

(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2005-523277

(P2005-523277A)

(43) 公表日 平成17年8月4日(2005.8.4)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/475	A 6 1 K 31/475	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/00	A 6 1 K 39/00	H 4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/39	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	D
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-567437 (P2003-567437)	(71) 出願人	504311501
(86) (22) 出願日	平成15年2月14日 (2003.2.14)		イミュネイド ピーティーワイ リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成16年10月18日 (2004.10.18)		オーストラリア連邦 ビクトリア州 フィッツロイ ハノバー ストリート 60-66
(86) 国際出願番号	PCT/AU2003/000187	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02003/068257		弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成15年8月21日 (2003.8.21)	(74) 代理人	100108774
(31) 優先権主張番号	PS 0547		弁理士 橋本 一憲
(32) 優先日	平成14年2月14日 (2002.2.14)	(74) 代理人	100128048
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		弁理士 新見 浩一
		(72) 発明者	アッシュダウン マーティン レオナルド
			オーストラリア連邦 ビクトリア州 ソー
			ンバリー ケオン ストリート 140
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の治療

(57) 【要約】

本発明は、癌患者を治療する方法を提供する。方法は、腫瘍細胞を標的とする免疫系の細胞（「エフェクター細胞」）が、腫瘍細胞を標的とする免疫細胞の活性をダウンレギュレートする「レギュレーター」または「サプレッサー」細胞の増殖の前に、クローン増殖するという知見に基づく。本明細書において、エフェクター細胞の産生を刺激する方法が提供され、同様に、癌の治療においてレギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する手段を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の段階を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法：

- i) 被験体における腫瘍の負荷を減少させる段階、
- ii) 腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性を、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加させる段階、ならびに
- iii) レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子をその後被験体に投与する段階であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される段階。

10

【請求項2】

作用因子を投与する時期を決定するために、被験体におけるc-反応性タンパク質レベルの変動がモニターされる、請求項1記載の方法。

【請求項3】

c-反応性タンパク質のレベルが減少し始めた際に作用因子が投与される、請求項2記載の方法。

【請求項4】

段階i)の後に、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答してCD8+CD4- T細胞数がほぼピークに達した際に、作用因子が投与される、請求項1記載の方法。

【請求項5】

ほぼ腫瘍細胞数が減少し、かつレギュレーター細胞数が増加した際に、作用因子が投与される、請求項1記載の方法。

20

【請求項6】

手術によって癌細胞の少なくとも一部を除去することによって、被験体における腫瘍の負荷が減少する、請求項1から5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

抗癌化合物を投与することによって、腫瘍の負荷が減少する、請求項1から5のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

抗癌化合物がビンブラスチンまたはアンヒドロビンブラスチンである、請求項7記載の方法。

30

【請求項9】

被験体に放射線療法を受けさせることによって腫瘍の負荷が減少する、請求項1から5のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

段階i)の後に、被験体の腫瘍細胞によって産生された抗原を投与する段階をさらに含む、請求項1から9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を被験体に投与する段階を含む、抗癌化合物に曝露されているか、手術によって腫瘍の少なくとも一部が除去されているか、または放射線療法を受けている哺乳類被験体における癌を治療する方法であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される方法。

40

【請求項12】

以下の段階を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法：

- i) 腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数、および/または活性の増加が起こる、腫瘍抗原を投与する段階、および
- ii) レギュレーター細胞の産生を阻害、機能を制限、および/または破壊する作用因子を被験体にその後投与する段階であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される段階。

50

【請求項 13】

作用因子を投与する時期を決定するために、被験体におけるc-反応性タンパク質レベルの変動がモニターされる、請求項12記載の方法。

【請求項 14】

c-反応性タンパク質レベルが低下し始める時期に作用因子が投与される、請求項13記載の方法。

【請求項 15】

CD8+CD4- T細胞数が腫瘍抗原の投与に応答してほぼピークに達した際に、作用因子が投与される、請求項12記載の方法。

【請求項 16】

腫瘍抗原の投与後に、腫瘍細胞数がほぼ安定または減少し始めた際に作用因子が投与される、請求項12記載の方法。

【請求項 17】

腫瘍抗原の投与後に、循環中の腫瘍抗原数がほぼ安定または減少し始めた際に、作用因子が投与される、請求項12記載の方法。

【請求項 18】

腫瘍抗原および薬学的に許容される担体を含むワクチン組成物を投与することによって、被験体に抗原が提供される、請求項12から17のいずれか一項記載の方法。

【請求項 19】

ワクチン組成物がアジュバントをさらに含む、請求項18記載の方法。

【請求項 20】

抗原をコードするDNAワクチンを投与することによって、抗原が被験体に提供される、請求項12から17のいずれか一項記載の方法。

【請求項 21】

抗原を発現するトランスジェニック植物を消費することによって、抗原が被験体に提供される、請求項12から17のいずれか一項記載の方法。

【請求項 22】

作用因子が、抗増殖薬、放射線、およびレギュレーター細胞のダウンレギュレーション活性を阻害する抗体からなる群より選択される、請求項1から21のいずれか一項記載の方法。

【請求項 23】

抗体が抗CD4+である、請求項22記載の方法。

【請求項 24】

方法が少なくとも一回繰り返される、請求項1から23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 25】

哺乳類被験体がヒトである、請求項1から24のいずれか一項記載の方法。

【請求項 26】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体の腫瘍の負荷が減少した後に作用因子が投与され、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性が、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加し、かつ作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項 27】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための抗癌化合物の使用であって、抗癌化合物が腫瘍負荷を減少し、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性が、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加し、その後被験体が、レギュレーター細胞の産生を阻害、および/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

10

20

30

40

50

【請求項 28】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、哺乳類被験体が抗癌化合物に曝露されているか、手術によって腫瘍の少なくとも一部が除去されているか、または放射線療法を受けており、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項 29】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体が腫瘍抗原を予め投与され、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

10

【請求項 30】

腫瘍抗原を産生する癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための腫瘍抗原の使用であって、腫瘍抗原によって、腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、被験体その後、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、癌を治療する方法に関する。特に、本発明は、それによって腫瘍細胞の破壊が起こる免疫調節に関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

癌のメカニズムおよび可能性がある治療についての理解は近年進んだものの、癌は依然として先進諸国における主要な死因である。手術、放射線療法、および全身化学療法のような癌を治療するための非特異的アプローチは、いくつかの循環器系の癌および増殖の遅い固形癌の処置において成功を収めている。しかし、多くのタイプの癌は一般的に、標準的な治療に対して非常に抵抗性である。したがって、さらにより有効な癌の治療が必要である。

30

【0003】

免疫療法もまた、癌を治療するための達成方法として研究されている。免疫療法の一般的な原理は、治療すべき被験体に、特に新生物細胞に対して事実上拒絶反応である事象の開始能を付与することである。様々な種類の刺激された自家細胞を用いる養子免疫療法；同種異系リンパ球の全身移入；免疫反応細胞の腫瘍内移植；および全身の腫瘍特異的免疫応答を生成するための遠位部位でのワクチン接種を含む、多数の免疫学的戦略が開発中である。

40

【0004】

養子T細胞療法は、腫瘍の拒絶を開始するために、腫瘍を有する宿主に抗原反応性T細胞を受動的に移入することを含む。細胞は被験体と組織適合性であり、一般的に予め採取した自己献血から得られる。

【0005】

養子免疫療法の一つのアプローチは、自己リンパ球をエキスピボで腫瘍関連抗原によって刺激して、それらを腫瘍特異的にすることである。自己リンパ球およびキラー細胞も同様に非特異的に刺激してもよい。一つの例において、抗体依存的細胞媒介細胞障害反応を

50

媒介することができるFc受容体発現白血球を、IL-2とIFN- γ との併用と共に培養することによって産生する(米国特許第5,308,626号)。もう一つの例において、IL-2中で培養した末梢血由来リンパ球は、リンフォカイン活性化キラー(LAK)細胞を形成し、これは広範囲の新生物細胞に対して細胞障害性であるが正常細胞には細胞障害性ではない。LAKは主に、CD56抗原を発現するがCD3は発現しないナチュラルキラー細胞に由来する。そのような細胞は、培養プレートへのIL-2誘導接着によって末梢血白血球から精製することができる(A-LAK細胞;米国特許第5,057,423号を参照されたい)。

【0006】

同種異系リンパ球の養子移入は、全身免疫刺激レベルを形成して、それによって宿主の免疫系が腫瘍を拒絶できないようにするアレルギーを克服する。最初の実験は10年以上前に行われたが、戦略は一般的に、特に固形腫瘍の治療には容認されていない。

