



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202304970 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：111136019

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 23 日

(51)Int. Cl.：

*C07K14/74 (2006.01)**C07K14/705 (2006.01)**A61K39/00 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**C40B20/04 (2006.01)*

(30)優先權：2016/08/26 美國

62/379,864

2016/08/26 德國

10 2016 115 974.3

(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)；維比 艾尼塔 WIEBE, ANITA (DE)；宋 寇雷特 SONG, COLETTE

(DE)；史古兒 奧利佛 SCHOOR, OLIVER (DE)；弗里切 金斯 FRITSCHKE, JENS

(DE)；辛格 哈皮特 SINGH, HARPREET (US)

(74)代理人：李世章；彭國洋

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：4 共 244 頁

(54)名稱

用於頭頸鱗狀細胞癌和其他癌症免疫治療的新型肽和支架

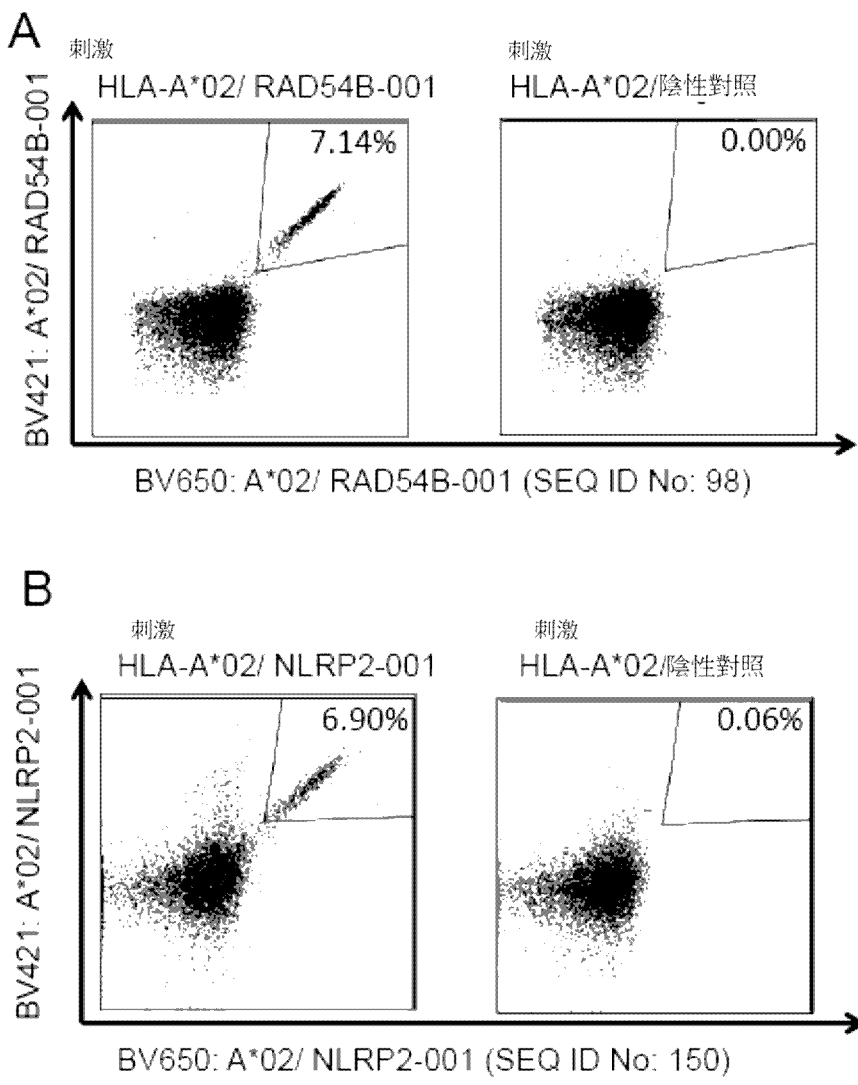
(57)摘要

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 method. 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





【發明摘要】

【中文發明名稱】用於頭頸鱗狀細胞癌和其他癌症免疫治療的新型肽和支架

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND SCAFFOLDS FOR USE IN
IMMUNOTHERAPY AGAINST HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL
CARCINOMA 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 method. 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】第（ 3 ）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】用於頭頸鱗狀細胞癌和其他癌症免疫治療的新型肽和支架

【英文發明名稱】NOVEL PEPTIDES AND SCAFFOLDS FOR USE IN
IMMUNOTHERAPY AGAINST HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL
CARCINOMA 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，可用于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】 頭頸鱗狀細胞癌（HNSCC）是異質腫瘤，其流行病學、病因和治療均具有差異（Economopoulou et al.,

2016)。這些腫瘤根據它們開始發生的部位來分類。它們包括口腔（嘴唇，前三分之二舌頭、牙齦、面頰和嘴唇內膜、口腔底、硬齶）癌、咽（鼻咽，口咽包括軟齶、舌底、扁桃體、下咽）癌、喉癌、鼻旁竇和鼻腔癌以及唾液腺癌（National Cancer Institute, 2015）。

【0004】 HNSCC是世界上第六大常見惡性腫瘤，約占全球所有確診癌症病例的6%（Economopoulou et al., 2016）。HNSCC的特徵是發病率和解剖學分佈的地理差異很大（Vigneswaran and Williams, 2014）。高風險國家位於南亞和東南亞（如，印度、斯里蘭卡、孟加拉、巴基斯坦）。在這些地區，口腔鱗狀細胞癌（OSCC）是男性中最常見的癌症，也是女性中第三大常見癌症（Vigneswaran and Williams, 2014）。在歐洲，法國、匈牙利、斯洛伐克和斯洛維尼亞地區發現OSCC的發病率高。在美國，HNSCC是男性中第八大常見的癌症。

【0005】 HNSCC的主要風險因素是飲酒和吸菸。HNSCC其他風險因素包括飲用馬黛茶，還有醃製或鹽製食品，使用檳榔，職業暴露於木屑、石棉和合成纖維，輻射暴露，致癌型人乳頭瘤病毒（HPV）或 Epstein-Barr 病毒（EBV）和遺傳（特別是鼻咽 SCC 華裔）（National Cancer Institute, 2015）。

【0006】 雖然OSCC和喉SCC在發達國家有所下降，但是口咽SCC發病率有所增加。這歸因於SCC生物驅動因素的變化（HPV相關SCC而不是吸菸相關的SCC）。從1988

年到2004年，HPV相關口咽癌增加了225%(National Cancer Institute, 2015)。HPV陽性HNSCC可能代表一個獨特的疾病實體。這些腫瘤與生存顯著改善相關。

【0007】 發病率取決於性別：男女比例範圍為2:1至4:1(2014年世衛組織基本藥物清單癌症藥物審查)。HNSCC患者的五年總體生存率為40-50%(World Health Organization, 2014)。雖然早期癌症(T1、T2)的治癒率為70%-95%(Nat Cancer Inst)，但大多數HNSCC患者存在局部晚期疾病(Bauml et al., 2016)。

【0008】 早期HNSCC的治療包括手術或放射的單一模式治療(World Health Organization, 2014)。晚期癌症通過化療聯合手術和/或放療進行治療。

【0009】 化療主要包括順鉑或含有順鉑的藥物組合，其中包括多西他賽，順鉑、氟尿嘧啶(5-FU)或順鉑、表柔比星、博來黴素或順鉑、5-FU。異維甲酸(13-順式視黃酸)用於口腔SCC和喉SCC，每日1次，共使用1年，以降低二次腫瘤的發生率(National Cancer Institute, 2015)。

【0010】 HNSCC被視為是一種免疫抑制疾病，其特徵在於免疫活性細胞和受損細胞因子分泌的失調(Economopoulou et al., 2016)。HPV陰性和HPV陽性腫瘤的免疫治療策略不同。

【0011】 對於HPV陽性腫瘤，病毒癌蛋白E6和E7代表著良好的靶標，這是因為它們連續地通過腫瘤細胞中表達，對於保持HPV陽性癌細胞的轉化狀態必不可少。幾種疫苗

療法目前正在HPV陽性HNSCC中進行研究，包括DNA疫苗、肽疫苗和涉及樹突狀細胞(DC)的疫苗。此外，正在進行的II期臨床試驗在HPV陽性腫瘤患者中研究了淋巴細胞耗竭繼而自體輸注TIL的療效(Economopoulou et al., 2016)。

【0012】 在HPV陰性腫瘤中，目前正在使用和研究幾種免疫治療策略。嵌合IgG1抗EGFR單克隆抗體西妥昔單抗已被FDA批准用於組合化療，作為復發/轉移性HNSCC的標準一線治療。其他的抗EGFR單克隆抗體（包括帕尼單抗、尼妥珠單抗和紮妥木單抗）在HNSCC中進行了評估。一些免疫檢查點抑制劑在HNSCC的用途在臨床試驗中進行了研究。它們包括以下抗體：易普利姆瑪（抗CTLA-4）、曲美木單抗（tremelimumab，抗CTLA-4）、彭博羅珠單抗（pembrolizumab，抗PD-1）、納武單抗（nivolumab，抗PD-1）、durvalumab（抗PD-1）、抗KIR、urelumab（抗CD137）和抗LAG-3。

【0013】 HNSCC患者的兩項臨床研究評估了載有p53肽或凋亡腫瘤細胞的DC的用途。免疫應答令人滿意的，副作用可以接受。

【0014】 數項研究使用了過繼性T細胞療法(ACT)進行。T細胞被誘導對抗任何輻照的自體腫瘤細胞或EB病毒。疾病控制和總生存率結果是看好的(Economopoulou et al., 2016)。

【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，尤其是頭頸鱗狀細胞癌。通常也有必要確定代表癌症生物標誌物的因子，尤其是頭頸鱗狀細胞癌，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，由於其成員表達于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提呈的表位低於 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 TAA 的典型例子為 Her-2 / neu、生存素、端粒酶或 WT1。

d) 腫瘤特異性抗原：這些獨特的 TAA 產生于正常基因（如 β -catenin、CDK4 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 TAA 在多數情況下只與其上確認了有 TAA 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 TAA。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 TAA：此類 TAA 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 TAA 產生於變糖基化模式的改變，導致腫瘤產生針對 MUC1 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于主要組織相容性複合體 (M H C) 分子提呈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】 M H C 分子有兩類：M H C I 類和 M H C II 類。M H C I 類分子由一條 α 重鏈和 β -2-微球蛋白，M H C 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 M H C - I 類分子。他們提呈主要為內源性的蛋白、缺陷核糖體產物 (D R I P) 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 M H C - I 類分子上發現。這種 I - 類分子非經典提呈方式在文獻中被稱為交叉提呈 (B r o s s a r t a n d B e v a n , 1 9 9 7 ; R o c k e t a l . , 1 9 9 0) 。M H C II 類分子主要發現于專業抗原提呈細胞 (A P C) 上，並且主要提呈，例如，在內吞作用過程中由 A P C 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巨大的重要作用。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，尤其是專業抗原提呈細胞(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CD4 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HLA 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MHC II類表位(WO 2007/028574, EP 1760 088 B1)。

【0027】 由於CD8依賴型和CD4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CD8+T細胞（配體：MHC I類分子+肽表位）或CD4陽性T輔助細胞（配體：MHC 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MHC I類肽觸發（引發）細胞免疫反應的肽，它也必須與MHC分子結合。這一過程依賴於MHC分子的等位基因以及肽氨基酸序列的特異性多態性。MHC-I類-結合肽的長度通常為8-12個氨基酸殘基，並且在其與MHC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MHC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MHC-I類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些MHC-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（TCR）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提呈。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，T A A 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 T A A 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 T C R 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 細胞情況的過量提呈或選擇性提呈肽，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 T C R（例如可溶性 T C R）和抗體或其他結合分子（支架）靶向作用於肽 - M H C 的情況下，潛在肽的免疫原性是次要的。在這些情況下，提呈是決定因素。

【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 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 9 1 的組的一個氨基酸序列、或該序列的與 S E Q I D N O : 1 至 S E Q I D N O : 9 1 具有至少 7 7 %，優選至少 8 8 % 同源（優選至少 7 7 % 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:91的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91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已披露,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4A和B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提呈各潛在多肽

表1：本發明中的肽。

J = 磷酸絲氨酸

序列ID號	序列	基因ID	正式基因符號
1	GLAGGFGGP GFPV	286887, 3853, 3854	KRT6C, KRT6A, KRT6B
2	PVCPGGIQE V	286887, 3848, 3852, 3853, 3854, 9119	KRT6C, KRT1, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT75
3	SLYGLGGSK RISI	286887, 3853, 3854	KRT6C, KRT6A, KRT6B
4	ILDINDNPPV	100653137, 1830, 64072	DSG3, CDH23

5	VCPPGGIQEV	286887, 3848, 3852, 3853, 3854, 9119	KRT6C, KRT1, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT75
6	ALYDAELSQM	286887, 3853, 3854	KRT6C, KRT6A, KRT6B
7	ALEEANADLEV	3860, 3861, 3866, 3868, 400578, 644945, 729252	KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT16P2, KRT16P3, KRT16P1
8	AQLNIGNVLPV	6132	RPL8
9	STASAITPSV	3852	KRT5
10	TLWPATPPKA	647024	C6orf132
11	VLFSSPPVI	5621	PRNP
12	TLTDEINFL	286887, 3853, 3854	KRT6C, KRT6A, KRT6B
13	SLVSYLDKV		unknown gene
14	RIMEGIPTV	242	ALOX12B
15	SMLNNIINL	5317	PKP1
16	ALKDSVQRA	10765	KDM5B
17	SIWPALTQV	100381270	ZBED6
18	YLYPDL SRL	6538	SLC6A11
19	ALAKLLPLL	5655	KLK10
20	YLINEIDRIRA	667	DST
21	FLHEPFSSV	122665, 84659	RNASE8, RNASE7
22	KLPEPCPSTV	6707	SPRR3
23	SLPESGLLSV	2178	FANCE
24	LLIAINPQV	9635	CLCA2
25	SLCPPGGIQEV	196374	KRT78
26	TLVDENQSWYL	341208	HEPHL1
27	YLAEPQWAV	2196	FAT2
28	AVDPVSGSLYV	57451	TENM2
29	RLLPDLDEV	121551	BTBD11
30	TLASLGYAVV	91039	DPP9
31	HLATVKLLV	54101	RIPK4
32	IQDAEGAIHEV	165904	XIRP1
33	AIYEGVGWNV	57115	PGLYRP4
34	ALDTFSVQV	171177	RHOV
35	ALVGDVILT V	2196	FAT2
36	GLWSSIFSL	123745	PLA2G4E
37	ILLEDVFQL	285973	ATG9B
38	KLLPGVQYV	390928	PAPL
39	LLPEDDTRD NV	1001	CDH3
40	LLTPLNLQI	286887, 3852, 3853, 3854	KRT6C, KRT5, KRT6A, KRT6B
41	RLNGEGVGQVNISV	3853, 3854	KRT6A, KRT6B

42	ALYTSGHLL	5653	KLK6
43	AVLG GKLYV	9903	KLHL21
44	GLGDDSFPI	2125	EVPL
45	GLIEWLENT V	5591	PRKDC
46	GLISSIEAQL	3860	KRT13
47	QLLEGELETL	5493	PPL
48	YLLDYPNNL	26057	ANKRD17
49	YLWEAHTNI	729830	FAM160A1
50	ALSNVVHKV	5268	SERPINB5
51	FLIPSIIFA	150696	PROM2
52	LLFTGLVSG V	284434	NWD1
53	RLVEVGGDV QL	3963, 653499	LGALS7, LGALS7B
54	RLSGEGVGP V	3852	KRT5
55	VLNVGVAEV	285848	PNPLA1
56	FLQLETEQV	64426	SUDS3
57	AILGFALSEA	516, 517, 518	ATP5G1, ATP5G2, ATP5G3
58	SLSDIQPCL	3691	ITGB4
59	YLQNEVFGL	1832	DSP
60	SLGNFKDDL L	23650	TRIM29
61	FVAGYIAGV	5250	SLC25A3
62	ILSSACYTV	5317	PKP1
63	ALMDEINFM KM	3852	KRT5
64	KILEJLFVJL		unknown gene
65	ALWGGFFVL L	56851	EMC7
66	TLLSEIAEL	84629	TNRC18
67	AQLNLIWQL	80381	CD276
68	KILEMDDPR A	6512	SLC1A7
69	YVMESMTYL	28976	ACAD9
70	FLFPAFLTA	2150	F2RL1
71	SLFPYVCLI	55117	SLC6A15
72	SLDGNPLAV	25987	TSKU
73	YIDPYKLLPL	54433	GAR1
74	SLTSFLISL	101060198, 7851	MALL
75	ALASAPTSV	80004	ESRP2
76	ILFDEVLTFA	83666	PARP9
77	SLRAFLMPI	79901	CYBRD1
78	VLYGDVEEL	10970	CKAP4
79	GLHQDFPSV VL	51056	LAP3
80	GLYGIKDDV FL	3939	LDHA

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
81	VLAENPDIFAV	6541	SLC7A1
82	VLDINDNPPV	120114, 1828, 2195	FAT3, DSG1, FAT1
83	QLLQYVYNL	4173	MCM4
84	ALMAGCIQEA	1026	CDKN1A
85	QLIEKITQV	114827	FHAD1
86	SLQERQVFL	9333	TGM5
87	ALPEPSPAA	5339	PLEC
88	LMAPAPSTV	7071	KLF10
89	VLDEGLTSV	25909, 285116	AHCTF1, AHCTF1P1
90	TLNDGVVVQV	10146	G3BP1
91	MLFENMGAYTV	4953	ODC1

表 3：用於個性化癌症療法的肽。

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
92	ILLDVKTRL	3728, 3861, 3868, 3872	JUP, KRT14, KRT16, KRT17
93	ALSNVIHKV	5268	SERPINB5
94	SIFEGLLSGV	2709	GJB5
95	SLDENSQQV	6273	S100A2
96	FQLDPSSGVLVTV	2196	FAT2
97	LILESIPVV	5597	MAPK6
98	SLYKGLLSV	25788	RAD54B
99	TASAITPSV	3852	KRT5
100	VLVSDGVHSV	1952	CELSR2
101	GLLPSAESIKL	132989	C4orf36
102	TLAELQPPVQL	157922	CAMSAP1
103	VLAEGGEGV	10630	PDPN
104	SLSPVILGV	26525	IL36RN
105	STYGGGLSV	3861, 3868	KRT14, KRT16
106	VLVDQSWVL	5655	KLK10
107	YLEEDVYQL	23255	SOGA2
108	SLYNLGGSKRISI	3852	KRT5
109	KIQEILTQV	10643	IGF2BP3
110	LLPPPPPPA	9509	ADAMTS2
111	SLAPGDVVRQV	79729	SH3D21
112	ALLDGGSEAYWRV	84985	FAM83A
113	NLMASQPQL	5317	PKP1
114	VLVPYEPPQV	8626	TP63
115	VTAAAYMDTVSL	7498	XDH
116	SLWPSPEQL	90480	GADD45GIP1
117	GLAFSLYQA	871	SERPINH1

序列 ID 號	序列	基因 ID	正式基因符號
118	TLLQEQGTKTV	286887, 3852, 3853, 3854	KRT6C, KRT5, KRT6A, KRT6B
119	GLLDPSVFHV	79050	NOC4L
120	YLVAKLVEV	10277	UBE4B
121	SLYGYLRGA	9790	BMS1
122	ILDEAGVKYFL	113828	FAM83F
123	LLSGDLIFL	2709	GJB5
124	YMLDIFHEV	3038	HAS3
125	ALNPEIVSV	5277	PIGA
126	ILVDWLVEV	85417, 890, 8900	CCNB3, CCNA2, CCNA1
127	SLFGKKYIL	2274	FHL2
128	TLHRETFYL	9134	CCNE2
129	SLSGEIILHSV	121441	NEDD1
130	TLDGAAVNQV	3918	LAMC2
131	LQLDKEFQL	24140	FTSJ1
132	TLYPGRFDYV	338322	NLRP10
133	LLLPLQILL	5650	KLK7
134	ILIGETIKI	5742, 5743	PTGS1, PTGS2
135	GLFSQHFNL	1789	DNMT3B
136	SLMEPPAVLLL	8900	CCNA1
137	GLAPFLNNAV	101060689, 154761, 285966	FAM115C
138	ALLTGIISKA	23165	NUP205
139	QLGPVPVTI	285966	FAM115C
140	YLFENISQL	57115	PGLYRP4
141	FLNPDEVHAI	81610	FAM83D
142	SLVSEQLEPA	11187	PKP3
143	YVYQNNIYL	2191	FAP
144	KISTITPQI	996	CDC27
145	LLYGKYVSV	84065	TMEM222
146	GLLEELVTV	642475	MROH6
147	ILMDPSPEYA	1786	DNMT1
148	LLFDAPDLRL	55561	CDC42BPG
149	VLLNINGIDL	222484	LNK2
150	ILAEPIYIRV	55655	NLRP2
151	QLCDLNAEL	3833	KIFC1
152	SLWQDIPDV	128272	ARHGEF19
153	VLFLGKLLV	204962	SLC44A5
154	KMWEELPEVV	622	BDH1
155	GLLDNPELRV	26263	FBXO22
156	ALINDILGELVKL	85463	ZC3H12C

【0037】 此外，本發明一般還涉及根據本發明肽，其用於治療增殖性疾病，例如，急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽

管癌、腦癌、慢性淋巴細胞白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌和子宮癌。

【0038】 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:91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:31的組（見表1）並且其用於免疫治療頭頸鱗狀細胞癌、急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽管癌、腦癌、慢性淋巴細胞性白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌，優選頭頸鱗狀細胞癌。

【0039】 如示下面的表4A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。

表4A：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。該表顯示，對於其他腫瘤類型上的選定肽，發現他們過度提呈於5%以上測定的腫瘤樣本，或提呈於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。過度提呈定義為與最高提呈的正常樣本相比，腫瘤樣本中的提呈更高。經測試過度提呈的正常組織有：脂肪組織、腎上腺、膽管、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	GLAGGFGGPGFPV	膽囊癌、膽管癌
2	PVCPGGIQEV	NSCLC、SCLC
3	SLYGLGGSKRISI	食管癌、膀胱癌
4	ILDINDNPPV	BRCA、食管癌、膀胱癌
7	ALEEANADLEV	食管癌、膀胱癌
8	AQLNIGNVLPV	黑色素瘤、食管癌
9	STASAITPSV	黑色素瘤
10	TLWPATPPKA	膽囊癌、膽管癌
11	VLFSSPPVI	黑色素瘤
15	SMLNNIINL	膀胱癌
16	ALKDSVQRA	AML、BRCA、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌、子宮癌
17	SIWPALTQV	SCLC、AML、BRCA、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
18	YLYPDL SRL	腦癌
19	ALAKLLPLL	食管癌、膀胱癌、子宮癌
20	YLINEIDRIRA	NSCLC、膀胱癌
21	FLHEPFSSV	膀胱癌
23	SLPESGLLSV	食管癌
24	LLIAINPQV	AML、膀胱癌
27	YLAEPQWAV	食管癌、膀胱癌
29	RLLPDLDEV	AML
31	HLATVKLLV	膀胱癌、子宮癌
32	IQDAEGAIHEV	NHL、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌
37	ILLEDVFQL	膽囊癌、膽管癌
39	LLPEDDTRDNV	BRCA、食管癌、膀胱癌
41	RLNGEGVGQVNISV	食管癌
42	ALYTSGHLL	食管癌、膽囊癌、膽管癌
43	AVLGKKLYV	CLL、NHL、AML、黑色素瘤、子宮癌
45	GLIEWLENTV	SCLC、OC、膀胱癌
46	GLISSIEAQL	食管癌、膀胱癌、子宮癌
47	QLLEGELETL	膀胱癌、子宮癌
48	YLLDYPNNL	NHL、BRCA、黑色素瘤、食管癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
49	YLWEAHTNI	食管癌、子宮癌

序列 ID 號	序列	其他相關器官/疾病
50	ALSNVVHKV	GC、BRCA、食管癌、膀胱癌
51	FLIPSIIFA	膀胱癌、子宮癌
52	LLFTGLVSGV	食管癌
53	RLVEVGGDVQL	食管癌、膀胱癌
54	RLSGEGVGPV	食管癌
56	FLQLETEQV	BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、子宮癌
57	AILGFALSEA	AML、BRCA、黑色素瘤、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
58	SLSDIQPCL	腦癌、BRCA、食管癌、膀胱癌、子宮癌
59	YLQNEVFGL	SCLC、NHL
60	SLGNFKDDL	NHL、食管癌、膀胱癌
61	FVAGYIAGV	NSCLC、SCLC、RCC、腦癌、GC、CLL、NHL、食管癌、膽囊癌、膽管癌
62	ILSSACYTV	RCC、BRCA、食管癌
63	ALMDEINFMKM	NSCLC、SCLC、NHL
64	KILEJLFVJL	NSCLC、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
65	ALWGFFPVLL	CLL、黑色素瘤
66	TLLSEIAEL	CLL、NHL、AML、黑色素瘤、OC、子宮癌
67	AQLNLIWQL	SCLC、黑色素瘤、OC、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
69	YVMESMTYL	膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
70	FLFPAFLTA	AML、膽囊癌、膽管癌
71	SLFPYVCLI	黑色素瘤
72	SLDGNPLAV	食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
73	YIDPYKLLPL	CLL、NHL、AML、黑色素瘤
74	SLTSFLISL	膀胱癌
75	ALASAPTSV	BRCA、食管癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
76	ILFDEVLTFA	CLL、NHL、AML、BRCA、子宮癌、膽囊癌、膽管癌
77	SLRAFLMPI	AML
78	VLYGDVEEL	CLL、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
79	GLHQDFPSVVL	NHL、BRCA、子宮癌
81	VLAENPDIFAV	SCLC、MCC、黑色素瘤、膀胱癌
82	VLDINDNPPV	黑色素瘤
83	QLLQYVYNL	SCLC、NHL、AML、子宮癌
85	QLIEKITQV	SCLC、NHL、黑色素瘤、膀胱癌、膽囊癌、膽管癌
86	SLQERQVFL	NHL、膀胱癌
87	ALPEPSPAA	RCC、NHL、黑色素瘤、膽囊癌、膽管癌
88	LMAPAPSTV	腦癌、食管癌、膀胱癌
89	VLDEGLTSV	SCLC、RCC、CLL、NHL、BRCA、黑色素瘤、膀胱癌、子宮癌
90	TLNDGVVVQV	RCC、CLL、NHL、食管癌、膀胱癌、子宮癌
91	MLFENMGAYTV	SCLC、CLL、NHL、子宮癌

NSCLC = 非小細胞肺癌，SCLC = 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，白血病，BRCA = 乳腺癌，OC = 卵巢癌，MCC = 梅克爾細胞癌，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

表 4 B：本發明的肽及其在其他增殖性疾病（特別是其他癌症疾病）中的特定用途。該表顯示，對於其他腫瘤類型的選定肽，發現他們過量提呈（特定提呈）於 5 % 以上測定的腫瘤樣本，或提呈於 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。過度提呈定義為與最高提呈的正常樣本相比在腫瘤樣本上提呈更高。經測試相比過度提呈的正常組織有：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、血細胞、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、胸腺、甲狀腺、氣管、輸尿管、膀胱、靜脈。

序列 ID 號	序列	其他實體
2	PVCPGGIQEV	食管癌
6	ALYDAELSQM	食管癌
8	AQLNIGNVLPV	膀胱癌
9	STASAITPSV	食管癌
16	ALKDSVQRA	HCC
43	AVLGKLYV	RCC、GC、HCC
45	GLIEWLENTV	HCC
47	QLLEGELETL	OC
50	ALSNVVHKV	NSCLC

序列 ID 號	序列	其他實體
51	FLIPSIIFA	OC
56	FLQLETEQV	OC
57	AILGFALSEA	HCC
60	SLGNFKDDL	NSCLC
61	FVAGYIAGV	HCC
65	ALWGFFPVLL	HCC
66	TLLSEIAEL	HCC
73	YIDPYKLLPL	BRCA、膀胱癌
75	ALASAPTSV	HCC
88	LMAPAPSTV	黑色素瘤
89	VLDEGLTSV	GC

N S C L C = 非 小 細 胞 肺 癌 ， H C C = 肝 癌 ， B R C A = 乳 腺 癌 ，
R C C = 腎 細 胞 癌 ， G C = 胃 癌 ， O C = 卵 巢 癌 。

【0040】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID
No. 1、10、17、37、42、48、57、61、67、69、70、
72、75、76、78 和 87 中任一項所述的本發明的至少一種
肽在一種優選實施方案中聯合用於治療膽囊癌和 / 或膽管
癌。

【0041】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID
No. 2、20、50、60、61、63 和 64 中任一項所述的本發
明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療
N S C L C 。

【0042】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID
No. 2、17、45、59、61、63、67、81、83、85、89
和 91 中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施
方案中聯合用於治療 S C L C 。

【0043】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID
No. 2、3、4、6、7、8、9、16、19、23、27、32、

39、41、42、46、48、49、50、52、53、54、58、60、61、62、72、75、88和90中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療食管癌。

【0044】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 3、4、7、8、15、16、19、20、21、24、27、31、32、39、45、46、47、48、50、51、53、56、58、60、64、69、73、74、78、81、85、86、88、89和90中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療膀胱癌。

【0045】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 4、16、17、39、48、50、56、57、58、62、73、75、76、79和89中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療BRCA。

