(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年2月3日(03.02.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/025093 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 39/00 (2006.01)　*A61P 37/04* (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)　*A61P 43/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)　*C07K 7/06* (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)　*C07K 16/18* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2021/027832

(22) 国際出願日：　2021年7月28日(28.07.2021)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

(30) 優先権データ：
特願 2020-128412　2020年7月29日(29.07.2020)　JP

(71) 出願人: ブライトパス・バイオ株式会社(**BRIGHTPATH BIOTHERAPEUTICS CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒2100821 神奈川県川崎市川崎区殿町三丁目２５番２２号 Kanagawa (JP).

(72) 発明者: 小▲高▼ 和彦 (**ODAKA, Kazuhiko**); 〒8300023 福岡県久留米市中央町２－４８ サンリヤン久留米駅前３０５ Fukuoka (JP).

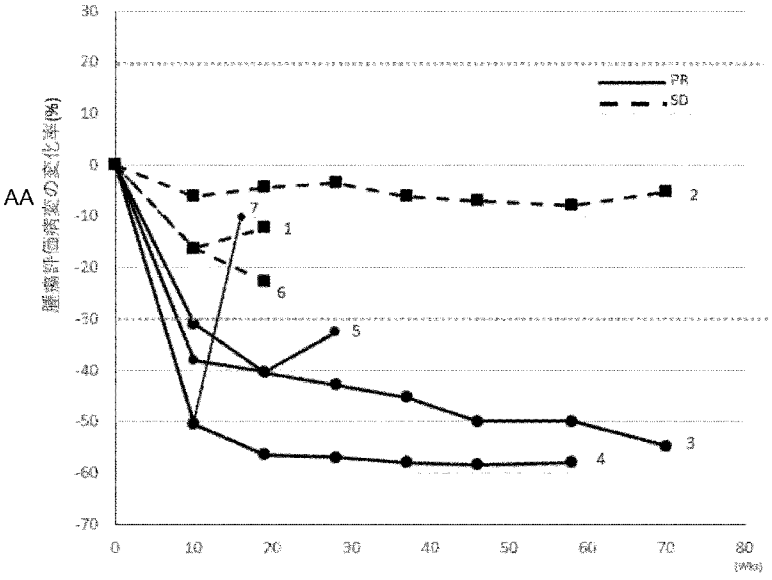
(74) 代理人: 山尾 憲人, 外 (**YAMAO, Norihito** et al.); 〒5300017 大阪府大阪市北区角田町８番１号梅田阪急ビルオフィスタワー 青山特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,

(54) **Title:** CANCER PEPTIDE VACCINE AND METHOD FOR PRODUCING SAME

(54) 発明の名称： がんペプチドワクチンおよびその製造方法

［図1］



AA... RATE OF CHANGE OF TUMOR ASSESSMENT LESION (%)

(57) **Abstract:** The present disclosure includes a cancer peptide vaccine that contains a peptide of the sequence Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu (SEQ ID NO: 1), a peptide of the sequence Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val (SEQ ID NO: 2), a peptide of the sequence Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val (SEQ ID NO: 3), and a peptide of the sequence Leu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu (SEQ ID NO: 4), a method for producing the same, and the like.

WO 2022/025093 A1

［続葉有］

KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則5.2(a))

(57) 要約: 本開示は、Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu(配列番号1)のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val(配列番号2)のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val(配列番号3)のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu(配列番号4)のペプチドを含むがんペプチドワクチン、およびその製造方法などを含む。

明　細　書

発明の名称 ： がんペプチドワクチンおよびその製造方法

技術分野

[0001] 本出願は、日本国特許出願第２０２０－１２８４１２号について優先権を主張するものであり、ここに参照することによって、その全体が本明細書中へ組み込まれるものとする。

本開示は、がんペプチドワクチンおよびその製造方法に関する。

背景技術

[0002] 世界では、年間約1,800万人が新たにがんを発症し、うち約960万人が死亡している。日本では、2019年のがん罹患数予測は約100万人であり、死亡数予測は約38万人とされている（https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/short_pred.html）。このようながんに対する主な治療方法としては、手術、放射線療法、化学療法、分子標的薬、抗体医薬、免疫療法、細胞治療等が開発されている。

[0003] 特に近年においては、CTLA-4やPD-1、PD-L1に代表される免疫チェックポイント分子をターゲットとした免疫チェックポイント阻害剤が開発された（特許文献１または２）。これらの阻害剤を用いた免疫療法は、従来の治療方法では達成し得なかった優れた臨床効果を得ることができることが示され、様々な免疫チェックポイント阻害剤の開発ならびにこれらを用いた治療方法の開発が盛んにおこなわれている。しかし、免疫チェックポイント阻害剤は、すべての患者において有効な臨床効果が得られるわけではなく、免疫チェックポイント阻害剤に不応答の患者はおおよそ2～5割存在し、また、臨床効果が得られないがん種も存在している。このため、免疫チェックポイント阻害剤の奏効率を高めるために、当該阻害剤と化学療法剤や分子標的薬等の薬剤の併用療法も盛んに検討がされている。

[0004] 免疫チェックポイント阻害剤と併用する薬剤の候補の一つとしては、同じく免疫療法に用いられる腫瘍抗原ペプチドを用いるがんワクチンが挙げられ

る。生体による腫瘍細胞の排除には、細胞性免疫、とりわけ細胞傷害性T細胞（CTLと称する）が重要な働きをしており、CTLは、腫瘍細胞上の抗原ペプチド、すなわち腫瘍抗原ペプチドとヒト白血球抗原（HLA）クラスI抗原との複合体を認識した前駆体T細胞が分化増殖して生成されるものであり、がん細胞を攻撃する。よって、腫瘍抗原ペプチドを薬剤として用い、がん細胞に対するCTLの活性を惹起し、がん細胞を攻撃させることにより、腫瘍縮小効果等の臨床効果を得ることができる。

[0005] このような腫瘍抗原ペプチドとしては、例えば、ルドウィヒ研究所で発見されたMAGE-A3抗原やEGFRvIII、gp100等の腫瘍特異的抗原由来のペプチドや、腫瘍関連抗原由来のペプチドが検討されてきた（特許文献３～７、非特許文献１～２６）。しかしながら、これらのペプチドを含むがんワクチンは単独では十分な臨床効果を得ることができず、現在においても承認されたがんワクチンは存在しない。また、例えば、免疫チェックポイント阻害剤との併用療法として、抗CTLA-4抗体とgp100ペプチドを含むがんワクチンとの併用試験も実施されたが、併用療法による効果を証明するには至らなかった（非特許文献２７）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第２０１１／０１１０２７号

特許文献2：国際公開第２００４／００４７７１号

特許文献3：国際公開第９９／６７２８８号

特許文献4：国際公開第００／１２７０１号

特許文献5：国際公開第０２／０１０３６９号

特許文献6：国際公開第２００９／０３８０２６号

特許文献7：国際公開第２０１４／１８１８０５号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Ito, M., et al., Molecular basis of T cell-mediated recognition of pancreatic cancer cells. Cancer Res, 2001. 61(5): p. 2038-

46.

非特許文献2：Tamura, M., et al., Identification of cyclophilin B-derived peptides capable of inducing histocompatibility leukocyte antigen-A2-restricted and tumor-specific cytotoxic T lymphocytes. Jpn J Cancer Res, 2001. 92(7): p. 762-7.

非特許文献3：Ito, M., et al., Identification of SART3-derived peptides capable of inducing HLA-A2-restricted and tumor-specific CTLs in cancer patients with different HLA-A2 subtypes. Int J Cancer, 2000. 88(4): p. 633-9.

非特許文献4：Tanaka, S., et al., Peptide vaccination for patients with melanoma and other types of cancer based on pre-existing peptide-specific cytotoxic T-lymphocyte precursors in the periphery. J Immunother, 2003. 26(4): p. 357-66.

非特許文献5：Yoshiyama, K., et al., Personalized peptide vaccination in patients with refractory non-small cell lung cancer. Int J Oncol, 2012. 40(5): p. 1492-500.

非特許文献6：Terazaki, Y., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in refractory small cell lung cancer. Cancer Sci, 2012. 103(4): p. 638-44.

非特許文献7：Noguchi, M., et al., Phase I trial of patient-oriented vaccination in HLA-A2-positive patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. Cancer Sci, 2004. 95(1): p. 77-84.

非特許文献8：Noguchi, M., et al., Immunological monitoring during combination of patient-oriented peptide vaccination and estramustine phosphate in patients with metastatic hormone refractory prostate cancer. Prostate, 2004. 60(1): p. 32-45.

非特許文献9：Noguchi, M., et al., Combination therapy of personalized peptide vaccination and low-dose estramustine phosphate for metastat

ic hormone refractory prostate cancer patients: an analysis of prognostic factors in the treatment. Oncol Res, 2007. 16(7): p. 341-9.

非特許文献10：Naito, M., et al., Dexamethasone did not suppress immune boosting by personalized peptide vaccination for advanced prostate cancer patients. Prostate, 2008. 68(16): p. 1753-62.

非特許文献11：Uemura, H., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination monotherapy in patients with castration-resistant prostate cancer. Cancer Sci, 2010. 101(3): p. 601-8.

非特許文献12：Noguchi, M., et al., Phase II study of personalized peptide vaccination for castration-resistant prostate cancer patients who failed in docetaxel-based chemotherapy. Prostate, 2012. 72(8): p. 834-45.

