202142257

(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 202142257 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 11 月 16 日

(21)申請案號：110103461 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 01 月 29 日

(51)Int. Cl.： *A61K39/00 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2020/01/31 美國 62/968,818
2020/06/19 美國 63/041,707

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國
瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士
德商拜恩技術股份公司 (德國) BIONTECH SE (DE)
德國

(72)發明人：穆勒 拉爾斯 MUELLER, LARS (US)；薩巴多 瑞秋 魯邦 SABADO, RACHEL LUBONG (US)；亞達 麥哈許 YADAV, MAHESH (US)；張景賓 ZHANG, JINGBIN (CN)；莎新 烏葛 SAHIN, UGUR (TR)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：100 項 圖式數：24 共 275 頁

(54)名稱

用ＰＤ－１軸結合拮抗劑及ＲＮＡ疫苗誘導新抗原決定基特異性Ｔ細胞之方法

(57)摘要

本發明提供使用 RNA 疫苗或使用 RNA 疫苗與 PD-1 軸結合拮抗劑之組合在個體中誘導新抗原決定基特異性 CD8+ T 細胞或在個體中誘導將新抗原決定基特異性 CD8+ T 細胞運輸至腫瘤的方法。本文亦提供 PD-1 軸結合拮抗劑及 RNA 疫苗，其包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，用於在個體中誘導新抗原決定基特異性 CD8+ T 細胞或在個體中誘導將新抗原決定基特異性 CD8+ T 細胞運輸至腫瘤的方法。

The present disclosure provides methods for inducing neoepitope-specific CD8+ T cells in an individual or for inducing trafficking of neoepitope-specific CD8+ T cells to a tumor in an individual using an RNA vaccine or using an RNA vaccine in combination with a PD-1 axis binding antagonist. Also provided herein are PD-1 axis binding antagonists and RNA vaccines that include one or more polynucleotides encoding one or more neoepitopes resulting from cancer-specific somatic mutations present in a tumor specimen obtained from the individual for use in methods of inducing neoepitope-specific CD8+ T cells in an individual or for inducing trafficking of neoepitope-specific CD8+ T cells to a tumor in an individual.

指定代表圖：

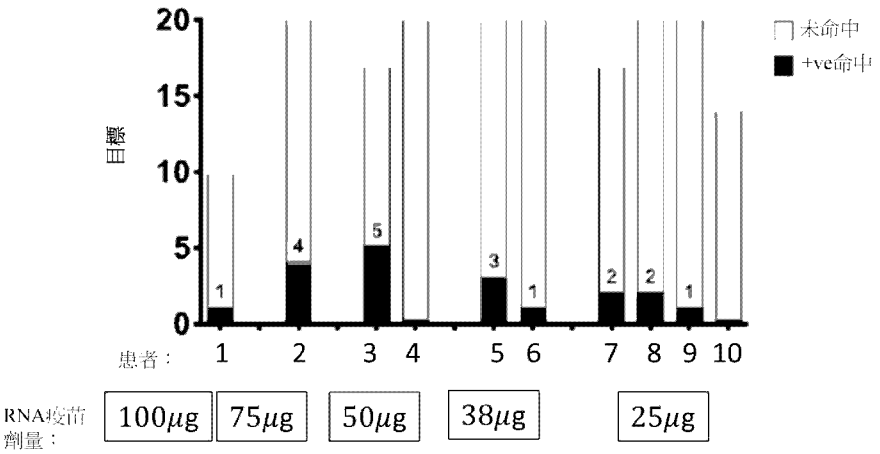

20
15
10
5
0
目標
1
4
5
3
1
2
2
1
患者：
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
未命中
+ve命中
RNA疫苗劑量：
100μg
75μg
50μg
38μg
25μg

圖7A

202142257

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗誘導新抗原決定基特異性T細胞之方法

【英文發明名稱】 METHODS OF INDUCING NEOEPITOPE-SPECIFIC T CELLS WITH A PD-1 AXIS BINDING ANTAGONIST AND AN RNA VACCINE

【中文】

本發明提供使用RNA疫苗或使用RNA疫苗與PD-1軸結合拮抗劑之組合在個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞或在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤的方法。本文亦提供PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，用於在個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞或在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤的方法。

【英文】

The present disclosure provides methods for inducing neoepitope-specific CD8+ T cells in an individual or for inducing trafficking of neoepitope-specific CD8+ T cells to a tumor in an individual using an RNA vaccine or using an RNA vaccine in combination with a PD-1 axis binding antagonist. Also provided herein are PD-1 axis binding antagonists and RNA vaccines that include one or more polynucleotides encoding one or more neoepitopes resulting from cancer-specific somatic mutations present in a tumor specimen obtained from the individual for use in methods of

inducing neoepitope-specific CD8+ T cells in an individual or for inducing trafficking of neoepitope-specific CD8+ T cells to a tumor in an individual.

【指定代表圖】　　圖7A

【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PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗誘導新抗原決定基特異性T細胞之方法

【英文發明名稱】 METHODS OF INDUCING NEOEPITOPE-SPECIFIC T CELLS WITH A PD-1 AXIS BINDING ANTAGONIST AND AN RNA VACCINE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性免疫反應之方法。

相關申請案之交叉參考

【0002】 本申請案主張2020年6月19日申請之美國臨時申請案63/041,707及2020年1月31日申請之美國臨時申請案62/968,818之權益，該等申請案各自以全文引用之方式併入本文中。

以ASCII文字檔案形式提交序列表

【0003】 以ASCII文字檔案提交之以下內容以全文引用之方式併入本文中：電腦可讀形式（CRF）之序列表（檔案名稱：146392050141SEQLIST.TXT，記錄日期：2021年1月22日，大小：41 KB）。

【先前技術】

【0004】 調節免疫抑制路徑已成為癌症治療中之重大最新突破。靶向細胞毒性T淋巴細胞抗原4之查核點阻斷抗體（CTLA-4，YERVOY/伊匹單抗）、靶向

計劃性細胞死亡蛋白1之查核點阻斷抗體（PD-1，OPDIVO/納武單抗或KEYTRUDA/派立珠單抗）及靶向PD-L1之查核點阻斷抗體（阿特珠單抗）已在具有各種腫瘤適應症之患者中展現可接受毒性、有前景的臨床反應、持久疾病控制及改善之存活。然而，僅少數患者經歷針對免疫查核點阻斷（ICB）療法之持久反應，且其餘患者展示原發性或繼發性抗性。

【0005】 腫瘤典型地具有顯著數目之體細胞突變。繼而，後天免疫系統可將含有突變之肽的表現識別為非自身新抗原決定基。在識別非自身抗原後，細胞毒性T細胞將觸發免疫反應，導致顯示非自身新抗原決定基之細胞凋亡。因此，正在開發及研究靶向免疫原性抗原決定基以激活免疫系統之治療性疫苗，以用於癌症治療。然而，迄今為止，治療性疫苗儘管很有前景，但在歷史上並未達到預期。潛在原因之一為，在長期暴露於癌細胞的過程中，癌症特異性T細胞變得功能耗盡。

【0006】 因此，可能需要採用兩種或更多種靶向癌症免疫療法（CIT）劑，例如免疫查核點抑制劑及靶向免疫原性抗原決定基之治療性疫苗的組合治療攝生法，以充分利用宿主免疫系統之抗腫瘤潛力。

【0007】 因此，此項技術中對於誘導宿主免疫系統之抗腫瘤免疫反應的改良方法存在需要。

【0008】 本文所引用之所有參考文獻（包括專利申請案、專利公開案、及UniProtKB/Swiss-Prot存取編號）均以全文引用之方式併入本文中，就像各個別參考文獻被特定地且個別地指出以引用之方式併入一般。

【發明內容】

【0009】 本文提供涉及用於治療癌症之PD-1軸結合拮抗劑（例如抗PD1或抗PD-L1抗體）及RNA疫苗的方法、套組、及用途。

【0010】 在一個態樣中，本文提供一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞的方法，其包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，周邊血液樣品包括約5%或約6%對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的CD8+ T細胞。在一些具體實例中，藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析在周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。在一些具體實例中，藉由離體ELISPOT分析在獲自個體之周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，向複數個個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在複數個個體中之至少約70%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導。在一些具體實例中，向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中之一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素之含量的提高係在投予RNA疫苗之後約4至約6小時之間存在於個體之周邊血液中。在一

些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素係選自IFNγ、IFNα、IL-12或IL-6。

【0011】 在另一態樣中，本文提供一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞的方法，其包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0012】 在另一態樣中，本文提供一種在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤的方法，其包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0013】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，新抗原決定基特異性CD8+ T細胞具有記憶表現型。在一些具體實例中，具有記憶表現型之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。在一些具體實例中，效應記憶T細胞（T_{em}）為CD45RO陽性及CCR7陰性。在一些具體實例中，新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0014】 在一些具體實例中，個體患有具有低至中等突變負荷之腫瘤。在一些具體實例中，個體具有低腫瘤負荷。

【0015】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，腫瘤具有低或陰性PD-L1表現。在一些具體實例中，獲自腫瘤之樣品中小於5%之腫瘤細

胞表現PD-L1。在一些具體實例中，獲自腫瘤之樣品中小於5%之免疫細胞表現PD-L1。在一些具體實例中，使用免疫組織化學來確定獲自腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細胞或免疫細胞的百分比。

【0016】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0017】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，個體具有局部晚期或轉移性固態腫瘤或具有一次或多次轉移性復發。在一些具體實例中，腫瘤為非小細胞肺（NSCLC）、膀胱、腎、頭頸部、肉瘤、乳房、黑色素瘤、前列腺、卵巢、胃、肝臟、泌尿上皮、結腸、腎、子宮頸、梅克爾細胞（MCC）、子宮內膜、軟組織肉瘤、食道、食道胃交界部、骨肉瘤、甲狀腺或結直腸腫瘤。在一些具體實例中，乳房腫瘤為三陰性乳房（TNBC）腫瘤。

【0018】 在一些具體實例中，腫瘤為泌尿上皮腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為腎腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約22%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為黑色素瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約30%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為TNBC腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約4%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為NSCLC，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。

【0019】 在一些具體實例中，腫瘤為先前未用查核點抑制劑治療之泌尿上皮腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為先前未用查核點抑制劑治療之腎腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約22%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為先前未用查核點抑制劑治療之黑色素瘤，且向複

數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約30%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為先前未用查核點抑制劑治療之TNBC腫瘤，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約4%個體中產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為先前未用查核點抑制劑治療之NSCLC，且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。

【0020】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用一種或多種癌症療法或3種至5種癌症療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用查核點抑制劑療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體尚未用查核點抑制劑療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用約1種至約17種或約1種至約9種先前全身性癌症療法進行治療。

【0021】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗包括一個或多個編碼10-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。

【0022】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，在脂複合體奈米粒子或脂質體中調配RNA疫苗。在一些具體實例中，脂複合體奈米粒子或脂質體包括一種或多種形成囊封RNA疫苗之RNA之多層結構的脂質。在一些具體實例中，一種或多種脂質包括至少一種陽離子脂質及至少一種輔助脂質。在一些具體實例中，一種或多種脂質包括(R)-N,N,N-三甲基-2,3-二油醯基氧基-1-氯化丙胺鎓（DOTMA）及1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（DOPE）。在一些具體實例中，在生理pH值下，脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為1.3:2（0.65）。

【0023】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向

個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係靜脈內投予至個體。

【0024】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗係以7天或1週之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係以14天或2週之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係以持續12週或84天向個體投予。

【0025】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗係以四個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予。

【0026】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗係以數個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予。在一些具體實例中，本文所提供之方法進一步包括在第13週期之第1天，及此後每24週或168天投予RNA疫苗。在一些具體實例中，繼續投予RNA疫苗直至個體出現疾病進展。

【0027】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗係以數個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予。在一些具體實例中，本文所提供之方法進一步包括在第13週期之第1天，及此後每24週或168天投予RNA疫苗。在一些具體實例中，繼續投予RNA疫苗直至個體出現疾病進展。

【0028】 在一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以1週或2週之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以24週之時間間隔向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以7天或14天之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以168天之時間間隔向個

體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以四個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中在維持期內在第5週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，誘導期包括至多9次投予RNA疫苗。

【0029】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，誘導期包括至多9次投予RNA疫苗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0030】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，誘導期包括6劑RNA疫苗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0031】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA疫苗包括RNA分子，其沿5'→3'方向包括：(1) 5'帽；(2) 5'非轉譯區（UTR）；(3)編碼分泌信號肽之多核苷酸序列；(4)編碼由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生之一個或多個新抗原決定基的多核苷酸序列；(5)編碼主要組織相容性複合體（MHC）分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列；(6)

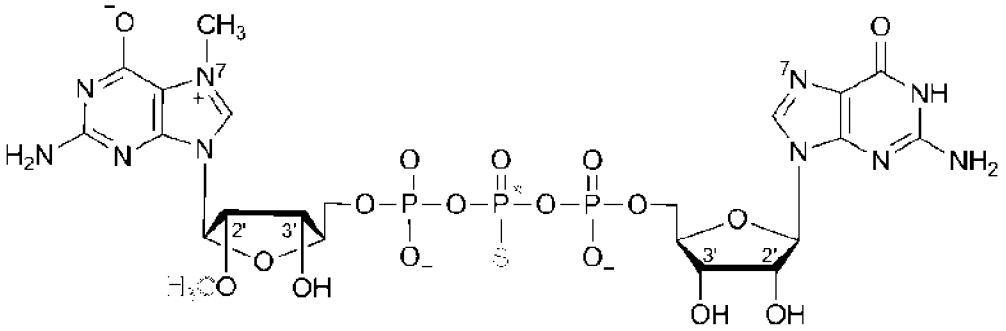
3' UTR，其包括：(a)胺基端斷裂強化子（AES）mRNA之3'非轉譯區或其片段；及(b)粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA或其片段；及(7)多(A)序列。在一些具體實例中，RNA分子進一步包括編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列；其中編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列及一個或多個新抗原決定基中之第一新抗原決定基形成第一連接子-新抗原決定基模組；且其中形成第一連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在以下者之間：編碼分泌信號肽之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列，沿5'→3'方向。在一些具體實例中，胺基酸連接子包括序列GGSGGGGSGG（SEQ ID NO:39）。在一些具體實例中，編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列包括序列GGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCCGGAGGC（SEQ ID NO:37）。

【0032】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA分子沿5'→3'方向進一步包括：至少第二連接子-抗原決定基模組，其中至少第二連接子-抗原決定基模組包括編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列及編碼新抗原決定基之多核苷酸序列；其中形成第二連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在以下者之間：編碼第一連接子-新抗原決定基模組之新抗原決定基之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列，沿5'→3'方向；且其中第一連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基不同於第二連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基。在一些具體實例中，RNA分子包括5個連接子-抗原決定基模組，且其中5個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。在一些具體實例中，RNA分子包括10個連接子-抗原決定基模組，且其中10個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。在一些具體實例中，RNA分子包括20個連接子-抗原決定基模組，且其中20個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。

【0033】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA

分子進一步包括編碼胺基酸連接子之第二多核苷酸序列，其中編碼胺基酸連接子之第二多核苷酸序列在以下者之間：按3'方向在最遠處的編碼新抗原決定基的多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列。

【0034】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，5'帽包括以下結構之D1非鏡像異構物：



【0035】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，5' UTR包括序列UUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:23）。在一些具體實例中，5' UTR包括序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:21）。

【0036】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，分泌信號肽包括胺基酸序列MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS（SEQ ID NO: 27）。在一些具體實例中，編碼分泌信號肽之多核苷酸序列包括序列AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:25）。

【0037】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分包括胺基酸序列IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTA（SEQ ID NO:30）。在一些具體實例中，編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域

之至少一部分的多核苷酸序列包括序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCC（SEQ ID NO:28）。

【0038】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，AES mRNA之3'非轉譯區包括序列CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC（SEQ ID NO:33）。在一些具體實例中，粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA包括序列CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:35）。在一些具體實例中，3' UTR包括序列CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:31）。在一些具體實例中，多(A)序列包括120個腺嘌呤核苷酸。

【0039】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，RNA

疫苗包括RNA分子，其沿5'→3'方向包括：多核苷酸序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:19）；編碼由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生之一個或多個新抗原決定基的多核苷酸序列；及多核苷酸序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:20）。

【0040】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，本文所提供之方法進一步包括向個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0041】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-1結合拮抗劑。在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。在一些具體實例中，抗PD-1抗體為納武單抗或派立珠單抗。

【0042】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。在一些具體實例中，PD-L1結合拮抗劑為抗

PD-L1抗體。在一些具體實例中，抗PD-L1抗體為阿維魯單抗或德瓦魯單抗。在一些具體實例中，抗PD-L1抗體包括：(a)重鏈可變區（VH），其含有包括胺基酸序列GFTFSDSWIH（SEQ ID NO:1）之HVR-H1、包括胺基酸序列AWISPYGGSTYYADSVKG（SEQ ID NO:2）之HVR-2及包括胺基酸RHWPGGFDY（SEQ ID NO:3）之HVR-3，及(b)輕鏈可變區（VL），其含有包括胺基酸序列RASQDVSTAVA（SEQ ID NO:4）之HVR-L1、包括胺基酸序列SASFLYS（SEQ ID NO:5）之HVR-L2及包括胺基酸序列QQYLYHPAT（SEQ ID NO:6）之HVR-L3。在一些具體實例中，抗PD-L1抗體含有包括SEQ ID NO:7之胺基酸序列的重鏈可變區（V_H）及包括SEQ ID NO:8之胺基酸序列的輕鏈可變區（V_L）。在一些具體實例中，抗PD-L1抗體為阿特珠單抗。

【0043】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係靜脈內投予至個體。在一些具體實例中，抗PD-L1抗體係以約1200 mg之劑量向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以21天或3週之時間間隔向個體投予。

【0044】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，且其中阿特珠單抗係以數個21天週期向個體投予，其中阿特珠單抗係在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予。在一些具體實例中，本文所提供之方法進一步包括在第13週期之第1天，及此後每3週或21天投予阿特珠單抗。在一些具體實例中，繼續投予阿特珠單抗直至個體出現疾病進展。

【0045】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，且在誘導期內及在誘導期之後的維持期內以數個21天週期向個體投予阿特珠單抗；其中，在誘導期內，在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予阿特珠單抗；且其中，在誘導

期之後的維持期內，在第13週期之第1天，及此後每3週或21天投予阿特珠單抗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0046】 在可與前述具體實例中之任一者組合之一些具體實例中，個體為人。

【0047】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，方法進一步包括向個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0048】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，方法進一步包括向個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0049】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特

異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。在一些具體實例中，方法進一步包括向個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0050】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0051】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0052】 在另一態樣中，本文提供一種用於在體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體

之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0053】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析在周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0054】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中周邊血液樣品包括約5%或約6%對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之CD8+ T細胞。

【0055】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多

核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0056】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向複數個個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在複數個個體中之至少約70%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導。

【0057】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%

至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中之一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素係選自IFNγ、IFNα、IL-12或IL-6。

【0058】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0059】 在另一態樣中，本文提供一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0060】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多

核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0061】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予。

【0062】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；

及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0063】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0064】 在另一態樣中，本文提供一種用於在體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0065】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效

量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0066】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0067】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予。

【0068】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之

多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0069】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0070】 在前述態樣中之任一者之一些具體實例中，方法進一步包括向個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0071】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投

予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析在周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0072】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中周邊血液樣品包括約5%或約6%對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之CD8+ T細胞。

【0073】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異

性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0074】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向複數個個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在複數個個體中之至少約70%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導。

【0075】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異

性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中之一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素係選自IFNγ、IFNα、IL-12或IL-6。

【0076】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0077】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0078】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投

予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0079】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以21天或3週之時間間隔以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，且其中以數個21天週期以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗。

【0080】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對

由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天，且視情況在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0081】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中在誘導期內及在誘導期之後的維持期內以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中，在誘導期內，在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予阿特珠單抗，且其中，在誘導期之後的維持期內，在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及

15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0082】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0083】 在另一態樣中，本文提供一種用於在體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0084】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮

抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0085】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以21天或3週之時間間隔以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，且其中以數個21天週期以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗。

【0086】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天，且視情況在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg

之劑量向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0087】 在另一態樣中，本文提供一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中在誘導期內及在誘導期之後的維持期內以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中，在誘導期內，在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予阿特珠單抗，且其中，在誘導期之後的維持期內，在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0088】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多

核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析在周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0089】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0090】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向複數個個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在複數個個體中之至少約

70%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導。

【0091】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中之一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素係選自IFNγ、IFNα、IL-12或IL-6。

【0092】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0093】 在另一態樣中，本文提供一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的

RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0094】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0095】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予。

【0096】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗

原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0097】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0098】 在前述態樣中之任一者之一些具體實例中，方法進一步包括向個

體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【0099】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析在周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0100】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【0101】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼

一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向複數個個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，在複數個個體中之至少約70%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導。

【0102】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中向個體投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中之一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素係選自IFNγ、IFNα、IL-12或IL-6。

【0103】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼

一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【0104】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【0105】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，且其中投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【0106】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以21天或3週之時間間隔以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，且其中以數個21天週期以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗。

【0107】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天，且視情況在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第

1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天；及視情況，在第13週期之第1天及此後每24週或168天向個體投予RNA疫苗。

【0108】 在另一態樣中，本文提供一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包括向個體投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，其中在投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞，其中PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，其中在誘導期內及在誘導期之後的維持期內以數個21天週期以約1200 mg之劑量向個體投予阿特珠單抗，其中，在誘導期內，在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予阿特珠單抗，且其中，在誘導期之後的維持期內，在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗；且其中以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以數個21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0109】 應理解，可組合本文所描述之各種具體實例的一種、一些或所有特性以形成本發明之其他具體實例。本發明之此等及其他態樣對於熟習此項技術者將變得顯而易見。本發明之此等及其他具體實例藉由下文之實施方式進一步描述。

【圖式簡單說明】

【0110】 本專利或申請案檔案含有至少一個彩製圖式。在申請且支付必要費用後，專利局將提供具有彩色圖式之本專利或專利申請公開案之複本。

【0111】 **[圖1]**展示例示性RNA疫苗（亦即，聚-新抗原決定基RNA）之通式結構。此圖為具有以下各者之RNA藥物物質之通式結構的示意圖：恆定5'-帽（β-S-ARCA(D1)）、5'-及3'-非轉譯區（分別為hAg-Kozak及FI）、N端及C端融合標籤（分別為$sec_{2.0}$及MITD）及多(A)-尾（A120）以及編碼經富含GS之連接子融合之新抗原決定基（neo1至10）的腫瘤特異性序列。

【0112】 **[圖2]**為例示性RNA疫苗（SEQ ID NO:42）之恆定區的核糖核苷酸序列（5'->3'）。前兩個G殘基之間的鍵為非通常鍵（5'→5'）-pp_sp-，如針對5'封端結構在**圖3**中所示。患者癌症特異性序列之插入位點在C131與A132殘基之間（以**粗體**標示）。「N」係指編碼一個或多個（例如1-20個）新抗原決定基（由視情況存在之連接子分開）之多核苷酸序列的位置。

【0113】 **[圖3]**為在RNA恆定區之5'端使用之5'-封端結構β-S-ARCA(D1)（$m_2{}^{7,2',O}GppspG$）。立體源P中心在「D1」異構體中呈Rp構型。附註：以紅色顯示者為β-S-ARCA(D1)與基本帽結構m^7GpppG之間的差異；建構組元m^7G之C2'位置處之-OCH3基團及在β-磷酸根處由硫取代非橋接氧。由於立體源P中心（以*標記）之存在，硫代磷酸酯帽類似物β-S-ARCA以兩種非鏡像異構物形式存在。基於其在逆相高效液相層析中之洗提次序，已將此等指定為01及02。

【0114】 **[圖4]**為實施例1-5中所述之Ia/Ib期研究之設計的圖。以單藥療法形式向Ia期劑量遞增研究中之個體投予25 μg、38 μg、50 μg、75 μg、或100 μg劑量之RNA疫苗。在初始治療（誘導期）期間，RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天、第2週期之第1、8及15天、第3週期之第1及15天及第7週期之第1天投予（各

週期為21天)。在初始治療之後的維持期內，RNA疫苗係在第13週期之第1天，及此後每8個週期（亦即此後每24週或此後每168天）投予，直至疾病進展（PD）（各週期為21天)。與1200 mg阿特珠單抗組合向Ib期研究中之患者投予15 μg（未示出）、25 μg、38 μg、或50 μg劑量之RNA疫苗。Ib期研究包括RNA疫苗之劑量遞增期及擴增期，其中向未曾用過指定查核點抑制劑或經歷查核點抑制劑之腫瘤類型之患者投予15 μg或25 μg劑量之RNA疫苗與阿特珠單抗之組合（Ib期擴增期中之額外腫瘤類型提供於實施例1中)。在初始治療（誘導期）期間，阿特珠單抗係在第1-12週期中之每一者之第1天投予；且RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天投予（各週期為21天)。在初始治療之後的維持期內，自第13週期之第1天開始，每3週投予阿特珠單抗直至疾病進展（PD)；且在第13週期之第1天及此後每8個週期（亦即此後每24週，或此後每168天）投予RNA疫苗，直至疾病進展（PD)（各週期為21天)。

【0115】 **[圖5A-圖5C]**顯示由以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗誘導之先天性免疫反應。**圖5A**顯示在研究之Ia期內投予25 μg RNA疫苗之患者之血漿中的IFNg含量（pg/ml)。各線表示單一患者。「C」=週期（亦即C1=第1週期；C2=第2週期等)。「D」=天（亦即D1=第1天，D8=第8天等)。「hr」=投予一劑RNA疫苗之後的小時數。投予RNA疫苗之日由實線箭頭指示。圖5B顯示在向以單藥療法形式（Ia期；Ph1a）或與阿特珠單抗組合（Ib期；Ph1b）投予指定劑量之RNA之患者每次投予RNA疫苗之後4小時處之中值血漿IFNg含量。各圓表示各個別患者在所有RNA疫苗劑量之後4小時處之IFNg含量的中值。圖5C顯示在向以單藥療法形式（Ia期；Ph1a）或與阿特珠單抗組合（Ib期；Ph1b)投予指定劑量之RNA之患者每次投予RNA疫苗之後4小時處之IFNa血漿含量的中值。各圓表示各個別患者在所有RNA疫苗劑量之後4小時處之IFNa含量的

中值。

【0116】 **[圖6]**提供用於評估在以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗之後的新抗原特異性CD4+及CD8+ T細胞免疫反應之離體EliSpot分析之圖。

【0117】 **[圖7A-圖7D]**顯示評估在以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗之後的新抗原特異性免疫反應之EliSpot分析的結果。**圖7A**顯示在第4週期，第1天以單藥療法形式（Ia期）投予RNA疫苗之患者中之新抗原特異性免疫反應。**圖7B**顯示在第4週期，第1天與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗之患者中之新抗原特異性免疫反應。星號指示第1週期，第1天及第1週期，第8天之RNA疫苗劑量為30 μg，接著為15 μg之劑量。在**圖7A-圖7B**中，y軸顯示EliSpot分析中測試之新抗原之數目。深色條及對應數字表示EliSpot分析中鑑別之陽性新抗原命中之數目。淺色條表示陰性新抗原命中之數目。指示了RNA疫苗劑量。EliSpot反應係定義為每300,000個細胞>15個點且在統計上不同於背景孔（其一般為<10個點）；一式兩份地測試所有新抗原。陽性命中（「+ve命中」）係指在第4週期，第1天具有EliSpot分析反應且在基線處無EliSpot分析反應之新抗原。陰性命中（「未命中」）係指在第4週期，第1天具有陰性EliSpot分析反應之新抗原。**圖7C**顯示對於Ib期研究中以指定劑量投予RNA疫苗之患者，根據EliSpot分析鑑別為陽性命中之各新抗原之IFNg形成點的總和。各著色方形表示個別新抗原之IFNg形成點的數目。EliSpot反應係定義為每300,000個細胞>15個點且在統計上不同於背景孔（其一般為<10個點）；一式兩份地測試所有新抗原。**圖7D**提供在Ib期研究中以指定劑量投予RNA疫苗之患者中之IFNg形成點的平均數目。方框圖中之中線指示IFNg形成點之中值數目；方框顯示四分位數範圍；誤差條顯示最小及最大值。

【0118】 **[圖8]**提供用於評估在以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組

合（Ib期）投予RNA疫苗之後的新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應之MHC多聚體染色分析之圖。

【0119】 **[圖9A-圖9G]**顯示在與阿特珠單抗組合投予25 μg劑量之RNA疫苗之未曾用過CIT、三陰性乳癌患者（Ib期；患者22）中，評估新抗原特異性免疫反應之EliSpot分析及MHC多聚體染色分析的結果。**圖**9A顯示在基線處及第4週期，第1天，對患者22評估新抗原特異性免疫反應之大量PBMC EliSpot分析的結果。測試之新抗原及對照在x軸上；y軸顯示每300,000個PBMC之IFNg形成點之數目。新抗原R3及R8以方框指示。水平虛線指示在EliSpot分析中用於確定陽性命中之臨限值。陽性命中係定義為每300,000個細胞>15個點且在統計上不同於背景孔（其一般為<10個點）。一式兩份地測試新抗原；CEFT=來自細胞巨大病毒、埃-巴二氏病毒（Epstein-Barr virus）、流感病毒及破傷風毒素之抗原決定基；CEF=來自細胞巨大病毒、埃-巴二氏病毒及流感病毒之抗原決定基。**圖9B**顯示在指定時間藉由MHC多聚體染色分析評估之患者22中之R8新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應。散佈圖在x軸及y軸上以兩種不同組態顯示用MHC多聚體染色的CD8+ T細胞。將雙陽性細胞標記為新抗原特異性的。新抗原特異性CD8+ T細胞之%顯示於散佈圖之右上象限中。**圖9C**顯示在第3週期，第1天對**圖9B**中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之CD45RO及CCR7表現的分析。如右側之圖例中所指示，未曾用過CD8+細胞在散佈圖之左上象限中；中樞記憶T細胞（Tcm）在散佈圖之右上象限中；CD45RA+效應記憶T細胞（TEMRA）在散佈圖之左下象限中；且效應記憶T細胞（Tem）在散佈圖之右下象限中。**圖9D**顯示在第3週期，第1天對圖9B中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之PD-1表現的分析。**圖9E**顯示在指定時間藉由MHC多聚體染色分析評估之患者22中之R3新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應。散佈圖在x軸及y軸上以兩種不同組態顯示用MHC多聚體染色的CD8+ T細胞。新抗原特異性CD8+ T細胞之%顯示於散佈圖之右上象

限中。**圖9F**顯示在第3週期，第1天對圖9E中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之CD45RO及CCR7表現的分析。如右側之圖例中所指示，未曾用過CD8+細胞在散佈圖之左上象限中；中樞記憶T細胞（Tcm）在散佈圖之右上象限中；CD45RA+效應記憶T細胞（TEMRA）在散佈圖之左下象限中；且效應記憶T細胞（Tem）在散佈圖之右下象限中。**圖9G**顯示在第3週期，第1天對圖9E中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之PD-1表現的分析。

【0120】 **[圖10A-圖10B]**提供RNA疫苗之製造工作流程及建議作用機制的概述。**圖10A**描繪RNA疫苗之製造過程。在製造期間，自患者收集血液樣品及腫瘤樣品（例如腫瘤生檢），且對腫瘤DNA及非腫瘤DNA（例如周邊血液單核細胞DNA）進行定序（例如次世代定序及/或全外顯子組定序），以鑑別特異性存在於患者之腫瘤中之非同義體細胞突變。亦對來自腫瘤樣品之RNA進行定序以評估具有鑑別之非同義體細胞突變之蛋白質的表現。使用對新抗原之可能的免疫原性進行排序之生物資訊學工作流程來預測新抗原。提供關於健康組織中各別野生型基因之表現量之綜合資訊的資料庫用於藉由移除具有不利風險概況之目標候選物來開發個人化風險緩解策略。舉例而言，濾出在重要器官中具有可能的較高自體-免疫性風險之蛋白質中出現的突變且不考慮用於疫苗生產。選擇至多20個預測針對個別患者誘發$CD8^+$ T細胞及/或$CD4^+$ T細胞反應之新抗原以包括至疫苗中。RNA疫苗包括5'帽、5'非轉譯區（UTR）、N端融合標籤（例如SEC）、至多20個在各新抗原之間具有連接序列之新抗原（例如2個十胞體）、C端融合標籤（例如MITD）、3' UTR及多(A)尾。RNA疫苗例如調配於脂複合體中。RNA疫苗可在向患者靜脈內投藥之前儲存。如**圖10A**中所描繪，咸信RNA疫苗藉由刺激先天性免疫反應（例如藉由充當內源性TLR7/8促效劑）及藉由刺激新抗原之表現及後續藉由抗原呈現細胞之新抗原呈現來發揮功能。**圖10B**描繪RNA疫苗之建議作用機制之細節。亦參見Kranz等人(2016) Nature, 16;534(7607):396-401)。

【0121】 **[圖11]**提供在RNA疫苗單藥療法之Ia期研究中在大於10%之患者中出現之不良事件的概述。提供所有報導AE及與研究治療相關之AE的相對頻率。報導AE之嚴重度指示於右側圖例中（1-5級）。[a]惡性贅瘤進展之嚴重不良事件（SAE）報導於16%患者中（資料未示出）。指示了輸注相關反應及細胞介素釋放症候群之全身性反應。[b]根據國家癌症研究所（NCI）不良事件常用術語標準（CTCAE）5.0版。

【0122】 **[圖12A-圖12B]**顯示以25 μg之劑量以單藥療法形式（Ia期）投予RNA疫苗之患者之血漿中的IFNγ含量。**圖12A**顯示在指定時間以25 μg之劑量以單藥療法形式投予RNA疫苗之患者之血漿中的IFNγ含量（pg/ml）。各線表示單一患者。**圖12B**提供在指定時間以25 μg之劑量以單藥療法形式投予RNA疫苗之九名患者之血漿中之IFNγ含量（pg/ml）的代表性模式。RNA疫苗給藥攝生法展示於圖12B中之圖表下方。各箭頭表示RNA疫苗劑之投予。「C」=週期（亦即C1=第1週期；C2=第2週期等）；「D」=天（亦即D1=第1天，D8=第8天等）；「HR」=投予一劑RNA疫苗之後的小時數。

【0123】 **[圖13]**顯示在指定時間以25 μg之劑量以單藥療法形式投予RNA疫苗之患者之血漿中的IL-6及IFNα含量（pg/ml）。各線表示單一患者。「C」=週期（亦即C1=第1週期；C2=第2週期等）；「D」=天（亦即D1=第1天，D8=第8天等）；「HR」=投予一劑RNA疫苗之後的小時數。

【0124】 **[圖14A-圖14B]**提供藉由在十四名患者中以單藥療法形式（Ia期）投予RNA疫苗誘導之新抗原特異性免疫反應的概述。**圖14A**顯示藉由EliSpot及/或MHC多聚體染色分析測定的在Ia期研究中具有至少一種新抗原特異性免疫反應之患者的數目。圖14B顯示根據離體EliSpot分析在指定患者中展現新抗原免疫反應之新抗原的數目。

【0125】 **[圖15]**顯示在用75 μg劑量之RNA疫苗以單藥療法形式治療之前

列腺癌患者之腫瘤中之T細胞受體（TCR）定序實驗的結果。y軸顯示在投予RNA疫苗之前（基線）的腫瘤中TCR之頻率（Log_{10}）。x軸顯示在用RNA疫苗治療後腫瘤中TCR之頻率（Log_{10}）。RNA疫苗接種特異性TCR用陰影圓圈指示且其他TCR由空圓圈指示。

【0126】 **[圖16A-圖16C]**顯示在用38 μg劑量之RNA疫苗以單藥療法形式治療之前列腺癌患者中評估新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應之MHC多聚體染色分析的結果。**圖16A**顯示在指定時間處之新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應。散佈圖在x軸及y軸上以兩種不同組態顯示用MHC多聚體染色的CD8+ T細胞。新抗原特異性CD8+ T細胞之%顯示於散佈圖之右上象限中。「C」=週期（亦即C1=第1週期；C2=第2週期等）；「D」=天（亦即D1=第1天，D8=第8天等）。**圖16B**顯示在第4週期，第1天對**圖16A**中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之CD45RO及CCR7表現的分析。未曾用過CD8+細胞在散佈圖之左上象限中（Tn）；中樞記憶T細胞（Tcm）在散佈圖之右上象限中；且效應記憶T細胞（Tem）在散佈圖之右下象限中。指示了Tem細胞之百分比。**圖16C**顯示在第4週期，第1天對**圖16A**中所示之新抗原特異性CD8+ T細胞群體中之PD-1表現的分析。指示了PD-1+ CD8+ T細胞之百分比。

【0127】 **[圖17]**提供在用RNA疫苗以單藥療法形式治療之患者中觀測到的臨床反應之概述。各條代表個別患者，其中各患者之腫瘤類型提供於x軸上。y軸指示對於各患者所觀測到的目標病變之最長直徑總和（SLD）之最佳變化。向各患者投予之RNA疫苗之劑量指示於右側圖例中及各條上方。藉由SP142 Ventana分析所分析之腫瘤浸潤性免疫細胞（IC）或腫瘤細胞（TC）上之基線PD-L1表現係針對各患者指示於圖下方（N=否；Y=是）。在研究期間各患者之最佳總體反應（BOR）係指示於圖下方（PD=疾病進展；SD=穩定疾病；CR=完全反應）。另外，各患者是否接受用查核點抑制劑進行之先前治療（「經歷CPI」）係指

示於圖下方（N=否；Y=是）。HNC=頭頸部癌；STS=軟組織肉瘤；EGJ=食道胃交界部。水平虛線指示根據固態腫瘤反應評估標準（RECIST）標準之疾病進展及部分反應的臨限值（亦即SLD相對於基線之≥20%增加=疾病進展（PD）；且SLD相對於基線之≥30%減少=部分反應（PR））。

【0128】 **[圖18]**顯示在用50 μg劑量之RNA疫苗以單藥療法形式治療後展現完全反應（CR）之一名胃癌患者中，在基線處及第4週期，第1天藉由EliSpot分析量測之新抗原特異性免疫反應。個別新抗原及對照係在x軸上指示。y軸顯示每300,000個周邊血液單核細胞（PBMC）之IFNγ形成點。水平虛線指示在EliSpot分析中用於確定陽性命中之臨限值。EliSpot陽性命中係定義為每300,000個細胞>15個點且在統計上不同於背景孔（其一般為<10個點）；一式兩份地測試所有新抗原。[a]惡性贅瘤進展之嚴重AE（SAE）報導於14%患者中（資料未示出）。

【0129】 **[圖19]**提供在與阿特珠單抗組合投予之RNA疫苗之Ib期研究中，在大於10%患者中出現之不良事件的概述。提供所有報導AE及與研究治療相關之AE的相對頻率。報導AE之嚴重度指示於右側圖例中（1-5級）。指示了輸注相關反應、細胞介素釋放症候群、及流感樣不適之全身性反應。

【0130】 **[圖20]**顯示藉由EliSpot及/或MHC多聚體染色分析測定的在Ib期研究中具有至少一種新抗原特異性免疫反應之患者的數目。

【0131】 **[圖21]**顯示在用阿特珠單抗及38 μg劑量之RNA疫苗治療之直腸癌患者之腫瘤中之T細胞受體（TCR）定序實驗的結果。y軸顯示在投予阿特珠單抗及RNA疫苗之前（基線）的腫瘤中TCR之頻率（Log_{10}）。x軸顯示在用阿特珠單抗及RNA疫苗治療後腫瘤中TCR之頻率（Log_{10}）。RNA疫苗特異性TCR用陰影圓圈指示且其他TCR由空圓圈指示。

【0132】 **[圖22]**提供在用RNA疫苗與阿特珠單抗之組合治療之患者中觀測到的臨床反應之概述。各條代表個別患者，其中各患者之腫瘤類型提供於x軸

上。y軸指示對於各患者所觀測到的最長直徑總和（SLD）之最佳變化。向各患者投予之RNA疫苗之劑量指示於右側圖例中及各條上方。[a]藉由SP142 Ventana分析所分析之腫瘤浸潤性免疫細胞（IC）或腫瘤細胞（TC）上之基線PD-L1表現係針對各患者指示於圖下方（N=否；Y=是）。在研究期間各患者之最佳總體反應（BOR）係指示於圖下方（PD=疾病進展；SD=穩定疾病；PR=部分反應；CR=完全反應）。另外，各患者是否接受用查核點抑制劑進行之先前治療（「經歷CPI」）係指示於圖下方（N=否；Y=是）。HNC=頭頸部癌；STS=軟組織肉瘤；NSCLC=非小細胞肺癌；MCC=梅克爾細胞癌。方框指示患有三陰性乳癌（TNBC）之經歷CPI之患者，與阿特珠單抗組合向其投予38 μg劑量之RNA疫苗。水平虛線指示根據固態腫瘤反應評估標準（RECIST）標準之疾病進展及部分反應的臨限值（亦即SLD相對於基線之≥20%增加=疾病進展（PD）；且SLD相對於基線之≥30%減少=部分反應（PR））。

【0133】 **[圖23A-圖23B]**顯示在與阿特珠單抗組合投予38 μg劑量之RNA疫苗之三陰性乳癌（TNBC）患者（由**圖22**中之方框指示）中觀測到的腫瘤及新抗原特異性免疫反應。如**圖22**中所示，此TNBC患者對治療展現部分反應，在≥5%之腫瘤浸潤性免疫細胞或腫瘤細胞上具有基線PD-L1表現（藉由SP142 Ventana分析評估），且先前已用查核點抑制劑治療（經歷CPI）。**圖23A**中提供之電腦化斷層掃瞄（CT）掃描影像顯示患者在篩選時具有若干與轉移性疾病相關之腫瘤塊，且腫瘤在第4治療週期時減少（腫瘤由箭頭指示）。**圖23B**顯示患者在篩選時對於新抗原特異性CD8+ T細胞呈陰性（0.01%；背景含量），且新抗原特異性CD8+ T細胞之含量在第4治療週期時增加至2.2%（如藉由MHC多聚體染色評估）。散佈圖在x軸及y軸上以兩種不同組態顯示用MHC多聚體染色的CD8+ T細胞。

【0134】 **[圖24A-圖24E]**提供在本文所述之Ib期研究之適應症特異性擴增期中，未曾用過查核點抑制劑之患者之最長直徑總和（SLD）及目標反應率

（ORR）隨時間的變化。**圖24A**顯示未曾用過查核點抑制劑之泌尿上皮癌（UC）患者之SLD及ORR隨時間的變化。**圖24B**顯示未曾用過查核點抑制劑之腎細胞癌（RCC）患者之SLD及ORR隨時間的變化。**圖24C**顯示未曾用過查核點抑制劑之黑色素瘤患者之SLD及ORR隨時間的變化。**圖24D**顯示未曾用過查核點抑制劑之三陰性乳癌（TNBC）患者之SLD及ORR隨時間的變化。**圖24E**顯示未曾用過查核點抑制劑之非小細胞肺癌（NSCLC）患者之SLD及ORR隨時間的變化。箭頭指示繼續積極治療之患者。在**圖24A-圖24E**中，水平虛線指示根據固態腫瘤反應評估標準（RECIST）標準之疾病進展及部分反應的臨限值（亦即SLD相對於基線之≥20%增加=疾病進展（PD）；且SLD相對於基線之≥30%減少=部分反應（PR））。

【實施方式】

I.　　定義

【0135】　在詳細描述本發明之前，應理解，本發明不限於特定組成物或生物系統，其可理所當然有所變化。亦應理解，本文所用之術語僅出於描述特定具體實例之目的，且不意欲作為限制性的。

【0136】　除非上下文另外明確指示，否則如本說明書及所附申請專利範圍中所用，單數形式「一（a/an）」及「該（the）」包括複數個指示物。因此，舉例而言，提及「一分子」視情況包括兩個或更多個此類分子之組合及其類似者。

【0137】　如本文所用，術語「約」係指此技術領域之技術人員易於知曉之相應值的常見誤差範圍。本文中對「約」一值或參數之提及包括（且描述）本身係關於該值或參數之具體實例。

【0138】　應理解，本文所述之本發明之態樣及具體實例包括「包含」態樣及具體實例、「由」態樣及具體實例「組成」及「基本上由」態樣及具體實例「組成」。

【0139】 術語「PD-1軸結合拮抗劑」係指如下分子：抑制PD-1軸結合搭配物與其結合搭配物中之一者或多者之相互作用，以便移除由PD-1傳信軸上之傳信產生的T細胞功能障礙，其結果為恢復或增強T細胞功能（例如增殖、細胞介素產生、靶細胞殺死）。如本文所使用，PD-1軸結合拮抗劑包括PD-1結合拮抗劑、PD-L1結合拮抗劑及PD-L2結合拮抗劑。

【0140】 術語「PD-1結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與其結合搭配物中之一者或多者（諸如PD-L1、PD-L2）之相互作用產生之信號轉導的分子。在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抑制PD-1與其結合搭配物中之一者或多者之結合的分子。在一個特定態樣中，PD-1結合拮抗劑抑制PD-1結合至PD-L1及/或PD-L2。舉例而言，PD-1結合拮抗劑包括抗PD-1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與PD-L1及/或PD-L2之交互作用引起之信號轉導的其他分子。在一個具體實例中，PD-1結合拮抗劑降低由或經由表現於T淋巴細胞上之細胞表面蛋白質所介導之透過PD-1的傳信介導之負共刺激信號，以便降低功能異常T細胞之功能異常程度（例如增強對抗原識別之效應反應）。在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。下文提供PD-1結合拮抗劑之特定實例。

【0141】 術語「PD-L1結合拮抗劑」係指降低、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其結合搭配物中之一者或多者（諸如PD-1、B7-1）之交互作用引起的信號轉導的分子。在一些具體實例中，PD-L1結合拮抗劑為抑制PD-L1與其結合搭配物之結合的分子。在一特定態樣中，PD-L1結合拮抗劑抑制PD-L1與PD-1及/或B7-1之結合。在一些具體實例中，PD-L1拮抗劑包括抗PD-L1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及其他降低、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其結合搭配物中之任一者或多者（諸如PD-1、B7-1）之交互作用引起的信號轉導之分子。在一個具體實例中，PD-L1結合拮抗劑降低由或經由表現於T

淋巴細胞上之細胞表面蛋白質所介導之透過PD-L1的傳信介導之負共刺激信號，使得降低功能異常T細胞之功能異常程度（例如增強對抗原識別之效應反應）。在一些具體實例中，PD-L1結合拮抗劑為抗PD-L1抗體。下文提供PD-L1結合拮抗劑之特定實例。

【0142】 術語「PD-L2結合拮抗劑」係指降低、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其結合搭配物中之任一者或多者（諸如PD-1）之交互作用引起的信號轉導之分子。在一些具體實例中，PD-L2結合拮抗劑為抑制PD-L2與其結合搭配物中之一者或多者之結合的分子。在一特定態樣中，PD-L2結合拮抗劑抑制PD-L2與PD-1之結合。在一些具體實例中，PD-L2拮抗劑包括抗PD-L2抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及其他降低、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其結合搭配物中之一者或多者（諸如PD-1）之交互作用引起的信號轉導之分子。在一個具體實例中，PD-L2結合拮抗劑降低由或經由表現於T淋巴細胞上之細胞表面蛋白質所介導之透過PD-L2的傳信介導之負共刺激信號，以便降低功能異常T細胞之功能異常程度（例如增強對抗原識別之效應反應）。在一些具體實例中，PD-L2結合拮抗劑為免疫黏附素。

【0143】 「持續反應」係指在停止治療之後，對降低腫瘤生長之持續作用。舉例而言，與投藥階段開始時之尺寸相比，腫瘤尺寸可保持相同或更小。在一些具體實例中，持續反應之持續時間長度至少與治療持續時間相同，為治療持續時間之至少1.5倍、2.0倍、2.5倍或3.0倍。

【0144】 術語「醫藥調配物」係指一種製劑，其呈允許活性成分之生物活性有效之形式，且其不含對調配物所投予之個體具有不可接受之毒性的其他組分。此類調配物為無菌的。「醫藥學上可接受之」賦形劑（媒劑、添加劑）為可合理地向個體哺乳動物投予以提供有效劑量之所用活性成分者。

【0145】 如本文中所使用，術語「治療」係指經設計以改變所治療之個體

或細胞在臨床病理學之病程期間的天然過程的臨床介入。所需治療效應包括降低疾病進展速率、改善或緩和疾病狀態及緩解或改善預後。舉例而言，若與癌症相關之一種或多種症狀得到減輕或消除，包括（但不限於）降低癌細胞增殖（或破壞癌細胞）、減少由疾病引起之症狀、提高罹患疾病者之生活品質、降低治療疾病所需之其他藥物的劑量及/或延長個體之存活期，則個體為成功「治療的」。

【0146】 如本文所用，「延緩疾病進展」意謂延緩、阻礙、減緩、阻滯、穩定及/或延遲疾病（諸如癌症）之發展。此延緩可具有不同時間長度，視所治療之疾病及/或個體之病史而定。如熟習此項技術者顯而易見，充分或顯著延遲可實際上涵蓋預防，使得該個體不發展該疾病。舉例而言，可延緩晚期癌症，諸如癌轉移發展。

【0147】 「有效量」為至少實現特定病症之可量測改善或預防所需之最小量。本文中之有效量可根據諸如以下因素而變化：患者之疾病病況、年齡、性別及體重，以及抗體引發個體發生所需反應之能力。有效量亦為治療有利效應超過治療之任何毒性或不利效應的量。對於防治用途而言，有益或所需結果包括諸如以下之結果：消除或降低疾病之風險、減輕疾病之嚴重程度，或延緩疾病發作，疾病包括疾病、其併發症及在疾病發展期間所呈現之中間病理學表型之生物化學、組織學及/或行為症狀。對於治療用途而言，有益或所需結果包括諸如以下之臨床結果：減少由疾病引起之一種或多種症狀、提高患病者之生活品質、降低治療疾病所需之其他藥物的劑量、增強另一藥劑之作用（諸如經由靶向）、延緩疾病進展及/或延長存活期。在癌症或腫瘤情況下，有效量之藥物可具有以下作用：降低癌細胞數目；降低腫瘤尺寸；抑制（亦即在一定程度上減緩或宜中止）癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制（亦即在一定程度上減緩且宜中止）腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上緩解與病症相關之一種或多種症狀。有效量可以一次或多次投藥投予。對本發明而言，藥物、化合物或醫藥組

成物之有效量為足以直接或間接實現預防性或治療性處理之量。如在臨床情形下所瞭解，藥物、化合物或醫藥組成物之有效量可或不可連同另一藥物、化合物或醫藥組成物一起達成。因此，在投予一種或多種治療劑之情形下可考慮「有效量」，且若結合一種或多種其他藥劑可達成或達成所要結果，則單一藥劑可視為以有效量給予。

【0148】 如本文中所使用，「與……結合」或「與……組合」係指除一種治療形式以外亦投予另一種治療形式。因此「與……結合」或「與……組合」係指在向個體投予一種治療形式之前、期間或之後投予另一種治療形式。

【0149】 「病症」為將受益於治療之任何病況，其包括但不限於包括使哺乳動物易患相關病症的病理性病況之慢性及急性病症或疾病。

【0150】 術語「細胞增殖性病症」及「增殖性病症」係指與某種程度的異常細胞增殖相關之病症。在一個具體實例中，細胞增殖性病症為癌症。在一個具體實例中，細胞增殖性病症為腫瘤。

【0151】 如本文所用，術語「腫瘤」係指所有贅生性細胞生長及增殖，無論惡性或良性，及所有癌前及癌性細胞及組織。如本文中所提及，術語「癌症」、「癌性」、「細胞增殖性病症」、「增殖性病症」及「腫瘤」不相互排斥。

【0152】 出於治療目的，「個體（subject/individual）」係指歸類為哺乳動物之任何動物，其包括人類、家畜與農畜及動物園、競技或寵物動物，諸如狗、馬、貓、牛等。哺乳動物較佳為人。

【0153】 本文中之術語「抗體」係以最廣泛意義使用且特定言之，涵蓋單株抗體（包括全長單株抗體）、多株抗體、多特異性抗體（例如雙特異性抗體）及抗體片段，只要其等展現所需生物活性。

【0154】 「經分離」抗體為已經鑑別且自其天然環境之組分分離及/或回收的抗體。其天然環境之污染物組分為會干擾抗體之研究、診斷或治療用途之物

質，且可包括酶、激素及其他蛋白質或非蛋白質溶質。在一些具體實例中，抗體(1)經純化至按抗體之重量計大於95%，如藉由例如勞立法（Lowry method）所測定，且在一些具體實例中經純化至大於99重量%；(2)經純化至足以藉由使用例如旋轉杯式定序儀獲得N端或內部胺基酸序列之至少15個殘基大程度；或(3)經純化至同質，其係藉由在還原或非還原條件下使用例如考馬斯藍（Coomassie blue）或銀染料進行SDS-PAGE達成。經分離抗體（或構築體）包括重組細胞內之原位抗體，因為抗體之天然環境的至少一種組分將不存在。然而，通常，經分離抗體將藉由至少一個純化步驟來製備。

