

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-526760

(P2008-526760A)

(43) 公表日 平成20年7月24日(2008.7.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 63 頁)

(21) 出願番号	特願2007-549637 (P2007-549637)	(71) 出願人	503208552
(86) (22) 出願日	平成17年12月29日 (2005.12.29)		マンカインド コーポレーション
(85) 翻訳文提出日	平成19年8月28日 (2007.8.28)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 913
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/047407		55 バレンシア ノース アベニュー
(87) 国際公開番号	W02006/071983		ペイン 28903
(87) 国際公開日	平成18年7月6日 (2006.7.6)	(74) 代理人	100100549
(31) 優先権主張番号	60/640,598		弁理士 川口 嘉之
(32) 優先日	平成16年12月29日 (2004.12.29)	(74) 代理人	100090516
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 松倉 秀実
		(74) 代理人	100106622
			弁理士 和久田 純一
		(74) 代理人	100089244
			弁理士 遠山 勉

最終頁に続く

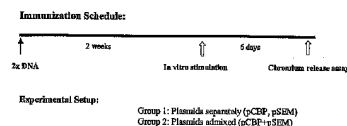
(54) 【発明の名称】 種々の腫瘍関連抗原を含む組成物の抗癌ワクチンとしての使用

(57) 【要約】

腫瘍関連抗原の様々な組合わせに対する免疫応答を誘導する方法及び組成物が本明細書中で開示され、これは発病過程において効果的な免疫学的治療を促進することができる。本明細書中で開示される本発明の実施形態は、各種癌を有する患者の免疫治療のために効果的な組合わせのT u A Aを使用することに関する。これらの組合せの抗原に対する免疫応答を誘導する免疫性組成物、及びそれらを使用する方法の両方が開示される。

Schedule of immunization with plasmids (pCBP expressing SSX2 41-49; and pSEM expressing Melan A)

Schedule of immunization



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗癌免疫応答を誘導する方法であって、P R A M E、P S M A、及びチロシナーゼから成る群から選択される第 1 の抗原、並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原に対して免疫化することを含む、抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 2】

前記少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原が、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G E タンパク質、M A G E - 3、及びM e l a n - A から成る群から選択される、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 3】

前記癌が卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、メラノーマ、及び腎細胞癌腫から成る群から選択される、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 4】

前記方法がP R A M Eに対して免疫化することを含み、前記癌が卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、メラノーマ、及び腎細胞癌腫から成る群から選択される、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 5】

前記癌が膵臓癌である、請求項 4 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原が、S S X - 2、N Y - E S O - 1 及びP S M A から成る群から選択される、請求項 5 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原が、N Y - E S O - 1、S S X - 2、及びP S M A を含む、請求項 5 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 8】

前記方法がP S M A 及び前記少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原に対して免疫化することを含み、前記癌が非小細胞肺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、及び腎細胞癌腫から成る群から選択される、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 9】

前記癌が膵臓癌である、請求項 8 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 10】

P R A M E に対して免疫化することをさらに含む、請求項 9 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 11】

細胞傷害性 T 細胞応答が誘導される、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 12】

腫瘍新生血管系と関連する抗原、成長因子及びシグナル伝達タンパク質から成る群から選択される少なくとも 1 つの抗原に対して免疫化することをさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 13】

前記腫瘍新生血管系と関連する抗原が、P S M A、V E G F R 2 及びT i e - 2 から成る群から選択される、請求項 12 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 14】

前記成長因子がV E G F - A である、請求項 12 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 15】

前記シグナル伝達タンパク質がP L K 1 である、請求項 12 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 16】

間質細胞抗原に対して免疫化することをさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を

10

20

30

40

50

誘導する方法。

【請求項 17】

前記免疫化が能動免疫化を含む、請求項 16 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 18】

前記免疫化が受動免疫化を含む、請求項 16 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 19】

腫瘍病巣において炎症を引き起こす工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 20】

細胞外因子に対して免疫化することをさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

10

【請求項 21】

前記細胞外因子が、自己分泌因子、傍分泌因子、成長因子、絨毛性ゴナドトロピン、ガストリン、NF- κ B 活性化因子、VEGF-A、CXCL1、CXCL8 及び CCL2 から成る群から選択される、請求項 20 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 22】

腫瘍の成長、生存、侵襲性又は転移を促進させる因子に対して免疫化する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 23】

非自己抗原に対して免疫化することをさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

20

【請求項 24】

前記非自己抗原が B 細胞エピトープを含む、請求項 23 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 25】

前記非自己抗原が Th エピトープを含む、請求項 23 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 26】

ヘルパー応答を同時誘導する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

30

【請求項 27】

前記ヘルパー応答が B 細胞応答を含む、請求項 26 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 28】

前記ヘルパー応答が Th 細胞応答を含む、請求項 26 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 29】

化学療法、放射療法、化学療法、生物療法、受動免疫療法、抗体療法及び手術から成る群から選択される治療をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 30】

腫瘍を減量させる工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

40

【請求項 31】

腫瘍内で、組織損傷、壊死又はアポトーシスを誘導する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 32】

腫瘍内の炎症を誘導する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の抗癌免疫応答を誘導する方法。

【請求項 33】

P R A M E、P S M A 及びチロシナーゼから成る群から選択される第 1 の抗原、並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原を含む、癌の治療のための免疫性組成物。

50

【請求項 3 4】

前記抗原が、1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスター、4) 抗原由来のエピトープ、又は5) 1 ~ 4 のいずれかをコードする核酸の形態で提供される、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 3 5】

前記癌が、卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、メラノーマ、及び腎細胞癌腫から成る群から選択される、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 3 6】

前記少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原が、P R A M E、P S M A、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G E タンパク質、M A G E - 3、及び M e l a n - A から成る群から選択される、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

10

【請求項 3 7】

前記組成物が、P S M A 抗原、並びに P R A M E、N Y - E S O 及び S S X - 2 から選択される少なくとも 1 つのさらなる抗原を含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 3 8】

前記組成物が、P R A M E 抗原、並びに N Y - E S O 及び S S X - 2 から選択される少なくとも 1 つのさらなる抗原を含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 3 9】

腫瘍新生血管系と関連する抗原、成長因子及びシグナル伝達タンパク質から成る群から選択される少なくとも 1 つの抗原をさらに含む、請求項 3 7 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

20

【請求項 4 0】

前記腫瘍新生血管系と関連する抗原が、P S M A、V E G F R 2 及び T i e - 2 から成る群から選択される、請求項 3 9 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 1】

前記成長因子が V E G F - A である、請求項 3 9 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 2】

前記シグナル伝達タンパク質が P L K 1 である、請求項 3 9 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

30

【請求項 4 3】

前記抗原が新生血管系又は他の間質抗原をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 4】

前記抗原が細胞外因子をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 5】

前記抗原が非標的抗原をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

40

【請求項 4 6】

腫瘍の成長、生存、侵襲性又は転移を促進する因子に対する免疫を誘導する手段をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 7】

前記腫瘍関連抗原のためのバイスタンダーによる援助を誘導する手段をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

【請求項 4 8】

腫瘍病巣において炎症を引き起こす手段をさらに含む、請求項 3 3 に記載の癌の治療のための免疫性組成物。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本出願は、2004年12月29日付けで出願された、「各種癌用の組成物における腫瘍関連抗原の組合せ(COMBINATIONS OF TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENS IN COMPOSITIONS FOR VARIOUS TYPES OF CANCERS)」と題する米国仮出願第60/640,598号(その開示は、その内容全体が参照により本明細書に援用される)に対する優先権を、米国特許法第119条(e)項に基づいて主張するものである。

【0002】

[技術分野]

腫瘍関連抗原の各種組合せに対する免疫応答を誘導する方法及び組成物を本明細書中に開示し、これは発病過程において効果的な免疫学的処置(intervention)を促進することができる。

【背景技術】

【0003】

米国癌学会は、年間、百万を超える人々が癌にかかり、米国人男性の約2人に1人及び米国人女性の約3人に1人が、人生のある時点で何らかの種類の癌を有するであろうと推定している。

【0004】

癌は通常、体の一部の細胞が制御不能に増殖し始めると発症する。様々な種類の癌があるが、これらは大抵、異常細胞の制御不能成長のために起こる。

【0005】

正常な体細胞は、規則的な様式で成長し、分裂し、死滅する。癌細胞は、成長及び分裂し続けるという点で異なっている。死滅する代わりに、癌細胞は正常細胞よりも長く生き、且つ新たな異常細胞を形成し続ける。

【0006】

癌に対する通常の治療選択としては、手術、放射線療法及び化学療法が挙げられる。免疫療法と呼ばれる、第4の治療分野が開発されている。免疫療法は、免疫系が癌細胞を認識することを助け、且つ/又は癌を消滅させるために癌細胞に対する応答を強めることを試みとする。免疫療法には、能動免疫療法及び受動免疫療法が含まれる。能動免疫療法は、体自体の免疫系を刺激して病気と戦わせる。受動免疫療法は、通常、体が病気を攻撃することに頼らず、代わりに、体の外で作られた免疫系成分(抗原等)を用いる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

さらなる治療選択の必要性が引き続き存在している。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本明細書中に開示される本発明の実施の形態は、各種癌を有する患者の免疫療法のために効果的な組合せの腫瘍関連抗原(TuAA)を使用することに関する。いくつかの実施の形態において、TuAAは癌細胞自体で発現される抗原である。いくつかの実施の形態では、TuAAは腫瘍関連新生血管系又は他の間質等の腫瘍の非癌性成分に関係する抗原である。いくつかの実施の形態では、その組合せは腫瘍成長因子及び/又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含する。これらの組合せの抗原に対する免疫応答を誘導するための免疫性組成物及びそれらを使用する方法の両方が開示される。

【0009】

いくつかの実施の形態は、腫瘍性疾患を治療する方法に関する。この方法は、例えばPRAME及び少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を含み得る。例えばPRAME等の抗原に対して、患者を免疫化することは、好ましい実施の形

10

20

30

40

50

態では、患者にいくらかの抗原又はこの抗原に対する特定の免疫応答を誘導することができるいくらかの他の免疫性産物を投与することを含む。したがって、いくつかの実施の形態では、P R A M E に対して免疫化することは、患者に完全で且つ無傷の P R A M E 抗原を投与することである。いくつかの実施の形態では、P R A M E に対して免疫化することは、P R A M E の 1 つ又は複数のエピトープ、1 つ又は複数のエピトープクラスタ、1 つ又は複数のフラグメント等を投与すること、及び / 又は例えば任意の上述のエピトープ（単数又は複数）、クラスタ（単数又は複数）、フラグメント（単数又は複数）等をコードする核酸を投与することを包含する。論議のための代表的な抗原として、P R A M E が使用されるが、患者を免疫化させることができる任意の抗原を使用することもできる。

【 0 0 1 0 】

いくつかの実施の形態は、卵巣癌又は結腸直腸癌を治療する方法に関する。この方法は、例えば P R A M E 及び / 又は P S M A 並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原は、例えば S S X - 2、N Y - E S O - 1、P S M A、P R A M E、メソテリン、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットを包含し得る。好ましくは、この方法は、例えば P R A M E、N Y - E S O - 1 及び / 又は S S X - 2 に対して免疫化することを包含する。さらに好ましくは、この方法は、例えば P R A M E、N Y - E S O - 1、S S X - 2、及び P S M A に対して免疫化することを包含する。この方法は、少なくとも 1 つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び / 又は T i e - 2 であり得る。この方法は、V E G F - A 等の成長因子及び / 又は P L K 1 等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することを包含し得る。好ましい実施の形態では、この方法は、細胞傷害性 T 細胞応答を誘導する。

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施の形態において、卵巣癌又は結腸直腸癌の治療における抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この方法は、例えば P R A M E 及び / 又は P S M A 並びに少なくとも 1 つの腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この少なくとも 1 つの腫瘍関連抗原は、例えば S S X - 2、N Y - E S O - 1、P S M A、P R A M E、メソテリン、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットであり得る。例えば、いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E、N Y - E S O - 1、及び / 又は S S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。この方法は、P S M A に対して免疫化することをさらに包含し得る。この方法は、少なくとも 1 つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び / 又は T i e - 2 であり得る。この方法は、V E G F - A 等の成長因子及び / 又は P L K 1 等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することをさらに包含し得る。好ましい実施の形態では、抗癌免疫応答は C T L 応答である。

【 0 0 1 2 】

他の実施の形態は、膵臓癌を治療する方法に関する。この方法は、例えば P R A M E 及び / 又は P S M A 並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原に対して免疫化する工程を包含し得る。或る実施の形態では、この方法は、腫瘍新生血管系と関連する抗原、成長因子及びシグナル伝達タンパク質から選択される少なくとも 1 つの抗原に対して免疫化することをさらに包含する。この少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原は、例えば P R A M E、P S M A、メソテリン、S S X - 2、及び / 又は N Y - E S O - 1、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットであり得る。例えば、この方法は、P S M A、N Y - E S O - 1、及び / 又は S S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E、N Y - E S O - 1、及び / 又は S S X - 2 に対する免疫化を包含し

10

20

30

40

50

得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E、P S M A、N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 に対して免疫化することを包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2 であり得る。いくつかの実施の形態では、この成長因子はV E G F - A である。いくつかの実施の形態では、シグナル伝達タンパク質はP L K 1 である。好ましい実施の形態では、この方法は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。

【0013】

さらに、いくつかの実施の形態において、膵臓癌の治療における抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この方法は、例えばP R A M E 及び/又はP S M A 並びに少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。或る実施の形態では、この方法は、腫瘍新生血管系と関連する抗原、成長因子及びシグナル伝達タンパク質から選択される少なくとも1つの抗原に対して免疫化することをさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えばP R A M E、P S M A、S S X - 2、N Y - E S O - 1、メソテリン、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットであり得る。例えば、この方法は、P S M A 並びにN Y - E S O - 1、及び/又はS S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E 並びにN Y - E S O - 1、及び/又はS S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E、P S M A 並びにN Y - E S O - 1、及び/又はS S X - 2 に対して免疫化することを包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2 であり得る。いくつかの実施の形態では、この成長因子はV E G F - A である。いくつかの実施の形態では、このシグナル伝達タンパク質はP L K 1 である。好ましい実施の形態では、抗癌免疫応答はC T L 応答である。

【0014】

さらに別の実施の形態は、非小細胞肺癌を治療する方法に関する。この方法は、例えばP S M A 及び少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。例えば、この腫瘍関連抗原は、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、S S X - 2、N Y - E S O - 1、P R A M E、P S M A、V E G F - A、P L K 1、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットであり得る。好ましくは、この方法は、P S M A、N Y - E S O - 1、及び/又はS S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。さらに好ましくは、この方法は、例えばP S M A、N Y - E S O - 1、S S X - 2 及び/又はM A G E - 3 に対する免疫化を包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2 であり得る。この方法は、V E G F - A 等の成長因子及び/又はP L K 1 等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することを包含する。好ましい実施の形態では、この方法は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。

【0015】

さらなる実施の形態において、非小細胞肺癌の治療における抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この方法は、例えばP S M A 及び少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えばM A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、S S X - 2、N Y - E S O - 1、P R A M E、P S M A、V E G F - A、P L K 1、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットであり得る。例えば、この方法は、P S M A、N Y - E S O - 1、及び/又はS S X - 2 に対する免疫化を包含し得る。この方法は、P S M A、N Y - E S O - 1、S S X - 2、及び/又はM A G E - 3 に対して免疫化することをさらに包含し得る。或る実施の形態では、この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関

10

20

30

40

50

連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。この方法は、V E G F - A等の成長因子及び/又はP L K 1等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することをさらに包含し得る。好ましい実施の形態では、この抗癌免疫応答はC T L応答である。

【0016】

他の実施の形態は、腎細胞癌腫を治療する方法に関する。この方法は、例えばP S M A及び/又はP R A M E並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えばP R A M E、P S M A、S S X - 2、N Y - E S O - 1、M A G Eタンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり得る。好ましくは、この方法は、例えばP S M A、P R A M E、及び/又はS S X - 2に対して免疫化することを包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。好ましい実施の形態では、この方法は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。

【0017】

さらに、いくつかの実施の形態において、腎細胞癌腫の治療における抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この方法は、例えばP S M A及び少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この腫瘍関連抗原は、P R A M E、P S M A、S S X - 2、N Y - E S O - 1、M A G Eタンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり得る。例えば、この方法は、P S M A、P R A M E、及び/又はS S X - 2に対する免疫化を包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。好ましい実施の形態では、抗癌免疫応答はC T L応答である。

【0018】

いくつかの実施の形態は、メラノーマを治療する方法に関する。この方法は、例えば2つの群のそれぞれから選択される少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。第1の群は、例えばチロシナーゼ、M e l a n - A等を包含し得る。第2の群は、例えばS S X - 2、N Y - E S O - 1等を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、M e l a n - A、S S X - 2、及び/又はN Y - E S Oに対して免疫化することを包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、例えばM e l a n - A、S S X - 2、及び/又はチロシナーゼに対する免疫化を包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。この方法は、V E G F - A等の成長因子及び/又はP L K 1等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することをさらに包含し得る。好ましい実施の形態では、この方法は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。

【0019】

いくつかの実施の形態において、メラノーマの治療における抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この方法は、例えば2つの群のそれぞれから選択される少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して、患者を免疫化する工程を包含し得る。第1の群は、例えばチロシナーゼ、M e l a n - A等を包含し得る。第2の群は、例えばS S X - 2、N Y - E S O - 1等を包含し得る。例えば、この方法は、M e l a n - A、S S X - 2、及び/又はN Y - E S Oに対する免疫化を包含し得る。代替的には、この方法は、例えばM e l a n - A、S S X - 2、及び/又はチロシナーゼに対する免疫化を包含し得る。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又

10

20

30

40

50

はT i e - 2であり得る。この方法は、V E G F - A等の成長因子及び／又はP L K 1等のシグナル伝達タンパク質に対して免疫化することをさらに包含し得る。好ましい実施の形態では、抗癌免疫応答はC T L 応答である。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施の形態は、例えば卵巣癌若しくは結腸直腸癌の治療のための薬剤の調製において、P R A M E 及び／又はP S M A 並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含む組成物を使用することに関する。いくつかの実施の形態では、この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えばS S X - 2、N Y - E S O - 1、P S M A、P R A M E、メソテリン、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットを包含し得る。したがって、この組成物は、例えばN Y - E S O - 1及び／又はS S X - 2を含み得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、例えばN Y - E S O - 1、S S X - 2、及び／又はP S M A を含み得る。この組成物は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び／又はT i e - 2であり得る。好ましい実施の形態では、この薬剤は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。

10

【 0 0 2 1 】

他の実施の形態は、例えば膵臓癌の治療のための薬剤の調製において、P R A M E 及び／又はP S M A 並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含む組成物を使用することに関する。この組成物は、腫瘍新生血管系と関連する抗原、成長因子、又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えばP R A M E、P S M A、S S X - 2、及び／又はN Y - E S O - 1、メソテリン、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり得る。或る実施の形態では、この組成物は、P S M A 並びにN Y - E S O - 1及び／又はS S X - 2を含む。或る実施の形態では、この組成物は、P R A M E 並びにN Y - E S O - 1、及び／又はS S X - 2を含む。この組成物は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び／又はT i e - 2であり得る。この成長因子は、例えばV E G F - Aであり得る。このシグナル伝達タンパク質は、例えばP L K 1であり得る。好ましい実施の形態では、この薬剤は、細胞傷害性T細胞応答を誘導する。いくつかの実施の形態では、この薬剤は、腫瘍関連抗原を含む少なくとも1つのさらなる薬剤と合わせて使用される。

20

30

【 0 0 2 2 】

さらに他の実施の形態は、非小細胞肺癌の治療のための薬剤の調製において、P S M A 及び少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含む組成物を使用することに関する。いくつかの実施の形態では、この腫瘍関連抗原は、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、S S X - 2、N Y - E S O - 1、P R A M E、P S M A、V E G F - A、P L K 1、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり得る。好ましくは、この組成物は、P S M A、N Y - E S O - 1、及び／又はS S X - 2を含む。さらに好ましくは、この組成物は、例えばP S M A、N Y - E S O - 1、S S X - 2、及び／又はM A G E - 3を含む。この組成物は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び／又はT i e - 2であり得る。好ましい実施の形態では、この薬剤は、細胞傷害性T細胞応答を誘導し得る。

40

【 0 0 2 3 】

代替的な実施の形態は、腎細胞癌腫の治療のための薬剤の調製において、P R A M E 及び／又はP S M A 並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含む組成物を使用することに関する。この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えば、P S M A、P R A M E、S S X - 2、N Y - E S O - 1、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり

50

得る。好ましくは、この組成物は、例えばP S M A、P R A M E、及び/又はS S X - 2を含む。この組成物は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。好ましい実施の形態では、この薬剤は、細胞傷害性T細胞応答を誘導し得る。

【0024】

さらに他の実施の形態は、メラノーマの治療のための薬剤の調製において、2つの群のそれぞれから選択される少なくとも1つの腫瘍関連抗原を含む組成物を使用することに関する。第1の群は、例えばチロシナーゼ、M e l a n - A等を包含し得る。第2の群は、例えばS S X - 2、N Y - E S O - 1等を包含し得る。好ましくは、この組成物は、M e l a n - A、S S X - 2、及び/又はN Y - E S Oを含む。さらに好ましくは、この組成物は、例えばM e l a n - A、S S X - 2、及び/又はチロシナーゼを含む。この方法は、少なくとも1つの腫瘍新生血管系と関連する抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。この組成物は、V E G F - A等の成長因子及び/又はP L K 1等のシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。好ましい実施の形態では、この薬剤は、細胞傷害性T細胞応答を誘導し得る。