非特許文献13：Yamada, A., et al., Phase I clinical study of a personalized peptide vaccination available for six different human leukocyte antigen (HLA-A2, -A3, -A11, -A24, -A31 and -A33)-positive patients with advanced cancer. Exp Ther Med, 2011. 2(1): p. 109-117.

非特許文献14：Yamamoto, K., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination for patients with pancreatic cancer. Oncol Rep, 2005. 13(5): p. 875-83.

非特許文献15：Yanagimoto, H., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination with gemcitabine for pancreatic cancer. Cancer Sci, 2007. 98(4): p. 605-11.

非特許文献16：Yanagimoto, H., et al., A phase II study of personalized peptide vaccination combined with gemcitabine for non-resectable pancreatic cancer patients. Oncol Rep, 2010. 24(3): p. 795-801.

非特許文献17：Sato, Y., et al., Immunological evaluation of peptide vaccination for patients with gastric cancer based on pre-existing cellular response to peptide. Cancer Sci, 2003. 94(9): p. 802-8.

非特許文献18：Mochizuki, K., et al., Immunological evaluation of vaccination with pre-designated peptides frequently selected as vaccine candidates in an individualized peptide vaccination regimen. Int J Oncol, 2004. 25(1): p. 121-31.

非特許文献19：Sato, Y., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with a 5-fluorouracil derivative (TS-1) for advanced gastric or colorectal carcinoma patients. Cancer Sci, 2007. 98(7): p. 1113-9.

非特許文献20：Hattori, T., et al., Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with UFT and UZEL for metastatic colorectal carcinoma patients. Cancer Immunol Immunother, 2009. 58(11): p. 1843-52.

非特許文献21：Suekane, S., et al., Phase I trial of personalized peptide vaccination for cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma patients. Cancer Sci, 2007. 98(12): p. 1965-8.

非特許文献22：Matsumoto, K., et al., A phase I study of personalized peptide vaccination for advanced urothelial carcinoma patients who failed treatment with methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin. BJU Int, 2010. 108(6): p. 831-8.

非特許文献23：Tsuda N., et al., Vaccination with predesignated or evidence-based peptides for patients with recurrent gynecologic cancers. J Immunother, 2004. 27: p. 60-72

非特許文献24：Yajima, N., et al., Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. Clin Cancer Res, 2005. 11(16): p. 5900-11.

非特許文献25：Takahashi, R., et al., Phase II study of personalized peptide vaccination for refractory bone and soft tissue sarcoma patients. Cancer Sci, 2013. 104(10): p. 1285-94.

非特許文献26：Yoshida, K., et al., Characteristics of severe adverse events after peptide vaccination for advanced cancer patients: Analysis of 500 cases. Oncol Rep, 2011. 25(1): p. 57-62.

非特許文献27：F. Stephen Hodi, M.D., et al., Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma, N Engl J Med. 2010 Aug 19; 363(8): 711-723

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の目的の１つは、がんペプチドワクチンおよびその製造方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、がんペプチドワクチン、特に免疫チェックポイント阻害剤との併用に適したがんペプチドワクチンについて鋭意検討を行った。そして、本発明者らは、配列番号１～４の4種類のペプチドを含むがんペプチドワクチンがヒト被験者においてCTLを誘導し、特に免疫チェックポイント阻害剤との併用において優れた臨床効果を発揮することを見出した。また、前記4種類のペプチドを含むがんペプチドワクチンを安定的に製造し提供しうる処方およびその製造方法を見出した。

[0010] ある態様において、本開示は、Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含むがんペプチドワクチンを提供する。

[0011] さらなる態様において、本開示は、がんペプチドワクチンの製造方法であって、前記がんペプチドワクチンがAsn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４

）のペプチドを含み、前記方法が、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加することを含む方法を提供する。

発明の効果

[0012] 本開示のがんペプチドワクチンは、ヒト被験者においてCTLを誘導し、免疫チェックポイント阻害剤との併用において優れた臨床効果を発揮する。また、本開示の製造方法は、有効成分である腫瘍抗原ペプチドの溶解性および安定性が担保されたがんペプチドワクチンを提供することができ、医薬品の安定的な製造および供給を可能とする。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図１は、配列番号１～４のペプチドを含むペプチドカクテル製剤を投与した患者における腫瘍縮小効果を解析した結果を示す。

[図2]図２は、配列番号１～４のペプチドを含むペプチドカクテル製剤を投与した患者の末梢血単核球における各ペプチドに対するIFN-γ産生細胞数を解析した結果を示す。

発明を実施するための形態

[0014] 本開示のがんペプチドワクチンは、以下に示す配列番号１～４の4種類のペプチドを含む。

Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）

Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）

Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）

Leu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）

これらペプチドは、がん細胞が発現する腫瘍抗原タンパク質に由来するペプチド（本明細書中、腫瘍抗原ペプチドともいう）であり、HLAクラスIに拘束されるCTLに認識され、がん細胞に対する細胞傷害活性を誘導するペプチドである。本開示において、がんペプチドワクチンとは、がんを治療するためのペプチドワクチンと同義であり、腫瘍抗原ペプチドを有効成分とし、がん細胞に対する免疫応答を誘導することによりがんを治療する医薬を意味する。本開示において、「ペプチド」なる用語は、文脈上不適切でない限り、そ

の医薬的に許容される塩を包含する意味で用いられる。

[0015] 本開示における「医薬的に許容される塩」としては、酢酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、ギ酸塩、プロピオン酸塩、安息香酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、パラトルエンスルホン酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩、トリエチルアンモニウム塩、トリエタノールアンモニウム塩、ピリジニウム塩、ジイソプロピルアンモニウム塩などが挙げられる。

[0016] がんペプチドワクチンは、配列番号１～４の4種類のペプチドを含む単一の組成物であっても、配列番号１～４のペプチドのうちの1種類、または2種類または3種類の組み合わせをそれぞれ含む2以上の組成物を含むキットであってもよい。ある実施形態において、がんペプチドワクチンは、配列番号１～４のペプチドを含む組成物である。別の実施形態において、がんペプチドワクチンは、配列番号１～４のペプチドをそれぞれ含む4つの組成物を含むキットである。

[0017] ペプチドは、常套的な方法で製造することができ、例えば、PeptideSynthesis, Interscience, NewYork, 1966；The Proteins, Vol.2, Academic Press Inc, NewYork, 1976；ペプチド合成の基礎と実験、丸善（株）１９８５；医薬品の開発続第十四巻・ペプチド合成、広川書店、1991などに記載の方法が挙げられるが、これらに限らず公知の方法が広く利用可能である。ペプチドの精製・回収は、ゲルクロマトグラフィー、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー等のクロマトグラフィーや、硫安やアルコール等を用いた溶解度差に基づく分画手段などの公知の方法により、行うことができる。ペプチドのアミノ酸配列の情報に基づき、これらに特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を作製し、当該抗体を用いて特異的に吸着回収する方法も利用可能である。製造されたペプチドは、通常、当該ペプチドに加え、酢酸、塩酸、ナトリウム、トリフルオロ酢酸など

のカウンターイオンとの塩として回収される。かかる塩は、がんペプチドワクチン調製時の原薬として用いることができる。本開示においてペプチドの質量に言及する場合、塩ではなく遊離形態のペプチドの質量を意味する。

[0018] がんペプチドワクチンは、好ましくは、ペプチドに加え、1以上の医薬的に許容される添加物を含む。医薬的に許容される添加物としては、緩衝剤、抗酸化剤、保存剤、賦形剤、懸濁剤、等張化剤、キレート剤、界面活性剤などが挙げられ、具体的には、リン酸、クエン酸、および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンなどの抗酸化剤；オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、および塩化ベンゼトニウムなどの保存剤；ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、および免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、およびリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、およびデキストリンを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、およびソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；およびTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、およびポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

[0019] ある実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、グリシンを含む。配列番号１のペプチドは水溶液への溶解性が低いため、製剤化によりこれを改善することが好ましい。従来、ペプチドの水溶液への溶解性の改善には、炭酸水素ナトリウムが用いられていたが、炭酸水素ナトリウムは、特にペプチド製剤が凍結乾燥製剤である場合、炭酸水素ナトリウムから水が生成することにより凍結乾燥製剤中の水分含量が正確に測定できないといった問題点や、水溶液にした場合にpHが塩基性になるためペプチドが酸化しやすいといった問題点があった。実施例に示すように、グリシンを用いることにより、配列番号１のペプチドを水溶液に溶解することができ、また溶解後に沈殿が生じることなく、溶解安定性を向上させることができる。がんペプチド

ワクチンに含まれるグリシンの量に特に制限はないが、グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比が0.3～30、0.4～28、0.6～3.0、0.7～2.9、または0.8～2.8であることが好ましい。本開示において、「グリシン」なる用語は、文脈上不適切でない限り、その医薬的に許容される塩を包含する意味で用いられる。ある実施形態において、グリシンは、グリシン塩酸塩である。本開示おいてグリシンの質量に言及する場合、遊離形態のグリシンの質量を意味する。

[0020] ある実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、クエン酸を含む。ペプチドワクチンに含まれるクエン酸の量に特に制限はないが、クエン酸に対する配列番号２～４の各ペプチドの質量比が0.1～20または0.3～10であることが好ましい。本開示において、「クエン酸」なる用語は、文脈上不適切でない限り、その医薬的に許容される塩を包含する意味で用いられる。本開示おいてクエン酸の質量に言及する場合、遊離形態のクエン酸の質量を意味する。

