(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2019-528693
(P2019-528693A)
(43)公表日　令和1年10月17日(2019.10.17)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/62	(2006.01)	C12N	15/62	Z	4B050
A61K 31/7088	(2006.01)	A61K	31/7088		4B064
A61K 35/12	(2015.01)	A61K	35/12		4B065
A61K 35/76	(2015.01)	A61K	35/76		4C076
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	G	4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 203 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-510849 (P2019-510849)
(86)(22)出願日　平成29年9月21日 (2017.9.21)
(85)翻訳文提出日　平成31年2月22日 (2019.2.22)
(86)国際出願番号　PCT/EP2017/073954
(87)国際公開番号　WO2018/055060
(87)国際公開日　平成30年3月29日 (2018.3.29)
(31)優先権主張番号　PCT/EP2016/072475
(32)優先日　平成28年9月21日 (2016.9.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　517325135
アマル　セラピューティクス　エスエー
スイス連邦　１２０５　ジュネーヴ　デ　ラ　ロズレ　６４　アヴェニュー　ファウンデーション　プール　ルシェルシュ　メディカルズ内
(74)代理人　100107515
弁理士　廣田　浩一
(74)代理人　100107733
弁理士　流　良広
(74)代理人　100115347
弁理士　松田　奈緒子
(72)発明者　マディア・デロアジ
スイス連邦　１２１８　グラン－サコネルート　デ　フェルネー　２００ａ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】癌を治療するための細胞透過性ペプチド、マルチエピトープ、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む融合体

(57)【要約】
本発明は、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための新規複合体であって、ａ）細胞透過性ペプチドと、ｂ）少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープと、ｃ）少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとを含み、前記成分ａ）～ｃ）が共有結合している複合体を提供する。特に、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための組成物、例えば、医薬組成物及びワクチンを提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための複合体であって、
ａ）細胞透過性ペプチドと、
ｂ）少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープと、
ｃ）少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストと
を含み、
前記成分ａ）～ｃ）が、共有結合していることを特徴とする複合体。
【請求項２】
組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質である請求項１に従って使用するための複合体。
【請求項３】
前記細胞透過性ペプチドが、
（ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは、合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは、合計１５アミノ酸～４５アミノ酸のアミノ酸配列長を有する、及び／又は
（ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片を含むアミノ酸配列又はその変異体を有し、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の１７０番目の残基から２２０番目の残基まで延在し、任意で、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が、置換、欠失、及び／又は付加されている
請求項１から２のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項４】
前記細胞透過性ペプチドが、前記配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の１８９位と等価な位置にＳｅｒ（Ｓ）を含むアミノ酸配列を有する請求項３に従って使用するための複合体。
【請求項５】
前記細胞透過性ペプチドが、
（ｉ）前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに、０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が、置換、欠失、及び／又は付加されている、以下の一般式（Ｉ）：

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}SX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$

（式中、
X_1は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_1は、Ｋ又はＲであり；
X_2は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_2は、Ｒ又はＫであり；
X_3は、Ｙ、Ｗ、又はＦであり、好ましくは、X_3は、Ｙ、Ｗ、又はＦであり；
X_4は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_4は、Ｋ又はＲであり；
X_5は、Ｎ又はＱであり；
X_6は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_6は、Ｒ又はＫであり；
X_7は、Ｖ、Ｉ、Ｍ、Ｌ、Ｆ、又はＡであり、好ましくは、X_7は、Ｖ、Ｉ、Ｍ、又はＬであり；
X_8は、Ａ、Ｖ、Ｌ、Ｉ、又はＧであり、好ましくは、X_8は、Ａ又はＧであり；
X_9は、Ｓ又はＴであり；
X_{10}は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_{10}は、Ｒ又はＫであり；
X_{11}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{11}は、Ｋ又はＲであり；
X_{13}は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_{13}は、Ｒ又はＫであり；
X_{14}は、Ａ、Ｖ、Ｌ、Ｉ、又はＧであり、好ましくは、X_{14}は、Ａ又はＧであり；
X_{15}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{15}は、Ｋ又はＲであり；
X_{16}は、Ｆ、Ｌ、Ｖ、Ｉ、Ｙ、Ｗ、又はＭであり、好ましくは、X_{16}は、Ｆ、Ｙ、

又はＷであり；
　X_{17}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{17}は、Ｋ又はＲである）
に係る配列を含むアミノ酸配列を有する請求項３から４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項６】
　前記細胞透過性ペプチドが、配列番号４～１３に係るアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないその配列変異体、特に、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに少なくとも７０％の配列同一性、好ましくは、少なくとも８０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも９０％の配列同一性を共有するその配列変異体を含むアミノ酸配列を有する請求項３から４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項７】
　前記細胞透過性ペプチドが、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）、配列番号７（ＣＰＰ４／Ｚ１４）、配列番号８（ＣＰＰ５／Ｚ１５）、若しくは配列番号１１（ＣＰＰ８／Ｚ１８）に係るアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないその配列変異体、特に、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに少なくとも７０％の配列同一性、好ましくは、少なくとも８０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも９０％の配列同一性を共有するその配列変異体を含むか若しくはからなるアミノ酸配列を有する請求項６に従って使用するための複合体。
【請求項８】
　前記細胞透過性ペプチドが、配列番号６に係るアミノ酸配列、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を有するペプチドを含むか若しくはからなる請求項７に従って使用するための複合体。
【請求項９】
　前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、（ｉ）ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質、（ｉｉ）多糖、（ｉｉｉ）脂質、（ｉｖ）リポタンパク質、（ｖ）糖脂質、（ｖｉ）核酸、及び（ｖｉｉ）低分子医薬又は毒素からなる群から選択される請求項１から８のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項１０】
　前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、少なくとも１つの腫瘍エピトープ、好ましくは、少なくとも１つの結腸直腸癌エピトープを含むか又はからなる請求項１から９のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項１１】
　前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、少なくとも１つの$CD4^+$エピトープ及び／又は少なくとも１つの$CD8^+$エピトープである請求項１から１０のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項１２】
　前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質である請求項１から１１のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項１３】
　前記複合体が、１超の抗原又は抗原エピトープ、特に、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、又はそれ以上の抗原又は抗原エピトープを含む請求項１から１２のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項１４】
　前記１超の抗原又は抗原エピトープ、特に、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、又はそれ以上の抗原又は抗原エピトープが、前記複合体中に連続して位置する請求項１３に従って使用するための複合体。
【請求項１５】
　前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦ

βＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープである請求項１０から１４のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項１６】

前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープである請求項１０から１４のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項１７】

前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、ＭＡＧＥ－Ａ３、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープであり、好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、及びＭＡＧＥ－Ａ３からなる群から選択される抗原のエピトープであり、より好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、及びＣＥＡからなる群から選択される抗原のエピトープである請求項１５に従って使用するための複合体。

【請求項１８】

前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、ＭＡＧＥ－Ａ３、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープであり、好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、及びＭＡＧＥ－Ａ３からなる群から選択される抗原のエピトープであり、より好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、及びＣＥＡからなる群から選択される抗原のエピトープであり、更により好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、サバイビン、及びＣＥＡからなる群から選択される抗原のエピトープである請求項１５から１６のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項１９】

前記複合体が、サバイビンのエピトープを含む請求項１８に従って使用するための複合体。

【請求項２０】

前記複合体が、配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項１９に従って使用するための複合体。

【請求項２１】

前記複合体が、配列番号５３に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項２０に従って使用するための複合体。

【請求項２２】

前記複合体が、配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項１９から２１のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項２３】

前記複合体が、ＣＥＡのエピトープを含む請求項１８から２２のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項２４】

前記複合体が、配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項２３に従って使用するための複合体。

【請求項２５】

前記複合体が、配列番号５５に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号５６に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項２４に従って使用するための複合体。

【請求項２６】

前記複合体が、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項２３から２５のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項２７】

前記複合体が、ＡＳＣＬ２のエピトープを含む請求項１８から２６のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項２８】

前記複合体が、配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項２７に従って使用するための複合体。

【請求項２９】

前記複合体が、配列番号９３に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号９４に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項２８に従って使用するための複合体。

【請求項３０】

前記複合体が、配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項２７から２９のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項３１】

前記複合体が、

ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｅ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び／又は

ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体

を含む請求項１２から３０のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項３２】

前記複合体が、

ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｅ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び／又は

ｇ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体

を含む請求項１２から３０のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項３３】

前記複合体が、

ａ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＥｐＣＡＭの断片；

ｂ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＵＣ－１の断片；

ｃ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むサバイビンの断片；

ｄ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＣＥＡの断片；

ｅ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＫＲａｓの断片；及び／又は

ｆ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＡＧＥ－Ａ３の断片

を含む請求項３１から３２のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項３４】
前記複合体が、
ａ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＥｐＣＡＭの断片；
ｂ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＵＣ－１の断片；
ｃ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むサバイビンの断片；
ｄ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＣＥＡの断片；
ｅ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＫＲａｓの断片；
ｆ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＡＧＥ－Ａ３の断片；及び／又は
ｇ）１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＡＳＣＬ２の断片
を含む請求項３１から３２のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項３５】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項３６】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項３７】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｅ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項３８】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項３９】
前記複合体が、
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｆ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項４０】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体

を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項４１】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４０に従って使用するための複合体。
【請求項４２】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｂ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４０に従って使用するための複合体。
【請求項４３】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４０に従って使用するための複合体。
【請求項４４】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４０に従って使用するための複合体。
【請求項４５】
前記複合体が、
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４０に従って使用するための複合体。
【請求項４６】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｇ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項３１から３４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項４７】
前記複合体が、
ａ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｇ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４６に従って使用するための複合体。
【請求項４８】
前記複合体が、
ｃ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
ｄ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
ｇ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４６に従って使用するための複合体。
【請求項４９】
前記複合体が、Ｎ末端からＣ末端方向に、
（ｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；

（ｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
（ｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４８に従って使用するための複合体。
【請求項５０】
前記複合体が、Ｎ末端からＣ末端方向に、
（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び
（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体
を含む請求項４９に従って使用するための複合体。
【請求項５１】
（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されており、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されている請求項５０に従って使用するための複合体。
【請求項５２】
前記複合体が、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項４８から５１のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項５３】
前記複合体が、配列番号９８に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項４８から５２のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項５４】
前記複合体が、
ｇ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項４６に従って使用するための複合体。
【請求項５５】
前記少なくとも１つの腫瘍エピトープが、ネオ抗原のエピトープであり、好ましくは、結腸直腸癌特異的ネオ抗原のエピトープである請求項１０から１４のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項５６】
前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストが、ＴＬＲ２、ＴＬＲ４、及び／又はＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、好ましくは、ＴＬＲ２ペプチドアゴニスト及び／又はＴＬＲ４ペプチドアゴニストである請求項１から５５のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項５７】
前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストが、配列番号１５又は７１に係るアミノ酸配列又はその配列変異体、特に、前記ペプチドのＴＬＲアゴニスト能を抑制することなしに少なくとも７０％の配列同一性、好ましくは、少なくとも８０％の配列同一性、よ

