

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-509648
(P2025-509648A)

(43)公表日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/00	H	4 B 0 6 5
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		4 C 0 8 4
A 6 1 K	40/24 (2025.01)	A 6 1 K	40/24		4 C 0 8 5
A 6 1 K	40/32 (2025.01)	A 6 1 K	40/32		4 C 0 8 7
A 6 1 K	40/31 (2025.01)	A 6 1 K	40/31		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全102頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-554930(P2024-554930)	(71)出願人	503385923		
(86)(22)出願日	令和5年3月15日(2023.3.15)		ベーリンガー インゲルハイム インター		
(85)翻訳文提出日	令和6年9月13日(2024.9.13)		ナショナル ゲゼルシャフト ミット ベ		
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/056591		シュレンクテル ハフツング		
(87)国際公開番号	WO2023/174998		ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲル		
(87)国際公開日	令和5年9月21日(2023.9.21)		ハイム アム ライン ビンガー シュトラ		
(31)優先権主張番号	22162533.8		ーセ 1 7 3		
(32)優先日	令和4年3月16日(2022.3.16)	(74)代理人	100103610		
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 ▲吉▼田 和彦		
(31)優先権主張番号	22204783.9	(74)代理人	100109070		
(32)優先日	令和4年10月31日(2022.10.31)		弁理士 須田 洋之		
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100119013		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ		弁理士 山崎 一夫		
		(74)代理人	100111796		
			弁理士 服部 博信		
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 腫瘍抗原、腫瘍抗原 K R A S、T P X 2 又は A U R K A を含む化合物及びそれらの使用

(57)【要約】
本発明は、異なる mRNA の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原に関する。そのような腫瘍抗原及びそのような腫瘍抗原をコードするウイルスを含む、組成物及びペプチドが提供される。本発明はまた、がんの処置におけるそのような組成物、ペプチド及びウイルスの使用にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 少なくとも 1 種の腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーションであって、
腫瘍抗原が、KRAS mRNA (KRAS-uORF1)、TPX2 mRNA (TPX2-uORF1)、若しくは AURKA mRNA (AURKA-uORF2) の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる、少なくとも 1 種の腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション、

(ii) 前記腫瘍抗原をコードする核酸、

(iii) (i) 若しくは (ii) を含有する抗原提示細胞 (APC)、又は

(iv) 前記腫瘍抗原を標的とする T 細胞受容体若しくは CAR T 細胞受容体のいずれかを発現する T 細胞を含む組成物。

10

【請求項 2】

CEACAM5、DUOXA2、及び KRAS からなる群から選択される少なくとも 1 種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを更に含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

KRAS 又はその断片が、KRAS-G12D 若しくはその断片、又は KRAS-G12V 若しくはその断片である、請求項 2 に記載の組成物。

20

【請求項 4】

CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエーションが、CD4+ 及び／又は CD8+ エピトープを含む、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5】

腫瘍抗原が少なくとも 1 種のアミノ酸を含み、アミノ酸配列が、

- 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- 配列番号 1 若しくは 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- 配列番号 3 若しくは 4 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、又は
- 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション

30

40

である、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

a) 細胞透過性ペプチド、

b) 少なくとも 1 種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む多抗原性ドメインであって、

腫瘍抗原が、KRAS mRNA (KRAS-uORF1)、TPX2 mRNA (TPX2-uORF1)、又は AURKA mRNA (AURKA-uORF2) の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる、多抗原性ドメイン、及び

50

c) TLRペプチドアゴニストを含むペプチド。

【請求項7】

多抗原性ドメインが、CEACAM5又はその断片、DUOX2又はその断片、及びKRAS又はその断片からなる群から選択される少なくとも1種の腫瘍抗原を更に含み、各断片が8アミノ酸の最小長を有する、請求項6に記載のペプチド。

【請求項8】

多抗原性ドメインが、3種又はそれ以上の異なる抗原、又は8アミノ酸の最小長を有するそれらの断片、特に3、4、5、6、7、8、9、10種又はそれ以上の異なる抗原又はそれらの断片を含む、請求項6又は7に記載のペプチド。

【請求項9】

多抗原性ドメインが、

- － KRAS mRNAの5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされる腫瘍抗原(KRAS-uORF1)、
 - － TPX2 mRNAの5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされる腫瘍抗原(TPX2-uORF1)、及び
 - － AURKA mRNAの5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされる腫瘍抗原(AURKA-uORF2)
- を含む、請求項6～8のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項10】

多抗原性ドメインが、好ましくはN末端からC末端の方向に、

- － CEACAM5又は8アミノ酸の最小長を有するその断片、
 - － KRAS又は8アミノ酸の最小長を有するその断片、
 - － KRAS-uORF1、又は8アミノ酸の最小長を有するその断片、
 - － TPX2-uORF1、又は8アミノ酸の最小長を有するその断片、
 - － AURKA-uORF2、又は8アミノ酸の最小長を有するその断片、及び
 - － DUOX2又は8アミノ酸の最小長を有するその断片
- を含む、請求項6～9のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項11】

KRAS又はその断片が、KRAS-G12D若しくはその断片、又はKRAS-G12V若しくはその断片である、請求項6～10のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項12】

CEACAM5の断片が、配列番号6～8のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含み、好ましくは多抗原性ドメインが、配列番号9に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む、請求項6～11のいずれか1項に記載のペプチド。

【請求項13】

多抗原性ドメインが、

- － 配列番号9に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- － 配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- － 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- － 配列番号1若しくは2に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- － 配列番号3若しくは4に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- － 配列番号5に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、又は

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
 からなる群から選択される少なくとも 1 種のアミノ酸配列を含む、請求項 6 ～ 12 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 14】

多抗原性ドメインが、好ましくは N 末端から C 末端の方向に、

ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 1 若しくは 2 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 3 若しくは 4 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

を含む、請求項 6 ～ 13 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 15】

多抗原性ドメインが、配列番号 13 若しくは 14 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む、請求項 6 ～ 14 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 16】

細胞透過性ペプチドが、配列番号 15、配列番号 21、配列番号 22、若しくは配列番号 23 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなるアミノ酸配列を有する、請求項 6 ～ 15 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 17】

細胞透過性ペプチドが、配列番号 15 に記載のアミノ酸配列又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなるアミノ酸配列を有する、請求項 6 ～ 16 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 18】

T L R ペプチドアゴニストが、T L R 2 ペプチドアゴニスト及び／又は T L R 4 ペプチドアゴニストである、請求項 6 ～ 17 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 19】

T L R ペプチドアゴニストが、配列番号 16 若しくは 24 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなる、請求項 6 ～ 18 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 20】

a) 細胞透過性ペプチドが、配列番号 15、配列番号 21、配列番号 22 若しくは配列番号 23 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなるアミノ酸配列を有し、

b) 多抗原性ドメインが、

ー 8 アミノ酸の最小長を有する C E A C A M 5 の断片、

ー 8 アミノ酸の最小長を有する D U O X A 2 の断片、

ー 8 アミノ酸の最小長を有する K R A S の断片、

ー K R A S - u O R F 1、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、

ー T P X 2 - u O R F 1、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、及び／又は

－ A U R K A - u O R F 2、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片であり、

c) T L R ペプチドアゴニストが、T L R 2 ペプチドアゴニスト及び／又は T L R 4 ペプチドアゴニストである、

請求項 6 ～ 1 9 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 2 1】

好ましくは N 末端から C 末端の方向に、

a) 配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチド、

b) － 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び

－ 配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

を含む多抗原性ドメイン、並びに

c) 配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有する T L R ペプチドアゴニスト

を含む、請求項 6 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 2 2】

N 末端から C 末端の方向に、

a) 配列番号 1 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチド、

b) － 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 1 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

－ 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、

－ 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び

－ 配列番号 1 0 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

を含む多抗原性ドメイン、並びに

c) 配列番号 1 6 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有する T L R ペプチドアゴニスト

10

20

30

40

50

を含む、請求項 6 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 2 3】

配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 4 6、若しくは配列番号 4 7 に記載のアミノ酸配列、好ましくは配列番号 1 7 若しくは 1 8 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなる、請求項 6 ～ 2 2 のいずれか 1 項に記載のペプチド。

【請求項 2 4】

少なくとも 1 種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む多抗原性ドメインをコードする組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) であって、腫瘍抗原が、K R A S mRNA (K R A S - u O R F)、T P X 2 mRNA (T P X 2 - u O R F)、又は A U R K A mRNA (A U R K A - u O R F) の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (u O R F) 中にコードされる、組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

10

【請求項 2 5】

多抗原性ドメインが、C E A C A M 5 又はその断片、D U O X A 2 又はその断片、及び K R A S 又はその断片からなる群から選択される少なくとも 1 種の腫瘍抗原を更に含み、各断片が 8 アミノ酸の最小長を有する、請求項 2 4 に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

【請求項 2 6】

多抗原性ドメインが、3 種又はそれ以上の異なる抗原、又は 8 アミノ酸の最小長を有するそれらの断片、特に 3、4、5、6、7、8、9、10 種又はそれ以上の異なる抗原又はそれらの断片を含む、請求項 2 4 又は 2 5 に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

20

【請求項 2 7】

多抗原性ドメインが、

- K R A S mRNA の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (u O R F) 中にコードされる腫瘍抗原 (K R A S - u O R F 1)、
- T P X 2 mRNA の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (u O R F) 中にコードされる腫瘍抗原 (T P X 2 - u O R F 1)、及び
- A U R K A mRNA の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (u O R F) 中にコードされる腫瘍抗原 (A U R K A - u O R F 2)

30

を含む、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

【請求項 2 8】

多抗原性ドメインが、好ましくは N 末端から C 末端の方向に、

- C E A C A M 5 又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、
- K R A S 又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、
- K R A S - u O R F 1、又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、
- T P X 2 - u O R F 1、又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、
- A U R K A - u O R F 2、又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、及び
- D U O X A 2 又は 8 アミノ酸の最小長を有するその断片

を含む、請求項 2 4 ～ 2 7 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

40

【請求項 2 9】

K R A S 又はその断片が、K R A S - G 1 2 D 若しくはその断片、又は K R A S - G 1 2 V 若しくはその断片である、請求項 2 4 ～ 2 8 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

【請求項 3 0】

C E A C A M 5 の断片が、配列番号 6 ～ 8 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含み、好ましくは多抗原性ドメインが、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む、請求項 2 4 ～ 2 9 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (VSV) 。

50

【請求項 3 1】

多抗原性ドメインが、

- ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 1 若しくは 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 3 若しくは 4 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、又は
- ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

からなる群から選択される少なくとも 1 種のアミノ酸配列を含む、請求項 2 4 ～ 3 0 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（V S V）。

【請求項 3 2】

多抗原性ドメインが、好ましくは N 末端から C 末端の方向に、

- ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、及び／若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション
- ー 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、並びに
- ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

を含む、請求項 2 4 ～ 3 1 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（V S V）。

【請求項 3 3】

多抗原性ドメインが、N 末端から C 末端の方向に、

- ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、及び／若しくは少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション
- ー 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション、並びに
- ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 90 % の配列同一性を有するその配列バリエーション

を含む、請求項 2 4 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（V S V）。

【請求項 3 4】

多抗原性ドメインが、配列番号 1 9 若しくは配列番号 4 8 に記載のアミノ酸配列、好ましくは配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む、請求項 2 4 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 3 5】

腫瘍溶解性水疱性口内炎ウイルス (V S V) である、請求項 2 4 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 3 6】

複製可能である、請求項 2 4 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 3 7】

糖タンパク質 G をコードする遺伝子が、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス (L C M V) の糖タンパク質 G P をコードする遺伝子によって置き換えられており、L C M V の糖タンパク質 G P が、好ましくは配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % 同一であるその機能的配列バリエーションを含む、請求項 2 4 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 3 8】

— 請求項 2 5 ~ 3 4 のいずれか 1 項に定義される多抗原性ドメインをそのゲノム中にコードし、
 — 水疱性口内炎ウイルスの核タンパク質 (N)、大型タンパク質 (L)、リン酸化タンパク質 (P)、及びマトリックスタンパク質 (M) をそのゲノム中にコードし、
 — 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質 G をコードする遺伝子が、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス (L C M V) の糖タンパク質 G P をコードする遺伝子によって置き換えられており、並びに／又は
 — 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質 G が、L C M V の糖タンパク質 G P によって置き換えられている、
 請求項 2 4 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 3 9】

— 配列番号 2 6 に示されるアミノ酸、又は少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 2 %、9 4 %、9 6 %、9 8 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルス核タンパク質 (N) をそのゲノム中にコードし、
 — 配列番号 2 7 に示されるアミノ酸、又は少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 2 %、9 4 %、9 6 %、9 8 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルスリン酸化タンパク質 (P) をそのゲノム中にコードし、
 — 配列番号 2 8 に記載のアミノ酸、又は少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 2 %、9 4 %、9 6 %、9 8 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルス大型タンパク質 (L) をそのゲノム中にコードし、
 — 配列番号 2 9 に記載のアミノ酸、又は少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 2 %、9 4 %、9 6 %、9 8 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルスマトリックスタンパク質 (M) をそのゲノム中にコードし、
 — 請求項 2 5 ~ 3 4 のいずれか 1 項に定義される水疱性口内炎ウイルスの多抗原性ドメインをそのゲノム中にコードし、
 — 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質 G をコードする遺伝子が、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス (L C M V) の糖タンパク質 G P をコードする遺伝子によって置き換えられており、及び／又は
 — 糖タンパク質 G が、L C M V の糖タンパク質 G P によって置き換えられている、
 請求項 2 4 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)。

【請求項 4 0】

— 配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するそ

10

20

30

40

50

の配列バリエーションを含むリン酸化タンパク質（P）

- － 配列番号 26 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む核タンパク質（N）
- － 配列番号 29 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むマトリックスタンパク質（M）
- － 配列番号 28 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む大型タンパク質（L）
- － 配列番号 25 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む糖タンパク質（GP）、及び
- － 配列番号 19 若しくは配列番号 48 に記載のアミノ酸配列、若しくは好ましくは配列番号 19 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む多抗原性ドメイン

をそのゲノム中にコードする、請求項 24～39 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）。

【請求項 41】

その RNA ゲノムが、配列番号 30 に記載の RNA 配列、又は少なくとも 75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなる、請求項 24～40 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）。

【請求項 42】

（i）請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の組成物、

（ii）請求項 6～23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、又は

（iii）請求項 24～41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）を含むワクチン。

【請求項 43】

（i）請求項 6～23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、及び

（ii）請求項 24～41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）を含む、請求項 42 に記載のワクチン。

【請求項 44】

（i）請求項 6～23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、及び

（ii）請求項 24～41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）を含むキット。

【請求項 45】

（i）請求項 6～23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、及び

（ii）請求項 24～41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）を含む組合せ。

【請求項 46】

水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインが、ペプチドの多抗原性ドメインに含まれる抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む、請求項 43 に記載のワクチン、請求項 44 に記載のキット、又は請求項 45 に記載の組合せ。

【請求項 47】

水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインが、ペプチドの多抗原性ドメインに含まれる抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションのそれぞれのアミノ酸配列を含む、請求項 46 に記載のワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 48】

ペプチドの多抗原性ドメインが、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインに含まれる抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む、

10

20

30

40

50

請求項 4 3 に記載のワクチン、請求項 4 4 に記載のキット、又は請求項 4 5 に記載の組合せ。

【請求項 4 9】

ペプチドの多抗原性ドメインが、水疱性口内炎ウイルス（V S V）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインの抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションのそれぞれのアミノ酸配列を含む、請求項 4 8 に記載のワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 5 0】

－ ペプチドの多抗原性ドメインが、配列番号 1 3 若しくは 1 4 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含み、
－ 水疱性口内炎ウイルス（V S V）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインが、配列番号 1 9 若しくは配列番号 4 8 に記載のアミノ酸配列、好ましくは配列番号 1 9 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む、

請求項 4 3 ～ 4 9 のいずれか 1 項に記載のワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 5 1】

－ ペプチドが、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 4 6、若しくは配列番号 4 7 に記載のアミノ酸配列、好ましくは配列番号 1 7 若しくは 1 8 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含み、
－ 水疱性口内炎ウイルス（V S V）が、配列番号 3 0 に記載の RNA 配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む RNA ゲノムを含む、

請求項 4 3 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載のワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 5 2】

（ i i i ） P D - 1 / P D - L 1 経路の阻害剤

を更に含む、請求項 4 3 ～ 5 1 のいずれか 1 項に記載のワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 5 3】

P D - 1 / P D - L 1 経路の阻害剤が、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、ピディリズマブ、セミプリマブ、P D R - 0 0 1、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、エザベンリマブ、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体、配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体、及び配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体からなる群から選択される、請求項 5 2 に記載のワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 5 4】

医薬における使用のための、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物、請求項 6 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 2 4 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（V S V）、請求項 4 2、4 3 及び 4 6 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン、請求項 4 4 及び 4 6 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載のキット、又は請求項 4 5 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載の組合せ。

【請求項 5 5】

がんの処置における使用のための、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物、請求項 6 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 2 4 ～ 4 1 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（V S V）、請求項 4 2、4 3 及び 4 6 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン、請求項 4 4 及び 4 6 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載のキット、又は請求項 4 5 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載の組合せ。

【請求項 5 6】

がんが胃腸管（G I）のがんである、請求項 5 5 に記載の使用のための組成物、ペプチド、水疱性口内炎ウイルス（V S V）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 5 7】

がんが、肛門がん、虫垂がん、胆管細胞癌／胆管がん、特に肝外胆管がん、消化管カルチノイド腫瘍、結腸直腸がん、特に結腸がん、直腸がん及び転移性結腸直腸がん、食道が

ん、胆嚢がん、胃がん（*g a s t r i c (s t o m a c h) c a n c e r*）、消化管間質腫瘍（*G I S T*）、並びに膵臓がん、例えば膵管腺癌からなる群から選択される、請求項 55 又は 56 に記載の使用のための組成物、ペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 58】

がんが、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、転移性結腸直腸がん、膵臓がん、及び膵管腺癌からなる群から選択される、請求項 55～57 のいずれか 1 項に記載の使用のための組成物、ペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット、又は組合せ。

【請求項 59】

請求項 24～41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）と組み合わせて投与される、請求項 54～58 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド。

【請求項 60】

請求項 6～23 のいずれか 1 項に記載のペプチドと組み合わせて投与される、請求項 54～58 のいずれか 1 項に記載の使用のための水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）。

【請求項 61】

ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）が、請求項 46～51 のいずれか 1 項に定義される通りである、請求項 59 に記載の使用のためのペプチド又は請求項 61 に記載の使用のための水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）。

【請求項 62】

ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）がそれぞれ少なくとも 1 回投与され、好ましくはペプチドが水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）の投与の前に投与される、請求項 54～61 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 63】

ペプチドが、少なくとも 2 回、好ましくは水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）の投与の前及び後に投与される、請求項 54～62 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 64】

ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）が、*K-V-K*、*K-V-K-K*、*K-V-V-K-K-K*、又は *K-V-K-K-K-K* の順序で投与される、請求項 54～63 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 65】

処置スケジュールが、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）の単回投与を含む、請求項 54～64 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 66】

ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）が、同じ又は異なる経路を介して、好ましくは静脈内、皮下、又は筋肉内に投与される、請求項 54～65 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 67】

ペプチドが皮下投与され、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）が静脈内投与又は腫瘍内投与され、好ましくは静脈内投与される、請求項 54～66 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 68】

好ましくは請求項 53 に定義される *PD-1/PD-L1* 経路の阻害剤の投与を更に含む、請求項 54～67 のいずれか 1 項に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス（*V S V*）、ワクチン、キット又は組合せ。

10

20

30

40

50

【請求項 69】

P D - 1 / P D - L 1 経路の阻害剤が、ペプチド又は水疱性口内炎ウイルス (V S V) と同時に、逐次的に又は交互に投与される、請求項 68 に記載の使用のためのペプチド、水疱性口内炎ウイルス (V S V)、ワクチン、キット又は組合せ。

【請求項 70】

がんの処置のための医薬の製造のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物、請求項 6 ~ 23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 24 ~ 41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)、請求項 42、43 及び 46 ~ 53 のいずれか 1 項に記載のワクチン、請求項 44 及び 46 ~ 53 のいずれか 1 項に記載のキット、又は請求項 45 ~ 53 のいずれか 1 項に記載の組合せの使用。

10

【請求項 71】

がんを改善するか、処置するか、若しくはその (の発生リスク) を低下させるための、又は抗腫瘍応答を誘導するか若しくは強化するための方法であって、(有効量の) 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物、請求項 6 ~ 23 のいずれか 1 項に記載のペプチド、請求項 25 ~ 41 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス (V S V)、請求項 42、43 及び 46 ~ 53 のいずれか 1 項に記載のワクチン、請求項 44 及び 46 ~ 53 のいずれか 1 項に記載のキット、又は請求項 45 ~ 53 のいずれか 1 項に記載の組合せの、それを必要とする対象への投与を含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

本発明は、ワクチン接種及び免疫療法の分野、特にがん免疫療法に関する。より具体的には、本発明は、異なる mRNA の 5' UTR 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原に関する。そのような腫瘍抗原及びそのような腫瘍抗原をコードするウイルスを含む、組成物及びペプチドが提供される。本発明はまた、がんの処置におけるそのような組成物、ペプチド及びウイルスの使用にも関する。

【背景技術】

【0002】

免疫系は、腫瘍細胞を認識して、ある程度排除することができるが、この抗腫瘍応答はしばしば強さが弱く、非効率的である。治療的ワクチン接種によってこの弱い抗腫瘍応答を増強することは、がん治療の長い間求められてきた目標である。したがって、免疫応答を強化するために免疫系をモジュレートすることは、それを標準治療処置と組み合わせることができるため、腫瘍学における有望な治療アプローチとなっている。

30

腫瘍細胞は一般的に、幾つかの抗原、例えば、腫瘍関連抗原 (TAA)、ウイルス抗原 (オンコウイルス) 又は変異由来抗原 (ネオ抗原) を発現する。がん細胞において発現される様々な TAA、ウイルス抗原又はネオ抗原が同定されており、がんワクチンの標的として利用されている。腫瘍特異的免疫応答を誘発するための 1 つのアプローチは、腫瘍の性質に応じてがんを処置するための TAA、ウイルス抗原又はネオ抗原由来の投与を含む、ペプチドベースのがんワクチン接種である。

【0003】

40

腫瘍関連抗原は通常、正常細胞上にも存在するが、腫瘍特異的抗原は腫瘍細胞上にのみ存在する。腫瘍特異的抗原としては、変異由来の抗原、並びに潜在性のオープンリーディングフレーム及び／又はフレームシフト変異に由来する抗原が挙げられる。そのような抗原は、免疫系によって外来抗原として認識されることが可能であり、それ故に動物腫瘍モデル及びがん患者において抗腫瘍免疫応答を作動させる。しかし、腫瘍特異的変異を有するネオ抗原は、しばしば個々の患者に合わせたワクチンを必要とし、これは煩雑であってコストがかかる。最近、いわゆる「ダーク抗原」に対する関心が高まっており、これは、mRNA の 5' UTR などの、以前は「非コード性」であると考えられていた配列領域中にコードされる、腫瘍において特異的に発現されるペプチドである。

【発明の概要】

50

【0004】

この観点から見て、本発明の目的は、多くの患者の腫瘍において特異的に発現される新規の腫瘍抗原を提供することである。そのような腫瘍抗原は、腫瘍特異性を提供するが、煩雑でコストのかかる個別化アプローチを必要としない。本発明の目的はまた、ワクチン、特に異種プライムブーストレジメンに使用され得るワクチンであって、そのような腫瘍抗原を更なる有利な特徴（例えば、多抗原性ドメイン）と組み合わせたワクチンを提供することでもある。これは、各ヒトが異なるセットのMHC分子を有し、複数のペプチドの提示が各々のHLAにおける最良の（最も親和性の高い）ペプチドの提示を可能にすることから、特に適切である。

この目的は、以下及び添付の特許請求の範囲に記載される主題によって達成される。

本発明を以下に詳細に記載するが、本発明は、本明細書中に記載される特定の方法、プロトコル及び試薬に限定されず、これらは異なり得ることが理解されるべきである。また、本明細書で使用される用語は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲を限定することを意図するものではないことも理解されたい。他に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0005】

以下に、本発明の構成要素について説明する。これらの要素は、特定の実施形態と共に列挙されるが、それらは任意の様式及び任意の数で組み合わせられて、更なる実施形態を生じ得ることを理解されたい。様々に記載される例及び好ましい実施形態は、本発明を明示的に記載された実施形態のみに限定すると解釈されるべきではない。この記載は、明示的に記載された実施形態を任意の数の開示された及び／又は好ましい要素と組み合わせる実施形態を支持し、範囲に含むと理解されるべきである。更に、本出願における全ての記載された要素の任意の順列及び組合せが、文脈がそうでないことを示さない限り、本出願の記載によって開示されているとみなされるべきである。

【0006】

本明細書及びそれに続く特許請求の範囲を通じて、文脈が別のことを要求しない限り、「含む（comprise）」という用語、並びに「含む（comprises）」及び「含む（comprising）」などの変形は、記載されたメンバー、整数又はステップを含むことを意味するが、記載されていない他のメンバー、整数又はステップを除外することを意味しないことが理解されよう。「からなる」という用語は、明記されていない他のあらゆるメンバー、整数又はステップが除外される、「含む」という用語の特定の実施形態である。本発明の文脈において、「含む」という用語は、「からなる」という用語を範囲に含む。したがって、「含む（comprising）」という用語は、「からなる（consisting）」だけでなく「含む（including）」も範囲に含み、例えば、Xを「含む（comprising）」組成物は、Xのみからなってもよく、又は何か追加のもの、例えば、X+Yを含んでもよい。

【0007】

本発明を説明する文脈において（特に特許請求の範囲の文脈において）使用される「1つの（a）」及び「1つの（an）」及び「その（the）」という用語、並びに類似の言及は、本明細書で別段の指示がない限り、又は文脈と明らかに矛盾しない限り、単数及び複数の両方を範囲に含むと解釈されるべきである。本明細書における値の範囲の列挙は、単に、その範囲内に含まれる各別個の値に個別に言及する省略表現法としての役割を果たすことを意図している。本明細書で別段の指示がない限り、各個別の値は、本明細書に個別に列挙されているのと同じように本明細書に組み込まれる。本明細書中のいかなる文言も、本発明の実施に不可欠であるいかなる特許請求されていない要素も示すと解釈されるべきではない。

「実質的に」という語は、「完全に」を除外するものではなく、例えば、Yを「実質的に含まない」組成物は、Yを完全に含まなくてもよい。必要な場合、「実質的に」という単語は、本発明の定義から省略されてもよい。

数値 x に関する「約」という用語は、 $x \pm 10\%$ を意味する。

【0008】

本明細書を通して、「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」という用語、及びこれらの用語の変形は、互換的に使用される。これらの用語は、好ましくは（「通常の」）ペプチド結合によって互いに連結された少なくとも2つのアミノ酸を含む、ペプチド、オリゴペプチド、又は融合タンパク質を含むタンパク質を指す。或いは、アミノ酸は、例えば、アイソステリックペプチドの場合のように、修飾されたペプチド結合によって互いに連結されてもよい。したがって、本明細書で使用される場合、「ペプチド」という用語は、それらの長さとは無関係に、比較的短い（オリゴ）ペプチド並びに比較的長い（ポリペプチド）及びタンパク質を指す。通常のペプチド結合によって互いに連結された、遺伝暗号によって定義される20種のアミノ酸から選択されるアミノ酸から典型的には構成される「古典的」ペプチドが好ましい。しかし、ペプチドは、これらのアミノ酸に加えて、遺伝暗号によって定義される20種のアミノ酸以外のアミノ酸を含んでもよく、又は遺伝暗号によって定義される20種のアミノ酸以外のアミノ酸から構成されてもよい。一部の実施形態では、ペプチドは、当業者に周知である、翻訳後成熟プロセスなどの天然のプロセスによって、又は化学的プロセスによって修飾されたアミノ酸から構成され得る。修飾は、ペプチドの任意の場所、すなわち、ペプチド骨格、アミノ酸鎖、又はペプチドのカルボキシ末端若しくはアミノ末端にさえ現れることがある。したがって、「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」という用語には、修飾されたペプチド、ポリペプチド及びタンパク質も含まれる。例えば、ペプチド修飾は、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合固定、脂質又は脂質誘導体の共有結合固定、ホスファチジルイノシトールの共有結合固定、共有結合性又は非共有結合性の架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル、ペグ化を含むグルコシル化、水酸化、ヨード化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解プロセス、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セネロイル化、硫酸化、アミノ酸付加、例えば、アルギニル化又はユビキチン化を含み得る。

【0009】

本明細書で（すなわち、本出願の全体を通して）使用される場合、「配列バリエーション」という用語は、参照配列における任意の変更を指す。「配列バリエーション」という用語は、ヌクレオチド配列バリエーション及びアミノ酸配列バリエーションを含む。好ましくは、参照配列は、「配列及び配列番号の表」（配列表）に列挙されている配列、すなわち、配列番号1〜配列番号51のいずれかである。特に、配列バリエーションは、（配列の全長にわたって）参照配列と少なくとも70%又は少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%又は少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%又は少なくとも95%、更により好ましくは少なくとも97%又は少なくとも98%、特に好ましくは少なくとも99%の配列同一性を有する。配列同一性は、以下に記載されるように計算することができる。特に、配列バリエーションは、通常、参照配列の特定の機能を保っている。一部の実施形態では、アミノ酸配列バリエーションは、参照配列中のアミノ酸のうちの1個若しくは複数（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれ以上）が欠失しているか若しくは置換されているか、又は1個若しくは複数（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個又はそれ以上）のアミノ酸が参照アミノ酸配列の配列に挿入若しくは付加されている、変更された配列を有する。変更の結果として、アミノ酸配列バリエーションは、参照配列と少なくとも70%又は少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%又は少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%又は少なくとも95%、更により好ましくは少なくとも97%又は少なくとも98%、特に好ましくは少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を有する。例えば、少なくとも90%同一であるバリエーション配列は、参照配列の100アミノ酸当たり10個以下の変更、すなわち、欠失、挿入又は置換の任意の組合せを有する。当然ながら、同じことが核酸配列にも同様に当てはまる。

【0010】

正確な対応のない（アミノ酸又は核酸）配列について、第1の配列の「同一性パーセン

ト」を、第2の配列に対して決定することができる。一般に、比較されるこれらの2つの配列は、配列間に最大の相関が得られるように整列させることができる。これは、アラインメントの程度を高めるために、一方又は両方の配列に「ギャップ」を挿入することを含み得る。続いて、同一性パーセントを、比較される配列のそれぞれの全長にわたって決定することができ（いわゆるグローバルアラインメント）、これは長さが同一若しくは類似である配列について特に好適であり、又はより短い規定された長さにわたって決定することができ（いわゆるローカルアラインメント）、これは長さが等しくない配列についてより好適である。2つ又はそれ以上の配列の同一性及び相同性を比較するための方法は、当技術分野で周知である。2つの配列が同一であるパーセンテージは、例えば、数学的アルゴリズムを使用して決定することができる。使用し得る数学的アルゴリズムの好ましいが非限定的な一例は、Karlin et al. (1993), PNAS USA, 90:5873-5877のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、BLASTファミリーのプログラム、例えば、BLAST又はNBLASTプログラム (Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215, 403-410 or Altschul et al. (1997), Nucleic Acids Res, 25:3389-3402) (ワールドワイドウェブサイトncbi.nlm.nih.govにあるNCBIのホームページからアクセス可能) も参照されたい) 及びFASTA (Pearson (1990), Methods Enzymol. 183, 63-98; Pearson and Lipman (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 85, 2444-2448) に組み込まれている。