【0155】 「天然抗體」通常為約150,000道爾頓之雜四聚體醣蛋白，由兩個相同輕（L）鏈及兩個相同重（H）鏈構成。各輕鏈藉由一個共價二硫鍵連接至重鏈，而在不同免疫球蛋白同型之重鏈中，二硫鍵數目不同。各重鏈及輕鏈亦具有有規律地間隔之鏈內二硫橋鍵。各重鏈在一端具有可變域（VH），接著為多個恆定域。各輕鏈在一端具有可變域（VL）且在其另一端具有恆定域；輕鏈之恆定域與重鏈之第一恆定域對準，且輕鏈可變域與重鏈之可變域對準。咸信特定胺基酸殘基在輕鏈可變域與重鏈可變域之間形成界面。

【0156】 術語「恆定域」係指具有相對於含有抗原結合位點之免疫球蛋白之其他部分（可變域）更保守之胺基酸序列的免疫球蛋白分子之部分。恆定域含有重鏈之CH1、CH2及CH3域（統稱為CH）及輕鏈之CHL（或CL）域。

【0157】 抗體之「可變區」或「可變域」係指抗體之重鏈或輕鏈之胺基端域。重鏈之可變域可稱為「VH」。輕鏈之可變域可稱為「VL」。此等域通常為抗體之最可變部分且含有抗原結合位點。

【0158】 術語「可變」係指如下事實：可變域之某些部分在抗體當中在序列方面廣泛地不同，且用於各特定抗體對於其特定抗原之結合及特異性。然而，可變性並非均勻分佈於抗體之整個可變域中。其集中在輕鏈及重鏈可變域中之

三個稱作高變區（HVR）的區段中。可變域之更高度保守部分稱作構架區（FR）。天然重鏈及輕鏈之可變結構域各包含四個FR區，該等FR區由三個HVR連接，大體上呈β-片層構形，該等HVR形成連接β-片層結構之環且在一些情況下形成β-片層結構之一部分。各鏈中之HVR藉由FR區緊密地結合在一起，且與另一鏈之HVR一起，有助於形成抗體之抗原結合位點（參見Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)）。恆定域不直接參與抗體與抗原之結合，但展現各種效應功能，諸如抗體依賴性細胞毒性中抗體的參與。

【0159】 來自任何哺乳動物物種之抗體（免疫球蛋白）之「輕鏈」可基於其恆定域之胺基酸序列而分配至稱為kappa（「κ」）及lambda（「λ」）的兩種明顯不同類型中之一者。

【0160】 如本文所用之術語IgG「同型」或「子類」意謂由其恆定區之化學及抗原特徵定義之免疫球蛋白之子類中之任一者。

【0161】 抗體（免疫球蛋白）視其重鏈恆定域之胺基酸序列而定，可歸為不同類別。存在五種主要類別之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之若干者可進一步分成子類（同型），例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱作α、γ、ε、γ及μ。不同類別之免疫球蛋白的次單位結構及三維構型為熟知的且一般描述於例如Abbas等人, Cellular and Mol. Immunology, 第4版. (W.B. Saunders, Co., 2000)中。抗體可為由抗體與一種或多種其他蛋白質或肽共價或非共價結合而形成的較大融合分子之一部分。

【0162】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用以指呈其基本上完整形式、不為如下文所定義之抗體片段的抗體。該等術語尤其係指具有含Fc區之重鏈的抗體。

【0163】 出於本文之目的，「裸抗體」為未與細胞毒性部分或放射性標記結合之抗體。

【0164】 「抗體片段」包含完整抗體之一部分，較佳包含其抗原結合區。在一些具體實例中，本文所述之抗體片段為抗原結合片段。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')2及Fv片段；雙功能抗體；線抗體；單鏈抗體分子；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

【0165】 抗體之番木瓜蛋白酶消化產生兩個相同的抗原結合片段，稱為「Fab」片段，各自具有單一抗原結合位點；及殘餘「Fc」片段，其名字反映其容易結晶之能力。胃蛋白酶處理產生F(ab')2片段，其具有兩個抗原組合位點且仍能夠與抗原交聯。

【0166】 「Fv」為含有整個抗原結合位點之最小抗體片段。在一個具體實例中，雙鏈Fv物種由一個重鏈及一個輕鏈可變域以緊密、非共價結合之二聚體組成。在單鏈Fv（scFv）物種中，一個重鏈及一個輕鏈可變域可藉由可撓性肽連接子共價連接，以使得輕鏈及重鏈可結合於類似於雙鏈Fv物種中之結構的「二聚體」結構中。在此組態中，各可變域之三個HVR相互作用以界定VH-VL二聚體表面上之抗原結合位點。六個HVR共同地賦予抗體以抗原結合特異性。然而，即使單一可變域（或僅包含對抗原具有特異性之三個HVR的一半Fv）能夠識別及結合抗原，但其親和力低於完整結合位點。

【0167】 Fab片段含有重鏈及輕鏈可變域，且亦含有輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域（CH1）。Fab'片段與Fab片段不同之處在於，在重鏈CH1域之羧基端添加幾個殘基，包括來自抗體鉸鏈區之一個或多個半胱胺酸。Fab'-SH為其中恆定域之半胱胺酸殘基攜有游離硫醇基之Fab'在本文中的名稱。F(ab')2抗體片段最初係以其間具有鉸鏈半胱胺酸之Fab'片段對形式產生。亦已知抗體片段之其他化學偶聯。

【0168】 「單鏈Fv」或「sFv」抗體片段包含抗體之VH及VL域，其中此等域存在於單一多肽鏈中。一般而言，scFv多肽在VH與VL域之間進一步包含多肽連接子，其使得scFv能夠形成用於抗原結合之所需結構。關於scFv之綜述，參見例如Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenburg及Moore編, (Springer-Verlag, New York, 1994), 第269-315頁。

【0169】 術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之抗體片段，該等片段包含連接至同一多肽鏈（VH-VL）中之輕鏈可變域（VL）的重鏈可變域（VH）。藉由使用過短以使得同一鏈上之兩個域之間不能配對的連接子，迫使該等域與另一條鏈之互補域配對，且產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體可為二價或雙特異性的。雙功能抗體更充分描述於例如EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人, Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及Hollinger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)中。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson等人, Nat. Med. 9:129-134 (2003)中。

【0170】 如本文所用之術語「單株抗體」係指獲自基本上同質之抗體群體之抗體，例如構成該群體之個別抗體為相同的，除了可少量存在之可能的突變，例如天然存在之突變。因此，修飾語「單株」指示抗體不為不同抗體之混合物之特徵。在某些具體實例中，此類單株抗體通常包括包含結合目標之多肽序列的抗體，其中該目標結合多肽序列係藉由包括自複數個多肽序列選擇單個標靶結合多肽序列之方法獲得。舉例而言，選擇方法可為自複數個純系（諸如一組融合瘤純系、噬菌體純系或重組DNA純系）選擇獨特純系。應理解，所選標靶結合序列可經進一步改變，例如以改善對於標靶之親和力、人類化標靶結合序列、改善其於細胞培養物中之產生、降低其活體內免疫原性、產生多特異性抗體等，且包含經改變標靶結合序列之抗體亦為本發明之單株抗體。與典型地包括針對不同決定子（抗原決定基）之不同抗體的多株抗體製劑形成對比，單株抗體製劑中之各

單株抗體係針對抗原上之單一決定子。除其特異性以外，單株抗體製劑亦為有利的，原因在於其通常未經其他免疫球蛋白污染。

【0171】 修飾語「單株」指示抗體之性質係獲自基本上同質之抗體群，且不應理解為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術製得，包括例如融合瘤方法（例如Kohler及Milstein, Nature, 256:495-97 (1975)；Hongo等人, Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995)，Harlow等人, Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版 1988)；Hammerling等人，, Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)）、重組DNA方法（參見例如美國專利第4,816,567號）、噬菌體呈現技術（參見例如Clackson等人, Nature, 352: 624-628 (1991)；Marks等人, J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992)；Sidhu等人, J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004)；Lee等人, J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004)；及Lee等人, J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004)、及用於動物中產生具有編碼人類免疫球蛋白序列之人類免疫球蛋白基因座或基因之一部分或全部之人類或人類樣抗體之技術（參見例如WO 1998/24893；WO 1996/34096；WO 1996/33735；WO 1991/10741；Jakobovits等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993)；Jakobovits等人, Nature 362: 255-258 (1993)；Bruggemann等人, Year in Immunol. 7:33 (1993)；美國專利第5,545,807號；第5,545,806號；第5,569,825號；第5,625,126號；第5,633,425號；及第5,661,016號；Marks等人, Bio/Technology 10: 779-783 (1992)；Lonberg等人, Nature 368: 856-859 (1994)；Morrison, Nature 368: 812-813 (1994)；Fishwild等人, Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996)；Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996)；及Lonberg及Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995)。

【0172】 本文中之單株抗體特定地包括「嵌合」抗體，其中重鏈及/或輕鏈

之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體類別或子類之抗體之對應序列一致或同源，而鏈之其餘部分與源自另一物種或屬於另一抗體類別或子類之抗體以及此類抗體之片段之對應序列一致或同源，只要其展現所需生物活性即可（參見例如美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)）。嵌合抗體包括PRIMATTZED®抗體，其中抗體之抗原結合區源自藉由例如用所關注之抗原使獼猴免疫而產生之抗體。

【0173】 非人類（例如鼠類）抗體之「人類化」形式為含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。在一個具體實例中，人類化抗體為人類免疫球蛋白（受體抗體），其中來自受體之HVR的殘基經來自具有所需特異性、親和力及/或容量之非人類物種（供體抗體），諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物之HVR的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之FR殘基經相應非人類殘基置換。此外，人類化抗體可包含在接受者抗體或供者抗體中未發現之殘基。可進行此等修飾以進一步優化抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域中的基本上所有可變域，其中所有或基本上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白之高變環，且所有或基本上所有FR為人類免疫球蛋白序列之FR。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區（Fc），通常人類免疫球蛋白恆定區之至少一部分。關於更多細節，參見例如Jones等人, Nature 321:522- 525 (1986)；Riechmann等人, Nature 332:323-329 (1988)；及Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。亦參見例如Vaswani及Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998)；Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995)；Hurle及Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)；以及美國專利第6,982,321號及第7,087,409號。

【0174】 「人類抗體」為具有以下胺基酸序列之抗體：對應於由人類所產生及/或已使用製造如本文所揭示之人類抗體之技術中之任一者所製造之抗體的

胺基酸序列。人類抗體之此定義特定排除包含非人類抗原結合殘基之人源化抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之各種技術產生，包括噬菌體呈現庫。Hoogenboom及Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)；Marks等人, J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。Cole等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, AlanR. Liss, 第77頁 (1985)；Boerner等人, J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)中所述之方法亦可用於製備人類單株抗體。亦參見van Dijk及van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)。人類抗體可藉由向基因轉殖動物投予抗原來製備，該基因轉殖動物已經改良而產生對抗原攻擊起反應之此類抗體，但其內源性基因座已失能，例如經免疫之異種小鼠（xenomice）（參見例如，關於XENOMOUSETM技術之美國專利第6,075,181號及第6,150,584號）。關於經由人類B細胞融合瘤技術產生的人類抗體，亦參見例如Li等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)。

【0175】 「物種依賴性抗體」為相比於對來自第二哺乳動物物種之該抗原之同源物具有的結合親和力，對來自第一哺乳動物物種之抗原具有更強結合親和力的抗體。通常，物種依賴性抗體「特異性結合」至人類抗原（例如結合親和力（Kd）值為不超過約1×10-7 M，較佳不超過約1×10-8 M且較佳不超過約1×10-9 M），但對來自第二非人類哺乳動物物種之抗原的同源物之結合親和力比其針對人類抗原之結合親和力弱至少約50倍，或至少約500倍，或至少約1000倍。物種依賴性抗體可為如上文所定義之抗體之各種類型中之任一者，但較佳為人類化或人類抗體。

【0176】 當在本文中使用時，術語「高變區」、「HVR」或「HV」係指抗體可變域中序列具有高變性及/或形成結構上界定之環的區域。一般而言，抗體包含六個HVR；三個在VH中（H1、H2、H3），且三個在VL中（L1、L2、L3）。在天然抗體中，H3及L3呈現六個HVR之大部分多樣性，且咸信尤其是H3在賦予抗體精細特異性方面起到獨特作用。參見例如Xu等人, Immunity 13:37-45 (2000)；

Johnson及Wu, Methods in Molecular Biology 248:1 -25 (Lo編, Human Press, Totowa, N.J., 2003)。實際上，由重鏈組成之天然存在之駱駝抗體僅在不存在輕鏈之情況下具有功能性基穩定性。參見例如Hamers-Casterman等人, Nature 363:446-448 (1993)；Sheriff等人, Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996)。

【0177】 本文中已使用且涵蓋多種HVR描述。Kabat互補決定區（CDR）係基於序列可變性且為最常用的（Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。Chothia替代地提及結構環之位置（Chothia及Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)）。AbM HVR表示Kabat HVR與Chothia結構環之間的折中，且由Oxford Molecular之AbM抗體模型化軟體使用。「Contact」HVR係基於可用複合晶體結構之分析。來自此等HVR中之每一者之殘基標註如下。

環	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B（Kabat編號）
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35（Chothia編號）
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

【0178】 HVR可包含如下「擴展HVR」：VL中之24-36或24-34（L1）、46-56或50-56（L2）及89-97或89-96（L3）以及VH中之26-35（H1）、50-65或49-65（H2）及93-102、94-102或95-102（H3）。關於此等定義中之每一者，可變域殘基根據Kabat等人（見上文）編號。

【0179】 HVR可包含如下「擴展HVR」：VL中之24-36或24-34（L1）、46-

56或50-56（L2）及89-97或89-96（L3）以及VH中之26-35（H1）、50-65或49-65（H2）及93-102、94-102或95-102（H3）。關於此等定義中之每一者，可變域殘基根據Kabat等人（見上文）編號。

【0180】 「構架」或「FR」殘基為不同於如本文所定義之HVR殘基之可變域殘基。

【0181】 術語「如Kabat中之可變域殘基編號」或「如Kabat中之胺基酸位置編號」及其變化形式係指用於Kabat等人（見上文）中抗體之編譯之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序列可含有較少或其他胺基酸，其對應於可變域之FR或HVR之縮短或插入至其中。舉例而言，重鏈可變域可包括在H2之殘基52之後的單一胺基酸插入物（根據Kabat之殘基52a）及在重鏈FR殘基82之後的插入殘基（例如根據Kabat之殘基82a、82b及82c等）。對於給定抗體，可藉由將抗體序列之同源區與「標準」Kabat編號序列比對來確定殘基之Kabat編號。

【0182】 Kabat編號系統一般在提及可變域中之殘基（大致輕鏈之殘基1-107及重鏈之殘基1-113）時使用（例如Kabat等人, Sequences of Immunological Interest.第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。「EU編號系統」或「EU索引」一般在提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時使用（例如Kabat等人, 前述中報導之EU索引）。「如Kabat中之EU索引」係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。

【0183】 表述「線抗體」係指Zapata等人（1995 Protein Eng, 8(10):1057-1062）中所述之抗體。簡言之，此等抗體包含串聯Fd區段（VH-CH1-VH-CH1）對，其與互補輕鏈多肽一起形成抗原結合區對。線抗體可為雙特異性或單特異性的。

【0184】 如本文所用，術語「結合」、「特異性結合於」或「對……具有特

異性」係指可量測及可再現之相互作用，諸如靶向物與抗體之間的結合，其在分子，包括生物分子之異質群存在下由靶向物之存在決定。舉例而言，結合於或特異性結合於目標（其可為抗原決定基）之抗體為結合此目標之親和力、親合力、容易性及/或持續時間強於其結合至其他目標的抗體。在一個具體實例中，抗體與無關目標之結合程度小於抗體與目標之結合的約10%，如例如藉由放射免疫分析（RIA）所量測。在某些具體實例中，特異性結合於標靶之抗體的解離常數（Kd）為≤ 1 μM、≤100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM或≤ 0.1 nM。在某些具體實例中，抗體特異性結合於在來自不同物種之蛋白質當中為保守的蛋白質上之抗原決定基。在另一具體實例中，特異性結合可包括排他性結合，但並非必需。

【0185】 如本文中所使用，術語「樣品」係指獲自或衍生自所關注個體及/或個人之組成物，其含有待例如基於物理性、生物化學、化學及/或生理特徵表徵及/或鑑別之細胞及/或其他分子實體。舉例而言，片語「疾病樣品」及其變化形式係指獲自所關注個體之任何樣品，其應期望或已知含有待表徵之細胞及/或分子實體。樣品包括但不限於原代或培養細胞或細胞株、細胞上清液、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、玻璃狀液、淋巴液、滑液、濾泡液、精液、羊膜液、乳汁、全血、血液來源細胞、尿液、腦脊液、唾液、痰、淚液、汗液、黏液、腫瘤溶解物及組織培養基、組織萃取物（諸如均質化組織）、腫瘤組織、細胞萃取物及其組合。在一些具體實例中，樣品為獲自個體之癌症的樣品（例如腫瘤樣品），其包含腫瘤細胞且視情況包含腫瘤浸潤免疫細胞。舉例而言，樣品可為包埋於石蠟塊中，或包括新切割之連續未染色切片的腫瘤標本。在一些具體實例中，樣品來自生檢且包括50個或更多個活腫瘤細胞（例如來自芯-針生檢且視情況包埋於石蠟塊中；切除、切取、鑽取或鉗夾生檢；或腫瘤組織切除）。

【0186】 「組織樣品」、「組織標本」或「細胞樣品」意謂獲自個體或個人之組織（例如腫瘤）之類似細胞的集合。組織或細胞樣品之來源可為實體組織（例

如腫瘤），如來自新鮮、冷凍及/或保護器官、組織樣品、生檢及/或抽出物；血液或任何血液組分，諸如血漿；體液，諸如大腦脊髓液、羊膜液、腹膜液或間質液；來自個體之妊娠或發育中之任何時間的細胞。組織樣品亦可為原代或經培養細胞或細胞株。視情況，組織或細胞樣品獲自疾病組織/器官。組織樣品可含有自然界中不與組織天然互混之化合物，諸如防腐劑、抗凝劑、緩衝劑、固定劑、營養物、抗生素或其類似物。

【0187】 如本文中所使用，「參考樣品」、「參考細胞」、「參考組織」、「對照樣品」、「對照細胞」或「對照組織」係指用於達成比較目的之樣品、細胞、組織、標準或含量。在一個具體實例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織自相同個體或個人之身體之健康及/或未患病部分（例如組織或細胞）獲得。舉例而言，健康及/或未患病細胞或組織靠近患病細胞或組織（例如細胞或組織靠近腫瘤）。在另一具體實例中，參考樣品自相同個體或個人之身體之未處理組織及/或細胞獲得。在又一具體實例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織獲自並非該個體或個人的個人之身體的健康及/或未患病部分（例如組織或細胞）。在又另一具體實例中，參考樣品、參考細胞、參考組織、對照樣品、對照細胞或對照組織獲自並非該個體或個人的個人之身體的未處理組織及/或細胞。

【0188】 對用藥劑治療之患者之「有效反應」或患者之「反應性」及類似措辭係指賦予處於疾病或病症（諸如癌症）風險下或罹患疾病或病症（諸如癌症）之患者的臨床或治療益處。在一個具體實例中，此類益處包括以下中之任一種或多種：延長存活期（包括總存活期及/或無進程存活期）；產生客觀反應（包括完全反應或部分反應）；或改善癌症之病徵或症狀。

【0189】 對治療「不具有有效反應」之患者係指不具有以下者中之任一者的患者：延長存活期（包括總存活期及無進程存活期）；產生客觀反應（包括完

全反應或部分反應）；或改善癌症之病徵或症狀。

【0190】 「功能Fc片段」具有原生序列Fc區之「效應功能」。例示性「效應功能」包括C1q結合；CDC；Fc受體結合；ADCC；吞噬作用；細胞表面受體（例如B細胞受體；BCR）之下調等。此類效應功能一般需要Fc區與結合域（例如抗體可變域）組合，可使用例如在本文之定義中揭示之各種分析來評定。

【0191】 「具有人類效應細胞」之癌症或生物樣品為在診斷測試中具有存在於樣品中之人類效應細胞（例如浸潤人類效應細胞）的一種樣品。

【0192】 「具有FcR表現細胞」之癌症或生物樣品為在診斷測試中具有存在於樣品中之FcR表現（例如浸潤FcR表現細胞）的一種樣品。在一些具體實例中，FcR為FcγR。在一些具體實例中，FcR為活化FcγR。

II. 誘導新抗原決定基特異性免疫反應之方法

【0193】 本文提供一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞的方法。在某些具體實例中，方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗之步驟，其中疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約1%（例如約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、約15%、約16%、約17%、約18%、約19%、約20%或更大中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1%至約6%（例如約1%、約2%、約3%、約4%、約5%或約6%中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決

定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品含有約5%或約6%對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的CD8+ T細胞。

【0194】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約0.1%(例如至少約0.1%、至少約0.18%、至少約0.2%、至少約0.27%、至少約0.29%、至少約0.3%、至少約0.4%、至少約0.5%、至少約0.6%、至少約0.7%、至少約0.8%、至少約0.87%、至少約0.9%、至少約1%、至少約1.25%、至少約1.5%、至少約1.75%、至少約2%、至少約2.25%、至少約2.5%、至少約2.5%、至少約2.75%、至少約3%、至少約3.25%、至少約3.5%、至少約3.75%、至少約4%、至少約4.25%、至少約4.5%、至少約4.75%、至少約5%、至少約5.25%、至少約5.5%、至少約5.67%或更大中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0195】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中至少約0.27%(例如至少約0.27%、至少約0.29%、至少約0.3%、至少約0.4%、至少約0.5%、至少約0.6%、至少約0.7%、至少約0.8%、至少約0.87%、至少約0.9%、至少約1%、至少約1.25%、至少約1.5%、至少約1.75%、至少約2%、至少約2.25%、至少約2.5%、至少約2.5%、至少約2.75%、至少約3%、至少約3.25%、至少約3.5%、至少約3.75%、至少約4%、至少約4.25%、至少約4.5%、至少約4.75%、至少約5%、至少約5.25%、至少約5.5%、至少約5.67%或更大中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0196】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.1%至約5.67%之間（例如約0.1%、約0.18%、約0.2%、約0.27%、約

0.29%、約0.3%、約0.4%、約0.5%、約0.6%、約0.7%、約0.8%、約0.87%、約0.9%、約1%、約1.25%、約1.5%、約1.75%、約2%、約2.25%、約2.5%、約2.75%、約3%、約3.25%、約3.5%、約3.75%、約4%、約4.25%、約4.5%、約4.75%、約5%、約5.25%、約5.5%或約5.67%中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0197】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.27%至約5.67%之間（例如約0.27%、約0.29%、約0.3%、約0.4%、約0.5%、約0.6%、約0.7%、約0.8%、約0.87%、約0.9%、約1%、約1.25%、約1.5%、約1.75%、約2%、約2.25%、約2.5%、約2.75%、約3%、約3.25%、約3.5%、約3.75%、約4%、約4.25%、約4.5%、約4.75%、約5%、約5.25%、約5.5%或約5.67%中之任一者）之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0198】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.18%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.27%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.29%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約0.87%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異

性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1.89%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約3.1%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約5.67%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約1.95%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約2.49%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約4.7%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中約2.2%之CD8+ T細胞為對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【0199】 可藉由此項技術中已知之任何方法，諸如離體ELISPOT或MHC多聚體分析在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核

苷酸編碼之1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個中之任一者的新抗原決定基具有特異性。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之1個至9個、1個至8個、1個至7個、1個至6個、1個至5個、1個至4個、1個至3個或1個至2個之間中之任一者的新抗原決定基具有特異性。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之約2.6個或約3個新抗原決定基具有特異性。

【0200】 在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%或更多中之任一者的新抗原決定基具有特異性。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之約5%至約70%之間之任一者（例如約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%或約70%中之任一者）之新抗原決定基具有特異性。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之約5%至約35%之間之任一者（例如約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%或約35%中之任一者）之新抗原決定基具有特異性。

【0201】 在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+ T

細胞，該等細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。在一些具體實例中，在個體之周邊血液中偵測新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，在獲自個體之周邊血液樣品中偵測新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個中之任一者新抗原決定基具有特異性。在一些具體實例中，藉由離體ELISPOT分析來偵測獲自個體之周邊血液樣品中之新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，誘導（例如增加）至少約1.1倍、至少約1.2倍、至少約1.3倍、至少約1.4倍、至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約3.5倍、至少約4倍、至少約4.5倍、至少約5倍、至少約5.5倍、至少約6倍、至少約6.5倍、至少約7倍、至少約7.5倍、至少約8倍、至少約8.5倍、至少約9倍、至少約9.5倍、至少約10倍或更多中之任一者的對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，誘導（例如增加）至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80 倍、至少約90倍、至少約100倍、至少約110倍、至少約120倍、至少約130倍、至少約140倍、至少約150倍、至少約160倍、至少約170倍、至少約180倍、至少約190倍、至少約200倍、至少約210倍、至少約220倍、至少約230倍、至少約240倍、至少約250倍、至少約260倍、至少約270倍、至少約280倍、至少約290倍、至少約300倍或更多中之任一者的對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性

的新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前，誘導（例如增加）至少約1%、至少約2%、至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約100%、至少約110%、至少約120%、至少約130%、至少約140%、至少約150%、至少約160%、至少約170%、至少約180%、至少約190%、至少約200%、至少約210%、至少約220%、至少約230%、至少約240%、至少約250%、至少約260%、至少約270%、至少約280%、至少約290%、至少約300%或更多中之任一者的對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD4+ T細胞。

【0202】 在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約70%個體（例如複數個個體中之至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者的個體）之周邊血液中誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約73%個體之周邊血液中誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約86%個體之周邊血液中誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。在一些具體實例中，藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估周邊血液中新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞之誘導。在一些具體實例中，在周邊血液中誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞包含在投予RNA疫苗之後，使個體之周邊血液中之新抗原決定基特異性CD4+及/或

CD8+ T細胞相比於投予RNA疫苗之前增加至少約1.1倍、至少約1.2倍、至少約1.3倍、至少約1.4倍、至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約3.5倍、至少約4倍、至少約4.5倍、至少約5倍、至少約5.5倍、至少約6倍、至少約6.5倍、至少約7倍、至少約7.5倍、至少約8倍、至少約8.5倍、至少約9倍、至少約9.5倍、至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80 倍、至少約90倍、至少約100倍、至少約110倍、至少約120倍、至少約130倍、至少約140倍、至少約150倍、至少約160倍、至少約170倍、至少約180倍、至少約190倍、至少約200倍、至少約210倍、至少約220倍、至少約230倍、至少約240倍、至少約250倍、至少約260倍、至少約270倍、至少約280倍、至少約290倍、至少約300倍或更多中之任一者。在一些具體實例中，在周邊血液中誘導（例如增加）新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞包含在投予RNA疫苗之後，使個體之周邊血液中之新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞相比於投予RNA疫苗之前增加至少約1%、至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約100%、至少約110%、至少約120%、至少約130%、至少約140%、至少約150%、至少約160%、至少約170%、至少約180%、至少約190%、至少約200%、至少約210%、至少約220%、至少約230%、至少約240%、至少約250%、至少約260%、至少約270%、至少約280%、至少約290%、至少約300%或更多中之任一者。

【0203】 在一些具體實例中，根據本文所提供之方法投予RNA疫苗使得一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。發炎性細胞介素之實例包括但不限於IFNγ（亦即IFNg）、IFNα（亦即IFNa）、IL-12或IL-6。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向個體投予RNA疫苗使得相比於投予RNA疫苗之前的一種或

多種發炎性細胞介素之含量，個體之周邊血液中（例如血漿中）一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量提高。在一些具體實例中，在投予一劑RNA疫苗之後一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量的提高為相比於投予一劑RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量，至少約1.5倍、至少約2倍、至少約2.5倍、至少約3倍、至少約3.5倍、至少約4倍、至少約4.5倍、至少約5倍、至少約5.5倍、至少約6倍、至少約6.5倍、至少約7倍、至少約7.5倍、至少約8倍、至少約8.5倍、至少約9倍、至少約9.5倍、至少約10倍或更多中之任一者的提高。在一些具體實例中，在投予一劑RNA疫苗之後一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量的提高為相比於投予一劑RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量，至少約10倍、至少約20倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約60倍、至少約70倍、至少約80 倍、至少約90倍、至少約100倍、至少約110倍、至少約120倍、至少約130倍、至少約140倍、至少約150倍、至少約160倍、至少約170倍、至少約180倍、至少約190倍、至少約200倍、至少約210倍、至少約220倍、至少約230倍、至少約240倍、至少約250倍、至少約260倍、至少約270倍、至少約280倍、至少約290倍、至少約300倍或更多中之任一者的提高。在一些具體實例中，一種或多種發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量的提高係在投予一劑RNA疫苗之後約4小時、約5小時、約6小時或更長時間中之任一者處存在於個體之周邊血液中（例如血漿中）。周邊血液中（例如血漿中）之發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之含量可使用此項技術中已知之任何適合之方法來定量，包括免疫分析（諸如ELISA）、基於適體之分析、西方墨點法及質譜法。在一些具體實例中，使用ELISA分析來定量周邊血液中（例如血漿中）發炎性細胞介素（例如IFNγ、IFNα、IL-12及/或IL-6）之

含量。

【0204】 本文亦提供一種在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法。在某些具體實例中，方法包括向個體投予有效量的RNA疫苗之步驟，其中RNA疫苗包括一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個中之任一者新抗原決定基具有特異性。新抗原決定基特異性CD8+ T細胞至個體之腫瘤的運輸可藉由此項技術中已知之任何方法來量測，例如如Cowell LG (2019) Cancer Res, 1457.2019中所述。舉例而言，獲自腫瘤之樣品中之T細胞受體可經定序以鑑別及量測對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之T細胞受體的頻率。

【0205】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，新抗原決定基特異性CD8+ T細胞具有記憶表現型（例如新抗原決定基特異性T細胞為CD8+記憶T細胞）。在某些具體實例中，具有記憶表現型之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為CD45RO陽性及CCR7陰性。在某些具體實例中，具有記憶表現型之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（亦即T_{em}）。在某些具體實例中，可使用此項技術中已知之任何標記來確定新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之記憶表現型。可使用此項技術中已知之任何方法，諸如免疫組織化學、螢光活化細胞分選及流動式細胞測量術來確定記憶表現型（例如CD45RO陽性及CCR7陰性）。

【0206】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，個體患有具有低至中等突變負荷之腫瘤。在某些具體實例中，腫瘤之突變負荷係藉由定量腫瘤中之體細胞突變來確定。在某些具體實例中，個體患有具有300個體細胞突變或更少（例如300個或更少、250個或更少、200個或更少、150個或更少、100個或更少、50個或更少、25個或更少、10個或更少、5個或更少、或1個體細胞突變中之任一者）之腫瘤。在某些具體實例中，個體患有具有至少約100個（例如至少約100個、至少約200個、至少約300個、至少約400個、至少約500個、至少約600個、至少約700個、至少約800個、至少約900個、至少約1000個、或更多中之任一者）體細胞突變之腫瘤。在某些具體實例中，個體患有具有至多1000個體細胞突變（例如1個或更多、10個或更多、20個或更多、40個或更多、50個或更多、100個或更多、150個或更多、200個或更多、300個或更多、400個或更多、500個或更多、600個或更多、700個或更多、800個或更多、900個或更多、或1000個體細胞突變中之任一者）之腫瘤。在某些具體實例中，個體患有具有約100個至約2000個之間（例如約100個、約200個、約300個、約400個、約500個、約600個、約700個、約800個、約900個、約1000個、約1100個、約1200個、約1300個、約1400個、約1500個、約1600個、約1700個、約1800個、約1900個、或約2000個中之任一者）的體細胞突變之腫瘤。在某些具體實例中，個體患有具有約300個至約1000個之間的體細胞突變之腫瘤。可使用此項技術中已知之任何方法，諸如全外顯子組定序（WES）來確定腫瘤之突變負荷。

【0207】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，個體具有低腫瘤負荷。在某些具體實例中，個體之腫瘤負荷為患有與該個體之腫瘤相同類型之腫瘤或癌症之個體之中值腫瘤負荷的25%或更小（例如25%或更小、20%或更小、15%或更小、10%或更小、5%或更小、2.5%或更小、或1%或更小中之任一者）。在某些具體實例中，個體之腫瘤負荷為患有與該個體之腫瘤相同類型之腫瘤或癌症

之個體之中值腫瘤負荷的50%或更小（例如50%或更小、45%或更小、40%或更小、35%或更小、30%或更小、25%或更小、20%或更小、15%或更小、10%或更小、5%或更小、2.5%或更小、或1%或更小中之任一者）。可使用此項技術中已知之任何方法來量測個體之腫瘤負荷，例如如Cai等人, (2018) Chronic Diseases and Translational Medicine, 4(1):18-28；Nishino M (2018) ASCO Educational Book, 28:1019-29；及Akbar等人, (2019) Scientific Reports, 9:14099中所述。舉例而言，可藉由定量腫瘤直徑（例如最大腫瘤直徑及/或組合腫瘤直徑）、定量腫瘤體積及定量轉移數目來量測腫瘤負荷。在某些具體實例中，手動（例如由臨床醫師及/或放射科醫師）或自動（例如使用計算方法）量測個體之腫瘤負荷。如本文所用，個體之腫瘤負荷亦指個體之腫瘤負載。

【0208】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，腫瘤具有低或陰性PD-L1表現。在某些具體實例中，獲自腫瘤之樣品中小於約5%（例如小於約5%、小於約4.5%、小於約4%、小於約3.5%、小於約3%、小於約2.5%、小於約2%、小於約1.5%、小於約1%、小於約0.5%、或小於約0.25%中之任一者）之腫瘤細胞表現PD-L1。在某些具體實例中，獲自腫瘤之樣品中小於約5%（例如小於約5%、小於約4.5%、小於約4%、小於約3.5%、小於約3%、小於約2.5%、小於約2%、小於約1.5%、小於約1%、小於約0.5%、或小於約0.25%中之任一者）之免疫細胞表現PD-L1。可根據此項技術中已知之任何方法，諸如免疫組織化學、螢光活化細胞分選或流動式細胞測量術來確定獲自腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細胞及/或免疫細胞的百分比。在某些具體實例中，使用免疫組織化學來確定獲自腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細胞或免疫細胞的百分比。在一些具體實例中，可藉由利用免疫組織化學或此項技術中已知之任何方法定量PD-L1之膜染色含量來確定獲自該腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細胞及/或免疫細胞的百分比。在一些具體實例中，使用Ventana SP142分析來確定獲自腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細

胞及/或免疫細胞的百分比。

投予RNA疫苗及PD-1軸拮抗劑

【0209】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，以約15 μg至約100 μg之間（例如約15 μg、約20 μg、約25 μg、約30 μg、約35 μg、約40 μg、約45 μg、約50 μg、約55 μg、約60 μg、約65 μg、約70 μg、約75 μg、約80 μg、約85 μg、約90 μg、約95 μg、或約100 μg中之任一者）之劑量向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗。在某些具體實例中，RNA疫苗係靜脈內投予至個體。

【0210】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，RNA疫苗係以7天或1週之時間間隔向個體投予。在某些具體實例中，RNA疫苗係以14天或2週之時間間隔向個體投予。在某些具體實例中，RNA疫苗係向個體投予12週或84天。

【0211】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，RNA疫苗係以四個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予。

【0212】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，RNA疫苗係以21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向該個體投予。在一些具體實例中，本文所提供之方法進一步包括在第13週期之第1天，及此後每24週或168天投予RNA疫苗。在一些具體實例中，繼續投予RNA疫苗直至個體出現疾病進展。

【0213】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，RNA疫苗係以數個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予。在一些具體實例中，本文所提供之方法

進一步包括在第13週期之第1天，及此後每24週或168天投予RNA疫苗。在一些具體實例中，繼續投予RNA疫苗直至個體出現疾病進展。

【0214】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以1週或2週之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以24週之時間間隔向個體投予RNA疫苗。在某些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以7天或14天之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以168天之時間間隔向個體投予RNA疫苗。

【0215】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以四個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中在維持期內在第5週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0216】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，誘導期包括至多9劑RNA疫苗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0217】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中以21天週期向個體投予RNA疫苗；其中，在誘導期內，在第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中，在維持期內，在第13週期之第1天及此後每24

週或168天一次向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，誘導期包括至多9劑RNA疫苗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0218】 在某些具體實例中，維持期持續至個體之疾病進展或退出治療。

【0219】 在某些具體實例中，向個體投予至少3劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予至少6劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予至少9劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予約3劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予約6劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予約9劑RNA疫苗。在某些具體實例中，誘導期包括至多9劑RNA疫苗。在某些具體實例中，向個體投予小於9劑RNA疫苗。

【0220】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，方法進一步包含向個體投予PD-1軸結合拮抗劑之步驟。在某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係靜脈內投予至個體。

【0221】 在某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-1結合拮抗劑。在某些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。在某些具體實例中，抗PD-1抗體為納武單抗或派立珠單抗。

【0222】 在本文所提供之方法之某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。在某些具體實例中，PD-L1結合拮抗劑為抗PD-L1抗體。在某些具體實例中，抗PD-L1抗體為阿維魯單抗或德瓦魯單抗。在某些具體實例中，抗PD-L1抗體包括：(a)重鏈可變區（VH），其含有包括胺基酸序列GFTFSDSWIH（SEQ ID NO:1）之HVR-H1、包括胺基酸序列AWISPYGGSTYYADSVKG（SEQ ID NO:2）之HVR-2及包括胺基酸RHWPGGFDY（SEQ ID NO:3）之HVR-3，及(b)輕鏈可變區（VL），其含有包括胺基酸序列RASQDVSTAVA（SEQ ID NO:4）之HVR-L1、包括胺基酸序列SASFLYS（SEQ ID NO:5）之HVR-L2及包括胺基酸序列QQYLYHPAT（SEQ ID NO:6）之HVR-L3。在某些具體實例中，抗PD-L1抗

體含有包括SEQ ID NO:7之胺基酸序列的重鏈可變區（V_H）及包括SEQ ID NO:8之胺基酸序列的輕鏈可變區（V_L）。在某些具體實例中，抗PD-L1抗體為阿特珠單抗。在某些具體實例中，抗PD-L1抗體係以約1200 mg之劑量向個體投予。

【0223】 在某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以21天或3週之時間間隔（例如在各21天週期之第1天）向個體投予。

【0224】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，且阿特珠單抗係以數個21天週期向個體投予，其中阿特珠單抗係在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予。在一些具體實例中，阿特珠單抗進一步在第13週期之第1天，及此後每3週或21天投予。在一些具體實例中，繼續投予阿特珠單抗直至個體出現疾病進展。

【0225】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗，且在誘導期內及在誘導期之後的維持期內以數個21天週期向個體投予阿特珠單抗；其中，在誘導期內，在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予阿特珠單抗；且其中，在誘導期之後的維持期內，在第13週期之第1天，及此後每3週或21天投予阿特珠單抗。在一些具體實例中，維持期持續至個體出現疾病進展。

【0226】 在一些具體實例中，根據固態腫瘤反應評估標準1.1版（RECIST v1.1）來評估疾病進展。

對投藥之反應

【0227】 在本文提供之在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法、在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法及/或治療方法(參見例如下文第VII部分)之一些具體實例中，投予RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。在某些具體實例中，投予

RNA疫苗在個體中產生完全反應（CR）。在一些具體實例中，投予RNA疫苗在個體中產生部分反應（PR）。在某些具體實例中，根據固態腫瘤反應評估標準1.1版（RECIST v1.1）或經免疫修改之RECIST來評估完全或部分反應。在某些具體實例中，自基線至最後一劑RNA疫苗、另一全身性抗癌療法開始、疾病進展或死亡來評估完全或部分反應。

【0228】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約4%（例如至少約4%、至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、或更多中之任一者）個體具有完全反應或部分反應。

【0229】 在某些具體實例中，完全反應或部分反應持續約6個月或更久（例如約6個月、約7個月或更久、約8個月或更久、約9個月或更久、約10個月或更久、約11個月或更久、約12個月或更久、約14個月或更久、約15個月或更久、約20個月或更久、約24個月或更久、約30個月或更久、約36個月或更久、約42個月或更久、約48個月或更久、約54個月或更久、或約60個月或更久中之任一者）。在某些具體實例中，完全反應持續約10個月或更久。

【0230】 在一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約20%（例如至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%中之任一者）個體具有穩定疾病。在某些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約42%個體具有穩定疾病。在某些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約49%個體具有穩定疾病。

【0231】 在一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使

得至少60%（例如至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%中之任一者）之個體具有RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+ T細胞反應（例如其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品含有至少約1%（例如約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、約15%、約16%、約17%、約18%、約19%、約20%、或更大中之任一者）對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之CD8+ T細胞；或其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性）。在一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得至少60%（例如至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%中之任一者）之個體具有RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+ T細胞反應（例如其中在投予RNA疫苗之後獲自個體之周邊血液樣品含有約1%至約6%對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性之CD8+ T細胞；或其中在投予RNA疫苗之後運輸至腫瘤之新抗原決定基特異性CD8+ T細胞

對由RNA疫苗之一個或多個多核苷酸編碼之新抗原決定基中之至少一者具有特異性）。在一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約77%個體具有RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+ T細胞反應。在一些具體實例中，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得該複數個個體中之至少約87%個體具有RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+ T細胞反應。可使用此項技術中已知之任何方法，例如使用ELISPOT分析、T細胞受體定序或MHC多聚體分析來分析RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+ T細胞反應。

【0232】 在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約70%個體（例如複數個個體中之至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%個體中之任一者）之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約73%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗使得在複數個個體中之至少約86%個體之周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞。可使用此項技術中已知之任何方法，例如使用ELISPOT分析、T細胞受體定序或MHC多聚體分析來分析RNA疫苗誘導之新抗原特異性CD8+及/或CD4+ T細胞反應。在一些具體實例中，藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估周邊血液中新抗原決定基特異性CD4+及/或CD8+ T細胞之誘導。

【0233】 在某些具體實例中，投予RNA疫苗使得隨著投予之各劑RNA疫

苗而釋放促炎性細胞介素。

【0234】 在一些具體實例中，相比於未投予RNA疫苗之複數個患有腫瘤之個體，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得無進展存活期（PFS）增加（例如平均或中值PFS增加）。在某些具體實例中，以天、週、月或年來量測PFS。在某些具體實例中，根據RECIST v1.1來確定PFS。在某些具體實例中，相比於未投予RNA疫苗之複數個患有腫瘤之個體，向複數個患有腫瘤之個體投予RNA疫苗使得總存活期增加（例如平均或中值OS增加）。在某些具體實例中，以天、週、月或年來量測總存活期。在某些具體實例中，總存活期係指在投予RNA疫苗之後的規定時間，例如數天、數週、數月或數年存活之個體之百分比。

【0235】 在一些具體實例中，相比於包含在不存在RNA疫苗之情況下投予PD-1軸結合拮抗劑之治療，該治療延長個體之無進展存活期（PFS）及/或總存活期（OS）。在一些具體實例中，相比於包含在不存在RNA疫苗之情況下投予PD-1軸結合拮抗劑之治療，該治療改善總反應率（ORR）。在一些具體實例中，ORR係指具有完全反應（CR）或部分反應（PR）之患者的比例。在一些具體實例中，相比於包含在不存在RNA疫苗之情況下投予PD-1軸結合拮抗劑之治療，該治療延長個體之反應持續時間（DOR）。在一些具體實例中，相比於包含在不存在RNA疫苗之情況下投予PD-1軸結合拮抗劑之治療，該治療改善個體之健康相關生活品質（HRQoL）得分。

【0236】 在一些具體實例中，根據本文所提供之方法向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約2%個體中（例如在複數個個體中之至少約2%、至少約3%、至少約4%、至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、

至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為泌尿上皮腫瘤（例如先前未用查核點抑制劑治療），且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中（例如在複數個個體中之至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為腎腫瘤（例如先前未用查核點抑制劑治療），且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約22%個體中（例如在複數個個體中之至少約22%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為黑色素瘤（例如先前未用查核點抑制劑治療），且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約30%個體中（例如在複數個個體中之至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為TNBC腫瘤（例如先前未用查核點抑制劑治療），且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約4%個體中（例如在複數個個體中之至少約4%、至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產

生客觀反應。在一些具體實例中，腫瘤為NSCLC（例如先前未用查核點抑制劑治療），且向複數個個體投予RNA疫苗在複數個個體中之至少約10%個體中（例如在複數個個體中之至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%、或100%個體中之任一者中）產生客觀反應。客觀反應係指根據固態腫瘤反應評估標準（RECIST）v1.1評價標準，個體中完全反應或部分反應之發生率，參見例如Eisenhauer等人(2009) Eur J Cancer, 45:228-47。

患有腫瘤之個體

【0237】 在本文所提供之方法之某些具體實例中，個體為人。

【0238】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，個體患有局部晚期、復發性或轉移性不可治癒惡性腫瘤。在一些具體實例中，個體患有局部晚期或轉移性固態腫瘤或具有一次或多次轉移性復發。在某些具體實例中，腫瘤或惡性腫瘤在至少一種標準療法之後、在投予RNA疫苗之前有進展。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，已證實標準療法對於個體無效、不耐受或不適當。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體具有0或1之東部腫瘤協作組（ECOG）體能狀態。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體根據RECIST v1.1具有可量測疾病。

【0239】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，腫瘤為非小細胞肺（NSCLC）、膀胱、腎、頭頸部、肉瘤、乳房、黑色素瘤、前列腺、卵巢、胃、肝或結直腸腫瘤。在一些具體實例中，腫瘤為乳房腫瘤，且乳房腫瘤為三陰性乳房（TNBC）腫瘤。在本文所提供之方法之一些具體實例中，腫瘤為非小細胞肺

（NSCLC）、膀胱、腎、頭頸部、肉瘤、乳房、黑色素瘤、前列腺、卵巢、胃、肝臟、泌尿上皮、結腸、腎、子宮頸、梅克爾細胞（MCC）、子宮內膜、軟組織肉瘤、食道、食道胃交界部、骨肉瘤、甲狀腺或結直腸腫瘤。

【0240】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用一種或多種癌症療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用一種或多種癌症療法或3種至5種癌症療法進行治療。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用約1種至約20種之間（例如約1種、約2種、約3種、約4種、約5種、約6種、約7種、約8種、約9種、約10種、約11種、約12種、約13種、約14種、約15種、約16種、約17種、約18種、約19種、約20種、或更多種）的癌症療法進行治療。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用至少1種癌症療法進行治療。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用約3種癌症療法進行治療。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用約5種癌症療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用3種至5種癌症療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用約1種至約17種（例如約1種、約2種、約3種、約4種、約5種、約6種、約7種、約8種、約9種、約10種、約11種、約12種、約13種、約14種、約15種、約16種、或約17種中之任一者），或約1種至約9種之間（例如約1種、約2種、約3種、約4種、約5種、約6種、約7種、約8種、或約9種中之任一者）的先前全身性癌症療法進行治療。全身性癌症療法之實例包括但不限於化學療法、激素療法、放射療法、靶向療法、免疫療法或其他治療，例如如Palumbo等人(2013) Front Pharmacol, 4:57中所述。

【0241】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用免疫療法進行治療。在本文所提供之方法之一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用查核點抑制劑療法（例如抗PD-L1療法、抗PD-1療法、

抗CTLA4療法、或其任何組合）進行治療。在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體尚未用查核點抑制劑療法（例如抗PD-L1療法、抗PD-1療法、抗CTLA4療法、或其任何組合）進行治療。

【0242】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，腫瘤為NSCLC，且在投予RNA疫苗之前，個體尚未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為NSCLC，且在投予RNA疫苗之前，個體已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。

【0243】 在某些具體實例中，腫瘤為TNBC腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為TNBC腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。如本文所用，TNBC腫瘤係指雌激素受體（ER）陰性、孕酮受體陰性及人類表皮生長因子受體2（HER2）陰性乳房腺癌。

【0244】 在某些具體實例中，腫瘤為結直腸癌腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為結直腸癌腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。

【0245】 在某些具體實例中，腫瘤為頭頸部鱗狀細胞癌，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用抗PDL1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為頭頸部鱗狀細胞癌，且在投予RNA疫苗之前，個體先前已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。

【0246】 在某些具體實例中，腫瘤為泌尿上皮癌腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為泌尿上皮癌腫瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體

先前已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。

【0247】 在某些具體實例中，腫瘤為腎細胞癌，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為腎細胞癌，且在投予RNA疫苗之前，個體先前已用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法進行治療。

【0248】 在某些具體實例中，腫瘤為黑色素瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前尚未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。在某些具體實例中，腫瘤為黑色素瘤，且在投予RNA疫苗之前，個體先前已用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法進行治療。

【0249】 在某些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，已向個體投予免疫調節劑，諸如鐸樣受體（TLR）促效劑、吲哚胺2,3-二加氧酶（IDO）/色胺酸-2,3-二加氧酶（TDO）抑制劑或OX40促效劑。

【0250】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，個體不患有臨床上顯著之肝病。在某些具體實例中，個體在投予RNA疫苗之前尚未進行脾切除術。在某些具體實例中，個體不具有原發免疫缺乏細胞，無論是細胞性（例如迪喬治氏症候群（DiGeorge syndrome）、T陰性嚴重聯合免疫缺乏（SCID））還是聯合T及B細胞免疫缺乏（例如T及B陰性SCID、韋-奧二氏症候群（Wiskott Aldrich syndrome）、共濟失調毛細血管擴張症、常見變異型免疫缺失症）。在某些具體實例中，個體不具有原發性中樞神經系統（CNS）惡性腫瘤、未治療之CNS癌轉移或活動性CNS癌轉移。在某些具體實例中，個體不具有軟腦膜疾病。在某些具體實例中，個體不具有自體免疫疾病。在某些具體實例中，個體在篩選胸部電腦斷層攝影術（CT）掃描時不具有特發性肺纖維化、肺炎、組織化肺炎或活動性肺炎之跡象；人類免疫缺乏病毒感染；活動性B型或C型肝炎；活動性或潛伏性肺結核感染；或嚴重感染。在某些具體實例中，個體尚未進行同種異體骨髓移植或

實體器官移植。

III. RNA疫苗

【0251】 本發明之某些態樣係關於個人化癌症疫苗（PCV）。在一些具體實例中，PCV為RNA疫苗。例示性RNA疫苗之特徵描述於下文。在一些具體實例中，本發明提供一種RNA多核苷酸，其包含下文描述之RNA疫苗之特徵/序列中之一者或多者。在一些具體實例中，RNA多核苷酸為單股mRNA多核苷酸。在其他具體實例中，本發明提供一種DNA多核苷酸，其編碼包含下文描述之RNA疫苗之特徵/序列中之一者或多者的RNA。

【0252】 個人化癌症疫苗包含鑑別為具有潛在免疫刺激活性之個別化新抗原（亦即特異性表現於患者之癌症中之腫瘤相關抗原（TAA））。在本文所描述之具體實例中，PCV為核酸，例如信使RNA。因此，不希望受理論束縛，咸信在投予後，個人化癌症疫苗（例如本發明之RNA疫苗）藉由抗原呈現細胞（APC）吸收及轉譯，且所表現之蛋白質經由APC之表面上的主要組織相容性複合體（MHC）分子呈現。此引起針對表現TAA之癌細胞之細胞毒性T淋巴細胞（CTL）及記憶T細胞依賴性免疫反應的誘導。

【0253】 PCV（例如RNA疫苗）通常包括多個新抗原之新抗原決定基（「新抗原決定基」），例如2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、28個、29個或30個新抗原決定基或至少2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、28個、29個或30個新抗原決定基，視情況具有個別新抗原決定基之間的連接序列。在一些具體實例中，如本文所用之新抗原決定基係指對患者之癌症具有

特異性但未發現於患者之正常細胞中的新穎抗原決定基。在一些具體實例中，新抗原決定基在結合至MHC時呈現至T細胞。在一些具體實例中，PCV亦包括5' mRNA帽類似物、5' UTR、信號序列、有助於抗原表現之域、3' UTR、及/或polyA尾。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼10-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼至少5個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼5-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼5-10個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。

【0254】 在一些具體實例中，本發明之RNA疫苗的製造為多步驟過程，從而藉由次世代定序（NGS）鑑別患者之腫瘤中之體細胞突變且預測免疫原性新抗原抗原決定基（或「新抗原決定基」）。靶向所選擇之新抗原決定基的RNA癌症疫苗係在每名患者（per-patient）基礎上製造。在一些具體實例中，疫苗為由至多兩個信使RNA分子組成的基於RNA之癌症疫苗，該等信使RNA分子各自編碼至多10個新抗原決定基（總計至多20個新抗原決定基），其對患者之腫瘤具有特異性。

