



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I769586 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：109140068

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 03 月 17 日

(51)Int. Cl. : C07K14/725 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

C12N15/12 (2006.01)

C12N5/16 (2006.01)

C12N15/115 (2010.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/03/17 美國

62/134,253

2015/03/17 英國

1504502.4

(71)申請人：德商英麥提克生物技術股份有限公司 (德國) IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH (DE)

德國

(72)發明人：文史恩克 湯尼 WEINSCHENK, TONI (DE)；弗里切 金斯 FRITSCH, JENS (DE)；辛格 哈皮特 SINGH, HARPREET (DE)；馬爾安 德列 MAHR, ANDREA (DE)；奧特 瑪丁娜 OTT, MARTINA (DE)；瓦那 克勞迪亞 WAGNER, CLAUDIA (DE)；史古兒 奧利佛 SCHOOR, OLIVER (DE)

(74)代理人：李世章；彭國洋

(56)參考文獻：

WO 2013/033609A2

WO 2015/018805A1

期刊 Hassan C et al. The Human Leukocyte Antigen-presented Ligandome of B Lymphocytes Molecular & Cellular Proteomics vol.12 no.7 The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. 2013/03/12 p.1829-1843

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：8 項 圖式數：3 共 194 頁

(54)名稱

用於抗胰臟癌與其他癌症的免疫治療的新穎胜肽及胜肽的組合

(57)摘要

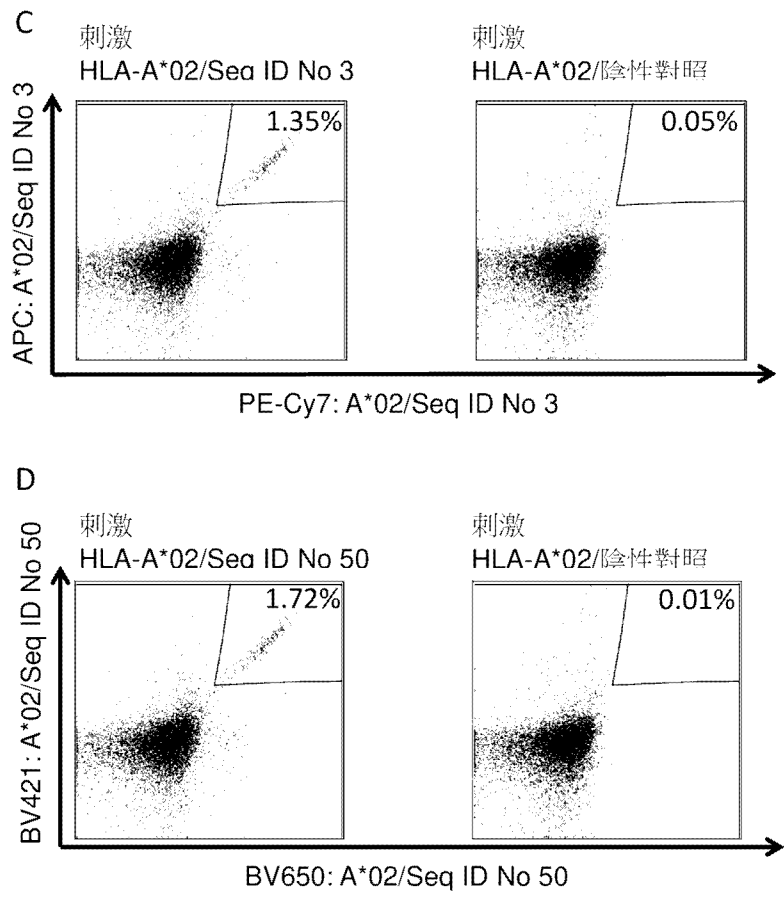
本發明涉及用於免疫治療方法的胜肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關胜肽（例如刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激 T 細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關 T 細胞胜肽表位。與主要組織相容性複合體 (MHC) 分子結合的胜肽或與此同類的胜肽也可能是抗體、可溶性 T 細胞受體和其他結合分子的標靶。

The present invention relates to peptides, proteins, nucleic acids and cells for use in immunotherapeutic methods. In particular, the present invention relates to the immunotherapy of cancer. The present invention furthermore relates to tumor-associated T-cell peptide epitopes, alone or in combination with other tumor-associated peptides that can for example serve as active pharmaceutical ingredients of vaccine compositions that stimulate anti-tumor immune responses, or to stimulate T cells ex vivo and transfer into patients. Peptides

bound to molecules of the major histocompatibility complex (MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

指定代表圖：

圖 3 (續)





I769586

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於抗胰臟癌與其他癌症的免疫治療的新穎胜肽及胜肽的組合

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND COMBINATION OF PEPTIDES FOR USE IN IMMUNOTHERAPY AGAINST PANCREATIC CANCER AND OTHER CANCERS

【中文】

本發明涉及用於免疫治療方法的胜肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關胜肽（例如刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激 T 細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關 T 細胞胜肽表位。與主要組織相容性複合體（MHC）分子結合的胜肽或與此同類的胜肽也可能是抗體、可溶性 T 細胞受體和其他結合分子的標靶。

【英文】

The present invention relates to peptides, proteins, nucleic acids and cells for use in immunotherapeutic methods. In particular, the present invention relates to the immunotherapy of cancer. The present invention furthermore relates to tumor-associated T-cell peptide epitopes, alone or in combination with other tumor-associated peptides that can for example serve as active pharmaceutical ingredients of vaccine compositions that stimulate anti-tumor immune responses, or to

stimulate T cells ex vivo and transfer into patients. Peptides bound to molecules of the major histocompatibility complex (MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

【指定代表圖】第（ 3C ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於抗胰臟癌與其他癌症的免疫治療的新穎胜肽及胜肽的組合

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND COMBINATION OF PEPTIDES FOR USE IN IMMUNOTHERAPY AGAINST PANCREATIC CANCER AND OTHER CANCERS

【技術領域】

【0001】 本發明涉及用於免疫治療方法的胜肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關胜肽（刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激T細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關T細胞胜肽表位。與主要組織相容性複合體（MHC）分子結合的胜肽或與此同類的胜肽也可能是抗體、可溶性T細胞受體和其他結合分子的標靶。

【0002】 本發明涉及數種新穎胜肽序列及其變體，它們源自人腫瘤細胞的HLA-I類分子，可用于引發抗腫瘤免疫反應的疫苗組合物中或作為開發藥物/免疫活性化合物和細胞的目標。

【先前技術】

【0003】 胰臟癌是世界上最惡性和致命的癌症之一。2012年，它是男性中第12大常見癌症，全世界有 178,000 名病例，女性中第11大常見癌症，全世界有 160,000 名病例。同年，報告了330,000萬例死亡病例，使胰臟癌成為第七大最常見的癌症死因 (World Cancer Report, 2014)。

【0004】 胰臟癌並非單一癌症實體，而是若干不同亞型必須加以區別。外分泌腫瘤占有所有胰臟癌的95%左右，包括導管癌和腺泡狀腺癌、導管內乳頭狀黏液性腫瘤 (IPMN)、假乳頭狀實體瘤、囊性黏液腺瘤和漿液性囊腺瘤。其餘5%的胰臟癌屬於胰臟神經內分泌腫瘤的亞組 (World Cancer Report, 2014)。

【0005】 浸潤性導管腺癌代表最惡性形式的胰臟癌，由於其高發生頻率 (90%的胰臟癌)，流行病學資料主要反映這一特定亞型 (World Cancer Report, 2014)。

【0006】 2012年，68%的所有新病例發生在發達國家，歐洲中部和東部、北美、阿根廷、烏拉圭和澳大利亞發病率最高。相反，非洲和東亞大多數國家顯示發病率較低。在全球範圍內，隨著時間變化兩性中的發病率似乎相當穩定 (World Cancer Report, 2014)。

【0007】 由於缺乏特異性症狀，胰臟癌通常在確診時已是晚期，往往已經處於轉移期。經診斷，預後很差，5年生存

率為5%，死亡率與發病率比例為0.98(World Cancer Report, 2014)。

【0008】 據報告，幾個因素可增加發生胰臟癌的風險，包括較大年齡（因為大多數患者在診斷時均為65歲以上）和種族（如，在美國，黑種人口與白種人口相比風險增加1.5倍）。進一步的風險因素為吸煙、身體肥胖、糖尿病、非O型ABO血型、胰臟炎和胰臟癌家族史(World Cancer Report, 2014)。

【0009】 高達10%的所有胰臟癌病例被認為有家族基礎。下列基因胚系突變與發生胰臟癌的風險增加有關：p16/CDKN2A、BRCA2、PALB2、PRSS1、STK11、ATM和DNA錯配修復基因。此外，胰臟癌散發病例的特徵還在於不同原癌基因和腫瘤抑制基因的突變。導管腺癌最常見的基因突變發生于癌基因KRAS基因(95%)和AIB1（高達60%）和腫瘤抑制基因TP53(75%)、p16/CDKN2A(95%)和SMAD4(55%)內(World Cancer Report, 2014)。

【0010】 胰臟癌患者的治療選擇非常有限。有效治療的一個主要問題是在確診時通常處於腫瘤晚期。此外，胰臟癌對化療藥物相當耐藥，這可能是由緻密和少血管結締組織增生腫瘤基質引起的。

【0011】 依據德國抗癌協會、德國癌症援助組織和德國科學醫學協會發佈的指導方針，切除腫瘤是唯一可用的有效治療選擇。如果腫瘤局限於胰臟或如果只轉移到鄰近器

官，則建議切除。如果腫瘤已經擴散到遠處部位，則不建議手術切除。切除後，用吉西他濱或5-氟尿嘧啶+/-亞葉酸進行六個月的輔助化療(S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013)。

【0012】 晚期不能手術的腫瘤患者可以透過化療與放化療聯合治療(S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013)。

【0013】 緩和化療標準方案為吉西他濱單藥療法或與表皮生長因子受體酪胺酸激酶抑制物厄洛替尼聯合治療。替代方案是5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、依立替康和奧沙利鉑聯合(也稱為FOLFIRINOX方案)，或吉西他濱與白蛋白結合型紫杉醇聯合(在MPACT研究中與吉西他濱單一療法相比顯示具有較優的療效(Von Hoff等人, 2013; S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 2013)。

【0014】 死亡率與發病率高比例反映了實施更有效胰臟癌治療策略的迫切需要。

【0015】 靶向治療已經在其他幾種癌症中顯示出效果，代表著一個令人關注的選項。因此，已經完成了數項研究來評估靶向治療對晚期胰臟癌的益處，遺憾的是，成果非常有限(Walker and Ko, 2014)。儘管如此，胰臟癌的遺傳多樣性可能帶來個性化療法的可能性，因為BRCA2或PALB2等位基因失活的浸潤性導管腺癌被證明對聚

(A D P - 核糖) 聚合酶抑制物和絲裂黴素 C 治療更為敏感 (W o r l d C a n c e r R e p o r t , 2 0 1 4) 。

【0016】 靶向作用於腫瘤間質構成了開發胰臟癌新療法的替代方法。典型的緻密和少血管基質可能充當化療劑的屏障，並且顯示可傳送促進腫瘤細胞增殖、侵襲和癌症幹細胞維持的訊號。因此，不同的臨床前和臨床研究旨在分析基質消耗和失活的影響 (R u c k i a n d Z h e n g , 2 0 1 4) 。

【0017】 對疫苗接種策略進行了研究，其作為胰臟癌治療的進一步創新和有前途的替代方法。靶向作用於 K R A S 突變、活性端粒酶、胃泌素、存活蛋白、C E A 和 M U C 1 已經在臨床試驗中進行評估，部分顯示有希望的結果。此外，針對胰臟癌患者的樹突狀細胞疫苗、異基因 G M - C S F 分泌疫苗和 a l g e n p a n t u c e l - L 臨床試驗還顯示了免疫療法的有益效果。進一步研究不同疫苗接種方案效率的臨床試驗目前正在進行中 (S a l m a n 等人 , 2 0 1 3) 。

【0018】 考慮到治療癌症相關的嚴重副作用和費用，通常有必要確定可用於治療癌症的因子，尤其是胰臟癌。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是胰臟癌，從而更好地診斷癌症、評估預後和預測治療成功性。

【0019】 癌症免疫治療代表了癌症細胞特異性靶向作用的一個選項，同時最大限度地減少副作用。癌症免疫療法利用存在的腫瘤相關抗原。

【0020】 腫瘤相關抗原 (T A A) 的目前分類主要包括以下幾組：

a) 癌 - 睪丸抗原：T細胞能夠識別的最先確認的TAA屬於這一類抗原，由於其成員表現于組織學相異的人腫瘤中、正常組織中、僅在睪丸的精母細胞/精原細胞中、偶爾在胎盤中，因此，它最初被稱為癌 - 睪丸(CT)抗原。由於睪丸細胞不表現HLA I類和II類分子，所以，在正常組織中，這些抗原不能被T細胞識別，因此在免疫學上可考慮為具有腫瘤特異性。CT抗原大家熟知的例子是MAGE家族成員NY-ESO-1。

b) 分化抗原：腫瘤和正常組織（腫瘤源自該組織）都含有TAA。大多數已知的分化抗原發現於黑色素瘤和正常黑色素細胞中。許多此類黑色素細胞譜系相關蛋白質參與黑色素的生物合成，因此這些蛋白質不具有腫瘤特異性，但是仍然被廣泛用於癌症的免疫治療。例子包括，但不僅限於，黑色素瘤的酪胺酸酶和Melan-A/MART-1或攝護腺癌的PSA。

c) 過度表現的TAA：在組織學相異的腫瘤中以及許多正常組織中都檢測到了基因編碼被廣泛表現的TAA，一般表現水準較低。有可能許多由正常組織加工和潛在呈現的表位低於T細胞識別的閾值水準，而它們在腫瘤細胞中的過度表現能夠透過打破先前確立的耐受性而引發抗癌反應。這類TAA的典型例子為Her-2/neu、生存素、端粒酶或WT1。

d) 腫瘤特異性抗原：這些獨特的TAA產生于正常基因（如 β -catenin、CDK4等）的突變。這些分子變化中有一些與致瘤性轉化和/或進展相關。腫瘤特異性抗原一般可在不

對正常組織帶來自體免疫反應風險的情況下誘導很強的免疫反應。另一態樣，這些TAA在多數情況下只與其上確認了有TAA的確切腫瘤相關，並且通常在許多個體腫瘤之間並不都共用TAA。在含有腫瘤特定（相關）同種型蛋白質的情況下，如果胜肽源自腫瘤（相關）外顯子也可能出現胜肽腫瘤特異性（或相關性）。

e) 由異常翻譯後修飾產生的TAA：此類TAA可能由腫瘤中既不具有特異性也不過度表現的蛋白質產生，但其仍然具有腫瘤相關性（該相關性由主要對腫瘤具有活性的翻譯後加工所致）。此類TAA產生於糖基化模式的改變，導致腫瘤產生針對MUC1的新穎表位或在降解過程中導致諸如蛋白質拼接的事件，這可能具有也可能不具有腫瘤特異性。

f) 腫瘤病毒蛋白質：這些TTA是病毒蛋白質，可在致癌過程中發揮關鍵作用，並且由於它們是外源蛋白質（非人源蛋白質），所以能夠激發T細胞反應。這類蛋白質的例子有人乳頭狀瘤16型病毒蛋白質、E6和E7，它們在宮頸癌中表現。

【0021】 基於T細胞的免疫治療靶向作用于主要組織相容性複合體(MHC)分子呈現的來源於腫瘤相關蛋白質或腫瘤特異性蛋白質的胜肽表位。腫瘤特異性T淋巴細胞所識別的抗原，即其表位，可以是源自所有蛋白質類型的分子，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中表現，並且與同源未變的細胞相比，其表現通常上調。

【0022】 MHC 分子有兩類：MHC I類和MHC II類。MHC I類分子由一條 α 重鏈 β -2-微球蛋白組成，MHC II類分子由一條 α 和一條 β 鏈組成。其三維構造形成一個結合槽，用於與胜肽進行非共價相互作用。

【0023】 MHC-I類分子可在大部分有核細胞上發現。它們呈現主要為內源性的蛋白質、缺陷核糖體產物(DRIP)和較大胜肽裂解生成的胜肽。然而，源自內體結構或外源性來源的胜肽也經常在MHC-I類分子上發現。這種I-類分子非經典呈現方式在文獻中被稱為交叉呈現(Brossart and Bevan, 1997; Rock等人, 1990)。MHC II類分子主要發現于專業抗原呈現細胞(APC)上，並且主要呈現，例如，在內吞作用過程中由APC佔據並且隨後被加工的外源性或跨膜蛋白質的胜肽。

【0024】 胜肽和MHC I類的複合體由負載相應T細胞受體(TCR)的CD8陽性T細胞進行識別，而胜肽和MHC II類分子的複合體由負載相應TCR的CD4陽性輔助T細胞進行識別。因此，TCR、胜肽和MHC按照1:1:1的化學計量呈現，這一點已是共識。

【0025】 CD4陽性輔助T細胞在誘導和維持CD8陽性細胞毒性T細胞的有效反應中發揮重要作用。腫瘤相關抗原(TAA)衍生的CD4陽性T細胞表位的識別對開發能引發抗腫瘤免疫反應的藥物產品可能非常重要(Gnjatic等人, 2003)。在腫瘤部位，T輔助細胞維持著對細胞毒性T細胞(CTL)友好的細胞因子環境(Mortara等人, 2006)並吸

引效應細胞，如CTL、自然殺手(NK)細胞、巨噬細胞和粒細胞(Hwang等人，2007)。

【0026】 在沒有炎症的情況下，MHC II類分子的表現主要局限於免疫系統細胞，尤其是專業抗原呈現細胞(APC)，例如，單核細胞、單核細胞源性細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞。在癌症患者的腫瘤細胞中發現有MHC II類分子的表現(Dengjel等人，2006)。

【0027】 本發明的拉長(較長)胜肽可作為MHC-II類活性表位。

【0028】 MHC-II類表位活化的輔助T細胞在編排抗腫瘤免疫的CTL效應子功能中發揮著重要作用。觸發TH1細胞反應的輔助T細胞表位支援CD8陽性殺手T細胞的效應子功能，其中包括直接作用於腫瘤細胞的細胞毒性功能(該類腫瘤細胞表面顯示有腫瘤相關胜肽/MHC複合體)。這樣，腫瘤相關T輔助細胞表位單獨使用或與其他腫瘤相關胜肽結合使用可作為刺激抗腫瘤免疫反應的疫苗化合物的活性藥物成分。

【0029】 哺乳動物(如小鼠)模型顯示，即使沒有CD8陽性T淋巴細胞，CD4陽性T細胞也能透過分泌干擾素- γ (IFN γ)抑制血管生成而足以抑制腫瘤的表現(Beatty and Paterson, 2001; Mumberg等人，1999)。沒有CD4 T細胞作為直接抗腫瘤效應因子的證據(Braumüller等人，2013; Tran等人，2014)。

【0030】 由於HLA II類分子的組成性表現通常僅限於免疫細胞，因此，直接從原發腫瘤中分離II類胜肽之前被認為是不可能的事。然而，Dengjel等人成功地在腫瘤中直接識別了多個MHC II類表位(WO 2007/028574, EP 1760 088 B1)。

【0031】 由於CD8依賴型和CD4依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵CD8+T細胞（配體：MHC I類分子+胜肽表位）或CD4陽性T輔助細胞（配體：MHC II類分子）識別的腫瘤相關抗原對開發腫瘤疫苗非常重要。

【0032】 對於MHC I類胜肽觸發（引發）細胞免疫反應的胜肽，它也必須與MHC分子結合。這一過程依賴於MHC分子的等位基因以及胜肽胺基酸序列的特異性多態性。MHC-I類-結合胜肽的長度通常為8-12個胺基酸殘基，並且在其與MHC分子相應結合溝槽相互作用的序列中通常包含兩個保守殘基（「錨」）。這樣，每個MHC的等位基因都有「結合模體」，從而確定哪些胜肽能與結合溝槽特異性結合。

【0033】 在MHC-I類依賴性免疫反應中，胜肽不僅能與腫瘤細胞表現的某些MHC-I類分子結合，而且它們之後還必須能被T細胞負載的特異性T細胞受體(TCR)識別。

【0034】 對於被T淋巴細胞識別為腫瘤特異性抗原或相關性抗原以及用於治療的蛋白質，必須具備特殊的條件。該抗原應主要由腫瘤細胞表現，而不由正常健康組織表現，

或表現數量相對較少。在一個優選的實施例中，與正常健康組織相比，所述胜肽應在腫瘤細胞中過度呈現。更為適宜的情況是，該相應抗原不僅出現於一種腫瘤中，而且濃度（即每個細胞的相應胜肽拷貝數目）高。腫瘤特異性抗原和腫瘤相關抗原往往是源自直接參與因細胞週期控制或凋亡抑制中的其功能而發生的正常細胞向腫瘤細胞轉化的蛋白質。另外，這些直接導致轉化事件的蛋白質的下游標靶可能會被上調，因此可能與腫瘤間接相關。這些間接腫瘤相關抗原也可能是預防接種方法的標靶（Singh-Jasuja等人，2004）。至關重要的是，表位存在於抗原胺基酸序列中，以確保這種來自腫瘤相關抗原的胜肽（「免疫原性胜肽」）可導致體外或體內T細胞反應。

【0035】基本上，任何能與MHC分子結合的胜肽都可能充當一個T細胞表位。誘導體外或體內T細胞反應的前提是存在具有相應TCR的T細胞並且不存在對該特定表位的免疫耐受性。

【0036】因此，TAA是基於T細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗）研發的起點。識別和表徵TAA的方法通常基於對患者或健康受試者T細胞的使用情況，或基於腫瘤與正常組織胜肽之間差別轉錄特性或差別表現模式的產生。然而，對腫瘤組織或人腫瘤細胞株中過度表現或選擇性表現的基因的識別並不提供在免疫療法中使用這些基因所轉錄抗原的準確資訊。這是因為，有著相應TCR的T細胞必須要存在而且對這個特定表位的免疫耐受性必須不存在或為最低

水準，因此，這些抗原的表位只有一部分適合這種應用。因此，在本發明的一非常優選的實例中，只選擇那些針對可發現功能性和/或增殖性T細胞情況的過量呈現或選擇性呈現胜肽，這一點非常重要。這種功能性T細胞被定義為在以特異性抗原刺激後能夠克隆地擴展並能夠執行效應子功能（「效應子T細胞」）的T細胞。

【0037】 在透過依據本發明的特定TCR（例如可溶性TCR）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於胜肽-MHC的情況下，基本胜肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，呈現是決定因素。

【發明內容】

【0038】 在本發明的第一態樣，本發明涉及一種胜肽或其藥用鹽，該胜肽包含選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67所組成的群組的一胺基酸序列或變其體序列，該變體序列與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67具有至少77%、優選至少88%同源（優選至少77%或至少88%相同），其中所述變體與MHC結合和/或誘導T細胞與所述胜肽發生交叉反應，其中所述胜肽不是基本的全長多胜肽。

【0039】 本發明進一步涉及本發明的一種胜肽，包含選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67所組成的群組的一序列或其變體，該變體與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67具有至少77%、優選至少88%同源性（優選為至少77%或

88% 相同)，其中所述胜肽或其變體的總長度為 8 至 100 個、優選為 8 至 30 個、最優選為 8 至 14 個胺基酸。

【0040】 下表顯示了依據本發明的胜肽、它們各自的 SEQ ID NO 以及這些胜肽預期的源（基本的）基因。表 1 和表 2 中的所有胜肽均與 HLA-A*02 結合。表 2 中的胜肽之前在大型列表中披露，作為高通量篩查結果，錯誤率高，或使用演算法計算出，但之前與癌症毫無關聯。表 3 中的胜肽是可與本發明其他胜肽組合使用的其他胜肽。表 4 和 4-2 中的胜肽還可用於診斷和/或治療各種其他惡性疾病，這些疾病涉及過度表現或過度呈現各基本的多胜肽。

【0041】 表 1：本發明中的胜肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
1	FLAQQESEI	1211, 1212	CLTA, CLTB
2	SLQEEHVAVA	5339	PLEC
3	ALLTFMEQV	165	AEBP1
4	SVDVSPPKV	113146	AHNAK2
5	LLVDDSF LHTV	253982	ASPHD1
6	VLISLKQAPLV	1211	CLTA
7	AQQESEIAGI	1211, 1212	CLTA, CLTB
8	IVDDL TINL	1303	COL12A1
9	FLFDGSANLV	1293	COL6A3
10	FLVDGSSAL	1293	COL6A3
11	FLYKIIDEL	1293	COL6A3
12	FVSEIVDTV	1293	COL6A3
13	LLAGQTYHV	1293	COL6A3
14	VLAKPGVISV	1293	COL6A3
15	SLANNVTSV	131566	DCBLD2
16	APVNVTTTEVKSV	158078, 1915	EEF1A1P5, EEF1A1
17	FLKSGDAAIV	158078, 1915	EEF1A1P5, EEF1A1
18	SLLDDELM SL	26088	GGA1
19	HLAPETDEDDL	8100	IFT88
20	RLAGDGVGAV	3855	KRT7
21	HLMDQPLSV	3918	LAMC2
22	TLDGAAVNQV	3918	LAMC2
23	SLSAFTLFL	4060	LUM
24	GLLEELVTV	642475	MROH6
25	SLKEEVGEEAI	4627	MYH9
26	SLKEEVGEEAIV	4627	MYH9

27	YLQGQRLDNV	6447	SCG5
28	YLQGQRLDNVV	6447	SCG5
29	FLQEYLDAL	6317, 6318	SERPINB3, SERPINB4
30	VVDEGPTGV	9123	SLC16A3
31	SLAAAAGKQEL	6750	SST
32	SLAAAAGKQELA	6750	SST
33	SLDSRLELA	81628	TSC22D4
34	MLMPVHFL	114131	UCN3
35	VMDSGDGVTHTV	100996820, 344227, 345651, 440915, 445582, 60, 641455, 653269, 653781, 71, 728378	ACTBL2, POTEKP, POTEK, ACTB, POTEM, POTEI, POTEJ, ACTG1, POTEF
36	KQEYDESGPSIVH	100996820, 344227, 440915, 445582, 60, 641455, 653269, 653781, 71, 728378	POTEKP, POTEK, ACTB, POTEM, POTEI, POTEJ, ACTG1, POTEF
37	GLLKKINSV	55107	ANO1
38	NLVEKTPALV	10632, 267020	ATP5L, ATP5L2
39	TLLSNLEEA	1191	CLU
40	FILDSAETTTL	1293	COL6A3
41	FLLDGSEGV	1293	COL6A3
42	KLVDKSTEL	1293	COL6A3
43	RLDQRPQI	1293	COL6A3
44	VLLDKIKNLQV	1293	COL6A3
45	VADKIHSV	11072	DUSP14
46	TFAPVNVTTTEVKSV	158078, 1915	EEF1A1P5, EEF1A1
47	KMDASLGNLFA	10447, 51384	FAM3C, WNT16
48	ALTQTGGPHV	2316	FLNA
49	NLKGTFATL	100187828, 3043, 3045	HBB, HBD
50	ALAAILTRL	80201	HKDC1
51	ALMLQGVDL	3329	HSPD1
52	RMVEEIGVEL	10525	HYOU1
53	SSFGGLGGGSV	3880	KRT19
54	VLLSEIEVA	4134	MAP4
55	YLDAMMNEA	103910, 10627	MYL12B, MYL12A
56	GLLDYATGAIGSV	117583	PARD3B
57	FLGKVVIDV	100271927, 10156	RASA4B, RASA4
58	GLAAFKAFL	5999	RGS4
59	KLFNLSKEDDV	6194	RPS6
60	YLEEDVYQL	23255	SOGA2
61	ALEKDYEEVGV	10376, 113457, 7278, 7846	TUBA1B, TUBA3D, TUBA3C, TUBA1A
62	ALEKDYEEV	10376, 113457, 51807, 7277, 7278, 7846, 84790	TUBA1B, TUBA3D, TUBA8, TUBA4A, TUBA3C, TUBA1A, TUBA1C

63	FAGDDAPR	100996820, 344227, 445582, 58, 59, 60, 653269, 653781, 70, 71, 72, 728378	POTEE, ACTA1, ACTA2, ACTB, POTEI, POTEJ, ACTC1, ACTG1, ACTG2, POTEF
64	FLVSNMLLAEA	113791	PIK3IP1

【0042】 表 2：本發明中的其他胜肽，之前與癌症無已知的關聯

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
65	YLYDSETKNA	4316	MMP7
66	ALLSGLREA	23028	KDM1A
67	KMFFLIDKV	4599	MX1

【0043】 表 3：用於個性化癌症療法的胜肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
68	KLLTEVHAA	101	ADAM8
69	VMAFPTMTI	338	APOB
70	FLVDGSWSV	1303	COL12A1
71	FLLDGSANV	1293	COL6A3
72	YVYQNNIYL	2191	FAP
73	TLVAIVGV	60681	FKBP10
74	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3
75	RLDDLKMTV	3918	LAMC2
76	RLLDSVSRL	3918	LAMC2
77	GLTDNIHLV	25878	MXRA5
78	TLSSIKVEV	25878	MXRA5
79	VLAPRVLRA	5954	RCN1
80	TLYPHTSQV	1462	VCAN
81	AMSSKFFLV	7474	WNT5A
82	SISDVIAQV	56172	ANKH
83	FLIDSSEGV	1293	COL6A3
84	NLLDLDYEL	1293	COL6A3
85	TVAEVIQSV	55083	KIF26B
86	SLLAQNTSWLL	7070	THY1
87	LLLGSPAAA	23544	SEZ6L

【0044】 本發明還一般涉及本發明的胜肽用於治療增殖性疾病，例如，肺癌、腎癌、腦癌、結腸癌或直腸癌、食管癌、乳癌、卵巢癌、胃癌、肝癌、攝護腺癌、黑素瘤和白血病。

【0045】 特別優選的是本發明的胜肽（單獨或組合），其選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67所組成的群組。更優選的是所述胜肽（單獨或組合）選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:34所組成的群組（見表1）並且其用於胰臟癌、肺癌、腎癌、腦癌、結腸癌或直腸癌、食管癌、乳腺癌、卵巢癌、胃癌、肝癌、攝護腺癌、黑素瘤和白血病的免疫治療，優選為胰臟癌的免疫治療。如示下面的表4和4-2所示，其中本發明的許多胜肽也發現於其他腫瘤中，因此也可用於其他適應症的免疫治療。另請參閱圖1和實例1。

【0046】 表4：本發明的胜肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定胜肽，發現他們過度呈現於至少5%測定的腫瘤樣本，或呈現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何平均值腫瘤與正常組織的比值大於3。過度呈現定義為與最高呈現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的呈現更高。

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
3	ALLTFMEQV	肺、腎、腦、結腸、直腸、食管
4	SVDVSPPKV	肺、腎、黑色素瘤
5	LLVDDNFLHTV	腎、腦、肝、黑色素瘤、卵巢
8	IVDDLINL	食管
9	FLFDGSANLV	肺、結腸、直腸、乳腺、食管
10	FLVDGSSAL	肺、胃、乳腺
11	FLYKIIDEL	肺、結腸、直腸、乳腺
12	FVSEIVDTV	肺、乳腺、食管
14	VLAKPGVISV	肺
15	SLANNVTSV	肺、腎、腦、胃、黑色素瘤、卵巢、食管
16	APVNVTTTEVKSV	白細胞
21	HLMDQPLSV	肺
23	SLSAFTLFL	肺、攝護腺
24	GLLEELVTV	肺、胃、卵巢
30	VVDEGPTGV	肺、腎、腦、胃、肝、白細胞、乳腺、卵巢
34	MLMPVHFL	胃

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
36	KQEYDESGPSIVH	肺、腦
39	TLLSNLEEA	腦、攝護腺
40	FILDSAETTTL	肺
41	FLLDGSEGV	肺、乳腺、卵巢、食管
42	KLVDKSTEL	肺、結腸、直腸、食管
43	RLDQRVPQI	肺、結腸、直腸、乳腺、食管
44	VLLDKIKNLQV	肺、胃、結腸、直腸、肝、乳腺、黑色素瘤
45	VADKIHVS	腎、胃
47	KMDASLGNLFA	腦
50	ALAAILTRL	腎、胃、結腸、直腸
51	ALMLQGVDL	食管
53	SSFGLGGGSV	肺
55	YLDAMMNEA	腦、結腸、直腸、肝、卵巢
58	GLAAFKAFI	肺、腎臟、肝臟
60	YLEEDVYQL	肺、腎臟、結腸、直腸、乳腺
64	FLVSNMLLAEA	攝護腺
65	YLYDSETKNA	腎、結腸、直腸、肝、卵巢、食管
66	ALLSGLREA	腎、白細胞、黑色素瘤
67	KMFFLIDKV	腦、肝臟
68	KLLTEVHAA	肺、腎臟、胃、結腸、直腸、肝臟、乳腺、卵巢
69	VMAFPTMTI	肺、肝臟、攝護腺、卵巢、食管
70	FLVDGSWSV	肺、胃、結腸、直腸、卵巢、食管
71	FLLDGSANV	肺、胃、結腸、直腸、肝、乳腺、卵巢、食管
72	YVYQNNIYL	肺、胃、結腸、直腸、肝、乳腺、黑色素瘤、卵巢、食管
73	TLVAIVVG	肺、腎臟、腦、胃、結腸、直腸、肝臟、攝護腺、乳腺、卵巢、食管
74	KIQEILTQV	肺、腎臟、腦、胃、結腸、直腸、肝臟、白細胞、卵巢、食管
75	RLDDLKMTV	肺、腎、結腸、直腸、卵巢、食管
76	RLLDSVSRL	肺、腎臟、結腸、直腸、肝臟、卵巢
77	GLTDNIHLV	肺、腎、結腸、直腸、卵巢、食管
78	TLSSIKVEV	肺、腎臟、胃、結腸、直腸、攝護腺、乳腺、黑色素瘤
79	VLAPRVLRA	肺、腎臟、腦、結腸、直腸、肝臟
81	AMSSKFFLV	肺、腦、胃、結腸、直腸、肝臟、攝護腺、食管
82	SISDVIAQV	肺、腦、結腸、直腸、肝臟、攝護腺
83	FLIDSSEGV	肺、結腸、直腸、乳腺、卵巢、食管
84	NLLDLDYEL	肺、胃、結腸、直腸、乳腺、卵巢、食管
85	TVAEVIQSV	肺、食管
86	SLLAQNTSWLL	肺、腎臟、腦、胃、結腸、直腸、肝臟、黑色素瘤
87	LLLGSPAAA	腦

【0047】 表 4 - 2：本發明的胜肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途（表 4 修訂版）。該表（如表 4）顯示，對於其他腫瘤類型的選定胜肽，發現他們過量呈現（包括特定呈現）於 5 % 以上測定的腫瘤樣本，或呈現於 5 % 以上測定的腫瘤樣本且幾何平均值腫瘤與正常組織的比值大於 3。過度呈現定義為與最高呈現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的呈現更高。經過度呈現的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、軟骨、食道、眼、膽囊、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰臟、甲狀旁腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號	序列	其他實體
3	ALLTFMEQV	SCLC、BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
4	SVDVSPPKV	黑色素瘤、食管癌
5	LLVDDSLHTV	SCLC、BRCA、黑色素瘤、食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
6	VLISLKQAPLV	BRCA、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
8	IVDDLTINL	NSCLC、GC、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
9	FLFDGSANLV	SCLC、惡性黑色素瘤、OC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
10	FLVDGSSAL	SCLC、CRC、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
11	FLYKIIDEL	SCLC、惡性黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
12	FVSEIVDTV	SCLC、GC、CRC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
13	LLAGQTYHV	NSCLC、BRCA、OC、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
14	VLAKPGVISV	BRCA、膽囊癌、膽管癌
15	SLANNVTSV	膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
16	APVNVTTTEVKS V	AML
19	HLAPETDEDDL	膽囊癌、膽管癌
20	RLAGDGVGAV	膀胱癌
21	HLMDQPLSV	OC、食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
22	TLDGAAVNQV	食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
23	SLSAFTLFL	SCLC、BRCA、黑色素瘤、OC、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
24	GLLEELVTV	SCLC、CRC、BRCA、子宮癌、膽囊癌、膽管癌

序列 ID 號	序列	其他實體
29	FLQEYLDAI	膀胱癌
30	VVDEGPTGV	SCLC、CRC、黑色素瘤、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
34	MLMPVHFL	BRCA
37	GLLKKINSV	BRCA、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、OC
38	NLVEKTPALV	AML
39	TLLSNLEEA	膀胱癌、子宮癌、NHL
40	FILDSAETTTL	SCLC、BRCA、OC、食管癌
41	FLLDGSEGV	SCLC、黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
42	KLVDKSTEL	SCLC、BRCA、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌
43	RLDQRPQI	SCLC、膽囊癌、膽管癌
44	VLLDKIKNLQV	SCLC、OC、食管癌、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
45	VADKIHSV	BRCA、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌
46	TFAPVNVTTDEV KSV	膽囊癌、膽管癌
47	KMDASLGNL A	食管癌、膀胱癌
50	ALAAILTRL	子宮癌、膽囊癌、膽管癌
51	ALMLQGVDL	BRCA
53	SSFGLGGGSV	BRCA
54	VLLSEIEVA	黑色素瘤、子宮癌
55	YLDAMMNEA	PrC、黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
58	GLAAFKAF L	SCLC、BRCA、黑色素瘤、OC、食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、NHL、OC
60	YLEEDVYQL	黑色素瘤、食管癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
64	FLVSNMLLA E	膀胱癌
65	YLYDSETKNA	SCLC、BRCA、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
66	ALLSGLREA	GC、BRCA
67	KMFFLIDKV	BRCA、黑色素瘤、OC、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、NHL、OC