り好ましくは、少なくとも９０％の配列同一性を共有するその配列変異体を含むか又はからなる請求項５６に従って使用するための複合体。
【請求項５８】
前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストが、配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は（前記ペプチドのＴＬＲアゴニスト能を抑制することなしに）少なくとも７０％の配列同一性、好ましくは、少なくとも８０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも９０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含むか又はからなる請求項５７に従って使用するための複合体。
【請求項５９】
前記複合体が、１超のＴＬＲペプチドアゴニスト、特に、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、又はそれ以上のＴＬＲペプチドアゴニストを含む請求項１から５８のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項６０】
前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、前記細胞透過性ペプチドのＣ末端に位置し、前記細胞透過性ペプチドと前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープとが、更なる成分、例えば、リンカー、スペーサ、又は前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストによって結合していてもよい請求項１から５９のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項６１】
前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが、前記細胞透過性ペプチドのＣ末端に位置し、前記細胞透過性ペプチドと前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープとが、更なる成分、例えば、リンカー、スペーサによって結合されていてもよいが、前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストによっては結合されない請求項６０に従って使用するための複合体。
【請求項６２】
前記複合体が、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質であり、前記成分ａ）～ｃ）が、以下の順序：
（α）成分ａ）－成分ｂ）－成分ｃ）、又は
（β）成分ｃ）－成分ａ）－成分ｂ）
で前記複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向に位置し、
前記成分が、更なる成分、特に、リンカー又はスペーサによって結合されていてもよい請求項２から６１のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項６３】
好ましくはＮ末端からＣ末端方向に、以下の成分：
（ｉ）配列番号６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；
（ｉｖ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び
（ｖ）配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体
を含む請求項１から６２のいずれかに従って使用するための複合体。
【請求項６４】
前記複合体が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７のいずれかに係るアミノ酸配列を含むか又はからなる、又は前記複合体が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０

％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか又はからなる請求項１から６２のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項６５】

前記複合体が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１のいずれかに係るアミノ酸配列を含むか又はからなる、又は前記複合体が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか又はからなる請求項１から６３のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項６６】

前記複合体が、配列番号８９に係るアミノ酸配列を有するポリペプチド、又は少なくとも５０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含むか又はからなる請求項１から６３及び６５のいずれかに従って使用するための複合体。

【請求項６７】

ａ）細胞透過性ペプチドと、

ｂ）少なくとも３つの抗原エピトープと、

ｃ）少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストと

を含む複合体であって、

前記成分ａ）～ｃ）が、共有結合しており、

前記少なくとも３つの抗原エピトープが、（ｉ）サバイビンの１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体、（ｉｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体、及び（ｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体を含むことを特徴とする複合体。

【請求項６８】

前記複合体が、配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項６７に記載の複合体。

【請求項６９】

前記複合体が、配列番号５３に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項６８に記載の複合体。

【請求項７０】

前記複合体が、配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項６７から６９のいずれかに記載の複合体。

【請求項７１】

前記複合体が、配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項６７から７０のいずれかに記載の複合体。

【請求項７２】

前記複合体が、配列番号５５に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号５６に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項７１に記載の複合体。

【請求項７３】

前記複合体が、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項７１から７２のいずれかに記載の複合体。

【請求項７４】

前記複合体が、配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有する

その機能的配列変異体を含む請求項６７から７３のいずれかに記載の複合体。
【請求項７５】
前記複合体が、配列番号９３に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号９４に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む請求項７４に記載の複合体。
【請求項７６】
前記複合体が、配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項７４から７５のいずれかに記載の複合体。
【請求項７７】
前記複合体が、Ｎ末端からＣ末端方向に、
（ｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；
（ｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体；及び
（ｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体
を含む請求項６７から７６のいずれかに記載の複合体。
【請求項７８】
前記複合体が、Ｎ末端からＣ末端方向に、
（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び
（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体
を含む請求項７７に記載の複合体。
【請求項７９】
（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されており、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有する前記ペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されている請求項７８に記載の複合体。
【請求項８０】
前記複合体が、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項６７から７９のいずれかに記載の複合体。
【請求項８１】
前記複合体が、配列番号９８に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む請求項６７から８０のいずれかに記載の複合体。
【請求項８２】
前記複合体が、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質である請求項６７から８１のいずれかに記載の複合体。
【請求項８３】
前記細胞透過性ペプチドが、請求項３から８のいずれかに定義される請求項６７から８２のいずれかに記載の複合体。
【請求項８４】

前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストが、請求項５６から５８のいずれかに定義される請求項６７から８３のいずれかに記載の複合体。

【請求項８５】

好ましくはＮ末端からＣ末端方向に、以下の成分：

（ｉ）配列番号６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；

（ｉｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；

（ｉｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；

（ｉｖ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び

（ｖ）配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含み、

成分（ｉ）～（ｖ）は、リンカー又はスペーサによって結合されていてもよい請求項６７から８４のいずれかに記載の複合体。

【請求項８６】

前記複合体が、配列番号８９に係るアミノ酸配列を有するポリペプチド、又は少なくとも５０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含むか若しくはからなる請求項６７から８５のいずれかに記載の複合体。

【請求項８７】

結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための請求項１から６６のいずれかに記載の複合体をコードしている核酸であって、前記複合体が、ポリペプチド又はタンパク質であることを特徴とする核酸。

【請求項８８】

請求項６７から８６のいずれかに記載の複合体をコードする核酸であって、前記複合体が、ポリペプチド又はタンパク質であることを特徴とする核酸。

【請求項８９】

前記核酸が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７のいずれかに係るアミノ酸配列、又は配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む請求項８７から８８のいずれかに記載の核酸。

【請求項９０】

前記核酸が、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１のいずれかに係るアミノ酸配列、又は配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む請求項８７から８８のいずれかに記載の核酸。

【請求項９１】

前記核酸が、配列番号８９に係るアミノ酸配列、又は少なくとも５０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体をコードするポリヌクレオチドを含む請求項９０に記載の核酸。

【請求項９２】

前記核酸が、ＤＮＡ分子又はＲＮＡ分子である；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／又はプロモータを含む又は含まないＲＮＡ及び／又はＤＮＡ配列；ベクター；及びそれらの

組合せから選択される請求項８７から９１のいずれかに記載の核酸。
【請求項９３】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸を含むことを特徴とするベクター。
【請求項９４】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための請求項９３に記載のベクターを含むことを特徴とする宿主細胞。
【請求項９５】
請求項１から８６のいずれかに記載の複合体を調製する方法であって、前記複合体が、ポリペプチド又はタンパク質であり、前記方法が、培養培地中で請求項７２に記載の宿主細胞を培養することと、前記培養培地から又は前記宿主細胞を溶解させた後に前記宿主細胞の溶解物から前記複合体を分離することとを含むことを特徴とする方法。
【請求項９６】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための請求項１から８６のいずれかに記載の複合体がロードされたことを特徴とする細胞。
【請求項９７】
前記細胞が、抗原提示細胞、好ましくは、樹状細胞である請求項９６に記載の細胞。
【請求項９８】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための
（ｉ）請求項６から８６のいずれかに記載の複合体；
（ｉｉ）請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸；
（ｉ）請求項９３に記載のベクター；
（ｉｖ）請求項９４に記載の宿主細胞；又は
（ｖ）請求項９６から９７のいずれかに記載の複合体をロードした細胞
のうちの少なくとも１つを含むことを特徴とする組成物。
【請求項９９】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための
（ｉ）請求項１から８６のいずれかに記載の複合体；
（ｉｉ）請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸；
（ｉｉ）請求項９３に記載のベクター；
（ｉｖ）請求項９４に記載の宿主細胞；又は
（ｖ）請求項９６から９７のいずれかに記載の複合体をロードした細胞
のうちの少なくとも１つを含むことを特徴とするワクチン。
【請求項１００】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための、請求項１から８６のいずれかに記載の少なくとも１つの複合体又は請求項９６から９７のいずれかに記載の少なくとも１つの細胞と、薬学的に許容し得る担体とを含むことを特徴とする医薬組成物。
【請求項１０１】
少なくとも２つの異なる複合体を含む請求項１００に記載の医薬組成物。
【請求項１０２】
請求項１から８６のいずれかに記載の複合体を含むことを特徴とする診断用組成物。
【請求項１０３】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための、
（ｉ）請求項１から８６のいずれかに記載の複合体と、
（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤と
の組合せ。
【請求項１０４】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば

、免疫チェックポイント調節剤とが、略同時に投与される請求項１０３に従って使用するための組合せ。
【請求項１０５】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とが、連続して投与される請求項１０３から１０４のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１０６】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とが、同じ投与経路を介して投与される請求項１０３から１０５のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１０７】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とが、異なる投与経路を介して投与される請求項１０３から１０５のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１０８】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とが、異なる組成物で提供される請求項１０３から１０７のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１０９】
前記（ｉ）複合体と前記（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とが、同じ組成物で提供される請求項１０３から１０６のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１１０】
前記化学療法剤、前記標的薬、及び／又は前記免疫療法剤が、免疫チェックポイント調節剤である請求項１０３から１０９のいずれかに従って使用するための組合せ。
【請求項１１１】
前記免疫チェックポイント調節剤が、ＰＤ－１阻害剤である請求項１１０に従って使用するための組合せ。
【請求項１１２】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための、請求項１から８６のいずれかに記載の複合体、請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸、請求項９３に記載のベクター、請求項９４、９６、及び９７のいずれかに記載の細胞、請求項９８に記載の組成物、請求項９９に記載のワクチン、及び／又は請求項１００から１０１のいずれかに記載の医薬組成物を含むことを特徴とするキット。
【請求項１１３】
前記キットが、請求項１から８６のいずれかに記載の複合体、請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸、請求項９３に記載のベクター、請求項９４、９６、及び９７のいずれかに記載の細胞、請求項９８に記載の組成物、請求項９９に記載のワクチン、及び／又は請求項１００から１０１のいずれかに記載の医薬組成物を使用することによって結腸直腸癌を予防又は治療するための指示が記載された添付文書又は指示リーフレットを更に含む請求項１１２に記載のキット。
【請求項１１４】
前記キットが、化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤を更に含む請求項１１２から１１３のいずれかに記載のキット。
【請求項１１５】
結腸直腸癌を予防及び／又は治療するか、それを必要としている被験体における抗腫瘍応答を開始、強化、又は延長する方法であって、
ａ）細胞透過性ペプチドと、
ｂ）少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープと、
ｃ）少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストと

を含み、
前記成分ａ）～ｃ）が共有結合している複合体を前記被験体に投与することを含むことを特徴とする方法。
【請求項１１６】
請求項１から８６のいずれかに記載の複合体、請求項８７から９２のいずれかに記載の核酸、請求項９３に記載のベクター、請求項９４、９６、及び９７のいずれかに記載の細胞、請求項９８に記載の組成物、請求項９９に記載のワクチン、及び／又は請求項１００から１０１のいずれかに記載の医薬組成物が、前記被験体に投与される請求項１１５に記載の方法。
【請求項１１７】
前記被験体が、結腸直腸癌を有する請求項１１５から１１６のいずれかに記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、ワクチン接種、特に、結腸直腸癌（ＣＲＣ）を予防及び／又は治療するためのワクチンの分野に関する。
【背景技術】
【０００２】
結腸直腸癌（ＣＲＣ）世界的に見て、ＣＲＣは一般的な致死性疾患であり、３番目に多く診断される癌（男性では３番目、女性では２番目）であり、２０１２年には１億３６００万人を超える新患が生じ、約６９４，０００人が死亡した。ＣＲＣを発現するリスクは、人的要因、環境要因、及び遺伝的要因によって影響を受ける（非特許文献１）。ＣＲＣの発生は女性よりも男性においてより顕著であるが、年齢及びライフスタイルによってより大きな影響を受ける。実際、ＣＲＣと診断された患者の９０％超が５０歳以上である（非特許文献２）と同時に、症例の３分の２が先進国で生じた。広くは肉、より具体的には赤身肉の摂取又は全身肥満につながるアルコール飲料の摂取がＣＲＣのリスクを著しく増大させるというエビデンスが存在する（非特許文献３）。２つの他の要因：遺伝及び炎症性腸疾患も、結腸直腸癌を発現するリスクに大きな影響を与える。例えば、家族性大腸腺腫症（ＦＡＰ）は、５０歳未満のヒトについてＣＲＣのリスクを著しく増大させる（非特許文献４）。ＭＡＰ（ＭＵＴＹＨ関連腺腫症）（非特許文献５）又はリンチ症候群（非特許文献６）等のＦＡＰは、患者を遺伝性の多発性大腸腺腫に罹りやすくする遺伝子の突然変異と関連している（非特許文献７）。ＣＲＣの発現における潰瘍性大腸炎又はクローン病等の疾患の影響はよく調べられている。潰瘍性大腸炎の影響は、例えば、リスクの３倍～１５倍増加に関連している（非特許文献８）。クローン病についてのデータは少ないが、同様の相対的リスクがこの疾患と関連している。ＣＲＣ、大腸腺腫症、又は炎症性腸疾患の家族歴を有する患者については、早期スクリーニングが強く推奨されている（非特許文献９）。
【０００３】
多くの癌と同様に、ＣＲＣ患者の生存期間は、疾患の進行段階に依存する。早期（ステージ０、Ｉ、及びＩＩ）の患者は予後が良好である（７５％超）。ステージＩＩＩは、末梢組織における腫瘍浸潤に依存して、より不均質な生存期間を有する（９０％から５０％）。最後に、ステージＩＶのみが患者の生存期間に対して速やか且つ著しい効果を示している。診断後６０ヶ月間を超えて生存している患者は、僅か約１０％である。
【０００４】
既存の治療法は、一般的に、手術に続いて十分に確立されている化学療法、放射線療法、及び／又は標的療法を行うか又は行わないことに基づいている（非特許文献１０及び１１）。疾患の進行段階に依存して、既存の治療法は、３０％～９５％の診断後２年間生存率を可能にする。全ての早期ＣＲＣ治療ストラテジは、手術で始まり、追加のレジメンと併用されるか又はされない。フォローアップ治療レジメンの決定は、予備スクリーニング結果において特定される疾患の進行段階に依存する。進行したＣＲＣでは、第一選択治療

として化学療法又は標的療法を使用することが一般的に推奨される。最も一般的に用いられるレジメンは、ＦＯＬＦＯＸ、ＣａｐｅＯＸ、又はＦＯＬＦＩＲＩである。これら治療を、ＶＥＧＦ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ製のベバシズマブ／Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）又はＲｅｇｅｎｅｒｏｎ－Ｓａｎｏｆｉ製のアフリバーセプト／Ｚａｌｔｒａｐ（登録商標））又はＥＧＦＲ（Ｍｅｒｃｋ－Ｓｅｒｏｎｏ製のセツキシマブ／Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標））を標的とする推奨生物学的薬物のうちの１つと併用してもよい。他の標的療法は、独立型の第一選択治療として提唱することができる。Ａｍｇｅｎ製のＥＧＦＲモノクローナル抗体（パニツムマブ／Ｖｅｃｔｉｂｉｘ（登録商標））、より最近では、Ｂａｙｅｒ製の低分子キナーゼ阻害剤であるレゴラフェニブ（Ｓｔｉｖａｒｇａ（登録商標））は、ＣＲＣ患者の生存期間を全体的に増加させる能力が証明されている。重要なことに、疾患が既に他の器官にも広がっている場合、Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ製のＶＥＧＦモノクローナル抗体であるラムシルマブ（Ｃｙｒａｍｚａ（登録商標））を用いてもよい。ステージＩＶでは、疼痛等の症状を緩和するために放射線を用いてもよい。

【０００５】

ＣＲＣの化学療法は十分に確立されている（非特許文献１０）が、重要なことに、即ち、ステージＩＶのＣＲＣについて、より有効且つ副次効果の少ないストラテジに対する推進力が過去数十年間に発展している（非特許文献１２）。最初の試みは、補完的補助療法に対するものであった。しかし、長い年月の後も、特に、ステージＩＩのＣＲＣ患者における術後５－ＦＵ系療法の価値については依然として議論の的である（非特許文献１１）。

【０００６】

この状況において、免疫療法は慎重に評価されてきた。免疫系は、腫瘍細胞を認識し、そして、ある程度排除することができるが、この抗腫瘍応答は、多くの場合、小さく且つ非効率である。治療用ワクチンによりこの弱い抗腫瘍応答を強化することは、癌治療の待望のゴールであった。したがって、免疫系を調節して免疫応答を強化することは、標準的な癌治療と併用することができるので、腫瘍学において有望な治療アプローチとなっている。

【０００７】

シプロイセル－Ｔワクチン及び抗ＣＴＬＡ－４抗体が最近ＦＤＡに承認されたことを含む、有望な臨床前データ及び臨床試験の進行は、能動免疫が特定の種類の癌にとって安全且つ便利な治療法であることを示す。改変腫瘍細胞ワクチン、ペプチドワクチン、組み換えウイルスベクター、ＤＮＡ、タンパク質、又は樹状細胞ワクチンを含む様々なアプローチを用いた腫瘍特異的細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）介在性免疫応答の誘導が報告されている。しかし、ＣＴＬによって媒介される抗腫瘍免疫は、時偶腫瘍退縮と相関するだけであり、また、第ＩＩＩ相臨床段階に達したプロジェクトはほんの僅かである。

【０００８】

全体として、癌ワクチンは、これまで非常に限定的な臨床的有効性しか示していない。実際、２０１１年の終わりにおいて、３万の進行中の癌ワクチン臨床試験のうち第ＩＩＩ相試験が報告されたのは１９のみであった（非特許文献１３）。その中には、乳癌用のペプチドワクチンであるＮｅｕＶａｘ、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）及び乳癌用のリポソーム系ワクチンであるＳｔｉｍｕｖａｘ、ＮＳＣＬＣ用のワクチニア系ワクチンであるＴＧ４０１０、並びにＮＳＣＬＣ用のアジュバントリポソームであるＧＳＫ１５７２９３２Ａが存在する。これら４つの癌ワクチンは、異なる技術に基づいており、１つの抗原を標的とする点が共通している。

【０００９】

治療用癌ワクチンは、個別化（自己）ワクチン及び標準化ワクチンの２つの主なカテゴリに分けることができ、技術プラットフォームに依存して更に分類される。現行の個別化ワクチンとしては、腫瘍溶解物ワクチン及び樹状細胞ベースのワクチン（以後、細胞ベースと呼ぶ）が挙げられる。後者の場合、抗原ロードは、腫瘍溶解物を用いるパルス又は腫瘍から抽出したＲＮＡによるトランスフェクションのいずれかで行ってよい。この場合、

抗原は、腫瘍特異的であるか又は腫瘍に関連しているが、明確には定義されていない。また、樹状細胞にも、ペプチドパルス又はタンパク質（例えば、Ｐｒｏｖｅｎｇｅ（登録商標）ワクチンを操作するために用いられる前立腺酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ））を用いて規定の抗原がロードされ得る。しかし、これら細胞ベース治療の製造プロセスは、時間も労力もかかると同時に、品質基準を達成及び維持することが困難である。免疫モニタリングは、更に面倒な事態を生じさせる。更に、規定の標準化されたワクチンとは異なり、自己癌ワクチンの大部分は、用いられる抗原のアイデンティティ又は量を管理することができない。

【００１０】

細胞ベース治療（ＡＰＣ、Ｔ細胞、ＣＡＲ、溶解物）とは対照的に、サブユニットワクチン（タンパク質又はペプチド）は、広範な患者に投与することができる、容易に製造でき且つバッチ間の再現性が著しく優れている標準化ワクチンの開発を可能にする。更に、より優れた免疫モニタリングを可能にし、ワクチン成分の望ましくない効果のリスクを低減する抗原を十分に規定する。

【００１１】

臨床前及び臨床開発において評価された様々なアプローチとしては、短ペプチドワクチン（非特許文献１４）、長ペプチドワクチン（非特許文献１５）、及びタンパク質が挙げられる。長ペプチドワクチン及びタンパク質ワクチンとは対照的に、短ペプチドワクチンは、非常に短い半減期を有し且つ免疫応答に対して負の結果を有し得る。

【００１２】

タンパク質ベースのワクチンについては、転移性黒色腫（非特許文献１６）及び非小細胞肺癌（ＮＳＬＣ）（非特許文献１７）における有望な第ＩＩ相データ後の組み換え融合タンパク質ベースのワクチンでＭＡＧＥ－Ａ３を標的とした結果が非常に待たれるところである。しかし、２０１３年には、黒色腫における第ＩＩＩ相ＤＥＲＭＡ試験（ＮＣＴ０７９６４４５）がその第１の主要評価項目を満たさず、続く２０１４年には、ＮＳＣＬにおける第ＩＩＩ相ＭＡＧＲＩＴ試験（ＮＣＴ００４８００２５）が中止された。これら非常に残念な臨床結果にかかわらず、タンパク質ベースのワクチンは、確実に多くの利点を提示する。

【００１３】

また、結腸直腸癌では、腫瘍免疫学における科学的進歩によって細胞及び体液経路を通じた抗腫瘍免疫応答についてより深く理解され（非特許文献１８及び１９）、腫瘍抗原のより優れた同定が支援された。この進歩によって、ＣＲＣにおける免疫療法の新たな展望が開かれた。抗体等の受動免疫療法は、ＣＲＣ治療の最初の標的療法として認められた。上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）を通じて腫瘍成長経路と相互作用することができるか又は血管内皮細胞成長因子（ＶＥＧＦ）を阻害することができる能力のために、セツキシマブ、パニツムマブ、及びベバシズマブ等の抗体は、それぞれ２００４年、２００６年、及び２００９年にＣＲＣ治療についてＦＤＡの承認を受けた。

【００１４】

ＣＲＣについての養子細胞移入（ＡＣＴ）療法の臨床試験は、残念なことに、これまでよくない結果しか得られていない。実際には、操作されていないＴ細胞及び操作されたＴ細胞による治療の両方について、患者集団が限られていることが大きな問題であると考えられる。同様に、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）と融合したＴ細胞で治療された患者において観察された副次効果によって、ＡＣＴが安全且つ効率的な治療であると証明することができなかった（非特許文献１９及び２０）。したがって、実現可能性及びコストの観点で通常のＡＣＴに問題点が加わるので、免疫応答記憶は、当面の間ＡＣＴの選択肢を妨げると思われる。

【００１５】

より最近では、患者の生存に対するアフリベルセプトの第ＩＩＩ相臨床試験の正の結果によって、この抗ＶＥＧＦ融合タンパク質を転移性結腸直腸癌（ｍＣＲＣ）についてＦＤＡに承認させることができた（非特許文献２１）。この標的療法の承認は、非抗体免疫療

法への道を切り開くものである。これまで、ＣＲＣについて能動免疫療法も免疫調節剤も承認されていなかった。構造的に、ＣＲＣについて試験した分子の殆どは、低分子（一般的には、キナーゼ阻害剤）又は抗体のいずれかである（それぞれ５２％及び２８％）。