10

【0007】

腫瘍内移植は、腫瘍に対する免疫細胞を作用部位に直接輸送することに向けられる戦略である。移植された細胞は循環しないため、それらは宿主と組織適合性である必要はない。同種異系細胞の腫瘍内移植は、移植された細胞の腫瘍との反応能を促進して、強力な移植片対腫瘍反応を開始する可能性がある。例えば、Kruseら(1990)は、同種異系細胞障害性Tリンパ球(CTL)を、フィッシャー系ラットにおいて増殖しつつある脳腫瘍内に直接腫瘍内移植すると、同系CTL、LAK細胞、接着性LAK細胞を含むリンパ球の他の集団、またはIL-2単独に対して有意な生存長所が得られることを証明した。

【0008】

最後に、宿主起源の活性化全身腫瘍特異的免疫応答を生成することもまた、癌の増殖を制御する試みで用いられている。反応は、腫瘍から遠位の部位にワクチン組成物を投与することによって被験体自身の免疫応答によって誘発される。その結果宿主において誘発された特異的抗体または免疫細胞は、望ましくは腫瘍へと遊走して、癌細胞が体内の何処に存在しようとそれらを撲滅するであろう。単離された腫瘍-抗原ワクチンおよび抗イデオタイプワクチンを含む、様々なタイプのワクチンが提唱されている。抗腫瘍ワクチンに対するもう一つのアプローチは、治療すべき被験体からの腫瘍細胞、またはそのような細胞の派生物を利用することである。しかし、多くの患者において、自身の腫瘍抗原をワクチン調製物にたとえ含めても、自身の腫瘍抗原に反応した腫瘍の退縮は検出されていない。

20

30

【0009】

免疫原性を増強するいくつかのアプローチでは、自己または同系腫瘍細胞を遺伝的に改変して、共刺激分子を産生させる。共刺激分子の例には、B7-1共刺激分子のような細胞表面受容体、同種異系組織適合抗原またはサイトカインが含まれる。

【0010】

CD4⁺T細胞集団は、自己反応性T細胞を調節して、従って自己免疫疾患に対して防御することが示されている(Sakaguchiら、2001)。そのような自己反応性細胞を除去または制御できないことが、多くの自己免疫疾患において何らかの役割を果たしている。しかし、哺乳類の免疫系が典型的にそのような自己反応性リンパ球を制御できないために、腫瘍は自己抗原を発現していることから、免疫系の持つ腫瘍増殖の制御能が制限される。多くの腫瘍抗原は、それらがしばしば胎児発達のタンパク質に由来することから自己抗原であると見なすことができる。それによって、癌患者における癌に対する免疫応答は、自己免疫反応であると見なすべきである。この反応は、調節メカニズムによって自己限定的である。

40

【0011】

癌治療、特に癌免疫療法の進歩にもかかわらず、癌を治療する有効な方法がなおも必要である。本発明は、癌を治療するために用いることができる代用免疫療法を提供する。

【発明の開示】**【0012】**

発明の概要

50

本発明者らは、少なくとも二つの免疫細胞集団が腫瘍抗原の存在に反応して産生されることに注目した。より詳しく説明すると、制御されない細胞増殖（癌）を有する哺乳類の免疫系は、本明細書において一般的に「エフェクター細胞」と呼ばれる細胞集団を通して、腫瘍に対する免疫応答を開始することができるが、本明細書において一般的に「レギュレーター細胞」と呼ばれる、「エフェクター細胞」を調節して、哺乳類が腫瘍を有効に制御または撲滅する能力を制限する第二の細胞集団も同様に産生される。

【0013】

さらに、レギュレーター細胞が増殖する前に、腫瘍抗原に反応して、相対数のエフェクター細胞が増殖することも認められている。このことは、「エフェクター細胞」を維持しながら「レギュレーター細胞」の産生を防止する、その機能を制限する、または破壊する機会を提供する。

10

【0014】

場合によっては、遺伝された遺伝子欠損のために癌の素因を有する可能性がある個体をスクリーニングすることが可能であるが、新生物細胞によって産生された腫瘍抗原に対する最初の免疫応答は、腫瘍の増殖の検出は事象が始まった後に限られることから、追跡することは困難である。実際に、多くの場合において、腫瘍の増殖は十分に進行して初めて検出される。

【0015】

エフェクター細胞は、腫瘍の増殖を制御することができる哺乳類の免疫系によって産生されるが、その活性は、エフェクター細胞集団に負の影響を及ぼすレギュレーター細胞の産生によって障害される。エフェクター細胞機能を最適にするために、本発明者らは、腫瘍抗原に対する免疫応答を少なくとも部分的に「リセット」して、このように腫瘍の増殖を制御するために「エフェクター細胞」集団を利用する手段を提供する癌治療法を考案した。

20

【0016】

したがって、第一の局面において、本発明は、以下を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法を提供する：

i) 被験体における腫瘍の負荷を減少させる段階；

ii) 腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性を、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加させる段階；ならびに

30

iii) レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子（agent）をその後被験体に投与する段階であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される段階。

【0017】

段階i)の終了後、腫瘍細胞の増殖は、何らかの腫瘍細胞が残っていれば再度始まり、次に、腫瘍細胞によって産生された腫瘍抗原（複数）に対するエフェクター細胞の増殖が起こるのである。

【0018】

被験体における腫瘍負荷の減少後、作用因子の投与時期を決定するために被験体をモニターする必要があるであろう。モニターすべき要因には、腫瘍抗原レベル、CD8+CD4- T細胞レベル、CD4+CD8- T細胞レベル、およびc-反応性タンパク質レベルのような急性期炎症マーカーが含まれるがこれらに限定されない。

40

【0019】

好ましい態様において、作用因子の投与時期を決定するために、被験体におけるc-反応性タンパク質レベルの変動をモニターする。好ましくは、作用因子は、c-反応性タンパク質レベルがほぼ減少し始める際に投与される。この場合、エフェクター細胞の産生および/または活性によって、c-反応性タンパク質レベルの増加が起こる。レギュレーター細胞のクローン増殖によって、エフェクター細胞の活性はダウンレギュレートされ、それによってc-反応性タンパク質レベルは減少する。

50

【0020】

第一の局面の好ましい態様において、作用因子は、段階i)後の腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答してCD8+CD4- T細胞数がほぼピークに達した際に投与される。

【0021】

段階i)後の腫瘍抗原に基づく刺激によって、エフェクター細胞の産生が起こり、これらの細胞は、レギュレーター細胞が産生される前に、腫瘍細胞数を安定化および/または減少させるであろう。したがって、さらに好ましい態様において、作用因子は、腫瘍細胞数がほぼ減少して、レギュレーター細胞数がほぼ増加する時期に投与される。典型的に、腫瘍細胞数は、適当な腫瘍細胞マーカーレベルを分析することによって決定される。

【0022】

本来、手術を行う場合、全ての腫瘍細胞を除去する試みが望ましいであろう。しかし、腫瘍の位置により、および/または少なくともいくつかの腫瘍が見逃されるためにこれは時に可能ではない。好ましい態様において、腫瘍の負荷は、癌細胞の少なくとも一部を手術によって切除することによって、被験体において減少させる。好ましくは、腫瘍細胞の少なくとも50%、より好ましくは少なくとも75%、より好ましくは少なくとも90%、および最も好ましくは少なくとも95%が手術によって除去される。

10

【0023】

もう一つの好ましい態様において、腫瘍の負荷は抗癌化合物の投与によって減少する。

【0024】

抗癌化合物は、被験体における腫瘍細胞を特異的または非特異的に(例えば、一般的な抗分裂薬)破壊またはその機能を制限する如何なる既知の分子ともなりうる。好ましい抗癌化合物には、ピンプラスチックおよびアンヒドロピンプラスチックが含まれるがこれらに限定されない。

20

【0025】

さらにもう一つの好ましい態様において、腫瘍の負荷は、被験体に放射線療法を行うことによって減少させる。

【0026】

エフェクター細胞の産生は、被験体の腫瘍細胞によって産生される抗原の投与によって増強することができる。

【0027】

したがって、さらに好ましい態様において、方法は段階i)の後に、被験体の腫瘍細胞によって産生された抗原を投与することをさらに含む。

30

【0028】

第二の局面において、本発明は、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を被験体に投与する段階を含む、抗癌化合物を投与されているか、腫瘍の少なくとも一部が手術によって除去されているか、または放射線療法を受けている哺乳類被験体における癌を治療する方法であって、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように作用因子の投与時期が選択される方法を提供する。

