

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-538286

(P2009-538286A)

(43) 公表日 平成21年11月5日(2009.11.5)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	4 B 0 2 4
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/385 (2006.01)	A 6 1 K 39/385	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 30 頁)

(21) 出願番号 特願2009-511526 (P2009-511526)
 (86) (22) 出願日 平成19年5月24日 (2007. 5. 24)
 (85) 翻訳文提出日 平成21年1月8日 (2009. 1. 8)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2007/055037
 (87) 国際公開番号 W02007/137986
 (87) 国際公開日 平成19年12月6日 (2007. 12. 6)
 (31) 優先権主張番号 0610547. 2
 (32) 優先日 平成18年5月26日 (2006. 5. 26)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 0707307. 5
 (32) 優先日 平成19年4月16日 (2007. 4. 16)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 305060279
 グラクソスミスクライン バイオロジカル
 ズ ソシエテ アノニム
 ベルギー ベー-1 3 3 0 リクセンサー
 ル リュ ドランスティテュ 8 9
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100096183
 弁理士 石井 貞次
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌に対するワクチン接種

(57) 【要約】

本発明は、ある範囲の癌、例えばMAGE陽性癌、例として限定されるものではないが、メラノーマ及び非小細胞肺癌 (NSCLC) などを治療するための方法に関する。本発明は、補助的 (例えば術後) 療法における及び活動性疾患の療法における癌の治療方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

補助的（例えば、術後）療法において、癌、例えばMAGE陽性癌、例えば非小細胞肺癌（NSCLC）を有する患者を治療する方法であって、腫瘍関連抗原、例えばMAGEタンパク質ファミリー由来の抗原、又は前記腫瘍関連抗原をコードするヌクレオチド配列を含む組成物を前記患者に投与することを含み、最初の5～8回のワクチン接種には3週間間隔で、続いて次の8又は9回以上のワクチン接種には3カ月間隔で前記抗原が投与される、前記方法。

【請求項 2】

補助的（例えば、術後）療法において、癌、例えばMAGE陽性癌、例えば非小細胞肺癌（NSCLC）を有する患者を治療するための医薬の製造における、腫瘍関連抗原、例えばMAGEタンパク質ファミリー由来の抗原、又は前記腫瘍関連抗原をコードするヌクレオチド配列を含む組成物の使用であって、該療法において最初の5～8回のワクチン接種には3週間間隔で、続いて次の8又は9回以上のワクチン接種には3カ月間隔で前記抗原が投与される、前記使用。

10

【請求項 3】

以下に示すスケジュール：

誘導：3週間間隔（0、6、9、12週目）で5回のワクチン接種

維持：3カ月間隔で9回のワクチン接種

に従って前記抗原が投与される、請求項 1 に記載の方法又は請求項 2 に記載の使用。

20

【請求項 4】

活動性疾患の療法（active disease setting）において、癌、例えばMAGE陽性癌、例えば非小細胞肺癌（NSCLC）又はメラノーマを有する患者を治療する方法であって、腫瘍関連抗原、例えばMAGEタンパク質ファミリー由来の抗原、又は前記腫瘍関連抗原をコードするヌクレオチド配列を含む組成物を前記患者に投与することを含み、治療の最初の6カ月から1年の間に2週間又は3週間間隔で前記抗原が投与される、前記方法。

【請求項 5】

活動性疾患の療法において、癌、例えばMAGE陽性癌、例えば非小細胞肺癌（NSCLC）又はメラノーマを有する患者を治療するための医薬の製造における、腫瘍関連抗原、例えばMAGEタンパク質ファミリー由来の抗原、又は前記腫瘍関連抗原をコードするヌクレオチド配列を含む組成物の使用であって、該療法において治療の最初の6カ月から1年の間に2週間又は3週間間隔で前記抗原が投与される、前記使用。

30

【請求項 6】

最初の4～10回のワクチン接種には2週間間隔で、続いて次の4～10回のワクチン接種には3週間間隔で、次いで次の3～7回のワクチン接種には6週間間隔で前記抗原が投与される、請求項 4 に記載の方法又は請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

3～5回のワクチン接種には3カ月間隔で、続いて次の3～5回のワクチン接種には6カ月間隔で抗原がさらに投与される、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 8】

以下に示すスケジュール：

サイクル 1：2週間間隔（1、3、5、7、9、11週目）で6回のワクチン接種

サイクル 2：3週間間隔（15、18、21、24、27、30週目）で6回のワクチン接種

サイクル 3：6週間間隔（34、40、46、52週目）で4回のワクチン接種

長期治療：3カ月間隔で4回のワクチン接種

6カ月間隔で4回のワクチン接種

に従って抗原が投与される、請求項 4 から 7 のいずれかに記載の方法又は使用。

40

【請求項 9】

前記MAGE抗原が、MAGE-A1のアミノ酸195～279に相当する特徴的なコアMAGE（core MAGE signature）を少なくとも含むMAGE-Aタンパク質である、前記請求項のいずれかに記載の

50

方法又は使用。

【請求項 1 0】

前記MAGE抗原が、MAGE A1、MAGE A2、MAGE A3、MAGE A4、MAGE A5、MAGE A6、MAGE A7、MAGE A8、MAGE A9、MAGE A10、MAGE A11、MAGE A12、MAGE B1、MAGE B2、MAGE B3、MAGE B4、MAGE C1、及びMAGE C2の群より選択される、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 1 1】

前記抗原が、免疫学的融合パートナー又は発現エンハンサーパートナーに連結されている、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 1 2】

前記融合パートナーが、インフルエンザ菌B型 (*Haemophilus influenzae* B) のプロテインD若しくはその断片;インフルエンザ (*influenza*) のNS1タンパク質若しくはその断片;又は肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) のLytA若しくはその断片からなる群より選択される、請求項11に記載の方法又は使用。

【請求項 1 3】

前記プロテインD又はその断片が、脂質化形態のプロテインDである、請求項12に記載の方法又は使用。

【請求項 1 4】

前記抗原がアフィニティタグをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 1 5】

前記抗原が誘導体化遊離チオールをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 1 6】

前記誘導体化遊離チオールが、カルボキシアミド又はカルボキシメチル化誘導体である、請求項15に記載の方法又は使用。

【請求項 1 7】

前記ヌクレオチド配列がベクター内に含まれている、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 1 8】

前記ベクターが宿主細胞内に含まれている、請求項17に記載の方法又は使用。

【請求項 1 9】

前記組成物が、アジュバント及び/又は免疫刺激性サイトカイン若しくはケモカインをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 2 0】

前記アジュバントが3D-MPL、QS21、及びCpG免疫刺激性オリゴヌクレオチドのうちの1以上を含む、請求項19に記載の方法又は使用。

【請求項 2 1】

前記抗原が水中油型又は油中水型エマルジョン基剤中に存在する、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 2 2】

前記組成物が1以上の他の抗原をさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 2 3】

前記NSCLCがステージIb、II、又はIIIIaである、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 2 4】

前記MAGE陽性癌がMAGE-3陽性癌である、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項 2 5】

前記腫瘍関連抗原が、MAGE A1、A2、A3、A4、A5、A6、MAGE C1、C2、PRAME、BAGE、LAG

10

20

30

40

50

E1、LAGE2、SAGE、HAGE、XAGE、PSA、PAP、PSCA、プロステイン、P501S、HASH2、Cripto、B726、NY-BR1.1、P510、MUC-1、プロスターゼ、STEAP、チロシナーゼ、テロメラゼ、サバイピン、CASB616、P53、又はher 2 neuから選択された1以上の抗原を含む、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項26】

前記補助的療法が、すべての検出可能な癌組織の外科的全切除を受けた患者における療法である、請求項1から3又は9から25のいずれかに記載の方法又は使用。

【請求項27】

前記癌が、メラノーマ、乳癌、肝臓癌、移行上皮癌を含む膀胱癌、非小細胞肺癌（NSCLC）を含む肺癌、扁平上皮癌を含む頭頸部癌及び食道癌、大腸癌、セミノーマ、並びに多発性骨髄腫である、前記請求項のいずれかに記載の方法又は使用。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ある範囲のMAGE発現癌、例えば限定されるものではないが、メラノーマ、乳癌、肝臓癌、膀胱癌（移行上皮癌を含む）、肺癌（非小細胞肺癌（NSCLC）を含む）、頭頸部癌（扁平上皮癌を含む）及び食道癌、大腸癌、セミノーマ、並びに多発性骨髄腫などを治療するための方法に関する。本発明は、補助的（例えば術後）療法における及び活動性疾患におけるMAGE発現癌の治療方法、並びにこれらの療法でのMAGE発現癌に罹患した患者の治療におけるワクチンの使用に関する。

20

【背景技術】

【0002】

MAGE抗原

MAGE抗原は、メラノーマ関連抗原遺伝子（MAGE）のファミリーによってコードされる抗原である。MAGE遺伝子は、メラノーマ細胞（悪性メラノーマを含む）、並びに他のいくつかの癌、例えばNSCLC（非小細胞肺癌）、頭頸部癌（扁平上皮癌を含む）、食道癌、膀胱癌（移行上皮癌を含む）において主に発現されるが、精巣及び胎盤を除く正常組織では検出されない（Gaugler, 1994; Weynants, 1994; Patard, 1995）。MAGE-3はメラノーマの69%において発現され（Gaugler, 1994）、またNSCLCの44%（Yoshimatsu 1988）、頭頸部扁平上皮癌の48%、膀胱移行上皮癌の34%、食道癌の57%、大腸癌の32%、そして乳癌の24%においても検出される（Van Pel, 1995; Inoue, 1995; Fujie 1997; Nishimura 1997）。MAGEタンパク質を発現する癌は、MAGE関連腫瘍として知られる。

30

【0003】

MAGE-1遺伝子は、X染色体に位置し、互いにそのコード配列において64~85%の相同性を有する、12種の非常に関連性の遺伝子、すなわちMAGE 1、MAGE 2、MAGE 3、MAGE 4、MAGE 5、MAGE 6、MAGE 7、MAGE 8、MAGE 9、MAGE 10、MAGE 11、MAGE 12のファミリーに属する（De Plaen, 1994）。これらは、MAGE A1、MAGE A2、MAGE A3、MAGE A4、MAGE A5、MAGE A6、MAGE A7、MAGE A8、MAGE A9、MAGE A10、MAGE A11、MAGE A12（MAGE Aファミリー）として知られることもある。

【0004】

他の2つのタンパク質群もMAGEファミリーの一部であるが、その関連性はより少ない。これらはMAGE B群及びMAGE C群である。MAGE Bファミリーには、MAGE B1（MAGE Xp1及びDAM 10としても知られる）、MAGE B2（MAGE Xp2及びDAM 6としても知られる）、MAGE B3及びMAGE B4が含まれ、MAGE Cファミリーには現在MAGE C1及びMAGE C2が含まれる。

40

【発明の概要】

【0005】

一般的な用語において、MAGE Aタンパク質は、このタンパク質のC末端に向かって位置する特徴的なコア配列（core sequence signature）を含むものと定義しうる。例えば309アミノ酸のMAGE A1タンパク質（配列番号11、GenBank protein Sequence Reference No. 004979も参照のこと）に関して、特徴的なコアはアミノ酸195~279に相当する。

50

【 0 0 0 6 】

従って、この特徴的なコアの共通（コンセンサス）パターンは以下のように記載される。ここで、xは任意のアミノ酸を表し、小文字の残基は保存されており（許容される保存的変異）、大文字の残基は完全に保存されている。

【 0 0 0 7 】

特徴的なコア配列

LixvL(2x)l(3x)g(2x)apEExiWexl(2x)m(3-4x)Gxe(3-4x)gxp(2x)llt(3x)VqexYLxYxqVPxsxP(2x)yeFLWGprA(2x)Et(3x)kv

