(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2019-509265
(P2019-509265A)
(43)公表日　平成31年4月4日(2019.4.4)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/00	***(2006.01)***	A61K	39/00	ZNAH	4C084
A61K 48/00	***(2006.01)***	A61K	48/00		4C085
A61P 35/00	***(2006.01)***	A61P	35/00		4C087
A61K 38/02	***(2006.01)***	A61K	38/02		
A61K 35/761	***(2015.01)***	A61K	35/761		

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 28 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-541394 (P2018-541394)
(86)(22)出願日　平成29年2月12日 (2017.2.12)
(85)翻訳文提出日　平成30年10月1日 (2018.10.1)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/017588
(87)国際公開番号　WO2017/139725
(87)国際公開日　平成29年8月17日 (2017.8.17)
(31)優先権主張番号　62/294,251
(32)優先日　平成28年2月11日 (2016.2.11)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/294,987
(32)優先日　平成28年2月12日 (2016.2.12)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　513276204
ナント　ホールディングス　アイピー　エルエルシー
Ｎａｎｔ　Ｈｏｌｄｉｎｇｓ　ＩＰ，　ＬＬＣ
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９０２３２　カルバーシティ　ジェファーソン　ブールバード　９９２０
９９２０　Ｊｅｆｆｅｒｓｏｎ　Ｂｌｖｄ　Ｃｕｌｖｅｒ　Ｃｉｔｙ　Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ　９０２３２　Ｕ．Ｓ．Ａ．

最終頁に続く

(54)【発明の名称】二重標的化によるアデノウイルスの皮下送達

(57)【要約】
ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩ提示系を標的とし、更に１種以上の組換えペプチドを提供してＴ細胞活性化の刺激とチェックポイント阻害の妨害を行うアデノウイルス発現系を介して樹状細胞にネオエピトープ及び／又は腫瘍関連抗原を送達する免疫療法方法及び組成物が企図される。ＮＫ細胞の注入によって治療が更に支持されるが、ＮＫ細胞を改変して高親和性ＣＤ１６受容体、及び／又は１種以上のネオエピトープ及び／又は腫瘍関連抗原に結合するキメラ抗原受容体を持つようにすることができる。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
腫瘍を有する患者を治療する方法であって、
（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープと、
（ｂ）少なくとも１種の共刺激分子と、
（ｃ）チェックポイント受容体に結合するペプチドとをコードする核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階であって、核酸は、核酸によってコードされるペプチド生成物を細胞質、エンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルを更に含む段階と、
ＮＫ細胞を患者に投与する段階を含む、方法。
【請求項２】
組換えウイルスは、アデノウイルスであり、必要に応じてＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープである、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４】
腫瘍関連エピトープは、癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
共刺激分子は、Ｂ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａである、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
チェックポイント受容体に結合するペプチドは、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合する、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
輸送シグナルは、ペプチド生成物を細胞質へ向かわせる、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
輸送シグナルは、ペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
輸送シグナルは、細胞質保持配列、エンドソーム標的配列又はリソソーム標的配列を含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
核酸は、第１のペプチド生成物を細胞質へ向かわせる第１の輸送シグナルと、第２のペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる第２の輸送シグナルとを有する、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
ペプチド生成物は、ペプチド生成物の細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
組換えウイルスを皮下投与してから１～１４日後にＮＫ細胞を投与する段階を行う、先

行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープである、請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
腫瘍関連エピトープは、癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項１に記載の方法。
【請求項１６】
共刺激分子は、Ｂ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａである、請求項１に記載の方法。
【請求項１７】
チェックポイント受容体に結合するペプチドは、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合する、請求項１に記載の方法。
【請求項１８】
輸送シグナルは、ペプチド生成物を細胞質へ向かわせる、請求項１に記載の方法。
【請求項１９】
輸送シグナルは、ペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる、請求項１に記載の方法。
【請求項２０】
輸送シグナルは、細胞質保持配列、エンドソーム標的配列又はリソソーム標的配列を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項２１】
核酸は、第１のペプチド生成物を細胞質へ向かわせる第１の輸送シグナルと、第２のペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる第２の輸送シグナルとを有する、請求項１に記載の方法。
【請求項２２】
ペプチド生成物は、ペプチド生成物の細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、請求項１に記載の方法。
【請求項２３】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、請求項１に記載の方法。
【請求項２４】
組換えウイルスを皮下投与してから１～１４日後にＮＫ細胞を投与する段階を行う、請求項１に記載の方法。
【請求項２５】
腫瘍を有する患者においてＣＤ８＋Ｔ細胞応答を刺激する方法であって、
（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープであって、細胞質内にこの少なくとも１種の腫瘍関連エピトープを保持する輸送シグナルと作動可能に結合するエピトープと、
（ｂ）複数の共刺激分子であって、その内の少なくとも１種はＢ７．１（ＣＤ８０）又はＢ７．２（ＣＤ８６）である共刺激分子と、
（ｃ）ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドとをコードする核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階と、
ＮＫ細胞を患者に投与する段階を含む、方法。
【請求項２６】
組換えウイルスは、アデノウイルスであり、必要に応じてＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機

能化している、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
腫瘍関連エピトープは、腫瘍関連エピトープの細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、請求項２５～２６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２８】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の癌関連エピトープ、ＨＬＡ適合の癌特異的エピトープ又はＨＬＡ適合の患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項２５～２７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２９】
複数の共刺激分子は、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａから成る群から選択される少なくとも１種の更なる共刺激分子を更に含む、請求項２５～２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３０】
ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドは、膜結合型抗体断片である、請求項２５～２９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３１】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、請求項２５～３０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項３２】
腫瘍関連エピトープは、腫瘍関連エピトープの細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、請求項２５に記載の方法。
【請求項３３】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の癌関連エピトープ、ＨＬＡ適合の癌特異的エピトープ又はＨＬＡ適合の患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項２５に記載の方法。
【請求項３４】
複数の共刺激分子は、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａから成る群から選択される少なくとも１種の更なる共刺激分子を更に含む、請求項２５に記載の方法。
【請求項３５】
ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドは、膜結合型抗体断片である、請求項２５に記載の方法。
【請求項３６】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、請求項２５に記載の方法。
【請求項３７】
腫瘍を有する患者においてＣＤ４＋Ｔ細胞応答を刺激する方法であって、
（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープであって、この少なくとも１種の腫瘍関連エピトープを細胞質、エンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルと作動可能に結合するエピトープと、
（ｂ）複数の共刺激分子であって、その内の少なくとも１種はＢ７．１（ＣＤ８０）又はＢ７．２（ＣＤ８６）である共刺激分子と、
（ｃ）ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドとをコードする

核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階と、
ＮＫ細胞を患者に投与する段階を含む、方法。
【請求項３８】
組換えウイルスは、アデノウイルスであり、必要に応じてＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
腫瘍関連エピトープは、腫瘍関連エピトープの細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、請求項３７～３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４０】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の癌関連エピトープ、ＨＬＡ適合の癌特異的エピトープ又はＨＬＡ適合の患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項３７～３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４１】
複数の共刺激分子は、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａから成る群から選択される少なくとも１種の更なる共刺激分子を更に含む、請求項３７～４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４２】
ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドは、膜結合型抗体断片である、請求項３７～４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４３】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、請求項３７～４２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４４】
腫瘍関連エピトープは、腫瘍関連エピトープの細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、請求項３７に記載の方法。
【請求項４５】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の癌関連エピトープ、ＨＬＡ適合の癌特異的エピトープ又はＨＬＡ適合の患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項３７に記載の方法。
【請求項４６】
複数の共刺激分子は、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａから成る群から選択される少なくとも１種の更なる共刺激分子を更に含む、請求項３７に記載の方法。
【請求項４７】
ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドは、膜結合型抗体断片である、請求項３７に記載の方法。
【請求項４８】
ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞である、請求項３７に記載の方法。
【請求項４９】
腫瘍の細胞上でＮＫＧ２Ｄリガンドの発現を誘発又は発現を増大させるのに有効なプロトコルの下で低用量の化学療法を患者に施す段階を更に含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５０】
腫瘍の細胞上でＮＫＧ２Ｄリガンドの発現を誘発又は発現を増大させるのに有効なプロトコルの下で低用量の化学療法を患者に施す段階を更に含む、請求項１、２５又は３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５１】
腫瘍の細胞上でＮＫＧ２Ｄリガンドの発現を誘発又は発現を増大させるのに有効なプロトコルの下で放射線療法を患者に施す段階を更に含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５２】
腫瘍の細胞上でＮＫＧ２Ｄリガンドの発現を誘発又は発現を増大させるのに有効なプロトコルの下で放射線療法を患者に施す段階を更に含む、請求項１、２５又は３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５３】
残留腫瘍細胞中の新しいネオエピトープを特定し、新しいネオエピトープの内の少なくとも１種を含むようにウイルスベクターの核酸を改変する段階を更に含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５４】
残留腫瘍細胞中の新しいネオエピトープを特定し、新しいネオエピトープの内の少なくとも１種を含むようにウイルスベクターの核酸を改変する段階を更に含む、請求項１、２５又は３７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５５】
（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープと、
（ｂ）少なくとも１種の共刺激分子と、
（ｃ）チェックポイント受容体に結合するペプチドとをコードする核酸を含むウイルスベクターであって、
核酸は、核酸によってコードされるペプチド生成物を（ｉ）ＭＨＣ－Ｉ提示用細胞質又は（ｉｉ）ＭＨＣ－ＩＩ提示用エンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルを更に含み、
ペプチド生成物は、ペプチド生成物の細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む、ウイルスベクター。
【請求項５６】
ウイルスベクターは、組換えアデノウイルスゲノムであり、必要に応じてＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項５７】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープである、請求項５５～５６のいずれか一項に記載のウイルスベクター。
【請求項５８】
腫瘍関連エピトープは、癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項５５～５７のいずれか一項に記載のウイルスベクター。
【請求項５９】
共刺激分子は、Ｂ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａである、請求項５５～５８のいずれか一項に記載のウイルスベクター。
【請求項６０】
チェックポイント受容体に結合するペプチドは、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合し、必要に応じて膜結合型抗体断片を含む、請求項５５～５９のいずれか一項に記載のウイルスベクター。
【請求項６１】
腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープである、請求項５５に記載の