【００１６】

一般的に、治療用癌ワクチンは、その免疫系が腫瘍細胞を認識し、殺傷する能力を強化するために癌患者に投与される。治療用癌ワクチンの主な目標は、腫瘍細胞に特異的なキラーＴ細胞（細胞傷害性Ｔリンパ球とも呼ばれる）を生成することである。この目的のために、そして、強力な免疫応答を達成するために、ワクチンは、腫瘍にも存在し且つ癌免疫を開始させるために抗原提示細胞（ＡＰＣ）、特に樹状細胞（ＤＣ）に送達される必要がある、抗原と呼ばれる分子を含有していなければならない。ＤＣは、これら腫瘍抗原を小ペプチドに加工し、それを、ＭＨＣクラスＩ又はＭＨＣクラスＩＩ分子を発現している細胞表面においてＴ細胞に提示する。次いで、Ｔ細胞によって認識され、それによって刺激を誘導するペプチドは、エピトープと呼ばれる。ＭＨＣクラスＩ及びＭＨＣクラスＩＩ分子による提示によって、それぞれ、ＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）、及びＣＤ４$^{+}$ヘルパーＴ（$Ｔ_{h}$）細胞の２つのクラスのＴ細胞を活性化することができる。更に、完全に活性化するために、抗原認識に加えて、Ｔ細胞は、抗原非特異的であり且つＡＰＣの表面上で発現する共刺激分子とＴ細胞との間の相互作用によって提供される第２のシグナルである共刺激シグナルを必要とする。したがって、効率的な治療用癌ワクチンの２つの主な要件は、腫瘍抗原の特異性及びそれをＤＣに効率的に送達する能力である。

【００１７】

まとめると、腫瘍特異的免疫応答の誘導は、以下のように、３つの主な工程を必要とする：（ｉ）抗原をエピトープに加工する樹状細胞に抗原を送達しなければならない、（ｉｉ）樹状細胞が、好適な活性化シグナルを受容しなければならない、及び（ｉｉｉ）活性化された腫瘍抗原がロードされた樹状細胞が、リンパ器官においてＴ細胞介在性免疫応答を生じさせなければならない。

【００１８】

個々の抗原の発現をダウンレギュレートすることによって腫瘍細胞は免疫系から逃避することができるので（受動免疫逃避）、マルチエピトープ抗原送達が有益である。実際、タンパク質ベースのワクチンは、単一のＭＨＣアレルに拘束される制約なしに樹状細胞（ＤＣ）等の抗原提示細胞（ＡＰＣ）にマルチエピトープ抗原を送達することができる。別の強みは、タンパク質がロードされた樹状細胞において最近報告された持続性エピトープ提示である（非特許文献２２）。更に、タンパク質は、ＤＣによって取り込まれ、加工されて、その構成成分であるエピトープがＭＨＣ拘束的に提示されることを必要とする。これによって、かかるストリンジェントな加工要件を有しない短ペプチドをワクチン接種した後に示された通り、末梢寛容を誘導するリスクが低減される（非特許文献２３）。

【００１９】

しかし、殆どの可溶性タンパク質は、一般的に、エンドリソソームにおいて分解され、ＭＨＣクラスＩ分子においてそれほど交差提示されないので、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞応答については免疫原性が低い（非特許文献２４）。更に、成熟ＤＣは、初回刺激及びＴ細胞応答の惹起において未成熟ＤＣよりも強力である（非特許文献２５）が、外因性抗原、特にＭＨＣクラスＩＩ拘束性抗原を効率的に取り込む能力が失われている（非特許文献２６）。その結果、ワクチンとしてのペプチドでパルスされたＤＣは、幾つかの制約を有する。例えば、ペプチド分解、急速なＭＨＣクラスＩのターンオーバー、及びＤＣ／ペプチドの調製及び注射中におけるＭＨＣクラスＩ分子からのペプチドの解離によって、ＤＣ表面におけるＭＨＣクラスＩ／ペプチド複合体の半減期が短くなり、その結果、Ｔ細胞の応答が弱くなり得る。

【００２０】

タンパク質ベースのワクチン送達の有効性を改善するために、癌ペプチドをＤＣに細胞内送達するために細胞透過性ペプチドを使用することが提案されている（非特許文献２７）。細胞透過性ペプチド（ＣＰＰ）は、細胞膜を横断し、殆どの細胞型に侵入する能力を

有する８残基～４０残基のペプチドである（非特許文献２８及び２９）。或いは、天然タンパク質中に存在したときの起源を反映してタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）とも呼ばれる。ヒト免疫不全ウイルスのＴａｔタンパク質、単純ヘルペスウイルスのＶＰ２２タンパク質、及び線維芽細胞成長因子を含む幾つかの強力なＣＰＰがタンパク質から同定されている（非特許文献３０～３４）。ＤＣ／ＴＡＴ－ＴＲＰ２によって惹起されるＴ細胞活性は、ＤＣ／ＴＲＰ２によって誘導されるものよりも３倍～１０倍高いことが見出された（非特許文献３５）。

【００２１】

更に、サブユニットワクチン（ペプチド又はタンパク質）は、免疫原性が低い。したがって、治療用癌ワクチンでは、ＤＣにおける共刺激分子のレベルを増大させ、それによって、標的抗原に対する免疫系の応答を増加させるために、強力なアジュバントをワクチンに添加することが必須である。アジュバントは、免疫系によって自然界で認識される、保存されている微生物成分を模倣することによってこの課題を達成する。アジュバントとしては、リポ多糖（ＬＰＳ）、細菌の細胞壁の成分、及び核酸、例えば、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）、一本鎖ＤＮＡ（ｓｓＤＮＡ）、並びに非メチル化ＣｐＧジヌクレオチド含有ＤＮＡが挙げられる。ワクチンと共にアジュバントが存在することによって、抗原に対する自然免疫応答を大きく増大させることができる。更に、このアジュバントは、体液性免疫応答ではなくＣＴＬ及び型局在Ｔｈ１による適応免疫応答を促進して、抗体を産生させるはずである。様々なアジュバントが評価されているが、ヒトでの使用について規制上の承認が得られているのは限られた数だけである。これらとしては、米国ではＡｌｕｍ、ＭＰＬ（モノホスホリルリピドＡ）及び$ＡＳＯ_4$（Ａｌｕｍ及びＭＰＬ）、欧州ではＭＦ５９（水中油型エマルション）、$ＡＳＯ_4$、リポソームが挙げられる（非特許文献３６）。

【００２２】

近年、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）リガンドが有望なアジュバントのクラスとして浮上している（非特許文献３７）。したがって、癌ワクチン研究の著しい進歩は、ＴＬＲ－３（ｐｏｌｙ　Ｉ：Ｃ）、ＴＬＲ－４（モノホスホリルリピドＡ；ＭＰＬ）、ＴＬＲ－５（フラジェリン）、ＴＬＲ－７（イミキモド）、及びＴＬＲ－９（ＣｐＧ）を含む様々なＴＬＲアゴニストをワクチン製剤に含めることであった（非特許文献３８）。ＴＬＲ刺激後のシグナル伝達の種類及び免疫細胞によって産生されるサイトカインの種類は、ＣＤ４＋Ｔ細胞のＴｈ１、Ｔｈ２、Ｔｈ１７、及びＴｒｅｇ細胞への分化を制御する。殆どのＴＬＲベースのアジュバントによるＤＣ及びＴ細胞等の免疫細胞の刺激によって炎症促進性サイトカインが産生され、Ｔｈ１及びＣＤ８＋Ｔ応答を促進する（非特許文献３９）。

【００２３】

ワクチンをＴＬＲリガンドにコンジュゲートさせることは、（ｉ）ＴＬＲを発現する免疫細胞によって優先的に取り込まれる、（ｉｉ）免疫応答がより高い、及び（ｉｉｉ）末梢寛容を誘導するリスクが低いことを含む、コンジュゲートしていないワクチンに対する幾つかの利点を付与する魅力的なアプローチである。実際には、抗原がロードされた抗原提示細胞が全て同時に活性化される。様々なグループが、ペプチド又はタンパク質ワクチンに主に化学的に結合している様々なＴＬＲリガンドを用いてこのアプローチについて研究した（非特許文献４０）。ペプチドに対する化学結合が容易に実施できるので、ワクチンとのコンジュゲートについて最も高度に研究されたＴＬＲリガンドは、ＴＬＲ２アゴニストであるＰａｍ２Ｃｙｓ及びＰａｍ３Ｃｙｓである（非特許文献４１）。

【００２４】

しかし、今日まで、癌ワクチンの治験の大部分が、限定的な有効性しか示していない。１つの解釈は、同時に（ｉ）マルチエピトープ細胞傷害性Ｔ細胞介在性免疫を刺激し、（ｉｉ）$Ｔ_h$細胞を誘導し、（ｉｉｉ）免疫記憶を促進することができる治療法が存在していないことである。これら３つのパラメータは、強力で長続きする抗腫瘍免疫を生じさせるのに必須である。実際には、様々なエピトープに特異的なＣＴＬは、異種の腫瘍塊内でより多くの癌細胞を破壊し、抗原欠損変異体の増殖を回避することができる（腫瘍免疫逃避）。$Ｔ_h$細胞は、持続性の細胞免疫の維持に関与しており、また、$Ｔ_h$細胞による腫瘍

浸潤は、ＣＤ８$^{+}$ＣＴＬの動員及び機能にとって必須の工程である。免疫記憶は、腫瘍再発から保護するのに必須である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００２５】

【非特許文献１】Ｃａｎｃｅｒ，Ｉ．Ａ．ｆ．Ｒ．ｏ．ＧＬＯＢＡＣＡＮ ２０１２．２０１２［２０１５年７月５日掲載］；ｈｔｔｐ：／／ｇｌｏｂｏｃａｎ．ｉａｒｃ．ｆｒ／Ｐａｇｅｓ／ｂｕｒｄｅｎ＿ｓｅｌ．ａｓｐｘから利用可能

【非特許文献２】Ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ，Ｃ．ｆ．Ｄ．Ｃ．ａ．Ｗｈａｔ Ａｒｅ ｔｈｅ Ｒｉｓｋ Ｆａｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ Ｃａｎｃｅｒ？ ２０１５［２０１５年７月５日掲載］

【非特許文献３】Ｓｔｅｗａｒｔ，Ｂ．ａｎｄ Ｃ．Ｗｉｌｄ，Ｗｏｒｌｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｐｏｒｔ ２０１４，Ｂ．Ｓｔｅｗａｒｔ ａｎｄ Ｃ．Ｗｉｌｄ，Ｅｄｉｔｏｒｓ．２０１４，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ａｇｅｎｃｙ ｆｏｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｏｎ Ｃａｎｃｅｒ：Ｇｅｎｅｖａ

【非特許文献４】Ｂｕｒｔ，Ｒ．Ｗ．，Ｊ．Ａ．ＤｉＳａｒｉｏ，ａｎｄ Ｌ．Ｃａｎｎｏｎ－Ａｌｂｒｉｇｈｔ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ｃｏｌｏｎ ｃａｎｃｅｒ：ｉｍｐａｃｔ ｏｆ ｉｎｈｅｒｉｔａｎｃｅ ｏｎ ｃｏｌｏｎ ｃａｎｃｅｒ ｒｉｓｋ．Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｍｅｄ，１９９５．４６：ｐ．３７１－９

【非特許文献５】Ｓｉｅｂｅｒ，Ｏ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ａｄｅｎｏｍａｓ，ｃｌａｓｓｉｃ ａｄｅｎｏｍａｔｏｕｓ ｐｏｌｙｐｏｓｉｓ，ａｎｄ ｇｅｒｍ－ｌｉｎｅ ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ｉｎ ＭＹＨ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ，２００３．３４８（９）：ｐ．７９１－９

【非特許文献６】Ｌｙｎｃｈ，Ｈ．Ｔ．，ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，ｎａｔｕｒａｌ ｈｉｓｔｏｒｙ，ｔｕｍｏｒ ｓｐｅｃｔｒｕｍ，ａｎｄ ｐａｔｈｏｌｏｇｙ ｏｆ ｈｅｒｅｄｉｔａｒｙ ｎｏｎｐｏｌｙｐｏｓｉｓ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ：：ａｎ ｕｐｄａｔｅｄ ｒｅｖｉｅｗ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ，１９９３．１０４（５）：ｐ．１５３５－４９

