

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-528367

(P2021-528367A)

(43) 公表日 令和3年10月21日(2021.10.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	4 C 0 8 6
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 7
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-561892 (P2020-561892)
 (86) (22) 出願日 令和1年5月16日 (2019.5.16)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年12月28日 (2020.12.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/062694
 (87) 国際公開番号 W02019/219851
 (87) 国際公開日 令和1年11月21日 (2019.11.21)
 (31) 優先権主張番号 1807932.7
 (32) 優先日 平成30年5月16日 (2018.5.16)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 英国 (GB)

(71) 出願人 516245900
 オックスフォード ユニバーシティ イノ
 ベーション リミテッド
 OXFORD UNIVERSITY I
 NNOVATION LIMITED
 イギリス国 オックスフォード オックス
 フォードシャー オーエックス2 Oジェ
 イビー, ボシー, ウェスト ウェイ 3,
 バックストン コート

(74) 代理人 100107984
 弁理士 廣田 雅紀
 (74) 代理人 100182305
 弁理士 廣田 鉄平
 (74) 代理人 100102255
 弁理士 小澤 誠次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫応答を誘導するための組成物

(57) 【要約】

本発明は、前立腺がんの治療又は予防のためのT細胞媒介免疫応答を誘導するための組成物であって、ポックスウイルスF 1 1プロモーターの制御下で5 T 4抗原ポリペプチドを発現する改変ワクシニアウイルスアンカラ (M V A、modified Vaccinia virus Ankara) ベクターを含む組成物に関する。適切には、前記ポックスウイルスF 1 1プロモーターは、内在性M V A F 1 1プロモーターである。より適切には、前記ベクターは、配列番号1のアミノ酸配列を有するポリペプチドを発現する、又は前記ベクターは、配列番号2の核酸配列を有するポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドを発現する。本発明はまた、使用及び方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

前立腺がんの治療又は予防のための T 細胞媒介免疫応答を誘導するための組成物であって、ポックスウイルス F 1 1 プロモーターの制御下で 5 T 4 抗原ポリペプチドを発現する改変ワクシニアウイルスアンカラ (MVA、modified Vaccinia virus Ankara) ベクターを含む、前記組成物。

【請求項 2】

ポックスウイルス F 1 1 プロモーターが、内在性 MVA F 1 1 プロモーターである、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

ベクターが、配列番号 1 のアミノ酸配列を有するポリペプチドを発現する、請求項 1 又は 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

ベクターが、配列番号 2 の核酸配列を有するポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドを発現する、請求項 1 又は 2 に記載の組成物。

【請求項 5】

アジュバントをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 6】

5 T 4 抗原ポリペプチドに対する T 細胞媒介免疫応答の誘導に使用するための、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 7】

T 細胞媒介免疫応答が CD 8 + T 細胞応答を含む、請求項 6 に記載の使用のための組成物。

【請求項 8】

前立腺がんの治療又は予防に使用するための、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 9】

対象において 5 T 4 抗原ポリペプチドに対する T 細胞媒介免疫応答を誘導する方法であって、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物を、前記対象に投与するステップを含む、前記方法。

【請求項 10】

組成物が、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$ プラーク形成単位 (p f u) の用量で投与される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

組成物が、 1×10^7 p f u の用量で投与される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

T 細胞媒介免疫応答が CD 8 + T 細胞応答を含む、請求項 9 ~ 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

投与が、プライム - ブーストワクチン接種プロトコルの一部として実行される、請求項 9 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

投与が、以前のプライムワクチン接種へのブーストとして提供される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

以前のプライムワクチン接種が、5 T 4 抗原ポリペプチドを発現するアデノウイルスを投与するステップによって提供される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

アデノウイルスが ChAdOx1 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

アデノウイルスが、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12}$ ウイルス粒子 (VP) の用量で投与される、請求項 15 又は 16 に記載の方法。

【請求項 18】

アデノウイルスが、 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ VP の用量で投与される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

アデノウイルスが、 1×10^{10} VP の用量で投与される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

対象における前立腺がんの治療又は予防のための T 細胞媒介免疫応答を誘導する方法であって、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物を、前記対象に投与するステップを含む、前記方法。

10

【請求項 21】

組成物が、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$ プラーク形成単位 (pfu) の用量で投与される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

組成物が、 1×10^7 pfu の用量で投与される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

T 細胞媒介免疫応答が CD8⁺ T 細胞応答を含む、請求項 20 ~ 22 のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

投与が、プライム - ブーストワクチン接種プロトコルの一部として実行される、請求項 20 ~ 23 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 25】

投与が、以前のプライムワクチン接種へのブーストとして提供される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

以前のプライムワクチン接種が、5T4 抗原ポリペプチドを発現するアデノウイルスを投与するステップによって提供される、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

アデノウイルスが ChAdOx1 である、請求項 26 に記載の方法。

30

【請求項 28】

アデノウイルスが、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12}$ VP の用量で投与される、請求項 26 又は 27 に記載の方法。

【請求項 29】

アデノウイルスが、 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ VP の用量で投与される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

アデノウイルスが、 1×10^{10} VP の用量で投与される、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

免疫チェックポイント阻害剤化合物を投与するステップをさらに含む、請求項 20 ~ 30 のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 32】

免疫チェックポイント阻害剤化合物が、抗 PD1 モノクローナル抗体である、請求項 31 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、前立腺がんに伴う腫瘍抗原に対する、免疫応答、適切には防御免疫応答の誘導に関する。