【0029】

癌を有する哺乳類被験体におけるエフェクター細胞の再刺激は、被験体内の腫瘍抗原の量を増加させることによって行うことができる。さらなる腫瘍抗原を加えることは、エフェクター細胞反応を増強し、それによってこれらの新しいエフェクターのレギュレーター作用因子を除去または阻害する機会を提供する。

40

【0030】

したがって、第三の局面において、本発明は、以下を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法を提供する：

i) 腫瘍抗原を投与して、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数が増加し、かつ/またはエフェクター細胞を活性化する段階、および

ii) レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/ま

50

たはレギュレーター細胞を破壊する作用因子をその後被験体に投与する段階であって、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように、作用因子の投与時期が選択される段階。

【0031】

第三の局面の好ましい態様において、作用因子はCD8+CD4- T細胞数が腫瘍抗原の投与に反応してほぼピークに達した際に投与される。

【0032】

第三の局面のさらに好ましい態様において、作用因子は、腫瘍細胞数が腫瘍抗原の投与後ほぼ安定または減少し始めた際に投与される。

【0033】

第三の局面のもう一つの好ましい態様において、作用因子は、循環中の腫瘍抗原数が腫瘍抗原の投与後ほぼ安定または減少し始めた際に投与される。

【0034】

好ましくは、抗原は、腫瘍抗原と薬学的に許容される担体とを含むワクチンを投与することによって、被験体に提供される。より好ましくは、ワクチンはさらにアジュバントを含む。

【0035】

もう一つの態様において、抗原は、抗原をコードするDNAワクチンを投与することによって被験体に提供される。

【0036】

さらにもう一つの態様において、抗原は、抗原を発現するトランスジェニック植物の消費によって被験体に提供される。

【0037】

好ましくは、レギュレーター細胞の除去に用いられる作用因子は、レギュレーター細胞のダウンレギュレーション活性を阻害する抗増殖薬、放射線および抗体からなる群より選択される。好ましくは、抗増殖薬は、ビンブラスチンおよびアンヒドロビンブラスチンからなる群より選択される。特に、場合によっては、特に第一の局面に関連して、抗癌化合物および作用因子は実際に同じ分子となりうる。

【0038】

好ましい抗体の例には、抗CD4+、抗CTLA-4（細胞障害性リンパ球関連抗原-4）、抗GITR（グルココルチコイド誘導腫瘍壊死因子受容体）、抗CD28および抗CD25が含まれるがこれらに限定されない。

【0039】

当業者によって容易に認識されるように、より完全な治療を提供するために、本発明の方法を繰り返してもよい。

【0040】

好ましくは、哺乳類被験体はヒトである。

【0041】

さらなる局面において、本発明は、癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するために、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を用いることを提供し、作用因子は被験体の腫瘍負荷が減少した後に投与され、腫瘍負荷の減少によって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性は、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激にตอบสนองして増加して、そして作用因子の投与時期は、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される。

【0042】

もう一つの局面において、本発明は、癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するために、抗癌化合物を用いることを提供し、抗癌化合物は腫瘍負荷を減少して、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性が、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激にตอบสนองして増加し、被験体は、その後レギュレーター細胞の産生

10

20

30

40

50

を阻害し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、そして作用因子の投与時期は、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される。

【0043】

なおさらなる局面において、本発明は、癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するために、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を用いることを提供し、哺乳類被験体は抗癌化合物に曝露されているか、手術によって腫瘍の少なくとも一部が除去されているか、または放射線療法を受けており、作用因子の投与時期は、エフェクター細胞の活性が有意に減少しないように選択される。

【0044】

さらにもう一つの局面において、本発明は、癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するために、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を用いることを提供し、被験体は腫瘍抗原を予め投与され、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、作用因子の投与時期は、エフェクター細胞の活性が有意に減少しないように選択される。

10

【0045】

もう一つの局面において、本発明は、腫瘍抗原を産生する癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するために腫瘍抗原を用いることを提供し、腫瘍抗原によって、腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、被験体は、その後レギュレーター細胞の産生を阻害し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、そして作用因子の投与時期は、エフェクター細胞の活性が有意に減少しないように選択される。

20

【0046】

先に概要したそれぞれの局面において、「レギュレーター」集団を除去することによって、エフェクター細胞の如何なるダウンレギュレーションも除去されることから、「エフェクター」集団は腫瘍細胞を減少または撲滅することができる。

【0047】

明らかであるように、本発明の一つの局面の好ましい特徴および特質は、本発明の他の多くの局面に応用可能である。

30

【0048】

本明細書を通して、「含む」という用語、または「含む (comprises)」もしくは「含む (comprising)」のような変化形は、記載の要素、整数、もしくは段階、または要素、整数もしくは段階の群を含むが、他の如何なる要素、整数もしくは段階、または要素、整数、もしくは段階の群も除外しないことを意味すると理解される。

【0049】

本発明は、以降、以下の非制限的な実施例によって、添付の図面を参照しながら説明する。

【0050】

発明の詳細な説明
定義

40

本明細書において用いられるように、「治療」または「治療する」という用語は、腫瘍の負荷の減少が得られることを意味する。本発明のいくつかの局面において、一つの段階は、手術、放射線療法または化学療法のような既知の技術を用いることによって腫瘍の負荷を減少させ、その後適当な時期に作用因子を投与することを含む。これらの局面において、「治療」または「治療する」という用語は、被験体における腫瘍の負荷が本発明の方法によってさらに減少することを示すために用いられる。最も好ましくは、腫瘍の負荷は完全に撲滅される。

【0051】

本明細書において用いられるように、「腫瘍の負荷」という用語は一般的に、被験体に

50

おける所定の時間での癌様細胞の数を意味する。

【0052】

「レギュレーター細胞」には、CD4+ T細胞の亜集団が含まれるがこれらに限定されない。そのような細胞はまた、当技術分野において「サプレッサー細胞」と呼ばれることもある。レギュレーター細胞は、エフェクター細胞に直接作用してもよく、または他のメカニズムを通してエフェクター細胞にその影響を発揮してもよい。

【0053】

CD4+細胞は、CD4として当技術分野において既知のマーカーを発現する。典型的に、本明細書において用いられる「CD4+ T細胞」という用語は、CD8も同様に発現する細胞を意味しない。しかし、この用語には、CD25のような他の抗原性マーカーを発現するT細胞が含まれる。

10

【0054】

「エフェクター細胞」には、CD8+細胞として知られるT細胞集団が含まれるが必ずしもこれらに限定されない。

【0055】

本明細書において用いられるように、「レギュレーター細胞」の作用因子への曝露を指す場合の「除去する (ablate)」または「除去 (ablation)」という用語は、レギュレーター細胞の数、および/または活性が作用因子によってダウンレギュレートされることを意味する。最も好ましくは、レギュレーター細胞の数および/または活性は作用因子によって完全に撲滅される。

20

【0056】

当技術分野で既知であるように、癌は一般的に制御されない細胞増殖であると見なされる。本発明の方法を用いて、癌、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、および白血病が含まれるがこれらに限定されない如何なる癌も治療することができる。より詳しくは、そのような癌の例には、乳癌、前立腺癌、結腸癌、扁平上皮癌、肺小細胞癌、肺の非小細胞癌、卵巣癌、頸癌、消化器癌、膵臓癌、神経膠芽腫、肝臓癌、膀胱癌、肝腫、結腸直腸癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、中皮腫、腎臓癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌、皮膚癌、黒色腫、脳癌、卵巣癌、神経芽腫、骨髄腫、様々なタイプの頭頸部癌、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、ユーイング肉腫、および末梢神経上皮腫が含まれる。

【0057】

特に明記していなければ、本明細書において利用される組み換えDNAおよび免疫学的技術は、当業者に周知の標準的な技法である。そのような技術は、J. Perbal、「A Practical Guide to Molecular Cloning」、ジョンウィリー & サンズ (1984)、J. Sambrookら、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、コールドスプリングハーバー研究所出版 (1989)、T.A. Brown (編)、「Essential Molecular Biology: A Practical Approach」、第1および2巻、IRL出版 (1991)、D.M. GloverおよびB.D. Hames (編)、「DNA Cloning: A Practical Approach」、第1~4巻、IRL出版 (1995および1996)、およびF.M. Ausubelら (編)、「Current Protocols in Molecular Biology」、グリーンパブリッシングアソシエーツ & ウィリーインターサイエンス (1988、現在までの全ての更新版を含む)、Ed HarlowおよびDavid Lane (編)、「Antibodies: A Laboratory Manual」、コールドスプリングハーバー研究所 (1988)、ならびにJ.E. Coliganら (編)、「Current Protocols in Immunology」、ジョンウィリー & サンズ (現在までの全ての更新版を含む) のような文献を通して記述および説明され、参照として本明細書に組み入れられる。