N S C L C = 非 小 細 胞 肺 癌 ， S C L C = 小 細 胞 肺 癌 ， R C C = 腎
癌 ， C R C = 結 腸 或 直 腸 癌 ， G C = 胃 癌 ， H C C = 肝 癌 ，
P C = 胰 臟 癌 ， P r C = 攝 護 腺 癌 ， B R C A = 乳 癌 ， M C C =
默 克 (M e r k e l) 細 胞 癌 ， O C = 卵 巢 癌 ， N H L = 非 霍 奇 金 淋
巴 瘤 ， A M L = 急 性 骨 髓 性 白 血 病 ， C L L = 慢 性 淋 巴 細 胞 白
血 病 。

【0048】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、4、9、10、11、12、14、15、21、23、24、30、36、40、41、42、43、44、50、53、58、60、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、81、82、83、84、85和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療肺癌的用途。

【0049】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、4、5、15、30、45、50、58、60、65、66、68、73、74、75、76、77、78、79和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療腎癌的用途。

【0050】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、5、15、30、36、39、47、55、67、73、74、79、81、82、86和87中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療腦癌的用途。

【0051】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、9、11、42、43、44、50、55、60、65、68、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、81、82、83、84和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療結腸癌的用途。

【0052】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、9、11、42、43、44、50、55、60、65、68、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、81、82、

83、84和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療直腸癌的用途。

【0053】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號3、8、9、12、15、41、42、43、51、65、69、70、71、72、73、74、75、77、81、83、84和85中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療食管癌的用途。

【0054】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號4、5、15、44、66、72、78和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療黑色素瘤的用途。

【0055】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號5、15、24、30、41、55、65、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、83和84中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療卵巢癌的用途。

【0056】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號9、10、11、12、41、43、60、71、72、73、78、83和84中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療乳癌的用途。

【0057】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號5、30、44、55、58、65、67、68、69、71、72、73、74、76、79、81、82、85和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療肝癌的用途。

【0058】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號10、15、24、30、34、44、45、50、68、70、71、72、73、74、78、81、84和86中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療胃癌的用途。

【0059】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號23、39、64、69、73、78、81和82中本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療攝護腺癌的用途。

【0060】 因此，本發明的另一個態樣涉及選自序列ID號16、30、66和74中任一項所述的本發明的至少一種胜肽與在一種優選實施例中胜肽的組合用於治療白血球癌症的用途。

【0061】 本發明還涉及本發明的胜肽，其具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或以拉長形式存在的例如長度變化的-MHC-II類分子結合的能力。

【0062】 本發明進一步涉及本發明中的胜肽，其中所述胜肽(每種胜肽)是由或基本由依據SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 67的胺基酸序列組成。

【0063】 本發明進一步涉及本發明的胜肽，其中所述胜肽被修飾和/或包含非胜肽鍵。

【0064】 本發明進一步涉及本發明的胜肽，其中所述胜肽為融合蛋白質的一部分，特別是與HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端胺基酸融合，或與抗體(例如，樹突狀細胞特定抗體)或抗體的序列融合。

【0065】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明的胜肽。本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物。

【0066】 本發明進一步涉及一種能表現和/或表現本發明核酸的表現載體。

【0067】 本發明進一步涉及一種治療疾病的藥用，特別是用於治療癌症的本發明的一種胜肽、本發明的一種核酸或本發明的表現載體。

【0068】 本發明進一步涉及本發明中胜肽或本發明中所述胜肽與MHC複合體的特定抗體，以及製造這些抗體的方法。

【0069】 本發明進一步涉及本發明的T細胞受體(TCR)，特別是可溶性TCR(sTCRs)和加工為自體或異體T細胞的克隆TCR，以及製造這些TCR的方法和載有所述TCR或所述TCR交叉反應的NK細胞的製造方法。

【0070】 抗體和TCR是依據本發明的胜肽現有免疫治療用途的另外實施例。

【0071】 本發明進一步涉及含本發明核酸或前述表現載體的一種宿主細胞。本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0072】 本發明進一步涉及配製本發明一種胜肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離胜肽。

【0073】 本發明進一步涉及本發明中的所述方法，其中抗原透過將含抗原呈現細胞與足夠量的抗原結合被載入表現於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈現細胞表面的I或II類MHC分子。

【0074】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原呈現細胞包含表現或能表現含SEQ ID NO.1至SEQ ID NO.67、優選為含SEQ ID No. 1至SEQ ID No. 34所述胜肽的一個表現載體、或一個變體胺基酸序列。

【0075】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一細胞，該細胞表現含本發明胺基酸序列的多胜肽。

【0076】 本發明進一步涉及一種殺死患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表現含本發明任何胺基酸序列的多胜肽，該方法包括給予患者按本發明方法製造的有效量T細胞。

【0077】 本發明進一步涉及任何所述胜肽、本發明的核酸、本發明的表現載體、本發明的細胞、本發明的活化T淋巴細胞、T細胞受體或抗體或其他胜肽-和/或胜肽-MHC結合分子作為藥劑或製造藥劑的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0078】 優選情況為，所述藥劑為基於可溶性TCR或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0079】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中所述癌細胞為胰臟癌、肺癌、腎癌、腦癌、結腸癌或直腸癌、

食管癌、乳癌、卵巢癌、胃癌、肝癌、攝護腺癌、黑色素瘤和白血病，優選為胰臟癌細胞。

【0080】 本發明進一步涉及一種基於本發明胜肽的生物標誌物，在此成為「標靶」，其可用於診斷癌症，優選為胰臟癌。所述標誌物可以胜肽本身過度呈現或相應基因過度表現。標誌物也可以用於預測治療成功的可能性，優選為免疫療法，最優選為靶向作用於該生物標誌物識別的相同標靶的免疫療法。例如，抗體或可溶性 TCR 可用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關胜肽與 MHC 複合。

【0081】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。

【0082】 本發明還涉及這些癌症治療中新穎標靶的用途。

【0083】 針對其他癌性疾病的治療和診斷用途在本發明胜肽的基礎表現產物（多胜肽）的以下更詳細描述中進行揭示。

【0084】 對於 ACAT2 的基因編碼乙醯輔酶 A 乙醯轉移酶 2，這是一種參與脂質代謝的疏解酶。ACAT2 表現在肝細胞癌中上調 (Song 等人, 2006)。ACAT2 表現與胰臟癌細胞株的抗輻射相關 (Soucek 等人, 2014)。

【0085】 ACTA1 基因編碼骨骼肌 α 肌動蛋白，這是蛋白質中肌動蛋白家族的一員，這些蛋白質是高度保守的蛋白質，在細胞運動、結構和完整性態樣發揮作用。ACTA1 是一種經典的肌上皮標誌物，被證明在膀胱癌、口腔鱗狀細胞癌、浸潤性乳癌、胃癌、膽管癌和轉移性肝癌的癌症

相關成纖維細胞中高度表現，並促進上皮-間質轉化、腫瘤基質形成和纖維化 (Schulte 等人，2012; Franz 等人，2010; Kuroda 等人，2005; Nakayama 等人，2002; Terada 等人，1996)。

【0086】 ACTA2 基因編碼平滑肌 α 肌動蛋白，這是蛋白質中肌動蛋白家族的一員，這些蛋白質是高度保守的蛋白質，在細胞運動、結構和完整性態樣發揮作用 (RefSeq, 2002)。ACTA2 的單核苷酸多態性或拷貝數變化已經在慢性淋巴細胞性白血病、非小細胞肺癌腦轉移癌和來自轉移性黑素瘤細胞株中得到確定 (Berndt 等人，2013; Lee 等人，2012; Dutton-Regester 等人，2012)。從功能上來說，ACTA2 的高表現水準似乎與增強的腫瘤細胞侵襲性和轉移形成相關 (Kojima 等人，2014; Lee 等人，2013b; Tatenhorst 等人，2004)。

【0087】 ACTB 基因編碼 β 肌動蛋白，這是收縮裝置的主要組成部分並且是兩個非肌細胞骨架肌動蛋白中的一個 (RefSeq, 2002)。ACTB 顯示在肝癌、黑色素瘤、腎癌、結直腸癌、胃癌、胰臟癌、食管癌、肺癌、乳癌、攝護腺癌、卵巢癌、白血病和淋巴瘤中去調節。ACTB 的異常表現和聚合以及對細胞骨架所產生的變化似乎與癌症侵襲性和轉移相關 (Guo 等人，2013)。

【0088】 ACTBL2 基因編碼 κ 肌動蛋白，這是蛋白質中肌動蛋白家族的一員，這些蛋白質是高度保守的蛋白質，在細胞運動、結構和完整性態樣發揮作用 (RefSeq,

2002)。在肝細胞癌和肝癌細胞中觀察到ACTBL2表現增加，這改變了細胞的生長特性並導致術後預後較差(Chang等人，2006；Chang等人，2011)。

【0089】 ACTC1基因編碼心肌 α 肌動蛋白1，這是心肌細胞收縮裝置的主要成分(RefSeq，2002)。據報告，ACTC1在膀胱癌、紫杉醇治療的非小細胞肺癌細胞和化療耐藥性卵巢癌中表現改變(Zaravinos等人，2011；Che等人，2013；Pan等人，2009)。此外，ACTC1可能是攝護腺癌和橫紋肌肉瘤的一個有用的診斷標誌物(Huang等人，2010；Clement等人，2003)。

【0090】 ACTG1基因編碼肌動蛋白 γ 1，這是發現於非肌肉細胞中的細胞質肌動蛋白，其作為內部細胞運動的介體(RefSeq，2002)。ACTG1被證明在小細胞肺癌和骨肉瘤中過度表現，在上皮性卵巢癌中下調(Li等人，2010；Jeong等人，2011；Chow等人，2010)。據報告，ACTG1水準改變可促進不同類型癌細胞的侵襲和轉移形成。在結腸癌細胞和肝細胞癌細胞中，ACTG1過度表現可增強遷移和侵襲，而在黑色素瘤細胞和唾液腺腺癌細胞中，ACTG1下調與該表型有關(Simiczjew等人，2014；Luo等人，2014；Zhang等人，2006；Gutgemann等人，2001；Suzuki等人，1998)。

【0091】 ACTG2基因編碼肌動蛋白 γ 2，這是發現於腸道組織中的平滑肌肌動蛋白，其介導內細胞運動(RefSeq，2002)。ACTG2被作為攝護腺癌診斷的潛在生物標誌物進

行討論，並顯示出在轉分化攝護腺基質細胞中上調 (Fillmore 等人, 2014; Untergasser 等人, 2005)。關於化療，ACTG2 在紫杉醇治療喉癌細胞後上調，似乎牽涉乳癌細胞的順鉑耐藥性，並且顯示出與結直腸癌肝轉移對 FOLFOX4 方案的敏感性正相關 (Xu 等人, 2013; Watson 等人, 2007; Lu 等人, 2013b)。

【0092】 ADAM8 的基因編碼 ADAM 金屬勝肽酶結構域 8，是參與細胞-細胞和細胞-基質相互作用的去整合素和金屬蛋白酶結構域家族中的一員 (RefSeq, 2002)。胰臟癌中 ADAM8 過度表現與胰臟導管腺癌細胞的遷移和侵襲性增加相關 (Schlomann 等人, 2015)。ADAM8 參與肺癌、腎細胞癌和腦癌中腫瘤細胞的遷移和侵襲 (Mochizuki and Okada, 2007)。

【0093】 AEBP1 的基因編碼脂肪細胞增強子結合蛋白質 1，這是一種羧基勝肽酶 A，可作為轉錄輔阻遏物，對脂肪形成和平滑肌細胞分化有著重要作用 (RefSeq, 2002)。AEBP1 在黑色素瘤中上調，導致對突變體 v-ras 小鼠肉瘤病毒原癌基因同源基因 B1 (BRAF) 抑制的獲得性抗性 (Hu 等人, 2013)。AEBP1 在大多數原發性膠質母細胞瘤中上調 (Reddy 等人, 2008)。

【0094】 AHNAK2 的基因編碼支架蛋白質 AHNAK 核蛋白 2 (Marg 等人, 2010)。AHNAK2 是參與腫瘤生長和侵襲的成纖維細胞生長因子 1 (FGF1) 非經典分泌途徑的重要元素 (Kirov 等人, 2015)。

【0095】 ANKH 的基因編碼關節強直、進展性同源（鼠）/ANKH 無機焦磷酸鹽運輸調節因子，這是一種控制焦磷酸鹽水平的多通道跨膜蛋白質（RefSeq, 2002）。

【0096】 ANO1 的基因編碼 anoctamin 1，這是與小腸肉瘤和口腔癌相關的一種鈣活化氯離子通道（RefSeq, 2002）。ANO1 在食管鱗狀細胞癌（ESCC）、胃腸道間質瘤（GIST）、頭頸部鱗狀細胞癌（HNSCC）、胰臟癌和乳癌中擴增（Qu 等人，2014）。

【0097】 APOB 的基因編碼載脂蛋白 B，這是乳糜微粒和低密度脂蛋白（LDH）的主要載脂蛋白（RefSeq, 2002）。在甲胎蛋白陰性 HBV 相關 HCC 中，APOB 被發現是可能與 HCC 進展相關聯的 14 個差異表現蛋白質之一（He 等人，2014）。在晚期乳癌中，APOB 被發現是可預測新輔助化療反應和患者無復發生存期的 6 種差異表現蛋白質之一（Hyung 等人，2011）。

【0098】 ASPHD1 的基因編碼含天冬胺酸 β -羥化酶域蛋白 1。ASPHD1 位於染色體 16p11.2 上（RefSeq, 2002）。

【0099】 ATM 的基因編碼突變的共濟失調毛細血管擴張，這是細胞回應於 DNA 損傷和基因組穩定性所需細胞週期步驟訊號通路的一個 PI3/PI4 激酶家族成員和主要控制器。ATM 是一種腫瘤抑制物，其在廣泛的人類癌症，包括肺、結直腸、乳腺和造血細胞癌症中經常發生突變（Weber and Ryan, 2014）。

【0100】 A T P 5 B 的基因編碼 A T P 合成酶、H⁺輸送、線粒體 F₁ 複合體、 β 多胜肽、線粒體 A T P 合成酶的催化核心 β 次單元 (R e f S e q, 2002)。與健康組織相比，A T P 5 B 的基因表現在結直腸癌組織中顯著升高 (G e y i k 等人, 2014)。A T P 5 B 在腫瘤組織中下調與膽囊癌的轉移、侵襲和較差預後密切相關 (S u n 等人, 2015b)。

【0101】 A T P 5 L 的基因編碼 A T P 合成酶、H⁺輸送、線粒體 F_o 複合體、線粒體 A T P 合成酶跨膜組分的次單元 G (R e f S e q, 2002)。

【0102】 A T P 5 L 2 的基因編碼 A T P 合成酶、H⁺輸送、線粒體 F_o 複合體、線粒體 A T P 合成酶跨膜組分的次單元 G 2 (R e f S e q, 2002)。

【0103】 B A C E 2 的基因編碼 β - 位點 A P P 裂解酶 2，這是一種完整的膜醣蛋白和天冬胺酸蛋白酶。B A C E 2 將澱粉樣前體蛋白質裂解為 β 澱粉樣胜肽 (R e f S e q, 2002)。B A C E 2 參與胰臟 β 細胞功能 (V a s s a r 等人, 2014)。

【0104】 C C N B 1 的基因編碼細胞週期蛋白 B 1，這是參與有絲分裂的一種調節蛋白質 (R e f S e q, 2002)。C C N B 1 是一種經過充分描述的腫瘤抗原，在乳癌、頭頸癌、攝護腺癌、結直腸癌、肺癌和肝癌中過度表現 (E g l o f f 等人, 2006)。

【0105】 C E A C A M 6 的基因編碼癌胚抗原相關細胞黏附分子 6 (非特異性交叉反應抗原)，這是 C E A C A M 家族腫瘤標誌物中的一員 (R e f S e q, 2002)。C E A C A M 6 在胃

癌中表現上調(Yasui等人, 2004)。CEACAM6是一種備選乳腺腫瘤抗原(Sood, 2010)。

【0106】 CLTA的基因編碼網格蛋白、輕鏈A，這種具有調節功能的被覆小窪(coated pit)的結構組分(RefSeq, 2002)。CLTA基因在神經膠質瘤中顯示出一種替代的剪接模式(Cheung等人, 2008)。

【0107】 CLTB的基因編碼網格蛋白、輕鏈B，這種具有調節功能的被覆小窪的結構組分(RefSeq, 2002)。

【0108】 CLU的基因編碼一種分泌的伴侶蛋白，其可能參與幾種基本生物學事件，例如細胞死亡、腫瘤進展和神經變性疾病(RefSeq, 2002)。在正常細胞中以及癌變早期，其在腫瘤發生中的作用似乎是矛盾的，CLU可抑制腫瘤進展，而在晚期瘤變中，其可透過抑制許多治療性應激物和提高轉移而帶來腫瘤的顯著生存優勢。CLU已經顯示出在攝護腺癌發病機制中的關鍵作用，透過調節ERK1/2訊號和MMP-9表現來調節人腎透明細胞癌細胞的侵襲行為，並形成晚期肺癌治療的抗性(Trougakos, 2013; Panico等人, 2009; Takeuchi等人, 2014; Wang等人, 2014b)。

【0109】 COL12A1的基因編碼XII型膠原蛋白的 α 鏈，而XII型膠原蛋白是FACI(三螺旋區不連續的纖維相關性膠原蛋白)膠原蛋白家族的一員，因而是細胞外基質(ECM)的一部分(RefSeq, 2002)。COL12A1在卵巢癌細胞株的耐藥變體中過度表現(Januchowski等人,

2014)。在結直腸癌中，COL12A1在癌相關成纖維細胞周圍促結締組織增生基質中以及侵襲面內襯癌細胞中過度表現(Karagiannis等人，2012)。

【0110】 COL6A3的基因編碼VI型膠原蛋白的 α -3鏈，這是在大多數結締組織中發現的一種珠狀絲膠原，在基質組分的組織中起著重要作用(RefSeq，2002)。據報告，COL6A3表現在胰臟癌、結腸癌、胃癌、粘液表皮樣癌和卵巢癌中增加。在結腸癌、膀胱癌、攝護腺癌和胰臟癌中檢測到包括外顯子3、4和6的癌症相關轉錄物變體(Arafat等人，2011；Smith等人，2009；Yang等人，2007；Xie等人，2014；Leivo等人，2005；Sherman-Baust等人，2003；Gardina等人，2006；Thorsen等人，2008)。在卵巢癌中，COL6A3水準與較高的腫瘤分級相關，在胰臟癌中，COL6A3被證明可呈現一種合適的診斷血清生物標誌物(Sherman-Baust等人，2003；Kang等人，2014)。

【0111】 DCBLD2的基因編碼盤基蛋白、含CUB和LCCL結構域蛋白2(也被稱為內皮細胞和平滑肌細胞來源的神經氈蛋白樣蛋白質)，這是一種跨膜共受體蛋白質(RefSeq，2002)。DCBLD2在膠質母細胞瘤和頭頸部癌症(HNCS)中上調，是EGFR刺激腫瘤發生所需要的(Feng等人，2014)。此外，DCBLD2在高度轉移性肺癌亞系和組織樣本中上調(Koshikawa等人，2002)。與此相反，在胃癌

中，DCBLD2的表現透過其啟動子的甲基化而沉寂(Kim等人，2008)。

【0112】 DUSP14的基因雙特異性磷酸酯酶14，可以是脫磷酸化酪胺酸以及絲胺酸/蘇胺酸殘基，在MAP激酶訊號傳導的失活中起著作用(RefSeq，2002)。DUSP14基因中的單核苷酸多態性與黑素瘤改變風險相關(Yang等人，2014a；Liu等人，2013a)。

【0113】 EEF1A1的基因編碼延伸因子-1複合體的 α 次單元同種型，它負責將氨醯基tRNA酶輸送至核糖體(RefSeq，2002)。EEF1A1被證明在多種癌症實體中上調，包括結直腸癌、卵巢癌、胃癌、攝護腺癌、膠質母細胞瘤和鱗狀細胞癌，被描述為攝護腺癌的潛在血清生物標誌物(Matassa等人，2013；Vui-Kee等人，2012；Lim等人，2011；Kuramitsu等人，2010；Kido等人，2010；Scrideli等人，2008；Qi等人，2005；Rehman等人，2012)。從機理上來看，EEF1A1透過與p53和p73相互作用而抑制細胞凋亡，透過細胞週期抑制物p21基因轉錄抑制促進增殖並參與上皮-間質轉化的調節(Blanch等人，2013；Choi等人，2009；Hussey等人，2011)。

【0114】 EEF1A1P5的基因編碼真核翻譯延伸因子1 α 1偽基因5並位於染色體9q34.13上(RefSeq，2002)。

【0115】 FAMC3的基因是含有序列相似性3(FAM3)家族的家族一員，並編碼一種含有GG結構域的分泌蛋白質。這種蛋白質表現的變化已經在胰臟癌衍生細胞中發現

(RefSeq, 2002)。在黑色素瘤中，FAMC3 已經被確定為自噬作用的一種候選生物標誌物，這是一種重要的腫瘤細胞生存機制(Zou 等人, 2002; Kraya 等人, 2015)。FAMC3 在與腫瘤侵襲性、轉移惡化和生存期差相關的上皮-間質轉變中起著重要作用，特別是肝細胞癌、結直腸癌、肺癌和乳癌(Csiszar 等人, 2014; Gao 等人, 2014c; Song 等人, 2014; Chaudhury 等人, 2010; Lahsnig 等人, 2009)。

【0116】 FAP 的基因編碼一種跨膜絲胺酸蛋白酶，其在上皮癌的反應性基質成纖維細胞（癌症相關成纖維細胞，簡稱CAF）、癒合傷口肉芽組織以及骨骼惡性組織和軟組織肉瘤中選擇性表現(RefSeq, 2002)。FAP 透過參與細胞黏附、遷移過程和細胞外基質(ECM)重塑在癌症生長和轉移中起著重要作用(Jacob 等人, 2012)。FAP 的過度表現與各種癌症的較差預後、較晚的腫瘤分期、轉移形成和侵襲潛能相關，包括結腸癌、食管鱗狀細胞癌、胰臟癌、膠質母細胞瘤、骨肉瘤、卵巢癌和乳癌(Wikberg 等人, 2013; Kashyap 等人, 2009; Cohen 等人, 2008; Mentlein 等人, 2011; Yuan 等人, 2013; Zhang 等人, 2011; Ariga 等人, 2001)。

【0117】 FKBP10 的基因編碼 FK506 結合蛋白10，其屬於FKBP類胜肽基脯氨酰順/反異構酶家族。FKBP10 基因產物定位於內質網，充當分子伴侶(RefSeq, 2002)。FKBP10 被確定為在白血病細胞中參與獲取和維護阿黴素

耐藥表型的一種新穎基因(Sun等人, 2014)。FKBP10已透過其上調與結直腸癌有關(Olesen等人, 2005)。與此相反, FKBP10表現不足是上皮性卵巢癌的特徵(Quinn等人, 2013)。

【0118】 FLNA的基因編碼細絲蛋白A, 這是一種肌動蛋白結合蛋白質, 交聯肌動蛋白絲並將肌動蛋白絲連接至膜醣蛋白。所編碼的蛋白質參與細胞骨架的重塑, 其誘導細胞形狀的變化和遷移, 並與整合素、跨膜受體複合體和第二傳訊交互作用(RefSeq, 2002)。依據其次細胞定位, 細絲蛋白A在癌症中起雙重作用: 在細胞質中, 細絲蛋白A除了參與細胞遷移和黏附通路外, 還在不同的生長訊號通路中發揮作用。因此, 其過度表現有腫瘤促進作用。相比全長細絲蛋白A, C端片段(蛋白質蛋白水解後釋放)定位於細胞核, 在那裏, 它與轉錄因子相互作用, 從而抑制腫瘤生長和轉移(Savoy and Ghosh, 2013)。

【0119】 GGA1的基因編碼定位於高爾基體、含 γ -銜接蛋白耳狀、ARF結合(GGA)蛋白質家族的一員。該家族的成員是普遍存在的外殼蛋白質, 它們調節跨高爾基網路和溶酶體之間的蛋白質運送(RefSeq, 2002)。

【0120】 HBB的基因編碼人血紅蛋白的 β 鏈, 人血紅蛋白是在紅細胞中的含鐵氧運輸金屬蛋白(RefSeq, 2002)。與轉移僅限於骨骼的乳癌病例相比, 能向骨骼和內臟轉移的乳癌明顯表示臨床預後不良。HBB在骨轉移癌中表現增加與是否能迅速擴散到其他器官相關(Capulli等人,

2012)。HBB被證明在子宮頸癌組織中過度表現。HBB在宮頸癌細胞中的異位表現抑制氧化應激並改善細胞活力(Li等人, 2013)。

【0121】 HBD的基因編碼人血紅蛋白的 δ 鏈，人血紅蛋白是在紅細胞中的含鐵氧運輸金屬蛋白。兩個 α 鏈和兩個 δ 鏈構成血紅蛋白A2，其與HbF一起構成3%的成人血紅蛋白(RefSeq, 2002)。

【0122】 HKDC1的基因編碼含己醣激酶結構域蛋白1，其顯示出在體外的己醣激酶活性(Guo等人, 2015)。使用一種新的方法以確定來自不同資料的潛在治療標靶，其他公知的治療標靶中HKDC1被發現為肺癌的一種新的潛在治療標靶(Li and Huang, 2014)。

【0123】 HSPD1的基因編碼線粒體熱休克60kDa蛋白1，這是伴侶蛋白家族的一員，其對線粒體中新導入的蛋白質的折疊和裝配是必需的，並可在先天免疫系統中充當訊號分子(RefSeq, 2002)。雖然HSPD1被認為是一種線粒體內蛋白質，已經在細胞質、細胞膜、囊泡、細胞表面、細胞外間隙和血液中發現。因為細胞質HSPD1水準在各種器官中在癌症發生期間逐漸增加或降低，因此，HSPD1可用作腫瘤前和腫瘤形成病變診斷和預後的生物標誌物。此外，HSPD1的一些新發現功能與癌症發生有關，特別是與腫瘤細胞存活和增殖有關，已作為抗腫瘤治療有前景的標靶進行了深入討論(Pace等人, 2013; Nakamura and

Minegishi, 2013; Cappello 等人, 2013; Cappello 等人, 2011; Cappello 等人, 2008)。

【0124】 H Y O U 1 的基因編碼缺氧上調1蛋白質，更常稱為 170 kDa 葡萄糖調節蛋白質 (G R P 170)，其屬於熱休克蛋白70家族。H Y O U 1 的表現在低氧條件下以應力依賴性方式被引導，導致蛋白質在內質網 (E R) 中聚集。H Y O U 1 編碼的蛋白質被認為在 E R 中的蛋白質折疊和分泌中起著重要作用 (R e f S e q, 2002)。細胞內 H Y O U 1 蛋白質的活性已被證實在腫瘤進展或轉移過程中為癌細胞存活提供益處。細胞外 H Y O U 1 蛋白質透過促進遞送腫瘤抗原進行交叉呈現而在抗腫瘤免疫反應的產生中起重要作用 (F u a n d L e e, 2006; W a n g 等人, 2014a)。H Y O U 1 蛋白質已經被引入癌症免疫治療中，並顯示出積極的免疫調節作用 (Y u 等人, 2013; C h e n 等人, 2013a; Y u a n 等人, 2012; W a n g a n d S u b j e c k, 2013)。在攝護腺癌細胞中，H Y O U 1 的抑制顯示出抗腫瘤效果 (M i y a g i 等人, 2001)。

【0125】 I F T 88 的基因編碼三四胜肽重複 (T P R) 家族的一員 (R e f S e q, 2002)。在有絲分裂中，I F T 88 是動力蛋白1驅動的複合體的一部分，該複合體將外周微管集群運輸至紡錘極以確保紡錘極體方向正確。I F T 88 耗竭誘導人體培養細胞的有絲分裂缺陷 (D e l a v a l 等人, 2011)。I F T 88 (也稱為 T g 737) 基因表現的缺失導致肝幹細胞 (卵圓細胞) 的增殖，因此是一種肝瘤腫瘤抑制基因 (I s f o r t 等人, 1997)。2012年，突變被發現可導致新新形式的人類纖毛

類疾病和嗅覺喪失，在小鼠中可透過腺病毒介導的基因療法來補救 (McIntyre 等人, 2012)。

【0126】 IGF2BP3 的基因編碼胰島素樣生長因子 II mRNA 結合蛋白 3，這是一種癌胚蛋白質，其壓制胰島素樣生長因子 II 的翻譯 (RefSeq, 2002)。幾項研究表明，IGF2BP3 在細胞功能的各個重要態樣發揮作用，例如細胞極化、遷移、形態、代謝、增殖和分化。體外研究表明，IGF2BP3 促進腫瘤細胞的增殖、黏附和侵襲。此外，IGF2BP3 已經顯示與侵襲性和晚期癌症相關 (Bell 等人, 2013; Gong 等人, 2014)。IGF2BP3 過度表現在許多腫瘤類型中進行了說明，並與預後較差、腫瘤期別高和轉移相關，例如在神經母細胞瘤、結直腸癌、肝內膽管癌、肝細胞癌、攝護腺癌和腎細胞癌中過度表現 (Bell 等人, 2013; Findeis-Hosey and Xu, 2012; Hu 等人, 2014; Szarvas 等人, 2014; Jeng 等人, 2009; Chen 等人, 2011; Chen 等人, 2013b; Hoffmann 等人, 2008; Lin 等人, 2013b; Yuan 等人, 2009)。

【0127】 ITGB4 的基因編碼整合素家族的一種蛋白質。整合素是由 α 和 β 次單元組成的異二聚體，是非共價地相關跨膜糖蛋白質受體。它們介導細胞-基質或細胞-細胞黏附，轉導調節基因表現和細胞生長的訊號 (RefSeq, 2002)。ITGB4 (也稱為 CD104) 往往與 $\alpha 6$ 次單元關聯，並可能在幾種浸潤性癌症的生物學中發揮重要作用，如食管鱗狀細胞癌、膀胱癌和卵巢癌 (Kwon 等人, 2013; Pereira 等

人，2014；Chen等人，2014b)。ITGB4單核苷酸多態性似乎影響腫瘤的侵襲性和存活，並可能對乳癌患者具有預後價值(Brendle等人，2008)。

【0128】 KCNK6的基因編碼含有兩個孔形成-P結構域的鉀通道蛋白質超級家族的成員之一。該通道蛋白質(被視為一種開放整流器)廣泛表現。它由花生四烯酸刺激，由內部酸化和揮發性麻醉劑抑制(RefSeq, 2002)。KCNK6(也稱為K2P6.1)，與K2P1.1、K2P3.1、K2P5.1、K2P6.1、K2P7.1和K2P10.1一起顯示在使用線上癌症微列陣資料庫Oncomine(www.oncomine.org)所檢查的腫瘤類型中表現顯著不足(Williams等人，2013)。

【0129】 KCNN3的基因屬於KCNN鉀通道家族。其編碼一個完整的膜蛋白質，形成一個電壓無關的鈣活化通道，這被視為透過在超極化後促進突觸遲鈍組分來調節神經元興奮性(RefSeq, 2002)。KCNN3(也稱為TASK-1)的表現被小鼠神經母細胞瘤N2A細胞中的17 β -雌二醇下調，並提高細胞增殖(Hao等人，2014)。KCNN3表現被乳癌器官型培養物暴露于生理和超生理濃度的1,25二羥基維生素D(3)而上調(Milani等人，2013)。KCNN3(也稱為K2P3.1)，與K2P1.1和K2P12.1一起在使用線上癌症微列陣資料庫Oncomine(www.oncomine.org)所檢查的一系列癌症中過度表現(Williams等人，2013)。

【0130】 KDM1A的基因(也稱為LSD1)編碼含有SWIRM結構域、FAD結合模體和胺氧化酶結構域的核蛋

白質。該蛋白質是幾種組蛋白質脫乙醯錯合物的成分，雖然它透過充當組蛋白質脫甲基酶而使基因沉寂（RefSeq, 2002）。KDM1A過度表現促進腫瘤細胞增殖、遷移和侵襲，並與NSCLC和HCC較差的預後相關（Lv等人，2012；Zhao等人，2013）。KDM1A表現升高與攝護腺癌復發和VEGF-A表現增加相關（Kashyap等人，2013）。用曲古黴素A(TSA)和5-氮雜-2'-去氧胞苷（地西他濱）的組合物抑制KDM1A可壓制卵巢癌腹水細胞株SKOV3的成瘤（Meng等人，2013）。

【0131】 KIF26B的基因編碼對於腎臟發育必不可少的驅動蛋白質超家族蛋白質(KIF)的一員。KIF26B表現僅限於後腎間質，其轉錄受鋅指轉錄調節因子Sal11調節（Terabayashi等人，2012）。乳癌中KIF26B的高表現與較差預後相關（Wang等人，2013b）。KIF26B上調與腫瘤大小顯著相關，可用於分析CRC腫瘤組織和癌旁正常黏膜。KIF26B在結直腸癌發生中起著重要作用，並充當CRC的一種新穎預後指標和潛在的治療標靶（Wang等人，2015）。

【0132】 KRT19的基因編碼角蛋白家族的一員。角蛋白是負責上皮細胞結構完整性的中間絲蛋白質，細分為細胞角蛋白和毛髮角蛋白。KRT19在周皮中特異性表現，周皮是包裹發育中表皮的暫時表層（RefSeq, 2002）。腫瘤細胞中KRT19的表現是幾種腫瘤實體（如乳癌、肺癌、卵巢癌和肝細胞癌）的預後標誌物（Skondra等人，2014；Gao

等人，2014b；Liu等人，2013b；Lee等人，2013a）。KRT19已被證明是胰臟神經內分泌腫瘤（尤其是胰島素陰性腫瘤）的獨立預後因素。KRT19陽性腫瘤與預後較差相關，不論既定病理參數怎樣，如腫瘤大小、有絲分裂、淋巴管浸潤、壞死（Jain等人，2010）。

【0133】 KRT7的基因編碼角蛋白質基因家族的一員。II型角蛋白質包括在簡單和分層上皮組織分化過程中共同表現的、以異型角蛋白質鏈成對排列的鹼性或中性蛋白質。這種II型角蛋白質在內部器官空腔內襯的簡單上皮中以及腺導管和血管中特異性表現（RefSeq，2002）。KRT7用於免疫組織化學以區分幾個表型，並作為某些癌症（如腎細胞癌、卵巢癌、上皮皮膚腫瘤）預後的生物標誌物（Kuroda等人，2013；McCluggage and Young，2005；Alhumaidi，2012）。

【0134】 LAMC2的基因屬於層粘連蛋白質家族，即細胞外基質醣蛋白質家族。層粘連蛋白質是基底膜的主要非膠原成分。它們牽涉多種生物學過程，包括細胞黏附、分化、遷移、訊息傳導、神經突向外生長和轉移。LAMC2編碼在幾種胎兒組織表現的一種蛋白質，並且特定定位於皮膚、肺、腎的上皮細胞（RefSeq，2002）。LAMC2在未分化甲狀腺癌中高度表現，並且透過調節EGFR的訊號傳導與腫瘤進展、遷移和浸潤相關（Garg等人，2014）。LAMC2表現預測II期結直腸癌患者的預後較差（Kevans等人，2011）。LAMC2與其他三個生物標誌物一起的表現被發現

與口腔鱗狀細胞癌患者的淋巴結轉移顯著相關 (Zanaruddin 等人, 2013)。

【0135】 LUM 的基因編碼小富含白胺酸蛋白多醣 (SLRP) 家族的一員，該家族包括核心蛋白多醣、雙鏈蛋白多醣、纖維調節素、角蛋白多醣、骯蛋白多醣和骨誘導因子。基膜聚醣 (lumican) 是角膜的主要硫酸角質素蛋白多醣，但也在全身的間質膠原基質中分佈。基膜聚醣可調節膠原纖維組織和環周生長、角膜透明性和上皮細胞遷移和組織修復 (RefSeq, 2002)。與正常組織相比，LUM 蛋白質在大多數腫瘤組織（如乳房癌、結直腸癌和胰臟癌）中上調，與較高的腫瘤分級和預後不良相關。但是，胞外基膜聚醣抑制胰臟癌細胞生長，與手術後生存期延長相關 (Leygue 等人, 1998; Seya 等人, 2006; Ishiwata 等人, 2007; Li 等人, 2014)。LUM 和細胞外基質完整性相關的其他基因 (DCN 和 DPT) 差異表現，可作為骨巨細胞瘤轉移和復發的生物標誌物 (Lieveld 等人, 2014)。LUM 在 A2780 卵巢癌細胞株的抗順鉑、阿黴素、托泊替康和紫杉醇變體中下調 (Januchowski 等人, 2014)。

【0136】 MAP4 的基因編碼主要非神經元微管相關蛋白質，其促進微管組裝並抵消相間微管解離提升帶來的不穩定。該蛋白質的磷酸化影響微管的屬性和細胞週期進展 (RefSeq, 2002)。MAP4 的高水準被證明與膀胱癌分級正相關，而由蛋白質激酶 A 導致的蛋白質磷酸化降低膀胱癌細胞的遷移和侵襲 (Ou 等人, 2014)。依據非小細胞肺癌

患者的研究報告，與正常樣本相比，腫瘤樣本中MAP4與stathmin mRNA的比率增加，表明該比率可作為非小細胞肺癌的生物標誌物(Cucchiarelli等人，2008)。MAP4水準由腫瘤抑制基因p53負向調控，影響微管靶向藥物的功效。高水準增加微管穩定藥物(紫杉烷類)的效果，降低微管不穩定藥物(長春鹼類)的效果，而低MAP4水準產生相反的作用(Hait and Yang, 2006; Galmarini等人，2003; Zhang等人，1999)。