【0046】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 8、9、11、16、17、32、43、48、56、57、65、66、67、71、73、81、82、85、87、88和89中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療黑色素瘤。

【0047】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 16、17、24、29、43、57、66、70、73、76、77和83中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療AML。

【0048】 因此，本發明的另一個方面涉及根據 SEQ ID No. 16、17、19、31、43、46、47、48、49、51、

56、57、58、66、67、72、75、76、79、83、89、90和91中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療子宮癌。

【0049】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 18、58、61和88中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療腦癌。

【0050】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 32、43、48、59、60、61、63、66、73、76、79、83、85、86、87、89、90和91中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療NHL。

【0051】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 43、61、65、66、73、76、78、89、90和91中任一項所述的本發明的至少一種肽在一種優選實施方案中聯合用於治療CLL。

【0052】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 45、47、51、56、66和67中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療OC。

【0053】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 43、50、89和61中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療GC。

【0054】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 16、43、45、57、61、65、66和75中任一項所述

的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療HCC。

【0055】 因此，本發明的另一個方面涉及根據SEQ ID No. 43、61、62、87、89和90中任一項所述的本發明的至少一種肽在一項優選實施方案中聯合用於治療RCC。

【0056】 因此，本發明的另一方面涉及根據本發明肽的用途 - 優選聯合用於治療選自頭頸鱗狀細胞癌、急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽管癌、腦癌、慢性淋巴細胞性白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌組中的增殖性疾病。

【0057】 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。

【0058】 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:91的一個氨基酸序列組成。

【0059】 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。

【0060】 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。

【0061】 本發明進一步涉及一種編碼本發明肽的核酸。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。

【0062】 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。

【0063】 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。

【0064】 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。

【0065】 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TCR，以及製造這些TCR的方法和載有所述TCR或所述TCR交叉反應的NK細胞的製造方法。

【0066】 抗體和TCR是根據本發明的肽現有免疫治療用途的另外實施方案。

【0067】 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，其為抗原提呈細胞，優選為樹突細胞。

【0068】 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。

【0069】 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

於合適抗原提呈細胞或人工抗原呈遞細胞表面的I或II類MHC分子。

【0070】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中抗原提呈細胞由能表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91、優選為含SEQ ID NO: 1至SEQ ID No: 31所述肽的一個表達載體、或一個變體氨基酸序列組成。

【0071】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的啟動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。

【0072】 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。

【0073】 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啟動T淋巴細胞、T細胞受體或抗體或其他肽-和/或肽-MHC結合分子的用途。所述藥劑優選為具有抗癌活性。

【0074】 優選情況為，所述藥劑為基於可溶性TCR或抗體的細胞治療藥物、疫苗或蛋白質。

【0075】 本發明進一步涉及根據本發明肽的用途，其中所述癌細胞為頭頸鱗狀細胞癌、急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽管癌、腦癌、慢性淋巴細胞性白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴

瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌細胞，優選頭頸鱗狀細胞癌細胞。

【0076】 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，優選頭頸鱗狀細胞癌。所述標誌物可以肽本身過度提呈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TCR可用於染色腫瘤切片以檢測是否存在相關肽與MHC複合。

【0077】 或者，抗體具有進一步的效應子功能，如免疫刺激域或毒素。

【0078】 本發明還涉及癌症治療中本發明新靶點的用途。

【0079】 ALOX12B參與終末皮膚分化和表皮屏障功能(Furstenberger et al., 2007; Epp et al., 2007)。ALOX12B是癌症中擴增的免疫抑制因子(Rooney et al., 2015)。順鉑誘導且ATM磷酸化(p)- δ Np63 α 。隨後，它上調miR-185-5p，其下調let7-5p，導致在鱗狀細胞癌中ALOX12B表達調節(Ratovitski, 2013)。ALOX12B與乳腺癌和肺癌風險有關(Lee et al., 2009; Shen et al., 2009)。

【0080】 ANKRD17 mRNA水準在結直腸癌中廣泛下調，並使該蛋白成為用於結直腸癌檢測的多靶標測定組的潛在標誌物(Ioana et al., 2010)。通過細胞週期蛋白

E/Cdk2 磷酸化 ANKRD17，該蛋白參與細胞週期調控。過量表達促進進入S期，而表達耗竭抑制DNA複製、阻斷細胞週期進程並且上調腫瘤抑制基因p53和p21的表達(Deng et al., 2009)。

【0081】 ATP5G1 富含於胃癌的氧化磷酸化途徑(Song et al., 2016)。頭頸鱗狀細胞癌中ATP5G1表達降低(Koc et al., 2015)。肝臟再生增強因子(ALR)的敲減導致小鼠脂肪肝和肝細胞癌加速發展。此外，在ALR敲減小鼠中ATP5G1表達降低(Gandhi et al., 2015)。

【0082】 與低中級別腫瘤相比，ATP5G2在高級別膀胱癌腫瘤中甲基化程度更高(Kitchen et al., 2016)。RIZ1是一種腫瘤抑制因子，其耗竭導致ATP5G2表達的改變(Xie et al., 2016b)。TP5G2在雌激素和孕酮治療子宮內膜石川癌細胞系後高度表達(Tamm-Rosenstein et al., 2013)。ATP5G2啟動子在原發性腎細胞癌中甲基化(Morris et al., 2011)。

【0083】 ATP5G3 富含於胃癌的氧化磷酸化途徑(Song et al., 2016)。ATP5G3在PPAR α 啟動時上調，該啟動與腫瘤進展負相關、抑制細胞遷移(Huang and Chang, 2016)。ATP5G3可能是一種輻射敏感性基因(Tsuji et al., 2005)。

【0084】 BTBD11 編碼BTB結構域含11蛋白，並位於染色體12q23.3上(RefSeq, 2002)。BTBD11在乳頭狀甲狀腺癌中差異表達(Qu et al., 2016)。BTBD11是

TGF- β 靶基因 (Sawada et al., 2016)。BTBD11 在胃癌中突變 (Leiserson et al., 2015; Leiserson et al., 2016)。

【0085】 吸菸與非吸菸肺腺癌患者之間CD276的預後關係不同。CD276高表達與吸菸有關 (Inamura et al., 2017)。CD276在攝護腺癌中高甲基化 (Wang et al., 2016b)。CD276受miR-124調節，後者在骨肉瘤中下調。TGF- β 1通過SMAD3和4信號傳導上調miR-155，導致CEBPB抑制miR-143減弱，這導致CD276的積累。CD276受miR-187調節，後者在結直腸癌中下調 (Wang et al., 2016e; Trojandt et al., 2016; Zhou et al., 2016; Wang et al., 2016a)。CD276通過影響SREBP-1/FASN信號傳導介導肺癌異常脂質代謝。可溶性CD276通過TLR4/NF- κ B信號介導胰腺癌侵襲和轉移 (Xie et al., 2016a; Luo et al., 2016)。CD276是一種免疫檢查點，可能是癌症治療中有希望的靶點。其可在腫瘤生長期間被靶向作用，抑制抗腫瘤免疫性，從而使新出現的腫瘤出現免疫逃逸 (Leung and Suh, 2014; Swatler and Kozłowska, 2016; Janakiram et al., 2016)。CD276由大多數高危神經母細胞瘤表達，在腫瘤血管系統中過度表達，並在腫瘤生存和侵襲中起重要作用 (Bottino et al., 2014)。CD276敲減增加化學敏感性並降低轉移可能性。CD276敲減導致凋亡標誌物表達和STAT3磷酸化增加。黃芪甲苷靜脈內注射治療通過抑制非

小細胞肺癌細胞中的CD276從而降低細胞生長並增加對順鉑的化學敏感性(Nygren et al., 2011; He et al., 2016)。CD276在食管癌、乳腺癌、膽囊癌、攝護腺癌和卵巢癌中過度表達(Barach et al., 2011; Janakiram et al., 2012; Fauci et al., 2012; Chen et al., 2016; Liu et al., 2016)。CD276過度表達與不良生存、預後和腫瘤分級相關。CD276可促進癌症侵襲和進展。但是，CD276也可能具有抗腫瘤作用。CD276高表達是非小細胞肺癌中淋巴結轉移和晚期TNM分期的一項指標(Yi and Chen, 2009; Loos et al., 2010; Nygren et al., 2011; Fauci et al., 2012; Wang et al., 2014a; Ye et al., 2016; Benzoni et al., 2016; Wu et al., 2016)。CD276下調自然殺傷細胞的細胞毒性，支援癌症免疫逃逸(Bottino et al., 2014)。

【0086】 CDH23編碼鈣黏蛋白相關23蛋白，其是鈣黏素超家族的成員，其基因編碼鈣依賴性細胞黏附糖蛋白。編碼的蛋白質被認為參與了毛細管結構和毛束形成。該基因位於包含人耳聾基因座DFNB12和USH1D的區域中。Usher徵候群1D和非徵候群常染色體遺傳性耳聾DFNB12由該鈣黏蛋白樣基因的等位基因突變引起。該基因的上調也可能與乳腺癌相關(RefSeq, 2002)。TMPRSS3是乳腺癌不良預後因子，可與CDH23相互作用(Rui et al., 2015)。CDH23在ER α 表達乳腺癌細胞中的瘦蛋白處理後上調(Binai et al., 2013)。CDH23在

乳腺癌中上調，可能參與早期轉移 (Apostolopoulou and Ligon, 2012)。在胰腺癌細胞系中可觀察到CDH23缺失 (Suzuki et al., 2008)。

【0087】 CDH3參與致癌信號傳導並啟動整合素、受體酪氨酸激酶、小分子GTP酶、EMT轉錄因子和其他鈣黏蛋白家族成員。CDH3信號傳導誘導侵襲和轉移 (Albergaria et al., 2011; Paredes et al., 2012; Bryan, 2015; Vieira and Paredes, 2015)。CDH3的致癌活化參與胃癌發生 (Resende et al., 2011)。CDH3過度表達促進乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌、攝護腺癌、子宮內膜癌、皮膚癌、胃癌、胰腺癌和結腸癌 (Albergaria et al., 2011; Paredes et al., 2007; Bryan and Tselepis, 2010; Reyes et al., 2013; Vieira and Paredes, 2015)。CDH3是在基底樣乳腺癌中表達的基底上皮標誌物。BRCA1癌的特徵在於基底標誌物如CDH3的表達，並顯示出高級別、高度增殖、ER陰性和HER3陰性表型 (Honrado et al., 2006; Palacios et al., 2008; Rastelli et al., 2010; Dewar et al., 2011)。CDH3是黑色素瘤和口腔鱗狀細胞癌中的腫瘤抑制因子 (Haass et al., 2005; Vieira and Paredes, 2015)。CDH3可用作EMT標誌物。在腫瘤形成和進展過程中，E-鈣黏蛋白轉化為N-鈣黏蛋白和CDH3表達 (Piura et al., 2005; Bonitsis et al., 2006; Bryan and Tselepis, 2010; Ribeiro and Paredes, 2014)。CDH3和 β -連環蛋白

之間的競爭性相互作用導致胃癌中細胞間相互作用和轉移受損(Moskvina and Mal'kov, 2010)。CDH3可能是結腸癌中癌症形成的早期標誌物(Alrawi et al., 2006)。CDH3的失調節是預後不良和惡化程度增加的標誌物(Knudsen and Wheelock, 2005)。

【0088】 CLCA2過度表達下調 β -連環蛋白和 β -連環蛋白啟動基因(Ramena et al., 2016)。CLCA2與EVA1強烈相互作用，EVA1也可被p53和p63誘導、通常在引起EMT的乳腺癌中下調，並且對上皮分化非常重要。兩種蛋白質與E-鈣黏蛋白相互作用(Ramena et al., 2016)。成年急性骨髓性白血病中存在AML1-CLCA2和RUNX1-CLCA2基因融合產物(Giguere and Hebert, 2010; Jiang et al., 2013)。DNA損傷後，CLCA2可被p73、p53和p63誘導，並充當增殖的抑制劑(Walia et al., 2009; Sasaki et al., 2012; Yu et al., 2013; Ramena et al., 2016)。CLCA2表達在肺腺癌患者的迴圈腫瘤細胞中升高，檢測量增加與患者生存期縮短有關(Hayes et al., 2006; Man et al., 2014)。與腺癌相比，CLCA2在肺鱗狀細胞癌中表達較高，與組織學腫瘤分級相關。CLCA2表達可用於檢測非小細胞肺癌和小細胞肺癌(Hayes et al., 2006; Shinmura et al., 2014)。CLCA2敲減導致上皮細胞間質轉化、癌細胞遷移和侵襲。在正常條件下，CLCA2被認為可通過抑制FAK信號通路來抑制遷移和侵襲。CLCA2介導與 $\beta(4)$ 整合素相關的肺

轉移 (Abdel-Ghany et al., 2001; Walia et al., 2012; Sasaki et al., 2012; Ramena et al., 2016)。CLCA2 由於啟動子高甲基化而在乳腺癌中下調，在結直腸癌中下調。CLCA2 在膀胱癌和黑色素瘤轉移癌轉移期間差異表達。在套細胞淋巴瘤中存在 CLCA2 拷貝數損失 (Gruber and Pauli, 1999; Bustin et al., 2001; Li et al., 2004; Balakrishnan et al., 2006; Riker et al., 2008; Walia et al., 2012; Martin et al., 2014; Ramena et al., 2016)。

【0089】 DSG1 在角化囊性牙源性腫瘤中過度表達，並且在口腔上皮內腫瘤中表達率高 (Aizawa et al., 2014; Heikinheimo et al., 2015)。DSG1 表達在棘層松解性鱗狀細胞癌中丟失，在軟骨肉瘤、口腔鱗狀細胞癌和肺癌中表達下降 (Xin et al., 2014; Saaber et al., 2015; Galoian et al., 2015; Jurcic et al., 2015)。DSG1 表達受 GRHL1 調控，並且用標準化學皮膚癌方案治療的 GRHL1 陰性小鼠發生較少的乳頭狀瘤，但發生更多的鱗狀細胞癌 (Mlacki et al., 2014)。DSG1 是 Rhoda 和 GEF Bcr 的下游靶標，是一種角質細胞分化標誌物 (Dubash et al., 2013)。KLK5 裂解可能與口腔鱗狀細胞癌轉移灶形成有關的 DSG1。DSG1 水準降低可能與胰腺癌侵襲有關 (Ramani et al., 2008; Jiang et al., 2011)。DSG1 染色陰性與肛門癌特異性存活改善有關，陽性染色與腫瘤體積大和淋巴結轉移相關。DSG1 的損失

與頭頸鱗狀細胞癌的預後不良有關(Wong et al., 2008; Myklebust et al., 2012)。對抗DSG1的自身抗體可以在副腫瘤性天皰瘡中檢測到(Seishima et al., 2004)。

【0090】 食管鱗狀細胞癌中DSG3表達被證明與組織學分級高度相關，對食管鱗狀細胞癌的生存期有影響，DSG3表達陰性表示生存較差。因此，DSG3可能參與食管鱗狀細胞癌的進展，並可作為一種預後標誌物(Fang et al., 2014)。在原發性肺腫瘤中，DSG3和DSG2較高表達顯示與鱗狀細胞肺癌的診斷相關，而DSG3的較低表達顯示與腫瘤級別較高顯著相關。因此，DSG3可作為鱗狀細胞肺癌的潛在診斷標誌物和肺癌的潛在分化標誌物(Saab er et al., 2015)。DSG3被描述為是一種在切除胰腺導管腺癌中的陰性預後生物標誌物，因為DSG3高表達與總體生存率差和腫瘤特異性生存率差相關。因此，DSG3及其下游信號通路可能是表達DSG3的胰腺導管腺癌中可能的治療靶點(Ormanns et al., 2015)。

【0091】 DSP表達下降與幾種癌症（包括乳腺癌、肺癌和宮頸癌）的腫瘤進展相關(Schmitt-Graeff et al., 2007; Davies et al., 1999; Yang et al., 2012b)。DSP的表達通過抑制Wnt/ β -連環蛋白信號通路而顯著抑制肺癌細胞的細胞增殖、錨定非依賴性生長、遷移和侵襲(Yang et al., 2012b)。

【0092】 DST可能與乳腺癌轉移有關(Sun et al., 2006)。針對DST的自身抗體可在淋巴細胞性白血病和瀉

泡性淋巴瘤中發現到 (Aisa et al., 2005; Taintor et al., 2007)。在鼻咽癌中，DST 在 5-8F 細胞（高致瘤和轉移能力）中相較於 6-10B 細胞（具備致瘤能力但無轉移能力）上調 (Fang et al., 2005)。DST 在頭頸鱗狀細胞癌中高表達 (Lin et al., 2004)。在副腫瘤性天皰瘡中存在針對 DST 的自身抗體，這與腫瘤相關 (Yong and Tey, 2013; Wang et al., 2005; Preisz and Karpati, 2007; Zhu and Zhang, 2007)。攝護腺癌中的 DST 表達與疾病進展呈強烈逆相關 (Vanaja et al., 2003)。抗 DST 自身抗體是黑色素瘤診斷的一個有前景的標誌物 (Shimbo et al., 2010)。DST 可發現於惡病質癌症患者的尿液 (Skipworth et al., 2010)。DST 在肺腺癌和鱗狀細胞癌中差異表達 (McDoniels-Silvers et al., 2002)。DST 明顯上調，伴隨浸潤性細胞生長 (Herold-Mende et al., 2001)。

【0093】 EMC7 編碼 ER 膜蛋白複合物亞基 7，位於染色體 15q14 上 (RefSeq, 2002)。EMC7 可能是癌症中新型的藥物靶標和診斷生物標誌物 (Delgado et al., 2014)。在平陽黴素抑制舌鱗狀細胞癌細胞系中，EMC7 下調 (Zheng et al., 2010)。

【0094】 ESRP2 編碼上皮細胞型特異性剪接調節因子 (RefSeq, 2002)。ESRP2 抑制不同癌症類型（包括肺癌和乳腺癌細胞）的癌細胞運動。ESRP2 在侵襲性前緣被 TGF- β 下調，導致上皮-間質轉化相關轉錄因子的表達增加

(Gemmill et al., 2011; Horiguchi et al., 2012; Ishii et al., 2014)。

【0095】 F2RL1的PH結構域結合基序中的突變足以降低乳腺腫瘤生長(Bar-Shavit et al., 2016)。F2RL1在胃癌中過度表達，與患者的總體生存率呈負相關(Sedda et al., 2014)。胰蛋白酶是由肥大細胞釋放的血管生成的介質，其活化F2RL1，導致癌細胞增殖、侵襲和轉移(Marech et al., 2014; Ammendola et al., 2014)。F2RL1受癌症中差異表達和突變的基因影響(D'Asti et al., 2014)。F2RL1參與癌症進展、侵襲和轉移(Wojtukiewicz et al., 2015; Canto et al., 2012; Lima and Monteiro, 2013; Gieseler et al., 2013)。F2RL1在腺癌、黑色素瘤、骨肉瘤、成膠質細胞瘤、腦膜瘤、白血病和鱗狀細胞癌中表達(Elste and Petersen, 2010)。F2RL1調節作為TGF- β 1型受體ALK5的表達。F2RL1啟動MAP激酶(Oikonomopoulou et al., 2010; Witte et al., 2016)。組織因子和整合素的上調介導促進轉移的F2RL1信號傳導(Kasthuri et al., 2009; Ruf et al., 2011; Kocaturk and Versteeg, 2012; Ruf, 2012; Kocaturk and Versteeg, 2013)。胰蛋白酶和PAR2形成促進增殖、侵襲和轉移的自分泌環。胰蛋白酶刺激可能通過表皮生長因子受體的MMP-和PAR2-依賴性啟動導致MAPK-ERK通路啟動(Soreide et al., 2006)。

【0096】 FAM160A1 編碼具有序列相似性160成員A1的家族，並且位於染色體4q31.3上(RefSeq, 2002)。DAM131與攝護腺癌雌激素相關受體 β 結合後，FAM160A1表達發生改變(Lu et al., 2015b)。攝護腺癌中存在NF κ B-FAM160A1基因融合產物(Teles, I et al., 2015)。與良性腫瘤相比，FAM160A1在卵巢癌中上調(Li et al., 2012a)。FAM160A1缺失可在家族性和早期發病的乳腺癌中發現(Krepischi et al., 2012)。FAM160A1在結直腸癌中下調(Li et al., 2012b)。

【0097】 FANCE與食管鱗狀細胞癌風險相關(Li et al., 2013)。罕見的FANCE下調可在頭頸鱗狀細胞癌中觀察到(Wreesmann et al., 2007)。Chk1介導了DNA交聯後的FANCE的磷酸化(Wang et al., 2007)。家族性結直腸癌顯示雜合基因型FANCE。范康尼氏貧血症DNA損傷修復可能與結直腸癌的遺傳性體質有關。得失位突變可能參與遺傳性食管鱗狀細胞癌。在一個乳腺癌家族中發現了FANCE的錯義變體(Akbari et al., 2011; Seal et al., 2003; Esteban-Jurado et al., 2016)。FANCE參與順鉑敏感性的調節(Taniguchi et al., 2003)。

【0098】 FAT1被描述為在頭頸鱗狀細胞癌中明顯突變，在宮頸腺癌、膀胱癌、早期T細胞前體急性淋巴細胞白血病、氟達拉濱難治慢性淋巴細胞性白血病、膠質母細胞瘤和結直腸癌中頻繁突變，在食管鱗狀細胞癌中突變(Gao et

al., 2014; Neumann et al., 2013; Morris et al., 2013; Messina et al., 2014; Mountzios et al., 2014; Cazier et al., 2014; Chung et al., 2015)。FAT1被描述為在口腔癌中被壓抑，在浸潤性乳腺癌中優先下調(Katoh, 2012)。FAT1被描述為在白血病中上調，其與前B急性淋巴細胞白血病的不良預後相關(Katoh, 2012)。FAT1被證明在胰腺癌和肝細胞癌中上調(Valletta et al., 2014; Wojtalewicz et al., 2014)。FAT1被描述可通過河馬信號傳導的啟動來抑制腫瘤生長，並通過肌動蛋白聚合誘導來促進腫瘤轉移(Katoh, 2012)。FAT1被證明是皮膚鱗狀細胞癌的一種候選癌症驅動基因(Pickering et al., 2014)。FAT1被描述為與Wnt信號傳導和腫瘤發生相關的一種腫瘤抑制因子(Morris et al., 2013)。

【0099】 FAT3顯示，當雄激素受體沉寂後，在紫杉醇耐藥卵巢癌細胞系中下調，導致在這些細胞系中對紫杉醇敏感增加。因此，FAT3可能是與紫杉醇抗性相關的候選基因(Sun et al., 2015b)。FAT3被證明在食管鱗狀細胞癌中突變，導致河馬信號傳導途徑的失調(Gao et al., 2014)。FAT3被證明在早期T細胞前體急性淋巴細胞白血病中週期性突變(Neumann et al., 2013)。FAT3被描述為一種具有腦膜瘤特定特徵的基因，因此，與這種亞型的良性腦膜瘤發生有關(Fevre-Montange et al., 2009)。FAT3被描述為一種腫瘤抑制因子，對發育

不良細胞的肺癌發展有抑制作用 (Rohrbeck and Borlak, 2009)。

【0100】 FHAD1 在參與氧化應激反應的 NFE2 敲減後下調 (Williams et al., 2016)。FHAD1 的 CpG 甲基化可用作轉移性致死性攝護腺癌的生物標誌物 (Zhao et al., 2017)。FHAD1 在食管鱗狀細胞癌中下調，並可能有助於促進順鉑化學耐藥 (Tsutsui et al., 2015)。FHAD1 可能是乳腺癌的腫瘤抑制基因 (Iorns et al., 2012)。

【0101】 G3BP1 編碼 G3BP 應激顆粒裝配因子 1，其是 DNA 解鏈酶之一，其優選部分解鏈的 3' 末端底物，並且還可以以 ATP 依賴方式解鏈部分 RNA/DNA 和 RNA/RNA 雙鏈體 (RefSeq, 2002)。G3BP1 可用作 HER2+ 乳腺癌藥物反應的生物標誌物 (Chien et al., 2016)。miR-193a-3p，其在體外和體內抑制肺癌的進展和轉移，下調 G3BP1 (Deng et al., 2015)。G3BP1 是白藜蘆醇的直接靶標。G3BP1 的耗竭減少白藜蘆醇誘導的 p53 表達和細胞凋亡。G3BP1 是通過與 USP10 (p53 特異性去泛素化酶) 相互作用的 p53 負調節因子 (Oi et al., 2015)。G3BP1 由 MYCNOS 募集到 MYCN 的啟動子區域以調節其表達。G3BP1 負調節 PMP22 以增加乳腺癌的增殖 (Winslow et al., 2013; Vadie et al., 2015)。G3BP1 可能是由癌症識別肽和促凋亡肽組成的雙功能肽的靶點 (Meschenmoser et al., 2013)。晚期口腔鱗狀細胞癌對 G3BP1 敲減敏感，導致凋亡增加 (Xu et al.,

2013)。G3BP1在乳腺癌、口腔鱗狀細胞癌、結腸癌、胰腺癌、肝細胞癌和胃癌中上調，並與患者預後、腫瘤大小、血管浸潤、T分類、淋巴結轉移、TNM分期及總體生存率降低有關(Lo et al., 2012; Winslow et al., 2013; Min et al., 2015; Dou et al., 2016)。Y-盒結合蛋白1與G3BP1 mRNA的5'UTR結合以調節G3BP1應激顆粒成核劑應用於顆粒組裝的可用性。YB-1或G3BP1的下調導致應激顆粒形成和腫瘤侵襲下降(Ward et al., 2011; Annibaldi et al., 2011; Somasekharan et al., 2015)。G3BP1控制H⁺-ATP酶的活性和β-F1-ATP酶mRNA的翻譯(Willers and Cuezva, 2011)。G3BP1與電離輻射前後的早幼粒細胞白血病核體共定位(Liu et al., 2010)。表沒食子兒茶素沒食子酸酯是綠茶的主要化合物，通過與G3BP1結合抑制肺部腫瘤發生。G3BP1表達受洛伐他汀影響(Klawitter et al., 2010; Shim et al., 2010)。G3BP1通過上調Slug參與癌細胞生長、凋亡、運動、遷移、侵襲和轉移。G3BP1的敲減可降低Slug表達，增加上皮標誌物E-鈣黏蛋白。乳腺癌中G3BP1的上調通過Smad信號通路啟動上皮-間質轉化。G3BP1參與Ras和NF-κB信號傳導、泛素蛋白酶體途徑和RNA加工(French et al., 2002; Zhang et al., 2015; Dou et al., 2016)。G3BP1強迫表達促進肝細胞癌細胞遷移(Dou et al., 2016)。

【0102】 G A R 1 能 啟 動 p 5 3 (Z h a n g e t a l . , 2 0 1 2) 。 G A R 1 參 與 端 粒 酶 複 合 物 (Z h u e t a l . , 2 0 0 4 ; R a s h i d e t a l . , 2 0 0 6 ; T o m l i n s o n e t a l . , 2 0 0 8 ; P i g u l l o e t a l . , 2 0 0 9 ; L o w a n d T e r g a o n k a r , 2 0 1 3 ; H e i d e n r e i c h e t a l . , 2 0 1 4) 。 G A R 1 對 細 胞 活 力 很 重 要 (L u b b e n e t a l . , 1 9 9 5) 。

【0103】 I T G B 4 與 攝 護 腺 癌 、 胃 癌 、 乳 腺 癌 、 口 腔 鱗 狀 細 胞 癌 和 卵 巢 癌 相 關 ， 並 且 被 證 明 在 胰 腺 導 管 腺 癌 中 上 調 (C h e n e t a l . , 2 0 1 4 ; X i n e t a l . , 2 0 1 4 ; Z u b o r e t a l . , 2 0 1 5 ; M a s u g i e t a l . , 2 0 1 5 ; G a o e t a l . , 2 0 1 5 ; K a w a k a m i e t a l . , 2 0 1 5) 。 I T G B 4 (也 稱 為 C D 1 0 4) 往 往 與 $\alpha 6$ 亞 基 關 聯 ， 並 可 能 在 幾 種 浸 潤 性 癌 症 的 生 物 學 中 發 揮 重 要 作 用 ， 如 食 管 鱗 狀 細 胞 癌 、 膀 胱 癌 和 卵 巢 癌 (K w o n e t a l . , 2 0 1 3 ; P e r e i r a e t a l . , 2 0 1 4 ; C h e n e t a l . , 2 0 1 4) 。 I T G B 4 單 核 苷 酸 多 態 性 似 乎 影 響 腫 瘤 的 侵 襲 性 和 存 活 ， 並 可 能 對 乳 腺 癌 患 者 具 有 預 後 價 值 (B r e n d l e e t a l . , 2 0 0 8) 。

【0104】 K D M 5 B 編 碼 蛋 白 J A R I D 1 B ， 這 是 一 種 賴 氨 酸 特 異 性 組 蛋 白 去 甲 基 化 酶 ， 其 能 夠 通 過 使 組 蛋 白 H 3 的 賴 氨 酸 4 去 甲 基 化 來 抑 制 某 些 腫 瘤 抑 制 基 因 (R e f S e q , 2 0 0 2) 。 作 為 表 觀 遺 傳 因 子 ， K D M 5 B 通 過 抑 制 p 5 3 表 達 為 人 O S C C 、 頭 頸 鱗 狀 細 胞 癌 (H N S C C) 、 乳 腺 癌 和 肺 癌 的 增 殖 、 遷 移 和 侵 襲 提 供 支 援 (S h e n e t a l . , 2 0 1 5 ; T a n g e t a l . , 2 0 1 5 a ; Z h a o a n d L i u , 2 0 1 5 ; L i n e t a l . , 2 0 1 5) 。