10

【0011】

一般に、参照アミノ酸配列中に存在する1つ又は複数のアミノ酸の置換は、好ましくは保存的に行われる。保存的置換の例としては、1つの脂肪族残基の別の脂肪族残基による置換、例えば、Ile、Val、Leu若しくはAlaの互いの置換、又は1つの極性残基の別の極性残基による置換、例えば、LysとArgとの間、GluとAspとの間、若しくはGlnとAsnとの間の置換が挙げられる。他のそのような保存的置換、例えば、類似の疎水性特性を有する領域全体の置換も周知である (Kyte and Doolittle, 1982, J. Mol. Biol. 157(1):105-132)。1つ又は複数のL-アミノ酸の1つ又は複数のD-アミノ酸による置換は、本発明の文脈において保存的置換とみなされる。例示的なアミノ酸置換を以下の表1に示す。

20

【0012】

30

40

50

【表 1】

元の残基	置換の例
Ala (A)	Val, Leu, Ile, Gly
Arg (R)	His, Lys
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Pro, Ala
His (H)	Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, His
Met (M)	Leu, Ile, Phe
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Tyr, Trp, Met
Pro (P)	Ala, Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe
Tyr (Y)	Trp, Phe
元の残基	置換の例
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

(表1)

【0013】

本明細書で使用される場合、「抗原」は、適応免疫応答の受容体の標的として、特に抗体、T細胞受容体、及び／又はB細胞受容体の標的として機能する任意の構造物質である。好ましくは、抗原はペプチド（ポリペプチド及びタンパク質を含む）である。「エピトープ」は、「抗原決定基」としても知られ、免疫系、特に抗体、T細胞受容体、及び／又はB細胞受容体によって認識される抗原の一部（又は断片）である。したがって、1つの抗原は少なくとも1種のエピトープを有し、すなわち、単一の抗原は1種又は複数のエピトープを有する。本発明の文脈において、「エピトープ」という用語は、抗原提示細胞の表面上に提示され、そこで主要組織適合性複合体（MHC）に結合しているT細胞エピトープを示すために主に使用される。ペプチド抗原に関して、MHCクラスI分子によって提示されるT細胞エピトープは、典型的には、排他的ではないが、長さが8～11アミノ酸のペプチドであり、一方、MHCクラスII分子は、一般的には、排他的ではないが、長さが12～25アミノ酸のより長いペプチドを提示する。

【0014】

「CD4⁺エピトープ」又は「CD4⁺拘束性エピトープ」という用語は、本明細書で使用される場合、CD4⁺ T細胞によって認識されるエピトープを示し、前記エピトープは、特に、MHCクラスII分子の溝に存在する抗原断片からなる。単一のCD4⁺エピトープは、好ましくは約12～25アミノ酸からなる。これはまた、例えば、約8～25アミノ酸又は約6～100アミノ酸からなることもできる。

「CD8⁺エピトープ」又は「CD8⁺拘束性エピトープ」という用語は、本明細書で使用される場合、CD8⁺ T細胞によって認識されるエピトープを示し、前記エピトープは、特に、MHCクラスI分子の溝に存在する抗原断片からなる。単一のCD8⁺エピ

トープは、好ましくは約 8 ～ 11 アミノ酸からなる。それはまた、例えば、約 8 ～ 15 アミノ酸又は約 6 ～ 100 アミノ酸からなることもできる。

【0015】

本明細書で使用される場合、抗原の「断片」は、通常、8 アミノ酸の最小長を有し、すなわち、断片は、抗原の少なくとも 8 個の連続したアミノ酸、好ましくは抗原の少なくとも 10 個の連続したアミノ酸、より好ましくは抗原の少なくとも 15 個の連続したアミノ酸、更により好ましくは抗原の少なくとも 20 個の連続したアミノ酸、更により好ましくは抗原の少なくとも 25 個の連続したアミノ酸、最も好ましくは抗原の少なくとも 30 個の連続したアミノ酸を含む。抗原断片は、通常、1 つ又は複数のエピトープを含む。したがって、抗原の断片は、典型的には免疫原性である。抗原（又はその断片）の「配列バリエーション」は、通常、参照配列に対して少なくとも 70 % 又は少なくとも 75 %、好ましくは少なくとも 80 % 又は少なくとも 85 %、より好ましくは少なくとも 90 % 又は少なくとも 95 %、更により好ましくは少なくとも 97 % 又は少なくとも 98 %、特に好ましくは少なくとも 99 % 同一である（アミノ酸）配列を有する。「機能的」配列バリエーションは、抗原／抗原断片の文脈では、例えば、抗原（断片）に含まれるエピトープの機能が損なわれないか又は消失していないことを意味する。換言すれば、抗原（断片）の「機能的」配列バリエーションは、免疫原性であり、好ましくは、参照抗原（断片）と実質的に同じ免疫原性を有する。一部の実施形態では、例えば、腫瘍抗原（断片）に含まれる 1 種又は複数のエピトープのアミノ酸配列は、変異しておらず、したがって（天然に存在する）参照エピトープ配列と同一である。

10

20

【0016】

当業者は通常、処置される疾患を考慮して、抗原又はその断片を選択することが理解される。したがって、抗原又は抗原性エピトープは、通常、処置される疾患に関連する（又は関係する）。多数の抗原が、特定の疾患に関連して当技術分野で公知である。例えば、腫瘍／がんを処置するために、当業者は、特定のタイプの腫瘍／がんに対して有用な腫瘍抗原（又はその断片）を選択する。一部の実施形態では、患者は、がん／腫瘍が特定の抗原を発現するか否かを同定するために、（例えば、単離された試料を使用することによって）特定の抗原について検査／スクリーニングを受けることができる。

【0017】

本明細書で使用される場合、「腫瘍抗原」は、がん／腫瘍細胞によって産生される抗原である。腫瘍抗原には、腫瘍関連抗原及び腫瘍特異的抗原が含まれる。腫瘍関連（tumor-associated）（腫瘍関連（tumor-related）ともいう）抗原（TAA）は、がん／腫瘍細胞及び正常細胞の両方で発現される抗原である。腫瘍特異的抗原（TSA）は、対照的に、がん／腫瘍細胞によって特異的に発現されるが、正常細胞によっては発現されない抗原である。TSA の例としては、がん／腫瘍が発生する前には体内に存在しないネオ抗原が挙げられ、それ故にネオ抗原は免疫系にとって「新規」である。ネオ抗原は、体細胞変異に起因することが多い。腫瘍抗原の好適なエピトープは、例えば、Vigneron et al. 2013, Cancer Immun.13:15 ; URL: <http://www.cancerimmunity.org/peptide/> に記載されているようながん／腫瘍エピトープデータベースから、又はデータベース「T antigen」（Dana-Farber Cancer Institute, Vaccine Center の Bioinformatics Core Cancer によって開発された T ANTIGEN バージョン 1.0, Dec 1, 2009 ; URL: <http://cvc.dfci.harvard.edu/tadb/>）から検索することができる。

30

40

【0018】

本明細書で使用される「医薬組成物」という用語は、特に、活性成分の生物学的活性が明確に有効であることを可能にするような形態にあり、前記製剤が投与される対象に対して毒性がある追加の成分を含有しない調製物を指す。一部の実施形態では、（医薬）組成物は、本明細書の以下に記載される活性成分のほかには、更なる活性成分（例えば、がん処置に関して「活性のある」もの）を含有しない。

50

本明細書で使用される場合、「ワクチン」という用語は、典型的には特定の疾患、好ましくはがんに対して自然免疫及び／又は適応免疫を与える生物学的調製物を指す。したがって、ワクチンは、特に、処置される対象の免疫系の自然免疫応答及び／又は適応免疫応答を援助する。例えば、本明細書に記載される抗原又は多抗原性ドメインは、典型的には、処置される患者において適応免疫応答を導くか又は援助し、本明細書に記載される TLR ペプチドアゴニストは、自然免疫応答を導くか又は援助することができる。

【0019】

本明細書で使用される「疾患」という用語は、「障害」及び「状態」（医学的状态における場合）という用語と、これらが全て、正常な機能を損ない、典型的には特徴的な徴候及び症状によって顕在化し、ヒト又は動物の寿命又は生活の質の低下を引き起こす、ヒト又は動物の身体又はその一部の異常な状態を反映するという点で、一般に同義であることを意図しており、これらと互換的に使用される。

本明細書で使用される場合、対象又は患者の「処置」への言及は、防止、予防、減弱、改善及び治療を含むことを意図している。「対象」又は「患者」という用語は、ヒトを含む全ての哺乳動物を意味して、本明細書中で互換的に使用される。対象の例としては、ヒト、ウシ、イヌ、ネコ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、及びウサギが挙げられる。好ましくは、対象又は患者はヒトである。

【0020】

組成物

第1の態様では、本発明は、

(i) 少なくとも1種の腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーションであって、腫瘍抗原が、KRAS mRNA (KRAS-uORF1)、TPX2 mRNA (TPX2-uORF1)、若しくはAURKA mRNA (AURKA-uORF2)の5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされる、少なくとも1種の腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション、

(ii) 前記腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーションをコードする核酸、

(iii) (i) 若しくは(ii)を含む抗原提示細胞(APC)、又は

(iv) 前記腫瘍抗原を標的とするT細胞受容体若しくはCAR T細胞受容体のいずれかを発現するT細胞を含む組成物を提供する。

【0021】

本発明者らは、例えば、RPFdb v. 2.0データベース(Wang et al, 2019, Nucleic Acids Res. 47, D230-D234)からの選択されたRiboseqデータセットを分析することによって、上流オープンリーディングフレーム(ORF)、すなわち、腫瘍抗原の5' UTR (5' 非翻訳領域)にコードされるORFを同定した。それによって、本発明者らは驚いたことに、KRAS (Kirstenラット肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログ)mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされるペプチド、TPX2 (Xklp2に対する標的化タンパク質)mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされるペプチド、及びAURKA (Aurora Aキナーゼ)mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム(uORF)中にコードされるペプチドを、腫瘍抗原として同定した。添付の実施例において実証されるように、そのようなKRAS転写物、TPX2転写物及びAURKA転写物は、正常な健康組織とは対照的に、腫瘍において強く発現されることが見出された。本発明者らはまた、KRAS-uORF1ペプチド、TPX2-uORF1ペプチド及びAURKA-uORF2ペプチド内の免疫原性エピトープを見出し、KRAS-uORF1ペプチド、TPX2-uORF1ペプチド及びAURKA-uORF2ペプチドに由来するエピトープが、MHCクラスI及び／又はMHCクラスIIとの関連でヒト樹状細胞によって提示されることを見出した。要約すると、これらの知見は、がん免疫療法において有用な新規の腫瘍特異的抗原としてのKRAS-uOR

10

20

30

40

50

F1ペプチド、TPX2-uORF1ペプチド及びAURKA-uORF2ペプチドの役割を裏付ける。

【0022】

したがって、本発明は、KRAS mRNA (KRAS-uORF1)、TPX2 mRNA (TPX2-uORF1) 若しくはAURKA mRNA (AURKA-uORF2) の5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる少なくとも1種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む組成物を提供する。腫瘍抗原は、典型的にはペプチド腫瘍抗原である。これらの腫瘍抗原は (すなわち、ペプチドレベルで)、本明細書において、それぞれ「KRAS-uORF1」、「TPX2-uORF1」及び「AURKA-uORF2」とも称される。当業者は、それらがヌクレオチドに言及されているか又はペプチドに言及されているかを各文脈から直ちに見分けるであろう。

10

【0023】

一部の実施形態では、組成物は、

- KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション (KRAS-uORF1)、
- TPX2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション (TPX2-uORF1)、及び／又は
- AURKA mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション (AURKA-uORF2)

20

を含む。

【0024】

一部の実施形態では、組成物は、KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原 (KRAS-uORF1) を含み、配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含む (又はそれからなる)。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で)。

30

40

【0025】

一部の実施形態では、組成物は、TPX2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原 (TPX2-uORF1) を含み、配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含む (又はそれからなる)。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長

50

を有する断片、又は配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

【0026】

一部の実施形態では、組成物は、AURKA mRNAの5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原（AURKA-uORF2）を含み、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含む（又はそれからなる）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

上記の腫瘍抗原に加えて、組成物は、CEACAM5（又は上記に定義されるその断片若しくは配列バリエーション）、DUOX2（又は上記に定義されるその断片若しくは配列バリエーション）、及びKRAS（又は上記に定義されるその断片若しくは配列バリエーション）からなる群から選択される少なくとも1種の腫瘍抗原を更に含んでもよい。上記のような5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原とは対照的に、本明細書で言及される場合、更なる抗原CEACAM5、DUOX2及びKRASは腫瘍抗原であり、これらはmRNAの（「古典的な」）コード配列（CDS）中にコードされる（すなわち、「非翻訳」領域／UTRの中にはない）。

【0027】

一部の実施形態では、組成物はCEACAM5（がん胎児性抗原関連細胞接着分子5）の断片を含み、これは配列番号6に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

【0028】

一部の実施形態では、組成物はCEACAM5の断片を含み、これは配列番号7に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号7のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性の1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

【0029】

一部の実施形態では、組成物はCEACAM5の断片を含み、これは配列番号8に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号8のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少な

くとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性の1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

【0030】

一部の実施形態では、上記のようなCEACAM5の断片が、互いに連結されていてもよい（特に、融合ペプチド／タンパク質として）。したがって、組成物は、配列番号9に記載のアミノ酸を含む（か又はそれからなる）（融合）ペプチドを含んでもよい。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

10

【0031】

一部の実施形態では、組成物は、DUOX2（デュアルオキシダーゼ成熟因子2）の断片を含み、これは配列番号10に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

20

【0032】

一部の実施形態では、組成物は、KRASの断片を含む。KRAS変異はがんにおいて一般的であるため、KRASの断片は好ましくは変異を含む。KRAS変異は、例えば、KRASのG12、G13又はQ61で起こり得る。したがって、KRASの断片は、KRASの位置G12、G13及び／又はQ61であって、好ましくはこれらの位置のアミノ酸残基の少なくとも1つが置換されている位置を含み得る。好ましくは、KRASの断片は、G12に置換を含む。そのような置換の非限定的な例としては、G12D、G12V、G12C、G12A及びG12Rが挙げられる。好ましくは、KRASの断片は、G12D又はG12V置換を有するKRASの位置G12を含む。したがって、KRAS又はその断片は、好ましくは、KRAS-G12D若しくはその断片、又はKRAS-G12V若しくはその断片である（ここで断片は、KRASの位置G12及び各々の置換を含む）。

30

【0033】

一部の実施形態では、組成物はKRASの断片を含み、これは配列番号11又は12に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号11のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。組成物はまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%

40

50

、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。

【0034】

好ましくは、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）2種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）3種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）4種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）5種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2から選択される6種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションの全てを含む。多抗原性ワクチンは、(i) 抗原欠損バリエーションの成長を回避し、(ii) 不均一な腫瘍塊内部の異なる腫瘍細胞を標的とし、(iii) 患者間の腫瘍の変動性を回避する。

【0035】

好ましくは、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12D、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12V、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12D、KRAS-G12V、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。

【0036】

好ましくは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエーションは、CD4+及び／又はCD8+エピトープを含む。

【0037】

一部の実施形態では、本発明による組成物は、少なくとも1種のCD4+エピトープ及び少なくとも1種のCD8+エピトープを含み、これらは同一の又は異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）の中に含まれ得る。T_h細胞（CD4+ T細胞）は、DC（樹状細胞）のライセンシング並びに腫瘍部位でのCTL（CD8+ T細胞、細胞傷害性Tリンパ球）の動員及び維持の両方について、抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を果たす。したがって、少なくとも1種のCD4+エピトープ及び少なくとも1種のCD8+エピトープを含む本発明による組成物は、CTL及びT_h細胞の同時プライミングを可能にする統合された免疫応答を提供し、それ故にCD8+エピトープのみ又はCD4+エピトープのみに対する免疫よりも好ましい。

【0038】

好ましくは、組成物は、(i) CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーション、並びに(ii)異なるCD4⁺エピトープ及び異なるCD8⁺エピトープを含む。そのような組成物は、多エピトープ性CD8⁺CTL及びCD4⁺T_H細胞を誘導して、腫瘍細胞に対抗して効率的な抗腫瘍免疫を促進するように相乗的に機能させる。T_H細胞はまた、ワクチン接種後にモニターされた長期持続性細胞性免疫の維持にも関与する。そのような組成物は、ポリクローナル性のマルチエピトープ性免疫応答並びに多機能性CD8⁺及びCD4⁺T細胞を誘導し、それ故に有効な抗腫瘍活性を誘導する。

【0039】

一部の実施形態では、組成物は、少なくとも1種のアミノ酸配列を含む腫瘍抗原を含み、ここでアミノ酸配列は、

ー 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号11のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号1に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号2に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号3に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号4に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号5に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号9に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、及び／又は

10

20

30

40

50

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション

である。

【0040】

一部の実施形態では、組成物は、

ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 11 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、

ー 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 12 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、

ー 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、若しくは配列番号 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、

ー 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、若しくは配列番号 4 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、

ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、

ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か若しくはそれからなる）腫瘍抗原、及び／又は

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、8

10

20

30

40

50

6 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む（か又はそれからなる）腫瘍抗原を含む。

【0041】

腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）は、好ましくは、上記のようにペプチドとして組成物中に含まれることが理解される。代替的（又は追加的に）、組成物は、上記のように腫瘍抗原（又はその断片若しくはバリエーション）をコードする核酸を含み得る。

【0042】

核酸は、好ましくは、一本鎖、二本鎖又は部分的に二本鎖の核酸を含み、好ましくは、ゲノムDNA、cDNA、RNA、siRNA、アンチセンスDNA、アンチセンスRNA、リボザイム、発現エレメントを有するか又は有しない相補的RNA/DNA配列、ミニ遺伝子、遺伝子断片、制御エレメント、プロモーター、及びそれらの組合せから選択される。核酸（分子）及び／又はポリヌクレオチドの更に好ましい例としては、例えば、組換えポリヌクレオチド、ベクター、オリゴヌクレオチド、RNA分子、例えば、rRNA、mRNA、miRNA、siRNA、若しくはtRNA、又は上記のDNA分子が挙げられる。したがって、核酸（分子）は、DNA分子又はRNA分子であって、好ましくは、ゲノムDNA、cDNA、siRNA、rRNA、mRNA、アンチセンスDNA、アンチセンスRNA、リボザイム、相補的RNA及び／又はDNA配列、発現エレメント、制御エレメント、及び／又はプロモーターを有するか又は有しないRNA及び／又はDNA配列、ベクター、並びにそれらの組合せから選択される。

【0043】

一部の実施形態では、組成物は、

— KRAS-uORF1をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号37に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号37のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— TPX2-uORF1をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号38に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号38のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— AURKA-uORF2をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号39に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号39のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— CEACAM5の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号40に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号40のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— CEACAM5の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号41に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号41のアミノ酸配列に対して少なくとも70

10

20

30

40

50

%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— C E A C A M 5 の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号42に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号42のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— D U O X A 2 の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号43に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号43のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、

— K R A S - G 1 2 D の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号44に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号44のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸、及び／又は

— K R A S - G 1 2 V の断片をコードする核酸であって、好ましくは、配列番号45に記載のポリヌクレオチド配列、若しくは配列番号45のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む核酸を含む。

【0044】

組成物は、上記のような異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）、例えば、上記のような2種、3種、4種、5種、又は6種全ての腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）をコードする1種又は複数の核酸分子を含み得る。異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）は、上記のように、同一の核酸分子によって（例えば、ポリシストロン性様式で）コードされてもよく、又は異なる核酸分子中にコードされてもよい。

【0045】

代替的（又は追加的に）、組成物は、（i）上記のような腫瘍抗原（又はその断片若しくはバリエーション）、又は（i i）腫瘍抗原（又はその断片若しくはバリエーション）をコードする上記のような核酸を含む、抗原提示細胞（A P C）を含み得る。一部の実施形態では、抗原提示細胞（A P C）は樹状細胞（D C）であってもよい。

一部の実施形態では、A P Cには、A P Cが腫瘍抗原（又はその断片若しくはバリエーション）の1種又は複数のエピトープを提示することができるように、上記のような腫瘍抗原（又はその断片若しくはバリエーション）がロードされてもよい。

組成物は、（i）異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）、又は（i i）上記のような異なる核酸分子を含む、異なる抗原提示細胞を含み得る。しかし、単一のA P Cが、（i）異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）、又は（i i）上記のような異なる核酸分子を含んでもよい。

【0046】

代替的に（又は追加的に）、組成物は、上記のような腫瘍抗原（又はその断片若しくは

バリエーション)を標的とするT細胞受容体又はCAR T細胞受容体のうちのいずれかを発現するT細胞を含み得る。一部の実施形態では、組成物は、上記のような異なる腫瘍抗原(又はそれらの断片若しくはバリエーション)を標的とする異なるT細胞受容体又はCAR T細胞受容体をそれぞれ発現する、異なるT細胞を含み得る。

一般に、組成物は、医薬組成物及び／又はワクチンであり得る。特に、そのような組成物は、好ましくは、薬学的に許容される担体及び／若しくはビヒクル、又は任意の賦形剤、緩衝液、安定剤若しくは当業者に周知の他の材料を含んでもよい(医薬)組成物である。

【0047】

更なる成分として、(医薬)組成物は、特に、薬学的に許容される担体及び／又はビヒクルを含み得る。本発明の文脈において、薬学的に許容される担体は、典型的には、(医薬)組成物の液体又は非液体基剤を含む。(医薬)組成物が液体形態で提供される場合、担体は、典型的には、発熱物質を含まない水、等張性食塩水又は緩衝(水性)溶液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩などの緩衝溶液である。特に、(医薬)組成物の注射のためには、ナトリウム塩、好ましくは少なくとも30mMのナトリウム塩、カルシウム塩、好ましくは少なくとも0.05mMのカルシウム塩、及び任意にカリウム塩、好ましくは少なくとも1mMのカリウム塩を含有する、水又は好ましくは緩衝液、より好ましくは水性緩衝液を使用することができる。好ましい一実施形態によれば、ナトリウム塩、カルシウム塩及び任意でのカリウム塩は、それらのハロゲン化物、例えば、塩化物、ヨウ化物又は臭化物の形態で、それらの水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩又は硫酸塩などの形態で存在し得る。それらに限定されず、ナトリウム塩の例としては、例えば、NaCl、NaI、NaBr、Na₂CO₃、NaHCO₃、Na₂SO₄が挙げられ、任意でのカリウム塩の例としては、例えば、KCl、KI、KBr、K₂CO₃、KHCO₃、K₂SO₄が挙げられ、カルシウム塩の例としては、例えば、CaCl₂、CaI₂、CaBr₂、CaCO₃、CaSO₄、Ca(OH)₂が挙げられる。更に、前述のカチオンの有機アニオンが緩衝液中に含有されてもよい。より好ましい一実施形態によれば、上記に定義されるような注射目的に好適な緩衝液は、塩化ナトリウム(NaCl)、塩化カルシウム(CaCl₂)及び任意に塩化カリウム(KCl)から選択される塩を含有してもよく、塩化物に加えて更なるアニオンが存在してもよい。また、CaCl₂をKClのような別の塩によって置き換えることもできる。典型的には、注射用緩衝液中の塩は、少なくとも30mMの塩化ナトリウム(NaCl)、少なくとも1mMの塩化カリウム(KCl)及び少なくとも0.05mMの塩化カルシウム(CaCl₂)の濃度で存在する。注入用緩衝液は、特定の参照媒体に対して高張性、等張性又は低張性であってもよく、すなわち緩衝液は、特定の参照媒体に対してより高い、同一の又はより低い塩含有量を有してもよく、好ましくは、浸透又は他の濃度効果に起因する細胞の損傷を導かないような濃度の前述の塩を使用することができる。参照媒体は、例えば、「インビボ」法において存在する液体、例えば、血液、リンパ液、細胞質液、若しくは他の体液、又は例えば、「インビトロ」法において参照媒体として使用され得る液体、例えば、一般的な緩衝液若しくは液体である。そのような一般的な緩衝液又は液体は、当業者に公知である。生理食塩水(0.9% NaCl)及び乳酸リンゲル液は、液体基剤として特に好ましい。一部の実施形態では、(医薬)組成物は、アルギニン、例えば、L-アルギニンを更に含む。

これに関連して、上記の(医薬)組成物を使用する場合の処置の処方、例えば、投与量などの決定は、典型的には、一般医及び他の医師の責任能力の範囲内にあり、典型的には、処置される障害、個々の患者の状態、送達部位、投与方法及び医師に公知である他の因子を考慮に入れる。したがって、(医薬)組成物は、典型的には、治療有効量の活性構成成分(腫瘍抗原)を含む。(医薬)組成物は、一般的な(医薬)組成物として、又はワクチンとして、ヒトのために、また獣医学的目的のために、好ましくはヒトの医療目的のために使用することができる。

【0048】

本発明の文脈において好適なアジュバント及び／又は免疫調節性材料の例としては、M

10

20

30

40

50

PL（登録商標）（Corixa）、アルミニウム化合物を含むアルミニウムベースのミネラル（一般にミョウバンと呼ばれる）、ASO1-4、MF59、リン酸カルシウム、リポソーム、イスコム、ポリイノシン：ポリシチジル酸（ポリIC）（その安定化形態であるポリICLC（Hiltonol）を含む）、CpGオリゴデオキシヌクレオチド、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、リポ多糖（LPS）、モンタニド、ポリラクチドコグリコリド（PLG）、フラジェリン、セッケンボクサポニン（QS21）、アミノアルキルグルコサミド化合物（例えば、RC529）、合成オリゴデオキシヌクレオチドを有する二成分抗菌ペプチド（例えば、IC31）、イミキモド、レシキモド、免疫刺激性配列（ISS）、モノホスホリルリピドA（MPLA）、及び線維芽細胞刺激性リポペプチド（FSL1）が挙げられる。

10

組成物、特に医薬組成物及びワクチンに関連して、又はそれらの調製に関連して有用である更なる材料並びに製剤加工手法などは、当業者に公知である。

【0049】

ペプチド

更なる一態様では、本発明は、

a) 細胞透過性ペプチド、

b) 少なくとも1種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む多抗原性ドメインであって、

腫瘍抗原が、KRAS mRNA（KRAS-uORF1）、TPX2 mRNA（TPX2-uORF1）、又はAURKA mRNA（AURKA-uORF2）の5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる、多抗原性ドメイン、及び

20

c) TLRペプチドアゴニスト

を含むペプチドを提供する。

【0050】

本発明のペプチドにおいて、構成成分a)～c)は、通常はペプチド結合によって共有結合性に連結されている。したがって、前記ペプチドは、組換えペプチド（天然には存在しない）又は「融合」ペプチド（構成成分a)～c)が互いに「融合」している）である。

そのようなペプチドは、(i) 多エピトープ性細胞傷害性T細胞媒介性免疫の刺激、(ii) Th細胞の誘導、及び(iii) 免疫記憶の促進を同時に提供する。それによって、本発明によるペプチドは、特に改善された抗腫瘍活性を有する強力なワクチンを提供する。

30

【0051】

多抗原性ドメイン

本発明のペプチドは、多抗原性ドメインを含む。本明細書で使用される場合、「多抗原性ドメイン」という用語は、少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の別個の抗原又は少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の別個の抗原の断片を含む、ペプチドなどのドメインを指す。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、3種又はそれ以上の異なる抗原又はそれらの断片、特に3、4、5、6、7、8、9、10種又はそれ以上の異なる抗原又はそれらの断片を含む。好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の別個の抗原（の断片）を含み、各断片又は抗原は、少なくとも1つの抗原性エピトープを含む。より好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、少なくとも2種～8種の別個の抗原（の断片）を含み、各断片／抗原は、少なくとも1つの抗原性エピトープを含む。更により好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、5種又は6種の別個の抗原（の断片）を含み、各断片は少なくとも1つの抗原性エピトープを含む。

40

【0052】

特に、異なる抗原（の断片）は、多抗原性ドメイン中に連続して配置される。一部の実

50

施形態では、異なる抗原（の断片）は、例えば、ペプチドスペーサー又はリンカー（例えば、GSリンカー）によって互いに連結される。スペーサー又はリンカーは、通常、構成成分a）、すなわち細胞透過性ペプチドでも、構成成分c）、すなわちTLRペプチドアゴニストでもない。他の実施形態では、異なる抗原（の断片）は、互いに直接的に、すなわち、スペーサー又はリンカーなしで連結される。

【0053】

一部の実施形態では、多抗原性ドメイン中の各抗原又はその断片は、少なくとも1種のCD4⁺エпитープ及び／又は少なくとも1種のCD8⁺エпитープを含み、これらは同じ又は異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）中に含まれ得る。T_h細胞（CD4⁺ T細胞）は、DC（樹状細胞）のライセンシング並びに腫瘍部位でのCTL（CD8⁺ T細胞、細胞傷害性Tリンパ球）の動員及び維持の両方について、抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を果たす。したがって、少なくとも1種のCD4⁺エピトープ及び少なくとも1種のCD8⁺エピトープを含む多抗原性ドメインは、CTL及びT_h細胞の同時プライミングを可能にする統合された免疫応答を提供し、それ故にCD8⁺エピトープのみ又はCD4⁺エピトープのみに対する免疫よりも好ましい。

10

【0054】

ペプチドの多抗原性ドメインは、KRAS mRNA（KRAS-uORF1）、TPX2 mRNA（TPX2-uORF1）若しくはAURKA mRNA（AURKA-uORF2）の5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる少なくとも1つの腫瘍抗原、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーションを含む。腫瘍抗原は、典型的にはペプチド腫瘍抗原である。これらの腫瘍抗原（すなわち、ペプチドレベルで）は、本明細書において、それぞれ「KRAS-uORF1」、「TPX2-uORF1」及び「AURKA-uORF2」とも称される。当業者は、各文脈から、それらがヌクレオチド及び／又はペプチドに言及されているかどうかを直ちに見分けるであろう。

20

【0055】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、

- KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション（KRAS-uORF1）
- TPX2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション（TPX2-uORF1）、及び／又は
- AURKA mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション（AURKA-uORF2）

を含む。

30

【0056】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原を含み（KRAS-uORF1）、配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含む（又はそれからなる）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、9

40

50

6 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号1若しくは2に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0057】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、TPX2 mRNAの5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原（uORF-TPX2）を含み、配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含む（又はそれからなる）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号3若しくは4に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0058】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、AURKA mRNA（AURKA-uORF2）の5'UTR内の5'上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる腫瘍抗原を含み、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含む（又はそれからなる）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号5に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

上記の腫瘍抗原に加えて、多抗原性ドメインは、CEACAM5（又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション）、DUOXA2（又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション）、及びKRAS（又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション）からなる群から選択される少なくとも1種の腫瘍抗原をさらに含み得る。

【0059】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5（がん胎児性抗原関連細胞接着分子5）（の断片）を含み、これは配列番号6に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号6のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は99 %の配列同一性のうちの1つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バ

リアントにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも１種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号６に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【００６０】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、ＣＥＡＣＡＭ５（の断片）を含み、これは配列番号７のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、８アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の配列同一性のうちの１つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも１種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号７に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

10

【００６１】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、ＣＥＡＣＡＭ５（の断片）を含み、これは配列番号８に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、８アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号８のアミノ酸配列に対して少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の配列同一性のうちの１つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも１種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号８に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

20

【００６２】

一部の実施形態では、上記のようなＣＥＡＣＡＭ５の断片は、互いに連結されていてもよい（特に、融合ペプチド／タンパク質として）。したがって、多抗原性ドメインは、配列番号９に記載のアミノ酸配列を含む（か又はそれからなる）（融合）ペプチドを含み得る。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、８アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号９のアミノ酸配列に対して少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の配列同一性のうちの１つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも１種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号９に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

30

【００６３】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、ＤＵＯＸＡ２（デュアルオキシダーゼ成熟因子２）（の断片）を含み、これは配列番号１０に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、８アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の配列同一性のうちの１つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも１種のエピ