【非特許文献７】Ｄｅｎｎｉｓ Ｊ Ａｈｎｅｎ，Ｄ．Ｍ．，ＦＡ．Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ：Ｅｐｉｄｅｍｉｏｌｏｇｙ，ｒｉｓｋ ｆａｃｔｏｒｓ，ａｎｄ ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ ｆａｃｔｏｒｓ．２０１５［２０１５年７月９日掲載］；ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｕｐｔｏｄａｔｅ．ｃｏｍ／ｃｏｎｔｅｎｔｓ／ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ－ｃａｎｃｅｒ－ｅｐｉｄｅｍｉｏｌｏｇｙ－ｒｉｓｋ－ｆａｃｔｏｒｓ－ａｎｄ－ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ－ｆａｃｔｏｒｓから入手可能

【非特許文献８】Ｅｋｂｏｍ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｕｌｃｅｒａｔｉｖｅ ｃｏｌｉｔｉｓ ａｎｄ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ．Ａ ｐｏｐｕｌａｔｉｏｎ－ｂａｓｅｄ ｓｔｕｄｙ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ，１９９０．３２３（１８）：ｐ．１２２８－３３

【非特許文献９】Ｊｅｍａｌ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｇｌｏｂａｌ ｃａｎｃｅｒ ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ．ＣＡ Ｃａｎｃｅｒ Ｊ Ｃｌｉｎ，２０１１．６１（２）：ｐ．６９－９０

【非特許文献１０】Ｍｏｅｒｔｅｌ，Ｃ．Ｇ．，Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ ｆｏｒ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ，１９９４．３３０（１６）：ｐ．１１３６－４２

【非特許文献１１】Ｍｅｙｅｒｈａｒｄｔ，Ｊ．Ａ．ａｎｄ Ｒ．Ｊ．Ｍａｙｅｒ，Ｓｙｓｔｅｍｉｃ ｔｈｅｒａｐｙ ｆｏｒ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ．Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ，２００５．３５２（５）：ｐ．４７６－８７

【非特許文献１２】Ｇａｌｌａｇｈｅｒ，Ｄ．Ｊ．ａｎｄ Ｎ．Ｋｅｍｅｎｙ，Ｍｅｔａｓｔａｔｉｃ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ：ｆｒｏｍ ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｓｕｒｖｉｖａｌ ｔｏ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ｃｕｒｅ．Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，２０１０．

７８（３－４）：ｐ．２３７－４８
【非特許文献１３】ｇｌｏｂａｌｄａｔａ，２０１２
【非特許文献１４】Ｓｌｉｎｇｌｕｆｆ ＣＬ，Ｊｒ．Ｔｈｅ ｐｒｅｓｅｎｔ ａｎｄ ｆｕｔｕｒｅ ｏｆ ｐｅｐｔｉｄｅ ｖａｃｃｉｎｅｓ ｆｏｒ ｃａｎｃｅｒ：ｓｉｎｇｌｅ ｏｒ ｍｕｌｔｉｐｌｅ，ｌｏｎｇ ｏｒ ｓｈｏｒｔ，ａｌｏｎｅ ｏｒ ｉｎ ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ？ Ｃａｎｃｅｒ ｊｏｕｒｎａｌ ２０１１；１７（５）：３４３－５０
【非特許文献１５】Ｍｅｌｉｅｆ ＣＪ，ｖａｎ ｄｅｒ Ｂｕｒｇ ＳＨ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ ｅｓｔａｂｌｉｓｈｅｄ（ｐｒｅ）ｍａｌｉｇｎａｎｔ ｄｉｓｅａｓｅ ｂｙ ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ ｌｏｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅ ｖａｃｃｉｎｅｓ．Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ Ｃａｎｃｅｒ ２００８；８（５）：３５１－６０
【非特許文献１６】Ｋｒｕｉｔ ＷＨ，Ｓｕｃｉｕ Ｓ，Ｄｒｅｎｏ Ｂ，Ｍｏｒｔｉｅｒ Ｌ，Ｒｏｂｅｒｔ Ｃ，Ｃｈｉａｒｉｏｎ－Ｓｉｌｅｎｉ Ｖ，ｅｔ ａｌ．Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｓｔｉｍｕｌａｎｔ ＡＳ１５ ｆｏｒ ａｃｔｉｖｅ ｉｍｍｕｎｉｚａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ ＭＡＧＥ－Ａ３ ｐｒｏｔｅｉｎ：ｒｅｓｕｌｔｓ ｏｆ ａ ｒａｎｄｏｍｉｚｅｄ ｐｈａｓｅ ＩＩ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｏｒｇａｎｉｓａｔｉｏｎ ｆｏｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｍｅｌａｎｏｍａ Ｇｒｏｕｐ ｉｎ Ｍｅｔａｓｔａｔｉｃ Ｍｅｌａｎｏｍａ．Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｏｎｃｏｌｏｇｙ：ｏｆｆｉｃｉａｌ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２０１３；３１（１９）：２４１３－２０
【非特許文献１７】Ｖａｎｓｔｅｅｎｋｉｓｔｅ Ｊ，Ｚｉｅｌｉｎｓｋｉ Ｍ，Ｌｉｎｄｅｒ Ａ，Ｄａｈａｂｒｅｈ Ｊ，Ｇｏｎｚａｌｅｚ ＥＥ，Ｍａｌｉｎｏｗｓｋｉ Ｗ，ｅｔ ａｌ．Ａｄｊｕｖａｎｔ ＭＡＧＥ－Ａ３ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｉｎ ｒｅｓｅｃｔｅｄ ｎｏｎ－ｓｍａｌｌ－ｃｅｌｌ ｌｕｎｇ ｃａｎｃｅｒ：ｐｈａｓｅ ＩＩ ｒａｎｄｏｍｉｚｅｄ ｓｔｕｄｙ ｒｅｓｕｌｔｓ．Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｏｎｃｏｌｏｇｙ：ｏｆｆｉｃｉａｌ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２０１３；３１（１９）：２３９６－４０３
【非特許文献１８】Ｓｍｉｔｈ，Ｃ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ．Ｂｒ Ｍｅｄ Ｂｕｌｌ，２００２．６４：ｐ．１８１－２００
【非特許文献１９】Ｋｏｉｄｏ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｆｏｒ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ．Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ，２０１３．１９（４６）：ｐ．８５３１－４２
【非特許文献２０】Ｘｉａｎｇ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ．Ｄｉｓｃｏｖ Ｍｅｄ，２０１３．１５（８４）：ｐ．３０１－８
【非特許文献２１】Ｃｌａｒｋｅ，Ｊ．Ｍ．ａｎｄ Ｈ．Ｉ．Ｈｕｒｗｉｔｚ，Ｚｉｖ－ａｆｌｉｂｅｒｃｅｐｔ：ｂｉｎｄｉｎｇ ｔｏ ｍｏｒｅ ｔｈａｎ ＶＥＧＦ－Ａ－－ｄｏｅｓ ｍｏｒｅ ｍａｔｔｅｒ？ Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，２０１３．１０（１）：ｐ．１０－１
【非特許文献２２】ｖａｎ Ｍｏｎｔｆｏｏｒｔ Ｎ，Ｃａｍｐｓ ＭＧ，Ｋｈａｎ Ｓ，Ｆｉｌｉｐｐｏｖ ＤＶ，Ｗｅｔｅｒｉｎｇｓ ＪＪ，Ｇｒｉｆｆｉｔｈ ＪＭ，ｅｔ ａｌ．Ａｎｔｉｇｅｎ ｓｔｏｒａｇｅ ｃｏｍｐａｒｔｍｅｎｔｓ ｉｎ ｍａｔｕｒｅ ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ ｃｅｌｌｓ ｆａｃｉｌｉｔａｔｅ ｐｒｏｌｏｎｇｅｄ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｔ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ ｃｒｏｓｓ－ｐｒｉｍｉｎｇ ｃａｐａｃｉｔｙ．Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍ

erica 2009;106(16):6730-5
【非特許文献23】Toes RE, Offringa R, Blom RJ, Melief CJ, Kast WM. Peptide vaccination can lead to enhanced tumor growth through specific T-cell tolerance induction. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1996;93(15):7855-60
【非特許文献24】Rosalia RA, Quakkelaar ED, Redeker A, Khan S, Camps M, Drijfhout JW, et al. Dendritic cells process synthetic long peptides better than whole protein, improving antigen presentation and T-cell activation. European journal of immunology 2013;43(10):2554-65
【非特許文献25】Apetoh L, Locher C, Ghiringhelli F, Kroemer G, Zitvogel L. Harnessing dendritic cells in cancer. Semin Immunol. 2011;23:42-49
【非特許文献26】Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. Nature. 1998;392:245-252
【非特許文献27】Wang RF, Wang HY. Enhancement of antitumor immunity by prolonging antigen presentation on dendritic cells. Nat Biotechnol. 2002;20:149-156
【非特許文献28】Copolovici DM, Langel K, Eriste E, Langel U. Cell-penetrating peptides:design, synthesis, and applications. ACS nano 2014;8(3):1972-94
【非特許文献29】Milletti F. Cell-penetrating peptides:classes, origin, and current landscape. Drug Discov Today 2012
【非特許文献30】Berry CC. Intracellular delivery of nanoparticles via the HIV-1 tat peptide. Nanomedicine. 2008;3:357-365
【非特許文献31】Deshayes S, Morris MC, Divita G, Heitz F. Cell-penetrating peptides:Tools for intracellular delivery of therapeutics. Cell Mol Life Sci. 2005;62:1839-1849
【非特許文献32】Edenhofer F. Protein transduction revisited:Novel insights into the mechanism underlying intracellular delivery of proteins. Curr Pharm Des. 2008;14:3628-3636
【非特許文献33】Gupta B, Levchenko TS, Torchilin VP. Intracellular delivery of large molecules and small particles by cell-penetrating proteins and peptides. Adv Drug Deliv Rev. 2005;57:637-651