另外，稱為 J A R I D 1 B 的 K D M 5 B 通過 P T E N / A K T 信號轉導在各種腫瘤類型中促進轉移上皮-間質轉化 (T a n g e t a l., 2015a)。

【0105】 K L H L 2 1 在肝細胞癌中上調，可用作生物臨床標誌物 (S h i e t a l., 2016)。K L H L 2 1 是 I K K β 的負調節因子。K L H L 2 1 表達在促炎症刺激後在巨噬細胞中下調。K L H L 2 1 過度表達抑制 I K K β 啟動和 I κ B α 降解 (M e i e t a l., 2016)。K L H L 2 1 被異常基因融合轉錄因子 A S P S C R 1 - T F E 3 過度表達，A S P S C R 1 - T F E 3 在兩個不同的實體：肺泡軟組織肉瘤和腎細胞癌中發現 (K o b o s e t a l., 2013)。K L H L 2 1 可能參與癌症發生 (M a r t i n e z e t a l., 2010)。K L H L 2 1 是細胞分裂所必需的，並且調節染色體乘客複合體在細胞分裂後期從染色體轉移到主軸中區。它與基於 C u l l i n 3 的 E 3 泛素連接酶相互作用，並直接與 A u r o r a B 結合，導致其泛素化 (M a e r k i e t a l., 2009)。K L H L 2 1 通過靶向作用於 I K K β 來負調節 T N F α 啟動的 N F - κ B 信號傳導 (M e i e t a l., 2016)。

【0106】 K L K 6 編碼激肽釋放酶相關肽酶 6，其是肽酶 S 1 家族絲氨酸蛋白酶的激肽釋放酶亞族的成員。越來越多的證據表明，許多激肽釋放酶涉及致癌作用，一些有可能成為癌症和其他疾病的新型生物標誌物。這種蛋白酶的表達受類固醇激素調節，並且可能在多種人類癌症和來自銀屑病患者的血清中升高。編碼的蛋白酶可能參與澱粉樣蛋白前體蛋白和 α -突觸核蛋白的裂解，從而分別將這種蛋白酶

牽涉到阿爾茨海默氏症和帕金森病中。該基因位於染色體 19 上的基因簇 (RefSeq, 2002)。KLK6 可被 p53 誘導，其表達增加胃癌的自噬作用和耐藥性 (Kim et al., 2016)。KLK6 下調與 GNA13 表達增加有關，其與良性乳腺腫瘤的侵襲性相關 (Teo et al., 2016)。KLK6 能夠上調和下調幾種可能影響細胞週期、MYC、MAPK 和其他信號通路的 miRNA (Sidiropoulos et al., 2016)。KLK6 屬於與轉移性結直腸癌中帕尼單抗耐藥相關的狀況 (Barry et al., 2016)。KLK6 與脊髓損傷、腫瘤細胞轉移和 α 突觸核蛋白聚集疾病 (如帕金森病) 後發生的軸突生長調節相關 (Xi et al., 2015)。KLK6 在高侵襲性 PC3 攝護腺癌和卵巢癌中過度表達，在宮頸癌前期病變中失調節 (Tamir et al., 2014; Hwang and Lindholm, 2015)。KLK6 可用作多種實體 (包括肝細胞癌、乳腺癌、結腸癌、胃腸癌和星形細胞瘤) 的生物標誌物 (Vakrakou et al., 2014; Yu et al., 2015b; Grin et al., 2015; Schrader et al., 2015; Drucker et al., 2015; Mange et al., 2016)。KLK6 與晚期漿液性卵巢癌的總生存率相關，其表達可能與其他臨床參數相關 (Kolin et al., 2014; Dorn et al., 2015; Yang et al., 2016a; Leung et al., 2016; Ahmed et al., 2016)。

【0107】 CD34 在頭頸鱗狀細胞癌中的表達與細胞週期進程相關，其敲減上調 KRT1 表達 (Ettl et al., 2016)。在桔梗皂苷 D 治療後，KRT1 在 HepG2 細胞中下調 (Lu et

al., 2015a)。來自鮑溫病淺表侵襲性癌的透明細胞灶的免疫組織化學染色檢測顯示KRT1陰性(Misago et al., 2016)。miR-944通過上調p53和削弱ERK信號傳導誘導KRT1表達(Kim et al., 2015)。KRT1表達在早期和晚期鱗狀細胞癌中上調(Tang et al., 2015b)。核降解下調KRT1表達(Naeem et al., 2015)。KRT1表達可能是分化狀態的標誌物。其可與NMP-52和AFP表達一起用於檢測肝細胞癌(Attallah et al., 2015; Bruna et al., 2017)。KRT1在二十二碳六烯酸治療後上調，已知其可降低乳腺癌侵襲(Blanckaert et al., 2015)。來自甲細胞癌的增殖嗜鹼性細胞未能表達KRT1(Wang et al., 2015a)。KRT1的上調與Notch1受體刺激間接相關(Vliet-Gregg et al., 2015)。S100A7下調KRT1(Li et al., 2015)。KRT1的表達與口腔鱗狀細胞癌中p21和hsp70的表達有關。KRT1缺失與Klf4缺乏相關，Klf4是抑制細胞增殖並促進分化的轉錄因子(Paparella et al., 2015; Frohwitter et al., 2016)。

【0108】 KRT13編碼作為角蛋白基因家族成員的角蛋白13。維他命D改變KRT13表達(Narayanan, 2006)。CK13的免疫染色在黏液表皮樣癌的表皮樣組分中呈陽性，在管狀腺瘤和下頷腺產生的溶瘤癌中呈陰性(Muramatsu et al., 2003; Matsuzaka et al., 2004; do Prado et al., 2007)。α6β4整合素的異常表達上調KRT13，這是皮膚鱗狀細胞癌發展的早期事件

(Tennenbaum et al., 1996)。KRT13可用作宮頸上皮內瘤變的生物標誌物。KRT13損失是腫瘤分級和轉移性尿路上皮細胞癌分期的標誌物。KRT13表達是皮膚癌進展的標誌物(Slaga et al., 1995; Southgate et al., 1999; Duggan, 2002; Baak et al., 2006)。KRT13表達在口腔癌幹細胞和口腔鱗狀細胞癌中下調(Morgan and Su, 1994; Sinha et al., 2013)。

【0109】 KRT14在各種鱗狀細胞癌(如食管癌、肺癌、喉癌、宮頸癌)以及腺瘤牙源性腫瘤中高度表達。但是,在膀胱小細胞癌中不存在,在肺腺癌、胃腺癌、結直腸腺癌、肝細胞癌、胰腺導管腺癌、乳腺浸潤性導管癌、甲狀腺乳頭狀癌和子宮內膜樣腺癌中較弱(Xue et al., 2010; Terada, 2012; Vasca et al., 2014; Hammam et al., 2014; Shruthi et al., 2014)。在膀胱癌中,KRT14表達與較差生存期強烈相關(Volkmer et al., 2012)。

【0110】 MCF-7乳腺癌細胞長時間暴露於乙醇會上調KRT15,這是一種惡性腫瘤相關基因(Gelfand et al., 2017)。具有侵襲性生長的基底細胞癌顯示KRT15陰性表達(Ziari et al., 2015)。KRT15可用於區分螺旋腺瘤和圓柱瘤(Sellheyer, 2015)。KRT15在膀胱癌發生中依次上調(Chuang et al., 2014)。在皮膚癌中下調的SIRT2抑制作為上皮幹細胞標誌物的KRT15表達(Wang et al., 2014b)。KRT15是一種毛囊幹細胞標誌物

(Bongiovanni et al., 2014; Koba et al., 2015; Narisawa et al., 2015)。與良性眼表面鱗狀腫瘤相比，KRT15是在惡性腫瘤中更強烈地表達的一種未分化基底細胞標誌物(Nagata et al., 2014)。球形體選定的表皮鱗狀細胞癌具有豐富的KRT15表達(Adhikary et al., 2013)。KRT15在尿路上皮癌中上調(Tai et al., 2013)。與頭頸部腫瘤相關的光化性角化病的KRT15染色在7%的病例中和36%的腺樣囊性癌中呈陽性。與硬皮病形式基底細胞癌和微囊性附件癌相比，結締組織增生性毛髮上皮瘤的染色較高(Sabeti et al., 2013; Evangelista and North, 2015; North et al., 2015; Solus et al., 2016)。KRT15上調影響非小細胞肺癌的總生存期，可用作NSCLC鑒別診斷的標誌物(Gomez-Morales et al., 2013; Boyero et al., 2013)。KRT15受p53和ER調節(Lion et al., 2013)。

【0111】 KRT16過度表達發現於基底樣乳腺癌細胞系以及原位癌中。其他人未發現非復發性成釉細胞瘤和復發性成釉細胞瘤之間KRT16免疫組化表達的顯著差異(Joosse et al., 2012; Ida-Yonemochi et al., 2012; Safadi et al., 2016)。此外，矽片分析表明了轉移性乳腺癌中KRT16表達與較短無復發生存之間相關(Joosse et al., 2012)。

【0112】 KRT5被證明年輕女性的乳腺癌中上調(Johnson et al., 2015)。KRT5被證明與年輕女性乳

腺癌的較差無病生存以及激素受體陽性乳腺癌絕經前患者的臨床結果相關 (Johnson et al., 2015; Sato et al., 2014)。KRT5 被證明通過乳腺癌細胞系 HCC1937 和 T47D 中的腫瘤抑制因子 BRCA1 調節 (Gorski et al., 2010)。KRT5 被證明在惡性胸膜間皮瘤中失調 (Melaiu et al., 2015)。KRT5 被描述為惡性間皮瘤的診斷性間皮標誌物 (Arif and Husain, 2015)。KRT5 被證明與子宮內膜癌進展有關 (Zhao et al., 2013)。KRT5 被證明在疣狀癌患者的浸潤性腫瘤區域下調 (Schumann et al., 2012)。KRT5 被證明屬於四個蛋白質系列的一部分，與正常組織樣本相比，其在結直腸癌活檢物中差異表達 (Yang et al., 2012a)。KRT5 和四個蛋白系列的其他三個蛋白被描述為新型標誌物以及結直腸癌治療的潛在標靶 (Yang et al., 2012a)。KRT5 被描述為與基底細胞癌有關 (Depianto et al., 2010)。KRT5 被描述為確定尿路上皮癌幹細胞的候選基因 (Hatina and Schulz, 2012)。

【0113】 KRT6A 被描述為七基因特徵的一部分，可以用作預後模型來預測手術後接受輔助化療的三陰性乳腺癌患者的遠期無復發生存 (Park et al., 2015b)。KRT6A 被證明在瘤牛角癌中和胃癌中上調 (El-Rifai et al., 2002; Koringa et al., 2013)。KRT6A 顯示在兩例具有外骨骼黏液樣軟骨肉瘤形態學和免疫組織化學特徵的外陰肉瘤中下調 (Dotlic et al., 2014)。KRT6A 表達顯示在口

腔鱗狀細胞癌中改變 (Chanthammachat et al., 2013)。KRT6A顯示與傷口修復期間原癌基因Src激酶活性的負調節和皮膚角質形成細胞的遷移潛能有關。這在癌症等相關背景下可能很重要 (Rotty and Coulombe, 2012)。KRT6A顯示標記可產生類似于人類正常樣乳腺癌的獨特乳腺腫瘤模型的乳腺雙電位祖細胞 (Bu et al., 2011)。KRT6A被描述為25基因轉錄網路特徵的重要組成部分，可用於區分肺腺癌和鱗狀細胞癌 (Chang et al., 2011)。

【0114】 KRT6B被證明是在食管癌細胞系KYSE170中下調基因的候選物 (Kan et al., 2006)。KRT6B被證明在腎細胞癌、散發性牙源性角化囊性瘤和瘤牛角癌中上調 (Koringa et al., 2013; Hu et al., 2015; Heikinheimo et al., 2007)。KRT6B功能喪失顯示抑制notch1的表達，並誘導體外腎細胞癌細胞死亡。因此，KRT6B與notch1的相互作用被描述為促進腎細胞癌進展 (Hu et al., 2015)。KRT6B被描述為基底樣乳腺癌相關細胞角蛋白，其表達在細胞系HCC1187和HCC70中基底樣樣腫瘤相關GABRP表達降低後減少 (Sizemore et al., 2014)。ERK1/2選擇性抑制還被證明可導致基底樣細胞角蛋白（如KRT6B）的表達降低，並且在基底樣乳腺癌中遷移降低 (Sizemore et al., 2014)。因此，GABRP-ERK1/2-細胞角蛋白軸參與維持基底樣乳腺癌的遷移表型 (Sizemore et al., 2014)。KRT6B顯示與

傷口修復期間原癌基因 Src 激酶活性的負調節和皮膚角質形成細胞的遷移潛能有關。這在癌症等相關背景下可能很重要 (Rotty and Coulombe, 2012)。KRT6B 被描述為 25 基因轉錄網路特徵的重要組成部分，可用於區分肺腺癌和鱗狀細胞癌 (Chang et al., 2011)。KRT6B 被證明在苯並(a)芘誘導人永生化口腔上皮細胞的腫瘤發生期間差異性表達 (Li et al., 2008)。

【0115】 KRT6C 被描述為 25 基因轉錄網路特徵的重要組成部分，可用於區分肺腺癌和鱗狀細胞癌 (Chang et al., 2011)。

【0116】 KRT75 編碼角蛋白 75，其是染色體 12 長臂上聚集的 II 型角蛋白家族的成員。編碼的蛋白質在頭髮和指甲形成中起重要作用。該基因的變異與假性毛囊炎 (PFB) 和毛髮鬆動徵候群 (LAHS) 等毛髮疾病有關 (RefSeq, 2002)。與親本細胞系相比，KRT75 在體內傳代和再衍生的攝護腺細胞系中下調 (Sivanathan et al., 2014)。KRT75 在甲母質瘤中表達，可能表明對甲床和甲峽有分化作用 (Perrin et al., 2011)。KRT75 在 21T 乳腺細胞中下調 (Xu et al., 2010)。蛋白酶體抑制劑和地塞米松可改變 KRT75 的表達 (Kinyamu et al., 2008)。

【0117】 LAP3 的抑制被證明可通過 fascin 和 MMP-2/9 的下調導致卵巢癌細胞系 ES-2 中侵襲抑制。因此，LAP3 可以充當潛在的抗轉移治療靶標 (Wang et al., 2015b)。LAP3 的高表達被證明與惡性腫瘤的分級和膠質

瘤患者的預後不良相關(He et al., 2015)。LAP3被證明可通過調節細胞生長、遷移和侵襲而促進神經膠質瘤的進展，因而可能是一個新的預測因子(He et al., 2015)。在高微衛星不穩定性的胃癌和結直腸癌中檢測到涉及氨基酸代謝的基因（包括LAP3）的移碼突變(Oh et al., 2014)。LAP3被證明在肝細胞癌、食管鱗狀細胞癌和攝護腺癌中上調(Zhang et al., 2014a; Tian et al., 2014; Alexander et al., 2005)。LAP3被證明通過調節細胞週期和晚期細胞遷移的G1/S期檢查點，以促進肝癌細胞增殖(Tian et al., 2014)。LAP3的表達進一步顯示與肝細胞癌的預後和惡性發展相關(Tian et al., 2014)。食管鱗狀細胞癌細胞系ECA109中LAP3的沉寂被證明可降低細胞增殖和集落形成，而LAP3敲減導致細胞週期停滯(Zhang et al., 2014a)。食管鱗狀細胞癌細胞系TE1中LAP3過度表達被證明有利於細胞增殖和侵襲(Zhang et al., 2014a)。因此，LAP3被證明在食管鱗狀細胞癌的惡性發展中發揮作用(Zhang et al., 2014a)。

【0118】 高水準的LGALS7與癌症浸潤性、生長和轉移增加的乳腺癌的侵襲性表型相關(Grosset et al., 2016)。LGALS7在結直腸癌患者血清中差異表達，而CRC腫瘤免疫組織化學染色中LGALS7呈陰性(Lim et al., 2016)。LGALS7在攝護腺癌、宮頸癌和外陰鱗狀細胞癌中下調，並與晚期臨床分期、分化程度差和區域淋巴結轉移相關。再次表達導致凋亡增加。啟動子甲基化增加與

VSCC的晚期臨床分期、分化程度差和區域淋巴結轉移相關 (Labrie et al., 2015; Jiang et al., 2015; Higareda-Almaraz et al., 2016)。細胞質表達的LGALS7抑制p53並增加乳腺癌的化學耐藥性 (Grosset et al., 2014)。LGALS7在正常卵巢組織中不表達而在上皮性卵巢癌中表達。表達在高級別和轉移性腫瘤中更為常見，與總生存相關。LGALS7表達由突變型p53誘導 (Kim et al., 2013; Labrie et al., 2014)。LGALS7可用作轉移性皮膚黑色素瘤的生物標誌物。它也與頭頸鱗狀細胞癌和基底細胞癌的臨床參數相關 (Timar et al., 2010; Cada et al., 2009)。LGALS7與乳腺癌發病率有關 (Tang et al., 2008)。LGALS7表達可以由p53誘導並能夠促凋亡 (Ueda et al., 2004)。

【0119】 LGALS7B能增強HER2陽性乳腺癌的侵襲性 (Grosset et al., 2016)。LGALS7B調節參與凋亡、組織形態發生、代謝、轉運、趨化因子活性和免疫應答的分子 (Higareda-Almaraz et al., 2016)。LGALS7B在宮頸癌中下調。與低Gal-1表達相關的高LGALS7B表達與更好的預後相關 (Higareda-Almaraz et al., 2016)。LGALS7B在外陰鱗狀細胞癌中高甲基化 (Jiang et al., 2015)。攝護腺癌中LGALS7B再表達增強對依託泊苷和順鉑的化學敏感性 (Labrie et al., 2015)。LGALS7B在外陰鱗狀細胞癌、攝護腺癌和結直腸癌中下調。LGALS7B下調與晚期臨床分期、腫瘤分化不良和區

域淋巴結轉移有關 (Labrie et al., 2015; Lim et al., 2016; Jiang et al., 2015)。細胞因子 LGALS7B 抑制 dox 誘導的 PARP-1 裂解，導致抑制 p53 啟動並降低乳腺癌中的 p21 和 CDKN1A 表達 (Grosset et al., 2014)。LGALS7B 上調細胞凋亡並抑制 IL-2 和 IFN- γ 表達 (Yamaguchi et al., 2013)。LGALS7B 在卵巢癌中過度表達，與較大年齡、高死亡率、腫瘤體積增加和生存差相關 (Kim et al., 2013; Labrie et al., 2014)。LGALS7B 的免疫組織化學染色可用於區分唾液腺腫瘤類型 (Remmelink et al., 2011)。LGALS7B 在頭頸部基底細胞癌中下調。在頭頸鱗狀細胞癌中，LGALS7B 顯示不同的表達模式，並且不同的表達水準與角質化和分化相關 (Cada et al., 2009)。

【0120】 MALL 可用於分類肺癌亞型 (Watanabe et al., 2010)。MALL 可能是攝護腺癌中的轉移抑制基因 (Yi et al., 2009)。MALL mRNA 和蛋白表達在結腸癌患者中降低，與血管浸潤、疾病復發、轉移或死亡有關。MALL 損失與總生存率和無病生存率下降有關。MALL 過度表達抑制細胞增殖且抑制細胞系中的遷移 (Fan et al., 2011; Kim et al., 2008a; Wang et al., 2016c)。MALL 可在攝護腺癌細胞系分泌的攝護腺體上發現，其與小窩蛋白 1 相互作用 (Llorente et al., 2004)。MALL 在非小細胞肺癌和宮頸鱗狀細胞癌中下調。它在膠質瘤細胞中差

異表達 (Ai et al., 2003; Hatta et al., 2004; Kettunen et al., 2004)。

【0121】 MCM4 表達與上調的碳酸酐IX 相關，碳酸酐IX 是一種跨膜糖蛋白，其與幾種實體（包括食管癌）的生存和癌症進展有關 (Huber et al., 2015)。Has-miR-615-3p 可能通過調節MCM4 牽涉鼻咽癌 (Chen et al., 2015)。MCM4 可能在膀胱癌發展中發揮作用 (Zekri et al., 2015)。p53 獲取功能的突變增加MCM4 在乳腺癌中的表達 (Polotskaia et al., 2015)。MCM4 在人類皮膚癌中有突變，顯示降低DNA 解旋酶的活性降低 (Ishimi and Irie, 2015)。MCM4 過度表達只與乳腺癌較短生存弱相關。MCM 複合體所有六個部分的過度表達與較短生存強烈相關 (Kwok et al., 2015)。MCM4 在肺腺癌和喉鱗狀細胞癌中差異表達 (Lian et al., 2013; Zhang et al., 2014b)。MCM4 在宮頸癌中顯著過度表達 (Das et al., 2013; Das et al., 2015)。MCM4 可用作結直腸癌的一種生物標誌物 (Fijneman et al., 2012)。

【0122】 抗酶抑制劑抑制ODC1 的泛素非依賴性降解，導致多胺形成加速，引發胃癌、乳腺癌、肝細胞癌和食管鱗狀細胞癌的發展 (Qiu et al., 2016)。吡羅昔康抑制參與非黑色素瘤皮膚癌發生的ODC1 依賴性多胺產生 (Campione et al., 2015)。ODC1 調節對細胞分裂調控、分化、成熟和凋亡重要的腐胺 (Ramani et al., 2014;

Zdrojewicz and Lachowski, 2014)。ODC1是Myc和MYCN靶基因，ODC1高表達與神經母細胞瘤的無事件生存降低有關(Funakoshi-Tago, 2012; Saletta et al., 2014)。阻斷ODC1可用於結直腸癌的化學預防治療(Zhou et al., 2012)。

【0123】 PARP9 (也稱為ARTD9) 編碼聚(ADP-核糖)聚合酶家族成員9，位於染色體3q21.1上(RefSeq, 2002)。DTX3L與ARTD8和PARP9形成複合體，通過抑制腫瘤抑制因子IRF1，促進轉移性攝護腺癌細胞的增殖、化學耐藥性和存活(Bachmann et al., 2014)。PARP9抑制彌漫性大B細胞淋巴瘤中的IFN- γ -STAT1-IRF1-p53信號傳導並啟動原癌基因IRF2和BCL-6的表達。這導致DLBCL的增殖、存活和化學耐藥性(Camicia et al., 2013)。PARP9表達為IFN- γ 誘導型(Juszczynski et al., 2006)。PARP9可能是彌漫性大B細胞淋巴瘤中的藥物靶點。PARP9是高危化學耐藥性DLBCL中的致癌存活因子(Bachmann et al., 2014; Aguiar et al., 2005; Camicia et al., 2015)。

【0124】 PKP1被證明在攝護腺癌和食管腺癌中下調(Kaz et al., 2012; Yang et al., 2015)。非腫瘤、攝護腺BPH-1細胞系中PKP1的敲減導致細胞凋亡減少和基因(如，攝護腺癌相關SPOCK1基因)差異表達(Yang et al., 2015)。總體來說，PKP1和SPOCK1表達改變似乎

是攝護腺癌中的頻繁和嚴重事件，表明PKP1具有腫瘤抑制功能(Yang et al., 2015)。PKP1表達下降被證明與口腔鱗狀細胞癌中顯著更短的至遠處轉移發生時間有關(Harris et al., 2015)。通過啟動子甲基化導致的PKP1損失被描述為與Barrett食管進展為食管腺癌相關(Kaz et al., 2012)。PKP1被證明在非小細胞肺癌中上調，可能是區分鱗狀細胞癌樣本的良好標誌物(Sanchez-Palencia et al., 2011)。PKP1被證明在分化良好的脂肪肉瘤細胞系GOT3中上調(Persson et al., 2008)。PKP1表達下降被描述為可促進頭頸鱗狀細胞癌的活動性增加(Sobolik-Delmaire et al., 2007)。PKP1損失被證明與宮頸癌發生有關(Schmitt-Graeff et al., 2007)。PKP1被證明與口咽鱗狀細胞癌患者的局部復發或轉移以及不良預後有關(Papagerakis et al., 2003)。

【0125】 PLEC在結直腸腺癌、頭頸鱗狀細胞癌和胰腺癌中過度表達(Lee et al., 2004; Katada et al., 2012; Bausch et al., 2011)。

【0126】 周斑蛋白在T24CDDPR膀胱癌細胞中降低(Taoka et al., 2015)。與健康組織相比，膀胱癌的PPL染色較低。PPL損失與病理分期和存活有關(Matsumoto et al., 2014)。PPL與上皮樣腫瘤細胞相關(Kohn et al., 2014)。EVPL、周斑蛋白和外皮蛋白陰性小鼠顯示皮膚癌抗性表型(Cipolat et al., 2014; Natsuga et

al., 2015; Natsuga et al., 2016)。PPL在三陰性乳腺癌中高度表達(Choi et al., 2013)。周斑蛋白由於超甲基化在食管鱗狀細胞癌中下調。ESCC中PPL敲減與細胞移動和附著減少有關(Otsubo et al., 2015; Tonoike et al., 2011)。副腫瘤性天皰瘡顯示具有對抗PPL的自身抗體(Yong and Tey, 2013; Li et al., 2009; Probst et al., 2009; Zimmermann et al., 2010)。

【0127】 PRKDC是子宮內膜異位症相關卵巢癌和乳腺癌中常見的突變基因(Er et al., 2016; Wheeler et al., 2015)。在結直腸癌中，與正常組織相比，PRKDC在癌組織中上調。PRKDC高表達的患者表現出較差的總生存期(Sun et al., 2016)。

【0128】 PRNP編碼膜糖基磷脂醯肌醇錨定的糖蛋白，其往往聚集成棒狀結構並且包含五個八肽的串聯重複序列的高度不穩定區域。重複區域以及該基因其他區域的突變與各種朊病毒疾病有關。該基因已經發現有重疊開放閱讀框，其編碼較小的、結構不相關的蛋白質AltPrp(RefSeq, 2002)。雖然其生理作用尚未完全確定，但PRNP參與神經幹細胞的自我更新、多能基因表達、增殖和分化。PRNP在包括膠質母細胞瘤、乳腺癌、攝護腺癌和結直腸癌的人腫瘤中起作用(Yang et al., 2016b; Corsaro et al., 2016)。在結直腸癌中，PRNP已被證明可促進上皮-間質轉化(Du et al., 2013)。PRNP與MGr1-Ag/37LRP聯

合的過度表達可預測胃癌預後差(Zhou et al., 2014)。PNRP表達與細胞的氧化還原狀態有關，可能參與抗氧化防禦。PNRP沉寂被證明可使癌細胞對乳腺癌和結腸癌的抗癌藥物敏感(Sauer et al., 1999; Meslin et al., 2007; Park et al., 2015a; Yun et al., 2016)。

【0129】 PROM2在肺腺癌中特異性上調(Bao et al., 2016)。PROM2在彈力纖維瘤和人攝護腺癌中表達。PROM2在低侵襲性攝護腺癌中表達較高，在高侵襲性攝護腺癌中表達較低(Yamazaki, 2007; Zhang et al., 2002)。PROM2在結腸癌中下調(Deng et al., 2013)。PROM2表達可用於區分腎嫌色細胞癌和腫瘤細胞瘤(Rohan et al., 2006)。

【0130】 RIPK4被證明在皮膚鱗狀細胞癌中下調(Poligone et al., 2015)。RIPK4與舌鱗癌細胞系TCA-8113的遷移和侵襲，彌漫性大B細胞淋巴瘤的生存期以及宮頸鱗狀細胞癌總體生存、無病生存、進展和不良預後相關(Wang et al., 2014c; Liu et al., 2015; Kim et al., 2008b)。RIPK4與家族性胰腺癌相關(Lucito et al., 2007)。RIPK4可能是宮頸鱗狀細胞癌的一個潛在的診斷性和獨立的預後標誌物，是舌癌預後和治療的生物標誌物(Wang et al., 2014c; Liu et al., 2015)。

【0131】 RNASE7 表達在皮膚癌中逐漸降低 (Scola et al., 2012)。RNASE7 表達受幾種致白血病蛋白酪氨酸激酶的影響 (Pierce et al., 2008)。

【0132】 RPL8 表達可受 MYC 誘導的核抗原和核仁蛋白 66 的影響 (Chowdhury et al., 2014)。RPL8 可能參與骨肉瘤發生 (Sun et al., 2015a; Yang and Zhang, 2013)。RPL8 受 MYC 啟動的 NO-66 調節 (Ge et al., 2012)。RPL8 突變與 Diamond-Blackfan 貧血有關 (Gazda et al., 2012)。RPL8 表達可能與化療反應有關 (Salas et al., 2009)。RPL8 在肝細胞癌中失調節 (Liu et al., 2007)。在黑色素瘤中可發現 RPL8 的 MHCII 依賴性表達 (Swoboda et al., 2007)。

【0133】 SERPINB5 是很多癌症類型 (包括乳腺癌、肺癌、頭頸癌、口腔癌和攝護腺癌) 診斷一個有價值的分子標誌物和預後的預測因子 (Marioni et al., 2009; Lonardo et al., 2010; Sager et al., 1996; Sheng, 2004)。SERPINB5 充當 HDAC1 活性的內源性調節劑，並與 p53 腫瘤抑制途徑相互作用 (Maass et al., 2000; Kaplun et al., 2012)。

