

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7384896号

(P7384896)

(45)発行日 令和5年11月21日(2023.11.21)

(24)登録日 令和5年11月13日(2023.11.13)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/85 (2006.01)

C 1 2 N 15/85

Z Z N A

A 6 1 K 35/13 (2015.01)

A 6 1 K 35/13

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02

請求項の数 3 (全23頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-503096(P2021-503096)

(86)(22)出願日 令和1年7月22日(2019.7.22)

(65)公表番号 特表2021-531772(P2021-531772
A)

(43)公表日 令和3年11月25日(2021.11.25)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/042764

(87)国際公開番号 WO2020/023350

(87)国際公開日 令和2年1月30日(2020.1.30)

審査請求日 令和4年7月19日(2022.7.19)

(31)優先権主張番号 62/701,791

(32)優先日 平成30年7月22日(2018.7.22)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 504206056

ヘルス リサーチ インコーポレイテッド
HEALTH RESEARCH, IN
C.アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 4 2
6 3 バッファロー エルム アンド カー
ルトン ストリーツ

(74)代理人 110000475

弁理士法人みのり特許事務所

(72)発明者 オドゥンシ, クンレ

アメリカ合衆国、ニュー YORK 州 1 4
2 2 1、ウィリアムズビル、エメラルド
トレイル 1 4

(72)発明者 辻 武正

アメリカ合衆国、ニュー YORK 州 1 4
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 主要組織適合遺伝子複合(MHC)クラスII - 発現癌細胞ワクチン、及び統合免疫応答を生じさせるための使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

個体において、一以上の癌抗原に対する免疫応答を刺激する方法に使用される組成物であって、

クラスIIトランス活性化因子(CIITA)及び4-1BB-リガンドをコードする一以上のポリヌクレオチドを含み、

前記一以上のポリヌクレオチドを癌細胞に導入して、CIITA及び4-1BB-リガンドを発現する改変癌細胞を産生するために個体に投与される、組成物。

【請求項2】

前記刺激された免疫応答が、以下の1つ又は組み合わせを含む、請求項1に記載の組成物：前記改変癌細胞と同じ種類の癌に特異的な、持続的な記憶抗腫瘍CD8⁺T細胞応答、又は、前記改変癌細胞と同じ種類の癌に対する抗腫瘍抗体応答、又は、前記改変癌細胞と同じ種類の癌である癌細胞を含む腫瘍の増殖の抑制、又は、前記改変癌細胞と同じ種類の癌である癌細胞を含む一以上の既存の腫瘍の根絶。

【請求項3】

前記癌細胞が、乳癌細胞、前立腺癌細胞、膵臓癌細胞、肺癌細胞、肝臓癌細胞、卵巣癌細胞、子宮頸癌細胞、結腸癌細胞、食道癌細胞、胃癌細胞、膀胱癌細胞、脳癌細胞、精巣癌細胞、頭頸部癌細胞、黒色腫細胞、皮膚癌細胞、肉腫細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞、骨髄腫細胞、及びそれらの組み合わせから選択される、請求項1又は2に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

10

20

【関連出願の相互参照】

【0001】

本願は、2018年7月22日に出願された米国仮出願第62/701,791号に基づく優先権を主張し、その開示は参照により本明細書中に組み込まれる。

【技術分野】

【0002】

本開示は、一般に、癌の予防及び治療に関するものであり、より具体的には、癌への免疫応答を向上させるための組成物及び方法に関する。

【背景技術】

【0003】

腫瘍抗原-特異的CD4+T細胞、CD8+T細胞及びB細胞は、抗腫瘍免疫において、協調的役割を果たす。腫瘍部位において、細胞傷害性T細胞としても知られるCD8+T細胞は、癌細胞を破壊する主要エフェクター細胞であると考えられている。ヘルパーT細胞としても知られるCD4+T細胞は、抗原提示細胞の活性化及び/又はサイトカインの分泌を通じて、CD8+T細胞の活性化、機能及び維持を手助けする。CD4+T細胞は、B細胞の活性化も手助けし、B細胞上のCD40分子に結合するCD40-リガンド(CD40L)を発現することによって、及び抗体クラススイッチングを誘導するサイトカインを分泌することによって、抗体分泌を誘導する。B細胞は、腫瘍抗原タンパク質に結合し、抗原抗体複合体(免疫複合体と呼ばれる場合もある)を形成する、腫瘍抗原-特異的抗体を産生する。免疫複合体は、抗原提示細胞によって効率的に捕獲され、同時に、Fcレセプターへの結合を通じて抗原提示細胞(APC)を活性化する。続いて、活性化された抗原提示細胞は、CD4+及びCD8+T細胞に、腫瘍抗原タンパク質を交差提示する。CD4+T細胞、CD8+T細胞、及びB細胞による別個の及び協調的な抗腫瘍機能のため、CD4+T細胞、CD8+T細胞、及び抗原分泌B細胞の統合を確立する戦略は、癌患者にとって有望な免疫療法となるであろう。

【0004】

T細胞は、癌細胞上のMHC分子上に提示された腫瘍抗原タンパク質-由来ペプチドを認識することによって、癌細胞を破壊する。しかしながら、一部の癌細胞は、その表面からMHC分子を除去することによって、T細胞-媒介性死滅から逃れることが知られている。癌細胞の細胞表面上に結合する抗体は、MHC発現とは無関係に(あるいはMHC-非依存的様式において)、抗体依存性細胞傷害(ADCC)及び補体依存性細胞傷害(CDC)を通じて、癌細胞を破壊する。

【0005】

CD4+ヘルパーT細胞は、それらがCD8+T細胞及びB細胞の両方をヘルプするため、統合的抗腫瘍免疫応答を誘導する中心的な役割を果たすと考えられている。一般的に、CD4+T細胞の活性化は、腫瘍抗原タンパク質のような細胞外タンパク質を捕獲し、交差提示する抗原提示細胞を必要とする。最近、我々は、MHCクラスII(MHC-II)-発現癌細胞を直接認識する、ユニークなCD4+T細胞サブセットを発見した。我々が「腫瘍認識CD4+T細胞(TR-CD4細胞)」と名付けた、このCD4+T細胞サブセットは、抗原提示細胞を必要とすることなく、癌細胞を直接認識することによって、腫瘍抗原-特異的CD8+T細胞の機能を増強した。それゆえ、TR-CD4細胞は、他の免疫細胞を効率的に手助けし、腫瘍部位における抗腫瘍免疫を増強すると予想される。しかしながら、体内において、TR-CD4細胞を効率的に誘導する方法は現在知られていない。それゆえ、癌への免疫応答を向上させる組成物及び方法、並びに他の免疫原性物質に対する、満たされていない要求が現在も存在する。本開示は、これらの要求に関連する。

【発明の概要】

【0006】

本開示は、免疫応答(ペプチド抗原への免疫応答を含むが、必ずしもこれに限定されない)を刺激及び/又は増強するのに役立つ組成物及び方法を提供する。ある実施形態において、細胞性免疫、液性免疫、あるいはその両方が、本開示の組成物及び方法を用いることによって刺激され及び/又は増強される。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 7 】

ある面において本開示は、ワクチン接種で使用するための組成物を含む。ある実施形態において、本開示は、クラスIIトランス活性化因子(CIITA)遺伝子を過剰発現するよう操作された改変癌細胞と、免疫賦活分子とを含む、細胞ワクチン組成物を提供する。本開示に記載される免疫賦活分子は、GM-CSF、CD80、GITR-リガンド、OX-40-リガンド、及び4-1BB-リガンドを含む。一実施形態では、CD86が使用されてもよい。複数の実施形態において、改変癌細胞は、以下にさらに説明するように、4-BB-リガンド及び/又はOX40-リガンドを発現する。別の実施形態において、本開示は、個体に送達される剤として、CIITAタンパク質をコードするポリヌクレオチド、及び免疫刺激剤(例えば、発現ベクター内の)を使用することを含む。複数の実施形態において、本開示は、CIITA遺伝子に代わるものとして、MHC IIアルファ鎖及びベータ鎖の発現が増加するように癌細胞を操作することを含む。

10

【 0 0 0 8 】

CIITA又は共刺激リガンドを単独で発現する癌細胞と比較して、本明細書に記載のワクチンが、強力で持続性のある抗腫瘍CD8+T細胞を誘導することが、関連マウスモデルを使用して実証される。さらに、本明細書に記載の細胞ワクチンは、癌細胞上の細胞表面分子に対する細胞傷害性抗体の産生を誘導する。それゆえ、本明細書に記載のワクチンは、T細胞媒介性細胞傷害によって、MHC-発現癌に対する防御免疫を提供するが、それだけでなく、抗体媒介性細胞傷害によって、MHC-欠損免疫回避変異体に対する防御免疫をも提供すると考えられる。

20

【 0 0 0 9 】

本明細書で使用される用語「MHC」は、当該分野で白血球抗原遺伝子複合体(HLA)と称される、MHCヒト等価物によりヒトへの用途に拡張できることが、当業者によって認識されるであろう。

【 0 0 1 0 】

本開示にて提示される非限定的な例によって認識されるように、TR-CD4細胞を誘導するために、我々は、MHCクラスII-媒介性抗原提示の主要制御因子であるMHCクラスIIトランス活性化因子(CIITA)遺伝子をレトロウイルスにより過剰発現させることによって、マウスの癌細胞株の細胞表面にMHC-IIを発現させた。MHC-II-発現癌細胞の免疫原性を増強するために、免疫賦活遺伝子も同時-過剰発現させた。親癌細胞又はCIITAのみを発現する細胞と比べて、CIITAと免疫賦活遺伝子(特に4-1BB-リガンド(BB-L))とを共発現(同時発現)するいくつかの改変癌細胞株は、同系マウスにおいて強く持続的な抗腫瘍免疫応答を誘導した。CIITA+BB-Lを共発現するが、BB-Lを単独では発現しない癌細胞は、癌細胞の表面に特異的に結合し、癌細胞を殺傷する循環抗体を誘導した。CIITA+BB-L-発現癌細胞によって誘導された癌特異的抗体は、MHC-欠損癌細胞の増殖から、マウスを防御した。これらの知見は、MHC-発現癌及びMHC-欠損癌に対する防御のための、統合的なT細胞及び抗体応答を誘導するためのワクチンとして使用するのに、CIITA+BB-Lを共発現するよう操作された癌細胞が適切であることを示す。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 1 】

[図 1] CIITA及び免疫賦活遺伝子を共発現するマウス癌細胞株の生成

CIITA及び/又は免疫賦活遺伝子(CD80、GM-CSF、GITR-リガンド、4-1BB-リガンド、及びOX40-リガンド)を、2シストロン性レトロウイルストランスファープラスミド(pQCXIX; Clontechから購入)にクローニングした。レトロウイルス粒子は、トランスファープラスミドのGP2-293パッケージング細胞株(Clontech)及びpVSV-Gエンベロープ発現プラスミド(Clontech)の同時トランスフェクションによって製造した。レトロウイルス形質導入によって、CIITA及び/又は免疫賦活遺伝子を発現するようマウス癌細胞株を遺伝子操作した。

40

【 0 0 1 2 】

[図 2] 改変癌細胞の免疫原性

50

同系(C57BL/6)マウスにおける、マウスのリンパ腫細胞株(EL4)の増殖に対する、CIITA及び免疫賦活遺伝子の発現の効果。表示の遺伝子を発現するよう遺伝子操作したEL4細胞をマウスに皮下注射した。腫瘍体積は、直径から次のように計算した。腫瘍体積 = $0.5 \times (\text{短い直径})^2 \times (\text{長い直径})$ 。CIITA単独の発現はEL4の腫瘍増殖を変化させなかった。CIITA及び免疫賦活遺伝子の共発現は、腫瘍増殖を有意に遅延させた。特に、4-1BB-L及びOX40-Lは、すべてのマウスで、完全な自然退縮を誘発した。4-1BB-L単独発現が、完全な退縮を誘発するのに対して、OX-40L単独は、腫瘍増殖を一部遅延させただけであった。

