202222825

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202222825 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：111102348 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 07 月 06 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/725 (2006.01)* *C07K16/28 (2006.01)*
C12N5/0783 (2010.01) *C12N15/115 (2010.01)*
A61K39/00 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2015/07/06 美國 62/188,870
2015/07/06 英國 1511792.2

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

(72)發明人：馬爾 安德列 MAHR, ANDREA (DE)；文史恩克 湯尼 WEINSCHENK, TONI (DE)；宋 寇雷特 SONG, COLETTE (DE)；史古兒 奧利佛 SCHOOR, OLIVER (DE)；弗里切 金斯 FRITSCHE, JENS (DE)；辛格 哈皮特 SINGH, HARPREET (DE)

(74)代理人：李世章；彭國洋

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：3 共 262 頁

(54)名稱

用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

(57)摘要

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

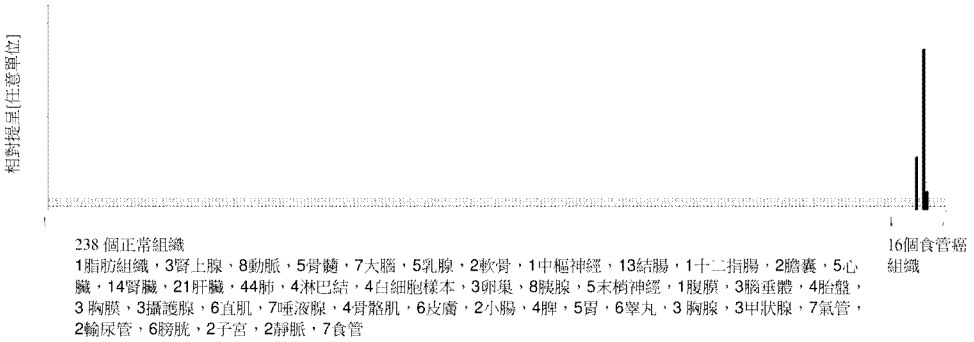
The present invention relates to peptides, proteins, nucleic acids and cells for use in immunotherapeutic methods. In particular, the present invention relates to the immunotherapy of cancer. The present invention furthermore relates to tumor-associated T-cell peptide epitopes, alone or in combination with other tumor-associated peptides that can for example serve as active pharmaceutical ingredients of vaccine compositions that stimulate anti-tumor immune responses, or to stimulate T cells ex vivo and transfer into patients. Peptides bound to molecules of the major histocompatibility complex (MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

指定代表圖：

TW 202222825 A

圖 1A

肽： STYGGGLSV (A*02)
SEQ ID NO: 1



20222202
20222202
專利案號：111102348

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

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

【中文】

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

【英文】

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

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

【指定代表圖】第（ 1A ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

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

【技術領域】

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

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

【先前技術】

【0003】 食道癌是全球第八大最常見的癌症，2012年的5年發病人數為464063患者。死亡率與發病率非常相

似（2012年為400,169對比455,784），提示食道癌死亡率很高（World Cancer Report, 2014; Ferlay et al., 2013; Bray et al., 2013）。

【0004】 鱗狀細胞癌和腺癌代表著食道癌兩種最常見的亞型。這兩種亞型在男性中比女性多見，但它們表現出明顯不同的地域分佈。鱗狀細胞癌在資源匱乏的地區更為普遍，特別是伊朗伊斯蘭共和國、中國部分地區和辛巴威發病率很高。腺癌是白種人和社會經濟狀況好的人群中最常見的食道癌類型，英國、澳大利亞、荷蘭和美國處於領先地位。發生食道鱗狀細胞癌的最大風險因素包括酒精和抽菸，而食道腺癌主要與肥胖和胃食道反流病有關。食道腺癌發病率在高收入國家穩步上升，這可能歸因於肥胖和胃食道反流病的發病率上升以及胃食道交界處腫瘤分類的變化。神經內分泌癌、腺樣囊性癌、腺鱗癌、粘液表皮樣癌、混合型腺神經內分泌癌、各種肉瘤和黑色素瘤代表著食道癌罕見的亞型 （World Cancer Report, 2014）。

【0005】 食道癌的主要治療策略取決於腫瘤分期和位置、組織學類型和患者病情。單純手術是不夠的，除非用於一小部分的鱗狀細胞癌患者。一般情況下，手術應該與術前和術後化療或術前放化療相結合，而單純的術前或術後放療被證明不能帶來生存獲益。化療方案包括奧沙利鉑+氟尿嘧啶，卡鉑+紫杉醇，順鉑+氟尿嘧啶，FOLFOX和順鉑+伊立替康。腫瘤HER2陽性的患者應當根據胃癌

治療指南使用順鉑、氟尿嘧啶和曲妥珠單抗聯合進行治療，這是因為食道癌靶向治療的隨機化資料非常有限(Stahl et al., 2013; Leitlinie Magenkarzinom, 2012)。

【0006】 在一般情況下，大多數類型的食道癌如果是早期腫瘤可很好地治療，而對於晚期治療成功非常有限。因此，開發新的篩選方案對於降低食道癌相關的死亡率可能非常有效 (World Cancer Report, 2014)。

【0007】 免疫療法可能是治療晚期食道癌有前途的一種新方法。幾個癌症相關基因和癌症-睪丸抗原被證明在食道癌中過度表達，包括不同的MAGE基因、NY-ESO-1和EpCAM (Kimura et al., 2007; Liang et al., 2005b; Inoue et al., 1995; Bujas et al., 2011; Tanaka et al., 1997; Quillien et al., 1997)。這些基因代表著免疫治療非常有趣的靶標，其中大部分正在接受研究用於治療其他惡性腫瘤(ClinicalTrials.gov, 2015)。此外，PD-L1和PD-L2被描述在食道癌中上調，這與較差的預後相關。因此，腫瘤呈PD-L1陽性的食道癌患者可能會從抗PD-L1免疫治療中獲益 (Ohigashi et al., 2005)。

【0008】 目前，食道癌免疫治療方法的臨床資料仍然相對較少，這是因為只完成了數量很有限的早期階段臨床試驗 (Toomey et al., 2013)。在一項I期試驗中，晚期食道癌患者被給予一種疫苗，其包含來自三個不同癌症-

睪丸抗原（TTK蛋白激酶、淋巴細胞抗原6複合體基因座K和胰島素樣生長因子(IGF)-IImRNA結合蛋白3），結果一般（Kono et al., 2009)。在一項I/II期研究中，11名患者中有4名患者自體腫瘤細胞和白細胞介素2在體外刺激後腫瘤內注入活化的T細胞引起完全或部分腫瘤反應（Toh et al., 2000; Toh et al., 2002)。目前正在進行進一步的臨床試驗，以評估不同免疫療法對食道癌的影響，包括繼細胞治療（NCT01691625、NCT01691664、NCT01795976、NCT02096614、NCT02457650）疫苗接種策略（NCT01143545、NCT01522820）和抗PD-L1療法（NCT02340975）(ClinicalTrials.gov, 2015)。

【0009】 考慮到治療癌症相關的嚴重副作用和費用，通常有必要確定可用於治療癌症的因子，尤其是食道癌。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是食道癌，從而更好地診斷癌症、評估預後和預測治療成功性。

【0010】 癌症免疫治療代表了癌症細胞特異性靶向作用的一個選項，同時最大限度地減少副作用。癌症免疫療法利用存在的腫瘤相關抗原。

【0011】 腫瘤相關抗原(TAA)的目前分類主要包括以下幾組：

a）癌-睪丸抗原：T細胞能夠識別的最先確認的TAA屬於這一類抗原，由於其成員表達于組織學相異的人腫瘤中、正常組織中、僅在睪丸的精母細胞/精原細胞中、偶爾在

胎盤中，因此，它最初被稱為癌-睪丸(CT)抗原。由於睪丸細胞不表達HLAI類和II類分子，所以，在正常組織中，這些抗原不能被T細胞識別，因此在免疫學上可考慮為具有腫瘤特異性。CT抗原大家熟知的例子是MAGE家族成員和NY-ESO-1。

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

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

d)腫瘤特異性抗原：這些獨特的TAA產生于正常基因(如β-catenin、CDK4等）的突變。這些分子變化中有一些與致瘤性轉化和/或進展相關。腫瘤特異性抗原一般可在不對正常組織帶來自體免疫反應風險的情況下誘導很強的免疫反應。另一方面，這些TAA在多數情況下只與其

上確認了有TAA的確切腫瘤相關，並且通常在許多個體腫瘤之間並不都共用TAA。在含有腫瘤特定（相關）同種型蛋白的情況下，如果肽源自腫瘤（相關）外顯子也可能出現肽腫瘤特異性（或相關性）。

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

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

【0012】 基於T細胞的免疫治療靶向作用于主要組織相容性複合體(MHC)分子表現的來源於腫瘤相關蛋白或腫瘤特異性蛋白的肽表位。腫瘤特異性T淋巴細胞所識別的抗原，即其表位，可以是源自所有蛋白類型的分子，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中被表達，並且與同源未變的細胞相比，其表達通常上調。

【0013】 MHC分子有兩類：MHC I類和MHC II類。MHC I類分子由一條α重鏈和β-2-微球蛋白，MHC II

類分子由一條α和一條β鏈組成。其三位構造形成一個結合槽，用於與肽進行非共價相互作用。

【0014】 大部分有核細胞上都可發現MHC-I類分子。他們呈現主要為內源性的蛋白、缺陷核糖體產物(DRIP)和較大肽裂解生成的肽。然而，源自內體結構或外源性來源的肽也經常在MHC-I類分子上發現。這種I-類分子非經典呈現方式在文獻中被稱為交叉呈現（Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990)。MHC II類分子主要發現于專業抗原呈現細胞(APC)上，並且主要呈現，例如，在內吞作用過程中由APC佔據並且隨後被加工的外源性或跨膜蛋白的肽。

【0015】 肽和MHC I類的複合體由負載相應T細胞受體(TCR)的CD8陽性T細胞進行識別，而肽和MHC II類分子的複合體由負載相應TCR的CD4陽性輔助T細胞進行識別。因此，TCR、肽和MHC按照1:1:1的化學計量呈現，這一點已是共識。

【0016】 CD4陽性輔助T細胞在誘導和維持CD8陽性細胞毒性T細胞的有效反應中發揮重要作用。腫瘤相關抗原(TAA)衍生的CD4陽性T細胞表位的識別對開發能引發抗腫瘤免疫反應的藥物產品可能非常重要（Gnjatic et al., 2003)。在腫瘤部位，T輔助細胞維持著對細胞毒性T細胞(CTL)友好的細胞因子環境（Mortara et al., 2006）並吸引效應細胞，如CTL、天然殺傷(NK)細胞、巨噬細胞和粒細胞（Hwang et al., 2007)。

【0017】 在沒有炎症的情況下，MHC II類分子的表達主要局限於免疫系統細胞，尤其是專業抗原呈現細胞(APC)，例如，單核細胞、單核細胞源性細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞。在癌症患者的腫瘤細胞中發現有MHC II類分子的表達 (Dengjel et al., 2006)。

【0018】 本發明的拉長（較長）肽可作為MHC-II類活性表位。MHC-II類表位活化的輔助T細胞在編排抗腫瘤免疫的CTL效應子功能中發揮著重要作用。觸發T_{H1}細胞反應的輔助T細胞表位支援CD8陽性殺傷T細胞的效應子功能，其中包括直接作用於腫瘤細胞的細胞毒性功能（該類腫瘤細胞表面顯示有腫瘤相關肽/MHC複合體）。這樣，腫瘤相關T輔助細胞表位單獨使用或與其他腫瘤相關肽結合使用可作為刺激抗腫瘤免疫反應的疫苗化合物的活性藥物成分。

【0019】 哺乳動物（如小鼠）模型顯示，即使沒有CD8陽性T淋巴細胞，CD4陽性T細胞也能透過分泌干擾素-γ(IFNγ)抑制血管生成而足以抑制腫瘤的表現(Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999)。沒有CD4 T細胞作為直接抗腫瘤效應因子的證據 (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014)。

【0020】 由於HLA II類分子的組成性表達通常僅限於免疫細胞，因此，直接從原發腫瘤中分離II類肽之前被認為是不可能的事。然而，Dengjel等人成功地在腫瘤中

直接識別了多個MHC II類表位（WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1）。

【0021】 由於CD8依賴型和CD4依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵由CD8+T細胞（配體：MHC I類分子+肽表位）或CD4陽性T輔助細胞（配體：MHC II類分子）識別的腫瘤相關抗原對開發腫瘤疫苗非常重要。

【0022】 對於MHC I類肽觸發（引發）細胞免疫反應的肽，它也必須與MHC分子結合。這一過程依賴於MHC分子的等位基因以及肽氨基酸序列的特異性多態性。MHC-I類-結合肽的長度通常為8-12個氨基酸殘基，並且在其與MHC分子相應結合溝槽相互作用的序列中通常包含兩個保守殘基（「錨」）。這樣，每個MHC的等位基因都有「結合基序」，從而確定哪些肽能與結合溝槽特異性結合。

【0023】 在MHC-I類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些MHC-I類分子結合，而且它們之後還必須能被T細胞負載的特異性T細胞受體(TCR)識別。

【0024】 對於被T淋巴細胞識別為腫瘤特異性抗原或相關性抗原以及用於治療的蛋白質，必須具備特殊的條件。該抗原應主要由腫瘤細胞表達，而不由正常健康組織表達，或表達數量相對較少。在一個優選的實施方案中，與正常健康組織相比，所述肽應在腫瘤細胞中過度表現。更為適宜的情況是，該相應抗原不僅出現於一種腫瘤中，

而且濃度（即每個細胞的相應肽拷貝數目）高。腫瘤特異性抗原和腫瘤相關抗原往往是源自直接參與因細胞週期控制或凋亡抑制中的其功能而發生的正常細胞向腫瘤細胞轉化的蛋白。另外，這些直接導致轉化事件的蛋白的下游靶標可能會被上調，因此可能與腫瘤間接相關。這些間接腫瘤相關抗原也可能是預防接種方法的靶標(Singh-Jasuja et al., 2004)。至關重要的是，表位存在於抗原氨基酸序列中，以確保這種來自腫瘤相關抗原的肽（「免疫原性肽」）可導致體外或體內T細胞反應。

【0025】 基本上，任何能與MHC分子結合的肽都可能充當一個T細胞表位。誘導體外或體內T細胞反應的前提是存在具有相應TCR的T細胞並且不存在對該特定表位的免疫耐受性。

【0026】 因此，TAA是基於T細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗）研發的起點。識別和表徵TAA的方法通常基於對患者或健康受試者T細胞的使用情況，或基於腫瘤與正常組織肽之間差別轉錄特性或差別表達模式的產生。然而，對腫瘤組織或人腫瘤細胞株中過量表達或選擇性表達的基因的識別並不提供在免疫療法中使用這些基因所轉錄抗原的準確資訊。這是因為，有著相應TCR的T細胞必須要存在而且對這個特定表位的免疫耐受性必須不存在或為最低水準，因此，這些抗原的表位只有一部分適合這種應用。因此，在本發明的一非常優選的實施例中，只選擇那些針對可發現功能性和/或增殖性T細胞情況的過量

表現或選擇性表現肽，這一點非常重要。這種功能性T細胞被定義為在以特異性抗原刺激後能夠克隆地擴展並能夠執行效應子功能（「效應子T細胞」）的T細胞。

【0027】 在透過根據本發明的特定TCR（例如可溶性TCR）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於肽-MHC的情況下，潛在肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，表現是決定因素。

【發明內容】

【0028】 在本發明的第一方面，本發明涉及一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組的一個氨基酸序列、或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少77%，優選至少88%同源（優選至少77%或至少88%相同）的一種變體序列（其中所述變體與MHC結合和/或誘導T細胞與所述肽發生交叉反應），或其藥用鹽（其中所述肽不是潛在全長多肽）。

【0029】 本發明進一步涉及本發明的一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少77%、優選至少88%同源性(優選為至少77%或至少88%相同）的一種變體，其中所述肽或其變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0030】 下表顯示了根據本發明的肽、它們各自的SEQ ID NO、以及這些肽的可能源（潛在）基因。表1和表2中的所有肽均與HLA-A*02結合。表2中的肽之前

在大型列表中披露，作為高通量篩查結果，錯誤率高，或使用演算法計算出，但之前與癌症毫無關聯。表3中的肽是可與本發明其他肽組合使用的其他肽。表4中的肽還可用於診斷和/或治療各種其他惡性疾病，這些疾病涉及過量表達或過度表現各潛在多肽。

【0031】 表1：本發明中的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
1	STYGGGLSV	3861, 3868	KRT14, KRT16
2	SLYNLGGSKRISI	3852	KRT5
3	TASAITPSV	3852	KRT5
4	ALFGTILEL	2769	GNA15
5	NLMASQPQL	5317	PKP1
6	LLSGDLIFL	2709	GJB5
7	SIFEGLLSGV	2709	GJB5
8	ALLDGGSEAYWRV	84985	FAM83A
9	HLIAEIHTA	5744	PTHLH
10	SLDENSDQQV	6273	S100A2
11	ALWLPTDSATV	3914	LAMB3
12	GLASRILDA	3914	LAMB3
13	SLSPVILGV	26525	IL36RN
14	RLPNAGTQV	3655	ITGA6
15	LLANGVYAA	55107	ANO1
16	VLAEGGEGV	10630	PDPN
17	MISRTPEV	2155, 28396, 3500, 3501, 3502, 3503, 3507	F7, IGHV4-31, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM
18	FLLDQVQLGL	83882	TSPAN10
19	GLAPFLLNAV	101060689, 154761, 285966	FAM115C
20	IIEVDPDTKEML	100505503, 402057, 442216, 6218	RPS17L, RPS17P16, RPS17P5, RPS17
21	IVREFLTAL	27297	CRCP
22	KLNDTYVNV	23306	TMEM194A
23	KLSDSATYL		無相關基因
24	LLFAGTMTV	29785	CYP2S1

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
25	LLPPPPPPA	9509	ADAMTS2
26	MLAEKLLQA	2195	FAT1
27	NLREGDQLL	113146	AHNAK2
28	SLDGFTIQV	4939	OAS2
29	SLDGTELQL	284114	TMEM102
30	SLNGNQVTV	79832	QSER1
31	VLPKLYVKL	100996747, 441502, 6231, 643003, 644928, 728937, 729188	RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P15, RPS26P25, RPS26P58
32	YMLDIFHEV	3038	HAS3
33	GLDVTSLRPFDL	2316	FLNA
34	SLVSEQLEPA	11187	PKP3
35	LLRFSQDNA	51056	LAP3
36	FLLRFSQDNA	51056	LAP3
37	YTQPFSHYGQAL	6051	RNPEP
38	IAAIRGFLV	83451	ABHD11
39	LVRDTQSGSL	871	SERPINH1
40	GLAFSLYQA	871	SERPINH1
41	GLESEELEPEEL	8106	PABPN1
42	TQTAVITRI	81610	FAM83D
43	KVVGKDYLL	832	CAPZB
44	ATGNDRKEAAENSL	7531	YWHAE
45	MLTELEKAL	6279	S100A8
46	YTAQIGADIAL	64499, 7177	TPSB2, TPSAB1
47	VLASGFLTV	79183	TTPAL
48	SMHQMLDQTL	7168	TPM1
49	GLMKDIVGA	8942	KYNU
50	GMNPHQTPAQL	471	ATIC
51	KLFGHLTSA	57157	PHTF2
52	VAIGGVDGNVRL	9948	WDR1
53	VVVTGLTLV	396	ARHGDIA
54	YQDLLNVKM	1674, 4741, 4744, 4747, 7431, 9118	DES, NEFM, NEFH, NEFL, VIM, INA
55	GAIDLLHNV	115362	GBP5
56	ALVEVTEHV	54972	TMEM132A
57	GLAPNTPGKA	9055	PRC1
58	LILESIPVV	5597	MAPK6
59	SLLDTLREV	9989	PPP4R1
60	VVMEELLKV	23191	CYFIP1

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
61	TQTTHELTI	5093	PCBP1
62	ALYEYQPLQI	4331	MNAT1
63	LAYTLGVKQL	158078, 1915, 1917	EEF1A1P5, EEF1A1, EEF1A2
64	GLTDVIRDV	80028	FBXL18
65	YVVGGFLYQRL	4074	M6PR
66	LLDEKVQSV	57616	TSHZ3
67	SMNGGVFAV	23657	SLC7A11
68	PAVLQSSGLYSL	28396, 3500, 3501, 3502, 3503, 3507	IGHV4-31, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM
69	GLLVGSEKVTM	3861, 3868, 644945	KRT14, KRT16, KRT16P3
70	FVLDTSESV	1291, 1292	COL6A1, COL6A2
71	ASDPILYRPVAV	5315	PKM
72	FLPPAQVTV	65083	NOL6
73	KITEAIQYV	6095	RORA
74	ILASLATSV	10844	TUBGCP2
75	GLMDDVDFKA	10525	HYOU1
76	KVADYIPQL	2744	GLS

【0032】 表2：本發明中的其他肽，之前與癌症無已知的關聯

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
77	VLVPYEPPQV	8626	TP63
78	KVANIIAEV	5910	RAP1GDS1
79	GQDVGRYQV	6748	SSR4
80	ALQEALENA	9631	NUP155
81	AVLPHVDQV	23379	KIAA0947
82	HLLGHLEQA	63977	PRDM15
83	ALADGVVSQA	27238	GPKOW
84	SLAESLDQA	22894	DIS3
85	NIIELVHQV	6850	SYK
86	GLLTEIRAV	9263	STK17A
87	FLDNGPKTI	1982	EIF4G2
88	GLWEQENHL	79768	KATNBL1
89	SLADSLYNL	23271	CAMSAP2
90	SIYEYYHAL	3091	HIF1A
91	KLIDDVHRL	6734	SRPR

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
92	SILRHVAEV	1965	EIF2S1
93	VLINTSVTL	23036	ZNF292

【0033】 表3：用於例如個性化癌症療法的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
94	TLLQEQGTKTV	286887, 3852, 3853, 3854	KRT6C, KRT5, KRT6A, KRT6B
95	LIQDRVAEV	3914	LAMB3
96	GAAVRIGSVL	9150	CTDP1
97	ELDRTPPEV	23450	SF3B3
98	VLFPNLKTV	646	BNC1
99	RVAPEEHPVL	440915, 60, 641455, 71, 728378	POTEKP, ACTB, POTEM, ACTG1, POTEF
100	GLYPDAFAPV	1991	ELANE
101	AMTQLLAGV	3371	TNC

【0034】 本發明還一般涉及本發明的肽用於治療增殖性疾病，例如，肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病。

【0035】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組。更優選的是所述肽（單獨或組合）選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:76（見表1）的組，並且其用於食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選為食道癌的免疫治療。

【0036】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括SEQ ID NO: 1、2、3、5、6、7、8、9、10、

11、12、13、15、16、17、18、19、25、26、30、32、34、37、40、51、55、57、58、59、62、81和82的組群及其在食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選食道癌的免疫治療中的用途。進一步特別優選的是根據SEQ ID NO: 9的肽。

【0037】 如示下面的表4A所示，其中本發明的許多肽也發現於其他腫瘤中，因此也可用於其他適應症的免疫治療。另請參閱圖1和實施例1。

【0038】 表4A：本發明的肽及其在其他增殖性疾病(特別是其他癌性疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量表現（特定表現）於5%以上測定的腫瘤樣本，或表現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於3。過度表現定義為與最高表現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的表現更高。對比過度表現組織檢測的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神經、結腸、十二指腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	其他相關器官/疾病
2	SLYNLGGSKRISI	NSCLC
3	TASAITPSV	NSCLC、膀胱癌

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
4	ALFGTILEL	NSCLC
7	SIFEGLLSGV	膀胱癌
8	ALLDGGSEAYWRV	NSCLC、OC
9	HLIAEIHTA	NSCLC
11	ALWLPTDSATV	NSCLC、黑色素瘤
12	GLASRILDA	膀胱癌
13	SLSPVILGV	子宮癌
15	LLANGVYAA	HCC
17	MISRTPEV	NSCLC、RCC、HCC
22	KLNDTYVNV	SCLC、腦癌、HCC
26	MLAEKLLQA	CRC
29	SLDGTELQL	BRCA
31	VLPKLYVKL	GC
32	YMLDIFHEV	膀胱癌
33	GLDVTSLRPFDL	GC
34	SLVSEQLEPA	CRC、膀胱癌
35	LLRFSQDNA	GC、HCC
36	FLLRFSQDNA	GC
37	YTQPFSHYGQAL	GC、PC
38	IAAIRGFLV	GC
39	LVRDTQSGSL	GC
40	GLAFSLYQA	NSCLC、PC、BRCA、膀胱癌
41	GLESEELEPEEL	GC
42	TQTAVITRI	GC
45	MLTELEKAL	GC
46	YTAQIGADIAL	GC
47	VLASGFLTV	膀胱癌
49	GLMKDIVGA	HCC
50	GMNPHQTPAQL	GC
51	KLFGHLTSA	膽囊癌、膽管癌
52	VAIGGVDGNVRL	GC
54	YQDLLNVKM	RCC、GC
55	GAIDLLHNV	GC
56	ALVEVTEHV	BRCA
57	GLAPNTPGKA	NSCLC、SCLC、BRCA、黑色素瘤
58	LILESIPVV	NSCLC、黑色素瘤
61	TQTTHELTI	SCLC、白血病
62	ALYEYQPLQI	NSCLC、HCC、膀胱癌
63	LAYTLGVKQL	GC
66	LLDEKVQSV	腦癌、黑色素瘤

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
67	SMNGGVFAV	腦癌、HCC
68	PAVLQSSGLYSL	GC、PC
69	GLLVGSEKVTM	PC
70	FVLDTSESV	GC、HCC、黑色素瘤、OC
71	ASDPILYRPVAV	GC、PC
72	FLPPAQVTV	NSCLC、GC、HCC、白血病、黑色素瘤
73	KITEAIQYV	BRCA
74	ILASLATSV	CRC、HCC、膀胱癌
75	GLMDDVDFKA	BRCA、黑色素瘤、膀胱癌
76	KVADYIPQL	NSCLC、SCLC
77	VLVPYEPPQV	NSCLC、膀胱癌
78	KVANIIAEV	PC、白血病、OC
80	ALQEALENA	NSCLC、SCLC、腦癌、CRC、HCC、白血病、BRCA、OC
81	AVLPHVDQV	腦癌
82	HLLGHLEQA	NSCLC、HCC、白血病、BRCA
83	ALADGVVSQA	腦癌、GC、黑色素瘤、膀胱癌
85	NIIELVHQV	白血病
86	GLLTEIRAV	腦癌、膀胱癌
87	FLDNGPKTI	腦癌、PC、OC
88	GLWEQENHL	NSCLC、BRCA
89	SLADSLYNL	腦癌、BRCA、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
91	KLIDDVHRL	PC、PrC
92	SILRHVAEV	NSCLC、CRC、HCC、膽囊癌、膽管癌
94	TLLQEQGTKTV	NSCLC
NSCLC=非小細胞肺癌，SCLC=小細胞肺癌，RCC=腎癌，CRC =結腸或直腸癌，GC =胃癌， HCC = 肝癌，PC =胰腺癌，PrC=攝護腺癌，白血病，BrCa=乳腺癌		

【0039】 表4B：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途（表4修訂版）。該表（如表4A）顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量表現（特定表現）於5%以上測定的腫瘤樣本，或表現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正

常組織的比值大於3。過度表現定義為與最高表現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的表現更高。經過度表現的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神經、結腸、十二指腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	其他其他實體
1	STYGGGLSV	NSCLC、黑色素瘤、HNSCC
2	SLYNLGGSKRISI	膀胱癌、HNSCC
3	TASAITPSV	HNSCC
4	ALFGTILEL	膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
5	NLMASQPQL	HNSCC
6	LLSGDLIFL	HNSCC
7	SIFEGLLSGV	NSCLC、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
8	ALLDGGSEAYWRV	膀胱癌、HNSCC
10	SLDENSDQQV	膀胱癌、HNSCC
11	ALWLPTDSATV	膽囊癌、膽管癌
13	SLSPVILGV	NSCLC、黑色素瘤、膀胱癌、HNSCC
14	RLPNAGTQV	黑色素瘤
15	LLANGVYAA	膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
16	VLAEGGEGV	腦癌、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
17	MISRTPEV	膀胱癌
18	FLLDQVQLGL	黑色素瘤、NHL、HNSCC
19	GLAPFLLNAV	黑色素瘤、NHL、HNSCC
20	IIEVDPDTKEML	HNSCC
22	KLNDTYVNV	BRCA
23	KLSDSATYL	黑色素瘤
25	LLPPPPPPA	膽囊癌、膽管癌、NHL、HNSCC
28	SLDGFTIQV	BRCA、黑色素瘤、AML
29	SLDGTELQL	子宮癌、NHL
30	SLNGNQVTV	BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽

序列ID號	序列	其他其他實體
		管癌、HNSCC
32	YMLDIFHEV	膽囊癌、膽管癌、HNSCC
34	SLVSEQLEPA	HNSCC
40	GLAFSLYQA	CRC、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
42	TQTAVITRI	HNSCC
48	SMHQMLDQTL	GC
51	KLFGHLTSA	膽囊癌、膽管癌
53	VVVTGLTLV	GC、膀胱癌
55	GAIDLLHNV	SCLC、黑色素瘤、NHL
56	ALVEVTEHV	RCC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
57	GLAPNTPGKA	膀胱癌、子宮癌、HNSCC
58	LILESIPVV	SCLC、CLL、膀胱癌、子宮癌、NHL、HNSCC
59	SLLDTLREV	HNSCC
62	ALYEYQPLQI	SCLC、BRCA、黑色素瘤、OC、膽囊癌、膽管癌、NHL
66	LLDEKVQSV	膀胱癌、HNSCC
67	SMNGGVFAV	NSCLC、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
68	PAVLQSSGLYSL	NHL
69	GLLVGSEKVTM	HNSCC
72	FLPPAQVTV	CLL、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
74	ILASLATSV	BRCA、HNSCC
75	GLMDDVDFKA	GC、HCC、膽囊癌、膽管癌、NHL、HNSCC
76	KVADYIPQL	RCC、BRCA、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、NHL
77	VLVPYEPPQV	NHL、HNSCC
78	KVANIIAEV	膀胱癌、HNSCC
79	GQDVGRYQV	SCLC、PC、PrC、CLL、BRCA、OC、膀胱癌、AML、NHL
80	ALQEALENA	黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
81	AVLPHVDQV	子宮癌、NHL
82	HLLGHLEQA	RCC
83	ALADGVVSQA	子宮癌
84	SLAESLDQA	黑色素瘤、子宮癌、AML、NHL、HNSCC
85	NIIELVHQV	CLL
86	GLLTEIRAV	黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、AML、NHL、HNSCC
87	FLDNGPKTI	膀胱癌、HNSCC
88	GLWEQENHL	CRC、子宮癌、AML、HNSCC
89	SLADSLYNL	黑色素瘤
90	SIYEYYHAL	NHL、HNSCC

序列ID號	序列	其他其他實體
92	SILRHVAEV	BRCA、黑色素瘤、AML、NHL

NSCLC=非小細胞肺癌，SCLC=小細胞肺癌，RCC=腎癌，CRC=結腸或直腸癌，GC=胃癌，HCC=肝癌，PC=胰腺癌，PrC=攝護腺癌，BRCA=乳腺癌，OC=卵巢癌，NHL=非霍奇金淋巴瘤，AML=急性骨髓性白血病，CLL=慢性淋巴細胞白血病，HNSCC=頭頸部鱗狀細胞癌。

【0040】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、2、3、4、7、8、9、11、13、17、40、57、58、62、67、72、76、77、80、82、88、92和94中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療非小細胞肺癌。

【0041】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號18、19、25、29、55、58、62、68、75、76、77、79、81、84、86、90和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療淋巴瘤。

【0042】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號22、55、58、62、57、61、76、79和80中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療小細胞肺癌。

【0043】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號17、56、76、82和54中任一項所述的本發明的至少

一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療腎細胞癌。

【0044】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號16、22、66、67、80、81、83、86、87和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療腦癌。

【0045】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號31、33、35、36、37、38、39、41、42、45、46、48、50、52、53、54、55、63、68、70、75和71中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療胃癌。

【0046】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號26、34、40、74、80、88和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療結直腸癌。

【0047】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號15、17、22、35、49、62、67、70、72、74、75、80、82和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療肝細胞癌。

【0048】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO: 37、40、68、69、71、78、79、87和91中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療胰腺癌。

【0049】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號79和91中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療攝護腺癌。

【0050】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號4、28、58、61、72、78、79、80、82、84、86、88、92和85中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療白血病。

【0051】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號22、28、29、30、40、56、57、62、73、74、75、76、79、80、82、88、92和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療乳腺癌。

【0052】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、13、14、11、16、18、19、23、28、30、40、55、57、58、62、66、70、72、75、76、80、84、86、89、92和83中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療黑色素瘤。

【0053】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號8、62、70、78、79、80和87中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療卵巢癌。

【0054】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號2、3、4、7、8、10、12、13、15、17、30、32、34、40、47、53、57、58、62、66、72、74、75、

77、78、79、83、86、87和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膀胱癌。

【0055】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號13、15、29、30、40、56、57、58、80、81、83、84和88中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療子宮癌。

【0056】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號4、7、11、15、16、25、30、32、40、51、56、62、67、72、75、76、80、86、89和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膽囊癌和膽管癌。

【0057】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、2、3、4、5、6、7、8、10、13、16、18、19、20、25、30、32、34、40、42、57、58、59、66、67、69、72、74、75、77、78、80、84、86、87、88和90中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療HNSCC。

【0058】 因此，本發明的另一個方面涉及本發明中肽的用途 - 優選聯合用於治療選自食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病組中的增殖性疾病。

【0059】 本發明還涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或以拉長形式存在的例如長度變化的-MHC-II類分子結合的能力。

【0060】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中所述肽（每種肽）系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的一個氨基酸序列組成。

【0061】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵。

【0062】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽為融合蛋白的一部分，特別是與HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸融合，或與抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）或抗體的序列融合。

【0063】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明的肽。本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0064】 本發明進一步涉及一種能表達和/或表達本發明核酸的表達載體。

【0065】 本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種治療疾病的藥用表達載體，特別是用於治療癌症。

【0066】 本發明進一步涉及本發明中肽或本發明中所述肽複合體（含有MHC）的特定抗體以及製造這些抗體的方法。

【0067】 本發明進一步涉及本發明的T細胞受體(TCR)，特別是可溶性TCR（sTCRs）和加工為自體或異體T細胞的克隆TCR，以及製造這些TCR的方法和載有所述TCR或所述TCR交叉反應的NK細胞的製造方法。

【0068】 抗體和TCR是根據本發明的肽現有免疫治療用途的另外實施方案。

【0069】 本發明進一步涉及含本發明核酸或前述表達載體的一種宿主細胞。本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0070】 本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0071】 本發明進一步涉及本發明中的所述方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的 I 或 II 類MHC分子。

【0072】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原呈現細胞由能表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93、優選為含SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO:76所述肽的一個表達載體、或一個變體氨基酸序列組成。

【0073】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0074】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者按本發明方法製造的有效量T細胞。

【0075】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的核酸、本發明的表達載體、本發明的細胞、本發明的作為藥劑或製造藥劑的活化T淋巴細胞、T細胞受體或抗體或其他肽-和/或肽-MHC結合分子的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0076】 優選情況為，所述藥劑為基於可溶性TCR或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0077】 本發明還一般涉及本發明的用途，其中所述癌細胞為食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選為食道癌細胞。

【0078】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷癌症，優選為食道癌。所述標誌物可以肽本身過度表現或相應基因過度表達。標誌物也可以用於預測治療成功的可能性，優選為免疫療法，最優選為靶向作用於該生物標誌物識別的相同靶標的免疫療法。例如，抗體或可溶性TCR可用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關肽與MHC複合。

【0079】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。

【0080】 本發明還涉及這些癌症治療中新靶點的用途。

【0081】 ABHD11反義RNA1（ABHD11-AS1）被描述為長鏈非編碼RNA，這被證明在胃癌中上調，與分化和Lauren組織學分類相關。因此，ABHD11-AS1可能是胃癌診斷的一個潛在生物標誌物（Lin et al., 2014）。ABHD11活性顯示與在肺腺癌遠處轉移的發展相關，因此可能是一種潛在的新生物標誌物（Wiedl et al., 2011）。

【0082】 ADAMTS2被證明在T/髓性混合型急性白血病患者中失調（Tota et al., 2014）。ADAMTS2被描述為透過骨肉瘤細胞IL-6在上調後與JNK信號通路相關（Alper and Kockar, 2014）。ADAMTS2可能是濾泡甲狀腺癌一種潛在的診斷標誌物（Fontaine et al., 2009）。ADAMTS2被描述為舌鱗狀細胞癌轉移一種潛在的標誌物（Carinci et al., 2005）。ADAMTS2被證明在腎細胞癌中上調，與較短的患者生存期相關（Roemer et al., 2004）。ADAMTS2被證明透過細胞增殖相關轉化生長因子-β1調節（Wang et al., 2003）。

【0083】 AHNAK2編碼支架蛋白AHNAK核蛋白2（Marg et al., 2010）。AHNAK2是參與腫瘤生長和

侵襲的成纖維細胞生長因子1(FGF1)非經典分泌途徑的重要元素（Kirov et al., 2015)。

【0084】 ANO1編碼anoctamin1，這是與小腸肉瘤和口腔癌相關的一種鈣啟動氯離子通道（RefSeq, 2002)。ANO1在食道鱗狀細胞癌(ESCC)、胃腸道間質瘤(GIST)、頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)、胰腺癌和乳腺癌中擴增（Qu et al., 2014)。

【0085】 ARHGDIA被證明在肝細胞癌中以及乳腺癌發生時下調（Liang et al., 2014; Bozza et al., 2015)。ARHGDIA被證明是與肝細胞癌的腫瘤侵犯、轉移、總體生存和至復發時間有關。因此，ARHGDIA可提供肝細胞癌的潛在治療靶標（Liang et al., 2014)。ARHGDIA被證明經杠柳素（periplocin）治療後在肺癌細胞系A549中下調。因此，杠柳素抑制肺癌細胞的生長可能與ARHGDIA有關（Lu et al., 2014)。ARHGDIA敲減被證明與肺源性正常和培養腫瘤細胞的凋亡增加相關。因此，ARHGDIA被描述為細胞凋亡的負調節劑，這可能代表一種潛在的治療靶標(Gordon et al., 2011)。ARHGDIA被描述為與卵巢透明細胞和高級別漿液性癌分期有關（Canet et al., 2011)。ARHGDIA被描述為一種凋亡途徑相關基因，該基因顯示在TRAIL介導的細胞凋亡後在纖維肉瘤HT1080細胞中失調（Daigeler et al., 2008)。ARHGDIA被證明在奧沙利鉑耐藥性結腸癌細胞系

THC8307/L-OHP中上調，被描述為一種參與抗凋亡的基因。因此，ARHGDIA可能是與奧沙利鉑敏感性相關的潛在標誌物（Tang et al., 2007）。ARHGDIA過度表達被證明由假定的腫瘤抑制因子ACVR2（癌症相關TGFBR2家族的一員）來調節，發生於攜帶ACVR2移碼突變的野生型ACVR2轉染MSI-H結腸癌細胞系(Deacu et al., 2004)。ARHGDIA被描述為Rho GTP酶的關鍵調節因子。ARHGDIA耗竭被證明可誘導Rho GTP酶和COX-2途徑的組成型活化，這些途徑與乳腺癌異種移植動物模型中的乳腺癌進展相關（Bozza et al., 2015）。ARHGDIA信令被證明在結直腸癌中失調(Sethi et al., 2015)。ARHGDIA被證明在SUMO化後靶向作用於MEK1/2-ERK，這與c-Jun/AP-1的抑制、細胞週期蛋白d1轉錄和細胞週期進程相關。因此，ARHGDIA與癌細胞生長抑制有關（Cao et al., 2014）。ARHGDIA被描述為攝護腺癌的一種新型抑制因子，可能在調節雄激素受體信號傳導和攝護腺癌生長和進展中起著關鍵作用（Zhu et al., 2013b）。

【0086】 ATIC被描述為間變性大細胞淋巴瘤中癌症相關間變性淋巴瘤激酶的一種潛在基因融合伴侶(Cheuk and Chan, 2001)。ATIC被證明在膀胱炎性肌纖維母腫瘤中表現為與ALK一起的嵌合體融合基因(Debiec-Rychter et al., 2003)。乳腺癌細胞系模型中ATIC氨基咪唑甲醯胺轉甲醯酶(AICAR)活性的抑

制顯示可導致細胞數和細胞分裂速率的劑量依賴性降低。因此，ATIC可能是癌症治療的潛在靶標(Spurr et al., 2012)。

【0087】 據報告，CAPZB 在人乳頭瘤病毒 18 陽性口腔鱗狀細胞癌中過度表達，被確定為攝護腺癌易感基因(Lo et al., 2007; Nwosu et al., 2001)。

【0088】 COL6A1 在去勢抵抗性攝護腺癌的反應基質中上調，促進腫瘤生長(Zhu et al., 2015)。Col6A1 在 CD166-胰腺癌細胞中過度表達，這些細胞比 CD166+ 癌細胞顯示出更強的侵襲和遷移活性(Fujiwara et al., 2014)。COL6A1 在骨轉移癌中高表達(Blanco et al., 2012)。COL6A1 被發現在宮頸癌和卵巢癌中上調(Zhao et al., 2011; Parker et al., 2009)。COL6A1 在星形細胞瘤和膠質母細胞瘤中中差異性表達(Fujita et al., 2008)。

【0089】 COL6A2 與子宮頸癌、高級別漿液性卵巢癌整體存活差、B-前體急性淋巴細胞白血病、肝細胞癌、原發性和轉移性腦腫瘤、肺鱗狀上皮細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌相關，且被描述為子宮頸癌的潛在DNA甲基化(Cheon et al., 2014; Chen et al., 2014d; Vachani et al., 2007; Liu et al., 2010; Seong et al., 2012; Hogan et al., 2011)。

【0090】 CYFIP1 被證明在上皮性腫瘤侵襲期間下調(Silva et al., 2009)。CYFIP1 下調與上皮腫瘤的預後不良相關 (Silva et al., 2009)。

【0091】 CYP2S1被證明可透過與β-catenin信號通路的PGE2-介導的活化相關聯而調節細胞系HCT116中結直腸癌的生長 (Yang et al., 2015b)。CYP2S1被描述為在多種上皮衍生癌症中和在低氧腫瘤細胞中上調(Nishida et al., 2010; Madanayake et al., 2013)。支氣管上皮細胞系中CYP2S1耗竭被證明可導致主要途徑中調節改變，這些通路涉及細胞增殖和遷移，諸如mTOR信號通路 (Madanayake et al., 2013)。CYP2S1耗竭被證明與結直腸癌和乳腺癌的藥物敏感度相關 (Tan et al., 2011)。CYP2S1被證明與乳腺癌存活有關，並與結直腸癌預後不良相關(Murray et al., 2010; Kumarakulasingham et al., 2005)。CYP2S1被證明可將BaP-7,8-二醇代謝為高度誘變和致癌的苯並[a]芘-r-7，叔-8-二氫二醇-叔-9,10-環氧，因此，可能在苯並[a]芘-誘發的癌變中發揮重要作用(Bui et al., 2009)。與原發性卵巢癌相比，CYP2S1被證明在卵巢癌轉移中顯著上調 (Downie et al., 2005)。

【0092】 DES 在結直腸癌間質中的表達與晚期疾病相關 (Arentz et al., 2011)。DES 被證明在結直腸癌中上調 (Ma et al., 2009)。DES 被證明與結直腸癌

的嚴重程度和分化以及生存率下降有關（Ma et al., 2009）。DES 被描述為結直腸癌的一種潛在的癌胚血清腫瘤標誌物（Ma et al., 2009）。DES 被證明是橫紋肌肉瘤的一種特異性標誌物（Altmannsberger et al., 1985）。DES 被描述為一組蛋白質三個成員中其中之一，這些蛋白質可能有助於透過使用免疫組織化學對膀胱癌進行分期（Council and Hameed, 2009）。

【0093】 DIS3 被證明在多發性骨髓瘤中經常突變，在急性髓細胞白血病中反復突變（Ding et al., 2012; Lohr et al., 2014）。多發性骨髓瘤中 DIS3 突變被證明與總體生存期較短相關。與主要亞克隆 DIS3 突變的患者相比，次要亞克隆突變被證明與對治療較差的反應有關（Weissbach et al., 2015）。DIS3 被證明透過 13q 增加在結直腸癌中上調。DIS3 沉寂被證明可影響重要的腫瘤發生特徵，例如生存能力、遷移和侵襲性。因此，DIS3 可能是有助於結直腸癌進展的新型候選基因（de Groen et al., 2014）。DIS3 被描述為屬於可與基於血漿蛋白生物標誌物聯合使用以便較早診斷上皮性卵巢癌的基因系列（Pils et al., 2013）。DIS3 可能是乳腺癌易感的潛在候選基因，因為乳腺癌突變篩查檢測出眾多的多態性（Rozenblum et al., 2002）。

【0094】 EEF1A1 被證明在多種癌症實體中上調，包括結直腸癌、卵巢癌、胃癌、攝護腺癌、膠質母細胞瘤和鱗狀細胞癌，被描述為攝護腺癌的潛在血清生物標誌物

(Lim et al., 2011; Qi et al., 2005; Matassa et al., 2013; Vui-Kee et al., 2012; Kuramitsu et al., 2010; Kido et al., 2010; Scrideli et al., 2008; Rehman et al., 2012)。從機理上來看，EEF1A1透過與p53和p73相互作用而抑制細胞凋亡，透過細胞週期抑制劑p21基因轉錄抑制促進增殖並參與上皮-間質轉化的調節(Blanch et al., 2013; Choi et al., 2009; Hussey et al., 2011)。

【0095】EEF1A2被描述為在乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、胃癌、攝護腺癌和TFE3易位腎細胞癌中上調(Pflueger et al., 2013; Sun et al., 2014; Yang et al., 2015c; Zang et al., 2015; Abbas et al., 2015)。EEF1A2被證明與卵巢癌、胃癌、胰腺導管腺癌和肺腺癌的不良預後相關(Duanmin et al., 2013; Yang et al., 2015c; Li et al., 2006; Lee and Surh, 2009)。EEF1A2被描述為與腫瘤發生相關，因為它刺激磷脂信令並啟動Akt依賴性細胞遷移和肌動蛋白重塑，這最終有利於腫瘤發生(Abbas et al., 2015)。EEF1A2被描述可透過MDM4的PI3K/AKT/mTOR依賴性穩定而抑制肝細胞癌中的p53功能。EEF1A2/PI3K/AKT/mTOR/MDM4信號通路的強活化被證明與肝細胞癌的生存期短有關，因此，可能是一些患者的治療靶標(Longerich, 2014)。EEF1A2被證明與胰腺癌患者的TNM分期、侵襲性和生

存期相關。因此，EEF1A2可能是胰腺癌治療的一個潛在靶標（Zang et al., 2015）。EEF1A2被證明透過促進細胞增殖和凋亡抑制與攝護腺癌發展相關，因此，可作為攝護腺癌的潛在治療靶標（Sun et al., 2014）。EEF1A2被證明與腫瘤抑制蛋白p16相互作用，這導致EEF1A2的下調，並與癌細胞生長抑制相關（Lee et al., 2013）。EEF1A2被證明與胰腺導管腺癌的淋巴結轉移和神經浸潤有關（Duanmin et al., 2013）。EEF1A2被證明與乳腺癌生存相關（Kulkarni et al., 2007）。EEF1A2被描述為肺腺癌細胞系和卵巢癌的一種假定癌基因和腫瘤抑制基因（Lee, 2003; Zhu et al., 2007a）。

【0096】 EIF2S1 被描述為磷酸化後的腫瘤進展和治療抗性的啟動子。但是，EIF2S1 也被描述牽涉腫瘤發生的抑制效果（Zheng et al., 2014）。EIF2S1 被描述為 mTOR 的下游效應因子，在過度磷酸化降低癌細胞的生存期，因此可作為藥物開發的靶標（Tuval-Kochen et al., 2013）。

【0097】 EIF4G2 被描述為一組核心基因中的一個基因，這些基因被證明與兒童膠質瘤 CD133+ 細胞腫瘤形成的消除有關（Baxter et al., 2014）。EIF4G2 顯示在透過 miR-520c-3p 下調後與彌漫性大 B 細胞淋巴瘤的發展抑制有關（Mazan-Mamczarz et al., 2014）。EIF4G2 被證明可透過調節細胞週期蛋白的合

成促進蛋白質合成和細胞增殖（Lee and McCormick, 2006）。EIF4G2 被證明在膀胱腫瘤中下調，且下調與侵入性腫瘤相關（Buim et al., 2005）。EIF4G2 被描述為參與 MycN/IFN γ 誘導的細胞凋亡以及神經母細胞瘤細胞的生存能力和死亡（Wittke et al., 2001）。

【0098】 組織因子複合物中的 F7 與被描述在癌細胞（包括卵巢癌）的表面異常表達。複合物被進一步描述為與卵巢癌的惡性表型誘導相關（Koizume and Miyagi, 2015）。F7-組織因子複合物通路被描述為乳腺癌進展的介導因子，其可刺激乳腺癌細胞中大量惡性表型的表達。因此，F7-組織因子途徑是乳腺癌治療的一個有吸引力的潛在靶標（Koizume and Miyagi, 2014）。F7 被證明在乳腺癌中由雄激素受體調節（Naderi, 2015）。F7 被證明與透過肝癌細胞系中的 mTOR 信號傳到而調節自噬作用（Chen et al., 2014a）。F7 被證明與結直腸癌和卵巢癌的腫瘤浸潤和轉移有關（Tang et al., 2010; Koizume et al., 2006）。F7 被證明在結直腸癌中異位上調（Tang et al., 2009）。組織因子複合物中的 F7 被證明與神經母細胞瘤的化療耐藥相關（Fang et al., 2008a）。

【0099】 FAM115C 在非小細胞肺癌缺氧時上調（Leithner et al., 2014）。

【0100】 FAM83A被描述為肺癌的潛在生物標誌物（Li et al., 2005）。FAM83A被描述為可與 NPY1R

和 KRT19 作為一組板用於檢測乳腺癌患者迴圈腫瘤細胞的標記基因 (Liu et al., 2014d)。乳腺癌細胞FAM83A阻斷顯示可導致MAPK信號傳導減弱，顯著抑制體外生長和體內致瘤性 (Cipriano et al., 2014)。另外，FAM83 蛋白家族被描述為一個新穎的癌基因家族，其調節癌症中的MAPK信號傳導，因此適用于開發旨在抑制 MAPK信號傳導的癌症治療方法 (Cipriano et al., 2014)。FAM83A被證明與 HER2 陽性乳腺癌細胞系的曲妥單抗耐藥性相關 (Boyer et al., 2013)。一般情況下，FAM83A被證明是與乳腺癌 EGFR 酪氨酸激酶抑制劑抗性相關的候選基因 (Lee et al., 2012)。FAM83A被描述為與乳腺癌預後不良相關 (Lee et al., 2012)。FAM83A被證明在非小細胞肺癌中上調 (Qu et al., 2010)。FAM83A被證明是一個潛在的特異性和敏感性標誌物，用以檢測非小細胞肺癌患者外周血中的迴圈腫瘤細胞 (Qu et al., 2010)。

【0101】 FAM83D 的上調影響肝細胞癌細胞的增殖和侵襲 (Wang et al., 2015a; Liao et al., 2015b)。FAM83D 在乳腺癌細胞系和原發性人類乳腺癌中顯著升高 (Wang et al., 2013b)。

【0102】 FAT1被描述為在頭頸部鱗狀細胞癌中明顯突變，在宮頸腺癌、膀胱癌、早期T細胞前體急性淋巴細胞白血病、氟達拉濱(Fludarabine)難治慢性淋巴細胞性白血病、膠質母細胞瘤和結直腸癌中頻繁突變，在食道

鱗狀細胞癌中突變（Gao et al., 2014; Neumann et al., 2013; Morris et al., 2013; Messina et al., 2014; Mountzios et al., 2014; Cazier et al., 2014; Chung et al., 2015）。FAT1被描述為在口腔癌中被壓抑，在浸潤性乳腺癌中優先下調（Katoh, 2012）。FAT1被描述為在白血病中上調，其與前B急性淋巴細胞白血病的不良預後相關（Katoh, 2012）。FAT1被證明在胰腺癌和肝細胞癌中上調（Valletta et al., 2014; Wojtalewicz et al., 2014）。FAT1被描述可透過河馬信號傳導的啟動來抑制腫瘤生長，並透過肌動蛋白聚合誘導來促進腫瘤轉移（Katoh, 2012）。FAT1被證明是皮膚鱗狀細胞癌的一種候選癌症驅動基因（Pickering et al., 2014）。FAT1被描述為與Wnt信號傳導和腫瘤發生相關的一種腫瘤抑制因子（Morris et al., 2013）。

【0103】 根據其亞細胞定位，細絲蛋白 A 在癌症中起雙重作用：在細胞質中，細絲蛋白 A 除了參與細胞遷移和黏附通路外，還在不同的生長信號通路中發揮作用。因此，其過度表達有腫瘤促進作用。相比全長細絲蛋白 A，C 端片段（蛋白質蛋白水解後釋放）定位於細胞核，在那裏，它與轉錄因子相互作用，從而抑制腫瘤生長和轉移（Savoy and Ghosh, 2013）。

【0104】 GBP5 的腫瘤特異性 C-末端截短被描述為可能負責淋巴瘤細胞中 GBP5 失調（Wehner and

Herrmann, 2010)。GBP5因為皮膚T細胞淋巴瘤腫瘤組織和細胞系以及黑色素瘤細胞系中三種 GBP5 剪接變體的限制性表達模式被描述為具有可能的癌症相關功能(Fellenberg et al., 2004)。

【0105】 GJB5 被證明在非小細胞肺癌細胞系、喉癌和頭頸部鱗狀細胞癌中下調 (Zhang et al., 2012; Broghammer et al., 2004; Al Moustafa et al., 2002)。GJB5 被描述為在非小細胞肺癌細胞系透過抑制細胞增殖和轉移而充當腫瘤抑制因子 (Zhang et al., 2012)。GJB5 被證明在無梗鋸齒狀腺瘤/息肉、癌前病變(可能占結腸癌的 20-30%)中上調(Delker et al., 2014)。GJB5 表達被描述為在小鼠模型中皮膚腫瘤促進和發展期間顯著改變 (Slaga et al., 1996)。

【0106】 GLS被描述為由MYC基因間接調節,以增加癌細胞的穀氨醯胺代謝 (Dang et al., 2009)。GLS顯示被結直腸癌中的腫瘤抑制因子NDRG2抑制 (Xu et al., 2015)。GLS被描述為在胰腺導管腺癌、三陰性乳腺癌、肝細胞癌、口腔鱗狀細胞癌、結直腸癌和惡性膠質細胞源性腫瘤中上調 (van Geldermalsen et al., 2015; Szeliga et al., 2014; Huang et al., 2014a; Cetindis et al., 2015; Yu et al., 2015a; Chakrabarti et al., 2015)。GLS被證明與肝細胞癌的存活相關,也被描述為肝細胞癌病理診斷和預後的一種敏感和特異的生物標誌物 (Yu et al., 2015a)。一個

GLS拷貝的損失被證明可延緩肝細胞癌免疫相關MYC介導小鼠模型中的腫瘤進展（Xiang et al., 2015）。GLS被證明是腫瘤發生和腫瘤特異性抑制所需的，GLS被描述為癌症治療的一種潛在方法（Xiang et al., 2015）。GLS被證明與乳腺癌紫杉醇耐藥性有關（Fu et al., 2015a）。GLS過度表達被證明與攝護腺癌患者的腫瘤分期和進展高度相關（Pan et al., 2015）。GLS表達與較深的腫瘤浸潤和結腸癌腫瘤發生中管狀腺癌的病理類型有關。GLS可作為結直腸癌治療的靶標（Huang et al., 2014a）。GLS同工酶KGA的沉寂被證明可導致神經膠質瘤細胞系SFxL和LN229存活率下降（Martin-Rufian et al., 2014）。神經膠質瘤細胞系SFxL和LN229中GLS的沉寂也被證明可透過引起較低水準的c-*myc*和bcl-2表達以及更高的促凋亡表達從而導致誘導細胞凋亡（Martin-Rufian et al., 2014）。ErbB2活化被證明可透過NF-κB通路上調GLS表達，這促進了乳腺癌細胞增殖（Qie et al., 2014）。乳腺癌細胞GLS的敲減或抑制以及高水準GLS被證明可導致增殖顯著降低（Qie et al., 2014）。

【0107】 GNA15被證明在原發性和轉移性小腸神經內分泌腫瘤中上調（Zanini et al., 2015）。GNA15表達增加被證明與較差生存期相關，這表明GNA15在小腸神經內分泌瘤形成中可能具有病理生物學作用，從而可能是一個潛在的治療靶標（Zanini et al., 2015）。

GNA15被描述為在許多非小細胞肺癌細胞系中下調(Avasarala et al., 2013)。正常核型急性骨髓性白血病中GNA15高表達被證明與顯著較差的總體存活相關(de Jonge et al., 2011)。GNA15被證明是非經典Wnt信號傳導的關鍵下游效應因子以及非小細胞肺癌細胞增殖和錨定非依賴性細胞生長的調節因子。因此，GNA15是非小細胞肺癌的一個潛在治療靶標(Avasarala et al., 2013)。GNA15被證明與胰腺癌的致瘤信令相關(Giovinazzo et al., 2013)。GNA15被證明在人類胚胎腎293細胞中組成性活化後經c-Src/JAK和ERK依賴性機制刺激STAT3(Lo et al., 2003)。

【0108】 HAS3表達不足被證明與上尿路和膀胱尿路上皮癌的晚期腫瘤分期、淋巴結轉移、血管浸潤和較差特定疾病生存期和無轉移生存期相關(Chang et al., 2015)。因此，HAS3可用作尿路上皮癌的潛在預後生物標誌物和新型治療靶標(Chang et al., 2015)。HAS3被證明透過透明質酸積累而有利於胰腺癌的生長(Kultti et al., 2014)。HAS3抑制被證明可降低結直腸腺癌細胞系SW620的存活能力(Heffler et al., 2013)。HAS3抑制被證明與涉及SW620結直腸腫瘤細胞存活調節的數種基因的差異表達相關(Heffler et al., 2013)。HAS3被證明透過抑制凋亡與結腸癌生長的介導相關(Teng et al., 2011)。HAS3被證明在

食道鱗狀細胞癌、腺癌、肺鱗狀細胞癌和結節性基底細胞癌中上調（Tzellos et al., 2011; Twarock et al., 2011; de Sa et al., 2013）。HAS3被描述為乳腺癌的一種獨立的預後因子，因為乳腺癌患者間質細胞中HAS3表被證明與高復發率和較短的總體存活相關（Auvinen et al., 2014）。HAS3被證明與漿液性卵巢癌、腎透明細胞癌、子宮內膜癌和骨肉瘤有關（Nykopp et al., 2010; Weiss et al., 2012; Cai et al., 2011; Tofuku et al., 2006）。

【0109】HIF1A被證明與侵襲性子宮內膜癌的腫瘤壞死相關。HIF1A被進一步描述為治療這種疾病的潛在靶標（Bredholt et al., 2015）。HIF1A被證明與肝癌發生、肉瘤轉移和鼻咽癌相關（Chen et al., 2014c; El-Naggar et al., 2015; Li et al., 2015b）。HIF1A的單核苷酸多態性被證明與手術後侵襲性肝癌患者的臨床結果顯著相關（Guo et al., 2015）。異常HIF1A活性伴隨異常STAT3活性被證明可推動惡性神經鞘瘤細胞系中的腫瘤進展。因此，抑制STAT3/HIF1A/VEGF-A信號傳導軸被描述為一種可行的治療策略（Rad et al., 2015）。HIF1A被描述為多發性骨髓瘤缺氧驅動耐藥性的一個重要靶標（Maiso et al., 2015）。HIF1A被證明在三種不同細胞系中不對稱表達，這三種細胞系對應於多發性骨髓瘤發病的不同階段，這表明HIF1A參與多發性骨髓瘤的腫瘤發生和轉

移（Zhao et al., 2014b）。長非編碼HIF1A反義RNA-2被描述為在非乳頭狀透明細胞腎癌和胃癌中上調，與胃癌的腫瘤細胞增殖和不良預後相關（Chen et al., 2015b）。透過HIF1A的PI3K/AKT/mTOR途徑去調節被描述為對攝護腺癌幹細胞的靜止、維護和存活至關重要（Marhold et al., 2015）。HIF1A被描述為4-基因分類中的一個基因，可預測I期肺腺癌（Okayama et al., 2014）。HIF1A的多態性被證明與亞洲人群消化道癌的易感性增加相關（Xu et al., 2014）。HIF1A描述為散發性男性乳腺癌的預後標誌物（Deb et al., 2014）。

【0110】細胞內HYOU1蛋白的活性已被證實在腫瘤進展或轉移過程中為癌細胞存活提供益處。細胞外HYOU1蛋白透過促進遞送腫瘤抗原進行交叉表現而在抗腫瘤免疫應答的產生中起重要作用（Fu and Lee, 2006; Wang et al., 2014）。HYOU1蛋白已經被引入癌症免疫治療中，並呈現積極的免疫調節作用（Yu et al., 2013; Chen et al., 2013; Yuan et al., 2012; Wang and Subjeck, 2013）。

【0111】研究顯示，與相鄰非癌組織相比，IGHG1在人類胰腺癌組織中過度表達。與此相反，IGHG1蛋白在浸潤性導管癌組織中下調（Kabbage et al., 2008; Li et al., 2011b）。IGHG1的siRNA靶向沉寂能夠抑制細胞活力，促進細胞凋亡（Pan et al., 2013）。

【0112】 研究人員發現，IGHG3 在受乳腺癌影響的沙特女性中表達。同樣，在攝護腺癌非洲裔男性中檢測到拷貝數提高以及 IGHG3 水準升高。另一份報告顯示，IGHG3 表達發現於鱗狀非小細胞肺癌、惡性間皮瘤以及腫瘤細胞上，這些細胞偶爾見於 MALT 淋巴瘤並顯示有分化成漿細胞的傾向（Remmelink et al., 2005; Bin Amer et al., 2008; Ledet et al., 2013; Zhang et al., 2013c; Sugimoto et al., 2014）。

【0113】 IGHG4 編碼免疫球蛋白重鏈恒定伽瑪 4（G4m 標誌物），位於染色體 14q32.33 上（RefSeq, 2002）。最近的研究檢測到，在原發性睾丸彌漫性大 B 細胞淋巴瘤中涉及 IGHG4 的重排（Twa et al., 2015）。

【0114】 IGHM 編碼免疫球蛋白重鏈恒定 μ（RefSeq, 2002）。研究發現 IGHM 在受橫紋肌肉瘤影響的中國患者中下調。其他人檢測到彌漫性大 B 細胞淋巴瘤中的 IGHM 表達。另一組發現，在彌漫性大 B 細胞淋巴瘤中，IGHM 基因只在大多數 IgM+ 腫瘤中有效 IGH 等位基因上保存。此外，上皮錯構瘤樣本對結合到 IGHM 增強因子 3 的轉錄因子或轉錄因子 EB 未顯示任何反應性（Kato et al., 2009; Blenk et al., 2007; Ruminy et al., 2011; Liu et al., 2014b）。

【0115】 IL36RN 被描述為可顯著區分 III 期和 I、II 期肺腺癌的標誌物（Liang et al., 2015）。

【0116】 INA表達降低與胰腺神經內分泌腫瘤的轉移、復發和較短的總生存期相關。因此，INA可能是胰腺神經內分泌腫瘤侵襲性的一個有用的預後生物標誌物(Liu et al., 2014a)。INA被描述為在少突膠質細胞表型膠質瘤中上調，INA表達被證明與少突膠質母細胞瘤和膠質母細胞瘤的無進展生存相關 (Suh et al., 2013)。INA被描述為神經母細胞瘤的標誌物，可用于兒童期小圓形細胞腫瘤的鑒別診斷工作 (Willoughby et al., 2008)。

【0117】 ITGA6表達在不同癌症實體（乳腺癌、攝護腺、結腸癌、胃癌）中上調，並與腫瘤進展和細胞侵襲有關 (Mimori et al., 1997; Lo et al., 2012; Haraguchi et al., 2013; Rabinovitz et al., 1995; Rabinovitz and Mercurio, 1996)。ITGA6的Abeta4變體的增殖作用似乎透過Wnt/β-連環蛋白通路來介導 (Groulx et al., 2014)。ITGA6的Abeta4變體導致PI3K/Akt/mTOR途徑的VEGF依賴性活化。此途徑在轉移癌細胞的存活中具有重要作用(Chung et al., 2002)。

【0118】 KRT14在各種鱗狀細胞癌（如食道癌、肺癌、喉癌、宮頸癌）以及腺瘤牙源性腫瘤中高度表達。但是，在膀胱小細胞癌中不存在，在肺腺癌、胃腺癌、結直腸腺癌、肝細胞癌、胰腺導管腺癌、乳腺浸潤性導管癌、甲狀腺乳頭狀癌和子宮內膜樣腺癌中較弱 (Xue et al.,

2010; Terada, 2012; Vasca et al., 2014; Hammam et al., 2014; Shruthi et al., 2014)。在膀胱癌中，KRT14 表達與較差生存期強烈相關(Volkmer et al., 2012)。

【0119】 KRT16 過度表達發現於基底樣乳腺癌細胞系以及原位癌中。其他人未發現非復發性成釉細胞瘤和復發性成釉細胞瘤之間 KRT16 免疫組化表達的顯著差異(Joosse et al., 2012; Ida-Yonemochi et al., 2012; Safadi et al., 2016)。此外，矽片分析表明了轉移性乳腺癌中 KRT16 表達與較短無復發生存之間相關 (Joosse et al., 2012)。

【0120】 KRT5 被證明在年輕女性的乳腺癌中上調(Johnson et al., 2015)。KRT5 被證明與年輕女性乳腺癌的較差無病生存以及激素受體陽性乳腺癌絕經前患者的臨床結果相關(Johnson et al., 2015; Sato et al., 2014)。KRT5 被證明透過乳腺癌細胞系 HCC1937 和 T47D 中的腫瘤抑制因子 BRCA1 調節(Gorski et al., 2010)。KRT5 被證明在惡性胸膜間皮瘤中失調 (Melaiu et al., 2015)。KRT5 被描述為惡性間皮瘤的診斷性間皮標誌物 (Arif and Husain, 2015)。KRT5 被證明與子宮內膜癌進展有關(Zhao et al., 2013)。KRT5 被證明在疣狀癌患者的浸潤性腫瘤區域下調 (Schumann et al., 2012)。KRT5 被證明屬於四個蛋白質系列的一部分，與正常組織樣本相比，其

在結直腸癌活檢物中差異表達（Yang et al., 2012）。KRT5 和四個蛋白系列的其他三個蛋白被描述為新型標誌物以及結直腸癌治療的潛在標靶（Yang et al., 2012）。KRT5 被描述為與基底細胞癌有關（Depianto et al., 2010）。KRT5 被描述為確定尿路上皮癌幹細胞的候選基因（Hatina and Schulz, 2012）。

【0121】 涉及 KYNU 的犬尿氨酸路徑的啟動被證明在膠質母細胞瘤中顯著較高，表明犬尿氨酸途徑參與神經膠質瘤的病理生理學（Adams et al., 2014）。KYNU 被描述為癌症聯基因，其表達時在 MDA-MB-231 乳腺癌細胞系中芳香烴受體敲減後改變（Goode et al., 2014）。KNYU 被證明在高度和非侵襲性骨肉瘤細胞系中差異表達，這表明它可能在骨肉瘤腫瘤形成的過程中具有重要作用。因此，KYNU 也可能代表未來治療靶標的一個候選基因（Lauvrak et al., 2013）。KYNU 被證明與非致瘤性 HeLa 和人皮膚成纖維細胞的混合細胞的致瘤性再表達相關。因此，KYNU 可為致瘤表達的調節提供一個相關候選（Tsujimoto et al., 1999）。

【0122】 LAMB3與其他兩個基因的組合轉錄分析被證明有利於甲狀腺乳頭狀癌的診斷和淋巴結轉移風險的預測（Barros-Filho et al., 2015）。LAMB3被證明與口腔鱗狀細胞癌、攝護腺癌、胃癌、結直腸癌、尤因氏家族腫瘤、肺癌、乳腺癌和卵巢癌的癌症實體相關（Volpi et al., 2011; Ii et al., 2011; Reis et al.,

2013; Stull et al., 2005; Irifune et al., 2005; Tanis et al., 2014)。LAMB3被證明在宮頸鱗狀細胞癌、肺癌、胃癌、鼻咽癌和食道鱗狀細胞癌中上調(Kwon et al., 2011; Wang et al., 2013a; Yamamoto et al., 2013; Kita et al., 2009; Fang et al., 2008b)。LAMB3被描述為一種蛋白，其已知可影響細胞分化、遷移、黏附、增殖和存活並充當宮頸鱗狀細胞癌的癌基因 (Yamamoto et al., 2013)。LAMB3的敲減被證明可抑制肺癌細胞體外和體內侵襲和轉移。因此，LAMB3是在肺癌發生和轉移中起重要作用的關鍵基因 (Wang et al., 2013a)。LAMB3被證明透過頭頸部鱗狀細胞癌中的腫瘤抑制因子 miR-218調節 (Kinoshita et al., 2012)。頭頸部鱗狀細胞癌中 LAMB3的沉寂被證明可導致細胞遷移和侵襲的抑制(Kinoshita et al., 2012)。LAMB3表達與食道鱗狀細胞癌的浸潤深度和靜脈浸潤相關 (Kita et al., 2009)。LAMB3的甲基化被證明與膀胱癌預後不良的幾個參數相關 (Sathyanarayana et al., 2004)。

【0123】 LAP3 的抑制被證明可透過 fascin 和 MMP-2/9 的下調導致卵巢癌細胞系 ES-2 中侵襲抑制。因此，LAP3 可以充當潛在的抗轉移治療靶標 (Wang et al., 2015d)。LAMB3的高表達被證明與惡性腫瘤的分級和膠質瘤患者的預後不良相關 (He et al., 2015)。LAP3 被證明可透過調節細胞生長、遷移和侵

襲而促進神經膠質瘤的進展，因而可能是一個新的預測因子（He et al., 2015）。在高微衛星不穩定性的胃癌和結直腸癌中檢測到涉及氨基酸代謝的基因（包括LAP3）的移碼突變（Oh et al., 2014）。LAP3被證明在肝細胞癌、食道鱗狀細胞癌和攝護腺癌中上調（Zhang et al., 2014; Tian et al., 2014; Lexander et al., 2005）。LAP3被證明透過調節細胞週期和晚期細胞遷移的G1/S期檢查點，以促進肝癌細胞增殖（Tian et al., 2014）。LAP3的表達進一步顯示與肝細胞癌的預後和惡性發展相關（Tian et al., 2014）。食道鱗狀細胞癌細胞系ECA109中LAP3的沉寂被證明可降低細胞增殖和集落形成，而LAP3敲減導致細胞週期停滯(Zhang et al., 2014)。食道鱗狀細胞癌細胞系TE1中LAP3過度表達被證明有利於細胞增殖和侵襲（Zhang et al., 2014）。因此，LAP3被證明在食道鱗狀細胞癌的惡性發展中發揮作用（Zhang et al., 2014）。

【0124】研究人員報告，M6PR在結腸癌細胞系以及絨毛膜細胞中有表達（Braulke et al., 1992; O'Gorman et al., 2002）。在乳腺癌中，M6PR低水準表達與患者預後較差相關（Esseghir et al., 2006）。此外，M6PR過度表達導致在體外細胞生長率降低以及裸鼠中腫瘤生長下降（O'Gorman et al., 2002）。

【0125】 MAPK6被證明在調節乳腺癌細胞系MDA-MB-231的細胞形態和遷移中起作用(Al-Mahdi et al., 2015)。MAPK6被描述為癌症相關MAPK信號傳導途徑的一部分，與黑色素瘤的BRAF和MEK1/2信令相關(Lei et al., 2014; Hoeflich et al., 2006)。MAPK6被證明在肺癌、胃癌和口腔癌中上調(Long et al., 2012; Rai et al., 2004; Liang et al., 2005a)。MAPK6被證明可透過致癌基因SRC-3的磷酸化促進肺癌細胞侵襲。因此，MAPK6可能是侵襲性肺癌治療的一個有吸引力的靶標(Long et al., 2012)。MAPK6被描述為耐藥性乳腺癌細胞抗癌藥物開發的潛在靶標(Yang et al., 2010)。MAPK6在胃癌中過度表達被證明與TNM分期、漿膜浸潤和淋巴結累及相關(Liang et al., 2005a)。MAPK6被證明是核心細胞週期機械元件細胞週期蛋白D3的結合伴侶，表明MAPK6在細胞增殖中具有潛在活性(Sun et al., 2006)。

【0126】 MNAT1被證明與雌激素受體陽性/HER2陰性乳腺癌的不良預後相關(Santarpia et al., 2013)。粒細胞生成期間MNAT1內在碎片損失被證明可促進白血病成髓細胞的生長和轉移(Lou et al., 2013)。MNAT1被證明在推定的癌基因ADRM1敲減後在卵巢癌細胞系OAW42中失調(Fejzo et al., 2013)。siRNA介導的MNAT1基因沉寂被證明可在體外抑制胰

腺癌細胞系BxPC3的細胞生長，並在體內實現對皮下移植胰腺腫瘤的抗腫瘤作用（Liu et al., 2007a）。MNAT1的遺傳變體被描述與肺癌的易感性相關（Li et al., 2007）。用重組腺病毒編碼的反義MNAT1感染胰腺癌細胞系BxPC3顯示可導致MNAT1表達下降以及G0/G1期細胞的比例增加。因此，表明MNAT1在胰腺癌細胞系BxPC3中細胞週期G1到S期轉變的調節中起重要作用（Zhang et al., 2005）。MNAT1調節週期蛋白依賴性激酶啟動激酶活性被證明可交叉調節神經母細胞瘤細胞G1期阻滯，並在神經母細胞瘤的增殖到分化的轉變中發揮關鍵作用（Zhang et al., 2004）。

【0127】乳腺癌中NEFH的DNA甲基化相關沉寂被證明是頻繁的、具有癌症特異性，並與疾病進展的臨床特徵相關（Calmon et al., 2015）。NEFH被進一步描述透過胰腺癌、胃癌和結腸癌的DNA甲基化而失活，從而也可能有助於這些惡性腫瘤的進展（Calmon et al., 2015）。NEFH CpG島甲基化被證明與腎細胞癌的晚期疾病、遠處轉移和預後相關（Dubrowinskaja et al., 2014）。因此，NEFH甲基化可能是腎細胞癌預後的候選表觀遺傳標誌物（Dubrowinskaja et al., 2014）。NEFH被證明在外陰外黏液樣軟骨肉瘤中上調（Dotlic et al., 2014）。肝癌細胞系中NEFH過度表達被證明可減少細胞增殖，而NEFH的敲減促進體外細胞侵襲和遷移並增加在小鼠中形成腫瘤的能力。因此，NEFH充

當肝細胞癌的腫瘤抑制因子（Revill et al., 2013）。NEFH 被證明在尤因氏肉瘤中頻繁甲基化，因此可能與腫瘤發生相關（Alholle et al., 2013）。

【0128】 NEFL 的DNA甲基化介導的沉寂被證明是乳腺癌中的頻繁事件，可能有助於乳腺癌的和其他惡性腫瘤（如，胰腺癌、胃癌和結腸癌）的進展（Calmon et al., 2015）。NEFL 被描述為一種潛在的腫瘤抑制基因，其與幾個器官的癌症相關（Huang et al., 2014c）。NEFL 被描述為可能在頭頸部鱗狀細胞癌細胞系的癌細胞凋亡和侵襲中發揮作用（Huang et al., 2014c）。NEFL 甲基化被描述為一種新機制，其透過與 mTOR 信號通路相互作用在頭頸部癌細胞系中產生順鉑耐藥性（Chen et al., 2012）。NEFL 被描述為可預測頭頸部腫瘤化療療效和生存期的候選生物標誌物（Chen et al., 2012）。NEFL 高表達被描述與幕上室管膜瘤較好的臨床效果相關（Hagel et al., 2013）。NEFL 被證明在乳腺癌中異位表達，與淋巴結陰性的癌症相比，在淋巴結轉移的原發性乳腺癌中下降（Li et al., 2012）。NEFL 低表達被證明可提示早期乳腺癌患者的 5 年無病生存期較差，因此可能是早期乳腺癌患者的潛在預後因素（Li et al., 2012）。NEFL 被證明在多形性膠質母細胞瘤中下調（Khalil, 2007）。NEFL 所在的染色體 8p21-23 處等位基因缺失被描述為癌症形成和肺癌發展的早期和頻繁事件，也被描述為與乳腺癌、攝護腺癌和乙

型肝炎病毒陽性肝細胞癌有關（Seitz et al., 2000; Becker et al., 1996; Haggman et al., 1997; Kurimoto et al., 2001）。

【0129】 NEFM被描述為與腫瘤進展相關和轉移參與過程有關的基因（Singh et al., 2015）。NEFM被證明在食道癌中低甲基化和上調（Singh et al., 2015）。NEFM被描述為一個候選腫瘤抑制基因，該基因經常在膠質母細胞瘤中下調（Lee et al., 2015a）。乳腺癌中NEFM的DNA甲基化相關沉寂被證明是頻繁的、具有癌症特異性，並與疾病進展的臨床特徵相關（Calmon et al., 2015）。NEFM被進一步描述透過胰腺癌、胃癌和結腸癌的DNA甲基化而失活，從而也可能有助於這些惡性腫瘤的進展（Calmon et al., 2015）。NEFM被證明與攝護腺癌和星形細胞瘤有關（Wu et al., 2010; Penney et al., 2015）。NEFM被描述為在腎細胞癌中甲基化的新型候選腫瘤抑制基因（Ricketts et al., 2013）。NEFM的甲基化被證明與腎細胞癌的預後相關（Ricketts et al., 2013）。NEFM被描述為一種潛在的診斷標誌物，與非神經內分泌腫瘤細胞系相比，其被證明在神經內分泌腫瘤細胞系中差異表達（Hofsli et al., 2008）。

【0130】 NUP155 被描述為與乳腺癌易感性相關的白血球DNA的一個潛在表觀遺傳生物標誌物（Khakpour et al., 2015）。NUP155 被描述為 NUP214-ABL1 陽

性T細胞急性淋巴細胞白血病細胞的增殖和存活嚴格需要的，並由此構成了該疾病的一個潛在的藥物靶標（De et al., 2014）。

【0131】 OAS2被證明與透過胱天蛋白酶-3啟動的CD3-ζ鏈表達損害有關。CD3-ζ鏈的缺乏被描述為在口腔癌中可以經常觀察到（Dar et al., 2015）。OAS2被描述為涉及晚期攝護腺癌風險相關的先天免疫和炎症通路的子通路（Kazma et al., 2012）。子通路分析顯示，OAS2名義上與晚期攝護腺癌風險相關（Kazma et al., 2012）。

【0132】 非小細胞肺癌中PABPN1的較低表達與預後不良相關（Ichinose et al., 2014）。PABPN1的損失被描述可透過從非小細胞肺癌微RNA介導的基因調控中釋放癌細胞，從而可能促進腫瘤侵襲性（Ichinose et al., 2014）。PABPN1的N-末端聚丙氨酸擴展變體被證明透過HeLa和HEK-293細胞系中的p53途徑與細胞凋亡誘導相關（Bhattacharjee et al., 2012）。

【0133】 PCBP1 被描述為攝護腺癌細胞的癌症幹細胞富集和功能特別重要（Chen et al., 2015a）。PCBP1被描述為胃癌發病機制的抑制因子，其下調與培養和異種移植胃癌細胞中的惡性表型有關（Zhang et al., 2015e）。基於卵巢漿液性腺癌患者的良性和惡性血清和組織樣本之間的差異表達，表明 PCBP1 在卵巢癌的病理生理學中發揮作用（Wegdam et al., 2014）。

PCBP1 被證明是 TGF-β 誘導的上皮-間質轉化（膽囊癌細胞系 GBC-SD 中腫瘤轉移的先決條件）的重要介質（Zhang and Dou, 2014）。PCBP1 表達水準被證明可調節膽囊癌細胞系 GBC-SD 的體外遷移和侵襲能力（Zhang and Dou, 2014）。因此，PCBP1 可能是膽囊癌轉移的潛在預後標誌物（Zhang and Dou, 2014）。PCBP1 下調被描述為可能涉及與子宮頸癌的發病機制（Pathak et al., 2014）。PCBP1 被描述為腫瘤抑制相關轉錄因子 p63 的調節因子（Cho et al., 2013）。完全性葡萄胎中 PCBP1 高表達被證明與發展為妊娠滋養細胞腫瘤的較低風險有關，而 PCBP1 表達在惡性轉化痣中顯著降低（Shi et al., 2012）。因此，表明 PCBP1在妊娠滋養細胞腫瘤的發病機制中起重要作用（Shi et al., 2012）。PCBP1 過度表達被證明可導致轉移相關 PRL-3 蛋白翻譯和AKT失活的抑制，而 PCBP1 的敲減被證明可引起AKT的啟動和促進腫瘤發生（Wang et al., 2010）。PCBP1 被描述在肝癌細胞系 HepG2 的腫瘤侵襲中發揮負作用（Zhang et al., 2010）。人肝腫瘤中 PCBP1 的損失被描述為有助於轉移表型的形成（Zhang et al., 2010）。

【0134】 PDPN被描述為在鱗狀細胞癌、間皮瘤、膠質母細胞瘤和骨肉瘤中上調（Fujita and Takagi, 2012）。PDPN被描述為腫瘤侵襲和轉移的調節因子，因為 PDPN與參與上皮間質轉化、集體細胞遷移、血小板

活化、聚集和淋巴管形成的幾個途徑有關(Dang et al., 2014)。PDPN被描述為口腔癌和上皮間皮瘤的標誌物(Swain et al., 2014; Ordonez, 2005)。PDPN上調被描述為與上呼吸消化道鱗狀細胞癌的淋巴結轉移和預後差有關(Chuang et al., 2013)。PDPN被描述為在血管腫瘤、惡性間皮瘤、中樞神經系統腫瘤、生殖細胞腫瘤、鱗狀細胞癌和侵襲性和轉移可能性更高的侵襲性腫瘤中表達(Raica et al., 2008)。因此，PDPN可被視為腫瘤細胞具有吸引力的治療靶標(Raica et al., 2008)。

【0135】 PHTF2被證明在舌鱗狀細胞癌中下調(Huang et al., 2007)。

【0136】 PKM2被證明對癌細胞增殖和腫瘤生長很關鍵(Chen et al., 2014b; Li et al., 2014; DeLaBarre et al., 2014)。N-myc基因作為髓母細胞瘤中PKM2的轉錄調節因子(Tech et al., 2015)。PKM2似乎在肝癌發病、上皮間質轉變和血管生成中發揮作用(Nakao et al., 2014)。PKM2是腫瘤學中Warburg效應的兩個關鍵因子之一(Tamada et al., 2012; Warner et al., 2014; Ng et al., 2015)。PKM2表達在癌細胞中上調(Chaneton and Gottlieb, 2012; Luo and Semenza, 2012; Wu and Le, 2013)。在惡性細胞中，PKM2具有糖酵解功能，作為轉錄輔啟動物和蛋白激酶。在後一種功能中，它

易位至細胞核並磷酸化組蛋白3，最終導致膠質母細胞瘤的細胞週期進展 (Semenza, 2011; Luo and Semenza, 2012; Tamada et al., 2012; Venneti and Thompson, 2013; Yang and Lu, 2013; Gupta et al., 2014; Iqbal et al., 2014; Chen et al., 2014b; Warner et al., 2014)。低活性二聚體PKM2可能在癌症中發揮作用，而不是活性四聚體形式(Mazurek, 2011; Wong et al., 2015; Iqbal et al., 2014; Mazurek, 2007)。

【0137】 PKP1被證明在攝護腺癌和食道腺癌中下調(Kaz et al., 2012; Yang et al., 2015a)。非腫瘤、攝護腺BPH-1細胞系中PKP1的敲減導致細胞凋亡減少和基因（如，攝護腺癌相關SPOCK1基因）差異表達 (Yang et al., 2015a)。總體來說，PKP1和SPOCK1表達改變似乎是攝護腺癌中的頻繁和嚴重事件，表明PKP1具有腫瘤抑制功能 (Yang et al., 2015a)。PKP1表達下降被證明與口腔鱗狀細胞癌中顯著更短的至遠處轉移發生時間有關 (Harris et al., 2015)。透過啟動子甲基化導致的PKP1損失被描述為與Barrett食道進展為食道腺癌相關 (Kaz et al., 2012)。PKP1被證明在非小細胞肺癌中上調，可能是區分鱗狀細胞癌樣本的良好標誌物(Sanchez-Palencia et al., 2011)。PKP1被證明在分化良好的脂肪肉瘤細胞系GOT3中上調 (Persson

et al., 2008)。PKP1 表達下降被描述為可促進頭頸部鱗狀細胞癌的活動性增加 (Sobolik-Delmaire et al., 2007)。PKP1 損失被證明與宮頸癌發生有關 (Schmitt-Graeff et al., 2007)。PKP1 被證明與口咽鱗狀細胞癌患者的局部復發或轉移以及不良預後有關 (Papagerakis et al., 2003)。

【0138】 PKP3mRNA在胃腸道腫瘤患者的血液中增加可作為生物標誌物和疾病預後預測因素 (Valladares-Ayerbes et al., 2010)。PKP3 過度表達與乳腺癌、肺癌和攝護腺癌的預後不良相關，而膀胱癌的下調與侵襲性行為有關 (Furukawa et al., 2005; Breuninger et al., 2010; Demirag et al., 2012; Takahashi et al., 2012)。PKP3 喪失導致 MMP7 和 PRL3 蛋白質水準增加，這是細胞遷移和腫瘤形成所需要的 (Khapare et al., 2012; Basu et al., 2015)。

【0139】 PPP4R1的敲減被證明可抑制乳腺癌細胞系ZR-75-30的細胞增殖 (Qi et al., 2015)。因此，PPP4R1可促進乳腺癌細胞的增殖，並可能在乳腺癌的發生中起著至關重要的作用 (Qi et al., 2015)。肝細胞癌細胞系HepG2中PPP4R1敲減被證明可導致細胞增殖、集落形成和細胞週期在G2/M期停滯 (Wu et al., 2015)。PPP4R1敲減被進一步證明可導致HepG2細胞中p38和c-JunN-末端激酶信號級聯失活，這提示PPP4R1可促進細胞增殖 (Wu et al., 2015)。因此，

PPP4R1在促進肝細胞癌細胞生長中起著關鍵作用（Wu et al., 2015）。PPP4R1被描述為淋巴細胞NF-kB激酶活性抑制劑的負調節因子，其下調促進T細胞淋巴瘤亞組中的致癌NF-kB信號傳導（Brechmann et al., 2012）。

【0140】 PRC1被描述為與宮頸癌輻射抗性相關，因為宮頸癌組織輻射後顯示PRC1高差異表達（Fu et al., 2015b）。PRC1內含子14中的遺傳基因座被描述為與乳腺癌易感性相關（Cai et al., 2014）。PRC1被描述為五基因標籤的一個基因，可作為乳腺癌患者無病生存期的預後標籤（Mustacchi et al., 2013）。PRC1被證明在卵巢癌、宮頸癌和膀胱癌中上調（Espinosa et al., 2013; Ehrlichova et al., 2013; Kanehira et al., 2007）。PRC1被證明在乳腺上皮細胞系MCF-10A的4-羥基雌二醇介導的惡性轉化期間被上調（Okoh et al., 2013）。PRC1被描述為在腫瘤發病中具有顯著生物學意義的基因，其可用于基因群來預測腫瘤可切除的非小細胞肺癌患者輔助化療後的預後（Tang et al., 2013）。表明PRC1透過細胞週期相關激酶Plk1被負調節（Hu et al., 2012）。膀胱癌細胞系NIH3T3中PRC1的敲減被證明可導致多核細胞和隨後的細胞死亡顯著增加（Kanehira et al., 2007）。此外，PRC1被證明與膀胱癌細胞中的新型癌-睾丸抗原MPHOSPH1相互作用，並且MPHOSPH1/PRC1複

合體表明在膀胱癌形成中發揮關鍵作用，可能是一種新的治療靶標（Kanehira et al., 2007）。PRC1被證明被p53調節（Li et al., 2004）。

【0141】表達序列標籤分析確定PRDM15為淋巴瘤中的上調基因（Giallourakis et al., 2013）。PRDM15被描述為一個候選腫瘤抑制基因，其可能有助於胰腺癌的發生或進展（Bashyam et al., 2005）。