【0134】 SLC25A3 在慢性骨髓性白血病中去調節 (Oehler et al., 2009)。SLC25A3 的耗竭可消除對 BAX 的應激誘導線粒體靶向作用 (Buttner et al., 2011)。

【0135】 在紫杉醇誘導的神經性疼痛大鼠中SLC6A11表達降低，這是在用紫杉醇治療的癌症患者中可觀察到的現象(Yadav et al., 2015)。ALA及其甲酯MAL是用於皮膚癌光動力治療的前藥。它們的攝取由SLC6A11介導(Novak et al., 2011; Schulten et al., 2012; Baglo et al., 2013)。用丙戊酸鈉長期治療膠質瘤細胞減少SLC6A11 mRNA的表達(Gao et al., 2003)。

【0136】 SLC6A15被超甲基化從而在結直腸癌中下調，可能是基於糞便測定法的候選生物標誌物(Kim et al., 2011; Mitchell et al., 2014)。

【0137】 SLC7A1在急性骨髓性白血病原始細胞中組成性表達。這些原始細胞在精氨酸迴圈途徑酶中缺乏，導致精氨酸積累和細胞增殖和存活(Mussai et al., 2015)。SLC7A1在結直腸癌中過度表達，導致精氨酸積累和細胞生長。13號染色體基因過度表達在CRC中很常見(Camps et al., 2013; Lu et al., 2013)。SLC7A1可用作巨噬細胞分化的標誌物。在誘導THP1單核細胞分化過程中其表達增加(Barilli et al., 2011)。MCF-7乳腺癌細胞系的生長依賴於L-精氨酸。它表達SLC7A1，SLC7A1敲減導致精氨酸攝取減少、細胞活力降低和凋亡增加(Abdelmagid et al., 2011)。SLC7A1表達與許多癌症中表達的血紅素加氧酶-1的表達強烈相關，促進腫瘤生長和存活(Tauber et al., 2010)。SLC7A1是肝細胞特異性miR-122的直接靶標，在肝細胞癌中下調。miR-122

下調導致SLC7A1上調和細胞內精氨酸水準增加。該途徑也是結直腸癌衍生肝轉移的重要機制(Kedde and Agami, 2008; Iino et al., 2013; Kishikawa et al., 2015)。蛋白激酶C的啟動導致SLC7A1內化。應激導致SLC7A1的差異性表達(Kakuda et al., 1998; Rotmann et al., 2006)。

【0138】 SUDS3損失導致細胞形態改變和細胞遷移增加(Smith et al., 2012)。SUDS3參與胸腺細胞分化(Lee et al., 2012)。SUDS3可能具有抗腫瘤作用(Ramakrishna et al., 2012)。USP17對SUDS3進行去泛素化，導致SUDS3相關HDAC活性在癌症中發生改變(Ramakrishna et al., 2011)。SUDS3參與有絲分裂(Pondugula et al., 2009)。SUDS3在乳腺癌中表達(Silveira et al., 2009)。SUDS3控制染色體分離，並可與p53相互作用(David et al., 2006)。

【0139】 TENM2可能涉及月經初潮的年齡。早期AAM與2型糖尿病、乳腺癌和卵巢癌以及心血管疾病相關，晚期AAM與低骨礦物質密度和心理障礙相關(Yermachenko and Dvornyk, 2016)。生活在高度污染地區的肺癌患者中存在DOCK2-TENM2基因融合轉錄物(Yu et al., 2015a)。TENM2在大多數惡性間皮瘤細胞中表達(Ziegler et al., 2012)。TENM2在食管鱗狀細胞癌中可能下調(Kan et al., 2006)。

【0140】 II期結腸癌 TGM5的局灶性缺失可能是該實體的驅動因素(Brosens et al., 2010)。在非小細胞肺癌中發生的TGM5突變在吸菸者和非吸菸者之間顯示無差異(Yongjun Zhang et al., 2013; Broderick et al., 2009; Rafnar et al., 2011; Choi et al., 2016)。攝護腺癌中TGFB β 3損失也下調了TGM5(Sharifi et al., 2007)。

【0141】 XIRP1在基底樣乳腺癌的轉移癌中突變(Hoadley et al., 2016)。與ER+HER2-乳腺癌相比，三陰性乳腺癌中富含XIRP1啟動子基序特徵(Willis et al., 2015)。XIRP1在維他命C治療後上調，這也降低了癌細胞的生長(Marshall et al., 2012; Nagappan et al., 2013)。XIRP1在頭頸鱗狀細胞癌中突變，可能是一種腫瘤抑制基因(Lee et al., 2010)。XIRP1是一種氧化應激相關基因(Baluchamy et al., 2010)。

【0142】 ZBED6是IGF2的轉錄抑制因子，其在結直腸癌中過度表達並促進細胞增殖。ZBED6的敲減影響細胞週期，並導致RKO細胞系的細胞生長增強和HCT116細胞中細胞生長減少。ZBED6是參與Wnt、Hippo、TGF- β 、EGFR和PI3K信號傳導的幾種基因的轉錄抑制因子，它們都參與結直腸癌發生(Markljung et al., 2009; Andersson, 2009; Andersson et al., 2010; Huang et al., 2014; Jiang et al., 2014; Clark et al., 2015; Akhtar et al., 2015)。

【圖式簡單說明】

【0143】 圖 1 A 至 1 D 顯示了正常組織（白色柱）和和頭頸鱗狀細胞癌（黑色柱）中各種肽的過量提呈。圖 1 A）基因符號：KRT6C、KRT6A、KRT6B，肽：GLAGGFGGPGFPV(SEQ ID NO.:1)；從左至右的組織：6 脂肪組織，8 腎上腺，1 膽管，24 血細胞，15 血管，10 骨髓，15 大腦，7 乳房，11 食管，2 眼睛，6 膽囊，16 心臟，17 腎臟，27 大腸，24 肝，49 肺，7 淋巴結，12 神經，5 卵巢，15 胰腺，6 甲狀旁腺，3 腹膜，7 垂體腺，10 胎盤，3 胸膜，11 攝護腺，9 骨骼肌，11 皮膚，16 小腸，13 脾，9 胃，8 睪丸，3 胸腺，8 甲狀腺，18 氣管，7 輸尿管，8 膀胱，6 子宮，12 頭頸部，17 HNSCC。圖 1 B）基因符號：KRT、KRT6A、KRT6B，肽：SLYGLGGSKRISI(SEQ ID NO.:3)；從左至右的組織：6 脂肪組織，8 腎上腺，1 膽管，24 血細胞，15 血管，10 骨髓，15 大腦，7 乳房，11 食管，2 眼睛，6 膽囊，16 心臟，17 腎臟，27 大腸，24 肝，49 肺，7 淋巴結，12 神經，5 卵巢，15 胰腺，6 甲狀旁腺，3 腹膜，7 垂體腺，10 胎盤，3 胸膜，11 攝護腺，9 骨骼肌，11 皮膚，16 小腸，13 脾，9 胃，8 睪丸，3 胸腺，8 甲狀腺，18 氣管，7 輸尿管，8 膀胱，6 子宮，12 頭頸部，17 HNSCC。圖 1 C）基因符號：KRT5，肽：STASAITPSV(SEQ ID NO.:9)；從左至右的組織：6 脂肪組織，8 腎上腺，1 膽管，24 血細胞，

15 血管，10 骨髓，15 大腦，7 乳房，11 食管，2 眼睛，6 膽囊，16 心臟，17 腎臟，27 大腸，24 肝，49 肺，7 淋巴結，12 神經，5 卵巢，15 胰腺，6 甲狀旁腺，3 腹膜，7 垂體腺，10 胎盤，3 胸膜，11 攝護腺，9 骨骼肌，11 皮膚，16 小腸，13 脾，9 胃，8 睪丸，3 胸腺，8 甲狀腺，18 氣管，7 輸尿管，8 膀胱，6 子宮，12 頭頸部，17 HNSCC。圖 1D) 基因符號：SLC25A3，肽：FVAGYIAGV (SEQ ID NO.: 61)；從左至右的組織：3 細胞系 (2 腎臟，1 胰腺)，7 正常組織 (1 腎上腺，1 結腸，2 淋巴結，1 胎盤，2 脾)，36 癌組織 (5 白細胞白血病，3 腦癌，1 食管癌，1 膽囊癌，5 頭頸癌，1 腎癌，1 肝癌，8 肺癌，4 淋巴結癌，3 卵巢癌，2 胃癌)。圖 1E 至 1Q 顯示了各種肽在不同癌症組織中的過度提呈 (黑點)。上面部分：根據技術重複測量值的中值 MS 信號強度繪製為點，單一 HLA-A*02 陽性正常組織為灰色點，檢測到該肽的腫瘤樣本為黑點。腫瘤和正常樣本按照器官起源分組，箱須圖代表了多個樣本歸一化信號強度的中位數，第 25 和第 75 百分位 (箱) 以及最小值和最大值 (須)。正常器官根據風險類別排列順序 (血細胞、血管、腦、肝、肺：高風險，灰色點；生殖器官、乳腺、攝護腺：低風險，灰色點；所有其他器官：中等風險；灰色點)。下面部分：每個器官的相對肽檢測頻率顯示為脊柱圖。圖表下面的數位表示每個器官分析的總樣本數中檢測到肽的樣本數 (正常樣本 N = 526，腫瘤樣本 N = 562)。如果在一個樣本上檢測到肽，但因技術原因無法量化，則該樣本納

入檢測頻率圖中，但圖表上部分不顯示任何點。組織（從左到右）：正常樣本：血細胞；bloodvess（血管）；腦；心；肝；肺；脂肪（脂肪組織）；adren.gl.（腎上腺）；膽管；膀胱；BM（骨髓）；軟骨；esoph（食管）；眼；gallb（膽囊）；頭頸部；腎；large_int（大腸）；LN（淋巴結）；神經；胰腺；parathy（甲狀旁腺）；perit（腹膜）；pituit（垂體）；胸膜；skel.mus（骨骼肌）；皮膚；small_int（小腸）；脾；胃；甲狀腺；氣管；輸尿管；乳房；卵巢；胎盤；攝護腺；睪丸；胸腺；子宮。腫瘤樣本：AML：急性骨髓性白血病；BRCA：乳腺癌；CCC：膽管細胞癌；CLL：慢性淋巴細胞性白血病；CRC：結直腸癌；GBC：膽囊癌；GBM：膠質母細胞瘤；GC：胃癌；GEJC：胃賁門食管癌；HCC：肝細胞癌；HNSCC：頭頸癌；MEL：黑色素瘤；NHL：非霍奇金淋巴瘤；NSCLC：非小細胞肺癌；OC：卵巢癌；OSCAR：食管癌；PACA：胰腺癌；PRCA：攝護腺癌；RCC：腎細胞癌；SCLC：小細胞肺癌；UBC：膀胱癌；UEC：子宮內膜癌。圖1E）基因符號：KRT6C、KRT6A、KRT1、KRT6B、KRT75、KRT5，肽：PVCPPGGIQQEV（SEQ ID NO: 2），圖1F）基因符號：PKP1，肽：SMLNNIINL（SEQ ID NO:15），圖1G）基因符號：PRKDC，肽：GLIEWLENTV（SEQ ID NO:45），圖1H）基因符號：ATP5G2、ATP5G1、ATP5G3，肽：AILGFALSEA（SEQ ID NO:57），圖1I）基因符號：

ITGB4，肽：SLSDIQPCL(SEQ ID NO:58)，圖1J)
 基因符號：KRT5，肽：ALMDEINFMM(SEQ ID
 NO:63)，圖1K) 基因符號：ESRP2，肽：
 ALASAPTSV(SEQ ID NO:75)，圖1L) 基因符號：
 PARP9，肽：ILFDEVLTFA(SEQ ID NO:76)，圖1M)
 基因符號：MCM4，肽：QLLQYVYNL(SEQ ID
 NO:83)，圖1N) 基因符號：FHAD1，肽：
 QLIEKITQV(SEQ ID NO:85)，圖1O) 基因符號：
 PLEC，肽：ALPEPSPAA(SEQ ID NO:87)，圖1P)
 基因符號：G3BP1，肽：TLNDGVVVQV(SEQ ID
 NO:90)，圖1Q) 基因符號：ODC1，肽：
 MLFENMGAYTV(SEQ ID NO.:91)。

【0144】 圖2A至C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）的頭頸鱗狀細胞癌中以及15個頭頸鱗狀細胞癌樣本（黑色柱）中高度過度表達或專門表達。圖2A) 基因符號：PGLYRP4，肽：AIYEGVGWNV(SEQ ID NO:33)；圖2B) 基因符號：PAPL，肽：KLLPGVQYV(SEQ ID NO:38)；圖2C) 基因符號：LGALS7、LGALS7B，肽：RLVEVGGDVQL(SEQ ID NO.:53)。

【0145】 圖3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。

【0146】 圖4顯示健康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.: 17肽(A, 左圖)、Seq ID NO.: 28肽(B, 左圖)和Seq ID NO.: 29肽(C, 左圖)合成。經過12個週期的刺激後，用A*02/Seq ID NO.: 17(A)、A*02/Seq ID NO.: 28(B)或A*02/Seq ID NO.: 29(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CD8+淋巴細胞上得到門控。Boolean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CD8+淋巴細胞的頻率。

【實施方式】

【0147】 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。

【0148】 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CD8陽性T細胞在這種反應中發揮重要作用，TC^{CD8+}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(DRIP)的氨基酸殘基的主要組織相容性複合

體 (MHC) 所載的肽中所含的 I 類分子。人 MHC 分子也稱為人白細胞 - 抗原 (HLA)。

【0149】 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 MHC 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提呈的靶細胞、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。

【0150】 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、12、13 或 14 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。

【0151】 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。

【0152】 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。

【0153】 「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。

【0154】 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。

【0155】 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。

【0156】 在人類中，有三種編碼MHC I類分子的不同基因位點（人MHC分子也是指定的人白細胞抗原（HLA））：HLA-A、HLA-B和HLA-C。HLA-A*01、HLA-A*02

和 H L A - B * 0 7 是可從這些基因位點表達的不同 M H C I 類等位元基因的實例。

表 5：H L A - A * 0 2 和 H L A - A * 2 4 和最常見 H L A - D R 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 H L A - D R 等位基因內的 A * 0 2 或 A * 2 4 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%

等 位 基 因	人 群	根據等位元基因頻率算得的 顯型
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%
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%

等位基因	人群	根據等位元基因頻率算得的顯型
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%
A*24	歐洲	18%

【0157】 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 II 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 II 類 M H C 同種異型。

【0158】 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

61%、西歐 62%、中國 75%、韓國 77%、日本 86%（根據 www.allelefrequencys.net 計算）。

【0159】 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。

【0160】 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 DNA 片段由 cDNA 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。

【0161】 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。

【0162】 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。

【0163】 「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。

【0164】 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。

【0165】 「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。

【0166】 「片斷」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。

【0167】 「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，例如使用克隆載體，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（通常提呈于真核基因中）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。

【0168】 「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。

【0169】 「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。

【0170】 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。

【0171】 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。

【0172】 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。

【0173】 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。

【0174】 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」）與所述序列或權利要求的序列（「參考序列」）對準之後將被對比序列與所述序列或權利要求的序列進行比較。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。

【0175】 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。

【0176】 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:91 群組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91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。

【0177】 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。

【0178】 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)。

【0179】 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:91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）其與啟動T細胞的TCR結合的能力。

【0180】 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:91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啟動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。

【0181】 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。

【0182】 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）。

【0183】 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。

【0184】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。

【0185】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。

【0186】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。

【0187】 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）。

表 6：根據SEQ ID NO：4、6和10的肽的變體和基序

位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO. 4	I	L	D	I	N	D	N	P	P	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
SEQ ID NO. 6	A	L	Y	D	A	E	L	S	Q	M
變體										V
										I
										L
										A
		M								V
		M								I

		M								L
		M								A
		A								V
		A								I
		A								L
		A								A
		V								V
		V								I
		V								L
		V								A
		T								V
		T								I
		T								L
		T								A
		Q								V
		Q								I
		Q								L
		Q								A
位置	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
SEQ ID NO. 10	T	L	W	P	A	T	P	P	K	A
變體										V
										I
										L
		M								V
		M								I
		M								L
		M								
		A								V
		A								I
		A								L
		A								
		V								V
		V								I
		V								L
		V								
		T								V
		T								I
		T								L
		T								
		Q								V
		Q								I
		Q								L
		Q								

【0188】 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。

【0189】 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。

表 7：本發明肽的拉長（延長）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
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

【0190】 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。拉長可用于增強所述肽的穩定性或溶解性。

【0191】 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。

【0192】 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。

【0193】 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）。

【0194】 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。

【0195】 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。

【0196】 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: 91所選的氨基酸序列組成。

【0197】 基本由「...組成」系指本發明的肽，除了根據SEQ ID NO: 1至SEQ ID NO: 91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 M H C 分子表位的肽。

【0198】 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 N C B I 、 G e n B a n k 登錄號 X 0 0 4 9 7 的 H L A - D R 抗原相關不變鏈（ p 3 3 ，以下稱為「 I i 」）的 8 0 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。

【0199】 此外，該肽或變體可進一步修飾以提高穩定性和 / 或與 M H C 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。

【0200】 在反式肽鍵氨基酸中，肽 (- C O - N H -) 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 (r e t r o - i n v e r s o p e p t i d o m i m e t i c s) 可透過本領域已知的方法製備，例如： M e z i e r e 等人在 (M e z i e r e e t a l . , 1 9 9 7) 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。 M e z i e r e 等人 (M e z i e r e e t a l . , 1 9 9 7) 的研究顯示，這些類比肽有利於 M H C 的結合和輔助性 T 細胞的反應。以 N H - C O 鍵替代 C O - N H 肽鍵的逆向反向肽大大地提高了抗水解性能。

【0201】 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。

【0202】 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-芴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。

【0203】 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。

【0204】 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。

【0205】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-烯巴二酮）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。

【0206】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-碳二亞胺可用于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。

【0207】 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。

【0208】 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-硝苯巯基)-3H-吡啶(BPNS-糞臭素)。

【0209】 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。

【0210】 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:156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鹼和鹼土鹽類，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。

【0211】 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。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鹼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酸醯胺聚合物，其由三個單體二甲基丙烯酸醯胺（骨架單體）、雙丙烯酸醯胺二胺（交聯劑）和 *N*-丙烯酸肌胺酸甲酯（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）

【0212】 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，該程序制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。

【0213】 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）。

【0214】 可以使用薄層色譜法、電泳特別是毛細管電泳、固相萃取（CSPE）、反相高效液相色譜法、酸解後的氨基酸分析、快原子轟擊（FAB）質譜分析以及MALDI和ESI-Q-TOF質譜分析進行肽分析。

【0215】 為了選擇過度提呈的肽，計算了提呈圖，其顯示樣本中位元提呈量以及複製變化。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提呈分數中，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)。

【0216】 對於透過質譜法對 HLA 配體的識別和相對定量，對來自衝擊冷凍組織樣本的 HLA 分子進行純化並對 HLA 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 (nanoESI) 液相色譜-譜 (LC-MS) 實驗進行鑒定。由此產生的肽序列的驗證方法是，將頭頸鱗狀細胞癌樣本 (N=17 個 A*02 陽性樣本) 中記錄的自然腫瘤相關肽 (TUMAP) 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 HLA 分子的配體，因此這些結果為來自 14 名頭頸鱗狀細胞癌患者的原發癌症組織上確定肽的自然加工和提呈提供了直接證據。

【0217】 發現管道 XPRESIDENT® v2.1 (例如，參見 US 2013-0096016，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提呈的候選肽疫苗，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 HLA 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 LC-MS 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。

【0218】 為每種肽和樣本確立了提呈水準，包括誤差估計值。腫瘤組織大量提呈的肽以及腫瘤與非腫瘤組織和器官中過量提呈的肽已經得到確定。

【0219】 對來自頭頸鱗狀細胞癌組織樣本的 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 使用原發性頭頸鱗狀細胞癌樣本的方法進行鑒定，確認其在原發性頭頸鱗狀細胞癌上的提呈。

【0220】 在多個頭頸鱗狀細胞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（被稱為提呈圖）。提呈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。

【0221】 除了過量提呈肽之外，也測試了潛在基因的 m R N A 表達。m R N A 資料透過 R N A 測序分析正常組織和癌組織獲得（見實施例 2、圖 2）。正常組織資料的額外來源是從 3 0 0 0 個正常組織樣本中公開獲得的 R N A 表達資料的資料庫 (L o n s d a l e , 2 0 1 3)。獲得自蛋白的肽在癌組織中顯示高表達編碼 m R N A，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。

【0222】 本發明提出了有利於治療癌腫/腫瘤，優選為治療過量提呈或只提呈本發明肽的頭頸鱗狀細胞癌。這些肽由質譜分析法直接顯示出，而由HLA分子自然提呈于原發性頭頸鱗狀細胞癌樣本中。

【0223】 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[插入主要適應症的正常組織]細胞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提呈（本發明相關的「腫瘤組織」是指來自頭頸鱗狀細胞癌患者的樣本），但不在正常組織中過度提呈（見實施例1）。

【0224】 HLA結合肽能夠被免疫系統識別，特別是T淋巴細胞。T細胞可破壞提呈被識別HLA/肽複合體的細胞（如：提呈衍生肽的頭頸鱗狀細胞癌細胞）。

【0225】 本發明的所有肽已被證明具有刺激T細胞反應的能力，並過量提呈，因而可用于製備本發明的抗體和/或TCR，例如可溶性TCR（參見實施例3和實施例4）。此外，肽與相應的MHC組合時，也可用于製備本發明的抗體和/或TCR，特別是sTCR。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，本發明的肽可用于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提呈的複製數目較少，防止患者發生對抗正常細胞的不良自體免疫反應的風險。

【0226】 本說明書還涉及包含一個 α 鏈和一個 β 鏈（「 α/β TCR」）的T細胞受體（TCR）。還提供了由MHC分子提呈時可與TCR和抗體結合的本發明的肽。本說明書還涉及核酸、載體和用於表達TCR的宿主細胞和本說明書的肽；以及使用它們的方法。

【0227】 術語「T細胞受體」（縮寫TCR）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HLA分子提呈的肽抗原。該術語還包括所謂的 γ/δ TCR。

【0228】 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。

【0229】 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提呈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。

【0230】 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。

【0231】 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。

【0232】 本說明書的TCR優選結合至本發明的肽HLA分子複合體，其具有約100 μM或更小、約50 μM或更小、約25 μM或更小或約10 μM或更小的結合親和力(KD)。更為優選的情況是具有約1 μM或更小、約100 nM或更小、約50 nM或更小或約25 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 nM至約10 nM；約10 nM至約20 nM；約20 nM至約30 nM；約30 nM至約40 nM；約40 nM至約50 nM；約50 nM至約60 nM；約60 nM至約70 nM；約70 nM至約80 nM；約80 nM至約90 nM；以及約90 nM至約100 nM。

【0233】 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 μM或更小的肽-HLA分子複合體有結合親和力(KD)的TCR。

【0234】 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。

【0235】 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。

【0236】 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。

【0237】 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。

【0238】 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或變體對肽與本發明肽的親和力可透過本領域熟知的方法來增強。

【0239】 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。

【0240】 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及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。

【0241】 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。

【0242】 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。

【0243】 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)-1a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。

【0244】 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)。

【0245】 本發明 T C R 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。

【0246】 實現高水準的 T C R 表面表達需要引入 T C R 的 T C R - α 和 T C R - β 鏈高水準轉錄。為了實現它，本說明書的 T C R - α 和 T C R - 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 T C R - α 和 T C R - β 鏈在之間的病毒核糖體間進入位元點 (I R E S) 導致兩鏈的協同表達，因為 T C R - α 和 T C R - 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 T C R - α 和 T C R - β 鏈的相等莫耳比。(S c h m i t t e t a l. 2 0 0 9)。

【0247】 編碼本說明書 T C R 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 t R N A 以及其他因子的相對可用性 (G u s t a f s s o n e t a l., 2 0 0 4)。修改 T C R - α 和 T C R - 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 m R N A 不穩定性基序或隱蔽剪接位元點，已顯示可顯著提高 T C R - α 和 T C R - β 基因表達 (S c h o l t e n e t a l., 2 0 0 6)。

【0248】 此外，引入的和內源性 T C R 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 T C R 二聚體的形成可能會減少可用以形成正確配對 T C R 複合體的 C D 3 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)。

【0249】 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)。

【0250】 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。

【0251】 「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。

【0252】 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鹼鹽進行

改性。例如，用與適合的酸反應的游離鹼（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、乙磺酸、對甲基苯磺酸、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，可在一種肽上提呈的酸性基團的鹼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。

【0253】 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）形式的肽或TCR蛋白。

【0254】 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（如鑰孔蟲戚血藍蛋白(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CD8T細胞。然而，在有CD4T-輔助細胞的幫助時，CD8T細胞刺激更加有效。因此，對於刺激CD8T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。

【0255】 一方面，疫苗包括至少含有SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91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。

【0256】 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。

【0257】 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。

【0258】 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。

【0259】 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。

【0260】 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。

【0261】 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。

【0262】 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。

【0263】 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。

【0264】 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。

【0265】 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。

【0266】 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。

【0267】 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 polyA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。

【0268】 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。

【0269】 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（編號ATCC 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。

【0270】 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。

【0271】 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。

【0272】 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，抗原提呈細胞（如樹突狀細胞）可用于表達本發明中的肽，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。

【0273】 在一個優選實施方案中，宿主細胞為抗原提呈細胞，尤其是樹突狀細胞或抗原提呈細胞。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)。

【0274】 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。

【0275】 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 $125\text{ }\mu\text{g}$ 至 $500\text{ }\mu\text{g}$ 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)。

【0276】 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。

【0277】 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 (T_H) 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-），加速樹突狀細胞成熟為T淋巴細胞的有效抗原提呈細胞（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）。

【0278】 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。

【0279】 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。

【0280】 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。

【0281】 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 。

【0282】 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

resimiquimod。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。

【0283】 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，EP2112253中有示例製劑。

【0284】 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)。

【0285】 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。

【0286】 「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提呈一個或多個其他肽-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提

呈的靶細胞（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。

【0287】 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。

【0288】 各支架可與第二個活性分子（例如IL-21、抗CD3、抗CD28）共軛。

【0289】 關於多肽支架的進一步資訊，可參閱，例如，在WO 2014/071978A1背景技術部分，並作為參考文獻引用。

【0290】 本發明還涉及適體。適體（例如，參見WO 2014/191359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。

【0291】 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。

【0292】 可選擇DNA 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，這使適體適用于作為所謂的廣譜診斷和治療手段。

【0293】 此外，用流式細胞儀對細胞結合行為的研究顯示，適體在納莫耳範圍內顯示出很好的親和力。

【0294】 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siRNA進入腫瘤細胞。

【0295】 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 91的一個序列、根據當前發明的肽複合體與MHC分子，使用細胞SELEX（透過指數富集的配體系統進化）技術。

【0296】 本發明中的肽可用于生成和開發出針對MHC/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PET）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。

【0297】 因此，本發明的另一方面是提出產生特異性結合至與HLA限制性抗原絡合的I或II類人主要組織相容性複合體(MHC)的一種重組抗體的方法，該方法包括：用可溶

形式的與HLA限制性抗原結合的(MHC)I或II類分子對包含表達所述主要組織相容性說複合體(MHC)I或II類的基因工程非人哺乳動物進行免疫；將mRNA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mRNA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HLA限制性抗原結合的所述人主要組織相容性說複合體(MHC)I或II類。

【0298】 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限制性抗原結合的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。

【0299】 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; Denksberg 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。

【0300】 優選地，該抗體與複合體的結合親和力低於20納莫耳，優選為低於10納莫耳，這在本發明情況下也被視為具有「特異性」。

【0301】 本發明涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91組成的組的一個序列或該序列的與SEQ

ID NO:1至SEQ ID NO:91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。

【0302】 本發明進一步涉及一種肽，包含選自SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91組成的組的一個序列、或與SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:91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。

【0303】 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。

【0304】 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:91的一個氨基酸序列組成。

【0305】 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。

【0306】 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。

【0307】 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。

【0308】 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。

【0309】 本發明進一步涉及一種能表達本發明核酸的表達載體。

【0310】 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，特別是用於治療頭頸鱗狀細胞癌。

【0311】 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。

【0312】 本發明進一步涉及本發明的宿主細胞，其為抗原提呈細胞，優選為樹突細胞。

【0313】 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。

【0314】 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提呈細胞表面的I或II類MHC分子。

【0315】 本發明進一步涉及本發明的方法，其中該抗原提呈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:91的肽或所述變體氨基酸序列。

【0316】 本發明進一步涉及以本發明方法製造的啟動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。

【0317】 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。

【0318】 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啟動細胞毒性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。

【0319】 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。

【0320】 本發明進一步涉及根據本發明肽的用途，其中所述癌細胞為頭頸鱗狀細胞癌或其他實體或血液學腫瘤細胞，如：急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽管癌、腦癌、慢性淋巴細胞性白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌細胞。

【0321】 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/或判斷頭頸鱗狀細胞癌的預後。本發明還涉及這些供癌症治療使用的新靶點。

【0322】 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，頭頸鱗狀細胞癌標誌物（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頭頸鱗狀細胞癌細胞和/或抑制頭頸鱗狀細胞癌標誌物多肽的活性）。