40

50

トープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0064】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS（の断片）を含む。KRAS 変異はがんにおいて一般的であるため、KRAS（の断片）は、好ましくは変異を含む。KRAS 変異は、例えば、KRAS の G12、G13 又は Q61 で起こり得る。したがって、KRAS の断片は、KRAS の位置 G12、G13 及び／又は Q61 であって、好ましくはこれらの位置のアミノ酸残基の少なくとも 1 つが置換されている位置を含み得る。好ましくは、KRAS の断片は、G12 に置換を含む。そのような置換の非限定的な例としては、G12D、G12V、G12C、G12A 及び G12R が挙げられる。好ましくは、KRAS の断片は、G12D 又は G12V 置換を有する KRAS の位置 G12 を含む。したがって、KRAS 又はその断片は、好ましくは、KRAS-G12D 若しくはその断片、又は KRAS-G12V 若しくはその断片である（ここで断片は、KRAS の位置 G12 及び各々の置換を含む）。

【0065】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS の断片を含み、これは配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列を含み得る（又はそれからなり得る）。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号 11 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有する配列バリエーションを含んでもよい。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は配列番号 12 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される（例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で）。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 11 若しくは 12 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0066】

したがって、多抗原性ドメインは、

- ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 12 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 11 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %

、 87 %、 88 %、 89 %、 90 %、 91 %、 92 %、 93 %、 94 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号 4 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、又は

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション

からなる群から選択される少なくとも 1 種のアミノ酸配列を含み得る。

【0067】

好ましくは、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）2 種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）3 種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）4 種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）5 種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される 6 種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションの全てを含む。多抗原性ワクチンは、(i) 抗原欠損バリエーションの成長を回避し、(ii) 不均一な腫瘍塊内部の異なる腫瘍細胞を標的とし、(iii) 患者間の腫瘍の変動性を回避する。

【0068】

10

20

30

40

50

好ましくは、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12D、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12V、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、組成物は、CEACAM5、DUOXA2、KRAS-G12D、KRAS-G12V、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。

【0069】

好ましくは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエーションは、CD4+及び／又はCD8+エピトープを含む。好ましくは、多抗原性ドメインは、(i) CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーション、並びに(ii)異なるCD4⁺エピトープ及び異なるCD8⁺エピトープを含む。そのような多抗原性ドメインを含むペプチドは、多エピトープ性CD8⁺CTL及びCD4⁺T_H細胞を誘導して相乗的に機能させることで腫瘍細胞に対抗し、効率的な抗腫瘍免疫を促進する。T_H細胞はまた、ワクチン接種後にモニターされた長期持続性細胞性免疫の維持にも関与する。そのような多抗原性ドメインを含むペプチドは、ポリクローナル性の多エピトープ性免疫応答並びに多機能性CD8⁺及びCD4⁺T細胞を誘導し、それ故に有効な抗腫瘍活性を誘導する。

【0070】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、好ましくはN末端からC末端の方向に、

- CEACAM5又はその断片若しくは配列バリエーション、
- KRAS又はその断片若しくは配列バリエーション、
- KRAS-uORF1、又はその断片若しくは配列バリエーション、
- TPX2-uORF1、又はその断片若しくは配列バリエーション、
- AURKA-uORF2、又はその断片若しくは配列バリエーション、及び
- DUOXA2又はその断片若しくは配列バリエーション

を含む。

【0071】

好ましくは、多抗原性ドメインは、好ましくはN末端からC末端の方向に、

- 配列番号9に記載のアミノ酸配列、又は配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号11のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号1に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション

ト、又は配列番号 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号 3 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、又は配列番号 4 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 4 のアミノ酸配列に対して

10

少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、並びに

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション

20

を含む。

【0072】

より好ましくは、多抗原性ドメインは、配列番号 13 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 13 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（又はそれからなる）。また、多抗原性ドメインは、配列番号 14 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 14 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（か又はそれからなる）ことがより好ましい。

30

【0073】

細胞透過性ペプチド

細胞透過性ペプチド（CPP）は、特に多抗原性ドメインの、抗原提示細胞（APC）への、特に樹状細胞（DC）への、それ故に樹状細胞の抗原プロセッシング機構への効率的な送達、すなわち、輸送及びローディングを可能にする。

40

「細胞透過性ペプチド」（「CPP」）という用語は、一般に、様々な種類のカーゴ分子を細胞膜を通して輸送することができ、それ故に様々な分子カーゴ（ナノサイズの粒子から小化学分子及び DNA の大きな断片まで）の細胞取り込みを助長することができる短いペプチドを示すために使用される。細胞透過性ペプチドに連結されたカーゴ分子の「細胞内部移行」は、一般に、細胞膜を通してのカーゴ分子の輸送、それ故にカーゴ分子が細胞内に入ることを意味する。続いて、個々の場合に依じて、カーゴ分子は、細胞質中に放出されること、細胞内オルガネラに向けられること、又は細胞表面に更に提示されることが可能になる。本発明による細胞透過性ペプチド又はペプチド（前記細胞透過性ペプチドを含む）の細胞透過能力又は内部移行は、生細胞及び固定細胞のフローサイトメトリー又

50

は蛍光顕微鏡法、前記ペプチドが形質導入された細胞の免疫細胞化学、及びウエスタンブロットを含む、当業者に公知の標準的な方法によって確かめることができる。

【0074】

通常、細胞透過性ペプチド（CPP）は、8～50残基の長さを有する。細胞透過性ペプチドは、典型的には、リジン若しくはアルギニンなどの正に荷電したアミノ酸を高い相対的存在量で含むか、又は極性／荷電アミノ酸及び非極性疎水性アミノ酸の交互パターンを含む配列を有するかのいずれかであるアミノ酸組成を有する。これらの2つのタイプの構造は、それぞれポリカチオン性又は両親媒性と称される。細胞透過性ペプチドのサイズ、アミノ酸配列、及び電荷は様々であるが、CPPは全て、細胞膜を移動させて、細胞の細胞質又はオルガネラへの様々な分子カーゴの送達を助長する能力である共通の特徴を有する。細胞透過性ペプチドは、がん及びウイルス阻害剤を含む種々の疾患の処置における薬物送達剤として、並びに細胞標識及び画像化のための造影剤として、医学において多数の用途が見出されている。本発明によるペプチドにおいて細胞透過性ペプチドとして、すなわち構成成分a）として使用することができる様々なCPPは、総説：Milletti, F., Cell-penetrating peptides: classes, origin, and current landscape. Drug Discov Today 17 (15-16): 850-60, 2012にも開示されている。

10

【0075】

好ましくは、本発明のペプチドに含まれる細胞透過性ペプチドは、配列番号15、配列番号21、配列番号22、若しくは配列番号23に記載のアミノ酸配列を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有するか、又は上記のようなその配列バリエーションである。

20

一部の実施形態では、本発明による細胞透過性ペプチドは、配列番号15を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列、又は配列番号15のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを有する。

【0076】

一部の実施形態では、本発明による細胞透過性ペプチドは、配列番号21を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列、又は配列番号21のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを有する。

30

一部の実施形態では、本発明による細胞透過性ペプチドは、配列番号22を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列、又は配列番号22のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを有する。

一部の実施形態では、本発明による細胞透過性ペプチドは、配列番号23を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列、又は配列番号23のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性の1つを有するその配列バリエーションを有する。

40

【0077】

これらの細胞透過性ペプチドは、エプスタイン・バーウイルス（EBV）の「ZEBRA」タンパク質に由来する。「ZEBRA」（Zeta、Z、EB1、又はBZLF1としても知られる）は、一般に、エプスタイン・バーウイルス（EBV）の塩基性ロイシンジッパー（bZIP）転写活性化因子を指す。いかなる理論にも拘束されることはないが、これらの細胞透過性ペプチドは、それぞれCD8⁺ T細胞及びCD4⁺ T細胞への、カ

50

ーゴ抗原のMHCクラスI及びII拘束性提示の両方を促進すると考えられる。したがって、そのようなCPPは、多エピトープ性ペプチドを樹状細胞（DC）に送達し、その後CTL及びTh細胞の活性化及び抗腫瘍機能を促進することができる。したがって、そのようなCPPは、本発明によるペプチドを抗原提示細胞（APC）に効率的に送達して、多エピトープ性MHCクラスI及びII拘束性提示を導くことができる。

【0078】

好ましくは、細胞透過性ペプチドは、配列番号15に記載のアミノ酸配列を含むか若しくはそれからなるアミノ酸配列を有するか、又は上記のようなその配列バリエーションである。

細胞透過性ペプチドの一次アミノ酸配列は、本発明から逸脱することなく、グリコシル化又はリン酸化などによって更に翻訳後修飾されてもよいことが、当業者によって理解される。

ある特定の実施形態では、細胞透過性ペプチドは、上記のようなそのアミノ酸配列に加えて、

(i) 核局在化シグナル（NLS）。そのようなシグナルは当業者に周知であり、Nair et al. (2003, Nucleic Acids Res. 31(1): 397-399) に記載されている、及び／又は

(ii) Kapoor et al. (2012, PLoS ONE 7(4): e35187) に記載されているものなどの腫瘍ホーミングペプチドを含む、標的化ペプチドを更に含んでもよい。

好ましくは、細胞透過性ペプチドは、多抗原性ドメインに（直接）連結されて、多抗原性ドメインの細胞内部移行を助長する。

【0079】

TLRペプチドアゴニスト

本発明によるペプチドにおいて、TLRペプチドアゴニストは、自己アジュバント性と共に、樹状細胞へのワクチンの標的化の増大を可能にする。TLRペプチドアゴニストの、CPP及び本発明によるペプチド中の少なくとも1つの抗原又は抗原性エピトープへの物理的連結は、抗原を内部移行し、代謝して提示する抗原提示細胞、特に樹状細胞の同時刺激による免疫応答の強化を提供する。

【0080】

本明細書で使用される場合、「TLRペプチドアゴニスト」は、Toll様受容体（TLR）のアゴニストであり、すなわち、それはTLRに結合し、TLRを活性化して、特に生物学的応答を生じさせる。更に、TLRペプチドアゴニストは、上記に定義されるようなペプチドである。好ましくは、TLRペプチドアゴニストは、10～150個のアミノ酸、より好ましくは15～130個のアミノ酸、更により好ましくは20～120個のアミノ酸、特に好ましくは25～110個のアミノ酸、最も好ましくは30～100個のアミノ酸を含む。

【0081】

Toll様受容体（TLR）は、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインによって特徴付けられる膜貫通タンパク質である。馬蹄様形状を有するロイシンリッチリピート（LRR）を含む細胞外ドメインは、多様な微生物に由来する共通の分子パターンの認識に関与する。Toll様受容体には、TLR 1～10が含まれる。TLR受容体を活性化することができる化合物並びにそれらの修飾物及び誘導体は、当技術分野において十分に報告されている。TLR 1は細菌リボタンパク質及びそのアセチル化形態によって活性化され得、TLR 2は更に、グラム陽性菌糖脂質、LPS、LPA、LTA、線毛、外膜タンパク質、細菌由来又は宿主由来の熱ショックタンパク質、及びマイコバクテリアのリボアラビノマンナンによって活性化され得る。TLR 3は、dsRNA、特にウイルス起源のdsRNAによって、又はポリ（LC）という化合物によって活性化され得る。TLR 4は、グラム陰性LPS、LTA、宿主又は細菌由来の熱ショックタンパク質、ウイルスのコートタンパク質又はエンベロープタンパク質、タキソール又はその誘導体

、オリゴ糖を含むヒアルロナン、及びフィブロネクチンによって活性化され得る。T L R 5は、細菌鞭毛又はフラジェリンによって活性化され得る。T L R 6は、マイコバクテリアのリポタンパク質及びB群連鎖球菌の熱不安定性可溶性因子（G B S－F）又はブドウ球菌のモジュリンによって活性化され得る。T L R 7は、イミダゾキノリンによって活性化され得る。T L R 9は、非メチル化C p G DNA又はクロマチン－I g G複合体によって活性化され得る。

【0082】

好ましくは、本発明によるペプチドに含まれるT L Rペプチドアゴニストは、T L R 1、2、4、5、6、及び／又は10のアゴニストである。T L Rは、細胞表面上（T L R 1、2、4、5、6、及び10）又はエンドソームなどの細胞内オルガネラの膜上（T L R 3、4、7、8、及び9）のいずれかで発現される。エンドソーム受容体の天然リガンドは、核酸ベースの分子であることが明らかになった（T L R 4を除く）。細胞表面に発現されたT L R 1、2、4、5、6、及び10は、細胞外微生物の分子パターンを認識する（Monie, T. P., Bryant, C. E., et al. 2009: Activating immunity: Lessons from the TLRs and NLRs. Trends Biochem. Sci. 34(11), 553-561）。T L Rはいくつかの細胞型で発現されるが、実質的に全てのT L RはDC上で発現され、これらの特殊化した細胞が可能性のある全ての病原体及び危険シグナルを感知することを可能にする。

【0083】

しかし、T L R 2、4、及び5は、DCの表面で恒常的に発現される。したがって、本発明によるペプチドに含まれるT L Rペプチドアゴニストは、より好ましくは、T L R 2、T L R 4及び／又はT L R 5のペプチドアゴニストである。更により好ましくは、T L Rペプチドアゴニストは、T L R 2ペプチドアゴニスト及び／又はT L R 4ペプチドアゴニストである。

T L R 2は、細菌、ウイルス、寄生虫、及び真菌に由来する多種多様なリガンドを検出することができる。T L R 2は、微生物及び真菌によって発現される分子を含む、広範で構造的に多様な範囲のリガンドと相互作用する。

【0084】

好ましいT L R 2ペプチドアゴニストは、W O 2 0 1 2 / 0 4 8 1 9 0及び米国特許出願公開第13 / 0 3 3 1 5 4 6号に詳細に記載されているアネキシンI I又はその免疫調節性断片（T L Rアゴニスト機能性を有する）であり、特に、W O 2 0 1 2 / 0 4 8 1 9 0の配列番号7に記載のアミノ酸配列を含むT L R 2ペプチドアゴニスト、又はその断片若しくはバリエーションが好ましい。

【0085】

配列番号16若しくは24に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーション（配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号24のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション）を含むか又はそれからなるT L R 2ペプチドアゴニストは、構成成分c）として、すなわち、ペプチドに含まれるT L Rペプチドアゴニストとして好ましい。特に好ましくは、T L Rペプチドアゴニストは、配列番号16に記載のアミノ酸配列を有する。

【0086】

サルモネラ・ミネソタ（*Salmonella minnesota*）R595（M P L A）由来のモノホスホリルリピドA、リポ多糖（L P S）、マンナン（カンジダ・アルビカンス（*Candida albicans*））、グリコイノシトールリン脂質（トリパノソーマ（*Trypanosoma*））、ウイルスエンベロープタンパク質（R S V及

び M M T V)、並びにフィブリノーゲン及び熱ショックタンパク質を含む内因性抗原を含む、多様なリガンドが T L R 4 と相互作用する。好ましい T L R 4 ペプチドアゴニストは、T L R 4 に結合するモチーフ、特に (i) 天然の L P S リガンドを模倣するペプチド (R S 0 1 : G l n - G l u - I l e - A s n - S e r - S e r - T y r 及び R S 0 9 : A l a - P r o - P r o - H i s - A l a - L e u - S e r) 及び (i i) フィブロネクチン由来ペプチドに対応する。細胞糖タンパク質フィブロネクチン (F N) は、3つのエクソンの選択的スプライシングによって単一の遺伝子から生成される複数のアイソフォームを有する。これらのアイソフォームのうちの1つは、T L R 4 と相互作用するエキストラドメイン A (E D A) である。したがって、好適な T L R ペプチドアゴニストは、フィブロネクチン E D A ドメイン又はその断片若しくはバリエーションを含む。そのような好適なフィブロネクチン E D A ドメイン又はその断片若しくはバリエーションは、E P 1 9 1 3 9 5 4、E P 2 4 7 6 4 4 0、米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 2 2 0 5 3 2 号、及び W O 2 0 1 1 / 1 0 1 3 3 2 に開示されている。

10

【0087】

一部の実施形態では、本発明によるペプチドは、

a) 配列番号 1 5、配列番号 2 1、配列番号 2 2、若しくは配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むか又はそれらからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチド、

b) - 8 アミノ酸の最小長を有する C E A C A M 5 の断片、

- 8 アミノ酸の最小長を有する D U O X A 2 の断片、

20

- 8 アミノ酸の最小長を有する K R A S の断片、

- K R A S - u O R F 1、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、

- T P X 2 - u O R F 1、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片、及び／又は

- A U R K A - u O R F 2、若しくは 8 アミノ酸の最小長を有するその断片

を含む、多抗原性ドメイン、並びに

c) T L R 2 ペプチドアゴニスト及び／又は T L R 4 ペプチドアゴニストである T L R ペプチドアゴニスト

を含む。

【0088】

ペプチドの異なる構成成分 a)、b) 及び c) は、直接的又は間接的に (例えば、ペプチド結合によって) 連結され得る。換言すれば、2つの構成成分は直接隣接していてもよく、又はそれらはペプチドの追加の構成成分、例えば、ペプチドスペーサー若しくはリンカーによって連結されてもよい。好ましくは、ペプチドスペーサーは、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 個のアミノ酸、より好ましくは約 1、2、3、4、又は 5 個のアミノ酸からなる。ペプチドスペーサーのアミノ酸配列は、構成成分 a)、b)、又は c) のうちのいずれかの N 末端又は C 末端隣接領域のアミノ酸配列と同一であってもよい。或いは、ペプチドスペーサーは、前記天然の隣接領域の保守的アミノ酸置換から生じるアミノ酸配列、又はプロテアーゼの既知の切断部位の配列などの非天然アミノ酸配列からなることもできる。一部の実施形態では、ペプチドスペーサーは、C y s (C) 残基を全く含まない。一部の実施形態では、リンカー配列は、少なくとも 2 0 %、より好ましくは少なくとも 4 0 %、更により好ましくは少なくとも 5 0 % の G l y 又は β -アラニン残基を含む。適切なリンカー配列は、当業者によって容易に選択及び調製がなされ得る。それらは、D 及び／又は L アミノ酸から構成され得る。

30

40

【0089】

好ましくは、3種の構成成分 a)、b)、及び c) の全てが、主鎖／主鎖連結を介して連結されて、それ故に細胞透過性ペプチドの主鎖、多抗原性ドメインの主鎖、及び T L R ペプチドアゴニストの主鎖を含むペプチドの主鎖がもたらされる。換言すれば、細胞透過性ペプチドの主鎖、多抗原性ドメインの主鎖及び T L R ペプチドアゴニストの主鎖は、更なる構成成分、例えば、リンカー又はスペーサーと共に、ペプチドの主鎖を構成してもよい。したがって、構成成分 a)、b)、及び c) の以下の配置が好ましく、前記好ましい

50

配置は、ペプチドの主鎖のN末端からC末端の方向に以下に示され、3種の構成成分a)、b)、及びc)は全て、主鎖／主鎖結合を介して連結され、リンカー、スペーサー、又は別の追加の構成成分によって連結されてもよい：

(α) 構成成分a) (細胞透過性ペプチド)－構成成分b) (多抗原性ドメイン)－構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)、

(β) 構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)－構成成分a) (細胞透過性ペプチド)－構成成分b) (多抗原性ドメイン)、

(γ) 構成成分a) (細胞透過性ペプチド)－構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)－構成成分b) (多抗原性ドメイン)、

(δ) 構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)－構成成分b) (多抗原性ドメイン)－構成成分a) (細胞透過性ペプチド)、

(ε) 構成成分b) (多抗原性ドメイン)－構成成分a) (細胞透過性ペプチド)－構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)、又は

(ζ) 構成成分b) (多抗原性ドメイン)－構成成分c) (TLRペプチドアゴニスト)－構成成分a) (細胞透過性ペプチド)。

【0090】

好ましくは、多抗原性ドメインは、細胞透過性ペプチドのC末端に位置する。より好ましくは、構成成分a)、b)及びc)は、前記ペプチドの主鎖のN末端からC末端の方向に、以下の順序：

(α) 構成成分a)－構成成分b)－構成成分c)、又は

(β) 構成成分c)－構成成分a)－構成成分b)

で配置され、ここで構成成分は、更なる構成成分によって、特にリンカー又はスペーサーによって連結されてもよい。

【0091】

本発明の好ましい例示的なペプチドは、好ましくはN末端からC末端の方向に、

a) 配列番号15に記載のアミノ酸配列、又は配列番号15のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチド、

b)－配列番号9に記載のアミノ酸配列、又は配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

－配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号11のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

－配列番号1に記載のアミノ酸配列、又は配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

－配列番号3に記載のアミノ酸配列、又は配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、8

7 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
一 配列番号5に記載のアミノ酸配列、又は配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
並びに

一 配列番号10に記載のアミノ酸配列、又は配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション

10

を含む、多抗原性ドメイン、並びに

c) 配列番号16に記載のアミノ酸配列、又は配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなるアミノ酸配列を有するTLRペプチドアゴニストを含む。

20

【0092】

一部の実施形態では、本発明のペプチドは、配列番号17、配列番号18、配列番号46、若しくは配列番号47に記載のアミノ酸配列、又は配列番号17、配列番号18、配列番号46、若しくは配列番号47のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなってもよい。例えば、本発明のペプチドは、配列番号17、配列番号18、配列番号46、又は配列番号47に記載のアミノ酸配列を含むか又はそれからなってもよい。

【0093】

好ましくは、本発明のペプチドは、配列番号17若しくは配列番号18に記載のアミノ酸配列、又は配列番号17若しくは配列番号18のアミノ酸配列に対して少なくとも70 %の配列同一性、より好ましくは少なくとも75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは99 %の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含むか又はそれからなってもよい。例えば、本発明のペプチドは、配列番号17又は18に記載のアミノ酸配列を含むか又はそれからなってもよい。

30

【0094】

本発明はまた、上記のような本発明のペプチドを含む（医薬）組成物も提供する。（医薬）組成物は、薬学的に許容される担体及び／若しくはビヒクル、又は任意の賦形剤、緩衝液、安定剤若しくは当業者に周知の他の材料を含み得る。そのような更なる成分、すなわち、担体、ビヒクル、賦形剤、緩衝液、安定剤、アジュバントなどに関して、上記の本発明による組成物の詳細な説明は、本発明のペプチドを含む（医薬）組成物に適宜適用される。（医薬）組成物は、典型的には、治療有効量の活性構成成分（ペプチド）を含む。

40

（医薬）組成物は、一般的な（医薬）組成物として、又はワクチンとして、ヒトのために、また獣医学的目的のために、好ましくはヒトの医療目的のために使用することができる。

【0095】

本発明はまた、上記の本発明のペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸（分子）も提供する。核酸は、好ましくは、一本鎖、二本鎖、又は部分的に二本鎖の核酸を含む。好ましくは、核酸（分子）は、ゲノムDNA、cDNA、RNA、siRNA、mR

50

NA、アンチセンスDNA、アンチセンスRNA、リボザイム、相補的RNA／DNA配列から選択される。これは、発現エレメント、ミニ遺伝子、遺伝子断片、調節エレメント、プロモーター、及びそれらの組合せを含んでもよい（又は含まなくてもよい）。核酸（分子）及び／又はポリヌクレオチドの更に好ましい例には、例えば、組換えポリヌクレオチド、ベクター、オリゴヌクレオチド、RNA分子、例えば、rRNA、mRNA、miRNA、siRNA、若しくはtRNA、又はDNA分子が含まれる。したがって、核酸（分子）はDNA分子又はRNA分子であることが好ましく、好ましくは、ゲノムDNA、cDNA、siRNA、rRNA、mRNA、アンチセンスDNA、アンチセンスRNA、リボザイム、相補的RNA及び／又はDNA配列、発現エレメント、調節エレメント、及び／又はプロモーターを有するか若しくは有しないRNA及び／又はDNA配列、ベクター、並びにそれらの組合せから選択される。一部の実施形態では、核酸（分子）は、ベクター、例えば、本発明のペプチドの発現のための発現ベクターであり得る。

10

【0096】

水疱性口内炎ウイルス（VSV）

更なる一態様では、本発明は、少なくとも1種の腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含む多抗原性ドメインをコードする組換え水疱性口内炎ウイルス（VSV）であって、腫瘍抗原が、KRAS mRNA（KRAS-uORF1）、TPX2 mRNA（TPX2-uORF1）又はAURKA mRNA（AURKA-uORF2）の5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム（uORF）中にコードされる、組換え水疱性口内炎ウイルス（VSV）を提供する。

20

水疱性口内炎ウイルス（VSV）は、ラブドウイルス（ラブドウイルス科）に属し、マイナス鎖RNAウイルスである。VSVのゲノムは、5つの主要なタンパク質：Gタンパク質（G）、大型タンパク質（L）、リン酸化タンパク質（P）、マトリックスタンパク質（M）及び核タンパク質（N）をコードするマイナスセンスRNA分子の単一分子上にある。一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルスは、水疱性口炎インディアナウイルス（VSV）又は水疱性口炎ニュージャージーウイルス（VSNJV）である。

【0097】

多抗原性ドメイン

本発明のVSVは組換えVSVであり、これはペプチドの文脈において、上記のように定義される多抗原性ドメインを含む。したがって、これは少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の異なる抗原又は少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の異なる抗原の断片を含む、ペプチドなどのドメインを指す。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、3種又はそれ以上の異なる抗原又はその断片、特に3、4、5、6、7、8、9、10種又はそれ以上の異なる抗原又はその断片を含む。好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、少なくとも2種（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9種又はそれ以上）の異なる抗原（の断片）を含み、各断片又は抗原は、少なくとも1種の抗原性エピトープを含む。より好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、少なくとも2～8種の異なる抗原（の断片）を含み、各断片／抗原は、少なくとも1種の抗原性エピトープを含む。更により好ましくは、「多抗原性ドメイン」は、5種又は6種の異なる抗原（の断片）を含み、各断片は、少なくとも1種の抗原性エピトープを含む。

30

40

【0098】

特に、異なる抗原（の断片）は、多抗原性ドメイン中に連続して配置される。一部の実施形態では、異なる抗原（の断片）は、例えば、ペプチドスペーサー又はリンカー（例えば、GSリンカー）によって互いに連結される。他の実施形態では、異なる抗原（の断片）は、互いに直接的に、すなわち、スペーサー又はリンカーなしで連結される。

【0099】

一部の実施形態では、多抗原性ドメイン中の各抗原又はその断片は、少なくとも1種のCD4+エピトープ及び／又は少なくとも1種のCD8+エピトープを含み、これらは同じ又は異なる腫瘍抗原（又はそれらの断片若しくはバリエーション）中に含まれ得る。Th細

50

胞 ($CD4^+$ T細胞) は、DC (樹状細胞) のライセンス並びに腫瘍部位でのCTL ($CD8^+$ T細胞、細胞傷害性Tリンパ球) の動員及び維持の両方について、抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を果たす。したがって、少なくとも1種の $CD4^+$ エピトープ及び少なくとも1種の $CD8^+$ エピトープを含む多抗原性ドメインは、CTL及び T_h 細胞の同時プライミングを可能にする統合された免疫応答を提供し、それ故に $CD8^+$ エピトープのみ又は $CD4^+$ エピトープのみに対する免疫よりも好ましい。

【0100】

VSVの多抗原性ドメインは、KRAS mRNA (KRAS-uORF1)、TPX2 mRNA (TPX2-uORF1) 若しくはAURKA mRNA (AURKA-uORF2) の5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる少なくとも1つの腫瘍抗原、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーションを含む。腫瘍抗原は、典型的にはペプチド腫瘍抗原である。これらの腫瘍抗原 (すなわち、ペプチドレベルで) は、本明細書において、それぞれ「KRAS-uORF1」、「TPX2-uORF1」及び「AURKA-uORF2」とも称される。当業者は、各文脈から、それらがヌクレオチド及び／又はペプチドに言及されているかどうかを直ちに見分けるであろう。

【0101】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、
 - KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション (KRAS-uORF1)
 - TPX2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション (TPX2-uORF1)、及び／又は
 - AURKA mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、若しくはその断片若しくは配列バリエーション (AURKA-uORF2)
 を含む。

【0102】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原を含み (KRAS-uORF1)、配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含む (又はそれからなる)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも70%の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号1若しくは2に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0103】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、TPX2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原 (uORF-TPX2) を含み、配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含む (又はそれからなる)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも70%の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも1種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号3若しくは4に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0104】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、AURKA mRNA (AURKA-uO

R F 2) の 5' U T R 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム (u O R F) 中にコードされる腫瘍抗原を含み、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含む (又はそれからなる)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

上記の腫瘍抗原に加えて、多抗原性ドメインは、C E A C A M 5 (又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション)、D U O X A 2 (又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション)、及び K R A S (又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション) からなる群から選択される少なくとも 1 種の腫瘍抗原をさらに含み得る。

10

【0105】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、C E A C A M 5 (がん胎児性抗原関連細胞接着分子 5) (の断片) を含み、これは配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含み得る (又はそれからなり得る)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 6 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

20

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、C E A C A M 5 (の断片) を含み、これは配列番号 7 のアミノ酸配列を含み得る (又はそれからなり得る)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 7 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

30

【0106】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、C E A C A M 5 (の断片) を含み、これは配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含み得る (又はそれからなり得る)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

一部の実施形態では、上記のような C E A C A M 5 の断片は、互いに連結されていてもよい (特に、融合ペプチド/タンパク質として)。したがって、多抗原性ドメインは、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列を含む (か又はそれからなる) (融合) ペプチドを含み得る。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

40

【0107】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、D U O X A 2 (デュアルオキシダーゼ成熟

50

因子 2) (の断片) を含み、これは配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含み得る (又はそれからなり得る)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0108】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS (の断片) を含む。KRAS 変異はがんにおいて一般的であるため、KRAS (の断片) は、好ましくは変異を含む。KRAS 変異は、例えば、KRAS の G12、G13 又は Q61 で起こり得る。したがって、KRAS の断片は、KRAS の位置 G12、G13 及び／又は Q61 であって、好ましくはこれらの位置のアミノ酸残基の少なくとも 1 つが置換されている位置を含み得る。好ましくは、KRAS の断片は、G12 に置換を含む。そのような置換の非限定的な例としては、G12D、G12V、G12C、G12A 及び G12R が挙げられる。好ましくは、KRAS の断片は、G12D 又は G12V 置換を有する KRAS の位置 G12 を含む。したがって、KRAS 又はその断片は、好ましくは、KRAS-G12D 若しくはその断片、又は KRAS-G12V 若しくはその断片である (ここで断片は、KRAS の位置 G12 及び各々の置換を含む)。

【0109】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、KRAS の断片を含み、これは配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列を含み得る (又はそれからなり得る)。多抗原性ドメインはまた、上記に定義されるようなその断片又は配列バリエーション、すなわち、8 アミノ酸の最小長を有する断片、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列バリエーションを含んでもよい。腫瘍抗原としての機能性は、好ましくは、断片又は配列バリエーションにおいて維持される (例えば、断片又は配列バリエーションが少なくとも 1 種のエピトープを含むという点で)。したがって、多抗原性ドメインは、好ましくは、配列番号 11 若しくは 12 に記載のアミノ酸配列、又はその配列バリエーションを含む。

【0110】

したがって、多抗原性ドメインは、

- 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 12 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 11 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号 2 のアミノ酸配列に対

して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号3に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、若しくは配列番号4に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

ー 配列番号5に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は

ー 配列番号10に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号10のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション

からなる群から選択される少なくとも1種のアミノ酸配列を含み得る。

【0111】

好ましくは、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）2種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）3種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）4種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される（正確に又は少なくとも）5種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションを含む。一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される6種の異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーションの全てを含む。多抗原性ワクチンは、(i) 抗原欠損バリエーションの成長を回避し、(ii) 不均一な腫瘍塊内部の異なる腫瘍細胞を標的とし、(iii) 患者間の腫瘍の変動性を回避する。

【0112】

好ましくは、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエーションは、CD4+及び／又はCD8+エピトープを含む。好ましく

は、多抗原性ドメインは、(i) CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2から選択される異なる腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエーション、並びに(ii)異なるCD4⁺エピトープ及び異なるCD8⁺エピトープを含む。