【0255】 在一些具體實例中，藉由腫瘤DNA及周邊血液單核細胞（PBMC）DNA（作為來自患者之健康組織的來源）之全外顯子組定序（WES）以及腫瘤RNA定序（以評估表現）來鑑別所表現之非同義突變。自突變蛋白之所得清單，使用生物資訊學工作流程預測潛在新抗原，該工作流程基於多種因素（包括預測之抗原決定基與個別主要組織相容性複合體（MHC）分子之結合親和力及相關RNA之表現量）對其可能的免疫原性進行排序。突變發現、優先排序及確認過程

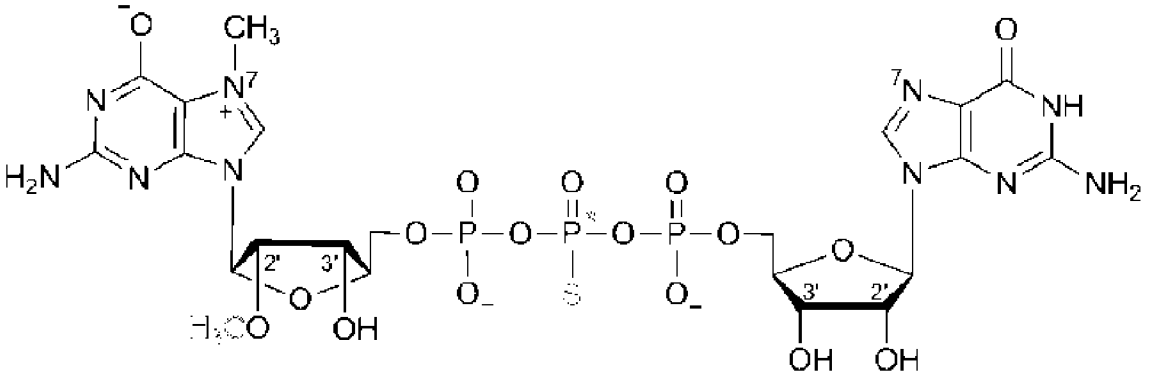
由提供關於健康組織中各別野生型基因之表現量之全面資訊的資料庫補充。此資訊使得能夠藉由移除具有不利風險概況之目標候選物而開發個人化風險緩解策略。濾出在重要器官中具有可能的較高自體-免疫性風險之蛋白質中出現的突變且不考慮用於疫苗生產。在一些具體實例中，選擇至多20個預測針對個別患者分別誘發CD8+ T細胞及/或$CD4^+$ T細胞反應之MHCI及MHCII新抗原決定基以包括至疫苗中。針對多個新抗原決定基之疫苗接種預期增加針對PCV之總體免疫反應的寬度及量值且可幫助降低免疫逃逸之風險，該免疫逃逸可在腫瘤暴露於有效免疫反應之選擇性壓力時出現（Tran E, Robbins PF, Lu YC等人*N Engl J Med* 2016;375:2255-62；Verdegaal EM, de Miranda NF, Visser M等人*Nature* 2016;536:91-5）。

【0256】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列。舉例而言，胺基酸連接子可用於2個腫瘤特異性新抗原決定基序列之間、腫瘤特異性新抗原決定基序列與融合蛋白標籤之間（例如包含衍生自MHC複合多肽之序列）或分泌信號肽與腫瘤特異性新抗原決定基序列之間。在一些具體實例中，RNA疫苗編碼多個連接子。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼5-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且編碼各抗原決定基之多核苷酸由編碼連接序列之多核苷酸分開。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼5-10個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且編碼各抗原決定基之多核苷酸由編碼連接序列之多核苷酸分開。在一些具體實例中，編碼連接序列之多核苷酸亦存在於編碼N端融合標籤（例如分泌信號肽）之多核苷酸與編碼新抗原決定基中之一者之多核苷酸之間，及/或編碼新抗原決定基中之一者之多核苷酸與編碼C端融合標籤（例如包含MHC多肽之一部分）之多核苷酸之間。在一些具體實例中，由RNA疫苗編

碼之兩個或更多個連接子包含不同序列。在一些具體實例中，RNA疫苗編碼全部共用相同胺基酸序列之多個連接子。

【0257】 多種連接序列為此項技術中已知的。在一些具體實例中，連接子為可撓性連接子。在一些具體實例中，連接子包含G、S、A及/或T殘基。在一些具體實例中，連接子由甘胺酸及絲胺酸殘基組成。在一些具體實例中，連接子之長度為約5個至約20個胺基酸之間或約5個至約12個胺基酸之間，例如長度為約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約11個、約12個、約13個、約14個、約15個、約16個、約17個、約18個、約19個、或約20個胺基酸。在一些具體實例中，連接子包含序列GGSGGGGSGG（SEQ ID NO:39）。在一些具體實例中，RNA疫苗之連接子包含序列GGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCCGGAGGC（SEQ ID NO:37）。在一些具體實例中，RNA疫苗之連接子由包含序列GGCGGCTCTGGAGGAGGCGGCTCCGGAGGC（SEQ ID NO:38）之DNA編碼。

【0258】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含5'帽。已知基本mRNA帽結構含有在2個核苷（例如兩個鳥嘌呤）之間的5'-5'三磷酸鍵與在遠端鳥嘌呤上之7-甲基，亦即m^7GpppG。例示性帽結構可見於例如美國專利第8,153,773號及第9,295,717號以及Kuhn, A.N.等人(2010) *Gene Ther*. 17:961-971中。在一些具體實例中，5'帽具有結構m27,2'-OGpp_spG。在一些具體實例中，5'帽為β-S-ARCA帽。S-ARCA帽結構包括2'-O甲基取代（例如在m^7G之C2'位置處）及磷酸基團中之一者或多者處之S取代。在一些具體實例中，5'帽包含以下結構：



【0259】 在一些具體實例中，5'帽為β-S-ARCA之D1非鏡像異構物（參見例如美國專利第9,295,717號）。以上結構中之*表示立體源P中心，其可存在於兩種非鏡像異構物（稱為D1及D2）中。β-S-ARCA之D1非鏡像異構物或β-S-ARCA(D1)為β-S-ARCA之非鏡像異構物，其相比於β-S-ARCA之D2非鏡像異構物（β-S-ARCA(D2)）首先在HPLC管柱上溶離且因此展現較短滯留時間。HPLC較佳為分析型HPLC。在一個具體實例中，較佳具有5 μm，4.6×250 mm格式之Supelcosil LC-18-T RP管柱係用於分離，由此可施加1.3 ml/min之流動速率。在一個具體實例中，使用甲醇/乙酸銨之梯度，例如甲醇/0.05 M乙酸銨，pH值=5.9，在15 min內之0-25%線性梯度。UV偵測（VWD）可在260 nm處執行且螢光偵測（FLD）可在280 nm處之激發及337 nm處之偵測下執行。

【0260】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含5' UTR。發現處於mRNA中之蛋白質編碼序列之5'的某些未轉譯序列已顯示可提高轉譯效率。參見例如Kozak, M. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:947-950。在一些具體實例中，5' UTR包含來自人類α血球蛋白mRNA之序列。在一些具體實例中，RNA疫苗包含UUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:23）之5' UTR序列。在一些具體實例中，RNA疫苗之5' UTR序列由包含序列TTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:24）之DNA編碼。在一些具體實例中，RNA疫苗之5' UTR序列包含序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:21）。在一些具體實例中，RNA疫苗之5' UTR序列由包含序列GGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:22）之DNA編碼。

【0261】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，例示性RNA疫苗之恆定區包含SEQ ID NO:42之核糖核苷酸序列（5'->3'）。前兩個G殘基之間的鍵為非

通常鍵（5'→5'）-pp$_S$p-，例如如針對5'封端結構在**表1**及**圖3**中所示。「N」係指編碼一個或多個（例如1-20個）新抗原決定基（由視情況存在之連接子分開）之多核苷酸序列的位置。腫瘤特異性序列之插入位點（C131-A132；以粗體文字標記）以粗體文字描繪。關於例示性RNA序列中之經修飾鹼基及非通常連接，參見**表1**。

表1

類型	**位置**	**描述**
經修飾之鹼基	G1	$m^{2\,7\text{-}2'\text{-}O}$ G
非通常連接	G1-G2	（5'→5'）-pp$_S$p-
非通常連接	C131-A132	腫瘤特異性序列之插入位點

【0262】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含編碼分泌信號肽之多核苷酸序列。如此項技術中已知，分泌信號肽為引導多肽自內質網運輸且在轉譯後運輸至分泌路徑中之胺基酸序列。在一些具體實例中，信號肽衍生自人類多肽，諸如MHC多肽。參見例如Kreiter, S.等人(2008) *J. Immunol.* 180:309-318，其描述改善人類樹突狀細胞中之MHC I類及II類抗原決定基之加工及呈現的例示性分泌信號肽。在一些具體實例中，在轉譯後，信號肽處於由RNA疫苗編碼之一個或多個新抗原決定基序列之N端。在一些具體實例中，分泌信號肽包含序列MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS（SEQ ID NO:27）。在一些具體實例中，RNA疫苗之分泌信號肽包含序列AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:25）。在一些具體實例中，RNA疫苗之分泌信號肽由包含序列ATGAGAGTGATGGCCCCCAGAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCCTGACAGAGACATGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:26）之DNA編碼。

【0263】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含編碼跨膜域及/或細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列。在一些具體實例中，跨膜域及/或細胞質域來自

MHC分子之跨膜域/細胞質域。術語「主要組織相容性複合體」及縮寫「MHC」係指存在於所有脊椎動物中之基因複合體。MHC蛋白質或分子在正常免疫反應中在淋巴細胞與抗原呈現細胞之間的傳信中之功能涉及其結合肽且呈現其用於藉由T細胞受體（TCR）之可能識別。MHC分子在細胞內加工區室中結合肽，且將抗原呈現細胞之表面上的此等肽呈現至T細胞。人類MHC區域（亦稱為HLA）位於染色體6上且包含I類區域及II類區域。I類α鏈為具有約44 kDa之分子量的醣蛋白。多肽鏈具有略微大於350個胺基酸殘基之長度。其可分成三個功能區：外部區、跨膜區及細胞質區。外部區之長度為283個胺基酸殘基且分成三個域：α1、α2及α3。域及區通常由I類基因之分開的外顯子編碼。跨膜區跨越質膜之脂質雙層。其由以α螺旋排列之23個通常疏水性胺基酸殘基組成。細胞質區，亦即面向細胞質且連接至跨膜區之部分，通常具有32個胺基酸殘基之長度且能夠與細胞骨架之元件相互作用。α鏈與β2-微球蛋白相互作用且因此在細胞表面上形成α-β2二聚體。術語「MHC II類」或「II類」係指主要組織相容性複合體II類蛋白質或基因。在人類MHC II類區域內，存在II類α鏈及β鏈基因之DP、DQ及DR子區域（亦即DPα、DPβ、DQα、DQβ、DRα及DRβ）。II類分子為各由α鏈及β鏈組成之雜二聚體。兩條鏈均為具有31-34 kDa（a）或26-29 kDA（β）之分子量的糖蛋白。α鏈之總長度在229個至233個胺基酸殘基範圍內變化，且β鏈之總長度在225個至238個殘基範圍內變化。α鏈及β鏈均由外部區、連接肽、跨膜區及胞質尾區組成。外部區由兩個域組成：α1及α2或β1及β2。連接肽在α鏈及β鏈中分別為β及9個殘基長。其將兩個域連接至跨膜區，該跨膜區由α鏈及β鏈中之23個胺基酸殘基組成。細胞質區（亦即面向細胞質且連接至跨膜區之部分）之長度在α鏈中3個至16個殘基範圍內變化，且在β鏈中在8個至20個殘基之間變化。例示性跨膜域/細胞質域序列描述於美國專利第8,178,653號及第8,637,006號中。在一些具體實例中，在轉譯後，跨膜域及/或細胞質域處於由RNA疫苗編碼之一個或多個新抗原決定

基序列之C端。在一些具體實例中，由RNA疫苗編碼之MHC分子之跨膜域及/或細胞質域包含序列IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTA（SEQ ID NO:30）。在一些具體實例中，MHC分子之跨膜域及/或細胞質域包含序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCC（SEQ ID NO:28）。在一些具體實例中，由DNA編碼之MHC分子之跨膜域及/或細胞質域包含序列ATCGTGGGAATTGTGGCAGGACTGGCAGTGCTGGCCGTGGTGGTGATCGGAGCCGTGGTGGCTACCGTGATGTGCAGACGGAAGTCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCTACAGCCAGGCCGCCAGCTCTGATAGCGCCCAGGGCAGCGACGTGTCACTGACAGCC（SEQ ID NO:29）。

【0264】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含編碼在一個或多個新抗原決定基序列之N端之分泌信號肽的多核苷酸序列，及編碼在一個或多個新抗原決定基序列之C端之跨膜域及/或細胞質域的多核苷酸序列。已顯示組合此類序列可改善MHC I類及II類抗原決定基在人類樹突狀細胞中之加工及呈現。參見例如Kreiter, S.等人(2008) *J. Immunol.* 180:309-318。

【0265】 在骨髓DC中，RNA釋放至胞溶質中且轉譯成多-新抗原決定基肽。多肽含有額外序列以增強抗原呈現。在一些具體實例中，來自多肽N-端之MHCI重鏈的信號序列（sec）用於將初生分子靶向至內質網，其已顯示可增強MHCI呈現效率。不希望受理論所束縛，咸信MHCI重鏈之跨膜域及細胞質域將多肽引導至顯示可改善MHCII呈現之內體/溶酶體區室。

【0266】 在一些具體實例中，RNA疫苗包含3' UTR。發現處於mRNA中之蛋白質編碼序列之3'的某些未轉譯序列已顯示可改善RNA穩定性、轉譯及蛋白質表現。適用作3' UTR之多核苷酸序列描述於例如PG公開案第US20190071682號中。在一些具體實例中，3' UTR包含AES之3'非轉譯區或其片段及/或粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA。術語「AES」係指胺基端斷裂強化子且包括AES基因（參見例如NCBI基因ID：166）。由此基因編碼之蛋白質屬於蛋白質之groucho/TLE家族，可充當同源寡聚物或與其他家族成員之異源寡聚物，以主要地抑制其他家族成員基因之表現。例示性AES mRNA序列係以NCBI Ref. Seq.存取編號NM_198969提供。術語「MT_RNR1」係指粒線體編碼之12S RNA且包括MT_RNR1基因（參見例如NCBI基因ID：4549）。此RNA基因屬於Mt_rRNA類別。與MT-RNR1相關之疾病包括限制性心肌病及聽神經病。在其相關路徑中的為真核生物中之核糖體生物發生及CFTR轉譯保真度（I類突變）。例示性MT_RNR1 RNA序列呈現於NCBI Ref. Seq.存取編號NC_012920之序列內。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR包含序列CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC（SEQ ID NO:33）。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR包含序列CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:35）。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR包含序列CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCAC

CUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC（SEQ ID NO:33）及序列 CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCA CGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUA AGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG （SEQ ID NO:35）。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR包含序列 CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCC UGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACC UCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGC ACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGA AACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUA UACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUG GUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:31）。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR由包含序列 CTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACC CCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCC CCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCC（SEQ ID NO:34）之DNA編碼。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR由包含序列 CAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCAC GGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGC TATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:36）之DNA編碼。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR由包含序列 CTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACC CCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCC

CCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCC（SEQ ID NO:34）及序列CAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:36）之DNA編碼。在一些具體實例中，RNA疫苗之3' UTR由包含序列CTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCCGCGTCGCT（SEQ ID NO:32）之DNA編碼。

【0267】 在一些具體實例中，RNA疫苗在其3'端處包含多(A)尾。在一些具體實例中，多(A)尾包含大於50個或大於100個腺嘌呤核苷酸。舉例而言，在一些具體實例中，多(A)尾包含120個腺嘌呤核苷酸。已表明此多(A)尾增強RNA穩定性及轉譯效率（Holtkamp, S.等人(2006) *Blood* 108:4009-4017）。在一些具體實例中，藉由轉錄DNA分子來產生包含多(A)尾之RNA，該DNA分子沿5'→3'轉譯方向包含編碼至少50個、100個或120個腺嘌呤連續核苷酸之多核苷酸序列及針對IIS型限制性核酸內切酶之識別序列。改善轉譯之例示性多(A)尾及3' UTR序列見於例如美國專利第9,476,055號中。

【0268】 在一些具體實例中，本發明之RNA疫苗或分子包含以下通式結構（沿5'→3'方向）：(1) 5'帽；(2) 5'非轉譯區（UTR）；(3)編碼分泌信號肽之多核苷酸序列；(4)編碼主要組織相容性複合體（MHC）分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列；(5) 3' UTR，其包含：(a)胺基端斷裂強化子（AES）

mRNA之3'非轉譯區或其片段；及(b)粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA或其片段；及(6)多(A)序列。在一些具體實例中，本發明之RNA疫苗或分子沿5'→3'方向包含：多核苷酸序列

GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCC
ACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGC
GCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:19）；及多核苷酸序列

AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUC
GGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGC
AAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGC
AGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCA
CGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCC
GACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCAC
CUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAA
CGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUU
AGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUC
AAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCG
UCGCU（SEQ ID NO:20）。有利地，包含此結構或序列組合及定向之RNA疫苗由以下中之一者或多者表徵：改善之RNA穩定性、增強之轉譯效率、改善之抗原呈現及/或加工（例如藉由DC）及增加之蛋白質表現。

【0269】 在一些具體實例中，本發明之RNA疫苗或分子包含SEQ ID NO:42之序列（沿5'→3'方向）。參見例如圖2。在一些具體實例中，N係指編碼至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、

至少17個、至少18個、至少19個、至少20個、至少21個、至少22個、至少23個、至少24個、至少25個、至少26個、至少27個、至少28個、至少29個、或30個不同新抗原決定基之多核苷酸序列。在一些具體實例中，N係指編碼一個或多個連接子-抗原決定基模組（例如至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、至少20個、至少21個、至少22個、至少23個、至少24個、至少25個、至少26個、至少27個、至少28個、至少29個、或30個不同連接子-抗原決定基模組）之多核苷酸序列。在一些具體實例中，N係指編碼一個或多個連接子-抗原決定基模組（例如至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、至少20個、至少21個、至少22個、至少23個、至少24個、至少25個、至少26個、至少27個、至少28個、至少29個、或30個不同連接子-抗原決定基模組）及3'端處之額外胺基酸連接子的多核苷酸序列。

【0270】 在一些具體實例中，RNA疫苗或分子進一步包含編碼至少一個新抗原決定基之多核苷酸序列；其中編碼至少一個新抗原決定基之多核苷酸序列在以下各者之間：編碼分泌信號肽之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列，沿5'→3'方向。在一些具體實例中，RNA分子包含編碼至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、或20個不同新抗原決定基之多核苷酸序列。

【0271】 在一些具體實例中，RNA疫苗或分子沿5'→3'方向進一步包含：編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列；及編碼新抗原決定基之多核苷酸序列。在一

些具體實例中，編碼胺基酸連接子及新抗原決定基之多核苷酸序列形成連接子-新抗原決定基模組（例如在相同開放讀框中沿5'→3'方向之連續序列）。在一些具體實例中，形成連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在編碼分泌信號肽之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列之間，或在SEQ ID NO:19及SEQ ID NO:20之序列之間，沿5'→3'方向。在一些具體實例中，RNA疫苗或分子包含2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、28個、29個或30個連接子-抗原決定基模組。在一些具體實例中，連接子-抗原決定基模組中之每一者編碼不同的新抗原決定基。在一些具體實例中，RNA疫苗或分子包含2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個連接子-抗原決定基模組，且RNA疫苗或分子包含編碼至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、或20個不同新抗原決定基之多核苷酸。在一些具體實例中，RNA疫苗或分子包含5個、10個、或20個連接子-抗原決定基模組。在一些具體實例中，連接子-抗原決定基模組中之每一者編碼不同的新抗原決定基。在一些具體實例中，連接子-抗原決定基模組在相同開放讀框中沿5'→3'方向形成連續序列。在一些具體實例中，編碼第一連接子-抗原決定基模組之連接子的多核苷酸序列在編碼分泌信號肽之多核苷酸序列的3'。在一些具體實例中，編碼最後一個連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基的多核苷酸序列在編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列的5'。

【0272】 在一些具體實例中，RNA疫苗之長度為至少800個核苷酸、至少1000個核苷酸或至少1200個核苷酸。在一些具體實例中，RNA疫苗之長度為小

於2000個核苷酸。在一些具體實例中，RNA疫苗之長度為至少800個核苷酸但小於2000個核苷酸，長度為至少1000個核苷酸但小於2000個核苷酸，長度為至少1200個核苷酸但小於2000個核苷酸，長度為至少1400個核苷酸但小於2000個核苷酸，長度為至少800個核苷酸但小於1400個核苷酸，或長度為至少800個核苷酸但小於2000個核苷酸。舉例而言，包含上文所述之元件之RNA疫苗之恆定區的長度為大約800個核苷酸。在一些具體實例中，包含5個腫瘤特異性新抗原決定基（例如各編碼27個胺基酸）之RNA疫苗的長度為大於1300個核苷酸。在一些具體實例中，包含10個腫瘤特異性新抗原決定基（例如各編碼27個胺基酸）之RNA疫苗的長度為大於1800個核苷酸。

【0273】 在一些具體實例中，RNA疫苗係在脂複合體奈米粒子或脂質體中調配。在一些具體實例中，RNA之脂複合體奈米粒子調配物（RNA-脂複合體）用於使得能夠靜脈內遞送本發明之RNA疫苗。在一些具體實例中，使用包含合成陽離子脂質(R)-N,N,N-三甲基-2,3-二油醯基氧基-1-氯化丙胺鎓（DOTMA）及磷脂1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（DOPE）的用於RNA癌症疫苗之脂複合體奈米粒子調配物，例如以使得能夠進行IV遞送。DOTMA/DOPE脂質組分已經最佳化以在脾臟及其他淋巴器官中IV遞送及靶向抗原-呈現細胞。

【0274】 在一個具體實例中，奈米粒子包含至少一種脂質。在一個具體實例中，奈米粒子包含至少一種陽離子脂質。陽離子脂質可為單陽離子型或多陽離子型。任何陽離子兩親媒性分子，例如包含至少一個親水性及親脂性部分之分子均為在本發明之含義中的陽離子脂質。在一個具體實例中，正電荷由至少一種陽離子脂質貢獻且負電荷由RNA貢獻。在一個具體實例中，奈米粒子包含至少一種輔助脂質。輔助脂質可為中性或陰離子脂質。輔助脂質可為天然脂質，諸如磷脂或天然脂質類似物，或全合成脂質，或脂質樣分子，與天然脂質無類似性。在一個具體實例中，陽離子脂質及/或輔助脂質為雙層形成脂質。

【0275】 在一個具體實例中，至少一種陽離子脂質包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基銨丙烷（DOTMA）或其類似物或衍生物及/或1,2-二油醯基-3-三甲基銨-丙烷（DOTAP）或其類似物或衍生物。

【0276】 在一個具體實例中，至少一種輔助脂質包含1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（DOPE）或其類似物或衍生物、膽固醇（Chol）或其類似物或衍生物及/或1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷膽鹼（DOPC）或其類似物或衍生物。

【0277】 在一個具體實例中，至少一種陽離子脂質與至少一種輔助脂質之莫耳比為10:0至3:7，較佳9:1至3:7、4:1至1:2、4:1至2:3、7:3至1:1、或2:1至1:1，較佳約1:1。在一個具體實例中，在此比率下，陽離子脂質之莫耳量由陽離子脂質之莫耳量乘以陽離子脂質中正電荷之數目而產生。

【0278】 在一個具體實例中，脂質包含於囊封該RNA之囊泡中。囊泡可為多層囊泡、單層囊泡或其混合物。囊泡可為脂質體。

【0279】 本文所述之奈米粒子或脂質體可由取決於陽離子脂質與RNA之（+/-）電荷比調節正-負電荷及混合RNA與陽離子脂質而形成。可藉由以下方程式計算本文所述之奈米粒子中陽離子脂質與RNA之+/-電荷比。(+/-電荷比)=[(陽離子脂質量（mol）)*(陽離子脂質中正電荷之總數目)]:[(RNA量（mol）)*(RNA中負電荷之總數目)]。RNA量及陽離子脂質量可由熟習此項技術者鑒於製備奈米粒子時之負載量容易地確定。關於例示性奈米粒子之進一步描述，參見例如PG公開案第US20150086612號。

【0280】 在一個具體實例中，奈米粒子或脂質體中之正電荷與負電荷之總電荷比（例如在生理pH值下）為1.4:1至1:8之間，較佳為1.2:1至1:4之間，例如1:1至1:3之間，諸如1:1.2至1:2、1:1.2至1:1.8、1:1.3至1:1.7之間，尤其1:1.4至1:1.6，諸如約1:1.5之間。在一些具體實例中，在生理pH值下，奈米粒子之正電荷與負

電荷之總電荷比為1:1.2（0.83）至1:2（0.5）之間。在一些具體實例中，在生理pH值下，奈米粒子或脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為1.6:2（0.8）至1:2（0.5）之間或1.6:2（0.8）至1.1:2（0.55）之間。在一些具體實例中，在生理pH值下，奈米粒子或脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為1.3:2（0.65）。在一些具體實例中，在生理pH值下，脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為不低於1.0:2.0。在一些具體實例中，在生理pH值下，脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為不高於1.9:2.0。在一些具體實例中，在生理pH值下，脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為不低於1.0:2.0且不高於1.9:2.0。

【0281】 在一個具體實例中，奈米粒子為以10:0至1:9，較佳8:2至3:7，且更佳7:3至5:5之莫耳比包含DOTMA及DOPE之脂質複合體，且其中DOTMA中之正電荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.8:2至0.8:2，更佳為1.6:2至1:2，甚至更佳為1.4:2至1.1:2且甚至更佳為約1.2:2。在一個具體實例中，奈米粒子為以10:0至1:9，較佳8:2至3:7，且更佳7:3至5:5之莫耳比包含DOTMA及膽固醇之脂質複合體，且其中DOTMA中之正電荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.8:2至0.8:2，更佳為1.6:2至1:2，甚至更佳為1.4:2至1.1:2且甚至更佳為約1.2:2。在一個具體實例中，奈米粒子為以10:0至1:9，較佳8:2至3:7，且更佳7:3至5:5之莫耳比包含DOTAP及DOPE之脂質複合體，且其中DOTMA中之正電荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.8:2至0.8:2，更佳為1.6:2至1:2，甚至更佳為1.4:2至1.1:2且甚至更佳為約1.2:2。在一個具體實例中，奈米粒子為以2:1至1:2，較佳2:1至1:1之莫耳比包含DOTMA及DOPE之脂質複合體，且其中DOTMA中之正電荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.4:1或更小。在一個具體實例中，奈米粒子為以2:1至1:2，較佳2:1至1:1之莫耳比包含DOTMA及膽固醇之脂質複合體，且其中DOTMA中之正電荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.4:1或更小。在一個具體實例中，奈米粒子為以2:1至1:2，較佳2:1至1:1之莫耳比包含DOTAP及DOPE之脂質複合體，且其中DOTAP中之正電

荷與RNA中之負電荷之電荷比為1.4:1或更小。

【0282】 在一個具體實例中，奈米粒子或脂質體之ζ電位為-5或更小、-10或更小、-15或更小、-20或更小或-25或更小。在各種具體實例中，奈米粒子或脂質體之ζ電位為-35或更高、-30或更高或-25或更高。在一個具體實例中，奈米粒子或脂質體具有0 mV至-50 mV，較佳0 mV至-40 mV或-10 mV至-30 mV之ζ電位。

【0283】 在一些具體實例中，奈米例子或脂質體之多分散性指數為0.5或更小、0.4或更小、或0.3或更小，如藉由動態光散射所量測。

【0284】 在一些具體實例中，奈米粒子或脂質體之平均直徑在約50 nm至約1000 nm、約100 nm至約800 nm、約200 nm至約600 nm、約250 nm至約700 nm、或約250 nm至約550 nm範圍內，如藉由動態光散射所量測。

【0285】 在一些具體實例中，靜脈內投予PCV，例如在脂質調配物中以15 μg、25 μg、38 μg、50 μg或100 μg之劑量投予。在一些具體實例中，每劑量遞送15 μg、25 μg、38 μg、50 μg或100 μg之RNA（亦即劑量重量反映投予之RNA的重量，而非投予之調配物或脂複合體的總重量）。可向個體投予超過一個PCV，例如向個體投予一個PCV與新抗原決定基之組合，且亦投予不同的PCV與新抗原決定基之不同組合。在一些具體實例中，具有十個新抗原決定基之第一PCV與具有十個替代抗原決定基之第二PCV組合投予。

【0286】 在一些具體實例中，投予PCV以使其遞送至脾臟。舉例而言，可投予PCV以使得一個或多個抗原（例如腫瘤特異性新抗原）遞送至抗原呈現細胞（例如在脾臟中）。

【0287】 本發明之PCV或RNA疫苗中之任一者可用於本文所述之方法。舉例而言，在一些具體實例中，本發明之PD-1軸結合拮抗劑與個人化癌症疫苗（PCV），例如本文所述之RNA疫苗組合投予。

【0288】 本文進一步提供編碼本發明之RNA疫苗中之任一者的DNA分

子。舉例而言，在一些具體實例中，本發明之DNA分子包含以下通式結構（沿5'→3'方向）：(1)編碼5'非轉譯區（UTR）之多核苷酸序列；(2)編碼分泌信號肽之多核苷酸序列；(3)編碼主要組織相容性複合體（MHC）分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列；(4)編碼包含以下者之3' UTR的多核苷酸序列：(a)胺基端斷裂強化子（AES）mRNA之3'非轉譯區或其片段；及(b)粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA或其片段；及(5)編碼多(A)序列之多核苷酸序列。在一些具體實例中，本發明之DNA分子沿5'→3'方向包含：多核苷酸序列GGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACCATGAGAGTGATGGCCCCCAGAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCCTGACAGAGACATGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:40）；及多核苷酸序列ATCGTGGGAATTGTGGCAGGACTGGCAGTGCTGGCCGTGGTGGTGATCGGAGCCGTGGTGGCTACCGTGATGTGCAGACGGAAGTCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCTACAGCCAGGCCGCCAGCTCTGATAGCGCCCAGGGCAGCGACGTGTCACTGACAGCCTAGTAACTCGAGCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGTCGCTAGCCGCGTCGCT（SEQ ID NO:41）。

【0289】 在一些具體實例中，DNA分子沿5'→3'方向進一步包含：編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列；及編碼新抗原決定基之多核苷酸序列。在一些具體實例中，編碼胺基酸連接子及新抗原決定基之多核苷酸序列形成連接子-新抗原決定基模組（例如在相同開放讀框中沿5'→3'方向之連續序列）。在一些具體實例

中，形成連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在編碼分泌信號肽之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列之間，或在SEQ ID NO:40及SEQ ID NO:41之序列之間，沿5'→3'方向。在一些具體實例中，DNA分子包含2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、28個、29個或30個連接子-抗原決定基模組，且連接子-抗原決定基模組中之每一者編碼不同新抗原決定基。在一些具體實例中，DNA分子包含2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個連接子-抗原決定基模組，且DNA分子包含編碼至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少11個、至少12個、至少13個、至少14個、至少15個、至少16個、至少17個、至少18個、至少19個、或20個不同新抗原決定基的多核苷酸。在一些具體實例中，DNA分子包含5個、10個、或20個連接子-抗原決定基模組。在一些具體實例中，連接子-抗原決定基模組中之每一者編碼不同的新抗原決定基。在一些具體實例中，連接子-抗原決定基模組在相同開放讀框中沿5'→3'方向形成連續序列。在一些具體實例中，編碼第一連接子-抗原決定基模組之連接子的多核苷酸序列在編碼分泌信號肽之多核苷酸序列的3'。在一些具體實例中，編碼最後一個連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基的多核苷酸序列在編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列的5'。

【0290】 本文亦提供產生本發明之RNA疫苗中之任一者之方法，其包含轉錄（例如藉由轉錄線性、雙股DNA或質體DNA，諸如藉由試管內轉錄）本發明之DNA分子。在一些具體實例中，方法進一步包含自DNA分子分離及/或純化經轉錄之RNA分子。

【0291】 在一些具體實例中，本發明之RNA或DNA分子包含IIS型限制裂解位點，其允許RNA在5' RNA聚合酶啟動子的控制下經轉錄且其含有多腺嘌呤基卡匣（多(A)序列），其中識別序列位於多(A)序列之3'，而裂解位點位於多(A)序列上游且因此位於其內。在IIS型限制裂解位點處之限制裂解使得質體能夠在多(A)序列內線性化，如美國專利第9,476,055號及第10,106,800號中所述。線性化質體可接著用作活體外轉錄之模板，所得轉錄物終止於未掩蔽多(A)序列中。可使用美國專利第9,476,055號及第10,106,800號中所述之IIS型限制裂解位點中之任一者。

【0292】 在本文所提供之方法之一些具體實例中，RNA疫苗包括一個或多個編碼10-20個（例如10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個或20個中之任一者）新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在某些具體實例中，RNA疫苗係在脂複合體奈米粒子或脂質體中調配。在某些具體實例中，脂複合體奈米粒子或脂質體包括一種或多種形成囊封RNA疫苗之RNA之多層結構的脂質。在某些具體實例中，一種或多種脂質包括至少一種陽離子脂質及至少一種輔助脂質。在某些具體實例中，一種或多種脂質包括(R)-N,N,N-三甲基-2,3-二油醯基氧基-1-氯化丙胺鎓（DOTMA）及1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（DOPE）。在某些具體實例中，於生理pH值下，脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為1.3:2（0.65）。

【0293】 在某些具體實例中，RNA疫苗包括RNA分子，其沿5'→3'方向包括：(1) 5'帽；(2) 5'非轉譯區（UTR）；(3)編碼分泌信號肽之多核苷酸序列；(4)編碼由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生之一個或多個新抗原決定基的多核苷酸序列；(5)編碼主要組織相容性複合體（MHC）分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列；(6) 3' UTR，其包括：(a)胺基端斷裂強化子（AES）mRNA之3'非轉譯區或其片段；及(b)粒線體編碼之12S RNA之非編碼

RNA或其片段；及(7)多(A)序列。

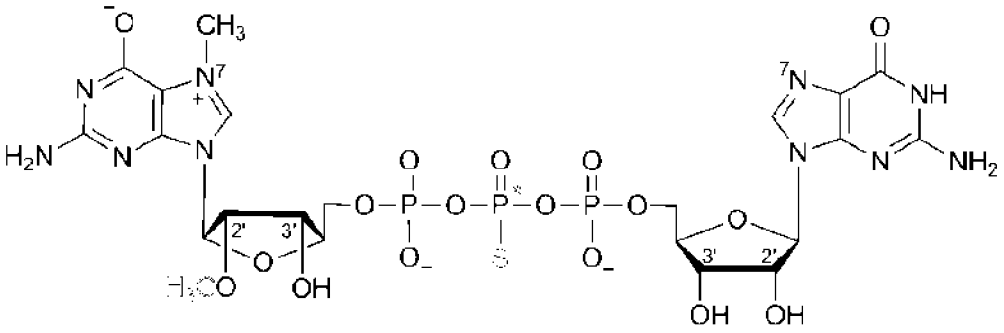
【0294】 在某些具體實例中，RNA分子進一步包括編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列；其中編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列及一個或多個新抗原決定基中之第一新抗原決定基形成第一連接子-新抗原決定基模組；且其中形成第一連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在以下者之間：編碼分泌信號肽之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列，沿5'→3'方向。在某些具體實例中，胺基酸連接子包括序列GGSGGGGSGG（SEQ ID NO:39）。在某些具體實例中，編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列包括序列GGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCCGGAGGC（SEQ ID NO:37）。

【0295】 在某些具體實例中，RNA分子沿5'→3'方向進一步包括：至少第二連接子-抗原決定基模組，其中至少第二連接子-抗原決定基模組包括編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列及編碼新抗原決定基之多核苷酸序列；其中形成第二連接子-新抗原決定基模組之多核苷酸序列在以下者之間：編碼第一連接子-新抗原決定基模組之新抗原決定基之多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列，沿5'→3'方向；且其中第一連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基不同於第二連接子-抗原決定基模組之新抗原決定基。在某些具體實例中，RNA分子包括5個連接子-抗原決定基模組，其中5個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。在某些具體實例中，RNA分子包括10個連接子-抗原決定基模組，其中10個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。在某些具體實例中，RNA分子包括20個連接子-抗原決定基模組，其中20個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。

【0296】 在某些具體實例中，RNA分子進一步包括編碼胺基酸連接子之第二多核苷酸序列，其中編碼胺基酸連接子之第二多核苷酸序列在以下者之間：按3'方向在最遠處的編碼新抗原決定基的多核苷酸序列與編碼MHC分子之跨膜

域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列。

【0297】 在某些具體實例中，5'帽包括以下結構之D1非鏡像異構物：



【0298】 在某些具體實例中，5' UTR包括序列UUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:23）。在某些具體實例中，5' UTR包括序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:21）。

【0299】 在某些具體實例中，分泌信號肽包括胺基酸序列MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS（SEQ ID NO:27）。在某些具體實例中，編碼分泌信號肽之多核苷酸序列包括序列AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:25）。

【0300】 在某些具體實例中，MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分包括胺基酸序列IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTA（SEQ ID NO:30）。在某些具體實例中，編碼MHC分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列包括序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGC

AGCGACGUGUCACUGACAGCC（SEQ ID NO:28）。

【0301】 在某些具體實例中，AES mRNA之3'非轉譯區包括序列CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC（SEQ ID NO:33）。在某些具體實例中，粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA包括序列CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:35）。在某些具體實例中，3' UTR包括序列CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:31）。

【0302】 在某些具體實例中，多(A)序列包括120個腺嘌呤核苷酸。

【0303】 在某些具體實例中，RNA疫苗包括RNA分子，其沿5'→3'方向包括：多核苷酸序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:19）；編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸序列，該一個或多個新抗原決定基由腫瘤標

本中存在之癌症特異性體細胞突變產生；及多核苷酸序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:20）。

IV. PD-1軸結合拮抗劑

【0304】 在一些具體實例中，本發明之PCV（例如RNA疫苗）與PD-1軸結合拮抗劑組合投予。

【0305】 舉例而言，PD-1軸結合拮抗劑包括PD-1結合拮抗劑、PDL1結合拮抗劑及PDL2結合拮抗劑。「PD-1」之替代名稱包括CD279及SLEB2。「PDL1」之替代名稱包括B7-H1、B7-4、CD274及B7-H。「PDL2」之替代名稱包括B7-DC、Btdc及CD273。在一些具體實例中，PD-1、PDL1及PDL2為人類PD-1、PDL1及PDL2。

【0306】 在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抑制PD-1與其配位體結合搭配物之結合的分子。在一特定態樣中，PD-1配位體結合搭配物為PDL1及/或PDL2。在另一具體實例中，PDL1結合拮抗劑為抑制PDL1與其結合搭配物之結

合的分子。在一特定態樣中，PDL1結合搭配物為PD-1及/或B7-1。在另一具體實例中，PDL2結合拮抗劑為抑制PDL2與其結合搭配物之結合的分子。在一特定態樣中，PDL2結合搭配物為PD-1。拮抗劑可為抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白或寡肽。

【0307】 在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體（例如人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體）。

【0308】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為納武單抗（CAS登記號：946414-94-4)。納武單抗(Bristol-Myers Squibb/Ono)，亦稱為MDX-1106-04、MDX-1106、ONO-4538、BMS-936558及OPDIVO®，為WO2006/121168中所描述之抗PD-1抗體。在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：

(a) 重鏈包含以下胺基酸序列：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVI
WY
DGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP
EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSLG（SEQ ID NO:11），且

(b) 輕鏈包含以下胺基酸序列：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR
AT

GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
（SEQ ID NO:12）。

【0309】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含六個來自SEQ ID NO:11及SEQ ID NO:12之HVR序列（例如三個來自SEQ ID NO:11之重鏈HVR及三個來自SEQ ID NO:12之輕鏈HVR）。在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含來自SEQ ID NO:11之重鏈可變域及來自SEQ ID NO:12之輕鏈可變域。

【0310】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為派立珠單抗（CAS登記號：1374853-91-4）。派立珠單抗（Merck），亦稱為MK-3475、Merck 3475、蘭利珠單抗、KEYTRUDA®及SCH-900475，為WO2009/114335中所描述之抗PD-1抗體。在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：

(a)重鏈包含以下胺基酸序列：

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGG
INPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRF
DMGFDYW
GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV
EVHNAKTK
PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK

GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSLG（SEQ ID NO:13）；且

(b)輕鏈包含以下胺基酸序列：

EIVLTQSPAT
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTV
AAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（SEQ
ID NO:14）。

【0311】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含六個來自SEQ ID NO:13及SEQ ID NO:14之HVR序列（例如三個來自SEQ ID NO:13之重鏈HVR及三個來自SEQ ID NO:14之輕鏈HVR）。在一些具體實例中，抗PD-1抗體包含來自SEQ ID NO:13之重鏈可變域及來自SEQ ID NO:14之輕鏈可變域。

【0312】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為MEDI-0680（AMP-514；AstraZeneca）。MEDI-0680為人類化IgG4抗PD-1抗體。

【0313】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為PDR001（CAS登記號1859072-53-9；Novartis）。PDR001為阻斷PDL1及PDL2與PD-1之結合的人類化IgG4抗PD1抗體。

【0314】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為REGN2810（Regeneron）。REGN2810係亦稱為LIBTAYO®及測米匹單抗（cemiplimab-rwlc）之人類抗PD1抗體。

【0315】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為BGB-108（BeiGene）。在一些

具體實例中，抗PD-1抗體為BGB-A317（BeiGene）。

【0316】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為JS-001（Shanghai Junshi）。JS-001為人類化抗PD1抗體。

【0317】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為STI-A1110（Sorrento）。STI-A1110為人類抗PD1抗體。

【0318】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為INCSHR-1210（Incyte）。INCSHR-1210為人類IgG4抗PD1抗體。

【0319】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為PF-06801591（Pfizer）。

【0320】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為TSR-042（亦稱為ANB011；Tesaro/AnaptysBio）。

【0321】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為AM0001（ARMO Biosciences）。

【0322】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為ENUM 244C8（Enumeral Biomedical Holdings）。ENUM 244C8為抑制PD-1功能而不阻斷PDL1與PD-1之結合的抗PD1抗體。

【0323】 在一些具體實例中，抗PD-1抗體為ENUM 388D4（Enumeral Biomedical Holdings）。ENUM 388D4為競爭性抑制PDL1與PD-1之結合的抗PD1抗體。

【0324】 在一些具體實例中，PD-1抗體包含來自以下中所述之PD-1抗體之六個HVR序列（例如三個重鏈HVR及三個輕鏈HVR）及/或重鏈可變域及輕鏈可變域：WO2015/112800（申請人：Regeneron）、WO2015/112805（申請人：Regeneron）、WO2015/112900（申請人：Novartis）、US20150210769（歸屬於Novartis）、WO2016/089873（申請人：Celgene）、WO2015/035606（申請人：Beigene）、WO2015/085847（申請人：Shanghai Hengrui Pharmaceutical/Jiangsu

Hengrui Medicine）、WO2014/206107（申請人：Shanghai Junshi Biosciences/Junmeng Biosciences）、WO2012/145493（申請人：Amplimmune）、US9205148（歸屬於MedImmune）、WO2015/119930（申請人：Pfizer/Merck）、WO2015/119923(申請人:Pfizer/Merck)、WO2016/032927(申請人:Pfizer/Merck)、WO2014/179664（申請人：AnaptysBio）、WO2016/106160（申請人：Enumeral）及WO2014/194302（申請人：Sorrento）。

【0325】 在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑係免疫黏附素（例如包含融合至恆定區（例如免疫球蛋白序列之Fc區）之PDL1或PDL2之細胞外或PD-1結合部分的免疫黏附素）。在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為AMP-224。AMP-224（CAS登記號1422184-00-6；GlaxoSmithKline/MedImmune），亦稱為B7-DCIg，為WO2010/027827及WO2011/066342中所述之PDL2-Fc融合物可溶性受體。

【0326】 在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為肽或小分子化合物。在一些具體實例中，PD-1結合拮抗劑為AUNP-12（PierreFabre/Aurigene）。參見例如WO2012/168944、WO2015/036927、WO2015/044900、WO2015/033303、WO2013/144704、WO2013/132317及WO2011/161699。

【0327】 在一些具體實例中，PDL1結合拮抗劑為抑制PD-1之小分子。在一些具體實例中，PDL1結合拮抗劑為抑制PDL1之小分子。在一些具體實例中，PDL1結合拮抗劑為抑制PDL1及VISTA之小分子。在一些具體實例中，PDL1結合拮抗劑為CA-170（亦稱為AUPM-170）。在一些具體實例中，PDL1結合拮抗劑為抑制PDL1及TIM3之小分子。在一些具體實例中，小分子為WO2015/033301及WO2015/033299中所述之化合物。

【0328】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PDL1抗體。本文涵蓋且描述多種抗PDL1抗體。在本文之具體實例中之任一者中，經分離抗PDL1抗體可結合至人類PDL1，例如如UniProtKB/Swiss-Prot存取編號Q9NZQ7.1所示之

人類PDL1，或其變體。在一些具體實例中，抗PDL1抗體能夠抑制PDL1與PD-1之間及/或PDL1與B7-1之間的結合。在一些具體實例中，抗PDL1抗體為單株抗體。在一些具體實例中，抗PDL1抗體為選自由以下組成之群的抗體片段：Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及$(Fab')_2$片段。在一些具體實例中，抗PDL1抗體為人類化抗體。在一些具體實例中，抗PDL1抗體為人類抗體。適用於本發明之方法之抗PDL1抗體的實例及其製造方法描述於PCT專利申請案WO 2010/077634 A1及美國專利第8,217,149號中，其以引用的方式併入本文中。

【0329】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中：

(a) 重鏈可變區包含分別為GFTFSDSWIH（SEQ ID NO:1）、AWISPYGGSTYYADSVKG（SEQ ID NO:2）及RHWPGGFDY（SEQ ID NO:3）之HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列，且

(b)輕鏈可變區包含分別為RASQDVSTAVA（SEQ ID NO:4）、SASFLYS（SEQ ID NO:5）及QQYLYHPAT（SEQ ID NO:6）之HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3序列。

【0330】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為MPDL3280A，亦稱為阿特珠單抗及TECENTRIQ®（CAS登記號：1422185-06-5），在其中描述了WHO藥物資訊（國際非專有藥物物質名稱），INN申請名：列表112，第28卷，第4期，2015年1月16日出版（參見第485頁）。在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：

(a) 重鏈可變區序列包含以下胺基酸序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO:7），且

(b) 輕鏈可變區序列包含以下胺基酸序列：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK R （SEQ ID NO:8）。

【0331】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：(a) 重鏈包含以下胺基酸序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWIS PYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPG GFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（SEQ ID NO:9），且(b) 輕鏈包含以下胺基酸序列：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC（SEQ ID NO:10）。

【0332】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為阿維魯單抗（CAS登記號：1537032-82-8）。阿維魯單抗，亦稱為MSB0010718C，為人類單株IgG1抗PDL1抗體（Merck KGaA，Pfizer）。在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：

(a) 重鏈包含以下胺基酸序列：EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIY PSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVT TVDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（SEQ ID NO:15），且

(b) 輕鏈包含以下胺基酸序列：QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYD VSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTK VTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPV KAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS（SEQ ID NO:16）。

【0333】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含六個來自SEQ ID NO: 15及SEQ ID NO: 16之HVR序列（例如三個來自SEQ ID NO:15之HVR重鏈及三個來自SEQ ID NO:16之輕鏈HVR）。在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含來自SEQ ID NO:15之重鏈可變域及來自SEQ ID NO:16之輕鏈可變域。

【0334】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為德瓦魯單抗（CAS登記號：1428935-60-7）。德瓦魯單抗，亦稱為MEDI4736，為WO2011/066389及US2013/034559中所描述之Fc最佳化人類單株IgG1 κ抗PDL1抗體（MedImmune，AstraZeneca）。在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含重鏈及輕鏈序列，其中：

(a) 重鏈包含以下胺基酸序列：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG（SEQ ID NO:17），且

(b) 輕鏈包含以下胺基酸序列：EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（SEQ ID NO:18）。

【0335】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含六個來自SEQ ID NO:17及SEQ ID NO:18之HVR序列（例如三個來自SEQ ID NO:17之HVR重鏈及三個來自SEQ ID NO:18之輕鏈HVR）。在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含來自SEQ ID NO:17之重鏈可變域及來自SEQ ID NO:18之輕鏈可變域。

【0336】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為MDX-1105（Bristol Myers Squibb）。MDX-1105，亦稱為BMS-936559，為WO2007/005874中所述之抗PDL1抗體。

【0337】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為LY3300054（Eli Lilly）。

【0338】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為STI-A1014（Sorrento）。STI-A1014為人類抗PDL1抗體。

【0339】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體為KN035（Suzhou Alphamab）。KN035係由駱駝噬菌體呈現庫產生之單域抗體（dAB）。

【0340】 在一些具體實例中，抗PDL1抗體包含可裂解部分或連接子，其在裂解（例如在腫瘤微環境中藉由蛋白酶）時活化抗體抗原結合域以例如藉由移除非結合空間部分而允許其結合其抗原。在一些具體實例中，抗PDL1抗體為CX-072（CytomX Therapeutics）。

【0341】 在一些具體實例中，PDL1抗體包含來自以下所述之PDL1抗體之六個HVR序列（例如三個重鏈HVR及三個輕鏈HVR）及/或重鏈可變域及輕鏈可變域：US20160108123（歸屬於Novartis）、WO2016/000619（申請人：Beigene）、WO2012/145493（申請人：Amplimmune）、US9205148（歸屬於MedImmune）、WO2013/181634（申請人：Sorrento）及WO2016/061142（申請人：Novartis）。

【0342】 在另一特定態樣中，抗體進一步包含人類或鼠類恆定區。在另一態樣中，人類恆定區係選自由以下組成之群：IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4。在另一特定態樣中，人類恆定區為IgG1。在另一態樣中，鼠類恆定區係選自由以下組成之群：IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3。在另一態樣中，鼠類恆定區為IgG2A。

【0343】 在另一特定態樣中，抗體具有降低的或最小效應功能。在另一特定態樣中，最小效應功能由「無效應子Fc突變」或非糖基化突變引起。在另一具體實例中，無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。在一些具體實例中，經分離抗PDL1抗體經去糖基化。抗體之糖基化典型地為N-連接或O-連接的。N-連接係指碳水化合物部分與天冬醯胺殘基之側鏈附接。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸，其中X為除脯胺酸外之任何胺基酸，為用於將碳水化合物部分酶促連接於天冬醯胺側鏈之識別序列。因此，在多肽中此等

三肽序列中之任一者的存在產生潛在糖基化位點。O連接型糖基化係指糖N-乙醯半乳胺糖、半乳糖或木糖中之一者與羥胺基酸，最通常是絲胺酸或蘇胺酸的連接，但亦可使用5-羥脯胺酸或5-羥離胺酸。移除糖基化位點形式抗體宜藉由改變胺基酸序列以使得上文所描述之三肽序列（針對N連接型糖基化位點）中之一者得以移除來實現。可藉由將糖基化位點內之天冬醯胺、絲胺酸或蘇胺酸殘基取代成另一胺基酸殘基（例如甘胺酸、丙胺酸或保守性取代物）來進行改變。

【0344】 在另一具體實例中，本發明提供組成物，其包含上述抗PDL1抗體中之任一者與至少一種醫藥學上可接受之載劑的組合。

【0345】 在另一具體實例中，本發明提供一種組成物，其包含如本文所提供之抗PDL1、抗PD-1或抗PDL2抗體或其抗原結合片段及至少一種醫藥學上可接受之載劑。在一些具體實例中，向個體投予之抗PDL1、抗PD-1或抗PDL2抗體或其抗原結合片段為包含一種或多種醫藥學上可接受之載劑的組成物。可使用本文中所描述或此項技術中已知之醫藥學上可接受之載劑中之任一者。

V. 抗體製備

【0346】 使用此項技術中可用於產生抗體之技術來製備本文所述之抗體，其例示性方法更詳細地描述於以下章節中。

【0347】 抗體係針對所關注抗原（例如PD-1或PD-L1，諸如人類PD-1或PD-L1）。較佳地，抗原為生物學上重要的多肽且向罹患病症之哺乳動物投予抗體可在該哺乳動物中產生治療益處。

【0348】 在某些具體實例中，本文所提供之抗體的解離常數（Kd）為≤1μM、≤150 nM、≤100 nM、≤50 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM或≤0.001 nM（例如10^{-8} M或更小，例如10^{-8} M至10^{-13} M，例如10^{-9} M至10^{-13} M）。