10

【0025】

他の実施の形態は、1)全抗原、2)抗原のフラグメント、3)抗原由来のエピトープクラスタ、4)抗原由来のエピトープ、又は5)1~4のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて含む、抗癌免疫応答を誘導する免疫性組成物に関する。この抗原は、P R A M E、P S M A、及び/又はチロシナーゼから選択される第1の抗原、並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含む。免疫性組成物によって治療される癌は、例えば卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、メラノーマ、腎細胞癌腫等であり得る。好ましい実施の形態では、この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G E タンパク質、M A G E - 3、メソテリン、M e l a n - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットから選択される。いくつかの実施の形態では、この組成物は、新生血管系抗原又は他の間質細胞抗原をさらに包含し得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は細胞外因子も包含し得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、非標的抗原をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍の成長、生存、侵襲性、又は転移を促進させる因子に対する免疫を誘導する手段を包含し得る。この組成物は、腫瘍関連抗原のためのバスタンダーによる援助を誘導する手段も包含し得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍病巣における炎症を引き起こす手段を包含し得る。この組成物は、成長因子及び/又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えばV E G F - Aであり得る。このシグナル伝達因子は、例えばP L K 1であり得る。

20

30

【0026】

さらに他の実施の形態は、癌の治療のための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば1)全抗原、2)抗原のフラグメント、3)抗原由来のエピトープクラスタ、4)抗原由来のエピトープ、又は5)1~4のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、P R A M E、及び/又はP S M A、及び/又はチロシナーゼ、並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を含み得る。好ましい実施の形態では、この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、S S X - 2及び/又はN Y - E S O - 1、M A G E タンパク質、M A G E - 3、メソテリン、M e l a n - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットから選択され得る。治療される癌は、例えば卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、メラノーマ、腎細胞癌腫等であり得る。この組成物は、少なくとも1つの新生血管系又は間質と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えばP S M A、V E G F R 2、及び/又はT i e - 2であり得る。したがって、いくつかの実施の形態では、P S M A抗原を含み、またP R A M E、N Y - E S O及びS S X - 2から選択される少なくとも1つのさらなる抗原をさらに含む免疫

40

50

性組成物が開示される。いくつかの実施の形態では、P R A M E 抗原を含み、また P R A M E、N Y - E S O 及び S S X - 2 から選択される少なくとも1つのさらなる抗原をさらに含む免疫性組成物が開示される。いくつかの実施の形態では、この組成物は、細胞外因子をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この組成物は非標的抗原をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍の成長、生存、侵襲性、又は転移を促進させる因子に対する免疫を誘導する手段をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍関連抗原のためのバイスタンダーによる援助を誘導する手段をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍病巣における炎症を引き起こす手段をさらに包含する。この組成物は、成長因子及び/又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えば V E G F - A であり得る。このシグナル伝達因子は、例えば P L K 1 であり得る。

10

【0027】

他の実施の形態は、例えば卵巣癌又は結腸直腸癌の治療のため又は卵巣癌又は結腸直腸癌に対する抗癌応答を誘導するための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスタ、4) 抗原由来のエピトープ、又は5) 1~4のいずれかをコードする核酸等を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、P R A M E、P S M A、及び/又はチロシナーゼから選択される抗原、並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原を包含し得る。この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、例えば S S X - 2、N Y - E S O - 1、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、V E G F - A、P L K 1、P R A M E、P S M A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットを包含し得る。この組成物は、少なくとも1つの新生血管系又は間質と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び/又は T i e - 2 であり得る。この組成物は、成長因子及び/又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えば V E G F - A であり得る。このシグナル伝達因子は、例えば P L K 1 であり得る。

20

【0028】

他の実施の形態は、膵臓癌の治療のため、又は膵臓癌に対する抗癌応答を誘導するための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスタ、4) 抗原由来のエピトープ、又は5) 1~4のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、P R A M E 及び/又は P S M A 並びに少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原である。好ましい実施の形態では、この少なくとも1つの他の腫瘍関連抗原は、P S M A、P R A M E、メソテリン、S S X - 2、N Y - E S O - 1、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、V E G F - A、P L K 1、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットから選択され得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、P R A M E 並びに N Y - E S O - 1 及び/又は S S X - 2 を含む。いくつかの実施の形態では、この組成物は、P S M A 並びに N Y - E S O - 1 及び/又は S S X - 2 を含む。いくつかの実施の形態では、この組成物は、新生血管系抗原又は他の間質細胞抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、P S M A、V E G F R 2、及び/又は T i e - 2 であり得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、細胞外因子も包含し得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、非標的抗原をさらに包含する。他の実施の形態では、この組成物は、腫瘍の成長、生存、侵襲性、又は転移を促進させる因子に対する免疫を誘導する手段を包含し得る。この組成物は、腫瘍関連抗原のためのバイスタンダーヘルプを誘導する手段も包含し得る。いくつかの実施の形態では、この組成物は、腫瘍病巣における炎症を引き起こす手段をさらに包含し得る。この組成物は、成長因子及び/又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えば V E G F - A であり得る。このシグナル伝達因子は、例えば P L K 1 であり得る。

30

40

【0029】

50

いくつかの実施の形態は、非小細胞肺癌の治療のため、又は非小細胞肺癌に対する抗癌応答を誘導するための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば 1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスタ、4) 抗原由来のエピトープ、又は 5) 1 ~ 4 のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、P R A M E、P S M A 及び / 又はチロシナーゼから選択される第 1 の抗原、並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原を包含し得る。この少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原は、例えば M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、P L K 1、V E G F - A、S S X - 2、N Y - E S O - 1、メソテリン、P R A M E、P S M A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットを包含し得る。この組成物は、少なくとも 1 つの新生血管系又は間質と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び / 又は T i e - 2 であり得る。この組成物は、成長因子及び / 又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えば V E G F - A であり得る。このシグナル伝達因子は、例えば P L K 1 であり得る。

10

20

30

40

50

【0030】

いくつかの実施の形態は、腎細胞癌腫の治療のため、又は腎細胞癌腫に対する抗癌応答を誘導するための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば 1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスタ、4) 抗原由来のエピトープ、又は 5) 1 ~ 4 のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、P R A M E、P S M A 及び / 又はチロシナーゼから選択される第 1 の抗原、並びに少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この少なくとも 1 つの他の腫瘍関連抗原は、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、メソテリン、N Y - E S O - 1、S S X - 2、P S M A、P R A M E、V E G F - A、V E G F R 2、T i e - 2 等又はそれらのサブセットを包含し得る。この組成物は、少なくとも 1 つの新生血管系又は間質と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び / 又は T i e - 2 であり得る。

【0031】

さらに他の実施の形態は、メラノーマの治療のため、又はメラノーマに対する抗癌応答を誘導するための免疫性組成物に関する。この組成物は、例えば 1) 全抗原、2) 抗原のフラグメント、3) 抗原由来のエピトープクラスタ、4) 抗原由来のエピトープ、又は 5) 1 ~ 4 のいずれかをコードする核酸を単独で又は組合わせて包含し得る。この抗原は、2 つの群のそれぞれから選択することができ、第 1 の群は、例えば P R A M E、P S M A E 及び / 又はチロシナーゼを包含し、第 2 の群は、M A G E タンパク質、M A G E - 3、M e l a n - A、S S X - 2、及び / 又は N Y - E S O - 1 等を包含する。この組成物は、少なくとも 1 つの新生血管系又は間質と関連する抗原をさらに包含し得る。この腫瘍新生血管系と関連する抗原は、例えば P S M A、V E G F R 2、及び / 又は T i e - 2 であり得る。この組成物は、成長因子及び / 又はシグナル伝達タンパク質をさらに包含し得る。この成長因子は、例えば V E G F - A であり得る。このシグナル伝達因子は、例えば P L K 1 であり得る。

【0032】

さらなる実施の形態は、腫瘍関連抗原のフラグメント、クラスタ及びエピトープを包含する腫瘍関連抗原の組合わせを使用した、抗癌応答を誘導する組成物並びに方法に関する。この組成物は、核酸構築物（例えば所望の抗原全てをコードする単独の構築物）を包含し得る。他の実施の形態では、単独の構築物が単独の抗原をコードする一方で、他の実施の形態では、1 つの構築物が同様の免疫性を伴うエピトープの組合わせを有し得て、また別の構築物は、同様の免疫性を伴うエピトープを有し得る。

【0033】

さらに他の実施の形態は、免疫性組成物を設計及び調製する方法に関し、この方法は、腫瘍型における 1 つ又は複数の抗原の存在を確認する工程、及び C T L を誘導する組成物において含有される 1 つ又は複数の抗原を得る工程を包含し得る。

【0034】

いくつかの実施の形態において、抗癌免疫応答を誘導する方法が開示される。この癌は、例えば卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌、メラノーマ及び腎細胞癌腫等又はそれらの任意のサブセットであり得る。この方法は、例えば第1の抗原及び少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して免疫化する工程を包含し得る。この第1の抗原は、例えばP R A M E、P S M A、チロシナーゼ等であり得る。例えば、いくつかの実施の形態では、この方法は、P R A M E及び少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して免疫化する工程を包含し、治療される癌は、卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、メラノーマ及び腎細胞癌腫であり得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、P S M A及び少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対して免疫化する工程を包含し、この癌は非小細胞肺癌、卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌及び腎細胞癌腫であり得る。この少なくとも1つの腫瘍関連抗原は、例えばP R A M E、P S M A、V E G F R - 2、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G Eタンパク質、M A G E - 3、メソテリン、P L K - 1、V E G F - A、M e l a n - A、V E G F R 2、T i e - 2等又はそれらのサブセットであり得る。

10

【0035】

いくつかの実施の形態において、この方法は、能動免疫療法又は受動免疫療法等によって、間質細胞抗原に対して免疫化する工程をさらに包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、腫瘍病巣において炎症を引き起こす工程をさらに包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、細胞外因子に対して免疫化することをさらに包含する。この細胞外因子は、例えば自己分泌因子、傍分泌因子、成長因子、絨毛性ゴナドトロピン、ガストリン、N F - B活性化因子、V E G F - A C X C L 1、C X C L 8、C C L 2等であり得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、腫瘍の成長、生存、侵襲性、又は転移を促進させる因子に対して免疫化することをさらに包含し得る。

20

【0036】

別の実施の形態では、この方法は、B細胞エピトープ又はT hエピトープ等の非自己抗原に対して免疫化することを包含し得る。この方法は、B細胞応答又はT h細胞応答等のヘルパー応答を同時誘導する工程も包含し得る。

【0037】

いくつかの実施の形態では、この方法は、例えば化学療法、放射線療法、化学療法、生物療法、受動免疫療法、抗体療法、手術等の治療を施すことをさらに包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、腫瘍を減量させる工程をさらに包含する。いくつかの実施の形態では、この方法は、腫瘍内で、組織損傷、壊死、又はアポトーシスを誘導する工程を包含し得る。いくつかの実施の形態では、この方法は、腫瘍内で炎症を誘導する工程を包含し得る。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0038】

様々な種類の癌において、多くの主要関連抗原(T u A A)の発現頻度が知られている。しかし、複数の抗原、特に様々な種類の癌におけるT u A Aの特定の組合せの出現頻度は報告されていなかった。腫瘍組織中のT u A Aの存在を正確に測定することは、どのT u A Aが特定の種類の癌の治療に対して有用であるかを決定するのを助ける。

【0039】

癌に対する能動免疫療法を開発する多くの試みにおいて、単一抗原を利用してきた。これは、2つの明確な理由により問題となり得る。第1に、癌中における任意の特定のT u A Aの発現はモザイク様であり得る(抗原発現は、腫瘍体積中のいくつかの細胞においては高いが、他の細胞においては完全でない)。さらに、T u A Aはいくつかの病巣において発現され得るが、その他では発現されない。1つより多い抗原に対して免疫応答を導くことにより、適切に選択すると、認識することができる腫瘍細胞の数は最大化され得る。第2に、免疫化に続いて、腫瘍がT u A A発現を失い、耐性集団を生じさせる場合がいくつか観察された。免疫応答が1つより多いT u A Aに対して導かれれば、回避するために各抗原の発現を同時に失わなければならないため、耐性腫瘍が生じるのははるかに難しくなる。このように、免疫療法を用いた癌の治療において、T u A Aの組合せを用いること

40

50

は、腫瘍細胞の集団のより完全な被覆のため及び T u A A 発現消失による腫瘍回避の機会が少なくなるであろうため、有利であり得る。好ましい実施形態では、用いた組合せの 2 つ、3 つ、4 つ、又はそれ以上の T u A A に対して腫瘍が陽性である場合に、このような技法が採用される。

【 0 0 4 0 】

多面的攻撃は、攻撃に対する腫瘍の感受性を増大させるにあたり別の利点を提供することができる。1 つの腫瘍細胞の 1 つより多い抗原が標的とされると、抗腫瘍剤の有効濃度は高くなる。また、腫瘍に関連する間質、例えば血管系等への攻撃は、腫瘍細胞と、その腫瘍細胞を標的とする薬剤（単数又は複数）との接近性を高めることができる。したがって、一部の正常な組織においても発現される抗原であっても、多面的攻撃において標的とされる他の抗原もその組織により発現されないならば、標的抗原としてより大きな注目を集める可能性がある。

10

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態において、この方法の実施は少なくとも 2 つの異なる組成物の使用を包含し、特に標的抗原が単一を超えて存在する場合に、いくつかの組成物を同時に及び / 又は異なる時点で投与することを包含し得る。したがって、本発明の実施形態は、免疫性組成物のセット及びサブセット、並びにそれらの別個の投与量を包含する。多価免疫原 (multivalent immunogens) を含む組成物、一価免疫原の組合せ、1 つ又は複数の一価免疫原を含む組成物の協調される使用、又はそれらの様々な組合せによって、多価性を達成することができる。このような方法による、特定の治療レジメン又はプロトコルにおける使用のために製造された多価組成物は、免疫治療産物を定義する。いくつかの実施形態では、この産物の組成物の全て又はサブセットは、キットに共に包装されている。

20

【 0 0 4 2 】

[定義]

本明細書中における用語の使用の状況から明らかでない限り、以下に列挙された用語は、通常、本明細書の目的に対して指示された意味を有すべきである。

【 0 0 4 3 】

プロフェッショナル抗原提示細胞 (p A P C) : T 細胞同時刺激 (co-stimulatory) 分子を所有し、且つ T 細胞応答を誘導することができる細胞。よく特徴付けられた p A P C は、樹状細胞、B 細胞及びマクロファージを含む。

30

【 0 0 4 4 】

周辺細胞 : p A P C ではない細胞。

【 0 0 4 5 】

ハウスキーピングプロテアソーム : 通常は周辺細胞中で活性であるプロテアソーム。通常、p A P C 中に存在しないか、又は強い活性を示さない。

【 0 0 4 6 】

免疫プロテアソーム : 通常は p A P C 中で活性であるプロテアソーム。免疫プロテアソームは、感染組織又は後のインターフェロンへの露出中におけるいくつかの周辺細胞においても活性である。

【 0 0 4 7 】

エピトープ : 免疫応答を刺激することができる分子又は物質。好ましい実施形態において、本定義によるエピトープは、ポリペプチド又はポリペプチドをコードする核酸 (ポリペプチドは免疫応答を刺激することができる) を含むが、必ずしもこれらに限定されない。他の好ましい実施形態において、本定義によるエピトープは、細胞表面に提示されたペプチド (ペプチドは、T 細胞受容体 (T C R) と相互作用できるように、クラス I の M H C の結合溝 (cleft) に非共有結合的に結合している) を含むが、必ずしもこれらに限定されない。クラス I の M H C により提示されるエピトープは、未成熟形でも成熟形でもよい。「成熟」とは、任意の前駆体 (「未成熟」) と対照的に、本質的にハウスキーピングエピトープを含み得る、又はハウスキーピングエピトープから成り得る M H C エピトープを示すが、プロセッシング (プロテアソーム消化、N 末端トリミング、又は外因性酵素活

40

50

性の作用を、単独で、又は任意の組合せで含むが、限定されない)により除去される一次翻訳産物中の他の配列も含む。このように、成熟エピトープを若干長いポリペプチド中に埋め込むことができ、その免疫潜在能力は、少なくとも部分的に、埋め込まれたエピトープに応じる。同様に、成熟エピトープはその最終形として提供され、MHC結合溝中に結合することで、TCRにより認識されることができる。

【0048】

MHCエピトープ：哺乳類のクラスI又はクラスII主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子に対する、既知の又は予測された結合親和力を有するポリペプチド。

【0049】

ハウスキーピングエピトープ：好ましい実施形態において、ハウスキーピングエピトープは、MHCエピトープであり、且つハウスキーピングプロテアソームが優勢に活性である細胞上に表示されるポリペプチド断片として定義される。別の好ましい実施形態において、ハウスキーピングエピトープは、1個～複数個のさらなるアミノ酸が隣接した(flankeed)、上記した定義によるハウスキーピングエピトープを含有するポリペプチドとして定義される。別の好ましい実施形態において、ハウスキーピングエピトープは、上記した定義によるハウスキーピングエピトープをコードする核酸として定義される。例示的なハウスキーピングエピトープは、2002年4月4日付けで出願された米国出願第10/117,937号(公開番号20030220239 A1)、2005年2月25日付けで出願された同第11/067,159号(公開番号2005-0221440 A1)、2005年2月25日付けで出願された同第11/067,064号(公開番号2005-0142144 A1)、及び2003年9月5日付けで出願された同第10/657,022号(公開番号2004-0180354 A1)、2003年9月5日付けで出願された国際公開PCT/US2003/027706(公開番号WO2004/022709 A2)、2001年4月6日付けで出願された米国仮出願第60/282,211号、2001年11月7日付けで出願された同第60/337,017号、2002年3月7日付けで出願された同第60/363,210号、及び2002年9月6日付けで出願された同第60/409,123号において提供されている。列挙された各出願は、「エピトープ配列」と題されている。この段落に記載されている各出願は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【0050】

免疫エピトープ：好ましい実施形態において、免疫エピトープは、MHCエピトープであり、且つ免疫プロテアソームが優勢に活性である細胞上に表示されるポリペプチド断片として定義される。別の好ましい実施形態において、免疫エピトープは、1個～複数個のさらなるアミノ酸が隣接した、上記した定義による免疫エピトープを含有するポリペプチドとして定義される。別の好ましい実施形態において、免疫エピトープは、既知の又は予測されたクラスIのMHCに対する親和力を有する少なくとも2つのポリペプチド配列を有する、エピトープクラスタ配列を含むポリペプチドとして定義される。さらに別の好ましい実施形態において、免疫エピトープは、上記した定義のいずれかによる免疫エピトープをコードする核酸として定義される。

【0051】

標的細胞：好ましい実施形態において、標的細胞とは、免疫系の成分により作用され得る発病状態を伴う細胞、例えば、ウイルス若しくは他の細胞内寄生生物又は新生細胞に感染した細胞である。別の実施形態において、標的細胞は本発明のワクチン及び方法により標的とされる細胞である。本定義による標的細胞の例として、新生細胞、及び細胞内寄生生物(例えばウイルス、細菌又は原生生物)を保持する細胞が挙げられるが、必ずしもこれらに限定されない。また、標的細胞は、免疫プロテアソームを発現している細胞による適切なエピトープ遊離及びプロセッシングを決定又は確認する検定の一部として、CTLにより標的とされる細胞も含み、これにより所望のエピトープに対するT細胞の特異性又は免疫原性を決定する。このような細胞を形質転換させて遊離配列を発現させることができ、又は、細胞をペプチド/エピトープで単にパルスさせることもできる。

【 0 0 5 2 】

標的関連抗原 (T A A) : 標的細胞中に存在するタンパク質又はポリペプチド。

【 0 0 5 3 】

腫瘍関連抗原 (T u A A) : 標的細胞が新生細胞である T A A 。代替的な実施形態においては、T u A A は、腫瘍新生血管系、又は腫瘍微小環境内の他の間質細胞等の、腫瘍の非癌細胞と関連する抗原である。

【 0 0 5 4 】

H L A エピトープ : ヒトのクラス I 又はクラス I I の H L A 複合体分子に対して、既知の又は予測される結合親和力を有するポリペプチド。

【 0 0 5 5 】

抗体 : 自然免疫グロブリン (I g)、ポリ又はモノクローナル、又は I g 結合ドメインの全て若しくは一部から成る任意の分子であって、生化学的に又は組み換え D N A を用いて、又は任意の他の手段を用いて得られる分子。例として、とりわけ、F (a b)、単鎖 F v 及び I g 可変領域 - ファージ被覆タンパク質融合体が挙げられる。

【 0 0 5 6 】

実質的類似性 : 本用語は、参照配列の検査から判断される、重要度が低い様式で参照配列とは異なる配列を示すのに用いられる。同じアミノ酸配列をコードする核酸配列は、縮重点の違い、又は任意の非コード領域の長さ又は組成におけるわずかな違いがあるにもかかわらず、実質的に類似している。保存的置換又はわずかな長さの変異のみにより異なるアミノ酸配列は、実質的に類似している。さらに、N 末端に隣接している残基の数が異なるハウスキーピングエピトープ、又は両端に隣接している残基の数が異なる免疫エピトープ及びエピトープクラスタを含むアミノ酸配列は、実質的に類似している。実質的に類似しているアミノ酸配列をコードする核酸も、それら自体が実質的に類似している。

