

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7693189号
(P7693189)

(45)発行日 令和7年6月17日(2025.6.17)

(24)登録日 令和7年6月9日(2025.6.9)

(51)国際特許分類	F I	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
C 0 7 K 7/06 (2006.01)	C 0 7 K 7/06	Z N A
請求項の数 30 (全58頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2020-507103(P2020-507103)	(73)特許権者	518426066 グッド ティー セルズ、 インコーポレ イテッド 大韓民国 0 3 9 2 9 ソウル、マポ - グ ソナム - ロ、 1 8 9、サンナム - ドン 、 1 4 0 1 - ホ スモール アンド ミデ ィナム - サイズド エンタープライジズ ディーエムシー タワー
(86)(22)出願日	平成30年8月10日(2018.8.10)	(74)代理人	110000729 弁理士法人ユニアス国際特許事務所
(65)公表番号	特表2020-532957(P2020-532957 A)	(72)発明者	キム、チョン ホ 大韓民国 0 4 1 3 6 ソウル、マポ - グ 、テフン - ロ、 1 0 4、 3 0 2 - ホ (テ フン - ドン)
(43)公表日	令和2年11月19日(2020.11.19)	(72)発明者	キム、ボム ソク
(86)国際出願番号	PCT/KR2018/009225		
(87)国際公開番号	WO2019/031939		
(87)国際公開日	平成31年2月14日(2019.2.14)		
審査請求日	令和3年7月30日(2021.7.30)		
審査番号	不服2023-9382(P2023-9382/J1)		
審査請求日	令和5年6月7日(2023.6.7)		
(31)優先権主張番号	10-2017-0101800		
(32)優先日	平成29年8月10日(2017.8.10)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)		
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌治療のためのT細胞の活性化方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号41、48、49、122、123、173、174、213および214のうちのいずれか1つで表される、T細胞活性化のためのエプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌特異的ネオエピトープ。

【請求項2】

H L A - A * 2 4 0 2 および H L A - A * A 0 2 0 1 のうちの少なくとも1つと結合親和性を示すものである、請求項1に記載のエプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌特異的ネオエピトープ。

【請求項3】

前記癌は、配列番号41、48、49、122、123、173、174、213および214のうちのいずれか1つで表される癌特異的ネオエピトープを発現するものである、請求項1に記載のエプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌特異的ネオエピトープ。

【請求項4】

前記癌は、大腸癌、膵臓癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、子宮頸癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、肺癌、非小細胞性肺癌、前立腺癌、胆嚢癌、胆道癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、血液癌、膀胱癌、腎臓癌、卵巣癌、黒色腫、結腸癌、骨癌、皮膚癌、頭部癌、子宮癌、直腸癌、脳腫瘍、肛門付近癌、卵管癌、子宮内膜癌腫、膣癌、陰門癌腫、食道癌、小腸癌、内分泌腺癌、副腎癌、軟組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、輸尿管癌、腎臓細胞癌腫、腎

孟癌、中枢神経系（CNS）腫瘍、1次CNSリンパ腫、脊髄腫瘍、脳幹神経膠腫、または脳下垂体腺腫である、請求項3に記載のエプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープ。

【請求項5】

請求項1～4のいずれか1項に記載のエプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープをコーディングする、核酸分子。

【請求項6】

請求項5に記載の核酸分子が挿入された、発現ベクター。

【請求項7】

請求項6に記載の発現ベクターが形質感染した、宿主細胞。

10

【請求項8】

配列番号41、48、49、122、123、173、174、213および214のうちのいずれか1つで表されるエプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープを含む、癌の予防または治療用T細胞の活性化用組成物。

【請求項9】

前記T細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、T細胞、制御性T細胞、およびメモリーT細胞からなる群より選択された1種以上を含む、請求項8に記載のT細胞の活性化用組成物。

【請求項10】

配列番号41、48、49、122、123、173、174、213および214のうちのいずれか1つで表されるエプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープがローディングされた抗原提示細胞。

20

【請求項11】

樹状細胞、B細胞、およびマクロファージのうちの1種以上を含む、請求項10に記載の抗原提示細胞。

【請求項12】

T細胞の増殖または分化を促進する、請求項10に記載の抗原提示細胞。

【請求項13】

配列番号41、48、49、122、123、173、174、213および214のうちのいずれか1つで表されるエプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープを抗原提示細胞にローディングする工程を含む、抗原提示細胞を製造する方法（但し、前記工程がヒト生体内で行われる場合を除く）。

30

【請求項14】

前記抗原提示細胞は、樹状細胞、B細胞、およびマクロファージのうちの1種以上を含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記抗原提示細胞は、目的の個体の末梢血液由来の末梢血単核細胞（PBMC）から得られたものである、請求項13に記載の方法。

【請求項16】

前記ローディングは、前記抗原提示細胞を前記エプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープと接触させて行われる、請求項13に記載の方法。

40

【請求項17】

前記ローディングは、前記抗原提示細胞を前記エプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープでパルスング（pulsing）して行われる、請求項13に記載の方法。

【請求項18】

前記ローディングは、前記エプスタイン-バールウイルス（EBV）陰性癌特異的ネオエピトープをコーディングする核酸分子が挿入された発現ベクターを前記抗原提示細胞にヌクレオフェクション（nucleofection）させて行われる、請求項13に記載の方法。

50

【請求項 19】

前記ローディングは、

前記エプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌特異的ネオエピトープ、および樹状細胞特異的抗体またはその断片を含む、融合タンパク質を用いて行われる、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 20】

請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の抗原提示細胞によって活性化された、T 細胞。

【請求項 21】

請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の抗原提示細胞によって T 細胞を活性化する方法 (但し、前記活性化がヒト生体内で行われる場合を除く)。

10

【請求項 22】

前記 T 細胞を前記抗原提示細胞と共培養して行われる、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記 T 細胞は、目的の個体の末梢血単核細胞 (PBMC) から得られたものである、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

前記 T 細胞は、細胞傷害性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、T 細胞、制御性 T 細胞、およびメモリー T 細胞からなる群より選択された 1 種以上を含む、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 25】

前記共培養が、インターロイキン - 2 (IL - 2)、インターロイキン - 4 (IL - 4)、インターロイキン - 7 (IL - 7)、インターロイキン - 15 (IL - 15)、インターロイキン - 21 (IL - 21)、またはこれらの組み合わせを添加して行われる、請求項 22 に記載の方法。

20

【請求項 26】

前記共培養が、サイトカインおよび免疫グロブリン重鎖不変部を含む融合タンパク質を添加して行われる、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 27】

前記サイトカインは、インターフェロン - (IFN -)、インターロイキン - 2 (IL - 2)、インターロイキン - 4 (IL - 4)、インターロイキン - 12 (IL - 12)、IL - 18、腫瘍壊死因子 (TNF)、または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) である、請求項 26 に記載の方法。

30

【請求項 28】

前記共培養が、

CD27、CXCR3、または CD62L のリガンド、および免疫グロブリン重鎖不変部を含む、融合タンパク質を添加して行われる、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 29】

請求項 10 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の抗原提示細胞を有効成分として含む、エプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌の予防または治療用薬学組成物。

【請求項 30】

請求項 20 に記載の活性化された T 細胞を有効成分として含む、エプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌の予防または治療用薬学組成物。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌特異的ネオエピトープ (neo-epitope)、前記ネオエピトープがローディングされた抗原提示細胞、および前記抗原提示細胞によって癌治療のための T 細胞を活性化する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

50

胃癌の発病は全世界的に、特にアジアで高い発病率を示す悪性腫瘍として知られている。胃癌の発病原因としては種々知られてきているが、代表的に、エプスタイン・バーウイルス (epstein barr virus ; EBV) の感染によって現れるEBV関連性胃癌と、胃腸細胞の遺伝子変異の蓄積によって発生する胃癌細胞抗原関連性胃癌とに分類することができる。現在、胃癌に対する治療策は、長い時間の間癌組織の切開手術が最も効果的であると知られてきており、化学的療法および放射線治療も行われているが、胃癌を初期に発見できなかった場合は完治が難しい疾病とされている。また、様々な生物学的製剤 (抗体、小分子) により臨床試験を進行させてきているが、まだ良い臨床的效果を示す治療剤は現れていない。

【0003】

最近、患者由来の自己T細胞を用いた癌細胞特異的ターゲット治療方法が様々な機関で研究されてきており、キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor ; CAR) T細胞を用いたリンパ腫に対して様々な機関で臨床試験を進行させた結果、良好な臨床的效果と低い副作用から、抗癌治療への新たな分野として注目されてきている。

【0004】

患者由来T細胞を用いると、細胞治療剤の最も大きな副作用である免疫反応の誘導が少なく、供与者のHLAタイプに対する制限が無くなるので、効果的で副作用のない治療剤とされてきた。今のところ、抗癌治療分野で最も多く使用されている細胞治療剤の種類には、CD8+T細胞、CD4+T細胞、NK細胞、樹状細胞、CAR T細胞が知られている。NK細胞の場合、細胞死滅効能を有しているが、抗原特異性がないため、様々な副作用があり、樹状細胞の場合には、直接的に細胞を死滅する機能がないのに対し、患者体内のT細胞に抗原特異性を伝達して高い効率でT細胞の癌細胞特異性を付与できるワクチン概念の治療剤である。また、CD4+T細胞は、抗原特異性により他の細胞に対して補助する役割を有しており、CD8+T細胞の場合、抗原特異性および細胞死滅効果が最も良い細胞として知られている。

【0005】

しかし、今のところ使用または開発されている細胞治療剤はほとんど限界があり、臨床的な効果が現れていないのが現状である。その限界をみると、癌細胞は、人体内の免疫反応を抑制する物質を自ら分泌するか、癌細胞に対する抗体の生成に必須な抗原を提示できないため、適切な免疫反応を起こせないようにする。

【0006】

一方、樹状細胞は、人体の外部から入ってくるか、内部で発生する抗原を検知する監視者の役割を果たすだけでなく、このように認知し吸収した抗原をもって免疫器官 (secondary lymphoid organ) に迅速に移動して抗原と反応するT細胞を含む免疫細胞に抗原を提示する専門的な抗原提示細胞の役割を果たす。樹状細胞を用いた抗癌免疫治療ワクチンの場合、様々な方法により開発されてきており、大きく、生体外で発生した (ex vivo generated) 樹状細胞ワクチンと、生体内 (in vivo) 樹状細胞ワクチンとに分けられる。生体内樹状細胞ワクチンの場合、体内に存在する樹状細胞に抗原を直接的に伝達する方式である。また、生体外で発生した樹状細胞ワクチン方法の場合、患者のPBMCから樹状細胞を分離し、分離された樹状細胞に提示する抗原を伝達し、これによって樹状細胞が活性化された後、さらに患者に注入し、注入された樹状細胞からT細胞へ抗原を伝達する方法である。この方式の場合には、生体外で樹状細胞の培養方法および抗原伝達方式が重要であり、現在使用される抗原提示方法としては、提示する抗原のDNAをウイルスやヌクレオフェクション (nucleofection) を用いてトランスフェクションさせるか、樹状細胞をターゲットする抗体に抗原を結合させて、樹状細胞をターゲットとする抗原を伝達することが用いられている。

【0007】

現在、樹状細胞ワクチンの最も大きな問題点としては、体内の激しい慢性炎症現象、ワールブルク効果 (Warburg effect)、免疫抑制サイトカイン、免疫抑制T

10

20

30

40

50

細胞および樹状細胞などが存在する癌の微細環境中で効果的な抗癌免疫細胞の活性化が極めて困難とされているという点である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の一つの目的は、エプスタイン - バールウイルス (epstein barr virus ; EBV) 陰性癌特異的ネオエピトープ (neo epitope) とこれを含む T 細胞活性化用組成物を提供することである。

【0009】

本発明の他の目的は、本発明のネオエピトープがローディングされたもので、癌治療のための T 細胞を活性化させることができる抗原提示細胞を提供することである。

10

【0010】

本発明のさらに他の目的は、本発明のネオエピトープがローディングされた抗原提示細胞によって活性化された T 細胞を提供することである。

【0011】

本発明のさらに他の目的は、癌治療のために T 細胞を活性化する方法を提供することである。

【0012】

しかし、本発明がなそうとする技術的課題は以上に述べた課題に制限されず、述べていないさらに他の課題は、以下の記載から当業界における通常の知識を有する者に明確に理解されるであろう。

20

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の一実施形態によれば、癌特異的エピトープ (tumor antigen epitope) に関する。

【0014】

本発明において、前記「癌特異的エピトープ」は、癌細胞にのみ存在し、正常細胞には存在しない突然変異タンパク質抗原に由来するものである。本発明において、前記癌特異的エピトープは、T 細胞受容体によって認識される少なくとも 1 つのエピトープを含むもので、好ましくは、エプスタイン - バールウイルス (epstein barr virus ; EBV) 陰性癌で癌遺伝子の変異によって現れる自己癌抗原のネオエピトープ (neo - epitope) であってもよい。

30

【0015】

本発明において、前記「ネオエピトープ (neo - epitope)」は、正常な非癌細胞または生殖細胞のようなレファレンスでは存在しないが、癌細胞では発見されるエピトープを指す。ここでは特に、正常な非癌細胞または生殖細胞では対応するエピトープが発見されるが、癌細胞での 1 以上の突然変異によって、エピトープの配列が変化してネオエピトープが生じる状況も含まれる。ネオエピトープに関連して、ネオエピトープは、固有の腫瘍特異的抗原を生成する腫瘍細胞においてランダム突然変異を発現すると見られる。したがって、他の観点から見ると、ネオエピトープは、サイレントおよび他の非関連突然変異を除去させる第 1 の内容物フィルタとして作用できる突然変異の種類 (例えば、欠失、挿入、転換、転移、転座) および影響 (例えば、ナンセンス (non - sense)、ミスセンス、フレーム移動など) を考慮して同定することができる。また、ネオエピトープ配列は、比較的短い長さ (例えば、7 ~ 11 mer) の配列伸長と定義され、ここで、このような伸長はアミノ酸配列の変化を含むことを理解しなければならない。最も典型的に、変化したアミノ酸は、中央アミノ酸位置またはその近傍にあるはずである。例えば、典型的なネオエピトープは、A 4 - N - A 4、または A 3 - N - A 5、または A 2 - N - A 7、または A 5 - N - A 3、または A 7 - N - A 2 の構造を有することができ、ここで、A は、タンパク質生成アミノ酸であり、N は、変化したアミノ酸 (野生型またはマッチングされた正常群に対して) である。例えば、本願で考慮されるネオエピトープ配列は

40

50

、比較的短い長さ（例えば、5～30mer、より典型的に7～11merまたは12～25mer）の配列伸長を含み、ここで、このような伸長はアミノ酸配列の変化を含む。したがって、単一アミノ酸の変化が、変化したアミノ酸の位置によって、変化したアミノ酸を含む多数のネオエピトープ配列に提示できることを理解しなければならない。有利には、このような配列可変性は、ネオエピトープの多重選択を可能にして、1つ以上の好ましい形質（例えば、患者HLA-類型に対する最も高い親和度、最も高い構造的安定性など）に基づいて選択可能な潜在的に有用な標的の数を増加させる。最も典型的に、このようなネオエピトープは、2～50個のアミノ酸、より典型的には5～30個のアミノ酸、最も典型的には9～15個のアミノ酸の長さを有するように計算され、変化したアミノ酸は、好ましくは、中央に位置するか、そうでなければ、MHCとの結合を向上させる方式で位置する。例えば、エピトープがMHC-I複合体によって提供される場合、典型的なネオエピトープの長さは、約8～11個のアミノ酸であり、MHC-II複合体を介して提示された典型的なネオエピトープの長さは、約13～17個のアミノ酸を有するはずである。簡単に理解されるように、ネオエピトープでの変化したアミノ酸の位置は中心ではないため、実際にペプチド配列およびネオエピトープの実際の位相は大きく異なり得る。

10

【0016】

本発明において、前記ネオエピトープとしては、ヒトの血液から抽出されたT細胞、好ましくは、メモリーT細胞(memory T cells)が効能を有し得るように、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、2-マイクログロブリン、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA1、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5、HLA-DM、HLA-DOA、およびHLA-DOB遺伝子座のうちの少なくとも1つと結合親和性を示すことができる。なかでも、韓国人にとって最も多く発現しているHLAタイプとして、例えば、HLA-A*2402、HLA-A* A0201、HLA-A*3303、HLA-A*1101、HLA-A*0206、HLA-A*3101、HLA-B*5101、HLA-B*4403、HLA-B*5401、HLA-B*5801、およびHLA-B*3501のうちの少なくとも1つ、好ましくは、HLA-A*2402またはHLA-A* A0201と高い結合親和性を示すものであってもよい。