【0349】 在一個具體實例中，Kd係藉由放射性標記之抗原結合分析（RIA）

來量測，該分析利用所關注抗體之Fab型式及其抗原來進行，如由以下分析所述。如下地量測Fab對抗原之溶液結合親和力：藉由在一個滴定系列之未標記抗原存在下用最低濃度之(^{125}I)標記抗原來平衡Fab，隨後用經抗Fab抗體塗佈之培養盤來捕捉結合抗原（參見例如Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)）。為確定分析條件，將MICROTITER®多孔盤（Thermo Scientific）用5 μg/ml含捕捉抗Fab抗體（Cappel Labs）之50 mM碳酸鈉（pH值9.6）塗佈隔夜，且隨後在室溫（約23℃）下用含2%（w/v）牛血清白蛋白之PBS阻斷二至五小時。在非吸附盤（Nunc #269620）中，將100 pM或26 pM[^{125}I]-抗原與所關注Fab之連續稀釋液混合。隨後將所關注Fab培育隔夜；然而，培育可持續較長時間段（例如約65小時）以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕捉盤中以在室溫下培育（例如持續一小時）。接著移除溶液且將盤用含0.1%聚山梨醇酯20（TWEEN-20®）之PBS洗滌八次。當盤乾燥時，添加150微升/孔之閃爍體（MICROSCINT-20 ™；Packard），且在TOPCOUNT ™ γ計數器（Packard）上對盤計數10分鐘。選擇提供小於或等於20%最大結合之各Fab的濃度用於競爭性結合分析。

【0350】 根據另一具體實例，使用表面電漿子共振分析，使用BIACORE®-2000或BIACORE ®-3000（BIAcore, Inc., Piscataway, NJ），在25℃下，用固定抗原CM5晶片，在約10個反應單位（RU）下量測Kd。簡言之，根據供應商之說明書，用*N*-乙基-*N*′-(3-二甲胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽（EDC）及N-羥基丁二醯亞胺（NHS）來活化羧基甲基化聚葡萄糖生物感測器晶片（CM5，BIACORE, Inc.）。用10 mM乙酸鈉（pH值4.8）將抗原稀釋至5 μg/ml（約0.2 μM），隨後以5微升/分鐘之流動速率注射以獲得大約10個反應單位（RU）之偶聯蛋白質。在注入抗原後，注入1 M乙醇胺以阻斷未反應之基團。關於動力學量測，在25℃下以大約25 μl/min之流動速率注射Fab於具有0.05 %聚山梨醇酯20（TWEEN-20™）界面活性劑之PBS（PBST）中之兩倍連續稀釋液（0.78 nM至500 nM）。使用簡單的一對

一朗繆爾結合模型（one-to-one Langmuir binding model）（BIACORE ®評估軟體3.2版），藉由同時擬合結合及解離感測器圖譜來計算締合速率（k_{on}）及解離速率（k_{off}）。平衡解離常數（Kd）按比率k_{off}/k_{on}來計算。參見例如Chen等人, *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)。若藉由上述表面電漿子共振分析測定之締合速率超過106 M-1 s-1，則締合速率可使用螢光淬滅技術量測，該技術在如光譜儀（諸如具有攪拌式光析槽之止流裝備型分光光度計（Aviv Instruments）或8000-系列SLM-AMINCO ™分光光度計（ThermoSpectronic）中所量測之濃度增加之抗原存在下，在25°C下量測PBS中之20 nM抗-抗原抗體（Fab形式）（pH值7.2）之螢光發射強度（激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm帶通）的增加或減少。

嵌合、人類化及人類抗體

【0351】 在某些具體實例中，本文所提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體描述於例如美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區（例如，衍生自小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物（諸如猴）之可變區）及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類已自親本抗體之類別或子類別改變。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0352】 在某些具體實例中，嵌合抗體為人類化抗體。典型地，對非人類抗體進行人源化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一個或多個可變域，其中HVR，例如CDR（或其部分）衍生自非人類抗體，且FR（或其部分）衍生自人類抗體序列。人類化抗體視情況亦將包含人類恆定區之至少一部分。在一些具體實例中，人類化抗體中之一些FR殘基經來自非人類抗體（例如衍生HVR殘基之抗體）之對應殘基取代，例如以恢復或提高抗體特異性或親和力。

【0353】 人類化抗體及其製造方法綜述於例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)中，且進一步描述於例如以下各者中：Riechmann等人, Nature 332:323-329 (1988)；Queen等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)；美國專利第5,821,337號、第7,527,791號、第6,982,321號及第7,087,409號；Kashmiri等人, *Methods* 36:25-34 (2005)（描述SDR (a-CDR)移植）；Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)（描述「表面重修」）；Dall'Acqua等人, *Methods* 36:43-60 (2005)（描述「FR改組」）；及Osbourn等人, *Methods* 36:61-68 (2005)及Klimka等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)（描述FR改組之「導向選擇」方法）。

【0354】 可用於人類化之人類構架區包括但不限於：使用「最佳擬合」方法選擇之構架區（參見例如Sims等人*J. Immunol.* 151:2296 (1993)）；衍生自輕鏈或重鏈可變區之特定子組之人類抗體之一致序列的構架區（參見例如Carter等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992)；及Presta等人*J. Immunol.*, 151:2623 (1993)）；人類成熟（體細胞突變）構架區或人類生殖系構架區（參見例如Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)）；及衍生自篩選FR庫之構架區（參見例如Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及Rosok等人, *J. Biol.* Chem. 271:22611-22618 (1996)）。

【0355】 在某些具體實例中，本文所提供之抗體為人類抗體。可使用此項技術中已知之各種技術產生人類抗體。人類抗體通常描述於van Dijk及van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001)及Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)中。

【0356】 人類抗體可藉由將免疫原投予至已經改造以回應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體的基因轉殖動物來製備。此類動物通常含有人類免疫球蛋白基因座之全部或一部分，其置換內源性免疫球蛋

白基因座，或存在於染色體外或隨機整合至動物染色體中。在此類基因轉殖小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座一般已失活。對於自基因轉殖動物獲得人類抗體之方法的綜述，參見Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。亦參見例如描述XENOMOUSE™技術之美國專利第6,075,181號及第6,150,584號；描述HuMab®技術之美國專利第5,770,429號；描述K-M MOUSE®技術之美國專利第7,041,870號及描述VelociMouse®技術之美國專利申請公開案第US 2007/0061900號)。由此類動物產生之完整抗體的人類可變區可進一步加以修飾，例如藉由與不同人類恆定區組合。

【0357】 人類抗體亦可藉由基於融合瘤之方法製備。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類融合骨髓瘤細胞株已有描述。(參見例如Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984)；Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及Boerner等人, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991))。經由人類B細胞融合瘤技術產生之人類抗體亦描述於Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)中。額外方法包括例如美國專利第7,189,826號(描述自融合瘤細胞株產生單株人類IgM抗體）及Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)（描述人類-人類融合瘤）中所描述之方法。人類融合瘤技術(三源融合瘤技術(Trioma technology))亦描述於Vollmers及Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)及Vollmers及Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)中。

【0358】 人類抗體亦可藉由分離選自人源噬菌體呈現庫之Fv純系可變域序列產生。此類可變域序列接著可與所需人類恆定域組合。下文描述用於自抗體庫選擇人類抗體之技術。

抗體片段

【0359】 可藉由傳統手段（諸如酶消化）或藉由重組技術產生抗體片段。在某些情形中，使用抗體片段而非全抗體有優點。較小的片段尺寸允許快速清除，且可改善對固態腫瘤的進入。關於某些抗體片段之綜述，參見Hudson等人(2003) *Nat. Med.* 9:129-134。

【0360】 已開發出用於產生抗體片段的各種技術。傳統上，此等片段經由完整抗體之蛋白水解消化而獲得（參見例如Morimoto等人, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992)；及Brennan等人, *Science*, 229:81 (1985)）。然而，此等片段現可藉由重組型宿主細胞直接產生。Fab、Fv及ScFv抗體片段皆可在大腸桿菌中表現且自大腸桿菌分泌，從而容易產生大量此等片段。抗體片段可自上文所討論之抗體噬菌體庫中分離。或者，Fab'-SH片段可自大腸桿菌直接回收且化學偶聯而形成F(ab')2片段（Carter等人, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)）。根據另一方法，F(ab') 2片段可自重組宿主細胞培養物直接分離。活體內半衰期增加、包含救助受體結合抗原決定基殘基之Fab及F(ab') 2片段描述於美國專利第5,869,046號中。產生抗體片段之其他技術對於熟習此項技術者而言為顯而易見的。在某些具體實例中，抗體為單鏈Fv片段（scFv）。參見WO 93/16185；美國專利第5,571,894號；及第5,587,458號。Fv及scFv為僅有的具有不含恆定區之完整組合位點之種類；因此，其可適用於活體內使用期間降低之非特異性結合。可構築scFv融合蛋白以在scFv之胺基或羧基端產生效應蛋白之融合。參見*Antibody Engineering*, Borrebaeck編, 前述。舉例而言，抗體片段亦可為「線抗體」，例如如美國專利第5,641,870號中所描述。此類線抗體可具有單特異性或雙特異性。

單域抗體

【0361】 在一些具體實例中，本發明抗體為單域抗體。單域抗體為包含抗體之全部或一部分重鏈可變域或全部或一部分輕鏈可變域的單一多肽鏈。在某些具體實例中，單域抗體為人類單域抗體（Domantis, Inc., Waltham, Mass.；參見例如美國專利第6,248,516 B1號）。在一個具體實例中，單域抗體由抗體之全部或一部分重鏈可變域組成。

抗體變體

【0362】 在一些具體實例中，涵蓋本文所述抗體之胺基酸序列修飾。舉例而言，可能需要改進抗體之結合親和力及/或其他生物特性。可藉由將適合的變化引入編碼抗體之核苷酸序列或藉由肽合成來製備抗體之胺基酸序列變體。此類修飾包括例如在抗體之胺基酸序列內的殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵。可在製得序列時，在標的抗體胺基酸序列中引入胺基酸變化。

取代、插入、及缺失變體

【0363】 在某些具體實例中，提供具有一個或多個胺基酸取代之抗體變體。用於取代型突變誘發之所關注位點包括HVR及FR。保守取代展示於**表2**中。參考胺基酸側鏈類別在下文描述更多實質性改變。胺基酸取代可引入至所關注抗體中，且針對如下所需活性篩選產物：例如保留/改善之抗原結合、降低之免疫原性或改善之ADCC或CDC。

表2.保守取代。

初始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala（A）	Val；Leu；Ile	Val
Arg（R）	Lys；Gln；Asn	Lys
Asn（N）	Gln；His；Asp、Lys；Arg	Gln
Asp（D）	Glu；Asn	Glu
Cys（C）	Ser；Ala	Ser
Gln（Q）	Asn；Glu	Asn
Glu（E）	Asp；Gln	Asp
Gly（G）	Ala	Ala
His（H）	Asn；Gln；Lys；Arg	Arg
Ile（I）	Leu；Val；Met；Ala；Phe；正白胺酸	Leu
Leu（L）	正白胺酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe	Ile
Lys（K）	Arg；Gln；Asn	Arg
Met（M）	Leu；Phe；Ile	Leu
Phe（F）	Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr	Tyr
Pro（P）	Ala	Ala
Ser（S）	Thr	Thr
Thr（T）	Val；Ser	Ser
Trp（W）	Tyr；Phe	Tyr
Tyr（Y）	Trp；Phe；Thr；Ser	Phe
Val（V）	Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正白胺酸	Leu

【0364】 胺基酸可根據共同的側鏈特性進行分組：

a. 疏水性： 正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

b. 中性親水性： Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

c. 酸性： Asp、Glu；

d. 鹼性： His、Lys、Arg；

e. 影響鏈定向之殘基： Gly、Pro；

f. 芳族： Trp、Tyr、Phe。

【0365】 非保守取代將必然伴有將此等類別中之一者的成員換成另一類別。

【0366】 一種類型之取代型變體涉及取代親本抗體（例如人類化或人類抗體）之一個或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得變體相對於親本抗體將在某些生物特性方面具有修飾（例如改善）（例如親和力提高、免疫

原性降低），及/或將實質上保留親本抗體之某些生物特性。一種例示性取代型變體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術（諸如本文所述之技術）便利地產生。簡言之，使一個或多個HVR殘基突變，且在噬菌體上呈現變異抗體且針對特定生物活性（例如結合親和力）進行篩選。

【0367】 可在HVR中進行改變（例如取代），例如以改善抗體親和力。此類改變可在HVR「熱點」（亦即由在體細胞成熟過程中經歷高頻率突變之密碼子編碼之殘基）（參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)）及/或SDR（a-CDR）中進行，其中對所得變異VH或VL測試結合親和力。藉由構築二級庫及自二級庫再選擇來達成親和力成熟已描述於例如Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37（O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001)）中。在親和力成熟之一些具體實例中，藉由多種方法（例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發）中之任一者將多樣性引入選用於成熟之可變基因中。隨後產生二級庫。隨後篩選該庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體變體。另一種引入多樣性之方法涉及將若干HVR殘基（例如一次4個至6個殘基）隨機分組之HVR導引方法。可特異性地鑑別抗原結合所涉及之HVR殘基，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。常常尤其以CDR-H3及CDR-L3為目標。

【0368】 在某些具體實例中，取代、插入或缺失可發生在一個或多個HVR內，只要此類改變不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變（例如如本文所提供之保守取代）。此類改變可在HVR「熱點」或SDR外。在上文所提供之變異VH及VL序列之某些具體實例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0369】 一種適用於鑑別突變誘發可靶向之抗體之殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如由Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所描述。在此方法中，殘基或目標殘基組（例如帶電殘基，諸如arg、asp、

his、lys及glu）經鑑別且經中性或帶負電胺基酸（例如丙胺酸或聚丙胺酸）置換以確定抗體與抗原之相互作用是否受影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，抗原-抗體複合物之晶體結構用於鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之目標或排除在取代候選物之外。可篩選變體以確定其是否含有所需特性。

【0370】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或超過一百個殘基之多肽範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入變體包括抗體之N末端或C末端與酶（例如對於ADEPT而言）或延長抗體之血清半衰期之多肽的融合物。

糖基化變體

【0371】 在某些具體實例中，對本文所提供之抗體進行改變以增加或降低該抗體經糖基化之程度。向抗體中添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點可藉由改變胺基酸序列以便產生或移除一個或多個糖基化位點來便利地實現。

【0372】 在抗體包含Fc區之情況下，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之原生抗體通常包含分支鏈雙觸角寡糖，其通常藉由N鍵連接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright等人*TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺（GlcNAc）、半乳糖及唾液酸，以及連接至雙觸寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的岩藻糖。在一些具體實例中，可對本發明抗體中之寡醣進行修飾以便產生具有某些改善特性之抗體變體。

【0373】 在一個具體實例中，提供抗體變體，其包含Fc區，其中連接至Fc區之碳水化合物結構具有減少之岩藻糖或不具有岩藻糖，此可改善ADCC功能。

特定言之，本文中涵蓋相對於野生型CHO細胞中產生之相同抗體上之岩藻糖的量，具有減少之岩藻糖的抗體。亦即其特徵為具有的岩藻糖之量低於其在由天然CHO細胞（例如產生天然糖基化模式之CHO細胞，諸如含有天然FUT8基因之CHO細胞）產生之情況下將另外具有的量。在某些具體實例中，抗體為其中在其上小於約50%、40%、30%、20%、10%或5%之N鍵聯聚糖包含岩藻糖的抗體。舉例而言，此類抗體中之岩藻糖之量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。在某些具體實例中，抗體為其中在其上之N鍵聯聚糖中無一者包含岩藻糖的抗體，亦即其中抗體完全不含岩藻糖，或不具有岩藻糖或經去岩藻糖基化。岩藻糖之量係藉由計算相對於如藉由MALDI-TOF質譜分析量測的連接至Asn 297之所有醣結構（例如複合、雜交及高甘露糖結構）之總和，糖鏈內Asn297處之岩藻糖之平均量來確定，如例如WO 2008/077546中所述。Asn297係指位於Fc區中約位置297（Fc區殘基之Eu編號）處之天冬醯胺殘基；然而，歸因於抗體之輕微序列變化，Asn297亦可位於位置297上游或下游約±3個胺基酸處，亦即位置294與300之間。此類岩藻糖基化變體可具有改善之ADCC功能。參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號（Presta, L.）；第US 2004/0093621號（Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd）。關於「去岩藻糖基化」或「缺乏缺陷」抗體變體之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人*J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki等人*Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠產生去岩藻糖基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質岩藻糖基化之Lec13 CHO細胞（Ripka等人*Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號Presta, L；及WO 2004/056312 A1，Adams等

人，尤其實施例11），及基因敲除細胞株，諸如α-1,6-岩藻糖基轉移酶基因、*FUT8*、基因剔除CHO細胞（參見例如Yamane-Ohnuki等人*Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda, Y.等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及WO2003/085107）。

【0374】 抗體變體進一步具備平分型寡醣，例如其中連接至抗體之Fc區的雙觸寡醣藉由GlcNAc平分。此類抗體變體可具有減少之岩藻糖基化及/或經改善之ADCC功能。此類抗體變體之實例描述於例如WO 2003/011878（Jean-Mairet等人）；美國專利第6,602,684號（Umana等人）；US 2005/0123546（Umana等人），及Ferrara等人, Biotechnology and Bioengineering, 93(5): 851-861 (2006)中。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基與Fc區連接之抗體變體。此類抗體變體可具有改善之CDC功能。此類抗體變體描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

【0375】 在某些具體實例中，本文所述之包含Fc區之抗體變體能夠與FcγRIII結合。在某些具體實例中，本文所述之包含Fc區之抗體變體在人類效應細胞存在下具有ADCC活性，或在人類效應細胞存在下具有相比於包含人類野生型IgG1Fc區之另外相同的抗體增加的ADCC活性。

Fc區變體

【0376】 在某些具體實例中，可將一個或多個胺基酸修改引入至本文所提供之抗體的Fc區中，從而產生Fc區變體。Fc區變體可包含人類Fc區序列（例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區），其在一個或多個胺基酸位置包含胺基酸修飾（例如取代）。

【0377】 在某些具體實例中，本發明涵蓋具有一些但並非所有效應功能的抗體變體，該等效應功能使該抗體變體成為其中活體內抗體半衰期重要但某些效應功能（諸如補體及ADCC）不必要或不利的應用之所需候選物。可進行試管

內及/或活體內細胞毒性分析以確認CDC及/或ADCC活性之降低/耗盡。舉例而言，可進行Fc受體（FcγR）結合分析以確保抗體缺少FcR結合（因此可能缺少ADCC活性），但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之初生細胞NK細胞僅表現Fc(RIII，而單核球表現Fc(RI、Fc(RII及。造血細胞上之FcR表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol*. 9:457-492 (1991)之第464頁的表3中。用以評估所關注分子之ADCC活性之試管內分析之非限制性實例描述於美國專利第5,500,362號（參見例如Hellstrom, I.等人*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)）及Hellstrom, I等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；第5,821,337號（參見Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)）中。或者，可採用非放射性分析方法（參見例如用於流動式細胞測量術之ACTI™非放射性細胞毒性分析（CellTechnology, Inc. Mountain View, CA；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析（Promega, Madison, WI）。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞（PBMC）及天然殺手（NK）細胞。或者或另外，可活體內評估所關注分子之ADCC活性，例如在動物模型中，諸如Clynes等人*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型。亦可進行C1q結合分析以確認抗體無法結合C1q且因此缺乏CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為了評估補體活化，可進行CDC分析（參見例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及Cragg, M.S.及M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)）。亦可使用此項技術中已知之方法來進行FcRn結合及活體內清除率/半衰期測定（參見例如Petkova, S.B.等人, *Int'l. Immunol*. 18(12):1759-1769 (2006)）。

【0378】 效應功能減弱之抗體包括具有Fc區殘基238、265、269、270、297、327及329中之一者或多者之取代的抗體（美國專利第6,737,056號）。此類Fc突變體包括在胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或更多者處具有取代之

Fc突變體，包括殘基265及297取代為丙胺酸之所謂的「DANA」Fc突變體（美國專利第7,332,581號）。

【0379】 描述了具有提高或降低的與FcR之結合的某些抗體變體。（參見例如美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312，及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)）。

【0380】 在某些具體實例中，抗體變體包含具有改善ADCC之一個或多個胺基酸取代，例如Fc區之位置298、333及/或334（殘基之EU編號）處之取代的Fc區。在例示性具體實例中，抗體在其Fc區中包含以下胺基酸取代：S298A、E333A及K334A。

【0381】 在一些具體實例中，在Fc區中進行使得C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性（CDC）改變（亦即增加或降低）之改變，例如如美國專利第6,194,551號、WO 99/51642及Idusogie等人*J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所述。

【0382】 半衰期延長且改善與負責將母體IgG轉移至胎兒之新生兒Fc受體（FcRn）之結合的抗體（Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994)）描述於US 2005/0014934A1 (Hinton等人))中。該等抗體包含具有一個或多個取代之Fc區，在其中Fc區與FcRn之結合得以改善。此類Fc變體包括在以下Fc區殘基中之一者或多者處具有取代者：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代（美國專利第7,371,826號）。關於Fc區變體之其他實例，亦參見Duncan及Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第5,648,260號；美國專利第5,624,821號；及WO 94/29351。

VI. 醫藥組成物及調配物

【0383】 本文亦提供醫藥組成物及調配物，例如用於治療癌症，或用於根

據本文所述之方法誘導新抗原決定基特異性免疫反應。在一些具體實例中，醫藥組成物及調配物進一步包含醫藥學上可接受之載劑。

【0384】 在製備所關注抗體（例如用於產生可如本文所揭示地調配之抗體的技術詳述於本文中且為此項技術中已知的）之後，製備包含其之醫藥調配物。在某些具體實例中，待調配之抗體尚未經受先前凍乾，且本文中之所關注調配物為水性調配物。在某些具體實例中，抗體為全長抗體。在一個具體實例中，調配物中之抗體為抗體片段，諸如$F(ab')_2$，在此情況下，可能需要解決對於全長抗體而言可能不會出現的問題（諸如抗體削剪為Fab）。藉由考慮例如所需劑量體積及投藥模式來確定調配物中存在之抗體的治療有效量。約25 mg/mL至約150 mg/mL，或約30 mg/mL至約140 mg/mL，或約35 mg/mL至約130 mg/mL，或約40 mg/mL至約120 mg/mL，或約50 mg/mL至約130 mg/mL，或約50 mg/mL至約125 mg/mL，或約50 mg/mL至約120 mg/mL，或約50 mg/mL至約110 mg/mL，或約50 mg/mL至約100 mg/mL，或約50 mg/mL至約90 mg/mL，或約50 mg/mL至約80 mg/mL，或約54 mg/mL至約66 mg/mL為調配物中之例示性抗體濃度。在一些具體實例中，本文所述之抗PDL1抗體（諸如阿特珠單抗）係以約1200 mg之劑量投予。在一些具體實例中，本文所述之抗PD1抗體（諸如派立珠單抗）係以約200 mg之劑量投予。在一些具體實例中，本文所述之抗PD1抗體（諸如納武單抗）係以約240 mg（例如每2週）或480 mg（例如每4週）之劑量進行投予。

【0385】 在一些具體實例中，本文所述之RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg或約100 μg之劑量投予。

【0386】 如本文所述之醫藥組成物及調配物可藉由將具有所需純度之活性成分（諸如抗體或多肽）與一種或多種視情況選用之醫藥學上可接受之載劑（*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版, Osol, A.編 (1980)）以凍乾調配物或水溶液形式混合來製備。醫藥學上可接受之載劑在採用之劑量及濃度下一般

對受體無毒性，且包括但不限於：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑（諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨；苄索氯銨；丁基苯酚或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚）；低分子量（小於約10個殘基）多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；金屬錯合物（例如Zn-蛋白質錯合物）；及/或非離子界面活性劑，諸如聚乙二醇（PEG）。本文中之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白（sHASEGP），例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如rHuPH20（HYLENEX®, Baxter International, Inc.）。某些例示性sHASEGP（包括rHuPH20）及使用方法描述於美國專利公開案第2005/0260186號及第2006/0104968號中。在一個態樣中，sHASEGP與一種或多種其他葡萄糖胺聚糖酶，諸如軟骨素酶組合。

【0387】 例示性凍乾抗體調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性抗體調配物包括美國專利第6,171,586號及WO2006/044908中所述之調配物，後者調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0388】 本文之組成物及調配物亦可含有多於一種為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的活性成分。此類活性成分宜以有效達成預期目的之量組合存在。

【0389】 活性成分可包覆於微膠囊中，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊，例如分別為羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；包覆於膠態藥物傳遞系統（例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、

奈米粒子及奈米膠囊）中或巨乳液中。此類技術揭示於*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第16版, Osol, A.編(1980)中。

【0390】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物形式，例如膜或微膠囊。用於活體內投藥之調配物一般為無菌的。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。

【0391】 阿特珠單抗及派立珠單抗之醫藥調配物為市售的。舉例而言，阿特珠單抗以商標名（如在本文中其他地方所描述）TECENTRIQ®為吾人所知。派立珠單抗以商標名（如在本文中其他地方所描述）KEYTRUDA®為吾人所知。在一些具體實例中，阿特珠單抗及RNA疫苗，或派立珠單抗及RNA疫苗係在分開的容器中提供。在一些具體實例中，阿特珠單抗及派立珠單抗如在隨市售產品可獲得的處方資訊中所述地使用及/或製備以向個體投予。

VII. 治療方法

【0392】 本文提供用於治療個體之癌症或延遲其進展（例如藉由根據本文所提供之方法誘導新抗原決定基特異性免疫反應）的方法，該方法包含以單一藥劑形式或與PD-1軸結合拮抗劑組合向個體投予有效量的RNA疫苗。在一些具體實例中，個體為人。

【0393】 本發明之PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗中之任一者可用於本文所述之治療方法中。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼10-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在一些具體實例中，RNA疫苗包含一個或多個編碼5-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。在一些具體實例中，RNA疫苗係在脂複合體奈米粒子或脂質體中

調配。在一些具體實例中，RNA之脂複合體奈米粒子調配物（RNA-脂複合體）用於使得能夠靜脈內遞送本發明之RNA疫苗。在一些具體實例中，靜脈內投予PCV，例如在脂質調配物中以15 μg、25 μg、38 μg、50 μg或100 μg之劑量投予。在一些具體實例中，每劑量遞送15 μg、25 μg、38 μg、50 μg或100 μg之RNA（亦即劑量重量反映投予之RNA的重量，而非投予之調配物或脂複合體的總重量）。可向個體投予超過一個PCV，例如向個體投予一個PCV與新抗原決定基之組合，且亦投予不同的PCV與新抗原決定基之不同組合。在一些具體實例中，具有十個新抗原決定基之第一PCV與具有十個替代抗原決定基之第二PCV組合投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-1抗體，包括但不限於派立珠單抗。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-L1抗體，包括但不限於阿特珠單抗。

【0394】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以21天或3週之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-1抗體（例如派立珠單抗），其以21天或3週之時間間隔，例如在約200 mg之劑量下向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-1抗體（例如測米匹單抗-rwlc），其以21天或3週之時間間隔，例如在約350 mg之劑量下向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-L1抗體（例如阿特珠單抗），其以21天或3週之時間間隔，例如在約1200 mg之劑量下向個體投予。

【0395】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以14天或28天之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以2週或4週之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-1抗體（例如納武單抗），其以14天、2週、28天或4週之時間間隔向個體投予，例如在約240 mg之劑量下以14天或2週之時間間隔，或在約480 mg之劑量下以28天或4週之時間間隔。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-1抗體（例如納武單抗），

其以21天或3週之時間間隔向個體投予，例如在約1 mg/kg之劑量下，持續1劑、2劑、3劑或4劑，視情況與抗CTLA-4抗體（例如伊匹單抗）組合，且視情況接著以14天、2週、28天或4週之時間間隔單獨投予抗PD-1抗體（例如納武單抗），例如在約240 mg之劑量下以14天或2週之時間間隔，或在約480 mg之劑量下以28天或4週之時間間隔。

【0396】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係以14天或2週之時間間隔向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-L1抗體（例如德瓦魯單抗），其以14天或2週之時間間隔向個體投予，例如在約10 mg/kg之劑量下（視情況藉由經60分鐘之靜脈內輸注）。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑為抗PD-L1抗體（例如阿維魯單抗），其以14天或2週之時間間隔向個體投予，例如在約10 mg/kg之劑量下（視情況藉由經60分鐘之靜脈內輸注）。

【0397】 在一些具體實例中，RNA疫苗係以21天或3週之時間間隔向個體投予。

【0398】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係以8個21天週期向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑係在第1-8週期之第1天向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天向個體投予，且PD-1軸結合拮抗劑係在第1-8週期之第1天向個體投予。

【0399】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗另外在第8週期之後向個體投予。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗另外以額外17個21天週期向個體投予，其中PD-1軸結合拮抗劑係在第13-29週期之第1天向個體投予，及/或其中RNA疫苗係在第13、21及29週期之第1天向個體投予。

【0400】 在某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係以8個21天

週期向個體投予，其中PD-1軸結合拮抗劑為派立珠單抗且在第1-8週期之第1天以約200 mg之劑量向個體投予，且其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天以約25 μg之劑量向個體投予。在某些具體實例中，PD-L1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係以8個21天週期向個體投予，其中PD-L1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗且在第1-8週期之第1天以約1200 mg之劑量向個體投予，且其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天以約25 μg之劑量向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係在第2週期之第1天以約25 μg之劑量、在第2週期之第8天以約25 μg之劑量、在第2週期之第15天以約25 μg之劑量以及在第3-7週期中之每一者之第1天以約25 μg之劑量向個體投予（亦即，經第2週期期間之3劑向個體投予總共約75 μg疫苗）。在一些具體實例中，經第一循環期間之3劑向個體投予總共約75 μg疫苗，其中投予了RNA疫苗。

【0401】 在某些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係以8個21天週期向個體投予，其中PD-1軸結合拮抗劑為派立珠單抗且在第1-8週期之第1天以200 mg之劑量向個體投予，且其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天以25 μg之劑量向個體投予。在某些具體實例中，PD-L1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係以8個21天週期向個體投予，其中PD-L1軸結合拮抗劑為阿特珠單抗且在第1-8週期之第1天以1200 mg之劑量向個體投予，且其中RNA疫苗係在第2週期之第1、8及15天及第3-7週期之第1天以25 μg之劑量向個體投予。在一些具體實例中，RNA疫苗係在第2週期之第1天以25 μg之劑量、在第2週期之第8天以25 μg之劑量、在第2週期之第15天以25 μg之劑量以及在第3-7週期中之每一者之第1天以25 μg之劑量向個體投予（亦即，經第2週期期間之3劑向個體投予總共75 μg疫苗）。在一些具體實例中，經第一循環期間之3劑向個體投予總共75 μg疫苗，其中投予了RNA疫苗。

【0402】 在一些具體實例中，以約15 μg至約100 μg之間（例如約15 μg、

約20 μg、約25 μg、約30 μg、約35 μg、約40 μg、約45 μg、約50 μg、約55 μg、約60 μg、約65 μg、約70 μg、約75 μg、約80 μg、約85 μg、約90 μg、約95 μg或約100 μg中之任一者）之劑量向個體投予RNA疫苗。在一些具體實例中，以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向個體投予RNA疫苗。在某些具體實例中，RNA疫苗係靜脈內投予至個體。

【0403】 在一些具體實例中，RNA疫苗係以7天或1週之時間間隔向個體投予。在某些具體實例中，RNA疫苗係以14天或2週之時間間隔向個體投予。在某些具體實例中，RNA疫苗係以持續12週向個體投予。

【0404】 在一些具體實例中，RNA疫苗係以四個21天週期向個體投予，其中RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予。

【0405】 在一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以1週或2週之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以24週之時間間隔向個體投予RNA疫苗。在某些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以7天或14天之時間間隔向個體投予RNA疫苗，且其中在維持期內以168天之時間間隔向個體投予RNA疫苗。

【0406】 在一些具體實例中，在誘導期及誘導期之後的維持期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內以四個21天週期向個體投予RNA疫苗，其中在誘導期內在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第4週期之第1天向個體投予RNA疫苗；且其中在維持期內在第5週期之第1天及此後每24週或168天一次向個體投予RNA疫苗。

【0407】 可按任何次序投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗。舉例而言，可依序（在不同時間）或同時（在同一時間）投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗。

在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係在分開的組成物中。在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗係在相同組成物中。

【0408】 在一些具體實例中，癌症選自由以下組成之群：黑色素瘤、非小細胞肺癌、膀胱癌、結直腸癌、三陰性乳癌、腎癌及頭頸部癌。在一些具體實例中，癌症為局部晚期或轉移性黑色素瘤、非小細胞肺癌、膀胱癌、結直腸癌、三陰性乳癌、腎癌或頭頸部癌。在一些具體實例中，癌症選自由以下組成之群：非小細胞肺癌、膀胱癌、結直腸癌、三陰性乳癌、腎癌及頭頸部癌。在一些具體實例中，癌症為局部晚期或轉移性非小細胞肺癌、膀胱癌、結直腸癌、三陰性乳癌、腎癌或頭頸部癌。

【0409】 在一些具體實例中，癌症為黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為皮膚或黏膜黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為皮膚、黏膜或肢端黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤並非眼部或肢端黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為轉移性或不可切除性局部晚期黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為IV期黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為IIIC期或IIID期黑色素瘤。在一些具體實例中，黑色素瘤為不可切除性或轉移性黑色素瘤。在一些具體實例中，方法提供黑色素瘤之輔助治療。

【0410】 在一些具體實例中，癌症（例如黑色素瘤）先前未經治療。在一些具體實例中，癌症為先前未經治療之晚期黑色素瘤。

【0411】 在一個具體實例中，腫瘤為非小細胞肺（NSCLC）、膀胱、腎、頭頸部、肉瘤、乳房、黑色素瘤、前列腺、卵巢、胃、肝或結直腸腫瘤。在一些具體實例中，其中乳房腫瘤為三陰性乳房（TNBC）腫瘤。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用一種或多種癌症療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體已用查核點抑制劑療法進行治療。在一些具體實例中，在投予RNA疫苗之前，個體尚未用查核點抑制劑療法進行治療。

【0412】 在一些具體實例中，在根據本文所述之方法中之任一者用PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗進行治療之前，個體在用基於PD-1軸結合拮抗劑之單藥療法治療，例如用不存在RNA疫苗之派立珠單抗治療後進展或未能對該治療有充分反應。

【0413】 可藉由相同投藥途徑或藉由不同投藥途徑來投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗。在一些具體實例中，靜脈內、肌肉內、皮下、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、腦室內或鼻內投予PD-1軸結合拮抗劑。在一些具體實例中，靜脈內、肌肉內、皮下、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、腦室內或鼻內投予RNA疫苗（例如在脂複合體粒子或脂質體中）。在一些具體實例中，經由靜脈內輸注來投予PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗。可投予有效量的PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗以預防或治療疾病。

【0414】 在一些具體實例中，方法可進一步包含其他療法。其他療法可為放射療法、手術（例如乳房腫瘤切除術及乳房切除術）、化學療法、基因療法、DNA療法、病毒療法、RNA療法、免疫療法、骨髓移植、奈米療法、單株抗體療法或前述之組合。其他療法可呈佐劑或新輔助療法形式。在一些具體實例中，其他療法為投予小分子酶抑制劑或抗轉移性藥劑。在一些具體實例中，其他療法為投予副作用限制性藥劑（例如意欲減少治療副作用之出現及/或嚴重程度的藥劑，諸如抗噁心劑等）。在一些具體實例中，其他療法為放射療法。在一些具體實例中，其他療法為手術。在一些具體實例中，其他療法為放射療法與手術之組合。在一些具體實例中，其他療法為γ照射。

VIII. 製品或套組

【0415】 本文進一步提供包含本發明之RNA疫苗的製品或套組。本文進

一步提供包含PD-1軸結合拮抗劑（諸如阿特珠單抗或派立珠單抗）之製品或套組。在一些具體實例中，製品或套組進一步包含藥品說明書，其包含使用RNA疫苗及/或PD-1軸結合拮抗劑（例如與RNA疫苗結合）治療個體之癌症或延緩其進展、增強患癌個體之免疫功能、在患癌個體中誘導新抗原決定基特異性T細胞及/或在個體中誘導將新抗原決定基特異性T細胞運輸至腫瘤的說明。本文亦提供包含PD-1軸結合拮抗劑（諸如阿特珠單抗或派立珠單抗）及RNA疫苗之製品或套組。

【0416】 在一些具體實例中，PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗在相同容器或分開的容器中。適合的容器包括例如瓶、小瓶、袋及注射器。容器可由多種材料形成，諸如玻璃、塑膠（諸如聚氯乙烯或聚烯烴）或金屬合金（諸如不鏽鋼或赫史特合金（hastelloy））。在一些具體實例中，容器容納調配物，且在容器上或容器隨附之標籤可指示使用說明。製品或套組可進一步包括自商業及使用者角度來看需要之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、注射器及具有使用說明之藥品說明書。在一些具體實例中，製品進一步包括一種或多種另一藥劑（例如化學治療劑及抗贅生劑）。用於一種或多種藥劑之適合容器包括例如瓶、小瓶、袋及注射器。

【0417】 認為本說明書足以使熟習此項技術者能夠實踐本發明。對於熟習此項技術者而言，根據前文描述，除本文所示及所述之修改之外的本發明之各種修改是明顯的，且該等修改在隨附申請專利範圍之範圍內。本文所引用之所有公開案、專利及專利申請案均以全文引用的方式併入本文中以達成所有目的。

實施例

【0418】 參見以下實施例會更完全地理解本發明。然而，其不應解釋為限制本發明之範圍。應瞭解，本文所描述之實施例及具體實例僅出於說明之目的，

且根據其之各種修改或變化會被暗示給熟習此項技術者且包括在本申請案之精神及範圍以及所附申請專利範圍之範圍內。

實施例1：作為單一藥劑及與阿特珠單抗組合之RNA疫苗在患有局部晚期或轉移性腫瘤之患者中的研究

【0419】 此實施例描述1a/1b期、開放標記、多中心、全球、劑量遞增研究，其經設計以評估作為單一藥劑及與抗PD-L1抗體阿特珠單抗組合之新抗原特異性RNA疫苗的安全性、耐受性、免疫反應及藥物動力學。

研究目標

【0420】 此研究之目標為評估作為單一藥劑及與阿特珠單抗組合之RNA疫苗的安全性、耐受性、免疫反應及藥物動力學。

研究設計

1a期

【0421】 在此研究之1a期劑量遞增群組中，以數個21天週期，藉由靜脈內（IV）輸注以遞增劑量向患者投予RNA疫苗。

1b期

【0422】 此研究之1b期包括劑量遞增群組、探索群組、擴增群組及具有連續生檢之擴增群組。

【0423】 在此研究之1b期劑量遞增群組中，以數個21天週期，藉由IV輸注以遞增劑量向患者投予RNA疫苗。亦在每個21天週期之第1天向患者投予1200 mg固定劑量之阿特珠單抗。

【0424】 在此研究之1b期探索群組中，在21天週期內藉由IV輸注以低於最大耐受劑量（MTD）之劑量向先前已用癌症免疫療法（CIT）治療的患有非小細胞肺癌（NSCLC）或黑色素瘤之患者投予RNA疫苗。亦在每個21天週期之第1天向患者投予1200 mg固定劑量之阿特珠單抗。

【0425】 在此研究之1b期擴增群組中，在21天週期內藉由IV輸注以低於MTD之多個劑量水平向患有以下研究納入標準中所述之適應症的患者投予RNA疫苗。亦在每個21天週期之第1天向患者投予1200 mg固定劑量之阿特珠單抗。

【0426】 在此研究之具有連續生檢之1b期擴增群組中，在21天週期內藉由IV輸注以低於MTD之多個劑量水平向患有以下研究納入標準中所述之腫瘤類型的未曾用過CIT之患者投予RNA疫苗。亦在每個21天週期之第1天向患者投予1200 mg固定劑量之阿特珠單抗。

研究參與者

納入標準

【0427】 將滿足以下標準之患者包括於此研究中：

- 0或1之東部腫瘤協作組（ECOG）體能狀態。
- 在至少一種可用標準療法之後進展的局部晚期、復發性或轉移性不可治癒惡性腫瘤之組織學記錄；或已證實標準療法對其無效或不耐受，或被視為不當的。
- 根據固態腫瘤反應評估標準1.1版（RECIST v1.1）之可量測疾病。

【0428】 另外，將滿足以下適應症特異性標準之患者包括於此研究之1b期的探索群組或擴增群組中：

- 非小細胞肺癌（NSCLC）群組（未曾用過CIT）：患有先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療之組織學確認之不可治癒、晚期NSCLC的患者。

- NSCLC群組(經CIT治療):患有先前用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法治療之組織學確認之不可治癒、晚期NSCLC的患者。
- 三陰性乳癌(TNBC)群組(未曾用過CIT):患有先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療之組織學確認之不可治癒、晚期雌激素受體(ER)陰性、孕酮受體陰性及人類表皮生長因子受體2(HER2)陰性乳房腺癌(三陰性)的患者。
- 結直腸癌(CRC)群組(未曾用過CIT):患有先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療之組織學確認之不可治癒、晚期結腸或直腸腺癌的患者。
- 頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)群組(未曾用過CIT):患有不能經受治癒性療法且先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療之組織學確認之不可手術之、局部晚期或轉移性、復發性或持續性HNSCC(口腔、口咽、下嘴或喉)的患者。
- 泌尿上皮癌(UC)群組(未曾用過CIT):患有先前未用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法治療之組織學確認之不可治癒、晚期泌尿上皮(包括腎盂、輸尿管、膀胱及尿道)移行細胞癌的患者。
- UC群組(經CIT治療):患有先前用伴有或不伴有抗CTLA-4療法之抗PD-L1/PD-1療法治療之組織學確認之不可治癒晚期泌尿上皮(包括腎盂、輸尿管、膀胱及尿道)移行細胞癌的患者。
- 腎細胞癌(RCC)群組(未曾用過CIT):患有先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療之具有透明細胞組織學成分及/或肉瘤樣組織學成分之組織學確認之不可治癒、晚期RCC的患者。
- 黑色素瘤群組(在轉移性情況下為未曾用過CIT):患有在轉移性情況下先前未用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療的組織學確認之不可治癒、晚

期黑色素瘤的患者。

- 黑色素瘤群組（經CIT治療）：患有先前用抗PD-L1/PD-1及/或抗CTLA-4療法治療的組織學確認之不可治癒、晚期黑色素瘤的患者。

【0429】 另外，將滿足以下適應症特異性標準之患者包括於此研究之1b期的連續生檢擴增群組中：

- 具有以上研究納入標準中指定之局部晚期或轉移性固態腫瘤類型中之一者的患者。
- 患者具有可及病變，該等病變允許總計二個至三個生檢（治療前及治療時）或一個生檢（治療時，若存檔組織替代治療前生檢可用），而無不可接受的顯著程序併發症風險。未對RECIST病變進行生檢。

排除標準

【0430】 將滿足以下標準之患者自此研究排除：

- 臨床上顯著之肝病。
- 先前之脾切除術。
- 原發性免疫缺乏，無論是細胞性（例如迪喬治氏症候群、T陰性嚴重聯合免疫缺乏（SCID））還是聯合T及B細胞免疫缺乏（例如T及B陰性SCID、韋-奧二氏症候群、共濟失調毛細血管擴張症、常見變異型免疫缺失症）。
- 除非另外規定，否則在開始研究治療之前3週內的任何抗癌療法，包括化學療法、激素療法及/或放射線療法。
- 除非另外規定，否則先前新抗原特異性或全腫瘤癌症疫苗。
- 允許先前用細胞介素治療，其限制條件為在最後一劑與此研究之第1週期之第1天之間已經過至少6週或藥物之5個半衰期（無論哪個較短）。
- 除非另外規定，否則允許先前用免疫查核點抑制劑、免疫調節單株抗體

（mAb）、及/或mAb衍生之療法進行治療，其限制條件為在最後一劑與此研究之第1週期之第1天之間已經過至少6週（1a期）或3（1b期）。

- 在Ib期中之未曾用過CIT之擴增群組中，不允許先前用抗PD-L1/PD-1療法及/或抗CTLA-4療法進行治療。
- 在Ib期中之黑色素瘤未曾用過CIT之擴增群組中，不允許在轉移性環境中先前用抗PD-L1/PD-1療法及/或抗CTLA-4療法進行治療。
- 除非另外規定，否則允許先前用免疫調節劑，包括鐸樣受體（TLR）促效劑、吲哚胺2,3-二加氧酶（IDO）/色胺酸-2,3-二加氧酶（TDO）抑制劑或OX40促效劑進行治療，其限制條件為在先前治療之最後一劑與此研究之第1週期之第1天之間已經過藥物之至少5個半衰期或至少3週。
- 歸因於先前CIT之免疫相關4級不良事件之任何病史（除了用替代療法管理之內分泌病變或血清澱粉酶或脂肪酶之無症狀升高之外）。
- 導致先前免疫治療劑之永久中止及/或在此研究之第1週期之第1天之前小於或等於6個月出現的歸因於先前CIT之免疫相關3級不良事件之任何病史（除了用替代療法管理之甲狀腺功能低下之外）。
- 未消退至小於或等於1級的來自先前抗癌療法之不良事件，除了禿髮、白斑病或用替代療法管理之內分泌病變之外。
- 與先前CIT相關之所有免疫相關不良事件（除了用替代療法管理之內分泌病變或穩定白斑病之外）必須已完全消退至基線。
- 原發性中樞神經系統（CNS）惡性腫瘤、未治療之CNS癌轉移或活動性CNS癌轉移（進展或需要皮質類固醇進行症狀控制）。
- 在此研究之第1週期之第1天之前5年內除研究中之疾病以外的惡性腫瘤，除了具有可忽略的癌轉移或死亡風險者之外。
- 軟腦膜疾病。

- 未明確地用手術及/或放射治療之脊髓壓縮，或無證據表明疾病在篩選之前已在臨床上穩定大於或等於2週的先前診斷及治療之脊髓壓縮。
- 不受控高鈣血症、肋膜積液、心包積液或需要反覆性引流程序之腹水或腫瘤相關疼痛。
- 除非另外規定，否則自體免疫疾病病史。
- 在此研究之第1週期之第1天之前3週內用單胺氧化酶抑制劑（MAOI）治療。
- 在此研究之第1週期之第1天之前2週內用全身性免疫抑制藥物治療。
- 篩選胸部電腦斷層攝影術（CT）掃描時之特發性肺纖維化、肺炎、機化肺炎或活動性肺炎之跡象的病史；人類免疫缺乏病毒感染之陽性測試；活動性B型或C型肝炎；活動性或潛伏性肺結核感染；或在此研究之第1週期之第1天之前4週內的嚴重感染。
- 先前同種異體骨髓移植或先前實體器官移植。

研究結果指標

【0431】 此研究之主要結果指標包括以下：

- 自此研究之1a期內之第1-14天及此研究之1b期內之第1-21天評估的具有劑量限制性毒性（DLT）之患者的百分比。
- 自此研究之1a期內之第1-14天及此研究之1b期內之第1-21天評估的RNA疫苗之最大耐受劑量（MTD）及推薦2期劑量（RP2D）。
- 自基線直至研究結束評估的具有不良事件（AE）之患者的百分比。AE嚴重度係根據國家癌症研究所（NCI）不良事件常用術語標準（CTCAE）5.0版進行評估。
- 自基線直至研究結束評估的具有免疫介導性不良事件（imAE）（NCI CTCAE 5.0版）之患者的百分比。

- 自基線直至研究結束評估的患者所接受之治療週期的數目。
- 自基線直至研究結束評估的RNA疫苗之劑量強度。
- 自基線直至研究結束評估的生命體徵、臨床實驗室測試結果及ECG自基線之變化。

【0432】 此研究之次要結果指標包括以下：

- 自輸注前直至治療中止評估的(R)-N,N,N-三甲基-2,3-二油烯基氧基-1-氯化丙胺鎓（DOTMA）之血漿濃度。
- 自輸注前直至治療中止評估的核糖核酸（RNA）之血漿濃度。
- 自輸注前直至治療中止後2個月評估的阿特珠單抗之血清濃度。
- 自輸注前直至治療中止評估的在周邊血液中誘導抗原特異性T細胞反應之患者的百分比。
- 自輸注前直至治療中止評估的免疫相關細胞介素之含量。
- 自基線直至研究治療之最後一劑或另一全身性抗癌療法開始之後90天（無論哪個首先出現）評估的根據RECIST v1.1具有完全反應（CR）或部分反應（PR）之客觀反應之患者的百分比。
- 自第一次出現記錄的CR或PR直至任何起因之疾病進展或死亡（無論哪個首先出現）評估的根據RECIST v1.1之反應持續時間（DoR）。
- 自基線直至研究治療之最後一劑或另一全身性抗癌療法開始之後90天（無論哪個首先出現）評估的根據經免疫修改之RECIST具有CR或PR之客觀反應之患者的百分比。
- 自第一次出現記錄的CR或PR直至任何起因之疾病進展或死亡（無論哪個首先出現）評估的根據經免疫修改之RECIST之DoR。
- 自基線直至研究治療之最後一劑或另一全身性抗癌療法開始之後90天（無論哪個首先出現）評估的根據RECIST v1.1之無進展存活期（PFS）。

- 自基線直至研究治療之最後一劑或另一全身性抗癌療法開始之後90天評估的總存活期（OS）。
- 自輸注前直至治療中止後2個月評估的具有針對阿特珠單抗之抗藥物抗體（ADA）之患者的百分比。

實施例2：作為單一藥劑及與阿特珠單抗組合之RNA疫苗在患有局部晚期或轉移性腫瘤之患者中的Ia/Ib期研究

【0433】 由體細胞突變產生之新抗原為癌症免疫療法之有吸引力的靶標，因為其可被免疫系統識別為外來的。RNA脂複合體疫苗經設計以刺激針對新抗原之T細胞反應。如實施例1中所述，在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中進行RNA疫苗之首次用於人體之Ia期研究。

【0434】 RNA疫苗係在每名患者基礎上製造且含有至多20個腫瘤特異性新抗原決定基。在12個週期之誘導期內以每週及每兩週時間間隔，且在維持階段期內每24週靜脈內全身性投予九劑RNA疫苗。特定言之，RNA疫苗係在誘導期內以四個21天週期投予：在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天。在誘導期之後的維持期內，RNA疫苗係在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次地投予。關於其他細節，參見實施例1。

【0435】 在Ia期研究中，群組中登記29名患者，其中劑量介於25-100 μg範圍內。最常見腫瘤類型為HR+/HER2+乳癌、前列腺癌及卵巢癌。先前療法之中值數目為5（範圍1-17）。34%之患者接受先前免疫療法。大部分患者具有低PD-L1表現（97%患者在腫瘤細胞上具有<5% PD-L1表現，93%患者在免疫細胞上具有<5%表現）。所接受之RNA疫苗劑量之中值數目為6；28%患者由於PD而在完成6週療法之前中止。大部分不良事件（AE）為1至2級。≥20%患者中出現之AE

包括輸注相關反應（IRR）/細胞介素釋放症候群（CRS）、疲勞、噁心及腹瀉。IRR/CRS為短暫且可逆的，且主要呈現為1-2級發冷及發熱。3級CRS之單一DLT出現於100μg劑量水平。無任何患者由於AE而中止RNA疫苗。

【0436】 RNA疫苗在各劑量下誘導促炎性細胞介素之脈衝釋放，與RNA之先天性免疫促效劑活性一致。藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析，在16名患者中之14名（87%）患者之周邊血液中觀測到RNA疫苗誘導之新抗原特異性T細胞反應。MHC多聚體分析顯示在周邊血液中誘導至多5%具有記憶表現型之新抗原決定基特異性CD8 T細胞。

【0437】 在治療後腫瘤生檢中偵測到針對多個新抗原之RNA疫苗誘導之T細胞。在經歷至少一次腫瘤評估之26名患者中，1名胃癌患者（4%）具有持續≥10個月的CR反應，且11名患者（42%）具有SD。

【0438】 可針對具有臨床相關周轉時間（turn-around time）之個別患者製造RNA疫苗。在此研究中，RNA疫苗具有與其作用機制一致之可處理的安全概況，且在具有低及中等突變負荷腫瘤類型之患者中誘導強力新抗原特異性免疫反應。

【0439】 如實施例1中進一步描述，亦在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中進行RNA疫苗與抗PD-L1抗體阿特珠單抗之組合的首次用於人體之Ib期研究。

【0440】 如上文所述地投予RNA疫苗。在各21天週期之第1天投予阿特珠單抗。關於其他細節，參見實施例1。

【0441】 群組中登記132名患者，其中劑量在15μg至50μg範圍內的RNA疫苗與1200 mg阿特珠單抗組合。最常見腫瘤類型為NSCLC、TNBC、黑色素瘤及結直腸癌（CRC）。先前療法之中值數目為3（範圍1-11）。39%之患者接受先前免疫療法。大部分患者具有低PD-L1表現量（93%患者在腫瘤細胞上具有<5% PD-