【 0 0 1 3 】

[図 3] 改変癌細胞によるメモリーCD8+T細胞応答の誘導

(A) 実験方法

長期間にわたる抗腫瘍記憶免疫応答を検討するために、マウスにまず、4-1BB-L単独、CIITA + 4-1BB-L、あるいはCIITA + OX40-Lを有するように改変したEL4を接種した。完全に退縮してから2か月後、親EL4をマウスに再チャレンジし(皮下)、腫瘍増殖をモニターした。

(B) 再チャレンジ後の親EL4の増殖

4-1BB-L単独又はCIITA + OX40-Lを発現するEL4を拒絶したマウスのうち数匹のみが、再チャレンジに対する防御を示した。これに対して、CIITA + 4-1BB-Lを発現するEL4を最初に投与されたマウスは全て、再チャレンジされた親EL4を拒絶した。

(C) メモリーCD8+T細胞応答を検討するために、表示されている改変EL4をマウスにまず接種した。完全な退縮の直後及び1か月後に、親EL-4とともに培養し、細胞内サイトカイン染色アッセイによりサイトカイン産生を測定することによって、脾臓中のEL-4-特異的CD8+T細胞を調べた。

(D) 腫瘍退縮直後(20日目)、4-1BB-L単独及びCIITA + 4-1BB-Lを発現するEL4を投与されたマウスは、同程度のEL-4特異的CD8+T細胞を示した。CIITA + OX40-Lを投与されたマウスは、EL-4特異的CD8+T細胞の減少を示した。1か月後(50日目)、4-1BB-L単独及びCIITA + OX40-Lを発現するEL4を投与されたマウスでは、20日目と比べて、EL-4特異的CD8+T細胞が減少していたが、CIITA + 4-1BB-Lを発現するEL4を投与されたマウスにおけるEL-4特異的CD8+T細胞のパーセンテージは維持されていた。

【 0 0 1 4 】

[図 4] 改変癌細胞による抗体応答の誘導

(A) 実験の概要

防御的抗体応答を調べるために、マウスにまず、4-1BB-L単独、CIITA + 4-1BB-L、又はCIITA + OX40-Lを有するように改変したEL4を接種した。完全な退縮から2か月後に、CRISPR/Cas9技術によりb2m遺伝子を破壊することによってMHCクラスI発現が抑制されるように改変したEL4(b2m-/- EL4)を、マウスの皮下に再チャレンジし、腫瘍の増殖をモニターした。

(B) 再チャレンジ後のMHC-欠損EL4(b2m-/- EL4)の増殖

4-1BB-L単独又はCIITA + OX40-Lを発現するEL4を最初に拒絶したマウスはそれぞれ、MHC-欠損EL4に対して、防御効果を示さないか、又は部分的な防御効果を示した。これに対して、CIITA + 4-1BB-Lを発現するEL-4を最初に投与されたマウスは全て、再チャレンジされたMHC-欠損EL4を拒絶した。

(C) 癌細胞上の細胞表面分子に対する抗体の誘導を調べるために、マウスが、4-1BB-L単独、CIITA + 4-1BB-L、又はCIITA + OX40-Lを発現する改変EL4を拒絶した後、マウスから血清を採取した。親EL4をまず希釈血清とインキュベートし、蛍光標識抗-マウスIgG抗体で染色した。フローサイトメトリーで測定した蛍光強度を示す。

(D) 蛍光強度を、処置群間で比較した。

CIITA + 4-1BB-Lを発現するEL4を拒絶したマウスは、EL4に結合する血清抗体を生じ、また、CIITA + OX40-Lを発現するEL4を拒絶したマウスも、より程度は低いが前記血清抗体を生じた。

(E) (C) においてCIITA + 4-1BB-L発現EL4を拒絶したマウスから得た同じ血清を使

10

20

30

40

50

用して、活性化マウスT細胞、B16F10マウス黒色腫細胞株及びMC38マウス結腸癌細胞株等の無関係のコントロール細胞を染色したところ、EL4以外の交差反応性は示さなかった。

(F) 改変癌細胞によって誘導された抗体による細胞傷害性

親EL4にまず、蛍光カルセインAM試薬を負荷し、希釈血清とインキュベートし、ウサギ補体とともにインキュベートした。細胞傷害性は、上清の蛍光レベルから計算した。

【0015】

[図5] 腫瘍増殖に対する治療ワクチン接種の効果

(A) 実験の概要

まずCIITA発現EL4又はMHC-欠損EL4をマウスに皮下接種した。3, 10及び17日目に、マウスに照射CIITA-EL4、又はCIITA+4-1BB-L-EL4をワクチン接種するか、あるいは未治療とした。

10

(B) CIITAを発現するEL4の成長

CIITA-EL4をワクチン接種したことによる有意な効果はなく、CIITA+4-1BB-L-EL4は腫瘍増殖を有意に抑制した。5匹のマウスのうち2匹は、完全に腫瘍を拒絶した。

(C) まずMHC-欠損EL4をマウスに皮下接種した。3, 10及び17日目に、マウスに照射CIITA+4-1BB-L-EL4をワクチン接種するか、あるいは未治療とした。CIITA+4-1BB-L-EL4をワクチン接種されたマウスは、腫瘍増殖の遅延を示し、7匹のマウスのうち2匹は、完全に腫瘍を拒絶した。

(D) (C) のマウスの生存時間

20

【0016】

[図6] 他のマウス腫瘍モデルでの確認

(A) マウスに、表記の遺伝子を発現するよう操作されたMC38結腸癌細胞株及びB16F10黒色腫細胞株を皮下接種した。両方のマウス腫瘍モデルにおいて、CIITA及び4-1BB-Lの共発現は、自発性の拒絶を誘導した。

(B) (A) のマウスの血清を、親MC38及びB16F10を染色するために使用した。CIITA+4-1BB-Lを発現する改変癌細胞を拒絶したマウスだけが、癌細胞の表面に結合する有意な抗体を誘導した。

(C) ワクチン接種による、卵巣腫瘍-反応性抗体応答の誘導。未処置マウスに、改変したマウス卵巣癌細胞株であるID8(CIITA+4-1BB-L又はCIITA+OX40-Lを発現)を、0日目及び7日目にワクチン接種した。2回目のワクチン接種から19日後に、血清を採取し、親ID8細胞株を染色するために使用した。CIITA+4-1BB-L-ID8をワクチン接種した両方のマウスは、ID8-反応性抗体を誘導し、一方、CIITA+OX40-L-ID8を投与されたマウスの半部分が、有意なID8-反応性抗体を誘導した。

30

【発明を実施するための形態】

【0017】

別の定義が本明細書に記載されていない場合、本開示で使用されるすべての技術的用語及び科学的用語は、本開示が属する分野における当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。

【0018】

40

本明細書にわたって記載された各数値範囲は、その上限値と下限値とを含み、及び、その範囲内に含まれるあらゆるより狭い数値範囲をも、そのようなより狭い数値範囲が本明細書に全て明確に記載されているかのように、含む。

【0019】

本開示は、この開示のテキスト及び図面に記載されているすべての工程及び組成物を含み、それらは、そのような工程を個々に全て、及びそれらのすべての組み合わせにて含み、且つ、ベクター、クローニング中間体、細胞、細胞培養物、細胞の子孫など(これらに限定されない)を含むすべての組成物を含む。

【0020】

本開示は、本明細書に記載の改変免疫原性癌細胞、前記免疫原性癌細胞を使用して作ら

50

れた癌ワクチン、前記免疫原性癌細胞を作る方法、並びに、癌を治療するための免疫原性組成物、ポリヌクレオチド、及び方法を含むが、これらに限定されない。本開示は、本明細書に開示されたすべてのポリヌクレオチド、それらの相補的配列、及び逆相補的配列を含む。データベース登録を利用してポリヌクレオチド又はアミノ酸配列を参照する場合、そのデータベース登録に存在するポリヌクレオチド及びアミノ酸配列は、それが本出願又は特許の有効出願日に存在するのと同様に、本明細書中に包含される。

【0021】

上述したように、癌細胞は、T細胞及びB細胞によって認識される一連の免疫原性抗原を発現する。それゆえ、本開示は、多価の免疫応答を誘導するための強力なワクチンとして、改変癌細胞を利用する。

10

【0022】

複数の実施形態において、本開示は、本明細書に記載されるように癌細胞を改変することを含み、及び、改変癌細胞それ自身、及び前記癌細胞を含む医薬組成物等の組成物を含む。複数の実施形態において、前記癌細胞は、固形腫瘍及び液性腫瘍を含む任意のタイプの癌である。複数の実施形態において、本開示に従って改変される癌細胞は、乳癌、前立腺癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、卵巣癌、子宮頸癌、結腸癌、食道癌、胃癌、膀胱癌、脳癌、精巣癌、頭頸部癌、黒色腫、皮膚癌、任意の肉腫（線維肉腫、血管肉腫、腺癌、及び横紋筋肉腫を含むが、これらに限定されない）、及び任意の血液癌（すべての種類の白血病、リンパ腫、又は骨髄腫を含む）を含むが、必ずしもこれらに限定されない。

【0023】

20

複数の実施形態において、本明細書に記載の細胞ワクチン組成物は、癌を有する、あるいは以前に癌を有していた、あるいは癌を発症するリスクのある個体に投与される。前記癌は、前述した任意のタイプであってもよい。複数の実施形態において、本開示のワクチンとして使用するための改変癌細胞は、癌細胞株由来の癌細胞を含む。複数の実施形態において、本開示のワクチンとして使用するための改変癌細胞は、個体由来の癌細胞であって、CIITA及び/又は以上の本明細書に記載の共刺激分子又は免疫賦活サイトカインを発現又は過剰発現するよう改変された癌細胞を含み、それらは癌治療のために同じ個体に投与される。複数の実施形態において、同種癌細胞が改変され、本明細書に記載される方法で使用される。複数の実施形態において、改変癌細胞は、それに対して治療的免疫応答を個体において生じさせる癌と同じ種類の癌である。

30

【0024】

複数の実施形態において、個体は、前記改変癌細胞（又は本明細書に記載のポリヌクレオチドを使用して標的化された癌細胞）によって発現される一以上の抗原によりワクチン接種されてもよい。複数の実施形態において、腫瘍又は癌細胞の溶解物がワクチン接種に使用されてもよい。複数の実施形態において、本開示の方法によって誘発される免疫学的防御は（後のワクチン接種の有無にかかわらず）、持続性であり得、数日、数週又は数か月あるいはそれ以上持続する（ワクチン接種後を含むが、これに限定されない）、及びそのようなワクチン接種は、単回投与又は複数回投与後に防御を誘発するのに効果的であり得る。追加ワクチン接種は、当該分野で既知のスケジュールに従って使用されてもよく、及び、本明細書の利益が提供されるのであれば、本開示の方法による使用に適応されてもよく、及び、プライム・ブースト法のような手法を含む。

40

【0025】

本明細書に記載のように刺激及び/又は増強される免疫応答に関連して、癌細胞ベースのワクチンによってTR-CD4細胞を誘導するために、癌細胞はMHC-II（又はヒトの場合はHLA）を発現する必要がある。しかしながら、すべての癌細胞が恒常的に細胞表面MHC-IIを発現するとは限らない。例えば、EL4リンパ腫、B16F10黒色腫、MC38結腸癌、及びID8卵巣癌を含むが必ずしもこれらに限定されないマウス癌細胞株は、いずれも恒常的なMHC-IIを発現しない。

【0026】

マウス癌細胞株の細胞表面にMHC-IIを発現するために、我々は、MHCクラスII-介在性

50

抗原提示の主要制御因子である、MHCクラスIIトランス活性化因子(CIITA)遺伝子をレトロウイルスにより過剰発現させた。このように、複数の実施形態において、本明細書に記載のワクチンとして使用するために改変された各癌細胞は、それが従前にCIITAを発現していない場合はCIITAを発現するように改変されるか、又は、本開示に従って改変される前の発現量と比べて、より多くのCIITAを発現するように改変される。当業者は、CIITAが、C2TA、NLRA、MHC2TA、及びCIITAIVとも称されることを認識するであろう。