20

【0017】

好ましくは、本発明において、前記ネオエピトープとしては、HLA-A*2402に対して高い結合親和性を有するもので、配列番号1～49のうちのいずれか1つで表されるネオエピトープであってよく；またはHLA-A*0201に対して高い結合親和性を有するもので、配列番号50～214のうちのいずれか1つで表されるネオエピトープであってよい。

30

【0018】

ただし、本発明において、前記ネオエピトープ-HLA親和度を測定する方法としては、ネオエピトープが特定のHLA対立形質に結合するかを予測するためにNetMHC3.4 (URL:www.cbs.dtu.dk/services/NetMHC-3.4/)を用いることができるが、これに制限されるわけではない。

40

【0019】

本発明において、前記「HLA」または「ヒト白血球抗原」は、免疫系の調節の原因になる細胞の表面上でMHC(主組織適合性複合体)タンパク質を暗号化するヒト遺伝子を表す。「HLA-I」または「HLAクラスI」は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、および2-マイクログロブリン遺伝子座を含むヒトMHCクラスI遺伝子を表す。「HLA-II」または「HLAクラスII」は、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA1、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5、HLA-DM、HLA-DOA、およびHLA-DOB遺伝子座を含むヒトMHCクラスII遺伝子を表す。

50

【0020】

本発明において、前記癌としては、エプスタイン - バールウイルス (epstein barr virus ; EBV) 陰性癌で、本発明の配列番号 1 ~ 214 のうちのいずれか 1 つで表されるネオエピトープを発現する癌腫であれば制限なく含まれ、その種類を特に制限しないが、例えば、大腸癌、膵臓癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、子宮頸癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、肺癌、非小細胞性肺癌、前立腺癌、胆嚢癌、胆道癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、血液癌、膀胱癌、腎臓癌、卵巣癌、黒色腫、結腸癌、骨癌、皮膚癌、頭部癌、子宮癌、直腸癌、脳腫瘍、肛門付近癌、ラッパ管癌腫、子宮内膜癌腫、腔癌、陰門癌腫、食道癌、小腸癌、内分泌腺癌、副腎癌、軟組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、輸尿管癌、腎臓細胞癌腫、腎臓骨盤癌腫、中枢神経系 (CNS central nervous system) 腫瘍、1次 CNS リンパ腫、脊髄腫瘍、脳幹神経膠腫、または脳下垂体腺腫であってもよく、好ましくは、胃癌であってもよい。

10

【0021】

本発明の他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープ (tumor antigen epitope) で、好ましくは、配列番号 1 ~ 214 のうちのいずれか 1 つで表されるエプスタイン - バールウイルス (EBV) 陰性癌抗原のネオエピトープ (neoepitope) をコードする核酸分子に関する。

【0022】

本発明の核酸分子は、本発明で提供するポリペプチドのアミノ酸配列を、当業者に知られているように、ポリヌクレオチド配列に翻訳した、核酸分子のすべてを含む。そのため、ORF (open reading frame) による多様なポリヌクレオチド配列が製造可能であり、これもすべて本発明の核酸分子に含まれる。

20

【0023】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する前記単離された核酸分子が挿入された発現ベクターを提供する。

【0024】

本発明において、前記「ベクター」は、ある核酸分子が連結された他の核酸を輸送できる前記核酸分子である。ベクターの一つの類型は、追加的な DNA セグメントが結紮され得る円形の二重鎖 DNA を指す「プラスミド」である。他の類型のベクターは、ファージベクターである。さらに他の類型のベクターは、ウイルス性ベクターで、追加的な DNA セグメントがウイルスゲノムにライゲーションされ得る。あるベクターは、それらが流入した宿主細胞で自律的な複製を行うことができる (例えば、バクテリア性ベクターはバクテリア性複製起源を有するエピソーム哺乳類ベクター)。その他のベクター (例えば、非エピソーム哺乳類ベクター) は、宿主細胞に流入しながら宿主細胞のゲノムに統合され、それによって、宿主ゲノムとともに複製される。それだけでなく、あるベクターは、これらが作動レベルで連結された遺伝子の発現を指示することができる。このようなベクターは、本願において「組換え発現ベクター」または単に「発現ベクター」と名付けられる。一般的に、組換え DNA 手法で有用な発現ベクターは、たびたびプラスミドの形態で存在する。本明細書において、「プラスミド」と「ベクター」は、プラスミドがベクターのうち最も通常使用される形態であるため、相互交換して使用できる。

30

40

【0025】

本発明において、前記発現ベクターの具体的な例としては、商業的に広く使用される pCDNA ベクター、F、R1、RP1、Col、pBR322、ToL、Ti ベクター；コスミド；ラムダ、ラムドイド (lambdoid)、M13、Mu、p1 P22、Q μ 、T-even、T2、T3、T7 などのファージ；植物ウイルスからなる群より選択されるが、これに制限されるわけではなく、当業者に発現ベクターとして知られたすべての発現ベクターは本発明に使用可能であり、発現ベクターを選択する際には、目的の宿主細胞の性質による。宿主細胞へのベクターの導入時、リン酸カルシウムトランスフェクション、ウイルス感染、DEAE - デキストラン調節トランスフェクション、リポフェクタミントランスフェクション、または電気穿孔法によって行われるが、これに限定されるも

50

のではなく、当業者は使用する発現ベクターおよび宿主細胞に適した導入方法を選択して用いることができる。好ましくは、ベクターは、1つ以上の選別マーカ含有するが、これに限定されず、選別マーカを含まないベクターを用いて生産物の生産有無によって選別が可能である。選別マーカの選別は、目的の宿主細胞によって選別され、これは、すでに当業者に知られた方法を利用するので、本発明はこれに制限を置かない。

【0026】

本発明の核酸分子を精製を容易にするためにタグ配列を発現ベクター上に挿入して融合させることができる。前記タグとしては、ヘキサ-ヒスチジンタグ、ヘマグルチニンタグ、mycタグ、またはflagタグを含むが、これに限定されるものではなく、当業者に知られた精製を容易にするタグはすべて本発明で利用可能である。

10

【0027】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する前記発現ベクターがトランスフェクトした宿主細胞を提供する。

【0028】

本発明において、前記「宿主細胞」には、ポリペプチド挿入物の組込みのためのベクターの受取者(recipient)であるか、受取者であった個別的な細胞または細胞培養物が含まれる。宿主細胞には単一宿主細胞の子孫が含まれ、前記子孫は、自然的な、偶発的なまたは故意の突然変異のため、必ずしも元の母細胞と完全に同一(形態学上またはゲノムDNA補完体において)でないことがある。宿主細胞には本願のポリペプチドで体内に形質注入された細胞が含まれる。

20

【0029】

本発明において、前記宿主細胞としては、哺乳動物、植物、昆虫、菌類、または細胞性起源の細胞を含むことができ、例えば、大腸菌、ストレプトマイセス、サルモネラ・ティフィムリウムなどのバクテリア細胞；酵母細胞、ピキア・パストリスなどの菌類細胞；シヨウジョウバエ、スポドプテラSf9細胞などの昆虫細胞；CHO(チャイニーズハムスター卵巣細胞、Chinese hamster ovary cells)、SP2/0(マウス骨髄腫)、ヒトリンパ芽球(Human lymphoblastoid)、COS、NSO(マウス骨髄腫)、293T、BOWメラノーマ細胞、HT-1080、BHK(ベビーハムスター腎臓細胞、Baby Hamster Kidney cells)、HEK(ヒト胚腎臓細胞、Human Embryonic Kidney cells)、またはPERC.6(ヒト網膜細胞)の動物細胞；または植物細胞であってもよいが、これに制限されるわけではなく、当業者に知られた宿主細胞として使用可能な細胞はすべて利用可能である。

30

【0030】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープ(tumor antigen epitope)、これをコーディングする核酸分子、前記核酸分子が挿入された発現ベクターまたは前記発現ベクターが形質転換された宿主細胞を含むT細胞の活性化用組成物に関する。

【0031】

本明細書で使用されるように、「T細胞の活性化」は、少なくとも1つの腫瘍抗原ペプチドを認識するT細胞受容体を有する、単クローン(例えば、同一のTCRを暗号化する)または多クローン(例えば、相異なるTCRを暗号化するクローンを有する)T細胞集団を称する。活性化されたT細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、T細胞、制御性T細胞、およびメモリーT細胞からなる群より選択された1種以上を含むが、これに限定されないT細胞の1つ以上の亜型を含有することができるが、好ましくは、メモリーT細胞(memory T cells)であってもよい。

40

【0032】

本発明において、前記活性化されたT細胞は、癌細胞の防御機構を避けて癌または腫瘍性状態を治療するか、癌の再発、進行または転移を予防することができる。

【0033】

50

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープ (t u m o r a n t i g e n e p i t o p e) がローディング (l o a d i n g) された抗原提示細胞 (a n t i g e n p r e s e n t i n g c e l l s 、 A P C) であってもよい。

【 0 0 3 4 】

本発明において、前記抗原提示細胞は、樹状細胞 (d e n d r i t i c c e l l s 、 D C) 、 B 細胞、およびマクロファージのうちの 1 種以上を含むことができるが、好ましくは、樹状細胞であってもよい。

【 0 0 3 5 】

本発明において、前記「樹状細胞」は、リンパ性または非リンパ性組織で発見される形態学的に類似する細胞類型の多様な集団の構成員である。このような細胞は、これらの独特の形態、および抗原ペプチドを T 細胞に提示するタンパク質である表面クラス I およびクラス II M H C 分子の高い発現水準を特徴とする。 D C 、他の A P C および T 細胞は、末梢血液に由来する末梢血単核細胞 (P B M C) のように、都合的には末梢血液から、そして多数の組織供給源から単離されるか、由来 (例えば、分化) できる。

【 0 0 3 6 】

本発明において、前記抗原提示細胞は、癌抗原特異的な T 細胞、好ましくは、メモリー T 細胞の分化および増殖を誘導することで癌細胞の防御機序を避けて癌または腫瘍性状態を治療するか、癌の再発、進行または転移を予防することができる。

【 0 0 3 7 】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープ (t u m o r a n t i g e n e p i t o p e) ; および樹状細胞特異的抗体またはその断片を含む融合タンパク質に関する。

【 0 0 3 8 】

本発明で提供する融合タンパク質は、樹状細胞に本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングできるようにする。

【 0 0 3 9 】

本発明において、前記樹状細胞特異的抗体としては、樹状細胞の D C I R 、 M H C クラス I 、 M H C クラス II 、 C D 1 、 C D 2 、 C D 3 、 C D 4 、 C D 8 、 C D 1 1 b 、 C D 1 4 、 C D 1 5 、 C D 1 6 、 C D 1 9 、 C D 2 0 、 C D 2 9 、 C D 3 1 、 C D 4 0 、 C D 4 3 、 C D 4 4 、 C D 4 5 、 C D 5 4 、 C D 5 6 、 C D 5 7 、 C D 5 8 、 C D 8 3 、 C D 8 6 、 C M R F - 4 4 、 C M R F - 5 6 、 D C I R 、 D C - A S P G R 、 C L E C - 6 、 C D 4 0 、 B D C A - 2 、 M A R C O 、 D E C - 2 0 5 、 C l e c 9 A 、 3 3 D 1 、 マンノース受容体 (m a n n o s e r e c e p t o r) 、 ランゲリン (L a n g e r i n) 、 D E C T I N - 1 、 B 7 - 1 、 B 7 - 2 、 I F N - 受容体、 I L - 2 受容体、 I C A M - 1 、 F c 受容体、 L O X - 1 、 または A S P G R に特異的な抗体であってもよいが、これに制限されるわけではない。

【 0 0 4 0 】

本発明の融合タンパク質において、前記癌特異的エピトープは、前記樹状細胞特異的抗体またはその断片にコンジュゲートされたものであってもよい。ここで、前記「コンジュゲート (c o n j u g a t e) 」は、 2 つの部分と一緒に結合させて形成された任意の物質をいう。本発明に係る代表的な接合体は、抗原と抗体および T L R 効能剤と一緒に結合させて形成されたものを含む。用語「コンジュゲーション (c o n j u g a t i o n) 」は、接合体を形成する工程をいい、一般的に、物理的カップリング、例えば、共有結合、同時 - 配位共有結合、または第 2 結合力、例えば、ファンデルワールス結合力 (V a n d e r W a a l s b o n d i n g f o r c e) をいう。抗原を抗体に連結させる工程はさらに、ドックリン - コヘシン会合 (d o c k e r i n - c o h e s i n a s s o c i a t i o n) のような非共有結合性会合 [(B a n c h e r e a u) らの米国特許公報第 2 0 1 0 0 1 3 5 9 9 4 号、本願に参照として引用された部分に関連する] により、またはペプチドまたは化学的結合を形成することで直接的な化学的連結によって行われる。

【 0 0 4 1 】

10

20

30

40

50

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープ (t u m o r a n t i g e n e p i t o p e) がローディングされた抗原提示細胞 (A n t i g e n p r e s e n t i n g c e l l s 、 A P C) を製造する方法に関する。

【 0 0 4 2 】

本発明において、前記抗原提示細胞は、樹状細胞、B細胞、およびマクロファージのうちの1種以上を含むことができるが、好ましくは、樹状細胞であってもよい。

【 0 0 4 3 】

本発明において、前記樹状細胞 (例えば、未成熟樹状細胞) は、自己供給源、すなわち、目的の個体由来を含む多様な供給源から得ることができ、好ましくは、末梢血液由来の末梢血単核細胞 (P e r i p h e r a l b l o o d m o n o n u c l e a r c e l l 、 P B M C) から得られ、より好ましくは、個体由来 P B M C から単核球を分離して複数のサイトカインと接触させることで得られる。ここで、前記単核球の樹状細胞への分化を誘導するサイトカインの種類は特に制限しないが、例えば、G M - C S F および I L - 4 のうちの1種以上を含むことができる。

【 0 0 4 4 】

本発明において、前記「目的の個体」とは、癌が発病したか、発病の可能性が高い個体を意味する。

【 0 0 4 5 】

本発明において、前記のように抗原提示細胞が用意されると、前記抗原提示細胞に本発明の癌特異的エピトープをローディングすることができる。一般的に、未成熟樹状細胞は、食作用や受容体を介した細胞内取込み (エンドサイトーシス) により抗原を捕獲して、細胞内の一連の過程により抗原を加工後、M H C に抗原ペプチドを積載してTリンパ球に提示する。抗原を加工する過程とともに、樹状細胞は次第に成熟して食作用と細胞内取込みに使用される受容体を失い、M H C クラス I 、 I I 、補助刺激分子、細胞癒着分子の発現が増加し、新たなケモカイン受容体を発現して周辺リンパ節のTリンパ球が豊かな地域に移動してTリンパ球に抗原を提示することにより、Tリンパ球免疫反応を起こす。

【 0 0 4 6 】

本発明の一例として、前記癌特異的エピトープを前記抗原提示細胞にローディングするためには、前記抗原提示細胞を本発明の癌特異的エピトープと接触させることができ、好ましくは、前記抗原提示細胞として、例えば、未成熟樹状細胞、または P B M C に含まれるか、これに由来する (例えば、分化した) 抗原提示細胞 (例えば、樹状細胞) に本発明の前記癌特異的エピトープをパルスング (p u l s i n g) するステップを行うことができる。本技術分野で知られているように、パルスングは、細胞、例えば、樹状細胞を、抗原ペプチドを含有する溶液と混合し、次いで、任意に混合物から抗原ペプチドを除去する工程を称する。本発明では、前記未成熟樹状細胞を癌特異的エピトープと接触させる時、T o l l - l i k e 受容体作用剤を処理して未成熟樹状細胞の集団の成熟を追加的に誘導することができる。この時、例示的な T L R 作用剤には、P o l y I C 、 M A L P 、 および R 8 4 8 が含まれるが、これに限定されない。

【 0 0 4 7 】

本発明の他の例として、前記癌特異的エピトープを前記抗原提示細胞にローディングするためには、前記癌特異的エピトープをコードする核酸分子が挿入された発現ベクター、好ましくは、プラスミドで前記抗原提示細胞をヌクレオフェクション (n u c l e o f e c t i o n) させることができる。ここで、前記ヌクレオフェクションの際、例えば、A m a x a (登録商標) ヌクレオフェクションシステムまたは I n V i t r o g e n (登録商標) ヌクレオフェクションシステムを含む、本分野における何らかの有用な手段によって発生することができる。