L1表現，79%患者在免疫細胞上具有<5% PD-L1表現）。所接受之RNA疫苗劑量之中值數目為8；16%患者由於PD而在完成6週療法之前中止。大部分不良事件（AE）為1至2級。≥15%之患者中出現之AE包括輸注相關反應（IRR）/細胞介素釋放症候群（CRS）、疲勞、噁心及腹瀉。IRR/CRS為短暫且可逆的，且主要呈現為1-2級發冷及發熱。不存在DLT。七名患者（5%）由於與研究藥物相關之AE而中止治療。

【0442】 RNA疫苗在各劑量下誘導促炎性細胞介素之脈衝式釋放，與RNA之先天性免疫促效劑活性一致。藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析，在49名患者中之37名（77%）患者之周邊血液中觀測到RNA疫苗誘導之新抗原特異性T細胞反應。在周邊血液中觀測到至多6%具有記憶表現型之MHC多染色之$CD8^+$ T細胞的誘導。在治療後腫瘤生檢中偵測到針對多個新抗原之RNA疫苗誘導之T細胞。在108名經歷至少一次腫瘤評估之患者中，9名有反應（ORR 8%，包括1例CR）且53名患者具有SD（49%）。

【0443】 RNA疫苗與阿特珠單抗之組合具有與研究藥物之作用機制一致之可處理的安全概況，且誘導顯著水準之新抗原特異性免疫反應。

【0444】 總而言之，本文所述之Ia及Ib期試驗為非登記信號尋求研究，其包括患有黑色素瘤、非小細胞肺癌、膀胱癌、結直腸癌、TNBC、腎癌、頭頸部癌、肉瘤之患者。如實施例1中所示，研究經設計以招收具有及不具有先前查核點抑制劑攝生法之患者。研究之主要目標為評估安全性（包括劑量限制性毒性），且額外目標包括免疫原性評估及抗腫瘤活性之初步評估。試驗包括1a期（單藥療法）劑量遞增、1b期（組合）劑量遞增及多個1b期擴增群組。患者接受在誘導期內以每週及每兩週間隔及在維持期內每八個週期靜脈內投予的九劑RNA疫苗。在試驗之1b期部分中，在各21天週期之第一天投予阿特珠單抗。

【0445】 在每名患者基礎上製造RNA疫苗，包括內部確定癌症突變概況、

計算預測新抗原、設計及基於經脂質體調配之RNA（RNA-LPX）製造疫苗。各疫苗含有至多20個腫瘤特異性新抗原決定基。重要的是，使用跨越一系列腫瘤類型（包括具有低或中等腫瘤突變負荷之腫瘤類型）之臨床生檢或常規臨床標本，在臨床實踐相容的周轉時間內製造用於個別患者之疫苗展示為可行的。

【0446】 自1a期試驗中之29名患者及1b期試驗中之132名患者評估初步臨床結果。1a期患者已接受中值為5種之先前療法（範圍1-17），且1b階段患者已接受中值為3種之先前療法(範圍1-11)。在存在及不存在阿特珠單抗之情況下，RNA疫苗均具有可處理的安全概況，主要為短暫且可逆的1級及2級不良事件，諸如表現為發熱及發冷之輸注相關反應/細胞介素釋放症候群。具有互補定量免疫分析之分析展示RNA疫苗在存在及不存在阿特珠單抗之情況下均誘導強力新抗原決定基特異性免疫反應，包括在具有低及中等突變負荷之腫瘤的患者中。在疫苗後生檢中偵測到疫苗誘導之新抗原特異性T細胞。在幾乎一半經RNA疫苗治療之患者中觀測到穩定疾病之最佳反應，包括有限數目之患者(包括具有及不具有先前查核點抑制劑攝生法之患者）中的客觀反應。此指示RNA疫苗與阿特珠單抗之組合的臨床活性水準，然而，需要隨機化資料以評估RNA疫苗在查核點抑制劑之上的個別貢獻。

【0447】 此外，基於RNA疫苗作為對轉移性黑色素瘤患者之手術之輔佐物的先前研究，且不希望受理論束縛，認為RNA疫苗可能非常適合於控制具有較低腫瘤負荷之患者的轉移性復發。

實施例3：在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中由作為單一藥劑及與阿特珠單抗組合之RNA疫苗誘導的免疫反應。

【0448】 如實施例1及2中所描述，在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中進行以單藥療法形式（Ia期）及與阿特珠單抗組合（Ib期）之RNA疫苗的首

次用於人體之Ia期及Ib期研究（**圖4**）。RNA疫苗係在每名患者基礎上製造且含有至多20個腫瘤特異性新抗原決定基（參見例如**圖10A**及Türeci等人(2016) Clin Canc Res, 22(8):1885-96；Vormehr等人(2019) Ann Rev Med, 70:395-407；及Sahin等人(2018) Science, 359(6382):1355-1360）。此實施例描述評估由單獨的RNA疫苗及與阿特珠單抗之組合誘導之先天性及新抗原特異性免疫反應的實驗結果。

材料及方法

ELISPOT分析

【0449】 用對應於RNA疫苗中至多20個個別新抗原標靶之重疊肽試管內刺激大量周邊血液單核細胞（PBMC）或經分離之CD8+ T細胞及CD4+ T細胞。在隔夜刺激之後，使用ELISPOT方法評估IFNg產生。此分析中之點數對應於PBMC中或經分離之CD8+ T細胞及CD4+ T細胞中之新抗原特異性T細胞的頻率。在雙重複孔中測試各新抗原標靶。無新抗原肽之內部對照用於定義分析中之陽性染色。特定言之，若測試孔中之平均點數超過15且與對照孔具有統計顯著差異，則指示陽性反應。為了定義RNA疫苗特異性反應，將來自用RNA疫苗治療後獲得之樣品的點數與相同新抗原之基線樣品（RNA疫苗治療前）進行比較；陽性命中定義為治療後樣品中之陽性反應及基線樣品中之陰性反應，或若基線樣品亦為陽性，則定義為相比於治療後樣品中之基線點計數增加兩倍。ELISPOT分析方法之圖式提供於**圖6**中。

pMHC多聚體分析

【0450】 基於患者之HLA I類對偶基因及使用衍生自RNA疫苗中所用之新抗原標靶中之預測抗原決定基的肽針對各患者設計個別pMHC多聚體。冷凍的周邊血液單核細胞（PBMC）用於螢光活化細胞分選（FACS）染色。各樣品用多

個pMHC多聚體及用於定義新抗原特異性CD8+ T細胞之表現型的其他抗體染色。FACS圖經設計以使得各新抗原具有兩個經兩種不同螢光團標記之pMHC多聚體（以增加染色之特異性）。CD8+ T細胞在PBMC中閘控且針對各新抗原用兩個經兩種不同螢光團標記之pMHC多聚體進行染色分析。若任何給定CD8+ T細胞要被稱為陽性染色（亦即新抗原特異性），其必須對於兩個不同螢光團標記之兩種pMHC多聚體均染色陽性且落入FACS直方圖之右上象限中。pMHC多聚體染色分析方法之圖式提供於**圖8**中。

結果

先天性免疫反應

【0451】 如下地評估由以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）之RNA疫苗誘導之先天性免疫反應：藉由在開始治療之前及在投予RNA疫苗及阿特珠單抗之後的多個時間點，使用酶聯免疫吸附分析（ELISA）分析量測血漿中之細胞介素（例如IFNg或IFNa）的含量。

【0452】 如關於Ia期研究之**圖5A**中所示，在Ia期研究中以25μg之劑量投予RNA疫苗的患者展現血漿IFN含量之脈衝式升高（顯示來自五名患者之結果）。另外，在每次投予RNA疫苗之後4小時之血漿IFNg含量以劑量依賴性方式增加（**圖5B**）。在每次投予RNA疫苗之後4小時之IFNa含量亦以劑量依賴性方式增加（**圖5C**）。以50μg之劑量投予RNA疫苗之若干患者接受類固醇且劑量減少至250μg。

【0453】 亦在每次向Ib期研究中之患者投予RNA疫苗之後4小時評估細胞介素含量。如**圖5B-圖5C**中所示，在每次投予RNA疫苗之後4小時之血漿IFNg及IFNa含量以劑量依賴性方式增加。

【0454】 總體而言，此等結果顯示，以單藥療法形式或與阿特珠單抗組合

投予RNA疫苗產生穩固及劑量依賴性先天性免疫活化，與經由TLR7/8促效作用作為先天性免疫刺激劑之RNA疫苗的所提出功能一致(參見例如**圖10A-圖10B**)。另外，RNA疫苗及阿特珠單抗組合相比於RNA疫苗單藥療法增強先天性免疫反應（**圖5B-圖5C**）。此效應在25μg RNA疫苗劑量下最明顯。關於包括IL-6及IL-12之其他細胞介素觀測到類似結果（資料未示出）。

新抗原特異性免疫反應

【0455】 使用離體EliSpot分析（**圖6**）及MHC多聚體染色分析（**圖8**）評估在以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗之後的新抗原特異性免疫反應。

EliSpot分析

【0456】 首先使用離體IFNg EliSpot分析在第4週期，第1天評估以單藥療法形式（Ia期）或與阿特珠單抗組合（Ib期）投予RNA疫苗之後的新抗原特異性免疫反應（**圖6**）。

【0457】 如**圖7A**中所示，以單藥療法形式投予RNA疫苗之患者（Ia期）展現寬度（亦即誘導免疫反應之抗原的數目）不同的新抗原特異性免疫反應。舉例而言，以100μg之劑量投予RNA疫苗之患者1顯示針對十種抗原中之一者（10%）的新抗原特異性免疫反應。在另一實例中，以75μg之劑量投予RNA疫苗之患者2顯示針對二十種抗原中之四者（20%）的新抗原特異性免疫反應。

【0458】 與阿特珠單抗組合投予RNA疫苗之患者（Ib期）亦展現寬度（亦即誘導免疫反應之抗原的數目）不同的新抗原特異性免疫反應。舉例而言，如**圖7B**中所示，以50μg之劑量投予RNA疫苗之患者11顯示針對二十種抗原中之一者（5%）的新抗原特異性免疫反應。在另一實例中，以25μg之劑量投予RNA疫苗

之患者20顯示針對二十種抗原中之七者（35%）的新抗原特異性免疫反應。

【0459】 亦針對Ib期研究中之患者確定所觀測新抗原特異性免疫反應的量值。如**圖7C**中所示，誘導免疫反應之各新抗原之IFNg形成點的數目不同。患者27根據EliSUNK分析不具有任何陽性新抗原命中，但根據pMHC多聚體染色分析展現一種陽性新抗原命中（參見下文）。**圖7C**中針對患者20及14顯示之資料對於各新抗原命中包括CD4及CD8點兩者。患者12之資料顯示CD4+ T細胞反應。另外，所觀測免疫反應之中值量值在RNA疫苗劑量內及跨越RNA疫苗劑量之患者中不同，如**圖7D**及**表3**中所示。

表3.在Ib期研究之患者中觀測到的新抗原特異性免疫反應之量值。

RNA疫苗劑量：	50μg	38μg	25μg	15μg
患者數目	2	6	7	5
IFNg形成點之中值數目	29	127.2	81.5	88.71
IFNg形成點之平均數目	29	152.4	101.7	78.89

【0460】 在一個實例中，對獲自以25μg之劑量與阿特珠單抗組合投予RNA疫苗之未曾用過CIT之三陰性乳癌患者（Ib期；患者22）之大量PBMC進行的IFNg EliSpot分析顯示抗原R6及R8在第4週期，第1天產生新抗原特異性免疫反應（**圖9A**）。相比之下，未作為陽性命中偵測到新抗原R3。

pMHC多聚體分析

【0461】 患者22中之抗原特異性CD8+ T細胞反應（參見**圖9A**）亦使用完全定量肽MHC（pMHC）多聚體染色分析來評估（**圖8**）。

【0462】 如**圖9B**中所示，與**圖9A**中所示之大量PBMC EliSpot分析一致，使用pMHC多聚體染色分析偵測到對新抗原R8具有特異性之CD8+ T細胞反應。新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應之動力學表明，峰值反應（亦即約5.67%新抗原特異性CD8+ T細胞）出現在約3個至約6個疫苗劑之間，且免疫反應藉由C7D1之劑量增強（參見**圖9B**中之C8D1）。在第3週期，第1天對由新抗原特異性CD8+

T細胞群體表現之標記的分析顯示，該群體包括CD45+RA+效應記憶細胞（TEMRA；1.18%）、中樞記憶細胞（Tcm；1.28%）、及效應記憶細胞（Tem；93.10%）(**圖9C**)。另外，99.1%之新抗原特異性CD8+ T細胞群體為PD-1+(**圖9D**)。

【0463】 與在新抗原R8之情況下觀測到的結果相比，雖然**圖9A**中所示之大量PBMC EliSpot分析未能將新抗原R3偵測為陽性命中，但使用pMHC多聚體分析偵測到對新抗原R3具有特異性之CD8+ T細胞反應（**圖9E**）。針對新抗原R3之新抗原特異性CD8+ T細胞免疫反應之動力學表明，峰值反應（亦即約0.27%新抗原特異性CD8+ T細胞）亦出現在約3個至約6個疫苗劑量之間。在第3週期，第1天對由新抗原特異性CD8+ T細胞群體表現之標記的分析顯示，該群體包括CD45+RA+效應記憶細胞（TEMRA；1.08%）及效應記憶細胞（Tem；95.7%）（**圖9F**）。另外，100.00%之新抗原特異性CD8+ T細胞群體為PD-1+（**圖9G**）。

【0464】 總體而言，此等結果顯示，在投予RNA疫苗與阿特珠單抗之組合之後，藉由EliSpot分析以及pMHC多聚體分析偵測到新抗原特異性T細胞反應，且由RNA疫苗誘導之CD8+ T細胞之量值可在周邊血液中達到至多>5%（例如至多約6%）。另外，結果表明相較於EliSpot分析，pMHC多聚體分析具有更大靈敏度。此外，由RNA疫苗誘導之新抗原特異性免疫反應包括具有高PD-1表現（亦即PD-1+）且主要具有效應記憶表現型之CD8+ T細胞。此等結果表明RNA疫苗產生持久的新抗原特異性免疫反應。

討論

【0465】 此實施例中呈現之結果顯示，以單藥療法形式或與阿特珠單抗組合投予RNA疫苗產生穩固的先天性免疫活化以及新抗原特異性免疫反應。此等結果與所提出之RNA疫苗作用機制一致，如**圖10A-圖10B**中所示，咸信其在藉由樹突狀細胞呈現新抗原之後，經由先天性免疫刺激（例如內源性TLR7/8促效作

用）以及藉由刺激新抗原特異性T細胞反應（例如CD4+及CD8+ T細胞反應）而起作用（參見例如Kranz等人(2016) Nature, 16;534(7607):396-401）。

實施例4：來自在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中作為單一藥劑之RNA疫苗之Ia期研究的額外結果。

【0466】 此實施例提供在實施例1-3中所述之患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中呈單藥療法形式之RNA疫苗之Ia期研究的額外安全性及功效結果。

【0467】 如**圖4**中所示，以介於25 μg至100 μg（25 μg、38 μg、50 μg、75 μg、及100 μg）範圍內的劑量向Ia期劑量遞增研究中之患者投予RNA疫苗。在初始治療（誘導期）期間，以數個21天週期投予RNA疫苗。在初始治療（誘導期）期間，RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天投予。在初始治療之後的維持期內，RNA疫苗係在第13週期之第1天，及此後每8個週期（亦即，此後每24週一次或此後每168天一次）投予，直至疾病進展。

患者個人屬性及疾病特徵

【0468】 如**表4**中所示，此研究中之患者之中值年齡為59歲且大部分患者為女性（65%）。55%患者之ECOG體能狀態為1且45%患者之ECOG體能狀態為0。最常見腫瘤類型為乳癌（HER2+或HR+）、前列腺癌、卵巢癌、骨肉瘤、子宮內膜癌、胃癌及軟組織肉瘤。患者已接受中值數目為5種之針對轉移性疾病之先前全身性療法，且32%之患者已接受用查核點抑制劑進行之先前治療。另外，90%之患者在<5%之腫瘤浸潤免疫細胞及腫瘤細胞中具有PD-L1表現，且10%之患者在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中具有PD-L1表現。

表4. 患者個人屬性及疾病特徵。

	劑量遞增（N = 31）
中值（範圍）年齡，歲	59（21 - 77）
女性，n（%）	20（65）
ECOG PS，n（%） 0 1	 14（45） 17（55）
最常見腫瘤類型，n（%） 乳癌（HER2+或HR+） 前列腺癌 卵巢癌 骨肉瘤 子宮內膜癌 胃癌 軟組織肉瘤	 6（19） 5（16） 4（13） 4（13） 2（7） 2（7） 2（7）
針對轉移性疾病之先前全身性療法的中值（範圍）數目，n	5（1 - 17）
先前查核點抑制劑，n（%）	10（32）
PD-L1（Ventana SP142），n（%） <5% IC及TC ≥5% IC或TC	 28（90） 3（10）
IC =腫瘤浸潤免疫細胞；TC =腫瘤細胞；ECOG PS =東部腫瘤協作組體能狀態；HER =人類表皮生長因子受體；HR =激素受體；PD-L1 =計劃性死亡-配位體1。	

暴露及處置

【0469】 如**表5**中所示，Ia期中所有患者之中值治療持續時間為43天。在治療期間，在100 μg RNA疫苗劑量下觀測到一個劑量限制性毒性（DLT）（3級細胞介素釋放症候群）。在以38 μg之劑量投予RNA疫苗的一名患者中出現RNA疫苗劑量減少。總體而言，29名患者已中止治療，12名由於交越至Ib期，11名由於疾病進展，且5名由於研究退出。研究中之八名患者在完成6週療法之前由於疾病進展而中止治療。

表5.在治療期間之患者暴露及處置。

	RNA疫苗IV劑量					
	25 μg（n = 13）	38 μg（n = 5）	50 μg（n = 4）	75 μg（n = 8）	100 μg（n = 1）	總計（N = 31）
DLT，n（%）	0	0	0	0	1（100）[a]	1（3）
RNA疫苗劑量減少，n（%）	0	1（20）	0	0	0	1（3）
中值（範圍）治療持續時間，天	43（1 - 123）	42（15 - 128）	40（15 - 254）	40（9 - 69）	56（56 - 56）	43（1 - 254）
繼續治療，n（%）	0	1（20）	1（25）	0	0	2（7）
中止研究治療，n（%）	13（100）	4（80）	3（75）	8（100）	1（100）	29（94）
治療中止之原因，n（%）						
疾病進展	4（31）	1（20）	1（25）	5（62）	1（100）	12（39）
交越[b]	5（38）	2（40）	2（50）	2（25）	0	11（35）
死亡	0	0	0	0	0	0
AE	0	0	0	0	0	0
個體退出	4（31）	1（20）	0	0	0	5（16）
其他	0	0	0	1（12）	0	1（3）
在完成6週療法之前由於疾病進展而中止治療，n（%）	4（31）	0	2（50）	2（25）	0	8（26）

[a] DLT事件為3級細胞介素釋放症候群（CTCAE v5.0）；[b] Ia期患者，其中疾病進展或臨床效益損失可交越至Ib期之組合療法；AE =不良事件；DLT =劑量限制性毒性。

安全性

【0470】 **圖11**提供在>10%患者中出現之最常見AE的概述。>10%患者中出現之最常見研究治療相關AE為全身性反應，包括輸注相關反應及細胞介素釋放症候群。>10%患者中出現之其他AE包括疲勞、腹瀉、嘔吐、噁心、肌痛、呼吸困難、脫水、肢端疼痛、食慾下降、便秘、及腹痛。惡性贅瘤進展之嚴重不良事件（SAE）報導於16%患者中（資料未示出）。

【0471】 大部分全身性反應在RNA疫苗輸注後約2-4小時內出現且在約1-2小時內消退。**表6**提供在≥5%患者中出現之全身性反應之個別病徵及症狀的概述。大部分低血壓及低氧事件為2級，除了具有3級低血壓及3級低氧之症狀的DLT事件以外。

表6.≥5%患者之全身性反應（CRS/IRR/ILI）的個別病徵及症狀。

	RNA疫苗劑量					
n（%）	25 μg（n = 13）	38 μg（n = 5）	50 μg（n = 4）	75 μg（n = 8）	100 μg（n = 1）	所有患者（N=31）
發冷	8（62）	4（80）	4（100）	8（100）	1（100）	25（81）
發熱	6（46）	2（40）	3（75）	5（63）	1（100）	17（55）
噁心	3（23）	2（40）	4（100）	3（38）	0	12（39）
頭痛	3（23）	1（20）	1（25）	1（13）	0	6（19）
嘔吐	3（23）	1（20）	1（25）	0	0	5（16）
低血壓	0	1（20）	0	2（25）	1（100）	4（13）
低氧	0	1（20）	0	1（13）	1（100）	3（10）
肌痛	2（15）	0	0	1（13）	0	3（10）
心搏過速	0	0	1（25）	2（25）	0	3（10）
頸痛	1（8）	1（20）	0	0	0	2（7）
竇性心搏過速	1（8）	1（20）	0	0	0	2（7）
震顫	0	1（20）	1（25）	0	0	2（7）
CRS =細胞介素釋放症候群（CTCAE v.5）；IRR =輸注相關反應；ILI =流感樣不適。						

【0472】 總體而言，安全性結果顯示RNA疫苗一般耐受性良好，其中治療

相關AE主要為短暫的全身性反應，其體現為低級細胞介素釋放症候群、輸注相關反應或流感樣症狀。全身性反應在門診情況下為短暫且一般可處理的。未達到最大耐受劑量（MTD）。

先天性免疫反應

【0473】 用呈單藥療法形式之RNA疫苗治療會在各RNA疫苗劑量下誘導血漿中量測之促炎性細胞介素的脈衝式釋放。舉例而言，如**圖12A-圖12B**中所示，以25 μg劑量投予RNA疫苗之患者在各RNA疫苗劑量之後展現IFNγ之脈衝式釋放。亦在以25 μg之劑量投予RNA疫苗之患者中觀測到IL-6及IFNα之脈衝式釋放的類似模式（**圖13**）。觀測到的RNA疫苗誘發之促炎性細胞介素之脈衝式釋放與RNA疫苗之所提出之先天性免疫促效劑活性一致。

新抗原特異性免疫反應

【0474】 藉由EliSpot分析（參見例如**圖6**）及MHC多聚體染色分析（參見例如圖8）在86%之所評估患者中偵測到離體新抗原特異性T細胞反應（**圖14A**）。患者之新抗原特異性反應之中值數目為2（1-5之範圍）（**圖14B**）。

【0475】 在用75 μg劑量之RNA疫苗治療之前列腺癌患者之腫瘤中藉由T細胞受體定序對T細胞受體之分析展示新抗原特異性T細胞僅在用RNA疫苗治療後存在於腫瘤中（**圖15**）。此等結果表明RNA疫苗誘導藉由RNA疫苗刺激之T細胞向腫瘤中之浸潤。

【0476】 使用完全定量肽MHC（pMHC）多聚體染色分析在周邊血液中隨時間推移分析在用38 μg劑量之RNA疫苗治療之前列腺癌患者中之新抗原特異性CD8+ T細胞反應（**圖8**）。如**圖16A**中所示，周邊血液中CD8+新抗原特異性T細胞隨時間增加，在第4週期，第1天達到4.7%。在第4週期，第1天對由新抗原特異性

CD8+ T細胞群體表現之標記的分析顯示，87.7%之細胞具有效應記憶T細胞表現型（Tem；**圖16B**），且99.6%之細胞為PD-1+（**圖16C**）。

【0477】 觀測到的RNA疫苗誘導之新抗原特異性免疫反應與RNA疫苗作為新抗原呈現刺激劑的所提出之功能一致。

臨床活性

【0478】 **圖17** 提供用呈單藥療法形式之RNA疫苗治療之患者中觀測到的臨床反應之概述及最長直徑總和（SLD）相對於基線之最佳變化百分比。用50 μg劑量之RNA疫苗治療之一名胃癌患者展現完全反應（CR）。此患者在投予RNA疫苗之前已接受3個先前療法系列（不包括查核點抑制劑）且已在持續RNA疫苗治療下追蹤1.5年。如**圖18**中所示，此患者在研究之第4週期，第1天展現藉由IFNγ EliSpot分析量測的針對抗原R4、R8、R9、R12及R15之新抗原特異性免疫反應。

討論

【0479】 此實施例中所述之結果顯示，在介於25 μg-100 μg範圍內的劑量下以單藥療法形式投予之RNA疫苗一般具有良好耐受性。治療期間之免疫監測顯示RNA疫苗在投予之各劑量下誘導促炎性細胞激素之脈衝式釋放、新抗原特異性T細胞免疫反應及經刺激T細胞向一名患者之腫瘤中之浸潤。另外，臨床功效結果顯示RNA疫苗在一名患者中產生完全反應。總體而言，此等結果與所提出的RNA疫苗作為先天性免疫反應及新抗原呈現之刺激劑的雙重作用機制一致（參見例如**圖10A-圖10B**）。

實施例5：來自RNA疫苗與阿特珠單抗之組合在患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中之Ib期研究的額外結果。

【0480】 此實施例提供在實施例1-3中所述之患有局部晚期或轉移性固態腫瘤之患者中，與阿特珠單抗組合投予之RNA疫苗之Ib期研究的額外安全性及功效結果。

【0481】 如**圖4**中所示，與1200 mg阿特珠單抗組合向Ib期研究中之患者投予15 μg、25 μg、38 μg、或50 μg劑量之RNA疫苗。Ib期研究包括RNA疫苗劑量之劑量遞增期及擴展期，其中向未曾用過指定查核點抑制劑或經歷指定查核點抑制劑之腫瘤類型之患者投予RNA疫苗與阿特珠單抗之組合。在初始治療（誘導期）期間，RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天投予。在初始治療之後的維持期內，RNA疫苗係在第13週期之第1天，及此後每8個週期（亦即，此後每24週一次或此後每168天一次）投予，直至疾病進展。阿特珠單抗係在第1-12週期中之每一者之第1天、第13週期之第1天、及此後每3週（亦即此後每21天）投予，直至疾病進展（參見**圖4**）。各週期為21天。

患者個人屬性及疾病特徵

【0482】 如**表7**中所示，在劑量遞增期內，患者之中值年齡為57.5歲且56.6%之患者為男性。50%患者之ECOG體能狀態為0且50%患者之ECOG體能狀態為1。劑量遞增期內之最常見腫瘤類型為結腸癌（30%）、直腸癌（16.7%）、腎細胞癌（10%）、及三陰性乳癌（10%）。針對轉移性疾病之先前全身性療法的中值數目為4（範圍：1-9），其中43.3%之患者已接受用查核點抑制劑進行之先前療法。80%之患者在<5%之腫瘤浸潤免疫細胞及腫瘤細胞中具有PD-L1表現，且16.7%之患者在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中具有PD-L1表現。

表7.劑量遞增期內之患者個人屬性及疾病特徵。

	劑量遞增
	總計 （n = 30）
中值年齡（範圍），歲	57.5（35 - 77）
男性，n（%）	17（56.6）
ECOG PS，n（%） 0 1	 15（50） 15（50）
最常見腫瘤類型，n（%） 結腸癌 NSCLC 黑色素瘤 直腸癌 RCC TNBC UC	 9（30.0） - 5（16.7） 3（10.0） 3（10.0） -
針對轉移性疾病之先前全身性療法的中值數目（範圍），n	4（1 - 9）
先前查核點抑制劑，n（%）	13（43.3）
PD-L1（Ventana SP142），n（%） < 5% IC及TC ≥ 5% IC或TC 缺失	 24（80.0） 5（16.7） 1（3.3）
NSCLC =非小細胞肺癌；RCC =腎細胞癌；TNBC =三陰性乳癌；UC =泌尿上皮癌；CPI =查核點抑制劑；IC =腫瘤浸潤免疫細胞；TC =腫瘤細胞。	

【0483】 如**表8**中所示，在擴增期內，先前用查核點抑制劑治療（經歷CPI）之患者的中值年齡為61.5歲，且未曾用過CPI之患者的中值年齡為57.5歲。59.5%之經歷CPI之患者及43.1%之未曾用過CPI之患者為男性。45.2%之經歷CPI之患者及52.8%之未曾用過CPI之患者的ECOG體能狀態為0，且54.8%之經歷CPI之患者及47.2%之未曾用過CPI之患者的ECOG體能狀態為1。經歷CPI之患者中之最常見

腫瘤類型為非小細胞肺癌（71.4%）及黑色素瘤（19%）。未曾用過CPI之患者中之最常見腫瘤類型為非小細胞肺癌（13.9%）、黑色素瘤（12.5%）、腎細胞癌（33.3%）、及泌尿上皮癌（13.9%）。經歷CPI之患者已接受中值為3種之針對轉移性疾病之先前全身性療法，而未曾用過CPI之患者已接受中值為2種之針對轉移性疾病之先前全身性療法。50%之經歷CPI之患者在<5%之腫瘤浸潤免疫細胞及腫瘤細胞中具有PD-L1表現，且28.6%之患者在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中具有PD-L1表現。75%之未曾用過CPI之患者在<5%之腫瘤浸潤免疫細胞及腫瘤細胞中具有PD-L1表現，且13.9%之患者在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中具有PD-L1表現。

表8.擴增期內之患者個人屬性及疾病特徵。

	擴增	
	經歷CPI （n = 42）	未曾用過CPI （n = 72）
中值年齡（範圍），歲	61.5（36 - 82）	57.5（29 - 79）
男性，n（%）	25（59.5）	31（43.1）
ECOG PS，n（%） 0 1	 19（45.2） 23（54.8）	 38（52.8） 34（47.2）
最常見腫瘤類型，n（%） 結腸癌 NSCLC 黑色素瘤 直腸癌 RCC TNBC UC	 - 30（71.4） 8（19.0） - - - -	 - 10（13.9） 9（12.5） - 9（12.5） 24（33.3） 10（13.9）
針對轉移性疾病之先前全身性療法的中值數目（範圍），n	3（1 - 10）	2（1 - 11）
先前查核點抑制劑，n（%）	42（100）	0
PD-L1（Ventana SP142），n（%） < 5% IC及TC	21（50.0）	54（75.0）

≥ 5% IC或TC 缺失	12（28.6） 9（21.4）	10（13.9） 8（11.1）
NSCLC =非小細胞肺癌；RCC =腎細胞癌；TNBC =三陰性乳癌；UC =泌尿上皮癌；CPI =查核點抑制劑；IC =腫瘤浸潤免疫細胞；TC =腫瘤細胞。		

暴露及處置

【0484】 **表9**提供Ib期研究中之患者之治療暴露及患者處置的概述。用RNA疫苗治療之中值持續時間為57天且用阿特珠單抗治療之中值持續時間為66天。出現總共6例RNA疫苗劑量減少及一例RNA疫苗中止。76.8%患者已中止研究治療且23.2%患者繼續治療。63.4%之RNA疫苗中止由於疾病進展而出現，3.5%由於死亡而出現，5.6%由於不良事件而出現，且1.4%由於個體退出。16.9%之患者在完成6週療法之前由於疾病進展而中止研究治療。

表9.患者暴露及處置。

	RNA疫苗IV劑量+阿特珠單抗1200mg IV q3w				
	15 μg（n = 27）	25 μg（n = 95）	38 μg（n = 11）	50 μg（n = 9）	總計（N=142）
DLT，n（%）	0	0	0	0	0
RNA疫苗劑量減少，n（%）	1 （3.7）	2（2.1）	1（9.1）	2（22.2）	6（4.2）
RNA疫苗之中值（範圍）治療持續時間，天	65（8-253）	57（1-400）	64（35-441）	36（1-253）	57（1-441）
阿特珠單抗之中值（範圍）治療持續時間，天	104（1-316）	64（1-462）	106（21-504）	22（1-296）	66（1 - 504）
繼續治療，n（%）	9（33.3）	22（23.2）	2（18.3）	0	33（23.2）
僅中止RNA疫苗，n（%）	0	1（1.1）[a]	0	0	1（0.7）
中止兩種研究治療，n（%）	18（66.7）	72（75.8）	9（81.8）	9（100）	109（76.8）

RNA疫苗中止之原因，n（%） 疾病進展 死亡[b] AE 個體退出 其他	15（55.6） 1（3.7） 0 1（3.7） 1（3.7）	61（64.2） 4（4.2） 5（5.3） 1（1.1） 2（2.1）	8（72.7） 0 1（9.1） 0 0	6（66.7） 0 2（22.2） 0 1（11.1）	90（63.4） 5（3.5） 8（5.6） 2（1.4） 4（2.8）
在完成6週療法之前由於疾病進展而中止治療，n（%）	2（7.4）	19（20.0）	1（9.1）	2（22.2）	24（16.9）

[a]患者與RNA疫苗同時中止阿特珠單抗。然而，阿特珠單抗中止資訊不可得。
[b]四例死亡係由於惡性贅瘤進展。一例死亡係由於惡性心包積液。死亡均與研究治療不相關。

安全性

【0485】 **圖19**提供在Ib期研究中在>10%患者中出現之最常見AE的概述。>10%患者中出現之治療相關不良事件主要為全身性反應，包括輸注相關反應、細胞介素釋放症候群、及流感樣不適。>10%患者中出現之其他AE包括疲勞、噁心、發熱、腹瀉、食慾下降、嘔吐、頭痛、咳嗽、呼吸困難、關節痛、便秘、及貧血。惡性贅瘤進展之嚴重不良事件報導於14%患者中（資料未示出）。相對於實施例1-4中所述之Ia期研究中以單藥療法形式投予RNA疫苗之患者，未觀測到免疫介導性不良事件的增加（資料未示出）。

【0486】 如**表10**中所示，全身性反應之中值發作時間對於投予15 μg劑量之RNA疫苗的患者為5.7小時，對於投予25 μg劑量之RNA疫苗的患者為4.0小時，對於投予38 μg劑量之RNA疫苗的患者為4.1小時，且對於投予50 μg劑量之RNA疫苗的患者為3.2小時。全身性反應在1.8小時或更少之中值時間內消退。

表10.全身性反應之發作及消退的中值時間。

RNA疫苗IV劑量+阿特珠單抗1200mg IV	中值（範圍）發作時間，小時（n = 70）	中值（範圍）消退時間，時間（n = 57）
15μg	5.7（1.1 - 11.8）	1.8（0.3 - 5.1）
25μg	4.0（0.7 - 9.7）	1.8（0.1 - 20.1）
38μg	4.1（2.1 - 6.1）	1.5（0.4 - 3.3）
50μg	3.2（2.4 - 5.9）	1.4（0.4 - 1.7）

【0487】 **表11**提供在≥5%患者中出現之全身性反應之個別病徵及症狀的概述。

表11.≥5名患者之全身性反應（CRS/IRR/ILI）的個別病徵及症狀。

RNA疫苗IV劑量+阿特珠單抗1200mg IV					
n（%）	15 μg（n = 27）	25 μg（n = 95）	38 μg（n = 11）	50 μg（n = 9）	所有患者（N = 142）
發熱	10（37.0）	60（63.2）	10（90.9）	6（66.7）	86（60.6）
發冷	11（40.7）	58（61.1）	8（72.7）	7（77.8）	84（59.2）
噁心	2（7.4）	14（14.7）	2（18.2）	2（22.2）	20（14.1）
心搏過速	1（3.7）	8（8.4）	2（18.2）	3（33.3）	14（9.9）
頭痛	3（11.1）	7（7.4）	2（18.2）	0	12（8.5）
嘔吐	1（3.7）	9（9.5）	2（18.2）	0	12（8.5）
高血壓	1（3.7）	5（5.3）	0	2（22.2）	8（5.6）
低血壓	3（11.1）	3（3.2）	1（9.1）	0	7（4.9）
肌痛	2（7.4）	4（4.2）	1（9.1）	0	7（4.9）
背痛	0	4（4.2）	1（9.1）	1（11.1）	6（4.2）
疲勞	1（3.7）	4（4.2）	0	0	5（3.5）
低氧	0	3（3.2）	1（9.1）	1（11.1）	5（3.5）
CRS =細胞介素釋放症候群（CTCAE v.5）；IRR =輸注相關反應；ILI =流感樣不適。					

【0488】 未觀測到劑量限制性毒性且未達到最大耐受劑量。另外，治療相關AE主要為體現為低級細胞介素釋放症候群（CRS）、輸注相關反應（IRR）、或流感樣症狀之全身性反應。總體而言，全身性反應在門診情況下為短暫、可逆、及可處理的。

先天性免疫反應

【0489】 在研究期間對血漿中之細胞介素之分析顯示投予RNA疫苗與阿特珠單抗之組合以與針對Ia期研究中之患者所觀測（例如如實施例4中所述）類似的方式誘導促炎性細胞介素之脈衝式釋放（資料未示出）。

新抗原特異性免疫反應

【0490】 藉由EliSpot分析（參見例如**圖6**）及MHC多聚體染色分析（參見例如**圖8**）在約73%之所評估患者（n=63）中偵測到離體新抗原特異性T細胞反應（**圖20**）。患者中之新抗原特異性反應之中值數目為2.6（1-9之範圍）。此外，在測試患者（n=14）中偵測到CD4+及CD8+ T細胞兩者（資料未示出）。

【0491】 在用1200 mg阿特珠單抗及38 μg劑量之RNA疫苗治療之直腸癌患者之腫瘤中藉由T細胞受體定序對T細胞受體之分析顯示新抗原特異性T細胞僅在用RNA疫苗治療後存在於腫瘤中（**圖21**）。此等結果表明RNA疫苗誘導藉由RNA疫苗刺激之T細胞向腫瘤中之浸潤。

【0492】 總體而言，此等結果顯示RNA疫苗與阿特珠單抗之組合在大部分經治療患者中誘導新抗原特異性T細胞反應。

臨床活性

【0493】 在**圖22**中提供在用RNA疫苗與阿特珠單抗之組合治療之患者中觀測到的臨床反應之概述。

【0494】 用38 μg劑量之RNA疫苗治療之一名直腸癌患者展現完全反應（CR）。此患者先前未用查核點抑制劑治療且在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中不具有PD-L1表現，如藉由SP142 Ventana分析所評估。

【0495】 用38 μg劑量之RNA疫苗治療之另一三陰性乳癌患者（在**圖22**中由方框指示）展現部分反應（PR）。此患者先前用查核點抑制劑治療（經歷CPI）且在≥5%之腫瘤浸潤免疫細胞或腫瘤細胞中具有PD-L1表現，如藉由SP142 Ventana分析所評估。如**圖23A-圖23B**中所示，在基線處，此患者具有若干與轉移性疾病相關之可見腫瘤塊且對於CD8+新抗原特異性T細胞呈陰性（0.01%；背景含量）。在第4週期，腫瘤尺寸減小且患者具有2.2% CD8+新抗原特異性T細胞。

適應症特異性擴增期內之臨床活性

【0496】 如實施例1中所述及如**圖4**中所示，Ib期研究包括適應症特異性擴增期，其中與阿特珠單抗（1200 mg）組合用15 μg或25 μg劑量之RNA疫苗治療具有特定腫瘤類型（未曾用過查核點抑制劑或經歷查核點抑制劑）之患者。Ib期研究之適應症特異性、未曾用過查核點抑制劑之擴增期中包括之患者的基線患者及疾病特徵之概述係提供於**表12**中。

表12.適應症特異性擴增期中之基線患者特徵。

群組	中值（範圍）先前療法，n	PD-L1表現，n（%）[a]		
		< 5%	≥ 5%	缺失
UC（n = 10）	1（1-3）	7（70）	3（30）	0
NSCLC（n = 10）	1.5（1-5）	8（100）	0	2
TNBC（n = 22）	3.5（1-11）	16（80）	4（20）	2
RCC（n = 9）	1（1-1）	7（77.7）	2（22.2）	0
黑色素瘤（n = 10）	1（1-2）	9（90.0）	0	1
所有患者均未曾用過查核點抑制劑；[a]藉由SP142 Ventana分析所分析之IC/TC上的PD-L1表現。UC =泌尿上皮癌；NSCLC =非小細胞肺癌；TNBC =三陰性乳癌；RCC =腎細胞癌。				

【0497】 **圖24A-圖24E**提供患有泌尿上皮癌（**圖24A**）、腎細胞癌（**圖24B**）、黑色素瘤（**圖24C**）、三陰性乳癌（**圖24D**）、及非小細胞肺癌（**圖24E**）之未曾用過查核點抑制劑之患者之最長直徑總和（SLD）及目標反應率（ORR）隨時間的變化。泌尿上皮癌患者之ORR為10%，腎細胞癌患者之ORR為22%，黑色素瘤患者之ORR為30%，三陰性乳癌患者之ORR為4%，且非小細胞肺癌患者之ORR為10%。

討論

【0498】 此實施例中所述之結果顯示，與阿特珠單抗組合投予之RNA疫苗一般具有良好耐受性。未觀測到劑量限制性毒性且未達到最大耐受劑量。治療期間之免疫監測顯示投予RNA疫苗與阿特珠單抗之組合誘導促炎性細胞介素釋放、大部分患者中之周邊T細胞反應及RNA疫苗誘導之T細胞向一名患者之腫瘤中之浸潤。另外，在一名患者中觀測到用RNA疫苗與阿特珠單抗之組合治療後之完全反應，且在若干具有各種腫瘤類型之患者中觀測到客觀反應。總體而言，此等結果與所提出的RNA疫苗作為先天性免疫反應及新抗原呈現之刺激劑的雙重作用機制一致（參見例如**圖10A-圖10B**）。

序列

所有多核苷酸序列均沿5'→3'方向描繪。所有多肽序列均沿N端至C端方向描繪。

抗PDL1抗體HVR-H1序列（SEQ ID NO:1）

GFTFSDSWIH

抗PDL1抗體HVR-H2序列（SEQ ID NO:2）

AWISPYGGSTYYADSVKG

抗PDL1抗體HVR-H3序列（SEQ ID NO:3）

RHWPGGFDY

抗PDL1抗體HVR-L1序列（SEQ ID NO:4）

RASQDVSTAVA

抗PDL1抗體HVR-L2序列（SEQ ID NO:5）

SASFLYS

抗PDL1抗體HVR-L3序列（SEQ ID NO:6）

QQYLYHPAT

抗PDL1抗體VH序列（SEQ ID NO:7）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS

抗PDL1抗體VL序列（SEQ ID NO:8）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASF
LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR

抗PDL1抗體重鏈序列（SEQ ID NO:9）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS

LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG

抗PDL1抗體輕鏈序列（SEQ ID NO:10）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

納武單抗重鏈序列（SEQ ID NO:11）

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY
DGSKRYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSLG

納武單抗輕鏈序列（SEQ ID NO:12）

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

派立珠單抗重鏈序列（SEQ ID NO:13）

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGG
INPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYW
GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP
APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK

PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

派立珠單抗輕鏈序列（SEQ ID NO:14）

EIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

阿維魯單抗重鏈序列（SEQ ID NO:15）

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYA
DTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPG

阿維魯單抗輕鏈序列（SEQ ID NO:16）

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVS
NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFP
PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLT
PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

德瓦魯單抗重鏈序列（SEQ ID NO:17）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKY
YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN

VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

德瓦魯單抗輕鏈序列（SEQ ID NO:18）

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFS
GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

全PCV RNA 5'恆定序列（SEQ ID NO:19）

GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAG
AGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGA
GACAUGGGCCGGAAGC

全PCV RNA 3'恆定序列（SEQ ID NO:20）

AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGU
GGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACA
GCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGU
AACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUA
CCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCAC
UCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAAC
GCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAA
CGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCAC
ACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU

全PCV Kozak RNA（SEQ ID NO:21）

GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC

全PCV Kozak DNA（SEQ ID NO:22）

GGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC

短Kozak RNA（SEQ ID NO:23）

UUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC

短Kozak DNA（SEQ ID NO:24）

TTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACC

sec RNA（SEQ ID NO:25）

AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUG
ACAGAGACAUGGGCCGGAAGC

sec DNA（SEQ ID NO:26）

ATGAGAGTGATGGCCCCCAGAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCCTGAC
AGAGACATGGGCCGGAAGC

sec蛋白（SEQ ID NO:27）

MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS

MITD RNA（SEQ ID NO:28）

AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGU
GGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACA
GCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCC

MITD DNA（SEQ ID NO:29）

ATCGTGGGAATTGTGGCAGGACTGGCAGTGCTGGCCGTGGTGGTGATCGGAGCCGTGG
TGGCTACCGTGATGTGCAGACGGAAGTCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCTACAGCCA
GGCCGCCAGCTCTGATAGCGCCCAGGGCAGCGACGTGTCACTGACAGCC

MITD蛋白（SEQ ID NO:30）

IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTA

全PCV FI RNA（SEQ ID NO:31）

CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACC
CCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUC
ACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGC
UUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACG
AAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACAC
CGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU

全PCV FI DNA（SEQ ID NO:32）

CTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTC
CCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCT
AGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCAC
ACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCT
ATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGTC
GCTAGCCGCGTCGCT

F元件RNA（SEQ ID NO:33）

CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGU
CUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCU
CUGCUAGUUCCAGACACCUCC

F元件DNA（SEQ ID NO:34）

CTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTCTC
CCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTGCT
AGTTCCAGACACCTCC

I元件RNA（SEQ ID NO:35）

CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAAC
AGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCA
GGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG

I元件DNA（SEQ ID NO:36）

CAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCACACCCCCACGGGAAACA
GCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGCTATACTAACCCCAGGGTT
GGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCG

連接RNA（SEQ ID NO:37）

GGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCCGGAGGC

連接DNA（SEQ ID NO:38）

GGCGGCTCTGGAGGAGGCGGCTCCGGAGGC

連接蛋白（SEQ ID NO:39）

GGSGGGGSGG

全PCV DNA 5'恆定序列（SEQ ID NO:40）

GGCGAACTAGTATTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCGCCACCATGAGAGT
GATGGCCCCCAGAACCCTGATCCTGCTGCTGTCTGGCGCCCTGGCCCTGACAGAGACAT
GGGCCGGAAGC

全PCV DNA 3'恆定序列（SEQ ID NO:41）

ATCGTGGGAATTGTGGCAGGACTGGCAGTGCTGGCCGTGGTGGTGATCGGAGCCGTGG
TGGCTACCGTGATGTGCAGACGGAAGTCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCTACAGCCA
GGCCGCCAGCTCTGATAGCGCCCAGGGCAGCGACGTGTCACTGACAGCCTAGTAACTCG
AGCTGGTACTGCATGCACGCAATGCTAGCTGCCCCTTTCCCGTCCTGGGTACCCCGAGTC
TCCCCCGACCTCGGGTCCCAGGTATGCTCCCACCTCCACCTGCCCCACTCACCACCTCTG
CTAGTTCCAGACACCTCCCAAGCACGCAGCAATGCAGCTCAAAACGCTTAGCCTAGCCA
CACCCCCACGGGAAACAGCAGTGATTAACCTTTAGCAATAAACGAAAGTTTAACTAAGC
TATACTAACCCCAGGGTTGGTCAATTTCGTGCCAGCCACACCGAGACCTGGTCCAGAGT
CGCTAGCCGCGTCGCT

全PCV RNA伴以來自帽之5' GG（SEQ ID NO: 42）

GGGGCGAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC
ACCAUGAGAG UGAUGGCCCC CAGAACCCUG AUCCUGCUGC UGUCUGGCGC
CCUGGCCCUG ACAGAGACAU GGGCCGGAAG **CNA**UCGUGGGA AUUGUGGCAG
GACUGGCAGU GCUGGCCGUG GUGGUGAUCG GAGCCGUGGU GGCUACCGUG
AUGUGCAGAC GGAAGUCCAG CGGAGGCAAG GGCGGCAGCU ACAGCCAGGC
CGCCAGCUCU GAUAGCGCCC AGGGCAGCGA CGUGUCACUG ACAGCCUAGU
AACUCGAGCU GGUACUGCAU GCACGCAAUG CUAGCUGCCC CUUUCCCGUC
CUGGGUACCC CGAGUCUCCC CCGACCUCGG GUCCCAGGUA UGCUCCCACC
UCCACCUGCC CCACUCACCA CCUCUGCUAG UUCCAGACAC CUCCCAAGCA
CGCAGCAAUG CAGCUCAAAA CGCUUAGCCU AGCCACACCC CCACGGGAAA
CAGCAGUGAU UAACCUUUAG CAAUAAACGA AAGUUUAACU AAGCUAUACU
AACCCCAGGG UUGGUCAAUU UCGUGCCAGC CACACCGAGA CCUGGUCCAG
AGUCGCUAGC CGCGUCGCUA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAA

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司(Genentech, Inc.)
德商拜恩技術股份公司(BioNTech SE)
瑞士商赫孚孟拉羅股份公司(F. Hoffmann-La Roche AG)

<120> 用PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗誘導新抗原決定基特異性T細胞之方法

<130> 14639-20501.41

<140> 尚未指定
<141> 與此同時

<150> US 63/041,707
<151> 2020-06-19

<150> US 62/968,818
<151> 2020-01-31

<160> 42

<170> 用於Windows之FastSEQ版本4.0

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 2
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3
Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr
 1   5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
 1   5   10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1   5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr
1 5

<210> 7
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 9
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 10
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 11
<211> 439
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
115 120 125
Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
130 135 140
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
180 185 190
Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205
Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220
Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

225 230 235 240
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255
Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285
Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
305 310 315 320
Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400
Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430
Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435

<210> 12
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 13
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

```
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445
```

<210> 14
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
```

```
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 15
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
```

130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly

<210> 16
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95
Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 17
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly
450

<210> 18
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser
            20   25   30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65   70   75   80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro
                85   90   95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100   105   110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115   120   125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130   135   140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145   150   155   160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165   170   175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180   185   190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195   200   205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210   215

<210> 19
<211> 129
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19
ggcgaacuag uauucuucug gucccacag acucagagag aacccgccac caugagagug 60

auggccccca gaacccugau ccugcugcug ucuggcgccc uggcccugac agagacaugg 120
gccggaagc 129

<210> 20
<211> 488
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20
aucgugggaa uuguggcagg acuggcagug cuggccgugg uggugaucgg agccguggug 60
gcuaccguga ugugcagacg gaaguccagc ggaggcaagg gcggcagcua cagccaggcc 120
gccagcucug auagcgccca gggcagcgac gugucacuga cagccuagua acucgagcug 180
guacugcaug cacgcaaugc uagcugcccc uuucccgucc uggguacccc gagucucccc 240
cgaccucggg ucccagguau gcucccaccu ccaccugccc cacucaccac cucugcuagu 300
uccagacacc ucccaagcac gcagcaaugc agcucaaaac gcuuagccua gccacacccc 360
cacgggaaac agcagugauu aaccuuuagc aauaaacgaa aguuuaacua agcuauacua 420
accccagggu uggucaauuu cgugccagcc acaccgagac cugguccaga gucgcuagcc 480
gcgucgcu 488

<210> 21
<211> 51
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21
ggcgaacuag uauucuucug gucccccacag acucagagag aacccgccac c 51

<210> 22
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22
ggcgaactag tattcttctg gtccccacag actcagagag aacccgccac c 51

<210> 23
<211> 39
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 23
uucuucuggu ccccacagac ucagagagaa cccgccacc 39

<210> 24
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24
ttcttctggt ccccacagac tcagagagaa cccgccacc 39

<210> 25
<211> 78
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25
augagaguga uggcccccag aacccugauc cugcugcugu cuggcgcccu ggcccugaca 60
gagacauggg ccggaagc 78

<210> 26
<211> 78
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26
atgagagtga tggcccccag aaccctgatc ctgctgctgt ctggcgccct ggccctgaca 60
gagacatggg ccggaagc 78

<210> 27
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27
Met Arg Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Ile Leu Leu Leu Ser Gly Ala