【0027】

CIITA遺伝子を使用する代わりに、MHCクラスIIアルファ及びベータ鎖遺伝子の過剰発現は、細胞表面MHCクラスII発現を誘導すると予測される。このように、複数の実施形態において、MHCアルファ及びベータ鎖をコードするポリヌクレオチドの方向性導入などによって、組換え分子生物学アプローチを使用して癌細胞を操作することは、本明細書に別に記載されるように改変された癌細胞と同様の方法で機能する改変癌細胞ワクチンを提供する代替的なアプローチであると考えられる。ある実施形態において、本開示は、ポリヌクレオチドを直接導入することによって、MHC又はHLA発現を増加すること、あるいは、改変癌細胞を製造するために、HLAクラスIIアルファ及びベータ鎖をコードするポリヌクレオチドを使用することを提供する。任意の特定の個体のHLAクラスIIアルファ及びベータ鎖は、当該分野で十分に確立されている技術を使用して決定することができる。複数の実施形態において、個体のHLA型に適合された既存の癌細胞を使用することができる。あるいは、個体から得た有核細胞を含む生体試料を試験して、個体のHLA型を決定し、関連のあるHLAクラスIIアルファ及びベータ鎖をコードする適切なポリヌクレオチドを設計し、製造し、本開示の実施形態において使用することができる。複数の実施形態において、HLAクラスIIアルファ鎖は、HLA-DM、HLA-DMA、HLA-DO、HLA-DOA、HLA-DP、HLA-DPA1、HLA-DQ、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DR又はHLA-DRA、あるいはこれらのHLA型の任意のサブタイプ用である。複数の実施形態において、HLAクラスIIベータ鎖は、HLA-DMB、HLA-DOB、HLA-DPB1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、又はHLA-DRB5、あるいはこれらのHLA型の任意のサブタイプ用である。

【0028】

CIITAのマウス及びヒトのアミノ酸配列、及び共発現されるタンパク質、並びにそれらをコードするDNA配列の代表的な及び非限定的な例が、以下に提示される。本開示は、改変癌細胞が、非-改変癌細胞と比べて免疫応答を増強する働きをする限り、本明細書に提示されたものと異なるヌクレオチド及びアミノ酸配列を使用することを含む。複数の実施形態において、前記癌細胞は、本明細書に記載されたCIITA及び共刺激分子又は免疫賦活サイトカインを発現し、これらは以下に記載されるアミノ酸配列と同一であるか、あるいは関連する配列と70~90%のアミノ酸同一性を有する。本開示は、それらが目的とする機能を保持する限り、アミノ酸の挿入、欠失及び置換を有するタンパク質を使用することを含む。本明細書に記載されるタンパク質をコードするすべてのポリヌクレオチド配列が、本開示に包含され、これらは以下に提示されるものに限定されない。

【0029】

本開示の例は、CIITAの改変発現あるいは過剰発現と、G-CSF、CD80、GITR-リガンド、OX-40-リガンド、及び4-1BB-リガンドの一つあるいはその組み合わせとを併用する。しかしながら、CIITAと4-1BB-Lとの共発現が、他の共発現されるタンパク質よりも優れていることが実証されている。このように、複数の実施形態において、本開示は、組換え分子生物学的アプローチによって、CIITA及び免疫賦活物質（好ましくは、4-1BB-Lであるが、他の免疫賦活因子も本開示の範囲内に含まれる）を発現するよう操作された改変癌細胞を含む、癌ワクチンとして使用するための組成物及び方法を提供する。

【0030】

複数の実施形態において、本明細書に記載の、細胞性癌ワクチンの使用には、癌の治療が含まれる。複数の実施形態において、本明細書に記載の、細胞性癌ワクチンの使用は、持続的な記憶応答を生じさせ、これには、持続的なCD8+T細胞記憶応答が含まれるが、

10

20

30

40

50

必ずしもこれに限定されない。複数の実施形態において、本明細書に記載される細胞ワクチン組成物の単回投与は、少なくとも1か月から少なくとも1年、又は1年以上の間持続する免疫応答を生じさせ、又は生涯にわたる保護を提供し、それゆえ、ヒト又は非ヒト動物における使用について、数十年間持続し得る。このように、ヒト及び獣医学的な使用が含まれる。

【0031】

複数の実施形態において、本明細書に記載の細胞性癌ワクチン又は関連するポリヌクレオチドの使用は、以下の結果(任意の適切な参照と比較できる)の任意の1つ又は任意の組み合わせを生じる：T細胞の活性化の向上、TR-CD4+T細胞の増加、CD8+メモリー細胞の産生及び/又は持続の向上、抗-癌抗体の産生の向上、腫瘍増殖の抑制の向上、及び生存期間の向上。複数の実施形態において、本開示のワクチン接種は、腫瘍形成を妨げ、既存の腫瘍の増殖を制限し、又は既存の腫瘍を根絶する。複数の実施形態において、参照は、向上した免疫応答の一部をなした免疫賦活分子とは異なる免疫賦活分子を発現する癌細胞によって得られる。複数の実施形態において、癌細胞による再チャレンジへの応答を向上させる本明細書に記載のワクチンの能力は、改良される。

10

【0032】

CIITA及び/又は共刺激分子をコードするベクターは、任意の適切なベクターあるいは他のポリヌクレオチドであってもよい。一以上のベクター又はポリヌクレオチドを使用することができる。非限定的な実施形態において、レトロウイルスベクターを使用してもよい。図1は、適切なベクターの非限定的な実施形態を提供する。複数の実施形態において、CIITAをコードする配列又はコードするよう設計された配列は一旦組み込まれると、ベクター内で単独使用される。複数の実施形態において、共刺激分子をコードする配列又はコードするよう設計された配列は一旦組み込まれると、ベクター内で単独使用される。複数の実施形態では、単一のベクターが、CIITA及び共刺激分子の両方をコードするか、あるいはコードするように設計される。このように、複数の実施形態において、本開示は、ポリシストロン性ベクターを含む。複数の実施形態において、CIITA及び共刺激分子をコードする配列は、例えば、内部リボソームエントリー配列(IRES: internal ribosome entry sequence)によって分離されている。

20

【0033】

複数の実施形態において、癌細胞ワクチン、又は本明細書に記載のタンパク質をコードするポリヌクレオチドは、従来の化学療法、又は放射線療法、又は別の免疫療法と同時に又は連続して、腫瘍切除等の外科的処置の前あるいは後で使用される。複数の実施形態において、癌細胞ワクチン、又は癌細胞ワクチンによって組換え発現されるタンパク質をコードするポリヌクレオチドは、単一用量であるいは複数用量で使用される。複数の実施形態において、癌ワクチンは、一度だけ、又は毎週、毎月、三か月ごと、6か月ごと、毎年、あるいは予め決められた数年の間隔で投与される。

30

【0034】

本明細書に記載の癌細胞ワクチンは、それを必要とする個体に、任意の適切なルート(非経口、皮下、腹腔内、肺内、及び鼻腔内を含む)を使用して投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。複数の実施形態において、投与される癌細胞の量には、有効量が含まれる。複数の実施形態において、有効量は、本明細書に記載の1つ又は複数の効果(癌の増殖を阻害する及び/又は抗-癌記憶応答を生じるのに効果的な、細胞性応答、又は液性応答、あるいはそれらの組み合わせを含む)を生じるのに十分な細胞を含む。複数の実施形態において、 $10^4 \sim 10^9$ の改変癌細胞が導入される。複数の実施形態において、ワクチンとして使用するための本開示の癌細胞組成物は、本明細書に記載のように改変された単離細胞を含み、この際、前記癌細胞の全て又は一部が改変されている。複数の実施形態において、本開示は、細胞を含有する組成物を含み、この際、前記細胞の1~100%が改変癌細胞である。複数の実施形態において、本開示は、癌細胞を含有する組成物を提供し、この際、前記癌細胞の1~100%が改変癌細胞である。当業者は、癌細胞形態の保持が、改変癌細胞表現型に関連している

40

50

ことを認識するであろう。複数の実施形態において、改変癌細胞は、医薬組成物中に含まれてもよい。本開示の改変癌細胞及び／又はポリヌクレオチドは、薬学的に許容される適切なキャリア、賦形剤、及び／又は安定剤とそれらとを組み合わせることによって、医薬組成物として提供することができる。薬学的に許容されるキャリア、賦形剤、及び安定剤の例は「レミントン：薬学の科学と実践(2005) 21版、ペンシルベニア州フィラデルフィア、Lippincott Williams & Wilkins出版社」に開示されており、その開示は参照により本明細書に包含される。

【0035】

複数の実施形態において、細胞ワクチン製剤を作る際に使用される本明細書に記載の一以上の組換えポリヌクレオチド、あるいは別の治療用ポリヌクレオチドは、個体に送達されるための剤として使用することができ、それゆえ、ポリヌクレオチドそれ自身が、治療薬を含んでもよい。複数の実施形態において、本開示に従って個体に送達される組成物は、細胞を含まない組成物であってもよい。複数の実施形態において、改変癌細胞と、細胞内に存在しないポリヌクレオチドとの組み合わせを使用することが可能である。

10

【0036】

複数の実施形態において、本開示の方法で使用される治療薬がポリヌクレオチドである場合、これは、ネイキッドポリヌクレオチドとして、送達試薬と組み合わせ、あるいは前記ポリヌクレオチド剤を含む及び／又は発現する組換えプラスミド又はウィルスベクターとして、個体に投与されてもよい。一実施形態において、前記タンパク質は、癌細胞を特異的に標的化でき、及び非-癌細胞に対して非-感染性であってもよい組換え腫瘍溶解性ウイルスによってコードされており、及び／又は、腫瘍溶解性ウイルスが非-癌細胞に侵入する場合は、非-癌細胞から排除される。本開示で使用できる組換え腫瘍溶解性ウイルスの例には、組換えワクシニアウイルス(rOVV)が含まれるが、これに限定されない。複数の実施形態において、本開示の一以上のポリヌクレオチドは、改変ウイルスにより送達することができ、前記改変ウイルスは、癌細胞を標的とし、それゆえ癌細胞によって優先的に又は独占的に発現される一以上のリガンドに特異的に結合する改変ウイルスカプシド又は他のタンパク質を含んでいる。複数の実施形態において、本明細書に記載の別個のタンパク質をコードする別々のポリヌクレオチドを使用することができる。複数の実施形態において、本明細書に記載の一以上のポリヌクレオチドは、腫瘍に直接注射されてもよい。

20

【0037】

本開示のポリヌクレオチド治療薬は、所望により送達剤と組み合わせられてもよい。投与に適切な送達試薬には、Mirus Transit TKO親油性試薬；リポフェクチン；リポフェクタミン；セルフェクチン(cellfectin)；又はポリカチオン(例えば、ポリリジン)、リポソーム、又はそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0038】

本明細書に記載される癌の治療又は癌の抑制は、任意の他の抗-癌アプローチ(外科的処置及び従来の化学療法剤など)と組み合わせることができる。複数の実施形態において、本開示に係る癌治療は、一以上の免疫チェックポイントインヒビターの投与と組み合わせられてもよい。複数の実施形態において、前記チェックポイントインヒビターには、抗-プログラム細胞死タンパク質1(抗-PD-1)チェックポイントインヒビター、又は抗-細胞傷害性Tリンパ球-関連タンパク質4(抗-CTLA-4)チェックポイントインヒビターが含まれる。当該分野で知られているそのようなチェックポイントインヒビターは、多数存在する。例えば、抗-PD-1剤には、ペムブロリズマブ及びニボルマブが含まれる。抗-PD-L1の例は、アベルマブである。抗-CTLA-4の例は、イピリムマブである。

40

【0039】

以下の実施例における特定の非限定的な実証では、改変癌細胞の免疫原性を、改変されたリンパ腫、結腸癌細胞、黒色腫、及び卵巣癌細胞株を有する同系C57BL/6マウスを使用して分析し、その全てが、CIITA及び4-1BB-Lの共発現が、強力な抗癌応答を刺激するのに有効なアプローチであることを実証する。このように、いかなる特定の理論に拘束されることも意図しないが、本明細書に記載のアプローチ、特にCIITA及び4-1BB-Lの共発現