【0137】 MMP7的基因編碼降解蛋白多醣、纖維蛋白、彈性蛋白和酪蛋白的酶，且與大部分MMP家族成員的不同之處是它缺乏一個保守C端蛋白質結構域。基質金屬蛋白酶(MMP)家族的蛋白質在正常生理過程(如胚胎發育、生殖和組織重塑)以及疾病過程(如關節炎和轉移)中參與細胞外基質的破壞(RefSeq, 2002)。MMP7常在人體癌組織(包括結直腸癌、轉移性肺癌和胃癌)中過度表現，與癌症進展和轉移形成相關(Ii等人，2006; Sun等人，2015a; Han等人，2015; Long等人，2014)。MMP7已顯示發揮重要的腫瘤促進作用，如：細胞外基質蛋白質降解、透過增加胰島素樣生長因子和肝素結合表皮生長因子活化腫瘤細胞增殖、透過裂解膜結合Fas配體誘導腫瘤相鄰細胞的細胞凋亡(Ii等人，2006)。

【0138】 MROH6的基因，也被稱為C8orf73，位於染色體8q24.3上(RefSeq, 2002)。

【0139】 M X 1 的基因編碼 I 型和 II 型干擾素誘導的鳥苷三磷酸 (G T P) 代謝蛋白質，參與細胞抗病毒反應 (R e f S e q, 2002)。M X 1 在癌症中的作用還沒有完全闡明。一態樣，M X 1 表現與攝護腺癌反相關，減少轉移形成，並提高對多西他奇的敏感度。此外，透過甲基化使 M X 1 表觀遺傳沉寂已在頭頸部鱗狀細胞癌中檢測到，M X 1 表現降低細胞運動以及攝護腺癌和黑色素瘤細胞株的侵襲，所有均有利於 M X 1 的腫瘤抑制作用 (B r o w n 等人，2015；C a l m o n 等人，2009；M u s h i n s k i 等人，2009)。另一態樣，M X 1 基因內的單核苷酸多態性與攝護腺癌相關，M X 1 的高表現與結直腸癌中的淋巴結轉移有關，這表明 M X 1 的致癌性質 (C r o n e r 等人，2014；G l y m p h 等人，2013)。

【0140】 M X R A 5 的基因編碼基質重塑相關蛋白質，其包含與基底膜蛋白多醣相關的 7 個富含白胺酸重複序列以及 12 個免疫球蛋白樣 C 2 型結構域 (R e f S e q, 2002)。一項中國的研究確定 M X R A 5 為非小細胞肺癌中第二最常見的突變基因 (X i o n g 等人，2012)。在結腸癌中，M X R A 5 被證明過度表現，並可能作為早期診斷和網膜轉移的生物標誌物 (Z o u 等人，2002；W a n g 等人，2013a)。

【0141】 M Y H 9 的基因編碼一個常規非肌球蛋白 I I A 重鏈，其包含一個 I Q 結構域和參與幾個重要功能（包括細胞分裂、細胞運動和細胞形狀維持）的一個肌球蛋白頭狀結構域 (R e f S e q, 2002)。M Y H 9 高表現顯示與食管鱗狀細胞癌預後差相關，與膜聯蛋白質 I I 和 k i n d l i n g - 2 結合，可

作為本疾病整體和無病生存率的預測生物標誌物 (Xia 等人, 2012; Cao 等人, 2014)。MYH9 基因內突變已在人乳癌樣本中得到確定, 在結腸癌中差異表現 (Ellis 等人, 2012; Mu 等人, 2013)。體外和異種移植體研究表明, MYH9 促進腫瘤細胞生長和不同腫瘤細胞株 (包括乳癌和非小細胞肺癌細胞) 的侵襲 (Robinson 等人, 2013; Lin 等人, 2013a; Lund 等人, 2012; Derycke 等人, 2011; Medjkane 等人, 2009)。

【0142】 MYL12A 的基因編碼一種非肌球蛋白調節輕鏈, 其調節平滑肌和非肌肉細胞收縮 (Amatschek 等人, 2004; RefSeq, 2002)。據報告, 在體外和動物模型中, MYL12A 的磷酸化可促進腫瘤細胞運動和侵襲 (Manning, Jr. 等人, 2000; Kaneko 等人, 2002; Khuon 等人, 2010)。此外, 透過隔離轉錄調節凋亡拮抗轉錄因子, MYL12A 似乎可調節 DNA 損傷修復和 p53 驅動的凋亡 (Hopker 等人, 2012a; Hopker 等人, 2012b)。

【0143】 MYL12B 的基因編碼非肌球蛋白 II (MYH9) 的調節輕鏈。MYL12B 的磷酸化導致較高的 MgATPase 活性和肌球蛋白 II 絲的組裝 (RefSeq, 2002)。在乳癌動物模型中, 該蛋白質顯示可在 3 級卵巢癌中上調, MYL12B 磷酸化或活化的藥物學阻滯可減少腫瘤細胞體外遷移和遷移以及轉移形成。這些資料表明對 MYL12B 具有轉移前作用 (Lim 等人, 2011; Menhofer 等人, 2014; Zhang 等人, 2013; Patel 等人, 2012)。

【0144】 P A R D 3 B 的基因編碼定位于上皮細胞緊密連接點和參與建立細胞極性的蛋白質 (I z a k i 等人, 2005) 。 P A R D 3 B 基因內的單核苷酸多態性被證明與急性淋巴細胞白血病或淋巴母細胞淋巴瘤患兒的治療相關重度肝毒性顯著相關 (H o r i n o u c h i 等人, 2010) 。

【0145】 P D I A 6 的基因 (也稱為 E R P 5) 編碼一種蛋白質二硫鍵異構酶, 它是一種內質網 (E R) 駐留蛋白質, 催化蛋白質中的二硫鍵形成、還原和異構化, 被認為在二硫鍵合蛋白質的折疊中發揮作用 (R e f S e q, 2002) 。 P D I A 6 的攝護腺組織微陣列的免疫染色顯示, 與非惡性上皮細胞相比, 癌前病變中的免疫反應性明顯更高 ($P < 0.0001$, M a n n - W h i t n e y U - 檢 驗) , 並且在高 G l e a s o n 分級 (4 - 5) 與低分級 (2 - 3) 癌症中免疫反應性明顯更高 ($P < 0.05$) (G l e n 等人, 2010) 。高 E R p 5 / A D A M 10 表現導致 M I C A 脫落和識別霍奇金淋巴瘤淋巴結微環境中受損 N K G 2 D 配體。這導致 N K G 2 D 在 C D 8 T 細胞上的表面表現下調以及抗腫瘤反應低效 (Z o c c h i 等人, 2012) 。蛋白質二硫鍵異構酶 P D I A 4 和 P D I A 6 介導對肺腺癌順鉑誘導的細胞死亡的抗性 (H o r i b e 等人, 2014) 。

【0146】 P I K 3 I P 1 的基因編碼磷酸肌醇 - 3 - 激酶相互作用蛋白 1, 這是一種 P I 3 K 抑制物 (R e f S e q, 2002) 。 P I K 3 I P 1 下調導致人類 T 細胞淋巴母細胞淋巴瘤細胞的腫瘤生長增長 (W o n g 等人, 2014) 。 P I K 3 I P 1 在肝細胞癌

(HCC) 中下調，PIK3IP1 抑制 HCC 的發生 (He 等人，2008)。

【0147】 PLEC 的基因編碼血小板溶素家族成員網蛋白，這是一種參與細胞骨架和黏附複合體交聯和組織的蛋白質 (Bouameur 等人，2014)。PLEC 在結直腸腺癌、頭頸部鱗狀細胞癌和胰臟癌中過度表現 (Lee 等人，2004; Katada 等人，2012; Bausch 等人，2011)。

【0148】 POTE 的基因編碼 POTE 錨蛋白質域家族成員 E，其屬於 POTE 基因家族的 13 個同種同源物之一。POTE 基因被認為可代表癌睪丸抗原的一個新家族。POTE 基因家族的生物學功能尚未完全闡明，但有證據表明其有促凋亡作用 (Liu 等人，2009; Bera 等人，2006)。POTE 主要在攝護腺癌、乳癌、結腸癌、肺癌和卵巢癌中表現 (Bera 等人，2006)。一項研究使用轉錄體和蛋白質體學方法的組合描述 POTE 與乳癌密切相關 (Cine 等人，2014)。

【0149】 POTE 的基因編碼 POTE 錨蛋白質域家族成員 J，其屬於該 POTE 基因家族 13 個同種同源物之一。POTE 基因被認為可代表癌睪丸抗原的一個新家族。POTE 基因家族的生物學功能尚未完全闡明，但有證據表明其有促凋亡作用 (Liu 等人，2009; Bera 等人，2006)。POTE 顯示可透過線粒體途徑誘導 Hela 細胞凋亡 (Liu 等人，2009)。POTE 主要在攝護腺癌、乳癌、結腸癌、肺癌和卵巢癌中表現 (Bera 等人，2006)。

【0150】 P O T E I 的 基 因 位 於 染 色 體 2 q 2 1 . 1 上 ， 編 碼 P O T E 錨 蛋 白 質 域 家 族 成 員 I ， 其 屬 於 該 P O T E 基 因 家 族 1 3 個 同 種 同 源 物 之 一 。 P O T E 基 因 被 認 為 可 代 表 癌 睪 丸 抗 原 的 一 個 新 家 族 。 P O T E 基 因 家 族 的 生 物 學 功 能 尚 未 完 全 闡 明 ， 但 有 證 據 表 明 其 有 促 凋 亡 作 用 (L i u 等 人 ， 2 0 0 9 ; B e r a 等 人 ， 2 0 0 6) 。 P O T E I 主 要 在 攝 護 腺 癌 、 乳 癌 、 結 腸 癌 、 肺 癌 和 卵 巢 癌 中 表 現 (B e r a 等 人 ， 2 0 0 6) 。

【0151】 P O T E J 的 基 因 編 碼 P O T E 錨 蛋 白 質 域 家 族 成 員 J ， 其 屬 於 該 P O T E 基 因 家 族 1 3 個 同 種 同 源 物 之 一 。 P O T E 基 因 被 認 為 可 代 表 癌 睪 丸 抗 原 的 一 個 新 家 族 。 P O T E 基 因 家 族 的 生 物 學 功 能 尚 未 完 全 闡 明 ， 但 有 證 據 表 明 其 有 促 凋 亡 作 用 (L i u 等 人 ， 2 0 0 9 ; B e r a 等 人 ， 2 0 0 6) 。 P O T E J 主 要 在 攝 護 腺 癌 、 乳 癌 、 結 腸 癌 、 肺 癌 和 卵 巢 癌 中 表 現 (B e r a 等 人 ， 2 0 0 6) 。

【0152】 P O T E K P 的 基 因 編 碼 P O T E 錨 蛋 白 質 域 家 族 成 員 K 偽 基 因 ， 位 於 染 色 體 2 q 2 1 . 1 上 (R e f S e q ， 2 0 0 2) 。

【0153】 P O T E M 的 基 因 編 碼 P O T E 錨 蛋 白 質 域 家 族 成 員 M ， 其 屬 於 該 P O T E 基 因 家 族 1 3 個 同 種 同 源 物 之 一 。 P O T E 基 因 被 認 為 可 代 表 癌 睪 丸 抗 原 的 一 個 新 家 族 。 P O T E 基 因 家 族 的 生 物 學 功 能 尚 未 完 全 闡 明 ， 但 有 證 據 表 明 其 有 促 凋 亡 作 用 (L i u 等 人 ， 2 0 0 9 ; B e r a 等 人 ， 2 0 0 6) 。 P O T E M 被 確 定 為 正 常 和 惡 性 攝 護 腺 組 織 特 異 性 轉 錄 物 (S t o l k 等 人 ， 2 0 0 4) 。

【0154】 PTRF 的基因編碼聚合酶 I 和轉錄釋放因子，即 rRNA 轉錄的調節因子，其促進轉錄複合體的解離和新生 rRNA 轉錄物上聚合酶 I 的重新啟動 (RefSeq, 2002)。在乳癌細胞株和乳腺腫瘤組織中 PTRF 下調 (Bai 等人, 2012)。PTRF 是非小細胞肺癌的一種生物標誌物 (Gamez-Pozo 等人, 2012)。PTRF 表現在攝護腺癌中下調，攝護腺癌細胞中缺失 PTRF 透過促進癌細胞的血管生成潛力顯著促進腫瘤進展和轉移 (Nassar 等人, 2013)。

【0155】 PUS7L 的基因編碼假尿苷酸合酶 7 同系物（釀酒酵母）-樣蛋白質，這是一種具有可能的假尿苷合酶活性的蛋白質。PUS7L 基因位於染色體 12q12 上 (RefSeq, 2002)。

【0156】 RAN 的基因編碼 RAN，RAS 癌基因家族成員，是一種 GTP 結合蛋白質，透過核孔複合體參與 RNA 和蛋白質的易位，還參與 DNA 合成和細胞週期進程的控制、微管網路的形成和組織以及雄激素受體的活化 (RefSeq, 2002)。RAN 是癌症轉移性進展的關鍵蛋白質。RAN 在一系列腫瘤（如乳房癌和腎癌）中過度表現 (Matchett 等人, 2014)。

【0157】 RANP1 的基因編碼 RAN，RAS 癌基因家族成員偽基因 1，位於染色體 6p21.33 上 (RefSeq, 2002)。

【0158】 RASA4 的基因編碼 RAS p21 蛋白質活化物 4，這是一種鈣 (2+) 依賴性 Ras GTP 酶活化蛋白質，其關掉 Ras - MAPK 途徑以回應於鈣 (2+) (RefSeq, 2002)。

RASA4 在原發滲出性淋巴瘤中顯著擴增 (Roy 等人, 2011)。與正常子宮內膜比較, RASA4 在子宮內膜腺癌中差異表現 (Jeda 等人, 2014)。

【0159】 RASA4B 的基因編碼 RAS p21 蛋白質活化物 4B, 這是一種鈣(2+)依賴性 Ras GTP 酶活化蛋白質, 可能參與 Ras - MAPK 途徑的調控 (RefSeq, 2002)。

【0160】 RCN1 的基因編碼內質網鈣結合蛋白 1, EF-手型鈣結合結構域, 是一種位於內質網內腔中的鈣結合蛋白質。RCN1 定位於人內皮細胞和攝護腺癌細胞株中的質膜 (RefSeq, 2002)。RCN1 在乳癌中過度表現 (Amatschek 等人, 2004)。

【0161】 RGS4 的基因編碼 G 蛋白質訊號 4 的調節因子, 是異源 G 蛋白質的 G α 次單元的 GTP 酶活化蛋白質 (GAP) (RefSeq, 2002)。RGS4 提示在肝轉移癌中以及與原發性胰臟腫瘤相比腫瘤侵襲面中具有統計學意義的下調 (Niedergethmann 等人, 2007)。RGS4 在甲狀腺癌中很常見地過度表現, 但在正常人體組織中不表現 (Nikolova 等人, 2008)。非癌永生卵巢表面上皮細胞中檢測到 RGS4 轉錄物的水準高於卵巢癌細胞株中的表現水準數千倍 (Hurst 等人, 2009)。

【0162】 RPS6 的基因編碼核糖體蛋白質 S6, 這是細胞質核糖體蛋白質, 其為核糖體 40S 次單元的組成部分。RPS6 可透過特定類別 mRNA 的選擇性翻譯有助於細胞生長和增殖的控制 (RefSeq, 2002)。RPS6 是 mTOR 的下游標

靶，並已發現與多種生理和病理生理功能相關(Chen等人，2014a)。RPS6的磷酸化降低胰臟癌發育過程中的DNA損傷和腫瘤抑制(Khalileh等人，2013)。

【0163】 RPS8的基因編碼核糖體蛋白質S8，這是細胞質核糖體蛋白質，其為核糖體40S次單元的組成部分。與對應的正常結腸黏膜相比，RPS8在結直腸腫瘤和結腸息肉中表現增加(RefSeq，2002)。RPS8在胰臟導管腺癌患者中上調與生存期較短有關(Chen等人，2015)。

【0164】 RPS8P10的基因編碼核糖體蛋白質S8偽基因10，位於染色體15q11.2上(RefSeq，2002)。

【0165】 SCG5的基因編碼分泌粒蛋白質V(7B2蛋白質)，這是一種神經內分泌型分泌蛋白質(Portela-Gomes等人，2008)。跨越SCG5基因3'端和GREM1位元點區域上游的重複可能增加罹患結直腸癌的風險(Jaeger等人，2012；Yang等人，2014b)。

【0166】 SERPINB2的基因編碼絲胺酸胜肽酶抑制物，分化體B(卵清蛋白)成員2，這是一種胞外蛋白酶尿激酶纖維溶酶原活化因子和組織纖維蛋白溶酶原活化因子的抑制物(Schroder等人，2014)。SERPINB2在許多不同的腫瘤中表現。SERPINB2表現與乳癌和胰臟癌預後良好有關，但與子宮內膜癌、卵巢癌和結直腸癌的預後不良有關(Schroder等人，2014)。

【0167】 SERPINB3的基因編碼蛋白酶抑制物絲胺酸胜肽酶抑制物，分化體B(卵清蛋白)成員3(RefSeq，

2002)。SERPINB3是一種Ras回應因子，在Ras相關細胞因子生成和腫瘤發生中起重要作用(Catanzaro等人，2014)。SERPINB3表現在肝細胞癌中上調(Pontisso，2014)。SERPINB3與卵巢癌的發生有關(Lim and Song，2013)。

【0168】 SERPINB4的基因編碼蛋白酶抑制物絲胺酸胜肽酶抑制物，分化體B（卵清蛋白）成員4(RefSeq，2002)。SERPINB4是一種Ras回應因子，在Ras相關細胞因子生成和腫瘤發生中起重要作用(Catanzaro等人，2014)。SERPINB4表現在肝細胞癌中上調(Pontisso，2014)。

【0169】 SERPINH1的基因編碼絲胺酸胜肽酶抑制物，分化體H（熱激蛋白47）成員1，（膠原結合蛋白1），是一種絲胺酸蛋白酶抑制物。SERPINH1作為內質網的膠原特定分子伴侶蛋白(RefSeq，2002)。SERPINH1在許多人類癌症，包括胃癌、肺癌、胰臟導管腺癌、神經膠質瘤和潰瘍性結腸炎相關癌中過度表現(Zhao等人，2014)。

【0170】 SEZ6L的基因編碼癲癇發作相關6同源物（小鼠）樣蛋白質，這是一種跨膜蛋白質，其多個結構域參與蛋白質-蛋白質相互作用和訊號轉導(Nishioka等人，2000)。SEZ6L在胃癌中甲基化(Kang等人，2008)。相對於正常肺組織，SEZ6L表現在非小細胞肺癌和小細胞肺癌細胞株以及原發腫瘤樣本中增加(Gorlov等人，2007)。

【0171】 S L C 1 6 A 3 的基因編碼溶質載體家族16成員3，這是一種質子連接的單羧酸轉運蛋白質 (R e f S e q , 2 0 0 2) 。已知大多數實體瘤依靠糖酵解產生能量。高糖酵解率導致乳酸產生增加，這與不良臨床結果有關，並直接有助於腫瘤生長和進展。S L C 1 6 A 3 是其促進癌細胞乳酸輸出的少數單羧酸轉運蛋白質之一 (D h u p 等人，2 0 1 2 ; D r a o u i a n d F e r o n , 2 0 1 1) 。S L C 1 6 A 3 表現與肝細胞癌患者較差預後有關，在細胞株實驗中，可增加細胞增殖、遷移和侵襲 (G a o 等人，2 0 1 4 a) 。在胰臟癌子集中，S L C 1 6 A 3 顯示在腫瘤發生中有功能性參與 (B a e k 等人，2 0 1 4) 。

【0172】 M T C L 1 的基因編碼微管交聯因子1。M T C L 1 被證明參與極性依賴性微管重塑，並透過其微管交聯活性介導非中心體微管的上皮細胞特異性重組 (S a t o 等人，2 0 1 3) 。

【0173】 S S T 的基因編碼激素生長抑素的前原蛋白質。促生長素抑制素在全身表現，並抑制眾多次級激素的釋放。這種激素透過與垂體生長激素、促甲狀腺激素和胃腸道的大部分激素相互作用而成為內分泌系統的一種重要的調節器。促生長素抑制素還影響中樞神經系統的神經傳遞率，並影響正常和致瘤性細胞的增殖率 (R e f S e q , 2 0 0 2) 。S S T 類似物被成功地使用並作為一種治療方法進一步研究，用於治療胃腸胰神經內分泌（類癌）腫瘤、肝細胞癌和乳癌 (P i v o n e l l o 等人，2 0 1 4 ; C u l l e r , 2 0 1 1 ;

Appetecchia and Baldelli, 2010; Modlin 等人, 2010; Watt 等人, 2008)。

【0174】 THY1 的基因是鼻咽癌抗侵襲活性的候選抑癌基因 (Lung 等人, 2010)。

【0175】 TSC22D4 的基因編碼的蛋白質是白胺酸拉鏈樣轉錄調節因子 TSC22 結構域家族中的一員 (RefSeq, 2002)。在癌症惡病質中 TSC22D4 肝水準增加 (Jones 等人, 2013)。

【0176】 TUBA1A 的基因編碼微管蛋白 α -1a。TUBA1A 的表現主要發現於形態分化的神經細胞中。該基因的突變導致無腦回畸形類型 3 (LIS3)，這是一種神經系統疾病，特徵在於小頭畸形、智力低下以及早發性癲癇並由缺陷神經細胞遷移引起 (RefSeq, 2002)。輻射轉化和致瘤性乳癌細胞株染色體重排列的 TUBA1A 和一些其他基因的去調節表現可能反映乳癌發生的早期分子事件 (Unger 等人, 2010)。採用晚期漿液性卵巢癌的比較蛋白質體學分析發現，TUBA1A 為化學耐藥的一個潛在預測因子 (Kim 等人, 2011)。

【0177】 TUBA1B 的基因編碼微管蛋白 α -1b (RefSeq, 2002)。TUBA1B 的差異表現與某些其他基因表現結合與套細胞淋巴瘤的預後相關，預測 II 期結直腸癌患者的復發並且區別隨後轉移和不轉移的葡萄膜黑素瘤 (Blenk 等人, 2008; Agesen 等人, 2012; Linge 等人, 2012)。TUBA1B 表現在肝細胞癌組織和增殖性肝細胞癌細胞中

上調。TUBA1B表現增加與較差的整體生存率和肝細胞癌患者對紫杉醇的耐藥相關(Lu等人, 2013a)。在卵巢癌細胞中,TUBA1B表現下降與奧沙利鉑耐藥有關(Tummala等人, 2009)。

【0178】 TUBA1C的基因編碼微管蛋白 α -1c(RefSeq, 2002)。TUBA1C的表現被證明在骨肉瘤和HCV相關肝細胞癌中上調,可能是骨肉瘤腫瘤發生或分化良好的HCV相關肝細胞癌的潛在生物標誌物(Kuramitsu等人, 2011; Li等人, 2010)。

【0179】 TUBA3C的基因編碼微管蛋白 α -3c(RefSeq, 2002)。TUBA3D的基因編碼微管蛋白 α -3d(RefSeq, 2002)。TUBA4A的基因編碼微管蛋白 α -4a(RefSeq, 2002)。食管鱗狀細胞癌(ESCC)的比較蛋白質體學分析顯示TUBA4A表現增加(Qi等人, 2005)。

【0180】 TUBA8的基因編碼微管蛋白 α -8,TUBA8的突變與多小腦和視神經發育不全有關(RefSeq, 2002)。在小鼠肝臟中,TUBA8用一種非基因毒性致癌物苯巴比妥處理後誘導。在肝細胞癌細胞株中,TUBA8過度表現顯示可影響細胞生長、增殖和遷移(Kamino等人, 2011)。

【0181】 UCN3的基因是蛙皮降壓勝肽/促腎上腺皮質激素釋放因子/尾加壓素I家族的一員。它在結構上與促腎上腺皮質激素釋放因子(CRF)基因相關,編碼產物為CRF2型受體的內源性配體。在大腦中,其可能負責對食欲應力的影響(RefSeq, 2002)。Ucn3在正常腎上腺和腎上腺腫

瘤（腎上腺皮質腫瘤和嗜鉻細胞瘤）中產生，並充當正常腎上腺和腎上腺腫瘤的自分泌或旁分泌調節因子（Takahashi等人，2006）。尿促皮素3活化AMPK和AKT途徑，並增強大鼠骨骼肌的葡萄糖處置（Roustit等人，2014）。

【0182】 VCAN的基因是聚集蛋白聚醣/多能聚醣蛋白聚醣家族的一員。所編碼的蛋白質是一個大的硫酸軟骨素蛋白多糖，並且是細胞外基質的主要組成部分。這種蛋白質參與細胞黏附、增殖、遷移和血管生成，並在組織形態發生和維護中發揮核心作用（RefSeq，2002）。VCAN表現在癌相關的成纖維細胞中透過TGF- β 受體II型和SMAD訊號傳導中被調節。上調的VCAN透過活化NF- κ B訊號傳導途徑並透過上調CD44、基質金屬蛋白酶-9和透明質酸介導運動性受體的表現而促進卵巢癌細胞的運動和浸潤（Yeung等人，2013）。透過TGF- β 訊號傳導調節的膠原重塑基因標記（包括VCAN）與漿液性卵巢癌的轉移和不良預後相關（Cheon等人，2014）。53例患者的健康結腸黏膜和腫瘤組織對應樣本的比較顯示，VCAN在CRC中明顯上調（Pitule等人，2013）。

【0183】 WNT16的基因，無翅型MMTV整合位點家族成員16編碼一種分泌訊號蛋白質，其涉及腫瘤形成以及幾個發育過程，包括胚胎期間細胞命運和模式的調節（RefSeq，2002）。WNT16的表現顯示在染色體含有易位的t(1;19)急性淋巴母細胞白血病（ALL）中上調，在白血病形成中發

揮重要作用 (Casagrande 等人, 2006; Mazieres 等人, 2005)。使用來自 ALL 患者的 ALL 細胞株和樣本的研究表明, WNT16 和其他一些 Wnt 靶基因的上調由 Wnt 抑制物的甲基化所致, 這與顯著下降的 10 年無病生存期和總生存期進一步相關 (Roman-Gomez 等人, 2007)。

【0184】 WNT5A 的基因屬於 WNT 基因家族, 由編碼分泌訊號蛋白質且結構上相關的基因組成。這些蛋白質涉及腫瘤發生和幾個發育過程, 包括胚胎發育過程中細胞命運和模式的調節。WNT5A 基因編碼 WNT 家族的一員, 其透過經典和非經典 WNT 途徑傳導訊號。這種蛋白質是七跨膜受體捲曲型 5 和酪胺酸激酶孤兒受體 2 的配體。該蛋白質在胚胎發育過程中對調節發育途徑起著重要作用。這種蛋白質也在癌形成中發揮作用 (RefSeq, 2002)。WNT5A 在 CRC 中過度表現, 與原發腫瘤和轉移部位之間具有 76% 的一致率 (Lee 等人, 2014)。在人胃癌細胞、鼻咽癌和胰臟癌中, WNT5A 上調並且是上皮-間質轉化和轉移的關鍵調節因子 (Kanzawa 等人, 2013; Zhu 等人, 2014; Bo 等人, 2013)。

【0185】 是否能刺激免疫反應取決於是否存在被宿主免疫系統視為異物的抗原。發現腫瘤相關抗原的存在增加了運用宿主免疫系統干預腫瘤生長的可能性。目前, 針對癌症免疫治療, 正在探索利用免疫系統的體液和細胞進行免疫的各種機制。

【0186】 細胞免疫反應的特定元素能特異性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的T-細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是CD8陽性T細胞在這種反應中發揮重要作用，TC₈⁺能識別通常8至10個源自蛋白質或位於細胞質的缺損核糖體產物(DRIP)的胺基酸殘基的主要組織相容性複合體(MHC)所載的胜肽中所含的I類分子。人MHC分子也稱為人白細胞-抗原(HLA)。

【0187】 除非另有說明，否則本文使用的所有術語定義如下。

【0188】 術語「T細胞反應」是指由一種胜肽在體外或體內誘導的效應子功能的特異性擴散和活化。對於MHC I類限制性細胞毒性T細胞而言，效應子功能可能為溶解胜肽脈衝的、胜肽前體脈衝的或天然胜肽呈現的靶細胞、分泌細胞因子(優選為胜肽誘導的干擾素- γ ，TNF- α 或IL-2)、分泌效應分子(優選為胜肽誘導的顆粒酶或穿孔素)或脫顆粒作用。

【0189】 本文所用「胜肽」這一術語，系指一系列胺基酸殘基，通常透過相鄰胺基酸的 α -胺基和羰基之間的胜肽鍵來連接。這些胜肽的長度優選為9個胺基酸，但至短可為8個胺基酸長度，至長可為10、11、12、13或14個胺基酸長度或更長，如果為MHC-II類胜肽時(本發明胜肽的拉長變體)，至長可為15、16、17、18、19或20個胺基酸長度或更長。

【0190】 因此，「胜肽」這一術語應包括一系列胺基酸殘基的鹽，通常透過相鄰胺基酸的 α -胺基和羰基之間的胜肽鍵來連接。優選的情況是，鹽為胜肽的藥用鹽，例如：氯化物或乙酸（三氟乙酸）鹽。必須注意的是，本發明胜肽的鹽與其體內狀態的胜肽基本上不同，因為其不是體內的鹽。

【0191】 術語「胜肽」應也包括「寡胜肽」。本文使用的術語「寡胜肽」是指一系列胺基酸殘基，通常透過相鄰胺基酸的 α -胺基和羰基之間的胜肽鍵來連接。寡胜肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要在寡胜肽中保持正確的表位即可。通常，寡胜肽長度約小於30個胺基酸殘基，約長於15個胺基酸。

【0192】 「多胜肽」這一術語是指一系列胺基酸殘基，通常透過相鄰胺基酸的 α -胺基和羰基之間的胜肽鍵來連接。多胜肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要保持正確的表位即可。與術語胜肽或寡胜肽相對，「多胜肽」這一術語是指包含多於約30個胺基酸殘基的分子。

【0193】 一種胜肽、寡胜肽、蛋白質或編碼該分子的核苷酸如果能誘導免疫反應，則具有「免疫原性」（因此是本發明中的一種「免疫原」）。在本發明的情況下，免疫原性的更具體定義是誘導T細胞反應的能力。因此，「免疫原」是一種能夠誘導免疫反應的分子，並且在本發明的情況下，是一種能誘導T細胞反應的分子。在另一態樣，所述免

疫原可以是胜肽、胜肽與 M H C 的複合體、和 / 或用於提高特異性抗體或 T C R 抗性的蛋白質。

【0194】 I 類 T 細胞「表位」要求的是一種結合至 M H C I 類受體上的短胜肽，從而形成一種三元複合體（ M H C I 類 α 鏈、 β - 2 - 微球蛋白和胜肽），其可以透過 T 細胞負載匹配 T 細胞受體與具有適當親和力的 M H C / 胜肽複合物結合來識別。結合至 M H C I 類分子的胜肽的典型長度為 8 - 14 個胺基酸，最典型為 9 個胺基酸長度。

【0195】 在人類中，有三種編碼 M H C I 類分子的不同基因位點（人 M H C 分子也是指定的人白細胞抗原（H L A））：H L A - A、H L A - B 和 H L A - C。H L A - A * 0 1、H L A - A * 0 2 和 H L A - B * 0 7 是可從這些基因位點表現的不同 M H C I 類等位元基因的實例。

【0196】 表 5：H L A - A * 0 2 和 H L A - A * 2 4 和最常見 H L A - D R 血清類型的表現頻率 F。頻率依據 M o r i 等人（M o r i 等人，1997）使用的 H a r d y - W e i n b e r g 公式 $F = 1 - (1 - G f)^2$ 改編，從美國人群範圍內的單體型頻率中推導出。由於連鎖不平衡，某些 H L A - D R 等位基因內的 A * 0 2 或 A * 2 4 組合與其預期單一頻率相比，可能是濃縮的或頻率較低。有關詳細資訊，請參閱 C h a n o c k 等人的文獻（C h a n o c k 等人，2004）。

等位基因	人群	依據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	高加索人（北美）	49.1%
A*02	非裔美國人（北美）	34.1%
A*02	亞裔美國人（北美）	43.2%
A*02	拉丁美洲（北美）	48.3%

等位基因	人群	依據等位元基因頻率算得的顯型
DR1	高加索人（北美）	19.4%
DR2	高加索人（北美）	28.2%
DR3	高加索人（北美）	20.6%
DR4	高加索人（北美）	30.7%
DR5	高加索人（北美）	23.3%
DR6	高加索人（北美）	26.7%
DR7	高加索人（北美）	24.8%
DR8	高加索人（北美）	5.7%
DR9	高加索人（北美）	2.1%
DR1	非裔（北）美人	13.20%
DR2	非裔（北）美人	29.80%
DR3	非裔（北）美人	24.80%
DR4	非裔（北）美人	11.10%
DR5	非裔（北）美人	31.10%
DR6	非裔（北）美人	33.70%
DR7	非裔（北）美人	19.20%
DR8	非裔（北）美人	12.10%
DR9	非裔（北）美人	5.80%
DR1	亞裔（北）美人	6.80%
DR2	亞裔（北）美人	33.80%
DR3	亞裔（北）美人	9.20%
DR4	亞裔（北）美人	28.60%
DR5	亞裔（北）美人	30.00%
DR6	亞裔（北）美人	25.10%
DR7	亞裔（北）美人	13.40%
DR8	亞裔（北）美人	12.70%
DR9	亞裔（北）美人	18.60%
DR1	拉丁裔（北）美人	15.30%
DR2	拉丁裔（北）美人	21.20%
DR3	拉丁裔（北）美人	15.20%
DR4	拉丁裔（北）美人	36.80%
DR5	拉丁裔（北）美人	20.00%
DR6	拉丁裔（北）美人	31.10%
DR7	拉丁裔（北）美人	20.20%
DR8	拉丁裔（北）美人	18.60%
DR9	拉丁裔（北）美人	2.10%
A*24	菲律賓	65%
A*24	俄羅斯涅涅茨人	61%
A*24:02	日本	59%
A*24	馬來西亞	58%
A*24:02	菲律賓	54%
A*24	印度	47%

等位基因	人群	依據等位元基因頻率算得的顯型
A*24	韓國	40%
A*24	斯里蘭卡人	37%
A*24	中國	32%
A*24:02	印度	29%
A*24	澳大利亞西部人	22%
A*24	美國	22%
A*24	俄羅斯薩馬拉人	20%
A*24	南美	20%
A*24	歐洲	18%

【0197】 本發明的胜肽，優選當如本文描述納入本發明的疫苗時與 A * 0 2 結合。疫苗還可能包括泛結合 M H C I I 類胜肽。因此，本發明的疫苗可用於治療 A * 0 2 陽性患者中的癌症，但不因為這些胜肽的廣泛結核性而必須選擇 I I 類 M H C 同種異型。

【0198】 如果本發明的 A * 0 2 胜肽與結合至另一個等位基因的胜肽（例如，A * 2 4 ）組合，與單獨的 M H C I 類等位基因相比，可治療更高比例的患者群體。雖然在大多數人群中，低於 5 0 % 的患者可由單獨的等位基因來解決問題，但是本發明中一種含 H L A - A * 2 4 和 H L A - A * 0 2 表位的疫苗可以治療任何相關人群中至少 6 0 % 的患者。具體來說，各區域中，以下比例的患者這些等位基因中的至少一個有肯定效果：美國 6 1 % 、西歐 6 2 % 、中國 7 5 % 、韓國 7 7 % 、日本 8 6 % （依據 www.allele frequencies.net 計算）。

【0199】 在一項優選的實施例中，術語「核苷酸序列」系指去氧核苷酸的雜聚物。

【0200】 編碼特定胜肽、寡胜肽或多胜肽的核苷酸序列可為天然核苷酸序列，也可為合成核苷酸序列。一般來說，

編碼胜肽、多胜肽以及本發明蛋白質的DNA片段由cDNA片段和短寡核苷酸銜接物，或一系列寡核苷酸組成，以提供一種合成基因，該基因能夠在包含源自微生物或病毒操縱子的調節元素的重組轉錄單元中被表現。

【0201】 如本文所用的術語「胜肽的核苷酸編碼」系指對胜肽進行核苷酸序列編碼，其中該胜肽包括與將由用於產生TCR的樹突細胞或另一細胞株統所表現該序列的生物系統相容的人工（人造）啟動和停止密碼子。

【0202】 本文提到的核酸序列既包括單股核酸也包括雙股核酸。因此，除非本文另有所指，否則，例如對於DNA，具體的序列是該序列的單股DNA、該序列與其互補序列的雙工（雙股DNA）以及該序列的互補序列。

【0203】 「編碼區」這一術語是指在基因的天然基因組環境中天然或正常編碼該基因的表現產物的那部分基因，即，體內編碼該基因的天然表現產物的區域。

【0204】 編碼區可來自非突變（「正常」）基因、突變基因或異常基因，甚至還可以來自DNA序列，完全可在實驗室中使用本領域熟知的DNA合成方法合成。

【0205】 「表現產物」這一術語是指多胜肽或蛋白質，它是基因和遺傳碼退化並因而編碼同樣的胺基酸所造成的任何核酸序列編碼同等物的翻譯產物。

【0206】 「片斷」這一術語，當指的是一種編碼序列時，表示包含非完整編碼區的DNA的一部分，其表現產物與完整編碼區表現產物基本上具有相同的生物學功能或活性。

【0207】 「DNA 片段」這一術語是指一種DNA聚合物，以單獨的片段形式或一種較大DNA結構的組分形式存在，它們從至少分離過一次的DNA中以基本純淨的形式獲得，即不含污染性內源性材料，並且獲得的數量或濃度能夠使用標準生化方法，例如使用克隆載體，進行識別、操縱和回收該片段及其組分核苷酸序列。此類片段以開放閱讀框架（未被內部未翻譯序列打斷）或內含子（通常呈現于真核基因中）的形式存在。未翻譯DNA序列可能存在於開放閱讀框架的下游，在那裏其不會干預編碼區的操縱或表現。