```
 1               5                  10                  15
Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser
            20                  25
```

<210> 28
<211> 165
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28
aucgugggaa uuguggcagg acuggcagug cuggccgugg uggugaucgg agccguggug 60
gcuaccguga ugugcagacg gaaguccagc ggaggcaagg gcggcagcua cagccaggcc 120
gccagcucug auagcgccca gggcagcgac gugucacuga cagcc 165

<210> 29
<211> 165
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29
atcgtgggaa ttgtggcagg actggcagtg ctggccgtgg tggtgatcgg agccgtggtg 60
gctaccgtga tgtgcagacg gaagtccagc ggaggcaagg gcggcagcta cagccaggcc 120
gccagctctg atagcgccca gggcagcgac gtgtcactga cagcc 165

<210> 30
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30
```
Ile Val Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Ala Val Val Val Ile
 1               5                  10                  15
Gly Ala Val Val Ala Thr Val Met Cys Arg Arg Lys Ser Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Ser Ser Asp Ser Ala Gln Gly
        35                  40                  45
Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala
    50                  55
```

<210> 31
<211> 317
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31
cucgagcugg uacugcaugc acgcaaugcu agcugccccu uucccguccu ggguaccccg 60
agucucccc gaccucgggu cccagguaug cucccaccuc caccugcccc acucaccacc 120
ucugcuaguu ccagacaccu cccaagcacg cagcaaugca gcucaaaacg cuuagccuag 180
ccacaccccc acgggaaaca gcagugauua accuuuagca auaaacgaaa guuuaacuaa 240
gcuauacuaa ccccaggguu ggucaauuuc gugccagcca caccgagacc ugguccagag 300
ucgcuagccg cgucgcu 317

<210> 32
<211> 311
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32
ctggtactgc atgcacgcaa tgctagctgc ccctttcccg tcctgggtac cccgagtctc 60
ccccgacctc gggtcccagg tatgctccca cctccacctg ccccactcac cacctctgct 120
agttccagac acctcccaag cacgcagcaa tgcagctcaa aacgcttagc ctagccacac 180
ccccacggga aacagcagtg attaaccttt agcaataaac gaaagtttaa ctaagctata 240
ctaaccccag ggttggtcaa tttcgtgcca gccacaccga gacctggtcc agagtcgcta 300
gccgcgtcgc t 311

<210> 33
<211> 136
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33
cugguacugc augcacgcaa ugcuagcugc cccuuucccg uccuggguac cccgagucuc 60
ccccgaccuc gggucccagg uaugcuccca ccuccaccug ccccacucac caccucugcu 120
aguuccagac accucc 136

<210> 34
<211> 136
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34
ctggtactgc atgcacgcaa tgctagctgc ccctttcccg tcctgggtac cccgagtctc 60
ccccgacctc gggtcccagg tatgctccca cctccacctg ccccactcac cacctctgct 120
agttccagac acctcc 136

<210> 35
<211> 143
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35
caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 60
agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg 120
ucaauuucgu gccagccaca ccg 143

<210> 36
<211> 143
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36
caagcacgca gcaatgcagc tcaaaacgct tagcctagcc acacccccac gggaaacagc 60
agtgattaac ctttagcaat aaacgaaagt ttaactaagc tatactaacc ccagggttgg 120
tcaatttcgt gccagccaca ccg 143

<210> 37
<211> 30
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37
ggcggcucug gaggaggcgg cuccggaggc 30

<210> 38
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38
ggcggctctg gaggaggcgg ctccggaggc 30

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 40
<211> 129
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 40
ggcgaactag tattcttctg gtccccacag actcagagag aacccgccac catgagagtg 60
atggccccca gaaccctgat cctgctgctg tctggcgccc tggccctgac agagacatgg 120
gccggaagc 129

<210> 41
<211> 488
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41
atcgtgggaa ttgtggcagg actggcagtg ctggccgtgg tggtgatcgg agccgtggtg 60
gctaccgtga tgtgcagacg gaagtccagc ggaggcaagg gcggcagcta cagccaggcc 120
gccagctctg atagcgccca gggcagcgac gtgtcactga cagcctagta actcgagctg 180
gtactgcatg cacgcaatgc tagctgcccc tttcccgtcc tgggtacccc gagtctcccc 240
cgacctcggg tcccaggtat gctcccacct ccacctgccc cactcaccac ctctgctagt 300
tccagacacc tcccaagcac gcagcaatgc agctcaaaac gcttagccta gccacacccc 360
cacgggaaac agcagtgatt aacctttagc aataaacgaa agtttaacta agctatacta 420
accccagggt tggtcaattt cgtgccagcc acaccgagac ctggtccaga gtcgctagcc 480
gcgtcgct 488

<210> 42
<211> 740
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> misc_特徵
<222> 1,2
<223> 前兩個G殘基之間的鍵爲非通常鍵(5'->5')-pp(s)p-，
例如在說明書之表1及圖3中所示

<220>
<221> misc_特徵
<222> 132
<223> n=A、T、C、G或U

<220>
<221> misc_特徵
<222> 132
<223> 以說明書中所定義之多核苷酸序列形式存在且可編碼如說明書
（例如圖1至圖2）中所定義之視需要由連接子分開之新抗原決定基

<400> 42
ggggcgaacu aguauucuuc uggucccccac agacucagag agaacccgcc accaugagag 60
ugauggcccc cagaacccug auccugcugc ugucuggcgc ccuggcccug acagagacau 120
gggccggaag cnaucguggg aauuguggca ggacuggcag ugcuggccgu gguggugauc 180
ggagccgugg uggcuaccgu gaugugcaga cggaagucca gcggaggcaa gggcggcagc 240
uacagccagg ccgccagcuc ugauagcgcc cagggcagcg acgugucacu gacagccuag 300
uaacucgagc ugguacugca ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc 360
ccgagucucc cccgaccucg ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc 420
accucugcua guuccagaca ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc 480
uagccacacc cccacgggaa acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac 540
uaagcuauac uaaccccagg guuggucaau uucgugccag ccacaccgag accuggucca 600
gagucgcuag ccgcgucgcu aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 740

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞的方法，其包含向該個體投予有效量的RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中該周邊血液樣品包含約5%或約6%對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的CD8+ T細胞。

【請求項3】

如請求項1或請求項2之方法，其中該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞係藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析，在該周邊血液樣品中偵測。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之方法，其中向該個體投予該RNA疫苗使得相比於投予該RNA疫苗之前，在該個體之該周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+ T細胞，其中該等新抗原決定基特異性CD4+ T細胞對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中

之至少一者具有特異性。

【請求項5】

如請求項4之方法，其中該等新抗原決定基特異性CD4+ T細胞係藉由離體ELISPOT分析，在獲自該個體之周邊血液樣品中偵測。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之方法，其中向複數個個體投予該RNA疫苗使得相比於投予該RNA疫苗之前，在該複數個個體中之至少約70%個體之該周邊血液中誘導新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞，其中該等新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性，且其中該新抗原決定基特異性CD4+或CD8+ T細胞之誘導係藉由離體ELISPOT或MHC多聚體分析來評估。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之方法，其中向該個體投予該RNA疫苗使得相比於投予該RNA疫苗之前的一種或多種發炎性細胞介素之含量，該個體之該周邊血液中之該一種或多種發炎性細胞介素之含量提高。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中該一種或多種發炎性細胞介素之含量的提高係在投予該RNA疫苗之後約4至約6小時之間存在於該個體之該周邊血液中。

【請求項9】

如請求項7或請求項8之方法，其中該一種或多種發炎性細胞介素係選自由IFNγ、IFNα、IL-12、及IL-6組成之群。

【請求項10】

一種在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法，其包含向該個體投予有效量的RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後運輸至該腫瘤之該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之方法，其中該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞具有記憶表現型。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中具有記憶表現型之該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為效應記憶T細胞（T_{em}）。

【請求項13】

如請求項12之方法，其中該等效應記憶T細胞（T_{em}）為CD45RO陽性及CCR7陰性。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之方法，其中該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞為PD-1+。

【請求項15】

如請求項1至14中任一項之方法，其中該個體患有具有低至中等突變負荷之腫瘤。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該個體具有低腫瘤負荷。

【請求項17】

如請求項1至16中任一項之方法，其中該腫瘤具有低或陰性PD-L1表現。

【請求項18】

如請求項17之方法，其中獲自該腫瘤之樣品中小於5%之腫瘤細胞表現PD-L1。

【請求項19】

如請求項17之方法，其中獲自該腫瘤之樣品中小於5%之免疫細胞表現PD-L1。

【請求項20】

如請求項18或請求項19之方法，其中獲自該腫瘤之樣品中表現PD-L1之腫瘤細胞或免疫細胞的百分比係使用免疫組織化學來確定。

【請求項21】

如請求項1至20中任一項之方法，其中投予該RNA疫苗在該個體中產生完全反應（CR）或部分反應（PR）。

【請求項22】

如請求項1至21中任一項之方法，其中該個體具有局部晚期或轉移性固態腫瘤或具有一次或多次轉移性復發。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之方法，其中該腫瘤為非小細胞肺（NSCLC）、膀胱、腎、頭頸部、肉瘤、乳房、黑色素瘤、前列腺、卵

巢、胃、肝臟、泌尿上皮、結腸、腎、子宮頸、梅克爾細胞（MCC）、子宮內膜、軟組織肉瘤、食道、食道胃交界部、骨肉瘤、甲狀腺、或結直腸腫瘤。

【請求項24】

如請求項23之方法，其中該乳房腫瘤為三陰性乳房（TNBC）腫瘤。

【請求項25】

如請求項23之方法，其中該腫瘤為泌尿上皮腫瘤，且其中向複數個個體投予該RNA疫苗在該複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。

【請求項26】

如請求項23之方法，其中該腫瘤為腎腫瘤，且其中向複數個個體投予該RNA疫苗在該複數個個體中之至少約22%個體中產生客觀反應。

【請求項27】

如請求項23之方法，其中該腫瘤為黑色素瘤，且其中向複數個個體投予該RNA疫苗在該複數個個體中之至少約30%個體中產生客觀反應。

【請求項28】

如請求項24之方法，其中該腫瘤為TNBC腫瘤，且其中向複數個個體投予該RNA疫苗在該複數個個體中之至少約4%個體中產生客觀反應。

【請求項29】

如請求項23之方法，其中該腫瘤為NSCLC腫瘤，且其中向複數個

個體投予該RNA疫苗在該複數個個體中之至少約10%個體中產生客觀反應。

【請求項30】

如請求項1至29中任一項之方法，其中在投予該RNA疫苗之前，該個體已用一種或多種癌症療法或3種至5種癌症療法進行治療。

【請求項31】

如請求項1至29中任一項之方法，其中在投予該RNA疫苗之前，該個體已用約1種至約17種或約1種至約9種先前全身性癌症療法進行治療。

【請求項32】

如請求項1至31中任一項之方法，其中在投予該RNA疫苗之前，該個體已用查核點抑制劑療法進行治療。

【請求項33】

如請求項1至31中任一項之方法，其中在投予該RNA疫苗之前，該個體尚未用查核點抑制劑療法進行治療。

【請求項34】

如請求項1至33中任一項之方法，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼10-20個新抗原決定基之多核苷酸，該等新抗原決定基由該腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生。

【請求項35】

如請求項1至34中任一項之方法，其中該RNA疫苗係在脂複合體(lipoplex)奈米粒子或脂質體中調配。

【請求項36】

如請求項35之方法，其中該脂複合體奈米粒子或脂質體包含一種或多種形成囊封該RNA疫苗之RNA之多層結構的脂質。

【請求項37】

如請求項36之方法，其中該一種或多種脂質包含至少一種陽離子脂質及至少一種輔助脂質。

【請求項38】

如請求項36之方法，其中該一種或多種脂質包含(R)-N,N,N-三甲基-2,3-二油醯基氧基-1-氯化丙胺鎓（DOTMA）及1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（DOPE）。

