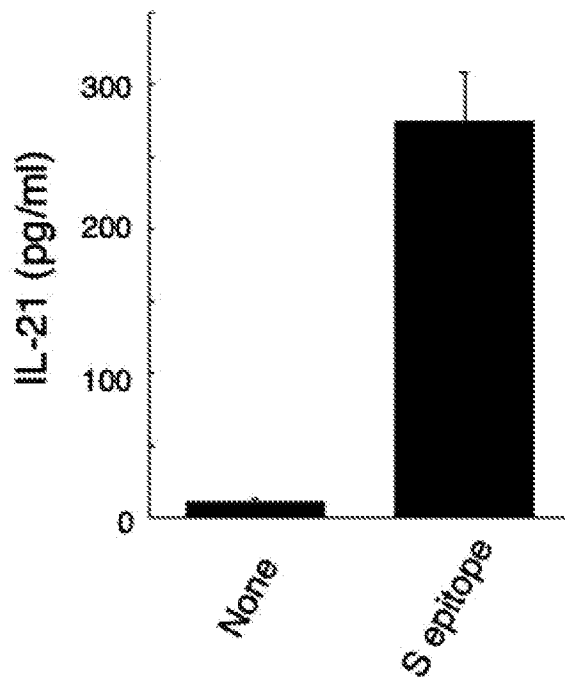
[図6-2]

Fig 6



[図7]

Fig 7



[図8]