10

【 0 0 0 8 】

保存的置換は周知であり、一般的には配列アライメントコンピュータプログラムにおいてデフォルトスコアマトリクスとして設定される。これらのプログラムとしては、PAM250 (Dayhoff M.O.ら、(1978), "A model of evolutionary changes in proteins", "Atlas of Protein sequence and structure" 5(3) M.O. Dayhoff (編), 345-352) (National Biomedical Research Foundation, Washington)、Blosum 62 (Steven Henikoff and Jorja G. Henikoff (1992), "Amino acid substitution matrices from protein blocks") (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 (Biochemistry): 10915-10919) が挙げられる。

【 0 0 0 9 】

一般的な用語において、以下のグループ内の置換は保存的置換であるが、グループ間の置換は非保存的とみなされる。このグループは以下のとおりである：

20

- i) アスパラギン酸/アスパラギン/グルタミン酸/グルタミン
- ii) セリン/トレオニン
- iii) リシン/アルギニン
- iv) フェニルアラニン/チロシン/トリプトファン
- v) ロイシン/イソロイシン/バリン/メチオニン
- vi) グリシン/アラニン。

【 0 0 1 0 】

一般的にそして本発明の関係では、MAGEタンパク質は、このコア領域においてMAGE A1 (配列番号11) のアミノ酸195~279とおよそ50%の同一性を有するものである。

30

【 0 0 1 1 】

MAGEタンパク質誘導体もまた当技術分野で公知である (WO99/40188号参照)。かかる誘導体は、ある範囲の種類の腫瘍の治療に好適な治療用ワクチン製剤において使用するのに好適である。

【 0 0 1 2 】

癌の種類

本発明は、MAGE発現癌、例えば、メラノーマ、乳癌、膀胱癌（移行上皮癌を含む）、肺癌（NSCLCを含む）、頭頸部癌（扁平上皮癌を含む）、及び食道癌、大腸癌、多発性骨髄腫などを有する患者に使用することができる。一実施形態において、本発明は、そのような癌の補助的（例えば原発腫瘍の外科的切除後の）療法において使用することができる。別の実施形態において、本発明は、活動性疾患の療法（active disease setting）において使用することができる。本発明はまた、他の腫瘍抗原を発現する癌を有する患者に使用することができるが、その場合、癌免疫療法は抗原特異的癌免疫療法であり、すなわちその免疫療法は腫瘍が発現する少なくとも1つの抗原に基づいている。

40

【 0 0 1 3 】

肺癌

肺癌には2つの種類、すなわち非小細胞肺癌（NSCLC）と小細胞肺癌（SCLC）がある。この名称は、腫瘍に存在する細胞の種類を単に説明するものである。NSCLCには扁平上皮癌、腺癌及び大細胞癌が含まれ、これは肺癌の約80%を占める。NSCLCは難治性であり、可能な限り生存期間を長くし、疾患の症候を緩和することを目的とする治療が利用される

50

傾向にある。

早期NSCLCを完全に切除した全患者のおよそ半分は再発する。

【0014】

この補助的療法（例えば原発腫瘍の外科的切除後）中の患者は、原発腫瘍が外科的に切除された患者、あるいは検出可能な癌組織（原発性及び/若しくは転移性）がない又は実質的にない患者として定義される。現在、補助的療法である化学療法は再発の回数を低減する可能性のあるものであるが、これはかなりの毒性を伴うこともある。

【0015】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において、特に明記しない限り、「含む（comprise及びinclude）」という単語又は「含んでいる（comprising、comprises、including、includes）」などの変形は包括的に解釈されるべきであり、従って、これらの用語の使用は具体的に明記されていない数値又は要素を含む可能性がある。

10

【0016】

本明細書で使用する「スイスタイプ」又は「使用」の文言は、必要に応じて「治療方法」の文言に置き換えることができる。

【0017】

本明細書において引用した全ての刊行物、例えば限定されるものではないが、特許及び特許出願などは、その個々の刊行物があたかも全体が記載されているように参照により本明細書に組み入れると明示的にかつ個々に示されているように、参照により本明細書に組み入れる。

20

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1-1】リポプロテインD断片とMAGE A3断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質のヌクレオチド及びコードされるアミノ酸配列（配列番号1及び2）を示す。

【図1-2】図1-1の続き

【図1-3】図1-1の続き

【図2-1】リポプロテインD断片とMAGE A1断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列（配列番号3）を示す。

【図2-2】図2-1の続き

【図3-1】リポプロテインDとMAGE A1とヒスチジンテールとの融合タンパク質のアミノ酸配列（配列番号4）を示す。

30

【図3-2】図3-1の続き

【図4-1】NS-1、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列（配列番号5）を示す。

【図4-2】図4-1の続き

【図5】NS-1、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のヌクレオチド配列（配列番号6）を示す。

【図6-1】CLYTA、MAGE A1及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列（配列番号7）を示す。

【図6-2】図6-1の続き

40

【図7】NS-1、MAGE A1及びヒスチジンテールの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列（配列番号8）を示す。

【図8-1】CLYTA、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列（配列番号9）を示す。

【図8-2】図8-1の続き

【図9】CLYTA、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列（配列番号10）を示す。

【図10】MAGE A1タンパク質の309アミノ酸配列（配列番号11、GenBank protein Sequence Reference No. 004979も参照のこと）を示す。特徴的なコア（core signature）はアミノ酸195～279に相当する。

50

【発明を実施するための形態】

【0019】

発明の説明

本発明の一実施形態では、補助的（例えば術後）療法における、癌、例えばMAGE発現癌、例としてメラノーマ、乳癌、膀胱癌（移行上皮癌を含む）、肺癌（NSCLCを含む）、頭頸部癌（扁平上皮癌を含む）及び食道癌、大腸癌、多発性骨髄腫など、を有する患者の治療方法であって、該患者に、腫瘍関連抗原（例えばMAGEタンパク質ファミリー由来の抗原）又は該腫瘍関連抗原をコードするヌクレオチド配列を含む組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0020】

MAGEタンパク質は、少なくともMAGEの特徴的なコア（MAGE-A1のアミノ酸195～279に相当する）を有するMAGE-Aタンパク質を含みうる。

【0021】

一実施形態において、MAGEタンパク質は、MAGE A1、MAGE A2、MAGE A3、MAGE A4、MAGE A5、MAGE A6、MAGE A7、MAGE A8、MAGE A9、MAGE A10、MAGE A11、MAGE A12、MAGE B1、MAGE B2、MAGE B3及びMAGE B4、MAGE C1、MAGE C2の群より選択される。一実施形態において、MAGEタンパク質は、MAGE-A1又はMAGE-A3より選択される。

【0022】

本発明の一実施形態では、他の抗原を発現する腫瘍の治療のために、MAGE以外の（又はそれに加えた）抗原による療法を考慮してもよい。抗原又は誘導体若しくは断片の例としては、癌精巢抗原PRAME（WO96/10577号）、BAGE、RAGE、LAGE 1（WO98/32855号）、LAGE 2（NY-ESO-1としても知られる、WO98/14464号）、XAGE（Liuら、Cancer Res, 2000, 60:4752-4755; WO02/18584号）、SAGE、及びHAGE（WO99/53061号）又はGAGE（Robbins and Kawakami, 1996, Current Opinions in Immunology 8, pps 628-636; Van den Eyndeら、International Journal of Clinical & Laboratory Research (1997); Correaleら(1997), Journal of the National Cancer Institute 89, p293)が挙げられる。実際、これらの抗原は、広範な種類の腫瘍、例えばメラノーマ、肺癌、肉腫及び膀胱癌において発現している。

【0023】

本明細書において使用する用語「陽性」、例えばMAGE陽性は、抗原が細胞によって発現されているかどうかの説明において、用語「発現する」、例えばMAGEを発現する（MAGE発現）と互換性である。

【0024】

一実施形態において、本発明において使用するための抗原は、ウイルムス腫瘍遺伝子によって発現されるWT-1、又は約若しくはおよそアミノ酸1～249を含むそのN末端断片WT-1Fを含む又はそれからなる。

【0025】

一実施形態では、前立腺抗原、例えば前立腺癌抗原若しくは前立腺特異的分化抗原（PSA）、PAP、PSCA（PNAS 95(4) 1735-1740 1998）、PSMA、又はプロスターゼとして知られる抗原などを使用することができる。

【0026】

一実施形態において、前立腺抗原は、P501S又はその断片である。P501Sは、プロステインとも呼ばれ（Xuら、Cancer Res. 61, 2001, 1563-1568）、553アミノ酸のタンパク質（WO98/37814号の配列番号113）である。上記参照特許出願には、少なくとも20、少なくとも50、又は少なくとも100の連続するアミノ酸を含むその免疫原性断片及び部分が開示されており、それを本発明において抗原として使用することができる。断片は、WO98/50567号（PS108抗原）に、そして前立腺癌関連タンパク質（WO99/67384号の配列番号9）として開示されている。他の断片は、全長P501Sタンパク質のアミノ酸51～553、34～553又は55～553である。

【0027】

10

20

30

40

50

プロスターゼ (prostase) は、254アミノ酸長の前立腺特異的セリンプロテアーゼ (トリプシン様) であり、保存されたセリンプロテアーゼ触媒性三アミノ酸H-D-Sとアミノ末端プレ-プロペプチド配列を有し、これが、潜在的な分泌機能を示している (P. Nelson, Lu Gan, C. Ferguson, P. Moss, R. Linas, L. Hood & K. Wand, "Molecular cloning and characterisation of prostase, an androgen-regulated serine protease with prostate restricted expression, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999) 96, 3114-3119)。推定グリコシル化部位が記載されている。予想構造は他の既知のセリンプロテアーゼと非常に類似しており、このことは、成熟ポリペプチドが単一のドメインに折りたたまれることを示している。成熟タンパク質は224アミノ酸長であり、天然にプロセシングされることが示されている少なくとも1つのA2エピトープを有する。プロスターゼのヌクレオチド配列及び推定ポリペプチド配列、並びに相同配列は、Fergusonら (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 3114-3119)、並びに国際特許出願第WO98/12302号 (及び対応の発行特許である米国特許第5,955,306号)、WO98/20117号 (及び対応の発行特許である米国特許第5,840,871号及び同第5,786,148号) (前立腺特異的カリクレイン) 及びWO00/04149号 (P703P) に開示されている。

10

【0028】

本発明で用いることができる他の前立腺特異抗原は、WO98/37418号及びWO/004149号からわかる。別のものはSTEAP (PNAS 96 14523 14528 7-12 1999) である。

【0029】

本発明の目的で有用な他の腫瘍関連抗原としては、Plu-1 (J Biol. Chem 274 (22) 15633-15645, 1999)、HASH-1、HASH-2 (Alders, M.ら、Hum. Mol. Genet. 1997, 6, 859-867)、Cripto (Salomonら、Bioessays 199, 21 61-70、米国特許第5654140号)、CASB616 (WO00/53216号)、Criptin (米国特許第5,981,215号) が挙げられる。用いることができるさらなる抗原としては、チロシナーゼ、テロメラゼ、P53、NY-Br1.1 (WO01/47959号)、及びその断片、例えばWO00/43420号に記載されているものなど、B726 (WO00/60076号、配列番号469及び463; WO01/79286号、配列番号474及び475)、P510 (WO01/34802号、配列番号537及び538)、並びにサバイビン (survivin) が挙げられる。