【 0 0 5 7 】

機能的類似性 : 本用語は、参照配列が実質的に類似していないけれども、生物学的又は生化学的特性の検査から判断される、重要度が低い様式で参照配列とは異なる配列を示すのに用いられる。例えば、2 つの核酸は、異なるアミノ酸配列をコードするが、同じ核酸配列に対するハイブリダイゼーションプローブとして、有用であり得る。交差反応性 C T L 応答を誘導する 2 つのペプチドは、それらが非保存的アミノ酸置換により異なっている (したがって、実質的類似性の定義の範囲ではない場合もある)、機能的に類似である。同じエピトープを認識する一対の抗体又は T C R は、どのような構造的差異が存在しようとも、互いに機能的に類似であり得る。免疫原性の機能的類似性の試験は、「改変」抗原で免疫性を与えること及び標的抗原を認識することができる、誘発された応答 (抗体応答、C T L 応答及びサイトカイン産生等を含むが、これらに限定されない) の能力を試験することにより実施される。したがって、2 つの配列は、同じ機能を有しながら、或る観点では異なるように設計されてもよい。開示される又は請求される配列の、このように設計された配列変異体は、本発明の実施形態中に含まれる。

【 0 0 5 8 】

発現カセット : 操作可能にプロモーター並びに他の転写及び翻訳制御要素 (エンハンサー、終止コドン、内部リボソーム侵入部位及びポリアデニル化部位を含むが、これらに限定されない) に結合した、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。本カセットは、1 つの宿主分子から別の分子への移動を容易にする配列も含むことができる。

【 0 0 5 9 】

埋め込みエピトープ : いくつかの実施形態において、埋め込みエピトープとは、より長いポリペプチドに完全に含有されているエピトープである。他の実施形態において、本用語は、エピトープがより長いポリペプチドに対して完全には内側にならないように、N 末端又は C 末端のみが埋め込まれたエピトープも含むことができる。

【 0 0 6 0 】

成熟エピトープ : エピトープが M H C ペプチド結合溝中に結合したときに、存在する配列を上回るさらなる配列が存在しないペプチド。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 1 】

エピトープクラスタ：ポリペプチド又はこれをコードする核酸配列であって、未変性タンパク質配列を含む、タンパク質配列のセグメントであり、共有 M H C 制限要素に対する結合親和力を有する、2 以上の既知の又は予測されるエピトープを含む、ポリペプチド又はこれをコードする核酸配列。好ましい実施形態において、クラスタ中のエピトープの密度は、完全なタンパク質配列中の共有 M H C 制限要素に対する結合親和力を有する、全ての既知の又は予測されるエピトープの密度よりも大きい。エピトープクラスタは、「エピトープクラスタ」と題される 2 0 0 0 年 4 月 2 8 日付けで出願された米国特許出願第 0 9 / 5 6 1 , 5 7 1 号（その内容全体は、参照により本明細書に援用される）に開示且つより完全に定義されている。

10

【 0 0 6 2 】

遊離配列：プロセッシング活性（免疫プロテアソーム活性、N 末端トリミング、及び / 又はその他の過程又は作用を、単独で、又は任意の組合せで含む）によりハウスキーピングエピトープが遊離される状況を提供する、より大きな配列中に埋め込まれたハウスキーピングエピトープを含むか又はコードする、設計又は遺伝子操作配列。

【 0 0 6 3 】

C T L p：C T L 前駆体は、細胞溶解活性を発現するために誘導され得る T 細胞である。C T L p がそれにより通常観察される、二次 *i n v i t r o* 溶菌活性は、*i n v i v o* で、未処置、エフェクター及びメモリー C T L の任意の組合せから発生させることができる。

20

【 0 0 6 4 】

メモリー T 細胞：体中の位置に関係なく、抗原により予め活性化された T 細胞であるが、エフェクター機能を獲得するためには抗原への再露出が必要である静止生理的状态にある。表現型としては、これらは通常、C D 6 2 L⁻、C D 4 4^{h i}、C D 1 0 7⁻、I G N⁻、L T⁻ 及び T N F⁻ であり、細胞周期の G 0 にある。

【 0 0 6 5 】

エフェクター T 細胞：抗原と遭遇する際に、直ちにエフェクター機能を示す T 細胞。エフェクター T 細胞は、通常リンパ系から出て、周囲の免疫系に入ることができる。表現型としては、これらは通常、C D 6 2 L⁻、C D 4 4^{h i}、C D 1 0 7⁺、I G N⁻、L T⁺ 及び T N F⁻ であり、活発に循環している。

30

【 0 0 6 6 】

エフェクター機能：通常は、細胞溶解活性及び / 又はサイトカイン分泌の獲得を通常含む、T 細胞活性化。

【 0 0 6 7 】

T 細胞応答の誘導：多くの実施形態において、未処置細胞、又は状況によっては静止細胞から、T 細胞応答を生じさせる、すなわち、T 細胞を活性化する過程を含む。

【 0 0 6 8 】

T 細胞応答の増幅：多くの実施形態において、細胞数、活性化細胞数、活性レベル、増殖速度、又は特定の応答に伴なう T 細胞の同様のパラメータを増加させる過程を含む。

【 0 0 6 9 】

40

同調：多くの実施形態において、誘導された T 細胞系統の免疫プロファイルに、特定の安定性を与える誘導を含む。様々な実施形態において、「同調」という用語は、「誘導」及び / 又は「開始」に相当する。

【 0 0 7 0 】

トール様受容体 (T L R)：トール様受容体 (T L R) は、微生物の特異的成分及び特定の宿主分子により活性化される、パターン認識受容体ファミリーである。先天性免疫系の一部として、これらは多くの病原体に対する防御の第 1 線に寄与するが、適応免疫においても役割を果たす。

【 0 0 7 1 】

トール様受容体 (T L R) リガンド：トール様受容体に結合且つトール様受容体を活性

50

化することができる任意の分子。例として、インターフェロンを誘導することで知られる、ポリIC A合成二本鎖RNAが挙げられるが、これに限定されない。上記ポリマーは、ポリイノシン酸及びポリシチジル酸の各一本鎖、二本鎖RNA、非メチル化CpGオリゴデオキシリボヌクレオチド又は他の免疫刺激配列(ISS)、リボ多糖(LPS)、-グルカン類、及びイミダゾキノリン類、並びにこれらの誘導体及び類似体から成る。

【0072】

免疫強化アジュバント：pAPC又はT細胞を活性化するアジュバントであって、例えばTLRリガンド、エンドサイトーシスパターン認識受容体(PRR)リガンド、キラヤサポニン類、ツカレソール及びサイトカイン等を含む、アジュバント。いくつかの好ましいアジュバントが、Marciani, D. J. Drug Discovery Today 8: 934-943, 2003(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に開示されている。

10

【0073】

免疫刺激配列(ISS)：通常は、非メチル化CpG配列を含有するオリゴデオキシリボヌクレオチド。CpGは、細菌により生産されたDNA(特にプラスミド)中に埋め込まれてもよい。さらなる実施形態は、様々な類似体を含み、好ましい実施形態の中では、ホスホロチオエート結合又は非生理的塩基を1つ以上有する分子がある。

【0074】

ワクチン：好ましい実施形態において、ワクチンは、病気の予防を提供又は助ける免疫性組成物であり得る。他の実施形態において、ワクチンは、病気の治癒を提供又は助けることができる組成物である。その他においては、ワクチン組成物は、病気の改善を提供又は助けることができる。ワクチン免疫性組成物のさらなる実施形態は、治療薬及び/又は予防薬として使用することができる。

20

【0075】

免疫化：病気に対して、部分的な又は完全な防御を誘導する過程。代替的には、抗原に対する免疫系応答を誘導又は増幅する過程。第2の定義としては、防御免疫応答、特に炎症誘発性又は能動免疫を暗示し得るが、制御応答も含み得る。したがって、いくつかの実施形態においては、免疫化は寛容化(免疫系が、炎症誘発性又は能動免疫を生成することを回避する過程)とは区別される一方、他の実施形態においてはこの用語は寛容化を含む。

【0076】

コード：特定のアミノ酸配列をコードする核酸が、その(ポリ)ペプチドを特定するコドンからなり得るが、翻訳可能な、又は転写、翻訳若しくは複製を制御するための、又は或る宿主核酸構築物の取り扱いを容易にするための、さらなる配列も含み得るような、制約のない用語。

30

【0077】

被覆率：特定のTuAA、又は選択された一組のTuAAからの少なくとも1つのTuAAを発現している腫瘍細胞の比又は割合。

【0078】

余剰：腫瘍細胞集団又はその或るサブセットが、選択されたTuAAの組の1つより多いTuAAを発現する程度。

40

【0079】

同時標的化：好ましい実施形態において、同時標的化とは、標的細胞に対する免疫応答を誘導及び/又は増幅することを含み、且つ腫瘍の近傍及び/又は中間において、少なくとも1つの他の因子に対する免疫応答を誘導することを含む。いくつかの実施形態において、上記腫瘍の上記近傍及び/又は中間内の因子として、癌細胞、新生血管系と関連するものを含む間質細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、炎症細胞、上皮細胞、自己分泌因子及び傍分泌因子が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、新生細胞及び間質細胞が特に標的化される。他の実施形態において、免疫応答は、腫瘍微小環境内の新生血管系及び他の非形質転換の非リンパ系細胞に対して、誘導及び/又は増幅される。さらに他の実施形態において、免疫応答は、腫瘍微小環境における細胞により生産さ

50

れる自己分泌及び／又は傍分泌因子並びに癌細胞に対して誘導される。

【 0 0 8 0 】

[腫瘍関連抗原]

本明細書中に開示される実施形態において有用な T u A A の例として、チロシナーゼ (配列番号 1)、M e l a n - A (配列番号 2)、S S X - 2 (配列番号 3)、P S M A (prostate-specific membrane antigen) (前立腺特異的膜抗原) (配列番号 4)、M A G E - 1 (配列番号 5)、M A G E - 3 (配列番号 6)、N Y - E S O - 1 (配列番号 7)、P R A M E (配列番号 8)、H e r 2 / N e u (配列番号 9)、メソテリン (配列番号 1 0 及び 1 1)、V E G F - A (配列番号 1 2) 及び P L K 1 (配列番号 1 3) が挙げられる。これらのタンパク質に対する自然コード配列、又はこれらの任意のセグメントは、これらの c D N A 又は完全コード配列 (c d s) (それぞれ配列番号 1 4 ~ 2 6) より決定することができる。タンパク質及び c D N A の配列は、アクセッション番号により識別され、本明細書と一緒に提出される配列リストに提供される。

10

【 0 0 8 1 】

【 表 1 - 1 】

表 1. 配列番号

配列番号	識別名	アクセッション 番号**
1	チロシナーゼタンパク質	P14679
2	Melan-A タンパク質	Q16655
3	SSX-2 タンパク質	NP_003138
4	PSMA タンパク質	NP_004467
5	MAGE-1 タンパク質	P43355

20

【表 1 - 2】

6	MAGE-3 タンパク質	P43357
7	NY-ESO-1 タンパク質	P78358
8	PRAME タンパク質	NP 006106
9	Her2/Neu タンパク質	P04626
10	メテリンアイソフォーム1 タンパク質	NP005814
11	メテリンアイソフォーム2 タンパク質	NP037536
12	VEGF-A タンパク質	P15692
13	PLK1 タンパク質	P53350
14	チロシナーゼ cDNA	NM_000372
15	Melan-A cDNA	U06452
16	SSX-2 cDNA	NM_003147
17	PSMA cDNA	NM_004476
18	MAGE-1 cds	M77481
19	MAGE-3 cds	U03735
20	NY-ESO-1 cDNA	U87459
21	PRAME cDNA	NM_006115
22	Her2/Neu cDNA	M11730
23	メテリンアイソフォーム1 cDNA	NM005823
24	メテリンアイソフォーム2 cDNA	NM013404
25	VEGF-A cDNA	NM_001025366
26	Plk1 cDNA	NM_005030

**ここ及び全体で使用される全てのアクセッション番号は、NCBIデータベース (例えば、ワールドワイドウェブ上のEntrez探索及び情報検索システムから) から情報を得ることができる。

【0082】

チロシナーゼは、メラニン細胞分化の最も特異的なマーカーの一つであると考えられているメラニン生合成酵素である。チロシナーゼはわずかな細胞型 (主にメラニン細胞) で発現され、しばしばメラノーマにおいて高レベルであることが分かった。TuAAとしてのチロシナーゼの有用性は、「異常細胞の一部がHLA-A2/チロシナーゼ由来ペプチドの複合体を提示する細胞異常を患う個体を識別する方法、及び個体を治療する方法(METHOD FOR IDENTIFYING INDIVIDUALS SUFFERING FROM A CELLULAR ABNORMALITY SOME OF WHOSE ABNORMAL CELLS PRESENT COMPLEXES OF HLA-A2/TYROSINASE DERIVED PEPTIDES, AND METHODS FOR TREATING SAID INDIVIDUALS)」と題される米国特許第5,747,271号 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される) に教示されている。

【0083】

PMe117としても知られているGP100も、メラノーマにおいて高レベルで発現する別のメラニン生合成タンパク質である。TuAAとしてのGP100は、「メラノーマ抗原並びに診断方法及び治療方法におけるその使用(MELANOMA ANTIGENS AND THEIR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC METHODS)」と題される米国特許第5,844,075号 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される) に開示されている。

【0084】

MART-1 (Melanoma Antigen Recognized by T cells) (T細胞認識メラノーマ抗原) としても知られるMelan-Aは、メラノーマにおいて高レベルで発現する別のメラニン生合成タンパク質である。Melan-A/MART-1のTuAAとしての有用性は、「メラノーマ抗原並びに診断方法及び治療方法におけるその使用(MELANOMA ANTIGENS AND THEIR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC METHODS)」と題される米国特許第5,874,560号及び同第5,994,523号の両方、並びに「HLA-A2により

提示される少なくとも1つの腫瘍拒絶抗原にプロセッシングされる腫瘍拒絶抗原先駆体をコードする単離核酸配列 (ISOLATED NUCLEIC ACID SEQUENCE CODING FOR A TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURSOR PROCESSED TO AT LEAST ONE TUMOR REJECTION ANTIGEN PRESENTED BY HLA-A2)」と題される米国特許第5,620,886号(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に教示されている。

【0085】

Hom-Mel-40としても知られているSSX-2は、高度に保存された癌・精巣(cancer-testis)(CT)抗原のファミリーのメンバーである(Gure, A. O.他、Int. J. Cancer 72: 965-971, 1997(その内容全体は、参照により本明細書に援用される))。そのTuAAとしての識別は、「メラノーマ特異的抗原をコードする単離核酸分子及びその使用 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULES WHICH ENCODE A MELANOMA SPECIFIC ANTIGEN AND USES THEREOF)」と題される米国特許第6,025,191号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に教示されている。癌・精巣抗原は、様々な腫瘍において見られるが、通常は、精巣以外の正常な成人組織には存在しない。SSXファミリーの種々のメンバーの発現は、様々な腫瘍細胞系において見られる。SSXファミリーメンバーの高い配列同一性のために、ファミリーの1つより多いメンバーから、類似したエピトープが生じ、且つMHC分子に結合することができ、それによりこのファミリーのメンバーに対して向けられたいくつかのワクチンは、このファミリーの他のメンバーに対して交差反応することができ、効果的である。

【0086】

MAGE-1 (melanoma-associated antigen-1) (メラノーマ関連抗原-1)、MAGE-2 (メラノーマ関連抗原-2) 及びMAGE-3 (メラノーマ関連抗原-3) は、癌・精巣抗原の別のファミリーのメンバーであり、もともとはメラノーマ中で発見されたが、様々な腫瘍中に見られる。TuAAとしてのMAGEタンパク質の識別は、「腫瘍拒絶抗原前駆体をコードする核酸配列 (MAGE-1)」と題される米国特許第5,342,774号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される) 及び多数のそれに続く特許に教示されている。現在、SWISSタンパク質データベースには、(ヒト)MAGEに関して17個の登録がある。これらのタンパク質には広範な類似性があり、したがって、多くの場合、あるものからのエピトープは、ファミリーの他のメンバーに交差反応応答を誘導することができる。少数のMAGEファミリーのメンバー、とりわけ、それぞれ精巣及び脳、並びに骨髄間質細胞において発現されるMAGE-H1及びMAGE-D1は腫瘍中には観察されていない。これらが、他のMAGEタンパク質と最低限類似している事実により、正常組織における交差反応の可能性は改善される。

【0087】

GAGE-1は、癌・精巣抗原のGAGEファミリーのメンバーである (Van den Eynde, B.他、J. Exp. Med. 182: 689-698, 1995; 米国特許第5,610,013号; 同第5,648,226号; 同第5,858,689号; 同第6,013,481号; 及び同第6,069,001号(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される))。PubGeneデータベースは現在、12個の別個のアクセス可能なメンバーを列挙しており、そのうちのいくつかはPAGE又はXAGEというシノニムで知られている。GAGE-1からGAGE-8は、非常に高い配列同一性の程度を有し、それゆえほとんどのエピトープがファミリーの複数のメンバー間で共有され得る。

【0088】

BAGEは、一般に、メラノーマ、特に転移性メラノーマ、並びに肺、乳房、膀胱及び頭頸部の扁平上皮細胞の癌腫において発現される癌・精巣抗原である。そのTuAAとしての有用性は、「腫瘍拒絶抗原前駆体BAGE中のアミノ酸配列に対応する腫瘍拒絶抗原、及びその使用 (TUMOR REJECTION ANTIGENS WHICH CORRESPOND TO AMINO ACID SEQUENCES IN TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURSOR BAGE, AND USES THEREOF)」と題される米国特許第5,683,888号、及び「BAGE腫瘍拒絶抗原前駆体をコードする単離核酸分子 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULES CODING FOR BAGE TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURS

ORS)」と題される同第5, 571, 711号(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に、それぞれ教示されている。

【0089】

C T A G - 1 (Cancer Testis Antigen-1) (癌・精巣抗原 - 1) 及び C A G - 3 (Cancer Antigen-3) (癌抗原 - 3) としても知られている N Y - E S O - 1 は、多種多様な腫瘍において見られる癌・精巣抗原である。T u A A としての N Y - E S O - 1 は、「食道癌関連抗原をコードする単離核酸分子、抗原自体、及びそれらの使用 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULE ENCODING AN ESOPHAGEAL CANCER ASSOCIATED ANTIGEN, THE ANTIGEN ITSELF, AND USES THEREOF)」と題される米国特許第5, 804, 381号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に開示されている。広範な配列同一性を有する抗原をコードするパラログな遺伝子座である L A G E - 1 a / s 及び L A G E - 1 b / L は、一般的に入手可能なヒトゲノムのアセンブリ中に開示されており、選択的スプライシングを介して生じると結論付けられている。さらに、C T - 2 (又は C T A G - 2、癌・精巣抗原 - 2) は、L A G E - 1 b / L の対立遺伝子、突然変異体又は配列不一致のいずれかであるように思われる。広範な配列同一性により、N Y - E S O - 1 からの多くのエピトープはまた、これら他の抗原を発現している腫瘍に対して免疫性を誘導することができる。N Y - E S O - 1 及び L A G E は、アミノ酸70までは事実上同一である。アミノ酸71からアミノ酸134では、2つのタンパク質間の同一性の最長距離は6残基であるが、潜在的に交差反応可能な配列が存在する。アミノ酸135からアミノ酸180では、N Y - E S O 及び L A G E - 1 a / s は、ただ一つの残基以外は同一であるが、L A G E - 1 b / L は選択的スプライシングにより関連性がない。C A M E L 及び L A G E - 2 抗原は、L A G E - 1 の m R N A からであるが、選択的リーディングフレームに由来すると思われ、そのため関連性のないタンパク質配列が生じてしまう。つい最近、G e n B a n k アクセッション番号 A F 2 7 7 3 1 5 . 5 (ヒト染色体Xのクローンである R P 5 - 8 6 5 E 1 8 及び R P 5 - 1 0 8 7 L 1 9、完全配列) は、この領域内の3つの独立遺伝子座を報告しており、これらは L A G E 1 (ゲノムアセンブリ中の C T A G - 2 に対応)、L A G E 2 - A 及び L A G E 2 - B (両者ともゲノムアセンブリ中の C T A G - 1 に対応) と標識されている。

【0090】

M A P E、D A G E 及び O I P 4 としても知られている P R A M E は、もともとはメラノーマ抗原として観察された。その後、これは癌・精巣 (C T) 抗原として認識されたが、多くの C T 抗原 (M A G E、G A G E 及び B A G E 等) とは異なり、P R A M E は急性骨髄性白血病において発現する。P R A M E は M A P E ファミリーのメンバーであり、大部分は限定された配列類似性を共有する仮定タンパク質からなる。T u A A としての P R A M E の有用性は、「腫瘍拒絶抗原前駆体 D A G E をコードする単離核酸分子、及びその使用 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULES CODING FOR TUMOR REJECTION ANTIGEN PRECURSOR DAGE AND USES THEREOF)」と題される米国特許第5, 830, 753号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に教示されている。

【0091】

「前立腺特異的膜抗原 (PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANES ANTIGEN)」と題される米国特許第5, 538, 866号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に記載される T u A A である P S M A (前立腺特異的膜抗原) は、正常な前立腺上皮により発現され、前立腺癌中において高レベルである。これは、非前立腺腫瘍の新生血管系においても見られる。したがって、P S M A は前立腺癌及び他の腫瘍の新生血管系の両方に向けられるワクチンの基礎を形成することができる。後者の概念は、「癌に対する抗新生血管系製剤 (ANTI-NEOVASCULATURE PREPARATIONS FOR CANCER)」と題される、2002年3月7日付けで出願された米国仮出願第60/274, 063号、及び2002年3月7日付けで出願された米国出願第10/094, 699号(公開番号20030046714 A 1)、及び2005年6月30日付けで出願された同第11/073, 347号(公開番号**) (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)により完全に