30

40

【0058】

レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子

作用因子は、レギュレーター細胞の選択的または非選択的な破壊または阻害が起こる如何なる要因または治療となりうる。例えば、CD4+特異的抗体を用いてCD4+T細胞を特異的に標的とすることができる。しかし、場合によっては、そのいずれもが分裂細胞を破壊する、抗増殖薬または放射線のような非選択作用因子を用いることができる。

50

【0059】

「抗増殖薬」という用語は、当技術分野において十分に理解されている用語であり、分裂細胞を破壊するまたはそれらのさらなる増殖を阻害する如何なる化合物も意味する。抗増殖薬には、メクロルエタミン、シクロホスファミド、イフォスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ヘキサメチル-メラミン、チオテパ、ブスルファン、カルムスチン、ロムスチン、セムスチン、ストレプトゾシン、ダカルバジン、メソトレキセート、フルオロウラシル、フロクスリジン、シタラビン、メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチン、ピンラスチン、アンヒドロピンラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、ドキシソルピシン、プレオマイシン、プリカマイシン、マイトマイシン、L-アスパラギナーゼ、シスプラチン、ミトキサントロン、ヒドロキシウレア、プロカルバジン、ミトタン、アミノグルテチミド、プレドニゾン、カブロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸メドロプロゲステロン、酢酸メゲストロール、ジエチルスチルベストロール、エチニルエストラジオール、タモキシフェン、プロピオン酸テストステロン、放射活性同位元素、リシンA鎖、タキソール、ジフテリア毒素、およびシュードモナスエンドトキシンAが含まれるがこれらに限定されない。

10

【0060】

作用因子は当技術分野において用いられるように標準的な用量で投与することができる。一つの態様において、作用因子は、1回ボラス注射として投与される。もう一つの態様において、作用因子は、例えば24時間の期間の注入によって投与される。

【0061】

最近の研究は、CD4+CD25+ T細胞が自己抗原に対する免疫細胞を調節する上で重要な役割を果たすことを示唆している (Salomonら、2000; Suri-PayerおよびCantor、2001)。さらに、CD4+CD25+ T細胞の標的化除去は、動物の腫瘍増殖制御能を増強することが示されている (Onizukaら、1999; Shimizuら、1999; Sutmullerら、2001)。したがって、CD4+CD25+ T細胞は、本明細書において用いられるレギュレーター細胞として作用することができるであろう。CD4+CD25+ T細胞の活性は、抗GITR、抗CD28、および/または抗CTLA-4によってダウンレギュレートすることができる (Readら、2000; Takahashiら、2000; Shimizuら、2002)。このように、これらの抗体は、本発明の方法において用いるための作用因子として有用となる可能性がある。

20

【0062】

被験体への作用因子の投与時期

先に概要したように、本発明は、エフェクター細胞の相対数がレギュレーター細胞の前に抗原に反応して増殖するという知見に依存する。したがって、本明細書において用いられるように、「エフェクター細胞の活性は有意に低下しない」という用語は、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞よりレギュレーター細胞に対して比率的により大きい作用を発揮する時期であることを意味する。作用因子は、レギュレーター細胞に対する作用対エフェクター細胞に対する作用の比が最大となる時期に投与されることが明らかに好ましい。

30

【0063】

本発明のいくつかの局面は、エフェクター細胞に関して選択する前に腫瘍の負荷を減少させることに依存する。レギュレーター細胞の除去によってエフェクター細胞を選択することができる多くの達成方法が存在する。一つは、放射線療法、化学療法および手術のような、しかしこれらに限定されない技術によって腫瘍の負荷を減少させた後、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に应答してCD8+CD4- T細胞数がほぼピークに達した場合に作用因子を投与することを含む。もう一つの達成手段は、放射線療法、化学療法および手術のような、しかしこれらに限定されない技術によって腫瘍の負荷を減少させた後、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に应答して、腫瘍細胞数がほぼ減少して、レギュレーター細胞数がほぼ増加する時期に作用因子を投与することを含む。

40

【0064】

ほとんどの場合において、免疫応答の動力学は変化する可能性があることから、癌の進

50

行期が異なる被験体において、作用因子を投与する時期は経験的に決定する必要があるであろう。被験体の全身健康および/または被験体の遺伝子構成のような他の要因も同様に、作用因子を投与するために何時が適当な時期であるかに影響を及ぼすであろう。

【0065】

当技術分野において既知の技術を用いて、腫瘍の負荷の減少後、または被験体をさらなる腫瘍抗原に曝露することによって免疫応答を刺激した後に、増加しつつあるエフェクター細胞集団をモニターすることができる。例えば、c-反応性タンパク質（例えば、Priceら、1987に開示されるもの）のような急性期タンパク質の産生は、腫瘍抗原に対する免疫応答の存在を示すであろう。

【0066】

当技術分野で既知の技術を同様に用いて、腫瘍の負荷の減少後、または被験体をさらなる腫瘍抗原に曝露することによって免疫応答を刺激した後に、レギュレーター細胞の増殖集団をモニターすることができる。これらの技術のいくつかを下記に考察する。

【0067】

連続血液試料を採取して、FACS分析によって全てのCD4+サブセットに関して定量的にスクリーニングすることができる。このFACSモニタリングは、レギュレーター細胞が、腫瘍によって産生されたものであれ、被験体に投与されたものであれ、腫瘍抗原に反応してクローン化増殖を開始するまで維持する必要がある。レギュレーター細胞の増殖集団をモニターする他の可能性があるアッセイには、リンパ球増殖/活性化アッセイおよび様々なサイトカインレベルアッセイが含まれる（例えば、IL-4、IL-6、またはIL-10のアッセイ）

【0068】

作用因子を投与する時点を決定するもう一つの達成手段は、腫瘍の負荷をモニターすることである。腫瘍の負荷は、エフェクター細胞の活性により減少するが、レギュレーター細胞がその後の増加すればエフェクター細胞をダウンレギュレートして、その結果腫瘍の負荷の減少は遅くなると考えられる。したがって、作用因子は、腫瘍負荷の減少がほぼ遅くなる前に投与することができる。当技術分野で既知の技術、例えば、腫瘍によって発現されるマーカーのRT-PCRまたは抗体検出を用いて、これらの状況における腫瘍の負荷を測定することができるであろう。適した腫瘍抗原マーカーアッセイの例には、AFP（肝細胞癌および生殖細胞腫瘍のマーカー）、CA 15-3（乳癌を含む多数の癌のマーカー）、CA 19-9（膵臓癌および胆管腫瘍を含む多数の癌のマーカー）、CA 125（卵巣癌を含む様々な癌のマーカー）、カルシトニン（甲状腺髄様癌を含む様々な腫瘍のマーカー）、カテコラミンおよび代謝物（クロム親和性細胞腫）、CEA（結腸直腸癌および他の消化器癌を含む様々な癌のマーカー）、hCG/ hCG（生殖細胞腫瘍および絨毛癌を含む様々な癌のマーカー）、尿中の5HIAA（カルチノイド症候群）、PSA（前立腺癌）、セロトニン（カルチノイド症候群）、およびサイログロブリン（甲状腺癌）が含まれるがこれらに限定されない。

【0069】

モニタリングは、作用因子を投与するために正確な時点が確実に選択されるように、頻回、例えば数時間毎に行う必要があるかも知れない。好ましくは、モニタリングは少なくとも48時間毎に行われる。より好ましくはモニタリングは少なくとも24時間毎に行う。

【0070】

モニタリングは作用因子の影響を決定するために継続することが最適である。レギュレーター細胞の不十分な除去、再出現、または腫瘍負荷の増加は、本発明の方法を繰り返すべきであることを意味するであろう。そのような治療の繰り返しサイクルは、免疫学的記憶を生成する可能性がある。したがって、本発明を反復様式で用いると、何らかの予防的保護作用を提供する可能性がある。

【0071】

c-反応性タンパク質

c-反応性タンパク質（CRP）は、重要な急性期反応タンパク質であり、その血清濃度は、急性期反応において1,000倍も増加する可能性がある。CRPは、それぞれが分子量約23,5