20

【0030】

用いることができる他の抗原としては、乳癌抗原、例えばHer-2/neu、マンマグロビン (米国特許第5,668,267号)、B305D (WO00/61753号、配列番号299、304、305及び315)、又はWO00/52165号、WO99/33869号、WO99/19479号、WO98/45328号に開示されているものが挙げられる。Her-2/neu抗原は、特に米国特許第5,801,005号に開示されている。一実施形態において、この抗原は、Her-2/neuの細胞外ドメイン全体 (およそアミノ酸1~645を含む) 又はその断片、及び細胞内ドメイン全体 (およそC末端の580アミノ酸) の少なくとも免疫原性部分を含みうる。特に、細胞内部分は、リン酸化ドメイン又はその断片を含みうる。このような構築物はWO00/44899号に開示されている。使用することができるHer-2/neu構築物の1つはECD-PDとして知られ、2つ目はECD deltaPD (WO00/44899号参照) として知られ、dHer2とも呼ばれている。本発明において用いることができるHer-2/neuは、ラット、マウス又はヒトに由来するものとすることができる。

30

【0031】

一実施形態では、腫瘍抗原は、小ペプチド抗原 (すなわち約50アミノ酸未満) とすることができる。ペプチドの例としては、ムチン誘導ペプチド、例えばMUC-1などがある (例えば米国特許第5,744,144号、同第5,827,666号、WO88/05054号、米国特許第4,963,484号参照)。具体的には、MUC-1ペプチドの少なくとも1つのリピートユニット、好ましくは少なくとも2つの当該リピートを含み、SM3抗体により認識される、MUC-1誘導ペプチドを意図している (米国特許第6,054,438号)。他のムチン誘導ペプチドにはMUC-5由来のペプチドが含まれる。

40

【0032】

本発明において使用するための腫瘍抗原は、全長の非改変 (native) タンパク質であってもよいし、又は化学的若しくは遺伝的に修飾されたその誘導体であってもよい。あるいは

50

は、例えば9~20アミノ酸(9~100アミノ酸など)を含む、タンパク質の免疫原性断片を用いることも可能である。

【0033】

一実施形態において、抗原は、免疫学的融合パートナー又は発現エンハンサーパートナーに連結された、本明細書に記載の腫瘍抗原を含みうる。

【0034】

抗原及びパートナーは、化学的に結合(コンジュゲート)してもよいし、又は組換え融合タンパク質として発現させてもよい。抗原及びパートナーを組換え融合タンパク質として発現させる実施形態では、発現系においてこれを非融合タンパク質と比較して高いレベルで産生されるようにすることができる。従って、融合パートナーは、Tヘルパーエピソード、好ましくはヒトによって認識されるTヘルパーエピソードの提示を補助する(免疫学的融合パートナー)、かつ/又は非改変(native)の組換えタンパク質よりも高収率でのタンパク質の発現を補助する(発現エンハンサー)ものでありうる。一実施形態において、融合パートナーは、免疫学的融合パートナー及び発現エンハンサーパートナーの両方であってもよい。

10

【0035】

本発明の一実施形態において、使用することができる免疫学的融合パートナーは、グラム陰性細菌であるインフルエンザ菌B型(*Haemophilus influenzae B*)の表面タンパク質であるプロテインD(WO91/18926号)又はその誘導体から誘導される。プロテインD誘導体は、該タンパク質の最初の1/3又は該タンパク質のおおよそ若しくはほぼ最初の1/3を含んでおり、特にN末端側の最初の100~110アミノ酸又はN末端側のおおよそ最初の100~110アミノ酸を含む。一実施形態において、プロテインD又はその誘導体は脂質化されていてもよい。一般的に、プロテインD誘導体は、該タンパク質のおおよそ若しくはほぼ最初の1/3を含んでおり、特にN末端側のおおよそ最初の100~120アミノ酸、例えば最初の109~111アミノ酸、より具体的には最初の109アミノ酸(又はその108アミノ酸)を含む。

20

【0036】

リポプロテインD融合パートナーの最初の109残基は、ワクチン候補抗原に追加の外因性T細胞エピソードを付与し、また大腸菌(*E. coli*)での発現レベルを増大させる(したがって発現エンハンサーの機能も果たす)。脂質尾部は抗原の抗原提示細胞への最適な提示を保証する。

30

【0037】

一実施形態において、融合パートナーは、プロテインDの最初の1/3をそのシグナル配列なしで含む又はそれからなり、例えば融合パートナーは、アミノ酸20~127を含むか、又はおおよそアミノ酸20からおおよそアミノ酸127を含む若しくはそれからなる配列を含む。一態様において、本発明は、プロテインDのN末端部分(上述したとおり)が癌精巢抗原又はその免疫原性断片のN末端と融合している融合タンパク質を提供する。より具体的には、プロテインDと腫瘍抗原のN末端との融合は、癌精巢抗原が、切除されているプロテインDのC末端断片と置き換わるように行われる。そのため、プロテインDのN末端が融合タンパク質のN末端となる。

40

【0038】

本発明の融合タンパク質には、アフィニティタグ、例えば、5~9個の(6個などの)ヒスチジン残基を含むヒスチジンテールなどが含まれてもよい。これらの残基は、例えば、プロテインDの末端部分(例えばプロテインDのN末端部分)に存在してもよいし、かつ/又は腫瘍抗原の末端部分に融合してもよい。しかしながら、ヒスチジンテールは、癌精巢抗原の末端部分、例えば腫瘍抗原のC末端に位置することが一般的である。ヒスチジンテールは、精製を行うために有利である。

【0039】

本発明の組成物は、本明細書に記載のような1以上の腫瘍抗原、及び/又は1以上のそのペプチド、及び/又は1以上のその融合タンパク質、の混合物を含むものであってもよい。

50

【0040】

あるいは、タンパク質又はその免疫原性断片をコードするDNAを含むベクターを投与することも可能である。

【0041】

コードDNAを含むベクターに対する免疫応答が生起され、それゆえ一般的な免疫応答は強化（ブースト）されうる（すなわち、ベクターそのものがアジュバントとして作用する）。

【0042】

免疫療法は、例えばプライム・ブースト法において投与することができる。

【0043】

使用することができる他の融合パートナーとしては、インフルエンザウイルス由来の非構造タンパク質であるNS1（血液凝集素）が挙げられる。典型的にはNS1のN末端の81アミノ酸が利用されるが、Tヘルパーエпитープを含むものであれば種々の断片を使用することができる。

【0044】

別の実施形態において、免疫学的融合パートナーはLytAとして知られるタンパク質である。LytAは肺炎連鎖球菌（*Streptococcus pneumoniae*）に由来するが、この細菌はペプチドグリカン骨格の特定の結合を特異的に分解する自己溶解酵素であるN-アセチル-L-アラニンアミダーゼ、すなわちアミダーゼLytA（LytA遺伝子によりコードされる（Gene, 43（1986）page 265-272））を合成する。LytAタンパク質のC末端ドメインは、コリンまたはいくつかのコリンアナログ（例えばDEAE）に対するアフィニティに関与する。この性質は、融合タンパク質の発現に有用な大腸菌C-LytA発現プラスミドの開発に利用されている。アミノ末端にC-LytA断片を有するハイブリッドタンパク質の精製が記載されている（*Biot echnology*: 10,（1992）page 795-798）。一実施形態では、該分子のC末端部分を使用することができる。ある実施形態では、C末端に存在し残基178から始まるLytA分子のリピート部分を利用することが可能である。一実施形態において、LytAの部分は残基188～305を組み入れたものである。

【0045】

本発明の一実施形態では、MAGEタンパク質は、誘導体化遊離チオールを含みうる。このような抗原はWO99/40188号に記載されている。特にカルボキシアミド化又はカルボキシメチル化誘導体を用いることができる。

【0046】

本発明の一実施形態では、抗原は、MAGE-A3-プロテインD分子を含む。この分子のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を図1（それぞれ配列番号1及び2）に示す。この抗原及び以下に概説するものは、WO99/40188号により詳細に記載されている。

【0047】

本発明のさらなる実施形態において、腫瘍関連抗原は、本明細書に記載するMAGE抗原を、以下の融合タンパク質のいずれかで含みうる：

リポプロテインD断片とMAGE1断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質（例えば図2及び3に示すものなど）、NS1-MAGE3とヒスチジンテールとの融合タンパク質（例えば図4及び5に示すものなど）、CLytA-MAGE1-ヒスチジンの融合タンパク質（例えば図6及び7に示すものなど）、CLytA-MAGE3-ヒスチジンの融合タンパク質（例えば図8及び9に示すものなど）。

【0048】

本発明のさらなる実施形態は、本明細書に記載する抗原をコードする核酸分子を含む。かかる配列は、好適な発現ベクターに挿入して、DNA/RNAワクチン接種において使用したり、又は好適な宿主において発現させるために用いることができる。この核酸を発現する微生物ベクターを用いることも可能である。このようなベクターとしては、例えば、ポックスウイルス、アデノウイルス、アルファウイルス及びリステリアが挙げられる。

【0049】

10

20

30

40

50

核酸配列の取得及び発現ベクターの作製のための慣用の組換え技法は、Maniatisら、Molecular Cloning - A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor, 1982-1989に記載されている。

【0050】

特に、このプロセスは、

i) 宿主細胞においてタンパク質又はその免疫原性誘導体をコードするヌクレオチド配列を含むDNAポリマーを発現することが可能な、複製型又は組み込み型発現ベクターを調製するステップ;

ii) 宿主細胞を上記ベクターで形質転換するステップ;

iii) 上記形質転換宿主細胞を、該DNAポリマーの発現を可能にする条件下で培養して、上記タンパク質を産生させるステップ;及び

iv) 上記タンパク質を回収するステップを含む。

10

【0051】

本明細書に記載する方法は、場合により1以上の他の腫瘍関連抗原、例えばMAGE及びLAGEファミリーに属する他のメンバー、を含んでもよい組成物を含みうる。一実施形態において、本発明の抗原との組合せに含めることができる他の腫瘍関連抗原としては、MAGE-A1、MAGE-A3、LAGE-1、GAGE-1又はチロシナーゼタンパク質が挙げられる。

【0052】

本発明のタンパク質は、液体形態に溶解して、又は凍結乾燥形態のいずれかで提供される。

20

【0053】

一般に、各ヒト用量は、1~1000 µgのタンパク質、好ましくは30~300 µgを含むと予想される。

【0054】

本明細書に記載する方法は、アジュバント、及び/又は免疫刺激性サイトカイン若しくはケモカインをさらに含む組成物を含んでもよい。

【0055】

免疫療法の成分に関連して本明細書においてアジュバントを使用する場合、これは一般に、免疫療法の抗原成分に対する免疫応答を高める(ブースト)物質に関連している。

30

【0056】

このようなアジュバントは、当技術分野で周知であり、別々の製剤として投与してもよいし、又は免疫療法の主成分を含む製剤の成分であってもよい。

【0057】

本発明において使用するために好適なアジュバントは、例えば、フロイント不完全アジュバント及び完全アジュバント(Difco Laboratories, Detroit, MI); Merckアジュバント65(Merck and Company, Inc., Rahway, NJ); AS-2(SmithKline Beecham, Philadelphia, PA); アルミニウム塩、例えば、水酸化アルミニウムゲル(ミョウバン)若しくはリン酸アルミニウム; カルシウム、鉄若しくは亜鉛の塩; アシル化チロシンの不溶性懸濁液; アシル化糖; カチオン性若しくはアニオン性に誘導体化した多糖; ポリホスホスファゼン; 生分解性マイクロスフェア; モノホスホリルリピドA及びquil Aなどを市販品として入手可能である。サイトカイン、例えばGM-CSF又はインターロイキン-2、-7若しくは-12、及びケモカインもまたアジュバントとして使用することができる。

