



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I776245 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：109133819

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 10 月 05 日

(51)Int. Cl. : C07K14/705 (2006.01)

C07K14/725 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2015/10/05 美國

62/237,091

2015/10/05 英國

1517538.3

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

德國

(72)發明人：馬爾 安德列 MAHR, ANDREA (DE)；文史恩克 湯尼 WEINSCHENK, TONI (DE)；高芬格 瓦倫蒂娜 GOLDFINGER, VALENTINA (DE)；史古兒 奧利佛 SCHOOR, OLIVER (DE)；弗里切 金斯 FRITSCH, JENS (DE)；辛格 哈皮特 SINGH, HARPREET (DE)

(74)代理人：李世章；彭國洋

(56)參考文獻：

WO 2015/018805A1

期刊 E. Milner et al., The effect of proteasome inhibition on the generation of the human leukocyte antigen (HLA)

peptidome. Molecular & Cellular Proteomics, 2013 Jul;12(7):

1853-1864. doi: 10.1074/mcp.M112.026013. Epub 2013 Mar 28. [https://](https://www.mcponline.org/article/S1535-9476(20)32555-X/fulltext#supplementaryMaterial)[www.mcponline.org/article/S1535-9476\(20\)32555-X/](https://www.mcponline.org/article/S1535-9476(20)32555-X/fulltext#supplementaryMaterial)

fulltext#supplementaryMaterial

審查人員：吳淑君

申請專利範圍項數：28 項 圖式數：4 共 262 頁

(54)名稱

用於小細胞肺癌和其他癌症免疫治療的新型肽和肽組合物

(57)摘要

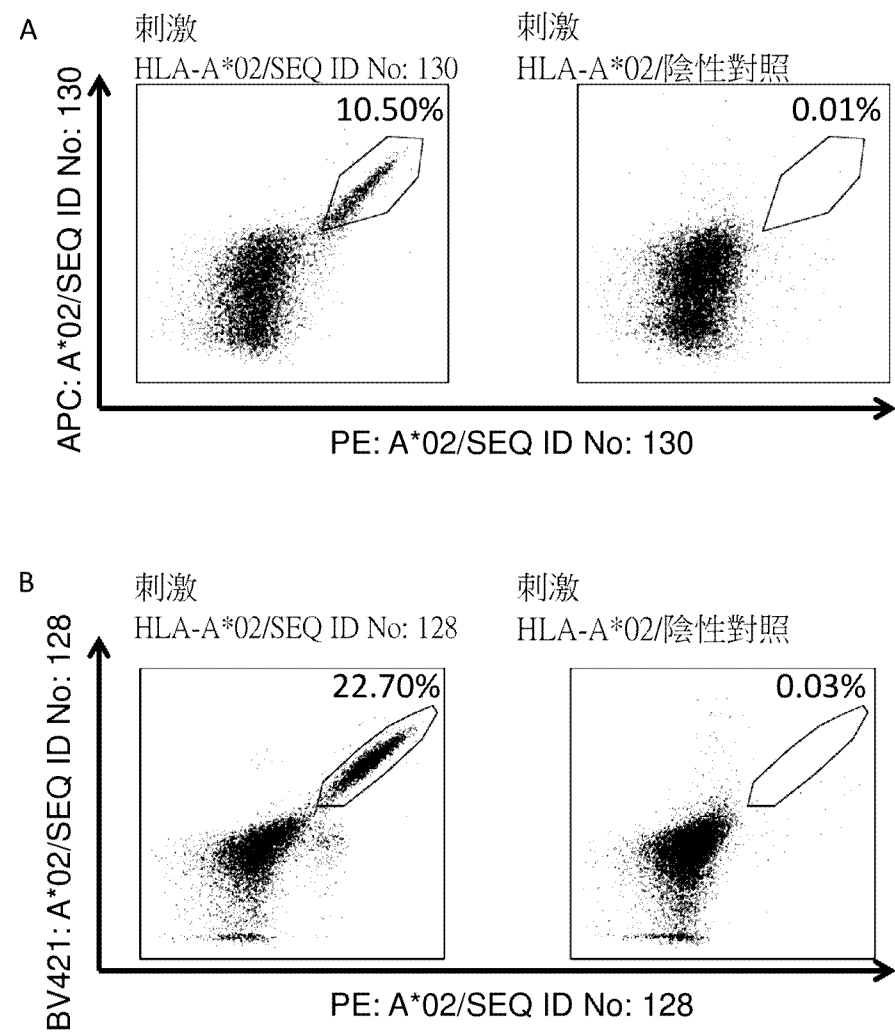
本發明涉及用於免疫治療方法的肽、蛋白質、核酸和細胞。特別是，本發明涉及癌症的免疫療法。本發明還涉及單獨使用或與其他腫瘤相關肽（刺激抗腫瘤免疫反應或體外刺激 T 細胞和轉入患者的疫苗複合物的活性藥物成分）聯合使用的腫瘤相關 T 細胞(CTL)肽表位。與主要組織相容性複合體(MHC)分子結合的肽或與此同類的肽也可能是抗體、可溶性 T 細胞受體和其他結合分子的靶標。

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

bound to molecules of the major histocompatibility complex(MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

指定代表圖：

圖 3





公告本

I776245

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於小細胞肺癌和其他癌症免疫治療的新型肽和肽組合物

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

【中文】

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

【英文】

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

major histocompatibility complex(MHC), or peptides as such, can also be targets of antibodies, soluble T-cell receptors, and other binding molecules.

【指定代表圖】第（ 3B ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於小細胞肺癌和其他癌症免疫治療的新型肽和肽組合物

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

【技術領域】

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

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

【先前技術】

【0003】 小細胞肺癌（SCLC）

【0004】 小細胞肺癌（SCLC）是根據顯微鏡下觀察到的癌細胞大小命名的，須與非小細胞肺癌（NSCLC）區分。

SCLC 占有所有肺癌的約 10 % 至 15 % (American Cancer Society , 2015 a) 。

【0005】 兩種肺癌 (SCLC 和 NSCLC) 在男性和女性中均是第二常見的癌症。肺癌是癌症死亡的主要原因，約占 25 % 。因此，每年死於肺癌的人數多於結腸癌、乳腺癌和攝護腺癌加起來的人數。此外，兩種肺癌占有所有新癌症病例約 13 % (超過 180 萬) 。肺癌主要發生於老年人中。診斷時的平均年齡約為 70 歲。所有病例中，低於 2 % 在 45 歲以下確診。SCLC 的治療和預後強烈依賴於確診的癌症期別。基於臨床結果的 SCLC 分期比病理分期更常見。臨床分期使用體檢、各種成像測試和活檢的結果。根據美國癌症協會介紹的資料，I 期 5 年相對存活率占 31 % 、II 期 19 % 、III 期 8 % 、IV 期 2 % 。

【0006】 SCLC 的標準化學治療使用依託泊苷或伊立替康聯合順鉑或卡鉑。治療為 4 至 6 個週期。每個週期開始於化療 1 至 3 天，隨後為 3 至 4 周的恢復期。

【0007】 治療 SCLC 的標準放射療法稱為外束放射療法 (EBRT) ，通常每天一次或兩次，每週 5 天，持續 3 至 7 周。在過去幾年中，已經開發了新的放射技術。新技術為三維適形放射療法 (3D - CRT) 和強度調控放射療法 (IMRT) 。兩種療法都可通過降低對周圍健康組織的放射暴露來更準確地將放射負荷靶向作用至腫瘤。

【0008】 在 I 期時，如果 SCLC 為單個小腫瘤，總體上無淋巴結或其他部位癌症擴散的證據 (20 名患者中少於 1 名) ，

手術後化療和放療聯合療法是標準治療。這種治療程序僅僅是健康狀況良好患者的方案。大多數情況下，在SCLC確診時已經擴散。因此，不可能通過手術治療(American Cancer Society, 2015a; S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 2011)。

【0009】 在局限期，當SCLC已經通過胸腔一側擴散到肺或附近的淋巴結(1/3的患者)時，所謂同步放化療的化療和放療結合為標準治療。在此階段，手術不是一個選項。標準化療藥物為依託泊苷(VP-16)加順鉑或卡鉑。化療和放療同步結合顯示出治療優勢，但與化療或放療相比具有嚴重的副作用。對於不太可能耐受同步放化療的患者，化療為標準治療。或者化療後可進行放療(American Cancer Society, 2015a; S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 2011)。

【0010】 在廣泛期，當SCLC已廣泛擴散到整個肺、附近淋巴結和其他遠處器官(如骨髓)時，應用的治療為大多數情況下依託泊苷與順鉑或卡鉑結合的全身化療，或者隨後對胸部進行放射治療(American Cancer Society, 2015a; S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 2011)。

【0011】 由於SCLC已知擴散到大腦，不論什麼期別的SCLC患者頭部將接受預防性放射治療，稱為預防性頭顱放射(PCI)。

【0012】 在局限期和廣泛期，治療可能使癌灶顯著縮小，但在大多數情況下，癌症將在某一時間重新長大。當及時應

用化療後癌症繼續生長時，則考慮改變化療類型。根據癌症復發的化療選擇取決於癌症緩解期的持續時間。

【0013】 關於SCLC的檢測、診斷和治療已經有了創新。結果顯示，使用CT掃描代替x射線進行早期癌症檢測降低了肺癌死亡的風險。如今，SCLC的診斷可採用螢光或虛擬支氣管鏡檢查，即時腫瘤影像學可通過放射治療來實現。新型抗血管生成藥物，如貝伐單抗(Avastin)、舒尼替尼(Sutent)和nintedanib (BIBF 1120)顯示在SCLC治療中具有治療作用(American Cancer Society, 2015a)。

【0014】 免疫療法是癌症治療的大量研究領域。對於SCLC的治療研究了各種方法。其中一種方法靶向阻斷CTLA-4，這是一種天然的人免疫抑制物。CTLA-4的抑制旨在增強對抗癌症的免疫系統。最近，開始研發用於治療SCLC的有前景的免疫步驟抑制劑。另一種方法基於防癌疫苗，這是目前可用於臨床研究的SCLC治療方法(American Cancer Society, 2015b; National Cancer Institute (NCI), 2011)。

【0015】 考慮到治療癌症相關的嚴重副作用和費用，通常有必要確定可用於治療癌症的因子，尤其是小細胞肺癌。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是小細胞肺癌，從而更好地診斷癌症、評估預後和預測治療成功性。

【0016】 癌症免疫治療代表了癌症細胞特異性靶向作用的一個選項，同時最大限度地減少副作用。癌症免疫療法利用存在的腫瘤相關抗原。

【0017】 腫瘤相關抗原 (TAA) 的目前分類主要包括以下幾組：

a) 癌 - 睪丸抗原：T細胞能夠識別的最先確認的TAA屬於這一類抗原，由於其成員表達於組織學相異的人腫瘤中、正常組織中、僅在睪丸的精母細胞/精原細胞中、偶爾在胎盤中，因此，它最初被稱為癌 - 睪丸 (CT) 抗原。由於睪丸細胞不表達HLA I類和II類分子，所以，在正常組織中，這些抗原不能被T細胞識別，因此在免疫學上可考慮為具有腫瘤特異性。CT抗原大家熟知的例子是MAGE家族成員和NY-ESO-1。

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

c) 過量表達的TAA：在組織學相異的腫瘤中以及許多正常組織中都檢測到了基因編碼被廣泛表達的TAA，一般表達水準較低。有可能許多由正常組織加工和潛在呈現的表位低於T細胞識別的閾值水準，而它們在腫瘤細胞中的過量表

達能夠透過打破先前確立的耐受性而引發抗癌反應。這類 T A A 的典型例子為 H e r - 2 / n e u 、生存素、端粒酶或 W T 1 。

d) 腫瘤特異性抗原：這些獨特的 T A A 產生於正常基因（如 β - c a t e n i n 、 C D K 4 等）的突變。這些分子變化中有一些與致瘤性轉化和 / 或進展相關。腫瘤特異性抗原一般可在不對正常組織帶來自體免疫反應風險的情況下誘導很強的免疫反應。另一方面，這些 T A A 在多數情況下只與其上確認了有 T A A 的確切腫瘤相關，並且通常在許多個體腫瘤之間並不都共用 T A A 。在含有腫瘤特定（相關）同種型蛋白的情況下，如果肽源自腫瘤（相關）外顯子也可能出現肽腫瘤特異性（或相關性）。

e) 由異常翻譯後修飾產生的 T A A：此類 T A A 可能由腫瘤中既不具有特異性也不過量表達的蛋白產生，但其仍然具有腫瘤相關性（該相關性由主要對腫瘤具有活性的翻譯後加工所致）。此類 T A A 產生於變糖基化模式的改變，導致腫瘤產生針對 M U C 1 的新型表位或在降解過程中導致諸如蛋白拼接的事件，這可能具有也可能不具有腫瘤特異性。

f) 腫瘤病毒蛋白：這些 T T A 是病毒蛋白，可在致癌過程中發揮關鍵作用，並且由於它們是外源蛋白（非人源蛋白），所以能夠激發 T 細胞反應。這類蛋白的例子有人乳頭狀瘤 1 6 型病毒蛋白、E 6 和 E 7，它們在宮頸癌中表達。

【0018】 基於 T 細胞的免疫治療靶向作用於主要組織相容性複合體 (M H C) 分子呈現的來源於腫瘤相關蛋白或腫瘤特異性蛋白的肽表位。腫瘤特異性 T 淋巴細胞所識別的抗

原，即其表位，可以是源自所有蛋白類型的分子，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中被表達，並且與同源未變的細胞相比，其表達通常上調。

【0019】 MHC 分子有兩類：MHC I類和MHC II類。MHC I類分子由一條 α 重鏈和 β -2-微球蛋白，MHC II類分子由一條 α 和一條 β 鏈組成。其三位構造形成一個結合槽，用於與肽進行非共價相互作用。

【0020】 大部分有核細胞上都可發現MHC-I類分子。他們呈現主要為內源性的蛋白、缺陷核糖體產物(DRIP)和較大肽裂解生成的肽。然而，源自內體結構或外源性來源的肽也經常在MHC-I類分子上發現。這種I-類分子非經典呈現方式在文獻中被稱為交叉呈現(Brossart and Bevan, 1997; Rock et al., 1990)。MHC II類分子主要發現於專業抗原呈現細胞(APC)上，並且主要呈現，例如，在內吞作用過程中由APC佔據並且隨後被加工的外源性或跨膜蛋白的肽。

【0021】 肽和MHC I類的複合體由負載相應T細胞受體(TCR)的CD8陽性T細胞進行識別，而肽和MHC II類分子的複合體由負載相應TCR的CD4陽性輔助T細胞進行識別。因此，TCR、肽和MHC按照1:1:1的化學計量呈現，這一點已是共識。

【0022】 CD4陽性輔助T細胞在誘導和維持CD8陽性細胞毒性T細胞的有效反應中發揮重要作用。腫瘤相關抗原(TAA)衍生的CD4陽性T細胞表位的識別對開發能引發抗

腫瘤免疫反應的藥物產品可能非常重要 (Gnjatic et al., 2003)。在腫瘤部位，T輔助細胞維持著對細胞毒性T細胞 (CTL) 友好的細胞因子環境 (Mortara et al., 2006) 並吸引效應細胞，如CTL、天然殺傷 (NK) 細胞、巨噬細胞和粒細胞 (Hwang et al., 2007)。

【0023】 在沒有炎症的情況下，MHC II類分子的表達主要局限於免疫系統細胞，尤其是專業抗原呈現細胞 (APC)，例如，單核細胞、單核細胞源性細胞、巨噬細胞、樹突狀細胞。在癌症患者的腫瘤細胞中發現有MHC II類分子的表達 (Dengjel et al., 2006)。本發明的拉長 (較長) 肽可作為MHC-II類活性表位。

【0024】 MHC-II類表位活化的輔助T細胞在編排抗腫瘤免疫的CTL效應子功能中發揮著重要作用。觸發TH1細胞反應的輔助T細胞表位支援CD8陽性殺傷T細胞的效應子功能，其中包括直接作用於腫瘤細胞的細胞毒性功能 (該類腫瘤細胞表面顯示有腫瘤相關肽/MHC複合體)。這樣，腫瘤相關T輔助細胞表位單獨使用或與其他腫瘤相關肽結合使用可作為刺激抗腫瘤免疫反應的疫苗化合物的活性藥物成分。

【0025】 哺乳動物 (如小鼠) 模型顯示，即使沒有CD8陽性T淋巴細胞，CD4陽性T細胞也能透過分泌干擾素- γ (IFN γ) 抑制血管生成而足以抑制腫瘤的表現 (Beatty and Paterson, 2001; Mumberg et al., 1999)。沒

有 C D 4 T 細胞作為直接抗腫瘤效應因子的證據 (Braumuller et al., 2013; Tran et al., 2014)。

【0026】由於 H L A II 類分子的組成性表達通常僅限於免疫細胞，因此，直接從原發腫瘤中分離 II 類肽之前被認為是不可能的事。然而，Dengjel 等人成功地在腫瘤中直接識別了多個 M H C II 類表位 (W O 2 0 0 7 / 0 2 8 5 7 4 , E P 1 7 6 0 0 8 8 B 1)。

【0027】由於 C D 8 依賴型和 C D 4 依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵由 C D 8 + T 細胞 (配體：M H C I 類分子 + 肽表位) 或 C D 4 陽性 T 輔助細胞 (配體：M H C II 類分子) 識別的腫瘤相關抗原對開發腫瘤疫苗非常重要。

【0028】對於 M H C I 類肽觸發 (引發) 細胞免疫反應的肽，它也必須與 M H C 分子結合。這一過程依賴於 M H C 分子的等位基因以及肽氨基酸序列的特異性多態性。M H C - I 類 - 結合肽的長度通常為 8 - 12 個氨基酸殘基，並且在其與 M H C 分子相應結合溝槽相互作用的序列中通常包含兩個保守殘基 (「錨」)。這樣，每個 M H C 的等位基因都有「結合基序」，從而確定哪些肽能與結合溝槽特異性結合。

【0029】在 M H C - I 類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些 M H C - I 類分子結合，而且它們之後還必須能被 T 細胞負載的特異性 T 細胞受體 (T C R) 識別。

【0030】對於被 T 淋巴細胞識別為腫瘤特異性抗原或相關性抗原以及用於治療的蛋白質，必須具備特殊的條件。該

抗原應主要由腫瘤細胞表達，而不由正常健康組織表達，或表達數量相對較少。在一個優選的實施方案中，與正常健康組織相比，所述肽應在腫瘤細胞中過度呈現。更為適宜的情況是，該相應抗原不僅出現於一種腫瘤中，而且濃度（即每個細胞的相應肽拷貝數目）高。腫瘤特異性抗原和腫瘤相關抗原往往是源自直接參與因細胞週期控制或凋亡抑制中的其功能而發生的正常細胞向腫瘤細胞轉化的蛋白。另外，這些直接導致轉化事件的蛋白的下游靶標可能會被上調，因此可能與腫瘤間接相關。這些間接腫瘤相關抗原也可能是預防接種方法的靶標（Singh-Jasuja et al., 2004）。至關重要的是，表位存在於抗原氨基酸序列中，以確保這種來自腫瘤相關抗原的肽（「免疫原性肽」）可導致體外或體內T細胞反應。

【0031】基本上，任何能與MHC分子結合的肽都可能充當一個T細胞表位。誘導體外或體內T細胞反應的前提是存在具有相應TCR的T細胞並且不存在對該特定表位的免疫耐受性。

【0032】因此，TAA是基於T細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗）研發的起點。識別和表徵TAA的方法通常基於對患者或健康受試者T細胞的使用情況，或基於腫瘤與正常組織肽之間差別轉錄特性或差別表達模式的產生。然而，對腫瘤組織或人腫瘤細胞株中過量表達或選擇性表達的基因的識別並不提供在免疫療法中使用這些基因所轉錄抗原的準確資訊。這是因為，有著相應TCR的T細胞必須要存在而

且對這個特定表位的免疫耐受性必須不存在或為最低水準，因此，這些抗原的表位只有一部分適合這種應用。因此，在本發明的一非常優選的實施例中，只選擇那些針對可發現功能性和/或增殖性T細胞情況的過量呈現或選擇性呈現肽，這一點非常重要。這種功能性T細胞被定義為在以特異性抗原刺激後能夠克隆地擴展並能夠執行效應子功能（「效應子T細胞」）的T細胞。

【0033】 在透過根據本發明的特定TCR（例如可溶性TCR）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於肽-MHC的情況下，潛在肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，呈現是決定因素。

【發明內容】

【0034】 在本發明的第一方面，本發明涉及一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126的組的一個氨基酸序列、或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126具有至少77%，優選至少88%同源（優選至少77%或至少88%相同）的一種變體序列（其中所述變體與MHC結合和/或誘導T細胞與所述肽發生交叉反應），或其藥用鹽（其中所述肽不是潛在全長多肽）。

【0035】 本發明進一步涉及本發明的一種肽，包含選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126具有至少77%、優選至少88%同源性（優選為至少77%或至少88%相同）的

一種變體，其中所述肽或其變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0036】 下表顯示了根據本發明的肽、它們各自的SEQ ID NO、以及這些肽的可能源（潛在）基因。表1和表2中的所有肽均與HLA-A*02結合。表2中的肽之前在大型列表中披露，作為高通量篩查結果，錯誤率高，或使用演算法計算出，但之前與癌症毫無關聯。表3中的肽是可與本發明其他肽組合使用的其他肽。表4中的肽還可用於診斷和/或治療各種其他惡性疾病，這些疾病涉及過量表達或過度呈現各潛在多肽。

【0037】 表1：本發明中的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
1	AMLEEVNYI	9134	CCNE2
2	VMFNFPDQATV	26960	NBEA
3	VLAEIDPKQLV	28981	IFT81
4	GLLDPGMLVNI	7182	NR2C2
5	SLQSLIISV	7398	USP1
6	SIMDYVVFV	8884	SLC5A6
7	GLLGDIHL	84059	GPR98
8	VLIDDSQSIIFI	57380	MRS2
9	AAAPGEALHTA	153572	IRX2
10	ILAAGFDGM	149175	MANEAL
11	KLFAIPILL	2328	FMO3
12	MLFEGLDLVSA	56603	CYP26B1
13	FLTAFLVQI	392	ARHGAP1
14	ILIETKLVL	3708	ITPR1
15	SLLTAISEV	55086	CXorf57
16	VILDPLVI	101060503,10628	TXNIP
17	SLMLVTVEL	8546	AP3B1
18	ALGEISVSV	23113	CUL9
19	VLLTTAVEV	23677	SH3BP4
20	MLDEILLQL	5425	POLD2
21	TMEEMIFEV	2140	EYA3
22	LLPEKSWEI	6898	TAT
23	YQIDTVINL	50808	AK3
24	FLMEEVHMI	10057	ABCC5

25	GLSETILAV	9631	NUP155
26	KMLDEAVFQV	89796	NAV1
27	SLDIITITV	79572	ATP13A3
28	ILVSQLEQL	10844	TUBGCP2
29	NLISQLTTV	22979	EFR3B
30	KMLGLTVSL	51651	PTRH2
31	RLLQDPVGV	6002	RGS12
32	ALTSLELEL	163732	CITED4
33	GLYSKTSQSV	27032	ATP2C1
34	LVFEGIMEV	11215	AKAP11
35	FMGDVFINV	23491	CES3
36	RMDGAVTSV	8648	NCOA1
37	SLFYNELHYV	114793	FMNL2
38	GLISSLNEI	6578	SLCO2A1
39	GLDPTQFRV	5422	POLA1
40	GLLEVQVEV	84171	LOXL4
41	KAYQELLATV	8914	TIMELESS
42	GLLEDERALQL	92312	MEX3A
43	YLWSEVFSM	57486	NLN
44	ALIVGIPSV	7976	FZD3
45	SLSGEIILHSV	121441	NEDD1
46	ALWVAVPKA	93109	TMEM44
47	GLLEALLKI	57187	THOC2
48	SLIGLDLSSV	9765	ZFYVE16
49	RLALNTPKV	23094	SIPA1L3
50	FLLSQIVAL	347051	SLC10A5
51	ILDEAGVKYFL	113828	FAM83F
52	ILASFMLTGV	9931	HELZ
53	LLSEEHITL	9969	MED13
54	HLFDIILTSV	79659	DYNC2H1
55	LLIADNPQL	7404	UTY
56	SLFSQMGSQYEL	79192	IRX1
57	VLIGDVLVAV	27152	INTU
58	VLLNINGIDL	222484	LNK2
59	VLLSGLTEV	9498	SLC4A8
60	VVSGATETL	23547	LILRA4
61	YQAPYFLTV	9890	LPPR4
62	VMLPIGAVVMV	151258	SLC38A11
63	LLMSTENEL	4602	MYB
64	VLFHQLQEI	25821	MT01
65	VMYDLITEL	3782	KCNN3
66	YLNLISTSV	55757	UGGT2
67	MLYDIVPVV	151963	MB21D2
68	FLFPVYPLI	79796, 91893	ALG9, FDXACB1
69	KLFDRSVDL	55957	LIN37
70	TLLWKLVEV	54901	CDKAL1

71	FIFEQVQNV	83852	SETDB2
72	KAIGSLKEV	1894	ECT2
73	SLSSYTPDV	29843	SENP1
74	FLDSLSPSV	65250	C5orf42
75	SLDLHVPSL	51750, 8771	RTEL1, TNFRSF6B
76	VLTTVMITV	166929	SGMS2

【0038】 表 2：本發明中的其他肽，之前與癌症無已知的關聯。

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
77	AIIDGKIFCV	5531	PPP4C
78	RIIDPEDLKALL	29994	BAZ2B
79	RLLEPAQVQQL	152002	XXYLT1
80	ILMDPSPEYA	1786	DNMT1
81	LLAEIGAVTLV	79042	TSEN34
82	ALSSVIKEL	440145	MZT1
83	KLLEIDIDGV	5422	POLA1
84	KMFENEFL	29	ABR
85	FAYDGKDYLT	3133	HLA-E
86	KVIDYVPGI	25976	TIPARP
87	LLQNNLPAV	22948	CCT5
88	TLHRETFYL	9134	CCNE2
89	IQHDLIFSL	3091	HIF1A
90	TLVDNISTMAL	55856	ACOT13
91	KLQDGVHII	51118	UTP11L
92	YLQDYTDRV	10946	SF3A3
93	ALRETVVEV	7415	VCP
94	ALFPVAEDISL	84164	ASCC2
95	ALYSKGILL	9631	NUP155
96	NLLKLIAEV	57405	SPC25
97	ALLDGTVFEI	8214, 85359	DGCR6, DGCR6L
98	ALVDHLNVGV	2647	BLOC1S1
99	QMLEAIKALEV	7690	ZNF131
100	VADPETRTV	11284	PNKP
101	AMNSQILEV	23036	ZNF292
102	ALFARPDLLLL	55324	ABCF3
103	SLLEYQMLV	23511	NUP188
104	TLIQFTVKL	6775	STAT4
105	SMYDKVLML	9328	GTF3C5
106	KMPDDVWL	8567	MADD
107	AMYGTKLETI	8573	CASK
108	ILLDDQFQPKL	11213	IRAK3
109	SLFERLVVL	5976	UPF1
110	GLTETGLYRI	29127, 83956	RACGAP1, RACGAP1P
111	FLPEAPAEL	4171	MCM2
112	LLPGVIKTV	3980	LIG3

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
113	LTDPDIHVL	23335	WDR7
114	ALLEPGGVLT	23195	MDN1
115	ALLPSDCLQEA	64410	KLHL25
116	ALLVRLQEV	3695	ITGB7
117	FLLDSAPLNV	134430	WDR36
118	KLPSFLANV	2585	GALK2
119	SLIDDNNEINL	65975	STK33
120	SLAADIPRL	171425	CLYBL
121	YMLEHVITL	9735	KNTC1
122	SMMPDELLTSL	9994	CASP8AP2
123	KLDKNPNQV	9994	CASP8AP2
124	SLITDLQTI	26005	C2CD3
125	LLSEPSLLRTV	91442	C19orf40
126	AAASLIRLV	3064	HTT

【0039】 表 3：用於例如個性化癌症療法的肽

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
127	SQAPVLDAI	1293	COL6A3
128	SLAPAGVIRV	30012	TLX3
129	RVADYIVKV	201780	SLC10A4
130	SLYDNQITTV	6585, 9353	SLIT1, SLIT2
131	ILMGTELTQV	10439	OLFM1
132	NLLAEIHGV	10570	DPYSL4
133	IMEDIILTL	1656	DDX6
134	FMIDASVHPTL	221960, 51622	CCZ1, CCZ1B
135	SLMMTIINL	7153	TOP2A
136	FLPPEHTIVYI	9896	FIG4
137	NLLELFVQL	5297	PI4KA
138	RLLDFPEAMVL	23113	CUL9
139	FLSSVTYNL	23312	DMXL2
140	GLLEV MVNL	23001	WDFY3
141	NLPEYLPFV	55832, 91689	C22orf32, CAND1

【0040】 本發明還一般涉及本發明的肽用於治療增殖性疾病，例如，非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌和膽管癌和食管癌。

【0041】 特別優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:126 組成的組。更優

選的是所述肽（單獨或組合）選自包括SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:76組成的組（見表1）並且其用於免疫治療小細胞肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊和膽管癌和食管癌、優選小細胞肺癌。

【0042】 更為優選的是本發明的肽（單獨或組合），其選自包括SEQ ID NO:7、8、33、39、40、45、47、58、59、73、79、80、81、88、110、111、112和115，並且其用於免疫治療小細胞肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊和膽管癌和食管癌、優選小細胞肺癌。最優選的是SEQ ID NO:72的肽。

【0043】 如示下面的表4A和B所示，其中本發明的許多肽也發現於其他腫瘤中，因此也可用於其他適應症的免疫治療。另請參閱圖1和實施例1。

【0044】 表4A：本發明的肽及其在除了SCLC之外的其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量呈現（特定呈現）於5%以上測定的腫瘤樣本，或呈現於5%以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於3。過度呈現定義為與最高呈現的正常樣本相比在腫瘤樣本上呈現更高。經測試相比過度呈現的正常組織有：脂肪組

織、腎上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、食道、眼、膽囊、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號：	序列	其他相關器官/疾病
1	AMLEEVNYI	PC、白血病
2	VMFNFPDQATV	PrC
3	VLAEIDPKQLV	HCC、OC
4	GLLDPGMLVNI	子宮癌
6	SIMDYVVFV	GC、CRC、HCC、BRCA、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
7	GLLGDIHL	腦癌、BRCA、子宮癌
8	VLIDDSQSIIFI	白血病、OC
9	AAAPGEALHTA	NSCLC、BRCA、MCC、食管癌、膀胱癌
11	KLFAIPILL	HCC、膽囊癌、膽管癌
12	MLFEGLDLVSA	PrC
13	FLTAFLVQI	白血病、膀胱癌
14	ILIETKLVL	白血病
15	SLLTAISEV	腦癌、HCC、PC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
16	VILDPLVI	PC、白血病
17	SLMLVTVEL	PC、白血病、BRCA、膀胱癌
18	ALGEISVS	白血病
19	VLLTTAVEV	BRCA、子宮癌
20	MLDEILLQL	RCC、GC、CRC、白血病、膀胱癌
21	TMEEMIFEV	CRC、白血病、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
22	LLPEKSWEI	HCC
23	YQIDTVINL	PrC、膀胱癌
24	FLMEEVHMI	NSCLC、CRC、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌
25	GLSETILAV	NSCLC、腦癌、CRC、HCC、PC、PrC、白血病、BRCA、黑色素瘤、食管癌、OC、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
26	KMLDEAVFQV	NSCLC、腦癌、CRC、BRCA、黑色素瘤、膀胱癌
27	SLDIITITV	NSCLC、RCC、腦癌、GC、HCC、PC、BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
28	ILVSQLEQL	膽囊癌、膽管癌
29	NLISQLTTV	腦癌
30	KMLGLTVSL	CRC、BRCA、OC、膽囊癌、膽管癌
31	RLLQDPVGV	腦癌、HCC、PrC、BRCA、子宮癌
32	ALTSLELEL	HCC、PrC、BRCA、OC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
33	GLYSKTSQSV	NSCLC、HCC、食管癌
34	LVFEGIMEV	白血病、膀胱癌、子宮癌
37	SLFYNELHYV	黑色素瘤
38	GLISSLNEI	白血病
39	GLDPTQFRV	膀胱癌

43	YLWSEVFSM	白血病
45	SLSGEIILHSV	SCLC、CRC、黑色素瘤、膀胱癌
47	GLLEALLKI	白血病
49	RLALNTPKV	HCC、白血病
52	ILASFMLTGV	白血病
53	LLSEEHITL	白血病、膀胱癌
57	VLIGDVLVAV	OC
58	VLLNINGIDL	膀胱癌
59	VLLSGLTEV	腦癌、白血病
61	YQAPYFLTV	腦癌、OC、膀胱癌、子宮癌
64	VLFHQLQEI	白血病、黑色素瘤
65	VMYDLITEL	NSCLC、PC、BRCA、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
66	YLNLISTSV	膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
67	MLYDIVPVV	NSCLC、PC、OC、膀胱癌
68	FLFPVYPLI	腦癌、CRC、黑色素瘤、膀胱癌
69	KLFDRSVDL	NSCLC、RCC、腦癌、CRC、HCC、PC、BRCA、OC、膀胱癌
72	KAIGSLKEV	OC
73	SLSSYTPDV	白血病
76	VLTTVMITV	PC、OC
77	AIIDGKIFCV	GC、膀胱癌
78	RIIDPEDLKALL	NSCLC、CRC、HCC、膀胱癌、子宮癌
79	RLLEPAQVQQL	NSCLC、腦癌、HCC、BRCA、食管癌
80	ILMDPSPEYA	腦癌、BRCA、MCC、黑色素瘤、膀胱癌
81	LLAEIGAVTLV	NSCLC、HCC、黑色素瘤、OC、膀胱癌
82	ALSSVIKEL	CRC、食管癌、膀胱癌、子宮癌
83	KLLEIDIDGV	腦癌、CRC、白血病、BRCA、MCC、OC、膀胱癌、子宮癌
84	KMFENEFL	CRC、白血病、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
85	FAYDGKDYLTL	RCC、白血病、BRCA、食管癌
86	KVIDYVPGI	NSCLC、腦癌、HCC、BRCA、食管癌、OC、膽囊癌、膽管癌
87	LLQNNLPAV	白血病、黑色素瘤、OC、膀胱癌
88	TLHRETFYL	OC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
89	IQHDLIFSL	GC
90	TLVDNISTMAL	CRC、OC
91	KLQDGVHII	NSCLC、膽囊癌、膽管癌
92	YLQDYTDRV	白血病、OC
93	ALRETVVEV	NSCLC、腦癌、白血病、BRCA、食管癌、OC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
94	ALFPVAEDISL	NSCLC、白血病、膀胱癌
95	ALYSKGILL	NSCLC、RCC、CRC、HCC、MCC、食管癌、OC、膀胱癌
96	NLLKLIAEV	RCC、腦癌、CRC、HCC、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
97	ALLDGTVFEI	腦癌、HCC、MCC、OC、膀胱癌

98	ALVDHLNVGV	腦癌、HCC、PrC、白血病、OC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
99	QMLEAIKALEV	CRC、白血病、黑色素瘤、膀胱癌
101	AMNSQILEV	腦癌、CRC、白血病、BRCA、子宮癌
102	ALFARPDLLLL	白血病、黑色素瘤、OC、膀胱癌
103	SLLEYQMLV	BRCA、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
105	SMYDKVLML	MCC、OC
106	KMPDDVWL	BRCA、子宮癌
107	AMYGTKLETI	CRC、HCC、PC、OC
108	ILLDDQFQPKL	黑色素瘤
109	SLFERLVVL	HCC、MCC、膀胱癌
110	GLTETGLYRI	NSCLC、CRC、PC、白血病、食管癌、OC、膽囊癌、膽管癌
111	FLPEAPAE	白血病、膽囊癌、膽管癌
112	LLPGVIKTV	白血病
116	ALLVRLQEV	白血病
118	KLPSFLANV	HCC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
119	SLIDDNNEINL	OC、子宮癌
121	YMLEHVITL	CRC、白血病、MCC、黑色素瘤、OC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
123	KLDKNPNQV	白血病、膀胱癌
124	SLITDLQTI	NSCLC、腦癌、CRC、BRCA、OC、膀胱癌、子宮癌
126	AAASLIRLV	白血病、BRCA

NSCLC = 非小細胞肺癌，RCC = 腎癌，CRC = 結腸癌或直腸癌，GC = 胃癌，HCC = 肝癌，PC = 胰腺癌，PrC = 攝護腺癌，白血病，BrCa = 乳腺癌，MCC = 梅克爾細胞癌，OC = 卵巢癌

【0045】 表 4 B：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌性疾病）中的特定用途（表 4 修訂版）。與表 4 A 一樣，該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們顯示過量呈現（包括特定呈現）於 5 % 以上測定的腫瘤樣本，或呈現於 5 % 以上測定的腫瘤樣本且幾何學平均值腫瘤與正常組織的比值大於 3。過度呈現定義為與最高呈現的正常樣本相比在腫瘤樣本上呈現更高。經測試過度呈現的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、動脈、骨髓、腦、中樞神

經、結腸、十二指腸、食道、眼、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、單核白血球、胰腺、甲狀旁腺、外周神經、腹膜、垂體、胸膜、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列 ID 號	序列	其他實體
4	GLLDPGMLVNI	腦癌
13	FLTAFLVQI	RCC
14	ILIETKLVL	CLL、NHL
16	VILDLPLVI	CLL、HNSCC
17	SLMLVTVEL	CLL、黑色素瘤、NHL
20	MLDEILLQL	CLL、AML、NHL、HNSCC
21	TMEEMIFEV	CLL、食管癌、子宮癌、HNSCC
24	FLMEEVHMI	HNSCC
25	GLSETILAV	CLL、AML、NHL、HNSCC
26	KMLDEAVFQV	HNSCC
27	SLDIITITV	NHL
28	ILVSQLEQL	CLL、BRCA、NHL
30	KMLGLTVSL	RCC、黑色素瘤、AML、NHL
32	ALTSLELEL	HNSCC
34	LVFEGIMEV	CLL
49	RLALNTPKV	CLL、NHL
58	VLLNINGIDL	RCC、黑色素瘤、子宮癌、NHL、HNSCC
64	VLFHQLQEI	CRC、CLL、AML、NHL
68	FLFPVYPLI	子宮癌、AML、NHL、HNSCC
69	KLFDRSVDL	子宮癌、AML
72	KAIGSLKEV	CRC、食管癌、子宮癌
77	AIIDGKIFCV	子宮癌
82	ALSSVIKEL	NSCLC、CLL、BRCA、黑色素瘤、OC、膽囊癌、膽管癌、AML、NHL、HNSCC
83	KLLEIDIDGV	黑色素瘤、AML、NHL、HNSCC
84	KMFENEFL	CLL、NHL、HNSCC
85	FAYDGDYTL	CLL、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌、AML
86	KVIDYVPGI	黑色素瘤、HNSCC
87	LLQNNLPAV	HNSCC
89	IQHDLIFSL	CLL、黑色素瘤、膀胱癌、AML
91	KLQDGVHII	CLL、黑色素瘤、AML、NHL
92	YLQDYTDRV	CLL、NHL
93	ALRETVVEV	黑色素瘤、子宮癌、AML、HNSCC
94	ALFPVAEDISL	RCC、CLL、BRCA、黑色素瘤、AML、NHL
95	ALYSKGILL	膽囊癌、膽管癌、NHL
96	NLLKLIAEV	PC、AML、NHL
97	ALLDGTVEI	BRCA、子宮癌
98	ALVDHLNVGV	CLL

99	QMLEAIKALEV	腦癌、CLL、NHL、HNSCC
100	VADPETRTV	黑色素瘤
101	AMNSQILEV	AML
102	ALFARPDLLLL	CLL
105	SMYDKVLML	膽囊癌、膽管癌、AML、HNSCC
107	AMYGTKLETI	RCC、食道癌、膽囊癌、膽管癌、NHL
108	ILLDDQFQPKL	AML
109	SLFERLVVL	子宮癌
113	LTDPDIHVL	RCC、CLL、BRCA、黑色素瘤、AML
121	YMLEHVITL	NSCLC、HCC、CLL、BRCA、子宮癌、AML、NHL、HNSCC
122	SMMPDELLTSL	NHL
124	SLITDLQTI	AML、NHL

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

【0046】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 1、15、16、17、25、27、65、67、69、76、96、107 和 110 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療胰腺癌。

【0047】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 1、8、13、14、16、17、18、20、21、25、28、30、34、38、43、47、49、52、53、59、64、73、82、83、84、85、86、87、89、91、92、93、94、96、98、99、101、102、105、108、110、111、113、112、116、121、123、124 和 126 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療白血病。

【0048】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 2、12、23、25、31、32 和 98 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療攝護腺癌。

【0049】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 3、6、11、15、22、25、27、31、32、33、49、69、78、79、81、86、95、96、97、98、107、109、121 和 118 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療肝癌。

【0050】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 3、8、25、32、57、61、67、69、72、76、81、82、83、86、87、88、90、92、93、95、97、98、102、105、107、110、119、121 和 124 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療卵巢癌。

【0051】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 4、7、19、21、25、31、32、34、58、61、65、68、69、72、77、78、82、83、93、96、97、98、101、106、109、118、119、121 和 124 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療子宮癌。

【0052】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID NO: 6、20、27、77 和 89 中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療胃癌。

【0053】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：6、20、21、24、25、26、30、45、64、68、69、72、78、82、83、84、90、95、96、99、101、107、110、121和124中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療結腸癌或直腸癌。

【0054】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：6、7、9、17、19、25、26、27、28、30、31、32、65、69、79、80、82、83、84、85、86、93、94、101、103、106、121、124和126中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療乳腺癌。

【0055】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：6、9、13、15、17、20、21、23、25、26、27、34、39、45、53、58、61、66、67、68、69、77、78、80、81、82、83、84、87、88、89、93、94、95、97、99、102、103、109、121、123和124中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膀胱癌。

【0056】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：6、11、15、21、24、25、27、28、30、32、65、66、84、85、86、87、88、91、92、93、95、96、97、98、103、105、107、110、111、118和121中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膽囊癌。

【0057】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：6、11、15、21、24、25、27、28、30、32、65、66、84、85、86、87、88、91、92、93、95、96、97、98、103、105、107、110、111、118和121中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療膽管癌。

【0058】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：4、7、15、25、26、27、29、30、31、59、61、68、69、79、80、83、86、93、96、97、98、101和124中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療腦癌。

【0059】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：9、24、25、26、27、33、45、65、67、69、78、79、81、82、86、91、93、94、95、110、121和124中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療NSCLC。

【0060】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：9、80、83、95、97、105、109和121中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案中的肽聯合用於治療梅克爾細胞癌。

【0061】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO：9、21、25、33、72、79、82、85、86、93、95、107和110中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療食管癌。

【0062】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO: 17、24、25、26、27、30、37、45、58、64、68、80、81、82、83、85、86、87、89、91、93、94、96、99、100、101、102、108、113和121中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療黑色素瘤。

【0063】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO: 16、20、21、24、25、26、32、58、68、82、83、84、86、87、93、99、105和121中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療頭頸部鱗狀細胞癌。

【0064】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID NO: 14、17、20、25、27、28、30、49、58、64、68、82、83、84、91、92、94、95、96、99、107、121、122和124中任一項所述的本發明的至少一種肽與一種優選實施方案的肽聯合用於治療NHL。

【0065】 因此，本發明的另一個方面涉及本發明中肽的用途-優選聯合用於治療選自小細胞肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊和膽管癌和食管癌組中的增殖性疾病。

【0066】 本發明還涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或以拉長形式存在的例如長度變化的-MHC-II類分子結合的能力。

【0067】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中所述肽(每種肽)系由或基本系由根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126的一個氨基酸序列組成。

【0068】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽被修飾和/或包含非肽鍵。

【0069】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中所述肽為融合蛋白的一部分，特別是與HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸融合，或與抗體(例如，樹突狀細胞特定抗體)或抗體的序列融合。

【0070】 本發明進一步涉及一種編碼本發明蛋白質的核酸。本發明進一步涉及的本發明核酸為DNA、cDNA、PNA、RNA或前述核酸的組合。

【0071】 本發明進一步涉及一種能表達和/或表達本發明核酸的表達載體。

【0072】 本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種治療疾病的藥用表達載體，特別是用於治療癌症。