10

20

30

40

50

00を有する同一の5個のサブセットからなる五量体である。

【0072】

CRPレベルはこれまでに、癌の再発のマーカーであることが示されている（Hosotsuboら、2000；MahmoudおよびRivera、2002）。c-反応性タンパク質レベルは、当技術分野で既知の技術を用いて決定することができ、これらにはSenjuら（1983）、Priceら（1987）、およびEdaら（1998）に開示されるものが含まれるがこれらに限定されない。

【0073】

腫瘍抗原

本明細書において用いられるように、「抗原」とは、癌に対する免疫応答を産生することができるエピトープを含む任意のポリペプチド配列である。好ましくは、抗原は、癌細胞に関して非常に選択的である配列を含むであろう。特定の癌の細胞の特徴を調べて、有効な免疫応答の可能性を最大限にするために癌の配列とマッチする抗原を産生することが考えられる。

【0074】

癌細胞に対して免疫応答を生じることができる抗原は当技術分野で周知である。特定の腫瘍抗原は免疫系によって認識および標的化されうる。この性向は、腫瘍組織による過剰発現のためである可能性がある。これらの抗原のいくつかは正常組織において検出することができる。T細胞によって標的とされる腫瘍抗原は一般的に、細胞内で処理されるタンパク質であり、CD8+細胞障害性Tリンパ球によって認識される腫瘍MHCクラスI分子の溝に認められる短いペプチド断片として提示される。腫瘍抗原が単に存在するだけでは必ずしも免疫応答の誘発にとって十分ではない。B7.1のような共刺激分子が時に必要である。抗原特異的T細胞が刺激されれば、それらは腫瘍を認識して破壊することができる。抗原特異的T細胞の活性化にとって必要な条件は、厳密であるが、標的腫瘍細胞とT細胞の遺伝子操作に対しては寛大である。

【0075】

抗原は、免疫応答に至る当技術分野で既知の任意の方法で提供することができる。抗原は、例えば、天然、組み換え型、または合成となりうる。天然の抗原は、例えば腫瘍細胞の細胞溶解物を提供することによって調製することができる。

【0076】

抗原は、ワクチン組成物において単離されたポリペプチドとして提供することができる。この場合、抗原は腫瘍細胞から精製する、組み換え型細胞から発現および単離する、またはペプチドシンセサイザーを用いて合成によって産生することができる。

【0077】

ワクチン

ワクチンは、一つまたはそれ以上の抗原から調製してもよい。抗原を含むワクチン調製物は当業者に既知である。典型的に、そのようなワクチンは、注射剤、または液体溶液もしくは懸濁液としての経口剤として調製される；注射または経口での消費の前に液体中の溶液または懸濁液のために適した固体剤形も同様に調製してもよい。調製物はまた乳化してもよく、またはタンパク質をリポソームに封入してもよい。抗原はしばしば、薬学的に許容され、活性成分と適合性である担体/賦形剤と混合する。適した担体/賦形剤は、例えば水、生理食塩液、デキストロース、グリセロール、エタノール等およびその組み合わせである。

【0078】

さらに、望ましければ、ワクチンは、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、および/またはワクチンの有効性を増強するアジュバントのような補助剤の微量を含んでもよい。

【0079】

本明細書において用いられるように、「アジュバント」という用語は、抗原に対する免疫応答を非特異的に増強する作用因子を意味する。有効となる可能性があるアジュバントの例には：N-アセチル-ムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン（thr-MDP）、N-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン（CGP 11637、ノル-MDPと呼ばれる）、N

10

20

30

40

50

-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン (CGP 19835A、MTP-PEと呼ばれる)、および細菌から抽出された三つの成分、すなわちモノホスホリルリピッドA、トレハロースジミコレート、および細胞壁骨格 (MPL+TDM+CWS) を2%スクワレンノツイン80乳剤中に含むRIBIが含まれるが、これらに限定されない。アジュバントのさらなる例には、水酸化アルミニウム、燐酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム (ミョウバン)、細菌エンドトキシン、リピッドX、コリネバクテリウム・パルブム (*Corynebacterium parvum*) (プロピオノバクテリウム・アクネス (*Propionobacterium acnes*))、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、ポリリボヌクレオチド、アルギン酸ナトリウム、ラノリン、リゾレシチン、ビタミンA、サポニン、リポソーム、レバミソール、DEAE-デキストラ 10
ン、ブロックコポリマー、または他の合成アジュバントが含まれる。そのようなアジュバントは様々な販売元から市販されており、例えばメルクアジュバント65 (メルクカンパニー (Merck and Company, Inc.)、ラーウェイ、ニュージャージー州)、またはフロイントの不完全アジュバントおよび完全アジュバント (ディフコラボラトリーズ (Difco Laboratories)、デトロイト、ミシガン州) が含まれる。

【0080】

抗原とアジュバントの比率は、双方が有効量で存在する限り、広範囲にわたって変化する。例えば、水酸化アルミニウムは、ワクチン混合物の約0.5%の量で存在しうる (Al₂O₃に基づく)。ワクチンは、抗原性ポリペプチドの最終濃度を0.2~200 μg/ml、好ましくは5~50 μg/ml、最も好ましくは15 μg/mlの範囲で含むように調製されると都合がよ 20
い。

【0081】

製剤後、ワクチンは、密封して低温、例えば4℃で保存される滅菌容器に組み入れてもよく、または凍結乾燥してもよい。凍結乾燥は、安定化型で長期保存を可能にする。

【0082】

ワクチンは通常、注射によって、非経口投与、例えば皮下または筋肉内に投与される。投与の他の様式に適したさらなる製剤には、坐剤、および場合によっては、経口製剤が含まれる。坐剤の場合、従来の結合剤および担体には、例えばポリアルキレングリコールまたはトリグリセリドが含まれてもよい；そのような坐剤は、活性成分を0.5%~10%、好ましくは1%~2%の範囲で含む混合物から形成してもよい。経口製剤には、例えばマンニ 30
トール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム等のような通常用いられる賦形剤が含まれる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル剤、徐放性製剤、または粉剤の形であり、活性成分を10%~95%、好ましくは25%~70%含む。ワクチン組成物を凍結乾燥する場合、凍結乾燥した材料を投与前に、例えば懸濁液として溶解させてもよい。溶解は好ましくは緩衝液において行う。

【0083】

患者への経口投与のためのカプセル剤、錠剤、および丸剤は、例えば、オイドラギット (Eudragit)「S」、オイドラギット「L」、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、またはヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む腸溶コーティングと共に提供してもよ 40
い。

【0084】

DNAワクチン接種

DNAワクチン接種は、被験体の組織の細胞によって抗原を発現させるために、抗原をコードするDNAを被験体の組織に直接インビボ導入することを含む。そのようなワクチンは、本明細書において「DNAワクチン」または「核酸に基づくワクチン」と呼ばれる。DNAワクチンは、その開示が全文において参照として本明細書に組み入れられる、米国特許第5,939,400号、米国特許第6,110,898号、国際公開公報第95/20660号、および国際公開公報第93/19183号に記述される。抗原をコードする直接注入したDNAが保護的免疫応答を誘発できることは、多数の実験系において証明されている (例えば、Conryら、1994; Cardosoら 50

、1996；Coxら、1993；Davisら、1993；Sedegahら、1994；Montgomeryら、1993；Ulmerら、1993；Wangら、1993；Xiangら、1994；Yangら、1997を参照されたい）。

【0085】

今日まで、哺乳類系におけるほとんどのDNAワクチンは、サイトメガロウイルス（CMV）に由来するウイルスプロモーターに依存してきた。これらは、多数の哺乳類種において筋肉および皮膚接種の双方において良好な有効性を有した。DNA免疫によって誘発される免疫応答に影響を及ぼすことが知られている要因は、DNA輸送法であり、例えば、非経口経路は、低い遺伝子移入率を生じ、遺伝子発現にかなりの変動を生じうる（Montgomeryら、1993）。遺伝子銃を用いるプラスミドの高速接種は、マウスの免疫応答を増強するが（Fynanら、1993；Eisenbraunら、1993）、これはDNAトランスフェクションの効率がより高いため、そしておそらく樹状細胞によるより有効な抗原提示のためである。本発明の核酸に基づくワクチンを含むベクターも同様に、当技術分野で既知の他の方法によって、例えばトランスフェクション、電気穿孔、マイクロインジェクション、形質導入、細胞融合、DEAEデキストラン、磷酸カルシウム沈殿、リポフェクション（リポソーム融合）、またはDNAベクター輸送体によって所望の宿主に導入してもよい。