10

20

30

40

50

記載されている。簡便には、腫瘍が成長するに従い、新たな血管の内部成長を補充する。血管を発達させていない腫瘍の中心は通常壊死するため成長を維持する必要があることが理解され、血管形成阻害剤が、腫瘍退縮を起こすと報告されてきた。このような新たな血管又は新生血管系は確立した血管には見られない抗原を発現し、したがって、特異的に標的化することができる。新生血管系抗原に対するCTLを誘導することにより、血管を破壊させる可能性があり、腫瘍への栄養分の流れ及び腫瘍からの老廃物の除去を妨げ、退縮させる。

【0092】

P S M A m R N A の選択的スプライシングは、M e t₅₈で明らかに始まるタンパク質へと導き、「選択的スプライシングされた前立腺特異的膜抗原をコードする単離核酸分子、及びその使用 (ISOLATED NUCLEIC ACID MOLECULE ENCODING ALTERNATIVELY SPLICED PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANES ANTIGEN AND USES THEREOF)」と題される米国特許第5,935,818号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に記載されるように、P S M A の推定膜アンカー領域を欠失する。P S M A 様タンパク質と称されるタンパク質 (G e n b a n k アクセッション番号 A F 2 6 1 7 1 5) は P S M A のアミノ酸309~750とほぼ同一であるが、異なる発現プロファイルを有する。したがって、最も好ましいエピトープは、アミノ酸58~308に位置するN末端を有するものである。

10

【0093】

P S A (prostate specific antigen) (前立腺特異的抗原)は、カリクレインファミリーのペプチダーゼであり、前立腺の分化抗原である。乳房組織における発現も報告されている。代替的名称には、-セミプロテイン、カリクレイン3、セミノゲラーゼ、セニン及びP-30抗原が挙げられる。P S A は、様々な選択的スプライシング産物(前立腺/腺カリクレイン-1及び-2、並びにカリクレイン-4)と高精度の配列同一性を有し、前立腺及び乳房組織においても発現する。他のカリクレインは、通常、より少ない配列同一性を共有し、且つ異なる発現プロファイルを有する。それでもなお、任意の特定のエピトープにより引き起こされ得る交差反応性は、そのエピトープが非標的組織中におけるプロセッシング(最も一般的には、ハウスキーピングプロテアソームによる)により遊離され得る見込みに加え、ワクチンの設計において考慮されるべきである。

20

【0094】

S C A H - 2 としても知られている P S C A (prostate specific antigen) (前立腺幹細胞抗原)は、前立腺上皮細胞において選択的に発現し、且つ前立腺癌において過剰発現する分化抗原である。低レベルの発現は、消化管及び腎臓の集合管の神経内分泌細胞を含むいくつかの正常細胞において見られる。P S C A は、「ヒト幹細胞抗原 (HUMAN STEM CELL ANTIGENS)」と題される米国特許第5,856,136号(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)に記載されている。

30

【0095】

H O M - T E S - 1 4 としても知られているシナプトネマ複合体タンパク質1 (synaptosomal complex protein 1) (S C P - 1)は、減数分裂関連タンパク質であり、癌・精巢抗原でもある (Tureci, O.他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 5211-5216, 1998(その内容全体は、参照により本明細書に援用される))。癌抗原として、その発現は細胞周期により制御されてはおらず、しばしばグリオーマ、乳房、腎細胞及び卵巣癌腫において見られる。これは、ミオシンといくつかの類似性を有するが、交差反応性エピトープが直ちに期待できないほど同一性が小さい。

40

【0096】

フィブロネクチンのE D - B ドメインもまた、潜在的標的である。フィブロネクチンは、E D - B ドメインが、主として腫瘍胎児組織中で使用される単一エクソンにコードされるため、発生学的に制御される選択的スプライシングを受けやすい (Matsuura, H. 及び S. Hakomori, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 6517-6521, 1985; Carnemolla, B. 他、J. Cell Biol. 108: 1139-1148, 1989; Loidon-Rosa, B. 他、Cancer Res. 50: 1608-1612, 1990; Nicolo, G. 他、Cell Differ. Dev. 32: 401-408, 1990; Borsi, L. 他、Exp. Cell

50

Res. 199: 98-105, 1992 ; Oyama, F. 他、Cancer Res. 53: 2005-2011, 1993 ; Mandel, U. 他、APMIS 102: 695-702, 1994 ; Farnoud, M. R. 他、Int. J. Cancer 61: 27-34, 1995 ; Pujuguet, P. 他Am. J. Pathol. 148:579-592, 1996 ; Gabler, U. 他、Heart 75: 358-362, 1996 ; Chevalier, X. Br. J. Rheumatol. 35: 407-415, 1996 ; 及びMidulla, M. Cancer Res. 60:164-169, 2000 (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)) 。

【 0 0 9 7 】

E D - B ドメインは、新生血管系のフィブロネクチンにおいても発現する (Kaczmarek, J. 他、Int. J. Cancer 59: 11-16, 1994 ; Castellani, P. 他、Int. J. Cancer 59: 612-618, 1994 ; Neri, D. 他、Nat. Biotech. 15: 1271-1275, 1997 ; Karelina, T. V. 及びA. Z. Eisen, Cancer Detect. Prev. 22: 438-444, 1998 ; Tarli, L. 他、Blood 94: 192-198, 1999 ; 及びCastellani, P. 他、Acta Neurochir. (Wien) 142: 277-282, 2000 (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)) 。腫瘍胎児性ドメインとして、E D - B ドメインは一般に、新生血管系により発現されるのに加えて、新生細胞により発現されるフィブロネクチンにおいて見られる。したがって、E D - B ドメインを標的とするC T L 誘導ワクチンは、2つの作用機構を示すことができる、すなわち、腫瘍細胞の直接的溶解、及び腫瘍関連新生血管系の崩壊による腫瘍の血液供給の阻害である。C T L 活性はワクチンの使用中止後迅速に減衰するため、正常な血管形成への干渉は最小限となり得る。新生血管系を標的とするワクチンの設計及び試験は、「癌に対する抗新生血管系製剤 (ANTI-NEOVASCULATURE PREPARATION FOR CANCER)」と題される、2001年3月7日付けで出願された米国仮出願第60/274,063号、2002年3月7日付けで出願された米国出願第10/094,699号 (公開番号20030046714 A1) 、及び2005年6月30日付けで出願された同第11/073,347号 (公開番号*) (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される) に記載されている。腫瘍細胞系統は、2002年3月7日付けで出願された「H L A トランスジェニックマウス腫瘍細胞系統 (HLA-TRANSGENIC MURINE TUMOR CELL LINE)」と題される米国仮出願第60/363,131号 (この内容全体は、参照により本明細書に援用される) に記載されている。

【 0 0 9 8 】

癌胎児性抗原 (carcinoembryonic antigen) (C E A) は、1965年に始めて記載された典型的な腫瘍胎児タンパク質である (Gold及びFreedman, J. Exp. Med. 121: 439-462, 1965 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される)) 。より十分な参照は、「オンライン・人類のメンデル遺伝 ; 登録番号114890 (the Online Mendelian Inheritance in Man; record* 114890) 」に見出すことができる。これは、癌胎児性抗原関連細胞接着分子5 (carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 5) (C E A C A M 5) と公式に改名された。その発現は、消化管及び胎児の結腸の上皮層の腺癌と、最も強く関連する。C E A は免疫グロブリンスーパー遺伝子ファミリーのメンバーであって、且つC E A サブファミリーを定義付けるメンバーである。

【 0 0 9 9 】

バキュロウイルス I A P 繰り返し含有タンパク質5 (Baculoviral IAP Repeat-Containing Protein 5) (B I R C 5) としても知られているスルビピンは、腫瘍胎児発現パターンを有する別のタンパク質である。これはアポトーシスタンパク質 (I A P) 遺伝子ファミリーの阻害剤のメンバーである。これは癌において広範に過剰発現され (Ambrosini, G. 他、Nat. Med. 3: 917-921, 1997 ; 及びVelculiscu V. E. 他、Nat. Genet. 23: 387-388, 1999 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される)) 、アポトーシス阻害剤としてのその機能は、悪性の表現型に寄与すると信じられている。

【 0 1 0 0 】

H E R 2 / N E U は上皮成長因子受容体に関係する癌遺伝子であり (van de Vijver 他、New Eng. J. Med. 319: 1239-1245, 1988 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される)) 、c - E R B B 2 癌遺伝子と明らかに同一である (Di Fiore 他、Science 23

10

20

30

40

50

7: 178-182, 1987 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される))。E R B B 2 の過剰発現は、前立腺癌の新生物形質転換に関係があるとされてきた。H E R 2 に関しては、発現レベルが腫瘍の悪性度と相関する他の腫瘍中、乳癌の25~30%において増幅且つ過剰発現される(Slamon他、New Eng. J. Med. 344: 783-792, 2001 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される))。より詳細な記載は、オンライン・人類のメンデル遺伝；登録番号164870において入手可能である。

【0101】

メソテリンは、もともと中皮腫において発見された抗原であるが、多くの膵臓癌及び卵巣癌において上方制御されることも知られている。ワクチン標的、並びに有用なエピトープとしてのその使用は、Thomas, A. M.他, J. Exp. Med. 200:297-306, 2004に記載され、その内容全体は、参照により本明細書に援用される。

【0102】

血管内皮成長因子 (Vascular Endothelial Growth Factor) (V E G F - A 又は V E G F) は、血小板由来の成長因子と構造的に関連するが、血管内皮細胞に集中しているミトジェン活性がより低いミトジェンタンパク質である。癌治療の標的が留意されているので、このタンパク質及びその受容体が、腫瘍成長及びその潜在性に重要である(Folkman, J. Nature Med. 1:27-31, 1995) (その内容全体は、参照により本明細書に援用される)。より詳細な記載は、オンライン・人類のメンデル遺伝；登録番号192240において入手可能である。

【0103】

P L K 1 は、細胞周期の調節及びD N A 損傷応答に重要な役割を果たす細胞内セリン / スレオニンキナーゼである。P L K 1 の変異又はノックダウンは、異常な有糸分裂、細胞周期の停止及びアポトーシスをもたらす(Reagan-Shaw S. 及び Ahmad N., FASEB J. 19:611, 2005)。P L K 1 は、構造的に保存されるキナーゼの P o l o 様キナーゼファミリーに属している。この P L K 1 ファミリーは、細胞内局在性の原因である2つの保存領域、N 末端キナーゼドメイン及びC 末端非触媒 P o l o ボックス領域を含む(Lowery DM他, Oncogene 24:248, 2005)。P L K は、中間期の細胞質で優位に見出され、有糸分裂中の細胞核に局在する(Takai N他, Oncogene 24:2872005)。P L K 1 の核局在は、その生物学的機能に非常に重要である(Lee KS他, Proc Natl Acad Sci USA 95:9301, 1998)。最も古典的な腫瘍関連抗原は、腫瘍発生又は病気の進行に関与することが知られていない一方で、P L K 1 は腫瘍成長を促進することが示されている。したがって、いくつかの実施形態では、P L K 1 は、癌の免疫療法のための標的として使用することができる腫瘍関連抗原であると見なすことができる。この発現プロファイルに基づくと、P L K 1 は増殖細胞で発現され、ほとんどの固形癌で見出される発現の増加を伴っている。この発現パターンは、P L K 1 を能動免疫療法及び受動免疫療法の有効な標的にする。

【0104】

腫瘍関連抗原のさらなる例として、M e l a n - A (M A R T - 1)、g p 1 0 0 (P m e l 1 7)、チロシナーゼ、T R P - 1、T R P - 2、M A G E - 1、M A G E - 3、B A G E、G A G E - 1、G A G E - 2、p 1 5 (5 8)、C E A、R A G E、N Y - E S O (L A G E)、S C P - 1、H o m / M e l - 4 0、P R A M E、p 5 3、H - R a s、H E R - 2 / n e u、B C R - A B L、E 2 A - P R L、H 4 - R E T、I G H - I G K、M Y L - R A R、エプステインバルウイルス抗原、E B N A、ヒトパピローマウイルス (H P V) 抗原 E 6 及び E 7、T S P - 1 8 0、M A G E - 4、M A G E - 5、M A G E - 6、p 1 8 5 e r b B 2、p 1 8 0 e r b B - 3、c - m e t、n m - 2 3 H 1、P S A、T A G - 7 2 - 4、C A 1 9 - 9、C A 7 2 - 4、C A M 1 7 . 1、N u M a、K - r a s、- カテニン、C D K 4、M u m - 1、p 1 6、T A G E、P S M A、P S C A、C T 7、テロメラゼ、4 3 - 9 F、5 T 4、7 9 1 T g p 7 2、- フェトプロテイン、- H C G、B C A 2 2 5、B T A A、C A 1 2 5、C A 1 5 - 3 (C A 2 7 . 2 9 / B C A A)、C A 1 9 5、C A 2 4 2、C A - 5 0、C A M 4 3、C D 6 8 / K P 1、C O - 0 2 9、F G F - 5、G 2 5 0、G a 7 3 3 (E p C A M

10

20

30

40

50

)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90(Mac-2結合タンパク質/シクロフィリンC関連タンパク質)、TAAL6、TAG72、TLP並びにTPS等が挙げられる。

【0105】

さらなる腫瘍関連抗原は、www.cancerimmunotherapy.org/SEREX/における「血清学的発現クローニングによるヒト腫瘍抗原の同定：SEREXのオンラインレビュー(Identification of human tumor antigens by serological expression cloning: an online review on SEREX)」、Chen, YT、Cancer Immun. 2004(2004年3月10日更新；2004年4月1日言及)；及び「T細胞によって認識される腫瘍抗原の列挙(A listing of tumor antigens recognized by T cells)」、Renkvist, N.他、Cancer Immunology Immunotherapy, 50: 3-15 (2001)(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に記載されている。

【0106】

Scanlan他、「癌/精巣遺伝子：レビュー、標準化及び論評(The cancer/testis genes: Review, standardization, and commentary)」、Cancer Immunity 4: 1(2004年1月23日)(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)から出典された表2は、CT抗原のリストを提供する。表3は、表2のCT抗原に対する、様々な腫瘍型におけるmRNAの発現頻度を提供する。Scanlan他、「癌/精巣遺伝子：レビュー、標準化及び論評」、Cancer Immunity 4: 1(2004年1月23日)(その内容全体は、参照により本明細書に援用される)。

【0107】

【表2-1】

表2. CT遺伝子のリスト

CT 識別名	転写/転写ファミリー	ファミリーメンバー/CT識別名(シノニム)
CT1	MAGEA	MAGEA1/CT1.1, MAGEA2/CT1.2, MAGEA3/CT1.3, MAGEA4/CT1.4, MAGEA5/CT1.5, MAGEA6/CT1.6, MAGEA7/CT1.7, MAGEA8/CT1.8, MAGEA9/CT.9, MAGEA10/CT1.10, MAGEA11/CT1.11, MAGEA12/CT1.12
CT2	BAGE	BAGE/CT2.1, BAGE2/CT2.2, BAGE3/CT2.3, BAGE4/CT2.4, BAGE5/CT2.5
CT3	MAGEB	MAGEB1/CT3.1, MAGEB2/CT3.2, MAGEB5/CT3.3, MAGEB6/CT3.4
CT4	GAGE1	GAGE1/CT4.1, GAGE2/CT4.2, GAGE3/CT4.3,

【表 2 - 2】

		GAGE4/CT4.4, GAGE5/CT4.5, GAGE6/CT4.6, GAGE7/CT4.7, GAGE8/CT4.8
CT5	SSX	SSX1/CT5.1, SSX2/CT5.2a, SSX2/CT5.2b, SSX3/CT5.3, SSX4/CT5.4
CT6	NY-ESO-1	NY-ESO-1/CT6.1, LAGE-1a/CT6.2a, LAGE- 1b/CT6.2b
CT7	MAGEC1	MAGEC1/CT7.1, MAGEC3/CT7.2
CT8	SYCP1	SYCP1/CT8
CT9	BRDT	BRDT/CT9
CT10	MAGEE1	MAGEE1/CT10
CT11	CTp11/SPANX	SPANXA1/CT11.1, SPANXB1/CT11.2, SPANXC/CT11.3, SPANXD/CT11.4
CT12	XAGE-1/GAGED	XAGE-1a/CT12.1a, XAGE-1b/CT12.1b, XAGE- 1c/CT12.1c, XAGE-1d/CT12.1d, XAGE- 2/CT12.2, XAGE-3a/CT12.3a, XAGE- 3b/CT12.3b, XAGE-4/CT12.4
CT13	HAGE	HAGE/CT13
CT14	SAGE	SAGE/CT14
CT15	ADAM2	ADAM2/CT15
CT16	PAGE-5	PAGE-5/CT16.1, CT16.2
CT17	LIP1	LIP1/CT17
CT18	NA88	NA88/CT12
CT19	IL13RA1	IL13RA1/CT19

10

20

30

40

【表 2 - 3】

CT20	TSP50	TSP50/CT20
CT21	CTAGE-1	CTAGE-1/CT21.1, CTAGE-2/CT21.2
CT22	SPA17	SPA17/CT22
CT23	OY-TES-1	OY-TES-1/CT23
CT24	CSAGE	CSAGE/CT24.1, TRAG3/CT24.2
CT25	MMA1/DSCR8	MMA-1a/CT25.1a, MMA-1b/CT25.1b
CT26	CAGE	CAGE/CT26
CT27	BORIS	BORIS/CT27
CT28	HOM-TES-85	HOM-TES-85/CT28
CT29	AF15q14/ D40	D40/CT29
CT30	E2F-like/HCA661	HCA661/CT30
CT31	PLU-1	PLU-1/CT31
CT32	LDHC	LDHC/CT32
CT33	MORC	MORC/CT33
CT34	SGY-1	SGY-1/CT34
CT35	SPO11	SPO11/CT35
CT36	TPX1	TPX-1/CT36
CT37	NY-SAR-35	NY-SAR-35/CT37
CT38	FTHL17	FTHL17/CT38

10

20

30

40

【表 2 - 4】

CT39	NXF2	NXF2/CT39
CT40	TAF7L	TAF7L/CT40
CT41	TDRD1	TDRD1/CT41.1, NY-CO-45/CT41.2
CT42	TEX15	TEX15/CT42
CT43	FATE	FATE/CT43
CT44	TPTE	TPTE/CT44
---	PRAME	(MAPE, DAGE)

10

【 0 1 0 8 】

20

【表 3 - 1】

表 3.