【0073】 本發明進一步涉及本發明中肽或本發明中所述肽複合體(含有MHC)的特定抗體以及製造這些抗體的方法。

【0074】 本發明進一步涉及本發明的T細胞受體(TCR)，特別是可溶性TCR(sTCRs)和加工為自體或異體T細胞的

克隆 T C R，以及製造這些 T C R 的方法和載有所述 T C R 或所述 T C R 交叉反應的 N K 細胞的製造方法。

【0075】 抗體和 T C R 是根據本發明的肽現有免疫治療用途的另外實施方案。

【0076】 本發明進一步涉及含本發明核酸或前述表達載體的一種宿主細胞。本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0077】 本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0078】 本發明進一步涉及本發明中的所述方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的 I 或 II 類 M H C 分子。

【0079】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原呈現細胞由能表達含 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 1 2 6、優選為含 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N o : 7 6 所述肽的一個表達載體、或一個變體氨基酸序列組成。

【0080】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化 T 細胞，其中所述 T 細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0081】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多

肽，該方法包括給予患者按本發明方法製造的有效量 T 細胞。

【0082】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的核酸、本發明的表達載體、本發明的細胞、本發明的作為藥劑或製造藥劑的活化 T 淋巴細胞、T 細胞受體或抗體或其他肽 - 和 / 或肽 - M H C 結合分子的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0083】 優選情況為，所述藥劑為基於可溶性 T C R 或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0084】 本發明進一步涉及本發明中的用途，其中所述癌細胞為小細胞肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊和膽管癌和食管癌，優選為小細胞肺癌細胞。

【0085】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷癌症，優選為小細胞肺癌。所述標誌物可以肽本身過度呈現或相應基因過度表達。標誌物也可以用於預測治療成功的可能性，優選為免疫療法，最優選為靶向作用於該生物標誌物識別的相同靶標的免疫療法。例如，抗體或可溶性 T C R 用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關肽與 M H C 複合。

【0086】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。

【0087】 本發明還涉及這些癌症治療中新靶點的用途。針對其他癌性疾病的治療和診斷用途在本發明肽的基礎表達產物（多肽）的以下更詳細描述中進行披露。

【0088】 *ABCC5* 在不同癌症實體（例如胰腺癌）、相對於原發性乳腺癌的乳腺癌轉移以及有染色體 3q 擴增區域的食管癌中上調。*ABCC5* 在微衛星不穩定 (MSI) 結直腸癌中進一步頻繁突變 (Mohelnikova-Duchonova et al., 2013; Chen et al., 2008; Alhopuro et al., 2012; Mourskaia et al., 2012)。*ABCC5* 表達受雌激素代謝以及 *HES1*、*DELTEX1* 和 *c-Myc* 水準升高影響 (Larson et al., 2009; Vendrell et al., 2004)。

【0089】 *ABCF3* 基因位元點顯示與宮頸癌相關的頻繁染色體增多。此外，*ABCF3* 增強人類肝癌細胞的增殖 (Choi et al., 2007; Zhou et al., 2013b)。*ABCF3* 結合至腫瘤蛋白 D52 家族成員 *TPD52L2*，陽性調節細胞增殖 (Zhou et al., 2013b)。

【0090】 成神經管細胞瘤腫瘤的缺失映射顯示在 *ABR* 基因中也缺失遠端染色體 17p13.3 序列 (McDonald et al., 1994)。

【0091】 *AK3* 在肝細胞癌中下調，在 B 細胞慢性淋巴細胞白血病中過度表達 (Carlucci et al., 2009; Melle et al., 2007)。

【0092】 *AKAP11* 在口腔腫瘤中頻繁改變和顯著過度表達，並進一步與癌症進展相關 (Garnis et al., 2005)。

A K A P 1 1 通過抑制 G S K - 3 β 和與細胞骨架支架蛋白相互作用促進人癌細胞中的細胞遷移。A K A P 1 1 通過影響 R b 途徑促進細胞週期調節的變化 (L o g u e et al., 2011; G a r n i s et al., 2005)。

【0093】 A L G 9 在 T G F β 誘導上皮-間質轉化 (E M T) 過程中的表達顯著改變，並影響癌細胞的 N-聚糖譜 (T a n et al., 2014)。

【0094】 與宮頸的正常組織相比，A P 3 B 1 在宮頸腫瘤中下調 (P e t r e n k o et al., 2006)。A P 3 B 1 是微 R N A m i R - 9 的靶標，其在包括肝細胞和乳腺癌在內的許多癌症類型中失調 (Z h a n g et al., 2015a; S e l c u k l u et al., 2012)。

【0095】 在不同類型癌症，包括攝護腺和轉移性腦癌中 A R H G A P 1 表達改變 (D a v a l i e v a et al., 2015; Z o h r a b i a n et al., 2007)。m i R - 3 4 a 導致的 A R H G A P 1 下調抑制 T G F - β 誘導的腫瘤細胞侵襲。A R H G A P 1 通過限制分離所必需的 R h o 啟動而與上皮-間質轉化 (E M T) 相關 (A h n et al., 2012; C l a y and H a l l o r a n, 2013)。

【0096】 A T P 1 3 A 3 表達在宮頸癌中改變 (B i e r k e n s et al., 2013)。

【0097】 A T P 2 C 1 通過基因座的常見染色體增加在宮頸癌中過度表達。小鼠中 A T P 2 C 1 缺失導致凋亡增加和成人雜合子中皮膚和食管鱗狀細胞癌的遺傳易感性增加 (W i l t i n g et al., 2008; O k u n a d e et al., 2007)。

ATP2C1 抑制在蛋白質IGF1R的加工中產生顯著改變，這對於腫瘤進展是重要的(Grice et al., 2010)。

【0098】 相比於正常攝護腺組織，BLOC1S1在惡性攝護腺中下調(Asmann et al., 2002)。BLOC1S1也通過與其配偶體SNX2和TSG101相互作用對合適的EGFR溶酶體運輸產生重要作用(Zhang et al., 2014)。

【0099】 C19orf40 (也稱為FAAP24) 編碼範可尼貧血(FA) 核心複合物的元件，其在DNA損傷應答中起關鍵作用(RefSeq, 2002)。C19orf40與FANCM一起構建對DNA損傷識別、抑制姐妹染色單體交換以及DNA損傷修復和複製中的ATR介導檢查點啟動重要的複合物，以確保染色體的穩定性。C19orf40改變與癌症易發性範可尼貧血相關(Valeri et al., 2011; Wang et al., 2013d; Ciccio et al., 2007)。

【0100】 C2CD3被證明與口咽鱗狀細胞癌有關(Wang et al., 2013b)。

【0101】 CAND1與攝護腺癌和肺癌有關(Zhai et al., 2014; Salon et al., 2007)。

【0102】 CASK在不同癌症類型(包括胃癌、結直腸癌以及白血病)中過度表達。此外，CASK與癌症進展和不良預後相關(Wei et al., 2014; Zhou et al., 2014c; Al-Lamki et al., 2005)。CASK在刺激β細胞胰島素分泌期間通過毒蜥外泌肽-4(exendin-4)以及傷口癒合

過程期間通過Nec1-2與E-鈣黏蛋白經由PKA依賴性途徑上調(Giangreco et al., 2009; Zhu et al., 2014)。

【0103】 CASP8AP2在不同的癌症類型中失調，包括在急性淋巴細胞白血病中下調和超甲基化，在早期肝癌中低甲基化，在錯配修復缺陷型結直腸癌中頻繁突變(Park et al., 2002; Chen et al., 2012; Li et al., 2013; Juarez-Velazquez et al., 2014)。CASP8AP2參與調節轉錄因子NF- κ B、c-Myb和Myc的靶標。此外，CASP8AP2的功能喪失誘導腫瘤抑制基因NEFH的表達(Hummon et al., 2012; Alm-Kristiansen et al., 2008)。

【0104】 CCNE2在不同癌症類型（包括乳腺癌、肺癌、胰腺癌和膀胱癌）中過度表達，並且可以進一步用作預後標誌物(Deng et al., 2013; Payton et al., 2002; Gudas et al., 1999; Chen et al., 2015a; Matsushita et al., 2015; Sieuwerts et al., 2006)。CCNE2受不同因子（包括雌激素、PTEN和微小RNA）調節。此外，CCNE2水準升高導致基因組不穩定與異常有絲分裂、微核和染色體畸變(Wu et al., 2009; Caldon et al., 2009; Caldon et al., 2013; Chen et al., 2015a)。

【0105】 CCT5與乳腺癌有關(Campone et al., 2008)。CCT5被證明在鼻腔鼻竇腺癌中上調(Tripodi et al., 2009)。CCT5與小細胞肺癌患者的總體生存，胃癌

和乳腺癌的耐藥性以及食管鱗狀細胞癌淋巴結轉移有關 (Niu et al., 2012; Ooe et al., 2007; Uchikado et al., 2006; Ludwig et al., 2002)。

【0106】 CDKAL1 在膀胱癌中頻繁擴增和過度表達，CDKAL1 單核苷酸多態性與糖尿病患者的癌症風險（例如，男性結直腸癌）相關 (Sainz et al., 2012; Ma et al., 2014b; Hurst et al., 2008)。

【0107】 CES3 通常在具有大的個體間變異的人結腸腫瘤組織中上調 (Sanghani et al., 2003)。

【0108】 CITED4 在不同癌症類型（包括乳腺癌和少突膠質細胞瘤）中通過啟動子高甲基化下調，這與預後相關 (Huang et al., 2011; Tews et al., 2007)。CITED4 阻斷缺氧誘導因子 1 α (HIF1 α) 與 p300 結合，並抑制 HIF1 α 反式啟動和缺氧介導基因啟動 (Huang et al., 2011; Fox et al., 2004)。

【0109】 COL6A3 編碼 VI 型膠原蛋白的 α -3 鏈，這是在大多數結締組織中發現的一種珠狀絲膠原，在基質組分的組織中起著重要作用 (RefSeq, 2002)。COL6A3 在結腸癌、膀胱癌和攝護腺癌中可變剪接。COL6A3 的長型異構體幾乎在癌症樣本中特有表達，可潛在地作為新的癌症標誌物 (Thorsen et al., 2008)。COL6A3 在胰腺導管腺癌組織中高度表達，並進行腫瘤特異性選擇性剪接 (Kang et al., 2014)。COL6A3 已被證明與高級別的卵巢癌相關，並有助於順鉑抗性的形成。COL6A3 被觀察到在胃癌

組織中頻繁過度表達(Xie et al., 2014)。COL6A3突變可明顯預測結直腸癌患者具有更好的整體生存率，與腫瘤分化和TNM分期無關(Yu et al., 2015b)。據報告，COL6A3表達在胰腺癌、結腸癌、胃癌、黏液表皮樣癌和卵巢癌中增加。在結腸癌、膀胱癌、攝護腺癌和胰腺癌中檢測到包括外顯子3、4和6的癌症相關轉錄物變體(Arafat et al., 2011; Smith et al., 2009; Yang et al., 2007; Xie et al., 2014; Leivo et al., 2005; Sherman-Baust et al., 2003; Gardina et al., 2006; Thorsen et al., 2008)。在卵巢癌中，COL6A3水準與較高的腫瘤分級相關，在胰腺癌中，COL6A3被證明可呈現一種合適的診斷血清生物標誌物(Sherman-Baust et al., 2003; Kang et al., 2014)。

【0110】 CUL9介導的細胞色素c降解是癌細胞在線粒體應激期間防止凋亡的策略(Gama et al., 2014)。腫瘤抑制基因CUL9與p53結合，並促進p53介導的細胞凋亡。CUL9也是控制p53亞細胞定位的關鍵調節因子，這對於其功能是必需的。CUL9耗竭導致自發性腫瘤發展(Pei et al., 2011; Nikolaev et al., 2003)。

【0111】 CXorf57是ALV誘導的B細胞淋巴瘤中常見的病毒整合位元點，導致正常基因轉錄破壞，表明其可能是新型腫瘤抑制基因(Justice et al., 2015)。

【0112】 CYP26B1 的高甲基化是胃癌的潛在診斷標誌物，CYB26B1 表達隨著膠質瘤惡性增加而增加 (Campos et al., 2011; Zheng et al., 2011)。通過 CYP26B1 清除活性代謝物全反式視黃酸 (atRA) 影響免疫細胞分化、生長和遷移的調節，並被 TGF- β 抑制，但通過 TNF- α 增強 (Stevison et al., 2015)。

【0113】 DDX6 被發現在結直腸腺癌、胃癌、肝細胞癌、結節邊緣區淋巴瘤、神經母細胞瘤、橫紋肌肉瘤和肺癌細胞系中過度表達 (Akao et al., 1995; Nakagawa et al., 1999; Miyaji et al., 2003; Lin et al., 2008a; Sary et al., 2013; Iio et al., 2013)。在結節邊緣區淋巴瘤中，DDX6 似乎以 NF- κ B 非依賴性方式干擾 BCL6 和 BCL2 的表達 (Sary et al., 2013)。最近的研究表明，DDX6 轉錄後通過促進其宿主基因產物 NCR143/145 RNA 的降解下調 miR-143/145 的表達 (Iio et al., 2013)。

【0114】 DGCR6 在轉移性乳腺癌細胞中失調，是細胞侵襲的可能介質 (Euer et al., 2002)。

【0115】 DGCR6L 通過形成 PAK/DGCR6L/ β -肌動蛋白複合物而調節人胃癌細胞的遷移 (Li et al., 2010b)。

【0116】 DMXL2 被證明在 ER- α 陽性乳腺癌中上調 (Faronato et al., 2015)。DMXL2 是 ER- α 陽性乳腺癌的一種功能性生物標誌物 (Faronato et al., 2015)。

【0117】 DNMT1 與癌症的 DNA 甲基化變化相關。此外，DNMT1 在不同的癌症實體（包括結直腸癌、肺癌、胰腺癌、攝護腺癌和肝癌）中過度表達（Xu et al., 2010; He et al., 2011; Feng et al., 2014; Samaei et al., 2014; Bashtrykov and Jeltsch, 2015; Zhang et al., 2015d; Saito et al., 2003）。DNMT1 穩定性通過 Wnt 途徑、I1-6/JAK2/STAT3 信號傳導和 pRB 蛋白來調節。此外，DNMT1 活性通過啟動子高甲基化導致幾種腫瘤抑制基因（包括 p16INK、p53 和 p21）的表觀遺傳沉寂（Rhee et al., 2002; Shamma et al., 2013; Liu et al., 2015a; Song et al., 2015）。

【0118】 DPYSL4 基因定位於染色體 10q25.2-q26，這是在膠質母細胞瘤中頻繁突變的區域，並且含有許多腫瘤抑制基因（Honnorat et al., 1999）。DPYSL4 是由應答 DNA 損傷的腫瘤抑制基因 p53 直接控制的凋亡誘導因子（Kimura et al., 2011）。

【0119】 DYNC2H1 被證明在多形性膠質母細胞瘤中上調（Yokota et al., 2006）。

【0120】 ECT2 過度表達是各種人類腫瘤（包括肺癌、卵巢癌、胃癌和胰腺癌）的腫瘤特異性基因擴增的結果。ECT2 對於細胞增殖、遷移、侵襲和致瘤性很重要（Fields and Justilien, 2010; Jin et al., 2014）。在卵巢癌中，蛋白激酶 C α 和 ECT2 通過 MEK/ERK 信令啟動腫瘤起始細胞表型（Wang et al., 2013c）。核 ECT2 優先結合至

R h o G T P 酶 R a c 1 並 通 過 R a c 1 活 化 導 致 細 胞 轉 化 ， 而 細 胞 質 E C T 2 結 合 至 R h o G T P 酶 R h o A 並 通 過 R h o A 活 化 導 致 胞 質 裂 溝 的 形 成 (S u e t a l . , 2 0 1 1 ; H u f f e t a l . , 2 0 1 3) 。

【0121】 E F R 3 B 表 達 增 加 與 食 管 黏 膜 的 鱗 狀 發 育 不 良 進 展 相 關 (J o s h i e t a l . , 2 0 0 6) 。 E F R 3 B 損 失 構 成 了 在 遺 傳 性 非 息 肉 性 結 直 腸 癌 (L y n c h 綜 合 征) 中 檢 測 到 的 罕 見 拷 貝 數 變 異 (C N V) (V i l l a c i s e t a l . , 2 0 1 6) 。

【0122】 與 間 質 幹 細 胞 相 比 ， E Y A 3 在 尤 因 肉 瘤 腫 瘤 樣 本 和 細 胞 系 中 高 度 表 達 。 另 一 方 面 ， E Y A 3 基 因 缺 失 與 某 些 胰 腺 導 管 腺 癌 相 關 (G u t i e r r e z e t a l . , 2 0 1 1 ; R o b i n e t a l . , 2 0 1 2) 。 最 近 的 工 作 表 明 ， E Y A 3 過 度 表 達 導 致 乳 腺 癌 細 胞 的 增 殖 、 遷 移 、 浸 潤 和 轉 化 增 加 (P a n d e y e t a l . , 2 0 1 0) 。

【0123】 F A M 8 3 F 在 食 管 鱗 狀 細 胞 癌 中 上 調 。 此 外 ， F A M 8 3 F 是 m i R - 1 4 3 的 靶 標 ， 其 抑 制 增 殖 、 遷 移 和 侵 襲 。 F A M 8 3 F 作 為 具 有 序 列 相 似 性 的 家 族 的 一 部 分 ， 包 含 8 3 ， 是 與 驅 動 細 胞 轉 化 相 關 的 高 度 保 守 結 構 域 (C i p r i a n o e t a l . , 2 0 1 4 ; M a o e t a l . , 2 0 1 6) 。

【0124】 與 非 致 瘤 性 細 胞 相 比 ， F I G 4 在 三 陰 性 乳 腺 癌 中 被 發 現 過 度 表 達 (I k o n o m o v e t a l . , 2 0 1 3) 。

【0125】 F M N L 2 在 結 直 腸 癌 中 過 度 表 達 ， 與 侵 襲 和 遷 移 相 關 ， 並 且 是 不 同 微 小 R N A 的 靶 標 (Z h u e t a l . , 2 0 0 8 ; L u e t a l . , 2 0 1 5 ; R e n e t a l . , 2 0 1 6) 。 F M N L 2 啟 動

R h o / R O C K 途徑、S R F 轉錄和影響細胞侵襲的肌動蛋白裝配。此外，F M N L 2 通過 S m a d 3 和 M A P K / M E K 信號參與 T G F - β 誘導的上皮-間質轉化和細胞侵襲。另外，F M N L 2 驅動 β 1 整合素內化，從而增加侵襲動力 (L i e t a l., 2010c; W a n g e t a l., 2015c; Z e n g e t a l., 2015)。

【0126】 當比較吸煙者與非吸煙者的煙草暴露肺組織以及吸煙者的腺癌時，F M O 3 差異表達，因此可用於識別肺癌風險增加的吸煙者 (W o e n c k h a u s e t a l., 2006)。F M O 3 影響不同癌症藥物（包括柔紅黴素、伊馬替尼和舒林酸）的療效和毒性 (T h o m p s o n e t a l., 2014; H i s a m u d d i n e t a l., 2005; R o c h a t e t a l., 2008)。一氧化氮供體和 p 5 3 募集到基因 5'-側翼區域 p 5 3 應答元素可影響 F M O 3 的活性 (C e l i u s e t a l., 2010; R y u e t a l., 2004)。

【0127】 F Z D 3 在不同的癌症類型（包括結直腸癌、胃癌和肝癌以及白血病）中上調，並且與癌症進展進一步相關 (W o n g e t a l., 2013; L u e t a l., 2004; B e n g o c h e a e t a l., 2008)。配體 W n t 5 a 與 F Z D 3 受體的結合促進 P I 3 K 和 A k t 活化 (K a w a s a k i e t a l., 2007)。

【0128】 G A L K 2 在腫瘤內遺傳篩查中被確定為卵巢癌的潛在治療靶標 (B a r a t t a e t a l., 2015)。G A L K 2 是參與 R N A i 表型篩查確定的攝護腺癌細胞生長調節的激酶 (W h i t w o r t h e t a l., 2012)。

【0129】 相對於正常組織，G P R 9 8 在原發性神經內分泌腫瘤中表達增加 (S h e r m a n e t a l., 2013)。G P R 9 8 是與多

形性膠質母細胞瘤存活相關的基因之一(Sadeque et al., 2012)。GPR98顯示由糖皮質激素調節的轉錄物，糖皮質激素用於急性淋巴細胞白血病，因為它們導致細胞凋亡的誘導(Rainer et al., 2012)。

【0130】 GTF3C5 在人卵巢癌中過度表達(Winter et al., 2000)。

【0131】 HELZ在不同的人類癌細胞中下調，位於各種人類癌症中經常丟失的染色體帶中。此外，HELZ在癌細胞生長中發揮作用(Nagai et al., 2003)。HELZ通過結直腸癌細胞中不同的microRNA受到 β -連環素/TCF4活性的抑制。HELZ與SMYD3直接相互作用，SMYD3本身在人類癌症中頻繁過度表達，以啟動癌基因的轉錄，從而促進癌發生(Schepeler et al., 2012; Hamamoto et al., 2004)。

【0132】 HIF1A被證明與侵襲性子宮內膜癌的腫瘤壞死相關。HIF1A被進一步描述為治療這種疾病的潛在靶標(Bredholt et al., 2015)。HIF1A被證明與肝癌發生、肉瘤轉移和鼻咽癌相關(Chen et al., 2014; El-Naggaret al., 2015; Li et al., 2015c)。HIF1A的單核苷酸多態性被證明與侵襲性肝癌患者手術後的臨床結果顯著相關(Guo et al., 2015)。異常HIF1A活性伴隨異常STAT3活性被證明可推動惡性神經鞘瘤細胞系中的腫瘤進展。因此，抑制STAT3/HIF1A/VEGF-A信號傳導軸被描述為一種可行的治療策略(Rad et al.,

2015)。HIF1A被描述為多發性骨髓瘤缺氧驅動耐藥性的一個重要靶標(Maiso et al., 2015)。HIF1A被證明在三種不同細胞系中不對稱表達，這三種細胞系對應於多發性骨髓瘤發病的不同階段，這表明HIF1A參與多發性骨髓瘤的腫瘤發生和轉移(Zhao et al., 2014a)。長非編碼HIF1A反義RNA-2被描述為在非乳頭狀透明細胞腎癌和胃癌中上調，與胃癌的腫瘤細胞增殖和不良預後相關(Chen et al., 2015d)。通過HIF1A的PI3K/AKT/mTOR途徑去調節被描述為對攝護腺癌幹細胞的靜止、維護和存活至關重要(Marhold et al., 2015)。HIF1A被描述為4-基因分類中的一個基因，可預測I期肺腺癌(Okayama et al., 2014)。HIF1A的多態性被證明與亞洲人群消化道癌的易感性增加相關(Xu et al., 2014b)。HIF1A描述為散發性男性乳腺癌的預後標誌物(Deb et al., 2014)。

【0133】HLA-E在不同癌症實體（包括胃癌、結直腸癌、肺癌和皮膚癌）中過度表達，並且與不良預後相關(Allard et al., 2011; Bossard et al., 2012; Ishigami et al., 2015; Talebian et al., 2016)。HLA-E/NKG2A介導腫瘤細胞對自然殺傷(NK)細胞介導裂解的抗性(Enqvist et al., 2011; He et al., 2014; Talebian et al., 2016)。

【0134】HTT與不同癌症類型（包括乳腺癌和卵巢癌）的癌症預後相關，其中野生型HTT在轉移性乳腺癌中下調。

突變H T T導致癌症進展和轉移，並且C A G重複基因大小似乎在癌症預後中起著作用(Moreira et al., 2013; Thion et al., 2015; Thion et al., 2016)。p53調節H T T的表達，並且突變體H T T形式修飾p53和p53介導的信號級聯，導致DNA損傷緩慢積累(Illuzzi et al., 2011; Feng et al., 2006)。

【0135】 I R A K 3在不同癌症類型（包括肝癌、攝護腺癌、胰腺癌、乳腺癌和腦癌）中下調、啟動子甲基化和/或S N P與腫瘤進展和不良預後相關(Lee et al., 2009; Rajaraman et al., 2009; Caba et al., 2014; Jain et al., 2014; Kuo et al., 2015; Angulo et al., 2016)。一方面，T G F- β 誘導腫瘤相關巨噬細胞(T A M)中的I R A K 3表達，以通過分泌I L -12、T N F α 和I F N - γ 來繞過巨噬細胞的抗腫瘤反應。另一方面，I R A K 3介導T L R 7誘導的M E K K 3依賴型第二波 N F - κ B啟動，以產生免疫抑制回饋(Standiford et al., 2011; Zhou et al., 2013a; Jain et al., 2014; del et al., 2005)。

【0136】 I R X 1在不同癌症類型（包括胃癌、口腔癌、頭頸癌和膀胱癌）中高度甲基化和下調。它進一步與細胞生長和侵襲相關(Marcinkiewicz and Gudas, 2014; Kitchen et al., 2016; Guo et al., 2010; Bennett et al., 2008b)。I R X 1通過B D K R B 2/P A K 1影響轉移形成，並參與T G Fbeta信號通路(Jiang et al., 2011; Bennett et al., 2008b)。

【0137】 *IRX2* 在不同癌症類型中失調，包括在肉瘤和乳腺癌中過度表達和基因擴增。另一方面，進一步觀察到肺癌中高甲基化和胃癌中雜合性丟失 (Rauch et al., 2012; Kadota et al., 2009; Liu et al., 2014d; Yu et al., 2006; Adamowicz et al., 2006)。 *IRX2* 促進 *PI3K/Akt* 通路活化以及 *VEGF*、*MMP2* 和 *MMP9* 上調後的增殖和侵襲 (Liu et al., 2014d; Liu et al., 2015c)。

【0138】 *ITGB7* 在不同的癌症類型（包括白血病、結直腸癌和肝癌細胞）中過度表達 (Ortega et al., 2010; Riches et al., 2014; Liu et al., 2003; Chen et al., 1999)。癌基因 *c-Maf* 上調 *ITGB7* 和細胞週期蛋白 *D2*，導致 T 細胞淋巴瘤細胞的惡性轉化 (Morito et al., 2006)。

【0139】 據報告，*ITPR1* 的表達在他莫昔芬耐藥性乳腺癌細胞系中被改變 (Elias et al., 2015)。研究人員推測，*HIF2 α /ITPR1* 軸在調節透明細胞腎細胞癌的細胞存活中具有作用。此外，*ITPR1* 與乳腺癌的總體生存顯著相關 (Messai et al., 2014; Gu et al., 2016)。

【0140】 *KCNN3* 異常表達導致細胞膜超極化和黑色素瘤細胞的細胞運動性增強 (Chantome et al., 2009)。*KCNN3*（也稱為 *TASK-1*）的表達被小鼠神經母細胞瘤 *N2A* 細胞中的 *17 β -雌二醇* 下調，並提高細胞增殖 (Hao et al., 2014)。*KCNN3* 表達被乳腺癌器官型培養物暴露於

生理和超生理濃度的 1,25 二羥基維生素 D (3) 而上調 (Milani et al., 2013)。KCNN3 (也稱為 K2P3.1)，與 K2P1.1 和 K2P12.1 一起在使用線上癌症微列陣資料庫 Oncomine (Williams et al., 2013) 所做的檢查的一系列癌症中過度表達。

【0141】 KNTC1 在腫瘤較大且與不良預後相關的口腔鱗狀細胞癌中下調。此外，在微衛星不穩定性的胃癌和結直腸癌中檢測到 KNTC1 的移碼突變 (Wang et al., 2004; Diniz et al., 2015; Kim et al., 2010)。

【0142】 LIG3 基因中的單核苷酸多態性改變了不同癌症類型 (包括肺癌、結直腸癌、食管癌和胰腺癌) 的風險 (Li et al., 2009; Corral et al., 2013; Hao et al., 2004; Landi et al., 2006)。c-Myc 在 LIG3 的轉錄啟動中起作用，導致白血病中易錯修復的增加 (Muvarak et al., 2015)。

【0143】 LILRA4 的單核苷酸多態性影響慢性淋巴細胞白血病患者化療反應和總生存期的預後 (Sellick et al., 2008)。表達 LILRA4 的 PDC 可啟動基於免疫受體酪氨酸的啟動基序 (ITAM) 介導的信號傳導途徑，並與骨髓基質細胞抗原 2 相互作用，以確保在病毒感染期間由 PDC 產生適當的 TLR 應答並且可能參與 PDC 腫瘤串擾。免疫球蛋白樣轉錄物 7 配體抑制 PDC 產生 I 型 IFN，因此，ILT7/ILT7L 相互作用可能在病毒感染之後呈現負反饋，並且在癌症微

環境中存在PDC損傷的機制(Tsukamoto et al., 2009; Palma et al., 2012)。

【0144】 LNX2在不同的癌症類型中失調，包括檢測到彌漫性大B細胞淋巴瘤的遺傳變異體和結直腸癌中基因擴增伴過度表達(Kumar et al., 2011; Camps et al., 2013)。LNX2增加Notch水準並上調轉錄因子TCF7L2，從而啟動Wnt信號(Camps et al., 2013)。

【0145】 LOXL4在不同的癌症類型中失調，包括與不良預後相關的肝癌中下調和在膀胱癌中下調後高甲基化。另一方面，觀察到結直腸癌和頭頸癌中的過度表達以及在與腫瘤進展、轉移和不良預後相關的胃癌中上調(Kim et al., 2009; Li et al., 2015a; Tian et al., 2015; Gorogh et al., 2016; Wu et al., 2007)。TGF- β 1在抑制Ras/ERK信號傳導、抑制MMP2活性和啟動FAK/Src途徑後誘導LOXL4(Li et al., 2015a; Wu et al., 2007; Kim et al., 2008)。

【0146】 LPPR4顯示兒童B細胞急性淋巴細胞白血病的異常DNA甲基化模式(Wong et al., 2012; Figueroa et al., 2013)。

【0147】 在許多類型人類腫瘤，包括非小細胞肺癌、肺腺癌、鱗狀細胞癌、甲狀腺癌、乳腺癌和卵巢癌中發現MADD過度表達(Subramanian et al., 2009; Li et al., 2011a; Wei et al., 2012; Bi et al., 2013; Turner et al., 2013)。研究人員證明，在A549細胞中MADD

水準升高抑制細胞凋亡和增加生存率，而 MADD 的敲減促進細胞凋亡和減少細胞增殖 (Wei et al., 2012; Bi et al., 2013)。此外，MADD 的功能由 PTEN-PI3K-Akt 信號途徑調節 (Jayarama et al., 2014)。

【0148】 MANEAL 是在乳腺癌等細胞中具有異常甲基化的癌症相關基因，取決於它們的雌激素和孕酮狀態 (Li et al., 2010a; Liu et al., 2011)。

【0149】 MB21D2 在小細胞肺癌中突變 (Peifer et al., 2012)。

【0150】 MCM2 被證明是早期乳腺癌、腎細胞癌、食管癌、喉鱗狀細胞癌和腦少突膠質細胞瘤增殖和預後的最敏感指標 (Wharton et al., 2001; Goings et al., 2002; Rodins et al., 2002; Gonzalez et al., 2003; Cai et al., 2012; Joshi et al., 2015)。

【0151】 MDN1 被描述為一種候選腫瘤抑制基因，在管腔 B 型乳腺癌中突變 (Cornen et al., 2014)。

【0152】 MED13 通常在乳腺癌中擴增，其中過度表達與不良預後相關。此外，具有微衛星不穩定性結直腸癌和胃癌的 MED13 移碼突變進行了描述 (Monni et al., 2001; Broude et al., 2015; Jo et al., 2016)。MED13 將 CDK8 癌基因與介質複合物物理連接，從而影響信號依賴性基因調節的功能 (Davis et al., 2013; Clark et al., 2015)。

【0153】 MEX3A 過度表達，並且在於晚期復發相關的 Wilms 腫瘤中擴增 (Krepischi et al., 2016)。MEX3A 通過影響腸分化、極性和幹性的轉錄後機制調節 CDX2，這有助於腸內穩態和致癌作用 (Pereira et al., 2013)。

【0154】 MRS2 促進細胞生長、下調 p27 並上調多藥耐藥性胃癌細胞中的細胞週期蛋白 D1 (Chen et al., 2009)。

【0155】 MTO1 在乳腺癌細胞中上調，表達水準與啟動子甲基化狀態呈負相關 (Kim et al., 2013)。

【0156】 MYB 可通過幾種突變被轉換為致癌轉化蛋白 (Zhou and Ness, 2011)。MYB 被稱為致癌基因，並通過調節關鍵靶基因 (如，環氧合酶-2、Bcl-2、BclX(L) 和 c-Myc) 的表達與細胞凋亡、細胞週期控制、細胞生長/血管生成和細胞黏附相關 (Ramsay et al., 2003; Stenman et al., 2010)。致癌融合蛋白 MYB-NFIB 和 MYB 過度表達發現於唾液腺腺樣囊性癌以及乳腺癌、兒童科彌散膠質瘤、急性髓細胞性白血病和胰腺癌 (Wallrapp et al., 1999; Pattabiraman and Gonda, 2013; Nobusawa et al., 2014; Chae et al., 2015; Marchio et al., 2010)。通過 Wnt 信號傳導期間 MYB 和 β -連環蛋白之間的協同作用，MYB 與結腸腫瘤發生有關 (Burgess et al., 2011)。由於 MYB 是雌激素信號的直接靶標，因此考慮抗 MYB 療法來治療 ER 陽性乳腺癌 (Gonda et al., 2008)。

【0157】 MZT1 基因位於具有推定乳腺癌易感性基因和各種惡性腫瘤體細胞缺失共同位元點的染色體區域 (Rozenblum et al., 2002)。

【0158】 NAV1 在 ER+/PR+ 乳腺癌中顯著低甲基化，在神經母細胞瘤中經常突變 (Li et al., 2010a; Lasorsa et al., 2016)。

【0159】 NBEA 是在不同癌症(包括骨髓瘤和口咽鱗狀細胞癌)中失活的常見脆弱位點基因之一。NBEA 顯示在胃癌中具有預後相關性的頻繁突變 (Li et al., 2016; O'Neal et al., 2009; Nagoshi et al., 2012; Gao et al., 2014; McAvoy et al., 2007)。

【0160】 NCOA1 常常過度表達，並進一步與不同癌症類型(包括乳腺癌、攝護腺癌和頭頸癌)的癌症進展和預後相關 (Qin et al., 2011; Qin et al., 2014; Pavon et al., 2016; Luef et al., 2016)。NCOA1 經由 AP1 結合位點和 ITGA5 表達上調通過增強 CSF1 啟動子活性促進乳腺癌轉移 (Qin et al., 2011; Qin et al., 2014)。

【0161】 NR2C2 與不同癌症類型(包括攝護腺和肺癌)的侵襲和轉移相關 (Ding et al., 2015; Qiu et al., 2015; Zhang et al., 2015b)。NR2C2 通過與其他核受體通路(如 PPAR γ 和 RAR)的相互作用影響癌發生，並通過 TGF β R2/p-Smad3 信號的啟動增加侵襲和轉移 (Liu et al., 2014c; Qiu et al., 2015; Lee et al., 2004)。

【0162】 NUP155 被描述為與乳腺癌易感性相關的白血球 DNA 的一個潛在表觀遺傳生物標誌物 (Khakpour et al., 2015)。NUP155 被描述為 NUP214-ABL1 陽性 T 細胞急性淋巴細胞白血病患者細胞的增殖和存活嚴格需要的，並由此構成了該疾病的一個潛在的藥物靶標 (De et al., 2014)。

【0163】 靶向作用於 MARK 的 siRNA 抑制宮頸癌細胞系生長，並導致 NUP188 的下調 (Huang et al., 2008; Yuan et al., 2010)。NUP188 似乎是乳腺癌中腫瘤抑制基因 BRCA1 的一個靶標 (Bennett et al., 2008a)。通過 K-纖維形成和募集 NUMA 到紡錘體極的有絲分裂中染色體排列需要 NUP188 (Itoh et al., 2013)。

【0164】 OLFM1 在不同癌症類型（包括子宮內膜癌和肺腺癌）中失調 (Wu et al., 2010; Wong et al., 2007)。OLF1 基因上調抑制 Wnt 信號通路的細胞外抑制劑的活性，這可能促進細胞增殖 (Tong et al., 2014)。

【0165】 與正常肝組織相比，在肝細胞癌中觀察到 PI4KA 水準升高。另外，在胰腺癌細胞系中檢測到 PI4KA 基因 (Ishikawa et al., 2003; Ilboudo et al., 2014)。PI4KA mRNA 濃度較高的肝細胞癌患者腫瘤復發以及疾病特定生存期較短風險較高 (Ilboudo et al., 2014)。最近，PI4KA 被發現參與髓母細胞瘤細胞系的細胞增殖和順鉑耐藥。其他人的研究顯示，PI4KA 在胰腺癌的侵襲和

轉移中起著至關重要的作用 (Ishikawa et al., 2003; Guerreiro et al., 2011)。

【0166】 POLA1 在宮頸腫瘤和高級別上皮內病變中上調 (Arvanitis and Spandidos, 2008)。SIX1 表達增加上調 POLA1 並促進宮頸癌的增殖和生長。此外，腫瘤抑制微 RNA miR-206 調節肺癌細胞中的 POLA1 表達 (Liu et al., 2014b; Cui et al., 2013)。

【0167】 POLD2 擴增和 7p 上 RPA3 缺失與卵巢癌患者的 DNA 穩定性和更長的存活相關 (Sankaranarayanan et al., 2015)。網路模型的 POLD2 和 6 個其他景觀基因的表達與膠質母細胞瘤患者的生存期相關 (Bredel et al., 2009)。

【0168】 PPP4C 在不同癌症類型 (例如結直腸癌和胰腺癌) 中過度表達，並且與侵襲、轉移和不良預後進一步相關 (Weng et al., 2012; Li et al., 2015b)。MEK/ERK 途徑的抑制啟動作為 PP4 一部分的 PPP4C，並通過 IKK 複合物的失活增強 NF- κ B 信號，而磷酸化的 Akt 是 PPP4C 介導的 MMP-2 和 MMP-9 上調所需的 (Brechmann et al., 2012; Li et al., 2015b; Yeh et al., 2004)。

【0169】 PTRH2 在不同癌症類型中失調，包括在與轉移相關的肺癌和乳腺癌中下調，在於腫瘤進展相關的食管鱗狀細胞癌和與卵巢腺癌中上調 (Karmali et al., 2011; Kim et al., 1998; Hua et al., 2013; Fan et al., 2014; Yao et al., 2014)。由 E2 結合至 $E\alpha$ 介導的

PTRH2 下調主要通過PI3K/Akt途徑完成，並導致抗消化酶效應(Zheng et al., 2014a)。

【0170】 P1k1 在細胞分裂期間磷酸化RACGAP1以產生Ect2的結合位元點，導致Rho/ERK信號傳導軸啟動，這可促進轉移(Kim et al., 2014; Chen et al., 2015b)。RACGAP1在不同癌症實體（包括結直腸癌、乳腺癌、肝癌和肺癌）中過度表達。RACGAP1進一步與乳腺癌和肝細胞癌的進展和預後差相關(Wang et al., 2011; Pliarchopoulou et al., 2013; Liang et al., 2013; Imaoka et al., 2015)。

【0171】 RACGAP1P的四個變體可在受結直腸癌密集影響的16個家族中檢測到(DeRycke et al., 2013)。

【0172】 RGS12在不同癌症類型中失調。RGS12基因的單核苷酸多態性(SNP)與晚期非小細胞肺癌的總體存活相關，並且無義介導的衰變(NMD)-抗性移碼突變進一步與高度微衛星不穩定性(MSI)結直腸癌相關(Williams et al., 2010; Dai et al., 2011; Potocnik et al., 2003)。Gβγ通過PI3激酶γ和cSrc作用以啟動Galphai1/2/3的酪氨酸磷酸化，隨後與RGS12結合，導致Galphai快速失活(Huang et al., 2014)。

【0173】 RTEL1的單核苷酸多態性與腦腫瘤（例如神經膠質瘤）的風險相關。RTEL1基因座在多種人類癌症（包括肝細胞癌和胃腸道腫瘤）中經常擴增(Wu et al., 2012; Zhao et al., 2014b; Adel et al., 2015)。RTEL1

以 ATP 依賴性反應通過促進 D 環重組中間體分解，以消除不適當的重組事件，從而確保維持基因組完整性，從而拮抗同源重組 (Barber et al., 2008)。

【0174】 SENP1 表達在不同癌症類型（包括攝護腺、肝癌和肺癌）中上調，並且與癌症進展和細胞增殖有關 (Bawa-Khalfe et al., 2010; Wang et al., 2013a; Burdelski et al., 2015; Zhang et al., 2016)。HGF/c-Met 和 IL-6 誘導 SENP1 引起 NF β B 信號和上皮-間質轉化 (EMT) 活化，隨後導致細胞增殖和遷移 (Xu et al., 2015; Zhang et al., 2016)。

【0175】 SETDB2 在不同癌症類型中頻繁缺失或下調，包括在與不良預後相關的乳腺癌中缺失，在結直腸癌中移碼突變，在與癌症進展相關的慢性淋巴細胞性白血病中染色體區域缺失 (Mabuchi et al., 2001; Parker et al., 2011; Choi et al., 2014; Liu et al., 2015b)。

【0176】 SIPA1L3 在正常乳腺上皮和原位導管癌之間差異表達，並且可能與細胞增殖的調節相關 (Abba et al., 2004)。

【0177】 NHE (Na-H 交換) 經由 p21 上調通過 SLC4A8 誘導的氯化物濃度下降抑制胃癌細胞增殖，且 pH 無變化 (Hosogi et al., 2012)。

【0178】 SLC5A6 在癌細胞（例如人乳腺癌細胞）中的生物素攝取高於正常細胞，可能用於維持高增殖狀態，從而

為抗癌藥物遞送系統提供了機會 (Vadlapudi et al., 2013)。

【0179】 *SLCO2A1* 在不同癌症類型中失調，包括在頭頸部鱗狀細胞癌和結直腸癌中下調以及在胰腺和肝癌中過度表達 (Wlcek et al., 2011; Zolk et al., 2013; Hays et al., 2013; Shang et al., 2015)。*SLCO2A1* 作為 *Cox-2/PGE2* 途徑的一部分特別影響在結直腸癌細胞腫瘤發生中起作用的 *PGE2* 分泌。*SLCO2A1* 通過 *PI3K/Akt/mTOR* 通路進一步介導肺癌細胞的侵襲和凋亡 (Greenhough et al., 2009; Zhu et al., 2015; Kasai et al., 2016)。

【0180】 *SLIT1* 在不同癌症類型（包括宮頸癌、腦癌、胃癌、結直腸癌和肝細胞癌）中超甲基化和下調 (Zheng et al., 2009; Ghoshal et al., 2010; Kim et al., 2016; Dickinson et al., 2004; Narayan et al., 2006)。*SLIT1* 是 DNA 甲基轉移酶 *DNMT3B* 的靶標，導致啟動子高度甲基化。*SLIT1* 也是 *WNT/ β -連環蛋白* 信號通路的靶標 (Ghoshal et al., 2010; Katoh and Katoh, 2005)。

【0181】 *SLIT2* 在不同腫瘤實體（包括乳腺和腎癌）中下調，並且被描述為腫瘤抑制因子。另一方面，也發現了 *SLIT2* 在不同癌症類型（包括皮膚癌和胃癌）中過度表達並與癌症進展相關。因此，*SLIT2/Robo1* 信號軸對腫瘤生長和轉移的影響似乎取決於細胞環境 (Alvarez et al.,

2013; Shi et al., 2013; Ma et al., 2014c; Qi et al., 2014; Yuan et al., 2016; Prasad et al., 2008)。SLIT2/Robo1 信號軸的啟動通過啟動 Src 信號傳導、E-鈣黏蛋白下調和 Wnt/ β -連環蛋白途徑的誘導來促進腫瘤發生。此外，腫瘤抑制作用似乎由 β -連環蛋白和 PI3K 信號通路的調節介導，導致 β -連環蛋白/E-鈣黏蛋白介導的細胞-細胞黏附增強 (Zhang et al., 2015c; Prasad et al., 2008)。

【0182】 與正常黏膜相比時，SPC25 與 CDCA1、KNTC2 和 APC24 一起在結直腸癌和胃癌中過度表達 (Kaneko et al., 2009)。