40

【0058】

本発明の製剤において、アジュバントは主にTh1型の免疫応答を誘導することが望ましい。高レベルのTh1型サイトカイン(例えば、IFN- γ 、TNF、IL-2及びIL-12)は、投与された抗原に対して細胞媒介免疫応答を誘導する傾向にある。応答が主にTh1型である一実施形態では、Th1型サイトカインのレベルをTh2型サイトカインのレベルよりも非常に高いレベルに増大させる。これらのサイトカインのレベルは、標準的なアッセイを使用して簡便に評価することができる。サイトカインのファミリーについての概説は、Mosmann an

50

d Coffman, Ann. Rev. Immunol. 7:145-173, 1989を参照されたい。

【 0 0 5 9 】

従って、主にTh1型応答を誘発するために使用することができる好適なアジュバントとしては、例えば、モノホスホリルリピド A、例えば3-脱-O-アシル化モノホスホリルリピド A (3D-MPL) と、アルミニウム塩との組み合わせが挙げられる。3D-MPL又は他の toll 様受容体4 (TLR4) リガンド、例えばWO9850399号、WO0134617号及びWO03065806号に開示されているようなアミノアルキルグルコサミニドホスフェートなどもまた主にTh1型応答を生起させるために単独で用いることができる。

【 0 0 6 0 】

TH1型免疫応答を選択的に誘導することができる他の公知のアジュバントとしては、TLR 9アンタゴニスト、例えば非メチル化CpG含有オリゴヌクレオチドが挙げられる。このオリゴヌクレオチドは、CpGジヌクレオチドが非メチル化されていることを特徴とする。このようなオリゴヌクレオチドは周知であり、例えばWO96/02555号に記載されている。

【 0 0 6 1 】

好適なオリゴヌクレオチドとしては以下が挙げられる：

オリゴ 1 (配列番号12) : TCC ATG ACG TTC CTG ACG TT (CpG 1826)

オリゴ 2 (配列番号13) : TCT CCC AGC GTG CGC CAT (CpG 1758)

オリゴ 3 (配列番号14) : ACC GAT GAC GTC GCC GGT GAC GGC ACC ACG

オリゴ 4 (配列番号15) : TCG TCG TTT TGT CGT TTT GTC GTT (CpG 2006)

オリゴ 5 (配列番号16) : TCC ATG ACG TTC CTG ATG CT (CpG 1668)。

【 0 0 6 2 】

CpG含有オリゴヌクレオチドはまた、単独で、又は他のアジュバントと組み合わせて用いることができる。例えば、本発明において用いることができる1つの系は、CpG含有オリゴヌクレオチドとサポニン誘導體との組合せ、特にWO00/09159号及びWO00/62800号に開示されるようなCpGとQS21との組合せを含む。用いることができる別のアジュバント製剤は、CpG若しくはその等価物、又は水中油型エマルジョン若しくはリポソーム製剤中のCpRと組み合わせた、QS21、3D-MPLである。一般に、免疫療法のためのアジュバントは、TLR7、8又は9アゴニスト、例えばTLR 9アゴニストである。

【 0 0 6 3 】

製剤は、水中油型エマルジョン及び/又はトコフェロールをさらに含んでもよい。

【 0 0 6 4 】

別の好適なアジュバントは、サポニン、例えばQS21 (Aquila Biopharmaceuticals Inc., Framingham, MA) であり、単独で、又は他のアジュバントと組み合わせて用いることができる。例えば、増強された系には、モノホスホリルリピド A とサポニン誘導體との組合せ、例えばWO94/00153号に記載されているようなQS21と3D-MPLとの組合せ、又はWO96/33739号に開示されているようなQS21をコレステロールでクエンチする低反応原性 (less reactogenic) アジュバントが含まれる。他の好適な製剤は、水中油型エマルジョンとトコフェロールを含む。使用することができる別のアジュバント製剤は、水中油型エマルジョン中のQS21、3D-MPL及びトコフェロールを含み、WO95/17210号に記載されている。

【 0 0 6 5 】

別の実施形態において、アジュバントはリポソーム組成物に製剤化してもよい。

【 0 0 6 6 】

使用する3D-MPL量は、一般的には少量であるが、ワクチン製剤に応じて異なり、用量当たり1~1000 µg、好ましくは用量当たり1~500 µg、より好ましくは用量当たり1~100 µgの範囲とすることができる。

【 0 0 6 7 】

本発明のアジュバント又はワクチンにおけるCpG又は免疫刺激性オリゴヌクレオチドの量は、一般的には少量であるが、ワクチン製剤に応じて異なり、用量当たり1~1000 µg、好ましくは用量当たり1~500 µg、より好ましくは用量当たり1~100 µgの範囲とすることができる。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 8 】

本発明のアジュバントに使用するためのサポニンの量は、用量当たり1~1000 µg、好ましくは用量当たり1~500 µg、より好ましくは用量当たり1~250 µg、最も好ましくは用量当たり1~100 µgの範囲とすることができる。

【 0 0 6 9 】

一般に、各ヒト用量は、0.1~1000 µgの抗原、好ましくは0.1~500 µg、好ましくは0.1~100 µg、最も好ましくは0.1~50 µgを含むことが予想される。特定のワクチンについての最適量は、ワクチン接種した被験体における適切な免疫応答の観察を含む標準的な試験によって確認することができる。最初のワクチン接種後、適当な間隔をおいて1又は数回の追加免疫（ブースター）を被験体に行ってもよい。

10

【 0 0 7 0 】

他の好適なアジュバントとしては、Montanide™ ISA 720 (Seppic, France)、SAF (Chiron, California, United States)、ISCOMS (CSL)、MF-59 (Chiron)、Ribi Detox、RC-529 (GSK, Hamilton, MT)、及び他のアミノアルキルグルコサミン4-リン酸 (AGP) が挙げられる。

【 0 0 7 1 】

従って、本明細書に開示する抗原と、3D-MPL、QS21、CpG オリゴヌクレオチド、ポリエチレンエーテル若しくはエステル1以上、又はこれらのアジュバントの2以上の組合せを含むアジュバントとを含む、本発明の方法に使用するための免疫原性組成物を提供する。免疫原性組成物中の抗原は、水中油型若しくは油中水型エマルジョン基剤中に、又はリポソーム製剤中に存在しうる。

20

【 0 0 7 2 】

一実施形態において、アジュバントは、3D-MPL、QS21及び免疫刺激性CpGオリゴヌクレオチドを1以上含んでもよい。ある実施形態では、3つの免疫刺激剤全てが存在する。別の実施形態では、3D-MPL及びQS21が水中油型エマルジョンに存在し、CpGオリゴヌクレオチドは存在しない。

【 0 0 7 3 】

本発明の方法で使用するための本明細書に記載の組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでもよい。

【 0 0 7 4 】

治療スケジュールの方法

補助的療法

本発明の一実施形態では、補助的療法において、MAGE発現癌、例えば限定されるものではないが、メラノーマ、乳癌、移行上皮癌を含む膀胱癌、非小細胞肺癌 (NSCLC) を含む肺癌、扁平上皮癌を含む頭頸部癌及び食道癌、大腸癌、多発性骨髄腫など、の治療に使用するための治療スケジュールの方法であって、本明細書に記載した腫瘍によって発現されるMAGE抗原に適合したMAGE抗原を、以下のスケジュールに従って投与することを含む方法を提供する。

【 0 0 7 5 】

「補助的療法」とは、体からすべて又は実質的にすべての検出可能な癌組織を除去するための治療、例えば外科手術、を患者が受けたことを意味する。上記患者は、表面的に疾患のない状態にあってもよい。一実施形態では、上記患者は、癌組織を除去するための以下の手順、すなわち外科手術、放射線療法及び化学療法のうちの1つ若しくは複数、又はすべてを受けていてもよい。当業者には知られているが、原発腫瘍の除去では、患者体内に微小転移巣が依然として残っている可能性がある。本明細書で使用される場合、微小転移巣は、原発腫瘍から体の他の部分に拡散しているが、利用可能なスクリーニング又は診断検査で同定するには数が少ない少数の癌細胞を指す。「外科的全切除」は、すべての微小転移巣の除去を含むものではない。

40

【 0 0 7 6 】

最初の5~8回のワクチン接種には3週間間隔で抗原投与を行い、続いて次の8又は9

50

回以上のワクチン接種には3カ月間隔で抗原投与を行う。

【0077】

上記抗原は、指示された正確な時間枠で投与してもよいし、あるいは必要に応じて又は実際的に、正確な間隔を置いた日の1日、2日、3日又は4日前又は後に抗原を投与してもよい。このスケジュールの例を以下の表に示す。

【0078】

誘導：3週間間隔(0、6、9、12週目)で5回のワクチン接種

維持：3カ月間隔で9回のワクチン接種

【0079】

活動性疾患(active disease)

本発明のさらなる実施形態では、活動性疾患又は切除不能な疾患において、MAGE発現癌、例えば限定されるものではないが、メラノーマ、乳癌、移行上皮癌を含む膀胱癌、非小細胞肺癌(NSCLC)を含む肺癌、扁平上皮癌を含む頭頸部癌及び食道癌、大腸癌、並びに多発性骨髄腫など、に使用するための治療スケジュールの方法であって、本明細書に記載の抗原を、治療の最初の6カ月から1年の間に2週間又は3週間間隔で投与することを含む方法を提供する。スケジュールは、以下のパターンの注射を含むものとすることができる。すなわち、最初の4~10回のワクチン接種には2週間間隔で、それに続いて、次の4~10回のワクチン接種には3週間間隔で、その後、次の3~7回のワクチン接種には6週間間隔で、上記抗原を投与する。その後、3~5回のワクチン接種には3カ月間隔、それに続いて、次の3~5回のワクチン接種には6カ月間隔のワクチン接種で長期治療を続けてもよい。

10

20

【0080】

上記抗原は、指示された正確な時間枠で投与してもよいし、あるいは必要に応じて又は実際的に、正確な間隔を置いた日の1日、2日、3日又は4日前又は後に上記抗原を投与してもよい。

【0081】

このスケジュールの例を以下の表に示す：

サイクル1：2週間間隔(1、3、5、7、9、11週目)で6回のワクチン接種

サイクル2：3週間間隔(15、18、21、24、27、30週目)で6回のワクチン接種

サイクル3：6週間間隔(34、40、46、52週目)で4回のワクチン接種

長期治療：3カ月間隔で4回のワクチン接種

6カ月間隔で4回のワクチン接種

30

【0082】

上述した補助的療法及び積極的(活動性)療法の治療計画の両方に関して、治療の後に、必要に応じて追加のワクチン接種を行ってもよい。

【0083】

一般的に、各ヒト用量は、1~1000 μ g、好ましくは30~300 μ gのタンパク質を含むことが予測される。一実施形態では、各ヒト用量が300 μ gのタンパク質を含む。

【0084】

疾患の積極的(活動性)治療のためのスケジュールは、通常、より攻撃的である。しかし、本発明の一実施形態では、本明細書に記載の「活動性疾患」療法スケジュールが、「補助的療法」で患者に使用されうる。例えば、補助的療法のWT1陽性白血病で、WT-1抗原特異的癌免疫療法を用いて活動性疾患のためのスケジュールを用いてもよい。

40

【実施例1】

【0085】

NSCLC(補助的療法)

実施例1.1 方法

全切除されたステージIB又はIIのMAGE-A3陽性(定量的RT-PCRで評価した)NSCLCを有する患者を登録し、二重盲検法でランダムに術後MAGE-3ワクチン接種又はプラセボに2:1で割り当てた。試験治療は、補助的治療として行われ、アジュバントAS02B、0.5ml中に処方

50

された組換えProt.D MAGE-A3/His 300 µgで構成されている。これを、又は適合しているプラセボ（水中油型エマルジョン0.5ml中に溶解されたショ糖）を、筋肉内注射で投与した。アジュバントAS02Bは、水中油型エマルジョン中にMPL及びQS21を含み、以下の通りに調製できる。すなわち、水中油型エマルジョンの調製は、W095/17210号に記載のプロトコールに従った。上記エマルジョンは、5%スクワレン、5%トコフェロール、2.0% tween 80を含有し、粒径が180nmである。