50

【背景技術】

【0002】

前立腺がんは、最も一般的な非皮膚がんであり、男性におけるがん死の第2の主要な死因である。2012年には世界的におよそ110万人の男性が本疾患と診断され、その結果、男性のすべてのがん診断の15%を占めている。前立腺がんの症例の70%超が、先進諸国で発生している。例えば、米国だけでも2014年に、推定233,000人の男性が本疾患と診断され、およそ30,000人の死亡が予測された(Siegel et al (2014). CA Cancer J Clin 64:9-29)。前立腺がんの治療には大幅な進歩があったが、本疾患の進行期に有効な治療はほんのわずかで、これらは不十分な効力を示してきた。したがって、効果的な療法の開発は、本疾患の治療の優先度が依然として高いままである。

10

【0003】

前立腺がんを含めてがんに対する能動免疫療法(ワクチン)を開発するための取組みが強化されてきた。従来のは、外来の「非自己」抗原の認識に基づいて、病原体に対する防御免疫を誘導する際に効果的であった。しかし、今日までに特徴づけられているがん抗原の大多数は、腫瘍細胞及び正常細胞によって発現される未変化の「自己」抗原である。このことは、がんに対する効果的な能動免疫療法の開発に課題をもたらす。免疫監視とがんの除去に関するこのような制限にもかかわらず、がん免疫は様々な腫瘍の形態において臨床的に観察されてきた(Challis & Stam (1990). Acta Oncol. 29:545-550)。加えて、腫瘍切片の組織病理学によって、腫瘍床周辺でのリンパ球の浸潤が明らかになり、最近の研究が指示するところは、腫瘍周囲にそのような浸潤がある卵巣がん患者は、リンパ球浸潤のない同様の病期の患者と比較して、予後が改善することである(Zhang et al (2003). N Engl J Med. 348:203-213)。したがって、免疫レパートリーには、適切に活性化される場合、腫瘍を拒絶することができる自己反応性免疫細胞が含まれる。こういった自己反応性細胞はまた、正常細胞上の標的分子を認識すると、組織破壊を誘導して毒性の自己免疫を招く可能性を持っている。したがって、適切な免疫学的標的を使用して宿主の抗腫瘍免疫を活性化することを目的とする療法の開発は、依然として、前立腺がんを含めてがんの治療において成功への見込みのあるルートである。

20

【0004】

T細胞はがんの免疫制御に重要であることが知られており、この20年間にわたり蓄積された多大な一連の証拠が示したところは、同じ抗原をコードする異なるベクターの逐次投与を含むプライム-ブーストプロトコルによって、いくつかの動物モデル及び治験において防御能力とともにかなり高度の免疫応答がもたらされることである。実際、サルアデノウイルスプライム及びMVAブーストに基づいたワクチン接種戦略は、治験において一部のヒト病原体に対する多機能性防御T細胞応答を誘導するための最もパワフルなアプローチであることが判明した(Ewer et al (2013). Nat Commun. 4:2836; Antrobus et al (2014). J Am Soc Gene Therapy. 22:668-674; Borthwick et al. (2014). Mol Ther. 22:464-475; Swadling et al (2014). Science translational medicine. 6:261ra153; Hodgson et al (2015). J Inf Dis. 211:1076-1086; and Ewer et al (2016). New Engl J Med. 374:1635-1646)。

30

【0005】

見込みはあるが、がんにおける治療的ワクチン接種の使用は多くの課題をもたらし、自己抗原に対する寛容と腫瘍によって据え付けられる能動的な免疫抑制メカニズムとが効力を妨害する主要な2つの要因である。最も先端的な2つ前立腺がん免疫療法剤、Sipuleucel-T及びProstVacは、それぞれ、明確である2つの前立腺がん抗原、前立腺酸性フォスファターゼ(PAP、prostatic acid phosphatase)及び前立腺特異的抗原(PSA、prostate-specific antigen)を標的としている。5T4は、共有腫瘍抗原のファミリーに属する癌胎児性糖タンパク質であるが、前立腺がんワクチン用の見込みのある別の抗原候補物質である。これは、1990年に、ヒト栄養膜及びがん細胞の共有表面分子を探索することにより、それらが半異物としての胎児の生存において機能を果たす可能性があるという理論的根拠を持って、同定された(Southall et al (1990). Br J Cancer. 61:89-95)

40

50

。5 T 4 は、広範囲のヒト固形悪性腫瘍で高度に発現していることから (Southall et al . (1990). Br J Cancer. 61:89-95; Starzynska et al (1994). Br J Cancer. 69:899-902; and Amato & Stepankiw (2012). Future Oncol. 8:231-237)、その発現が疾患の進行と明白に相関していることから (Stern et al (2014). Seminars in Cancer Biology. 29 :13-20; and Stern & Harrop (2016). Cancer Immunology, Immunotherapy. 2016:1-12)、がん免疫療法の潜在的な標的として集中的探査の対象であった。

【 0 0 0 6 】

改変ワクシニアアンカラウイルス (MVA) から発現された 5 T 4 タンパク質を用いて、5 T 4 を標的とするワクチンの治験が 10 年よりも前に始まった。このワクチンは、TroVax の商品名で知られる同種のプライム - ブーストワクチンとして後期結腸直腸がん患者に投与され、第 I ~ 第 III 相治験の過程で今日までに結腸直腸がん、乳がん、腎がん、前立腺がん、及び中皮腫の 500 人超の患者に与えられてきた (Kim et al (2010). Human Vaccines. 6:784-791; and Al-Taei et al (2012). Lung Cancer. 77:312-318)。TroVax は良好な安全性プロファイルを有し、5 T 4 特異的抗体価が最も高い患者で無増悪生存率が改善するという傾向を持って、認容性は良好であった；しかし、ワクチン特異的細胞免疫応答及び臨床的効能は中程度であった (Harrop et al (2010). J immunotherapy. 33:999-1005; and Harrop et al (2012). Cancer Immunology, Immunotherapy. 61:2283-2294)。