【 0 0 4 8 】

本発明のさらに他の例示として、前記癌特異的エピトープを前記抗原提示細胞にローディングするためには、本発明で提供する前記癌特異的エピトープ ; および樹状細胞特異的抗体またはその断片を含む融合タンパク質を用いて行われる。

10

20

30

40

50

【0049】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する抗原提示細胞によって活性化されたT細胞に関する。

【0050】

本発明において、前記T細胞は、腫瘍抗原ペプチドを認識するT細胞受容体を有する、単クローン（例えば、同一のTCRを暗号化する）または多クローン（例えば、相異なるTCRを暗号化するクローンを有する）T細胞集団を称するもので、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、T細胞、制御性T細胞、およびメモリーT細胞からなる群より選択された1種以上を含むことができ、これに限定されないT細胞の1つ以上の亜型を含有することができるが、好ましくは、メモリーT細胞であってもよい。

10

【0051】

本発明において、前記「メモリーT細胞（memory T cells）」は、これらの特異的抗原と前に遭遇して反応したT細胞または活性化されたT細胞から分化したT細胞である。腫瘍特異的メモリーT細胞は、T細胞総量の小さい部分を構成するが、これらは、個人の全体寿命の間に腫瘍細胞の監視に重要な機能を行う。腫瘍特異的メモリーT細胞がこれらの特定腫瘍抗原を発現する腫瘍細胞に遭遇すれば、メモリーT細胞は直ちに活性化されてクローン拡張（clonally expanded）する。活性化され増殖されたT細胞は、エフェクターT細胞に分化して、高効率で腫瘍細胞を殺す。メモリーT細胞は、T細胞の臓器腫瘍抗原特異的反応を確立し維持するのに重要である。本発明において、活性化されたT細胞、好ましくは、活性化されたメモリーT細胞は、癌細胞の抗原を特異的に認識して、癌細胞の防御機序を避けて癌または腫瘍性状態を治療するか、癌の再発、進行または転移を予防することができる。

20

【0052】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する抗原提示細胞によってT細胞を活性化する方法に関する。

【0053】

本発明では、前記T細胞の活性化のためには、前記T細胞を本発明の癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞と共培養することができる。

【0054】

本発明において、前記T細胞は、自己供給源、すなわち、目的の個体由来を含む多様な供給源から得ることができ、好ましくは、末梢血液由来の末梢血単核細胞（Peripheral blood mononuclear cell、PBMC）から得られ、より好ましくは、前記末梢血単核細胞の非付着性部分から得ることができる。本発明の一例として、前記PBMCの非付着性部分を末梢血液サンプルの密度勾配遠心分離によって得ることができ、これを抗CD3抗体（例えば、OKT3）があるかなしで、少なくとも1つのサイトカイン（例えば、IL-2）と一緒に培養して得ることができる。

30

【0055】

本発明において、前記T細胞は、腫瘍抗原ペプチドを認識するT細胞受容体を有する、単クローン（例えば、同一のTCRを暗号化する）または多クローン（例えば、相異なるTCRを暗号化するクローンを有する）T細胞集団を称するもので、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、T細胞、制御性T細胞、およびメモリーT細胞からなる群より選択された1種以上を含むことができ、これに限定されないT細胞の1つ以上の亜型を含有することができるが、好ましくは、メモリーT細胞であってもよい。

40

【0056】

また、本発明において、前記T細胞および前記抗原提示細胞は、同一の個体、例えば、癌に苦しめられている個体（例えば、低等級から中間等級の癌）に由来できるが、これに制限されるわけではない。

【0057】

50

本発明において、前記T細胞の活性化のために、前記T細胞は、本発明の抗原提示細胞と1、2、3、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、または30日間のうちのいずれか1つ以上の間に共培養され、好ましくは、1日~21日、1日~14日、2日~10日、2日~5日、2日~5日、3日、5日、7日、10日、14日、16日、18日、または21日間共同培養されるが、これに制限されるわけではない。

【0058】

本発明において、前記T細胞と本発明の抗原提示細胞の共培養時、1種以上のサイトカインを添加してT細胞の活性化、成熟および/または増殖を促進し、後のメモリーT細胞への分化のためにT細胞をプライミングすることができる。このようなステップで使用できる例示的なサイトカインには、インターロイキン-2(IL-2)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-7(IL-7)、インターロイキン-15(IL-15)、インターロイキン-21(IL-21)、またはこれらの組み合わせなどが含まれるが、これに限定されない。

10

【0059】

また、本発明では、前記T細胞と本発明の抗原提示細胞の共培養時、サイトカインおよび免疫グロブリン重鎖不変部を含む融合タンパク質を添加してT細胞の活性化、成熟および/または増殖を促進し、後のメモリーT細胞への分化のためにT細胞をプライミングすることができる。ここで、前記サイトカインとしては、インターフェロン-(IFN-)、インターロイキン-2(IL-2)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-12(IL-12)、インターロイキン-18(IL-18)、腫瘍壊死因子(TNF)、または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)であってもよいが、これに制限されるわけではない。また、前記免疫グロブリン重鎖不変部は、免疫グロブリンヒンジ部、および任意にCH2ドメイン、CH3ドメイン、およびCH4ドメインまたはその配合物から構成された群より選択された免疫グロブリン重鎖不変部領域であってもよいが、これに制限されるわけではない。さらに、前記免疫グロブリン重鎖不変部は、IgA(Ig)、IgD(Ig)、IgE(Ig)、IgG(Ig)、およびIgM(Igμ)で、当業界で呼ばれる任意の5つの免疫グロブリンクラスに属する免疫グロブリンに由来できるが、好ましくは、IgGクラスに由来する免疫グロブリン重鎖不変部であってもよい。

20

30

【0060】

また、本発明では、前記T細胞と本発明の抗原提示細胞の共培養時、メモリーT細胞で高く発現する細胞表面タンパク質と結合するリガンド；および免疫グロブリン重鎖不変部を含む融合タンパク質を添加してT細胞の活性化、成熟および/または増殖を促進し、後のメモリーT細胞への分化のためにT細胞をプライミングすることができる。ここで、前記メモリーT細胞で高く発現する細胞表面タンパク質としては、CD27、CXCR3、またはCD62Lであってもよい。前記CD27に結合可能なリガンドとしては、CD70であってもよく、CXCR3に結合可能なリガンドは、CXCR9またはCXCR10であってもよいし、前記CD62Lに結合可能なリガンドは、GlyCAM-1、CD34、MadCAM-1、またはPSGL-1であってもよいが、これに制限されるわけではない。さらに、前記免疫グロブリン重鎖不変部は、IgA(Ig)、IgD(Ig)、IgE(Ig)、IgG(Ig)、およびIgM(Igμ)で、当業界で呼ばれる任意の5つの免疫グロブリンクラスに属する免疫グロブリンに由来できるが、好ましくは、IgGクラスに由来する免疫グロブリン重鎖不変部であってもよい。

40

【0061】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞を有効成分として含む免疫治療剤に関する。本発明に係る免疫治療剤は、免疫反応を増加させるか、特定疾病で、例えば、癌の治療または予防に好ましい免疫反応の一部を選択的に上昇させることができる。

【0062】

50

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞；および/または活性化されたT細胞を有効成分として含む抗癌ワクチン、癌の予防または治療用薬学組成物に関する。

【0063】

本発明で提供する前記抗原提示細胞は、癌抗原特異的なT細胞、好ましくは、メモリーT細胞の分化および増殖を誘導することができ、このように活性化されたメモリーT細胞は、癌細胞の防御機序を避けて癌または腫瘍性状態を治療するか、癌の再発、進行または転移を予防することができる。

【0064】

本発明において、前記「癌」は、哺乳類で典型的に調節されない細胞成長で特徴づけられた生理的状态を示すか、指す。本発明において、予防、改善または治療の対象になる癌は、エプスタイン-バールウイルス(epstein barr virus; EBV)陰性癌で、本発明の配列番号1~214のうちのいずれか1つで表されるネオエピトープを発現する癌腫であれば制限なく含まれ、その種類を特に制限しないが、例えば、大腸癌、膵臓癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、子宮頸癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、非咽頭癌、肺癌、非小細胞性肺癌、前立腺癌、胆嚢癌、胆道癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、血液癌、膀胱癌、腎臓癌、卵巣癌、黒色腫、結腸癌、骨癌、皮膚癌、頭部癌、子宮癌、直腸癌、脳腫瘍、肛門付近癌、卵管癌、子宮内膜癌腫、膣癌、陰門癌腫、食道癌、小腸癌、内分泌腺癌、副腎癌、軟組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、輸尿管癌、腎臓細胞癌腫、腎盂癌、中枢神経系(CNS central nervous system)腫瘍、1次CNSリンパ腫、脊髄腫瘍、脳幹神経膠腫、または脳下垂体腺腫などであってもよいし、好ましくは、胃癌であってもよいが、これに制限されるわけではない。

10

20

【0065】

本発明において、「予防」は、本発明の薬学組成物を用いて癌の症状を遮断するか、その症状を抑制または遅延させるあらゆる行為であれば制限なく含むことができる。

【0066】

また、本発明において、「治療」は、本発明の薬学組成物を用いて癌の症状が好転するか、有利になるあらゆる行為であれば制限なく含むことができる。

【0067】

本発明において、前記薬学組成物は、カプセル、錠剤、顆粒、注射剤、軟膏剤、粉末、または飲料形態であることを特徴とし、前記薬学組成物は、ヒトを対象にすることを特徴とすることができる。

30

【0068】

本発明において、前記薬学組成物は、これらに限定されるものではないが、それぞれ通常の方法によって、散剤、顆粒剤、カプセル、錠剤、水性懸濁液などの経口型剤形、外用剤、坐剤、および滅菌注射溶液の形態に剤形化して使用できる。本発明の薬学組成物は、薬学的に許容可能な担体を含むことができる。薬学的に許容される担体は、経口投与時には、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、色素、香料などを使用することができ、注射剤の場合には、緩衝剤、保存剤、無痛化剤、可溶化剤、等張剤、安定化剤などを混合して使用することができ、局所投与用の場合には、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤などを使用することができる。本発明の薬学組成物の剤形は、上述のような薬学的に許容される担体と混合して多様に製造可能である。例えば、経口投与時には、錠剤、トローチ、カプセル、エリキシル(elixir)、サスペンション、シロップ、ウエハーなどの形態で製造することができ、注射剤の場合には、単位投薬アンブルまたは多数回投薬の形態で製造することができる。その他、溶液、懸濁液、錠剤、カプセル、徐放型製剤などに剤形化することができる。

40

【0069】

一方、製剤化に適した担体、賦形剤、および希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、デンプン、アカシアガム、アルギネート、ゼラチン、カルシウムホスフェ

50

ート、カルシウムシリケート、セルロース、メチルセルロース、未晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、水、メチルヒドロキシベンゾエート、プロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、マグネシウムステアレート、または鉱物油などが使用できる。また、充填剤、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、乳化剤、防腐剤などを追加的に含むことができる。

【0070】

本発明において、前記薬学組成物の投与経路はこれらに限定されるものではないが、口腔、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、硬膜内、心臓内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸管、局所、舌下、または直腸が含まれる。経口または非経口投下が好ましい。

【0071】

本発明において、前記「非経口」とは、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、硬膜内、病巣内、および頭蓋骨内注射または注入技術を含む。本発明の薬学組成物はさらに、直腸投与のための坐剤の形態で投与される。

10

【0072】

本発明の前記薬学組成物は、使用された特定化合物の活性、年齢、体重、一般的な健康、性別、定式、投与時間、投与経路、排出率、薬物配合、および予防または治療される特定疾患の重度を含む様々な要因によって多様に変化することができ、前記薬学組成物の投与量は、患者の状態、体重、疾病の程度、薬物形態、投与経路、および期間によって異なるが、当業者によって適切に選択可能であり、1日0.0001~50mg/kgまたは0.001~50mg/kg投与することができる。投与は、1日に1回投与してもよく、数回分けて投与してもよい。前記投与量は、いかなる面でも本発明の範囲を限定するものではない。本発明に係る医薬組成物は、丸剤、糖衣錠、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁剤に剤形化される。

20

【0073】

本発明の他の実施形態によれば、癌を予防または治療するために、目的の個体に本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞；および/または活性化されたT細胞を投与するステップを含む、癌の予防または治療方法に関する。

【0074】

本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞または活性化されたT細胞の投与量、スケジュール、および投与経路は、個体の大きさおよび条件によって、そして標準薬学的慣行によって決定可能である。例示的な投与経路は、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、血管内、筋肉内、器官内、皮下、眼内、脊髄腔内、または経皮を含む。

30

【0075】

個体に投与される細胞の用量は、例えば、投与される細胞の特定類型、投与経路、および治療される癌の特定類型と病期によって異なる。前記量は、激しい毒性または有害な事例なしに、癌に対する治療反応のような所望の反応をもたらすのに十分でなければならない。一部の実施形態において、投与される活性化されたT細胞または抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）の量は、治療的有効量である。一部の実施形態において、細胞（例えば、癌特異的エピトープがローディングされた樹状細胞または活性化されたT細胞）の量は、治療前の同一の個体での相応する腫瘍の大きさ、癌細胞の数または腫瘍の成長速度と比較して、または治療を受けていない他の個体での相応する活性と比較して、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%のうちのいずれか1つの分だけ腫瘍の大きさを減少させるか、癌細胞の数を減少させるか、腫瘍の成長速度を減少させるのに十分な量である。精製された酵素を用いた試験管内検定、細胞ベース検定、動物モデル、または人体実験のような標準方法を用いて効果の規模を測定することができる。

40

【0076】

本発明の一実施形態において、本発明の癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）は、 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6 \sim$

50

5×10^6 、 $5 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6 \sim 7 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6 \sim 8 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6 \sim 7 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 、または $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 個のうちのいずれか1つの細胞/個体の投与量で投与されるが、これに制限されるわけではない。

【0077】

本発明の他の実施形態において、本発明の癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）は、 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ 、 $2 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$ 、 $4 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ 、 $6 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ 、 $8 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 、または $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 個のうちのいずれか1つの細胞/kgの投与量で投与されるが、これに制限されるわけではない。

10

【0078】

また、本発明の一実施形態において、本発明の活性化されたT細胞は、 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8 \sim 9 \times 10^8$ 、 $9 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9 \sim 3 \times 10^9$ 、 $3 \times 10^9 \sim 4 \times 10^9$ 、 $4 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9 \sim 6 \times 10^9$ 、 $6 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^9 \sim 3 \times 10^9$ 、 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9 \sim 7 \times 10^9$ 、 $7 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^9 \sim 7 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10} \sim 1.5 \times 10^{10}$ 、 $1 \times 10^{10} \sim 2 \times 10^{10}$ 、または $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 個のうちのいずれか1つの細胞/個体の投与量で投与されるが、これに制限されるわけではない。

20

【0079】

本発明の他の実施形態において、本発明の活性化されたT細胞は、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8 \sim 4 \times 10^8$ 、 $4 \times 10^8 \sim 6 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8 \sim 8 \times 10^8$ 、 $8 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^9$ 、 $2 \times 10^9 \sim 4 \times 10^9$ 、 $4 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、 $2 \times 10^8 \sim 6 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8 \sim 2 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、または $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^9$ 個のうちのいずれか1つの細胞/kgの投与量で投与されるが、これに制限されるわけではない。

30

【0080】

本発明において、前記癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）および/または活性化されたT細胞の投与時、ヒトアルブミンのような安定化剤または賦形剤がともに使用できる。

【0081】

本発明において、前記癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）および/または活性化されたT細胞の投与量および投与スケジュールは、投与する医師の判断に基づいて治療過程にわたって調整可能である。一部の実施形態において、活性化されたT細胞は、前記癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞が投与され、約1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、または1ヶ月後に投与されるか、前記抗原提示細胞と同時に投与されるが、これに制限されるわけではない。

40

【0082】

本発明において、前記癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）および/または活性化されたT細胞の投与時、単独でまたは他の療法、例えば、手術、放射線治療、遺伝子治療、免疫治療、骨髄移植、幹細胞移植、ホルモン療法、標的治療、冷凍療法、超音波治療、光線力学療法、化学療法などとともに行われる。追加的に、増殖性疾患が発病する危険がより大きい人は疾患の発病を抑制および/または遅延するための治療を受けることができる。