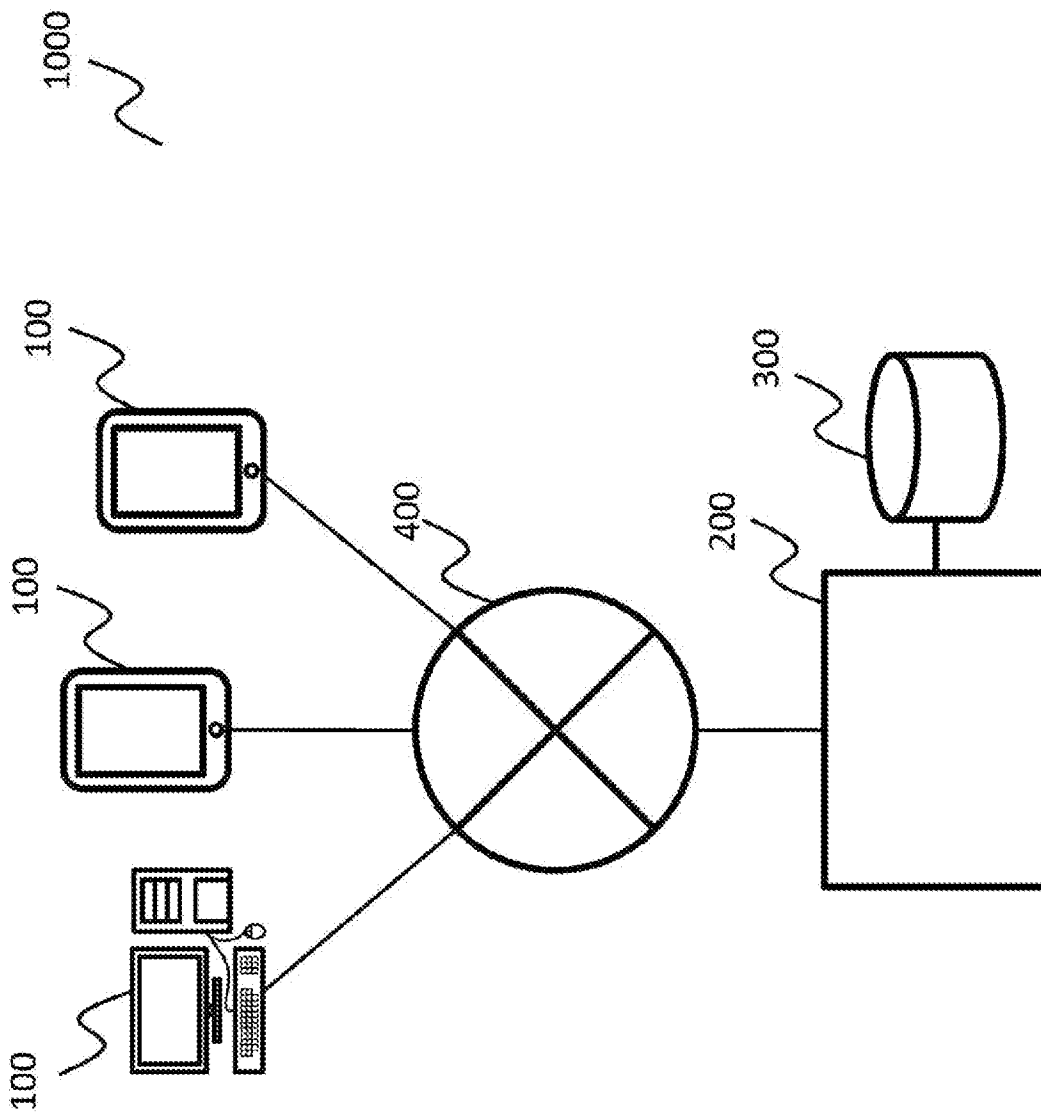


Fig 8

[図9]