【0323】 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制得。技術人員會瞭解全長頭頸鱗狀細胞癌標誌物多肽或其片段可用于製備本發明的抗體。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。

【0324】 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:91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頭頸鱗狀細胞癌標誌物多肽的單克隆或多克隆抗體製劑。

【0325】 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 E L I S A 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。

【0326】 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，但可能少量提呈的自然突變除外。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）。

【0327】 本發明的單克隆抗體可能使用雜交瘤方法制得。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。

【0328】 單克隆抗體也可由 D N A 重組方法制得，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 D N A 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）。

【0329】 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 F a b 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 94/29348 和美國 4342566 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(ab')₂ 片段和一個 pFc' 片段。

【0330】 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。

【0331】 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) C D R 的殘基取代。在某些情況下，人類免疫球蛋白的 F_v 框架(F R)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 C D R 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 C D R 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 F R 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(F_c)的一部分，通常是人免疫球蛋白的恒定區的一部分。

【0332】 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 C D R 或 C D R 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 C D R 殘基以及可能的一些 F R 殘基被來自齧齒動物抗體中的類似位點的殘基取代。

【0333】 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。

【0334】 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。

【0335】 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。

【0336】 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 mg/kg 體重或更多，這取決於上述因素。給予抗體，優選為治療頭頸鱗狀細胞癌後，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。

【0337】 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。

【0338】 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。

【0339】 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（ K_d ）低於 $1 \times 10 \mu\text{M}$ 。

【0340】 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。

【0341】 本發明的另一方面包括一種體外製備啟動的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提呈細胞表面表達

足夠的一段時間從而以抗原特異性方式啟動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提呈細胞一同使用。

【0342】 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。

【0343】 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CRL19863；小鼠RMA-S細胞株Ljunggren等人描述過（Ljunggren and Karre, 1985）。

【0344】 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。

【0345】 當MHC I類表位用作一種抗原時，T細胞為CD8陽性T細胞。

【0346】 如果抗原提呈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:91的肽或變體氨基酸序列。

【0347】 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于生成CTL。Plebanski等人在(Plebanski et al., 1995)使用自體外周血淋巴細胞(PLB)制得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提呈細胞(aAPC)體外啟動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MHC：肽複合物耦合到聚苯乙烯顆粒（微球）而生成aAPC。該系統實現了對aAPC上的MHC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MHC：肽複合物外，aAPC還應攜運含共刺激活性的其他蛋白，如耦合至表面的抗-CD28抗體。此外，此類基於aAPC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 12的細胞因子。

【0348】 也可用同種異體細胞制得T細胞，在WO 97/26328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T2細胞，也可用其他細胞來提呈肽，如CHO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Porta等人在(Porta et al., 1994)中描述了將豇豆花葉病毒開發為一種提呈外來肽的高產系統。

【0349】 被啟動的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制得的啟動T細胞。

【0350】 按上述方法製成的啟動T細胞將會有選擇性地識別異常表達含SEQ ID NO:1至SEQ ID NO 91 氨基酸序列的多肽。

【0351】 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啟動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。

【0352】 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)）。

【0353】 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。

【0354】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。

【0355】T細胞可用本領域已知的方法制得（如，上述方法）。

【0356】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)。

【0357】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。

【0358】本發明的任一分子（即肽、核酸、抗體、表達載體、細胞，啟動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。

【0359】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。

【0360】 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。

【0361】 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。

【0362】 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。

【0363】 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。

【0364】 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。

【0365】 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。

【0366】 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）。

【0367】 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。

【0368】 由於本發明的肽從頭頸鱗狀細胞癌中分離而得，因此，本發明的藥劑優選用於治療頭頸鱗狀細胞癌。

【0369】 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 T U M A P 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：T C R 隔離物或可溶性抗體和其他治療選擇。

【0370】 「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。

【0371】 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提呈的一組或一系列肽。「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 H L A - A H L A - B 和 H L A - C 等位元基因頭頸鱗狀細胞癌患者的腫瘤組織中高度過度表達。其可能含有包括 M H C I 類和 M H C II 類肽或拉長的 M H C I 類肽。除了從幾種頭頸鱗狀細胞癌組織中採集的腫瘤相關肽外，存儲庫還可能包含 H L A - A * 0 2 和 H L A - A * 2 4 標記肽。這些肽可對 T U M A P 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 T U M A P 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。

【0372】 存儲庫的 T U M A P 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 (X P r e s i d e n t ®) 。該方法確保了只選擇真實存在于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，患者頭頸鱗狀細胞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（頭頸鱗狀細胞癌）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。腫瘤組織上過度提呈或選擇性提呈的肽，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，使用健康供體以及頭頸鱗狀細胞癌患者的人T細胞進行體外免疫原性測定。

【0373】 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抗體的人工抗原提呈細胞反復刺激來自健康供體的CD8+T細胞。

【0374】 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。

【0375】 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。

【0376】 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于患者腫瘤中，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。

【0377】 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提呈的腫瘤相關肽(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，腫瘤樣本提呈的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。

【0378】 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

于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方法只限于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HiSeq2000（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。

【0379】 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提呈的腫瘤相關肽(TUMAP)；(b)將(a)中鑒定的肽與進行腫瘤（與相應的正常組織相比）免疫原性和過量提呈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。

【0380】 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提呈的腫瘤相關肽(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。

【0381】 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。

【0382】 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。

【0383】 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。

【0384】 本發明的肽除了用於治療癌症，也可用於診斷。由於肽由頭頸鱗狀細胞癌細胞產生，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。

【0385】 血液樣本中組織活檢物含權利要求的肽，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，也可用作頭頸鱗狀細胞癌的生物標誌物。肽基團的提呈使得能對病變組織進行分類或進一步分成子類。

【0386】 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，肽的提呈表明，分析過的細胞並沒有利用這種機制。

【0387】 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 分子絡合的肽發生的反應。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。

【0388】 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。

實施例 1

細胞表面提呈的腫瘤相關肽的識別和定量

組織樣本

【0389】 患者的腫瘤組織獲得自：Asterand (Detroit, MI, 美國 & Royston, Herts, 英國)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 美國)。正常組織獲得自 Asterand (Detroit, MI, 美國 & Royston, Herts, 英國)、Bio-Options Inc. (Brea, CA, 美國)、BioServe (Beltsville, MD, 美國)、Capital BioScience Inc. (Rockville, MD, 美國)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, 美國)、京都府立醫科大學 (KPUM) (Kyoto, 日本)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 美國)、Tissue Solutions Ltd (Glasgow, 英國)、日內瓦大學醫院 (Geneva, 瑞士)、海德堡大學醫院 (Heidelberg, 德國)、慕尼黑大學醫院 (Munich, 德國)、蒂賓根大學醫院 (Tübingen, 德國)。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。

從組織樣本中分離 HLA 肽

【0390】 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、

H L A - A 、 H L A - B 、 H L A - C 特異性抗體 W 6 / 3 2 、 C N B r 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 H L A 肽庫。

質譜分析

【0391】 獲得的 H L A 肽庫根據其疏水性用反相色譜 (n a n o A c q u i t y U P L C s y s t e m , W a t e r s) 分離，洗脫肽用裝有電噴霧源的 L T Q - v e l o s 融合雜交質譜 (T h e r m o E l e c t r o n) 進行了分析。肽庫被直接載入填充有 $1.7\ \mu\text{m}\ \text{C}18$ 反相材料 (W a t e r s) 的分析用熔煉石英微毛細管柱 ($75\ \mu\text{m}$ 內徑 $\times$ $250\ \text{mm}$) ，應用流速為 $400\ \text{nL}$ 每分鐘。隨後，使用來自流速為 $300\ \text{nL}$ 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 (P i c o T i p , N e w O b j e c t i v e) 用於引入到納升電噴霧源。使用前 5 (T O P 5) 策略在資料依賴模式下操作 L T Q - O r b i t r a p 質譜儀。簡言之，首先以高精確品質完全掃描在 o r b i t r a p 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 o r b i t r a p 中對 5 種含量最為豐富的前體離子進行 M S / M S 掃描 ($R = 7500$) 。串聯質譜以 S E Q U E S T 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。

【0392】 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，計算了提呈圖，其顯示樣本平均提呈量以及複製變化。這些特徵使頭頸鱗狀細胞癌樣本與正常組織樣本的基線值並列。示範性過度提呈肽的提呈譜示於圖1中。示範性肽的提呈分數見表8。

表8：提呈分數。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提呈(+++)、與一系列正常組織相比在腫瘤上高度過量提呈(++)或與一系列正常組織相比在腫瘤上過量提呈(+)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、膽管、血細胞、血管、骨髓、腦、食道、眼、膽囊、頭頸部、心臟、腎、大腸、肝、肺、淋巴結、神經、胰腺、甲狀旁腺、腹

膜、垂體、胸膜、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	肽提呈
1	GLAGGFGGPGFPV	+++
2	PVCPGGIQEV	+++
3	SLYGLGGSKRISI	+++
4	ILDINDNPPV	+++
5	VCPPGGIQEV	+++
6	ALYDAELSQM	+++
7	ALEEANADLEV	+++
8	AQLNIGNVLPV	+++
9	STASAITPSV	+++
10	TLWPATPPKA	+++
11	VLFSPPVI	+++
12	TLTDEINFL	+++
13	SLVSYLDKV	+++
14	RIMEGIPTV	+++
15	SMLNNIINL	+
16	ALKDSVQRA	+++
17	SIWPALTQV	+++
19	ALAKLLPLL	+++
20	YLINEIDRIRA	+++
21	FLHEPFSSV	+++
22	KLPEPCPSTV	+++
23	SLPESGLLSV	+++
24	LLIAINPQV	+++
25	SLCPPGGIQEV	+++
26	TLVDENQSWYL	+++
27	YLAEPQWAV	+++
28	AVDPVSGSLYV	+++
29	RLLPDLDEV	+++
30	TLASLGYAVV	+++
31	HLATVKLLV	+++
32	IQDAEGAIHEV	+++
33	AIYEGVGWNV	+++
34	ALDTFSVQV	+++

35	ALVGDVILTV	+++
36	GLWSSIFSL	+++
37	ILLEDVFQL	+++
38	KLLPGVQYV	+++
39	LLPEDDTRDNV	+++
40	LLTPLNLQI	+++
41	RLNGEGVGQVNISV	+++
42	ALYTSGHLL	+++
43	AVLGGKLYV	+++
44	GLGDDSFPI	+++
45	GLIEWLENTV	+++
46	GLISSIEAQL	+++
47	QLLEGELETL	+++
48	YLLDYPNNL	+++
49	YLWEAHTNI	+++
50	ALSNVVHKV	+++
51	FLIPSIIFA	+++
52	LLFTGLVSGV	+++
53	RLVEVGGDVQL	+++
54	RLSGEGVGPV	+++
55	VLNVGVAEV	+++
56	FLQLETEQV	+++
58	SLSDIQPCL	+++
60	SLGNFKDDL	+++
61	FVAGYIAGV	+++
62	ILSSACYTV	+++
63	ALMDEINFMKM	++
67	AQLNLIWQL	+
69	YVMESMTYL	+
70	FLFPAFLTA	+++
71	SLFPYVVLI	+++
72	SLDGNPLAV	+++
73	YIDPYKLLPL	+++
74	SLTSFLISL	+++
75	ALASAPTSV	+++
78	VLYGDVEEL	+++
79	GLHQDFPSVVL	+

81	VLAENPDIFAV	+++
82	VLDINDNPPV	+++
83	QLLQYVYNL	+++
84	ALMAGCIQEA	+++
85	QLIEKITQV	+++
86	SLQERQVFL	+++
88	LMAPAPSTV	++
90	TLNDGVVVQV	+
91	MLFENMGAYTV	+

實施例 2

編碼本發明肽的基因的表達譜

【0393】 與正常細胞相比在腫瘤細胞上一種肽過度提呈或特定提呈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于正常組織中。但是，mRNA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于正常組織中的蛋白。

RNA 來源與製備

【0394】 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。

【0395】 用於RNASeq實驗來自健康人體組織的總RNA獲得自：

Asterand (Detroit, MI, 美國 & Royston, Herts, 英國)、BioCat GmbH (Heidelberg, 德國)、Bio-Options Inc. (Brea, CA, 美國)、BioServe (Beltsville, MD, 美國)、Capital BioScience Inc. (Rockwell, MD, 美國)、Geneticist Inc. (Glendale, CA, 美國)、Istituto Nazionale Tumori "Pascale" (Naples, 意大利)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 美國)、海德堡大学医院 (Heidelberg, 德國)。用於RNASeq實驗來自腫瘤組織的總RNA獲得自：Asterand (Detroit, MI, 美國 & Royston, Herts, 英國)、ProteoGenex Inc. (Culver City, CA, 美國)。

【0396】 所有RNA樣品的質量和數量在Agilent 2100生物分析儀 (Agilent, Waldbronn, 德國) 上使用RNA 6000 Pico Lab Chip試劑盒 (Agilent) 評估。

RNA 序列實驗

【0397】 透過新一代測序技術 (RNAseq) 由CeGaT (Tübingen, 德國) 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, 美國)，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莫耳混合並在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。

【0398】 本發明的代表性源基因在頭頸鱗狀細胞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。

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、膽管、血細胞、骨髓、腦、軟骨、結腸、食道、眼、膽囊、頭頸部和唾液腺、心臟、腎、肝、肺、淋巴結、胰腺、甲狀旁腺、外周神經、腹膜、垂體腺、胸膜、直腸、骨骼肌、皮膚、小腸、脾、胃、甲狀腺、氣管、輸尿管、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	GLAGGFGGPGFPV	+++
2	PVCPGGIQEV	+++
3	SLYGLGGSKRISI	+++
4	ILDINDNPPV	+++
5	VCPPGGIQEV	+++
6	ALYDAELSQM	+++
7	ALEEANADLEV	+++
9	STASAITPSV	+++
12	TLTDEINFL	+++
14	RIMEGIPTV	+++
15	SMLNNIINL	+++
19	ALAKLLPLL	+++
20	YLINEIDRIRA	++
21	FLHEPFSSV	+++
24	LLIAINPQV	+++
26	TLVDENQSWYL	+++
27	YLAEPQWAV	+
33	AIYEGVGWNV	+++
34	ALDTFSVQV	++
35	ALVGDVILTV	+
36	GLWSSIFSL	+++
38	KLLPGVQYV	+++
39	LLPEDDTRDNV	+++
40	LLTPLNLQI	+++
41	RLNGEGVGQVNISV	+++
49	YLWEAHTNI	+
51	FLIPSIIFA	+++
53	RLVEVGGDVQL	+++
54	RLSGEGVGPV	+++
59	YLQNEVFGL	+++
60	SLGNFKDDLL	+++
62	ILSSACYTV	+++
63	ALMDEINFMKM	+++

82	VLDINDNPPV	+++
91	MLFENMGAYTV	++

實施例 3

M H C - I類提呈肽的體外免疫原

【0399】 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 抗體的人工抗原提呈細胞 (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 C D 8 + 前體 T 細胞的 T 細胞表位（表 1 0）。

C D 8 + T 細胞體外啟動

【0400】 為了用載有肽 - M H C 複合物 (p M H C) 和抗 C D 2 8 抗體的人工抗原提呈細胞進行體外刺激，發明人首先從德國 University clinics Mannheim 中獲取健康供體 C D 8 微珠 (M i l t e n y i B i o t e c h , B e r g i s c h - G l a d b a c h , 德國) 透過積極選擇白細胞清除術後新鮮 H L A - A * 0 2 產物而分離出 C D 8 + T 細胞。

【0401】 P B M C 和分離出的 C D 8 + 淋巴細胞使用前在 T 細胞培養基 (T C M) 中培養，培養基包括 R P M I - G l u t a m a x (I n v i t r o g e n 公司，K a r l s r u h e ，德國) 並補充 1 0 % 熱滅活人 A B 血清 (P A N - B i o t e c h 公司，A i d e n b a c h ，德

國)、100 U/ml 青黴素/100 $\mu\text{g/ml}$ 鏈黴素 (Cambrex 公司, Cologne, 德國), 1 mM 丙酮酸鈉 (CC Pro 公司, Oberdorla, 德國) 和 20 $\mu\text{g/ml}$ 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。

【0402】 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。

【0403】 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 μm 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)。

【0404】 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 中修飾制得的肽 ELAGIGILT V (SEQ ID NO: 157)) 和 A*0201/DDX5-001 (從 DDX5 中獲得的 YLLPAIVHI (SEQ ID NO: 158))。

【0405】 800.000 珠/200 μl 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 μl 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 BD LSRII SORP 細胞儀。肽特異性細胞以占總 CD8+ 細胞的百分比形式進行計算。多聚體分析結果使用 FlowJo 軟體 (Tree Star 公司，Oregon，美國) 進行評估。特定多聚體 + CD8+ 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 CD8+T 細胞株 (即該孔包含至少 1% 特定多聚體 + CD8+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 10 倍)，則檢測給定抗原的免疫原性。

頭頸鱗狀細胞癌肽體外免疫原性

【0406】 對於受到測試的 HLA-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。TUMAP 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。TUMAP 特異性多聚體對本發明的 3 種肽染色後流式細胞儀檢測的其他典型結果如圖 4 所示，同時也含有相應的陰性對照資訊。本發明 17 種肽的結果匯總於表 10 A。本發明 17 種肽的其他結果匯總於表 10 B。

表 10 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。
< 20 % = +；20 % - 49 % = ++；50 % - 69 % = +++；
> = 70 % = ++++

序列 ID 號	肽代碼	序列	孔	供體
98	RAD54B-001	SLYKGLLSV	++	++++
101	C4orf36-001	GLLPSAESIKL	+	++++
105	KRT-010	STYGGGLSV	+	++++
108	KRT5-001	SLYNLGGSKRISI	+	++++
109	IGF2BP3-001	KIQEILTQV	+	+++
113	PKP1-002	NLMASQPQL	+++	++++
114	TP6-001	VLVPYEPPQV	+	++++
118	KRT-006	TLLQEQGTKTV	+	++
123	GJB5-001	LLSGDLIFL	++	++++
127	FHL2-001	SLFGKKYIL	++	++++
135	DNMT3B-001	GLFSQHFNL	+	++
137	LOC-002	GLAPFLNNAV	+	++++
143	FAP-003	YVYQNNIYL	+	++
145	TMEM222-001	LLYGKYVSV	++	++++
147	DNMT1-001	ILMDPSPEYA	+++	++++
150	NLRP2-001	ILAEPIYIRV	+++	++++
154	BDH1-001	KMWEELPEVV	+	++++

表 10B：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 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 % = + + + +

序列 ID 號	序列	陽性孔 [%]
1	GLAGGFGGPGFPV	+
3	SLYGLGGSKRISI	+
8	AQLNIGNVLPV	+
10	TLWPATPPKA	+
11	VLFSSPPVI	++
12	TLTDEINFL	+
13	SLVSYLDKV	++
16	ALKDSVQRA	+
17	SIWPALTQV	++++
18	YLYPDLSRL	+
19	ALAKLLPLL	++
20	YLINEIDRIRA	+
26	TLVDENQSWYL	++
28	AVDPVSGSLYV	+++
29	RLLPDLDEV	++
30	TLASLGYAVV	+++
82	VLDINDNPPV	+

實施例 4

肽的合成

【0407】 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 $>50\%$ 。所有的TUMAP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。

實施例 5

MHC 結合測定

【0408】 本發明基於T細胞療法的候選肽進一步測試其MHC結合能力（親和性）。單個肽-MHC複合體透過UV-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MHC分子的候選肽才能阻止MHC複合物的解離。為了確定交換反應的產率，將基於穩定MHC複合物輕鏈($\beta 2m$)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。

【0409】 96孔MAXISorp板(NUNC)在室溫下在PBS中以 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 鏈黴包被過夜，四次洗滌並在 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 $15-500\text{ ng/ml}$ 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 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ HRP綴合抗- $\beta 2m$ 溫育1小時，再次洗滌，並以 NH_2SO_4 封堵的TMB溶液進行檢測。在 450 nm 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 M H C 分子表現出足夠的親合力，並能防止 M H C 複合體的解離。

表 1 1：M H C - I 類結合分數。H L A - I 類限制肽與 H L A - A * 0 2 : 0 1 的結合根據肽交換產量分類：> 1 0 % = + ; > 2 0 % = + + ; > 5 0 = + + + ; > 7 5 % = + + + +

序列 ID 號	序列	肽交換
1	GLAGGFGGPGFPV	++++
2	PVCPGGIQEV	+++
3	SLYGLGGSKRISI	+++
4	ILDINDNPPV	+++
5	VCPGGIQEV	+++
6	ALYDAELSQM	+++
7	ALEEANADLEV	+++
8	AQLNIGNVLPV	++++
9	STASAITPSV	++
10	TLWPATPPKA	+++
11	VLFSSPPVI	++++
12	TLTDEINFL	++++
13	SLVSYLDKV	++++
14	RIMEGIPTV	++++
15	SMLNNIINL	+++
16	ALKDSVQRA	+++
17	SIWPALTQV	++++
18	YLYPDLSRL	++++
19	ALAKLLPLL	++++
20	YLINEIDRIRA	++++
21	FLHEPFSSV	++++
22	KLPEPCPSTV	+++
23	SLPESGLLSV	+++
24	LLIAINPQV	++++
25	SLCPPGGIQEV	++++
26	TLVDENQSWYL	+++
27	YLAEPQWAV	++++
28	AVDPVSGSLYV	++++
29	RLLPDLDEV	++++
30	TLASLGYAVV	+++
31	HLATVKLLV	++++
32	IQDAEGAIHEV	++++
33	AIYEGVGWNV	++++
34	ALDTFSVQV	++++

35	ALVGDVILTV	++++
36	GLWSSIFSL	++++
37	ILLEDVFQL	++++
38	KLLPGVQYV	++++
39	LLPEDDTRDNV	+++
40	LLTPLNLQI	+++
41	RLNGEGVGQVNISV	++
42	ALYTSGHLL	++++
43	AVLG GKLYV	++++
44	GLGDDSFPI	++++
45	GLIEWLENTV	++++
46	GLISSIEAQL	++++
47	QLLEGELETL	+++
48	YLLDYPNNL	+++
49	YLWEAHTNI	++++
50	ALSNVVHKV	++++
51	FLIPSIIFA	++++
52	LLFTGLVSGV	+++
53	RLVEVG GDVQL	++++
54	RLSGEGVGPV	+++
55	VLNVGVAEV	+++
56	FLQLETEQV	++++
57	AILGFALSEA	++++
58	SLSDIQPCL	+++
59	YLQNEVFGL	+++
60	SLGNFKDDL	+++
61	FVAGYIAGV	++++
62	ILSSACYTV	++++
63	ALMDEINFMKM	++++
64	KILEJLFVJL	+++
65	ALWGFFPVLL	++++
66	TLLSEIAEL	++++
67	AQLNLIWQL	++++
68	KILEMDDPRA	++
69	YVMESMTYL	++++
70	FLFPAFLTA	++++
71	SLFPYVVLI	++++
72	SLDGNPLAV	++++
73	YIDPYKLLPL	+++
74	SLTSFLISL	+++
75	ALASAPTSV	++++
76	ILFDEVLTFA	++++
77	SLRAFLMPI	++
78	VLYGDVEEL	+++
79	GLHQDFPSVVL	+++
80	GLYGIKDDVFL	++++

81	VLAENPDIFAV	+++
82	VLDINDNPPV	+++
83	QLLQYVYNL	++++
84	ALMAGCIQEA	++++
85	QLIEKITQV	+++
86	SLQERQVFL	+++
87	ALPEPSPAA	+++
88	LMAPAPSTV	+++
89	VLDEGLTSV	++++
90	TLNDGVVVQV	++++
91	MLFENMGAYTV	++++

【0410】 參考文獻列表

Abdel-Ghany, M. et al., J Biol Chem 276(2001): 25438-25446

Abdelmagid, S. A. et al., J Cell Biochem. 112(2011): 1084-1092

Adhikary, G. et al., PLoS.One. 8(2013): e84324

Aguiar, R. C. et al., J Biol Chem 280(2005): 33756-33765

Ahmed, N. et al., Biol Chem 397(2016): 1265-1276

Ai, R. et al., Gene Expr. 11(2003): 35-45

Aisa, Y. et al., Int.J Hematol. 82(2005): 266-269

Aizawa, S. et al., J Oral Sci. 56(2014): 209-214

Akbari, M. R. et al., Hum.Genet. 129(2011): 573-582

Akhtar, Ali M. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 112(2015): 7743-7748

Albergaria, A. et al., Int.J Dev.Biol 55(2011): 811-822

Allison, J. P. et al., Science 270(1995): 932-933

Alrawi, S. J. et al., Anticancer Res 26(2006): 107-119

Ammendola, M. et al., Biomed.Res Int. 2014(2014): 154702

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

Andersson, L., Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol 74(2009): 319-325

Andersson, L. et al., Transcription. 1(2010): 144-148

- Annibaldi, A. et al., PLoS.One. 6(2011): e29024
- Apostolopoulou, M. et al., PLoS.One. 7(2012): e33289
- Appay, V. et al., Eur.J Immunol. 36(2006): 1805-1814
- Arif, Q. et al., Arch.Pathol.Lab Med. 139(2015): 978-980
- Attallah, A. M. et al., Tumour.Biol 36(2015): 7667-7674
- Baak, J. P. et al., J Clin Pathol. 59(2006): 1017-1028
- Bachmann, S. B. et al., Mol Cancer 13(2014): 125
- Baglo, Y. et al., PLoS.One. 8(2013): e65200
- Bailey, C. M. et al., J Cell Physiol 209(2006): 617-624
- Balakrishnan, A. et al., Genes Chromosomes.Cancer 45(2006): 883-892
- Baluchamy, S. et al., In Vitro Cell Dev.Biol Anim 46(2010): 718-725
- Banchereau, J. et al., Cell 106(2001): 271-274
- Bao, L. et al., Cell Biol Toxicol. 32(2016): 419-435
- Bar-Shavit, R. et al., Methods Cell Biol 132(2016): 341-358
- Barach, Y. S. et al., Trends Mol.Med 17(2011): 47-55
- Barilli, A. et al., J Leukoc.Biol 90(2011): 293-303
- Barry, G. S. et al., Oncotarget. 7(2016): 18953-18964
- Bauml, J. M. et al., Ther.Adv.Med.Oncol 8(2016): 168-175
- Bausch, D. et al., Clin Cancer Res 17(2011): 302-309
- Beatty, G. et al., J Immunol 166(2001): 2276-2282
- Beggs, J. D., Nature 275(1978): 104-109
- Benjamini, Y. et al., Journal of the Royal Statistical Society.Series B(Methodological), Vol.57(1995): 289-300
- Benzon, B. et al., Prostate Cancer Prostatic.Dis.(2016)

- Binai, N. A. et al., *Endocrine*. 44(2013): 496-503
- Blanckaert, V. et al., *Int.J Oncol* 46(2015): 2649-2655
- Bongiovanni, L. et al., *Vet.Dermatol*. 25(2014): 138-140
- Bonitsis, N. et al., *Exp.Oncol* 28(2006): 187-193
- Bottino, C. et al., *Front Immunol*. 5(2014): 56
- Bouameur, J. E. et al., *J Invest Dermatol*. 134(2014): 885-894
- Boulter, J. M. et al., *Protein Eng* 16(2003): 707-711
- Boyero, L. et al., *Int.J Med Sci*. 10(2013): 1166-1173
- Braumuller, H. et al., *Nature*(2013)
- Brendle, A. et al., *Carcinogenesis* 29(2008): 1394-1399
- Broderick, P. et al., *Cancer Res* 69(2009): 6633-6641
- Brosens, R. P. et al., *J Pathol*. 221(2010): 411-424
- Brossart, P. et al., *Blood* 90(1997): 1594-1599
- Bruckdorfer, T. et al., *Curr.Pharm.Biotechnol*. 5(2004): 29-43
- Bruna, F. et al., *Stem Cell Res* 18(2017): 5-13
- Bryan, R. T., *Philos.Trans.R Soc.Lond B Biol Sci*. 370(2015): 20140042
- Bryan, R. T. et al., *J Urol*. 184(2010): 423-431
- Bu, W. et al., *Oncogene* 30(2011): 4399-4409
- Bustin, S. A. et al., *DNA Cell Biol* 20(2001): 331-338
- Buttner, S. et al., *EMBO J* 30(2011): 2779-2792
- Cada, Z. et al., *Histol.Histopathol*. 24(2009): 41-48
- Camicia, R. et al., *J Cell Sci*. 126(2013): 1969-1980
- Camicia, R. et al., *Mol.Cancer* 14(2015): 207
- Campione, E. et al., *Drug Des Devel.Ther*. 9(2015): 5843-5850