[0021] ある実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、トレハロースを含む。がんペプチドワクチンに含まれるトレハロースの量に特に制限はないが、トレハロースに対する各ペプチドの質量比が0.01～1または0.02～0.3であることが好ましい。本開示においてトレハロースの質量に言及する場合、トレハロース無水物の質量を意味する。

[0022] さらなる実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、グリシンおよびトレハロース、またはグリシン、クエン酸、およびトレハロースを含む。

[0023] さらなる実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、以下の組成物を含む：

配列番号１のペプチド、グリシンおよびトレハロースを含む組成物、ここで、グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は2.67であり、トレハロースに対する配列番号1のペプチドの質量比は0.15である；

配列番号２のペプチド、クエン酸およびトレハロースを含む組成物、ここ

で、クエン酸に対する配列番号２のペプチドの質量比は1.04であり、トレハロースに対する配列番号２のペプチドの質量比は0.11である；

配列番号３のペプチド、クエン酸およびトレハロースを含む組成物、ここで、クエン酸に対する配列番号３のペプチドの質量比は5.21であり、トレハロースに対する配列番号３のペプチドの質量比は0.11である；

配列番号４のペプチド、クエン酸およびトレハロースを含む組成物、ここで、クエン酸に対する配列番号４のペプチドの質量比は5.21であり、トレハロースに対する配列番号４のペプチドの質量比は0.11である。

[0024] さらなる実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、配列番号１～４のペプチド、グリシンおよびトレハロースを含む組成物を含み、ここで、グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は0.8であり、トレハロースに対する各ペプチドの質量比は0.03である。

[0025] さらなる実施形態において、本開示のがんペプチドワクチンは、配列番号１～４のペプチドおよびグリシンを含む組成物を含み、ここで、グリシンに対する各ペプチドの質量比は0.8である。

[0026] がんペプチドワクチンの剤形は、特に制限はないが、水溶液製剤または凍結乾燥製剤が好ましく、ペプチドの安定性の観点から、凍結乾燥製剤がより好ましい。がんペプチドワクチンは、配列番号１～４の4種類のペプチドを含む製剤（例えば水溶液製剤または凍結乾燥製剤）であってもよく、配列番号１～４のペプチドのうちの1種類、または2種類または3種類の組み合わせをそれぞれ含む2以上の製剤（例えば水溶液製剤または凍結乾燥製剤）を含むキットであってもよい。好ましくは、がんペプチドワクチンは、配列番号１～４の4種類のペプチドを含む凍結乾燥製剤であり、より好ましくは、配列番号１～４の4種類のペプチドとグリシンとを含む凍結乾燥製剤である。

[0027] 本開示のがんペプチドワクチンは、水溶液の状態で投与される。がんペプチドワクチンが水溶液製剤である場合、そのまま患者に投与することができ、凍結乾燥製剤である場合、医薬的に許容される溶媒（例えば、精製水または注射用水）で溶解した後に投与される。がんペプチドワクチンが2以上の製

剤を含むキットである場合、各ペプチドを含む水溶液を別々に投与しても、混合して投与してもよい。ある実施形態において、がんペプチドワクチン投与時の水溶液のうち、配列番号１のペプチドを含む水溶液はpH3.5～5.0であり、配列番号２～４の各ペプチドを含む水溶液はpH3.0～8.0またはpH4.0～7.0である。別の実施形態において、がんペプチドワクチン投与時の水溶液は配列番号１～４の4種類のペプチドを含み、pH3.5～8.2である。さらなる実施形態において、がんペプチドワクチン投与時の水溶液は配列番号１～４の4種類のペプチドを含み、pH3.5～5.0である。さらなる実施形態において、がんペプチドワクチン投与時の水溶液は配列番号１～４の4種類のペプチドを含み、pH6.0～8.0である。例えば、がんペプチドワクチンは凍結乾燥製剤であり、医薬的に許容される溶媒で溶解した後の水溶液のpHが上記pHとなるものでありうる。

[0028] 本開示のがんペプチドワクチンは、ペプチドを医薬的に許容される添加物を含む水溶液に添加し、必要に応じて溶液のpHを調整し、ペプチドを含む水溶液を得ること、および必要に応じて得られた水溶液を凍結乾燥することを経て、製造することができる。溶液のpHは、例えば塩酸（HCl）や水酸化ナトリウム（NaOH）、またはリン酸緩衝液やヒスチジン緩衝液などの緩衝液などで調整することができる。ペプチドを含む水溶液は、必要に応じてろ過滅菌し、ガラスバイアル等の容器に充填して、水溶液製剤として提供してもよく、容器に充填後、凍結乾燥を行う工程を経て、凍結乾燥製剤として提供してもよい。

[0029] ペプチドを医薬的に許容される添加物を含む水溶液に添加する際、配列番号１～４のペプチドをそれぞれ別の水溶液に添加してもよく、配列番号１～４のペプチドの一部を組み合わせて同じ水溶液に添加してもよく、配列番号１～４のペプチドすべてを同じ水溶液に添加してもよい。ペプチドを含む水溶液を2種類以上得た場合、それらの水溶液をそれぞれ凍結乾燥し、2以上の凍結乾燥製剤を含むキットとしてもよく、凍結乾燥後の成分を混合し、単一の凍結乾燥製剤としてもよい。

[0030] 配列番号１のペプチドを医薬的に許容される添加物を含む水溶液に添加する際、添加後の水溶液中の配列番号１のペプチドの濃度が、20mg/mL以下、好ましくは3～20mg/mL、より好ましくは3mg～10mg/mLとなるように添加することが好ましい。ある実施形態において配列番号１のペプチドは、グリシンを含む水溶液に添加される。グリシンを含む水溶液は、pH3.5～5.0であることが好ましい。また、添加後の水溶液におけるグリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は、0.3～30、0.4～28、0.6～3.0、0.7～2.9、または0.8～2.8であることが好ましい。さらなる実施形態において、配列番号１のペプチドは、グリシンに加えトレハロースを含む水溶液に添加される。添加後の水溶液におけるトレハロースに対する配列番号１のペプチドの質量比は、例えば0.01～1または0.02～0.3である。配列番号１のペプチドを添加後の水溶液は、必要に応じてpHを調整し、pH3.5～5.0とすることが好ましい。

[0031] 配列番号２～４のペプチドを医薬的に許容される添加物を含む水溶液に添加する際、添加後の水溶液中の各ペプチドの濃度に特に制限はなく、例えば20～200mg/mLとなるよう添加することができるが、20mg/mL以下、好ましくは3～20mg/mL、より好ましくは3mg～10mg/mLとなるように添加することが好ましい。ある実施形態において、配列番号２～４のペプチドは、クエン酸を含む水溶液に添加される。クエン酸を含む水溶液は、例えばpH3.0～8.0またはpH4.0～7.0である。また、添加後の水溶液におけるクエン酸に対する各ペプチドの質量比は、例えば0.1～20または0.3～10である。さらなる実施形態において、配列番号２～４のペプチドは、クエン酸に加えトレハロースを含む水溶液に添加される。添加後の水溶液におけるトレハロースに対する各ペプチドの質量比は、例えば0.01～1または0.02～0.3である。配列番号２～４のペプチドを添加後の水溶液は、必要に応じてpHを調整し、pH3.0～8.0またはpH4.0～7.0とすることが好ましい。

[0032] 配列番号１～４の4種類のペプチドを1つの医学的に許容される添加物を含む水溶液に添加する場合、各ペプチドの濃度が、20mg/mL以下、好ましくは3～20mg/mL、より好ましくは3mg～10mg/mLとなるように添加することが好まし

い。医学的に許容される添加物を含む水溶液は、pH3.5～5.0であることが好ましい。ある実施形態において、これらの4種類のペプチドは、グリシンを含む水溶液に添加される。添加後の水溶液におけるグリシンは、配列番号１との関係において、グリシンに対する配列番号1のペプチドの質量比が、0.3～30、0.4～28、0.6～3.0、0.7～2.9、または0.8～2.8であることが好ましい。さらなる実施形態において、これらの4種類のペプチドは、グリシンに加えクエン酸を含む水溶液に添加される。添加後の水溶液におけるクエン酸に対する各ペプチドの質量比は、例えば0.1～20または0.3～10である。さらなる実施形態において、これらの4種類のペプチドは、グリシンに加え、またはグリシンおよびクエン酸に加え、トレハロースを含む水溶液に添加される。添加後の水溶液におけるトレハロースに対する各ペプチドの質量比は、例えば0.01～1または0.02～0.3である。配列番号１～４のペプチドを添加後の水溶液は、必要に応じてpHを調整し、pH3.5～8.2とすることが好ましい。配列番号１～４のペプチドを添加後の水溶液は、pH3.5～5.0またはpH6.0～8.0としてもよい。

[0033] さらなる実施形態において、

配列番号１のペプチドはグリシンおよびトレハロースを含む水溶液に添加され、グリシンおよびトレハロースを含む水溶液はpH3.5であり、添加後の水溶液におけるグリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は2.67であり、トレハロースに対する配列番号1のペプチドの質量比は0.15であり、必要に応じて添加後の水溶液はpH3.5に調整され；