【0183】 STAT4 在不同癌症類型中失調，包括與不良預後相關的肝細胞癌和淋巴瘤中下調以及在與侵襲相關的結腸直腸和胃癌中過度表達 (Zhou et al., 2014b; Litvinov et al., 2014; Wang et al., 2015a; Cheng et al., 2015)。通過 JAK2/STAT4/穿孔素途徑的上調誘導細胞毒性 CD4⁺T 細胞可抑制腫瘤細胞生長 (Zhou et al., 2014a)。

【0184】 STK33 在不同癌症類型中失調，包括在下嚥癌和肝癌中過度表達以及與結直腸癌的癌症進展和高甲基化相關 (Moon et al., 2014; Yang et al., 2016; Huang et al., 2015b)。STK33 可通過抑制 p53、胱天蛋白酶-3 和 E-鈣黏蛋白促進細胞遷移、侵襲和上皮-間質轉化

(EMT)而增強上皮間質轉化(Huang et al., 2015b; Wang et al., 2015b)。

【0185】 TAT在肝細胞癌中下調、高甲基化並且位於頻繁缺失區域，並且通過促進細胞色素c釋放和活化半胱天冬酶-9和PARP以線粒體依賴性方式顯示與其促凋亡作用相關的腫瘤抑制能力(Fu et al., 2010)。

【0186】 一些研究人員報告，TIMELESS蛋白和mRNA在結直腸癌、宮頸癌、肺癌和攝護腺癌中過度表達。另一方面，另一項研究報告了TIMELESS在肝細胞癌中下調。此外，TIMELESS基因的單核苷酸多態性與攝護腺癌風險無關，但與乳腺癌風險相關(Lin et al., 2008b; Fu et al., 2012; Mazzocchi et al., 2011; Yoshida et al., 2013; Mao et al., 2013; Markt et al., 2015; Elgohary et al., 2015)。在肺癌中，TIMELESS水準升高與不良的總體生存相關(Yoshida et al., 2013)。

【0187】 TIPARP通常在口腔鱗狀細胞癌進展期間擴增，並且該基因位於與卵巢癌易感性相關的基因座上(Goode et al., 2010; Cha et al., 2011)。

【0188】 與T細胞急性淋巴細胞白血病相關的TLX3表達由基因組重排介導，但其預後相關性正在討論中(Ballerini et al., 2008; Ma et al., 2014a; Su et al., 2004)。在TLX3重排的T-ALL病例中可檢測的其他遺傳損傷為WT1和FBXW7缺失，其是介導Notch1、Myc、Jun和細胞週期蛋白E降解的U3-泛素連接酶(Van et al., 2008)。

【0189】 TMEM44 編碼富集在味蕾底部並與發育不成熟的味細胞相關的多跨膜蛋白 (Moyer et al., 2009)。

【0190】 TNFRSF6B 在包括乳腺癌、宮頸癌、膀胱癌、胃癌和肝癌的不同癌症類型中過度表達，並且與腫瘤進展進一步相關 (Yang et al., 2010; Lin and Hsieh, 2011; Jiang et al., 2014; Zheng et al., 2014b; Jiang et al., 2016)。TNFRSF6B 下調通過 FADD、胱天蛋白酶-3、-8、-9 的啟動誘導 Fas-配體介導的凋亡，並且還減少 ERK1/2 磷酸化 (Zhou et al., 2013c; Zhang et al., 2015e; Hu et al., 2016)。

【0191】 TOP2A 顯示在胰腺腺鱗癌中上調 (Borazanci et al., 2015)。TOP2A 被描述為在癌細胞的基因拷貝數和基因表達水準上通常被改變，並且可能在人類癌症的染色體不穩定性中起關鍵作用 (Chen et al., 2015c)。TOP2A 與其他基因一起被證明在惡性外周神經鞘腫瘤中發生基因組和分子異常，並且表現出作為個體化治療靶標的巨大希望 (Yang and Du, 2013)。TOP2A 被描述為惡性胸膜間皮瘤的去調節基因，也可能與對順鉑的抗性相關 (Melaiu et al., 2012)。TOP2A 被描述為一種致癌基因，其擴增與乳腺癌中對蒽環類藥物化療的顯著應答相關 (Zhang and Yu, 2011)。TOP2A 缺失和擴增被描述為在 HER-2 擴增和原發性乳腺腫瘤中是普遍的，並且與不良預後相關 (Pritchard et al., 2008; Jarvinen and Liu, 2003)。與錯配修復缺陷型亞組相比，TOP2A 基因

拷貝數也被證明在錯配修復良好的結直腸癌亞組中升高，這可為錯配修復良好的腫瘤選擇性提供存活優勢 (Sonderstrup et al., 2015)。TOP2A 被描述為分化良好和去分化脂肪肉瘤的潛在靶標 (Crago and Singer, 2011)。非小細胞肺癌中的 TOP2A 表達顯示與腫瘤組織學類型相關，並與無腦轉移 2 年生存期呈負相關 (Huang et al., 2015a)。TOP2A 顯示與非小細胞肺癌發生腦轉移的風險增加相關 (Huang et al., 2015a)。TOP2A 表達被證明與在手術後接受輔助紫杉烷-鉑治療子宮內膜癌患者的總體和無疾病生存率相關 (Ito et al., 2016)。TOP2A 被證明可通過誘導有助於更具侵襲性表型的基因的染色體重排來促進攝護腺癌的侵襲性 (Schaefer-Klein et al., 2015)。TOP2A 被證明與雄激素受體信號傳導途徑相關，這有助於攝護腺癌進展並賦予對治療的敏感性 (Schaefer-Klein et al., 2015)。

【0192】 TUBGCP2 被證明在紫杉醇耐藥卵巢癌細胞系中上調，並被描述為與非小細胞肺癌細胞系 NCI-H1155 對紫杉醇的敏感性有關 (Huang and Chao, 2015)。TUBGCP2 被證明在膠質母細胞瘤中上調，其過度表達拮抗 CDK5 調節亞基相關腫瘤抑制蛋白 3 對 DNA 損傷 G2/M 檢查點活性的抑制作用 (Draberova et al., 2015)。

【0193】 TXNIP 是在各種癌症實體（包括乳腺癌、肺癌、胃癌和結直腸癌）中下調和高度甲基化的腫瘤抑制基因。它進一步與腫瘤進展和預後相關 (Zhou et al., 2011;

Zhou and Chng, 2013; Le et al., 2006)。TXNIP 增加 ROS 和氧化應激的產生，導致細胞凋亡以及 TXNIP 與許多細胞內信號傳導途徑串擾，包括細胞葡萄糖攝取以及 c-Myc、p53、HER-2 和 p38 MAPK/ERK (Zhou and Chng, 2013; Suh et al., 2013; Li et al., 2014; Nie et al., 2015; Shen et al., 2015; Hong and Hagen, 2015)。

【0194】UPF1 是無義介導 mRNA 降解 (NMD) 機制的一部分，並且可能在攝護腺癌進展和轉移中發揮著功能性作用 (Yang et al., 2013)。另外，UPF1 RNA 監控基因在胰腺癌腺鱗癌中通常突變 (Liu et al., 2014a)。

【0195】USP1 在不同癌症類型中過度表達，包括宮頸癌、肺癌、胃癌、黑色素瘤和肉瘤 (Williams et al., 2011; Garcia-Santisteban et al., 2013; Jung et al., 2016)。PDGF 信號上調去泛素化的 USP1，由此穩定作為增殖和癌症進展必要因子的 DNA 結合 (ID) 蛋白抑制劑。相同的途徑也可能參與染色體重複的控制 (Wrighton, 2011; Mistry et al., 2013; Jung et al., 2016; Rahme et al., 2016)。

【0196】UTY 表達失調與不同癌症類型相關，包括頭頸部癌、攝護腺癌和鼻癌 (Dasari et al., 2001; Lau and Zhang, 2000; Sethi et al., 2009; Llorente et al., 2008)。UTY 催化 H3K27 肽的脫甲基化，因此可作為轉錄阻遏物 (Walport et al., 2014)。

【0197】 在包括乳腺、肺、肝、攝護腺和結直腸癌在內的不同癌症類型中VCP的過度表達與腫瘤進展和不良預後相關(Valle et al., 2011; Yamamoto et al., 2003; Cui et al., 2015; Yamamoto et al., 2004; Tsujimoto et al., 2004)。Aurora-B和Akt激酶可磷酸化VCP，然後可直接調節他的下游靶標，如p53和NF- β B，從而影響細胞增殖和存活(Valle et al., 2011; He et al., 2015; Vandermoere et al., 2006; Braun and Zischka, 2008)。

【0198】 WDFY3被證明在結直腸癌中下調(Piepoli et al., 2012)。

【0199】 WDR36是結直腸癌幾種癌症相關微RNA的靶標(Li et al., 2011b)。WDR36功能的缺失導致p53應激反應途徑的啟動，Bax、p53和CDNK1A mRNA的上調，並進一步導致凋亡性細胞死亡(Gallenberger et al., 2011; Skarie and Link, 2008)。

【0200】 WDR7表達受胃癌中拷貝數變化的抑制，並且在許多惡性細胞系中顯示出表達升高(Junnila et al., 2010; Sanders et al., 2000)。

【0201】 全基因組關聯研究確定了XXYLT1的基因多態性。研究提出，這些多態性是非小細胞肺癌發展的易感性基因座(Zhang et al., 2012)。

【0202】 ZFYVE16是EGF信號傳導的磷酸化靶標，可與Smad2相互作用以促進TGF- β 信號傳導，從而在調節癌

細胞的細胞生長和增殖中起重要作用 (Chen et al., 2007b; Chen et al., 2007a)。

【0203】 SUMO 修飾增強 ZNF131 對雌激素信號傳導的負面影響，並因此減弱乳腺癌細胞中雌激素誘導的細胞生長 (Oh and Chung, 2012)。

【0204】 ZNF292 的變化被描述為慢性淋巴細胞性白血病驅動改變 (Puente et al., 2015)。ZNF292 被描述為結直腸癌的腫瘤抑制基因 (Takeda et al., 2015)。ZNF292 被描述為在頭頸部鱗狀細胞癌中具有臨床相關性的免疫原性抗原 (Heubeck et al., 2013)。

【圖式簡單說明】

【0205】 圖 1A 至 E 顯示了正常組織（白色柱）和小細胞肺癌（黑色柱）中各種肽的過量呈現。圖 1A) CCNE2，肽：AMLEEVNYI (SEQ ID NO:1) - 從左至右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，5 乳房，2 軟骨，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，2 輸尿管，6 膀胱，2 子宮，6 食管，19 SCLC 癌症樣本。該肽還在 2/17 慢性淋巴細胞性白血病，1/20 胰腺癌細胞系，1/27 結直腸癌，4/16 非霍奇金淋巴瘤，3/19 胰腺癌中檢測出。圖 1B) IFT81，肽：VLAEIDPKQLV (SEQ

ID NO:3) - 從左至右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，5 乳房，2 軟骨，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，2 輸尿管，6 膀胱，2 子宮，6 食管，19 SCLC 癌症樣本。該肽還在 2/16 肝癌，2/20 卵巢癌，1/20 食管癌中檢測出。圖 1C) POLA1，肽：GLDPTQFRV (SEQ ID NO:39) 從左至右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，6 乳房，2 軟骨，1 眼，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，3 子宮，6 食管，19 SCLC 癌症樣本。該肽還在 1/20 胰腺癌細胞系，1/16 非霍奇金淋巴瘤，1/20 卵巢癌，1/20 膀胱癌中檢測出。圖 1D) LOXL4，肽：GLLEVQVEV (SEQ ID NO:40) - 從左至右的組織：2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，6 乳房，2 軟骨，1 眼，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，3 子宮，6 食管，19 SCLC

癌症樣本。該肽還在 1/20 胰腺癌細胞系，1/20 卵巢癌中檢測出。圖 1E) USP1，肽：SLQSLIISV (SEQ ID NO:5) - 從左至右的組織：3 細胞系（1 血液，1 胰腺），2 正常組織（1 淋巴結，1 脾臟），24 癌組織（2 白血球白血病癌症，1 乳腺癌，1 膽囊癌，5 肺癌，6 淋巴結癌，2 卵巢癌，2 攝護腺癌，2 皮膚癌，1 膀胱癌，2 子宮癌）。圖 1F 至 P 顯示了正常組織（白色柱）和癌症（黑色柱）中各種肽的過量呈現。圖 1F) 基因符號：GPR98，肽：GLLGDI A IHL (SEQ ID NO:7) - 從左至右的組織：1 細胞系（血細胞），2 正常組織（1 腦，1 垂體腺），35 癌組織（27 腦癌，1 乳腺癌，1 肝癌，4 肺癌，2 子宮癌）。圖 1G) 基因符號：ITPR1，肽：IL IETKLVL (SEQ ID NO:14) - 從左至右的組織：2 細胞系（1 攝護腺，1 皮膚），2 正常組織（1 淋巴結，1 脾），26 癌症組織（11 白血球白血病癌症，1 腎癌，6 肺癌，4 淋巴結癌，1 卵巢癌，1 攝護腺癌，1 胃癌，1 睪丸癌）。圖 1H) 基因符號：ATP2C1，肽：GLYSKTSQSV (SEQ ID NO:33) - 從左至右的組織：2 細胞系（1 血細胞，1 胰腺），4 正常組織（1 腎上腺，1 結腸，2 肺），41 癌症組織（1 白血球白血病癌症，2 乳腺癌，3 食管癌，5 頭頸癌，1 結腸癌，1 肝癌，14 肺癌，3 淋巴結癌，5 卵巢癌，1 攝護腺癌，3 膀胱癌，2 子宮癌）。圖 1I) 基因符號：NEDD1，肽：SLSGEII LHSV (SEQ ID NO:45) - 從左至右的組織：3 細胞系（2 胰腺，1 皮膚），14 癌症組織（2 乳腺癌，3 頭頸癌，1 結腸癌，5 肺癌，1 皮膚癌，2 膀胱癌）。圖 1J)

基因符號：SLC4A8，肽：VLLSGLTEV (SEQ ID NO：59) - 從左至右的組織：8 癌組織 (1 白細胞性白血病癌症，4 腦癌，2 肺癌，1 直腸癌)。圖 1K) 基因符號：ECT2，肽：KAIGSLKEV (SEQ ID NO：72) - 從左至右的組織：1 細胞系 (1 胰腺)，12 癌組織 (1 食管癌，1 結腸癌，1 直腸癌，5 肺癌，2 卵巢癌，1 胃癌，1 子宮癌)。圖 1L) 基因符號：XXYLT1，肽：RLLEPAQVQQQL (SEQ ID NO：79) - 從左至右的組織：4 細胞系 (1 血細胞，2 胰腺，1 皮膚)，2 正常組織 (1 結腸，1 脾)，29 癌組織 (2 腦癌，1 乳腺癌，2 食道癌，1 頭頸癌，1 直腸癌，1 肝癌，8 肺癌，4 淋巴結癌，4 卵巢癌，1 皮膚癌，2 膀胱癌，2 子宮癌)。圖 1M) 基因符號：TSEN34，肽：LLAEIGAVTLV (SEQ ID NO：81) - 從左至右的組織：8 細胞系 (5 血細胞，1 胰腺，2 皮膚)，30 癌組織 (1 膽管癌，1 骨髓細胞癌，1 白細胞性白血病癌症，2 乳腺癌，2 頭頸癌，1 結腸癌，2 肝癌，11 肺癌，1 淋巴結癌，3 卵巢癌，1 攝護腺癌，2 皮膚癌，2 膀胱癌)。圖 1N) 基因符號：MCM2，肽：FLPEAPAE (SEQ ID NO：111) - 從左至右的組織：5 細胞系 (5 血細胞)，19 癌組織 (5 白血球白血病癌症，1 髓樣細胞癌骨髓癌，1 膽囊癌，1 肺癌，8 淋巴結癌，1 胃癌，1 子宮癌)。圖 1O) 基因符號：LIG3，肽：LLLPGVIKTV (SEQ ID NO：112) - 從左至右的組織：1 細胞系 (1 血細胞)，10 癌組織 (1 白血球白血病癌症，1 結腸癌，4 肺癌，3 卵巢癌，1 膀胱癌)。圖 1P) 基因符號：STK33，肽：SLIDDNNEINL

(SEQ ID NO: 119) - 從左至右的組織：3細胞系（3血細胞），1正常組織（1氣管），13癌組織（3腦癌，2肺癌，2淋巴結癌，3卵巢癌，1攝護腺癌，2子宮癌）。

【0206】 圖2A至D顯示了本發明的源基因的代表性表達特徵，這些基因在一系列正常組織（白色柱）的小細胞肺癌中以及10個小細胞肺癌樣本（黑色柱）中高度過度表達或專門表達。圖2A. 基因符號：MEX3A；圖2B 基因符號：ECT2；圖2C：基因符號：CCNE2；圖2D：基因符號：TIMELESS。

【0207】 圖3A和B顯示了示例性的免疫原性資料：肽特定多聚體染色後流式細胞儀結果。圖3A) 基因符號：SLIT1, SLIT2，肽：SLYDNQITTV (SEQ ID NO:130)；圖3B) 基因符號：TLX3，肽：SLAPAGVIRV (SEQ ID NO:128)。

【0208】 圖4顯示了健康 HLA-A*02+ 供體的肽特異性 CD8+T細胞體外反應的示例性結果。CD8+T細胞製備的方法為：使用抗CD28 mAb和HLA-A*02塗層的人工APC分別與Seq ID No 80肽ILMDPSPEYA (A, 左圖)、Seq ID No 82肽ALSSVIKEL (B, 左圖)和Seq ID No 110肽GLTETGLYRI (C, 左圖)合成。經過3個週期的刺激後，用A*02/Seq ID No 80 (A)、A*02/Seq ID No 82 (B)或A*02/Seq ID No 110 (C)的2D多聚體染色法對肽反應性細胞進行檢測。右圖 (A、B和C) 顯示用不相關A*02/肽複合體刺激的細胞對照染色。活單細胞在

C D 8 + 淋巴細胞上得到門控。**B o o l e a n** 門控幫助排除用不同肽特定的多聚體檢測的假陽性事件。提示了特異性多聚體 + 細胞和 **C D 8 +** 淋巴細胞的頻率。

【實施方式】

【0209】 是否能刺激免疫反應取決於是否存在被宿主免疫系統視為異物的抗原。發現腫瘤相關抗原的存在增加了運用宿主免疫系統干預腫瘤生長的可能性。目前，針對癌症免疫治療，正在探索利用免疫系統的體液和細胞進行免疫的各種機制。

【0210】 細胞免疫反應的特定元素能特異性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的 **T -** 細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是 **C D 8** 陽性 **T** 細胞在這種反應中發揮重要作用，**T C D 8 +** 能識別通常 8 至 10 個源自蛋白或位於細胞質的缺損核糖體產物 (**D R I P**) 的氨基酸殘基的主要組織相容性複合體 (**M H C**) 所載的肽中所含的 **I** 類分子。人 **M H C** 分子也稱為人類白血球抗原 (**H L A**)。

【0211】 除非另有說明，否則本文使用的所有術語定義如下。

【0212】 術語「**T** 細胞反應」是指由一種肽在體外或體內誘導的效應子功能的特異性擴散和啟動。對於 **M H C I** 類限制性細胞毒性 **T** 細胞，效應子功能可能為溶解肽脈衝的、肽前體脈衝的或天然肽呈現的靶細胞、分泌細胞因子，優選為

肽誘導的干擾素- γ ，TNF- α 或IL-2，分泌效應分子，優選為肽誘導的顆粒酶或穿孔素，或脫顆粒。

【0213】 本文所用「肽」這一術語，系指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。這些肽的長度優選為9個氨基酸，但至短可為8個氨基酸長度，至長可為10、11或12個氨基酸或更長，如果為MHC-II類肽時（本發明肽的拉長變體），至長可為13、14、15、16、17、18、19或20個氨基酸長度或更長。

【0214】 因此，「肽」這一術語應包括一系列氨基酸殘基的鹽，通常透過相鄰氨基酸的 α -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。優選的情況是，鹽為肽的藥用鹽，例如：氯化物或乙酸（三氟乙酸）鹽。必須注意的是，本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為該不是體內的鹽。

【0215】 術語「肽」應也包括「寡肽」。本文使用的術語「寡肽」是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。寡肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要在寡肽中保持正確的表位即可。通常，寡肽長度約小於30個氨基酸殘基，約長於15個氨基酸。

【0216】 「多肽」這一術語是指一系列氨基酸殘基，通常透過相鄰氨基酸的 α -氨基和羰基之間的肽鍵來連接。多肽的長度對於本發明來說並不十分關鍵，只要保持正確的表位即可。與術語肽或寡肽相對，「多肽」這一術語是指包含多於約30個氨基酸殘基的分子。

【0217】 一種肽、寡肽、蛋白質或編碼該分子的核苷酸如果能誘導免疫反應，則具有「免疫原性」（因此是本發明中的一種「免疫原」）。在本發明的情況下，免疫原性的更具體定義是誘導T細胞反應的能力。因此，「免疫原」是一種能夠誘導免疫反應的分子，並且在本發明的情況下，是一種能誘導T細胞反應的分子。在另一方面，所述免疫原可以是肽，肽與MHC的複合體、和/或用於提高特異性抗體或TCR抗性的蛋白。

【0218】 I類T細胞「表位」要求的是一種結合至MHC I類受體上的短肽，從而形成一種三元複合體（MHC I類 α 鏈、 β -2-微球蛋白和肽），其可以透過T細胞負載匹配T細胞受體與具有適當親和力的MHC/肽複合物結合來識別。結合至MHC I類分子的肽的典型長度為8-14個氨基酸，最典型為9個氨基酸長度。

【0219】 在人類中，有三種編碼MHC I類分子的不同基因位點（人MHC分子也是指定的人類白血球抗原（HLA））：HLA-A、HLA-B和HLA-C。HLA-A*01、HLA-A*02和HLA-B*07是可從這些基因位點表達的不同MHC I類等位元基因的實例。

【0220】 表5：HLA-A*02和HLA-A*24和最常見HLA-DR血清類型的表達頻率F。頻率根據Mori等人（Mori et al., 1997）使用的Hardy-Weinberg公式 $F = 1 - (1 - Gf)^2$ 改編，從美國人群範圍內的單體型頻率中推導出。由於連鎖不平衡，某些HLA-DR等位基因內的

A*02 或 A*24 組合與其預期單一頻率相比，可能是濃縮的或頻率較低。有關詳細資訊，請參閱 Chanock 等人的文獻 (Chanock et al., 2004)。

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*02	高加索人（北美）	49.1%
A*02	非裔美國人（北美）	34.1%
A*02	亞裔美國人（北美）	43.2%
A*02	拉丁美洲（北美）	48.3%
DR1	高加索人（北美）	19.4%
DR2	高加索人（北美）	28.2%
DR3	高加索人（北美）	20.6%
DR4	高加索人（北美）	30.7%
DR5	高加索人（北美）	23.3%
DR6	高加索人（北美）	26.7%
DR7	高加索人（北美）	24.8%
DR8	高加索人（北美）	5.7%
DR9	高加索人（北美）	2.1%
DR1	非裔（北）美人	13.20%
DR2	非裔（北）美人	29.80%
DR3	非裔（北）美人	24.80%
DR4	非裔（北）美人	11.10%
DR5	非裔（北）美人	31.10%
DR6	非裔（北）美人	33.70%
DR7	非裔（北）美人	19.20%
DR8	非裔（北）美人	12.10%
DR9	非裔（北）美人	5.80%
DR1	亞裔（北）美人	6.80%
DR2	亞裔（北）美人	33.80%
DR3	亞裔（北）美人	9.20%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
DR4	亞裔（北）美人	28.60%
DR5	亞裔（北）美人	30.00%
DR6	亞裔（北）美人	25.10%
DR7	亞裔（北）美人	13.40%
DR8	亞裔（北）美人	12.70%
DR9	亞裔（北）美人	18.60%
DR1	拉丁裔（北）美人	15.30%
DR2	拉丁裔（北）美人	21.20%
DR3	拉丁裔（北）美人	15.20%
DR4	拉丁裔（北）美人	36.80%
DR5	拉丁裔（北）美人	20.00%
DR6	拉丁裔（北）美人	31.10%
DR7	拉丁裔（北）美人	20.20%
DR8	拉丁裔（北）美人	18.60%
DR9	拉丁裔（北）美人	2.10%
A*24	菲律賓	65%
A*24	俄羅斯涅涅茨人	61%
A*24:02	日本	59%
A*24	馬來西亞	58%
A*24:02	菲律賓	54%
A*24	印度	47%
A*24	韓國	40%
A*24	斯里蘭卡人	37%
A*24	中國	32%
A*24:02	印度	29%
A*24	澳大利亞西部人	22%
A*24	美國	22%
A*24	俄羅斯薩馬拉人	20%
A*24	南美	20%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
A*24	歐洲	18%

【0221】 本發明的肽，優選當如本文描述納入本發明的疫苗時與 A * 0 2 結合。疫苗還可能包括泛結合 M H C I I 類肽。因此，本發明的疫苗可用於治療 A * 0 2 陽性患者中的癌症，但不因為這些肽的廣泛結核性而必須選擇 I I 類 M H C 同種異型。

【0222】 如果本發明的 A * 0 2 肽與結合至另一等位基因例如 A * 2 4 的肽組合，與單獨的 M H C I 類等位基因相比，可治療更高比例的患者群體。雖然在大多數人群中，低於 5 0 % 的患者可由單獨的等位基因來解決問題，但是本發明中一種含 H L A - A * 2 4 和 H L A - A * 0 2 表位的疫苗可以治療任何相關人群中至少 6 0 % 的患者。具體來說，各區域中，以下比例的患者這些等位基因中的至少一個有肯定效果：美國 6 1 % 、西歐 6 2 % 、中國 7 5 % 、韓國 7 7 % 、日本 8 6 % （根據 www.allelefrequencies.net 計算）。

【0223】 在一項優選的實施方案中，術語「核苷酸序列」系指去氧核苷酸的雜聚物。

【0224】 編碼特定肽、寡肽或多肽的核苷酸序列可為天然核苷酸序列，也可為合成核苷酸序列。一般來說，編碼肽、多肽以及本發明蛋白的 D N A 片段由 c D N A 片段和短寡核苷酸銜接物，或一系列寡核苷酸組成，以提供一種合成基因，該基因能夠在包含源自微生物或病毒操縱子的調節元素的重組轉錄單元中被表達。

【0225】 如本文所用的術語「肽的核苷酸編碼」系指對肽進行核苷酸序列編碼，其中該肽包括與將由用於產生TCR的樹突細胞或另一細胞系統所表達該序列的生物系統相容的人工（人造）啟動和停止密碼子。

【0226】 本文提到的核酸序列既包括單鏈核酸也包括雙鏈核酸。因此，除非本文另有所指，否則，例如對於DNA，具體的序列是該序列的單鏈DNA、該序列與其互補序列的雙工（雙鏈DNA）以及該序列的互補序列。

【0227】 「編碼區」這一術語是指在基因的天然基因組環境中天然或正常編碼該基因的表達產物的那部分基因，即，體內編碼該基因的天然表達產物的區域。

【0228】 編碼區可來自非突變（「正常」）基因、突變基因或異常基因，甚至還可以來自DNA序列，完全可在實驗室中使用本領域熟知的DNA合成方法合成。

【0229】 「表達產物」這一術語是指多肽或蛋白，它是基因和遺傳碼退化並因而編碼同樣的氨基酸所造成的任何核酸序列編碼同等物的翻譯產物。

【0230】 「片段」這一術語，當指的是一種編碼序列時，表示包含非完整編碼區的DNA的一部分，其表達產物與完整編碼區表達產物基本上具有相同的生物學功能或活性。

【0231】 「DNA片段」這一術語是指一種DNA聚合物，以單獨的片段形式或一種較大DNA結構的組分形式存在，它們從至少分離過一次的DNA中以基本純淨的形式獲得，即不含污染性內源性材料，並且獲得的數量或濃度能夠使用

標準生化方法，例如使用選殖載體，進行識別、操縱和回收該片段及其組分核苷酸序列。此類片段以開放閱讀框架（未被內部未翻譯序列打斷）或內含子（通常呈現於真核基因中）的形式存在。未翻譯DNA序列可能存在於開放閱讀框架的下游，在那裏其不會干預編碼區的操縱或表達。

【0232】 「引物」這一術語表示一種短核酸序列，其可與一個DNA鏈配對，並在DNA聚合酶開始合成去氧核糖核酸鏈之處提供一個游離的3'-OH末端。

【0233】 「啟動子」這一術語表示參與RNA聚合酶的結合從而啟動轉錄的DNA區域。

【0234】 術語「分離」表示一種物質從其原來的環境（例如，如果是天然發生的則是天然環境）中被移走。例如，活體動物中的天然核苷酸或多肽不是分離的，但是，從天然系統中一些或所有共存物質中分離出來的核苷酸或多肽是分離的。此類多核苷酸可能是載體的一部分和/或此類多核苷酸和多肽可能是一種組合物的一部分，並且由於該載體或組合物不是其天然環境的一部分，因此它仍然是分離的。

【0235】 本發明中披露的多核苷酸和重組或免疫原性多肽也可能以「純化」的形式存在。術語「純化」並非要求絕對的純度；它只是一個相對的定義，可以包括高度純化或部分純化的製劑，相關領域技術人員能理解這些術語。例如，各個從已用傳統方法純化為具有電泳同質性的cDNA庫中分離出的各種克隆物。明確考慮到將起始材料或天然物質純化至少一個數量級，優選為兩或三個數量級，更優

選為四或五個數量級。此外，明確涵蓋所述多肽的純度優選為99.999%，或至少為99.99%或99.9%；甚而適宜為以重量計99%或更高。

【0236】 根據本發明公開的核酸和多肽表達產物，以及包含此類核酸和/或多肽的表達載體可能以「濃縮的形式」存在。本文使用的術語「濃縮」是指材料的濃度至少是其自然濃度的大約2、5、10、100或1000倍，有優勢的是，按重量計為0.01%，優選為至少0.1%。也明確考慮到，按重量計約為0.5%、1%、5%、10%和20%的濃縮製劑。序列、構型、載體、克隆物以及包含本發明的其他材料可有優勢地以濃縮或分離的形式存在。「活性片段」這一術語是指產生免疫反應的片段（即具有免疫原性活性），通常是一種肽、多肽或核酸序列的片段，不論是單獨或可選地與合適的佐劑一起或在載體中給予一種動物，比如哺乳動物，例如兔子或小鼠，也包括人；這種免疫反應採用的形式是在接受動物（如：人）體內刺激T細胞反應。或者，「活性片段」也可用於誘導體外T細胞反應。

【0237】 本文使用的「部分」（portion）、「節段」（segment）、「片段」（fragment）這幾個術語，當與多肽相關地使用時是指殘基的連續序列，比如氨基酸殘基，其序列形成一個較大序列的子集。例如，如果一個多肽以任一種肽鏈內切肽酶（如胰蛋白酶或糜蛋白酶）進行處理，則該處理獲得的寡肽會代表起始多肽的部分、節段或片

段。當與多核苷酸相關地使用時，這些術語系指用任何核酸內切酶處理所述多核苷酸產生的產物。

【0238】 根據本發明，術語「等同度百分比」或「等同百分比」，如果指的是序列，則表示在待對比序列（「被對比序列」）與所述序列或請求的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或請求的序列進行比較。然後根據下列公式計算等同度百分比：

$$\text{等同度百分比} = 100 [1 - (C/R)]$$

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

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

(ii) 參考序列中每個空隙，以及

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

(iiii) 必須在對準序列的第 1 位置開始對準；

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

【0239】 如果「被對比序列」和「參考序列」之間存在的一個對準按上述計算的等同度百分比大致等於或大於指定的最低等同度百分比，則被對比序列與參考序列具有指定的最低等同度百分比，雖然可能存在按本文上述計算的等同度百分比低於指定等同度百分比的對準。

【0240】 因此，如上所述，本發明提出了一種肽，其包括選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126群組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126具有88%同源性的其變體、或誘導與該肽發生T細胞交叉反應的一個變體。本發明所述的肽具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或所述肽拉長版本的II類分子結合的能力。

【0241】 在本發明中，「同源性」一詞系指兩個氨基酸序列之間的同一度（參見上文的等同度百分比，如肽或多肽序列。前文所述的「同源」是透過將理想條件下調整的兩個序列與待比較序列進行比對後確定的。此類序列同源性可透過使用ClustalW等演算法創建一個排列而進行計算。也可用使用一般序列分析軟體，更具體地說，是Vector NTI、GENETYX或由公共資料庫提供的其他工具。

【0242】 本領域技術人員能評估特定肽變體誘導的T細胞是否可與該肽本身發生交叉反應(Appay et al., 2006; Colombetti et al., 2006; Fong et al., 2001; Zaremba et al., 1997)。

【0243】 發明人用給定氨基酸序列的「變體」表示，一個或兩個氨基酸殘基等的側鏈透過被另一個天然氨基酸殘基的側鏈或其他側鏈取代而發生改變，這樣，這種肽仍然能夠以含有給定氨基酸序列（由SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126組成）的肽大致同樣的方式與HLA分子結合。例如，一種肽可能被修飾以便至少維持（如沒有提高）其能與HLA-A*02或-DR等合適MHC分子的結合槽相互作用

和結合，以及至少維持（如沒有提高）其與活化T細胞的TCR結合的能力。

【0244】 隨後，這些T細胞可與細胞和殺傷細胞發生交叉反應，這些細胞表達多肽（其中包含本發明中定義的同源肽的天然氨基酸序列）。正如科學文獻和資料庫（Rammensee et al., 1999; Godkin et al., 1997）中所述，HLA-A結合肽的某些位點通常為錨定殘基，可形成一種與HLA結合槽的結合模序相稱的核心序列，其定義由構成結合槽的多肽鏈的極性、電物理、疏水性和空間特性確定。因此，本領域技術人員能夠透過保持已知的錨殘基來修飾SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO:126提出的氨基酸序列，並且能確定這些變體是否保持與MHC I或II類分子結合的能力。本發明的變體保持與活化T細胞的TCR結合的能力，隨後，這些T細胞可與表達一種包含本發明定義的同源肽的天然氨基酸序列的多肽的細胞發生交叉反應並殺死該等細胞。

【0245】 如果無另有說明，那麼本文公開的原始（未修飾）肽可以透過在肽鏈內的不同（可能為選擇性）位點上取代一個或多個殘基而被修飾。優選情況是，這些取代位於氨基酸鏈的末端。此取代可能是保守性的，例如，其中一個氨基酸被具有類似結構和特點的另一個氨基酸所取代，比如其中一個疏水性氨基酸被另一個疏水性氨基酸取代。更保守的取代是具有相同或類似的大小和化學性質的氨基酸間的取代，例如，亮氨酸被異亮氨酸取代。在天然同源蛋

白質家族序列變異的研究中，某些氨基酸的取代往往比其他氨基酸更具有耐受性，這些氨基酸往往表現出與原氨基酸的大小、電荷、極性和疏水性之間的相似性相關，這是確定「保守取代」的基礎。

【0246】 在本文中，保守取代定義為在以下五種基團之一的內部進行交換：基團1—小脂肪族、非極性或略具極性的殘基 (A l a, S e r, T h r, P r o, G l y)；基團2—極性、帶負電荷的殘基及其醯胺 (A s p, A s n, G l u, G l n)；基團3—極性、帶正電荷的殘基 (H i s, A r g, L y s)；基團4—大脂肪族非極性殘基 (M e t, L e u, I l e, V a l, C y s) 以及基團5—大芳香殘基 (P h e, T y r, T r p)。

【0247】 較不保守的取代可能涉及一個氨基酸被另一個具有類似特點但在大小上有所不同的氨基酸所取代，如：丙氨酸被異亮氨酸殘基取代。高度不保守的取代可能涉及一個酸性氨基酸被另一個具有極性或甚至具有鹼性性質的氨基酸所取代。然而，這種「激進」取代不能認為是無效的而不予考慮，因為化學作用是不完全可預測的，激進的取代可能會帶來其簡單化學原理中無法預見的偶然效果。

【0248】 當然，這種取代可能涉及普通L-氨基酸之外的其他結構。因此，D-氨基酸可能被本發明的抗原肽中常見的L-氨基酸取代，也仍在本公開的範圍之內。此外，非標準氨基酸（即，除了常見的天然蛋白原氨基酸）也可以用於取代之目的，以生產根據本發明的免疫原和免疫原性多肽。

【0249】 如果在一個以上位置上的取代發現導致肽的抗原活性基本上等於或大於以下定義值，則對這些取代的組合進行測試，以確定組合的取代是否產生對肽抗原性的疊加或協同效應。肽內被同時取代的位置最多不能超過4個。

【0250】 基本上由本文所指氨基酸序列組成的一種肽可能有一個或兩個非錨定氨基酸（見下面錨基序相關內容）被交換，而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。在另一實施方案中，在基本上由本文所述氨基酸序列組成的肽中，一個或兩個氨基酸可與其保守交換夥伴交換（見下文），而不存在這種情況，即相比於未修飾的肽，與人類主要組織相容性複合體（MHC）-I或II類分子的能力基本上被改變或受到不利影響。

【0251】 這些基本不與T細胞受體互動的氨基酸殘基可透過取代其他幾乎不影響T細胞反應並不妨礙與相關MHC結合的氨基酸而得到修飾。因此，除了特定限制性條件外，本發明的肽可能為任何包括給定氨基酸序列或部分或其變體的肽（發明人所用的這個術語包括寡肽或多肽）。

【0252】 表6：根據SEQ ID NO：1、3和8的肽的變體和基序

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID No 1	A	M	L	E	E	V	N	Y	I			
變體		L							V			
		L										
		L							L			
		L							A			

									V			
									L			
									A			
		A							V			
		A										
		A							L			
		A							A			
		V							V			
		V										
		V							L			
		V							A			
		T							V			
		T										
		T							L			
		T							A			
		Q							V			
		Q										
		Q							L			
		Q							A			
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID No 3	V	L	A	E	I	D	P	K	Q	L	V	
變體											I	
											L	
											A	
		M										
		M									I	
		M									L	
		M									A	
		A										
		A									I	
		A									L	
		A									A	
		V										
		V									I	
		V									L	
		V									A	
		T										
		T									I	
		T									L	
		T									A	
		Q										
		Q									I	
		Q									L	
		Q									A	
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SEQ ID No 8	V	L	I	D	D	S	Q	S	I	I	F	I

變體												V
												L
												A
		M										V
		M										
		M										L
		M										A
		A										V
		A										
		A										L
		A										A
		V										V
		V										
		V										L
		V										A
		T										V
		T										
		T										L
		T										A
		Q										V
		Q										
		Q										L
		Q										A

【0253】 較長（拉長）的肽也可能適合。MHC I類表位（通常長度為8至11個氨基酸）可能由肽從較長的肽或包含實際表位的蛋白中加工而產生。兩側有實際表位的殘基優選為在加工過程中幾乎不影響暴露實際表位所需蛋白裂解的殘基。

【0254】 本發明的肽可被拉長多達四個氨基酸，即1、2、3或4個氨基酸，可按照4:0與0:4之間的任何組合添加至任意一端。本發明的拉長組合可見表7。

【0255】 表7：本發明肽的拉長組合

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

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

【0256】 拉伸 / 延長的氨基酸可以是所述蛋白或任何其他氨基酸的原序列肽。拉長可用於增強所述肽的穩定性或溶解性。

【0257】 因此，本發明所述的表位可能與天然腫瘤相關表位或腫瘤特異性表位相同，也可能包括來自參考肽的不超過四個殘基的不同肽，只要它們有基本相同的抗原活性即可。

【0258】 在一項替代實施方案中，肽的一邊或雙邊被拉長4個以上的氨基酸，優選最多30個氨基酸的總長度。這可形成MHC-II類結合肽。結合至MHC II類肽可透過本領域中已知的方法進行測試。

【0259】 因此，本發明提出了MHC I類表位的肽和變體，其中所述肽或抗體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸長度（即10、11、12、13、14個氨基酸，如果為拉長II類結合肽時，長度也可為15、16、17、18、19、20、21或22個氨基酸）。

【0260】 當然，本發明的肽或變體能與人主要組織相容性複合體（MHC）I或II類分子結合。肽或變體與MHC複合物的結合可用本領域內的已知方法進行測試。

【0261】 優選情況是，當本發明的肽特異性T細胞相比於取代肽受到檢測時，如果取代肽在相對於背景肽溶解度增加

達到最大值的一半，則該肽濃度不超過約 1 mM，優選為不超過約 1 μ M，更優選為不超過約 1 nM，再優選為不超過約 100 pM，最優選為不超過約 10 pM。也優選為，取代肽被一個以上的 T 細胞識別，最少為 2 個，更優選為 3 個。

【0262】 在本發明的一個特別優選實施方案中，肽系由或基本系由根據 SEQ ID NO: 1 至 SEQ ID NO: 126 所選的氨基酸序列組成。

【0263】 基本由「...組成」系指本發明的肽，除了根據 SEQ ID NO: 1 至 SEQ ID NO: 126 中的任一序列或其變體組成外，還含有位於其他 N 和 / 或 C 端延伸處的氨基酸，而它們不一定能形成作為 MHC 分子表位的肽。

【0264】 但這些延伸區域對有效將本發明中的肽引進細胞具有重要作用。在本發明的一實施例中，該肽為融合蛋白的一部分，含來自 NCBI、GenBank 登錄號 X00497 的 HLA-DR 抗原相關不變鏈（p33，以下稱為「Ii」）的 80 個 N-端氨基酸等。在其他的融合中，本發明的肽可以被融合到本文所述的抗體、或其功能性部分，特別是融合入抗體的序列，以便所述抗體進行特異性靶向作用，或者，例如進入本文所述的樹突狀細胞特異性抗體。

【0265】 此外，該肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和 / 或與 MHC 分子結合，從而引發更強的免疫反應。肽序列的該類優化方法是本領域內所熟知的，包括，例如，反式肽鍵和非肽鍵的引入。

【0266】 在反式肽鍵氨基酸中，肽 ($-\text{CO}-\text{NH}-$) 並未連接其殘基，但是其肽鍵是反向的。這種逆向反向模擬肽 (*retro-inverso peptidomimetics*) 可透過本領域已知的方法製備，例如：Meziere 等人在 (Meziere et al., 1997) 中所述的方法，以引用的方式併入本文。這種方法涉及製備包含骨架（而並非側鏈）改變的模擬肽。Meziere 等人 (Meziere et al., 1997) 的研究顯示，這些類比肽有利於 MHC 的結合和輔助性 T 細胞的反應。以 $\text{NH}-\text{CO}$ 鍵替代 $\text{CO}-\text{NH}$ 肽鍵的逆向反向肽大大地提高了抗水解性能。

【0267】 非肽鍵為 $-\text{CH}_2-\text{NH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{COCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_2\text{SO}-$ 等。美國 4897445 號專利提出了多肽鏈中非肽鍵 ($-\text{CH}_2-\text{NH}$) 的非固相合成法，該方法涉及按標準程序合成的多肽以及透過氨基醛和一種含 NaCNBH_3 的氨基酸相互作用而合成的非肽鍵。

【0268】 含上述序列的肽可與其氨基和 / 或羧基末端的其他化學基團進行合成，從而提高肽的穩定性、生物利用度、和 / 或親和力等。例如，苄氧羰基、丹醯基等疏水基團或叔丁氧羰基團可加入肽的氨基末端。同樣，乙醯基或 9-苄甲氧羰基可能位於肽的氨基末端。此外，疏水基團、叔丁氧羰基團或氨基團都可能被加入肽的羧基末端。

【0269】 另外，本發明中的所有肽都可能經合成而改變其空間構型。例如，可能使用這些肽的一個或多個氨基酸殘基的右旋體，通常不是其左旋體。更進一步地，本發明中肽

的至少一個氨基酸殘基可被熟知的一個非天然氨基酸殘基取代。諸如此類的改變可能有助於增加本發明肽的穩定性、生物利用度和/或結合作用。

【0270】 同樣，本發明中的肽或變體可在合成肽之前或之後透過特異氨基酸的反應而進行化學修飾。此類修飾的實施例為本領域所熟知，例如，在 R. Lundblad 所著的《Chemical Reagents for Protein Modification》(3rd ed. CRC Press, 2004) (Lundblad, 2004) 中有概述，以參考文獻的方式併入本文。雖然氨基酸的化學修飾方法無限制，但其包括（但不限於）透過以下方法修飾：醯基化、脒基化、賴氨酸吡哆基化、還原烷基化、以 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)三硝基苯基化氨基團、透過將半胱氨酸過甲酸氧化為磺基丙氨酸而對羧基團和巰基進行氨基修飾、形成易變衍生物、與其他巰基化合物形成混合二硫化合物、與馬來醯亞胺反應，與碘乙酸或碘乙醯胺羧甲基化、在鹼性 pH 值下與氰酸鹽甲氨醯化。在這方面，技術人員參考了《Current Protocols In Protein Science》(Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000)) (Coligan et al., 1995) 中第 15 章所述的在蛋白質化學修飾相關的廣泛方法。