【0113】

一部の実施形態では、多抗原性ドメインは、好ましくはN末端からC末端の方向に、

- CEACAM5又はその断片若しくは配列バリエーション、
- KRAS又はその断片若しくは配列バリエーション、
- KRAS-uORF1、又はその断片若しくは配列バリエーション、
- TPX2-uORF1、又はその断片若しくは配列バリエーション、
- AURKA-uORF2、又はその断片若しくは配列バリエーション、及び
- DUOXA2又はその断片若しくは配列バリエーション

10

を含む。

【0114】

好ましくは、多抗原性ドメインは、好ましくはN末端からC末端の方向に、

- 配列番号9に記載のアミノ酸配列、又は配列番号9のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号11のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、及び／又は配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号12のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号1に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号2に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号3に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号4に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、
- 配列番号5に記載のアミノ酸配列、又は配列番号5のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、

20

30

40

50

並びに

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 10 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーション

を含む。

【0115】

より好ましくは、多抗原性ドメインは、配列番号 19 若しくは 48 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 19 若しくは 48 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む（又はそれからなる）。例えば、多抗原性ドメインは、配列番号 19 又は 48、好ましくは配列番号 19 に記載のアミノ酸配列を含む（又はそれからなる）。

10

【0116】

VSV：更なる特徴

一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）は、腫瘍溶解性水疱性口内炎ウイルス（VSV）である。本明細書で使用される場合、「腫瘍溶解性」ウイルスは、がん細胞を優先的に感染させて死滅させるウイルスを指す。感染したがん細胞は、腫瘍溶解によって破壊され、新たな感染性ウイルス粒子又はビリオンを放出して、「残存する」がん／腫瘍を標的化すると想定される。本発明の組換えラブドウイルスの腫瘍溶解活性は、当業者に公知の種々のアッセイ系で試験することができる（例示的なインビトロアッセイは、Muik et al., Cancer Res., 74(13), 3567-78, 2014 に記載されている）。腫瘍溶解性 VSV は、特定のタイプのがん細胞のみを感染させて、溶解させることができることが理解されるべきである。また、腫瘍溶解効果は、がん細胞のタイプに応じて異なり得る。

20

【0117】

一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）は複製可能である。本明細書で使用される「複製可能」又は「複製可能ウイルス」という用語は、細胞内で複製することを可能にするために、そのゲノム中に全ての情報を含むウイルスを指す。例えば、本発明の組換え水疱性口内炎ウイルスの複製能力は、Tani et al. JOURNAL OF VIROLOGY, Aug. 2007, p. 8601-8612；又は Garbutt et al. JOURNAL OF VIROLOGY, May 2004, p. 5458-5465 に開示されている方法に従って評価することができる。好ましくは、VSV は、がん細胞内で特異的に複製することができる。好ましくは、VSV は、抗ウイルス自然免疫応答（例えば、I 型 IFN シグナル伝達）を開始してそれに応答する能力を喪失した腫瘍細胞において特異的に複製する。腫瘍細胞におけるウイルス複製は、細胞死を導き、腫瘍関連抗原の放出、局所炎症及び抗腫瘍免疫の誘導をもたらすと想定される。一方、VSV が正常な組織から迅速に排除され得るように、「健康な細胞」においては不完全な複製が好ましい。

30

40

【0118】

好ましくは、VSV のゲノムにおいて、糖タンパク質 G をコードする遺伝子は、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の糖タンパク質 GP をコードする遺伝子によって置き換えられ、LCMV の糖タンパク質 GP は、好ましくは、配列番号 25 に記載のアミノ酸配列、又はそれに対して少なくとも 80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % 同一であるその機能的配列バリエーションを含む。したがって、水疱性口内炎ウイルス（VSV）、特に VSV-GP（例えば、WO 2010/040526 に開示されているような、LCMV の GP を有する組換え VSV）が好ましい。VSV-GP の有利な特性には、以下のうちの 1 つ又は複数が含まれる：非常に強力な迅速なキラー（8 時間未満）、腫瘍溶

50

解性ウイルス、全身適用が可能、神経毒性の消失を伴う向神経性の顕著な低下、細胞溶解性に増殖する、自然免疫の強力な活性化、免疫調節性カーゴ及び抗原のための約3 kbの空間、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）由来のアレナウイルス糖タンパク質を有する組換え体、野生型VSV（VSV-G）と比較して神経毒性の低下並びに中和抗体応答及び補体破壊に対する感受性が低いという点で好ましい安全性の特徴、抗ウイルス自然免疫応答（例えば、I型IFNシグナル伝達）を開始してそれに応答する能力を失った腫瘍細胞において特異的に複製する、「健康細胞」における複製不全のために、正常組織から急速に排除される、腫瘍細胞におけるウイルス複製は細胞死を導き、腫瘍関連抗原の放出、局所炎症及び抗腫瘍免疫の誘導をもたらすと想定される。

【0119】

一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）は、以下の特徴を示す：

- ー これはそのゲノム中に、上記に定義されるような多抗原性ドメインをコードする、
- ー これはそのゲノム中に、水疱性口内炎ウイルス核タンパク質（N）、大型タンパク質（L）、リン酸化タンパク質（P）、及びマトリックスタンパク質（M）をコードする、
- ー 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質Gをコードする遺伝子が、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の糖タンパク質GPをコードする遺伝子によって置き換えられている、並びに／又は
- ー 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質Gが、LCMVの糖タンパク質GPによって置き換えられている。

【0120】

好ましくは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）は、以下の特徴を示す：

- ー これはそのゲノム中に、配列番号26に記載のアミノ酸、若しくは少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルス核タンパク質（N）をコードする、
- ー これはそのゲノム中に、配列番号27に記載のアミノ酸、若しくは少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルスリン酸化タンパク質（P）をコードする、
- ー これはそのゲノム中に、配列番号28に記載のアミノ酸、若しくは少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルス大型タンパク質（L）をコードする、
- ー これはそのゲノム中に、配列番号29に記載のアミノ酸、若しくは少なくとも80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む水疱性口内炎ウイルスマトリックスタンパク質（M）をコードする、
- ー これはそのゲノム中に、上記に定義されるような水疱性口内炎ウイルスの多抗原性ドメインをコードする、
- ー 水疱性口内炎ウイルスの糖タンパク質Gをコードする遺伝子が、リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の糖タンパク質GPをコードする遺伝子によって置き換えられている、及び／又は
- ー 糖タンパク質Gが、LCMVの糖タンパク質GPによって置き換えられている。

【0121】

より好ましくは、

- ー 配列番号27に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含むリン酸化タンパク質（P）、
- ー 配列番号26に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む核タンパク質（N）、
- ー 配列番号29に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するそ

10

20

30

40

50

の配列バリエーションを含むマトリックスタンパク質（M）、

ー 配列番号 28 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエーションを含む大型タンパク質（L）、

ー 配列番号 25 に記載のアミノ酸配列、又は配列番号 25 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む糖タンパク質（GP）、及び

ー 配列番号 19 のアミノ酸配列、又は配列番号 48 のアミノ酸配列に対して少なくとも 70 % の配列同一性、より好ましくは少なくとも 75 %、80 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、若しくは 99 % の配列同一性のうちの 1 つを有するその配列バリエーションを含む多抗原性ドメイン

をそのゲノム中にコードする、請求項 43 ～ 85 のいずれか 1 項に記載の水疱性口内炎ウイルス（VSV）。

【0122】

したがって、配列番号 30 に記載の RNA 配列、又は上記に定義されるようなその配列バリエーション（例えば、少なくとも 75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % の配列同一性を有する配列バリエーション）を含む（か又はそれからなる）、RNA ゲノムを含む水疱性口内炎ウイルス（VSV）が特に好ましい。一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）は、配列番号 49 に記載の cDNA 配列に、又は上記に定義されるようなその配列バリエーション（例えば、少なくとも 75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % の配列同一性を有する配列バリエーション）に対応する RNA 配列を含む（か又はそれからなる）RNA ゲノムを含む。

【0123】

本発明はまた、上記のような本発明の VSV を含む（医薬）組成物も提供する。（医薬）組成物は、薬学的に許容される担体及び／若しくはビヒクル、又は任意の賦形剤、緩衝液、安定剤若しくは当業者に周知の他の材料を更に含んでもよい。そのような更なる成分、すなわち、担体、ビヒクル、賦形剤、緩衝液、安定剤、アジュバントなどに関して、上記の本発明による組成物の詳細な説明は、本発明の VSV を含む（医薬）組成物に適宜適用される。（医薬）組成物は、典型的には、治療有効量の活性構成成分（VSV）を含む。（医薬）組成物は、一般的な（医薬）組成物として、又はワクチンとして、ヒトのために、また獣医学的目的のために、好ましくはヒトの医療目的のために使用することができる。

【0124】

ワクチン、キット及び組合せ

更なる一態様では、本発明はまた、

（i）上記のような本発明による組成物、

（ii）上記のような本発明によるペプチド、又は

（iii）上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス（VSV）

を含むワクチンも提供する。

一般に、ワクチンは、処置される対象又は患者の免疫系の（自然及び／又は適応）免疫応答を誘導するか、援助するか又は強化する。例えば、本明細書に記載される抗原、特に多抗原性ドメインは、典型的には、処置される患者における適応免疫応答を導くか、又はそれを援助する。本明細書に記載されるペプチドの TLR ペプチドアゴニストは、自然免疫応答をもたらすか、又は援助することができる。

【0125】

ワクチンはまた、(医薬)組成物のための、上記に定義されるような薬学的に許容される担体、アジュバント、及び／又はビヒクルを含んでもよい。ワクチンの特定の状況において、薬学的に許容される担体の選択は、原則として、ワクチンが投与される様式によって決定される。ワクチンは、例えば、上記のように全身的又は局所的に投与することができる。より好ましくは、ワクチンは、静脈内、腫瘍内、皮内、皮下、又は筋肉内経路によって投与され得る。このため、ワクチンは、好ましくは液体(又は時には固体)形態で製剤化される。投与されるワクチンの好適な量は、動物モデルを用いた慣行的な実験によって決定することができる。そのようなモデルには、ウサギ、ヒツジ、マウス、ラット、イヌ及び非ヒト霊長類モデルが含まれるが、これらに限定されない。注射のための好ましい単位用量形態としては、水、生理食塩水又はそれらの混合物の滅菌溶液が挙げられる。そのような溶液のpHは、約7.4に調整されるべきである。注射のための好適な担体としては、ヒドロゲル、制御放出又は遅延放出のためのデバイス、ポリ乳酸及びコラーゲンマトリックスが挙げられる。

10

【0126】

ワクチンは、その免疫原性を更に高めるために、1種又は複数の補助物質を更に含有することができる。一部の実施形態では、上記のような抗原、ペプチド及び／又はVSVを含有する組成物と、ワクチン中に含有されてもよい補助物質との相乗作用が達成され得る。様々なタイプの補助物質に応じて、様々な機構をこの点に関して考慮することができる。例えば、樹状細胞(DC)の成熟を可能にする化合物、例えば、リポ多糖又はTNF- α は、好適な補助物質の第1のクラスを形成する。一般に、「危険シグナル」(LPS、GP96など)又はサイトカイン(例えば、GM-CSF)の様式で免疫系に影響を及ぼす任意の薬剤を補助物質として使用することが可能であり、これにより、上記のような抗原、ペプチド及び／又はVSVを含有する組成物によって生じる免疫応答を、標的化された様式で強化すること及び／又は影響を及ぼすことが可能になる。特に好ましい補助物質は、サイトカイン、例えば、自然免疫応答を更に促進するモノカイン、リンホカイン、インターロイキン又はケモカイン、例えば、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IFN-アルファ、IFN-ベータ、IFN-ガンマ、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、LT-ベータ又はTNF-アルファ、成長因子、例えばhGHである。

20

30

【0127】

好ましくは、ワクチンは、

(i) 上記のような本発明によるペプチド、及び

(ii) 上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス(VSV)を含む。

更なる一態様では、本発明はまた、

(i) 上記のような本発明によるペプチド、及び

(ii) 上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス(VSV)を含むキットも提供する。

40

更なる一態様では、本発明は、

(i) 上記のような本発明によるペプチド、及び

(ii) 上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス(VSV)を含む組合せも提供する。

【0128】

一般に、本発明のワクチン、キット及び組合せにおいて、異なる構成成分(i)及び(ii)は、(a) 同じ組成物中若しくは同じ容器中で、又は(b) (空間的に) 別々の様式で(例えば、異なる組成物中若しくは異なる容器中で) 提供することができる。好まし

50

くは、本発明のワクチン、キット及び組合せにおいて、(i) ペプチド及び (i i) V S V は、別々の様式（例えば、上記のような別々の容器又は別々の組成物）で提供される。異なる構成成分 (i) 及び (i i) を別々に提供することにより、(i) ペプチド及び (i i) V S V を、例えば、異なる経路を介して、異なる組成物中で、及び／又は異なる時間／異なるスケジュールで別々に投与することが可能になる。特に、異なる構成成分 (i) 及び (i i) を別々に提供することは、異種プライムブーストレジメンにおける (i) ペプチド及び (i i) V S V の使用を可能にする。

【0129】

ワクチン、キット又は組合せにおいて、水疱性口内炎ウイルス (V S V) (のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、ペプチドの多抗原性ドメインにも含まれる (腫瘍) 抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションを含むことが好ましい。また、水疱性口内炎ウイルス (V S V) (のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、ペプチドの多抗原性ドメインにも含まれる (腫瘍) 抗原、その断片又は配列バリエーションのそれぞれのアミノ酸配列を含むことも好ましい。また、ペプチドの多抗原性ドメインが、水疱性口内炎ウイルス (V S V) のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインに含まれる抗原又はその断片を含むことも好ましい。ペプチドの多抗原性ドメインは、水疱性口内炎ウイルス (V S V) のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインに含まれる、(腫瘍) 抗原、その断片又は配列バリエーションのそれぞれのアミノ酸配列を含むことが更に好ましい。

【0130】

これは、有利な異種プライムブーストレジメンを可能にする。異種プライムブースト手法の原理は、同種プライムブーストレジメンにおいて使用される場合と同じ抗原担体又は送達システムの連続投与後に、抗原担体又は送達システムに対する免疫応答を回避することによって、免疫系にその応答を特定の標的抗原に集中させることである。異種プライムブーストレジメンにおいて、第1の免疫原の投与は、標的抗原に特異的な細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) のプライミングを行うが、プライミングはまた、抗原担体又は送達システムに対しても生じる。無関係の第2の抗原担体又は送達システム（例えば、ウイルスベクター）を「ブースト」期に投与することによって、免疫系は多数の新たな抗原に直面する。第2の抗原担体又は送達システムは、既に存在するプライミングを受けた細胞の対象となった標的抗原もコード／送達することから、免疫系によって強い記憶応答が惹起され、標的抗原に対して特異的な、以前にプライミングを受けたCTLを増大させる。

したがって、本発明のワクチン、キット又は組合せは、有利には、異なる状況下にある標的抗原、すなわち、(i) 本発明のペプチドに含まれ、(i i) 本発明のV S Vにコードされるものを提供し、これは、異種プライムブーストレジメンにおける使用を可能にする。

【0131】

ペプチドの多抗原性ドメイン及びV S V中にコードされる多抗原性ドメインに含まれる、対応する抗原 (腫瘍) 抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションは、本明細書に記載されるような任意の抗原 (又はその断片若しくはバリエーション) であり得る。好ましくは、対応する抗原 (腫瘍) 抗原、又はその断片若しくは配列バリエーションは、以下のものからなる群から選択される：

- K R A S mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション (K R A S - uORF 1)、
- T P X 2 mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション (T P X 2 - uORF 1)、
- A U R K A mRNAの5' UTR内の5' 上流オープンリーディングフレーム (uORF) 中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション (A U R K A - uORF 2)、

- ー C E A C A M 5、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション、
- ー D U O X A 2、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション、及び
- ー K R A S、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーション。

【0132】

好ましくは、K R A S（又はその断片若しくは配列バリエーション）は、上記のような変異型 K R A S である。より好ましくは、K R A S（又はその断片若しくは配列バリエーション）は、K R A S - G 1 2 D（又はその断片若しくは配列バリエーション）又は K R A S - G 1 2 V（又はその断片若しくは配列バリエーション）である。

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、K R A S mRNA の 5' U T R 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム（u O R F）中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション（K R A S - u O R F 1）を含む。 10

【0133】

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、T P X 2 mRNA の 5' U T R 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム（u O R F）中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション（T P X 2 - u O R F 1）を含む。

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、A U R K A mRNA の 5' U T R 内の 5' 上流オープンリーディングフレーム（u O R F）中にコードされる腫瘍抗原、又はその断片若しくは配列バリエーション（A U R K A - u O R F 2）を含む。 20

【0134】

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、C E A C A M 5、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーションを含む。

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、D U O X A 2、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーションを含む。

【0135】

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、K R A S、又は上記に定義されるようなその断片若しくは配列バリエーションを含む。好ましくは、K R A S（又はその断片若しくは配列バリエーション）は、上記のような変異型 K R A S である。より好ましくは、K R A S（又はその断片若しくは配列バリエーション）は、K R A S - G 1 2 D（又はその断片若しくは配列バリエーション）又は K R A S - G 1 2 V（又はその断片若しくは配列バリエーション）である。 30

【0136】

好ましくは、ペプチドの多抗原性ドメイン及び V S V 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、以下のものからなる群から選択される少なくとも 1 種のアミノ酸配列を含む：

- ー 配列番号 9 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、 40
- ー 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 11 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 1 若しくは 2 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 3 若しくは 4 に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも 70% の配列同一性を有するその配列バリエーション、
- ー 配列番号 5 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70% の配列同一性を有する 50

その配列バリエント、又は

ー 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも 70 % の配列同一性を有するその配列バリエント。

【0137】

より好ましくは、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される、異なる（すなわち、2 種又はそれ以上の）対応する腫瘍抗原、又はそれらの断片若しくはバリエントを含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）2 種の対応する腫瘍抗原、又はそれらの対応する断片若しくはバリエントを含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）3 種の対応する腫瘍抗原、又はそれらの対応する断片若しくはバリエントを含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）4 種の対応する腫瘍抗原、又はそれらの対応する断片若しくはバリエントを含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される（正確に又は少なくとも）5 種の対応する腫瘍抗原、又はそれらの対応する断片若しくはバリエントを含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメイン及び VSV 中にコードされる多抗原性ドメインはそれぞれ、CEACAM5、DUOXA2、KRAS、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1 及び AURKA-uORF2 から選択される 6 種の異なる対応する腫瘍抗原、又はそれらの対応する断片若しくはバリエントの全てを含む。

10

20

30

【0138】

好ましくは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、ペプチドの多抗原性ドメインに含まれる抗原のそれぞれのアミノ酸配列、又はそれらの断片若しくは配列バリエントを含む。一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、ペプチドの多抗原性ドメインに含まれない、好ましくは抗原、又はその断片若しくは配列バリエントの、1 種又は複数の追加のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、ペプチドの多抗原性ドメインに含まれる抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエントのそれぞれのアミノ酸配列からなる。

【0139】

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメインは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインの抗原、又はそれらの断片のそれぞれのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメインは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインに含まれない、好ましくは抗原、又はその断片若しくは配列バリエントの、1 種又は複数の追加のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメインは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインに含まれる、抗原、又はそれらの断片若しくは配列バリエントのそれぞれのアミノ酸配列からなる。

40

【0140】

好ましくは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、(i) KRAS-G12D、又はその断片若しくは配列バリエント、及び (ii) KRAS-G12V、又はその断片若しくは配列バリエントの両方を含むことができ、

50

一方、ペプチドの多抗原性ドメインは、(i) KRAS-G12D、若しくはその断片若しくは配列バリエーション、又は(ii) KRAS-G12V、若しくはその断片若しくは配列バリエーションのうちのいずれかを含むことができる。したがって、水疱性口内炎ウイルス(VSV)のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、(i) 配列番号11に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び(ii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションの両方を含むことができ、一方、ペプチドの多抗原性ドメインは、(i) 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、又は(ii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションのいずれかを含むことができる。

【0141】

10

一部の実施形態では、ペプチドの多抗原性ドメインは、(i) KRAS-G12D、又はその断片若しくは配列バリエーション、及び(ii) KRAS-G12V、又はその断片若しくは配列バリエーションの両方を含むことができ、一方、水疱性口内炎ウイルス(VSV)のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、(i) KRAS-G12D、若しくはその断片若しくは配列バリエーション、又は(ii) KRAS-G12V、若しくはその断片若しくは配列バリエーションのうちのいずれかを含むことができる。したがって、ペプチドの多抗原性ドメインは、(i) 配列番号11に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、及び(ii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列、又は少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションの両方を含むことができ、一方、水疱性口内炎ウイルス(VSV)のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、(i) 配列番号11に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーション、又は(ii) 配列番号12に記載のアミノ酸配列、若しくは少なくとも70%の配列同一性を有するその配列バリエーションのいずれかを含むことができる。

20

【0142】

より好ましくは、本発明のワクチン、キット又は組合せにおいて、

— ペプチドの多抗原性ドメインは、配列番号13に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号13に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号14に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号14に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含み、及び

30

— 水疱性口内炎ウイルス(VSV)のゲノム中にコードされる多抗原性ドメインは、配列番号19に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号19に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号48に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号48に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含む。

40

【0143】

更により好ましくは、本発明のワクチン、キット又は組合せにおいて、

— ペプチドは、配列番号17に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、

50

80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、配列番号18に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号18に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、配列番号46に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号46に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーション、又は配列番号47に記載のアミノ酸配列、若しくは配列番号47に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含み、及び

10

ー 水疱性口内炎ウイルス(VSV)は、配列番号30に記載のRNA配列、又は配列番号30に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性、より好ましくは少なくとも75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%の配列同一性のうちの1つを有するその配列バリエーションを含むRNAゲノムを含む。

20

【0144】

本発明のワクチン、キット又は組合せの一部の実施形態では、水疱性口内炎ウイルス(VSV)は、配列番号49に記載のcDNA配列に、又は上記に定義されるようなその配列バリエーション(例えば、少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性を有する配列バリエーション)に対応するRNA配列を含む(か又はそれからなる)RNAゲノムを含む。

【0145】

また、本発明のワクチン、キット又は組合せは、

30

(iii) PD-1/PD-L1経路の阻害剤

を更に含むことも好ましい。

一般に、PD-1/PD-L1経路の阻害剤は、(a)構成成分(i)及び(ii)(ペプチド及びVSV)のうちのいずれか1つと同じ組成物中若しくは同じ容器中で、又は(b)(空間的に)別個の様式で(例えば、異なる組成物中若しくは異なる容器中で)提供され得るが、本発明のワクチン、キット及び組合せにおいて、PD-1/PD-L1経路の阻害剤は、別個の様式で((i)ペプチド及び(ii)VSVとは別個に)、例えば、別個の容器中若しくは別個の組成物中で提供されることが好ましい。本明細書で 사용되는場合、「阻害剤」という用語は、PD-1/PD-L1経路のアンタゴニスト(及びインバースアゴニスト)を含む、PD-1/PD-L1経路の低下、減少、遮断及び阻害を含む。

40

【0146】

一般に、PD-1/PD-L1経路は、当技術分野で周知であり、例えば、Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. Am J Cancer Res. 2020 Mar 1;10(3):727-742に記載されている。PD-1(プログラム細胞死タンパク質1)及びそのリガンドPD-L1(プログラム細胞死リガンド1)は、がん免疫エスケープにおけるそれらの役割について周知である。

PD-1/PD-L1経路の阻害剤の非限定的な例としては、ペムブロリズマブ(抗PD-1抗体)、ニボルマブ(抗PD-1抗体)、ピディリズマブ(抗PD-1抗体)、セミプリマブ(抗PD-1抗体)、PDR-001(抗PD-1抗体)、アテゾリズマブ(

50

抗PD-L1抗体）、アベルマブ（抗PD-L1抗体）、デュルバルマブ（抗PD-L1抗体）、並びに本明細書に記載されるようなPD1-1、PD1-2及びPD1-3（抗PD-1抗体）が挙げられる。したがって、PD-1/PD-L1経路の阻害剤は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、ピディリズマブ、センプリマブ、PDR-001、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、エザベンリマブ、配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-1）、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-2）、及び配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号36のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-3）からなる群から選択され得る。

【0147】

Li et al.（前掲）によって開示されているか、又は臨床試験中であることが公知である更なるPD-1アンタゴニスト、例えば、AMP-224、MED10680（AMP-514）、BMS-936559、JS001-PD-1、SHR-1210、BMS-936559、TSR-042、JNJ-63723283、MED14736、MPDL3280Aを、上述のアンタゴニストの代替物として、又はそれに加えて使用することができる。本明細書で使用されるINNは、米国における合衆国法典第42編（42 USC）§262サブセクション（k）及び他の法域における同等の規則の下で認可されたバイオシミラー抗体を含むがそれらに限定されない、元の抗体と同じであるか又は実質的に同じアミノ酸配列を有する全てのバイオシミラー抗体も範囲に含むことを意味する。

【0148】

抗体PD1-1、PD1-2及びPD1-3は、以下の（完全長）重鎖配列及び（完全長）軽鎖配列を含む抗体である：

- PD1-1：配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖、
- PD1-2：配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖、
- PD1-3：配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号36のアミノ酸配列を含む軽鎖。

【0149】

好ましくは、PD-1/PD-L1経路の阻害剤は、エザベンリマブ、配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-1）、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-2）、及び配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号36のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1-3）からなる群から選択され得る。

【0150】

医学的処置及び使用

上記のような本発明による組成物、上記のような本発明によるペプチド、上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス（VSV）、上記のような本発明によるキット、上記のような本発明によるワクチン、又は上記のような本発明による組合せは、医学における使用のためのものであり得る。好ましくは、上記のような本発明による組成物、上記のような本発明によるペプチド、上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス（VSV）、上記のような本発明によるキット、上記のような本発明によるワクチン、又は上記のような本発明による組合せは、がんの処置における使用のためのものである。

したがって、本発明はまた、がんの処置のための医薬の製造のための、上記のような本発明による組成物、上記のような本発明によるペプチド、上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス（VSV）、上記のような本発明によるキット、上記のような本発明によるワクチン、又は上記のような本発明による組合せの使用も提供する。

【0151】

更なる一態様では、本発明は、がんを改善するため、処置するため、若しくは（発生の

10

20

30

40

50

リスクを) 低下させるための、又は抗腫瘍応答を誘導するか若しくは強化するための方法であって、上記のような本発明による(有効量の)組成物、上記のような本発明によるペプチド、上記のような本発明による水疱性口内炎ウイルス(VSV)、上記のような本発明によるキット、上記のような本発明によるワクチン、又は上記のような本発明による組合せを、それを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。

好ましくは、がん(上記の方法及び使用において言及されるような)は、胃腸管(GI)のがんである。GIがんの非限定的な例としては、肛門がん、虫垂がん、胆管細胞癌/胆管がん、特に肝外胆管がん、消化管カルチノイド腫瘍、結腸直腸がん、特に結腸がん、直腸がん及び転移性結腸直腸がん、食道がん、胆嚢がん、胃がん(gastric (stomach) cancer)、消化管間質腫瘍(GIST)、並びに膵臓がん、例えば膵管腺癌が挙げられる。したがって、がんは、好ましくは、肛門がん、虫垂がん、胆管細胞癌/胆管がん、特に肝外胆管がん、消化管カルチノイド腫瘍、結腸直腸がん、特に結腸がん、直腸がん及び転移性結腸直腸がん、食道がん、胆嚢がん、胃がん、消化管間質腫瘍(GIST)、並びに膵臓がん、例えば膵管腺癌からなる群から選択される。より好ましくは、がんは、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、転移性結腸直腸がん、膵臓がん、及び膵管腺癌からなる群から選択される。

10

【0152】

想定される医学的処置のために、特に(例えば、上記のような)がんの処置のために、上記のような本発明のペプチドは、好ましくは、上記のような本発明の水疱性口内炎ウイルス(VSV)と組み合わせられる。したがって、上記のような使用のためのペプチドを、上記のような本発明の水疱性口内炎ウイルス(VSV)と組み合わせることで投与することができる。更に、上記の使用のための水疱性口内炎ウイルス(VSV)を、上記のような本発明のペプチドと組み合わせることで投与することができる。そのような組合せ使用において、ペプチドの多抗原性ドメイン及びVSV中にコードされる多抗原性ドメインは、好ましくは、ペプチド及びVSVを含む本発明のワクチン、キット及び組合せとの関連において、上記で詳細に記載されるように互いに対して適合化される。

20

特に、本明細書に記載されるようなペプチド及びVSVの「組合せ」又は「組み合わせられた」使用は、通常、本明細書に記載されるようなペプチドによる処置が、本明細書に記載されるようなVSVによる処置と組み合わせられることを意味する。上記のような本発明のペプチドとVSVとのそのような組合せ使用において(すなわち、上記のような本発明の各々のワクチン、キット及び組合せについても)、ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス(VSV)のそれぞれは、通常、少なくとも1回投与される。好ましくは、ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス(VSV)は、連続して(同時ではなく)投与される。

30

【0153】

しかし、1つの構成成分(ペプチド又はVSV)が、例えば、他の構成成分と同じ日に投与されない場合でさえ、それらの処置スケジュールは、通常、かかわり合っている。それによって、上記のような有利な異種プライム-ブーストレジメンを達成することができる。特に、1つの構成成分(例えば、ペプチド)を最初に投与して(「プライミング」として)、他の構成成分(例えば、VSV)を後に、例えば、「プライミング」の1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、6日後、7日後、8日後、9日後、10日後、11日後、12日後、13日後、14日後、15日後、16日後、17日後、18日後、19日後、20日後、又はそれ以上の日数若しくは週数の後に、投与することができる(「ブースト」として)。それによって、プライミングとブーストとの間の間隔は、通常、強い免疫応答を見出し得るように選択される。好ましくは、ペプチドは、水疱性口内炎ウイルス(VSV)の投与の前に投与される。したがって、異種プライム-ブーストレジメンにおいて、ペプチドは「プライミング」として機能することができ、VSVは「ブースト」として機能することができる。

40

【0154】

一部の実施形態では、ペプチドは、少なくとも2回、好ましくはVSVの投与の前及び後に投与される。したがって、ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス(VSV)は、K-V

50

－Kの順序で投与され、ここで「K」はペプチドの（単回）投与を指し、「V」はV S Vの（単回）投与を指す。一部の実施形態では、ペプチドは繰り返し投与される。例えば、ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（V S V）は、K－V－K、K－V－K－K、K－V－K－K－K、又はK－V－K－K－K－Kの順序で投与することができる（「K」はペプチドを指し、「V」はV S Vを指す）。一部の実施形態では、処置スケジュールは、水疱性口内炎ウイルス（V S V）の単回投与を含み、すなわち、V S Vは1回のみ投与される。

【0155】

一部の実施形態では、ペプチド及びV S Vは、互いに2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、19、20、21日隔たって、好ましくは互いに約4日～約24日隔たって、より好ましくは互いに約10日～約18日隔たって、更により好ましくは互いに約12日～約16日隔たって投与される。一部の実施形態では、ペプチドは、好ましくは2～6週毎に1回、より好ましくは3～5週毎に1回、更により好ましくは4週毎に1回、繰り返し投与される。

一部の実施形態では、ペプチドの用量は、約0.5 nmol～約10 nmolであってよい。一部の実施形態では、V S Vの用量は、約 10^6 TCID₅₀～約 10^{11} TCID₅₀であってよい。好ましくは、V S Vの用量は、約 10^7 TCID₅₀～約 10^9 TCID₅₀、より好ましくは約 10^8 TCID₅₀～約 10^9 TCID₅₀、又は約 10^7 TCID₅₀～約 10^8 TCID₅₀、より好ましくは約 1×10^7 TCID₅₀～約 1×10^8 TCID₅₀であってよい。

【0156】

一般に、ペプチド及び水疱性口内炎ウイルス（V S V）は、同じ投与経路を介して、又は異なる投与経路を介して投与することができる。好ましくは、投与経路は、静脈内、皮下、及び筋肉内投与から選択される。好ましくは、ペプチド及びV S Vは、異なる投与経路を介して投与される。より好ましくは、ペプチドは皮下に投与され、水疱性口内炎ウイルス（V S V）は静脈内又は腫瘍内に、好ましくは静脈内に投与される。