CTファミリー (メンバー)	腫瘍型における発現の頻度 (%)															Ref
	Bladder	Breast	Colon	Esophagus	Gastric	H/N	Liver	Leuk/Lymph	Ductal (NSCLC)	Melanoma	Ovary	Pancreas	Prostate	Renal	Sarcoma	
MAGEA1/CT1.1	22	-	18	2	53	29	28	80	0	49	48	-	15	0	14	44
BAGE1/CT2.1	15	-	10	0	-	-	8	-	0	4	26	-	0	0	6	44
MAGEB1/CT3.1	0	0	17	0	-	0	0	-	0	14	22	-	0	0	9	45
GAGE/CT4.1	12	-	9	0	-	-	19	38 ^b	1	19	28	-	10	0	25	44
SSX2/CT5.2	44	6	7	12	-	-	35	9 ^b	36	16	35	-	40	5	50	46
NY-ESO-1/CT6.1	80	0	30	0	-	0	-	29	0	17	34	25	0	9	0	8
MAGEC1/CT7.1	44	-	30	10	-	-	36	-	-	33	70	-	-	-	60	20
SYCP1/CT8	-	47	20	0	-	7	-	28 ^b	0	7	14	0	0	8	0	9
BRDT/CT9	0	-	0	0	8	-	8	-	-	25	0	-	-	0	-	16
MAGEE1/CT10	44	-	38	0	-	-	36	-	-	24	50	-	-	-	0	12
SPANXC/CT11.3	9	-	25	22	0	-	-	-	-	33	70	-	0	-	-	14

10

20

30

40

10

20

30

40

【表 3 - 3】

D40/CT29	-	20	-	13	-	0	-	-	-	-	41	-	36	27	-	-	55
HCA661/CT30	0	-	-	-	-	0	0	29	-	-	-	20	-	-	-	-	56
PLU-1/CT31	-	-	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27
LDHC/CT32	-	-	35	15	-	-	-	-	-	-	47	44	42	-	37	57	18
MORC/CT33	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	18	18	14	-	0	0	18
SGY-1/CT34	-	-	20	0	-	-	-	-	-	-	12	25	57	-	12	0	18
SPO11/CT35	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	6	0	-	0	0	18
TPX1/CT36	-	-	15	0	-	-	-	-	-	-	-	6	14	-	37	14	18
NYSAR35/CT37	42	-	23	0	8	-	-	-	-	-	17	6	8	-	-	0	57
FTHL17/CT38	22	-	14	0	0	-	10	-	-	0	25	0	-	-	0	0	58
NXF2/CT39	19	-	0	11	12	-	5	-	-	0	15	55	-	-	14	0	58
TAF7L/CT40	10	-	0	0	0	-	10	-	-	0	9	21	-	-	0	12	58
TDRD1/CT41.1	28	-	37	0	10	-	22	-	-	5	5	0	-	-	38	0	58
TEX15/CT42	21	-	0	0	20	-	11	-	-	0	21	27	-	-	12	33	58

10

20

30

40

【表 3 - 4】

FATE/CT43	-	-	-	-	21	-	7	-	66	-	0	-	-	-	-	-	19
TPTE/CT44	-	-	-	-	0	-	0	-	39	-	36	-	-	-	-	-	19

^a省略形: Bladは膀胱; Brnは脳; Brstは乳房; Colは結腸; Gasは胃; H/Nは頭頸部; Leukは白血病;
 Lymphはリンパ腫; NSCLCは非小細胞肺癌腫; Melはメラノーマ; Ovは卵巣; Pancrは膵臓; Prosは前立腺;
 Sarcは肉腫; Refは参照。

^b参照59。

【0109】

上記の表で示される多くの抗原は、形質転換表現型の細胞の維持において報告された役割はなく、したがって、形質転換細胞は細胞の生存率又は病気の悪性度に影響を与えることなく、このような抗原の発現を失う可能性がある。SSXタンパク質等のいくつかのC

10

20

30

40

50

T 抗原が転写調節因子であることが知られているが、腫瘍原性におけるこれらの役割（もしあれば）は不明瞭なままである。P R A M E がレチノイン酸受容体を介してシグナル伝達を抑制し、それによって、レチノイン酸誘導性の分化、成長停止及びアポトーシスが阻害されることも、近年明らかになり、したがって、P R A M E の過剰発現が成長又は延命効果のある腫瘍細胞を与えることができることを示唆している。抗原を標的化することが有利であり、この抗原の喪失は必ず細胞の生存率又は病気の重症度に影響を与えるであろう。このような抗原は、本明細書中に開示される腫瘍並びに / 又は腫瘍抗原及び間質抗原の組合せの好ましい実施形態において包含される。

【 0 1 1 0 】

しかし、増幅の調節に関与する多くの遺伝子は、突然変異型における最初の腫瘍形成において重要であり、それは突然変異型における特異的な免疫攻撃が、エピトープ内に適切に置かれた突然変異によって変わるためである。さらに、形質転換細胞と正常細胞又は少なくとも生命維持に必要な器官の正常細胞との間の発現レベルに実質的な違いが存在する場合は、（標的化分子が野生型又は突然変異型であるかどうかに関わらず）一般的に野生型分子に存在するエピトープのみを考慮する。したがって、適切な抗原を認識するのが困難である。

10

【 0 1 1 1 】

P L K 1 の発現は、細胞周期の進行中、並びに様々な病気の段階を通して調整される。P L K 1 の発現は、細胞分裂の最初の期で最小になり、G 2 期の間に上昇が始まり、M 期でピークに達する。細胞が有糸分裂を終了させた後、P L K 1 は標的化され、プロテアソーム過程により分解する。正常な組織において、P L K 1 は、脾臓、胎盤、卵巣及び精巣等の高い増殖性のある細胞を含む成人の器官で発現される。この発現は、心臓、肺、肝臓、脳、腸、平滑筋及び皮膚等の生命維持に必要な器官では検出されない。野生型の P L K 1 は、乳癌腫、前立腺癌腫、卵巣癌腫、非小細胞肺癌腫、頭頸癌腫、結腸癌腫、膵臓癌腫、子宮内膜癌腫及び食道癌腫を含む腫瘍組織において過剰発現される（表 4）。重要なことに、P L K 1 の発現レベルがより進行性段階の腫瘍の進行及び不良な予後と関連することがよくある (Wolf G 他, Oncogene 14:543, 1997, Takai N 他, Cancer Lett. 164:41, 2001)。これは、N S C L C、食道癌腫及び頭頸癌腫の場合に、特に示されている。したがって、P L K 1 は、P L K 1 が過剰発現される、これらの腫瘍に対する癌の免疫療法の実行可能な標的である。

20

30

【 0 1 1 2 】

【表 4】

表 4. P l k - 1 発現プロファイル

腫瘍	浸透率	発現レベル	文献
肺 (NSCLC)	> 90 %	中度／強度	Wolf G <i>et al</i> , <i>Oncogene</i> 14:543, 1997.
卵巣	> 85 %	低度／強度	Takai N <i>et al</i> , <i>Cancer Lett.</i> 164:41, 2001
乳房	43 %	中度／強度	Weichert W <i>et al</i> , <i>Virchows Arch</i> , 446: 442, 2005.
前立腺	53 %	中度／強度	Weichert W <i>et al</i> , <i>Curr. Biol.</i> 101:4419, 2004.
結腸直腸	73 %	中度／強度	Takahashi T <i>et al</i> , <i>Cancer Sci.</i> 94:148 2003.
膵臓	48 %	中度／強度	Gray JP <i>et al</i> , <i>Mol Cancer Ther.</i> 3:641,2004.
頭頸	72 %	中度／強度	Knecht R <i>et al</i> , <i>Cancer Res.</i> 59:2794, 1999.
メラノーマ	53 %	中度	Strebhardt K. <i>et al</i> , <i>JAMA.</i> 283:479, 2000.
食道	96 %	中度	Tokumitsu Y <i>et al</i> , <i>Int J Oncol.</i> 15:687, 1999.

10

20

【 0 1 1 3 】

この表で示したそれぞれの文献は、参照により本明細書に援用される。

30

【 0 1 1 4 】

腫瘍新生血管系と関連するさらなる抗原は、米国特許第 6 , 3 4 2 , 2 2 1 号（その内容全体は、参照により本明細書に援用される）に記載されている V E G F R 2（vascular endothelial growth factor receptor 2）（血管内皮成長因子受容体 2）及び国際公開特許第 9 9 / 4 3 8 0 1 号（その内容全体は、参照により本明細書に援用される）に記載される内皮細胞に特異的な受容体チロシンキナーゼである T i e - 2 である。

【 0 1 1 5 】

上記で列挙されたもの等の抗新生血管系剤を使用して達成することができる、腫瘍への血流の中断に加えて、癌細胞で発現された分子と、内在する形質転換していない間質細胞で発現された分子（例えば新生血管系並びに間質組織を含む）とを同時標的化することは、限られた腫瘍成長における開示された方法及び組成物の有効性及び他のメカニズムによる癌の退縮の促進を改善することもできる。間質は、新生血管系並びに線維芽細胞、及び一般には腫瘍微小環境内の形質転換していない非リンパ系細胞全てを包含する。例えば、（細胞傷害性の T リンパ球（C T L）又は抗体依存性の細胞傷害性細胞（A D C C）を介する）内皮細胞の免疫介在性の攻撃が、原発腫瘍及び転移病巣内の新生細胞を標的化する、C T L 等の免疫エフェクターの補充及び転位をもたらす、新生血管系の透過化及び炎症事象の開始をもたらし得る。さらに、内皮細胞の M H C - ペプチド複合体の T 細胞認識に基づく攻撃が内腔環境で起こるので、腫瘍環境の任意の免疫抑制作用は最小化される。癌細胞だけを標的化する方法に比べて、関連の間質組織を同時に標的化する方法は、したが

40

50

って前者の有効性を改善する。いくつかの実施形態では、この有効性は相乗的に高められる。同様に、新生血管系のみを標的化する戦略に比べて、癌細胞を同時に標的化する方法は、限られた大きさ及び血管形成の病巣等の病巣、特に生命維持に必要な器官内で不利益に位置する病巣を攻撃することによる治療効果を全体的に改善する。新生血管系に関しては、VEGFR（例えばVEGFR II等）、CD55及びPSMA並びに新生血管系により発現された他の分子を同時に標的化することが、CTL、又はADCCを開始させるか、若しくは活性化細胞の損傷を補完する能力のある抗体を生成させることにより達成することができる。代替的には、最初の内皮損傷が、利用可能な抗血管新生抗体を使用する受動免疫療法を介して引き起こされ得る。

【0116】

10

付加的又は代替的には、（細胞外マトリクスに拡散するか、又は細胞外マトリクスと関連がある）細胞外区画で見出される癌細胞又は非形質転換細胞により産出される成長、転移又は生存促進因子と共に標的関連抗原を同時に標的化することも、より実質的な治療効果をもたらし得る。癌細胞内又は癌細胞上で発現される抗原と自己分泌効果又は傍分泌効果（成長、生存及び/又は侵襲性）を与える因子とを同時に標的化することにより、発病過程が低減されるか、又はかなりの程度まで破壊することができる。自己分泌因子又は傍分泌因子（例えばこれらに限定されないが、NF- κ B活性化分子、いわゆるCXCL1、CXCL8、CCL2等；又は例えばこれらに限定されないが、絨毛膜性腺刺激ホルモンであるガストリン及びVEGF-A等の成長因子）を同時に標的化することが、抗体を中和することを同時誘導することによって、又は二次的にこのような因子を産出する細胞を認識するCTLによって、行われ得る。

20

【0117】

形質転換細胞と間質細胞との間の相互作用は、VEGF-Aによって介在される。VEGF-Aは、腫瘍新生血管系の確立及び機能性において鍵となる役割を果たすことが示されている。したがって、（ベバシツマブ（AVASTIN（登録商標））等の抗VEGF-A抗体を介して）特定の受動免疫療法を使用することによるVEGF-Aの喪失は、結腸直腸癌腫、肺癌腫、乳癌腫、卵巣癌腫及び他の癌に関する腫瘍の進行及び転移性疾患の制御をもたらした。作用メカニズムは、VEGF-Aの直接の中和反応を伴うと考えられ、それにより新生血管系の確立及び進行の速度を遅らせる。受動免疫療法によるVEGF-Aの中和反応は、本明細書中に記載される能動免疫療法と組み合わせることができる。VEGF-Aは、能動免疫療法又は過度にVEGF-Aを産出する細胞に対するT細胞に基づく免疫療法のための標的抗原として使用することもできる（最も可能性があるのは腫瘍細胞の亜集団であり、最も多くの場合は腫瘍環境内の形質転換した癌細胞である）。このような戦略は、VEGF-Aを発現する癌細胞の免疫損傷を介在すること、及び必須の成長因子の腫瘍新生血管系を取り除くことの両方により、腫瘍性過程を制御するのにより効果的であり得る。

30

【0118】

総括して、腫瘍成長及び転移に関する生物学的に重要な複数の要素の同時標的化は、クローン選択の過程、免疫回避及び逃避に影響を与えることにより悪化過程の進行を制限することができる。したがって、間質関連抗原の同時標的化は、このような活性が阻害且つ/中断される、さらなる攻撃様式を提供する。

40

【0119】

当業者は、血管細胞に関連する任意の他の抗原又はタンパク質、あるいは他の腫瘍関連間質細胞（現在知られているもの及びいまだ同定されていないものも含む）が、本免疫性組成物の標的になり得ることを理解するであろう。

【0120】

[組成物]

例えばワクチンを含む免疫性組成物は、完全な抗原又はエピトープ性ペプチドを用いて調製することができる。ペプチド免疫原は、例えば、当業者に既知である標準的ペプチド合成手段を用いて容易に調製することができる。免疫原は、化学合成を行う多数の企業の

50

1つにより商業的に調製することができる。このような企業の例として、卸売業者がクリナルファ A G (CLINALFA AG) (Laufelfingen、スイス) であるアメリカン・ペプチド社 (American Peptides, Inc.) がある。抗原又は免疫原は G M P スタンダードに基づいて調製することができ、H P L C 解析により純度を評価することができる。産物は、アミノ酸解析により特徴付けることができ、滅菌性及び発熱原の不存在を試験することができる。

【0121】

免疫性組成物は、アジュバント又は他の生物学的応答調整物質 (B R M) を含むこともできる。アジュバント及び B R M を使用する特に有利な方法は、「リンパ系器官への生物学的応答調整物質の標的投与により、免疫応答を誘発、維持及び操作する方法 (METHODS TO TRIGGER, MAINTAIN AND MANIPULATE IMMUNE RESPONSES BY TARGETED ADMINISTRATION OF BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIERS INTO LYMPHOID ORGANS)」と題する、2004年12月29日付けで出願された米国仮出願第60/640,727号及び本出願と同じ日付けで出願された米国出願第**/**号 (公開番号**) (代理人整理番号 M A N N K . 046A) (その内容全体は、参照により本明細書に援用される) に開示されている。

10

【0122】

抗原は、直接的に又は間接的に動物の系に送達されてもよい。例えば、ポリペプチドは、ポリペプチドとして直接的に送達されてもよく、又は、例えば D N A 構築物若しくはベクター、又は所望の抗原をコードする組み換えウイルスを用いて、間接的に送達されてもよい。プロフェッショナル抗原提示細胞中におけるいずれの発現推進ベクターもこの目的に好適であり得る。間接的送達において、抗原は細胞中で発現され、次いで細胞表面上の M H C クラス I により提示され、C T L 応答を刺激する。この抗原の分泌型の発現は、膜タンパク質である抗原を認識する抗体応答を誘導するのに有用であり得る。

20

【0123】

好ましい実施形態において、コードされた抗原が、裸のプラスミド発現ベクターの形態で送達され得る。特に有用な構築物が、全てが「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター (EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS)」と題される、2000年4月28日付けで出願された米国特許出願第09/561,572号、2002年8月20日付けで出願された同第10/225,568号 (公開番号2003-0138808) 及び P C T 公開特許出願第 P C T / U S 2003/026231号 (公開番号 W O 2004/018666) ; 全てが「標的関連抗原のエピトープをコードする発現ベクター及びこれらの設計方法 (EXPRESSION VECTORS ENCODING EPITOPES OF TARGET-ASSOCIATED ANTIGENS AND METHODS FOR THEIR DESIGN)」と題される、2002年11月7日付けで出願された米国特許出願第10/292,413号 (公開番号2003-0228634 A1)、2004年2月10日付けで出願された同第10/777,053号 (公開番号2004-0132088 A1) 及び2004年4月30日付けで出願された同第10/837,217号 (公開番号**) ; 共に「プラスミド増殖における望ましくない複製中間体の回避 (AVOIDANCE OF UNDESIRABLE REPLICATION INTERMEDIATES IN PLASMID PROPAGATION)」と題される、2003年5月13日付けで出願された米国特許第6,709,844号及び米国特許出願第10/437,830号 (公開番号2003-0180949 A1) 並びに全てが「抗原提示細胞におけるエピトープの同期化 (EPITOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」と題される、2001年12月7日付けで出願された米国特許出願第10/026,066号 (公開番号2003-0215425 A1)、2004年7月20日付けで出願された同第10/895,523号 (公開番号2005-0130920 A1)、2004年7月20日付けで出願された同第10/896,325号 (公開番号**) で開示されていて、これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される。さらなる方法論、組成物、ペプチド及びペプチド類似体は、共に「S S X - 2 ペプチド類似体 (SSX-2 PEPTIDE ANALOGS)」と題される、2004年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/581,001号及び2005年6月17日付けで出願された米国特許出願第11/156,253号 (

30

40

50

公開番号**); 共に「NY-ESO ペプチド類似体(NY-ESO PEPTIDE ANALOGS)」と題される、2004年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/580,962号及び2005年6月17日付けで出願された米国特許出願第11/155,929号(公開番号**); 「抗原を商品化する方法(METHODS OF COMMERCIALIZING AN ANTIGEN)」と題される2001年11月7日付けで出願された米国特許出願第09/999,186号; 共に「予防目的又は治療目的のために、MHCクラスI制限エピトープに対する免疫応答を誘発、増強及び維持する方法(METHODS TO ELICIT, ENHANCE AND SUSTAIN IMMUNE RESPONSES AGAINST MHC CLASS I- RESTRICTED EPITOPES, FOR PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC PURPOSES)」と題される、2004年12月29日付けで出願された米国仮出願第60/640,402号及び本出願と同じ日付けで出願された米国特許出願第**/**号(公開番号**)(代理人整理番号MANNK.047A); 共に「免疫応答の誘導におけるCD4+細胞を回避する方法(METHODS TO BYPASS CD4+ CELLS IN THE INDUCTION OF AN IMMUNE RESPONSE)」と題される、2004年12月29日付けで出願された米国仮出願第60/640,821号及び本出願と同じ日付けで出願された米国特許出願第**/**号(公開番号**)(代理人整理番号MANNK.048A); 「癌細胞及び腫瘍間質で発現された優性エピトープ及び亜優性エピトープに対する多面的免疫応答を誘導する方法及び組成物(METHODS AND COMPOSITIONS TO ELICIT MULTIVALENT IMMUNE RESPONSES AGAINST DOMINANT AND SUBDOMINANT EPITOPES EXPRESSION CANCER CELLS AND TUMOR STROMA)」と題される2005年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/691,579号; 並びに「癌腫のための多面的増幅同調免疫療法(MULTIVALENT ENTRAIN-AND-AMPLIFY IMMUNOTHERAPEUTICS FOR CARCINOMA)」と題される、2005年6月17日付けで出願された同第60/691,581号で開示されていて、これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される。免疫化のための裸のDNAの使用に関する一般的手順の実行可能性は、「DNA配列を注入することによる哺乳類の防御免疫応答の誘導(INDUCTION OF A PROTECTIVE IMMUNE RESPONSE IN A MAMMAL BY INJECTING A DNA SEQUENCE)」と題される米国特許第5,589,466号及び「腫瘍関連抗原ペプチドをコードする裸のポリヌクレオチドの投与によって、宿主を腫瘍関連抗原に対して免疫化する方法及び装置(METHODS AND DEVICES FOR IMMUNIZING A HOST AGAINST TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENS THROUGH ADMINISTRATION OF NAKED POLYNUCLEOTIDES WHICH ENCODE TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENIC PEPTIDES)」と題される米国特許第5,679,647号に開示されていて、これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される。前者が筋肉内注射又は皮内注射のみを教示しているのに対し、後者は皮膚又は粘膜への投与のみを教示している。

10

20

30

40

50

【0124】

好ましい実施形態において、抗原は、直接的にリンパ系に投与することができる。CTLの発生のための節内投与が、それぞれ「CTL応答を誘導する方法(METHOD OF INDUCING A CTL RESPONSE)」と題される、1999年9月1日付けで出願された米国特許出願第09/380,534号及び米国特許第6,977,074号並びに国際公開PCT/US98/14289(公開番号WO99/02183 A2)(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に教示されている。リンパ節内(i.ln.)への単回ボラス注射は、筋肉内(i.m.)注射によるCTL応答と同様のレベルを得るために必要な用量の0.1%しか必要としなかった。したがって、i.ln.送達される単回ボラスを用いて全身ウイルス感染に対する防御応答を確立することができるが、i.m.送達される実用上の限界に近い用量ではできない。i.m.ボラス注射を繰り返して、末梢ウイルス感染又は移植腫瘍に対する防御応答を確立することに失敗したのに対して、低用量をi.ln.投与すると、完全に効果的であった。特に有用な節内免疫化プロトコルは、共に「MHCクラスI制限免疫応答を制御する方法(METHODS TO CONTROL MHC CLASS I-RESTRICTED IMMUNE RESPONSE)」と題される、2003年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/479,393号及び「予防目的又は治療目的のために、MHCクラスI制限エピトープに対する免疫応答を誘発、増強及び維持する方法(METHODS TO ELICIT, ENHANCE AND SUSTAIN IMMUNE RESPONSES AGAINST MHC CLASS I-RESTRICTED

EPITOPES, FOR PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC PURPOSES)」と題される、2004年6月17日付けで出願された米国特許出願第10/871,707号(公開番号20050079152 A1)(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に教示されている。

【0125】

抗癌免疫性組成物において有利であり得るエピトープクラスは、ハウスキーピングエピトープである。これらはハウスキーピング(又は標準的)プロテアソームの作用により生成される。ハウスキーピングエピトープは、プロフェッショナル抗原提示細胞(pAPC)の免疫プロテアソームによるタンパク質分解プロセッシングを介して、発現ベクターの翻訳産物から遊離され得る。本発明の一実施形態において、ハウスキーピングエピトープ(単数又は複数)に隣接している配列は、所望の位置(単数又は複数)で免疫プロテアソームによる切断を促進するように改変することができる。ハウスキーピングエピトープ、その使用及び同定は、全てが「抗原提示細胞におけるエピトープ同調(EPITOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」と題される、2000年4月28日付けで出願された米国特許出願第09/560,465号、2001年12月7日付けで出願された米国特許出願第10/026,066号(公開番号2003-0215425 A1)、2004年7月20日付けで出願された同第10/895,523号、及び2004年7月20日付けで出願された同第10/896,325号(公開番号**)並びに共に「エピトープの発見方法(METHOD OF EPITOPE DISCOVERY)」と題される、米国特許第6,861,234号及び2004年10月1日付けで出願された米国特許出願第10/956,401号(公開番号2005-0069982 A1)(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に記載されている。

【0126】

ハウスキーピングエピトープの例は、2001年4月6日付けで出願された米国仮出願第60/282,211号;2001年11月7日付けで出願された同第60/337,017号;2002年3月7日付けで出願された同第60/363,210号;及び2002年9月6日付けで出願された同第60/409,123号;2002年4月4日付けで出願された米国特許出願第10/117,937号(公開番号20030220239 A1);並びに全てが「エピトープ配列(EPITOPE SEQUENCES)」と題される、2003年9月5日付けで出願された同第10/657,022号(公開番号2004-0180354)及び2003年9月5日付けで出願された国際公開PCT/US2003/027706(公開番号WO04/022709 A2)(これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に開示されている。