【 0 0 0 7 】

Harrop et al (Cancer Immunology, Immunotherapy 2014, 62(9);1511-1520) は、TroVax (登録商標) の臨床投与の結果を開示したが、MVA は、去勢抵抗性前立腺がんの患者においてドセタキセルとともに、mH5 (改変 H5) 初期プロモーターの制御下で、5 T 4 抗原を発現した。この研究が実証したところは、すべての患者におけるワクチン忍容性及びドセタキセル単独を受けている患者に比べて、ドセタキセルをプラスした TroVax (登録商標) をを受けている患者については、無増悪生存率の中央値がより大きいこと、である。しかし、評価したところ治療効能の向上は中程度であった。

【 0 0 0 8 】

Cappuccini et al (Oncotarget 2017, 8(29);47474-47489) は、前立腺がんのマウスモデルにおいて、異種プライム - ブーストレジメンの一部として、p7.5 後期プロモーターの制御下で、未改変 5 T 4 抗原と、MHC クラス 2 関連不変鎖 (Ii) に融合した同じ抗原とを発現する MVA の投与を比較した。この研究が実証したところは、未改変の 5 T 4 への抗体応答であるが、改変抗原を除いて、測定可能な T 細胞応答については報告されなかった。未改変の「自己」抗原への T 細胞免疫応答のこういった欠如が示すところは、p7.5 プロモーターの制御下で未改変の 5 T 4 を発現する MVA が効果的な抗腫瘍ワクチンではありそうにないことである。

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 9 】

【 非特許文献 1 】 Siegel et al (2014). CA Cancer J Clin 64:9-29

【 非特許文献 2 】 Challis & Stam (1990). Acta Oncol. 29:545-550

【 非特許文献 3 】 Zhang et al (2003). N Engl J Med. 348:203-213

【 非特許文献 4 】 Ewer et al (2013). Nat Commun. 4:2836

【 非特許文献 5 】 Antrobus et al (2014). J Am Soc Gene Therapy. 22:668-674

【 非特許文献 6 】 Borthwick et al. (2014). Mol Ther. 22:464-475

【 非特許文献 7 】 Swadling et al (2014). Science translational medicine. 6:261ra15

3

【 非特許文献 8 】 Hodgson et al (2015). J Inf Dis. 211:1076-1086

【 非特許文献 9 】 Ewer et al (2016). New Engl J Med. 374:1635-1646

【 非特許文献 10 】 Southall et al (1990). Br J Cancer. 61:89-95

【 非特許文献 11 】 Starzynska et al (1994). Br J Cancer. 69:899-902

3

50

- 【非特許文献 1 2】Amato & Stepankiw (2012). *Future Oncol.* 8:231-237
- 【非特許文献 1 3】Stern et al (2014). *Seminars in Cancer Biology.* 29:13-20
- 【非特許文献 1 4】Stern & Harrop (2016). *Cancer Immunology, Immunotherapy.* 2016: 1-12
- 【非特許文献 1 5】Kim et al (2010). *Human Vaccines.* 6:784-791
- 【非特許文献 1 6】Al-Taei et al (2012). *Lung Cancer.* 77:312-318
- 【非特許文献 1 7】Harrop et al (2010). *J immunotherapy.* 33:999-1005
- 【非特許文献 1 8】Harrop et al (2012). *Cancer Immunology, Immunotherapy.* 61:2283-2294
- 【非特許文献 1 9】Harrop et al (*Cancer Immunology, Immunotherapy* 2014, 62(9);151 1-1520) 10
- 【非特許文献 2 0】Cappuccini et al (*Oncotarget* 2017, 8(29);47474-47489)
- 【発明の概要】
- 【発明が解決しようとする課題】
- 【0010】
- したがって、単独で、又は他の任意の治療剤との組合せのいずれかで、前立腺がんに対する効果的な治療又は防御 (protection) を達成することが実証されているワクチンは、先行技術にはない。
- 【課題を解決するための手段】
- 【0011】 20
- 本発明は、先行技術に関連する問題を解決することを意図するものである。
- 【0012】
- 内在性ウイルス F 1 1 プロモーターの制御下で 5 T 4 タンパク質抗原を発現する改変ワクシニアウイルスアンカラ (MVA) ベクターを含む組合せについて記載する。本発明は、MVA の内在性 F 1 1 プロモーターからの 5 T 4 の発現が、5 T 4 を発現するアデノウイルスコンストラクトによる初期免疫に続いて、プライム - ブーストレジメンの一部として使用される場合、寛容性を破壊し、5 T 4 特異的 T 細胞免疫応答を誘導するのに十分であった、という本発明者らによる驚くべき発見に基づくものである。したがって、本発明の組成物は、寛容性を破壊して抗原特異的免疫応答を誘導し、その結果、前立腺がんを治療する上で有用である。これらの利点を実証するデータを、以下の図及び実施例に提供する。 30
- 【0013】
- 第 1 の態様では、本発明は、前立腺がんの治療又は予防のための T 細胞媒介免疫応答を誘導するための組成物であって、ボックスウイルス F 1 1 プロモーターの制御下で 5 T 4 抗原ポリペプチドを発現する改変ワクシニアウイルスアンカラ (MVA) ベクターを含む組成物を提供する。
- 【0014】
- 第 1 の態様の組成物は、5 T 4 抗原への免疫寛容を破壊し、これに対する T 細胞媒介免疫応答を誘導するために有利に使用することができ、これによって、前立腺がんの効果的な治療又は予防が可能となる。 40
- 【0015】
- 第 1 の態様の組成物によって発現される 5 T 4 ポリペプチドは、配列番号 1 のアミノ酸配列を有することができ、又は配列番号 2 の核酸配列によってコードされるアミノ酸配列を有することができる。
- 【0016】
- 有利には、組成物は、アジュバントをさらに含むことができ、組成物は、対象において 5 T 4 抗原ポリペプチドに対する T 細胞媒介免疫応答を誘導し、前立腺がんを治療又は予防するために使用することができる。
- 【図面の簡単な説明】
- 【0017】 50