配列番号２のペプチドはクエン酸およびトレハロースを含む水溶液に添加され、クエン酸およびトレハロースを含む水溶液はpH4であり、添加後の水溶液におけるクエン酸に対する配列番号２のペプチドの質量比は1.04であり、トレハロースに対する配列番号２のペプチドの質量比は0.11であり、必要に応じて添加後の水溶液はpH4に調整され；

配列番号３のペプチドはクエン酸およびトレハロースを含む水溶液に添加され、クエン酸およびトレハロースを含む水溶液はpH7であり、添加後の水溶

液におけるクエン酸に対する配列番号３のペプチドの質量比は5.21であり、トレハロースに対する配列番号３のペプチドの質量比は0.11であり、必要に応じて添加後の水溶液はpH7に調整され；

配列番号４のペプチドはクエン酸およびトレハロースを含む水溶液に添加され、クエン酸およびトレハロースを含む水溶液はpH6であり、添加後の水溶液におけるクエン酸に対する配列番号４のペプチドの質量比は5.21であり、トレハロースに対する配列番号４のペプチドの質量比は0.11であり、必要に応じて添加後の水溶液はpH6に調整され；

添加後の各ペプチドの濃度は10mg/mLである。

[0034] さらなる実施形態において、

配列番号１～４のペプチドは、グリシンおよびトレハロースを含む水溶液に添加され、グリシンおよびトレハロースを含む水溶液はpH3.5であり、添加後の水溶液におけるグリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は0.8であり、添加後の水溶液におけるトレハロースに対する各ペプチドの質量比は0.03であり、添加後の各ペプチドの濃度は約3mg/mLであり、必要に応じて添加後の水溶液はpH3.5に調整される。

[0035] さらなる実施形態において、

配列番号１～４のペプチドは、グリシンを含む水溶液に添加され、グリシンを含む水溶液はpH3.5であり、添加後の水溶液におけるグリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比は0.8であり、添加後の各ペプチドの濃度は約3mg/mLであり、必要に応じて添加後の水溶液はpH6.0-8.0に調整される。

[0036] 本開示のがんペプチドワクチンの対象となるがんの種類は特に限定されない。例えば、がんとしては、前立腺がん、膵臓がん、大腸がん、肺がん（非小細胞肺がんを含む）、造血器腫瘍、脳腫瘍、子宮がん、子宮頸がん、胃がん、黒色腫（悪性黒色腫を含む）、甲状腺がん、肝臓がん、食道がんが挙げられる。好ましくは、本開示のがんペプチドワクチンは、前立腺がん、脳腫瘍、黒色腫（悪性黒色腫を含む）、または肺がん（非小細胞肺がんを含む）に用いられる。特に好ましくは、本開示のがんペプチドワクチンは、黒色腫

（悪性黒色腫を含む）または肺がん（非小細胞肺がんを含む）に用いられる。

[0037] がんペプチドワクチンは、さらにアジュバントを含んでもよく、アジュバントとともに投与されてもよい。アジュバントとしては、ペプチドの水溶液をエマルション化することでペプチドの投与局所への貯留性を高める不完全フロイントアジュバント（例えばISA-51等、SEPPIC社）やプルランなどの多糖類や、完全フロイントアジュバント、BCG、アラム、GM-CSF、IL-2、CpG等の免疫増強作用を有するものを使用することができる。好ましくは、アジュバントはGM-CSFである。

[0038] がんペプチドワクチンは、通常、患者の皮内または皮下へ投与される。ペプチドは、例えば静脈注射等により投与されると速やかに分解されてしまい、免疫応答を十分に引き起こすことができないためである。また、抗原を捕獲し、HLA分子を介して細胞表面上に提示して、CTL等のT細胞を活性化する抗原提示細胞が、皮内または皮下に存在することから、皮内または皮下へ投与することで細胞傷害活性を示すCTL等を効率よく活性化できるためである。投与部位は、特に制限はないが、投与開始時から可能な限りがんの病変に近いリンパ節付近とすることが好ましく、例えば上腕部、大腿部などが挙げられる。また、投与の副作用により投与部位に炎症等が発生して投与が困難になった場合は、他の部位（腹部など）に投与してもよい。

[0039] がんペプチドワクチンは、所望の効果を発揮しうる量（本明細書において「有効量」ともいう）で患者に投与される。投与量は、皮内または皮下投与が許容される量であれば特に制限はないが、好ましくは、1種類のペプチドにつきペプチドの乾燥粉末の質量で、0.1mg以上、好ましくは、0.1mg～3mg、より好ましく1mg～3mgである。

[0040] ペプチドの投与頻度は、免疫応答が得られる頻度であればよく、1日、2日、3日、4日、5日、または6日に1回投与しても、1週、2週、3週、4週、5週、または6週に1回投与してもよく、途中で投与頻度を変更してもよい。例えば、1週1回の投与を4回行った後、3週～4週に1回の投与を継続してもよい。ペ

プチドの投与回数は、例えば、少なくとも8回、好ましくは16回以上である。患者が投与に耐えうる限り投与回数に上限はないが、実施例に記載の臨床試験では最大84回まで投与した実績があり、少なくとも当該回数までは投与可能である。

[0041] がんペプチドワクチンを患者に投与すると、患者体内で投与されたペプチドに対するCTLが活性化され、がん細胞が排除され、臨床効果を得ることができる。

[0042] がんペプチドワクチンは、1以上の他の抗腫瘍薬または治療方法と併用されてもよい。各患者のがん細胞はヘテロな集団であり、免疫応答では排除しきれない細胞や、抗腫瘍薬やホルモン療法等に耐性を持つ細胞が存在していることから、本開示のがんペプチドワクチンと他の抗腫瘍薬や治療方法とを併用することによって、がん病変の縮小や生存期間の延長等の臨床効果を高めることができる。

[0043] ある実施形態において、抗腫瘍薬は、免疫チェックポイント阻害剤である。免疫チェックポイント阻害剤は、癌細胞や抗原提示細胞による免疫抑制作用を阻害する。免疫チェックポイント阻害剤としては、例えば、以下の分子に対する薬剤（例えば、抗体）が挙げられる：CTLA-4（イピリムマブ、トレメリムマブなど）、PD-1（ニボルマブ、ペムブロリズマブ、AMP-224、AMP-514（MEDI0680）、ピディリズマブ（CT-011）など）、LAG-3（IMP-321、BMS-986016など）、BTLA、KIR（IPH2101など）、TIM-3、PD-L1（Durvalumab（MEDI4736）、MPDL3280A、BMS-936559、アベルマブ（MSB0010718C）など）、PD-L2、B7-H3（MGA-271など）、B7-H4、HVEM、GAL9、CD160、VISTA、BTNL2、TIGIT、PVR、BTN1A1、BTN2A2、BTN3A2、およびCSF1-R。好ましい実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1に対する薬剤、例えば抗PD-1抗体（ニボルマブ、ペムブロリズマブ、AMP-514（MEDI0680）、ピディリズマブ（CT-011）など）である。

[0044] 抗腫瘍薬としては、さらに、アルキル化剤、代謝拮抗剤、植物アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害薬、微小管重合阻害薬、分子標的薬などが挙げら

れ、具体的には、5-FU、エストラムスチン、ドセタキセル、テモゾロミド、シスプラチン、ミトキサントロン、ジェムザール、リツキシマブなどが挙げられる。治療方法としては、手術、放射線療法、ホルモン療法（デキサメタゾン、プレゾニゾロン、エストロゲン、プロゲストロンなどのステロイドやリュープリンなどのアナログ剤）などが挙げられる。

[0045] 本開示において、併用とは、同一の患者のがんの治療に同時にまたは逐次使用されることを含み、その順序は問わない。がんペプチドワクチンと他の抗腫瘍薬や治療方法とを併用する場合、がんペプチドワクチンがCTL等の血球系の細胞を活性化して効果を発揮することから、造血系や免疫応答の活性化に影響を及ぼさない範囲で他の抗腫瘍薬や治療方法を使用することが好ましい。例えば、抗腫瘍薬の投与後リンパ球数が（例えば、1,000個/mL以上に）回復してからがんペプチドワクチンを投与する、がんペプチドワクチンを投与した後に他の抗腫瘍薬や治療方法を用いる、あるいはがんペプチドワクチンの投与期間中に白血球数やリンパ球数の減少を起こさない範囲で他の抗腫瘍薬や治療方法を用いる、などの方法が考えられる。

[0046] さらなる態様において、本開示は、がんを治療するための方法であって、Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含むがんペプチドワクチンを患者に投与することを含む方法に関する。

[0047] さらなる態様において、本開示は、がんペプチドワクチンの製造のための、Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドの使用に関する。

[0048] 本発明の例示的な実施形態を以下に記載する。

［１］

Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含む、がんペプチドワクチン。

［２］

さらにグリシンを含む、前記１に記載のがんペプチドワクチン。

［３］

グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比が0.3～30である、前記１または２に記載のがんペプチドワクチン。

［４］

凍結乾燥製剤である、前記１～３のいずれかに記載のがんペプチドペプチドワクチン。

［５］

免疫チェックポイント阻害剤と併用される、前記１～４のいずれかに記載のがんペプチドワクチン。

［６］

免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD-1抗体である、前記５に記載のがんペプチドワクチン。

［７］

抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、前記６に記載のがんペプチドワクチン。

[0049] ［８］

がんペプチドワクチンの製造方法であって、前記がんペプチドワクチンがAsn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含み、前記方法が、

グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加することを含む、方法。

［９］

グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比が0.3～30である水溶液を提供するよう、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加する、前記８に記載の方法。

［１０］

グリシンを含有する水溶液がpH3.5～5.0である、前記８または９に記載の方法。

［１１］

ペプチド濃度が20mg/mL以下である水溶液を提供するよう、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加する、前記８～１０のいずれかに記載の方法。

［１２］

配列番号１のペプチドを含む水溶液、配列番号２のペプチドを含む水溶液、配列番号３のペプチドを含む水溶液、および配列番号４のペプチドを含む水溶液をそれぞれ提供することを含む、前記８～１１のいずれかに記載の方法。

［１３］

前記水溶液をそれぞれ凍結乾燥することをさらに含む、前記１２に記載の方法。

［１４］

配列番号１のペプチド、配列番号２のペプチド、配列番号３のペプチド、および配列番号４のペプチドを含む水溶液を提供することを含む、前記８～１１のいずれかに記載の方法。

［１５］

前記ペプチドを含む水溶液のpHをp3.5～8.2に調製することを含む、前記１４に記載の方法。

［１６］

前記水溶液を凍結乾燥することをさらに含む、前記１４または１５に記載の方法。

[0050] ［１７］

がんを治療するための方法であって、有効量の前記１～７のいずれかに記載のがんペプチドワクチンを患者に投与することを含む、方法。

［１８］

さらに免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む、前記１７に記載の方法。

［１９］

免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD-1抗体である、前記１８に記載の方法。

［２０］

抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、前記１９に記載の方法。

[0051] 以上の記載は本発明を限定するものでなく、当業者は本開示の範囲内で種々の改変を行うことができる。また、本発明を以下の実施例によってさらに詳細に説明するが、本発明は記載される実施例に制限されるものではない。

実施例

[0052] （試験例1）ペプチドの溶解性検討

Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチド原薬（純度95w/w%以上、PPL社）を用いて、ペプチドの溶解性を検討した。まず、270mMのトレハロースを含むpH3.0からpH8.0までの10mMのクエン酸緩衝液（Citrate）またはリン酸緩衝液（Phosphate）を調製し、それぞれの緩衝液に、所定のペプチド濃度となるようにペプチド原薬を添加して攪拌後、室温で24時間静置して溶解するかを評価した。溶解したペプチドの濃度ならびにその結果を表１に示す。

[表1]

	配列番号1			配列番号2			配列番号3			配列番号4		
pH	緩衝液量 (mL)	最終濃度 (mg/mL)	結果	緩衝液量 (mL)	最終濃度 (mg/mL)	結果	緩衝液量 (mL)	最終濃度 (mg/mL)	結果	緩衝液量 (mL)	最終濃度 (mg/mL)	結果
10 mM Citrate pH 3.0	15	20	白濁	1.5	66.67	溶解	0.5	200	溶解	5	20	溶解
10 mM Citrate pH 3.5	15	20	白濁	1.5	66.67	溶解	0.5	200	溶解	5	20	溶解
10 mM Citrate pH 4.0	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	3.5	28.6	溶解
10 mM Citrate pH 5.0	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	5	20	溶解
10 mM Citrate pH 6.0	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	3.5	28.6	溶解
10 mM Phosphate pH 7.0	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	4	25	溶解
10 mM Phosphate pH 7.5	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	4	25	溶解
10 mM Phosphate pH 8.0	15	20	白濁	1	100	溶解	0.5	200	溶解	4	25	溶解

[0053] 表１の結果から、配列番号２～４のペプチドは、少なくとも20mg/mL～200mg/mLの範囲で溶解し得ることが分かった。しかしながら、配列番号１のペプ

チドは、20mg/mLの最終濃度では、いずれの条件においても溶解することができなかった。

[0054] （試験例2）配列番号１の溶解性検討

試験例1において配列番号１のペプチドを溶解することができなかったため、さらに配列番号１について追加の条件検討を行った。

[0055] 配列番号１のペプチド原薬（純度95w/w%以上、PPL社）を用いて、以下の通り溶解性を検討した。まず、270mMのトレハロースを含む10～500mMのグリシン-HCl緩衝液をpH2.5～3.5まで調製し、それぞれの緩衝液2mLに、それぞれのペプチド濃度が10～25mg/mLとなるようにペプチド原薬を添加し、攪拌した。室温で24時間静置した後、ペプチドの溶解性および溶解後のペプチド溶液のpHを室温（25℃）で評価した。結果を表２に示す。

[表2]

pH	グリシン		溶解後のpH	ペプチド最終濃度 (mg/mL)	結果	質量比 ペプチド(mg)/グリシン(mg)
	mM	mg/mL				
2.5	10	0.75	3.86	20	溶解	26.67
3	10	0.75	4.10	20	溶解	26.67
3.5	10	0.75	4.22	20	溶解	26.67
3.5	50	3.75	3.8	10	溶解	2.67
3.5	50	3.75	4.08	25	白濁	6.67
3.5	100	7.5	3.7	10	溶解	1.33
3.5	100	7.5	3.92	25	白濁	3.33
3.5	200	15	3.65	10	溶解	0.67
3.5	300	22.5	3.57	10	溶解	0.44
3.5	500	37.5	3.61	25	白濁	0.67

[0056] 表２の結果から、グリシン-HCl緩衝液を用いると配列番号１のペプチドを溶解することができるが、ペプチド濃度が25mg/mLではグリシン濃度が最も高い500mMでも溶解することができないことから、ペプチドの濃度は20mg/mL以下が好適であることが分かった。また、グリシンに対するペプチドの質量比（peptide/glycine）が0.44～26.67の範囲であればペプチドを溶解し得ることが分かった。加えて、溶解後のpHが3.57～4.22の範囲であれば安定的にペプチドを溶解し得ることが分かった。

[0057] （試験例3）ペプチドの安定性評価

試験例1および試験例2の結果を踏まえ、ペプチドの安定性を評価するための試験を行った。まず、配列番号１～４のペプチドの最終濃度が10mg/mLとなるように表３に示すそれぞれの緩衝液にペプチド原薬（純度95w/w%以上、PPL社）を溶解してペプチド溶液を調製し、25℃/60%湿度または40℃/75%湿度で24時間および48時間の保管を行い、ペプチドの安定性を評価した。評価にあたっては、ペプチド溶液調製時、および24時間ならびに48時間の時点でそれぞれサンプルを回収し、-20℃で保管しておき、すべてのサンプルがそろった時点でHPLCを用いてペプチドの濃度を測定し、調製時(T=0)との比較を行った。結果を表３に示す。

[表3]

ペプチド	緩衝液	T0	T=24h 25°C/60%RH		T=24h 40°C/75%RH		T=48h 25°C/60%RH		T=48h 40°C/75%RH	
		Conc. mg/mL	Conc. mg/mL	% difference vs T=0	Conc. mg/mL	% difference vs T=0	Conc. mg/mL	% difference vs T=0	Conc. mg/mL	% difference vs T=0
配列番号1	pH of 3.5 in 50 mM Gly-HCl buffer with 200 mM Trehalose	11.26	11.44	2	11.04	-2	11.18	-1	11.23	0
配列番号2	pH of 4.0 in 10 mM Citrate buffer with 270 mM Trehalose	10.89	10.85	0	10.24	-6	10.37	-5	8.76	-20
配列番号3	pH of 7.0 in 10 mM Citrate buffer with 270 mM Trehalose	11.23	11.42	2	11.70	4	11.63	4	11.74	4
配列番号4	pH of 6.0 in 10 mM Citrate buffer with 270 mM Trehalose	10.61	10.47	-1	10.68	1	10.16	-4	10.47	-1

[0058] 表３の結果から、配列番号２のペプチドを40℃/75%湿度に48時間保管した場合以外は、ペプチドの分解が6%以内に抑えられており、良好な条件であることが分かった。配列番号２のペプチドを40℃/湿度75%で48時間保管した場合は20%が分解していることから、配列番号１～４のペプチドのカクテル処方を調製する場合は、25℃/60%湿度以下で48時間以内か、40℃/75%湿度の場合は24時間以内に調製したほうが良いことが分かった。

[0059] （製造例1）ペプチドカクテル製剤の調製用の凍結乾燥製剤の製造

配列番号１～４のペプチド原薬を、200mMのトレハロースを含む50mMのグリシン-HCl緩衝液（pH3.5）、270mMのトレハロースを含む50mMのクエン酸緩衝液（pH4）、270mMのトレハロースを含む10mMのクエン酸緩衝液（pH7）、270mMのトレハロースを含む10mMのクエン酸緩衝液（pH6）にそれぞれ添加し、溶液のpHをHClおよびNaOHを用いて調整して、以下の表４に示す処方のペプチド溶液を調製した。1バイアルあたり10mgとなるようにペプチド溶液を充填後、凍結乾燥を行い、ペプチド凍結乾燥製剤を調製した。

[表4]

バイアル	1	2	3	4
ペプチド	配列番号１	配列番号２	配列番号３	配列番号４
	10.00 mg/mL	10.00 mg/mL	10.00 mg/mL	10.00 mg/mL
クエン酸	-	50mM (9.61mg/mL)	10mM (1.92mg/mL)	10mM (1.92mg/mL)
グリシン	50mM* (3.75mg/mL)			
トレハロース	200mM (68.46mg/mL)	270mM (92.4mg/mL)	270mM (92.4mg/mL)	270mM (92.4mg/mL)
pH	3.5	4	7	6