【0086】

水中油型エマルジョン（2倍濃縮）の調製

Tween80をリン酸緩衝食塩水（PBS）中に溶解して、2%のPBS溶液を得た。2倍濃縮のエマルジョン100mlを得るために、完全に混合されるまで、DL-α-トコフェロール5g及びスクワレン5mlをボルテックスにかけた。PBS/Tween溶液90mlを添加し、完全に混合させた。その後、得られたエマルジョンをシリンジに通過させ、最後に、M110Sマイクロフルイデイクス器械を用いることによってマイクロ流体化した。得られた油滴は、約180nmのサイズを有する。

【0087】

エマルジョン1mlあたり250 µl又は500 µl（v/v）の最終濃度に達するように、PBSに無菌バルクエマルジョンを添加する。その後、100 µg/mlの最終濃度に達するように3D-MPLを添加し、次に、1mlあたり100 µgの最終濃度に達するようにQS21を添加する。成分の添加それぞれの間に、中間生成物を5分間攪拌した。抗原を添加した後、pHを調整することができる。

【0088】

記載の臨床試験に含めるには、患者は、腫瘍の外科的全切除を受けている必要があった。患者は、抗癌ネオアジュバント治療を受けてはならず、放射線療法の候補者ではなく、脳、胸部及び上腹部のネガティブベースライン（negative baseline）コンピュータ断層写真（CTスキャン）、並びに任意選択で放射性核種の骨スキャンで示されている限り、いかなる無症候性の転移も含まない状態でなければならない。

【0089】

ワクチン接種は、手術後6週間より前に、3週間間隔で5回のワクチン接種で開始し、それに続いて、3カ月毎に8回のワクチン接種を行った。ランダム化は、ステージ（IB対II）、組織学（扁平上皮対その他）、及びリンパ節手順（サンプル採取対解剖）に関して層別化した。試験中には、他の抗癌補助的療法は許可しなかった。

【0090】

主要な評価項目は、再発までの時間とした。他の評価項目は、様々な時点での再発率、及び生存率とした。患者180人のサンプルサイズ（実薬120人、プラセボ60人）によって、プラセボ群における30カ月目の再発率を40%と仮定して、10%の差異を検出するのに、48%の検出力（ $\beta = 10\%$ ）が達成された（ログランク検定）。募集完了の18カ月後に、独立的な統計学者による完全な中間有効性解析（すべての検査者及びスポンサーがわからないようになっている）が計画されている。

【0091】

実施例1.2 結果

59の治療センターから得られた1089の生検のうち約35%がMAGE-3陽性であった。2年間で、182人の患者がランダム化された（ステージIB 121人、ステージII 61人）。中間解析のためのデータ収集は、2005年12月19日に開始した。フォローアップは中央値で21カ月であり、62回の再発が記録された。全体的に見て、治療は良好に許容され、プロトコールコンプライアンスが高かった。

【0092】

実施例1.3 結論

この検査は、早期NSCLCにおけるMAGE-3抗原の発現頻度（35%）を確認し、術後MAGE-3ワクチン接種の良好な耐容性を実証した。ランダム化第II相試験の中間解析は、全体的に適度に信頼できる結果を示し、AS02B免疫学的アジュバント（水中油型エマルジョン中にM

10

20

30

40

50

PL及びQS21)と混合したMAGE-A3組換えタンパク質を投与した群では、約33%の無病生存のリスク低減があった。リスク低減は統計的有意性に達しなかった($p=0.121$)。しかし、これは、統計的有意性をもってそのような差異を検出するには設計されていなかったもので驚くべきことでない。

【実施例2】

【0093】

メラノーマ癌

実施例2.1 方法

進行中の第II相臨床試験では、2種の異なった免疫学的アジュバントのうちの1種と混合したMAGE-3-プロテインD-His抗原を患者群に投与する。すなわち、第1群では、上記抗原をAS02B(水中油型エマルジョン中にMPL及びQS21)と混合し、第2群では、上記抗原をAS15(QS21及びCpG7909と混合された、MPLのリボソーム製剤)と混合する。

【0094】

AS02Bは、上述の通りに調製することができる。AS15は、以下に示すプロトコールに従って、調製することができる。

【0095】

最終濃度100 $\mu\text{g/ml}$ に達するように、無菌のバルクCpGをPBS溶液に添加した。PBSの組成は、 Na_2HPO_4 : 9mM; KH_2PO_4 : 48mM; NaCl: 100mM (pH6.1)であった。その後、抗原を、所定範囲に添加する。最後に、3D-MPL及びQS21の最終濃度が10 $\mu\text{g/ml}$ に達するように、3D-MPL及びQS21を含有する無菌バルクの小さな一枚膜小胞(SUV)プレミックス(DQMPLと呼ばれる)としてQS21及び3D-MPLを添加した。

【0096】

有機溶剤中の脂質(卵黄由来又は合成のいずれかのホスファチジルコリンなど)、コレステロール、及び3D-MPLの混合物を真空下(又は別法として不活性気体の気流下)で乾燥させた。その後、水溶液(リン酸緩衝食塩水など)を添加し、すべての脂質が懸濁するまで容器を振とうさせた。その後、リボソームサイズが約100nmに低減するまで、この懸濁液をマイクロ流体化し、その後、0.2 μm フィルターに通して滅菌濾過した。押し出し又は超音波処理をこのステップの代替にすることができる。

【0097】

コレステロール:ホスファチジルコリン比は典型的には1:4(w/w)であった。そして、最終コレステロール濃度が5~50mg/mlとなるように水溶液を添加した。

【0098】

上記リボソームは、100nmという特定のサイズを有し、SUV(小さな一枚膜小胞を表す)と呼ばれる。リボソームは、単独では経時的に安定であり、膜融合能を有しない。3D-MPLの最終濃度が10 $\mu\text{g/ml}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ 、又は100 $\mu\text{g/ml}$ に達するように、SUVの無菌バルクをPBSに添加した。PBSの組成は、 Na_2HPO_4 : 9mM; KH_2PO_4 : 48mM; NaCl: 100mM (pH6.1)であった。水溶液中のQS21を上記SUVに添加した。この混合物はDQMPLinと呼ばれる。

【0099】

上述したメラノーマ試験(MAGE008)で使用するためのMAGE-3-AS15組成物は、3本のバイアル、すなわち、(1)凍結乾燥MAGE3タンパク質300 μg ; (2)液体CpG(500 μg); 及び(3)液体AS01B(50 μg QS21-50 μg MPL)を混合することによって調製する。

【0100】

MAGE3タンパク質及びCPGを同時凍結乾燥させて液体AS01B中に再懸濁する場合には、MAGE3 AS15を2バイアル法で得ることもできる。臨床試験MAGE008で使用するためのAS15の調製は、等容積のアジュバントAS7A及びAS1Bの混合物の混合を含んでいた。AS7Aは、500 μl 中に500 μg のCpG7909を含有する。AS1Bは、50 μg のQS21及び50 μg のMPLを含有し、リボソームの懸濁液で500 μl に調製されている。

【0101】

この試験の目的は、安全性プロフィール、臨床反応、及び免疫学的応答の面からアジュバントを区別することであった。この試験は、オープン、ランダム化、2群(AS02B 対 AS

10

20

30

40

50

15) 試験であり、これには、合計68人の患者が含まれていた。CpG7909は、Coley Pharmaceuticals社から入手可能である。

【0102】

この試験では、皮膚及び/又はリンパ節の限局性又は遠隔病変（切除不能なステージIII及びステージIV M1a）を有する進行性の転移性メラノーマの患者に上記抗原を投与する。この腫瘍によるMAGE-A3遺伝子の発現を定量PCRによって評価した。選択された患者は、それ以前にメラノーマの治療を受けておらず（MAGE-A3抗原が第1選択治療として投与される）、内臓疾患を有していなかった。

【0103】

層別化因子

患者は、3つの層別化因子、すなわち、

- ステージIII移行中 対 ステージIII切除不能 対 ステージIV M1a、
- 20mm以上の病変の存在又は不在、
- 医療センター

に従って含まれる。

【0104】

目的

この試験の主目的は以下の通りである：

- 注射の安全性
- 客観的な臨床反応

【0105】

2次評価項目は以下の通りである：

- 病勢安定率
- 混合反応率（the rate of mixed response）（腫瘍退縮、ただし臨床的活動性を表す客観的反応がない）
- 免疫応答率（定量的及び定性的に分析する）。

【0106】

7.1 MAGE008試験の客観的な腫瘍反応 - RECIST判定規準

本明細書に記載の臨床試験では、この試験の主要評価項目として、客観的な腫瘍反応をRECIST判定規準に従って判定した。

【0107】

反応判定規準は、本質的には、標的病変としてベースラインで同定された1セットの測定可能病変に基づいており、疾患の進行まで追跡される。

【0108】

以下の段落は、この試験に関連するRECIST判定規準（参考文献11）への簡易参照である。完全な判定規準は、<http://www3.oup.co.uk/jnci/extra/920205.pdf>で入手可能である。

【0109】

7.1.1. ベースラインにおける腫瘍病変の測定可能性

7.1.1.1. 定義

- ・測定可能疾患：少なくとも1つの測定可能病変の存在。測定可能疾患が孤立性病変に限定される場合、その腫瘍性の性質は、細胞学/組織学によって確認するべきである。
- ・測定可能病変：少なくとも一次元で正確に測定でき、最長径が20mm以上である病変。上記病変は、スパイラルCTスキャンで、少なくとも一次元で10mm以上でなければならない。

- ・測定不能病変：小さな病変（慣用技術で、最長径が20mmを超える、又はスパイラルCTスキャンで10mmを超える）及び他の測定不能病変を含めた他のすべての病変。これらには、骨病変、軟髄病変；腹水；胸水/心膜液；炎症性乳腺疾患；皮膚リンパ管炎/肺リンパ管炎；造影技術で確認及び追跡されない腹部腫瘤；並びに嚢胞性病変が含まれる。

【0110】

10

20

30

40

50

あらゆる測定値は、定規又はノギスの使用によって、メートル法で記録すべきである。あらゆるベースライン評価は、可能な限り治療開始と近接した時期に実施するべきであり、治療開始前4週間以内でなくてはならない。

【0111】

7.1.1.2.測定の方法

本明細書に記載の臨床試験では、ベースライン及びフォローアップ期間中を通じて、同定及び報告された各病変の特徴付けを行うのに、同じ評価法及び同じ技術を用いるべきである。

【0112】

・臨床的に検出された病変が測定可能とみなされるのは、それらが表在性（例えば、皮膚小結節、触知可能なリンパ節）の場合に限られる。皮膚病変の場合は、病変の大きさを評価するための定規を含めたカラー写真による記録が必要である。

【0113】

・CT及びMRIは、反応を評価するために選択された標的病変を測定するのに、現在もっとも広く利用可能で、かつもっとも再現性に優れた方法である。慣用のCT及びMRIは、スライス厚10mm以下の連続断面で行うべきである。スパイラルCTは、5mmの連続再構成アルゴリズムを用いて行うべきである。このスペックは胸部、腹部、及び骨盤の腫瘍に適用されるが、頭頸部腫瘍及び四肢の腫瘍には通常特殊なプロトコールが必要である。

【0114】

・臨床的に到達が容易でない腫瘍病変を測定するのに、超音波（US）を用いるべきでない。超音波は、表在性の触知可能なリンパ節及び皮下病変の臨床測定の潜在的代替手段として使用できる。臨床検査によって評価するのが一般的である表在性病変の完全消失を確認するのに超音波は有用でありうる。超音波法は、優先的に同じ検査員が行うべきである。