【0157】

ペプチド及びV S Vの（組み合わせられた）使用（本明細書に記載されるワクチン、キット及び組合せにおいても）は、PD－1／PD－L1経路の阻害剤、例えば、上記のようなPD－1／PD－L1経路の阻害剤の投与を更に含み得る。したがって、PD－1／PD－L1経路の阻害剤は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、ピディリズマブ、セミプリマブ、PDR－001、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、エザベンリマブ、配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1－1）、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号34のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1－2）、及び配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号36のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体（PD1－3）からなる群から選択され得る。

【0158】

PD－1／PD－L1経路の阻害剤は、ペプチド又は水疱性口内炎ウイルス（V S V）と同時に、逐次的に、又は交互に投与される。一部の実施形態では、PD－1／PD－L1経路の阻害剤は、ペプチドと同じ日に及び／又は交互に投与される。

【0159】

添付の図面の簡単な説明を以下に行う。図面は、本発明をより詳細に説明することを意図している。しかし、それらは本発明の主題を決して限定することを意図するものではない。

【図面の簡単な説明】

【0160】

【図1】実施例1について、組織アレイ（HallioDX）及び腫瘍全切片（A）に対してBaseScopeによって測定した、KRAS－uORF1、TPX2－uORF1及びAURKA－uORF2をコードする転写物の発現を示す図である。KRAS－uO

R F 1、T P X 2-u O R F 1 及び A U R K A-u O R F 2-抗原配列に対応するプローブを使用した。棒グラフは、自動スコアリングアルゴリズム (H A L O-I n d i c a l a b) による実験の定量化を示す。C R C に隣接する健康な組織が、健康な結腸組織よりも実質的に高い目的の転写物の発現によって特徴付けられることに留意されたい。(B) 健康な結腸/膵臓と腫瘍に隣接する結腸/膵臓組織との間での K R A S、T P X 2、及び A U R K A 転写物の R N A-S e q に基づく発現の比較 (T C G A/G T E x)。K R A S、T P X 2 及び A U R K A データの m R N A 発現を、以下の公開データベースから抽出した: C a n c e r G e n o m e A t l a s (T C G A) 及び G e n o t y p e-T i s s u e E x p r e s s i o n (G T E x)。(C) ヒト膵臓 (P D A C)、胃 (G C) 及び結腸直腸 (C R C) 腫瘍又は腫瘍に隣接する健康組織における K R A S-u O R F 1、T P X 2-u O R F 1- 及び A U R K A-u O R F 2 腫瘍抗原 O R F の翻訳。翻訳は R i b o S e q によって測定した。各々の O R F にわたってのインフレーションリードの数を、O R F 長 (翻訳が最も内側の可能性のある開始コドンによって作動すると仮定して) 及び試料ライブラリーのサイズ (すなわち、r R N A 及び t R N A に由来するリードの除去後のヒトゲノムへの試料マッピングにおける全てのトリミングされたリードの合計) について正規化した。対応のない両側 t 検定を行って、統計的有意性を評価した (* p < 0.05、** p < 0.01、*** p < 0.001、**** p < 0.0001)。

10

【図 2-1】実施例 2 について、(A) 様々な G I 管腫瘍並びに健康組織における D U O X A 2 及び C E A C A M 5 転写物の発現を示す図である (T C G A/G T E x)。(B) 組織アレイ (H a l i o D X) 上の免疫組織化学染色によって測定された C E A C A M 5 タンパク質発現。棒グラフ (上のパネル) は、実験の定量化を示す。

20

【図 2-2】実施例 2 について、(C) 組織アレイ (H a l i o D X) 上で R N A S c o p e によって測定された D U O X A 2 転写物の発現。棒グラフ (左のパネル) は、実験の定量化を示す。

【図 3】実施例 3 について、(A) 膵臓 (P D A C) 及び結腸直腸 (C R C) がんににおける変異型 K R A S-G 1 2 D/V と C E A C A M 5 及び D U O X A 2 との m R N A レベルでの共発現 (T C G A を含む様々な R N A S e q ベースのデータセットに基づく) を示す図である。(B) K R A S-u O R F 1、T P X 2-u O R F 1、A U R K A-u O R F 2、K R A S-G 1 2 D/V に由来するエピトープ並びに D U O X A 2 に関する免疫原性。健康ドナー P B M C において特異的 T 細胞応答を刺激するために、所与の H L A アレル (例えば、H L A-A*0201) との関連下にある示されたペプチド (例えば、K L V V V G A D G V) を使用して、インビトロプライミングを行った。それによってペプチド特異的 T 細胞がエンリッチされた培養物を、その後、各々のペプチドでパルス刺激した様々な腫瘍細胞株標的に関してアッセイした (特異的応答)。並行して、同じ腫瘍細胞株を、無関係の対照ペプチドでパルス刺激するか、又はパルス刺激を全く行わなかった (非特異的バックグラウンド応答)。T 細胞活性化を I F N γ E L I S p o t によって測定した。パネル (B) において、各スポットは、異なる腫瘍細胞株又は m o D C 標的に対応する。特異的応答と非特異的バックグラウンド応答の比を示している。1 を上回る比は特異的 T 細胞応答を示す。陰性対照 (すなわち、特異的 T 細胞応答を誘発しなかったペプチドエピトープ) をパネルに含めている。

30

40

【図 4】実施例 4 について、ヒト m o D C による A T P 1 5 0 由来エピトープ及び A T P 1 5 2 由来エピトープの提示を示す図である。m o D C を A T P 1 5 0 又は A T P 1 5 2 のいずれかと共にインキュベートして、内因性抗原提示機構によるワクチンのプロセッシングを行わせた。その後、交差提示された抗原を質量分析によって分析した。パネルにおいて、検出されたペプチドエピトープを A T P 1 5 0/A T P 1 5 2 主鎖に対してマッピングして、それらの由来となった領域を可視化した。各線は、10 人の P B M C ドナーのうちの 1 人に対応する。10 人のドナーは、それらの H L A ハプロタイプの点で互いに異なり、それ故に異なるペプチドエピトープを提示すると予想されることに留意されたい。

【図 5】実施例 5 について、A T P 1 5 0/V S V-G P 1 5 4 異種プライムブーストワクチン接種後の免疫原性を示す図である。E L I S p o t による、I F N γ を産生する

50

C E A C A M 5 及び D U O X A 2 特異的 T 細胞。(A) プライム-ブーストプロトコールの概要。マウス [n=5] を、10 nmol の A T P 1 5 0 (皮下) でプライミング (d 0) 及びブースト (d 1 4) を行うか、又は 10 nmol の A T P 1 5 0 (皮下) でプライミング (d 0) を行い、 10^7 T C I D₅₀ の V S V - G P 1 5 4 (静脈内) でブースト (d 1 4) を行った。(B) 21 日目に脾細胞を採取し、ワクチンに組み込まれた C E A C A M 5 及び D U O X A 2 領域に対応する重複性 11 mer ペプチドでパルス刺激を行った。*** $p \leq 0.001$ 、**** $p \leq 0.0001$ 。

【図 6】実施例 6 について、 1×10^5 個の T C - 1 細胞を皮下注射し、7 日後に 2 nmol のペプチド構築物 (多抗原性ドメイン「M a d 2 5」) を皮下注射するか、又は腫瘍移植の 14 日後に 1×10^7 T C I D₅₀ の V S V - G P - H P V を静脈内注射して免疫処置を行ったマウスの (A) 腫瘍増殖 (平均 $\pm$ S E M) 及び (B) 生存率を示す図である。追加用量の K 及び V を、点線によって示されるように投与して、腫瘍増殖をモニターした (n=7)。

【図 7】実施例 7 について、T C - 1 腫瘍担持マウスにおけるワクチン接種スケジュール (A) 並びに異種プライム-ブースト及び抗 P D - 1 の後の H P V 特異的 C D 8 T 細胞の検出 (B) を示す図である。14 日目、21 日目 35 日目、42 日目、56 日目にマウスから採血し、H P V 特異的 C D 8 T 細胞を検出するマルチマー染色を行って、フローサイトメトリーによって分析した。

【図 8】実施例 7 について、T C - 1 腫瘍担持マウスにおける異種プライム-ブーストワクチン接種及び抗 P D - 1 の有効性を示す図である。T C - 1 細胞を皮下移植した C 5 7 B L / 6 マウス (n=マウス 7 匹/群) の平均腫瘍体積及び生存曲線。マウスにペプチド構築物 (多抗原性ドメイン「M a d 2 5」) (K、2 nmol / マウス、皮下) 及び V S V - G P - H P V (V、 10^7 T C I D₅₀ / マウス、静脈内) によるワクチン接種を行った。抗 P D - 1 (200 μ g) を静脈内投与した。腫瘍のないマウスの数を示す。

【図 9】実施例 8 について、腫瘍担持マウスにおける V S V - G P - H P V の 3 通りの異なる用量を比較する異種プライム-ブーストワクチン接種の有効性を示す図である。T C - 1 細胞を皮下移植した C 5 7 B L / 6 マウス (n=マウス 7 匹/群) の腫瘍体積 (上/左のパネル) 及び生存曲線 (下/右のパネル) を示す。7 日目、14 日目及び 28 日目 (V a c) に、ペプチド構築物 (多抗原性ドメイン「M a d 2 5」) (K) 又は V S V - G P - H P V (V) のいずれかを、3 通りの異なる用量、 1×10^7 、 3×10^7 又は 5×10^7 T C I D₅₀ でマウスにワクチン接種した。生存期間中央値をグラフに示す (ms)。
*、 $p < 0.05$ 、**、 $p < 0.01$ 、***、 $p < 0.001$ 。

【発明を実施するための形態】

【0161】

(実施例 1)

K R A S mRNA (K R A S - u O R F 1)、T P X 2 mRNA (T P X 2 - u O R F 1) 及び A U R K A mRNA (A U R K A - u O R F 2) の 5' U T R 内にコードされる腫瘍抗原

K R A S mRNA (K R A S - u O R F 1)、T P X 2 mRNA (T P X 2 - u O R F 1) 及び A U R K A mRNA (A U R K A - u O R F 2) の 5' U T R のオープンリーディングフレーム (O R F) 中にコードされる新規の腫瘍抗原を同定した。腫瘍抗原 (ペプチド) はまた、本明細書において、それぞれ「K R A S - u O R F 1 ペプチド」又は「K R A S - u O R F 1」、「T P X 2 - u O R F 1 ペプチド」又は「T P X 2 - u O R F 1」、及び「A U R K A - u O R F 2 ペプチド」又は「A U R K A - u O R F 2」とも称される。各々の腫瘍抗原は、配列番号 1 (K R A S - u O R F 1 ペプチド)、配列番号 3 (T P X 2 - u O R F 1 ペプチド) 及び配列番号 5 (A U R K A - u O R F 2 ペプチド) に記載のアミノ酸配列を有する。

【0162】

u O R F は多くの場合、通常とは異なる非標準の翻訳開始部位によって特徴付けられ、K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1、及び A U R K A - u O R F 2 は従来の開

始コドンを含まないことから、それらがヒトがん細胞株において翻訳可能であるかについて最初に検証した。この目的のために、抗原を d T o m a t o の N 末端に融合させて、得られた蛍光融合タンパク質の発現をフローサイトメトリーによって確認した。

【0163】

K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1 及び A U R K A - u O R F 2 の腫瘍発現を R N A レベルで検討するために、関連する転写物の B a s e S c o p e 検出を使用した。この目的のために、K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1 及び A U R K A - u O R F 2 コード配列自体のみに対応するプローブを使用した。これにより、目的の腫瘍抗原をコードする遺伝子座の m R N A 転写物とコードしない遺伝子座の m R N A 転写物とを区別することが可能になる（例えば、E n s e m b l によれば、A U R K A 遺伝子座は、13種の選択的スプライシングされた転写物を範囲に含み、これらの13種の転写物のうち7種は完全長 A U R K A キナーゼをコードするのに対して、3種のみが A U R K A - u O R F 2 をコードする）。

【0164】

第1の実験では、転写、すなわち関連する K R A S、T P X 2、及び A U R K A m R N A 転写物の生成を、(i) 膵臓及び結腸直腸の腫瘍、(ii) 腫瘍に隣接する「健康な」組織、並びに (iii) 非罹患臓器由来の健康な組織において評価した。この目的のために、染色を L E I C A B o n d M a x（著作権）で行った。陽性対照プローブ（ハウスキーピング遺伝子 P P I B）を使用することによって、スライドを R N A の質について評価した。Q C 試験の後に、スライドを B a s e S c o p e プローブ：B a s e s c o p e（登録商標）2.5 L S プローブ B A - H s - A u r k a - T u - 1 - 1 z z - s t C 1 ロット：21175A（A C D # 1084338 - C 1）、B a s e s c o p e（登録商標）L S プローブ B A - H s - K R A S - 1 z z - s t C 1 ロット：21175A（A C D # 1084358）を製造元の指示に従って使用して試験した。スライドをヘマトキシリンによって対比染色し、V e c t a M o u n t 封入剤を使用して封入した。N a n o z o o m e r S 3 6 0（著作権）D i g i t a l P a t h o l o g y S c a n n i n g S y s t e m（H a m a m a t s u 社）を使用して、スライド画像全体を40倍の対物倍率でスキャンした。1個以上の赤色シグナルを有するがん細胞（陽性がん細胞）の数を陽性と評価した。陽性がん細胞のパーセンテージは、認定病理学者によって H A L O ソフトウェア（I n d i c a L a b 社）を使用して計算された。

【0165】

K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1、及び A U R K A - u O R F 2 ペプチド腫瘍抗原は、既知のドメインを全く欠くことから、それらが安定的にフォールディングして細胞内に蓄積する可能性は低いと思われる。いかなる理論にも拘束されることはないが、それらは急速なプロテアソーム分解を受けると想定され、これは抗原性エ피トープの産生を導き得るため、有利であると考えられる。しかし、これらの実体の予想される定常状態タンパク質レベルは非常に低く、そのためこれらを抗体で検出することは本質的に不可能である。それにもかかわらず、ヒト膵臓（P D A C）、胃（G C）、及び結腸直腸（C R C）腫瘍（又は腫瘍に隣接する健康組織）におけるそれらの翻訳（すなわち、それらのタンパク質合成）を評価するために、本発明者らは、R i b o S e q 手法（Ingolia, N. T., Ghaemmamghami, S., Newman, J.R.S., and Weissman, J.S. (2009). Genome-Wide Analysis in Vivo of Translation with Nucleotide Resolution Using Ribosome Profiling. Science 324, 218-223）を採用した。手短に述べると、少なくとも200mgの新鮮な凍結腫瘍組織、並びに P D A C [n=12；そのうち5つのみが腫瘍に隣接する材料を有する]、G C [n=5]、及び C R C [n=44] に由来する対応する腫瘍に隣接する組織を、パートナー C R O（T B - S e q I n c、S o u t h S a n F r a n c i s c o）での R i b o S e q ライブラリー調製、シーケンシング（N o v a S e q 6 0 0 0、200M以上のリード／ライブラリー）、及びバイオインフォマティクス分析のために、商業的プロバイダー（I n d i v u m e d G m b H、H a m b u r g）から購入した。C u t a d a p t を使用してアダプターをトリミン

グした後に、STARを使用してそれらをヒトゲノムアセンブリGRCh38.p13に対してアラインメントさせた。リボソームフットプリントが、予想された長さスペクトルと一致することが確認された。28~36merを更なる分析のために考慮した。開始／停止コドン周辺のメタ遺伝子リード分布を評価することによって、データセットの質及び適切な3nt周期性を検証した。AURKA-uORF2、TPX2-uORF1、及びKRAS-uORF1の翻訳を定量化するために、関連するインフレームリードの数(10⁷を乗じる)を、ORF長(翻訳が最も内側のRiboSeq援助下の開始コドンによって作動されるという仮定の下で)及び試料ライブラリーサイズ(すなわち、rRNA及びtRNAに由来する配列の除去後の全てのトリミングされたマッピング可能なリードの合計)について正規化して、試料間の比較を可能にした。

10

【0166】

KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2をコードする転写物の発現(A)、健常な結腸／脾臓と腫瘍に隣接する結腸／脾臓組織との間でのKRAS、TPX2、及びAURKA転写物のRNA-Seqベースの発現の比較(B)、並びにヒト脾臓(PDAC)、胃(GC)、及び結腸直腸(CRC)の腫瘍又は腫瘍に隣接する健康組織における目的のuORFの翻訳(C)の結果を図1に示す。

【0167】

これらのデータにより、脾臓及び結腸直腸の腫瘍における関連するKRAS、TPX2、及びAURKA転写物の強い発現が実証されたが(図1A)、結腸、脾臓、及び他の臓器からの正常な健康組織は、バックグラウンドを上回る弱いシグナルしか示さなかった(図1A)。このことは、コードされる腫瘍抗原をこれらのがんにおいて標的化し得る可能性が高いことを強く示す。腫瘍に隣接する「健康な」組織は、非罹患臓器からの真に健康な組織とは異なり、中間的な転写シグナルを示した。この傾向は、RNASeqベースのTCGA/GTEXデータセットでも見られ(図1B)、腫瘍部位から直接隣接する領域へと広がる転写調節不全を指し示す。いかなる理論にも拘束されることはないが、したがって、腫瘍に隣接する健康な組織は、真に健康な組織を必ずしも完全に代表するとは限らないことが想定される。

20

【0168】

図1Cは、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2ペプチド腫瘍抗原が、脾臓がん、胃がん、及び結腸直腸がんを含む種々の適応症において、程度は様々であるものの、腫瘍において発現されることを示す。一般に、腫瘍に直接隣接する健康な組織では、低い合成が観察されたか又は合成が観察されないかのいずれかであった(図1C)。いかなる理論にも拘束されることはないが、BaseScope(図1A)及びRNASeq(図1B)から、腫瘍発生自体のプロセスに関連する可能性のある上流ORF翻訳の腫瘍選択的アップレギュレーションのために、対応するmRNA転写物の発現が示唆されるにもかかわらず、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2の翻訳は、腫瘍に隣接するほとんどの健康組織では検出されないことが推定される。したがって、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、及びAURKA-uORF2に関して、がん特異的な翻訳は、大部分ががん特異的である転写の上に、腫瘍特異性の更なる一層を加えると考えられる。

30

40

【0169】

(実施例2)

更なる腫瘍抗原CEACAM5及びDUOXA2の発現プロファイル

更なる目的の腫瘍抗原を選択するために、CEACAM5及びDUOXA2のmRNA発現のデータを、以下の公開データベースから抽出した：Cancer Genome Atlas(TCGA)及びGenotype-Tissue Expression(GTEX)。公開RNASeqによる腫瘍選択的発現に基づいて(図2A)、CEACAM5及びDUOXA2を選択した。

【0170】

その後、CEACAM5及びDUOXA2の発現プロファイルを、ヒト腫瘍並びに非

50

腫瘍G I管組織において実験的に検証した。CEACAM5発現を測定するために、ホルマリン固定してパラフィン包埋（FFPE）した組織アレイを、商業的プロバイダー（Indivumed GmbH、Hamburg）から購入した。QC試験の後に、CEACAM5染色を、CEACAM5特異的抗体（DakoM707229-2）を使用して、ImmunoHistoChemistry社によって行わせた。スライドをヘマトキシリンによって対比染色して、VectaMount封入剤を使用して封入した。Nanozoomer S360（著作権）Digital Pathology Scanning System（Hamamatsu社）を使用して、スライド画像全体を40倍の対物倍率でスキャンした。1個以上の赤色シグナルを有するがん細胞（陽性がん細胞）の数を陽性と評価した。陽性がん細胞のパーセンテージは、認定病理学者によってHALOソフトウェア（Indica Lab社）を使用して計算された。

10

【0171】

更に、DUOXA2発現をG I管組織において検討した。この目的のために、ホルマリン固定してパラフィン包埋（FFPE）した組織アレイを、商業的プロバイダー（Indivumed GmbH、Hamburg）から購入した。陽性対照プローブ（ハウスkeeping遺伝子PPIB）を使用することによって、スライドをRNAの質について評価した。QC試験の後に、DUOXA2に対するRNAscopeプローブ（Bio-Techne HD-RM-000619）を製造者の指示に従って使用することによって、DUOXA2転写物の発現を行った。スライドをヘマトキシリンによって対比染色し、VectaMount封入剤を使用して封入した。Nanozoomer S360（著作権）Digital Pathology Scanning System（Hamamatsu社）を使用して、スライド画像全体を40倍の対物倍率でスキャンした。1個以上の赤色シグナルを有するがん細胞（陽性がん細胞）の数を陽性と評価した。陽性がん細胞のパーセンテージは、認定病理学者によってHALOソフトウェア（Indica Lab社）を使用して計算された。

20

結果を図2に示す。具体的には、CEACAM5は、膵臓がん及び結腸直腸がんの80～100%において免疫組織化学によって検出されたが、完全に健康な組織、又は腫瘍に隣接する健康な組織では検出されなかった（図2B）。DUOXA2発現は、膵臓がん及び結腸直腸がんの37～74%において堅固に検出されたが、対応する健康組織における発現は稀であった（例えば、16件の膵臓がんのうち1件のみ）（図2C）。

30

【0172】

（実施例3）

KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、AURKA-uORF2、CEACAM5、DUOXA2及びKRAS-G12D/V抗原の免疫原性

上記の実施例1及び2の腫瘍抗原に加えて、更なる目的の腫瘍抗原、すなわちKRAS、特にKRAS-G12D/Vを、更なる分析に含めた。発がんドライバー変異KRAS-G12D/Vは、一般に、腫瘍の外側では見出されない。

【0173】

第1のステップでは、膵臓がん（PDAC）及び結腸直腸がん（CRC）における変異型KRAS-G12D/VとCEACAM5及びDUOXA2とのmRNAレベルでの共発現（TCGAを含む様々なRNAseqベースのデータセットに基づく）。

40

更に、特定のHLAクラスIIアレルに結合するペプチドを同定するために、NetMHCpan 4.1予測アルゴリズムを使用して、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1、AURKA-uORF2、並びにDUOXA2のMHCクラスIIエピトープを予測した。続いて、これらのペプチドのサブセット及び対応するHLAアレル発現ドナーPBMcを、免疫原性を決定するためのインビトロプライミング実験のために使用した。この目的のために、樹状細胞をこれらのPBMcから単離し、選択されたペプチドでパルス刺激した後に、それらを自己CD8T細胞の刺激のために使用して、その応答をIFNγ ELISpotアッセイによって測定した。

【0174】

50

次に、K R A S - G 1 2 D / V の免疫原性を、2 人の独立した健康な末梢血単核細胞 (P B M C) ドナーを使用して分析した。この目的のために、C D 8 マイクロビーズ及びカラム (M i l t e n y i B i o t e c 社、B e r g i s c h G l a d b a c h、G e r m a n y) を使用した磁気細胞選別によって、C D 8⁺ T 細胞を健康ドナーの末梢血単核細胞 (P B M C) から単離した。単球を、プラスチック接着によって C D 8⁺ 枯渴 P B M C から単離し、その後に、樹状細胞 (D C、抗原提示細胞) の生成及び成熟のためにサイトカインで処理した。ドナーの選択は、D C による各々のペプチドの提示について予測される特異的 H L A アレルのそれらの発現によって行った。C D 8⁺ T 細胞を、ペプチドに対するそれらの特異的免疫応答を試験する前に、ペプチドをロードした D C によって少なくとも 3 回プライミングした。プライミングのサイクルには、C D 8⁺ T 細胞とペプチドをロードした D C との 7 ~ 1 0 日間の共培養を含めた。3 回のプライミングサイクルの後に、C D 8⁺ T 細胞を、腫瘍細胞株又はペプチドをロードした D C で一晩刺激した後に I F N - β を分泌するそれらの能力を評価するために、E L I S p o t アッセイ (I m m u n o s p o t 社、S h a k e r H e i g h t s、O H 4 4 1 2 2) においてプレティングした。E L I S P O T リーダーを使用してスポットを計数した。

【0175】

結果を図 3 に示す。図 3 A に示されるように、膵臓がん (P D A C) 及び結腸直腸 (C R C) がんにおける変異型 K R A S - G 1 2 D / V と C E A C A M 5 及び D U O X A 2 との m R N A レベルでの共発現分析により、K R A S - G 1 2 D / V 変異型 P D A C / C R C 腫瘍の 5 9 % が、C E A C A M 5 及び D U O X A 2 転写物の両方を 5 T P M を上回って発現することが明らかになった。図 3 B は、K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1、A U R K A - u O R F 2、K R A S - G 1 2 D / V に由来するエピトープ並びに D U O X A 2 の免疫原性を示す。試験したペプチドの全てが免疫原性であることが見出された (図 3 B)。このことは、コグネイト T 細胞ががん患者における活性化に利用可能である可能性が高いことを示唆する。

【0176】

(実施例 4)

細胞透過性ペプチド、多抗原性ドメイン及び T L R アゴニストを含むペプチドの設計及び評価

次に、(i) 細胞透過性ペプチド、(i i) 多抗原性ドメイン及び (i i i) T L R アゴニストを含むペプチドを、本質的には W O 2 0 1 6 / 1 4 6 2 6 0 に記載されている通りに設計した。この目的のために、K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1、A U R K A - u O R F 2、K R A S - G 1 2 D、C E A C A M 5 及び D U O X A 2 の (免疫原性) 断片、又は K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1、A U R K A - u O R F 2、K R A S - G 1 2 V、C E A C A M 5 及び D U O X A 2 の (免疫原性) 断片のいずれかを含む、2 種の異なる多抗原性ドメインを設計した。

【0177】

両方の構築物の多抗原性ドメインは、C E A C A M 5 の以下の抗原性断片を含む：

C E A C A M 5 - 1

N R T L T L F N V T R N D A R A Y V S G I Q N S V S A N R S D P V T L D V L

〔配列番号 6〕

C E A C A M 5 - 2

P D S S Y L S G A N L N L S C H S A S

〔配列番号 7〕

C E A C A M 5 - 3

P Q Y S W R I N G I P Q Q H T Q V L F I A K I T P N N N G T Y A C F V S N L A T G R N N S I V K S I T V S A S G T S
P G L S A

〔配列番号 8〕

【0178】

この 3 種の異なる断片に基づいて、以下の配列の C E A C A M 5 融合構築物を、両方の

構築物の多抗原性ドメインに関して設計した。

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSAS
PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTS
PGLSA

〔配列番号 9〕

更に、以下の抗原又は抗原性断片を、両方の構築物の多抗原性ドメインに含めた。

DUOXA2:

TGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD

〔配列番号 10〕

KRAS-uORF1:

VAAARPVLPAPPAISDWERARRRH

〔配列番号 1〕

TPX2-uORF1:

VGRKEGAARARVSLLEFEGTAEVHLPAPSAVRAARPGF

〔配列番号 3〕

AURKA-uORF2:

GGDKGRLVGVAERQVPCRFLRP

〔配列番号 5〕

〔0179〕

両方の構築物の多抗原性ドメインは、一方がKRAS-G12D（配列番号 11）の断片を含み、もう一方がKRAS-G12V（配列番号 12）の断片を含むという点で異なる。

KRAS-G12D:

TEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ

（配列番号 11）

KRAS-G12V:

TEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ

（配列番号 12）

〔0180〕

2種の異なるペプチド構築物は、「ATP150」（KRAS-G12Dを含む）及び「ATP152」（KRAS-G12Vを含む）と称される。それらは、以下の多抗原性ドメインを含む：

多抗原性ドメイン ATP150:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSAS
PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTS
PGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPPAISDWERARRRHVGRKE
GAARARVSLLEFEGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTG
VLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD

〔配列番号 13〕

多抗原性ドメイン ATP152:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSAS
PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTS
PGLSATEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPPAISDWERARRRHVGRKE
GAARARVSLLEFEGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTG
VLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD

〔配列番号 14〕

〔0181〕

上記のように、ペプチド構築物 ATP150 及び ATP152 は、多抗原性ドメインに加えて、細胞透過性ペプチドを含む。ATP150 及び ATP152 に含まれる細胞透過性ペプチドは、以下の配列を有する：

10

20

30

40

50

KRYKNRVASRKSRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLK

〔配列番号 15〕

加えて、ペプチド構築物 ATP150 及び ATP152 は、TLR アゴニストを更に含む：

STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

〔配列番号 16〕

〔0182〕

まとめると、ペプチド構築物 ATP150 及び ATP152 は、以下の配列を示す：

ATP150

MKRYKNRVASRKSRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLKKNRTLTTFNVTRND
ARAYVSGIQNSVSNRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQ
HTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVV
GADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPASDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLPEF
GTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSL
QYVRPSALRTLTDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

10

〔配列番号 17〕

ATP152

MKRYKNRVASRKSRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLKKNRTLTTFNVTRND
ARAYVSGIQNSVSNRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQ
HTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVV
GAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPASDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLPEF
GTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSL
QYVRPSALRTLTDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

20

〔配列番号 18〕

〔0183〕

次に、ATP150 及び ATP152 の多抗原性ドメインに含まれる抗原／抗原性断片の免疫原性を、単球由来ヒト樹状細胞 (moDC) において試験した。この目的のために、細胞を、Tissue Solution 社 (Scotland) によって供給される Leukopak と名付けられた新鮮なヒト白血球アフェレーシス製品から抽出した。15 人のドナーの HLA 型判定は、Geneva University Hospital の Immunology and Transplant Unit and National Reference Laboratory for Histocompatibility (LNRH) によって行われた。Leukopak 試料からの末梢血単核細胞 (PBMC) を、Ficoll-Paque 上での密度勾配遠心分離の後に調製し、単球を低温凝集によってエンリッチさせた。ヒツジ赤血球とのロゼット形成及び Ficoll-Paque 上での密度勾配遠心分離を使用して、残りの T リンパ球を除去した。続いて、単球を、GM-CSF 及び IL-4 を添加した完全 RPMI 培地と共にプレティングして 7 日間おいた。続いて細胞を濃縮し、インターフェロンアルファ 2a を 600 nM の ATP150 又は ATP152 と共に添加した。細胞を 37℃ 及び 5% CO₂ で一晩インキュベートした。続いて細胞を剥離させて算定し、遠心分離を行った。上清を吸引し、細胞ペレットを -20℃ で凍結した後、リガンドーム分析を行った。

30

40

〔0184〕

細胞ペレットを可溶化緩衝液で溶解させ、パルス超音波処理によってホモジナイズした。残渣の除去及び滅菌濾過の後に、HLA クラス I 及びクラス II 分子を、標準的な免疫アフィニティー精製を使用して可溶性画分から単離した。続いて、HLA リガンドを酸溶出によって溶出させ、超遠心分離によって単離し、脱塩を行って、予備濃縮した後に LC-MS/MS 分析を行った。

〔0185〕

ペプチド試料を、50 µm × 25 cm の PepMap 高速分離液体クロマトグラフィーカラム (Thermo Fisher Scientific 社) 及び 90 分間にわたる

50

2.4%から32.0%への範囲のアセトニトリル勾配を使用して、ナノフロー高速液体クロマトグラフィー（RSLCnano、Thermo Fisher Scientific社）によって分離した。溶出ペプチドを、HLAクラスIに対する最高速度衝突誘起解離（CID）断片化法又はHLAクラスIIに対する高エネルギー衝突解離（HCD）断片化法を使用して、オンライン連動LTQ Orbitrap Fusion Lumos質量分析計（Thermo Fisher Scientific社）で分析した。ATP150（又はATP152）をロードした活性化試料とロードしていない活性化試料との間の相対的HLAリガンド存在量の無標識定量（LFQ）のために、用量設定試行で決定した平均前駆体イオン強度から計算された対の試料の注入ペプチド量を正規化し、LC-MS/MS分析を各試料について5回の技術的反復試験について行った。