- Camps, J. et al., Cancer Res 73(2013): 2003-2013
- Canto, I. et al., Mini.Rev Med Chem 12(2012): 804-811
- Card, K. F. et al., Cancer Immunol Immunother. 53(2004): 345-357
- Cazier, J. B. et al., Nat Commun. 5(2014): 3756
- Chang, H. H. et al., Cancer 117(2011): 353-360
- Chanock, S. J. et al., Hum.Immunol. 65(2004): 1211-1223
- Chanthammachat, P. et al., Arch.Oral Biol 58(2013): 1677-1685
- Chen, J. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 8(2015): 2026-2032
- Chen, L. et al., Oncotarget.(2016)
- Chen, Q. et al., PLoS.One. 9(2014): e88386
- Chien, A. J. et al., Breast Cancer Res Treat. 155(2016): 521-530
- Choi, J. R. et al., Ann.Occup.Environ.Med 28(2016): 13
- Choi, Y. K. et al., Cancer Genomics Proteomics. 10(2013): 265-275
- Chowdhury, R. et al., Nature 510(2014): 422-426
- Chuang, J. J. et al., Toxicol.Appl.Pharmacol. 279(2014): 322-330
- Chung, T. K. et al., Int.J Cancer 137(2015): 776-783
- Cipolat, S. et al., Elife. 3(2014): e01888
- Clark, D. L. et al., J Anim Sci. 93(2015): 2546-2558
- Cohen, C. J. et al., J Mol Recognit. 16(2003a): 324-332
- Cohen, C. J. et al., J Immunol 170(2003b): 4349-4361
- Cohen, S. N. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 69(1972): 2110-2114
- Coligan, J. E. et al., Current Protocols in Protein Science(1995)
- Colombetti, S. et al., J Immunol. 176(2006): 2730-2738
- Corsaro, A. et al., Oncotarget. 7(2016): 38638-38657

- D'Asti, E. et al., Semin.Thromb.Hemost. 40(2014): 284-295
- Das, M. et al., PLoS.One. 8(2013): e69607
- Das, M. et al., Tumour.Biol 36(2015): 9987-9994
- David, G. et al., Oncogene 25(2006): 7354-7360
- Davies, E. L. et al., Eur.J Cancer 35(1999): 902-907
- Delgado, A. P. et al., Cancer Genomics Proteomics. 11(2014): 201-213
- Deng, M. et al., J Biol Chem 284(2009): 7875-7888
- Deng, W. et al., Cell Physiol Biochem. 35(2015): 1677-1688
- Deng, Y. et al., Cancer Invest 31(2013): 97-102
- Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res 12(2006): 4163-4170
- Denkberg, G. et al., J Immunol 171(2003): 2197-2207
- Depianto, D. et al., Nat Genet. 42(2010): 910-914
- Dewar, R. et al., Arch.Pathol.Lab Med 135(2011): 422-429
- do Prado, R. F. et al., Oral Surg.Oral Med Oral Pathol.Oral Radiol.Endod. 104(2007): e40-e44
- Dorn, J. et al., Oncol Lett. 9(2015): 418-424
- Dotlic, S. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. 22(2014): 537-542
- Dou, N. et al., Am.J Cancer Res 6(2016): 2641-2650
- Drucker, K. L. et al., BMC.Cancer 15(2015): 565
- Du, L. et al., Cancer Res 73(2013): 2682-2694
- Dubash, A. D. et al., J Cell Biol 202(2013): 653-666
- Duggan, M. A., Gan To Kagaku Ryoho 29 Suppl 1(2002): 176-193
- Economopoulou, P. et al., Ann.Transl.Med. 4(2016): 173
- Eichler, T. E. et al., Kidney Int. 90(2016): 568-579

- El-Rifai, W. et al., Cancer Res 62(2002): 6823-6826
- Elste, A. P. et al., J Mol.Histol. 41(2010): 89-99
- Epp, N. et al., J Cell Biol 177(2007): 173-182
- Er, T. K. et al., J Mol.Med.(Berl)(2016)
- Esteban-Jurado, C. et al., Eur.J Hum.Genet. 24(2016): 1501-1505
- Ettl, T. et al., Clin Exp.Med(2016)
- Evangelista, M. T. et al., J Cutan.Pathol. 42(2015): 824-831
- Falk, K. et al., Nature 351(1991): 290-296
- Fan, J. et al., Clin Cancer Res 17(2011): 2908-2918
- Fang, W. K. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. 15(2014): 871-876
- Fang, W. Y. et al., Acta Biochim.Biophys.Sin.(Shanghai)37(2005): 541-546
- Fauci, J. M. et al., Gynecol.Oncol 127(2012): 420-425
- Fevre-Montange, M. et al., Int.J Oncol 35(2009): 1395-1407
- Fijneman, R. J. et al., Clin Cancer Res 18(2012): 2613-2624
- Fong, L. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98(2001): 8809-8814
- French, J. et al., Histochem.J 34(2002): 223-231
- Frohwitter, G. et al., Oncol Lett. 12(2016): 107-113
- Funakoshi-Tago, M., Yakugaku Zasshi 132(2012): 1267-1272
- Furstenberger, G. et al., Prostaglandins Other Lipid Mediat. 82(2007): 128-134
- Gabrilovich, D. I. et al., Nat Med. 2(1996): 1096-1103
- Galoian, K. et al., Mol.Clin Oncol 3(2015): 171-178
- Gandhi, C. R. et al., Gastroenterology 148(2015): 379-391
- Gao, W. et al., BMC.Cancer 15(2015): 367
- Gao, Y. et al., Di Yi.Jun.Yi.Da.Xue.Xue.Bao. 23(2003): 885-887

- Gao, Y. B. et al., Nat Genet. 46(2014): 1097-1102
- Gattinoni, L. et al., Nat Rev.Immunol 6(2006): 383-393
- Gazda, H. T. et al., Hum.Mutat. 33(2012): 1037-1044
- Ge, W. et al., Nat Chem Biol 8(2012): 960-962
- Gelfand, R. et al., Int.J Oncol 50(2017): 49-65
- Gemmill, R. M. et al., Cancer Lett. 300(2011): 66-78
- Gieseler, F. et al., Cell Commun.Signal. 11(2013): 86
- Giguere, A. et al., Cancer Genet.Cytogenet. 202(2010): 94-100
- 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
- Gomez-Morales, M. et al., Histopathology 63(2013): 103-113
- Gorski, J. J. et al., Breast Cancer Res Treat. 122(2010): 721-731
- Green, M. R. et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual 4th(2012)
- Greenfield, E. A., Antibodies: A Laboratory Manual 2nd(2014)
- Grin, A. et al., Hum.Pathol. 46(2015): 541-548
- Grosset, A. A. et al., BMC.Cancer 14(2014): 801
- Grosset, A. A. et al., PLoS.One. 11(2016): e0166731
- Gruber, A. D. et al., Cancer Res 59(1999): 5488-5491
- Gupta, S. K. et al., Innate.Immun. 19(2013): 86-97
- Haass, N. K. et al., Pigment Cell Res 18(2005): 150-159
- Hammam, O. et al., J Egypt.Soc.Parasitol. 44(2014): 733-740
- Harris, T. M. et al., Arch.Pathol.Lab Med. 139(2015): 494-507
- Hatina, J. et al., Neoplasma 59(2012): 728-736
- Hatta, M. et al., J Obstet.Gynaecol.Res 30(2004): 53-58

- Hayes, D. C. et al., *Anticancer Res* 26(2006): 1567-1575
- He, C. S. et al., *Cell Physiol Biochem*. 40(2016): 1221-1229
- He, X. et al., *Int.J Biol Macromol*. 72(2015): 1081-1089
- Heidenreich, B. et al., *Curr.Opin.Genet.Dev*. 24(2014): 30-37
- Heikinheimo, K. et al., *J Dent.Res* 86(2007): 544-549
- Heikinheimo, K. et al., *J Dent.Res* 94(2015): 101-111
- Herold-Mende, C. et al., *Cell Tissue Res* 306(2001): 399-408
- Higareda-Almaraz, J. C. et al., *BMC.Cancer* 16(2016): 680
- Hoadley, K. A. et al., *PLoS.Med* 13(2016): e1002174
- Honrado, E. et al., *Crit Rev Oncol Hematol*. 59(2006): 27-39
- Horiguchi, K. et al., *Oncogene* 31(2012): 3190-3201
- Hu, J. et al., *Int.J Clin Exp.Pathol*. 8(2015): 9182-9188
- Huang, Y. P. et al., *Biomedicine.(Taipei)*6(2016): 3
- Huang, Y. Z. et al., *Sci.Rep*. 4(2014): 4570
- Huber, A. R. et al., *BMC.Gastroenterol*. 15(2015): 80
- Hwang, M. L. et al., *J Immunol*. 179(2007): 5829-5838
- Hwang, Y. S. et al., *J Cancer Prev*. 20(2015): 121-128
- Ida-Yonemochi, H. et al., *Mod.Pathol*. 25(2012): 784-794
- Iino, I. et al., *Cancer Sci*. 104(2013): 624-630
- Inamura, K. et al., *Lung Cancer* 103(2017): 44-51
- Ioana, M. et al., *J Gastrointestin.Liver Dis*. 19(2010): 155-159
- Iorns, E. et al., *Breast Cancer Res Treat*. 135(2012): 79-91
- Ishii, H. et al., *J Biol Chem* 289(2014): 27386-27399
- Ishimi, Y. et al., *J Biochem*. 157(2015): 561-569

- Janakiram, M. et al., Discov Med 14(2012): 229-236
- Janakiram, M. et al., Immunotherapy 8(2016): 809-819
- Jiang, L. et al., PLoS.One. 9(2014): e94187
- Jiang, M. M. et al., Zhongguo Shi Yan.Xue.Ye.Xue.Za Zhi. 21(2013): 821-829
- Jiang, R. et al., J Biol Chem 286(2011): 9127-9135
- Jiang, Y. et al., Oncol Lett. 10(2015): 3826-3831
- Johnson, R. H. et al., Oncotarget.(2015)
- Joosse, S. A. et al., Clin Cancer Res 18(2012): 993-1003
- Jung, G. et al., Proc Natl Acad Sci U S A 84(1987): 4611-4615
- Jurcic, V. et al., Histol.Histopathol. 30(2015): 945-953
- Juszczynski, P. et al., Mol.Cell Biol 26(2006): 5348-5359
- Kakuda, D. K. et al., Biochim.Biophys.Acta 1414(1998): 75-84
- Kan, T. et al., Oncology 70(2006): 25-33
- Kaplun, A. et al., Crit Rev Eukaryot.Gene Expr. 22(2012): 249-258
- Kasthuri, R. S. et al., J Clin Oncol 27(2009): 4834-4838
- Katada, K. et al., J Proteomics. 75(2012): 1803-1815
- Katoh, M., Int.J Oncol 41(2012): 1913-1918
- Kawakami, K. et al., Int.J Oncol(2015)
- Kaz, A. M. et al., Genes Chromosomes.Cancer 51(2012): 384-393
- Kedde, M. et al., Cell Cycle 7(2008): 899-903
- Kettunen, E. et al., Cancer Genet.Cytogenet. 149(2004): 98-106
- Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients rd(2000)
- Kim, H. J. et al., Anticancer Res 33(2013): 1555-1561
- Kim, K. et al., Int.J Colorectal Dis. 23(2008a): 569-580

- Kim, K. H. et al., Nucleic Acids Res 43(2015): 7462-7479
- Kim, S. W. et al., Blood 111(2008b): 1644-1653
- Kim, T. W. et al., Oncotarget.(2016)
- Kim, Y. H. et al., Ann.Surg.Oncol 18(2011): 2338-2347
- Kinyamu, H. K. et al., Mol.Carcinog 47(2008): 845-885
- Kishikawa, T. et al., Oncotarget. 6(2015): 8339-8352
- Kitchen, M. O. et al., Epigenetics. 11(2016): 237-246
- Klawitter, J. et al., Breast Cancer Res 12(2010): R16
- Knudsen, K. A. et al., J Cell Biochem. 95(2005): 488-496
- Koba, S. et al., Am.J Dermatopathol. 37(2015): e31-e36
- Kobos, R. et al., J Pathol. 229(2013): 743-754
- Koc, E. C. et al., Mitochondrion. 24(2015): 113-121
- Kocaturk, B. et al., Thromb.Res 129 Suppl 1(2012): S69-S75
- Kocaturk, B. et al., J Thromb.Haemost. 11 Suppl 1(2013): 285-293
- Kohn, K. W. et al., PLoS.One. 9(2014): e99269
- Kolin, D. L. et al., Biol Chem 395(2014): 1087-1093
- Koringa, P. G. et al., Vet.Comp Oncol(2013)
- Krepischi, A. C. et al., Breast Cancer Res 14(2012): R24
- Krieg, A. M., Nat Rev.Drug Discov. 5(2006): 471-484
- Kwok, H. F. et al., Am.J Cancer Res 5(2015): 52-71
- Kwon, J. et al., Int J Oncol 43(2013): 1523-1530
- Labrie, M. et al., PLoS.One. 10(2015): e0131307
- Labrie, M. et al., Oncotarget. 5(2014): 7705-7721
- Lee, D. J. et al., Cancer Biol Ther. 10(2010): 689-693

- Lee, D. M. et al., Environ.Toxicol.Pharmacol. 34(2012): 858-868
- Lee, J. Y. et al., Carcinogenesis 30(2009): 1528-1531
- Lee, K. Y. et al., J Med. 35(2004): 141-149
- Leiserson, M. D. et al., Genome Biol 16(2015): 160
- Leiserson, M. D. et al., Genome Biol 17(2016): 168
- Leung, F. et al., Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 25(2016): 1333-1340
- Leung, J. et al., Immune.Netw. 14(2014): 265-276
- Lexander, H. et al., Anal.Quant.Cytol.Histol. 27(2005): 263-272
- Li, J. et al., Chin Med J(Engl.)122(2009): 486-495
- Li, J. Z. et al., Chin Med.J(Engl.)121(2008): 1882-1890
- Li, L. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. 13(2012a): 3265-3270
- Li, T. et al., Exp.Dermatol. 24(2015): 342-348
- Li, W. Q. et al., Carcinogenesis 34(2013): 1536-1542
- Li, X. et al., Oncogene 23(2004): 1474-1480
- Li, X. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 419(2012b): 148-153
- Li, Y. et al., J Cell Physiol 212(2007): 675-681
- Lian, M. et al., PLoS.One. 8(2013): e84854
- Liddy, N. et al., Nat Med. 18(2012): 980-987
- Lim, L. C. et al., Pathol.Oncol Res 22(2016): 169-177
- Lima, L. G. et al., Biosci.Rep. 33(2013)
- Lin, C. S. et al., Cancer Lett. 368(2015): 36-45
- Lin, H. S. et al., Arch.Otolaryngol.Head Neck Surg. 130(2004): 311-316
- Lion, M. et al., Cell Cycle 12(2013): 1211-1224
- Liu, C. L. et al., Eur.Rev Med Pharmacol.Sci. 20(2016): 4466-4473

- Liu, D. Q. et al., Sci.Rep. 5(2015): 11955
- Liu, J. et al., J Biochem. 148(2010): 659-667
- Liu, Y. et al., Oncol Rep. 18(2007): 943-951
- Ljunggren, H. G. et al., J Exp.Med. 162(1985): 1745-1759
- Llorente, A. et al., J Cell Sci. 117(2004): 5343-5351
- Lo, W. Y. et al., J Proteomics. 77(2012): 154-166
- Lonardo, F. et al., Curr.Pharm.Des 16(2010): 1877-1881
- Longenecker, B. M. et al., Ann N.Y.Acad.Sci. 690(1993): 276-291
- Lonsdale, J., Nat.Genet. 45(2013): 580-585
- Loos, M. et al., Clin Dev.Immunol. 2010(2010): 683875
- Low, K. C. et al., Trends Biochem.Sci. 38(2013): 426-434
- Lu, J. J. et al., Chin J Nat Med. 13(2015a): 673-679
- Lu, Y. et al., BMC.Mol.Biol 16(2015b): 21
- Lu, Y. et al., PLoS.One. 8(2013): e73866
- Lubben, B. et al., J Biol Chem 270(1995): 11549-11554
- Lucito, R. et al., Cancer Biol Ther. 6(2007): 1592-1599
- 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)
- Luo, D. et al., Biochem.Biophys.Res Commun.(2016)
- Maass, N. et al., Acta Oncol 39(2000): 931-934
- Maerki, S. et al., J Cell Biol 187(2009): 791-800
- Man, Y. et al., Tohoku J Exp.Med 234(2014): 29-40
- Mange, A. et al., J Proteomics. 142(2016): 114-121
- Marech, I. et al., World J Gastroenterol. 20(2014): 8910-8920

- Marioni, G. et al., Acta Otolaryngol. 129(2009): 476-480
- Markljung, E. et al., PLoS.Biol 7(2009): e1000256
- Marshall, P. A. et al., J Steroid Biochem.Mol.Biol 132(2012): 147-159
- Martinez, O. et al., PLoS.One. 5(2010): e10398
- Masugi, Y. et al., Lab Invest 95(2015): 308-319
- Matin, S. F. et al., Urol.Oncol 32(2014): 309-316
- Matsumoto, K. et al., Biomed.Res 35(2014): 201-206
- Matsuzaka, K. et al., Bull.Tokyo Dent.Coll. 45(2004): 229-233
- McDoniels-Silvers, A. L. et al., Clin Cancer Res 8(2002): 1127-1138
- Mei, Z. Z. et al., J Biol Chem 291(2016): 18176-18189
- Melaiu, O. et al., Mutat.Res 771(2015): 6-12
- Meschenmoser, K. et al., In Vivo 27(2013): 431-442
- Meslin, F. et al., Cancer Res 67(2007): 10910-10919
- Messina, M. et al., Blood 123(2014): 2378-2388
- Meziere, C. et al., J Immunol 159(1997): 3230-3237
- Min, L. et al., Histopathology 67(2015): 677-688
- Misago, N. et al., J Dermatol. 43(2016): 439-442
- Mitchell, S. M. et al., BMC.Cancer 14(2014): 54
- Mlacki, M. et al., PLoS.One. 9(2014): e89247
- Morgan, P. R. et al., Eur.J Cancer B Oral Oncol 30B(1994): 160-166
- Morgan, R. A. et al., Science 314(2006): 126-129
- Mori, M. et al., Transplantation 64(1997): 1017-1027
- Morris, L. G. et al., Nat Genet. 45(2013): 253-261
- Morris, M. R. et al., Oncogene 30(2011): 1390-1401

- Mortara, L. et al., Clin Cancer Res. 12(2006): 3435-3443
- Moskvina, L. V. et al., Arkh.Patol. 72(2010): 58-61
- Mountzios, G. et al., Ann.Oncol 25(2014): 1889-1900
- Mueller, L. N. et al., J Proteome.Res 7(2008): 51-61
- Mueller, L. N. et al., Proteomics. 7(2007): 3470-3480
- Mumberg, D. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 96(1999): 8633-8638
- Muramatsu, T. et al., Oral Oncol 39(2003): 199-203
- Mussai, F. et al., Blood 125(2015): 2386-2396
- Myklebust, M. P. et al., Br.J Cancer 106(2012): 756-762
- Naeem, A. S. et al., Cell Death.Differ. 22(2015): 2123-2132
- Nagappan, A. et al., BMC.Biochem. 14(2013): 24
- Nagata, M. et al., PLoS.One. 9(2014): e93164
- Narayanan, B. A., Curr.Cancer Drug Targets. 6(2006): 711-727
- Narisawa, Y. et al., J Dermatol. 42(2015): 445-452
- National Cancer Institute,(5-6-2015), www.cancer.gov
- Natsuga, K. et al., J Invest Dermatol.(2015)
- Natsuga, K. et al., J Invest Dermatol. 136(2016): 99-106
- Neumann, M. et al., Blood 121(2013): 4749-4752
- North, J. P. et al., Am.J Surg.Pathol. 39(2015): 1347-1356
- Novak, B. et al., Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 384(2011): 583-602
- Nygren, M. K. et al., Front Biosci.(Elite.Ed)3(2011): 989-993
- Oehler, V. G. et al., Blood 114(2009): 3292-3298
- Oh, H. R. et al., Cell Oncol(Dordr.)37(2014): 455-461
- Oi, N. et al., Oncogene 34(2015): 2660-2671

- Oikonomopoulou, K. et al., Biol Chem 391(2010): 299-310
- Ormanns, S. et al., Br.J Cancer 113(2015): 1460-1466
- Otsubo, T. et al., Cancer Med 4(2015): 415-425
- Palacios, J. et al., Pathobiology 75(2008): 85-94
- Papagerakis, S. et al., Hum.Pathol. 34(2003): 565-572
- Paparella, M. L. et al., J Oral Pathol.Med 44(2015): 801-809
- Paredes, J. et al., Breast Cancer Res 9(2007): 214
- Paredes, J. et al., Biochim.Biophys.Acta 1826(2012): 297-311
- Park, J. Y. et al., Oncotarget. 6(2015a): 5342-5353
- Park, Y. H. et al., Int.J Cancer 136(2015b): 1976-1984
- Pereira, P. M. et al., Org.Biomol.Chem. 12(2014): 1804-1811
- Perrin, C. et al., Am.J Dermatopathol. 33(2011): 131-139
- Persson, F. et al., Cancer Lett. 260(2008): 37-47
- Pickering, C. R. et al., Clin Cancer Res 20(2014): 6582-6592
- Pierce, A. et al., Mol.Cell Proteomics. 7(2008): 853-863
- Pigullo, S. et al., Pediatr.Blood Cancer 52(2009): 376-378
- Pinheiro, J. et al., nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models(<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>)(2015)
- Piura, B. et al., Harefuah 144(2005): 261-5, 303, 302
- Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25(1995): 1783-1787
- Poligone, B. et al., J Invest Dermatol. 135(2015): 869-876
- Polotskaia, A. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 112(2015): E1220-E1229
- Pondugula, S. et al., Mol.Cell Biol 29(2009): 4891-4905
- Porta, C. et al., Virology 202(1994): 949-955

- Preis, K. et al., Orv.Hetil. 148(2007): 979-983
- Probst, C. et al., Clin Chim.Acta 410(2009): 13-18
- Qiu, S. et al., Cancer Sci.(2016)
- Qu, T. et al., Mol.Med Rep. 14(2016): 5041-5048
- Rafnar, T. et al., Cancer Res 71(2011): 1356-1361
- Ramakrishna, S. et al., PLoS.One. 7(2012): e37772
- Ramakrishna, S. et al., J Biol Chem 286(2011): 10505-10514
- Ramani, D. et al., Clin Nutr. 33(2014): 14-22
- Ramani, V. C. et al., BMC.Cancer 8(2008): 373
- Ramena, G. et al., PLoS.One. 11(2016): e0147489
- Rammensee, H. et al., Immunogenetics 50(1999): 213-219
- Rashid, R. et al., Mol.Cell 21(2006): 249-260
- Rastelli, F. et al., Tumori 96(2010): 875-888
- Ratovitski, E. A., FEBS Lett. 587(2013): 3581-3586
- RefSeq, The NCBI handbook [Internet], Chapter 18,(2002),
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>
- Remmelink, M. et al., Histopathology 58(2011): 543-556
- Resende, C. et al., Helicobacter. 16 Suppl 1(2011): 38-44
- Reyes, C. et al., Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. 21(2013): 283-286
- Ribeiro, A. S. et al., Front Oncol 4(2014): 371
- Riker, A. I. et al., BMC.Med Genomics 1(2008): 13
- Rini, B. I. et al., Cancer 107(2006): 67-74
- Rock, K. L. et al., Science 249(1990): 918-921
- Rohan, S. et al., Clin Cancer Res 12(2006): 6937-6945

- Rohrbeck, A. et al., PLoS.One. 4(2009): e7315
- Rooney, M. S. et al., Cell 160(2015): 48-61
- Rotmann, A. et al., Biochem.J 395(2006): 117-123
- Rotty, J. D. et al., J Cell Biol 197(2012): 381-389
- Ruf, W., Thromb.Res 130 Suppl 1(2012): S84-S87
- Ruf, W. et al., J Thromb.Haemost. 9 Suppl 1(2011): 306-315
- Rui, X. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 8(2015): 5435-5442
- Saaber, F. et al., Pathol.Res Pract. 211(2015): 208-213
- Sabeti, S. et al., Indian J Dermatol. 58(2013): 331-336
- Safadi, R. A. et al., Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.Oral Radiol. 121(2016): 402-411
- Sager, R. et al., Curr.Top.Microbiol.Immunol. 213(Pt 1)(1996): 51-64
- Saiki, R. K. et al., Science 239(1988): 487-491
- Salas, S. et al., Int.J Cancer 125(2009): 851-860
- Saletta, F. et al., BBA.Clin 1(2014): 59-77
- Sanchez-Palencia, A. et al., Int.J Cancer 129(2011): 355-364
- Sasaki, Y. et al., Cancer Biol Ther. 13(2012): 1512-1521
- Sato, T. et al., Oncogene 33(2014): 2215-2224
- Sauer, H. et al., Free Radic.Biol Med 27(1999): 1276-1283
- Sawada, K. et al., J Oral Sci. 58(2016): 325-331
- Schmitt-Graeff, A. et al., Histopathology 51(2007): 87-97
- Schrader, C. H. et al., Mol.Cancer 14(2015): 107
- Schulten, R. et al., Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 385(2012): 969-979
- Schumann, H. et al., Br.J Dermatol. 167(2012): 929-936
- Scola, N. et al., Br.J Dermatol. 167(2012): 591-597

- Seal, S. et al., Cancer Res 63(2003): 8596-8599
- Sedda, S. et al., World J Gastroenterol. 20(2014): 11977-11984
- Seeger, F. H. et al., Immunogenetics 49(1999): 571-576
- Seishima, M. et al., Arch.Dermatol. 140(2004): 1500-1503
- Sellheyer, K., J Cutan.Pathol. 42(2015): 90-101
- Sharifi, N. et al., Prostate 67(2007): 301-311
- Shen, M. et al., Environ.Mol.Mutagen 50(2009): 285-290
- Shen, X. et al., Tumour.Biol 36(2015): 7133-7142
- Sheng, S., Front Biosci. 9(2004): 2733-2745
- Sherman, F. et al., Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics(1986)
- Shi, L. et al., BMC.Cancer 16(2016): 815
- Shim, J. H. et al., Cancer Prev.Res(Phila)3(2010): 670-679
- Shimbo, T. et al., PLoS.One. 5(2010): e10566
- Shinmura, K. et al., Dis.Markers 2014(2014): 619273
- Shruthi, D. K. et al., J Oral Maxillofac.Pathol. 18(2014): 365-371
- Sidiropoulos, K. G. et al., Mol.Oncol 10(2016): 993-1007
- Silveira, A. C. et al., Cancer Lett. 276(2009): 32-37
- Singh-Jasuja, H. et al., Cancer Immunol.Immunother. 53(2004): 187-195
- Sinha, N. et al., Oral Oncol 49(2013): 854-862
- Sivanathan, L. et al., Prostate 74(2014): 537-546
- Sizemore, G. M. et al., J Biol Chem 289(2014): 24102-24113
- Skipworth, R. J. et al., Int.J Oncol 36(2010): 973-982
- Slaga, T. J. et al., Prog.Clin Biol Res 391(1995): 1-20
- Small, E. J. et al., J Clin Oncol. 24(2006): 3089-3094

- Smith, K. T. et al., Mol.Cell Proteomics. 11(2012): 1815-1828
- Sobolik-Delmaire, T. et al., Cell Commun.Adhes. 14(2007): 99-109
- Solus, J. F. et al., Int.J Surg.Pathol. 24(2016): 29-36
- Somasekharan, S. P. et al., J Cell Biol 208(2015): 913-929
- Song, B. et al., Exp.Ther.Med 12(2016): 2455-2468
- Soreide, K. et al., J Pathol. 209(2006): 147-156
- Southgate, J. et al., Histol.Histopathol. 14(1999): 657-664
- Sturm, M. et al., BMC.Bioinformatics. 9(2008): 163
- Sun, B. C. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. 86(2006): 1808-1812
- Sun, L. et al., Mol.Med Rep. 12(2015a): 4266-4272
- Sun, N. K. et al., Oncotarget. 6(2015b): 27065-27082
- Sun, S. et al., Gene 584(2016): 90-96
- Suzuki, A. et al., Cancer Sci. 99(2008): 986-994
- Swatler, J. et al., Postepy Hig.Med Dosw.(Online.)70(2016): 25-42
- Swoboda, R. K. et al., Cancer Res 67(2007): 3555-3559
- Tai, G. et al., PLoS.One. 8(2013): e81167
- Taintor, A. R. et al., J Am.Acad.Dermatol. 56(2007): S73-S76
- Tamir, A. et al., J Ovarian.Res 7(2014): 109
- Tamm-Rosenstein, K. et al., PLoS.One. 8(2013): e68907
- Tang, B. et al., Oncotarget. 6(2015a): 12723-12739
- Tang, H. B. et al., Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi. 88(2008): 1553-1556
- Tang, X. H. et al., Oncotarget. 6(2015b): 24424-24435
- Taniguchi, T. et al., Nat Med 9(2003): 568-574
- Taoka, Y. et al., Biomed.Res 36(2015): 253-261