ウイルスベクター。
【請求項６２】
腫瘍関連エピトープは、癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープである、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項６３】
共刺激分子は、Ｂ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａである、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項６４】
チェックポイント受容体に結合するペプチドは、ＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合し、必要に応じて膜結合型抗体断片を含む、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項６５】
請求項５５～６０のいずれか一項に記載のウイルスベクターを含む、組換えウイルス。
【請求項６６】
請求項６１～６４のいずれか一項に記載のウイルスベクターを含む、組換えウイルス。
【請求項６７】
請求項６５に記載の組換えウイルスを含む、医薬組成物。
【請求項６８】
請求項６６に記載の組換えウイルスを含む、医薬組成物。
【請求項６９】
輸送シグナルは、ペプチド生成物を細胞質へ向かわせる、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項７０】
輸送シグナルは、ペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項７１】
輸送シグナルは、細胞質保持配列、エンドソーム標的配列又はリソソーム標的配列を含む、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【請求項７２】
核酸は、第１のペプチド生成物を細胞質へ向かわせる第１の輸送シグナルと、第２のペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる第２の輸送シグナルとを有する、請求項５５に記載のウイルスベクター。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本願は、２０１６年２月１１日出願の米国特許仮出願第６２／２９４２５１号の優先権を主張し、更に２０１６年２月１２日出願の米国特許仮出願第６２／２９４９８７号の優先権を主張するものであり、これら両方の出願は参照によって本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本発明の分野は免疫療法組成物及び方法であり、特に、ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩ提示経路を標的とし、特に同時にチェックポイント阻害を調節する癌ワクチン製剤に関する。
【背景技術】
【０００３】
背景の説明には本発明を理解するのに有用となり得る情報が含まれる。本明細書に記載の情報がいずれも本願で特許請求される発明の先行技術であるか又はこれに関連するものであること、或いは具体的又は黙示的に参照される任意の刊行物が先行技術であることを認めるものではない。

【０００４】
本明細書に記載の刊行物及び特許出願はいずれも、各々の刊行物又は特許出願が具体的且つ個別的に参照によって組み込まれることが示された場合と同程度に、参照によって組み込まれる。組み込まれる参考文献における用語の定義又は使用法が、本明細書に記載の用語の定義と一致しないか、これに反する場合、本明細書に記載のその用語の定義が適用され、参考文献中でのその用語の定義は適用されない。
【０００５】
癌ワクチンはかなり有望とされているが、様々な要因、例えば、ウイルス媒体の免疫原性及び／又は組換え抗原の不十分な提示に起因して実際には制限されることが多い。注目すべきことに、不十分な提示は、抗原それ自体に起因するだけでなく、患者の特定のＨＬＡ型との適合性が低いことにも起因することがある。また、特に組換えウイルスを用いて治療抗原を得る場合、患者によるウイルスのクリアランスと共に全身送達と低感染性によって、患者の免疫系の各種成分（例えば、樹状細胞やＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞、Ｂ細胞）の有効且つ広範囲な養成が妨げられる傾向にあり、このような養成が全くなされないか、なされても不十分に過ぎない。更に、抗原提示が少なくともある程度なされた場合でも、様々な調節機序、特に免疫チェックポイント阻害によって、有効な治療への更なるハードルが示されることが多い。
【０００６】
例えば、米国特許第７，１１８，７３８号には、癌関連抗原としてのＭＵＣ１をコードする組換えＤＮＡを保有するポックスウイルスの使用が教示されており、アジュバントとしてのＢ７．１及び／又はＢ７．２を用いて免疫反応を増強できることが報告されている。しかし、このようなウイルスが、治療上有効な免疫応答を常に誘発することは証明されていない。同様に、ＣＥＡ／ＴＲＩＣＯＭが組換えポックスウイルスから発現された（例えば、Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２００５，Ｖｏｌ．１１，２４１６－２４２６参照）。しかし、ＴＲＩＣＯＭからの免疫刺激は望んだよりも低かった。更に、ＣＥＡも癌細胞以外の細胞で発現し、送達系としてのポックスウイルスは初回投与後に免疫原性になることが示された。また、このような系での免疫刺激はＣＥＡに対して最も強くはなく、むしろ抗原カスケードにおける他のタンパク質に対する免疫応答を引き起こした。従って、刺激性アジュバントは少なくとも概念的には有望であるが、その実際の成功は限られることが多かった。
【０００７】
更に知られた方法では、ＷＯ２０１６／１７２２４９、ＵＳ２０１６／０１０１１７０及びＵＳ２０１６／０３３９０９０に記載のように、抗原（例えば、ＣＥＡやＭＵＣ１、ブラキュリ）の発現用ウイルスベクターをチェックポイント阻害剤と同時投与して免疫応答を増強させた。チェックポイント阻害剤の使用によって、少なくとも一部の癌では顕著な成功が示された。しかし、チェックポイント阻害剤の典型的な全身投与に起因して、望ましくない副作用が重大なリスクとなることが多い。
【０００８】
特定の送達に関係なく、持続的な免疫応答を発生させるには、適切な抗原処理と抗原提示だけでなく、免疫シナプスを適切に形成し、免疫系の各種成分に抗原刺激を伝播させて治療上有効な液性応答と細胞応答を得ることも必要であることが理解されるべきである。現在知られているシステムや方法では、一般にこのような協調的活性は得られない。
【０００９】
従って、免疫応答を発生させる多くの方法と組成物が当技術分野で知られているが、それらの全て又はほぼ全てが様々な不都合に悩まされている。従って、免疫療法、特に癌免疫療法のための改良組成物と改良方法が依然として必要である。
【発明の概要】
【００１０】
本発明の主題は、抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）に感染して癌関連エピトープ（このエピトープはＭＨＣ－Ｉ及びＭＨＣ－ＩＩ提示経路に対して特異的に向けられて抗原提

示を向上させる）の産生、処理及び提示を生じさせる組換えウイルス（好ましくは、非免疫原性ウイルス）の皮下投与によって上述の問題に対処する免疫応答を発生させる方法及び組成物に関する。また、より強い免疫応答を得るために、感染細胞は、免疫コンピテント細胞（特に、Ｔ細胞及びＮＫ細胞）のチェックポイント受容体を妨害する様々な共刺激分子とペプチドを更に発現する。必要に応じて、組換えウイルスの投与部位又はその付近でチェックポイント阻害剤を皮下注射することができ、よってチェックポイント阻害剤はウイルス組換え核酸でコードされていなくてもよい。ＭＨＣ－Ｉ及びＭＨＣ－ＩＩ提示経路を用いて標的抗原提示を行うため、免疫応答はそれぞれＣＤ８＋Ｔ細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞を経由して伝播するが、これらの細胞は、ＮＫ細胞とＢ細胞に指示を出すと共に、細胞傷害性Ｔ細胞を発生させる物質である。後で更に詳述するように、ＮＫ細胞（最も好ましくは遺伝子改変ＮＫ細胞）をそれ以降に投与して免疫応答を更に増強することができる。

【００１１】

本発明の主題の一態様では、本発明者らは、腫瘍を有する患者を治療する方法を企図する。特に企図される方法は、（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープと、（ｂ）少なくとも１種の共刺激分子と、（ｃ）チェックポイント受容体に結合するペプチドとをコードする核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階を含む。最も典型的には、核酸は、核酸によってコードされるペプチド生成物を細胞質、エンドソーム区画及び／又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルを更に含む。更に他の段階では、ＮＫ細胞を患者に投与する。

【００１２】

必ずというわけではないが、好ましくは、組換えウイルスはアデノウイルスであり、必要に応じて、免疫原性を低下させるためにＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している。腫瘍関連エピトープがＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープであり、このエピトープは癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープとすることができることが更に企図される。

【００１３】

共刺激分子に関しては、共刺激分子はＢ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａであり、チェックポイント受容体に結合する好ましいペプチドはＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）及び／又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合することが企図される。

【００１４】

更に企図される方法では、輸送シグナルはペプチド生成物を細胞質、エンドソーム区画及び／又はリソソーム区画へ向かわせる。従って、適切な輸送シグナルは細胞質保持配列、エンドソーム標的配列及び／又はリソソーム標的配列を含む。例えば、核酸は、第１のペプチド生成物を細胞質へ向かわせる第１の輸送シグナルと第２のペプチド生成物をエンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる第２の輸送シグナルとを有することができ、第１のペプチド生成物と第２のペプチド生成物は同一であっても異なっていてもよい。更に、ペプチド生成物は、ペプチド生成物の細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含み得ることが企図される。

【００１５】

適切なＮＫ細胞に関しては、ＮＫ細胞は（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有するように遺伝子改変されていることが一般に企図される。最も典型的には、組換えウイルスを皮下投与してから１～１４日後にＮＫ細胞を投与する。

【００１６】

本発明の主題の他の態様では、本発明者らは、腫瘍を有する患者においてＣＤ８＋Ｔ細

胞応答を刺激する方法を企図し、この方法は典型的には、（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープであって、細胞質内にこの少なくとも１種の腫瘍関連エピトープを保持する輸送シグナルと作動可能に結合するエピトープと、（ｂ）複数の共刺激分子であって、その内の少なくとも１種はＢ７．１（ＣＤ８０）又はＢ７．２（ＣＤ８６）である共刺激分子と、（ｃ）ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドとをコードする核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階を含む。他の段階では、ＮＫ細胞を患者に投与する。

【００１７】

或いは、本発明の主題の更に他の態様では、本発明者らは、腫瘍を有する患者においてＣＤ４＋Ｔ細胞応答を刺激する方法を企図し、この方法は、（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープであって、この少なくとも１種の腫瘍関連エピトープを細胞質、エンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルと作動可能に結合するエピトープと、（ｂ）複数の共刺激分子であって、その内の少なくとも１種はＢ７．１（ＣＤ８０）又はＢ７．２（ＣＤ８６）である共刺激分子と、（ｃ）ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドとをコードする核酸を含む組換えウイルスを皮下投与する段階を含む。更に他の段階では、ＮＫ細胞を患者に投与する。

【００１８】

最も典型的には、このような方法における組換えウイルスはアデノウイルスであり、必要に応じて、免疫原性を低下させるためにＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している。上述のように、適切な腫瘍関連エピトープは、腫瘍関連エピトープの細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む。例えば、このようなエピトープは、ＨＬＡ適合の癌関連エピトープ、ＨＬＡ適合の癌特異的エピトープ又はＨＬＡ適合の患者及び腫瘍特異的ネオエピトープとすることができる。

【００１９】

更に、複数の共刺激分子が、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａから成る群から選択される少なくとも１種の更なる共刺激分子を更に含み得ること、及び／又は、ＰＤ－１及びＣＴＬＡ－４の少なくとも１種に結合するペプチドが膜結合型抗体断片であることが企図される。また、ＮＫ細胞は、（１）少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体の発現が低下又は消失している、（２）高親和性Ｆｃγ受容体を発現する、（３）キメラＴ細胞受容体を発現する、及び／又は（４）ＮＫＧ２Ａに欠失を有する遺伝子改変ＮＫ細胞であることが企図される。

【００２０】

更に、本発明者らは、本明細書に記載の全ての方法は、腫瘍の細胞上でＮＫＧ２Ｄリガンドの発現を誘発又は発現を増大させるのに有効なプロトコルの下で低用量の化学療法及び／又は低線量の放射線療法を患者に施す段階を更に含み得ることも企図する。必要に応じて、企図される方法は、残留腫瘍細胞中の新しいネオエピトープを特定し、新しいネオエピトープの内の少なくとも１種を含むように組換えウイルスを改変する段階を更に含むことができる。