【0127】

本発明の他の実施形態において、ハウスキーピングエピトープ(単数又は複数)には、任意配列、又は免疫プロテアソーム切断部位において好まれることで知られている残基を組み込んでいる配列が隣接することができる。本明細書中で使用する場合、「任意配列」という用語は、エピトープの天然配列状況、プロセッシングを促進するその能力、又は免疫学的機能を参照することなく選択される配列を意味する。本発明のさらなる実施形態において、複数のエピトープを、頭-尾状に配置させることができる。これらの配置は、全てハウスキーピングエピトープから成り得る。同様に、配置は、代替ハウスキーピング及び免疫エピトープを含むことができる。代替的には、配置は、完全であるか又は遠位でランケットされている、免疫エピトープが隣接するハウスキーピングエピトープを含むことができる。さらに、配置は、任意の他の類似した並びであり得る。配置の末端位置にハウスキーピングエピトープを置くことになんら制限はない。ベクターは、免疫エピトープ源としてエピトープクラスタを含有する、真正のタンパク質コード配列又はそのセグメントを付加的に含有することができる。「真正の」という用語は、天然タンパク質配列を示す。

【0128】

エピトープクラスタ及びその使用は、2000年4月28日付けで出願された「エピト

ープクラスタ (EPITOPE CLUSTERS)」と題される米国特許出願第 09 / 561, 571 号 ; 2001 年 11 月 7 日付けで出願された同第 10 / 005, 905 号及び 2001 年 12 月 7 日付けで出願された同第 10 / 026, 066 号 (公開番号 2003 - 0215425 A1) ; 並びに全てが「抗原提示細胞におけるエピトープ同調 (EPITOPE SYNCHRONIZATION IN ANTIGEN PRESENTING CELLS)」と題される、2004 年 7 月 20 日付けで出願された同第 10 / 895, 523 号 (公開番号 2005 - 0130920 A1) 及び 2004 年 7 月 20 日付けで出願された同第 10 / 896, 325 号 (公開番号 **) (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される) に記載されている。

【0129】

本発明の別の実施形態において、コードされた抗原は、ウイルスベクターの型で送達することができる。修飾ゲノムを有する多彩なウイルスは、割り込みリーディングフレームを発現するのに適しているが、当業者には多くの場合ウイルスタンパク質が知られていないか、少なくとも少数のウイルスタンパク質が知られている。これには、レンチウイルスを含むレトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルスを含むバルボウイルス、ヘルペスウイルス、及びワクシニアウイルスを含むポックスウイルスが限定無しに含まれる。このようなウイルスベクターは、発現を可能にする細胞内への核酸成分の送達を容易にする。これらベクターのサブセット (例えばレトロウイルスとバルボウイルス) は、これらの核酸成分の宿主ゲノム内への取り込みを促進するが、他は行わない。

【0130】

また、細菌もベクターとして働くことができ、すなわち抗原の発現を起こすことができる核酸分子を送達するのに用いることができる。例えば、*Listeria monocytogenes* の株は、マクロファージ (正常標的) の細胞質に進入する際、それ自体の溶解に影響を及ぼすことによりプラスミドを放出し、その後このプラスミドから抗原が発現するように創出されてきた。(Dietrich, G. 他、Biotechnology 16:181-185, 1998 (その内容全体は、参照により本明細書に援用される))。 *Shigella flexneri* 及び *Escherichia coli* も同様に使用されてきた (それぞれ、Sizemore, D. R. 他、Science 270:299-302, 1995、及び Courvalin, P. 他、Life Sci. 318:1207-1212, 1995 (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される))。

【0131】

核酸送達に関する微生物ベクターの使用は、ベクター自体が招く免疫反応によって複雑化され得る。長期又は繰り返しの投与が必要な場合、以前の治療によって誘発された抗体は、有用な量のベクターが、意図された宿主に届くのを防止し得る。しかし、リンパ節への直接投与により、例えば、宿主細胞への接近及び非常に低減された有効量の組合せは、存在する抗体力価を避ける又は圧倒することができる用量を投与することを可能にする。

【0132】

ベクターという単語は、本明細書中及び他において、いくつかの様式で、且つ様々に変更されて使用されてきた (例えば、発現ベクター、ウイルスベクター、送達ベクター等)。根底にある原理は、抗原自体よりも、抗原の発現を生じることが可能な核酸が最終的に APC に到達するということである。明白に又は局所的な状況により、限定されない限り、好ましい実施形態において、本明細書中で使用されるベクターという用語は、このような可能性全てを包含することが意図される。

【0133】

上記で論じられた技術は、抗原が微生物の成分として生成され、次いでそれ自体が免疫原として投与されるような、微生物ゲノム (過剰染色体 DNA を含む) を修飾する手法からは明確に区別される。ゲノム修飾手法において使用される微生物の例として、ウイルス、細菌、菌類及び原生生物が挙げられる。本明細書中で記載される本発明の実施形態において、ワクチンを含む組成物は、合成済み抗原、又は APC に *in vivo* で抗原を発現させることができる核酸を含むことができる。代替的な実施形態において、これら 2 つの技術の組合せが使用される。例えば、一実施形態では、上記で論じられたようなウイルスベクターの使用が意図され、これはまた、標的エピトープをキャプシド又はエンベロー

ブタンパク質中に組込む。

【 0 1 3 4 】

抗原は、単独で使用してもよく、他の抗原又はサイトカインのような他の化合物と組み合わせで送達してもよい。C T L 応答の免疫刺激を増強することが知られているサイトカインは、例えば G M - C S F、I L - 1 2、I L - 2、T N F、I F N、I L - 1 8、I L - 3、I L - 4、I L - 8、I L - 9、I L - 1 3、I L - 1 0、I L - 1 4、I L - 1 5、G - S C F、I F N、I F N、I F N、T G F 及び T G F 等を含む。サイトカインは当該分野において既知であり、文献内で又は商業的に容易に入手可能である。多くの動物及びヒトの腫瘍は、免疫応答の潜在的調節因子であり且つ免疫介在性崩壊から腫瘍を防御するサイトカイン (I L - 4、I L - 1 0、T G F - B 等) を生成することが示されている。腫瘍による I L - 4、I L - 1 0 又は T G F - B の生成は、C T L 応答の確立を含む細胞性免疫の誘導を抑制することにより、この防御効果を達成し得る。代替的には、C T L 応答を支持するサイトカインは、抗腫瘍細胞介在性応答及び非腫瘍崩壊性体液性応答の誘導のバランスを助けるのに、外因的に添加することができる。いくつかのこのような外因性サイトカインは、C T L 応答を増強することで知られている実験的マウスワクチン化モデルにおいて、有益性を示す (G M - C S F、I F N 及び I L - 2 を含む)。使用され得る効果的な外因性サイトカインの例は、G M - C S F である。G M - C S F は、抗原提示細胞 (A P C) 上の B 7 - 1 又は B 7 - 2 のようないわゆる「同時刺激」分子の発現を増強することが報告されている。これらの同時刺激分子は、A P C による C T L の刺激中に起こる様々な相互作用において、重要な役割を演じる。また、G M - C S F は A P C の活性化を誘導すると共に、A P C の成長及び分化を容易にすることが知られており、これらの A P C を、多数且つ高潜在能力が得られる重要な C T L 刺激細胞としている。

【 0 1 3 5 】

免疫性組成物は、標的抗原への応答を改善するために、非標的抗原をさらに含むことができる。したがって、例えば、腫瘍過程又は体内で発現されない非自己又は外因性抗原に対する T h 及び / 又は B 細胞免疫性等の、ヘルパー応答の同時誘導は、腫瘍又は基礎を成す間質内で発現される「自己」又は「自己修飾」標的抗原に対する免疫応答の程度及び質をかなり改善することができる。例えば、破傷風トキソイド等の非標的抗原に対する T h 免疫応答の同時始動は、標的腫瘍又は自己抗原に対する C T L 又は B 細胞応答の発生に関連する、パイスタンダー効果を有するヘルパー細胞の発生をもたらすことができる。レシピエントにより発現される少なくとも 1 つのクラス I I の M H C タンパク質と結合するペプチドモチーフを発現又は包含する任意の定義された配列を使用することができ、このような配列は、自己抗原に対して非相溶性であるか、非相溶性セグメントを含む。このような配列は微生物由来であることが好ましく、且つ、H L A により定義された又はより広い集団において免疫原性であることが示されることが好ましい。破傷風トキソイド (全体又は部分であり、部分としては、完全トキソイドの 9 0 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 0 %、5 0 %、4 0 %、3 0 %、2 5 %、2 0 %、1 5 %、1 0 % 又は 5 % があるが、これらに限定されない) に加えて、さらなる例として、H B V コア、インフルエンザ赤血球凝集素、P l a s m o d i u m c i r c u m s p o r o z o i t e の抗原及び H T L V - 1 エンベローブタンパク質に由来する配列、並びにこれらの配列の断片、すなわち、各完全長配列の 9 0 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 0 %、5 0 %、4 0 %、3 0 %、2 5 %、2 0 %、1 5 %、1 0 % 又は 5 % である断片があるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、破傷風トキソイド部分は、完全トキソイドの 5 % ~ 9 0 % であり、他の実施形態においては、上記部分は完全トキソイドの 1 5 % ~ 8 0 % であり、さらに他の実施形態においては、上記トキソイド部分は完全トキソイドの 2 5 % ~ 7 0 % であり、さらに他の実施形態においては、上記トキソイド部分は完全トキソイドの 3 5 % ~ 6 0 % であり、さらに他の実施形態においては、上記トキソイド部分は完全トキソイドの 4 5 % ~ 5 5 % である。同様に、標的エピトープ (自己、且つ腫瘍性) と T h エピトープ (非自己抗原) を用いる又は用いない、強力な免疫原性 B 細胞エピトープ (非自己抗原) との

同族様式（すなわち、同一分子内で）の同時投与は、免疫抗体 - 抗原複合体及びバイスタンダー T 細胞ヘルプを介して、免疫応答の改善、さらには療法標的に対する寛容性（T 細胞）の破壊をもたらすことができる。

【 0 1 3 6 】

[抗原の送達]

いかなる特定の理論にも縛られたくはないが、T 細胞は長命の機能的メモリを有さないと考えられている。一方、抗体介在性 B 細胞メモリは、長命のエフェクタメモリを有するよう見える。したがって、標的細胞を攻撃するように患者の免疫系が適切に刺激された状態を保持するためには、長期にわたって、CTL 応答を誘導する抗原を送達することが最も好ましい。一手法において、「CTL 応答を誘導する方法 (A METHOD OF INDUCING A CTL RESPONSE)」と題される米国特許第 6, 977, 074 号（参照により本明細書中に明確に援用される）に開示されているように、エフェクタ CTL 機能を維持するために、抗原の存在は事実上、リンパ系中に継続して維持される。別の手法において、2003 年 6 月 17 日付けで出願された「MHC クラス I 制限免疫応答を制御する方法 (METHODS TO CONTROL MHC CLASS I-RESTRICTED IMMUNE RESPONSE)」と題される米国仮出願第 60 / 479, 393 号、及び 2004 年 6 月 17 日付けで出願された「予防目的又は治療目的のために、MHC クラス I 制限エピトープに対する免疫応答を誘発、増強及び維持する方法 (METHODS TO ELICIT, ENHANCE AND SUSTAIN IMMUNE RESPONSES AGAINST MHC CLASS I-RESTRICTED EPITOPES, FOR PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC PURPOSE)」と題される米国特許出願第 10 / 871, 707 号（公開番号 2005 - 0079152 A1）（これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される）に記載されているように、T 細胞メモリは繰り返し誘導され、再増幅且つ再活性される。抗原及びアジュバントは、生分解性ミクロスフェア又はリポソームとして調製され得ることが示唆されているが、これらの製剤のどれもが、これまでは、長期間にわたって癌細胞又は病原体を攻撃するのに有用な CTL 応答を提供しなかった。好ましくは、抗原の送達は、所望期間の間、所望の応答を得るための抗原レベルを維持するのに十分なレベルに維持される。一実施形態において、液体抗原組成物を有するリザーバーは、抗原が、動物のリンパ系に到達するように送達するのに用いることができる。以下の考察のほとんどは、抗原を送達する注入の使用に焦点を当てているが、リンパ系へ直接的にボーラス注射を用いることも可能である。（その数及び頻度は、使用する抗原の特定の型及び配合により与えられる抗原の持続性に依るであろう）。

【 0 1 3 7 】

最終的に、抗原は、CTL を最も効果的に刺激するために、リンパ系にたどり着く。抗原の送達は、体の様々な区画への注入を包含し得る（皮下、静脈内、腹腔内及びリンパ管内へが含まれ、リンパ管内が好ましいが、これらに限定されない）。これら注入された箇所はそれぞれ、リンパ系への抗原取り込みを生じるが、有益な CTL 応答を誘導するのに必要な抗原の相対量は注入部位に応じて変化する。一般的に、リンパ系への抗原の直接的注入は、CTL 応答を誘導する最も効果的な手段であると見なされるが、いかなる送達経路を使用してもよい。ポンプシステムは、重大な量の抗原を、CTL 応答を誘導するのに好適な範囲で、体の全区画への送達を介して送達することが可能である。様々な経路を介する抗原の送達に続く CTL 刺激は、種々の抗原の特性に応じて変化するであろう（体液中での抗原安定性、体液中での抗原の溶解性、HLA への結合親和力及び CTL 刺激物質としての能力などの、体液中での抗原の行動及びリンパ系への平衡速度（又はそこでの寿命）に影響する因子を含む）。

【 0 1 3 8 】

好ましい実施形態において、抗原の導入は、体内での代謝による抗原の崩壊を回避するため、可能な限りリンパ系へ直接的に行われる。皮下的に液体抗原組成物の導入がされる場合、十分な抗原が、リンパ系へ到達するのを確かなものとするのに、より大量の抗原が必要である。このような皮下注入は、コスト、抗原の安定性、どれくらいの速さで抗原がリンパ系へ届くか、これがどれくらいよくリンパ系により平衡化されるか等の因子、及び

担当医師又は専門家が認識するであろう他の因子等に応じて、本明細書中に開示される発明により意図される。皮下送達は、通常、リンパ系への直接送達よりも100～1,000倍多い抗原を必要とし得る。したがって、抗原組成物は、リンパ系（例えば脾臓、リンパ節又はリンパ管）への局所投与用装置により導入されることが好ましい。局所投与用装置は、患者の体外に配置されるか、患者の体内に埋め込まれ得る。どちらの場合においても、この装置は、液体抗原含有組成物を含有するリザーバー、上記組成物を輸送するポンプ、及び患者の体の好ましい投与領域に直接的に向けられる、上記リザーバーから通じている伝達路を有し得る。どちらの場合においても、携帯可能であることが好ましい。

【0139】

患者の体の外側に配置される装置（外部装置）の場合、本明細書中に記載の実施形態による抗原を送達するのに有用である、糖尿病患者にインスリンを送達するのに用いられる数々の装置が存在する。一般的に、これらの装置は、抗原組成物（インスリンの代わり）を保持するリザーバー、リザーバーから上記組成物を送り出すプログラム制御可能なポンプ、上記組成物を伝達する伝達路又はライン、及び上記組成物を動物の体内に導入し、最終的にリンパ系に到達させる手段を有し得る。

10

【0140】

好ましくは、抗原組成物のためのリザーバーは、長期にわたって所望量の抗原を送達するのに十分な大きさであるべきであって、リンパ系へ抗原組成物を導入する手段を使用者が再挿入する必要なく、容易に詰め替え可能又は交換可能であるべきである。

20

【0141】

本明細書中に開示される発明の実施形態の抗原組成物の調製において、組成物（好ましくは水性）は、リンパ系と適合性、且つ治療される動物に対して生理学的に許容可能であるように調製され得る。関連性のある考慮は、例えば、等電点、分子量、グリコシル化又は他の翻訳後修飾及び全アミノ酸組成等を含む、抗原の物理化学的特性を含む。これらの特性は、種々の溶液（例えば、種々の緩衝液、補因子等）中にある薬剤の任意の既知の挙動、並びにその*in vivo*での挙動に加えて、配合成分の選択を導くのを助けることができる。全ての主要分解経路に影響を与える一つのパラメータは、溶液のpHである。したがって、初期配合は、各溶液中のタンパク質の安定性を決定するために、分解反応のpH依存性及び分解のメカニズム（pH依存性からしばしば決定され得る）も評価する。迅速なスクリーニング方法は、通常、当該分野において既知である技術を用いた、高温（例えば40℃）での促進された安定性の使用を包含する。

30

【0142】

一般に、本明細書中に記載される実施形態において有用である抗原組成物は、非常に少量で、非経口注射に好適であり得る。よって組成物は、汚染物を含まず、且つリンパ系にpH適合性であるべきである。しかし、上記抗原組成物の非常に少量が送達されるであろうため、血液又はリンパ液と同じpHでなくてもよく、且つ水性でなくてもよい。適合性である好ましいpH範囲は、約6.7～7.3であり、USP規格を満たすため、注射用水を用いて調製することができる（Remington著「薬学の科学及び実践(The Science and Practice of Pharmacy)」19版；86～88章参照（その内容全体は、参照により本明細書に援用される））。溶解しにくい抗原に対しては、ジメチルスルホキシド（DMSO）又はPLURONIC（登録商標）ブランド界面活性剤等の、好適な補溶剤又は界面活性剤を使用してもよい。一般的に、生理学的に許容可能な弱酸及びその塩基複合物で緩衝された標準生理食塩溶液（例えば、リン酸塩又はクエン酸緩衝系）が、抗原組成物の基礎となるであろう。いくつかの場合において、少量の抗酸化剤が、組成物を安定化し、且つ酸化を防止するのに有用であり得る。抗原組成物の調製において考慮すべき因子は、Jeffery L. Cleland及びRobert Langer編「タンパク質及びペプチドの配合及び送達(Formulation and Delivery of Proteins and Peptides)」(Acs Symposium Series, No. 567)と題される米国化学会の本（1994年）（その内容全体は、参照により本明細書に援用される）に見出され得る。

40

【0143】

50

ポリペプチドでは遭遇する様々な物理化学的特性が不在であるが、核酸にコードされた抗原に関しても同様の考慮を適用することができ、そのため許容可能な配合物はほぼ普遍的な利用可能性を有するであろう。実施例 6 から実施例 10 において見られるように、標準的リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中のプラスミド DNA は、許容可能且つ効果的な配合物である。本発明のいくつかの実施形態において、DNA は、患者の体に装着又は埋め込まれたリザーバーから、連続的に又は短い間隔で断続的に投与される。DNA は、溶解した安定的な形態で、体温で又は体温近くで、測定される最低数日である期間にわたって、維持されることが好ましい。配合された核酸が数日の期間又はそれ以上にわたってリザーバーから送達されるような用途において、その期間中の室温又は体温での核酸の安定性は、その継続的な滅菌性と共に、重要性が増す。静菌剤 (例えばベンジル又はエチルアルコール) 及びキレート剤 (例えば EDTA) の添加は、これらの結果に対して、有用である。約 0.5 ~ 2 % のエチルアルコール、0.25 ~ 0.5 mM の EDTA を含有する配合物は、通常うまくいく。このような配合物はボーラス注射にも適切である。

10

20

30

40

50

【0144】

一般的に、抗原組成物中の抗原の量は、患者ごと及び抗原ごとに異なり、応答を誘導する際の抗原の活性及び患者の系をリンパ液が流れる速度等の因子に応じる。一般に、抗原組成物は、約 1 ~ 約 500 μl / 時、又は約 24 ~ 約 12,000 μl / 日の速度で送達されてもよい。抗原の濃度は、約 0.1 μg ~ 約 10,000 μg の抗原が 24 時間の間送達されるであろう濃度である。流速は、1 分間に約 100 ~ 約 1,000 μl のリンパ液が成人の鼠経リンパ節を流れるという知見に基づいている。目的は、リンパ系におけるワクチン配合物の局所濃度を最大化することである。患者の一定量の経験的調査が、ヒトにおける所与のワクチン製剤に関する最も効果的な注入レベルを決定するのに必要であろう。

【0145】

患者のリンパ系内に抗原組成物を導入するために、組成物はリンパ管、リンパ節、脾臓又はリンパ系の他の適切な部分に向けられることが好ましい。好ましくは、組成物は、カテーテル又は針を節に挿入し、カテーテル又は針を送達の間維持することにより、鼠経リンパ節又は腋窩リンパ節等のリンパ節に向けられる。好適な針又はカテーテルは、金属又はプラスチック (例えばポリウレタン、ポリ塩化ビニル (PVC)、テフロン (登録商標)、ポリエチレン等) から作製することが可能である。カテーテル又は針を例えば鼠経リンパ節に挿入する際に、鼠経リンパ節は、Tegaderm (商標) 透明包帯剤 (Tegaderm (商標) 1624, 3M, St. Paul, MN 55144, USA) を用いて固定される、24G3/4 (Becton Dickinson, USA) の Vialon (商標) Insyte-W (商標) カニューレ及びカテーテルを用いた超音波検査による制御下で孔が開けられる。この手順は、通常熟練した放射線医により行われる。鼠経リンパ節内のカテーテル先端の位置は、最低容量の生理食塩水の注射 (直ちに且つ可視的に、リンパ節の大きさを増す) により確認される。後者の手順は、先端が節内にあることを確認することを可能にする。この手順は、先端がリンパ節から滑り出ないことを保証するのに実行することができ、且つカテーテルの移植後様々な日に繰り返すことができる。先端がリンパ節内の位置から滑り出た場合、新たなカテーテルを埋め込むことができる。

【0146】

[配合及び治療プロトコル]