【0115】

7.1.2.本明細書に記載の臨床試験における腫瘍反応の評価

7.1.2.1.「標的」及び「非標的」病変のベースライン記録

関係するすべての臓器の代表として、1臓器につき最大5箇所の病変、合計で10箇所の病変までのすべての測定可能病変を標的病変として特定するべきである。それらは、ベースラインにおいて記録及び測定される。

【0116】

標的病変は、それらのサイズ（最長径を用いた大きさ）と、繰り返して正確に測定することにそれらが適しているかどうか（画像診断又は臨床的評価のいずれか）に基づいて選択するべきである。

【0117】

すべての標的病変の最長径（LD）の和が算出され、ベースラインLD和として報告される。ベースラインLD和は、客観的な腫瘍反応を特徴付けるための参照として使用される。

【0118】

他のすべての病変（又は疾患部位）は、非標的病変として特定されるべきであり、これらも、ベースラインにおいて記録及び測定するべきである。フォローアップ期間中を通じて、非標的病変の測定は必要ではないが、各々の病変の有無は記録するべきである。

【0119】

7.1.2.2.反応判定規準

標的病変の評価

完全反応（CR）- すべての標的病変の消失。

部分反応（PR）- ベースラインLD和を参照として、標的病変のLDの和が少なくとも30%減少。

安定した疾患（stable disease）（SD）- PRとするには、腫瘍の収縮が不十分であり、かつPDとするには、治療開始以降の最少のLD和を参照として、腫瘍の増大が不十分である。

。

10

20

30

40

50

進行性疾患 (progressive disease) (PD) - 治療開始以降に記録された最少のLD和を参照として、標的病変のLD和が少なくとも20%増大、又は1若しくは複数箇所の新規病変の出現、又はこれら両方。

完全反応 (CR) - すべての非標的病変の消失。

不完全反応/安定した疾患 - 1つ又は複数の非標的病変の残存。

進行性疾患 (PD) - 1つ若しくは複数の新規病変の出現及び/又は既存の非標的病変の明らかな進行 (*)。

(*) 「非標的」病変のみが明らかな進行を示すことはまれであるが、そのような状況では、治療している医師の意見が尊重されるべきである。

【0120】

最良総合反応の評価 - 本明細書に記載の臨床試験で用いられる定義

最良総合反応とは、治療開始から進行/再発までに記録された最良の反応のことである (治療開始以降に記録された最小の測定値を進行性疾患の参照とする)。通常、患者における最良総合反応の判定は、測定値と確定の規準の両方の成績に依存する。

【0121】

健康状態の全般的な悪化により、その時点で進行の客観的証拠が得られないまま、治療の中止が必要とされる患者は、「病状悪化」として報告されるべきである。治療中止の後でさえ、客観的な進行を記録するためにあらゆる努力を払うべきである。

【0122】

状況によっては、残存病変を正常組織と区別することが困難な場合がある。完全反応の評価がこの判定に依存する場合、完全反応状態を確定する前に残存病変の検査 (細針吸引/生検) を行うことが推奨される。

【0123】

免疫感作のスケジュール

免疫感作スキームは、積極的フェーズ (active phase) と長期治療フェーズとを含む。積極的フェーズは、54週間の期間にわたる3サイクルを含む。誘導 (サイクル1) 中は、2週間毎に6回の注射を行う。維持には、サイクル2で、3週間毎に6回の注射を行い、サイクル3で、6週間毎に4回の注射を行う。長期治療は、3カ月毎の4回の注射と、その後の6カ月毎の4回の注射とを含む。全体で、約4年間の期間にわたって24回の注射が行われうる。

【0124】

検査状況

スクリーニングされた合計133人のメラノーマ患者のうち、121の腫瘍をMAGE-A3発現に関して試験し、これらのうち70人 (58%) がMAGE-A3陽性であった。合計68人のランダム化された患者を得る目的で、MAGE-A3陽性腫瘍を有する患者のうち、これまで58人がランダム化された。

【0125】

実施例2.2 結論

本発明者らは、2群間で反応に差異があるようだと結論できる。すなわち、進行性疾患の患者数の減少によって、AS15アジュバント中のMAGE-A3抗原の効力が良好であることが示唆されている。この検査の完了後に、さらなる解析が行われる。

【配列表フリーテキスト】

【0126】

配列番号1: リポプロテインD断片とMAGE A3断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質のヌクレオチド

配列番号2: リポプロテインD断片とMAGE A3断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質のアミノ酸配列

配列番号3: リポプロテインD断片とMAGE A1断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列

配列番号4: リポプロテインDとMAGE A1とヒスチジンテールとの融合タンパク質のアミノ酸配列

10

20

30

40

50

- 配列番号 5 : NS-1、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列
- 配列番号 6 : NS-1、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のヌクレオチド配列
- 配列番号 7 : CLYTA、MAGE A1及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列
- 配列番号 8 : NS-1、MAGE A1及びヒスチジンテールの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列
- 配列番号 9 : CLYTA、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質のアミノ酸配列
- 配列番号10 : CLYTA、MAGE A3及びヒスチジンテールの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列
- 配列番号11 : MAGE A1の309アミノ酸の配列
- 配列番号12 : CpG含有オリゴヌクレオチド (CpG1826)
- 配列番号13 : CpG含有オリゴヌクレオチド (CpG1758)
- 配列番号14 : CpG含有オリゴヌクレオチド
- 配列番号15 : CpG含有オリゴヌクレオチド (CpG2006)
- 配列番号16 : CpG含有オリゴヌクレオチド (CpG1668)

【 図 1 - 1 】

リポプロテイン D 断片と Mage3 断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列、及びそれぞれのアミノ酸配列(配列番号1及び2)

```

atg gat cca aaa act tta gcc ctt tct tta tta gca gct ggc gta cta      40
Met Asp Pro Lys Thr Leu Ala Leu Ser Leu Leu Ala Ala Gly Val Leu
1      5      10      15

gca ggt tgt agc agc cat tca tca aat atg gcg aat acc caa atg aaa      96
Ala Gly Cys Ser Ser His Ser Ser Asn Met Ala Asn Thr Gln Met Lys
20      25      30

tca gac aaa atc att att gct cac cgt ggt gct agc ggt tat tta cca      144
Ser Asp Lys Ile Ile Ile Ala His Arg Gly Ala Ser Gly Tyr Leu Pro
35      40      45

gag cat acg tta gaa tct aaa gca ctt gcg ttt gca caa cag gct gat      192
Glu His Thr Leu Glu Ser Lys Ala Leu Ala Phe Ala Gln Gln Ala Asp
50      55      60

tat tta gag caa gat tta gca atg act aag gat ggt cgt tta gtg gtt      240
Tyr Leu Glu Gln Asp Leu Ala Met Thr Lys Asp Gly Arg Leu Val Val
65      70      75      80

att cac gat cac ttt tta gat gcc ttg act gat gtt gcg aaa aaa ttc      288
Ile His Asp His Phe Leu Asp Gly Leu Thr Asp Val Ala Lys Lys Phe
85      90      95

cca cat cgt cat cgt aaa gat gcc cgt tac tat gtc atc gac ttt acc      336
Pro His Arg His Arg Lys Asp Gly Arg Tyr Tyr Val Ile Asp Phe Thr
100      105      110

tta aaa gaa att caa agt tta gaa atg aca gaa aac ttt gaa acc atg      384
Leu Lys Glu Ile Gln Ser Leu Glu Met Thr Glu Asn Phe Glu Thr Met
115      120      125

gat ctg gaa cag cgt agt cag cac tgc aag cct gaa gaa ggc ctt gag      432
Asp Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu Glu
130      135      140

gcc cga gga gag gcc ctg gcc ctg gtg ggt gcg cag gct cct gct act      480
Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala Thr
145      150      155      160

```

【 図 1 - 2 】

```

gag gag cag gag gct gcc tcc tcc tct tct act cta gtt gaa gtc acc      528
Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val Thr
165      170      175

ctg ggg gag gtg cct gct gcc gag tca cca gat cct ccc cag agt cct      576
Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser Pro
180      185      190

cag gga gcc tcc agc ctc ccc act acc atg aac tac cct ctc tgg agc      624
Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp Ser
195      200      205

caa tcc tat gag gac tcc agc aac caa gaa gag gag ggg cca agc acc      672
Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Gly Pro Ser Thr
210      215      220

ttc cct gac ctg gag tcc gag ttc caa gca gca ctc agt agg aag gtg      720
Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys Val
225      230      235      240

gcc gaa ttg gtt cat ttt ctg ctc ctc aag tat cga gcc agg gag ccg      768
Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu Pro
245      250      255

gtc aca aag gca gaa atg ctg ggg agt gtc gtc gga aat tgg cag tat      816
Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln Tyr
260      265      270

ttc ttt cct gtg atc ttc agc aaa get tcc agt tcc ttg cag ctg gtc      864
Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu Val
275      280      285

ttt gcc atc gag ctg atg gaa gtg gac ccc atc ggc cac ttg tac atc      912
Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr Ile
290      295      300

ttt gcc acc tgc ctg gcc ctc tcc tac gat gcc ctg ctg ggt gac aat      960
Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp Asn
305      310      315      320

cag atc atg ccc aag gca ggc ctc ctg ata atc gtc ctg gcc ata atc      1008
Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile Ile
325      330      335

gca aga gag ggc gac tgt gcc cct gag gag aaa atc tgg gag gag ctg      1056
Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu Leu
340      345      350

```

【 図 1 - 3 】

```

agt gtg tta gag gtg ttt gag ggg agg gaa gac agt atc ttg ggg gat 1104
Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly Asp
      355          360          365

ccc aag aag ctg ctc acc caa cat ttc gtg cag gaa aac tac ctg gag 1152
Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu
      370          375          380

tac ogg cag gtc ccc ggc agt gat cct gca tgt tat gaa ttc ctg tgg 1200
Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu Trp
      385          390          395          400

ggg oca agg gcc ctc gtt gaa acc agc tat gtg aaa gtc ctg cac cat 1248
Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His His
      405          410          415

atg gta aag atc agt gga gga cct cac att tcc tac oca ccc ctg cat 1296
Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu His
      420          425          430

gag tgg gtt ttg aga gag ggg gaa gag ggc ggt cat cac cat cac cat 1344
Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu Gly Gly His His His His His
      435          440          445

cac cat taa 1353
His His
      450

```

【 図 2 - 2 】

```

gaaaccagct atgtgaaagt cottgagtat gtgatcaagg toagtgaag agttgccttt 1260
ttcttcccat ccoctgcgtga agcagctttg agagaggagg aagagggagt cgcggtcat 1320
caccatcaac atcaaccatta a 1341