【００２１】

従って、異なる観点から見ると、本発明者らは、（ａ）患者の腫瘍の少なくとも１種の腫瘍関連エピトープと、（ｂ）少なくとも１種の共刺激分子と、（ｃ）チェックポイント受容体に結合するペプチドとをコードする核酸を含むウイルスベクター（例えば、必要に応じてＥ２ｂ遺伝子が欠失又は非機能化している組換えアデノウイルスゲノム）も企図する。最も典型的には、核酸は、核酸によってコードされるペプチド生成物を細胞質、エンドソーム区画又はリソソーム区画へ向かわせる輸送シグナルを更に含み、ペプチド生成物は、ペプチド生成物の細胞内代謝回転を高める配列部分を更に含む。上述のように、腫瘍関連エピトープは、ＨＬＡ適合の腫瘍関連エピトープ（例えば、癌関連エピトープ、癌特異的エピトープ又は患者及び腫瘍特異的ネオエピトープ）であることが好ましい。同様に

、共刺激分子はＢ７．１（ＣＤ８０）、Ｂ７．２（ＣＤ８６）、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ又はＴＬ１Ａであること、及び／又は、チェックポイント受容体に結合するペプチドはＣＴＬＡ－４（ＣＤ１５２）又はＰＤ－１（ＣＤ２７９）に結合し、必要に応じて膜結合型抗体断片を含むことが好ましい。

【００２２】

従って、本発明者らは、上述のウイルスベクターを含む組換えウイルスも企図する。同様に、本発明者らは、本明細書に記載の組換えウイルスを含む医薬組成物も企図する。

【００２３】

以下の好ましい実施形態の詳細な説明から本発明の主題の様々な目的、特徴、態様及び利点が更に明らかになるであろう。

【発明を実施するための形態】

【００２４】

本発明者らは新たに、好ましくは皮下投与される組換えウイルスと免疫調節薬をＮＫ細胞ベース療法と併用することによって癌免疫療法を著しく改善できることを発見した。

【００２５】

より具体的には、本明細書に記載の企図される方法と組成物を用い、１種以上の腫瘍関連エピトープを１種以上のＭＨＣ提示経路に対して標的化することによって、ＣＤ８＋Ｔ細胞集団とＣＤ４＋Ｔ細胞集団の両方を経由して免疫応答を伝播させることができ、これが液性及び細胞ベースの適応免疫応答の発生に役立つことが企図される。また、後でより詳細に説明するように、企図される方法ではＮＫ細胞（好ましくは、遺伝子改変ＮＫ細胞）を用いて自然免疫応答を増強する。皮下投与の場合、樹状細胞を感染させるのにウイルス送達が特に有効であることが企図され、ウイルス注射部位又はその付近でのチェックポイント阻害剤の皮下投与（例えば、ウイルス感染細胞からの発現経由又は注射経由）によって、正のサイトカインフィードバックループ（即ち、サイトカインストーム）のリスクを実質的に低下させながら、免疫応答を更に増強させることが企図される。

【００２６】

抗原、共刺激分子及びチェックポイント阻害剤の同時発現／協調的存在は、Ｔ細胞（特にＣＤ８＋Ｔ細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞）の活性化に十分な期間に亘って免疫シナプスの形成を促進すると考えられる。特に好ましい態様では、これらの実体の存在は、抗原提示細胞（特に樹状細胞）に感染するウイルスからの抗原と共刺激分子の同時発現によって保証され、後で更に詳述するように、ＣＴＬＡ－４及び／又はＰＤ－１に結合する１種以上の分子も同時発現し得る。或いは、又は更には、ウイルス送達部位又はその付近で１種以上のチェックポイント阻害剤（イピリムマブ、ニボリムマブ等）を注射することができる。最も典型的には、このような送達は皮下注射を介する。抗原処理と抗原提示を更に向上させるため、発現抗原が発現タンパク質を所望の区画（例えば、ＭＨＣ－Ｉ提示用の細胞質区画、又はＭＨＣ－ＩＩ提示用のエンドソーム区画又はリソソーム区画）に意図的に向かわせる輸送配列を含むことが企図される。更に、抗原処理を向上させるため、１個以上のユビキチン化部位を含むか、又は切断不可能なユビキチンを含むことが一般に好ましい。

【００２７】

このような免疫療法は、特定の発現抗原に対する強い適応免疫応答を誘発すると考えられるため、この免疫応答が抗原カスケードと新たに提示された抗原に対する更なる免疫応答にも寄与し得ることが更に期待される。適応免疫応答を更に補完するため、自然免疫応答の構成要素（特に、遺伝子改変ＮＫ細胞）を患者に投与し得ることが一般に好ましい。例えば、後で更に詳述するように、ＮＫ細胞は、液性応答を向上させるＣＤ１６の高親和性変異体による遺伝子改変ＮＫ９２細胞、及び／又は、１種以上の腫瘍関連抗原に特異的な結合ドメインを有するキメラ抗原受容体による遺伝子改変ＮＫ９２細胞とすることができる。

【００２８】

企図される腫瘍関連エピトープに関しては、癌に関連し、特定の種類の癌に特異的なエピトープ、又は患者及び腫瘍に特異的なエピトープ（ネオエピトープ）のいずれも本明細書での使用に適しており、特にエピトープが発現し（好ましくは、同じ患者の健康な組織の発現レベルを超えて）且つ患者のＨＬＡ系に対して望ましい親和性を有する場合に適していることが理解されるべきである。本文脈では、「腫瘍関連エピトープ」という用語は、短ペプチド（例えば、８～３０個のアミノ酸）と共にタンパク質断片を包含し、更にはタンパク質全体も包含する。

【００２９】

例えば、癌に関連する多くの抗原が知られており、これらの全て（例えば、ＣＥＡ、ＭＵＣ－１、ＥｐｈＡ３、ＣＹＰＢ１、及びその一部）が本明細書での使用に適していると考えられる。同様に、多くの癌特異的抗原が当技術分野で知られており（例えば、Ｈｅｒ－２、ＰＳＡ、ブラキュリ等）、これらの全て及びその一部が本明細書での使用に適していると考えられる。しかし、特に好ましい態様では、腫瘍関連エピトープには患者及び腫瘍特異的ネオエピトープが含まれる。従って、組換えウイルス又はウイルス核酸構築物（又は宿主細胞での発現用核酸構築物）には、少なくとも１種（例えば、少なくとも２種、３種、４種等）の腫瘍関連エピトープと少なくとも１種の共刺激分子及び好ましくは（必ずというわけではない）チェックポイントシグナル伝達を妨害するタンパク質をコードする組換えセグメントが含まれることが理解されるべきである。当然のことながら、腫瘍関連エピトープ、共刺激分子及び他のタンパク質の配列の長さが組換え核酸のウイルス容量を超える場合には、複数の異なる組換えウイルスを使用できることが理解されるべきである。

【００３０】

企図される腫瘍関連エピトープの配列情報は、様々な公知の情報源（例えば、ＴＣＧＡ、ＣＯＳＭＩＣ等）から入手することができ、或いは、例えば、標準的な組織処理プロトコルと配列決定プロトコル後の生検試料を用いて患者から入手することができる。本発明の主題を限定するわけではないが、配列データは患者及び腫瘍特異的ネオエピトープに関しする患者対応の腫瘍データ（例えば、同じ患者の正常データに対する腫瘍データ）であること、及びデータフォーマットはＳＡＭ、ＢＡＭ、ＧＡＲ又はＶＣＦフォーマットであることが典型的には好ましい。しかし、他の参照データ（例えば、同じ患者の以前の正常データ又は同じ患者の以前の腫瘍データ、又はｈｏｍｏ　ｓｔａｔｉｓｔｉｃｕｓ）に対する非対応又は対応データも本明細書での使用に適していると考えられる。従って、オミクスデータは、「新しい」オミクスデータであってもよく、又は以前の手順（又は異なる患者）から入手したオミクスデータであってもよい。

【００３１】

ネオエピトープは、特有な腫瘍特異的抗原を産生した腫瘍細胞で発現したランダム変異として特徴づけることができる。従って、異なる観点から見ると、ネオエピトープは、変異の種類（例えば、欠失、挿入、トランスバージョン、遷移、転位）と変異（例えば、ナンセンス、ミスセンス、フレームシフト等）の影響を考慮して特定することができ、よって、サイレント変異や他の無関係の（例えば、非発現の）変異を排除する第１のコンテンツフィルターとして機能することができる。ネオエピトープ配列は、比較的長さの短い配列伸長（例えば、７～１１量体）として定義することができ、このような伸長にはアミノ酸配列の変化が含まれることが更に理解されるべきである。最も典型的には、変化したアミノ酸はアミノ酸の中心位置又はその付近にある。例えば、典型的なネオエピトープは、A_4-N-A_4、又はA_3-N-A_5、又はA_2-N-A_7、又はA_5-N-A_3、又はA_7-N-A_2の構造を有することができ、ここでＡはタンパク質原性のアミノ酸であり、Ｎは（野生型又は対応する正常型に対して）変化したアミノ酸である。しかし、変化したアミノ酸はネオエピトープ配列の末端に位置することもある。例えば、本明細書で企図されるネオエピトープ配列には、比較的長さの短い配列伸長（例えば、５～３０量体、より典型的には７～１１量体又は１２～２５量体）が含まれるが、このような伸長にはアミノ酸配列の変化が含まれる。

【００３２】
従って、単一のアミノ酸変化は、変化したアミノ酸を含む多くのネオエピトープ配列において、変化したアミノ酸の位置に応じて提示され得ることが理解されるべきである。好都合なことには、このような配列変異性によって複数のネオエピトープを選択することができるため、１種以上の所望の形質（例えば、患者のＨＬＡ型に対する最も高い親和性、最も高い構造安定性等）に基づいて次に選択することができる潜在的に有用な標的の数が増加する。最も典型的には、ネオエピトープは２～５０アミノ酸の長さ、より典型的には５～３０アミノ酸の長さ、最も典型的には９～１５アミノ酸の長さを有するものとして計算され、変化したアミノ酸は好ましくは中央に位置するが、ＭＨＣとの結合が保証又は向上されるように位置づけられることもある。例えば、エピトープがＭＨＣ－Ｉ複合体によって提示される場合、典型的なネオエピトープの長さは約８～１１アミノ酸であるが、ＭＨＣ－ＩＩ複合体によって提示される場合の典型的なネオエピトープの長さは、約１３～１７アミノ酸の長さである。容易に理解されるように、ネオエピトープ内の変化したアミノ酸の位置は中央以外になることもあるため、ネオエピトープの実際のペプチド配列とその実際の形態は大幅に変わり得る。

【００３３】
当然のことながら、ネオエピトープの特定又は発見は様々な生物物質、例えば、新しい生検体、凍結された又は他の方法で保存された組織又は細胞試料、循環腫瘍細胞、エクソソーム、各種体液（特に血液）等から開始され得ることが理解されるべきである。従って、適切なオミクス解析方法としては、核酸配列決定、特にＤＮＡ上で行うＮＧＳ方法（例えば、イルミナシーケンシング、イオントレントシーケンシング、４５４パイロシーケンシング、ナノポアシーケンシング等）、ＲＮＡ配列決定（例えば、ＲＮＡｓｅｑ、逆転写ベースの配列決定等）、及びタンパク質配列決定又は質量分析ベースの配列決定（例えば、ＳＲＭ、ＭＲＭ、ＣＲＭ等）が挙げられる。