50

【発明の効果】

【0083】

本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞、すなわち、樹状細胞を介して癌抗原特異的なT細胞、好ましくは、メモリーT細胞の分化および増殖を迅速で効果的に誘導することができ、このように活性化されたメモリーT細胞は、癌細胞の防御機序を避けて癌または腫瘍性状態を治療するか、癌の再発、進行または転移を予防することができる。

【0084】

かつて養子(adoptiv e)T細胞治療において、癌患者治療のために多数のT細胞を生産するために3~6ヶ月の長時間がかかり、免疫細胞治療における細胞生産工程で大きな問題点があった。しかし、本発明による場合、患者の治療に使用しなければならない 10^9 の自己メモリーT細胞を3週以内に生産することができ、費用節減および外部汚染源に対する感染危険要素を最小化することができる。したがって、本発明による場合、より多くの固形癌患者に迅速な治療的接近が可能で、末期癌患者にも適用可能な技術である。

【図面の簡単な説明】

【0085】

【図1】本発明の一実施例により作製されたEBV陰性胃癌特異的自己メモリーT細胞(HLA-A2402)の抗原特異性を確認するために、IFN γ ELISPOTによりEBV陰性胃癌抗原のネオエピトープ(10mer)がローディングされた樹状細胞で刺激したT細胞、刺激のない対照群細胞のうちIFN γ を分泌する細胞の比率を確認した結果を示すものである。

【図2】本発明の一実施例により作製されたEBV陰性胃癌特異的自己メモリーT細胞(HLA-A2402)の抗原特異性を確認するために、IFN γ ELISPOTによりEBV陰性胃癌抗原のネオエピトープ(10mer)がローディングされた樹状細胞で刺激したT細胞、刺激のない対照群細胞のうちIFN γ を分泌する細胞の比率を確認した結果を示すものである。

【図3】本発明の一実施例により作製されたEBV陰性胃癌特異的自己メモリーT細胞(HLA-A0201)の抗原特異性を確認するために、IFN γ ELISPOTによりEBV陰性胃癌抗原のネオエピトープ(10mer)がローディングされた樹状細胞で刺激したT細胞、刺激のない対照群細胞のうちIFN γ を分泌する細胞の比率を確認した結果を示すものである。

【図4】本発明の一実施例により作製されたEBV陰性胃癌特異的自己メモリーT細胞(HLA-A0201)の抗原特異性を確認するために、IFN γ ELISPOTによりEBV陰性胃癌抗原のネオエピトープ(10mer)がローディングされた樹状細胞で刺激したT細胞、刺激のない対照群細胞のうちIFN γ を分泌する細胞の比率を確認した結果を示すものである。

【発明を実施するための形態】

【0086】

本発明の一実施形態によれば、配列番号1~214のうちのいずれか1つで表されるエプスタイン-バールウイルス(epstein barr virus; EBV)陰性癌特異的ネオエピトープ(neo-epitope)に関する。

【0087】

本発明の他の実施形態によれば、本発明で提供する前記癌特異的ネオエピトープ(neo-epitope)がローディング(loadin g)された抗原提示細胞(antigen presenting cells、APC)に関する。

【0088】

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する抗原提示細胞(Antigen presenting cells)によって活性化されたT細胞に関する。

【0089】

10

20

30

40

50

本発明のさらに他の実施形態によれば、本発明で提供する癌特異的エピトープがローディングされた抗原提示細胞；および/または活性化されたT細胞を有効成分として含む抗癌ワクチン、または癌の予防または治療用薬学組成物に関する。

【実施例】

【0090】

以下、実施例を通じて本発明をより詳細に説明する。これらの実施例は単に本発明をより具体的に説明するためのものであって、本発明の要旨によって本発明の範囲がこれらの実施例によって制限されないことは当業界における通常の知識を有する者にとって自明であろう。

【0091】

[実施例1] EBV陰性胃癌細胞に特異的な自己メモリーT細胞の作製方法および臨床的適用

1. EBV陰性胃癌細胞抗原ネオエピトープの選別

胃癌細胞で遺伝子変異が蓄積された最も主なシーケンスを予測し、このシーケンスがT細胞のHLAに結合するエピトープを予測するアルゴリズムは、Neopepseeを利用して開発した。この時、ネオエピトープ予測アルゴリズムには、韓国人にとって最も多く発現しているHLAタイプ(HLA-A2402、A0201)と結合親和性が高いと予想されるペプチドシーケンスを発掘した。このために、現在、TCGAに存在するすべてのEBV陰性胃癌患者の全エキソームシーケンシングとRNAseqデータ分析によりmRNAに発現するミスセンス変異を予測した。各HLAタイプと発掘されたネオエピトープとの結合親和性は、NetMHCから得られたIC50値(nM)と、NetCTLpanから得られたMHC-ペプチド結合の順位ベース予測値(rank-based predictive value)をすべて考慮し、追加的に、タンパク質切断、TCR接触残基でアミノ酸の疎水性、アミノ酸の極性および荷電値と、分子サイズおよびペプチドのエントロピーをすべて考慮してNeopepseeの最終スコアが算定され、これによって、最終的に癌特異的ネオ-抗原の可能性を予測してネオエピトープを発掘した。

【0092】

下記表1~6は、韓国人にとって最も多く発現すると知られたHLA-A2402、HLA-A0201を発現する患者のRNAseqデータを分析して、ネオエピトープと予想されるシーケンスとシーケンスを発現する当該遺伝子、そして正常シーケンスを示し、本シーケンスとHLAとの結合親和性を予測して、実際に細胞治療剤を作製する時に使用可能なネオエピトープの種類を予測する表である。

【0093】

【表1】

HLA-A2402に対して高い結合親和性を有するネオエピトープ(8mer)

transcript	gene	chr	pos	r e f	a l t	expr (RPK M)	WT_AA	MT_AA	MTpep	MT_i c50	スコ アレ ベル
hg19_knownGene_uc002hhp.1, hg19_knownGene_uc002hho.1, hg19_knownGene_uc010wcb.2	MY01 D	chr 17	3108 7632	C	T	0	FAKAIYER LFCWIVT	FAKAIYEHL FCWIVT	配 列 番 号 1 IYEH LFCW	379	med ium

【0094】

【表 2】

HLA-A2402に対して高い結合親和性を有するネオエピトープ (9mer)

transcript	gene	chr	pos	ref	alt	expr (RPKM)	WT_AA	MT_AA	MTpep		MT_ic50	スコアレベル
hg19_knownGene_uc011koz.2, hg19_knownGene_uc003vow.3, hg19_knownGene_uc011koy.2	STRIP2	chr7	1.29E+08	C	T	0	MSAIYQK VRHRMND DWA	MSAIYQK VCHRMND DWA	配列番号2	IYQK VCHRM	35	high
hg19_knownGene_uc002xjc.3	SLC32A1	chr20	37357184	G	A	0	LWHQVFF DVAIFVI GGI	LWHQVFF DIAIFVI GGI	配列番号3	LWHQVFFD I	70	high
hg19_knownGene_uc010egi.2, hg19_knownGene_uc002ojt.2, hg19_knownGene_uc002ojv.2, hg19_knownGene_uc002ojis.2, hg19_knownGene_uc002oju.2, hg19_knownGene_uc010egh.2	SIRT2	chr19	39380364	C	T	0	KKHPEPF FALAKEL YPG	KKHPEPF FTLAKEL YPG	配列番号4	KHPEPFF L	132	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002hso .3, hg19_knownGene_uc010 cwa.3, hg19_knownGene_uc002hsp .3, hg19_knownGene_uc010cwb .3, hg19_knownGene_uc002hsm .3, hg19_knownGene_uc010wek .2	ERB B2	chr1 7	378 813 32	G	A	0	SYLEDVR LVHRDLA ARN	SYLEDVR LIHRDLA ARN	配 列 番 号 5	SYLE DVRL I	54	hi gh
hg19_knownGene_uc002hue .3, hg19_knownGene_uc010 cwt.1	CAS C3	chr1 7	383 255 84	G	T	0	LYPNTQA PSQVYGG VTY	LYPNTQA PLQVYGG VTY	配 列 番 号 6	LYPN TQAP L	184	hi gh
hg19_knownGene_uc002bxi .3, hg19_knownGene_uc002 bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj .3	TM2 D3	chr1 5	1.0 2E+ 08	G	A	0	SFGGLGI WTLIDVL LIG	SFGGLGI WMLIDVL LIG	配 列 番 号 7	IWML IDVL L	394	hi gh
hg19_knownGene_uc001ypu .1, hg19_knownGene_uc010 tyl.1	PLD 4	chr1 4	1.0 5E+ 08	G	A	0	QNFSSH NRFQPFH GLF	QNFSSH NHFQPFH GLF	配 列 番 号 8	NFSS HFNH F	83	me di um
hg19_knownGene_uc001ypu .1, hg19_knownGene_uc010 tyl.1	PLD 4	chr1 4	1.0 5E+ 08	G	A	0	QNFSSH NRFQPFH GLF	QNFSSH NHFQPFH GLF	配 列 番 号 9	HFQP FHGL F	89	hi gh
hg19_knownGene_uc003lir .3	PCD HB6	chr5	1.4 1E+ 08	G	T	0	INAITGE IRLRKAL DFE	INAITGE IWLRKAL DFE	配 列 番 号 10	IWLR KALD F	36	hi gh
hg19_knownGene_uc002wto .1	CST 4	chr2 0	236 694 11	G	A	0	ATEDEYY RRPLQVL RAR	ATEDEYY RCPLQVL RAR	配 列 番 号	YYRC PLQV L	159	hi gh

10

20

30

40

50

									11			
hg19_knownGene_uc003jml .2, hg19_knownGene_uc003 jmk.3	C6	chr5	411 495 16	T	G	0	DYFTSPA CKFLAEK CLN	DYFTSPA CTFLAEK CLN	配 列 番 号 12	YFTS PACT F	127	hi gh
hg19_knownGene_uc003lqh .3, hg19_knownGene_uc010 jgy.3, hg19_knownGene_uc003lqg .4	AFA P1L 1	chr5	1.4 9E+ 08	C	T	0	CRICAF LRKKRFG QWA	CRICAF LWKKRFG QWA	配 列 番 号 13	AFL LWKKR F	325	me di um
hg19_knownGene_uc021qya .1, hg19_knownGene_uc001 rzn.3, hg19_knownGene_uc010snn .2	ACV R1B	chr1 2	523 878 27	G	A	0	CWYANGA ARLTALR IKK	CWYANGA AHLTALR IKK	配 列 番 号 14	WYAN GAAL L	219	me di um

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc010epz .3, hg19_knownGene_uc021 uyx.1, hg19_knownGene_uc010epx .3, hg19_knownGene_uc010epy .3, hg19_knownGene_uc010eps .3, hg19_knownGene_uc010epv .3, hg19_knownGene_uc010epw .3, hg19_knownGene_uc010eqb .2, hg19_knownGene_uc002pzu .4, hg19_knownGene_uc002pzv .4, hg19_knownGene_uc031rmq .1, hg19_knownGene_uc031rmp .1, hg19_knownGene_uc031rmm .1, hg19_knownGene_uc031rmn .1, hg19_knownGene_uc031rml .1, hg19_knownGene_uc031rmo .1, hg19_knownGene_uc010epu .3, hg19_knownGene_uc010ept .3	ZNF 83	chr 19	531 165 66	A	G	0	FSQNSYL AYHWRIH TGE	FSQNSYL AHHWRIH TGE	SYLA HHWR I	10	hi gh
--	-----------	-----------	------------------	---	---	---	---------------------------	---------------------------	-------------------	----	----------

配
列
番
号
15

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001bnn.4, hg19_knownGene_uc001bnn.3	SLC9A1	chr1	27436202	C	T	0	VGIVDIF LGFLSFF VVA	VGIVDIF LSFLSFF VVA	配列番号16	IFLS FLSF F	59	high
hg19_knownGene_uc010sul.3	SLC6A15	chr12	85279797	G	A	0	MVIGIPL FFLELSV G	MVIGIPF FFLELSV G	配列番号17	MVIG IPFF F	216	high
hg19_knownGene_uc001szy.4, hg19_knownGene_uc001szv.4	SLC6A15	chr12	85279797	G	A	0	LLMVIGI PLFFLEL SVG	LLMVIGI PFFLEL SVG	配列番号18	MVIG IPFF F	216	high
hg19_knownGene_uc011mdo.2	SARDH	chr9	1.37E+08	G	A	0	MSLGKAY GVESHVL	MSLGKVY GVESHVL	配列番号19	VYGV ESHV L	161	high
hg19_knownGene_uc004cep.4, hg19_knownGene_uc004ceo.3, hg19_knownGene_uc011mdn.2	SARDH	chr9	1.37E+08	G	A	0	KRLMSLG KAYGVES HVL	KRLMSLG KVYGVES HVL	配列番号20	VYGV ESHV L	161	high
hg19_knownGene_uc003xrh.1, hg19_knownGene_uc022aup.1, hg19_knownGene_uc010lyc.1, hg19_knownGene_uc003xri.1	OPRK1	chr8	54142147	C	T	0	LVVVAVF VVCWTPI HIF	LVVVAVF VICWTPI HIF	配列番号21	VFVI CWTP I	297	high
hg19_knownGene_uc002hhp.1, hg19_knownGene_uc002hho.1, hg19_knownGene_uc010wcb.2	MYO1D	chr17	31087632	C	T	0	AFAKAIY ERLFCWI VTR	AFAKAIY EHLFCWI VTR	配列番号22	IYEH LFCW I	195	high
hg19_knownGene_uc002puu.1, hg19_knownGene_uc002puq.1, hg19_knownGene_uc002pur.1	KLK8	chr19	51503767	G	A	0	QPHSQPW QAALFQG QQL	QPHSQPW QVALFQG QQL	配列番号23	SQPW QVAL F	132	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc003bve .1	IRAK2	chr3	102 644 68	C	T	0	AYLPEDF IRVGQLT KRV	AYLPEDF IWVGQLT KRV	配 列 番 号 24	AYLP EDFI W	364	hi gh
hg19_knownGene_uc002dli .3	HS3 ST2	chr1 6	229 265 39	G	A	0	NAIRIGM YVLHLES WLQ	NAIRIGM YMLHLES WLQ	配 列 番 号 25	MYML HLES W	23	hi gh
hg19_knownGene_uc003sys .3	HOXA7	chr7	271 947 54	G	A	0	EFHFNRY LTRRRRI EIA	EFHFNRY LMRRRI EIA	配 列 番 号 26	RYLM RRRI	73	me di um
hg19_knownGene_uc003xeg .3, hg19_knownGene_uc003 xef.3	DOC K5	chr8	251 580 99	T	C	0	QSTFISE NYLIRWG SNG	QSTFISE NHLIRWG SNG	配 列 番 号 27	TFIS ENHL I	63	hi gh
hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc011 dzt.2, hg19_knownGene_uc010kbz .3, hg19_knownGene_uc010kca .3, hg19_knownGene_uc003pmq .4, hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc021zco .1	CNR1	chr6	888 538 64	G	A	0	GKMNKLI KTVFAFC SML	GKMNKLI KMVFAFC SML	配 列 番 号 28	KLIK MVFA F	208	hi gh
hg19_knownGene_uc003smv .3	CARD11	chr7	295 696 5	G	A	0	TSDPRVS PRLSRAS FLF	TSDPRVS PCLSRAS FLF	配 列 番 号 29	GLSR ASFL F	35	hi gh
hg19_knownGene_uc003sww .4, hg19_knownGene_uc010 kuh.3	ABC B5	chr7	207 825 55	G	A	0	EVSFFYP CRPDVFI LRG	EVSFFYP CHPDVFI LRG	配 列 番 号 30	FYPC HPDV F	51	me di um