【0271】 簡言之，修飾蛋白質的精氨酸殘基等往往基於於鄰二羰基化合物（如苯甲醯甲醛、2,3-丁二酮以及 1,2-烯巳二酮）的反應而形成加合物。另一個實施例是丙酮醛與精氨酸殘基的反應。半胱氨酸可在賴氨酸和組氨酸等親核

位點不作隨同修飾的情況下就得到修飾。因此，有大量試劑可進行半胱氨酸的修飾。Sigma-Aldrich (<http://www.sigma-aldrich.com>) 等公司的網站含有具體試劑的資訊。

【0272】 蛋白質中二硫鍵的選擇性還原也很普遍。二硫鍵可在生物制藥熱處理中形成和氧化。伍德沃德氏試劑K可用於修飾特定的谷氨酸殘基。N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亞胺可用於形成賴氨酸殘基和谷氨酸殘基的分子內交聯。例如：焦碳酸二乙酯是修飾蛋白質組氨酸殘基的試劑。組氨酸也可使用4-羥基-2-壬烯醛進行修飾。賴氨酸殘基與其他 α -氨基團的反應，例如，有利於肽結合到蛋白/肽的表面或交聯處。賴氨酸聚是多(乙烯)乙二醇的附著點，也是蛋白質糖基化的主要修飾位點。蛋白質的蛋氨酸殘基可透過碘乙醯胺、溴乙胺、氯胺T等被修飾。

【0273】 四硝基甲烷和N-乙醯基咪唑可用於酪氨酸殘基的修飾。經二酪氨酸形成的交聯可透過過氧化氫/銅離子完成。

【0274】 對色氨酸修飾的最近研究中使用了N-溴代琥珀醯亞胺、2-羥基-5-硝基苄溴或3-溴-3-甲基-2-(2-硝苯巰基)-3H-吡啶(BPNS-糞臭素)。

【0275】 當蛋白與戊二醛、聚乙二醇二丙烯酸酯和甲醛的交聯用於配製水凝膠時，治療性蛋白和含聚乙二醇的肽的成功修飾往往可延長迴圈半衰期。針對免疫治療的變態反應原化學修飾往往透過氰酸鉀的氨基甲醯化實現。

【0276】 一種肽或變體，其中肽被修飾或含非肽鍵，優選為本發明的實施例。

【0277】 本發明的另一實施方案涉及一種非天然肽，其中所述肽系由或基本系由根據 SEQ ID No:1 至 SEQ ID No:141 的一個氨基酸序列組成，並經合成產生（即，合成）為一種藥用鹽。合成產生肽的方法是本領域公知的。本發明肽的鹽與其體內狀態的肽基本上不同，因為這些體內產生的肽不是鹽。該肽的非天然鹽形式介導肽的溶解度，特別是包含所述肽的藥物組合物的情況下，例如，本文所公開的肽疫苗。為了向需治療的受試者有效地提供肽，需要肽具有充分、至少基本的溶解度。優選地，鹽為肽的藥用鹽。本發明的這些鹽包括域和域土鹽類，諸如 Hofmeister 系列的鹽，包含陰離子 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 CH_3COO^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 NO_3^- 、 ClO_4^- 、 I^- 、 SCN^- 和陽離子 NH_4^+ 、 Rb^+ 、 K^+ 、 Na^+ 、 Cs^+ 、 Li^+ 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Ba^{2+} 。特別地，鹽選自 $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 、 NH_4Cl 、 NH_4Br 、 NH_4NO_3 、 NH_4ClO_4 、 NH_4I 、 NH_4SCN 、 Rb_3PO_4 、 Rb_2HPO_4 、 RbH_2PO_4 、 Rb_2SO_4 、 $\text{Rb}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 、 Rb_4Cl 、 Rb_4Br 、 Rb_4NO_3 、 Rb_4ClO_4 、 Rb_4I 、 Rb_4SCN 、 K_3PO_4 、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 、 K_2SO_4 、 KCH_3COO 、 KCl 、 KBr 、 KNO_3 、 KClO_4 、 KI 、 KSCN 、 Na_3PO_4 、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、 Na_2SO_4 、 NaCH_3COO 、 NaCl 、 NaBr 、 NaNO_3 、

NaClO_4 、 NaI 、 NaSCN 、 ZnCl_2 、 Cs_3PO_4 、 Cs_2HPO_4 、
 CsH_2PO_4 、 Cs_2SO_4 、 CsCH_3COO 、 CsCl 、 CsBr 、
 CsNO_3 、 CsClO_4 、 CsI 、 CsSCN 、 Li_3PO_4 、 Li_2HPO_4 、
 LiH_2PO_4 、 Li_2SO_4 、 LiCH_3COO 、 LiCl 、 LiBr 、 LiNO_3 、
 LiClO_4 、 LiI 、 LiSCN 、 Cu_2SO_4 、 $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ 、
 Mg_2HPO_4 、 $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 Mg_2SO_4 、 $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、
 MgCl_2 、 MgBr_2 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ 、 MgI_2 、
 $\text{Mg}(\text{SCN})_2$ 、 MnCl_2 、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 Ca_2HPO_4 、
 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 CaSO_4 、 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 CaCl_2 、
 CaBr_2 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ 、 CaI_2 、 $\text{Ca}(\text{SCN})_2$ 、
 $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 Ba_2HPO_4 、 $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 、 BaSO_4 、
 $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 BaCl_2 、 BaBr_2 、 $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 、
 $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ 、 BaI_2 和 $\text{Ba}(\text{SCN})_2$ 。特別優選為NH乙酸、
 MgCl_2 、 KH_2PO_4 、 Na_2SO_4 、 KCl 、 NaCl 和 CaCl_2 ，
 例如：氯化物或乙酸鹽（三氟乙酸）鹽。

【0278】 一般來說，肽和變體（至少含氨基酸殘基之間的肽
 聯接）可使用Lukas等人(Lukas et al., 1981)以及此
 處引用的參考文獻所披露的固相肽合成Fmoc-聚醯胺模式
 進行合成。芴甲氧羰基(Fmoc)團對N-氨基提供臨時保
 護。使用N,N-二甲基甲醯胺中的20%二甲基吡啶中對這種
 域高度敏感的保護基團進行重複分裂。由於它們的丁基醚
 (在絲氨酸蘇氨酸和酪氨酸的情況下)、丁基酯(在谷氨酸和
 天門冬氨酸的情況下)、叔丁氧羰基衍生物(在賴氨酸和組
 氨酸的情況下)、三苯甲基衍生物(在半胱氨酸的情況下)及

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

【0279】 三氟乙酸用真空中蒸發、隨後用承載粗肽的二乙基乙醚滴定進行去除。用簡單萃取程序（水相凍乾後，該程序製得不含清道夫混合物的肽）清除任何存在的清道夫混合物。肽合成試劑一般可從 *Calbiochem - Novabiochem*（英國諾丁漢）獲得。

【0280】 純化可透過以下技術的任何一種或組合方法進行，如：再結晶法、體積排阻色譜法、離子交換色譜法、疏水作用色譜法以及（通常）反相高效液相色譜法（如使用乙腈/水梯度分離）。

【0281】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（C S P E）、反相高效液相色譜法、酸解後的氨基酸分析、快原子轟擊（F A B）質譜分析以及M A L D I和E S I - Q - T O F質譜分析進行肽分析。

【0282】 為了選擇過度呈現的肽，計算了呈現圖，其顯示樣本中位元呈現量以及複製變化。該特點使相關腫瘤實體的樣本與正常組織樣本的基線值並列。可透過計算調節線性混合效應模型(Pinheiro et al., 2015)的p值將以上每個特點併入過度呈現分數中，從而透過假發現率(Benjamini and Hochberg, 1995)調整多項檢驗（參見實施例1、圖1）。

【0283】 對於透過質譜法對H L A配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的H L A分子進行純化並對H L A相關肽進行分離。分離的肽分開，並透過線上納米-電噴霧-電離(n a n o E S I)液相色譜-譜(L C - M S)實驗進行鑒定。由此產生的肽序列的驗證方法是，將小細胞肺癌樣本(N = 19個A * 02陽性樣本)中記錄的自然腫瘤相關肽(T U M A P)的片段模式與相同序列相應合成參考肽的片段模式進行比較。由於這些肽被直接鑒定為原發性腫瘤H L A分子的配體，因此這些結果為來自14名小細胞肺癌患者的

原發癌症組織上確定肽的自然加工和呈現提供了直接證據。

【0284】 發現管道 X P R E S I D E N T® v 2 . 1（例如，參見 U S 2 0 1 3 - 0 0 9 6 0 1 6，並在此透過引用將其整體併入本文）考慮到識別和選擇相關過量呈現的候選肽疫苗，這基於與幾種不同的非癌組織和器官相比癌症或其他受感染組織的 H L A 限制肽水準直接相對定量結果。這透過以下方法實現：使用專有資料分析管道處理的 L C - M S 採集資料、結合序列識別演算法、譜聚類、計算離子、保留時間調整、充電狀態卷積以及正態化而開發無標記差異化定量方法。

【0285】 為每種肽和樣本確立了呈現水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量呈現的肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量呈現的肽已經得到確定。

【0286】 對來自小細胞肺癌組織樣本的 H L A 肽複合物進行純化，並且對 H L A 相關肽使用 L C - M S 進行分離和分析（見實施例）。本申請中包含的所有 T U M A P 使用原發性小細胞肺癌樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性小細胞肺癌上的呈現。

【0287】 在多個小細胞肺癌和正常組織上確定的 T U M A P 用無標記 L C - M S 資料的離子計數方法進行量化。該方法假定肽的 L C - M S 信號區域與樣本中其豐度相關。各種 L C - M S 實驗中肽的所有量化信號在集中趨勢基礎上進行正常化，根據每個樣品進行平均，併合併入柱狀圖（被稱為呈現圖）。呈現圖整合了不同分析方法，如：蛋白資料

庫檢索、譜聚類、充電狀態卷積（除電）和保留時間校準和正態化。

【0288】除了過量呈現肽之外，也測試了潛在基因的 mRNA 表達。mRNA 資料通過 RNA 測序分析正常組織和癌組織獲得（見實施例 2、圖 3）。正常組織資料的額外來源是從 3000 個正常組織樣本中公開發得的 RNA 表達資料的資料庫（Lonsdale, 2013）。獲得自蛋白的肽在癌組織中顯示高表達編碼 mRNA，但是在重要正常組織中非常低或不存在，這些肽作為優選肽納入本發明。

【0289】本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量呈現或只呈現本發明肽的小細胞肺癌。這些肽由質譜分析法直接顯示出，而由 HLA 分子自然呈現於原發性人小細胞肺癌樣本中。

【0290】與正常組織相比，癌症中高度過量表達肽來源的許多源基因/蛋白質（也指定為「全長蛋白」或「潛在蛋白」）-本發明相關的「正常組織」是健康肺組織或其他正常組織細胞，這表明腫瘤與這些源基因的高度關聯性（見實施例 2）。此外，這些肽本身也在腫瘤組織中過度呈現（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自小細胞肺癌患者的樣本），但不在正常組織中過度呈現（見實施例 1）。

【0291】HLA 結合肽能夠被免疫系統識別，特別是 T 淋巴細胞。T 細胞可破壞呈現被識別 HLA/肽複合體的細胞（如：呈現衍生肽的小細胞肺癌細胞）。

【0292】 本發明的所有肽已被證明具有刺激 T 細胞反應的能力，並過量呈現，因而可用於製備本發明的抗體和 / 或 T C R，例如可溶性 T C R（參見實施例 3 和實施例 4）。此外，肽與相應的 M H C 組合時，也可用於製備本發明的抗體和 / 或 T C R，特別是 s T C R。各個方法均為技術人員所熟知，並在各個文獻中可找到。因此，本發明的肽可用於在患者中產生免疫反應，從而能夠毀滅腫瘤細胞。患者的免疫反應能夠透過直接給予患者所述肽或前體物質（如，加長肽、蛋白或編碼這些肽的核酸），較理想是與加強免疫原性的製劑相結合，而進行誘導。源自該治療性疫苗的免疫反應預期能夠高度特異性地對抗腫瘤細胞，因為本發明的目標肽在正常組織上呈現的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良自體免疫反應的風險。

【0293】 本說明書還涉及包含一個 α 鏈和一個 β 鏈（「 α / β T C R」）的 T 細胞受體（T C R）。還提供了由 M H C 分子呈現時可與 T C R 和抗體結合的肽。本說明書還涉及核酸、載體和用於表達 T C R 的宿主細胞和本說明書的肽；以及使用它們的方法。

【0294】 術語「T 細胞受體」（縮寫 T C R）是指一種異二聚體分子，其包含一個 α 多肽鏈（ α 鏈）和一個 β 多肽鏈（ β 鏈），其中所述異二聚體受體能夠結合由 H L A 分子呈現的肽抗原。該術語還包括所謂的 γ / δ T C R。

【0295】 在一個實施方案中，本說明書提供了如本文中所描述的產生TCR的方法，該方法包括在適於促進TCR表達的條件下培養能夠表達TCR的宿主細胞。

【0296】 另一個方面，本說明書涉及一種根據本說明書的方法，其中所述抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞或人工抗原呈遞細胞表面的I或II類MHC分子，或該抗原透過四聚化被載入I或II類MHC四聚體/I或II類MHC複合單體。

【0297】 α / β TCR的 α 和 β 鏈和 γ / δ TCR的 γ 和 δ 鏈通常被視為各自有兩個「結構域」，即可變和恒定結構域。可變結構域由可變區(V)和連接區(J)的組合。可變結構域還可能包括一個前導區(L)。 β 和 δ 鏈還可能包括一個多樣區(D)。 α 和 β 恒定結構域還可能包括錨定 α 和 β 鏈至細胞膜的C末端跨膜(TM)結構域。

【0298】 相對於 γ / δ 的TCR，如本文所用的術語「TCR γ 可變域」是指無前導區(L)的TCR γ V (TRGV)區與TCR γ (TRGJ)區的組合，術語TCR γ 恒定結構域是指細胞外TRGC區域，或C-末端截短TRGC序列。同樣地，「TCR δ 可變域」是指無前導區(L)的TCR δ V (TRDV)區與TCR δ D/J (TRDD/TRDJ)區的組合，術語「TCR δ 恒定結構域」是指細胞外TRDC區域，或C-末端截短TRDC序列。

【0299】 本說明書的TCR優選結合至肽HLA分子複合體，其具有約100 μ M或更小、約50 μ M或更小、約25 μ M或

更小或約 $10\ \mu\text{M}$ 或更小的結合親和力(KD)。更為優選的情況是具有約 $1\ \mu\text{M}$ 或更小、約 $100\ \text{nM}$ 或更小、約 $50\ \text{nM}$ 或更小或約 $25\ \text{nM}$ 或更小結合親和力的高親和力TCR。本發明TCR優選結合親和力範圍的非限制性示例包括約 $1\ \text{nM}$ 至約 $10\ \text{nM}$ ；約 $10\ \text{nM}$ 至約 $20\ \text{nM}$ ；約 $20\ \text{nM}$ 至約 $30\ \text{nM}$ ；約 $30\ \text{nM}$ 至約 $40\ \text{nM}$ ；約 $40\ \text{nM}$ 至約 $50\ \text{nM}$ ；約 $50\ \text{nM}$ 至約 $60\ \text{nM}$ ；約 $60\ \text{nM}$ 至約 $70\ \text{nM}$ ；約 $70\ \text{nM}$ 至約 $80\ \text{nM}$ ；約 $80\ \text{nM}$ 至約 $90\ \text{nM}$ ；以及約 $90\ \text{nM}$ 至約 $100\ \text{nM}$ 。

【0300】 與本說明書TCR相關，本文使用的「特異性結合」及其語法變體用於表示對 $100\ \mu\text{M}$ 或更小的肽-HLA分子複合體有結合親和力(KD)的TCR。

【0301】 本說明書的 α / β 異二聚體TCR可能具有其恒定結構域之間的引入二硫鍵。這種類型的優選TCR包括那些具有一個TRAC恒定域序列和TRBC1或TRBC2恒定域序列的TCR，除非TRAC的蘇氨酸48和TRBC1或TRBC2的絲氨酸57被半胱氨酸殘基取代，所述半胱氨酸形成TRAC恒定域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定區序列之間的二硫鍵。

【0302】 不論具有或不具有上述的引入鏈間鍵，本說明書的 α / β 雜二聚體TCR可能具有一個TRAC恒定域序列和一個TRBC1或TRBC2恒定結構域序列，並且TRAC恒定結構域序列和TCR的TRBC1或TRBC2恒定結構域序列可能透過TRAC外顯子2的Cys4和TRBC1或TRBC2外顯子2的Cys4之間的天然二硫鍵相連。

【0303】 本說明書的TCR可能包括選自由放射性核素、螢光團和生物素組成組中的可檢測標記。本說明書的TCR可能共軛至治療活性劑，如放射性核素、化學治療劑或毒素。

【0304】 在一個實施方案中，具有在 α 鏈中至少一個突變和/或具有在 β 鏈中至少一個突變的TCR與未突變TCR相比，已經修改了糖基化。

【0305】 在一個實施方案中，在TCR α 鏈和/或TCR β 鏈中包括至少一個突變的TCR對肽HLA分子複合體有結合親和力和/或結合半衰期，其是包含未突變TCR α 鏈和/或未突變TCR β 鏈的TCR的結合親和力的至少兩倍。腫瘤特異性TCR親和力增強及其開發依賴於存在最佳TCR親和力的窗口。這樣窗口的存在是根據觀察結果：HLA-A2限制性病原體特異性TCR與HLA-A2限制性腫瘤相關自身抗原特異性TCR相比，KD值通常大約低10倍。現已知，儘管腫瘤抗原可能具有免疫原性，但是因為腫瘤來自個體自身的細胞，因此僅突變蛋白質或翻譯加工改變的蛋白將被免疫系統視為外來物質。上調或過度表達（所謂的自體抗原）的抗原不一定誘導針對腫瘤的功能免疫應答：表達對這些抗原具有高度反應性的TCR的T細胞會在一種稱為中樞耐受的程序中在胸腺內被不利選擇，也就是說只有對自身抗原具有低親和力TCR的細胞才仍然存在。因此，本說明書的TCR或變體對本發明的肽的親和力可透過本領域熟知的方法來增強。

【0306】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明 TCR 的一種方法，所述方法包括：用 A2/肽單體從 HLA-A*02 陰性健康供體孵育 PBMC，用四聚體-藻紅蛋白 (PE) 孵育 PBMC 並透過螢光啟動細胞分選 (FACS)-Calibur 方法分析分離高親和力 T 細胞。

【0307】 本說明書還涉及一種識別和分離本發明 TCR 的一種方法，所述方法包括：獲得含整個人體 TCR $\alpha\beta$ 基因位點 (1.1 and 0.7 Mb) 的轉基因小鼠 (其 T 細胞表達多樣化人類 TCR，用於補償小鼠 TCR 缺乏)，用相關肽對小鼠進行免疫處理，用四聚體-藻紅蛋白 (PE) 孵育從轉基因小鼠中獲得的 PBMC，並透過螢光啟動細胞分選 (FACS)-Calibur 方法分析分離高親和力 T 細胞。

【0308】 一方面，為了獲得表達本說明書 TCR 的 T 細胞，編碼本說明書 TCR- α 和 / 或 TCR- β 鏈的核酸被克隆入表達載體，諸如 γ 反轉錄病毒或慢病毒。重組病毒產生，然後測試功能，如抗原專一性和功能性親合力。然後，最終產品的等分試樣被用於轉導靶 T 細胞群體 (一般純化自患者的 PBMC)，在輸入患者前展開。另一方面，為了獲得表達本說明書 TCR 的 T 細胞，TCR RNA 透過本領域中已知的技術 (例如，體外轉錄系統) 合成。然後，體外合成的 TCR RNA 透過電穿孔來重新表達腫瘤特異性 TCR- α 和 / 或 TCR- β 鏈被引入獲得自健康供體的初級 CD8⁺ T 細胞。

【0309】 為了增加表達，編碼本說明書 TCR 的核酸在操作上可連接到強啟動子，例如逆轉錄病毒長末端重複序列

(LTR)、巨細胞病毒(CMV)、鼠幹細胞病毒(MSCV) U3、磷酸甘油酸激酶(PGK)、 β 肌動蛋白、泛素蛋白和猿猴病毒40(SV40)/CD43複合啟動子、延伸因子(EF)-1 α 和脾臟病灶形成病毒(SFFV)啟動子。在一優選實施方案中，啟動子與被表達的核酸異源。除了強啟動子外，本說明書的TCR表達盒可能含有附加的元素，可提高轉基因表達，包括中樞多聚嘌呤區(CPPT)，其促進了慢病毒構建體的核易位(Follenzi et al., 2000)，和土撥鼠肝炎病毒轉錄後調控元素(WPRE)，其透過提高RNA穩定性增加轉基因表達水準(Zufferey et al., 1999)。

【0310】 本發明TCR的 α 和 β 鏈可由位於分開的載體核酸進行編碼，或者可透過位於同一載體的多核苷酸編碼。

【0311】 實現高水準的TCR表面表達需要引入TCR的TCR- α 和TCR- β 鏈高水準轉錄。為了實現它，本說明書的TCR- α 和TCR- β 鏈可在單一的載體中被克隆入雙順反子構建體，其已被證明能夠克服這一障礙。使用TCR- α 和TCR- β 鏈在之間的病毒核糖體間進入位元點(IRES)導致兩鏈的協同表達，因為TCR- α 和TCR- β 鏈均由在翻譯過程中分成兩個蛋白質的單一轉錄物產生，從而確保了產生TCR- α 和TCR- β 鏈的相等摩爾比。(Schmitt et al. 2009)。

【0312】 編碼本說明書TCR的核酸可以是被優化以從宿主細胞增加表達的密碼子。遺傳密碼冗餘讓一些氨基酸被一個以上的密碼子編碼，但某些密碼子沒有其他密碼子「優

化」，因為匹配 tRNA 以及其他因子的相對可用性 (Gustafsson et al., 2004)。修改 TCR- α 和 TCR- β 基因序列使得每個氨基酸被用於哺乳動物基因表達的最佳密碼子編碼，以及消除 mRNA 不穩定性基序或隱蔽剪接位元點，已顯示可顯著提高 TCR- α 和 TCR- β 基因表達 (Scholten et al., 2006)。

【0313】此外，引入的和內源性 TCR 鏈之間的錯配可能會導致獲得特異性，其構成自身免疫的顯著風險。例如，混合 TCR 二聚體的形成可能會減少可用以形成正確配對 TCR 複合體的 CD3 分子數目，因此，可以顯著降低表達所引入 TCR 的細胞的功能性親合力 (Kuball et al., 2007)。

【0314】為了減少錯配，本說明書引入的 TCR 鏈的 C-末端結構域可以進行修改以促進鏈間親和力，同時降低引入鏈與內源 TCR 配對的能力。這些策略可能包括用鼠配對物取代人類 TCR- α 和 TCR- β C 端結構域（鼠化 C 端結構域）；透過引入第二個半胱氨酸殘基到引入 TCR 的 TCR- α 和 TCR- β 鏈產生 C 末端結構域的第二個鏈間二硫鍵（半胱氨酸修飾）；交換 TCR- α 和 TCR- β 鏈 C 端結構域的相互作用殘基（「杵臼結構」）；直接融合 TCR- α 和 TCR- β 鏈可變結構域至 CD3 ζ （CD3 ζ 融合）(Schmitt et al., 2009)。

【0315】在一實施方案中，宿主細胞被改變結構以表達本說明書的 TCR。在一優選實施方案中，宿主細胞為人 T 細胞

或 T 細胞祖細胞。在一些實施方案中，T 細胞或 T 細胞祖細胞從癌症患者中獲得。在另一些實施方案中，T 細胞或 T 細胞祖細胞從健康供體中獲得。本說明書的宿主細胞相對於待治療的患者可以為同種異體或自體的。在一實施方案中，宿主是被轉化以表達 α / β TCR 的 γ / δ T 細胞。

【0316】 「藥物組合物」是指適合在醫療機構用於人體的組合物。優選地，藥物組合物為無菌狀態，並根據 GMP 指南生產。

【0317】 藥物組合物包括游離形式或以一種藥用鹽形式存在的肽（也參見上文）。此處使用的「藥用鹽」系指所公開的肽的一種衍生物，其中該肽由制酸或藥劑的城鹽進行改性。例如，用與適合的酸反應的游離城（通常其中的中性藥物有一個中性 - NH₂ 基團）製備酸式鹽。適合製備酸鹽的酸包括有機酸，如：乙酸、丙酸、羥基酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、丙二酸、丁二酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、甲磺酸、苯磺酸、水楊酸等等、以及無機酸，如：鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸和磷酸等。相反，可在一種肽上呈現的酸性基團的城鹽製劑使用藥用鹼基進行製備，如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣、三甲胺等等。

【0318】 在特別優選的實施方案中，藥物組合物包括乙酸（醋酸鹽），三氟乙酸鹽或鹽酸（氯化物）形式的肽。

【0319】 本發明中所述的藥劑優選為一種免疫治療藥劑，例如，一種疫苗。該疫苗可直接給到患者的受影響器官，也

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

【0320】 一方面，疫苗包括至少含有 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:126 中提出的一種肽以及至少另外一種肽，優選為 2 至 50 個、更優選為 2 至 25 個、再優選為 2 至 20 個、最優選為 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 個肽。肽可能從一個或多個特定 TAA 中衍生，並且可能與 MHC I 類分子結合。

【0321】 另一方面，本發明提出了一種編碼本發明中肽或肽變體的核酸（如多聚核苷酸）。多聚核苷酸可能為，例如，DNA、cDNA、PNA、RNA或其組合物，它們可為單鏈和/或雙鏈、或多聚核苷酸的原生或穩定形式（如：具有硫代磷酸骨架的多聚核苷酸），並且只要它編碼肽，就可能包含也可能不包含內含子。當然，多聚核苷酸只能編碼加入天然肽鏈並含有天然氨基酸殘基的肽。另一個方面，本發明提出了一種可根據本發明表達多肽的表達載體。

【0322】 對於連接多核苷酸，已經開發出多種方法，尤其是針對DNA，可透過向載體補充可連接性末端等方法進行連接。例如，可向DNA片段加入補充性均聚物軌道，之後DNA片段被插入到載體DNA。然後，透過補充性均聚物尾巴的氫鍵結合，將載體和DNA片段結合，從而形成重組DNA分子。

【0323】 含有一個或多個酶切位點的合成接頭為DNA片段與載體連接提供了另一種方法。含各種限制性核酸內切酶的合成接頭可透過多種管道購得，其中包括從國際生物技術公司（International Biotechnologies Inc, New Haven, CN, 美國）購得。

【0324】 編碼本發明多肽的DNA理想修飾方法是使用Saiki等人(Saiki et al., 1988)所採用的聚合酶鏈反應方法。此方法可用於將DNA引入合適的載體（例如，透過設計合適的酶切位點），也可用於本領域已知的其他有用

方法修飾 DNA。如果使用病毒載體，痘病毒載體或腺病毒載體為優選。

【0325】 之後，DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能表達於合適的宿主，從而製成含本發明肽或變體的多肽。因此，可根據已知技術使用編碼本發明肽或變體的 DNA，用本文所述方法適當修飾後，構建表達載體，然後表達載體用於轉化合適宿主細胞，從而表達和產生本發明中的多肽。此類技術包括那些公開於，例如，美國專利 4,440,859、4,530,901、4,582,800、4,677,063、4,678,751、4,704,362、4,710,463、4,757,006、4,766,075 和 4,810,648。

【0326】 編碼含本發明化合物多肽的 DNA（或在逆轉錄病毒載體情況下，RNA）可能被加入到其他多種 DNA 序列，從而引入到合適的宿主中。同伴 DNA 將取決於宿主的性質、DNA 引入宿主的方式、以及是否需要保持為游離體還是要相互結合。

【0327】 一般來說，DNA 可以適當的方向和正確的表達閱讀框架附著到一種表達載體（如質粒）中。如有必要，該 DNA 可能與所需宿主所識別的相應轉錄和翻譯調節控制核苷酸序列連接，儘管表達載體中一般存在此類控制功能。然後，該載體透過標準方法被引入宿主。一般來說，並不是所有的宿主都會被載體轉化。因此，有必要選擇轉化過的宿主細胞。選擇方法包括用任何必要的控制元素向

表達載體插入一個DNA序列，該序列對轉化細胞中的可選擇性屬性（如抗生素耐藥性）進行編碼。

【0328】 另外，有這種選擇屬性的基因可在另外一個載體上，該載體用來協同轉化所需的宿主細胞。

【0329】 然後，本發明中的重組DNA所轉化的宿主細胞在本文中所述本領域技術人員熟悉的合適條件下培養足夠長的時間，從而表達之後可回收的肽。

【0330】 有許多已知的表達系統，包括細菌（如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌）、酵母（如酵母菌）、絲狀真菌（如曲黴菌）、植物細胞、動物細胞及昆蟲細胞。該系統可優選為哺乳動物細胞，如來自ATCC細胞生物學庫（Cell Biology Collection）中的CHO細胞。

【0331】 典型的哺乳動物細胞組成型表達載體質粒包括CMV或含一個合適的多聚A尾巴的SV40啟動子以及抗性標誌物（如新黴素）。一個實例為從Pharmacia公司（Piscataway，新澤西，美國）獲得的pSVL。一種可誘導型哺乳動物表達載體的例子是pMSG，也可以從Pharmacia公司獲得。有用的酵母質粒載體是pRS403-406和pRS413-416，一般可從Stratagene Cloning Systems公司（La Jolla, CA 92037，美國）獲得。質粒pRS403、pRS404、pRS405和pRS406是酵母整合型質粒（YIp），並插入了酵母可選擇性標記物HIS3、TRP1、LEU2和URA3。pRS413-416質粒為酵母著絲粒質粒（Ycp）。基於CMV啟動子的載體（如，來自

於Sigma-Aldrich公司)提供了暫態或穩定的表達、胞漿表達或分泌,以及FLAG、3xFLAG、c-myc或MATN不同組合物中的N-端或C-端標記。這些融合蛋白可用於檢測、純化及分析重組蛋白。雙標融合為檢測提供了靈活性。

【0332】強勁的人巨細胞病毒(CMV)啟動子調控區使得COS細胞中的組成蛋白表達水準高達1 mg/L。對於較弱的細胞株,蛋白水準一般低於0.1 mg/L。SV40複製原點的出現將導致DNA在SV40複製容納性COS細胞中高水準複製。例如,CMV載體可包含細菌細胞中的pMB1 (pBR322的衍生物)複製原點、細菌中進行氨苄青黴素抗性選育的鈣-內鹼胺酶基因、hGH poly A和f1的原點。含前胰島素原引導(PPT)序列的載體可使用抗FLAG抗體、樹脂和板引導FLAG融合蛋白分泌到進行純化的培養基中。其他與各種宿主細胞一起應用的載體和表達系統是本領域熟知眾所周知的。

【0333】在另一個實施方案中,對本發明的兩個或更多的肽或肽變體進行編碼,因此,以一個連續順序(類似於「一串珠子」的構建體)表達。在達到目標,所述肽或肽變體可能透過連接子氨基酸的延伸處(例如LLLLLL)連接或融合一起,也可能他們之間沒有任何附加的肽而被連接。這些構建體也可用於癌症治療,可誘導涉及MHC I和MHC II類分子的免疫應答。

【0334】本發明還涉及一種宿主細胞,其以本發明的多核苷酸載體構建轉化而來。宿主細胞可為原核細胞,也可為真

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

【0335】 含本發明DNA結構的適當宿主細胞的轉化可使用大家熟知的方法完成，通常取決於使用載體的類型。關於原核宿主細胞的轉化，請參見，例如，Cohen等人的文獻

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

【0336】 被成功轉化的細胞 (即含本發明 DNA 結構的細胞) 可用大家熟知的方法 (如 PCR) 進行識別。另外，上清液存在的蛋白可使用抗體進行檢測。

【0337】 應瞭解，本發明中的某些宿主細胞用於製備本發明中的肽，例如細菌細胞、酵母細胞和昆蟲細胞。但是，其他宿主細胞可能對某些治療方法有用。例如，抗原呈現細胞 (如樹突狀細胞) 可用於表達本發明中的肽，使他們可以加載入相應的 MHC 分子中。因此，本發明提出了含本發明中核酸或表達載體的一種宿主細胞。

【0338】 在一個優選實施方案中，宿主細胞為抗原呈現細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原呈現細胞。2010年4月29日，美國食品和藥物管理局 (FDA) 批准載有含攝護腺酸性磷酸酶 (PAP) 的重組融合蛋白可用於治療無症狀或症狀輕

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

【0339】 另一方面，本發明提出了一種配製一種肽及其變體的方法，該方法包括培養宿主細胞和從宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0340】 在另一個實施方案中，本發明中的肽、核酸或表達載體用於藥物中。例如，肽或其變體可製備為靜脈(i.v.)注射劑、皮下(s.c.)注射劑、皮內(i.d.)注射劑、腹膜內(i.p.)注射劑、肌肉(i.m.)注射劑。肽注射的優選方法包括s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和i.v.注射。DNA注射的優選方法為i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和i.v.注射。例如，給予50 µg至1.5 mg，優選為125 µg至500 µg的肽或DNA，這取決於具體的肽或DNA。上述劑量範圍在以前的試驗中成功使用(Walter et al., 2012)。

【0341】 用於主動免疫接種的多聚核苷酸可為基本純化形式，也可包被於載體或輸送系統。核酸可能為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。這種核酸的設計和引入方法為本領域所熟知。例如，文獻中有其概述(Teufel et al., 2005)。多核苷酸疫苗很容易製備，但這些載體誘導免疫反應的作用模式尚未完全瞭解。合適的載體和輸送系統包括病毒DNA和/或RNA，如基於腺病毒、牛痘病毒、逆轉錄病毒、疱疹病毒、腺相關病毒或含一種以上病毒元素的混合病毒的系統。非病毒輸送系統包括陽離子脂質體和陽離子聚合物，是DNA輸送所屬領域內

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

【0342】 本發明的藥劑也可能包括一種或多種佐劑。佐劑是那些非特異性地增強或加強免疫反應的物質（例如，透過CD8-陽性T細胞和輔助T(TH)細胞介導的對一種抗原的免疫應答，因此被視為對本發明的藥劑有用。適合的佐劑包括（但不僅限於）1018ISS、鋁鹽、AMPLIVAX®、AS15、BCG、CP-870,893、CpG7909、CyaA、dSLIM、鞭毛蛋白或鞭毛蛋白衍生的TLR5配體、FLT3配體、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特(ALDARA®)、resiquimod、ImuFact IMP321、白細胞介素IL-2、IL-13、IL-21、干擾素 α 或 β ，或其聚乙二醇衍生物、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、ISCOMs、JuvImmune®、LipoVac、MALP2、MF59、單磷醯脂A、Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、水包油和油包水乳狀液、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、OspA、PepTel®載體系統、基於聚丙交酯複合乙交酯[PLG]和右旋糖苷微粒、重組人乳鐵傳遞蛋白SRL172、病毒顆粒和其他病毒樣顆粒、YF-17D、VEGF trap、R848、 β -葡聚糖、Pam3Cys、源自皂角苷、分支桿菌提取物和細菌細胞壁合成模擬物的Aquila公司的QS21刺激子，以及其他專有佐

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

【0343】 據報告，CpG免疫刺激寡核苷酸可提高佐劑在疫苗中的作用。如果沒有理論的約束，CpG寡核苷酸可透過Toll樣受體（TLR）（主要為TLR9）啟動先天（非適應性）免疫系統從而起作用。CpG引發的TLR9活化作用提高了對各種抗原的抗原特異性體液和細胞反應，這些抗原包括肽或蛋白抗原、活病毒或被殺死的病毒、樹突狀細胞疫苗、自體細胞疫苗以及預防性和治療性疫苗中的多糖結合物。更重要的是，它會增強樹突狀細胞的成熟和分化，導致TH1細胞的活化增強以及細胞毒性T淋巴細胞（CTL）生成加強，甚至CD4T細胞說明的缺失。甚至有疫苗佐劑的存在也能維持TLR9活化作用誘發的TH1偏移，這些佐劑如：正常促進TH2偏移的明礬或弗氏不完全佐劑（IFA）。CpG寡核苷酸與以下其他佐劑或配方一起製備或聯合給藥時，表現出更強的佐劑活性，如微粒、納米粒子、脂肪乳或類

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

【0344】 其他有用的佐劑例子包括 (但不限於) 化學修飾性 CpG (如 CpR、Idera)、dsRNA 模擬物，如，Poly(I:C) 及其衍生物 (如：AmpliGen、Hiltonol、多聚-(ICLC)、多聚(IC-R)、多聚(I:C12U))、非 CpG 細菌性 DNA 或 RNA 以及免疫活性小分子和抗體，如：環磷醯胺、舒尼替單抗、貝伐單抗®、西樂葆、NCX-4016、西地那非、他達拉非、伐地那非、索拉非尼、替莫唑胺、temsirolimus、XL-999、CP-547632、帕唑帕尼、VEGF Trap、ZD2171、AZD2171、抗-CTLA4、免疫系統的其他抗體靶向性主要結構 (如：抗-CD40、抗-TGF β 、抗-TNF α 受體) 和 SC58175，這些藥物都可能有治療作用和 / 或充當佐劑。技術人員無需過度進行不當實驗就很容易確定本發明中有用的佐劑和添加劑的數量和濃度。

【0345】 首選佐劑是抗-CD40、咪喹莫特、瑞喹莫德、GM-CSF、環磷醯胺、舒尼替尼、貝伐單抗、干擾素 α 、CpG寡核苷酸及衍生物、多聚(I:C)及衍生物、RNA、西地那非和PLG或病毒顆粒的微粒製劑。

【0346】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特、resiquimod和干擾素- α 。

【0347】 本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑從含集落刺激因子製劑中選擇，如粒細胞巨噬細胞集落刺激因子（GM-CSF，沙格司亭）、環磷醯胺、咪喹莫特和resiquimod。在本發明藥物組合物的一個優選實施方案中，佐劑為環磷醯胺、咪喹莫特或resiquimod。更優選的佐劑是Montanide IMS 1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、聚-ICLC（Hiltonol®）和抗CD40 mAb或其組合物。

【0348】 此組合藥物為非腸道注射使用，如皮下、皮內、肌肉注射，也可口服。為此，肽和其他選擇性分子在藥用載體中分解或懸浮，優選為水載體。此外，組合物可包含輔料，如：緩衝劑、結合劑、衝擊劑、稀釋劑、香料、潤滑劑等。這些肽也可與免疫刺激物質合用，如：細胞因子。可用於此類組合物的更多輔料可在從A. Kibbe所著的Handbook of Pharmaceutical Excipients（Kibbe,

2000)等書中獲知。此組合藥物可用於阻止、預防和/或治療腺瘤或癌性疾病。例如，EP 2 112 253中有示例製劑。

【0349】重要的是要認識到，透過本發明的疫苗引發的免疫應答在不同的細胞階段和開發的不同階段攻擊癌症。而且不同的癌症相關信號通路被攻擊。這相對於其他疫苗的優勢，這些疫苗只針對一個或幾個靶標，這可能會導致腫瘤很容易適應於攻擊（腫瘤逃逸）。此外，並非所有的個體腫瘤都表達相同模式的抗原。因此，幾個腫瘤相關肽的組合確保了每個腫瘤都承擔至少一些靶標。該組合物以這樣的方式設計，預期每個腫瘤可表達幾種抗原並覆蓋腫瘤生長和維持所需要的幾種獨立的途徑。因此，疫苗可易於「現成的」用於較大患者群體。這意味著，預選擇接受疫苗治療的患者可限制為HLA分型，無需抗原表達的任何額外的生物標誌物評估，但仍然確保多個靶標同時被誘導的免疫應答攻擊，這對於療效很重要(Banchereau et al., 2001; Walter et al., 2012)。

【0350】本文所用的「支架」一詞是指與（如抗原）決定因子特異性結合的分子。在一項實施方案中，支架是能夠引導其所連接的實體（例如，（第二）抗原結合部分）至目標靶點，例如，至特定類型的腫瘤細胞或承載抗原決定簇的腫瘤基質（如根據目前申請中肽和MHC的複合體）。在另一項實施例中，支架能夠透過其靶抗原（例如T細胞受體複合體抗原）啟動信號通路。支架包括但不限於抗體及其片段，抗體的抗原結合區，其包含抗體重鏈可變區和抗體

輕鏈可變區，結合的蛋白包括至少一個錨蛋白重複序列基元和單域抗原結合(SDAB)分子、適體、(可溶)TCR和(經修飾的)細胞，例如同種異體或自體T細胞。為了評估某個分子是否是結合至靶點的支架，可進行結合測定。

【0351】 「特定」結合系指，與其他天然肽-MHC複合體相比，該支架與感興趣的肽-MHC複合體更好地結合，結合程度為，擁有能夠殺死承載特定靶點細胞的活性分子的支架不能夠殺死無特定靶點但呈現一個或多個其他肽-MHC複合體的另一細胞。如果交叉反應性肽-MHC的肽並不是天然的，即，並非來自人HLA-多肽組，則結合至其他肽-MHC複合體是無關緊要的。評估靶細胞殺傷的測試在本領域中是公知的。它們應該含有未改變的肽-MHC呈現的靶細胞(原發細胞或細胞系)或載有肽的細胞進行，以便達到天然肽-MHC的水準。

【0352】 各支架可包括一個標記，其透過確定是否存在或不存在標籤所提供的信號可檢測到結合支架。例如，該支架可用螢光染料或任何其他適用的細胞標記分子進行標記。此類標記分子是本領域中公知的。例如，透過螢光染料進行的螢光標記可透過螢光或鐳射掃描顯微術或流式細胞術提供結合適體的視覺化。

【0353】 各支架可與第二個活性分子(例如IL-21、抗CD3、抗CD28)共軛。

【0354】 關於多肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在 W O 2 0 1 4 / 0 7 1 9 7 8 A 1 背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0355】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見 W O 2 0 1 4 / 1 9 1 3 5 9 及其中引用的文獻）是短的單鏈核酸分子，其可以折疊為所定義的三維結構並識別特定的靶標結構。它們似乎是開發靶向治療的合適替代方法。適體已顯示可選擇性與具有高親和力和特異性的複合體靶標相結合。

【0356】 識別細胞表面分子的適體在過去十年內已經確定，並為開發診斷和治療方法提供了手段。由於適體已顯示幾乎無毒性和免疫原性，因此，它們是生物醫學應用中有前景的候選物質。事實上適體，例如攝護腺特異性膜抗原識別適體，已被成功地用於靶向治療並在體內模型的異種移植物中顯示出功能。此外，認識到特定腫瘤細胞系的適體也已確定。

【0357】 可選擇 D N A 適體來揭示各種癌細胞的廣譜識別屬性，特別是那些來自於實體瘤的細胞，而非致瘤和主要健康細胞不被識別。如果所識別的適體不僅識別腫瘤特異性子類型，而且與一系列腫瘤相互作用，這使適體適用於作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0358】 此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在納摩爾範圍內顯示出很好的親和力。

【0359】 適體用於診斷和治療目的。此外，也可能顯示，一些適體被腫瘤細胞吸取，因而可作為抗癌劑靶向遞送的分子賦形劑，例如 **s i R N A** 進入腫瘤細胞。

【0360】 可選擇適體針對複合體的靶標，如細胞和組織以及包含、優選包括根據任何 **SEQ ID NO 1** 至 **SEQ ID NO 126** 的一個序列、根據當前發明的肽複合體與 **M H C** 分子，使用細胞 **S E L E X**（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0361】 本發明中的肽可用於生成和開發出針對 **M H C** / 肽複合物的特定抗體。這些抗體可用於治療，將毒素或放射性物質靶向病變組織。這些抗體的另一用途是為了成像之目的（如 **P E T**）將放射性核素靶向病變組織。這可有助於檢測小轉移灶或確定病變組織的大小和準確位置。