50

は、多種多様の種類の癌に幅広く適用でき、臨床的に意義のあるマウスモデルが、本開示の側面を実証するために使用されることから、人において同一又は類似する効能を伴って機能することが予測される。

【0040】

本開示の側面を、以下の実施例によって実証するが、これらは例示であり、本開示を限定することを意図するものではない。

【実施例】

【0041】

改変癌細胞の免疫原性を、同系C57BL/6マウスにそれらを導入することによって検討した。

【0042】

EL4リンパ腫モデルにおいて、CIITA単独の過剰発現は、親のEL4と比べて、腫瘍の増殖を変化させなかった。対照的に、CIITAと免疫賦活分子の共発現は、腫瘍の増殖を著しく遅延させた。特に、OX40-L + CIITAあるいは4-1BB-L + CIITAを共発現するELは、完全に拒絶された。このモデルにおいて、OX40-L + CIITA、4-1BB-L + CIITA、及び4-1BB-L単独を過剰発現するEL4を投与された3つのグループは、すべてのマウスにおいて完全な腫瘍の除去を示した(図2)。

【0043】

改変癌細胞による長期間にわたるメモリーT細胞応答の誘導を評価するために、OX40-L + CIITA、4-1BB-L + CIITA、又は4-1BB-L単独を過剰発現するEL4を拒絶したマウスを、親EL4で再チャレンジした(図3A)。4-1BB-L単独又はOX40-L + CIITAを過剰発現するEL4を拒絶したマウスは一部のみが、再チャレンジに耐性を示した(図3B)。対照的に、4-1BB-L + CIITAを拒絶したすべてのマウスが、再チャレンジされたEL4を拒絶した。4-1BB-L-EL4、及び4-1BB-L + CIITA-EL4は、免疫応答の初期相において、同等のEL4-特異的CD8+T細胞応答を誘導した(図3D左側)。対照的に、4-1BB-L + CIITAによって誘導されたCD8+T細胞は、4-1BB-L単独グループにおける大幅な減少と比較して、遅い時点でも維持された(図3D右側)。OX40-L + CIITAを拒絶したマウスは、早い時点ではよりわずかなEL4-特異的CD8+T細胞しか発達させず、遅い時点ではさらに減少した(図3D左側及び右側)。

【0044】

改変癌細胞が抗腫瘍抗体を誘導するかどうか決定するために、OX40-L + CIITA、4-1BB-L + CIITA、及び4-1BB-L単独を過剰発現するEL4を拒絶したマウスを、CRISPR/Cas9遺伝子編集によってβ2m遺伝子を発現停止させ、それによりMHC分子を発現しないよう遺伝子操作したEL4(MHC-欠損EL4)で再チャレンジした(図4A)。図4Bに示されるように、4-1BB + CIITA-発現EL4を拒絶したすべてのマウスは、MHC-欠損EL4による再チャレンジに耐性を示したが、4-1BB-L単独あるいはOX40-L + CIITAを発現するEL4を拒絶したマウスはそれぞれ、耐性を示さないか、部分的な耐性を示した(図4B)。循環EL4-反応性抗体の存在は、希釈血清中で親EL4をインキュベートし、蛍光抗-マウスIgG抗体によりEL4に結合した免疫グロブリン(IgG)を検出することによって調べた。4-1BB-L + CIITAを発現するEL-4は、4-1BB-L単独を発現するEL4と比べて、はるかに高いEL4-結合IgG応答を誘導した。対照的に、OX40-L + CIITA-発現EL4は、弱い抗体応答を誘導した(図4C及び4D)。4-1BB-L + CIITA発現EL4によって誘導された抗体は、対照の活性化マウスT細胞、B16F10黒色腫、及びMC38結腸癌から明らかのように(これらは血清で染色されなかった)、EL4に特異的であった(図4E)。4-1BB-L + CIITAを発現するEL4によって誘導された抗体は、EL4に対して補体依存性細胞傷害を誘導した(図4F)。

【0045】

改変癌細胞の治療可能性を、治療的ワクチンモデルを使用して分析した。このモデルにおいて、MHCクラスI及びMHC-IIの両方を発現するCIITA過剰発現EL細胞、又はMHC欠損EL4を、C57BL/6マウスに接種し、そして、照射改変EL4により、マウスにワクチン接種を行った(図5A)。4-1BB-L + CIITA-発現EL4による治療ワクチン接種は、有意な抗

10

20

30

40

50

腫瘍効果(5匹中2匹のマウスにおける完全な除去を含む)を誘導した(図5B)。さらに、同じワクチン接種は、7匹中2匹のマウスにおいて、MHC-欠損EL4を除去し、残りのマウスの生存期間を延長した(図5C及び5D)。

【0046】

改変癌細胞の効果を、他の腫瘍モデルで試験した。MC38結腸癌、及びB16F10黒色腫モデルの両方において、4-1BB-L + CIITA発現癌細胞は、すべてのマウスで自発的に拒絶され(図6A)、これは、それぞれの癌に対して特異的なより多くの循環抗体(図6B)と関連していた。マウスの卵巣癌細胞株であるID8を使用した、照射4-1BB-L + CIITA-発現ID8によるマウスのワクチン接種は、親ID8に結合する抗体を誘導した。OX40-L + CIITA-発現ID8によるワクチン接種も、より程度は低いが同抗体を誘導した(図6C)。

10

【0047】

以下の代表的なマウス配列を、本開示の実施形態を実証するために使用した。本開示の利益の下、当業者は、マウス配列の後に提示されるヒト配列が、ヒトの癌ワクチン、及び本開示に基づく他の治療的アプローチにおける使用に適していることを認識するであろう。

【0048】

マウス

【0049】

DNA配列において、下線のコドンは、開始コドンと終止コдонを示す。

CIITA

ハツカネズミ クラスII主要組織適合遺伝子複合体トランス活性化因子(CIITA)(“aka” C2ta; Gm9475; Mhc2ta; EG669998としても知られる)

20

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_001302618.1)

ATGAACCACTTCCAGGCCATCCTGGCCCAAGTACAGACACTGCTCTCCAGCCAGAAGCC
CAGGCAGGTGCGGGCCCTCCTGGATGGCCTGCTGGAAGAAGAGCTGCTCTCACGGGAAT
ACCACTGTGCCTTGCTGCATGAGCCTGATGGTGATGCCCTGGCCCGGAAGATTTCCCTG
ACCCTGCTGGAGAAAGGGGACTTAGACTTGACTTTCTTGAGCTGGGTCTGCAACAGTCT
GCAGGCTCCCACGGTAGAGAGGGGCACCAGCTACAGGGACCATGGAGACCATAGTCTGT
GTGCCACCATGGATCTGGGATCTCCAGAGGGCAGCTACCTGGAACCTCTTAACAGTGAT
GCCGACCCCTACATCTCTACCACCTCTATGACCAGATGGACCTGGCTGGGGAGGAGGA
GATCGAACTCAGCTCAGAGCCAGACACAGATACCATCAACTGCGACCAGTTCAGCAAGC
TGTTGCAGGACATGGAACCTGGATGAAGAGACCCGGGAGGCCTATGCCAACATTGCGGAA
CTGGATCAGTACGTGTTCCAGGATACCCAGCTCGAGGGCCTGAGCAAGGACCTCTTCAT
AGAGCACATTGGAGCAGAGGAAGGCTTTGGTGAGAACATAGAGATCCCTGTAGAAGCAG
GACAGAAGCCTCAGAAGAGACGCTTCCCAGGAAGAGCATGCTATGGACTCAAAGCACAGG
AAGCTAGTGCCACCTCTAGGACCTCACTGAACTATTTGGATCTCCCCACTGGGCACAT
CCAGATCTTCAACCACTCTGCCCCAGGGACTCTGGCAAATCTCAGGGGCTGGCACAGGTC
TCTCCAGTGTCCTAATCTACCACGGTGAGATGCCCCAGGTCAACCAAGTGCTCCCTTCA
AGCAGCCTCAGTATCCCCAGTCTCCCCGAGTCCCCAGACCGGCCTGGCTCCACCAGCCC
CTTCACACCATCTGCAGCTGACCTGCCCAGCATGCCCGAACCTGCGCTGACCTCCCGTG
TAAATGAGACAGAGGACACATCTCCCTCCCCATGCCAAGAGGGTCCCGAGTCTTCCATC
AAGCTTCCAAAATGGCCAGAGGCTGTGGAGCGATTCCAGCACTCCCTACAGGACAAATA
CAAGGCATTGCCCCAGAGCCCAAGGGGTCTCTGGTGGCCGTGGAGCTGGTACGGGCCA
GGCTGGAAAGAGGACAGCAACAAGAGCCAGGAAAGGGAGCTGGCCACTCCCGACTGGACA
GAGCGCCAGCTAGCCACGGTGGTCTGGCAGAGGTACTTCAGGTTGTAGTGACTGCAG
GCGACCAGGAGAGACACAGGTGGTCTGCTGTGCTGGGCAAGGCTGGCCAGGGAAAGAGCC
ACTGGGCCAGGACAGTGAGTCACACCTGGGCATGTGGCCAGTTGCTACAATATGACTTT
GTCTTCTATGTCCCTGTCTTGGATCGTCCCGGGGACACCTACCACCTGCGGGA
TCTGCTCTGTCCCCGAGCCTGCAGCCACTGGCCATGGATGACGAGGTCTTGATTATA
TCGTGAGGCAGCCAGACCGTGTCTGCTCATCCTAGATGCTTTTCGAGGAGCTAGAGGCC
CAAGATGGCCTCCTGCACGGACCCTGTGGATCTCTGTCCCCAGAGCCCTGCTCCCTCCG

30

40

50

AGGACTGCTGGCTGGGATCTTCCAGCGGAAGCTACTGCGAGGCTGCACACTGCTCCTCA
CAGCCCGGCCCCGGGGCCGCCTGGCTCAGAGCCTGAGCAAGGCAGATGCCATCTTTGAG
GTGCCCAGCTTCTCTACCAAGCAGGCCAAGACTTACATGAGGCACTACTTTGAGAACTC
AGGGACAGCGGGGAACCAAGACAAGGCCCTGGGCCTCCTGGAGGGGCCAGCCTCTTCTCT
GCAGCTATAGTCACAGCCCTGTTGTGTGCAGGGCTGTGTGCCAGCTCTCCAAGGCCCTG
CTAGAACAGGGCACAGAGGGCCAGCTACCTTGTACACTTACAGGACTCTATGTCAGCCT
GCTAGGTCCTGCAGCTCAGAACAGTCTCCCGGAGCCTTAGTCGAGCTGGCCAAGCTGG
CCTGGGAGCTGGGACGAAGACACCAAAGCACCTTGAAGAAACCCGGTTTTTCATCCGTG
GAGGTGAAAACCTGGGCAGTGACCCAAGGCTTGATGCAGCAGACCCTGGAGACCACGGA
GGCTCAACTGGCCTTCTCCAGTTTTCTGCTACAGTGTTCCTGGGTGCTGTGTGGCTGG
CACAGTGCAATGAAATCAAAGACAAGGAGCTGCCACAGTACCTGGCCTTGACTCCGAGG
AAGAAGAGACCCTATGACAACTGGCTGGAGGGTGTACCACGCTTTCTGGCTGGATTAGT
TTTCCAGCCTCGAGCCCACTGCCTGGGAGCTCTGGTGGAGCCTGCAGTGGCTGCAGTGG
CGGATAGGAAACAGAAGGTTCTTACCAGGTACCTGAAGCGCCTGAAGCTGGGGACACTC
CGGGCAGGGAGGCTGCTGGAGCTGCTCCACTGTGCCACGAGACACAGCAACCTGGGAT
ATGGGAGCATGTTGCACACCAGCTCCCTGGCCACCTCTCCTTCTGGGCACCCGGCTCA
CACCCCCAGATGTGTATGTGCTGGGCAGGGCCTTGGAGACAGCCAGCCAGGACTTCTCC
TTGGACCTTCGTCAGACTGGCGTTGAGCCTTCTGGACTGGGAAACCTCGTGGGACTCAG
CTGTGTCACCAGTTTCAGGGCCTCCTTGAGTGATACAATGGCATTATGGGAGTCCCTTC
AGCAGCAGGGAGAAGCCAGCTACTCCAGGCGGCAGAGGAGAAGTTCACCATTGAGCCA
TTTAAAGCCAAATCCCCAAAGGATGTGGAAGACCTGGATCGTCTCGTGCAGACCCAGAG
GCTGAGAAACCCCTCAGAAGATGCAGCCAAGGATCTTCCTGCCATCCGGGACCTTAAGA
AGCTAGAGTTTGCGTTGGGCCCCATCTTGGGCCCCCAGGCTTTCCCCACACTGGCAAAG
ATCCTTCCAGCCTTCTCTTCTCTGCAACACCTGGACCTGGACTCACTTAGTGAGAACAA
GATCGGAGACAAGGGTGTGTGCGAAGCTCTCAGCCACCTTCCCTCAGCTGAAGGCCCTGG
AGACGCTCAACTTGTCCCAAAACAACATCACTGATGTGGGTGCCTGCAAGCTTGCAGAA
GCTCTGCCAGCCCTAGCCAAGTCCCTCCTAAGGCTGAGCTTGTACAATAACTGCATCTG
TGACAAAGGAGCCAAGAGCCTGGCACAAGTACTTCCGGACATGGTGTCCCTGCGTGTGA
TGGATGTCCAGTTCAACAAGTTCACGGCTGCCGGTGCCAGCAACTGGCCTCCAGCCTT
CAGAAAGTGCCCTCAGGTGGAAACACTGGCAATGTGGACACCCACTATCCCCTTTGGGGT
TCAGGAACACCTGCAGCAGCTGGATGCCAGGATCAGTCTGAGATGA