【００３４】
従って、特に核酸ベースの配列決定の場合、腫瘍組織のハイスループットなゲノム配列決定によってネオエピトープが迅速に特定できることが特に認識されるべきである。しかし、こうして得られた配列情報を標準参照と比較した場合、通常生じる患者間の差異（例えば、ＳＮＰ、短いインデル、反復数の違い等に起因する）と共にヘテロ接合性によって、潜在的な偽陽性ネオエピトープの数が比較的多くなることが理解されるべきである。注目すべきことに、このような不正確さは、患者の腫瘍試料を同じ患者の対応する正常（即ち、非腫瘍）試料と比較すれば排除することができる。

【００３５】
本発明の主題の特に好ましい態様では、腫瘍試料と対応する正常試料の両方について全ゲノム配列決定及び／又はエクソーム配列決定（典型的にはカバレッジ深度が少なくとも１０ｘ、より典型的には少なくとも２０ｘ）によってＤＮＡ解析を行う。或いは、以前の配列決定によって既に確立した配列記録（例えば、ＳＡＭ、ＢＡＭ、ＦＡＳＴＡ、ＦＡＳＴＱ又はＶＣＦファイル）からＤＮＡデータを得ることもできる。従って、データセットは、未処理又は処理済みのデータセットを含むことができ、例示的なデータセットとしては、ＢＡＭＢＡＭフォーマット、ＳＡＭＢＡＭフォーマット、ＦＡＳＴＱフォーマット、又はＦＡＳＴＡフォーマットを有するものが挙げられる。しかし、データセットは、ＢＡＭＢＡＭフォーマットで、又はＢＡＭＢＡＭ　ｄｉｆｆオブジェクトとして（例えば、ＵＳ２０１２／００５９６７０Ａ１及びＵＳ２０１２／００６６００１Ａ１参照）提供されることが特に好ましい。更に、データセットは、患者及び腫瘍特異的な情報を取得するために、同じ患者の腫瘍及び対応する正常試料を反映していることに留意すべきである。こうして、腫瘍を引き起こさない遺伝子生殖細胞系の変質（例えば、サイレント変異、ＳＮＰ等）を排除できる。当然のことながら、腫瘍試料は、初発腫瘍由来、治療開始時の腫瘍由来、再発腫瘍又は転移部位由来等であり得ることが認識されるべきである。殆どの場合、患者の対応する正常試料は、血液、又は腫瘍と同じ組織型に由来する非患部組織とすることができる。

【００３６】
同様に、配列データの計算解析を多くの方法で行うことができる。しかし、最も好ましい方法では、ＢＡＭファイルとＢＡＭサーバを使用し、例えば、ＵＳ２０１２／００５９６７０Ａ１とＵＳ２０１２／００６６００１Ａ１に開示されているように、腫瘍試料と正常試料の位置誘導型同期アライメントによってコンピュータで解析を行う。このような解析によって、偽陽性ネオエピトープが有利に低減し、メモリ資源や計算資源の需要が大幅に抑制される。
【００３７】
コンピュータに関する言葉はいずれも、サーバ、インターフェース、システム、データベース、エージェント、ピア、エンジン、コントローラ、或いは他の個別に又は共同で作動する種類の計算装置を含む、計算装置の任意の適切な組合せを包含するように表示されることに留意すべきである。計算装置は、有形の非一時的なコンピュータ可読記憶媒体（例えば、ハードドライブ、ソリッドステートドライブ、ＲＡＭ、フラッシュ、ＲＯＭ等）に格納されているソフトウェア命令を実行するよう設定されたプロセッサを含むことが理解されるべきである。ソフトウェア命令は、後に本開示の装置に関して説明するように、計算装置が役割、責任、又は他の機能を提供するよう設定するのが好ましい。更に、開示された技術は、コンピュータベースのアルゴリズム、プロセス、方法又は他の命令の実行に関連した開示段階をプロセッサに実行させるソフトウェア命令を格納した非一時的なコンピュータ可読媒体を含むコンピュータプログラム製品として具体化することができる。特に好ましい実施形態では、様々なサーバ、システム、データベース又はインターフェースは、ＨＴＴＰ、ＨＴＴＰＳ、ＡＥＳ、官民キー交換、ウェブサービスＡＰＩ、既知の金融取引プロトコル、又は他の電子情報交換法に基づく可能性のある標準化プロトコル又はアルゴリズムを用いてデータを交換する。装置間でのデータ交換は、パケット交換網、インターネット、ＬＡＮ、ＷＡＮ、ＶＰＮ、又は他のタイプのパケット交換網、回路交換網、セル交換網、又は他の種類のネットワークを通じて実施することができる。
【００３８】
異なる観点から見ると、５～２５アミノ酸の所定長さを有し、少なくとも１種の変化したアミノ酸を含む患者及び癌特異的な配列のコンピュータでのコレクションを確立することができる。このようなコレクションには、典型的には変化したアミノ酸の各々について少なくとも２種、少なくとも３種、少なくとも４種、少なくとも５種又は少なくとも６種のメンバーが含まれており、その中で変化したアミノ酸の位置は同一ではない。後に詳述するように、次にこのようなコレクションを用いて更なるフィルタリング（例えば、細胞内位置、転写／発現レベル、ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩ親和性等による）を行うことができる。
【００３９】
癌の種類やステージにもよるが、特定されるネオエピトープの全てが必ずしも患者において治療上同等に有効な反応を引き起こすわけではないことに留意すべきである。実際、ごく一部のネオエピトープしか免疫応答を生じさせないことは当技術分野でよく知られている。治療に望ましい応答の可能性を高めるため、ネオエピトープを更にフィルターにかけることができる。当然のことながら、本明細書に記載の方法の目的のために、下流解析ではサイレント変異を考慮する必要がないことが理解されるべきである。しかし、好ましい変異解析によって、変異の種類（例えば、欠失、挿入、トランスバージョン、遷移、転位）に加えて、変異（例えば、ナンセンス、ミスセンス等）の影響に関する情報も得られるため、このような解析は、サイレント変異を排除する第１のコンテンツフィルターとして機能することができる。例えば、ネオエピトープを選択して、変異がフレームシフト変異、ナンセンス変異及び／又はミスセンス変異であるかどうか更に考慮することができる。
【００４０】
更なるフィルタリングアプローチでは、ネオエピトープを細胞内位置パラメータに関する詳細な解析に付すこともできる。例えば、ネオエピトープ配列を選択して、ネオエピト

ープが膜結合位置を有する（例えば、細胞の細胞膜の外側に位置する）ことを確認できるかどうか、及び／又は、コンピュータでの構造計算によってネオエピトープが溶媒曝露されやすい、又は構造的に安定なエピトープを提示する（例えば、Ｊ　Ｅｘｐ　Ｍｅｄ　２０１４）等を確認できるかどうか更に考慮することができる。

【００４１】

ネオエピトープのフィルタリングに関しては、オミクス（又は他の）解析によってネオエピトープが実際に発現していることが明らかである場合には、ネオエピトープを本明細書で使用するのが特に適していることが一般に企図される。ネオエピトープの発現と発現レベルの確認は、当技術分野で知られている全ての方法で行うことができ、好ましい方法としては、定量的ＲＮＡ（ｈｎＲＮＡ又はｍＲＮＡ）解析及び／又は定量的プロテオミクス解析が挙げられる。最も典型的には、ネオエピトープの封入に関する閾値レベルは、発現レベルが対応する正常配列の発現レベルの少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％又は少なくとも５０％であり、（ネオ）エピトープが免疫系で少なくとも潜在的に「目に見える」のが確実であるということである。従って、オミクス解析には遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）も含めて、変異を有する遺伝子の発現レベルを確認するのに役立たせることが一般に好ましい。

【００４２】

当技術分野では多くのトランスクリプトーム解析方法が知られており、全ての既知の方法が本明細書での使用に適していると考えられる。例えば、好ましい物質としてはｍＲＮＡ及び一次転写物（ｈｎＲＮＡ）が挙げられ、ＲＮＡ配列情報は逆転写のｐｏｌｙＡ$^{+}$－ＲＮＡから入手することができ、このｐｏｌｙＡ$^{+}$－ＲＮＡは同じ患者の腫瘍試料と対応する正常（健康）試料から得られる。同様に、ｐｏｌｙＡ$^{+}$－ＲＮＡはトランスクリプトームを表すものとして典型的には好ましいが、他の形態のＲＮＡ（ｈｎ－ＲＮＡ、非ポリアデニル化ＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ等）も本明細書での使用に適していると考えられることに留意すべきである。好ましい方法としては、定量的ＲＮＡ（ｈｎＲＮＡ又はｍＲＮＡ）解析及び／又は定量的プロテオミクス解析（特にＲＮＡｓｅｑを含む）が挙げられる。他の態様では、ＲＮＡ－ｓｅｑ、ｑＰＣＲ及び／又はｒｔＰＣＲに基づく方法を用いてＲＮＡ定量化及び配列決定を行うが、他の様々な方法（例えば、固相ハイブリダイゼーションに基づく方法）も適していると考えられる。別の観点から見ると、トランスクリプトーム解析は（単独で行うにしても、ゲノム解析と併用するにしても）、癌及び患者特異的な変異を有する遺伝子を特定、定量するのに適切となり得る。

【００４３】

同様に、プロテオミクス解析を多くの方法で行ってネオエピトープのＲＮＡの実際の翻訳を確認することができ、プロテオミクス解析の既知の方法は全て本明細書で企図される。しかし、特に好ましいプロテオミクス方法としては、抗体ベースの方法及び質量分析方法が挙げられる。更に、プロテオミクス解析によってタンパク質自体に関する定性的又は定量的情報が得られるだけでなく、タンパク質が触媒活性又は他の機能活性を有する場合には、プロテオミクス解析にタンパク質の活性データが含まれ得ることに留意すべきである。プロテオミクスアッセイを行うための技法の一例が米国特許第７，４７３，５３２号に記載されており、この特許は参照によって本明細書に組み込まれる。タンパク質発現を確認且つ定量化する更に適切な方法としては、様々な質量分光分析（例えば、選択反応モニタリング（ＳＲＭ）、多重反応モニタリング（ＭＲＭ）、及び連続反応モニタリング（ＣＲＭ））が挙げられる。従って、上述の方法によって患者及び腫瘍特異的ネオエピトープが得られ、このネオエピトープを、ネオエピトープを含むタンパク質の細胞内位置（例えば、膜位置）、発現強度（例えば、同じ患者の対応する正常発現と比較しての過剰発現）等によって更にフィルターにかけることができることが理解されるべきである。