【0362】 因此，本發明的另一方面是提出產生特異性結合至與 **H L A** 限制性抗原絡合的 **I** 或 **II** 類人主要組織相容性複合體 (**M H C**) 的一種重組抗體的方法，該方法包括：用可溶形式的與 **H L A** 限制性抗原絡合的 (**M H C**) **I** 或 **II** 類分子對包含表達所述主要組織相容性說複合體 (**M H C**) **I** 或 **II** 類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；將 **m R N A** 分子與產生所述非人哺乳動物細胞的抗體分離；產生一個噬菌體顯示庫，顯示由所述 **m R N A** 分子編碼的蛋白分子；以及將至少一個噬菌體與所述噬菌體顯示庫分離，所述的至少一個噬菌體顯示所述抗體特異性地結合至與 **H L A** 限制性抗原絡合的所述人主要組織相容性說複合體 (**M H C**) **I** 或 **II** 類。

【0363】 本發明的另一方面提出一種抗體，其特異性結合至與一種HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性說複合體(MHC)，其中該抗體優選為多克隆抗體、單克隆抗體、雙特異性抗體和/或嵌合抗體。

【0364】 產生這種抗體和單鏈I類主要組織相容性複合物的相應方法，以及產生這些抗體的其他工具在WO 03/068201、WO 2004/084798、WO 01/72768、WO 03/070752以及出版物(Cohen et al., 2003a; Cohen et al., 2003b; Denkberg et al., 2003)中進行了披露，為了本發明之目的，所有參考文獻透過引用被完整地併入本文。

【0365】 優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20納摩爾，優選為低於10納摩爾，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0366】 本發明涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126組成的組的一個序列或該序列的與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126具有88%同源性（優選為相同）的一種變體，或誘導與所述變異肽發生T細胞交叉反應的一種變體，其中，所述肽不是基本的全長多肽。

【0367】 本發明進一步涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126組成的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126具有至少88%同源性（優選為相同）的一種變體，其中所述肽或變體的總長度為8至100個、優選為8至30個、最優選為8至14個氨基酸。

【0368】 本發明進一步涉及本發明的肽，其具有與主要組織相容性複合體(MHC) I或II類分子結合的能力。

【0369】 本發明進一步涉及本發明中的肽，其中肽系由或基本系由根據 SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126的一個氨基酸序列組成。

【0370】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽(在化學上)被修飾和/或包含非肽鍵。

【0371】 本發明進一步涉及本發明的肽，其中該肽為融合蛋白的一部分，特別包括HLA-DR抗原相關不變鏈(Ii)的N-端氨基酸，或其中該肽與一種抗體(例如，樹突狀細胞特定抗體)融合。

【0372】 本發明進一步涉及一種核酸，其編碼本發明所述肽，前提是該肽並非完整(完全)的人蛋白。

【0373】 本發明進一步涉及一種本發明的核酸，為DNA、cDNA、PNA、RNA，也可能為其組合物。

【0374】 本發明進一步涉及一種能表達本發明核酸的表達載體。

【0375】 本發明進一步涉及本發明的一種肽、本發明的一種核酸或本發明的一種藥用表達載體，特別是用於治療小細胞肺癌。

【0376】 本發明進一步涉及含本發明核酸或本發明表達載體的一種宿主細胞。

【0377】 本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原呈現細胞，優選為樹突細胞。

【0378】 本發明進一步涉及配製本發明一種肽的一種方法，所述方法包括培養本發明的宿主細胞和從所述宿主細胞或其培養基中分離肽。

【0379】 本發明進一步涉及本發明中的方法，其中抗原透過與足夠量的含抗原提成細胞的抗原結合被載入表達於合適抗原呈現細胞表面的I或II類MHC分子。

【0380】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原呈現細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126的肽或所述變體氨基酸序列。

【0381】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的活化T細胞，其中所述T細胞有選擇性地識別一種細胞，該細胞異常表達含一種本發明氨基酸序列的多肽。

【0382】 本發明進一步涉及一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明任何氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者本發明的有效量T細胞。

【0383】 本發明進一步涉及任何所述肽、本發明的一種核酸、本發明的一種表達載體、本發明的一種細胞、本發明一種作為藥劑或製造藥劑的活化細胞毒性T淋巴細胞的用途。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0384】 本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中該藥劑為一種疫苗。本發明進一步涉及一種本發明的用途，其中藥劑可有效抗癌。

【0385】 本發明進一步涉及本發明中的用途，其中所述癌細胞為小細胞肺癌或其他實體或血液腫瘤細胞，如非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊和膽管癌和食管癌。

【0386】 本發明進一步涉及一種基於本發明肽的特定標誌物蛋白和生物標誌物，在此成為「靶標」，其可用於診斷和/或判斷小細胞肺癌的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新靶點。

【0387】 本文中術語「抗體」為廣義上的定義，既包括多克隆也包括單克隆抗體。除了完整或「全部」的免疫球蛋白分子，「抗體」這一術語還包括這些免疫球蛋白分子和人源化免疫球蛋白分子的片段（如，CDR、Fv、Fab和Fc片段）或聚合物，只要它們表現出本發明的任何期望屬性（例如，小細胞肺癌標誌物（多）肽的特異性結合、將毒素傳遞給癌症標誌物基因表達水準增加時的小細胞肺癌細胞和/或抑制小細胞肺癌標誌物多肽的活性）。

【0388】 只要有可能，本發明的抗體可從商業來源購買。本發明的抗體也可能使用已知的方法製得。技術人員會瞭解全長小細胞肺癌標誌物多肽或其片段可用於製備本發明的抗體。用於產生本發明抗體的多肽可部分或全部地由天然源經純化而得，也可利用重組DNA技術生產。

【0389】 例如，本發明的編碼肽的cDNA，例如，該肽為根據SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:126多肽的肽，或其中一個變體或片段，可在原核細胞中（如：細菌）或真核細胞（如：酵母、昆蟲或哺乳動物細胞）中表達，之後，可純化重組蛋白，並用於產生一種特異性結合用於產生本發明抗體的小細胞肺癌標誌物多肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0390】 本領域的技術人員會認識到，兩種或兩種以上不同集合的單克隆抗體或多克隆抗體能最大限度地增加獲得一種含預期用途所需的特異性和親和力（例如，ELISA法、免疫組織化學、體內成像、免疫毒素療法）的抗體的可能性。根據抗體的用途，用已知的方法對其期望活性進行測試（例如，ELISA法、免疫組織化學、免疫治療等；要獲取產生和測試抗體的進一步指導，請參閱，例如，Greenfield, 2014（Greenfield, 2014））。例如，該抗體可用ELISA法或免疫印跡法、免疫組織化學染色福馬林固定的癌組織或冰凍的組織切片進行檢測。在初次體外表徵後，用於治療或體內診斷用途的抗體根據已知的臨床測試方法進行檢測。

【0391】 此處使用的術語「單克隆抗體」系指從大量同質抗體中獲得的一種抗體，即，由相同的抗體組成的抗體群，但可能少量呈現的自然突變除外。此處所述的單克隆抗體具體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈和/或輕鏈與從特定物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和分類型抗體的

相應序列相同（同質），同時，剩餘鏈與從其他物種中獲得的抗體或屬於特定抗體類型和子類型抗體的相應序列以及這些抗體的片段相同（同質），只要他們表現出預期的拮抗活性（美國 4 8 1 6 5 6 7 號專利，其在此以其整體併入）。

【0392】 本發明的單克隆抗體可能使用雜交瘤方法製得。在雜交瘤方法中，老鼠或其他適當的宿主動物，通常用免疫製劑以引發產生或能產生將特異性結合至免疫製劑的抗體。或者，淋巴細胞可在體外進行免疫。

【0393】 單克隆抗體也可由 DNA 重組方法製得，如：美國 4 8 1 6 5 6 7 號專利所述。編碼本發明單克隆抗體的 DNA 可很容易地使用傳統程序進行分離和測序（例如：透過使用能與編碼鼠抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針）。

【0394】 體外方法也適用於製備單價抗體。抗體消化以產生抗體的片段，尤其是 Fab 片段，可以透過使用本領域已知的常規技術完成。例如，可以透過使用木瓜蛋白酶完成消化。木瓜蛋白酶消化的實施例在 WO 9 4 / 2 9 3 4 8 和美國 4 3 4 2 5 6 6 號專利中有描述。抗體的木瓜蛋白酶消化通常產生兩種相同的抗原結合性片段，稱為 Fab 片段（每個片段都有一個抗原結合點）和殘餘 Fc 片段。胃蛋白酶處理產生一個 F (a b ') 2 片段和一個 p F c ' 片段。

【0395】 抗體片段，不論其是否附著於其他序列，均可包括特定區域或特定氨基酸殘基的插入、刪除、替換、或其他選擇性修飾，但前提是，片段的活性與非修飾的抗體或抗

體片段相比沒有顯著的改變或損害。這些修飾可提供一些額外的屬性，如：刪除/添加可與二硫鍵結合的氨基酸，以增加其生物壽命、改變其分泌特性等。在任何情況下，抗體片段必須擁有生物活性的特性，如：結合活性、調節結合域的結合力等。抗體的功能性或活性區域可透過蛋白特定區域的基因突變、隨後表達和測試所表達的多肽進行確定。這些方法為本行業技術人員所熟知，可包括編碼抗體片段的核酸的特定位點基因突變。

【0396】 本發明的抗體可進一步包括人源化抗體或人抗體。非人（如：鼠）抗體的人源化形式為嵌合抗體免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（如：Fv、Fab、Fab'或抗體的其他抗原結合序列），其中包含從非人免疫球蛋白中獲得的最小序列。人源化抗體包括人免疫球蛋白（受體抗體），其中來自受體互補決定區（CDR）的殘基被來自非人物種（供體抗體）（如具有與其特異性、親和力和能力的小鼠、大鼠或兔子）CDR的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的Fv框架（FR）殘基被相應的非人殘基取代。人源化抗體可能還包括既非受體抗體、也非輸入CDR或框架序列中發現的殘基。一般來說，人源化抗體將包括幾乎所有的至少一個、通常為二個可變域，其中，全部或幾乎全部的CDR區域均對應於非人免疫球蛋白的區域並且全部或幾乎全部的FR區域均為人免疫球蛋白相同序列的區域。理想情況是，人源化抗體還將包括至少免疫球蛋白

恒定區 (Fc) 的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0397】 人源化非人抗體的方法為本行業所熟知。一般來說，人源化抗體具有一個或多個從非人源頭引入的氨基酸殘基。這些非人氨基酸殘基往往被稱為「輸入」殘基，通常從「輸入」可變域中獲得。人源化基本上可以透過將齧齒動物 CDR 或 CDR 序列取代為相應的人抗體序列而完成。因此，這種「人源化」抗體為嵌合抗體（美國 4 8 1 6 5 6 7 號專利），其中大大少於完整的人可變域被來自於非人物種的相應序列取代。在實踐中，人源化抗體通常為人抗體，其中有些 CDR 殘基以及可能的一些 FR 殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0398】 可使用免疫後在內源性免疫球蛋白產生缺失時能產生完整人抗體的轉基因動物（如：小鼠）。例如，它被描述為，嵌合和種系突變小鼠中的抗體重鏈連接區域基因的純合性缺失導致內源性抗體生成的完全抑制。在此種系變種小鼠中人種系免疫球蛋白基因陣列的轉移在抗原挑戰後將導致人抗體的生成。人抗體也可在噬菌體展示庫中產生。

【0399】 本發明的抗體優選為透過藥用載體的形式給予受試者。通常，在製劑中使用適量的藥用鹽，以使製劑等滲。藥用載體的例子包括生理鹽水、林格氏液和葡萄糖溶液。溶液的 pH 值優選為約 5 至 8，更優選為約 7 至 7.5。此外，載體還包括緩釋製劑，如：含有抗體的固體疏水性聚合物

半透性基質，其中基質為有形物品形式，如：薄膜、脂質體或微粒。本行業的技術人員熟知，某些載體可能為更優選，取決於例如，抗體的給藥途徑和濃度。

【0400】 該抗體可透過注射（如：靜脈內、腹腔內、皮下、肌肉內）或透過輸注等其他方法給予受試者、患者或細胞，確保其以有效的形式傳輸到血液中。這些抗體也可以透過瘤內或瘤周途徑給予，從而發揮局部和全身的治療作用。局部或靜脈注射為優選。

【0401】 抗體給藥的有效劑量和時間表可根據經驗確定，並且作出此類決定屬本行業的技術範圍內。本行業的技術人員會明白，必須給予的抗體劑量根據以下因素會有所不同，例如：接受抗體的受試者、給藥途徑、使用的抗體以及其他正在使用的藥物的特定類型。單獨使用的抗體的通常日劑量可能為約 $1\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 至最多 $100\ \text{mg}/\text{kg}$ 體重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療小細胞肺癌後，治療抗體的療效可透過技術人員熟知的不同方法評估。例如：接受治療的受試者癌症的大小、數量和/或分佈可使用標準腫瘤成像技術進行監測。因治療而給予的抗體與不給予抗體時的病程相比，可阻止腫瘤生長、導致腫瘤縮小、和/或阻止新腫瘤的發展，這樣的抗體是一種有效治療癌症的抗體。

【0402】 本發明的另一方面提出了製備識別特異性肽-MHC複合物的可溶性T細胞受體(sTCR)的一種方法。這種可溶性T細胞受體可從特異性T細胞克隆中產生，並且它

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

【0403】 此外，可用本發明的肽和/或TCR或抗體或其他結合分子在活檢樣本的基礎上驗證病理師對癌症的診斷。

【0404】 該抗體或TCR也可用於體內診斷實驗。一般來說，抗體用放射性核素標記（如： ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^3H 、 ^{32}P 或 ^{35}S ），從而可免疫閃爍掃描法使腫瘤局限化。在一實施方案中，其中的抗體或片段與兩個或兩個以上選自包括上述蛋白的組的蛋白質靶標的細胞外域結合，並且親和力值(Kd)低於 $1 \times 10 \mu\text{M}$ 。

【0405】 診斷用抗體可透過各種影像學方法使用適合檢測的探針進行標記。探針檢測方法包括但不限於，螢光、光、

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

【0406】 本發明的另一方面包括一種體外製備活化的T細胞的方法，該方法包括將T細胞與載有抗原的人MHC分子進行體外連接，這些分子在合適的抗原呈現細胞表面表達足夠的一段時間從而以抗原特異性方式活化T細胞，其中所述抗原為根據本發明所述的一種肽。優選情況是足夠量的抗原與抗原呈現細胞一同使用。

【0407】 優選情況是，哺乳動物細胞的TAP肽轉運載體缺乏或水準下降或功能降低。缺乏TAP肽轉運載體的適合細胞包括T2、RMA-S和果蠅細胞。TAP是與抗原加工相關的轉運載體。

【0408】 人體肽載入的缺陷細胞株 T2 從屬美國菌種保藏中心 (ATCC, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852, 美國) 目錄號 CRL1992; 果蠅細胞株 Schneider 2 號株從屬 ATCC 目錄 CRL 19863; 小鼠 RMA-S 細胞株 Ljunggren 等人描述過 (Ljunggren and Karre, 1985)。

【0409】 優選情況是，宿主細胞在轉染前基本上不表達 MHC I 類分子。刺激因子細胞還優選為表達對 T 細胞共刺激信號起到重要作用的分子，如，B7.1、B7.2、ICAM-1 和 LFA 3 中的任一種分子。大量 MHC I 類分子和共刺激分子的核酸序列可從 GenBank 和 EMBL 資料庫中公開獲得。

【0410】 當 MHC I 類表位用作一種抗原時，T 細胞為 CD8 陽性 T 細胞。

【0411】 如果抗原呈現細胞受到轉染而表達這種表位，則優選的細胞包括一個表達載體，該載體有能力表達含 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:126 的肽或變體氨基酸序列。

【0412】 可使用其他一些方法來體外生成 T 細胞。例如，自體腫瘤浸潤性淋巴細胞可用於生成 CTL。Plebanski 等人在 (Plebanski et al., 1995) 使用自體外周血淋巴細胞 (PLB) 製得 T 細胞。另外，也可能用肽或多肽脈衝處理樹突狀細胞或透過與重組病毒感染而製成自體 T 細胞。此外，B 細胞可用於製備自體 T 細胞。此外，用肽或多肽脈衝處理或用重組病毒感染的巨噬細胞可用於配製自體 T 細胞。S. Walter 等人在 (Walter et al., 2003) 中描述了透過使

用人工抗原呈現細胞 (a A P C) 體外活化 T 細胞，這也是生成作用於所選肽的 T 細胞的一種合適方法。在本發明中，根據生物素：鏈黴素生物化學方法透過將預製的 M H C：肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成 a A P C。該系統實現了對 a A P C 上的 M H C 密度進行精確調節，這使得可以在血液樣本中選擇地引發高或低親合力的高效抗原特異性 T 細胞反應。除了 M H C：肽複合物外，a A P C 還應攜運含共刺激性的其他蛋白，如耦合至表面的抗 - C D 2 8 抗體。此外，此類基於 a A P C 的系統往往需要加入適當的可溶性因子，例如，諸如白細胞介素 1 2 的細胞因子。

【0413】也可用同種異體細胞製得 T 細胞，在 W O 9 7 / 2 6 3 2 8 中詳細描述了一種方法，以參考文獻方式併入本文。例如，除了果蠅細胞和 T 2 細胞，也可用其他細胞來呈現肽，如 C H O 細胞、杆狀病毒感染的昆蟲細胞、細菌、酵母、牛痘感染的靶細胞。此外，也可使用植物病毒（例如，參閱 P o r t a 等人在 (P o r t a e t a l . , 1 9 9 4) 中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種呈現外來肽的高產系統。

【0414】被活化的 T 細胞直接針對本發明中的肽，有助於治療。因此，本發明的另一方面提出了用本發明前述方法製得的活化 T 細胞。

【0415】按上述方法製成的活化 T 細胞將會有選擇性地識別異常表達含 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O 1 2 6 氨基酸序列的多肽。

【0416】 優選情況是，T細胞透過與其含HLA/肽複合物的TCR相互作用（如，結合）而識別該細胞。T細胞是殺傷患者靶細胞方法中有用的細胞，其靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽。此類患者給予有效量的活化T細胞。給予患者的T細胞可能源自該患者，並按上述方法啟動（即，它們為自體T細胞）。或者，T細胞不是源自該患者，而是來自另一個人。當然，優選情況是該供體為健康人。發明人使用「健康個人」系指一個人一般狀況良好，優選為免疫系統合格，更優選為無任何可很容易測試或檢測到的疾病。

【0417】 根據本發明，CD8-陽性T細胞的體內靶細胞可為腫瘤細胞（有時表達MHC-II類抗原）和/或腫瘤周圍的基質細胞（腫瘤細胞）（有時也表達MHC-II類抗原；（Dengjel et al., 2006））。

【0418】 本發明所述的T細胞可用作治療性組合物中的活性成分。因此，本發明也提出了一種殺傷患者靶細胞的方法，其中患者的靶細胞異常表達含本發明中氨基酸序列的多肽，該方法包括給予患者上述有效量的T細胞。

【0419】 發明人所用的「異常表達」的意思還包括，與正常組織表達水準相比，多肽過量表達，或該基因在從腫瘤獲得的組織中未表達而在腫瘤中表達。「過量表達」系指多肽水準至少為正常組織中的1.2倍；優選為至少為正常組織中的2倍，更優選為至少5或10倍。

【0420】 T細胞可用本領域已知的方法製得（如，上述方法）。

【0421】 T細胞繼轉移方案為本領域所熟知的方案。綜述可發現於：Gattioni et al.和Morgan et al. (Gattinoni et al., 2006; Morgan et al., 2006)。

【0422】 本發明的另一個方面包括使用與MHC複合的肽，以生成T細胞受體，其核酸被克隆並被引入至宿主細胞，優選為T細胞。然後，該透過基因工程改變的T細胞可轉給患者用於癌症治療。

【0423】 本發明的任一分子（即肽、核酸、抗體、表達載體、細胞，活化T細胞、T細胞受體或編碼核酸）都有益於治療疾病，其特點在於細胞逃避免疫反應的打擊。因此，本發明的任一分子都可用作藥劑或用於製造藥劑。這種分子可單獨使用也可與本發明中的其他分子或已知分子聯合使用。

【0424】 本發明還涉及一種套件，其包括：

- (a) 一個容器，包含上述溶液或凍乾粉形式的藥物組合物；
- (b) 可選的第二個容器，其含有凍乾粉劑型的稀釋劑或重組溶液；和
- (c) 可選的（i）溶液使用或（ii）重組和/或凍乾製劑使用的說明。

【0425】 該套件還步包括一個或多個（iii）緩衝劑，（iv）稀釋劑，（v）過濾液，（vi）針，或（v）注射器。容器最好是瓶

子、小瓶、注射器或試管，可以為多用途容器。藥物組合物最好是凍乾的。

【0426】 本發明中的套件優選包含一種置於合適容器中的凍乾製劑以及重組和/或使用說明。適當的容器包括，例如瓶子、西林瓶（如雙室瓶）、注射器（如雙室注射器）和試管。該容器可能由多種材料製成，如玻璃或塑膠。試劑盒和/或容器最好有容器或關於容器的說明書，指明重組和/或使用的方向。例如，標籤可能表明凍乾劑型將重組為上述肽濃度。該標籤可進一步表明製劑用於皮下注射。

【0427】 存放製劑的容器可使用多用途西林瓶，使得可重複給予（例如，2 - 6 次）重組劑型。該套件可進一步包括裝有合適稀釋劑（如碳酸氫鈉溶液）的第二個容器。

【0428】 稀釋液和凍乾製劑混合後，重組製劑中的肽終濃度優選為至少 0.15 mg/mL/肽 ($= 75 \mu\text{g}$)，不超過 3 mg/mL/肽 ($= 1500 \mu\text{g}$)。該套件還可包括商業和用戶角度來說可取的其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑，過濾液、針頭、注射器和帶有使用說明書的包裝插頁。

【0429】 本發明中的套件可能有一個單獨的容器，其中包含本發明所述的藥物組合物製劑，該製劑可有其他成分（例如，其他化合物或及其藥物組合物），也可無其他成分，或者每種成分都有其不同容器。

【0430】 優選情況是，本發明的套件包括與本發明的一種製劑，包裝後與第二種化合物（如佐劑（例如 GM-CSF）、化療藥物、天然產品、激素或拮抗劑、抗血管生成劑或抑

制劑、凋亡誘導劑或螯合劑)或其藥物組合物聯合使用。該套件的成分可進行預絡合或每種成分在給予患者之前可放置於單獨的不同容器。該套件的成分可以是一種或多種溶液，優選為水溶液，更優選為無菌水溶液。該套件的成分也可為固體形式，加入合適的溶劑後轉換為液體，最好放置於另一個不同的容器中。

【0431】 治療套件的容器可能為西林瓶、試管、燒瓶、瓶子、注射器、或任何其他盛裝固體或液體的工具。通常，當成分不只一種時，套件將包含第二個西林瓶或其他容器，使之可以單獨定量。該套件還可能包含另一個裝載藥用液體的容器。優選情況是，治療套件將包含一個設備（如，一個或多個針頭、注射器、滴眼器、吸液管等），使得可注射本發明的藥物（本套件的組合物）。

【0432】 本發明的藥物配方適合以任何可接受的途徑進行肽給藥，如口服（腸道）、鼻內、眼內、皮下、皮內、肌內，靜脈或經皮給藥。優選為皮下給藥，最優選為皮內給藥，也可透過輸液泵給藥。

【0433】 由於本發明的肽從小細胞肺癌中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療小細胞肺癌。

【0434】 本發明進一步涉及為個體患者製備個體化藥物的一種方法，其中包括：製造含選自預篩選TUMAP存儲庫至少一種肽的藥物組合物，其中藥物組合物中所用的至少一種肽選擇為適合於個體患者。在一項實施方案中，藥物組合物為一種疫苗。該方法也可以改動以產生下游應用的T

細胞克隆物，如：TCR 隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0435】 「個體化藥物」系指專門針對個體患者的治療，將僅用於該等個體患者，包括個體化活性癌症疫苗以及使用自體組織的過繼細胞療法。

【0436】 如本文所述，「存儲庫」應指已經接受免疫原性預篩查和 / 或在特定腫瘤類型中過量呈現的一組或一系列肽。「存儲庫」一詞並不暗示，疫苗中包括的特定肽已預先製造並儲存於物理設備中，雖然預期有這種可能性。明確預期所述肽可以用於新製造每種個體化疫苗，也可能被預先製造和儲存。存儲庫（例如，資料庫形式）由腫瘤相關肽組成，其在各種HLA-A HLA-B和HLA-C等位元基因小細胞肺癌患者的腫瘤組織中高度過度表達。其可能含有包括MHC I類和MHC II類肽或拉長的MHC I類肽。除了從幾種小細胞肺癌組織中採集的腫瘤相關肽外，存儲庫還可能包含HLA-A*02和HLA-A*24標記肽。這些肽可對TUMAP誘導的T細胞免疫進行量化比較，從而可得出疫苗抗腫瘤反應能力的重要結論。其次，在沒有觀察到來自患者「自身」抗原TUMAP的任何疫苗誘導的T細胞反應時，它們可作為來自「非自身」抗原的重要陽性對照肽。第三，它還可對患者的免疫功能狀態得出結論。

【0437】 存儲庫的TUMAP透過使用一種功能基因組學方法進行鑒定，該方法結合了基因表達分析、質譜法和T細胞免疫學(XPresident®)。該方法確保了只選擇真實存在

於高百分比腫瘤但在正常組織中不表達或僅很少量表達的 T U M A P 用於進一步分析。對於初始肽的選擇，患者小細胞肺癌樣本和健康供體的血液以循序漸進的方法進行分析：

1. 惡性材料的 H L A 配體用質譜法確定
2. 使用全基因組信使核糖核酸 (m R N A) 表達分析法用於確定惡性腫瘤組織（小細胞肺癌）與一系列正常器官和組織相比過度表達的基因。
3. 確定的 H L A 配體與基因表達資料進行比較。腫瘤組織上過度呈現或選擇性呈現的肽，優選為第2步中檢測到的選擇性表達或過量表達基因所編碼的考慮為多肽疫苗的合適候選 T U M A P 。
4. 文獻檢索以確定更多證據以支持確認為 T U M P 的肽的相關性。
5. 過度表達在 m R N A 水準的相關性由腫瘤組織第3步選定的 T U M A P 重新檢測而確定，並且在健康組織上缺乏（或不經常）檢測。
6. 為了評估透過選定的肽誘導體內 T 細胞反應是否可行，使用健康供體以及小細胞肺癌患者的人 T 細胞進行體外免疫原性測定。

【0438】 一方面，在將所述肽加入存儲庫之前，對其進行篩查以瞭解免疫原性。舉例來說（但不限於此），納入存儲庫的肽的免疫原性的確定方法包括體外 T 細胞啟動，具體

為：用裝載肽/MHC複合物和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞反復刺激來自健康供體的CD8+T細胞。

【0439】 這種方法優選用於罕見癌症以及有罕見表達譜的患者。與含目前開發為固定組分的多肽雞尾酒相反的是，存儲庫可將腫瘤中抗原的實際表達於疫苗進行更高程度的匹配。在多目標方法中，每名患者將使用幾種「現成」肽的選定單一肽或組合。理論上來說，基於從50抗原肽庫中選擇例如5種不同抗原肽的一種方法可提供大約170萬種可能的藥物產品(DP)組分。

【0440】 在一方面，選擇所述肽用於疫苗，其基於個體患者的適合性，並使用本發明此處或後文所述的方法。

【0441】 HLA表型、轉錄和肽組學資料從患者的腫瘤材料和血液樣本中收集，以確定最合適每名患者且含有「存儲庫」和患者獨特（即突變）TUMAP的肽。將選擇的那些肽選擇性地或過度表達於患者腫瘤中，並且可能的情況下，如果用患者個體PBMC進行檢測，則表現出很強的體外免疫原性。

【0442】 優選的情況是，疫苗所包括的肽的一種確定方法包括：(a)識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關肽(TUMAP)；(b)將(a)中鑒定的肽與上述肽的存儲庫（資料庫）進行比對；且(c)從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫（資料庫）中選擇至少一種肽。例如，腫瘤樣本呈現的TUMAP的鑒定方法有：(a1)將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的

表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及(a2)將表達資料與結合到腫瘤樣本中I類MHC和/或II類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。優選情況是，MHC配體的序列的確定方法是：洗脫來自腫瘤樣本分離的MHC分子結合肽，並測序洗脫配體。優選情況是，腫瘤樣本和正常組織從同一患者獲得。

【0443】除了使用存儲庫(資料庫)模型選擇肽以外，或作為一種替代方法，TUMAP可能在新患者中進行鑒定，然後列入疫苗中。作為一種實施例，患者中的候選TUMAP可透過以下方法進行鑒定：(a1)將來自腫瘤樣本的表達資料與所述腫瘤樣本組織類型相對應的正常組織樣本的表達資料相比對，以識別腫瘤組織中過量表達或異常表達的蛋白；以及(a2)將表達資料與結合到腫瘤樣本中I類MHC和/或II類分子的MHC配體序列想關聯，以確定來源於腫瘤過量表達或異常表達的蛋白質的MHC配體。作為另一實施例，蛋白的鑒定方法為可包含突變，其對於腫瘤樣本相對於個體患者的相應正常組織是獨特的，並且TUMAP可透過特異性靶向作用於變異來鑒定。例如，腫瘤以及相應正常組織的基因組可透過全基因組測序方法進行測序：為了發現基因蛋白質編碼區域的非同義突變，從腫瘤組織中萃取基因組DNA和RNA，從外周血單核細胞(PBMC)中提取正常非突變基因組種系DNA。運用的NGS方法只限於蛋白編碼區的重測序(外顯子組重測序)。為了這一目的，使

用供應商提供的靶序列富集試劑盒來捕獲來自人樣本的外顯子DNA，隨後使用HiSeq 2000（Illumina公司）進行測序。此外，對腫瘤的mRNA進行測序，以直接定量基因表達，並確認突變基因在患者腫瘤中表達。得到的數以百萬計的序列讀數透過軟體演算法處理。輸出列表中包含突變和基因表達。腫瘤特異性體突變透過與PBMC衍生的種系變化比較來確定，並進行優化。然後，為了存儲庫可能測試新確定的肽瞭解如上所述的免疫原性，並且選擇具有合適免疫原性的候選TUMAP用於疫苗。

【0444】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)用上述方法識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關肽(TUMAP)；(b)將(a)中鑒定的肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量呈現預篩查肽的存儲庫進行比對；(c)從與患者中確定的腫瘤相關肽相關的存儲庫中選擇至少一種肽；及(d)可選地在(a)中選擇至少一種新確定的肽，確認其免疫原性。

【0445】 在一個示範實施方案中，疫苗中所含肽透過以下方法確定：(a)識別由來自個體患者腫瘤樣本呈現的腫瘤相關肽(TUMAP)；以及(b)在(a)中選擇至少一種新確定的肽，並確認其免疫原性。

【0446】 一旦選定了用於個體化肽疫苗的肽時，則產生疫苗。該疫苗優選為一種液體製劑，包括溶解於20-40% DMSO之間，優選為約30-35% DMSO，例如，約33% DMSO中的個體肽。

【0447】 列入產品的每種肽都溶於DMSO中。單個肽溶液濃度的選擇取決於要列入產品中的肽的數量。單肽-DMSO溶液均等混合，以實現一種溶液中包含所有的肽，且濃度為每肽 $\sim 2.5\text{ mg/ml}$ 。然後該混合溶液按照1:3比例用注射用水進行稀釋，以達到在33% DMSO中每肽 0.826 mg/ml 的濃度。稀釋的溶液透過 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 無菌篩檢程序進行過濾。從而獲得最終本體溶液。

【0448】 最終本體溶液填充到小瓶中，在使用前儲存於 -20°C 下。一個小瓶包含 $700\text{ }\mu\text{L}$ 溶液，其中每種肽含有 0.578 mg 。其中的 $500\text{ }\mu\text{L}$ （每種肽約 $400\text{ }\mu\text{g}$ ）將用於皮內注射。

【0449】 本發明的肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於肽由小細胞肺癌細胞產生，並且已確定這些肽在正常組織中不存在或水準較低，因此這些肽可用於診斷癌症是否存在。

【0450】 血液樣本中組織活檢物含請求的肽，可有助於病理師診斷癌症。用抗體、質譜或其他本領域內已知的方法檢測某些肽可使病理師判斷該組織樣本為惡性的還是炎症或一般病變，也可用作小細胞肺癌的生物標誌物。肽基團的呈現使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0451】 對病變標本中肽的檢測使得能對免疫系統治療方法的利益進行判斷，特別是如果T-淋巴細胞已知或預計與作用機制有關。MHC表達的缺失是一種機制，充分說明了哪些受感染的惡性細胞逃避了免疫監視。因此，肽的呈現表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0452】 本發明的肽可用於分析淋巴細胞對肽的反應（如 T 細胞反應），或抗體對肽或 MHC 分子結合的肽發生的反應。這些淋巴細胞反應可以作為預後指標，決定是否採取進一步的治療。這些反應也可以用作免疫療法中的替代反應指標，旨在以不同方式誘導淋巴細胞反應，如接種蛋白疫苗、核酸、自體材料、淋巴細胞過繼轉移。基因治療中，淋巴細胞對肽發生的反應可以在副作用的評估中考慮。淋巴細胞反應監測也可能成為移植療法隨訪檢查中的一種有價值的工具，如，用於檢測移植物抗宿主和宿主抗移植物疾病。

【0453】 下列描述優選方案的實施例將對本發明進行說明，並參照隨附圖表（但是不僅限於此）。考慮到本發明的目的，文中引用的所有參考文獻透過引用的方式併入在本文中。

【0454】 實施例

【0455】 實施例 1

【0456】 細胞表面呈現的腫瘤相關肽的識別和定量

【0457】 組織樣本

【0458】 患者的腫瘤組織獲得自：Asterand (Detroit, MI, USA & Royston, Herts, UK)、Bio-Options Inc. (Brea, CA, USA) ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, USA)、Tissue Solutions Ltd (Glasgow, UK)。

【0459】 正常組織獲得自 Asterand (Detroit, MI, USA & Royston, Herts, UK)、Bio-Options Inc. (Brea, CA, USA)、BioServe (Beltsville, MD, USA)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, USA)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, USA)、京都府立醫科大學 (KPUM) (Kyoto, Japan)、日內瓦大學醫院 (Geneva, Switzerland)、海德堡大學醫院 (Heidelberg, Germany)、慕尼黑大學醫院 (Munich, Germany)、蒂賓根大學醫院 (Tübingen, Germany)。

【0460】 所有患者在手術或屍檢前都獲得了書面知情同意。切除後組織立即進行冷休克處理，在分離 TUMAP 前儲存於 -70°C 或以下。

【0461】 從組織樣本中分離 HLA 肽

【0462】 根據方案 (Falk et al., 1991; Seeger et al., 1999) 略加修改，使用 HLA-A*02 特異性抗體 BB7.2、HLA-A、HLA-B、HLA-C 特異性抗體 W6/32、CNBr 活化的瓊脂糖凝膠、酸處理和超濾方法以免疫沉澱法從實體組織中獲得了冷凍組織樣本的 HLA 肽庫。

【0463】 質譜分析

【0464】 獲得的 HLA 肽庫根據其疏水性用反相色譜 (nanoAcquity UPLC system, Waters) 分離，洗脫肽用裝有電噴霧源的 LTQ-velos 融合雜交質譜 (ThermoElectron) 進行了分析。肽庫被直接載入填充有 $1.7\ \mu\text{m}\ \text{C18}$ 反相材料 (Waters) 的分析用熔煉石英微毛細

管柱 (75 μm 內徑 x 250 mm) , 應用流速為 400 nL 每分鐘。隨後, 使用來自流速為 300 nL 每分鐘、濃度為 10 % 至 33 % 溶劑 B 中的兩步 180 分鐘二元梯度法對肽進行分離。梯度由溶劑 A (含 0.1 % 甲酸的水) 和溶劑 B (含 0.1 % 甲酸的乙腈) 。金鍍膜玻璃毛細管 (PicoTip, New Objective) 用於引入到納升電噴霧源。使用前 5 (TOP5) 策略在資料依賴模式下操作 LTQ-Orbitrap 質譜儀。簡言之, 首先以高精確品質完全掃描在 orbitrap 開始一個掃描週期 ($R = 30\,000$) , 之後用先前選定離子的動態排除技術在 orbitrap 中對 5 種含量最為豐富的前體離子進行 MS/MS 掃描 ($R = 7500$) 。串聯質譜以 SEQUEST 和另一種手動控制器進行解讀。生成的自然肽破碎模式與合成序列相同參考肽的破碎模式進行比較後, 確保了被識別的肽序列。

【0465】 無標記相對 LC-MS 定量透過離子計數 (即透過 LC-MS 功能提取和分析) 來進行 (Mueller et al., 2007) 。該方法假定肽的 LC-MS 信號區域與樣本中其豐度相關。提取的特徵透過充電狀態去卷積和保留時間校準進行進一步處理 (Mueller et al., 2008; Sturm et al., 2008) 。最後, 所有的 LC-MS 特徵與序列鑒定結果交叉引用, 以將不同樣本和組織的定量資料與肽呈遞特徵結合。定量資料根據集中資料以兩層方式進行正態化處理, 以說明技術和生物學複製變異。因此, 每個被識別的肽均可與定量資料相關, 從而可得出樣本和組織之間的相對定量。

此外，對候選肽獲得的所有定量資料進行手動檢查，以確保資料的一致性，並驗證自動化分析的準確度。對於每種肽，計算了呈現圖，其顯示樣本平均呈現量以及複製變化。這些特徵使小細胞肺癌樣本與正常組織樣本的基線值並列。示範性過度呈現肽的呈現譜示於圖 1 中。示範性肽的呈現分數見表 8。

【0466】 表 8：呈現分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量呈現(+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量呈現(++)或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量呈現(+)的HLA-A*02肽。被認為與腫瘤比較相關的一系列正常組織組包括：脂肪組織、腎上腺、血細胞、血管、骨髓、腦、食道、眼、膽囊、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁腺、腹膜、垂體、胸膜、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱。

序列 ID 號	序列	肽呈現
1	AMLEEVNYI	+++
2	VMFNFPDQATV	++
3	VLAIDPKQLV	+++
4	GLLDPGMLVNI	+
5	SLQSLIISV	+
6	SIMDYVVFV	++
7	GLLGDIHL	+++
8	VLIDDSQSIIFI	+++
9	AAAPGEALHTA	+
10	ILAAGFDGM	+
11	KLFAIPILL	+++
15	SLLTAISEV	+
16	VILDPLVI	+++
17	SLMLVTVEL	+
19	VLLTTAVEV	+
20	MLDEILLQL	+

23	YQIDTVINL	+
24	FLMEEVHMI	+
26	KMLDEAVFQV	+
27	SLDIITITV	+++
29	NLISQLTTV	++
31	RLLQDPVGV	+
35	FMGDVFINV	+
37	SLFYNELHYV	+
39	GLDPTQFRV	+++
40	GLLEVQVEV	+++
41	KAYQELLATV	+++
42	GLLEDERALQL	+++
43	YLWSEVFSM	+++
44	ALIVGIPSV	+++
45	SLSGEIILHSV	+++
46	ALWVAVPKA	+++
47	GLLEALLKI	+++
49	RLALNTPKV	++
50	FLLSQIVAL	+++
51	ILDEAGVKYFL	+++
52	ILASFMLTGV	+++
54	HLFDIILTSV	++
55	LLIADNPQL	+++
56	SLFSQMGSQYEL	+++
57	VLIGDVLVAV	+++
58	VLLNINGIDL	+++
59	VLLSGLTEV	+++
60	VVSGATETL	+++
61	YQAPYFLTV	+++
62	VMLPIGAVVMV	+++
63	LLMSTENEL	++
64	VLFHQLQEI	+
65	VMYDLITEL	++
66	YLNLISTSV	+++
67	MLYDIVPVV	+
68	FLFPVYPLI	+
69	KLFDRSVDL	++
70	TLLWKLVEV	+++
72	KAIGSLKEV	+++
73	SLSSYTPDV	+++
74	FLDSLSPSV	+++
75	SLDLHVPSL	+++
76	VLTVMITV	+++
78	RIIDPEDLKALL	+++
79	RLLEPAQVQQL	++
80	ILMDPSPEYA	+++

81	LLAEIGAVTLV	++
82	ALSSVIKEL	+
83	KLLEIDIDGV	+
84	KMFENEFL	+
85	FAYDGKDYLT	+
86	KVIDYVPGI	+
87	LLQNNLPAV	+
88	TLHRETFYL	+++
89	IQHDLIFSL	+
90	TLVDNISTMAL	+
95	ALYSKGILL	+
96	NLLKLIAEV	+
97	ALLDGTVFEI	++
98	ALVDHLNVGV	+
99	QMLEAIKALEV	++
100	VADPETRTV	+
101	AMNSQILEV	+
103	SLLEYQMLV	+
105	SMYDKVLML	+
106	KMPDDVWLV	+
107	AMYGTKLETI	+
110	GLTETGLYRI	+++
111	FLPEAPAE	+++
112	LLLPGVIKTV	+++
114	ALLEPGGVLTI	+++
115	ALLPSDCLQEA	+++
116	ALLVRLQEV	+++
117	FLLDSAPLNV	+
118	KLPSFLANV	+++
119	SLIDDNNEINL	+
120	SLAADIPRL	++
121	YMLEHVITL	+
124	SLITDLQTI	++
125	LLSEPSLLRTV	+++
126	AAASLIRLV	+++

【0467】 實 施 例 2

【0468】 編 碼 本 發 明 肽 的 基 因 的 表 達 譜

【0469】 與 正 常 細 胞 相 比 在 腫 瘤 細 胞 上 一 種 肽 過 度 呈 現 或 特 定 呈 現 足 夠 其 在 免 疫 治 療 中 有 效 使 用 ， 一 些 肽 為 腫 瘤 特 異 性 的 ， 儘 管 存 在 其 源 蛋 白 也 存 在 於 正 常 組 織 中 。 但 是 ， m R N A 表 達 譜 增 加 了 免 疫 治 療 目 標 肽 選 擇 中 其 他 級 別 的 安

全性。特別是對於具有高安全性風險的治療選擇，諸如親和力成熟的TCR，理想的目標肽將來源於對該腫瘤獨一無二且不出現於正常組織中的蛋白。

【0470】 RNA來源與製備

【0471】 手術切除組織標本按如上所述（參見實施例1）在獲得每名患者的書面知情同意後提供。手術後立即速凍腫瘤組織標本，之後在液態氮中用杵臼勻漿。使用TRI試劑（Ambion公司，Darmstadt，德國）之後用RNeasy（QIAGEN公司，Hilden，德國）清理從這些樣本中製備總RNA；這兩種方法都根據製造商的方案進行。

【0472】 用於RNASeq實驗來自健康人體組織的總RNA獲得自：Asterand（Detroit, MI, USA & Royston, Herts, UK）、Bio-Options Inc.（Brea, CA, USA）、Geneticist Inc.（Glendale, CA, USA）、ProteoGenex Inc.（Culver City, CA, USA）、Tissue Solutions Ltd（Glasgow, UK）。

【0473】 用於RNASeq實驗來自腫瘤組織的總RNA獲得自：Asterand（Detroit, MI, USA & Royston, Herts, UK）、BioCat GmbH（Heidelberg, Germany）、BioServe（Beltsville, MD, USA）、Geneticist Inc.（Glendale, CA, USA）、Istituto Nazionale Tumori "Pascale"（Naples, Italy）、ProteoGenex Inc.（Culver City, CA, USA）、海德堡大學醫院（Heidelberg, Germany）。

【0474】 所有RNA樣品的質量和數量在Agilent 2100生物分析儀(Agilent, Waldbronn, Germany)上使用RNA 6000 Pico LabChip試劑盒(Agilent)評估。