【0208】 「引子」這一術語表示一種短核酸序列，其可與一個DNA鏈配對，並在DNA聚合酶開始合成去氧核糖核酸鏈之處提供一個游離的3'-OH末端。

【0209】 「啟動子」這一術語表示參與RNA聚合酶的結合從而啟動轉錄的DNA區域。

【0210】 術語「分離」表示一種物質從其原來的環境（例如，如果是天然發生的則是天然環境）中被移走。例如，活體動物中的天然核苷酸或多胜肽不是分離的，但是，從天然系統中一些或所有共存物質中分離出來的核苷酸或多胜肽是分離的。此類多核苷酸可能是載體的一部分和/或此類多核苷酸和多胜肽可能是一種組合物的一部分，並且由於該載體或組合物不是其天然環境的一部分，因此它仍然是分離的。

【0211】 本發明中披露的多核苷酸和重組或免疫原性多胜肽也可能以「純化」的形式存在。術語「純化」並非要求絕對的純度；它只是一個相對的定義，可以包括高度純化或部分純化的製劑，相關領域技術人員能理解這些術語。例如，各個從已用傳統方法純化為具有電泳同質性的 cDNA 庫中分離出的各種克隆物。明確考慮到將起始材料或天然物質純化至少一個數量級，優選為兩或三個數量級，更優選為四或五個數量級。此外，明確涵蓋所述多胜肽的純度優選為 99.999%，或至少為 99.99% 或 99.9%；甚而適宜為以重量計 99% 或更高。

【0212】 依據本發明公開的核酸和多胜肽表現產物，以及包含此類核酸和 / 或多胜肽的表現載體可能以「濃縮的形式」存在。本文使用的術語「濃縮」是指材料的濃度至少是其自然濃度的大約 2、5、10、100 或 1000 倍，有優勢的是，按重量計為 0.01%，優選為至少 0.1%。也明確考慮到，按重量計約為 0.5%、1%、5%、10% 和 20% 的濃縮製劑。序列、構型、載體、克隆物以及包含本發明的其他材料可有優勢地以濃縮或分離的形式存在。「活性片段」這一術語是指產生免疫反應的片段（即具有免疫原性活性），通常是一種胜肽、多胜肽或核酸序列的片段，不論是單獨或可選地與合適的佐劑一起或在載體中給予一種動物，比如哺乳動物，例如兔子或小鼠，也包括人；這種免疫反應採用的形式是在接受動物（如：人）體內刺激 T 細

胞反應。或者，「活性片段」也可用於誘導體外 T 細胞反應。

【0213】 本文使用的「部分」(portion)、「節段」(segment)、「片段」(fragment)這幾個術語，當與多胜肽相關地使用時是指殘基的連續序列，比如胺基酸殘基，其序列形成一個較大序列的子集。例如，如果一個多胜肽以任一種胜肽鏈內切胜肽酶（如胰蛋白酶或糜蛋白酶）進行處理，則該處理獲得的寡胜肽會代表起始多胜肽的部分、節段或片段。當與多核苷酸相關地使用時，這些術語系指用任何核酸內切酶處理所述多核苷酸產生的產物。

【0214】 依據本發明，術語「等同度百分比」或「等同百分比」，如果指的是序列，則表示在待對比序列（「被對比序列」）與所述序列或請求項的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或請求項的序列進行比較。然後依據下列公式計算等同度百分比：

$$\text{等同度百分比} = 100 [1 - (C/R)]$$

其中 C 是參考序列與被對比序列之間對準長度上參考序列與被對比序列之間的差異數量，其中

(i) 參考序列中每個鹼基或胺基酸序列在被對比序列中沒有對應的對準鹼基或胺基酸；

(ii) 參考序列中每個空隙，以及

(iii) 參考序列中每個對準鹼基或胺基酸與被比對比序列中對準鹼基或胺基酸不同，即構成一個差異以及

(iiii) 必須在對準序列的第 1 位置開始對準；

並且 R 是參考序列與被對比序列對準長度上在參考序列中產生任何空隙也計算為一個鹼基或胺基酸的參考序列中的鹼基或胺基酸數目。

【0215】 如果「被對比序列」和「參考序列」之間存在的一個對準按上述計算的等同度百分比大致等於或大於指定的最低等同度百分比，則被對比序列與參考序列具有指定的最低等同度百分比，雖然可能存在按本文上述計算的等同度百分比低於指定等同度百分比的對準。

【0216】 因此，如上所述，本發明提出了一種胜肽，其包括選自由 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:67 所組成的群組的序列、或與 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:67 具有 88% 同源性的其變體、或誘導該胜肽與 T 細胞發生交叉反應的一個變體。本發明所述的胜肽具有與主要組織相容性複合體 (MHC) I 或所述胜肽拉長版本的 II 類分子結合的能力。

【0217】 在本發明中，「同源性」一詞系指兩個胺基酸序列之間的同一度（參見上文的等同度百分比，如胜肽或多胜肽序列。前文所述的「同源」是透過將理想條件下調整的兩個序列與待比較序列進行比對後確定的。此類序列同源性可透過使用 ClustalW 等演算法創建一個排列而進行計算。也可用使用一般序列分析軟體，更具體地說，是 Vector NTI、GENETYX 或由公共資料庫提供的其他工具。

【0218】 本領域技術人員能評估特定胜肽變體誘導的 T 細胞是否可與該胜肽本身發生交叉反應 (Appay 等人，

2006; Colombetti 等人, 2006; Fong 等人, 2001; Zaremba 等人, 1997)。

【0219】發明人用給定胺基酸序列的「變體」表示，一個或兩個胺基酸殘基等的側鏈透過被另一個天然胺基酸殘基的側鏈或其他側鏈取代而發生改變，這樣，這種胜肽仍然能夠以含有給定胺基酸序列（由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67組成）的胜肽大致同樣的方式與HLA分子結合。例如，一種胜肽可能被修飾以便至少維持（如沒有提高）其能與HLA-A*02或-DR等合適MHC分子的結合槽相互作用和結合，以及至少維持（如沒有提高）其與活化T細胞的TCR結合的能力。

【0220】隨後，這些T細胞可與細胞和殺手細胞發生交叉反應，這些細胞表現多胜肽（其中包含本發明中定義的同源胜肽的天然胺基酸序列）。正如科學文獻和資料庫（Rammensee 等人, 1999; Godkin 等人, 1997）中所述，HLA-A結合胜肽的某些位點通常為錨定殘基，可形成一種與HLA結合槽的結合模序相稱的核心序列，其定義由構成結合槽的多胜肽鏈的極性、電物理、疏水性和空間特性確定。因此，本領域技術人員能夠透過保持已知的錨殘基來修飾SEQ ID No: 1至SEQ ID NO:67提出的胺基酸序列，並且能確定這些變體是否保持與MHC I或II類分子結合的能力。本發明的變體保持與活化T細胞的TCR結合的能力，隨後，這些T細胞可與表現一種包含本發明定

義的同源胜肽的天然胺基酸序列的多胜肽的細胞發生交叉反應並殺死該等細胞。

【0221】 如果無另有說明，那麼本文公開的原始（未修飾）胜肽可以透過在胜肽鏈內的不同（可能為選擇性）位點上取代一個或多個殘基而被修飾。優選情況是，這些取代位於胺基酸鏈的末端。此取代可能是保守性的，例如，其中一個胺基酸被具有類似結構和特點的另一個胺基酸所取代，比如其中一個疏水性胺基酸被另一個疏水性胺基酸取代。更保守的取代是具有相同或類似的大小和化學性質的胺基酸間的取代，例如，白胺酸被異白胺酸取代。在天然同源蛋白質家族序列變異的研究中，某些胺基酸的取代往往比其他胺基酸更具有耐受性，這些胺基酸往往顯示出與原胺基酸的大小、電荷、極性和疏水性之間的相似性相關，這是確定「保守取代」的基礎。

【0222】 在本文中，保守取代定義為在以下五種基團之一的內部進行交換：基團1—小脂肪族、非極性或略具極性的殘基（A l a、S e r、T h r、P r o、G l y）；基團2—極性、帶負電荷的殘基及其醯胺（A s p、A s n、G l u、G l n）；基團3—極性、帶正電荷的殘基（H i s、A r g、L y s）；基團4—大脂肪族非極性殘基（M e t、L e u、I l e、V a l、C y s）以及基團5—大芳香殘基（P h e、T y r、T r p）。

【0223】 較不保守的取代可能涉及一個胺基酸被另一個具有類似特點但在大小上有所不同的胺基酸所取代，如：丙胺酸被異白胺酸殘基取代。高度不保守的取代可能涉及一

個酸性胺基酸被另一個具有極性或甚至具有鹼性性質的胺基酸所取代。然而，這種「激進」取代不能認為是無效的而不予考慮，因為化學作用是不完全可預測的，激進的取代可能會帶來其簡單化學原理中無法預見的偶然效果。

【0224】 當然，這種取代可能涉及普通L-胺基酸之外的其他結構。因此，D-胺基酸可能被本發明的抗原胜肽中常見的L-胺基酸取代，也仍在本公開的範圍之內。此外，非標準胺基酸（即，除了常見的天然蛋白原胺基酸）也可以用於取代之目的，以生產依據本發明的免疫原和免疫原性多胜肽。

【0225】 如果在一個以上位置上的取代發現導致胜肽的抗原活性基本上等於或大於以下定義值，則對這些取代的組合進行測試，以確定組合的取代是否產生對胜肽抗原性的疊加或協同效應。胜肽內被同時取代的位置最多不能超過4個。

【0226】 基本上由本文所指胺基酸序列組成的一種胜肽可能有一個或兩個非錨定胺基酸（見下面錨模體相關內容）被交換，而不存在這種情況，即相比於未修飾的胜肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。在另一實施例中，在基本上由本文所述胺基酸序列組成的胜肽中，一個或兩個胺基酸可與其保守交換夥伴交換（見下文），而不存在這種情況，即相比於未修飾的胜肽，與人類主要組織相容性複合

體 (M H C) - I 或 I I 類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。

【0227】 這些基本不與 T 細胞受體互動的胺基酸殘基可透過取代其他幾乎不影響 T 細胞反應並不妨礙與相關 M H C 結合的胺基酸而得到修飾。因此，除了特定限制性條件外，本發明的胜肽可能為任何包括給定胺基酸序列或部分或其變體的胜肽（發明人所用的這個術語包括寡胜肽或多胜肽）。

【0228】 表 6：依據 S E Q I D N O：4、29 和 30 的胜肽變體和模體 (m o t i f)。

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 4	S	V	D	V	S	P	P	K	V
變體									I
									L
									A
		L							I
		L							L
		L							
		L							A
		A							I
		A							L
		A							
		A							A
		M							I
		M							L
		M							
		M							A
		T							I
		T							L
		T							
		T							A
		Q							I
		Q							L
		Q							
		Q							A
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 29	F	L	Q	E	Y	L	D	A	I
變體		I							L
		I							V
		I							
		I							A
		M							L
		M							V
		M							
		M							A
		A							L
		A							V
		A							
		A							A
		V							L
		V							V
		V							
		V							A
		T							L
		T							V
		T							
		T							A
		Q							L
		Q							V
		Q							
		Q							A
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SEQ ID NO. 30	V	V	D	E	G	P	T	G	V
變體									L
									I
									A
		M							L
		M							I
		M							
		M							A
		L							L
		L							I
		L							
		L							A
		A							L
		A							I
		A							
		A							A
		T							L

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		T							I
		T							
		T							A
		Q							L
		Q							I
		Q							
		Q							A

【0229】較長（拉長）的胜肽也可能適合。MHC I類表位（通常長度為8至11個胺基酸）可能由胜肽從較長的胜肽或包含實際表位的蛋白質中加工而產生。兩側有實際表位的殘基優選為在加工過程中幾乎不影響暴露實際表位所需蛋白質裂解的殘基。

【0230】本發明的胜肽可被拉長多達四個胺基酸，即1、2、3或4個胺基酸，可按照4:0與0:4之間的任何組合添加至任意一端。本發明的拉長組合可見表7。

【0231】表 7：本發明胜肽的拉長組合

C-端	N-端
4	0
3	0或1
2	0或1或2
1	0或1或2或3
0	0或1或2或3或4
N-端	C-端
4	0
3	0或1
2	0或1或2
1	0或1或2或3
0	0或1或2或3或4

【0232】拉伸/延長的胺基酸可以是所述蛋白質或任何其他胺基酸的原序列胜肽。拉長可用于增強所述胜肽的穩定性或溶解性。

【0233】 因此，本發明所述的表位可能與天然腫瘤相關表位或腫瘤特異性表位相同，也可能包括來自參考胜肽的不超過四個殘基的不同胜肽，只要它們有基本相同的抗原活性即可。

【0234】 在一項替代實施例中，胜肽的一邊或雙邊被拉長4個以上的胺基酸，優選最多30個胺基酸的總長度。這可形成MHC-II類結合胜肽。結合至MHC-II類胜肽可透過本領域中已知的方法進行測試。

【0235】 因此，本發明提出了MHC-I類表位的胜肽和變體，其中所述胜肽或抗體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個胺基酸長度（即8、9、10、11、12、13、14個胺基酸，如果為拉長II類結合胜肽時，長度也可為15、16、17、18、19、20、21或22個胺基酸）。

【0236】 當然，本發明的胜肽或變體能與人主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合。胜肽或變體與MHC複合物的結合可用本領域內的已知方法進行測試。

【0237】 優選情況是，當本發明的胜肽特異性T細胞相比於取代胜肽受到檢測時，如果取代胜肽在相對於背景胜肽溶解度增加達到最大值的一半，則該胜肽濃度不超過約1 mM，優選為不超過約1 μ M，更優選為不超過約1 nM，再優選為不超過約100 pM，最優選為不超過約10 pM。也優選為，取代胜肽被一個以上的T細胞識別，最少為2個，更優選為3個。

【0238】 在本發明的一個特別優選實施例中，胜肽是由或基本由依據SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 67的胺基酸序列所組成。

【0239】 「基本由...組成」是指本發明的胜肽，除了依據SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 67中的序列或其變體組成外，還含有位於其他N和/或C端延伸處的胺基酸，而它們不一定能形成作為MHC分子表位的胜肽。

【0240】 但這些延伸區域對有效將本發明中的胜肽引進細胞具有重要作用。在本發明的一實例中，該胜肽為融合蛋白質的一部分，含來自NCBI、GenBank登錄號X00497的HLA-DR抗原相關不變鏈（p33，以下稱為「Ii」）的80個N-端胺基酸等。在其他的融合中，本發明的胜肽可以被融合到本文所述的抗體、或其功能性部分，特別是融合入抗體的序列，以便所述抗體進行特異性靶向作用，或者，例如進入本文所述的樹突狀細胞特異性抗體。

【0241】 此外，該胜肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和/或與MHC分子結合，從而引發更強的免疫反應。胜肽序列的該類優化方法是本領域內所熟知的，包括，例如，反式胜肽鍵和非胜肽鍵的引入。

【0242】 在反式胜肽鍵胺基酸中，胜肽(-CO-NH-)並未連接其殘基，但是其胜肽鍵是反向的。這種逆向反向模擬胜肽(retro-inverso peptidomimetics)可透過本領域已知的方法製備，例如：Meziere等人在(Meziere等人，1997)中所述的方法，以引用的方式併入本文。這種方法

涉及製備包含骨架（而並非側鏈）改變的模擬胜肽。Meziere 等人 (Meziere 等人, 1997) 的研究顯示, 這些類比胜肽有利於 MHC 的結合和輔助性 T 細胞的反應。以 NH-CO 鍵替代 CO-NH 胜肽鍵的逆向反向胜肽大大地提高了抗水解性能。

【0243】 非胜肽鍵為 $-CH_2-NH-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-COCH_2-$ 、 $-CH(OH)CH_2-$ 和 $-CH_2SO-$ 等。美國 4897445 號專利提出了多胜肽鏈中非胜肽鍵 ($-CH_2-NH$) 的非固相合成法, 該方法涉及按標準程序合成的多胜肽以及透過胺基醛和一種含 $NaCNBH_3$ 的胺基酸相互作用而合成的非胜肽鍵。

【0244】 含上述序列的胜肽可與其胺基和 / 或羧基末端的其他化學基團進行合成, 從而提高胜肽的穩定性、生物利用度、和 / 或親和力等。例如, 苄氧羰基、丹醯基等疏水基團或叔丁氧羰基團可加入胜肽的胺基末端。同樣, 乙醯基或 9-芴甲氧羰基可能位於胜肽的胺基末端。此外, 疏水基團、叔丁氧羰基團或胺基團都可能被加入胜肽的羧基末端。

【0245】 另外, 本發明中的所有胜肽都可能經合成而改變其空間構型。例如, 可能使用這些胜肽的一個或多個胺基酸殘基的右旋體, 通常不是其左旋體。更進一步地, 本發明中胜肽的至少一個胺基酸殘基可被熟知的一個非天然胺基酸殘基取代。諸如此類的改變可能有助於增加本發明胜肽的穩定性、生物利用度和 / 或結合作用。

【0246】 同樣，本發明中的胜肽或變體可在合成胜肽之前或之後透過特異胺基酸的反應而進行化學修飾。此類修飾的實例為本領域所熟知，例如，在 R. Lundblad 所著 2004 年第三版 CRC Press 的 Chemical Reagents for Protein Modification (Lundblad, 2004) 中有概述，以參考文獻的方式併入本文。雖然胺基酸的化學修飾方法無限制，但其包括（但不限於）透過以下方法修飾：醯基化、脒基化、離胺酸吡哆基化、還原烷基化、以 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 三硝基苯基化胺基團、透過將半胱胺酸過甲酸氧化為磺基丙胺酸而對羧基團和巰基進行胺基修飾、形成易變衍生物、與其他巰基化合物形成混合二硫化合物、與馬來醯亞胺反應，與碘乙酸或碘乙醯胺羧甲基化、在鹼性 pH 值下與氰酸鹽甲氨醯化。在這態樣，技術人員參考了 Eds. Coligan 等人所著 Current Protocols In Protein Science (John Wiley and Sons NY 1995-2000) (Coligan 等人, 1995) 中第 15 章所述的在蛋白質化學修飾相關的廣泛方法。

【0247】 簡言之，修飾蛋白質的精氨醯殘基等往往基於於鄰二羰基化合物（如苯甲醯甲醛、2,3-丁二酮以及 1,2-烯巳二酮）的反應而形成加合物。另一個實例是丙酮醛與精胺酸殘基的反應。半胱胺酸可在離胺酸和組胺酸等親核位點不作隨同修飾的情況下就得到修飾。因此，有大量試劑可進行半胱胺酸的修飾。Sigma-Aldrich

(<http://www.sigma-aldrich.com>) 等公司的網站含有具體試劑的資訊。

【0248】 蛋白質中二硫鍵的選擇性還原也很普遍。二硫鍵可在生物製藥熱處理中形成和氧化。伍德沃德氏試劑 K 可用於修飾特定的谷胺酸殘基。N - (3 - 二甲胺基丙基) - N' - 乙基 - 碳二亞胺可用于形成離胺酸殘基和谷胺酸殘基的分子內交聯。例如：焦碳酸二乙酯是修飾蛋白質體胺酸殘基的試劑。組胺酸也可使用 4 - 羥基 - 2 - 壬烯醛進行修飾。離胺酸殘基與其他 醯 - 胺基團的反應，例如，有利於胜肽結合到蛋白質 / 胜肽的表面或交聯處。離胺酸聚是多 (乙烯) 乙二醇的附著點，也是蛋白質糖基化的主要修飾位點。蛋白質的蛋胺酸殘基可透過碘乙醯胺、溴乙胺、氯胺 T 等被修飾。

【0249】 四硝基甲烷和 N - 乙醯基咪唑可用於酪胺酸殘基的修飾。經二酪胺酸形成的交聯可透過過氧化氫 / 銅離子完成。

【0250】 對色胺酸修飾的最近研究中使用了 N - 溴代琥珀醯亞胺、2 - 羥基 - 5 - 硝基苄溴或 3 - 溴 - 3 - 甲基 - 2 - (2 - 硝苯巯基) - 3 H - 吡啶 (B P N S - 糞臭素)。

【0251】 當蛋白質與戊二醛、聚乙二醇二丙烯酸酯和甲醛的交聯用於配製水凝膠時，治療性蛋白質和含聚乙二醇的胜肽的成功修飾往往可延長迴圈半衰期。針對免疫治療的變態反應原化學修飾往往透過氰酸鉀的胺基甲醯化實現。

【0252】 一種胜肽或變體，其中胜肽被修飾或含非胜肽鍵，優選為本發明的實例。一般來說，胜肽和變體 (至少

含胺基酸殘基之間的胜肽聯接)可使用 L u k a s 等人 (L u k a s 等人, 1981) 以及此處引用的參考文獻所披露的固相胜肽合成 F m o c - 聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基 (F m o c) 團對 N - 胺基提供臨時保護。使用 N, N - 二甲基甲醯胺中的 20 % 二甲基吡啶中對這種鹼高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚 (在絲胺酸蘇胺酸和酪胺酸的情況下)、丁基酯 (在谷胺酸和天門冬胺酸的情況下)、叔丁氧羰基衍生物 (在離胺酸和組胺酸的情況下)、三苯甲基衍生物 (在半胱胺酸的情況下) 及 4 - 甲氧基 - 2,3,6 - 三甲基苯磺醯基衍生物 (在精胺酸的情況下), 側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為 C - 末端殘基, 側鏈胺基功能保護所使用的是 4,4' - 二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物, 其由三個單體二甲基丙烯醯胺 (骨架單體)、雙丙烯醯乙烯二胺 (交聯劑) 和 N - 丙烯醯肌胺酸甲酯 (功能劑) 構成。使用的胜肽 - 樹脂聯劑為酸敏感的 4 - 羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的胺基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入, 但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外, 它們使用被逆轉的 N, N - 二環己基碳二亞胺 / 1 - 羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或 i s o t i n 測試程序監測。合成完成後, 用濃度為 95 % 含 50 % 去除劑混合物的三氟醋酸, 從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解胜肽。常用的去除劑混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水, 準確的選擇依據合成胜肽的胺基酸組成。此外, 固相和液相方

法結合使用對胜肽進行合成是可能的（例如，請參閱（Bruckdorfer等人，2004）以及本文引用的參考文獻）。

【0253】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗胜肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序製得不含去除劑混合物的胜肽）清除任何存在的去除劑混合物。胜肽合成試劑一般可從Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0254】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0255】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（CSPE）、反相高效液相色譜法、酸解後的胺基酸分析、快原子轟擊（FAB）質譜分析以及MALDI和ESI-Q-TOF質譜分析進行胜肽分析。

【0256】 為了選擇過度呈現的胜肽，計算了呈現圖，其顯示樣本中位元呈現量以及複製變化。該特點使相關腫瘤實體的樣本與正常組織樣本的基線值並列。可透過計算調節線性混合效應模型（Pinheiro等人，2015）的p值將以上每個特點併入過度呈現分數中，從而透過假髮現率（Benjamini and Hochberg，1995）調整多項檢驗。

【0257】 對於透過質譜法對HLA配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的HLA分子進行純化並對HLA相關胜肽進行分離。分離的胜肽分開，並透過線上奈

米 - 電噴霧 - 電離 (n a n o E S I) 液相色譜 - 質譜 (L C - M S) 實驗進行鑒定。由此產生的胜肽序列的驗證方法是，將胰臟癌樣本 (N = 18 個 A * 02 陽性樣本) 中記錄的天然 T U M A P 的片段模式與相同序列相應合成參考胜肽的片段模式進行比較。由於這些胜肽被直接鑒定為原發性腫瘤 H L A 分子的配體，因此這些結果為獲得自 18 名胰臟癌患者的原發性癌症組織上確定胜肽的天然加工和呈現提供了直接證據。

【0258】 發現管道 X P R E S I D E N T® v 2 . 1 (例如，參見 U S 2013/0096016，並在此透過引用將其整體併入本文) 允許識別和選擇相關過量呈現的候選胜肽疫苗，這基於與幾種不同的非癌組織和器官相比癌症或其他受感染組織的 H L A 限制胜肽水準直接相對定量結果。這透過以下方法實現：使用專有資料分析管道處理的 L C - M S 採集資料、結合序列識別演算法、譜聚類、計算離子、保留時間調整、充電狀態卷積以及正態化而開發無標記差異化定量方法。

【0259】 為每種胜肽和樣本確立了呈現水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量呈現的胜肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量呈現的胜肽已經得到確定。

【0260】 對來自胰臟癌組織樣本的 H L A 胜肽複合物進行純化，並且對 H L A 相關胜肽使用 L C - M S 進行分離和分析 (見實例)。本申請中包含的所有 T U M A P 使用原發性胰臟癌樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性胰臟癌上的呈現。

【0261】 在多個胰臟癌和正常組織上確定的 T U M A P 用無標記 L C - M S 資料的離子計數方法進行量化。該方法假定胜肽的 L C - M S 訊號區域與樣本中其豐度相關。各種 L C - M S 實驗中胜肽的所有量化訊號在集中趨勢基礎上進行正常化，依據每個樣品進行平均，併合併入柱狀圖（被稱為呈現圖）。呈現圖整合了不同分析方法，如：蛋白質資料庫檢索、譜聚類、充電狀態卷積（除電）和保留時間校準和正態化。

【0262】 本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量呈現或只呈現本發明胜肽的胰臟癌。這些胜肽由質譜分析法直接顯示出，而由 H L A 分子自然呈現于人原發性人胰臟癌樣本中。

【0263】 與正常組織相比，癌症中高度過度表現胜肽來源的許多源基因/蛋白質（也指定為「全長蛋白質」或「基本的蛋白質 (underlying protein)」）- 本發明相關的「正常組織」是健康胰臟細胞或其他正常組織細胞，這表明腫瘤與這些源基因的高度關聯性（見實例 2）。此外，這些胜肽本身也在腫瘤組織中過度呈現（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自胰臟癌患者的樣本），但不在正常組織中過度呈現（見實例 1）。

【0264】 H L A 結合胜肽能夠被免疫系統識別，特別是 T 淋巴細胞。T 細胞可破壞呈現被識別 H L A / 胜肽複合體的細胞（如：呈現衍生胜肽的胰臟癌細胞）。

【0265】 本發明的所有胜肽已被證明具有刺激 T 細胞反應的能力，並過量呈現，因而可用于製備本發明的抗體和 / 或 T C R，例如可溶性 T C R（參見實例 3 和實例 4）。此外，胜肽與相應的 M H C 組合時，也可用于製備本發明的抗體和 / 或 T C R，特別是 s T C R。各個方法均為技術人員所熟知，並在各個文獻中可找到。因此，本發明的胜肽可用于在患者中產生免疫反應，從而能夠毀滅腫瘤細胞。患者的免疫反應能夠透過直接給予患者所述胜肽或前體物質（如，加長胜肽、蛋白質或編碼這些胜肽的核酸），較理想是與加強免疫原性的製劑相結合，而進行誘導。源自該治療性疫苗的免疫反應預期能夠高度特異性地對抗腫瘤細胞，因為本發明的目標胜肽在正常組織上呈現的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良自體免疫反應的風險。

【0266】 「藥物組合物」是指適合在醫療機構用於人體的組合物。優選地，藥物組合物為無菌狀態，並依據 G M P 指南生產。

【0267】 藥物組合物包括游離形式或以一種藥用鹽形式存在的胜肽（也參見上文）。此處使用的「藥用鹽」系指所公開的胜肽的一種衍生物，其中該胜肽由製造藥劑的酸式或鹼式鹽進行修飾。例如，用與適合的酸反應的游離鹼（通常其中的中性藥物有一個中性 - N H₂ 基團）製備酸式鹽。適合製備酸式鹽的酸包括有機酸，如：乙酸、丙酸、羥基酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、丙二酸、丁二酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺

酸、甲磺酸、苯磺酸、水楊酸等等、以及無機酸，如：鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等。相反，可在一種胜肽上呈現的酸性基團的鹼式鹽製劑使用藥用鹼基進行製備，如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺等等。

【0268】 在特別優選的實施例中，藥物組合物包括乙酸（醋酸鹽），三氟乙酸鹽或鹽酸（氯化物）形式的胜肽。

【0269】 本發明中所述的藥劑優選為一種免疫治療藥劑，例如，一種疫苗。該疫苗可直接給到患者的受影響器官，也可以皮內注射（i.d.）、肌內注射（i.m.）、皮下注射（s.c.）、腹腔注射（i.p.）和靜脈注射（i.v.）方式全身給藥，或體外應用到來自患者或其細胞株的細胞（隨後再將這些細胞注入到患者中），或體外用於從來自患者的免疫細胞的一個細胞亞群（然後再將細胞重新給予患者）。如果核酸體外注入細胞，可能有益於細胞轉染，以共同表現免疫刺激細胞因子（如白細胞介素-2）。胜肽可完全單獨給藥，也可與免疫刺激佐劑相結合（見下文）、或與免疫刺激細胞因子聯合使用、或以適當的輸送系統給藥（例如脂質體）。該胜肽也可共軛形成一種合適的載體（如鑰孔蟲戚血藍蛋白質（KLH）或甘露）到合適的載體（參閱WO 95/18145及（Longenecker等人，1993））。胜肽也可能被標記，可能是融合蛋白質，或可能是雜交分子。在本發明中給出序列的胜肽預計能刺激CD4或CD8 T細胞。然而，在有CD4 T-輔助細胞的幫助時，CD8 T細胞刺激更

加有效。因此，對於刺激CD8 T細胞的MHC-I類表位，一種雜合分子的融合夥伴或片段提供了刺激CD4陽性T細胞的適當表位。CD4和CD8刺激表位為本領域所熟知、並包括本發明中確定的表位。

【0270】 一態樣，疫苗包括至少含有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67中提出的至少一種胜肽以及至少另外一種胜肽，優選為2至50種、更優選為2至25種、再優選為2至20種、最優選為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18種胜肽。胜肽可能從一個或多個特定TAA中衍生，並且可能與MHC I類分子結合。

【0271】 另一態樣，本發明提出了一種編碼本發明中胜肽或胜肽變體的核酸（如多聚核苷酸）。多聚核苷酸可能為，例如，DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物，它們可為單股和/或雙股、或多聚核苷酸的原生或穩定形式（如：具有硫代磷酸骨架的多聚核苷酸），並且只要它編碼胜肽，就可能包含也可能不包含内含子。當然，多聚核苷酸只能編碼加入天然胜肽鍵並含有天然胺基酸殘基的胜肽。另一個態樣，本發明提出了一種可依據本發明表現多胜肽的表現載體。

【0272】 對於連接多核苷酸，已經開發出多種方法，尤其是針對DNA，可透過向載體補充可連接性末端等方法進行連接。例如，可向DNA片段加入補充性均聚物軌道，之後DNA片段被插入到載體DNA。然後，透過補充性均聚物尾

巴的氫鍵結合，將載體和DNA片段結合，從而形成重組DNA分子。

【0273】 含有一個或多個酶切位點的合成接頭為DNA片段與載體連接提供了另一種方法。含各種限制性核酸內切酶的合成接頭可透過多種管道購得，其中包括從國際生物技術公司（International Biotechnologies Inc, New Haven, CN, 美國）購得。

【0274】 編碼本發明多胜肽的DNA理想修飾方法利用Saiki RK等人(Saiki等人, 1988)披露的聚合酶鏈反應方法。此方法可用於將DNA引入合適的載體（例如，透過設計合適的酶切位點），也可用於本領域已知的其他有用方法修飾DNA。如果使用病毒載體，痘病毒載體或腺病毒載體為優選。

【0275】 之後，DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能表現於合適的宿主，從而製成含本發明胜肽或變體的多胜肽。因此，可依據已知技術使用編碼本發明胜肽或變體的DNA，用本文所述方法適當修飾後，構建表現載體，然後表現載體用於轉化合適宿主細胞，從而表現和產生本發明中的多胜肽。此類技術包括那些公開於，例如，美國專利 4,440,859、4,530,901、4,582,800、4,677,063、4,678,751、4,704,362、4,710,463、4,757,006、4,766,075 和 4,810,648。

【0276】 編碼含本發明化合物多胜肽的DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能被加入到其他多種DNA序

列，從而引入到合適的宿主中。同伴DNA將取決於宿主的性質、DNA引入宿主的方式、以及是否需要保持為游離體還是要相互結合。

【0277】 一般來說，DNA可以適當的方向和正確的表現閱讀框架附著到一種表現載體（如質粒）中。如有必要，該DNA可能與所需宿主所識別的相應轉錄和翻譯調節控制核苷酸序列連接，儘管表現載體中一般存在此類控制功能。然後，該載體透過標準方法被引入宿主。一般來說，並不是所有的宿主都會被載體轉化。因此，有必要選擇轉化過的宿主細胞。選擇方法包括用任何必要的控制元素向表現載體插入一個DNA序列，該序列對轉化細胞中的可選擇性屬性（如抗生素耐藥性）進行編碼。

【0278】 另外，有這種選擇屬性的基因可在另外一個載體上，該載體用來協同轉化所需的宿主細胞。

【0279】 然後，本發明中的重組DNA所轉化的宿主細胞在本文中所述本領域技術人員熟悉的合適條件下培養足夠長的時間，從而表現之後可回收的胜肽。

【0280】 有許多已知的表現系統，包括細菌（如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌）、酵母（如酵母菌）、絲狀真菌（如曲黴菌）、植物細胞、動物細胞及昆蟲細胞。該系統可優選為哺乳動物細胞，如來自ATCC細胞生物學庫（Cell Biology Collection）中的CHO細胞。

【0281】 典型的哺乳動物細胞組成型表現載體質粒包括CMV或含一個合適的多聚A尾巴的SV40啟動子以及抗性

標誌物（如新黴素）。一個實例為從 *Pharmacia* 公司（*Piscataway*，新澤西，美國）獲得的 *pSVL*。一種可誘導型哺乳動物表現載體的例子是 *pMSG*，也可以從 *Pharmacia* 公司獲得。有用的酵母質粒載體是 *pRS403-406* 和 *pRS413-416*，一般可從 *Stratagene Cloning Systems* 公司（*La Jolla, CA 92037*，美國）獲得。質粒 *pRS403*、*pRS404*、*pRS405* 和 *pRS406* 是酵母整合型質粒（*YIp*），並插入了酵母可選擇性標記物 *HIS3*、*TRP1*、*LEU2* 和 *URA3*。*pRS413-416* 質粒為酵母著絲粒質粒（*Ycp*）。基於 *CMV* 啟動子的載體（如，來自於 *Sigma-Aldrich* 公司）提供了暫態或穩定的表現、胞漿表現或分泌，以及 *FLAG*、*3xFLAG*、*c-myc* 或 *MATN* 不同組合物中的 *N*-端或 *C*-端標記。這些融合蛋白質可用於檢測、純化及分析重組蛋白質。雙標融合為檢測提供了靈活性。

【0282】 強勁的人巨細胞病毒（*CMV*）啟動子調控區使得 *COS* 細胞中的組成蛋白質表現水準高達 1 mg/L 。對於較弱的細胞株，蛋白質水準一般低於 0.1 mg/L 。*SV40* 複製原點的出現將導致 *DNA* 在 *SV40* 複製容納性 *COS* 細胞中高水準複製。例如，*CMV* 載體可包含細菌細胞中的 *pMB1*（*pBR322* 的衍生物）複製原點、細菌中進行氨苄青黴素抗性選育的鈣-內鹼胺酶基因、*hGH polyA* 和 *f1* 的原點。含前胰島素原引導（*PPT*）序列的載體可使用抗 *FLAG* 抗體、樹脂和培養碟引導 *FLAG* 融合蛋白質分泌到進行純化

的培養基中。其他與各種宿主細胞一起應用的載體和表現系統是本領域熟知眾所周知的。

【0283】 在另一個實施例中，對本發明的兩個或更多的胜肽或胜肽變體進行編碼，因此，以一個連續順序（類似於「一串珠子」的構建體）表現。在達到目標，所述胜肽或胜肽變體可能透過連接子胺基酸的延伸處（例如 L L L L L L）連接或融合一起，也可能他們之間沒有任何附加的胜肽而被連接。這些構建體也可用於癌症治療，可誘導涉及 M H C I 和 M H C II 類分子的免疫反應。

【0284】 本發明還涉及一種宿主細胞，其以本發明的多核苷酸載體構建轉化而來。宿主細胞可為原核細胞，也可為真核細胞。在有些情況下，細菌細胞為優選原核宿主細胞，典型為大腸桿菌株，例如，大腸桿菌菌株 D H 5（從美國 M D, Bethesda 的 Bethesda Research Laboratories 公司獲得）和 R R 1（從美國 M D, Rockville 的美國菌種保存中心 A T C C 獲得，A T C C 編號 3 1 3 4 3）。首選的真核宿主細胞包括酵母、昆蟲和哺乳動物細胞，優選為脊椎動物細胞，如：小鼠、大鼠、猴子或人成纖維細胞和結腸癌細胞株中的細胞。酵母宿主細胞包括 Y P H 4 9 9、Y P H 5 0 0 和 Y P H 5 0 1，一般可從 Stratagene Cloning Systems 公司（L a J o l l a, C A 9 2 0 3 7, 美國）獲得。首選哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢（C H O）細胞為 A T C C 中的 C C L 6 1 細胞、N I H 瑞士小鼠胚胎細胞 N I H / 3 T 3 為 A T C C 中的 C R L 1 6 5 8 細胞、猴腎源性 C O S - 1 細胞為 A T C C 中的