10

【0186】

生ファイルを、Proteome Discoverer 1.4（Thermo Fisher Scientific社）を使用して処理した。SEQUEST HT検索エンジン（University of Washington）を使用して、構築物ATP150（又はATP152）と組み合わせたSwiss-Protデータベースに含まれるヒトプロテオームを検索した。データ処理の後に、特定のフィルターを適用した。クラスIについては、データを、5%のFDR、8~12アミノ酸のペプチド長及び検索エンジンランク1でフィルタリングした。クラスIIについては、データを、1%のFDR、8~25アミノ酸のペプチド長及び検索エンジンランク1でフィルタリングした。タンパク質の推測は無効とし、これにより、ペプチドの複数のタンパク質アノテーションが可能となった。HLAクラスI結合性ペプチドを決定するために、NetMHCpan-3.0アルゴリズムを2%未満のパーセンタイル結合ランクで使用し、SYFPEITHIアルゴリズムを最大スコアの50%の閾値で使用した。

20

【0187】

結果を図4に示す。これらのデータは、ATP150又はATP152と共にインキュベートした単球由来ヒト樹状細胞（moDC）が、組み込まれた全ての抗原に由来するMHCクラスI及び／又はMHCクラスIIエピトープを提示したことを示し、このことは、専門的な抗原提示細胞における内因性プロセッシングが、患者のCD8及びCD4T細胞に対して意味のある抗原の提示を作用させ得ることを更に立証する。CEACAM5及びDUOX A2エピトープは、インビボでヒトGI管腫瘍においてMHCクラスIによって提示される。

30

リガンドーム分析試験により、ヒトmoDC細胞へのATP150及びATP152の正確な送達、ATP150及びATP152の多抗原性ドメインの翻訳、並びにATP150及びATP152の多抗原性ドメインの全ての抗原の多エピトープ性及び多アレル性のプロセッシング及び提示が確かめられる。

【0188】

（実施例5）

ATP150／VSV-GP154異種プライムブーストのCEACAM5及びDUOX A2特異的T細胞応答

次に、抗原特異的なT細胞応答を、ATP150（上記の実施例4に記載）を、以下に記載されるような対応する抗原／抗原性断片をコードする組換え水疱性口内炎ウイルス（VSV）（本明細書で「VSV-GP154」と称される）と組み合わせる、異種プライムブーストワクチン接種スキームにおいて評価した。

40

【0189】

VSV中にコードされる多抗原性ドメインは、配列番号1、3及び5~12に記載の抗原／抗原性断片を含む。VSV-GP154の多抗原性ドメインは、以下のアミノ酸配列を有する：

MNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNL SCHSA
SPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGT
SPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAA

50

RPVLPAPPAISDWERARRRRHVGRKEGAARARVSLLPEFGTAEVHLPAPSAVRAARPGF
GGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVVRPSALRTLDDQSAKD

【配列番号 19】

具体的には、VSV-GP154は、配列番号30（VSV-GP154のRNA配列、逆転なしの相補体）に記載の配列を有する。対応するcDNA配列は、配列番号49に提供される。

【0190】

抗原特異的なT細胞応答を試験するために、異種プライムブーストワクチン接種スキームで評価し、21日目（VSV-GP154ブーストの1週間後）の末梢免疫応答を調べて、マウスにおける酵素結合免疫スポット（ELISpot）によってCEACAM5及びDUOXA2特異的T細胞を決定した。この目的のために、C57BL/6マウス（6週齢及び10週齢）に、2サイクルのワクチン接種による注射を行った：10nmolのATP150による初回皮下ワクチン接種、14日目の10nmolのATP150皮下投与又は 10^7 TCID₅₀のVSV-GP154の静脈内投与によるブースト。21日目に脾臓を採取した。脾臓細胞を単離して、ELISpotアッセイで評価した。ELISpotアッセイを、マウスIFN γ ELISpot Diacloneキット（Ref 862.031.015S）を製造元の指示に従って使用して行った。Ficoll Plus、GE Healthcare社、ref 171440.02を使用して脾細胞を単離し、細胞 2×10^5 個～ 10×10^6 個の濃度勾配でプレATINGした。細胞を、ATP150及びVSV-GP154に組み込まれたCEACAM5及びDUOXA2領域に対応する重複性11merペプチドによりパルス刺激した。ELISPOTリーダーを使用してスポットを計数した。

【0191】

図5は、プライムブーストプロトコール（A）及び結果（B）を示す。VSV-GP154によるブーストは、同種プライムブーストと比較して、CEACAM5及びDUOXA2特異的なIFN γ 産生性T細胞の強力な増加を促進する。

【0192】

（実施例6）

マウス腫瘍モデルにおける異種プライムブーストワクチン接種

ペプチド構築物及び組換えVSVを用いた異種プライムブーストワクチン接種レジメンにおける腫瘍体積及び生存率のような処置効果を評価するために、マウス腫瘍モデル（TC-1腫瘍モデル）を使用した。この目的のためには、ペプチド構築物の多抗原性ドメイン及びVSVの多抗原性ドメインを、モデル腫瘍に対して適合化する必要があった。上記の実施例4及び5に記載されるような多抗原性ドメインは、ヒトにおける使用のために設計されたが、動物腫瘍モデルは、モデル腫瘍に対応する抗原／抗原性断片によるワクチン接種を必要とする。

この目的のために、上記の実施例4及び5に記載される多抗原性ドメインを、E7HPV由来のCD8エピトープ及びCD4H-2bエピトープの両方を含む「多抗原性ドメイン25」（Mad-25、配列番号20）によって置き換えた。したがって、本実施例のペプチド構築物は、多抗原性ドメインMad25を含む。VSV-GP-HPVは、野生型E2に加えて、弱毒化E6/E7融合構築物（Cassetti et al., 2004, Vaccine 22(3-4): 520-527）もコードする。

【0193】

手短に述べると、TC-1細胞は、T. C. Wu（Johns Hopkins University, Maryland, US）によって提供され、0.4mg/mlのジェネティンを含む完全RPMI 1640中で培養された。腫瘍移植のために、マウスの背部に 1×10^5 個のTC-1細胞を皮下注射した。7日後に、マウスを、2nmolのペプチド構築物（多抗原性ドメイン「Mad25」、図6中の「K」）による皮下プライミング免疫処置を行うか、又は 1×10^7 TCID₅₀のVSV-GP-HPVによる静脈内免疫処置を行った（図6中の「V」）。腫瘍移植の14日後に、マウスに 1×10^7

TCID₅₀のVSV-GP-HPVを静脈内投与した。ペプチド構築物「K」及びウイルス「V」の追加用量を、図6A中で点線によって示されるように投与した。腫瘍増殖をモニターするために、キャリパーを使用して腫瘍直径を1週間に2～3回測定し、式： $0.4 \times \text{長さ} \times \text{幅}^2$ を使用して体積を計算した。腫瘍サイズが各々の施設の獣医学当局によって指定されたサイズに達した時点で、又は腫瘍が潰瘍形成の徴候を示した時点で、マウスを殺した。

【0194】

結果を図6に示す。ウイルス処置（「V」）単独では、腫瘍増殖の遅延がもたらされた（図6A）。しかし、ペプチド構築物による「プライミング」の後のウイルス処置（「ブースト」）は、全ての腫瘍において、大きな腫瘍においてさえも、完全な寛解を更に導いた（図6B）。このことは、ペプチド（K）によるプライミングが、ウイルスで処置されたかなり大きな腫瘍の腫瘍退縮を、移植の2週間後に誘導し得ることを強く示す。これらのデータは、ペプチド（K）によるプライミングが、TC-1腫瘍モデルにおいてウイルス（V）ブースト後の強い腫瘍寛解の免疫学的基盤を築くことを示唆する。

【0195】

（実施例7）

腫瘍担持マウスにおける抗PD-1と組み合わせた異種プライム-ブーストの免疫原性及び有効性

異種プライム-ブーストワクチン接種及びチェックポイント阻害剤（抗PD-1）による組合せ処置の免疫原性及び有効性を評価するために、TC-1マウス腫瘍モデルを、本質的には上記の実施例6に記載された通りに使用した。実施例6に記載されるようにTC-1細胞を移植し、実施例6に記載されるようにマウスにペプチド構築物「K」（多抗原性ドメインMad25を有する）及びVSV-GP-HPV「V」を投与した。図7Aに示されるスケジュールに従って、7日目、15日目、28日目及び49日目に、200μgのPD-1抗体（クローンRMP1-14、BioXcell社、Lebanon、New Hampshire、US）もマウスに静脈内投与した。流血中抗HPVCD8T細胞を評価するために、14日目、21日目、35日目、42日目、56日目にマウスから採血し、HPV特異的CD8T細胞を検出するマルチマー染色を行って、フローサイトメトリーによって分析した。

【0196】

結果を図7及び8に示す。図7Bに示されるように、HPV特異的CD8T細胞の流血中レベルは、マウスが抗PD-1処置を受けたか否かとは無関係に、KVKKレジメンにおいて同程度に増加した。図8に示されるように、腫瘍細胞移植後の7日目に開始した治療用ワクチン接種は、KVKKで処置された両群のTC-1腫瘍モデルにおいて強力な抗腫瘍効果を媒介した。マウスが各ワクチン接種時に更なる抗PD-1注射を受けた場合には生存率の増加が観察され、3剤組合せ群では7匹中4匹のマウスが腫瘍を有しないままであった（図8B）。

【0197】

（実施例8）

異種プライム-ブーストワクチン接種における種々のVSV用量の効果

異種プライム-ブーストワクチン接種における種々の用量のVSV-GP-HPV「V」の有効性を評価するために、上記の実施例6及び7に記載された通りのTC-1腫瘍モデルを使用した。腫瘍移植のために、マウスの背部に 1×10^5 個のTC-1細胞を皮下注射した。7日後に、マウスを、2nmolのペプチド構築物（「K」）による皮下プライミング免疫処置を行った。VSV-GP-HPVブーストを、腫瘍細胞移植後の14日目に3通りの異なる用量： 1×10^7 、 3×10^7 又は 5×10^7 TCID₅₀で投与した。14日後に、マウスに2nmolのペプチド構築物（「K」）を投与した。

結果を図9に示す。以前に観察された抗腫瘍効果は、最初のブースト（VSV-GP-HPV注射）後の腫瘍体積の大きな減少によって観察されるように、3つのK/V/K群における同程度の一過性の寛解によって強く示される。VSV-GP-HPVの 5×10

10

20

30

40

50

⁷ T C I D₅₀の群は、わずかに高まった生存率を示すが、異なる用量のV S V - G P - H P Vを示す3つの処置群において大きな差異は観察されない。

【0198】

(実施例9)

K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1及びA U R K A - u O R F 2の断片を含む複数の免疫原性エピトープの効果

本発明によるペプチド (A T P 1 5 0) 中のK R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1及びA U R K A - u O R F 2の断片を含む複数の免疫原性エピトープの効果を調べるために、K R A S - u O R F 1、T P X 2 - u O R F 1及びA U R K A - u O R F 2の断片を欠く比較用構築物 (「A T P 1 3 2」) を調製した。

【0199】

A T P 1 3 2の多抗原性ドメインは、以下の配列を有する：

N R T L T L F N V T R N D A R A Y V S G I Q N S V S A N R S D P V T L D V L P D S S Y L S G A N L N L S C H S A S
P Q Y S W R I N G I P Q Q H T Q V L F I A K I T P N N N G T Y A C F V S N L A T G R N N S I V K S I T V S A S G T S
P G L S A T E Y K L V V V G A D G V G K S A L T I Q L I Q

〔配列番号50〕

前記多抗原性ドメインに加えて、A T P 1 3 2は、配列番号15に記載の細胞透過性ペプチド及び配列番号16に記載のT L Rアゴニストを含む。

まとめると、ペプチド構築物A T P 1 3 2は以下の配列を示す：

M K R Y K N R V A S R K S R A K F K Q L L Q H Y R E V A A A K S S E N D R L R L L L K N R T L T L F N V T R N D
A R A Y V S G I Q N S V S A N R S D P V T L D V L P D S S Y L S G A N L N L S C H S A S P Q Y S W R I N G I P Q Q
H T Q V L F I A K I T P N N N G T Y A C F V S N L A T G R N N S I V K S I T V S A S G T S P G L S A T E Y K L V V V
G A D G V G K S A L T I Q L I Q S T V H E I L S K L S L E G D H S T P P S A Y G S V K P Y T N F D A E

〔配列番号51〕

【0200】

A T P 1 5 0及びA T P 1 3 2の多抗原性ドメインに含まれる抗原／抗原性断片の免疫原性を、単球由来ヒト樹状細胞 (m o D C) において比較した。この目的のために、細胞を、T i s s u e S o l u t i o n社 (S c o t l a n d) によって供給されるL e u k o p a kと名付けられた新鮮なヒト白血球アフェレーシス製品から抽出した。ドナーのH L A型判定は、G e n e v a U n i v e r s i t y H o s p i t a lのI m m u n o l o g y a n d T r a n s p l a n t U n i t a n d N a t i o n a l R e f e r e n c e L a b o r a t o r y f o r H i s t o c o m p a t i b i l i t y (L N R H) によって行われた。L e u k o p a k試料からの末梢血単核細胞 (P B M C) を、F i c o l l - P a q u e上での密度勾配遠心分離の後に調製し、単球を低温凝集によってエンリッチさせた。ヒツジ赤血球とのロゼット形成及びF i c o l l - P a q u e上での密度勾配遠心分離を使用して、残りのTリンパ球を除去した。続いて、単球を、G M - C S F及びI L - 4を添加した完全R P M I培地と共にプレーティングして7日間おいた。続いて細胞を濃縮し、インターフェロンアルファ2aを600nMのA T P 1 5 0又は600nMのA T P 1 3 2と共に添加した。細胞を37℃及び5% C O₂で一晩インキュベートした。続いて細胞を剥離させて算定し、遠心分離を行った。上清を吸引し、細胞ペレットを-20℃で凍結した後、リガンドーム分析を行った。

【0201】

細胞ペレットを可溶化緩衝液で溶解させ、パルス超音波処理によってホモジナイズした。残渣の除去及び滅菌濾過の後に、H L AクラスI及びクラスII分子を、標準的な免疫アフィニティー精製を使用して可溶性画分から単離した。続いて、H L Aリガンドを酸溶出によって溶出させ、超遠心分離によって単離し、脱塩を行って、予備濃縮した後にL C - M S / M S分析を行った。

ペプチド試料を、50µm×25cmのP e p M a p高速分離液体クロマトグラフィーカラム (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c社) 及び90分間にわたる2.4%から32.0%への範囲のアセトニトリル勾配を使用して、ナノフロー高速液体

10

20

30

40

50

クロマトグラフィー（RSLCnano、Thermo Fisher Scientific社）によって分離した。溶出ペプチドを、HLAクラスIに対する最高速度衝突誘起解離（CID）断片化法又はHLAクラスIIに対する高エネルギー衝突解離（HCD）断片化法を使用して、オンライン連動LTQ Orbitrap Fusion Lumos質量分析計（Thermo Fisher Scientific社）で分析した。ATP150又はATP132をロードした活性化試料とロードしていない活性化試料との間の相対的なHLAリガンド存在量の無標識定量（LFQ）のために、用量設定試行で決定した平均前駆体イオン強度から計算された対の試料の注入ペプチド量を正規化し、LC-MS/MS分析を各試料について5回の技術的反復試験について行った。

【0202】

生ファイルを、Proteome Discoverer 1.4（Thermo Fisher Scientific社）を使用して処理した。SEQUEST HT検索エンジン（University of Washington）を使用して、構築物ATP150又はATP132と組み合わせたSwiss-Protデータベースに含まれるヒトプロテオームを検索した。データ処理の後に、特定のフィルターを適用した。クラスIについては、データを、5%のFDR、8～12アミノ酸のペプチド長及び検索エンジンランク1でフィルタリングした。クラスIIについては、データを、1%のFDR、8～25アミノ酸のペプチド長及び検索エンジンランク1でフィルタリングした。タンパク質の推測は無効とし、これにより、ペプチドの複数のタンパク質アノテーションが可能となった。HLAクラスI結合性ペプチド性を決定するために、NetMHCpan-3.0アルゴリズムを2%未満のパーセンタイル結合ランクで使用し、SYFPEITHIアルゴリズムを最大スコアの50%の閾値で使用した。

結果を以下の表2に示す。

【0203】

【表2】

ペプチド数/ドナー	ATP132	ATP150
MHC I	1.2	2.0
MHC II	22.8	79.3

(表2)

【0204】

表2には、ドナー当たりのMHCクラスI及びMHCクラスIIについて検出されたペプチドエピトープの平均数を示している。

これらのデータは、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2の断片を含む本発明によるペプチド（ATP150）と共にインキュベートした単球由来ヒト樹状細胞（moDC）が、KRAS-uORF1、TPX2-uORF1及びAURKA-uORF2の断片を欠く比較用ペプチド（ATP132）と共にインキュベートしたmoDCよりも、組み込まれた全ての抗原に由来するMHCクラスI及び／又はMHCクラスIIエピトープをより多く提示したことを示す。これらのデータは、より多数の免疫原性断片が、患者のCD8及びCD4T細胞に対して意味のある抗原の提示を作用させ得る専門的な抗原提示細胞において、より優れた内因性プロセッシングをもたらすことを更に立証する。

配列及び配列番号の表（配列表）：

【0205】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

配列番号	配列	備考
配列番号1	VAAARPVLPAPAI SDWERARRH	KRAS-uORF1 (短)
配列番号2	VAAAKVAAARPVLPAPAI SDWERARRH	KRAS-uORF1 (長)
配列番号3	VGRKEGAARARVSLLEFGTA EVHLPAPSAVRAARPGF	TPX2-uORF1 (長)
配列番号4	TAEVHLPAPSAVRAARPGF	TPX2-uORF1 (短)
配列番号5	GGDKGRLVGVAERQVPCRFLRP	AURKA-uORF2
配列番号6	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVL	CEACAM5断片
配列番号7	PDSSYLSGANLNLSCHSAS	CEACAM5断片
配列番号8	PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSA	CEACAM5断片
配列番号9	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSA	CEACAM5断片融合構築物
配列番号10	TGVL SLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD	DUOXA2断片
配列番号11	TEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ	KRAS-G12D断片
配列番号12	TEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ	KRAS-G12V断片
配列番号13	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLEFGTA EVHLPAPSAVRAARPGFGDGKRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD	多抗原性ドメイン ATP150
配列番号14	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLEFGTA EVHLPAPSAVRAARPGFGDGKRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD	多抗原性ドメイン ATP152
配列番号15	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLRLLLK	細胞透過性ペプチド (Z13)
配列番号16	STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	TLRアゴニスト (Anaxa)
配列番号17	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLEFGTA EVHLPAPSAVRAARPGFGDGKRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGG	ATP150

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

	AVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKDSTVHEILSKLSL EGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	
配列番号18	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAKSSSEN DRLRLLLNRTLTFLFNVRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSW RINGIPQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLAT GRNNSIVKSI TVSASGTSPGLSATEYKLVVVGAVG VGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRH VGRKEGAARARVSLPEFGTAEVHLPAPSAVRAAR PGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVL SLFLGG AVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKDSTVHEILSKLSL EGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP152
配列番号19	MNRTLTFLFNVRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVT LDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQ QHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIV KSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALT IQLIQTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARP VLPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLPEF GTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQV PCRFLRPTGVL SLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLD QSAKD	多抗原性ドメイン VSV-GP154
配列番号20	QAEPDRAHYNIVTFSSKS	多抗原性ドメイン Mad25
配列番号21	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK	細胞透過性ペプチド (Z14)
配列番号22	KRYKNRVASRKSRAKFK	細胞透過性ペプチド (Z15)
配列番号23	REVAAAKSSENDRLRLLK	細胞透過性ペプチド (Z18)
配列番号24	STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	TLRアゴニスト (Anaxaバリエント)
配列番号25	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIIVLIIITSIKAV YNFATCGILALVSFLFLAGRSCGMYGNGPDIYKG VYQFKSVFEDMSHLNLTMPNACSANNSHHYISMGS SGLELTFTNDSILNHNFCNLTSAPNKKTFDHTLMS IVSSLHLSIRGNSNHKAVSCDFNNGITIQYNLSFS DPQSAISQCRTFRGRVLD MFRTAFGGKYMRSWGW AGSDGKTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCRYAGPF GMSRILFAQEKTKFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVEN PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEF CDMLRLIDYNKAALSKFKQDVESALHVFKTTVNSL ISDQLLMRNHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGE TSVPKCWLVTNGSYLNETHFSQIEQADNMITEM LRKDYIKRQGSTPLALMDLLMFSTAYLISIFLHL VKIPTHRIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVP VKTIWKRR	LCMVのGP
配列番号26	MSVTVKRIIDNTVVVPKLPANEDPVEYPADYFRKS KEIPLYINTTKSLSDLRGYVYQGLKSGNVSIHVN SYLYGALKDIRGKLDKDWSSFGINIGKAGDTIGIF DLVSLKALDGVLPDGVSDASRTSADDKWLPYLLG	水疱性口内炎ウイルス 核タンパク質 (N)

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

	LYRVGRTQMPEYRKKLMDGLTNQCKMINEQFEPLV PEGRDIFDVWGNDSNYTKIVAADMFFHMFKKHEC ASFRYGTIVSRFKDCAALATFGHLCKITGMSTEDV TTWILNREVADEMVMMLPGQEIDKADSYMPYLID FGLSSKSPYSSVKNPAFHFWGQLTALLRSTRARN ARQPDDIEYTSLTAGLLYAYAVGSSADLAQQFCV GDNKYTPDDSTGGLTTNAPPQGRDVVEWLGWFEDQ NRKPTPDMMQYAKRAVMSLQGLREKTIGKYAKSEF DK	
配列番号27	MDNLTKVREYLKSYSRLDQAVGEIDEIEAQRAEKS NYELFQEDGVEEHTKPSYFQAADDSDTESEPEIED NQGLYAPDPEAEQVEGFIQGPLDDYADEEVDVFT SDWKQPELESDEHGKTLRLTSPEGLSGEQKSQWLS TIKAVVQSAKYWNLAECTFEASGEGVIMKERQITP DVYKVTVMNTHPSQSEAVSDVWSLSKTSMTFQPK KASLQPLTISLDELFSRGEFISVGGDGRMSHKEA ILLGLRYKKLYNQARVKYSL	水疱性口内炎ウイル スリン酸化タンパク 質 (P)
配列番号28	MEVHDFETDEFNDFNEDDYATREFLNPDERTMYLN HADYNLNSPLISDDIDNLIRKFNSLPIPSMWD SKN WDGVLEMLTSCQANPIPTSQMHKWMGSWLMSDNHD ASQGYSLHEVDKEAEITFDVVETFIRGWGNKPIE YIKKERWTD SFKILAYLCQKFLDLHKLTLILNAVS EVELLNARTFKGKVRSSHGNTICRIRVPSLGPT FISEGWAYFKKLDILMDRNFLLMVKDVIIGRMQTV LSMVCRIDNLFSEQDIFSLNIIYRIGDKIVERQGN FSYDLIKMVEPICNLKLMKLARESRPLVPQPPHFE NHIKTSVDEGAKIDRGIRFLHDQIMSVKTVDLTLV IYGSRHWGHPFIDYYTGLEKLHSQVTMKKDIDVS YAKALASDLARIVLFQQFNDHKKWFVNGDLLPHDH PFKSHVKENTWPTAAQVQDFGDKWHELPLIKCFEI PDLLDPSIIYSDKSHSMNRSEVLKHVRMNPNTPIP SKKVLQTM LDKATNWKFLKEIDEKGLDDDDLII GLKGKERELKLAGRFFSLMSWKLREYFVITEYLIK THFVPMFKGLTMADDLTAVIKMLDSSSGQGLKSY EAICIANHIDYEKWNHQRKLSNGPVFRVMGQFLG YPSLIERTHEFFEKSLIYYNGRPDLMRVHNNTLIN STSQRVCWQQEGGLEGLRQKGWSILNLLVIQREA KIRNTAVKVL AQGDNQVICTQYKTKSRNVVELQG ALNQMVSNNEKIMTAIKIGTGKGLLINDDETMS ADYLN YGKIPIFRGVIRGLETKRWSRVTCVTNDQI PTCANIMSSVSTNALTVAHFAENPINAMIQYNYFG TFARLLMMHDPALRQSLYEVDKIPGLHSSTFKY AMLYLDPSIGGVSGMSLSRFLIRAFDPVTESLSF WRFIVHARSEHLKEMSAVFGNPEIAKFRITHIDK LVEDPTSLNIAMGMSPANLLKTEVKKCLIESRQTI	水疱性口内炎ウイル ス大型タンパク質 (L.)

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

	RNQVIKDATIYLYHEEDRLRSFLWSINPLFPRFLS EFKSGTFLGVADGLISLFQNSRTIRNSFKKKYHRE LDDLIVRSEVSSLTHLGKHLRRGSCKMWTCSATH ADTLRYKSWGRTVIGTTVPHPLEMLGPQHRKETPC APCNTSGFNYSVHCPDGIHDFSSRGPLPAYLGS KTSESTSLQPWERESKVPLIKRATRLRDAISWFV EPDSKLAMTILSNIHSLTGEWTKRQHGFKRTGSA LHRFSTSRMSHGGFASQSTAALTRLMATTDTRDL GDQNFDFLFQATLLYAQITTTVARDGWITSCTDHY HIACKSCLRPTEBITLDSSMDYTPPDVSHVLKTR NGEGSWGQEIQIYPLEGNWKNLAPAEQSYQVGR IGFLYGDLAYRKSTHAEDSSLFPLSIQGRIRGRGF LKGLDGLMRASCCQVIHRRSLAHLKR PANAVYGG LIYLDKLSVSPFFLSLTRSGPIRDELETIPHKIP TSYPTSNRDMGVIVRNYFKYQCRLIEKGKYSRSHYS QLWLFSDVLSIDFIGPFSISTTLLQILYKPFLSGK DKNELRELANLSSLLRSSEGWEDIHVKFFTKDILL CPEEIRHACKFGIAKDNNDMSYPPWGRESRGTIT TIPVYYTTTPYPMLEMPRIQNPLLSGIRLGQLP TGAHYKIRSIHGMGIHYRDFLSCGDGSGGMTAAL LRENVHSGIFNSLLELSGSMRGASPEPPSALET LGGDKSRCVNETCWEYPSDLCDPRTWDYFLRLKA GLGLQIDLIVDMEVDRSSTSLKIETNVRNYVHRI LDEQGVLIYKTYGTIYCESEKNAVITLGP MFKTVD LVQTEFSSSQTSEVYMVCKGLKKLIDEPNPDWSSI NESWKNLYAFQSSEQEFARAKKVSTYFTLTGIPSQ FIPDPFVNIETMLQIFGVPTGVSHAAALKSSDRPA DLTISLIFYMAIISYYNINIIRVGPIPP NPPSDGI AQNVGIAITGISFWLSLMEKDIPLYQQCLAVIQQS FPIRWEAVSVKGGYKQKWSTRGDGLPKDTRISDSL APIGNWIRSLLEVRNQVRLNPFNEILFNQLCRTVD NHLKWSNLRRNTGMIEWINRRISKEDRSILMLKSD LHEENSWRD	
配列番号29	MSSLKKILGLKKGKKS KKLGIAPPPYEEDTSMEY APSAPIDKSYFGVDEMDTYDPNQLRYEKFFFTVKM TVRSNRPFRTYS DVA AVSHWDHMYIGMAGKRPFY KILAFLGSSNLKATPAVLADQGQPEYHAHCEGRAY LPHRMGKTPPMLNVPEHFRPFNIGLYKGTIELTM TIYDESLEAAPMIWDHFNSSKFSDFREKALMFGL IVEKKASGAWVLD SIGHFK	水疱性口内炎ウイルス マトリックスタン パク質 (M)
配列番号30	UGCUUCUGUUUGUUUGGUAUAAUAGUAAUUUCC GAGUCCUCUUUGAAAUGUCAUAGUUUUACAGAC AAUGUCAGUUCUUAAGUAAACUGUUGUCAGCAU	RNA配列 VSV-GP154 (逆転なしの相補体)

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

CAAGGUUUUGAAGGACGUUUACUCCUAGGUCACCU UAUGGGCCGUCUAAUGAAGUCUUUAGUUUCCUCU AAGGAGAAAUGUAGUUAUGAUGUUUUCAAACAGU CUAGAUCUCCUUAUACAGAUGGUCCGGAGUUUAG GCCUUUACAUAGUUAGUAUGUACAGUUGUCGAUGA ACAUACCUCGUAAUUCUGUAGGCCCCAUUCAAC CUAUUUCUAAACAGUUCAAAGCCUUAUUUGUAGCC CUUUCGUCCCCUAGUUAGCCUUAUAAACUGGAAC AUAGGAACUUUCGGGACCUGCCGCAUGAAGGUCUA CCUCAUAGCCUACGAAGGUCUUGGUCGCGUCUACU GUUUACCAACGGAACAUAAGAUAACCGAAUAUGU CUCACCCGUCUUGUUUACGGACUUAUGUCUUUU UUCGAGUACCUACCCGACUGUUUAGUACGUUUUA CUAGUUACUUGUCAAAACUUGGAGAACACGGUCUUC CAGCACUGUAAAAACUACACACCCCUUACUGUCA UUAUGUGUUUUUAAACAGCGACGUCACCUGUACAA GAAGGUGUACAAGUUUUUUGUACUUAACCGGAGCA AGUCUAUGCCUUGAUAAACAAAGGUCUAAAGUUUCU ACACGACGUAAACCGUUGUAAACCUUGGAGACGUU UUUUGGCCUUAACAGUUGUCUUCUACAUUGCUGGA CCUAGAACUUGGCUCUUAACGUCUACUUUACCAG GUUACUACGAAGGUCGCGUUCUUUAAACUGUCCG GCUAAGUAUGUACGGAUAAACUAGCUGAAACCUA ACAGAAGAUUCAGAGGUUAAGAAGGCAGUUUUUG GGACGGAAGGUGAAGACCCCGUAAACUGUCGAGA AGACGAGUCUAGGUGGUCUGUUCUACGGGCGUG UCGGACUACUGUAAACUUAUGUAGAGAAUGAUGU CGUCCAAACAACUAGCGAAUACGUCAUCCUAGGAG ACGGCUGAACCGUGUUGUCAAAACACAACCUUAU UGUUUAUGUGAGGUCUACUUAUUGGCCUCCUAAAC UGCUGAUUACGGGCGGUGUCCGUCUCUACACCA GCUUACCGAGCCUACCAAACUUCUAGUUUUGUCUU UUGGCUGAGGACUUAUACUACGUCAUACGUUUUCU CGUCAGUACAGUGACGUUCCGGAUUCUCUUCUG UUAACCGUUCUACGAUUCAGUCUUAACUGUUUA CUGGGAUUAUAAAGAGUCUAGUGGAUAAUUAUAAU ACGAUGUAUACUUUUUUGAUUGUCUUAUAGUACCU AUUAGAGUGUUUUAAGCACUUAUAGAGUUCAGGA UAAGAGCAGACCUAGUCCGCCAUCCUCUCUAUCUA CUCUAGCUCUGUGUUGCUCGACUUUCAGGUAAU ACUCAACAAGGUUCUCCUACCUACCUUCUGUAU GAUUCGGGAGAAUAAAAGUCCGUCGUCUACUAGA CUGUGUCUUAAGACUUGGUCUUUAAACUUCUGUAGU UCCGAACAUACGUGGUCUAGGUCUUCGACUCGUUC AACUUCGAAAUUAGUCCCCGGAUUCUACUGAUA CGUCUACUCCUACCUACAACAUAUAAUGAAGCCU GACCUUUGUCGGACUCGAACUUAAGACUGCUGUAC CUUUCUGGAUUGCCAACUGUAGCGGUCUCCAAAU UCACCUCUCGUCUUUAGGGUCACCGAAGCUGCUA AUUUCGUCAGCACGUUUCACGGUUUAUGACCUUAG	10 20 30 40
---	---