- Tauber, S. et al., Mol.Cancer 9(2010): 200
- Teles, Alves, I et al., Oncogene 34(2015): 568-577
- Tennenbaum, T. et al., J Investig.Dermatol.Symp.Proc. 1(1996): 157-161
- Teo, C. R. et al., Cell Signal. 28(2016): 1479-1488
- Terada, T., Int.J Clin Exp.Pathol. 5(2012): 596-600
- Teufel, R. et al., Cell Mol Life Sci. 62(2005): 1755-1762
- Tian, S. Y. et al., Int.J Clin Exp.Pathol. 7(2014): 3752-3762
- Timar, J. et al., Clin Exp.Metastasis 27(2010): 371-387
- Tomlinson, R. L. et al., Mol.Biol Cell 19(2008): 3793-3800
- Tonoike, Y. et al., BMC.Cell Biol 12(2011): 41
- Tran, E. et al., Science 344(2014): 641-645
- Trojandt, S. et al., Hum.Immunol. 77(2016): 1223-1231
- Tsuji, A. B. et al., Biochem.Biophys.Res Commun. 333(2005): 1370-1377
- Tsutsui, M. et al., Int.J Oncol 47(2015): 867-874
- Ueda, S. et al., Cancer Res 64(2004): 5672-5676
- Vadie, N. et al., RNA.Biol 12(2015): 893-899
- Vakrakou, A. et al., Biol Chem 395(2014): 1105-1117
- Valletta, D. et al., Carcinogenesis 35(2014): 1407-1415
- Vanaja, D. K. et al., Cancer Res 63(2003): 3877-3882
- Vasca, V. et al., Oncol Lett. 8(2014): 2501-2504
- Vieira, A. F. et al., Mol.Cancer 14(2015): 178
- Vigneswaran, N. et al., Oral Maxillofac.Surg.Clin North Am. 26(2014): 123-141
- Vliet-Gregg, P. A. et al., Virology 478(2015): 50-60
- Volkmer, J. P. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 109(2012): 2078-2083

- Walia, V. et al., Cancer Res 69(2009): 6624-6632
- Walia, V. et al., Oncogene 31(2012): 2237-2246
- Walter, S. et al., J Immunol 171(2003): 4974-4978
- Walter, S. et al., Nat Med. 18(2012): 1254-1261
- Wang, J. et al., Br.J Dermatol. 153(2005): 558-564
- Wang, L. et al., J Cutan.Pathol. 42(2015a): 361-367
- Wang, L. et al., Int.J Cancer 134(2014a): 2764-2771
- Wang, L. et al., Tumour.Biol 37(2016a): 14939-14947
- Wang, M. et al., Exp.Dermatol. 23(2014b): 636-638
- Wang, S. et al., Cytokine 86(2016b): 110-118
- Wang, X. et al., Oncotarget. 7(2016c): 22911-22927
- Wang, X. et al., Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 110(2013): 15997-16002
- Wang, X. et al., Mol.Cell Biol 27(2007): 3098-3108
- Wang, X. et al., Eur.J Pharmacol. 768(2015b): 116-122
- Wang, X. et al., Sci.Rep. 6(2016d): 19006
- Wang, X. et al., Int.J Biol Markers 29(2014c): e150-e159
- Wang, Z. S. et al., Oncotarget. 7(2016e): 44266-44276
- Ward, A. M. et al., RNA.Biol 8(2011): 1173-1186
- Watanabe, T. et al., Cancer Cell Int. 10(2010): 2
- Wheler, J. J. et al., BMC.Cancer 15(2015): 442
- Willcox, B. E. et al., Protein Sci. 8(1999): 2418-2423
- Willers, I. M. et al., Biochim.Biophys.Acta 1807(2011): 543-551
- Williams, L. M. et al., Aquat.Toxicol. 180(2016): 141-154
- Willis, S. et al., Meta Gene 4(2015): 129-141

- Winslow, S. et al., Mol.Cancer 12(2013): 156
- Witte, D. et al., J Clin Med 5(2016)
- Wojtalewicz, N. et al., PLoS.One. 9(2014): e90461
- Wojtukiewicz, M. Z. et al., Cancer Metastasis Rev 34(2015): 775-796
- Wong, M. P. et al., Pathology 40(2008): 611-616
- World Health Organization,(2014), <http://www.who.int/en/>
- Wreesmann, V. B. et al., ORL J Otorhinolaryngol.Relat Spec. 69(2007): 218-225
- Wu, S. et al., Oncotarget.(2016)
- Xi, Y. et al., Monoclon.Antib.Immunodiagn.Immunother. 34(2015): 346-353
- Xie, C. et al., Sci.Rep. 6(2016a): 27528
- Xie, X. et al., Obesity.(Silver.Spring)24(2016b): 389-397
- Xin, Z. et al., Virchows Arch. 465(2014): 35-47
- Xu, C. et al., PLoS.Genet. 9(2013): e1003169
- Xu, X. et al., Proteomics. 10(2010): 1374-1390
- Xue, L. Y. et al., Zhonghua Zhong.Liu Za Zhi. 32(2010): 838-844
- Yadav, R. et al., J Neurochem. 133(2015): 857-869
- Yamaguchi, T. et al., Exp.Dermatol. 22(2013): 840-842
- Yamazaki, K., Ultrastruct.Pathol. 31(2007): 209-219
- Yang, C. et al., Tumour.Biol(2015)
- Yang, F. et al., Biomed.Rep. 4(2016a): 681-686
- Yang, H. Y. et al., J Proteomics. 75(2012a): 3639-3653
- Yang, J. et al., Curr.Opin.Oncol 25(2013): 398-406
- Yang, L. et al., Carcinogenesis 33(2012b): 1863-1870
- Yang, L. et al., J Biol Chem 291(2016b): 3905-3917

- Ye, Z. et al., Cell Physiol Biochem. 39(2016): 1568-1580
- Yermachenko, A. et al., Gene 590(2016): 85-89
- Yi, K. H. et al., Immunol.Rev 229(2009): 145-151
- Yi, Y. et al., Mol.Cytogenet. 2(2009): 18
- Yong, A. A. et al., Australas.J Dermatol. 54(2013): 241-250
- Yongjun Zhang, M. M. et al., J Cancer Res Ther. 9(2013): 660-663
- Yu, X. J. et al., EBioMedicine 2(2015a): 583-590
- Yu, Y. et al., ACS Appl.Mater.Interfaces. 7(2015b): 4401-4405
- Yu, Y. et al., PLoS.One. 8(2013): e83943
- Yun, C. W. et al., Anticancer Res 36(2016): 4449-4458
- Zaremba, S. et al., Cancer Res. 57(1997): 4570-4577
- Zdrojewicz, Z. et al., Postepy Hig.Med Dosw.(Online.)68(2014): 393-403
- Zekri, A. R. et al., Asian Pac.J Cancer Prev. 16(2015): 3543-3549
- Zhang, H. et al., Oncotarget. 6(2015): 17039-17053
- Zhang, Q. et al., Endocrinology 143(2002): 4788-4796
- Zhang, S. et al., J Mol.Histol. 45(2014a): 283-292
- Zhang, W. et al., Tumori 100(2014b): 338-345
- Zhang, Y. et al., PLoS.One. 7(2012): e30188
- Zhao, L. H. et al., Genet.Mol.Res 14(2015): 5417-5426
- Zhao, L. J. et al., Chin Med.J(Engl.)126(2013): 4260-4264
- Zhao, S. et al., Clin Cancer Res 23(2017): 311-319
- Zheng, G. et al., FEBS J 277(2010): 4506-4518
- Zhou, L. et al., Int.J Cancer 135(2014): 2329-2337
- Zhou, P. et al., Eur.J Cancer Prev. 21(2012): 231-240

Zhou, X. et al., Oncotarget. 7(2016): 67196-67211

Zhu, X. et al., J Dermatol. 34(2007): 503-511

Zhu, Y. et al., Mol.Biol Cell 15(2004): 81-90

Ziari, K. et al., Biologicals 43(2015): 181-185

Ziegler, A. et al., Cancer Lett. 326(2012): 1-7

Zimmermann, J. et al., J Dtsch.Dermatol.Ges. 8(2010): 598-606

Z u b o r , P . e t a l . , M o l . B i o l . R e p . 4 2 (2 0 1 5) :
9 7 7 - 9 8 8

【符號說明】

【0411】

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> 用於頭頸鱗狀細胞癌和其他癌症免疫治療的新型肽和支架

<130> I32988WO

<150> DE102016115974.3

<151> 2016-08-26

<150> US 62/379,864

<151> 2016-08-26

<160> 158

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Gly Leu Ala Gly Gly Phe Gly Gly Pro Gly Phe Pro Val
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Pro Val Cys Pro Pro Gly Gly Ile Gln Glu Val
1 5 10

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

Ser Leu Tyr Gly Leu Gly Gly Ser Lys Arg Ile Ser Ile
1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

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

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Val Cys Pro Pro Gly Gly Ile Gln Glu Val
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Ala Leu Tyr Asp Ala Glu Leu Ser Gln Met
1 5 10

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Ala Leu Glu Glu Ala Asn Ala Asp Leu Glu Val
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Ala Gln Leu Asn Ile Gly Asn Val Leu Pro Val
1 5 10

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Ser Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val
1 5 10

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Thr Leu Trp Pro Ala Thr Pro Pro Lys Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val Ile
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Thr Leu Thr Asp Glu Ile Asn Phe Leu
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Ser Leu Val Ser Tyr Leu Asp Lys Val
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Arg Ile Met Glu Gly Ile Pro Thr Val
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Ser Met Leu Asn Asn Ile Ile Asn Leu
1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 16

Ala Leu Lys Asp Ser Val Gln Arg Ala
1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 17

Ser Ile Trp Pro Ala Leu Thr Gln Val
1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 18

Tyr Leu Tyr Pro Asp Leu Ser Arg Leu
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 19

Ala Leu Ala Lys Leu Leu Pro Leu Leu
1 5

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 20

Tyr Leu Ile Asn Glu Ile Asp Arg Ile Arg Ala

1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Phe Leu His Glu Pro Phe Ser Ser Val
1 5

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Lys Leu Pro Glu Pro Cys Pro Ser Thr Val
1 5 10

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Ser Leu Pro Glu Ser Gly Leu Leu Ser Val
1 5 10

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Leu Leu Ile Ala Ile Asn Pro Gln Val
1 5

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25

Ser Leu Cys Pro Pro Gly Gly Ile Gln Glu Val
1 5 10

<210> 26

<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Thr Leu Val Asp Glu Asn Gln Ser Trp Tyr Leu
1 5 10

<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Tyr Leu Ala Glu Pro Gln Trp Ala Val
1 5

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Ala Val Asp Pro Val Ser Gly Ser Leu Tyr Val
1 5 10

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Arg Leu Leu Pro Asp Leu Asp Glu Val
1 5

<210> 30
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

Thr Leu Ala Ser Leu Gly Tyr Ala Val Val
1 5 10

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

His Leu Ala Thr Val Lys Leu Leu Val
1 5

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 32

Ile Gln Asp Ala Glu Gly Ala Ile His Glu Val
1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 33

Ala Ile Tyr Glu Gly Val Gly Trp Asn Val
1 5 10

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 34

Ala Leu Asp Thr Phe Ser Val Gln Val
1 5

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 35

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

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 36

Gly Leu Trp Ser Ser Ile Phe Ser Leu
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37

Ile Leu Leu Glu Asp Val Phe Gln Leu
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 38

Lys Leu Leu Pro Gly Val Gln Tyr Val
1 5

<210> 39
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39

Leu Leu Pro Glu Asp Asp Thr Arg Asp Asn Val
1 5 10

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40

Leu Leu Thr Pro Leu Asn Leu Gln Ile
1 5

<210> 41
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41

Arg Leu Asn Gly Glu Gly Val Gly Gln Val Asn Ile Ser Val
1 5 10

<210> 42
<211> 9

<212> PRT
<213> 智人

<400> 42

Ala Leu Tyr Thr Ser Gly His Leu Leu
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43

Ala Val Leu Gly Gly Lys Leu Tyr Val
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44

Gly Leu Gly Asp Asp Ser Phe Pro Ile
1 5

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45

Gly Leu Ile Glu Trp Leu Glu Asn Thr Val
1 5 10

<210> 46
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46

Gly Leu Ile Ser Ser Ile Glu Ala Gln Leu
1 5 10

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47

Gln Leu Leu Glu Gly Glu Leu Glu Thr Leu
1 5 10

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48

Tyr Leu Leu Asp Tyr Pro Asn Asn Leu
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

Tyr Leu Trp Glu Ala His Thr Asn Ile
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

Ala Leu Ser Asn Val Val His Lys Val
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

Phe Leu Ile Pro Ser Ile Ile Phe Ala
1 5

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Leu Leu Phe Thr Gly Leu Val Ser Gly Val
1 5 10

<210> 53
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

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

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54

Arg Leu Ser Gly Glu Gly Val Gly Pro Val
1 5 10

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Val Leu Asn Val Gly Val Ala Glu Val
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

Phe Leu Gln Leu Glu Thr Glu Gln Val
1 5

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

Ala Ile Leu Gly Phe Ala Leu Ser Glu Ala
1 5 10

<210> 58
<211> 9
<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

Ser Leu Ser Asp Ile Gln Pro Cys Leu
1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 59

Tyr Leu Gln Asn Glu Val Phe Gly Leu
1 5

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 60

Ser Leu Gly Asn Phe Lys Asp Asp Leu Leu
1 5 10

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 61

Phe Val Ala Gly Tyr Ile Ala Gly Val
1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 62

Ile Leu Ser Ser Ala Cys Tyr Thr Val
1 5

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 63

Ala Leu Met Asp Glu Ile Asn Phe Met Lys Met
1 5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Lys Ile Leu Glu Ser Leu Phe Val Ser Leu
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Ala Leu Trp Gly Phe Phe Pro Val Leu Leu
1 5 10

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

Thr Leu Leu Ser Glu Ile Ala Glu Leu
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu
1 5

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

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

<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Tyr Val Met Glu Ser Met Thr Tyr Leu
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Phe Leu Phe Pro Ala Phe Leu Thr Ala
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Ser Leu Phe Pro Tyr Val Val Leu Ile
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Ser Leu Asp Gly Asn Pro Leu Ala Val
1 5

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Tyr Ile Asp Pro Tyr Lys Leu Leu Pro Leu
1 5 10

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Ser Leu Thr Ser Phe Leu Ile Ser Leu
1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 75

Ala Leu Ala Ser Ala Pro Thr Ser Val
1 5

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 76

Ile Leu Phe Asp Glu Val Leu Thr Phe Ala
1 5 10

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 77

Ser Leu Arg Ala Phe Leu Met Pro Ile
1 5

<210> 78

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 78

Val Leu Tyr Gly Asp Val Glu Glu Leu
1 5

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 79

Gly Leu His Gln Asp Phe Pro Ser Val Val Leu

1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

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

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Val Leu Ala Glu Asn Pro Asp Ile Phe Ala Val
1 5 10

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

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

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

Gln Leu Leu Gln Tyr Val Tyr Asn Leu
1 5

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

Ala Leu Met Ala Gly Cys Ile Gln Glu Ala
1 5 10

<210> 85

<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

Gln Leu Ile Glu Lys Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 86
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

Ser Leu Gln Glu Arg Gln Val Phe Leu
1 5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Ala Leu Pro Glu Pro Ser Pro Ala Ala
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

Leu Met Ala Pro Ala Pro Ser Thr Val
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 89

Val Leu Asp Glu Gly Leu Thr Ser Val
1 5

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90

Thr Leu Asn Asp Gly Val Val Val Gln Val
1 5 10

<210> 91
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

Met Leu Phe Glu Asn Met Gly Ala Tyr Thr Val
1 5 10

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

Ile Leu Leu Asp Val Lys Thr Arg Leu
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

Ala Leu Ser Asn Val Ile His Lys Val
1 5

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

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

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

Ser Leu Asp Glu Asn Ser Asp Gln Gln Val
1 5 10

<210> 96
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96

Phe Gln Leu Asp Pro Ser Ser Gly Val Leu Val Thr Val
1 5 10

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

Leu Ile Leu Glu Ser Ile Pro Val Val
1 5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98

Ser Leu Tyr Lys Gly Leu Leu Ser Val
1 5

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 99

Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val
1 5

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 100

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

<210> 101
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 101

Gly Leu Leu Pro Ser Ala Glu Ser Ile Lys Leu
1 5 10

<210> 102
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

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

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103

Val Leu Ala Glu Gly Gly Glu Gly Val
1 5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

Ser Leu Ser Pro Val Ile Leu Gly Val
1 5

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105

Ser Thr Tyr Gly Gly Gly Leu Ser Val
1 5

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

Val Leu Val Asp Gln Ser Trp Val Leu
1 5

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

Tyr Leu Glu Glu Asp Val Tyr Gln Leu
1 5

<210> 108
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

Ser Leu Tyr Asn Leu Gly Gly Ser Lys Arg Ile Ser Ile
1 5 10

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109

Lys Ile Gln Glu Ile Leu Thr Gln Val
1 5

<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

Leu Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala
1 5

<210> 111
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111

Ser Leu Ala Pro Gly Asp Val Val Arg Gln Val
1 5 10

<210> 112
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112

Ala Leu Leu Asp Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Trp Arg Val
1 5 10

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113

Asn Leu Met Ala Ser Gln Pro Gln Leu
1 5

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

Val Leu Val Pro Tyr Glu Pro Pro Gln Val
1 5 10

<210> 115
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 115

Val Thr Ala Ala Tyr Met Asp Thr Val Ser Leu
1 5 10

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116

Ser Leu Trp Pro Ser Pro Glu Gln Leu
1 5

<210> 117
<211> 9
<212> PRT

<213> 智人

<400> 117

Gly Leu Ala Phe Ser Leu Tyr Gln Ala
1 5

<210> 118

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 118

Thr Leu Leu Gln Glu Gln Gly Thr Lys Thr Val
1 5 10

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 119

Gly Leu Leu Asp Pro Ser Val Phe His Val
1 5 10

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 120

Tyr Leu Val Ala Lys Leu Val Glu Val
1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 121

Ser Leu Tyr Gly Tyr Leu Arg Gly Ala
1 5

<210> 122

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 122

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

<210> 123
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 123

Leu Leu Ser Gly Asp Leu Ile Phe Leu
1 5

<210> 124
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 124

Tyr Met Leu Asp Ile Phe His Glu Val
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125

Ala Leu Asn Pro Glu Ile Val Ser Val
1 5

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126

Ile Leu Val Asp Trp Leu Val Glu Val
1 5

<210> 127
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 127

Ser Leu Phe Gly Lys Lys Tyr Ile Leu
1 5

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128

Thr Leu His Arg Glu Thr Phe Tyr Leu
1 5

<210> 129
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 129

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

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 130

Thr Leu Asp Gly Ala Ala Val Asn Gln Val
1 5 10

<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 131

Leu Gln Leu Asp Lys Glu Phe Gln Leu
1 5

<210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 132

Thr Leu Tyr Pro Gly Arg Phe Asp Tyr Val
1 5 10

<210> 133
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 133

Leu Leu Leu Pro Leu Gln Ile Leu Leu
1 5

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 134

Ile Leu Ile Gly Glu Thr Ile Lys Ile
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135

Gly Leu Phe Ser Gln His Phe Asn Leu
1 5

<210> 136
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 136

Ser Leu Met Glu Pro Pro Ala Val Leu Leu Leu
1 5 10

<210> 137
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 137

Gly Leu Ala Pro Phe Leu Leu Asn Ala Val
1 5 10

<210> 138
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 138

Ala Leu Leu Thr Gly Ile Ile Ser Lys Ala

1 5 10

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 139

Gln Leu Gly Pro Val Pro Val Thr Ile
1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 140

Tyr Leu Phe Glu Asn Ile Ser Gln Leu
1 5

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 141

Phe Leu Asn Pro Asp Glu Val His Ala Ile
1 5 10

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 142

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

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 143

Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu
1 5

<210> 144

<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 144

Lys Ile Ser Thr Ile Thr Pro Gln Ile
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 145

Leu Leu Tyr Gly Lys Tyr Val Ser Val
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 146

Gly Leu Leu Glu Glu Leu Val Thr Val
1 5

<210> 147
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 147

Ile Leu Met Asp Pro Ser Pro Glu Tyr Ala
1 5 10

<210> 148
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148

Leu Leu Phe Asp Ala Pro Asp Leu Arg Leu
1 5 10

<210> 149
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 149

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

<210> 150
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 150

Ile Leu Ala Glu Glu Pro Ile Tyr Ile Arg Val
1 5 10

<210> 151
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 151

Gln Leu Cys Asp Leu Asn Ala Glu Leu
1 5

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 152

Ser Leu Trp Gln Asp Ile Pro Asp Val
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 153

Val Leu Phe Leu Gly Lys Leu Leu Val
1 5

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 154

Lys Met Trp Glu Glu Leu Pro Glu Val Val
1 5 10

<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 155

Gly Leu Leu Asp Asn Pro Glu Leu Arg Val
1 5 10

<210> 156
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 156

Ala Leu Ile Asn Asp Ile Leu Gly Glu Leu Val Lys Leu
1 5 10

<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 157

Glu Leu Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val
1 5 10

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 158

Tyr Leu Leu Pro Ala Ile Val His Ile
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種肽，其包含選自由 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 所組成群組的一氨基酸序列、以及與 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 具有至少 88% 同源性的其變體序列並且其中該變體與主要組織相容性複合體 (MHC) 結合和 / 或誘導與該變體肽發生 T 細胞交叉反應；以及其一藥用鹽，其中該肽不是全長多肽。

【請求項2】 如請求項 1 所述之肽或其變體，其中該肽或其變體的總長度為 8 至 100 個氨基酸、優選為 8 至 30 個氨基酸、更優選為 8 至 16 個氨基酸，及最優選為該肽係由或基本上係由根據 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 的氨基酸序列組成。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 所述之肽或其變體，其中該肽被修飾和 / 或包含非肽鍵，或其中該肽為一融合蛋白的一部分，尤其包含 HLA-DR 抗原相關不變鏈 (Ii) 的 N 端氨基酸。

【請求項4】 一種抗體，特別是一可溶性或膜結合性抗體，其特異性地識別如請求項 1 至 3 任一項所述之肽或其變體，優選為與一 MHC 分子結合時之如請求項 1 或 2 任一項所述之肽或變體。

【請求項5】 一種 T 細胞受體，優選為與一 H L A 配體反應的可溶性或膜結合 T 細胞受體，其中該配體與選自由 S E Q I D N o . 1 3 、 S E Q I D N o . 2 、 S E Q I D N o . 4 至 S E Q I D N o . 1 2 及 S E Q I D N o . 1 4 至 S E Q I D N o . 9 1 所組成群組的一氨基酸序列具有至少 7 5 % 同源性，優選為至少 8 8 % 同源性，或其中該氨基酸序列由 S E Q I D N o . 1 3 、 S E Q I D N o . 2 、 S E Q I D N o . 4 至 S E Q I D N o . 1 2 及 S E Q I D N o . 1 4 至 S E Q I D N o . 9 1 之任一者組成。

【請求項6】 如請求項 5 所述之 T 細胞受體，其中該 T 細胞受體作為一可溶性分子提供並任選地具有進一步的效應子功能，如一免疫刺激域或毒素。

【請求項7】 一種適體，其特異性地識別如請求項 1 至 3 任一項所述之肽或其變體，優選為如請求項 1 至 2 之任一項所述之與一 M H C 分子結合的肽或變體。

【請求項8】 一種核酸，其編碼如請求項 1 至 3 任一項所述之肽或其變體、如請求項 4 所述之抗體、如請求項 5 或 6 所述之 T C R ，或如請求項 7 所述之適體，其中該核酸任選地連接到一異源啟動子序列或表達該核酸的一表達載體。

【請求項9】 一種重組宿主細胞，其包含如請求項 1 至 3 所述之肽或如請求項 8 所述之核酸或表達載體，其中該重組宿主細胞優選為一抗原提成細胞，例如一樹突狀細胞或一 T 細胞或 N K 細胞。

【請求項10】一種如請求項1至3之任一項所述之肽或其變體、如請求項4所述之抗體、如請求項5或6所述之TCR、如請求項7所述之適體、如請求項8所述之核酸或表達載體，或如請求項9所述之宿主細胞於醫藥上之用途。

【請求項11】一種製造如請求項1至3任一項所述之肽或其變體、如請求項4所述之抗體或如請求項5或6所述之TCR的方法，該方法包含：培養如請求項9所述之宿主細胞，其表達如請求項8所述之核酸或表達載體；以及從該重組宿主細胞或其培養基中分離出該肽或其變體、該抗體或該TCR。

【請求項12】一種體外製備活化的T淋巴細胞的方法，該方法包含：將T細胞與載有抗原的人I或II類MHC分子進行體外連接，該等分子在一合適的抗原提呈細胞表面或一人工類比的抗原提呈細胞結構表面上表達足夠的一段時間從而以一抗原特異性方式活化T細胞，其中該抗原為如請求項1或2任一項所述之肽。

【請求項13】一種活化的T淋巴細胞，由如請求項12所述之方法製成，其有特異性地識別一細胞，該細胞提呈包含如請求項1或2中給定之一氨基酸序列的一多肽。

【請求項14】一種藥物組合物，其包含至少一活性成分，該活性成分選自由以下所組成的群組

- a) 選自由SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4至SEQ ID No. 12及SEQ ID No. 14

至 SEQ ID No. 91 所組成群組的一肽；

- b) 與根據 a) 的一肽和 / 或肽 - MHC 複合體產生反應的一 T 細胞受體；
- c) 包含根據 a) 的一肽以及 HLA-DR 抗原相關不變鏈 (Ii) 的第 1 至 80 N 端氨基酸的一融合蛋白；
- d) 編碼 a) 至 c) 任一者之一核酸或包含該核酸的一表達載體；
- e) 包含 d) 之表達載體的一宿主細胞；
- f) 一活化的 T 淋巴細胞，通過一方法獲得，該方法包含：將 T 細胞與根據 a) 之一肽進行體外連接，該肽在一合適的抗原提呈細胞表面表達足夠的一段時間從而以一抗原特異性方式活化該 T 細胞；以及將該等活化的 T 細胞轉入自體或其他患者的一方法；
- g) 與根據 a) 之一肽和 / 或肽 - MHC 複合體反應的一抗體或可溶性 T 細胞受體和 / 或提呈根據 a) 之一肽並有可能藉由與例如免疫活化域或毒素融合而修飾的一細胞；
- h) 一適體，其識別選自由 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 所組成群組的一肽和 / 或選自由 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 所組成群組之一肽與一 MHC 分子的一複合體；

i) 根據 a) 至 h) 之任一者的一共軛或標記肽或支架，
以及

一藥用載體，及任選地藥用賦形劑和 / 或穩定劑。

【請求項 15】如請求項 14 所述之藥物組合物，其進一步包含一或更多佐劑，任選地其中該一或更多佐劑選自白細胞介素及免疫佐劑。

【請求項 16】如請求項 15 所述之藥物組合物，其中

a) 該白細胞介素為 IL-2；和 / 或

b) 該免疫佐劑為 IL-15。

【請求項 17】一種如請求項 1 至 3 任一項所述之肽、如請求項 4 所述之抗體、如請求項 5 或 6 所述之 TCR、如請求項 13 所述之活化的 T 淋巴細胞、如請求項 8 所述之核酸或表達載體，或如請求項 9 所述之重組宿主細胞在診斷和 / 或治療癌症中或製備一抗癌藥物上之用途，其中該癌症優選為選自頭頸鱗狀細胞癌、急性骨髓性白血病、乳腺癌、膽管癌、腦癌、慢性淋巴細胞性白血病、結直腸癌、食管癌、膽囊癌、胃癌、肝細胞癌、黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、非小細胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌、腎細胞癌、小細胞肺癌、膀胱癌、子宮癌和顯示一蛋白過度表達之其他腫瘤，選自 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 之一肽衍生自該蛋白。

【請求項 18】一種套件，包含：

- a) 一容器，包含：呈溶液或凍乾形式之一藥物組合物，其包含如請求項 1 至 3 任一項所述之肽或變體、如請求項 4 所述之抗體、如請求項 5 或 6 所述之 T C R、如請求項 13 所述之活化的 T 淋巴細胞、如請求項 8 所述之核酸或表達載體，或如請求項 9 所述之重組宿主細胞；
- b) 任選地，一第容器，其含有用於凍乾粉劑型的一稀釋劑或重組溶液；
- c) 任選地，至少再一肽，其係選自由 S E Q I D N o . 13、S E Q I D N o . 2、S E Q I D N o . 4 至 S E Q I D N o . 12 及 S E Q I D N o . 14 至 S E Q I D N o . 91 所組成群組，及
- d) 任選地，(i)使用該溶液或(ii)重組和/或使用該凍乾粉劑型的說明書。

【請求項 19】一種用於生產一個性化抗癌疫苗或用於一個體患者的一基於化合物的療法和/或細胞療法之方法，該方法包含：

- a) 識別該個體患者之一腫瘤樣本提呈的腫瘤相關肽 (T U M A P) ；
- b) 將 a) 中識別的該等肽與已經接受過免疫原性預篩查和/或與正常組織相比在腫瘤中過度提呈的一存儲庫的肽進行比較；
- c) 選擇與該患者中識別的一 T U M A P 匹配的該存儲庫中的至少一肽；及

d) 基於步驟 c) 製造和 / 或調配該個性化疫苗或基於化合物的療法或細胞療法，

其中經選擇的該存儲庫之肽為由選自由 SEQ ID No. 13、SEQ ID No. 2、SEQ ID No. 4 至 SEQ ID No. 12 及 SEQ ID No. 14 至 SEQ ID No. 91 所組成群組之一序列所組成的一肽。

【請求項 20】如請求項 19 所述之方法，其中該 TUMAP 通過以下方法識別，包含：

a1) 將該腫瘤樣本的表達資料與該腫瘤樣本的組織類型相應的一正常組織樣本的表達資料進行比較，以識別在該腫瘤樣本中過度表達或異常表達的蛋白質；以及

a2) 將表達資料與該腫瘤樣本中 MHC I 類和 / 或 II 類分子結合的 MHC 配體的序列相關聯，以識別該腫瘤過度表達或異常表達的蛋白質衍生的 MHC 配體。