【0475】 RNA序列實驗

【0476】 通過新一代測序技術(RNAseq)由CeGaT (Tübingen, Germany)對腫瘤和正常組織的RNA樣本進行基因表達分析。簡言之，根據供應商的方案(Illumina Inc., San Diego, CA, USA)，其中包括RNA碎片化、cDNA轉化和測序適配器的加入，利用Illumina HiSeq v4試劑盒準備測序文庫。從多個樣本獲得的文庫根據製造商的說明等摩爾混合並在Illumina HiSeq 2500定序器上測序，產生50bp的單端讀數。處理的讀數使用STAR軟體映射至人類基因組(GRCh38)。根據ENSEMBL序列資料庫的說明(Ensembl77)，表達資料在轉錄水準設置為RPKM（每百萬映射讀數每千鹼基讀數，由Cufflinks軟體生成）並在外顯子水準上設置（總讀數，由Bedtools軟體生成）。外顯子讀數被歸為外顯子長度和校準尺寸，以獲得RPKM值。本發明的代表性源基因在小細胞肺癌中高度過量表達的表達譜如圖2所示。進一步代表性基因的表達分數見表9。

【0477】 表9：表達分數。該表列出了與一系列正常組織相比在腫瘤上非常高度過量表達(+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量表達(++)或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量表達(+)的基因的肽。本基線得分根據以下

相關正常組織的測量值計算：脂肪組織、腎上腺、動脈、血細胞、骨髓、腦、軟骨、結腸、食道、膽囊、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、胰腺、垂體、直腸、唾液腺、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、胸腺、甲狀腺、氣管、膀胱、靜脈。如果獲得同一組織類型幾個樣本的表達資料，則使用各樣本的算術平均值進行計算。

序列 ID 號	序列	基因表達
1	AMLEEVNYI	+++
10	ILAAGFDGM	++
25	GLSETILAV	++
39	GLDPTQFRV	++
41	KAYQELLATV	+++
42	GLLEDERALQL	+++
51	ILDEAGVKYFL	+
70	TLLWKLVEV	+++
72	KAIGSLKEV	+++
83	KLLEIDIDGV	++
88	TLHRETFYL	+++
91	KLQDGVHII	+
92	YLQDYTDRV	+++
95	ALYSKGILL	++
96	NLLKLIAEV	++
110	GLTETGLYRI	+
111	FLPEAPAEI	+++
121	YMLEHVITL	++
122	SMMPDELLTSL	+
123	KLDKNPNQV	+

【0478】 實施例 3

【0479】 M H C - I 類呈現肽的體外免疫原性

【0480】 為了獲得關於本發明 T U M A P 的免疫原性資訊，發明人使用體外 T 細胞擴增分析方法進行了研究，其中該分析方法基於使用裝載肽 / M H C 複合物和抗 C D 2 8 抗體的人工抗原呈現細胞 (a A P C) 進行反復刺激。用這種方法，發明人可顯示，本發明的 H L A - A * 0 2 0 1 限制 T U M A P 具有免疫原

性，這表明這些肽為對抗人CD8+前體T細胞的T細胞表位（表10）。

【0481】 CD8+T細胞體外啟動

【0482】 為了用載有肽-MHC複合物(pMHC)和抗CD28抗體的人工抗原呈現細胞進行體外刺激，發明人首先從University clinics Mannheim, Germany中獲取健康供體CD8微珠(Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany)透過積極選擇白血球清除術後新鮮HLA-A*02產物而分離出CD8+T細胞。

【0483】 PBMC和分離出的CD8+淋巴細胞使用前在T細胞培養基(TCM)中培養，培養基包括RPMI-Glutamax (Invitrogen公司, Karlsruhe, 德國)並補充10%熱滅活人AB血清(PAN-Biotech公司, Aidenbach, 德國)、100 U/ml青黴素/100 µg/ml鏈黴素(Cambrex公司, Cologne, 德國)、1 mM丙酮酸鈉(CC Pro公司, Oberdorf, 德國)和20 µg/ml慶大黴素(Cambrex公司)。在此步驟，2.5 ng/ml的IL-7 (PromoCell公司, Heidelberg, 德國)和10 U/ml的IL-2 (Novartis Pharma公司, Nürnberg, 德國)也加入TCM。

【0484】 對於pMHC/抗-CD28塗層珠的生成、T細胞的刺激和讀出，使用每刺激條件四個不同pMHC分子以及每個讀出條件8個不同的pMHC分子在高度限定的體外系統中進行。

【0485】 純化的共刺激小鼠 IgG2a 抗人 CD28 抗體 9.3 (Jung et al., 1987) 使用製造商 (Perbio 公司, 波恩, 德國) 推薦的 N-羥基琥珀醯亞胺生物素進行化學生物素化處理。所用珠為 5.6 μ m 的鏈黴抗生物素蛋白包裹的多聚苯乙烯顆粒 (Bangs Laboratories, 伊利諾州, 美國)。

【0486】 用於陽性和陰性對照刺激物的 pMHC 分別為 A*0201/MLA-001 (從 Melan-A/MART-1 中修飾製得的肽 ELAGIGILT V (SEQ ID NO: 142)) 和 A*0201/DDX5-001 (從 DDX5 中獲得的 YLLPAIVHI (SEQ ID NO: 143))。

【0487】 800.000 珠/200 μ l 包裹於含有 4 x 12.5 ng 不同生物素-pMHC 的 96 孔板、進行洗滌, 隨後加入體積為 200 μ l 的 600 ng 生物素抗-CD28。在 37°C 下, 在含 5 ng/ml IL-12 (PromoCell) 的 200 μ l TCM 中共培養 1×10^6 CD8+T 細胞與 2×10^5 的清洗塗層珠 3 天, 從而啟動刺激。之後, 一半培養基與補充 80 U/ml IL-2 的新鮮 TCM 進行交換, 並且培養在 37°C 下持續 4 天。這種刺激性週期總共進行 3 次。對於使用每條件 8 種不同 pMHC 分子的 pMHC 多聚體讀出, 二維組合編碼方法如前述使用 (Andersen et al., 2012), 稍作修飾, 涵蓋耦合至 5 種不同的螢光染料。最後, 用 Live/dead near IR 染料 (Invitrogen 公司, Karlsruhe, 德國)、CD8-FITC 抗體克隆 SK1 (BD 公司, Heidelberg, 德國) 和螢光 pMHC 多聚體而執行多聚體分析。對於分析, 使用了配有合適鐳射儀和篩檢程序

的 B D L S R I I S O R P 細胞儀。肽特異性細胞以占總 C D 8 + 細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用 F l o w J o 軟體 (T r e e S t a r 公司，O r e g o n，美國) 進行評估。特定多聚體 + C D 8 + 淋巴細胞的體外填裝用與陰性對照刺激組比較而進行檢測。如果健康供體中的至少一個可評價的體外刺激孔在體外刺激後發現含有特異性 C D 8 + T 細胞株 (即該孔包含至少 1 % 特定多聚體 + C D 8 + T 細胞，並且特定多聚體 + 的百分比至少為陰性對照刺激中位數的 1 0 倍) ，則檢測給定抗原的免疫原性。

【0488】 小細胞肺癌肽體外免疫原性

【0489】 對於受到測試的 H L A - I 類肽，可透過肽特異性 T 細胞株的生成證明其體外免疫原性。T U M A P 特異性多聚體對本發明的 2 種肽染色後流式細胞儀檢測的典型結果如圖 3 所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明 4 種肽的結果匯總於表 1 0 。

【0490】 表 1 0 A：本發明中 H L A I 類肽的體外免疫原性
申請人對本發明的肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。
< 2 0 % = + ; 2 0 % - 4 9 % = + + ; 5 0 % - 6 9 % = + + + ;
> = 7 0 % = + + + +

Seq ID	序列	孔
128	SLAPAGVIRV	+
129	RVADYIVKV	+
130	SLYDNQITTV	++
132	NLLAEIHGV	+

【0491】 表 1 0 B：本發明 H L A I 類肽的體外免疫原性

申請人對本發明的 H L A - A * 0 2 限制肽所做的體外免疫原性實驗的示例性結果。提示了體外免疫原性實驗的結果。陽性孔和供體（其他可評價）的百分比概括為 < 2 0 % = + ； 2 0 % - 4 9 % = + + ； 5 0 % - 6 9 % = + + + ； > = 7 0 % = + + + +

Seq ID No	序列	陽性孔[%]
2	VMFNFPDQATV	+
4	GLLDPGMLVNI	++
6	SIMDYVVFV	+
11	KLFAIPILL	++++
39	GLDPTQFRV	++++
80	ILMDPSPEYA	+++
82	ALSSVIKEL	+
110	GLTETGLYRI	+++

【0492】 實施例 4

【0493】 肽的合成

【0494】 所有的肽透過使用 F m o c 策略以標準、廣為接受的固相肽合成法合成。每個肽的身份和純度已使用質譜和 R P - H P L C 分析法確定。用凍乾法（三氟乙酸鹽）獲得白色至類白色的肽，純度為 > 5 0 %。所有的 T U M A P 優選作為三氟乙酸鹽或乙酸鹽進行給藥，其他藥用鹽形式也可以。

【0495】 實施例 5

【0496】 M H C 結合測定

【0497】 本發明基於 T 細胞療法的候選肽進一步測試其 M H C 結合能力（親和性）。單個肽 - M H C 複合體透過 U V - 配體交換產生，其中，紫外線敏感肽經紫外線照射後裂解，與分析的相關肽交換。只有能夠有效地結合並穩定肽接受 M H C 分子的候選肽才能阻止 M H C 複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定 M H C 複合物輕鏈 (β 2 m) 的

檢測結果進行ELISA測定。檢測總體上按照Rodenko等人在(Rodenko et al., 2006)中描述的方法進行。

【0498】 96孔Maxisorp板(NUNC)在室溫下在PBS中以2ug/ml鏈黴包被過夜，用4倍洗滌並在37°C下在含封閉緩衝液的2%BSA中封閉1小時。折疊的HLA-A*02:01/MLA-001單體作為標準品，涵蓋15-500ng/ml的範圍。紫外線交換反應的肽-MHC單體在封閉緩衝液中稀釋100倍。樣本在37°C下孵育1小時，洗滌四次，在37°C下以2ug/mlHRP綴合抗-β2m溫育1小時，再次洗滌，並以NH2SO4封堵的TMB溶液進行檢測。在450nm處測量吸收。在生成和產生抗體或其片段時和/或T細胞受體或其片段時，通常優選顯示為高交換產率（優選為高於50%，最優選為高於75%）的候選肽，這是因為它們對MHC分子表現出足夠的親合力，並能防止MHC複合物的解離。

【0499】 表11：MHC-I類結合分數
HLA-I類限制肽與HLA-A*02:01的結合根據肽交換產量評估範圍：>10%=+；>20%=++；>50=+++；>75%=++++

序列ID	肽代碼	肽交換
1	AMLEEVNYI	+++
2	VMFNFPDQATV	+++
3	VLAIDPKQLV	+++
4	GLLDPGMLVNI	+++
5	SLQSLIISV	++++
6	SIMDYVVFV	++++

7	GLLGDIHL	+++
9	AAAPGEALHTA	++
11	KLFAIPILL	+++
12	MLFEGLDLVSA	+++
13	FLTAFLVQI	+++
14	ILIETKLV	+++
15	SLLTAISEV	+++
16	VILDLPLVI	+++
17	SLMLVTVEL	+++
18	ALGEISVSV	+++
19	VLLTTAVEV	+++
20	MLDEILLQL	+++
21	TMEEMIFEV	+++
22	LLPEKSWEI	+++
23	YQIDTVINL	+++
24	FLMEEVHMI	+++
25	GLSETILAV	++++
26	KMLDEAVFQV	++++
27	SLDIITIV	++++
28	ILVSQLEQL	++++
30	KMLGLTVSL	+++
31	RLLQDPVGV	++++
32	ALTSLELEL	+++
34	LVFEGIMEV	+++
35	FMGDVFINV	++++
36	RMDGAVTSV	+++
37	SLFYNELHYV	+++
38	GLISSLNEI	++++
39	GLDPTQFRV	+++
40	GLLEVQVEV	+++
41	KAYQELLATV	+++
42	GLLEDERALQL	+++
43	YLWSEVFSM	+++
44	ALIVGIPSV	++++
45	SLSGEIILHSV	++
46	ALWVAVPKA	+++
47	GLLEALLKI	+++

48	SLIGLDLSSV	+++
49	RLALNTPKV	++
50	FLLSQIVAL	+++
51	ILDEAGVKYFL	+++
52	ILASFMLTGV	++++
53	LLSEEHITL	++++
54	HLFDIILTSV	++++
55	LLIADNPQL	++++
56	SLFSQMGSQYEL	+++
57	VLIGDVLVAV	++++
58	VLLNINGIDL	++++
59	VLLSGLTEV	++++
60	VVSGATETL	++++
61	YQAPYFLTV	+++
62	VMLPIGAVVMV	+++
63	LLMSTENEL	+++
64	VLFHQLQEI	+++
65	VMYDLITEL	+++
66	YLNLISTSV	+++
67	MLYDIVPVV	+++
68	FLFPVYPLI	+++
69	KLFDRSVDL	++
70	TLLWKLVEV	++
71	FIFEQVQNV	+++
72	KAIGSLKEV	+++
73	SLSSYTPDV	+++
74	FLDSLSPSV	+++
75	SLDLHVPSL	+++
77	AIIDGKIFCV	+++
78	RIIDPEDLKALL	++++
79	RLLEPAQVQQL	+++
80	ILMDPSPEYA	+++
81	LLAEIGAVTLV	+++
82	ALSSVIKEL	+++
83	KLLEIDIDGV	+++
84	KMFENEFL	+++
85	FAYDGKDYLT	+++

86	KVIDYVPGI	+++
87	LLQNNLPAV	++++
88	TLHRETFYL	++++
89	IQHDLIFSL	+++
90	TLVDNISTMAL	+++
91	KLQDGVHII	+++
92	YLQDYTDRV	+++
93	ALRETVVEV	+++
94	ALFPVAEDISL	+++
95	ALYSKGILL	++++
96	NLLKLIAEV	++++
97	ALLDGTVFEI	+++
98	ALVDHLNVGV	+++
99	QMLEAIKALEV	++++
100	VADPETRTV	+
101	AMNSQILEV	+++
102	ALFARPDLLLL	++++
103	SLLEYQMLV	++++
104	TLIQFTVKL	+++
105	SMYDKVLML	++++
106	KMPDDVWL	++++
107	AMYGTKLETI	++++
108	ILLDDQFQPKL	++++
109	SLFERLVVL	++++
110	GLTETGLYRI	+++
111	FLPEAPAE	+++
112	LLPGVIKTV	+++
114	ALLEPGGVLT	+++
115	ALLPSDCLQEA	+++
116	ALLVRLQEV	++++
117	FLLDSAPLNV	++++
118	KLPSFLANV	+++
120	SLAADIPRL	+++
121	YMLEHVITL	+++
122	SMMPDELLTSL	+++
123	KLDKNPNQV	+++
124	SLITDLQTI	+++

125	LLSEPSLLRTV	+++
126	AAASLIRLV	+

【0500】 參考文獻列表

Abba, M. C. et al., Breast Cancer Res 6 (2004):
R 4 9 9 - R 5 1 3

Adamowicz, M. et al., Genes
Chromosomes.Cancer 45 (2006): 8 2 9 - 8 3 8

Adel, Fahmideh M. et al., Carcinogenesis 36
(2015): 8 7 6 - 8 8 2

Ahn, Y. H. et al., J Clin Invest 122 (2012):
3 1 7 0 - 3 1 8 3

Akao, Y. et al., Cancer Res 55 (1995):
3 4 4 4 - 3 4 4 9

Al-Lamki, Z. et al., Pediatr.Hematol.Oncol 22
(2005): 6 2 9 - 6 4 3

Alhopuro, P. et al., Int.J Cancer 130 (2012):
1 5 5 8 - 1 5 6 6

Allard, M. et al., PLoS.One. 6 (2011): e21118

Allison, J. P. et al., Science 270 (1995):
9 3 2 - 9 3 3

Alm-Kristiansen, A. H. et al., Oncogene 27
(2008): 4 6 4 4 - 4 6 5 6

Alvarez, C. et al., Mol.Carcinog 52 (2013):
4 7 5 - 4 8 7

American Cancer Society, (2015a),
www.cancer.org

American Cancer Society, (2015b),
www.cancer.org

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

Angulo, J. C. et al., J Urol. 195 (2016): 619-626

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

Arafat, H. et al., Surgery 150 (2011): 306-315

Arvanitis, D. A. et al., Oncol Rep. 20 (2008):
751-760

Asmann, Y. W. et al., Cancer Res 62 (2002):
3308-3314

Balamurugan, K. et al., Am.J Physiol
Gastrointest.Liver Physiol 285 (2003):
G73-G77

Ballerini, P. et al., Haematologica 93 (2008):
1658-1665

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

Baratta, M. G. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A
112 (2015): 232-237

Barber, L. J. et al., Cell 135 (2008): 261-271

Bashtrykov, P. et al., Cell Cycle 14 (2015): 5

- Bawa-Khalfe, T. et al., J Biol Chem 285 (2010): 25859-25866
- Beatty, G. et al., J Immunol 166 (2001): 2276-2282
- Beggs, J. D., Nature 275 (1978): 104-109
- Bengochea, A. et al., Br.J Cancer 99 (2008): 143-150
- Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B (Methodological), Vol.57 (1995): 289-300
- Bennett, C. B. et al., PLoS.One. 3 (2008a): e1448
- Bennett, K. L. et al., Cancer Res 68 (2008b): 4494-4499
- Bhogaraju, S. et al., Science 341 (2013): 1009-1012
- Bi, W. et al., Oncol Rep. 29 (2013): 1533-1539
- Bierkens, M. et al., Genes Chromosomes.Cancer 52 (2013): 56-68
- Bojjireddy, N. et al., J Cell Sci. (2014)
- Borazanci, E. et al., World J Gastrointest.Oncol 7 (2015): 132-140
- Bossard, C. et al., Int.J Cancer 131 (2012): 855-863

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

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

Braun, R. J. et al., Biochim.Biophys.Acta 1783
(2008): 1418-1435

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

Bredel, M. et al., JAMA 302 (2009): 261-275

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

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

Broude, E. V. et al., Curr.Cancer Drug Targets.
15 (2015): 739-749

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

Buchet-Poyau, K. et al., Nucleic Acids Res 35
(2007): 1289-1300

Burdelski, C. et al., BMC.Cancer 15 (2015): 538

Burgess, A. W. et al., Exp.Cell Res 317 (2011):
2748-2758

Caba, O. et al., Dig.Dis.Sci. 59 (2014):
2714-2720

Cai, K. et al., Lin.Chung Er.Bi Yan.Hou
Tou.Jing.Wai Ke.Za Zhi. 26 (2012): 425-428

Caldon, C. E. et al., Cell Cycle 12 (2013):
606-617

Caldon, C. E. et al., Mol.Cell Biol 29 (2009):
4623-4639

Campone, M. et al., Breast Cancer Res Treat.
109 (2008): 491-501

Campos, B. et al., Am.J Pathol. 178 (2011):
1953-1964

Camps, J. et al., Cancer Res 73 (2013):
2003-2013

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

Carlsen, E. O. et al., Am.J Med Genet.A 167A
(2015): 1890-1896

Carlucci, F. et al., Biomed.Pharmacother. 63
(2009): 663-671

Celius, T. et al., Toxicol.Appl.Pharmacol. 247
(2010): 60-69

Cha, J. D. et al., Oral Surg.Oral Med Oral
Pathol.Oral Radiol.Endod. 111 (2011): 594-607

Chae, Y. K. et al., Oncotarget. 6 (2015):
37117-37134

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

Chantome, A. et al., Exp.Cell Res 315 (2009):
3620-3630

Chen, D. et al., Cancer Lett. 362 (2015a):
208-217

Chen, H. et al., J Clin Immunol. 19 (1999):
186-193

Chen, J. et al., Int.J Cancer 122 (2008):
2249-2254

Chen, J. et al., J Hepatol. 62 (2015b):
1287-1295

Chen, T. et al., Oncogene 34 (2015c): 4019-4031

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

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

Chen, Y. et al., Proteomics. 7 (2007a):
2384-2397

Chen, Y. et al., Cancer Biol Ther. 8 (2009):
607-614

Chen, Y. G. et al., J Biol Chem 282 (2007b):
9688-9695

Chen, Y. L. et al., Biochem.Biophys.Res
Commun. 425 (2012): 290-296

Cheng, J. M. et al., J Biol
Regul.Homeost.Agents 29 (2015): 85-92

- Choi, Y. J. et al., Hum.Pathol. 45 (2014): 1674-1681
- Choi, Y. W. et al., Int.J Gynecol.Cancer 17 (2007): 687-696
- Chuang, T. H. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 92 (1995): 10282-10286
- Ciccica, A. et al., Mol.Cell 25 (2007): 331-343
- Cipriano, R. et al., Mol.Cancer Res 12 (2014): 1156-1165
- Clark, A. D. et al., Crit Rev Biochem.Mol.Biol 50 (2015): 393-426
- Claro da, Silva T. et al., Mol Aspects Med. 34 (2013): 252-269
- Clay, M. R. et al., Development 140 (2013): 3198-3209
- Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. 16 (2003a): 324-332
- Cohen, C. J. et al., J Immunol 170 (2003b): 4349-4361
- Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science (1995)
- Colombetti, S. et al., J Immunol. 176 (2006): 2730-2738
- Cornen, S. et al., PLoS.One. 9 (2014): e81843

- Corral, R. et al., PLoS.One. 8 (2013): e71211
- Crago, A. M. et al., Curr.Opin.Oncol 23 (2011): 373-378
- Cui, Y. et al., Tumour.Biol 36 (2015): 9919-9927
- Cui, Y. et al., Biosci.Trends 7 (2013): 259-263
- Cunnick, J. M. et al., Mol.Cell Biol 29 (2009): 5742-5750
- Dai, J. et al., PLoS.One. 6 (2011): e21120
- Dasari, V. K. et al., J Urol. 165 (2001): 1335-1341
- Davalieva, K. et al., Prostate 75 (2015): 1586-1600
- Davis, M. A. et al., Genes Dev. 27 (2013): 151-156
- De, Keersmaecker K. et al., Haematologica 99 (2014): 85-93
- Dean, M. et al., Genome Res 11 (2001): 1156-1166
- Deb, S. et al., Mod.Pathol. 27 (2014): 1223-1230
- del, Fresno C. et al., J Immunol. 174 (2005): 3032-3040
- Deng, J. et al., PLoS.One. 8 (2013): e76450

- Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res 12 (2006):
4163-4170
- Denkberg, G. et al., J Immunol 171 (2003):
2197-2207
- DeRycke, M. S. et al., Cancer
Epidemiol.Biomarkers Prev. 22 (2013):
1239-1251
- Dhanoa, B. S. et al., Hum.Genomics 7 (2013): 13
- Di, K. et al., Oncogene 32 (2013): 5038-5047
- Dickinson, R. E. et al., Br.J Cancer 91 (2004):
2071-2078
- Ding, X. et al., Int.J Cancer 136 (2015):
955-964
- Diniz, M. G. et al., Tumour.Biol (2015)
- Draberoova, E. et al., J Neuropathol.Exp.Neurol.
74 (2015): 723-742
- El-Naggar, A. M. et al., Cancer Cell 27 (2015):
682-697
- Elgohary, N. et al., Int.J Oncol 46 (2015):
597-606
- Elias, D. et al., Oncogene 34 (2015): 1919-1927
- Enqvist, M. et al., J Immunol. 187 (2011):
3546-3554

- Euer, N. et al., *Anticancer Res* 22 (2002): 733-740
- Falk, K. et al., *Nature* 351 (1991): 290-296
- Fan, T. et al., *Tumour.Biol* 35 (2014): 519-527
- Faronato, M. et al., *Oncotarget*. (2015)
- Feng, Y. et al., *Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi*. 94 (2014): 596-598
- Feng, Z. et al., *Oncogene* 25 (2006): 1-7
- Fernandes, C. F. et al., *Biochem.Biophys.Res Commun*. 361 (2007): 26-32
- Fields, A. P. et al., *Adv.Enzyme Regul*. 50 (2010): 190-200
- Figueroa, M. E. et al., *J Clin Invest* 123 (2013): 3099-3111
- Fong, L. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 98 (2001): 8809-8814
- Fox, S. B. et al., *Cancer Res* 64 (2004): 6075-6081
- Francavilla, C. et al., *Mol.Cell* 51 (2013): 707-722
- Fu, A. et al., *Mol.Carcinog* 51 (2012): 923-929
- Fu, L. et al., *Hepatology* 51 (2010): 1624-1634
- Fujita, T. et al., *Cancer Sci*. 104 (2013): 214-222

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

Gallenberger, M. et al., Hum.Mol.Genet. 20
(2011): 422-435

Gama, V. et al., Sci.Signal. 7 (2014): ra67

Gao, G. et al., Genes Chromosomes.Cancer 53
(2014): 392-401

Garcia-Santisteban, I. et al., Mol.Cancer 12
(2013): 91

Gardina, P. J. et al., BMC.Genomics 7 (2006):
325

Garnis, C. et al., Int.J Cancer 116 (2005):
813-819

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

Ghosal, A. et al., Biochim.Biophys.Acta 1808
(2011): 2073-2080

Ghoshal, K. et al., PLoS.One. 5 (2010): e10338

Giangreco, A. et al., Development 136 (2009):
3505-3514

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

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

- Going, J. J. et al., Gut 50 (2002): 373-377
- Gomez-Ferreria, M. A. et al., J Cell Sci. 125 (2012): 3745-3751
- Gonda, T. J. et al., Expert.Opin.Biol Ther. 8 (2008): 713-717
- Gonzalez, M. A. et al., J Clin Oncol 21 (2003): 4306-4313
- Goode, E. L. et al., Nat Genet. 42 (2010): 874-879
- Gorogh, T. et al., Int.J Cancer 138 (2016): 2529-2538
- Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual 4th (2012)
- Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual 2nd (2014)
- Greenhough, A. et al., Carcinogenesis 30 (2009): 377-386
- Grice, D. M. et al., J Biol Chem 285 (2010): 37458-37466
- Gu, Y. et al., Mol.Carcinog 55 (2016): 292-299
- Gudas, J. M. et al., Mol.Cell Biol 19 (1999): 612-622
- Guerreiro, A. S. et al., Mol.Cancer Res 9 (2011): 925-935

- Guo, X. et al., Sci.Rep. 5 (2015): 11846
- Guo, X. et al., Oncogene 29 (2010): 3908-3920
- Gutierrez, M. L. et al., PLoS.One. 6 (2011): e22315
- Hailemariam, T. K. et al., Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol 28 (2008): 1519-1526
- Hamamoto, R. et al., Nat Cell Biol 6 (2004): 731-740
- Hao, B. et al., Cancer Res 64 (2004): 4378-4384
- Hao, X. et al., J Membr.Biol. 247 (2014): 273-279
- Hays, A. et al., Pharm.Res 30 (2013): 2260-2269
- He, J. Y. et al., Tumour.Biol 36 (2015): 3895-3902
- He, S. et al., PLoS.One. 6 (2011): e27684
- He, W. et al., J Proteome.Res 13 (2014): 2272-2281
- Heese, K. et al., Eur.J Neurosci. 15 (2002): 79-86
- Heubeck, B. et al., Eur.J Cancer 49 (2013): e1-e7

- Hisamuddin, I. M. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 14 (2005): 2366-2369
- Hong, S. Y. et al., Biochem. Biophys. Res Commun. 465 (2015): 838-844
- Honnorat, J. et al., Eur. J Neurosci. 11 (1999): 4226-4232
- Hosogi, S. et al., Cell Physiol Biochem. 30 (2012): 1241-1253
- Hsieh, Y. J. et al., Mol. Cell Biol 19 (1999): 4944-4952
- Hu, R. et al., Oncol Lett. 11 (2016): 1835-1840
- Hua, W. et al., Neoplasma 60 (2013): 143-150
- Huang, C. et al., Cell Biol Int. 32 (2008): 1081-1090
- Huang, H. et al., Int. J Clin Exp. Pathol. 8 (2015a): 11537-11542
- Huang, J. et al., Am. J Physiol Gastrointest. Liver Physiol 306 (2014): G802-G810
- Huang, K. T. et al., Breast Cancer Res Treat. 130 (2011): 319-329
- Huang, L. et al., BMC. Cancer 15 (2015b): 13

- Huang, S. L. et al., Cancers (Basel) 7 (2015): 1052-1071
- Huff, L. P. et al., Genes Cancer 4 (2013): 460-475
- Hummon, A. B. et al., Mol.Cancer 11 (2012): 1
- Hurst, C. D. et al., Oncogene 27 (2008): 2716-2727
- Hwang, M. L. et al., J Immunol. 179 (2007): 5829-5838
- Iio, A. et al., Biochim.Biophys.Acta 1829 (2013): 1102-1110
- Ikonomov, O. C. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 440 (2013): 342-347
- Ilboudo, A. et al., BMC.Cancer 14 (2014): 7
- Illuzzi, J. L. et al., J Mol.Neurosci. 45 (2011): 256-268
- Imaoka, H. et al., Carcinogenesis 36 (2015): 346-354
- Ishigami, S. et al., Anticancer Res 35 (2015): 2279-2285
- Ishikawa, S. et al., J Exp.Clin Cancer Res 22 (2003): 299-306
- Ito, F. et al., Int.J Gynecol.Cancer 26 (2016): 325-330

- Itoh, G. et al., Cancer Sci. 104 (2013): 871-879
- Jain, A. et al., Front Immunol. 5 (2014): 553
- Jarvinen, T. A. et al., Cytopathology 14 (2003): 309-313
- Jayarama, S. et al., J Cell Biochem. 115 (2014): 261-270
- Jiang, J. et al., Oncogene 30 (2011): 4498-4508
- Jiang, M. et al., Med Sci.Monit. 22 (2016): 1850-1857
- Jiang, Y. Q. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. 15 (2014): 9137-9142
- Jin, Y. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 7 (2014): 8724-8731
- Jo, Y. S. et al., Pathol.Oncol Res (2016)
- Jones, M. H. et al., Genomics 63 (2000): 40-45
- Joshi, N. et al., Cancer Res 66 (2006): 6851-6860
- Joshi, S. et al., BMC.Cancer 15 (2015): 546
- Juarez-Velazquez, R. et al., Leuk.Lymphoma 55 (2014): 2305-2311
- Jung, D. J. et al., Mol.Cell Biol 22 (2002): 5203-5211
- Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A 84 (1987): 4611-4615

- Jung, J. K. et al., Cell Cycle 15 (2016): 584-592
- Junnla, S. et al., BMC.Cancer 10 (2010): 73
- Justice, J. F. et al., MBio. 6 (2015): e01863-15
- Kadota, M. et al., Cancer Res 69 (2009): 7357-7365
- Kaneko, N. et al., Biochem.Biophys.Res.Comm. 390 (2009): 1235-1240
- Kang, C. Y. et al., J Gastrointest.Surg. 18 (2014): 7-15
- Karmali, P. P. et al., PLoS.One. 6 (2011): e23840
- Kasai, T. et al., Exp.Cell Res 341 (2016): 123-131
- Katoh, Y. et al., Oncol Rep. 14 (2005): 1351-1355
- Kawasaki, A. et al., Cell Signal. 19 (2007): 2498-2506
- Khakpour, G. et al., Tumour.Biol 36 (2015): 4905-4912
- Khanobdee, K. et al., Mol.Vis. 10 (2004): 933-942
- Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients rd (2000)

- Kim, D. J. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 373 (2008): 521-527
- Kim, H. et al., Cell Cycle 13 (2014): 2952-2961
- Kim, M. et al., Int.J Oncol 48 (2016): 2497-2507
- Kim, S. K. et al., Oncogene 16 (1998): 89-93
- Kim, T. W. et al., BMC.Cancer 13 (2013): 502
- Kim, Y. et al., Oncol Rep. 22 (2009): 799-804
- Kim, Y. R. et al., Tumori 96 (2010): 1004-1009
- Kimura, J. et al., Int.J Cancer 128 (2011): 1524-1531
- Kitchen, M. O. et al., Epigenetics. 11 (2016): 237-246
- Krepischi, A. C. et al., Mol.Cytogenet. 9 (2016): 20
- Krieg, A. M., Nat Rev.Drug Discov. 5 (2006): 471-484
- Kumar, V. et al., J Hum.Genet. 56 (2011): 436-439
- Kuo, C. C. et al., World J Gastroenterol. 21 (2015): 3960-3969
- Landi, S. et al., Cancer Res 66 (2006): 11062-11069
- Larson, Gedman A. et al., Leukemia 23 (2009): 1417-1425

- Lasorsa, V. A. et al., Oncotarget. 7 (2016): 21840-21852
- Lau, Y. F. et al., Mol.Carcinog 27 (2000): 308-321
- Le, Jan S. et al., FEBS Lett. 580 (2006): 3395-3400
- Lee, J. Y. et al., Carcinogenesis 30 (2009): 1528-1531
- Lee, Y. F. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 323 (2004): 876-883
- Leivo, I. et al., Cancer Genet.Cytogenet. 156 (2005): 104-113
- Li, D. et al., Clin Cancer Res 15 (2009): 740-746
- Li, L. et al., Hum.Mol.Genet. 19 (2010a): 4273-4277
- Li, L. C. et al., Am.J Obstet.Gynecol. 205 (2011a): 362-25
- Li, R. K. et al., J Cancer Res Clin Oncol 141 (2015a): 269-281
- Li, W. et al., Curr.Cancer Drug Targets. 14 (2014): 348-356
- Li, X. et al., BMC.Med Genomics 4 (2011b): 44
- Li, X. et al., Int.J Biochem.Cell Biol 42 (2010b): 70-79

- Li, X. et al., Mol.Cancer 14 (2015b): 95
- Li, X. et al., Cancer Res (2016)
- Li, Y. et al., Cell Rep. 12 (2015c): 388-395
- Li, Y. et al., Mol.Cancer Res 8 (2010c): 1579-1590
- Li, Z. G. et al., Leuk.Res 37 (2013): 1287-1293
- Liang, Y. et al., Genes Chromosomes.Cancer 52 (2013): 305-315
- Lin, F. et al., Cancer Biol Ther. 7 (2008a): 1669-1676
- Lin, W. W. et al., Biochem.Pharmacol. 81 (2011): 838-847
- Lin, Y. M. et al., Mol.Carcinog 47 (2008b): 925-933
- Litvinov, I. V. et al., Cell Cycle 13 (2014): 2975-2982
- Liu, C. et al., Nat Med. 20 (2014a): 596-598
- Liu, C. C. et al., Int.J Cancer 136 (2015a): 547-559
- Liu, D. et al., Int.J Oncol. 45 (2014b): 1232-1240
- Liu, H. et al., BMC.Syst.Biol 5 (2011): 158
- Liu, J. et al., Cell Cycle 11 (2012): 2643-2649
- Liu, L. et al., Oncotarget. 6 (2015b): 2466-2482

Liu, L. X. et al., World J Gastroenterol. 9 (2003): 683-687

Liu, S. et al., Endocr.Relat Cancer 21 (2014c): R279-R300

Liu, T. et al., Mol.Med Rep. 12 (2015c): 4346-4351

Liu, T. et al., Mol.Med Rep. 10 (2014d): 169-174

Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. 162 (1985): 1745-1759

Llorente, J. L. et al., Acta Otorrinolaringol.Esp. 59 (2008): 151-158

Logue, J. S. et al., J Biol Chem 286 (2011): 39269-39281

Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. 690 (1993): 276-291

Lonsdale, J., Nat.Genet. 45 (2013): 580-585

Lopez, J. et al., Sci.Signal. 7 (2014): e17

Lu, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 101 (2004): 3118-3123

Lu, G. et al., Exp.Mol.Pathol. 99 (2015): 173-179

Ludwig, A. et al., Anticancer Res 22 (2002): 3213-3221

- Luef, B. et al., *Endocr.Relat Cancer* (2016)
- Lukas, T. J. et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 78 (1981): 2791-2795
- Lundblad, R. L., *Chemical Reagents for Protein Modification* 3rd (2004)
- Ma, J. et al., *Tumour.Biol* 35 (2014a): 8439-8443
- Ma, R. C. et al., *Diabetes Res Clin Pract.* 103 (2014b): 328-337
- Ma, W. J. et al., *Med Oncol* 31 (2014c): 768
- Mabuchi, H. et al., *Cancer Res* 61 (2001): 2870-2877
- Maiso, P. et al., *Cancer Res* 75 (2015): 2071-2082
- Mao, Y. et al., *BMC.Cancer* 13 (2013): 498
- Mao, Y. et al., *Tumour.Biol* (2016)
- Marchio, C. et al., *J Clin Pathol.* 63 (2010): 220-228
- Marcinkiewicz, K. M. et al., *Exp.Cell Res* 320 (2014): 128-143
- Marhold, M. et al., *Mol.Cancer Res* 13 (2015): 556-564
- Markt, S. C. et al., *Cancer Causes Control* 26 (2015): 25-33

- Masuda, H. et al., Mol.Biol Cell 24 (2013): 2894-2906
- Masuda, H. et al., Mol.Biol Cell 27 (2016): 1753-1763
- Matsushita, R. et al., Br.J Cancer 113 (2015): 282-289
- Mazzocchi, G. et al., Chronobiol.Int. 28 (2011): 841-851
- McAvoy, S. et al., Cytogenet.Genome Res 118 (2007): 260-269
- McDonald, J. D. et al., Genomics 23 (1994): 229-232
- Mehraj, V. et al., FEMS Immunol.Med Microbiol. 64 (2012): 98-100
- Melaiu, O. et al., Mutat.Res 750 (2012): 132-140
- Melle, C. et al., J Proteome.Res 6 (2007): 306-315
- Mereniuk, T. R. et al., Mol.Cancer Ther. 12 (2013): 2135-2144
- Mereniuk, T. R. et al., Cancer Res 72 (2012): 5934-5944
- Messai, Y. et al., Cancer Res 74 (2014): 6820-6832

- Meziere, C. et al., J Immunol 159 (1997): 3230-3237
- Milani, C. et al., BMC.Cancer 13 (2013): 119
- Mistry, H. et al., Mol.Cancer Ther. 12 (2013): 2651-2662
- Miyaji, K. et al., J Viral Hepat. 10 (2003): 241-248
- Mohelnikova-Duchonova, B. et al., Pancreas 42 (2013): 707-716
- Monni, O. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98 (2001): 5711-5716
- Moon, J. W. et al., J Exp.Clin Cancer Res. 33 (2014): 4
- Moreira, Sousa C. et al., EMBO Mol.Med 5 (2013): 309-325
- Morgan, R. A. et al., Science 314 (2006): 126-129
- Mori, M. et al., Transplantation 64 (1997): 1017-1027
- Morito, N. et al., Cancer Res 66 (2006): 812-819
- Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. 12 (2006): 3435-3443
- Mourskaia, A. A. et al., Breast Cancer Res 14 (2012): R149

- Moyer, B. D. et al., PLoS.One. 4 (2009): e7682
- Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res 7 (2008): 51-61
- Mueller, L. N. et al., Proteomics. 7 (2007): 3470-3480
- Mujica, A. O. et al., FEBS J 272 (2005): 4884-4898
- Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 96 (1999): 8633-8638
- Muvarak, N. et al., Mol.Cancer Res 13 (2015): 699-712
- Nagai, H. et al., Cancer Lett. 193 (2003): 41-47
- Nagoshi, H. et al., Cancer Res 72 (2012): 4954-4962
- Nakada, S. et al., EMBO Rep. 9 (2008): 1019-1026
- Nakagawa, Y. et al., Br.J Cancer 80 (1999): 914-917
- Narayan, G. et al., Mol.Cancer 5 (2006): 16
- National Cancer Institute (NCI), (19-1-2011), <http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/kidney/page3>
- Nayak, D. et al., Oncotarget. 6 (2015): 34342-34357

- Nie, W. et al., *Oncotarget*. 6 (2015): 3003-3012
- Nikolaev, A. Y. et al., *Cell* 112 (2003): 29-40
- Niu, N. et al., *BMC.Cancer* 12 (2012): 422
- Nobusawa, S. et al., *Brain Tumor Pathol.* 31 (2014): 229-233
- O'Neal, J. et al., *Exp.Hematol.* 37 (2009): 234-244
- Oh, Y. et al., *J Biol.Chem* 287 (2012): 17517-17529
- Okayama, H. et al., *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 23 (2014): 2884-2894
- Okunade, G. W. et al., *J Biol Chem* 282 (2007): 26517-26527
- Ooe, A. et al., *Breast Cancer Res Treat.* 101 (2007): 305-315
- Ortega, P. et al., *Int.J Oncol* 36 (2010): 1209-1215
- Palma, G. et al., *Biochim.Biophys.Acta* 1826 (2012): 407-414
- Pandey, R. N. et al., *Oncogene* 29 (2010): 3715-3722
- Park, J. et al., *Cancer Res* 62 (2002): 1284-1288
- Park, T. J. et al., *Nat Genet.* 38 (2006): 303-311

Parker, H. et al., Leukemia 25 (2011): 489-497

Pattabiraman, D. R. et al., Leukemia 27 (2013): 269-277

Pavon, M. A. et al., Head Neck 38 Suppl 1 (2016): E1392-E1403

Payton, M. et al., Oncogene 21 (2002): 8529-8534

Pei, X. H. et al., Cancer Res 71 (2011): 2969-2977

Peifer, M. et al., Nat Genet. 44 (2012): 1104-1110

Pereira, B. et al., Nucleic Acids Res 41 (2013): 3986-3999

Petrenko, A. A. et al., Biochemistry (Mosc.) 71 (2006): 1153-1160

Piepoli, A. et al., Exp.Biol Med.(Maywood.) 237 (2012): 1123-1128

Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models (<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>) (2015)

Piskacek, M. et al., J Cell Mol.Med 13 (2009): 693-700

- Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787
- Pliarchopoulou, K. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. 71 (2013): 245-255
- Porta, C. et al., Virology 202 (1994): 949-955
- Potocnik, U. et al., Genes Chromosomes.Cancer 36 (2003): 48-56
- Prasad, A. et al., J Biol Chem 283 (2008): 26624-26633
- Pritchard, K. I. et al., J Clin Oncol 26 (2008): 736-744
- Puente, X. S. et al., Nature 526 (2015): 519-524
- Qi, C. et al., Lab Invest 94 (2014): 766-776
- Qin, L. et al., Cancer Res 71 (2011): 1742-1751
- Qin, L. et al., Cancer Res 74 (2014): 3477-3488
- Qiu, X. et al., Oncotarget. 6 (2015): 15397-15409
- Rad, E. et al., Mol.Cancer Res 13 (2015): 1149-1160
- Rahme, G. J. et al., Cancer Res 76 (2016): 2964-2976
- Rainer, J. et al., Mol.Endocrinol. 26 (2012): 178-193

- Rajaraman, P. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 18 (2009): 1651-1658
- Rammensee, H. et al., Immunogenetics 50 (1999): 213-219
- Ramsay, R. G. et al., Expert. Opin. Ther. Targets. 7 (2003): 235-248
- Rauch, T. A. et al., Tumour Biol 33 (2012): 287-296
- RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18, (2002), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>
- Ren, X. L. et al., J Cancer Res Clin Oncol 142 (2016): 581-592
- Rhee, I. et al., Nature 416 (2002): 552-556
- Riches, J. C. et al., Blood 123 (2014): 4101-4110
- Rini, B. I. et al., Cancer 107 (2006): 67-74
- Robin, T. P. et al., Mol. Cancer Res 10 (2012): 1098-1108
- Rochat, B. et al., Biopharm. Drug Dispos. 29 (2008): 103-118
- Rock, K. L. et al., Science 249 (1990): 918-921

- Rodenko, B. et al., Nat Protoc. 1 (2006): 1120-1132
- Rodins, K. et al., Clin Cancer Res 8 (2002): 1075-1081
- Rozenblum, E. et al., Hum.Genet. 110 (2002): 111-121
- Ryu, S. D. et al., Life Sci. 75 (2004): 2559-2572
- S3-Leitlinie Lungenkarzinom, 020/007, (2011)
- Sadasivam, S. et al., Genes Dev. 26 (2012): 474-489
- Sadeque, A. et al., BMC.Med.Genomics 5 (2012): 59
- Saiki, R. K. et al., Science 239 (1988): 487-491
- Sainz, J. et al., J Clin Endocrinol.Metab 97 (2012): E845-E851
- Saito, Y. et al., Int.J Cancer 105 (2003): 527-532
- Salon, C. et al., J Pathol. 213 (2007): 303-310
- Samaei, N. M. et al., J Biomed.Sci. 21 (2014): 73
- Sanders, S. et al., Cytogenet.Cell Genet. 88 (2000): 324-325
- Sanghani, S. P. et al., Clin Cancer Res 9 (2003): 4983-4991