次に、本発明を添付の図面を参照して一例として説明する。

【図1】5 T 4 抗原のアミノ酸配列（配列番号1）を示す図である。

【図2】全長5 T 4 抗原をコードする核酸配列（配列番号2）を示す図である。

【図3】m H 5 プロモーターでドライブされる発現と比較して、F 1 1 プロモーターの制御下で5 T 4 を発現するM V A . 5 T 4 によるブーストに続いて、血中の5 T 4 特異的T細胞応答の大きさが有意により高いことを、例示する図である。C 5 7 B L / 6 マウスを、h 5 T 4 抗原を発現するC h A d O x 1 ベクター1 0¹⁰ V Pを用いて、これに続いて、p 7 . 5、F 1 1、及びm H 5 の各プロモーターの制御下でh 5 T 4 を発現するM V A ベクター1 0⁷ p f uを用いて、3週間間隔で筋肉内免疫するか、或いは、上記マウスに、F 1 1 プロモーターによってドライブされる抗原発現による1 0⁷ p f uでの同種のM V A . h 5 T 4 プライム - ブーストを与えた。グラフは、プライム - ブースト免疫後に実行されたエキスピボでの血液（A）及び脾臓（B）のE L I S P O Tの代表的なデータを示す。X軸：群1～4の投与レジメン。Y軸：1 0⁶ P B M C当たりのスポット形成細胞（S F C、spot forming cell）の数。バーは中央値を表す。（C = C h A d O x 1、M = M V A）。有意なp値が示されている。

【図4】C h A d O x 1 . 5 T 4 でプライミングし、M V A . 5 T 4 _ F 1 1 でブーストしたマウスからの血液及び脾臓における5 T 4 特異的T細胞のフローサイトメトリー解析を例示し、多重のサイトカインを分泌する多機能性C D 4 + 及びC D 8 + T細胞の生成を実証する図である。細胞内サイトカイン染色（I C S、Intracellular cytokine staining）を、F 1 1 プロモーターによってドライブされる抗原発現によるM V A . 5 T 4 ブーストに続いて、C h A d O x 1 . 5 T 4 で免疫したマウスから単離されたP B M C及び脾細胞で実施した。グラフは、h 5 T 4 ペプチドプールによる一晚のインビトロ刺激にตอบสนองしてI F N - （A）、T N F - （B）及びI L - 2（C）を分泌するC D 4 + 及びC D 8 + T細胞のパーセンテージを示す。X軸：血液及び脾臓におけるC D 4 + 及びC D 8 + T細胞の応答。Y軸：T細胞を分泌する5 T 4 特異的サイトカインの%。値は、h 5 T 4 ペプチドプールへの曝露に続くサイトカイン分泌T細胞のパーセンテージから、バックグラウンド（すなわち、特定の刺激なしに自発的にサイトカインを分泌するT細胞のパーセンテージ）を差し引くことによって算出される。バーは中央値を表す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

第1の態様では、本発明は、前立腺がんの治療又は予防のためのT細胞媒介免疫応答を誘導するための組成物であって、ポックスウイルスF 1 1 プロモーターの制御下で5 T 4 抗原ポリペプチドを発現する改変ワクシニアウイルスアンカラ（M V A）ベクターを含む組成物を提供する。ポックスウイルスF 1 1 プロモーターの制御下で発現される5 T 4 抗原ポリペプチドを発現するM V Aは、これまでに開示されておらず、したがって新規である。かかる組成物は、5 T 4 抗原への免疫寛容を破壊し、これに対するT細胞媒介免疫応答を誘導するために有利に使用することができ、これによって、前立腺がんの効果的な治療又は予防が可能となる。

【0019】

先行技術では、前立腺がんの治療又は予防のためのワクチンにおける未改変の5 T 4 抗原の使用に対する思いこみが示唆されている。Cappuccini 2017 (ibid.)は、5 T 4 への抗体応答が、同種又は異種のプライム - ブーストレジメンの一部としての未改変5 T 4 抗原のM V A 発現によって可能であることを確認した。しかし、異種プライム - ブーストレジメンでM V A によって発現される5 T 4 抗原へのインビトロT細胞媒介免疫応答の生成には、抗原とM H Cクラス2 関連不変鎖（I i）との融合が必要であった。本発明の利点は、内在性F 1 1 プロモーターの制御下でM V A によって発現される未改変の5 T 4 抗原によって堅牢な細胞性免疫応答が誘導されることである。

【0020】

M V A ベースのワクチン候補物質を使用する従来技術のプライム - ブーストは、種々の適応症において、多数の様々な「非自己」抗原に対して堅牢なT細胞免疫応答を産生する

。本発明の利点は、免疫寛容が破壊され、同様に堅牢なT細胞媒介免疫応答が「自己」抗原に対して生成されることである。この応答は、予想外であり、抗原の改変又は融合が不要であることから、より効果的な治療やより簡単な開発及び製造スキームを含めて、いくつかのメリットをもたらす。