```

【 図 2 - 1 】

リボプロテイン D 断片とMAGE1 断片とヒスチジンテールとの融合タンパク質をコードするDNA (配列番号3)

```

atggatccaa aaacttttagc cctttcttta tttagcagctg gcgtactagc aggttgtagc 60
agccattcat caaatatggc gaatacccaa atgaaatcag acaaaatcat tattgtctac 120
cgtgggtgcta gcggttattt accagagcat acgttagaat ctaaagcact tgcgtttgca 180
caacaggctg attatttaga gcaagattta gcaatgacta aggatgctg tttagtgtgt 240
atcacagatc acttttttaga tggcttgact gatgttgcca aaaaattccc acatgctcat 300
cgtaaagatg gccgttacta tgcctatgac ttacccttaa aagaattca aagtttagaa 360
atgacagaaa actttgaaac catgggctct ctggaacagc gtagtctgca ctgcaagcct 420
gaggaagccc ttgaggccca acaagagccc ctgggctctg tgtgtgtgca ggctgccacc 480
tctctctctc ctctctggt cctgggcccacc ctggaggagg tgcccactgc tgggtcaaca 540
gatctctccc agagtctcca gggagcctcc gcccttccca ctaccatcaa ctctactgca 600
cagaggccaac ccagtgaggg ttcccagcagc cgtgaagagg aggggccaag cacctctgt 660
atcctggagt cctgtttccc agcagtaatc actaagaagg tggctgattt ggtgtgtttt 720
ctgctctcca aatctcagc cagggagcca gtcacaaagg cagaatgct ggagagtgtc 780
atcaaaaatt acaagcactg tttctctgag atctctggca aagcctctga gtccttgca 840
ctggtctttg gcattgactg gaaggaagca gaccccaccg gccactctca tctctctgtc 900
acctgcttag gtctctccta tgatggcctg ctgggtgata atcagatcat gcccaagaca 960
ggcttctgca taattgtctt ggtcatgatt gcaatggagg gcggccatgc tcttgaggag 1020
gaaatctggg aggagctgag tgtgatggag gtgtatgatg ggaggagcca cagtgcctat 1080
ggggagccca ggaagctgct cacccaagat ttggtgcagc aaaaagtacct ggagtaccgg 1140
caggtgcccg acagtgatcc cgcacgctat gagttcctgt ggggtccaag ggcctcgcct 1200

```

【 図 3 - 1 】

LPD-MAGE1-ヒスチジンの融合タンパク質 (配列番号4)

```

Met Asp Pro Lys Thr Leu Ala Leu Ser Leu Leu Ala Ala Gly Val Leu
1          5          10          15
Ala Gly Cys Ser Ser His Ser Ser Asn Met Ala Asn Thr Gln Met Lys
20          25          30
Ser Asp Leu Ile Ile Ile Ala His Arg Gly Ala Ser Gly Tyr Leu Pro
35          40          45
Glu His Thr Leu Glu Ser Lys Ala Leu Ala Phe Ala Gln Gln Ala Asp
50          55          60
Tyr Leu Glu Gln Asp Leu Ala Met Thr Lys Asp Gly Arg Leu Val Val
65          70          75          80
Ile His Asp His Phe Leu Asp Gly Leu Thr Asp Val Ala Lys Lys Phe
85          90          95
Pro His Arg His Arg Lys Asp Gly Arg Tyr Tyr Val Ile Asp Phe Thr
100          105          110
Leu Lys Glu Ile Gln Ser Leu Glu Met Thr Glu Asn Phe Glu Thr Met
115          120          125
Gly Ser Leu Glu Gln Arg Ser Leu His Cys Lys Pro Glu Glu Ala Leu
130          135          140
Glu Ala Gln Gln Glu Ala Leu Gly Leu Val Cys Val Gln Ala Ala Thr
145          150          155          160
Ser Ser Ser Ser Pro Leu Val Leu Gly Thr Leu Glu Glu Val Pro Thr
165          170          175
Ala Gly Ser Thr Asp Pro Pro Gln Ser Pro Gln Gly Ala Ser Ala Phe
180          185          190
Pro Thr Thr Ile Asn Phe Thr Arg Gln Arg Gln Pro Ser Glu Gly Ser
195          200          205
Ser Ser Arg Glu Glu Glu Gly Pro Ser Thr Ser Cys Ile Leu Glu Ser
210          215          220
Leu Phe Arg Ala Val Ile Thr Lys Lys Val Ala Asp Leu Val Gly Phe
225          230          235          240
Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu Pro Val Thr Lys Ala Glu Met
245          250          255
Leu Glu Ser Val Ile Lys Asn Tyr Lys His Cys Phe Pro Glu Ile Phe
260          265          270
Gly Lys Ala Ser Glu Ser Leu Gln Leu Val Phe Gly Ile Asp Val Lys
275          280          285
Glu Ala Asp Pro Thr Gly His Ser Tyr Val Leu Val Thr Cys Leu Gly
290          295          300
Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp Asn Gln Ile Met Pro Lys Thr
305          310          315          320
Gly Phe Leu Ile Ile Val Leu Val Met Ile Ala Met Glu Gly Gly His
325          330          335

```

【 図 3 - 2 】

Ala Pro Glu Glu Glu Ile Trp Glu Glu Leu Ser Val Met Glu Val Tyr
 340 345 350
 Asp Gly Arg Glu His Ser Ala Tyr Gly Glu Pro Arg Lys Leu Leu Thr
 355 360 365
 Gln Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr Arg Gln Val Pro Asp
 370 375 380
 Ser Asp Pro Ala Arg Tyr Glu Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ala
 385 390 395 400
 Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu Glu Tyr Val Ile Lys Val Ser Ala
 405 410 415
 Arg Val Arg Phe Phe Pro Ser Leu Arg Glu Ala Ala Leu Arg Glu
 420 425 430
 Glu Glu Glu Gly Val Gly Gly His His His His His His
 435 440 445

【 図 4 - 1 】

NS1-MAGE3 とヒスチジンテールとの融合タンパク質 (配列番号5)

Met Asp Pro Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 His Val Arg Lys Arg Val Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe
 20 25 30
 Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser
 35 40 45
 Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr Arg Ala Gly Lys Gln Ile
 50 55 60
 Val Glu Arg Ile Leu Lys Glu Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr
 65 70 75 80
 Met Asp Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu
 85 90 95
 Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala
 100 105 110
 Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val
 115 120 125
 Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser
 130 135 140
 Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp
 145 150 155 160
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Gly Pro Ser
 165 170 175
 Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys
 180 185 190
 Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln
 210 215 220
 Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu
 225 230 235 240
 Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr
 245 250 255
 Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp
 260 265 270
 Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile
 275 280 285
 Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu
 290 295 300
 Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly
 305 310 315 320

【 図 4 - 2 】

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu
 325 330 335
 Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu
 340 345 350
 Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His
 355 360 365
 His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu
 370 375 380
 His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu Gly His His His His
 385 390 395 400
 His His His

【 図 6 - 1 】

CLYTA-MAGE1-ヒスチジンの融合タンパク質 (配列番号7)

Met Lys Gly Gly Ile Val His Ser Asp Gly Ser Tyr Pro Lys Asp Lys
 1 5 10 15
 Phe Glu Lys Ile Asn Gly Thr Trp Tyr Tyr Phe Asp Ser Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Met Leu Ala Asp Arg Trp Arg Lys His Thr Asp Gly Asn Trp Tyr Trp
 35 40 45
 Phe Asp Asn Ser Gly Glu Met Ala Thr Gly Trp Lys Lys Ile Ala Asp
 50 55 60
 Lys Trp Tyr Tyr Phe Asn Glu Glu Gly Ala Met Lys Thr Gly Trp Val
 65 70 75 80
 Lys Tyr Lys Asp Thr Trp Tyr Tyr Leu Asp Ala Lys Glu Gly Ala Met
 85 90 95
 Val Ser Asn Ala Phe Ile Gln Ser Ala Asp Gly Thr Gly Trp Tyr Tyr
 100 105 110
 Leu Lys Pro Asp Gly Thr Leu Ala Asp Arg Pro Glu Leu Asp Met Gly
 115 120 125
 Ser Leu Glu Gln Arg Ser Leu His Cys Lys Pro Glu Glu Ala Leu Glu
 130 135 140
 Ala Gln Gln Glu Ala Leu Gly Leu Val Cys Val Gln Ala Ala Thr Ser
 145 150 155 160
 Ser Ser Ser Pro Leu Val Leu Gly Thr Leu Glu Glu Val Pro Thr Ala
 165 170 175
 Gly Ser Thr Asp Pro Pro Gln Ser Pro Gln Gly Ala Ser Ala Phe Pro
 180 185 190
 Thr Thr Ile Asn Phe Thr Arg Gln Arg Gln Pro Ser Glu Gly Ser Ser
 195 200 205
 Ser Arg Glu Glu Gly Pro Ser Thr Ser Cys Ile Leu Glu Ser Leu
 210 215 220
 Phe Arg Ala Val Ile Thr Lys Lys Val Ala Asp Leu Val Gly Phe Leu
 225 230 235 240
 Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu
 245 250 255
 Glu Ser Val Ile Lys Asn Tyr Lys His Cys Phe Pro Glu Ile Phe Gly
 260 265 270
 Lys Ala Ser Glu Ser Leu Glu Leu Val Phe Gly Ile Asp Val Lys Glu
 275 280 285
 Ala Asp Pro Thr Gly His Ser Tyr Val Leu Val Thr Cys Leu Gly Leu
 290 295 300
 Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp Asn Gln Ile Met Pro Lys Thr Gly
 305 310 315 320
 Phe Leu Ile Ile Val Leu Val Met Ile Ala Met Glu Gly Gly His Ala
 325 330 335
 Pro Glu Glu Glu Ile Trp Glu Leu Ser Val Met Glu Val Tyr Asp
 340 345 350

【 図 5 】

融合タンパク質 NS1-MAGE3-His をコードする DNA (配列番号6)

atggatccaa acactgtgtc aagcttccag gtgattgtct ttctttggca tgtccgcaaa 60
 cgagttgcag accaagaact aggtgatgac ccattccttg atcggttcc cggagatcag 120
 aaatccctaa gaggaagggg cagcactctt ggtctggaca togagacagc cacactgtct 180
 ggaagcaga tagtggagcg gattctgaaa gaagaatccg atgaggcact taaaatgacc 240
 atggtctggg aacagcgtag tcagcactcg aagcctgaag aagccttga ggcccagaga 300
 gaggccctgg gcctgtgtgg tgcgcaggct cctgctactg agsagcagga ggctgcctcc 360
 tctcttctta ctctagtga agtcaacctg ggggaggtgc ctgctgcaga gtcaccagat 420
 cctccocaga gtctcagggg agctccacgc ctcccacta ccattgaacta ccctctctgg 480
 agccaatcct atgaggactc cagcaacca gaagaggagg ggccaagcac ctctcctgac 540
 ctggagtcgc agttccaagc agcactcagt aggaaggtgg ccgaattggt tcattttctg 600
 ctctcaagt atcgagccag gtagccctgc acaagcagc aaatgtggg gagtgtctgc 660
 ggaattggc agtatttctt tctgtgtgac ttcagcaaag ettcaggctc cttgcagctg 720
 gtctttggca tcgagctgat ggaagtggac cccatcgccc actgtacat ctttgccacc 780
 tgcctggccc tctcctacga tggcctgtct ggtgacaatc agatcatgcc caaggcaggc 840
 cctcgtataa tcgtcctggc cataatcgca agagaggcgc actgtgcccc tgaggagaaa 900
 atctggagg agctgagtg gtttagagtg tttagaggga ggaagacag tatcttgggg 960
 gatcccaaga agctgtctac ccaacattc gtgcagaaa actactcaga gtaccggcag 1020
 gtcccggcca gtgatcctgc atgttatgaa ttcctgtggg gtccaagggc cctcgttgaa 1080
 accagctatg tgaagtcct gcaccatag gtaagatca gtggaggacc tcacatttcc 1140
 tacccacccc tgcattgagtg gtttttggga gagggggagg agggggctca tcaccatcac 1200
 catcaccatt aa 1212

【 図 6 - 2 】

Gly Arg Glu His Ser Ala Tyr Gly Glu Pro Arg Lys Leu Leu Thr Gln
355 360 365
Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr Arg Gln Val Pro Asp Ser
370 375 380
Asp Pro Ala Arg Tyr Glu Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ala Glu
385 390 395 400
Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu Glu Tyr Val Ile Lys Val Ser Ala Arg
405 410 415
Val Arg Phe Phe Phe Pro Ser Leu Arg Glu Ala Ala Leu Arg Glu Glu
420 425 430
Glu Glu Gly Val Gly His His His His His His
435 440 445