TuAA と DNA ワクチンとの組合せを利用するいくつかのアプローチがある。第 1 のアプローチは、所定の組合せの全ての抗原又は全ての抗原からのエピトープを単一 DNA 発現ベクター中に含めることである。このアプローチは、製造及び患者への投与に関する簡便性という利点を有する。しかし、場合によっては、エピトープ競合がこのアプローチの有用性を限定し得る。すなわち、全ての TuAA を提示しているいくつかのエピトープを組み合わせることで有するワクチンが患者に与えられたとき、最も免疫原性が高いエピトープのみが、免疫応答を誘発するであろう可能性がある。また、全てのエピトープが高い有効性で発現する DNA ワクチンを設計且つ構築することは、より難しい。それにもかかわら

ず、各種類の癌において患者を治療する手順が簡便且つ均一であるため、以下に記載される他のアプローチよりもコストが低くなる見込みがある。

【0147】

代替的なアプローチは、1つの抗原のみ、又は1つの抗原のエピトープのみをDNA発現ベクター中に含むものである。このアプローチは、DNAベクターを設計且つ構築することにおける簡便性、柔軟性、及び患者へのカスタマイズされた投与の利点を有する。大量の個別TuAAワクチンが可能であれば、各患者個人の腫瘍のTuAA発現プロファイルを基に、その患者に対する治療をカスタマイズできる。例えば、所定種類の癌を治療する標準的組合せがTuAA-A、B及びC（ここでA、B及びCは異なる腫瘍関連抗原を明示する）であって、患者の腫瘍はTuAA-A、C及びZ（Bではない）を発現するとすると、A、C及びZのそれぞれに対する別個のワクチンで患者を治療することができる。抗原余剰が各患者に対して達成され得るため、この柔軟性及びカスタマイズ性は、免疫療法の成功率を改善する。しかし、患者を治療する手順は、より複雑であってもよい。例えば、このアプローチを用いた送達は、順次投与スキーム（1度に1抗原）、又はほぼ同時の、患者の複数の解剖学上別個の部位への注射を含んでもよい。

10

【0148】

さらに別のアプローチは、同様の免疫原性を有する複数のTuAA由来のエピトープをDNA発現ベクターに組合わせることである（1つより多くのベクターをいくつかの組合せに使用することができる）。このアプローチは、いくつかの上記の2つのアプローチの利点を有し得るが、上記の2つのアプローチの不都合な点を受ける可能性がある。

20

【0149】

特定の腫瘍の抗原発現プロファイルは、どの抗原又は抗原の組合せを使用するかどうかを決定するのに使用することができる。例示的な方法論は、全て「各種癌の診断における腫瘍関連抗原の組合せ(COMBINATIONS OF TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENS IN DIAGNOSTICS FOR VARIOUS TYPES OF CANCERS)」と題される、2004年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/580,969号、2005年6月17日付けで出願された米国特許出願第11/155,288号（公開番号**）及び本出願と同じ日付けで出願された米国特許出願第**/**, **号（公開番号**）（代理人整理番号MANNK, 050CP1）（これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される）に見出されている。特定の癌に対する免疫応答に向けるのに具体的な利点がある特定の抗原の組合せは、共に「各種（癌）のための組成物における腫瘍関連抗原の組合せ(COMBINATIONS OF TUMOR-ASSOCIATED ANTIGENS IN COMPOSITIONS FOR VARIOUS TYPES OF)」と題される、2003年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/479,554号及び2004年6月17日付けで出願された米国特許出願第10/871,708号（公開番号2005-0118186 A1）、並びに2004年6月17日付けで出願されたPCT公開特許出願第PCT/US2004/019571号（公開番号WO2004/112825 A1）（これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される）に開示されている。

30

【0150】

このような免疫化の方法により利益を受け得る患者は、彼等のMHCタンパク質発現プロファイル及び免疫応答性の通常レベルを決定する方法を用いて採用することができる。さらに、彼等の免疫性レベルは、標準的技術を末梢血の利用と併せて用いてモニターすることができる。最終的に、治療プロトコルは、誘導又は増幅相への応答性及び抗原発現の多様性に基づいて調整することができる。例えば、繰り返しの同調用量を、検出可能な応答が得られるまで投与することができ、次いで、いくつかの設定された回数の同調用量を増幅するのではなく、増幅ペプチド用量（単数又は複数）を投与することができる。同様に、計画された増幅又は維持用量のペプチドの有効性が衰退し、抗原特異的制御T細胞数が増加し、又はいくつかの他の寛容化の証拠が観察されたら、それらを打ち切ることができ、且つペプチドの増幅が再開される前にさらなる同調を投与することができる。免疫応答性を評価且つモニターする診断技術と免疫化の方法との統合は、共に「診断と療法方法

40

50

との統合による、能動免疫療法の改善された効果 (IMPROVED EFFICACY OF ACTIVE IMMUNOTHERAPY BY INTEGRATING DIAGNOSTIC WITH THERAPEUTIC METHODS)」と題される、2004年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/580,964号、及び2005年6月17日付けで出願された米国特許出願第11/155,928号(公開番号**) (これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される)に、より完全に記載されている。

【0151】

本明細書中に開示されるような、他の治療様式と能動免疫療法との組合せは、惹起された免疫応答に対する腫瘍過程の感受性を高め、それにより療法利益を増加することができる。いくつかの実施形態において、この療法利益は相乗的に高められる。能動免疫療法の前又は能動免疫療法中の腫瘍減量は、病気の進行を遅らせる若しくは中止する、又は腫瘍退縮若しくは消失をもたらす、任意の特定レベルの免疫応答の可能性を増加する。さらに、抗体療法、放射線療法、生物療法、化学療法、受動免疫療法(モノクローナル抗体及び/若しくはポリクローナル抗体、組み換えTCR、並びに/又はCTL若しくは免疫系の他の細胞の養子移入を含む)又は手術と共に始動する組織傷害、壊死又はアポトーシスは、抗原特異的エフェクターを含む免疫エフェクター細胞の採用をもたらす通常の炎症により能動免疫療法的アプローチを容易にすることができる。通常、1つ又は複数の腫瘍/転移性病巣内に、一過性又はより永続的な通常の炎症を誘導するあらゆる方法が、上記能動免疫療法を容易にすることができる。エフェクターの採用を容易にする事の代替として、又はこれに加えて、通常の炎症は、免疫介在性攻撃に対する標的細胞の感受性を増加することにもできる(例えば、インターフェロンは、癌細胞及び基礎を成す間質での標的分子発現を増加する)。免疫介在性攻撃に対する腫瘍細胞の感受性を増加するさらに他の戦略は、「ストレス応答」を妨害するか、又は癌細胞又は間質細胞での標的分子を増加する因子を提供することにより、能動免疫療法と協同することができる。

【0152】

本発明の多くの変形及び代替的要素が開示されてきた。さらなる変形及び代替的要素は、当業者には明白であろう。本発明の様々な実施形態は、これらの変形又は要素のいずれかを特異的に含む又は排除することができる。

【0153】

いくつかの実施形態において、本発明の特定の実施形態を記載及び主張するために使用される多くの構成要素を示す数、並びに分子量、反応条件等の特性は、「約」という用語により、いくつかの例において修正されることを理解するべきである。したがって、いくつかの実施形態では、明細書及び添付の特許請求の範囲で示される数値パラメーターが、特定の実施形態により得られる所望の特性によって変わり得る近似値である。いくつかの実施形態では、報告される有効数字の数を考慮して、且つ通常の丸め技法を適用することによって、数値パラメーターは解釈されなければならない。本発明のいくつかの実施形態の幅広い範囲に記載される数値域及びパラメーターは近似値であるが、具体的な例に記載されている数値は、実行可能なほどに正確に報告されている。本発明のいくつかの実施形態で与えられる数値は、これらそれぞれの試験測定において見出される標準偏差に必ず由来するある程度の誤差を含み得る。

【0154】

いくつかの実施形態において、本発明の特定の実施形態を記載している文脈において(特に特定の添付の特許請求の範囲の文脈において)使用される「a」、「an」、「the」及び同様の指示詞は、単数形及び複数形の両方をカバーするように解釈され得る。本明細書中の値の範囲の列挙は、この範囲内に含まれるそれぞれ別個の値を別々に言及する簡単な方法として働くことを単に意図する。本明細書中で特に示されない限り、個々の値が本明細書中で別々に言及されるように、この個々の値それぞれは、本明細書に組み込まれる。本明細書中で特に示されない限り、又は文脈と明らかに矛盾しない限り、本明細書に記載される全ての方法を任意の適切な順番で行うことができる。本明細書の特定の実施形態に対して与えられる任意の例及び全ての例又は例示的な言葉(例えば「等」)の使用

は、単に本発明をより良好に示すことを意図し、特に主張されない限り、本発明の範囲を制限するものではない。本明細書中の言葉は、本発明を実施するのに必須の任意の主張されていない要素を示すように解釈されるべきではない。

【0155】

本明細書に開示される本発明の代替的な要素又は実施形態の群分けは、限定として解釈されるべきではない。それぞれの群メンバーは、別々に、又は本明細書で見出される群の他のメンバー若しくは他の要素と任意に組合わせて言及及び主張され得る。群の1つ又は複数のメンバーは、利便性及び/又は特許性の理由により、群に包含されるか、又は群から削除されてもよい。任意のこのような包含又は削除が行われる場合、ここで本明細書は、修正された群を含むと見なされ、添付の特許請求の範囲に使用される全てのマーカッシュ群の記載要件を満たす。

10

【0156】

本発明の好ましい実施形態が、本発明者等に既知の本発明を行うのに最良の方法を包含して、本明細書中に記載されている。これらの好ましい実施形態における変形形態は、上述の記載を読めば、当業者にとって明らかであろう。当業者は、必要に応じてこのような変形形態を用いることができ、本明細書に特に記載されている以外の方法で、本発明を行うことができる。したがって、本発明の多くの実施形態は、適用法によって容認される本明細書に添付された特許請求の範囲で言及される主題の全ての変形形態及びその同等物を包含する。また、本明細書に特に示されていない限り、又は文脈と明らかに矛盾しない限り、全ての可能性のある変形形態における上記の要素の任意の組合せが、本発明によって包含される。

20

【0157】

さらに、本明細書を通して特許及び刊行物に対する多くの参照が為されている。上記で列挙された参照文献及び刊行物のそれぞれは、その内容全体が参照により本明細書に援用される。

【0158】

最後に、本明細書に開示される本発明の実施形態は、本発明の原理を示している。用いることができる他の修正形態は、本発明の範囲内であり得る。このように、例として、限定されないが、本発明の代替構造を本明細書の教示に従って用いてもよい。したがって、本発明は、はっきりと図示及び記載されているものに限らない。

30

【0159】

本明細書中に列挙された参照文献のそれぞれは、参照により本明細書に完全に援用される。

【0160】

以下の実施例は、例示のみを目的とし、いかなる方法によっても実施形態の範囲を限定することを意図しない。

【実施例】

【0161】

[TuAA解析及び組合せの選択]

TuAAの存在を、リアルタイムPCR(RT-PCR)により測定した。簡単に言うと、全RNAを標準方法を用いて腫瘍検体から単離し、cDNAを標準逆転写手順を用いて作製した。相補的DNA(cDNA)を、cDNAのみとアニールするがゲノムDNAとはアニールしない、特異的に設計された遺伝子特異的プライマーを用いて増幅した。12個の卵巣腫瘍検体及び7個の結腸直腸腫瘍検体のTuAA発現パターンを、RT-PCRにより解析した。以下の表5に結果をまとめた。

40

【0162】

【表 5】

表 5.

	総数 #	PRAME	NY-ESO-1	SSX-2	PSMA	MAGE1	MAGE3
卵巣	12	12	5	6	6	4	3
結腸直腸	7	5	1	2	5	0	1

【 0 1 6 3 】

< 実施例 1 >

10

[卵巣癌]

卵巣癌の場合、解析したすべてのサンプルは P R A M E に対して陽性であった。したがって、組合せへの P R A M E の包含は、卵巣癌を伴う場合の被覆率を改善する。

【 0 1 6 4 】

抗原余剰を達成するため、及び大集団の被覆率を改善するため、他の抗原の組合せが、P R A M E に加えて考慮された。S S X - 2 並びに P S M A は、独立して、12 個のうち 6 個の場合に存在したが、S S X - 2 と P S M A との組合せは 12 個のうち 9 個の場合に被覆率を提供した。N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 はそれぞれ 12 個のうち 5 及び 6 個の場合にしか存在しないにもかかわらず、N Y - E S O - 1 又は S S X - 2 のいずれも 12 個のうち 7 個の場合で検出された。

20

【 0 1 6 5 】

したがって、P R A M E、S S X - 2 及び P S M A、又は P R A M E、N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 の組合せは、P R A M E 及び P S M A の組合せ又は P R A M E 及び S S X - 2 の組合せと比較して、好ましい被覆率及び余剰を提供した。解析した卵巣腫瘍サンプルの大部分は、存在する組合せの 4 つの T u A A のうち少なくとも 2 つを有していたため、P R A M E、S S X - 2 及び P S M A の組合せは、優れた被覆率及び良好な抗原余剰を提供した。P R A M E、S S X - 2、P S M A 及び N Y - E S O - 1 の組合せは、より好ましい抗原余剰を提供したため、腫瘍逃避の可能性が低くなった。

【 0 1 6 6 】

< 実施例 2 >

30

[結腸直腸癌]

結腸直腸癌の場合、P R A M E 及び P S M A はそれぞれ、解析された 7 個のサンプルのうち 5 個で検出された。7 個のうち 6 個の場合で、P R A M E 又は P S M A のいずれかが検出された。S S X - 2 は 7 個のうち 2 個の場合でしか検出されなかったが、S S X - 2 - P R A M E 及び S S X - 2 - P S M A の組合せの両方が、被覆率を 7 個のうち 6 個に増加した。同様に、N Y - E S O - 1 は 7 個のうち 1 個の場合のみで検出されたが、N Y - E S O - 1 - P R A M E の組合せ、及び N Y - E S O - 1 - P S M A の組合せは、被覆率を、7 個のうち 6 個に増加した。P R A M E 及び P S M A の組合せへの S S X - 2 又は N Y - E S O - 1 の添加は、被覆率を、7 個のうち 7 個へと改善した。したがって、P R A M E、P S M A 及び N Y - E S O - 1 の組合せ、又は P R A M E、P S M A 及び S S X - 2 の組合せは、患者の大部分に良好な被覆率及び抗原の余剰を提供した。P R A M E、P S M A、N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 の組合せはさらなる余剰を提供した。

40

【 0 1 6 7 】

< 実施例 3 >

[膵臓癌]

リアルタイム P C R (R T - P C R) を使用して、P R A M E、S S X - 2、N Y - E S O - 1 及び P S M A の存在を決定した。簡単に言うと、5 つの膵臓腫瘍検体から、全 R N A を標準法により単離し、c D N A を標準逆転写手順を用いて作製した。相補的 D N A (c D N A) を、c D N A のみとアニールするがゲノム D N A とはアニールしない、特別に設計された遺伝子特異的プライマーを用いて増幅した。

50

【 0 1 6 8 】

上記膵臓癌検体において、P R A M E、N Y - E S O - 1、S S X - 2 及び P S M A の存在はそれぞれ、検体の 1 0 0 %、4 0 %、2 0 % 及び 1 0 0 % で検出された（表 6 参照）。他では、P S M A 及び H E R 2 / n e u の過剰発現がそれぞれ、膵臓腫瘍の 1 0 0 % 及び 2 1 % において存在することが報告されている（Chang SS他、Cancer Res 1999, 59: 3192、及びSafran H他、Am J Clin Oncol. 2001, 24:496（それぞれの内容全体は、参照により本明細書に援用される））。H E R 2 / n e u の過剰発現は、癌組織を好ましい標的とし、免疫療法にいくらかの特異性を与えるが、正常組織における H E R 2 / n e u の低レベル発現が問題となったままである。したがって、N Y - E S O - 1、S S X - 2、及び P R A M E 又は P S M A の組合せが、膵臓癌を治療する優れた被覆率及びいくらかの余剰をもたらす。P R A M E 及び P S M A の両方を含むことにより余剰が大きく改善される。

10

【 0 1 6 9 】

【表 6】

表 6.

TAA	PRAME	SSX2	NY-ESO-1	PSMA
検出頻度	5/5	1/5	2/5	5/5
陽性%	100	20	40	100

20

【 0 1 7 0 】

< 実施例 4 >

[非小細胞肺癌]

非小細胞肺癌に関しては、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G E - 3、B A G E、H e r 2 / n e u の過剰発現及び P S M A の報告された存在は、それぞれ、2 1、1 5、6 0、6、1 6 及び 1 0 0 % であった（Scanlan MJ他、Cancer Lett 2000, 150: 155；Chang SS他、Cancer Res 1999, 59: 3192；Selvaggi G他、Cancer 2002, 94: 2669（これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される））。したがって、N Y - E S O - 1、S S X - 2、M A G E - 3 及び P S M A の組合せは、非小細胞肺癌の免疫療法に対する被覆率及び抗原余剰を提供する。

30

【 0 1 7 1 】

< 実施例 5 >

[腎細胞癌腫]

腎細胞癌腫に関しては、S S X - 2、P S M A 及び P R A M E がそれぞれ、5、1 0 0 及び 4 0 % の頻度で検出された（Sahin, U他、Clin Cancer Res. 2000, 6: 3916；Chang SS他、Urology 2001, 57: 801；Neumann E他、Cancer Res. 1998, 58: 4090（これらの内容全体はそれぞれ、参照により本明細書に援用される））。したがって、P S M A 及び P R A M E の組合せは、腎細胞癌腫に対して優れた被覆率及び余剰を提供する。P S M A 及び P R A M E の組合せに S S X - 2 を添加すると、余剰を改善する。

40

【 0 1 7 2 】

< 実施例 6 >

[メラノーマ]

メラノーマに関しては、M e l a n - A、チロシナーゼ、N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 がそれぞれ、腫瘍検体の 9 2、9 2、4 1 及び 3 5 % で存在すると報告された（Fetsch PA他、Cancer 1999, 87: 37；Fetsch PA他、Cancer 2000, 90: 252；Schultz-Thater E他、Br J Cancer 2000, 83:204；Sahin, U他、Clin Cancer Res. 2000, 6: 3916）。したがって、M e l a n - A、チロシナーゼ、N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 の組合せは、メラノーマの免疫療法に対して優れた被覆率及び抗原余剰を提供する。かなりの余剰が、チロシナーゼ及び M e l a n - A を共に使用すること、又は N Y - E S O - 1 及び S S X - 2 をチロシナーゼ又は M e l a n - A のいずれかと組み合わせることにより達成され

50

る。

【0173】

< 実施例 7 >

上記腫瘍型に関するさらなる調査は、観察された発現パターン及びTuAAの好ましいパネルを確立した。様々な供給業者から得た、合計で34個の卵巣、44個の大腸、18個の腎臓及び13個の膵臓組織サンプルを、腫瘍関連抗原発現に関してqRT-PCRを使用して解析した。これらの検査の結果から、PRAME及びPSMAは、調査された4種類全ての腫瘍において頻繁(68%~100%の範囲)に発現されたことがわかった。NY-ESO-1及びSSX-2は、卵巣及び膵臓腫瘍の20%~40%において発現された。

10

【0174】

【表 7】

表 7. 一次腫瘍及び転移性腫瘍のRT-PCR解析による、
腫瘍関連抗原に関する総発現プロファイル

腫瘍関連抗原	所与の抗原を発現しているサンプルの%			
	卵巣 ^a	腎臓 ^b	膵臓 ^c	結腸直腸 ^d
SSX2	36	6	20	8
NY-ESO-1	30	6	40	12
PRAME	97	83	80	76
PSMA	91	100	100	68
MAGE-1	27	6	33	8
MAGE-3	30	22	42	20
SCP-1	30	11	0	0
CEA	30	0	58	92

20

^a 33個のサンプル(27個の一次腫瘍及び6個の転移性腫瘍)

^b 18個のサンプル(18個の一次腫瘍)

^c 15個のサンプル(14個の一次腫瘍及び1個の転移性腫瘍; PSMAには10個のサンプル)

^d 25個のサンプル(13個の一次腫瘍及び12個の転移性腫瘍)

30

【0175】

< 実施例 8 >

[2つの抗原からのエピートプ発現プラスミドを用いた免疫化のスケジュール]

2群のHHDマウス(n=4)を、図1に示されるように、Melan-A₂₆₋₃₅A27L(ELA)発現pSEM及びSSX-2₄₁₋₄₉発現pCBPを混合物として、又はpSEMを左の鼠経リンパ節に及びpCBPを右の鼠経リンパ節に2回(0日目及び4日目)、リンパ節内注射より免疫化した。プラスミド量は25µg/プラスミド/用量であった。2週間後、動物を屠殺し、パルスした又はペプチドを有さないT2細胞に対する細胞傷害性を計測した。

40

【0176】

< 実施例 9 >

[異なる抗原を担持する異なるベクターの同時投与]

実施例8に記載されたように免疫化した動物を屠殺し、各群からの脾細胞をプールし、2つのペプチド(ELA又はSSX-2₄₁₋₄₉)で並行して刺激した。細胞傷害性を、Cr⁵¹-タグ付けされたペプチド添加T2標的細胞とインキュベートすることにより計測した。図2のデータは、様々な標的細胞に対する特異的細胞傷害性の平均(n=4/群)を示す。

50

【 0 1 7 7 】

結果から、プラスミド混合物の使用は、p C B P プラスミドにより誘発された応答を妨げることが示されるが、投与部位の関連する2つのプラスミドを分離すると、p C B P の活性が救援される。したがって、異なる抗原を担持する異なるベクターの同時投与は、免疫原性に関する階層の確立をもたらし得る。ベクター分離は、非優性成分の免疫原性を救援することができ、多面的応答を生じる。