*配列番号１のペプチドとグリシンの質量比＝2.67

[0060] （実施例1）

製造例1で調製したペプチド凍結乾燥製剤を用いて、以下のようにして投与

用ペプチドカクテル製剤を調製した。まず、各ペプチド凍結乾燥製剤に1mLの精製水を添加して、バイアル中の凍結乾燥物を溶解してペプチド溶液を作製し、各バイアルからペプチド溶液を全量回収して、別途用意したバイアルに移し替えてペプチドカクテル製剤を調製した。さらに、GM-CSF凍結乾燥製剤（製品名：Lukine（250mg/vial)、サノフィ）を1mLの精製水に溶解し、アジュバントとして0.6mLをペプチドカクテル製剤1.4mLに対して添加し、投与用のペプチドカクテル製剤を調製した。調製後、室温で6時間静置し、静置前と比較したペプチド濃度、pH（25℃）、および浸透圧の変化を評価した。結果を表５に示す。

[表5]

分析項目	T=0 hour	T=6 hours
調整時間	25 minutes	
外観 (pooled sample)	透明な水溶液	透明な水溶液
pH	4.9	4.9
浸透圧	503 mOsm/Kg	495 mOsm/Kg
HPLC分析	配列番号1: 2.6 mg/mL	配列番号1: 3.0 mg/mL (113.1% vs T0)
	配列番号2: 2.7 mg/mL	配列番号2: 2.8 mg/mL (107.0% vs T0)
	配列番号3: 2.5 mg/mL	配列番号3: 2.7 mg/mL (107.7% vs T0)
	配列番号4: 2.8 mg/mL	配列番号4: 3.0 mg/mL (106.4% vs T0)

[0061] 表５の結果から、pH4.9でも配列番号１のペプチドが沈殿することなく安定であることが分かった。試験例2の結果と合わせると、pH3.5～5.0において配列番号１のペプチドを安定して溶解し得ることが分かった。

[0062] （実施例2）

ペプチドカクテル製剤の処方を検討するために、配列番号１～４のペプチド原薬（純度95w/w%以上、PPL社)を用いて、100mg/mLのトレハロースを含有する50mM（3.75mg/mL）のグリシン-HCl緩衝液250mL（pH3.5）に各ペプチドの濃度が3mg/mLとなるようにペプチド原薬を添加し(グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比＝0.80)、溶液のpHを室温（25℃）でHClおよびNaOHを用いて3.5に調整した後、室温で24時間攪拌してペプチドカクテル製剤を調製した。攪拌後に溶液の外観を観察してペプチドの溶解安定性を評価した。結果を表６に示す。

[0063] （比較例1）

実施例2の50mMグリシン-HCl緩衝液のかわりに25mMのクエン酸緩衝液を用い、配列番号１のペプチドの最終濃度を4.5mg/mLとし、ペプチド溶解後のpH調整をpH4.5に調整したこと以外は、実施例2と同様にペプチドカクテル製剤を調製し、溶液の外観を観察してペプチドの溶解性を評価した。結果を表６に示す。

[0064] （比較例2）

実施例2の50mMグリシン-HCl緩衝液のかわりに25mMのクエン酸緩衝液を用い、ペプチド溶解後のpH調整をpH5.0に調整したこと以外は、実施例2と同様にしてペプチドカクテル製剤を調製し、溶液の外観を観察してペプチドの溶解性を評価した。結果を表６に示す。

[表6]

	実施例２	比較例１	比較例２
ペプチド	配列番号1: 3mg/mL 配列番号2: 3mg/mL 配列番号3: 3mg/mL 配列番号4: 3mg/mL	配列番号1: 4.5mg/mL 配列番号2: 3mg/mL 配列番号3: 3mg/mL 配列番号4: 3mg/mL	配列番号1: 3mg/mL 配列番号2: 3mg/mL 配列番号3: 3mg/mL 配列番号4: 3mg/mL
緩衝液	100mg/mLのトレハロース+50mM(3.75mg/mL)グリシン緩衝液	100mg/mLのトレハロース+25mM(4.8mg/mL)クエン酸緩衝液	100mg/mLのトレハロース+25mM(4.8mg/mL)クエン酸緩衝液
pH	3.5	4.5	5.0
24時間後の外観	透明な水溶液	乳白色な水溶液	乳白色な水溶液

[0065] 表６の結果から、50mMのグリシン-HCl緩衝液を用いた実施例2の製剤はペプチドが安定して溶解しているのに対し、比較例1および2の製剤は沈殿を生じた。これらの結果と、試験例1、試験例2、および実施例1の結果から、好適には配列番号１のペプチド濃度は20mg/mL以下、好ましくは3～20mg/mL、より好ましくは3mg～10mg/mLであり、グリシンに対するペプチドの質量比は0.3～30、好ましくは0.6～3.0であり、pHは3.5～5.0であることが分かった。

[0066] （製造例2）

ペプチドカクテル凍結乾燥製剤の製造および安定性の確認のため、実施例1と同様にペプチドカクテル製剤を500mL調製した後、1バイアルあたり1mLとなるようにガラスバイアルに無菌充填をして凍結乾燥し、ペプチドカクテルの凍結乾燥製剤を製造した。次いで、製造直後（T=0）および室温（25℃、湿度60%）で製造後1カ月保管した時点（T=1）で、それぞれの凍結乾燥製剤に1mLの精製水を添加して溶解し、外観、溶解性、ペプチドの安定性、pHを評価した。結果を表７に示す。

[表7]

時間	T=0	T=1
外観	白色のケーキ	白色のケーキ
1mL精製水 溶解後の外観	透明な水溶液	透明な水溶液
T=0を100%とした場合の ペプチド量の変化(%) (HPLC分析)	-	配列番号1: 99.5% 配列番号2: 100.4% 配列番号3: 104.5% 配列番号4: 101.2%
pH	3.5	3.5

[0067] 実施例1のペプチドカクテル製剤を凍結乾燥した凍結乾燥製剤は、精製水での溶解による沈殿も見られず、また、ペプチドも室温で安定に保存が可能であることが分かった。

[0068] (実施例3)

製造例1で製造したペプチド凍結乾燥製剤を用いて、ヒトでの臨床試験を実施した。

[0069] 患者

本臨床試験に参加した被験者は、HLA-A2陽性の悪性黒色腫（メラノーマ）患者であった。

[0070] 薬剤

本臨床試験では、製造例1で製造した4種類のペプチドを含む凍結乾燥製剤を用いた。

[0071] ペプチド投与

実施例1と同様にして、配列番号１～４のペプチドの凍結乾燥製剤を用いてペプチドカクテル製剤を調製した。調製したペプチドカクテル製剤を、1回の投与量を0.1mg/ペプチド、1.0mg/ペプチド、または3mg/ペプチドとして、各投与量につき6例の患者に皮内投与した。ペプチドの投与は、投与開始から4回目投与までは毎週投与を行い、5回目以降は4週毎に投与を行い、最大で8回投与を行った。

[0072] 安全性の評価

安全性の評価は、ペプチドカクテル製剤投与後に起こる有害事象を観察し、Common Terminology Criteria for Adverse Events 4.0 (CTCAE 4.0) の基準に従って評価を行った。

[0073] CTL活性の測定

ペプチドカクテル製剤を4回投与後および8回投与後に採血して得た末梢血から末梢血単核細胞（PBMC）を分離して凍結保存し、投与終了後、全てのPBMCを用いて、既知の方法（Hida N, Maeda Y, Katagiri K, Takasu H, Harada M, Itoh K. A simple culture protocol to detect peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in circulation. Cancer Immunol Immunotherapy 2002; 51: 219-228.）でCTL活性を測定した。まず、各投与ペプチドの存在下でPBMCを2週間培養後、このPBMCと、HLA分子を介して投与ペプチドを提示しているHLA-A2陽性の標的細胞とを共培養した。そして、PBMC中のCTLが標的細胞と反応することで分泌されるIFN-γをELISPOT法で測定し、IFN-γ分泌細胞の細胞数をカウントした。共培養は、1ペプチドあたり3つの独立した条件で培養を行い、各採血で得られたPBMC毎に1ペプチドあたり3つの値を得た。この3つの細胞数の平均値と、ペプチド非提示の標的細胞と共培養して得られた平均値との差の値（Sとする）、および投与ペプチドにかえて陰性対照ペプチド（HIV由来ペプチド）を用いて同様に算出した平均値との差の値（Nとする）を用いて、S/N値が2以上かつS-N値が10以上の場合を陽性と判定した。結果を表８に示す。

[表8]

投与量	4回投与後	8回投与後
0.1mg/ペプチド	0 (0/3)	33% (1/3)
1.0mg/ペプチド	33% (1/3)	50% (2/4)
3.0mg/ペプチド	0 (0/4)	33% (1/3)

（　　）内は、（陽性例数/測定例数）

[0074] 表８の結果から、いずれの投与量においても4回投与後または8回投与後にペプチドに対する陽性反応が得られることが分かった。また、1.0mg以上のペプチドを投与したほうが反応が良い傾向にあった。安全性については、0.1mgのペプチドを投与した患者の1例でグレード3の顔面浮腫、そう痒症および蕁麻疹が、1.0mgのペプチドを投与した患者の1例でグレード3の頭痛が認められたが、そのほかの事象はグレード2以下であり、全症例において注射部位反応が見られたが、安全性については許容される範囲の有害事象のみであった。