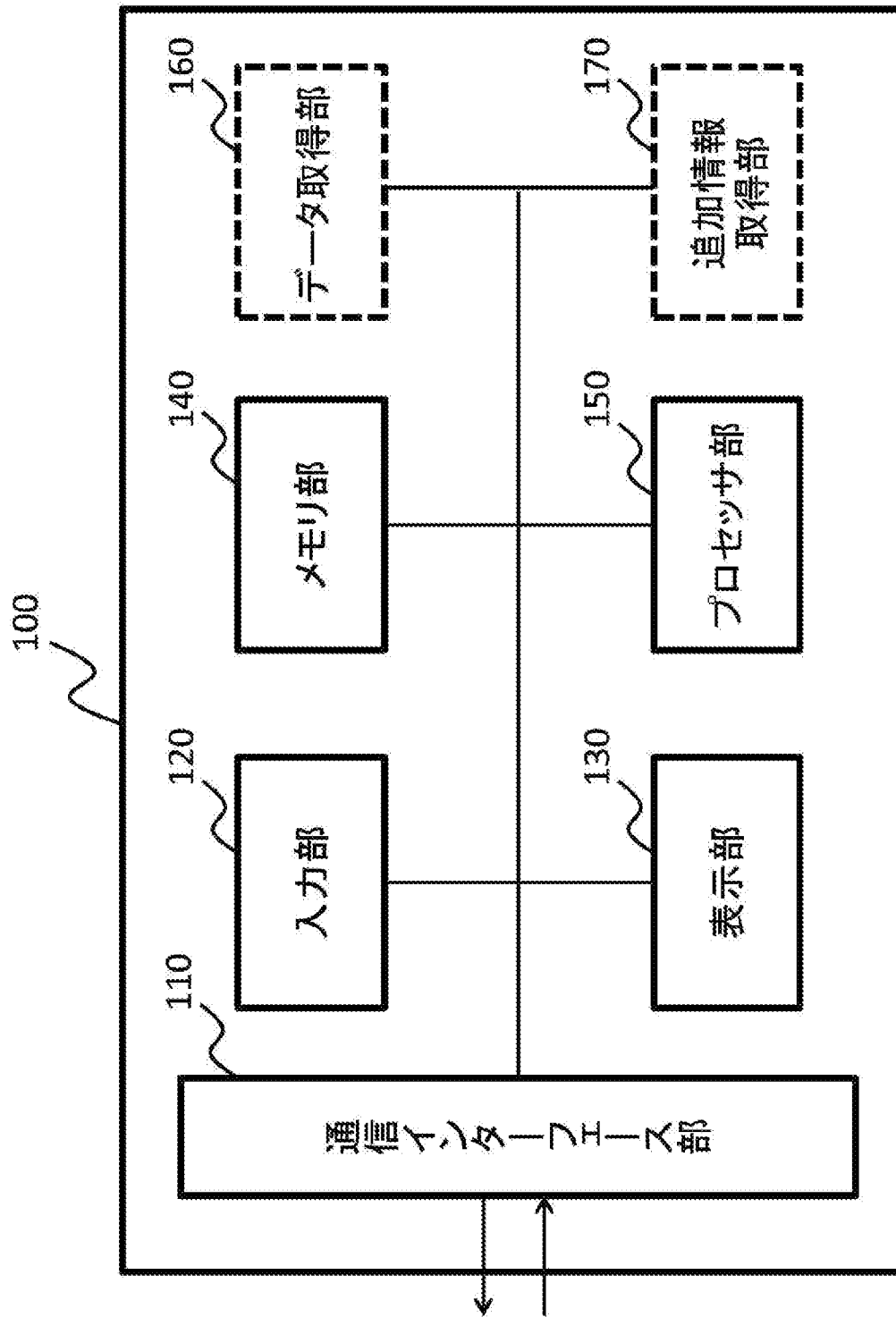


Fig 9

[図10]