CRL 1650 細胞以及人胚胎腎細胞的 293 號細胞。首選昆蟲細胞為 Sf9 細胞，可用杆狀病毒表現載體轉染。有關針對表現選擇合適宿主細胞的概要，可從 Paulina Balbás and Argelia Lorence 所著的教科書第二版「Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols」的第一部 (ISBN 978-1-58829-262-9) 和本領域技術人員知道的其他文獻中查到。

【0285】 含本發明 DNA 結構的適當宿主細胞的轉化可使用大家熟知的方法完成，通常取決於使用載體的類型。關於原核宿主細胞的轉化，請參見，例如，Cohen 等人的文獻 (Cohen 等人，1972) 和 (Green and Sambrook, 2012)。酵母細胞的轉化在 Sherman 等人的文章 (Sherman 等人，1986) 中進行了描述。Beggs (Beggs, 1978) 中所述的方法也很有用。對於脊椎動物細胞，轉染這些細胞的試劑等，例如，磷酸鈣和 DEAE-葡聚糖或脂質體配方，可從 Stratagene Cloning Systems 公司或 Life Technologies 公司 (Gaithersburg, MD 20877, 美國) 獲得。電穿孔也可用於轉化和 / 或轉染細胞，是本領域用於轉化酵母細胞、細菌細胞、昆蟲細胞和脊椎動物細胞大家熟知的方法。

【0286】 被成功轉化的細胞 (即含本發明 DNA 結構的細胞) 可用大家熟知的方法 (如 PCR) 進行識別。另外，上清液存在的蛋白質可使用抗體進行檢測。

【0287】 應瞭解，本發明中的某些宿主細胞用於製備本發明中的胜肽，例如細菌細胞、酵母細胞和昆蟲細胞。但是，其他宿主細胞可能對某些治療方法有用。例如，抗原呈現細胞（如樹突狀細胞）可用于表現本發明中的胜肽，使他們可以加載入相應的MHC分子中。因此，本發明提出了含本發明中核酸或表現載體的一種宿主細胞。

【0288】 在一個優選實施例中，宿主細胞為抗原呈現細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原呈現細胞。2010年4月29日，美國食品和藥物管理局(FDA)批准載有含攝護腺酸性磷酸酶(PAP)的重組融合蛋白質可用於治療無症狀或症狀輕微的轉移性HRPC(Rini等人，2006；Small等人，2006)。

【0289】 另一態樣，本發明提出了一種配製一種胜肽及其變體的方法，該方法包括培養宿主細胞和從宿主細胞或其培養基中分離胜肽。

【0290】 在另一個實施例中，本發明中的胜肽、核酸或表現載體用於藥物中。例如，胜肽或其變體可製備為靜脈(i.v.)注射劑、皮下(s.c.)注射劑、皮內(i.d.)注射劑、腹膜內(i.p.)注射劑、肌肉(i.m.)注射劑。胜肽注射的優選方法包 s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和 i.v.注射。DNA注射的優選方法 i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和 i.v.注射。例如，給予50 µg至1.5 mg，優選為125 µg至500 µg的胜肽或DNA，這取決於具體的胜肽或DNA。上述劑量範圍在以前的試驗中成功使用(Walter等人，2012)。

【0291】 用於主動免疫接種的多聚核苷酸可為基本純化形式，也可包被於載體或輸送系統。核酸可能為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。這種核酸的設計和引入方法為本領域所熟知。例如，文獻中有其概述(Teufel等人，2005)。多核苷酸疫苗很容易製備，但這些載體誘導免疫反應的作用模式尚未完全瞭解。合適的載體和輸送系統包括病毒DNA和/或RNA，如基於腺病毒、牛痘病毒、逆轉錄病毒、疱疹病毒、腺相關病毒或含一種以上病毒元素的混合病毒的系統。非病毒輸送系統包括陽離子脂質體和陽離子聚合物，是DNA輸送所屬領域內熟知的系統。也可使用物理輸送系統，如透過「基因槍」。胜肽或核酸編碼的胜肽可以是一種融合蛋白質，例如，含刺激T細胞進行上述CDR的表位。

【0292】 本發明的藥劑也可能包括一種或多種佐劑。佐劑是那些非特異性地增強或加強免疫反應的物質(例如，透過CD8-陽性T細胞和輔助T(TH)細胞介導的對一種抗原的免疫反應，因此被視為對本發明的藥劑有用。適合的佐劑包括(但不僅限於)1018ISS、鋁鹽、AMPLIVAX®、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、鞭毛蛋白質或鞭毛蛋白質衍生的TLR5配體、FLT3配體、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特(ALDARA®)、resiquimod、ImuFact IMP321、如IL-2、IL-13、IL-21的白細胞介素、干擾素 α 或 β ，或其聚乙二醇衍生物、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、

ISCOMs、JuvImmune®、LipoVac、MALP2、MF59、單磷醯脂A、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、水包油和油包水乳狀液、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、OspA、PepTel®載體系統、基於聚丙交酯複合乙交酯[PLG]和右旋糖苷微粒、重組人乳鐵傳遞蛋白質 SRL172、病毒顆粒和其他病毒樣顆粒、YF-17D、VEGF trap、R848、 β -葡聚醣、Pam3Cys、源自皂角苷、分支桿菌提取物和細菌細胞壁合成模擬物的Aquila公司的QS21刺激子，以及其他專有佐劑，如：Ribi's Detox、Quil或Superfos。優選佐劑如：弗氏佐劑或GM-CSF。前人對一些樹突狀細胞特異性免疫佐劑（如MF59）及其製備方法進行了描述（Allison and Krummel, 1995）。也可能使用細胞因子。一些細胞因子直接影響樹突狀細胞向淋巴組織遷移（如，TNF-），加速樹突狀細胞成熟為T淋巴細胞的有效抗原呈現細胞（如，GM-CSF、IL-1和IL-4）（美國 5849589號專利，特別以其完整引用形式併入本文），並充當免疫佐劑（如IL-12、IL-15、IL-23、IL-7、IFN- α 、IFN- β ）（Gabrilovich等人，1996）。

【0293】 據報告，CpG免疫刺激寡核苷酸可提高佐劑在疫苗中的作用。如果沒有理論的約束，CpG寡核苷酸可透過Toll樣受體（TLR），主要為TLR9，活化先天（非適應性）免疫系統從而起作用。CpG引發的TLR9活化作用提高了

對各種抗原的抗原特異性體液和細胞反應，這些抗原包括勝肽或蛋白質抗原、活病毒或被殺死的病毒、樹突狀細胞疫苗、自體細胞疫苗以及預防性和治療性疫苗中的多糖結合物。更重要的是，它會增強樹突狀細胞的成熟和分化，導致TH1細胞的活化增強以及細胞毒性T淋巴細胞(CTL)生成加強，即便在沒有CD4 T細胞輔助的情形下。甚至有疫苗佐劑的存在也能維持TLR9刺激作用誘發的TH1偏向性，這些佐劑如：正常促進TH2偏向性的明礬或弗氏不完全佐劑(IFA)。CpG寡核苷酸與以下其他佐劑或配方一起製備或聯合給藥時，顯示出更強的佐劑活性，如微粒、奈米粒子、脂肪乳或類似製劑，當抗原相對較弱時，這些對誘發強反應尤為必要。他們還能加速免疫反應，使抗原劑量減少約兩個數量級，在有些實驗中，對不含CpG的全劑量疫苗也能產生類似的抗體反應(Krieg, 2006)。美國6406705 B1號專利對CpG寡核苷酸、非核酸佐劑和抗原結合使用促使抗原特異性免疫反應進行了描述。一種CpG TLR9拮抗劑為Mologen公司(德國柏林)的dSLIM(雙幹環免疫調節劑)，這是本發明藥物組合物的優選成分。也可使用其他如TLR結合分子，如：RNA結合TLR7、TLR8和/或TLR9。

【0294】 其他有用的佐劑例子包括(但不限於)化學修飾性CpG(如CpR、Idera)、dsRNA模擬物，如，Poly(I:C)及其衍生物(如：AmpliGen®、Hiltonol®、聚-(ICLC)、聚(IC-R)、聚(I:C12U))、非CpG細菌性

DNA 或 RNA 以及免疫活性小分子和抗體，如：環磷醯胺、舒尼替單抗、貝伐單抗®、西樂葆、NCX-4016、西地那非、他達拉非、伐地那非、索拉非尼、替莫唑胺、temsirolimus、XL-999、CP-547632、帕唑帕尼、VEGF Trap、ZD2171、AZD2171、抗-CTLA4、免疫系統的其他抗體靶向性主要結構（如：抗-CD40、抗-TGF β 、抗-TNF α 受體）和 SC58175，這些藥物都可能有治療作用和/或充當佐劑。技術人員無需過度進行實驗就很容易確定本發明中有用的佐劑和添加劑的數量和濃度。

【0295】 首選佐劑是抗-CD40、咪喹莫特、瑞喹莫德、GM-CSF、環磷醯胺、舒尼替尼、貝伐單抗、干擾素 α 、CpG寡核苷酸及衍生物、聚(I:C)及衍生物、RNA、西地那非和PLG或病毒顆粒的微粒製劑。

【0296】 本發明藥物組合物的一個優選實施例中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特、瑞喹莫德和干擾素- α 。

【0297】 本發明藥物組合物的一個優選實施例中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特和瑞喹莫德。在本發明藥物組合物的一個優選實施例中，佐劑為環磷醯胺、咪喹莫特或瑞喹莫德。更優選的佐劑是 Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、

Montanide ISA 50 V、Montanide ISA-51、聚-ICLC (Hiltonol®) 和抗CD40 mAB 或其組合物。

【0298】 此組合藥物為非腸道注射使用，如皮下、皮內、肌肉注射，也可口服。為此，胜肽和其他選擇性分子在藥用載體中分解或懸浮，優選為水載體。此外，組合物可包含賦形劑，如：緩衝劑、結合劑、衝擊劑、稀釋劑、香料、潤滑劑等。這些胜肽也可與免疫刺激物質合用，如：細胞因子。可用於此類組合物的更多賦形劑可在從A. Kibbe 所著的 Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000) 等書中獲知。此組合藥物可用於阻止、預防和/或治療腺瘤或癌性疾病。例如，EP2112253 中有示例製劑。

【0299】 重要的是要認識到，透過本發明的疫苗引發的免疫反應在不同的細胞階段和發育的不同階段攻擊癌症。而且不同的癌症相關訊號通路被攻擊。這相對於其他疫苗的優勢，這些疫苗只針對一個或幾個標靶，這可能會導致腫瘤很容易適應於攻擊（腫瘤逃逸）。此外，並非所有的個體腫瘤都表現相同模式的抗原。因此，幾個腫瘤相關胜肽的組合確保了每個腫瘤都承擔至少一些標靶。該組合物以這樣的方式設計，預期每個腫瘤可表現幾種抗原並覆蓋腫瘤生長和維持所需要的幾種獨立的途徑。因此，疫苗可易於「現成的」用於較大患者群體。這意味著，預選擇接受疫苗治療的患者可限制為HLA分型，無需抗原表現的任何額外的生物標誌物評估，但仍然確保多個標靶同時被誘導

的免疫反應攻擊，這對於療效很重要(Banchereau等人，2001；Walter等人，2012)。

【0300】 本文所用的「支架」一詞是指與(如抗原)決定因子特異性結合的分子。在一項實施例中，支架是能夠引導其所連接的實體(例如，一個(第二)抗原結合部分)至目標標靶，例如，至特定類型的腫瘤細胞或承載抗原決定簇的腫瘤基質(如依據目前申請案中胜肽和MHC的複合體)。在另一項實例中，支架能夠透過其靶抗原(例如T細胞受體複合體抗原)活化訊號通路。支架包括但不限於抗體及其片段，抗體的抗原結合區，其包含抗體重鏈可變區和抗體輕鏈可變區，結合的蛋白質包括至少一個錨蛋白質重複序列基元和單域抗原結合(SDAB)分子、適體、(可溶)TCR和(經修飾的)細胞，例如同種異體或自體T細胞。為了評估某個分子是否是結合至標靶的支架，可進行結合測定。

【0301】 「特定」結合系指，與其他天然胜肽-MHC複合體相比，該支架與感興趣的胜肽-MHC複合體更好地結合，結合程度為，擁有能夠殺死承載特定靶細胞的活性分子的支架不能夠殺死無特定標靶但呈現一個或多個其他胜肽-MHC複合體的另一細胞。如果交叉反應性胜肽-MHC的胜肽並不是天然的，即，並非來自人HLA-多胜肽組，則結合至其他胜肽-MHC複合體是無關緊要的。評估靶細胞殺死的測試在本領域中是公知的。它們應該含有未改變的

胜肽 - M H C 呈現的靶細胞（原發細胞或細胞株）或載有胜肽的細胞進行，以便達到天然胜肽 - M H C 的水準。

【0302】 各支架可包括一個標記，其透過確定是否存在或不存在標籤所提供的訊號可檢測到結合支架。例如，該支架可用螢光染料或任何其他適用的細胞標記分子進行標記。此類標記分子是本領域中公知的。例如，透過螢光染料進行的螢光標記可透過螢光或雷射掃描顯微術或流式細胞術提供結合適體的視覺化。

【0303】 各支架可與第二個活性分子（例如 I L - 2 1 、 抗 C D 3 、 抗 C D 2 8 ）共軛。

【0304】 關於多胜肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在 W O 2 0 1 4 / 0 7 1 9 7 8 A 1 背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0305】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見 W O 2 0 1 4 / 1 9 1 3 5 9 及其中引用的文獻）是短的單股核酸分子，其可以折疊為所定義的三維結構並識別特定的標靶結構。它們似乎是開發靶向治療的合適替代方法。適體已顯示可選擇性與具有高親和力和特異性的複合體標靶相結合。

【0306】 識別細胞表面分子的適體在過去十年內已經確定，並為開發診斷和治療方法提供了手段。由於適體已顯示幾乎無毒性和免疫原性，因此，它們是生物醫學應用中有前景的候選物質。事實上適體，例如攝護腺特異性膜抗原識別適體，已被成功地用於靶向治療並在體內模型的異

種移植植物中顯示出功能。此外，認識到特定腫瘤細胞株的適體也已確定。

【0307】 可選擇DNA適體來揭示各種癌細胞的廣譜識別屬性，特別是那些來自於實體瘤的細胞，而非致瘤和主要健康細胞不被識別。如果所識別的適體不僅識別腫瘤特異性子類型，而且與一系列腫瘤相互作用，這使適體適用于作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0308】 此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在奈莫耳範圍內顯示出很好的親和力。

【0309】 適體用於診斷和治療目的。此外，也可能顯示，一些適體被腫瘤細胞吸取，因而可作為抗癌劑靶向遞送的分子媒介物，例如siRNA進入腫瘤細胞。

【0310】 可選擇適體針對複合體的標靶，如細胞和組織以及包含、優選包括依據任何SEQ ID NO 1至SEQ ID NO 67的一個序列、依據當前發明的胜肽複合體與MHC分子，使用細胞SELEX（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0311】 本發明中的胜肽可用于生成和開發出針對MHC/胜肽複合物的特定抗體。這些抗體可用於治療，將毒素或放射性物質靶向病變組織。這些抗體的另一用途是為了成像之目的（如PET）將放射性核素靶向病變組織。這可有助於檢測小轉移灶或確定病變組織的大小和準確位置。

【0312】 因此，本發明的另一態樣是提出產生特異性結合至與HLA限制性抗原錯合的I或II類人主要組織相容性複合體(MHC)的一種重組抗體的方法，該方法包括：用可溶

形式的與HLA限制性抗原錯合的(MHC)I或II類分子對包含表現所述主要組織相容性說複合體(MHC)I或II類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；將mRNA分子與產生所述非人哺乳動物細胞的抗體分離；產生一個噬菌體顯示庫，顯示由所述mRNA分子編碼的蛋白質分子；以及將至少一個噬菌體與所述噬菌體顯示庫分離，所述的至少一個噬菌體顯示所述抗體特異性地結合至與HLA限制性抗原錯合的所述人主要組織相容性說複合體(MHC)I或II類。

【0313】 本發明的另一態樣提出一種抗體，其特異性結合至與一種HLA限制性抗原錯合的I或II類人主要組織相容性說複合體(MHC)，其中該抗體優選為多克隆抗體、單克隆抗體、雙特異性抗體和/或嵌合抗體。

【0314】 產生這種抗體和單鏈I類主要組織相容性複合物的相應方法，以及產生這些抗體的其他工具在WO 03/068201、WO 2004/084798、WO 01/72768、WO 03/070752以及出版物(Cohen等人，2003a；Cohen等人，2003b；Denkberg等人，2003)中進行了披露，為了本發明之目的，所有參考文獻透過引用被完整地併入本文。

【0315】 優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20奈莫耳，優選為低於10奈莫耳，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0316】 本發明涉及一種胜肽，包含選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67所組成的群組的序列或該序列的與

SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67具有88%同源性（優選為相同）的變體，或誘導與所述胜肽發生T細胞交叉反應的變體，其中所述胜肽不是基本的全長多胜肽。

【0317】 本發明進一步涉及一種胜肽，包含選自由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67所組成的群組的序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67具有至少88%同源性（優選為相同）的變體，其中所述胜肽或變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個胺基酸。

【0318】 本發明進一步涉及本發明的胜肽，其具有與主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合的能力。

【0319】 本發明進一步涉及本發明中的胜肽，其中胜肽是由或基本由依據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67的胺基酸序列組成。

【0320】 本發明進一步涉及本發明的胜肽，其中該胜肽（在化學上）被修飾和/或包含非胜肽鍵。

【0321】 本發明進一步涉及本發明的胜肽，其中該胜肽為融合蛋白質的一部分，特別包括HLA-DR抗原相關不變鏈（Ii）的N-端胺基酸，或其中該胜肽與抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）融合。

【0322】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明所述胜肽，前提是該胜肽並非完整（完全）的人蛋白質。

【0323】 本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物。

【0324】 本發明進一步涉及一種能表現本發明核酸的表現載體。

【0325】 本發明進一步涉及醫藥用的本發明的一種胜肽、本發明的一種核酸或本發明的一種表現載體，特別是用於治療胰臟癌。

【0326】 本發明進一步涉及含本發明核酸或本發明表現載體的一種宿主細胞。

【0327】 本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0328】 本發明進一步涉及配製本發明一種胜肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離胜肽。

【0329】 本發明進一步涉及本發明中的方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原呈現細胞的抗原結合，被載入表現於合適抗原呈現細胞表面的I或II類MHC分子。

【0330】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原呈現細胞包括一個表現載體，該載體有能力表現含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67的胜肽或所述變體胺基酸序列。

【0331】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞異常表現包含本發明胺基酸序列的多胜肽。

【0332】 本發明進一步涉及一種殺死患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表現含本發明任何胺基酸序列的多胜肽，該方法包括給予患者本發明的有效量T細胞。

【0333】 本發明進一步涉及任何所述胜肽、本發明的核酸、本發明的表現載體、本發明的細胞、本發明的活化細胞毒性 T 淋巴細胞作為藥劑或製造藥劑的用途。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可具有抗癌活性。

【0334】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中該藥劑為一種疫苗。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑具有抗癌活性。

【0335】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中所述癌細胞為胰臟癌細胞或其他實體或血液學腫瘤細胞，例如，胰臟癌、腦癌、腎癌、結腸癌或直腸癌、白血病。

【0336】 本發明進一步涉及一種基於本發明胜肽的特定標誌物蛋白質和生物標誌物，在此成為「標靶」，其可用於診斷和 / 或判斷胰臟癌的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新標靶的用途。

【0337】 本文中術語「抗體」為廣義上的定義，既包括多克隆也包括單克隆抗體。除了完整或「全部」的免疫球蛋白分子，「抗體」這一術語還包括這些免疫球蛋白分子和人源化免疫球蛋白分子的片段（如，C D R、F v、F a b 和 F c 片段）或聚合物，只要它們顯示出本發明的任何期望屬性（例如，胰臟癌標誌物（多）胜肽的特異性結合、將毒素傳遞給胰臟癌細胞標誌物基因表現水準增加時的胰臟癌細胞和 / 或抑制胰臟癌標誌物多胜肽的活性）。

【0338】 只要有可能，本發明的抗體可從商業來源購買。本發明的抗體也可能使用已知的方法製得。技術人員會瞭

解全長胰臟癌標誌物多胜肽或其片段可用于製備本發明的抗體。用於產生本發明抗體的多胜肽可部分或全部地由天然源經純化而得，也可利用重組DNA技術生產。

【0339】 例如，本發明的編碼胜肽的cDNA，例如，該胜肽為依據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67多胜肽的胜肽，或其變體或片段，可在原核細胞中（如：細菌）或真核細胞（如：酵母、昆蟲或哺乳動物細胞）中表現，之後，可純化重組蛋白質，並用於產生一種特異性結合用於產生本發明抗體的胰臟癌標誌物多胜肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0340】 本領域的技術人員會認識到，兩種或兩種以上不同集合的單克隆抗體或多克隆抗體能最大限度地增加獲得一種含預期用途所需的特異性和親和力（例如，ELISA法、免疫組織化學、體內成像、免疫毒素療法）的抗體的可能性。依據抗體的用途，用已知的方法對其期望活性進行測試（例如，ELISA法、免疫組織化學、免疫治療等；要獲取產生和測試抗體的進一步指導，請參閱，例如，Greenfield, 2014（Greenfield, 2014）。例如，該抗體可用ELISA法或免疫印跡法、免疫組織化學染色福馬林固定的癌組織或冰凍的組織切片進行檢測。在初次體外表徵後，用於治療或體內診斷用途的抗體依據已知的臨床測試方法進行檢測。

【0341】 此處使用的術語「單克隆抗體」系指從大量同質抗體中獲得的一種抗體，即，由相同的抗體組成的抗體群，

但可能少量呈現的自然突變除外。此處所述的單克隆抗體具體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈和/或輕鏈與從特定物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和分類型抗體的相應序列相同（同質），同時，剩餘鏈與從其他物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和子類型抗體的相應序列以及這些抗體的片段相同（同質），只要他們顯示出預期的拮抗活性（美國 4 8 1 6 5 6 7 號專利，其在此以其整體併入）。

【0342】 本發明的單克隆抗體可能使用融合瘤方法製得。在融合瘤方法中，老鼠或其他適當的宿主動物，通常用免疫製劑以引發產生或能產生將特異性結合至免疫製劑的抗體。或者，淋巴細胞可在體外進行免疫。

【0343】 單克隆抗體也可由 DNA 重組方法製得，如：美國 4 8 1 6 5 6 7 號專利所述。編碼本發明單克隆抗體的 DNA 可很容易地使用傳統程序進行分離和測序（例如：透過使用能與編碼鼠抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針）。

【0344】 體外方法也適用於製備單價抗體。抗體消化以產生抗體的片段，尤其是 Fab 片段，可以透過使用本領域已知的常規技術完成。例如，可以透過使用木瓜蛋白酶完成消化。木瓜蛋白酶消化的實例在 WO 9 4 / 2 9 3 4 8 和美國 4 3 4 2 5 6 6 號專利中有描述。抗體的木瓜蛋白酶消化通常產生兩種相同的抗原結合性片段，稱為 Fab 片段（每個片段都有一個抗原結合點）和殘餘 Fc 片段。胃蛋白酶處理產生 F (a b ') 2 片段和 p F c ' 片段。

【0345】 抗體片段，不論其是否附著於其他序列，均可包括特定區域或特定胺基酸殘基的插入、刪除、替換、或其他選擇性修飾，但前提是，片段的活性與非修飾的抗體或抗體片段相比沒有顯著的改變或損害。這些修飾可提供一些額外的屬性，如：刪除/添加可與二硫鍵結合的胺基酸，以增加其生物壽命、改變其分泌特性等。在任何情況下，抗體片段必須擁有生物活性的特性，如：結合活性、調節結合域的結合力等。抗體的功能性或活性區域可透過蛋白質特定區域的基因突變、隨後表現和測試所表現的多胜肽進行確定。這些方法為本行業技術人員所熟知，可包括編碼抗體片段的核酸的特定位點基因突變。

【0346】 本發明的抗體可進一步包括人源化抗體或人抗體。非人（如：鼠）抗體的人源化形式為嵌合抗體免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（如：Fv、Fab、Fab'或抗體的其他抗原結合序列），其中包含從非人免疫球蛋白中獲得的最小序列。人源化抗體包括人免疫球蛋白（受體抗體），其中來自受體互補決定區（CDR）的殘基被來自非人物種（供體抗體）（如具有與其特異性、親和力和能力的小鼠、大鼠或兔子）CDR的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的Fv框架（FR）殘基被相應的非人殘基取代。人源化抗體可能還包括既非受體抗體、也非輸入CDR或框架序列中發現的殘基。一般來說，人源化抗體將包括幾乎所有的至少一個、通常為二個可變域，其中，全部或幾乎全部的CDR區域均對應於非人免疫球蛋白的區域並且

全部或幾乎全部的FR區域均為人免疫球蛋白相同序列的區域。理想情況是，人源化抗體還將包括至少免疫球蛋白恒定區(Fc)的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0347】 人源化非人抗體的方法為本行業所熟知。一般來說，人源化抗體具有一個或多個從非人源頭引入的胺基酸殘基。這些非人胺基酸殘基往往被稱為「輸入」殘基，通常從「輸入」可變域中獲得。人源化基本上可以透過將齧齒動物CDR或CDR序列取代為相應的人抗體序列而完成。因此，這種「人源化」抗體為嵌合抗體（美國4816567號專利），其中大大少於完整的人可變域被來自於非人物種的相應序列取代。在實踐中，人源化抗體通常為人抗體，其中有些CDR殘基以及可能的一些FR殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0348】 可使用免疫後在內源性免疫球蛋白產生缺失時能產生完整人抗體的轉基因動物（如：小鼠）。例如，它被描述為，嵌合和種系突變小鼠中的抗體重鏈連接區域基因的純合性缺失導致內源性抗體生成的完全抑制。在此種系變種小鼠中人種系免疫球蛋白基因陣列的轉移在抗原挑戰後將導致人抗體的生成。人抗體也可在噬菌體展示庫中產生。

【0349】 本發明的抗體優選為透過藥用載體的形式給予受試者。通常，在製劑中使用適量的藥用鹽，以使製劑等張。藥用載體的例子包括生理鹽水、林格氏液和葡萄糖溶液。

溶液的 pH 值優選為約 5 至 8，更優選為約 7 至 7.5。此外，載體還包括緩釋製劑，如：含有抗體的固體疏水性聚合物半透性基質，其中基質為有形物品形式，如：薄膜、脂質體或微粒。本行業的技術人員熟知，某些載體可能為更優選，取決於例如，抗體的給藥途徑和濃度。

【0350】 該抗體可透過注射（如：靜脈內、腹腔內、皮下、肌肉內）或透過輸注等其他方法給予受試者、患者或細胞，確保其以有效的形式傳輸到血液中。這些抗體也可以透過瘤內或瘤周途徑給予，從而發揮局部和全身的治療作用。局部或靜脈注射為優選。

【0351】 抗體給藥的有效劑量和時間表可依據經驗確定，並且作出此類決定屬本行業的技術範圍內。本行業的技術人員會明白，必須給予的抗體劑量依據以下因素會有所不同，例如：接受抗體的受試者、給藥途徑、使用的抗體以及其他正在使用的藥物的特定類型。單獨使用的抗體的通常日劑量可能為約 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至最多 100 mg/kg 體重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療胰臟癌後，治療抗體的療效可透過技術人員熟知的不同方法評估。例如：接受治療的受試者癌症的大小、數量和/或分佈可使用標準腫瘤成像技術進行監測。因治療而給予的抗體與不給予抗體時的病程相比，可阻止腫瘤生長、導致腫瘤縮小、和/或阻止新腫瘤的發展，這樣的抗體是一種有效治療癌症的抗體。

【0352】 本發明的另一態樣提出了製備識別特異性胜肽-MHC複合物的可溶性T細胞受體(sTCR)的一種方法。這種可溶性T細胞受體可從特異性T細胞克隆中產生，並且它們的親和力可以透過互補決定區靶向誘變而增加。為了T細胞受體選擇之目的，可以使用噬菌體展示（美國2010/0113300，(Liddy等人，2012)）。為了在噬菌體展示期間以及實際使用為藥物時穩定T細胞受體之目的，可透過非天然二硫鍵、其他共價鍵（單鏈T細胞受體）或透過二聚化結構域連接 α 和 β 鏈(Boulter等人，2003；Card等人，2004；Willcox等人，1999)。T細胞受體可以連接到毒素、藥物、細胞因子（例如參見US2013/0115191）、結構域招募效應細胞，如抗CD3域等，以便對靶細胞執行特定的功能。此外，它可能表現於用於授受性轉移的T細胞。進一步的資訊可在WO2004/033685A1和WO2004/074322A1中找到。sTCR的組合在WO2012/056407A1中進行了描述。WO2013/057586A1中公開了製備的進一步的方法。

【0353】 此外，可用本發明的胜肽和/或TCR或抗體或其他結合分子在活體組織切片樣本的基礎上驗證病理師對癌症的診斷。

【0354】 該抗體或TCR也可用於體內診斷實驗。一般來說，抗體用放射性核素標記（如： ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^3H 、 ^{32}P 或 ^{35}S ），從而可使用免疫閃爍掃描法使腫瘤定位。在一實施例中，其中的抗體或片段與兩個或兩個以上

選自包括上述蛋白質的組的蛋白質標靶的細胞外域結合，並且親和力值 (K_d) 低於 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 。

【0355】 診斷用抗體可透過各種影像學方法使用適合檢測的探針進行標記。探針檢測方法包括但不限於，螢光、光、共聚焦和電鏡方法；磁共振成像和光譜學技術；透視、電腦斷層掃描和正電子發射斷層掃描。合適的探針包括但不限於，螢光素、羅丹明、曙紅及其它螢光團、放射性同位素、黃金、釷和其他稀土、順磁鐵、氟-18和其他正電子發射放射性核素。此外，探針可能是雙功能或多功能的，並且用一種以上的上述方法可進行檢測。這些抗體可用所述的探針直接或間接進行標記。抗體探針的連接，包括探針的共價連接、將探針融合入抗體、以及螯合化合物的共價連接從而結合探針、以及其他本行業熟知的方法。對於免疫組織化學方法，疾病組織樣本可能是新鮮或冷凍或可能包埋於石蠟中以及用福馬林等防腐劑固定。固定或包埋的切片包括與標記一抗和二抗接觸的樣本，其中該抗體用於檢測原位蛋白質的表現。

【0356】 本發明的另一態樣包括一種體外製備活化的T細胞的方法，該方法包括將T細胞與載有抗原的人MHC分子進行體外連接，這些分子在合適的抗原呈現細胞表面表現足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化T細胞，其中所述抗原為依據本發明所述的一種胜肽。優選情況是足夠量的抗原與抗原呈現細胞一同使用。

【0357】 優選情況是，哺乳動物細胞的TAP胜肽轉運載體缺乏或水準下降或功能降低。缺乏TAP胜肽轉運載體的適合細胞包括T2、RMA-S和果蠅細胞。TAP是與抗原加工相關的轉運載體。

【0358】 人體胜肽載入的缺陷細胞株T2購自美國菌種保存中心(ATCC, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, 美國)目錄號CRL 1992；果蠅細胞株Schneider 2號株從屬ATCC目錄CRL 19863；小鼠RMA-S細胞株Ljunggren等人描述過(Ljunggren and Karre, 1985)。

【0359】 優選情況是，宿主細胞在轉染前基本上不表現MHC I類分子。刺激因子細胞還優選為表現對T細胞共刺激訊號起到重要作用的分子，如，B7.1、B7.2、ICAM-1和LFA 3中的任一種分子。大量MHC I類分子和共刺激分子的核酸序列可從GenBank和EMBL資料庫中公開獲得。

【0360】 當MHC I類表位用作一種抗原時，T細胞為CD8陽性T細胞。

【0361】 如果抗原呈現細胞受到轉染而表現這種表位，則優選的細胞包括一個表現載體，該載體有能力表現含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:67的胜肽或變體胺基酸序列。

【0362】 可使用其他一些方法來體外生成T細胞。例如，自體腫瘤浸潤性淋巴細胞可用于生成CTL。Plebanski等人(Plebanski等人, 1995)使用自體外周血淋巴細胞(PLB)製得T細胞。另外，也可能用胜肽或多胜肽脈衝處

理樹突狀細胞或透過與重組病毒感染而製成自體 T 細胞。此外，B 細胞可用於製備自體 T 細胞。此外，用胜肽或多胜肽脈衝處理或用重組病毒感染的巨噬細胞可用於配製自體 T 細胞。S. Walter 等人 (Walter 等人, 2003) 描述了透過使用人工抗原呈現細胞 (aAPC) 體外啟動 T 細胞，這也是生成作用於所選胜肽的 T 細胞的一種合適方法。在本發明中，依據生物素：鏈黴素生物化學方法透過將預製的 MHC：胜肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成 aAPC。該系統實現了對 aAPC 上的 MHC 密度進行精確調節，這使得可以在血液樣本中選擇地引發高或低親合力的高效抗原特異性 T 細胞反應。除了 MHC：胜肽複合物外，aAPC 還應攜運含共刺激活性的其他蛋白質，如耦合至表面的抗-CD28 抗體。此外，此類基於 aAPC 的系統往往需要加入適當的可溶性因子，例如，諸如白細胞介素-12 的細胞因子。

【0363】 也可用同種異體細胞製得 T 細胞，在 WO 97/26328 中詳細描述了一種方法，以參考文獻方式併入本文。例如，除了果蠅細胞和 T2 細胞，也可用其他細胞來呈現胜肽，如 CHO 細胞、杆狀病毒感染的昆蟲細胞、細菌、酵母、牛痘感染的靶細胞。此外，也可使用植物病毒（例如，參閱 Porta 等人在 (Porta 等人, 1994) 中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種呈現外來胜肽的高產系統。

【0364】 活化 T 細胞直接針對本發明中的胜肽，有助於治療。因此，本發明的另一態樣提出了用本發明前述方法製得的活化 T 細胞。

【0365】 按上述方法製成的活化T細胞將會有選擇性地識別異常表現含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO 67胺基酸序列的多胜肽。

【0366】 優選情況是，T細胞透過與其HLA/胜肽複合物的TCR相互作用（如，結合）而識別該細胞。T細胞是殺死患者靶細胞方法中有用的細胞，其靶細胞異常表現含本發明中胺基酸序列的多胜肽。此類患者給予有效量的活化T細胞。給予患者的T細胞可能源自該患者，並按上述方法活化（即，它們為自體T細胞）。或者，T細胞不是源自該患者，而是來自另一個人。當然，優選情況是該供體為健康人。發明人使用「健康個人」系指一個人一般狀況良好，優選為免疫系統合格，更優選為無任何可很容易測試或檢測到的疾病。

【0367】 依據本發明，CD8-陽性T細胞的體內靶細胞可為腫瘤細胞（有時表現MHC-II類抗原）和/或腫瘤周圍的基質細胞（腫瘤細胞）（有時也表現MHC-II類抗原；（Dengjel等人，2006））。

【0368】 本發明所述的T細胞可用作治療性組合物中的活性成分。因此，本發明也提出了一種殺死患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表現含本發明中胺基酸序列的多胜肽，該方法包括給予患者上述有效量的T細胞。

【0369】 發明人所用的「異常表現」的意思還包括，與正常表現水準相比，多胜肽過度表現，或該基因在源自腫瘤的組織中未表現，但是在該腫瘤中卻表現。「過度表現」

系指多胜肽水準至少為正常組織中的1.2倍；優選為至少為正常組織中的2倍，更優選為至少5或10倍。

【0370】 T細胞可用本領域已知的方法製得，例如上述方法。

【0371】 此種被稱為T細胞授受性轉移的規程(protocol)為本領域所熟知的規程。綜述可見於：Gattioni等人和Morgan等人(Gattinoni等人，2006；Morgan等人，2006)。

【0372】 本發明的另一個態樣包括使用與MHC複合的胜肽，以生成T細胞受體，其核酸被克隆並被引入至宿主細胞，優選為T細胞。然後，該透過基因工程改變的T細胞可轉給患者用於癌症治療。

【0373】 本發明的任一分子（即胜肽、核酸、抗體、表現載體、細胞，活化T細胞、T細胞受體或編碼核酸）都有益於治療疾病，這些疾病的特點在於細胞逃避免疫反應。因此，本發明的任一分子都可用作藥劑或用於製造藥劑。這種分子可單獨使用也可與本發明中的其他分子或已知分子聯合使用。

【0374】 本發明進一步提出了一種藥劑，其用於治療癌症，特別是胰臟癌和其他惡性腫瘤。

【0375】 本發明還涉及一種套件，其包括：

- (a) 一個容器，包含上述溶液或凍乾粉形式的藥物組合物；
- (b) 可選的第二個容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋或重組溶液；和

(c) 可選的 (i) 溶液使用或 (ii) 重組和 / 或凍乾粉劑型使用的說明。

【0376】 該套件還進一步包括一個或多個 (iii) 緩衝劑，(iv) 稀釋劑，(v) 過濾液，(vi) 針或 (v) 注射器。容器最好是瓶子、小瓶、注射器或試管，可以為多用途容器。藥物組合物最好是凍乾的。

【0377】 本發明中的套件優選包含一種置於合適容器中的凍乾粉劑型以及重組和 / 或使用說明。適當的容器包括，例如瓶子、西林瓶 (如雙室瓶)、注射 (如雙室注射器) 和試管。該容器可能由多種材料製成，如玻璃或塑膠。套件和 / 或容器最好有容器或關於容器的說明書，指明重組和 / 或使用的指示。例如，標籤可能表明凍乾劑型將重組為上述胜肽濃度。該標籤可進一步表明製劑用於皮下注射。