【0142】PTHLH的不同多態性被證明與肺癌的風險和預後有關（Manenti et al., 2000）。自發性轉移性乳腺癌C57BL/6小鼠衍生的模型中PTHLH上調被描述為可能參與乳腺癌的轉移性傳播（Johnstone et al., 2015）。PTHLH被證明在口腔鱗狀細胞癌、軟骨瘤、成人T細胞白血病/淋巴瘤和腎透明細胞癌中上調（Bellon et al., 2013; Yang et al., 2013a; Yao et al., 2014; Lv et al., 2014）。PTHLH上調被證明與頭頸部鱗狀細胞癌患者的較差病理學分化和較差預後有關（Lv et al., 2014）。PTHLH被證明透過p38信令上調，其透過在肺微脈管系統內皮細胞的胱天蛋白酶非依賴性死亡促進肺部結腸癌細胞外滲（Urosevic et al., 2014）。與正常皮膚相比，PTHLH被證明在鱗狀細胞癌中顯著差異表達（Prasad et al., 2014）。PTHLH被描述為四基因標籤的一部分，其與早期非小細胞肺癌患者的生存期有關（Chang et al., 2012）。透過PTHLH移碼突變對抗增殖作用的破壞被描述為可促進遺傳性非

息肉性結直腸癌患者的早期結直腸癌的發展(Yamaguchi et al., 2006)。PTHLH上調被證明與接受腎切除的腎透明細胞癌患者的總生存期和無病生存期較差結果相關(Yao et al., 2014)。PTHLH被證明可正調節細胞週期進程，並透過結直腸腺癌細胞系Caco-2的ERK1/2、p38、MAPK和PI3K信號通路參與細胞週期調控的蛋白表達(Calvo et al., 2014)。

【0143】RAP1GDS1被證明可促進胰腺癌細胞增殖(Schuld et al., 2014)。小鼠非小細胞肺癌細胞系NCI-H1703異種移植物中RAP1GDS1兩種剪接變體同時損失被證明可導致腫瘤發生降低(Schuld et al., 2014)。RAP1GDS1被證明可促進多種類型癌症的細胞週期進程，使其成為癌症治療有價值的靶標(Schuld et al., 2014)。RAP1GDS1被證明在乳腺癌、攝護腺癌和非小細胞肺癌中上調(Hauser et al., 2014; Tew et al., 2008; Zhi et al., 2009)。RAP1GDS1的SmgGDS-558剪接變體被證明是RhoA和NF-κB活性的獨特啟動子，其在乳腺癌惡性中起著功能性作用(Hauser et al., 2014)。RAP1GDS1高表達被證明與乳腺癌較差的臨床結果相關(Hauser et al., 2014)。RAP1GDS1被證明可調節非小細胞肺癌的細胞增殖、遷移和NF-κB轉錄活性，因此促進該疾病的惡性表型。因此，RAP1GDS1是非小細胞肺癌的令人感興趣的治療靶標(Tew et al., 2008)。RAP1GDS1

被證明在T細胞急性淋巴細胞白血病中被融合至NUP98(Romana et al., 2006)。

【0144】RNPEP活性被證明在結直腸腺瘤、乳頭狀甲狀腺癌、乳腺癌和腎透明細胞癌中上調(Ramirez-Exposito et al., 2012; Larrinaga et al., 2013; Perez et al., 2015; Varona et al., 2007)。RNPEP被證明與皮下區域植入的大鼠C6神經膠質瘤的腫瘤生長相關(Mayas et al., 2012)。

【0145】RORA被描述為潛在的肺癌癌基因(Wang et al., 2015e)。RORA被證明與結腸癌中潛在的腫瘤抑制基因OPCML的表達相關(Li et al., 2015a)。RORA兩個單核苷酸多態性被證明與乳腺癌相關(Truong et al., 2014)。RORA被描述為乳腺癌的潛在腫瘤抑制因子和治療靶標(Du and Xu, 2012)。RORA被證明在結直腸腺癌和乳腺癌中下調(Kottorou et al., 2012; Du and Xu, 2012)。肝細胞癌細胞系HepG2中RORA穩定過度表達被證明可影響參與葡萄糖代謝和肝癌形成基因的表達,這表明RORA與肝來源細胞內的癌形成有關(Chauvet et al., 2011)。與正常胃粘膜相比,RORA被證明在胃癌中差異甲基化(Watanabe et al., 2009)。RORA被描述為與細胞生長和分化控制以及雄激素非依賴性攝護腺癌細胞系DU145的轉移行為控制相關(Moretti et al., 2002)。

【0146】 RPS17 被證明在正常全血轉移性葡萄膜黑色素瘤中以及容易因葡萄膜黑色素瘤發生轉移的組織中差異表達，這表明 RPS17 可能在葡萄膜黑色素瘤轉移的趨向性中發揮作用(Demirci et al., 2013)。RPS17被證明在肝細胞癌中上調 (Liu et al., 2007b)。

【0147】 RPS26敲減被證明可誘導p53穩定化和活化，導致p53依賴性細胞生長抑制 (Cui et al., 2014)。RPS26 進一步顯示透過直接影響p53的轉錄活性在DNA損傷應答中發揮作用 (Cui et al., 2014)。

【0148】 S100A2被證明與非小細胞肺癌相關，並被描述為肺鱗癌患者較差總體生存期的一個預測標誌物(Hountis et al., 2014; Zhang et al., 2015d)。S100A2被描述為癌基因KRAS的下游靶標，是肺癌腫瘤進展的啟動子 (Woo et al., 2015)。S100A2被描述為預測胰腺導管腺癌總生存期的一個有希望的標誌物(Jamieson et al., 2011)。透過亞硝胺 N-亞硝基吡咯烷的S100A2表達改變被描述為南非黑人食道鱗狀細胞癌腫瘤進展的潛在原因 (Pillay et al., 2015)。S100A2被證明在早期非小細胞肺癌、鼻咽癌患者的血漿、喉癌、胃癌和表皮腫瘤中上調(Zhu et al., 2013a; Lin et al., 2013; Zhang et al., 2015a; Zha et al., 2015; Wang et al., 2015c)。S100A2的甲基化相關失活被證明在頭頸部和膀胱癌中頻繁發生，因此可能是這些疾病腫瘤發生中的重要事件 (Lee et al.,

2015c)。S100A2細胞質表達被證明在口腔鱗狀細胞癌中上調，而核表達下調（Kumar et al., 2015)。S100A2細胞質上調被證明是口腔鱗狀細胞癌患者復發風險的潛在預測因子（Kumar et al., 2015)。S100A2被描述為在乳腺癌轉移中發揮作用（Naba et al., 2014)。S100A2被證明是一種BRCA1/p63共同調節腫瘤抑制基因，其透過調節突變p53與HSP90結合而在突變p53穩定性調節中發揮作用（Buckley et al., 2014)。S100A2被描述為一種候選腫瘤抑制基因，該基因在復發鼻咽癌中下調，因此可能在復發性鼻咽癌的發生中起重要作用（Huang et al., 2014b)。S100A2被證明在胃癌中下調，且下調被證明與浸潤深度、淋巴結轉移、無復發概率降低和總生存期下降相關（Liu et al., 2014e)。因此，S100A2下調可能是胃癌的陰性獨立預後生物標誌物（Liu et al., 2014e)。S100A2進一步顯示可負調節MGC-803癌細胞的MEK/ERK信號傳導途徑（Liu et al., 2014e)。在免疫缺陷小鼠中，S100A2過度表達被證明可誘導A549肺癌細胞的上皮-間質轉化，隨後增加侵襲性、增強AKT磷酸化和加快腫瘤生長（Naz et al., 2014)。S100A2的原致癌基因行為被進一步描述為參與PI3/Akt信號傳導調節以及與TGFβ信號途徑蛋白Smad3的功能性相互作用（Naz et al., 2014)。S100A2表達被證明與肺門周圍和肝外膽管癌患者的組織學分級、淋巴結轉移、臨床分期和較差的

生存期相關（Sato et al., 2013）。因此，S100A2可充當膽管癌患者的預後標誌物（Sato et al., 2013）。

【0149】 S100A8被描述為急性和慢性炎症的重要介質，其與髓源抑制細胞在正反饋回路中相互作用，以促進腫瘤的發展和轉移（Zheng et al., 2015）。S100A8被描述為非小細胞肺癌的潛在的診斷標誌物、預後指標和治療靶標（Lim and Thomas, 2013）。S100A8過度表達被證明與膀胱癌的期別進展、侵襲、轉移和較差生存有關（Yao et al., 2007）。S100A8被證明是浸潤性膀胱癌的診斷標誌物（Ismail et al., 2015）。S100A8被證明在未分化甲狀腺癌、骨巨細胞瘤和結直腸癌中上調（Reeb et al., 2015; Zhang et al., 2015b; Liao et al., 2015a）。使用S100A8敲減的未分化甲狀腺癌細胞在小鼠中的體內分析提示，腫瘤生長和肺轉移減少，動物生存期顯著延長（Reeb et al., 2015）。S100A8被證明可透過與RAGE相互作用促進未分化甲狀腺癌細胞的增殖，這啟動腫瘤細胞中的p38、ERK1/2和JNK信號傳導途徑（Reeb et al., 2015）。因此，S100A8可能代表未分化甲狀腺癌的相關治療靶標（Reeb et al., 2015）。S100A8被證明與高風險慢性淋巴細胞性白血病相關（Alsagaby et al., 2014）。S100A8被證明與腎臟癌進展相關，並且被描述為腎癌的潛在生物標誌物和治療靶標（Mirza et al., 2014）。S100A8被描述為鈣衛蛋白的一部分，這

是非炎症驅動肝腫瘤的進展所需的異源二聚體，可能代表肝細胞癌的治療靶標（De et al., 2015）。S100A8 被證明可透過 ID3 表達的誘導來調節結腸癌細胞週期和增殖，同時抑制 p21（Zhang et al., 2015b）。

【0150】 SERPINH1 編碼絲氨酸蛋白酶抑制劑，分化體 H（熱激蛋白47）成員1，（膠原結合蛋白1），是一種絲氨酸蛋白酶抑制劑。SERPINH1 作為內質網的膠原特定分子伴侶（RefSeq, 2002）。SERPINH1 在許多人類癌症，包括胃癌、肺癌、胰腺導管腺癌、神經膠質瘤和潰瘍性結腸炎相關癌中過度表達（Zhao et al., 2014a）。SERPINH1 在肝細胞癌、食道鱗狀細胞癌、膽管細胞癌、胃癌、肺癌、胰腺導管腺癌、潰瘍性結腸炎相關癌症和神經膠質瘤中上調（Zhao et al., 2014a; Padden et al., 2014; Lee et al., 2015b; Naboulsi et al., 2015）。SERPINH1 過度表達被證明與食道鱗狀細胞癌患者的不良預後相關，SERPINH1 的免疫染色水準和病理分期被證明與總體和無復發生存期顯著相關（Lee et al., 2015b）。因此，SERPINH1 可能是食道鱗狀細胞癌的一個潛在預後標誌物（Lee et al., 2015b）。神經膠質瘤細胞中 SERPINH1 敲減被證明可體外抑制膠質瘤細胞生長、遷移和侵襲，而 SERPINH1 體內敲減被證明可抑制腫瘤生長和誘導細胞凋亡（Zhao et al., 2014a）。因此，SERPINH1 可能是膠質瘤的治療靶標（Zhao et al.,

2014a)。與具有多個淋巴結受累的口腔鱗狀細胞癌原發腫瘤相比，SERPINH1被證明在轉移癌中下調，這提示SERPINH1可能與這些腫瘤的轉移可能性相關(Nikitakis et al., 2003)。

【0151】SLC7A11被證明是在W1卵巢癌細胞系的耐藥變種中下調，從而可能在癌細胞藥物抗性中發揮作用(Januchowski et al., 2013)。SLC7A11被描述為可調節腫瘤微環境，導致癌症生長優勢(Savaskan and Eyupoglu, 2010)。SLC7A11被描述為參與膠質瘤的神經變性過程，使SLC7A11稱為癌症治療的潛在主要靶標(Savaskan et al., 2015)。SLC7A11被證明在鐵死亡的情況下透過p53抑制，p53-SLC7A11軸被描述為保留於p53(3KR)突變體，並有助於其在不存在經典腫瘤抑制機制時抑制腫瘤發生(Jiang et al., 2015)。SLC7A11被描述為系統Xc-的功能性亞基，其功能在侵襲性乳腺癌細胞中增加(Linher-Melville et al., 2015)。順鉑耐藥性膀胱癌中SLC7A11高膜染色被證明與較差的臨床結果相關，並且SLC7A11抑制被描述為本病一種有前景的治療方法(Drayton et al., 2014)。SLC7A11被證明在已被暴露於苯和其代謝物的人早幼粒白血病細胞系HL-60中差異表達，因而強調了SLC7A11與白血病發生的潛在關聯性(Sarma et al., 2011)。SLC7A11破壞被描述為可導致多種癌症(包括淋巴瘤、神經膠質瘤、攝護腺癌和乳

腺癌）的生長抑制（Chen et al., 2009）。SLC7A11抑制被證明可在體外抑制食道癌細胞系KYSE150的細胞浸潤和裸鼠的實驗性轉移，從而確立了SLC7A11在腫瘤轉移中的作用（Chen et al., 2009）。

【0152】 SRPR被證明在含雙微染色體的急性髓性白血病情況下被擴增（Crossen et al., 1999）。

【0153】 SSR4的人類直系同源物被證明在負鼠黑色素瘤細胞系TD6b和TD15L2中差異表達，在晚期腫瘤中上調，提示SSR4是一種候選基因，潛在的功能是可能與紫外線誘導黑色素瘤和轉移相關（Wang and VandeBerg, 2004）。相比正常成骨細胞，SSR4的mRNA水準被證明在骨肉瘤細胞系OHS、SAOS-2和KPDXM中富集（Olstad et al., 2003）。

【0154】 STK17A表達失調與不同癌症類型相關。宮頸癌和結直腸癌中表達降低與腫瘤進展相關STK17A的促凋亡特徵有關。膠質母細胞瘤和頭頸部癌的STK17A以級別依賴性過度表達，可能透過對其他腫瘤相關途徑（如，TGF-β）的影響引起（Mao et al., 2013a; Thomas et al., 2013; Park et al., 2015; Bandres et al., 2004）。STK17A是腫瘤抑制基因p53的直接靶標，是活性氧(ROS)的調節劑（Kerley-Hamilton et al., 2005; Mao et al., 2011）。

【0155】 SYK被描述為腫瘤發生的調節因子，透過提供生存功能在一些細胞中充當腫瘤啟動子，並透過限制上

皮-間充質轉換和抑制遷移在另一些細胞中充當腫瘤抑制因子（Krisenko and Geahlen, 2015）。SYK 被描述為與 B 細胞淋巴瘤中的 B 細胞受體（BCR）活化相關（Seda and Mraz, 2015）。BCR 途徑關鍵激酶（如 SYK）的抑制已在臨床前模型中發現可減少慢性淋巴細胞性白血病細胞活力（Davids and Brown, 2012）。SYK 被證明在慢性淋巴細胞性白血病中上調（Feng and Wang, 2014）。SYK 被描述為與慢性淋巴細胞性白血病的發病機制相關，可能在評估治療效果和這種疾病的預後中具有價值（Feng and Wang, 2014）。SYK 描述為乳腺癌的潛在腫瘤抑制因子，其在原發性乳腺腫瘤缺乏與不良結果相關（Navara, 2004）。SYK 被證明在卵巢癌中的紫杉醇抗性發揮關鍵作用（Yu et al., 2015b）。SYK 下調被描述為與多種癌症（包括結直腸癌）的發展有關（Peng et al., 2015）。SYK 啟動子不同的基因多態性被證明是中國南方漢族人群結直腸癌發展的獨立危險因素（Peng et al., 2015）。SYK 被證明在肝細胞癌頻繁甲基化，SYK 甲基化被證明可確定預後不良的肝細胞癌子集（Shin et al., 2014）。

【0156】 TP63 易位被描述為間變性淋巴瘤激酶陽性間變性大細胞淋巴瘤子集中的一個事件，其與疾病的侵襲過程相關（Hapgood and Savage, 2015）。TP63 被描為由於其參與上皮細胞分化、細胞週期停滯和細胞凋亡而在癌症中發揮複雜的作用（Lin et al., 2015）。TP63

異構體 TAp63 被描述為在惡性血液病中過度表達，而 TP63 錯義突變報告發生於淋巴瘤和一些肺腺癌中的鱗狀癌和 TP63 易位處 (Orzol et al., 2015)。導致 TP63 異構體 δNp63 過度表達的異常剪接在人類癌症（如，皮膚鱗狀細胞癌）中經常發現，其很可能有利於腫瘤發生和發展 (Missero and Antonini, 2014; Inoue and Fry, 2014)。

【0157】 TPM1 被證明在腎細胞癌、食道癌細胞系鱗狀細胞癌、轉移性犬乳腺癌和成神經細胞瘤細胞系中下調 (Klopfleisch et al., 2010; Yager et al., 2003; Zare et al., 2012; Wang et al., 2015b)。TPM1 表達被證明與腎細胞癌患者的腫瘤大小、Fuhrman 分級和預後有關。腎細胞癌細胞系 OSRC-2 和 786-O 的 TPM1 轉染顯示可降低遷移和侵襲能力，同時增強細胞凋亡 (Wang et al., 2015b)。因此，TPM1 被描述為可顯示腫瘤抑制基因的特徵，同時在腎細胞癌細胞中過度表達 (Wang et al., 2015b)。RAS/PI3K/AKT 和 RAS/MEK 信號通路被描述為參與肝內膽管癌細胞系 HuCCT1 和食道鱗狀細胞癌細胞系中 TPM1 調節和抑制 (Zare et al., 2012; Yang et al., 2013b)。TPM1 被描述為一種腫瘤抑制因子，其乳腺癌細胞系 MCF-7 中過度表達抑制了錨定非依賴性細胞生長 (Zhu et al., 2007b)。TPM1 的表觀遺傳抑制被描述為與改變的

TGF-β腫瘤抑制功能相關，並且可能有助於形成腫瘤細胞的轉移特性（Varga et al., 2005）。

【0158】類胰蛋白酶被證明在某些急性骨髓性白血病患者中上調（Jin et al., 2014）。類胰蛋白酶的表達被描述為經由ERK1/2和p38MAPK途徑被SCF/c-KIT信令調節（Jin et al., 2014）。肥大細胞類胰蛋白酶被描述為參與結直腸癌血管生成，被證明在結直腸癌症患者的血清中根治性手術切除之前較之後呈更高的表達（Ammendola et al., 2014）。

【0159】相比於非致瘤性細胞系OKF6-TERT1RTSHZ3，TSHZ3被證明在口腔鱗狀細胞癌細胞系SCC-9中下調（Marcinkiewicz and Gudas, 2014）。TSHZ3被描述為一種轉錄調節基因，其發現在高級別漿液性卵巢癌的一些病例中被反復地重新排列（McBride et al., 2012）。TSHZ3被描述為在乳腺癌和攝護腺癌下調表達的候選腫瘤抑制基因（Yamamoto et al., 2011）。

【0160】TSPAN10被證明是在轉移性黑色素瘤樣本和正常皮膚樣本之間差異表達的基因，其可能是轉移性黑色素瘤治療的潛在生物標誌物（Liu et al., 2014c）。在其他基因中，與原發性平滑肌肉瘤相比，TSPAN10被證明在子宮平滑肌肉瘤轉移中上調，因此有助於辨別這些疾病並且可能有助於理解該癌症的腫瘤進展（Davidson et al., 2014）。

【0161】 TTPAL被描述為在微衛星不穩定性結直腸癌中顯示突變的候選癌基因 (Tuupanen et al., 2014)。

【0162】 TUBGCP2 被證明在紫杉醇耐藥卵巢癌細胞系中上調，並被描述為與非小細胞肺癌細胞系 NCI-H1155 對紫杉醇的敏感性有關 (Huang and Chao, 2015)。TUBGCP2 被證明在膠質母細胞瘤中上調，其過度表達拮抗 CDK5 調節亞基相關腫瘤抑制蛋白 3 對 DNA 損傷 G2/M 檢查點活性的抑制作用 (Draberova et al., 2015)。

【0163】 VIM被描述為STAT3的下游靶標，其在透過STAT3失調節後與乳腺腫瘤進展有關 (Banerjee and Resat, 2015)。VIM被描述為潛在的鼻咽癌相關蛋白 (Chen et al., 2015c)。波形蛋白的陰性甲基化狀態被證明可預測胰腺癌患者預後改善 (Zhou et al., 2014)。VIM被證明透過C6orf106在非小細胞肺癌中上調，並被描述與癌細胞侵襲性增強隨後相關 (Zhang et al., 2015c)。VIM被描述為肺鱗癌患者總生存期的獨立預測因子 (Che et al., 2015)。VIM被描述為一種生物標誌物，可以潛在區分黑色素瘤亞型，並可能預測黑色素瘤不同亞組中黑色素瘤的侵襲性 (Qendro et al., 2014)。VIM被證明在透明細胞腎細胞癌上調 (Shi et al., 2015)。VIM高表達被描述為透明細胞腎細胞癌的獨立預測指標 (Shi et al., 2015)。VIM被證明

充當一種支架以募集Slug至ERK並促進Slug磷酸化，其被描述為啟動上皮-間質轉變、促進轉移能力的腫瘤發生期間採用的發展過程所需要的（Virtakoivu et al., 2015）。

【0164】與預後良好的低級別肥大細胞瘤相比，WDR1被證明在來自於卵巢癌的間質液和預後不良的高級別犬皮膚肥大細胞瘤中上調（Schlieben et al., 2012; Haslene-Hox et al., 2013）。WDR1被證明在化療耐藥晚期漿液性上皮性卵巢癌中下調（Kim et al., 2011）。化療耐藥晚期漿液性上皮性卵巢癌中WDR1下調被證明與總生存期差相關（Kim et al., 2011）。WDR1被證明在乳腺癌侵襲性腫瘤前沿和正常組織之間的區域（介面區）上調，因此，可能與乳腺癌的進展和轉移有關（Kang et al., 2010）。

【0165】YWHAE與NUTM2B/NUTM2E融合被描述為在少數腎透明細胞肉瘤中觀察到的事件（Karlsson et al., 2015）。YWHAE-NUTM2融合被描述為高級別子宮內膜間質肉瘤中的常見事件（Ali et al., 2014）。含YWHAE-NUTM2融合的高級別子宮內膜間質肉瘤被描述為子宮內膜間質肉瘤的一個子集，其具有侵襲性臨床行為和較差預後（Kruse et al., 2014）。三個位點（包括YWHAE）的破損被描述為是子宮肉瘤發生的潛在因素（Suzuki et al., 2014）。YWHAE被證明在胃癌中下調，YWHAE水準下降與彌漫型胃癌和

該病理早發性相關，這表明YWHAE可能在胃癌發生過程中發揮作用（Leal et al., 2012）。YWHAE被證明在有和沒有復發的乳腺癌患者組織中差異表達，並被證明與無病生存期和總生存期均相關（Cimino et al., 2008）。因此，YWHAE可用作乳腺癌的獨立預後標誌物和潛在的藥物靶標（Cimino et al., 2008）。

【0166】 ZNF292的變化被描述為慢性淋巴細胞性白血病驅動改變（Puente et al., 2015）。ZNF292被描述為結直腸癌的腫瘤抑制基因（Takeda et al., 2015）。ZNF292被描述為在頭頸部鱗狀細胞癌中具有臨床相關性的免疫原性抗原（Heubeck et al., 2013）。

【圖式簡單說明】

【0167】 圖1A至1V顯示了正常組織（白色柱）和食道癌（黑色柱）中各種肽的過量表現。A）基因符號：KRT14/KRT16，肽：STYGGGLSV（SEQ ID NO:1）從左至右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在4/91肺癌中檢測出。圖1B）

基因符號：GJB5，肽：SIFEGLLSGV（SEQ ID NO:7）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在1/43攝護腺癌，1/3膽囊癌，1/20卵巢癌，5/91肺癌和1/4膀胱癌中檢測出。圖2C）基因符號：PKP3，肽：SLVSEQLEPA（SEQ ID NO:34）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3 胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在8/24結直腸癌，1/20卵巢癌，1/46胃癌，5/91肺癌和2/4膀胱癌中檢測出。圖2D）基因符號：RNPEP，肽：YTQPFSHYGQAL（SEQ ID NO:37）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，

5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3 胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在1/19胰腺癌，7/46胃癌和1/91肺癌中檢測出。圖 4E) 基因符號：NUP155，肽：ALQEALENA (SEQ ID NO:80)。從左到右的樣本：4細胞系（1腎臟，1胰腺，1攝護腺，1髓細胞性白血病），3正常組織（1肺，1攝護腺，1小腸），47癌組織（5腦癌，2乳腺癌，1結腸癌，2食道癌，1慢性白血球白血病，2肝癌，22肺癌，7卵巢癌，4攝護腺癌，1直腸癌）。圖5F) 基因符號：KRT5，肽：SLYNLGGSKRISI (SEQ ID NO:2)。從左到右的組織：20癌組織（9頭頸部癌，2食道癌，1食道和胃癌，7肺癌，1膀胱癌）。圖 6G) 基因符號：KRT5，肽：TASAITPSV (SEQ ID NO:3)。從左到右的組織：17癌組織（2食道癌，6頭頸癌，7肺癌，2膀胱癌）。圖 7H) 基因符號：S100A2，肽：SLDENSDQQV (SEQ ID NO:10)。從左到右的組織：7癌組織（3頭頸部癌，2食道癌，1肺癌，1膀胱癌）。圖 8I) 基因符號：LAMB3，肽：ALWLPTDSATV (SEQ ID NO:11)。從左到右的組織：12癌組織（2食道癌，1膽囊癌，8肺癌，1皮膚癌）。圖 9J) 基因符號：IL36RN，肽：SLSPVILGV (SEQ ID NO:13)。從

左到右的組織：26癌組織（8頭頸癌，3食道癌，10肺癌，3皮膚癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖10K）基因符號：ANO1，肽：LLANGVYAA（SEQ ID NO:15）。從左到右的組織：8癌組織（2食道癌，1膽囊癌，1肝癌，1肺癌，1胃癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖11L）基因符號：F7，IGHV4-31，IGHG1，IGHG2，IGHG3，IGHG4，IGHM，肽：MISRTPEV（SEQ ID NO:17）。從左到右的組織：19癌組織（2食道癌，2腎癌，2肝癌，9肺癌，1淋巴結癌，1睪丸癌，2膀胱癌）。圖12M）基因符號：QSER1，肽：SLNGNQVTV（SEQ ID NO:30）。從左到右的組織：1細胞系（1胰腺），14癌組織（1頭頸部癌，1膽管癌，1腦癌，1乳腺癌，1食道癌，1腎癌，1肺癌，2皮膚癌，3膀胱癌，2子宮癌）。圖13N）基因符號：HAS3，肽：YMLDIFHEV（SEQ ID NO:32）。從左到右的組織：1正常組織（1子宮），15癌組織（1腦癌，2食道癌，1膽囊癌，3頭頸癌，4肺癌，4膀胱癌）。圖14O）基因符號：PKP3，肽：SLVSEQLEPA（SEQ ID NO:34）。從左到右的組織：1細胞系（1胰腺），1正常組織（1結腸），28癌組織（6頭頸部癌，1乳腺癌，1盲腸癌，3結腸癌，1結直腸癌，3食道癌，6肺癌，1卵巢癌，3直腸癌，3膀胱癌）。圖15P）基因符號：SERPINH1，肽：GLAFSLYQA（SEQ ID NO:40）。從左到右的組織：3細胞系（1腎臟，2胰腺），4正常組織（1腎上腺，1肺，2胎盤），41癌組織（3頭

頸部癌，3乳腺癌，2結腸癌，2食道癌，1膽囊癌，1肝癌，15肺癌，1卵巢癌，1胰腺癌，3直腸癌，2皮膚癌，1胃癌，4膀胱癌，2子宮癌）。圖16Q）基因符號：TMEM132A，肽：ALVEVTEHV（SEQ ID NO:56）。從左到右的組織：7正常組織（5肺，1甲狀腺，1氣管），64癌組織（6頭頸癌，12腦癌，4乳腺癌，3食道癌，1膽囊癌，5腎癌，21肺癌，1淋巴結癌，7卵巢癌，1胰腺癌，1皮膚癌，2子宮癌）。圖17R）基因符號：PRC1，肽：GLAPNTPGKA（SEQ ID NO:57）。從左到右的組織：14癌組織（1頭頸部癌，1乳腺癌，2食道癌，6肺癌，1卵巢癌，1皮膚癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖18S）基因符號：MAPK6，肽：LILESIPVV（SEQ ID NO:58）。從左到右的組織：2細胞系（1血細胞，1皮膚），25癌組織（5頭頸部癌，1結腸癌，2食道癌，1白血球白血病癌，8肺癌，2淋巴結癌，3皮膚癌，2膀胱癌，1子宮癌）。圖19T）基因符號：PPP4R1，肽：SLLDTLREV（SEQ ID NO:59）。從左到右的組織：1正常組織（1小腸），8癌組織（1頭頸部癌，2食道癌，4肺癌，1卵巢癌）。圖12U）基因符號：TP63，肽：VLVPYEPPQV（SEQ ID NO:77）。從左到右的組織：2正常組織（1食道，1氣管），47癌組織（8頭頸部癌，4食道癌，1膽囊癌，14肺癌，7淋巴結癌，2攝護腺癌，1皮膚癌，8膀胱癌）。圖21V）基因符號：KIAA0947，肽：AVLPHVDQV（SEQ ID NO:81）。從左到右的組織：

3細胞系（1血細胞，1胰腺），12癌組織（5腦癌，2食道癌，1肺癌，3淋巴結癌，1子宮癌）。

【0168】 圖2A至2D顯示了本發明的源基因的代表性表達特徵，這些基因在一系列正常組織（白色柱）的食道癌中以及11個食道癌症樣本（黑色柱）中高度過度表達或專門表達。從左到右的組織：7動脈，1腦，1心臟，2肝，2肺，2靜脈，1脂肪組織，1腎上腺，4骨髓，1結腸，2食道，2膽囊，1腎，6淋巴結，1胰腺，1腦垂體，1直腸，1骨骼肌，1皮膚，1小腸，1脾，1胃，1胸腺，1甲狀腺，5氣管，1膀胱，1乳腺，3卵巢，3胎盤，1攝護腺，1睾丸，1子宮，11個食道癌樣本。 圖 2A) CT45A1、CT45A3、CT45A5、CT45A6、CT45A2、RP11-342L5.1，基因符號：PTHLH；圖 2B) CLDN16，基因符號：KRT14；圖 2C) ESR1，基因符號：FAM83A；圖 2D) IDO1，基因符號：PDPN。

【0169】 圖 3A至E 顯示了健康 HLA-A*02+ 供體的肽特異性CD8+T細胞體外反應的示例性結果，即，示例性免疫原性資料： 肽特定多聚體染色後流式細胞儀結果。圖 3A) 基因符號： SF3B3，肽： ELDRTPPEV (SEQ ID NO: 97)；圖 3B) 基因符號：TNC，肽：AMTQLLAGV (SEQ ID NO: 101)。另外，CD8+T細胞製備的方法為：使用抗CD28 mAb 和HLA-A*02塗層的人工 APC 分別與SEQ ID NO: 5 肽（C，左圖）、SEQ ID NO: 2 肽（D，左圖）和SEQ ID NO:

77 肽（E，左圖）合成。經過 3 個週期的刺激後，用 A*02/SeqID No 5（C）、A*02/SeqID No 2（D）、A*02/SeqID No 77（E）的 2D 多聚體染色法對肽反應性細胞進行檢測。右圖（C、D 和 E）顯示用不相關 A*02/肽複合體刺激的細胞對照染色。活單細胞在 CD8+ 淋巴細胞上得到門控。Boolean門控幫助排除用不同肽特定的多聚體檢測的假陽性事件。提示了特異性多聚體+ 細胞和 CD8+ 淋巴細胞的頻率。

【實施方式】

【0170】 是否能刺激免疫反應取決於是否存在被宿主免疫系統視為異物的抗原。發現腫瘤相關抗原的存在增加了運用宿主免疫系統干預腫瘤生長的可能性。目前，針對癌症免疫治療，正在探索利用免疫系統的體液和細胞進行免疫的各種機制。

【0171】 細胞免疫反應的特定元素能特異性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的T-細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是 CD8 陽性T細胞在這種反應中發揮重要作用，TCD8$^+$ 能識別通常8至10個源自蛋白或位於細胞質的缺損核糖體產物（DRIP）的氨基酸殘基的主要組織相容性複合體（MHC）所載的肽中所含的I類分子。人MHC分子也稱為人白血球-抗原（HLA）。

【0172】 除非另有說明，否則本文使用的所有術語定義如下。

【0173】 術語「T細胞反應」是指由一種肽在體外或體內誘導的效應子功能的特異性擴散和啟動。對於MHC I類限制性細胞毒性T細胞，效應子功能可能為溶解肽脈衝的、肽前體脈衝的或天然肽表現的靶細胞、分泌細胞因子，優選為肽誘導的干擾素-γ，TNF-α 或 IL-2，分泌效應分子，優選為肽誘導的顆粒酶或穿孔素，或脫顆粒。

【0174】 本文所用「肽」這一術語，系指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。這些肽的長度優選為 9 個氨基酸，但至短可為 8 個氨基酸長度，至長可為 10、11、12 、13 或 14 個氨基酸或更長，如果為MHC-II類肽時（本發明肽的拉長變體），至長可為 14、15、16、17、18 、19 或 20 個氨基酸長度或更長。

【0175】 因此，「肽」這一術語應包括一系列氨基酸殘基的鹽，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。優選的情況是，鹽為肽的藥用鹽，例如：氯化物或乙酸（三氟乙酸）鹽。必須注意的是，本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為該不是體內的鹽。

【0176】 術語「肽」應也包括「寡肽」。本文使用的術語「寡肽」是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。寡肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要在寡肽中保持正確的表位即

可。通常，寡肽長度約小於30個氨基酸殘基，約長於15個氨基酸。

【0177】「多肽」這一術語是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。多肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要保持正確的表位即可。與術語肽或寡肽相對，「多肽」這一術語是指包含多於約30個氨基酸殘基的分子。

【0178】一種肽、寡肽、蛋白質或編碼該分子的核苷酸如果能誘導免疫反應，則具有「免疫原性」（因此是本發明中的一種「免疫原」）。在本發明的情況下，免疫原性的更具體定義是誘導T細胞反應的能力。因此，「免疫原」是一種能夠誘導免疫反應的分子，並且在本發明的情況下，是一種能誘導T細胞反應的分子。在另一方面，所述免疫原可以是肽，肽與MHC的複合體、和/或用於提高特異性抗體或TCR抗性的蛋白。

【0179】I類T細胞「表位」要求的是一種結合至MHC I類受體上的短肽，從而形成一種三元複合體（MHC I類α鏈、β-2-微球蛋白和肽），其可以透過T細胞負載匹配T細胞受體與具有適當親和力的MHC/肽複合物結合來識別。結合至MHC I類分子的肽的典型長度為8-14個氨基酸，最典型為9個氨基酸長度。

【0180】在人類中，有三種編碼MHC I類分子的不同基因位點（人MHC分子也是指定的人白血球抗原(HLA)）：HLA-A、HLA-B和HLA-C。HLA-A*01、

HLA-A*02 和 HLA-B*07 是可從這些基因位點表達的不同MHC I類等位元基因的實例。

【0181】 表 5：HLA-A*02 和 HLA-A*24 和最常見 HLA-DR 血清類型的表達頻率 F。頻率根據 Mori 等人（Mori et al., 1997）使用的 Hardy-Weinberg 公式 $F = 1 - (1-Gf)^2$ 改編，從美國人群範圍內的單體型頻率中推導出。由於連鎖不平衡，某些 HLA-DR 等位基因內的 A*02 或 A*24 組合與其預期單一頻率相比，可能是濃縮的或頻率較低。有關詳細資訊，請參閱 Chanock 等人的文獻（Chanock et al., 2004）。

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	高加索人（北美）	49.1%
A*02	非裔美國人（北美）	34.1%
A*02	亞裔美國人（北美）	43.2%
A*02	拉丁美洲（北美）	48.3%
DR1	高加索人（北美）	19.4%
DR2	高加索人（北美）	28.2%
DR3	高加索人（北美）	20.6%
DR4	高加索人（北美）	30.7%
DR5	高加索人（北美）	23.3%
DR6	高加索人（北美）	26.7%
DR7	高加索人（北美）	24.8%
DR8	高加索人（北美）	5.7%
DR9	高加索人（北美）	2.1%
DR1	非裔（北）美人	13.20%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR2	非裔（北）美人	29.80%
DR3	非裔（北）美人	24.80%
DR4	非裔（北）美人	11.10%
DR5	非裔（北）美人	31.10%
DR6	非裔（北）美人	33.70%
DR7	非裔（北）美人	19.20%
DR8	非裔（北）美人	12.10%
DR9	非裔（北）美人	5.80%
DR1	亞裔（北）美人	6.80%
DR2	亞裔（北）美人	33.80%
DR3	亞裔（北）美人	9.20%
DR4	亞裔（北）美人	28.60%
DR5	亞裔（北）美人	30.00%
DR6	亞裔（北）美人	25.10%
DR7	亞裔（北）美人	13.40%
DR8	亞裔（北）美人	12.70%
DR9	亞裔（北）美人	18.60%
DR1	拉丁裔（北）美人	15.30%
DR2	拉丁裔（北）美人	21.20%
DR3	拉丁裔（北）美人	15.20%
DR4	拉丁裔（北）美人	36.80%
DR5	拉丁裔（北）美人	20.00%
DR6	拉丁裔（北）美人	31.10%
DR7	拉丁裔（北）美人	20.20%
DR8	拉丁裔（北）美人	18.60%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR9	拉丁裔（北）美人	2.10%
A*24	菲律賓	65%
A*24	俄羅斯涅涅茨人	61%
A*24:02	日本	59%
A*24	馬來西亞	58%
A*24:02	菲律賓	54%
A*24	印度	47%
A*24	韓國	40%
A*24	斯里蘭卡人	37%
A*24	中國	32%
A*24:02	印度	29%
A*24	澳大利亞西部人	22%
A*24	美國	22%
A*24	俄羅斯薩馬拉人	20%
A*24	南美	20%
A*24	歐洲	18%

【0182】 本發明的肽，優選當如本文描述納入本發明的疫苗時與A*02。疫苗還可能包括泛結合MHC II類肽。因此，本發明的疫苗可用於治療A*02 陽性患者中的癌症，但不因為這些肽的廣泛結核性而必須選擇II類MHC同種異型。

【0183】 如果本發明的A*02肽與結合至另一等位基因例如A*24的肽組合，與單獨的MHC I類等位基因相比，可治療更高比例的患者群體。雖然在大多數人群中，

低於50%的患者可由單獨的等位基因來解決問題，但是本發明中一種含HLA-A*24和HLA-A*02表位的疫苗可以治療任何相關人群中至少60%的患者。具體來說，各區域中，以下比例的患者這些等位基因中的至少一個有肯定效果：美國61%、西歐62%、中國75%、韓國77%、日本86%（根據www.allelefrequencies.net計算）。

【0184】 在一項優選的實施方案中，術語「核苷酸序列」系指去氧核苷酸的雜聚物。

【0185】 編碼特定肽、寡肽或多肽的核苷酸序列可為天然核苷酸序列，也可為合成核苷酸序列。一般來說，編碼肽、多肽以及本發明蛋白的DNA片段由 cDNA 片段和短寡核苷酸銜接物，或一系列寡核苷酸組成，以提供一種合成基因，該基因能夠在包含源自微生物或病毒操縱子的調節元素的重組轉錄單元中被表達。

【0186】 如本文所用的術語「肽的核苷酸編碼」系指對肽進行核苷酸序列編碼，其中該肽包括與將由用於產生TCR的樹突細胞或另一細胞系統所表達該序列的生物系統相容的人工（人造）啟動和停止密碼子。

【0187】 本文提到的核酸序列既包括單鏈核酸也包括雙鏈核酸。因此，除非本文另有所指，否則，例如對於DNA，具體的序列是該序列的單鏈 DNA、該序列與其互補序列的雙工（雙鏈 DNA）以及該序列的互補序列。

【0188】「編碼區」這一術語是指在基因的天然基因組環境中天然或正常編碼該基因的表達產物的那部分基因，即，體內編碼該基因的天然表達產物的區域。

【0189】編碼區可來自非突變（「正常」）基因、突變基因或異常基因，甚至還可以來自DNA序列，完全可在實驗室中使用本領域熟知的DNA合成方法合成。

【0190】「表達產物」這一術語是指多肽或蛋白，它是基因和遺傳碼退化並因而編碼同樣的氨基酸所造成的任何核酸序列編碼同等物的翻譯產物。

【0191】「片斷」這一術語，當指的是一種編碼序列時，表示包含非完整編碼區的DNA的一部分，其表達產物與完整編碼區表達產物基本上具有相同的生物學功能或活性。

【0192】「DNA 片段」這一術語是指一種DNA聚合物，以單獨的片段形式或一種較大DNA結構的組分形式存在，它們從至少分離過一次的DNA中以基本純淨的形式獲得，即不含污染性內源性材料，並且獲得的數量或濃度能夠使用標準生化方法，例如使用選殖載體，進行識別、操縱和回收該片段及其組分核苷酸序列。此類片段以開放閱讀框架（未被內部未翻譯序列打斷）或內含子（通常表現于真核基因中）的形式存在。未翻譯DNA序列可能存在於開放閱讀框架的下游，在那裏其不會干預編碼區的操縱或表達。

【0193】「引物」這一術語表示一種短核酸序列，其可與一個DNA鏈配對，並在DNA聚合酶開始合成去氧核糖核酸鏈之處提供一個游離的 3'-OH 末端。

【0194】「啟動子」這一術語表示參與RNA聚合酶的結合從而啟動轉錄的DNA區域。

【0195】術語「分離」表示一種物質從其原來的環境(例如，如果是天然發生的則是天然環境）中被移走。例如，活體動物中的天然核苷酸或多肽不是分離的，但是，從天然系統中一些或所有共存物質中分離出來的核苷酸或多肽是分離的。此類多核苷酸可能是載體的一部分和/或此類多核苷酸和多肽可能是一種組合物的一部分，並且由於該載體或組合物不是其天然環境的一部分，因此它仍然是分離的。

【0196】本發明中披露的多核苷酸和重組或免疫原性多肽也可能以「純化」的形式存在。術語「純化」並非要求絕對的純度；它只是一個相對的定義，可以包括高度純化或部分純化的製劑，相關領域技術人員能理解這些術語。例如，各個從已用傳統方法純化為具有電泳同質性的 cDNA 庫中分離出的各種克隆物。明確考慮到將起始材料或天然物質純化至少一個數量級，優選為兩或三個數量級，更優選為四或五個數量級。此外，明確涵蓋所述多肽的純度優選為 99.999%，或至少為 99.99% 或 99.9%；甚而適宜為以重量計 99% 或更高。

【0197】 根據本發明公開的核酸和多肽表達產物，以及包含此類核酸和/或多肽的表達載體可能以「濃縮的形式」存在。本文使用的術語「濃縮」是指材料的濃度至少是其自然濃度的大約2、5、10、100或1000倍，有優勢的是，按重量計為0.01%，優選為至少0.1%。也明確考慮到，按重量計約為0.5%、1%、5%、10%和20%的濃縮製劑。序列、構型、載體、克隆物以及包含本發明的其他材料可有優勢地以濃縮或分離的形式存在。「活性片段」這一術語是指產生免疫反應的片段（即具有免疫原性活性），通常是一種肽、多肽或核酸序列的片段，不論是單獨或可選地與合適的佐劑一起或在載體中給予一種動物，比如哺乳動物，例如兔子或小鼠，也包括人；這種免疫反應採用的形式是在接受動物（如：人）體內刺激T細胞反應。或者，「活性片段」也可用於誘導體外T細胞反應。

【0198】 本文使用的「部分」(portion)、「節段」(segment)、「片段」(fragment)這幾個術語，當與多肽相關地使用時是指殘基的連續序列，比如氨基酸殘基，其序列形成一個較大序列的子集。例如，如果一個多肽以任一種肽鏈內切肽酶（如胰蛋白酶或糜蛋白酶）進行處理，則該處理獲得的寡肽會代表起始多肽的部分、節段或片段。當與多核苷酸相關地使用時，這些術語系指用任何核酸內切酶處理所述多核苷酸產生的產物。

【0199】 根據本發明，術語「等同度百分比」或「等同百分比」，如果指的是序列，則表示在待對比序列（「被

對比序列」）與所述序列或請求項的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或請求項的序列進行比較。然後根據下列公式計算等同度百分比：

等同度百分比= 100 [1 -(C/R)]

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

(i) 參考序列中每個城基或氨基酸序列在被對比序列中沒有對應的對準城基或氨基酸；

(ii) 參考序列中每個空隙，以及

(iii) 參考序列中每個對準城基或氨基酸與被比對比序列中對準城基或氨基酸不同，即構成一個差異以及

(iiii) 必須在對準序列的第 1 位置開始對準；

並且 R 是參考序列與被對比序列對準長度上在參考序列中產生任何空隙也計算為一個城基或氨基酸的參考序列中的城基或氨基酸數目。

【0200】 如果「被對比序列」和「參考序列」之間存在的一個對準按上述計算的等同度百分比大致等於或大於指定的最低等同度百分比，則被對比序列與參考序列具有指定的最低等同度百分比，雖然可能存在按本文上述計算的等同度百分比低於指定等同度百分比的對準。

【0201】 因此，如上所述，本發明提出了一種肽，其包括選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93群組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有88%同源性的其變體、或誘導與該肽發生T細胞交叉反應的一個

變體。本發明所述的肽具有與主要組織相容性複合體(MHC) I 或所述肽拉長版本的 II 類分子結合的能力。

【0202】 在本發明中，「同源性」一詞系指兩個氨基酸序列之間的同一度（參見上文的等同度百分比，如肽或多肽序列。前文所述的「同源」是透過將理想條件下調整的兩個序列與待比較序列進行比對後確定的。此類序列同源性可透過使用ClustalW等演算法創建一個排列而進行計算。也可用使用一般序列分析軟體，更具體地說，是Vector NTI、GENETYX或由公共資料庫提供的其他工具。

【0203】 本領域技術人員能評估特定肽變體誘導的T細胞是否可與該肽本身發生交叉反應（Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997）。

【0204】 發明人用給定氨基酸序列的「變體」表示，一個或兩個氨基酸殘基等的側鏈透過被另一個天然氨基酸殘基的側鏈或其他側鏈取代而發生改變，這樣，這種肽仍然能夠以含有給定氨基酸序列（由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成）的肽大致同樣的方式與HLA分子結合。例如，一種肽可能被修飾以便至少維持（如沒有提高）其能與HLA-A*02或 -DR 等合適MHC分子的結合槽相互作用和結合，以及至少維持（如沒有提高）其與活化T細胞的TCR結合的能力。

【0205】 隨後，這些T細胞可與細胞和殺傷細胞發生交叉反應，這些細胞表達多肽（其中包含本發明中定義的同源肽的天然氨基酸序列）。正如科學文獻和資料庫(Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997)中所述，HLA-A結合肽的某些位點通常為錨定殘基，可形成一種與HLA結合槽的結合模序相稱的核心序列，其定義由構成結合槽的多肽鏈的極性、電物理、疏水性和空間特性確定。因此，本領域技術人員能夠透過保持已知的錨殘基來修飾SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO:93提出的氨基酸序列，並且能確定這些變體是否保持與MHC I或 II 類分子結合的能力。本發明的變體保持與活化T細胞的TCR結合的能力，隨後，這些T細胞可與表達一種包含本發明定義的同源肽的天然氨基酸序列的多肽的細胞發生交叉反應並殺死該等細胞。

【0206】 如果無另有說明，那麼本文公開的原始（未修飾）肽可以透過在肽鏈內的不同（可能為選擇性）位點上取代一個或多個殘基而被修飾。優選情況是，這些取代位於氨基酸鏈的末端。此取代可能是保守性的，例如，其中一個氨基酸被具有類似結構和特點的另一個氨基酸所取代，比如其中一個疏水性氨基酸被另一個疏水性氨基酸取代。更保守的取代是具有相同或類似的大小和化學性質的氨基酸間的取代，例如，亮氨酸被異亮氨酸取代。在天然同源蛋白質家族序列變異的研究中，某些氨基酸的取代往往比其他氨基酸更具有耐受性，這些氨基酸往往表現出與

原氨基酸的大小、電荷、極性和疏水性之間的相似性相關，這是確定「保守取代」的基礎。

【0207】 在本文中，保守取代定義為在以下五種基團之一的內部進行交換：基團1—小脂肪族、非極性或略具極性的殘基(Ala, Ser, Thr, Pro, Gly)；基團2—極性、帶負電荷的殘基及其醯胺(Asp, Asn, Glu, Gln)；基團3—極性、帶正電荷的殘基(His, Arg, Lys)；基團4—大脂肪族非極性殘基(Met, Leu, Ile, Val, Cys)以及基團5—大芳香殘基(Phe, Tyr, Trp)。

【0208】 較不保守的取代可能涉及一個氨基酸被另一個具有類似特點但在大小上有所不同的氨基酸所取代，如：丙氨酸被異亮氨酸殘基取代。高度不保守的取代可能涉及一個酸性氨基酸被另一個具有極性或甚至具有鹼性性質的氨基酸所取代。然而，這種「激進」取代不能認為是無效的而不予考慮，因為化學作用是不完全可預測的，激進的取代可能會帶來其簡單化學原理中無法預見的偶然效果。

【0209】 當然，這種取代可能涉及普通 L-氨基酸之外的其他結構。因此，D-氨基酸可能被本發明的抗原肽中常見的 L-氨基酸取代，也仍在本公開的範圍之內。此外，非標準氨基酸（即，除了常見的天然蛋白原氨基酸）也可以用於取代之目的，以生產根據本發明的免疫原和免疫原性多肽。

【0210】 如果在一個以上位置上的取代發現導致肽的抗原活性基本上等於或大於以下定義值，則對這些取代的組合進行測試，以確定組合的取代是否產生對肽抗原性的疊加或協同效應。肽內被同時取代的位置最多不能超過4個。

【0211】 基本上由本文所指氨基酸序列組成的一種肽可能有一個或兩個非錨定氨基酸（見下面錨基序相關內容）被交換，而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。在另一實施方案中，在基本上由本文所述氨基酸序列組成的肽中，一個或兩個氨基酸可與其保守交換夥伴交換（見下文），而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。

【0212】 這些基本不與T細胞受體互動的氨基酸殘基可透過取代其他幾乎不影響T細胞反應並不妨礙與相關MHC結合的氨基酸而得到修飾。因此，除了特定限制性條件外，本發明的肽可能為任何包括給定氨基酸序列或部分或其變體的肽（發明人所用的這個術語包括寡肽或多肽）。

【0213】 表6：根據SEQ ID NO: 4、9和18的肽的變體和基序

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO: 4	A	L	F	G	T	I	L	E	L	
變體									V	
									I	
									A	
		M							V	
		M							I	
		M								
		M							A	
		A							V	
		A							I	
		A								
		A							A	
		V							V	
		V							I	
		V								
		V							A	
		T							V	
		T							I	
		T								
		T							A	
		Q							V	
		Q							I	
		Q								
		Q							A	
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO: 9	H	L	I	A	E	I	H	T	A	
變體									V	
									I	
									L	
		M							V	
		M							I	
		M							L	
		M								
		A							V	
		A							I	
		A							L	
		A								
		V							V	
		V							I	
		V							L	
		V								

		T							V	
		T							I	
		T							L	
		T								
		Q							V	
		Q							I	
		Q							L	
		Q								
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO:18	F	L	L	D	Q	V	Q	L	G	L
變體										V
										I
										A
		M								V
		M								I
		M								
		M								A
		A								V
		A								I
		A								
		A								A
		V								V
		V								I
		V								
		V								A
		T								V
		T								I
		T								
		T								A
		Q								V
		Q								I
		Q								
		Q								A

【0214】 較長（拉長）的肽也可能適合。MHC I類表位（通常長度為 8至11 個氨基酸）可能由肽從較長的肽或包含實際表位的蛋白中加工而產生。兩側有實際表位的殘基優選為在加工過程中幾乎不影響暴露實際表位所需蛋白裂解的殘基。

【0215】 本發明的肽可被拉長多達四個氨基酸，即1、2、3或4個氨基酸，可按照4:0與0:4之間的任何組合添加至任意一端。本發明的拉長組合可見表7。

【0216】 表7：本發明肽的拉長組合

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

【0217】 拉伸/延長的氨基酸可以是所述蛋白或任何其他氨基酸的原序列肽。拉長可用于增強所述肽的穩定性或溶解性。

【0218】 因此，本發明所述的表位可能與天然腫瘤相關表位或腫瘤特異性表位相同，也可能包括來自參考肽的不超過四個殘基的不同肽，只要它們有基本相同的抗原活性即可。

【0219】 在一項替代實施方案中，肽的一邊或雙邊被拉長4個以上的氨基酸，優選最多30個氨基酸的總長度。

這可形成MHC-II類結合肽。結合至MHC II類肽可透過本領域中已知的方法進行測試。

【0220】 因此，本發明提出了MHC I類表位的肽和變體，其中所述肽或抗體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸長度（即10、11、12、13、14個氨基酸，如果為拉長 II 類結合肽時，長度也可為15、16、17、18、19、20、21或22個氨基酸）。

【0221】 當然，本發明的肽或變體能與人主要組織相容性複合體（MHC）I 或 II 類分子結合。肽或變體與MHC複合物的結合可用本領域內的已知方法進行測試。

【0222】 優選情況是，當本發明的肽特異性T細胞相比於取代肽受到檢測時，如果取代肽在相對於背景肽溶解度增加達到最大值的一半，則該肽濃度不超過約1 mM，優選為不超過約1 μM，更優選為不超過約1 nM，再優選為不超過約100 pM，最優選為不超過約10 pM。也優選為，取代肽被 一個以上的T細胞識別，最少為 2 個，更優選為 3 個。

【0223】 在本發明的一個特別優選實施方案中，肽系由或基本系由根據SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO: 93 所選的氨基酸序列組成。

【0224】 基本由「...組成」系指本發明的肽，除了根據SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO: 93 中的任一序列或其變體組成外，還含有位於其他 N 和/或 C 端延伸處的氨基酸，而它們不一定能形成作為MHC分子表位的肽。

【0225】 但這些延伸區域對有效將本發明中的肽引進細胞具有重要作用。在本發明的一實施例中，該肽為融合蛋白的一部分，含來自NCBI、GenBank登錄號X00497的HLA-DR抗原相關不變鏈（p33，以下稱為「Ii」）的80個N-端氨基酸等。在其他的融合中，本發明的肽可以被融合到本文所述的抗體、或其功能性部分，特別是融合入抗體的序列，以便所述抗體進行特異性靶向作用，或者，例如進入本文所述的樹突狀細胞特異性抗體。

【0226】 此外，該肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和/或與MHC分子結合，從而引發更強的免疫反應。肽序列的該類優化方法是本領域內所熟知的，包括，例如，反式肽鍵和非肽鍵的引入。

【0227】 在反式肽鍵氨基酸中，肽（-CO-NH-）並未連接其殘基，但是其肽鍵是反向的。這種逆向反向模擬肽(retro-inverso peptidomimetics)可透過本領域已知的方法製備，例如：Meziere 等人在（Meziere et al., 1997）中所述的方法，以引用的方式併入本文。這種方法涉及製備包含骨架（而並非側鏈）改變的模擬肽。Meziere 等人（Meziere et al., 1997）的研究顯示，這些類比肽有利於MHC的結合和輔助性T細胞的反應。以 NH-CO 鍵替代 CO-NH 肽鍵的逆向反向肽大大地提高了抗水解性能。

【0228】 非肽鍵為-CH_2-NH、-CH_2S-、-CH_2CH_2-、-CH=CH-、-$COCH_2$-、-CH(OH)CH_2-和 -CH_2SO-

等。美國 4897445 號專利提出了多肽鏈中非肽鍵(-CH_2-NH)的非固相合成法，該方法涉及按標準程序合成的多肽以及透過氨基醛和一種含 $NaCNBH_3$ 的氨基酸相互作用而合成的非肽鍵。

【0229】 含上述序列的肽可與其氨基和/或羧基末端的其他化學基團進行合成，從而提高肽的穩定性、生物利用度、和/或親和力等。例如，苄氧羰基、丹醯基等疏水基團或叔丁氧羰基團可加入肽的氨基末端。同樣，乙醯基或9-芴甲氧羰基可能位於肽的氨基末端。此外，疏水基團、叔丁氧羰基團或氨基團都可能被加入肽的羧基末端。

【0230】 另外，本發明中的所有肽都可能經合成而改變其空間構型。例如，可能使用這些肽的一個或多個氨基酸殘基的右旋體，通常不是其左旋體。更進一步地，本發明中肽的至少一個氨基酸殘基可被熟知的一個非天然氨基酸殘基取代。諸如此類的改變可能有助於增加本發明肽的穩定性、生物利用度和/或結合作用。

【0231】 同樣，本發明中的肽或變體可在合成肽之前或之後透過特異氨基酸的反應而進行化學修飾。此類修飾的實施例為本領域所熟知，例如，在R. Lundblad所著的《Chemical Reagents for Protein Modification》(3rd ed. CRC Press, 2004)(Lundblad, 2004)中有概述，以參考文獻的方式併入本文。雖然氨基酸的化學修飾方法無限制，但其包括（但不限於）透過以下方法修飾：醯基化、脒基化、賴氨酸吡

哆基化、還原烷基化、以2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)三硝基苯基化氨基團、透過將半胱氨酸過甲酸氧化為磺基丙氨酸而對羧基團和巰基進行氨基修飾、形成易變衍生物、與其他巰基化合物形成混合二硫化合物、與馬來醯亞胺反應，與碘乙酸或碘乙醯胺羧甲基化、在鹼性pH值下與氰酸鹽甲氨醯化。在這方面，技術人員參考了《Current Protocols In Protein Science》(Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000))(Coligan et al., 1995)中第15章所述的在蛋白質化學修飾相關的廣泛方法。

【0232】簡言之，修飾蛋白質的精氨醯殘基等往往基於於鄰二羰基化合物(如苯甲醯甲醛、2,3-丁二酮以及1,2-烯巳二酮)的反應而形成加合物。另一個實施例是丙酮醛與精氨酸殘基的反應。半胱氨酸可在賴氨酸和組氨酸等親核位點不作隨同修飾的情況下就得到修飾。因此，有大量試劑可進行半胱氨酸的修飾。Sigma-Aldrich (http://www.sigma-aldrich.com)等公司的網站含有具體試劑的資訊。

【0233】蛋白質中二硫鍵的選擇性還原也很普遍。二硫鍵可在生物制藥熱處理中形成和氧化。伍德沃德氏試劑K可用於修飾特定的谷氨酸殘基。N-(3-二甲氨基丙基)-N´-乙基-碳二亞胺可用于形成賴氨酸殘基和谷氨酸殘基的分子內交聯。例如：焦碳酸二乙酯是修飾蛋白質組氨酸殘基的試劑。組氨酸也可使用4-羥基-2-壬烯醛進行

修飾。賴氨酸殘基與其他α-氨基團的反應，例如，有利於肽結合到蛋白/肽的表面或交聯處。賴氨酸聚是多（乙烯）乙二醇的附著點，也是蛋白質糖基化的主要修飾位點。蛋白質的蛋氨酸殘基可透過碘乙醯胺、溴乙胺、氯胺T等被修飾。

【0234】 四硝基甲烷和N-乙醯基咪唑可用於酪氨酸殘基的修飾。經二酪氨酸形成的交聯可透過過氧化氫/銅離子完成。

【0235】 對色氨酸修飾的最近研究中使用了N-溴代琥珀醯亞胺、2-羥基-5-硝基苄溴或3-溴-3-甲基-2-(2-硝苯巯基)-3H-吲哚（BPNS-糞臭素）。

【0236】 當蛋白與戊二醛、聚乙二醇二丙烯酸酯和甲醛的交聯用於配製水凝膠時，治療性蛋白和含聚乙二醇的肽的成功修飾往往可延長迴圈半衰期。針對免疫治療的變態反應原化學修飾往往透過氰酸鉀的氨基甲醯化實現。

【0237】 一種肽或變體，其中肽被修飾或含非肽鍵，優選為本發明的實施例。一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽聯接）可使用Lukas等人（Lukas et al., 1981）以及此處引用的參考文獻所披露的固相肽合成Fmoc-聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基（Fmoc）團對N-氨基提供臨時保護。使用N, N-二甲基甲醯胺中的20%二甲基呱啶中對這種堿高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚（在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下）、丁基酯（在谷氨酸和天門冬氨酸的情況下）、

叔丁氧羰基衍生物（在賴氨酸和組氨酸的情況下）、三苯甲基衍生物（在半胱氨酸的情況下）及4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺醯基衍生物（在精氨酸的情況下），側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為C-末端殘基，側鏈氨基功能保護所使用的是由4,4'-二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯醯胺（骨架單體）、雙丙烯醯乙烯二胺（交聯劑）和N-丙烯醯肌胺酸甲酯（功能劑）構成。使用的肽-樹脂聯劑為酸敏感的4-羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的氨基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入，但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外，它們使用被逆轉的N,N-二環己基碳二亞胺/1-羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或isotin測試程序監測。合成完成後，用濃度為95%含50%清道夫混合物的三氟醋酸，從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解肽。常用的清道夫混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水，準確的選擇依據合成肽的氨基酸組成。此外，固相和液相方法結合使用對肽進行合成是可能的（例如，請參閱（Bruckdorfer et al., 2004）以及本文引用的參考文獻）

【0238】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序制得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道

夫混合物。肽合成試劑一般可從Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0239】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0240】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（CSPE）、反相高效液相色譜法、酸解後的氨基酸分析、快原子轟擊(FAB)質譜分析以及MALDI和ESI-Q-TOF質譜分析進行肽分析。

【0241】 為了選擇過度表現的肽，計算了表現圖，其顯示樣本中位元表現量以及複製變化。該特點使相關腫瘤實體的樣本與正常組織樣本的基線值並列。可透過計算調節線性混合效應模型（Pinheiro et al., 2015）的p值將以上每個特點併入過度表現分數中，從而透過假發現率(Benjamini and Hochberg, 1995)調整多項檢驗（參見實施例1）。

【0242】 對於透過質譜法對HLA配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的HLA分子進行純化並對HLA相關肽進行分離。分離的肽分開，並透過線上納米-電噴霧-電離（nanoESI）液相色譜-譜（LC-MS）實驗進行鑒定。由此產生的肽序列的驗證方法是，將食道癌樣本（N = 16個A*02陽性樣本）中記錄的自然腫瘤相關肽（TUMAP）的片段模式與相同序列相應合成參考

肽的片段模式進行比較。由於這些肽被直接鑒定為原發腫瘤HLA分子的配體，因此這些結果為來自 16 名食道癌患者的原發性癌組織上確定肽的自然加工和表現提供了直接證據。

【0243】 發現管道 XPRESIDENT® v2.1（例如，參見 US 2013-0096016，並在此透過引用將其整體併入本文）考慮到識別和選擇相關過量表現的候選肽疫苗，這基於與幾種不同的非癌組織和器官相比癌症或其他受感染組織的HLA限制肽水準直接相對定量結果。這透過以下方法實現：使用專有資料分析管道處理的LC-MS採集資料、結合序列識別演算法、譜聚類、計算離子、保留時間調整、充電狀態卷積以及正態化而開發無標記差異化定量方法。

【0244】 為每種肽和樣本確立了表現水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量表現的肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量表現的肽已經得到確定。

【0245】 對來自食道癌組織樣本的HLA肽複合物進行純化，並且對 HLA相關肽使用LC-MS進行分離和分析（見實施例）。本申請中包含的所有TUMAP使用原發性食道癌樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性食道癌上的表現。

【0246】 在多個食道癌和正常組織上確定的TUMAP用無標記LC-MS資料的離子計數方法進行量化。該方法假定肽的LC-MS信號區域與樣本中其豐度相關。各種

LC-MS實驗中肽的所有量化信號在集中趨勢基礎上進行正常化，根據每個樣品進行平均，併合併入柱狀圖（被稱為表現圖）。表現圖整合了不同分析方法，如：蛋白資料庫檢索、譜聚類、充電狀態卷積（除電）和保留時間校準和正態化。

【0247】 除了過量表現肽之外，也測試了潛在基因的mRNA表達。mRNA資料透過RNA測序分析正常組織和癌組織獲得（見實施例2）。正常組織資料的額外來源是從 3000 個正常組織樣本中公開獲得的RNA表達資料的資料庫（Lonsdale, 2013）。獲得自蛋白編碼mRNA的肽在癌組織中高表達，但是在重要正常組織中非常低或不存在，這些肽被優選納入本發明。

【0248】 此外，發現管道XPRESIDENT® v2.x可對癌症或其他感染組織上的MHC-肽（優選為HLA限制性肽）進行直接的絕對定量。簡言之，總細胞計數根據被分析的組織樣本的總DNA含量來計算。組織樣本中TUMAP的總肽量用nanoLC-MS/MS測定為天然TUMAP的比率以及TUMAP同位素標記版本的已知量，稱為內部標準。TUMAP分離效率確定方法：把肽：所有選定TUMAP的MHC在TUMAP分離程序儘早的時間點加入組織裂解液，並在肽分離成後完成後透過nanoLC-MS/MS檢測。總細胞計數和總肽量根據每份組織樣本三次測量值來計算。所述肽特異性隔離效率計算為三次測量10次加標實驗的平均值（見實施例6和表12）。

【0249】本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量表現或只表現本發明肽的食道癌。這些肽由質譜分析法直接顯示出，而由HLA分子自然表現于原發性人食道癌樣本中。

【0250】與正常組織相比，癌症中高度過量表達肽來源的許多源基因/蛋白質（也指定為「全長蛋白」或「潛在蛋白」）-本發明相關的「正常組織」是健康食道細胞或其他正常細胞，這表明腫瘤與這些源基因的高度關聯性（見實施例2）。此外，這些肽本身也在腫瘤組織中過度表現（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自食道癌患者的樣本），但不在正常組織中過度表現（見實施例1）。

【0251】HLA結合肽能夠被免疫系統識別，特別是T淋巴細胞。T細胞可破壞表現被識別HLA/肽複合體的細胞（如：表現衍生肽的食道癌細胞）。

【0252】本發明的所有肽已被證明具有刺激T細胞反應的能力，並過量表現，因而可用于製備本發明的抗體和/或TCR，例如可溶性TCR（參見實施例3和實施例4）。此外，肽與相應的MHC組合時，也可用于製備本發明的抗體和/或TCR，特別是sTCR。各個方法均為技術人員所熟知，並在各個文獻中可找到。因此，本發明的肽可用于在患者中產生免疫反應，從而能夠毀滅腫瘤細胞。患者的免疫反應能夠透過直接給予患者所述肽或前體物質（如，加長肽、蛋白或編碼這些肽的核酸），較理想是與加強免疫原性的製劑相結合，而進行誘導。源自該治療性

疫苗的免疫反應預期能夠高度特異性地對抗腫瘤細胞，因為本發明的目標肽在正常組織上表現的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良自體免疫反應的風險。

【0253】 本說明書還涉及包含一個α鏈和一個β鏈(「α/βTCR」)的T細胞受體(TCR)。還提供了由MHC分子表現時可與TCR和抗體結合的HAVCR1-001肽。本說明書還涉及核酸、載體和用於表達TCR的宿主細胞和本說明書的肽；以及使用它們的方法。

【0254】 術語「T細胞受體」（縮寫TCR）是指一種異二聚體分子，其包含一個α多肽鏈（α鏈）和一個β多肽鏈(β鏈)，其中所述異二聚體受體能夠結合由HLA分子表現的肽抗原。該術語還包括所謂的γ/δTCR。

【0255】 在一個實施方案中，本說明書提供了如本文中所描述的產生TCR的方法，該方法包括在適於促進TCR表達的條件下培養能夠表達TCR的宿主細胞。

【0256】 另一個方面，本說明書涉及一種根據本說明書的方法，其中所述抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的I或II類MHC分子，或該抗原透過四聚化被載入I或II類MHC四聚體/I或II類MHC複合單體。

【0257】 α/βTCR的α和β鏈和γ/δTCR的γ和δ鏈通常被視為各自有兩個「結構域」，即可變和恒定結構域。可變結構域由可變區(V)和連接區(J)的組合。可變結構域還可能包括一個前導區(L)。β和δ鏈還可能

包括一個多樣區（D）。α和β恒定結構域還可能包括錨定α和β鏈至細胞膜的C末端跨膜（TM）結構域。

【0258】相對於γ/δ的TCR，如本文所用的術語「TCRγ可變域」是指無前導區（L）的TCRγ V（TRGV）區與TCRγ（TRGJ）區的組合，術語TCRγ恒定結構域是指細胞外TRGC區域，或C-末端截短TRGC序列。同樣地，「TCRδ可變域」是指無前導區（L）的TCRδ V（TRDV）區與TCRδ D/J（TRDD/TRDJ）區的組合，術語「TCRδ恒定結構域」是指細胞外TRDC區域，或C-末端截短TRDC序列。

【0259】本說明書的TCR優選結合至HAVCR1-001肽HLA分子複合體，其具有約100μM或更小、約50μM或更小、約25μM或更小或約10μM或更小的結合親和力(KD)。更為優選的情況是具有約1μM或更小、約100nM或更小、約50nM或更小或約25nM或更小結合親和力的高親和力TCR。本發明TCR優選結合親和力範圍的非限制性示例包括約1 nM至約10 nM；約10 nM至約20 nM；約20 nM至約30 nM；約30 nM至約40 nM；約40 nM至約50 nM；約50 nM至約60 nM；約60 nM至約70 nM；約70 nM至約80 nM；約80 nM至約90 nM；以及約90 nM至約100 nM。

【0260】與本說明書TCR相關，本文使用的「特異性結合」及其語法變體用於表示對100μM或更小的

HAVCR1-001肽-HLA分子複合體有結合親和力(KD)的TCR。

【0261】 本說明書的α/β異二聚體TCR可能具有其恒定結構域之間的引入二硫鍵。這種類型的優選TCR包括那些具有一個TRAC恒定域序列和TRBC1或TRBC2恒定域序列的TCR，除非TRAC的蘇氨酸48和TRBC1或TRBC2的絲氨酸57被半胱氨酸殘基取代，所述半胱氨酸形成TRAC恒定域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定區序列之間的二硫鍵。

【0262】 不論具有或不具有上述的引入鏈間鍵，本說明書的α/β雜二聚體TCR可能具有一個TRAC恒定域序列和一個TRBC1或TRBC2恒定結構域序列，並且TRAC恒定結構域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定結構域序列可能透過TRAC外顯子2的Cys4和TRBC1或TRBC2外顯子2的Cys4之間的天然二硫鍵相連。

【0263】 本說明書的TCR可能包括選自由放射性核素、螢光團和生物素組成組中的可檢測標記。本說明書的TCR可能共軛至治療活性劑，如放射性核素、化學治療劑或毒素。

【0264】 在一個實施方案中，具有在α鏈中至少一個突變和/或具有在β鏈中至少一個突變的TCR與非突變TCR相比，已經修改了糖基化。

【0265】 在一個實施方案中，在TCRα鏈和/或TCRβ鏈中包括至少一個突變的TCR對HAVCR1-001肽HLA

分子複合體有結合親和力和/或結合半衰期，其是包含非突變TCR α鏈和/或非突變TCR β鏈的TCR的結合親和力的至少兩倍。腫瘤特異性TCR親和力增強及其開發依賴於存在最佳TCR親和力的窗口。這樣窗口的存在是根據觀察結果：HLA-A2限制性病原體特異性TCR與HLA-A2限制性腫瘤相關自身抗原特異性TCR相比，KD值通常大約低10倍。現已知，儘管腫瘤抗原可能具有免疫原性，但是因為腫瘤來自個體自身的細胞，因此僅突變蛋白質或翻譯加工改變的蛋白將被免疫系統視為外來物質。上調或過度表達（所謂的自體抗原）的抗原不一定誘導針對腫瘤的功能免疫應答：表達對這些抗原具有高度反應性的TCR的T細胞會在一種稱為中樞耐受的程序中在胸腺內被不利選擇，也就是說只有對自身抗原具有低親和力TCR的細胞才仍然存在。因此，本說明書的TCR或變體對HAVCR1-001的親和力可透過本領域熟知的方法來增強。

【0266】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明TCR的一種方法，所述方法包括：用A2/HAVCR1-001肽單體從HLA-A*02陰性健康供體孵育PBMC，用四聚體-藻紅蛋白（PE）孵育PBMC並透過螢光活化細胞分選(FACS) – Calibur方法分析分離高親和力T細胞。

【0267】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明TCR的一種方法，所述方法包括：獲得含整個人體TCR αβ基因位點(1.1 and 0.7 Mb)的轉基因小鼠（其T細胞表

達多樣化人類TCR，用於補償小鼠TCR缺乏），用HAVCR1-001對小鼠進行免疫處理，用四聚體-藻紅蛋白(PE)孵育從轉基因小鼠中獲得的PBMC，並透過螢光活化細胞分選(FACS) – Calibur方法分析分離高親和力T細胞。

【0268】 一方面，為了獲得表達本說明書TCR的T細胞，編碼本說明書TCR-α和/或TCR-β鏈的核酸被克隆入表達載體，諸如γ反轉錄病毒或慢病毒。重組病毒產生，然後測試功能，如抗原專一性和功能性親合力。然後，最終產品的等分試樣被用於轉導靶T細胞群體（一般純化自患者的 PBMC），在輸入患者前展開。另一方面，為了獲得表達本說明書TCR的T細胞，TCR RNA透過本領域中已知的技術（例如，體外轉錄系統）合成。然後，體外合成的TCR RNA透過電穿孔來重新表達腫瘤特異性TCR-α和/或TCR-β鏈被引入獲得自健康供體的初級CD8+T細胞。

【0269】 為了增加表達，編碼本說明書TCR的核酸在操作上可連接到強啟動子，例如逆轉錄病毒長末端重複序列(LTR)、巨細胞病毒(CMV)、鼠幹細胞病毒(MSCV)U3、磷酸甘油酸激酶 (PGK)、β 肌動蛋白、泛素蛋白和猿猴病毒 40 (SV40)/CD43複合啟動子、延伸因子(EF)-1a和脾臟病灶形成病毒 (SFFV) 啟動子。在一優選實施方案中，啟動子與被表達的核酸異源。除了強啟動子外，本說明書的TCR表達盒可能含有附加的元素，

可提高轉基因表達，包括中樞多聚嘌呤區（CPPT），其促進了慢病毒構建體的核易位（Follenzi et al., 2000），和土撥鼠肝炎病毒轉錄後調控元素（WPRE），其透過提高RNA穩定性增加轉基因表達水準(Zufferey et al., 1999)。

【0270】本發明TCR的α和β鏈可由位於分開的載體核酸進行編碼，或者可透過位於同一載體的多核苷酸編碼。

【0271】實現高水準的TCR表面表達需要引入TCR的TCR-α和TCR-β鏈高水準轉錄。為了實現它，本說明書的TCR-α和TCR-β鏈可在單一的載體中被克隆入雙順反子構建體，其已被證明能夠克服這一障礙。使用TCR-α和TCR-β鏈在之間的病毒核糖體間進入位元點（IRES）導致兩鏈的協同表達，因為TCR-α和TCR-β鏈均由在翻譯過程中分成兩個蛋白質的單一轉錄物產生，從而確保了產生TCR-α和TCR-β鏈的相等摩爾比。(Schmitt et al. 2009)。

【0272】編碼本說明書TCR的核酸可以是被優化以從宿主細胞增加表達的密碼子。遺傳密碼冗餘讓一些氨基酸被一個以上的密碼子編碼，但某些密碼子沒有其他密碼子「優化」，因為匹配 tRNA以及其他因子的相對可用性(Gustafsson et al., 2004)。修改TCR-α和TCR-β基因序列使得每個氨基酸被用於哺乳動物基因表達的最佳密碼子編碼，以及消除mRNA不穩定性基序或隱蔽剪

接位元點，已顯示可顯著提高TCR-α和TCR-β基因表達(Scholten et al., 2006)。

【0273】 此外，引入的和內源性TCR鏈之間的錯配可能會導致獲得特異性，其構成自身免疫的顯著風險。例如，混合TCR二聚體的形成可能會減少可用以形成正確配對TCR複合體的CD3分子數目，因此，可以顯著降低表達所引入TCR的細胞的功能性親合力 (Kuball et al., 2007)。

【0274】 為了減少錯配，本說明書引入的TCR鏈的C-末端結構域可以進行修改以促進鏈間親和力，同時降低引入鏈與內源TCR配對的能力。這些策略可能包括用鼠配對物取代人類TCR-α和TCR-βC端結構域（鼠化 C 端結構域）；透過引入第二個半胱氨酸殘基到引入TCR的TCR-α和TCR-β鏈產生 C 末端結構域的第二個鏈間二硫鍵（半胱氨酸修飾）；交換TCR-α和TCR-β鏈 C 端結構域的相互作用殘基(「杵臼結構」)；直接融合TCR-α和TCR-β鏈可變結構域至 CD3ζ（CD3ζ 融合）(Schmitt et al. 2009)。

【0275】 在一實施方案中，宿主細胞被改變結構以表達本說明書的TCR。在一優選實施方案中，宿主細胞為人T細胞或T細胞祖細胞。在一些實施方案中，T細胞或T細胞祖細胞從癌症患者中獲得。在另一些實施方案中，T細胞或T細胞祖細胞從健康供體中獲得。本說明書的宿主細胞相對於待治療的患者可以為同種異體或自體的。在一實

施方案中，宿主是被轉化以表達 α/β TCR的 γ/δ T細胞。

【0276】 「藥物組合物」是指適合在醫療機構用於人體的組合物。優選地，藥物組合物為無菌狀態，並根據 GMP 指南生產。

【0277】 藥物組合物包括游離形式或以一種藥用鹽形式存在的肽（也參見上文）。此處使用的「藥用鹽」系指所公開的肽的一種衍生物，其中該肽由制酸或藥劑的城鹽進行改性。例如，用與適合的酸反應的游離城（通常其中的中性藥物有一個中性 $-NH_2$ 基團）製備酸式鹽。適合製備酸鹽的酸包括有機酸，如：乙酸、丙酸、羥基酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、丙二酸、丁二酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、甲磺酸、苯磺酸、水楊酸等等、以及無機酸，如：鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等。相反，可在一種肽上表現的酸性基團的城鹽製劑使用藥用城基進行製備，如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺等等。

【0278】 在特別優選的實施方案中，藥物組合物包括乙酸（醋酸鹽），三氟乙酸鹽或鹽酸（氯化物）形式的肽。

【0279】 本發明中所述的藥劑優選為一種免疫治療藥劑，例如，一種疫苗。該疫苗可直接給到患者的受影響器官，也可i.d.、i.m.、s.c.、i.p. 和 i.v. 注射方式全身給藥，或體外應用到來自患者或其細胞株的細胞（隨後再將這些細胞注入到患者中），或體外用於從來自患者的

免疫細胞的一個細胞亞群（然後再將細胞重新給予患者）。如果核酸體外注入細胞，可能有益於細胞轉染，以共同表達免疫刺激細胞因子（如白細胞介素-2）。肽可完全單獨給藥，也可與免疫刺激佐劑相結合（見下文）、或與免疫刺激細胞因子聯合使用、或以適當的輸送系統給藥（例如脂質體）。該肽也可共軛形成一種合適的載體（如鑰孔蟲戚血藍蛋白（KLH）或甘露）到合適的載體（參閱WO 95/18145及(Longenecker et al., 1993)）。肽也可能被標記，可能是融合蛋白，或可能是雜交分子。在本發明中給出序列的肽預計能刺激CD4或CD8 T細胞。然而，在有CD4 T-輔助細胞的幫助時，CD8 T細胞刺激更加有效。因此，對於刺激CD8 T細胞的MHC-I類表位，一種雜合分子的融合夥伴或片段提供了刺激CD4陽性T細胞的適當表位。CD4-和CD8刺激表位為本領域所熟知、並包括本發明中確定的表位。

【0280】一方面，疫苗包括至少含有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93中提出的一種肽以及至少另外一種肽，優選為2至50個、更優選為2至25個、再優選為2至20個、最優選為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18個肽。肽可能從一個或多個特定TAA中衍生，並且可能與MHC I類分子結合。

【0281】另一方面，本發明提出了一種編碼本發明中肽或肽變體的核酸（如多聚核苷酸）。多聚核苷酸可能為，例如，DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物，它們可

為單鏈和/或雙鏈、或多聚核苷酸的原生或穩定形式（如：具有硫代磷酸骨架的多聚核苷酸），並且只要它編碼肽，就可能包含也可能不包含內含子。當然，多聚核苷酸只能編碼加入天然肽鍵並含有天然氨基酸殘基的肽。另一個方面，本發明提出了一種可根據本發明表達多肽的表達載體。

【0282】 對於連接多核苷酸，已經開發出多種方法，尤其是針對DNA，可透過向載體補充可連接性末端等方法進行連接。例如，可向DNA片段加入補充性均聚物軌道，之後DNA片段被插入到載體DNA。然後，透過補充性均聚物尾巴的氫鍵結合，將載體和DNA片段結合，從而形成重組DNA分子。

【0283】 含有一個或多個酶切位點的合成接頭為DNA片段與載體連接提供了另一種方法。含各種限制性核酸內切酶的合成接頭可透過多種管道購得，其中包括從國際生物技術公司（International Biotechnologies Inc, New Haven, CN, 美國）購得。

【0284】 編碼本發明多肽的DNA理想修飾方法是使用Saiki等人（Saiki et al., 1988）所採用的聚合酶鏈反應方法。此方法可用於將DNA引入合適的載體（例如，透過設計合適的酶切位點），也可用於本領域已知的其他有用方法修飾DNA。如果使用病毒載體，痘病毒載體或腺病毒載體為優選。

【0285】 之後，DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能表達於合適的宿主，從而製成含本發明肽或變體的多肽。因此，可根據已知技術使用編碼本發明肽或變體的DNA，用本文所述方法適當修飾後，構建表達載體，然後表達載體用於轉化合適宿主細胞，從而表達和產生本發明中的多肽。此類技術包括那些公開於，例如，美國專利 4,440,859、4,530,901、4,582,800、4,677,063、4,678,751、4,704,362、4,710,463、4,757,006、4,766,075 和 4,810,648。

【0286】 編碼含本發明化合物多肽的DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能被加入到其他多種DNA序列，從而引入到合適的宿主中。同伴DNA將取決於宿主的性質、DNA引入宿主的方式、以及是否需要保持為游離體還是要相互結合。

【0287】 一般來說，DNA可以適當的方向和正確的表達閱讀框架附著到一種表達載體（如質粒）中。如有必要，該DNA可能與所需宿主所識別的相應轉錄和翻譯調節控制核苷酸序列連接，儘管表達載體中一般存在此類控制功能。然後，該載體透過標準方法被引入宿主。一般來說，並不是所有的宿主都會被載體轉化。因此，有必要選擇轉化過的宿主細胞。選擇方法包括用任何必要的控制元素向表達載體插入一個DNA序列，該序列對轉化細胞中的可選擇性屬性（如抗生素耐藥性）進行編碼。

【0288】 另外，有這種選擇屬性的基因可在另外一個載體上，該載體用來協同轉化所需的宿主細胞。

【0289】 然後，本發明中的重組DNA所轉化的宿主細胞在本文中所述本領域技術人員熟悉的合適條件下培養足夠長的時間，從而表達之後可回收的肽。

【0290】 有許多已知的表達系統，包括細菌（如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌）、酵母（如酵母菌）、絲狀真菌（如曲黴菌）、植物細胞、動物細胞及昆蟲細胞。該系統可優選為哺乳動物細胞，如來自 ATCC 細胞生物學庫（Cell Biology Collection）中的 CHO 細胞。

【0291】 典型的哺乳動物細胞組成型表達載體質粒包括CMV或含一個合適的多聚A尾巴的SV40啟動子以及抗性標誌物（如新黴素）。一個實例為從Pharmacia公司（Piscataway，新澤西，美國）獲得的pSVL。一種可誘導型哺乳動物表達載體的例子是pMSG，也可以從Pharmacia公司獲得。有用的酵母質粒載體是pRS403-406和pRS413-416，一般可從StratageneCloning Systems公司（La Jolla, CA 92037，美國）獲得。質粒pRS403、pRS404、pRS405和pRS406是酵母整合型質粒(YIp)，並插入了酵母可選擇性標記物 HIS3、TRP1、LEU2和URA3。pRS413-416質粒為酵母著絲粒質粒(Ycp)。基於CMV啟動子的載體（如，來自於 Sigma-Aldrich 公司）提供了暫態或穩定的表達、胞漿表達或分泌，以及FLAG、

3xFLAG、c-myc或MATN不同組合物中的N-端或C-端標記。這些融合蛋白可用於檢測、純化及分析重組蛋白。雙標融合為檢測提供了靈活性。

【0292】 強勁的人巨細胞病毒（CMV）啟動子調控區使得 COS 細胞中的組成蛋白表達水準高達 1 mg/L。對於較弱的細胞株，蛋白水準一般低於 0.1 mg/L。SV40 複製原點的出現將導致DNA在 SV40 複製容納性 COS 細胞中高水準複製。例如，CMV 載體可包含細菌細胞中的 pMB1（pBR322 的衍生物）複製原點、細菌中進行氨苄青黴素抗性選育的 鈣-內醯胺酶基因、hGH polyA 和 f1 的原點。含前胰島素原引導（PPT）序列的載體可使用抗 FLAG 抗體、樹脂和板引導 FLAG 融合蛋白分泌到進行純化的培養基中。其他與各種宿主細胞一起應用的載體和表達系統是本領域熟知眾所周知的。

【0293】 在另一個實施方案中，對本發明的兩個或更多的肽或肽變體進行編碼，因此，以一個連續順序（類似於「一串珠子」的構建體）表達。在達到目標，所述肽或肽變體可能透過連接子氨基酸的延伸處（例如LLLLLL）連接或融合一起，也可能他們之間沒有任何附加的肽而被連接。這些構建體也可用於癌症治療，可誘導涉及MHC I和MHC II類分子的免疫應答。

【0294】 本發明還涉及一種宿主細胞，其以本發明的多核苷酸載體構建轉化而來。宿主細胞可為原核細胞，也可為真核細胞。在有些情況下，細菌細胞為優選原核宿主細

胞，典型為大腸桿菌株，例如，大腸桿菌菌株 DH5（從 Bethesda Research Laboratories 公司（Bethesda, MD, 美國）獲得）和 RR1（從美國菌種保藏中心（ATCC, Rockville, MD, 美國），ATCC 編號31343 獲得）。首選的真核宿主細胞包括酵母、昆蟲和哺乳動物細胞，優選為脊椎動物細胞，如：小鼠、大鼠、猴子或人成纖維細胞和結腸癌細胞株中的細胞。酵母宿主細胞包括 YPH499、YPH500 和 YPH501，一般可從 Stratagene Cloning Systems 公司（La Jolla, CA 92037, 美國）獲得。首選哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢（CHO）細胞為 ATCC 中的 CCL61 細胞、NIH 瑞士小鼠胚胎細胞 NIH/3T3 為 ATCC 中的 CRL 1658 細胞、猴腎源性 COS-1 細胞為 ATCC 中的 CRL 1650 細胞以及人胚胎腎細胞的 293 號細胞。首選昆蟲細胞為 Sf9 細胞，可用杆狀病毒表達載體轉染。有關針對表達選擇合適宿主細胞的概要，可從教科書（Paulina Balbás and Argelia Lorence《Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols》Part One, Second Edition, ISBN 978-1-58829-262-9）和技術人員知道的其他文獻中查到。

【0295】 含本發明DNA結構的適當宿主細胞的轉化可使用大家熟知的方法完成，通常取決於使用載體的類型。關於原核宿主細胞的轉化，請參見，例如，Cohen 等人

的文獻（Cohen et al., 1972）和（Green and Sambrook, 2012）。酵母細胞的轉化在Sherman等人的文章（Sherman et al., 1986）中進行了描述。Beggs（Beggs, 1978）中所述的方法也很有用。對於脊椎動物細胞，轉染這些細胞的試劑等，例如，磷酸鈣和DEAE-葡聚糖或脂質體配方，可從Stratagene Cloning Systems公司或Life Technologies公司（Gaithersburg, MD 20877，美國）獲得。電穿孔也可用於轉化和/或轉染細胞，是本領域用於轉化酵母細胞、細菌細胞、昆蟲細胞和脊椎動物細胞大家熟知的方法。

【0296】 被成功轉化的細胞（即含本發明DNA結構的細胞）可用大家熟知的方法（如PCR）進行識別。另外，上清液存在的蛋白可使用抗體進行檢測。

【0297】 應瞭解，本發明中的某些宿主細胞用於製備本發明中的肽，例如細菌細胞、酵母細胞和昆蟲細胞。但是，其他宿主細胞可能對某些治療方法有用。例如，抗原呈現細胞（如樹突狀細胞）可用于表達本發明中的肽，使他們可以加載入相應的MHC分子中。因此，本發明提出了含本發明中核酸或表達載體的一種宿主細胞。

【0298】 在一個優選實施方案中，宿主細胞為抗原呈現細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原呈現細胞。2010年4月29日，美國食品和藥物管理局（FDA）批准載有含攝護腺酸性磷酸酶（PAP）的重組融合蛋白可用於治療無症狀

或症狀輕微的轉移性HRPC（Rini et al., 2006; Small et al., 2006）。

【0299】另一方面，本發明提出了一種配製一種肽及其變體的方法，該方法包括培養宿主細胞和從宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0300】在另一個實施方案中，本發明中的肽、核酸或表達載體用於藥物中。例如，肽或其變體可製備為靜脈(i.v.)注射劑、皮下(s.c.)注射劑、皮內(i.d.)注射劑、腹膜內(i.p.)注射劑、肌肉(i.m.)注射劑。肽注射的優選方法包括s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和i.v.注射。DNA注射的優選方法為i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和i.v.注射。例如，給予50 μg至1.5 mg，優選為125 μg至500 μg的肽或DNA，這取決於具體的肽或DNA。上述劑量範圍在以前的試驗中成功使用（Walter et al., 2012）。