【0021】

好ましくは、MVAベクターは、MVAの内在性F11プロモーターの制御下で5T4抗原ポリペプチドを発現する。内在性F11プロモーターの制御下でのMVAのF11遺伝子座への抗原をコードするポリヌクレオチドの挿入は、国際刊行物である国際公開第2011/128704号パンフレットに先に記載されている。内在性F11プロモーターの制御下で5T4抗原ポリペプチドを発現するようなベクターは、先に開示されておらず、したがって新規である。有利には、このコンフォメーションは、MVAベクターの製造を単純化する。加えて、F11隣接配列のコザック様配列は、真核細胞での翻訳開始を助け、したがって、MVAによる5T4抗原の発現を強化すると考えられている。

10

【0022】

本発明者らは、前立腺がんの治療又は予防のためのワクチンであって、配列番号1のアミノ酸配列を有する完全長の未改変ヒト5T4抗原ポリペプチドをコードする核酸配列を含有するMVAウイルスベクターを含むワクチンを提供する。MVAコンストラクトは、組換えウイルスにマーカー遺伝子が存在しないように作製されている。

【0023】

本発明のMVAワクチンコンストラクト((F11)5T4)を、マウスモデルにおいて、改変H5初期プロモーター((mH5)5T4)の制御下で又はp7.5初期/後期プロモーター((p7.5)5T4)の制御下で、5T4抗原を発現するMVAコンストラクトと比較して、T細胞媒介免疫応答を評価した。異種プライム-ブーストレジメンの一部として投与した場合、MVA(F11)5T4コンストラクトによって、末梢血単核細胞(PBMC、peripheral blood mononuclear cell)及び脾細胞でIFN E L I S P O Tアッセイを使用して評価して、堅牢な5T4特異的T細胞応答が誘導された(図3)。PBMCでのこの応答は、MVA(p7.5)5T4によって誘導された応答よりも3倍超大きかったが、一方、MVA(mH5)5T4を使用してPBMCで検出可能な応答は誘導されなかった(図3A)。同じMVA(F11)5T4コンストラクトは、同種のプライム-ブーストレジメンで単独で投与された場合、同じ5T4特異的応答を誘導できなかった。有利には、MVA(F11)5T4は、寛容性を破壊して5T4に対する堅牢なT細胞応答を誘導する上で効果的であった、したがって、前立腺がんを治療し又は予防する上で効果的であると期待される。

20

30

【0024】

ある特定の実施形態では、ポックスウイルスF11プロモーターが、内在性MVA F11プロモーターである。MVA F11プロモーターの領域にある内在性エンハンサー配列及びコザック様配列が、ヒト細胞における5T4抗原の転写を増強する働きをする。

【0025】

特定の実施形態では、5T4抗原ポリペプチドが、配列番号1で提供されるアミノ酸配列を有する。

40

【0026】

別の特定の実施形態では、5T4抗原ポリペプチドが、配列番号2に提供される核酸配列によってコードされるアミノ酸配列を有する。5T4抗原ポリペプチドをコードするようなコドン最適化配列の使用が、組成物の投与後の対象における抗原ポリペプチドの発現を改善する。

【0027】

ある特定の実施形態では、組成物がアジュバントをさらに含む。アジュバントの包含によって、対象への組成物の投与時に生成される免疫応答を改善することができる。

【0028】

本発明はまた、5T4抗原ポリペプチドへのT細胞媒介免疫応答の誘導における上で定

50

義の組成物の使用を提供する。本発明者らは、組成物の投与が、「自己」抗原である 5 T 4 に対するそのような免疫応答を誘導する上で効果的であることを見いだした。本発明の組成物を使用して、C D 8 + T 細胞応答を誘導するのが好ましい。

【 0 0 2 9 】

有利には、組成物を、対象の前立腺がんの治療又は予防において役立つように投与することができる。

【 0 0 3 0 】

別の態様では、本発明は、5 T 4 抗原ポリペプチドに対する T 細胞媒介免疫応答を誘導し、前立腺がんの治療又は予防のための T 細胞媒介免疫応答を誘導する方法であって、かかる T 細胞媒介免疫応答を必要とする対象に第 1 の態様の組成物を投与することを含む方法を提供する。

10

【 0 0 3 1 】

好ましい実施形態では、本発明の組成物が、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$ プラーク形成単位 (p f u , plaque forming unit) の用量で、上記方法により投与される。最も好ましい実施形態では、組成物が、 1×10^7 p f u の用量で、上記方法により投与される。かかる用量は、堅牢な免疫応答を提供し、一方、組成物の不要な投与及び浪費を最小限に抑える。

【 0 0 3 2 】

ある特定の実施形態では、上記方法によって誘導される T 細胞媒介免疫応答が、C D 8 + T 細胞応答を含む。かかる細胞溶解性 T 細胞応答が、対象による 5 T 4 抗原を発現する細胞の効果的な排除に適している。

20

【 0 0 3 3 】

好ましい実施形態では、上記方法は、第 1 の態様の組成物を対象に投与して一次 T 細胞媒介免疫応答を誘導するか又は既存の T 細胞媒介免疫応答を強化する、プライム - ブースト法である。特に好ましい実施形態では、第 1 の態様の組成物は、以前に投与されたプライムワクチン接種へのブーストとして投与される。かかる投与スケジュールによって、寛容性を有利には破壊し、堅牢な抗 5 T 4 T 細胞応答の誘導が可能となることが示された。