【００４４】

フィルタリングの更に他の態様では、ネオエピトープを既知のヒト配列（例えば、患者又は複数の患者のコレクションのヒト配列）を含むデータベースと比較して、ヒト同一配列の使用を避けることができる。更に、患者のＳＮＰが腫瘍とそれに対応する正常配列の

両方に存在する場合には、このＳＮＰに起因するネオエピトープ配列の除去をフィルタリングに含めることもできる。例えば、ｄｂＳＮＰ（一塩基多型データベース）は、全米バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）が米国立ヒトゲノム研究所（ＮＨＧＲＩ）と共同で開発及び主催する、異なる種内及び種間での遺伝的変異に関する無料の公的アーカイブである。このデータベースの名称は、１種類の多型のコレクションのみを暗示する（一塩基多型（ＳＮＰ））が、実際には比較的広範囲の分子変異、即ち、（１）ＳＮＰ、（２）短い欠失及び挿入の多型（インデル／ＤＩＰ）、（３）マイクロサテライトマーカー又は短いタンデム反復（ＳＴＲ）、（４）多塩基多型（ＭＮＰ）、（５）ヘテロ接合配列、及び（６）名称付けられた変異体が含まれる。ｄｂＳＮＰは、明らかな中立多型、既知の表現型に対応する多型、及び変異のない領域を受け入れている。このようなデータベースと上述の他のフィルタリング選択肢を用い、患者及び腫瘍特異的ネオエピトープをフィルターにかけて既知の配列を除去し、偽陽性が実質的に低い複数のネオエピトープ配列を有する配列セットを得ることができる。

【００４５】

しかし、フィルタリングにもかかわらず、全てのネオエピトープが免疫系で目に見えるわけではないため、ネオエピトープを患者のＭＨＣ複合体上に提示させる必要もあることが認識されるべきである。実際、ごく一部のネオエピトープしか提示に十分な親和性を有しておらず、様々なＭＨＣ複合体は、通常のネオエピトープの全てではないが、その殆どの使用を妨げている。従って、免疫療法の背景において、ネオエピトープがＭＨＣ複合体に結合し、ＭＨＣ複合体によって提示される場合には、ネオエピトープが有効となる可能性が高くなることが容易に明らかであろう。別の観点から見ると、チェックポイント阻害剤を用いて治療を成功させるには、複数のネオエピトープをＭＨＣ複合体を介して提示させる必要があり、ネオエピトープは患者のＨＬＡ型に対して最小限の親和性を有していなければならない。従って、有効な結合と提示は、ネオエピトープの配列と患者の特定のＨＬＡ型の複合機能であることが理解されるべきである。最も典型的には、ＨＬＡ型の確認には、少なくとも３種のＭＨＣ－Ｉサブタイプ（例えば、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ）と少なくとも３種のＭＨＣ－ＩＩサブタイプ（例えば、ＨＬＡ－ＤＰ、ＨＬＡ－ＤＱ、ＨＬＡ－ＤＲ）が含まれ、好ましくは、各サブタイプは少なくとも２桁の深度又は少なくとも４桁の深度まで確認される。しかし、より大きい深度（例えば、６桁、８桁）も本明細書で企図される。ＨＬＡの確認は、当技術分野で周知の様々な湿式化学方法を用いて行うことができ、これらの方法は全て本明細書での使用に適していると考えられる。或いは、ＰＣＴ／ＵＳ１６／４８７６８に示されるように、既知のＨＬＡ型及び／又は通常のＨＬＡ型の大部分又は全てを含む参照配列を用いたコンピュータでの患者のオミクスデータからＨＬＡ型を予測することもできる。

【００４６】

一旦患者のＨＬＡ型が（既知の化学的な又はコンピュータでの確認によって）特定されれば、ＨＬＡ型の構造解を計算又はデータベースから入手した後、それをコンピュータでのドッキングモデルに用いて、ＨＬＡ構造解に対する（典型的にはフィルターにかけた）ネオエピトープの結合親和性を求める。結合親和性を求めるのに適したシステムとしては、ＮｅｔＭＨＣプラットフォーム（例えば、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２００８ Ｊｕｌ １；３６（Ｗｅｂ Ｓｅｒｖｅｒ ｉｓｓｕｅ）：Ｗ５０９－Ｗ５１２．参照）が挙げられる。次に、予め確認したＨＬＡ型に対して高親和性（例えば、１００ｎＭ未満、７５ｎＭ未満、５０ｎＭ未満）を有するネオエピトープを選択し、ＭＨＣ－Ｉ／ＩＩサブタイプに関する知見と併せて療法の創出を行う。

【００４７】

より具体的には、一旦患者及び腫瘍特異的ネオエピトープとＨＬＡ型が特定されれば、ネオエピトープをＨＬＡにドッキングさせ、例えば、ＮｅｔＭＨＣを用いて最良のバインダー（例えば、最小K_D値、例えば、５００ｎＭ未満、又は２５０ｎＭ未満、又は１５０ｎＭ未満、又は５０ｎＭ未満）を求めることによって計算解析を行うことができる。当然のことながら、ＮｅｔＭＨＣ以外のシステムを用いて患者のＨＬＡ型を患者及び癌特異的

ネオエピトープにマッチさせることができ、適切なシステムとしては、ＮｅｔＭＨＣＩＩ、ＮｅｔＭＨＣｐａｎ、ＩＥＤＢ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｒｅｓｏｕｒｃｅ（ＵＲＬ ｉｍｍｕｎｅｅｐｉｔｏｐｅ．ｏｒｇ）、ＲａｎｋＰｅｐ、ＰＲＥＤＥＰ、ＳＶＭＨＣ、Ｅｐｉｐｒｅｄｉｃｔ、ＨＬＡＢｉｎｄｉｎｇ及びその他（例えば、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０１１；３７４：１－４参照）が挙げられることも理解されるべきである。

【００４８】

最も高い親和性を計算する上で、変化したアミノ酸の位置が移動しているネオエピトープ配列のコレクション（上述参照）を使用できることに留意すべきである。或いは、又は更には、Ｎ末端及び／又はＣ末端の改変を追加してネオエピトープに対する改変を行って、患者のＨＬＡ型への発現ネオエピトープの結合を更に高めることができる。従って、ネオエピトープは特定された天然体であってもよく、更に改変して特定のＨＬＡ型とより良くマッチさせてもよい。更に、必要に応じて、対応する野生型配列（即ち、アミノ酸変化のないネオエピトープ配列）の結合を計算して高い差異親和性を確保することができる。例えば、ネオエピトープとそれに対応する野生型配列とのＭＨＣ結合における特に好ましい高い差異親和性は、少なくとも２倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも１００倍、少なくとも５００倍、少なくとも１０００倍等である）。

【００４９】

このようなアプローチによって患者及び腫瘍に対して真性である特定のネオエピトープが確認されるだけでなく、このようなネオエピトープが細胞上に提示される可能性が最も高く、よって、治療効果を伴う免疫応答を引き起こす可能性が最も高いことも認識されるべきである。当然のことながら、更に後述するように、ペイロードとしてのエピトープをコードする核酸をウイルスに封入する前に、こうして特定されたＨＬＡ適合性ネオエピトープをインビトロで生化学的に検証できることも理解されるべきである。更に、ネオエピトープのＨＬＡマッチングによって、ＭＨＣ－Ｉ提示及び／又はＭＨＣ－ＩＩ提示に対してネオエピトープ配列を意図的に標的化することができ、次にＣＤ８＋Ｔ細胞とＣＤ４＋Ｔ細胞の活性化に対して免疫応答を制御することができる（液性免疫応答と細胞性免疫応答とのバランスに少なくともある程度の影響を及ぼす）ことが理解されるべきである。例えば、特定のネオエピトープがＭＨＣ－Ｉ経路による提示を介する有効な免疫応答を引き起こさない場合には、このネオエピトープを代替的（又は追加的に）ＭＨＣ－ＩＩ経路による提示に標的化することができる。更に、ネオエピトープの発現を１種の提示系に対して排他的又は支配的（例えば、全ネオエピトープの少なくとも５０％、又は６０％、又は７０％、又は８０％）に向けることが企図される。例えば、細胞性免疫応答（例えば、Ｔ細胞応答によるＡＤＣＣ）がより望ましい場合には、ＭＨＣ－Ｉ提示に対して提示を行うことができる。一方、液性応答（例えば、抗体／補体応答）がより望ましい場合には、ＭＨＣ－ＩＩ提示に対して提示を行うことができる。

【００５０】

こうして特定且つ発現したネオエピトープを所望のＭＨＣ系に送ることに関して、ＭＨＣ－Ｉ提示ペプチドは典型的には、小胞体経由のプロテアソーム処理と送達を介して細胞質から生じることが理解されるべきである。従って、後で更に詳述するように、ＭＨＣ－Ｉ提示を対象とするエピトープの発現は一般に細胞質に向けられる。一方、ＭＨＣ－ＩＩ提示ペプチドは典型的には、細胞膜への送達前に酸性プロテアーゼ（例えば、レグマイン、カテプシンＬ及びカテプシンＳ）による分解と処理を介してエンドソーム区画とリソソーム区画から生じる。従って、後で詳述するように、ＭＨＣ－ＩＩ提示を対象とするエピトープの発現は一般にエンドソーム区画とリソソーム区画に向けられる。

【００５１】

好ましい態様では、エンドソーム区画とリソソーム区画への輸送又は細胞質空間内への保持のためにシグナルペプチドを用いることができる。例えば、ペプチドがエンドソーム区画とリソソーム区画に搬出される場合には、選択した標的プレ配列と内部標的ペプチドを用いることができる。標的ペプチドのプレ配列は好ましくはＮ末端に付加され、典型的

には６～１３６個の塩基性及び疎水性アミノ酸を含む。ペルオキシソーム標的化の場合、標的配列はＣ末端に存在することができる。他のシグナル（例えば、シグナルパッチ）を用いることができ、このシグナルには、ペプチド配列では離れており、適切なペプチドフォールディングの際に機能的になる配列要素を含むことができる。また、グリコシル化のようなタンパク質改変によって標的化を誘発することができる。他の適切な標的シグナルの内、本発明者らは、ペルオキシソーム標的シグナル１（ＰＴＳ１）、Ｃ末端トリペプチド、及び、Ｎ末端付近に位置するノナペプチドであるペルオキシソーム標的シグナル２（ＰＴＳ２）を企図する。また、エンドソームとリソソームへのタンパク質の局在化は、典型的には短い直鎖状配列を含むタンパク質の細胞質ドメイン内のシグナルによって媒介することもできる。一部のシグナルはチロシンベースの局在化シグナルと称され、ＮＰＸＹ又はＹＸＸΦコンセンサスモチーフに従う。ジロイシンベースのシグナルとして知られる他のシグナルは、［ＤＥ］ＸＸＸＬ［ＬＩ］又はＤＸＸＬＬコンセンサスモチーフに適合する。これらのシグナルは全て、膜の細胞質表面の周囲に結合したタンパク質コートの成分によって認識される。ＹＸＸΦシグナルと［ＤＥ］ＸＸＸＬ［ＬＩ］シグナルは、アダプタータンパク質（ＡＰ）複合体ＡＰ－１、ＡＰ－２、ＡＰ－３及びＡＰ－４によって特徴的な細かい特異性で認識され、ＤＸＸＬＬシグナルはＧＧＡとして知られる別のアダプターファミリーによって認識される。液胞タンパク質局在化とエンドソーム機能に関連しているＦＹＶＥドメインを付加することもできる。更なる態様では、ヒトＣＤ１尾部配列を用いてエンドソーム区画を標的化することもできる（例えば、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１２２，５２２－５３１参照）。