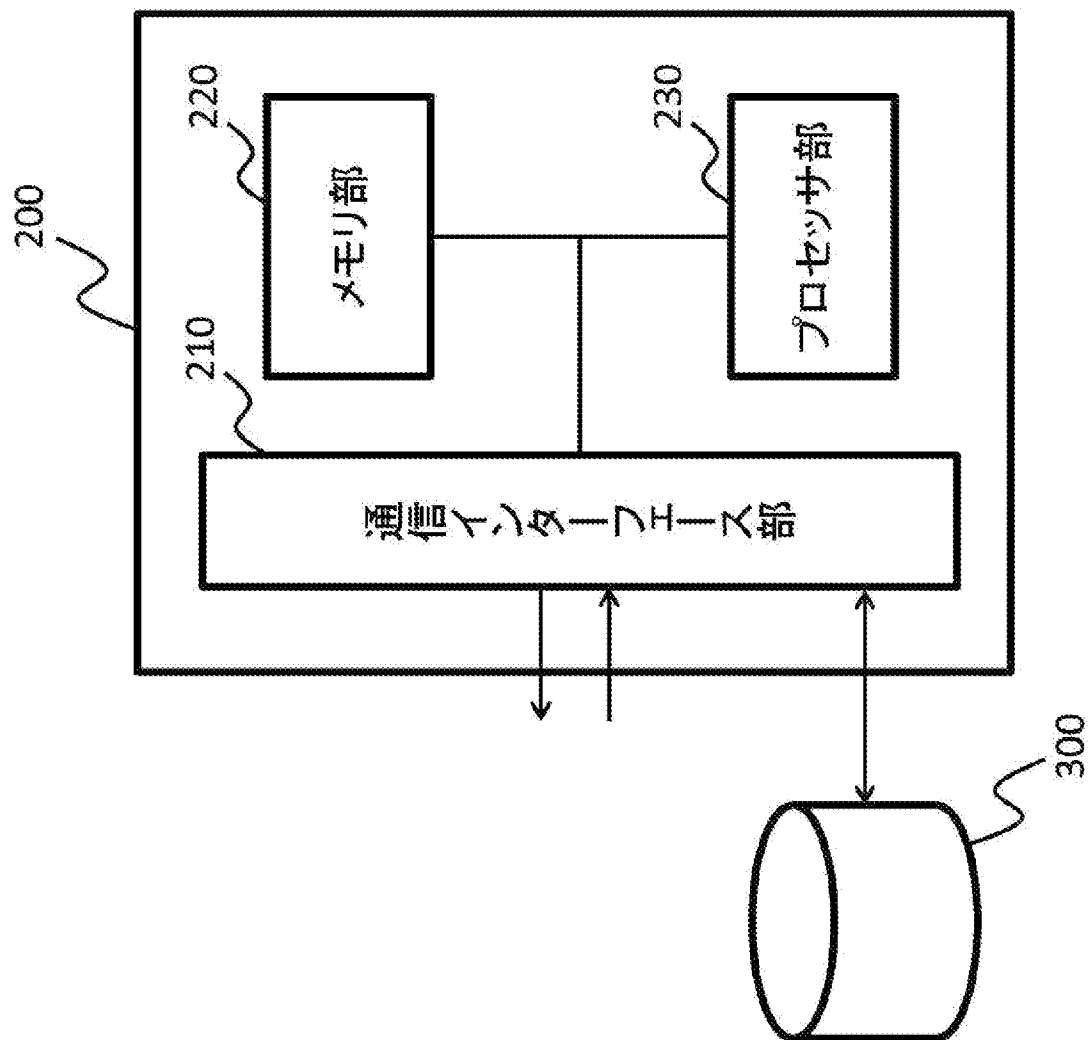


Fig 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/011710

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 1/34(2006.01)i; *C12Q 1/06*(2006.01)i; *C12Q 1/6869*(2018.01)i; *G01N 33/483*(2006.01)i; *G01N 33/53*(2006.01)i
FI: G01N33/53 Y ZNA; G01N33/483 C; C12Q1/06; C12Q1/6869 Z; C12M1/34 D

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M1/34; C12Q1/06; C12Q1/6869; G01N33/483; G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2016/186154 A1 (NAT CENTER NEUROLOGY & PSYCHIATRY) 24 November 2016 (2016-11-24) claims 1-2, 4, paragraph [0038]	1-56
A	LONG, Y. et al. Activated inducible co-stimulator-positive programmed cell death 1-positive follicular helper T cells indicate disease activity and severity in ulcerative colitis patients. Clinical and Experimental Immunology. 2020, vol. 202, no. 1, pp. 106-118 abstract	1-56
P, A	石塚茂宜ほか, SARS-CoV-2特異的T細胞クロノタイプとエピトープ解析, 医学のあゆみ, 04 December 2021, vol. 279, no. 10, pp. 947-952 entire text, all drawings, (ISHIZUKA, Shigenari et al. Analysis on T cells specific for SARS-CoV-2 in recovered patients. Journal of clinical and experimental medicine.)	1-56
A	岩本弥生、上野英樹, ヒト濾胞性ヘルパーT細胞の分化と機能, 月刊臨床免疫・アレルギー科, 25 December 2020, vol. 74, no. 6, pp. 637-645 entire text, all drawings, (IWAMOTO, Yayoi. UENO, Hideki. Differentiation and functions of human T follicular helper cells. Clinical immunology & allergology.)	1-56

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 May 2022

Date of mailing of the international search report

07 June 2022

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/011710

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2016/186154	A1	24 November 2016	US 2018/0149573 A1 claims 1-2, 4, paragraph [0047] EP 3299810 A1	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12M 1/34(2006.01)i; C12Q 1/06(2006.01)i; C12Q 1/6869(2018.01)i; G01N 33/483(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i FI: G01N33/53 Y ZNA; G01N33/483 C; C12Q1/06; C12Q1/6869 Z; C12M1/34 D		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C12M1/34; C12Q1/06; C12Q1/6869; G01N33/483; G01N33/53		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年		
国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII); CPlus/MEDLINE/BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2016/186154 A1 (国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター) 24.11.2016 (2016-11-24) 請求項1-2、4、段落[0038]	1-56
A	LONG, Y. et al., Activated inducible co-stimulator-positive programmed cell death 1-positive follicular helper T cells indicate disease activity and severity in ulcerative colitis patients, Clinical and Experimental Immunology, 2020, Vol.202, No.1, PP.106-118 abstract	1-56
P, A	石塚茂宜ほか, SARS-CoV-2特異的T細胞クロノタイプとエピトープ解析, 医学のあゆみ, 2021.12.04, Vol.279, No.10, PP.947-952 全文、全図	1-56
A	岩本弥生、上野英樹, ヒト濾胞性ヘルパーT細胞の分化と機能, 月刊臨床免疫・アレルギー科, 2020.12.25, Vol.74, No.6, PP.637-645 全文、全図	1-56
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 13.05.2022		国際調査報告の発送日 07.06.2022
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 海野 佳子 2J 3906 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

PCT/JP2022/011710

様式 PCT/ISA/210 (パテントファミリー用別紙) (2015年1月)