- Sankaranarayanan, P. et al., PLoS.One. 10 (2015): e0121396
- Schaefer-Klein, J. L. et al., PLoS.One. 10 (2015): e0142327
- Schepeler, T. et al., Oncogene 31 (2012): 2750-2760
- Schioth, H. B. et al., Mol.Aspects Med 34 (2013): 571-585
- Seeger, F. H. et al., Immunogenetics 49 (1999): 571-576
- Selcuklu, S. D. et al., J Biol Chem 287 (2012): 29516-29528
- Sellick, G. S. et al., Blood 111 (2008): 1625-1633
- Sethi, S. et al., Diagn.Mol.Pathol. 18 (2009): 81-87
- Shamma, A. et al., Mol.Cell Biol 33 (2013): 3113-3124
- Shang, S. et al., Zhonghua Wei Chang Wai Ke.Za Zhi. 18 (2015): 277-281
- Shen, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 112 (2015): 5425-5430
- Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics (1986)

- Sherman, S. K. et al., Surgery 154 (2013): 1206-1213
- Sherman-Baust, C. A. et al., Cancer Cell 3 (2003): 377-386
- Shi, R. et al., Oncol Rep. 30 (2013): 1883-1889
- Sieuwerds, A. M. et al., Clin Cancer Res 12 (2006): 3319-3328
- Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. 53 (2004): 187-195
- Skarie, J. M. et al., Hum.Mol.Genet. 17 (2008): 2474-2485
- Small, E. J. et al., J Clin Oncol. 24 (2006): 3089-3094
- Smith, M. J. et al., Br.J Cancer 100 (2009): 1452-1464
- Sonderstrup, I. M. et al., Mol.Oncol 9 (2015): 1207-1217
- Song, J. et al., Mol.Cancer Res 13 (2015): 969-981
- Standiford, T. J. et al., Oncogene 30 (2011): 2475-2484
- Stary, S. et al., Genes Chromosomes.Cancer 52 (2013): 33-43

- Stenman, G. et al., Cell Cycle 9 (2010): 2986-2995
- Stevison, F. et al., Adv.Pharmacol. 74 (2015): 373-412
- Strittmatter, L. et al., Hum.Mol.Genet. 23 (2014): 2313-2323
- Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. 9 (2008): 163
- Su, K. C. et al., Dev.Cell 21 (2011): 1104-1115
- Su, X. Y. et al., Genes Chromosomes.Cancer 41 (2004): 243-249
- Subramanian, M. et al., J Clin Endocrinol.Metab 94 (2009): 1467-1471
- Suh, H. W. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 438 (2013): 264-269
- Tafesse, F. G. et al., J Biol Chem 282 (2007): 17537-17547
- Takeda, H. et al., Nat Genet. 47 (2015): 142-150
- Takeda, Y. et al., Glycobiology 24 (2014): 344-350
- Taleblian, Yazdi M. et al., Oncotarget. 7 (2016): 3477-3488
- Tan, Z. et al., J Proteome.Res 13 (2014): 2783-2795

- Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. 62 (2005): 1755-1762
- Tews, B. et al., Oncogene 26 (2007): 5010-5016
- Thion, M. S. et al., J Natl.Cancer Inst. 107 (2015)
- Thion, M. S. et al., Eur.J Hum.Genet. (2016)
- Thompson, P. et al., Cancer Chemother.Pharmacol. 74 (2014): 831-838
- Thorsen, K. et al., Mol Cell Proteomics. 7 (2008): 1214-1224
- Tian, M. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 8 (2015): 3892-3900
- Tillement, V. et al., Mol.Cancer 8 (2009): 10
- Tong, D. L. et al., PLoS.One. 9 (2014): e102483
- Tran, T. T. et al., Photochem.Photobiol. 90 (2014): 1136-1143
- Tripodi, D. et al., BMC.Med.Genomics 2 (2009): 65
- Tsujimoto, Y. et al., Clin Cancer Res 10 (2004): 3007-3012
- Tsukamoto, N. et al., Clin Cancer Res 15 (2009): 5733-5743
- Turner, A. et al., PLoS.One. 8 (2013): e56817

- Uchikado, Y. et al., Int.J Oncol 29 (2006):
1337-1347
- Vadlapudi, A. D. et al., Int.J Pharm. 441 (2013):
535-543
- Valeri, A. et al., Clin Transl.Oncol 13 (2011):
215-221
- Valle, C. W. et al., PLoS.One. 6 (2011): e29073
- Van, Vlierberghe P. et al., Leukemia 22 (2008):
762-770
- Vandermore, F. et al., J Biol Chem 281 (2006):
14307-14313
- Vendrell, J. A. et al., J Mol.Endocrinol. 32
(2004): 397-414
- Villacis, R. A. et al., Int.J Cancer 138 (2016):
1928-1935
- Wallrapp, C. et al., Ann.Oncol 10 Suppl 4
(1999): 64-68
- Walport, L. J. et al., J Biol Chem 289 (2014):
18302-18313
- Walter, S. et al., J Immunol 171 (2003):
4974-4978
- Walter, S. et al., Nat Med. 18 (2012): 1254-1261
- Wang, G. et al., World J Gastroenterol. 21
(2015a): 3983-3993

- Wang, P. et al., Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai) 47 (2015b): 214-223
- Wang, R. T. et al., Exp.Ther.Med 6 (2013a): 1054-1058
- Wang, S. M. et al., Clin Cancer Res 17 (2011): 6040-6051
- Wang, V. W. et al., Head Neck 35 (2013b): 831-835
- Wang, Y. et al., Dev.Cell 34 (2015c): 475-483
- Wang, Y. et al., Mol.Cancer Res 11 (2013c): 1624-1635
- Wang, Y. et al., Mol.Cell 49 (2013d): 997-1009
- Wang, Z. et al., Cancer Res 64 (2004): 2998-3001
- Wei, J. L. et al., Tumour.Biol 35 (2014): 9185-9194
- Wei, Y. P. et al., Xi.Bao.Yu Fen.Zi.Mian.Yi.Xue.Za Zhi. 28 (2012): 354-357
- Weitzdoerfer, R. et al., J Neural Transm.Suppl (2001): 95-107
- Weng, S. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 21 (2012): 1336-1343

- Wharton, S. B. et al., Neuropathol. Appl. Neurobiol. 27 (2001): 305-313
- Wheeler, H. E. et al., PLoS. Genet. 5 (2009): e1000685
- Whitworth, H. et al., PLoS. One. 7 (2012): e38950
- Willcox, B. E. et al., Protein Sci. 8 (1999): 2418-2423
- Williams, D. S. et al., PLoS. One. 5 (2010): e16012
- Williams, S. et al., PLoS. One. 8 (2013): e74589
- Williams, S. A. et al., Cell 146 (2011): 918-930
- Wilting, S. M. et al., Genes Chromosomes. Cancer 47 (2008): 890-905
- Winter, A. G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 97 (2000): 12619-12624
- Wlcek, K. et al., Cancer Biol Ther. 11 (2011): 801-811
- Woenckhaus, M. et al., J Pathol. 210 (2006): 192-204
- Wong, K. et al., Curr. Opin. Genet. Dev. 12 (2002): 583-591

- Wong, N. C. et al., Epigenetics. 7 (2012): 535-541
- Wong, S. C. et al., PLoS.One. 8 (2013): e79481
- Wong, Y. F. et al., Oncogene 26 (2007): 1971-1982
- Wrighton, K. H., Nat Rev Cancer 11 (2011): 757
- Wu, G. et al., Cancer Res 67 (2007): 4123-4129
- Wu, L. et al., Clin Cancer Res 16 (2010): 3760-3768
- Wu, W. et al., Nature 400 (1999): 331-336
- Wu, X. et al., Transgenic Res 21 (2012): 1109-1115
- Wu, Z. et al., Neoplasia. 11 (2009): 66-76
- Xie, X. et al., Oncol Lett. 7 (2014): 1537-1543
- Xu, H. et al., Zhongguo Fei.Ai.Za Zhi. 13 (2010): 856-860
- Xu, J. et al., Psychiatry Res 220 (2014a): 1131-1137
- Xu, J. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 460 (2015): 409-415
- Xu, J. et al., Genet.Mol.Res 13 (2014b): 5732-5744
- Yamamoto, S. et al., Clin Cancer Res 10 (2004): 651-657

- Yamamoto, S. et al., J Clin Oncol 21 (2003):
447-452
- Yanagiya, A. et al., Mol.Cell 46 (2012):
847-858
- Yang, C. et al., Virchows Arch. 463 (2013):
379-390
- Yang, J. et al., Surg.Oncol 22 (2013): e53-e57
- Yang, M. et al., Ups.J Med Sci. 115 (2010):
232-237
- Yang, S. et al., Biochim.Biophys.Acta 1772
(2007): 1033-1040
- Yang, T. et al., Gut 65 (2016): 124-133
- Yao, X. et al., PLoS.One. 9 (2014): e101564
- Yeh, P. Y. et al., J Biol Chem 279 (2004):
26143-26148
- Yokota, T. et al., Acta Neuropathol. 111 (2006):
29-38
- Yoshida, K. et al., Cancer Sci. 104 (2013):
171-177
- Yu, H. et al., Nat Chem Biol 11 (2015a): 847-854
- Yu, J. et al., Gut 64 (2015b): 636-645
- Yu, Y. Y. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. 28
(2006): 84-87
- Yuan, J. Y. et al., Oncol Lett. 1 (2010): 649-655

- Yuan, M. et al., Int.J Oncol (2016)
- Zaremba, S. et al., Cancer Res. 57 (1997): 4570-4577
- Zeng, H. et al., Dev.Biol 339 (2010): 418-428
- Zeng, Y. et al., Cancer Sci. 106 (2015): 1385-1393
- Zhai, W. et al., Eur.Rev Med.Pharmacol.Sci. 18 (2014): 1354-1360
- Zhang, A. et al., J Biol Chem 289 (2014): 29180-29194
- Zhang, J. et al., Oncotarget. 6 (2015a): 42040-42052
- Zhang, L. et al., Lung Cancer 89 (2015b): 320-328
- Zhang, Q. Q. et al., Oncotarget. 6 (2015c): 3123-3135
- Zhang, W. et al., Mol.Med Rep. 12 (2015d): 141-146
- Zhang, W. et al., Tumour.Biol 37 (2016): 7741-7748
- Zhang, W. et al., Int.J Mol.Sci. 12 (2011): 5672-5683
- Zhang, X. et al., J Cell Sci. 122 (2009): 2240-2251

Zhang, Y. et al., Gene 497 (2012): 93-97

Zhang, Y. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 463 (2015e): 1144-1151

Zhao, H. et al., Gene 548 (2014a): 234-243

Zhao, W. et al., Tumour.Biol 35 (2014b): 5259-5266

Zheng, D. et al., Zhonghua Gan Zang.Bing.Za Zhi. 17 (2009): 198-202

Zheng, J. et al., DNA Cell Biol 33 (2014a): 847-853

Zheng, X. F. et al., Hepatogastroenterology 61 (2014b): 880-884

Zheng, Y. et al., Clin Biochem. 44 (2011): 1405-1411

Zhou, H. et al., EMBO J 32 (2013a): 583-596

Zhou, J. et al., Mitochondrion. 13 (2013): 163-169

Zhou, J. et al., Mol.Biol Rep. 40 (2013b): 5759-5767

Zhou, J. et al., Int.J Mol.Med 32 (2013c): 653-660

Zhou, J. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. 15 (2014a): 2439-2445

Zhou, J. et al., Int.J Biochem.Cell Biol 43 (2011): 1668-1673

Zhou, X. et al., Cell Physiol Biochem. 33 (2014b): 1003-1012

Zhou, X. et al., Oncotarget. 5 (2014c): 11631-11640

Zhou, Y. et al., Front Biosci.(Landmark.Ed) 16 (2011): 1109-1131

Zhu, H. et al., J Cell Sci. 122 (2009): 2750-2759

Zhu, Q. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 8 (2015): 9175-9181

Zhu, X. L. et al., Nan.Fang Yi.Ke.Da.Xue.Xue.Bao. 28 (2008): 1775-1778

Zhu, Z. Q. et al., Metabolism 63 (2014): 120-126

Zohrabian, V. M. et al., Oncol Rep. 18 (2007): 321-328

Zolk, O. et al., Am.J Pathol. 182 (2013): 234-243

【符號說明】

【0501】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊(請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

國外寄存資訊(請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【序列表】

<110> 德商·英麥提克生物技術股份有限公司 (immatics
biotechnologies GmbH)

<120> 用於小細胞肺癌和其他癌症免疫治療的新型肽和肽組合物

<150> GB1517538.3

<151> 2015-10-09

<150> US 62/237,091

<151> 2015-10-09

<160> 143

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Ala Met Leu Glu Glu Val Asn Tyr Ile
1 5

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Val Met Phe Asn Phe Pro Asp Gln Ala Thr Val
1 5 10

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

Val	Leu	Ala	Glu	Ile	Asp	Pro	Lys	Gln	Leu	Val
1				5					10	

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

Gly	Leu	Leu	Asp	Pro	Gly	Met	Leu	Val	Asn	Ile
1				5					10	

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

Ser	Leu	Gln	Ser	Leu	Ile	Ile	Ser	Val
1				5				

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 6

Ser	Ile	Met	Asp	Tyr	Val	Val	Phe	Val
1				5				

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 7

Gly	Leu	Leu	Gly	Asp	Ile	Ala	Ile	His	Leu
1				5					10

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

Val	Leu	Ile	Asp	Asp	Ser	Gln	Ser	Ile	Ile	Phe	Ile
1				5							10

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 9

Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	Glu	Ala	Leu	His	Thr	Ala
1				5						10

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 10

Ile	Leu	Ala	Ala	Gly	Phe	Asp	Gly	Met
1				5				

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 11

Lys Leu Phe Ala Ile Pro Ile Leu Leu
1 5

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

Met Leu Phe Glu Gly Leu Asp Leu Val Ser Ala
1 5 10

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

Phe Leu Thr Ala Phe Leu Val Gln Ile
1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 14

Ile Leu Ile Glu Thr Lys Leu Val Leu
1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 15

Ser Leu Leu Thr Ala Ile Ser Glu Val
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Val Ile Leu Asp Leu Pro Leu Val Ile
1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

Ser Leu Met Leu Val Thr Val Glu Leu
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Ala Leu Gly Glu Ile Ser Val Ser Val
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

Val Leu Leu Thr Thr Ala Val Glu Val
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

Met Leu Asp Glu Ile Leu Leu Gln Leu
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Thr Met Glu Glu Met Ile Phe Glu Val
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Leu Leu Pro Glu Lys Ser Trp Glu Ile
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Tyr Gln Ile Asp Thr Val Ile Asn Leu

1

5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Phe Leu Met Glu Glu Val His Met Ile
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Gly Leu Ser Glu Thr Ile Leu Ala Val
1 5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Lys Met Leu Asp Glu Ala Val Phe Gln Val
1 5 10

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Ser Leu Asp Ile Ile Thr Ile Thr Val
1 5

<210> 28
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 28

Ile Leu Val Ser Gln Leu Glu Gln Leu
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 29

Asn Leu Ile Ser Gln Leu Thr Thr Val
 1 5

<210> 30
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 30

Lys Met Leu Gly Leu Thr Val Ser Leu
 1 5

<210> 31
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 31

Arg Leu Leu Gln Asp Pro Val Gly Val
 1 5

<210> 32
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 32

Ala Leu Thr Ser Leu Glu Leu Glu Leu
 1 5

<210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 33

Gly Leu Tyr Ser Lys Thr Ser Gln Ser Val
 1 5 10

<210> 34
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 34

Leu Val Phe Glu Gly Ile Met Glu Val
 1 5

<210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 35

Phe Met Gly Asp Val Phe Ile Asn Val
 1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

Arg Met Asp Gly Ala Val Thr Ser Val
1 5

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37

Ser Leu Phe Tyr Asn Glu Leu His Tyr Val
1 5 10

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 38

Gly Leu Ile Ser Ser Leu Asn Glu Ile
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39

Gly Leu Asp Pro Thr Gln Phe Arg Val
1 5

<210> 40

<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

Gly Leu Leu Glu Val Gln Val Glu Val
1 5

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41

Lys Ala Tyr Gln Glu Leu Leu Ala Thr Val
1 5 10

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42

Gly Leu Leu Glu Asp Glu Arg Ala Leu Gln Leu
1 5 10

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

Tyr Leu Trp Ser Glu Val Phe Ser Met
1 5

<210> 44
<211> 9

<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

Ala Leu Ile Val Gly Ile Pro Ser Val
1 5

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Ser Leu Ser Gly Glu Ile Ile Leu His Ser Val
1 5 10

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Ala Leu Trp Val Ala Val Pro Lys Ala
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

Gly Leu Leu Glu Ala Leu Leu Lys Ile
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT

<213> 智人

<400> 48

Ser	Leu	Ile	Gly	Leu	Asp	Leu	Ser	Ser	Val
1				5					10

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 49

Arg	Leu	Ala	Leu	Asn	Thr	Pro	Lys	Val
1				5				

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 50

Phe	Leu	Leu	Ser	Gln	Ile	Val	Ala	Leu
1				5				

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 51

Ile	Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Val	Lys	Tyr	Phe	Leu
1				5						10

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 52

Ile	Leu	Ala	Ser	Phe	Met	Leu	Thr	Gly	Val
1				5					10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 53

Leu	Leu	Ser	Glu	Glu	His	Ile	Thr	Leu
1				5				

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 54

His	Leu	Phe	Asp	Ile	Ile	Leu	Thr	Ser	Val
1				5					10

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 55

Leu	Leu	Ile	Ala	Asp	Asn	Pro	Gln	Leu
1				5				

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

Ser	Leu	Phe	Ser	Gln	Met	Gly	Ser	Gln	Tyr	Glu	Leu
1				5					10		

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 57

Val	Leu	Ile	Gly	Asp	Val	Leu	Val	Ala	Val
1				5					10

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

Val	Leu	Leu	Asn	Ile	Asn	Gly	Ile	Asp	Leu
1				5					10

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 59

Val	Leu	Leu	Ser	Gly	Leu	Thr	Glu	Val
1				5				

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

Val Val Ser Gly Ala Thr Glu Thr Leu
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

Tyr Gln Ala Pro Tyr Phe Leu Thr Val
1 5

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

Val Met Leu Pro Ile Gly Ala Val Val Met Val
1 5 10

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

Leu Leu Met Ser Thr Glu Asn Glu Leu
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Val Leu Phe His Gln Leu Gln Glu Ile
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Val Met Tyr Asp Leu Ile Thr Glu Leu
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

Tyr Leu Asn Leu Ile Ser Thr Ser Val
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

Met Leu Tyr Asp Ile Val Pro Val Val
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

Phe Leu Phe Pro Val Tyr Pro Leu Ile

1

5

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Lys Leu Phe Asp Arg Ser Val Asp Leu
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Thr Leu Leu Trp Lys Leu Val Glu Val
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Phe Ile Phe Glu Gln Val Gln Asn Val
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Lys Ala Ile Gly Ser Leu Lys Glu Val
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Ser Leu Ser Ser Tyr Thr Pro Asp Val
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Phe Leu Asp Ser Leu Ser Pro Ser Val
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

Ser Leu Asp Leu His Val Pro Ser Leu
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

Val Leu Thr Thr Val Met Ile Thr Val
1 5

<210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 77

Ala	Ile	Ile	Asp	Gly	Lys	Ile	Phe	Cys	Val
1				5					10

<210> 78
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 78

Arg	Ile	Ile	Asp	Pro	Glu	Asp	Leu	Lys	Ala	Leu	Leu
1				5					10		

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 79

Arg	Leu	Leu	Glu	Pro	Ala	Gln	Val	Gln	Gln	Leu
1				5					10	

<210> 80
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 80

Ile	Leu	Met	Asp	Pro	Ser	Pro	Glu	Tyr	Ala
1				5					10

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Leu Leu Ala Glu Ile Gly Ala Val Thr Leu Val
1 5 10

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

Ala Leu Ser Ser Val Ile Lys Glu Leu
1 5

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

Lys Leu Leu Glu Ile Asp Ile Asp Gly Val
1 5 10

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

Lys Met Phe Glu Asn Glu Phe Leu Leu
1 5

<210> 85

<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

Phe	Ala	Tyr	Asp	Gly	Lys	Asp	Tyr	Leu	Thr	Leu
1				5					10	

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

Lys	Val	Ile	Asp	Tyr	Val	Pro	Gly	Ile
1				5				

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Leu	Leu	Gln	Asn	Asn	Leu	Pro	Ala	Val
1				5				

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

Thr	Leu	His	Arg	Glu	Thr	Phe	Tyr	Leu
1				5				

<210> 89
<211> 9

<212> PRT
<213> 智人

<400> 89

Ile Gln His Asp Leu Ile Phe Ser Leu
1 5

<210> 90
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90

Thr Leu Val Asp Asn Ile Ser Thr Met Ala Leu
1 5 10

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

Lys Leu Gln Asp Gly Val His Ile Ile
1 5

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

Tyr Leu Gln Asp Tyr Thr Asp Arg Val
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT

<213> 智人

<400> 93

Ala Leu Arg Glu Thr Val Val Glu Val
1 5

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 94

Ala Leu Phe Pro Val Ala Glu Asp Ile Ser Leu
1 5 10

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 95

Ala Leu Tyr Ser Lys Gly Ile Leu Leu
1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 96

Asn Leu Leu Lys Leu Ile Ala Glu Val
1 5

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 97

Ala	Leu	Leu	Asp	Gly	Thr	Val	Phe	Glu	Ile
1				5					10

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 98

Ala	Leu	Val	Asp	His	Leu	Asn	Val	Gly	Val
1				5					10

<210> 99

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 99

Gln	Met	Leu	Glu	Ala	Ile	Lys	Ala	Leu	Glu	Val
1				5					10	

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 100

Val	Ala	Asp	Pro	Glu	Thr	Arg	Thr	Val
1				5				

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 101

Ala Met Asn Ser Gln Ile Leu Glu Val
1 5

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 102

Ala Leu Phe Ala Arg Pro Asp Leu Leu Leu Leu
1 5 10

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 103

Ser Leu Leu Glu Tyr Gln Met Leu Val
1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 104

Thr Leu Ile Gln Phe Thr Val Lys Leu
1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 105

Ser Met Tyr Asp Lys Val Leu Met Leu
1 5

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

Lys Met Pro Asp Asp Val Trp Leu Val
1 5

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

Ala Met Tyr Gly Thr Lys Leu Glu Thr Ile
1 5 10

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

Ile Leu Leu Asp Asp Gln Phe Gln Pro Lys Leu
1 5 10

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109

Ser Leu Phe Glu Arg Leu Val Val Leu
1 5

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

Gly Leu Thr Glu Thr Gly Leu Tyr Arg Ile
1 5 10

<210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111

Phe Leu Pro Glu Ala Pro Ala Glu Leu
1 5

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112

Leu Leu Leu Pro Gly Val Ile Lys Thr Val
1 5 10

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113

Leu Thr Asp Pro Asp Ile His Val Leu

1 5

<210> 114
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

Ala	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Gly	Val	Leu	Thr	Ile
1				5					10	

<210> 115
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 115

Ala	Leu	Leu	Pro	Ser	Asp	Cys	Leu	Gln	Glu	Ala
1				5					10	

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116

Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Leu	Gln	Glu	Val
1				5				

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117

Phe	Leu	Leu	Asp	Ser	Ala	Pro	Leu	Asn	Val
1				5					10

<210> 118
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118

Lys Leu Pro Ser Phe Leu Ala Asn Val
1 5

<210> 119
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 119

Ser Leu Ile Asp Asp Asn Asn Glu Ile Asn Leu
1 5 10

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 120

Ser Leu Ala Ala Asp Ile Pro Arg Leu
1 5

<210> 121
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 121

Tyr Met Leu Glu His Val Ile Thr Leu
1 5

<210> 122
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 122

Ser	Met	Met	Pro	Asp	Glu	Leu	Leu	Thr	Ser	Leu
1				5					10	

<210> 123
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 123

Lys	Leu	Asp	Lys	Asn	Pro	Asn	Gln	Val
1				5				

<210> 124
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 124

Ser	Leu	Ile	Thr	Asp	Leu	Gln	Thr	Ile
1				5				

<210> 125
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 125

Leu	Leu	Ser	Glu	Pro	Ser	Leu	Leu	Arg	Thr	Val
1				5					10	

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126

Ala Ala Ala Ser Leu Ile Arg Leu Val
1 5

<210> 127
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 127

Ser Gln Ala Pro Val Leu Asp Ala Ile
1 5

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128

Ser Leu Ala Pro Ala Gly Val Ile Arg Val
1 5 10

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 129

Arg Val Ala Asp Tyr Ile Val Lys Val
1 5

<210> 130

<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 130

Ser	Leu	Tyr	Asp	Asn	Gln	Ile	Thr	Thr	Val
1				5					10

<210> 131
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 131

Ile	Leu	Met	Gly	Thr	Glu	Leu	Thr	Gln	Val
1				5					10

<210> 132
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 132

Asn	Leu	Leu	Ala	Glu	Ile	His	Gly	Val
1				5				

<210> 133
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 133

Ile	Met	Glu	Asp	Ile	Ile	Leu	Thr	Leu
1				5				

<210> 134
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 134

Phe	Met	Ile	Asp	Ala	Ser	Val	His	Pro	Thr	Leu
1				5					10	

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135

Ser	Leu	Met	Met	Thr	Ile	Ile	Asn	Leu
1				5				

<210> 136
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 136

Phe	Leu	Pro	Pro	Glu	His	Thr	Ile	Val	Tyr	Ile
1				5					10	

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 137

Asn	Leu	Leu	Glu	Leu	Phe	Val	Gln	Leu
1				5				

<210> 138
<211> 11
<212> PRT

<213> 智人

<400> 138

Arg	Leu	Leu	Asp	Phe	Pro	Glu	Ala	Met	Val	Leu
1				5					10	

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 139

Phe	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Tyr	Asn	Leu
1				5				

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 140

Gly	Leu	Leu	Glu	Val	Met	Val	Asn	Leu
1				5				

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 141

Asn	Leu	Pro	Glu	Tyr	Leu	Pro	Phe	Val
1				5				

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 142

Glu	Leu	Ala	Gly	Ile	Gly	Ile	Leu	Thr	Val
1				5					10

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 143

Tyr	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Val	His	Ile
1				5				

【發明申請專利範圍】

- 【請求項1】 一種供醫藥用途之肽，其由 SEQ ID NO:42 的一氨基酸組成，或是一其醫藥上可接受的鹽。
- 【請求項2】 如請求項1所述的肽，其中該肽被修飾和/或包含非肽鍵。
- 【請求項3】 如請求項1或2所述的肽，其中該肽為一融合蛋白的一部分。
- 【請求項4】 如請求項3所述的肽，其中該肽包含 HLA-DR 抗原相關不變鏈(Ii)的 N-端氨基酸。
- 【請求項5】 一種 T 細胞受體，與一 HLA 配體反應，其中該配體由 SEQ ID NO:42 之氨基酸序列組成。
- 【請求項6】 如請求項5所述的 T 細胞受體，其中該 T 細胞受體為一重組 T 細胞受體。
- 【請求項7】 如請求項5所述的 T 細胞受體，其中該 T 細胞受體為一可溶性 T 細胞受體。
- 【請求項8】 如請求項5所述的 T 細胞受體，其中該 T 細胞受體為一膜結合 T 細胞受體。
- 【請求項9】 一種抗體，其特異性地識別與一 MHC 分子結合時之如請求項1至2任一項所述的肽。
- 【請求項10】 如請求項9所述的抗體，其中該抗體為一可溶性抗體。
- 【請求項11】 如請求項9所述的抗體，其中該抗體為一膜結合性抗體。
- 【請求項12】 一種核酸，該核酸編碼如請求項1至3任一

項所述的肽或或編碼如請求項 5 至 8 任一項所述的 T 細胞受體或如請求項 9 至 11 任一項所述的抗體。

【請求項 13】如請求項 12 所述的核酸，其中該核酸連接到一異源啟動子序列。

【請求項 14】一種表達載體，表達如請求項 12 或 13 所述之核酸。

【請求項 15】一種重組宿主細胞，其包含如請求項 1 至 3 任一項所述的肽、如請求項 12 或 13 所述的核酸、或如請求項 14 所述的表達載體，其中該重組宿主細胞為一抗原呈現細胞。

【請求項 16】如請求項 15 所述的重組宿主細胞，其中該重組宿主細胞為一樹突狀細胞或一 T 細胞或 NK 細胞。

【請求項 17】一種製備如請求項 1 至 3 任一項所述的肽或製備如請求項 5 至 8 任一項所述的 T 細胞受體或如製備如請求項 9 至 11 任一項所述的抗體之方法，該方法包含：培養如請求項 15 或 16 所述的重組宿主細胞，其呈現如請求項 1 至 3 任一項所述的肽或表達如請求項 12 或 13 所述的核酸或表達如請求項 14 所述的表達載體，以及從該宿主細胞或其培養基中分離出該肽或該 T 細胞受體或該抗體。

【請求項 18】一種體外製備活化的 T 淋巴細胞的方法，該方法包括將 T 細胞與載有抗原的人 I 類 MHC 分子進行體外接觸足夠的一段時間從而以一抗原特異性方式活化 T 細胞，該等分子在一合適的抗原呈現細胞表面或一人

工類比的抗原呈現細胞結構表面上表達，其中該抗原為如請求項 1 所述的肽。

【請求項 19】一種活化的 T 淋巴細胞，其由如請求項 18 所述的方法製成，其特異性地識別一細胞，該細胞呈現包含如請求項 1 所述的氨基酸序列的一多肽。

【請求項 20】一種藥物組合物，其包括至少一種選自由下列組成之群組的活性成分：如請求項 1 至 3 任一項所述的肽、如請求項 12 或 13 所述的核酸、或如請求項 14 所述的表達載體、如請求項 15 或 16 所述的重組宿主細胞、如請求項 19 所述的活化的 T 淋巴細胞或如請求項 9 至 11 任一項所述的抗體或如請求項 5 至 8 任一項所述的 T 細胞受體，以及一醫藥上可接受的載體。

【請求項 21】如請求項 20 所述的藥物組合物，其中該藥物組合物包括額外的醫藥上可接受的賦形劑和/或穩定劑。

【請求項 22】一種如請求項 1 至 3 任一項所述的肽、如請求項 12 或 13 所述的核酸、或如請求項 14 所述的表達載體、如請求項 15 或 16 所述的重組宿主細胞、如請求項 19 所述的活化的 T 淋巴細胞或如請求項 9 至 11 任一項所述的抗體或如請求項 5 至 8 任一項所述的 T 細胞受體於製造一抗癌藥劑中的用途，其中該抗癌藥劑用於診斷和/或治療癌症。

【請求項 23】如請求項 22 所述的用途，其中該癌症過度表達一蛋白，自該蛋白衍生根據 SEQ ID NO:42 的一

肽。

【請求項 24】一種藥盒套件，包括：

(a) 一容器，該容器包含一藥物組合物，該藥物組合物含有呈溶液或凍乾形式的，如請求項 1 至 3 任一項所述的肽、如請求項 12 或 13 所述的核酸或如請求項 14 所述的表達載體、如請求項 15 或 16 所述的重組宿主細胞、如請求項 19 所述的活化的 T 淋巴細胞或如請求項 9 至 11 任一項所述的抗體或如請求項 5 至 8 任一項所述的 T 細胞受體。

【請求項 25】如請求項 24 所述的藥盒套件，其中該藥盒套件包括一第二容器，其含有凍乾粉劑型的一稀釋劑或重組溶液。

【請求項 26】如請求項 24 所述的藥盒套件，其中該藥盒套件包括選自由 SEQ ID NO:1 至 126 所組成之群組之至少再一肽。

【請求項 27】如請求項 24 所述的藥盒套件，其中該藥盒套件包括(i)使用溶液或(ii)重組和/或使用凍乾粉劑型的說明書。

【請求項 28】如請求項 24 所述的藥盒套件，其中該藥盒套件包括(iii)一緩衝劑、(iv)一稀釋劑、(v)一過濾液、(vi)一針及(vii)一注射器之一或多者。

【發明圖式】

圖 1A
肽： AMLEEVNYI (A*02)
SEQ ID NO: 1

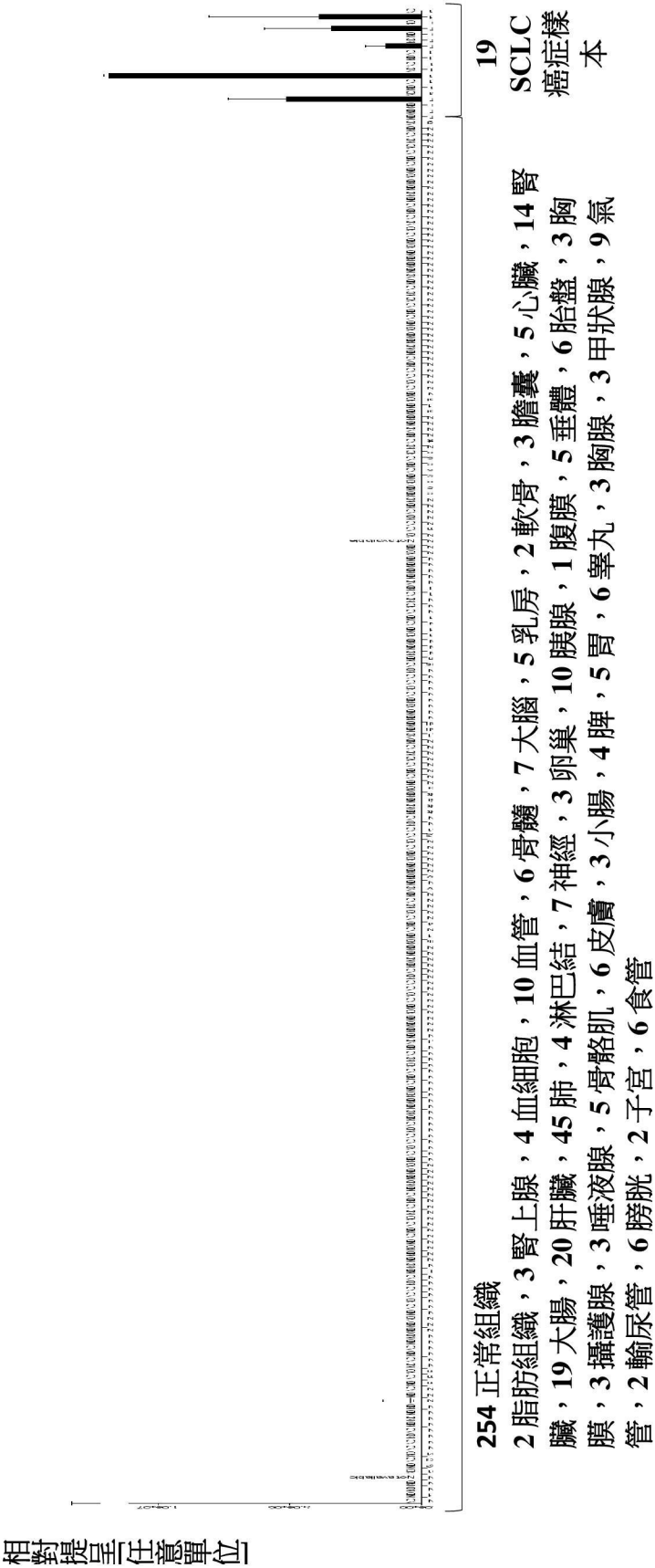
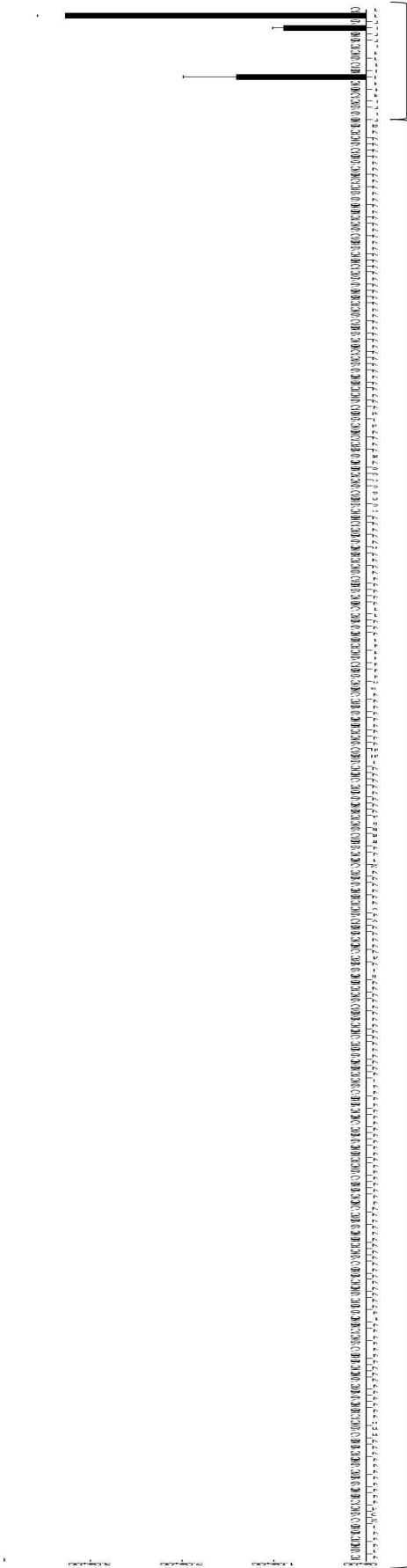


圖 1B
肽：VLAIDPKQLV (A*02)
SEQ ID NO: 3

相對提示任意單位



254 正常組織	19
2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，5 乳房，2 軟骨，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，2 輸尿管，6 膀胱，2 子宮，6 食管	SCLC 癌症樣本

104

肽 : GLDPTQFRV (A*02)

SEQ ID NO: 39

相對提呈(任意單位)

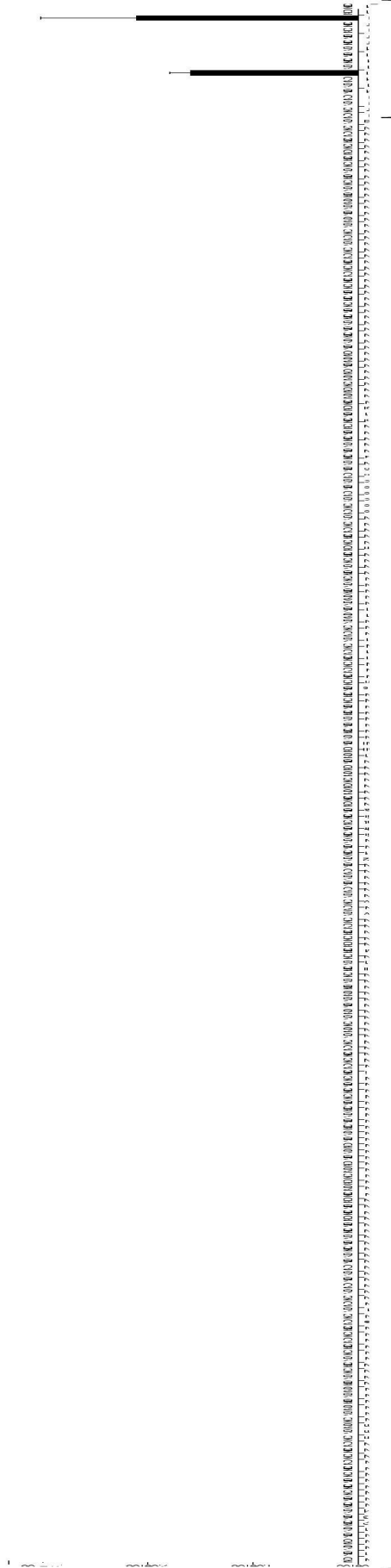


圖 1D

肽：GLLEVQVEV (A*02)

SEQ ID NO: 40

相對提示注意單位

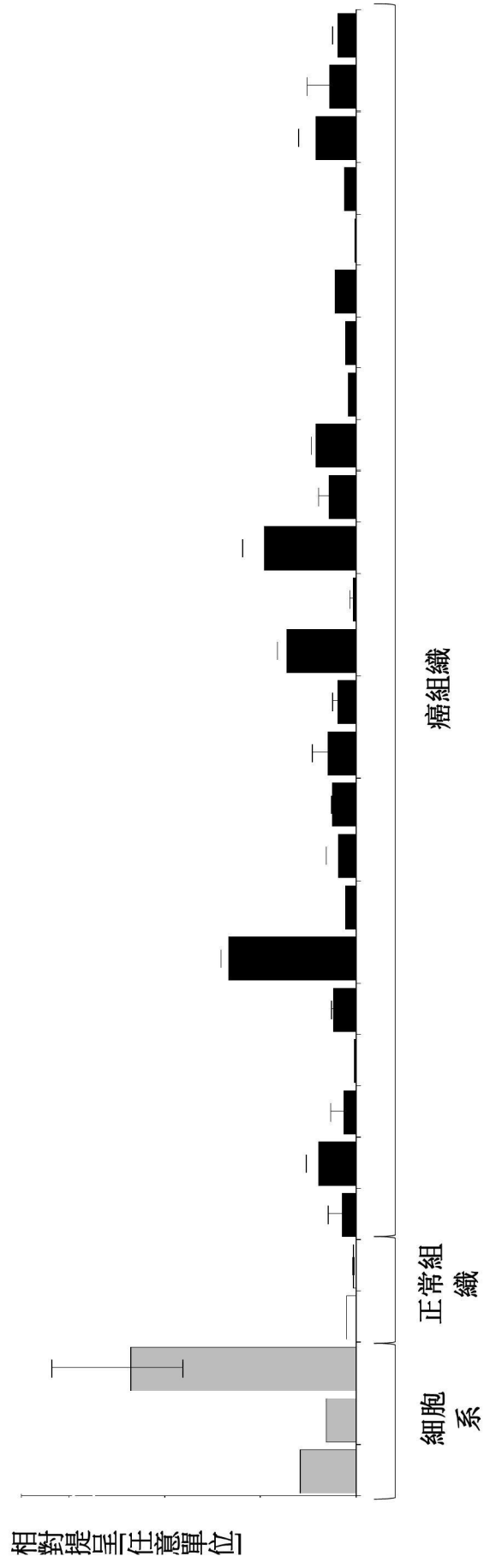


257 正常組織

2 脂肪組織，3 腎上腺，4 血細胞，10 血管，6 骨髓，7 大腦，6 乳房，2 軟骨，1 眼，3 膽囊，5 心臟，14 腎臟，19 大腸，20 肝臟，45 肺，4 淋巴結，7 神經，3 卵巢，10 胰腺，1 腹膜，5 垂體，6 胎盤，3 胸膜，3 攝護腺，3 唾液腺，5 骨骼肌，6 皮膚，3 小腸，4 脾，5 胃，6 睪丸，3 胸腺，3 甲狀腺，9 氣管，3 輸尿管，6 膀胱，3 子宮，6 食管

19
SCLC
癌症樣
本

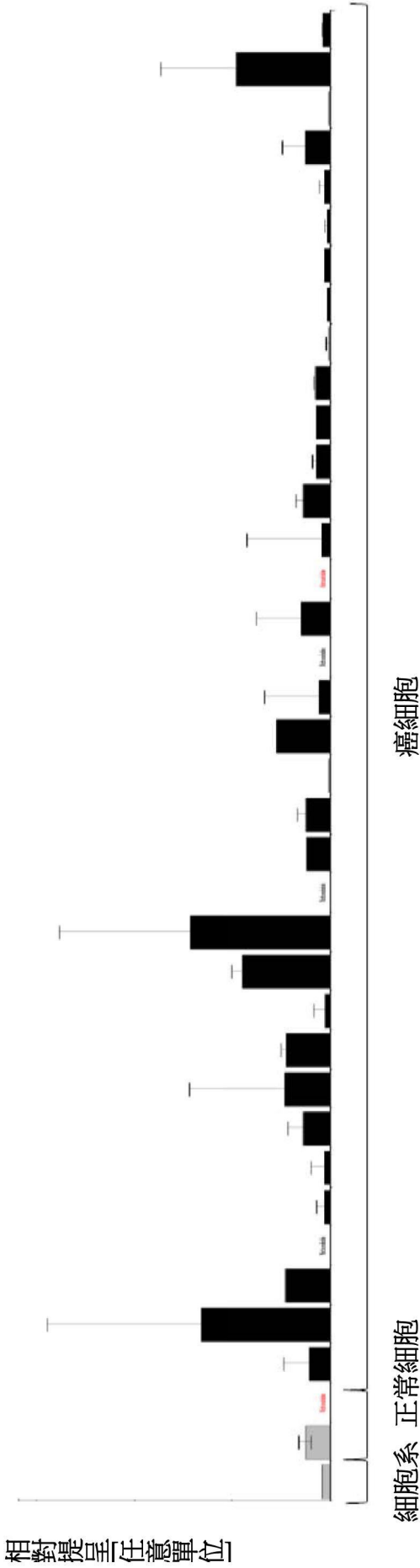
圖 1E
肽：SLQSLISV (A*02)
SEQ ID NO: 5



肽檢測於
3 細胞系 (1 血液, 1 胰腺), 2 正常組織 (1 淋巴結, 1 脾臟), 24 癌組織 (2 白細胞白血病癌症, 1 乳腺癌, 1 膽囊癌, 5 肺癌, 6 淋巴結癌, 2 卵巢癌, 2 攝護腺癌, 2 皮膚癌, 1 膀胱癌, 2 子宮癌) (從左到右)

