【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和4年8月1日(2022.8.1)

【国際公開番号】WO2020/027239
【出願番号】特願2020-534728(P2020-534728)
【国際特許分類】
C12N 15/12(2006.01)
C07K 7/08(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
C12N 5/0784(2010.01)
C12N 5/0783(2010.01)
C07K 16/18(2006.01)
C07K 7/06(2006.01)
A61K 38/08(2019.01)
A61K 39/00(2006.01)
A61K 35/17(2015.01)
A61K 35/15(2015.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)
A61P 37/04(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/12 ＺＮＡ
Ｃ０７Ｋ 7/08
Ｃ１２Ｎ 5/10
Ｃ１２Ｎ 5/0784
Ｃ１２Ｎ 5/0783
Ｃ０７Ｋ 16/18
Ｃ０７Ｋ 7/06
Ａ６１Ｋ 38/08
Ａ６１Ｋ 39/00 Ｈ
Ａ６１Ｋ 35/17 Ｚ
Ａ６１Ｋ 35/15 Ｚ
Ａ６１Ｋ 48/00
Ａ６１Ｐ 35/00
Ａ６１Ｐ 35/02
Ａ６１Ｐ 37/04

【手続補正書】
【提出日】令和4年7月21日(2022.7.21)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の群より選択されるアミノ酸配列を含む、細胞傷害性T細胞（CTL）誘導能を有する15アミノ酸未満のペプチド：

（ａ）配列番号：８、１、１０、１３、２５、３３～３５および３７からなる群より選択されるアミノ酸配列；および
（ｂ）配列番号：８、１、１０、１３、２５、３３～３５および３７からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して、１個、２個、３個、または数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および／または付加されているアミノ酸配列。
【請求項２】
配列番号：８、１、１０、１３、２５、３３～３５および３７からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して、以下の（ａ）～（ｃ）から選択される１以上の置換がされたアミノ酸配列を含む、請求項１に記載のペプチド：
（ａ）Ｎ末端から２番目のアミノ酸が、スレオニンおよびセリンからなる群より選択されるアミノ酸に置換されている；
（ｂ）Ｎ末端から３番目のアミノ酸が、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群より選択されるアミノ酸に置換されている；および
（ｃ）Ｃ末端のアミノ酸が、チロシンに置換されている。
【請求項３】
配列番号：８、１、１０、１３、２５、３３～３５および３７からなる群より選択されるアミノ酸配列からなる、請求項１に記載のペプチド。
【請求項４】
請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドをコードする、ポリヌクレオチド。
【請求項５】
薬学的に許容される担体と、以下の（ａ）～（ｅ）からなる群より選択される少なくとも１つの成分とを含む組成物：
（ａ）請求項１～３のいずれか一項に記載の１種類もしくは複数種のペプチド；
（ｂ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドを発現可能な形態でコードする１種類もしくは複数種のポリヌクレオチド；
（ｃ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドとＨＬＡ抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示する抗原提示細胞（ＡＰＣ）；
（ｄ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドとＨＬＡ抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示するエキソソーム；および
（ｅ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドを標的とするＣＴＬ。
【請求項６】
前記成分が以下の（ａ）～（ｄ）からなる群より選択される少なくとも１つの成分であり、ＣＴＬを誘導するための組成物である、請求項５に記載の組成物：
（ａ）請求項１～３のいずれか一項に記載の１種類もしくは複数種のペプチド；
（ｂ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドを発現可能な形態でコードする１種類もしくは複数種のポリヌクレオチド；
（ｃ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドとＨＬＡ抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示する抗原提示細胞（ＡＰＣ）；および
（ｄ）請求項１～３のいずれか一項に記載のペプチドとＨＬＡ抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示するエキソソーム。
【請求項７】
薬学的組成物である、請求項５に記載の組成物。
【請求項８】
（ｉ）がんの治療、（ｉｉ）がんの予防、および（ｉｉｉ）がんの術後の再発の予防からなる群より選択される１以上の用途ための、請求項７に記載の組成物。
【請求項９】
がんに対する免疫応答を誘導するための、請求項７に記載の組成物。
【請求項１０】
がんが、膀胱がん、乳がん、子宮頸がん、胆管細胞がん、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、食道がん、胃がん、非小細胞肺がん、リンパ腫、骨肉腫、前立腺がん、腎がん、小細胞