【請求項 21】如請求項 19 或 20 所述之方法，其中該存儲庫中包含的該等肽用基於以下的步驟進行識別：

aa. 藉由高度並行的方法，例如微陣列或基於測序的表達譜，進行全基因組信使核糖核酸 (mRNA) 表達分析，其包含識別相較於正常組織在一惡性組織中過度表達的基因；

ab. 選擇步驟 aa 中檢測到的特異性表達或過度表達的基因所編碼的肽；以及

ac. 藉由選定的肽確定誘導體內 T 細胞反應，包含使用健康供體或該患者的人 T 細胞的體外免疫原性測定；

或

b a . 使用質譜法識別來自該腫瘤樣本的 H L A 配體；

b b . 藉由高度並行的方法，例如微陣列或基於測序的表達譜，進行全基因組信使核糖核酸 (m R N A) 表達分析，其包含識別相較於正常組織在一惡性組織中過度表達的基因；

b c . 比較識別的 H L A 配體與基因表達資料；

b d . 選擇步驟 b c 中檢測到的特異性表達或過度表達的基因所編碼的肽；

b e . 重新檢測腫瘤組織上來自步驟 b d 的選定 T U M A P 、其在健康組織上缺乏或不經常檢測，並確定在 m R N A 位準上過度表達的相關性；以及

b f . 藉由選定的肽確定誘導體內 T 細胞反應，包括使用健康供體或該患者的人 T 細胞的體外免疫原性測定。

【請求項 22】如請求項 19 至 21 任一項所述之方法，其進一步包含以下步驟：識別與該個體患者相應正常組織相比對該腫瘤樣本具有唯一性的至少一突變，以及選擇與該突變相關以包含於該疫苗中或用於產生細胞療法的一肽。

三

款: CAGGTCGTV (A*02)
SEQ NO: 2

111136019

02020202



THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS



 The McGraw-Hill Companies



款: S.ASA 33V (A*02)

SEQ NO: 9



子組: 2 組裝部



Figure 6

700

















低風速

Abstract

第 6 頁，共 23 頁(發明圖式)

Category	Item	Value
極低	0/20	0/20
	0/16	0/16
	0/22	0/22
	0/23	0/23
	0/24	0/24
	0/25	0/25
	0/26	0/26
	0/27	0/27
	0/28	0/28
	0/29	0/29
低	0/30	0/30
	0/31	0/31
	0/32	0/32
	0/33	0/33
	0/34	0/34
	0/35	0/35
	0/36	0/36
	0/37	0/37
	0/38	0/38
	0/39	0/39
中	0/40	0/40
	0/41	0/41
	0/42	0/42
	0/43	0/43
	0/44	0/44
	0/45	0/45
	0/46	0/46
	0/47	0/47
	0/48	0/48
	0/49	0/49
高	0/50	0/50
	0/51	0/51
	0/52	0/52
	0/53	0/53
	0/54	0/54
	0/55	0/55
	0/56	0/56
	0/57	0/57
	0/58	0/58
	0/59	0/59

5707 C. B. DAVIS
1968

低風險

[illegible]

7

[illegible]

2000

10

[illegible]

圖 11

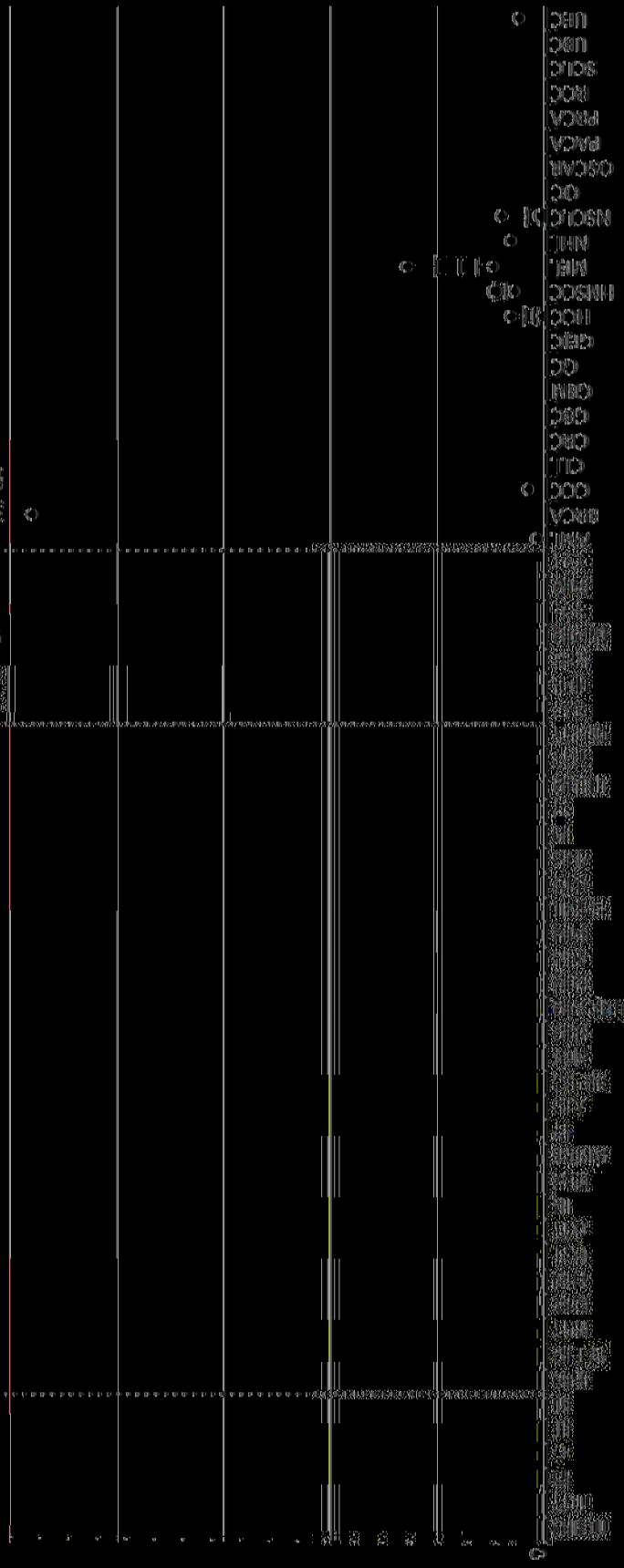
試: A-GFA-SEA (A#02)
SEQ NO: 57

試樣品 A-2004

一、試驗方法

低溫試驗

溫度

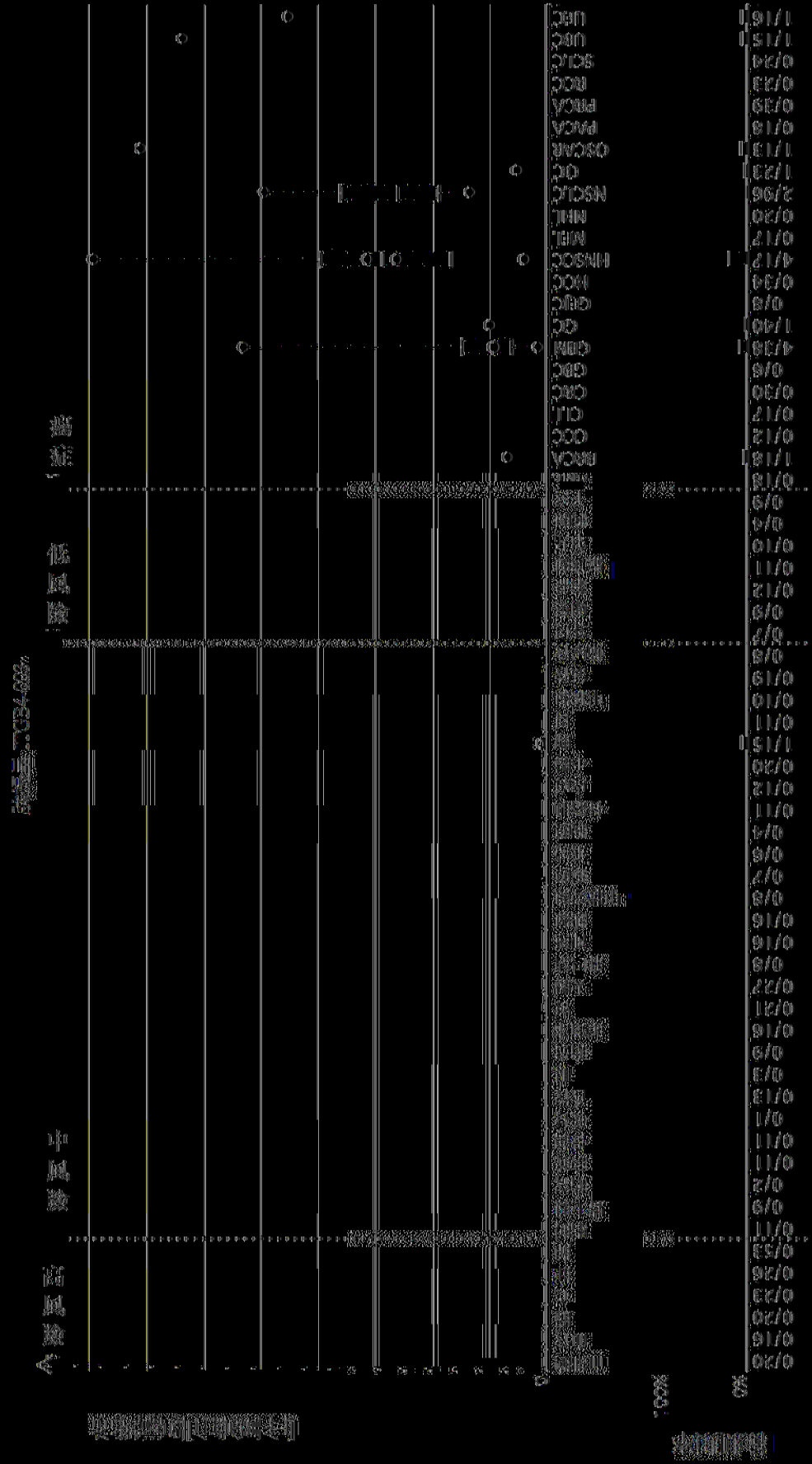


°C

時間

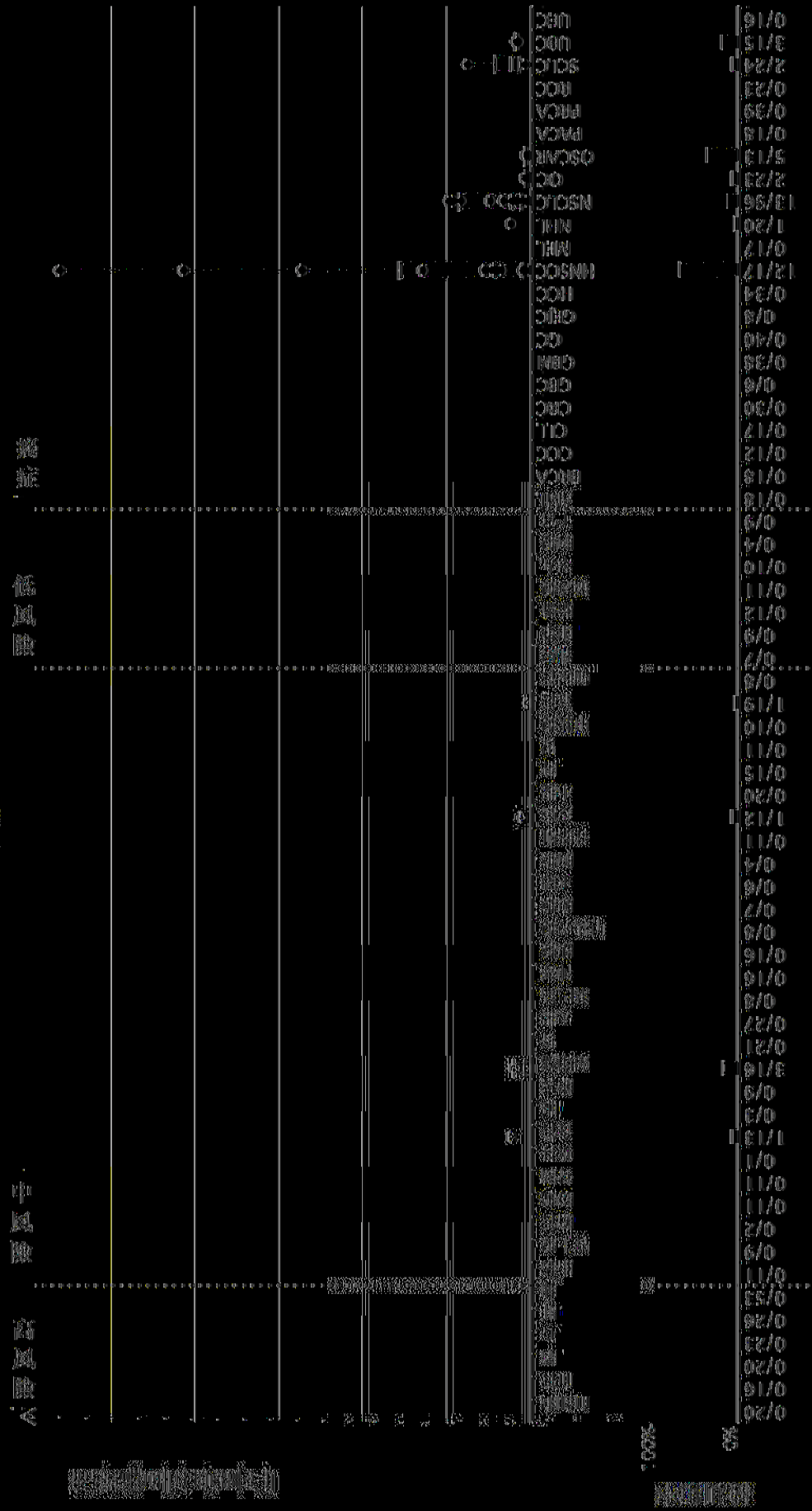


款: S5DQPC-(A*02)
SEQ NO: 58



11

試: ALMDEENEMKM (A*02)
SEQ ID NO: 63



咄
 險
 富
 富
 險
 險

00-225-0017

辭源

假國

第 11 頁，共 23 頁(發明圖式)

67092

時
 風
 陰
 高
 風
 陰
 高
 風
 陰

齋
齋
齋

低阻

Case No. 14-239-001

1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 26

表單編號 A0202

[illegible]

Section 1

15

風險 高風險

低阻

2000

[illegible]

第 13 頁，共 23 頁(發明圖式)

表單編號 A0202

33

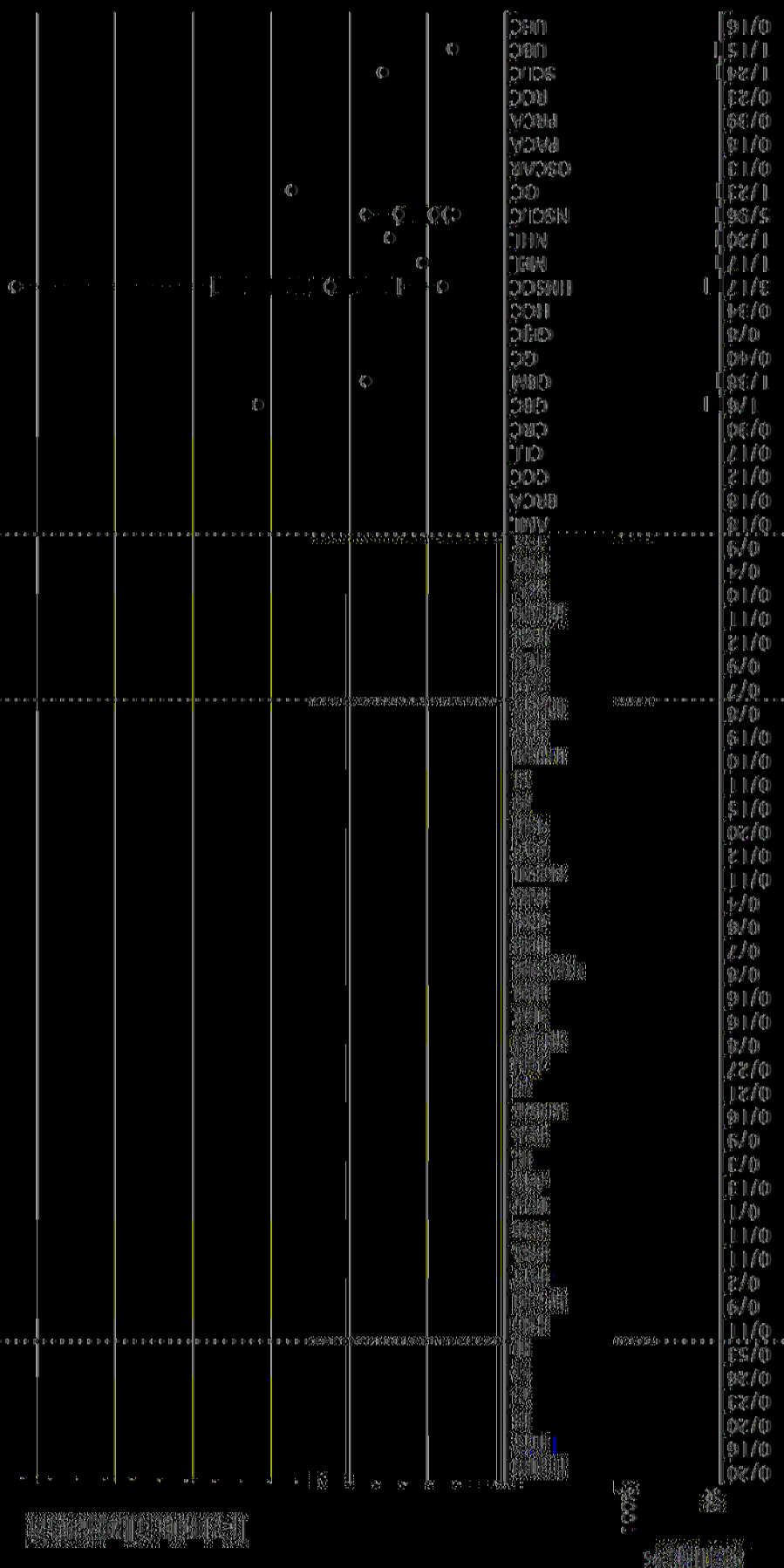
500

[illegible]

風險

低風險

齋
 齋





試: ALPSPAA (A*02)
REQ NO: 87

中風險
低風險

高風險





試: V.F.F.F.V.G.A.V.V (A*02)
EQ NO: 9



FIG. 2A

100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 1040 1041 1042 1043 1044 1045 1046 1047 1048 1049 1050 1051 1052 1053 1054 1055 1056 1057 1058 1059 1060 1061 1062 1063 1064 1065 1066 1067 1068 1069 1070 1071 1072 1073 1074 1075 1076 1077 1078 1079 1080 1081 1082 1083 1084 1085 1086 1087 1088 1089 1090 1091 1092 1093 1094 1095 1096 1097 1098 1099 1100 1101 1102 1103 1104 1105 1106 1107 1108 1109 1110 1111 1112 1113 1114 1115 1116 1117 1118 1119 1120 1121 1122 1123 1124 1125 1126 1127 1128 1129 1130 1131 1132 1133 1134 1135 1136 1137 1138 1139 1140 1141 1142 1143 1144 1145 1146 1147 1148 1149 1150 1151 1152 1153 1154 1155 1156 1157 1158 1159 1160 1161 1162 1163 1164 1165 1166 1167 1168 1169 1170 1171 1172 1173 1174 1175 1176 1177 1178 1179 1180 1181 1182 1183 1184 1185 1186 1187 1188 1189 1190 1191 1192 1193 1194 1195 1196 1197 1198 1199 1200 1201 1202 1203 1204 1205 1206 1207 1208 1209 1210 1211 1212 1213 1214 1215 1216 1217 1218 1219 1220 1221 1222 1223 1224 1225 1226 1227 1228 1229 1230 1231 1232 1233 1234 1235 1236 1237 1238 1239 1240 1241 1242 1243 1244 1245 1246 1247 1248 1249 1250 1251 1252 1253 1254 1255 1256 1257 1258 1259 1260 1261 1262 1263 1264 1265 1266 1267 1268 1269 1270 1271 1272 1273 1274 1275 1276 1277 1278 1279 1280 1281 1282 1283 1284 1285 1286 1287 1288 1289 1290 1291 1292 1293 1294 1295 1296 1297 1298 1299 1300 1301 1302 1303 1304 1305 1306 1307 1308 1309 1310 1311 1312 1313 1314 1315 1316 1317 1318 1319 1320 1321 1322 1323 1324 1325 1326 1327 1328 1329 1330 1331 1332 1333 1334 1335 1336 1337 1338 1339 1340 1341 1342 1343 1344 1345 1346 1347 1348 1349 1350 1351 1352 1353 1354 1355 1356 1357 1358 1359 1360 1361 1362 1363 1364 1365 1366 1367 1368 1369 1370 1371 1372 1373 1374 1375 1376 1377 1378 1379 1380 1381 1382 1383 1384 1385 1386 1387 1388 1389 1390 1391 1392 1393 1394 1395 1396 1397 1398 1399 1400 1401 1402 1403 1404 1405 1406 1407 1408 1409 1410 1411 1412 1413 1414 1415 1416 1417 1418 1419 1420 1421 1422 1423 1424 1425 1426 1427 1428 1429 1430 1431 1432 1433 1434 1435 1436 1437 1438 1439 1440 1441 1442 1443 1444 1445 1446 1447 1448 1449 1450 1451 1452 1453 1454 1455 1456 1457 1458 1459 1460 1461 1462 1463 1464 1465 1466 1467 1468 1469 1470 1471 1472 1473 1474 1475 1476 1477 1478 1479 1480 1481 1482 1483 1484 1485 1486 1487 1488 1489 1490 1491 1492 1493 1494 1495 1496 1497 1498 1499 1500 1501 1502 1503 1504 1505 1506 1507 1508 1509 1510 1511 1512 1513 1514 1515 1516 1517 1518 1519 1520 1521 1522 1523 1524 1525 1526 1527 1528 1529 1530 1531 1532 1533 1534 1535 1536 1537 1538 1539 1540 1541 1542 1543 1544 1545 1546 1547 1548 1549 1550 1551 1552 1553 1554 1555 1556 1557 1558 1559 1560 1561 1562 1563 1564 1565 1566 1567 1568 1569 1570 1571 1572 1573 1574 1575 1576 1577 1578 1579 1580 1581 1582 1583 1584 1585 1586 1587 1588 1589 1590 1591 1592 1593 1594 1595 1596 1597 1598 1599 1600 1601 1602 1603 1604 1605 1606 1607 1608 1609 1610 1611 1612 1613 1614 1615 1616 1617 1618 1619 1620 1621 1622 1623 1624 1625 1626 1627 1628 1629 1630 1631 1632 1633 1634 1635 1636 1637 1638 1639 1640 1641 1642 1643 1644 1645 1646 1647 1648 1649 1650 1651 1652 1653 1654 1655 1656 1657 1658 1659 1660 1661 1662 1663 1664 1665 1666 1667 1668 1669 1670 1671 1672 1673 1674 1675 1676 1677 1678 1679 1680 1681 1682 1683 1684 1685 1686 1687 1688 1689 1690 1691 1692 1693 1694 1695 1696 1697 1698 1699 1700 1701 1702 1703 1704 1705 1706 1707 1708 1709 1710 1711 1712 1713 1714 1715 1716 1717 1718 1719 1720 1721 1722 1723 1724 1725 1726 1727 1728 1729 1730 1731 1732 1733 1734 1735 1736 1737 1738 1739 1740 1741 1742 1743 1744 1745 1746 1747 1748 1749 1750 1751 1752 1753 1754 1755 1756 1757 1758 1759 1760 1761 1762 1763 1764 1765 1766 1767 1768 1769 1770 1771 1772 1773 1774 1775 1776 1777 1778 1779 1780 1781 1782 1783 1784 1785 1786 1787 1788 1789 1790 1791 1792 1793 1794 1795 1796 1797 1798 1799 1800 1801 1802 1803 1804 1805 1806 1807 1808 1809 1810 1811 1812 1813 1814 1815 1816 1817 1818 1819 1820 1821 1822 1823 1824 1825 1826 1827 1828 1829 1830 1831 1832 1833 1834 1835 1836 1837 1838 1839 1840 1841 1842 1843 1844 1845 1846 1847 1848 1849 1850 1851 1852 1853 1854 1855 1856 1857 1858 1859 1860 1861 1862 1863 1864 1865 1866 1867 1868 1869 1870 1871 1872 1873 1874 1875 1876 1877 1878 1879 1880 1881 1882 1883 1884 1885 1886 1887 1888 1889 1890 1891 1892 1893 1894 1895 1896 1897 1898 1899 1900 1901 1902 1903 1904 1905 1906 1907 1908 1909 1910 1911 1912 1913 1914 1915 1916 1917 1918 1919 1920 1921 1922 1923 1924 1925 1926 1927 1928 1929 1930 1931 1932 1933 1934 1935 1936 1937 1938 1939 1940 1941 1942 1943 1944 1945 1946 1947 1948 1949 1950 1951 1952 1953 1954 1955 1956 1957 1958 1959 1960 1961 1962 1963 1964 1965 1966 1967 1968 1969 1970 1971 1972 1973 1974 1975 1976 1977 1978 1979 1980 1981 1982 1983 1984 1985 1986 1987 1988 1989 1990 1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997 1998 1999 2000 2001 2002 2003 2004 2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018 2019 2020 2021 2022 2023 2024 2025 2026 2027 2028 2029 2030 2031 2032 2033 2034 2035 2036 2037 2038 2039 2040 2041 2042 2043 2044 2045 2046 2047 2048 2049 2050 2051 2052 2053 2054 2055 2056 2057 2058 2059 2060 2061 2062 2063 2064 2065 2066 2067 2068 2069 2070 2071 2072 2073 2074 2075 2076 2077 2078 2079 2080 2081 2082 2083 2084 2085 2086 2087 2088 2089 2090 2091 2092 2093 2094 2095 2096 2097 2098 2099 2100 2101 2102 2103 2104 2105 2106 2107 2108 2109 2110 2111 2112 2113 2114 2115 2116 2117 2118 2119 2120 2121 2122 2123 2124 2125 2126 2127 2128 2129 2130 2131 2132 2133 2134 2135 2136 2137 2138 2139 2140 2141 2142 2143 2144 2145 2146 2147 2148 2149 2150 2151 2152 2153 2154 2155 2156 2157 2158 2159 2160 2161 2162 2163 2164 2165 2166 2167 2168 2169 2170 2171 2172 2173 2174 2175 2176 2177 2178 2179 2180 2181 2182 2183 2184 2185 2186 2187 2188 2189 2190 2191 2192 2193 2194 2195 2196 2197 2198 2199 2200 2201 2202 2203 2204 2205 2206 2207 2208 2209 2210 2211 2212 2213 2214 2215 2216 2217 2218 2219 2220 2221 2222 2223 2224 2225 2226 2227 2228 2229 2230 2231 2232 2233 2234 2235 2236 2237 2238 2239 2240 2241 2242 2243 2244 2245 2246 2247 2248 2249 2250 2251 2252 2253 2254 2255 2256 2257 2258 2259 2260 2261 2262 2263 2264 2265 2266 2267 2268 2269 2270 2271 2272 2273 2274 2275 2276 2277 2278 2279 2280 2281 2282 2283 2284 2285 2286 2287 2288 2289 2290 2291 2292 2293 2294 2295 2296 2297 2298 2299 2300 2301 2302 2303 2304 2305 2306 2307 2308 2309 2310 2311 2312 2313 2314 2315 2316 2317 2318 2319 2320 2321 2322 2323 2324 2325 2326 2327 2328 2329 2330 2331 2332 2333 2334 2335 2336 2337 2338 2339 2340 2341 2342 2343 2344 2345 2346 2347 2348 2349 2350 2351 2352 2353 2354 2355 2356 2357 2358 2359 2360 2361 2362 2363 2364 2365 2366 2367 2368 2369 2370 2371 2372 2373 2374 2375 2376 2377 2378 2379 2380 2381 2382 2383 2384 2385 2386 2387 2388 2389 2390 2391 2392 2393 2394 2395 2396 2397 2398 2399 2400 2401 2402 2403 2404 2405 2406 2407 2408 2409 2410 2411 2412 2413 2414 2415 2416 2417 2418 2419 2420 2421 2422 2423 2424 2425 2426 2427 2428 2429 2430 2431 2432 2433 2434 2435 2436 2437 2438 2439 2440 2441 2442 2443 2444 2445 2446 2447 2448 2449 2450 2451 2452 2453 2454 2455 2456 2457 2458 2459 2460 2461 2462 2463 2464 2465 2466 2467 2468 2469 2470 2471 2472 2473 2474 2475 2476 2477 2478 2479 2480 2481 2482 2483 2484 2485 2486 2487 2488 2489 2490 2491 2492 2493 2494 2495 2496 2497 2498 2499 2500 2501 2502 2503 2504 2505 2506 2507 2508 2509 2510 2511 2512 2513 2514 2515 2516 2517 2518 2519 2520 2521 2522 2523 2524 2525 2526 2527 2528 2529 2530 2531 2532 2533 2534 2535 2536 2537 2538 2539 2540 2541 2542 2543 2544 2545 2546 2547 2



111136019

111136019

111136019

111136019

11 20

GA.S7, .GA.S73
ALVEVGGDVQ
SEQ NO:

ALVEVGGDVQ