【００５２】

細胞質区画への輸送又は細胞質区画内での保持に１種以上の特定の配列要素が必ずしも必要というわけではない。しかし、少なくとも一部の態様では、膜アンカータンパク質又は膜アンカータンパク質の膜アンカードメインを含むＮ末端又はＣ末端細胞質保持シグナルを付加することができる。例えば、膜アンカータンパク質としては、ＳＮＡＰ－２５、シンタキシン、シナプトプレビン、シナプトタグミン、小胞結合膜タンパク質（ＶＡＭＰ）、シナプス小胞糖タンパク質（ＳＶ２）、高親和性コリン輸送体、ニューレキシン、電位開口型カルシウムチャネル、アセチルコリンエステラーゼ及びＮＯＴＣＨが挙げられる。

【００５３】

ＭＨＣ－Ｉ系及び／又はＭＨＣ－ＩＩ系へのタンパク質の特異的な標的化に加え、処理と提示の更なる向上は、細胞内でタンパク質代謝回転を促進するのに役立つ１種以上のシグナルによって、例えば、組換え抗原又はネオエピトープのＮ末端アミノ酸の適切な選択によって行うことができることが理解されるべきである。例えば、代謝回転を高めるため、Ｎ末端アミノ酸が不安定化アミノ酸であり得ることが企図される。従って、適切なＮ末端アミノ酸としては特にＡｒｇ、Ｈｉｓ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｌｙｓ、Ｐｈｅ、Ｔｒｐ及びＴｙｒが挙げられ、ある程度にはＡｓｎ、Ａｓｐ、Ｇｌｎ及びＧｌｕも挙げられる。ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩ提示経路を標的とするペプチドにこのようなアミノ酸を付加することができる。また、タンパク質末端のユビキチン（好ましくは切断不可能なリンカーに結合している）を用いてタンパク質代謝回転を高めることもできることが理解されるべきである。

【００５４】

従って、適切なシグナル配列でペプチドを適切な区画へ向かわせ、必要に応じて不安定化Ｎ末端アミノ酸でペプチドを改変することは、抗原の処理と提示を高めるのに役立ち、これによって、最終的には抗原カスケードとエピトープ伝播が引き起こされることにもなる。

【００５５】

当然のことながら、１種を超える腫瘍関連抗原が組換え核酸にコードされ得ること、また、複数の抗原の配置が大幅に変わり得ることが認識されるべきである。例えば、企図される転写又は翻訳ユニットは複数のエピトープのコンカテマー状の配置を有することがで

き、典型的には短いリンカー（例えば、４～２０個のアミノ酸を有する可動性リンカー）で分離されており、プロテアーゼ切断部位を更に含むことができる。特に適切なリンカー配列の設計は、リンカー並びにリンカーと腫瘍関連抗原との間の融合部分が患者内に通常存在するタンパク質配列を形成しないように行う。このようなコンカテマーは、１～２０個のネオエピトープ（典型的には、ウイルスを介して送達することができる組換え核酸のサイズによって制限される）を有することができ、コンカテマーは、ＭＨＣ－Ｉ及びＭＨＣ－ＩＩ複合体への送達に関して同一であってもよく、異なっていてもよいことに留意すべきである。従って、様々なペプチドを特定の細胞区画へ送って、ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩを介した優先的又は特異的な提示を得ることができることが理解されるべきである。別の観点から見ると、腫瘍関連抗原とネオエピトープの提示は、両方の提示経路を介して又はいずれかの経路に対して選択的に行われ、同時に又は以降の複数回の治療で行われ得ることが認識されるべきである。

【００５６】

更に、ウイルス組換え核酸が少なくとも１種、より典型的には少なくとも２種、更に典型的には少なくとも３種、最も典型的には少なくとも４種の共刺激分子もコードし、感染樹状細胞とＴ細胞との相互作用を高めることが好ましい。例えば、適切な共刺激分子としては、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ及びＬＦＡ－３（ＣＤ５８）が挙げられ、特にＢ７．１（ＣＤ８０）及び／又はＢ７．２（ＣＤ８６）との組み合わせが挙げられる。更に企図される共刺激分子としては、４－１ＢＢＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ４８、ＣＤ７０、ＣＤ１１２、ＣＤ１５５、ＧＩＴＲＬ、ＯＸ４０Ｌ及びＴＬ１Ａが挙げられる。更に、共刺激分子の発現を協調させて、抗原及び／又はネオエピトープが１種以上の共刺激分子の発現と共に提示されるようにするのが好ましいことが理解されるべきである。従って、配列内リボソーム進入部位又は２Ａ配列を用いて単一の転写物から共刺激分子を作出するか、又は複数の転写物から共刺激分子を作出することが典型的には企図される。

【００５７】

免疫原性を高める刺激因子の更なる例としては以下のものが挙げられる。（ａ）ＣＤ２７及びＣＤ７０：陽性アゴニストＣＤ２７及び／又はＴ細胞上でのＣＤ２７のＣＤ７０との相互作用を模倣する生体内因子（例えば、抗体、リガンド等）、（ｂ）ＣＤ４０及びＣＤ４０Ｌ：陽性アゴニストＣＤ４０及び／又はＴ細胞上でのＣＤ４０のＣＤ４０Ｌとの相互作用を模倣する生体内因子、（ｃ）ＯＸ４０Ｌ及びＯＸ４０：陽性アゴニストＯＸ４０Ｌ及び／又はＴ細胞上でのＯＸ４０ＬのＯＸ４０との相互作用を模倣する生体内因子、（ｄ）ＧＩＴＲＬ及びＧＩＴＲ：陽性アゴニストＧＩＴＲＬ及び／又はＴ細胞上でのＧＩＴＲＬのＧＩＴＲとの相互作用を模倣する生体内因子、（ｅ）ＩＬ－２及びＣＤ１２２：陽性アゴニストＩＬ－２及び／又はＴ細胞上でのＩＬ－２のＩＬ－２受容体との相互作用を模倣する生体内因子（例えば、ＣＤ１２２等）、（ｆ）ＣＤ１３７又はＴ細胞に対するＣＤ１３７活性を模倣する抗体、及び（ｇ）ＩＣＯＳＬ及びＩＣＯＳ：陽性アゴニストＩＣＯＳＬ及び／又はＴ細胞上でのＩＣＯＳＬのＩＣＯＳとの相互作用を模倣する生体内因子。

【００５８】

更に、どの共刺激分子の発現もチェックポイント阻害を妨害する他のどのタンパク質の発現とも組み合わせることができることは認識されるべきである。例えば、共刺激タンパク質ＣＤ２８の発現をＣＴＬＡ－４の阻害剤の発現と組み合わせることができる。本出願人は、更なる刺激因子又は阻害因子がウイルスのペイロードによって影響され得ることを更に企図する。ウイルスは、自然免疫応答を模倣するように調整できるペイロードを含むことができる。例えば、Ｔ細胞を刺激するのに役立つアゴニスト（例えば、ＣＤ２８の模倣）を有する第１のウイルスを患者に投与することができる。アンタゴニスト（例えば、ＣＴＬＡ－４の阻害剤）を有する第２のウイルスをその後に患者に投与することができ、これによって阻害応答を防ぐ。送達の順序を変えることができることも企図される。更に、刺激因子と阻害因子の両方を支持するように単一ウイルスを構築することができる。或

いは、共刺激分子を腫瘍関連抗原と同時発現させることができる一方、チェックポイント阻害剤を（皮下に）注射することができる。

【００５９】

従って、組換えウイルスが、チェックポイント受容体に結合する１種以上のペプチドリガンドをコードする配列部分を更に含むことも企図される。最も典型的には、受容体を介したシグナル伝達が結合によって阻害又は少なくとも抑制され、特に企図される受容体としては、ＣＴＬＡ－４（特にＣＤ８＋細胞に対する）及びＰＤ－１（特にＣＤ４＋細胞に対する）が挙げられる。例えば、ペプチドバインダーは抗体断片（特にｓｃＦｖ）を含むことができるが、受容体に特異的に結合する小分子ペプチドリガンドを含むこともできる。もう一度繰り返すと、ペプチド分子の発現を協調させて、抗原及び／又はネオエピトープが１種以上のペプチド分子と共に提示されるようにするのが好ましいことが理解されるべきである。従って、配列内リボソーム進入部位又は２Ａ配列を用いて単一の転写物からペプチド分子を作出するか、又は複数の転写物からペプチド分子を作出することが典型的には企図される。

【００６０】

適切に構築したウイルスによって増強され得る阻害因子の更なる例としては、以下のものが挙げられると考えられる。（ａ）Ｔ細胞活性化のＣＤ２７６／Ｂ７－Ｈ３阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド、（ｂ）Ｔ細胞活性化のＢ７－Ｈ４／ＶＴＣＮ１阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド、（ｃ）Ｔ細胞活性化のＣＤ２７２／ＨＶＥＭ阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド、（ｄ）Ｔ細胞活性化のＬＡＧ３阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、ＭＨＣ－ＩＩ等）、（ｅ）Ｔ細胞活性化のＰＤ－１阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、ＰＤ－Ｌ１）、（ｆ）Ｔ細胞活性化のＣＴＬＡ－４阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、生体内因子、可溶ＣＤ２８等）、（ｇ）Ｔ細胞活性化のＴＩＭ－３阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、ガレクチン－９、生体内因子、抗体等）、（ｈ）Ｔ細胞活性化のＶＩＳＴＡ阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、抗体等）、及び（ｉ）ＮＫ細胞のＭＩＣ阻害を阻害する天然由来又は改変リガンド（例えば、抗体、生体内因子等）。

【００６１】

最も典型的には、組換え遺伝子の発現は恒常的活性型調節配列から生じる。しかし、本発明の主題の他の態様では、調節配列は誘導可能であり、好ましくは癌性組織又は合成誘導因子に対して内因性の１種以上の調節シグナルを用いて選択的に誘導可能である。例えば、合成誘導因子又は天然由来の誘導因子を適切な応答要素と共に用いて誘導可能な発現を行うことができる。殆どの場合、転写物がＩＲＥＳ（配列内リボソーム進入部位）又は２Ａ配列（切断可能な２Ａ様ペプチド配列）を含み、腫瘍関連抗原、共刺激分子及び／又はチェックポイント阻害剤の協調的発現を再び可能にさせることが更に好ましい。