10

【0086】

トランスジェニック植物に由来するワクチン

抗原性ポリペプチドを産生するトランスジェニック植物は、当技術分野で周知の技法を用いて構築することができる。多数の植物由来の食用ワクチンが、動物およびヒト病原体の双方について現在開発中である（HoodおよびJilka、1999）。免疫応答はまた、ウイルス様粒子（VLPs）を産生するトランスジェニック植物、または抗原性エピトープを示すキメラ植物ウイルスによる経口免疫から生じた（Masonら、1996；Modelskaら、1998；Kapustrarら、1999；Brennanら、1999）。これらのVLPsの微粒子型またはキメラウイルスは、胃において抗原のより大きい安定性が得られる可能性があり、それによって腸での取り込みに利用できる抗原の量を効率的に増加させることが示唆されている（Masonら、1996；Modelskaら、1998）。

20

【0087】

実施例

実施例1

ヒトにおける悪性中皮腫は、特に予後が不良であるアスベスト誘発性の不治の腫瘍である。診断から死亡までの平均期間は、8ヶ月に過ぎない（MuskおよびWoodward、1982）。適した介入の開発を促進するために、西オーストラリア大学医学部の研究者によってマウスモデルが開発された（Daviesら、1992）。マウス腫瘍は、ヒト臨床状況と一貫した形態学的特徴、分布、および体内分布様式を示す。

30

【0088】

0日を、AE 17細胞 1×10^6 個による腫瘍細胞の皮下接種日として定義した。AE 17腫瘍細胞株は、C57/B16マウスに由来し、同じ株に戻し接種した。この点を、今後腫瘍チャレンジと呼ぶ。1群につきマウス5匹の3群に全て、このようにチャレンジした。その後最初の群にピンプラスチン（Vb）6 mg/kg体重の1回ip投与を、腫瘍チャレンジの正確に14日後に行った（Vb 19/11/01群）。第二の群のマウス5匹に、翌日、すなわち腫瘍チャレンジ後15日に同様に処置した（Vb 20/11/01）。第三の群にはVb処置を行わなかった（無処置/対照群）。

40

【0089】

腫瘍の測定はノギスによって14日以降行った（互いに直角の二つの直径をmmで測定）。これらの二つの直径を乗じて mm^2 値を得て、これは過去の経験から腫瘍の容積および腫瘍塊の双方に良好に相関することが知られている。この実験から得られたデータを表1および図1に示す。

【0090】

明らかに、チャレンジ後14日に1回Vb処置を行ったマウスは、腫瘍の発達から強く保護される。対照的に、対照および15日Vb処置群は、4/5のマウスにおいて有意な腫瘍の発達

50

を示す。このデータは、Vb治療の狭い「治療ウィンドウ」が示され、この時点で有効性は80%であったことを示している。

【0091】

【表1】

処置	動物番号	11月19日 14°	11月20日 15°	11月23日 18°	11月26日 21°	11月29日 24°	11月30日 25°	12月3日 28°	12月5日 30°	12月7日 37°
Vb 19/11/01 14日	1	4	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0
	2	4	0.5	2	0.5	6	1	0.5	0	0
	3	4	0.5	1	1	4	0.5	40	70	70
	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0	0
		3.3	0.3	0.7	0.4	2	0.3	8.1	14	14
Vb 20/11/01 15日	1	0.5	1	4	9	16	20	42	56	81
	2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	3	0.5	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	4	4	0.5	0.5	8	25	30	56	90	90
	5	9	0.5	0	0.5	12	25	90	90	90
		2.9	0.5	1	3.7	13.4	18.9	47.1	59.1	65.4
無処置対照	1	0.5	0.5	0.5	1	30	20	42	99	99
	2	0.5	0	0	2	6	20	20	42	100
	3	4	0	0.5	0	0	0	0	0	0
	4	4	0.5	1	4	20	30	42	90	90
	5	4	1	9	12	40	36	84	84	84
		2.6	0.4	2.2	3.8	19.2	21.2	37.6	63	74.6

10

【0092】

実施例2

癌に関連したPSAレベルが上昇した前立腺癌患者に、シクロホスファミドを含む標準的な化学療法レジメを行う（例えば、CasciatoおよびLowitz、1995に記述される）。化学療法の終了時、患者をPSAマーカーに関してモニターする。そのようなモニタリングは、好ましくは化学療法の終了後少なくとも24時間毎に行うべきであり、少なくとも1ヶ月継続すべきである。

20

【0093】

PSAマーカーレベルが上昇し始めると、化学療法は完全に成功していないことが明らかとなる。PSAレベルは、PSAレベルが減少するまでモニターを継続する。このことは、エフェクター細胞が新たな癌様細胞を制御し始めていることを意味する。おおよそこの時点で、ピンブラスチンを3~4 mg/m²のような標準的な用量で患者に静脈内投与する（CasciatoおよびLowitz、1995）。ピンブラスチンは、エフェクター細胞レベルを制御するためにクローニ的に増殖し始めるレギュレーター細胞のような分裂細胞を標的とするであろう。

30

【0094】

患者は、癌が確実に制御されるようにPSAレベルに関してさらにモニターする。必要であれば治療を繰り返す。

【0095】

実施例3

癌に関連したCA 15-3（多形性上皮ムチンのエピトープ）レベルが上昇した乳癌患者に、腫瘍を除去する試みで手術を行う。化学療法の終了時、患者をCA 15-3マーカーに関してモニターする。そのようなモニタリングは、好ましくは術後少なくとも24時間毎に行うべきであり、少なくとも1ヶ月継続すべきである。

40

【0096】

CA 15-3マーカーレベルが上昇し始めると、手術によって全ての腫瘍細胞が除去されていないことは明白である。CA 15-3レベルは、CA 15-3レベルが減少するまでモニターを継続する。このことは、エフェクター細胞が新しい癌様細胞を制御し始めていることを示している。次に、患者に、胸部全体への高圧線照射（約4500~5000 cGy）として提供される、分裂細胞を標的とする放射線療法を行う（CasciatoおよびLowitz、1995）。

【0097】

患者は、癌が確実に制御されるように、CA 15-3レベルに関してさらにモニターされる。必要であれば、治療を繰り返す。

50

【0098】

実施例4

急性リンパ芽球性白血病患者に、ビンクリスチンおよびプレドニゾンを含む標準的な化学療法レジメを行う (CasciatoおよびLowitz、1995)。化学療法の終了時、患者を、Priceら (1987) によって一般的に記述されるように、c-反応性タンパク質レベルに関してモニターする。そのようなモニタリングは、好ましくは化学療法の終了後少なくとも24時間毎に行うべきであり、少なくとも1ヶ月継続すべきである。

【0099】

c-反応性タンパク質レベルが上昇し始めると、患者の免疫系が抗原に対する免疫応答を開始していること、そして全ての癌様細胞が化学療法によって消失していないことを示している。本来、患者は、例えば上昇したc-反応性タンパク質レベルに關与する可能性があるウイルスまたは細菌感染症の如何なる兆候に關しても調べるべきである。そのような兆候がない場合、c-反応性タンパク質レベルは、c-反応性タンパク質レベルがピークに達して減少し始めるまでモニターを継続すべきである。このことは、エフェクター細胞が新たな癌様細胞を制御し始めていることを示している。この時点で、レギュレーター細胞集団の一部を少なくとも標的とする抗CD4+抗体を、300 mgのような標準的な用量で患者に投与する。

10

【0100】

患者は、癌が確実に制御されるようにc-反応性タンパク質レベルに關してさらにモニターする。必要であれば治療を繰り返す。

20

【0101】

実施例5

黒色腫患者を、黒色腫患者の約76%において発現されるMAGE-3に關して調べる。MAGE-3発現が検出されれば、Coulieら (2001) によって一般的に記述されるように、適したMAGE-3ペプチドをワクチン組成物として患者に注射する。

【0102】

次に、患者をCD8+CD4- T細胞数に關して、好ましくは少なくとも24時間毎に少なくとも1ヶ月間モニターする。腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激にตอบสนองしてCD8+CD4- T細胞数がほぼピークに達した際に、患者にビンブラスチンを3~4 mg/m²のような標準的な用量で静脈内投与する。ビンブラスチンは、エフェクター細胞レベルを制御するためにクローン的に増殖し始めるレギュレーター細胞のような分裂細胞を標的とするであろう。