圖 1F

肽： GLLGDIAIHL (A*02)
SEQ ID NO: 7

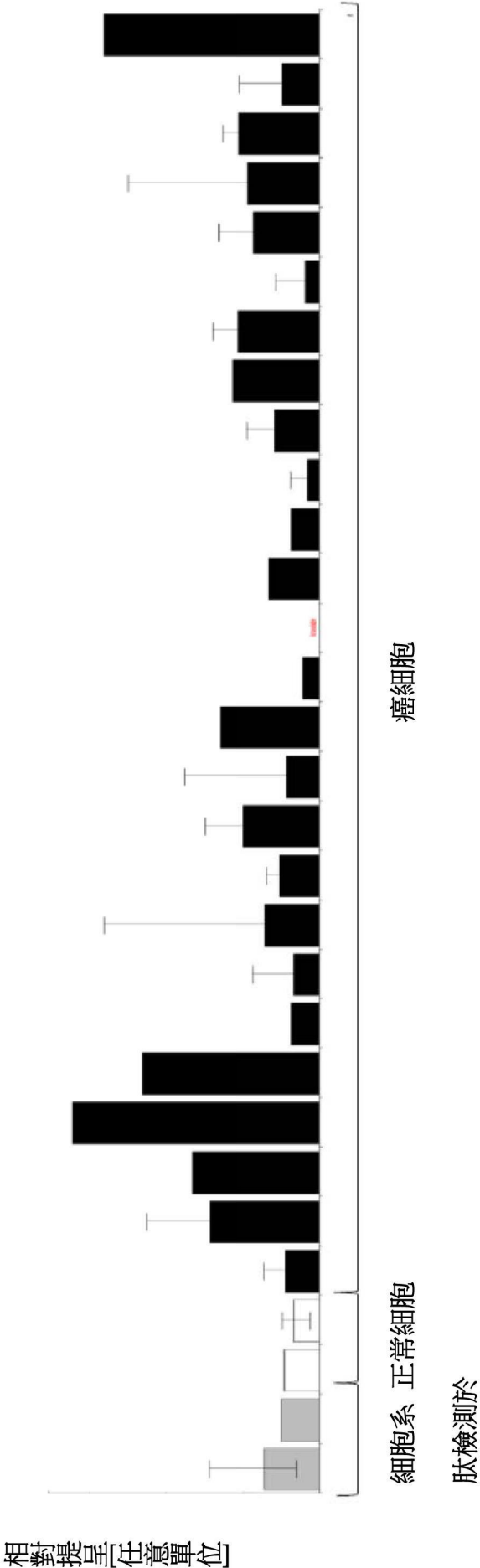


肽檢測於

1 細胞系 (血細胞), 2 正常組織 (1 腦, 1 垂體腺), 35 癌組織 (27 腦癌, 1 乳腺癌, 1 肝癌, 4 肺癌, 2 子宮癌) (從左到右)

圖 1G

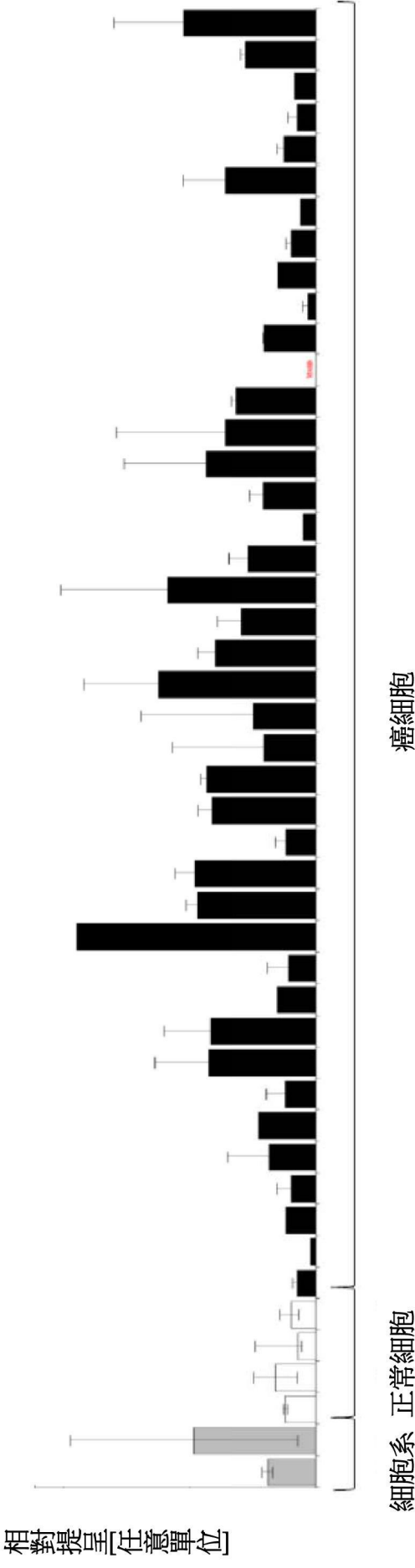
肽：
ILIETKLVL (A*02)
SEQ ID NO: 14



2 細胞系 (1 攝護腺, 1 皮膚), 2 正常組織 (1 淋巴結, 1 脾), 26 癌症組織 (11 白細胞白血病癌症, 1 腎癌, 6 肺癌, 4 淋巴結癌, 1 卵巢癌, 1 攝護腺癌, 1 胃癌, 1 睪丸癌) (從左到右)

圖 1H

肽： GLYSKTSQSV (A*02)
SEQ ID NO: 33



肽檢測於

2 細胞系 (1 血細胞, 1 胰腺), 4 正常組織 (1 腎上腺, 1 結腸, 2 肺), 41 癌症組織 (1 白細胞白血病癌症, 2 乳腺癌, 3 食管癌, 5 頭頸癌, 1 結腸癌, 1 肝癌, 14 肺癌, 3 淋巴結癌, 5 卵巢癌, 1 攝護腺癌, 3 膀胱癌, 2 子宮癌) (從左到右)

圖 1I

肽： SLSGEIILHSV (A*02)
SEQ ID NO: 45

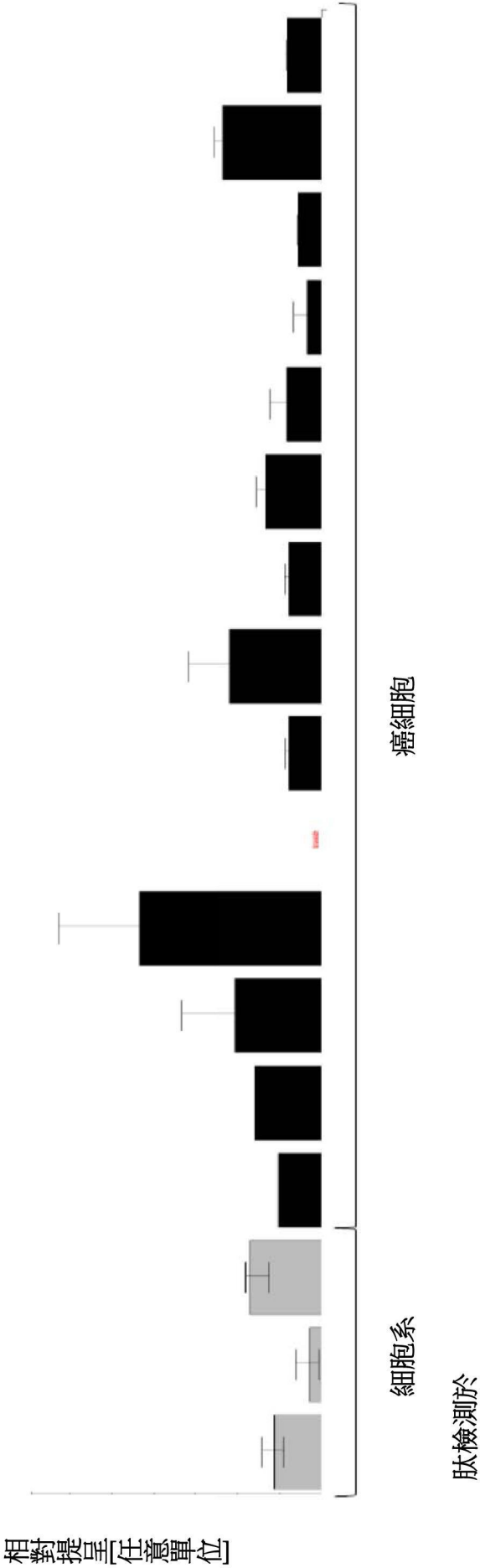


圖 1J

肽： VLLSGLTEV (A*02)
SEQ ID NO: 59

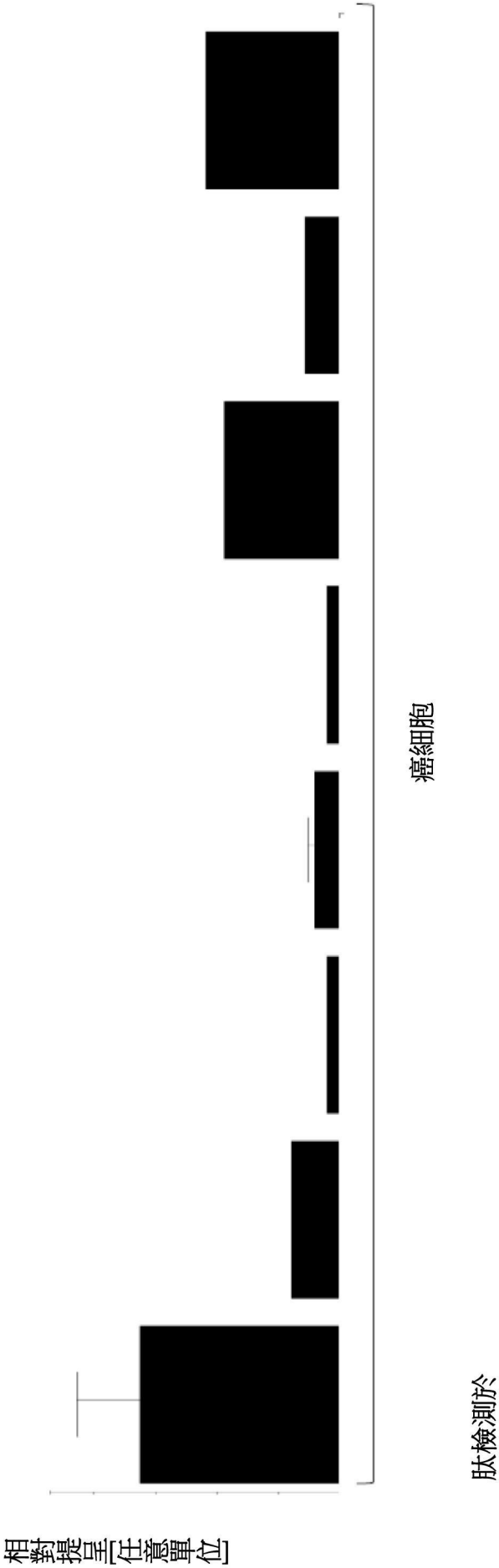
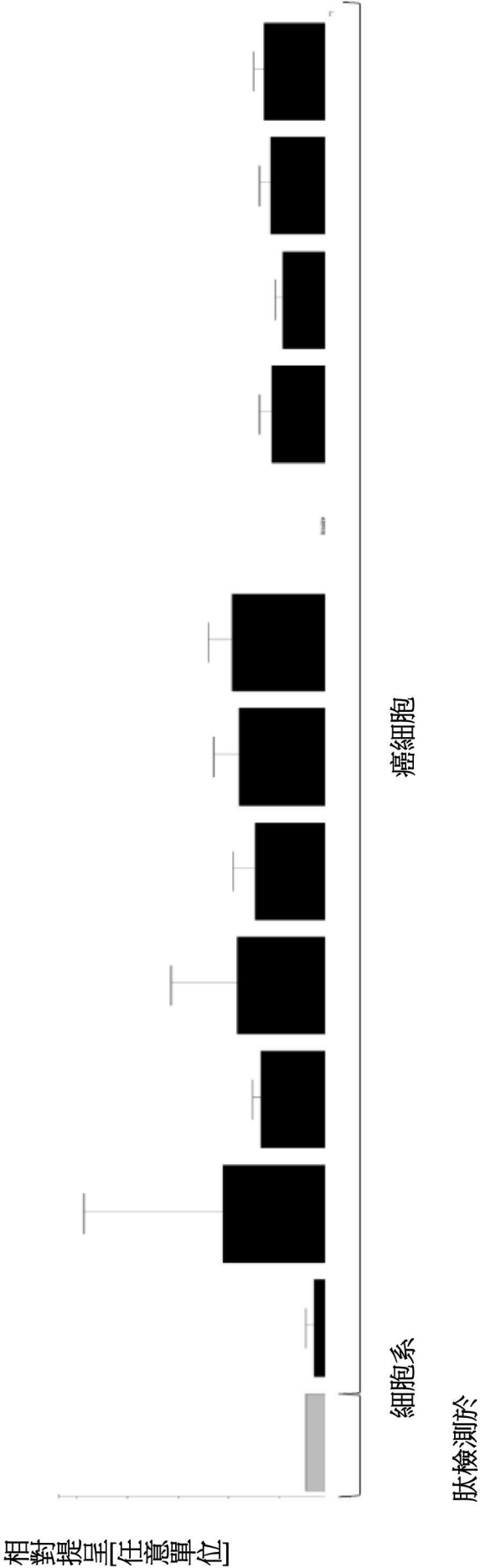


圖 1K

肽： KAIGSLKEV (A*02)
SEQ ID NO: 72



1 細胞系 (1 胰腺) , 12 癌組織 (1 食管癌 , 1 結腸癌 , 1 直腸癌 , 5 肺癌 , 2 卵巢癌 , 1 胃癌 , 1 子宮癌) (從左到右)

圖 1L
肽： RLLEPAQVQQL (A*02)
SEQ ID NO: 79

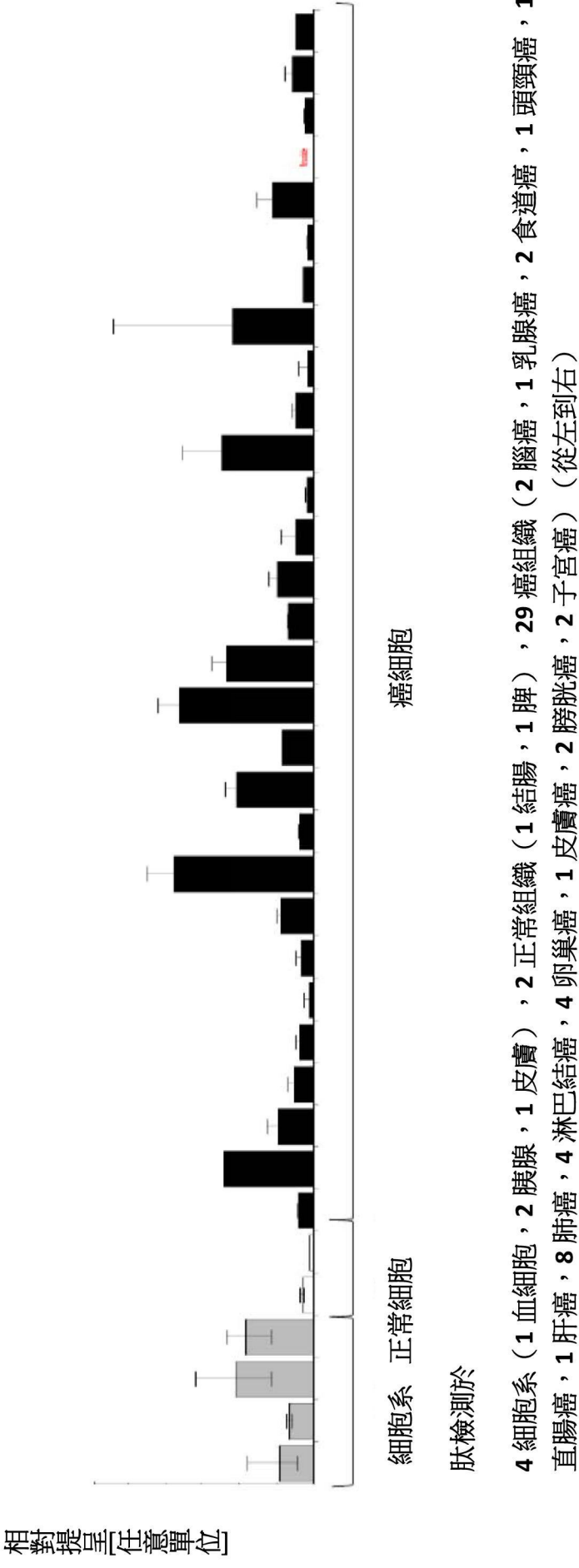
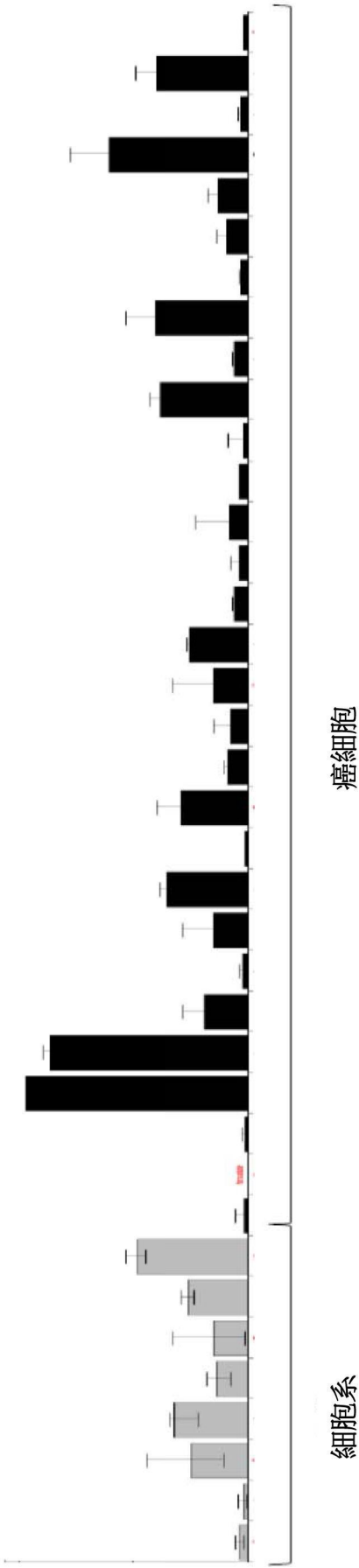


圖 1M

肽： LLAEIGAVTLV (A*02)
SEQ ID NO: 81

相對提呈[任意單位]

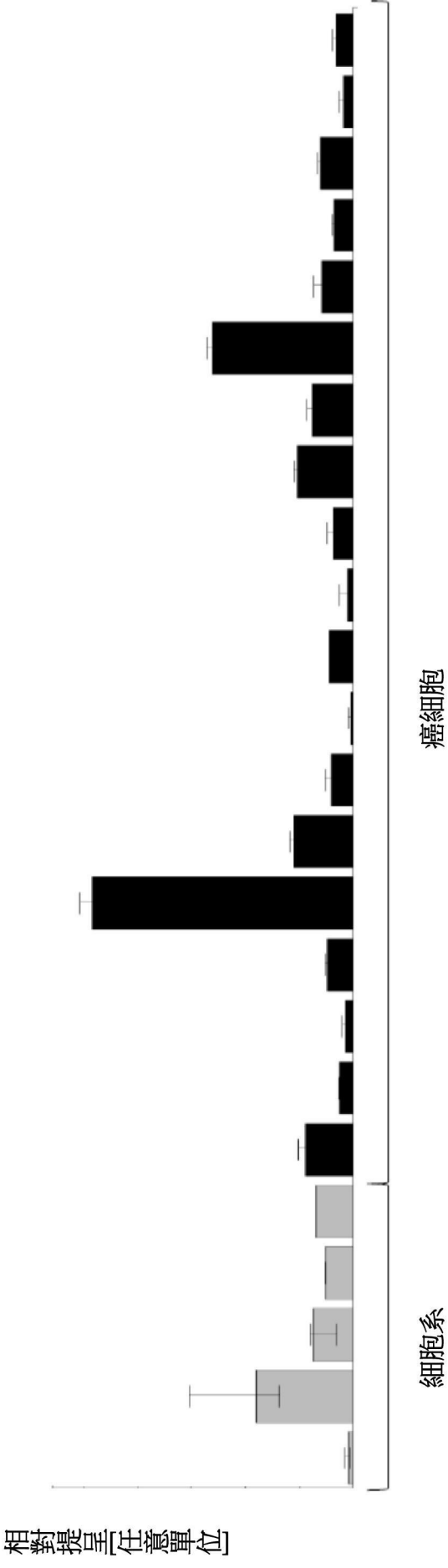


肽檢測於

8 細胞系 (5 血細胞, 1 胰腺, 2 皮膚), 30 癌組織 (1 膽管癌, 1 骨髓細胞癌, 1 白細胞性白血病癌症, 2 乳腺癌, 2 頭頸癌, 1 結腸癌, 2 肝癌, 11 淋巴瘤, 1 肺癌, 1 攝護腺癌, 2 皮膚癌, 2 膀胱癌) (從左到右)

圖 1N

肽： FLPEAPAEI (A*02)
SEQ ID NO: 111

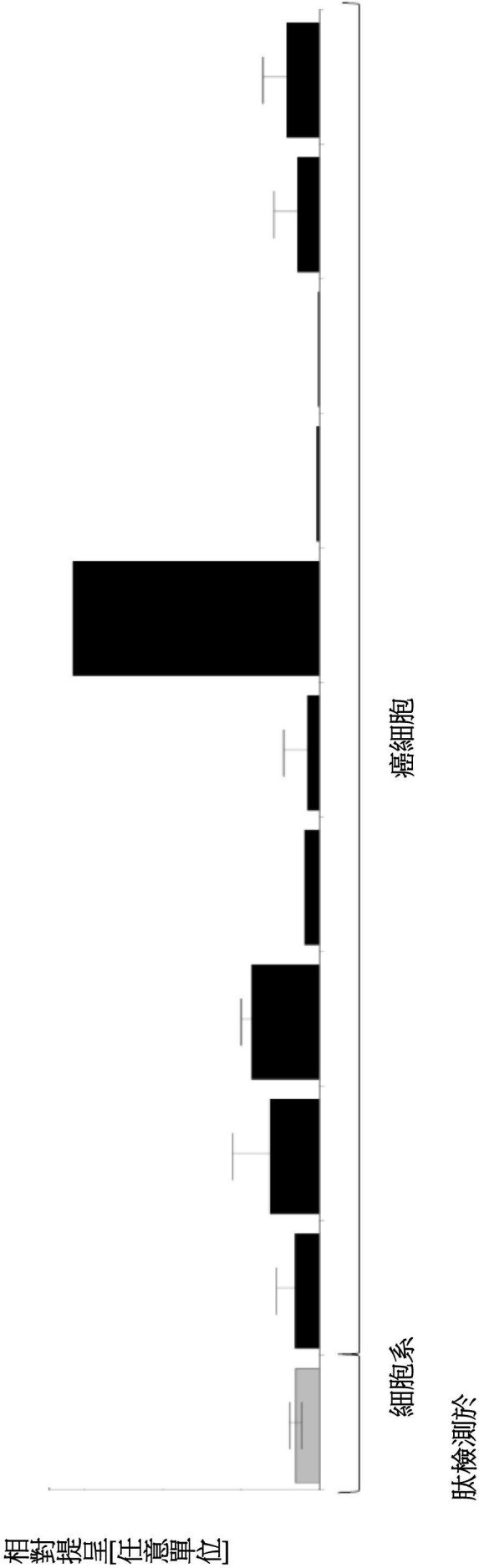


肽檢測於

5 細胞系 (5 血細胞) , 19 癌組織 (5 白細胞白血病癌症, 1 髓樣細胞癌骨髓癌, 1 膽囊癌, 1 肺癌, 8 淋巴瘤, 1 胃癌, 1 子宮癌) (從左到右)

圖 10

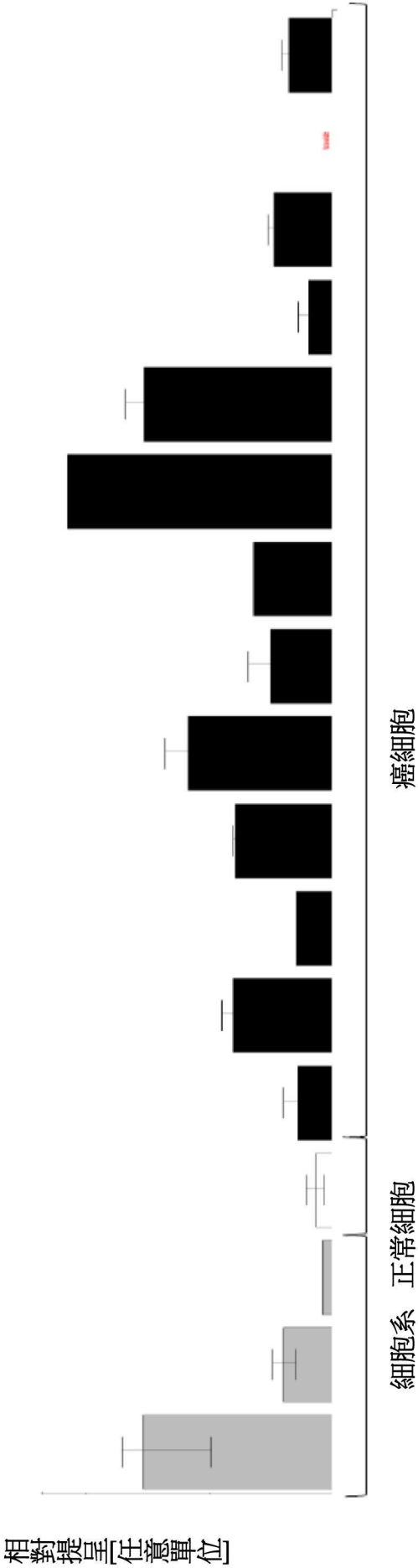
肽：
LLLPGVIKTV (A*02)
SEQ ID NO: 112



1 細胞系 (1 血細胞) , 10 癌組織 (1 白細胞白血病癌症, 1 結腸癌, 4 肺癌, 3 卵巢癌, 1 膀胱癌) (從左到右)

圖 1P

肽： SLIDDDNNEINL (A*02)
SEQ ID NO: 119



肽檢測於

3 細胞系 (3 血細胞) , 1 正常組織 (1 氣管) , 13 癌組織 (3 腦癌, 2 肺癌, 2 淋巴瘤, 3 卵巢癌, 1 攝護腺癌, 2 子宮癌)
(從左到右)

圖 2A
基因：MEX3A
肽：GLEDERALQL
SEQ ID NO: 42

相對 FPKM 轉錄組 HLI AEHTA

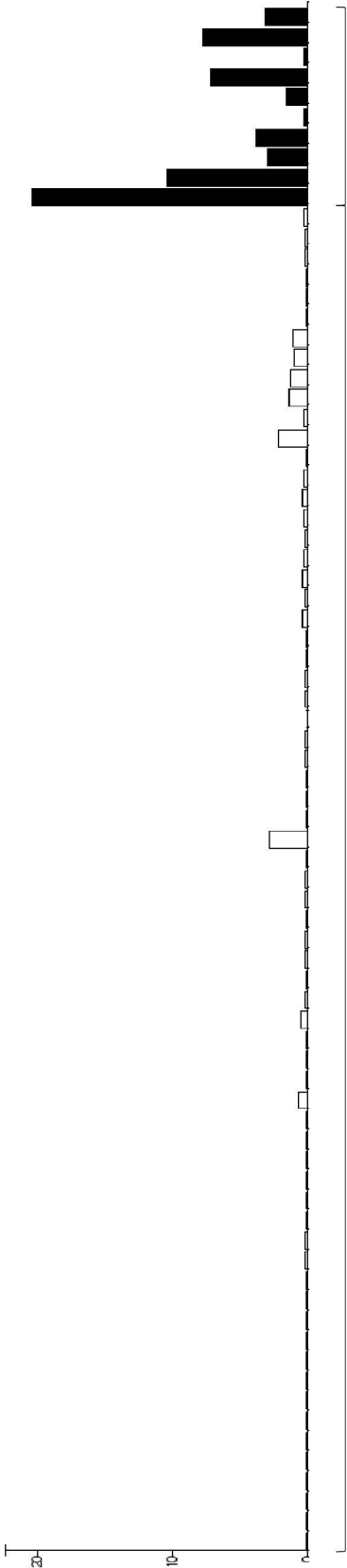


圖 2B
基因：ECT2
肽：KAIGSLKEV
SEQ ID NO: 72

相對 FPKM 轉錄組 HLI AEIHTA

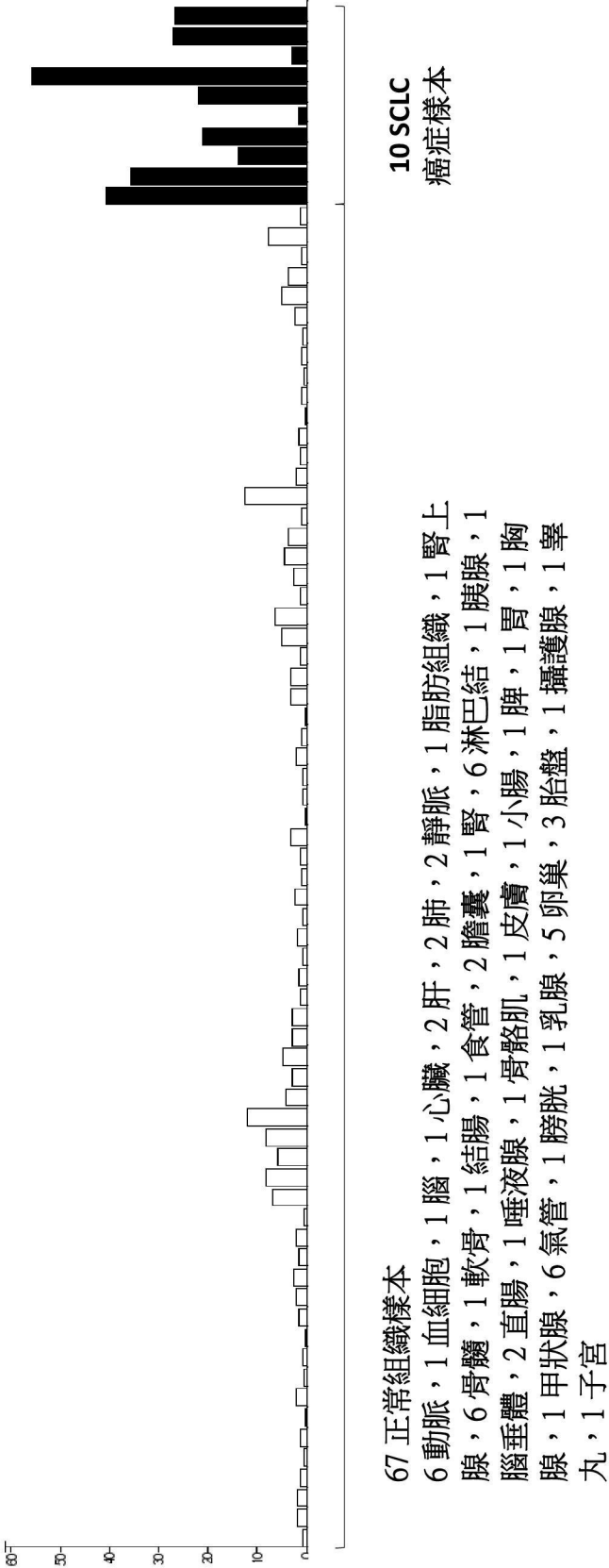


圖 2C
基因：CCNE2
肽：TLHRETFYL
SEQ ID NO: 88

相對 FPKM 轉錄組 HLIAEIHTA

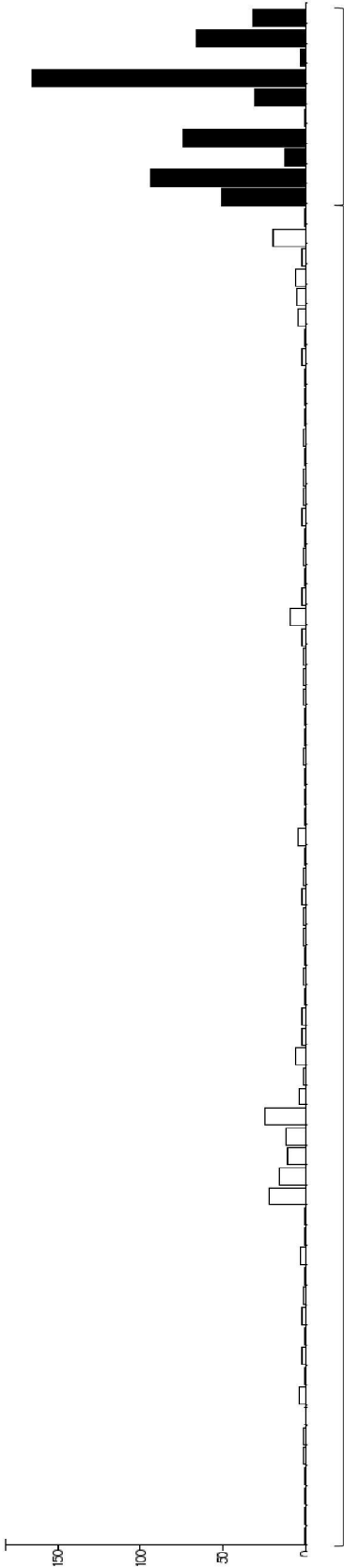


圖 2D

基因： TIMELESS
| 肽： KAYQELLATV
SEQ ID NO: 41

相對 FPKM 轉錄組 KAYQELLATV

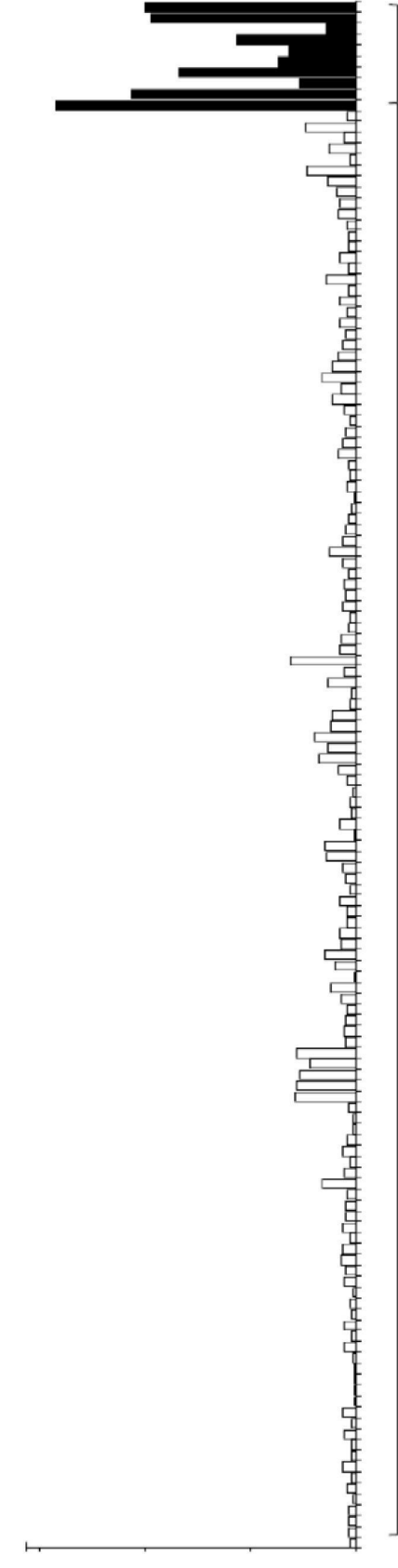


圖 3

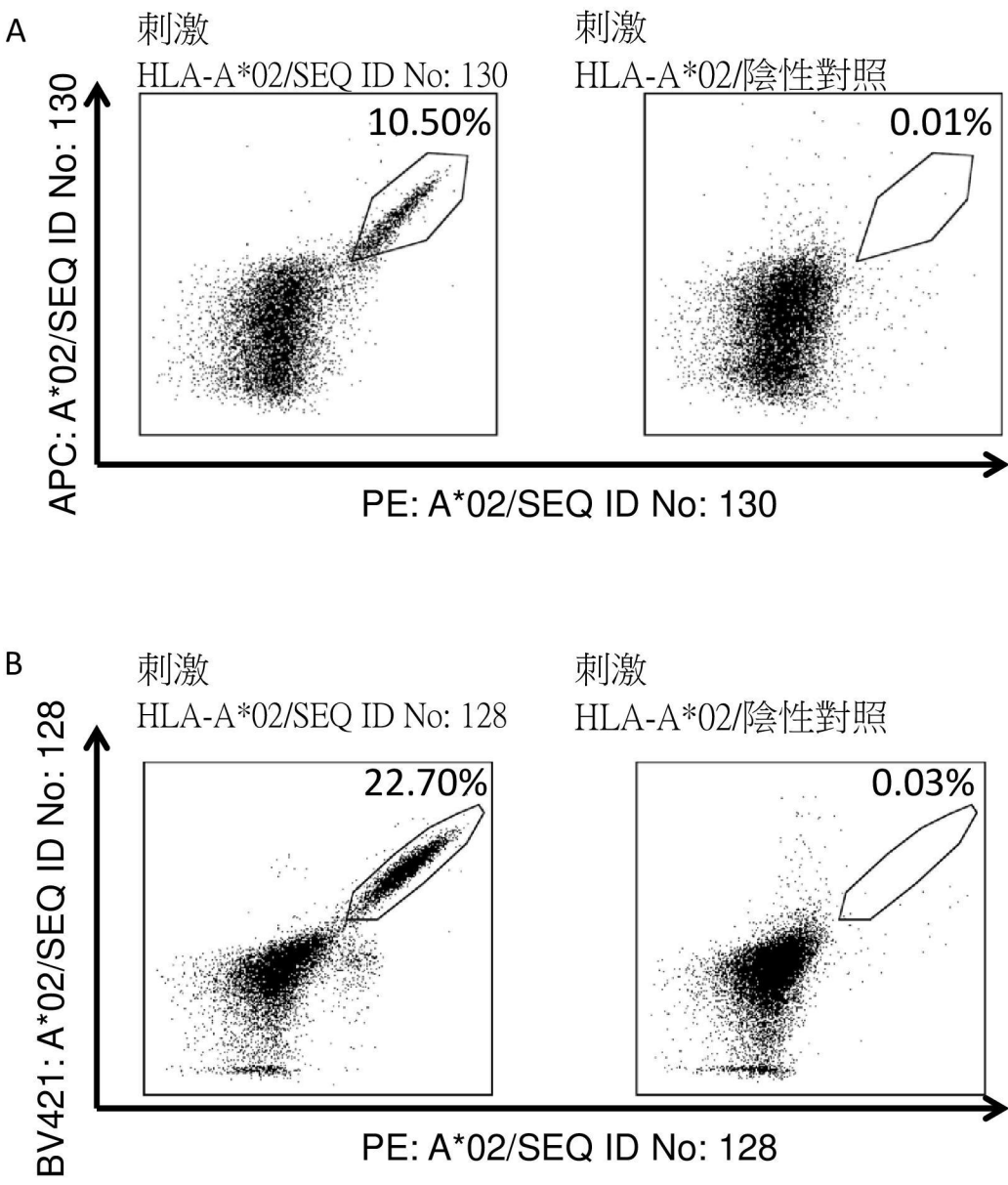


圖 4

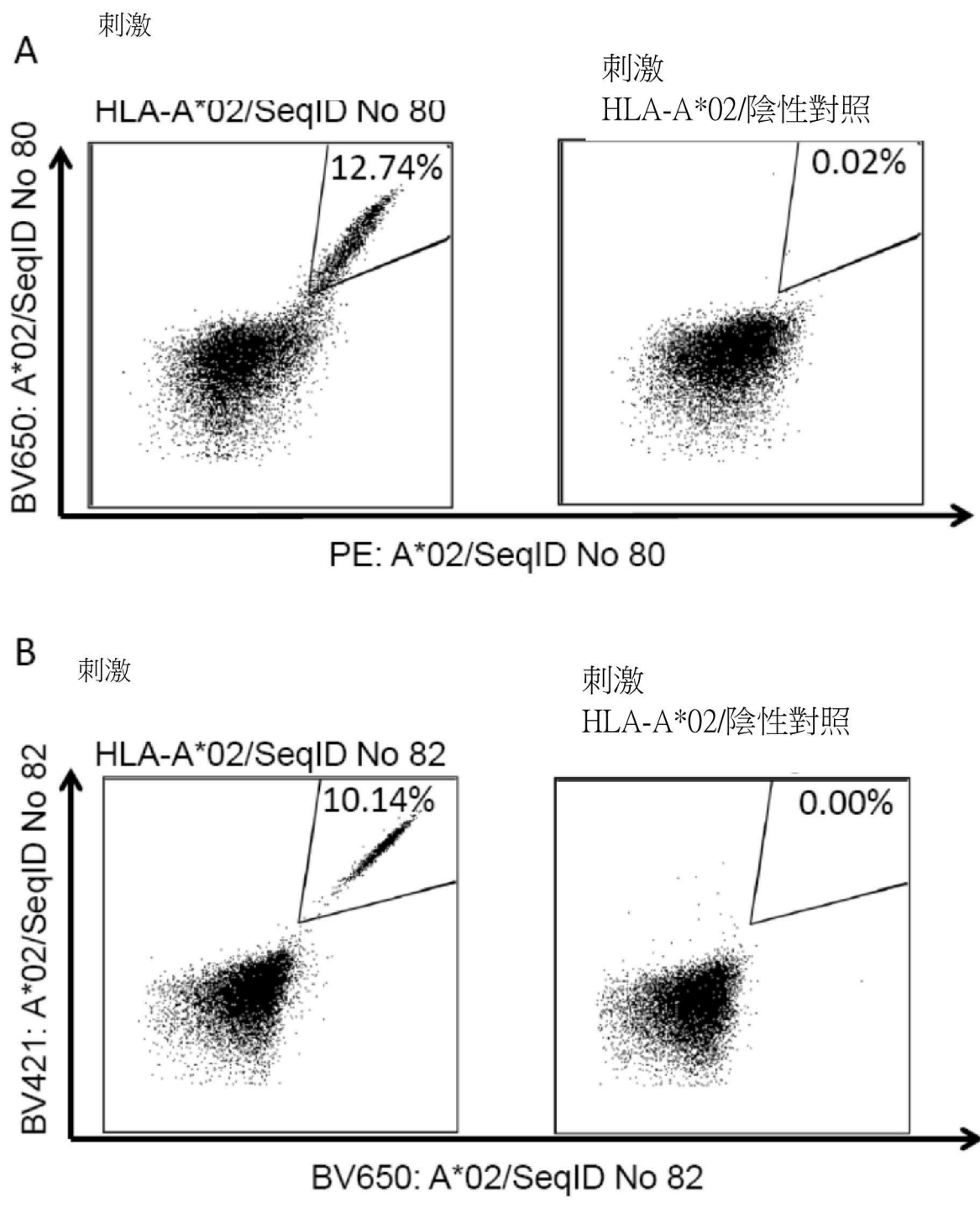


圖 4 (續)