【００６２】

従って、企図されるシステムと方法を用い、抗原提示細胞（特に樹状細胞）内で１種以上の腫瘍関連抗原と共刺激分子を発現させて免疫療法を行うことができ、チェックポイント阻害の阻害剤（抗原提示細胞内で同等に発現し得る）の存在下で更に行われることが理解されるべきである。このような協調事象は、特に特定のＭＨＣ提示を対象とする場合に適応免疫応答を高めると考えられており、この応答は細胞成分（特にＮＫ細胞）の投与によって更に補完することができる。

【００６３】

容易に理解されるように、腫瘍関連抗原、共刺激分子及び／又はチェックポイント阻害剤は、ＤＮＡワクチン又はＲＮＡとして投与可能な組換え核酸にコードされるが、組換え核酸がウイルスゲノムの一部であることが一般に好ましい。次にこうして遺伝子改変したウイルスを遺伝子療法で周知なように用いることができる。従って、組換えウイルスに関しては、組換えウイルスを作出する既知の方法は全て本明細書での使用に適していると考えられるが、特に好ましいウイルスは既に療法で確立されているものであり、例えば、アデノウイルスやアデノ随伴ウイルス、アルファウイルス、ヘルペスウイルス、レンチウイ

ルス等であることが企図される。他の適切な選択肢の内、アデノウイルスが特に好ましい。

【００６４】

また、ウイルスが複製欠損性の非免疫原性ウイルスであることが更に一般に好ましいが、これは典型的には、選択したウイルスタンパク質（例えば、Ｅ１タンパク質、Ｅ３タンパク質）の標的欠失によって得られる。このような望ましい特性はＥ２ｂ遺伝子機能を欠失させて更に向上させることができ、既に報告されているように（例えば、Ｊ　Ｖｉｒｏｌ．１９９８　Ｆｅｂ；７２（２）：９２６－９３３）、遺伝子改変ヒト２９３細胞を用いて組換えウイルスの高い力価を得ることができる。上述のように、所望の核酸配列（ウイルス感染細胞からの発現用）は当技術分野で周知の適切な調節要素の制御下にある。従って、上述に鑑みて、本明細書に記載の組成物と方法がウイルス発現抗原をＭＨＣ系のいずれか（又は両方）に特異的に向かわせるのに適しているだけではなく、この組成物と方法によって、様々な共刺激分子（例えば、ＩＣＡＭ－１（ＣＤ５４）、ＩＣＯＳ－Ｌ、ＬＦＡ－３（ＣＤ５８）、及びＢ７．１（ＣＤ８０）及びＢ７．２（ＣＤ８６）の少なくとも１種）の封入を介し、また、チェックポイント阻害剤の分泌又は膜結合提示を介してＣＤ８＋細胞及び／又はＣＤ４＋細胞への刺激作用が高まることも理解されるべきである。

【００６５】

次にこうして作出した組換えウイルスを個別に又は組み合わせて医薬組成物中の治療ワクチンとして用いることができるが、典型的には、投与単位当たり10^{4}～10^{11}個のウイルス粒子のウイルス力価を有する滅菌注射用組成物として処方する。しかし、別の処方も本明細書での使用に適していると考えられ、既知の投与経路及び投与方法の全てが本明細書に企図される。本明細書で使用される、医薬組成物又は薬物を「投与する」という用語は、医薬組成物又は薬物の直接投与と間接投与の両方を意味し、医薬組成物又は薬物の直接投与は医療専門家（例えば、医師や看護師等）によって典型的に行われ、間接投与には、医薬組成物又は薬物を医療専門家に用意又は提供して直接投与（例えば、注射、点滴、経口送達、局所送達等を介する）に備える段階が含まれる。最も好ましくは、組換えウイルスを皮下注射によって投与する。しかし、他の企図される態様では、投与は静脈内注射であってもよい。或いは、又は更には、抗原提示細胞を患者の細胞から単離又は増殖させ、インビトロで感染させた後、患者に注入することができる。

【００６６】

また、特に組換えウイルスがチェックポイント受容体を標的にするペプチドをコードする核酸配列を含まない場合には、組換えウイルスの予防的又は治療的投与は１種以上のチェックポイント阻害剤との同時投与を伴うことができることが企図される。例えば、特に好ましいチェックポイント阻害剤としては、現在入手可能な阻害剤（例えば、ペンブロリズマブ、ニボルマブ、イピリムマブ）が挙げられ、これらの阻害剤はウイルスベクターの皮下投与部位又はその付近に（最も好ましくは）皮下投与される。

【００６７】

従って、組換えウイルスは皮層中の樹状細胞と他の抗原提示細胞に送達され、ＭＨＣ－Ｉ及び／又はＭＨＣ－ＩＩ経路を介して提示されるため、免疫系による処理によってＣＤ８＋細胞とＣＤ４＋細胞の両方が刺激され、その結果、IgG_1形成用の養成Ｂ細胞、Ｔ細胞が形成されると共に、養成ＮＫ細胞とそれに対応する免疫記憶細胞が形成されることが認識されるべきである。また、IgG_1分子はＮＫ細胞による腫瘍特異的作用も可能にすることに留意すべきである。

【００６８】

従って、自己ＮＫ細胞又は異種ＮＫ細胞（特に、阻害をあまり示さないように遺伝子改変されたＮＫ細胞）の患者への注入も治療に含まれることが好ましいことが企図される。例えば、遺伝子改変ＮＫ細胞は、少なくとも１種のキラー細胞免疫グロブリン様受容体（ＫＩＲ）の発現が低下又は消失するように改変されたＮＫ－９２誘導体とすることができ、これによってこのような細胞が恒常的に活性化される。当然のことながら、１種以上のＫＩＲ（例えば、ＫＩＲ２ＤＬ１、ＫＩＲ２ＤＬ２、ＫＩＲ２ＤＬ３、ＫＩＲ２ＤＬ４、

ＫＩＲ２ＤＬ５Ａ、ＫＩＲ２ＤＬ５Ｂ、ＫＩＲ２ＤＳ１、ＫＩＲ２ＤＳ２、ＫＩＲ２ＤＳ３、ＫＩＲ２ＤＳ４、ＫＩＲ２ＤＳ５、ＫＩＲ３ＤＬ１、ＫＩＲ３ＤＬ２、ＫＩＲ３ＤＬ３及びＫＩＲ３ＤＳ１）を欠失させることができ、又はその発現を抑制することができる（例えば、ｍｉＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ等を介して）ことに留意すべきである。このような改変細胞は当技術分野で周知のプロトコルを用いて調製することができる。或いは、このような細胞はＮａｎｔＫｗｅｓｔからａＮＫ細胞（活性化ナチュラルキラー細胞）として商業的に入手することもできる。更に後述するように、次にこのような細胞を更に改変させて共刺激分子を発現させることができる。また、本明細書での使用に適した企図されるＮＫ細胞としては、ＴｒｅｇやＭＤＳＣに対する活性化シグナルであるＮＫＧ２Ａの発現が消失又は停止したものも挙げられる。

【００６９】

本発明の主題の他の好ましい態様では、遺伝子改変ＮＫ細胞は高親和性Ｆｃγ受容体（ＣＤ１６）を発現するように改変されたＮＫ－９２誘導体とすることもできる。Ｆｃγ受容体の高親和性変異体の配列は当技術分野で周知であり、発生及び発現の方法は全て本明細書での使用に適していると考えられる。本明細書で企図される治療に反応して患者によって生じる抗体、又は治療用抗体として供給される抗体が患者の腫瘍細胞（例えば、ネオエピトープ）、特定の腫瘍型（例えば、ｈｅｒ２ｎｅｕ、ＰＳＡ、ＰＳＭＡ等）又は癌に関連する抗原（例えば、ＣＥＡ－ＣＡＭ）に対して特異的な場合には、上述の受容体の発現によって、これらの抗体を用いた腫瘍細胞の特異的な標的化が可能になると考えられる。好都合なことに、このような細胞はＮａｎｔＫｗｅｓｔからｈａＮＫ細胞（高親和性ナチュラルキラー細胞）として商業的に入手することができ、その後更に改変する（例えば、上述の共刺激分子を発現させる）ことができる。

【００７０】

或いは、遺伝子改変ＮＫ細胞はキメラＴ細胞受容体を発現させるように遺伝子改変することもできる。特に好ましい態様では、キメラＴ細胞受容体は、腫瘍関連抗原、腫瘍特異的抗原及び／又はネオエピトープに対して結合特異性を有するｓｃＦｖ部分又は他の外部ドメインを有する。上述のように、このような細胞はＮａｎｔＫｗｅｓｔからｔａＮＫ細胞（標的活性化ナチュラルキラー細胞）として商業的に入手することができ、必要に応じて更に改変することができる。このような細胞が癌関連抗原又はネオエピトープに対して親和性を有するように改変されたキメラＴ細胞受容体を有する場合には、既知の癌関連抗原及びネオエピトープの全てが使用に適すると考えられることが企図される。例えば、腫瘍関連抗原としては、ＣＥＡ、ＭＵＣ－１、ＣＹＰＢ１、ＰＳＡ、Ｈｅｒ－２、ＰＳＡ、ブラキュリ等が挙げられる。

【００７１】

更に、本明細書で企図される組成物と方法には、ＮＫ細胞以外の（又はＮＫ細胞に追加される）細胞を用いた細胞ベースの治療も含まれることに留意すべきである。例えば、適切な細胞ベースの治療としてはＴ細胞ベースの治療が挙げられる。他の選択肢の内、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞等）に関連する１個以上の特徴が検出できることが企図される。より具体的には、ＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ試験によって特定のネオエピトープ（例えば、ＭＨＣ　Ｉに対する８量体～１２量体、ＭＨＣ　ＩＩに対する１２量体～２５量体等）を得ることができ、このネオエピトープを用いて、ネオエピトープ／ＭＨＣタンパク質複合体に対して特異的なＴ細胞受容体を有するネオエピトープ反応性Ｔ細胞を特定することができる。従って、企図される方法はネオエピトープ反応性Ｔ細胞を回収することを含むことができる。回収したＴ細胞をエクスビボで増殖又は伸長させて患者への再導入に備えることができる。或いは、回収したＴ細胞中のＴ細胞受容体遺伝子を単離し、ウイルス又は他の養子細胞療法系（例えば、ＣＡＲ－Ｔ、ＣＡＲ－ＴＡＮＫ等）に導入することができる。ネオエピトープの他に、ＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ試験によって１種以上の腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）も得ることができる。従って、この試験で特定されるＴＡＡに対して高感度な受容体を有するＴ細胞を回収することもできる。これらをエクスビボで増殖又は培養して上述同様の治療方法に用いることもできる。Ｔ細胞の特定は、ペプチ

ドの合成版を作出し、それを商業的に作出したＭＨＣタンパク質又はＭＨＣ様タンパク質に結合させた後、このエクスビボ複合体を標的Ｔ細胞に結合させて行うことができる。回収したＴ細胞には、疾患に対する患者の免疫応答によって活性化されたＴ細胞、疲弊Ｔ細胞、又は上述の特徴に反応する他のＴ細胞が含まれ得ることを理解すべきである。