【請求項39】

如請求項38之方法，其中在生理pH值下，該脂質體之正電荷與負電荷之總電荷比為1.3:2（0.65）。

【請求項40】

如請求項1至39中任一項之方法，其中該RNA疫苗係以約15 μg、約25 μg、約38 μg、約50 μg、約75 μg、或約100 μg之劑量向該個體投予。

【請求項41】

如請求項1至40中任一項之方法，其中該RNA疫苗係靜脈內投予至該個體。

【請求項42】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係以7天或1週之時間間隔向該個體投予。

【請求項43】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係以14天或2週之時間間隔向該個體投予。

【請求項44】

如請求項42或請求項43之方法，其中該RNA疫苗係以持續12週或84天向該個體投予。

【請求項45】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係以數個21天週期向該個體投予，其中該RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向該個體投予。

【請求項46】

如請求項45之方法，其進一步包含在第13週期之第1天及此後每24週或168天投予該RNA疫苗。

【請求項47】

如請求項46之方法，其中繼續投予該RNA疫苗直至該個體出現疾病進展。

【請求項48】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係在誘導期及該誘導期之後的維持期向該個體投予，其中該RNA疫苗係在該誘導期內以1週或2週之時間間隔向該個體投予，且其中該RNA疫苗係在該維持期內以24週之時間間隔向該個體投予。

【請求項49】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係在誘導期及

該誘導期之後的維持期向該個體投予，其中該RNA疫苗係在該誘導期內以7天或14天之時間間隔向該個體投予，且其中該RNA疫苗係在該維持期內以168天之時間間隔向該個體投予。

【請求項50】

如請求項1至41中任一項之方法，其中該RNA疫苗係在誘導期及該誘導期之後的維持期向該個體投予，其中該RNA疫苗係以數個21天週期向該個體投予；

其中在該誘導期內，該RNA疫苗係在第1週期之第1、8及15天；第2週期之第1、8及15天；第3週期之第1及15天；及第7週期之第1天向該個體投予；且

其中在該維持期內，該RNA疫苗係在第13週期之第1天及此後每24週或168天一次向該個體投予。

【請求項51】

如請求項48或請求項49之方法，其中該誘導期包含至多9次投予該RNA疫苗。

【請求項52】

如請求項48至51中任一項之方法，其中該維持期持續至該個體出現疾病進展。

【請求項53】

如請求項1至52中任一項之方法，其中該RNA疫苗包含RNA分子，其沿5'→3'方向包含：

(1) 5'帽；

(2) 5'非轉譯區（UTR）；

(3)編碼分泌信號肽之多核苷酸序列；

(4)編碼由該腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生之該一個或多個新抗原決定基的多核苷酸序列；

(5)編碼主要組織相容性複合體（MHC）分子之跨膜域及細胞質域之至少一部分的多核苷酸序列；

(6)包含以下者之3' UTR：

(a)胺基端斷裂強化子（AES）mRNA之3'非轉譯區或其片段；及

(b)粒線體編碼之12S RNA之非編碼RNA或其片段；及

(7)多(A)序列。

【請求項54】

如請求項53之方法，其中該RNA分子進一步包含編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列；其中編碼該胺基酸連接子之該等多核苷酸序列及該一個或多個新抗原決定基中之第一新抗原決定基形成第一連接子-新抗原決定基模組；且其中形成該第一連接子-新抗原決定基模組之該等多核苷酸序列在以下者之間：編碼該分泌信號肽之該多核苷酸序列與編碼該MHC分子之該跨膜域及細胞質域之該至少一部分的該多核苷酸序列，沿5'→3'方向。

【請求項55】

如請求項54之方法，其中該胺基酸連接子包含序列GGSGGGGSGG（SEQ ID NO:39）。

【請求項56】

如請求項54之方法，其中編碼該胺基酸連接子之該多核苷酸序列

包含序列GGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCCGGAGGC（SEQ ID NO:37）。

【請求項57】

如請求項54至56中任一項之方法，其中該RNA分子沿5'→3'方向進一步包含：至少第二連接子-抗原決定基模組，其中該至少第二連接子-抗原決定基模組包含編碼胺基酸連接子之多核苷酸序列及編碼新抗原決定基之多核苷酸序列；其中形成該第二連接子-新抗原決定基模組之該等多核苷酸序列在以下者之間：編碼該第一連接子-新抗原決定基模組之該新抗原決定基之該多核苷酸序列與編碼該MHC分子之該跨膜域及細胞質域之該至少一部分的該多核苷酸序列，沿5'→3'方向；且其中該第一連接子-抗原決定基模組之該新抗原決定基不同於該第二連接子-抗原決定基模組之該新抗原決定基。

【請求項58】

如請求項57之方法，其中該RNA分子包含5個連接子-抗原決定基模組，且其中該5個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。

【請求項59】

如請求項57之方法，其中該RNA分子包含10個連接子-抗原決定基模組，且其中該10個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決定基。

【請求項60】

如請求項57之方法，其中該RNA分子包含20個連接子-抗原決定基模組，且其中該20個連接子-抗原決定基模組各自編碼不同的新抗原決

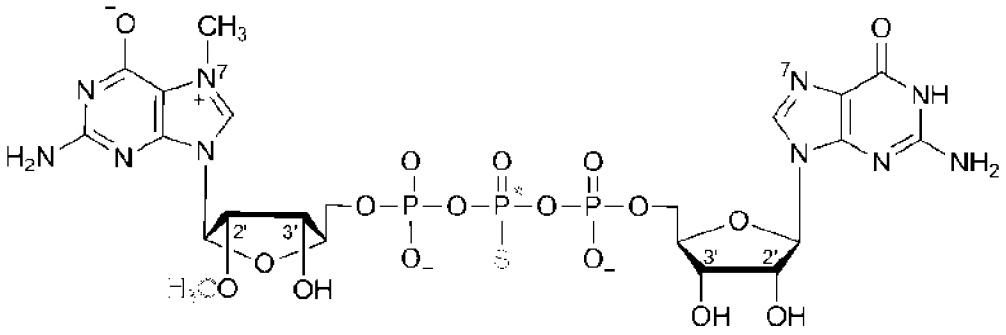
定基。

【請求項61】

如請求項53至60中任一項之方法，其中該RNA分子進一步包含編碼胺基酸連接子之第二多核苷酸序列，其中編碼該胺基酸連接子之該第二多核苷酸序列在以下者之間：按3'方向在最遠處的編碼該新抗原決定基的該多核苷酸序列與編碼該MHC分子之該跨膜域及細胞質域之該至少一部分的該多核苷酸序列。

【請求項62】

如請求項53至61中任一項之方法，其中該5'帽包含以下結構之D1非鏡像異構物：



。

【請求項63】

如請求項53至62中任一項之方法，其中該5' UTR包含序列UUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:23）。

【請求項64】

如請求項53至62中任一項之方法，其中該5' UTR包含序列GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC（SEQ ID NO:21）。

【請求項65】

如請求項53至64中任一項之方法，其中該分泌信號肽包含胺基酸序列MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS（SEQ ID NO:27）。

【請求項66】

如請求項53至64中任一項之方法，其中編碼該分泌信號肽之該多核苷酸序列包含序列AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC（SEQ ID NO:25）。

【請求項67】

如請求項53至66中任一項之方法，其中該MHC分子之該跨膜域及細胞質域之該至少一部分包含胺基酸序列IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTA（SEQ ID NO:30）。

【請求項68】

如請求項53至66中任一項之方法，其中編碼該MHC分子之該跨膜域及細胞質域之該至少一部分的該多核苷酸序列包含序列AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCC（SEQ ID NO:28）。

【請求項69】

如請求項53至68中任一項之方法，其中該AES mRNA之該3'非轉

譯區包含序列CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCC（SEQ ID NO:33）。

【請求項70】

如請求項53至69中任一項之方法，其中該粒線體編碼之12S RNA之該非編碼RNA包含序列CAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCG（SEQ ID NO:35）。

【請求項71】

如請求項53至70中任一項之方法，其中該3' UTR包含序列CUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU（SEQ ID NO:31）。

【請求項72】

如請求項53至71中任一項之方法，其中該多(A)序列包含120個腺嘌呤核苷酸。

【請求項73】

如請求項1至52中任一項之方法，其中該RNA疫苗包含RNA分子，其沿5'→3'方向包含：

多核苷酸序列

GGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGA
ACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCC
UGCUGCUGUCUGGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUGGGCC
GGAAGC（SEQ ID NO:19）；

編碼由該腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生之該一個或多個新抗原決定基的多核苷酸序列；及

多核苷酸序列

AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGG
UGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACG
GAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCG
CCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACA
GCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAG
CUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGAC
CUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUC
ACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCA
AUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGA
AACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAA

CUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAG
CCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCU
（SEQ ID NO:20）。

【請求項74】

如請求項1至73中任一項之方法，其進一步包含向該個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【請求項75】

如請求項74之方法，其中該PD-1軸結合拮抗劑為PD-1結合拮抗劑。

【請求項76】

如請求項75之方法，其中該PD-1結合拮抗劑為抗PD-1抗體。

【請求項77】

如請求項76之方法，其中該抗PD-1抗體為納武單抗（nivolumab）或派立珠單抗（pembrolizumab）。

【請求項78】

如請求項74之方法，其中該PD-1軸結合拮抗劑為PD-L1結合拮抗劑。

【請求項79】

如請求項78之方法，其中該PD-L1結合拮抗劑為抗PD-L1抗體。

【請求項80】

如請求項79之方法，其中該抗PD-L1抗體為阿維魯單抗（avelumab）或德瓦魯單抗（durvalumab）。

【請求項81】

如請求項79之方法，其中該抗PD-L1抗體包含：

(a)重鏈可變區（VH），其含有包含胺基酸序列GFTFSDSWIH（SEQ ID NO:1）之HVR-H1、包含胺基酸序列AWISPYGGSTYYADSVKG（SEQ ID NO:2）之HVR-2、及包含胺基酸RHWPGGFDY（SEQ ID NO:3）之HVR-3，及

(b)輕鏈可變區（VL），其含有包含胺基酸序列RASQDVSTAVA（SEQ ID NO:4）之HVR-L1、包含胺基酸序列SASFLYS（SEQ ID NO:5）之HVR-L2、及包含胺基酸序列QQYLYHPAT（SEQ ID NO:6）之HVR-L3。

【請求項82】

如請求項79之方法，其中該抗PD-L1抗體含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:7之重鏈可變區（V_H）及包含胺基酸序列SEQ ID NO:8之輕鏈可變區（V_L）。

【請求項83】

如請求項79之方法，其中該抗PD-L1抗體為阿特珠單抗（atezolizumab）。

【請求項84】

如請求項74至83中任一項之方法，其中該PD-1軸結合拮抗劑係靜脈內投予至該個體。

【請求項85】

如請求項79至84中任一項之方法，其中該抗PD-L1抗體係以約1200 mg之劑量向該個體投予。

【請求項86】

如請求項74至85中任一項之方法，其中該PD-1軸結合拮抗劑係以21天或3週之時間間隔向該個體投予。

【請求項87】

如請求項83至86中任一項之方法，其中該阿特珠單抗係以數個21天週期向該個體投予，其中阿特珠單抗係在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予。

【請求項88】

如請求項87之方法，其進一步包含在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予阿特珠單抗。

【請求項89】

如請求項88之方法，其中繼續投予阿特珠單抗直至該個體出現疾病進展。

【請求項90】

如請求項83至86中任一項之方法，其中該阿特珠單抗係在誘導期內及在該誘導期之後的維持期內以數個21天週期向該個體投予；

其中在該誘導期內，阿特珠單抗係在第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11及12週期中之每一者之第1天投予；且

其中在該誘導期之後的該維持期內，阿特珠單抗係在第13週期之第1天及此後每3週或21天投予。

【請求項91】

如請求項90之方法，其中該維持期持續至該個體出現疾病進展。

【請求項92】

如請求項1至91中任一項之方法，其中該個體為人。

【請求項93】

一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包含向該個體投予有效量的該RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【請求項94】

一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的RNA疫苗，該方法包含向該個體投予有效量的該RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後運輸至該腫瘤之該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【請求項95】

如請求項93或請求項94所使用之RNA疫苗，其中該方法進一步包含向該個體投予PD-1軸結合拮抗劑。

【請求項96】

一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T

細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包含向該個體投予有效量的該PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該PD-1軸結合拮抗劑及該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品中約1%至約6%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【請求項97】

一種用於在個體中誘導將新抗原決定基特異性CD8+ T細胞運輸至腫瘤之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包含向該個體投予有效量的該PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該PD-1軸結合拮抗劑及該RNA疫苗之後運輸至該腫瘤之該等新抗原決定基特異性CD8+ T細胞對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性。

【請求項98】

一種在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞的方法，其包含向該個體投予有效量的RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品

中至少約1%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【請求項99】

一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的RNA疫苗，該方法包含向該個體投予有效量的該RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【請求項100】

一種用於在患有腫瘤之個體中誘導新抗原決定基特異性CD8+ T細胞之方法的PD-1軸結合拮抗劑，該方法包含向該個體投予有效量的該PD-1軸結合拮抗劑及RNA疫苗，其中該RNA疫苗包含一個或多個編碼一個或多個新抗原決定基之多核苷酸，該一個或多個新抗原決定基由獲自該個體之腫瘤標本中存在之癌症特異性體細胞突變產生，且其中在投予該PD-1軸結合拮抗劑及該RNA疫苗之後獲自該個體之周邊血液樣品中至少約1%之CD8+ T細胞為對由該RNA疫苗之該一個或多個多核苷酸編碼之該等新抗原決定基中之至少一者具有特異性的新抗原決定基特異性CD8+ T細胞。

【發明圖式】

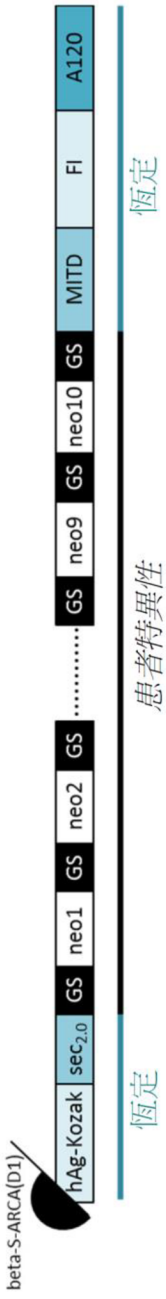

beta-S-ARCA(D1)
hAg-Kozak
sec2.0
GS
neo1
GS
neo2
GS
GS
neo9
GS
neo10
GS
MITD
FI
A120
恆定
患者特異性
恆定

圖1

GGGGCGAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC 50

ACCAUGAGAG UGAUGGCCCC CAGAACCCUG AUCCUGCUGC UGUCUGGCGC 100

CCUGGCCCUG ACAGAGACAU GGGCCGGAAG cNAUCGUGGGA AUUGUGGCAG 150

GACUGGCAGU GCUGGCCGUG GUGGUGAUCG GAGCCGUGGU GGCUACCGUG 200

AUGUGCAGAC GGAAGUCCAG CGGAGGCAAG GGCGGCAGCU ACAGCCAGGC 250

CGCCAGCUCU GAUAGCGCCC AGGGCAGCGA CGUGUCACUG ACAGCCUAGU 300

AACUCGAGCU GGUACUGCAU GCACGCAAUG CUAGCUGCCC CUUUCCCGUC 350