10

20

30

40

【 0 0 9 5 】

50

【表 3】

HLA-A2402に対して高い結合親和性を有するネオエピートープ(10mer)

transcript	gene	chr	pos	r	a	l	expr (RPKM)	WT_AA	MT_AA	MTpep	MT_50	スコア レベル
hg19_knownGene_uc002kft.3	RAB40B	chr17	80616484	C	T		0	AQAYAERL GVTFEVS PLC	AQAYAERL GMTFEVS PLC	配列番号31 AYAE RLGM TF	19	high
hg19_knownGene_uc010ppd.2, hg19_knownGene_uc009wza.3, hg19_knownGene_uc001gtz.3, hg19_knownGene_uc010ppb.2, hg19_knownGene_uc010poz.2, hg19_knownGene_uc001gub.1	CRB1	chr1	1.97E+08	T	G		0	TSNGVALL NFYNMPST PSF	TSNGVALL NVYNMPST PSF	配列番号32 VYNM PSTP SF	38	high
hg19_knownGene_uc003vsp.2	WDR91	chr7	1.35E+08	C	T		0	LRDYWSYL ERRLFSRL EDI	LRDYWSYL EHLFSRL EDI	配列番号33 YWSY LEHR LF	40	high
hg19_knownGene_uc002bxi.3, hg19_knownGene_uc002bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr15	1.02E+08	G	A		0	FSFGGLGI WTLIDVLL IGV	FSFGGLGI WMLIDVLL IGV	配列番号34 IWML IDVL LI	47	high
hg19_knownGene_uc003jml.2, hg19_knownGene_uc003jmk.3	G6	chr5	41149516	T	G		0	NDYFTSPA CKFLAEKC LNN	NDYFTSPA CTFLAEKC LNN	配列番号35 DYFT SPAC TF	60	medium

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002jig .2, hg19_knownGene_uc002 jid.2, hg19_knownGene_uc002jib .2, hg19_knownGene_uc002jic .2, hg19_knownGene_uc002jif .2	ABC A5	ch r1 7	672 573 96	G	A	0	FWSFIYSV AALACIAI TEI	FWSFIYSV AVLACIAI TEI	配 列 番 号 36	IYSV AVLA CI	64	hi gh
hg19_knownGene_uc003ahl .3, hg19_knownGene_uc021 wnt.1	SF3 A1	ch r2 2	307 306 30	C	T	0	LAYYNMAN GAVIHLAL KER	LAYYNMAN GTVIHLAL KER	配 列 番 号 37	YYNM ANGT VI	80	me di um
hg19_knownGene_uc002baw .3	CSP G4	ch r1 5	759 747 14	G	A	0	PQLLLYRV VRGPQLGR LFH	PQLLLYRV VWGPQLGR LFH	配 列 番 号 38	VWGP QLGR LF	110	hi gh
hg19_knownGene_uc003sww .4, hg19_knownGene_uc010 kuh.3	ABC B5	ch r7	207 825 55	G	A	0	REVSFFYP CRPDVFI RGL	REVSFFYP CHPDVFI RGL	配 列 番 号 39	FYPC HPDV FI	111	hi gh
hg19_knownGene_uc003fje .3, hg19_knownGene_uc031 scj.1, hg19_knownGene_uc003fjd .3, hg19_knownGene_uc003fjf .3	KCN MB2	ch r3	1.7 9E+ 08	T	G	0	CSYIPKCG KNFEESMS LVN	CSYIPKCG KNFEESMS LVN	配 列 番 号 40	SYIP KCGK KF	133	me di um
hg19_knownGene_uc011eao .2, hg19_knownGene_uc003 pss.4	ARM C2	ch r6	1.0 9E+ 08	G	T	0	IKKLDVCL RDLGPTDW QLA	IKKLDVCL RYLGPTDW QLA	配 列 番 号 41	RYLG PTDW QL	159	hi gh
hg19_knownGene_uc002ewg .1, hg19_knownGene_uc010 cfg.1	CDH 1	ch r1 6	688 441 72	G	T	0	PMEILITV TDQDNKP EFT	PMEILITV TYQDNKP EFT	配 列 番 号 42	TYQN DNKP EF	187	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002dli .3	HS3 ST2	ch r1 6	229 265 39	G	A	0	WNAIRIGM YVLHLESW LQY	WNAIRIGM YMLHLESW LQY	配 列 番 号 43	MYML HLES WL	203	hi gh
hg19_knownGene_uc002xjc .3	SLC 32A 1	ch r2 0	373 571 84	G	A	0	LLWHQVFF DVAIFVIG GIC	LLWHQVFF DIAIFVIG GIC	配 列 番 号 44	VFFD IAIF VI	269	hi gh
hg19_knownGene_uc001iwr .4, hg19_knownGene_uc001 iwt.4, hg19_knownGene_uc001iws .4	ITG B1	ch r1 0	332 093 10	G	T	0	QLIIDAYN SLSSEVIL ENG	QLIIDAYN SISSEVIL ENG	配 列 番 号 45	AYNS ISSE VI	274	me di um
hg19_knownGene_uc010zzf .1, hg19_knownGene_uc002 xxt.2, hg19_knownGene_uc002xxu .2	RTF DC1	ch r2 0	550 591 89	G	A	0	HRFCFLRC CGCVFSE ALK	HRFCFLRC CSCVFSE ALK	配 列 番 号 46	GFLR CCSC VF	316	hi gh
hg19_knownGene_uc002wto .1	GST 4	ch r2 0	236 694 11	G	A	0	KATEDEYY RRPLQVLR ARE	KATEDEYY RCPLQVLR ARE	配 列 番 号 47	EYYR CPLQ VL	370	me di um
hg19_knownGene_uc001szy .4, hg19_knownGene_uc001 szv.4	SLC 6A1 5	ch r1 2	852 797 97	G	A	0	ILLMVIGI PLFFLELS VGQ	ILLMVIGI PFFLELS VGQ	配 列 番 号 48	LMVI GIPF FF	404	hi gh
hg19_knownGene_uc003sww .4, hg19_knownGene_uc010 kuh.3	ABC B5	ch r7	207 825 55	G	A	0	REVSFFYP CRPDVFIL RGL	REVSFFYP CHPDVFIL RGL	配 列 番 号 49	FFYP CHPD VF	436	me di um

10

20

30

40

【 0 0 9 6 】

50

【表 4】

HLA-A0201に対して高い結合親和性を有するネオエピトープ(8mer)

transcript	gene	chr	pos	r	a	expr (RPKM)	WT_AA	MT_AA	MTpep		MT_ics50	スコアレベル
									配列番号	MTpep		
hg19_knownGene_uc002bxi.3 , hg19_knownGene_uc002bxh.3 , hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr15	1.02E+08	G	A	0	FGGLGIW TLIDVLL I	FGGLGIW MLIDVLL I	配列番号50	MLIDVLI	52	high
hg19_knownGene_uc002kdu.3	FASN	chr17	80049217	G	A	0	LSMLNDI AAVPATAM	LSMLNDI VAVPATAM	配列番号51	MLNDIVAV	70	high
hg19_knownGene_uc011mdo.2	SARDH	chr9	1.37E+08	G	A	0	MSLGKAY GVESHV	MSLGKVY GVESHV	配列番号52	SLGKVYGV	105	high
hg19_knownGene_uc004cep.4 , hg19_knownGene_uc004ceo.3, hg19_knownGene_uc011mdn.2	SARDH	chr9	1.37E+08	G	A	0	RLMSLGK AYGVESH V	RLMSLGK VYGVESH V	配列番号53	SLGKVYGV	105	high
hg19_knownGene_uc002pxe.4	SIGLEC5	chr19	52131128	G	A	0	FTCRAQH PLGFLQI F	FTCRAQH LLGFLQI F	配列番号54	HLLGFLQI	219	high
hg19_knownGene_uc002lkw.3 , hg19_knownGene_uc002lky.2	NETO1	chr18	70451000	G	A	0	VANDVML RTGLGVI R	VANDVML CTGLGVI R	配列番号55	MLCTGLGV	247	high

10

20

30

40

hg19_knownGene_uc002bxi.3 , hg19_knownGene_uc002bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr15	1.02E+08	G	A	0	FGGLGIW TLIDVLL I	FGGLGIW MLIDVLL I	配列番号56	GLGIWLI	329	high
--	-------	-------	----------	---	---	---	-------------------------	-------------------------	--------	---------	-----	------

【表 5】

HLA-A*02:01に対して高い結合親和性を有するネオエピトープ (9mer)

transcript	gene	chr	pos	r	a	expr (RPKM)	WT_AA	MT_AA	MTpep		MT_50	スコア レベル
									配列 番号	FLSF LSFF V		
hg19_knownGene_uc001bnn .4, hg19_knownGene_uc001bnn .3	SLC 9A1	chr r1	2743 6202	C	T	0	VGIVDIF LGFLSFF VVA	VGIVDIF LSFLSFF VVA	配列 番号 57	FLSF LSFF V	2	high
hg19_knownGene_uc003bve .1	IRA K2	chr r3	1026 4468	C	T	0	AYLPEDF IRVGQLT KRV	AYLPEDF IHWGQLT KRV	配列 番号 58	YLPE DFIW V	3	high
hg19_knownGene_uc002kdu .3	FAS N	chr r1 7	8004 9217	G	A	0	FLSMLND IAAVPAT AMP	FLSMLND IVAVPAT AMP	配列 番号 59	SMLN DIVA V	6	high
hg19_knownGene_uc001aqh .3, hg19_knownGene_uc001 aqi.3, hg19_knownGene_uc010oag .2	GLS TN1	chr r1	9795 564	G	A	0	YLNSRQF PTPGIRR LKI	YLNSRQF PMPGIRR LKI	配列 番号 60	YLNS RQFP M	7	high
hg19_knownGene_uc002viv .3, hg19_knownGene_uc002 viu.3	STK 36	chr r2	2195 5868 5	G	A	0	YFLSLLV FRLQNL CGM	YFLSLLV FQLQNL CGM	配列 番号 61	FLSL LVFQ L	8	high
hg19_knownGene_uc002dli .3	HS3 ST2	chr r1 6	2292 6539	G	A	0	NAIRIGM YVLHLES WLQ	NAIRIGM YMLHLES WLQ	配列 番号 62	YMLH LESW L	8	high
hg19_knownGene_uc011eao .2, hg19_knownGene_uc003 pss.4	ARM C2	chr r6	1092 8620 2	G	T	0	KKLVDC LDLQPTD WQL	KKLVDC RYLQPTD WQL	配列 番号 63	KLVD CLRY L	8	high
6hg19_knownGene_uc002pc c.4, hg19_knownGene_uc00 2pcb.4	RTN 2	chr r1 9	4599 7462	G	A	0	VRGQCLD STDQLEF TVE	VRGQCLD SMDQLEF TVE	配列 番号 64	SMDQ LEFT V	9	high
hg19_knownGene_uc002kft .3	RAB 40B	chr r1 7	8061 6484	C	T	0	QAYAERL GVTFFEV SPL	QAYAERL GMTFFEV SPL	配列 番号 65	RLGM TFFE V	13	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc011eac .2, hg19_knownGene_uc003 pss.4	ARM G2	chr6	1092 8620 2	G	T	0	KKLVDCL RDLGPTD WQL	KKLVDCL RYLGPTD WQL	配列 番号 66	YLGP TDWQ L	15	hi gh
hg19_knownGene_uc010dfa .1, hg19_knownGene_uc010 dfb.1	ABC A10	chr17	6717 8331	G	A	0	ALMGIFN FTELIQM EST	ALMGIFN FMELIQM EST	配列 番号 67	ALMG IFNF M	16	hi gh
hg19_knownGene_uc001cqs .3, hg19_knownGene_uc001 cqr.3, hg19_knownGene_uc001cqt .3	CYP 4X1	chr1	4751 2210	G	T	0	TCRLIPA VPSISR LSK	TCRLIPA VLSISR LSK	配列 番号 68	RLIP AVLS I	16	hi gh
hg19_knownGene_uc003pue .3, hg19_knownGene_uc003 puf.3	SLC 22A 16	chr6	1107 4627 0	C	T	0	PQLFVGT MALLSGV LTL	PQLFVGT MTLLSGV LTL	配列 番号 69	TLLS GVL L	20	hi gh
hg19_knownGene_uc002kdu .3	FAS N	chr17	8004 9217	G	A	0	FLSMLND IAAVPAT AMP	FLSMLND IVAVPAT AMP	配列 番号 70	FLSM LNDI V	20	hi gh
hg19_knownGene_uc010joz .2, hg19_knownGene_uc031 sms.1, hg19_knownGene_uc003mzv .2, hg19_knownGene_uc003mzw .3	NED D9	chr6	1118 5718	G	T	0	ISLLNAI DALFSCV SSA	ISLLNAI DTLFSCV SSA	配列 番号 71	TLFS CVSS A	21	hi gh
hg19_knownGene_uc002lkw .3, hg19_knownGene_uc002 lky.2	NET O1	chr18	7045 1000	G	A	0	TVANDVM LRTGLGV IRM	TVANDVM LCTGLGV IRM	配列 番号 72	VMLC TGLG V	26	hi gh
hg19_knownGene_uc010hiq .3, hg19_knownGene_uc003 cnx.4	KIF 15	chr3	4482 8026	G	T	0	KKGVFVV GAVEQVV TSA	KKGVFVV GVVEQVV TSA	配列 番号 73	FVVG VVEQ V	29	hi gh
hg19_knownGene_uc002fjl .3	FOX F1	chr16	8654 5019	G	A	0	ASAALNS GASYIKQ QPL	ASAALNS GTSYIKQ QPL	配列 番号 74	ALNS GTSY I	29	hi gh
hg19_knownGene_uc010joz .2, hg19_knownGene_uc031 sms.1, hg19_knownGene_uc003mzv .2, hg19_knownGene_uc003mzw .3	NED D9	chr6	1118 5718	G	T	0	ISLLNAI DALFSCV SSA	ISLLNAI DTLFSCV SSA	配列 番号 75	SLLN AIDL L	30	hi gh
hg19_knownGene_uc001hzh .3, hg19_knownGene_uc021 plk.1,	EXO 1	chr1	2420 3544 2	T	C	0	KSLSFSE VFVPDLV NGP	KSLSFSE VSVPLV NGP	配列 番号 76	SLSF SEVS V	32	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc009xgq .3, hg19_knownGene_uc021plj .1														
hg19_knownGene_uc003lmh .4, hg19_knownGene_uc010 jgh.3, hg19_knownGene_uc003lmf .4, hg19_knownGene_uc003lmg .4	GNP DA1	ch r5	1413 8453 1	G	A	0	TKVPTMA LTVGVGT VMD	TKVPTMA LMVGVGT VMD	配列 番号 77	ALMV GVGT V	33	hi gh		
hg19_knownGene_uc002jig .2, hg19_knownGene_uc002 jid.2, hg19_knownGene_uc002jib .2, hg19_knownGene_uc002jic .2, hg19_knownGene_uc002jif .2	ABC A5	ch r1 7	6725 7396	G	A	0	WSFIYSV AALACIA ITE	WSFIYSV AVLACIA ITE	配列 番号 78	FIYS VAVL A	38	hi gh		
hg19_knownGene_uc002bxi .3, hg19_knownGene_uc002 bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj .3	TM2 D3	ch r1 5	1021 8274 9	G	A	0	SFGGLGI WTLIDVL LIG	SFGGLGI WMLIDVL LIG	配列 番号 79	WMLI DVLL I	41	hi gh		
hg19_knownGene_uc001mmg .3, hg19_knownGene_uc001 mme.3	SOX 6	ch r1 1	1607 7437	G	A	0	HKQIEQL YAAQLAS MQV	HKQIEQL YVAQLAS MQV	配列 番号 80	KQIE QLYV A	45	hi gh		
hg19_knownGene_uc022cbc .1, hg19_knownGene_uc004 ejj.4, hg19_knownGene_uc022cbd .1, hg19_knownGene_uc004ejj .4, hg19_knownGene_uc010nod .3	GPR ASP 1	ch rX	1019 1246 4	C	T	0	LIETLLN YPSSRVR TSF	LIETLLN YLSSRVR TSF	配列 番号 81	LLNY LSSR V	47	hi gh		
hg19_knownGene_uc003pue .3, hg19_knownGene_uc003 puf.3	SLC 22A 16	ch r6	1107 4627 0	C	T	0	PQLFVGT MALLSGV LTL	PQLFVGT MTLLSGV LTL	配列 番号 82	GTMT LLSG V	50	hi gh		
hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc011 dzt.2,	CNR 1	ch r6	8885 3864	G	A	0	GKMNKLI KTVFAFC SML	GKMNKLI KMFVFAFC SML	配列 番号 83	MVFA FCSM L	50	hi gh		