【非特許文献３４】Ｔｏｒｃｈｉｌｉｎ ＶＰ．Ｒｅｃｅｎｔ ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ ｔｏ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｏｆ ｄｒｕｇｓ ａｎｄ ＤＮＡ ａｎｄ ｏｒｇａｎｅｌｌｅ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ．Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｂｉｏｍｅｄ Ｅｎｇ．２００６；８：３４３－３７５
【非特許文献３５】Ｗａｎｇ ＨＹ，Ｆｕ Ｔ，Ｗａｎｇ Ｇ，Ｇａｎｇ Ｚ，Ｄｏｎｎａ ＭＰＬ，Ｙａｎｇ ＪＣ，Ｒｅｓｔｉｆｏ ＮＰ，Ｈｗｕ Ｐ，Ｗａｎｇ ＲＦ．Ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ＣＤ４＋ Ｔ ｃｅｌｌ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ａｎｔｉｔｕｍｏｒ ｉｍｍｕｎｉｔｙ ｂｙ ＴＡＴ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｔｕｍｏｒ ａｎｔｉｇｅｎ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｉｎｔｏ ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ ｃｅｌｌｓ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ．２００２ａ；１０９：１４６３－１４７０
【非特許文献３６】Ｌｉｍ，Ｙ．Ｔ．，Ｖａｃｃｉｎｅ ａｄｊｕｖａｎｔ ｍａｔｅｒｉａｌｓ ｆｏｒ ｃａｎｃｅｒ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ａｎｄ ｃｏｎｔｒｏｌ ｏｆ ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ．Ｃｌｉｎ Ｅｘｐ Ｖａｃｃｉｎｅ Ｒｅｓ，２０１５．４（１）：ｐ．５４－８
【非特許文献３７】Ｂａｘｅｖａｎｉｓ，Ｃ．Ｎ．，Ｉ．Ｆ．Ｖｏｕｔｓａｓ，ａｎｄ Ｏ．Ｅ．Ｔｓｉｔｓｉｌｏｎｉｓ，Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ａｇｏｎｉｓｔｓ：ｃｕｒｒｅｎｔ ｓｔａｔｕｓ ａｎｄ ｆｕｔｕｒｅ ｐｅｒｓｐｅｃｔｉｖｅ ｏｎ ｔｈｅｉｒ ｕｔｉｌｉｔｙ ａｓ ａｄｊｕｖａｎｔｓ ｉｎ ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎ ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ，２０１３．５（５）：ｐ．４９７－５１１
【非特許文献３８】Ｄｕｔｈｉｅ ＭＳ，Ｗｉｎｄｉｓｈ ＨＰ，Ｆｏｘ ＣＢ，Ｒｅｅｄ ＳＧ．Ｕｓｅ ｏｆ ｄｅｆｉｎｅｄ ＴＬＲ ｌｉｇａｎｄｓ ａｓ ａｄｊｕｖａｎｔｓ ｗｉｔｈｉｎ ｈｕｍａｎ ｖａｃｃｉｎｅｓ．Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ．２０１１；２３９：１７８－１９６
【非特許文献３９】Ｍａｎｉｃａｓｓａｍｙ Ｓ，Ｐｕｌｅｎｄｒａｎ Ｂ．Ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ ａｄａｐｔｉｖｅ ｉｍｍｕｎｉｔｙ ｗｉｔｈ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ．Ｓｅｍｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００９；２１：１８５－１９３
【非特許文献４０】Ｚｏｍ ＧＧ，Ｋｈａｎ Ｓ，Ｆｉｌｉｐｐｏｖ ＤＶ，Ｏｓｓｅｎｄｏｒｐ Ｆ．ＴＬＲ ｌｉｇａｎｄ－ｐｅｐｔｉｄｅ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ ｖａｃｃｉｎｅｓ：ｔｏｗａｒｄ ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ．Ａｄｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０１２；１１４：１７７－２０１
【非特許文献４１】Ｆｕｊｉｔａ，Ｙ．ａｎｄ Ｈ．Ｔａｇｕｃｈｉ，Ｏｖｅｒｖｉｅｗ ａｎｄ ｏｕｔｌｏｏｋ ｏｆ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｌｉｇａｎｄ－ａｎｔｉｇｅｎ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ ｖａｃｃｉｎｅｓ．Ｔｈｅｒ Ｄｅｌｉｖ，２０１２．３（６）：ｐ．７４９－６０

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００２６】
上記に鑑みて、本発明の目的は、上に概説した現行の癌ワクチンの問題点を克服し、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において用いるための、抗腫瘍活性が改善されたより強力なワクチンを表す結腸直腸癌免疫療法用途のための新規複合体を提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【００２７】
この目的は、以下に記載する発明主題及び添付の特許請求の範囲を用いて達成される。
【００２８】
以下に、添付図面の簡単な説明を記載する。図面は、本発明をより詳細に説明することを意図する。しかし、これらは、如何なる方法でも本発明の発明主題を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】

【００２９】
【図１】図１は、実施例１について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＣＤ４０の発現を示す。３００ｎＭのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５、Ｍａｄ５、又は２５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳで４８時間、ＤＣを刺激した。各条件についてアイソタイプ染色も実施した（アイソタイプは図１には示さない）（実験１回）。
【図２】図２は、実施例１について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＣＤ８６の発現を示す。３００ｎＭのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５、Ｍａｄ５、又は２５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳで４８時間、ＤＣを刺激した。各条件についてアイソタイプ染色も実施した（アイソタイプは図２には示さない）（実験１回）。
【図３】図３は、実施例１について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡＤＲの発現を示す。３００ｎＭのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５、Ｍａｄ５、又は２５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳで４８時間、ＤＣを刺激した。各条件についてアイソタイプ染色も実施した（アイソタイプは図３には示さない）（実験１回）。
【図４】図４は、実施例１について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＣＤ８３の発現を示す。３００ｎＭのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５、Ｍａｄ５、又は２５ｎｇ／ｍＬのＬＰＳで４８時間、ＤＣを刺激した。各条件についてアイソタイプ染色も実施した（アイソタイプは図４には示さない）（実験１回）。
【図５】図５は、実施例２について、様々なＴＣＲトランスジェニックマウス由来の骨髄由来樹状細胞（ＢＭＤＣ）及び脾細胞を用いたインビトロ系におけるマウスの機能的ＭＨＣクラスＩ拘束性交差提示を示す。この目的のために、ＢＭＤＣに３００ｎＭのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、又はＭａｄ５を一晩ロードした。それぞれＣＦＳＥで標識したＯＴ１細胞及びＰ－Ｍｅｌ細胞と共に４日間後、ＯＶＡＣＤ８エピトープ及びｇｐ１００エピトープの効率的なＭＨＣクラスＩ拘束性提示をモニタリングした。ＣＦＳＥで標識したＯＴ２細胞と共に４日間後、ＯＶＡＣＤ４エピトープの効率的なＭＨＣクラスＩＩ拘束性提示をモニタリングした。コントロールとして、ＢＭＤＣを５μＭのペプチドで１時間パルスした（２回の個々の実験を代表する実験１回）。
【図６】図６は、実施例３の２ｎｍｏｌ群の結果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＥＤＡＭａｄ５又はＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５を２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。ポジティブコントロール群にはＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）をワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス３頭～４頭、実験１回）。
【図７】図７は、実施例３の１０ｎｍｏｌ群の結果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに１０ｎｍｏｌのＥＤＡＭａｄ５又はＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５を２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。ポジティブコントロール群にはＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）をワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス３頭～４頭、実験１回）。
【図８】図８は、実施例３について、試験した全ての群のペンタマー陽性Ｃ８＋Ｔ細胞の割合を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌ又は１０ｎｍｏｌのＥＤＡＭａｄ５又はＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５を２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。ポジティブコントロール群にはＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）をワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス３頭～４頭を用いて実験１回）。
【図９】図９は、実施例４について、１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長を示す（平均±ＳＥＭ）；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（二要因分散分析）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に１０ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、Ｍａｄ５

、又はＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズをノギスで測定した。
【図１０】図１０は、実施例４について、個々の腫瘍性長曲線を示す（１群当たりマウス個体７頭）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に１０ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、Ｍａｄ５、又はＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズをノギスで測定した。
【図１１】図１１は、実施例４について、（Ａ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（ログランク検定）及び（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの腫瘍無増悪曲線；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（ログランク検定）。
【図１２】図１２は、実施例５について、全実験群の転移数を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに１×１０^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、又はＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）、又はＭＰＬＡのみを皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ０及びｄ９）。１３日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとの転移病巣の数を計数した。＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（独立Ｔ検定）。
【図１３】図１３は、実施例６について、全実験群の転移数を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、又はＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ－２１及びｄ－７）。０日目に、マウスに１×１０^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植した。１４日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとの転移病巣の数を計数した。＊＊、ｐ＜０．０５；＊＊＊、ｐ＜０．００１（独立Ｔ検定）。
【図１４】図１４は、実施例８の結果を示す。ＨＥＫ－ｈＴＬＲ２細胞株を平底９６ウェルプレート中の培養培地に播種し、０．３μＭ、１μＭ、又は３μＭのＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５又はＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。５００ｎｇ／ｍＬのＰａｍ３ＣＳＫ４をポジティブコントロールに用いた。（Ａ）２０マイクロリットルの上清をＱｕａｎｔｉＢｌｕｅ（登録商標）検出培地に添加し、３７℃で１時間インキュベートした後、ＯＤを読み出した（６２０ｎｍ）。（Ｂ）上清中のＩＬ－８分泌の定量（ＥＬＩＳＡによる）。
【図１５】図１５は、実施例９の結果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５を２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（実験１回）。
【図１６】図１６は、実施例９の結果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５で２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いた実験１回）。＊、ｐ＜０．０５。
【図１７】図１７は、実施例１０について、１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長を示す（平均±ＳＥＭ）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に１０ｎｍｏｌのＡｎａｘＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４の同時注射（Ａｎａｘａと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズをノギスで測定した。＊、ｐ＜０．０５；＊＊＊、ｐ＜０．００１；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１。
【図１８】図１８は、実施例１０について、個々の腫瘍成長曲線（１群当たりマウス個体７頭）を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に１０ｎｍｏｌのＡｎａｘＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４の同時注射（Ａｎａｘａと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズを

ノギスで測定した。
【図１９】図１９は、実施例１０について、１群当たり７頭のマウスの生存曲線を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に１０ｎｍｏｌのＡｎａｘＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４の同時注射（Ａｎａｘａと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズをノギスで測定した。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（ログランク検定）。
【図２０】図２０は、実施例１１について、１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長を示す（平均±ＳＥＭ）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＨｐ９１Ｚ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１３Ｍａｄ５ＥＤＡ、又はＺ１３Ｍａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊、ｐ＜０．００１；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（２３日目における二要因分散分析）。
【図２１】図２１は、実施例１１について、個々の腫瘍成長曲線（１群当たりマウス個体７頭）を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＨｐ９１Ｚ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１３Ｍａｄ５ＥＤＡ、又はＺ１３Ｍａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。
【図２２】図２２は、実施例１１について、１群当たりマウス７頭全ての生存曲線を示す。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１（ログランク検定）。
【図２３】図２３は、実施例１２について、１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長を示す（平均±ＳＥＭ）；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（ログランク検定）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌ、２ｎｍｏｌ、又は１０ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５に１回及びｄ１３に１回）。腫瘍サイズをノギスで測定した。
【図２４】図２４は、実施例１３について、０．５ｎｍｏｌ（Ａ）又は２ｎｍｏｌ（Ｂ）のＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（Ｗｋ０に１回、Ｗｋ２に１回、及びＷｋ４に１回）ｓ．ｃ．、ｉ．ｄ．、又はｉ．ｍ．でワクチン接種したＣ５７ＢＬ／６マウスの血液中で検出されたＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞応答を示す。２回目及び３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから血液を採取し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。＊、ｐ＜０．０５。
【図２５】図２５は、実施例１３について、マルチマー陽性ＣＤ８　Ｔ細胞で分析したＫＬＲＧ１発現（Ａ）及びＰＤ－１発現（Ｂ）を示す（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（Ｗｋ０に１回、Ｗｋ２に１回、及びＷｋ４に１回）ｓ．ｃ．、ｉ．ｄ．、又はｉ．ｍ．でワクチン接種した。２回目及び３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから血液を採取し、ＦＡＣＳ染色を実施した。
【図２６】図２６は、実施例１４について、０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを節間に２回（Ｗｋ０に１回及びＷｋ２に１回）ワクチン接種したＣ５７ＢＬ／６マウスにおけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞応答を示す。２回目のワクチン接種の７日間後にマウスから血液を採取し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス３頭）。
【図２７】図２７は、実施例１５について、ＣＤ８　Ｔ細胞のうちのペンタマー陽性細胞の割合（Ａ及びＢ；＊、ｐ＜０．０５）及びペンタマー陽性ＣＤ８　Ｔ細胞のＫＬＲＧ１幾何平均（Ｃ及びＤ）を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ

１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（Ａ及びＣ；Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４；Ｂ及びＤ：Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【図２８】図２８は、実施例１５について、ＣＤ８　Ｔ細胞のうちのマルチマー陽性細胞の割合（Ａ及びＤ）；マルチマー陽性ＣＤ８　Ｔ細胞のＫＬＲＧ１幾何平均（Ｂ及びＥ）；及びマルチマー陽性ＣＤ８　Ｔ細胞のＰＤ１幾何平均（Ｃ及びＦ）を示す。Ａ～Ｃ、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに０日目、３日目、及び７日目に３回ワクチン接種し、７日目及び１４日目に採血した。Ｄ～Ｆ、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに０日目、７日目、及び１４日目に３回ワクチン接種し、１４日目及び２１日目に採血した。０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．ワクチン接種した。血液サンプルに対してマルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【図２９】図２９は、実施例１６について、ＩＬ－６の分泌を示し、これは、図中に示す通り、様々なコンストラクトと共にＢＭＤＣをインキュベートした後のＡＰＣの活性化を示す。簡潔に述べると、ＢＭＤＣを平底９６ウェルプレート中の培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、又はＥＤＡＭａｄ５で刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。上清中のＩＬ－６の分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。２回～３回の個々の実験の平均±ＳＥＭ。

【図３０】図３０は、実施例１６について、ＴＮＦ－αの分泌を示し、これは、図中に示す通り、様々なコンストラクトと共にＲａｗ２６４．７細胞をインキュベートした後のＡＰＣ活性化を示す。簡潔に述べると、Ｒａｗ２６４．７細胞を平底９６ウェルプレート中の培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５で刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。上清中のＴＮＦ－αの分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。２回～３回の個々の実験の平均±ＳＥＭ。

【図３１】図３１は、実施例１７について、ＩＬ－８の分泌を示し、これは、図中に示す通り、様々なコンストラクトと共にＨＥＫ－ｈＴＬＲ４細胞をインキュベートした後のＴＬＲ４結合を示す。簡潔に述べると、ＨＥＫ－ｈＴＬＲ４細胞を平底９６ウェルプレート中の培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、又はＥＤＡＭａｄ５で刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。上清中のＩＬ－８の分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。２回の個々の実験の平均±ＳＥＭ。

【図３２】図３２は、実施例１８について、半治療設定の肺転移モデルにおける転移の数を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに1×10^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）、又はＭＰＬＡのみを皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ０及びｄ９）。１３日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとの転移病巣の数を計数した。＊＊、ｐ＜０．０１（テューキーの多重比較検定を用いる一要因分散分析）。

【図３３】図３３は、実施例１９について、半治療設定の肺転移モデルにおける転移の数を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに1×10^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４（Ａｎａｘａと等モル）を皮下注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ０及びｄ９）。２１日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとに転移病巣の数を計数した。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１（独立ｔ検定）。

【図３４】図３４は、実施例２０について、Ｑｕａｄ－Ｇｌ２６１神経膠芽細胞腫モデルにおけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の定量を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに5×10^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡ

ｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ７及びｄ２１）。マルチマー染色によってｄ２８に血液中及びＢＩＬ中のＳＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤＳ　Ｔ細胞を定量した（１群当たりマウス５頭～８頭）。

【図３５】図３５は、実施例２０について、サイトカインの分泌を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに5×10^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ７及びｄ２１）。ＢＩＬを単離し、ブレフェルジンＡの存在下でＳｌｌＮＦＥＫＬペプチドをロードしたか又はしていない成熟ＢＭＤＣと共に６時間培養した後、サイトカインを細胞内染色した。サイトカイン分泌ＣＤ８　Ｔ細胞の％（１群当たりマウス５頭～８頭）。

【図３６】図３６は、実施例２１について、Ｑｕａｄ－Ｇｌ２６１神経膠芽細胞腫モデルにおける生存に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの効果を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに5×10^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって３回ワクチン接種した（ｄ７、ｄ２１、及びｄ３５）。マウスを毎日計量し、体重減少が１５％超に達したとき安楽死させた。

【図３７】図３７は、実施例２２について、予防設定における皮下ＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍モデルにおける腫瘍成長及び生存に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの効果を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回（ｄ－２１及びｄ－７）ワクチン接種し、次いで、左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞を０日目にｓ．ｃ．移植した。腫瘍サイズをノギスで測定した。（Ａ）１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（３０日目における二要因分散分析）。（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。＊＊＊、ｐ＜０．００１（ログランク検定）。

【図３８】図３８は、実施例２３について、定着腫瘍における治療設定の皮下Ｂ１６－ＯＶＡ腫瘍モデルにおける腫瘍成長及び生存に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの効果を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に1×10^{5}個のＢ１６－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ１４及びｄ２１）。（Ａ）１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）；＊、ｐ＜０．０５（３２日目における二要因分散分析）。（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。

【図３９】図３９は、実施例２４について、皮下ＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍モデルにおける腫瘍成長及び生存に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ中のＣＰＰの効果を示す。簡潔に述べると、０日目にＣ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、次いで、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＭａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。腫瘍サイズをノギスで測定した。（Ａ）１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１。（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊、ｐ＜０．００１。

【図４０】図４０は、実施例２５について、免疫応答に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌ（Ａ）又は０．５ｎｍｏｌ（Ｂ）のＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａを５回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、Ｗｋ６、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目、３回目、４回目、及び５回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。＊、ｐ＜０．０５　Ｚ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスのＶａｃ２後を除く各時点におけるワクチン接種したマウス対ナイーブマウス。

【図４１】図４１は、実施例２６について、脾臓（Ａ）、排出リンパ節（Ｂ）、及び骨髄（Ｃ）におけるＣＤ８　Ｔ細胞に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａを５回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、Ｗｋ６、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。５回目のワクチン接種の９日間後、マウスを安楽死させ、器官を摘出し、マルチマー染色を実施した。

【図４２】図４２は、実施例２６について、脾臓におけるＴ細胞に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す（ＣＤ８　Ｔ細胞応答（Ａ）及びＣＤ４　Ｔ細胞応答（Ｂ））。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａを５回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、Ｗｋ６、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。（Ａ）５回目のワクチン接種の９日間後、ＳＩＩＮＦＥＫＬ　ＯＶＡＣＤ８ペプチドで刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。（Ｂ）５回目のワクチン接種の９日間後、ＯＶＡＣＤ４ペプチドで刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【図４３】図４３は、実施例２６について、ＣＤ８　Ｔ細胞エフェクタ機能に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａを５回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、Ｗｋ６、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。５回目のワクチン接種の９日間後、ＳＩＩＮＦＥＫＬ　ＯＶＡＣＤ８ペプチドで刺激した脾細胞に対して細胞内染色を実施した。

【図４４】図４４は、実施例２７について、腫瘍成長（Ａ）及び生存率（Ｂ）に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。（Ａ）１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）；＊、ｐ＜０．０５；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１（２８日目における二要因分散分析）。（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊、ｐ＜０．００１（ログランク検定）。

【図４５】図４５は、実施例２８について、免疫応答に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌ（Ａ）又は０．５ｎｍｏｌ（Ｂ）のＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５、又はＥＤＡＺ１８Ｍａｄ５を３回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。＊、ｐ＜０．０５。

【図４６】図４６は、実施例２９について、腫瘍成長（Ａ）及び生存率（Ｂ）に対するＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５をｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ５及びｄ１３）。左図：１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）；＊＊、ｐ＜０．０１（２７日目における二要因分散分析）。右図：１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。

【図４７】図４７は、実施例３０について、Ｑｕａｄ－Ｇｌ２６１神経膠芽細胞腫モデルにおけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の定量を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに5×10^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ７及びｄ２１）。マルチマー染色によってｄ２８に血液中及びＢＩＬ中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量した（１群当たりマウス７頭～１６頭）。

【図４８】図４８は、実施例３０について、サイトカインの分泌を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに5×10^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植

し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回ワクチン接種した（ｄ７及びｄ２１）。ＢＩＬを単離し、ブレフェルジンＡの存在下でＳｌｌＮＦＥＫＬペプチドをロードしたか又はしていない成熟ＢＭＤＣと共に６時間培養した後、サイトカインを細胞内染色した。サイトカイン分泌ＣＤ８　Ｔ細胞の％（１群当たりマウス７頭～１６頭）。

【図４９】図４９は、実施例３１について、脾臓におけるＴ細胞に対するＺ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａの効果を示す（ＣＤ８　Ｔ細胞応答（Ａ）及びＣＤ４　Ｔ細胞応答（Ｂ））。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａを４回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、及びＷｋ６）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。（Ａ）４回目のワクチン接種の１週間後、ｇｐ７０ＣＤ８ペプチドで刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。（Ｂ）４回目のワクチン接種の１週間後、ｇｐ７０ＣＤ４ペプチドで刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【図５０】図５０は、実施例３２について、Ｂ１６肺転移モデルにおける転移の数（Ａ）及び脾臓におけるＴ細胞応答（Ｂ）に対するＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａの効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに１ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａを２回ｓ．ｃ．ワクチン接種した（０日目、１０日目）。

【図５１】図５１は、実施例３３について、脾臓におけるＴ細胞に対するＺ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａの効果を示す（ＣＤ８　Ｔ細胞応答。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａを４回ｓ．ｃ．ワクチン接種した（Ｗｋ０、Ｗｋ２、Ｗｋ４、及びＷｋ６）。４回目のワクチン接種の１週間後、ａｄｐｇｋペプチドで刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【図５２】図５２は、実施例３４について、免疫応答に対する様々なＣＰＰを有する複合体の効果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＴａｔＦＭａｄ５Ａｎａｘａを２回（Ｗｋ０及びＷｋ２）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス８頭を用いて実験１回）。

【図５３】図５３は、実施例３５について、ナイーブマウスにおけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の定量を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（群「Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ」）又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａ（群「Ｚ１３Ｍａｄ５＋Ａｎａｘａ」）をｓ．ｃ．注射することによって１回ワクチン接種した（０日目）。マルチマー染色によってｄ７に血液中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量した（１群当たりマウス４頭～８頭）。

【図５４】図５４は、実施例３６について、血液中のＴ細胞に対するＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａの効果を示す（ＣＤ８　Ｔ細胞応答）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａを２回（Ｗｋ０及びＷｋ２）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目のワクチン接種の１週間後、血液細胞においてネオ抗原ｒｅｐｓ１のマルチマー染色を実施した。

【図５５】図５５は、実施例３７について、１つのバフィに由来するヒト単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６（左から右へ）の発現を示す。４８時間、３００ｎＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（下図）又はＺ１３Ｍａｄ５（上図）でＤＣを刺激した。図示する通り、各条件におけるアイソタイプ染色も実施した。

【図５６】図５６は、実施例３８について、反復ワクチン接種の過程におけるマルチマー陽性細胞の割合（ＣＤ８　Ｔ細胞の％）を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを６回皮下接種した（０、２、４、８、１２、１６週）。各ワクチン接種の７日後又はワクチン接種前にマウスから採血し、ペンタマー染色を行った（１群当たり４頭のマウスで２回の実験）。時間軸下の矢印は、ワクチン接種時点を示す。

【図５７】図５７は、実施例３９について、ＭＣ－３８腫瘍モデルにおけるＺ１３Ｍａｄ

１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスとコントロールマウスの腫瘍体積（Ａ）と生存率（Ｂ）を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に、２×１０^{5}個のＭＣ３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することにより２回（腫瘍移植前の－ｄ２１及び－ｄ７）ワクチン接種した。（Ａ）腫瘍成長及び（Ｂ）１群当たり７頭のマウスの生存曲線。生存期間中央値をグラフ上に示す（ｍ．ｓ．）。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１（ログランク検定）。