30

【0103】

患者を、マーカーとしてS100タンパク質を用いて癌様細胞に關してさらにモニターする (CasciatoおよびLowitz、1995)。さらなる黒色腫細胞が検出されれば、治療を繰り返すことができる。

【0104】

当業者は気付くであろうが、腫瘍の負荷を減少させる、レギュレーター細胞を標的とする、および作用因子の投与時期を決定するために用いる一般的な方法は、典型的に任意の所定の治療に關して互換的である。本来、例えば化学療法、放射線療法、手術、および腫瘍細胞マーカー検出に關する標準的な技法は、好ましくは当技術分野において既に用いられている通りに行われるであろう (例えば、CasciatoおよびLowitz、1995を参照されたい)。

40

【0105】

特定の態様に示されるように、本発明に様々な変更および/または改変を行ってもよく、それらも広く記載される本発明の趣旨または範囲に含まれることは当業者によって認識されるであろう。したがって、本発明の態様は全ての局面において、説明的であって制限的であると見なされない。

【0106】

上記の出版物は全て、その全文が参照として本明細書に組み入れられる。

【0107】

50

本発明に含まれている文書、条例、材料、装置、記事等に関する如何なる考察も、単に本発明の内容を提供する目的に限られる。このことは、これらの任意のもの、または全てのもものが、本出願のそれぞれの請求項の優先権の日付以前に存在したために、それらが先行技術の基礎の一部を形成するか、または本発明に関連する技術分野における一般的な知識であることを認めたと解釈されてはならない。

【 0 1 0 8 】

参考文献

Brennan, F.R., Bellaby, T., Helliwell, S.M., Jones, T.D., Kamstrup, S., Dalsgaard, K., Flock, J-I. and Hamilton, W.D.O. (1999) *J. Virol.* 73,930-938.

10

Cardoso, A.I., Blixenkronne-Moller, M., Fayolle, J., Liu, M., Buckland, R. and Wild, T.F. (1996) *Virology* 225,293-299.

Casciato, D.A. and Lowitz, B.B. (1995) *Manual of Clinical Oncology*. Third Edition. Little Brown and Company, Boston.

Conry, R.M., LoBuglio, A.F., Kantor, J., Schlom, J., Loechel, F., Moore, S.E., Sumerel, L.A., Barlow, D.L., Abrams, S. and Curiel, D.T. (1994) *Cancer Res.* 54,1164-1168.

20

Coulie, P.G., Karanikas, V., Colau, D., Lurquin, C., Landry, C., Marchand, M., Dorval, T., Brichard, V. and Boon, T. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 98,10290-10295.

Cox, G.J., Zamb, T.J. and Babiuk, L.A. (1993) *J. Virol.* 67,5664-5667.

Davis, H.L., Michel, M.L. and Whalen, R.G. (1993) *Human Mol. Genet.* 2,1847-1851.

30

Davies, M.R., Manning, L.S., Whitaker, D., Garlepp, M.J. and Robinson, B.W. (1992). *Int. J. Cancer* 52,881-886.

Eda, S., Kaufmann, J., Roos, W. and Phol, S. (1998). *J. Clin. Lab. Anal.* 12,137-144.

Eisenbraun, M.D., Fuller, D.H. and Haynes, J.R. (1993) *DNA Cell Biol.* 12,791-797.

Fynan, E.F., Webster, R.G., Fuller, D.H., Haynes, J.R., Santoro, J.C. and Robinson, H.L. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90,11478-11482.

40

Hood, E.E. and Jilka, J.M. (1999) *Current Opin. Biotech.* 10,382-386.

Hosotsubo, K.K., Nishimura, M. and Nishimura, S. (2000) *Crit. Care* 4,180-187.

Kapustra, J., Modelska, A., Figlerowicz, M., Pniewski, T., Letellier, M., Lisowa, O., Yusibov, V., Koprowski, H., Plucienniczak, A. and Legocki, A.B. (1999) *FASEB J.* 13,1796-1799.

Kruse, C.A., Lillehei, K.O., Mitchell, D.H., Kleinschmidt-DeMasters, B. and Bellgrau, D. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87,9577-9581.

Mahmoud, F.A. and Rivera, N.I. (2002) *Curr. Oncol. Rep.* 4,250-255.

10

Mason H.S., Ball J.M., Shi J.J., Jiang X., Estes M.K. and Arntzen C.J. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93,5335-5340.

Modelska, A., Dietzschold, B., Sleysh, N., Fu, Z.F., Steplewski, K., Hooper, D.C., Koprowski, H. and Yusibov, V. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95,2481-2485.

Montgomery, D.L., Shiver, J.W., Leander, K.R., Perry, H.C., Friedman, A., Martinez, D., Ulmer, J.B., Donnelly, J.J. and Lui, M.A. (1993) *DNA Cell Biol.* 12,777-783.

20

Musk, A.W. and Woodward, S.D. (1982) *Aust. NZ J. Med.* 12,229-232.

Onizuka, S., Tawara, I., Shimizu, J., Sakaguchi, S., Fujita, T. and Nakayama, E. (1999) *Cancer Res.* 59,3128-3133.

Price, C.P., Trull, A.K., Berry, D. and Gorman, E.G. (1987) *J. Immunol. Methods* 99,205-211,

Read, S., Malmstrom, V. and Powrie, F. (2000) *J. Exp. Med.* 192,295-302.

30

Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Shimizu, J., Yamazaki, S., Sakihama, T., Itoh, M., Kuniyasu, Y., Nomura, T., Toda, M. and Takahashi, T. (2001) *Immunological Reviews* 182,18-32.

Salomon, B., Lenschow, D. J., Rhee, L., Ashourian, N., Singh, B., Sharpe, A. and Bluestone, J. A. (2000) *Immunity* 12,431-440.

Sedegah, M., Hedstrom, R., Hobart, P. and Hoffman, S.L. (1994) *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 91,9866-9870.

Senju, O., Takagi, Y., Gomi, K., Ishii, N., Mochizuki, S. Ishii, N. et al. (1983) *Jap. J. Clin. Lab. Automat.* 8,161-165.

Shimizu, J., Yamazaki, S. and Sakaguchi, S. (1999) *J. Immunol.* 163,5211-5218.

Shimizu, J., Yamazaki, S., Takahashi, T., Ishida, Y. and Sakaguchi, S. (2002) *Nature Immunol.* 3,135-142. 10

Suri-Payer, E. and Cantor, H. (2001) *J. Autoimmunity* 16,115-23.

Sutmuller, R. P., van Duivenvoorde, L. M., van Elsas, A., Schumacher, T. N., Wildenberg, M. E., Allison, J. P., Toes, R. E., Offringa, R. and Melief, C. J. (2001) *J. Exp. Med.* 194,823-832.

Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Uede, T., Shimizu, J., Sakaguchi, N., Mak, T. W. and Sakaguchi, S. (2000) *J. Exp. Med.* 192,303-310. 20

Ulmer, J.B., Donnelly, J.J., Parker, S.E., Rhodes, G.H., Felgner, P.L., Dwarki, V.J., Gromkowski, S.H., Deck, R.R., DeWitt, C.M., Friedman, A. et al. (1993) *Science* 259,1745-1749.

Wang, B., Ugen, K.E., Srikantan, V., Agadjanyan, M.G., Dang, K., Refaeli, Y., Sato, A.I., Boyer, J., Williams, W.V. and Weiner, D.B. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90,4156-4160. 30

Xiang, Z.Q., Spitalnik, S., Tran, M., Wunner, W.H., Cheng, J. and Ertl, H.C. (1994) *Virology* 199,132-140.

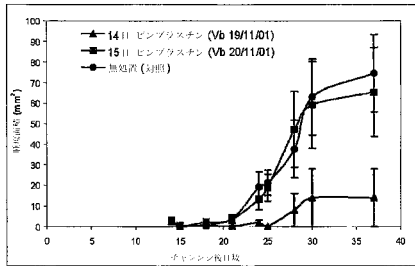
Yang, K., Mustafa, F., Valsamakis, A., Santoro, J.C., Griffin, D.E. and Robinson, H.L. (1997) *Vaccine* 15,888-891.