【0301】用於主動免疫接種的多聚核苷酸可為基本純化形式，也可包被於載體或輸送系統。核酸可能為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。這種核酸的設計和引入方法為本領域所熟知。例如，文獻中有其概述(Teufel et al., 2005)。多核苷酸疫苗很容易製備，但這些載體誘導免疫反應的作用模式尚未完全瞭解。合適的載體和輸送系統包括病毒DNA和/或RNA，如基於腺病毒、牛痘病毒、逆轉錄病毒、皰疹病毒、腺相關病毒或含一種以上病毒元素的混合病毒的系統。非病毒輸送系統包括陽離子脂質體和陽離子聚合物，是DNA輸送所屬領

域內熟知的系統。也可使用物理輸送系統，如透過「基因槍」。肽或核酸編碼的肽可以是一種融合蛋白，例如，含刺激T細胞進行上述 CDR 的表位。

【0302】 本發明的藥劑也可能包括一種或多種佐劑。佐劑是那些非特異性地增強或加強免疫反應的物質（例如，透過 CD8-陽性T細胞和輔助 T(T_H) 細胞介導的對一種抗原的免疫應答，因此被視為對本發明的藥劑有用。適合的佐劑包括（但不僅限於）1018ISS、鋁鹽、AMPLIVAX®、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、鞭毛蛋白或鞭毛蛋白衍生的TLR5配體、FLT3配體、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特（ALDARA®）、resiquimod、ImuFact IMP321、白細胞介素IL-2、IL-13、IL-21、干擾素α或β，或其聚乙二醇衍生物、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、ISCOMs、JuvImmune®、LipoVac、MALP2、MF59、單磷醯脂A、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、水包油和油包水乳狀液、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、OspA、PepTel® 載體系統、基於聚丙交酯複合乙交酯[PLG]和右旋糖苷微粒、重組人乳鐵傳遞蛋白SRL172、病毒顆粒和其他病毒樣顆粒、YF-17D、VEGF trap、R848、β-葡聚糖、Pam3Cys、源自皂角苷、分支桿菌提取物和細菌細胞壁合成模擬物的 Aquila 公司

的 QS21 刺激子，以及其他專有佐劑，如：Ribi's Detox、Quil 或 Superfos。優選佐劑如：弗氏佐劑或 GM-CSF。前人對一些樹突狀細胞特異性免疫佐劑（如 MF59）及其製備方法進行了描述（Allison and Krummel, 1995)。也可能使用細胞因子。一些細胞因子直接影響樹突狀細胞向淋巴組織遷移（如，TNF-），加速樹突狀細胞成熟為T淋巴細胞的有效抗原呈現細胞（如，GM-CSF、IL-1 和 IL-4）（美國 5849589號專利，特別以其完整引用形式併入本文），並充當免疫佐劑（如 IL-12、IL-15、IL-23、IL-7、IFN-α、IFN-β）(Gabrilovich et al., 1996)。

【0303】 據報告，CpG免疫刺激寡核苷酸可提高佐劑在疫苗中的作用。如果沒有理論的約束，CpG 寡核苷酸可透過 Toll 樣受體（TLR）（主要為 TLR9）啟動先天（非適應性）免疫系統從而起作用。CpG 引發的 TLR9 活化作用提高了對各種抗原的抗原特異性體液和細胞反應，這些抗原包括肽或蛋白抗原、活病毒或被殺死的病毒、樹突狀細胞疫苗、自體細胞疫苗以及預防性和治療性疫苗中的多糖結合物。更重要的是，它會增強樹突狀細胞的成熟和分化，導致 T_{H1} 細胞的活化增強以及細胞毒性T淋巴細胞（CTL）生成加強，甚至 CD4 T細胞說明的缺失。甚至有疫苗佐劑的存在也能維持 TLR9 活化作用誘發的 T_{H1} 偏移，這些佐劑如：正常促進 T_{H2} 偏移的明礬或弗氏不完全佐劑（IFA）。CpG 寡核苷酸與以下其

他佐劑或配方一起製備或聯合給藥時，表現出更強的佐劑活性，如微粒、納米粒子、脂肪乳或類似製劑，當抗原相對較弱時，這些對誘發強反應尤為必要。他們還能加速免疫反應，使抗原劑量減少約兩個數量級，在有些實驗中，對不含CpG 的全劑量疫苗也能產生類似的抗體反應(Krieg, 2006)。美國6406705 B1 號專利對CpG 寡核苷酸、非核酸佐劑和抗原結合使用促使抗原特異性免疫反應進行了描述。一種CpG TLR9 拮抗劑為Mologen 公司（德國柏林）的dSLIM（雙幹環免疫調節劑），這是本發明藥物組合物的優選成分。也可使用其他如 TLR 結合分子，如：RNA結合TLR7、TLR8 和/或TLR9。

【0304】 其他有用的佐劑例子包括（但不限於）化學修飾性CpG （如CpR、Idera）、dsRNA模擬物，如，Poly(I:C)及其衍生物（如：AmpliGen、Hiltonol、多聚-(ICLC)、多聚(IC-R)、多聚(I:C12U)）、非CpG 細菌性DNA或RNA以及免疫活性小分子和抗體，如：環磷醯胺、舒尼替單抗、貝伐單抗®、西樂葆、NCX-4016、西地那非、他達拉非、伐地那非、索拉非尼、替莫唑胺、temsirolimus、XL-999、CP-547632、帕唑帕尼、VEGF Trap、ZD2171、AZD2171、抗-CTLA4、免疫系統的其他抗體靶向性主要結構（如：抗-CD40、抗-TGFβ、抗-TNFα受體）和 SC58175，這些藥物都可能有治療作用和/或充當佐劑。技術人員無需過度進行不

當實驗就很容易確定本發明中有用的佐劑和添加劑的數量和濃度。

【0305】 首選佐劑是抗-CD40、咪喹莫特、瑞喹莫德、GM-CSF、環磷醯胺、舒尼替尼、貝伐單抗、干擾素α、CpG 寡核苷酸及衍生物、多聚(I:C)及衍生物、RNA、西地那非和PLG或病毒顆粒的微粒製劑。

【0306】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特、resiquimod 和干擾素-α。

【0307】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特和 resimiquimod。在本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑為環磷醯胺、咪喹莫特或resiquimod。更優選的佐劑是 Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、聚-ICLC (Hiltonol®) 和抗CD40 mAB或其組合物。

【0308】 此組合藥物為非腸道注射使用，如皮下、皮內、肌肉注射，也可口服。為此，肽和其他選擇性分子在藥用載體中分解或懸浮，優選為水載體。此外，組合物可包含輔料，如：緩衝劑、結合劑、衝擊劑、稀釋劑、香料、潤滑劑等。這些肽也可與免疫刺激物質合用，如：細胞因

子。可用於此類組合物的更多輔料可在從 A. Kibbe 所著的 Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000) 等書中獲知。此組合藥物可用於阻止、預防和/或治療腺瘤或癌性疾病。例如，EP2112253 中有示例製劑。

【0309】 重要的是要認識到，透過本發明的疫苗引發的免疫應答在不同的細胞階段和開發的不同階段攻擊癌症。而且不同的癌症相關信號通路被攻擊。這相對於其他疫苗的優勢，這些疫苗只針對一個或幾個靶標，這可能會導致腫瘤很容易適應於攻擊（腫瘤逃逸）。此外，並非所有的個體腫瘤都表達相同模式的抗原。因此，幾個腫瘤相關肽的組合確保了每個腫瘤都承擔至少一些靶標。該組合物以這樣的方式設計，預期每個腫瘤可表達幾種抗原並覆蓋腫瘤生長和維持所需要的幾種獨立的途徑。因此，疫苗可易於「現成的」用於較大患者群體。這意味著，預選擇接受疫苗治療的患者可限制為HLA分型，無需抗原表達的任何額外的生物標誌物評估，但仍然確保多個靶標同時被誘導的免疫應答攻擊，這對於療效很重要 (Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012)。

【0310】 本文所用的「支架」一詞是指與（如抗原）決定因子特異性結合的分子。在一項實施方案中，支架是能夠引導其所連接的實體（例如，（第二）抗原結合部分）至目標靶點，例如，至特定類型的腫瘤細胞或承載抗原決

定簇的腫瘤基質（如根據目前申請中肽和MHC的複合體）。在另一項實施例中，支架能夠透過其靶抗原（例如T細胞受體複合體抗原）啟動信號通路。支架包括但不限於抗體及其片段，抗體的抗原結合區，其包含抗體重鏈可變區和抗體輕鏈可變區，結合的蛋白包括至少一個錨蛋白重複序列基元和單域抗原結合（SDAB）分子、適體、（可溶）TCR 和（經修飾的）細胞，例如同種異體或自體T細胞。為了評估某個分子是否是結合至靶點的支架，可進行結合測定。

【0311】「特定」結合系指，與其他天然肽-MHC 複合體相比，該支架與感興趣的肽-MHC複合體更好地結合，結合程度為，擁有能夠殺死承載特定靶點細胞的活性分子的支架不能夠殺死無特定靶點但表現一個或多個其他肽-MHC複合體的另一細胞。如果交叉反應性肽-MHC的肽並不是天然的，即，並非來自人 HLA-多肽組，則結合至其他肽-MHC 複合體是無關緊要的。評估靶細胞殺傷的測試在本領域中是公知的。它們應該含有未改變的肽-MHC 表現的靶細胞（原發細胞或細胞系）或載有肽的細胞進行，以便達到天然肽-MHC 的水準。

【0312】各支架可包括一個標記，其透過確定是否存在或不存在標籤所提供的信號可檢測到結合支架。例如，該支架可用螢光染料或任何其他適用的細胞標記分子進行標記。此類標記分子是本領域中公知的。例如，透過螢光

染料進行的螢光標記可透過螢光或鐳射掃描顯微術或流式細胞術提供結合適體的視覺化。

【0313】 各支架可與第二個活性分子（例如 IL-21、抗 CD3、抗 CD28）共軛。

【0314】 關於多肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在 WO 2014/071978A1 背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0315】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見WO 2014/191359及其中引用的文獻）是短的單鏈核酸分子，其可以折疊為所定義的三維結構並識別特定的靶標結構。它們似乎是開發靶向治療的合適替代方法。適體已顯示可選擇性與具有高親和力和特異性的複合體靶標相結合。

【0316】 識別細胞表面分子的適體在過去十年內已經確定，並為開發診斷和治療方法提供了手段。由於適體已顯示幾乎無毒性和免疫原性，因此，它們是生物醫學應用中有前景的候選物質。事實上適體，例如攝護腺特異性膜抗原識別適體，已被成功地用於靶向治療並在體內模型的異種移植物中顯示出功能。此外，認識到特定腫瘤細胞系的適體也已確定。

【0317】 可選擇DNA適體來揭示各種癌細胞的廣譜識別屬性，特別是那些來自於實體瘤的細胞，而非致瘤和主要健康細胞不被識別。如果所識別的適體不僅識別腫瘤特

異性子類型，而且與一系列腫瘤相互作用，這使適體適用于作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0318】 此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在納摩爾範圍內顯示出很好的親和力。

【0319】 適體用於診斷和治療目的。此外，也可能顯示，一些適體被腫瘤細胞吸取，因而可作為抗癌劑靶向遞送的分子賦形劑，例如 siRNA進入腫瘤細胞。

【0320】 可選擇適體針對複合體的靶標，如細胞和組織以及包含、優選包括根據任何SEQ ID NO 1 至SEQ ID NO 93 的一個序列、根據當前發明的肽複合體與MHC分子，使用細胞 SELEX（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0321】 本發明中的肽可用于生成和開發出針對MHC/肽複合物的特定抗體。這些抗體可用於治療，將毒素或放射性物質靶向病變組織。這些抗體的另一用途是為了成像之目的（如 PET）將放射性核素靶向病變組織。這可有助於檢測小轉移灶或確定病變組織的大小和準確位置。

【0322】 因此，本發明的另一方面是提出產生特異性結合至與HLA限制性抗原絡合的 I 或 II 類人主要組織相容性複合體 (MHC) 的一種重組抗體的方法，該方法包括：用可溶形式的與HLA限制性抗原絡合的(MHC)I 或 II 類分子對包含表達所述主要組織相容性說複合體(MHC) I 或 II 類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；

將mRNA分子與產生所述非人哺乳動物細胞的抗體分離；產生一個噬菌體顯示庫，顯示由所述mRNA分子編碼的蛋白分子；以及將至少一個噬菌體與所述噬菌體顯示庫分離，所述的至少一個噬菌體顯示所述抗體特異性地結合至與HLA限制性抗原絡合的所述人主要組織相容性說複合體（MHC）I或II類。

【0323】本發明的另一方面提出一種抗體，其特異性結合至與一種HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性說複合體（MHC），其中該抗體優選為多克隆抗體、單克隆抗體、雙特異性抗體和/或嵌合抗體。

【0324】產生這種抗體和單鏈I類主要組織相容性複合物的相應方法，以及產生這些抗體的其他工具在WO 03/068201、WO 2004/084798、WO 01/72768、WO 03/070752以及出版物（Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003）中進行了披露，為了本發明之目的，所有參考文獻透過引用被完整地併入本文。

【0325】優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20納摩爾，優選為低於10納摩爾，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0326】本發明涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成的組的一個序列或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有88%同源性（優

選為相同）的一種變體，或誘導與所述變異肽發生T細胞交叉反應的一種變體，其中，所述肽不是基本的全長多肽。

【0327】 本發明進一步涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少88%同源性（優選為相同）的一種變體，其中所述肽或變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0328】 本發明進一步涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合的能力。

【0329】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中肽系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的一個氨基酸序列組成。

【0330】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽（在化學上）被修飾和/或包含非肽鍵。

【0331】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽為融合蛋白的一部分，特別包括HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸，或其中該肽與一種抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）融合。

【0332】 本發明的另一實施方案涉及一種非天然肽，其中所述肽系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:48的一個氨基酸序列組成，並經合成產生（即，合成）為一種藥用鹽。合成產生肽的方法是本領域公知的。本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為這些體內產生的肽不是鹽。該肽的非天然鹽形式介導肽的溶解

度，特別是包含所述肽的藥物組合物的情況下，例如，本文所公開的肽疫苗。為了向需治療的受試者有效地提供肽，需要肽具有充分、至少基本的溶解度。優選地，鹽為肽的藥用鹽。本發明的這些鹽包括堿和堿土鹽類，諸如Hofmeister系列的鹽，包含陰離子PO_4^{3-}、SO_4^{2-}、CH_3COO^-、Cl^-、Br^-、NO_3^-、ClO_4^-、I^-、SCN^-和陽離子NH_4^+、Rb^+、K^+、Na^+、Cs^+、Li^+、Zn^{2+}、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}和Ba^{2+}。特別地，鹽選自$(NH_4)_3PO_4$、$(NH_4)_2HPO_4$、$(NH_4)H_2PO_4$、$(NH_4)_2SO_4$、NH_4CH_3COO、NH_4Cl、NH_4Br、NH_4NO_3、NH_4ClO_4、NH_4I、NH_4SCN、Rb_3PO_4、Rb_2HPO_4、RbH_2PO_4、Rb_2SO_4、Rb_4CH_3COO、Rb_4Cl、Rb_4Br、Rb_4NO_3、Rb_4ClO_4、Rb_4I、Rb_4SCN、K_3PO_4、K_2HPO_4、KH_2PO_4、K_2SO_4、KCH_3COO、KCl、KBr、KNO_3、$KClO_4$、KI、$KSCN$、Na_3PO_4、Na_2HPO_4、NaH_2PO_4、Na_2SO_4、$NaCH_3COO$、$NaCl$、$NaBr$、$NaNO_3$、$NaClO_4$、NaI、$NaSCN$、$ZnCI_2$ Cs_3PO_4、Cs_2HPO_4、CsH_2PO_4、Cs_2SO_4、$CsCH_3COO$、$CsCl$、$CsBr$、$CsNO_3$、$CsClO_4$、CsI、$CsSCN$、Li_3PO_4、Li_2HPO_4、LiH_2PO_4、Li_2SO_4、$LiCH_3COO$、$LiCl$、$LiBr$、$LiNO_3$、$LiClO_4$、LiI、$LiSCN$、Cu_2SO_4、$Mg_3(PO_4)_2$、Mg_2HPO_4、$Mg(H_2PO_4)_2$、Mg_2SO_4、$Mg(CH_3COO)_2$、$MgCl_2$、$MgBr_2$、$Mg(NO_3)_2$、

$Mg(ClO_4)_2$、MgI_2、$Mg(SCN)_2$、$MnCl_2$、$Ca_3(PO_4)$,、Ca_2HPO_4、$Ca(H_2PO_4)_2$、$CaSO_4$、$Ca(CH_3COO)_2$、$CaCl_2$、$CaBr_2$、$Ca(NO_3)_2$、$Ca(ClO_4)_2$、CaI_2、$Ca(SCN)_2$、$Ba_3(PO_4)_2$、Ba_2HPO_4、$Ba(H_2PO_4)_2$、$BaSO_4$、$Ba(CH_3COO)_2$、$BaCl_2$、$BaBr_2$、$Ba(NO_3)_2$、$Ba(ClO_4)_2$、BaI_2 和 $Ba(SCN)_2$。特別優選為 NH 乙酸、$MgCl_2$、KH_2PO_4、Na_2SO_4、KCl、NaCl 和 $CaCl_2$，例如：氯化物或乙酸鹽（三氟乙酸）鹽。

【0333】 一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽聯接）可使用 Lukas 等人（Lukas et al., 1981）以及此處引用的參考文獻所披露的固相肽合成 Fmoc-聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基（Fmoc）團對 N-氨基提供臨時保護。使用 N, N-二甲基甲醯胺中的 20% 二甲基吡啶中對這種堿高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚（在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下）、丁基酯（在谷氨酸和天門冬氨酸的情況下）、叔丁氧羰基衍生物（在賴氨酸和組氨酸的情況下）、三苯甲基衍生物（在半胱氨酸的情況下）及 4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺醯基衍生物（在精氨酸的情況下），側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為 C-末端殘基，側鏈氨基功能保護所使用的是由 4,4'-二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯醯胺（骨架單體）、雙丙烯醯乙烯二胺（交

聯劑）和 N-丙烯醯肌胺酸甲酯（功能劑）構成。使用的肽-樹脂可裂解聯劑為酸敏感的 4 -羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的氨基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入，但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外，它們使用被逆轉的 N,N-二環己基碳二亞胺/1-羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或 isotin 測試程序監測。合成完成後，用濃度為 95% 含 50% 清道夫混合物的三氟醋酸，從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解肽。常用的清道夫混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水，準確的選擇依據合成肽的氨基酸組成。此外，固相和液相方法結合使用對肽進行合成是可能的（例如，請參閱 (Bruckdorfer et al., 2004) 以及本文引用的參考文獻）。

【0334】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序制得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道夫混合物。肽合成試劑一般可從 Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0335】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0336】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明所述肽，前提是該肽並非完整（完全）的人蛋白。

【0337】本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0338】本發明進一步涉及一種能表達本發明核酸的表達載體。

【0339】本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種藥用表達載體，特別是用於治療食道癌。

【0340】本發明進一步涉及含本發明核酸或本發明表達載體的一種宿主細胞。

【0341】本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0342】本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0343】本發明進一步涉及本發明中的方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞表面的 I 或 II 類MHC分子。

【0344】本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原呈現細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的肽或所述變體氨基酸序列。

【0345】本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞異常表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0346】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者本發明的有效量T細胞。

【0347】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的一種核酸、本發明的一種表達載體、本發明的一種細胞、本發明一種作為藥劑或製造藥劑的活化細胞毒性T淋巴細胞的用途。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0348】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中該藥劑為一種疫苗。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0349】 本發明還一般涉及本發明的用途，其中所述癌細胞為食道癌細胞或其他實體或血液腫瘤細胞，如：肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病。

【0350】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的特定標誌物蛋白和生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷和/或判斷食道癌的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新靶點。

【0351】 本文中術語「抗體」為廣義上的定義，既包括多克隆也包括單克隆抗體。除了完整或「全部」的免疫球蛋白分子，「抗體」這一術語還包括這些免疫球蛋白分子和人源化免疫球蛋白分子的片段（如，CDR、Fv、Fab 和

Fc片段）或聚合物，只要它們表現出本發明的任何期望屬性（例如，食道癌標誌物（多）肽的特異性結合、將毒素傳遞給癌症標誌物基因表達水準增加時的食道癌細胞和/或抑制食道癌標誌物多肽的活性）。

【0352】 只要有可能，本發明的抗體可從商業來源購買。本發明的抗體也可能使用已知的方法制得。技術人員會瞭解全長食道癌標誌物多肽或其片段可用于製備本發明的抗體。用於產生本發明抗體的多肽可部分或全部地由天然源經純化而得，也可利用重組DNA技術生產。

【0353】 例如，本發明的編碼肽的cDNA，例如，該肽為根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93多肽的肽，或其中一個變體或片段，可在原核細胞中（如：細菌）或真核細胞（如：酵母、昆蟲或哺乳動物細胞）中表達，之後，可純化重組蛋白，並用於產生一種特異性結合用於產生本發明抗體的食道癌標誌物多肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0354】 本領域的技術人員會認識到，兩種或兩種以上不同集合的單克隆抗體或多克隆抗體能最大限度地增加獲得一種含預期用途所需的特異性和親和力（例如，ELISA法、免疫組織化學、體內成像、免疫毒素療法）的抗體的可能性。根據抗體的用途，用已知的方法對其期望活性進行測試（例如，ELISA法、免疫組織化學、免疫治療等；要獲取產生和測試抗體的進一步指導，請參閱，例如，Greenfield, 2014 (Greenfield,

2014))。例如，該抗體可用ELISA法或免疫印跡法、免疫組織化學染色福馬林固定的癌組織或冰凍的組織切片進行檢測。在初次體外表徵後，用於治療或體內診斷用途的抗體根據已知的臨床測試方法進行檢測。

【0355】 此處使用的術語「單克隆抗體」系指從大量同質抗體中獲得的一種抗體，即，由相同的抗體組成的抗體群，但可能少量表現的自然突變除外。此處所述的單克隆抗體具體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈和/或輕鏈與從特定物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和分類型抗體的相應序列相同（同質），同時，剩餘鏈與從其他物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和子類型抗體的相應序列以及這些抗體的片段相同（同質），只要他們表現出預期的拮抗活性（美國4816567號專利，其在此以其整體併入）。

【0356】 本發明的單克隆抗體可能使用雜交瘤方法制得。在雜交瘤方法中，老鼠或其他適當的宿主動物，通常用免疫製劑以引發產生或能產生將特異性結合至免疫製劑的抗體。或者，淋巴細胞可在體外進行免疫。

【0357】 單克隆抗體也可由DNA重組方法制得，如：美國4816567號專利所述。編碼本發明單克隆抗體的DNA可很容易地使用傳統程序進行分離和測序（例如：透過使用能與編碼鼠抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針）。

【0358】 體外方法也適用於製備單價抗體。抗體消化以產生抗體的片段，尤其是Fab片段，可以透過使用本領域已知的常規技術完成。例如，可以透過使用木瓜蛋白酶完成消化。木瓜蛋白酶消化的實施例在WO 94/29348和美國4342566號專利中有描述。抗體的木瓜蛋白酶消化通常產生兩種相同的抗原結合性片段，稱為Fab片段（每個片段都有一個抗原結合點）和殘餘Fc片段。胃蛋白酶處理產生一個$F(ab')_2$片段和一個pFc'片段。

【0359】 抗體片段，不論其是否附著於其他序列，均可包括特定區域或特定氨基酸殘基的插入、刪除、替換、或其他選擇性修飾，但前提是，片段的活性與非修飾的抗體或抗體片段相比沒有顯著的改變或損害。這些修飾可提供一些額外的屬性，如：刪除/添加可與二硫鍵結合的氨基酸，以增加其生物壽命、改變其分泌特性等。在任何情況下，抗體片段必須擁有生物活性的特性，如：結合活性、調節結合域的結合力等。抗體的功能性或活性區域可透過蛋白特定區域的基因突變、隨後表達和測試所表達的多肽進行確定。這些方法為本行業技術人員所熟知，可包括編碼抗體片段的核酸的特定位點基因突變。

【0360】 本發明的抗體可進一步包括人源化抗體或人抗體。非人（如：鼠）抗體的人源化形式為嵌合抗體免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（如：Fv、Fab、Fab'或抗體的其他抗原結合序列），其中包含從非人免疫球蛋白中獲得的最小序列。人源化抗體包括人免疫球蛋白（受體

抗體），其中來自受體互補決定區（CDR）的殘基被來自非人物種（供體抗體）（如具有與其特異性、親和力和能力的小鼠、大鼠或兔子）CDR 的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的 Fv 框架（FR）殘基被相應的非人殘基取代。人源化抗體可能還包括既非受體抗體、也非輸入 CDR 或框架序列中發現的殘基。一般來說，人源化抗體將包括幾乎所有的至少一個、通常為二個可變域，其中，全部或幾乎全部的 CDR 區域均對應於非人免疫球蛋白的區域並且全部或幾乎全部的 FR區域均為人免疫球蛋白相同序列的區域。理想情況是，人源化抗體還將包括至少免疫球蛋白恒定區（Fc）的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0361】 人源化非人抗體的方法為本行業所熟知。一般來說，人源化抗體具有一個或多個從非人源頭引入的氨基酸殘基。這些非人氨基酸殘基往往被稱為「輸入」殘基，通常從「輸入」可變域中獲得。人源化基本上可以透過將齧齒動物 CDR 或 CDR 序列取代為相應的人抗體序列而完成。因此，這種「人源化」抗體為嵌合抗體（美國 4816567 號專利），其中大大少於完整的人可變域被來自於非人物種的相應序列取代。在實踐中，人源化抗體通常為人抗體，其中有些 CDR 殘基以及可能的一些 FR 殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0362】 可使用免疫後在內源性免疫球蛋白產生缺失時能產生完整人抗體的轉基因動物（如：小鼠）。例如，

它被描述為，嵌合和種系突變小鼠中的抗體重鏈連接區域基因的純合性缺失導致內源性抗體生成的完全抑制。在此種系變種小鼠中人種系免疫球蛋白基因陣列的轉移在抗原挑戰後將導致人抗體的生成。人抗體也可在噬菌體展示庫中產生。

【0363】 本發明的抗體優選為透過藥用載體的形式給予受試者。通常，在製劑中使用適量的藥用鹽，以使製劑等滲。藥用載體的例子包括生理鹽水、林格氏液和葡萄糖溶液。溶液的 pH 值優選為約5 至8，更優選為約7 至7.5。此外，載體還包括緩釋製劑，如：含有抗體的固體疏水性聚合物半透性基質，其中基質為有形物品形式，如：薄膜、脂質體或微粒。本行業的技術人員熟知，某些載體可能為更優選，取決於例如，抗體的給藥途徑和濃度。

【0364】 該抗體可透過注射（如：靜脈內、腹腔內、皮下、肌肉內）或透過輸注等其他方法給予受試者、患者或細胞，確保其以有效的形式傳輸到血液中。這些抗體也可以透過瘤內或瘤周途徑給予，從而發揮局部和全身的治療作用。局部或靜脈注射為優選。

【0365】 抗體給藥的有效劑量和時間表可根據經驗確定，並且作出此類決定屬本行業的技術範圍內。本行業的技術人員會明白，必須給予的抗體劑量根據以下因素會有所不同，例如：接受抗體的受試者、給藥途徑、使用的抗體以及其他正在使用的藥物的特定類型。單獨使用的抗體的通常日劑量可能為約1 μg/kg 至最多 100 mg/kg 體

重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療食道癌後，治療抗體的療效可透過技術人員熟知的不同方法評估。例如：接受治療的受試者癌症的大小、數量和/或分佈可使用標準腫瘤成像技術進行監測。因治療而給予的抗體與不給予抗體時的病程相比，可阻止腫瘤生長、導致腫瘤縮小、和/或阻止新腫瘤的發展，這樣的抗體是一種有效治療癌症的抗體。

【0366】 本發明的另一方面提出了製備識別特異性肽-MHC複合物的可溶性T細胞受體（sTCR）的一種方法。這種可溶性T細胞受體可從特異性T細胞克隆中產生，並且它們的親和力可以透過互補決定區靶向誘變而增加。為了T細胞受體選擇之目的，可以使用噬菌體展示（美國2010/0113300，（Liddy et al., 2012））。為了在噬菌體展示期間以及實際使用為藥物時穩定T細胞受體之目的，可透過非天然二硫鍵、其他共價鍵（單鏈T細胞受體）或透過二聚化結構域連接α和β鏈（Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999)。T細胞受體可以連接到毒素、藥物、細胞因子（參見US 2013/0115191）、域招募效應細胞，如抗CD3域等，以便對靶細胞執行特定的功能。此外，它可能表達於用於過繼轉移的T細胞。進一步的資訊可在 WO 2004/033685A1 和 WO 2004/074322A1 中找到。sTCR 的組合在 WO 2012/056407A1 中進行了描述。WO 2013/057586A1 中公開了製備的進一步的方法。

【0367】 此外，可用本發明的肽和/或TCR或抗體或其他結合分子在活檢樣本的基礎上驗證病理師對癌症的診斷。

【0368】 該抗體或TCR也可用於體內診斷實驗。一般來說，抗體用放射性核素標記（如：^{111}In、^{99}Tc、^{14}C、^{131}I、^{3}H、^{32}P 或 ^{35}S），從而可免疫閃爍掃描法使腫瘤局限化。在一實施方案中，其中的抗體或片段與兩個或兩個以上選自包括上述蛋白的組的蛋白質靶標的細胞外域結合，並且親和力值（Kd）低於 1 x 10μM。

【0369】 診斷用抗體可透過各種影像學方法使用適合檢測的探針進行標記。探針檢測方法包括但不限於，螢光、光、共聚焦和電鏡方法；磁共振成像和光譜學技術；透視、電腦斷層掃描和正電子發射斷層掃描。合適的探針包括但不限於，螢光素、羅丹明、曙紅及其它螢光團、放射性同位素、黃金、釓和其他稀土、順磁鐵、氟-18 和其他正電子發射放射性核素。此外，探針可能是雙功能或多功能的，並且用一種以上的上述方法可進行檢測。這些抗體可用所述的探針直接或間接進行標記。抗體探針的連接，包括探針的共價連接、將探針融合入抗體、以及螯合化合物的共價連接從而結合探針、以及其他本行業熟知的方法。對於免疫組織化學方法，疾病組織樣本可能是新鮮或冷凍或可能包埋於石蠟中以及用福馬林等防腐劑固定。固定或包埋的切片包括與標記一抗和二抗接觸的樣本，其中該抗體用於檢測原位 蛋白的表達。

【0370】 本發明的另一方面包括一種體外製備活化的T細胞的方法，該方法包括將T細胞與載有抗原的人MHC分子進行體外連接，這些分子在合適的抗原呈現細胞表面表達足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化T細胞，其中所述抗原為根據本發明所述的一種肽。優選情況是足夠量的抗原與抗原呈現細胞一同使用。

【0371】 優選情況是，哺乳動物細胞的TAP肽轉運載體缺乏或水準下降或功能降低。缺乏TAP肽轉運載體的適合細胞包括T2、RMA-S和果蠅細胞。TAP是與抗原加工相關的轉運載體。

【0372】 人體肽載入的缺陷細胞株T2從屬美國菌種保藏中心（ATCC, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852，美國）目錄號CRL1992；果蠅細胞株Schneider 2號株從屬ATCC目錄CRL 19863；小鼠RMA-S細胞株Ljunggren等人描述過（Ljunggren and Karre, 1985）。

【0373】 優選情況是，宿主細胞在轉染前基本上不表達MHC I類分子。刺激因子細胞還優選為表達對T細胞共刺激信號起到重要作用的分子，如，B7.1、B7.2、ICAM-1和LFA 3中的任一種分子。大量MHC I類分子和共刺激分子的核酸序列可從GenBank和EMBL資料庫中公開獲得。

【0374】 當MHC I類表位用作一種抗原時，T細胞為CD8陽性T細胞。

【0375】 如果抗原呈現細胞受到轉染而表達這種表位，則優選的細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的肽或變體氨基酸序列。

【0376】 可使用其他一些方法來體外生成T細胞。例如，自體腫瘤浸潤性淋巴細胞可用于生成 CTL。Plebanski 等人在（Plebanski et al., 1995）使用自體外周血淋巴細胞（PLB）制得T細胞。另外，也可能用肽或多肽脈衝處理樹突狀細胞或透過與重組病毒感染而製成自體T細胞。此外，B 細胞可用於製備自體T細胞。此外，用肽或多肽脈衝處理或用重組病毒感染的巨噬細胞可用於配製自體T細胞。S. Walter 等人在（Walter et al., 2003）中描述了透過使用人工抗原呈現細胞(aAPC）體外活化T細胞，這也是生成作用於所選肽的T細胞的一種合適方法。在本發明中，根據生物素：鏈黴素生物化學方法透過將預製的MHC：肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成 aAPC。該系統實現了對 aAPC 上的MHC密度進行精確調節，這使得可以在血液樣本中選擇地引發高或低親合力的高效抗原特異性T細胞反應。除了 MHC：肽複合物外，aAPC 還應攜運含共刺激活性的其他蛋白，如耦合至表面的抗-CD28 抗體。此外，此類基於 aAPC 的系統往往需要加入適當的可溶性因子，例如，諸如白細胞介素 12 的細胞因子。

【0377】 也可用同種異體細胞制得T細胞，在WO 97/26328中詳細描述了一種方法，以參考文獻方式併入本文。例如，除了果蠅細胞和T2細胞，也可用其他細胞來表現肽，如CHO細胞、杆狀病毒感染的昆蟲細胞、細菌、酵母、牛痘感染的靶細胞。此外，也可使用植物病毒（例如，參閱Porta等人在（Porta et al., 1994)中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種表現外來肽的高產系統。

【0378】 被活化的T細胞直接針對本發明中的肽，有助於治療。因此，本發明的另一方面提出了用本發明前述方法制得的活化T細胞。

【0379】 按上述方法製成的活化T細胞將會有選擇性地識別異常表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO 93 氨基酸序列的多肽。

【0380】 優選情況是，T細胞透過與其含HLA/肽複合物的TCR相互作用（如，結合）而識別該細胞。T細胞是殺傷患者靶細胞方法中有用的細胞，其靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽。此類患者給予有效量的活化T細胞。給予患者的T細胞可能源自該患者，並按上述方法活化（即，它們為自體T細胞）。或者，T細胞不是源自該患者，而是來自另一個人。當然，優選情況是該供體為健康人。發明人使用「健康個人」系指一個人一般狀況良好，優選為免疫系統合格，更優選為無任何可很容易測試或檢測到的疾病。

【0381】 根據本發明，CD8-陽性T細胞的體內靶細胞可為腫瘤細胞（有時表達MHC-II類抗原）和/或腫瘤周圍的基質細胞（腫瘤細胞）（有時也表達MHC-II類抗原；(Dengjel et al., 2006)）。

【0382】 本發明所述的T細胞可用作治療性組合物中的活性成分。因此，本發明也提出了一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者上述有效量的T細胞。

【0383】 發明人所用的「異常表達」的意思還包括，與正常（健康）組織表達水準相比，多肽過量表達，或該基因在來自腫瘤的組織中未表達，但在腫瘤中表達。「過量表達」系指多肽水準至少為正常組織中的 1.2 倍；優選為至少為正常組織中的 2 倍，更優選為至少 5 或 10 倍。

【0384】 T細胞可用本領域已知的方法制得（如，上述方法）。

【0385】 T細胞繼轉移方案為本領域所熟知的方案。綜述可發現於：Gattioni et al. 和 Morgan et al. (Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006)。

【0386】 本發明的另一個方面包括使用與MHC複合的肽，以生成T細胞受體，其核酸被克隆並被引入至宿主細胞，優選為T細胞。然後，該透過基因工程改變的T細胞可轉給患者用於癌症治療。

【0387】 本發明的任一分子（即肽、核酸、抗體、表達載體、細胞，活化T細胞、T細胞受體或編碼核酸）都有

益於治療疾病，其特點在於細胞逃避免疫反應的打擊。因此，本發明的任一分子都可用作藥劑或用於製造藥劑。這種分子可單獨使用也可與本發明中的其他分子或已知分子聯合使用。

【0388】 本發明還涉及一種套件，其包括：

(a) 一個容器，包含上述溶液或凍乾粉形式的藥物組合物；

(b) 可選的第二個容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋劑或重組溶液；和

(c) 可選的（i）溶液使用或（ii）重組和/或凍乾製劑使用的說明。

【0389】 該套件還步包括一個或多個 (iii) 緩衝劑，(iv) 稀釋劑，(v) 過濾液，(vi) 針，或 (v) 注射器。容器最好是瓶子、小瓶、注射器或試管，可以為多用途容器。藥物組合物最好是凍乾的。

【0390】 本發明中的套件優選包含一種置於合適容器中的凍乾製劑以及重組和/或使用說明。適當的容器包括，例如瓶子、西林瓶（如雙室瓶）、注射器（如雙室注射器）和試管。該容器可能由多種材料製成，如玻璃或塑膠。試劑盒和/或容器最好有容器或關於容器的說明書，指明重組和/或使用的方向。例如，標籤可能表明凍乾劑型將重組為上述肽濃度。該標籤可進一步表明製劑用於皮下注射。

【0391】 存放製劑的容器可使用多用途西林瓶，使得可重複給予（例如，2-6 次）重組劑型。該套件可進一步包括裝有合適稀釋劑（如碳酸氫鈉溶液）的第二個容器。

【0392】 稀釋液和凍乾製劑混合後，重組製劑中的肽終濃度優選為至少 0.15 mg/mL/肽（=75μg），不超過 3 mg/mL/肽（=1500μg）。該套件還可包括商業和用戶角度來說可取的其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑，過濾液、針頭、注射器和帶有使用說明書的包裝插頁。

【0393】 本發明中的套件可能有一個單獨的容器，其中包含本發明所述的藥物組合物製劑，該製劑可有其他成分（例如，其他化合物或及其藥物組合物），也可無其他成分，或者每種成分都有其不同容器。

【0394】 優選情況是，本發明的套件包括與本發明的一種製劑，包裝後與第二種化合物（如佐劑（例如 GM-CSF）、化療藥物、天然產品、激素或拮抗劑、抗血管生成劑或抑制劑、凋亡誘導劑或螯合劑）或其藥物組合物聯合使用。該套件的成分可進行預絡合或每種成分在給予患者之前可放置於單獨的不同容器。該套件的成分可以是一種或多種溶液，優選為水溶液，更優選為無菌水溶液。該套件的成分也可為固體形式，加入合適的溶劑後轉換為液體，最好放置於另一個不同的容器中。

【0395】 治療套件的容器可能為西林瓶、試管、燒瓶、瓶子、注射器、或任何其他盛裝固體或液體的工具。通常，當成分不只一種時，套件將包含第二個西林瓶或其他容

器，使之可以單獨定量。該套件還可能包含另一個裝載藥用液體的容器。優選情況是，治療套件將包含一個設備（如，一個或多個針頭、注射器、滴眼器、吸液管等），使得可注射本發明的藥物（本套件的組合物）。

【0396】 本發明的藥物配方適合以任何可接受的途徑進行肽給藥，如口服（腸道）、鼻內、眼內、皮下、皮內、肌內，靜脈或經皮給藥。優選為皮下給藥，最優選為皮內給藥，也可透過輸液泵給藥。

【0397】 由於本發明的肽從食道癌中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療食道癌。

【0398】 本發明進一步涉及為個體患者製備個體化藥物的一種方法，其中包括：製造含選自預篩選TUMAP存儲庫至少一種肽的藥物組合物，其中藥物組合物中所用的至少一種肽選擇為適合於個體患者。在一項實施方案中，藥物組合物為一種疫苗。該方法也可以改動以產生下游應用的T細胞克隆物，如：TCR 隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0399】 「個體化藥物」系指專門針對個體患者的治療，將僅用於該等個體患者，包括個體化活性癌症疫苗以及使用自體組織的過繼細胞療法。

【0400】 如本文所述，「存儲庫」應指已經接受免疫原性預篩查和/或在特定腫瘤類型中過量表現的一組或一系列肽。「存儲庫」一詞並不暗示，疫苗中包括的特定肽已預先製造並儲存於物理設備中，雖然預期有這種可能性。

明確預期所述肽可以用於新製造每種個體化疫苗，也可能被預先製造和儲存。存儲庫（例如，資料庫形式）由腫瘤相關肽組成，其在各種 HLA-A HLA-B 和 HLA-C 等位元基因食道癌患者的腫瘤組織中高度過度表達。其可能含有包括MHC I類和MHC II類肽或拉長的MHC I類肽。除了從幾種食道癌組織中採集的腫瘤相關肽外，存儲庫還可能包含HLA-A*02和 HLA-A*24 標記肽。這些肽可對TUMAP誘導的T細胞免疫進行量化比較，從而可得出疫苗抗腫瘤反應能力的重要結論。其次，在沒有觀察到來自患者「自身」抗原TUMAP的任何疫苗誘導的T細胞反應時，它們可作為來自「非自身」抗原的重要陽性對照肽。第三，它還可對患者的免疫功能狀態得出結論。

【0401】 存儲庫的TUMAP透過使用一種功能基因組學方法進行鑒定，該方法結合了基因表達分析、質譜法和T細胞免疫學（XPresident ®）。該方法確保了只選擇真實存在于高百分比腫瘤但在正常組織中不表達或僅很少量表達的TUMAP用於進一步分析。對於初始肽的選擇，患者食道癌樣本和健康供體的血液以循序漸進的方法進行分析：

1. 惡性材料的HLA 配體用質譜法確定

2. 使用全基因組信使核糖核酸（mRNA）表達分析法用於確定惡性腫瘤組織（食道癌）與一系列正常器官和組織相比過度表達的基因。

3．確定的HLA配體與基因表達資料進行比較。腫瘤組織上過度表現或選擇性表現的肽，優選為第 2 步中檢測到的選擇性表達或過量表達基因所編碼的考慮為多肽疫苗的合適候選 TUMAP。

4．文獻檢索以確定更多證據以支持確認為 TUMP 的肽的相關性

5．過度表達在mRNA水準的相關性由腫瘤組織第 3 步選定的TUMAP重新檢測而確定，並且在健康組織上缺乏（或不經常）檢測。

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

【0402】 一方面，在將所述肽加入存儲庫之前，對其進行篩查以瞭解免疫原性。舉例來說（但不限於此），納入存儲庫的肽的免疫原性的確定方法包括體外T細胞活化，具體為：用裝載肽/MHC 複合物和抗 CD28 抗體的人工抗原呈現細胞反復刺激來自健康供體的 CD8+T細胞。

【0403】 這種方法優選用於罕見癌症以及有罕見表達譜的患者。與含目前開發為固定組分的多肽雞尾酒相反的是，存儲庫可將腫瘤中抗原的實際表達於疫苗進行更高程度的匹配。在多目標方法中，每名患者將使用幾種「現成」肽的選定單一肽或組合。理論上來說，基於從 50 抗原

肽庫中選擇例如 5 種不同抗原肽的一種方法可提供大約170萬 種可能的藥物產品（DP）組分。

【0404】 在一方面，選擇所述肽用於疫苗，其基於個體患者的適合性，並使用本發明此處或後文所述的方法。

【0405】 HLA 表型、轉錄和肽組學資料從患者的腫瘤材料和血液樣本中收集，以確定最合適每名患者且含有「存儲庫」和患者獨特（即突變）TUMAP的肽。將選擇的那些肽選擇性地或過度表達于患者腫瘤中，並且可能的情況下，如果用患者個體 PBMC 進行檢測，則表現出很強的體外免疫原性。

【0406】 優選的情況是，疫苗所包括的肽的一種確定方法包括：(a) 識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽（TUMAP）；(b) 將 (a) 中鑒定的肽與上述肽的存儲庫（資料庫）進行比對；且 (c) 從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫（資料庫）中選擇至少一種肽。例如，腫瘤樣本表現的TUMAP的鑒定方法有：(a1) 將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及 (a2) 將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類MHC和/或 II 類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。優選情況是，MHC 配體的序列的確定方法是：洗脫來自腫瘤樣本分離的MHC分子結合肽，

並測序洗脫配體。優選情況是，腫瘤樣本和正常組織從同一患者獲得。

【0407】 除了使用存儲庫（資料庫）模型選擇肽以外，或作為一種替代方法，TUMAP可能在新患者中進行鑒定，然後列入疫苗中。作為一種實施例，患者中的候選TUMAP可透過以下方法進行鑒定：(a1) 將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及 (a2) 將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類MHC和/或 II 類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。作為另一實施例，蛋白的鑒定方法為可包含突變，其對於腫瘤樣本相對于個體患者的相應正常組織是獨特的，並且TUMAP可透過特異性靶向作用於變異來鑒定。例如，腫瘤以及相應正常組織的基因組可透過全基因組測序方法進行測序：為了發現基因蛋白質編碼區域的非同義突變，從腫瘤組織中萃取基因組DNA和RNA，從外周血單核細胞 (PBMC) 中提取正常非突變基因組種系DNA。運用的 NGS 方法只限于蛋白編碼區的重測序（外顯子組重測序）。為了這一目的，使用供應商提供的靶序列富集試劑盒來捕獲來自人樣本的外顯子 DNA，隨後使用 HiSeq2000（Illumina公司）進行測序。此外，對腫瘤的mRNA進行測序，以直接定量基因表達，並確認突變基因在患者腫瘤中表達。得到的數以百萬計的序列讀

數透過軟體演算法處理。輸出列表中包含突變和基因表達。腫瘤特異性體突變透過與PBMC衍生的種系變化比較來確定，並進行優化。然後，為了存儲庫可能測試新確定的肽瞭解如上所述的免疫原性，並且選擇具有合適免疫原性的候選TUMAP用於疫苗。

【0408】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)用上述方法識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽(TUMAP)；(b) 將(a)中鑒定的肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量表現預篩查肽的存儲庫進行比對；(c)從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫中選擇至少一種肽；及(d)可選地在(a)中選擇至少一種新確定的肽，確認其免疫原性。

【0409】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽(TUMAP)；以及 (b) 在 (a) 中選擇至少一種新確定的肽，並確認其免疫原性。

【0410】 一旦選定了用於個體化肽疫苗的肽時，則產生疫苗。該疫苗優選為一種液體製劑，包括溶解於20-40% DMSO之間，優選為約30-35% DMSO，例如，約33% DMSO中的個體肽。

【0411】 列入產品的每種肽都溶於DMSO中。單個肽溶液濃度的選擇取決於要列入產品中的肽的數量。單肽-DMSO溶液均等混合，以實現一種溶液中包含所有的肽，且濃度為每肽~2.5 mg/ml。然後該混合溶液按照1：

3比例用注射用水進行稀釋，以達到在33% DMSO中每肽0.826 mg/ml的濃度。稀釋的溶液透過0.22 μm無菌篩檢程序進行過濾。從而獲得最終本體溶液。

【0412】 最終本體溶液填充到小瓶中，在使用前儲存於-20℃下。一個小瓶包含700 μL溶液，其中每種肽含有0.578 mg。其中的500 μL（每種肽約400 μg）將用於皮內注射。

【0413】 本發明的肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於肽由食道癌細胞產生，並且已確定這些肽在正常組織中不存在或水準較低，因此這些肽可用於診斷癌症是否存在。

【0414】 血液樣本中組織活檢物含請求項的肽，可有助於病理師診斷癌症。用抗體、質譜或其他本領域內已知的方法檢測某些肽可使病理師判斷該組織樣本為惡性的還是炎症或一般病變，也可用作食道癌的生物標誌物。肽基團的表現使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0415】 對病變標本中肽的檢測使得能對免疫系統治療方法的利益進行判斷，特別是如果T-淋巴細胞已知或預計與作用機制有關。MHC表達的缺失是一種機制，充分說明了哪些受感染的惡性細胞逃避了免疫監視。因此，肽的表現表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0416】 本發明的肽可用於分析淋巴細胞對肽的反應（如T細胞反應），或抗體對肽或MHC分子絡合的肽發生的反應。這些淋巴細胞反應可以作為預後指標，決定是

否採取進一步的治療。這些反應也可以用作免疫療法中的替代反應指標，旨在以不同方式誘導淋巴細胞反應，如接種蛋白疫苗、核酸、自體材料、淋巴細胞過繼轉移。基因治療中，淋巴細胞對肽發生的反應可以在副作用的評估中考慮。淋巴細胞反應監測也可能成為移植療法隨訪檢查中的一種有價值的工具，如，用於檢測移植物抗宿主和宿主抗移植物疾病。

【0417】 下列描述優選方案的實施例將對本發明進行說明，並參照隨附圖表（但是不僅限於此）。考慮到本發明的目的，文中引用的所有參考文獻透過引用的方式併入在本文中。

實施例

實施例1

細胞表面表現的腫瘤相關肽的識別和定量

組織樣本

【0418】 患者的腫瘤組織獲得自 Asterand (Detroit, USA and Royston, Herts, UK)、ProteoGenex Inc., (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd. (Glasgow, UK)、蒂賓根大學醫院。正常組織獲得自 Asterand (Detroit, USA 和 Royston, Herts, UK)、Bio-Options Inc. (CA, USA)、BioServe (Beltsville, MD, USA)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、日內瓦大

學醫院、海德堡大學醫院、京都府立醫科大學(KPUM)、慕尼克大學醫院、ProteoGenex Inc.(Culver City, CA, USA)、德國蒂賓根大學醫院、Tissue Solutions Ltd.(Glasgow, UK)。所有患者在手術或屍檢前都獲得了書面知情同意。切除後組織立即進行冷休克處理，在分離TUMAP前儲存於 -70°C 或以下。

從組織樣本中分離HLA肽

【0419】 根據方案(Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999)略加修改，使用HLA-A*02特異性抗體BB7.2、HLA-A、HLA-B、HLAC特異性抗體W6/32、CNBr活化的瓊脂糖凝膠、酸處理和超濾方法以免疫沉澱法從實體組織中獲得了冷凍組織樣本的HLA肽庫。

質譜分析

【0420】 獲得的HLA肽庫根據其疏水性用反相色譜(nanoAcquity UPLC system, Waters)分離，洗脫肽用裝有電噴霧源的 LTQ- velos 融合雜交質譜(ThermoElectron)進行了分析。肽庫被直接載入填充有 1.7 µm C18 反相材料(Waters)的分析用熔煉石英微毛細管柱(75 µm 內徑x 250 mm)，應用流速為400 nL 每分鐘。隨後，使用來自流速為 300 nL每分鐘、濃度為10%至33% 溶劑 B 中的兩步180分鐘二元梯度法對肽進行分離。梯度由溶劑 A(含0.1% 甲酸的水)和溶劑 B(含0.1 % 甲酸的乙腈)。金鍍膜玻璃毛細管(PicoTip, New Objective)用於引入到納升電

噴霧源。使用前5（TOP5）策略在資料依賴模式下操作LTQ-Orbitrap質譜儀。簡言之，首先以高精確品質完全掃描在orbitrap開始一個掃描週期（R= 30 000），之後用先前選定離子的動態排除技術在orbitrap中對5種含量最為豐富的前體離子進行MS/MS掃描（R = 7500）。串聯質譜以SEQUEST和另一種手動控制器進行解讀。生成的自然肽破碎模式與合成序列相同參考肽的破碎模式進行比較後，確保了被識別的肽序列。

【0421】 無標記相對LC-MS定量透過離子計數（即透過LC-MS功能提取和分析）來進行（Mueller et al., 2007）。該方法假定肽的LC-MS信號區域與樣本中其豐度相關。提取的特徵透過充電狀態去卷積和保留時間校準進行進一步處理（Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008）。最後，所有的LC-MS特徵與序列鑒定結果交叉引用，以將不同樣本和組織的定量資料與肽呈遞特徵結合。定量資料根據集中資料以兩層方式進行正態化處理，以說明技術和生物學複製變異。因此，每個被識別的肽均可與定量資料相關，從而可得出樣本和組織之間的相對定量。此外，對候選肽獲得的所有定量資料進行手動檢查，以確保資料的一致性，並驗證自動化分析的準確度。對於每種肽，計算了表現圖，其顯示樣本平均表現量以及複製變化。這些特徵使食道癌樣本與正常組織樣本的基線值並列。

【0422】 示範性過度表現肽的表現譜示於圖 1 中。示範性肽的表現分數見表 8。

【0423】 表 8：表現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表現（+++）、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表現（++）或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表現（+）的肽。系列正常組織包括：脂肪組織、腎上腺、動脈、靜脈、骨髓、腦、中樞和周圍神經、結腸、直腸、小腸（包括十二指腸）、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號	序列	肽表現
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	+++
3	TASAITPSV	+++
4	ALFGTILEL	++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	+++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++
9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	+++
14	RLPNAGTQV	+++
15	LLANGVYAA	+++

16	VLAEGGEGV	+++
17	MISRTPEV	+++
18	FLLDQVQLGL	+++
19	GLAPFLLNAV	+++
20	IIEVDPDTKEML	+++
21	IVREFLTAL	+++
22	KLNDTYVNV	+++
23	KLSDSATYL	+++
24	LLFAGTMTV	+++
25	LLPPPPPPA	+++
26	MLAEKLLQA	+++
27	NLREGDQLL	+++
28	SLDGFTIQV	+++
29	SLDGTELQL	+++
30	SLNGNQVTV	+++
32	YMLDIFHEV	+++
33	GLDVTSLRPFDL	+++
34	SLVSEQLEPA	+
35	LLRFSQDNA	+++
36	FLLRFSQDNA	+++
37	YTQPFSHYGQAL	+++
38	IAAIRGFLV	+++
39	LVRDTQSGSL	+++
40	GLAFSLYQA	+++
41	GLESEELEPEEL	+
44	ATGNDRKEAAENSL	+++
45	MLTELEKAL	+++
47	VLASGFLTV	+++
48	SMHQMLDQTL	+++

50	GMNPHQTPAQL	+++
51	KLFGHLTSA	+++
52	VAIGGVDGNVRL	+++
55	GAIDLLHNV	+++
57	GLAPNTPGKA	+++
58	LILESIPVV	+++
59	SLLDTLREV	+++
61	TQTTHELTI	+++
62	ALYEYQPLQI	+++
63	LAYTLGVKQL	+++
64	GLTDVIRDV	++
65	YVVGGFLYQRL	+++
66	LLDEKVQSV	+
68	PAVLQSSGLYSL	+++
70	FVLDTSESV	+
71	ASDPILYRPVAV	+
72	FLPPAQVTV	+
73	KITEAIQYV	+
75	GLMDDVDFKA	+
77	VLVPYEPPQV	++
78	KVANIIAEV	+
80	ALQEALENA	++
81	AVLPHVDQV	+++
82	HLLGHLEQA	+++
84	SLAESLDQA	+
86	GLLTEIRAV	+
87	FLDNGPKTI	+
88	GLWEQENHL	+
89	SLADSLYNL	+

91	KLIDDVHRL	+
92	SILRHVAEV	+
94	TLLQEQGTKTV	+

實施例2

編碼本發明肽的基因的表達譜

【0424】 與正常細胞相比在腫瘤細胞上一種肽過度表現或特定表現足夠其在免疫治療中有效使用，一些肽為腫瘤特異性的，儘管存在其源蛋白也存在于正常組織中。但是，mRNA表達譜增加了免疫治療目標肽選擇中其他級別的安全性。特別是對於具有高安全性風險的治療選擇，諸如親和力成熟的TCR，理想的目標肽將來源於對該腫瘤獨一無二且不出現于正常組織中的蛋白。

RNA來源與製備

【0425】 手術切除組織標本按如上所述（參見實施例1）在獲得每名患者的書面知情同意後提供。手術後立即速凍腫瘤組織標本，之後在液態氮中用杵臼勻漿。使用TRI 試劑（Ambion 公司, Darmstadt，德國）之後用 RNeasy（QIAGEN公司，Hilden，德國）清理從這些樣本中製備總RNA；這兩種方法都根據製造商的方案進行。

【0426】 用於RNASeq 實驗來自腫瘤組織的總RNA獲得自：ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd. (Glasgow, UK)。

【0427】 用於RNASeq 實驗來自健康人體組織的總RNA 獲得自： Asterand (Detroit, USA and Royston, Herts, UK)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA) 、 Istituto Nazionale Tumori "Pascale", Molecular Biology and Viral Oncology Unit (IRCCS) (Naples, Italy)、德國海德堡大學醫院、BioCat GmbH (Heidelberg, Germany)。

【0428】 所有RNA樣本的品質和數量都在 Agilent 2100 Bioanalyzer 分析儀（Agilent 公司，Waldbronn，德國）上使用RNA6000 Pico LabChip Kit 試劑盒（Agilent 公司）進行評估。

RNAseq 實驗

【0429】 透過新一代測序技術 (RNAseq) 由CeGaT (Tübingen, Germany) 對腫瘤和正常組織的RNA樣本進行基因表達分析。簡言之，根據供應商的方案 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA)，其中包括RNA碎片化、cDNA 轉化和測序適配器的加入，利用 Illumina HiSeq v4 試劑盒準備測序文庫。從多個樣本獲得的文庫根據製造商的說明等摩爾混合並在 Illumina HiSeq 2500 定序器上測序，產生 50bp 的單端讀數。處理的讀數使用 STAR 軟體映射至人類基因組 (GRCh38)。根據 ENSEMBL 序列資料庫的說明

(Ensemb177)，表達資料在轉錄水準設置為RPKM（每百萬映射讀數每千堿基讀數，由Cufflinks軟體生成）並在外顯子水準上設置（總讀數，由Bedtools軟體生成）。外顯子讀數被歸為外顯子長度和校準尺寸，以獲得RPKM值。

【0430】本發明的代表性源基因在食道癌中高度過量表達的表達譜如圖2所示。進一步代表性基因的表達分數見表9。

【0431】表9：表達分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表達（+++）、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表達（++）或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表達（+）的基因的肽。本得分基線根據以下正常組織的測量值計算：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、結腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、胰腺、垂體、直腸、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	基因表達
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	+++
3	TASAITPSV	+++
4	ALFGTILEL	++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	+++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++

9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	+++
14	RLPNAGTQV	+++
15	LLANGVYAA	+++
16	VLAEGGEGV	+++
17	MISRTPEV	+++
18	FLLDQVQLGL	+++
24	LLFAGTMTV	+++
25	LLPPPPPPA	+
26	MLAEKLLQA	++
27	NLREGDQLL	+++
32	YMLDIFHEV	+++
49	GLMKDIVGA	+
55	GAIDLLHNV	++
57	GLAPNTPGKA	+
67	SMNGGVFAV	++
69	GLLVGSEKVTM	+++
71	ASDPILYRPVAV	+
77	VLVPYEPPQV	+++
80	ALQEALENA	+
94	TLLQEQGTKTV	+++

實施例3

MHC-I類表現肽的體外免疫原性

【0432】 為了獲得關於本發明TUMAP的免疫原性資訊，發明人使用體外T細胞擴增分析方法進行了研究，其中該分析方法基於使用裝載肽/MHC 複合物和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞（aAPC）進行反復刺激。用這種方法，發明人可顯示出本發明 HLA-A*0201 限制TUMAP具有免疫原性，這表明這些肽為對抗人 CD8+前體T細胞的T細胞表位（表10）。

CD8+T細胞體外活化

【0433】 為了用載有肽-MHC複合物(pMHC)和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞進行體外刺激，發明人首先從University clinics Mannheim, Germany中獲取健康供體CD8微珠(Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany)透過積極選擇白血球清除術後新鮮HLA-A*02產物而分離出CD8+T細胞。

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

U / ml 的 IL-2（Novartis Pharma 公司，Nürnberg，德國）也加入 TCM。

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

【0436】 純化的共刺激小鼠 IgG2a 抗人 CD28 抗體 9.3 (Jung et al., 1987) 使用製造商（Perbio公司，波恩，德國）推薦的 N-羥基琥珀醯亞胺生物素進行化學生物素化處理。所用珠為 5.6 μm的鏈黴抗生物素蛋白包裹的多聚苯乙烯顆粒（Bangs Labooratories，伊利諾州，美國）。

【0437】 用於陽性和陰性對照刺激物的 pMHC 分別為 A*0201/MLA-001（從 Melan-A/MART-1中修飾制得的肽 ELAGIGILTV (SEQ ID NO:102)）和 A*0201/DDX5-001（從 DDX5 中獲得的 YLLPAIVHI (SEQ ID NO:103)）。

【0438】 800.000 珠/200 μl 包裹於含有 4 x 12.5 ng不同生物素-pMHC的96孔板、進行洗滌，隨後加入體積為200 μl的600 ng生物素抗-CD28。在37℃ 下，在含 5 ng/ml IL-12 (PromoCell) 的 200 μl TCM 中共培養 $1x10^6$ CD8+T細胞與 $2x10^5$ 的清洗塗層珠 3 天，從而啟動刺激。之後，一半培養基與補充 80 U/ml IL-2 的新鮮 TCM 進行交換，並且培養在 37℃ 下持

續4天。這種刺激性週期總共進行3次。對於使用每條件8種不同pMHC分子的pMHC多聚體讀出，二維組合編碼方法如前述使用(Andersen et al., 2012)，稍作修飾，涵蓋耦合至5種不同的螢光染料。最後，用Live/dead near IR染料(Invitrogen公司，Karlsruhe，德國)、CD8-FITC抗體克隆SK1(BD公司，Heidelberg，德國)和螢光pMHC多聚體而執行多聚體分析。對於分析，使用了配有合適鐳射儀和篩檢程序的BD LSRII SORP細胞儀。肽特異性細胞以占總CD8+細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用FlowJo軟體(Tree Star公司，Oregon，美國)進行評估。特定多聚體+CD8+淋巴細胞的體外填裝用與陰性對照刺激組比較而進行檢測。如果健康供體中的至少一個可評價的體外刺激孔在體外刺激後發現含有特異性CD8+T細胞株(即該孔包含至少1%特定多聚體+CD8+T細胞，並且特定多聚體+的百分比至少為陰性對照刺激中位數的10倍)，則檢測給定抗原的免疫原性。

食道癌肽體外免疫原性

【0439】對於受到測試的HLA-I類肽，可透過肽特異性T細胞株的生成證明其體外免疫原性。TUMAP特異性多聚體對本發明的2種肽(SEQ ID NO:97和SEQ ID NO:101)染色後流式細胞儀檢測的典型結果如圖3所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明5種肽的結果匯總於表10A。

【0440】 表10A：本發明中HLAI類肽的體外免疫原性。申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。<20%=+；20%-49%=++；50%-69%=+++；>=70%=++++

SEQ ID NO:	序列	孔	供體
94	TLLQEQGTKTV	+	++
95	LIQDRVAEV	+	++
97	ELDRTPPEV	++	++++
98	VLFPNLKTV	+	++++
101	AMTQLLAGV	++	+++

【0441】 表10B：本發明 HLA-I 類肽的體外免疫原性。

【0442】 申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。提示了體外免疫原性實驗的結果。陽性孔和供體（其他可評價）的百分比概括為 <20%=+；20%-49%=++；50%-69%=+++；>=70%=++++

序列ID號	序列	陽性孔[%]
1	STYGGGLSV	+
2	SLYNLGGSKRISI	+
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	++
12	GLASRILDA	+
19	GLAPFLLNAV	+
29	SLDGTELQL	+
47	VLASGFLTV	+++
69	GLLVGSEKVTM	+
77	VLVPYEPPQV	+

實施例4

肽的合成

【0443】 所有的肽透過使用 Fmoc 策略以標準、廣為接受的固相肽合成法合成。每個肽的身份和純度已使用質譜和 RP-HPLC 分析法確定。用凍乾法（三氟乙酸鹽）獲得白色至類白色的肽，純度為 >50%。所有的TUMAP優選作為三氟乙酸鹽或乙酸鹽進行給藥，其他藥用鹽形式也可以。

實施例5

MHC 結合測定

【0444】 本發明基於T細胞療法的候選肽進一步測試其MHC結合能力（親和性）。單個肽-MHC 複合體透過UV-配體交換產生，其中，紫外線敏感肽經紫外線照射後裂解，與分析的相關肽交換。只有能夠有效地結合並穩定肽接受MHC分子的候選肽才能阻止MHC複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定MHC複合物輕鏈（β2m）的檢測結果進行 ELISA 測定。檢測總體上按照 Rodenko 等人在（Rodenko et al., 2006）中描述的方法進行。

【0445】 96 孔 Maxisorp 板（NUNC）在室溫下在 PBS 中以 2ug/ml 鏈黴包被過夜，用 4 倍洗滌並在37°C下在含封閉緩衝液的 2% BSA 中封閉 1 小時。折疊的 HLA-A*02:01/MLA-001 單體作為標準品，涵蓋 15-500ng/ml 的範圍。紫外線交換反應的肽-MHC 單

體在封閉緩衝液中稀釋100倍。樣本在37°C下孵育1小時，洗滌四次，在37°C下以2ug/ml HRP綴合抗-β2m溫育1小時，再次洗滌，並以NH_2SO_4封堵的TMB溶液進行檢測。在450nm處測量吸收。在生成和產生抗體或其片段時和/或T細胞受體或其片段時，通常優選顯示為高交換產率（優選為高於50%，最優選為高於75%）的候選肽，這是因為它們對MHC分子表現出足夠的親合力，並能防止MHC複合物的解離。

【0446】 表11：MHC-I類結合分數。HLA-I類限制肽與HLA-A*02:01的結合根據肽交換產量分類：≥10% = +；≥20% = ++；≥50 = +++；≥75% = ++++

序列ID	肽代碼	肽交換
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	++++
3	TASAITPSV	+++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++
9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	++++
14	RLPNAGTQV	++++
15	LLANGVYAA	+
16	VLAEGGEGV	+++

17	MISRTPEV	++
18	FLLDQVQLGL	+++
19	GLAPFLLNAV	+++
21	IVREFLTAL	+++
22	KLNDTYVNV	+++
23	KLSDSATYL	+++
24	LLFAGTMTV	++
25	LLPPPPPPA	+++
26	MLAEKLLQA	+
27	NLREGDQLL	+++
28	SLDGFTIQV	++
29	SLDGTELQL	+++
30	SLNGNQVTV	+
31	VLPKLYVKL	++
32	YMLDIFHEV	++
33	GLDVTSLRPFDL	+++
34	SLVSEQLEPA	+++
35	LLRFSQDNA	+++
36	FLLRFSQDNA	++
37	YTQPFSHYGQAL	+++
38	IAAIRGFLV	+++
39	LVRDTQSGSL	++
40	GLAFSLYQA	++
41	GLESEELEPEEL	++
42	TQTAVITRI	+
43	KVVGKDYLL	+
44	ATGNDRKEAAENSL	+++
45	MLTELEKAL	++
46	YTAQIGADIAL	+++

47	VLASGFLTV	++++
48	SMHQMLDQTL	++
49	GLMKDIVGA	+++
51	KLFGHLTSA	++
52	VAIGGVDGNVRL	++
53	VVVTGLTLV	++
54	YQDLLNVKM	+++
55	GAIDLLHNV	++
56	ALVEVTEHV	++
57	GLAPNTPGKA	+++
58	LILESIPVV	++
59	SLLDTLREV	+++
60	VVMEELLKV	++
61	TQTTHELTI	+++
62	ALYEYQPLQI	++
63	LAYTLGVKQL	+++
64	GLTDVIRDV	++++
65	YVVGGFLYQRL	+++
66	LLDEKVQSV	+++
67	SMNGGVFAV	++
68	PAVLQSSGLYSL	++
69	GLLVGSEKVTM	+++
70	FVLDTSESV	+++
71	ASDPILYRPVAV	+++
72	FLPPAQVTV	++
73	KITEAIQYV	+++
74	ILASLATSV	+++
76	KVADYIPQL	+++
77	VLVPYEPPQV	++

78	KVANIIAEV	++
79	GQDVGRYQV	++
80	ALQEALENA	++
81	AVLPHVDQV	+++
82	HLLGHLEQA	+++
83	ALADGVVSQA	+++
84	SLAESLDQA	+++
85	NIIELVHQV	++++
87	FLDNGPKTI	+++
89	SLADSLYNL	++
90	SIYEYYHAL	+++
91	KLIDDVHRL	++++
92	SILRHVAEV	++
93	VLINTSVTL	+++

實施例6

細胞表面表現的腫瘤相關肽的絕對定量

【0447】 黏合劑例如抗體和/或TCR的產生是一個費力的過程，其可以僅針對一些選定靶標進行。在腫瘤相關和特異性肽的情況下，選擇標準包括但不限於排除表現於細胞表面上肽的表現和濃度。實體腫瘤樣本中每個細胞的TUMAP拷貝數定量需要分離TUMAP的絕對定量、TUMAP分離效率和分析的組織樣本細胞計數。

nanoLC-MS/MS 肽定量

【0448】 對於透過質譜法對肽的準確定量，使用內標法生成每種肽的校準曲線。內標是每種肽的雙同位素標記的

變體，即，TUMAP合成中納入 2 個同位素標記的氨基酸。它與腫瘤相關肽僅在品質上不同，但在其他的物理化學性質方面無差異（Anderson et al., 2012）。內標被摻入到每個 MS 樣本，所有 MS 信號均標準化為內標MS信號，以平衡 MS 實驗之間潛在的技術差異。

【0449】 校準曲線用至少三種不同的矩陣繪製，即，來自于類似於常規 MS 樣本的天然樣本的HLA肽洗脫液，並且每個制備品以重複 MS 運行進行測量。對於評價，MS信號被標準化為內標信號，校準曲線透過 logistic 回歸計算。

【0450】 對於來自組織樣本的腫瘤相關肽的定量，各樣本也摻有內標；MS信號標準化為內標並使用該肽校正曲線進行定量。

肽/MHC分離的效率

【0451】 對於任何蛋白質純化過程，來自組織樣本蛋白的分離與相關蛋白的一定損失相關聯。為了確定TUMAP分離的效率，針對選定為絕對定量的所有TUMAP產生了肽/MHC複合體。為了能夠天然肽 MHC/複合體與加樣物，使用了單同位素標記版本的 TUMAP，即TUMAP合成期間納入 1 個同位素標記的氨基酸。這些複合物被摻入新製備的組織裂解物中，例如，在TUMAP分離過程中最早可能時間點，然後在之後的親和純化中像天然肽MHC/複合物被獲取。因此，測量單標記TUMAP的恢復可得到個體TUMAP分離效率相關的結論。

【0452】 分離效率使用少量樣本進行分析，且這些組織樣本可比較。與此相反，個體肽之間的分離效率不同。這表明，分離效率雖然只在有限數量的樣本中進行測定，但可外推至任何其他組織制備品中。但是，由於分離效率不能從一種肽外推至其他肽，因此，有必要單獨分析每個TUMAP。

固體、冷凍組織中細胞計數的測定

【0453】 為了確定經過絕對肽定量的組織樣本的細胞數，發明人採用了DNA含量分析。此方法適用于不同來源的廣泛樣本，最重要的是，冷凍樣本（Alcoser et al., 2011; Forsey and Chaudhuri, 2009; Silva et al., 2013）。在肽分離方案期間，組織樣本被加工為均勻的裂解物，從中取一小等份裂解物。樣本等分為三份，從中分離 DNA 被分離（QiaAmpDNAMini Kit, Qiagen, Hilden，德國）。每次DNA分離的總DNA含量至少重複兩次使用基於螢光的DNA定量測定法（Qubit dsDNA HS Assay Kit, Life Technologies, Darmstadt，德國）進行定量。

【0454】 為了計算細胞數，生成了來自單個健康血細胞等分試樣的DNA標準曲線，使用一系列指定的細胞數。標準曲線用於計算每次DNA分離總DNA含量的總細胞含量。用於肽分離的組織樣本的平均總細胞計數，在考慮裂解物等份的已知體積和總裂解物體積的情況下進行推算。

每細胞的肽拷貝數

【0455】 使用前述實驗的資料，發明人以總肽量除以樣本總細胞計數計算得出每個細胞的TUMAP拷貝數，隨後除以分離效率。選定肽的細胞拷貝數如表12所示。

【0456】 表12：絕對拷貝數。該表列出了NSCLC腫瘤樣本中絕對肽定量的結果。針對每種肽，每個細胞的中位元拷貝數表示：<100 = +; >=100 = ++; >=1,000 +++; >=10,000 = ++++. 提示樣本數量，其中提供評估的高品質MS資料。

序列號	序列	每個細胞的拷貝數	樣本數量
9	PTHL-001	+	31

【0457】 參考文獻列表

Abbas, W. et al., Front Oncol **5** (2015): 75

Adams, S. et al., PLoS.One. **9** (2014): e112945

Al Moustafa, A. E. et al., Oncogene **21** (2002): 2634-2640

Al-Mahdi, R. et al., Cell Adh.Migr. (2015): 0

Alcoser, S. Y. et al., BMC.Biotechnol. **11** (2011): 124

Alholle, A. et al., Epigenetics. **8** (2013): 1198-1204

Ali, R. H. et al., Hum.Pathol. **45** (2014): 2453-2462

Allison, J. P. et al., Science **270** (1995): 932-933

Alper, M. et al., Mol.Cell Biochem. **393** (2014): 165-175

Alsagaby, S. A. et al., J Proteome.Res **13** (2014): 5051-5062

Altmannsberger, M. et al., Am.J Pathol. **118** (1985): 85-95

Ammendola, M. et al., PLoS.One. **9** (2014): e99512

Andersen, R. S. et al., Nat.Protoc. **7** (2012): 891-902

Anderson, N. L. et al., J Proteome.Res **11** (2012): 1868-1878

Appay, V. et al., Eur.J Immunol. **36** (2006): 1805-1814

Arentz, G. et al., Clin Proteomics. **8** (2011): 16

Arif, Q. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **139** (2015): 978-980

Auvinen, P. et al., Breast Cancer Res Treat. **143** (2014): 277-286

Avasarala, S. et al., PLoS.One. **8** (2013): e76895

Banchereau, J. et al., Cell **106** (2001): 271-274

Bandres, E. et al., Oncol Rep. **12** (2004): 287-292

Banerjee, K. et al., Int.J Cancer (2015)

Barros-Filho, M. C. et al., J Clin Endocrinol.Metab **100** (2015): E890-E899

Bashyam, M. D. et al., Neoplasia. **7** (2005): 556-562

Basu, S. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0123979

Baxter, P. A. et al., Acta Neuropathol.Commun. **2** (2014): 160

Beatty, G. et al., J Immunol **166** (2001): 2276-2282

Becker, S. A. et al., Cancer Res **56** (1996): 5092-5097

Beggs, J. D., Nature **275** (1978): 104-109

Bellon, M. et al., Blood **121** (2013): 5045-5054

Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B (Methodological), **Vol.57** (1995): 289-300

Bhattacharjee, R. B. et al., Cell Biol Int. **36** (2012): 697-704

Bin Amer, S. M. et al., Saudi.Med.J **29** (2008): 507-513

Blanch, A. et al., PLoS.One. **8** (2013): e66436

Blanco, M. A. et al., Cell Res **22** (2012): 1339-1355

Blenk, S. et al., Cancer Inform. **3** (2007): 399-420

Boulter, J. M. et al., Protein Eng **16** (2003): 707-711

Boyer, A. P. et al., Mol.Cell Proteomics. **12** (2013): 180-193

Bozza, W. P. et al., Oncotarget. **6** (2015): 32723-32736

Braulke, T. et al., Arch.Biochem.Biophys. **298** (1992): 176-181

Braumuller, H. et al., Nature (2013)

Bray, F. et al., Int J Cancer **132** (2013): 1133-1145

Brechmann, M. et al., Immunity. **37** (2012): 697-708

Bredholt, G. et al., Oncotarget. **6** (2015): 39676-39691

Breuninger, S. et al., Am.J Pathol. **176** (2010): 2509-2519

Brezinova, J. et al., Cancer Genet.Cytogenet. **173** (2007): 10-16

Broghammer, M. et al., Cancer Lett. **214** (2004): 225-229

Brossart, P. et al., Blood **90** (1997): 1594-1599

Bruckdorfer, T. et al., Curr.Pharm.Biotechnol. **5** (2004): 29-43

Buckley, N. E. et al., Cell Death.Dis. **5** (2014): e1070

Bui, P. H. et al., Mol.Pharmacol. **76** (2009): 1044-1052

Buim, M. E. et al., Oncology **69** (2005): 445-454

Bujas, T. et al., Eur.J Histochem. **55** (2011): e7

Cai, J. L. et al., Chin J Cancer Res **23** (2011): 59-63

Cai, Q. et al., Nat Genet. **46** (2014): 886-890

Calmon, M. F. et al., Epigenetics. **10** (2015): 622-632

Calvo, N. et al., Biochem.Cell Biol **92** (2014): 305-315

Canet, B. et al., Hum.Pathol. **42** (2011): 833-839

Cao, Z. et al., Mol.Oncol **8** (2014): 285-296

Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 345-357

Carinci, F. et al., Int.J Immunopathol.Pharmacol. **18** (2005): 513-524

Cazier, J. B. et al., Nat Commun. **5** (2014): 3756

Cetindis, M. et al., Eur.Arch.Otorhinolaryngol. (2015)

Chakrabarti, G. et al., Cancer Metab **3** (2015): 12

Chaneton, B. et al., Trends Biochem.Sci. **37** (2012): 309-316

Chang, I. W. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 5441-5450

Chang, J. W. et al., Anticancer Res **32** (2012): 1259-1265

Chanock, S. J. et al., Hum.Immunol. **65** (2004): 1211-1223

Chauvet, C. et al., PLoS.One. **6** (2011): e22545

Che, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 6559-6568

Chen, B. et al., Mol.Cancer Res **10** (2012): 305-315

Chen, K. D. et al., Cell Death.Dis. **5** (2014a): e1244

Chen, L. et al., Int.J Mol.Sci. **15** (2014b): 11435-11445

Chen, Q. et al., Cell Physiol Biochem. **35** (2015a): 1052-1061

Chen, R. S. et al., Oncogene **28** (2009): 599-609

Chen, S. et al., Cancer Epidemiol. **37** (2013): 172-178

Chen, W. M. et al., Dig.Dis.Sci. **60** (2015b): 1655-1662

Chen, Y. et al., Med.Oncol **31** (2014c): 304

Chen, Y. C. et al., Int.J Cancer **135** (2014d): 117-127

Chen, Z. T. et al., Int.J Mol.Sci. **16** (2015c): 15497-15530

Cheon, D. J. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 711-723

Cheuk, W. et al., Pathology **33** (2001): 7-12

Cho, S. J. et al., PLoS.One. **8** (2013): e71724

Choi, W. I. et al., Cell Physiol Biochem. **23** (2009): 359-370

Chuang, W. Y. et al., Histol.Histopathol. **28** (2013): 293-299

Chung, J. et al., J Cell Biol **158** (2002): 165-174

Chung, T. K. et al., Int.J Cancer **137** (2015): 776-783

Cimino, D. et al., Int.J Cancer 123 (2008): 1327-1338

Cipriano, R. et al., Mol.Cancer Res 12 (2014): 1156-1165

ClinicalTrials.gov, (2015), http://www.clinicaltrials.gov.

Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. 16 (2003a): 324-332

Cohen, C. J. et al., J Immunol 170 (2003b): 4349-4361

Cohen, S. N. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 69 (1972): 2110-2114

Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science (1995)

Colombetti, S. et al., J Immunol. 176 (2006): 2730-2738

Council, L. et al., Mod.Pathol. 22 (2009): 639-650

Crossen, P. E. et al., Cancer Genet.Cytogenet. 113 (1999): 126-133

Cui, D. et al., Oncogene 33 (2014): 2225-2235

Daigeler, A. et al., J Exp.Clin Cancer Res 27 (2008): 82

Dang, C. V. et al., Clin Cancer Res 15 (2009): 6479-6483

Dang, Q. et al., Med.Oncol 31 (2014): 24

Dar, A. A. et al., Immunology (2015)

Davids, M. S. et al., Leuk.Lymphoma 53 (2012): 2362-2370

Davidson, B. et al., Hum.Pathol. 45 (2014): 691-700

de Groen, F. L. et al., Genes Chromosomes.Cancer 53 (2014): 339-348

de Jonge, H. J. et al., Leukemia 25 (2011): 1825-1833

de Sa, V. K. et al., Braz.J Med.Biol Res 46 (2013): 21-31

De, Keersmaecker K. et al., Haematologica 99 (2014): 85-93

De, Ponti A. et al., Cancer Lett. 369 (2015): 396-404

Deacu, E. et al., Cancer Res 64 (2004): 7690-7696

Deb, S. et al., Mod.Pathol. 27 (2014): 1223-1230

Debiec-Rychter, M. et al., Genes Chromosomes.Cancer **38** (2003): 187-190

DeLaBarre, B. et al., Chem Biol **21** (2014): 1143-1161

Delker, D. A. et al., PLoS.One. **9** (2014): e88367

Demirag, G. G. et al., Med.Oncol **29** (2012): 1518-1522

Demirci, H. et al., J Ophthalmic Vis.Res **8** (2013): 303-307

Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res **12** (2006): 4163-4170

Denkberg, G. et al., J Immunol **171** (2003): 2197-2207

Depianto, D. et al., Nat Genet. **42** (2010): 910-914

Ding, L. et al., Nature **481** (2012): 506-510

Dotlic, S. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. **22** (2014): 537-542

Downie, D. et al., Clin Cancer Res. **11** (2005): 7369-7375

Draberova, E. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. **74** (2015): 723-742

Drayton, R. M. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 1990-2000

Du, J. et al., Int.J Mol.Sci. **13** (2012): 15755-15766

Duanmin, H. et al., Hepatogastroenterology **60** (2013): 870-875

Dubrowinskaja, N. et al., Cancer Med. **3** (2014): 300-309

Ehrlichova, M. et al., Genomics **102** (2013): 96-101

El-Naggar, A. M. et al., Cancer Cell **27** (2015): 682-697

Espinosa, A. M. et al., PLoS.One. **8** (2013): e55975

Esseghir, S. et al., J Pathol. **210** (2006): 420-430

Falk, K. et al., Nature **351** (1991): 290-296

Fang, J. et al., BMC.Cancer **8** (2008a): 69

Fang, W. et al., J Transl.Med. **6** (2008b): 32

Fejzo, M. S. et al., Int.J Mol.Sci. **14** (2013): 3094-3109

Fellenberg, F. et al., J Invest Dermatol. 122 (2004): 1510-1517

Feng, G. et al., Leuk.Lymphoma 55 (2014): 2699-2705

Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.11 [Internet], (2013), http://globocan.iarc.fr

Fong, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98 (2001): 8809-8814

Fontaine, J. F. et al., PLoS.One. 4 (2009): e7632

Forsey, R. W. et al., Biotechnol.Lett. 31 (2009): 819-823

Fu, A. et al., Mol.Med.Rep. 11 (2015a): 4172-4733

Fu, Y. et al., Cancer Biol.Ther 5 (2006): 741-744

Fu, Z. C. et al., Med.Sci.Monit. 21 (2015b): 1276-1287

Fujita, A. et al., Genet.Mol.Res 7 (2008): 371-378

Fujita, N. et al., J Biochem. 152 (2012): 407-413

Fujiwara, K. et al., PLoS.One. 9 (2014): e107247

Furukawa, C. et al., Cancer Res 65 (2005): 7102-7110

Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. 2 (1996): 1096-1103

Gao, Y. B. et al., Nat Genet. 46 (2014): 1097-1102

Gattinoni, L. et al., Nat Rev.Immunol 6 (2006): 383-393

Giallourakis, C. C. et al., J Immunol. 190 (2013): 5578-5587

Giovinazzo, F. et al., Cell Signal. 25 (2013): 651-659

Gkika, D. et al., J Cell Biol 208 (2015): 89-107

Gnjatic, S. et al., Proc Natl.Acad.Sci.U.S.A 100 (2003): 8862-8867

Godkin, A. et al., Int.Immunol 9 (1997): 905-911

Goode, G. et al., PLoS.One. 9 (2014): e100103

Gordon, G. J. et al., BMC.Cancer 11 (2011): 169

Gorski, J. J. et al., Breast Cancer Res Treat. 122 (2010): 721-731

Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual **4th** (2012)

Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual **2nd** (2014)

Groulx, J. F. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1217-1227

Guo, X. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 11846

Gupta, V. et al., Curr.Pharm.Des **20** (2014): 2595-2606

Hagel, C. et al., J Neurooncol. **112** (2013): 191-197

Haggman, M. J. et al., Urology **50** (1997): 643-647

Hammam, O. et al., J Egypt.Soc.Parasitol. **44** (2014): 733-740

Hapgood, G. et al., Blood **126** (2015): 17-25

Haraguchi, N. et al., Int.J Oncol **43** (2013): 425-430

Harris, T. M. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **139** (2015): 494-507

Haslene-Hox, H. et al., Biochim.Biophys.Acta **1834** (2013): 2347-2359

Hatina, J. et al., Neoplasma **59** (2012): 728-736

Hauser, A. D. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 130-142

He, X. et al., Int.J Biol Macromol. **72** (2015): 1081-1089

Heffler, M. et al., Anticancer Agents Med.Chem **13** (2013): 584-594

Heubeck, B. et al., Eur.J Cancer **49** (2013): e1-e7

Hoeflich, K. P. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 839-849

Hofsli, E. et al., Br.J Cancer **99** (2008): 1330-1339

Hogan, L. E. et al., Blood **118** (2011): 5218-5226

Hountis, P. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 7327-7333

Hu, C. K. et al., Mol.Biol Cell **23** (2012): 2702-2711

Huang, F. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014a): 1093-1100

Huang, S. L. et al., Cancers (Basel) **7** (2015): 1052-1071

Huang, Y. D. et al., Hua Xi.Kou Qiang.Yi.Xue.Za Zhi. **25** (2007): 500-503

Huang, Z. et al., Indian J Otolaryngol.Head Neck Surg. **66** (2014b): 120-125

Huang, Z. et al., J Oral Pathol.Med. **43** (2014c): 191-198

Hussey, G. S. et al., Mol Cell **41** (2011): 419-431

Hwang, M. L. et al., J Immunol. **179** (2007): 5829-5838

Ichinose, J. et al., Cancer Sci. **105** (2014): 1135-1141

Ida-Yonemochi, H. et al., Mod.Pathol. **25** (2012): 784-794

Ii, M. et al., Int.J Oncol **39** (2011): 593-599

Inoue, H. et al., Int.J Cancer **63** (1995): 523-526

Inoue, K. et al., Subcell.Biochem. **85** (2014): 17-40

Iqbal, M. A. et al., FEBS Lett. **588** (2014): 2685-2692

Irifune, H. et al., Cancer Biol Ther. **4** (2005): 449-455

Ismail, M. F. et al., Tumour.Biol (2015)

Israelsen, W. J. et al., Semin.Cell Dev.Biol **43** (2015): 43-51

Jamieson, N. B. et al., Clin Cancer Res **17** (2011): 3316-3331

Januchowski, R. et al., Biomed.Pharmacother. **67** (2013): 240-245

Jiang, L. et al., Cell Cycle **14** (2015): 2881-2885

Jin, J. et al., Int.J Hematol. **99** (2014): 750-757

Johnson, R. H. et al., Oncotarget. (2015)

Johnstone, C. N. et al., Dis.Model.Mech. **8** (2015): 237-251

Joosse, S. A. et al., Clin Cancer Res **18** (2012): 993-1003

Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A **84** (1987): 4611-4615

Kabbage, M. et al., J Biomed.Biotechnol. **2008** (2008): 564127

Kanehira, M. et al., Cancer Res **67** (2007): 3276-3285

Kang, S. et al., J Proteome.Res **9** (2010): 5638-5645

Kao, C. J. et al., Oncogene **27** (2008): 1397-1403

Karlsson, J. et al., Cancer Lett. **357** (2015): 498-501

Kato, I. et al., Pathol.Int. **59** (2009): 38-43

Katoh, M., Int.J Oncol **41** (2012): 1913-1918

Kaz, A. M. et al., Genes Chromosomes.Cancer **51** (2012): 384-393

Kazma, R. et al., PLoS.One. **7** (2012): e51680

Kerley-Hamilton, J. S. et al., Oncogene **24** (2005): 6090-6100

Khakpour, G. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 4905-4912

Khalil, A. A., Cancer Sci. **98** (2007): 201-213

Khapare, N. et al., PLoS.One. **7** (2012): e38561

Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients **rd** (2000)

Kido, T. et al., Genes (Basel) **1** (2010): 283-293

Kim, S. W. et al., OMICS. **15** (2011): 281-292

Kimura, H. et al., Int.J Oncol **30** (2007): 171-179

Kinoshita, T. et al., Oncotarget. **3** (2012): 1386-1400

Kirov, A. et al., J Cell Biochem. (2015)

Kita, Y. et al., Eur.J Surg.Oncol **35** (2009): 52-58

Klopfleisch, R. et al., J Proteome.Res **9** (2010): 6380-6391

Koizume, S. et al., Cancer Res **66** (2006): 9453-9460

Koizume, S. et al., World J Clin Oncol **5** (2014): 908-920

Koizume, S. et al., Biomark.Cancer **7** (2015): 1-13

Kono, K. et al., Cancer Sci. **100** (2009): 1502-1509

Kottorou, A. E. et al., Acta Histochem. **114** (2012): 553-561

Krieg, A. M., Nat Rev.Drug Discov. **5** (2006): 471-484

Krisenko, M. O. et al., Biochim.Biophys.Acta **1853** (2015): 254-263

Kruse, A. J. et al., Int.J Gynecol.Cancer **24** (2014): 1616-1622

Kulkarni, G. et al., Breast Cancer Res Treat. **102** (2007): 31-41

Kultti, A. et al., Biomed.Res Int. **2014** (2014): 817613

Kumar, M. et al., J Transl.Med. **13** (2015): 8

Kumarakulasingham, M. et al., Clin Cancer Res **11** (2005): 3758-3765

Kuramitsu, Y. et al., Anticancer Res **30** (2010): 4459-4465

Kurimoto, F. et al., Int.J Mol.Med. **8** (2001): 89-93

Kwon, O. H. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **406** (2011): 539-545

Larrinaga, G. et al., Dis.Markers **35** (2013): 825-832

Lauvrak, S. U. et al., Br.J Cancer **109** (2013): 2228-2236

Leal, M. F. et al., World J Gastroenterol. **18** (2012): 1531-1537

Ledet, E. M. et al., Prostate **73** (2013): 614-623

Lee, E. J. et al., J Genet.Genomics **42** (2015a): 355-371

Lee, H. W. et al., Dis.Esophagus. (2015b)

Lee, J. et al., Oncoscience. **2** (2015c): 410-418

Lee, J. M., Reprod.Biol Endocrinol. **1** (2003): 69

Lee, M. H. et al., J Cell Sci. **126** (2013): 1744-1752

Lee, M. H. et al., Ann.N.Y.Acad.Sci. **1171** (2009): 87-93

Lee, S. H. et al., EMBO J **25** (2006): 4008-4019

Lee, S. Y. et al., J Clin Invest **122** (2012): 3211-3220

Lei, Y. Y. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **15** (2014): 8539-8548

Leithner, K. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 40

Leitlinie Magenkarzinom, **032-009OL**, (2012)

Lexander, H. et al., Anal.Quant.Cytol.Histol. **27** (2005): 263-272

Li, C. et al., Oncogene **23** (2004): 9336-9347

Li, C. et al., Am.J Cancer Res **5** (2015a): 1635-1648

Li, R. et al., Oncogene **25** (2006): 2628-2635

Li, X. et al., Pancreas **40** (2011): 753-761

Li, X. Q. et al., PLoS.One. **7** (2012): e31146

Li, Y. et al., Neoplasia. **7** (2005): 1073-1080

Li, Y. et al., Cell Rep. **12** (2015b): 388-395

Li, Y. et al., Lung Cancer **58** (2007): 171-183

Li, Z. et al., Biochim.Biophys.Acta **1846** (2014): 285-296

Liang, B. et al., World J Gastroenterol. **11** (2005a): 623-628

Liang, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 6391-6399

Liang, L. et al., Int.J Oncol **45** (2014): 659-666

Liang, Z. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. **27** (2005b): 534-537

Liao, J. S. et al., Zhejiang.Da.Xue.Xue.Bao.Yi.Xue.Ban. **44** (2015a): 329-334

Liao, W. et al., Oncotarget. **6** (2015b): 24132-24147

Liddy, N. et al., Nat Med. **18** (2012): 980-987

Lim, M. Y. et al., Int.J Chronic.Dis. **2013** (2013): 578613

Lim, R. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **406** (2011): 408-413

Lin, C. et al., Oncotarget. **6** (2015): 8434-8453

Lin, S. J. et al., J Proteomics. **94** (2013): 186-201

Lin, X. et al., Med.Oncol **31** (2014): 42

Linher-Melville, K. et al., Mol.Cell Biochem. **405** (2015): 205-221

Liu, B. et al., J Clin Endocrinol.Metab **99** (2014a): E786-E795

Liu, C. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014b): 690-698

Liu, D. et al., Genet.Mol.Res **13** (2014c): 8153-8162

Liu, J. P. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. **87** (2007a): 2719-2723

Liu, L. et al., Oncol Lett. **7** (2014d): 2192-2198

Liu, Y. et al., J Neurooncol. **99** (2010): 13-24

Liu, Y. et al., Cell Death.Dis. **6** (2015): e1630

Liu, Y. et al., Oncol Rep. **18** (2007b): 943-951

Liu, Y. F. et al., Tumour.Biol **35** (2014e): 3731-3741

Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. **162** (1985): 1745-1759

Lo, P. K. et al., Oncogene **31** (2012): 2614-2626

Lo, R. K. et al., J Biol Chem **278** (2003): 52154-52165

Lo, W. Y. et al., J Proteome.Res **6** (2007): 2143-2151

Lohr, J. G. et al., Cancer Cell **25** (2014): 91-101

Long, W. et al., J Clin Invest **122** (2012): 1869-1880

Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. **690** (1993): 276-291

Longerich, T., Pathologe **35 Suppl 2** (2014): 177-184

Lonsdale, J., Nat.Genet. **45** (2013): 580-585

Lou, S. et al., Stem Cells **31** (2013): 1942-1953

Lu, Z. et al., Cell Physiol Biochem. **33** (2014): 859-868

Lukas, T. J. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **78** (1981): 2791-2795

Lundblad, R. L., Chemical Reagents for Protein Modification **3rd** (2004)

Luo, W. et al., Trends Endocrinol.Metab **23** (2012): 560-566

Lv, Z. et al., J Exp.Clin Cancer Res **33** (2014): 100

Ma, Y. et al., Mol.Cell Proteomics. **8** (2009): 1878-1890

Madanayake, T. W. et al., BMC.Genomics **14** (2013): 833

Maiso, P. et al., Cancer Res **75** (2015): 2071-2082

Manenti, G. et al., Toxicol.Lett. **112-113** (2000): 257-263

Mao, P. et al., J Biol Chem **286** (2011): 19381-19391

Mao, P. et al., PLoS.One. **8** (2013): e81803

Marcinkiewicz, K. M. et al., Exp.Cell Res **320** (2014): 128-143

Marg, A. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **401** (2010): 143-148

Marhold, M. et al., Mol.Cancer Res **13** (2015): 556-564

Martin-Rufian, M. et al., J Mol.Med.(Berl) **92** (2014): 277-290

Matassa, D. S. et al., Cell Death.Dis. **4** (2013): e851

Mayas, M. D. et al., Anticancer Res **32** (2012): 3675-3682

Mazan-Mamczarz, K. et al., PLoS.Genet. **10** (2014): e1004105

Mazurek, S., Ernst.Schering.Found.Symp.Proc. (2007): 99-124

Mazurek, S., Int.J Biochem.Cell Biol **43** (2011): 969-980

McBride, D. J. et al., J Pathol. **227** (2012): 446-455

Melaiu, O. et al., Mutat.Res **771** (2015): 6-12

Messina, M. et al., Blood **123** (2014): 2378-2388

Meziere, C. et al., J Immunol **159** (1997): 3230-3237

Mimori, K. et al., Int.J Oncol **11** (1997): 959-964

Mirza, Z. et al., Anticancer Res **34** (2014): 1873-1884

Missero, C. et al., Exp.Dermatol. **23** (2014): 143-146

Moretti, R. M. et al., Oncol Rep. **9** (2002): 1139-1143

Morgan, R. A. et al., Science **314** (2006): 126-129

Mori, M. et al., Transplantation **64** (1997): 1017-1027

Morris, L. G. et al., Nat Genet. **45** (2013): 253-261

Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 3435-3443

Mountzios, G. et al., Ann.Oncol **25** (2014): 1889-1900

Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res **7** (2008): 51-61

Mueller, L. N. et al., Proteomics. **7** (2007): 3470-3480

Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **96** (1999): 8633-8638

Murray, G. I. et al., Histopathology **57** (2010): 202-211

Mustacchi, G. et al., Int.J Mol.Sci. **14** (2013): 9686-9702

Naba, A. et al., Elife. **3** (2014): e01308

Naboulsi, W. et al., J Proteome.Res (2015)

Naderi, A., Exp.Cell Res **331** (2015): 239-250

Nakao, K. et al., J Gastroenterol. **49** (2014): 589-593

Navara, C. S., Curr.Pharm.Des **10** (2004): 1739-1744

Naz, S. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 14-23

Neumann, M. et al., Blood **121** (2013): 4749-4752

Ng, S. K. et al., Clin Experiment.Ophthalmol. **43** (2015): 367-376

Nikitakis, N. G. et al., Am.J Clin Pathol. **119** (2003): 574-586

Nishida, C. R. et al., Mol.Pharmacol. **78** (2010): 497-502

Nwosu, V. et al., Hum.Mol Genet. **10** (2001): 2313-2318

Nykopp, T. K. et al., BMC.Cancer **10** (2010): 512

O'Gorman, D. B. et al., Endocrinology **143** (2002): 4287-4294

Oh, H. R. et al., Cell Oncol (Dordr.) **37** (2014): 455-461

Ohigashi, Y. et al., Clin Cancer Res. **11** (2005): 2947-2953

Okayama, H. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **23** (2014): 2884-2894

Okoh, V. O. et al., PLoS.One. 8 (2013): e54206

Olstad, O. K. et al., Anticancer Res 23 (2003): 2201-2216

Ordonez, N. G., Arch.Pathol.Lab Med. 129 (2005): 1407-1414

Orzol, P. et al., Histol.Histopathol. 30 (2015): 503-521

Padden, J. et al., Mol.Cell Proteomics. 13 (2014): 2661-2672

Pan, B. et al., Mol.Biol Rep. 40 (2013): 27-33

Pan, T. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 456 (2015): 452-458

Papagerakis, S. et al., Hum.Pathol. 34 (2003): 565-572

Park, Y. et al., Oncogene 34 (2015): 5037-5045

Parker, L. P. et al., Cancer Genomics Proteomics. 6 (2009): 189-194

Pathak, S. et al., Nutr.Cancer 66 (2014): 818-824

Peng, H. et al., Cell Oncol (Dordr.) 38 (2015): 165-172

Penney, K. L. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 24 (2015): 255-260

Perez, I. et al., Int.J Med.Sci. 12 (2015): 458-467

Persson, F. et al., Cancer Lett. 260 (2008): 37-47

Pflueger, D. et al., Neoplasia. 15 (2013): 1231-1240

Pickering, C. R. et al., Clin Cancer Res 20 (2014): 6582-6592

Pillay, V. et al., S.Afr.Med.J 105 (2015): 656-658

Pils, D. et al., BMC.Cancer 13 (2013): 178

Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (http://CRAN.R-project.org/package=nlme) (2015)

Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787

Porta, C. et al., Virology 202 (1994): 949-955

Prasad, N. B. et al., Mod.Pathol. 27 (2014): 945-957

Puente, X. S. et al., Nature 526 (2015): 519-524

Qendro, V. et al., J Proteome.Res 13 (2014): 5031-5040

Qi, Y. et al., Proteomics. 5 (2005): 2960-2971

Qi, Y. et al., J Breast Cancer 18 (2015): 218-224

Qie, S. et al., J Cell Biochem. 115 (2014): 498-509

Qu, Y. M. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. 90 (2010): 1958-1962

Qu, Z. et al., Cancer Med. 3 (2014): 453-461

Quillien, V. et al., Anticancer Res. 17 (1997): 387-391

Rabinovitz, I. et al., Biochem.Cell Biol 74 (1996): 811-821

Rabinovitz, I. et al., Clin Exp.Metastasis 13 (1995): 481-491

Rad, E. et al., Mol.Cancer Res 13 (2015): 1149-1160

Rai, R. et al., Oral Oncol 40 (2004): 705-712

Raica, M. et al., Anticancer Res 28 (2008): 2997-3006

Ramirez-Exposito, M. J. et al., Maturitas 72 (2012): 79-83

Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics 50 (1999): 213-219

Reeb, A. N. et al., J Clin Endocrinol.Metab 100 (2015): E232-E242

RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/

Rehman, I. et al., PLoS.One. 7 (2012): e30885

Reis, S. T. et al., Clinics.(Sao Paulo) 68 (2013): 652-657

Remmelink, M. et al., Int.J Oncol 26 (2005): 247-258

Revill, K. et al., Gastroenterology 145 (2013): 1424-1435

Ricketts, C. J. et al., Clin Epigenetics. 5 (2013): 16

Rini, B. I. et al., Cancer 107 (2006): 67-74

Rock, K. L. et al., Science 249 (1990): 918-921

Rodenko, B. et al., Nat Protoc. 1 (2006): 1120-1132

Roemer, A. et al., J Urol. **172** (2004): 2162-2166

Romana, S. P. et al., Leukemia **20** (2006): 696-706

Rozenblum, E. et al., Hum.Genet. **110** (2002): 111-121

Ruminy, P. et al., Leukemia **25** (2011): 681-688

Safadi, R. A. et al., Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.Oral Radiol. **121** (2016): 402-411

Saiki, R. K. et al., Science **239** (1988): 487-491

Sanchez-Palencia, A. et al., Int.J Cancer **129** (2011): 355-364

Santarpia, L. et al., Oncologist. **18** (2013): 1063-1073

Sarma, S. N. et al., Environ.Toxicol.Pharmacol. **32** (2011): 285-295

Sathyanarayana, U. G. et al., Cancer Res **64** (2004): 1425-1430

Sato, T. et al., Oncogene **33** (2014): 2215-2224

Sato, Y. et al., J Gastroenterol.Hepatol. **28** (2013): 1422-1429

Savaskan, N. E. et al., Ann.Anat. **192** (2010): 309-313

Savaskan, N. E. et al., Curr.Neuropharmacol. **13** (2015): 258-265

Savoy, R. M. et al., Endocr.Relat Cancer **20** (2013): R341-R356

Schlieben, P. et al., Vet.J **194** (2012): 210-214

Schmitt-Graeff, A. et al., Histopathology **51** (2007): 87-97

Schuld, N. J. et al., Cell Cycle **13** (2014): 941-952

Schumann, H. et al., Br.J Dermatol. **167** (2012): 929-936

Scrideli, C. A. et al., J Neurooncol. **88** (2008): 281-291

Seda, V. et al., Eur.J Haematol. **94** (2015): 193-205

Seeger, F. H. et al., Immunogenetics **49** (1999): 571-576

Seitz, S. et al., Eur.J Cancer **36** (2000): 1507-1513

Semenza, G. L., Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol **76** (2011): 347-353

Seong, J. et al., Mol.Biol.Rep. **39** (2012): 3597-3601

Sethi, M. K. et al., J Proteomics. **126** (2015): 54-67

Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics (1986)

Shi, Z. et al., Int.J Gynecol.Cancer **22** (2012): 1125-1129

Shi, Z. G. et al., Clin Transl.Oncol **17** (2015): 65-73

Shibano, T. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0127271

Shin, S. H. et al., Lab Invest **94** (2014): 1396-1405

Shruthi, D. K. et al., J Oral Maxillofac.Pathol. **18** (2014): 365-371

Silva, J. M. et al., Cell **137** (2009): 1047-1061

Silva, L. P. et al., Anal.Chem. **85** (2013): 9536-9542

Singh, V. et al., OMICS. **19** (2015): 688-699

Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. **53** (2004): 187-195

Slaga, T. J. et al., J Investig.Dermatol.Symp.Proc. **1** (1996): 151-156

Small, E. J. et al., J Clin Oncol. **24** (2006): 3089-3094

Sobolik-Delmaire, T. et al., Cell Commun.Adhes. **14** (2007): 99-109

Spurr, I. B. et al., Chembiochem. **13** (2012): 1628-1634

Stahl, M. et al., Ann.Oncol. **24 Suppl 6** (2013): vi51-vi56

Stull, R. A. et al., BMC.Genomics **6** (2005): 55

Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. **9** (2008): 163

Sugimoto, K. J. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 8980-8987

Suh, J. H. et al., J Korean Med.Sci. **28** (2013): 593-601

Sun, M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **340** (2006): 209-214

Sun, Y. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **450** (2014): 1-6

Suzuki, S. et al., Pathol.Res Pract. **210** (2014): 130-134

Swain, N. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 8407-8413

Szeliga, M. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 1855-1862

Takabe, P. et al., Exp.Cell Res **337** (2015): 1-15

Takahashi, H. et al., Urology **79** (2012): 240-248

Takeda, H. et al., Nat Genet. **47** (2015): 142-150

Tamada, M. et al., Clin Cancer Res **18** (2012): 5554-5561

Tan, B. S. et al., Mol.Cancer Ther. **10** (2011): 1982-1992

Tanaka, F. et al., Int.J Oncol **10** (1997): 1113-1117

Tang, H. et al., Anticancer Drugs **18** (2007): 633-639

Tang, H. et al., Clin Cancer Res **19** (2013): 1577-1586

Tang, J. Q. et al., Beijing Da.Xue.Xue.Bao. **41** (2009): 531-536

Tang, J. Q. et al., Chin Med.J (Engl.) **123** (2010): 3559-3565

Tanis, T. et al., Arch.Oral Biol **59** (2014): 1155-1163

Tech, K. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 268-272

Teng, B. P. et al., Anticancer Agents Med.Chem **11** (2011): 620-628

Terada, T., Int.J Clin Exp.Pathol. **5** (2012): 596-600

Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. **62** (2005): 1755-1762

Tew, G. W. et al., J Biol Chem **283** (2008): 963-976

Thomas, A. et al., Cancer Med. **2** (2013): 836-848

Tian, S. Y. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 3752-3762

Tofuku, K. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 175-183

Toh, U. et al., Int.J Clin Oncol **7** (2002): 372-375

Toh, U. et al., Clin Cancer Res. **6** (2000): 4663-4673

Toomey, P. G. et al., Cancer Control **20** (2013): 32-42

Tota, G. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 963

Tran, E. et al., Science **344** (2014): 641-645

Truong, T. et al., Endocr.Relat Cancer **21** (2014): 629-638

Tsujimoto, H. et al., Mol.Carcinog **26** (1999): 298-304

Tuupanen, S. et al., Br.J Cancer **111** (2014): 1657-1662

Tuval-Kochen, L. et al., PLoS.One. **8** (2013): e77260

Twa, D. D. et al., J Pathol. **236** (2015): 136-141

Twarock, S. et al., Mol.Cancer **10** (2011): 30

Tzellos, T. G. et al., J Eur.Acad.Dermatol.Venereol. **25** (2011): 679-687

Urosevic, J. et al., Nat Cell Biol **16** (2014): 685-694

Vachani, A. et al., Clin Cancer Res. **13** (2007): 2905-2915

Valladares-Ayerbes, M. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **19** (2010): 1432-1440

Valletta, D. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1407-1415

van, Geldermalsen M. et al., Oncogene (2015)

Varga, A. E. et al., Oncogene **24** (2005): 5043-5052

Varona, A. et al., Am.J Physiol Renal Physiol **292** (2007): F780-F788

Vasca, V. et al., Oncol Lett. **8** (2014): 2501-2504

Venneti, S. et al., Brain Pathol. **23** (2013): 217-221

Virtakoivu, R. et al., Cancer Res **75** (2015): 2349-2362

Volkmer, J. P. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **109** (2012): 2078-2083

Volpi, A. et al., G.Chir **32** (2011): 59-63

Vui-Kee, K. et al., Kaohsiung.J Med.Sci. **28** (2012): 243-250

Walter, S. et al., J Immunol **171** (2003): 4974-4978

Walter, S. et al., Nat Med. **18** (2012): 1254-1261

Wang, D. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **458** (2015a): 313-320

Wang, H. et al., Front Oncol **4** (2014): 377

Wang, H. et al., Cancer Cell **18** (2010): 52-62

Wang, J. et al., Oncol Rep. **33** (2015b): 1326-1334

Wang, T. et al., Tumour.Biol (2015c)

Wang, W. M. et al., J Biol Chem **278** (2003): 19549-19557

Wang, X. et al., Eur.J Pharmacol. **768** (2015d): 116-122

Wang, X. M. et al., PLoS.One. **8** (2013a): e55714

Wang, X. Y. et al., Int J Hyperthermia **29** (2013): 364-375

Wang, Y. et al., Neoplasma **62** (2015e): 966-973

Wang, Z. et al., Oncotarget. **4** (2013b): 2476-2486

Wang, Z. et al., Melanoma Res **14** (2004): 107-114

Warner, S. L. et al., Future.Med.Chem **6** (2014): 1167-1178

Watanabe, Y. et al., Gastroenterology **136** (2009): 2149-2158

Wegdam, W. et al., PLoS.One. **9** (2014): e108046

Wehner, M. et al., FEBS J **277** (2010): 1597-1605

Weiss, I. et al., Int.J Mol.Sci. **13** (2012): 12925-12938

Weissbach, S. et al., Br.J Haematol. **169** (2015): 57-70

Wiedl, T. et al., J Proteomics. **74** (2011): 1884-1894

Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423

Willoughby, V. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. **16** (2008): 344-348

Wittke, I. et al., Cancer Lett. **162** (2001): 237-243

Wojtalewicz, N. et al., PLoS.One. **9** (2014): e90461

Wong, N. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 184-191

Woo, T. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0142642

World Cancer Report, (2014)

Wu, G. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015): 2067-2074

Wu, S. et al., Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai) **45** (2013): 27-35

Wu, X. et al., Cancer Res **70** (2010): 2718-2727

Xiang, Y. et al., J Clin Invest **125** (2015): 2293-2306

Xu, J. et al., Genet.Mol.Res **13** (2014): 5732-5744

Xu, X. et al., Oncotarget. **6** (2015): 26161-26176

Xue, L. Y. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. **32** (2010): 838-844

Yager, M. L. et al., Br.J Cancer **89** (2003): 860-863

Yamaguchi, T. et al., Dis.Colon Rectum **49** (2006): 399-406

Yamamoto, M. et al., PLoS.One. **6** (2011): e17149

Yamamoto, N. et al., Int.J Oncol **42** (2013): 1523-1532

Yang, C. et al., Tumour.Biol (2015a)

Yang, C. et al., Exp.Cell Res **331** (2015b): 377-386

Yang, H. Y. et al., J Proteomics. **75** (2012): 3639-3653

Yang, J. Y. et al., BMC.Cancer **10** (2010): 388

Yang, S. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015c): 1265-1275

Yang, W. et al., Cancer Lett. **339** (2013): 153-158

Yang, W. et al., Nature **499** (2013a): 491-495

Yang, W. et al., Int.J Oncol **42** (2013b): 690-698

Yao, M. et al., Cancer Med. **3** (2014): 845-854

Yao, R. et al., Histol.Histopathol. **22** (2007): 1025-1032

Yu, D. et al., Oncotarget. **6** (2015a): 7619-7631

Yu, X. et al., Cancer Res **73** (2013): 2093-2103

Yu, Y. et al., Cancer Cell **28** (2015b): 82-96

Yuan, B. et al., Immunobiology **217** (2012): 738-742

Zang, W. et al., Mol.Cancer **14** (2015): 37

Zanini, S. et al., Cell Signal. **27** (2015): 899-907

Zare, M. et al., Mol.Carcinog **51** (2012): 796-806

Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577

Zha, C. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0122322

Zhang, D. et al., J Cell Mol.Med. **16** (2012): 1047-1059

Zhang, H. Y. et al., Mol.Biol Rep. **41** (2014): 5519-5524

Zhang, Q. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015a): 691-703

Zhang, S. et al., Cancer Res **64** (2004): 2977-2983

Zhang, S. et al., J Mol.Histol. **45** (2014): 283-292

Zhang, S. N. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. **85** (2005): 1348-1351

Zhang, T. et al., Mol.Cancer **9** (2010): 72

Zhang, X. et al., Int.J Cancer **137** (2015b): 2803-2814

Zhang, X. et al., Tumour.Biol **36** (2015c): 5979-5985

Zhang, X. et al., PLoS.One. **8** (2013): e72458

Zhang, Y. et al., Cancer Metastasis Rev **34** (2015d): 249-264

Zhang, Z. Z. et al., Mol.Cancer Ther. **14** (2015e): 1162-1170

Zhao, D. et al., J Neurooncol. **118** (2014a): 39-47

Zhao, G. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **408** (2011): 154-159

Zhao, H. et al., Gene **548** (2014b): 234-243

Zhao, L. J. et al., Chin Med.J (Engl.) **126** (2013): 4260-4264

Zheng, Q. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 6255-6264

Zheng, R. et al., Int.Immunopharmacol. **29** (2015): 919-925

Zhi, H. et al., J Pathol. **217** (2009): 389-397

Zhou, Y. F. et al., World J Gastroenterol. **20** (2014): 13172-13177

Zhu, H. et al., Cancer Lett. **245** (2007a): 303-314

Zhu, L. et al., J Dermatol.Sci. **72** (2013a): 311-319

Zhu, S. et al., J Biol Chem **282** (2007b): 14328-14336

Zhu, Y. et al., Prostate **73** (2013b): 1614-1622

Zhu, Y. P. et al., Oncotarget. **6** (2015): 14488-14496

【符號說明】

【0458】

無

【生物材料寄存】

【0459】　國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

【0460】　國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

序列表

<110> 德商英麥提克生物技術股份有限公司(immatics biotechnologies GmbH)

<120> 用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

<150> US62/188,870
<151> 2015-07-06

<150> GB1511792.2
<151> 2015-07-06

<160> 103

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

Ser Thr Tyr Gly Gly Gly Leu Ser Val
1 5

<210> 2
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Leu Tyr Asn Leu Gly Gly Ser Lys Arg Ile Ser Ile
1 5 10

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Ala Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Asn Leu Met Ala Ser Gln Pro Gln Leu
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Leu Leu Ser Gly Asp Leu Ile Phe Leu
1 5

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7

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

<210> 8
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Ala Leu Leu Asp Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Trp Arg Val
1 5 10

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

His Leu Ile Ala Glu Ile His Thr Ala
1 5

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Ser Leu Asp Glu Asn Ser Asp Gln Gln Val

1 5 10

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Leu Trp Leu Pro Thr Asp Ser Ala Thr Val
1 5 10

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Gly Leu Ala Ser Arg Ile Leu Asp Ala
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

Ser Leu Ser Pro Val Ile Leu Gly Val
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Arg Leu Pro Asn Ala Gly Thr Gln Val
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Leu Leu Ala Asn Gly Val Tyr Ala Ala
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Val Leu Ala Glu Gly Gly Glu Gly Val
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
1 5

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Phe Leu Leu Asp Gln Val Gln Leu Gly Leu
1 5 10

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gly Leu Ala Pro Phe Leu Leu Asn Ala Val
1 5 10

<210> 20
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Ile Ile Glu Val Asp Pro Asp Thr Lys Glu Met Leu
1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Ile Val Arg Glu Phe Leu Thr Ala Leu
1 5

<210> 22
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Lys Leu Asn Asp Thr Tyr Val Asn Val
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Leu Leu Phe Ala Gly Thr Met Thr Val
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Leu Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Met Leu Ala Glu Lys Leu Leu Gln Ala
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Asn Leu Arg Glu Gly Asp Gln Leu Leu
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Ser Leu Asp Gly Phe Thr Ile Gln Val
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Ser Leu Asp Gly Thr Glu Leu Gln Leu
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Ser Leu Asn Gly Asn Gln Val Thr Val
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Val Leu Pro Lys Leu Tyr Val Lys Leu
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Tyr Met Leu Asp Ile Phe His Glu Val
1 5

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Gly Leu Asp Val Thr Ser Leu Arg Pro Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

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

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Leu Leu Arg Phe Ser Gln Asp Asn Ala
1 5

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Phe Leu Leu Arg Phe Ser Gln Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Tyr Thr Gln Pro Phe Ser His Tyr Gly Gln Ala Leu
1 5 10

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Ile Ala Ala Ile Arg Gly Phe Leu Val
1 5

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Leu Val Arg Asp Thr Gln Ser Gly Ser Leu
1 5 10

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Gly Leu Ala Phe Ser Leu Tyr Gln Ala
1 5

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

Gly Leu Glu Ser Glu Glu Leu Glu Pro Glu Glu Leu
1 5 10

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Thr Gln Thr Ala Val Ile Thr Arg Ile
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Val Val Gly Lys Asp Tyr Leu Leu
1 5

<210> 44
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Ala Thr Gly Asn Asp Arg Lys Glu Ala Ala Glu Asn Ser Leu
1 5 10

<210> 45

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Leu Thr Glu Leu Glu Lys Ala Leu
1 5

<210> 46
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46

Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47

Val Leu Ala Ser Gly Phe Leu Thr Val
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

Ser Met His Gln Met Leu Asp Gln Thr Leu
1 5 10

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49

Gly Leu Met Lys Asp Ile Val Gly Ala
1 5

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Met Asn Pro His Gln Thr Pro Ala Gln Leu
1 5 10

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

Lys Leu Phe Gly His Leu Thr Ser Ala
1 5

<210> 52
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

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

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Val Val Val Thr Gly Leu Thr Leu Val
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Tyr Gln Asp Leu Leu Asn Val Lys Met
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly Ala Ile Asp Leu Leu His Asn Val
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Ala Leu Val Glu Val Thr Glu His Val
1 5

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly Leu Ala Pro Asn Thr Pro Gly Lys Ala
1 5 10

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Leu Ile Leu Glu Ser Ile Pro Val Val
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59

Ser Leu Leu Asp Thr Leu Arg Glu Val
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

Val Val Met Glu Glu Leu Leu Lys Val
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61

Thr Gln Thr Thr His Glu Leu Thr Ile
1 5

<210> 62
<211> 10
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Ala Leu Tyr Glu Tyr Gln Pro Leu Gln Ile
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63

Leu Ala Tyr Thr Leu Gly Val Lys Gln Leu
1 5 10

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64

Gly Leu Thr Asp Val Ile Arg Asp Val
1 5

<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

Tyr Val Val Gly Gly Phe Leu Tyr Gln Arg Leu
1 5 10

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Leu Leu Asp Glu Lys Val Gln Ser Val
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Ser Met Asn Gly Gly Val Phe Ala Val
1 5

<210> 68
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Gly Leu Leu Val Gly Ser Glu Lys Val Thr Met
1 5 10

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Phe Val Leu Asp Thr Ser Glu Ser Val
1 5

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71

Ala Ser Asp Pro Ile Leu Tyr Arg Pro Val Ala Val
1 5 10

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72

Phe Leu Pro Pro Ala Gln Val Thr Val
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73

Lys Ile Thr Glu Ala Ile Gln Tyr Val

1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

Ile Leu Ala Ser Leu Ala Thr Ser Val
1 5

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

Gly Leu Met Asp Asp Val Asp Phe Lys Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76

Lys Val Ala Asp Tyr Ile Pro Gln Leu
1 5

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Val Leu Val Pro Tyr Glu Pro Pro Gln Val
1 5 10

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Lys Val Ala Asn Ile Ile Ala Glu Val
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

Gly Gln Asp Val Gly Arg Tyr Gln Val
1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

Ala Leu Gln Glu Ala Leu Glu Asn Ala
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Val Leu Pro His Val Asp Gln Val
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82

His Leu Leu Gly His Leu Glu Gln Ala
1 5

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83

Ala Leu Ala Asp Gly Val Val Ser Gln Ala
1 5 10

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

Ser Leu Ala Glu Ser Leu Asp Gln Ala
1 5

<210> 85
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

Asn Ile Ile Glu Leu Val His Gln Val
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86

Gly Leu Leu Thr Glu Ile Arg Ala Val
1 5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87

Phe Leu Asp Asn Gly Pro Lys Thr Ile
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88

Gly Leu Trp Glu Gln Glu Asn His Leu
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89

Ser Leu Ala Asp Ser Leu Tyr Asn Leu
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

Ser Ile Tyr Glu Tyr Tyr His Ala Leu
1 5

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

Lys Leu Ile Asp Asp Val His Arg Leu
1 5

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92

Ser Ile Leu Arg His Val Ala Glu Val
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93

Val Leu Ile Asn Thr Ser Val Thr Leu
1 5

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94

Thr Leu Leu Gln Glu Gln Gly Thr Lys Thr Val
1 5 10

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

Leu Ile Gln Asp Arg Val Ala Glu Val
1 5

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96

Gly Ala Ala Val Arg Ile Gly Ser Val Leu
1 5 10

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97

Glu Leu Asp Arg Thr Pro Pro Glu Val
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98

Val Leu Phe Pro Asn Leu Lys Thr Val
1 5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99

Arg Val Ala Pro Glu Glu His Pro Val Leu
1 5 10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100

Gly Leu Tyr Pro Asp Ala Phe Ala Pro Val
1 5 10

<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 101

Ala Met Thr Gln Leu Leu Ala Gly Val
1 5

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102

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

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 103

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種肽或其一種藥用鹽，其中所述肽包括選自SEQ ID NO: 77、1至76與78至93所構成之群組的氨基酸序列，其中所述肽的一總長度不超過16個胺基酸。

【請求項2】 如請求項1所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽有能力與主要組織相容性複合體(MHC)分子結合，且其中所述肽與MHC結合時能夠被CD4和/或CD8 T細胞識別。

【請求項3】 如請求項1所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽由SEQ ID NO: 77、1至76與78至93任一者的氨基酸序列所構成。

【請求項4】 如請求項1至3任何一項所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵，且/或其中所述肽為一融合蛋白的一部分，所述融合蛋白包含HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸。

【請求項5】 一種結合劑，所述結合劑專一性識別請求項1至3任何一項所述的肽、或與MHC分子結合時之請求項1至3任何一項所述的肽。

【請求項6】 如請求項5所述的結合劑，所述結合劑為(a)一與一HLA配體反應的可溶或膜結合的T細胞受體或其之一功能性片段，其中所述配體為請求

項 1 至 3 任何一項所述的肽或與 MHC 分子結合時之請求項 1 至 3 任何一項所述的肽，或

(b) 一可溶或膜結合的抗體或其之一功能性片段。

【請求項7】 如請求項 6 所述的結合劑，其中所述抗體或其片段為(i)一單克隆抗體、一人源化抗體、一雙特異性抗體和/或一嵌合抗體或其之一片段，其中所述雙特異性抗體或其之片段專一性識別與 MHC 分子結合時之所述肽，與/或(ii)一抗體或一可溶的 TCR，攜帶一進一步效應子功能、一免疫刺激結構域或一免疫刺激毒素。

【請求項8】 一種核酸，編碼請求項 1 至 3 中任一項所述的肽或請求項 6 或 7 所述的結合劑，任選連接到一個異源啟動子序列。

【請求項9】 一種表達載體，表達請求項 8 所述的核酸。

【請求項10】一種重組宿主細胞，其包括請求項 1 至 3 中任一項所述的肽、請求項 8 所述的核酸、或請求項 9 所述的表達載體。

【請求項11】如請求項 10 所述的重組宿主細胞，其中所述重組宿主細胞

(i) 包括編碼請求項 1 至 3 中任一項所述肽的請求項 8 所述的核酸，且其中所述重組宿主細胞為

一包括一樹突狀細胞的抗原呈現細胞；或

(ii) 包括編碼請求項 6 或 7 所述結合劑的請求項 8 所述的核酸，且其中所述重組宿主細胞為一 T 細胞或一 NK 細胞。

【請求項12】一種請求項 1 至 4 中任一項所述的肽或其藥用鹽、請求項 8 所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體或請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞在製造一藥劑的用途。

【請求項13】一種製備請求項 1 至 3 中任一項所述肽或請求項 6 或 7 所述結合劑的方法，該方法包括培養請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞以及從該重組宿主細胞或其培養基中分離出所述肽或結合劑，所述重組宿主細胞呈現請求項 1 至 3 中任一項所述的肽或表達請求項 8 所述的核酸或載有請求項 9 所述的表達載體。

【請求項14】一種體外製備活化的 T 淋巴細胞的方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人 I 或 II 類 MHC 分子進行體外接觸足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化所述 T 細胞，所述載有抗原的人 I 或 II 類 MHC 分子在一合適的抗原呈現細胞表面或一人工類比的抗原呈現細胞結構表面上表達，其中所述抗原為請求項 1 至 3 中任一項所述的肽。

【請求項15】一種請求項14所述的方法製成的活化T淋巴細胞，其選擇性地識別一種細胞，該細胞表現一包括請求項1至3中任一項給定的氨基酸序列的多肽。

【請求項16】一種一有效劑量的請求項15所界定的活化T淋巴細胞在製造一殺滅一患者中的靶向癌細胞的藥劑的用途，所述靶向癌細胞表現一如請求項1所述的多肽。

【請求項17】如請求項16所述的用途，其中(a)所述T淋巴細胞為該患者自體的，(b)所述T淋巴細胞由一健康供體取得，或(c)所述T淋巴細胞係衍生自自體腫瘤浸潤性淋巴細胞。

【請求項18】一種請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8所述的核酸、請求項9所述的表達載體、請求項10或11所述的重組宿主細胞、或請求項15所述的活化T淋巴細胞在製造一治療癌症的藥劑中的用途。

【請求項19】如請求項18所述的用途，其中所述藥劑為一疫苗或一細胞治療劑。

【請求項20】一種製造一治療癌症劑的方法，其中所述劑包括下列至少一者：請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8

所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體、請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞、或請求項 15 所述的活化 T 淋巴細胞。

【請求項21】如請求項 16 至 19 任一項所述的用途或如請求項 20 所述的方法，其中所述癌症選自食道癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌和其他腫瘤所構成之群組，所述其他腫瘤過度表達一具有選自 SEQ ID NO: 77、1 至 76 與 78 至 93 的序列的肽。

【請求項22】一種藥物組合物，其包括至少一種活性成分與醫藥用載體，該活性成分選自以下所構成的群組：請求項 1 至 4 中任一項所述的肽、請求項 5 至 7 中任一項所述的結合劑、請求項 8 所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體、請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞、或請求項 15 所述的活化 T 淋巴細胞或共軛或標記的活性成分。

【請求項23】如請求項 22 所述的藥物組合物，其中(i)所述藥物組合物進一步包括一佐劑，與/或(ii)其中所述藥物組合物係一疫苗或一細胞治療組合物。

【請求項24】如請求項 22 或 23 所述的藥物組合物，用

於治療癌症。

【請求項25】一種藥盒套件，包括：

(a) 一個容器，包含一種藥物組合物，所述藥物組合物含有溶液或凍乾形式的請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8所述的核酸、請求項9所述的表達載體、請求項10或11所述的重組宿主細胞、或請求項15所述的活化T淋巴細胞；與

(b) 一第二個容器，包含凍乾劑型的稀釋劑或重組溶液。

【請求項26】如請求項25所述的藥盒套件，進一步包括一個或多個(i)選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:101所構成之群組的至少一個或多個肽(ii)緩衝劑，(iii)稀釋劑，(iv)過濾液，(v)針頭，或(vi)注射器。

【請求項27】一種製造一個性化抗癌疫苗的方法，所述方法包括：

i. 識別來自一個別患者的一腫瘤樣本所呈現的一腫瘤相關肽(TUMAP)；

ii. 將i中識別的肽與已預先篩選出的免疫原性和/或與正常組織相比在腫瘤中過度呈現的肽的數據庫進行比較；

iii. 從所述數據庫中選擇一個與所述患者的所述樣本中識別的TUMAP相匹配的肽；及

iv. 配製根據iii的個性化疫苗；

其中所述數據庫包括一具有選自SEQ ID NO: 77、1至76與78至93所構成之群組的序列的肽。

【請求項28】如請求項27所述的方法，包括選自下列(1)至(4)所構成之群組的一或多個手段：

(1) 其中所述TUMAP由一包括下列步驟的方法所識別：

a1)將來自所述腫瘤樣品的表現資料與來自與所述腫瘤樣品的組織類型相對應的一正常組織樣品的表現資料進行比較，以識別在所述腫瘤樣品中過度表現或異常表現的蛋白質；和

a2)將所述表現資料與所述腫瘤樣本中與MHC I類和/或II類分子結合的MHC配體的序列相關聯，以識別衍生自所述腫瘤過度表現或異常表現的蛋白質的MHC配體；

(2) 其中所述MHC配體的序列是通過從所述腫瘤樣品中分離出的MHC分子中洗脫出結合的肽，並對洗脫出的配體進行測序來鑒定的；

(3) 其中與所述腫瘤樣本的組織類型相對應的所述正

常組織是從同一患者取得；

(4)其中包括在數據庫中的肽的免疫原性是通過包括體外免疫原性試驗、MHC多聚體染色、ELISPOT試驗和/或細胞內細胞因數染色的方法確定的。

【請求項29】如請求項27或28所述的方法，進一步包括識別至少一個突變，該至少一個突變相對於來自所述個體患者的正常相應組織而言是該腫瘤獨一無二的，並選擇與該突變相關的肽，以納入疫苗或用於生成細胞療法。

【請求項30】如請求項29所述的方法，其中所述至少一個突變是由全基因體定序識別的。

相關申請案之交叉參照

圖 3

238 馬拉松賽事 3 號站，8 點起，5 點收，7 次補給，5 毛巾，2 本冊，1 張號碼布，3 面旗幟，2 組計時晶片，5 小時內完成，44 公里，2 小時，4 次休息，1 三明治，3 次上廁所，5 次水果補給，8 號站，3 次更換鞋墊，4 分鐘，3 條毛巾，6 張桌，3 名志工，6 個水壺，2 條毛巾，3 張號碼布，6 次，7 判決，6 公里，2 小時，4 盒，5 個大，3 名志工，3 件外套，6 張桌，2 條毛巾，6 次，2 小時，7 個水壺，2 盒，7 個人物品袋，5 分鐘內完成。

238 座北棟 3 樓 8 號房，5 樓，7 次數，5 號，2 飲水，一

相關指令序列圖
238 用戶端程式
第一次 GET /api/v2/orders?page=1 HTTP/2.0
第二次 GET /api/v2/orders?page=2 HTTP/2.0
第三次 GET /api/v2/orders?page=3 HTTP/2.0
第四次 GET /api/v2/orders?page=4 HTTP/2.0
第五次 GET /api/v2/orders?page=5 HTTP/2.0
第六次 GET /api/v2/orders?page=6 HTTP/2.0
第七次 GET /api/v2/orders?page=7 HTTP/2.0
第八次 GET /api/v2/orders?page=8 HTTP/2.0
第九次 GET /api/v2/orders?page=9 HTTP/2.0
第十次 GET /api/v2/orders?page=10 HTTP/2.0
第十一次 GET /api/v2/orders?page=11 HTTP/2.0
第十二次 GET /api/v2/orders?page=12 HTTP/2.0
第十三次 GET /api/v2/orders?page=13 HTTP/2.0
第十四次 GET /api/v2/orders?page=14 HTTP/2.0
第十五次 GET /api/v2/orders?page=15 HTTP/2.0
第十六次 GET /api/v2/orders?page=16 HTTP/2.0
第十七次 GET /api/v2/orders?page=17 HTTP/2.0
第十八次 GET /api/v2/orders?page=18 HTTP/2.0
第十九次 GET /api/v2/orders?page=19 HTTP/2.0
第二十次 GET /api/v2/orders?page=20 HTTP/2.0
第二十一次 GET /api/v2/orders?page=21 HTTP/2.0
第二十二次 GET /api/v2/orders?page=22 HTTP/2.0
第二十三次 GET /api/v2/orders?page=23 HTTP/2.0
第二十四次 GET /api/v2/orders?page=24 HTTP/2.0
第二十五次 GET /api/v2/orders?page=25 HTTP/2.0
第二十六次 GET /api/v2/orders?page=26 HTTP/2.0
第二十七次 GET /api/v2/orders?page=27 HTTP/2.0
第二十八次 GET /api/v2/orders?page=28 HTTP/2.0
第二十九次 GET /api/v2/orders?page=29 HTTP/2.0
第三十次 GET /api/v2/orders?page=30 HTTP/2.0
第三十一次 GET /api/v2/orders?page=31 HTTP/2.0
第三十二次 GET /api/v2/orders?page=32 HTTP/2.0
第三十三次 GET /api/v2/orders?page=33 HTTP/2.0
第三十四次 GET /api/v2/orders?page=34 HTTP/2.0
第三十五次 GET /api/v2/orders?page=35 HTTP/2.0
第三十六次 GET /api/v2/orders?page=36 HTTP/2.0
第三十七次 GET /api/v2/orders?page=37 HTTP/2.0
第三十八次 GET /api/v2/orders?page=38 HTTP/2.0
第三十九次 GET /api/v2/orders?page=39 HTTP/2.0
第四十次 GET /api/v2/orders?page=40 HTTP/2.0
第四十一次 GET /api/v2/orders?page=41 HTTP/2.0
第四十二次 GET /api/v2/orders?page=42 HTTP/2.0
第四十三次 GET /api/v2/orders?page=43 HTTP/2.0
第四十四次 GET /api/v2/orders?page=44 HTTP/2.0
第四十五次 GET /api/v2/orders?page=45 HTTP/2.0
第四十六次 GET /api/v2/orders?page=46 HTTP/2.0
第四十七次 GET /api/v2/orders?page=47 HTTP/2.0
第四十八次 GET /api/v2/orders?page=48 HTTP/2.0
第四十九次 GET /api/v2/orders?page=49 HTTP/2.0
第五十次 GET /api/v2/orders?page=50 HTTP/2.0
第五十一次 GET /api/v2/orders?page=51 HTTP/2.0
第五十二次 GET /api/v2/orders?page=52 HTTP/2.0
第五十三次 GET /api/v2/orders?page=53 HTTP/2.0
第五十四次 GET /api/v2/orders?page=54 HTTP/2.0
第五十五次 GET /api/v2/orders?page=55 HTTP/2.0
第五十六次 GET /api/v2/orders?page=56 HTTP/2.0
第五十七次 GET /api/v2/orders?page=57 HTTP/2.0
第五十八次 GET /api/v2/orders?page=58 HTTP/2.0
第五十九次 GET /api/v2/orders?page=59 HTTP/2.0
第六十次 GET /api/v2/orders?page=60 HTTP/2.0
第六十一次 GET /api/v2/orders?page=61 HTTP/2.0
第六十二次 GET /api/v2/orders?page=62 HTTP/2.0
第六十三次 GET /api/v2/orders?page=63 HTTP/2.0
第六十四次 GET /api/v2/orders?page=64 HTTP/2.0
第六十五次 GET /api/v2/orders?page=65 HTTP/2.0
第六十六次 GET /api/v2/orders?page=66 HTTP/2.0
第六十七次 GET /api/v2/orders?page=67 HTTP/2.0
第六十八次 GET /api/v2/orders?page=68 HTTP/2.0
第六十九次 GET /api/v2/orders?page=69 HTTP/2.0
第七十次 GET /api/v2/orders?page=70 HTTP/2.0
第七十一次 GET /api/v2/orders?page=71 HTTP/2.0
第七十二次 GET /api/v2/orders?page=72 HTTP/2.0
第七十三次 GET /api/v2/orders?page=73 HTTP/2.0
第七十四次 GET /api/v2/orders?page=74 HTTP/2.0
第七十五次 GET /api/v2/orders?page=75 HTTP/2.0
第七十六次 GET /api/v2/orders?page=76 HTTP/2.0
第七十七次 GET /api/v2/orders?page=77 HTTP/2.0
第七十八次 GET /api/v2/orders?page=78 HTTP/2.0
第七十九次 GET /api/v2/orders?page=79 HTTP/2.0
第八十次 GET /api/v2/orders?page=80 HTTP/2.0
第八十一次 GET /api/v2/orders?page=81 HTTP/2.0
第八十二次 GET /api/v2/orders?page=82 HTTP/2.0
第八十三次 GET /api/v2/orders?page=83 HTTP/2.0
第八十四次 GET /api/v2/orders?page=84 HTTP/2.0
第八十五次 GET /api/v2/orders?page=85 HTTP/2.0
第八十六次 GET /api/v2/orders?page=86 HTTP/2.0
第八十七次 GET /api/v2/orders?page=87 HTTP/2.0
第八十八次 GET /api/v2/orders?page=88 HTTP/2.0
第八十九次 GET /api/v2/orders?page=89 HTTP/2.0
第九十次 GET /api/v2/orders?page=90 HTTP/2.0
第九十一次 GET /api/v2/orders?page=91 HTTP/2.0
第九十二次 GET /api/v2/orders?page=92 HTTP/2.0
第九十三次 GET /api/v2/orders?page=93 HTTP/2.0
第九十四次 GET /api/v2/orders?page=94 HTTP/2.0
第九十五次 GET /api/v2/orders?page=95 HTTP/2.0
第九十六次 GET /api/v2/orders?page=96 HTTP/2.0
第九十七次 GET /api/v2/orders?page=97 HTTP/2.0
第九十八次 GET /api/v2/orders?page=98 HTTP/2.0
第九十九次 GET /api/v2/orders?page=99 HTTP/2.0
第一百次 GET /api/v2/orders?page=100 HTTP/2.0
第一百零一次 GET /api/v2/orders?page=101 HTTP/2.0
第一百零二次 GET /api/v2/orders?page=102 HTTP/2.0
第一百零三次 GET /api/v2/orders?page=103 HTTP/2.0
第一百零四次 GET /api/v2/orders?page=104 HTTP/2.0
第一百零五次 GET /api/v2/orders?page=105 HTTP/2.0
第一百零六次 GET /api/v2/orders?page=106 HTTP/2.0
第一百零七次 GET /api/v2/orders?page=107 HTTP/2.0
第一百零八次 GET /api/v2/orders?page=108 HTTP/2.0
第一百零九次 GET /api/v2/orders?page=109 HTTP/2.0
第一百一十次 GET /api/v2/orders?page=110 HTTP/2.0
第一百一十一次 GET /api/v2/orders?page=111 HTTP/2.0
第一百一十二次 GET /api/v2/orders?page=112 HTTP/2.0
第一百一十三次 GET /api/v2/orders?page=113 HTTP/2.0
第一百一十四次 GET /api/v2/orders?page=114 HTTP/2.0
第一百一十五次 GET /api/v2/orders?page=115 HTTP/2.0
第一百一十六次 GET /api/v2/orders?page=116 HTTP/2.0
第一百一十七次 GET /api/v2/orders?page=117 HTTP/2.0
第一百一十八次 GET /api/v2/orders?page=118 HTTP/2.0
第一百一十九次 GET /api/v2/orders?page=119 HTTP/2.0
第一百二十次 GET /api/v2/orders?page=120 HTTP/2.0
第一百二十一次 GET /api/v2/orders?page=121 HTTP/2.0
第一百二十二次 GET /api/v2/orders?page=122 HTTP/2.0
第一百二十三次 GET /api/v2/orders?page=123 HTTP/2.0
第一百二十四次 GET /api/v2/orders?page=124 HTTP/2.0
第一百二十五次 GET /api/v2/orders?page=125 HTTP/2.0
第一百二十六次 GET /api/v2/orders?page=126 HTTP/2.0
第一百二十七次 GET /api/v2/orders?page=127 HTTP/2.0
第一百二十八次 GET /api/v2/orders?page=128 HTTP/2.0
第一百二十九次 GET /api/v2/orders?page=129 HTTP/2.0
第一百三十次 GET /api/v2/orders?page=130 HTTP/2.0
第一百三十一次 GET /api/v2/orders?page=131 HTTP/2.0
第一百三十二次 GET /api/v2/orders?page=132 HTTP/2.0
第一百三十三次 GET /api/v2/orders?page=133 HTTP/2.0
第一百三十四次 GET /api/v2/orders?page=134 HTTP/2.0
第一百三十五次 GET /api/v2/orders?page=135 HTTP/2.0
第一百三十六次 GET /api/v2/orders?page=136 HTTP/2.0
第一百三十七次 GET /api/v2/orders?page=137 HTTP/2.0
第一百三十八次 GET /api/v2/orders?page=138 HTTP/2.0
第一百三十九次 GET /api/v2/orders?page=139 HTTP/2.0
第一百四十次 GET /api/v2/orders?page=140 HTTP/2.0
第一百四十一次 GET /api/v2/orders?page=141 HTTP/2.0
第一百四十二次 GET /api/v2/orders?page=142 HTTP/2.0
第一百四十三次 GET /api/v2/orders?page=143 HTTP/2.0
第一百四十四次 GET /api/v2/orders?page=144 HTTP/2.0
第一百四十五次 GET /api/v2/orders?page=145 HTTP/2.0
第一百四十六次 GET /api/v2/orders?page=146 HTTP/2.0
第一百四十七次 GET /api/v2/orders?page=147 HTTP/2.0
第一百四十八次 GET /api/v2/orders?page=148 HTTP/2.0
第一百四十九次 GET /api/v2/orders?page=149 HTTP/2.0
第一百五十次 GET /api/v2/orders?page=150 HTTP/2.0
第一百五十一次 GET /api/v2/orders?page=151 HTTP/2.0
第一百五十二次 GET /api/v2/orders?page=152 HTTP/2.0
第一百五十三次 GET /api/v2/orders?page=153 HTTP/2.0
第一百五十四次 GET /api/v2/orders?page=154 HTTP/2.0
第一百五十五次 GET /api/v2/orders?page=155 HTTP/2.0
第一百五十六次 GET /api/v2/orders?page=156 HTTP/2.0
第一百五十七次 GET /api/v2/orders?page=157 HTTP/2.0
第一百五十八次 GET /api/v2/orders?page=158 HTTP/2.0
第一百五十九次 GET /api/v2/orders?page=159 HTTP/2.0
第一百六十次 GET /api/v2/orders?page=160 HTTP/2.0
第一百六十一次 GET /api/v2/orders?page=161 HTTP/2.0
第一百六十二次 GET /api/v2/orders?page=162 HTTP/2.0
第一百六十三次 GET /api/v2/orders?page=163 HTTP/2.0
第一百六十四次 GET /api/v2/orders?page=164 HTTP/2.0
第一百六十五次 GET /api/v2/orders?page=165 HTTP/2.0
第一百六十六次 GET /api/v2/orders?page=166 HTTP/2.0
第一百六十七次 GET /api/v2/orders?page=167 HTTP/2.0
第一百六十八次 GET /api/v2/orders?page=168 HTTP/2.0
第一百六十九次 GET /api/v2/orders?page=169 HTTP/2.0
第一百七十次 GET /api/v2/orders?page=170 HTTP/2.0
第一百七十一次 GET /api/v2/orders?page=171 HTTP/2.0
第一百七十二次 GET /api/v2/orders?page=172 HTTP/2.0
第一百七十三次 GET /api/v2/orders?page=173 HTTP/2.0
第一百七十四次 GET /api/v2/orders?page=174 HTTP/2.0
第一百七十五次 GET /api/v2/orders?page=175 HTTP/2.0
第一百七十六次 GET /api/v2/orders?page=176 HTTP/2.0
第一百七十七次 GET /api/v2/orders?page=177 HTTP/2.0
第一百七十八次 GET /api/v2/orders?page=178 HTTP/2.0
第一百七十九次 GET /api/v2/orders?page=179 HTTP/2.0
第一百八十次 GET /api/v2/orders?page=180 HTTP/2.0
第一百八十一次 GET /api/v2/orders?page=181 HTTP/2.0
第一百八十二次 GET /api/v2/orders?page=182 HTTP/2.0
第一百八十三次 GET /api/v2/orders?page=183 HTTP/2.0
第一百八十四次 GET /api/v2/orders?page=184 HTTP/2.0
第一百八十五次 GET /api/v2/orders?page=185 HTTP/2.0
第一百八十六次 GET /api/v2/orders?page=186 HTTP/2.0
第一百八十七次 GET /api/v2/orders?page=187 HTTP/2.0
第一百八十八次 GET /api/v2/orders?page=188 HTTP/2.0
第一百八十九次 GET /api/v2/orders?page=189 HTTP/2.0
第一百九十次 GET /api/v2/orders?page=190 HTTP/2.0
第一百九十一次 GET /api/v2/orders?page=191 HTTP/2.0
第一百九十二次 GET /api/v2/orders?page=192 HTTP/2.0
第一百九十三次 GET /api/v2/orders?page=193 HTTP/2.0
第一百九十四次 GET /api/v2/orders?page=194 HTTP/2.0
第一百九十五次 GET /api/v2/orders?page=195 HTTP/2.0
第一百九十六次 GET /api/v2/orders?page=196 HTTP/2.0
第一百九十七次 GET /api/v2/orders?page=197 HTTP/2.0
第一百九十八次 GET /api/v2/orders?page=198 HTTP/2.0
第一百九十九次 GET /api/v2/orders?page=199 HTTP/2.0
第二百次 GET /api/v2/orders?page=200 HTTP/2.0
第二百零一次 GET /api/v2/orders?page=201 HTTP/2.0
第二百零二次 GET /api/v2/orders?page=202 HTTP/2.0
第二百零三次 GET /api/v2/orders?page=203 HTTP/2.0
第二百零四次 GET /api/v2/orders?page=204 HTTP/2.0
第二百零五次 GET /api/v2/orders?page=205 HTTP/2.0
第二百零六次 GET /api/v2/orders?page=206 HTTP/2.0
第二百零七次 GET /api/v2/orders?page=207 HTTP/2.0
第二百零八次 GET /api/v2/orders?page=208 HTTP/2.0
第二百零九次 GET /api/v2/orders?page=209 HTTP/2.0
第二百一十次 GET /api/v2/orders?page=210 HTTP/2.0
第二百一十一次 GET /api/v2/orders?page=211 HTTP/2.0
第二百一十二次 GET /api/v2/orders?page=212 HTTP/2.0
第二百一十三次 GET /api/v2/orders?page=213 HTTP/2.0
第二百一十四次 GET /api/v2/orders?page=214 HTTP/2.0
第二百一十五次 GET /api/v2/orders?page=215 HTTP/2.0
第二百一十六次 GET /api/v2/orders?page=216 HTTP/2.0
第二百一十七次 GET /api/v2/orders?page=217 HTTP/2.0
第二百一十八次 GET /api/v2/orders?page=218 HTTP/2.0
第二百一十九次 GET /api/v2/orders?page=219 HTTP/2.0
第二百二十次 GET /api/v2/orders?page=220 HTTP/2.0
第二百二十一次 GET /api/v2/orders?page=221 HTTP/2.0
第二百二十二次 GET /api/v2/orders?page=222 HTTP/2.0
第二百二十三次 GET /api/v2/orders?page=223 HTTP/2.0
第二百二十四次 GET /api/v2/orders?page=224 HTTP/2.0
第二百二十五次 GET /api/v2/orders?page=225 HTTP/2.0
第二百二十六次 GET /api/v2/orders?page=226 HTTP/2.0
第二百二十七次 GET /api/v2/orders?page=227 HTTP/2.0
第二百二十八次 GET /api/v2/orders?page=228 HTTP/2.0
第二百二十九次 GET /api/v2/orders?page=229 HTTP/2.0
第二百三十次 GET /api/v2/orders?page=230 HTTP/2.0
第二百三十一次 GET /api/v2/orders?page=231 HTTP/2.0
第二百三十二次 GET /api/v2/orders?page=232 HTTP/2.0
第二百三十三次 GET /api/v2/orders?page=233 HTTP/2.0
第二百三十四次 GET /api/v2/orders?page=234 HTTP/2.0
第二百三十五次 GET /api/v2/orders?page=235 HTTP/2.0
第二百三十六次 GET /api/v2/orders?page=236 HTTP/2.0
第二百三十七次 GET /api/v2/orders?page=237 HTTP/2.0
第二百三十八次 GET /api/v2/orders?page=238 HTTP/2.0
第二百三十九次 GET /api/v2/orders?page=239 HTTP/2.0
第二百四十次 GET /api/v2/orders?page=240 HTTP/2.0
第二百四十一次 GET /api/v2/orders?page=241 HTTP/2.0
第二百四十二次 GET /api/v2/orders?page=242 HTTP/2.0
第二百四十三次 GET /api/v2/orders?page=243 HTTP/2.0
第二百四十四次 GET /api/v2/orders?page=244 HTTP/2.0
第二百四十五次 GET /api/v2/orders?page=245 HTTP/2.0
第二百四十六次 GET /api/v2/orders?page=246 HTTP/2.0
第二百四十七次 GET /api/v2/orders?page=247 HTTP/2.0
第二百四十八次 GET /api/v2/orders?page=248 HTTP/2.0
第二百四十九次 GET /api/v2/orders?page=249 HTTP/2.0
第二百五十次 GET /api/v2/orders?page=250 HTTP/2.0
第二百五十一次 GET /api/v2/orders?page=251 HTTP/2.0
第二百五十二次 GET /api/v2/orders?page=252 HTTP/2.0
第二百五十三次 GET /api/v2/orders?page=253 HTTP/2.0
第二百五十四次 GET /api/v2/orders?page=254 HTTP/2.0
第二百五十五次 GET /api/v2/orders?page=255 HTTP/2.0
第二百五十六次 GET /api/v2/orders?page=256 HTTP/2.0
第二百五十七次 GET /api/v2/orders?page=257 HTTP/2.0
第二百五十八次 GET /api/v2/orders?page=258 HTTP/2.0
第二百五十九次 GET /api/v2/orders?page=259 HTTP/2.0
第二百六十次 GET /api/v2/orders?page=260 HTTP/2.0
第二百六十一次 GET /api/v2/orders?page=261 HTTP/2.0
第二百六十二次 GET /api/v2/orders?page=262 HTTP/2.0
第二百六十三次 GET /api/v2/orders?page=263 HTTP/2.0
第二百六十四次 GET /api/v2/orders?page=264 HTTP/2.0
第二百六十五次 GET /api/v2/orders?page=265 HTTP/2.0
第二百六十六次 GET /api/v2/orders?page=266 HTTP/2.0
第二百六十七次 GET /api/v2/orders?page=267 HTTP/2.0
第二百六十八次 GET /api/v2/orders?page=268 HTTP/2.0
第二百六十九次 GET /api/v2/orders?page=269 HTTP/2.0
第二百七十次 GET /api/v2/orders?page=270 HTTP/2.0
第二百七十一次 GET /api/v2/orders?page=271 HTTP/2.0
第二百七十二次 GET /api/v2/orders?page=272 HTTP/2.0
第二百七十三次 GET /api/v2/orders?page=273 HTTP/2.0
第二百七十四次 GET /api/v2/orders?page=274 HTTP/2.0
第二百七十五次 GET /api/v2/orders?page=275 HTTP/2.0
第二百七十六次 GET /api/v2/orders?page=276 HTTP/2.0
第二百七十七次 GET /api/v2/orders?page=277 HTTP/2.0
第二百七十八次 GET /api/v2/orders?page=278 HTTP/2.0
第二百七十九次 GET /api/v2/orders?page=279 HTTP/2.0
第二百八十次 GET /api/v2/orders?page=280 HTTP/2.0
第二百八十一次 GET /api/v2/orders?page=281 HTTP/2.0
第二百八十二次 GET /api/v2/orders?page=282 HTTP/2.0
第二百八十三次 GET /api/v2/orders?page=283 HTTP/2.0
第二百八十四次 GET /api/v2/orders?page=284 HTTP/2.0
第二百八十五次 GET /api/v2/orders?page=285 HTTP/2.0
第二百八十六次 GET /api/v2/orders?page=286 HTTP/2.0
第二百八十七次 GET /api/v2/orders?page=287 HTTP/2.0
第二百八十八次 GET /api/v2/orders?page=288 HTTP/2.0
第二百八十九次 GET /api/v2/orders?page=289 HTTP/2.0
第二百九十次 GET /api/v2/orders?page=290 HTTP/2.0
第二百九十一次 GET /api/v2/orders?page=291 HTTP/2.0
第二百九十二次 GET /api/v2/orders?page=292 HTTP/2.0
第二百九十三次 GET /api/v2/orders?page=293 HTTP/2.0
第二百九十四次 GET /api/v2/orders?page=294 HTTP/2.0
第二百九十五次 GET /api/v2/orders?page=295 HTTP/2.0
第二百九十六次 GET /api/v2/orders?page=296 HTTP/2.0
第二百九十七次 GET /api/v2/orders?page=297 HTTP/2.0
第二百九十八次 GET /api/v2/orders?page=298 HTTP/2.0
第二百九十九次 GET /api/v2/orders?page=299 HTTP/2.0
第三百次 GET /api/v2/orders?page=300 HTTP/2.0
第三百零一次 GET /api/v2/orders?page=301 HTTP/2.0
第三百零二次 GET /api/v2/orders?page=302 HTTP/2.0
第三百零三次 GET /api/v2/orders?page=303 HTTP/2.0
第三百零四次 GET /api/v2/orders?page=304 HTTP/2.0
第三百零五次 GET /api/v2/orders?page=305 HTTP/2.0
第三百零六次 GET /api/v2/orders?page=306 HTTP/2.0
第三百零七次 GET /api/v2/orders?page=307 HTTP/2.0
第三百零八次 GET /api/v2/orders?page=308 HTTP/2.0
第三百零九次 GET /api/v2/orders?page=309 HTTP/2.0
第三百一十次 GET /api/v2/orders?page=310 HTTP/2.0
第三百一十一次 GET /api/v2/orders?page=311 HTTP/2.0
第三百一十二次 GET /api/v2/orders?page=312 HTTP/2.0
第三百一十三次 GET /api/v2/orders?page=313 HTTP/2.0
第三百一十四次 GET /api/v2/orders?page=314 HTTP/2.0
第三百一十五次 GET /api/v2/orders?page=315 HTTP/2.0
第三百一十六次 GET /api/v2/orders?page=316 HTTP/2.0
第三百一十七次 GET /api/v2/orders?page=317 HTTP/2.0
第三百一十八次 GET /api/v2/orders?page=318 HTTP/2.0
第三百一十九次 GET /api/v2/orders?page=319 HTTP/2.0
第三百二十次 GET /api/v2/orders?page=320 HTTP/2.0
第三百二十一次 GET /api/v2/orders?page=321 HTTP/2.0
第三百二十二次 GET /api/v2/orders?page=322 HTTP/2.0
第三百二十三次 GET /api/v2/orders?page=323 HTTP/2.0
第三百二十四次 GET /api/v2/orders?page=324 HTTP/2.0
第三百二十五次 GET /api/v2/orders?page=325 HTTP/2.0
第三百二十六次 GET /api/v2/orders?page=326 HTTP/2.0
第三百二十七次 GET /api/v2/orders?page=327 HTTP/2.0
第三百二十八次 GET /api/v2/orders?page=328 HTTP/2.0
第三百二十九次 GET /api/v2/orders?page=329 HTTP/2.0
第三百三十次 GET /api/v2/orders?page=330 HTTP/2.0
第三百三十一次 GET /api/v2/orders?page=331 HTTP/2.0
第三百三十二次 GET /api/v2/orders?page=332 HTTP/2.0
第三百三十三次 GET /api/v2/orders?page=333 HTTP/2.0
第三百三十四次 GET /api/v2/orders?page=334 HTTP/2.0
第三百三十五次 GET /api/v2/orders?page=335 HTTP/2.0
第三百三十六次 GET /api/v2/orders?page=336 HTTP/2.0
第三百三十七次 GET /api/v2/orders?page=337 HTTP/2.0
第三百三十八次 GET /api/v2/orders?page=338 HTTP/2.0
第三百三十九次 GET /api/v2/orders?page=339 HTTP/2.0
第三百四十次 GET /api/v2/orders?page=340 HTTP/2.0
第三百四十一次 GET /api/v2/orders?page=341 HTTP/2.0
第三百四十二次 GET /api/v2/orders?page=342 HTTP/2.0
第三百四十三次 GET /api/v2/orders?page=343 HTTP/2.0
第三百四十四次 GET /api/v2/orders?page=344 HTTP/2.0
第三百四十五次 GET /api/v2/orders?page=345 HTTP/2.0
第三百四十六次 GET /api/v2/orders?page=346 HTTP/2.0
第三百四十七次 GET /api/v2/orders?page=347 HTTP/2.0
第三百四十八次 GET /api/v2/orders?page=348 HTTP/2.0
第三百四十九次 GET /api/v2/orders?page=349 HTTP/2.0
第三百五十次 GET /api/v2/orders?page=350 HTTP/2.0
第三百五十一次 GET /api/v2/orders?page=351 HTTP/2.0
第三百五十二次 GET /api/v2/orders?page=352 HTTP/2.0
第三百五十三次 GET /api/v2/orders?page=353 HTTP/2.0
第三百五十四次 GET /api/v2/orders?page=354 HTTP/2.0
第三百五十五次 GET /api/v2/orders?page=355 HTTP/2.0
第三百五十六次 GET /api/v2/orders?page=356 HTTP/2.0
第三百五十七次 GET /api/v2/orders?page=357 HTTP/2.0
第三百五十八次 GET /api/v2/orders?page=358 HTTP/2.0
第三百五十九次 GET /api/v2/orders?page=359 HTTP/2.0
第三百六十次 GET /api/v2/orders?page=360 HTTP/2.0
第三百六十一次 GET /api/v2/orders?page=361 HTTP/2.0
第三百六十二次 GET /api/v2/orders?page=362 HTTP/2.0
第三百六十三次 GET /api/v2/orders?page=363 HTTP/2.0
第三百六十四次 GET /api/v2/orders?page=364 HTTP/2.0
第三百六十五次 GET /api/v2/orders?page=365 HTTP/2.0
第三百六十六次 GET /api/v2/orders?page=366 HTTP/2.0
第三百六十七次 GET /api/v2/orders?page=367 HTTP/2.0
第三百六十八次 GET /api/v2/orders?page=368 HTTP/2.0
第三百六十九次 GET /api/v2/orders?page=369 HTTP/2.0
第三百七十次 GET /api/v2/orders?page=370 HTTP/2.0
第三百七十一次 GET /api/v2/orders?page=371 HTTP/2.0
第三百七十二次 GET /api/v2/orders?page=372 HTTP/2.0
第三百七十三次 GET /api/v2/orders?page=373 HTTP/2.0
第三百七十四次 GET /api/v2/orders?page=374 HTTP/2.0
第三百七十五次 GET /api/v2/orders?page=375 HTTP/2.0
第三百七十六次 GET /api/v2/orders?page=376 HTTP/2.0
第三百七十七次 GET /api/v2/orders?page=377 HTTP/2.0
第三百七十八次 GET /api/v2/orders?page=378 HTTP/2.0
第三百七十九次 GET /api/v2/orders?page=379 HTTP/2.0
第三百八十次 GET /api/v2/orders?page=380 HTTP/2.0
第三百八十一次 GET /api/v2/orders?page=381 HTTP/2.0
第三百八十二次 GET /api/v2/orders?page=382 HTTP/2.0
第三百八十三次 GET /api/v2/orders?page=383 HTTP/2.0
第三百八十四次 GET /api/v2/orders?page=384 HTTP/2.0
第三百八十五次 GET /api/v2/orders?page=385 HTTP/2.0
第三百八十六次 GET /api/v2/orders?page=386 HTTP/2.0
第三百八十七次 GET /api/v2/orders?page=387 HTTP/2.0
第三百八十八次 GET /api/v2/orders?page=388 HTTP/2.0
第三百八十九次 GET /api/v2/orders?page=389 HTTP/2.0
第三百九十次 GET /api/v2/orders?page=390 HTTP/2.0
第三百九十一次 GET /api/v2/orders?page=391 HTTP/2.0
第三百九十二次 GET /api/v2/orders?page=392 HTTP/2.0
第三百九十三次 GET /api/v2/orders?page=393 HTTP/2.0
第三百九十四次 GET /api/v2/orders?page=394 HTTP/2.0
第三百九十五次 GET /api/v2/orders?page=395 HTTP/2.0
第三百九十六次 GET /api/v2/orders?page=396 HTTP/2.0
第三百九十七次 GET /api/v2/orders?page=397 HTTP/2.0
第三百九十八次 GET /api/v2/orders?page=398 HTTP/2.0
第三百九十九次 GET /api/v2/orders?page=399 HTTP/2.0
第四百次 GET /api/v2/orders?page=400 HTTP/2.0
第四百零一次 GET /api/v2/orders?page=401 HTTP/2.0
第四百零二次 GET /api/v2/orders?page=402 HTTP/2.0
第四百零三次 GET /api/v2/orders?page=403 HTTP/2.0
第四百零四次 GET /api/v2/orders?page=404 HTTP/2.0
第四百零五次 GET /api/v2/orders?page=405 HTTP/2.0
第四百零六次 GET /api/v2/orders?page=406 HTTP/2.0
第四百零七次 GET /api/v2/orders?page=407 HTTP/2.0
第四百零八次 GET /api/v2/orders?page=408 HTTP/2.0
第四百零九次 GET /api/v2/orders?page=409 HTTP/2.0
第四百一十次 GET /api/v2/orders?page=410 HTTP/2.0
第四百一十一次 GET /api/v2/orders?page=411 HTTP/2.0
第四百一十二次 GET /api/v2/orders?page=412 HTTP/2.0
第四百一十三次 GET /api/v2/orders?page=413 HTTP/2.0
第四百一十四次 GET /api/v2/orders?page=414 HTTP/2.0
第四百一十五次 GET /api/v2/orders?page=415 HTTP/2.0
第四百一十六次 GET /api/v2/orders?page=416 HTTP/2.0
第四百一十七次 GET /api/v2/orders?page=417 HTTP/2.0
第四百一十八次 GET /api/v2/orders?page=418 HTTP/2.0
第四百一十九次 GET /api/v2/orders?page=419 HTTP/2.0
第四百二十次 GET /api/v2/orders?page=420 HTTP/2.0
第四百二十一次 GET /api/v2/orders?page=421 HTTP/2.0
第四百二十二次 GET /api/v2/orders?page=422 HTTP/2.0
第四百二十三次 GET /api/v2/orders?page=423 HTTP/2.0
第四百二十四次 GET /api/v2/orders?page=424 HTTP/2.0
第四百二十五次 GET /api/v2/orders?page=425 HTTP/2.0
第四百二十六次 GET /api/v2/orders?page=426 HTTP/2.0
第四百二十七次 GET /api/v2/orders?page=427 HTTP/2.0
第四百二十八次 GET /api/v2/orders?page=428 HTTP/2.0
第四百二十九次 GET /api/v2/orders?page=429 HTTP/2.0
第四百三十次 GET /api/v2/orders?page=430 HTTP/2.0
第四百三十一次 GET /api/v2/orders?page=431 HTTP/2.0
第四百三十二次 GET /api/v2/orders?page=432 HTTP/2.0
第四百三十三次 GET /api/v2/orders?page=433 HTTP/2.0
第四百三十四次 GET /api/v2/orders?page=434 HTTP/2.0
第四百三十五次 GET /api/v2/orders?page=435 HTTP/2.0
第四百三十六次 GET /api/v2/orders?page=436 HTTP/2.0
第四百三十七次 GET /api/v2/orders?page=437 HTTP/2.0
第四百三十八次 GET /api/v2/orders?page=438 HTTP/2.0
第四百三十九次 GET /api/v2/orders?page=439 HTTP/2.0
第四百四十次 GET /api/v2/orders?page=440 HTTP/2.0
第四百四十一次 GET /api/v2/orders?page=441 HTTP/2.0
第四百四十二次 GET /api/v2/orders?page=442 HTTP/2.0
第四百四十三次 GET /api/v2/orders?page=443 HTTP/2.0
第四百四十四次 GET /api/v2/orders?page=444 HTTP/2.0
第四百四十五次 GET /api/v2/orders?page=445 HTTP/2.0
第四百四十六次 GET /api/v2/orders?page=446 HTTP/2.0
第四百四十七次 GET /api/v2/orders?page=447 HTTP/2.0
第四百四十八次 GET /api/v2/orders?page=448 HTTP/2.0
第四百四十九次 GET /api/v2/orders?page=449 HTTP/2.0
第四百五十次 GET /api/v2/orders?page=450 HTTP/2.0
第四百五十一次 GET /api/v2/orders?page=451 HTTP/2.0
第四百五十二次 GET /api/v2/orders?page=452 HTTP/2.0
第四百五十三次 GET /api/v2/orders?page=453 HTTP/2.0
第四百五十四次 GET /api/v2/orders?page=454 HTTP/2.0
第四百五十五次 GET /api/v2/orders?page=455 HTTP/2.0
第四百五十六次 GET /api/v2/orders?page=456 HTTP/2.0
第四百五十七次 GET /api/v2/orders?page=457 HTTP/2.0
第四百五十八次 GET /api/v2/orders?page=458 HTTP/2.0
第四百五十九次 GET /api/v2/orders?page=459 HTTP/2.0
第四百六十次 GET /api/v2/orders?page=460 HTTP/2.0
第四百六十一次 GET /api/v2/orders?page=461 HTTP/2.0
第四百六十二次 GET /api/v2/orders?page=462 HTTP/2.0
第四百六十三次 GET /api/v2/orders?page=463 HTTP/2.0
第四百六十四次 GET /api/v2/orders?page=464 HTTP/2.0
第四百六十五次 GET /api/v2/orders?page=465 HTTP/2.0
第四百六十六次 GET /api/v2/orders?page=466 HTTP/2.0
第四百六十七次 GET /api/v2/orders?page=467 HTTP/2.0
第四百六十八次 GET /api/v2/orders?page=468 HTTP/2.0
第四百六十九次 GET /api/v2/orders?page=469 HTTP/2.0
第四百七十次 GET /api/v2/orders?page=470 HTTP/2.0
第四百七十一次 GET /api/v2/orders?page=471 HTTP/2.0
第四百七十二次 GET /api/v2/orders?page=472 HTTP/2.0
第四百七十三次 GET /api/v2/orders?page=473 HTTP/2.0
第四百七十四次 GET /api/v2/orders?page=474 HTTP/2.0
第四百七十五次 GET /api/v2/orders?page=475 HTTP/2.0
第四百七十六次 GET /api/v2/orders?page=476 HTTP/2.0
第四百七十七次 GET /api/v2/orders?page=477 HTTP/2.0
第四百七十八次 GET /api/v2/orders?page=478 HTTP/2.0
第四百七十九次 GET /api/v2/orders?page=479 HTTP/2.0
第四百八十次 GET /api/v2/orders?page=480 HTTP/2.0
第四百八十一次 GET /api/v2/orders?page=481 HTTP/2.0
第四百八十二次 GET /api/v2/orders?page=482 HTTP/2.0
第四百八十三次 GET /api/v2/orders?page=483 HTTP/2.0
第四百八十四次 GET /api/v2/orders?page=484 HTTP/2.0
第四百八十五次 GET /api/v2/orders?page=485 HTTP/2.0
第四百八十六次 GET /api/v2/orders?page=486 HTTP/2.0
第四百八十七次 GET /api/v2/orders?page=487 HTTP/2.0
第四百八十八次 GET /api/v2/orders?page=488 HTTP/2.0
第四百八十九次 GET /api/v2/orders?page=489 HTTP/2.0
第四百九十次 GET /api/v2/orders?page=490 HTTP/2.0
第四百九十一次 GET /api/v2/orders?page=491 HTTP/2.0
第四百九十二次 GET /api/v2/orders?page=492 HTTP/2.0
第四百九十三次 GET /api/v2/orders?page=493 HTTP/2.0
第四百九十四次 GET /api/v2/orders?page=494 HTTP/2.0
第四百九十五次 GET /api/v2/orders?page=495 HTTP/2.0
第四百九十六次 GET /api/v2/orders?page=496 HTTP/2.0
第四百九十七次 GET /api/v2/orders?page=497 HTTP/2.0
第四百九十八次 GET /api/v2/orders?page=498 HTTP/2.0
第四百九十九次 GET /api/v2/orders?page=499 HTTP/2.0
第五百次 GET /api/v2/orders?page=500 HTTP/2.0
第五百零一次 GET /api/v2/orders?page=501 HTTP/2.0
第五百零二次 GET /api/v2/orders?page=502 HTTP/2.0
第五百零三次 GET /api/v2/orders?page=503 HTTP/2.0
第五百零四次 GET /api/v2/orders?page=504 HTTP/2.0
第五百零五次 GET /api/v2/orders?page=505 HTTP/2.0
第五百零六次 GET /api/v2/orders?page=506 HTTP/2.0
第五百零七次 GET /api/v2/orders?page=507 HTTP/2.0
第五百零八次 GET /api/v2/orders?page=508 HTTP/2.0
第五百零

圖式

相關申請案圖式

發明人：
代表人：
申請人：

申請日期：2022年9月6日（星期二）
申請案號：111133761
申請人數：1人
發明人數：2人
設計人數：0人
申請專利範圍項數：7項
圖式數：1圖
優先權：無
主張專利法第二十四條第一項優先權：無
主張專利法第二十五條之一第一項優先權：無
主張生物材料寄存：無
國內寄存資訊：無
國外寄存資訊：無

圖式
S100
TASA
S100
S100
S100

相關申請案圖式
圖式
(a*b)/acos(a*b)
acos(a*b)/(a*b)
圖

圖式

第二實施例（24個輸入、8個輸出、2級）（necta左）
第三實施例（24個輸入、8個輸出、3級）（necta左）

第四實施例（necta右）

圖式

圖 1

圖 3：變數間相關性矩陣熱圖（含顯著性標記）

相關組件在該時間內
圖 1A

該檢測時間（一天內）：5個區域（一樓、二樓、2個電梯、3間廁所，4樓，4樓梯）（從左到右）
檢測區域
檢測區域

相關指定化學式(I)
(R1)
(R2)
(R3)
(R4)
(R5)
(R6)
(R7)
(R8)
(R9)
(R10)
(R11)
(R12)
(R13)
(R14)
(R15)
(R16)
(R17)
(R18)
(R19)
(R20)
(R21)
(R22)
(R23)
(R24)
(R25)
(R26)
(R27)
(R28)
(R29)
(R30)
(R31)
(R32)
(R33)
(R34)
(R35)
(R36)
(R37)
(R38)
(R39)
(R40)
(R41)
(R42)
(R43)
(R44)
(R45)
(R46)
(R47)
(R48)
(R49)
(R50)
(R51)
(R52)
(R53)
(R54)
(R55)
(R56)
(R57)
(R58)
(R59)
(R60)
(R61)
(R62)
(R63)
(R64)
(R65)
(R66)
(R67)
(R68)
(R69)
(R70)
(R71)
(R72)
(R73)
(R74)
(R75)
(R76)
(R77)
(R78)
(R79)
(R80)
(R81)
(R82)
(R83)
(R84)
(R85)
(R86)
(R87)
(R88)
(R89)
(R90)
(R91)
(R92)
(R93)
(R94)
(R95)
(R96)
(R97)
(R98)
(R99)
(R100)
(R101)
(R102)
(R103)
(R104)
(R105)
(R106)
(R107)
(R108)
(R109)
(R110)
(R111)
(R112)
(R113)
(R114)
(R115)
(R116)
(R117)
(R118)
(R119)
(R120)
(R121)
(R122)
(R123)
(R124)
(R125)
(R126)
(R127)
(R128)
(R129)
(R130)
(R131)
(R132)
(R133)
(R134)
(R135)
(R136)
(R137)
(R138)
(R139)
(R140)
(R141)
(R142)
(R143)
(R144)
(R145)
(R146)
(R147)
(R148)
(R149)
(R150)
(R151)
(R152)
(R153)
(R154)
(R155)
(R156)
(R157)
(R158)
(R159)
(R160)
(R161)
(R162)
(R163)
(R164)
(R165)
(R166)
(R167)
(R168)
(R169)
(R170)
(R171)
(R172)
(R173)
(R174)
(R175)
(R176)
(R177)
(R178)
(R179)
(R180)
(R181)
(R182)
(R183)
(R184)
(R185)
(R186)
(R187)
(R188)
(R189)
(R190)
(R191)
(R192)
(R193)
(R194)
(R195)
(R196)
(R197)
(R198)
(R199)
(R200)
(R201)
(R202)
(R203)
(R204)
(R205)
(R206)
(R207)
(R208)
(R209)
(R210)
(R211)
(R212)
(R213)
(R214)
(R215)
(R216)
(R217)
(R218)
(R219)
(R220)
(R221)
(R222)
(R223)
(R224)
(R225)
(R226)
(R227)
(R228)
(R229)
(R230)
(R231)
(R232)
(R233)
(R234)
(R235)
(R236)
(R237)
(R238)
(R239)
(R240)
(R241)
(R242)
(R243)
(R244)
(R245)
(R246)
(R247)
(R248)
(R249)
(R250)
(R251)
(R252)
(R253)
(R254)
(R255)
(R256)
(R257)
(R258)
(R259)
(R260)
(R261)
(R262)
(R263)
(R264)
(R265)
(R266)
(R267)
(R268)
(R269)
(R270)
(R271)
(R272)
(R273)
(R274)
(R275)
(R276)
(R277)
(R278)
(R279)
(R280)
(R281)
(R282)
(R283)
(R284)
(R285)
(R286)
(R287)
(R288)
(R289)
(R290)
(R291)
(R292)
(R293)
(R294)
(R295)
(R296)
(R297)
(R298)
(R299)
(R300)
(R301)
(R302)
(R303)
(R304)
(R305)
(R306)
(R307)
(R308)
(R309)
(R310)
(R311)
(R312)
(R313)
(R314)
(R315)
(R316)
(R317)
(R318)
(R319)
(R320)
(R321)
(R322)
(R323)
(R324)
(R325)
(R326)
(R327)
(R328)
(R329)
(R330)
(R331)
(R332)
(R333)
(R334)
(R335)
(R336)
(R337)
(R338)
(R339)
(R340)
(R341)
(R342)
(R343)
(R344)
(R345)
(R346)
(R347)
(R348)
(R349)
(R350)
(R351)
(R352)
(R353)
(R354)
(R355)
(R356)
(R357)
(R358)
(R359)
(R360)
(R361)
(R362)
(R363)
(R364)
(R365)
(R366)
(R367)
(R368)
(R369)
(R370)
(R371)
(R372)
(R373)
(R374)
(R375)
(R376)
(R377)
(R378)
(R379)
(R380)
(R381)
(R382)
(R383)
(R384)
(R385)
(R386)
(R387)
(R388)
(R389)
(R390)
(R391)
(R392)
(R393)
(R394)
(R395)
(R396)
(R397)
(R398)
(R399)
(R400)
(R401)
(R402)
(R403)
(R404)
(R405)
(R406)
(R407)
(R408)
(R409)
(R410)
(R411)
(R412)
(R413)
(R414)
(R415)
(R416)
(R417)
(R418)
(R419)
(R420)
(R421)
(R422)
(R423)
(R424)
(R425)
(R426)
(R427)
(R428)
(R429)
(R430)
(R431)
(R432)
(R433)
(R434)
(R435)
(R436)
(R437)
(R438)
(R439)
(R440)
(R441)
(R442)
(R443)
(R444)
(R445)
(R446)
(R447)
(R448)
(R449)
(R450)
(R451)
(R452)
(R453)
(R454)
(R455)
(R456)
(R457)
(R458)
(R459)
(R460)
(R461)
(R462)
(R463)
(R464)
(R465)
(R466)
(R467)
(R468)
(R469)
(R470)
(R471)
(R472)
(R473)
(R474)
(R475)
(R476)
(R477)
(R478)
(R479)
(R480)
(R481)
(R482)
(R483)
(R484)
(R485)
(R486)
(R487)
(R488)
(R489)
(R490)
(R491)
(R492)
(R493)
(R494)
(R495)
(R496)
(R497)
(R498)
(R499)
(R500)
(R501)
(R502)
(R503)
(R504)
(R505)
(R506)
(R507)
(R508)
(R509)
(R510)
(R511)
(R512)
(R513)
(R514)
(R515)
(R516)
(R517)
(R518)
(R519)
(R520)
(R521)
(R522)
(R523)
(R524)
(R525)
(R526)
(R527)
(R528)
(R529)
(R530)
(R531)
(R532)
(R533)
(R534)
(R535)
(R536)
(R537)
(R538)
(R539)
(R540)
(R541)
(R542)
(R543)
(R544)
(R545)
(R546)
(R547)
(R548)
(R549)
(R550)
(R551)
(R552)
(R553)
(R554)
(R555)
(R556)
(R557)
(R558)
(R559)
(R560)
(R561)
(R562)
(R563)
(R564)
(R565)
(R566)
(R567)
(R568)
(R569)
(R570)
(R571)
(R572)
(R573)
(R574)
(R575)
(R576)
(R577)
(R578)
(R579)
(R580)
(R581)
(R582)
(R583)
(R584)
(R585)
(R586)
(R587)
(R588)
(R589)
(R590)
(R591)
(R592)
(R593)
(R594)
(R595)
(R596)
(R597)
(R598)
(R599)
(R600)
(R601)
(R602)
(R603)
(R604)
(R605)
(R606)
(R607)
(R608)
(R609)
(R610)
(R611)
(R612)
(R613)
(R614)
(R615)
(R616)
(R617)
(R618)
(R619)
(R620)
(R621)
(R622)
(R623)
(R624)
(R625)
(R626)
(R627)
(R628)
(R629)
(R630)
(R631)
(R632)
(R633)
(R634)
(R635)
(R636)
(R637)
(R638)
(R639)
(R640)
(R641)
(R642)
(R643)
(R644)
(R645)
(R646)
(R647)
(R648)
(R649)
(R650)
(R651)
(R652)
(R653)
(R654)
(R655)
(R656)
(R657)
(R658)
(R659)
(R660)
(R661)
(R662)
(R663)
(R664)
(R665)
(R666)
(R667)
(R668)
(R669)
(R670)
(R671)
(R672)
(R673)
(R674)
(R675)
(R676)
(R677)
(R678)
(R679)
(R680)
(R681)
(R682)
(R683)
(R684)
(R685)
(R686)
(R687)
(R688)
(R689)
(R690)
(R691)
(R692)
(R693)
(R694)
(R695)
(R696)
(R697)
(R698)
(R699)
(R700)
(R701)
(R702)
(R703)
(R704)
(R705)
(R706)
(R707)
(R708)
(R709)
(R710)
(R711)
(R712)
(R713)
(R714)
(R715)
(R716)
(R717)
(R718)
(R719)
(R720)
(R721)
(R722)
(R723)
(R724)
(R725)
(R726)
(R727)
(R728)
(R729)
(R730)
(R731)
(R732)
(R733)
(R734)
(R735)
(R736)
(R737)
(R738)
(R739)
(R740)
(R741)
(R742)
(R743)
(R744)
(R745)
(R746)
(R747)
(R748)
(R749)
(R750)
(R751)
(R752)
(R753)
(R754)
(R755)
(R756)
(R757)
(R758)
(R759)
(R760)
(R761)
(R762)
(R763)
(R764)
(R765)
(R766)
(R767)
(R768)
(R769)
(R770)
(R771)
(R772)
(R773)
(R774)
(R775)
(R776)
(R777)
(R778)
(R779)
(R780)
(R781)
(R782)
(R783)
(R784)
(R785)
(R786)
(R787)
(R788)
(R789)
(R790)
(R791)
(R792)
(R793)
(R794)
(R795)
(R796)
(R797)
(R798)
(R799)
(R800)
(R801)
(R802)
(R803)
(R804)
(R805)
(R806)
(R807)
(R808)
(R809)
(R810)
(R811)
(R812)
(R813)
(R814)
(R815)
(R816)
(R817)
(R818)
(R819)
(R820)
(R821)
(R822)
(R823)
(R824)
(R825)
(R826)
(R827)
(R828)
(R829)
(R830)
(R831)
(R832)
(R833)
(R834)
(R835)
(R836)
(R837)
(R838)
(R839)
(R840)
(R841)
(R842)
(R843)
(R844)
(R845)
(R846)
(R847)
(R848)
(R849)
(R850)
(R851)
(R852)
(R853)
(R854)
(R855)
(R856)
(R857)
(R858)
(R859)
(R860)
(R861)
(R862)
(R863)
(R864)
(R865)
(R866)
(R867)
(R868)
(R869)
(R870)
(R871)
(R872)
(R873)
(R874)
(R875)
(R876)
(R877)
(R878)
(R879)
(R880)
(R881)
(R882)
(R883)
(R884)
(R885)
(R886)
(R887)
(R888)
(R889)
(R890)
(R891)
(R892)
(R893)
(R894)
(R895)
(R896)
(R897)
(R898)
(R899)
(R900)
(R901)
(R902)
(R903)
(R904)
(R905)
(R906)
(R907)
(R908)
(R909)
(R910)
(R911)
(R912)
(R913)
(R914)
(R915)
(R916)
(R917)
(R918)
(R919)
(R920)
(R921)
(R922)
(R923)
(R924)
(R925)
(R926)
(R927)
(R928)
(R929)
(R930)
(R931)
(R932)
(R933)
(R934)
(R935)
(R936)
(R937)
(R938)
(R939)
(R940)
(R941)
(R942)
(R943)
(R944)
(R945)
(R946)
(R947)
(R948)
(R949)
(R950)
(R951)
(R952)
(R953)
(R954)
(R955)
(R956)
(R957)
(R958)
(R959)
(R960)
(R961)
(R962)
(R963)
(R964)
(R965)
(R966)
(R967)
(R968)
(R969)
(R970)
(R971)
(R972)
(R973)
(R974)
(R975)
(R976)
(R977)
(R978)
(R979)
(R980)
(R981)
(R982)
(R983)
(R984)
(R985)
(R986)
(R987)
(R988)
(R989)
(R990)
(R991)
(R992)
(R993)
(R994)
(R995)
(R996)
(R997)
(R998)
(R999)
(R1000)