【 0 1 7 8 】

< 実施例 1 0 >

[ペプチド追加免疫工程の付加による多面的応答の救援]

4 群の H H D マウス (n = 6) を、図 3 に示されるように、p S E M 及び p C B P を混合物として、又は p S E M を左の鼠経リンパ節に及び p C B P を右の鼠経リンパ節に 2 回 (0 日目及び 4 日目)、リンパ節内注射より免疫化した。対照として、p S E M 又は p C B P プラスミドのいずれかでマウスを免疫化した。プラスミド量は 2 5 μ g / プラスミド / 用量であった。2 週間後、動物を M e l a n - A 及び / 又は S S X - 2 ペプチドで追加免疫し、プラスミド免疫化用量及び組合せを再現した。2 週間後、動物を、C F S E で染色し、且つ M e l a n - A 又は S S X - 2 ペプチドを添加した又は有さない脾臓細胞で攻撃誘発し、i n v i v o での細胞傷害性を評価した。

10

【 0 1 7 9 】

< 実施例 1 1 >

[ペプチド増幅は、非優性エピトープの免疫性を救援する]

20

実施例 1 0 に記載されたようにマウスを免疫化し、E L A 又は S S X - 2 ペプチドでコートした H H D 同腹子脾臓細胞で攻撃誘発した。同時に 2 つの抗原標的の特異的溶解を評価することが可能な 3 ピーク C F S E i n v i v o 細胞傷害性検定を採用した。同数の対照 C F S E ^{l o}、S S X - 2 ₄₁₋₄₉ - C F S E ^{m e d}、及び E L A - C F S E ^{h i} 細胞を、免疫化マウスに静脈内注入し、1 8 時間後にマウスを屠殺し、フローサイトメトリを用いて、C F S E 蛍光により脾臓における標的細胞消失を計測した (図 4)。図 4 は、個々のマウスからの S S X - 2 及び M e l a n - A 抗原標的の特異的溶解割合、並びに各群の S E M と平均を示す。

【 0 1 8 0 】

結果から、プラスミドを含む 2 つのワクチンの混合物で、その後ペプチドで動物を免疫化すると、両方の抗原に対する免疫性を生じ、最も高い免疫応答を起こすことが示され、脾臓における平均 S S X - 2 特異的溶解割合は 3 0 + / - 1 1、及び平均 M e l a n - A 特異的溶解割合は 9 7 + / - 1 であることが示された。

30

【 0 1 8 1 】

< 実施例 1 2 >

[同調 - 増幅免疫化に関する臨床的実践]

図 2 及び図 4 のデータは、図 5 に示される、臨床における強い多面的応答を達成する 2 つのシナリオを示唆する。第 1 のシナリオ (A) では、追加免疫のためのペプチドの使用は、プラスミド及びペプチドが混合物として使用されたとしても、多面的免疫応答を回復させる。第 2 のシナリオ (B) では、プラスミド成分及びペプチド成分の分離は、多面的免疫応答の誘導を可能にする。

40

【 0 1 8 2 】

< 実施例 1 3 >

[M K C 1 2 0 7 : メラノーマに対する同調 - 増幅療法薬]

M K C 1 2 0 7 は、プラスミド p S E M [2 0 0 2 年 1 1 月 7 日付けで出願された米国特許出願第 1 0 / 2 9 2 , 4 1 3 号 (公開番号 2 0 0 3 - 0 2 2 8 6 3 4 A 1)、2 0 0 4 年 2 月 1 0 日付けで出願された同第 1 0 / 7 7 7 , 0 5 3 号 (公開番号 2 0 0 4 - 0 1 3 2 0 8 8 A 1)、2 0 0 4 年 4 月 3 0 日付けで出願された同第 1 0 / 8 3 7 , 2 1 7 号 (公開番号 * *) (その開示は、参照により本明細書に完全に援用される) において、p M A 2 M として記載される]、並びに M e l a n - A 2 6 - 3 5 及びチロシナーゼ 3

50

69 - 377に相当するペプチドを含む。上記プラスミドは、Melan-AエピトープのA27L類似体及び自然チロシナーゼエピトープ配列をコードする。上記プラスミドは、これらエピトープの両方がpAPCにより発現且つ提示され得るように、これらエピトープをコードする。療法薬の代替的な実施形態においては、上記ペプチドは、「エピトープ類似体(EPITOPE ANALOGUES)」と題する、2005年6月17日付けで出願された米国特許出願第11/156,369号(公開番号**) (その開示は、参照により本明細書に完全に援用される)に開示されるような、類似体であることができるか、自然配列を含むことができる。

【0183】

簡単に言うと、上記プラスミドは、同調免疫原として、鼠径リンパ節に節内投与される。続いて、上記ペプチドは、増幅免疫原として、一方は左、もう一方は右の節に節内投与される。この同調-増幅プロトコルは、2004年6月17日付けで出願された米国特許出願第10/871,707号(公開番号2005-0079152 A1)及び2003年6月17日付けで出願された同第60/479,393号(それらの開示は参照により本明細書に完全に援用されている)に、より詳細に記載されている。

10

【0184】

本明細書中に開示される方法に従って、メラノーマ患者をスクリーニングすることができ、腫瘍抗原プロファイルにMelan-A及び/又はチロシナーゼが含まれる患者にMKC1207を投与することができる。好ましい実施形態において、患者の腫瘍組織は、HLA-A2、特にHLA-A*0201も発現する。

20

【0185】

<実施例14>

[MKC1106:癌種に対する3価同調-増幅療法薬]

MKC1106は、プラスミドpCBP[2002年11月7日付けで出願された米国特許出願第10/292,413号(公開番号2003-0228634 A1)、2004年2月10日付けで出願された同第10/777,053号(公開番号2004-0132088 A1)、2004年4月30日付けで出願された同第10/837,217号(公開番号**) (その開示は、参照により本明細書に完全に援用される)に記載される]、及びプラスミドpRP12[「癌細胞及び腫瘍間質で発現される、優性及び亜優性エピトープに対する多面的免疫応答を惹起する方法及び組成物(METHODS AND COMPOSITIONS TO ELICIT MULTIVALENT IMMUNE RESPONSES AGAINST DOMINANT AND SUBDOMINANT EPITOPES, EXPRESSED ON CANCER CELLS AND TUMOR STROMA)」と題する、2005年6月17日付けで出願された米国仮出願第60/691,579号(その開示は、参照により本明細書に完全に援用される)に記載される]、並びにNY-ESO-1 157-165、SSX-2 41-49、PRAME 425-433及びPSMA 288-297に対応するペプチドを含む。上記プラスミドは、これらエピトープの両方がpAPCにより発現且つ提示され得るように、これらエピトープをコードする。療法薬の代替的な実施形態においては、上記ペプチドは、「SSX-2ペプチド類似体(SSX-2 PEPTIDE ANALOGS)」と題する米国特許出願第11/156,253号(公開番号**)、「NY-ESO-1ペプチド類似体(NY-ESO-1 PEPTIDE ANALOGS)」と題する同第11/155,929号(公開番号**)、「エピトープ類似体(EPITOPE ANALOGS)」と題する同第11/156,369号(公開番号**)、及び「エピトープ類似体(EPITOPE ANALOGS)」と題する米国仮出願第60/691,889号(これらはそれぞれ2005年6月17日付けで出願され、且つ、これらの開示はそれぞれ、参照により明確に完全に援用される)に開示されるような、類似体であることができるか、自然配列を含むことができる。

30

40

【0186】

簡単に言うと、上記プラスミドは、同調免疫原として、一方は左側、もう一方は右側の鼠径リンパ節に節内投与される。続いて、上記ペプチドは増幅免疫原として、一方は左の節に異なる日に2回、及びもう一方は右の節に異なる日に2回、順次に節内投与される。上記ペプチドは、対応するエピトープをコードするプラスミドを受容したリンパ節と同じ

50

リンパ節に投与されることが好ましい。この同調 - 増幅プロトコルは、2004年6月17日付けで出願された米国特許出願第10/871,707号（公開番号2005-0079152 A1）及び2003年6月17日付けで出願された同第60/479,393号（それぞれ参照により明確に完全に援用される）に、より詳細に記載されている。

【0187】

本明細書中に開示される方法に従って、癌種患者、特に、卵巣、結腸直腸、膵臓又は腎細胞癌種を有する患者をスクリーニングすることができ、腫瘍プロファイルにPRAME、PSMA、NY-ESO-1及び/又はSSX-2を含む患者に、MKC1106を投与することができる。MKC1106により標的とされる上記NY-ESO-1エピトープは、LAGE 1a/s中にも見られ、従って、プロファイル中のこの抗原の存在もまた適合であると考えられる。腫瘍抗原発現は異質である傾向があるため、いずれの特定組織サンプルも、発現された抗原全ての完全な表示をもたらさない可能性が高い。したがって、或る患者がMKC1106を用いる治療の候補となるために、その患者のプロファイルが、4つの抗原全てを含有する必要はない。しかし、上記プロファイルは2つ、3つ又は4つの抗原を含有することが好ましい。

10

【図面の簡単な説明】

【0188】

【図1】図1は、2つのプラスミド（SSX-2 41-49を発現しているpCBP、及びMelan-Aを発現しているpSEM）を用いる免疫化のスケジュールを示す時系列表である。

20

【図2】図2は、図1のプロトコルを使用して得られるCTL活性を示す棒グラフである。

【図3】図3は、2つのエピトープを提示するペプチド及びプラスミドを使用した、同調 - 増幅免疫化プロトコルの免疫化のスケジュールを示す時系列表である。

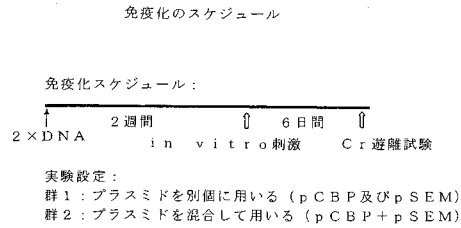
【図4】図4は、図3のプロトコルに従って免疫化したマウスのエピトープパルス細胞の*in vivo*クリアランスを示す表である。

【図5】図5は、強力な多面的応答を誘導するための好ましい免疫化プロトコルを示す時系列表である。図5Aは、追加免疫用のペプチドを使用すると、プラスミド及びペプチドが混合物として使用された場合でも、多面的免疫応答が回復されることを示す。図5Bは、プラスミド成分及びペプチド成分の分離が多面的免疫応答の誘導を可能とすることを示す。

30

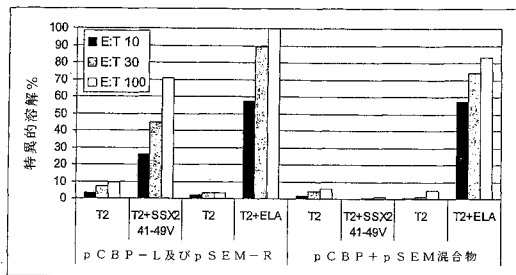
【図 1】

プラスミド (SSX-2 41-49を発現している pCBP、及び Melan-Aを発現している pSEM) を用いた免疫化のスケジュール



【図 2】

異なる抗原を担持する異なるベクターの同時投与は、免疫原性に関する階層の確立をもたらす。ベクターの隔離により、非優性成分の免疫原性が救済され、多面的応答をもたらす。



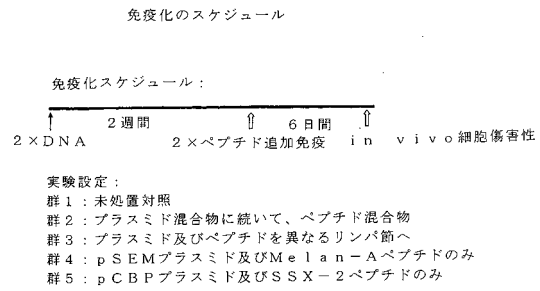
【図 4】

ペプチド追加免疫により、ベクター及びペプチドがそれぞれ混合物として使用されても、非優性エピトープの免疫原性が救済される。

動物#	脾臓 処置	特異的溶解%	
		SSX2	Melan A
#3505	対照	対照	対照
#3473	対照	6	4
#3481	対照	8	6
#3851	対照	対照	対照
#3474	対照	-4	-8
#3513	対照	-3	-4
平均		2	-1
SEM		4	4
#3125	pSEM + pCBP	71	95
#3075	pSEM + pCBP	28	93
#3088	pSEM + pCBP	10	94
#3081	pSEM + pCBP	22	100
#3078	pSEM + pCBP	44	100
#3102	pSEM + pCBP	9	100
平均		30	97
SEM		11	1
#3076	L=pSEM, R=pCBP	16	37
#3112	L=pSEM, R=pCBP	15	88
#3068	L=pSEM, R=pCBP	7	93
#3051	L=pSEM, R=pCBP	48	100
#3146	L=pSEM, R=pCBP	4	100
#3103	L=pSEM, R=pCBP	13	100
平均		17	86
SEM		7	11
#3111	pSEM	3	57
#3036	pSEM	6	94
#3052	pSEM	-1	95
#3067	pSEM		5
#3049	pSEM	1	100
#3039	pSEM		38
平均		2	65
SEM		1	17
#3069	pCBP	26	-3
#3037	pCBP	15	3
#3042	pCBP	6	7
#3070	pCBP	11	11
#3046	pCBP	18	17
#3053	pCBP	33	15
平均		18	8
SEM		4	3

【図 3】

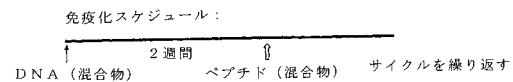
図1において示された免疫化プロトコルへの、ペプチド追加免疫工程の付加



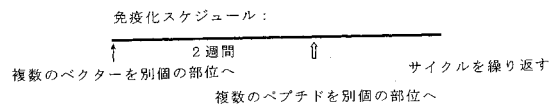
【図 5】

強力な多面的応答を誘導するための方法論：診療所における実践のための適応

A. 免疫化のスケジュール



B. 免疫化のスケジュール



【配列表】

20085267600000001.xml

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2005/047407

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/00 A61P35/00

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)

A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, SCISEARCH, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>REYNOLDS S R ET AL: "Identification of HLA-A*03, A*11 and B*07-restricted melanoma-associated peptides that are immunogenic in vivo by vaccine-induced immune response (VIIR) analysis"</p> <p>JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 244, no. 1-2, 20 October 2000 (2000-10-20), pages 59-67, XP004218446</p> <p>ISSN: 0022-1759</p> <p>pages 60,63,65</p> <p>tables 4,5</p> <p style="text-align: center;">----- -/-</p>	1-7, 11-48

☒ 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 document 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

20 November 2006

Date of mailing of the international search report

28/12/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Domingues, Helena

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2005/047407

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SMITH S G ET AL: "Human dendritic cells genetically engineered to express a melanoma polypeptide DNA vaccine induce multiple cytotoxic T-cell responses" CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 7, no. 12, December 2001 (2001-12), pages 4253-4261, XP002219398 ISSN: 1078-0432 the whole document	1-7, 11-48
X	US 2004/132088 A1 (SIMARD JOHN J L [CA] ET AL) 8 July 2004 (2004-07-08) examples 1,7	1-7, 11-48
Y	CHANG S S ET AL: "FIVE DIFFERENT ANTI-PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANE ANTIGEN (PSMA) ANTIBODIES CONFIRM PSMA EXPRESSION IN TUMOR-ASSOCIATED NEOVASCULATURE" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 59, 1 July 1999 (1999-07-01), pages 3192-3198, XP000941661 ISSN: 0008-5472 the whole document	8-10
Y	WO 01/85932 A (AVENTIS PASTEUR LIMITED; LUDWIG INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH; BERINST) 15 November 2001 (2001-11-15) pages 4-5 examples 1-5	1-7, 11-48
Y	MOINGEON P: "Cancer vaccines" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 19, no. 11-12, 8 December 2001 (2001-12-08), pages 1305-1326, XP004313943 ISSN: 0264-410X page 1319 page 1320 tables 3,4	1-48
	-/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/047407

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>KESSLER J H ET AL: "Efficient identification of novel HLA-A(*)0201-presented cytotoxic T lymphocyte epitopes in the widely expressed tumor antigen PRAME by proteasome-mediated digestion analysis" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, TOKYO, JP, vol. 193, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 73-88, XP002339970 ISSN: 0022-1007 figures 1,4,6 pages 84,85</p>	1-7, 11-48
Y	<p>MATSUSHITA M ET AL: "PREFERENTIALLY EXPRESSED ANTIGEN OF MELANOMA (PRAME) IN THE DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC METHODS FOR HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES" LEUKEMIA AND LYMPHOMA, HARWOOD ACADEMIC PUBLISHERS, CHUR, CH, vol. 44, no. 3, March 2003 (2003-03), pages 439-444, XP009040231 ISSN: 1042-8194 the whole document</p>	1-7, 11-48
E	<p>WO 2006/014579 A (THE REGENTS OF CALIFORNIA; MINEV, BORIS, R) 9 February 2006 (2006-02-09) example 1</p>	1-48
X,P	<p>WO 2004/112825 A (MANNKIND CORPORATION; CHIANG, CHIH-SHENG; BOT, ADRIAN; SIMARD, JOHN, J) 29 December 2004 (2004-12-29) the whole document</p>	1-48
E	<p>WO 2006/002114 A (MANNKIND CORPORATION; CHIANG, CHIH-SHENG; SIMARD, JOHN, J. L) 5 January 2006 (2006-01-05) the whole document</p>	1-48
X,P	<p>BOT ADRIAN I ET AL: "A novel class of biotherapeutics co-targeting cancer cells and the associated tumor neovasculature" JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 28, no. 6, November 2005 (2005-11), page 637, XP009067901 & 20TH ANNUAL SCIENTIFIC MEETING OF THE INTERNATIONAL-SOCIETY-FOR-BIOLOGICAL-THERAPY-OF-CANCER; ALEXANDRIA, VA, USA; NOVEMBER 10 -13, 2005 ISSN: 1524-9557 the whole document</p>	1-48
-/-		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/047407

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	-& DATABASE INTERNET [Online] 13 November 2005 (2005-11-13), XP002385468 retrieved from HTTP://WWW.ISBTC.ORG/MEETINGS/AM05/PRESENT ATIONS/BOT.PDF the whole document	1-48
Y,P	TAJEDDINE N ET AL: "Tumor-associated antigen preferentially expressed antigen of melanoma (PRAME) induces caspase-independent cell death in vitro and reduces tumorigenicity in vivo" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 65, no. 16, August 2005 (2005-08), pages 7348-7355, XP002372786 ISSN: 0008-5472 the whole document	1-7, 11-48
Y,P	EP 1 595 548 A2 (MANNKIND CORP [US]) 16 November 2005 (2005-11-16) pages 2,3 example 3	8-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/047407

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 1-32 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2005 /047407

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3 (partially), 4-7, 11-32 (partially), 33-36 (partially), 38, 43-48 (partially)

Concerns a method and an immunogenic composition for inducing an anti-cancer immune response, particularly against ovarian, colorectal, pancreatic and non-small lung cancer, melanoma and renal carcinoma, comprising immunizing against PRAME and against at least one other tumor-associated antigen, especially those of claims 2, 13-23. The compositions comprise whole antigens, epitopes derived therefrom or nucleic acids encoding these molecules

2. claims: 1-3 (partially), 8-10, 11-32 (partially), 33-36 (partially), 37, 39-42 and 43-48 (partially)

Concerns a method and an immunogenic composition for inducing an anti-cancer immune response, particularly against ovarian, colorectal, pancreatic and non-small lung cancer, melanoma and renal carcinoma, comprising immunizing against PSMA and against at least one other tumor-associated antigen, especially those of claims 2, 13-23. The compositions comprise whole antigens, epitopes derived therefrom or nucleic acids encoding these molecules.

3. claims: 1-3 (partially), 11-32 (partially), 33-36 (partially) and 43-48 (partially)

Concerns a method and an immunogenic composition for inducing an anti-cancer immune response, particularly against ovarian, colorectal, pancreatic and non-small lung cancer, melanoma and renal carcinoma, comprising immunizing against tyrosinase and against at least one other tumor-associated antigen, especially those of claims 2, 13-23. The compositions comprise whole antigens, epitopes derived therefrom or nucleic acids encoding these molecules.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2005/047407

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004132088	A1	08-07-2004	US 2003228634 A1	11-12-2003
			US 2004203051 A1	14-10-2004
WO 0185932	A	15-11-2001	AU 5810201 A	20-11-2001
			CA 2408328 A1	15-11-2001
			EP 1282702 A2	12-02-2003
			US 2004033234 A1	19-02-2004
WO 2006014579	A	09-02-2006	NONE	
WO 2004112825	A	29-12-2004	AU 2004249254 A1	29-12-2004
			CA 2529056 A1	29-12-2004
			EP 1633387 A2	15-03-2006
WO 2006002114	A	05-01-2006	NONE	
EP 1595548	A2	16-11-2005	NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 チャン, チー - シェン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 1 1 チャッツワース オークデール アベニュー 1
0 3 3 9

(72)発明者 シマード, ジョン ジェイ . エル .

カナダ プリティッシュ コロンビア V 7 V 3 C 1 ウエストバンクーバー オルタモント
クレセント 2 9 6 0

(72)発明者 ダイヤモンド, デイビッド シー .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 0 4 ウエストヒルス ショーンボーン ストリート
2 3 1 3 5

(72)発明者 ボット, アドリアン イオン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 5 4 ヴァレンシア ウエストゲャブル レンチ
ーン 2 4 4 0 6

(72)発明者 リウ, シビン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 7 8 0 テンプルシティ カメリア アベニュー 6 0
3 5

Fターム(参考) 4C085 AA03 BB01 CC03 DD88