【 図 7 】

融合タンパク質 CLYTA-MAGE1-His をコードする DNA(配列番号8)

atgaaagggg gaattgtaca ttcagacggc tcttatccaa aagacaagtt tgagaaaatc 60
aatggcactt ggtactactt tgacagttca ggctatatgc ttgcagaccg ctggaggaag 120
cacacagacg gcaactggta ctggttcgac aactcagggc aaatggctac aggctggaag 180
aaaatcgctg ataagtggta ctatttcaac gaagaaggtg ccatggaagc aggctgggtc 240
aagtacaagg acacttggta ctacttagac gctaaagaag gcgccatggt atcaaatgcc 300
ttatccagtt cagcggacgg aacagcctgg tactaacctca aaccagacgg aacactggca 360
gacagcccaag aattggccat ggcctctctg gaacagctga gctctgcactg caagccttgag 420
gaagcccttg aggcaccaac agagccctgg ggcctgggtg gctgtgcaagg tgccacctcc 480
tctctctctc ctctgctctc gggcaccctg gaggaggtgc ccactgctgg gtaacagatg 540
ctctcccca gctctcagg agcctccgac ttcccactca ccatcaactt cactcgacat 600
atggaaccca gtgaggggtc cagcagcctg gaagagggag ggccaagcac ctctgtatc 660
ctgagatcct tggctccgagc agtaatacct aagaaggtgg ctgatttggg tggtttctg 720
ctctcacaat atcgagccag ggagccagtc acaagggcag aaatgctgga gagggtctatc 780
aaaatattca agcactgttt tctgagatc ttgcgcaaac cctctgagtc cttgcaagct 840
gtctttggca ttgactgtaa ggaagcagac cccaccggcc actcctatgt cctgtcacc 900
tgcttagtgc tctcctatga tggcctgctg ggtgataatc agatcctgcc caagacagcg 960
ttctgataaa ttgtcctggg catgattgca atggagggcg gccatgctcc tgaggagga 1020
atctggaggg agctgaggtc gatggaggtg tatgatggga gggagcacag tgccatagg 1080
gagcccaaga agctgctcac ccaagatttg gtcagggaaa agtacctgga gtaacggcag 1140
gtgcccagca gtgatcccgc acgctatgag ttctgtgagg gtccaagggc cctgctgaa 1200
acagctatg tgaagatcct tgagtatggt atcaaggtca gtgcaagagt tgcctttttc 1260
ttcccctccc tgcgtgaaag agccttgaga gaggaggaag agggagtcgg cggctcatca 1320
catcaccatc accattaa 1338

【 図 8 - 2 】

Ala Ile Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp
340 345 350
Glu Glu Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile
355 360 365
Leu Gly Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn
370 375 380
Tyr Leu Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu
385 390 395 400
Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val
405 410 415
Leu His His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro
420 425 430
Pro Leu His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Gly His His His
435 440 445
His His His His His
450

【 図 9 】

融合タンパク質 CLYTA-MAGE3-His の DNA(配列番号10)

atgaaagggg gaattgtaca ttcagacggc tcttatccaa aagacaagtt tgagaaaatc 60
aatggcactt ggtactactt tgacagttca ggctatatgc ttgcagaccg ctggaggaag 120
cacacagacg gcaactggta ctggttcgac aactcagggc aaatggctac aggctggaag 180
aaaatcgctg ataagtggta ctatttcaac gaagaaggtg ccatggaagc aggctgggtc 240
aagtacaagg acacttggta ctacttagac gctaaagaag gcgccatggt atcaaatgcc 300
ttatccagtt cagcggacgg aacagcctgg tactaacctca aaccagacgg aacactggca 360
gacagcccaag aattggccat catgctggac atggatctgg aacagcctag tcagcaactgc 420
aagcctgtaa aagccttga ggcctcagga gagccctgg cctgtgtggg tgcgcaaggct 480
cctgctactg agggcagga ggcctgctcc tctctctcta ctctagtga agtcaacctg 540
ggggaggtgc ctgctgcca gtcaccagat cctcccaga gtctccagg agcctccacc 600
ctcccactca ccatgaacta cctctctctg agccaatcct atgaggaact cagcaaccaa 660
gaagagggag ggccaagcac ctctctgac ctggagctct agtctcaagc agcactcaagt 720
aggaaggtgg ccaagttggt tcaatttctg ctctcaagt atcgagccag ggagccggtc 780
acaagggcag aatgctggg gaggctgctc ggaatgggc agtactcctt tctgtgactc 840
ttcagcaaac cttccgattc cttgcaagct gtctttggca tgcagctgat ggaagtgac 900
cccatcgccc acgtgtacat ctttgccacc tgcctgggccc tctcctacga tggcctgctg 960
ggtgacaact agatcatgoc caagacaggg ttctctgataa tcatctcggc cataatgca 1020
aaagagggcg actgtgcccc tgaggagaaa atctggagag agctgaggtg gttagaggtg 1080
tttgagggga gggagacacg tatctctcgg gatcccaaga agctgctcac ccaatatttc 1140
gtgcaagaaa actactctga gtaccggcag gtccccggca gtgactctgc atgctatgag 1200
ttcctgtggg gtccaagggc cctcaatgaa accagctatg tgaagatcct gcacatgatg 1260
gtaagatca gtggagacc tgcatttcc taccactccc tgcagtagtg ggccttgaga 1320
gagggggaag agggcggtca tcaccatcac catcaccatt aa 1362

【 図 8 - 1 】

CLYTA-MAGE3-ヒステジンの融合タンパク質(配列番号9)

Met Lys Gly Gly Ile Val His Ser Asp Gly Ser Tyr Pro Lys Asp Lys
1 5 10 15
Phe Glu Lys Ile Asn Gly Thr Trp Tyr Tyr Phe Asp Ser Ser Gly Tyr
20 25 30
Met Leu Ala Asp Arg Trp Arg Lys His Thr Asp Gly Asn Trp Tyr Trp
35 40 45
Phe Asp Asn Ser Gly Glu Met Ala Thr Gly Trp Lys Lys Ile Ala Asp
50 55 60
Lys Trp Tyr Tyr Phe Asn Glu Glu Gly Ala Met Lys Thr Gly Trp Val
65 70 75 80
Lys Tyr Lys Asp Thr Trp Tyr Tyr Leu Asp Ala Lys Glu Gly Ala Met
85 90 95
Val Ser Asn Ala Phe Ile Gln Ser Ala Asp Gly Thr Gly Trp Tyr Tyr
100 105 110
Leu Lys Pro Asp Gly Thr Leu Ala Asp Arg Pro Glu Leu Ala Ser Met
115 120 125
Leu Asp Met Asp Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu
130 135 140
Gly Leu Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala
145 150 155 160
Pro Ala Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val
165 170 175
Glu Val Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro
180 185 190
Gln Ser Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro
195 200 205
Leu Trp Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly
210 215 220
Pro Ser Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser
225 230 235 240
Arg Lys Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala
245 250 255
Arg Glu Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn
260 265 270
Trp Gln Tyr Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu
275 280 285
Gln Leu Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His
290 295 300
Leu Tyr Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu
305 310 315 320
Gly Asp Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu
325 330 335

【 図 10 】

MAGE A1 タンパク質の 309 アミノ酸配列(配列番号11GenBank protein Sequence Reference No. 004979 も参照のこと、特徴的なコア(core signature)はアミノ酸 195 ~279 に相当する

1 mslegrslhc kpealeaagg ealglvcvga aassssplvl gtleevptag stdppgspgg
61 asaaptrinf trgrpseegs srsreegpst scileslfra vltkvwelv gfillkyrar
121 eptvkaemle sviknykchf peifgkases lqlvfgidvk eadptghsyv lvtcglisyd
181 glldgnqimp ktgfliilvlv mamegghap eeslweelav mevdydrehv aygeprkllt
241 qdlvqekyle yrqvdsdpda ryeflwgpra laetsykvkl eyvikvsarv rffffsirea
301 alreeeegv

【配列表】

2009538286000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/055037

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/00 C07K14/47		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KRUIT WIM H J ET AL: "Phase 1/2 study of subcutaneous and intradermal immunization with a recombinant MAGE-3 protein in patients with detectable metastatic melanoma." INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER. JOURNAL INTERNATIONAL DU CANCER 20 NOV 2005, vol. 117, no. 4, 20 November 2005 (2005-11-20), pages 596-604, XP002447302 ISSN: 0020-7136 page 597, left-hand column, last paragraph page 603, left-hand column, paragraph 4 page 603, right-hand column, last paragraph ----- -/-	1-27
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone ** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 August 2007		Date of mailing of the international search report 05/12/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gruber, Andreas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2007/055037

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005/105139 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; BRUCK CLAUDINE ELVIRE MARIE [US]; BRIC) 10 November 2005 (2005-11-10) the whole document	1-27
A	BOON T ET AL: "Monitoring CTL responses in melanoma patients vaccinated with MAGE antigenic peptides" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 37, April 2001 (2001-04), page S11, XP004477279 ISSN: 0959-8049 the whole document	1-27
A	BAREN VAN N ET AL: "TUMORAL AND IMMUNOLOGIC RESPONSE AFTER VACCINATION OF MELANOMA PATIENTS WITH AN ALVAC VIRUS ENCODING MAGE ANTIGENS RECOGNIZED BY T CELLS" JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, GRUNE AND STRATTON, NEW YORK, NY, US, vol. 23, no. 35, 10 December 2005 (2005-12-10), pages 9008-9021, XP009075846 ISSN: 0732-183X the whole document	1-27
A	COULIE P G ET AL: "A monoclonal cytolytic T-lymphocyte response observed in a melanoma patient vaccinated with a tumor-specific antigenic peptide encoded by gene MAGE-3." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 28 AUG 2001, vol. 98, no. 18, 28 August 2001 (2001-08-28), pages 10290-10295, XP002447303 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-27
A	TOUNGOUZ M ET AL: "Transient expansion of peptide-specific lymphocytes producing IFN-gamma after vaccination with dendritic cells pulsed with MAGE peptides in patients with mage-A1/A3-positive tumors." JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY JUN 2001, vol. 69, no. 6, June 2001 (2001-06), pages 937-943, XP002447304 ISSN: 0741-5400 the whole document	1-27

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2007/055037

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>MARCHAND M ET AL: "Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1" INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, NEW YORK, NY, US, vol. 80, no. 2, 18 January 1999 (1999-01-18), pages 219-230, XP002305439 ISSN: 0020-7136 the whole document -----</p>	1-27
A	<p>TOUNGOUZ M ET AL: "ANTITUMOR VACCINES USING AUTOLOGOUS DENDRITIC CELLS, PULSED WITH MAGE PEPTIDES" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 35, no. SUPPL 5, October 1999 (1999-10), page S25, XP000946312 ISSN: 0959-8049 the whole document -----</p>	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2007/055037**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 1,3,4,6-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2007/055037

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005105139 A	10-11-2005	AU 2005237256 A1	10-11-2005
		CA 2564470 A1	10-11-2005
		CN 1980691 A	13-06-2007
		EP 1755657 A2	28-02-2007

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ブリチャード, ヴィンセント

ベルギー国 ベー - 1 3 3 0 リクセンサール, リュ ド ランスティテュ 8 9, グラクソスミ
スクライン バイオロジカルズ ソシエテ アノニム

(72)発明者 レーマン, フレデリック, フランソワ, ユージン

ベルギー国 ベー - 1 3 3 0 リクセンサール, リュ ド ランスティテュ 8 9, グラクソスミ
スクライン バイオロジカルズ ソシエテ アノニム

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA36 HA01 HA17

4C084 AA13 MA22 MA66 NA14 ZB261

4C085 AA03 AA04 BA14 BA18 BB01 CC07 DD52 EE01 EE03 GG01