【0378】 存放製劑的容器可使用多用途西林瓶，使得可重複給予 (例如，2 - 6 次) 重組劑型。該套件可進一步包括裝有合適稀釋劑 (如碳酸氫鈉溶液) 的第二個容器。

【0379】 稀釋液和凍乾粉劑型混合後，重組製劑中的胜肽終濃度優選為至少 0.15 mg/mL / 胜肽 ($= 75 \mu\text{g}$)，不超過 3 mg/mL / 胜肽 ($= 1500 \mu\text{g}$)。該套件還可包括商業和用戶角度來說可取的其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾液、針頭、注射器和帶有使用說明書的包裝插頁。

【0380】 本發明中的套件可能有一個單獨的容器，其中包含本發明所述的藥物組合物製劑，該製劑可有其他成分 (例

如，其他化合物或及其藥物組合物），也可無其他成分，或者每種成分都有其不同容器。

【0381】 優選情況是，本發明的套件包括與本發明的一種製劑，包裝後與第二種化合物（如佐劑（例如 GM-CSF）、化療藥物、天然產品、激素或拮抗劑、抗血管生成劑或抑制物、凋亡誘導劑或螯合劑）或其藥物組合物聯合使用。該套件的成分可進行預錯合或每種成分在給予患者之前可放置於單獨的不同容器。該套件的成分可以是一種或多種溶液，優選為水溶液，更優選為無菌水溶液。該套件的成分也可為固體形式，加入合適的溶劑後轉換為液體，最好放置於另一個不同的容器中。

【0382】 治療套件的容器可能為西林瓶、試管、燒瓶、瓶子、注射器、或任何其他盛裝固體或液體的工具。通常，當成分不只一種時，套件將包含第二個西林瓶或其他容器，使之可以單獨定量。該套件還可能包含另一個裝載藥用液體的容器。優選情況是，治療套件將包含一個設備（如，一個或多個針頭、注射器、滴眼器、吸液管等），使得可注射本發明的藥物（本套件的組合物）。

【0383】 本發明的藥物配方適合以任何可接受的途徑進行肽給藥，如口服（腸道）、鼻內、眼內、皮下、皮內、肌內、靜脈或經皮給藥。優選為皮下給藥，最優選為皮內給藥，也可透過輸液泵給藥。

【0384】 由於本發明的肽從胰臟癌中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療胰臟癌。

【0385】 本發明進一步涉及為個體患者製備個體化藥物的一種方法，其中包括：製造含選自預篩選TUMAP存儲庫至少一種胜肽的藥物組合物，其中藥物組合物中所用的至少一種胜肽選擇為適合於個體患者。在一項實施例中，藥物組合物為一種疫苗。該方法也可以改動以產生下游應用的T細胞克隆物，如：TCR隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0386】 「個體化藥物」系指專門針對個體患者的治療，將僅用於該等個體患者，包括個體化活性癌症疫苗以及使用自體組織的過繼細胞療法。

【0387】 如本文所述，「存儲庫」應指已經接受免疫原性預篩查和/或在特定腫瘤類型中過量呈現的一組或一系列胜肽。「存儲庫」一詞並不暗示，疫苗中包括的特定胜肽已預先製造並儲存於物理設備中，雖然預期有這種可能性。明確預期所述胜肽可以用於新製造每種個體化疫苗，也可能被預先製造和儲存。存儲庫（例如，資料庫形式）由腫瘤相關胜肽組成，其在各種HLA-A、HLA-B和HLA-C等位元基因胰臟癌患者的腫瘤組織中高度過度表現。其可能含有包括MHC I類和MHC II類胜肽或拉長的MHC I類胜肽。除了從幾種胰臟癌組織中採集的腫瘤相關胜肽外，存儲庫還可能包含HLA-A*02和HLA-A*24標記胜肽。這些胜肽可對TUMAP誘導的T細胞免疫進行量化比較，從而可得出疫苗抗腫瘤反應能力的重要結論。其次，在沒有觀察到來自患者「自身」抗原TUMAP的任何疫苗

誘導的 T 細胞反應時，它們可作為來自「非自身」抗原的重要陽性對照胜肽。第三，它還可對患者的免疫功能狀態得出結論。

【0388】 存儲庫的 T U M A P 透過使用一種功能基因組學方法進行鑒定，該方法結合了基因表現分析、質譜法和 T 細胞免疫學 (X P r e s i d e n t ®)。該方法確保了只選擇真實存在于高百分比腫瘤但在正常組織中不表現或僅很少量表現的 T U M A P 用於進一步分析。對於初始胜肽的選擇，患者的胰臟癌樣本和健康供體的血液以循序漸進的方法進行分析：

1. 惡性材料的 H L A 配體用質譜法確定
2. 使用全基因組傳訊核糖核酸 (m R N A) 表現分析法，用於確定惡性腫瘤組織（胰臟癌）與一系列正常器官和組織相比過度表現的基因。
3. 確定的 H L A 配體與基因表現資料進行比較。腫瘤組織上過度呈現或選擇性呈現的胜肽，優選為考慮第 2 步中檢測到的選擇性表現或過度表現基因所編碼的胜肽為多胜肽疫苗的合適候選 T U M A P。
4. 文獻檢索以確定更多證據以支持確認為 T U M P 的胜肽的相關性
5. 過度表現在 m R N A 水準的相關性由腫瘤組織第 3 步選定的 T U M A P 重新檢測而確定，並且在健康組織上缺乏（或不經常）檢測。

6. 為了評估透過選定的胜肽誘導體內T細胞反應是否可行，使用健康供體以及胰臟癌患者的人類T細胞進行體外免疫原性測定。

【0389】 在一態樣中，在將所述胜肽加入存儲庫之前，對其進行篩查以瞭解免疫原性。舉例來說（但不限於此），納入存儲庫的胜肽的免疫原性的確定方法包括體外T細胞啟動，具體為：用裝載胜肽/MHC複合物和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞反復刺激來自健康供體的CD8+T細胞。

【0390】 這種方法優選用於罕見癌症以及有罕見表現譜的患者。與含目前開發為固定組分的多胜肽雞尾酒相反的是，存儲庫可將腫瘤中抗原的實際表現於疫苗進行更高程度的匹配。在多目標方法中，每名患者將使用幾種「現成」胜肽的選定單一胜肽或組合。理論上來說，基於從50抗原胜肽庫中選擇例如5種不同抗原胜肽的一種方法可提供大約170萬種可能的藥物產品(DP)組分。

【0391】 在一態樣中，選擇所述胜肽用於疫苗，其基於個體患者的適合性，並使用本發明此處或後文所述的方法。

【0392】 HLA表型、轉錄和胜肽組學資料從患者的腫瘤材料和血液樣本中收集，以確定最合適每名患者且含有「存儲庫」和患者獨特（即突變）TUMAP的胜肽。將選擇的那些胜肽選擇性地或過度表現于患者腫瘤中，並且可能的情況下，如果用患者個體PBMC進行檢測，則顯示出很強的體外免疫原性。

【0393】 優選的情況是，疫苗所包括的胜肽的一種確定方法包括：(a) 識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關胜肽(TUMAP)；(b) 將(a)中鑒定的胜肽與上述胜肽的存儲庫(資料庫)進行比對；且(c)從與患者中確定的腫瘤相關胜肽相關的存儲庫(資料庫)中選擇至少一種胜肽。例如，腫瘤樣本呈現的TUMAP的鑒定方法有：(a1)將來自腫瘤樣本的表現資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表現資料相比對，以識別腫瘤組織中過度表現或異常表現的蛋白質；以及(a2)將表現資料與結合到腫瘤樣本中I類MHC和/或II類分子的MHC配體序列相關聯，以確定來源於腫瘤過度表現或異常表現的蛋白質的MHC配體。優選情況是，MHC配體的序列的確定方法是：洗脫來自腫瘤樣本分離的MHC分子結合胜肽，並測序洗脫配體。優選情況是，腫瘤樣本和正常組織從同一患者獲得。

【0394】 除了使用存儲庫(資料庫)模型選擇胜肽以外，或作為一種替代方法，TUMAP可能在新患者中進行鑒定，然後列入疫苗中。作為一種實例，患者中的候選TUMAP可透過以下方法進行鑒定：(a1)將來自腫瘤樣本的表現資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表現資料相比對，以識別腫瘤組織中過度表現或異常表現的蛋白質；以及(a2)將表現資料與結合到腫瘤樣本中I類MHC和/或II類分子的MHC配體序列相關聯，以確定來源於腫瘤過度表現或異常表現的蛋白質的MHC配體。作

為另一實例，蛋白質的鑒定方法為可包含突變，其對於腫瘤樣本相對於個體患者的相應正常組織是獨特的，並且 TUMAP 可透過特異性靶向作用於變異來鑒定。例如，腫瘤以及相應正常組織的基因組可透過全基因組測序方法進行測序：為了發現基因蛋白質編碼區域的非同義突變，從腫瘤組織中萃取基因組 DNA 和 RNA，從外周血單核細胞 (PBMC) 中提取正常非突變基因組種系 DNA。運用的 NGS 方法只限于蛋白質編碼區的重測序（外顯子組重測序）。為了這一目的，使用供應商提供的靶序列富集套件來捕獲來自人樣本的外顯子 DNA，隨後使用 HiSeq 2000（Illumina 公司）進行測序。此外，對腫瘤的 mRNA 進行測序，以直接定量基因表現，並確認突變基因在患者腫瘤中表現。得到的數以百萬計的序列讀數透過軟體演算法處理。輸出列表中包含突變和基因表現。腫瘤特異性體突變透過與 PBMC 衍生的種系變化比較來確定，並進行優化。然後，為了存儲庫可能測試新確定的胜肽瞭解如上所述的免疫原性，並且選擇具有合適免疫原性的候選 TUMAP 用於疫苗。

【0395】 在一個示範實施例中，疫苗中所含胜肽透過以下方法確定：(a) 用上述方法識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關胜肽 (TUMAP)；(b) 將 (a) 中鑒定的胜肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量呈現預篩查胜肽的存儲庫進行比對；(c) 從與患者中確定的腫瘤

相關胜肽相關的存儲庫中選擇至少一種胜肽；及(d)可選地在(a)中選擇至少一種新確定的胜肽，確認其免疫原性。

【0396】 在一個示範實施例中，疫苗中所含胜肽透過以下方法確定：(a)識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關胜肽(TUMAP)；以及(b)在(a)中選擇至少一種新確定的胜肽，並確認其免疫原性。

【0397】 一旦選定了用於個體化胜肽疫苗的胜肽時，則產生疫苗。該疫苗優選為一種液體製劑，包括溶解於20-40% DMSO之間，優選為約30-35% DMSO，例如，約33% DMSO中的個體胜肽。

【0398】 列入產品的每種胜肽都溶於DMSO中。單個胜肽溶液濃度的選擇取決於要列入產品中的胜肽的數量。單胜肽-DMSO溶液均等混合，以實現一種溶液中包含所有的胜肽，且濃度為每胜肽 $\sim 2.5 \text{ mg/ml}$ 。然後該混合溶液按照1:3比例用注射用水進行稀釋，以達到在33% DMSO中每胜肽 0.826 mg/ml 的濃度。稀釋的溶液透過 $0.22 \mu\text{m}$ 無菌篩檢程序進行過濾。從而獲得最終本體溶液。

【0399】 最終本體溶液填充到小瓶中，在使用前儲存於 -20°C 下。一個小瓶包含 $700 \mu\text{L}$ 溶液，其中每種胜肽含有 0.578 mg 。其中的 $500 \mu\text{L}$ （每種胜肽約 $400 \mu\text{g}$ ）將用於皮內注射。

【0400】 本發明的胜肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於胜肽由胰臟癌細胞產生，並且已確定這些胜肽在

正常組織中不存在或水準較低，因此這些胜肽可用於診斷癌症是否存在。

【0401】 血液樣本中組織的活體組織切片物含所請的胜肽，可有助於病理師診斷癌症。用抗體、質譜或其他本領域內已知的方法檢測某些胜肽可使病理師判斷該組織樣本為惡性的還是炎症或一般病變，也可用作胰臟癌的生物標誌物。多組胜肽的呈現使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0402】 對病變標本中胜肽的檢測使得能對免疫系統治療方法的利益進行判斷，特別是如果T-淋巴細胞已知或預計與作用機制有關。MHC表現的缺失是一種機制，充分說明了哪些受感染的惡性細胞逃避了免疫監視。因此，胜肽的呈現表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0403】 本發明的胜肽可用於分析淋巴細胞對胜肽的反應（如T細胞反應），或抗體對胜肽或MHC分子錯合的胜肽發生的反應。這些淋巴細胞反應可以作為預後指標，決定是否採取進一步的治療。這些反應也可以用作免疫療法中的替代反應指標，旨在以不同方式誘導淋巴細胞反應，如接種蛋白質疫苗、核酸、自體材料、淋巴細胞授受性轉移。基因治療中，淋巴細胞對胜肽發生的反應可以在副作用的評估中考慮。淋巴細胞反應監測也可能成為移植療法隨訪檢查中的一種有價值的工具，如，用於檢測移植物抗宿主和宿主抗移植物疾病。

【圖式簡單說明】

【0404】 下列描述優選實施例的實例將對本發明進行說明，並參照隨附圖表（但是不僅限於此）。考慮到本發明的目的，文中引用的所有參考文獻透過引用的方式併入在本文中。

【0405】 圖 1 A 至 1 C 顯示了正常組織（暗灰色）和胰臟癌（淺灰色）中各種胜肽的過量呈現。圖 1 D 顯示了所有的細胞株（深灰色）、正常組織（灰色）和癌症組織（淺灰色），其中檢測出了典型胜肽 (FLFDGSANLV) (SEQ ID NO.: 9)。圖 1 A) 基因：CTLA/CTLB，胜肽：FLAQQESEI (A*02)，(SEQ ID NO.: 1)；從左至右的組織：1 脂肪組織，3 腎上腺，2 動脈，3 骨髓，7 大腦，3 乳房，13 結腸，1 卵巢，4 食管，2 膽囊，3 心臟，12 腎臟，4 白細胞樣本，19 肝，43 肺，1 淋巴結，1 卵巢，2 末梢神經，1 腹膜，1 腦垂體，3 胸膜，1 攝護腺，6 直肌，3 骨骼肌，3 皮膚，2 小腸，4 脾，5 胃，1 睪丸，2 胸腺，3 甲狀腺，2 子宮，2 靜脈，6 胰臟，18 胰臟癌；圖 1 B) 基因：PLEC，胜肽：SLQEEHVAVA (A*02)，(SEQ ID NO.: 2)；從左至右的組織：1 脂肪組織，3 腎上腺，2 動脈，3 骨髓，7 大腦，3 乳房，13 結腸，1 卵巢，4 食管，2 膽囊，3 心，12 腎臟，4 白細胞樣本，19 肝，43 肺，1 淋巴結，1 卵巢，2 末梢神經，1 腹膜，1 腦垂體，3 胸膜，1 攝護腺，6 直肌，3 骨骼肌，3 皮膚，2 小腸，4 脾，5 胃，1 睪丸，2 胸腺，3 甲狀腺，2 子宮，2 靜脈，6 胰臟，18 胰臟癌；圖 1 C) 基因：

COL6A3，胜肽：FLVDGSSAL (A*02)，(SEQ ID NO.:10)；從左至右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，2動脈，3骨髓，7大腦，3乳房，13結腸，1卵巢，4食管，2膽囊，3心，12腎臟，4白細胞樣本，19肝，43肺，1淋巴結，1卵巢，2末梢神經，1腹膜，1腦垂體，3胸膜，1攝護腺，6直肌，3骨骼肌，3皮膚，2小腸，4脾，5胃，1睪丸，2胸腺，3甲狀腺，2子宮，2靜脈，6胰臟，18胰臟癌；圖1D) COL6A3，胜肽：FLFDGSANLV (A*02)，(SEQ ID NO.:9)；從左至右的組織：5胰臟癌細胞株，7正常組織（1結腸，6肺），85癌組織（2乳癌，6結腸癌，4食管癌，3肝癌，56肺癌，5胰臟癌，3直腸癌，1黑色素瘤，5胃癌）。該組正常組織與A-C相同，但沒有檢測的組織未顯示出。圖1D和表4之間的腫瘤類型相關的差異可能是由於表4採用更嚴格的選擇標準所致（詳情請參照表4）。圖1D顯示了可檢測呈現胜肽Y的所有樣本，無論過度呈現參數和技術樣本品質檢查如何。

【0406】 圖1E至1I顯示了所有的細胞株（深灰色）、正常組織（灰色）和癌症組織（淺灰色），其中檢測出了典型胜肽。圖1E) 胜肽：SVDVSPPKV (A*02)，(SEQ ID NO.:4)；從左至右的組織：1細胞株，3原代培養物，1皮膚，1膽管癌，3腦癌，1乳癌，4食管癌，5腎癌，11肺癌，1淋巴結癌，1卵巢癌，3胰臟癌，1攝護腺癌，3皮膚癌，2膀胱癌，3子宮癌；圖1F) 胜肽：LLVDDSF LHTV (A*02)，(SEQ ID NO.:5)；從左至右的組織：2細胞

株，1 原代培養物，1 膽管癌，2 腦癌，1 乳癌，3 食管癌，2 膽囊癌，2 腎癌，2 肝癌，3 肺癌，7 卵巢癌，2 胰臟癌，3 皮膚癌，1 胃癌，1 子宮癌，圖 1G) 胜肽：IVDDLTINL (A*02)，(SEQ ID NO.:8)；從左至右的組織：1 細胞株，1 結腸癌，2 食管癌，2 膽囊癌，5 肺癌，1 淋巴結癌，1 胰臟癌，2 皮膚癌，4 胃癌，1 膀胱癌，4 子宮癌，圖 1H) 胜肽：LLAGQTYHV (A*02)，(SEQ ID NO.:13)；從左至右的組織：6 細胞株，1 肺，1 胎盤，2 膽管癌，3 乳癌，2 結腸癌，2 食管癌，2 膽囊癌，1 肝癌，3 6 肺癌，3 卵巢癌，3 胰臟癌，1 直腸癌，3 膀胱癌；和圖 1I) 胜肽：VLAKPGVISV (A*02)，(SEQ ID NO.:14)；從左至右的組織：7 細胞株，1 肺，1 膽管癌，4 乳癌，1 結腸癌，2 食管癌，1 膽囊癌，3 6 肺癌，1 卵巢癌，3 胰臟癌，2 直腸癌，1 胃癌，1 膀胱癌。

【0407】 圖 2A 至 2C 顯示了本發明的源基因的代表性表現特徵（與正常腎臟相比的相對表現），這些基因在一系列正常組織（深灰色）胰臟癌中以及 11 份胰臟癌樣本（灰色）中高度過度表現或專門表現。圖 2A) LAMC2，從左到右的組織：1 腎上腺，1 動脈，1 骨髓，1 腦（全），1 乳腺，1 結腸，1 食道，1 心臟，3 腎臟，1 白細胞樣本，1 肝臟，1 肺，1 淋巴結，1 卵巢，1 胰臟，1 胎盤，1 攝護腺，1 唾液腺，1 骨骼肌，1 皮膚，1 小腸，1 脾臟，1 胃，1 睪丸，1 胸腺，1 甲狀腺，1 膀胱，1 子宮頸，1 子宮，1 靜脈，1 8 胰臟癌；圖 2B) VCAN；從左到右的組織：1 腎上腺，1 動脈，1 骨

髓，1腦（全），1乳腺，1結腸，1食道，1心臟，3腎臟，1白細胞樣本，1肝臟，1肺，1淋巴結，1卵巢，1胰臟，1胎盤，1攝護腺，1唾液腺，1骨骼肌，1皮膚，1小腸，1脾臟，1胃，1睪丸，1胸腺，1甲狀腺，1膀胱，1子宮頸，1子宮，1靜脈，18胰臟癌；圖2C）FAP；從左到右的組織：1腎上腺，1動脈，1骨髓，1腦（全），1乳腺，1結腸，1食道，1心臟，3腎臟，1白細胞樣本，1肝臟，1肺，1淋巴結，1卵巢，1胰臟，1胎盤，1攝護腺，1唾液腺，1骨骼肌，1皮膚，1小腸，1脾臟，1胃，1睪丸，1胸腺，1甲狀腺，1膀胱，1子宮頸，1子宮，1靜脈，18胰臟癌。

【0408】圖3A至3D顯示典型的免疫原性資料：胜肽特定多聚體染色後實例性流式細胞儀結果。圖3（C和D）顯示了健康HLA-A*02+供體的胜肽特異性CD8+ T細胞體外反應的示例性結果。CD8+ T細胞製備的方法為：使用抗CD28 mAb和HLA-A*02被覆的人工APC分別與Seq ID No 3胜肽（C，左圖）或Seq ID No 50（D，左圖）錯合而成。經過3個週期的刺激後，用A*02/Seq ID No 3（C）或A*02/Seq ID No 50（D）的2D多聚體染色法對胜肽反應性細胞進行檢測。右圖（C和D）顯示用不相關A*02/胜肽複合體刺激的細胞對照染色。圈選的可見單一細胞群為CD8+淋巴細胞。布林圈選（Boolean gate）幫助排除用不同胜肽特定的多聚體檢測的假陽性事件。指出了CD8+淋巴細胞中特異性多聚體+細胞的頻率。

【實施方式】**【0409】 實 例**

【0410】 實 例 1：細胞表面呈現的腫瘤相關胜肽的識別和定量

【0411】 組織樣本

【0412】 患者腫瘤組織獲得自 Asterand (Detroit, USA and Royston, Herts, UK)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、海德堡醫院和蒂賓根大學醫院。正常組織獲得自 Bio-Options Inc. (CA, USA)、BioServe (Beltsville, MD, USA)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、日內瓦大學醫院、海德堡大學醫院、京都府立醫科大學(KPUM)、慕尼黑大學醫院、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、蒂賓根大學醫院。所有患者在手術或屍檢前都獲得了書面知情同意。切除後組織立即進行冷休克處理，在分離 TUMAP 前儲存於 -70°C 或以下。

【0413】 從組織樣本中分離HLA胜肽

【0414】 依據規程 (Falk 等人, 1991; Seeger 等人, 1999) 略加修改，使用 HLA-A*02 特異性抗體 BB7.2、HLA-A、HLA-B、HLA-C 特異性抗體 W6/32、CNBr 活化的瓊脂糖凝膠、酸處理和超濾方法以固體組織的免疫沉澱法獲得了冷休克組織樣本的 HLA 胜肽庫。

【0415】 質譜分析

【0416】 獲得的HLA胜肽庫依據其疏水性用反相色譜(nanoAcquity UPLC system, Waters)分離，洗脫的胜肽用裝有電噴霧源的LTQ-velos融合雜交質譜(ThermoElectron)進行了分析。胜肽庫被直接載入填充有 $1.7\ \mu\text{m}$ C18反相材料(Waters)的分析用熔煉石英微毛細管柱($75\ \mu\text{m}$ 內徑 x $250\ \text{mm}$)，應用流速為每分鐘 $400\ \text{nL}$ 。隨後，使用來自流速為每分鐘 $300\ \text{nL}$ 、濃度為10%至33%溶劑B的兩步180分鐘的二元梯度法對胜肽進行分離。梯度由溶劑A(含0.1%甲酸的水)和溶劑B(含0.1%甲酸的乙腈)。金鍍膜玻璃毛細管(PicoTip, New Objective)用於引入到奈升電噴霧源。使用TOP5策略在資料依賴模式下操作LTQ-Orbitrap質譜儀。簡言之，首先以高精確品質完全掃描在orbitrap開始一個掃描週期($R=30000$)，之後用先前選定離子的動態排除技術在orbitrap中對5種含量最為豐富的前體離子進行MS/MS掃描($R=7500$)。串聯質譜以SEQUEST和另一種手動控制器進行解讀。生成的自然胜肽破碎模式與合成序列相同參考胜肽的破碎模式進行比較後，確保了被識別的胜肽序列。

【0417】 無標記相對LC-M定量透過離子計數(即透過LC-M功能提取和分析)來進行(Mueller等人, 2007)。該方法假定胜肽的LC-MS訊號區域與樣本中其豐度相關。提取的特徵透過充電狀態去卷積和保留時間校準進行進一步處理 (Mueller等人, 2008; Sturm等人,

2008)。最後，所有的LC-MS特徵與序列鑒定結果交叉引用，以將不同樣本和組織的定量資料與胜肽呈遞特徵結合。定量資料依據集中資料以兩層方式進行正態化處理，以說明技術和生物學複製變異。因此，每個被識別的胜肽均可與定量資料相關，從而可得出樣本和組織之間的相對定量。此外，對候選胜肽獲得的所有定量資料進行手動檢查，以確保資料的一致性，並驗證自動化分析的準確度。對於每種胜肽，計算了呈現圖，其顯示樣本平均呈現量以及複製變化。這些特徵使胰臟癌樣本與正常組織樣本的基線值並列。示範性過度呈現胜肽的呈現譜示於圖2中。示範性胜肽的呈現分數見表8。

【0418】 表8：呈現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量呈現(+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量呈現(++)或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量呈現(+)的胜肽。

序列 ID 號	序列	胜肽呈現
1	FLAQQESEI	+++
2	SLQEEHVAVA	++
3	ALLTFMEQV	+++
4	SVDVSPPKV	+
5	LLVDDSLHTV	+++
7	AQQESEIAGI	+++
8	IVDDLTLNL	+++
9	FLFDGSANLV	+++
10	FLVDGSSAL	+++
11	FLYKIIDEL	+++
12	FVSEIVDTV	+++
13	LLAGQTYHV	++
14	VLAKPGVISV	+
15	SLANNVTSV	+
16	APVNVTTTEVKSV	+++

17	FLKSGDAAIV	+++
18	SLLDDELSL	++
19	HLAPETDEDDL	+++
20	RLAGDGVGAV	++
21	HLMDQPLSV	+++
23	SLSAFTLFL	+
24	GLLEELVTV	+++
25	SLKEEVGEEAI	+
26	SLKEEVGEEAIV	++
29	FLQEYLDAL	+++
31	SLAAAAGKQEL	+++
32	SLAAAAGKQELA	+++
33	SLDSRLELA	+++
34	MLMPVHFL	+++
35	VMDSGDGVTHTV	+
36	KQEYDESGPSIVH	+++
37	GLLKKINSV	+++
38	NLVEKTPALV	+++
39	TLLSNLEEA	+
40	FILDSAETTTL	+++
41	FLLDGSEGV	+++
42	KLVDKSTEL	+++
43	RLDQRPQI	++
46	TFAPVNVTTTEVKSV	+
47	KMDASLGNLFA	+++
48	ALTQTGGPHV	+++
49	NLKGTFATL	+++
50	ALAAILTRL	+++
51	ALMLQGVDL	+++
52	RMVEEIGVEL	++
56	GLLDYATGAIGSV	+++
57	FLGKVVIDV	+++
58	GLAAFKAF	+++
59	KLFNLSKEDDV	+++
61	ALEKDYEEVGV	+++
62	ALEKDYEEV	+++
63	FAGDDAPR	+++
64	FLVSNMLLAEA	+++
66	ALLSGLREA	+++
67	KMFFLIDKV	+++
68	KLLTEVHAA	+++
70	FLVDGSWSV	+++
71	FLLDGSANV	+++
74	KIQEILTQV	+++
75	RLDDLKMTV	++
76	RLLDSVSRL	+

77	GLTDNIHLV	+++
79	VLAPRVLRA	+
80	TLYPHTSQV	+
81	AMSSKFFLV	+++
82	SISDVIAQV	+++
83	FLIDSSEGV	+++
84	NLLDLDYEL	+++
85	TVAEVIQSV	++
86	SLLAQNTSWLL	++
87	LLLGSPAAA	+++

【0419】 實 例 2

【0420】 編碼本發明胜肽的基因的表現譜

【0421】 與正常細胞相比在腫瘤細胞上一種胜肽過度呈現或特定呈現足夠其在免疫治療中有效使用，一些胜肽為腫瘤特異性的，儘管存在其源蛋白也存在于正常組織中。但是，mRNA表現譜增加了免疫治療目標胜肽選擇中其他級別的安全性。特別是對於具有高安全性風險的治療選擇，諸如親和力成熟的TCR，理想的目標胜肽將來源於對該腫瘤獨一無二且不出現于正常組織中的蛋白質。

【0422】 RNA來源與製備

【0423】 手術切除組織標本按如上所述（參見實例1）在獲得每名患者的書面知情同意後提供。手術後立即速凍腫瘤組織標本，之後在液態氮中用杵臼勻漿。使用TRI試劑（Ambion公司，Darmstadt，德國）之後用RNeasy（QIAGEN公司，Hilden，德國）淨化以從這些樣本中製備總RNA；這兩種方法都依據製造商的規程進行。

【0424】 健康人體組織中的總RNA從商業途徑獲得（Ambion公司，Huntingdon，英國；Clontech公司，

海德堡，德國；Stratagene公司，阿姆斯特丹，荷蘭；BioChain公司，Hayward, CA, 美國）。混合數個人（2至123個人）的RNA，從而使每個人的RNA得到等加權。

【0425】 所有RNA樣本的品質和數量都在Agilent 2100 Bioanalyzer分析儀（Agilent公司，Waldbronn，德國）上使用RNA 6000 Pico LabChip Kit套件（Agilent公司）進行評估。

【0426】 微陣列實驗

【0427】 所有腫瘤和正常組織的RNA樣本都使用Affymetrix Human Genome (HG) U133A 或HG-U133 Plus 2.0寡核苷酸微陣列晶片（Affymetrix公司，Santa Clara, CA, 美國）進行基因表現分析。所有步驟都依據Affymetrix手冊進行。簡言之，如手冊中所述，使用SuperScript RTII（Invitrogen公司）以及oligo-dT-T7引子（MWG Biotech公司，Ebersberg，德國）從5–8 µg總RNA中合成雙股cDNA。用BioArray High Yield RNA Transcript Labelling Kit（ENZO Diagnostics公司，Farmingdale, NY, 美國）進行U133A陣列測定或用GeneChip IVT Labelling Kit（Affymetrix公司）進行U133 Plus 2.0陣列測定，之後用鏈黴親和素-藻紅蛋白質和生物素化抗鏈黴素蛋白質抗體（Molecular Probes公司，Leiden，荷蘭）進行破碎、雜交和染色，

這樣完成體外轉錄。用 Agilent 2500A GeneArray Scanner (U133A) 或 Affymetrix Gene-Chip Scanner 3000 (U133 Plus 2.0)對圖像進行掃描，用 GCOS軟體 (Affymetrix公司) 在所有參數默認設置情況下對資料進行分析。為了實現標準化，使用了 Affymetrix 公司提供的 100 種管家基因 (housekeeping gene)。相對表現值用軟體給定的信號比對數值進行計算，正常腎組織樣本的值任意設置為 1.0。本發明的代表性源基因在胰臟癌中高度過度表現的表現譜如圖 1 所示。進一步代表性基因的表現分數見表 9。

【0428】 表 9：表現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過度表現 (+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過度表現 (++) 或與一系列正常組織相比在腫瘤上過度表現 (+) 的基因的胜肽。

序列 ID 號	序列	基因表現
3	ALLTFMEQV	++
4	SVDVSPPKV	+
6	VLISLKQAPLV	+
13	LLAGQTYHV	+
15	SLANNVTSV	+
16	APVNVTTTEVKSV	+
20	RLAGDGVGAV	+
23	SLSAFTLFL	+
25	SLKEEVGEEAI	++
27	YLQGQRLDNV	+
30	VVDEGPTGV	++
36	KQEYDESGPSIVH	+
43	RLDQRVPQI	+
44	VLLDKIKNLQV	+
46	TFAPVNVTTTEVKSV	++
47	KMDASLGNLFA	+
48	ALTQTGGPHV	+
50	ALAAILTRL	+++

51	ALMLQGVDL	++
52	RMVEEIGVEL	+
57	FLGKVVIDV	+
58	GLAAFKAFI	+
59	KLFNLSKEDDV	+
61	ALEKDYEEVGV	+++
62	ALEKDYEEV	+++
66	ALLSGLREA	++
67	KMFFLIDKV	+
71	FLLDGSANV	+
73	TLVAIVVG	++
75	RLDDLKMTV	++
76	RLLDSVSRL	+++
78	TLSSIKVEV	+++
81	AMSSKFFLV	++

【0429】 實 例 3

【0430】 M H C - I 類呈現胜肽的體外免疫原性

【0431】 為了獲得關於本發明 T U M A P 的免疫原性資訊，發明人使用體外 T 細胞擴增分析方法進行了研究，其中該分析方法基於使用裝載胜肽 / M H C 複合物和抗 C D 2 8 抗體的人工抗原呈現細胞 (a A P C) 進行反復刺激。用這種方法，發明人可顯示出本發明目前為止 2 2 種 H L A - A * 0 2 0 1 限制 T U M A P 具有免疫原性，這表明這些胜肽為對抗人 C D 8 + 前體 T 細胞的 T 細胞表位（表 1 0）。

【0432】 C D 8 + T 細胞體外啟動

【0433】 為了用載有胜肽 - M H C 複合物 (p M H C) 和抗 C D 2 8 抗體的人工抗原呈現細胞進行體外刺激，發明人在經德國 U n i v e r s i t y c l i n i c s M a n n h e i m 同意後，先經由使用從該單位獲得的健康供體 C D 8 微珠 (M i l t e n y i B i o t e c , B e r g i s c h - G l a d b a c h , G e r m a n y) 進行正選

擇，以從新鮮的HLA-A*02白血球分離法產物分離出CD8+ T細胞。

【0434】 PBMC和分離出的CD8+淋巴細胞使用前在T細胞培養基(TCM)中培養，培養基包括RPMI-Glutamax (Invitrogen公司，Karlsruhe，德國)並補充10%加熱去活化的人類AB血清 (PAN-Biotech公司，Aidenbach，德國)、100 U/ml 青黴素/100 µg/ml鏈黴素 (Cambrex公司，Cologne，德國)，1 mM丙酮酸鈉 (CC Pro公司，Oberdorla，德國)和20 µg/ml 慶大黴素 (Cambrex公司)。在此步驟，2.5 ng/ml的IL-7 (PromoCell公司，Heidelberg，德國)和10 U/ml的IL-2 (Novartis Pharma公司，Nürnberg，德國)也加入TCM。

【0435】 對於pMHC/抗-CD28被覆珠的生成、T細胞的刺激和讀出，使用每刺激條件四個不同pMHC分子以及每讀出條件8個不同的pMHC分子在高度限定的體外系統中進行。

【0436】 純化的共刺激小鼠IgG2a抗人CD28抗體9.3 (Jung等人，1987)使用製造商 (Perbio公司，波恩，德國)推薦的磺酸基-N-羥基琥珀醯亞胺生物素 (Sulfo-N-hydroxysuccinimidobiotin)進行化學生物素化處理。所用珠為5.6 µm直徑的鏈黴素包裹的聚苯乙烯顆粒 (Bangs Laboratories，伊利諾州，美國)。

【0437】 用於陽性和陰性對照刺激物的 pMHC 分別為 A*0201/MLA-001 (來自修飾的 Melan-A/MART-1 的 胜肽 ELAGIGILT V (SEQ ID NO:88)) 和 A*0201/DDX5-001 (來自 DDX5 的 YLLPAIVHI (SEQ ID NO:89))。

【0438】 800.000 珠/200 μ l 在含有 4×12.5 ng 不同生物素-pMHC 的 96 孔培養碟中進行被覆、洗滌，隨後加入體積為 200 μ l 的 600 ng 生物素抗-CD28。在 37°C 下，在供應 5 ng/ml IL-12 (PromoCell) 的 200 μ l TCM 中共培養 1×10^6 CD8+T 細胞與 2×10^5 的經清洗被覆珠 3 天，從而啟動刺激。之後，一半培養基與補充 80 U/ml IL-2 的新鮮 TCM 進行交換，並且在 37°C 下持續培養 4 天。這種刺激性週期總共進行 3 次。對於使用每條件 8 種不同 pMHC 分子的 pMHC 多聚體讀出，二維組合編碼方法如前述使用 (Andersen 等人, 2012) 方式再稍作修飾，涵蓋耦合至 5 種不同的螢光染料。最後，用 Live/dead near IR 染料 (Invitrogen 公司, Karlsruhe, 德國)、CD8-FITC 抗體克隆 SK1 (BD 公司, Heidelberg, 德國) 和螢光 pMHC 多聚體而執行多聚體分析。對於分析，使用了配有合適雷射儀和過濾器的 BD LSRII SORP 細胞儀。胜肽特異性細胞以占總 CD8+ 細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用 FlowJo 軟體 (Tree Star 公司, Oregon, 美國) 進行評估。特異性多聚體+CD8+ 淋巴細胞的體外啟動藉由與陰性對照刺激組比較而進行檢測。如

果健康供體中的至少一個可評價的體外刺激孔在體外刺激後發現含有特異性 C D 8 + T 細胞株（即該孔的 C D 8 + T 細胞中包含至少 1 % 特異性多聚體 + C D 8 + T 細胞，並且特異性多聚體 + 細胞的百分比至少為陰性對照刺激中位數的 1 0 倍），則檢測為給定抗原的免疫原性。

【0439】 胰臟癌胜肽體外免疫原性

【0440】 對於受到測試的 H L A I 類胜肽，可透過胜肽特異性 T 細胞株的生成證明其體外免疫原性。T U M A P 特異性多聚體對本發明的兩種胜肽染色後流式細胞儀檢測的典型結果如圖 3 所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明 2 種胜肽的結果匯總於表 1 0 。