式(I)

相關指定化學品[A]
製造商 B
製造商 C
製造商 D
製造商 E
製造商 F
製造商 G
製造商 H
製造商 I
製造商 J
製造商 K
製造商 L
製造商 M
製造商 N
製造商 O
製造商 P
製造商 Q
製造商 R
製造商 S
製造商 T
製造商 U
製造商 V
製造商 W
製造商 X
製造商 Y
製造商 Z
製造商 AA
製造商 AB
製造商 AC
製造商 AD
製造商 AE
製造商 AF
製造商 AG
製造商 AH
製造商 AI
製造商 AJ
製造商 AK
製造商 AL
製造商 AM
製造商 AN
製造商 AO
製造商 AP
製造商 AQ
製造商 AR
製造商 AS
製造商 AT
製造商 AU
製造商 AV
製造商 AW
製造商 AX
製造商 AY
製造商 AZ
製造商 BA
製造商 BB
製造商 BC
製造商 BD
製造商 BE
製造商 BF
製造商 BG
製造商 BH
製造商 BI
製造商 BJ
製造商 BK
製造商 BL
製造商 BM
製造商 BN
製造商 BO
製造商 BP
製造商 BQ
製造商 BR
製造商 BS
製造商 BT
製造商 BU
製造商 BV
製造商 BW
製造商 BX
製造商 BY
製造商 BZ
製造商 CA
製造商 CB
製造商 CC
製造商 CD
製造商 CE
製造商 CF
製造商 CG
製造商 CH
製造商 CI
製造商 CJ
製造商 CK
製造商 CL
製造商 CM
製造商 CN
製造商 CO
製造商 CP
製造商 CQ
製造商 CR
製造商 CS
製造商 CT
製造商 CU
製造商 CV
製造商 CW
製造商 CX
製造商 CY
製造商 CZ
製造商 DA
製造商 DB
製造商 DC
製造商 DD
製造商 DE
製造商 DF
製造商 DG
製造商 DH
製造商 DI
製造商 DJ
製造商 DK
製造商 DL
製造商 DM
製造商 DN
製造商 DO
製造商 DP
製造商 DQ
製造商 DR
製造商 DS
製造商 DT
製造商 DU
製造商 DV
製造商 DW
製造商 DX
製造商 DY
製造商 DZ
製造商 EA
製造商 EB
製造商 EC
製造商 ED
製造商 EE
製造商 EF
製造商 EG
製造商 EH
製造商 EI
製造商 EJ
製造商 EK
製造商 EL
製造商 EM
製造商 EN
製造商 EO
製造商 EP
製造商 EQ
製造商 ER
製造商 ES
製造商 ET
製造商 EU
製造商 EV
製造商 EW
製造商 EX
製造商 EY
製造商 EZ
製造商 FA
製造商 FB
製造商 FC
製造商 FD
製造商 FE
製造商 FF
製造商 FG
製造商 FH
製造商 FI
製造商 FJ
製造商 FK
製造商 FL
製造商 FM
製造商 FN
製造商 FO
製造商 FP
製造商 FQ
製造商 FR
製造商 FS
製造商 FT
製造商 FU
製造商 FV
製造商 FW
製造商 FX
製造商 FY
製造商 FZ
製造商 GA
製造商 GB
製造商 GC
製造商 GD
製造商 GE
製造商 GF
製造商 GG
製造商 GH
製造商 GI
製造商 GJ
製造商 GK
製造商 GL
製造商 GM
製造商 GN
製造商 GO
製造商 GP
製造商 GQ
製造商 GR
製造商 GS
製造商 GT
製造商 GU
製造商 GV
製造商 GW
製造商 GX
製造商 GY
製造商 GZ
製造商 HA
製造商 HB
製造商 HC
製造商 HD
製造商 HE
製造商 HF
製造商 HG
製造商 HH
製造商 HI
製造商 HJ
製造商 HK
製造商 HL
製造商 HM
製造商 HN
製造商 HO
製造商 HP
製造商 HQ
製造商 HR
製造商 HS
製造商 HT
製造商 HU
製造商 HV
製造商 HW
製造商 HX
製造商 HY
製造商 HZ
製造商 IA
製造商 IB
製造商 IC
製造商 ID
製造商 IE
製造商 IF
製造商 IG
製造商 IH
製造商 II
製造商 IJ
製造商 IK
製造商 IL
製造商 IM
製造商 IN
製造商 IO
製造商 IP
製造商 IQ
製造商 IR
製造商 IS
製造商 IT
製造商 IU
製造商 IV
製造商 IW
製造商 IX
製造商 IY
製造商 IZ
製造商 JA
製造商 JB
製造商 JC
製造商 JD
製造商 JE
製造商 JF
製造商 JG
製造商 JH
製造商 JI
製造商 JJ
製造商 JK
製造商 JL
製造商 JM
製造商 JN
製造商 JO
製造商 JP
製造商 JQ
製造商 JR
製造商 JS
製造商 JT
製造商 JU
製造商 JV
製造商 JW
製造商 JX
製造商 JY
製造商 JZ
製造商 KA
製造商 KB
製造商 KC
製造商 KD
製造商 KE
製造商 KF
製造商 KG
製造商 KH
製造商 KI
製造商 KJ
製造商 KK
製造商 KL
製造商 KM
製造商 KN
製造商 KO
製造商 KP
製造商 KQ
製造商 KR
製造商 KS
製造商 KT
製造商 KU
製造商 KV
製造商 KW
製造商 KX
製造商 KY
製造商 KZ
製造商 LA
製造商 LB
製造商 LC
製造商 LD
製造商 LE
製造商 LF
製造商 LG
製造商 LH
製造商 LI
製造商 LJ
製造商 LK
製造商 LL
製造商 LM
製造商 LN
製造商 LO
製造商 LP
製造商 LQ
製造商 LR
製造商 LS
製造商 LT
製造商 LU
製造商 LV
製造商 LW
製造商 LX
製造商 LY
製造商 LZ
製造商 MA
製造商 MB
製造商 MC
製造商 MD
製造商 ME
製造商 MF
製造商 MG
製造商 MH
製造商 MI
製造商 MJ
製造商 MK
製造商 ML
製造商 MM
製造商 MN
製造商 MO
製造商 MP
製造商 MQ
製造商 MR
製造商 MS
製造商 MT
製造商 MU
製造商 MV
製造商 MW
製造商 MX
製造商 MY
製造商 MZ
製造商 NA
製造商 NB
製造商 NC
製造商 ND
製造商 NE
製造商 NF
製造商 NG
製造商 NH
製造商 NI
製造商 NJ
製造商 NK
製造商 NL
製造商 NM
製造商 NN
製造商 NO
製造商 NP
製造商 NQ
製造商 NR
製造商 NS
製造商 NT
製造商 NU
製造商 NV
製造商 NW
製造商 NX
製造商 NY
製造商 NZ
製造商 OA
製造商 OB
製造商 OC
製造商 OD
製造商 OE
製造商 OF
製造商 OG
製造商 OH
製造商 OI
製造商 OJ
製造商 OK
製造商 OL
製造商 OM
製造商 ON
製造商 OO
製造商 OP
製造商 OQ
製造商 OR
製造商 OS
製造商 OT
製造商 OU
製造商 OV
製造商 OW
製造商 OX
製造商 OY
製造商 OZ
製造商 PA
製造商 PB
製造商 PC
製造商 PD
製造商 PE
製造商 PF
製造商 PG
製造商 PH
製造商 PI
製造商 PJ
製造商 PK
製造商 PL
製造商 PM
製造商 PN
製造商 PO
製造商 PP
製造商 PQ
製造商 PR
製造商 PS
製造商 PT
製造商 PU
製造商 PV
製造商 PW
製造商 PX
製造商 PY
製造商 PZ
製造商 QA
製造商 QB
製造商 QC
製造商 QD
製造商 QE
製造商 QF
製造商 QG
製造商 QH
製造商 QI
製造商 QJ
製造商 QK
製造商 QL
製造商 QM
製造商 QN
製造商 QO
製造商 QP
製造商 QQ
製造商 QR
製造商 QS
製造商 QT
製造商 QU
製造商 QV
製造商 QW
製造商 QX
製造商 QY
製造商 QZ
製造商 RA
製造商 RB
製造商 RC
製造商 RD
製造商 RE
製造商 RF
製造商 RG
製造商 RH
製造商 RI
製造商 RJ
製造商 RK
製造商 RL
製造商 RM
製造商 RN
製造商 RO
製造商 RP
製造商 RQ
製造商 RR
製造商 RS
製造商 RT
製造商 RU
製造商 RV
製造商 RW
製造商 RX
製造商 RY
製造商 RZ
製造商 SA
製造商 SB
製造商 SC
製造商 SD
製造商 SE
製造商 SF
製造商 SG
製造商 SH
製造商 SI
製造商 SJ
製造商 SK
製造商 SL
製造商 SM
製造商 SN
製造商 SO
製造商 SP
製造商 SQ
製造商 SR
製造商 SS
製造商 ST
製造商 SU
製造商 SV
製造商 SW
製造商 SX
製造商 SY
製造商 SZ
製造商 TA
製造商 TB
製造商 TC
製造商 TD
製造商 TE
製造商 TF
製造商 TG
製造商 TH
製造商 TI
製造商 TJ
製造商 TK
製造商 TL
製造商 TM
製造商 TN
製造商 TO
製造商 TP
製造商 TQ
製造商 TR
製造商 TS
製造商 TT
製造商 TU
製造商 TV
製造商 TW
製造商 TX
製造商 TY
製造商 TZ
製造商 UA
製造商 UB
製造商 UC
製造商 UD
製造商 UE
製造商 UF
製造商 UG
製造商 UH
製造商 UI
製造商 UJ
製造商 UK
製造商 UL
製造商 UM
製造商 UN
製造商 UO
製造商 UP
製造商 UQ
製造商 UR
製造商 US
製造商 UT
製造商 UU
製造商 UV
製造商 UW
製造商 UX
製造商 UY
製造商 UZ
製造商 VA
製造商 VB
製造商 VC
製造商 VD
製造商 VE
製造商 VF
製造商 VG
製造商 VH
製造商 VI
製造商 VJ
製造商 VK
製造商 VL
製造商 VM
製造商 VN
製造商 VO
製造商 VP
製造商 VQ
製造商 VR
製造商 VS
製造商 VT
製造商 VU
製造商 VV
製造商 VW
製造商 VX
製造商 VY
製造商 VZ
製造商 WA
製造商 WB
製造商 WC
製造商 WD
製造商 WE
製造商 WF
製造商 WG
製造商 WH
製造商 WI
製造商 WJ
製造商 WK
製造商 WL
製造商 WM
製造商 WN
製造商 WO
製造商 WP
製造商 WQ
製造商 WR
製造商 WS
製造商 WT
製造商 WU
製造商 WV
製造商 WW
製造商 WX
製造商 WY
製造商 WZ
製造商 XA
製造商 XB
製造商 XC
製造商 XD
製造商 XE
製造商 XF
製造商 XG
製造商 XH
製造商 XI
製造商 XJ
製造商 XK
製造商 XL
製造商 XM
製造商 XN
製造商 XO
製造商 XP
製造商 XQ
製造商 XR
製造商 XS
製造商 XT
製造商 XU
製造商 XV
製造商 XW
製造商 XX
製造商 XY
製造商 XZ
製造商 YA
製造商 YB
製造商 YC
製造商 YD
製造商 YE
製造商 YF
製造商 YG
製造商 YH
製造商 YI
製造商 YJ
製造商 YK
製造商 YL
製造商 YM
製造商 YN
製造商 YO
製造商 YP
製造商 YQ
製造商 YR
製造商 YS
製造商 YT
製造商 YU
製造商 YV
製造商 YW
製造商 YX
製造商 YY
製造商 YZ
製造商 ZA
製造商 ZB
製造商 ZC
製造商 ZD
製造商 ZE
製造商 ZF
製造商 ZG
製造商 ZH
製造商 ZI
製造商 ZJ
製造商 ZK
製造商 ZL
製造商 ZM
製造商 ZN
製造商 ZO
製造商 ZP
製造商 ZQ
製造商 ZR
製造商 ZS
製造商 ZT
製造商 ZU
製造商 ZV
製造商 ZW
製造商 ZX
製造商 ZY
製造商 ZZ

圖 3

第一實施例（如圖1、圖2、圖3所示），一種[裝置]，包括：一[殼體]，具有一[容置空間]；一[電路板]，設置於該[容置空間]內；以及一[處理器]，電性連接該[電路板]。

第二實施例（如圖4、圖5所示），一種[裝置]，包括：一[殼體]，具有一[容置空間]；一[電路板]，設置於該[容置空間]內；以及一[處理器]，電性連接該[電路板]。

圖3

相關報告日期(A)
最高價
最低價
成交量(千股)
K線圖
技術指標
MACD
KD
RSI
威廉指標
乖離率
布林通道
趨勢線
黃金切割線
費波南希切割線
甘氏線
江恩角度線
回到原始設定
回到前一設定
回到後一設定
回到最新設定
放大
縮小
左移
右移
上移
下移
設定(S)...
說明(H)

台灣指考作答說明(A)
2.選擇題（含單選題、多選題）47題（第1題至第47題），佔80分；非選題7題（第48題至第54題），佔20分。
（以上為A卷）

圖 4

相對 DRAM 時脈組 III JAIUIIA
58 產生地線的技艾
下面的，這，一個，22，2K，2號的，12的是個，個，一號，一個，4個，個，2個，
2的，越，號，個的，個，這，個，個，個，個，
這，這，這，這，這，這，這，這，這，這，
這，這，這，這，這，這，這，這，這，這，
這，這，這，這，這，這，這，這，這，這

圖 23
KK 轴：GLYCSKYM
SPIGOT
KEYSIGN
社區 DPKM 峰線組 GLYCSKYM

AUDCGSEAVWRV
SEQ NO: 8
圖 2C

圖 2D

林堡 HPKM 博錄組 VLAIGGIGV

文被前後修改：

58 周圍結構被改變

7 前次，溫，小，2L，2號，2號店線，線，47 號，線

2 號，線，6 次，線，線，線間，線間線，線，線，

圖 3

(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
(k)
(l)
(m)
(n)
(o)
(p)
(q)
(r)
(s)
(t)
(u)
(v)
(w)
(x)
(y)
(z)
(aa)
(ab)
(ac)
(ad)
(ae)
(af)
(ag)
(ah)
(ai)
(aj)
(ak)
(al)
(am)
(an)
(ao)
(ap)
(aq)
(ar)
(as)
(at)
(au)
(av)
(aw)
(ax)
(ay)
(az)
(ba)
(bb)
(bc)
(bd)
(be)
(bf)
(bg)
(bh)
(bi)
(bj)
(bk)
(bl)
(bm)
(bn)
(bo)
(bp)
(bq)
(br)
(bs)
(bt)
(bu)
(bv)
(bw)
(bx)
(by)
(bz)
(ca)
(cb)
(cc)
(cd)
(ce)
(cf)
(cg)
(ch)
(ci)
(cj)
(ck)
(cl)
(cm)
(cn)
(co)
(cp)
(cq)
(cr)
(cs)
(ct)
(cu)
(cv)
(cw)
(cx)
(cy)
(cz)
(da)
(db)
(dc)
(dd)
(de)
(df)
(dg)
(dh)
(di)
(dj)
(dk)
(dl)
(dm)
(dn)
(do)
(dp)
(dq)
(dr)
(ds)
(dt)
(du)
(dv)
(dw)
(dx)
(dy)
(dz)
(ea)
(eb)
(ec)
(ed)
(ee)
(ef)
(eg)
(eh)
(ei)
(ej)
(ek)
(el)
(em)
(en)
(eo)
(ep)
(eq)
(er)
(es)
(et)
(eu)
(ev)
(ew)
(ex)
(ey)
(ez)
(fa)
(fb)
(fc)
(fd)
(fe)
(ff)
(fg)
(fh)
(fi)
(fj)
(fk)
(fl)
(fm)
(fn)
(fo)
(fp)
(fq)
(fr)
(fs)
(ft)
(fu)
(fv)
(fw)
(fx)
(fy)
(fz)
(ga)
(gb)
(gc)
(gd)
(ge)
(gf)
(gg)
(gh)
(gi)
(gj)
(gk)
(gl)
(gm)
(gn)
(go)
(gp)
(gq)
(gr)
(gs)
(gt)
(gu)
(gv)
(gw)
(gx)
(gy)
(gz)
(ha)
(hb)
(hc)
(hd)
(he)
(hf)
(hg)
(hh)
(hi)
(hj)
(hk)
(hl)
(hm)
(hn)
(ho)
(hp)
(hq)
(hr)
(hs)
(ht)
(hu)
(hv)
(hw)
(hx)
(hy)
(hz)
(ia)
(ib)
(ic)
(id)
(ie)
(if)
(ig)
(ih)
(ii)
(ij)
(ik)
(il)
(im)
(in)
(io)
(ip)
(iq)
(ir)
(is)
(it)
(iu)
(iv)
(iw)
(ix)
(iy)
(iz)
(ja)
(jb)
(jc)
(jd)
(je)
(jf)
(jg)
(jh)
(ji)
(jj)
(jk)
(jl)
(jm)
(jn)
(jo)
(jp)
(jq)
(jr)
(js)
(jt)
(ju)
(jv)
(jw)
(jx)
(jy)
(jz)
(ka)
(kb)
(kc)
(kd)
(ke)
(kf)
(kg)
(kh)
(ki)
(kj)
(kk)
(kl)
(km)
(kn)
(ko)
(kp)
(kq)
(kr)
(ks)
(kt)
(ku)
(kv)
(kw)
(kx)
(ky)
(kz)
(la)
(lb)
(lc)
(ld)
(le)
(lf)
(lg)
(lh)
(li)
(lj)
(lk)
(ll)
(lm)
(ln)
(lo)
(lp)
(lq)
(lr)
(ls)
(lt)
(lu)
(lv)
(lw)
(lx)
(ly)
(lz)
(ma)
(mb)
(mc)
(md)
(me)
(mf)
(mg)
(mh)
(mi)
(mj)
(mk)
(ml)
(mm)
(mn)
(mo)
(mp)
(mq)
(mr)
(ms)
(mt)
(mu)
(mv)
(mw)
(mx)
(my)
(mz)
(na)
(nb)
(nc)
(nd)
(ne)
(nf)
(ng)
(nh)
(ni)
(nj)
(nk)
(nl)
(nm)
(nn)
(no)
(np)
(nq)
(nr)
(ns)
(nt)
(nu)
(nv)
(nw)
(nx)
(ny)
(nz)
(oa)
(ob)
(oc)
(od)
(oe)
(of)
(og)
(oh)
(oi)
(oj)
(ok)
(ol)
(om)
(on)
(oo)
(op)
(oq)
(or)
(os)
(ot)
(ou)
(ov)
(ow)
(ox)
(oy)
(oz)
(pa)
(pb)
(pc)
(pd)
(pe)
(pf)
(pg)
(ph)
(pi)
(pj)
(pk)
(pl)
(pm)
(pn)
(po)
(pp)
(pq)
(pr)
(ps)
(pt)
(pu)
(pv)
(pw)
(px)
(py)
(pz)
(qa)
(qb)
(qc)
(qd)
(qe)
(qf)
(qg)
(qh)
(qi)
(qj)
(qk)
(ql)
(qm)
(qn)
(qo)
(qp)
(qq)
(qr)
(qs)
(qt)
(qu)
(qv)
(qw)
(qx)
(qy)
(qz)
(ra)
(rb)
(rc)
(rd)
(re)
(rf)
(rg)
(rh)
(ri)
(rj)
(rk)
(rl)
(rm)
(rn)
(ro)
(rp)
(rq)
(rr)
(rs)
(rt)
(ru)
(rv)
(rw)
(rx)
(ry)
(rz)
(sa)
(sb)
(sc)
(sd)
(se)
(sf)
(sg)
(sh)
(si)
(sj)
(sk)
(sl)
(sm)
(sn)
(so)
(sp)
(sq)
(sr)
(ss)
(st)
(su)
(sv)
(sw)
(sx)
(sy)
(sz)
(ta)
(tb)
(tc)
(td)
(te)
(tf)
(tg)
(th)
(ti)
(tj)
(tk)
(tl)
(tm)
(tn)
(to)
(tp)
(tq)
(tr)
(ts)
(tt)
(tu)
(tv)
(tw)
(tx)
(ty)
(tz)
(ua)
(ub)
(uc)
(ud)
(ue)
(uf)
(ug)
(uh)
(ui)
(uj)
(uk)
(ul)
(um)
(un)
(uo)
(up)
(uq)
(ur)
(us)
(ut)
(uu)
(uv)
(uw)
(ux)
(uy)
(uz)
(va)
(vb)
(vc)
(vd)
(ve)
(vf)
(vg)
(vh)
(vi)
(vj)
(vk)
(vl)
(vm)
(vn)
(vo)
(vp)
(vq)
(vr)
(vs)
(vt)
(vu)
(vv)
(vw)
(vx)
(vy)
(vz)
(wa)
(wb)
(wc)
(wd)
(we)
(wf)
(wg)
(wh)
(wi)
(wj)
(wk)
(wl)
(wm)
(wn)
(wo)
(wp)
(wq)
(wr)
(ws)
(wt)
(wu)
(wv)
(ww)
(wx)
(wy)
(wz)
(xa)
(xb)
(xc)
(xd)
(xe)
(xf)
(xg)
(xh)
(xi)
(xj)
(xk)
(xl)
(xm)
(xn)
(xo)
(xp)
(xq)
(xr)
(xs)
(xt)
(xu)
(xv)
(xw)
(xx)
(xy)
(xz)
(ya)
(yb)
(yc)
(yd)
(ye)
(yf)
(yg)
(yh)
(yi)
(yj)
(yk)
(yl)
(ym)
(yn)
(yo)
(yp)
(yq)
(yr)
(ys)
(yt)
(yu)
(yv)
(yw)
(yx)
(yy)
(yz)
(za)
(zb)
(zc)
(zd)
(ze)
(zf)
(zg)
(zh)
(zi)
(zj)
(zk)
(zl)
(zm)
(zn)
(zo)
(zp)
(zq)
(zr)
(zs)
(zt)
(zu)
(zv)
(zw)
(zx)
(zy)
(zz)

圖 3（續）

C
BV421：A*02/肽段 ID 號 2
CV：A*02/肽段 ID 號 5
0.30%
9.53%
0.00%
0.00%
抗原
=_A-A*02/肽段 ID 號 2
=_A-A*02/肽段 ID 號 5
=_A-A*02/陰性對照
=_A-A*02/陰性對照
BV421：A*02/肽段 ID 號 2
BV421：A*02/肽段 ID 號 5

圖 3 (c)

PE：A*02/抗原 D 複合物
Acc：A*02/抗原 C 複合物
被試者：A*02/抗原 C 陽性
0.00%
被試者：A*02/抗原 C 陰性
0.00%

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

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

【中文】

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

【英文】

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

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

【指定代表圖】第（ 1A ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於對抗食道癌及其他癌症的新穎胜肽及胜肽的組合物

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

【技術領域】

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

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

【先前技術】

【0003】 食道癌是全球第八大最常見的癌症，2012年的5年發病人數為464063患者。死亡率與發病率非常相

似（2012年為400,169對比455,784），提示食道癌死亡率很高（World Cancer Report, 2014; Ferlay et al., 2013; Bray et al., 2013）。

【0004】 鱗狀細胞癌和腺癌代表著食道癌兩種最常見的亞型。這兩種亞型在男性中比女性多見，但它們表現出明顯不同的地域分佈。鱗狀細胞癌在資源匱乏的地區更為普遍，特別是伊朗伊斯蘭共和國、中國部分地區和辛巴威發病率很高。腺癌是白種人和社會經濟狀況好的人群中最常見的食道癌類型，英國、澳大利亞、荷蘭和美國處於領先地位。發生食道鱗狀細胞癌的最大風險因素包括酒精和抽菸，而食道腺癌主要與肥胖和胃食道反流病有關。食道腺癌發病率在高收入國家穩步上升，這可能歸因於肥胖和胃食道反流病的發病率上升以及胃食道交界處腫瘤分類的變化。神經內分泌癌、腺樣囊性癌、腺鱗癌、粘液表皮樣癌、混合型腺神經內分泌癌、各種肉瘤和黑色素瘤代表著食道癌罕見的亞型 (World Cancer Report, 2014)。

【0005】 食道癌的主要治療策略取決於腫瘤分期和位置、組織學類型和患者病情。單純手術是不夠的，除非用於一小部分的鱗狀細胞癌患者。一般情況下，手術應該與術前和術後化療或術前放化療相結合，而單純的術前或術後放療被證明不能帶來生存獲益。化療方案包括奧沙利鉑+氟尿嘧啶，卡鉑+紫杉醇，順鉑+氟尿嘧啶，FOLFOX和順鉑+伊立替康。腫瘤HER2陽性的患者應當根據胃癌

治療指南使用順鉑、氟尿嘧啶和曲妥珠單抗聯合進行治療，這是因為食道癌靶向治療的隨機化資料非常有限(Stahl et al., 2013; Leitlinie Magenkarzinom, 2012)。

【0006】 在一般情況下，大多數類型的食道癌如果是早期腫瘤可很好地治療，而對於晚期治療成功非常有限。因此，開發新的篩選方案對於降低食道癌相關的死亡率可能非常有效 (World Cancer Report, 2014)。

【0007】 免疫療法可能是治療晚期食道癌有前途的一種新方法。幾個癌症相關基因和癌症-睪丸抗原被證明在食道癌中過度表達，包括不同的MAGE基因、NY-ESO-1和EpCAM (Kimura et al., 2007; Liang et al., 2005b; Inoue et al., 1995; Bujas et al., 2011; Tanaka et al., 1997; Quillien et al., 1997)。這些基因代表著免疫治療非常有趣的靶標，其中大部分正在接受研究用於治療其他惡性腫瘤(ClinicalTrials.gov, 2015)。此外，PD-L1和PD-L2被描述在食道癌中上調，這與較差的預後相關。因此，腫瘤呈PD-L1陽性的食道癌患者可能會從抗PD-L1免疫治療中獲益 (Ohigashi et al., 2005)。

【0008】 目前，食道癌免疫治療方法的臨床資料仍然相對較少，這是因為只完成了數量很有限的早期階段臨床試驗 (Toomey et al., 2013)。在一項I期試驗中，晚期食道癌患者被給予一種疫苗，其包含來自三個不同癌症-

睪丸抗原（TTK蛋白激酶、淋巴細胞抗原6複合體基因座K和胰島素樣生長因子(IGF)-IImRNA結合蛋白3），結果一般（Kono et al., 2009)。在一項I/II期研究中，11名患者中有4名患者自體腫瘤細胞和白細胞介素2在體外刺激後腫瘤內注入活化的T細胞引起完全或部分腫瘤反應（Toh et al., 2000; Toh et al., 2002)。目前正在進行進一步的臨床試驗，以評估不同免疫療法對食道癌的影響，包括繼細胞治療（NCT01691625、NCT01691664、NCT01795976、NCT02096614、NCT02457650）疫苗接種策略（NCT01143545、NCT01522820）和抗PD-L1療法（NCT02340975）(ClinicalTrials.gov, 2015)。

【0009】 考慮到治療癌症相關的嚴重副作用和費用，通常有必要確定可用於治療癌症的因子，尤其是食道癌。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是食道癌，從而更好地診斷癌症、評估預後和預測治療成功性。

【0010】 癌症免疫治療代表了癌症細胞特異性靶向作用的一個選項，同時最大限度地減少副作用。癌症免疫療法利用存在的腫瘤相關抗原。

【0011】 腫瘤相關抗原(TAA)的目前分類主要包括以下幾組：

a）癌-睪丸抗原：T細胞能夠識別的最先確認的TAA屬於這一類抗原，由於其成員表達于組織學相異的人腫瘤中、正常組織中、僅在睪丸的精母細胞/精原細胞中、偶爾在

胎盤中，因此，它最初被稱為癌-睪丸(CT)抗原。由於睪丸細胞不表達HLAI類和II類分子，所以，在正常組織中，這些抗原不能被T細胞識別，因此在免疫學上可考慮為具有腫瘤特異性。CT抗原大家熟知的例子是MAGE家族成員和NY-ESO-1。

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

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

d)腫瘤特異性抗原：這些獨特的TAA產生于正常基因(如β-catenin、CDK4等）的突變。這些分子變化中有一些與致瘤性轉化和/或進展相關。腫瘤特異性抗原一般可在不對正常組織帶來自體免疫反應風險的情況下誘導很強的免疫反應。另一方面，這些TAA在多數情況下只與其

上確認了有TAA的確切腫瘤相關，並且通常在許多個體腫瘤之間並不都共用TAA。在含有腫瘤特定（相關）同種型蛋白的情況下，如果肽源自腫瘤（相關）外顯子也可能出現肽腫瘤特異性（或相關性）。

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

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

【0012】 基於T細胞的免疫治療靶向作用于主要組織相容性複合體(MHC)分子表現的來源於腫瘤相關蛋白或腫瘤特異性蛋白的肽表位。腫瘤特異性T淋巴細胞所識別的抗原，即其表位，可以是源自所有蛋白類型的分子，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中被表達，並且與同源未變的細胞相比，其表達通常上調。

【0013】 MHC分子有兩類：MHC I類和MHC II類。MHC I類分子由一條α重鏈和β-2-微球蛋白，MHC II

類分子由一條α和一條β鏈組成。其三位構造形成一個結合槽，用於與肽進行非共價相互作用。

【0014】 大部分有核細胞上都可發現MHC-I類分子。他們呈現主要為內源性的蛋白、缺陷核糖體產物(DRIP)和較大肽裂解生成的肽。然而，源自內體結構或外源性來源的肽也經常在MHC-I類分子上發現。這種I-類分子非經典呈現方式在文獻中被稱為交叉呈現（Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990)。MHC II類分子主要發現于專業抗原呈現細胞(APC)上，並且主要呈現，例如，在內吞作用過程中由APC佔據並且隨後被加工的外源性或跨膜蛋白的肽。

【0015】 肽和MHC I類的複合體由負載相應T細胞受體(TCR)的CD8陽性T細胞進行識別，而肽和MHC II類分子的複合體由負載相應TCR的CD4陽性輔助T細胞進行識別。因此，TCR、肽和MHC按照1:1:1的化學計量呈現，這一點已是共識。

【0016】 CD4陽性輔助T細胞在誘導和維持CD8陽性細胞毒性T細胞的有效反應中發揮重要作用。腫瘤相關抗原(TAA)衍生的CD4陽性T細胞表位的識別對開發能引發抗腫瘤免疫反應的藥物產品可能非常重要（Gnjatic et al., 2003)。在腫瘤部位，T輔助細胞維持著對細胞毒性T細胞(CTL)友好的細胞因子環境（Mortara et al., 2006）並吸引效應細胞，如CTL、天然殺傷(NK)細胞、巨噬細胞和粒細胞（Hwang et al., 2007)。

【0017】 在沒有炎症的情況下，MHC II類分子的表達主要局限於免疫系統細胞，尤其是專業抗原呈現細胞(APC)，例如，單核細胞、單核細胞源性細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞。在癌症患者的腫瘤細胞中發現有MHC II類分子的表達 (Dengjel et al., 2006)。

【0018】 本發明的拉長（較長）肽可作為MHC-II類活性表位。MHC-II類表位活化的輔助T細胞在編排抗腫瘤免疫的CTL效應子功能中發揮著重要作用。觸發T_{H1}細胞反應的輔助T細胞表位支援CD8陽性殺傷T細胞的效應子功能，其中包括直接作用於腫瘤細胞的細胞毒性功能（該類腫瘤細胞表面顯示有腫瘤相關肽/MHC複合體）。這樣，腫瘤相關T輔助細胞表位單獨使用或與其他腫瘤相關肽結合使用可作為刺激抗腫瘤免疫反應的疫苗化合物的活性藥物成分。

【0019】 哺乳動物（如小鼠）模型顯示，即使沒有CD8陽性T淋巴細胞，CD4陽性T細胞也能透過分泌干擾素-γ(IFNγ)抑制血管生成而足以抑制腫瘤的表現(Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999)。沒有CD4 T細胞作為直接抗腫瘤效應因子的證據 (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014)。

【0020】 由於HLA II類分子的組成性表達通常僅限於免疫細胞，因此，直接從原發腫瘤中分離II類肽之前被認為是不可能的事。然而，Dengjel等人成功地在腫瘤中

直接識別了多個MHC II類表位（WO 2007/028574, EP 1 760 088 B1）。

【0021】 由於CD8依賴型和CD4依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵由CD8+T細胞（配體：MHC I類分子+肽表位）或CD4陽性T輔助細胞（配體：MHC II類分子）識別的腫瘤相關抗原對開發腫瘤疫苗非常重要。

【0022】 對於MHC I類肽觸發（引發）細胞免疫反應的肽，它也必須與MHC分子結合。這一過程依賴於MHC分子的等位基因以及肽氨基酸序列的特異性多態性。MHC-I類-結合肽的長度通常為8-12個氨基酸殘基，並且在其與MHC分子相應結合溝槽相互作用的序列中通常包含兩個保守殘基（「錨」）。這樣，每個MHC的等位基因都有「結合基序」，從而確定哪些肽能與結合溝槽特異性結合。

【0023】 在MHC-I類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些MHC-I類分子結合，而且它們之後還必須能被T細胞負載的特異性T細胞受體(TCR)識別。

【0024】 對於被T淋巴細胞識別為腫瘤特異性抗原或相關性抗原以及用於治療的蛋白質，必須具備特殊的條件。該抗原應主要由腫瘤細胞表達，而不由正常健康組織表達，或表達數量相對較少。在一個優選的實施方案中，與正常健康組織相比，所述肽應在腫瘤細胞中過度表現。更為適宜的情況是，該相應抗原不僅出現於一種腫瘤中，

而且濃度（即每個細胞的相應肽拷貝數目）高。腫瘤特異性抗原和腫瘤相關抗原往往是源自直接參與因細胞週期控制或凋亡抑制中的其功能而發生的正常細胞向腫瘤細胞轉化的蛋白。另外，這些直接導致轉化事件的蛋白的下游靶標可能會被上調，因此可能與腫瘤間接相關。這些間接腫瘤相關抗原也可能是預防接種方法的靶標(Singh-Jasuja et al., 2004)。至關重要的是，表位存在於抗原氨基酸序列中，以確保這種來自腫瘤相關抗原的肽（「免疫原性肽」）可導致體外或體內T細胞反應。

【0025】 基本上，任何能與MHC分子結合的肽都可能充當一個T細胞表位。誘導體外或體內T細胞反應的前提是存在具有相應TCR的T細胞並且不存在對該特定表位的免疫耐受性。

【0026】 因此，TAA是基於T細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗）研發的起點。識別和表徵TAA的方法通常基於對患者或健康受試者T細胞的使用情況，或基於腫瘤與正常組織肽之間差別轉錄特性或差別表達模式的產生。然而，對腫瘤組織或人腫瘤細胞株中過量表達或選擇性表達的基因的識別並不提供在免疫療法中使用這些基因所轉錄抗原的準確資訊。這是因為，有著相應TCR的T細胞必須要存在而且對這個特定表位的免疫耐受性必須不存在或為最低水準，因此，這些抗原的表位只有一部分適合這種應用。因此，在本發明的一非常優選的實施例中，只選擇那些針對可發現功能性和/或增殖性T細胞情況的過量

表現或選擇性表現肽，這一點非常重要。這種功能性T細胞被定義為在以特異性抗原刺激後能夠克隆地擴展並能夠執行效應子功能（「效應子T細胞」）的T細胞。

【0027】 在透過根據本發明的特定TCR（例如可溶性TCR）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於肽-MHC的情況下，潛在肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，表現是決定因素。

【發明內容】

【0028】 在本發明的第一方面，本發明涉及一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組的一個氨基酸序列、或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少77%，優選至少88%同源（優選至少77%或至少88%相同）的一種變體序列（其中所述變體與MHC結合和/或誘導T細胞與所述肽發生交叉反應），或其藥用鹽（其中所述肽不是潛在全長多肽）。

【0029】 本發明進一步涉及本發明的一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少77%、優選至少88%同源性(優選為至少77%或至少88%相同）的一種變體，其中所述肽或其變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0030】 下表顯示了根據本發明的肽、它們各自的SEQ ID NO、以及這些肽的可能源（潛在）基因。表1和表2中的所有肽均與HLA-A*02結合。表2中的肽之前

在大型列表中披露，作為高通量篩查結果，錯誤率高，或使用演算法計算出，但之前與癌症毫無關聯。表3中的肽是可與本發明其他肽組合使用的其他肽。表4中的肽還可用於診斷和/或治療各種其他惡性疾病，這些疾病涉及過量表達或過度表現各潛在多肽。

【0031】 表1：本發明中的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
1	STYGGGLSV	3861, 3868	KRT14, KRT16
2	SLYNLGGSKRISI	3852	KRT5
3	TASAITPSV	3852	KRT5
4	ALFGTILEL	2769	GNA15
5	NLMASQPQL	5317	PKP1
6	LLSGDLIFL	2709	GJB5
7	SIFEGLLSGV	2709	GJB5
8	ALLDGGSEAYWRV	84985	FAM83A
9	HLIAEIHTA	5744	PTHLH
10	SLDENSDQQV	6273	S100A2
11	ALWLPTDSATV	3914	LAMB3
12	GLASRILDA	3914	LAMB3
13	SLSPVILGV	26525	IL36RN
14	RLPNAGTQV	3655	ITGA6
15	LLANGVYAA	55107	ANO1
16	VLAEGGEGV	10630	PDPN
17	MISRTPEV	2155, 28396, 3500, 3501, 3502, 3503, 3507	F7, IGHV4-31, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM
18	FLLDQVQLGL	83882	TSPAN10
19	GLAPFLLNAV	101060689, 154761, 285966	FAM115C
20	IIEVDPDTKEML	100505503, 402057, 442216, 6218	RPS17L, RPS17P16, RPS17P5, RPS17
21	IVREFLTAL	27297	CRCP
22	KLNDTYVNV	23306	TMEM194A
23	KLSDSATYL		無相關基因
24	LLFAGTMTV	29785	CYP2S1

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
25	LLPPPPPPA	9509	ADAMTS2
26	MLAEKLLQA	2195	FAT1
27	NLREGDQLL	113146	AHNAK2
28	SLDGFTIQV	4939	OAS2
29	SLDGTELQL	284114	TMEM102
30	SLNGNQVTV	79832	QSER1
31	VLPKLYVKL	100996747, 441502, 6231, 643003, 644928, 728937, 729188	RPS26P11, RPS26, RPS26P28, RPS26P15, RPS26P25, RPS26P58
32	YMLDIFHEV	3038	HAS3
33	GLDVTSLRPFDL	2316	FLNA
34	SLVSEQLEPA	11187	PKP3
35	LLRFSQDNA	51056	LAP3
36	FLLRFSQDNA	51056	LAP3
37	YTQPFSHYGQAL	6051	RNPEP
38	IAAIRGFLV	83451	ABHD11
39	LVRDTQSGSL	871	SERPINH1
40	GLAFSLYQA	871	SERPINH1
41	GLESEELEPEEL	8106	PABPN1
42	TQTAVITRI	81610	FAM83D
43	KVVGKDYLL	832	CAPZB
44	ATGNDRKEAAENSL	7531	YWHAE
45	MLTELEKAL	6279	S100A8
46	YTAQIGADIAL	64499, 7177	TPSB2, TPSAB1
47	VLASGFLTV	79183	TTPAL
48	SMHQMLDQTL	7168	TPM1
49	GLMKDIVGA	8942	KYNU
50	GMNPHQTPAQL	471	ATIC
51	KLFGHLTSA	57157	PHTF2
52	VAIGGVDGNVRL	9948	WDR1
53	VVVTGLTLV	396	ARHGDIA
54	YQDLLNVKM	1674, 4741, 4744, 4747, 7431, 9118	DES, NEFM, NEFH, NEFL, VIM, INA
55	GAIDLLHNV	115362	GBP5
56	ALVEVTEHV	54972	TMEM132A
57	GLAPNTPGKA	9055	PRC1
58	LILESIPVV	5597	MAPK6
59	SLLDTLREV	9989	PPP4R1
60	VVMEELLKV	23191	CYFIP1

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
61	TQTTHELTI	5093	PCBP1
62	ALYEYQPLQI	4331	MNAT1
63	LAYTLGVKQL	158078, 1915, 1917	EEF1A1P5, EEF1A1, EEF1A2
64	GLTDVIRDV	80028	FBXL18
65	YVVGGFLYQRL	4074	M6PR
66	LLDEKVQSV	57616	TSHZ3
67	SMNGGVFAV	23657	SLC7A11
68	PAVLQSSGLYSL	28396, 3500, 3501, 3502, 3503, 3507	IGHV4-31, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM
69	GLLVGSEKVTM	3861, 3868, 644945	KRT14, KRT16, KRT16P3
70	FVLDTSESV	1291, 1292	COL6A1, COL6A2
71	ASDPILYRPVAV	5315	PKM
72	FLPPAQVTV	65083	NOL6
73	KITEAIQYV	6095	RORA
74	ILASLATSV	10844	TUBGCP2
75	GLMDDVDFKA	10525	HYOU1
76	KVADYIPQL	2744	GLS

【0032】 表2：本發明中的其他肽，之前與癌症無已知的關聯

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
77	VLVPYEPPQV	8626	TP63
78	KVANIIAEV	5910	RAP1GDS1
79	GQDVGRYQV	6748	SSR4
80	ALQEALENA	9631	NUP155
81	AVLPHVDQV	23379	KIAA0947
82	HLLGHLEQA	63977	PRDM15
83	ALADGVVSQA	27238	GPKOW
84	SLAESLDQA	22894	DIS3
85	NIIELVHQV	6850	SYK
86	GLLTEIRAV	9263	STK17A
87	FLDNGPKTI	1982	EIF4G2
88	GLWEQENHL	79768	KATNBL1
89	SLADSLYNL	23271	CAMSAP2
90	SIYEYYHAL	3091	HIF1A
91	KLIDDVHRL	6734	SRPR

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
92	SILRHVAEV	1965	EIF2S1
93	VLINTSVTL	23036	ZNF292

【0033】 表3：用於例如個性化癌症療法的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
94	TLLQEQGTKTV	286887, 3852, 3853, 3854	KRT6C, KRT5, KRT6A, KRT6B
95	LIQDRVAEV	3914	LAMB3
96	GAAVRIGSVL	9150	CTDP1
97	ELDRTPPEV	23450	SF3B3
98	VLFPNLKTV	646	BNC1
99	RVAPEEHPVL	440915, 60, 641455, 71, 728378	POTEKP, ACTB, POTEM, ACTG1, POTEF
100	GLYPDAFAPV	1991	ELANE
101	AMTQLLAGV	3371	TNC

【0034】 本發明還一般涉及本發明的肽用於治療增殖性疾病，例如，肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病。

【0035】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的組。更優選的是所述肽（單獨或組合）選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:76（見表1）的組，並且其用於食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選為食道癌的免疫治療。

【0036】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括SEQ ID NO: 1、2、3、5、6、7、8、9、10、

11、12、13、15、16、17、18、19、25、26、30、32、34、37、40、51、55、57、58、59、62、81和82的組群及其在食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選食道癌的免疫治療中的用途。進一步特別優選的是根據SEQ ID NO: 9的肽。

【0037】 如示下面的表4A所示，其中本發明的許多肽也發現於其他腫瘤中，因此也可用於其他適應症的免疫治療。另請參閱圖1和實施例1。

【0038】 表4A：本發明的肽及其在其他增殖性疾病(特別是其他癌性疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量表現（特定表現）於5%以上測定的腫瘤樣本，或表現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於3。過度表現定義為與最高表現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的表現更高。對比過度表現組織檢測的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神經、結腸、十二指腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	其他相關器官/疾病
2	SLYNLGGSKRISI	NSCLC
3	TASAITPSV	NSCLC、膀胱癌

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
4	ALFGTILEL	NSCLC
7	SIFEGLLSGV	膀胱癌
8	ALLDGGSEAYWRV	NSCLC、OC
9	HLIAEIHTA	NSCLC
11	ALWLPTDSATV	NSCLC、黑色素瘤
12	GLASRILDA	膀胱癌
13	SLSPVILGV	子宮癌
15	LLANGVYAA	HCC
17	MISRTPEV	NSCLC、RCC、HCC
22	KLNDTYVNV	SCLC、腦癌、HCC
26	MLAEKLLQA	CRC
29	SLDGTELQL	BRCA
31	VLPKLYVKL	GC
32	YMLDIFHEV	膀胱癌
33	GLDVTSLRPFDL	GC
34	SLVSEQLEPA	CRC、膀胱癌
35	LLRFSQDNA	GC、HCC
36	FLLRFSQDNA	GC
37	YTQPFSHYGQAL	GC、PC
38	IAAIRGFLV	GC
39	LVRDTQSGSL	GC
40	GLAFSLYQA	NSCLC、PC、BRCA、膀胱癌
41	GLESEELEPEEL	GC
42	TQTAVITRI	GC
45	MLTELEKAL	GC
46	YTAQIGADIAL	GC
47	VLASGFLTV	膀胱癌
49	GLMKDIVGA	HCC
50	GMNPHQTPAQL	GC
51	KLFGHLTSA	膽囊癌、膽管癌
52	VAIGGVDGNVRL	GC
54	YQDLLNVKM	RCC、GC
55	GAIDLLHNV	GC
56	ALVEVTEHV	BRCA
57	GLAPNTPGKA	NSCLC、SCLC、BRCA、黑色素瘤
58	LILESIPVV	NSCLC、黑色素瘤
61	TQTTHELTI	SCLC、白血病
62	ALYEYQPLQI	NSCLC、HCC、膀胱癌
63	LAYTLGVKQL	GC
66	LLDEKVQSV	腦癌、黑色素瘤

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
67	SMNGGVFAV	腦癌、HCC
68	PAVLQSSGLYSL	GC、PC
69	GLLVGSEKVTM	PC
70	FVLDTSESV	GC、HCC、黑色素瘤、OC
71	ASDPILYRPVAV	GC、PC
72	FLPPAQVTV	NSCLC、GC、HCC、白血病、黑色素瘤
73	KITEAIQYV	BRCA
74	ILASLATSV	CRC、HCC、膀胱癌
75	GLMDDVDFKA	BRCA、黑色素瘤、膀胱癌
76	KVADYIPQL	NSCLC、SCLC
77	VLVPYEPPQV	NSCLC、膀胱癌
78	KVANIIAEV	PC、白血病、OC
80	ALQEALENA	NSCLC、SCLC、腦癌、CRC、HCC、白血病、BRCA、OC
81	AVLPHVDQV	腦癌
82	HLLGHLEQA	NSCLC、HCC、白血病、BRCA
83	ALADGVVSQA	腦癌、GC、黑色素瘤、膀胱癌
85	NIIELVHQV	白血病
86	GLLTEIRAV	腦癌、膀胱癌
87	FLDNGPKTI	腦癌、PC、OC
88	GLWEQENHL	NSCLC、BRCA
89	SLADSLYNL	腦癌、BRCA、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
91	KLIDDVHRL	PC、PrC
92	SILRHVAEV	NSCLC、CRC、HCC、膽囊癌、膽管癌
94	TLLQEQGTKTV	NSCLC
NSCLC=非小細胞肺癌，SCLC=小細胞肺癌，RCC=腎癌，CRC =結腸或直腸癌，GC =胃癌， HCC = 肝癌，PC =胰腺癌，PrC=攝護腺癌，白血病，BrCa=乳腺癌		

【0039】 表4B：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途（表4修訂版）。該表（如表4A）顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量表現（特定表現）於5%以上測定的腫瘤樣本，或表現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正

常組織的比值大於3。過度表現定義為與最高表現的正常樣本相比，腫瘤樣本中的表現更高。經過度表現的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神經、結腸、十二指腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	其他其他實體
1	STYGGGLSV	NSCLC、黑色素瘤、HNSCC
2	SLYNLGGSKRISI	膀胱癌、HNSCC
3	TASAITPSV	HNSCC
4	ALFGTILEL	膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
5	NLMASQPQL	HNSCC
6	LLSGDLIFL	HNSCC
7	SIFEGLLSGV	NSCLC、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
8	ALLDGGSEAYWRV	膀胱癌、HNSCC
10	SLDENSDQQV	膀胱癌、HNSCC
11	ALWLPTDSATV	膽囊癌、膽管癌
13	SLSPVILGV	NSCLC、黑色素瘤、膀胱癌、HNSCC
14	RLPNAGTQV	黑色素瘤
15	LLANGVYAA	膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
16	VLAEGGEGV	腦癌、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
17	MISRTPEV	膀胱癌
18	FLLDQVQLGL	黑色素瘤、NHL、HNSCC
19	GLAPFLLNAV	黑色素瘤、NHL、HNSCC
20	IIEVDPDTKEML	HNSCC
22	KLNDTYVNV	BRCA
23	KLSDSATYL	黑色素瘤
25	LLPPPPPPA	膽囊癌、膽管癌、NHL、HNSCC
28	SLDGFTIQV	BRCA、黑色素瘤、AML
29	SLDGTELQL	子宮癌、NHL
30	SLNGNQVTV	BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽

序列ID號	序列	其他其他實體
		管癌、HNSCC
32	YMLDIFHEV	膽囊癌、膽管癌、HNSCC
34	SLVSEQLEPA	HNSCC
40	GLAFSLYQA	CRC、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
42	TQTAVITRI	HNSCC
48	SMHQMLDQTL	GC
51	KLFGHLTSA	膽囊癌、膽管癌
53	VVVTGLTLV	GC、膀胱癌
55	GAIDLLHNV	SCLC、黑色素瘤、NHL
56	ALVEVTEHV	RCC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
57	GLAPNTPGKA	膀胱癌、子宮癌、HNSCC
58	LILESIPVV	SCLC、CLL、膀胱癌、子宮癌、NHL、HNSCC
59	SLLDTLREV	HNSCC
62	ALYEYQPLQI	SCLC、BRCA、黑色素瘤、OC、膽囊癌、膽管癌、NHL
66	LLDEKVQSV	膀胱癌、HNSCC
67	SMNGGVFAV	NSCLC、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
68	PAVLQSSGLYSL	NHL
69	GLLVGSEKVTM	HNSCC
72	FLPPAQVTV	CLL、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
74	ILASLATSV	BRCA、HNSCC
75	GLMDDVDFKA	GC、HCC、膽囊癌、膽管癌、NHL、HNSCC
76	KVADYIPQL	RCC、BRCA、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、NHL
77	VLVPYEPPQV	NHL、HNSCC
78	KVANIIAEV	膀胱癌、HNSCC
79	GQDVGRYQV	SCLC、PC、PrC、CLL、BRCA、OC、膀胱癌、AML、NHL
80	ALQEALENA	黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌、HNSCC
81	AVLPHVDQV	子宮癌、NHL
82	HLLGHLEQA	RCC
83	ALADGVVSQA	子宮癌
84	SLAESLDQA	黑色素瘤、子宮癌、AML、NHL、HNSCC
85	NIIELVHQV	CLL
86	GLLTEIRAV	黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、AML、NHL、HNSCC
87	FLDNGPKTI	膀胱癌、HNSCC
88	GLWEQENHL	CRC、子宮癌、AML、HNSCC
89	SLADSLYNL	黑色素瘤
90	SIYEYYHAL	NHL、HNSCC

序列ID號	序列	其他其他實體
92	SILRHVAEV	BRCA、黑色素瘤、AML、NHL

NSCLC=非小細胞肺癌，SCLC=小細胞肺癌，RCC=腎癌，CRC=結腸或直腸癌，GC=胃癌，HCC=肝癌，PC=胰腺癌，PrC=攝護腺癌，BRCA=乳腺癌，OC=卵巢癌，NHL=非霍奇金淋巴瘤，AML=急性骨髓性白血病，CLL=慢性淋巴細胞白血病，HNSCC=頭頸部鱗狀細胞癌。

【0040】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、2、3、4、7、8、9、11、13、17、40、57、58、62、67、72、76、77、80、82、88、92和94中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療非小細胞肺癌。

【0041】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號18、19、25、29、55、58、62、68、75、76、77、79、81、84、86、90和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療淋巴瘤。

【0042】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號22、55、58、62、57、61、76、79和80中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療小細胞肺癌。

【0043】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號17、56、76、82和54中任一項所述的本發明的至少

一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療腎細胞癌。

【0044】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號16、22、66、67、80、81、83、86、87和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療腦癌。

【0045】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號31、33、35、36、37、38、39、41、42、45、46、48、50、52、53、54、55、63、68、70、75和71中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療胃癌。

【0046】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號26、34、40、74、80、88和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療結直腸癌。

【0047】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號15、17、22、35、49、62、67、70、72、74、75、80、82和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療肝細胞癌。

【0048】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO: 37、40、68、69、71、78、79、87和91中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療胰腺癌。

【0049】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號79和91中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療攝護腺癌。

【0050】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號4、28、58、61、72、78、79、80、82、84、86、88、92和85中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療白血病。

【0051】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號22、28、29、30、40、56、57、62、73、74、75、76、79、80、82、88、92和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療乳腺癌。

【0052】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、13、14、11、16、18、19、23、28、30、40、55、57、58、62、66、70、72、75、76、80、84、86、89、92和83中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療黑色素瘤。

【0053】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號8、62、70、78、79、80和87中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療卵巢癌。

【0054】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號2、3、4、7、8、10、12、13、15、17、30、32、34、40、47、53、57、58、62、66、72、74、75、

77、78、79、83、86、87和89中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膀胱癌。

【0055】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號13、15、29、30、40、56、57、58、80、81、83、84和88中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療子宮癌。

【0056】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號4、7、11、15、16、25、30、32、40、51、56、62、67、72、75、76、80、86、89和92中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膽囊癌和膽管癌。

【0057】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID號1、2、3、4、5、6、7、8、10、13、16、18、19、20、25、30、32、34、40、42、57、58、59、66、67、69、72、74、75、77、78、80、84、86、87、88和90中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療HNSCC。

【0058】 因此，本發明的另一個方面涉及本發明中肽的用途 - 優選聯合用於治療選自食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病組中的增殖性疾病。

【0059】本發明還涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或以拉長形式存在的例如長度變化的-MHC-II類分子結合的能力。

【0060】本發明進一步涉及本發明中的肽，其中所述肽（每種肽）系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的一個氨基酸序列組成。

【0061】本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵。

【0062】本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽為融合蛋白的一部分，特別是與HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸融合，或與抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）或抗體的序列融合。

【0063】本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明的肽。本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0064】本發明進一步涉及一種能表達和/或表達本發明核酸的表達載體。

【0065】本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種治療疾病的藥用表達載體，特別是用於治療癌症。

【0066】本發明進一步涉及本發明中肽或本發明中所述肽複合體（含有MHC）的特定抗體以及製造這些抗體的方法。

【0067】本發明進一步涉及本發明的T細胞受體(TCR)，特別是可溶性TCR（sTCRs）和加工為自體或異體T細胞的克隆TCR，以及製造這些TCR的方法和載有所述TCR或所述TCR交叉反應的NK細胞的製造方法。

【0068】抗體和TCR是根據本發明的肽現有免疫治療用途的另外實施方案。

【0069】本發明進一步涉及含本發明核酸或前述表達載體的一種宿主細胞。本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0070】本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0071】本發明進一步涉及本發明中的所述方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的 I 或 II 類MHC分子。

【0072】本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原呈現細胞由能表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93、優選為含SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO:76所述肽的一個表達載體、或一個變體氨基酸序列組成。

【0073】本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0074】本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者按本發明方法製造的有效量T細胞。

【0075】本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的核酸、本發明的表達載體、本發明的細胞、本發明的作為藥劑或製造藥劑的活化T淋巴細胞、T細胞受體或抗體或其他肽-和/或肽-MHC結合分子的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0076】優選情況為，所述藥劑為基於可溶性TCR或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0077】本發明還一般涉及本發明的用途，其中所述癌細胞為食道癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病、優選為食道癌細胞。

【0078】本發明進一步涉及一種基於本發明肽的生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷癌症，優選為食道癌。所述標誌物可以肽本身過度表現或相應基因過度表達。標誌物也可以用於預測治療成功的可能性，優選為免疫療法，最優選為靶向作用於該生物標誌物識別的相同靶標的免疫療法。例如，抗體或可溶性TCR可用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關肽與MHC複合。

【0079】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。

【0080】 本發明還涉及這些癌症治療中新靶點的用途。

【0081】 ABHD11反義RNA1（ABHD11-AS1）被描述為長鏈非編碼RNA，這被證明在胃癌中上調，與分化和Lauren組織學分類相關。因此，ABHD11-AS1可能是胃癌診斷的一個潛在生物標誌物（Lin et al., 2014）。ABHD11活性顯示與在肺腺癌遠處轉移的發展相關，因此可能是一種潛在的新生物標誌物（Wiedl et al., 2011）。

【0082】 ADAMTS2被證明在T/髓性混合型急性白血病患者中失調（Tota et al., 2014）。ADAMTS2被描述為透過骨肉瘤細胞IL-6在上調後與JNK信號通路相關（Alper and Kockar, 2014）。ADAMTS2可能是濾泡甲狀腺癌一種潛在的診斷標誌物（Fontaine et al., 2009）。ADAMTS2被描述為舌鱗狀細胞癌轉移一種潛在的標誌物（Carinci et al., 2005）。ADAMTS2被證明在腎細胞癌中上調，與較短的患者生存期相關（Roemer et al., 2004）。ADAMTS2被證明透過細胞增殖相關轉化生長因子-β1調節（Wang et al., 2003）。

【0083】 AHNAK2編碼支架蛋白AHNAK核蛋白2（Marg et al., 2010）。AHNAK2是參與腫瘤生長和

侵襲的成纖維細胞生長因子1(FGF1)非經典分泌途徑的重要元素（Kirov et al., 2015)。

【0084】 ANO1編碼anoctamin1，這是與小腸肉瘤和口腔癌相關的一種鈣啟動氯離子通道（RefSeq, 2002)。ANO1在食道鱗狀細胞癌(ESCC)、胃腸道間質瘤(GIST)、頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)、胰腺癌和乳腺癌中擴增（Qu et al., 2014)。

【0085】 ARHGDIA被證明在肝細胞癌中以及乳腺癌發生時下調（Liang et al., 2014; Bozza et al., 2015)。ARHGDIA被證明是與肝細胞癌的腫瘤侵犯、轉移、總體生存和至復發時間有關。因此，ARHGDIA可提供肝細胞癌的潛在治療靶標（Liang et al., 2014)。ARHGDIA被證明經杠柳素（periplocin）治療後在肺癌細胞系A549中下調。因此，杠柳素抑制肺癌細胞的生長可能與ARHGDIA有關（Lu et al., 2014)。ARHGDIA敲減被證明與肺源性正常和培養腫瘤細胞的凋亡增加相關。因此，ARHGDIA被描述為細胞凋亡的負調節劑，這可能代表一種潛在的治療靶標(Gordon et al., 2011)。ARHGDIA被描述為與卵巢透明細胞和高級別漿液性癌分期有關（Canet et al., 2011)。ARHGDIA被描述為一種凋亡途徑相關基因，該基因顯示在TRAIL介導的細胞凋亡後在纖維肉瘤HT1080細胞中失調（Daigeler et al., 2008)。ARHGDIA被證明在奧沙利鉑耐藥性結腸癌細胞系

THC8307/L-OHP中上調，被描述為一種參與抗凋亡的基因。因此，ARHGDIA可能是與奧沙利鉑敏感性相關的潛在標誌物（Tang et al., 2007）。ARHGDIA過度表達被證明由假定的腫瘤抑制因子ACVR2（癌症相關TGFBR2家族的一員）來調節，發生於攜帶ACVR2移碼突變的野生型ACVR2轉染MSI-H結腸癌細胞系(Deacu et al., 2004)。ARHGDIA被描述為Rho GTP酶的關鍵調節因子。ARHGDIA耗竭被證明可誘導Rho GTP酶和COX-2途徑的組成型活化，這些途徑與乳腺癌異種移植動物模型中的乳腺癌進展相關（Bozza et al., 2015）。ARHGDIA信令被證明在結直腸癌中失調(Sethi et al., 2015)。ARHGDIA被證明在SUMO化後靶向作用於MEK1/2-ERK，這與c-Jun/AP-1的抑制、細胞週期蛋白d1轉錄和細胞週期進程相關。因此，ARHGDIA與癌細胞生長抑制有關（Cao et al., 2014）。ARHGDIA被描述為攝護腺癌的一種新型抑制因子，可能在調節雄激素受體信號傳導和攝護腺癌生長和進展中起著關鍵作用（Zhu et al., 2013b）。

【0086】 ATIC被描述為間變性大細胞淋巴瘤中癌症相關間變性淋巴瘤激酶的一種潛在基因融合伴侶(Cheuk and Chan, 2001)。ATIC被證明在膀胱炎性肌纖維母腫瘤中表現為與ALK一起的嵌合體融合基因(Debiec-Rychter et al., 2003)。乳腺癌細胞系模型中ATIC氨基咪唑甲醯胺轉甲醯酶(AICAR)活性的抑

制顯示可導致細胞數和細胞分裂速率的劑量依賴性降低。因此，ATIC可能是癌症治療的潛在靶標(Spurr et al., 2012)。

【0087】 據報告，CAPZB 在人乳頭瘤病毒 18 陽性口腔鱗狀細胞癌中過度表達，被確定為攝護腺癌易感基因(Lo et al., 2007; Nwosu et al., 2001)。

【0088】 COL6A1 在去勢抵抗性攝護腺癌的反應基質中上調，促進腫瘤生長(Zhu et al., 2015)。Col6A1 在 CD166-胰腺癌細胞中過度表達，這些細胞比 CD166+ 癌細胞顯示出更強的侵襲和遷移活性(Fujiwara et al., 2014)。COL6A1 在骨轉移癌中高表達(Blanco et al., 2012)。COL6A1 被發現在宮頸癌和卵巢癌中上調(Zhao et al., 2011; Parker et al., 2009)。COL6A1 在星形細胞瘤和膠質母細胞瘤中中差異性表達(Fujita et al., 2008)。

【0089】 COL6A2 與子宮頸癌、高級別漿液性卵巢癌整體存活差、B-前體急性淋巴細胞白血病、肝細胞癌、原發性和轉移性腦腫瘤、肺鱗狀上皮細胞癌、頭頸部鱗狀細胞癌相關，且被描述為子宮頸癌的潛在DNA甲基化(Cheon et al., 2014; Chen et al., 2014d; Vachani et al., 2007; Liu et al., 2010; Seong et al., 2012; Hogan et al., 2011)。

【0090】 CYFIP1 被證明在上皮性腫瘤侵襲期間下調(Silva et al., 2009)。CYFIP1 下調與上皮腫瘤的預後不良相關 (Silva et al., 2009)。

【0091】 CYP2S1被證明可透過與β-catenin信號通路的PGE2-介導的活化相關聯而調節細胞系HCT116中結直腸癌的生長 (Yang et al., 2015b)。CYP2S1被描述為在多種上皮衍生癌症中和在低氧腫瘤細胞中上調(Nishida et al., 2010; Madanayake et al., 2013)。支氣管上皮細胞系中CYP2S1耗竭被證明可導致主要途徑中調節改變，這些通路涉及細胞增殖和遷移，諸如mTOR信號通路 (Madanayake et al., 2013)。CYP2S1耗竭被證明與結直腸癌和乳腺癌的藥物敏感度相關 (Tan et al., 2011)。CYP2S1被證明與乳腺癌存活有關，並與結直腸癌預後不良相關(Murray et al., 2010; Kumarakulasingham et al., 2005)。CYP2S1被證明可將BaP-7,8-二醇代謝為高度誘變和致癌的苯並[a]芘-r-7，叔-8-二氫二醇-叔-9,10-環氧，因此，可能在苯並[a]芘-誘發的癌變中發揮重要作用(Bui et al., 2009)。與原發性卵巢癌相比，CYP2S1被證明在卵巢癌轉移中顯著上調 (Downie et al., 2005)。

【0092】 DES 在結直腸癌間質中的表達與晚期疾病相關 (Arentz et al., 2011)。DES 被證明在結直腸癌中上調 (Ma et al., 2009)。DES 被證明與結直腸癌

的嚴重程度和分化以及生存率下降有關（Ma et al., 2009）。DES 被描述為結直腸癌的一種潛在的癌胚血清腫瘤標誌物（Ma et al., 2009）。DES 被證明是橫紋肌肉瘤的一種特異性標誌物（Altmannsberger et al., 1985）。DES 被描述為一組蛋白質三個成員中其中之一，這些蛋白質可能有助於透過使用免疫組織化學對膀胱癌進行分期（Council and Hameed, 2009）。

【0093】 DIS3 被證明在多發性骨髓瘤中經常突變，在急性髓細胞白血病中反復突變（Ding et al., 2012; Lohr et al., 2014）。多發性骨髓瘤中 DIS3 突變被證明與總體生存期較短相關。與主要亞克隆 DIS3 突變的患者相比，次要亞克隆突變被證明與對治療較差的反應有關（Weissbach et al., 2015）。DIS3 被證明透過 13q 增加在結直腸癌中上調。DIS3 沉寂被證明可影響重要的腫瘤發生特徵，例如生存能力、遷移和侵襲性。因此，DIS3 可能是有助於結直腸癌進展的新型候選基因（de Groen et al., 2014）。DIS3 被描述為屬於可與基於血漿蛋白生物標誌物聯合使用以便較早診斷上皮性卵巢癌的基因系列（Pils et al., 2013）。DIS3 可能是乳腺癌易感的潛在候選基因，因為乳腺癌突變篩查檢測出眾多的多態性（Rozenblum et al., 2002）。

【0094】 EEF1A1 被證明在多種癌症實體中上調，包括結直腸癌、卵巢癌、胃癌、攝護腺癌、膠質母細胞瘤和鱗狀細胞癌，被描述為攝護腺癌的潛在血清生物標誌物

(Lim et al., 2011; Qi et al., 2005; Matassa et al., 2013; Vui-Kee et al., 2012; Kuramitsu et al., 2010; Kido et al., 2010; Scrideli et al., 2008; Rehman et al., 2012)。從機理上來看，EEF1A1透過與p53和p73相互作用而抑制細胞凋亡，透過細胞週期抑制劑p21基因轉錄抑制促進增殖並參與上皮-間質轉化的調節(Blanch et al., 2013; Choi et al., 2009; Hussey et al., 2011)。

【0095】 EEF1A2被描述為在乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、胃癌、攝護腺癌和TFE3易位腎細胞癌中上調(Pflueger et al., 2013; Sun et al., 2014; Yang et al., 2015c; Zang et al., 2015; Abbas et al., 2015)。EEF1A2被證明與卵巢癌、胃癌、胰腺導管腺癌和肺腺癌的不良預後相關(Duanmin et al., 2013; Yang et al., 2015c; Li et al., 2006; Lee and Surh, 2009)。EEF1A2被描述為與腫瘤發生相關，因為它刺激磷脂信令並啟動Akt依賴性細胞遷移和肌動蛋白重塑，這最終有利於腫瘤發生(Abbas et al., 2015)。EEF1A2被描述可透過MDM4的PI3K/AKT/mTOR依賴性穩定而抑制肝細胞癌中的p53功能。EEF1A2/PI3K/AKT/mTOR/MDM4信號通路的強活化被證明與肝細胞癌的生存期短有關，因此，可能是一些患者的治療靶標(Longerich, 2014)。EEF1A2被證明與胰腺癌患者的TNM分期、侵襲性和生

存期相關。因此，EEF1A2可能是胰腺癌治療的一個潛在靶標（Zang et al., 2015）。EEF1A2被證明透過促進細胞增殖和凋亡抑制與攝護腺癌發展相關，因此，可作為攝護腺癌的潛在治療靶標（Sun et al., 2014）。EEF1A2被證明與腫瘤抑制蛋白p16相互作用，這導致EEF1A2的下調，並與癌細胞生長抑制相關（Lee et al., 2013）。EEF1A2被證明與胰腺導管腺癌的淋巴結轉移和神經浸潤有關（Duanmin et al., 2013）。EEF1A2被證明與乳腺癌生存相關（Kulkarni et al., 2007）。EEF1A2被描述為肺腺癌細胞系和卵巢癌的一種假定癌基因和腫瘤抑制基因（Lee, 2003; Zhu et al., 2007a）。

【0096】 EIF2S1 被描述為磷酸化後的腫瘤進展和治療抗性的啟動子。但是，EIF2S1 也被描述牽涉腫瘤發生的抑制效果（Zheng et al., 2014）。EIF2S1 被描述為 mTOR 的下游效應因子，在過度磷酸化降低癌細胞的生存期，因此可作為藥物開發的靶標（Tuval-Kochen et al., 2013）。

【0097】 EIF4G2 被描述為一組核心基因中的一個基因，這些基因被證明與兒童膠質瘤 CD133+ 細胞腫瘤形成的消除有關（Baxter et al., 2014）。EIF4G2 顯示在透過 miR-520c-3p 下調後與彌漫性大 B 細胞淋巴瘤的發展抑制有關（Mazan-Mamczarz et al., 2014）。EIF4G2 被證明可透過調節細胞週期蛋白的合

成促進蛋白質合成和細胞增殖（Lee and McCormick, 2006）。EIF4G2 被證明在膀胱腫瘤中下調，且下調與侵入性腫瘤相關（Buim et al., 2005）。EIF4G2 被描述為參與 MycN/IFN γ 誘導的細胞凋亡以及神經母細胞瘤細胞的生存能力和死亡（Wittke et al., 2001）。

【0098】 組織因子複合物中的 F7 與被描述在癌細胞（包括卵巢癌）的表面異常表達。複合物被進一步描述為與卵巢癌的惡性表型誘導相關（Koizume and Miyagi, 2015）。F7-組織因子複合物通路被描述為乳腺癌進展的介導因子，其可刺激乳腺癌細胞中大量惡性表型的表達。因此，F7-組織因子途徑是乳腺癌治療的一個有吸引力的潛在靶標（Koizume and Miyagi, 2014）。F7 被證明在乳腺癌中由雄激素受體調節（Naderi, 2015）。F7 被證明與透過肝癌細胞系中的 mTOR 信號傳到而調節自噬作用（Chen et al., 2014a）。F7 被證明與結直腸癌和卵巢癌的腫瘤浸潤和轉移有關（Tang et al., 2010; Koizume et al., 2006）。F7 被證明在結直腸癌中異位上調（Tang et al., 2009）。組織因子複合物中的 F7 被證明與神經母細胞瘤的化療耐藥相關（Fang et al., 2008a）。

【0099】 FAM115C 在非小細胞肺癌缺氧時上調（Leithner et al., 2014）。

【0100】 FAM83A被描述為肺癌的潛在生物標誌物（Li et al., 2005）。FAM83A被描述為可與 NPY1R

和 KRT19 作為一組板用於檢測乳腺癌患者迴圈腫瘤細胞的標記基因 (Liu et al., 2014d)。乳腺癌細胞FAM83A阻斷顯示可導致MAPK信號傳導減弱，顯著抑制體外生長和體內致瘤性 (Cipriano et al., 2014)。另外，FAM83 蛋白家族被描述為一個新穎的癌基因家族，其調節癌症中的MAPK信號傳導，因此適用于開發旨在抑制 MAPK信號傳導的癌症治療方法 (Cipriano et al., 2014)。FAM83A被證明與 HER2 陽性乳腺癌細胞系的曲妥單抗耐藥性相關 (Boyer et al., 2013)。一般情況下，FAM83A被證明是與乳腺癌 EGFR 酪氨酸激酶抑制劑抗性相關的候選基因 (Lee et al., 2012)。FAM83A被描述為與乳腺癌預後不良相關 (Lee et al., 2012)。FAM83A被證明在非小細胞肺癌中上調 (Qu et al., 2010)。FAM83A被證明是一個潛在的特異性和敏感性標誌物，用以檢測非小細胞肺癌患者外周血中的迴圈腫瘤細胞 (Qu et al., 2010)。

【0101】 FAM83D 的上調影響肝細胞癌細胞的增殖和侵襲 (Wang et al., 2015a; Liao et al., 2015b)。FAM83D 在乳腺癌細胞系和原發性人類乳腺癌中顯著升高 (Wang et al., 2013b)。

【0102】 FAT1被描述為在頭頸部鱗狀細胞癌中明顯突變，在宮頸腺癌、膀胱癌、早期T細胞前體急性淋巴細胞白血病、氟達拉濱(Fludarabine)難治慢性淋巴細胞性白血病、膠質母細胞瘤和結直腸癌中頻繁突變，在食道

鱗狀細胞癌中突變（Gao et al., 2014; Neumann et al., 2013; Morris et al., 2013; Messina et al., 2014; Mountzios et al., 2014; Cazier et al., 2014; Chung et al., 2015）。FAT1被描述為在口腔癌中被壓抑，在浸潤性乳腺癌中優先下調（Katoh, 2012）。FAT1被描述為在白血病中上調，其與前B急性淋巴細胞白血病的不良預後相關（Katoh, 2012）。FAT1被證明在胰腺癌和肝細胞癌中上調（Valletta et al., 2014; Wojtalewicz et al., 2014）。FAT1被描述可透過河馬信號傳導的啟動來抑制腫瘤生長，並透過肌動蛋白聚合誘導來促進腫瘤轉移（Katoh, 2012）。FAT1被證明是皮膚鱗狀細胞癌的一種候選癌症驅動基因（Pickering et al., 2014）。FAT1被描述為與Wnt信號傳導和腫瘤發生相關的一種腫瘤抑制因子（Morris et al., 2013）。

【0103】 根據其亞細胞定位，細絲蛋白 A 在癌症中起雙重作用：在細胞質中，細絲蛋白 A 除了參與細胞遷移和黏附通路外，還在不同的生長信號通路中發揮作用。因此，其過度表達有腫瘤促進作用。相比全長細絲蛋白 A，C 端片段（蛋白質蛋白水解後釋放）定位於細胞核，在那裏，它與轉錄因子相互作用，從而抑制腫瘤生長和轉移（Savoy and Ghosh, 2013）。

【0104】 GBP5 的腫瘤特異性 C-末端截短被描述為可能負責淋巴瘤細胞中 GBP5 失調（Wehner and

Herrmann, 2010)。GBP5因為皮膚T細胞淋巴瘤腫瘤組織和細胞系以及黑色素瘤細胞系中三種 GBP5 剪接變體的限制性表達模式被描述為具有可能的癌症相關功能(Fellenberg et al., 2004)。

【0105】 GJB5 被證明在非小細胞肺癌細胞系、喉癌和頭頸部鱗狀細胞癌中下調 (Zhang et al., 2012; Broghammer et al., 2004; Al Moustafa et al., 2002)。GJB5 被描述為在非小細胞肺癌細胞系透過抑制細胞增殖和轉移而充當腫瘤抑制因子 (Zhang et al., 2012)。GJB5 被證明在無梗鋸齒狀腺瘤/息肉、癌前病變(可能占結腸癌的20-30%)中上調(Delker et al., 2014)。GJB5 表達被描述為在小鼠模型中皮膚腫瘤促進和發展期間顯著改變 (Slaga et al., 1996)。

【0106】 GLS被描述為由MYC基因間接調節,以增加癌細胞的穀氨醯胺代謝 (Dang et al., 2009)。GLS顯示被結直腸癌中的腫瘤抑制因子NDRG2抑制 (Xu et al., 2015)。GLS被描述為在胰腺導管腺癌、三陰性乳腺癌、肝細胞癌、口腔鱗狀細胞癌、結直腸癌和惡性膠質細胞源性腫瘤中上調 (van Geldermalsen et al., 2015; Szeliga et al., 2014; Huang et al., 2014a; Cetindis et al., 2015; Yu et al., 2015a; Chakrabarti et al., 2015)。GLS被證明與肝細胞癌的存活相關,也被描述為肝細胞癌病理診斷和預後的一種敏感和特異的生物標誌物 (Yu et al., 2015a)。一個

GLS拷貝的損失被證明可延緩肝細胞癌免疫相關MYC介導小鼠模型中的腫瘤進展（Xiang et al., 2015）。GLS被證明是腫瘤發生和腫瘤特異性抑制所需的，GLS被描述為癌症治療的一種潛在方法（Xiang et al., 2015）。GLS被證明與乳腺癌紫杉醇耐藥性有關（Fu et al., 2015a）。GLS過度表達被證明與攝護腺癌患者的腫瘤分期和進展高度相關（Pan et al., 2015）。GLS表達與較深的腫瘤浸潤和結腸癌腫瘤發生中管狀腺癌的病理類型有關。GLS可作為結直腸癌治療的靶標（Huang et al., 2014a）。GLS同工酶KGA的沉寂被證明可導致神經膠質瘤細胞系SFxL和LN229存活率下降（Martin-Rufian et al., 2014）。神經膠質瘤細胞系SFxL和LN229中GLS的沉寂也被證明可透過引起較低水準的c-*myc*和bcl-2表達以及更高的促凋亡表達從而導致誘導細胞凋亡（Martin-Rufian et al., 2014）。ErbB2活化被證明可透過NF-κB通路上調GLS表達，這促進了乳腺癌細胞增殖（Qie et al., 2014）。乳腺癌細胞GLS的敲減或抑制以及高水準GLS被證明可導致增殖顯著降低（Qie et al., 2014）。

【0107】 GNA15被證明在原發性和轉移性小腸神經內分泌腫瘤中上調（Zanini et al., 2015）。GNA15表達增加被證明與較差生存期相關，這表明GNA15在小腸神經內分泌瘤形成中可能具有病理生物學作用，從而可能是一個潛在的治療靶標（Zanini et al., 2015）。

GNA15被描述為在許多非小細胞肺癌細胞系中下調(Avasarala et al., 2013)。正常核型急性骨髓性白血病中GNA15高表達被證明與顯著較差的總體存活相關(de Jonge et al., 2011)。GNA15被證明是非經典Wnt信號傳導的關鍵下游效應因子以及非小細胞肺癌細胞增殖和錨定非依賴性細胞生長的調節因子。因此，GNA15是非小細胞肺癌的一個潛在治療靶標(Avasarala et al., 2013)。GNA15被證明與胰腺癌的致瘤信令相關(Giovinazzo et al., 2013)。GNA15被證明在人類胚胎腎293細胞中組成性活化後經c-Src/JAK和ERK依賴性機制刺激STAT3(Lo et al., 2003)。

【0108】 HAS3表達不足被證明與上尿路和膀胱尿路上皮癌的晚期腫瘤分期、淋巴結轉移、血管浸潤和較差特定疾病生存期和無轉移生存期相關(Chang et al., 2015)。因此，HAS3可用作尿路上皮癌的潛在預後生物標誌物和新型治療靶標(Chang et al., 2015)。HAS3被證明透過透明質酸積累而有利於胰腺癌的生長(Kultti et al., 2014)。HAS3抑制被證明可降低結直腸腺癌細胞系SW620的存活能力(Heffler et al., 2013)。HAS3抑制被證明與涉及SW620結直腸腫瘤細胞存活調節的數種基因的差異表達相關(Heffler et al., 2013)。HAS3被證明透過抑制凋亡與結腸癌生長的介導相關(Teng et al., 2011)。HAS3被證明在

食道鱗狀細胞癌、腺癌、肺鱗狀細胞癌和結節性基底細胞癌中上調（Tzellos et al., 2011; Twarock et al., 2011; de Sa et al., 2013）。HAS3被描述為乳腺癌的一種獨立的預後因子，因為乳腺癌患者間質細胞中HAS3表被證明與高復發率和較短的總體存活相關（Auvinen et al., 2014）。HAS3被證明與漿液性卵巢癌、腎透明細胞癌、子宮內膜癌和骨肉瘤有關（Nykopp et al., 2010; Weiss et al., 2012; Cai et al., 2011; Tofuku et al., 2006）。

【0109】 HIF1A被證明與侵襲性子宮內膜癌的腫瘤壞死相關。HIF1A被進一步描述為治療這種疾病的潛在靶標（Bredholt et al., 2015）。HIF1A被證明與肝癌發生、肉瘤轉移和鼻咽癌相關（Chen et al., 2014c; El-Naggar et al., 2015; Li et al., 2015b）。HIF1A的單核苷酸多態性被證明與手術後侵襲性肝癌患者的臨床結果顯著相關（Guo et al., 2015）。異常HIF1A活性伴隨異常STAT3活性被證明可推動惡性神經鞘瘤細胞系中的腫瘤進展。因此，抑制STAT3/HIF1A/VEGF-A信號傳導軸被描述為一種可行的治療策略（Rad et al., 2015）。HIF1A被描述為多發性骨髓瘤缺氧驅動耐藥性的一個重要靶標（Maiso et al., 2015）。HIF1A被證明在三種不同細胞系中不對稱表達，這三種細胞系對應於多發性骨髓瘤發病的不同階段，這表明HIF1A參與多發性骨髓瘤的腫瘤發生和轉

移（Zhao et al., 2014b）。長非編碼 HIF1A反義RNA-2被描述為在非乳頭狀透明細胞腎癌和胃癌中上調，與胃癌的腫瘤細胞增殖和不良預後相關（Chen et al., 2015b）。透過HIF1A的PI3K/AKT/mTOR途徑去調節被描述為對攝護腺癌幹細胞的靜止、維護和存活至關重要（Marhold et al., 2015）。HIF1A被描述為4-基因分類中的一個基因，可預測I期肺腺癌（Okayama et al., 2014）。HIF1A的多態性被證明與亞洲人群消化道癌的易感性增加相關（Xu et al., 2014）。HIF1A描述為散發性男性乳腺癌的預後標誌物（Deb et al., 2014）。

【0110】 細胞內 HYOU1 蛋白的活性已被證實在腫瘤進展或轉移過程中為癌細胞存活提供益處。細胞外HYOU1 蛋白透過促進遞送腫瘤抗原進行交叉表現而在抗腫瘤免疫應答的產生中起重要作用（Fu and Lee, 2006; Wang et al., 2014）。HYOU1 蛋白已經被引入癌症免疫治療中，並呈現積極的免疫調節作用（Yu et al., 2013; Chen et al., 2013; Yuan et al., 2012; Wang and Subjeck, 2013）。

【0111】 研究顯示，與相鄰非癌組織相比，IGHG1 在人類胰腺癌組織中過度表達。與此相反，IGHG1 蛋白在浸潤性導管癌組織中下調（Kabbage et al., 2008; Li et al., 2011b）。IGHG1 的 siRNA靶向沉寂能夠抑制細胞活力，促進細胞凋亡（Pan et al., 2013）。

【0112】研究人員發現，IGHG3在受乳腺癌影響的沙特女性中表達。同樣，在攝護腺癌非洲裔男性中檢測到拷貝數提高以及IGHG3水準升高。另一份報告顯示，IGHG3表達發現於鱗狀非小細胞肺癌、惡性間皮瘤以及腫瘤細胞上，這些細胞偶爾見於MALT淋巴瘤並顯示有分化成漿細胞的傾向（Remmelink et al., 2005; Bin Amer et al., 2008; Ledet et al., 2013; Zhang et al., 2013c; Sugimoto et al., 2014）。

【0113】IGHG4編碼免疫球蛋白重鏈恒定伽瑪4（G4m標誌物），位於染色體14q32.33上（RefSeq, 2002）。最近的研究檢測到，在原發性睾丸彌漫性大B細胞淋巴瘤中涉及IGHG4的重排（Twa et al., 2015）。

【0114】IGHM編碼免疫球蛋白重鏈恒定μ（RefSeq, 2002）。研究發現IGHM在受橫紋肌肉瘤影響的中國患者中下調。其他人檢測到彌漫性大B細胞淋巴瘤中的IGHM表達。另一組發現，在彌漫性大B細胞淋巴瘤中，IGHM基因只在大多數IgM+腫瘤中有效IGH等位基因上保存。此外，上皮錯構瘤樣本對結合到IGHM增強因子3的轉錄因子或轉錄因子EB未顯示任何反應性（Kato et al., 2009; Blenk et al., 2007; Ruminy et al., 2011; Liu et al., 2014b）。

【0115】IL36RN被描述為可顯著區分III期和I、II期肺腺癌的標誌物（Liang et al., 2015）。

【0116】 INA表達降低與胰腺神經內分泌腫瘤的轉移、復發和較短的總生存期相關。因此，INA可能是胰腺神經內分泌腫瘤侵襲性的一個有用的預後生物標誌物(Liu et al., 2014a)。INA被描述為在少突膠質細胞表型膠質瘤中上調，INA表達被證明與少突膠質母細胞瘤和膠質母細胞瘤的無進展生存相關 (Suh et al., 2013)。INA被描述為神經母細胞瘤的標誌物，可用于兒童期小圓形細胞腫瘤的鑒別診斷工作 (Willoughby et al., 2008)。

【0117】 ITGA6表達在不同癌症實體（乳腺癌、攝護腺、結腸癌、胃癌）中上調，並與腫瘤進展和細胞侵襲有關 (Mimori et al., 1997; Lo et al., 2012; Haraguchi et al., 2013; Rabinovitz et al., 1995; Rabinovitz and Mercurio, 1996)。ITGA6的Abeta4變體的增殖作用似乎透過Wnt/β-連環蛋白通路來介導 (Groulx et al., 2014)。ITGA6的Abeta4變體導致PI3K/Akt/mTOR途徑的VEGF依賴性活化。此途徑在轉移癌細胞的存活中具有重要作用(Chung et al., 2002)。

【0118】 KRT14在各種鱗狀細胞癌（如食道癌、肺癌、喉癌、宮頸癌）以及腺瘤牙源性腫瘤中高度表達。但是，在膀胱小細胞癌中不存在，在肺腺癌、胃腺癌、結直腸腺癌、肝細胞癌、胰腺導管腺癌、乳腺浸潤性導管癌、甲狀腺乳頭狀癌和子宮內膜樣腺癌中較弱 (Xue et al.,

2010; Terada, 2012; Vasca et al., 2014; Hammam et al., 2014; Shruthi et al., 2014)。在膀胱癌中，KRT14 表達與較差生存期強烈相關(Volkmer et al., 2012)。

【0119】 KRT16 過度表達發現於基底樣乳腺癌細胞系以及原位癌中。其他人未發現非復發性成釉細胞瘤和復發性成釉細胞瘤之間 KRT16 免疫組化表達的顯著差異(Joosse et al., 2012; Ida-Yonemochi et al., 2012; Safadi et al., 2016)。此外，矽片分析表明了轉移性乳腺癌中 KRT16 表達與較短無復發生存之間相關 (Joosse et al., 2012)。