10

20

30

(配列番号：1)

CIITAタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_001289547.1)

MNHFQAILAQVQTLSSQKPRQVRALLDGLLEEELLSREYHCALLHEPDGDALARKISLT
LLEKGDLDLTLFLSWVCNSLQAPTVERGTSYRDHGDHSLCATMDLGSPEGSYLELLNSDA
DPLHLYHLYDQMDLAGEEEEIELSSEPDTDTINCDQFSKLLQDMELDEETREAYANIAELD
QYVFQDTQLEGLSKDLFIEHIGAEEGFGENIEIPVEAGQKPQKRRFPPEEHAMDSKHRKLVP
TSRTSLNYLDLPTGHIQIFTTLPQGLWQISGAGTGLSSVLIYHGEMPQVNQVLPSSSLSIP
SLPESPDPRPGSTSPFTPSAADLPSMPEPALTSRVNETEDTSPSPCQEGPESSIKLPKWPEA
VERFQHSLQDKYKALPQSPRGPLVAVELVRARLERGSNKSQERELATPDWTERQLAHGG
LAEVLQVVSDCRRPGETQVVAVLGKAGQGKSHWARTVSHTWACGQLLQYDFVFPCH
CLDRPGDTYHLRDLLCPPSLQPLAMDDEVLDYIVRQPDRVLLILDAFEELEAQDGLLHGP
CGSLSPEPCSLRGLLAGIFQRKLLRGCTLLLTARPRGRLAQSLSKADAIFEVPSFSTKQAKT
YMRHYFENSGTAGNQDKALGLLEGQPLLCSYSHSPVVCRAVCQLSKALLEQGTEAQLPC
TLTGLYVSLLGPAQNSPPGALVELAKLAWELGRRHQSTLQETRFSSVEVKTWAVTQGL
MQQTLETTEAQLAFSSFLLQCFLGAVWLAQCNEIKDKELPQYLALTPRKKRPYDNWLEG
VPRFLAGLVFQPRAHCLGALVEPAVAVAADRKQKVLTRYLKRLKLGTLRAGRLLLELLHC
AHETQQPGIWEHVAHQPLPGHLSFLGTRLTTPPDVYVLGRALETASQDFSLLDRQTGVEPS
GLGNLVGLSCVTSFRASLSDTMALWESLQQQGEAQLLQAAEEKFTIEPFKAKSPKDVEDL
DRLVQTQRLRNPSEDAADKDLPAIRDLKKLEFALGPILGPQAFPTLAKILPAFSSLQHLDLD

40

50

SLSENKIGDKGVSKLSATFPQLKALETNLNSQNNITDVGACKLAEALPALAKSLLRSLYN
NCICDKGAKSLAQVLPDMVSLRVMQFNKFTAAGAQQQLASSLQKCPQVETLAMWTPT
IPFGVQEHLQQLDARISLR

(配列番号：2)

4-1BB-L

TNFSF9: TNFスーパーファミリーメンバー9 (aka Ly63I; 4-1BBL; Cd137I; 4-1BB-L; AI848817)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_009404.3)

ATGGACCAGCACACACTTGATGTGGAGGATACCGCGGATGCCAGACATCCAGCAGGTAC
TTCGTGCCCCTCGGATGCGGCGCTCCTCAGAGATACCGGGCTCCTCGCGGACGCTGCGC
TCCTCTCAGATACTGTGCGCCCCACAAATGCCGCGCTCCCCACGGATGCTGCCTACCCT
GCGGTTAATGTTTCGGGATCGCGAGGCCGCGTGGCCGCTGCACTGAACTTCTGTTCCCG
CCACCCAAAGCTCTATGGCCTAGTCGCTTTGGTTTTGCTGCTTCTGATCGCCGCCTGTGT
TCCTATCTTACCCGACCCGAGCCTCGGCCAGCGCTCACAAATCACCACCTCGCCCAACC
TGGGTACCCGAGAGAATAATGCAGACCAGGTCACCCCTGTTTCCACATTGGCTGCCCC
AACACTACACAACAGGGCTCTCCTGTGTTGCGCAAGCTACTGGCTAAAAACCAAGCATC
GTTGTGCAATACAACCTCTGAACTGGCACAGCCAAGATGGAGCTGGGAGCTCATACCTAT
CTCAAGGTCTGAGGTACGAAGAAGACAAAAAGGAGTTGGTGGTAGACAGTCCCGGGGCTC
TACTACGTATTTTTGGAAGCTGAGCTCAACATTCACAAACACAGGCCACAAGGT
GCAGGGCTGGGTCTCTCTTGTGTTTGAAGCAAAGCCTCAGGTAGATGACTTTGACAACT
TGGCCCTGACAGTGGAAGCTGTTCCCTTGCTCCATGGAGAACAAGTTAGTGGAACGTTCC
TGGAGTCAACTGTTGCTCCTGAAGGCTGGCCACCGCCTCAGTGTGGGTCTGAGGGCTTA
TCTGCATGGAGCCCAGGATGCATACAGAGACTGGGAGCTGTCTTATCCCAACACCACCA
GCTTTGGAAGCTTTTCTTGTGAAACCCGACAACCCATGGGAATGA

10

20

(配列番号：3)

4-1BB-Lタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_033430.1)

MDQHTLDVEDTADARHPAGTSCPSDAALLRDTGLLADAALLSDTVRPTNAALPTDAAYP
AVNVRDREAAWPPALNFCSRHPKLYGLVALVLLLLIAACVPIFTRTEPRPALTITTSPLNG
TRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASLCNTTLNWSQDGAGSSYLSQ
GLRYEEDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPFTNTGHKVQGWVSLVLQAKPQVDDFDNLA
LTVELFPCSMENKLVDRWSQLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNNTTSF
GLFLVKPDNPWE

30

(配列番号：4)

OX40-L

TNFSF4: TNFスーパーファミリーメンバー4 (aka Ath1; gp34; Ath-1; Ox40I; TXG P1; CD134L; OX-40L; Tnlg2b; Txgp1I)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_009452.2)

ATGGAAGGGGAAGGGGTTCAACCCCTGGATGAGAATCTGGAAAACGGATCAAGGCCAAG
ATTCAAGTGGAAGAAGACGCTAAGGCTGGTGGTCTCTGGGATCAAGGGAGCAGGGATGC
TTCTGTGCTTCATCTATGTCTGCCTGCAACTCTCTTCTCTCCGGCAAAGGACCCTCCAA
TCCAAAGACTCAGAGGAGCAGTTACCAGATGTGAGGATGGGCAACTATTCATCAGCTCA
TACAAGAATGAGTATCAAACCTATGGAGGTGCAGAACAAATTCGGTTGTCATCAAGTGCGA
TGGGCTTTATATCATCTACCTGAAGGGCTCCTTTTTCCAGGAGGTCAAGATTGACCTTC
ATTTCCGGGAGGATCATAATCCCATCTCTATTCCAATGCTGAACGATGGTCAAGGATT
GTCTTCACTGTGGTGGCCTCTTTGGCTTTCAAAGATAAAGTTTACCTGACTGTAAATGC
TCCTGATACTCTCTGCGAACACCTCCAGATAAATGATGGGGAGCTGATTGTTGTCCAGC
TAACGCCTGGATACTGTGCTCCTGAAGGATCTTACCACAGCACTGTGAACCAAGTACCA
CTGTGA

40

(配列番号：5)

OX40-Lタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_033478.1)

50

MEGEGVQPLDENLENGSRPRFKWKKTLRLVVSIGKAGMLLCFIYVCLQLSSSPAKDPPI
QRLRGAVTRCEDGQLFISSYKNEYQTMEVQNNNSVVIKCDGLYIIYLKGSFFQEVKIDLHFR
EDHNPISIPMLNDGRRIVFTVVASLAFKDKVYLTVNAPDTLCEHLQINDGELIVVQLTPG
YCAPEGSYHSTVNQVPL

(配列番号 : 6)

GITR-L

TNFSF18 TNFスーパーファミリーメンバー18 (aka Gitrl; Tnlg2a)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_183391.3)

ATGGAGGAAATGCCTTTGAGAGAATCAAGTCCTCAAAGGGCAGAGAGGTGCAAGAAGTC
ATGGCTCTTGTGCATAGTGGCTCTGTTACTGATGTTGCTCTGTTCTTTGGGTACACTGAT
CTATACTTCACTCAAGCCAACTGCCATCGAGTCCTGCATGGTTAAGTTTGAACATCAT
CCTCAAAATGGCACATGACATCTCCCAAACCTCACTGTGTGAATACGACATCTGATGGG
AAGCTGAAGATACTGCAGAGTGGCACATATTTAATCTACGGCCAAGTGATTCTGTGGA
TAAGAAATACATAAAAGACAATGCCCCCTTCGTAGTACAGATATATAAAAGAATGATG
TCCTACAACTCTAATGAATGATTTTCAAATCTTGCCTATAGGAGGGGTTTATGAACTG
CATGCTGGAGATAACATATATCTGAAGTTCAACTCTAAAGACCATATTCAGAAAACATA
CACATACTGGGGGATCATCTTAATGCCTGATCTACCATTTCATCTCTTAG

10

(配列番号 : 7)

TNFSF18タンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_899247.3)

MEEMPLRESSPQRAERCKKSWLLCIVALLLMLLCSLGTLIYTSLKPTAIESCMVKFELSSS
KWHMTSPKPHCVNTTSDGKLKILQSGTYLIYGQVIPVDKKYIKDNAPFVVQIYKKNDVLQ
TLMNDFQILPIGGVYELHAGDNIYLFNSKDHIQKTNTYWGIILMPDLPFIS (配列番号 :

20

8)

CD80

CD80 (aka B71; Ly53; TSA1; Cd28l; Ly-53; MIC17)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_001359898.1)