【0441】 表 1 0：本發明中 H L A I 類胜肽的體外免疫原性

申請人對本發明的胜肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。 < 2 0 % = +；2 0 % - 4 9 % = ++；5 0 % - 6 9 % = +++；

> = 7 0 % = + + + +

序列號	孔	供體
69	++	++++
87	+	+++

【0442】 本發明 7 種其他胜肽的結果匯總於表 1 0 B 。

【0443】 表 1 0 B：本發明中 H L A I 類胜肽的體外免疫原性。申請人對本發明的胜肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。 < 2 0 % = +；2 0 % - 4 9 % = ++；5 0 % - 6 9 % = +++；

> = 7 0 % = + + + +

序列 ID 號	序列	陽性孔 [%]
---------	----	---------

3	ALLTFMEQV	++
20	RLAGDGVGAV	++++
21	HLMDQPLSV	+
23	SLSAFTLFL	++
34	MLMPVHFL	+
37	GLLKKINSV	+
50	ALAAILTRL	+++

【0444】 實 例 4

【0445】 胜肽的合成

【0446】 所有的胜肽透過使用 F m o c 策略以標準、已確立的固相胜肽合成法合成。每個胜肽的身份和純度已使用質譜和 R P - H P L C 分析法確定。用凍乾法（三氟乙酸鹽）獲得白色至類白色的胜肽，純度為 > 5 0 %。所有的 T U M A P 優選作為三氟乙酸鹽或乙酸鹽進行給藥，其他鹽形式也可以。

【0447】 實 例 5

【0448】 M H C 結合測定

【0449】 本發明基於 T 細胞療法的候選胜肽進一步測試其 M H C 結合能力（親和性）。單個胜肽 - M H C 複合體透過 U V - 配體交換產生，其中，紫外線敏感胜肽經紫外線照射後裂解，與分析的相關胜肽交換。只有能夠有效地結合並穩定胜肽接受 M H C 分子的候選胜肽才能阻止 M H C 複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定 M H C 複合物輕鏈（ $\beta 2 m$ ）的檢測結果進行 E L I S A 測定。檢測總體上按照 R o d e n k o 等人在（R o d e n k o 等人，2 0 0 6）中描述的方法進行。

【0450】 96孔MAXISorp培養碟(NUNC)在室溫下在PBS中以2ug/ml鏈黴素被覆過夜，洗滌4次並在37℃下在含2%BSA的封閉緩衝液中封閉1小時。再折疊的HLA-A*02:01/MLA-001單體作為標準品，涵蓋15-500ng/ml的範圍。紫外線交換反應的胜肽-MHC單體在封閉緩衝液中稀釋100倍。樣本在37℃下培養1小時，洗滌四次，在37℃下以2ug/mlHRP結合的抗-β2m培養1小時，再次洗滌，並以TMB溶液進行檢測並用NH₂SO₄終止反應。測量在450nm的吸光。在生成和產生抗體或其片段時和/或T細胞受體或其片段時，通常優選顯示為高交換產率（優選為高於50%，最優選為高於75%）的候選胜肽，這是因為它們對MHC分子顯示出足夠的親合力，並能防止MHC複合物的解離。

【0451】 表11：MHC I類結合分數。 <20% = +; 20% - 49% = ++; 50% - 75% = +++; >= 75% = ++++

序列ID號	序列	胜肽交換
1	FLAQQESEI	++
2	SLQEEHVAVA	++
3	ALLTFMEQV	+++
4	SVDVSPPKV	++
5	LLVDDSFLHTV	+++
6	VLISLKQAPLV	++
7	AQQESEIAGI	++
8	IVDDLTLNL	++
9	FLFDGSANLV	++
10	FLVDGSSAL	++
11	FLYKIIDEL	+++
12	FVSEIVDTV	+++
13	LLAGQTYHV	++

14	VLAKPGVISV	++
15	SLANNVTSV	++
16	APVNVTTTEVKSV	++
17	FLKSGDAAIV	++
18	SLLDDELM SL	++
20	RLAGDGVGAV	++
21	HLMDQPLSV	++
22	TLDGAAVNQV	++
23	SLSAFTLFL	++
24	GLLEELVTV	++
25	SLKEEVGEEAI	++
26	SLKEEVGEEAIV	++
27	YLQGQRLDNV	++
28	YLQGQRLDNVV	++
29	FLQEYLDAI	+++
30	VVDEGPTGV	++
31	SLAAAAGKQEL	++
32	SLAAAAGKQELA	+
33	SLDSRLELA	++
34	MLMPVHFL	++++
35	VMDSGDGVTHTV	++
37	GLLKKINSV	++
38	NLVEKTPALV	+++
39	TLLSNLEEA	++
40	FILDSAETTTL	++
41	FLLDGSEGV	+++
42	KLVDKSTEL	++
43	RLDQRPQI	++
44	VLLDKIKNLQV	++
46	TFAPVNVTTTEVKSV	++
47	KMDASLGNLFA	++++
48	ALTQTGGPHV	++
49	NLKGTFATL	+
50	ALAAILTRL	+++
51	ALMLQGVDL	++
52	RMVEEIGVEL	++
53	SSFGGLGGGSV	+
54	VLLSEIEVA	++
55	YLDAMMNEA	++
56	GLLDYATGAIGSV	+++
57	FLGKVVIDV	++++

58	GLAAFKAFL	+++
59	KLFNLSKEDDV	++
60	YLEEDVYQL	++
64	FLVSNMLLAEA	+++
65	YLYDSETKNA	++
66	ALLSGLREA	+++
67	KMFFLIDKV	+++

【0452】 參考文獻列表

Ag es en, T. H. 等 人, Gut 61 (2012)

Alhuma idi, A., Indian J
Dermatol.Venereol.Leprol. 78 (2012)

Allison, J. P. 等 人, Science 270 (1995)

Amatschek, S. 等 人, Cancer Res 64 (2004)

Andersen, R. S. 等 人, Nat.Protoc. 7 (2012)

Appay, V. 等 人, Eur.J Immunol. 36 (2006)

Appetecchia, M. 等 人, J Exp.Clin Cancer Res 29
(2010)

Arafat, H. 等 人, Surgery 150 (2011)

Ariga, N. 等 人, Int J Cancer 95 (2001)

Baek, G. 等 人, Cell Rep. 9 (2014)

Bai, L. 等 人, J Cell Biochem. 113 (2012)

Banchereau, J. 等 人, Cell 106 (2001)

Bausch, D. 等 人, Clin Cancer Res 17 (2011)

Beatty, G. 等 人, J Immunol 166 (2001)

Beggs, J. D., Nature 275 (1978)

Bell, J. L. 等 人, Cell Mol Life Sci. 70 (2013)

- Benjamini, Y. 等人, Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological), Vol. 57 (1995)
- Bera, T. K. 等人, Cancer Res 66 (2006)
- Berndt, S. I. 等人, Nat Genet. 45 (2013)
- Blanch, A. 等人, PLoS. One. 8 (2013)
- Blenk, S. 等人, BMC. Cancer 8 (2008)
- Bo, H. 等人, BMC. Cancer 13 (2013)
- Bouameur, J. E. 等人, J Invest Dermatol. 134 (2014)
- Boulter, J. M. 等人, Protein Eng 16 (2003)
- Braumuller, H. 等人, Nature (2013)
- Brendle, A. 等人, Carcinogenesis 29 (2008)
- Brossart, P. 等人, Blood 90 (1997)
- Brown, S. G. 等人, Prostate 75 (2015)
- Bruckdorfer, T. 等人, Curr. Pharm. Biotechnol. 5 (2004)
- Calmon, M. F. 等人, Neoplasia. 11 (2009)
- Cao, H. H. 等人, Oncotarget. (2014)
- Cappello, F. 等人, Curr. Pharm. Des 19 (2013)
- Cappello, F. 等人, Cancer Biol. Ther 7 (2008)
- Cappello, F. 等人, Front Biosci. (Schol. Ed) 3 (2011)
- Capulli, M. 等人, J Bone Miner. Res 27 (2012)

- Card, K. F. 等人, *Cancer Immunol Immunother.* 53 (2004)
- Casagrande, G. 等人, *Haematologica* 91 (2006)
- Catanzaro, J. M. 等人, *Nat Commun.* 5 (2014)
- Chang, K. W. 等人, *Anticancer Res.* 31 (2011)
- Chang, K. W. 等人, *Hepatol. Res* 36 (2006)
- Chanock, S. J. 等人, *Hum. Immunol.* 65 (2004)
- Chaudhury, A. 等人, *Nat Cell Biol.* 12 (2010)
- Che, C. L. 等人, *Int J Clin Exp. Pathol.* 6 (2013)
- Chen, B. 等人, *Cancer Lett.* 354 (2014a)
- Chen, Q. 等人, *PLoS. One.* 9 (2014b)
- Chen, R. 等人, *Lab Invest* 95 (2015)
- Chen, S. 等人, *Cancer Epidemiol.* 37 (2013a)
- Chen, S. T. 等人, *Cancer Sci.* 102 (2011)
- Chen, Y. L. 等人, *Int J Surg.* 11 (2013b)
- Cheon, D. J. 等人, *Clin Cancer Res* 20 (2014)
- Cheung, H. C. 等人, *BMC. Genomics* 9 (2008)
- Choi, W. I. 等人, *Cell Physiol Biochem.* 23 (2009)
- Chow, S. N. 等人, *Eur. J Gynaecol. Oncol* 31 (2010)
- Cine, N. 等人, *Oncol Rep.* 32 (2014)
- Clement, S. 等人, *Virchows Arch.* 442 (2003)
- Cohen, C. J. 等人, *J Mol Recognit.* 16 (2003a)
- Cohen, C. J. 等人, *J Immunol* 170 (2003b)

- Cohen, S. J. 等人, *Pancreas* 37 (2008)
- Cohen, S. N. 等人, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 69 (1972)
- Coligan JE 等人, (1995)
- Colombetti, S. 等人, *J Immunol.* 176 (2006)
- Croner, R. S. 等人, *Int J Cancer* 135 (2014)
- Csiszar, A. 等人, *Breast Cancer Res* 16 (2014)
- Cucchiarelli, V. 等人, *Cell Motil.Cytoskeleton* 65 (2008)
- Culler, M. D., *Horm.Metab Res* 43 (2011)
- Delaval, B. 等人, *Nat Cell Biol.* 13 (2011)
- Dengjel, J. 等人, *Clin Cancer Res* 12 (2006)
- Denkberg, G. 等人, *J Immunol* 171 (2003)
- Derycke, L. 等人, *Int J Dev.Biol.* 55 (2011)
- Dhup, S. 等人, *Curr.Pharm.Des* 18 (2012)
- Draoui, N. 等人, *Dis.Model.Mech.* 4 (2011)
- Dutton-Regester, K. 等人, *Genes Chromosomes.Cancer* 51 (2012)
- Egloff, A. M. 等人, *Cancer Res* 66 (2006)
- Ellis, M. J. 等人, *Nature* 486 (2012)
- Falk, K. 等人, *Nature* 351 (1991)
- Feng, H. 等人, *J Clin Invest* 124 (2014)
- Fillmore, R. A. 等人, *Exp.Biol.Med. (Maywood.)* 239 (2014)

- Findeis-Hosey, J. J. 等人, *Biotech.Histochem.* 87 (2012)
- Fong, L. 等人, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98 (2001)
- Franz, M. 等人, *J Oral Pathol.Med.* 39 (2010)
- Fu, Y. 等人, *Cancer Biol.Ther* 5 (2006)
- Gabrilovich, D. I. 等人, *Nat Med.* 2 (1996)
- Galmarini, C. M. 等人, *Br.J Cancer* 88 (2003)
- Gamez-Pozo, A. 等人, *PLoS.One.* 7 (2012)
- Gao, H. J. 等人, *J Cancer Res Clin Oncol* (2014a)
- Gao, J. 等人, *PLoS.One.* 9 (2014b)
- Gao, Z. H. 等人, *Histopathology* 65 (2014c)
- Gardina, P. J. 等人, *BMC.Genomics* 7 (2006)
- Garg, M. 等人, *J Clin Endocrinol.Metab* 99 (2014)
- Gattinoni, L. 等人, *Nat Rev.Immunol* 6 (2006)
- Geyik, E. 等人, *Gene* 540 (2014)
- Glen, A. 等人, *Prostate* 70 (2010)
- Glymph, S. 等人, *Infect.Genet.Evol.* 16 (2013)
- Gnjatic, S. 等人, *Proc Natl.Acad.Sci.U.S.A* 100 (2003)
- Godkin, A. 等人, *Int.Immunol* 9 (1997)
- Gong, Y. 等人, *Adv.Anat.Pathol.* 21 (2014)
- Gorlov, I. P. 等人, *Cancer Res* 67 (2007)
- Green MR 等人, 4th, (2012)

- Greenfield EA, 2nd, (2014)
- Guo, C.等人, Clin Chim.Acta 417 (2013)
- Guo, C.等人, Nat Commun. 6 (2015)
- Gutgemann, A.等人, Arch.Dermatol.Res 293 (2001)
- Hait, W. N.等人, Trans.Am Clin Climatol.Assoc. 117 (2006)
- Han, J. C.等人, World J Surg.Oncol 13 (2015)
- Hao, X.等人, J Membr.Biol. 247 (2014)
- He, X.等人, Neoplasma 61 (2014)
- He, X.等人, Cancer Res 68 (2008)
- Hoffmann, N. E.等人, Cancer 112 (2008)
- Hopker, K.等人, EMBO J 31 (2012a)
- Hopker, K.等人, Cell Cycle 11 (2012b)
- Horibe, T.等人, Chembiochem. 15 (2014)
- Horinouchi, M.等人, Pediatr.Hematol.Oncol 27 (2010)
- Hu, S.等人, J Cancer Res Clin Oncol 140 (2014)
- Hu, W.等人, Cell Death.Dis. 4 (2013)
- Huang, H. C.等人, Technol.Cancer Res Treat. 9 (2010)
- Hurst, J. H.等人, Cell Mol Biol.Lett. 14 (2009)
- Hussey, G. S.等人, Mol Cell 41 (2011)
- Hwang, M. L.等人, J Immunol. 179 (2007)

- Hyung, S. W. 等人, Mol Cell Proteomics. 10 (2011)
- Ii, M. 等人, Exp.Biol.Med. (Maywood.) 231 (2006)
- Isfort, R. J. 等人, Oncogene 15 (1997)
- Ishiwata, T. 等人, Oncol Rep. 18 (2007)
- Izaki, T. 等人, Biochem.Biophys.Res Commun. 329 (2005)
- Jacob, M. 等人, Curr.Mol Med. 12 (2012)
- Jaeger, E. 等人, Nat Genet. 44 (2012)
- Jain, R. 等人, Appl.Immunohistochem.Mol Morphol. 18 (2010)
- Januchowski, R. 等人, Biomed.Res Int 2014 (2014)
- Jeda, A. 等人, Ginekol.Pol. 85 (2014)
- Jeng, Y. M. 等人, Br.J Surg. 96 (2009)
- Jeong, H. C. 等人, J Proteome.Res 10 (2011)
- Jones, A. 等人, EMBO Mol Med. 5 (2013)
- Jung, G. 等人, Proc Natl Acad Sci U S A 84 (1987)
- Kamino, H. 等人, Cancer Genet. 204 (2011)
- Kaneko, K. 等人, Pancreas 24 (2002)
- Kang, C. Y. 等人, J Gastrointest.Surg. 18 (2014)
- Kang, G. H. 等人, Lab Invest 88 (2008)
- Kanzawa, M. 等人, Pathobiology 80 (2013)

- Karagiannis, G. S.等人, *Oncotarget*. 3 (2012)
- Kashyap, M. K.等人, *Cancer Biol. Ther* 8 (2009)
- Kashyap, V.等人, *Mol Oncol* 7 (2013)
- Katada, K.等人, *J Proteomics*. 75 (2012)
- Kevans, D.等人, *Int J Surg. Pathol*. 19 (2011)
- Khalaileh, A.等人, *Cancer Res* 73 (2013)
- Khuon, S.等人, *J Cell Sci*. 123 (2010)
- Kibbe AH, rd, (2000)
- Kido, T.等人, *Genes (Basel)* 1 (2010)
- Kim, M.等人, *Mol Cancer Res* 6 (2008)
- Kim, S. W.等人, *OMICs*. 15 (2011)
- Kirov, A.等人, *J Cell Biochem*. (2015)
- Kojima, M.等人, *PLoS. One*. 9 (2014)
- Koshikawa, K.等人, *Oncogene* 21 (2002)
- Kraya, A. A.等人, *Autophagy*. 11 (2015)
- Krieg, A. M., *Nat Rev. Drug Discov*. 5 (2006)
- Kuramitsu, Y.等人, *Anticancer Res* 30 (2010)
- Kuramitsu, Y.等人, *Anticancer Res* 31 (2011)
- Kuroda, N.等人, *Histol. Histopathol*. 20 (2005)
- Kuroda, N.等人, *Pathol. Int* 63 (2013)
- Kwon, J.等人, *Int J Oncol* 43 (2013)
- Lahsnig, C.等人, *Oncogene* 28 (2009)
- Lee, C. W.等人, *World J Surg. Oncol* 11 (2013a)
- Lee, H. W.等人, *Clin Cancer Res* 19 (2013b)

- Lee, H. W. 等人, Int J Oncol 41 (2012)
- Lee, K. Y. 等人, J Med. 35 (2004)
- Lee, M. A. 等人, BMC.Cancer 14 (2014)
- Leivo, I. 等人, Cancer Genet.Cytogenet. 156 (2005)
- Leygue, E. 等人, Cancer Res 58 (1998)
- Li, G. H. 等人, Bioinformatics. 30 (2014)
- Li, X. 等人, Clin Cancer Res 20 (2014)
- Li, X. 等人, PLoS.One. 8 (2013)
- Li, Y. 等人, Cancer Genet.Cytogenet. 198 (2010)
- Liddy, N. 等人, Nat Med. 18 (2012)
- Lieveld, M. 等人, Virchows Arch. 465 (2014)
- Lim, R. 等人, Biochem.Biophys.Res Commun. 406 (2011)
- Lim, W. 等人, J Cancer Prev. 18 (2013)
- Lin, H. C. 等人, J Proteome.Res 12 (2013a)
- Lin, L. 等人, Oncol Lett. 6 (2013b)
- Linge, A. 等人, Invest Ophthalmol.Vis.Sci. 53 (2012)
- Liu, H. 等人, Carcinogenesis 34 (2013a)
- Liu, M. 等人, Reprod.Sci. 20 (2013b)
- Liu, X. F. 等人, Apoptosis. 14 (2009)
- Ljunggren, H. G. 等人, J Exp.Med. 162 (1985)
- Long, Z. W. 等人, Tumour.Biol. 35 (2014)

- Longenecker, B. M. 等人, Ann N.Y. Acad. Sci. 690 (1993)
- Lu, C. 等人, Dig. Dis. Sci. 58 (2013a)
- Lu, X. 等人, Cancer Biother. Radiopharm. 28 (2013b)
- Lukas, T. J. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 78 (1981)
- Lund, R. R. 等人, Proteomics. 12 (2012)
- Lundblad RL, 3rd, (2004)
- Lung, H. L. 等人, Int. J. Cancer 127 (2010)
- Luo, Y. 等人, Mol Med. Rep. 9 (2014)
- Lv, T. 等人, PLoS. One. 7 (2012)
- Manning, T. J., Jr. 等人, Cell Motil. Cytoskeleton 45 (2000)
- Marg, A. 等人, Biochem. Biophys. Res Commun. 401 (2010)
- Matassa, D. S. 等人, Cell Death. Dis. 4 (2013)
- Matchett, K. B. 等人, Adv. Exp. Med. Biol. 773 (2014)
- Mazieres, J. 等人, Oncogene 24 (2005)
- McCluggage, W. G. 等人, Semin. Diagn. Pathol. 22 (2005)
- McIntyre, J. C. 等人, Nat Med. 18 (2012)
- Medjkane, S. 等人, Nat Cell Biol. 11 (2009)

- Meng, F. 等人, Int J Oncol 43 (2013)
- Menhofer, M. H. 等人, PLoS.One. 9 (2014)
- Mentlein, R. 等人, Biol.Chem. 392 (2011)
- Meziere, C. 等人, J Immunol 159 (1997)
- Milani, C. 等人, BMC.Cancer 13 (2013)
- Miyagi, T. 等人, Mol Urol. 5 (2001)
- Mochizuki, S. 等人, Cancer Sci. 98 (2007)
- Modlin, I. M. 等人, Aliment.Pharmacol.Ther 31 (2010)
- Morgan, R. A. 等人, Science 314 (2006)
- Mori, M. 等人, Transplantation 64 (1997)
- Mortara, L. 等人, Clin Cancer Res. 12 (2006)
- Mu, Y. 等人, Electrophoresis 34 (2013)
- Mueller, L. N. 等人, J Proteome.Res 7 (2008)
- Mueller, L. N. 等人, Proteomics. 7 (2007)
- Mumberg, D. 等人, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 96 (1999)
- Mushinski, J. F. 等人, J Biol.Chem. 284 (2009)
- Nakamura, H. 等人, Curr.Pharm.Des 19 (2013)
- Nakayama, H. 等人, J Clin Pathol. 55 (2002)
- Nassar, Z. D. 等人, Oncotarget. 4 (2013)
- Niedergethmann, M. 等人, Br.J Cancer 97 (2007)
- Nikolova, D. N. 等人, Oncol Rep. 20 (2008)
- Nishioka, M. 等人, Oncogene 19 (2000)

- Olesen, S. H. 等人, Mol Cell Proteomics. 4 (2005)
- Ou, Y. 等人, Urol.Oncol 32 (2014)
- Pace, A. 等人, Curr.Pharm.Des 19 (2013)
- Pan, S. 等人, OMICS. 13 (2009)
- Panico, F. 等人, Adv.Cancer Res 105 (2009)
- Patel, R. A. 等人, Cancer Res 72 (2012)
- Pereira, P. M. 等人, Org.Biomol.Chem. 12 (2014)
- Pinheiro J 等人, (2015)
- Pitule, P. 等人, Anticancer Res 33 (2013)
- Pivonello, C. 等人, Infect.Agent.Cancer 9 (2014)
- Plebanski, M. 等人, Eur.J Immunol 25 (1995)
- Pontisso, P., Ann Hepatol. 13 (2014)
- Porta, C. 等人, Virology 202 (1994)
- Portela-Gomes, G. M. 等人, Regul.Pept. 146 (2008)
- Qi, Y. 等人, Proteomics. 5 (2005)
- Qu, Z. 等人, Cancer Med. 3 (2014)
- Quinn, M. C. 等人, Int J Oncol 42 (2013)
- Rammensee, H. G. 等人, Immunogenetics 50 (1999)
- Reddy, S. P. 等人, Clin Cancer Res 14 (2008)
- RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18 (2002)
- Rehman, I. 等人, PLoS.One. 7 (2012)

- Rini, B. I. 等人, Cancer 107 (2006)
- Robinson, T. J. 等人, Cell Cycle 12 (2013)
- Rock, K. L. 等人, Science 249 (1990)
- Roman-Gomez, J. 等人, Blood 109 (2007)
- Roustit, M. M. 等人, J Endocrinol. 223 (2014)
- Roy, D. 等人, Blood 118 (2011)
- Rucki, A. A. 等人, World J Gastroenterol. 20 (2014)
- S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, 032-010OL, (2013)
- Saiki, R. K. 等人, Science 239 (1988)
- Salman, B. 等人, Oncoimmunology. 2 (2013)
- Sato, Y. 等人, J Cell Sci. 126 (2013)
- Savoy, R. M. 等人, Endocr.Relat Cancer 20 (2013)
- Schlomann, U. 等人, Nat Commun. 6 (2015)
- Schroder, W. A. 等人, Cancer Med. 3 (2014)
- Schulte, J. 等人, Histochem.Cell Biol. 138 (2012)
- Scrideli, C. A. 等人, J Neurooncol. 88 (2008)
- Seeger, F. H. 等人, Immunogenetics 49 (1999)
- Seya, T. 等人, Oncol Rep. 16 (2006)
- Sherman F 等人, (1986)
- Sherman-Baust, C. A. 等人, Cancer Cell 3 (2003)

- Simiczyjew, A. 等人, *Histochem. Cell Biol.* 142 (2014)
- Singh-Jasuja, H. 等人, *Cancer Immunol. Immunother.* 53 (2004)
- Skondra, M. 等人, *Anticancer Res* 34 (2014)
- Small, E. J. 等人, *J Clin Oncol.* 24 (2006)
- Smith, M. J. 等人, *Br. J Cancer* 100 (2009)
- Song, B. L. 等人, *Biochem. J* 394 (2006)
- Song, Q. 等人, *Tumour. Biol.* 35 (2014)
- Sood, A. K., *Immunol Res* 46 (2010)
- Soucek, J. J. 等人, *Br. J Cancer* 111 (2014)
- Stolk, J. A. 等人, *Prostate* 60 (2004)
- Sturm, M. 等人, *BMC. Bioinformatics.* 9 (2008)
- Sun, D. W. 等人, *Cancer Epidemiol.* (2015a)
- Sun, J. 等人, *J Mol Histol.* 46 (2015b)
- Sun, Z. 等人, *J Proteome. Res* 13 (2014)
- Suzuki, H. 等人, *Int J Oncol* 12 (1998)
- Szarvas, T. 等人, *Int J Cancer* 135 (2014)
- Takahashi, K. 等人, *Peptides* 27 (2006)
- Takeuchi, A. 等人, *Mol Cell Endocrinol.* 384 (2014)
- Tatzenhorst, L. 等人, *J Neuropathol. Exp. Neurol.* 63 (2004)
- Terabayashi, T. 等人, *PLoS. One.* 7 (2012)

- Terada, T. 等人, J Hepatol. 24 (1996)
- Teufel, R. 等人, Cell Mol Life Sci. 62 (2005)
- Thorsen, K. 等人, Mol Cell Proteomics. 7 (2008)
- Tran, E. 等人, Science 344 (2014)
- Trougakos, I. P., Gerontology 59 (2013)
- Tummala, R. 等人, Cancer Chemother. Pharmacol. 64 (2009)
- Unger, K. 等人, Endocr. Relat Cancer 17 (2010)
- Untergasser, G. 等人, Mech. Ageing Dev. 126 (2005)
- Vassar, R. 等人, J Neurochem. 130 (2014)
- Von Hoff, D. D. 等人, N. Engl. J Med. 369 (2013)
- Vui-Kee, K. 等人, Kaohsiung. J Med. Sci. 28 (2012)
- Walker, E. J. 等人, World J Gastroenterol. 20 (2014)
- Walter, S. 等人, J Immunol 171 (2003)
- Walter, S. 等人, Nat Med. 18 (2012)
- Wang, G. H. 等人, Oncol Lett. 5 (2013a)
- Wang, H. 等人, Front Oncol 4 (2014a)
- Wang, J. 等人, J Exp. Clin Cancer Res 34 (2015)
- Wang, Q. 等人, PLoS. One. 8 (2013b)
- Wang, X. 等人, Urol. Int. 92 (2014b)
- Wang, X. Y. 等人, Int J Hyperthermia 29 (2013)

- Watson, M. B. 等人, *Acta Oncol* 46 (2007)
- Watt, H. L. 等人, *Mol Cell Endocrinol.* 286 (2008)
- Weber, A. M. 等人, *Pharmacol. Ther* (2014)
- Wikberg, M. L. 等人, *Tumour Biol.* 34 (2013)
- Willcox, B. E. 等人, *Protein Sci.* 8 (1999)
- Williams, S. 等人, *PLoS. One.* 8 (2013)
- Wong, C. C. 等人, *Nat Genet.* 46 (2014)
- World Cancer Report, (2014)
- Xia, Z. K. 等人, *Dis. Esophagus.* 25 (2012)
- Xie, X. 等人, *Oncol Lett.* 7 (2014)
- Xiong, D. 等人, *Carcinogenesis* 33 (2012)
- Xu, C. Z. 等人, *Int J Clin Exp. Pathol.* 6 (2013)
- Yang, C. Y. 等人, *J Immunol* 192 (2014a)
- Yang, H. 等人, *PLoS. One.* 9 (2014b)
- Yang, S. 等人, *Biochim. Biophys. Acta* 1772 (2007)
- Yasui, W. 等人, *Cancer Sci.* 95 (2004)
- Yeung, T. L. 等人, *Cancer Res* 73 (2013)
- Yu, X. 等人, *Cancer Res* 73 (2013)
- Yuan, B. 等人, *Immunobiology* 217 (2012)
- Yuan, D. 等人, *J Surg. Oncol* 108 (2013)
- Yuan, R. H. 等人, *Ann Surg. Oncol* 16 (2009)
- Zanaruddin, S. N. 等人, *Hum. Pathol.* 44 (2013)

- Zaravinos, A. 等人, PLoS. One. 6 (2011)
- Zaremba, S. 等人, Cancer Res. 57 (1997)
- Zhang, C. 等人, Biochem. Biophys. Res Commun. 434 (2013)
- Zhang, C. C. 等人, Cancer Res 59 (1999)
- Zhang, Y. 等人, Zhonghua Gan Zang. Bing. Za Zhi. 14 (2006)
- Zhang, Y. 等人, Cancer Lett. 303 (2011)
- Zhao, D. 等人, J Neurooncol. 118 (2014)
- Zhao, Z. K. 等人, Tumour. Biol. 34 (2013)
- Zhu, H. H. 等人, Asian Pac. J Trop. Med. 7 (2014)
- Zocchi, M. R. 等人, Blood 119 (2012)
- Zou, T. T. 等人, Oncogene 21 (2002)

【符號說明】**【0453】**

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊(請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

國外寄存資訊(請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【序列表】

<110> 德商·英麥提克生物技術股份有限公司 (immatics biotechnologies GmbH)
<120> 用於抗胰臟癌與其他癌症的免疫治療的新穎胜肽及胜肽的組合

<150> GB 1504502.4
<151> 2015-03-17

<150> US 62/134,253
<151> 2015-03-17

<160> 89

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

Phe Leu Ala Gln Gln Glu Ser Glu Ile
1 5

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Ser Leu Gln Glu Glu His Val Ala Val Ala
1 5 10

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Ala Leu Leu Thr Phe Met Glu Gln Val
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Ser Val Asp Val Ser Pro Pro Lys Val
1 5

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Leu Leu Val Asp Asp Ser Phe Leu His Thr Val
1 5 10

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Val Leu Ile Ser Leu Lys Gln Ala Pro Leu Val
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Ala Gln Gln Glu Ser Glu Ile Ala Gly Ile
1 5 10

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Ile Val Asp Asp Leu Thr Ile Asn Leu
1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Phe Leu Phe Asp Gly Ser Ala Asn Leu Val
1 5 10

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Phe Leu Val Asp Gly Ser Ser Ala Leu
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Phe Leu Tyr Lys Ile Ile Asp Glu Leu
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Phe Val Ser Glu Ile Val Asp Thr Val
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Leu Leu Ala Gly Gln Thr Tyr His Val
1 5

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Val Leu Ala Lys Pro Gly Val Ile Ser Val
1 5 10

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Ser Leu Ala Asn Asn Val Thr Ser Val
1 5

<210> 16
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Ala Pro Val Asn Val Thr Thr Glu Val Lys Ser Val
1 5 10

<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

Phe Leu Lys Ser Gly Asp Ala Ala Ile Val
1 5 10

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Ser Leu Leu Asp Asp Glu Leu Met Ser Leu
1 5 10

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

His Leu Ala Pro Glu Thr Asp Glu Asp Asp Leu
1 5 10

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

Arg Leu Ala Gly Asp Gly Val Gly Ala Val
1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

His Leu Met Asp Gln Pro Leu Ser Val
1 5

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Thr Leu Asp Gly Ala Ala Val Asn Gln Val
1 5 10

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Ser Leu Ser Ala Phe Thr Leu Phe Leu
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Gly Leu Leu Glu Glu Leu Val Thr Val
1 5

<210> 25
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Ser Leu Lys Glu Glu Val Gly Glu Glu Ala Ile
1 5 10

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Ser Leu Lys Glu Glu Val Gly Glu Glu Ala Ile Val
1 5 10

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Tyr Leu Gln Gly Gln Arg Leu Asp Asn Val
1 5 10

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Tyr Leu Gln Gly Gln Arg Leu Asp Asn Val Val
1 5 10

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Phe Leu Gln Glu Tyr Leu Asp Ala Ile
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

Val Val Asp Glu Gly Pro Thr Gly Val
1 5

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

Ser Leu Ala Ala Ala Ala Gly Lys Gln Glu Leu
1 5 10

<210> 32
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

Ser Leu Ala Ala Ala Ala Gly Lys Gln Glu Leu Ala
1 5 10

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33

Ser Leu Asp Ser Arg Leu Glu Leu Ala
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34

Met Leu Met Pro Val His Phe Leu Leu
1 5

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

Val Met Asp Ser Gly Asp Gly Val Thr His Thr Val
1 5 10

<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

Lys Gln Glu Tyr Asp Glu Ser Gly Pro Ser Ile Val His
1 5 10

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37

Gly Leu Leu Lys Lys Ile Asn Ser Val
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 38

Asn Leu Val Glu Lys Thr Pro Ala Leu Val
1 5 10

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39

Thr Leu Leu Ser Asn Leu Glu Glu Ala
1 5

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

Phe Ile Leu Asp Ser Ala Glu Thr Thr Thr Leu
第 8 頁

1 5 10

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Glu Gly Val
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42

Lys Leu Val Asp Lys Ser Thr Glu Leu
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

Arg Leu Asp Gln Arg Val Pro Gln Ile
1 5

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

Val Leu Leu Asp Lys Ile Lys Asn Leu Gln Val
1 5 10

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Val Ala Asp Lys Ile His Ser Val
1 5

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Thr Phe Ala Pro Val Asn Val Thr Thr Glu Val Lys Ser Val
1 5 10

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

Lys Met Asp Ala Ser Leu Gly Asn Leu Phe Ala
1 5 10

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

Ala Leu Thr Gln Thr Gly Gly Pro His Val
1 5 10

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

Asn Leu Lys Gly Thr Phe Ala Thr Leu
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

Ala Leu Ala Ala Ile Leu Thr Arg Leu
1 5

<210> 51

<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

Ala Leu Met Leu Gln Gly Val Asp Leu
1 5

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Arg Met Val Glu Glu Ile Gly Val Glu Leu
1 5 10

<210> 53
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

Ser Ser Phe Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ser Val
1 5 10

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54

Val Leu Leu Ser Glu Ile Glu Val Ala
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Tyr Leu Asp Ala Met Met Asn Glu Ala
1 5

<210> 56
<211> 13
<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

Gly Leu Leu Asp Tyr Ala Thr Gly Ala Ile Gly Ser Val
1 5 10

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 57

Phe Leu Gly Lys Val Val Ile Asp Val
1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

Gly Leu Ala Ala Phe Lys Ala Phe Leu
1 5

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 59

Lys Leu Phe Asn Leu Ser Lys Glu Asp Asp Val
1 5 10

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

Tyr Leu Glu Glu Asp Val Tyr Gln Leu
1 5

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 61

Ala Leu Glu Lys Asp Tyr Glu Glu Val Gly Val
1 5 10

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

Ala Leu Glu Lys Asp Tyr Glu Glu Val
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

Phe Ala Gly Asp Asp Ala Pro Arg
1 5

<210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Phe Leu Val Ser Asn Met Leu Leu Ala Glu Ala
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Tyr Leu Tyr Asp Ser Glu Thr Lys Asn Ala
1 5 10

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

Ala Leu Leu Ser Gly Leu Arg Glu Ala
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

Lys Met Phe Phe Leu Ile Asp Lys Val
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

Lys Leu Leu Thr Glu Val His Ala Ala
1 5

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Val Met Ala Pro Phe Thr Met Thr Ile
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Phe Leu Val Asp Gly Ser Trp Ser Val
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Thr Leu Val Ala Ile Val Val Gly Val
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

Arg Leu Asp Asp Leu Lys Met Thr Val
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

Arg Leu Leu Asp Ser Val Ser Arg Leu
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

Gly Leu Thr Asp Asn Ile His Leu Val
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

Thr Leu Ser Ser Ile Lys Val Glu Val
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79

Val Leu Ala Pro Arg Val Leu Arg Ala
1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

Thr Leu Tyr Pro His Thr Ser Gln Val
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Ala Met Ser Ser Lys Phe Phe Leu Val
1 5

<210> 82
<211> 9

<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

Ser Ile Ser Asp Val Ile Ala Gln Val
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

Phe Leu Ile Asp Ser Ser Glu Gly Val
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

Asn Leu Leu Asp Leu Asp Tyr Glu Leu
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

Thr Val Ala Glu Val Ile Gln Ser Val
1 5

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

Ser Leu Leu Ala Gln Asn Thr Ser Trp Leu Leu
1 5 10

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Leu Leu Leu Gly Ser Pro Ala Ala Ala
1 5

<210> 88
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val
1 5 10

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 89

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

【發明申請專利範圍】

- 【請求項1】 一種由 SEQ ID NO：65 組成的胜肽之醫藥上可接受鹽類。
- 【請求項2】 一種由 SEQ ID NO：65 組成之胜肽或其醫藥上可接受鹽類用於藥物之用途。
- 【請求項3】 一種抗體用於藥物之用途，其中當 SEQ ID NO：65 組成之胜肽與 MHC 分子結合時，該抗體特異性地識別該胜肽。
- 【請求項4】 一種 T 細胞受體 (TCR) 用於藥物之用途，該 T 細胞受體能與 HLA 複合體中之 HLA 配體反應，其中該配體由 SEQ ID NO：65 組成。
- 【請求項5】 一種體外製備活化的 T 淋巴細胞 (activated T cell) 之方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人類 MHC I 類分子進行體外連接一段足夠的時間，從而以一抗原特異性方式活化該等 T 細胞，該些人類 MHC I 類分子表現在一合適的抗原呈現細胞表面上或人工構建體模擬的一抗原呈現細胞表面上，其中該抗原為如請求項 1 所述的由 SEQ ID NO：65 組成的胜肽之醫藥上可接受鹽類。
- 【請求項6】 一種活化的 T 淋巴細胞，其係藉由如請求項 5 所述之方法所生產，該活化的 T 淋巴細胞特異性地識別一細胞，該細胞表現由 SEQ ID NO：65 組成之胜肽。
- 【請求項7】 一種如請求項 1 所述之由 SEQ ID NO：65