[0075] (実施例4)

製造例1で製造したペプチド凍結乾燥製剤を用いて、ヒトでの臨床試験を実施した。

[0076] 患者

本臨床試験に参加した被験者は、HLA-A2陽性の肺がん患者で、初めて転移が認められた非小細胞肺がん患者であった。

[0077] 薬剤

本臨床試験では、製造例1で製造したペプチドを含む凍結乾燥製剤とペムブロリズマブ（メルク社）とを用いた。

[0078] ペプチドおよびペムブロリズマブの投与

実施例1と同様にして、配列番号１～４のペプチドの凍結乾燥製剤を用いて

ペプチドカクテル製剤を調製した。調製したペプチドカクテル製剤を3mg/ペプチドにて患者の皮内に投与した（投与体積1mL）。ペプチドの投与は、投与開始から4回目投与までは毎週投与を行い、5回目以降は3週毎に投与を行い、最大で16回投与を行った。ペムブロリズマブは、ペプチドカクテル製剤の投与と同日に投与を開始し、3週毎に1回の投与を1サイクルとして最大35サイクル行った。

[0079] 臨床効果の評価

CTまたはMRI検査を実施して画像評価対象病変を設定し、評価可能病変の腫瘍の大きさ（Best Target Lesion Response）を評価し、PR（一部奏功）、SD（不変）、PD(病状進行)の判定を行った。評価は、投与開始時から9～12週おきに実施した。本試験においては、臨床効果の評価が実施できた7例について、腫瘍の大きさの変化率を、投与前を基準として評価した。

[0080] CTL活性の測定

臨床効果の評価を実施した7例（2020年5月末時点）のうち、投与開始時および8回投与後および16回投与後の採血が完了した3例について、CTL活性の測定および評価を行った。採血して得た末梢血から末梢血単核球（PBMC）を分離して凍結保存し、投与終了後、全てのPBMCを用いてCTL活性を測定した。測定は、既知のELISPOT法で行った。具体的には、凍結保存したPBMCを融解した後、$4x10^5$個/ウェルでELISPOTプレートに播種し、各ペプチドの最終濃度が100 μg/mLとなるようにペプチドを含有する無血清培地（CTL serum free test medium, 1% L-glutamine、CTL社）を添加して、一晩刺激した。刺激後、細胞上清および細胞を除去し、細胞から分泌されプレート上にトラップされたIFN-γをHRP標識抗IFN-γ抗体を用いて染色し、CTL ImmunoSpot(登録商標) Analyzer（CTL社）で解析し、IFN-γ分泌細胞数を測定した。

[0081] 臨床効果については図１に、CTL活性については図２に結果を示す。図１から、ペプチドカクテル製剤とペムブロリズマブとの併用投与を行った結果、4例がPR、3例がSDとなり、奏効率は57%（4/7例）であることが分かった。同様の対象群におけるペムブロリズマブ単独の効果は45%であることから（Reck,

M., et al., Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med, 2016. 375(19): p. 1823-1833)、前記ペプチドカクテル製剤とペムブロリズマブとの併用により優れた臨床効果が得られる可能性が示唆された。また、CTLの測定ができた3例のうちPRとなった症例において、ペプチドの投与回数の増加にともないペプチドに反応するIFN-γ産生細胞が増加しており（図２、中）、ペプチドカクテル製剤の投与により免疫応答が増強されていることから、臨床効果とペプチドカクテル製剤に対する免疫応答との関連性が示唆された。

[0082] (実施例5)

配列番号１～４のペプチド原薬（純度95w/w%以上、PPL社)を用いて、各ペプチド濃度が3mg/mLとなるように50mM（3.75mg/mL）のグリシン-HCl緩衝液（pH3.5）で溶解し(グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比＝0.80)、ペプチドカクテルを調製した。ペプチドカクテルに対して、メイロン静注7%（7%炭酸水素ナトリウム，大塚製薬工場製）、1N 水酸化ナトリウム、200mMリン酸緩衝液(pH8.0)または200mMヒスチジン緩衝液(pH6.5)を添加してpHを上げ、中性付近に調整した。pH調整直後及び24時間後の溶液の外観を観察して溶解性を評価した。結果を表９に示す。

[表9]

pH 調整剤	メイロン静注 7%	1N 水酸化ナトリウム	200 mM リン酸緩衝液(pH8.0)	200 mM ヒスチジン緩衝液(pH6.5)
調整後の pH	7.37	8.068	6.927	6.771
外観（pH 調整直後）	透明	透明	透明	透明
外観（24 時間後）	透明	透明	透明	透明

[0083] 表９の結果から、50mMグリシン-HCl緩衝液（pH3.5）で溶解した配列番号１から配列番号４のペプチドカクテルは、中性付近のpHにおいても安定して溶解することが分かった。

請求の範囲

[請求項1] Asn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含む、がんペプチドワクチン。

[請求項2] さらにグリシンを含む、請求項１に記載のがんペプチドワクチン。

[請求項3] グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比が0.3～30である、請求項１または２に記載のがんペプチドワクチン。

[請求項4] 凍結乾燥製剤である、請求項１～３のいずれかに記載のがんペプチドペプチドワクチン。

[請求項5] 免疫チェックポイント阻害剤と併用される、請求項１～４のいずれかに記載のがんペプチドワクチン。

[請求項6] 免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD-1抗体である、請求項５に記載のがんペプチドワクチン。

[請求項7] 抗PD-1抗体が、ペムブロリズマブである、請求項６に記載のがんペプチドワクチン。

[請求項8] がんペプチドワクチンの製造方法であって、前記がんペプチドワクチンがAsn-Val-Leu-His-Phe-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu（配列番号１）のペプチド、Ala-Ser-Leu-Asp-Ser-Asp-Pro-Trp-Val（配列番号２）のペプチド、Lys-Leu-Lys-His-Tyr-Gly-Pro-Gly-Trp-Val（配列番号３）のペプチド、およびLeu-Leu-Gln-Ala-Glu-Ala-Pro-Arg-Leu（配列番号４）のペプチドを含み、前記方法が、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加することを含む、方法。

[請求項9] グリシンに対する配列番号１のペプチドの質量比が0.3～30である水溶液を提供するよう、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加する、請求項８に記載の方法。

[請求項10] グリシンを含有する水溶液がpH3.5～5.0である、請求項８または９

に記載の方法。

[請求項11] ペプチド濃度が20mg/mL以下である水溶液を提供するよう、グリシンを含有する水溶液に配列番号１のペプチドを添加する、請求項８～１０のいずれかに記載の方法。

[請求項12] 配列番号１のペプチドを含む水溶液、配列番号２のペプチドを含む水溶液、配列番号３のペプチドを含む水溶液、および配列番号４のペプチドを含む水溶液をそれぞれ提供することを含む、請求項８～１１のいずれかに記載の方法。

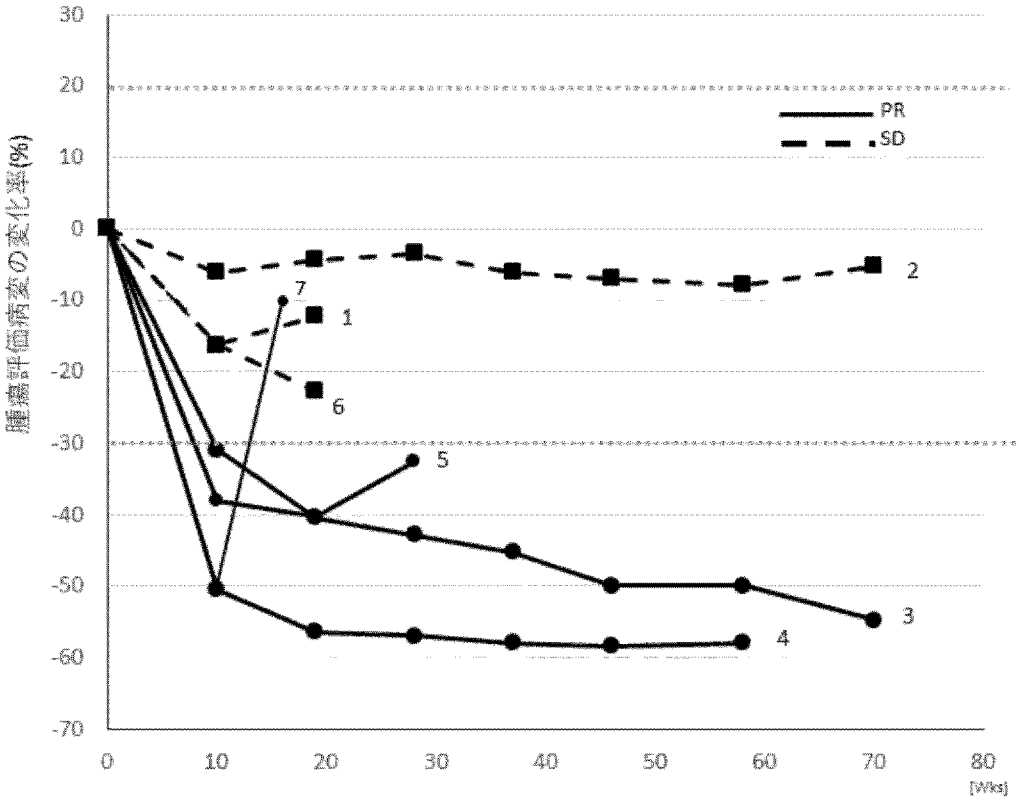
[請求項13] 前記水溶液をそれぞれ凍結乾燥することをさらに含む、請求項１２に記載の方法。