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc010kbz .3, hg19_knownGene_uc010kca .3, hg19_knownGene_uc003pmq .4, hg19_knownGene_uc011dzs .2, hg19_knownGene_uc021zco .1													
hg19_knownGene_uc011kis .2, hg19_knownGene_uc003 upp. 3, hg19_knownGene_uc003upr .3	TRR AP	ch r7	9851 9385	C	T	0	AELMQAL WRTL RNP ADS	AELMQAL WCTL RNP ADS	配列 番号 84	LMQA LWCT L	53	hi gh	
hg19_knownGene_uc011mdo .2	SAR DH	ch r9	1365 9659 6	G	A	0	MSLGKAY GVESHVL	MSLGKVY GVESHVL	配列 番号 85	MSLG KVYG V	54	hi gh	
hg19_knownGene_uc004cep .4, hg19_knownGene_uc004 ceo. 3, hg19_knownGene_uc011mdn .2	SAR DH	ch r9	1365 9659 6	G	A	0	KRLMSLG KAYGVES HVL	KRLMSLG KVYGVES HVL	配列 番号 86	MSLG KVYG V	54	hi gh	
hg19_knownGene_uc002pxe .4	SIG LEC 5	ch r1 9	5213 1128	G	A	0	GFTCRAQ HPLGFLQ IFL	GFTCRAQ HLLGFLQ IFL	配列 番号 87	LLGF LQIF L	55	hi gh	
hg19_knownGene_uc002hue .3, hg19_knownGene_uc010 cwt. 1	CAS G3	ch r1 7	3832 4513	C	T	0	PNPGLYP PPVSMSP GQP	PNPGLYP PLVSMSP GQP	配列 番号 88	GLYP PLVS M	60	hi gh	

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002kft .3	RAB 40B	chr1 7	8061 6484	G	T	0	QAYAERL GVTFFEV SPL	QAYAERL GMTFFEV SPL	配列 番号 89	MTFF EVSP L	66	hi gh
hg19_knownGene_uc002xwa .4, hg19_knownGene_uc002 xwb.3	KCN G1	chr2 0	4962 6482	G	A	0	FGTILTF LRAGKLR LLR	FGTILTF LCAGKLR LLR	配列 番号 90	FLCA GKLR L	73	hi gh
hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc011 dzt.2, hg19_knownGene_uc010kbz .3, hg19_knownGene_uc010kca .3, hg19_knownGene_uc003pmq .4, hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc021zco .1	GNR 1	chr6	8885 3864	G	A	0	GKMNKLI KTVFAFC SML	GKMNKLI KMVFAFC SML	配列 番号 91	KMNK LIK M V	79	me di um
hg19_knownGene_uc003pue .3, hg19_knownGene_uc003 puf.3	SLC 22A 16	chr6	1107 4627 0	G	T	0	PQLFVGT MALLSGV LTL	PQLFVGT MTLLSGV LTL	配列 番号 92	QLFV GTMT L	84	hi gh
hg19_knownGene_uc003fjk .3	PIK 3CA	chr3	1789 1689 1	G	A	0	ETRRLCD LRLFQPF LKV	ETRRLCD LQLFQPF LKV	配列 番号 93	QLFQ PFLK V	84	hi gh
hg19_knownGene_uc002hue .3, hg19_knownGene_uc010 cwt.1	CAS C3	chr1 7	3832 4639	G	T	0	YAPGALP PPPPPHL YPN	YAPGALP PLPPPHL YPN	配列 番号 94	YAPG ALPP L	93	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc011bai . 2, hg19_knownGene_uc011 baj. 2	SLC 6A2 0	ch r3	4581 7323	G	A	0	NGGVQWE PALCLLL AWL	NGGVQWE PVLCLLL AWL	配列 番号 95	VQWE PVL L	95	hi gh
hg19_knownGene_uc010dfa . 1, hg19_knownGene_uc010 dfb. 1	ABC A10	ch r1 7	6717 8331	G	A	0	ALMGIFN FTELIQM EST	ALMGIFN FMELIQM EST	配列 番号 96	GIFN FMEL I	105	hi gh
hg19_knownGene_uc001qsy . 3, hg19_knownGene_uc010 sge. 2	CD1 63L 1	ch r1 2	7531 888	G	A	0	VGVICSD ASDMELR LVG	VGVICSD ALDMELR LVG	配列 番号 97	ALDM ELRL V	120	hi gh
hg19_knownGene_uc001vov . 1, hg19_knownGene_uc001 vov. 1	TMT G4	ch r1 3	1012 7779 4	G	A	0	PDCYYNL GRLVSAG CPV	PDCYYNL GCLVSAG CPV	配列 番号 98	CLVS AGCP V	122	hi gh
hg19_knownGene_uc004agr . 3	PGM 5	ch r9	7099 3145	A	G	0	RLIIGQN GILSTPA VSC	RLIIGQN GVLSTPA VSC	配列 番号 99	RLII GQNG V	124	hi gh
hg19_knownGene_uc001vpa . 2, hg19_knownGene_uc001 voz. 2, hg19_knownGene_uc001vox . 1	NAL CN	ch r1 3	1020 2935 5	G	T	0	QMSPWGM LRIPRPL IMI	QMSPWGM LQIPRPL IMI	配列 番号 100	GMLQ IPRP L	134	me di um

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001tml .1, hg19_knownGene_uc001 tmk.1, hg19_knownGene_uc001tmj .3, hg19_knownGene_uc009zut .1	BTB D11	ch r1 2	1080 0400 5	C	T	0	FCASRKL DAVAIEA KFK	FCASRKL DVVAIEA KFK	配列 番号 101	KLDV VAIE A	148	hi gh
hg19_knownGene_uc011mdo .2	SAR DH	ch r9	1365 9659 6	G	A	0	MSLGKAY GVESHVL	MSLGKVY GVESHVL	配列 番号 102	KVYG VESH V	148	hi gh
hg19_knownGene_uc004cep .4, hg19_knownGene_uc004 ceo.3, hg19_knownGene_uc011mdh .2	SAR DH	ch r9	1365 9659 6	G	A	0	KRLMSLG KAYGVES HVL	KRLMSLG KVYGVES HVL	配列 番号 103	KVYG VESH V	148	hi gh
hg19_knownGene_uc003qtl .3	LPA	ch r6	1610 0607 8	G	A	0	RIPLYYP NAGLTRN YCR	RIPLYYP NVGLTRN YCR	配列 番号 104	RIPL YYPN V	153	hi gh
hg19_knownGene_uc001iwr .4, hg19_knownGene_uc001 iwt.4, hg19_knownGene_uc001iws .4	ITG B1	ch r1 0	3320 9310	G	T	0	LIIDAYN SLSSEVI LEN	LIIDAYN SISSEVI LEN	配列 番号 105	LIID AYNS I	164	me di um
hg19_knownGene_uc003eki .3	EEF SEC	ch r3	1279 6578 9	G	A	0	QIACQKL VVVLNKI DLL	QIACQKL VMVLNKI DLL	配列 番号 106	MVLN KIDL L	170	hi gh
hg19_knownGene_uc002viv .3, hg19_knownGene_uc002 viu.3	STK 36	ch r2	2195 5868 5	G	A	0	YFLSLLV FRLQNL CGM	YFLSLLV FQLQNL CGM	配列 番号 107	LLVF QLQN L	172	hi gh
hg19_knownGene_uc011bai .2, hg19_knownGene_uc011 baj.2	SLC 6A2 0	ch r3	4581 7323	G	A	0	NGGVQWE PALCLLL AWL	NGGVQWE PVLCLLL AWL	配列 番号 108	VLCL LLAW L	173	hi gh
hg19_knownGene_uc003jml .2, hg19_knownGene_uc003 jmk.3	C6	ch r5	4114 9516	T	G	0	DYFTSPA CKFLAEK CLN	DYFTSPA CTFLAEK CLN	配列 番号 109	FTSP ACTF L	212	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc003eki .3	EEF SEC	ch r3	1279 6578 9	G	A	0	QIACQKL VVVLNKI DLL	QIACQKL VMVLNKI DLL	配列 番号 110	KLVM VLNK I	214	me di um
hg19_knownGene_uc002xjc .3	SLC 32A 1	ch r2 0	3735 7184	G	A	0	LWHQVFF DVAIFVI GGI	LWHQVFF DIAIFVI GGI	配列 番号 111	VFFD IAIF V	225	hi gh
hg19_knownGene_uc003xed .4, hg19_knownGene_uc011 lac.1	NEF M	ch r8	2477 1944	G	T	0	ALRKDIE EASLVKV ELD	ALRKDIE EVSLVKV ELD	配列 番号 112	ALRK DIEE V	256	hi gh
hg19_knownGene_uc001hyf .2, hg19_knownGene_uc001 hyg.2, hg19_knownGene_uc009xgi .1	ACT N2	ch r1	2369 0261 8	G	A	0	ASELLEW IRRITPW LEN	ASELLEW IHRITPW LEN	配列 番号 113	ELLE WIHR T	262	me di um
hg19_knownGene_uc010joz .2, hg19_knownGene_uc031 sms.1, hg19_knownGene_uc003mzv .2, hg19_knownGene_uc003mzw .3	NED D9	ch r6	1118 5718	G	T	0	ISLLNAI DALFSCV SSA	ISLLNAI DTLFSCV SSA	配列 番号 114	AIDT LFSC V	272	me di um
hg19_knownGene_uc003thb .2, hg19_knownGene_uc022 acb.1	POU 6F2	ch r7	3950 3921	G	T	0	KLDITPK SAQKIKP VLE	KLDITPK SVQKIKP VLE	配列 番号 115	KLDI TPKS V	274	me di um
hg19_knownGene_uc001bnn .4, hg19_knownGene_uc001 bnn.3	SLC 9A1	ch r1	2743 6202	G	T	0	VGIVDIF LGFLSFF VVA	VGIVDIF LSFLSFF VVA	配列 番号 116	IVDI FLSF L	284	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002hbi .3, hg19_knownGene_uc002 hbh.3, hg19_knownGene_uc010wai .1, hg19_knownGene_uc010wam .2, hg19_knownGene_uc010wan .2	SLC 13A 2	ch r1 7	2681 7568	G	A	0	HWNLHKR IALRVLL IVG	HWNLHKR ITLRVLL IVG	配列 番号 117	ITLR VLLI V	304	hi gh
hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc011 dzt.2, hg19_knownGene_uc010kbz .3, hg19_knownGene_uc010kca .3, hg19_knownGene_uc003pmq .4, hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc021zco .1	CNR 1	ch r6	8885 3864	G	A	0	GKMNKLI KTVFAFC SML	GKMNKLI KMFVFAFC SML	配列 番号 118	KLIK MVFA F	312	me di um
hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc011 dzt.2, hg19_knownGene_uc010kbz .3, hg19_knownGene_uc010kca .3, hg19_knownGene_uc003pmq .4, hg19_knownGene_uc011dzt .2, hg19_knownGene_uc021zco .1	CNR 1	ch r6	8885 3864	G	A	0	GKMNKLI KTVFAFC SML	GKMNKLI KMFVFAFC SML	配列 番号 119	KMF AFCS M	313	hi gh

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001vkp .1, hg19_knownGene_uc001 vkq.1, hg19_knownGene_uc001vko .2, hg19_knownGene_uc010aez .1	EDN RB	ch r1 3	7849 2668	G	A	0	SLGGRAL VALVLAC GLS	SLCGRAL VVLVLAC GLS	配列 番号 120	SLCG RALV V	328	hi gh
hg19_knownGene_uc002bxi .3, hg19_knownGene_uc002 bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj .3	TM2 D3	ch r1 5	1021 8274 9	G	A	0	SFGGLGI WTLIDVL LIG	SFGGLGI WMLIDVL LIG	配列 番号 121	MLID VLLI G	343	me di um

10

【 0 0 9 8 】

20

30

40

50

【表 6】

HLA-A0201に対して高い結合親和性を有するネオエピトープ(10mer)

transcript	gene	chr	pos	ref	alt	exp r(RPKM)	WT_AA	MT_AA	MTpep		MT _i c5 0	スコアレベル
hg19_knownGene_uc002bxi.3, hg19_knownGene_uc002bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr15	102182749	G	A	0	FSFGGL GIWTLI DVLLIG V	FSFGGL GIWMLI DVLLIG V	配列番号122	MLIDVLLIGV	4	high
hg19_knownGene_uc003pkl.2	TBX18	chr6	85446536	G	A	0	LGSSPS GTMTDR QMLPPV E	LGSSPS GTMMDR QMLPPV E	配列番号123	MMDRQMLPPV	6	high
hg19_knownGene_uc001bnm.4, hg19_knownGene_uc001bnn.3	SLC9A1	chr1	27436202	C	T	0	HVGIVD IFLGL SFFVVA L	HVGIVD IFLSFL SFFVVA L	配列番号124	FLSFLSFFV	6	high
hg19_knownGene_uc022cbc.1, hg19_knownGene_uc004ejj.4, hg19_knownGene_uc022cbd.1, hg19_knownGene_uc004eji.4, hg19_knownGene_uc010nod.3	GPRA1SP1	chrX	101912464	C	T	0	SLIETL LNYSS RVRTSF L	SLIETL LNYLSS RVRTSF L	配列番号125	SLIETLNYL	10	high
hg19_knownGene_uc010bid.2, hg19_knownGene_uc002arr.2, hg19_knownGene_uc002ars.2, hg19_knownGene_uc	NOX5	chr15	69329504	G	A	0	EKAIGL AVSRMA AVCIME V	EKAIGL AVSHMA AVCIME V	配列番号126	HMAAVCIMEV	13	high

10

20

30

40

002arq. 2, hg19_knownGene_uc 010bie. 2, hg19_knownGene_uc 002arp. 2															
hg19_knownGene_uc 022cbc. 1, hg19_kno wnGene_uc004ejj. 4 , hg19_knownGene_uc 022cbd. 1, hg19_knownGene_uc 004eji. 4, hg19_knownGene_uc 010nod. 3	GP RA SP 1	c h r x	101 912 464	C	T	0	SLIETL LNYPSS RVRTSF L	SLIETL LNYLSS RVRTSF L	配 列 番 号 12 7	TLL NYL SSR V	16	high			
hg19_knownGene_uc 002pxe. 4	SI GL EC 5	c h r 1 9	521 311 28	G	A	0	GGFTCR AQHPLG FLQIFL N	GGFTCR AQHLLG FLQIFL N	配 列 番 号 12 8	HLL GFL QIF L	19	high			
hg19_knownGene_uc 001tml. 1, hg19_kno wnGene_uc001tmk. 1 , hg19_knownGene_uc 001tmm. 1	BT BD 11	c h r 1 2	108 045 467	A	C	0	EIMELL SAAKFF QLEALQ R	EIMELL SAATFF QLEALQ R	配 列 番 号 12 9	LLS AAT FFQ L	22	high			
hg19_knownGene_uc 004cep. 4, hg19_kno wnGene_uc004ceo. 3 , hg19_knownGene_uc 011mdn. 2	SA RD H	c h r 9	136 596 596	G	A	0	YKRLMS LGKAYG VESHVL S	YKRLMS LGKVYG VESHVL S	配 列 番 号 13 0	LMS LGK VYG V	22	high			
hg19_knownGene_uc 001szy. 4, hg19_kno wnGene_uc001szv. 4	SL C6 A1 5	c h r 1 2	852 797 97	G	A	0	ILLMVI GIPLFF LELSVG Q	ILLMVI GIPFFF LELSVG Q	配 列 番 号 13 1	MVI GIP FFF L	28	high			