【0120】 KRT5 被證明在年輕女性的乳腺癌中上調(Johnson et al., 2015)。KRT5 被證明與年輕女性乳腺癌的較差無病生存以及激素受體陽性乳腺癌絕經前患者的臨床結果相關(Johnson et al., 2015; Sato et al., 2014)。KRT5 被證明透過乳腺癌細胞系 HCC1937 和 T47D 中的腫瘤抑制因子 BRCA1 調節(Gorski et al., 2010)。KRT5 被證明在惡性胸膜間皮瘤中失調 (Melaiu et al., 2015)。KRT5 被描述為惡性間皮瘤的診斷性間皮標誌物 (Arif and Husain, 2015)。KRT5 被證明與子宮內膜癌進展有關(Zhao et al., 2013)。KRT5 被證明在疣狀癌患者的浸潤性腫瘤區域下調 (Schumann et al., 2012)。KRT5 被證明屬於四個蛋白質系列的一部分，與正常組織樣本相比，其

在結直腸癌活檢物中差異表達（Yang et al., 2012）。KRT5 和四個蛋白系列的其他三個蛋白被描述為新型標誌物以及結直腸癌治療的潛在標靶（Yang et al., 2012）。KRT5 被描述為與基底細胞癌有關（Depianto et al., 2010）。KRT5 被描述為確定尿路上皮癌幹細胞的候選基因（Hatina and Schulz, 2012）。

【0121】 涉及 KYNU 的犬尿氨酸路徑的啟動被證明在膠質母細胞瘤中顯著較高，表明犬尿氨酸途徑參與神經膠質瘤的病理生理學（Adams et al., 2014）。KYNU 被描述為癌症聯基因，其表達時在 MDA-MB-231 乳腺癌細胞系中芳香烴受體敲減後改變（Goode et al., 2014）。KNYU 被證明在高度和非侵襲性骨肉瘤細胞系中差異表達，這表明它可能在骨肉瘤腫瘤形成的過程中具有重要作用。因此，KYNU 也可能代表未來治療靶標的一個候選基因（Lauvrak et al., 2013）。KYNU 被證明與非致瘤性 HeLa 和人皮膚成纖維細胞的混合細胞的致瘤性再表達相關。因此，KYNU 可為致瘤表達的調節提供一個相關候選（Tsujimoto et al., 1999）。

【0122】 LAMB3與其他兩個基因的組合轉錄分析被證明有利於甲狀腺乳頭狀癌的診斷和淋巴結轉移風險的預測（Barros-Filho et al., 2015）。LAMB3被證明與口腔鱗狀細胞癌、攝護腺癌、胃癌、結直腸癌、尤因氏家族腫瘤、肺癌、乳腺癌和卵巢癌的癌症實體相關（Volpi et al., 2011; Ii et al., 2011; Reis et al.,

2013; Stull et al., 2005; Irifune et al., 2005; Tanis et al., 2014)。LAMB3被證明在宮頸鱗狀細胞癌、肺癌、胃癌、鼻咽癌和食道鱗狀細胞癌中上調(Kwon et al., 2011; Wang et al., 2013a; Yamamoto et al., 2013; Kita et al., 2009; Fang et al., 2008b)。LAMB3被描述為一種蛋白，其已知可影響細胞分化、遷移、黏附、增殖和存活並充當宮頸鱗狀細胞癌的癌基因 (Yamamoto et al., 2013)。LAMB3的敲減被證明可抑制肺癌細胞體外和體內侵襲和轉移。因此，LAMB3是在肺癌發生和轉移中起重要作用的關鍵基因 (Wang et al., 2013a)。LAMB3被證明透過頭頸部鱗狀細胞癌中的腫瘤抑制因子 miR-218調節 (Kinoshita et al., 2012)。頭頸部鱗狀細胞癌中 LAMB3的沉寂被證明可導致細胞遷移和侵襲的抑制(Kinoshita et al., 2012)。LAMB3表達與食道鱗狀細胞癌的浸潤深度和靜脈浸潤相關 (Kita et al., 2009)。LAMB3的甲基化被證明與膀胱癌預後不良的幾個參數相關 (Sathyanarayana et al., 2004)。

【0123】 LAP3 的抑制被證明可透過 fascin 和 MMP-2/9 的下調導致卵巢癌細胞系 ES-2 中侵襲抑制。因此，LAP3 可以充當潛在的抗轉移治療靶標 (Wang et al., 2015d)。LAMB3的高表達被證明與惡性腫瘤的分級和膠質瘤患者的預後不良相關 (He et al., 2015)。LAP3 被證明可透過調節細胞生長、遷移和侵

襲而促進神經膠質瘤的進展，因而可能是一個新的預測因子（He et al., 2015）。在高微衛星不穩定性的胃癌和結直腸癌中檢測到涉及氨基酸代謝的基因（包括LAP3）的移碼突變（Oh et al., 2014）。LAP3被證明在肝細胞癌、食道鱗狀細胞癌和攝護腺癌中上調（Zhang et al., 2014; Tian et al., 2014; Lexander et al., 2005）。LAP3被證明透過調節細胞週期和晚期細胞遷移的G1/S期檢查點，以促進肝癌細胞增殖（Tian et al., 2014）。LAP3的表達進一步顯示與肝細胞癌的預後和惡性發展相關（Tian et al., 2014）。食道鱗狀細胞癌細胞系ECA109中LAP3的沉寂被證明可降低細胞增殖和集落形成，而LAP3敲減導致細胞週期停滯(Zhang et al., 2014)。食道鱗狀細胞癌細胞系TE1中LAP3過度表達被證明有利於細胞增殖和侵襲（Zhang et al., 2014）。因此，LAP3被證明在食道鱗狀細胞癌的惡性發展中發揮作用（Zhang et al., 2014）。

【0124】 研究人員報告，M6PR在結腸癌細胞系以及絨毛膜細胞中有表達（Braulke et al., 1992; O'Gorman et al., 2002）。在乳腺癌中，M6PR低水準表達與患者預後較差相關（Esseghir et al., 2006）。此外，M6PR過度表達導致在體外細胞生長率降低以及裸鼠中腫瘤生長下降（O'Gorman et al., 2002）。

【0125】 MAPK6被證明在調節乳腺癌細胞系MDA-MB-231的細胞形態和遷移中起作用(Al-Mahdi et al., 2015)。MAPK6被描述為癌症相關MAPK信號傳導途徑的一部分，與黑色素瘤的BRAF和MEK1/2信令相關(Lei et al., 2014; Hoeflich et al., 2006)。MAPK6被證明在肺癌、胃癌和口腔癌中上調(Long et al., 2012; Rai et al., 2004; Liang et al., 2005a)。MAPK6被證明可透過致癌基因SRC-3的磷酸化促進肺癌細胞侵襲。因此，MAPK6可能是侵襲性肺癌治療的一個有吸引力的靶標(Long et al., 2012)。MAPK6被描述為耐藥性乳腺癌細胞抗癌藥物開發的潛在靶標(Yang et al., 2010)。MAPK6在胃癌中過度表達被證明與TNM分期、漿膜浸潤和淋巴結累及相關(Liang et al., 2005a)。MAPK6被證明是核心細胞週期機械元件細胞週期蛋白D3的結合伴侶，表明MAPK6在細胞增殖中具有潛在活性(Sun et al., 2006)。

【0126】 MNAT1被證明與雌激素受體陽性/HER2陰性乳腺癌的不良預後相關(Santarpia et al., 2013)。粒細胞生成期間MNAT1內在碎片損失被證明可促進白血病成髓細胞的生長和轉移(Lou et al., 2013)。MNAT1被證明在推定的癌基因ADRM1敲減後在卵巢癌細胞系OAW42中失調(Fejzo et al., 2013)。siRNA介導的MNAT1基因沉寂被證明可在體外抑制胰

腺癌細胞系BxPC3的細胞生長，並在體內實現對皮下移植胰腺腫瘤的抗腫瘤作用（Liu et al., 2007a）。MNAT1的遺傳變體被描述與肺癌的易感性相關（Li et al., 2007）。用重組腺病毒編碼的反義MNAT1感染胰腺癌細胞系BxPC3顯示可導致MNAT1表達下降以及G0/G1期細胞的比例增加。因此，表明MNAT1在胰腺癌細胞系BxPC3中細胞週期G1到S期轉變的調節中起重要作用（Zhang et al., 2005）。MNAT1調節週期蛋白依賴性激酶啟動激酶活性被證明可交叉調節神經母細胞瘤細胞G1期阻滯，並在神經母細胞瘤的增殖到分化的轉變中發揮關鍵作用（Zhang et al., 2004）。

【0127】 乳腺癌中NEFH的DNA甲基化相關沉寂被證明是頻繁的、具有癌症特異性，並與疾病進展的臨床特徵相關（Calmon et al., 2015）。NEFH被進一步描述透過胰腺癌、胃癌和結腸癌的DNA甲基化而失活，從而也可能有助於這些惡性腫瘤的進展（Calmon et al., 2015）。NEFH CpG島甲基化被證明與腎細胞癌的晚期疾病、遠處轉移和預後相關（Dubrowinskaja et al., 2014）。因此，NEFH甲基化可能是腎細胞癌預後的候選表觀遺傳標誌物（Dubrowinskaja et al., 2014）。NEFH被證明在外陰外黏液樣軟骨肉瘤中上調（Dotlic et al., 2014）。肝癌細胞系中NEFH過度表達被證明可減少細胞增殖，而NEFH的敲減促進體外細胞侵襲和遷移並增加在小鼠中形成腫瘤的能力。因此，NEFH充

當肝細胞癌的腫瘤抑制因子（Revill et al., 2013）。NEFH 被證明在尤因氏肉瘤中頻繁甲基化，因此可能與腫瘤發生相關（Alholle et al., 2013）。

【0128】 NEFL 的DNA甲基化介導的沉寂被證明是乳腺癌中的頻繁事件，可能有助於乳腺癌的和其他惡性腫瘤（如，胰腺癌、胃癌和結腸癌）的進展（Calmon et al., 2015）。NEFL 被描述為一種潛在的腫瘤抑制基因，其與幾個器官的癌症相關（Huang et al., 2014c）。NEFL 被描述為可能在頭頸部鱗狀細胞癌細胞系的癌細胞凋亡和侵襲中發揮作用（Huang et al., 2014c）。NEFL 甲基化被描述為一種新機制，其透過與 mTOR 信號通路相互作用在頭頸部癌細胞系中產生順鉑耐藥性（Chen et al., 2012）。NEFL 被描述為可預測頭頸部腫瘤化療療效和生存期的候選生物標誌物（Chen et al., 2012）。NEFL 高表達被描述與幕上室管膜瘤較好的臨床效果相關（Hagel et al., 2013）。NEFL 被證明在乳腺癌中異位表達，與淋巴結陰性的癌症相比，在淋巴結轉移的原發性乳腺癌中下降（Li et al., 2012）。NEFL 低表達被證明可提示早期乳腺癌患者的 5 年無病生存期較差，因此可能是早期乳腺癌患者的潛在預後因素（Li et al., 2012）。NEFL 被證明在多形性膠質母細胞瘤中下調（Khalil, 2007）。NEFL 所在的染色體 8p21-23 處等位基因缺失被描述為癌症形成和肺癌發展的早期和頻繁事件，也被描述為與乳腺癌、攝護腺癌和乙

型肝炎病毒陽性肝細胞癌有關（Seitz et al., 2000; Becker et al., 1996; Haggman et al., 1997; Kurimoto et al., 2001）。

【0129】 NEFM被描述為與腫瘤進展相關和轉移參與過程有關的基因（Singh et al., 2015）。NEFM被證明在食道癌中低甲基化和上調（Singh et al., 2015）。NEFM被描述為一個候選腫瘤抑制基因，該基因經常在膠質母細胞瘤中下調（Lee et al., 2015a）。乳腺癌中NEFM的DNA甲基化相關沉寂被證明是頻繁的、具有癌症特異性，並與疾病進展的臨床特徵相關（Calmon et al., 2015）。NEFM被進一步描述透過胰腺癌、胃癌和結腸癌的DNA甲基化而失活，從而也可能有助於這些惡性腫瘤的進展（Calmon et al., 2015）。NEFM被證明與攝護腺癌和星形細胞瘤有關（Wu et al., 2010; Penney et al., 2015）。NEFM被描述為在腎細胞癌中甲基化的新型候選腫瘤抑制基因（Ricketts et al., 2013）。NEFM的甲基化被證明與腎細胞癌的預後相關（Ricketts et al., 2013）。NEFM被描述為一種潛在的診斷標誌物，與非神經內分泌腫瘤細胞系相比，其被證明在神經內分泌腫瘤細胞系中差異表達（Hofsli et al., 2008）。

【0130】 NUP155 被描述為與乳腺癌易感性相關的白血球DNA的一個潛在表觀遺傳生物標誌物（Khakpour et al., 2015）。NUP155 被描述為 NUP214-ABL1 陽

性T細胞急性淋巴細胞白血病細胞的增殖和存活嚴格需要的，並由此構成了該疾病的一個潛在的藥物靶標（De et al., 2014）。

【0131】 OAS2被證明與透過胱天蛋白酶-3啟動的CD3-ζ鏈表達損害有關。CD3-ζ鏈的缺乏被描述為在口腔癌中可以經常觀察到（Dar et al., 2015）。OAS2被描述為涉及晚期攝護腺癌風險相關的先天免疫和炎症通路的子通路（Kazma et al., 2012）。子通路分析顯示，OAS2名義上與晚期攝護腺癌風險相關（Kazma et al., 2012）。

【0132】 非小細胞肺癌中PABPN1的較低表達與預後不良相關（Ichinose et al., 2014）。PABPN1的損失被描述可透過從非小細胞肺癌微RNA介導的基因調控中釋放癌細胞，從而可能促進腫瘤侵襲性（Ichinose et al., 2014）。PABPN1的N-末端聚丙氨酸擴展變體被證明透過HeLa和HEK-293細胞系中的p53途徑與細胞凋亡誘導相關（Bhattacharjee et al., 2012）。

【0133】 PCBP1 被描述為攝護腺癌細胞的癌症幹細胞富集和功能特別重要（Chen et al., 2015a）。PCBP1被描述為胃癌發病機制的抑制因子，其下調與培養和異種移植胃癌細胞中的惡性表型有關（Zhang et al., 2015e）。基於卵巢漿液性腺癌患者的良性和惡性血清和組織樣本之間的差異表達，表明 PCBP1 在卵巢癌的病理生理學中發揮作用（Wegdam et al., 2014）。

PCBP1 被證明是 TGF-β 誘導的上皮-間質轉化（膽囊癌細胞系 GBC-SD 中腫瘤轉移的先決條件）的重要介質（Zhang and Dou, 2014）。PCBP1 表達水準被證明可調節膽囊癌細胞系 GBC-SD 的體外遷移和侵襲能力（Zhang and Dou, 2014）。因此，PCBP1 可能是膽囊癌轉移的潛在預後標誌物（Zhang and Dou, 2014）。PCBP1 下調被描述為可能涉及與子宮頸癌的發病機制（Pathak et al., 2014）。PCBP1 被描述為腫瘤抑制相關轉錄因子 p63 的調節因子（Cho et al., 2013）。完全性葡萄胎中 PCBP1 高表達被證明與發展為妊娠滋養細胞腫瘤的較低風險有關，而 PCBP1 表達在惡性轉化痣中顯著降低（Shi et al., 2012）。因此，表明 PCBP1在妊娠滋養細胞腫瘤的發病機制中起重要作用（Shi et al., 2012）。PCBP1 過度表達被證明可導致轉移相關 PRL-3 蛋白翻譯和AKT失活的抑制，而 PCBP1 的敲減被證明可引起AKT的啟動和促進腫瘤發生（Wang et al., 2010）。PCBP1 被描述在肝癌細胞系 HepG2 的腫瘤侵襲中發揮負作用（Zhang et al., 2010）。人肝腫瘤中 PCBP1 的損失被描述為有助於轉移表型的形成（Zhang et al., 2010）。

【0134】 PDPN被描述為在鱗狀細胞癌、間皮瘤、膠質母細胞瘤和骨肉瘤中上調（Fujita and Takagi, 2012）。PDPN被描述為腫瘤侵襲和轉移的調節因子，因為 PDPN與參與上皮間質轉化、集體細胞遷移、血小板

活化、聚集和淋巴管形成的幾個途徑有關(Dang et al., 2014)。PDPN被描述為口腔癌和上皮間皮瘤的標誌物(Swain et al., 2014; Ordonez, 2005)。PDPN上調被描述為與上呼吸消化道鱗狀細胞癌的淋巴結轉移和預後差有關(Chuang et al., 2013)。PDPN被描述為在血管腫瘤、惡性間皮瘤、中樞神經系統腫瘤、生殖細胞腫瘤、鱗狀細胞癌和侵襲性和轉移可能性更高的侵襲性腫瘤中表達(Raica et al., 2008)。因此，PDPN可被視為腫瘤細胞具有吸引力的治療靶標(Raica et al., 2008)。

【0135】 PHTF2被證明在舌鱗狀細胞癌中下調(Huang et al., 2007)。

【0136】 PKM2被證明對癌細胞增殖和腫瘤生長很關鍵(Chen et al., 2014b; Li et al., 2014; DeLaBarre et al., 2014)。N-myc基因作為髓母細胞瘤中PKM2的轉錄調節因子(Tech et al., 2015)。PKM2似乎在肝癌發病、上皮間質轉變和血管生成中發揮作用(Nakao et al., 2014)。PKM2是腫瘤學中Warburg效應的兩個關鍵因子之一(Tamada et al., 2012; Warner et al., 2014; Ng et al., 2015)。PKM2表達在癌細胞中上調(Chaneton and Gottlieb, 2012; Luo and Semenza, 2012; Wu and Le, 2013)。在惡性細胞中，PKM2具有糖酵解功能，作為轉錄輔啟動物和蛋白激酶。在後一種功能中，它

易位至細胞核並磷酸化組蛋白3，最終導致膠質母細胞瘤的細胞週期進展 (Semenza, 2011; Luo and Semenza, 2012; Tamada et al., 2012; Venneti and Thompson, 2013; Yang and Lu, 2013; Gupta et al., 2014; Iqbal et al., 2014; Chen et al., 2014b; Warner et al., 2014)。低活性二聚體PKM2可能在癌症中發揮作用，而不是活性四聚體形式(Mazurek, 2011; Wong et al., 2015; Iqbal et al., 2014; Mazurek, 2007)。

【0137】 PKP1被證明在攝護腺癌和食道腺癌中下調(Kaz et al., 2012; Yang et al., 2015a)。非腫瘤、攝護腺BPH-1細胞系中PKP1的敲減導致細胞凋亡減少和基因（如，攝護腺癌相關SPOCK1基因）差異表達 (Yang et al., 2015a)。總體來說，PKP1和SPOCK1表達改變似乎是攝護腺癌中的頻繁和嚴重事件，表明PKP1具有腫瘤抑制功能 (Yang et al., 2015a)。PKP1表達下降被證明與口腔鱗狀細胞癌中顯著更短的至遠處轉移發生時間有關 (Harris et al., 2015)。透過啟動子甲基化導致的PKP1損失被描述為與Barrett食道進展為食道腺癌相關 (Kaz et al., 2012)。PKP1被證明在非小細胞肺癌中上調，可能是區分鱗狀細胞癌樣本的良好標誌物(Sanchez-Palencia et al., 2011)。PKP1被證明在分化良好的脂肪肉瘤細胞系GOT3中上調 (Persson

et al., 2008)。PKP1 表達下降被描述為可促進頭頸部鱗狀細胞癌的活動性增加 (Sobolik-Delmaire et al., 2007)。PKP1 損失被證明與宮頸癌發生有關 (Schmitt-Graeff et al., 2007)。PKP1 被證明與口咽鱗狀細胞癌患者的局部復發或轉移以及不良預後有關 (Papagerakis et al., 2003)。

【0138】 PKP3mRNA在胃腸道腫瘤患者的血液中增加可作為生物標誌物和疾病預後預測因素 (Valladares-Ayerbes et al., 2010)。PKP3 過度表達與乳腺癌、肺癌和攝護腺癌的預後不良相關，而膀胱癌的下調與侵襲性行為有關 (Furukawa et al., 2005; Breuninger et al., 2010; Demirag et al., 2012; Takahashi et al., 2012)。PKP3 喪失導致 MMP7 和 PRL3 蛋白質水準增加，這是細胞遷移和腫瘤形成所需要的 (Khapare et al., 2012; Basu et al., 2015)。

【0139】 PPP4R1的敲減被證明可抑制乳腺癌細胞系ZR-75-30的細胞增殖 (Qi et al., 2015)。因此，PPP4R1可促進乳腺癌細胞的增殖，並可能在乳腺癌的發生中起著至關重要的作用 (Qi et al., 2015)。肝細胞癌細胞系HepG2中PPP4R1敲減被證明可導致細胞增殖、集落形成和細胞週期在G2/M期停滯 (Wu et al., 2015)。PPP4R1敲減被進一步證明可導致HepG2細胞中p38和c-JunN-末端激酶信號級聯失活，這提示PPP4R1可促進細胞增殖 (Wu et al., 2015)。因此，

PPP4R1在促進肝細胞癌細胞生長中起著關鍵作用（Wu et al., 2015）。PPP4R1被描述為淋巴細胞NF-kB激酶活性抑制劑的負調節因子，其下調促進T細胞淋巴瘤亞組中的致癌NF-kB信號傳導（Brechmann et al., 2012）。

【0140】 PRC1被描述為與宮頸癌輻射抗性相關，因為宮頸癌組織輻射後顯示PRC1高差異表達（Fu et al., 2015b）。PRC1內含子14中的遺傳基因座被描述為與乳腺癌易感性相關（Cai et al., 2014）。PRC1被描述為五基因標籤的一個基因，可作為乳腺癌患者無病生存期的預後標籤（Mustacchi et al., 2013）。PRC1被證明在卵巢癌、宮頸癌和膀胱癌中上調（Espinosa et al., 2013; Ehrlichova et al., 2013; Kanehira et al., 2007）。PRC1被證明在乳腺上皮細胞系MCF-10A的4-羥基雌二醇介導的惡性轉化期間被上調（Okoh et al., 2013）。PRC1被描述為在腫瘤發病中具有顯著生物學意義的基因，其可用于基因群來預測腫瘤可切除的非小細胞肺癌患者輔助化療後的預後（Tang et al., 2013）。表明PRC1透過細胞週期相關激酶Plk1被負調節（Hu et al., 2012）。膀胱癌細胞系NIH3T3中PRC1的敲減被證明可導致多核細胞和隨後的細胞死亡顯著增加（Kanehira et al., 2007）。此外，PRC1被證明與膀胱癌細胞中的新型癌-睾丸抗原MPHOSPH1相互作用，並且MPHOSPH1/PRC1複

合體表明在膀胱癌形成中發揮關鍵作用，可能是一種新的治療靶標（Kanehira et al., 2007）。PRC1被證明被p53調節（Li et al., 2004）。

【0141】表達序列標籤分析確定PRDM15為淋巴瘤中的上調基因（Giallourakis et al., 2013）。PRDM15被描述為一個候選腫瘤抑制基因，其可能有助於胰腺癌的發生或進展（Bashyam et al., 2005）。

【0142】PTHLH的不同多態性被證明與肺癌的風險和預後有關（Manenti et al., 2000）。自發性轉移性乳腺癌C57BL/6小鼠衍生的模型中PTHLH上調被描述為可能參與乳腺癌的轉移性傳播（Johnstone et al., 2015）。PTHLH被證明在口腔鱗狀細胞癌、軟骨瘤、成人T細胞白血病/淋巴瘤和腎透明細胞癌中上調（Bellon et al., 2013; Yang et al., 2013a; Yao et al., 2014; Lv et al., 2014）。PTHLH上調被證明與頭頸部鱗狀細胞癌患者的較差病理學分化和較差預後有關(Lv et al., 2014)。PTHLH被證明透過p38信令上調，其透過在肺微脈管系統內皮細胞的胱天蛋白酶非依賴性死亡促進肺部結腸癌細胞外滲（Urosevic et al., 2014）。與正常皮膚相比，PTHLH被證明在鱗狀細胞癌中顯著差異表達（Prasad et al., 2014）。PTHLH被描述為四基因標籤的一部分，其與早期非小細胞肺癌患者的生存期有關（Chang et al., 2012）。透過PTHLH移碼突變對抗增殖作用的破壞被描述為可促進遺傳性非

息肉性結直腸癌患者的早期結直腸癌的發展(Yamaguchi et al., 2006)。PTHLH上調被證明與接受腎切除的腎透明細胞癌患者的總生存期和無病生存期較差結果相關(Yao et al., 2014)。PTHLH被證明可正調節細胞週期進程，並透過結直腸腺癌細胞系Caco-2的ERK1/2、p38、MAPK和PI3K信號通路參與細胞週期調控的蛋白表達(Calvo et al., 2014)。

【0143】RAP1GDS1被證明可促進胰腺癌細胞增殖(Schuld et al., 2014)。小鼠非小細胞肺癌細胞系NCI-H1703異種移植物中RAP1GDS1兩種剪接變體同時損失被證明可導致腫瘤發生降低(Schuld et al., 2014)。RAP1GDS1被證明可促進多種類型癌症的細胞週期進程，使其成為癌症治療有價值的靶標(Schuld et al., 2014)。RAP1GDS1被證明在乳腺癌、攝護腺癌和非小細胞肺癌中上調(Hauser et al., 2014; Tew et al., 2008; Zhi et al., 2009)。RAP1GDS1的SmgGDS-558剪接變體被證明是RhoA和NF-κB活性的獨特啟動子，其在乳腺癌惡性中起著功能性作用(Hauser et al., 2014)。RAP1GDS1高表達被證明與乳腺癌較差的臨床結果相關(Hauser et al., 2014)。RAP1GDS1被證明可調節非小細胞肺癌的細胞增殖、遷移和NF-κB轉錄活性，因此促進該疾病的惡性表型。因此，RAP1GDS1是非小細胞肺癌的令人感興趣的治療靶標(Tew et al., 2008)。RAP1GDS1

被證明在T細胞急性淋巴細胞白血病中被融合至NUP98(Romana et al., 2006)。

【0144】RNPEP活性被證明在結直腸腺瘤、乳頭狀甲狀腺癌、乳腺癌和腎透明細胞癌中上調(Ramirez-Exposito et al., 2012; Larrinaga et al., 2013; Perez et al., 2015; Varona et al., 2007)。RNPEP被證明與皮下區域植入的大鼠C6神經膠質瘤的腫瘤生長相關(Mayas et al., 2012)。

【0145】RORA被描述為潛在的肺癌癌基因(Wang et al., 2015e)。RORA被證明與結腸癌中潛在的腫瘤抑制基因OPCML的表達相關(Li et al., 2015a)。RORA兩個單核苷酸多態性被證明與乳腺癌相關(Truong et al., 2014)。RORA被描述為乳腺癌的潛在腫瘤抑制因子和治療靶標(Du and Xu, 2012)。RORA被證明在結直腸腺癌和乳腺癌中下調(Kottorou et al., 2012; Du and Xu, 2012)。肝細胞癌細胞系HepG2中RORA穩定過度表達被證明可影響參與葡萄糖代謝和肝癌形成基因的表達,這表明RORA與肝來源細胞內的癌形成有關(Chauvet et al., 2011)。與正常胃粘膜相比,RORA被證明在胃癌中差異甲基化(Watanabe et al., 2009)。RORA被描述為與細胞生長和分化控制以及雄激素非依賴性攝護腺癌細胞系DU145的轉移行為控制相關(Moretti et al., 2002)。

【0146】 RPS17被證明在正常全血轉移性葡萄膜黑色素瘤中以及容易因葡萄膜黑色素瘤發生轉移的組織中差異表達，這表明RPS17可能在葡萄膜黑色素瘤轉移的趨向性中發揮作用(Demirci et al., 2013)。RPS17被證明在肝細胞癌中上調(Liu et al., 2007b)。

【0147】 RPS26敲減被證明可誘導p53穩定化和活化，導致p53依賴性細胞生長抑制(Cui et al., 2014)。RPS26進一步顯示透過直接影響p53的轉錄活性在DNA損傷應答中發揮作用(Cui et al., 2014)。

【0148】 S100A2被證明與非小細胞肺癌相關，並被描述為肺鱗癌患者較差總體生存期的一個預測標誌物(Hountis et al., 2014; Zhang et al., 2015d)。S100A2被描述為癌基因KRAS的下游靶標，是肺癌腫瘤進展的啟動子(Woo et al., 2015)。S100A2被描述為預測胰腺導管腺癌總生存期的一個有希望的標誌物(Jamieson et al., 2011)。透過亞硝胺N-亞硝基吡咯烷的S100A2表達改變被描述為南非黑人食道鱗狀細胞癌腫瘤進展的潛在原因(Pillay et al., 2015)。S100A2被證明在早期非小細胞肺癌、鼻咽癌患者的血漿、喉癌、胃癌和表皮腫瘤中上調(Zhu et al., 2013a; Lin et al., 2013; Zhang et al., 2015a; Zha et al., 2015; Wang et al., 2015c)。S100A2的甲基化相關失活被證明在頭頸部和膀胱癌中頻繁發生，因此可能是這些疾病腫瘤發生中的重要事件(Lee et al.,

2015c)。S100A2細胞質表達被證明在口腔鱗狀細胞癌中上調，而核表達下調 (Kumar et al., 2015)。S100A2細胞質上調被證明是口腔鱗狀細胞癌患者復發風險的潛在預測因子(Kumar et al., 2015)。S100A2被描述為在乳腺癌轉移中發揮作用 (Naba et al., 2014)。S100A2被證明是一種BRCA1/p63共同調節腫瘤抑制基因，其透過調節突變p53與HSP90結合而在突變p53穩定性調節中發揮作用 (Buckley et al., 2014)。S100A2被描述為一種候選腫瘤抑制基因，該基因在復發鼻咽癌中下調，因此可能在復發性鼻咽癌的發生中起重要作用 (Huang et al., 2014b)。S100A2被證明在胃癌中下調，且下調被證明與浸潤深度、淋巴結轉移、無復發概率降低和總生存期下降相關 (Liu et al., 2014e)。因此，S100A2下調可能是胃癌的陰性獨立預後生物標誌物 (Liu et al., 2014e)。S100A2進一步顯示可負調節MGC-803癌細胞的MEK/ERK信號傳導途徑 (Liu et al., 2014e)。在免疫缺陷小鼠中，S100A2過度表達被證明可誘導A549肺癌細胞的上皮-間質轉化，隨後增加侵襲性、增強AKT磷酸化和加快腫瘤生長 (Naz et al., 2014)。S100A2的原致癌基因行為被進一步描述為參與PI3/Akt信號傳導調節以及與TGFβ信號途徑蛋白Smad3的功能性相互作用(Naz et al., 2014)。S100A2表達被證明與肺門周圍和肝外膽管癌患者的組織學分級、淋巴結轉移、臨床分期和較差的

生存期相關（Sato et al., 2013）。因此，S100A2可充當膽管癌患者的預後標誌物（Sato et al., 2013）。

【0149】 S100A8被描述為急性和慢性炎症的重要介質，其與髓源抑制細胞在正反饋回路中相互作用，以促進腫瘤的發展和轉移（Zheng et al., 2015）。S100A8被描述為非小細胞肺癌的潛在的診斷標誌物、預後指標和治療靶標（Lim and Thomas, 2013）。S100A8過度表達被證明與膀胱癌的期別進展、侵襲、轉移和較差生存有關（Yao et al., 2007）。S100A8被證明是浸潤性膀胱癌的診斷標誌物（Ismail et al., 2015）。S100A8被證明在未分化甲狀腺癌、骨巨細胞瘤和結直腸癌中上調（Reeb et al., 2015; Zhang et al., 2015b; Liao et al., 2015a）。使用S100A8敲減的未分化甲狀腺癌細胞在小鼠中的體內分析提示，腫瘤生長和肺轉移減少，動物生存期顯著延長（Reeb et al., 2015）。S100A8被證明可透過與RAGE相互作用促進未分化甲狀腺癌細胞的增殖，這啟動腫瘤細胞中的p38、ERK1/2和JNK信號傳導途徑（Reeb et al., 2015）。因此，S100A8可能代表未分化甲狀腺癌的相關治療靶標（Reeb et al., 2015）。S100A8被證明與高風險慢性淋巴細胞性白血病相關（Alsagaby et al., 2014）。S100A8被證明與腎臟癌進展相關，並且被描述為腎癌的潛在生物標誌物和治療靶標（Mirza et al., 2014）。S100A8被描述為鈣衛蛋白的一部分，這

是非炎症驅動肝腫瘤的進展所需的異源二聚體，可能代表肝細胞癌的治療靶標（De et al., 2015）。S100A8 被證明可透過 ID3 表達的誘導來調節結腸癌細胞週期和增殖，同時抑制 p21（Zhang et al., 2015b）。

【0150】 SERPINH1 編碼絲氨酸蛋白酶抑制劑，分化體 H（熱激蛋白47）成員1，（膠原結合蛋白1），是一種絲氨酸蛋白酶抑制劑。SERPINH1 作為內質網的膠原特定分子伴侶（RefSeq, 2002）。SERPINH1 在許多人類癌症，包括胃癌、肺癌、胰腺導管腺癌、神經膠質瘤和潰瘍性結腸炎相關癌中過度表達（Zhao et al., 2014a）。SERPINH1 在肝細胞癌、食道鱗狀細胞癌、膽管細胞癌、胃癌、肺癌、胰腺導管腺癌、潰瘍性結腸炎相關癌症和神經膠質瘤中上調（Zhao et al., 2014a; Padden et al., 2014; Lee et al., 2015b; Naboulsi et al., 2015）。SERPINH1 過度表達被證明與食道鱗狀細胞癌患者的不良預後相關，SERPINH1 的免疫染色水準和病理分期被證明與總體和無復發生存期顯著相關（Lee et al., 2015b）。因此，SERPINH1 可能是食道鱗狀細胞癌的一個潛在預後標誌物（Lee et al., 2015b）。神經膠質瘤細胞中 SERPINH1 敲減被證明可體外抑制膠質瘤細胞生長、遷移和侵襲，而 SERPINH1 體內敲減被證明可抑制腫瘤生長和誘導細胞凋亡（Zhao et al., 2014a）。因此，SERPINH1 可能是膠質瘤的治療靶標（Zhao et al.,

2014a)。與具有多個淋巴結受累的口腔鱗狀細胞癌原發腫瘤相比，SERPINH1被證明在轉移癌中下調，這提示SERPINH1可能與這些腫瘤的轉移可能性相關(Nikitakis et al., 2003)。

【0151】SLC7A11被證明是在W1卵巢癌細胞系的耐藥變種中下調，從而可能在癌細胞藥物抗性中發揮作用(Januchowski et al., 2013)。SLC7A11被描述為可調節腫瘤微環境，導致癌症生長優勢(Savaskan and Eyupoglu, 2010)。SLC7A11被描述為參與膠質瘤的神經變性過程，使SLC7A11稱為癌症治療的潛在主要靶標(Savaskan et al., 2015)。SLC7A11被證明在鐵死亡的情況下透過p53抑制，p53-SLC7A11軸被描述為保留於p53(3KR)突變體，並有助於其在不存在經典腫瘤抑制機制時抑制腫瘤發生(Jiang et al., 2015)。SLC7A11被描述為系統Xc-的功能性亞基，其功能在侵襲性乳腺癌細胞中增加(Linher-Melville et al., 2015)。順鉑耐藥性膀胱癌中SLC7A11高膜染色被證明與較差的臨床結果相關，並且SLC7A11抑制被描述為本病一種有前景的治療方法(Drayton et al., 2014)。SLC7A11被證明在已被暴露於苯和其代謝物的人早幼粒白血病細胞系HL-60中差異表達，因而強調了SLC7A11與白血病發生的潛在關聯性(Sarma et al., 2011)。SLC7A11破壞被描述為可導致多種癌症(包括淋巴瘤、神經膠質瘤、攝護腺癌和乳

腺癌）的生長抑制（Chen et al., 2009）。SLC7A11抑制被證明可在體外抑制食道癌細胞系KYSE150的細胞浸潤和裸鼠的實驗性轉移，從而確立了SLC7A11在腫瘤轉移中的作用（Chen et al., 2009）。

【0152】 SRPR被證明在含雙微染色體的急性髓性白血病情況下被擴增（Crossen et al., 1999）。

【0153】 SSR4的人類直系同源物被證明在負鼠黑色素瘤細胞系TD6b和TD15L2中差異表達，在晚期腫瘤中上調，提示SSR4是一種候選基因，潛在的功能是可能與紫外線誘導黑色素瘤和轉移相關（Wang and VandeBerg, 2004）。相比正常成骨細胞，SSR4的mRNA水準被證明在骨肉瘤細胞系OHS、SAOS-2和KPDXM中富集（Olstad et al., 2003）。

【0154】 STK17A表達失調與不同癌症類型相關。宮頸癌和結直腸癌中表達降低與腫瘤進展相關STK17A的促凋亡特徵有關。膠質母細胞瘤和頭頸部癌的STK17A以級別依賴性過度表達，可能透過對其他腫瘤相關途徑（如，TGF-β）的影響引起（Mao et al., 2013a; Thomas et al., 2013; Park et al., 2015; Bandres et al., 2004）。STK17A是腫瘤抑制基因p53的直接靶標，是活性氧(ROS)的調節劑（Kerley-Hamilton et al., 2005; Mao et al., 2011）。

【0155】 SYK被描述為腫瘤發生的調節因子，透過提供生存功能在一些細胞中充當腫瘤啟動子，並透過限制上

皮-間充質轉換和抑制遷移在另一些細胞中充當腫瘤抑制因子（Krisenko and Geahlen, 2015）。SYK 被描述為與 B 細胞淋巴瘤中的 B 細胞受體（BCR）活化相關（Seda and Mraz, 2015）。BCR 途徑關鍵激酶（如 SYK）的抑制已在臨床前模型中發現可減少慢性淋巴細胞性白血病細胞活力（Davids and Brown, 2012）。SYK 被證明在慢性淋巴細胞性白血病中上調（Feng and Wang, 2014）。SYK 被描述為與慢性淋巴細胞性白血病的發病機制相關，可能在評估治療效果和這種疾病的預後中具有價值（Feng and Wang, 2014）。SYK 描述為乳腺癌的潛在腫瘤抑制因子，其在原發性乳腺腫瘤缺乏與不良結果相關（Navara, 2004）。SYK 被證明在卵巢癌中的紫杉醇抗性發揮關鍵作用（Yu et al., 2015b）。SYK 下調被描述為與多種癌症（包括結直腸癌）的發展有關（Peng et al., 2015）。SYK 啟動子不同的基因多態性被證明是中國南方漢族人群結直腸癌發展的獨立危險因素（Peng et al., 2015）。SYK 被證明在肝細胞癌頻繁甲基化，SYK 甲基化被證明可確定預後不良的肝細胞癌子集（Shin et al., 2014）。

【0156】 TP63 易位被描述為間變性淋巴瘤激酶陽性間變性大細胞淋巴瘤子集中的一個事件，其與疾病的侵襲過程相關（Hapgood and Savage, 2015）。TP63 被描為由於其參與上皮細胞分化、細胞週期停滯和細胞凋亡而在癌症中發揮複雜的作用（Lin et al., 2015）。TP63

異構體 TAp63 被描述為在惡性血液病中過度表達，而 TP63 錯義突變報告發生於淋巴瘤和一些肺腺癌中的鱗狀癌和 TP63 易位處 (Orzol et al., 2015)。導致 TP63 異構體 δNp63 過度表達的異常剪接在人類癌症（如，皮膚鱗狀細胞癌）中經常發現，其很可能有利於腫瘤發生和發展 (Missero and Antonini, 2014; Inoue and Fry, 2014)。

【0157】 TPM1 被證明在腎細胞癌、食道癌細胞系鱗狀細胞癌、轉移性犬乳腺癌和成神經細胞瘤細胞系中下調 (Klopfleisch et al., 2010; Yager et al., 2003; Zare et al., 2012; Wang et al., 2015b)。TPM1 表達被證明與腎細胞癌患者的腫瘤大小、Fuhrman 分級和預後有關。腎細胞癌細胞系 OSRC-2 和 786-O 的 TPM1 轉染顯示可降低遷移和侵襲能力，同時增強細胞凋亡 (Wang et al., 2015b)。因此，TPM1 被描述為可顯示腫瘤抑制基因的特徵，同時在腎細胞癌細胞中過度表達 (Wang et al., 2015b)。RAS/PI3K/AKT 和 RAS/MEK 信號通路被描述為參與肝內膽管癌細胞系 HuCCT1 和食道鱗狀細胞癌細胞系中 TPM1 調節和抑制 (Zare et al., 2012; Yang et al., 2013b)。TPM1 被描述為一種腫瘤抑制因子，其乳腺癌細胞系 MCF-7 中過度表達抑制了錨定非依賴性細胞生長 (Zhu et al., 2007b)。TPM1 的表觀遺傳抑制被描述為與改變的

TGF-β腫瘤抑制功能相關，並且可能有助於形成腫瘤細胞的轉移特性（Varga et al., 2005）。

【0158】類胰蛋白酶被證明在某些急性骨髓性白血病患者中上調（Jin et al., 2014）。類胰蛋白酶的表達被描述為經由ERK1/2和p38MAPK途徑被SCF/c-KIT信令調節（Jin et al., 2014）。肥大細胞類胰蛋白酶被描述為參與結直腸癌血管生成，被證明在結直腸癌症患者的血清中根治性手術切除之前較之後呈更高的表達（Ammendola et al., 2014）。

【0159】相比於非致瘤性細胞系OKF6-TERT1RTSHZ3，TSHZ3被證明在口腔鱗狀細胞癌細胞系SCC-9中下調（Marcinkiewicz and Gudas, 2014）。TSHZ3被描述為一種轉錄調節基因，其發現在高級別漿液性卵巢癌的一些病例中被反復地重新排列（McBride et al., 2012）。TSHZ3被描述為在乳腺癌和攝護腺癌下調表達的候選腫瘤抑制基因（Yamamoto et al., 2011）。

【0160】TSPAN10被證明是在轉移性黑色素瘤樣本和正常皮膚樣本之間差異表達的基因，其可能是轉移性黑色素瘤治療的潛在生物標誌物（Liu et al., 2014c）。在其他基因中，與原發性平滑肌肉瘤相比，TSPAN10被證明在子宮平滑肌肉瘤轉移中上調，因此有助於辨別這些疾病並且可能有助於理解該癌症的腫瘤進展（Davidson et al., 2014）。

【0161】 TTPAL被描述為在微衛星不穩定性結直腸癌中顯示突變的候選癌基因 (Tuupanen et al., 2014)。

【0162】 TUBGCP2 被證明在紫杉醇耐藥卵巢癌細胞系中上調，並被描述為與非小細胞肺癌細胞系 NCI-H1155 對紫杉醇的敏感性有關 (Huang and Chao, 2015)。TUBGCP2 被證明在膠質母細胞瘤中上調，其過度表達拮抗 CDK5 調節亞基相關腫瘤抑制蛋白 3 對 DNA 損傷 G2/M 檢查點活性的抑制作用 (Draberova et al., 2015)。

【0163】 VIM被描述為STAT3的下游靶標，其在透過STAT3失調節後與乳腺腫瘤進展有關 (Banerjee and Resat, 2015)。VIM被描述為潛在的鼻咽癌相關蛋白 (Chen et al., 2015c)。波形蛋白的陰性甲基化狀態被證明可預測胰腺癌患者預後改善 (Zhou et al., 2014)。VIM被證明透過C6orf106在非小細胞肺癌中上調，並被描述與癌細胞侵襲性增強隨後相關 (Zhang et al., 2015c)。VIM被描述為肺鱗癌患者總生存期的獨立預測因子 (Che et al., 2015)。VIM被描述為一種生物標誌物，可以潛在區分黑色素瘤亞型，並可能預測黑色素瘤不同亞組中黑色素瘤的侵襲性 (Qendro et al., 2014)。VIM被證明在透明細胞腎細胞癌上調 (Shi et al., 2015)。VIM高表達被描述為透明細胞腎細胞癌的獨立預測指標 (Shi et al., 2015)。VIM被證明

充當一種支架以募集Slug至ERK並促進Slug磷酸化，其被描述為啟動上皮-間質轉變、促進轉移能力的腫瘤發生期間採用的發展過程所需要的（Virtakoivu et al., 2015）。

【0164】與預後良好的低級別肥大細胞瘤相比，WDR1被證明在來自於卵巢癌的間質液和預後不良的高級別犬皮膚肥大細胞瘤中上調（Schlieben et al., 2012; Haslene-Hox et al., 2013）。WDR1被證明在化療耐藥晚期漿液性上皮性卵巢癌中下調（Kim et al., 2011）。化療耐藥晚期漿液性上皮性卵巢癌中WDR1下調被證明與總生存期差相關（Kim et al., 2011）。WDR1被證明在乳腺癌侵襲性腫瘤前沿和正常組織之間的區域（介面區）上調，因此，可能與乳腺癌的進展和轉移有關（Kang et al., 2010）。

【0165】YWHAE與NUTM2B/NUTM2E融合被描述為在少數腎透明細胞肉瘤中觀察到的事件（Karlsson et al., 2015）。YWHAE-NUTM2融合被描述為高級別子宮內膜間質肉瘤中的常見事件（Ali et al., 2014）。含YWHAE-NUTM2融合的高級別子宮內膜間質肉瘤被描述為子宮內膜間質肉瘤的一個子集，其具有侵襲性臨床行為和較差預後（Kruse et al., 2014）。三個位點（包括YWHAE）的破損被描述為是子宮肉瘤發生的潛在因素（Suzuki et al., 2014）。YWHAE被證明在胃癌中下調，YWHAE水準下降與彌漫型胃癌和

該病理早發性相關，這表明YWHAE可能在胃癌發生過程中發揮作用（Leal et al., 2012）。YWHAE被證明在有和沒有復發的乳腺癌患者組織中差異表達，並被證明與無病生存期和總生存期均相關（Cimino et al., 2008）。因此，YWHAE可用作乳腺癌的獨立預後標誌物和潛在的藥物靶標（Cimino et al., 2008）。

【0166】 ZNF292的變化被描述為慢性淋巴細胞性白血病驅動改變（Puente et al., 2015）。ZNF292被描述為結直腸癌的腫瘤抑制基因（Takeda et al., 2015）。ZNF292被描述為在頭頸部鱗狀細胞癌中具有臨床相關性的免疫原性抗原（Heubeck et al., 2013）。

【圖式簡單說明】

【0167】 圖1A至1V顯示了正常組織（白色柱）和食道癌（黑色柱）中各種肽的過量表現。A）基因符號：KRT14/KRT16，肽：STYGGGLSV（SEQ ID NO:1）從左至右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在4/91肺癌中檢測出。圖1B）

基因符號：GJB5，肽：SIFEGLLSGV（SEQ ID NO:7）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在1/43攝護腺癌，1/3膽囊癌，1/20卵巢癌，5/91肺癌和1/4膀胱癌中檢測出。圖2C）基因符號：PKP3，肽：SLVSEQLEPA（SEQ ID NO:34）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3 胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在8/24結直腸癌，1/20卵巢癌，1/46胃癌，5/91肺癌和2/4膀胱癌中檢測出。圖2D）基因符號：RNPEP，肽：YTQPFSHYGQAL（SEQ ID NO:37）。從左到右的組織：1脂肪組織，3腎上腺，8動脈，5骨髓，7大腦，5乳腺，2軟骨，1中樞神經，13結腸，1十二指腸，2膽囊，

5心臟，14腎臟，21肝臟，44肺，4淋巴結，4白血球樣本，3卵巢，8胰腺，5末梢神經，1腹膜，3腦垂體，4胎盤，3 胸膜，3攝護腺，6直肌，7唾液腺，4骨骼肌，6皮膚，2小腸，4脾，5胃，6睾丸，3 胸腺，3甲狀腺，7氣管，2輸尿管，6膀胱，2子宮，2靜脈，6食道，16食道癌標本。該肽還在1/19胰腺癌，7/46胃癌和1/91肺癌中檢測出。圖 4E) 基因符號：NUP155，肽：ALQEALENA (SEQ ID NO:80)。從左到右的樣本：4細胞系（1腎臟，1胰腺，1攝護腺，1髓細胞性白血病），3正常組織（1肺，1攝護腺，1小腸），47癌組織（5腦癌，2乳腺癌，1結腸癌，2食道癌，1慢性白血球白血病，2肝癌，22肺癌，7卵巢癌，4攝護腺癌，1直腸癌）。圖5F) 基因符號：KRT5，肽：SLYNLGGSKRISI (SEQ ID NO:2)。從左到右的組織：20癌組織（9頭頸部癌，2食道癌，1食道和胃癌，7肺癌，1膀胱癌）。圖 6G) 基因符號：KRT5，肽：TASAITPSV (SEQ ID NO:3)。從左到右的組織：17癌組織（2食道癌，6頭頸癌，7肺癌，2膀胱癌）。圖 7H) 基因符號：S100A2，肽：SLDENSDQQV (SEQ ID NO:10)。從左到右的組織：7癌組織（3頭頸部癌，2食道癌，1肺癌，1膀胱癌）。圖 8I) 基因符號：LAMB3，肽：ALWLPTDSATV (SEQ ID NO:11)。從左到右的組織：12癌組織（2食道癌，1膽囊癌，8肺癌，1皮膚癌）。圖 9J) 基因符號：IL36RN，肽：SLSPVILGV (SEQ ID NO:13)。從

左到右的組織：26癌組織（8頭頸癌，3食道癌，10肺癌，3皮膚癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖10K）基因符號：ANO1，肽：LLANGVYAA（SEQ ID NO:15）。從左到右的組織：8癌組織（2食道癌，1膽囊癌，1肝癌，1肺癌，1胃癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖11L）基因符號：F7，IGHV4-31，IGHG1，IGHG2，IGHG3，IGHG4，IGHM，肽：MISRTPEV（SEQ ID NO:17）。從左到右的組織：19癌組織（2食道癌，2腎癌，2肝癌，9肺癌，1淋巴結癌，1睪丸癌，2膀胱癌）。圖12M）基因符號：QSER1，肽：SLNGNQVTV（SEQ ID NO:30）。從左到右的組織：1細胞系（1胰腺），14癌組織（1頭頸部癌，1膽管癌，1腦癌，1乳腺癌，1食道癌，1腎癌，1肺癌，2皮膚癌，3膀胱癌，2子宮癌）。圖13N）基因符號：HAS3，肽：YMLDIFHEV（SEQ ID NO:32）。從左到右的組織：1正常組織（1子宮），15癌組織（1腦癌，2食道癌，1膽囊癌，3頭頸癌，4肺癌，4膀胱癌）。圖14O）基因符號：PKP3，肽：SLVSEQLEPA（SEQ ID NO:34）。從左到右的組織：1細胞系（1胰腺），1正常組織（1結腸），28癌組織（6頭頸部癌，1乳腺癌，1盲腸癌，3結腸癌，1結直腸癌，3食道癌，6肺癌，1卵巢癌，3直腸癌，3膀胱癌）。圖15P）基因符號：SERPINH1，肽：GLAFSLYQA（SEQ ID NO:40）。從左到右的組織：3細胞系（1腎臟，2胰腺），4正常組織（1腎上腺，1肺，2胎盤），41癌組織（3頭

頸部癌，3乳腺癌，2結腸癌，2食道癌，1膽囊癌，1肝癌，15肺癌，1卵巢癌，1胰腺癌，3直腸癌，2皮膚癌，1胃癌，4膀胱癌，2子宮癌）。圖16Q）基因符號：TMEM132A，肽：ALVEVTEHV（SEQ ID NO:56）。從左到右的組織：7正常組織（5肺，1甲狀腺，1氣管），64癌組織（6頭頸癌，12腦癌，4乳腺癌，3食道癌，1膽囊癌，5腎癌，21肺癌，1淋巴結癌，7卵巢癌，1胰腺癌，1皮膚癌，2子宮癌）。圖17R）基因符號：PRC1，肽：GLAPNTPGKA（SEQ ID NO:57）。從左到右的組織：14癌組織（1頭頸部癌，1乳腺癌，2食道癌，6肺癌，1卵巢癌，1皮膚癌，1膀胱癌，1子宮癌）。圖18S）基因符號：MAPK6，肽：LILESIPVV（SEQ ID NO:58）。從左到右的組織：2細胞系（1血細胞，1皮膚），25癌組織（5頭頸部癌，1結腸癌，2食道癌，1白血球白血病癌，8肺癌，2淋巴結癌，3皮膚癌，2膀胱癌，1子宮癌）。圖19T）基因符號：PPP4R1，肽：SLLDTLREV（SEQ ID NO:59）。從左到右的組織：1正常組織（1小腸），8癌組織（1頭頸部癌，2食道癌，4肺癌，1卵巢癌）。圖12U）基因符號：TP63，肽：VLVPYEPPQV（SEQ ID NO:77）。從左到右的組織：2正常組織（1食道，1氣管），47癌組織（8頭頸部癌，4食道癌，1膽囊癌，14肺癌，7淋巴結癌，2攝護腺癌，1皮膚癌，8膀胱癌）。圖21V）基因符號：KIAA0947，肽：AVLPHVDQV（SEQ ID NO:81）。從左到右的組織：

3細胞系（1血細胞，1胰腺），12癌組織（5腦癌，2食道癌，1肺癌，3淋巴結癌，1子宮癌）。

【0168】 圖2A至2D顯示了本發明的源基因的代表性表達特徵，這些基因在一系列正常組織（白色柱）的食道癌中以及11個食道癌症樣本（黑色柱）中高度過度表達或專門表達。從左到右的組織：7動脈，1腦，1心臟，2肝，2肺，2靜脈，1脂肪組織，1腎上腺，4骨髓，1結腸，2食道，2膽囊，1腎，6淋巴結，1胰腺，1腦垂體，1直腸，1骨骼肌，1皮膚，1小腸，1脾，1胃，1胸腺，1甲狀腺，5氣管，1膀胱，1乳腺，3卵巢，3胎盤，1攝護腺，1睾丸，1子宮，11個食道癌樣本。圖 2A) CT45A1、CT45A3、CT45A5、CT45A6、CT45A2、RP11-342L5.1，基因符號：PTHLH；圖 2B) CLDN16，基因符號：KRT14；圖 2C) ESR1，基因符號：FAM83A；圖 2D) IDO1，基因符號：PDPN。

【0169】 圖3A至E顯示了健康HLA-A*02+供體的肽特異性CD8+T細胞體外反應的示例性結果，即，示例性免疫原性資料： 肽特定多聚體染色後流式細胞儀結果。圖3A) 基因符號：SF3B3，肽：ELDRTPPEV (SEQ ID NO: 97)；圖3B) 基因符號：TNC，肽：AMTQLLAGV (SEQ ID NO: 101)。另外，CD8+T細胞製備的方法為：使用抗CD28 mAb和HLA-A*02塗層的人工APC分別與SEQ ID NO: 5肽（C，左圖）、SEQ ID NO: 2肽（D，左圖）和SEQ ID NO:

77 肽（E，左圖）合成。經過 3 個週期的刺激後，用 A*02/SeqID No 5（C）、A*02/SeqID No 2（D）、A*02/SeqID No 77（E）的 2D 多聚體染色法對肽反應性細胞進行檢測。右圖（C、D 和 E）顯示用不相關 A*02/肽複合體刺激的細胞對照染色。活單細胞在 CD8+ 淋巴細胞上得到門控。Boolean門控幫助排除用不同肽特定的多聚體檢測的假陽性事件。提示了特異性多聚體+ 細胞和 CD8+ 淋巴細胞的頻率。

【實施方式】

【0170】 是否能刺激免疫反應取決於是否存在被宿主免疫系統視為異物的抗原。發現腫瘤相關抗原的存在增加了運用宿主免疫系統干預腫瘤生長的可能性。目前，針對癌症免疫治療，正在探索利用免疫系統的體液和細胞進行免疫的各種機制。

【0171】 細胞免疫反應的特定元素能特異性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的T-細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是 CD8 陽性T細胞在這種反應中發揮重要作用，TCD8$^+$ 能識別通常8至10個源自蛋白或位於細胞質的缺損核糖體產物（DRIP）的氨基酸殘基的主要組織相容性複合體（MHC）所載的肽中所含的I類分子。人MHC分子也稱為人白血球-抗原（HLA）。

【0172】 除非另有說明，否則本文使用的所有術語定義如下。

【0173】 術語「T細胞反應」是指由一種肽在體外或體內誘導的效應子功能的特異性擴散和啟動。對於MHC I類限制性細胞毒性T細胞，效應子功能可能為溶解肽脈衝的、肽前體脈衝的或天然肽表現的靶細胞、分泌細胞因子，優選為肽誘導的干擾素-γ，TNF-α 或 IL-2，分泌效應分子，優選為肽誘導的顆粒酶或穿孔素，或脫顆粒。

【0174】 本文所用「肽」這一術語，系指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。這些肽的長度優選為 9 個氨基酸，但至短可為 8 個氨基酸長度，至長可為 10、11、12 、13 或 14 個氨基酸或更長，如果為MHC-II類肽時（本發明肽的拉長變體），至長可為 14、15、16、17、18 、19 或 20 個氨基酸長度或更長。

【0175】 因此，「肽」這一術語應包括一系列氨基酸殘基的鹽，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。優選的情況是，鹽為肽的藥用鹽，例如：氯化物或乙酸（三氟乙酸）鹽。必須注意的是，本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為該不是體內的鹽。

【0176】 術語「肽」應也包括「寡肽」。本文使用的術語「寡肽」是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。寡肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要在寡肽中保持正確的表位即

可。通常，寡肽長度約小於30個氨基酸殘基，約長於15個氨基酸。

【0177】「多肽」這一術語是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α-氨基和羰基之間的肽鍵來連接。多肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要保持正確的表位即可。與術語肽或寡肽相對，「多肽」這一術語是指包含多於約30 個氨基酸殘基的分子。

【0178】一種肽、寡肽、蛋白質或編碼該分子的核苷酸如果能誘導免疫反應，則具有「免疫原性」（因此是本發明中的一種「免疫原」）。在本發明的情況下，免疫原性的更具體定義是誘導T細胞反應的能力。因此，「免疫原」是一種能夠誘導免疫反應的分子，並且在本發明的情況下，是一種能誘導T細胞反應的分子。在另一方面，所述免疫原可以是肽，肽與MHC的複合體、和/或用於提高特異性抗體或TCR抗性的蛋白。

【0179】I類T細胞「表位」要求的是一種結合至MHC I類受體上的短肽，從而形成一種三元複合體（MHC I類 α鏈、β-2-微球蛋白和肽），其可以透過T細胞負載匹配T細胞受體與具有適當親和力的 MHC/肽複合物結合來識別。結合至MHC I類分子的肽的典型長度為 8-14 個氨基酸，最典型為 9 個氨基酸長度。

【0180】在人類中，有三種編碼MHC I類分子的不同基因位點（人 MHC分子也是指定的人白血球抗原(HLA)）：HLA-A、HLA-B 和 HLA-C。HLA-A*01、

HLA-A*02 和 HLA-B*07 是可從這些基因位點表達的不同MHC I類等位元基因的實例。

【0181】 表 5：HLA-A*02 和 HLA-A*24 和最常見 HLA-DR 血清類型的表達頻率 F。頻率根據 Mori 等人（Mori et al., 1997）使用的 Hardy-Weinberg 公式 $F = 1 - (1-Gf)^2$ 改編，從美國人群範圍內的單體型頻率中推導出。由於連鎖不平衡，某些 HLA-DR 等位基因內的 A*02 或 A*24 組合與其預期單一頻率相比，可能是濃縮的或頻率較低。有關詳細資訊，請參閱 Chanock 等人的文獻（Chanock et al., 2004）。

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	高加索人（北美）	49.1%
A*02	非裔美國人（北美）	34.1%
A*02	亞裔美國人（北美）	43.2%
A*02	拉丁美洲（北美）	48.3%
DR1	高加索人（北美）	19.4%
DR2	高加索人（北美）	28.2%
DR3	高加索人（北美）	20.6%
DR4	高加索人（北美）	30.7%
DR5	高加索人（北美）	23.3%
DR6	高加索人（北美）	26.7%
DR7	高加索人（北美）	24.8%
DR8	高加索人（北美）	5.7%
DR9	高加索人（北美）	2.1%
DR1	非裔（北）美人	13.20%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR2	非裔（北）美人	29.80%
DR3	非裔（北）美人	24.80%
DR4	非裔（北）美人	11.10%
DR5	非裔（北）美人	31.10%
DR6	非裔（北）美人	33.70%
DR7	非裔（北）美人	19.20%
DR8	非裔（北）美人	12.10%
DR9	非裔（北）美人	5.80%
DR1	亞裔（北）美人	6.80%
DR2	亞裔（北）美人	33.80%
DR3	亞裔（北）美人	9.20%
DR4	亞裔（北）美人	28.60%
DR5	亞裔（北）美人	30.00%
DR6	亞裔（北）美人	25.10%
DR7	亞裔（北）美人	13.40%
DR8	亞裔（北）美人	12.70%
DR9	亞裔（北）美人	18.60%
DR1	拉丁裔（北）美人	15.30%
DR2	拉丁裔（北）美人	21.20%
DR3	拉丁裔（北）美人	15.20%
DR4	拉丁裔（北）美人	36.80%
DR5	拉丁裔（北）美人	20.00%
DR6	拉丁裔（北）美人	31.10%
DR7	拉丁裔（北）美人	20.20%
DR8	拉丁裔（北）美人	18.60%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR9	拉丁裔（北）美人	2.10%
A*24	菲律賓	65%
A*24	俄羅斯涅涅茨人	61%
A*24:02	日本	59%
A*24	馬來西亞	58%
A*24:02	菲律賓	54%
A*24	印度	47%
A*24	韓國	40%
A*24	斯里蘭卡人	37%
A*24	中國	32%
A*24:02	印度	29%
A*24	澳大利亞西部人	22%
A*24	美國	22%
A*24	俄羅斯薩馬拉人	20%
A*24	南美	20%
A*24	歐洲	18%

【0182】 本發明的肽，優選當如本文描述納入本發明的疫苗時與A*02。疫苗還可能包括泛結合MHC II類肽。因此，本發明的疫苗可用於治療A*02 陽性患者中的癌症，但不因為這些肽的廣泛結核性而必須選擇II類MHC同種異型。

【0183】 如果本發明的A*02肽與結合至另一等位基因例如A*24的肽組合，與單獨的MHC I類等位基因相比，可治療更高比例的患者群體。雖然在大多數人群中，

低於50%的患者可由單獨的等位基因來解決問題，但是本發明中一種含HLA-A*24和HLA-A*02表位的疫苗可以治療任何相關人群中至少60%的患者。具體來說，各區域中，以下比例的患者這些等位基因中的至少一個有肯定效果：美國61%、西歐62%、中國75%、韓國77%、日本86%（根據www.allelefrequencies.net計算）。

【0184】 在一項優選的實施方案中，術語「核苷酸序列」系指去氧核苷酸的雜聚物。

【0185】 編碼特定肽、寡肽或多肽的核苷酸序列可為天然核苷酸序列，也可為合成核苷酸序列。一般來說，編碼肽、多肽以及本發明蛋白的DNA片段由 cDNA 片段和短寡核苷酸銜接物，或一系列寡核苷酸組成，以提供一種合成基因，該基因能夠在包含源自微生物或病毒操縱子的調節元素的重組轉錄單元中被表達。

【0186】 如本文所用的術語「肽的核苷酸編碼」系指對肽進行核苷酸序列編碼，其中該肽包括與將由用於產生TCR的樹突細胞或另一細胞系統所表達該序列的生物系統相容的人工（人造）啟動和停止密碼子。

【0187】 本文提到的核酸序列既包括單鏈核酸也包括雙鏈核酸。因此，除非本文另有所指，否則，例如對於DNA，具體的序列是該序列的單鏈 DNA、該序列與其互補序列的雙工（雙鏈 DNA）以及該序列的互補序列。

【0188】「編碼區」這一術語是指在基因的天然基因組環境中天然或正常編碼該基因的表達產物的那部分基因，即，體內編碼該基因的天然表達產物的區域。

【0189】編碼區可來自非突變（「正常」）基因、突變基因或異常基因，甚至還可以來自DNA序列，完全可在實驗室中使用本領域熟知的DNA合成方法合成。

【0190】「表達產物」這一術語是指多肽或蛋白，它是基因和遺傳碼退化並因而編碼同樣的氨基酸所造成的任何核酸序列編碼同等物的翻譯產物。

【0191】「片斷」這一術語，當指的是一種編碼序列時，表示包含非完整編碼區的DNA的一部分，其表達產物與完整編碼區表達產物基本上具有相同的生物學功能或活性。

【0192】「DNA 片段」這一術語是指一種DNA聚合物，以單獨的片段形式或一種較大DNA結構的組分形式存在，它們從至少分離過一次的DNA中以基本純淨的形式獲得，即不含污染性內源性材料，並且獲得的數量或濃度能夠使用標準生化方法，例如使用選殖載體，進行識別、操縱和回收該片段及其組分核苷酸序列。此類片段以開放閱讀框架（未被內部未翻譯序列打斷）或內含子（通常表現于真核基因中）的形式存在。未翻譯DNA序列可能存在於開放閱讀框架的下游，在那裏其不會干預編碼區的操縱或表達。

【0193】「引物」這一術語表示一種短核酸序列，其可與一個DNA鏈配對，並在DNA聚合酶開始合成去氧核糖核酸鏈之處提供一個游離的 3'-OH 末端。

【0194】「啟動子」這一術語表示參與RNA聚合酶的結合從而啟動轉錄的DNA區域。

【0195】術語「分離」表示一種物質從其原來的環境(例如，如果是天然發生的則是天然環境）中被移走。例如，活體動物中的天然核苷酸或多肽不是分離的，但是，從天然系統中一些或所有共存物質中分離出來的核苷酸或多肽是分離的。此類多核苷酸可能是載體的一部分和/或此類多核苷酸和多肽可能是一種組合物的一部分，並且由於該載體或組合物不是其天然環境的一部分，因此它仍然是分離的。

【0196】本發明中披露的多核苷酸和重組或免疫原性多肽也可能以「純化」的形式存在。術語「純化」並非要求絕對的純度；它只是一個相對的定義，可以包括高度純化或部分純化的製劑，相關領域技術人員能理解這些術語。例如，各個從已用傳統方法純化為具有電泳同質性的 cDNA 庫中分離出的各種克隆物。明確考慮到將起始材料或天然物質純化至少一個數量級，優選為兩或三個數量級，更優選為四或五個數量級。此外，明確涵蓋所述多肽的純度優選為 99.999%，或至少為 99.99% 或 99.9%；甚而適宜為以重量計 99% 或更高。

【0197】 根據本發明公開的核酸和多肽表達產物，以及包含此類核酸和/或多肽的表達載體可能以「濃縮的形式」存在。本文使用的術語「濃縮」是指材料的濃度至少是其自然濃度的大約2、5、10、100或1000倍，有優勢的是，按重量計為0.01%，優選為至少0.1%。也明確考慮到，按重量計約為0.5%、1%、5%、10%和20%的濃縮製劑。序列、構型、載體、克隆物以及包含本發明的其他材料可有優勢地以濃縮或分離的形式存在。「活性片段」這一術語是指產生免疫反應的片段（即具有免疫原性活性），通常是一種肽、多肽或核酸序列的片段，不論是單獨或可選地與合適的佐劑一起或在載體中給予一種動物，比如哺乳動物，例如兔子或小鼠，也包括人；這種免疫反應採用的形式是在接受動物（如：人）體內刺激T細胞反應。或者，「活性片段」也可用於誘導體外T細胞反應。

【0198】 本文使用的「部分」(portion)、「節段」(segment)、「片段」(fragment)這幾個術語，當與多肽相關地使用時是指殘基的連續序列，比如氨基酸殘基，其序列形成一個較大序列的子集。例如，如果一個多肽以任一種肽鏈內切肽酶（如胰蛋白酶或糜蛋白酶）進行處理，則該處理獲得的寡肽會代表起始多肽的部分、節段或片段。當與多核苷酸相關地使用時，這些術語系指用任何核酸內切酶處理所述多核苷酸產生的產物。

【0199】 根據本發明，術語「等同度百分比」或「等同百分比」，如果指的是序列，則表示在待對比序列（「被

對比序列」）與所述序列或請求項的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或請求項的序列進行比較。然後根據下列公式計算等同度百分比：

等同度百分比= 100 [1 -(C/R)]

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

(i) 參考序列中每個城基或氨基酸序列在被對比序列中沒有對應的對準城基或氨基酸；

(ii) 參考序列中每個空隙，以及

(iii) 參考序列中每個對準城基或氨基酸與被比對比序列中對準城基或氨基酸不同，即構成一個差異以及

(iiii) 必須在對準序列的第 1 位置開始對準；

並且 R 是參考序列與被對比序列對準長度上在參考序列中產生任何空隙也計算為一個城基或氨基酸的參考序列中的城基或氨基酸數目。

【0200】 如果「被對比序列」和「參考序列」之間存在的一個對準按上述計算的等同度百分比大致等於或大於指定的最低等同度百分比，則被對比序列與參考序列具有指定的最低等同度百分比，雖然可能存在按本文上述計算的等同度百分比低於指定等同度百分比的對準。

【0201】 因此，如上所述，本發明提出了一種肽，其包括選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93群組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有88%同源性的其變體、或誘導與該肽發生T細胞交叉反應的一個

變體。本發明所述的肽具有與主要組織相容性複合體(MHC) I 或所述肽拉長版本的 II 類分子結合的能力。

【0202】 在本發明中，「同源性」一詞系指兩個氨基酸序列之間的同一度（參見上文的等同度百分比，如肽或多肽序列。前文所述的「同源」是透過將理想條件下調整的兩個序列與待比較序列進行比對後確定的。此類序列同源性可透過使用ClustalW等演算法創建一個排列而進行計算。也可用使用一般序列分析軟體，更具體地說，是Vector NTI、GENETYX或由公共資料庫提供的其他工具。

【0203】 本領域技術人員能評估特定肽變體誘導的T細胞是否可與該肽本身發生交叉反應（Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997）。

【0204】 發明人用給定氨基酸序列的「變體」表示，一個或兩個氨基酸殘基等的側鏈透過被另一個天然氨基酸殘基的側鏈或其他側鏈取代而發生改變，這樣，這種肽仍然能夠以含有給定氨基酸序列（由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成）的肽大致同樣的方式與HLA分子結合。例如，一種肽可能被修飾以便至少維持（如沒有提高）其能與HLA-A*02或 -DR 等合適MHC分子的結合槽相互作用和結合，以及至少維持（如沒有提高）其與活化T細胞的TCR結合的能力。

【0205】 隨後，這些T細胞可與細胞和殺傷細胞發生交叉反應，這些細胞表達多肽（其中包含本發明中定義的同源肽的天然氨基酸序列）。正如科學文獻和資料庫(Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997)中所述，HLA-A結合肽的某些位點通常為錨定殘基，可形成一種與HLA結合槽的結合模序相稱的核心序列，其定義由構成結合槽的多肽鏈的極性、電物理、疏水性和空間特性確定。因此，本領域技術人員能夠透過保持已知的錨殘基來修飾SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO:93提出的氨基酸序列，並且能確定這些變體是否保持與MHC I或 II 類分子結合的能力。本發明的變體保持與活化T細胞的TCR結合的能力，隨後，這些T細胞可與表達一種包含本發明定義的同源肽的天然氨基酸序列的多肽的細胞發生交叉反應並殺死該等細胞。

【0206】 如果無另有說明，那麼本文公開的原始（未修飾）肽可以透過在肽鏈內的不同（可能為選擇性）位點上取代一個或多個殘基而被修飾。優選情況是，這些取代位於氨基酸鏈的末端。此取代可能是保守性的，例如，其中一個氨基酸被具有類似結構和特點的另一個氨基酸所取代，比如其中一個疏水性氨基酸被另一個疏水性氨基酸取代。更保守的取代是具有相同或類似的大小和化學性質的氨基酸間的取代，例如，亮氨酸被異亮氨酸取代。在天然同源蛋白質家族序列變異的研究中，某些氨基酸的取代往往比其他氨基酸更具有耐受性，這些氨基酸往往表現出與

原氨基酸的大小、電荷、極性和疏水性之間的相似性相關，這是確定「保守取代」的基礎。

【0207】 在本文中，保守取代定義為在以下五種基團之一的內部進行交換：基團1—小脂肪族、非極性或略具極性的殘基(Ala, Ser, Thr, Pro, Gly)；基團2—極性、帶負電荷的殘基及其醯胺(Asp, Asn, Glu, Gln)；基團3—極性、帶正電荷的殘基(His, Arg, Lys)；基團4—大脂肪族非極性殘基(Met, Leu, Ile, Val, Cys)以及基團5—大芳香殘基(Phe, Tyr, Trp)。

【0208】 較不保守的取代可能涉及一個氨基酸被另一個具有類似特點但在大小上有所不同的氨基酸所取代，如：丙氨酸被異亮氨酸殘基取代。高度不保守的取代可能涉及一個酸性氨基酸被另一個具有極性或甚至具有鹼性性質的氨基酸所取代。然而，這種「激進」取代不能認為是無效的而不予考慮，因為化學作用是不完全可預測的，激進的取代可能會帶來其簡單化學原理中無法預見的偶然效果。

【0209】 當然，這種取代可能涉及普通 L-氨基酸之外的其他結構。因此，D-氨基酸可能被本發明的抗原肽中常見的 L-氨基酸取代，也仍在本公開的範圍之內。此外，非標準氨基酸（即，除了常見的天然蛋白原氨基酸）也可以用於取代之目的，以生產根據本發明的免疫原和免疫原性多肽。

【0210】 如果在一個以上位置上的取代發現導致肽的抗原活性基本上等於或大於以下定義值，則對這些取代的組合進行測試，以確定組合的取代是否產生對肽抗原性的疊加或協同效應。肽內被同時取代的位置最多不能超過4個。

【0211】 基本上由本文所指氨基酸序列組成的一種肽可能有一個或兩個非錨定氨基酸（見下面錨基序相關內容）被交換，而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。在另一實施方案中，在基本上由本文所述氨基酸序列組成的肽中，一個或兩個氨基酸可與其保守交換夥伴交換（見下文），而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。

【0212】 這些基本不與T細胞受體互動的氨基酸殘基可透過取代其他幾乎不影響T細胞反應並不妨礙與相關MHC結合的氨基酸而得到修飾。因此，除了特定限制性條件外，本發明的肽可能為任何包括給定氨基酸序列或部分或其變體的肽（發明人所用的這個術語包括寡肽或多肽）。

【0213】 表6：根據SEQ ID NO: 4、9和18的肽的變體和基序

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO: 4	A	L	F	G	T	I	L	E	L	
變體									V	
									I	
									A	
		M							V	
		M							I	
		M								
		M							A	
		A							V	
		A							I	
		A								
		A							A	
		V							V	
		V							I	
		V								
		V							A	
		T							V	
		T							I	
		T								
		T							A	
		Q							V	
		Q							I	
		Q								
		Q							A	
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO: 9	H	L	I	A	E	I	H	T	A	
變體									V	
									I	
									L	
		M							V	
		M							I	
		M							L	
		M								
		A							V	
		A							I	
		A							L	
		A								
		V							V	
		V							I	
		V							L	
		V								

		T							V	
		T							I	
		T							L	
		T								
		Q							V	
		Q							I	
		Q							L	
		Q								
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO:18	F	L	L	D	Q	V	Q	L	G	L
變體										V
										I
										A
		M								V
		M								I
		M								
		M								A
		A								V
		A								I
		A								
		A								A
		V								V
		V								I
		V								
		V								A
		T								V
		T								I
		T								
		T								A
		Q								V
		Q								I
		Q								
		Q								A

【0214】 較長（拉長）的肽也可能適合。MHC I類表位（通常長度為 8至11 個氨基酸）可能由肽從較長的肽或包含實際表位的蛋白中加工而產生。兩側有實際表位的殘基優選為在加工過程中幾乎不影響暴露實際表位所需蛋白裂解的殘基。

【0215】 本發明的肽可被拉長多達四個氨基酸，即1、2、3或4個氨基酸，可按照4:0與0:4之間的任何組合添加至任意一端。本發明的拉長組合可見表7。

【0216】 表7：本發明肽的拉長組合

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

【0217】 拉伸/延長的氨基酸可以是所述蛋白或任何其他氨基酸的原序列肽。拉長可用于增強所述肽的穩定性或溶解性。

【0218】 因此，本發明所述的表位可能與天然腫瘤相關表位或腫瘤特異性表位相同，也可能包括來自參考肽的不超過四個殘基的不同肽，只要它們有基本相同的抗原活性即可。

【0219】 在一項替代實施方案中，肽的一邊或雙邊被拉長4個以上的氨基酸，優選最多30個氨基酸的總長度。

這可形成MHC-II類結合肽。結合至MHC II類肽可透過本領域中已知的方法進行測試。

【0220】 因此，本發明提出了MHC I類表位的肽和變體，其中所述肽或抗體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸長度（即10、11、12、13、14個氨基酸，如果為拉長 II 類結合肽時，長度也可為15、16、17、18、19、20、21或22個氨基酸）。

【0221】 當然，本發明的肽或變體能與人主要組織相容性複合體（MHC）I 或 II 類分子結合。肽或變體與MHC複合物的結合可用本領域內的已知方法進行測試。

【0222】 優選情況是，當本發明的肽特異性T細胞相比於取代肽受到檢測時，如果取代肽在相對於背景肽溶解度增加達到最大值的一半，則該肽濃度不超過約1 mM，優選為不超過約1 μM，更優選為不超過約1 nM，再優選為不超過約100 pM，最優選為不超過約10 pM。也優選為，取代肽被 一個以上的T細胞識別，最少為 2 個，更優選為 3 個。

【0223】 在本發明的一個特別優選實施方案中，肽系由或基本系由根據SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO: 93 所選的氨基酸序列組成。

【0224】 基本由「...組成」系指本發明的肽，除了根據SEQ ID NO: 1 至SEQ ID NO: 93 中的任一序列或其變體組成外，還含有位於其他 N 和/或 C 端延伸處的氨基酸，而它們不一定能形成作為MHC分子表位的肽。

【0225】 但這些延伸區域對有效將本發明中的肽引進細胞具有重要作用。在本發明的一實施例中，該肽為融合蛋白的一部分，含來自NCBI、GenBank登錄號X00497的HLA-DR抗原相關不變鏈（p33，以下稱為「Ii」）的80個N-端氨基酸等。在其他的融合中，本發明的肽可以被融合到本文所述的抗體、或其功能性部分，特別是融合入抗體的序列，以便所述抗體進行特異性靶向作用，或者，例如進入本文所述的樹突狀細胞特異性抗體。

【0226】 此外，該肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和/或與MHC分子結合，從而引發更強的免疫反應。肽序列的該類優化方法是本領域內所熟知的，包括，例如，反式肽鍵和非肽鍵的引入。

【0227】 在反式肽鍵氨基酸中，肽（-CO-NH-）並未連接其殘基，但是其肽鍵是反向的。這種逆向反向模擬肽(retro-inverso peptidomimetics)可透過本領域已知的方法製備，例如：Meziere 等人在（Meziere et al., 1997）中所述的方法，以引用的方式併入本文。這種方法涉及製備包含骨架（而並非側鏈）改變的模擬肽。Meziere 等人（Meziere et al., 1997）的研究顯示，這些類比肽有利於MHC的結合和輔助性T細胞的反應。以 NH-CO 鍵替代 CO-NH 肽鍵的逆向反向肽大大地提高了抗水解性能。

【0228】 非肽鍵為-CH_2-NH、-CH_2S-、-CH_2CH_2-、-CH=CH-、-$COCH_2$-、-CH(OH)CH_2-和 -CH_2SO-

等。美國 4897445 號專利提出了多肽鏈中非肽鍵(-CH_2-NH)的非固相合成法，該方法涉及按標準程序合成的多肽以及透過氨基醛和一種含 $NaCNBH_3$ 的氨基酸相互作用而合成的非肽鍵。

【0229】 含上述序列的肽可與其氨基和/或羧基末端的其他化學基團進行合成，從而提高肽的穩定性、生物利用度、和/或親和力等。例如，苄氧羰基、丹醯基等疏水基團或叔丁氧羰基團可加入肽的氨基末端。同樣，乙醯基或9-芴甲氧羰基可能位於肽的氨基末端。此外，疏水基團、叔丁氧羰基團或氨基團都可能被加入肽的羧基末端。

【0230】 另外，本發明中的所有肽都可能經合成而改變其空間構型。例如，可能使用這些肽的一個或多個氨基酸殘基的右旋體，通常不是其左旋體。更進一步地，本發明中肽的至少一個氨基酸殘基可被熟知的一個非天然氨基酸殘基取代。諸如此類的改變可能有助於增加本發明肽的穩定性、生物利用度和/或結合作用。

【0231】 同樣，本發明中的肽或變體可在合成肽之前或之後透過特異氨基酸的反應而進行化學修飾。此類修飾的實施例為本領域所熟知，例如，在R. Lundblad所著的《Chemical Reagents for Protein Modification》(3rd ed. CRC Press, 2004)(Lundblad, 2004)中有概述，以參考文獻的方式併入本文。雖然氨基酸的化學修飾方法無限制，但其包括（但不限於）透過以下方法修飾：醯基化、脒基化、賴氨酸吡

哆基化、還原烷基化、以2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)三硝基苯基化氨基團、透過將半胱氨酸過甲酸氧化為磺基丙氨酸而對羧基團和巯基進行氨基修飾、形成易變衍生物、與其他巯基化合物形成混合二硫化合物、與馬來醯亞胺反應，與碘乙酸或碘乙醯胺羧甲基化、在鹼性 pH 值下與氰酸鹽甲氨醯化。在這方面，技術人員參考了《Current Protocols In Protein Science》(Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000))(Coligan et al., 1995)中第15章所述的在蛋白質化學修飾相關的廣泛方法。

【0232】 簡言之，修飾蛋白質的精氨醯殘基等往往基於於鄰二羰基化合物（如苯甲醯甲醛、2,3 –丁二酮以及1,2-烯巳二酮）的反應而形成加合物。另一個實施例是丙酮醛與精氨酸殘基的反應。半胱氨酸可在賴氨酸和組氨酸等親核位點不作隨同修飾的情況下就得到修飾。因此，有大量試劑可進行半胱氨酸的修飾。Sigma-Aldrich (http://www.sigma-aldrich.com) 等公司的網站含有具體試劑的資訊。

【0233】 蛋白質中二硫鍵的選擇性還原也很普遍。二硫鍵可在生物制藥熱處理中形成和氧化。伍德沃德氏試劑K可用於修飾特定的谷氨酸殘基。N-（3-二甲氨基丙基）-N´-乙基-碳二亞胺可用于形成賴氨酸殘基和谷氨酸殘基的分子內交聯。例如：焦碳酸二乙酯是修飾蛋白質組氨酸殘基的試劑。組氨酸也可使用 4-羥基-2-壬烯醛進行

修飾。賴氨酸殘基與其他α-氨基團的反應，例如，有利於肽結合到蛋白/肽的表面或交聯處。賴氨酸聚是多（乙烯）乙二醇的附著點，也是蛋白質糖基化的主要修飾位點。蛋白質的蛋氨酸殘基可透過碘乙醯胺、溴乙胺、氯胺T等被修飾。

【0234】 四硝基甲烷和N-乙醯基咪唑可用於酪氨酸殘基的修飾。經二酪氨酸形成的交聯可透過過氧化氫/銅離子完成。

【0235】 對色氨酸修飾的最近研究中使用了N-溴代琥珀醯亞胺、2-羥基-5-硝基苄溴或3-溴-3-甲基-2-(2-硝苯巯基)-3H-吲哚（BPNS-糞臭素）。

【0236】 當蛋白與戊二醛、聚乙二醇二丙烯酸酯和甲醛的交聯用於配製水凝膠時，治療性蛋白和含聚乙二醇的肽的成功修飾往往可延長迴圈半衰期。針對免疫治療的變態反應原化學修飾往往透過氰酸鉀的氨基甲醯化實現。

【0237】 一種肽或變體，其中肽被修飾或含非肽鍵，優選為本發明的實施例。一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽聯接）可使用Lukas等人（Lukas et al., 1981）以及此處引用的參考文獻所披露的固相肽合成Fmoc-聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基（Fmoc）團對N-氨基提供臨時保護。使用N, N-二甲基甲醯胺中的20%二甲基吡啶中對這種堿高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚（在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下）、丁基酯（在谷氨酸和天門冬氨酸的情況下）、

叔丁氧羰基衍生物（在賴氨酸和組氨酸的情況下）、三苯甲基衍生物（在半胱氨酸的情況下）及4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺醯基衍生物（在精氨酸的情況下），側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為C-末端殘基，側鏈氨基功能保護所使用的是由4,4'-二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯醯胺（骨架單體）、雙丙烯醯乙烯二胺（交聯劑）和N-丙烯醯肌胺酸甲酯（功能劑）構成。使用的肽-樹脂聯劑為酸敏感的4-羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的氨基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入，但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外，它們使用被逆轉的N,N-二環己基碳二亞胺/1-羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或isotin測試程序監測。合成完成後，用濃度為95%含50%清道夫混合物的三氟醋酸，從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解肽。常用的清道夫混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水，準確的選擇依據合成肽的氨基酸組成。此外，固相和液相方法結合使用對肽進行合成是可能的（例如，請參閱（Bruckdorfer et al., 2004）以及本文引用的參考文獻）

【0238】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序制得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道

夫混合物。肽合成試劑一般可從Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0239】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0240】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（CSPE）、反相高效液相色譜法、酸解後的氨基酸分析、快原子轟擊(FAB)質譜分析以及MALDI和ESI-Q-TOF質譜分析進行肽分析。

【0241】 為了選擇過度表現的肽，計算了表現圖，其顯示樣本中位元表現量以及複製變化。該特點使相關腫瘤實體的樣本與正常組織樣本的基線值並列。可透過計算調節線性混合效應模型（Pinheiro et al., 2015）的p值將以上每個特點併入過度表現分數中，從而透過假發現率(Benjamini and Hochberg, 1995) 調整多項檢驗（參見實施例1）。

【0242】 對於透過質譜法對HLA配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的HLA分子進行純化並對HLA相關肽進行分離。分離的肽分開，並透過線上納米-電噴霧-電離（nanoESI）液相色譜- 譜（LC-MS）實驗進行鑒定。由此產生的肽序列的驗證方法是，將食道癌樣本（N = 16 個 A*02 陽性樣本）中記錄的自然腫瘤相關肽（TUMAP）的片段模式與相同序列相應合成參考

肽的片段模式進行比較。由於這些肽被直接鑒定為原發腫瘤HLA分子的配體，因此這些結果為來自 16 名食道癌患者的原發性癌組織上確定肽的自然加工和表現提供了直接證據。

【0243】 發現管道 XPRESIDENT® v2.1（例如，參見 US 2013-0096016，並在此透過引用將其整體併入本文）考慮到識別和選擇相關過量表現的候選肽疫苗，這基於與幾種不同的非癌組織和器官相比癌症或其他受感染組織的HLA限制肽水準直接相對定量結果。這透過以下方法實現：使用專有資料分析管道處理的LC-MS採集資料、結合序列識別演算法、譜聚類、計算離子、保留時間調整、充電狀態卷積以及正態化而開發無標記差異化定量方法。

【0244】 為每種肽和樣本確立了表現水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量表現的肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量表現的肽已經得到確定。

【0245】 對來自食道癌組織樣本的HLA肽複合物進行純化，並且對 HLA相關肽使用LC-MS進行分離和分析（見實施例）。本申請中包含的所有TUMAP使用原發性食道癌樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性食道癌上的表現。

【0246】 在多個食道癌和正常組織上確定的TUMAP用無標記LC-MS資料的離子計數方法進行量化。該方法假定肽的LC-MS信號區域與樣本中其豐度相關。各種

LC-MS實驗中肽的所有量化信號在集中趨勢基礎上進行正常化，根據每個樣品進行平均，併合併入柱狀圖（被稱為表現圖）。表現圖整合了不同分析方法，如：蛋白資料庫檢索、譜聚類、充電狀態卷積（除電）和保留時間校準和正態化。

【0247】 除了過量表現肽之外，也測試了潛在基因的mRNA表達。mRNA資料透過RNA測序分析正常組織和癌組織獲得（見實施例2）。正常組織資料的額外來源是從 3000 個正常組織樣本中公開獲得的RNA表達資料的資料庫（Lonsdale, 2013）。獲得自蛋白編碼mRNA的肽在癌組織中高表達，但是在重要正常組織中非常低或不存在，這些肽被優選納入本發明。

【0248】 此外，發現管道XPRESIDENT® v2.x可對癌症或其他感染組織上的MHC-肽（優選為HLA限制性肽）進行直接的絕對定量。簡言之，總細胞計數根據被分析的組織樣本的總DNA含量來計算。組織樣本中TUMAP的總肽量用nanoLC-MS/MS測定為天然TUMAP的比率以及TUMAP同位素標記版本的已知量，稱為內部標準。TUMAP分離效率確定方法：把肽：所有選定TUMAP的MHC在TUMAP分離程序儘早的時間點加入組織裂解液，並在肽分離成後完成後透過nanoLC-MS/MS檢測。總細胞計數和總肽量根據每份組織樣本三次測量值來計算。所述肽特異性隔離效率計算為三次測量10次加標實驗的平均值（見實施例6和表12）。

【0249】本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量表現或只表現本發明肽的食道癌。這些肽由質譜分析法直接顯示出，而由HLA分子自然表現于原發性人食道癌樣本中。

【0250】與正常組織相比，癌症中高度過量表達肽來源的許多源基因/蛋白質（也指定為「全長蛋白」或「潛在蛋白」）-本發明相關的「正常組織」是健康食道細胞或其他正常細胞，這表明腫瘤與這些源基因的高度關聯性（見實施例2）。此外，這些肽本身也在腫瘤組織中過度表現（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自食道癌患者的樣本），但不在正常組織中過度表現（見實施例1）。