【 0 0 3 4 】

上記方法の好ましいプライムワクチン接種が、5 T 4 抗原ポリペプチドを発現するアデノウイルスの投与によって提供され、最も好ましい実施形態では、使用されるアデノウイルスが C h A d O x 1 である。

30

【 0 0 3 5 】

好ましい実施形態では、5 T 4 抗原ポリペプチドを発現するアデノウイルスを、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12}$ ウイルス粒子 (V P , virus particle) の用量として上記方法で投与し、より好ましくはアデノウイルスが $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ V P である。最も好ましい実施形態では、アデノウイルスが、 1×10^{10} V P の用量で、上記方法により投与される。かかる用量は、堅牢な免疫応答を提供し、一方、組成物の不要な投与及び浪費を最小限に抑える。

【 0 0 3 6 】

さらなる実施形態では、本発明の方法は、免疫チェックポイント阻害剤化合物と組み合わせた本発明の第 1 の態様の組成物の投与をさらに含む。好ましいかかる実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤化合物が、抗 P D 1 モノクローナル抗体である。

40

【 0 0 3 7 】

本明細書及び添付の特許請求の範囲全体を通して、「含む (comprise) 」及び「含む (include) 」という用語、並びに「含む (comprises) 」、「含んでいる (comprising) 」、「含む (includes) 」及び「含んでいる (including) 」などの変化形は、包括的に解釈されるべきである。すなわち、これらの単語は、文脈が許す限り、具体的に記載されていない他の要素又は整数が包含される可能性もあることを伝えることを意図するものである。

[実施例]

50

【 0 0 3 8 】

M V A コンストラクト

5 T 4 抗原ポリペプチドをコードするコドン最適化ポリヌクレオチド (NCBI Reference Sequence: NM_006670.4) を、GeneArt Gene Synthesis (Thermo Fisher Scientific社) によって合成した。次いで、5 T 4 導入遺伝子を、相同配列アームとして F 1 1 L O R F の上流と下流 (隣接) を有するように設計したシャトルプラスミドベクターにクローン化した。これらのアーム内に 5 T 4 導入遺伝子を挿入することにより、右相同アームの一部である内在性 F 1 1 プロモーターの利用を可能とし、一方、天然 F 1 1 L O R F を欠失させた。この結果、M V A . (F 1 1) 5 T 4 を生成するためのシャトルベクター (F 1 1 シャトルベクター) が得られた。

10

【 0 0 3 9 】

M V A . (m H 5) 5 T 4 及び M V A . (p 7 . 5) 5 T 4 を、それぞれ、Harrop et al (2010) 及び Cappuccini et al (2017) に先に記載されているように構築した。

【 0 0 4 0 】

M V A コンストラクトは、組換えウイルスにマーカー遺伝子が存在しないように作製した。

【 0 0 4 1 】

5 T 4 免疫原性

6 匹の雄 C 5 7 B L / 6 マウス (Harlan社、U K) の群は、 1×10^{10} V P の C h A d O x 1 . 5 T 4 (群 1 ~ 3) 又は 1×10^7 p f u の M V A . (F 1 1) 5 T 4 (群 4) の筋肉内 (i . m . , intramuscular) 投与からなるプライム免疫を 0 日目に受けた。

20

【 0 0 4 2 】

同じ動物は、 1×10^7 p f u の M V A . (p 7 . 5) 5 T 4 (群 1)、 1×10^7 p f u の M V A . (F 1 1) 5 T 4 (群 2)、 1×10^7 p f u の M V A . (m H 5) 5 T 4 (群 3) 又は 1×10^7 p f u の M V A . (F 1 1) 5 T 4 (群 4) の i . m 投与からなる、ブースト免疫を 2 1 日目に受けた。

【 0 0 4 3 】

ブーストの 3 週間後 (4 2 日目) に各マウスから血液と脾臓を採取し、P B M C と脾細胞について I F N g E L I S P O T によって 5 T 4 特異的 T 細胞の存在について試験した。E L I S P O T 解析の結果を図 3 に提供する。

30

【 0 0 4 4 】

5 T 4 特異的 T 細胞のフローサイトメトリー解析も、C h A d O x 1 . 5 T 4 でプライミングし、M V A . (F 1 1) 5 T 4 でブーストしたマウスからの P B M C 及び脾細胞で実施した。フローサイトメトリー解析の結果を図 4 に提供する。

【 0 0 4 5 】

すべての動物の手順は、プロジェクトライセンス 3 0 / 2 9 4 7 の英国動物 (科学的処置) 法 (A S P A , the UK Animals (Scientific Procedures) Act) の条項に従って実行され、オックスフォード大学の動物管理及び倫理審査委員会によって承認されたものである。すべてのマウスは、特定病原体除去 (S P F , Specific Pathogen Free) 条件下で、英国オックスフォードの大学の動物施設でのあらゆる手順の前に、落ち着かせるため少なくとも 7 日間収容した。

40

【 0 0 4 6 】

ヒト対象における M V A - (F 1 1) 5 T 4 の安全性及び免疫原性

M V A - (F 1 1) 5 T 4 を、後期転移性前立腺がんを治療するための治験でヒト対象に投与した。

【 0 0 4 7 】

この前立腺がん患者は、 2×10^{10} v p の用量で 5 T 4 をコードするサルアデノウイルスベクター C h A d O x 1 の筋肉内 (i . m .) 投与からなるプライミング免疫を 0 週目に受け、及びチェックポイント阻害剤抗 P D 1 の静脈内用量と一緒に M V A - (F 1 1) 5 T 4 のブースト筋肉内用量を 4 週目に受けた。同じ患者は、第 2 回目の免疫を 1 2 週