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc010sul.3	SLC6A15	chr12	85279797	G	A	0	MVIGIP LFFLEL SVGQ	MVIGIP FFFLEL SVGQ	配列番号132	MVIGIP FFFL	28	high
hg19_knownGene_uc003xrh.1, hg19_knownGene_uc022aup.1, hg19_knownGene_uc010lyc.1, hg19_knownGene_uc003xri.1	OPRK1	chr8	54142147	C	T	0	VLVVVA VFVVCW TPIHIF I	VLVVVA VFVVCW TPIHIF I	配列番号133	FVICWT PIHI	33	high
hg19_knownGene_uc002kdu.3	FASN	chr17	80049217	G	A	0	AFLSML NDIAAV PATAMP F	AFLSML NDIVAV PATAMP F	配列番号134	MLNDIV AVPA	35	high
hg19_knownGene_uc002xjc.3	SLC32A1	chr20	37357184	G	A	0	LLWHQV FFDVAI FVIGGI C	LLWHQV FFDIAI FVIGGI C	配列番号135	LLWHQV FFDI	35	high
hg19_knownGene_uc003jqw.4	MAP3K1	chr5	56181765	C	T	0	LFIEWM AGGSVA HLLSKY G	LFIEWM AGGLVA HLLSKY G	配列番号136	WMA GGL VAHL	37	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc010vlm.2, hg19_knownGene_uc002exu.2 , hg19_knownGene_uc031qwu.1, hg19_knownGene_uc002exv.2	WW P2	c h r i 6	699 426 92	C	T	0	WEGREL PNGRVY YVDHNT K	WEGREL PNGCVY YVDHNT K	配 列 番 号 13 7	ELP NGC VYY V	38	high
hg19_knownGene_uc002hhp.1, hg19_knownGene_uc002hho.1 , hg19_knownGene_uc010wcb.2	MY O1 D	c h r i 7	310 876 32	C	T	0	DAFAKA IYERLF CWIVTR I	DAFAKA IYEHLF CWIVTR I	配 列 番 号 13 8	HLF CWI VTR I	39	high
hg19_knownGene_uc011bai.2, hg19_knownGene_uc011baj.2	SL C6 A2 0	c h r i 3	458 173 23	G	A	0	ENGGVQ WEPALC LLLAWL V	ENGGVQ WEPVLC LLLAWL V	配 列 番 号 13 9	VLC LLL AWL V	40	high
hg19_knownGene_uc001szj.1	LI N7 A	c h r i 2	812 830 99	T	G	0	LLEKLQ ESGEVP VHKLQS L	LLEKLQ ESGDVP VHKLQS L	配 列 番 号 14 0	KLQ ESG DVP V	41	medium
hg19_knownGene_uc010rxb.2, hg19_knownGene_uc010rxa.2 , hg19_knownGene_uc010rxc.2	HT R3 A	c h r i 1	113 853 876	G	A	0	VGKSPN IPYVYI RHQGEV Q	VGKSPN IPYMYI RHQGEV Q	配 列 番 号 14 1	YMY IRH QGE V	42	high
hg19_knownGene_uc002hue.3, hg19_knownGene_uc010cwt.1	CA SC 3	c h r i 7	383 255 84	C	T	0	HLYPNT QAPSQV YGGVTY Y	HLYPNT QAPLQV YGGVTY Y	配 列 番 号 14 2	HLY PNT QAP L	45	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc003sys.3	HOXA7	chr7	27194754	G	A	0	KEFHFRYLTRRRRIEIAH	KEFHFRYLMRRRIEIAH	配列番号143	YLMRRRIE	48	high
hg19_knownGene_uc002viv.3, hg19_knownGene_uc002viu.3	STK36	chr2	219558685	G	A	0	LYFLSLLVFRLQNLPCGME	LYFLSLLVFQLQNLPCGME	配列番号144	SLLVFQLQNL	48	high
hg19_knownGene_uc010dfa.1, hg19_knownGene_uc010dfb.1	ABCA10	chr7	67178331	G	A	0	NALMGIFNFTELIQMESTS	NALMGIFNFMELIQMESTS	配列番号145	LMGIFNFME	56	high
hg19_knownGene_uc002xwa.4, hg19_knownGene_uc002xwb.3	KCNG1	chr20	49626482	G	A	0	AFGTILTFLRAGKLRLLE	AFGTILTFLCAGKLRLLE	配列番号146	FLCAGKLRL	60	high
hg19_knownGene_uc002bxi.3, hg19_knownGene_uc002bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr5	102182749	G	A	0	FSFGGLGIWTLIDVLLIGV	FSFGGLGIWMLIDVLLIGV	配列番号147	GLGIWMLIDV	62	high
hg19_knownGene_uc002qwx.3, hg19_knownGene_uc002qww.3, hg19_knownGene_uc010yio.2, hg19_knownGene_uc002qwr.3, hg19_knownGene_uc002qwu.3, hg19_knownGene_uc010yip.2	TP0	chr2	1497732	T	C	0	VWLGGLAENFLPRARTGPL	VWLGGLAENLLPRARTGPL	配列番号148	GLAENLPR	65	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001bnm. 4, hg19_knownGene_uc001bnn. 3	SLC9A1	chr1	27436202	C	T	0	HVGIVD IFLGFL SFFVVAL	HVGIVD IFLSFL SFFVVAL	配列番号 149	IFL SFL SFF V	67	high
hg19_knownGene_uc002jig. 2, hg19_knownGene_uc002jid. 2 hg19_knownGene_uc002jib. 2, hg19_knownGene_uc002jic. 2, hg19_knownGene_uc002jif. 2	ABCA5	chr17	67257396	G	A	0	FWSFIY SVAALACIAITE I	FWSFIY SVAALACIAITE I	配列番号 150	VLA CIA ITE I	68	high
hg19_knownGene_uc001vot. 3, hg19_knownGene_uc010tja. 2 hg19_knownGene_uc001vou. 3	TMT4	chr13	101277794	G	A	0	YPCYY NLGRLY ADLNRHV	YPCYY NLGCLY ADLNRHV	配列番号 151	CLY ADL NRH V	68	high
hg19_knownGene_uc002kdu. 3	FASN	chr17	80049217	G	A	0	AFLSML NDIAAV PATAMP F	AFLSML NDIVAV PATAMP F	配列番号 152	FLS MLN DIV A	71	high
hg19_knownGene_uc003ahl. 3, hg19_knownGene_uc021wnt. 1	SF3A1	chr22	30730630	C	T	0	LAYYNM ANGAVI HLALKE R	LAYYNM ANGTVI HLALKE R	配列番号 153	NMA NGT VIH L	76	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc010bid.2, hg19_knownGene_uc002arr.2 hg19_knownGene_uc002ars.2, hg19_knownGene_uc002arq.2, hg19_knownGene_uc010bie.2, hg19_knownGene_uc002arp.2	NOX5	chr15	69329504	G	A	0	EKAIGL AVSRMA AVCIME V	EKAIGL AVSHMA AVCIME V	配列番号 154	GLAVSH MAAV	77	high
hg19_knownGene_uc001ouu.2	C2CD3	chr11	73811600	A	C	0	QDKLLG LVKRLP HQFYMS F	QDKLLG LVKRPL HQFYMS F	配列番号 155	KLLGLV KRP L	86	high
hg19_knownGene_uc002xjc.3	SLC32A1	chr20	37357184	G	A	0	LLWHQV FFDVAI FVIGGI C	LLWHQV FFDIAI FVIGGI C	配列番号 156	QVFFDI AIF V	87	high
hg19_knownGene_uc021qya.1, hg19_knownGene_uc001rzn.3 hg19_knownGene_uc010snn.2, hg19_knownGene_uc001rzm.3, hg19_knownGene_uc001rzi.3	ACVR1B	chr12	52374774	G	A	0	GSGLPL FVQRTV ARTIVL Q	GSGLPL FVQHTV ARTIVL Q	配列番号 157	GLPLFV QHT V	89	high
hg19_knownGene_uc001qsr.3, hg19_knownGene_uc001qss.3	CLSTN3	chr12	7288865	G	A	0	GSLALF PGIRLE TCDEPL W	GSLALF PGIHLE TCDEPL W	配列番号 158	ALFPGI HLE T	89	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc003ysr.3	GS DM C	c h r 8	130 789 814	C	T	0	MPSMLE RISKNL VKEI	MPSMLE HISKNL VKEI	配 列 番 号 15 9	SML EHI SKN L	89	high
hg19_knownGene_uc003pue.3, hg19_knownGene_uc003puf.3	SL G2 2A 16	c h r 6	110 746 270	C	T	0	IPQLFV GTMALL SGVLT K	IPQLFV GTMALL SGVLT K	配 列 番 号 16 0	QLF VGT MTL	95	high
hg19_knownGene_uc002lgl.1, hg19_knownGene_uc002lgl.1	WD R7	c h r 1 8	546 030 98	G	A	0	RHALSL IATARP PAFITT I	RHALSL IATTRP PAFITT I	配 列 番 号 16 1	SLI ATT RPP A	97	medium
hg19_knownGene_uc001fsd.3, hg19_knownGene_uc010pid.2, hg19_knownGene_uc001fsf.3, hg19_knownGene_uc001frz.3, hg19_knownGene_uc001fsj.3, hg19_knownGene_uc001fse.3, hg19_knownGene_uc001fsk.3, hg19_knownGene_uc001fry.3	GD 1E	c h r 1	158 324 361	T	G	0	FLKPWS HGNFSK QELKNL Q	FLKPWS HGNVSK QELKNL Q	配 列 番 号 16 2	FLK PWS HGN V	98	high
hg19_knownGene_uc002ehx.3, hg19_knownGene_uc002ehy.3	IR X6	c h r 1 6	553 631 64	C	T	0	ALQGLP LNCAPC PRRSEP V	ALQGLP LNCVPC PRRSEP V	配 列 番 号 16 3	ALQ GLP LNC V	98	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001lcl.4	PN LI PR P3	c h r 1 0	118 236 283	A	C	0	KHLFED SQNKLG AEMVIN T	KHLFED SQNTLG AEMVIN T	配 列 番 号 16 4	HLF EDS QNT L	99	high
hg19_knownGene_uc010wek.2	ER BB 2	c h r 1 7	378 682 08	C	T	0	DNYLST DVGST LVCPLH N	DNYLST DVGST LVCPLH N	配 列 番 号 16 5	YLS TDV GFC T	10 6	high
hg19_knownGene_uc002hso.3, hg19_knownGene_uc010cwa.3 , hg19_knownGene_uc002hsl.3, hg19_knownGene_uc002hsn.1, hg19_knownGene_uc002hsp.3, hg19_knownGene_uc010cwb.3, hg19_knownGene_uc002hsm.3	ER BB 2	c h r 1 7	378 682 08	C	T	0	YNYLST DVGST LVCPLH N	YNYLST DVGST LVCPLH N	配 列 番 号 16 6	YLS TDV GFC T	10 6	high
hg19_knownGene_uc002emk.3, hg19_knownGene_uc002emi.3 , hg19_knownGene_uc002emj.3	CC DC 13 5	c h r 1 6	577 600 55	G	A	0	DVAERV FLVAEE RIQLRY H	DVAERV FLVTEE RIQLRY H	配 列 番 号 16 7	FLV TEE RIQ L	10 7	high
hg19_knownGene_uc002kft.3	RA B4 0B	c h r 1 7	806 164 84	C	T	0	AQAYAE RLGVTF FEVSPL C	AQAYAE RLGMTF FEVSPL C	配 列 番 号 16 8	GMT FFE VSP L	10 8	high

10

20

30

40

hg19_knownGene_uc001qsr.3, hg19_knownGene_uc001qss.3	CLSTN3	chr12	7288865	G	A	0	GSLALF PGIRLE TCDEPL W	GSLALF PGIHLE TCDEPL W	配列番号169	SLALF GIHL	111	high
hg19_knownGene_uc001mmd.3, hg19_knownGene_uc001mmf.3	SOX6	chr11	16077437	G	A	0	SPLQLQ QLYAAQ LASMQV S	SPLQLQ QLYVAQ LASMQV S	配列番号170	YVAQLA SMQV	115	high
hg19_knownGene_uc001mmg.3, hg19_knownGene_uc001mme.3	SOX6	chr11	16077437	G	A	0	NHKQIE QLYAAQ LASMQV S	NHKQIE QLYVAQ LASMQV S	配列番号171	YVAQLA SMQV	115	high
hg19_knownGene_uc002hhp.1, hg19_knownGene_uc002hho.1, hg19_knownGene_uc010wcb.2	MYO1D	chr17	31087632	C	T	0	DAFAKA IYERLF CWIVTR I	DAFAKA IYEHLF CWIVTR I	配列番号172	AIYEHL FCWI	118	high
hg19_knownGene_uc010nzv.1, hg19_knownGene_uc001aok.4, hg19_knownGene_uc001aoi.3, hg19_knownGene_uc001aoj.3	CAMTA1	chr1	7797322	C	T	0	HFSCTP LMWACA LGHLEA A	HFSCTP LMWVCA LGHLEA A	配列番号173	LMWVCA LGHLE	120	high
hg19_knownGene_uc001bnm.4, hg19_knownGene_uc001bnn.3	SLC9A1	chr1	27436202	C	T	0	HVGIVD IFLGLF SFFVVA L	HVGIVD IFLSFL SFFVVA L	配列番号174	GIVDIF LSFL	125	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002gih.3, hg19_knownGene_uc002gij.3, hg19_knownGene_uc002gii.2													
hg19_knownGene_uc003jml.2, hg19_knownGene_uc003jmk.3	C6	chr5	41149516	T	G	0	NDYFTS PACKFL AEKCLN N	NDYFTS PACTFL AEKCLN N	配列番号 179	FTS PAC TFL A	176	high	
hg19_knownGene_uc003bve.1	IRAK2	chr3	10264468	C	T	0	AAYLPE DFIRVG QLTKRV D	AAYLPE DFIWVG QLTKRV D	配列番号 180	YLP EDF IWW G	179	high	
hg19_knownGene_uc011kis.2, hg19_knownGene_uc003upp.3 hg19_knownGene_uc003upr.3	TRRAP	chr7	98519385	C	T	0	RAELMQ ALWRTL RNPADS I	RAELMQ ALWCTL RNPADS I	配列番号 181	ELM QAL WCT L	190	high	
hg19_knownGene_uc001gut.2, hg19_knownGene_uc001gur.2	PTPRC	chr1	198711490	A	C	0	LRRQRC LMVQVE AQYILI H	LRRQRC LMVHVE AQYILI H	配列番号 182	LMV HVE AQY I	194	high	
hg19_knownGene_uc003yhw.3, hg19_knownGene_uc010mbe.2	CPQ	chr8	97797433	T	G	0	NLQQDG LEKVHL EPVRIP H	NLQQDG LEKGHL EPVRIP H	配列番号 183	GLE KGH LEP V	194	medium	

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc011bai.2, hg19_knownGene_uc011baj.2	SLC6A20	chr3	45817323	G	A	0	ENGGVQ WEPALC LLLAWL V	ENGGVQ WEPVLC LLLAWL V	配列番号184	VQW EPV LCL L	195	high
hg19_knownGene_uc002viv.3, hg19_knownGene_uc002viu.3	STK36	chr2	219558685	G	A	0	LYFLSL LVFRLQ NLPCGM E	LYFLSL LVFQLQ NLPCGM E	配列番号185	YFL SLL VFQ L	195	high
hg19_knownGene_uc001vpa.2, hg19_knownGene_uc001voz.2, hg19_knownGene_uc001vox.1	NALCN	chr13	102029355	G	T	0	DQMSPW GMLRIP RPLIMI R	DQMSPW GMLQIP RPLIMI R	配列番号186	GML QIP RPL I	197	medium
hg19_knownGene_uc010tkh.2, hg19_knownGene_uc001vuh.3	TMEM255B	chr13	114469097	G	T	0	GLLDPA EGLSRR KKTSLW F	GLLDPA EGLLR KKTSLW F	配列番号187	GLL DPA EGL L	213	high
hg19_knownGene_uc011kis.2, hg19_knownGene_uc003upp.3, hg19_knownGene_uc003upr.3	TRRAP	chr7	98519385	G	T	0	RAELMQ ALWRTL RNPADS I	RAELMQ ALWCTL RNPADS I	配列番号188	ALW CTL RNP A	225	medium
hg19_knownGene_uc002xxm.1, hg19_knownGene_uc002xxn.1, hg19_knownGene_uc002xxl.1	GSTF1	chr20	54978601	G	A	0	HTEDYV LLPDER TISLCC W	HTEDYV LLPNER TISLCC W	配列番号189	LLP NER TIS L	235	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc003fjk.3	PIK3CA	chr3	178916891	G	A	0	DETRRL CDLRLF QPFLKV I	DETRRL CDLQLF QPFLKV I	配列番号190	LQL FQP FLK V	238	high
hg19_knownGene_uc009yrn.1	ADRBK1	chr11	67051736	G	T	0	RNFPLT ISERWQ QEVAET V	RNFPLT ISEWVQ QEVAET V	配列番号191	TIS EWW QQE V	239	high
hg19_knownGene_uc010hiq.3, hg19_knownGene_uc003cnx.4	KIF5	chr3	44828026	G	T	0	IKKGVF VVGAVE QVVTSA A	IKKGVF VVGVE QVVTSA A	配列番号192	FVV GVV EQV V	248	high
hg19_knownGene_uc002dli.3	HS3ST2	chr16	22926539	G	A	0	WNAIRI GMYVLH LESWLQ Y	WNAIRI GMYMLH LESWLQ Y	配列番号193	YML HLE SWL Q	253	high
hg19_knownGene_uc001mco.3	CNGA4	chr11	6265440	A	C	0	DQQLDD LQTKFA RLLAEL E	DQQLDD LQTTFA RLLAEL E	配列番号194	QLD DLQ TTF A	254	medium
hg19_knownGene_uc001rgq.1, hg19_knownGene_uc001rgp.1	KRAS	chr12	25398285	G	T	0	EYKLVV VGAGGV GKSALT I	EYKLVV VGASGV GKSALT I	配列番号195	KLV VVG ASG V	256	high