ACCGGUCACGUGUAAACUUCGUAGCCCUUCC	
CAGUAAUACUCCUCGCGGUCUAAUGAGGCCUACA	
UAUAUCCAGUGAGGUCACUACUUGUGUGUAGGCA	
GGGUUAGUCUUCGUCUAGUCUACAAACCAGAGAG	
AGUUUCUGUAGGUACUGAAAGGUUGGGUUCUUCG	
UUCAGAAGUCGGAGAGUGGUUAGGAACCUACUUA	
ACAAGAGUAGAUCCUCUCUAGUAGACAGCCU	
CCACUGCCUGCUUACAGAGUAAUUCUCCGGUAGGA	
CGAGCCGGACUCUAUGUUUUCAACAUGUUAGUCC	
GCUCUCAGUUUAAGAGACAUUGAUUUUUUU	
UCAUUGUCUAAUGUGCUAGAUAACAAUAGGCUUA	10
GGUAAAGUAGUACUCAAAGGAUUUCUUAAGAGCC	
AGACUUCUUUUUCCAUUCUUUAGAUUCUUAAUC	
CCUAGCGUGGUGGGGAAUACUUCUCCUGUGAUCG	
UACCUCAUACGAGGCUCCGAGGUUAACUGUUUAG	
GAUAAAACCUCAACUGCUCUACCUGUGGAUACUAG	
GCUUAGUAAUUCUUAUACUUAAGAAGAAUGU	
CACUUUUACUGCCAAUCUAGAUAGCAGGCAAGUC	
UUGUAUGAGUCUACACCGUCGCGGACAUAGGGUAA	
CCCUAGUGUACAUGUAGCCUUAACCGUCCUUUGCA	
GGGAAGAUGUUUAGAACCAGAAAAACCAAGAAG	
AUUAGAUUUCGGUGAGGUCGCCAUAAACCGUCUAG	
UCCAGUUGGUCUCAUAGUGCGAGUGACGCUCCG	
UCCCGAAUAAACGGUGUAUCCUACCCUUCUGGGG	20
AGGGUACGAGUUAUUGGUCUCGUGAAGUCUUCUG	
GUAAGUUUAUACAGAAAUGUCCUUGCUAACUC	
GAGUGUUAUUGGUAUGCUACUACUAGUGACCU	
UCGUCGAGGAUACUAGACCCUAGUAAAGUUAAGAA	
GGUUUAAAAGACUAAAGUCUCUUCGGAUUAC	
AAACCGGACUAAACAGCUCUUUUCGUGAGCCUCG	
CACCCAGGACCUAGAGUAGCCGGUGAAGUUUACUC	
GAUCAGAUUGAAGAUCCAGACTUGUUAGGGGCCA	
AAUGAGUCAGAGGGGAUUAAGGTCGGAGAGCUUGU	
UGAUUAUAGGACAGAAAAGAUAGGGAUACUUUUU	
UGAUUGUCUAGCUAGACAAATCGCGAGUGCCUA	
GGGGGCCCGACGUCCUUAAGCGGUGGUACCCGGUC	30
UAGCACUGGUACAAGCUCGCGGACGGGUGUAGUA	
GCUGCUCCACUAGUUGUAGCACUAGUAGCACGAGU	
AGUAGUAGUGGUCGUAGUUCGGGCACAUGUUGAAG	
CGGUGGACGCGUAGGACCGGGACCACUCGAAGGA	
CAAGGACCGGGCGUCUCCAGCGCGUACAUGCCGG	
ACUUACCGGGGCUAUAAGUUGUCCCGACAUGGUC	
AAGUUCUCGCAACUCAAGCUGUACUCGGUGGACUU	
GGAGUGGUACGGGUUGCGGACGUCGCGGUUGUUAU	
CGGUGGUGAUGUAGUCGUACCCGUCGUCGCCGGAC	
CUCAACUGGAAGUGGUUGCUGUCGUAGGACUUGGU	
GUUGAAGACGUUGGAGUGGUCGCGGAAGUUGUUCU	
UUUGGAAGCUGGUGUGGGAGUACUCGUAGCACUCG	
UCGGACGUGGACUCGUAGUCUCCGUUGUCGUUGGU	
GUUCCGGCACUCGACGCUAAGUUGUUGCCGUAGU	40

GGUAGGUC	CAUGUUGGACUCGAAGUCGCUAGGAGUC	
UCGCGGUAGUCGGUCACGUCUUGGAAGUCUCCGUC		
UCACGACCUGUACAAGUCUUGGCGGAAGCCGCCGU		
UCAUGUACUCUUCGCCGACCCCGACCCGGCCGUCG		
CUGCCGUUCUGGGUGGACCACGUCGGUCUGGUCGAU		
GGUCAUGGAGUAGUAGGUCUUGUCUUGGACCCUCU		
UGGUGACGUCUAUGCGGCCUGGAAAGCCGUACUCG		
UCUUAGGACAAGCGGGUCCUCUUUUGGUUCAAGGA		
GUGGUCCUCUGACCGGCCGUGGAAGUGGACCUGGG		
ACUCGCUGUCGUCGCCGACCCUCUUGGGACCGCCG		
AUGACGGAGUGGUUACCUACUAGGACCGCGGGCU		10
CGACUUCACGAAGCCGUUGUGGCGGCACCGGULCA		
CGUUGCACUUGGUGCUGCUCCUCAAGACGUGUAC		
GACUCUGAGUAGCUGAUGUUGUCCGGCGGGACUC		
GUUCAAGUUCGUCUGCACCUCUCGCGGGACGUGC		
ACAAGUUCUGGUGGCACUUGUCGGAGUAGUCGUCG		
GUCGACGAGUACUCUUUGGUGGACUCUCUGGAGUA		
CCCGCACGGGAGUACGUUGAUGUCGUUCAAGACCA		
UAGACCUCGUGCGGUUCUGGCCGUCUGGUCGCAC		
GGGUUACGACCGACACUGGUUACCUGCGAUGGA		
CUUGCUCUGGGUGAAGUCGUGGUCUAGCUCGUCC		
UUCGGCUGUUGUACUAGUGGCUCUACGACUCCUUC		
CUGAUGUAGUUCUCUGUCCCGUCUGGGGGGACCG		
GGAGUACCUAGACGAGUACAAGUCGUGGUCGCGGA		20
UGGAGUAGUCCUAGAAGGACGUGGACCACUUCUAG		
GGGUGGGUGUCUCUGUAGUCCCCGCCGUCGACGGG		
GUUCGGGGUGUCUGAGUGGUUGUCCCCGUAGACGU		
CGACGCCGCGGAAGUCCACGGGCCGCACUUUUGG		
UAGACCUUCUCCUCUAUUCGCCGGCGAUGCUGGAG		
CUGAUACUUUUUUGAUUGUCUAUAGGAGCUGCGG		
UGGUACUUGGCCUGUGACUGGGACAAGUUGCACUG		
GGCCUUACUGCGGUCUCGGAUGCACAGGCCGUAGG		
UCUUUACGCACAGGCGGUUAUCUUCGUGGGGCAC		
UGUGACCUGCACGACGGACUAUCGUCGAUAGACUC		
GCCGCGGUUGGACUUGGACUCGACGGUAAGACGGA		
GAGGUGUCAUGUCGACCGCCUAGUUGCCUAGGGA		
GUCGUCGUGUGGGUCCACGACAAUAGCGGUUCUA		30
GUGGGGAUUGUUGUUGCCGUGGAUCCGGACGAAGC		
ACAGGUUAGACCGGUGGCCGUCUUUGUUGUCGUAG		
CACUUCAGGUAGUGGCACAGACGGUCGCCGUGUAG		
AGGACCUGACUCGCGGUGUCUAUGUUCGACCACC		
AACACCCUCGACUGCCGCACCCUUUUUCGCCGGAC		
UGUAGGUCGACUAGGUCUGGCUCAUAUUAGGCA		
CCAGCAGCCGCGACAACCGCAACCGUUAGACGAG		
ACUGGUAAGUCGAGUAAGUCCACCGCGACGGUCU		
GGACAAGAAGGACGAGGACGGUAGUCGUCGACCCU		
UUCUCGAUCUUCUCCGUGCAGCCGGCCUUUCUUC		
CGCGCGGAUCUCGAUCUCAAUCGGACGACGGUCUC		
AAACCGUGGCCGCUUCAAGUAGACGGACGAGGAUC		
GCGACAGUCUCGGCGGUCUGGUCCUAAACCGCCUC		40

UAUUCUCCGUCUGAGCACCAGGCAACGUCUUUCUGUC
CACGGGACGUCUAAAGGACUCCGGUUGUCCGCACGA
CUCGGACAAAGAACC GCCUCGACACCACAGGGACG
UCAUGCAGUCUGGAUCGCGAGACUCUUGGGACGAC
CUAGUCUCGCGGUUCCUAAACUAGUUAUCGGUCUA
AGAAGUACAAACCUGGUUUAGUUGAACACUAUGGU
ACGAGUUUCUCCGGAGUUAUAUAAACUAAAAAU
UAAAAUACUUUUUUUGAUGUCGUUAGUACCUUC
AGGUGCUAAAAACUCUGGCUGUCUAAAGUUAACUAAAG
UUACUUCUACUGAUACGGUUGUUCUUAAGGACUU
AGGGCUACUCGCGUACUGCAUGAACUUAAGUACGAC
UAAUGUUGGACUUAAGAGGAGAUUAUACUACUA
UAAUGUUAAAAUAGUCCUUUAAGUUAAGAGAAGG
UUAAGGGAGCUACACCCUAUCAUUCUUGACCCUAC
CUCAAGAACUCUACAAUUGCAGUACAGUUCGGUTA
GGGUAGGGUUGUAGAGUCUACGUUUUACCUACCC
UUCAACCAAUACAGACUUAUAGUACUACGGUCAG
UUCCCAUAUCAAAAAAUAGUACUACCCUGUUUCUC
CGUCUUUAUUGUAAACUGCACCACCUCUGGAAGUA
GGCGCCGACCCCGUUGUUGGUUAACUUAUGUAGU
UUUUCUUUCUACCGACUGAGUAAGUUUUAAGAG
CGAAUAAACACAGUUUUUAAAAACUGAAUGUGU
CAACUGUAAUUGAAAUUUACGACAGAGACUCCACC
UUAACGAGUUGAACCGCUCUGAAAGUUUCCGUUU
CAGUCUUCUCUAAAGAGUACCUUGCUUGUAUACGUC
CUAAUCCCAAGGGUCGAACCCAGGAUGAAAAUAAA
GUCUUCUACCCGAAUGAAGUUCUUGAACUUAUA
GAUUACCUGGCUUUGAAAGACAAUUAACAGUUCU
ACACUAAUAUCCCUUACGUUUGCCACGAUAGGU
ACCAUACAUUCUUAUCUGUUGGACAAGAGUCUCGUU
CUGUAGAAGAGGGAAGAUUUUAUGAUGUCUUAACC
UCUAAUUUAAACCCUCUCGUCUCCUUAAAAAGAA
UACUGAACUAAUUUUAACCUUGGCUAUACGUUG
AACUUCGACUACUUUAAUUGUUCUUAAGUUCGG
AAAUCAGGGUGUUAAGGGAGUAAAAACUUUAGUAU
AGUUCUGAAGACAACUACUCCCGUUUUUAAACUG
GCUCCAUAUUCUAAAGGAGGUACUAGUCUUAUACUC
ACACUUUUGUCACCUAGAGUGUGACCACUAAAUAC
CUAGCAAGUCUGUAAACCCAGUAGGAAAAUAUCUA
AUAAGUGAGCCUGAUCUUUUUAUGUAAGGGUUA
UUGGUACUUCUUCUUAUAACUACAGUAUACGUU
UUCGUGAACGUUCACUAAAUUGAGCCUAAACAAGAU
AAAGUUGUCAAGUUAUAGUAUUUUUACCAAGCA
CUUACCUCUGAACGAGGGAGUACUAGUAGGGAUU
UUUCAGUACAAUUUCUUUAUGUACCGGGUGUCGA
CGAGUUCAGUUCUAAAAACCUUAUUUACCGUACU
UGAAGGCAGUAAUUUACAAACUUAUGGGCUGA
AUGAUCUGGGUAGCUAAUUUAUGAGACUGUUUCA
GUAAGUUACUUAUCCAGUCUCCACAACUUUGUACA
GGCUUACUUAAGGUUGUGAGGAUAGGGAUCAUUUU

40

【表 3 - 9】

UCCACAACGUCUGAUACAACCUGUGUUUCCGAUGG	
UUAACCUUUCUUAAGAAUUCUCUAACUACUCUU	
CCCGAAUCUACUACUACUAGAUUAUAACAGAAU	
UUCUUUCCUCUCCUUGACUUAACCGUCCAUCU	
AAAAAGAGGGAUACAGAACCUUUAACGCUCUUU	
GAAACAUUAUAGGCUUAUAAACUAAUUCUGAGUAA	
AGCAGGGAUACAAAUUCCGGACUGUUAACCGCUG	
CUAGAUUGACGUCAGUAAUUAUUAACAAUCUAAG	
GAGUAGGCCGGUCCUAAACUUCAGUUAACUCCGUU	
AAACGUUUCGGUAGUGUAACUAAUGCUUUUUAAC	
UUAUUGGUGGUUCCUUAUAGUUUGCCGGGUC	10
CAAGGCUCAAUACCCGGUCAAGAAUCCAUAAGGUA	
GGAAUUAAGCUCUCUUGAGUACUAAAAACUCUUU	
UCAGAAUAUAUGAUUUACCUUCUGGUCUGAACUA	
CGCACAAAGUGUUGUGUGACUAGUUAAGUUGGA	
GGGUUGCUCAAACAACCGUCCUGUUCUCCACCU	
GACCUUCCAGAUCCGUUUUCCUACCUCAUAGGA	
GUUAGAUGACCAUAAGUUUCUCCGAUUUUAGU	
CUUUGUGACGACAGUUUCCAGAACCGUGUCCACUA	
UUAGUUCAAUAAACGUGUGUCAUAUUUGCUUCUU	
UAGCUCUUUGCAACAUUUUAUGUCCACGAGAGU	
UAGUUUACCAAAGAUUAUUAUCUUUUAAUACUGA	
CGUUAGUUUAUCCUGUCCCUCAUCCUGAAAA	20
CUAUUUACUGCUACUCUGAUACGUUAGACGUCUAA	
UGAACUUAUUAACUUUUUAUGGCUAAAAGGCACCU	
CACUAAUUCUCCAAUCUCUGGUUCUCUACCAGUGC	
UCACUGAACACAGUGGUUACUGGUUUUUGGGUGAA	
CACGAUUUAUUAUCUGAGUCAAAGGUGUUUACGA	
GAGUGGCAUCGAGUAAAACGACUCUUGGGUUAGUU	
ACGGUACUAUGUCAUGUUAAUAAAACCCUGUAAAC	
GAUCUGAGAACAACUACUACGUACUAGGACGAGAA	
GCAGUUAGUAACAUAUUAAGUUCUAUUCUAUGG	
CCCGAACGUGUCAAGAUGAAAGUUUAUGCGGUACA	
ACAUAAACCGGGAAGGUAACCUCCUACAGCCCG	
UACAGAAACAGGUCCAAAAACUAAUCUGGAAGGG	
UCUAGGGCAUUGUCUUUCAGAGAGUAAGACCUCUA	
AGUAGGUACAUGUACGAGCTUCACUCGUAGACUUC	30
CUCUACUCACGUCUAAACCUUUGGGGUCUAUCG	
GUUCAAAGCUUAUUGAGUGUAUCUGUUCGAUCAUC	
UUCUAGGUUGGAGAGACUUGUAGCGAUACCUUAC	
UCAGGUCGCUUGAACAAUUCUGACUCCAAUUUUU	
UACGAAUUAAGCUUAGUUCUGUUUGGUAGUCCUUGG	
UCCACUAAUCCUACGUUGGUUAUAAACAUAAGUA	
CUUCUCCUAGCCGAGUCUUCAAAGAAUACCAGUUA	
UUUAGGAGACAAGGGAUCUAAAAUUCACUUAAGU	
UUAGUCCGUGAAAAAACCCUACGCGUCUGCCCGAG	
UAGUCAGAUAAAGUUUAAGAGCAUGAUAGCCUU	
GAGGAAAUUCUUUUCAUAGUAUCCCUAAACCUAC	
UAAACUAAACACUCCUACUCCAUAGGAGAAACUGU	
GUAAAUCCCUUGAAGUAAACUUCUCCCUAGUAC	40

AUUUUUACACCGUACAAAGUCGUAUGAGUACGACGUGU
GUAUUUCUAUGUUUAGGACCCCGGCAUGUCAAUAA
CCCUGUUGACAUGGGGUAGGUAAUUCUUACAACCC
AGGUGUUGUAGCUUUUCUCUGAGGAACACGUGGUA
CAUUGUGUAGUCCCAAGUAAUACAAAGACACGUA
ACAGGUCUGCCCUAGGUACUGCAGAAAUCAAGUGC
CCCUGGUAACGGACGAAUAGAUCCAGAUUUUGUA
GACUUAGAUGUAGAUAAAACGUCGGAAACCCUUC
CUUUCGUUUCAGGGUGACUAAUUUUCUGAUGUGC
AGAAUCUCUACCAUAGAGAACCAACAACUUGGGC
UGAGAUUUUGAUCGUUACUGAUATGAAAGAUUGUAG
GUGAGAAAUUGUCCGCUUCUUAACGUGUUUCCGU
CGUACCCAAGUUUUCUGUCCAGACGGGAAGUAA
CCAAAAGCUGUAGAGCCUACUCGGUACCAACCAAG
CGUAGAGUCUCGUGACGUCGUAACUGGUCCAACUA
CCGUUGAUGUCUGUGGUACUCCCUAGACCCUCUAG
UCUUAAAAGCUGAAAAAUAGGUUCGUUGCAACGAG
AUACGAGUUUAAUGGUGGUGACAACGUUCUCUGCC
UACCUAGUGGUCAACAUGUCUAGUAAUAGUAAAC
GGACAUUCAGGACAAAUCUCUGGGUAUCUUCUCUAG
UGGGACCUGAGUUCAUACUGAUGUGCGGGGGUCU
ACAUAGGGUACACGACUUCUGUACCUCCUACCCC
UCCCAAGCACCCCUGUUCUCUAAUUUGUCUAGATA
GGAAAUCUCCCUAAACCUUCUAAAUCGUGGACG
ACUCGUUAGGAUAGUUCAGCCGUCUACAUAUCCAA
AAGAUUUAACUCUGAACCGCAUAUCUUUAGAU
GUACGGCUCUGUCAAGAGAUAAAGGAGAUAGAU
UGUUCAGCAUAUUCUCCAGCUCCAAAGAAUUUUC
CCAACGAUCUGCCUAAUUAUCUCUGUUAACGACG
GUUCAUUUUGUGGCCUCUUCAGACCGAGUAAACU
CUCCGGCCGGUUGCGUCAUAUGCCUCAAACUAAA
UGAACUAACUAAUUAACUCACAUAGUGGAGGUAAG
GAAAGAGAAUGAUCUAGUCCUGGAUAAUCUCUGCU
UAAUCUUUGCUAAGGGGUGUUCUAGGGUUGGAGGA
UAGGCUGUCCGUUGGCACUAUACCCACUAACAG
UCUUUAAUGAAGUUUAUGGUUAACGGCAGUAAACU
UUUCCCUUUUAGUCUAGUGUAAUAAUGUGUAAUA
CCAAUAAGAGUCUACAGAAUAGGUUUCUGAAGUAA
CCUGGUAAGAGAUAAAGGUGGUGGAGAACGUUA
GGAUAUGUCCGUAAAAAUAGACCCUUCUUAUUCU
UACUCAACUCUCUGACCGUUAAGAAAGAAAGUAA
GAUUCUAGUCCUCUCCCCACCCUUCUGUAUGUACA
CUUUAAGAGUGGUUCCUGUAUAAUAAACAGGUC
UCCUUUAGUCUGUACGAACGUUCAAGCCCUAACGA
UUCCUAUUAUUAUUUCUGUACUGAUAGGGGGAAC
CCCUUCCCUUAGGUCUCCUGUUAAGUUGUAGG
GACAAUAAUUAUGCUGGUGGGGAUAGGUUUUAC
GAUCUCUACGGAGGUUCUAGGUUUUAGGGGACGA
CAGGCCUUAUGUCCAACCCGGUUAAUGGUUGACCGC
GAGUAAUUAUUUAAGCCUCAUAUAAUGUACCUUAC

40

【表 3 - 1 1】

	CCUUAGGTAAGUCCCGAAGAACUCAACACCUCU GCCGAGGCCUCCUACUGACGACGUAAGUAGCUC UUUUACACGUAUCGUCUCCUUAAGUUAUCAGAC AAUCUUAAGUCCAGUCAGUACGCUCCGCGGAG AGGACUCCGGGGGUCACGGGACUUGAAAUCUC CUCUAAUAGCUCUACACAUUACCACUUGUACA ACCCUUAAGGUAGACUGAAUACACUGGGUCCUG AACCCUGAUAAAGGAGGUGAGUUUCGUCCGAACC CCGAAGUUUAACUAAAUAAACAUUACCUAUACCU CAAGCCCUAAGAAGAUAGUCCGACUUUAACUCUG CUUACAACUUAUACACGUGGCCUAAAACCUAC UCGUCCUCAAAAUAGAUUUCUGAAUACCUUGU AUUAUAAACACUCUCGUUUUCUACGUCAUUGUUA GGAACCAGGGUACAAGUUCUGCCAGCUGAAUCAAG UUGUCUUAUAUCAAGAGUUUGCAGACUUCAU AUUAACCAUACAUUCCAAACUUCUUAUUAGCU ACUUGGUUAGGGCUAACAGAGGUAGUACUUA GGACCUUUUGGACAUCCGUAAGGUCAGUAGUCUU GUCCUUAACGGUCUCGUUUUCUCCAAUCAUGUAU GAAAUUGGAACUGUCCAUAAGGAGGGUUAAGUAG GACUAGGAAAACAUUUGAACUCUGAUACGAUGUU UAUAGCCUCAUGGGUGCCACACAGAGUACGCCG ACGGAUUUUAGUAGACUUCUGGACGUCUAAUA ACUGGUAAUCGGAUAAAUUACCGCUAAUAGC AUAAUUAUGUAGUAGUUAUAGUCUACUCCUGGCUA UGGAGGCUUGGGGGUAGUCUACCUUACGUGUUU UACACCCUAGCGAUUUGACCAUUAUCGAAAACC GACUCAAACUACCUCUUUCUGUAAGGUGAUUAGU UGUCACAAUUCGUCAAUAGGUCGUUAGUAAGGCCU AAUCCACCCUCCGACAAAGUCAUUUCCUCCUAG UUCGUCUACCCUCAUGAUCUCCACUACCCGAGGG UUUUCUAUGGGCUAAAGUCUGAGGAACCGGGGU AGCCCUUGACCUAGUCUAGAGACCUUAAACAGGCU UUGGUUCAAGCAGAUUAGGUAAUACUCUAGAA CAAGUAGUCGAUACAGCAUGUCACCUAUUAGUAA ACUUUACCAGUUUAAACGCUUCUUGUGUCCUAC UAACUUACCUAGUUAUCUGCUUAAAGUUUCUUCU GGCCAGAUAGACUACAACUUCUACUGGAUGUGC UCCUUUUGAGAACCUCUCUAAUUUUUAGUACUCC UCUGAGGUUUGAAAUUCAUACUUUUUUGAAACUA GGAAUUCUGGGGAGAACCAAAAAUAAAAUAGA CCAAAACACCAGAAGCA	
配列番号31	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS WVRQAPGKLEWVAYISGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNYY AMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP	抗PD1抗体PD1-1の 重鎖

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 2】

	KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG	
配列番号32	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGIS FMNWWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSG SGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	抗PD1抗体PD1-1の 軽鎖
配列番号33	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNYY AMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYYTCNVDEHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG	抗PD1抗体PD1-2の 重鎖
配列番号34	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGIS FMNWWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSG SGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	抗PD1抗体PD1-2の 軽鎖
配列番号35	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYY AMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYYTCNVDEHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG	抗PD1抗体PD1-3の 重鎖
配列番号36	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGIS FMNWWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFSGSG SGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL	抗PD1抗体PD1-3の 軽鎖

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 3】

	NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	
配列番号37	GTGGCCGCTGCCAGACCTGTTCTTCTGCTCCTGC CATCAGCGACTGGGAAAGAGCTAGAAGAAGGCAC	KRAS-uORF1
配列番号38	GTCGGCCGGAAGAAGGCGCCGCTAGAGCTAGAGT TAGCCTGCTGCCAGAGTTTGGCACCGCCGAAGTTC ATCTGCCTGCTCCTAGCGCTGTCAGAGCGCCAGA CCAGGATT	TPX2-uORF1
配列番号39	GGCGGAGATAAGGGCAGACTCGTGGGCGTTGCAGA AAGACAGGTGCCCTGCAGATTCTGAGGCCA	AURKA-uORF2
配列番号40	AACCGGACACTGACCCTGTTCAACGTGACCCGGA TGACGCCAGAGCCTACGTGTCCGGCATCCAGAATA GCGTGTCCGCCAATAGAAGCGACCCCGTGACACTG GACGTGCTG	CEACAM5断片
配列番号41	CCTGATAGCAGCTATCTGAGCGGCGCCAACCTGAA CCTGAGCTGCCATTCTGCCTCT	CEACAM5断片
配列番号42	CCACAGTACAGCTGGCGGATCAACGGAATCCCTCA GCAGCACACCCAGGTGCTGTTATCGCCAAGATCA CCCCTAACAAACACGGCACCTACGCCTGCTTCGTG TCCAATCTGGCCACCGGCAGAAACAACAGCATCGT GAAGTCCATCACCGTGTCTGCCAGCGGCACATCTC CTGGACTGAGCGCC	CEACAM5断片
配列番号43	GGCGGAGATAAGGGCAGACTCGTGGGCGTTGCAGA AAGACAGGTGCCCTGCAGATTCTGAGGCCA	DUOXA2断片
配列番号44	ACAGAGTACAAGCTGGTGGTTGTGGGAGCTGACGG CGTGGGAAAAAGCGCCCTGACAATCCAGCTGATCC AG	KRAS-G12D断片
配列番号45	ACCGAGTATAAACTCGTGGTCTCGGCGCTGTTGG CGTTGGCAAATCTGCTCTGACCATTGAGCTCATT AG	KRAS-G12V断片
配列番号46	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAKSSND RLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSAN RSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWR INGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGV GKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHV GRKEGAARARVSLLPEFGTAEVHLPAPSAVRAARP GFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGA VVSLQYVRPSALRTLDDQSAKDSTVHEILSKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP150 (v2)
配列番号47	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAKSSND RLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSAN RSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWR INGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGAVGV GKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHV GRKEGAARARVSLLPEFGTAEVHLPAPSAVRAARP GFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGA	ATP152 (v2)

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 4】

	VVSLQYVRPSALRTLDDQSAKDSTVHEILSKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	
配列番号48	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTL DVLDPSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQ HTQVLFIAKITPNNGTYACFVSNLATGRNNSIVK SITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTI QLIQTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPV LPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLPEFG TAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVP CRFLRPTGVL SLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLDDQ SAKD	多抗原性ドメイン VSV-GP154 (v2)
配列番号49	ACGAAGACAAACAAACCATTATTATCATTAAAAGG CTCAGGAGAACTTTAACAGTAATCAAATGTCTG TTACAGTCAAGAGAATCATTGACAACACAGTCGTA GTTCCAAAACCTTCTGCAATGAGGATCCAGTGGA ATACCCGGCAGATTACTTCAGAAAATCAAAGGAGA TTCCTCTTTACATCAATACTACAAAAAGTTTGTCA GATCTAAGAGGATATGTCTACCAAGGCCTCAAATC CGGAAATGTATCAATCATACATGTCAACAGCTACT TGTATGGAGCATTAAAGGACATCCGGGGTAAGTTG GATAAAGATTGGTCAAGTTTCGGAATAAACATCGG GAAAGCAGGGGATACAATCGGAATAITTGACCTTG TATCCTTGAAAGCCCTGGACGGCGTACTTCCAGAT GGAGTATCGGATGCTTCCAGAACCAGCGCAGATGA CAAATGGTTGCCCTTGTATCTACTTGGCTTATACA GAGTGGGCAGAACACAAATGCCTGAATACAGAAAA AAGCTCATGGATGGGCTGACAAATCAATGCAAAAT GATCAATGAACAGTTTGAACCTCTTGTGCCAGAAG GTCGTGACATTTTTGATGTGTGGGGAAATGACAGT AATTACACAAAAATTGTCGCTGCAGTGGACATGTT CTTCCACATGTTTCAAAAAACATGAATGTGCTCGT TCAGATACGGAATATTGTTTCCAGATTCAAAGAT TGTGCTGCATTGGCAACATTTGGACACCTCTGCAA AATAACCGAATGTCTACAGAAGATGTAACGACCT GGATCTTGAACCGAGAAGTTGCAGATGAAATGGTC CAAATGATGCTTCCAGGCCAAGAAATTGACAAGGC CGATTACATACATGCCTTATTTGATCGACTTTGGAT TGTCTTCTAAGTCTCCATATTCTTCCGTCAAAAAAC CCTGCCTTCCACTTCTGGGGCAATTGACAGCTCT TCTGCTCAGATCCACCAGAGCAAGGAATGCCCGAC AGCCTGATGACATTGAGTATACATCTCTTACTACA GCAGGTTTGTGTACGCTTATGCAGTAGGATCCTC TGCCGACTTGGCACAAACAGTTTGTGTGGAGATA ACAAATACACTCCAGATGATAGTACCGGAGGATTG ACGACTAATGCACCGCCACAAGGCAGAGATGTGGT CGAATGGCTCGGATGGTTTGAAGATCAAAACAGAA AACCGACTCCTGATATGATGCAGTATGCGAAAAGA GCAGTCATGTCACTGCAAGGCCTAAGAGAGAAGAC AATTGGCAAGTATGCTAAGTCAGAATTGACAAAT GACCCATAATTCTCAGATCACCTATTATATATTA	VSV-GP154のcDNA配 列

10

20

30

40

50

TGCTACATATGAAAAAACTAACAGATATCATGGA TAATCTCACAAAAGTTTCGTGAGTATCTCAAGTCCT ATTCTCGTCTGGATCAGGCGGTAGGAGAGATAGAT GAGATCGAAGCACAACGAGCTGAAAAGTCCAATTA TGAGTTGTTCCAAGAGGATGGAGTGAAGAGCATA CTAAGCCCTCTTATTTTCAGGCAGCAGATGATTCT GACACAGAATCTGAACCAGAAAATTGAAGACAATCA AGGCTTGTATGCACCAGATCCAGAAGCTGAGCAAG TTGAAGGCTTTATACAGGGGCCCTTTAGATGACTAT GCAGATGAGGAAGTGGATGTTGTAATTTACTTCGGA CTGAAAACAGCCTGAGCTTGAATCTGACGAGCATG GAAAGACCTTACGGTTGACATCGCCAGAGGGTTTA AGTGGAGAGCAGAAAATCCCAGTGGCTTTCGACGAT TAAAGCAGTCGTGCAAAGTGCCAAATACTGGAATC TGGCAGAGTGCACATTTGAAGCATCGGGAGAAGGG GTCATTATGAAGGAGCGCCAGATAACTCCGGATGT ATATAAGGTCACTCCAGTGATGAACACACATCCGT CCCAATCAGAAGCAGTATCAGATGTTTGGTCTCTC TCAAAGACATCCATGACTTTCCAACCAAGAAAGC AAGTCTTCAGCCTCTCACCATATCCTTGGATGAAT TGTTCTCATCTAGAGGAGAGTTCATCTCTGTGCGA GGTGACGGACGAATGTCTCATAAAGAGGECATCCT GCTCGGCCTGAGATACAAAAGTTGTACAATCAGG CGAGAGTCAAATATTCTCTGTAGACTATGAAAAAA AGTAACAGATATCACGATCTAAGTGTATCCCAAT CCATTTCATCATGAGTTCCTTAAAGAAGATTCTCGG TCTGAAGGGGAAAGGTAAGAAATCTAAGAAATTAG GGATCGCACCAACCCCTTATGAAGAGGACACTAGC ATGGAGTATGCTCCGAGCGCTCCAATTGACAAATC CTATTTTGGAGTTGACGAGATGGACACCTATGATC CGAATCAATTAAGATATGAGAAAATCTTCTTTACA GTGAAAATGACGGTTAGATCTAATCGTCCGTTTCA AACATACTCAGATGTGGCAGCCGCTGTATCCATT GGGATCACATGTACATCGGAATGGCAGGGAACGT CCCTTCTACAAAATCTTGGCTTTTTTGGGTTCTTC TAATCTAAAGGCCACTCCAGCGGTATTGGCAGATC AAGGTCAACCAGAGTATCACGCTCACTGCGAAGGC AGGGCTTATTTGCCACATAGGATGGGAAGACCCC TCCCATGCTCAATGTACCAGAGCACTTCAGAAGAC CATTCAATATAGGTCTTTACAAGGGAACGATTGAG CTCACAAATGACCATCTACGATGATGAGTCACTGGA AGCAGCTCCTATGATCTGGGATCATTTCAATTCTT CCAAATTTTCTGATTTCAGAGAGAAGGCCTTAATG TTTGGCCTGATTGTGAGAAAAAGGCATCTGGAGC GTGGGTCTTGGACTCTATCGGCCACTTCAAATGAG CTAGTCTAACTTCTAGCTTCTGAACAAATCCCCGGT TTACTCAGTCTCCCCTAATTCAGCCTCTCGAACA ACTAATATCCTGTCTTTTCTATCCCTATGAAAAAA ACTAACAGAGATCGATCTGTTTACGCGTCACGGAT CCCCCGGGCTGCAGGAATTCGCCACCATGGGCCAG	10	20	30	40
--	----	----	----	----