CUGGGUACCC CGAGUCUCCC CCGACCUCGG GUCCCAGGUA UGCUCCCACC 400

UCCACCUGCC CCACUCACCA CCUCUGCUAG UUCCAGACAC CUCCCAAGCA 450

CGCAGCAAUG CAGCUCAAAA CGCUUAGCCU AGCCACACCC CCACGGGAAA 500

CAGCAGUGAU UAACCUUUAG CAAUAAACGA AAGUUUAACU AAGCUAUACU 550

AACCCCAGGG UUGGUCAAUU UCGUGCCAGC CACACCGAGA CCUGGUCCAG 600

AGUCGCUAGC CGCGUCGCUA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 650

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 700

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 739

圖2

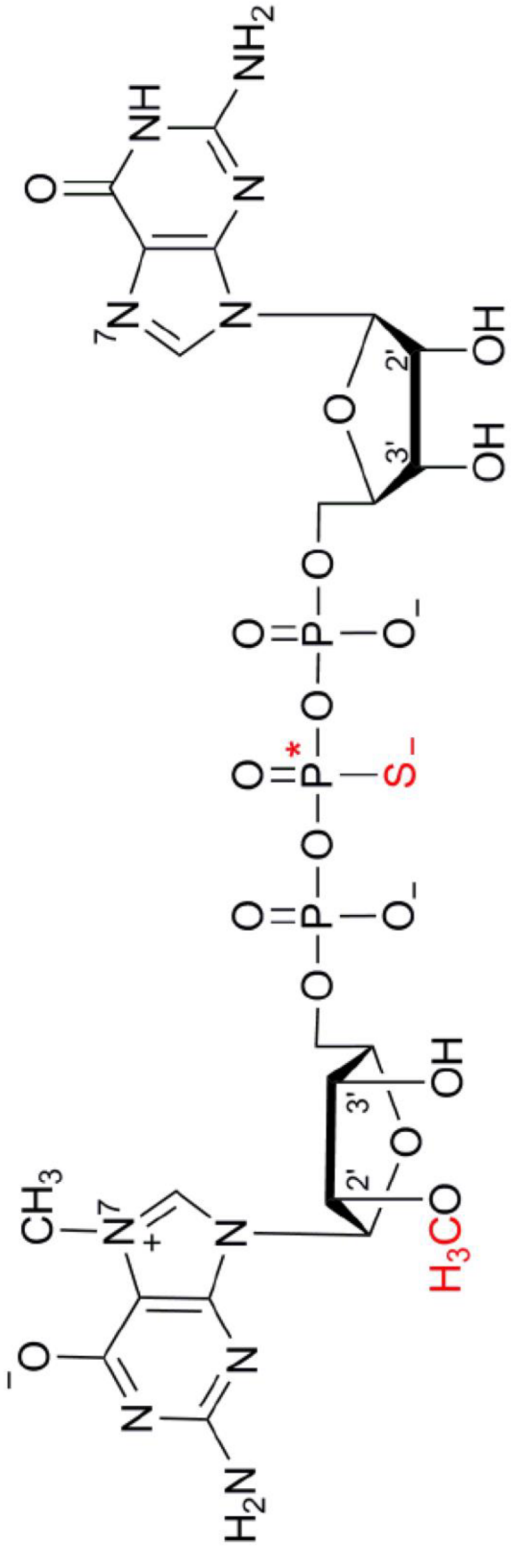


圖3

RNA疫苗IV + 阿特珠單抗1200 mg IV q3w
適應症特異性擴增
1a期
劑量遞增
RNA疫苗100 µg
RNA疫苗75 µg
RNA疫苗50 µg
RNA疫苗38 µg
RNA疫苗25 µg
1b期
劑量遞增
RNA疫苗50 µg + 阿特珠單抗1200 mg
RNA疫苗38 µg + 阿特珠單抗1200 mg
RNA疫苗25 µg + 阿特珠單抗1200 mg
經歷查核點抑制劑
非小細胞肺癌
黑色素瘤
未經查核點抑制劑治療
黑色素瘤
非小細胞肺
三陰性乳癌
腎細胞癌
泌尿上皮癌
連續生檢（選擇固態腫瘤）
1a期
1b期
治療週期
初步治療
維持
RNA疫苗
阿特珠單抗
1200 mg
RNA疫苗每8個週期直至PD
阿特珠單抗每3週直至PD
C1
C2
C3
C4
C5
C6
C7
C13
1個週期=21天

圖4

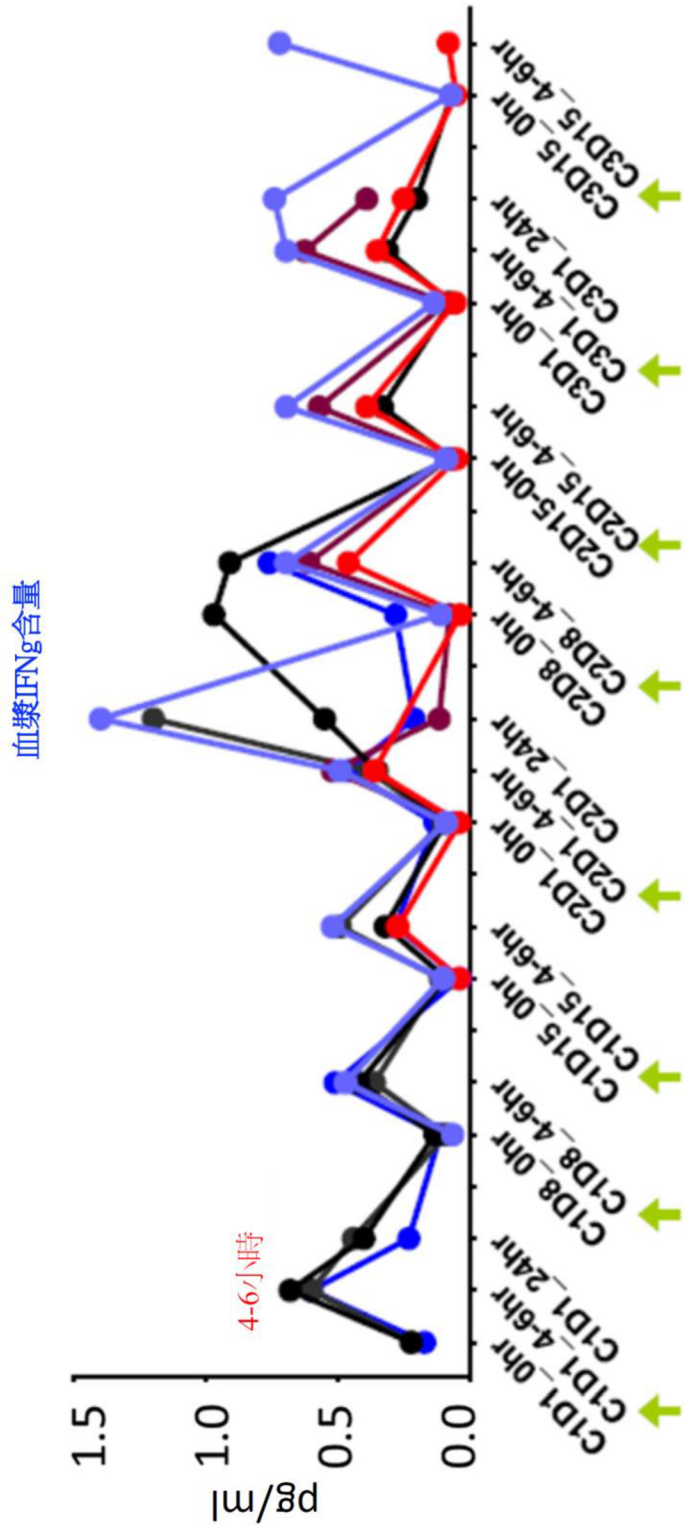

血漿IFNg含量
pg/ml
1.5
1.0
0.5
0.0
4-6小時
C1D1_0hr
C1D1_4-6hr
C1D1_24hr
C1D8_0hr
C1D8_4-6hr
C1D15_0hr
C1D15_4-6hr
C2D1_0hr
C2D1_4-6hr
C2D1_24hr
C2D8_0hr
C2D8_4-6hr
C2D15-0hr
C2D15_4-6hr
C3D1_0hr
C3D1_4-6hr
C3D1_24hr
C3D15_0hr
C3D15_4-6hr
RNA疫苗

圖5A

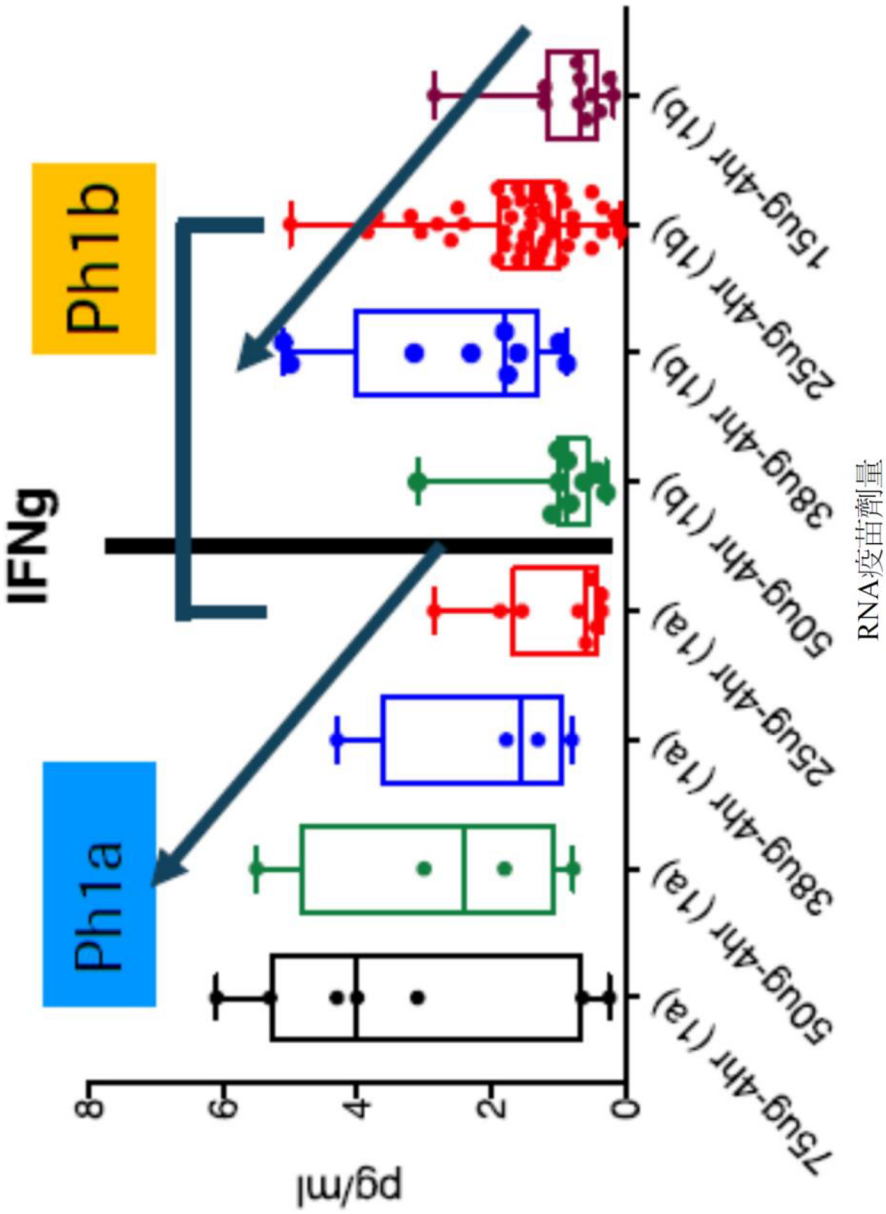

IFNg
Ph1b
Ph1a
pg/ml
0
2
4
6
8
75ug-4hr (1a)
50ug-4hr (1a)
38ug-4hr (1a)
25ug-4hr (1a)
50ug-4hr (1b)
38ug-4hr (1b)
25ug-4hr (1b)
15ug-4hr (1b)
RNA疫苗劑量

圖5B

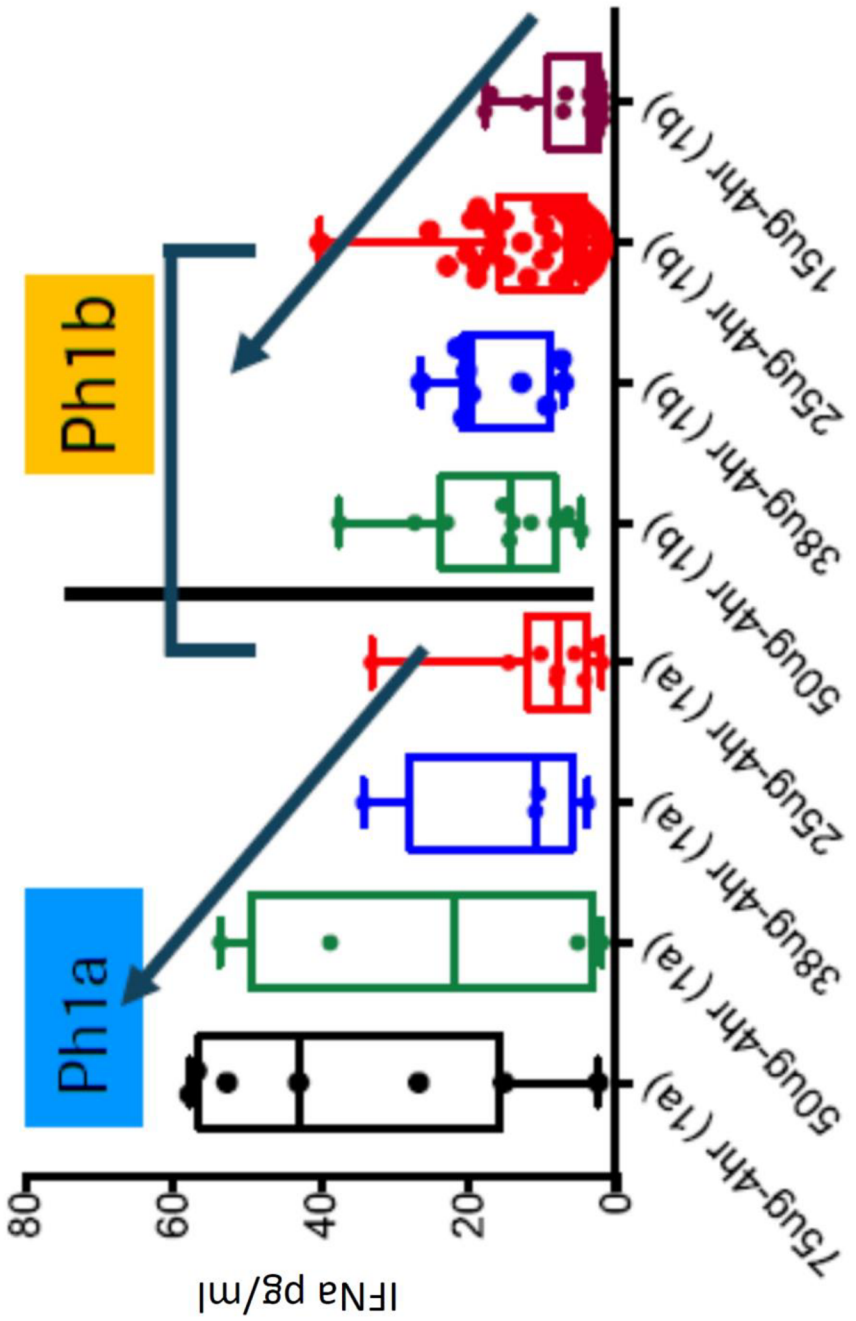

Ph1b
Ph1a
IFNa pg/ml
0
20
40
60
80
75ug-4hr (1a)
50ug-4hr (1a)
38ug-4hr (1a)
25ug-4hr (1a)
50ug-4hr (1b)
38ug-4hr (1b)
25ug-4hr (1b)
15ug-4hr (1b)

圖5C

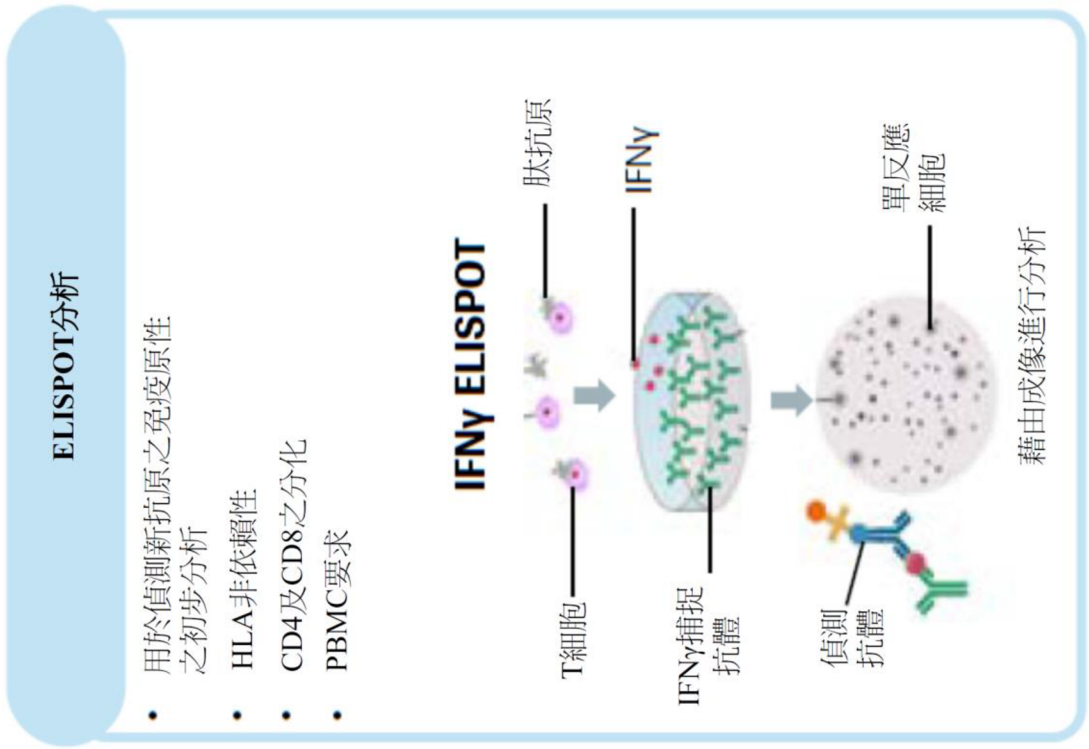

ELISPOT分析
用於偵測新抗原之免疫原性之初步分析
HLA非依賴性
CD4及CD8之分化
PBMC要求
IFNγ ELISPOT
肽抗原
IFNγ
T細胞
IFNγ捕捉抗體
偵測抗體
單反應細胞
藉由成像進行分析

圖6

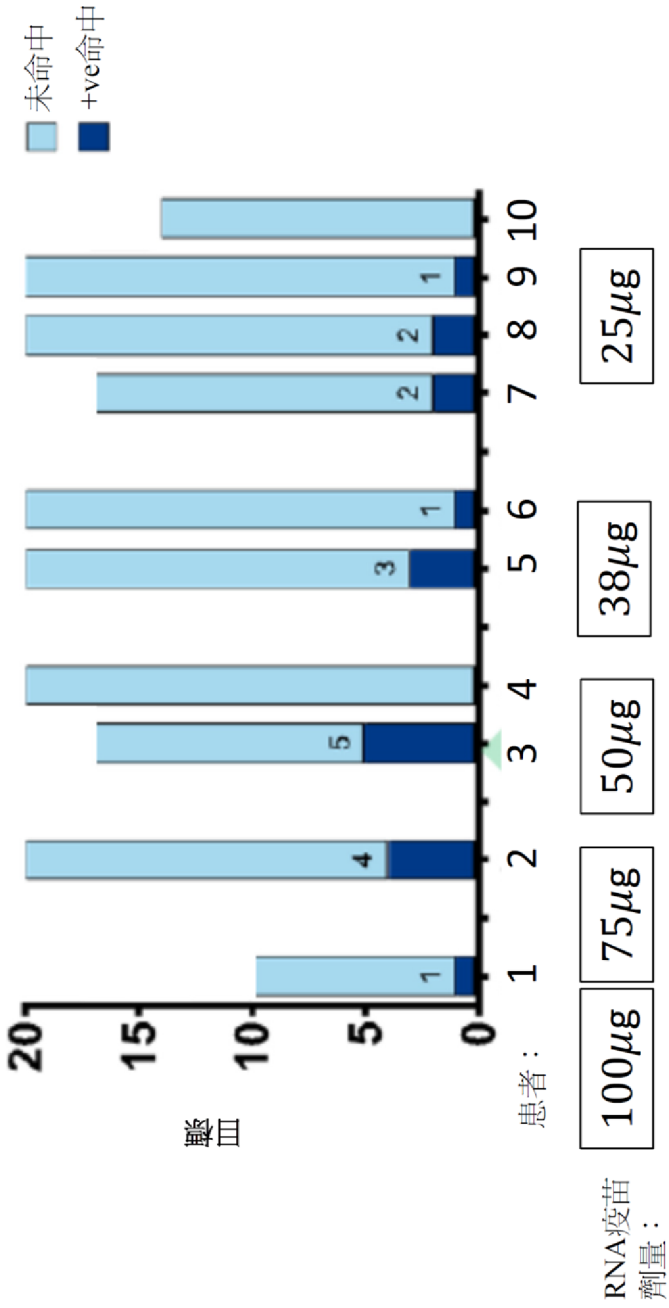

未命中
+ve命中
目標
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
患者：
RNA疫苗劑量：
100μg
75μg
50μg
38μg
25μg

圖7A

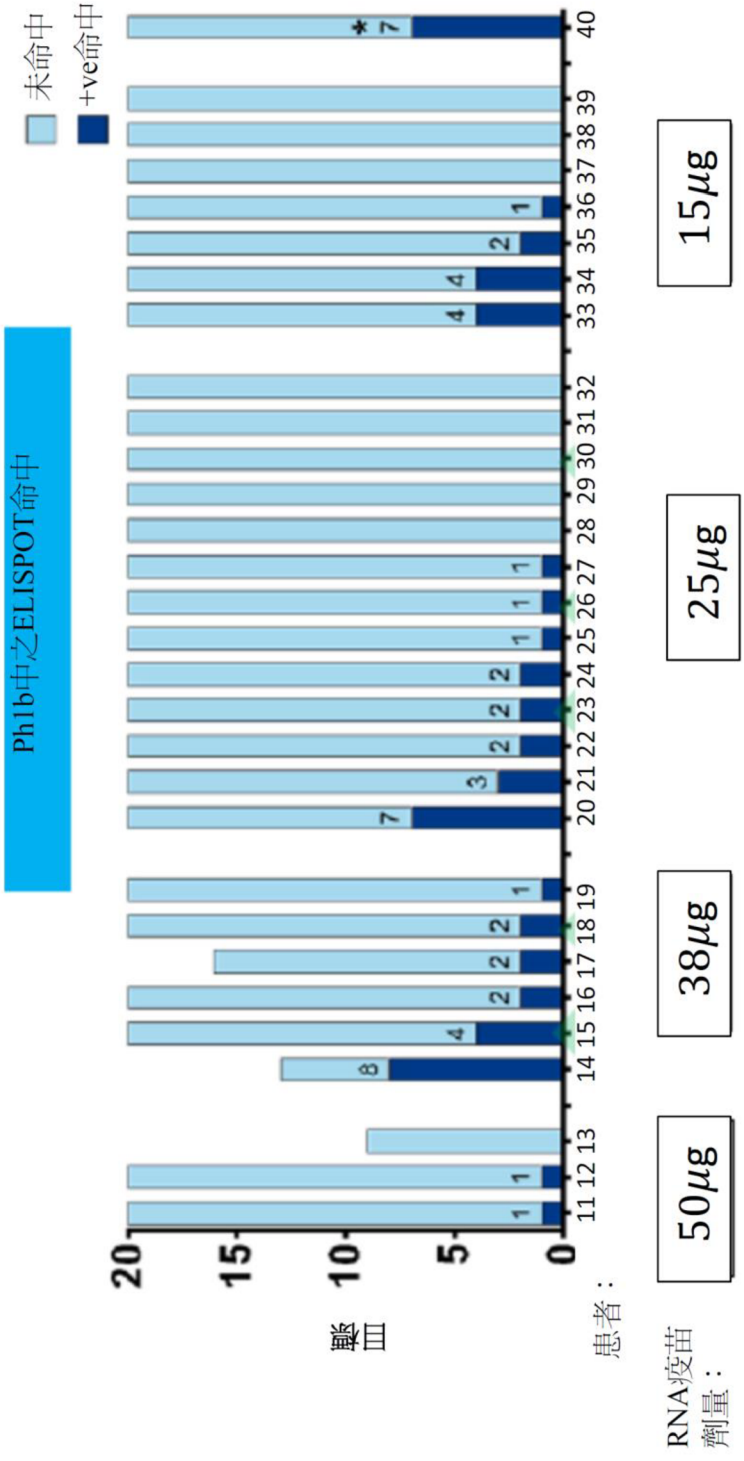

未命中
+ve命中
Ph1b中之ELISPOT命中
數目
20
15
10
5
0
患者：
11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40
RNA疫苗劑量：
50μg
38μg
25μg
15μg

圖7B

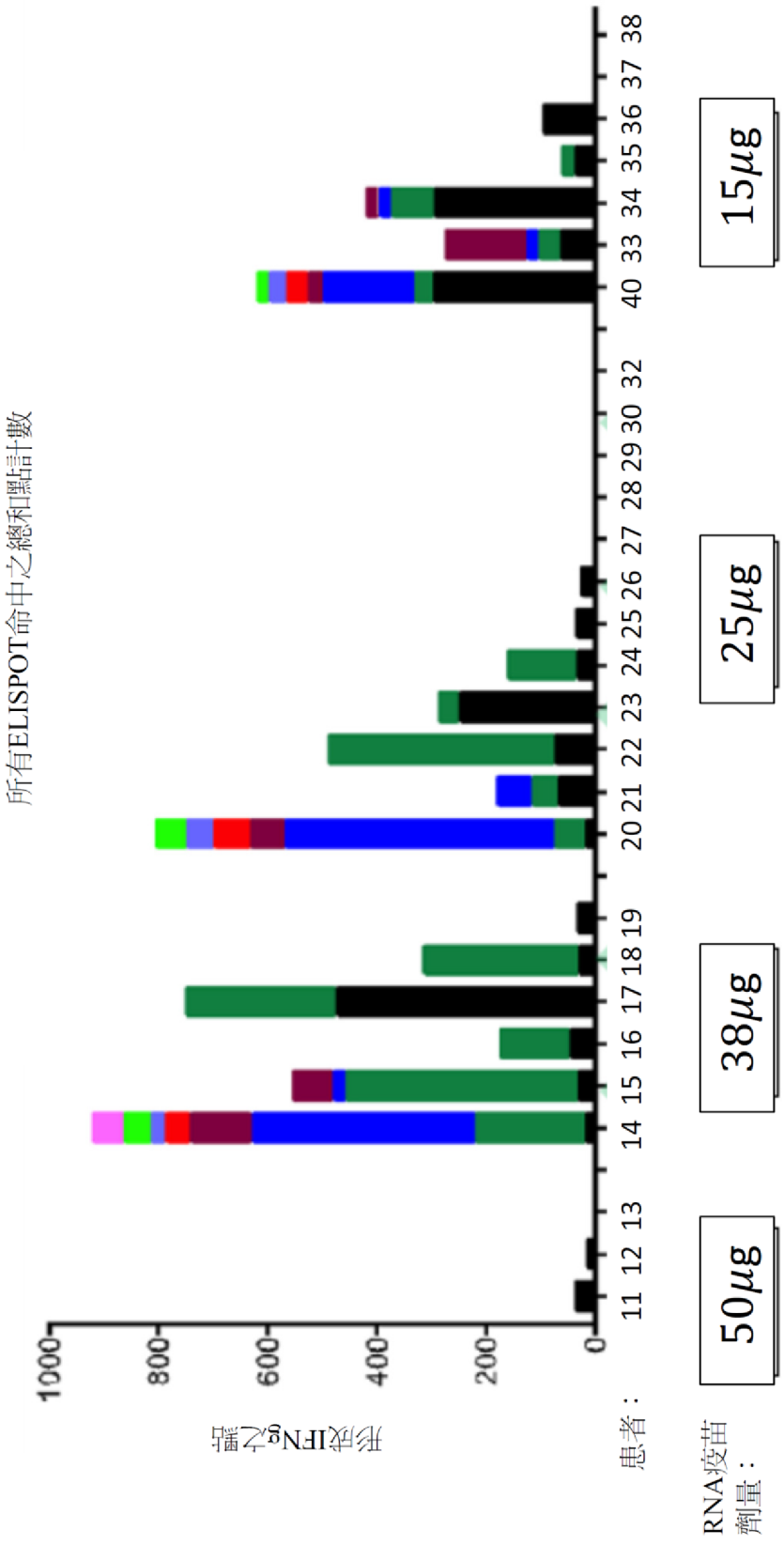

所有ELISPOT命中之總和點計數
形成IFNg之點
1000
800
600
400
200
0
患者：
11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 32 40 33 34 35 36 37 38
RNA疫苗劑量：
50μg
38μg
25μg
15μg

圖7C

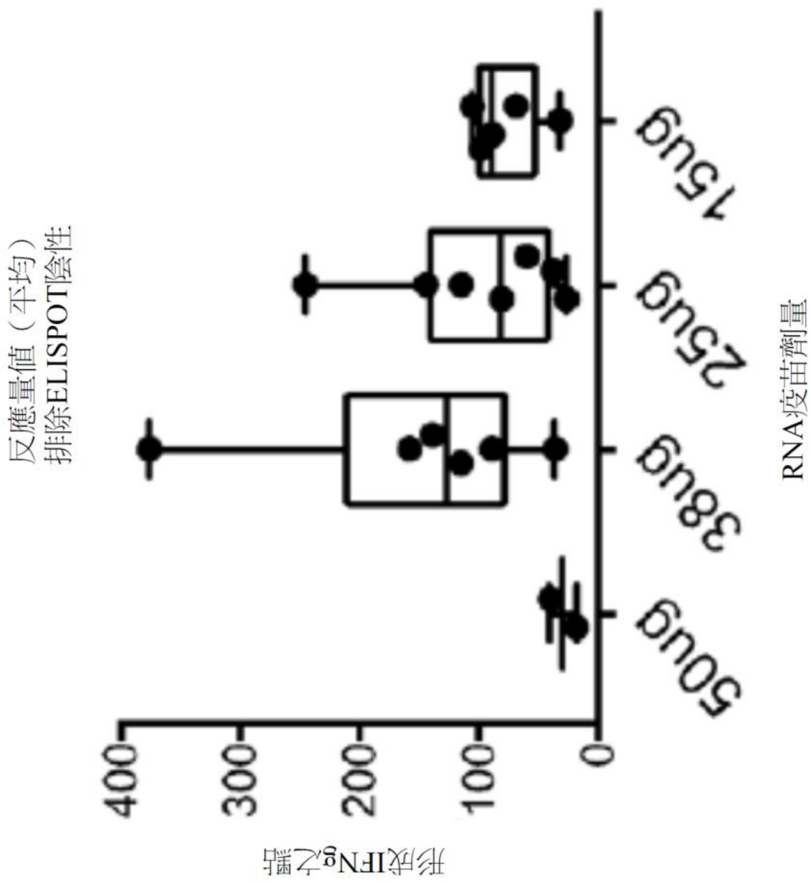

反應量值（平均）
排除ELISPOT陰性
形成IFNg之點
400
300
200
100
0
50ug
38ug
25ug
15ug
RNA疫苗劑量

圖7D

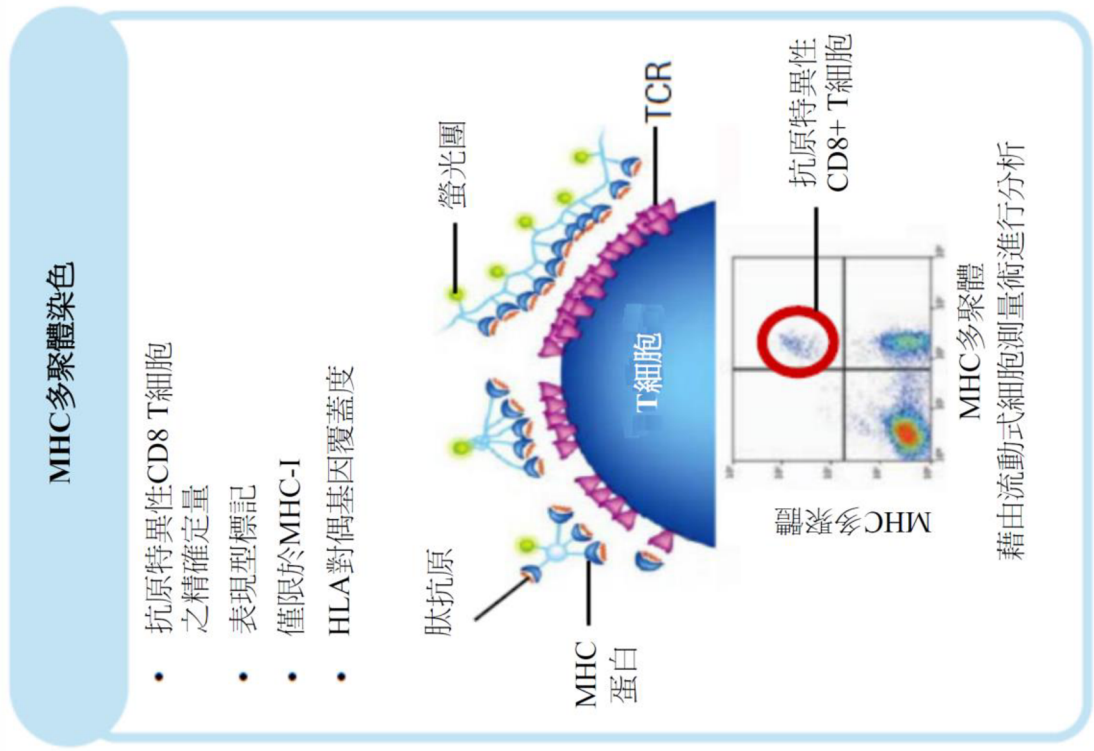

MHC多聚體染色
• 抗原特異性CD8 T細胞之精確定量
• 表現型標記
• 僅限於MHC-I
• HLA對偶基因覆蓋度
肽抗原
螢光團
MHC蛋白
TCR
T細胞
MHC多聚體
抗原特異性CD8+ T細胞
MHC多聚體
藉由流動式細胞測量術進行分析

圖8

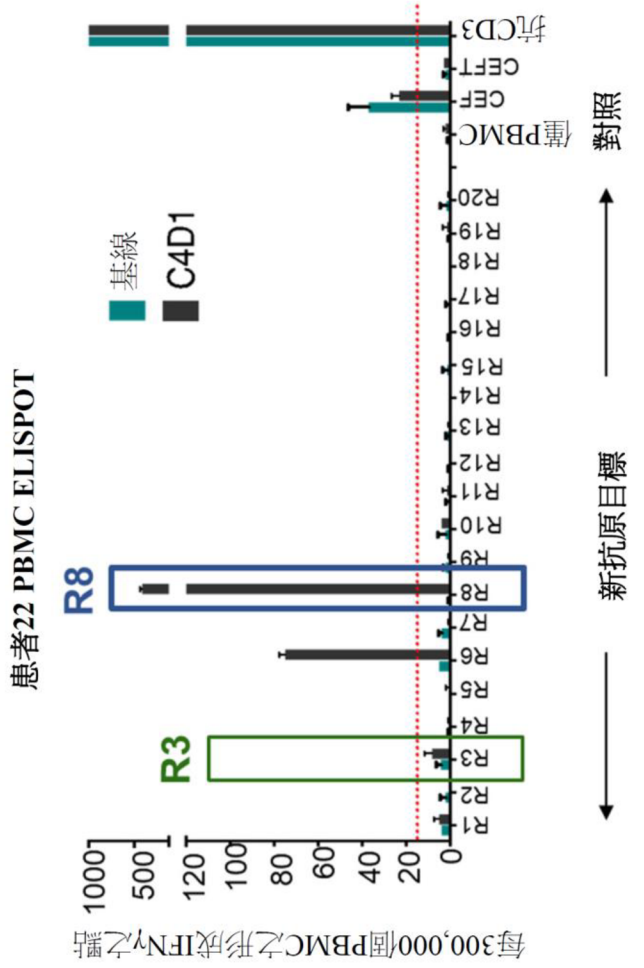

患者22 PBMC ELISPOT
基線
C4D1
R8
R3
每300,000個PBMC之形成IFNγ之點
1000
500
120
100
80
60
40
20
0
R1
R2
R3
R4
R5
R6
R7
R8
R9
R10
R11
R12
R13
R14
R15
R16
R17
R18
R19
R20
健PBMC
CEF
CEFT
抗CD3
新抗原目標
對照

圖9A

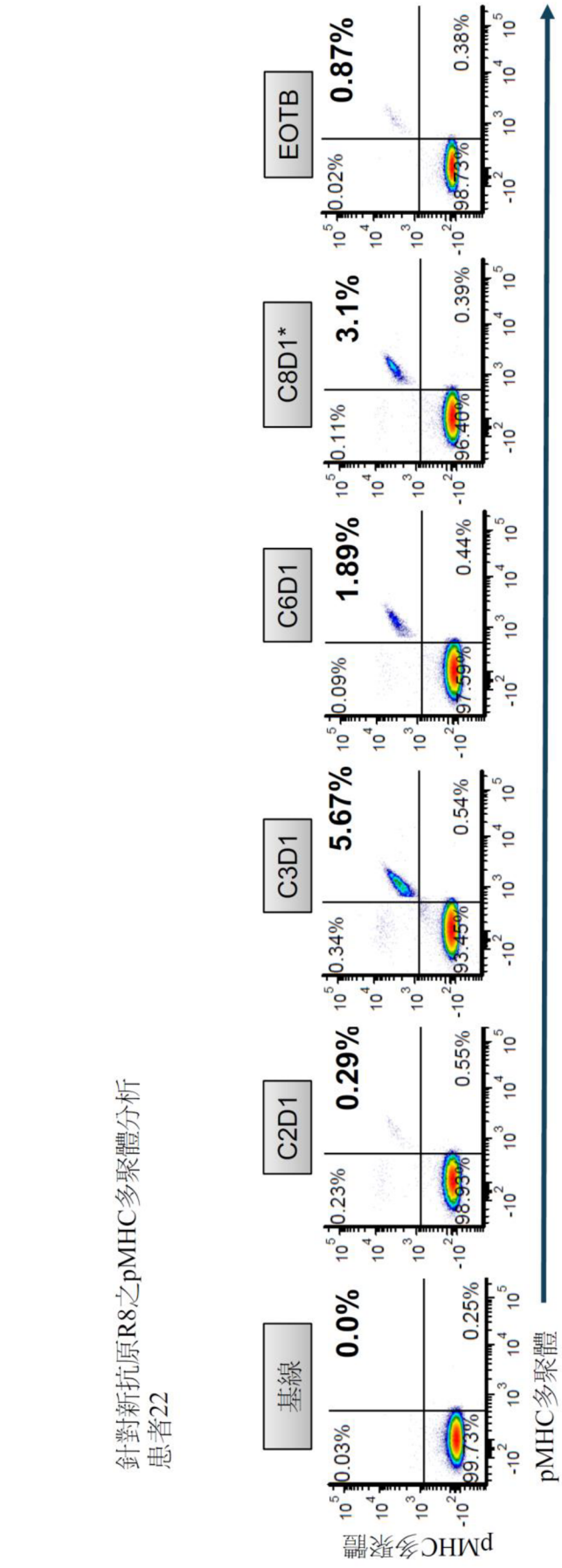

針對新抗原R8之pMHC多聚體分析
患者22
基線
C2D1
C3D1
C6D1
C8D1*
EOTB
0.0%
0.29%
5.67%
1.89%
3.1%
0.87%
pMHC多聚體
pMHC多聚體

圖9B

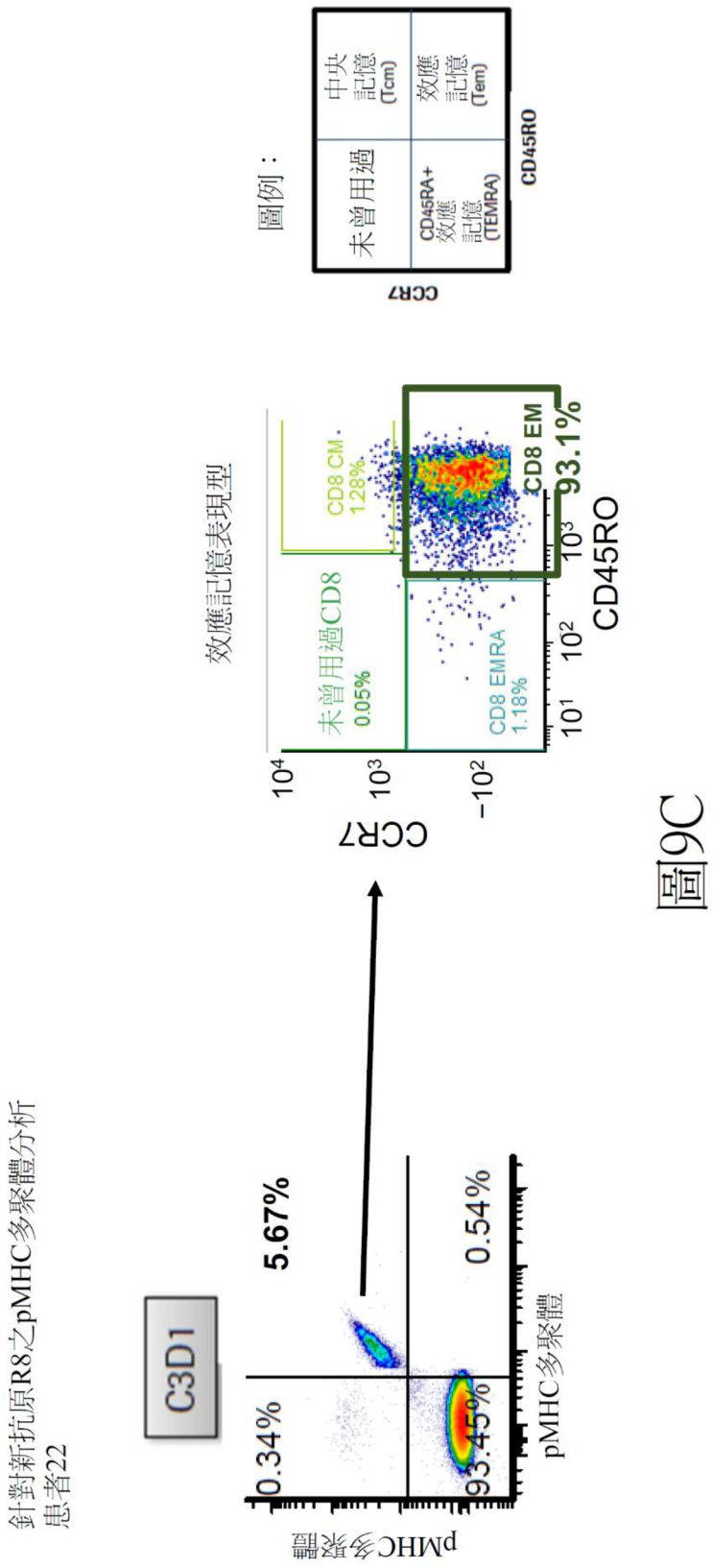

針對新抗原R8之pMHC多聚體分析
患者22
C3D1
pMHC多聚體
0.34%
5.67%
93.45%
0.54%
pMHC多聚體
CCR7
效應記憶表現型
未曾用過CD8
0.05%
CD8 CM
1.28%
CD8 EMRA
1.18%
CD8 EM
93.1%
CD45RO
圖例：
未曾用過
中央記憶 (Tcm)
CD45RA+效應記憶 (TEMRA)
效應記憶 (Tem)
CCR7
CD45RO

圖9C

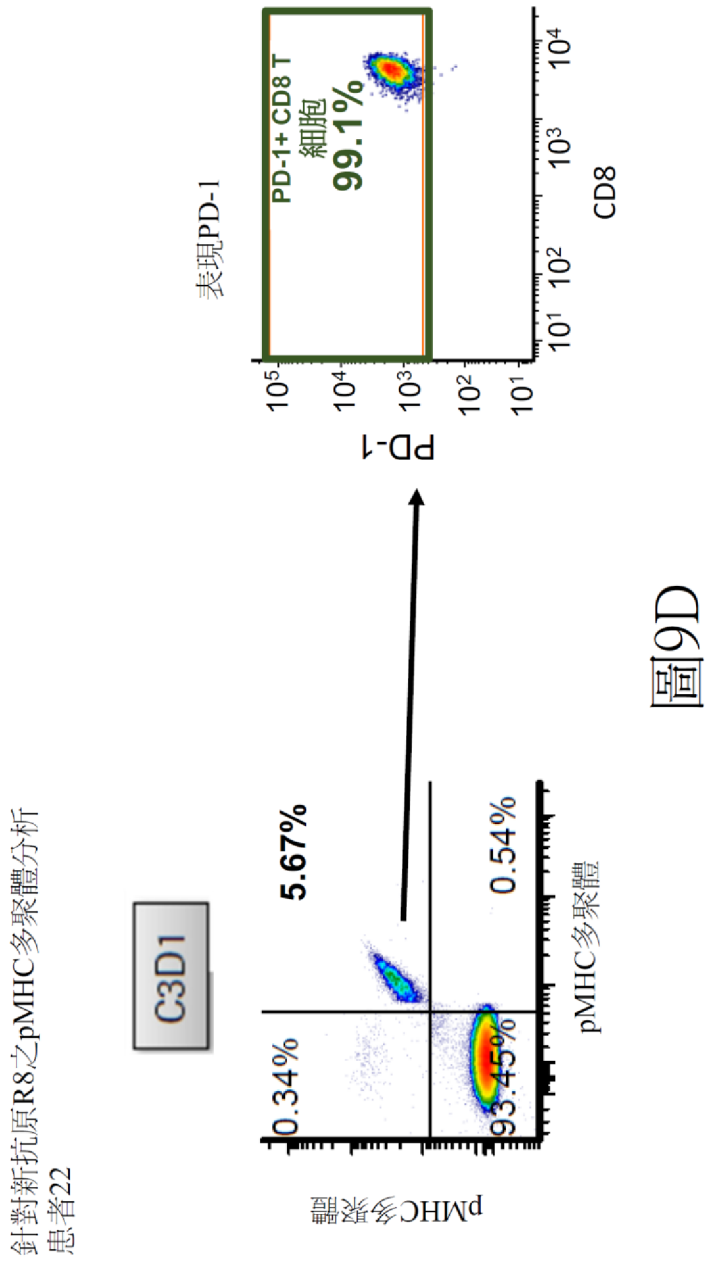

針對新抗原R8之pMHC多聚體分析
患者22
C3D1
pMHC多聚體
0.34%
5.67%
93.45%
0.54%
pMHC多聚體
PD-1
表現PD-1
PD-1+ CD8 T
細胞
99.1%
CD8

圖9D

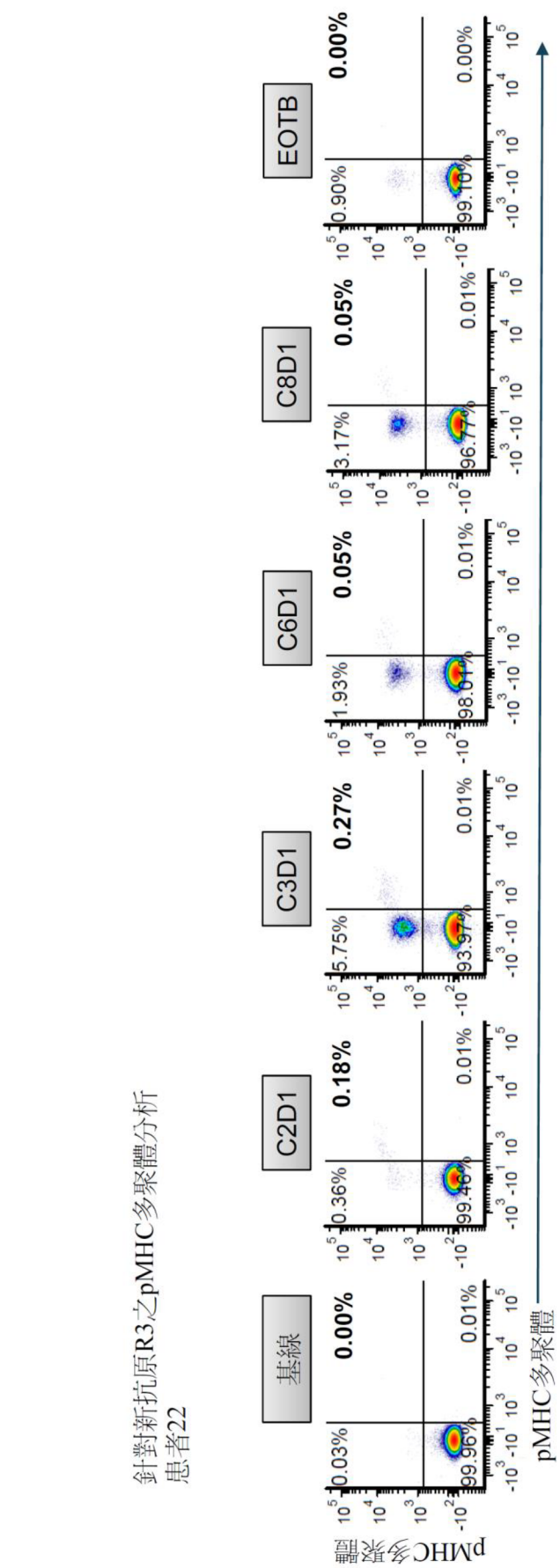

針對新抗原R3之pMHC多聚體分析
患者22
基線
C2D1
C3D1
C6D1
C8D1
EOTB
pMHC多聚體
pMHC多聚體
0.00%
0.18%
0.27%
0.05%
0.05%
0.00%
0.03%
0.36%
5.75%
1.93%
3.17%
0.90%
99.96%
99.46%
93.97%
98.01%
96.77%
99.10%
0.01%
0.01%
0.01%
0.01%
0.01%
0.00%

圖9E

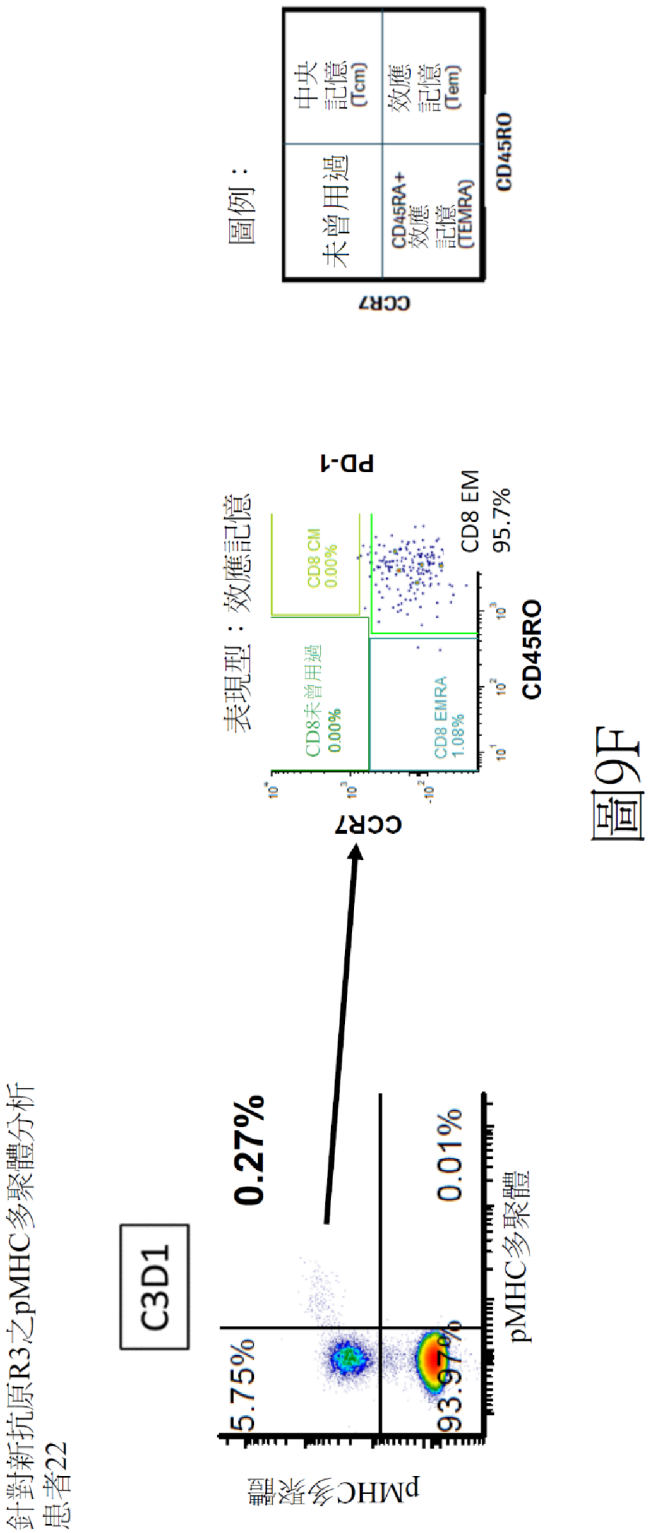

針對新抗原R3之pMHC多聚體分析
患者22
C3D1
pMHC多聚體
5.75%
0.27%
93.97%
0.01%
pMHC多聚體
CCR7
表現型：效應記憶
CD8 CM
0.00%
CD8未曾用過
0.00%
CD8 EMRA
1.08%
CD8 EM
95.7%
CD45RO
PD-1
圖例：
CCR7
未曾用過
中央記憶 (Tcm)
CD45RA+效應記憶 (TEMRA)
效應記憶 (Tem)
CD45RO

圖9F

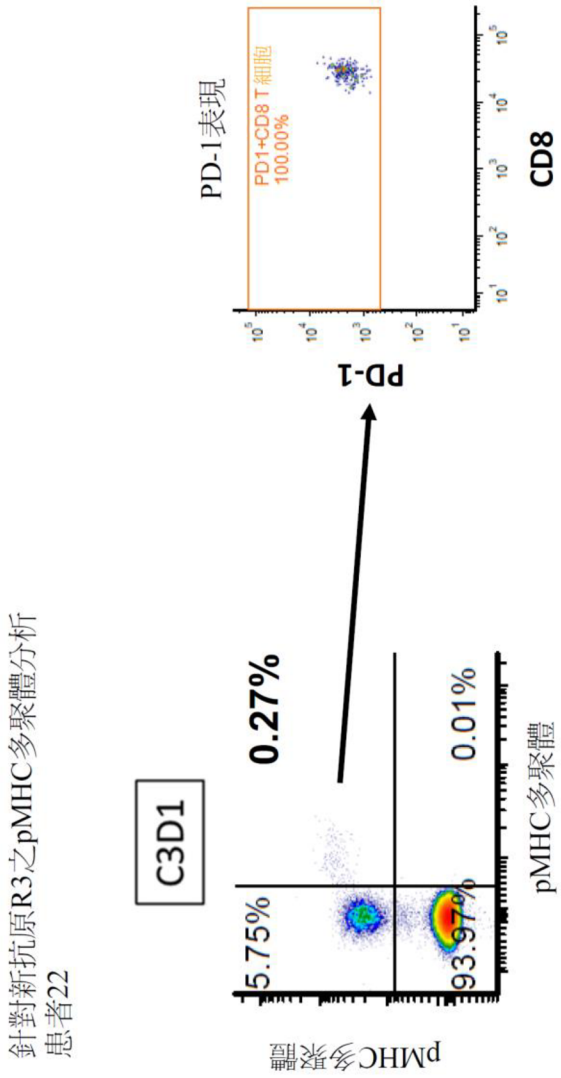

針對新抗原R3之pMHC多聚體分析
患者22
C3D1
pMHC多聚體
5.75%
93.97%
0.27%
0.01%
pMHC多聚體
PD-1
PD-1表現
PD1+CD8 T細胞
100.00%
CD8

圖9G

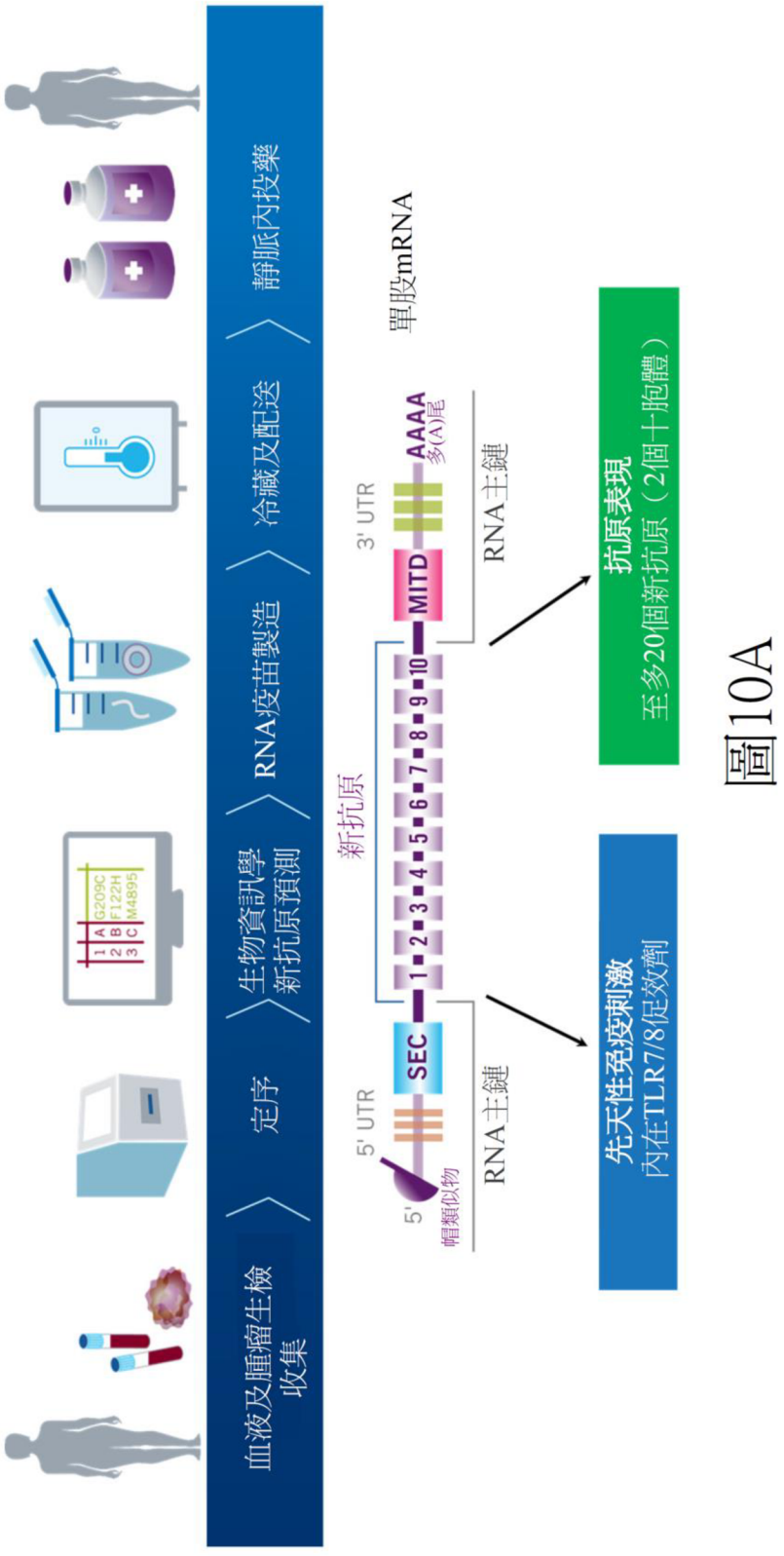

血液及腫瘤生檢收集
定序
生物資訊學新抗原預測
RNA疫苗製造
冷藏及配送
靜脈內投藥
1 A G209C
2 B F122H
3 C M4895
單股mRNA
5' UTR
帽類似物
SEC
新抗原
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
3' UTR
MITD
AAAA
多(A)尾
RNA主鏈
RNA主鏈
抗原表現
至多20個新抗原（2個十胞體）
先天性免疫刺激
內在TLR7/8促效劑

圖10A

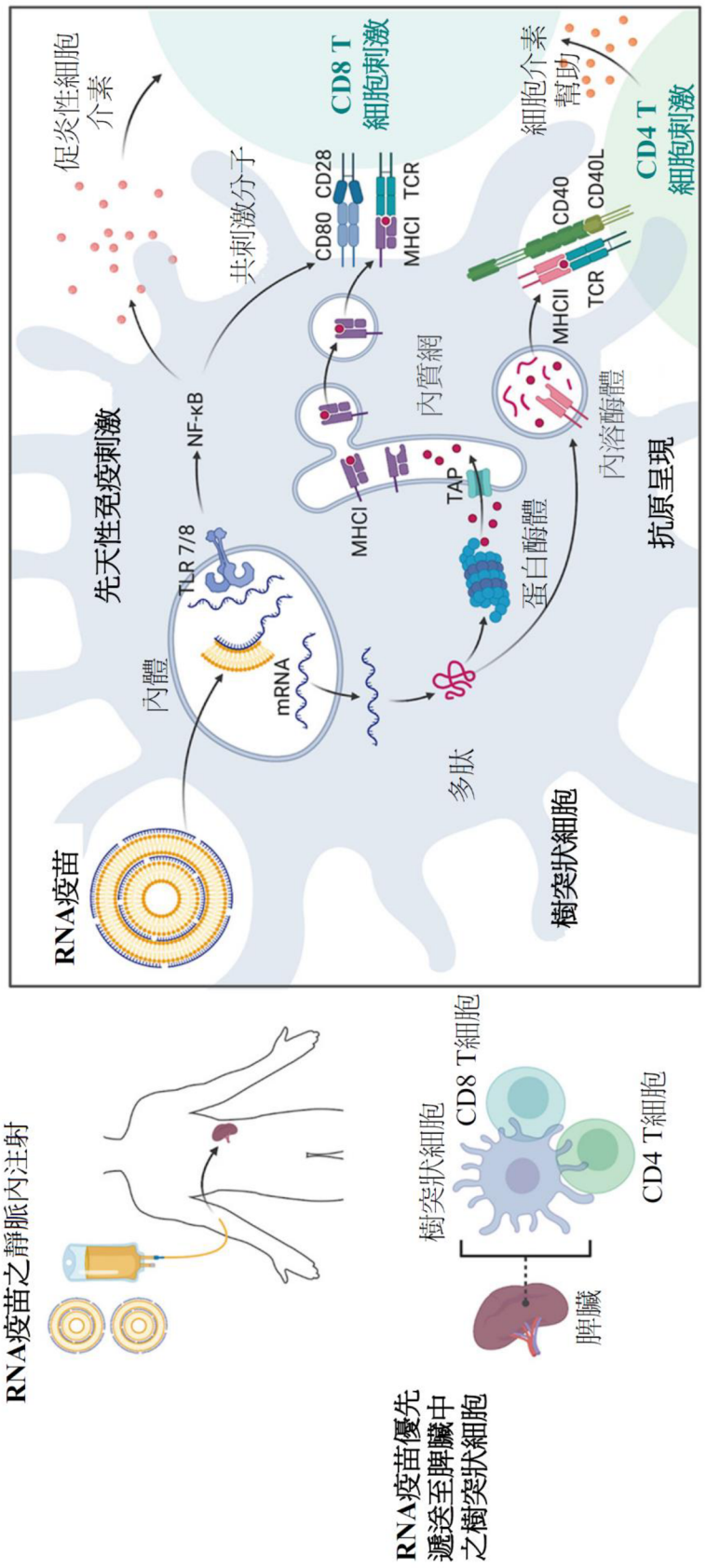

RNA疫苗之靜脈內注射
RNA疫苗優先遞送至脾臟中之樹突狀細胞
樹突狀細胞
CD8 T細胞
CD4 T細胞
脾臟
RNA疫苗
先天性免疫刺激
內體
TLR 7/8
NF-κB
mRNA
多肽
MHCI
TAP
蛋白酶體
內質網
共刺激分子
CD80
CD28
MHCI
TCR
CD8 T
細胞刺激
促炎性細胞介素
樹突狀細胞
內溶酶體
抗原呈現
MHCII
TCR
CD40
CD40L
CD4 T
細胞刺激
細胞介素
幫助

圖10B

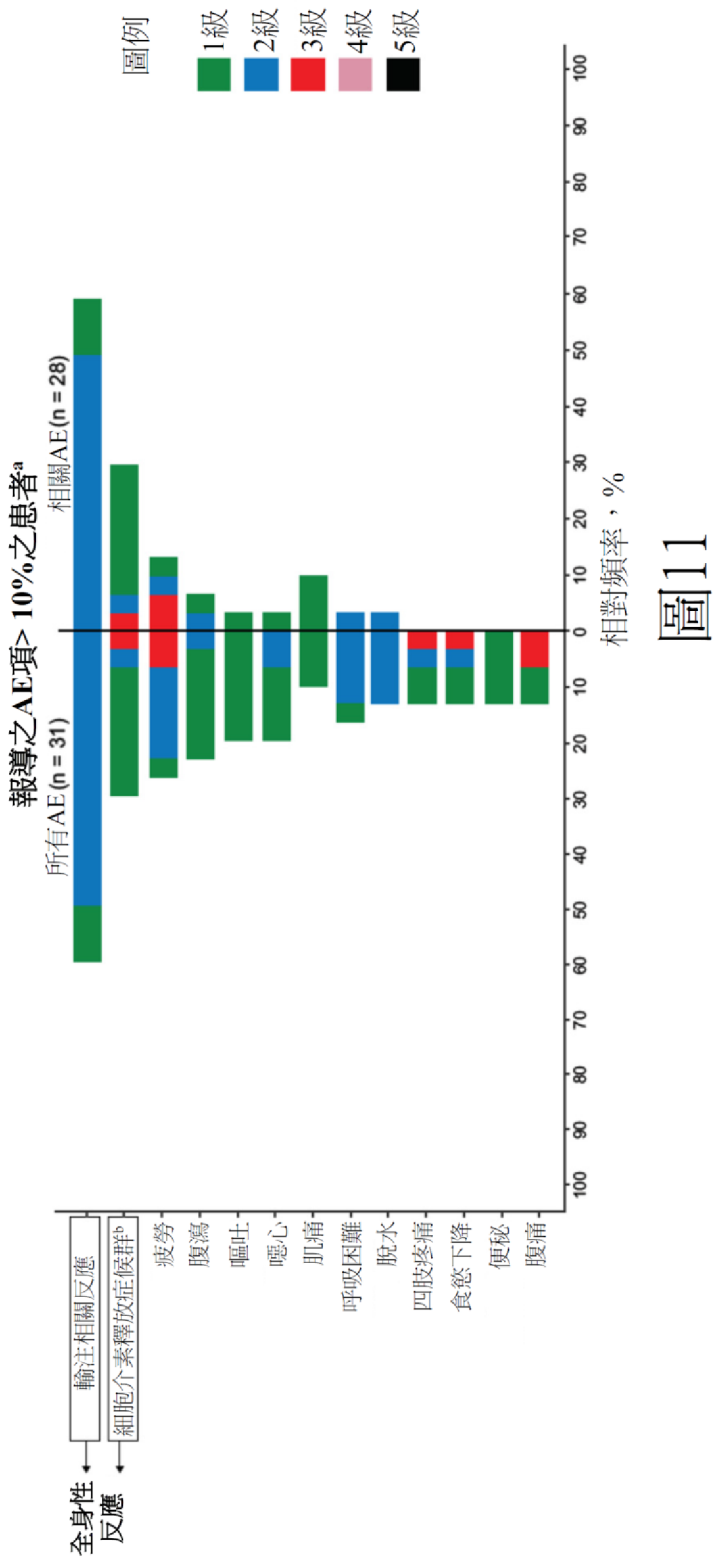

報導之AE項> 10%之患者a
所有AE (n = 31)
相關AE (n = 28)
圖例
1級
2級
3級
4級
5級
全身性反應
輸注相關反應
細胞介素釋放症候群b
疲勞
腹瀉
嘔吐
噁心
肌痛
呼吸困難
脫水
四肢疼痛
食慾下降
便秘
腹痛
100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
相對頻率，%

圖11

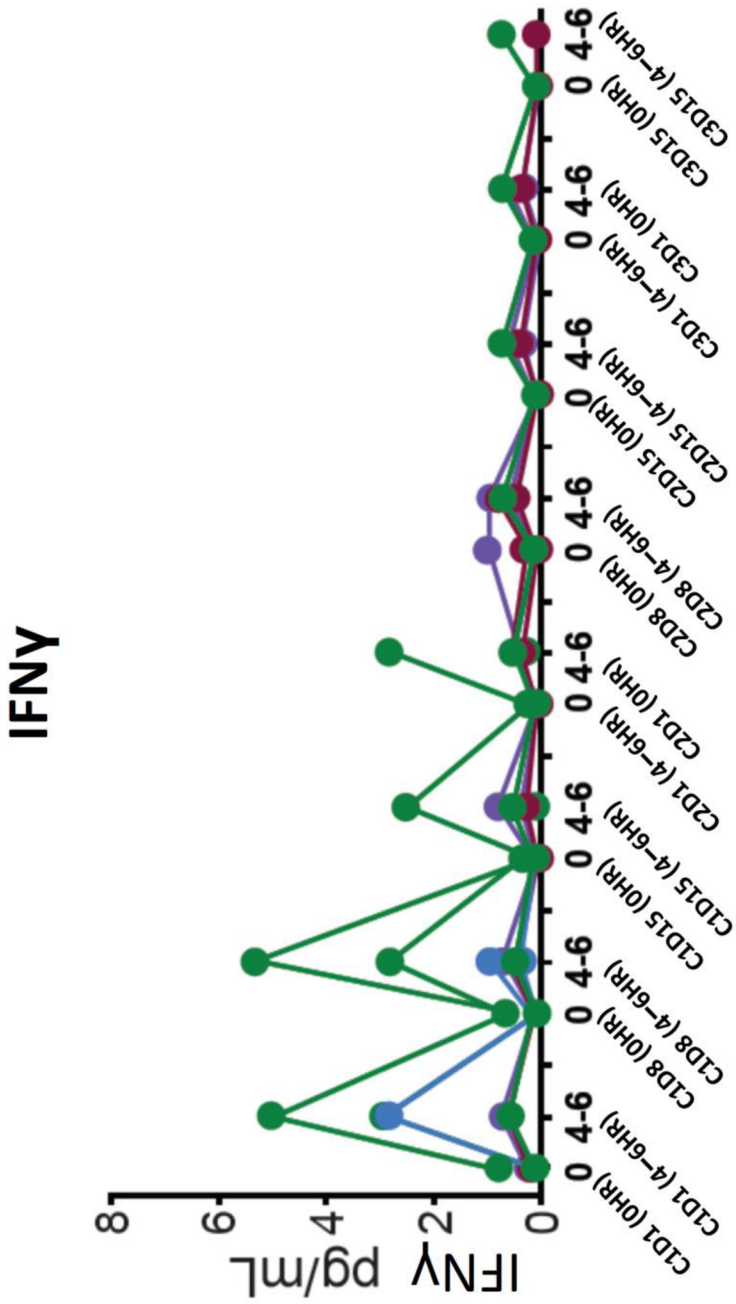

IFNY
IFNγ pg/mL
0
2
4
6
8
C1D1 (0HR)
C1D1 (4–6HR)
C1D8 (0HR)
C1D8 (4–6HR)
C1D15 (0HR)
C1D15 (4–6HR)
C2D1 (0HR)
C2D1 (4–6HR)
C2D8 (0HR)
C2D8 (4–6HR)
C2D15 (0HR)
C2D15 (4–6HR)
C3D1 (0HR)
C3D1 (4–6HR)
C3D15 (0HR)
C3D15 (4–6HR)
0 4-6
輸注後之小時數

圖12A

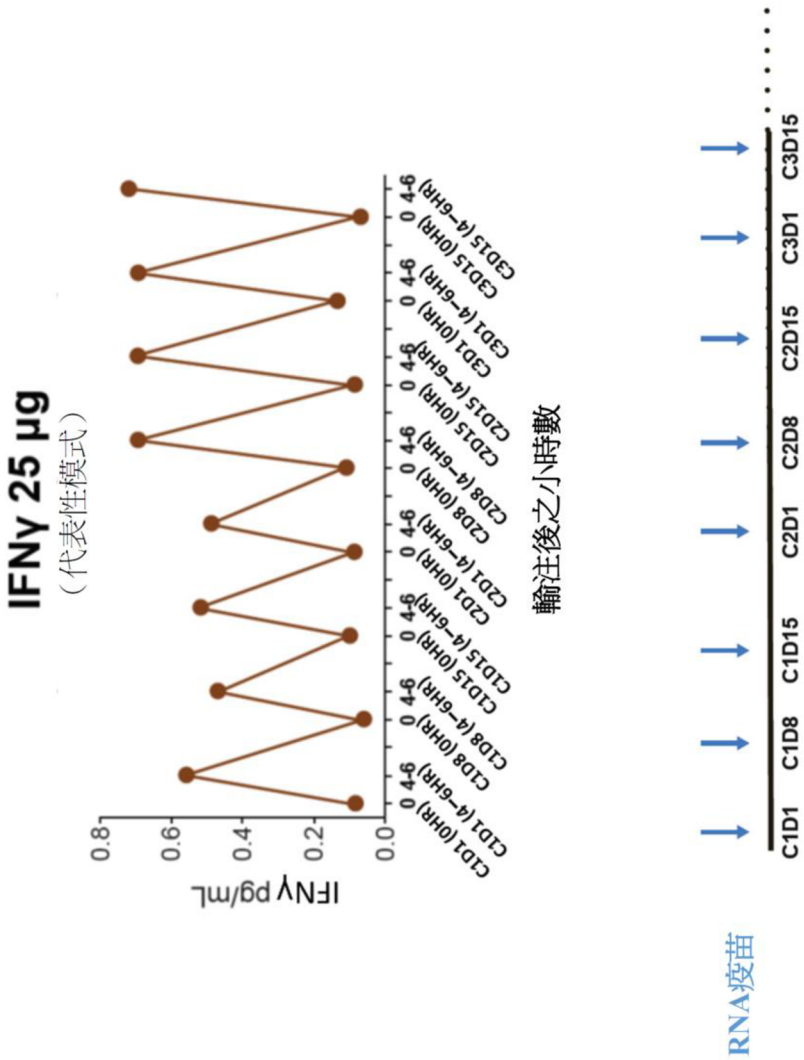

IFNγ 25 µg
（代表性模式）
IFNγ pg/mL
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
C1D1 (0HR)
C1D1 (4–6HR)
C1D8 (0HR)
C1D8 (4–6HR)
C1D15 (0HR)
C1D15 (4–6HR)
C2D1 (0HR)
C2D1 (4–6HR)
C2D8 (0HR)
C2D8 (4–6HR)
C2D15 (0HR)
C2D15 (4–6HR)
C3D1 (0HR)
C3D1 (4–6HR)
C3D15 (0HR)
C3D15 (4–6HR)
輸注後之小時數
RNA疫苗
C1D1
C1D8
C1D15
C2D1
C2D8
C2D15
C3D1
C3D15
25 µg RNA疫苗(N=9)

圖12B

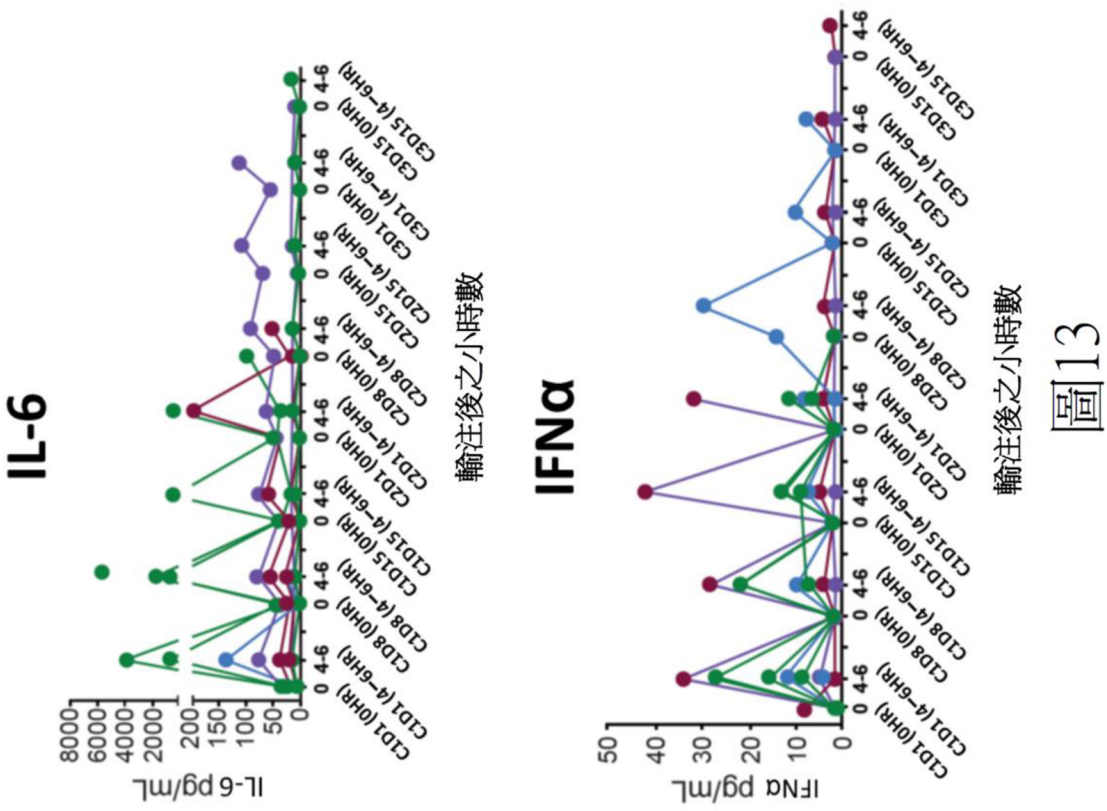

IL-6
IL-6 pg/mL
8000
6000
4000
2000
200
150
100
50
0
輸注後之小時數
IFNα
IFNα pg/mL
50
40
30
20
10
0
輸注後之小時數
C1D1 (0HR)
C1D1 (4–6HR)
C1D8 (0HR)
C1D8 (4–6HR)
C1D15 (0HR)
C1D15 (4–6HR)
C2D1 (0HR)
C2D1 (4–6HR)
C2D8 (0HR)
C2D8 (4–6HR)
C2D15 (0HR)
C2D15 (4–6HR)
C3D1 (0HR)
C3D1 (4–6HR)
C3D15 (0HR)
C3D15 (4–6HR)
0 4-6

圖13

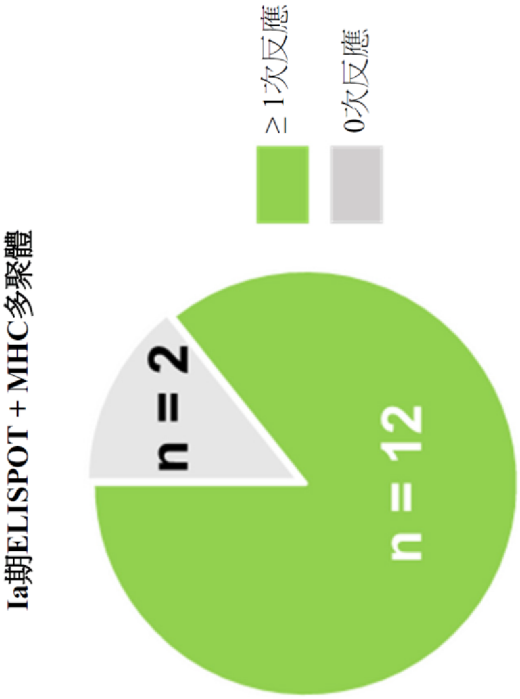


圖14A

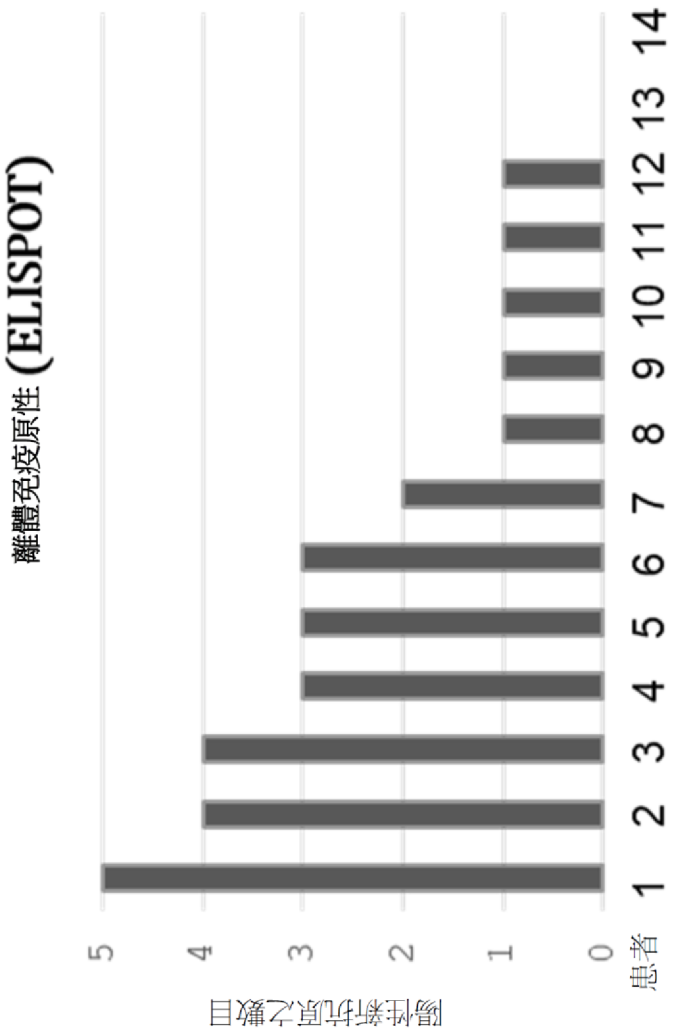


圖14B

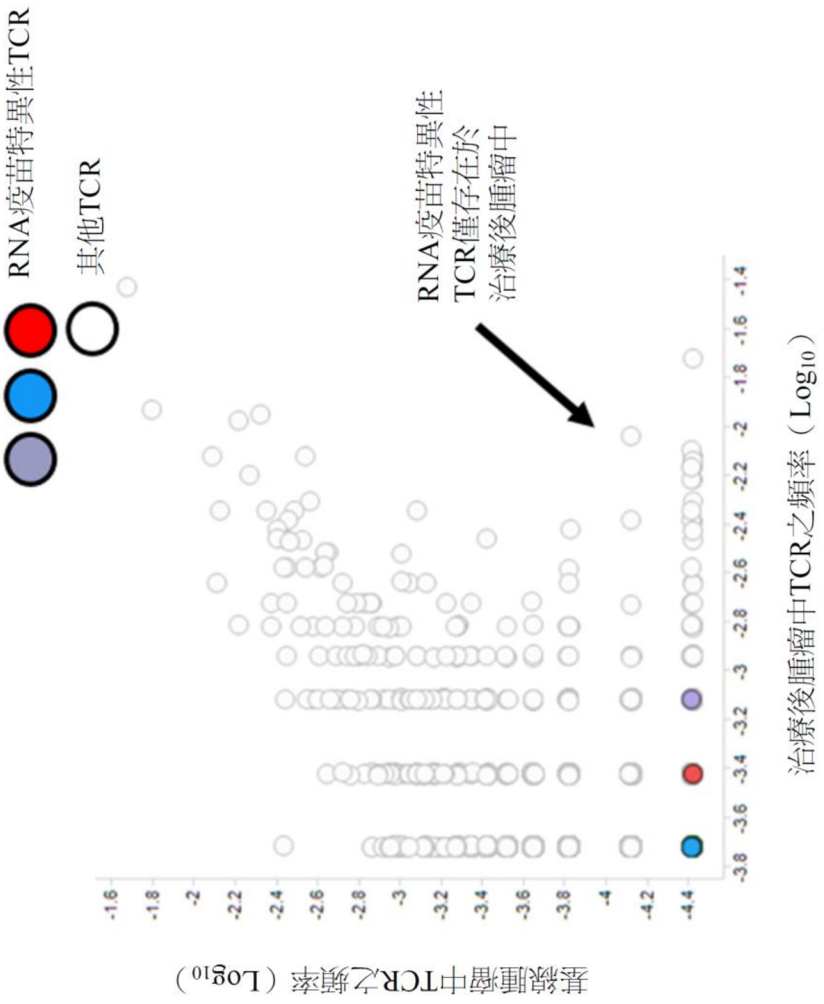

RNA疫苗特異性TCR
其他TCR
RNA疫苗特異性
TCR僅存在於
治療後腫瘤中
基線腫瘤中TCR之頻率（Log10）
治療後腫瘤中TCR之頻率（Log10）
-1.6
-1.8
-2
-2.2
-2.4
-2.6
-2.8
-3
-3.2
-3.4
-3.6
-3.8
-4
-4.2
-4.4

圖15

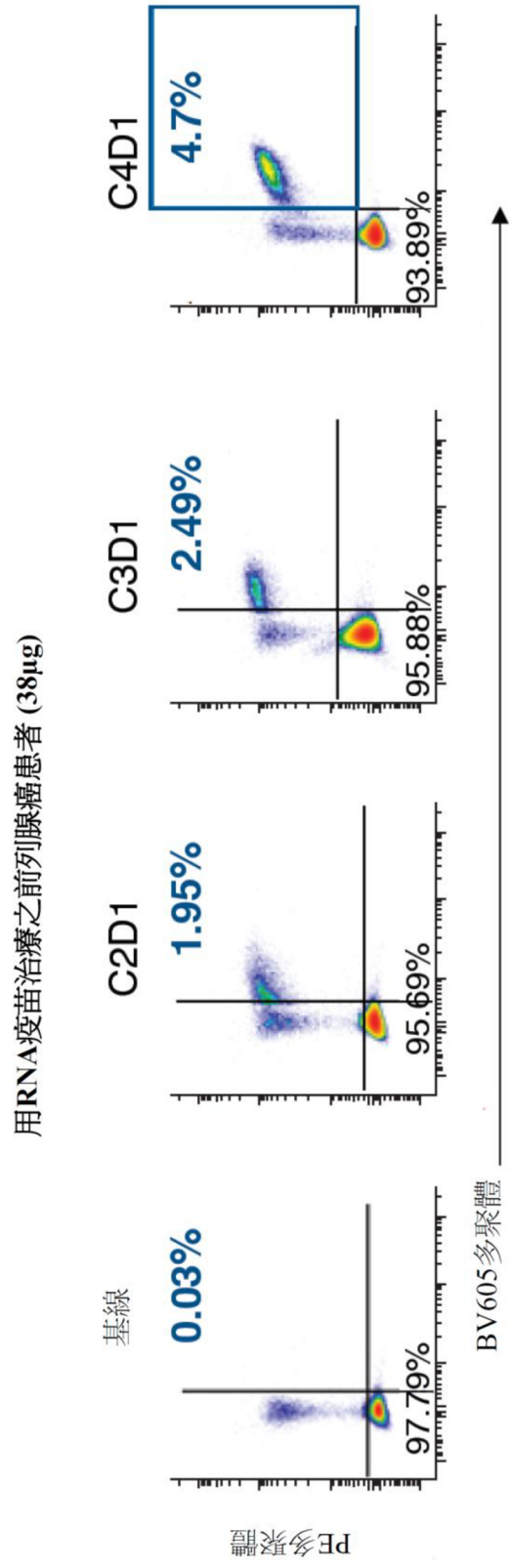

用RNA疫苗治療之前列腺癌患者 (38μg)
基線
C2D1
C3D1
C4D1
0.03%
97.79%
1.95%
95.69%
2.49%
95.88%
4.7%
93.89%
PE多聚體
BV605多聚體

圖16A

C4D1處之MHC多聚體陽性細胞之表現型

效應記憶表現型

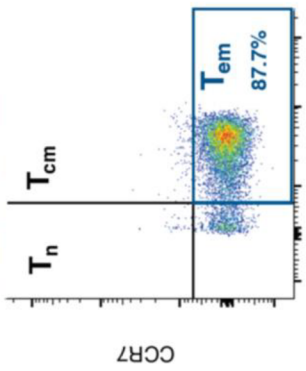


圖16B

PD-1+細胞

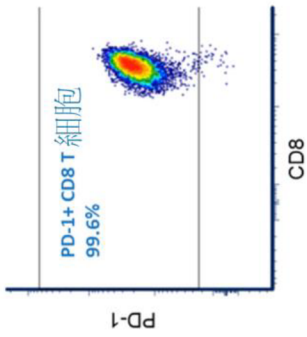


圖16C

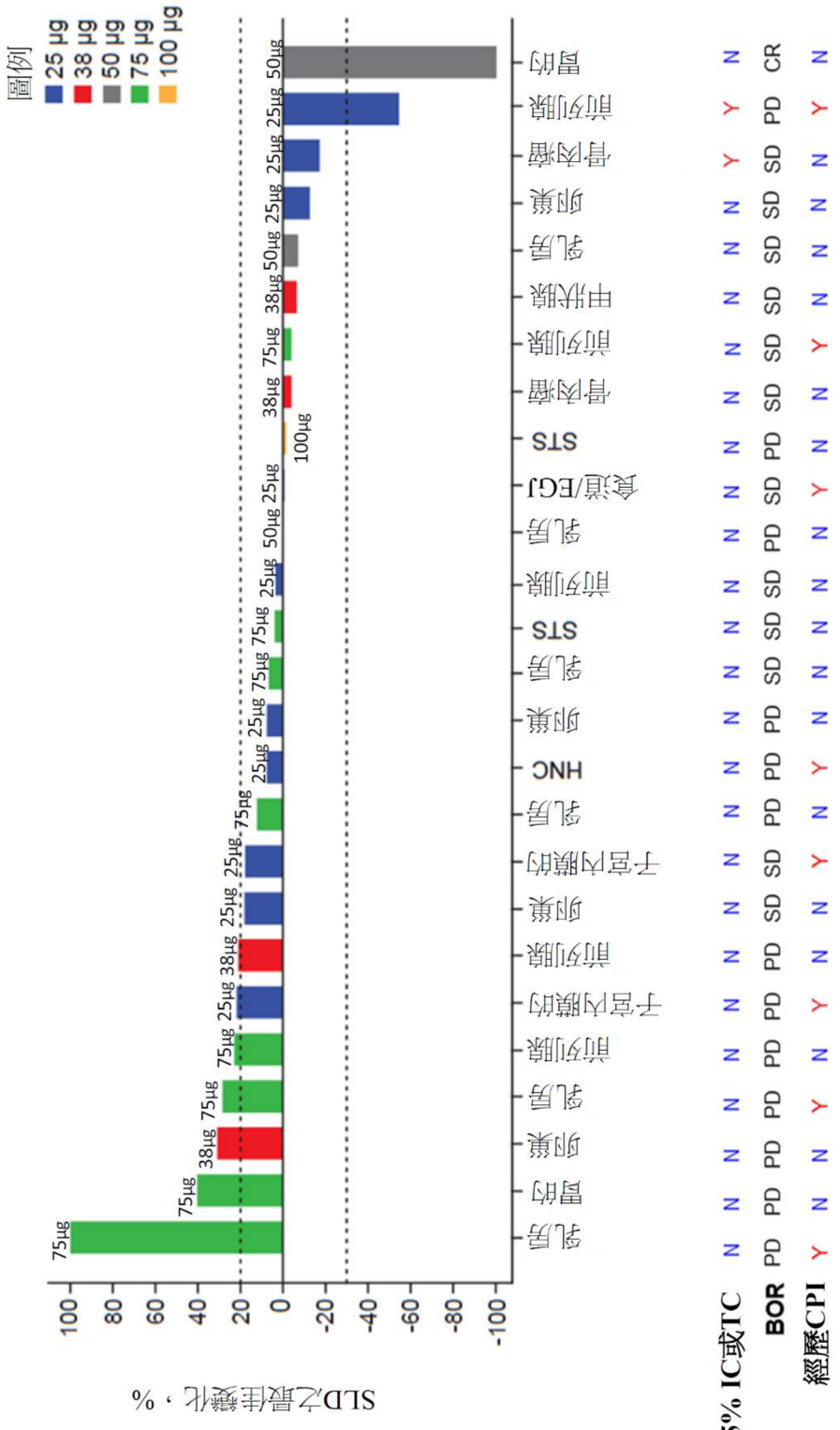

圖例
25 µg
38 µg
50 µg
75 µg
100 µg
SLD之最佳變化，%
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
乳房
胃的
卵巢
乳房
前列腺
子宮內膜的
前列腺
卵巢
子宮內膜的
乳房
HNC
卵巢
乳房
STS
前列腺
乳房
食道/EGJ
STS
骨肉瘤
前列腺
甲狀腺
乳房
卵巢
骨肉瘤
前列腺
胃的
PD-L1 ≥5% IC或TC
BOR
經歷CPI

圖17

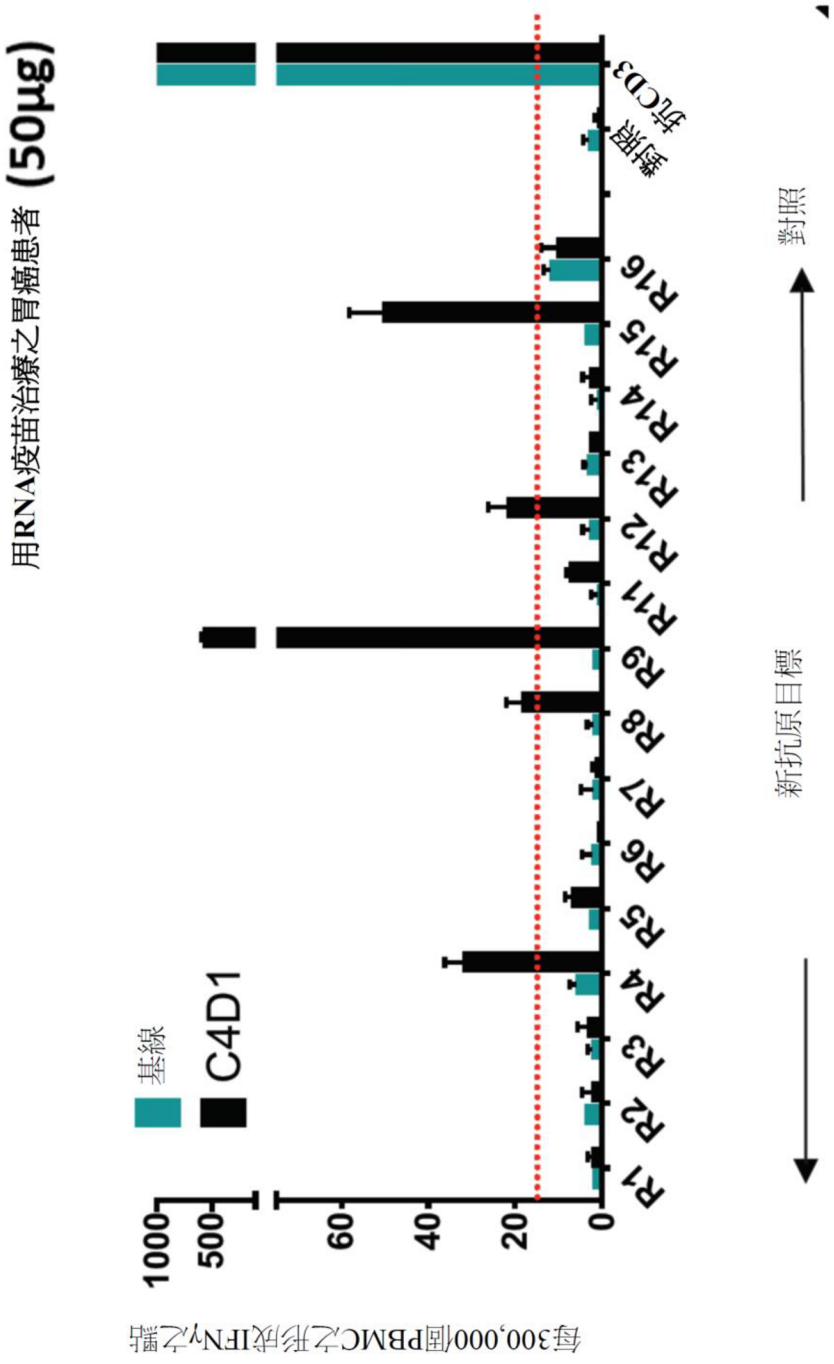

用RNA疫苗治療之胃癌患者 (50μg)
每300,000個PBMC之形成IFNγ之點
1000
500
60
40
20
0
基線
C4D1
R1
R2
R3
R4
R5
R6
R7
R8
R9
R11
R12
R13
R14
R15
R16
對照
抗CD3
新抗原目標
對照

圖18

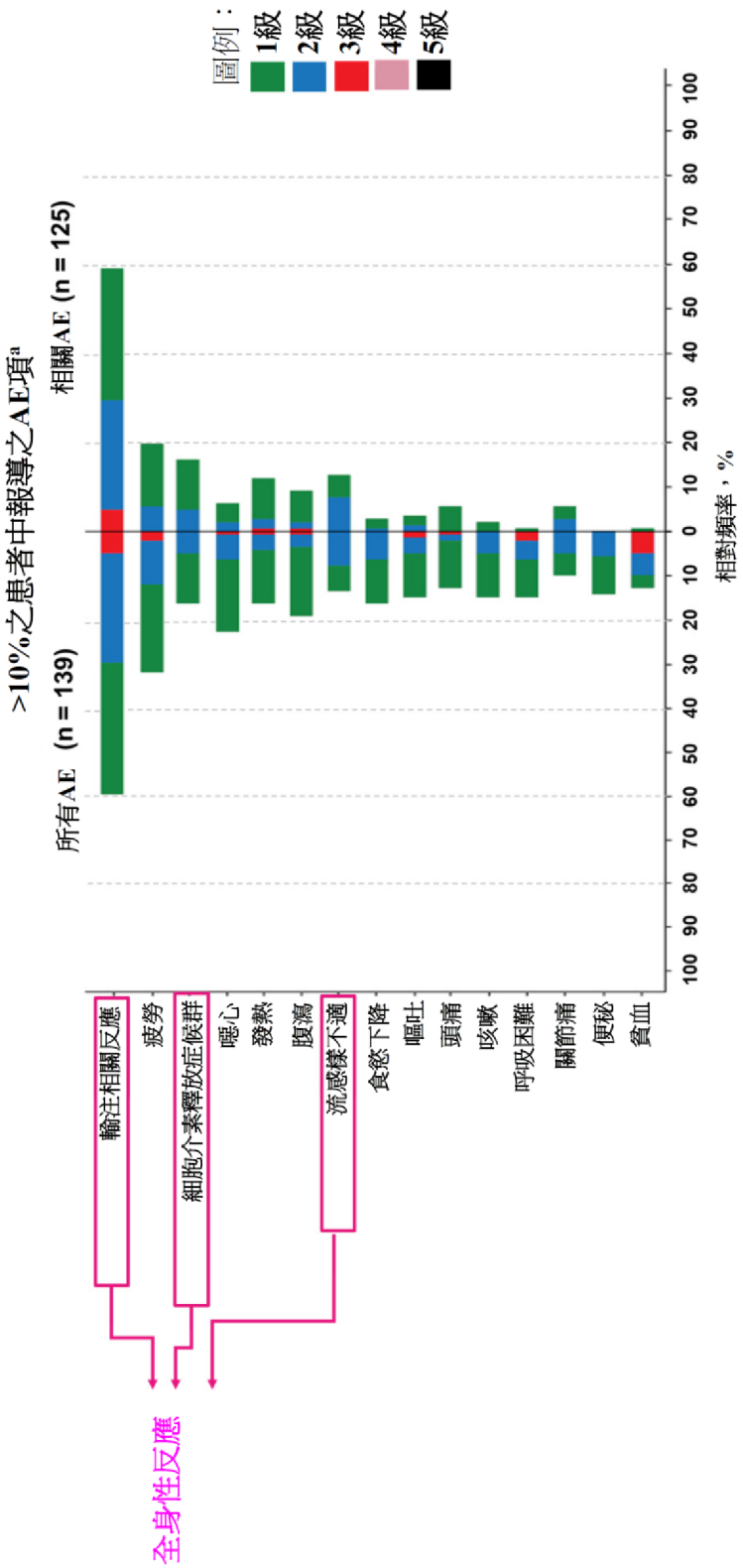

圖例：
1級
2級
3級
4級
5級
>10%之患者中報導之AE項[a]
所有AE (n = 139)
相關AE (n = 125)
相對頻率，%
100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
輸注相關反應
疲勞
細胞介素釋放症候群
噁心
發熱
腹瀉
流感樣不適
食慾下降
嘔吐
頭痛
咳嗽
呼吸困難
關節痛
便秘
貧血
全身性反應

圖19

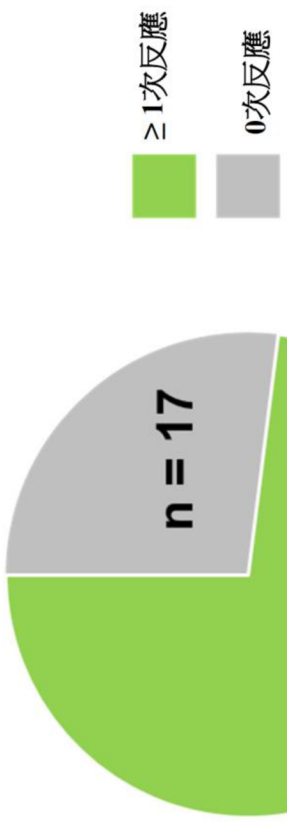


圖20

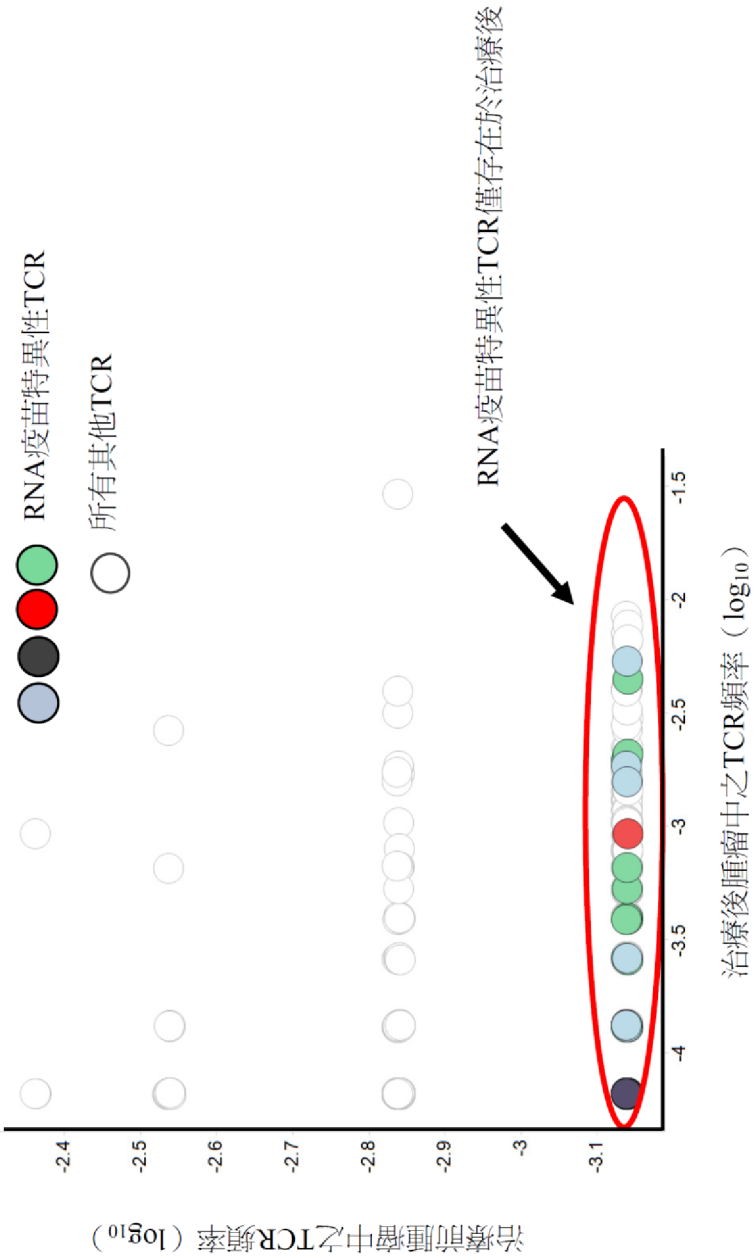

RNA疫苗特異性TCR
所有其他TCR
RNA疫苗特異性TCR僅存在於治療後
治療後腫瘤中之TCR頻率（log10）
治療前腫瘤中之TCR頻率（log10）
-4
-3.5
-3
-2.5
-2
-1.5
-2.4
-2.5
-2.6
-2.7
-2.8
-2.9
-3
-3.1

圖21

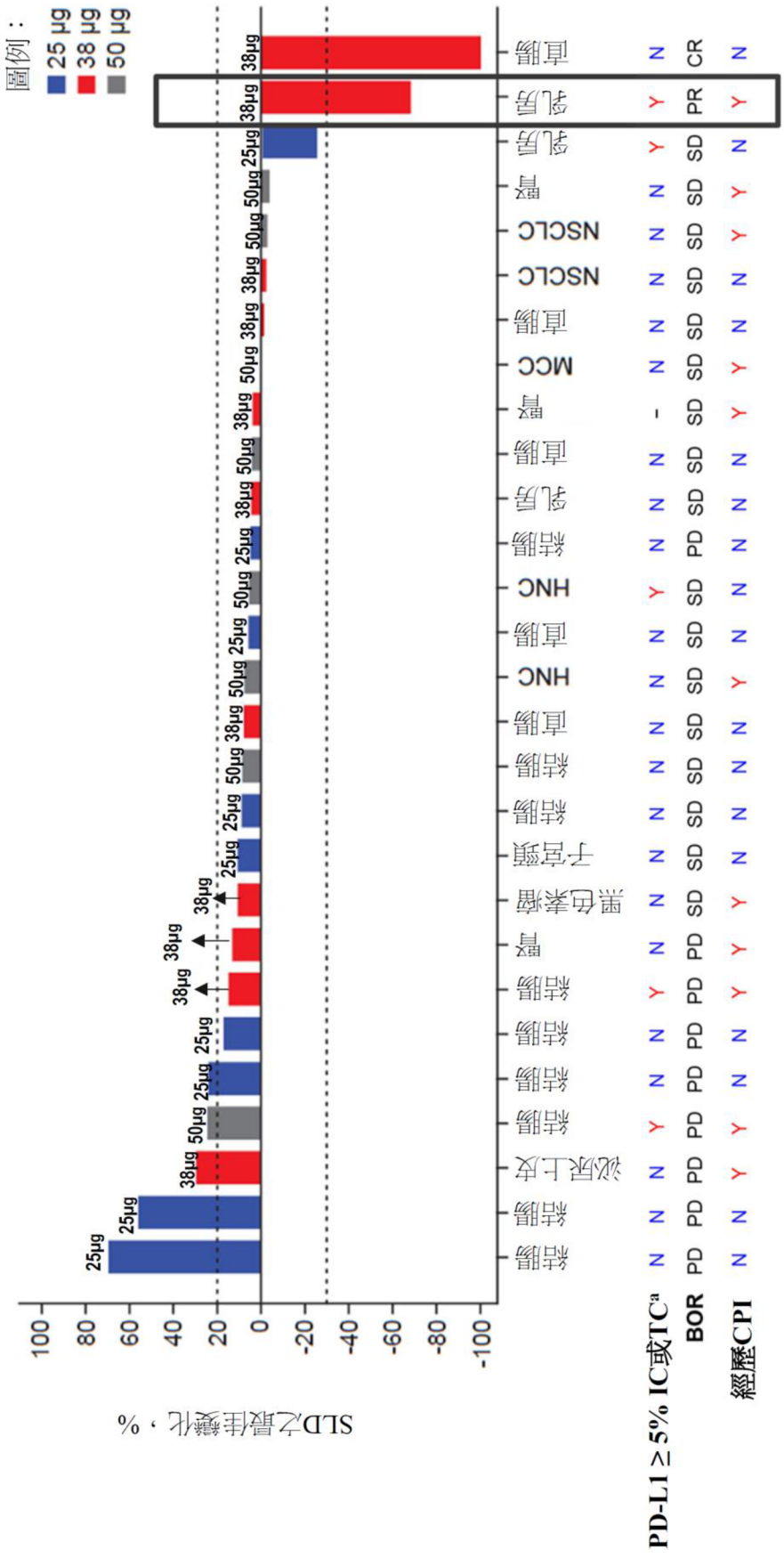

圖例：
25 μg
38 μg
50 μg
SLD之最佳變化，%
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
PD-L1 ≥ 5% IC或TC[a]
BOR
經歷CPI
結腸 N PD N
結腸 N PD N
泌尿上皮 N PD Y
結腸 Y PD N
結腸 N PD N
結腸 N PD N
結腸 Y PD Y
腎 N PD Y
黑色素瘤 N SD Y
子宮頸 N SD N
結腸 N SD N
結腸 N SD N
直腸 N SD N
HNC N SD Y
直腸 N SD N
HNC Y SD N
結腸 N PD N
乳房 N SD N
直腸 N SD N
腎 - SD Y
MCC N SD Y
直腸 N SD N
NSCLC N SD N
NSCLC N SD Y
腎 N SD Y
乳房 Y SD N
乳房 Y PR Y
直腸 N CR N

圖22

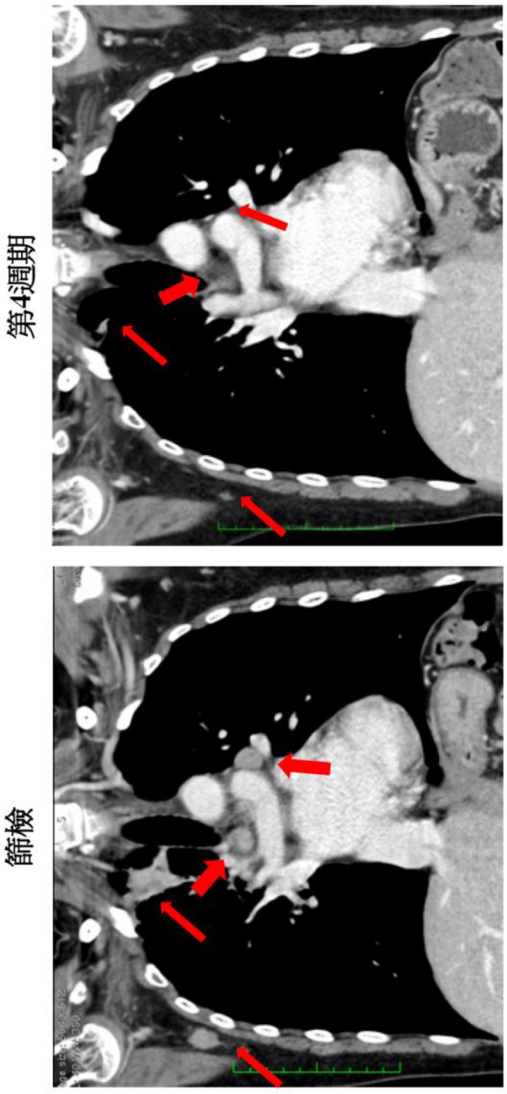


圖23A

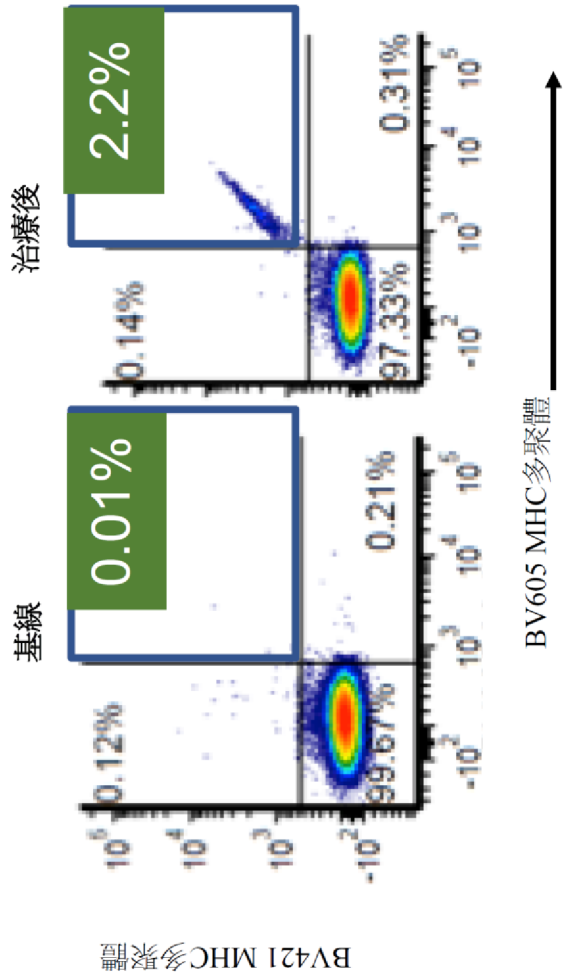

治療後
基線
2.2%
0.01%
0.14%
0.12%
97.33%
99.67%
0.31%
0.21%
BV605 MHC多聚體
BV421 MHC多聚體

圖23B

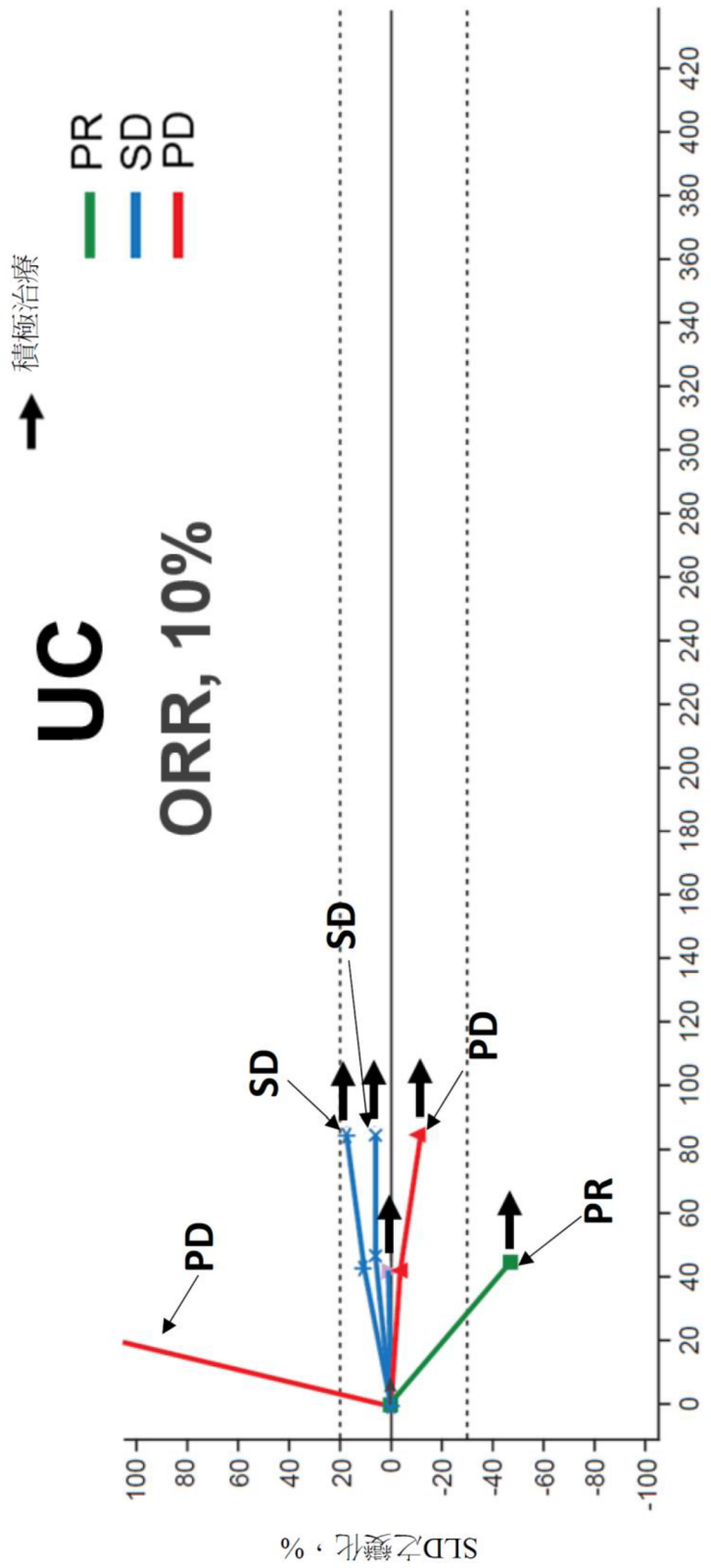

UC
ORR, 10%
積極治療
PR
SD
PD
SD
SD
PD
PD
PR
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420
研究日
SLD之變化，%

圖24A

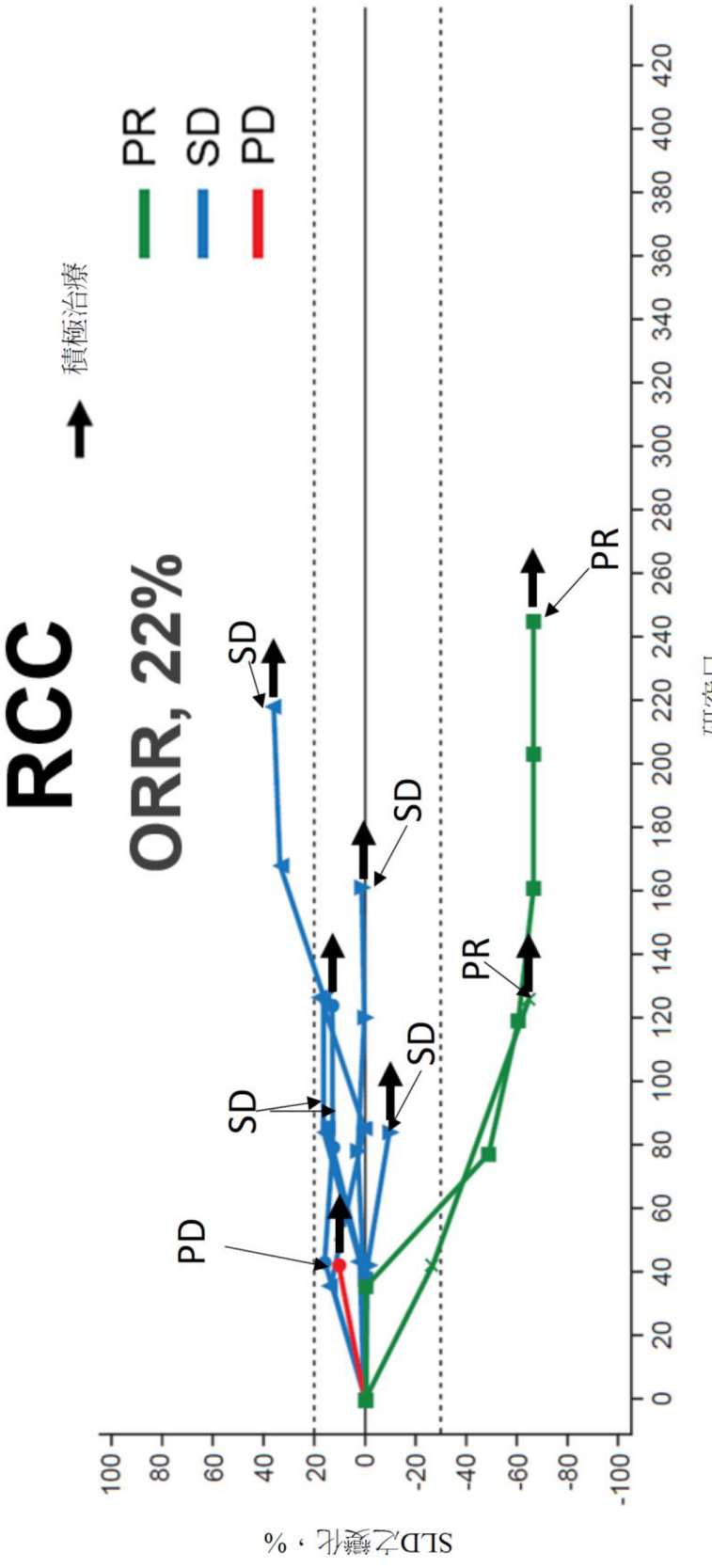

RCC
ORR, 22%
積極治療
PR
SD
PD
SD
SD
SD
SD
PD
PR
PR
SLD之變化，%
研究日
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420

圖24B

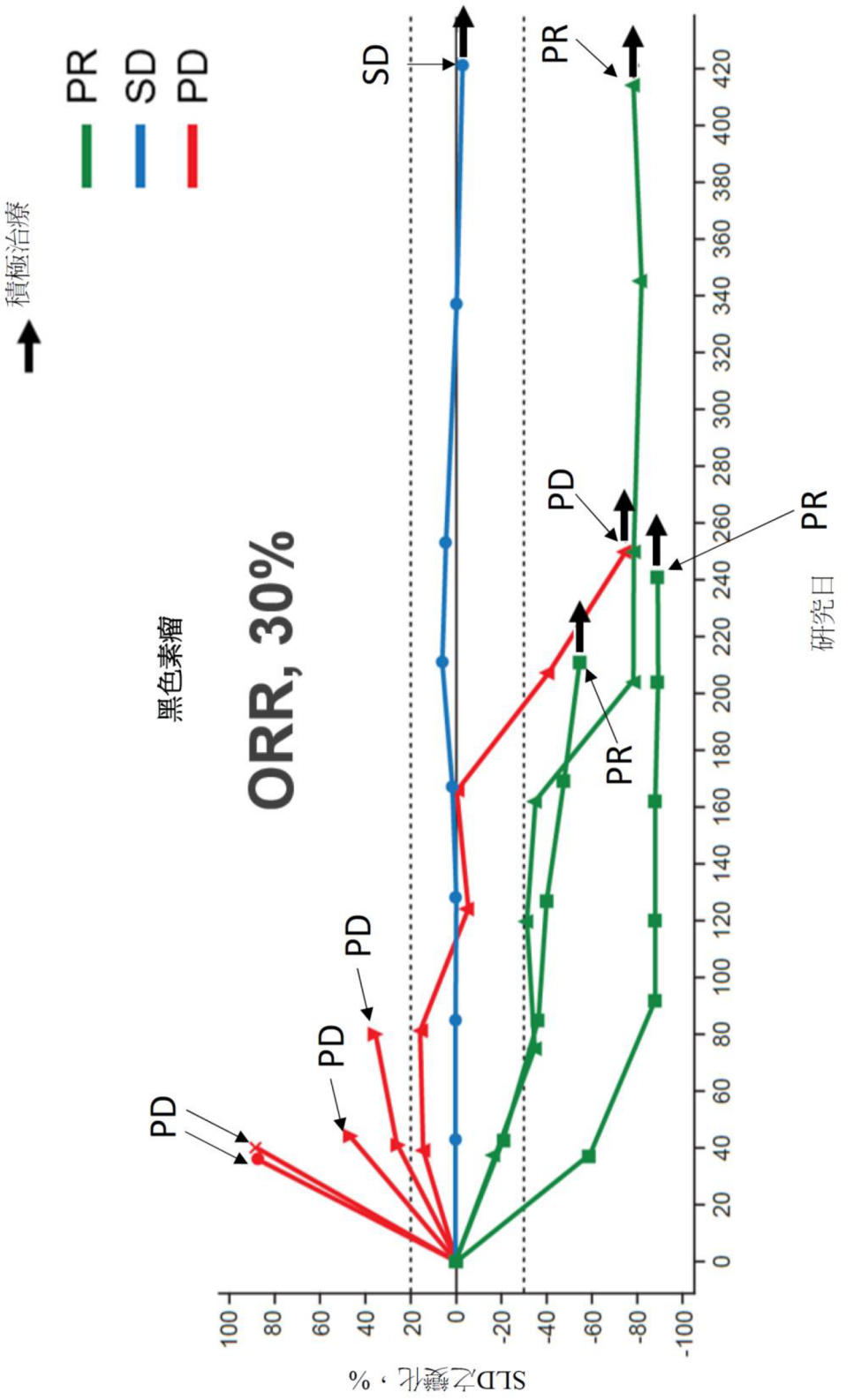

PR
SD
PD
積極治療
黑色素瘤
ORR, 30%
SD
PR
PD
PD
PD
PD
PR
PR
PR
SLD之變化，%
研究日
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420

圖24C

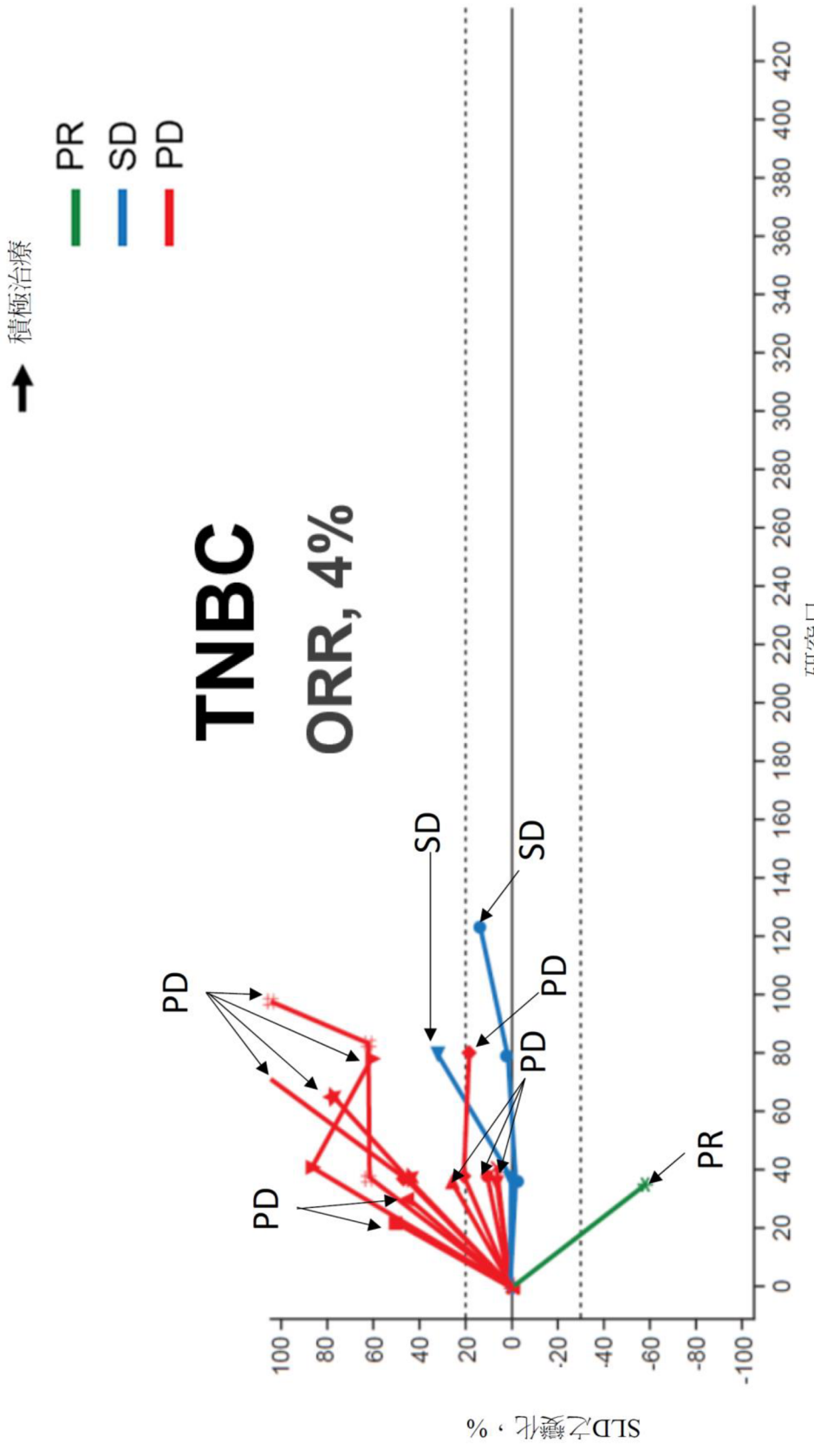

TNBC
ORR, 4%
積極治療
PR
SD
PD
SLD之變化，%
研究日
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420

圖24D

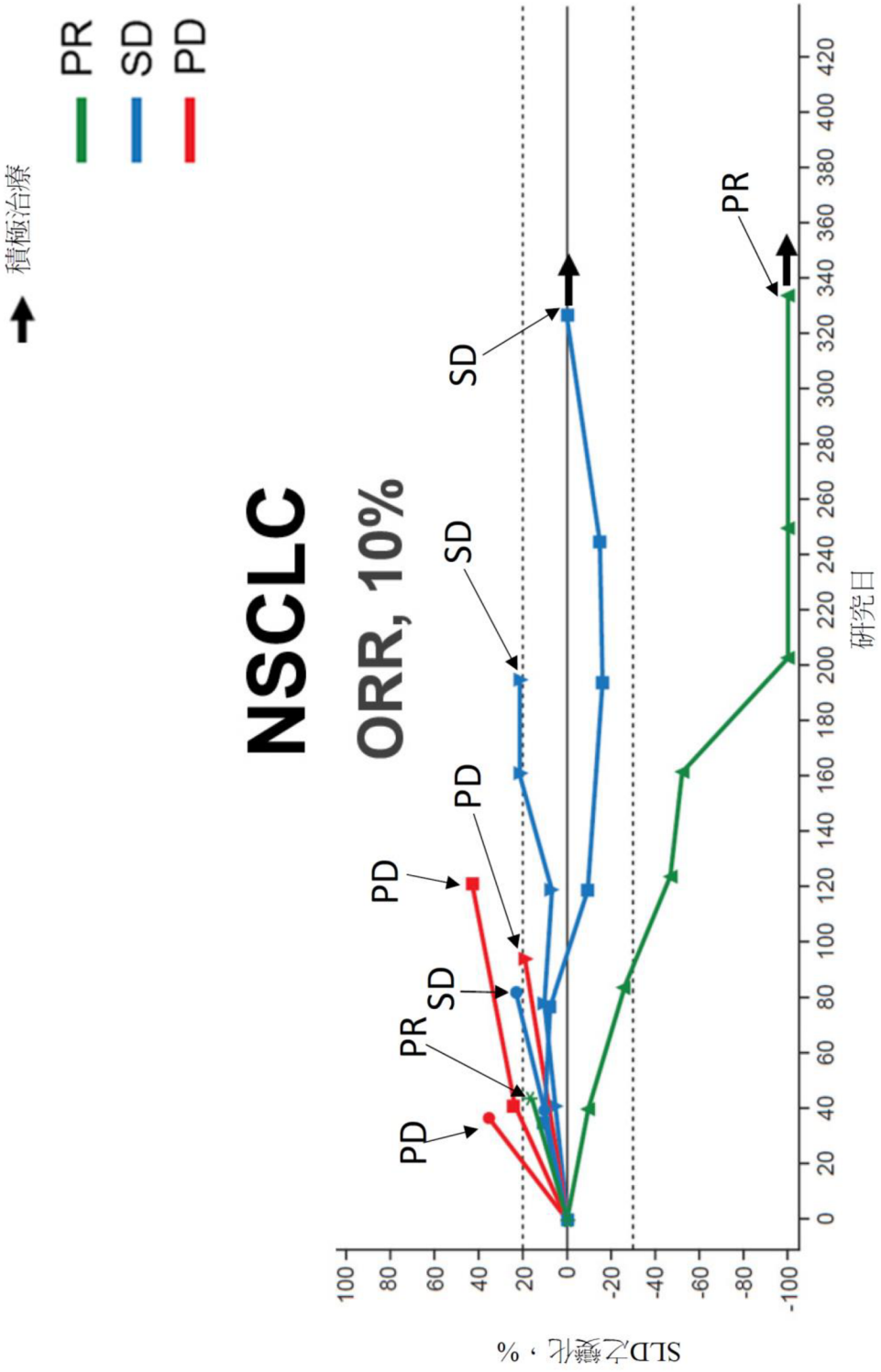

PR
SD
PD
積極治療
NSCLC
ORR, 10%
SD
SD
PD
PD
SD
PR
PD
PR
SD
PD
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420
研究日
SLD之變化，%

圖24E