ATGGCTTGCAATTGTCAGTTGATGCAGGATACACCACTCCTCAAGTTTCCATGTCCAAG
GCTCATTCTTCTCTTTGTGCTGCTGATTCTGCTTTTCAAGTGTCTTCAGATGTTGATGA
ACAACTGTCCAAGTCAGTGAAAGATAAGGTATTGCTGCCTTGCCGTTACAACTCTCCTC
ATGAAGATGAGTCTGAAGACCGAATCTACTGGCAAAACATGACAAAGTGGTGCTGTCT
GTCATTGCTGGGAACTAAAAGTGTGGCCCGAGTATAAGAACCGGACTTTATATGACAA
CACTACCTACTCTCTTATCATCCTGGGCCTGGTCCTTTTCAAGACCGGGGCACATACAGCT
GTGTCGTTCAAAGAAGGAAAGAGGAACGTATGAAGTTAAACACTTGGCTTTAGTAAAG
TTGTCCATCAAAGCTGACTTCTCTACCCCCAACATAACTGAGTCTGGAACCCATCTGC
AGACACTAAAAGGATTACCTGCTTTGCTTCCGGGGGTTTCCCAAAGCCTCGCTTCTCTT
GGTTGGAAGAAATGGAAGAGAATTACCTGGCATCAATACGACAATTTCCAGGATCCTGAA
TCTGAATTGTACACCATTAGTAGCCAACTAGATTTCAATACGACTCGCAACCACACCAT
TAAGTGTCTCATTAATATGGAGATGCTCACGTGTCAGAGGACTTCACCTGGGAAAAAC
CCCCAGAAGACCCTCCTGATAGCAAGAACACACTTGTGCTCTTTGGGGCAGGATTCGGC
GCAGTAATAACAGTCGTCGTCATCGTTGTCATCATCAATGCTTCTGTAAGCACAGAAG
CTGTTTCAGAAGAAATGAGGCAAGCAGAGAAACAACAACAGCCTTACCTTCGGGCCTG
AAGAAGCATTAGCTGAACAGACCGTCTTCCTTTAG

30

40

(配列番号 : 9)

CD80タンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_001346827.1)

MACNCQLMQDTPLLKFPCPRLILLFVLLIRLSQVSSDVDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPH
EDESEDRIYWQKHDKVVLVSVIAGKLKVWPEYKNRTLYDNTTYSLIILGLVLSDRGTYSCV
VQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKPRFSWLEN
GRELPGINTTISQDPESELYTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPP
DSKNTLVLFAGFGAVITVVVIVVVIKCFCKHRSCFRNEASRETNNSLTFGPPEALAEQT
VFL

50

(配列番号：10)

GM-CSF

CSF2: コロニー刺激因子2 (aka CSF; Csfgm; GMCSF; Gm-CSf; MGI-IGM)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_009969.4)

ATGTGGCTGCAGAATTTACTTTTCTGGGCATTGTGGTCTACAGCCTCTCAGCACCCAC
CCGCTCACCCATCACTGTCAACCGGCCTTGGAAGCATGTAGAGGCCATCAAAGAAGCCC
TGAACCTCCTGGATGACATGCCTGTACGTTGAATGAAGAGGTAGAAGTCGTCTCTAAC
GAGTTCTCCTTCAAGAAGCTAACATGTGTGCAGACCCGCCTGAAGATATTCGAGCAGGG
TCTACGGGGCAATTTACCAAACCTCAAGGGCGCCTTGAACATGACAGCCAGCTACTACC
AGACATACTGCCCCCAACTCCGGAACGGACTGTGAAACACAAGTTACCACCTATGCG
GATTTTCATAGACAGCCTTAAACCTTTCTGACTGATATCCCCTTTGAATGCAAAAACC
AGGCCAAAAATGA

10

(配列番号：11)

GM-CSFタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_034099.2)

MWLQNLLFLGIVVYSLSAPTRSPITVTRPWKHVEAIKEALNLLDDMPVTLNEEVEVVS
N EFSFKKLTCVQTRLKIFEQGLRGNFTKLKGALNMTASYQTYCPPTPETDCETQVTTYAD
FIDSLKTFLTDIPFECKKPGQK

(配列番号：12)

【0050】

ヒト

20

【0051】

以下のDNA配列において、下線のコドンは、開始コドンと終止コдонを示す。

CIITA

ホモサピエンス クラスII主要組織適合遺伝子複合体トランス活性化因子 (CIITA)(当該分野において、C2TA; NLRA; MHC2TA; CIITAIVとしても知られる)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_001286402.1)

ATGCGTTGCCTGGCTCCACGCCCTGCTGGGTCCTACCTGTCAGAGCCCCAAGGCAGCTC
ACAGTGTGCCACCATGGAGTTGGGGCCCTAGAAAGGTGGCTACCTGGAGCTTCTTAACA
GCGATGCTGACCCCTGTGCCTCTACCACTTCTATGACCAGATGGACCTGGCTGGAGAA
GAAGAGATTGAGCTCTACTCAGAACCCGACACAGACACCATCAACTGCGACCAGTTCAG
CAGGCTGTTGTGTGACATGGAAGGTGATGAAGAGACCAGGGAGGCTTATGCCAATATCG
CGGAACTGGACCAGTATGTCTTCCAGGACTCCCAGCTGGAGGGCCTGAGCAAGGACATT
TTCATAGAGCACATAGGACCAGATGAAGTGATCGGTGAGAGTATGGAGATGCCAGCAGA
AGTTGGGCAGAAAAGTCAGAAAAGACCCTTCCCAGAGGAGCTTCCGGCAGACCTGAAGC
ACTGGAAGCCAGCTGAGCCCCCACTGTGGTGACTGGCAGTCTCCTAGTGGGACCAGTG
AGCGACTGCTCCACCCTGCCCTGCCCTGCCACTGCCTGCGCTGTTCAACCAGGAGCCAGC
CTCCGGCCAGATGCGCCTGGAGAAAACCGACCAGATTCCCATGCCTTTCTCCAGTTCT
CGTTGAGCTGCCTGAATCTCCCTGAGGGACCCATCCAGTTTGTCCCCACCATCTCCACT
CTGCCCCATGGGCTCTGGCAAATCTCTGAGGCTGGAACAGGGGTCTCCAGTATATTCAT
CTACCATGGTGAGGTGCCCCAGGCCAGCCAAGTACCCCTCCCAGTGGATTCACTGTCC
ACGGCCTCCCAACATCTCCAGACCGGCCAGGCTCCACCAGCCCCTTCGCTCCATCAGCC
ACTGACCTGCCCAGCATGCCTGAACCTGCCCTGACCTCCCGAGCAAACATGACAGAGCA
CAAGACGTCCCCCACCAATGCCCGGCAGCTGGAGAGGTCTCCAACAAGCTTCCAAAAT
GGCCTGAGCCGGTGGAGCAGTTCTACCGCTCACTGCAGGACACGTATGGTGCCGAGCCC
GCAGGCCCGGATGGCATCCTAGTGGAGGTGGATCTGGTGCAGGCCAGGCTGGAGAGGAG
CAGCAGCAAGAGCCTGGAGCGGGAACCTGGCCACCCCGGACTGGGCAGAACGGCAGCTGG
CCCAAGGAGGCCTGGCTGAGGTGCTGTTGGCTGCCAAGGAGCACCGGCGGCCGCTGAG
ACACGAGTGATTGCTGTGCTGGGCAAAGCTGGTCAGGGCAAGAGCTATTGGGCTGGGGC
AGTGAGCCGGGCCTGGGCTTGTGGCCGGCTTCCCAGTACGACTTTGTCTTCTCTGTCC
CCTGCCATTGCTTGAACCGTCCGGGGGATGCCTATGGCCTGCAGGATCTGCTCTTCTCC

30

40

50

CTGGGCCCCACAGCCACTCGTGGCGGCCGATGAGGTTTTTCAGCCACATCTTGAAGAGACC
TGACCGCGTTCTGCTCATCCTAGACGGCTTCGAGGAGCTGGAAGCGCAAGATGGCTTCC
TGACAGCACGTGCGGACCGGCACCGGCGGAGCCCTGCTCCCTCCGGGGGCTGCTGGCC
GGCCTTTTCCAGAAGAAGCTGCTCCGAGGTTGCACCCCTCCTCCTCACAGCCCGGCCCGG
GGCGCGCTGGTCCAGAGCCTGAGCAAGGCCGACGCCCTATTTGAGCTGTCCGGCTTCT
CCATGGAGCAGGCCCAGGCATACGTGATGCGCTACTTTGAGAGCTCAGGGATGACAGAG
CACCAAGACAGAGCCCTGACGCTCCTCCGGGACCGGCCACTTCTTCTCAGTCACAGCCA
CAGCCCTACTTTGTGCCGGGCAGTGTGCCAGCTCTCAGAGGCCCTGCTGGAGCTTGGGG
AGGACGCCAAGCTGCCCTCCACGCTCACGGGACTCTATGTCCGGCCTGCTGGGGCGTGCA
GCCCTCGACAGCCCCCCCCGGGGCCCTGGCAGAGCTGGCCAAGCTGGCCTGGGAGCTGGG
CCGCAGACATCAAAGTACCCTACAGGAGGACCAGTTCCCATCCGCAGACGTGAGGACCT
GGGCGATGGCCAAAGGCTTAGTCCAACACCCACCGCGGGCCGCAGAGTCCGAGCTGGCC
TTCCCCAGCTTCTCCTGCAATGCTTCTGGGGGCCCTGTGGCTGGCTCTGAGTGGCGA
AATCAAGGACAAGGAGCTCCCGCAGTACCTAGCATTGACCCCAAGGAAGAAGAGGCCCT
ATGACAACCTGGCTGGAGGGCGTGCCACGCTTTCTGGCTGGGCTGATCTTCCAGCCTCCC
GCCCCTGCTGGGAGCCCTACTCGGGCCATCGGCGGCTGCCTCGGTGGACAGGAAGCA
GAAGGTGCTTGCGAGGTACCTGAAGCGGCTGCAGCCGGGGACACTGCGGGCGCGGCAGC
TGCTGGAGCTGCTGCACTGCGCCCACGAGGCCGAGGAGGCTGGAATTTGGCAGCACGTG
GTACAGGAGCTCCCCGGCCGCTCTCTTTTCTGGGCACCCGCTCACGCCTCCTGATGC
ACATGTACTGGGCAAGGCCTTGGAGGCGGCGGGCCAAGACTTCTCCCTGGACCTCCGCA
GCACTGGCATTGCCCCCTCTGGATTGGGGAGCCTCGTGGGACTCAGCTGTGTCACCCGT
TTCAGGGCTGCCTTGAGCGACACGGTGGCGCTGTGGGAGTCCCTGCAGCAGCATGGGGA
GACCAAGCTACTTCAGGCAGCAGAGGAGAAGTTACCATCGAGCCTTTCAAAGCCAAGT
CCCTGAAGGATGTGGAAGACCTGGGAAAGCTTGTGCAGACTCAGAGGACGAGAAGTTCC
TCGGAAGACACAGCTGGGGAGCTCCCTGCTGTTCCGGACCTAAAGAACTGGAGTTTGC
GCTGGGCCCTGTCTCAGGCCCCCAGGCTTTCCCCAACTGGTGCGGATCCTCACGGCCT
TTTCTCCTCCCTGCAGCATCTGGACCTGGATGCGCTGAGTGAGAACAAAGATCGGGGACGAG
GGTGTCTCGCAGCTCTCAGCCACCTTCCCCCAGCTGAAGTCCTTGGAAACCCTCAATCT
GTCCCAGAACAACATCACTGACCTGGGTGCCTACAACTCGCCGAGGCCCTGCCTTCGC
TCGCTGCATCCCTGCTCAGGCTAAGCTTGTACAATACTGCATCTGCGACGTGGGAGCC
GAGAGCTTGGCTCGTGTGCTTCCGGACATGGTGTCCCTCCGGGTGATGGACGTCCAGTA
CAACAAGTTCACGGCTGCCGGGGCCCAGCAGCTCGCTGCCAGCCTTCGGAGGTGTCCTC
ATGTGGAGACGCTGGCGATGTGGACGCCACCATCCCATTCAGTGTCCAGGAACACCTG
CAACAACAGGATTACGGATCAGCCTGAGATGA

(配列番号：13)

ヒトCIITAタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_001273331.1)