50

目と16週目に受け、標準的なi.v.用量の抗PD1を8週目と12週目にさらに受けている。血液試料を、免疫応答を測定するために0、2、5、9、13、17、24、及び36週目に収集し、あらゆる有害事象(AE、adverse event)について文書化し、調査している。

【0048】

11人の患者がMVA-(F11)5T4を投与されたが、安全性プロファイルは非常に良好であった。患者の50%が、ワクチン接種の翌日に注射部位に痛みや圧痛を報告した。3件の深刻な有害事象(SAE)があったが、調査により結論したことは、どの事象もMVA-(F11)5T4に起因するものではなかったことである。

【図1】

配列番号1

MPGCCSRGPAAGDGRRLRLRLALVLLGWVSSSPTSSASSFSSSAPFLASAVS
AQPPLPDQCPALCECSEAARTVKCVNRNLTEVPTDLPAYVRNFLTGNQLAVL
PAGAFARRPPLAELAALNLSGSRLEVRAGAFEHLPSLRQLDLSHNPLADLSP
FAFSGSNASVSAPSPLVELILNHIVPPEDERQNRSFEGMVVAALLAGRALQGL
RRLELASNHFLYLPRDVLQQLPSLRHLDSLNNLSLVSLTYVSFRNLTHLESLHL
EDNALKVLHNGTLAELQGLPHIRVFLDNNPWVCDCHMADMVTWLKETEVEVQVK
DRLTCAYPEKMRNRVLELNSADLDCDPIPPSLQTSYVFLGIVLALIGAIPL
LVLYLNRKGIKKWMHNRDADRDMEGYHYRYEINADPRLTNLSSNSDV

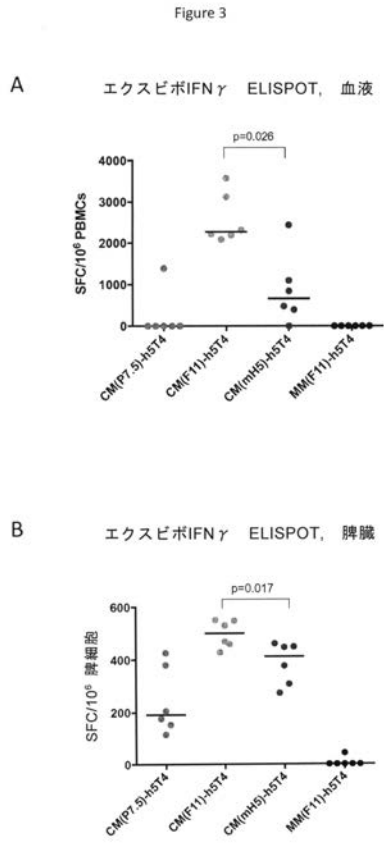
【図2】

Figure 2

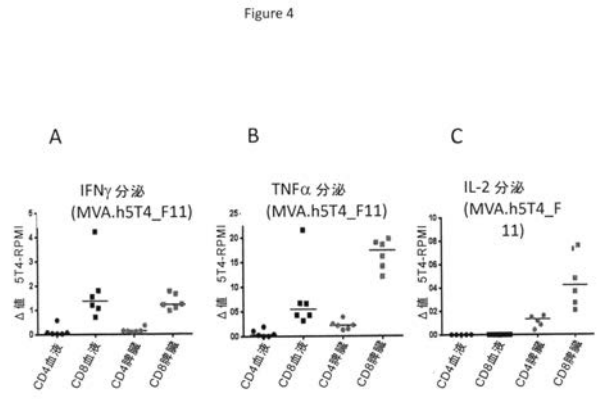
配列番号2

ATGCCTGGCGGCTGTAGCAGAGGACCTGCTGCTGGCGACGGTAGACTGAGACT
GGCTAGACTGGCACTGGTGCTGCTGGCTGGGTGCTCCTTAGCAGCCCTACAA
GCAGCGCCAGCTCCTTTAGCAGCAGCGCCCTTTTCTGGCCTCTGCCGTTTCT
GCTCAACCTCCTTGCTGATCAGTGCCCTGCTCTGTGCGAGTGTCTGAGGC
CGCCAGAACAGTGAAGTGCCTGAACAGAACTGACCGAGGTGCCACAGACC
TGCTGCCTACGTGCGGAATCTGTTCTGACCGGAAATCAGCTGGCCGTGCTT
CCTGCTGGCGCCTTTGCTAGAAGGCCTCCACTGGCTGAACTGGCCGCTCTGAA
TCTGAGCGGCAGCAGACTGGATGAAGTTCGCGCTGGCGCTTCGAGCATCTGC
CTTCTCTGAGACAGCTGGACTGAGCCACAATCTCTGGCCGATCTGAGCCCC
TTTGCCTTCAGCGGAAGCAACGCCTCTGTGTCTGCTCCATCTCCACTGGTCGA
GCTGATCCTGAACCACATCGTGCCTCCAGAGGACGAGCGGAGAACAGATCCT
TTGAAGGCATGGTGGTGGCTGCCCTGCTTGTGGTAGAGCACTGCAAGGACTG
CGGAGACTGGAAGTGGCCAGCAACCCTTCTGTACCTGCCTAGAGATGTGCT
GGCCAGCTGCCTAGCCTGAGGCATCTGGATCTGTCCAACAACAGCCTGGTGT
CCCTGACCTACGTGCTCCTCCGGAATCTGACCCACCTGAAAGCCTGCACCTG
GAAGATAACGCCCTGAAGGTGCTGCACAATGGCACCCCTGGCAGAACTGCAGGG
CCTGCCTCACATCAGAGTGTCTTCTGGACAACAACCCCTGGGTCTGCGACTGCC
ACATGGCCGATATGGTCACCTGGCTGAAAGAAACCGAGGTGGTGCAGGGCAA
GACCGGCTGACATGTGCTTACCCGAGAAGATGCGGAACCGGGTGTCTGTGGA
ACTGAACAGCGCCGACCTGGACTGGATCCTATTCTGCCACCTAGCCTGCAGA
CCAGTACGTGTTCTGGGAATCGTGTGCTGCTGATCGCGCCATCTTCTGTG
CTGGTGTGTACCTGAACCGGAAGGCATCAAGAAATGGATGCACAACATCCG
GGACGCTGCCGGGATCACATGGAAGGCTACCACTACAGATACGAGATCAACG
CCGATCCTCGGCTGACCAACCTGAGCAGCAATAGCGACGTGTGATGA