肺がん、頭頸部がん、軟部組織腫瘍、および大腸がんからなる群より選択される、請求項8または9に記載の組成物。
【請求項１１】
HLA-A01陽性である対象への投与のために製剤化される、請求項5～10のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２】
以下からなる群より選択される段階を含む、CTL誘導能を有するAPCを誘導する方法：
（a）APCを、請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとインビトロ、またはエクスビボで接触させる段階、および
（b）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドをAPCにインビトロ、またはエクスビボで導入する段階。
【請求項１３】
以下からなる群より選択される段階を含む、CTLをインビトロ、またはエクスビボで誘導する方法：
（a）CD8陽性T細胞を、HLA抗原と請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとの複合体を自身の表面上に提示するAPCと共培養する段階、
（b）CD8陽性T細胞を、HLA抗原と請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとの複合体を自身の表面上に提示するエキソソームと共培養する段階、および
（c）細胞表面上にHLA抗原により提示された請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドに結合し得るT細胞受容体（TCR）の各サブユニットをコードするポリヌクレオチドをCD8陽性T細胞に導入する段階。
【請求項１４】
HLA抗原と請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとの複合体を自身の表面上に提示するAPC。
【請求項１５】
請求項12に記載の方法によって誘導される、請求項14に記載のAPC。
【請求項１６】
請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドを標的とするCTL。
【請求項１７】
請求項13に記載の方法によって誘導される、請求項16に記載のCTL。
【請求項１８】
以下の（a）～（e）からなる群より選択される少なくとも1つの成分の、がんに対する免疫応答を誘導するための薬学的組成物またはワクチンの製造における使用：
（a）請求項1～3のいずれか一項に記載の1種類もしくは複数種のペプチド；
（b）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドを発現可能な形態でコードする1種類もしくは複数種のポリヌクレオチド；
（c）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとHLA抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示する抗原提示細胞（APC）；
（d）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとHLA抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示するエキソソーム；および
（e）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドを標的とするCTL。
【請求項１９】
以下の（a）～（e）からなる群より選択される少なくとも1つの成分の、がんを治療および／もしくは予防する、ならびに／または術後のその再発を予防するための薬学的組成物の製造における使用：
（a）請求項1～3のいずれか一項に記載の1種類もしくは複数種のペプチド；
（b）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドを発現可能な形態でコードする1種類もしくは複数種のポリヌクレオチド；
（c）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとHLA抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示する抗原提示細胞（APC）；

（ｄ）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドとHLA抗原との複合体を自身の細胞表面上に提示するエキソソーム；および
（ｅ）請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドを標的とするCTL。
【請求項２０】
請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドに結合する抗体。
【請求項２１】
CTL誘導能を有するペプチドをスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：
（ａ）配列番号：8、1、10、13、25、33～35および37の中から選択されるアミノ酸配列からなる元のアミノ酸配列に対して、1個、2個、3個、または数個のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、および／または付加されたアミノ酸配列からなる候補配列を作成する段階；
（ｂ）（ａ）で作成した候補配列の中からCDCA1以外のいかなる公知のヒト遺伝子産物とも有意な相同性（配列同一性）を有さない候補配列を選択する段階；
（ｃ）（ｂ）で選択した候補配列からなるペプチドと、APCとを接触させる段階；
（ｄ）（ｃ）のAPCとCD8陽性T細胞とを接触させる段階；および
（ｅ）元のアミノ酸配列からなるペプチドよりも同等かまたはより高いCTL誘導能を有するペプチドを選択する段階。
【請求項２２】
請求項1～3のいずれか一項に記載の1種類もしくは複数種のペプチド、水溶性の担体、および油性アジュバントを含むエマルション。
【請求項２３】
請求項5～11のいずれか一項に記載の組成物が収容されている容器、およびアジュバントが収容されている容器を含むキット。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１７】
【図１】図1は、CDCA1由来ペプチドで誘導した細胞を用いて実施したIFN-γ酵素結合免疫スポット（ELISPOT）アッセイの結果を示す写真（ａ）～（ｊ）から構成される。図中、「＋」は、目的のペプチドをパルスした標的細胞に対するIFN-γ産生を示し、「－」は、いずれのペプチドもパルスしていない標的細胞に対するIFN-γ産生を示す（陰性対照）。CDCA1-A01-8-138（配列番号：1）を用いたウェル番号#1（ａ）、CDCA1-A01-9-290（配列番号：25）を用いたウェル番号#7（ｂ）、CDCA1-A01-9-130（配列番号：33）を用いたウェル番号#5（ｃ）、CDCA1-A01-9-246（配列番号：34）を用いたウェル番号#7（ｄ）、CDCA1-A01-9-268（配列番号：35）を用いたウェル番号#1（ｅ）、CDCA1-A01-9-288（配列番号：37）を用いたウェル番号#3（ｆ）、CDCA1-A01-10-136（配列番号：8）を用いたウェル番号#2（ｇ）、CDCA1-A01-10-56（配列番号：10）を用いたウェル番号#6（ｈ）およびCDCA1-A01-10-48（配列番号：13）を用いたウェル番号#6（ｉ）において、陰性対照と比較してペプチド特異的なIFN-γ産生が認められた。写真上、四角で囲まれた反応を示した細胞から、CTLクローンを樹立した。対照的に、ペプチド特異的なIFN-γ産生が認められなかった典型的な陰性データの例として、CDCA1-A01-10-66（配列番号：9）（ｊ）を示す。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７２
【補正方法】変更
【補正の内容】