【0251】HLA結合肽能夠被免疫系統識別，特別是T淋巴細胞。T細胞可破壞表現被識別HLA/肽複合體的細胞（如：表現衍生肽的食道癌細胞）。

【0252】本發明的所有肽已被證明具有刺激T細胞反應的能力，並過量表現，因而可用于製備本發明的抗體和/或TCR，例如可溶性TCR（參見實施例3和實施例4）。此外，肽與相應的MHC組合時，也可用于製備本發明的抗體和/或TCR，特別是sTCR。各個方法均為技術人員所熟知，並在各個文獻中可找到。因此，本發明的肽可用于在患者中產生免疫反應，從而能夠毀滅腫瘤細胞。患者的免疫反應能夠透過直接給予患者所述肽或前體物質（如，加長肽、蛋白或編碼這些肽的核酸），較理想是與加強免疫原性的製劑相結合，而進行誘導。源自該治療性

疫苗的免疫反應預期能夠高度特異性地對抗腫瘤細胞，因為本發明的目標肽在正常組織上表現的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良自體免疫反應的風險。

【0253】 本說明書還涉及包含一個α鏈和一個β鏈(「α/βTCR」)的T細胞受體(TCR)。還提供了由MHC分子表現時可與TCR和抗體結合的HAVCR1-001肽。本說明書還涉及核酸、載體和用於表達TCR的宿主細胞和本說明書的肽；以及使用它們的方法。

【0254】 術語「T細胞受體」（縮寫TCR）是指一種異二聚體分子，其包含一個α多肽鏈（α鏈）和一個β多肽鏈(β鏈)，其中所述異二聚體受體能夠結合由HLA分子表現的肽抗原。該術語還包括所謂的γ/δTCR。

【0255】 在一個實施方案中，本說明書提供了如本文中所描述的產生TCR的方法，該方法包括在適於促進TCR表達的條件下培養能夠表達TCR的宿主細胞。

【0256】 另一個方面，本說明書涉及一種根據本說明書的方法，其中所述抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的I或II類MHC分子，或該抗原透過四聚化被載入I或II類MHC四聚體/I或II類MHC複合單體。

【0257】 α/βTCR的α和β鏈和γ/δTCR的γ和δ鏈通常被視為各自有兩個「結構域」，即可變和恒定結構域。可變結構域由可變區(V)和連接區(J)的組合。可變結構域還可能包括一個前導區(L)。β和δ鏈還可能

包括一個多樣區（D）。α和β恒定結構域還可能包括錨定α和β鏈至細胞膜的C末端跨膜（TM）結構域。

【0258】相對於γ/δ的TCR，如本文所用的術語「TCRγ可變域」是指無前導區（L）的TCRγ V（TRGV）區與TCRγ（TRGJ）區的組合，術語TCRγ恒定結構域是指細胞外TRGC區域，或C-末端截短TRGC序列。同樣地，「TCRδ可變域」是指無前導區（L）的TCRδ V(TRDV）區與TCRδ D/J（TRDD/TRDJ）區的組合，術語「TCRδ恒定結構域」是指細胞外TRDC區域，或C-末端截短TRDC序列。

【0259】本說明書的TCR優選結合至HAVCR1-001肽HLA分子複合體，其具有約100μM或更小、約50μM或更小、約25μM或更小或約10μM或更小的結合親和力(KD)。更為優選的情況是具有約1μM或更小、約100nM或更小、約50nM或更小或約25nM或更小結合親和力的高親和力TCR。本發明TCR優選結合親和力範圍的非限制性示例包括約1 nM至約10 nM；約10 nM至約20 nM；約20 nM至約30 nM；約30 nM至約40 nM；約40 nM至約50 nM；約50 nM至約60 nM；約60 nM至約70 nM；約70 nM至約80 nM；約80 nM至約90 nM；以及約90 nM至約100 nM。

【0260】與本說明書TCR相關，本文使用的「特異性結合」及其語法變體用於表示對100μM或更小的

HAVCR1-001肽-HLA分子複合體有結合親和力(KD)的TCR。

【0261】 本說明書的α/β異二聚體TCR可能具有其恒定結構域之間的引入二硫鍵。這種類型的優選TCR包括那些具有一個TRAC恒定域序列和TRBC1或TRBC2恒定域序列的TCR，除非TRAC的蘇氨酸48和TRBC1或TRBC2的絲氨酸57被半胱氨酸殘基取代，所述半胱氨酸形成TRAC恒定域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定區序列之間的二硫鍵。

【0262】 不論具有或不具有上述的引入鏈間鍵，本說明書的α/β雜二聚體TCR可能具有一個TRAC恒定域序列和一個TRBC1或TRBC2恒定結構域序列，並且TRAC恒定結構域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定結構域序列可能透過TRAC外顯子2的Cys4和TRBC1或TRBC2外顯子2的Cys4之間的天然二硫鍵相連。

【0263】 本說明書的TCR可能包括選自由放射性核素、螢光團和生物素組成組中的可檢測標記。本說明書的TCR可能共軛至治療活性劑，如放射性核素、化學治療劑或毒素。

【0264】 在一個實施方案中，具有在α鏈中至少一個突變和/或具有在β鏈中至少一個突變的TCR與非突變TCR相比，已經修改了糖基化。

【0265】 在一個實施方案中，在TCRα鏈和/或TCRβ鏈中包括至少一個突變的TCR對HAVCR1-001肽HLA

分子複合體有結合親和力和/或結合半衰期，其是包含非突變TCR α鏈和/或非突變TCR β鏈的TCR的結合親和力的至少兩倍。腫瘤特異性TCR親和力增強及其開發依賴於存在最佳TCR親和力的窗口。這樣窗口的存在是根據觀察結果：HLA-A2限制性病原體特異性TCR與HLA-A2限制性腫瘤相關自身抗原特異性TCR相比，KD值通常大約低10倍。現已知，儘管腫瘤抗原可能具有免疫原性，但是因為腫瘤來自個體自身的細胞，因此僅突變蛋白質或翻譯加工改變的蛋白將被免疫系統視為外來物質。上調或過度表達（所謂的自體抗原）的抗原不一定誘導針對腫瘤的功能免疫應答：表達對這些抗原具有高度反應性的TCR的T細胞會在一種稱為中樞耐受的程序中在胸腺內被不利選擇，也就是說只有對自身抗原具有低親和力TCR的細胞才仍然存在。因此，本說明書的TCR或變體對HAVCR1-001的親和力可透過本領域熟知的方法來增強。

【0266】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明TCR的一種方法，所述方法包括：用A2/HAVCR1-001肽單體從HLA-A*02陰性健康供體孵育PBMC，用四聚體-藻紅蛋白（PE）孵育PBMC並透過螢光活化細胞分選(FACS) – Calibur方法分析分離高親和力T細胞。

【0267】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明TCR的一種方法，所述方法包括：獲得含整個人體TCR αβ基因位點(1.1 and 0.7 Mb)的轉基因小鼠（其T細胞表

達多樣化人類TCR，用於補償小鼠TCR缺乏），用HAVCR1-001對小鼠進行免疫處理，用四聚體-藻紅蛋白(PE)孵育從轉基因小鼠中獲得的PBMC，並透過螢光活化細胞分選(FACS) – Calibur方法分析分離高親和力T細胞。

【0268】 一方面，為了獲得表達本說明書TCR的T細胞，編碼本說明書TCR-α和/或TCR-β鏈的核酸被克隆入表達載體，諸如γ反轉錄病毒或慢病毒。重組病毒產生，然後測試功能，如抗原專一性和功能性親合力。然後，最終產品的等分試樣被用於轉導靶T細胞群體（一般純化自患者的 PBMC），在輸入患者前展開。另一方面，為了獲得表達本說明書TCR的T細胞，TCR RNA透過本領域中已知的技術（例如，體外轉錄系統）合成。然後，體外合成的TCR RNA透過電穿孔來重新表達腫瘤特異性TCR-α和/或TCR-β鏈被引入獲得自健康供體的初級CD8+T細胞。

【0269】 為了增加表達，編碼本說明書TCR的核酸在操作上可連接到強啟動子，例如逆轉錄病毒長末端重複序列(LTR)、巨細胞病毒(CMV)、鼠幹細胞病毒(MSCV)U3、磷酸甘油酸激酶 (PGK)、β 肌動蛋白、泛素蛋白和猿猴病毒 40 (SV40)/CD43複合啟動子、延伸因子(EF)-1a和脾臟病灶形成病毒 (SFFV) 啟動子。在一優選實施方案中，啟動子與被表達的核酸異源。除了強啟動子外，本說明書的TCR表達盒可能含有附加的元素，

可提高轉基因表達，包括中樞多聚嘌呤區（CPPT），其促進了慢病毒構建體的核易位（Follenzi et al., 2000），和土撥鼠肝炎病毒轉錄後調控元素（WPRE），其透過提高RNA穩定性增加轉基因表達水準(Zufferey et al., 1999)。

【0270】本發明TCR的α和β鏈可由位於分開的載體核酸進行編碼，或者可透過位於同一載體的多核苷酸編碼。

【0271】實現高水準的TCR表面表達需要引入TCR的TCR-α和TCR-β鏈高水準轉錄。為了實現它，本說明書的TCR-α和TCR-β鏈可在單一的載體中被克隆入雙順反子構建體，其已被證明能夠克服這一障礙。使用TCR-α和TCR-β鏈在之間的病毒核糖體間進入位元點（IRES）導致兩鏈的協同表達，因為TCR-α和TCR-β鏈均由在翻譯過程中分成兩個蛋白質的單一轉錄物產生，從而確保了產生TCR-α和TCR-β鏈的相等摩爾比。(Schmitt et al. 2009)。

【0272】編碼本說明書TCR的核酸可以是被優化以從宿主細胞增加表達的密碼子。遺傳密碼冗餘讓一些氨基酸被一個以上的密碼子編碼，但某些密碼子沒有其他密碼子「優化」，因為匹配 tRNA以及其他因子的相對可用性(Gustafsson et al., 2004)。修改TCR-α和TCR-β基因序列使得每個氨基酸被用於哺乳動物基因表達的最佳密碼子編碼，以及消除mRNA不穩定性基序或隱蔽剪

接位元點，已顯示可顯著提高TCR-α和TCR-β基因表達(Scholten et al., 2006)。

【0273】 此外，引入的和內源性TCR鏈之間的錯配可能會導致獲得特異性，其構成自身免疫的顯著風險。例如，混合TCR二聚體的形成可能會減少可用以形成正確配對TCR複合體的CD3分子數目，因此，可以顯著降低表達所引入TCR的細胞的功能性親合力 (Kuball et al., 2007)。

【0274】 為了減少錯配，本說明書引入的TCR鏈的C-末端結構域可以進行修改以促進鏈間親和力，同時降低引入鏈與內源TCR配對的能力。這些策略可能包括用鼠配對物取代人類TCR-α和TCR-βC端結構域（鼠化 C 端結構域）；透過引入第二個半胱氨酸殘基到引入TCR的TCR-α和TCR-β鏈產生 C 末端結構域的第二個鏈間二硫鍵（半胱氨酸修飾）；交換TCR-α和TCR-β鏈 C 端結構域的相互作用殘基(「杵臼結構」)；直接融合TCR-α和TCR-β鏈可變結構域至 CD3ζ（CD3ζ 融合）(Schmitt et al. 2009)。

【0275】 在一實施方案中，宿主細胞被改變結構以表達本說明書的TCR。在一優選實施方案中，宿主細胞為人T細胞或T細胞祖細胞。在一些實施方案中，T細胞或T細胞祖細胞從癌症患者中獲得。在另一些實施方案中，T細胞或T細胞祖細胞從健康供體中獲得。本說明書的宿主細胞相對於待治療的患者可以為同種異體或自體的。在一實

施方案中，宿主是被轉化以表達 α/β TCR的 γ/δ T細胞。

【0276】 「藥物組合物」是指適合在醫療機構用於人體的組合物。優選地，藥物組合物為無菌狀態，並根據 GMP 指南生產。

【0277】 藥物組合物包括游離形式或以一種藥用鹽形式存在的肽（也參見上文）。此處使用的「藥用鹽」系指所公開的肽的一種衍生物，其中該肽由制酸或藥劑的城鹽進行改性。例如，用與適合的酸反應的游離城（通常其中的中性藥物有一個中性 $-NH_2$ 基團）製備酸式鹽。適合製備酸鹽的酸包括有機酸，如：乙酸、丙酸、羥基酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、丙二酸、丁二酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、甲磺酸、苯磺酸、水楊酸等等、以及無機酸，如：鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等。相反，可在一種肽上表現的酸性基團的城鹽製劑使用藥用城基進行製備，如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺等等。

【0278】 在特別優選的實施方案中，藥物組合物包括乙酸（醋酸鹽），三氟乙酸鹽或鹽酸（氯化物）形式的肽。

【0279】 本發明中所述的藥劑優選為一種免疫治療藥劑，例如，一種疫苗。該疫苗可直接給到患者的受影響器官，也可i.d.、i.m.、s.c.、i.p. 和 i.v. 注射方式全身給藥，或體外應用到來自患者或其細胞株的細胞（隨後再將這些細胞注入到患者中），或體外用於從來自患者的

免疫細胞的一個細胞亞群（然後再將細胞重新給予患者）。如果核酸體外注入細胞，可能有益於細胞轉染，以共同表達免疫刺激細胞因子（如白細胞介素-2）。肽可完全單獨給藥，也可與免疫刺激佐劑相結合（見下文）、或與免疫刺激細胞因子聯合使用、或以適當的輸送系統給藥（例如脂質體）。該肽也可共軛形成一種合適的載體（如鑰孔蟲戚血藍蛋白（KLH）或甘露）到合適的載體（參閱WO 95/18145及(Longenecker et al., 1993)）。肽也可能被標記，可能是融合蛋白，或可能是雜交分子。在本發明中給出序列的肽預計能刺激CD4或CD8 T細胞。然而，在有CD4 T-輔助細胞的幫助時，CD8 T細胞刺激更加有效。因此，對於刺激CD8 T細胞的MHC-I類表位，一種雜合分子的融合夥伴或片段提供了刺激CD4陽性T細胞的適當表位。CD4-和CD8刺激表位為本領域所熟知、並包括本發明中確定的表位。

【0280】一方面，疫苗包括至少含有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93中提出的一種肽以及至少另外一種肽，優選為2至50個、更優選為2至25個、再優選為2至20個、最優選為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18個肽。肽可能從一個或多個特定TAA中衍生，並且可能與MHC I類分子結合。

【0281】另一方面，本發明提出了一種編碼本發明中肽或肽變體的核酸（如多聚核苷酸）。多聚核苷酸可能為，例如，DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物，它們可

為單鏈和/或雙鏈、或多聚核苷酸的原生或穩定形式（如：具有硫代磷酸骨架的多聚核苷酸），並且只要它編碼肽，就可能包含也可能不包含內含子。當然，多聚核苷酸只能編碼加入天然肽鍵並含有天然氨基酸殘基的肽。另一個方面，本發明提出了一種可根據本發明表達多肽的表達載體。

【0282】 對於連接多核苷酸，已經開發出多種方法，尤其是針對DNA，可透過向載體補充可連接性末端等方法進行連接。例如，可向DNA片段加入補充性均聚物軌道，之後DNA片段被插入到載體DNA。然後，透過補充性均聚物尾巴的氫鍵結合，將載體和DNA片段結合，從而形成重組DNA分子。

【0283】 含有一個或多個酶切位點的合成接頭為DNA片段與載體連接提供了另一種方法。含各種限制性核酸內切酶的合成接頭可透過多種管道購得，其中包括從國際生物技術公司（International Biotechnologies Inc, New Haven, CN, 美國）購得。

【0284】 編碼本發明多肽的DNA理想修飾方法是使用Saiki等人（Saiki et al., 1988）所採用的聚合酶鏈反應方法。此方法可用於將DNA引入合適的載體（例如，透過設計合適的酶切位點），也可用於本領域已知的其他有用方法修飾DNA。如果使用病毒載體，痘病毒載體或腺病毒載體為優選。

【0285】 之後，DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能表達於合適的宿主，從而製成含本發明肽或變體的多肽。因此，可根據已知技術使用編碼本發明肽或變體的DNA，用本文所述方法適當修飾後，構建表達載體，然後表達載體用於轉化合適宿主細胞，從而表達和產生本發明中的多肽。此類技術包括那些公開於，例如，美國專利 4,440,859、4,530,901、4,582,800、4,677,063、4,678,751、4,704,362、4,710,463、4,757,006、4,766,075 和 4,810,648。

【0286】 編碼含本發明化合物多肽的DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能被加入到其他多種DNA序列，從而引入到合適的宿主中。同伴DNA將取決於宿主的性質、DNA引入宿主的方式、以及是否需要保持為游離體還是要相互結合。

【0287】 一般來說，DNA可以適當的方向和正確的表達閱讀框架附著到一種表達載體（如質粒）中。如有必要，該DNA可能與所需宿主所識別的相應轉錄和翻譯調節控制核苷酸序列連接，儘管表達載體中一般存在此類控制功能。然後，該載體透過標準方法被引入宿主。一般來說，並不是所有的宿主都會被載體轉化。因此，有必要選擇轉化過的宿主細胞。選擇方法包括用任何必要的控制元素向表達載體插入一個DNA序列，該序列對轉化細胞中的可選擇性屬性（如抗生素耐藥性）進行編碼。

【0288】 另外，有這種選擇屬性的基因可在另外一個載體上，該載體用來協同轉化所需的宿主細胞。

【0289】 然後，本發明中的重組DNA所轉化的宿主細胞在本文中所述本領域技術人員熟悉的合適條件下培養足夠長的時間，從而表達之後可回收的肽。

【0290】 有許多已知的表達系統，包括細菌（如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌）、酵母（如酵母菌）、絲狀真菌（如曲黴菌）、植物細胞、動物細胞及昆蟲細胞。該系統可優選為哺乳動物細胞，如來自 ATCC 細胞生物學庫（Cell Biology Collection）中的 CHO 細胞。

【0291】 典型的哺乳動物細胞組成型表達載體質粒包括CMV或含一個合適的多聚A尾巴的SV40啟動子以及抗性標誌物（如新黴素）。一個實例為從Pharmacia公司（Piscataway，新澤西，美國）獲得的pSVL。一種可誘導型哺乳動物表達載體的例子是pMSG，也可以從Pharmacia公司獲得。有用的酵母質粒載體是pRS403-406和pRS413-416，一般可從StratageneCloning Systems公司（La Jolla, CA 92037，美國）獲得。質粒pRS403、pRS404、pRS405和pRS406是酵母整合型質粒(YIp)，並插入了酵母可選擇性標記物 HIS3、TRP1、LEU2和URA3。pRS413-416質粒為酵母著絲粒質粒(Ycp)。基於CMV啟動子的載體（如，來自於 Sigma-Aldrich 公司）提供了暫態或穩定的表達、胞漿表達或分泌，以及FLAG、

3xFLAG、c-myc或MATN不同組合物中的N-端或C-端標記。這些融合蛋白可用於檢測、純化及分析重組蛋白。雙標融合為檢測提供了靈活性。

【0292】 強勁的人巨細胞病毒（CMV）啟動子調控區使得 COS 細胞中的組成蛋白表達水準高達 1 mg/L。對於較弱的細胞株，蛋白水準一般低於 0.1 mg/L。SV40 複製原點的出現將導致DNA在 SV40 複製容納性 COS 細胞中高水準複製。例如，CMV 載體可包含細菌細胞中的 pMB1（pBR322 的衍生物）複製原點、細菌中進行氨苄青黴素抗性選育的 鈣-內醯胺酶基因、hGH polyA 和 f1 的原點。含前胰島素原引導（PPT）序列的載體可使用抗 FLAG 抗體、樹脂和板引導 FLAG 融合蛋白分泌到進行純化的培養基中。其他與各種宿主細胞一起應用的載體和表達系統是本領域熟知眾所周知的。

【0293】 在另一個實施方案中，對本發明的兩個或更多的肽或肽變體進行編碼，因此，以一個連續順序（類似於「一串珠子」的構建體）表達。在達到目標，所述肽或肽變體可能透過連接子氨基酸的延伸處（例如LLLLLL）連接或融合一起，也可能他們之間沒有任何附加的肽而被連接。這些構建體也可用於癌症治療，可誘導涉及MHC I和MHC II類分子的免疫應答。

【0294】 本發明還涉及一種宿主細胞，其以本發明的多核苷酸載體構建轉化而來。宿主細胞可為原核細胞，也可為真核細胞。在有些情況下，細菌細胞為優選原核宿主細

胞，典型為大腸桿菌株，例如，大腸桿菌菌株 DH5（從 Bethesda Research Laboratories 公司（Bethesda, MD, 美國）獲得）和 RR1（從美國菌種保藏中心（ATCC, Rockville, MD, 美國），ATCC 編號31343 獲得）。首選的真核宿主細胞包括酵母、昆蟲和哺乳動物細胞，優選為脊椎動物細胞，如：小鼠、大鼠、猴子或人成纖維細胞和結腸癌細胞株中的細胞。酵母宿主細胞包括 YPH499、YPH500 和 YPH501，一般可從 Stratagene Cloning Systems 公司（La Jolla, CA 92037, 美國）獲得。首選哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢（CHO）細胞為 ATCC 中的 CCL61 細胞、NIH 瑞士小鼠胚胎細胞 NIH/3T3 為 ATCC 中的 CRL 1658 細胞、猴腎源性 COS-1 細胞為 ATCC 中的 CRL 1650 細胞以及人胚胎腎細胞的 293 號細胞。首選昆蟲細胞為 Sf9 細胞，可用杆狀病毒表達載體轉染。有關針對表達選擇合適宿主細胞的概要，可從教科書（Paulina Balbás and Argelia Lorence《Methods in Molecular Biology Recombinant Gene Expression, Reviews and Protocols》Part One, Second Edition, ISBN 978-1-58829-262-9）和技術人員知道的其他文獻中查到。

【0295】 含本發明DNA結構的適當宿主細胞的轉化可使用大家熟知的方法完成，通常取決於使用載體的類型。關於原核宿主細胞的轉化，請參見，例如，Cohen 等人

的文獻（Cohen et al., 1972）和（Green and Sambrook, 2012）。酵母細胞的轉化在Sherman等人的文章（Sherman et al., 1986）中進行了描述。Beggs（Beggs, 1978）中所述的方法也很有用。對於脊椎動物細胞，轉染這些細胞的試劑等，例如，磷酸鈣和DEAE-葡聚糖或脂質體配方，可從Stratagene Cloning Systems公司或Life Technologies公司（Gaithersburg, MD 20877，美國）獲得。電穿孔也可用於轉化和/或轉染細胞，是本領域用於轉化酵母細胞、細菌細胞、昆蟲細胞和脊椎動物細胞大家熟知的方法。

【0296】 被成功轉化的細胞（即含本發明DNA結構的細胞）可用大家熟知的方法（如PCR）進行識別。另外，上清液存在的蛋白可使用抗體進行檢測。

【0297】 應瞭解，本發明中的某些宿主細胞用於製備本發明中的肽，例如細菌細胞、酵母細胞和昆蟲細胞。但是，其他宿主細胞可能對某些治療方法有用。例如，抗原呈現細胞（如樹突狀細胞）可用于表達本發明中的肽，使他們可以加載入相應的MHC分子中。因此，本發明提出了含本發明中核酸或表達載體的一種宿主細胞。

【0298】 在一個優選實施方案中，宿主細胞為抗原呈現細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原呈現細胞。2010年4月29日，美國食品和藥物管理局（FDA）批准載有含攝護腺酸性磷酸酶（PAP）的重組融合蛋白可用於治療無症狀

或症狀輕微的轉移性HRPC（Rini et al., 2006; Small et al., 2006）。

【0299】另一方面，本發明提出了一種配製一種肽及其變體的方法，該方法包括培養宿主細胞和從宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0300】在另一個實施方案中，本發明中的肽、核酸或表達載體用於藥物中。例如，肽或其變體可製備為靜脈(i.v.)注射劑、皮下(s.c.)注射劑、皮內(i.d.)注射劑、腹膜內(i.p.)注射劑、肌肉(i.m.)注射劑。肽注射的優選方法包括s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和i.v.注射。DNA注射的優選方法為i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和i.v.注射。例如，給予50 μg至1.5 mg，優選為125 μg至500 μg的肽或DNA，這取決於具體的肽或DNA。上述劑量範圍在以前的試驗中成功使用（Walter et al., 2012）。

【0301】用於主動免疫接種的多聚核苷酸可為基本純化形式，也可包被於載體或輸送系統。核酸可能為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。這種核酸的設計和引入方法為本領域所熟知。例如，文獻中有其概述(Teufel et al., 2005)。多核苷酸疫苗很容易製備，但這些載體誘導免疫反應的作用模式尚未完全瞭解。合適的載體和輸送系統包括病毒DNA和/或RNA，如基於腺病毒、牛痘病毒、逆轉錄病毒、皰疹病毒、腺相關病毒或含一種以上病毒元素的混合病毒的系統。非病毒輸送系統包括陽離子脂質體和陽離子聚合物，是DNA輸送所屬領

域內熟知的系統。也可使用物理輸送系統，如透過「基因槍」。肽或核酸編碼的肽可以是一種融合蛋白，例如，含刺激T細胞進行上述 CDR 的表位。

【0302】 本發明的藥劑也可能包括一種或多種佐劑。佐劑是那些非特異性地增強或加強免疫反應的物質（例如，透過 CD8-陽性T細胞和輔助 T(T_H) 細胞介導的對一種抗原的免疫應答，因此被視為對本發明的藥劑有用。適合的佐劑包括（但不僅限於）1018ISS、鋁鹽、AMPLIVAX®、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、鞭毛蛋白或鞭毛蛋白衍生的TLR5配體、FLT3配體、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特（ALDARA®）、resiquimod、ImuFact IMP321、白細胞介素IL-2、IL-13、IL-21、干擾素α或β，或其聚乙二醇衍生物、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、ISCOMs、JuvImmune®、LipoVac、MALP2、MF59、單磷醯脂A、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、水包油和油包水乳狀液、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、OspA、PepTel® 載體系統、基於聚丙交酯複合乙交酯[PLG]和右旋糖苷微粒、重組人乳鐵傳遞蛋白SRL172、病毒顆粒和其他病毒樣顆粒、YF-17D、VEGF trap、R848、β-葡聚糖、Pam3Cys、源自皂角苷、分支桿菌提取物和細菌細胞壁合成模擬物的 Aquila 公司

的 QS21 刺激子，以及其他專有佐劑，如：Ribi's Detox、Quil 或 Superfos。優選佐劑如：弗氏佐劑或 GM-CSF。前人對一些樹突狀細胞特異性免疫佐劑（如 MF59）及其製備方法進行了描述（Allison and Krummel, 1995)。也可能使用細胞因子。一些細胞因子直接影響樹突狀細胞向淋巴組織遷移（如，TNF-），加速樹突狀細胞成熟為T淋巴細胞的有效抗原呈現細胞（如，GM-CSF、IL-1 和 IL-4）（美國 5849589號專利，特別以其完整引用形式併入本文），並充當免疫佐劑（如 IL-12、IL-15、IL-23、IL-7、IFN-α、IFN-β）(Gabrilovich et al., 1996)。

【0303】 據報告，CpG免疫刺激寡核苷酸可提高佐劑在疫苗中的作用。如果沒有理論的約束，CpG 寡核苷酸可透過 Toll 樣受體（TLR）（主要為 TLR9）啟動先天（非適應性）免疫系統從而起作用。CpG 引發的 TLR9 活化作用提高了對各種抗原的抗原特異性體液和細胞反應，這些抗原包括肽或蛋白抗原、活病毒或被殺死的病毒、樹突狀細胞疫苗、自體細胞疫苗以及預防性和治療性疫苗中的多糖結合物。更重要的是，它會增強樹突狀細胞的成熟和分化，導致 T_{H1} 細胞的活化增強以及細胞毒性T淋巴細胞（CTL）生成加強，甚至 CD4 T細胞說明的缺失。甚至有疫苗佐劑的存在也能維持 TLR9 活化作用誘發的 T_{H1} 偏移，這些佐劑如：正常促進 T_{H2} 偏移的明礬或弗氏不完全佐劑（IFA)。CpG 寡核苷酸與以下其

他佐劑或配方一起製備或聯合給藥時，表現出更強的佐劑活性，如微粒、納米粒子、脂肪乳或類似製劑，當抗原相對較弱時，這些對誘發強反應尤為必要。他們還能加速免疫反應，使抗原劑量減少約兩個數量級，在有些實驗中，對不含CpG 的全劑量疫苗也能產生類似的抗體反應(Krieg, 2006)。美國6406705 B1 號專利對CpG 寡核苷酸、非核酸佐劑和抗原結合使用促使抗原特異性免疫反應進行了描述。一種CpG TLR9 拮抗劑為Mologen公司（德國柏林）的dSLIM（雙幹環免疫調節劑），這是本發明藥物組合物的優選成分。也可使用其他如 TLR結合分子，如：RNA結合TLR7、TLR8 和/或TLR9。

【0304】 其他有用的佐劑例子包括（但不限於）化學修飾性CpG （如CpR、Idera）、dsRNA模擬物，如，Poly(I:C)及其衍生物（如：AmpliGen、Hiltonol、多聚-(ICLC)、多聚(IC-R)、多聚(I:C12U)）、非CpG細菌性DNA或RNA以及免疫活性小分子和抗體，如：環磷醯胺、舒尼替單抗、貝伐單抗®、西樂葆、NCX-4016、西地那非、他達拉非、伐地那非、索拉非尼、替莫唑胺、temsirolimus、XL-999、CP-547632、帕唑帕尼、VEGF Trap、ZD2171、AZD2171、抗-CTLA4、免疫系統的其他抗體靶向性主要結構（如：抗-CD40、抗-TGFβ、抗-TNFα受體）和 SC58175，這些藥物都可能有治療作用和/或充當佐劑。技術人員無需過度進行不

當實驗就很容易確定本發明中有用的佐劑和添加劑的數量和濃度。

【0305】 首選佐劑是抗-CD40、咪喹莫特、瑞喹莫德、GM-CSF、環磷醯胺、舒尼替尼、貝伐單抗、干擾素α、CpG 寡核苷酸及衍生物、多聚(I:C)及衍生物、RNA、西地那非和PLG或病毒顆粒的微粒製劑。

【0306】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特、resiquimod 和干擾素-α。

【0307】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特和 resimiquimod。在本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑為環磷醯胺、咪喹莫特或resiquimod。更優選的佐劑是 Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、聚-ICLC (Hiltonol®) 和抗CD40 mAB或其組合物。

【0308】 此組合藥物為非腸道注射使用，如皮下、皮內、肌肉注射，也可口服。為此，肽和其他選擇性分子在藥用載體中分解或懸浮，優選為水載體。此外，組合物可包含輔料，如：緩衝劑、結合劑、衝擊劑、稀釋劑、香料、潤滑劑等。這些肽也可與免疫刺激物質合用，如：細胞因

子。可用於此類組合物的更多輔料可在從 A. Kibbe 所著的 Handbook of Pharmaceutical Excipients (Kibbe, 2000) 等書中獲知。此組合藥物可用於阻止、預防和/或治療腺瘤或癌性疾病。例如，EP2112253 中有示例製劑。

【0309】 重要的是要認識到，透過本發明的疫苗引發的免疫應答在不同的細胞階段和開發的不同階段攻擊癌症。而且不同的癌症相關信號通路被攻擊。這相對於其他疫苗的優勢，這些疫苗只針對一個或幾個靶標，這可能會導致腫瘤很容易適應於攻擊（腫瘤逃逸）。此外，並非所有的個體腫瘤都表達相同模式的抗原。因此，幾個腫瘤相關肽的組合確保了每個腫瘤都承擔至少一些靶標。該組合物以這樣的方式設計，預期每個腫瘤可表達幾種抗原並覆蓋腫瘤生長和維持所需要的幾種獨立的途徑。因此，疫苗可易於「現成的」用於較大患者群體。這意味著，預選擇接受疫苗治療的患者可限制為HLA分型，無需抗原表達的任何額外的生物標誌物評估，但仍然確保多個靶標同時被誘導的免疫應答攻擊，這對於療效很重要 (Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012)。

【0310】 本文所用的「支架」一詞是指與（如抗原）決定因子特異性結合的分子。在一項實施方案中，支架是能夠引導其所連接的實體（例如，（第二）抗原結合部分）至目標靶點，例如，至特定類型的腫瘤細胞或承載抗原決

定簇的腫瘤基質（如根據目前申請中肽和MHC的複合體）。在另一項實施例中，支架能夠透過其靶抗原（例如T細胞受體複合體抗原）啟動信號通路。支架包括但不限於抗體及其片段，抗體的抗原結合區，其包含抗體重鏈可變區和抗體輕鏈可變區，結合的蛋白包括至少一個錨蛋白重複序列基元和單域抗原結合（SDAB）分子、適體、（可溶）TCR 和（經修飾的）細胞，例如同種異體或自體T細胞。為了評估某個分子是否是結合至靶點的支架，可進行結合測定。

【0311】「特定」結合系指，與其他天然肽-MHC 複合體相比，該支架與感興趣的肽-MHC複合體更好地結合，結合程度為，擁有能夠殺死承載特定靶點細胞的活性分子的支架不能夠殺死無特定靶點但表現一個或多個其他肽-MHC複合體的另一細胞。如果交叉反應性肽-MHC的肽並不是天然的，即，並非來自人 HLA-多肽組，則結合至其他肽-MHC 複合體是無關緊要的。評估靶細胞殺傷的測試在本領域中是公知的。它們應該含有未改變的肽-MHC 表現的靶細胞（原發細胞或細胞系）或載有肽的細胞進行，以便達到天然肽-MHC 的水準。

【0312】各支架可包括一個標記，其透過確定是否存在或不存在標籤所提供的信號可檢測到結合支架。例如，該支架可用螢光染料或任何其他適用的細胞標記分子進行標記。此類標記分子是本領域中公知的。例如，透過螢光

染料進行的螢光標記可透過螢光或鐳射掃描顯微術或流式細胞術提供結合適體的視覺化。

【0313】 各支架可與第二個活性分子（例如 IL-21、抗 CD3、抗 CD28）共軛。

【0314】 關於多肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在 WO 2014/071978A1 背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0315】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見WO 2014/191359及其中引用的文獻）是短的單鏈核酸分子，其可以折疊為所定義的三維結構並識別特定的靶標結構。它們似乎是開發靶向治療的合適替代方法。適體已顯示可選擇性與具有高親和力和特異性的複合體靶標相結合。

【0316】 識別細胞表面分子的適體在過去十年內已經確定，並為開發診斷和治療方法提供了手段。由於適體已顯示幾乎無毒性和免疫原性，因此，它們是生物醫學應用中有前景的候選物質。事實上適體，例如攝護腺特異性膜抗原識別適體，已被成功地用於靶向治療並在體內模型的異種移植物中顯示出功能。此外，認識到特定腫瘤細胞系的適體也已確定。

【0317】 可選擇DNA適體來揭示各種癌細胞的廣譜識別屬性，特別是那些來自於實體瘤的細胞，而非致瘤和主要健康細胞不被識別。如果所識別的適體不僅識別腫瘤特

異性子類型，而且與一系列腫瘤相互作用，這使適體適用于作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0318】 此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在納摩爾範圍內顯示出很好的親和力。

【0319】 適體用於診斷和治療目的。此外，也可能顯示，一些適體被腫瘤細胞吸取，因而可作為抗癌劑靶向遞送的分子賦形劑，例如 siRNA進入腫瘤細胞。

【0320】 可選擇適體針對複合體的靶標，如細胞和組織以及包含、優選包括根據任何SEQ ID NO 1 至SEQ ID NO 93 的一個序列、根據當前發明的肽複合體與MHC分子，使用細胞 SELEX（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0321】 本發明中的肽可用于生成和開發出針對MHC/肽複合物的特定抗體。這些抗體可用於治療，將毒素或放射性物質靶向病變組織。這些抗體的另一用途是為了成像之目的（如 PET）將放射性核素靶向病變組織。這可有助於檢測小轉移灶或確定病變組織的大小和準確位置。

【0322】 因此，本發明的另一方面是提出產生特異性結合至與HLA限制性抗原絡合的 I 或 II 類人主要組織相容性複合體 (MHC) 的一種重組抗體的方法，該方法包括：用可溶形式的與HLA限制性抗原絡合的(MHC)I或II 類分子對包含表達所述主要組織相容性說複合體(MHC) I 或 II 類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；

將mRNA分子與產生所述非人哺乳動物細胞的抗體分離；產生一個噬菌體顯示庫，顯示由所述mRNA分子編碼的蛋白分子；以及將至少一個噬菌體與所述噬菌體顯示庫分離，所述的至少一個噬菌體顯示所述抗體特異性地結合至與HLA限制性抗原絡合的所述人主要組織相容性說複合體（MHC）I或II類。

【0323】本發明的另一方面提出一種抗體，其特異性結合至與一種HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性說複合體（MHC），其中該抗體優選為多克隆抗體、單克隆抗體、雙特異性抗體和/或嵌合抗體。

【0324】產生這種抗體和單鏈I類主要組織相容性複合物的相應方法，以及產生這些抗體的其他工具在WO 03/068201、WO 2004/084798、WO 01/72768、WO 03/070752以及出版物（Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003）中進行了披露，為了本發明之目的，所有參考文獻透過引用被完整地併入本文。

【0325】優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20納摩爾，優選為低於10納摩爾，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0326】本發明涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成的組的一個序列或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有88%同源性（優

選為相同）的一種變體，或誘導與所述變異肽發生T細胞交叉反應的一種變體，其中，所述肽不是基本的全長多肽。

【0327】 本發明進一步涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93組成的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93具有至少88%同源性（優選為相同）的一種變體，其中所述肽或變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0328】 本發明進一步涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合的能力。

【0329】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中肽系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的一個氨基酸序列組成。

【0330】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽（在化學上）被修飾和/或包含非肽鍵。

【0331】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽為融合蛋白的一部分，特別包括HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸，或其中該肽與一種抗體（例如，樹突狀細胞特定抗體）融合。

【0332】 本發明的另一實施方案涉及一種非天然肽，其中所述肽系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:48的一個氨基酸序列組成，並經合成產生（即，合成）為一種藥用鹽。合成產生肽的方法是本領域公知的。本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為這些體內產生的肽不是鹽。該肽的非天然鹽形式介導肽的溶解

度，特別是包含所述肽的藥物組合物的情況下，例如，本文所公開的肽疫苗。為了向需治療的受試者有效地提供肽，需要肽具有充分、至少基本的溶解度。優選地，鹽為肽的藥用鹽。本發明的這些鹽包括堿和堿土鹽類，諸如Hofmeister系列的鹽，包含陰離子PO_4^{3-}、SO_4^{2-}、CH_3COO^-、Cl^-、Br^-、NO_3^-、ClO_4^-、I^-、SCN^-和陽離子NH_4^+、Rb^+、K^+、Na^+、Cs^+、Li^+、Zn^{2+}、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}和Ba^{2+}。特別地，鹽選自$(NH_4)_3PO_4$、$(NH_4)_2HPO_4$、$(NH_4)H_2PO_4$、$(NH_4)_2SO_4$、NH_4CH_3COO、NH_4Cl、NH_4Br、NH_4NO_3、NH_4ClO_4、NH_4I、NH_4SCN、Rb_3PO_4、Rb_2HPO_4、RbH_2PO_4、Rb_2SO_4、Rb_4CH_3COO、Rb_4Cl、Rb_4Br、Rb_4NO_3、Rb_4ClO_4、Rb_4I、Rb_4SCN、K_3PO_4、K_2HPO_4、KH_2PO_4、K_2SO_4、KCH_3COO、KCl、KBr、KNO_3、$KClO_4$、KI、$KSCN$、Na_3PO_4、Na_2HPO_4、NaH_2PO_4、Na_2SO_4、$NaCH_3COO$、$NaCl$、$NaBr$、$NaNO_3$、$NaClO_4$、NaI、$NaSCN$、$ZnCI_2$ Cs_3PO_4、Cs_2HPO_4、CsH_2PO_4、Cs_2SO_4、$CsCH_3COO$、$CsCl$、$CsBr$、$CsNO_3$、$CsClO_4$、CsI、$CsSCN$、Li_3PO_4、Li_2HPO_4、LiH_2PO_4、Li_2SO_4、$LiCH_3COO$、$LiCl$、$LiBr$、$LiNO_3$、$LiClO_4$、LiI、$LiSCN$、Cu_2SO_4、$Mg_3(PO_4)_2$、Mg_2HPO_4、$Mg(H_2PO_4)_2$、Mg_2SO_4、$Mg(CH_3COO)_2$、$MgCl_2$、$MgBr_2$、$Mg(NO_3)_2$、

$Mg(ClO_4)_2$、MgI_2、$Mg(SCN)_2$、$MnCl_2$、$Ca_3(PO_4)$,、Ca_2HPO_4、$Ca(H_2PO_4)_2$、$CaSO_4$、$Ca(CH_3COO)_2$、$CaCl_2$、$CaBr_2$、$Ca(NO_3)_2$、$Ca(ClO_4)_2$、CaI_2、$Ca(SCN)_2$、$Ba_3(PO_4)_2$、Ba_2HPO_4、$Ba(H_2PO_4)_2$、$BaSO_4$、$Ba(CH_3COO)_2$、$BaCl_2$、$BaBr_2$、$Ba(NO_3)_2$、$Ba(ClO_4)_2$、BaI_2 和 $Ba(SCN)_2$。特別優選為 NH 乙酸、$MgCl_2$、KH_2PO_4、Na_2SO_4、KCl、NaCl 和 $CaCl_2$，例如：氯化物或乙酸鹽（三氟乙酸）鹽。

【0333】 一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽聯接）可使用 Lukas 等人 (Lukas et al., 1981) 以及此處引用的參考文獻所披露的固相肽合成 Fmoc-聚醯胺模式進行合成。芴甲氧羰基 (Fmoc) 團對 N-氨基提供臨時保護。使用 N, N-二甲基甲醯胺中的 20% 二甲基吡啶中對這種堿高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚（在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下）、丁基酯（在谷氨酸和天門冬氨酸的情況下）、叔丁氧羰基衍生物（在賴氨酸和組氨酸的情況下）、三苯甲基衍生物（在半胱氨酸的情況下）及 4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺醯基衍生物（在精氨酸的情況下），側鏈功能可能會受到保護。只要穀氨醯胺和天冬醯胺為 C-末端殘基，側鏈氨基功能保護所使用的是由 4,4'-二甲氧基二苯基團。固相支撐基於聚二甲基丙烯醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯醯胺（骨架單體）、雙丙烯醯乙烯二胺（交

聯劑）和 N-丙烯醯肌胺酸甲酯（功能劑）構成。使用的肽-樹脂可裂解聯劑為酸敏感的 4 -羥甲基苯氧乙酸衍生物。所有的氨基酸衍生物均作為其預製對稱酸酐衍生物加入，但是天冬醯胺和穀氨醯胺除外，它們使用被逆轉的 N,N-二環己基碳二亞胺/1-羥基苯並三唑介導的耦合程序而加入。所有的耦合和脫保護反應用茚三酮、硝基苯磺酸或 isotin 測試程序監測。合成完成後，用濃度為 95% 含 50% 清道夫混合物的三氟醋酸，從伴隨去除側鏈保護基團的樹脂支承物中裂解肽。常用的清道夫混合物包括乙二硫醇、苯酚、苯甲醚和水，準確的選擇依據合成肽的氨基酸組成。此外，固相和液相方法結合使用對肽進行合成是可能的（例如，請參閱（Bruckdorfer et al., 2004）以及本文引用的參考文獻）。

【0334】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序制得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道夫混合物。肽合成試劑一般可從 Calbiochem-Novabiochem（英國諾丁漢）獲得。

【0335】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0336】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明所述肽，前提是該肽並非完整（完全）的人蛋白。

【0337】本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0338】本發明進一步涉及一種能表達本發明核酸的表達載體。

【0339】本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種藥用表達載體，特別是用於治療食道癌。

【0340】本發明進一步涉及含本發明核酸或本發明表達載體的一種宿主細胞。

【0341】本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0342】本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0343】本發明進一步涉及本發明中的方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞表面的 I 或 II 類MHC分子。

【0344】本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原呈現細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的肽或所述變體氨基酸序列。

【0345】本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞異常表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0346】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者本發明的有效量T細胞。

【0347】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的一種核酸、本發明的一種表達載體、本發明的一種細胞、本發明一種作為藥劑或製造藥劑的活化細胞毒性T淋巴細胞的用途。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0348】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中該藥劑為一種疫苗。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0349】 本發明還一般涉及本發明的用途，其中所述癌細胞為食道癌細胞或其他實體或血液腫瘤細胞，如：肺癌、膀胱癌、卵巢癌、黑色素瘤、子宮癌、肝細胞癌、腎細胞癌、腦癌、結直腸癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膽囊癌、膽管癌、攝護腺癌和白血病。

【0350】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的特定標誌物蛋白和生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷和/或判斷食道癌的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新靶點。

【0351】 本文中術語「抗體」為廣義上的定義，既包括多克隆也包括單克隆抗體。除了完整或「全部」的免疫球蛋白分子，「抗體」這一術語還包括這些免疫球蛋白分子和人源化免疫球蛋白分子的片段（如，CDR、Fv、Fab 和

Fc片段）或聚合物，只要它們表現出本發明的任何期望屬性（例如，食道癌標誌物（多）肽的特異性結合、將毒素傳遞給癌症標誌物基因表達水準增加時的食道癌細胞和/或抑制食道癌標誌物多肽的活性）。

【0352】 只要有可能，本發明的抗體可從商業來源購買。本發明的抗體也可能使用已知的方法制得。技術人員會瞭解全長食道癌標誌物多肽或其片段可用于製備本發明的抗體。用於產生本發明抗體的多肽可部分或全部地由天然源經純化而得，也可利用重組DNA技術生產。

【0353】 例如，本發明的編碼肽的cDNA，例如，該肽為根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93多肽的肽，或其中一個變體或片段，可在原核細胞中（如：細菌）或真核細胞（如：酵母、昆蟲或哺乳動物細胞）中表達，之後，可純化重組蛋白，並用於產生一種特異性結合用於產生本發明抗體的食道癌標誌物多肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0354】 本領域的技術人員會認識到，兩種或兩種以上不同集合的單克隆抗體或多克隆抗體能最大限度地增加獲得一種含預期用途所需的特異性和親和力（例如，ELISA法、免疫組織化學、體內成像、免疫毒素療法）的抗體的可能性。根據抗體的用途，用已知的方法對其期望活性進行測試（例如，ELISA法、免疫組織化學、免疫治療等；要獲取產生和測試抗體的進一步指導，請參閱，例如，Greenfield, 2014 (Greenfield,

2014))。例如，該抗體可用ELISA法或免疫印跡法、免疫組織化學染色福馬林固定的癌組織或冰凍的組織切片進行檢測。在初次體外表徵後，用於治療或體內診斷用途的抗體根據已知的臨床測試方法進行檢測。

【0355】 此處使用的術語「單克隆抗體」系指從大量同質抗體中獲得的一種抗體，即，由相同的抗體組成的抗體群，但可能少量表現的自然突變除外。此處所述的單克隆抗體具體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈和/或輕鏈與從特定物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和分類型抗體的相應序列相同（同質），同時，剩餘鏈與從其他物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和子類型抗體的相應序列以及這些抗體的片段相同（同質），只要他們表現出預期的拮抗活性（美國4816567號專利，其在此以其整體併入）。

【0356】 本發明的單克隆抗體可能使用雜交瘤方法制得。在雜交瘤方法中，老鼠或其他適當的宿主動物，通常用免疫製劑以引發產生或能產生將特異性結合至免疫製劑的抗體。或者，淋巴細胞可在體外進行免疫。

【0357】 單克隆抗體也可由DNA重組方法制得，如：美國4816567號專利所述。編碼本發明單克隆抗體的DNA可很容易地使用傳統程序進行分離和測序（例如：透過使用能與編碼鼠抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針）。

【0358】 體外方法也適用於製備單價抗體。抗體消化以產生抗體的片段，尤其是Fab片段，可以透過使用本領域已知的常規技術完成。例如，可以透過使用木瓜蛋白酶完成消化。木瓜蛋白酶消化的實施例在WO 94/29348和美國4342566號專利中有描述。抗體的木瓜蛋白酶消化通常產生兩種相同的抗原結合性片段，稱為Fab片段（每個片段都有一個抗原結合點）和殘餘Fc片段。胃蛋白酶處理產生一個$F(ab')_2$片段和一個pFc'片段。

【0359】 抗體片段，不論其是否附著於其他序列，均可包括特定區域或特定氨基酸殘基的插入、刪除、替換、或其他選擇性修飾，但前提是，片段的活性與非修飾的抗體或抗體片段相比沒有顯著的改變或損害。這些修飾可提供一些額外的屬性，如：刪除/添加可與二硫鍵結合的氨基酸，以增加其生物壽命、改變其分泌特性等。在任何情況下，抗體片段必須擁有生物活性的特性，如：結合活性、調節結合域的結合力等。抗體的功能性或活性區域可透過蛋白特定區域的基因突變、隨後表達和測試所表達的多肽進行確定。這些方法為本行業技術人員所熟知，可包括編碼抗體片段的核酸的特定位點基因突變。

【0360】 本發明的抗體可進一步包括人源化抗體或人抗體。非人（如：鼠）抗體的人源化形式為嵌合抗體免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（如：Fv、Fab、Fab'或抗體的其他抗原結合序列），其中包含從非人免疫球蛋白中獲得的最小序列。人源化抗體包括人免疫球蛋白（受體

抗體），其中來自受體互補決定區（CDR）的殘基被來自非人物種（供體抗體）（如具有與其特異性、親和力和能力的小鼠、大鼠或兔子）CDR 的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的 Fv 框架（FR）殘基被相應的非人殘基取代。人源化抗體可能還包括既非受體抗體、也非輸入 CDR 或框架序列中發現的殘基。一般來說，人源化抗體將包括幾乎所有的至少一個、通常為二個可變域，其中，全部或幾乎全部的 CDR 區域均對應於非人免疫球蛋白的區域並且全部或幾乎全部的 FR區域均為人免疫球蛋白相同序列的區域。理想情況是，人源化抗體還將包括至少免疫球蛋白恒定區（Fc）的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0361】 人源化非人抗體的方法為本行業所熟知。一般來說，人源化抗體具有一個或多個從非人源頭引入的氨基酸殘基。這些非人氨基酸殘基往往被稱為「輸入」殘基，通常從「輸入」可變域中獲得。人源化基本上可以透過將齧齒動物 CDR 或 CDR 序列取代為相應的人抗體序列而完成。因此，這種「人源化」抗體為嵌合抗體（美國4816567號專利），其中大大少於完整的人可變域被來自於非人物種的相應序列取代。在實踐中，人源化抗體通常為人抗體，其中有些 CDR 殘基以及可能的一些 FR 殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0362】 可使用免疫後在內源性免疫球蛋白產生缺失時能產生完整人抗體的轉基因動物（如：小鼠）。例如，

它被描述為，嵌合和種系突變小鼠中的抗體重鏈連接區域基因的純合性缺失導致內源性抗體生成的完全抑制。在此種系變種小鼠中人種系免疫球蛋白基因陣列的轉移在抗原挑戰後將導致人抗體的生成。人抗體也可在噬菌體展示庫中產生。

【0363】 本發明的抗體優選為透過藥用載體的形式給予受試者。通常，在製劑中使用適量的藥用鹽，以使製劑等滲。藥用載體的例子包括生理鹽水、林格氏液和葡萄糖溶液。溶液的 pH 值優選為約5 至8，更優選為約7 至7.5。此外，載體還包括緩釋製劑，如：含有抗體的固體疏水性聚合物半透性基質，其中基質為有形物品形式，如：薄膜、脂質體或微粒。本行業的技術人員熟知，某些載體可能為更優選，取決於例如，抗體的給藥途徑和濃度。

【0364】 該抗體可透過注射（如：靜脈內、腹腔內、皮下、肌肉內）或透過輸注等其他方法給予受試者、患者或細胞，確保其以有效的形式傳輸到血液中。這些抗體也可以透過瘤內或瘤周途徑給予，從而發揮局部和全身的治療作用。局部或靜脈注射為優選。

【0365】 抗體給藥的有效劑量和時間表可根據經驗確定，並且作出此類決定屬本行業的技術範圍內。本行業的技術人員會明白，必須給予的抗體劑量根據以下因素會有所不同，例如：接受抗體的受試者、給藥途徑、使用的抗體以及其他正在使用的藥物的特定類型。單獨使用的抗體的通常日劑量可能為約1 μg/kg 至最多 100 mg/kg 體

重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療食道癌後，治療抗體的療效可透過技術人員熟知的不同方法評估。例如：接受治療的受試者癌症的大小、數量和/或分佈可使用標準腫瘤成像技術進行監測。因治療而給予的抗體與不給予抗體時的病程相比，可阻止腫瘤生長、導致腫瘤縮小、和/或阻止新腫瘤的發展，這樣的抗體是一種有效治療癌症的抗體。

【0366】 本發明的另一方面提出了製備識別特異性肽-MHC複合物的可溶性T細胞受體（sTCR）的一種方法。這種可溶性T細胞受體可從特異性T細胞克隆中產生，並且它們的親和力可以透過互補決定區靶向誘變而增加。為了T細胞受體選擇之目的，可以使用噬菌體展示（美國2010/0113300，（Liddy et al., 2012））。為了在噬菌體展示期間以及實際使用為藥物時穩定T細胞受體之目的，可透過非天然二硫鍵、其他共價鍵（單鏈T細胞受體）或透過二聚化結構域連接α和β鏈（Boulter et al., 2003; Card et al., 2004; Willcox et al., 1999)。T細胞受體可以連接到毒素、藥物、細胞因子（參見US 2013/0115191）、域招募效應細胞，如抗CD3域等，以便對靶細胞執行特定的功能。此外，它可能表達於用於過繼轉移的T細胞。進一步的資訊可在 WO 2004/033685A1 和 WO 2004/074322A1 中找到。sTCR 的組合在 WO 2012/056407A1 中進行了描述。WO 2013/057586A1 中公開了製備的進一步的方法。

【0367】 此外，可用本發明的肽和/或TCR或抗體或其他結合分子在活檢樣本的基礎上驗證病理師對癌症的診斷。

【0368】 該抗體或TCR也可用於體內診斷實驗。一般來說，抗體用放射性核素標記（如：^{111}In、^{99}Tc、^{14}C、^{131}I、^{3}H、^{32}P 或 ^{35}S），從而可免疫閃爍掃描法使腫瘤局限化。在一實施方案中，其中的抗體或片段與兩個或兩個以上選自包括上述蛋白的組的蛋白質靶標的細胞外域結合，並且親和力值（Kd）低於 1 x 10μM。

【0369】 診斷用抗體可透過各種影像學方法使用適合檢測的探針進行標記。探針檢測方法包括但不限於，螢光、光、共聚焦和電鏡方法；磁共振成像和光譜學技術；透視、電腦斷層掃描和正電子發射斷層掃描。合適的探針包括但不限於，螢光素、羅丹明、曙紅及其它螢光團、放射性同位素、黃金、釓和其他稀土、順磁鐵、氟-18 和其他正電子發射放射性核素。此外，探針可能是雙功能或多功能的，並且用一種以上的上述方法可進行檢測。這些抗體可用所述的探針直接或間接進行標記。抗體探針的連接，包括探針的共價連接、將探針融合入抗體、以及螯合化合物的共價連接從而結合探針、以及其他本行業熟知的方法。對於免疫組織化學方法，疾病組織樣本可能是新鮮或冷凍或可能包埋於石蠟中以及用福馬林等防腐劑固定。固定或包埋的切片包括與標記一抗和二抗接觸的樣本，其中該抗體用於檢測原位 蛋白的表達。

【0370】 本發明的另一方面包括一種體外製備活化的T細胞的方法，該方法包括將T細胞與載有抗原的人MHC分子進行體外連接，這些分子在合適的抗原呈現細胞表面表達足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化T細胞，其中所述抗原為根據本發明所述的一種肽。優選情況是足夠量的抗原與抗原呈現細胞一同使用。

【0371】 優選情況是，哺乳動物細胞的TAP肽轉運載體缺乏或水準下降或功能降低。缺乏TAP肽轉運載體的適合細胞包括T2、RMA-S和果蠅細胞。TAP是與抗原加工相關的轉運載體。

【0372】 人體肽載入的缺陷細胞株T2從屬美國菌種保藏中心（ATCC, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852，美國）目錄號CRL1992；果蠅細胞株Schneider 2號株從屬ATCC目錄CRL 19863；小鼠RMA-S細胞株Ljunggren等人描述過（Ljunggren and Karre, 1985）。

【0373】 優選情況是，宿主細胞在轉染前基本上不表達MHC I類分子。刺激因子細胞還優選為表達對T細胞共刺激信號起到重要作用的分子，如，B7.1、B7.2、ICAM-1和LFA 3中的任一種分子。大量MHC I類分子和共刺激分子的核酸序列可從GenBank和EMBL資料庫中公開獲得。

【0374】 當MHC I類表位用作一種抗原時，T細胞為CD8陽性T細胞。

【0375】 如果抗原呈現細胞受到轉染而表達這種表位，則優選的細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:93的肽或變體氨基酸序列。

【0376】 可使用其他一些方法來體外生成T細胞。例如，自體腫瘤浸潤性淋巴細胞可用于生成 CTL。Plebanski 等人在（Plebanski et al., 1995）使用自體外周血淋巴細胞（PLB）制得T細胞。另外，也可能用肽或多肽脈衝處理樹突狀細胞或透過與重組病毒感染而製成自體T細胞。此外，B 細胞可用於製備自體T細胞。此外，用肽或多肽脈衝處理或用重組病毒感染的巨噬細胞可用於配製自體T細胞。S. Walter 等人在（Walter et al., 2003）中描述了透過使用人工抗原呈現細胞(aAPC）體外活化T細胞，這也是生成作用於所選肽的T細胞的一種合適方法。在本發明中，根據生物素：鏈黴素生物化學方法透過將預製的MHC：肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成 aAPC。該系統實現了對 aAPC 上的MHC密度進行精確調節，這使得可以在血液樣本中選擇地引發高或低親合力的高效抗原特異性T細胞反應。除了 MHC：肽複合物外，aAPC 還應攜運含共刺激活性的其他蛋白，如耦合至表面的抗-CD28 抗體。此外，此類基於 aAPC 的系統往往需要加入適當的可溶性因子，例如，諸如白細胞介素 12 的細胞因子。

【0377】 也可用同種異體細胞制得T細胞，在WO 97/26328中詳細描述了一種方法，以參考文獻方式併入本文。例如，除了果蠅細胞和T2細胞，也可用其他細胞來表現肽，如CHO細胞、杆狀病毒感染的昆蟲細胞、細菌、酵母、牛痘感染的靶細胞。此外，也可使用植物病毒（例如，參閱Porta等人在（Porta et al., 1994)中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種表現外來肽的高產系統。

【0378】 被活化的T細胞直接針對本發明中的肽，有助於治療。因此，本發明的另一方面提出了用本發明前述方法制得的活化T細胞。

【0379】 按上述方法製成的活化T細胞將會有選擇性地識別異常表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO 93 氨基酸序列的多肽。

【0380】 優選情況是，T細胞透過與其含HLA/肽複合物的TCR相互作用（如，結合）而識別該細胞。T細胞是殺傷患者靶細胞方法中有用的細胞，其靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽。此類患者給予有效量的活化T細胞。給予患者的T細胞可能源自該患者，並按上述方法活化（即，它們為自體T細胞）。或者，T細胞不是源自該患者，而是來自另一個人。當然，優選情況是該供體為健康人。發明人使用「健康個人」系指一個人一般狀況良好，優選為免疫系統合格，更優選為無任何可很容易測試或檢測到的疾病。

【0381】 根據本發明，CD8-陽性T細胞的體內靶細胞可為腫瘤細胞（有時表達MHC-II類抗原）和/或腫瘤周圍的基質細胞（腫瘤細胞）（有時也表達MHC-II類抗原；(Dengjel et al., 2006)）。

【0382】 本發明所述的T細胞可用作治療性組合物中的活性成分。因此，本發明也提出了一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者上述有效量的T細胞。

【0383】 發明人所用的「異常表達」的意思還包括，與正常（健康）組織表達水準相比，多肽過量表達，或該基因在來自腫瘤的組織中未表達，但在腫瘤中表達。「過量表達」系指多肽水準至少為正常組織中的 1.2 倍；優選為至少為正常組織中的 2 倍，更優選為至少 5 或 10 倍。

【0384】 T細胞可用本領域已知的方法制得（如，上述方法）。

【0385】 T細胞繼轉移方案為本領域所熟知的方案。綜述可發現於：Gattioni et al. 和 Morgan et al. (Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006)。

【0386】 本發明的另一個方面包括使用與MHC複合的肽，以生成T細胞受體，其核酸被克隆並被引入至宿主細胞，優選為T細胞。然後，該透過基因工程改變的T細胞可轉給患者用於癌症治療。

【0387】 本發明的任一分子（即肽、核酸、抗體、表達載體、細胞，活化T細胞、T細胞受體或編碼核酸）都有

益於治療疾病，其特點在於細胞逃避免疫反應的打擊。因此，本發明的任一分子都可用作藥劑或用於製造藥劑。這種分子可單獨使用也可與本發明中的其他分子或已知分子聯合使用。

【0388】 本發明還涉及一種套件，其包括：

(a) 一個容器，包含上述溶液或凍乾粉形式的藥物組合物；

(b) 可選的第二個容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋劑或重組溶液；和

(c) 可選的（i）溶液使用或（ii）重組和/或凍乾製劑使用的說明。

【0389】 該套件還步包括一個或多個 (iii) 緩衝劑，(iv) 稀釋劑，(v) 過濾液，(vi) 針，或 (v) 注射器。容器最好是瓶子、小瓶、注射器或試管，可以為多用途容器。藥物組合物最好是凍乾的。

【0390】 本發明中的套件優選包含一種置於合適容器中的凍乾製劑以及重組和/或使用說明。適當的容器包括，例如瓶子、西林瓶（如雙室瓶）、注射器（如雙室注射器）和試管。該容器可能由多種材料製成，如玻璃或塑膠。試劑盒和/或容器最好有容器或關於容器的說明書，指明重組和/或使用的方向。例如，標籤可能表明凍乾劑型將重組為上述肽濃度。該標籤可進一步表明製劑用於皮下注射。

【0391】 存放製劑的容器可使用多用途西林瓶，使得可重複給予（例如，2-6 次）重組劑型。該套件可進一步包括裝有合適稀釋劑（如碳酸氫鈉溶液）的第二個容器。

【0392】 稀釋液和凍乾製劑混合後，重組製劑中的肽終濃度優選為至少 0.15 mg/mL/肽（=75μg），不超過 3 mg/mL/肽（=1500μg）。該套件還可包括商業和用戶角度來說可取的其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑，過濾液、針頭、注射器和帶有使用說明書的包裝插頁。

【0393】 本發明中的套件可能有一個單獨的容器，其中包含本發明所述的藥物組合物製劑，該製劑可有其他成分（例如，其他化合物或及其藥物組合物），也可無其他成分，或者每種成分都有其不同容器。

【0394】 優選情況是，本發明的套件包括與本發明的一種製劑，包裝後與第二種化合物（如佐劑（例如 GM-CSF）、化療藥物、天然產品、激素或拮抗劑、抗血管生成劑或抑制劑、凋亡誘導劑或螯合劑）或其藥物組合物聯合使用。該套件的成分可進行預絡合或每種成分在給予患者之前可放置於單獨的不同容器。該套件的成分可以是一種或多種溶液，優選為水溶液，更優選為無菌水溶液。該套件的成分也可為固體形式，加入合適的溶劑後轉換為液體，最好放置於另一個不同的容器中。

【0395】 治療套件的容器可能為西林瓶、試管、燒瓶、瓶子、注射器、或任何其他盛裝固體或液體的工具。通常，當成分不只一種時，套件將包含第二個西林瓶或其他容

器，使之可以單獨定量。該套件還可能包含另一個裝載藥用液體的容器。優選情況是，治療套件將包含一個設備（如，一個或多個針頭、注射器、滴眼器、吸液管等），使得可注射本發明的藥物（本套件的組合物）。

【0396】 本發明的藥物配方適合以任何可接受的途徑進行肽給藥，如口服（腸道）、鼻內、眼內、皮下、皮內、肌內，靜脈或經皮給藥。優選為皮下給藥，最優選為皮內給藥，也可透過輸液泵給藥。

【0397】 由於本發明的肽從食道癌中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療食道癌。

【0398】 本發明進一步涉及為個體患者製備個體化藥物的一種方法，其中包括：製造含選自預篩選TUMAP存儲庫至少一種肽的藥物組合物，其中藥物組合物中所用的至少一種肽選擇為適合於個體患者。在一項實施方案中，藥物組合物為一種疫苗。該方法也可以改動以產生下游應用的T細胞克隆物，如：TCR 隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0399】 「個體化藥物」系指專門針對個體患者的治療，將僅用於該等個體患者，包括個體化活性癌症疫苗以及使用自體組織的過繼細胞療法。

【0400】 如本文所述，「存儲庫」應指已經接受免疫原性預篩查和/或在特定腫瘤類型中過量表現的一組或一系列肽。「存儲庫」一詞並不暗示，疫苗中包括的特定肽已預先製造並儲存於物理設備中，雖然預期有這種可能性。

明確預期所述肽可以用於新製造每種個體化疫苗，也可能被預先製造和儲存。存儲庫（例如，資料庫形式）由腫瘤相關肽組成，其在各種 HLA-A HLA-B 和 HLA-C 等位元基因食道癌患者的腫瘤組織中高度過度表達。其可能含有包括MHC I類和MHC II類肽或拉長的MHC I類肽。除了從幾種食道癌組織中採集的腫瘤相關肽外，存儲庫還可能包含HLA-A*02和 HLA-A*24 標記肽。這些肽可對TUMAP誘導的T細胞免疫進行量化比較，從而可得出疫苗抗腫瘤反應能力的重要結論。其次，在沒有觀察到來自患者「自身」抗原TUMAP的任何疫苗誘導的T細胞反應時，它們可作為來自「非自身」抗原的重要陽性對照肽。第三，它還可對患者的免疫功能狀態得出結論。

【0401】 存儲庫的TUMAP透過使用一種功能基因組學方法進行鑒定，該方法結合了基因表達分析、質譜法和T細胞免疫學（XPresident ®）。該方法確保了只選擇真實存在于高百分比腫瘤但在正常組織中不表達或僅很少量表達的TUMAP用於進一步分析。對於初始肽的選擇，患者食道癌樣本和健康供體的血液以循序漸進的方法進行分析：

1. 惡性材料的HLA 配體用質譜法確定

2. 使用全基因組信使核糖核酸（mRNA）表達分析法用於確定惡性腫瘤組織（食道癌）與一系列正常器官和組織相比過度表達的基因。

3．確定的HLA配體與基因表達資料進行比較。腫瘤組織上過度表現或選擇性表現的肽，優選為第 2 步中檢測到的選擇性表達或過量表達基因所編碼的考慮為多肽疫苗的合適候選 TUMAP。

4．文獻檢索以確定更多證據以支持確認為 TUMP 的肽的相關性

5．過度表達在mRNA水準的相關性由腫瘤組織第 3 步選定的TUMAP重新檢測而確定，並且在健康組織上缺乏（或不經常）檢測。

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

【0402】 一方面，在將所述肽加入存儲庫之前，對其進行篩查以瞭解免疫原性。舉例來說（但不限於此），納入存儲庫的肽的免疫原性的確定方法包括體外T細胞活化，具體為：用裝載肽/MHC 複合物和抗 CD28 抗體的人工抗原呈現細胞反復刺激來自健康供體的 CD8+T細胞。

【0403】 這種方法優選用於罕見癌症以及有罕見表達譜的患者。與含目前開發為固定組分的多肽雞尾酒相反的是，存儲庫可將腫瘤中抗原的實際表達於疫苗進行更高程度的匹配。在多目標方法中，每名患者將使用幾種「現成」肽的選定單一肽或組合。理論上來說，基於從 50 抗原

肽庫中選擇例如 5 種不同抗原肽的一種方法可提供大約170萬 種可能的藥物產品（DP）組分。

【0404】 在一方面，選擇所述肽用於疫苗，其基於個體患者的適合性，並使用本發明此處或後文所述的方法。

【0405】 HLA 表型、轉錄和肽組學資料從患者的腫瘤材料和血液樣本中收集，以確定最合適每名患者且含有「存儲庫」和患者獨特（即突變）TUMAP的肽。將選擇的那些肽選擇性地或過度表達于患者腫瘤中，並且可能的情況下，如果用患者個體 PBMC 進行檢測，則表現出很強的體外免疫原性。

【0406】 優選的情況是，疫苗所包括的肽的一種確定方法包括：(a) 識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽（TUMAP）；(b) 將 (a) 中鑒定的肽與上述肽的存儲庫（資料庫）進行比對；且 (c) 從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫（資料庫）中選擇至少一種肽。例如，腫瘤樣本表現的TUMAP的鑒定方法有：(a1) 將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及 (a2) 將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類MHC和/或 II 類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。優選情況是，MHC 配體的序列的確定方法是：洗脫來自腫瘤樣本分離的MHC分子結合肽，

並測序洗脫配體。優選情況是，腫瘤樣本和正常組織從同一患者獲得。

【0407】 除了使用存儲庫（資料庫）模型選擇肽以外，或作為一種替代方法，TUMAP可能在新患者中進行鑒定，然後列入疫苗中。作為一種實施例，患者中的候選TUMAP可透過以下方法進行鑒定：(a1) 將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及 (a2) 將表達資料與結合到腫瘤樣本中 I 類MHC和/或 II 類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。作為另一實施例，蛋白的鑒定方法為可包含突變，其對於腫瘤樣本相對于個體患者的相應正常組織是獨特的，並且TUMAP可透過特異性靶向作用於變異來鑒定。例如，腫瘤以及相應正常組織的基因組可透過全基因組測序方法進行測序：為了發現基因蛋白質編碼區域的非同義突變，從腫瘤組織中萃取基因組DNA和RNA，從外周血單核細胞 (PBMC) 中提取正常非突變基因組種系DNA。運用的 NGS 方法只限于蛋白編碼區的重測序（外顯子組重測序）。為了這一目的，使用供應商提供的靶序列富集試劑盒來捕獲來自人樣本的外顯子 DNA，隨後使用 HiSeq2000（Illumina公司）進行測序。此外，對腫瘤的mRNA進行測序，以直接定量基因表達，並確認突變基因在患者腫瘤中表達。得到的數以百萬計的序列讀

數透過軟體演算法處理。輸出列表中包含突變和基因表達。腫瘤特異性體突變透過與PBMC衍生的種系變化比較來確定，並進行優化。然後，為了存儲庫可能測試新確定的肽瞭解如上所述的免疫原性，並且選擇具有合適免疫原性的候選TUMAP用於疫苗。

【0408】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)用上述方法識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽(TUMAP)；(b) 將(a)中鑒定的肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量表現預篩查肽的存儲庫進行比對；(c)從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫中選擇至少一種肽；及(d)可選地在(a)中選擇至少一種新確定的肽，確認其免疫原性。

【0409】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)識別由來自個體患者腫瘤樣本表現的腫瘤相關肽(TUMAP)；以及 (b) 在 (a) 中選擇至少一種新確定的肽，並確認其免疫原性。

【0410】 一旦選定了用於個體化肽疫苗的肽時，則產生疫苗。該疫苗優選為一種液體製劑，包括溶解於20-40% DMSO之間，優選為約30-35% DMSO，例如，約33% DMSO中的個體肽。

【0411】 列入產品的每種肽都溶於DMSO中。單個肽溶液濃度的選擇取決於要列入產品中的肽的數量。單肽-DMSO溶液均等混合，以實現一種溶液中包含所有的肽，且濃度為每肽~2.5 mg/ml。然後該混合溶液按照1：

3比例用注射用水進行稀釋，以達到在33% DMSO中每肽0.826 mg/ml的濃度。稀釋的溶液透過0.22 μm無菌篩檢程序進行過濾。從而獲得最終本體溶液。

【0412】 最終本體溶液填充到小瓶中，在使用前儲存於-20℃下。一個小瓶包含700 μL溶液，其中每種肽含有0.578 mg。其中的500 μL（每種肽約400 μg）將用於皮內注射。

【0413】 本發明的肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於肽由食道癌細胞產生，並且已確定這些肽在正常組織中不存在或水準較低，因此這些肽可用於診斷癌症是否存在。

【0414】 血液樣本中組織活檢物含請求項的肽，可有助於病理師診斷癌症。用抗體、質譜或其他本領域內已知的方法檢測某些肽可使病理師判斷該組織樣本為惡性的還是炎症或一般病變，也可用作食道癌的生物標誌物。肽基團的表現使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0415】 對病變標本中肽的檢測使得能對免疫系統治療方法的利益進行判斷，特別是如果T-淋巴細胞已知或預計與作用機制有關。MHC表達的缺失是一種機制，充分說明了哪些受感染的惡性細胞逃避了免疫監視。因此，肽的表現表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0416】 本發明的肽可用於分析淋巴細胞對肽的反應（如T細胞反應），或抗體對肽或MHC分子絡合的肽發生的反應。這些淋巴細胞反應可以作為預後指標，決定是

否採取進一步的治療。這些反應也可以用作免疫療法中的替代反應指標，旨在以不同方式誘導淋巴細胞反應，如接種蛋白疫苗、核酸、自體材料、淋巴細胞過繼轉移。基因治療中，淋巴細胞對肽發生的反應可以在副作用的評估中考慮。淋巴細胞反應監測也可能成為移植療法隨訪檢查中的一種有價值的工具，如，用於檢測移植物抗宿主和宿主抗移植物疾病。

【0417】 下列描述優選方案的實施例將對本發明進行說明，並參照隨附圖表（但是不僅限於此）。考慮到本發明的目的，文中引用的所有參考文獻透過引用的方式併入在本文中。

實施例

實施例1

細胞表面表現的腫瘤相關肽的識別和定量

組織樣本

【0418】 患者的腫瘤組織獲得自 Asterand (Detroit, USA and Royston, Herts, UK)、ProteoGenex Inc., (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd. (Glasgow, UK)、蒂賓根大學醫院。正常組織獲得自 Asterand (Detroit, USA 和 Royston, Herts, UK)、Bio-Options Inc. (CA, USA)、BioServe (Beltsville, MD, USA)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、日內瓦大

學醫院、海德堡大學醫院、京都府立醫科大學(KPUM)、慕尼克大學醫院、ProteoGenex Inc.(Culver City, CA, USA)、德國蒂賓根大學醫院、Tissue Solutions Ltd.(Glasgow, UK)。所有患者在手術或屍檢前都獲得了書面知情同意。切除後組織立即進行冷休克處理，在分離TUMAP前儲存於 -70°C 或以下。

從組織樣本中分離HLA肽

【0419】 根據方案(Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999)略加修改，使用HLA-A*02特異性抗體BB7.2、HLA-A、HLA-B、HLAC特異性抗體W6/32、CNBr活化的瓊脂糖凝膠、酸處理和超濾方法以免疫沉澱法從實體組織中獲得了冷凍組織樣本的HLA肽庫。

質譜分析

【0420】 獲得的HLA肽庫根據其疏水性用反相色譜(nanoAcquity UPLC system, Waters)分離，洗脫肽用裝有電噴霧源的 LTQ- velos 融合雜交質譜(ThermoElectron)進行了分析。肽庫被直接載入填充有 1.7 µm C18 反相材料(Waters)的分析用熔煉石英微毛細管柱(75 µm 內徑x 250 mm)，應用流速為400 nL 每分鐘。隨後，使用來自流速為 300 nL每分鐘、濃度為10%至33% 溶劑 B 中的兩步180分鐘二元梯度法對肽進行分離。梯度由溶劑 A(含0.1% 甲酸的水)和溶劑 B(含0.1 % 甲酸的乙腈)。金鍍膜玻璃毛細管(PicoTip, New Objective)用於引入到納升電

噴霧源。使用前5（TOP5）策略在資料依賴模式下操作LTQ-Orbitrap質譜儀。簡言之，首先以高精確品質完全掃描在orbitrap開始一個掃描週期（R= 30 000），之後用先前選定離子的動態排除技術在orbitrap中對5種含量最為豐富的前體離子進行MS/MS掃描（R = 7500）。串聯質譜以SEQUEST和另一種手動控制器進行解讀。生成的自然肽破碎模式與合成序列相同參考肽的破碎模式進行比較後，確保了被識別的肽序列。

【0421】 無標記相對LC-MS定量透過離子計數（即透過LC-MS功能提取和分析）來進行（Mueller et al., 2007）。該方法假定肽的LC-MS信號區域與樣本中其豐度相關。提取的特徵透過充電狀態去卷積和保留時間校準進行進一步處理（Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008）。最後，所有的LC-MS特徵與序列鑒定結果交叉引用，以將不同樣本和組織的定量資料與肽呈遞特徵結合。定量資料根據集中資料以兩層方式進行正態化處理，以說明技術和生物學複製變異。因此，每個被識別的肽均可與定量資料相關，從而可得出樣本和組織之間的相對定量。此外，對候選肽獲得的所有定量資料進行手動檢查，以確保資料的一致性，並驗證自動化分析的準確度。對於每種肽，計算了表現圖，其顯示樣本平均表現量以及複製變化。這些特徵使食道癌樣本與正常組織樣本的基線值並列。

【0422】 示範性過度表現肽的表現譜示於圖 1 中。示範性肽的表現分數見表 8。

【0423】 表 8：表現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表現（+++）、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表現（++）或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表現（+）的肽。系列正常組織包括：脂肪組織、腎上腺、動脈、靜脈、骨髓、腦、中樞和周圍神經、結腸、直腸、小腸（包括十二指腸）、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號	序列	肽表現
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	+++
3	TASAITPSV	+++
4	ALFGTILEL	++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	+++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++
9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	+++
14	RLPNAGTQV	+++
15	LLANGVYAA	+++

16	VLAEGGEGV	+++
17	MISRTPEV	+++
18	FLLDQVQLGL	+++
19	GLAPFLLNAV	+++
20	IIEVDPDTKEML	+++
21	IVREFLTAL	+++
22	KLNDTYVNV	+++
23	KLSDSATYL	+++
24	LLFAGTMTV	+++
25	LLPPPPPPA	+++
26	MLAEKLLQA	+++
27	NLREGDQLL	+++
28	SLDGFTIQV	+++
29	SLDGTELQL	+++
30	SLNGNQVTV	+++
32	YMLDIFHEV	+++
33	GLDVTSLRPFDL	+++
34	SLVSEQLEPA	+
35	LLRFSQDNA	+++
36	FLLRFSQDNA	+++
37	YTQPFSHYGQAL	+++
38	IAAIRGFLV	+++
39	LVRDTQSGSL	+++
40	GLAFSLYQA	+++
41	GLESEELEPEEL	+
44	ATGNDRKEAAENSL	+++
45	MLTELEKAL	+++
47	VLASGFLTV	+++
48	SMHQMLDQTL	+++

50	GMNPHQTPAQL	+++
51	KLFGHLTSA	+++
52	VAIGGVDGNVRL	+++
55	GAIDLLHNV	+++
57	GLAPNTPGKA	+++
58	LILESIPVV	+++
59	SLLDTLREV	+++
61	TQTTHELTI	+++
62	ALYEYQPLQI	+++
63	LAYTLGVKQL	+++
64	GLTDVIRDV	++
65	YVVGGFLYQRL	+++
66	LLDEKVQSV	+
68	PAVLQSSGLYSL	+++
70	FVLDTSESV	+
71	ASDPILYRPVAV	+
72	FLPPAQVTV	+
73	KITEAIQYV	+
75	GLMDDVDFKA	+
77	VLVPYEPPQV	++
78	KVANIIAEV	+
80	ALQEALENA	++
81	AVLPHVDQV	+++
82	HLLGHLEQA	+++
84	SLAESLDQA	+
86	GLLTEIRAV	+
87	FLDNGPKTI	+
88	GLWEQENHL	+
89	SLADSLYNL	+

91	KLIDDVHRL	+
92	SILRHVAEV	+
94	TLLQEQGTKTV	+

實施例2

編碼本發明肽的基因的表達譜

【0424】 與正常細胞相比在腫瘤細胞上一種肽過度表現或特定表現足夠其在免疫治療中有效使用，一些肽為腫瘤特異性的，儘管存在其源蛋白也存在于正常組織中。但是，mRNA表達譜增加了免疫治療目標肽選擇中其他級別的安全性。特別是對於具有高安全性風險的治療選擇，諸如親和力成熟的TCR，理想的目標肽將來源於對該腫瘤獨一無二且不出現于正常組織中的蛋白。

RNA來源與製備

【0425】 手術切除組織標本按如上所述（參見實施例1）在獲得每名患者的書面知情同意後提供。手術後立即速凍腫瘤組織標本，之後在液態氮中用杵臼勻漿。使用TRI 試劑（Ambion 公司, Darmstadt，德國）之後用 RNeasy（QIAGEN公司，Hilden，德國）清理從這些樣本中製備總RNA；這兩種方法都根據製造商的方案進行。

【0426】 用於RNASeq 實驗來自腫瘤組織的總RNA獲得自：ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd. (Glasgow, UK)。

【0427】 用於RNASeq 實驗來自健康人體組織的總RNA 獲得自： Asterand (Detroit, USA and Royston, Herts, UK)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA) 、 Istituto Nazionale Tumori "Pascale", Molecular Biology and Viral Oncology Unit (IRCCS) (Naples, Italy)、德國海德堡大學醫院、BioCat GmbH (Heidelberg, Germany)。

【0428】 所有RNA樣本的品質和數量都在 Agilent 2100 Bioanalyzer 分析儀（Agilent 公司，Waldbronn，德國）上使用RNA6000 Pico LabChip Kit 試劑盒（Agilent 公司）進行評估。

RNAseq 實驗

【0429】 透過新一代測序技術 (RNAseq) 由CeGaT (Tübingen, Germany) 對腫瘤和正常組織的RNA樣本進行基因表達分析。簡言之，根據供應商的方案 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA)，其中包括RNA碎片化、cDNA 轉化和測序適配器的加入，利用 Illumina HiSeq v4 試劑盒準備測序文庫。從多個樣本獲得的文庫根據製造商的說明等摩爾混合並在 Illumina HiSeq 2500 定序器上測序，產生 50bp 的單端讀數。處理的讀數使用 STAR 軟體映射至人類基因組 (GRCh38)。根據 ENSEMBL 序列資料庫的說明

(Ensemb177)，表達資料在轉錄水準設置為RPKM（每百萬映射讀數每千城基讀數，由Cufflinks軟體生成）並在外顯子水準上設置（總讀數，由Bedtools軟體生成）。外顯子讀數被歸為外顯子長度和校準尺寸，以獲得RPKM值。

【0430】本發明的代表性源基因在食道癌中高度過量表達的表達譜如圖2所示。進一步代表性基因的表達分數見表9。

【0431】表9：表達分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表達（+++）、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表達（++）或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表達（+）的基因的肽。本得分基線根據以下正常組織的測量值計算：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、結腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、胰腺、垂體、直腸、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、膀胱、靜脈。

序列ID號	序列	基因表達
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	+++
3	TASAITPSV	+++
4	ALFGTILEL	++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	+++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++

9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	+++
14	RLPNAGTQV	+++
15	LLANGVYAA	+++
16	VLAEGGEGV	+++
17	MISRTPEV	+++
18	FLLDQVQLGL	+++
24	LLFAGTMTV	+++
25	LLPPPPPPA	+
26	MLAEKLLQA	++
27	NLREGDQLL	+++
32	YMLDIFHEV	+++
49	GLMKDIVGA	+
55	GAIDLLHNV	++
57	GLAPNTPGKA	+
67	SMNGGVFAV	++
69	GLLVGSEKVTM	+++
71	ASDPILYRPVAV	+
77	VLVPYEPPQV	+++
80	ALQEALENA	+
94	TLLQEQGTKTV	+++

實施例3

MHC-I類表現肽的體外免疫原性

【0432】 為了獲得關於本發明TUMAP的免疫原性資訊，發明人使用體外T細胞擴增分析方法進行了研究，其中該分析方法基於使用裝載肽/MHC 複合物和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞（aAPC）進行反復刺激。用這種方法，發明人可顯示出本發明 HLA-A*0201 限制TUMAP具有免疫原性，這表明這些肽為對抗人 CD8+前體T細胞的T細胞表位（表10）。

CD8+T細胞體外活化

【0433】 為了用載有肽-MHC複合物(pMHC)和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞進行體外刺激，發明人首先從University clinics Mannheim, Germany中獲取健康供體CD8微珠(Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany)透過積極選擇白血球清除術後新鮮HLA-A*02產物而分離出CD8+T細胞。

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

U / ml 的 IL-2（Novartis Pharma 公司，Nürnberg，德國）也加入 TCM。

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

【0436】 純化的共刺激小鼠 IgG2a 抗人 CD28 抗體 9.3 (Jung et al., 1987) 使用製造商（Perbio公司，波恩，德國）推薦的 N-羥基琥珀醯亞胺生物素進行化學生物素化處理。所用珠為 5.6 µm的鏈黴抗生物素蛋白包裹的多聚苯乙烯顆粒（Bangs Labooratories，伊利諾州，美國）。

【0437】 用於陽性和陰性對照刺激物的 pMHC 分別為 A*0201/MLA-001（從 Melan-A/MART-1中修飾制得的肽 ELAGIGILTV (SEQ ID NO:102)）和 A*0201/DDX5-001（從 DDX5 中獲得的 YLLPAIVHI (SEQ ID NO:103)）。

【0438】 800.000 珠/200 µl 包裹於含有 4 x 12.5 ng不同生物素-pMHC的96孔板、進行洗滌，隨後加入體積為200 µl的600 ng生物素抗-CD28。在37℃ 下，在含 5 ng/ml IL-12 (PromoCell) 的 200 µl TCM 中共培養 $1x10^6$ CD8+T細胞與 $2x10^5$ 的清洗塗層珠 3 天，從而啟動刺激。之後，一半培養基與補充 80 U/ml IL-2 的新鮮 TCM 進行交換，並且培養在 37℃ 下持

續4天。這種刺激性週期總共進行3次。對於使用每條件8種不同pMHC分子的pMHC多聚體讀出，二維組合編碼方法如前述使用(Andersen et al., 2012)，稍作修飾，涵蓋耦合至5種不同的螢光染料。最後，用Live/dead near IR染料(Invitrogen公司，Karlsruhe，德國)、CD8-FITC抗體克隆SK1(BD公司，Heidelberg，德國)和螢光pMHC多聚體而執行多聚體分析。對於分析，使用了配有合適鐳射儀和篩檢程序的BD LSRII SORP細胞儀。肽特異性細胞以占總CD8+細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用FlowJo軟體(Tree Star公司，Oregon，美國)進行評估。特定多聚體+CD8+淋巴細胞的體外填裝用與陰性對照刺激組比較而進行檢測。如果健康供體中的至少一個可評價的體外刺激孔在體外刺激後發現含有特異性CD8+T細胞株(即該孔包含至少1%特定多聚體+CD8+T細胞，並且特定多聚體+的百分比至少為陰性對照刺激中位數的10倍)，則檢測給定抗原的免疫原性。

食道癌肽體外免疫原性

【0439】 對於受到測試的HLA-I類肽，可透過肽特異性T細胞株的生成證明其體外免疫原性。TUMAP特異性多聚體對本發明的2種肽(SEQ ID NO:97和SEQ ID NO:101)染色後流式細胞儀檢測的典型結果如圖3所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明5種肽的結果匯總於表10A。

【0440】 表10A：本發明中HLAI類肽的體外免疫原性。申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。<20%=+；20%-49%=++；50%-69%=+++；>=70%=++++

SEQ ID NO:	序列	孔	供體
94	TLLQEQGTKTV	+	++
95	LIQDRVAEV	+	++
97	ELDRTPPEV	++	++++
98	VLFPNLKTV	+	++++
101	AMTQLLAGV	++	+++

【0441】 表10B：本發明 HLA-I 類肽的體外免疫原性。

【0442】 申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。提示了體外免疫原性實驗的結果。陽性孔和供體（其他可評價）的百分比概括為 <20%=+；20%-49%=++；50%-69%=+++；>=70%=++++

序列ID號	序列	陽性孔[%]
1	STYGGGLSV	+
2	SLYNLGGSKRISI	+
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	++
12	GLASRILDA	+
19	GLAPFLLNAV	+
29	SLDGTELQL	+
47	VLASGFLTV	+++
69	GLLVGSEKVTM	+
77	VLVPYEPPQV	+

實施例4

肽的合成

【0443】 所有的肽透過使用 Fmoc 策略以標準、廣為接受的固相肽合成法合成。每個肽的身份和純度已使用質譜和 RP-HPLC 分析法確定。用凍乾法（三氟乙酸鹽）獲得白色至類白色的肽，純度為 >50%。所有的TUMAP優選作為三氟乙酸鹽或乙酸鹽進行給藥，其他藥用鹽形式也可以。

實施例5

MHC 結合測定

【0444】 本發明基於T細胞療法的候選肽進一步測試其MHC結合能力（親和性）。單個肽-MHC 複合體透過UV-配體交換產生，其中，紫外線敏感肽經紫外線照射後裂解，與分析的相關肽交換。只有能夠有效地結合並穩定肽接受MHC分子的候選肽才能阻止MHC複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定MHC複合物輕鏈（β2m）的檢測結果進行 ELISA 測定。檢測總體上按照 Rodenko 等人在（Rodenko et al., 2006）中描述的方法進行。