【 図 3 】



【 図 4 】



【 配 列 表 】

[2021528367000001.app](#)

【 手 続 補 正 書 】

【 提 出 日 】 令 和 3 年 1 月 8 日 (2021.1.8)

【 手 続 補 正 1 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 配 列 表

【 補 正 方 法 】 追 加

【 補 正 の 内 容 】

【 配 列 表 】

[2021528367000001.app](#)

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/062694

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K35/76 C12N7/00 A61K39/00 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) C12N A61K		
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, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RICHARD HARROP ET AL: "Vaccination of castration-resistant prostate cancer patients with TroVax (MVA-5T4) in combination with docetaxel: a randomized phase II trial", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, NIH AUTHOR MANUSCRIPT, vol. 62, no. 9, 23 July 2013 (2013-07-23), pages 1511-1520, XP055620513, Berlin/Heidelberg ISSN: 0340-7004, DOI: 10.1007/s00262-013-1457-z Page 578, 'Vaccine Composition'; page 580 - page 581 Pages 582-583, 'Clinical Responses' Discussion ----- -/--	1-32
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> 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		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 12 September 2019		Date of mailing of the international search report 19/09/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Sitch, David

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2019/062694

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TORITSE ORUBU ET AL: "Expression and Cellular Immunogenicity of a Transgenic Antigen Driven by Endogenous Poxviral Early Promoters at Their Authentic Loci in MVA", PLOS ONE, vol. 7, no. 6, 27 June 2012 (2012-06-27), page e40167, XP055075345, DOI: 10.1371/journal.pone.0040167 page 2, column 2 page 5, paragraph 1 page 6, paragraph 1 -----	1-32
Y	WO 2011/128704 A1 (ISIS INNOVATION [GB]; COTTINGHAM MATTHEW GUY [GB]) 20 October 2011 (2011-10-20) page 3, line 11 - page 4, line 5 page 15, line 16 - line 24 example 1 figure 3 -----	1-32
A	WO 2014/063832 A1 (BAVARIAN NORDIG AS [DK]) 1 May 2014 (2014-05-01) page 12, paragraph 28 - paragraph 32 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2019/062694

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011128704 A1	20-10-2011	DK 2558581 T3	08-10-2018
		EP 2558581 A1	20-02-2013
		ES 2685124 T3	05-10-2018
		US 2013195912 A1	01-08-2013
		US 2016281108 A1	29-09-2016
		WO 2011128704 A1	20-10-2011

WO 2014063832 A1	01-05-2014	AU 2013337018 A1	30-04-2015
		BR 112015009320 A2	17-10-2017
		CA 2887623 A1	01-05-2014
		CN 104755622 A	01-07-2015
		EA 201590831 A1	31-08-2015
		EP 2912183 A1	02-09-2015
		HK 1212383 A1	10-06-2016
		JP 6505016 B2	24-04-2019
		JP 2015533841 A	26-11-2015
		JP 2019131572 A	08-08-2019
		KR 20150079596 A	08-07-2015
		NZ 706637 A	22-02-2019
		SG 10201704657W A	28-07-2017
		SG 11201503200P A	28-05-2015
		UA 118340 C2	10-01-2019
		US 2015299267 A1	22-10-2015
US 2018111966 A1	26-04-2018		
WO 2014063832 A1	01-05-2014		

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 39/235 (2006.01)	A 6 1 K 39/235	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 N 15/863 (2006.01)	C 1 2 N 15/863	Z N A Z

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

(74) 代理人 100096482
弁理士 東海 裕作

(74) 代理人 100131093
弁理士 堀内 真

(74) 代理人 100150902
弁理士 山内 正子

(74) 代理人 100141391
弁理士 園元 修一

(74) 代理人 100198074
弁理士 山村 昭裕

(74) 代理人 100096013
弁理士 富田 博行

(74) 代理人 100221958
弁理士 篠田 真希恵

(72) 発明者 ヒル エイドリアン ブイエス
イギリス国 オーエックス3 7ディーキュー オックスフォードシャー オックスフォード ルーズベルトドライブ オールドロードキャンパスリサーチビルディング ザジェンナーインスティテュートラボラトリーズ

(72) 発明者 レドチェンコ イリナ
イギリス国 オーエックス3 7ディーキュー オックスフォードシャー オックスフォード ルーズベルトドライブ オールドロードキャンパスリサーチビルディング ザジェンナーインスティテュートラボラトリーズ

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA03 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 CA01 MA02 NA05
NA14 ZA81 ZB26 ZC75
4C085 AA03 AA14 BA77 EE03
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA81 ZB26
ZC75
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 CA20 MA02 NA05 NA14 ZA81 ZB26
ZC75