[請求項14] 配列番号１のペプチド、配列番号２のペプチド、配列番号３のペプチド、および配列番号４のペプチドを含む水溶液を提供することを含む、請求項８～１１のいずれかに記載の方法。

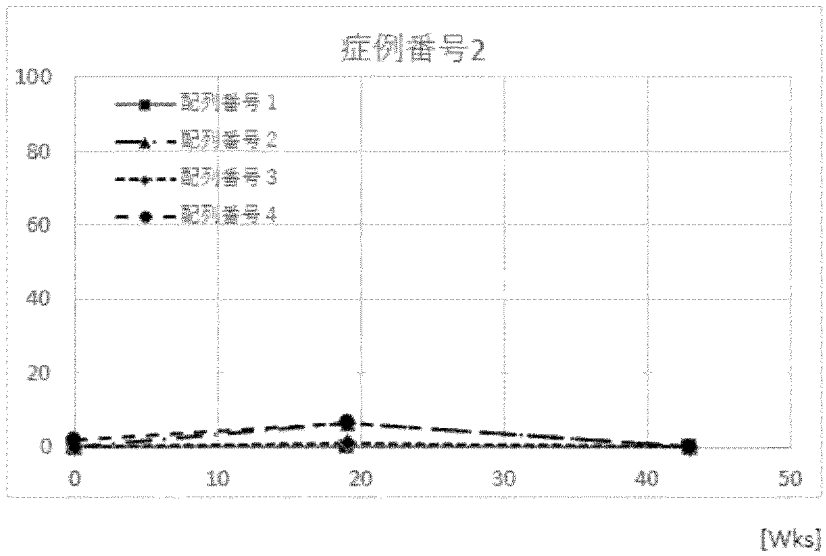
[請求項15] 前記ペプチドを含む水溶液のpHをpH3.5～8.2に調製することを含む、請求項１４に記載の方法。

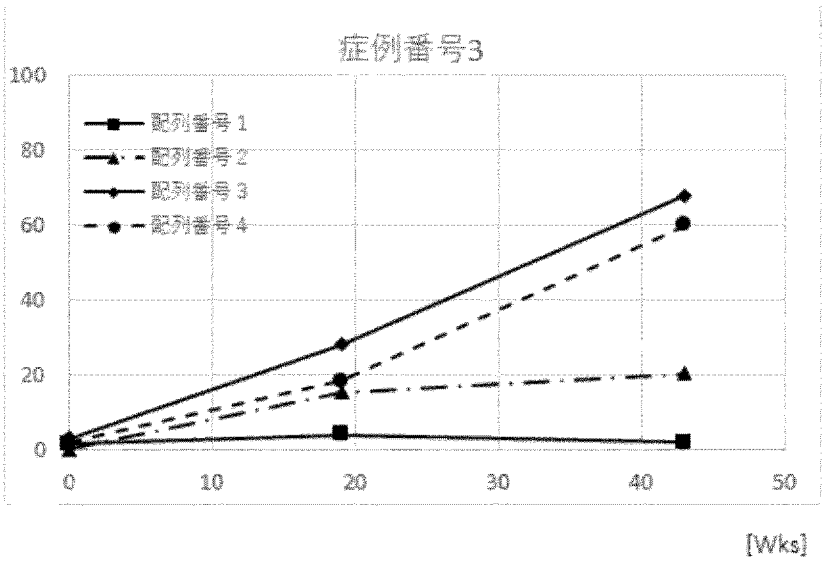
[請求項16] 前記水溶液を凍結乾燥することをさらに含む、請求項１４または１５に記載の方法。

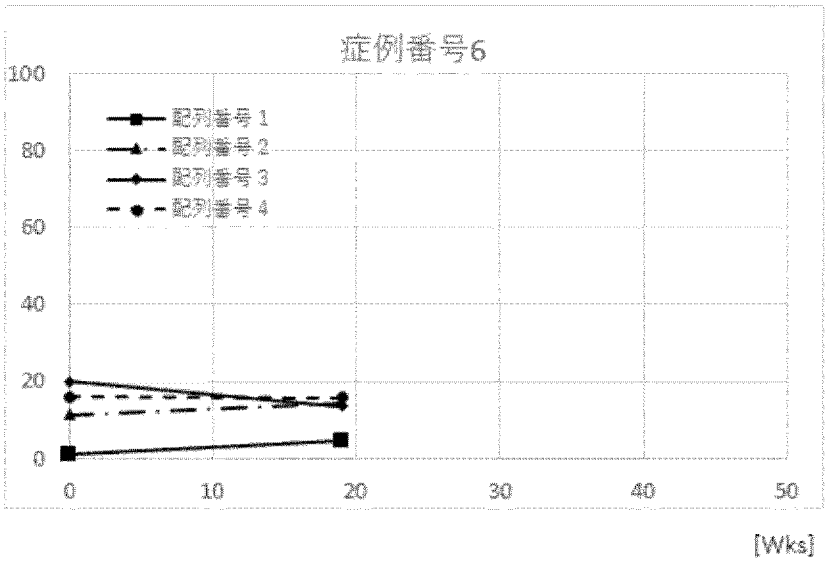
[図1]


腫瘍評価病変の変化率(%)
30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
0
10
20
30
40
50
60
70
80
[Wks]
PR
SD
1
2
3
4
5
6
7

[図2]


症例番号2
100
80
60
40
20
0
配列番号1
配列番号2
配列番号3
配列番号4
0
10
20
30
40
50
[Wks]


症例番号3
100
80
60
40
20
0
配列番号1
配列番号2
配列番号3
配列番号4
0
10
20
30
40
50
[Wks]


症例番号6
100
80
60
40
20
0
配列番号1
配列番号2
配列番号3
配列番号4
0
10
20
30
40
50
[Wks]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/027832

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K 39/00(2006.01)i; A61K 9/19(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61K 47/18(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 7/06(2006.01)i; C07K 16/18(2006.01)i
FI: A61K39/00 H ZNA; A61K39/395 U; A61P43/00 121; A61P35/00; A61P37/04; A61K9/19; A61K47/18; A61K39/00 G; C07K7/06; C07K16/18
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K39/00; A61K9/19; A61K39/395; A61K47/18; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00; C07K7/06; C07K16/18

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2021
Registered utility model specifications of Japan	1996-2021
Published registered utility model applications of Japan	1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NOGUCHI, M. et al., "Personalized peptide vaccination: a new approach for advanced cancer as therapeutic cancer vaccine", Cancer Immunol Immunother, 2013, vol. 62, pp. 919-929, ISSN 0340-7004 abstract, table 1, figures, pp. 920-921, 927, etc.	1, 3, 4
Y	abstract, table 1, figures, pp. 920-921, 927, etc.	5-7
A	abstract, table 1, figures, pp. 920-921, 927, etc.	2, 8-16
Y	"Personalizing cancer immunotherapy", Biopharm deal, 2017, p. B21, ISSN 2730-6283 p. B21	5-7
A	p. B21	2, 8-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 September 2021 (10.09.2021)	21 September 2021 (21.09.2021)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/027832

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2017-505331 A (XERIS PHARMACEUTICALS, INC.) 16 February 2017 (2017-02-16) claims, paragraphs [0020]-[0021], etc.	2, 8-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/027832

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2017-505331 A	16 Feb. 2017	WO 2015/120231 A2 claims, paragraphs [0020]-[0021] US 2017/0007675 A1 EP 3102184 A2 KR 10-2016-0118292 A CN 106132430 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/027832

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 39/00(2006.01)i; A61K 9/19(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61K 47/18(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 7/06(2006.01)i; C07K 16/18(2006.01)i

FI: A61K39/00 H ZNA; A61K39/395 U; A61P43/00 121; A61P35/00; A61P37/04; A61K9/19; A61K47/18; A61K39/00 G; C07K7/06; C07K16/18

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K39/00; A61K9/19; A61K39/395; A61K47/18; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00; C07K7/06; C07K16/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２１年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２１年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２１年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	NOGUCHI, M. et al., Personalized peptide vaccination: a new approach for advanced cancer as therapeutic cancer vaccine, Cancer Immunol Immunother, 2013, Vol. 62, pp. 919-929, ISSN 0340-7004 Abstract、Table 1、Figures、p. 920-921, 927、等	1,3,4
Y	Abstract、Table 1、Figures、p. 920-921, 927、等	5-7
A	Abstract、Table 1、Figures、p. 920-921, 927、等	2,8-16
Y	Personalizing cancer immunotherapy, Biopharm deal, 2017, p. B21, ISSN 2730-6283 p. B21	5-7
A	p. B21	2,8-16
A	JP 2017-505331 A (ゼリス ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド) 16.02.2017 (2017-02-16) 特許請求の範囲、段落００２０－００２１、等	2,8-16

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊ 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
10.09.2021	21.09.2021

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
伊藤　基章 4U 4146
電話番号 03-3581-1101 内線 3439

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/027832

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2021/027832

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2017-505331 A	16.02.2017	WO 2015/120231 A2 Claims、[0020]-[0021] US 2017/0007675 A1 EP 3102184 A2 KR 10-2016-0118292 A CN 106132430 A	