【0445】 96 孔 Maxisorp 板（NUNC）在室溫下在 PBS 中以 2ug/ml 鏈黴包被過夜，用 4 倍洗滌並在37°C下在含封閉緩衝液的 2% BSA 中封閉 1 小時。折疊的 HLA-A*02:01/MLA-001 單體作為標準品，涵蓋 15-500ng/ml 的範圍。紫外線交換反應的肽-MHC 單

體在封閉緩衝液中稀釋100倍。樣本在37°C下孵育1小時，洗滌四次，在37°C下以2ug/ml HRP綴合抗-β2m溫育1小時，再次洗滌，並以NH_2SO_4封堵的TMB溶液進行檢測。在450nm處測量吸收。在生成和產生抗體或其片段時和/或T細胞受體或其片段時，通常優選顯示為高交換產率（優選為高於50%，最優選為高於75%）的候選肽，這是因為它們對MHC分子表現出足夠的親合力，並能防止MHC複合物的解離。

【0446】 表11：MHC-I類結合分數。HLA-I類限制肽與HLA-A*02:01的結合根據肽交換產量分類：≥10% = +；≥20% = ++；≥50 = +++；≥75% = ++++

序列ID	肽代碼	肽交換
1	STYGGGLSV	+++
2	SLYNLGGSKRISI	++++
3	TASAITPSV	+++
5	NLMASQPQL	+++
6	LLSGDLIFL	+++
7	SIFEGLLSGV	++
8	ALLDGGSEAYWRV	+++
9	HLIAEIHTA	+++
10	SLDENSDQQV	+++
11	ALWLPTDSATV	+++
12	GLASRILDA	+++
13	SLSPVILGV	++++
14	RLPNAGTQV	++++
15	LLANGVYAA	+
16	VLAEGGEGV	+++

17	MISRTPEV	++
18	FLLDQVQLGL	+++
19	GLAPFLLNAV	+++
21	IVREFLTAL	+++
22	KLNDTYVNV	+++
23	KLSDSATYL	+++
24	LLFAGTMTV	++
25	LLPPPPPPA	+++
26	MLAEKLLQA	+
27	NLREGDQLL	+++
28	SLDGFTIQV	++
29	SLDGTELQL	+++
30	SLNGNQVTV	+
31	VLPKLYVKL	++
32	YMLDIFHEV	++
33	GLDVTSLRPFDL	+++
34	SLVSEQLEPA	+++
35	LLRFSQDNA	+++
36	FLLRFSQDNA	++
37	YTQPFSHYGQAL	+++
38	IAAIRGFLV	+++
39	LVRDTQSGSL	++
40	GLAFSLYQA	++
41	GLESEELEPEEL	++
42	TQTAVITRI	+
43	KVVGKDYLL	+
44	ATGNDRKEAAENSL	+++
45	MLTELEKAL	++
46	YTAQIGADIAL	+++

47	VLASGFLTV	++++
48	SMHQMLDQTL	++
49	GLMKDIVGA	+++
51	KLFGHLTSA	++
52	VAIGGVDGNVRL	++
53	VVVTGLTLV	++
54	YQDLLNVKM	+++
55	GAIDLLHNV	++
56	ALVEVTEHV	++
57	GLAPNTPGKA	+++
58	LILESIPVV	++
59	SLLDTLREV	+++
60	VVMEELLKV	++
61	TQTTHELTI	+++
62	ALYEYQPLQI	++
63	LAYTLGVKQL	+++
64	GLTDVIRDV	++++
65	YVVGGFLYQRL	+++
66	LLDEKVQSV	+++
67	SMNGGVFAV	++
68	PAVLQSSGLYSL	++
69	GLLVGSEKVTM	+++
70	FVLDTSESV	+++
71	ASDPILYRPVAV	+++
72	FLPPAQVTV	++
73	KITEAIQYV	+++
74	ILASLATSV	+++
76	KVADYIPQL	+++
77	VLVPYEPPQV	++

78	KVANIIAEV	++
79	GQDVGRYQV	++
80	ALQEALENA	++
81	AVLPHVDQV	+++
82	HLLGHLEQA	+++
83	ALADGVVSQA	+++
84	SLAESLDQA	+++
85	NIIELVHQV	++++
87	FLDNGPKTI	+++
89	SLADSLYNL	++
90	SIYEYYHAL	+++
91	KLIDDVHRL	++++
92	SILRHVAEV	++
93	VLINTSVTL	+++

實施例6

細胞表面表現的腫瘤相關肽的絕對定量

【0447】 黏合劑例如抗體和/或TCR的產生是一個費力的過程，其可以僅針對一些選定靶標進行。在腫瘤相關和特異性肽的情況下，選擇標準包括但不限於排除表現於細胞表面上肽的表現和濃度。實體腫瘤樣本中每個細胞的TUMAP拷貝數定量需要分離TUMAP的絕對定量、TUMAP分離效率和分析的組織樣本細胞計數。

nanoLC-MS/MS 肽定量

【0448】 對於透過質譜法對肽的準確定量，使用內標法生成每種肽的校準曲線。內標是每種肽的雙同位素標記的

變體，即，TUMAP合成中納入 2 個同位素標記的氨基酸。它與腫瘤相關肽僅在品質上不同，但在其他的物理化學性質方面無差異（Anderson et al., 2012）。內標被摻入到每個 MS 樣本，所有 MS 信號均標準化為內標MS信號，以平衡 MS 實驗之間潛在的技術差異。

【0449】 校準曲線用至少三種不同的矩陣繪製，即，來自于類似於常規 MS 樣本的天然樣本的HLA肽洗脫液，並且每個制備品以重複 MS 運行進行測量。對於評價，MS信號被標準化為內標信號，校準曲線透過 logistic 回歸計算。

【0450】 對於來自組織樣本的腫瘤相關肽的定量，各樣本也摻有內標；MS信號標準化為內標並使用該肽校正曲線進行定量。

肽/MHC分離的效率

【0451】 對於任何蛋白質純化過程，來自組織樣本蛋白的分離與相關蛋白的一定損失相關聯。為了確定TUMAP分離的效率，針對選定為絕對定量的所有TUMAP產生了肽/MHC複合體。為了能夠天然肽 MHC/複合體與加樣物，使用了單同位素標記版本的 TUMAP，即TUMAP合成期間納入 1 個同位素標記的氨基酸。這些複合物被摻入新製備的組織裂解物中，例如，在TUMAP分離過程中最早可能時間點，然後在之後的親和純化中像天然肽MHC/複合物被獲取。因此，測量單標記TUMAP的恢復可得到個體TUMAP分離效率相關的結論。

【0452】 分離效率使用少量樣本進行分析，且這些組織樣本可比較。與此相反，個體肽之間的分離效率不同。這表明，分離效率雖然只在有限數量的樣本中進行測定，但可外推至任何其他組織制備品中。但是，由於分離效率不能從一種肽外推至其他肽，因此，有必要單獨分析每個TUMAP。

固體、冷凍組織中細胞計數的測定

【0453】 為了確定經過絕對肽定量的組織樣本的細胞數，發明人採用了DNA含量分析。此方法適用于不同來源的廣泛樣本，最重要的是，冷凍樣本（Alcoser et al., 2011; Forsey and Chaudhuri, 2009; Silva et al., 2013）。在肽分離方案期間，組織樣本被加工為均勻的裂解物，從中取一小等份裂解物。樣本等分為三份，從中分離 DNA 被分離（QiaAmpDNAMini Kit, Qiagen, Hilden，德國）。每次DNA分離的總DNA含量至少重複兩次使用基於螢光的DNA定量測定法（Qubit dsDNA HS Assay Kit, Life Technologies, Darmstadt，德國）進行定量。

【0454】 為了計算細胞數，生成了來自單個健康血細胞等分試樣的DNA標準曲線，使用一系列指定的細胞數。標準曲線用於計算每次DNA分離總DNA含量的總細胞含量。用於肽分離的組織樣本的平均總細胞計數，在考慮裂解物等份的已知體積和總裂解物體積的情況下進行推算。

每細胞的肽拷貝數

【0455】 使用前述實驗的資料，發明人以總肽量除以樣本總細胞計數計算得出每個細胞的TUMAP拷貝數，隨後除以分離效率。選定肽的細胞拷貝數如表12所示。

【0456】 表12：絕對拷貝數。該表列出了NSCLC腫瘤樣本中絕對肽定量的結果。針對每種肽，每個細胞的中位元拷貝數表示：<100 = +; >=100 = ++; >=1,000 +++; >=10,000 = ++++. 提示樣本數量，其中提供評估的高品質MS資料。

序列號	序列	每個細胞的拷貝數	樣本數量
9	PTHL-001	+	31

【0457】 參考文獻列表

Abbas, W. et al., Front Oncol **5** (2015): 75

Adams, S. et al., PLoS.One. **9** (2014): e112945

Al Moustafa, A. E. et al., Oncogene **21** (2002): 2634-2640

Al-Mahdi, R. et al., Cell Adh.Migr. (2015): 0

Alcoser, S. Y. et al., BMC.Biotechnol. **11** (2011): 124

Alholle, A. et al., Epigenetics. **8** (2013): 1198-1204

Ali, R. H. et al., Hum.Pathol. **45** (2014): 2453-2462

Allison, J. P. et al., Science **270** (1995): 932-933

Alper, M. et al., Mol.Cell Biochem. **393** (2014): 165-175

Alsagaby, S. A. et al., J Proteome.Res **13** (2014): 5051-5062

Altmannsberger, M. et al., Am.J Pathol. **118** (1985): 85-95

Ammendola, M. et al., PLoS.One. **9** (2014): e99512

Andersen, R. S. et al., Nat.Protoc. **7** (2012): 891-902

Anderson, N. L. et al., J Proteome.Res **11** (2012): 1868-1878

Appay, V. et al., Eur.J Immunol. **36** (2006): 1805-1814

Arentz, G. et al., Clin Proteomics. **8** (2011): 16

Arif, Q. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **139** (2015): 978-980

Auvinen, P. et al., Breast Cancer Res Treat. **143** (2014): 277-286

Avasarala, S. et al., PLoS.One. **8** (2013): e76895

Banchereau, J. et al., Cell **106** (2001): 271-274

Bandres, E. et al., Oncol Rep. **12** (2004): 287-292

Banerjee, K. et al., Int.J Cancer (2015)

Barros-Filho, M. C. et al., J Clin Endocrinol.Metab **100** (2015): E890-E899

Bashyam, M. D. et al., Neoplasia. **7** (2005): 556-562

Basu, S. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0123979

Baxter, P. A. et al., Acta Neuropathol.Commun. **2** (2014): 160

Beatty, G. et al., J Immunol **166** (2001): 2276-2282

Becker, S. A. et al., Cancer Res **56** (1996): 5092-5097

Beggs, J. D., Nature **275** (1978): 104-109

Bellon, M. et al., Blood **121** (2013): 5045-5054

Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B (Methodological), **Vol.57** (1995): 289-300

Bhattacharjee, R. B. et al., Cell Biol Int. **36** (2012): 697-704

Bin Amer, S. M. et al., Saudi.Med.J **29** (2008): 507-513

Blanch, A. et al., PLoS.One. **8** (2013): e66436

Blanco, M. A. et al., Cell Res **22** (2012): 1339-1355

Blenk, S. et al., Cancer Inform. **3** (2007): 399-420

Boulter, J. M. et al., Protein Eng **16** (2003): 707-711

Boyer, A. P. et al., Mol.Cell Proteomics. **12** (2013): 180-193

Bozza, W. P. et al., Oncotarget. **6** (2015): 32723-32736

Braulke, T. et al., Arch.Biochem.Biophys. **298** (1992): 176-181

Braumuller, H. et al., Nature (2013)

Bray, F. et al., Int J Cancer **132** (2013): 1133-1145

Brechmann, M. et al., Immunity. **37** (2012): 697-708

Bredholt, G. et al., Oncotarget. **6** (2015): 39676-39691

Breuninger, S. et al., Am.J Pathol. **176** (2010): 2509-2519

Brezinova, J. et al., Cancer Genet.Cytogenet. **173** (2007): 10-16

Broghammer, M. et al., Cancer Lett. **214** (2004): 225-229

Brossart, P. et al., Blood **90** (1997): 1594-1599

Bruckdorfer, T. et al., Curr.Pharm.Biotechnol. **5** (2004): 29-43

Buckley, N. E. et al., Cell Death.Dis. **5** (2014): e1070

Bui, P. H. et al., Mol.Pharmacol. **76** (2009): 1044-1052

Buim, M. E. et al., Oncology **69** (2005): 445-454

Bujas, T. et al., Eur.J Histochem. **55** (2011): e7

Cai, J. L. et al., Chin J Cancer Res **23** (2011): 59-63

Cai, Q. et al., Nat Genet. **46** (2014): 886-890

Calmon, M. F. et al., Epigenetics. **10** (2015): 622-632

Calvo, N. et al., Biochem.Cell Biol **92** (2014): 305-315

Canet, B. et al., Hum.Pathol. **42** (2011): 833-839

Cao, Z. et al., Mol.Oncol **8** (2014): 285-296

Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. **53** (2004): 345-357

Carinci, F. et al., Int.J Immunopathol.Pharmacol. **18** (2005): 513-524

Cazier, J. B. et al., Nat Commun. **5** (2014): 3756

Cetindis, M. et al., Eur.Arch.Otorhinolaryngol. (2015)

Chakrabarti, G. et al., Cancer Metab **3** (2015): 12

Chaneton, B. et al., Trends Biochem.Sci. **37** (2012): 309-316

Chang, I. W. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 5441-5450

Chang, J. W. et al., Anticancer Res **32** (2012): 1259-1265

Chanock, S. J. et al., Hum.Immunol. **65** (2004): 1211-1223

Chauvet, C. et al., PLoS.One. **6** (2011): e22545

Che, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 6559-6568

Chen, B. et al., Mol.Cancer Res **10** (2012): 305-315

Chen, K. D. et al., Cell Death.Dis. **5** (2014a): e1244

Chen, L. et al., Int.J Mol.Sci. **15** (2014b): 11435-11445

Chen, Q. et al., Cell Physiol Biochem. **35** (2015a): 1052-1061

Chen, R. S. et al., Oncogene **28** (2009): 599-609

Chen, S. et al., Cancer Epidemiol. **37** (2013): 172-178

Chen, W. M. et al., Dig.Dis.Sci. **60** (2015b): 1655-1662

Chen, Y. et al., Med.Oncol **31** (2014c): 304

Chen, Y. C. et al., Int.J Cancer **135** (2014d): 117-127

Chen, Z. T. et al., Int.J Mol.Sci. **16** (2015c): 15497-15530

Cheon, D. J. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 711-723

Cheuk, W. et al., Pathology **33** (2001): 7-12

Cho, S. J. et al., PLoS.One. **8** (2013): e71724

Choi, W. I. et al., Cell Physiol Biochem. **23** (2009): 359-370

Chuang, W. Y. et al., Histol.Histopathol. **28** (2013): 293-299

Chung, J. et al., J Cell Biol **158** (2002): 165-174

Chung, T. K. et al., Int.J Cancer **137** (2015): 776-783

Cimino, D. et al., Int.J Cancer 123 (2008): 1327-1338

Cipriano, R. et al., Mol.Cancer Res 12 (2014): 1156-1165

ClinicalTrials.gov, (2015), http://www.clinicaltrials.gov.

Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. 16 (2003a): 324-332

Cohen, C. J. et al., J Immunol 170 (2003b): 4349-4361

Cohen, S. N. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 69 (1972): 2110-2114

Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science (1995)

Colombetti, S. et al., J Immunol. 176 (2006): 2730-2738

Council, L. et al., Mod.Pathol. 22 (2009): 639-650

Crossen, P. E. et al., Cancer Genet.Cytogenet. 113 (1999): 126-133

Cui, D. et al., Oncogene 33 (2014): 2225-2235

Daigeler, A. et al., J Exp.Clin Cancer Res 27 (2008): 82

Dang, C. V. et al., Clin Cancer Res 15 (2009): 6479-6483

Dang, Q. et al., Med.Oncol 31 (2014): 24

Dar, A. A. et al., Immunology (2015)

Davids, M. S. et al., Leuk.Lymphoma 53 (2012): 2362-2370

Davidson, B. et al., Hum.Pathol. 45 (2014): 691-700

de Groen, F. L. et al., Genes Chromosomes.Cancer 53 (2014): 339-348

de Jonge, H. J. et al., Leukemia 25 (2011): 1825-1833

de Sa, V. K. et al., Braz.J Med.Biol Res 46 (2013): 21-31

De, Keersmaecker K. et al., Haematologica 99 (2014): 85-93

De, Ponti A. et al., Cancer Lett. 369 (2015): 396-404

Deacu, E. et al., Cancer Res 64 (2004): 7690-7696

Deb, S. et al., Mod.Pathol. 27 (2014): 1223-1230

Debiec-Rychter, M. et al., Genes Chromosomes.Cancer **38** (2003): 187-190

DeLaBarre, B. et al., Chem Biol **21** (2014): 1143-1161

Delker, D. A. et al., PLoS.One. **9** (2014): e88367

Demirag, G. G. et al., Med.Oncol **29** (2012): 1518-1522

Demirci, H. et al., J Ophthalmic Vis.Res **8** (2013): 303-307

Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res **12** (2006): 4163-4170

Denkberg, G. et al., J Immunol **171** (2003): 2197-2207

Depianto, D. et al., Nat Genet. **42** (2010): 910-914

Ding, L. et al., Nature **481** (2012): 506-510

Dotlic, S. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. **22** (2014): 537-542

Downie, D. et al., Clin Cancer Res. **11** (2005): 7369-7375

Draberova, E. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol. **74** (2015): 723-742

Drayton, R. M. et al., Clin Cancer Res **20** (2014): 1990-2000

Du, J. et al., Int.J Mol.Sci. **13** (2012): 15755-15766

Duanmin, H. et al., Hepatogastroenterology **60** (2013): 870-875

Dubrowinskaja, N. et al., Cancer Med. **3** (2014): 300-309

Ehrlichova, M. et al., Genomics **102** (2013): 96-101

El-Naggar, A. M. et al., Cancer Cell **27** (2015): 682-697

Espinosa, A. M. et al., PLoS.One. **8** (2013): e55975

Esseghir, S. et al., J Pathol. **210** (2006): 420-430

Falk, K. et al., Nature **351** (1991): 290-296

Fang, J. et al., BMC.Cancer **8** (2008a): 69

Fang, W. et al., J Transl.Med. **6** (2008b): 32

Fejzo, M. S. et al., Int.J Mol.Sci. **14** (2013): 3094-3109

Fellenberg, F. et al., J Invest Dermatol. 122 (2004): 1510-1517

Feng, G. et al., Leuk.Lymphoma 55 (2014): 2699-2705

Ferlay et al., GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.11 [Internet], (2013), http://globocan.iarc.fr

Fong, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98 (2001): 8809-8814

Fontaine, J. F. et al., PLoS.One. 4 (2009): e7632

Forsey, R. W. et al., Biotechnol.Lett. 31 (2009): 819-823

Fu, A. et al., Mol.Med.Rep. 11 (2015a): 4172-4733

Fu, Y. et al., Cancer Biol.Ther 5 (2006): 741-744

Fu, Z. C. et al., Med.Sci.Monit. 21 (2015b): 1276-1287

Fujita, A. et al., Genet.Mol.Res 7 (2008): 371-378

Fujita, N. et al., J Biochem. 152 (2012): 407-413

Fujiwara, K. et al., PLoS.One. 9 (2014): e107424

Furukawa, C. et al., Cancer Res 65 (2005): 7102-7110

Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. 2 (1996): 1096-1103

Gao, Y. B. et al., Nat Genet. 46 (2014): 1097-1102

Gattinoni, L. et al., Nat Rev.Immunol 6 (2006): 383-393

Giallourakis, C. C. et al., J Immunol. 190 (2013): 5578-5587

Giovinazzo, F. et al., Cell Signal. 25 (2013): 651-659

Gkika, D. et al., J Cell Biol 208 (2015): 89-107

Gnjatic, S. et al., Proc Natl.Acad.Sci.U.S.A 100 (2003): 8862-8867

Godkin, A. et al., Int.Immunol 9 (1997): 905-911

Goode, G. et al., PLoS.One. 9 (2014): e100103

Gordon, G. J. et al., BMC.Cancer 11 (2011): 169

Gorski, J. J. et al., Breast Cancer Res Treat. 122 (2010): 721-731

Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual **4th** (2012)

Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual **2nd** (2014)

Groulx, J. F. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1217-1227

Guo, X. et al., Sci.Rep. **5** (2015): 11846

Gupta, V. et al., Curr.Pharm.Des **20** (2014): 2595-2606

Hagel, C. et al., J Neurooncol. **112** (2013): 191-197

Haggman, M. J. et al., Urology **50** (1997): 643-647

Hammam, O. et al., J Egypt.Soc.Parasitol. **44** (2014): 733-740

Hapgood, G. et al., Blood **126** (2015): 17-25

Haraguchi, N. et al., Int.J Oncol **43** (2013): 425-430

Harris, T. M. et al., Arch.Pathol.Lab Med. **139** (2015): 494-507

Haslene-Hox, H. et al., Biochim.Biophys.Acta **1834** (2013): 2347-2359

Hatina, J. et al., Neoplasma **59** (2012): 728-736

Hauser, A. D. et al., Mol.Cancer Res **12** (2014): 130-142

He, X. et al., Int.J Biol Macromol. **72** (2015): 1081-1089

Heffler, M. et al., Anticancer Agents Med.Chem **13** (2013): 584-594

Heubeck, B. et al., Eur.J Cancer **49** (2013): e1-e7

Hoeflich, K. P. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 839-849

Hofsli, E. et al., Br.J Cancer **99** (2008): 1330-1339

Hogan, L. E. et al., Blood **118** (2011): 5218-5226

Hountis, P. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 7327-7333

Hu, C. K. et al., Mol.Biol Cell **23** (2012): 2702-2711

Huang, F. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014a): 1093-1100

Huang, S. L. et al., Cancers (Basel) **7** (2015): 1052-1071

Huang, Y. D. et al., Hua Xi.Kou Qiang.Yi.Xue.Za Zhi. **25** (2007): 500-503

Huang, Z. et al., Indian J Otolaryngol.Head Neck Surg. **66** (2014b): 120-125

Huang, Z. et al., J Oral Pathol.Med. **43** (2014c): 191-198

Hussey, G. S. et al., Mol Cell **41** (2011): 419-431

Hwang, M. L. et al., J Immunol. **179** (2007): 5829-5838

Ichinose, J. et al., Cancer Sci. **105** (2014): 1135-1141

Ida-Yonemochi, H. et al., Mod.Pathol. **25** (2012): 784-794

Ii, M. et al., Int.J Oncol **39** (2011): 593-599

Inoue, H. et al., Int.J Cancer **63** (1995): 523-526

Inoue, K. et al., Subcell.Biochem. **85** (2014): 17-40

Iqbal, M. A. et al., FEBS Lett. **588** (2014): 2685-2692

Irifune, H. et al., Cancer Biol Ther. **4** (2005): 449-455

Ismail, M. F. et al., Tumour.Biol (2015)

Israelsen, W. J. et al., Semin.Cell Dev.Biol **43** (2015): 43-51

Jamieson, N. B. et al., Clin Cancer Res **17** (2011): 3316-3331

Januchowski, R. et al., Biomed.Pharmacother. **67** (2013): 240-245

Jiang, L. et al., Cell Cycle **14** (2015): 2881-2885

Jin, J. et al., Int.J Hematol. **99** (2014): 750-757

Johnson, R. H. et al., Oncotarget. (2015)

Johnstone, C. N. et al., Dis.Model.Mech. **8** (2015): 237-251

Joosse, S. A. et al., Clin Cancer Res **18** (2012): 993-1003

Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A **84** (1987): 4611-4615

Kabbage, M. et al., J Biomed.Biotechnol. **2008** (2008): 564127

Kanehira, M. et al., Cancer Res **67** (2007): 3276-3285

Kang, S. et al., J Proteome.Res **9** (2010): 5638-5645

Kao, C. J. et al., Oncogene **27** (2008): 1397-1403

Karlsson, J. et al., Cancer Lett. **357** (2015): 498-501

Kato, I. et al., Pathol.Int. **59** (2009): 38-43

Katoh, M., Int.J Oncol **41** (2012): 1913-1918

Kaz, A. M. et al., Genes Chromosomes.Cancer **51** (2012): 384-393

Kazma, R. et al., PLoS.One. **7** (2012): e51680

Kerley-Hamilton, J. S. et al., Oncogene **24** (2005): 6090-6100

Khakpour, G. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 4905-4912

Khalil, A. A., Cancer Sci. **98** (2007): 201-213

Khapare, N. et al., PLoS.One. **7** (2012): e38561

Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients **rd** (2000)

Kido, T. et al., Genes (Basel) **1** (2010): 283-293

Kim, S. W. et al., OMICS. **15** (2011): 281-292

Kimura, H. et al., Int.J Oncol **30** (2007): 171-179

Kinoshita, T. et al., Oncotarget. **3** (2012): 1386-1400

Kirov, A. et al., J Cell Biochem. (2015)

Kita, Y. et al., Eur.J Surg.Oncol **35** (2009): 52-58

Klopfleisch, R. et al., J Proteome.Res **9** (2010): 6380-6391

Koizume, S. et al., Cancer Res **66** (2006): 9453-9460

Koizume, S. et al., World J Clin Oncol **5** (2014): 908-920

Koizume, S. et al., Biomark.Cancer **7** (2015): 1-13

Kono, K. et al., Cancer Sci. **100** (2009): 1502-1509

Kottorou, A. E. et al., Acta Histochem. **114** (2012): 553-561

Krieg, A. M., Nat Rev.Drug Discov. **5** (2006): 471-484

Krisenko, M. O. et al., Biochim.Biophys.Acta **1853** (2015): 254-263

Kruse, A. J. et al., Int.J Gynecol.Cancer **24** (2014): 1616-1622

Kulkarni, G. et al., Breast Cancer Res Treat. **102** (2007): 31-41

Kultti, A. et al., Biomed.Res Int. **2014** (2014): 817613

Kumar, M. et al., J Transl.Med. **13** (2015): 8

Kumarakulasingham, M. et al., Clin Cancer Res **11** (2005): 3758-3765

Kuramitsu, Y. et al., Anticancer Res **30** (2010): 4459-4465

Kurimoto, F. et al., Int.J Mol.Med. **8** (2001): 89-93

Kwon, O. H. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **406** (2011): 539-545

Larrinaga, G. et al., Dis.Markers **35** (2013): 825-832

Lauvrak, S. U. et al., Br.J Cancer **109** (2013): 2228-2236

Leal, M. F. et al., World J Gastroenterol. **18** (2012): 1531-1537

Ledet, E. M. et al., Prostate **73** (2013): 614-623

Lee, E. J. et al., J Genet.Genomics **42** (2015a): 355-371

Lee, H. W. et al., Dis.Esophagus. (2015b)

Lee, J. et al., Oncoscience. **2** (2015c): 410-418

Lee, J. M., Reprod.Biol Endocrinol. **1** (2003): 69

Lee, M. H. et al., J Cell Sci. **126** (2013): 1744-1752

Lee, M. H. et al., Ann.N.Y.Acad.Sci. **1171** (2009): 87-93

Lee, S. H. et al., EMBO J **25** (2006): 4008-4019

Lee, S. Y. et al., J Clin Invest **122** (2012): 3211-3220

Lei, Y. Y. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. **15** (2014): 8539-8548

Leithner, K. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 40

Leitlinie Magenkarzinom, **032-009OL**, (2012)

Lexander, H. et al., Anal.Quant.Cytol.Histol. **27** (2005): 263-272

Li, C. et al., Oncogene **23** (2004): 9336-9347

Li, C. et al., Am.J Cancer Res **5** (2015a): 1635-1648

Li, R. et al., Oncogene **25** (2006): 2628-2635

Li, X. et al., Pancreas **40** (2011): 753-761

Li, X. Q. et al., PLoS.One. **7** (2012): e31146

Li, Y. et al., Neoplasia. **7** (2005): 1073-1080

Li, Y. et al., Cell Rep. **12** (2015b): 388-395

Li, Y. et al., Lung Cancer **58** (2007): 171-183

Li, Z. et al., Biochim.Biophys.Acta **1846** (2014): 285-296

Liang, B. et al., World J Gastroenterol. **11** (2005a): 623-628

Liang, J. et al., Tumour.Biol **36** (2015): 6391-6399

Liang, L. et al., Int.J Oncol **45** (2014): 659-666

Liang, Z. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. **27** (2005b): 534-537

Liao, J. S. et al., Zhejiang.Da.Xue.Xue.Bao.Yi.Xue.Ban. **44** (2015a): 329-334

Liao, W. et al., Oncotarget. **6** (2015b): 24132-24147

Liddy, N. et al., Nat Med. **18** (2012): 980-987

Lim, M. Y. et al., Int.J Chronic.Dis. **2013** (2013): 578613

Lim, R. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **406** (2011): 408-413

Lin, C. et al., Oncotarget. **6** (2015): 8434-8453

Lin, S. J. et al., J Proteomics. **94** (2013): 186-201

Lin, X. et al., Med.Oncol **31** (2014): 42

Linher-Melville, K. et al., Mol.Cell Biochem. **405** (2015): 205-221

Liu, B. et al., J Clin Endocrinol.Metab **99** (2014a): E786-E795

Liu, C. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014b): 690-698

Liu, D. et al., Genet.Mol.Res **13** (2014c): 8153-8162

Liu, J. P. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. **87** (2007a): 2719-2723

Liu, L. et al., Oncol Lett. **7** (2014d): 2192-2198

Liu, Y. et al., J Neurooncol. **99** (2010): 13-24

Liu, Y. et al., Cell Death.Dis. **6** (2015): e1630

Liu, Y. et al., Oncol Rep. **18** (2007b): 943-951

Liu, Y. F. et al., Tumour.Biol **35** (2014e): 3731-3741

Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. **162** (1985): 1745-1759

Lo, P. K. et al., Oncogene **31** (2012): 2614-2626

Lo, R. K. et al., J Biol Chem **278** (2003): 52154-52165

Lo, W. Y. et al., J Proteome.Res **6** (2007): 2143-2151

Lohr, J. G. et al., Cancer Cell **25** (2014): 91-101

Long, W. et al., J Clin Invest **122** (2012): 1869-1880

Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. **690** (1993): 276-291

Longerich, T., Pathologe **35 Suppl 2** (2014): 177-184

Lonsdale, J., Nat.Genet. **45** (2013): 580-585

Lou, S. et al., Stem Cells **31** (2013): 1942-1953

Lu, Z. et al., Cell Physiol Biochem. **33** (2014): 859-868

Lukas, T. J. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **78** (1981): 2791-2795

Lundblad, R. L., Chemical Reagents for Protein Modification **3rd** (2004)

Luo, W. et al., Trends Endocrinol.Metab **23** (2012): 560-566

Lv, Z. et al., J Exp.Clin Cancer Res **33** (2014): 100

Ma, Y. et al., Mol.Cell Proteomics. **8** (2009): 1878-1890

Madanayake, T. W. et al., BMC.Genomics **14** (2013): 833

Maiso, P. et al., Cancer Res **75** (2015): 2071-2082

Manenti, G. et al., Toxicol.Lett. **112-113** (2000): 257-263

Mao, P. et al., J Biol Chem **286** (2011): 19381-19391

Mao, P. et al., PLoS.One. **8** (2013): e81803

Marcinkiewicz, K. M. et al., Exp.Cell Res **320** (2014): 128-143

Marg, A. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **401** (2010): 143-148

Marhold, M. et al., Mol.Cancer Res **13** (2015): 556-564

Martin-Rufian, M. et al., J Mol.Med.(Berl) **92** (2014): 277-290

Matassa, D. S. et al., Cell Death.Dis. **4** (2013): e851

Mayas, M. D. et al., Anticancer Res **32** (2012): 3675-3682

Mazan-Mamczarz, K. et al., PLoS.Genet. **10** (2014): e1004105

Mazurek, S., Ernst.Schering.Found.Symp.Proc. (2007): 99-124

Mazurek, S., Int.J Biochem.Cell Biol **43** (2011): 969-980

McBride, D. J. et al., J Pathol. **227** (2012): 446-455

Melaiu, O. et al., Mutat.Res **771** (2015): 6-12

Messina, M. et al., Blood **123** (2014): 2378-2388

Meziere, C. et al., J Immunol **159** (1997): 3230-3237

Mimori, K. et al., Int.J Oncol **11** (1997): 959-964

Mirza, Z. et al., Anticancer Res **34** (2014): 1873-1884

Missero, C. et al., Exp.Dermatol. **23** (2014): 143-146

Moretti, R. M. et al., Oncol Rep. **9** (2002): 1139-1143

Morgan, R. A. et al., Science **314** (2006): 126-129

Mori, M. et al., Transplantation **64** (1997): 1017-1027

Morris, L. G. et al., Nat Genet. **45** (2013): 253-261

Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. **12** (2006): 3435-3443

Mountzios, G. et al., Ann.Oncol **25** (2014): 1889-1900

Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res **7** (2008): 51-61

Mueller, L. N. et al., Proteomics. **7** (2007): 3470-3480

Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **96** (1999): 8633-8638

Murray, G. I. et al., Histopathology **57** (2010): 202-211

Mustacchi, G. et al., Int.J Mol.Sci. **14** (2013): 9686-9702

Naba, A. et al., Elife. **3** (2014): e01308

Naboulsi, W. et al., J Proteome.Res (2015)

Naderi, A., Exp.Cell Res **331** (2015): 239-250

Nakao, K. et al., J Gastroenterol. **49** (2014): 589-593

Navara, C. S., Curr.Pharm.Des **10** (2004): 1739-1744

Naz, S. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 14-23

Neumann, M. et al., Blood **121** (2013): 4749-4752

Ng, S. K. et al., Clin Experiment.Ophthalmol. **43** (2015): 367-376

Nikitakis, N. G. et al., Am.J Clin Pathol. **119** (2003): 574-586

Nishida, C. R. et al., Mol.Pharmacol. **78** (2010): 497-502

Nwosu, V. et al., Hum.Mol Genet. **10** (2001): 2313-2318

Nykopp, T. K. et al., BMC.Cancer **10** (2010): 512

O'Gorman, D. B. et al., Endocrinology **143** (2002): 4287-4294

Oh, H. R. et al., Cell Oncol (Dordr.) **37** (2014): 455-461

Ohigashi, Y. et al., Clin Cancer Res. **11** (2005): 2947-2953

Okayama, H. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **23** (2014): 2884-2894

Okoh, V. O. et al., PLoS.One. 8 (2013): e54206

Olstad, O. K. et al., Anticancer Res 23 (2003): 2201-2216

Ordonez, N. G., Arch.Pathol.Lab Med. 129 (2005): 1407-1414

Orzol, P. et al., Histol.Histopathol. 30 (2015): 503-521

Padden, J. et al., Mol.Cell Proteomics. 13 (2014): 2661-2672

Pan, B. et al., Mol.Biol Rep. 40 (2013): 27-33

Pan, T. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 456 (2015): 452-458

Papagerakis, S. et al., Hum.Pathol. 34 (2003): 565-572

Park, Y. et al., Oncogene 34 (2015): 5037-5045

Parker, L. P. et al., Cancer Genomics Proteomics. 6 (2009): 189-194

Pathak, S. et al., Nutr.Cancer 66 (2014): 818-824

Peng, H. et al., Cell Oncol (Dordr.) 38 (2015): 165-172

Penney, K. L. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 24 (2015): 255-260

Perez, I. et al., Int.J Med.Sci. 12 (2015): 458-467

Persson, F. et al., Cancer Lett. 260 (2008): 37-47

Pflueger, D. et al., Neoplasia. 15 (2013): 1231-1240

Pickering, C. R. et al., Clin Cancer Res 20 (2014): 6582-6592

Pillay, V. et al., S.Afr.Med.J 105 (2015): 656-658

Pils, D. et al., BMC.Cancer 13 (2013): 178

Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (http://CRAN.R-project.org/package=nlme) (2015)

Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787

Porta, C. et al., Virology 202 (1994): 949-955

Prasad, N. B. et al., Mod.Pathol. 27 (2014): 945-957

Puente, X. S. et al., Nature 526 (2015): 519-524

Qendro, V. et al., J Proteome.Res 13 (2014): 5031-5040

Qi, Y. et al., Proteomics. 5 (2005): 2960-2971

Qi, Y. et al., J Breast Cancer 18 (2015): 218-224

Qie, S. et al., J Cell Biochem. 115 (2014): 498-509

Qu, Y. M. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. 90 (2010): 1958-1962

Qu, Z. et al., Cancer Med. 3 (2014): 453-461

Quillien, V. et al., Anticancer Res. 17 (1997): 387-391

Rabinovitz, I. et al., Biochem.Cell Biol 74 (1996): 811-821

Rabinovitz, I. et al., Clin Exp.Metastasis 13 (1995): 481-491

Rad, E. et al., Mol.Cancer Res 13 (2015): 1149-1160

Rai, R. et al., Oral Oncol 40 (2004): 705-712

Raica, M. et al., Anticancer Res 28 (2008): 2997-3006

Ramirez-Exposito, M. J. et al., Maturitas 72 (2012): 79-83

Rammensee, H. G. et al., Immunogenetics 50 (1999): 213-219

Reeb, A. N. et al., J Clin Endocrinol.Metab 100 (2015): E232-E242

RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/

Rehman, I. et al., PLoS.One. 7 (2012): e30885

Reis, S. T. et al., Clinics.(Sao Paulo) 68 (2013): 652-657

Remmelink, M. et al., Int.J Oncol 26 (2005): 247-258

Revill, K. et al., Gastroenterology 145 (2013): 1424-1435

Ricketts, C. J. et al., Clin Epigenetics. 5 (2013): 16

Rini, B. I. et al., Cancer 107 (2006): 67-74

Rock, K. L. et al., Science 249 (1990): 918-921

Rodenko, B. et al., Nat Protoc. 1 (2006): 1120-1132

Roemer, A. et al., J Urol. **172** (2004): 2162-2166

Romana, S. P. et al., Leukemia **20** (2006): 696-706

Rozenblum, E. et al., Hum.Genet. **110** (2002): 111-121

Ruminy, P. et al., Leukemia **25** (2011): 681-688

Safadi, R. A. et al., Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.Oral Radiol. **121** (2016): 402-411

Saiki, R. K. et al., Science **239** (1988): 487-491

Sanchez-Palencia, A. et al., Int.J Cancer **129** (2011): 355-364

Santarpia, L. et al., Oncologist. **18** (2013): 1063-1073

Sarma, S. N. et al., Environ.Toxicol.Pharmacol. **32** (2011): 285-295

Sathyanarayana, U. G. et al., Cancer Res **64** (2004): 1425-1430

Sato, T. et al., Oncogene **33** (2014): 2215-2224

Sato, Y. et al., J Gastroenterol.Hepatol. **28** (2013): 1422-1429

Savaskan, N. E. et al., Ann.Anat. **192** (2010): 309-313

Savaskan, N. E. et al., Curr.Neuropharmacol. **13** (2015): 258-265

Savoy, R. M. et al., Endocr.Relat Cancer **20** (2013): R341-R356

Schlieben, P. et al., Vet.J **194** (2012): 210-214

Schmitt-Graeff, A. et al., Histopathology **51** (2007): 87-97

Schuld, N. J. et al., Cell Cycle **13** (2014): 941-952

Schumann, H. et al., Br.J Dermatol. **167** (2012): 929-936

Scrideli, C. A. et al., J Neurooncol. **88** (2008): 281-291

Seda, V. et al., Eur.J Haematol. **94** (2015): 193-205

Seeger, F. H. et al., Immunogenetics **49** (1999): 571-576

Seitz, S. et al., Eur.J Cancer **36** (2000): 1507-1513

Semenza, G. L., Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol **76** (2011): 347-353

Seong, J. et al., Mol.Biol.Rep. **39** (2012): 3597-3601

Sethi, M. K. et al., J Proteomics. **126** (2015): 54-67

Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics (1986)

Shi, Z. et al., Int.J Gynecol.Cancer **22** (2012): 1125-1129

Shi, Z. G. et al., Clin Transl.Oncol **17** (2015): 65-73

Shibano, T. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0127271

Shin, S. H. et al., Lab Invest **94** (2014): 1396-1405

Shruthi, D. K. et al., J Oral Maxillofac.Pathol. **18** (2014): 365-371

Silva, J. M. et al., Cell **137** (2009): 1047-1061

Silva, L. P. et al., Anal.Chem. **85** (2013): 9536-9542

Singh, V. et al., OMICS. **19** (2015): 688-699

Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. **53** (2004): 187-195

Slaga, T. J. et al., J Investig.Dermatol.Symp.Proc. **1** (1996): 151-156

Small, E. J. et al., J Clin Oncol. **24** (2006): 3089-3094

Sobolik-Delmaire, T. et al., Cell Commun.Adhes. **14** (2007): 99-109

Spurr, I. B. et al., Chembiochem. **13** (2012): 1628-1634

Stahl, M. et al., Ann.Oncol. **24 Suppl 6** (2013): vi51-vi56

Stull, R. A. et al., BMC.Genomics **6** (2005): 55

Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. **9** (2008): 163

Sugimoto, K. J. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 8980-8987

Suh, J. H. et al., J Korean Med.Sci. **28** (2013): 593-601

Sun, M. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **340** (2006): 209-214

Sun, Y. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **450** (2014): 1-6

Suzuki, S. et al., Pathol.Res Pract. **210** (2014): 130-134

Swain, N. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 8407-8413

Szeliga, M. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 1855-1862

Takabe, P. et al., Exp.Cell Res **337** (2015): 1-15

Takahashi, H. et al., Urology **79** (2012): 240-248

Takeda, H. et al., Nat Genet. **47** (2015): 142-150

Tamada, M. et al., Clin Cancer Res **18** (2012): 5554-5561

Tan, B. S. et al., Mol.Cancer Ther. **10** (2011): 1982-1992

Tanaka, F. et al., Int.J Oncol **10** (1997): 1113-1117

Tang, H. et al., Anticancer Drugs **18** (2007): 633-639

Tang, H. et al., Clin Cancer Res **19** (2013): 1577-1586

Tang, J. Q. et al., Beijing Da.Xue.Xue.Bao. **41** (2009): 531-536

Tang, J. Q. et al., Chin Med.J (Engl.) **123** (2010): 3559-3565

Tanis, T. et al., Arch.Oral Biol **59** (2014): 1155-1163

Tech, K. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 268-272

Teng, B. P. et al., Anticancer Agents Med.Chem **11** (2011): 620-628

Terada, T., Int.J Clin Exp.Pathol. **5** (2012): 596-600

Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. **62** (2005): 1755-1762

Tew, G. W. et al., J Biol Chem **283** (2008): 963-976

Thomas, A. et al., Cancer Med. **2** (2013): 836-848

Tian, S. Y. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. **7** (2014): 3752-3762

Tofuku, K. et al., Int.J Oncol **29** (2006): 175-183

Toh, U. et al., Int.J Clin Oncol **7** (2002): 372-375

Toh, U. et al., Clin Cancer Res. **6** (2000): 4663-4673

Toomey, P. G. et al., Cancer Control **20** (2013): 32-42

Tota, G. et al., BMC.Cancer **14** (2014): 963

Tran, E. et al., Science **344** (2014): 641-645

Truong, T. et al., Endocr.Relat Cancer **21** (2014): 629-638

Tsujimoto, H. et al., Mol.Carcinog **26** (1999): 298-304

Tuupanen, S. et al., Br.J Cancer **111** (2014): 1657-1662

Tuval-Kochen, L. et al., PLoS.One. **8** (2013): e77260

Twa, D. D. et al., J Pathol. **236** (2015): 136-141

Twarock, S. et al., Mol.Cancer **10** (2011): 30

Tzellos, T. G. et al., J Eur.Acad.Dermatol.Venereol. **25** (2011): 679-687

Urosevic, J. et al., Nat Cell Biol **16** (2014): 685-694

Vachani, A. et al., Clin Cancer Res. **13** (2007): 2905-2915

Valladares-Ayerbes, M. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. **19** (2010): 1432-1440

Valletta, D. et al., Carcinogenesis **35** (2014): 1407-1415

van, Geldermalsen M. et al., Oncogene (2015)

Varga, A. E. et al., Oncogene **24** (2005): 5043-5052

Varona, A. et al., Am.J Physiol Renal Physiol **292** (2007): F780-F788

Vasca, V. et al., Oncol Lett. **8** (2014): 2501-2504

Venneti, S. et al., Brain Pathol. **23** (2013): 217-221

Virtakoivu, R. et al., Cancer Res **75** (2015): 2349-2362

Volkmer, J. P. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A **109** (2012): 2078-2083

Volpi, A. et al., G.Chir **32** (2011): 59-63

Vui-Kee, K. et al., Kaohsiung.J Med.Sci. **28** (2012): 243-250

Walter, S. et al., J Immunol **171** (2003): 4974-4978

Walter, S. et al., Nat Med. **18** (2012): 1254-1261

Wang, D. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **458** (2015a): 313-320

Wang, H. et al., Front Oncol **4** (2014): 377

Wang, H. et al., Cancer Cell **18** (2010): 52-62

Wang, J. et al., Oncol Rep. **33** (2015b): 1326-1334

Wang, T. et al., Tumour.Biol (2015c)

Wang, W. M. et al., J Biol Chem **278** (2003): 19549-19557

Wang, X. et al., Eur.J Pharmacol. **768** (2015d): 116-122

Wang, X. M. et al., PLoS.One. **8** (2013a): e55714

Wang, X. Y. et al., Int J Hyperthermia **29** (2013): 364-375

Wang, Y. et al., Neoplasma **62** (2015e): 966-973

Wang, Z. et al., Oncotarget. **4** (2013b): 2476-2486

Wang, Z. et al., Melanoma Res **14** (2004): 107-114

Warner, S. L. et al., Future.Med.Chem **6** (2014): 1167-1178

Watanabe, Y. et al., Gastroenterology **136** (2009): 2149-2158

Wegdam, W. et al., PLoS.One. **9** (2014): e108046

Wehner, M. et al., FEBS J **277** (2010): 1597-1605

Weiss, I. et al., Int.J Mol.Sci. **13** (2012): 12925-12938

Weissbach, S. et al., Br.J Haematol. **169** (2015): 57-70

Wiedl, T. et al., J Proteomics. **74** (2011): 1884-1894

Willcox, B. E. et al., Protein Sci. **8** (1999): 2418-2423

Willoughby, V. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. **16** (2008): 344-348

Wittke, I. et al., Cancer Lett. **162** (2001): 237-243

Wojtalewicz, N. et al., PLoS.One. **9** (2014): e90461

Wong, N. et al., Cancer Lett. **356** (2015): 184-191

Woo, T. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0142642

World Cancer Report, (2014)

Wu, G. et al., Onco.Targets.Ther. **8** (2015): 2067-2074

Wu, S. et al., Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai) **45** (2013): 27-35

Wu, X. et al., Cancer Res **70** (2010): 2718-2727

Xiang, Y. et al., J Clin Invest **125** (2015): 2293-2306

Xu, J. et al., Genet.Mol.Res **13** (2014): 5732-5744

Xu, X. et al., Oncotarget. **6** (2015): 26161-26176

Xue, L. Y. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. **32** (2010): 838-844

Yager, M. L. et al., Br.J Cancer **89** (2003): 860-863

Yamaguchi, T. et al., Dis.Colon Rectum **49** (2006): 399-406

Yamamoto, M. et al., PLoS.One. **6** (2011): e17149

Yamamoto, N. et al., Int.J Oncol **42** (2013): 1523-1532

Yang, C. et al., Tumour.Biol (2015a)

Yang, C. et al., Exp.Cell Res **331** (2015b): 377-386

Yang, H. Y. et al., J Proteomics. **75** (2012): 3639-3653

Yang, J. Y. et al., BMC.Cancer **10** (2010): 388

Yang, S. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015c): 1265-1275

Yang, W. et al., Cancer Lett. **339** (2013): 153-158

Yang, W. et al., Nature **499** (2013a): 491-495

Yang, W. et al., Int.J Oncol **42** (2013b): 690-698

Yao, M. et al., Cancer Med. **3** (2014): 845-854

Yao, R. et al., Histol.Histopathol. **22** (2007): 1025-1032

Yu, D. et al., Oncotarget. **6** (2015a): 7619-7631

Yu, X. et al., Cancer Res **73** (2013): 2093-2103

Yu, Y. et al., Cancer Cell **28** (2015b): 82-96

Yuan, B. et al., Immunobiology **217** (2012): 738-742

Zang, W. et al., Mol.Cancer **14** (2015): 37

Zanini, S. et al., Cell Signal. **27** (2015): 899-907

Zare, M. et al., Mol.Carcinog **51** (2012): 796-806

Zaremba, S. et al., Cancer Res. **57** (1997): 4570-4577

Zha, C. et al., PLoS.One. **10** (2015): e0122322

Zhang, D. et al., J Cell Mol.Med. **16** (2012): 1047-1059

Zhang, H. Y. et al., Mol.Biol Rep. **41** (2014): 5519-5524

Zhang, Q. et al., J Cancer Res Clin Oncol **141** (2015a): 691-703

Zhang, S. et al., Cancer Res **64** (2004): 2977-2983

Zhang, S. et al., J Mol.Histol. **45** (2014): 283-292

Zhang, S. N. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. **85** (2005): 1348-1351

Zhang, T. et al., Mol.Cancer **9** (2010): 72

Zhang, X. et al., Int.J Cancer **137** (2015b): 2803-2814

Zhang, X. et al., Tumour.Biol **36** (2015c): 5979-5985

Zhang, X. et al., PLoS.One. **8** (2013): e72458

Zhang, Y. et al., Cancer Metastasis Rev **34** (2015d): 249-264

Zhang, Z. Z. et al., Mol.Cancer Ther. **14** (2015e): 1162-1170

Zhao, D. et al., J Neurooncol. **118** (2014a): 39-47

Zhao, G. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. **408** (2011): 154-159

Zhao, H. et al., Gene **548** (2014b): 234-243

Zhao, L. J. et al., Chin Med.J (Engl.) **126** (2013): 4260-4264

Zheng, Q. et al., Tumour.Biol **35** (2014): 6255-6264

Zheng, R. et al., Int.Immunopharmacol. **29** (2015): 919-925

Zhi, H. et al., J Pathol. **217** (2009): 389-397

Zhou, Y. F. et al., World J Gastroenterol. **20** (2014): 13172-13177

Zhu, H. et al., Cancer Lett. **245** (2007a): 303-314

Zhu, L. et al., J Dermatol.Sci. **72** (2013a): 311-319

Zhu, S. et al., J Biol Chem **282** (2007b): 14328-14336

Zhu, Y. et al., Prostate **73** (2013b): 1614-1622

Zhu, Y. P. et al., Oncotarget. **6** (2015): 14488-14496

【符號說明】

【0458】

無

【生物材料寄存】

【0459】 國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

【0460】 國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【序列表】

<110> 德商英麥提克生物技術股份有限公司(immatics biotechnologies GmbH)

<120> 用於食管癌和其他癌症免疫治療的新型扣M曳捰X物

<150> US62/188,870
<151> 2015-07-06

<150> GB1511792.2
<151> 2015-07-06

<160> 103

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

Ser Thr Tyr Gly Gly Gly Leu Ser Val
1 5

<210> 2
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Leu Tyr Asn Leu Gly Gly Ser Lys Arg Ile Ser Ile
1 5 10

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Ala Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Asn Leu Met Ala Ser Gln Pro Gln Leu
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Leu Leu Ser Gly Asp Leu Ile Phe Leu
1 5

<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7

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

<210> 8
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Ala Leu Leu Asp Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Trp Arg Val
1 5 10

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

His Leu Ile Ala Glu Ile His Thr Ala
1 5

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Ser Leu Asp Glu Asn Ser Asp Gln Gln Val
1 5 10

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Ala Leu Trp Leu Pro Thr Asp Ser Ala Thr Val
1 5 10

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Gly Leu Ala Ser Arg Ile Leu Asp Ala
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

Ser Leu Ser Pro Val Ile Leu Gly Val
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Arg Leu Pro Asn Ala Gly Thr Gln Val
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Leu Leu Ala Asn Gly Val Tyr Ala Ala
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Val Leu Ala Glu Gly Gly Glu Gly Val
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
1 5

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Phe Leu Leu Asp Gln Val Gln Leu Gly Leu
1 5 10

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gly Leu Ala Pro Phe Leu Leu Asn Ala Val
1 5 10

<210> 20
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Ile Ile Glu Val Asp Pro Asp Thr Lys Glu Met Leu
1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Ile Val Arg Glu Phe Leu Thr Ala Leu
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Lys Leu Asn Asp Thr Tyr Val Asn Val
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Leu Leu Phe Ala Gly Thr Met Thr Val
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Leu Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Met Leu Ala Glu Lys Leu Leu Gln Ala
1 5

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Asn Leu Arg Glu Gly Asp Gln Leu Leu
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Ser Leu Asp Gly Phe Thr Ile Gln Val
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Ser Leu Asp Gly Thr Glu Leu Gln Leu
1 5

<210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Ser Leu Asn Gly Asn Gln Val Thr Val
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Val Leu Pro Lys Leu Tyr Val Lys Leu
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Tyr Met Leu Asp Ile Phe His Glu Val
1 5

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Gly Leu Asp Val Thr Ser Leu Arg Pro Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

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

<210> 35
<211> 9
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Leu Leu Arg Phe Ser Gln Asp Asn Ala
1 5

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Phe Leu Leu Arg Phe Ser Gln Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Tyr Thr Gln Pro Phe Ser His Tyr Gly Gln Ala Leu
1 5 10

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Ile Ala Ala Ile Arg Gly Phe Leu Val
1 5

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Leu Val Arg Asp Thr Gln Ser Gly Ser Leu

1 5 10

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Gly Leu Ala Phe Ser Leu Tyr Gln Ala
1 5

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

Gly Leu Glu Ser Glu Glu Leu Glu Pro Glu Glu Leu
1 5 10

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Thr Gln Thr Ala Val Ile Thr Arg Ile
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Val Val Gly Lys Asp Tyr Leu Leu
1 5

<210> 44
<211> 14

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Ala Thr Gly Asn Asp Arg Lys Glu Ala Ala Glu Asn Ser Leu
1 5 10

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Leu Thr Glu Leu Glu Lys Ala Leu
1 5

<210> 46
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 46

Tyr Thr Ala Gln Ile Gly Ala Asp Ile Ala Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47

Val Leu Ala Ser Gly Phe Leu Thr Val
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

Ser Met His Gln Met Leu Asp Gln Thr Leu
1 5 10

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49

Gly Leu Met Lys Asp Ile Val Gly Ala
1 5

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Met Asn Pro His Gln Thr Pro Ala Gln Leu
1 5 10

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

Lys Leu Phe Gly His Leu Thr Ser Ala
1 5

<210> 52
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

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

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Val Val Val Thr Gly Leu Thr Leu Val
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Tyr Gln Asp Leu Leu Asn Val Lys Met
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly Ala Ile Asp Leu Leu His Asn Val
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Ala Leu Val Glu Val Thr Glu His Val
1 5

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly Leu Ala Pro Asn Thr Pro Gly Lys Ala
1 5 10

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Leu Ile Leu Glu Ser Ile Pro Val Val
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59

Ser Leu Leu Asp Thr Leu Arg Glu Val
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

Val Val Met Glu Glu Leu Leu Lys Val
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61

Thr Gln Thr Thr His Glu Leu Thr Ile
1 5

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62

Ala Leu Tyr Glu Tyr Gln Pro Leu Gln Ile
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63

Leu Ala Tyr Thr Leu Gly Val Lys Gln Leu
1 5 10

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64

Gly Leu Thr Asp Val Ile Arg Asp Val
1 5

<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

Tyr Val Val Gly Gly Phe Leu Tyr Gln Arg Leu
1 5 10

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Leu Leu Asp Glu Lys Val Gln Ser Val
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Ser Met Asn Gly Gly Val Phe Ala Val
1 5

<210> 68
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
1 5 10

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Gly Leu Leu Val Gly Ser Glu Lys Val Thr Met
1 5 10

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Phe Val Leu Asp Thr Ser Glu Ser Val
1 5

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71

Ala Ser Asp Pro Ile Leu Tyr Arg Pro Val Ala Val
1 5 10

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72

Phe Leu Pro Pro Ala Gln Val Thr Val
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73

Lys Ile Thr Glu Ala Ile Gln Tyr Val
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

Ile Leu Ala Ser Leu Ala Thr Ser Val
1 5

<210> 75
<211> 10
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Gly Leu Met Asp Asp Val Asp Phe Lys Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76

Lys Val Ala Asp Tyr Ile Pro Gln Leu
1 5

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Val Leu Val Pro Tyr Glu Pro Pro Gln Val
1 5 10

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Lys Val Ala Asn Ile Ile Ala Glu Val
1 5

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

Gly Gln Asp Val Gly Arg Tyr Gln Val

1 5

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

Ala Leu Gln Glu Ala Leu Glu Asn Ala
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Val Leu Pro His Val Asp Gln Val
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82

His Leu Leu Gly His Leu Glu Gln Ala
1 5

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83

Ala Leu Ala Asp Gly Val Val Ser Gln Ala
1 5 10

<210> 84
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

Ser Leu Ala Glu Ser Leu Asp Gln Ala
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

Asn Ile Ile Glu Leu Val His Gln Val
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86

Gly Leu Leu Thr Glu Ile Arg Ala Val
1 5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87

Phe Leu Asp Asn Gly Pro Lys Thr Ile
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88

Gly Leu Trp Glu Gln Glu Asn His Leu
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89

Ser Leu Ala Asp Ser Leu Tyr Asn Leu
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

Ser Ile Tyr Glu Tyr Tyr His Ala Leu
1 5

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

Lys Leu Ile Asp Asp Val His Arg Leu
1 5

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92

Ser Ile Leu Arg His Val Ala Glu Val
1 5

<210> 93

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93

Val Leu Ile Asn Thr Ser Val Thr Leu
1 5

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94

Thr Leu Leu Gln Glu Gln Gly Thr Lys Thr Val
1 5 10

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

Leu Ile Gln Asp Arg Val Ala Glu Val
1 5

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96

Gly Ala Ala Val Arg Ile Gly Ser Val Leu
1 5 10

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97

Glu Leu Asp Arg Thr Pro Pro Glu Val
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98

Val Leu Phe Pro Asn Leu Lys Thr Val
1 5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99

Arg Val Ala Pro Glu Glu His Pro Val Leu
1 5 10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100

Gly Leu Tyr Pro Asp Ala Phe Ala Pro Val
1 5 10

<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 101

Ala Met Thr Gln Leu Leu Ala Gly Val
1 5

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102

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

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 103

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種肽或其一種藥用鹽，其中所述肽包括選自SEQ ID NO: 77、1至76與78至93所構成之群組的氨基酸序列，其中所述肽的一總長度不超過16個胺基酸。

【請求項2】 如請求項1所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽有能力與主要組織相容性複合體(MHC)分子結合，且其中所述肽與MHC結合時能夠被CD4和/或CD8 T細胞識別。

【請求項3】 如請求項1所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽由SEQ ID NO: 77、1至76與78至93任一者的氨基酸序列所構成。

【請求項4】 如請求項1至3任何一項所述的肽或其藥用鹽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵，且/或其中所述肽為一融合蛋白的一部分，所述融合蛋白包含HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸。

【請求項5】 一種結合劑，所述結合劑專一性識別請求項1至3任何一項所述的肽、或與MHC分子結合時之請求項1至3任何一項所述的肽。

【請求項6】 如請求項5所述的結合劑，所述結合劑為(a)一與一HLA配體反應的可溶或膜結合的T細胞受體或其之一功能性片段，其中所述配體為請求

項 1 至 3 任何一項所述的肽或與 MHC 分子結合時之請求項 1 至 3 任何一項所述的肽，或

(b) 一可溶或膜結合的抗體或其之一功能性片段。

【請求項7】 如請求項 6 所述的結合劑，其中所述抗體或其片段為(i)一單克隆抗體、一人源化抗體、一雙特異性抗體和/或一嵌合抗體或其之一片段，其中所述雙特異性抗體或其之片段專一性識別與 MHC 分子結合時之所述肽，與/或(ii)一抗體或一可溶的 TCR，攜帶一進一步效應子功能、一免疫刺激結構域或一免疫刺激毒素。

【請求項8】 一種核酸，編碼請求項 1 至 3 中任一項所述的肽或請求項 6 或 7 所述的結合劑，任選連接到一個異源啟動子序列。

【請求項9】 一種表達載體，表達請求項 8 所述的核酸。

【請求項10】一種重組宿主細胞，其包括請求項 1 至 3 中任一項所述的肽、請求項 8 所述的核酸、或請求項 9 所述的表達載體。

【請求項11】如請求項 10 所述的重組宿主細胞，其中所述重組宿主細胞

(i) 包括編碼請求項 1 至 3 中任一項所述肽的請求項 8 所述的核酸，且其中所述重組宿主細胞為

一包括一樹突狀細胞的抗原呈現細胞；或

(ii) 包括編碼請求項 6 或 7 所述結合劑的請求項 8 所述的核酸，且其中所述重組宿主細胞為一 T 細胞或一 NK 細胞。

【請求項12】一種請求項 1 至 4 中任一項所述的肽或其藥用鹽、請求項 8 所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體或請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞在製造一藥劑的用途。

【請求項13】一種製備請求項 1 至 3 中任一項所述肽或請求項 6 或 7 所述結合劑的方法，該方法包括培養請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞以及從該重組宿主細胞或其培養基中分離出所述肽或結合劑，所述重組宿主細胞呈現請求項 1 至 3 中任一項所述的肽或表達請求項 8 所述的核酸或載有請求項 9 所述的表達載體。

【請求項14】一種體外製備活化的 T 淋巴細胞的方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人 I 或 II 類 MHC 分子進行體外接觸足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化所述 T 細胞，所述載有抗原的人 I 或 II 類 MHC 分子在一合適的抗原呈現細胞表面或一人工類比的抗原呈現細胞結構表面上表達，其中所述抗原為請求項 1 至 3 中任一項所述的肽。

【請求項15】一種請求項14所述的方法製成的活化T淋巴細胞，其選擇性地識別一種細胞，該細胞表現一包括請求項1至3中任一項給定的氨基酸序列的多肽。

【請求項16】一種一有效劑量的請求項15所界定的活化T淋巴細胞在製造一殺滅一患者中的靶向癌細胞的藥劑的用途，所述靶向癌細胞表現一如請求項1所述的多肽。

【請求項17】如請求項16所述的用途，其中(a)所述T淋巴細胞為該患者自體的，(b)所述T淋巴細胞由一健康供體取得，或(c)所述T淋巴細胞係衍生自自體腫瘤浸潤性淋巴細胞。

【請求項18】一種請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8所述的核酸、請求項9所述的表達載體、請求項10或11所述的重組宿主細胞、或請求項15所述的活化T淋巴細胞在製造一治療癌症的藥劑中的用途。

【請求項19】如請求項18所述的用途，其中所述藥劑為一疫苗或一細胞治療劑。

【請求項20】一種製造一治療癌症劑的方法，其中所述劑包括下列至少一者：請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8

所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體、請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞、或請求項 15 所述的活化 T 淋巴細胞。

【請求項21】如請求項 16 至 19 任一項所述的用途或如請求項 20 所述的方法，其中所述癌症選自食道癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌和其他腫瘤所構成之群組，所述其他腫瘤過度表達一具有選自 SEQ ID NO: 77、1 至 76 與 78 至 93 的序列的肽。

【請求項22】一種藥物組合物，其包括至少一種活性成分與醫藥用載體，該活性成分選自以下所構成的群組：請求項 1 至 4 中任一項所述的肽、請求項 5 至 7 中任一項所述的結合劑、請求項 8 所述的核酸、請求項 9 所述的表達載體、請求項 10 或 11 所述的重組宿主細胞、或請求項 15 所述的活化 T 淋巴細胞或共軛或標記的活性成分。

【請求項23】如請求項 22 所述的藥物組合物，其中(i)所述藥物組合物進一步包括一佐劑，與/或(ii)其中所述藥物組合物係一疫苗或一細胞治療組合物。

【請求項24】如請求項 22 或 23 所述的藥物組合物，用

於治療癌症。

【請求項25】一種藥盒套件，包括：

(a) 一個容器，包含一種藥物組合物，所述藥物組合物含有溶液或凍乾形式的請求項1至4中任一項所述的肽、請求項5至7中任一項所述的結合劑、請求項8所述的核酸、請求項9所述的表達載體、請求項10或11所述的重組宿主細胞、或請求項15所述的活化T淋巴細胞；與

(b) 一第二個容器，包含凍乾劑型的稀釋劑或重組溶液。

【請求項26】如請求項25所述的藥盒套件，進一步包括一個或多個(i)選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:101所構成之群組的至少一個或多個肽(ii)緩衝劑，(iii)稀釋劑，(iv)過濾液，(v)針頭，或(vi)注射器。

【請求項27】一種製造一個性化抗癌疫苗的方法，所述方法包括：

i. 識別來自一個別患者的一腫瘤樣本所呈現的一腫瘤相關肽(TUMAP)；

ii. 將i中識別的肽與已預先篩選出的免疫原性和/或與正常組織相比在腫瘤中過度呈現的肽的數據庫進行比較；

iii. 從所述數據庫中選擇一個與所述患者的所述樣本中識別的TUMAP相匹配的肽；及

iv. 配製根據iii的個性化疫苗；

其中所述數據庫包括一具有選自SEQ ID NO: 77、1至76與78至93所構成之群組的序列的肽。

【請求項28】如請求項27所述的方法，包括選自下列(1)至(4)所構成之群組的一或多個手段：

(1) 其中所述TUMAP由一包括下列步驟的方法所識別：

a1)將來自所述腫瘤樣品的表現資料與來自與所述腫瘤樣品的組織類型相對應的一正常組織樣品的表現資料進行比較，以識別在所述腫瘤樣品中過度表現或異常表現的蛋白質；和

a2)將所述表現資料與所述腫瘤樣本中與MHC I類和/或II類分子結合的MHC配體的序列相關聯，以識別衍生自所述腫瘤過度表現或異常表現的蛋白質的MHC配體；

(2) 其中所述MHC配體的序列是通過從所述腫瘤樣品中分離出的MHC分子中洗脫出結合的肽，並對洗脫出的配體進行測序來鑒定的；

(3) 其中與所述腫瘤樣本的組織類型相對應的所述正

常組織是從同一患者取得；

(4)其中包括在數據庫中的肽的免疫原性是通過包括體外免疫原性試驗、MHC多聚體染色、ELISPOT試驗和/或細胞內細胞因數染色的方法確定的。

【請求項29】如請求項27或28所述的方法，進一步包括識別至少一個突變，該至少一個突變相對於來自所述個體患者的正常相應組織而言是該腫瘤獨一無二的，並選擇與該突變相關的肽，以納入疫苗或用於生成細胞療法。

【請求項30】如請求項29所述的方法，其中所述至少一個突變是由全基因體定序識別的。

圖 A
SEQ NO:
ACGGCGAGAA

238 個鹼基對
3 條鹼基對
8 條鹼基對
5 個鹼基
7 個鹼基
5 條鹼基對
2 個鹼基
3 個鹼基
1 個鹼基
3 個鹼基對
5 條鹼基對
3 個鹼基
2 個鹼基對
4 個鹼基對
3 個鹼基對
8 個鹼基對
5 個鹼基對
3 個鹼基對
4 個鹼基對
3 個鹼基對
7 個鹼基對
3 個鹼基對
6 個鹼基對
2 個鹼基對
7 個鹼基對
6 個鹼基對
2 個鹼基對
7 個鹼基對

指定代表圖：無

圖 3
(Cost-Sensitive)
決策...
相關指令(Related Commands)

(12)發明說明書
(54)發明名稱：
(71)申請人：
(72)發明人：
(74)代理人：
(30)優先權：
(31)
(32)
(33)
(86)國際申請案：
(87)國際公開案：
(62)原申請案：
(41)公開日：
(42)公告日：
(51)Int.Cl.：
(21)申請案號：
(22)申請日：
(19)中華民國智慧財產局

相關指示圖
S10
S20
S30
S40
S50
S60
S70
S80
S90
S100
S110
S120
S130
S140
S150
S160
S170
S180
S190
S200
S210
S220
S230
S240
S250
S260
S270
S280
S290
S300
S310
S320
S330
S340
S350
S360
S370
S380
S390
S400

相關申請案圖式
圖式
圖1
圖2
圖3
圖4
圖5
圖6
圖7
圖8
圖9
圖10
圖11
圖12
圖13
圖14
圖15
圖16
圖17
圖18
圖19
圖20
圖21
圖22
圖23
圖24
圖25
圖26
圖27
圖28
圖29
圖30
圖31
圖32
圖33
圖34
圖35
圖36
圖37
圖38
圖39
圖40

圖3
S3
S2
S1
TASA
WWW
S3
S2
S1
TASA
WWW
圖3
S3
S2
S1
TASA
WWW
S3
S2
S1
TASA
WWW
圖3

相關申請案圖式
圖式
(20*14cm/600dpi)
(20*14cm/600dpi)

圖
式：AWESAV(Ao2)
第二實施例

第二實施例（2合焦，焦點位置：物側，反射）（參考用）

相關證物名稱及編號

證物編號

證物名稱（含數量）：證物1、證物2、證物3及證物4（各1張）（光碟各1片）

附表

證物編號

證物名稱：

圖式
S10
S20
S30
S40
S50
S60
S70
S80
S90
S100
S110
S120
S130
S140
S150
S160
S170
S180
S190
S200
S210
S220
S230
S240
S250
S260
S270
S280
S290
S300
S310
S320
S330
S340
S350
S360
S370
S380
S390
S400

(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
(k)
(l)
(m)
(n)
(o)
(p)
(q)
(r)
(s)
(t)
(u)
(v)
(w)
(x)
(y)
(z)
(aa)
(ab)
(ac)
(ad)
(ae)
(af)
(ag)
(ah)
(ai)
(aj)
(ak)
(al)
(am)
(an)
(ao)
(ap)
(aq)
(ar)
(as)
(at)
(au)
(av)
(aw)
(ax)
(ay)
(az)
(ba)
(bb)
(bc)
(bd)
(be)
(bf)
(bg)
(bh)
(bi)
(bj)
(bk)
(bl)
(bm)
(bn)
(bo)
(bp)
(bq)
(br)
(bs)
(bt)
(bu)
(bv)
(bw)
(bx)
(by)
(bz)
(ca)
(cb)
(cc)
(cd)
(ce)
(cf)
(cg)
(ch)
(ci)
(cj)
(ck)
(cl)
(cm)
(cn)
(co)
(cp)
(cq)
(cr)
(cs)
(ct)
(cu)
(cv)
(cw)
(cx)
(cy)
(cz)
(da)
(db)
(dc)
(dd)
(de)
(df)
(dg)
(dh)
(di)
(dj)
(dk)
(dl)
(dm)
(dn)
(do)
(dp)
(dq)
(dr)
(ds)
(dt)
(du)
(dv)
(dw)
(dx)
(dy)
(dz)
(ea)
(eb)
(ec)
(ed)
(ee)
(ef)
(eg)
(eh)
(ei)
(ej)
(ek)
(el)
(em)
(en)
(eo)
(ep)
(eq)
(er)
(es)
(et)
(eu)
(ev)
(ew)
(ex)
(ey)
(ez)
(fa)
(fb)
(fc)
(fd)
(fe)
(ff)
(fg)
(fh)
(fi)
(fj)
(fk)
(fl)
(fm)
(fn)
(fo)
(fp)
(fq)
(fr)
(fs)
(ft)
(fu)
(fv)
(fw)
(fx)
(fy)
(fz)
(ga)
(gb)
(gc)
(gd)
(ge)
(gf)
(gg)
(gh)
(gi)
(gj)
(gk)
(gl)
(gm)
(gn)
(go)
(gp)
(gq)
(gr)
(gs)
(gt)
(gu)
(gv)
(gw)
(gx)
(gy)
(gz)
(ha)
(hb)
(hc)
(hd)
(he)
(hf)
(hg)
(hh)
(hi)
(hj)
(hk)
(hl)
(hm)
(hn)
(ho)
(hp)
(hq)
(hr)
(hs)
(ht)
(hu)
(hv)
(hw)
(hx)
(hy)
(hz)
(ia)
(ib)
(ic)
(id)
(ie)
(if)
(ig)
(ih)
(ii)
(ij)
(ik)
(il)
(im)
(in)
(io)
(ip)
(iq)
(ir)
(is)
(it)
(iu)
(iv)
(iw)
(ix)
(iy)
(iz)
(ja)
(jb)
(jc)
(jd)
(je)
(jf)
(jg)
(jh)
(ji)
(jj)
(jk)
(jl)
(jm)
(jn)
(jo)
(jp)
(jq)
(jr)
(js)
(jt)
(ju)
(jv)
(jw)
(jx)
(jy)
(jz)
(ka)
(kb)
(kc)
(kd)
(ke)
(kf)
(kg)
(kh)
(ki)
(kj)
(kk)
(kl)
(km)
(kn)
(ko)
(kp)
(kq)
(kr)
(ks)
(kt)
(ku)
(kv)
(kw)
(kx)
(ky)
(kz)
(la)
(lb)
(lc)
(ld)
(le)
(lf)
(lg)
(lh)
(li)
(lj)
(lk)
(ll)
(lm)
(ln)
(lo)
(lp)
(lq)
(lr)
(ls)
(lt)
(lu)
(lv)
(lw)
(lx)
(ly)
(lz)
(ma)
(mb)
(mc)
(md)
(me)
(mf)
(mg)
(mh)
(mi)
(mj)
(mk)
(ml)
(mm)
(mn)
(mo)
(mp)
(mq)
(mr)
(ms)
(mt)
(mu)
(mv)
(mw)
(mx)
(my)
(mz)
(na)
(nb)
(nc)
(nd)
(ne)
(nf)
(ng)
(nh)
(ni)
(nj)
(nk)
(nl)
(nm)
(nn)
(no)
(np)
(nq)
(nr)
(ns)
(nt)
(nu)
(nv)
(nw)
(nx)
(ny)
(nz)
(oa)
(ob)
(oc)
(od)
(oe)
(of)
(og)
(oh)
(oi)
(oj)
(ok)
(ol)
(om)
(on)
(oo)
(op)
(oq)
(or)
(os)
(ot)
(ou)
(ov)
(ow)
(ox)
(oy)
(oz)
(pa)
(pb)
(pc)
(pd)
(pe)
(pf)
(pg)
(ph)
(pi)
(pj)
(pk)
(pl)
(pm)
(pn)
(po)
(pp)
(pq)
(pr)
(ps)
(pt)
(pu)
(pv)
(pw)
(px)
(py)
(pz)
(qa)
(qb)
(qc)
(qd)
(qe)
(qf)
(qg)
(qh)
(qi)
(qj)
(qk)
(ql)
(qm)
(qn)
(qo)
(qp)
(qq)
(qr)
(qs)
(qt)
(qu)
(qv)
(qw)
(qx)
(qy)
(qz)
(ra)
(rb)
(rc)
(rd)
(re)
(rf)
(rg)
(rh)
(ri)
(rj)
(rk)
(rl)
(rm)
(rn)
(ro)
(rp)
(rq)
(rr)
(rs)
(rt)
(ru)
(rv)
(rw)
(rx)
(ry)
(rz)
(sa)
(sb)
(sc)
(sd)
(se)
(sf)
(sg)
(sh)
(si)
(sj)
(sk)
(sl)
(sm)
(sn)
(so)
(sp)
(sq)
(sr)
(ss)
(st)
(su)
(sv)
(sw)
(sx)
(sy)
(sz)
(ta)
(tb)
(tc)
(td)
(te)
(tf)
(tg)
(th)
(ti)
(tj)
(tk)
(tl)
(tm)
(tn)
(to)
(tp)
(tq)
(tr)
(ts)
(tt)
(tu)
(tv)
(tw)
(tx)
(ty)
(tz)
(ua)
(ub)
(uc)
(ud)
(ue)
(uf)
(ug)
(uh)
(ui)
(uj)
(uk)
(ul)
(um)
(un)
(uo)
(up)
(uq)
(ur)
(us)
(ut)
(uu)
(uv)
(uw)
(ux)
(uy)
(uz)
(va)
(vb)
(vc)
(vd)
(ve)
(vf)
(vg)
(vh)
(vi)
(vj)
(vk)
(vl)
(vm)
(vn)
(vo)
(vp)
(vq)
(vr)
(vs)
(vt)
(vu)
(vv)
(vw)
(vx)
(vy)
(vz)
(wa)
(wb)
(wc)
(wd)
(we)
(wf)
(wg)
(wh)
(wi)
(wj)
(wk)
(wl)
(wm)
(wn)
(wo)
(wp)
(wq)
(wr)
(ws)
(wt)
(wu)
(wv)
(ww)
(wx)
(wy)
(wz)
(xa)
(xb)
(xc)
(xd)
(xe)
(xf)
(xg)
(xh)
(xi)
(xj)
(xk)
(xl)
(xm)
(xn)
(xo)
(xp)
(xq)
(xr)
(xs)
(xt)
(xu)
(xv)
(xw)
(xx)
(xy)
(xz)
(ya)
(yb)
(yc)
(yd)
(ye)
(yf)
(yg)
(yh)
(yi)
(yj)
(yk)
(yl)
(ym)
(yn)
(yo)
(yp)
(yq)
(yr)
(ys)
(yt)
(yu)
(yv)
(yw)
(yx)
(yy)
(yz)
(za)
(zb)
(zc)
(zd)
(ze)
(zf)
(zg)
(zh)
(zi)
(zj)
(zk)
(zl)
(zm)
(zn)
(zo)
(zp)
(zq)
(zr)
(zs)
(zt)
(zu)
(zv)
(zw)
(zx)
(zy)
(zz)

相關性計算模組
查詢圖
候選圖
相關性計算模組
相關性計算模組
相關性計算模組

相關指令位元組序列
指令碼 (Opcode)
指令碼 (Opcode)
欄位1
欄位2
欄位3
欄位4
欄位5
欄位6
欄位7
欄位8
欄位9
欄位10
欄位11
欄位12
欄位13
欄位14
欄位15
欄位16
欄位17
欄位18
欄位19
欄位20
欄位21
欄位22
欄位23
欄位24
欄位25
欄位26
欄位27
欄位28
欄位29
欄位30
欄位31
欄位32
欄位33
欄位34
欄位35
欄位36
欄位37
欄位38
欄位39
欄位40

相關指紋比對系統
指紋資料庫
指紋資料庫
指紋資料庫

圖式簡單說明：

（無）

請求項1至7項（共7項）

1. 一種化合物，其具有如式(I)所示之結構：

式(I)

其中，

相關特定化學品
(2nd Vaccine)
(Co-Vaccine)
(Co-Vaccine)
(2nd Vaccine)
相關特定化學品

圖3

(54)發明名稱：
(71)申請人：
(72)發明人：
(74)代理人：
(30)優先權：
(41)公開日：
(62)分案原案：
(51)Int. Cl.：
(86)國際申請：
(87)國際公開：
(85)進入國家階段日：
(57)摘要：

相關特定化學物質
第二類物質
第三類物質
第三類物質（粉狀，2%以上）
第三類物質（粉狀，2%以下）
第三類物質（粉狀，1%以下）
第三類物質（粉狀，0.1%以下）
第三類物質（粉狀，0.1%以下）
第三類物質（粉狀，0.

2 圖式簡單說明（如有，請揭示）：47張（第1圖至第8圖，第10圖至第47圖，7張二維圖，2張線條反白，第8圖）

（修正後）

相關指令(或資訊)
3張卡(一紅一藍，一黑)，2張白牌(5張牌，2個牌，3張牌，3張已給牌，不計牌)(先左後右)
無線通訊裝置
無線通訊裝置
相關指令(或資訊)
圖 4

相對 DPCM 時脈組 DLAMDA
58 產生相對應數次
下降沿，將，以，2次，2組次，2組次，2組次，4倍，2倍，2倍
2次，越過，以，6次，設置，設置，設置，設置，設置，設置
設置，設置，設置，設置

圖 23
KK 轴：ΔT
SAMPLING

DPKM 時脈 CLYCSKYM

ALLDGSEAWRV
相對 IPKM 時隙組 ALLDGSEAWRV
SEQ NO:8
序列 2C

S10
S11
S12
S13
S14
S15
S16
S17
S18
S19
S20
S21
S22
S23
S24
S25
S26
S27
S28
S29
S30
S31
S32
S33
S34
S35
S36
S37
S38
S39
S40
S41
S42
S43
S44
S45
S46
S47
S48
S49
S50

圖3
(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
(k)
(l)
(m)
(n)
(o)
(p)
(q)
(r)
(s)
(t)
(u)
(v)
(w)
(x)
(y)
(z)
(aa)
(ab)
(ac)
(ad)
(ae)
(af)
(ag)
(ah)
(ai)
(aj)
(ak)
(al)
(am)
(an)
(ao)
(ap)
(aq)
(ar)
(as)
(at)
(au)
(av)
(aw)
(ax)
(ay)
(az)
(ba)
(bb)
(bc)
(bd)
(be)
(bf)
(bg)
(bh)
(bi)
(bj)
(bk)
(bl)
(bm)
(bn)
(bo)
(bp)
(bq)
(br)
(bs)
(bt)
(bu)
(bv)
(bw)
(bx)
(by)
(bz)
(ca)
(cb)
(cc)
(cd)
(ce)
(cf)
(cg)
(ch)
(ci)
(cj)
(ck)
(cl)
(cm)
(cn)
(co)
(cp)
(cq)
(cr)
(cs)
(ct)
(cu)
(cv)
(cw)
(cx)
(cy)
(cz)
(da)
(db)
(dc)
(dd)
(de)
(df)
(dg)
(dh)
(di)
(dj)
(dk)
(dl)
(dm)
(dn)
(do)
(dp)
(dq)
(dr)
(ds)
(dt)
(du)
(dv)
(dw)
(dx)
(dy)
(dz)
(ea)
(eb)
(ec)
(ed)
(ee)
(ef)
(eg)
(eh)
(ei)
(ej)
(ek)
(el)
(em)
(en)
(eo)
(ep)
(eq)
(er)
(es)
(et)
(eu)
(ev)
(ew)
(ex)
(ey)
(ez)
(fa)
(fb)
(fc)
(fd)
(fe)
(ff)
(fg)
(fh)
(fi)
(fj)
(fk)
(fl)
(fm)
(fn)
(fo)
(fp)
(fq)
(fr)
(fs)
(ft)
(fu)
(fv)
(fw)
(fx)
(fy)
(fz)
(ga)
(gb)
(gc)
(gd)
(ge)
(gf)
(gg)
(gh)
(gi)
(gj)
(gk)
(gl)
(gm)
(gn)
(go)
(gp)
(gq)
(gr)
(gs)
(gt)
(gu)
(gv)
(gw)
(gx)
(gy)
(gz)
(ha)
(hb)
(hc)
(hd)
(he)
(hf)
(hg)
(hh)
(hi)
(hj)
(hk)
(hl)
(hm)
(hn)
(ho)
(hp)
(hq)
(hr)
(hs)
(ht)
(hu)
(hv)
(hw)
(hx)
(hy)
(hz)
(ia)
(ib)
(ic)
(id)
(ie)
(if)
(ig)
(ih)
(ii)
(ij)
(ik)
(il)
(im)
(in)
(io)
(ip)
(iq)
(ir)
(is)
(it)
(iu)
(iv)
(iw)
(ix)
(iy)
(iz)
(ja)
(jb)
(jc)
(jd)
(je)
(jf)
(jg)
(jh)
(ji)
(jj)
(jk)
(jl)
(jm)
(jn)
(jo)
(jp)
(jq)
(jr)
(js)
(jt)
(ju)
(jv)
(jw)
(jx)
(jy)
(jz)
(ka)
(kb)
(kc)
(kd)
(ke)
(kf)
(kg)
(kh)
(ki)
(kj)
(kk)
(kl)
(km)
(kn)
(ko)
(kp)
(kq)
(kr)
(ks)
(kt)
(ku)
(kv)
(kw)
(kx)
(ky)
(kz)
(la)
(lb)
(lc)
(ld)
(le)
(lf)
(lg)
(lh)
(li)
(lj)
(lk)
(ll)
(lm)
(ln)
(lo)
(lp)
(lq)
(lr)
(ls)
(lt)
(lu)
(lv)
(lw)
(lx)
(ly)
(lz)
(ma)
(mb)
(mc)
(md)
(me)
(mf)
(mg)
(mh)
(mi)
(mj)
(mk)
(ml)
(mm)
(mn)
(mo)
(mp)
(mq)
(mr)
(ms)
(mt)
(mu)
(mv)
(mw)
(mx)
(my)
(mz)
(na)
(nb)
(nc)
(nd)
(ne)
(nf)
(ng)
(nh)
(ni)
(nj)
(nk)
(nl)
(nm)
(nn)
(no)
(np)
(nq)
(nr)
(ns)
(nt)
(nu)
(nv)
(nw)
(nx)
(ny)
(nz)
(oa)
(ob)
(oc)
(od)
(oe)
(of)
(og)
(oh)
(oi)
(oj)
(ok)
(ol)
(om)
(on)
(oo)
(op)
(oq)
(or)
(os)
(ot)
(ou)
(ov)
(ow)
(ox)
(oy)
(oz)
(pa)
(pb)
(pc)
(pd)
(pe)
(pf)
(pg)
(ph)
(pi)
(pj)
(pk)
(pl)
(pm)
(pn)
(po)
(pp)
(pq)
(pr)
(ps)
(pt)
(pu)
(pv)
(pw)
(px)
(py)
(pz)
(qa)
(qb)
(qc)
(qd)
(qe)
(qf)
(qg)
(qh)
(qi)
(qj)
(qk)
(ql)
(qm)
(qn)
(qo)
(qp)
(qq)
(qr)
(qs)
(qt)
(qu)
(qv)
(qw)
(qx)
(qy)
(qz)
(ra)
(rb)
(rc)
(rd)
(re)
(rf)
(rg)
(rh)
(ri)
(rj)
(rk)
(rl)
(rm)
(rn)
(ro)
(rp)
(rq)
(rr)
(rs)
(rt)
(ru)
(rv)
(rw)
(rx)
(ry)
(rz)
(sa)
(sb)
(sc)
(sd)
(se)
(sf)
(sg)
(sh)
(si)
(sj)
(sk)
(sl)
(sm)
(sn)
(so)
(sp)
(sq)
(sr)
(ss)
(st)
(su)
(sv)
(sw)
(sx)
(sy)
(sz)
(ta)
(tb)
(tc)
(td)
(te)
(tf)
(tg)
(th)
(ti)
(tj)
(tk)
(tl)
(tm)
(tn)
(to)
(tp)
(tq)
(tr)
(ts)
(tt)
(tu)
(tv)
(tw)
(tx)
(ty)
(tz)
(ua)
(ub)
(uc)
(ud)
(ue)
(uf)
(ug)
(uh)
(ui)
(uj)
(uk)
(ul)
(um)
(un)
(uo)
(up)
(uq)
(ur)
(us)
(ut)
(uu)
(uv)
(uw)
(ux)
(uy)
(uz)
(va)
(vb)
(vc)
(vd)
(ve)
(vf)
(vg)
(vh)
(vi)
(vj)
(vk)
(vl)
(vm)
(vn)
(vo)
(vp)
(vq)
(vr)
(vs)
(vt)
(vu)
(vv)
(vw)
(vx)
(vy)
(vz)
(wa)
(wb)
(wc)
(wd)
(we)
(wf)
(wg)
(wh)
(wi)
(wj)
(wk)
(wl)
(wm)
(wn)
(wo)
(wp)
(wq)
(wr)
(ws)
(wt)
(wu)
(wv)
(ww)
(wx)
(wy)
(wz)
(xa)
(xb)
(xc)
(xd)
(xe)
(xf)
(xg)
(xh)
(xi)
(xj)
(xk)
(xl)
(xm)
(xn)
(xo)
(xp)
(xq)
(xr)
(xs)
(xt)
(xu)
(xv)
(xw)
(xx)
(xy)
(xz)
(ya)
(yb)
(yc)
(yd)
(ye)
(yf)
(yg)
(yh)
(yi)
(yj)
(yk)
(yl)
(ym)
(yn)
(yo)
(yp)
(yq)
(yr)
(ys)
(yt)
(yu)
(yv)
(yw)
(yx)
(yy)
(yz)
(za)
(zb)
(zc)
(zd)
(ze)
(zf)
(zg)
(zh)
(zi)
(zj)
(zk)
(zl)
(zm)
(zn)
(zo)
(zp)
(zq)
(zr)
(zs)
(zt)
(zu)
(zv)
(zw)
(zx)
(zy)
(zz)

C
BV421 :: A*02/全方, D 號 2
C
PE :: CV7 :: A*02/全方, D 號 5
3.30%
0.00%
3.53%
0.00%
表現
:: AA*02/全方, D 號 2
表現
:: AA*02/全方, D 號 2
表現
:: AA*02/全方, D 號 5
表現
:: AA*02/全方, D 號 5
:: A*02/全方, D 號 2
BV421 :: A*02/全方, D 號 5

圖 3（續）

圖3(C)

PE-A*02/抗原D複合物
Acc-A*02/抗原C複合物
抗體-A*02/抗原C複合物
0.00%
抗體-A*02/抗原D複合物
0.00%