0

30

CAGCAGCACACACCCAGGTGCTGTTATCGCCAAGAT
CACCCCTAACAAACACGGCACCTACGCCCTGCTTCG
TGTCCAATCTGGCCACCGGCAGAAACAACAGCATC
GTGAAGTCCATCACCGTGTCTGCCAGCGGCACATC
TCCTGGACTGAGCGCCACAGAGTACAAGCTGGTGG
TTGTGGGAGCTGACGGCGTGGGAAAAAGCGCCCTG
ACAATCCAGCTGATCCAGACCGAGTATAAACTCGT
GGTCGTGGCGCTGTGGCGTTGGCAAATCTGCTC
TGACCATTGAGCTCATTAGGTGGCCGCTGCCAGA
CCTGTTCTTCCTGCTCCTGCCATCAGCGACTGGGA
AAGAGCTAGAAGAAGGCACGTCGGCCGAAAGAAG
GCGCCGCTAGAGCTAGAGTTAGCCTGCTGCCAGAG
TTTGGCACCGCCGAAGTTCATCTGCCTGCTCCTAG
CGCTGTCAGAGCCGCCAGACAGGATTTGGCGGAG
ATAAGGGCAGACTCGTGGCGTTGCAGAAAGACAG
GTGCCCTGCAGATTCCTGAGGCCAACAGGCGTGCT
GAGCCTGTTTCTTGGCGGAGCTGTGGTGTCCCTGC
AGTACGTCAGACCTAGCGCTCTGAGAACCCTGCTG
GATCAGAGCGCCAAGGATTGATCAACTAGCCAGAT
TCTTCATGTTTGGACCAATCAACTTGTGATACCA
TGCTCAAAGAGGCCTCAATTATATTTGAGTTTTTA
ATTTTTATGAAAAAACTAACAGCAATCATGGAAG
TCCACGATTTTGAGACCGACGAGTTCAATGATTTT
AATGAAGATGACTATGCCACAAGAGAATTCCTGAA
TCCCGATGAGCGCATGACGTACTTGAATCATGCTG
ATTACAACCTGAATTCCTCTAATTAGTGATGAT
ATTGACAATTTAATCAGGAAATTCATTCCTTCC
AATTCCTCGATGTGGGATAGTAAGAACTGGGATG
GAGTTCTTGAGATGTTAACGTCATGTCAAGCCAAT
CCCATCCCAACATCTCAGATGCATAAATGGATGGG
AAGTTGGTTAATGTCTGATAATCATGATGCCAGTC
AAGGGTATAGTTTTTACATGAAGTGGACAAAGAG
GCAGAAATAACATTTGACGTGGTGGAGACCTTCAT
CCGCGGCTGGGGCAACAAACCAATTGAATACATCA
AAAAGGAAAGATGGACTGACTCATTCAAAATTCCTC
GCTTATTTGTGTCAAAAGTTTTTTGGACTTACACAA
GTTGACATTAATCTTAAATGCTGTCTCTGAGGTGG
AATTGCTCAACTTGGCGAGGACTTTCAAAGGCAAA
GTCAGAAGAAGTTCTCATGGAACGAACATATGCAG
GATTAGGGTTCACAGCTTGGGTCTACTTTTATTT
CAGAAGGATGGGCTTACTTCAAGAACTTGATATT
CTAATGGACCGAAACTTTCTGTTAATGGTCAAAGA
TGTGATTATAGGGAGGATGCAACGGTGCTATCCA
TGGTATGTAGAATAGACAACCTGTTCTCAGAGCAA
GACATCTTCTCCCTTCTAAATATCTACAGAATTGG
AGATAAAATTGTGGAGAGGCAGGGAAATTTTCTT
ATGACTTGATTAAAAATGGTGAACCGATATGCAAC
TTGAAGCTGATGAAATTAGCAAGAGAATCAAGGCC
TTTAGTCCCACAATTCCTCATTTTGAAATCATA
TCAAGACTTCTGTTGATGAAGGGGCAAAATTGAC

40

40

C G A G G T A T A A G A T T C C T C C A T G A T C A G A T A A T G A C
 T G T G A A A C A G T G G A T C T C A C A C T G G T G A T T T A T G
 G A T C G T T C A G A C A T T G G G G C T A T C C T T T T A T A G A T
 T A T T A C A C T G G A C T A G A A A A A T T A C A T T C C C A A G T
 A A C C A T G A A G A A A G A T A T T G A T G T G T C A T A T G C A A
 A A G C A C T T G C A A G T G A T T T A G C T C G G A T T G T T C T A
 T T T C A A C A G I T C A A T G A T C A T A A A A A G T G G T T C G T
 G A A T G G A G A C T T G C T C C C T C A T G A T C A T C C C T T T A
 A A A G T C A T G T T A A G A A A A A C A T A G C G C C C A C A G C T
 G C T C A A G T T C A A G A T T T T G G A G A T A A A T G G C A T G A
 A C T T C C G C T G A T T A A A T G T T T T G A A A T A C C C G A C T
 F A C T A G A C C C A T C G A T A A T A T A C T C T G A C A A A A G T
 C A T T C A A T G A A T A G G T C A G A G G T G T T G A A A C A T G T
 C C G A A T G A A T C C G A A C A C T C T A T C C C T A G T A A A A
 A G G T G T T G C A G A C T A T G T T G G A C A C A A A G G C T A C C
 A A T T G G A A G A A T T T C T T A A A G A G A T T G A T G A G A A
 G G G C T T A G A T G A T G A T G A T C T A A T T A T T G G T C T T A
 A A G G A A A G G A G A G G G A A C T G A A G T T G G C A G G T A G A
 T T T T T C T C C C T A A T G T C T T G G A A A T T G C G A G A A T A
 C T T T G T A A T T A C C G A A T A T T T G A T A A A G A C T C A T T
 T C G T C C C T A T G T T T A A A G G C C T G A C A A T G G C G G A C
 G A T C T A A C T G C A G T C A T T A A A A A G A T T G T A G A T T C
 C T C A T C C G G C A A G G A T T A A A G T C A T A T G A G G C A A
 T T T G C A T A G C C A A T C A C A T T G A T T A C G A A A A A T G G
 A A T A A C C A C C A A A G G A A G T T A T C A A A C G G C C C A G T
 G T T C C G A G T T A T G G G C C A G T T C T T A G G T T A T C C A T
 C C T T A A T C G A G A G A A C T C A T G A A T T T T T G A G A A A
 A G T C T T A T A T A C T A C A A T G G A A G A C C A G A C T T G A T
 G C G T G T T C A C A A C A C A C A C T G A T C A A T T C A A C C T
 C C C A A C G A G T T T G T T G G C A A G G A C A A G A G G G T G G A
 C T G G A A G G T C T A C G G C A A A A A G G A T G G A G T A T C C T
 C A A T C T A C T G G T T A T T C A A A G A G A G G C T A A A A T C A
 G A A A C A C T G C T G T C A A A G I C T T G G C A C A A G G T G A T
 A A T C A A G T T A T T T G C A C A G T A T A A A A C A A G A A
 A T C G A G A A A C G T T G T G A A A T T A C A G G G T G C T C T C A
 A T C A A A T G G T T T C T A A T A A T G A G A A A A T T A T G A C T
 G C A A T C A A A A T A G G G A C A G G G A A G T T A G G A C T T T T
 G A T A A A T G A C G A T G A G A C T A T G C A A T C T G C A G A T T
 A C T T G A A T T A T G G A A A A A T A C C G A T T T T C C G T G G A
 G T G A T T A G A G G G T T A G A G A C C A A G A G A T G G T C A C G
 A G T G A C T T G T G T C A C C A A T G A C C A A A T A C C C A C T T
 G T G C T A A T A T A A T G A G C T C A G T T T C C A C A A A T G C T
 C T C A C C G T A G C T C A T T T T G C T G A G A A C C C A A T C A A
 T G C C A T G A T A C A G T A C A A T T A T T T T G G G A C A T T T G
 C T A G A C T C T T G T T G A T G A T G C A T G A T C C T G C T C T T
 C G T C A A T C A A T T G A T G A A C T T C A A G A T A A G A T A C C
 G G G C T T G C A G C A G T T C T A C T T T C A A A T A C G C C A T G T
 T G T A T T T G G A C C G T T C C A T T T G G A G G A G T G T C G G G C
 A T G T C T T T G T C C A G G T T T T T G A T T A G A G C C T T C C C
 A G A T C C C G T A A C A G A A A G T C T C T C A T T C T G G A G A T

TCATCCATGTACATGCTCGAAGTGAGCATCTGAAG	
GAGATGAGTGCAGTATTTGGAAACCCGAGATAGC	
CAAGTTTCGAATAACTCACATAGACAAGCTAGTAG	
AAGATCCAACCTCTCTGAACATCGCTATGGGAATG	
AGTCCAGCGAACTTGTTAAAGACTGAGGTTAAAAA	
ATGCTTAATCGAATCAAGACAAACCATCAGGAACC	
AGGTGATTAAGGATGCAACCATATATTGTATCAT	
GAAGAGGATCGGCTCAGAAGTTTCTTATGGTCAAT	
AAATCCTCTGTTCCCTAGATTTTTAAGTGAATTCA	
AATCAGGCACTTTTTTGGGAGTCGCAGACGGGCTC	
ATCAGTCTATTTCAAAATTCTCGTACTATTTCGGAA	10
CTCCTTTAAGAAAAAGTATCATAGGGAATTGGATG	
ATTTGATTGTGAGGAGTGAGGTATCCTCTTTGACA	
CATTTAGGGAACTTCATTTGAGAAGGGGATCATG	
TAAAATGTGCACATGTTGAGTACTCATGCTGACA	
CATTAAGATACAAATCCTGGGGCCGTACAGTTATT	
GGGACAACGTGACCCCATCCATTAGAAATGTTGGG	
TCCACAACATCGAAAAAGAGCTCCTTGTGCACCAT	
GTAACACATCAGGGTTCAATTATGTTTCTGTGCAT	
TGTCCAGACGGCATCCATGACGTCTTTAGTTCACG	
GGGACCATTGCCCTGCTTATCTAGGGTCTAAACAT	
CTGAATCTACATCTATTTTGAGCCTTGGGAAAGG	
GAAAGCAAAGTCCCACTGATTAAGAGCTACACG	
TCTTAGAGATGCTATCTCTTGGTGTGTAACCCG	20
ACTCTAAACTAGCAATGACTATACTTTCTAACATC	
CACTCTTTAACAGGCGAAGAATGGACCAAAAGGCA	
GCATGGGTTCAAAAGAACAGGGTCTGCCCTTCATA	
GGTTTTCGACATCTCGGATGAGCCATGGTGGGTTT	
GCATCTCAGAGCACTGCAGCATTGACCAGGTTGAT	
GGCAACTACAGACACCATGAGGGATCTGGGAGATC	
AGAATTTTCGACTTTTTATTCCAAGCAACGTTGCTC	
TATGCTCAAATTACCACCCTGTTGCAAGAGACGG	
ATGGATCACCAGTTGTACAGATCATTATCATATTG	
CCTGTAAGTCTGTTTGAGACCCATAGAAGAGATC	
ACCCTGGACTCAAGTATGGACTACACGCCCCCAGA	
TGTATCCCATGTGCTGAAGACATGGAGGAATGGGG	
AAGGTTCTGTTGGGACAAGAGATAAACAGATCTAT	30
CCTTTAGAAGGGAATTGGAAGAATTTAGCACCTGC	
TGAGCAATCCTATCAAGTCGGCAGATGTATAGGTT	
TTCTATATGGAGACTTGGCGTATAGAAAATCTACT	
CATGCCGAGGACAGTTCTCTATTTCTCTATCTAT	
ACAAGGTCGTATTAGAGGTCGAGGTTTCTTAAAAG	
GGTTGCTAGACGGATTAATGAGAGCAAGTTGCTGC	
CAAGTAATACACCGGAGAAGTCTGGCTCATTTGAA	
GAGGCCGGCCAACGCAGTGTACGGAGGTTTGATT	
ACTTGATTGATAAATTGAGTGTATCACCTCCATT	
CTTTCTCTTACTAGATCAGGACCTATTAGAGACGA	
ATTAGAAACGATTCCCCACAAGATCCCAACCTCCT	
ATCCGACAAGCAACCGTGATATGGGGTGATTGTC	
AGAAATTACTTCAAATACCAATGCCGTCTAATTGA	40

[illegible]

【表 3 - 2 1】

	ATTGAATGGATCAATAGACGAATTTCAAAGAAGA CCGGTCTATACTGATGTTGAAGAGTGACCTACACG AGGAAAACCTCTTGGAGAGATTAAAAAATCATGAGG AGACTCCAAACTTTAAGTATGAAAAAACTTTGAT CCTTAAGACCCTCTTGTGGTTTTTATTTTTTATCT GGTTTTGTGGTCTTCGT	
配列番号50	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTL DVLDPSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQ HTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVK SITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTI QLIQ	多抗原性ドメイン ATP132
配列番号51	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTLDVLDPSSYLSGANLNLSCHSASPQYSW RINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLAT GRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADG VGKSALTIQLIQSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAY GSVKPYTNFDAE	ATP132

10

20

【図面】

【図 1】

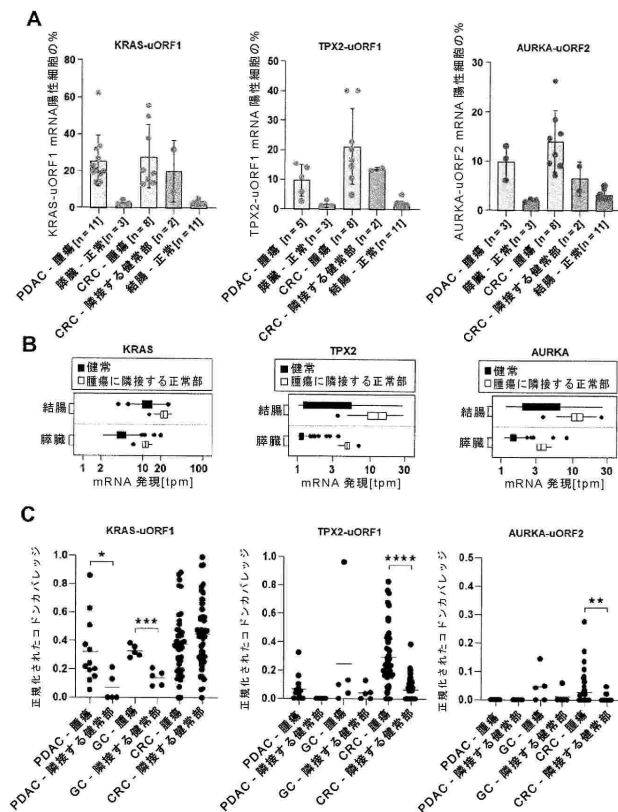


Figure 1

【図 2 - 1】

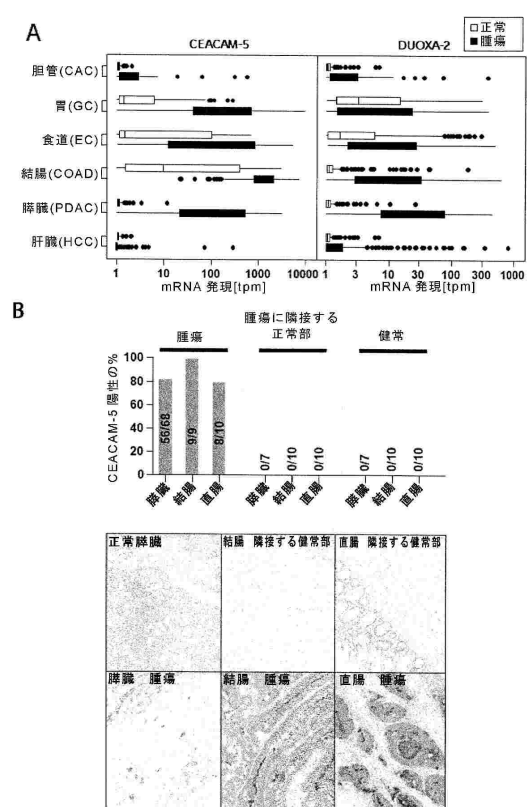


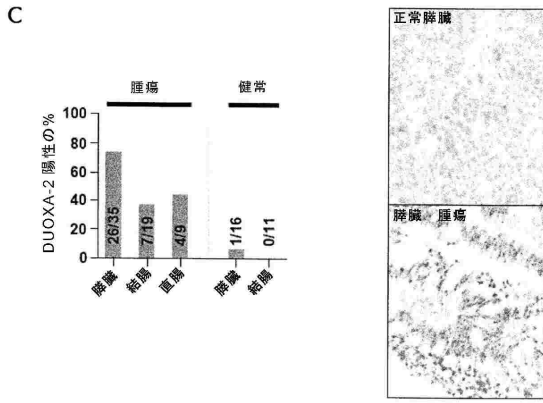
Figure 2

30

40

50

【図 2 - 2】



【図 3】

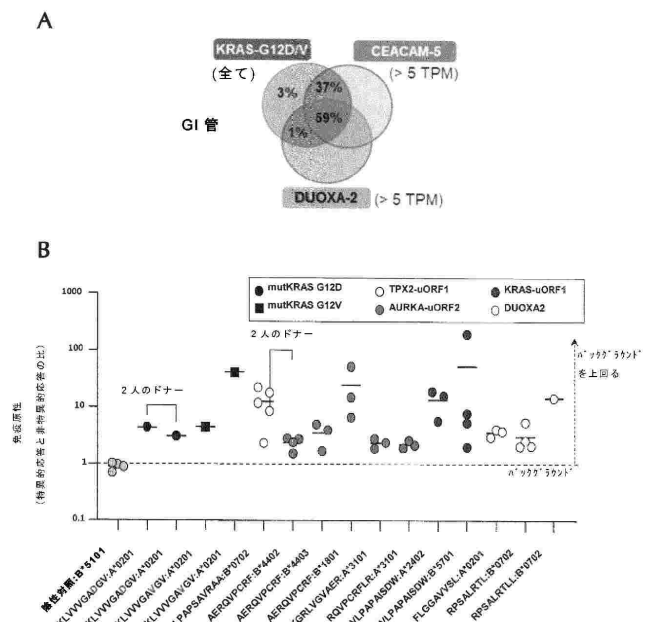


Figure 3

Figure 2 (続き)

【図 4】

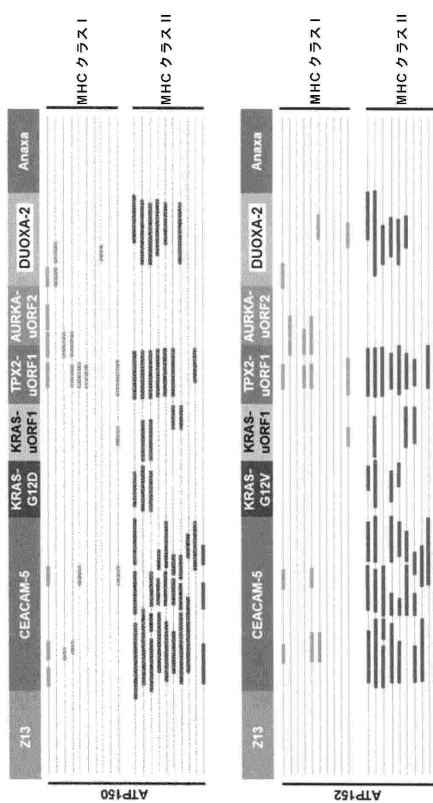


Figure 4

【図 5】

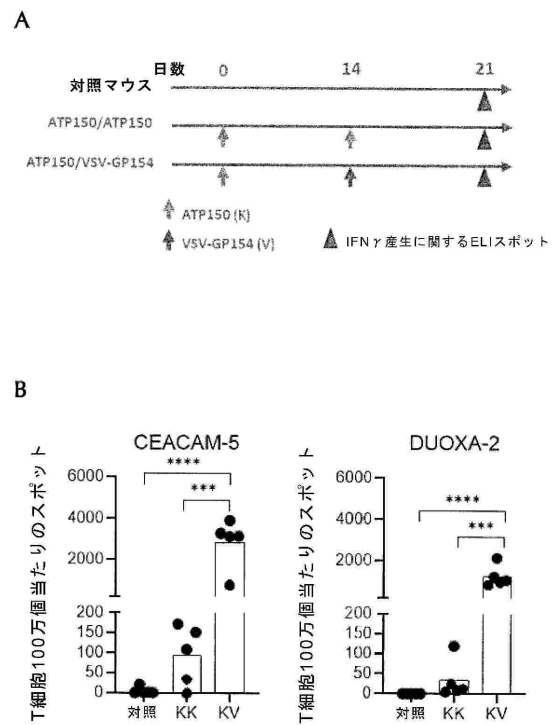


Figure 5

【図 6】

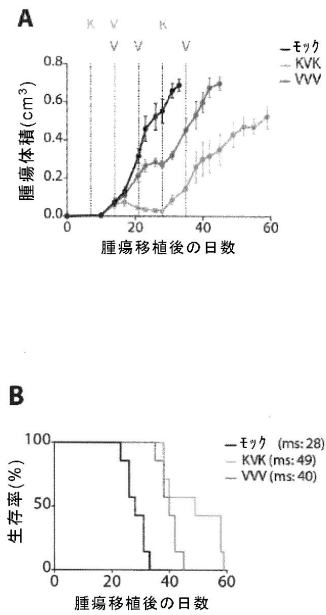
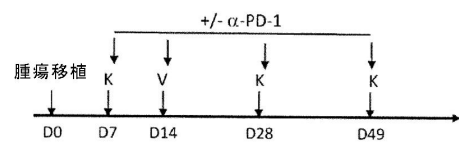


Figure 6

【図 7】

A



B

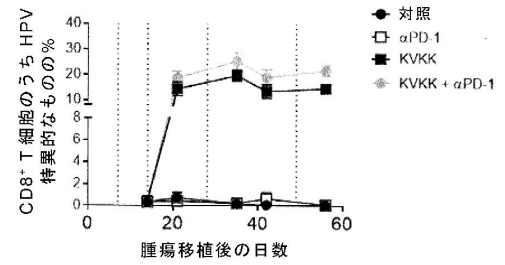
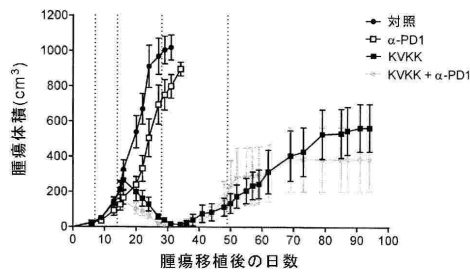


Figure 7

【図 8】

A



B

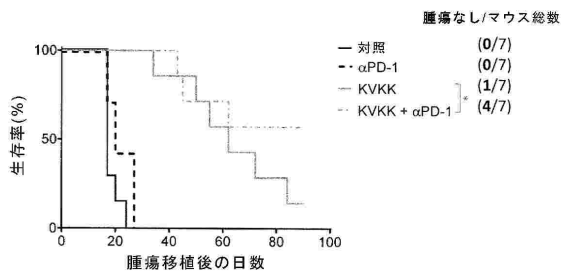


Figure 8

【図 9】

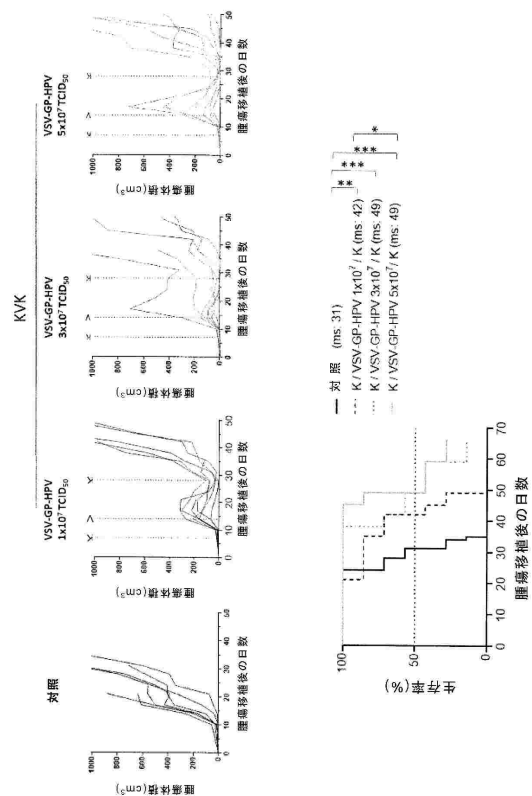


Figure 9

10

20

30

40

50

【配列表】

2025509648000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056591

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. **A61K39/00 A61K39/12 C07K16/28**
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018/144775 A1 (MODERNATX INC [US]) 9 August 2018 (2018-08-09) 100% identity with SEQ ID NOs 11 and 12; examples 6, 7, 12 -----	1-71
A	WO 2018/055060 A1 (AMAL THERAPEUTICS SA [CH]) 29 March 2018 (2018-03-29) 100% identity SEQ ID NOs 6-9, 13-15, 17-19, 21-23, 46, 47 -----	1-71
A	WO 2014/093602 A1 (PROFECTUS BIOSCIENCES INC [US]) 19 June 2014 (2014-06-19) 100% identity SEQ ID NOs 26-29 -----	1-71
A	WO 2018/185307 A1 (HOOKIPA BIOTECH AG [AT]) 11 October 2018 (2018-10-11) 100% identity with SEQ ID NO: 27 ----- -/--	1-71

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 June 2023

Date of mailing of the international search report

14/06/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hix, Rebecca

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056591

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHANG S-S ET AL: "Aurora A kinase activates YAP signaling in triple-negative breast cancer", ONCOGENE, NATURE PUBLISHING GROUP UK, LONDON, vol. 36, no. 9, 5 September 2016 (2016-09-05), pages 1265-1275, XP037653006, ISSN: 0950-9232, DOI: 10.1038/ONC.2016.292 [retrieved on 2016-09-05] the whole document -----	1-71
A	NELDE ANNIKA ET AL: "Upstream open reading frames regulate translation of cancer-associated transcripts and encode HLA-presented immunogenic tumor antigens", CMLS CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES, BIRKHAUSER VERLAG, HEIDELBERG, DE, vol. 79, no. 3, 1 March 2022 (2022-03-01), XP037707544, ISSN: 1420-682X, DOI: 10.1007/s00018-022-04145-0 [retrieved on 2022-03-03] the whole document -----	1-71
X,P	JÜRGENS LARA ET AL: "The Emerging Role of uORF-Encoded uPeptides and HLA uLigands in Cellular and Tumor Biology", CANCERS, vol. 14, no. 24, 7 December 2022 (2022-12-07), page 6031, XP093046535, DOI: 10.3390/cancers14246031 the whole document -----	1-71

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2023/056591

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/056591

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018144775 A1	09-08-2018	AU 2018214556 A1	15-08-2019
		BR 112019015797 A2	17-03-2020
		CA 3051252 A1	09-08-2018
		CL 2019002134 A1	22-11-2019
		CN 110430894 A	08-11-2019
		CO 2019009234 A2	30-08-2019
		IL 268361 A	26-09-2019
		JP 2020514321 A	21-05-2020
		KR 20190110612 A	30-09-2019
		SG 11201906969P A	27-08-2019
		US 2019175727 A1	13-06-2019
		US 2019351039 A1	21-11-2019
		US 2021128721 A1	06-05-2021
		WO 2018144775 A1	09-08-2018
WO 2018055060 A1	29-03-2018	AU 2017331949 A1	31-01-2019
		CA 3031170 A1	29-03-2018
		CL 2019000694 A1	07-06-2019
		CL 2021001541 A1	04-02-2022
		CN 109963585 A	02-07-2019
		EP 3515476 A1	31-07-2019
		IL 265479 A	30-05-2019
		JP 2019528693 A	17-10-2019
		KR 20190057345 A	28-05-2019
		RU 2019111160 A	22-10-2020
		US 2019255165 A1	22-08-2019
		US 2021085768 A1	25-03-2021
		US 2022305101 A1	29-09-2022
		WO 2018055060 A1	29-03-2018
WO 2014093602 A1	19-06-2014	NONE	
WO 2018185307 A1	11-10-2018	AU 2018247958 A1	10-10-2019
		CA 3058539 A1	11-10-2018
		CN 110719788 A	21-01-2020
		EP 3606549 A1	12-02-2020
		JP 2020516601 A	11-06-2020
		US 2020113995 A1	16-04-2020
		WO 2018185307 A1	11-10-2018

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	40/11	(2025.01)	A 6 1 K	40/11	
A 6 1 K	40/42	(2025.01)	A 6 1 K	40/42	
A 6 1 K	35/766	(2015.01)	A 6 1 K	35/766	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P	35/04	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	Z N A
C 1 2 N	7/01	(2006.01)	C 0 7 K	19/00	
			C 1 2 N	7/01	

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

(74)代理人 100123766

弁理士 松田 七重

(74)代理人 100137626

弁理士 田代 玄

(72)発明者 ベルヌー エロディ

スイス 1 2 0 5 ジュネーブ アブニユ ド ラ ロズレ 6 4 アマル テラピュティクス内

(72)発明者 デルアジ マディハ

スイス 1 2 0 5 ジュネーブ アブニユ ド ラ ロズレ 6 4 アマル テラピュティクス内

(72)発明者 アダム ポール

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ
フツング グローバル パテンツ内

(72)発明者 ホフマン イルムガルト マリア リタ

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ
フツング グローバル パテンツ内

(72)発明者 レオンハルト ラルフ

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ
フツング グローバル パテンツ内

(72)発明者 ルコフスキ ザムエル

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ
フツング グローバル パテンツ内

(72)発明者 ノルデン トビアス

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ
フツング グローバル パテンツ内

(72)発明者 トラパーニ フランチェスカ

ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 1 7 3 ベー
ーリンガー インゲルハイム インターナショナル ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハ

フツング グローバル パテンツ内

F ターム (参考) 4B065 AA90X AA95X AB01 BA02 CA24 CA25 CA44 CA45
 4C084 AA02 AA13 AA19 MA02 MA66 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC412
 ZC75
 4C085 AA03 BB01 CC32 DD62 EE01 EE03 GG02 GG03 GG04 GG10
 4C087 AA02 BB37 BB63 BC83 CA04 CA12 MA02 MA66 NA05 NA14
 ZB26 ZC41 ZC75
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA01 CA11 CA40 DA86
 EA20