MRCLAPRPAGSYLSEPQGSSQCATMELGLEGGYLELLNSDADPLCLYHFYDQMDLAGE
EEIELYSEPDTDTINCDQFSRLLCDMEGDEETREAYANIAELDQYVFQDSQLEGLSKDIFIE
HIGPDEVIGESMEMPAEVGQKSQKRPFPPEELPADLKHWPAPPTVVTGSLLVGPVSDC
STLPCLPLPALFNQEPASGQMRLEKTDQIPMPFSSSLSCNLNPEGPIQFVPTISTLPHGL
WQISEAGTGVSSIFIYHGEVPQASQVPPPSGFTVHGLPTSPDRPGSTSPFAPSATDLPSMP
EPALTSRANMTEHKTSPTQCPAAGEVSNNKLPKWPEPVEQFYRSLQDTYGAEPAGPDGIL
VEVDLVQARLERSSSKSLERELATPDWAERQLAQGGLAEVLLAAKEHRRPRETRVIAVLG
KAGQGKSYWAGAVSRAWACGRLPQYDFVFSVPCHCLNRPGDAYGLQDLLFSLGPQPLV
AADEVFSLHLPDRVLLILDGFEELEAQDGFHSTCGPAPAEPCSLRGLLAGLFQKKLLR
GCTLLLRTARPRGRLVQSLSKADALFELSGFSMEQAQAYVMRYFESSGMTEHQDRALTLL
RDRPLLLSHSHSPTLCRAVCQLSEALLELGEDAKLPSTLTGLYVGLLGRAALDSPPGALAE
LAKLAWELGRRHQSTLQEDQFPSADVRTWAMAKGLVQHPPRAAESELAFFSFLQCFGLG
ALWLALSGEIKDKELPQYLALTPRKKRPYDNWLEGVPRFLAGLIFQPPARCLGALLGPSA
AASVDRKQKVLARYLKRLQPGTLRARQLLELLHCAHEAEAGIWQHVVQELPGRLSFLG

10

20

30

40

50

TRLTPPDAHVLGKALEAAGQDFSLDLRSTGICPSGLGSLVGLSCVTRFRAALSDTVALWE
SLQQHGETKLLQAAEEKFTIEPFKAksLKDVEDLGKLVQTQRTRSSSEDTAGELPAVRDL
KKLEFALGPVSGPQAFPKLVRI LTA FSSLQHLDLDALSENKIGDEGVSQLSATFPQLKSLE
TLNLSQNNITDLGAYKLAELPSLAASLLRSLYNNCICDVGAESLARVLPDMVSLRVMD
VQYNKFTAAGAQQLAASLRRCPHVETLAMWTP T I P F S V Q E H L Q Q D S R I S L R

(配列番号：14)

4-1BB-L

ヒトTNFSF9: TNFスーパーファミリーメンバー9 (aka CD137L; TNLG5A; 4-1BB-L)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_003811.3)

ATGGAATACGCCTCTGACGCTTCACTGGACCCCGAAGCCCCGTGGCCTCCCGCGCCCCG
CGCTCGCGCCTGCCGCGTACTGCCTTGGGCCCCTGGTCGCGGGGCTGCTGCTGCTGCTGC
TGCTCGCTGCCGCTGCGCCGTCTTCTCGCCTGCCCTGGGCCGTGTCCGGGGCTCGC
GCCTCGCCCGGCTCCGCGGCCAGCCCGAGACTCCGCGAGGGTCCCGAGCTTTCGCCCCGA
CGATCCCGCCGGCCTCTTGGACCTGCGGCAGGGCATGTTTTCGCGCAGCTGGTGGCCCAAA
ATGTTCTGCTGATCGATGGGCCCCTGAGCTGGTACAGTGACCCAGGCCTGGCAGGCGTG
TCCCTGACGGGGGGCCTGAGCTACAAAGAGGACACGAAGGAGCTGGTGGTGGCCAAGGC
TGGAGTCTACTATGTCTTCTTTCAACTAGAGCTGCGGCGCGTGGTGGCCGGCGAGGGCT
CAGGCTCCGTTTCACTTGCCTGCACCTGCAGCCACTGCGCTCTGCTGCTGGGGCCGCC
GCCCTGGCTTTGACCGTGGACCTGCCACCCGCCTCCTCCGAGGCTCGGAACCTCGGCCTT
CGGTTTCCAGGGCCGCTTGCTGCACCTGAGTGCCGGCCAGCGCCTGGGCGTCCATCTTC
ACACTGAGGCCAGGGCACGCCATGCCTGGCAGCTTACCCAGGGCGCCACAGTCTTGGA
CTCTTCCGGGTGACCCCCGAAATCCCAGCCGGA CTCCCTTACCGAGGTCGGAATAA

10

20

(配列番号：15)

ヒト4-1BB-Lタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_003802.1)

MEYASDASLDPEAPWPPAPRARACRVLPWALVAGLLLLLLLLAAACAVFLACPWAVSGA
RASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGV
SLTGGLSYKEDTKELVVA KAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAA
LALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL
FRVTPEIPAGLPSRSE

(配列番号：16)

30

OX40-L

TNFSF4: TNFスーパーファミリーメンバー4 (aka GP34; CD252; OX40L; TXGP1;
CD134L; OX-40L; TNLG2B)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_003326.4)

ATGGAAAGGGTCCAACCCCTGGAAGAGAATGTGGGAAATGCAGCCAGGCCAAGATTCTGA
GAGGAACAAGCTATTGCTGGTGGCCTCTGTAATTCAGGGACTGGGGCTGCTCCTGTGCT
TCACCTACATCTGCCTGCACCTTCTCTGCTCTTCAGGTATCACATCGGTATCCTCGAATTC
AAAGTATCAAAGTACAATTTACCGAATATAAGAAGGAGAAAGGTTTCATCCTCACTTCC
CAAAAGGAGGATGAAATCATGAAGGTGCAGAACAACTCAGTCATCATCAACTGTGATGG
GTTTTATCTCATCTCCCTGAAGGGCTACTTCTCCAGGAAGTCAACATTAGCCTTCATT
ACCAGAAGGATGAGGAGCCCCCTTTCCA ACTGAAGAAGGTCAGGTCTGTCAACTCCTTG
ATGGTGGCCTCTCTGACTTACAAAGACAAAGTCTACTTGAATGTGACCACTGACAATAC
CTCCCTGGATGACTTCCATGTGAATGGCGGAGAACTGATTCTTATCCATCAAAATCCTG
GTGAATTCTGTGTCCTTIGA

40

(配列番号：17)

ヒトOX40-Lタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_003317.1)

MERVQPLEENVGNAARPRFRERNKLLLVASVIQGLGLLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRIQS
IKVQFTEYKKEKGFI L T S Q K E D E I M K V Q N N S V I I N C D G F Y L I S L K G Y F S Q E V N I S L H Y Q K D E
EPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLVNVT TDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL

(配列番号：18)

50

GITR-L

TNFSF18 TNFスーパーファミリーメンバー18 (aka TL6; AITRL; GITRL; TNLG2A; hGITRL)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_005092.3)

ATGACATTGCATCCTTCACCCATCACTTGTGAATTTTGTTTTCCACAGCTCTCATTCT
CCAAAAATGTGTTTGAGCCACTTGGAAAATATGCCTTTAAGCCATTCAAGAACTCAAGG
AGCTCAGAGATCATCCTGGAAGCTGTGGCTCTTTTGCTCAATAGTTATGTTGCTATTTT
TTTGCTCCTTCAGTTGGCTAATCTTTATTTTCTCCAATTAGAGACTGCTAAGGAGCCCT
GTATGGCTAAGTTTGGACCATTACCTCAAAATGGCAAATGGCATCTTCTGAACCTCCT
TGCGTGAATAAGGTGTCTGACTGGAAGCTGGAGATACTTCAGAATGGCTTATATTTAAT
TTATGGCCAAGTGGCTCCCAATGCAAACATAATGATGTAGCTCCTTTTGAGGTGCGGC
TGTATAAAAACAAAGACATGATACAACTCTAACAAACAAATCTAAAATCCAAAATGTA
GGAGGGACTTATGAATTGCATGTTGGGGACACCATAGACTTGATATTCAACTCTGAGCA
TCAGGTTCTAAAAAATAATACATACTGGGGTATCATTTTACTAGCAAATCCCCAATTCA
TCTCCTAG

10

(配列番号: 19)

ヒトGITR-Lタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_005083.2)

MTLHPSPITCEFLFSTALISPKMCLSHLENMPLSHSRTQGAQRSSWKLWLFCSIVMLLFL
CSFSWLIFLQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIY
GQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDTIDLIFNSEHQ
VLKNNTYWGIILLANPQFIS

20

(配列番号: 20)

CD86

CD86 (aka B70; B7-2; B7.2; LAB72; CD28LG2)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_175862.4)

ATGGATCCCCAGTGCACTATGGGACTGAGTAACATTCTCTTTGTGATGGCCTTCCTGCT
CTCTGGTGCTGCTCCTCTGAAGATTCAAGCTTATTTCAATGAGACTGCAGACCTGCCAT
GCCAATTTGCAAACCTCTCAAAACCAAAGCCTGAGTGAGCTAGTAGTATTTTGGCAGGAC
CAGGAAAACCTTGTTTCTGAATGAGGTATACTTAGGCCAAAGAGAAATTTGACAGTGTTCA
TTCCAAGTATATGGGCCGCACAAGTTTTGATTTCGGACAGTTGGACCCTGAGACTTCACA
ATCTTCAGATCAAGGACAAGGGCTTGTATCAATGTATCATCCATCACAAAAGCCACA
GGAATGATTTCGCATCCACCAGATGAATTCTGAACTGTCAGTGCTTGCTAACTTCAGTCA
ACCTGAAATAGTACCAATTTCTAATATAACAGAAAATGTGTACATAAATTTGACCTGCT
CATCTATACACGGTTACCCAGAACCTAAGAAGATGAGTGTTTTGCTAAGAACCAAGAAT
TCAACTATCGAGTATGATGGTATTATGCAGAAATCTCAAGATAATGTCACAGAACTGTA
CGACGTTTTCCATCAGCTTGTCTGTTTCATTCCCTGATGTTACGAGCAATATGACCATCTT
CTGTATTCTGGAAACTGACAAGACGCGGCTTTTATCTTCACCTTTCTCTATAGAGCTTG
AGGACCCTCAGCCTCCCCCAGACCACATTCTTGGATTACAGCTGTACTTCCAACAGTT
ATTATATGTGTGATGGTTTTCTGTCTAATTCTATGGAAATGGAAGAAGAAGAAGCGGCC
TCGCAACTCTTATAAATGTGGAACCAACACAATGGAGAGGGAAGAGAGTGAACAGACCA
AGAAAAGAGAAAAAATCCATATACCTGAAAGATCTGATGAAGCCCAGCGTGTTTTTAA
AGTTCGAAGACATCTTCATGCGACAAAAGTGATACATGTTTTTAA

30

40

(配列番号: 21)

ヒトCD86タンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_787058.4)

MDPQCTMGLSNILFVMAFLLSGAAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNSLSSELVFWQD
QENLVLNEVYLGKEKFDSVHSKYMGRSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTG
MIRIHQMNSELSVLANSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRRTKNSTIE
YDGIMQKSQDNVTELYDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPP
DHIPWITAVLPTVIICVMVFCLILWKWKKKKRPRNSYKCGTNTMERESEQTKKREKIHI
PERSDEAQRVFKSSKTSSCDKSDTCF

50

(配列番号：22)

GM-CSF

CSF2: コロニー刺激因子2 (aka CSF; GM-CSF)

DNA配列 (NCBI参照配列: NM_000758.3)

ATGTGGCTGCAGAGCCTGCTGCTCTTGGGCACTGTGGCCTGCAGCATCTCTGCACCCGC
CCGCTCGCCCAGCCCCAGCACGCAGCCCTGGGAGCATGTGAATGCCATCCAGGAGGCC
GGCGTCTCCTGAACCTGAGTAGAGACACTGCTGCTGAGATGAATGAAACAGTAGAAGTC
ATCTCAGAAATGTTTGACCTCCAGGAGCCGACCTGCCTACAGACCCGCCTGGAGCTGTA
CAAGCAGGGCCTGCGGGGCAGCCTCACCAAGCTCAAGGGCCCCTTGACCATGATGGCCA
GCCACTACAAGCAGCACTGCCCTCCAACCCCGGAAACTTCCTGTGCAACCCAGATTATC
ACCTTTGAAAGTTTCAAAGAGAACCTGAAGGACTTTCTGCTTGTCATCCCCTTTGACTG
CTGGGAGCCAGTCCAGGAGTGA