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002hue.3, hg19_knownGene_uc010cwt.1	CA SC 3	c h r 1 7	383 246 39	C	T	0	PYAPGA LPPPPP PHLYPN T	PYAPGA LPPLPP PHLYPN T	配 列 番 号 19 6	ALP PLP PPH L	26 0	hg19_knownGene_uc002hue.3, hg19_knownGene_uc010cwt.1
hg19_knownGene_uc001vpa.2, hg19_knownGene_uc001voz.2 , hg19_knownGene_uc001vox.1	NA LC N	c h r 1 3	102 029 355	C	T	0	DQMSPW GMLRIP RPLIMI R	DQMSPW GMLQIP RPLIMI R	配 列 番 号 19 7	QMS PWG MLQ I	26 6	medium
hg19_knownGene_uc001szy.4, hg19_knownGene_uc001szv.4	SL C6 A1 5	c h r 1 2	852 797 97	G	A	0	ILLMVI GIPLFF LELSVG Q	ILLMVI GIPFFF LELSVG Q	配 列 番 号 19 8	LLM VIG IPF F	26 7	high
hg19_knownGene_uc003zqw.4, hg19_knownGene_uc003zqx.4 , hg19_knownGene_uc010mjh.1	AC O1	c h r 9	324 184 55	G	A	0	DGYYP DSLVT DSHTT I	DGYYP DSLMT DSHTT I	配 列 番 号 19 9	SLM GTD SHT T	28 6	medium
hg19_knownGene_uc021ozl.1, hg19_knownGene_uc001fau.3	IV L	c h r 1	152 882 716	A	C	0	VKRDEQ LGMKKE QLLELP E	VKRDEQ LGMTKE QLLELP E	配 列 番 号 20 0	GMT KEQ LLE L	29 5	medium
hg19_knownGene_uc001vkp.1, hg19_knownGene_uc001vkq.1 , hg19_knownGene_uc001vko.2, hg19_knownGene_uc010aez.1	ED NR B	c h r 1 3	784 926 68	G	A	0	PSLCGR ALVALV LACGLS R	PSLCGR ALVVLV LACGLS R	配 列 番 号 20 1	SLC GRA LVV L	30 9	medium

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002viv.3, hg19_knownGene_uc002viu.3	STK36	chr2	219558685	G	A	0	LYFLSL LVFRLQ NLPCGME	LYFLSL LVFQLQ NLPCGME	配列番号202	FQLQNLPCGM	315	high
hg19_knownGene_uc002bxi.3, hg19_knownGene_uc002bxh.3, hg19_knownGene_uc002bxj.3	TM2D3	chr15	102182749	G	A	0	FSFGGL GIWTLI DVLLIGV	FSFGGL GIWMLI DVLLIGV	配列番号203	GIWMLIDVL	330	medium
hg19_knownGene_uc022azb.1, hg19_knownGene_uc003yin.3	KCNS2	chr8	99441361	C	T	0	GYGDVV PGTTAG KLTASAC	GYGDVV PGTMAG KLTASAC	配列番号204	TMA GKLTASA	345	medium
hg19_knownGene_uc003lmh.4, hg19_knownGene_uc010jgh.3, hg19_knownGene_uc003lmf.4, hg19_knownGene_uc003lmg.4	GNPD A1	chr5	141384531	G	A	0	LTKVPT MALTVG VGTVMDA	LTKVPT MALMVG VGTVMDA	配列番号205	ALM VGVGTVM	363	high
hg19_knownGene_uc003xrh.1, hg19_knownGene_uc022aup.1, hg19_knownGene_uc010lyc.1, hg19_knownGene_uc003xri.1	OPRK1	chr8	54142147	C	T	0	VLVVA VFVVCW TPIHIFI	VLVVA VFVICW TPIHIFI	配列番号206	VLV VVA VFI	372	high
hg19_knownGene_uc001mmd.3, hg19_knownGene_uc001mmf.3	SOX6	chr11	16077437	G	A	0	SPLQLQ QLYAAQ LASMQVS	SPLQLQ QLYVAQ LASMQVS	配列番号207	QLY VAQLASLM	384	medium

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc001mng.3, hg19_knownGene_uc001mme.3	SOX6	chr11	16077437	G	A	0	NHKQIE QLYAAQ LASMQV S	NHKQIE QLYVAQ LASMQV S	配列番号208	QLYVAQLAS M	384	medium
hg19_knownGene_uc0021kw.3, hg19_knownGene_uc0021ky.2	NETO1	chr118	70451000	G	A	0	STVAND VMLRTG LGVIRM W	STVAND VMLCTG LGVIRM W	配列番号209	VMLCTGLG VI	401	medium
hg19_knownGene_uc001xuj.3, hg19_knownGene_uc001xul.3 hg19_knownGene_uc001xui.3	ADCK1	chr114	78397931	G	A	0	ISHLLN HVPRQM LLILKT N	ISHLLN HVP HQM LLILKT N	配列番号210	HLLNHV PHQ M	403	medium
hg19_knownGene_uc003pue.3, hg19_knownGene_uc003puf.3	SLC2A16	chr16	110746270	C	T	0	IPQLFV GTMALL SGVLT L K	IPQLFV GTMALL SGVLT L K	配列番号211	MTLSG VLT L	434	medium
hg19_knownGene_uc001szy.4, hg19_knownGene_uc001szv.4	SLC6A15	chr12	85279797	G	A	0	ILLMVI GIPLFF LELSV G Q	ILLMVI GIPFFF LELSV G Q	配列番号212	LMVIGI PFF F	447	medium
hg19_knownGene_uc003xrh.1, hg19_knownGene_uc022aup.1 hg19_knownGene_uc010lyc.1, hg19_knownGene_uc003xri.1	OPRK1	chr18	54142147	C	T	0	VLVVVA VFVVCW TPIHIF I	VLVVVA VFVICW TPIHIF I	配列番号213	AVFVIC WTP I	448	medium

10

20

30

40

50

hg19_knownGene_uc002hbi.3, hg19_knownGene_uc002hbh.3	SL	c	268							配列番号			
hg19_knownGene_uc010wal.1,	C1	h	175	G	A	0	EHWNLH	EHWNLH	21	TLR	45	medium	
hg19_knownGene_uc010wam.2,	3A	r	68				KRIALR	KRITLR	4	VLL	7		
hg19_knownGene_uc010wan.2	2	1					VLLIVG	VLLIVG		IVG			
		7					V	V		V			

10

【0099】

前記表1～3から明らかなように、インシリコ (*in silico*) 予測により、HLA-A2402に対して高い結合親和性を有するネオエピトープとして、AYNSISS E V I (配列番号45) ($IC_{50} = 274 \text{ nM}$)、TYQNDNKPEF (配列番号42) ($IC_{50} = 187 \text{ nM}$)、FFYPCHPDVF (配列番号49) ($IC_{50} = 436 \text{ nM}$)、VYNMPSTPSF (配列番号32) ($IC_{50} = 38 \text{ nM}$)、RYLGPTDWQL (配列番号41) ($IC_{50} = 159 \text{ nM}$)、LMVIGIPFFF (配列番号48) ($IC_{50} = 404 \text{ nM}$)を選定した。

20

【0100】

また、表4～6から明らかなように、HLA-A0201に対して高い結合親和性を有するネオエピトープとしては、MLIDVLLIGV (配列番号122) ($IC_{50} = 4 \text{ nM}$)、MMDRQMLPPV (配列番号123) ($IC_{50} = 6 \text{ nM}$)、LMWVCA L G H L (配列番号173) ($IC_{50} = 120 \text{ nM}$)、GIVDIFLSFL (配列番号174) ($IC_{50} = 125 \text{ nM}$)、AVFVICWTP I (配列番号213) ($IC_{50} = 448 \text{ nM}$)、TLRVLLIVGV (配列番号214) ($IC_{50} = 457 \text{ nM}$)を選定した。

30

【0101】

以下の実験のために前記のように選別したネオエピトープを、作製されたMHC-ペプチドマルチマー (*multimer*) (8、9、10mer) で合成した。これを用いて患者由来のT細胞のうちこれを認知できる細胞を抽出し、この後、EBV陰性胃癌細胞抗原特異的自己メモリーT細胞を作製した。

【0102】

2. 選別されたネオエピトープがローディングされた樹状細胞で活性化されたT細胞のELISPOT結果

健康なヒトの血液から抽出したPBMCをフローサイトメトリーにより単核球 (*monocyte*) と白血球 (*leukocyte*) に分離して、単核球は樹状細胞に分化させるために、GM-CSFとIL-4サイトカインを培養液に入れて、2日間培養した。また、白血球の場合、抗-CD3/CD28抗体とともに3日間培養し、この後、IL-2サイトカインをともに入れた培養液で培養した。樹状細胞に分化した単核球に、前記のように選別したネオエピトープペプチドをエレクトロポレーション法で樹状細胞に導入した。この後、5日間培養して、樹状細胞の表面で前記ネオエピトープが発現することを確認した後、抗CD3/CD28抗体が含まれた培養液で培養している白血球とともに1:20 (樹状細胞:白血球) の比率で共培養した。共培養時、培養液には樹状細胞の抗原提示機能の効能を増加させるサイトカインであるIL-4と、T細胞のメモリー細胞への転換を補助する機能をするサイトカインであるIL-2とIL-7をともに入れたサイトカインカクテルを混ぜて培養した。16時間後、このように活性化されたT細胞のIFN-の発現程度をELISPOTで測定して、その結果を図1～4に示した。72時間共同培

40

50

養した後、樹状細胞を介して抗原が提示されたメモリーT細胞を選び出すために、IFN γ サイトカインを分泌するT細胞を抽出できる磁石を用いた細胞抽出機(MACS)を用いてEBV抗原特異的メモリーT細胞を抽出した。抽出されたメモリーT細胞は、メモリー機能を維持し、細胞の数を増加させるために、IL-2、IL-7、IL-15 サイトカインが混合された培養液で培養して、マウスに注入可能な細胞数に到達するまで培養した。ただし、対照群としては、刺激のないEBV陽性胃癌ペプチド(HLA-A3101)を導入した細胞を使用した。

【0103】

その結果、Neopeptideにより予測されたネオエピトープペプチドがローディングされた樹状細胞とともに培養されたT細胞において、前記ペプチドのHLAに対する結合親和性と関係なく、対照群に比べてIFN γ の分泌がはるかに多いことを確認することができた。

10

【0104】

これによって、本発明において、前記表1~6で、HLA-A2402またはHLA-A0201に対して高い結合親和性を有するネオエピトープがローディングされた樹状細胞によって細胞傷害性Tリンパ球(Cytotoxic T lymphocytes、CTLs)を活性化させることができ、このように活性化されたT細胞は、新抗原であるネオエピトープを認知できる抗原特異性を有することが分かった。

【0105】

以上、本発明の特定の部分を詳細に述べたが、当業界における通常の知識を有する者にとってこのような具体的な記述は単に好ましい実施形態に過ぎず、そのため、本発明の範囲が制限されるわけではない点は明らかである。したがって、本発明の実質的な範囲は、添付した請求項とその等価物によって定義されるというべきである。

20

【産業上の利用可能性】

【0106】

本発明は、癌特異的ネオエピトープ、前記ネオエピトープがローディングされた抗原提示細胞、および前記抗原提示細胞によって癌治療のためのT細胞を活性化する方法に関する。

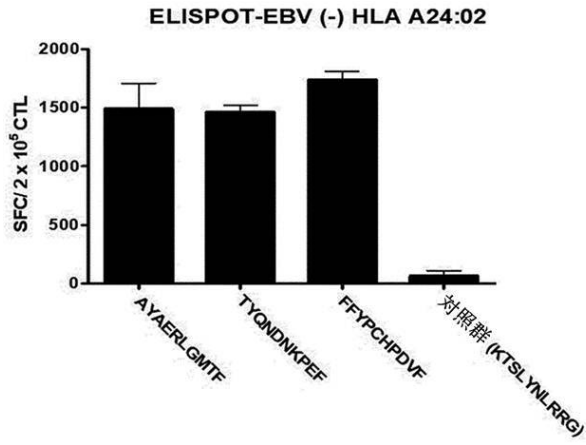
30

40

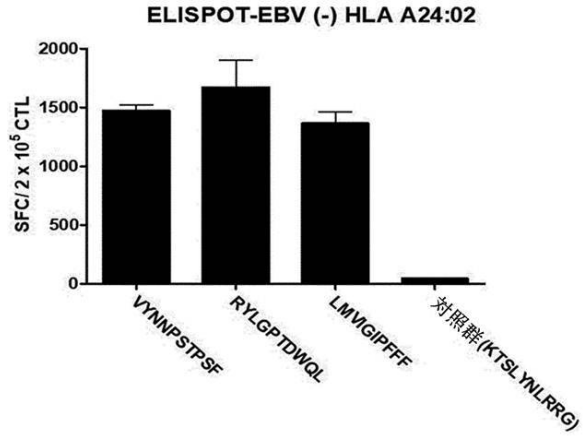
50

【 図面 】

【 図 1 】

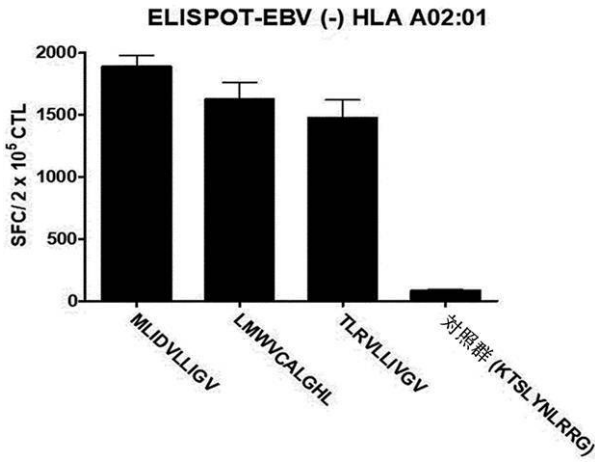


【 図 2 】

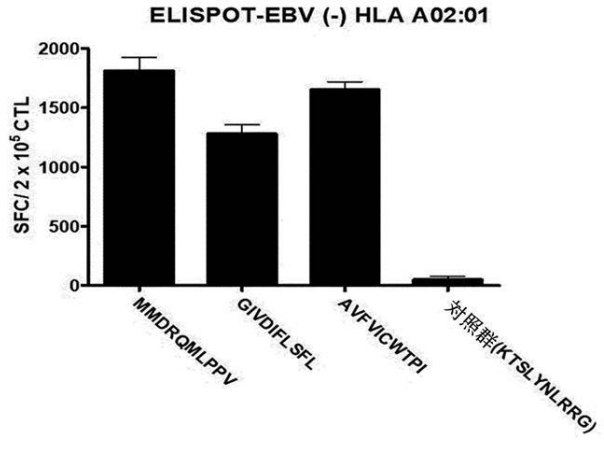


10

【 図 3 】



【 図 4 】



20

30

【 配列表 】

0007693189000001.app

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

		F I		
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/0781(2010.01)	C 1 2 N	5/0781	
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783	
C 1 2 N	5/0784(2010.01)	C 1 2 N	5/0784	
C 1 2 N	5/0786(2010.01)	C 1 2 N	5/0786	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
A 6 1 K	40/11 (2025.01)	A 6 1 K	40/11	
A 6 1 K	40/42 (2025.01)	A 6 1 K	40/42	

大韓民国 0 4 0 2 9 ソウル、マポ - グ、トンギョ - ロ 1 2 - ギル、2 1、2 0 6 - ホ (ソギョ
- ドン)

合議体

審判長 上條 肇

審判官 中村 浩

審判官 柴原 直司

(56)参考文献

国際公開第 2 0 1 6 / 1 7 2 7 2 2 (W O , A 1)
 国際公開第 2 0 1 6 / 1 8 7 5 0 8 (W O , A 2)
 国際公開第 2 0 1 6 / 0 4 4 5 3 0 (W O , A 1)
 特表 2 0 0 5 - 5 3 0 4 9 3 (J P , A)
 特表 2 0 1 3 - 5 0 2 2 3 5 (J P , A)
 特開 2 0 0 7 - 1 1 7 0 2 3 (J P , A)
 PLOS ONE (2016) Vol.11, No.11, e0166372, pp.1-18

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C07K 1/00-19/00
 C12N15/00
 A61K35/00
 A61K38/00
 A61K40/00
 MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)
 C a p l u s / R E G I S T R Y (S T N)
 U n i P r o t / G e n e S e q
 P u b M e d