組成之胜肽之醫藥上可接受鹽類、如請求項 6 所述之活化的 T 淋巴細胞、當 SEQ ID NO：65 組成之胜肽與 MHC 分子結合時特異性地識別該胜肽之一抗體、或能與 HLA 複合體中之由 SEQ ID NO：65 組成之 HLA 配體反應之一 T 細胞受體用於製造一藥物之用途，該藥物用於治療癌症。

【請求項 8】 如請求項 7 所述之用途，其中該癌症選自由腎癌、結腸癌、直腸癌、肝癌、卵巢癌及食管癌所組成之群組。

【發明圖式】

圖 1A
胜肽：FLAQQESEI (A*02) SEQ ID NO: 1



圖 1B
胜肽：SLQEEHVAVA (A*02) SEQ ID NO: 2

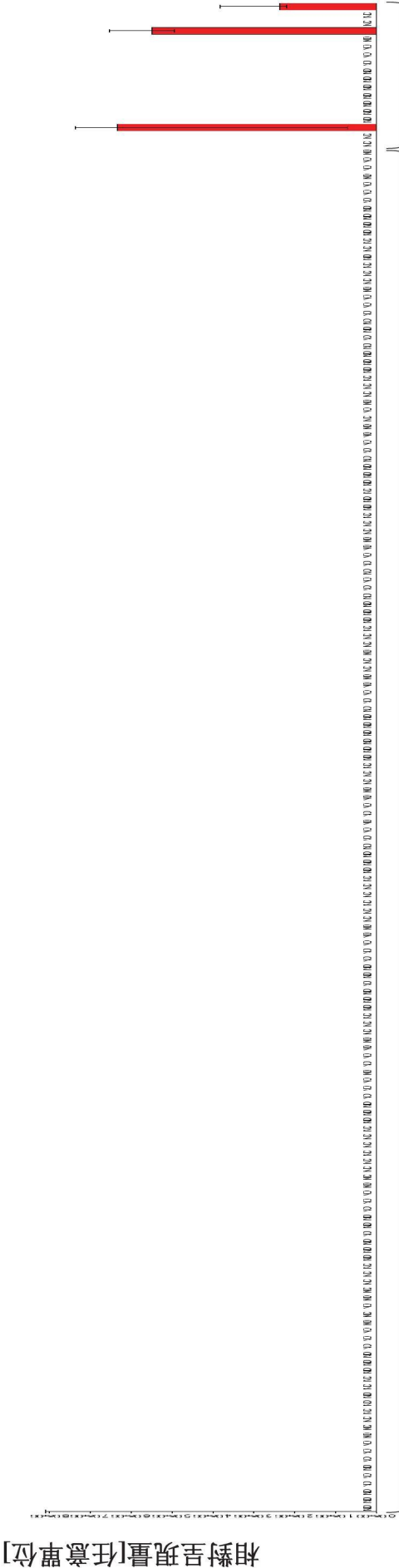


圖 1C
胜肽：FLVDGSSAL (A*02) SEQ ID NO: 10

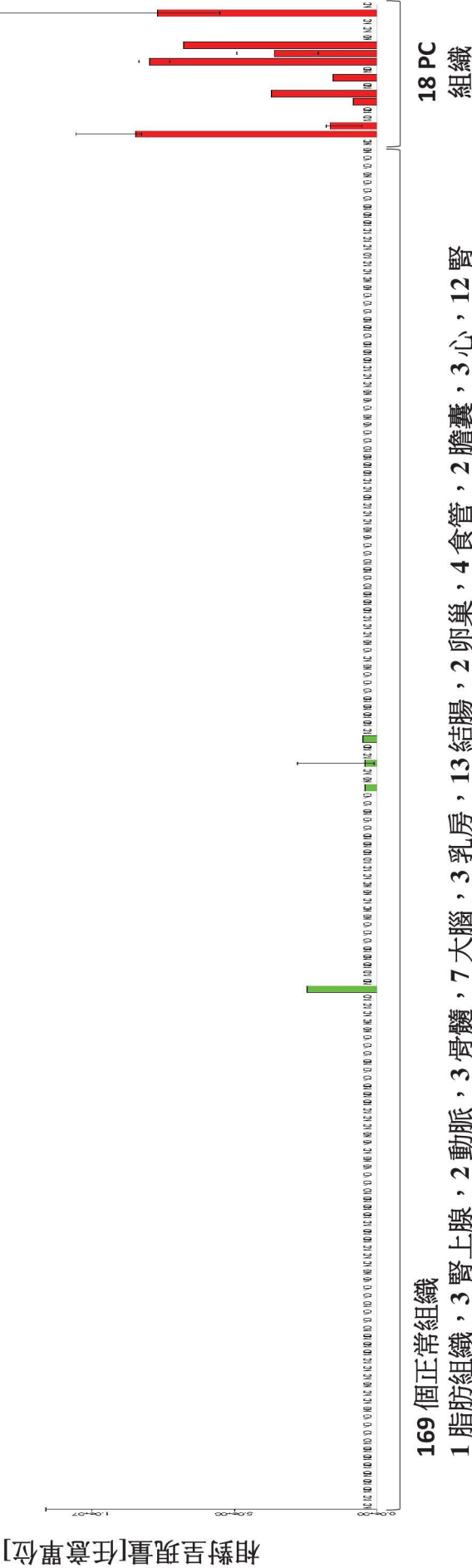
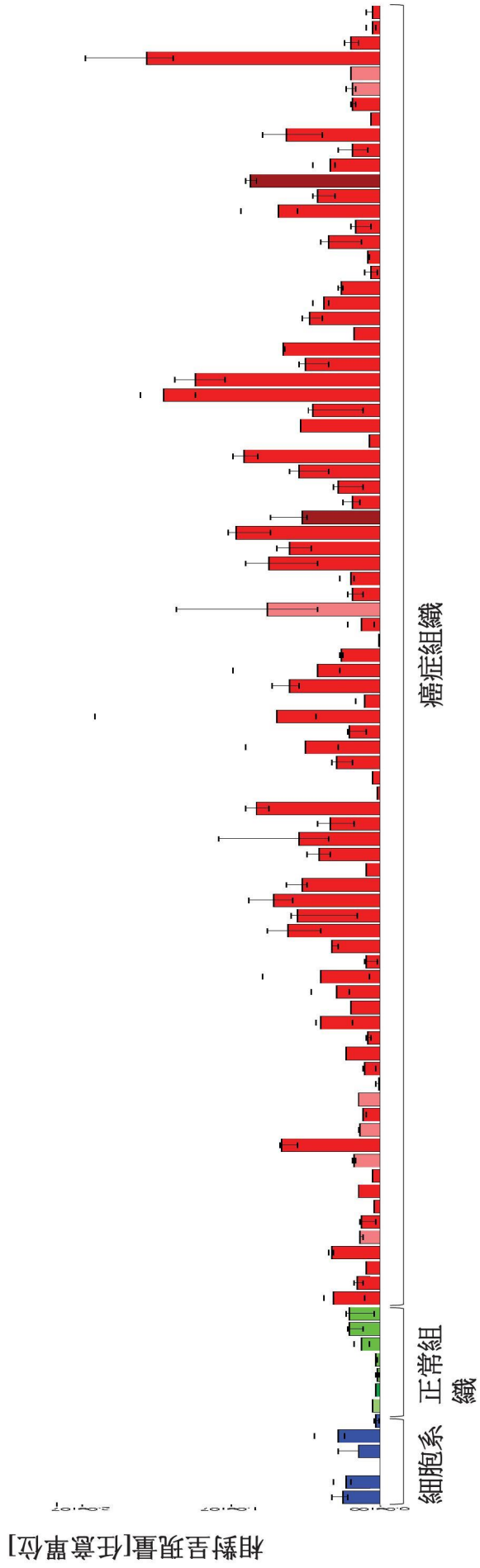


圖 1D
胜肽： FLFDGSANLV (A*02) SEQ ID NO: 9



胜肽檢測到在
5 胰腺癌細胞株，7 正常組織（1 結腸，6 肺），85 癌症組織（2 乳腺癌，6 結腸癌，4 食管癌，56 肺癌，5 胰腺癌，3 胃癌，1 黑色素瘤，5 胃癌）（從左到右）

圖 1E

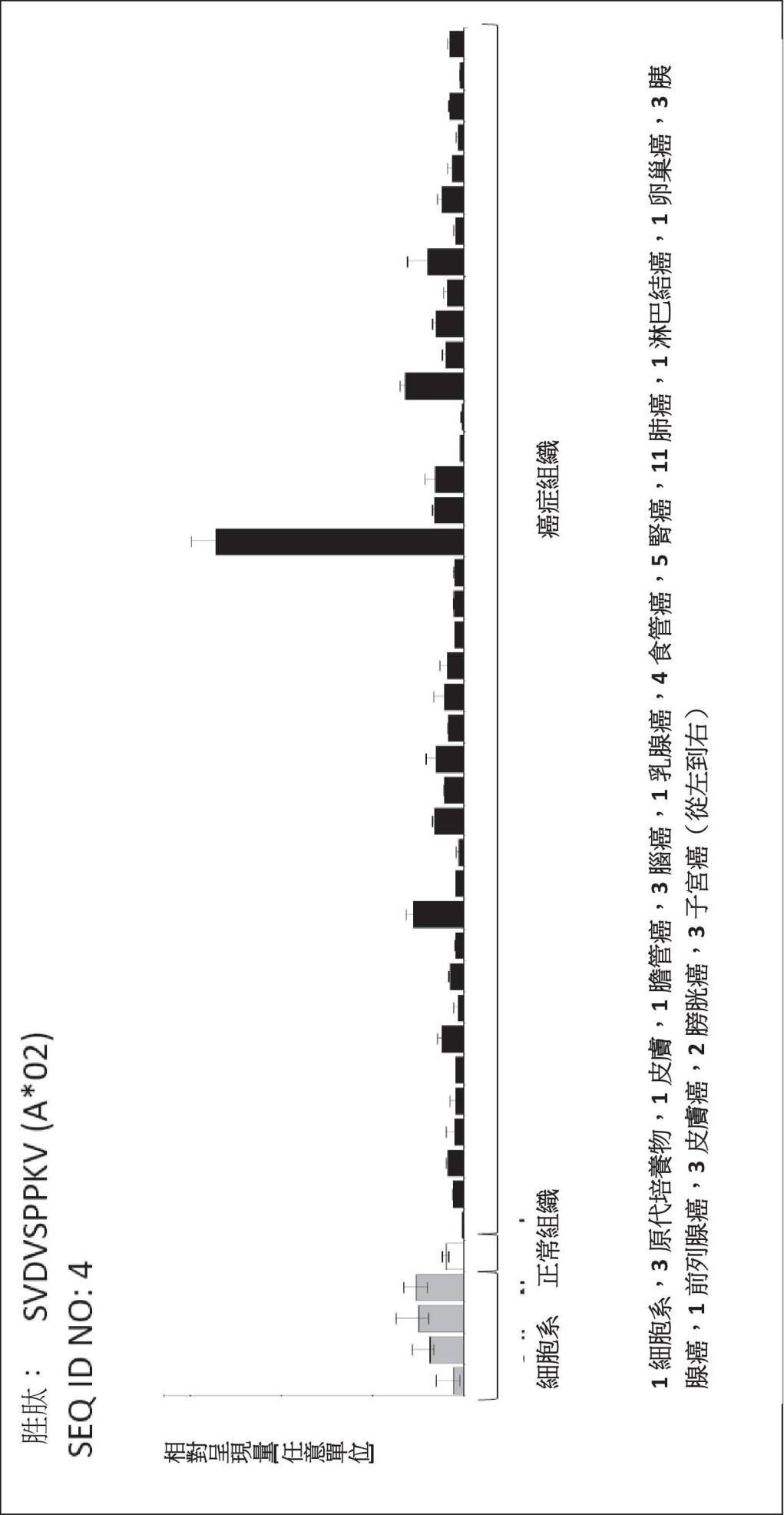
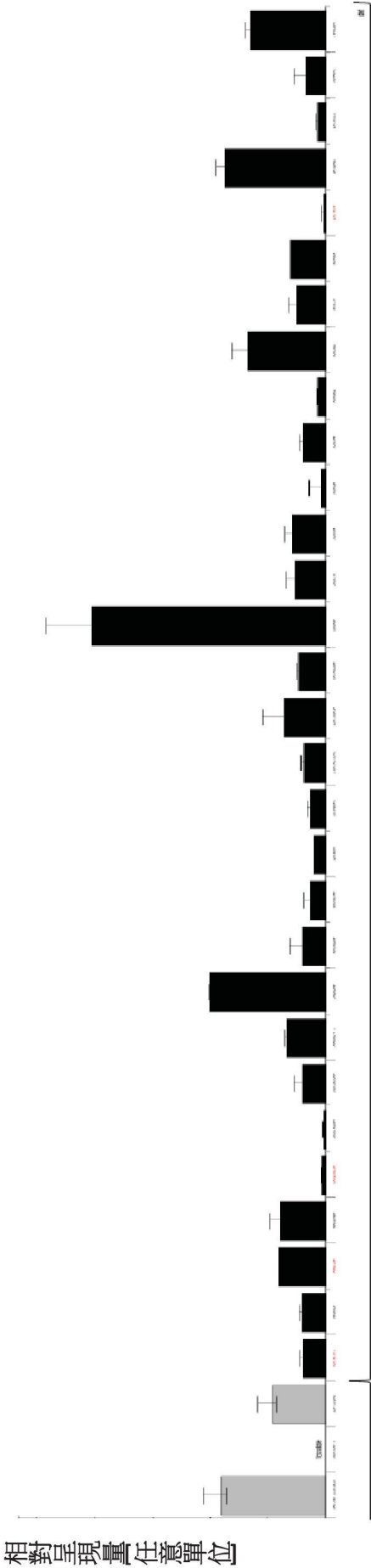


圖 1F

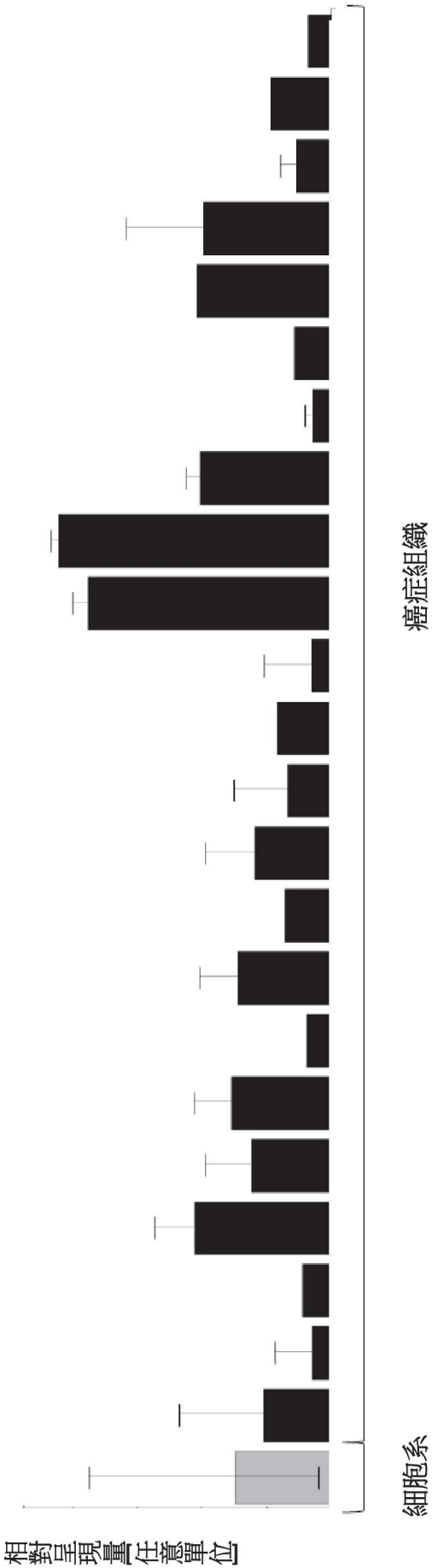
胜肽： LLVDDSFLHTV (A*02)
SEQ ID NO: 5



2 細胞系，1 原代培養物，1 膽管癌，2 腦癌，1 乳腺癌，3 食管癌，2 膽囊癌，2 腎癌，2 肝癌，3 肺癌，7 卵巢癌，2 胰腺癌，3 皮膚癌，1 胃癌，1 子宮癌（從左到右）

圖 1G

胜肽： IVDDLTLNL (A*02)
SEQ ID NO: 8



1 細胞系，1 結腸癌，2 食管癌，2 膽囊癌，5 肺癌，1 淋巴結癌，1 胰腺癌，2 皮膚癌，4 胃癌，1 膀胱癌，4 子宮癌（從左到右）

圖 1H

胜肽： LLAGQTYHV (A*02)
SEQ ID NO: 13

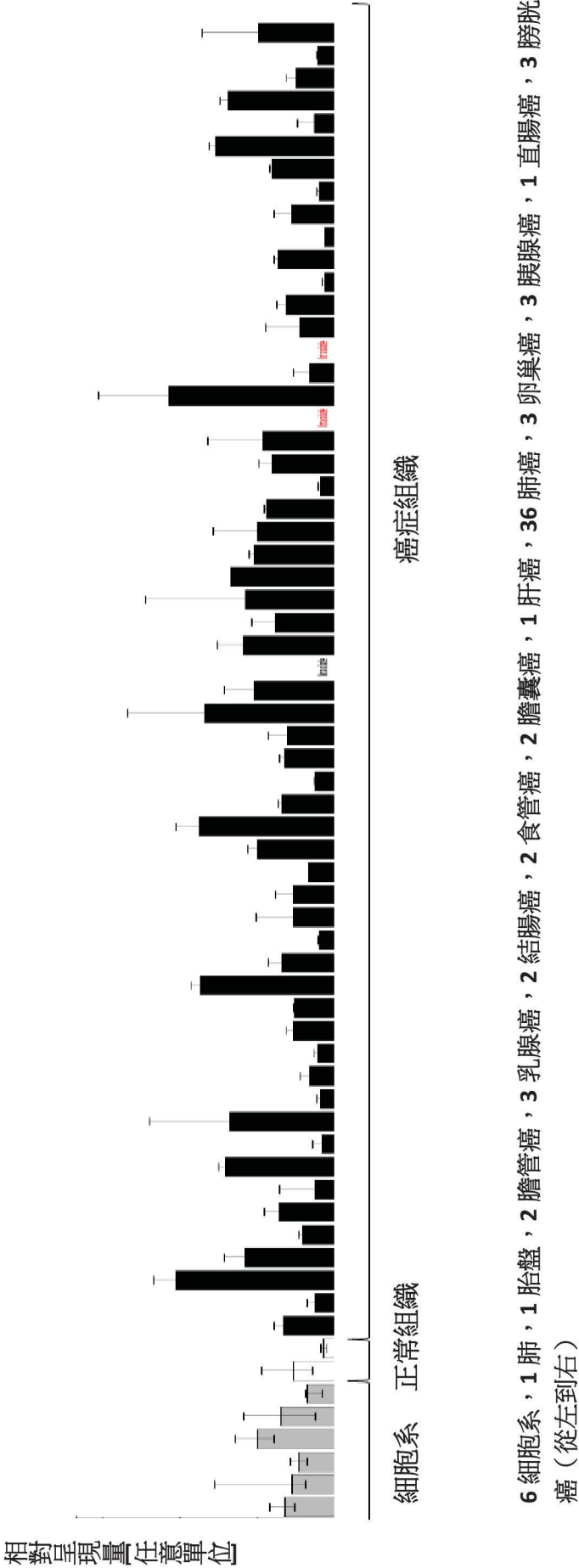
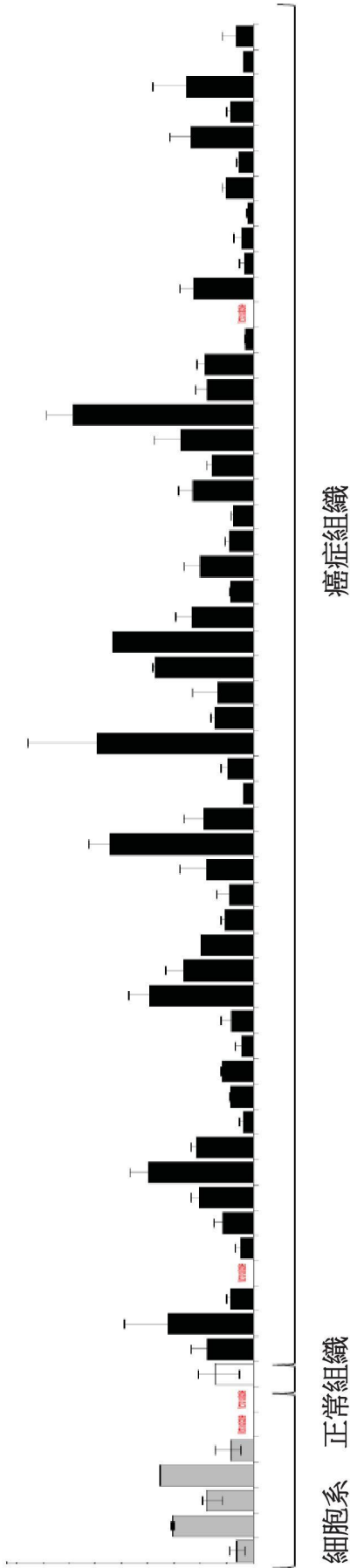


圖 1I

胜肽： VLAKPGVISV (A*02)
SEQ ID NO: 14

相對呈現量任意單位



7 細胞系，1 肺，1 膽管癌，4 乳腺癌，1 結腸癌，1 結腸癌，2 食管癌，1 膽囊癌，36 肺癌，1 卵巢癌，3 胰腺癌，2 直腸癌，1 胃癌，1 膀胱癌（從左到右）

图 2A 基因 LAM2

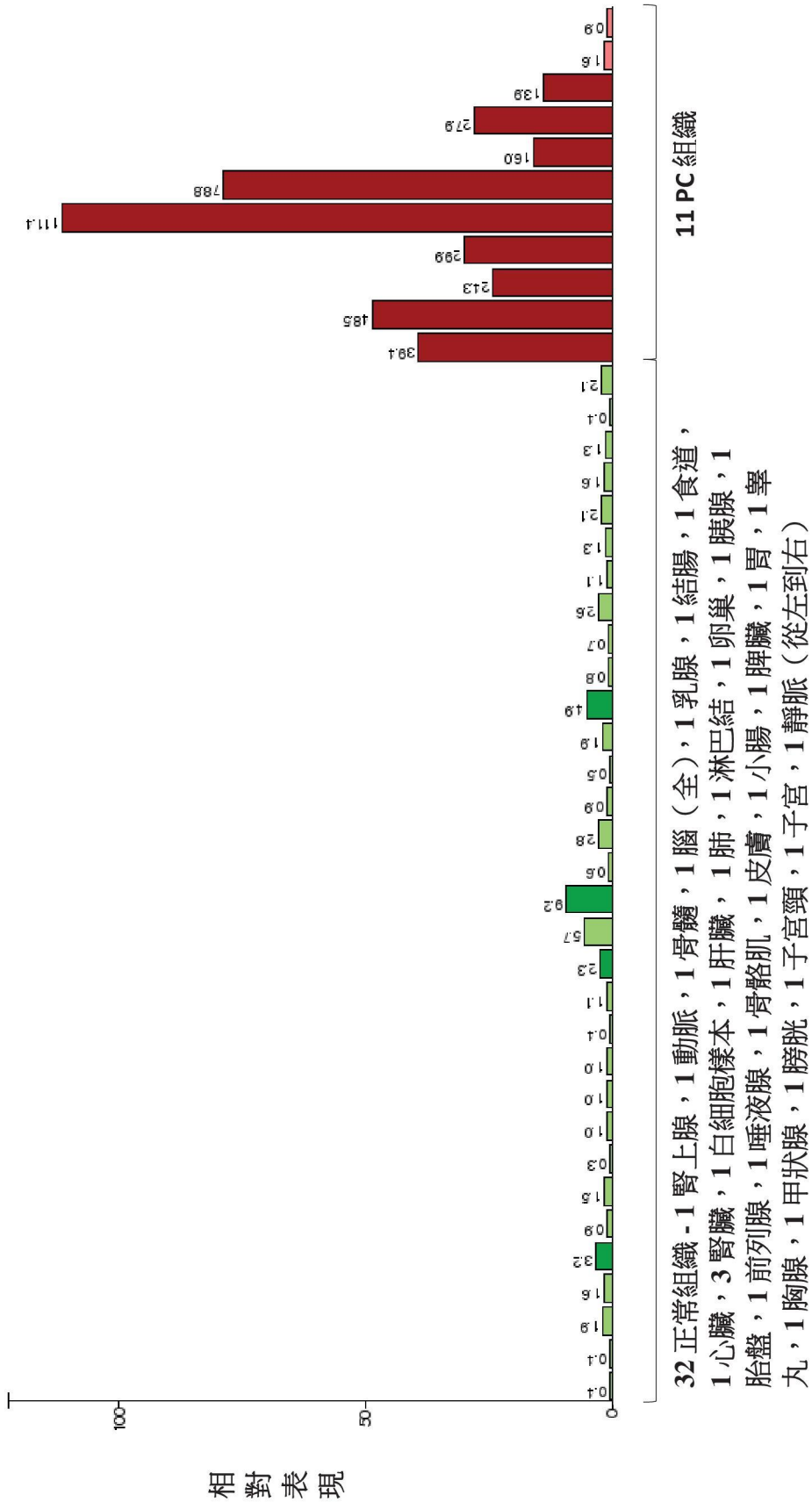


图 2B 基因 VCAN

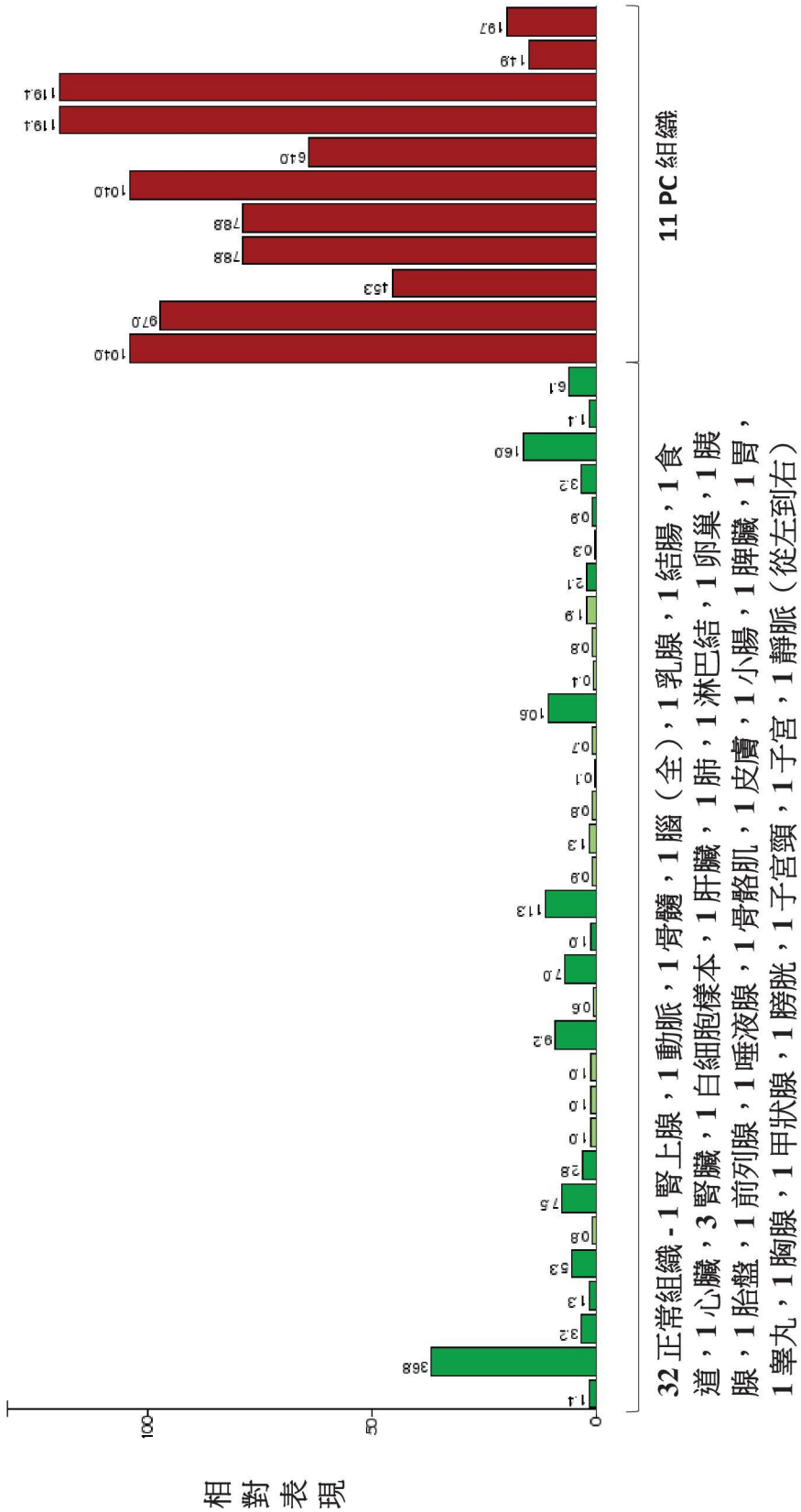


圖 2C 基因: FAP

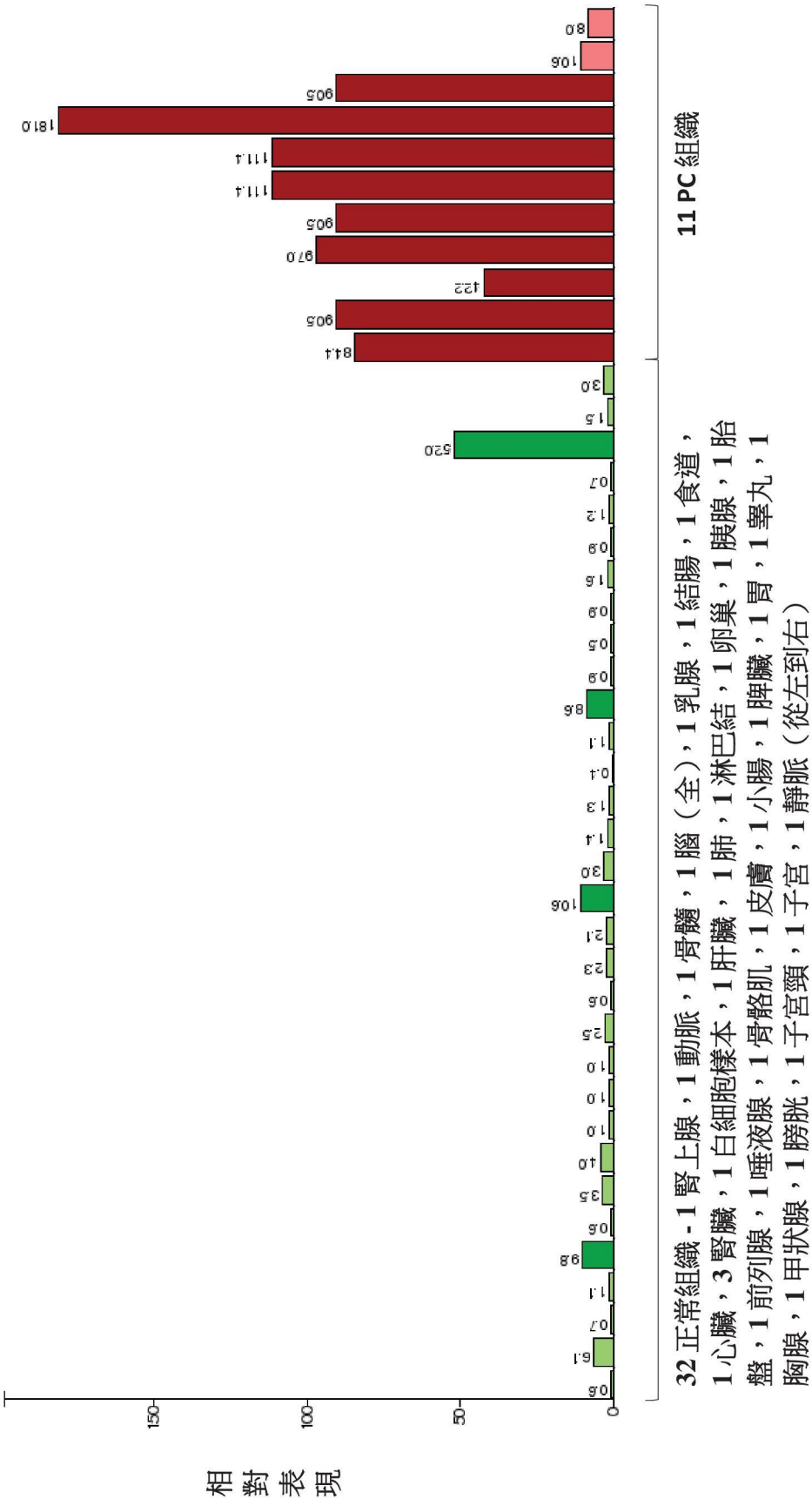


圖 3

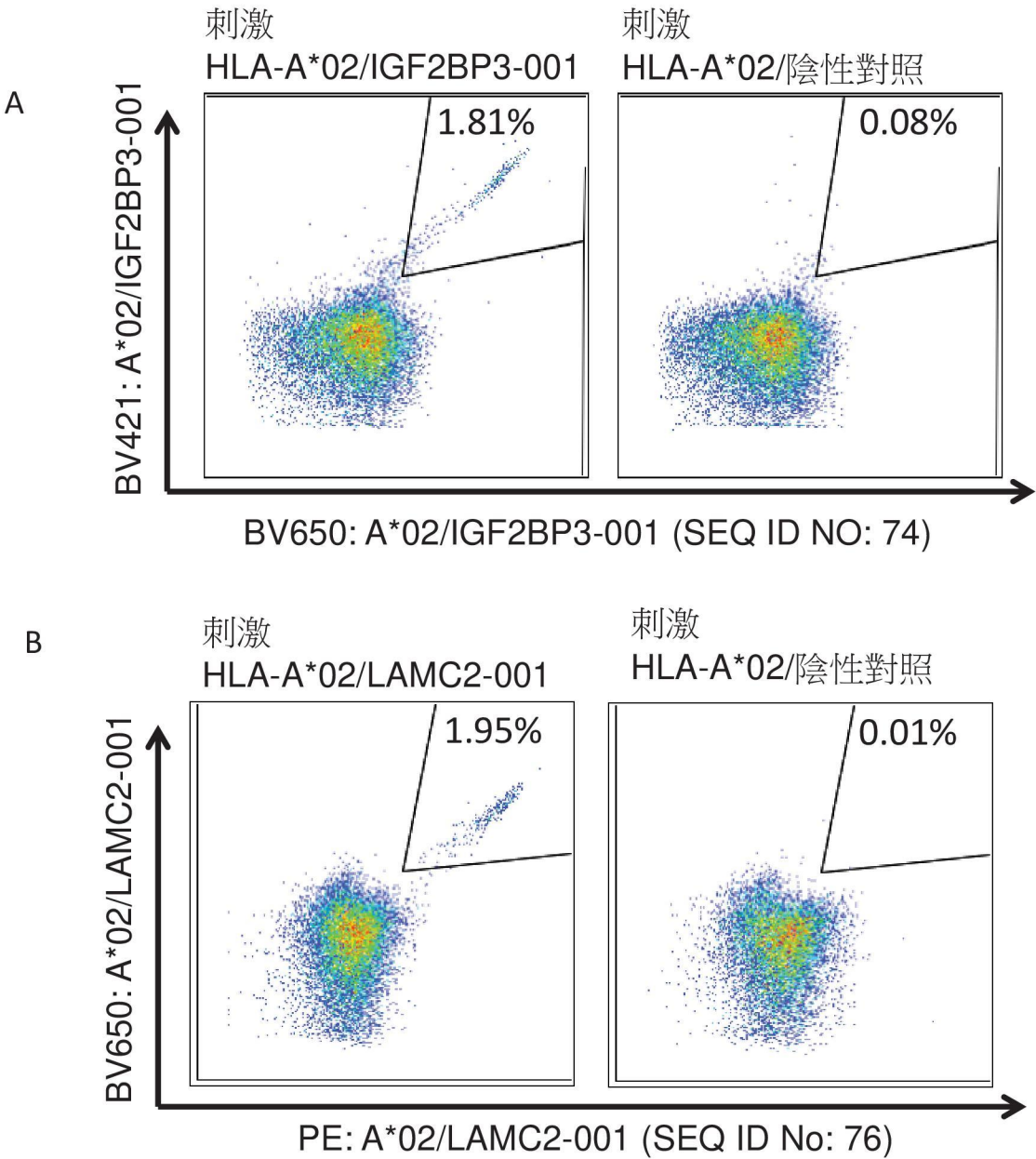


圖 3 (續)