【図面の簡単な説明】

【0109】

【図1】中皮種領域のVb治療の影響。0日 = 中皮種接種、14日およびそれ以降の時点でノギスによって測定。腫瘍面積の平均値および平均値の標準誤差を示す。 40

【 図 1 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成16年11月10日 (2004.11.10)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

癌細胞に対するエフェクター細胞の数を増加し、かつ/またはエフェクター細胞を活性化する治療を受けている、癌を有する哺乳類被験体に、レギュレーター細胞の産生を阻害し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与すべき時期を決定するための方法であって、被験体から予め得られた試料をエフェクター細胞および/またはレギュレーター細胞の数もしくは活性、またはそれらのマーカーに関して分析する段階を含む方法。

【 請求項 2 】

急性期炎症マーカーのレベルを決定する段階を含む、請求項1記載の方法。

【 請求項 3 】

急性期炎症マーカーがc-反応性タンパク質である、請求項2記載の方法。

【 請求項 4 】

CD8+CD4- T細胞数を決定する段階を含む、請求項1記載の方法。

【 請求項 5 】

腫瘍細胞数を決定する段階を含む、請求項1記載の方法。

【 請求項 6 】

エフェクター細胞の数または活性の増加後、少なくとも約48時間ごとに被験体から得ら

れる試料を分析する段階を含む、請求項1から5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

エフェクター細胞の数または活性の増加後、少なくとも約24時間ごとに被験体から得られる試料を分析する段階を含む、請求項1から5のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体の腫瘍の負荷が減少した後に作用因子が投与され、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性が、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加し、かつ作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項9】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための抗癌化合物の使用であって、抗癌化合物が腫瘍負荷を減少し、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性が、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加し、その後被験体が、レギュレーター細胞の産生を阻害、および/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項10】

作用因子を投与する時期を決定するために、被験体における急性期炎症マーカーレベルの変動がモニターされる、請求項8または請求項9記載の使用。

【請求項11】

急性期炎症マーカーのレベルが減少し始めた際に作用因子が投与される、請求項10記載の使用。

【請求項12】

急性期炎症マーカーがc-反応性タンパク質である、請求項11記載の使用。

【請求項13】

腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答してCD8+CD4- T細胞数がほぼピークに達した際に、作用因子が投与される、請求項8または請求項9記載の使用。

【請求項14】

ほぼ腫瘍細胞数が減少し、かつレギュレーター細胞数が増加した際に、作用因子が投与される、請求項8または請求項9記載の使用。

【請求項15】

抗癌化合物を投与することによって、腫瘍の負荷が減少する、請求項8から14のいずれか一項記載の使用。

【請求項16】

抗癌化合物がピンブラスチンまたはアンヒドロピンブラスチンである、請求項15記載の使用。

【請求項17】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体が抗癌化合物に曝露されるか、手術によって腫瘍の少なくとも一部が除去されているか、または放射線療法を受け、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項18】

癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体が腫瘍抗原を予め投与され、それによって腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項 19】

腫瘍抗原を産生する癌を有する哺乳類被験体に投与する薬剤を製造するための腫瘍抗原の使用であって、腫瘍抗原によって、腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数の増加および/または活性化が得られ、被験体その後、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を投与され、かつ、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される、使用。

【請求項 20】

作用因子を投与する時期を決定するために、被験体における急性期炎症マーカーレベルの変動がモニターされる、請求項18または請求項19記載の使用。

【請求項 21】

急性期炎症マーカーがc-反応性タンパク質である、請求項20記載の使用。

【請求項 22】

c-反応性タンパク質レベルが低下し始める時期に作用因子が投与される、請求項21記載の使用。

【請求項 23】

CD8+CD4- T細胞数が腫瘍抗原の投与に応答してほぼピークに達した際に、作用因子が投与される、請求項18または請求項19記載の使用。

【請求項 24】

腫瘍抗原の投与後に、腫瘍細胞数がほぼ安定または減少し始めた際に作用因子が投与される、請求項18または請求項19記載の使用。

【請求項 25】

腫瘍抗原の投与後に、循環中の腫瘍抗原数がほぼ安定または減少し始めた際に、作用因子が投与される、請求項18または請求項19記載の使用。

【請求項 26】

腫瘍抗原および薬学的に許容される担体を含むワクチン組成物を投与することによって、被験体に抗原が提供される、請求項18から25のいずれか一項記載の使用。

【請求項 27】

ワクチン組成物がアジュバントをさらに含む、請求項26記載の使用。

【請求項 28】

抗原をコードするDNAワクチンを投与することによって、抗原が被験体に提供される、請求項18から25のいずれか一項記載の使用。

【請求項 29】

抗原を発現するトランスジェニック植物を消費することによって、抗原が被験体に提供される、請求項18から25のいずれか一項記載の使用。

【請求項 30】

作用因子が、抗増殖薬、放射線、およびレギュレーター細胞のダウンレギュレーション活性を阻害する抗体からなる群より選択される、請求項8から29のいずれか一項記載の使用。

【請求項 31】

抗体が抗CD4+である、請求項30記載の使用。

【請求項 32】

哺乳類被験体がヒトである、請求項8から30のいずれか一項記載の方法。

【請求項 33】

レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を含む、腫瘍負荷の減少後に哺乳類被験体における癌を治療するための薬剤であって、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないような時期に作用因子が投与される、薬剤。

【請求項 34】

哺乳類被験体における癌を治療するための、レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギ

レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子の使用であって、被験体の腫瘍負荷が減少しており、腫瘍負荷の減少の結果、被験体において腫瘍細胞に対するエフェクター細胞の数および/または活性が増加し、かつ、作用因子の使用により被験体におけるエフェクター細胞の活性が有意に低下しない、使用。

【請求項 35】

以下の段階を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法：

- i) 被験体における腫瘍の負荷を減少させる段階、
- ii) 腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数および/または活性を、腫瘍抗原に基づくエフェクター細胞の刺激に応答して増加させる段階、ならびに
- iii) レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子をその後被験体に投与する段階であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される段階。

【請求項 36】

レギュレーター細胞の産生を阻害し、レギュレーター細胞の機能を制限し、かつ/またはレギュレーター細胞を破壊する作用因子を被験体に投与する段階を含む、抗癌化合物に曝露されているか、手術によって腫瘍の少なくとも一部が除去されているか、または放射線療法を受けている哺乳類被験体における癌を治療する方法であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される方法。

【請求項 37】

以下の段階を含む、哺乳類被験体における癌を治療する方法：

- i) 腫瘍抗原に対するエフェクター細胞の数、および/または活性の増加が起こる、腫瘍抗原を投与する段階、および
- ii) レギュレーター細胞の産生を阻害、機能を制限、および/または破壊する作用因子を被験体にその後投与する段階であって、作用因子の投与時期が、エフェクター細胞の活性が有意に低下しないように選択される段階。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/AU03/00187
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl. ⁷ : A61K 39/00, A61P 35/00		
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)		
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 practicable, search terms used) WPAT: regulator cell, CD4, effector cell, CD8, CD25, tumor, tumour, tumor antigen, tumor vaccine, vaccine. MEDLINE: same as above		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Onizuka S. et al, Tumor rejection by in vivo administration of Anti-CD 25 (Interleukin-2-Receptor α) monoclonal antibody, Cancer Research, 1999, 59, 3128-3133, See whole document.	1-30
A	Woo E. Y. et al, Regulatory CD4 ⁺ CD25 ⁺ T cells in Tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer, Cancer Research, 2001, 61, 4766-4772, See whole document.	1-30
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input type="checkbox"/> 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	"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
"E"	Earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	Document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	Document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 11 April 2003	Date of mailing of the international search report 28 APR 2003	
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaaustralia.gov.au Facsimile No. (02) 6285 3929	Authorized officer SHUBHRA CHANDRA Telephone No : (02) 6283 2264	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/AU03/00187

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Shimizu J. et al, Induction of Tumor immunity by removing CD 25+CD4+ T cells: A common basis between tumor immunity and Autoimmunity, The Journal of Immunology, 1999, 163, 5211-5218, See whole document.	1-30
A	Sutmuller R. et al, Synergism of cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4 blockade and depletion of CD25+ regulatory T cells in antitumor Therapy reveals alternative pathways for suppression of autoreactive cytotoxic T lymphocyte responses, J. Exp. Med., 2001, 194 (6), 823-832, See whole document.	1-30

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 35/00	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 43/00	1 0 5
	A 6 1 P 43/00	1 0 7

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, 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, IT, LU, MC, NL, PT, 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, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, M X, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4C084 AA13 AA17 ZB21 ZB22 ZB26
 4C085 AA03 AA13 AA14 BB01 BB31 CC03 EE01 EE06
 4C086 AA01 CB21 MA01 MA04 NA14 ZB21 ZB22 ZB26