【００７２】
本発明のAPCは特定の種類の細胞に限定されず、リンパ球によって認識されるように自身の細胞表面上にタンパク質性抗原を提示することが知られている細胞、例えば樹状細胞（dendritic cell：DC）、ランゲルハンス細胞、マクロファージ、B細胞、および活性化T細胞が含まれる。DCは、APCの中で最も強力なCTL誘導作用を有する代表的なAPCであるため、DCは本発明のAPCとして好ましく使用され得る。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１０４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０４】
本発明の薬学的組成物は、前述の有効成分に加えて、がん細胞に対してCTLを誘導する能力を有するその他のペプチド（例えば他のTAA由来のCTL誘導性ペプチド）、該その他のペプチドをコードするその他のポリヌクレオチド、該その他のペプチドを提示するその他の細胞等を含み得る。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１５８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１５８】
別の態様において、本発明はまた、CDCA1とHLA-A01を発現するがんに対する免疫応答を誘導するための薬学的組成物またはワクチンの製造における、以下の中より選択される有効成分の使用を提供する：
（a）本発明のペプチド；
（b）本発明のペプチドを発現可能な形態でコードするポリヌクレオチド；
（c）本発明のペプチドを自身の表面上に提示するAPC；
（d）本発明のペプチドを自身の表面上に提示するエキソソーム；および
（e）本発明のCTL。
【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１６８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１６８】
本発明はまた、本発明のペプチドとHLAとの複合体を提供する。前記本発明の複合体は、単量体であっても多量体であってもよい。本発明の複合体が多量体である場合、重合数は特に限定されず、任意の重合数の多量体であることができる。例としては、四量体、五量体、六量体等が挙げられるが、これらに限定されない。また、デキストラマー（WO2002/072631）、ストレプタマー（Knabel M et al., Nat Med. 2002;8(6):631-7.）もまた本発明の多量体に包含される。本発明のペプチドとHLAとの複合体は、公知の方法に従って調製することができる（例えば、Altman JD et al., Science.1996,274(5284):94-6、WO2002/072631、WO2009/003492、Knabel M et al., Nat Med. 2002;8(6):631-7.等）。本発明の複合体は、例えば、本発明のペプチドに特異的なCTLの定量に用いることができる。例えば、本発明の薬学的組成物を投与した対象から血液試料を採取し、PBMCを分離した後CD4陰性細胞を調製し、蛍光色素を結合させた本発明の複合体と該CD4陰性細胞とを接触させる。その後、フローサイトメトリーで解析することにより、本発明のペプチドに特異的なCTLの割合を測定することができる。例えば、本発明の薬学的組成物の投与前、投与中、および／または投与後に、本発

明のペプチドに特異的なCTLを測定することにより、本発明の薬学的組成物による免疫応答誘導効果をモニタリングすることができる。