【００７２】

疲弊Ｔ細胞は幾つかの異なる方法で再活性化することができる。１つの方法では、回収した疲弊Ｔ細胞にサイトカイン（例えば、ＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５等）を外部から添加して細胞を再活性化させる。次に再活性化したＴ細胞を患者に再導入することができ、チェックポイント阻害剤（例えば、イピリムマブ等）と併せて再導入してもよい。別の方法は、チェックポイント阻害を遮断して疲弊を防ぐことであり、これは、標的ネオエピトープと共に適切な阻害剤（例えば、ＬＡＧ３等）を有する調整済ウイルスを投与することによって行うことができる。

【００７３】

本出願人は、患者のバルク白血球（ＷＢＣ）をＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ試験から発見されたペプチド（例えば、ＴＡＡ、ネオエピトープ等）と共に培養できることを更に理解している。このようなアプローチによって、バルクＷＢＣ中の抗原提示細胞による所望のＭＨＣ／ネオエピトープ複合体の産生が期待される。従って、患者のマクロファージ、樹状細胞及びＢ細胞がＮＫ細胞とＴ細胞に指示を与え、これらの細胞は患部組織を標的にする所望の特性を獲得するようになる。

【００７４】

更に他の興味深い考察は、患者の免疫応答において腸バイオームが持つ影響に関する。企図される本発明の主題はマイクロバイオーム産生エピトープを特定する方法も含み、このエピトープは調節性又は免疫抑制性免疫応答を引き起こすことが予測される。特定されたエピトープのセットは、ＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ試験によって発見されたネオエピトープのセットから除去することができる。マイクロバイオーム由来のエピトープと類似したネオエピトープは患部組織を標的にする上であまり有用でないと考えられるが、その理由としては、患者の体がこのような類似ペプチドに対して既に耐性を持っている可能性があると思われるためである。

【００７５】

腸バイオームが疾患に対する患者の免疫応答に影響を及ぼし得ることに鑑み、本出願人は、抗生物質が腸マイクロバイオームを標的にする場合に、その抗生物質を患者に投与して患者を治療する方法を更に企図する。例えば、抗生物質を患者に投与して抑制性Ｔ細胞（例えば、アップレギュレートＴｈ２、Ｔｈ１７及び調節性Ｔ細胞）を引き起こすマイクロバイオームの要素を阻害又は抑制すると共に上述の免疫療法へ導入することができる。他の実施形態では、マイクロバイオームの要素を阻害又は抑制する食事を患者に処方することができる。

【００７６】

更に他の考察は、ＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ（商標）試験又はコンパニオン診断として参照された単一試験としての包括的な「オミクス」試験を本出願人が開発したことである。この単一試験によって、患者の患部組織の状態に関する多くの洞察が得られるが、その例としては以下の種類の情報、特に全ゲノム配列、ＲＮＡ、ＲＮＡｓｅｑ、プロテオミクス、発現レベル、及びネオエピトープが挙げられる。これらの結果は患者特異的であると共に疾患特異的であることが理解されるべきである。更に、これらの結果によって、疾患を標的にする様々な療法に関する患者特異的及び疾患特異的なガイダンスが得られる。例えば、この結果は、高度な個別化治療を創出する以下の療法、即ち、化学療法、モノクローナル抗体療法、抗体療法、小分子療法、免疫療法、腫瘍関連抗原を対象とした療法、又は任意の療法の組み合わせの一種以上に影響を及ぼし得る。より具体的には、ゲノム配列によって最適となり得る化学療法の種類に関する情報を得ることができ、ネオエピトープによって、患者に投与した際に上述の疾患に対する患者の免疫応答を増強する１種以上のウイルスの構築に関する情報が得られる。ある実施形態では、単一ＧＰＳ　Ｃａｎｃｅｒ試験

を経時的に反復して行うことができる。次に各試験の結果を個別化療法の変更に反映させて患者の疾患により合わせることができる。

【００７７】

本明細書の説明、及び以下の特許請求の範囲全体を通して使用される「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」の意味は、文脈上明らかに他の意味に解すべき場合を除き、複数の指示対象を包含する。また、本明細書の説明で使用される「ｉｎ」の意味は、文脈上明らかに他の意味に解すべき場合を除き、「ｉｎ」及び「ｏｎ」を包含する。更に本明細書では、文脈上他の意味に解すべき場合を除き、用語「ｃｏｕｐｌｅｄ　ｔｏ」は、直接結合（互いに結合される２個の要素が互いに接触する）と間接結合（少なくとも１個の追加的要素がその２個の要素の間に位置している）の両方を包含することを意図する。従って、用語「ｃｏｕｐｌｅｄ　ｔｏ」と「ｃｏｕｐｌｅｄ　ｗｉｔｈ」は同意語として使用される。最後に、文脈が反対であることを示さない限り、本明細書中に記載の範囲は全て、その範囲の端点を含んでいると解釈されるべきであり、またオープンエンドの範囲は商業上実用的な値を含むように解釈されるべきである。同様に、値の一覧は全て、文脈が反対であることを示さない限り、中間の値を含んでいるとみなされるべきである。

【００７８】

既に記載されたもの以外の多くの更なる変更が本明細書中の発明概念から逸脱することなく可能であることは、当業者には明白なはずである。従って、本発明の主題は、添付の特許請求の範囲の範囲内であることを除いて制限されるべきではない。更に、明細書と特許請求の範囲の両方を解釈する上で、全ての用語は文脈と矛盾せず可能な限り広くなるように解釈されるべきである。特に用語「ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ」と「ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ」は、要素、成分又は段階に対して非排他的に言及していると解釈されるべきであり、このことは、参照された要素、成分又は段階が、明確には参照されていない他の要素、成分又は段階と共に存在しても、利用されても、又は組み合わされてもよいことを示している。本明細書の特許請求の範囲で、Ａ、Ｂ、Ｃ・・・及びＮから成る群から選択されるものの少なくとも１個に言及される場合、その文章は、Ａに加えてＮ、又はＢに加えてＮ等ではなく、その群から１個の要素のみが必要とされていると解釈されるべきである。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/017588

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/00(2006.01)i, A61K 39/235(2006.01)i

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 39/00; A61K 39/395; A61K 48/00; C12N 15/00; A61K 39/235

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean utility models and applications for utility models
Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: cancer vaccine, virus vector, tumor antigen, co-stimulatory molecule, immune checkpoint blockade, trafficking signal, intracellular turnover

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 8119117 B2 (DEISSEROTH, A. B. et al.) 21 February 2012 See column 3; claim 1.	55-57,61-64
Y	WO 2014-022138 A2 (YEUNG, A. W. H.) 06 February 2014 See claims 1, 3, 4.	55-57,61-64
Y	RODRIGUEZ, F. et al., 'DNA immunization: ubiquitination of a viral protein enhances cytotoxic T-lymphocyte induction and antiviral protection but abrogates antibody induction' Journal of Virology, 1997, Vol. 71, No. 11, pp. 8497-8503 See abstract; page 8501-8502.	55-57,61-64
Y	BOEGEL, S. et al., 'A catalog of HLA type, HLA expression, and neoepitope candidates in human cancer cell lines' Oncoimmunology, 2014, Vol. 3, Issue 8, Article no. e954893, Internal pages 1-12 See abstract.	57,61
A	WO 2014-168874 A2 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al.) 16 October 2014 See the whole document.	55-57,61-64

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 application or patent 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
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents,such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 May 2017 (11.05.2017)	**11 May 2017 (11.05.2017)**

Name and mailing address of the ISA/KR
International Application Division
Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea
Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer
CHO, Ki Yun
Telephone No. +82-42-481-5655

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/017588

Box No. 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.: 1-54
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 1-54 pertain to a method for treatment of the human body by therapy, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), to search.

2. ☒ Claims Nos.: 67,68
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:
Claims 67 and 68 directly or indirectly refer to one of unsearchable claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).

3. ☒ Claims Nos.: 4-13,28-31,40-43,49,51,53,58-60,65,66
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. 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 addtional 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 fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.

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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2017/017588

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 8119117 B2	21/02/2012	AU 2003-295502 A1	03/06/2004
		AU 2003-295502 A8	03/06/2004
		CN 1756845 A	05/04/2006
		EP 1563074 A2	17/08/2005
		EP 1563074 A4	19/04/2006
		JP 2006-506072 A	23/02/2006
		KR 10-1114784 B1	27/02/2012
		KR 10-2006-0010711 A	02/02/2006
		US 2007-0269409 A1	22/11/2007
		US 2012-0195924 A1	02/08/2012
		US 2012-0276148 A1	01/11/2012
		US 2014-0080208 A1	20/03/2014
		US 8236295 B1	07/08/2012
		US 8540979 B2	24/09/2013
		US 9458221 B2	04/10/2016
		WO 2004-044176 A2	27/05/2004
		WO 2004-044176 A3	26/08/2004
		WO 2004-044176 A8	09/09/2005
WO 2014-022138 A2	06/02/2014	AU 2013-296919 A1	22/01/2015
		AU 2016-203329 A1	09/06/2016
		EP 2879498 A2	10/06/2015
		EP 2879498 A4	30/03/2016
		JP 2015-523412 A	13/08/2015
		KR 10-2015-0038066 A	08/04/2015
		US 2015-0190505 A1	09/07/2015
		WO 2014-022138 A3	27/03/2014
WO 2014-168874 A2	16/10/2014	AU 2014-251207 A1	05/11/2015
		CN 105377292 A	02/03/2016
		EP 2983702 A2	17/02/2016
		JP 2016-518355 A	23/06/2016
		KR 10-2015-0143597 A	23/12/2015
		US 2016-0101170 A1	14/04/2016
		WO 2014-168874 A3	18/12/2014

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	***35/17***	***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/17		
Ｃ１２Ｎ	***15/86***	***(2006.01)***	Ｃ１２Ｎ	15/86	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/12*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/12		

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

(71)出願人 518203696
ナントセル，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９０２３２，カルバー シティ，９９２０ ジェファーソン ブールバード
(74)代理人 100114775
弁理士 高岡 亮一
(74)代理人 100121511
弁理士 小田 直
(74)代理人 100202751
弁理士 岩堀 明代
(74)代理人 100191086
弁理士 高橋 香元
(72)発明者 スンーシオン，パトリック
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９０２３２，カルバー シティ，９９２０ ジェファーソン ブールバード
(72)発明者 ニアジ，カイバン
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９０２３２，カルバー シティ，９９２０ ジェファーソン ブールバード
(72)発明者 ラビザド，シャールーズ
アメリカ合衆国，カリフォルニア州 ９０２３２，カルバー シティ，９９２０ ジェファーソン ブールバード

Ｆターム(参考) 4C084 AA13 BA44 NA05 ZB261 ZB262
4C085 AA03 AA38 BB01 DD62 EE03 FF13 GG04
4C087 AA01 AA02 BB37 BC83 MA66 NA05 ZB26