10

(配列番号：23)

ヒトGM-CSFタンパク質配列 (NCBI参照配列: NP_000749.2)

MWLQSLLLLGTVACSIAPARSPSPSTQPWEHVNAIQEARLLNLSRDTAAEMNETVEVI
SEMFDLQEPTCLQTRLELYKQGLRGLTKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETSCATQIITF
ESFKENLKDFFLLVIPFDCWEPVQE

(配列番号：24)

【0052】

特定の実施形態に関する前述の記載は、例示の目的であり、限定として解釈されるべきものではない。当業者は、本発明の教示により、本発明の精神から逸脱することなく、様々な改良や変更が行われうることを認識するであろう。

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

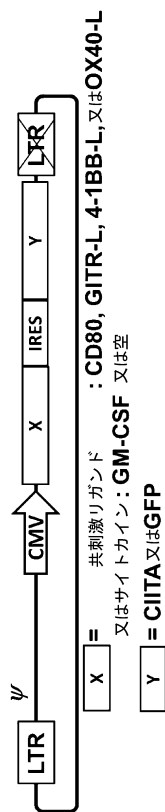


Figure 1

【図 2】

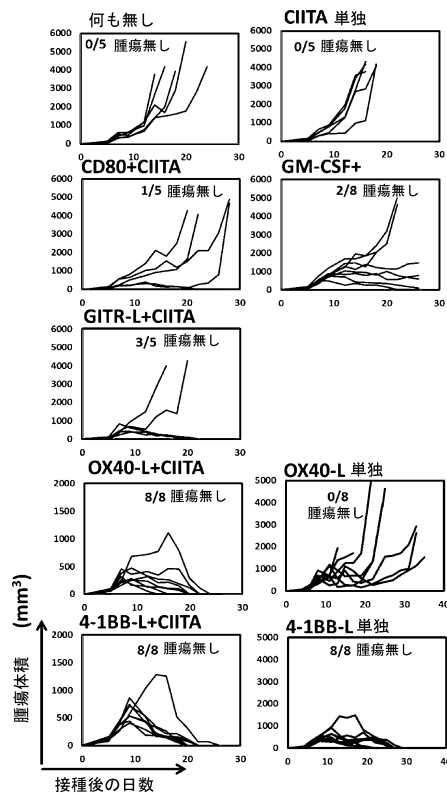


Figure 2

【図 3】

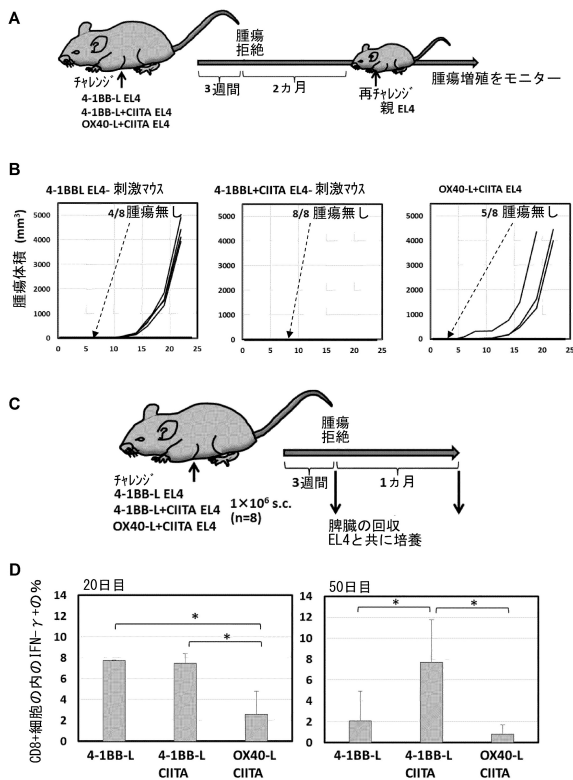


Figure 3

【図 4 A B C】

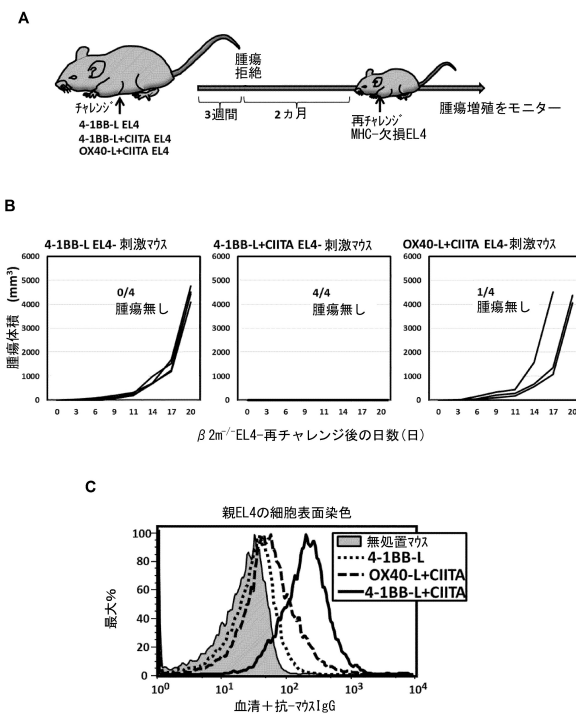


Figure 4

10

20

30

40

50

【図 4 D E F】

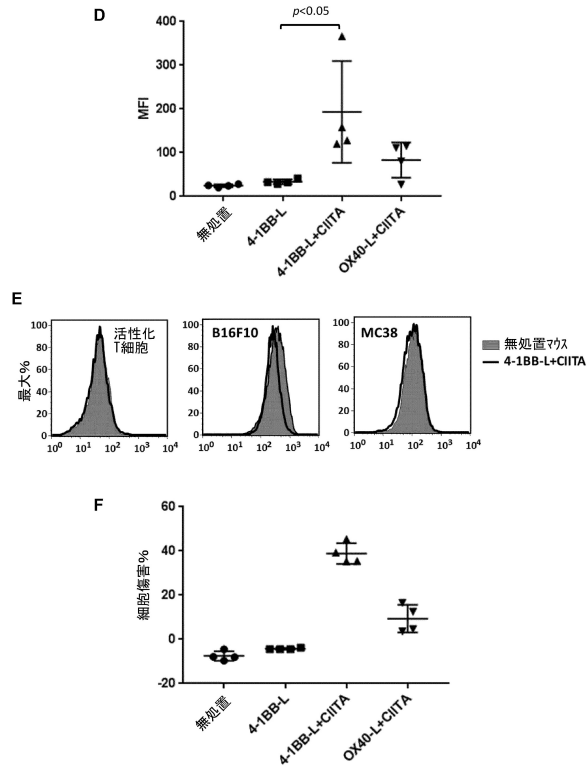


Figure 4, continued

【図 5 A B】

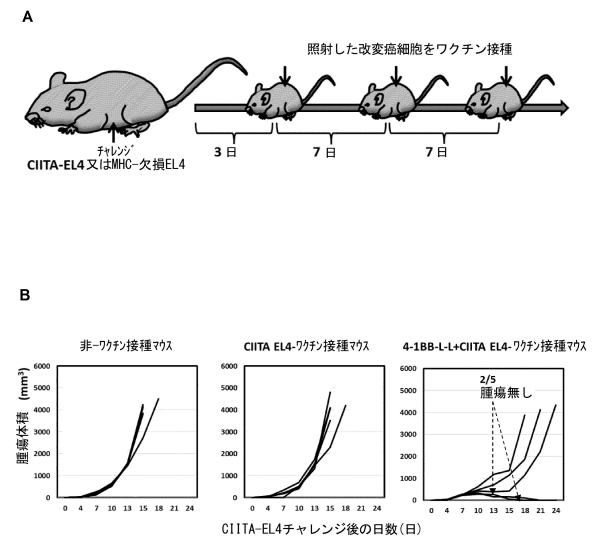


Figure 5

【図 5 C D】

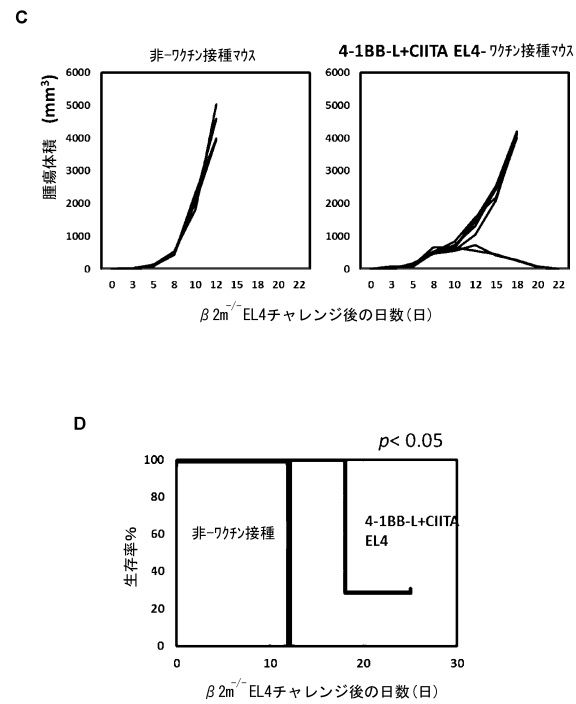


Figure 5, continued

【図 6】

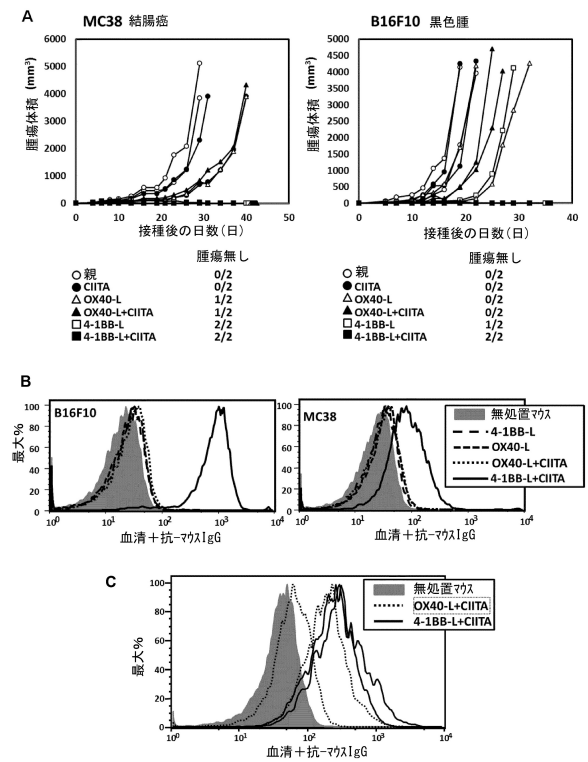


Figure 6

【配列表】

0007384896000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (51)国際特許分類 F I
C 1 2 N 15/12 (2006.01) C 1 2 N 15/12
- 2 2 1、ウィリアムズビル、パームデール ドライブ 1 3 9
- (72)発明者 松崎 順子
アメリカ合衆国、ニューヨーク州 1 4 2 2 1、ウィリアムズビル、パームデール ドライブ 1 3 9
- 審査官 鳥居 敬司
- (56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 0 4 7 2 6 2 (U S , A 1)
特表 2 0 0 2 - 5 0 4 3 3 4 (J P , A)
特表 2 0 1 3 - 5 1 8 9 0 0 (J P , A)
特表 2 0 1 2 - 5 2 4 0 7 5 (J P , A)
米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 2 0 9 5 1 4 (U S , A 1)
Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2007, Vol.13, No.3, pp.277-292
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
C 1 2 N 5 / 0 0 - 5 / 2 8
C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)