【図５８】図５８は、実施例４０について、本発明に係る複合体の投与後の、選択されたサイトカインの放出を示す。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、１０ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｉ．ｖ．注射した。投与後０．５、１、及び３時間で、血液試料を採取し、Ｌｕｍｉｎｅｘのマルチプレックスを用いて血清中のＩＬ－６、ＴＮＦα、ＩＦＮγ、ＩＬ１－β、及びＩＬ１２をモニターした（ｎ＝４）。

【図５９】図５９は、実施例４１について、コントロール（列（Ａ））及びＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎｘａワクチン接種マウス（列（Ｂ））の腫瘍部位（腫瘍浸潤細胞、ＴＩＬ）におけるネオ抗原ａｄｐｇｋ特異的免疫応答を示す。ＴＩＬのＦＡＣＳドットプロットを示す。各ドットプロットについて、マルチマー陽性細胞の割合（ＣＤ８　Ｔ細胞の％）を示す。

【図６０】図６０は、実施例４１について、コントロール（列（Ａ））及びＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎｘａワクチン接種マウス（列（Ｂ））の腫瘍部位（腫瘍浸潤細胞、ＴＩＬ）におけるネオ抗原ｒｅｐｓ１特異的免疫応答を示す。血液細胞のＦＡＣＳドットプロットを示す。各ドットプロットについて、マルチマー陽性細胞の割合（ＣＤ８　Ｔ細胞の％）を示す。

【図６１】図６１は、実施例４１について、コントロール及びＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎｘａワクチン接種マウスの腫瘍部位（腫瘍浸潤細胞、ＴＩＬ）におけるネオ抗原特異的免疫応答を示す。各エピトープ（ａｄｐｇｋ（Ａ）及びｒｅｐｓ１（Ｂ））について、マルチマー陽性細胞の割合（ＣＤ８　Ｔ細胞の％）を示す。

【図６２】図６２は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１０で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６３】図６３は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１２で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６４】図６４は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１５で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６５】図６５は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１７で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６６】図６６は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１８で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６７】図６７は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１１９で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。

【図６８】図６８は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１２０で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。
【図６９】図６９は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１２２で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。
【図７０】図７０は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１２３で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。
【図７１】図７１は、実施例４２について、１つのバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）による活性マーカーＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８３、ＣＤ８０、及びＣＤ８６の発現を示す。ＤＣを６００ｎＭのＡＴＰ１２５で一晩刺激した。図示されるように、各条件についてアイソタイプ染色も実施した。
【図７２】図７２は、実施例４３について、１群当たり１３～１４頭のマウスの腫瘍成長（Ａ）及び生存率（Ｂ）を示す（平均±ＳＥＭ）。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの背部に、２×10^5個のＭＣ－３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した。「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスの尾部に、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａを皮下注射することにより３回ワクチン接種した（ｄ３、ｄ１０、及びｄ１７）。６、１０、１３、１７、２０、２４、及び２７日間目のそれぞれで、「抗ＰＤ１」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスに、２００μｇの抗ＰＤ１抗体をｉ．ｐ．投与した。腫瘍サイズをノギスで測定した。各群の無腫瘍マウスの数を、各腫瘍成長曲線で示す。＊、ｐ＜０．０５；＊＊、ｐ＜０．０１；＊＊＊、ｐ＜０．００１；＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１。
【図７３】図７３は、実施例４３について、１群当たり１３～１４頭のマウスの個々の腫瘍成長曲線を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの背部に、２×10^5個のＭＣ－３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した。「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスの尾部に、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａを皮下注射することにより３回ワクチン接種した（ｄ３、ｄ１０、及びｄ１７）。６、１０、１３、１７、２０、２４、及び２７日間目のそれぞれで、「抗ＰＤ１」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスに、２００μｇの抗ＰＤ１抗体をｉ．ｐ．投与した。腫瘍サイズををノギス測定した。
【図７４】図７４は、実施例４４の結果を示す。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、４ｎｍｏｌのＡＴＰ１２８を１回ワクチン接種した。マウスを７日後に採血し、ＡＴＰ１２８をロードした樹状細胞で刺激した血液細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した（実験１回）。
【図７５】図７５は、実施例４５について、１０種の異なるバフィに由来するヒト血液単球由来樹状細胞（ＤＣ）の活性化指数を示す。ＤＣを３００ｎＭのＡＴＰ１２８で一晩刺激した。ネガティブコントロール及びポジティブコントロールは、それぞれ緩衝液及びＭＰＬＡと共に細胞をインキュベートすることによって実施した。
【図７６Ａ】図７６は、実施例４６について、ＡＴＰ１２８を一晩ロードした後の、２つの異なるドナー、ドナー９（実線）及びドナー１０（点線）に由来するヒト樹状細胞の表面のＭＨＣクラスＩ（Ａ）及びクラスＩＩ（Ｂ）上に提示されたと認められるＡＴＰ１２８含有ペプチドの領域、並びに、ＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ上に提示されたそれぞれのペプチド数（Ｃ）を示す。下線を施した数字は、免疫原性ペプチドとして過去に文献記載されているペプチドに対応する。
【図７６Ｂ】図７６は、実施例４６について、ＡＴＰ１２８を一晩ロードした後の、２つの異なるドナー、ドナー９（実線）及びドナー１０（点線）に由来するヒト樹状細胞の表

面のＭＨＣクラスＩ（Ａ）及びクラスＩＩ（Ｂ）上に提示されたと認められるＡＴＰ１２８含有ペプチドの領域、並びに、ＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ上に提示されたそれぞれのペプチド数（Ｃ）を示す。下線を施した数字は、免疫原性ペプチドとして過去に文献記載されているペプチドに対応する。

【図７６Ｃ】図７６は、実施例４６について、ＡＴＰ１２８を一晩ロードした後の、２つの異なるドナー、ドナー９（実線）及びドナー１０（点線）に由来するヒト樹状細胞の表面のＭＨＣクラスＩ（Ａ）及びクラスＩＩ（Ｂ）上に提示されたと認められるＡＴＰ１２８含有ペプチドの領域、並びに、ＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩ上に提示されたそれぞれのペプチド数（Ｃ）を示す。下線を施した数字は、免疫原性ペプチドとして過去に文献記載されているペプチドに対応する。

【発明を実施するための形態】

【００３０】

本発明について以下に詳細に説明するが、この発明は本明細書に記載する特定の方法、プロトコル、及び試薬に限定されるものではない（これらは変更し得る）ことを理解すべきである。また、本明細書で使用する用語は、本発明の範囲を限定することを意図するものではなく、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されることも理解すべきである。特に規定しない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、当業者が一般的に理解する意味と同じ意味を有する。

【００３１】

以下に、本発明の構成要素について説明する。これら構成要素は、特定の実施形態と共に列挙されるが、これらを任意の方式で任意の数組み合わせて更なる実施形態を生み出すことができると理解すべきである。様々に記載される実施例及び好ましい実施形態は、本発明を明示的に記載される実施形態のみに限定すると解釈すべきではない。この説明は、明示的に記載される実施形態を、任意の数の開示する及び／又は好ましい構成要素と組み合わせた実施形態をサポート及び包含すると理解すべきである。更に、特に文脈上示されていない限り、本願に記載する全ての構成要素の任意の順序及び組合せが、本願の記載によって開示されているとみなすべきである。

【００３２】

特に文脈上必要としない限り、以下の本明細書及び特許請求の範囲全体を通して、用語「含む」並びに「含み」及び「含んでいる」等の変形は、指定の部材、整数、又は工程を含むことを意味するが、任意の他の指定されていない部材、整数、又は工程を除外するものではないと理解される。用語「からなる」は、任意の他の指定されていない部材、整数、又は工程が除外される、用語「含む」の特定の実施形態である。本発明の状況では、用語「含む」は、用語「からなる」を包含する。したがって、用語「を含む」は、「を含める」及び「からなる」を包含し、例えば、Ｘ「を含む」組成物は、Ｘのみからなっていてもよく、追加の要素を含んでいてもよい（例えば、Ｘ＋Ｙ）。

【００３３】

用語「ａ」及び「ａｎ」及び「ｔｈｅ」、並びに（特に、特許請求の範囲において）本発明を説明する際に用いる類似の参照物は、本明細書において特に指定しない限り又は文脈上明らかに矛盾していない限り、単数及び複数の両方を網羅すると解釈すべきである。本明細書における値の範囲の列挙は、単に、範囲内の各個別の値に個々に参照する簡略な方法として機能することを意図する。本明細書において特に指定しない限り、各個別の値は、それが個々に本明細書に列挙されているかのように明細書に組み込まれる。明細書中の如何なる言語も、本発明の実施に必須である任意の請求されていない構成要素を示すと解釈すべきではない。

【００３４】

用語「実質的に」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を完全に含んでいなくてもよい。必要な場合、用語「実質的に」を本発明の定義から省略する場合がある。

【００３５】

数値ｘに関する用語「約」は、ｘ±１０％を意味する。

【００３６】

本発明に係る複合体

本発明の第１の態様では、

結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための複合体であって、

ａ）細胞透過性ペプチドと、

ｂ）少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープと、

ｃ）少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストと

を含み、

前記成分ａ）～ｃ）、即ち、前記細胞透過性ペプチド、前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ、及び前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドが共有結合している複合体を提供する。

【００３７】

本発明に従って使用するためのかかる複合体は、（ｉ）マルチエピトープ細胞傷害性Ｔ細胞介在性免疫の刺激、（ｉｉ）$Ｔ_{h}$細胞の誘導、及び（ｉｉｉ）免疫記憶の促進を同時に行う。それによって、本発明に従って使用するための複合体は、特に抗腫瘍活性が改善された強力なワクチンを提供する。

【００３８】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、ポリペプチド又はタンパク質、特に、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質、好ましくは、組み換え融合タンパク質又は組み換え融合ポリペプチドである。用語「組み換え」とは、本明細書で使用するとき、それ（ここでは、ポリペプチド又はタンパク質）が自然界には存在しないことを意味する。したがって、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質である本発明に従って使用するための複合体は、典型的には、成分ａ）～ｃ）を含み、前記成分ａ）～ｃ）は、起源が異なる、即ち、自然界においてこの組合せでは存在しない。

【００３９】

本発明の状況では、即ち、本願全体を通して、用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」、及びこれら用語の変形は、それぞれ、好ましくは正常ペプチド結合によって、或いは修飾ペプチド結合によって（例えば、同配体ペプチドの場合）互いに結合している少なくとも２つのアミノ酸を含む、ペプチド、オリゴペプチド、オリゴマー、又はタンパク質（融合タンパク質を含む）を指す。ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質は、Ｌアミノ酸及び／又はＤアミノ酸で構成され得る。好ましくは、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質は、（完全に）Ｌアミノ酸又は（完全に）Ｄアミノ酸で構成され、それによって、「レトロ－インベルソペプチド配列」を形成する。用語「レトロ－インベルソ（ペプチド）配列」は、配列の方向が逆であり且つ各アミノ酸残基のキラリティが逆である直鎖状ペプチド配列の異性体を指す（例えば、Ｊａｍｅｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６８，７４４－７４６（１９９４）；Ｂｒａｄｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６８，６９２－６９３（１９９４）を参照）。特に、用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」は、また、ペプチドが天然親ペプチドの生物学的作用を模倣するか又は前記作用に拮抗することができる非ペプチド性構造要素を含有するペプチドアナログとして定義される「ペプチド模倣体」も含む。ペプチド模倣体は、酵素で切断しやすいペプチド結合等の古典的なペプチドの特徴を有していない。特に、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質は、遺伝子コードによって定義される２０アミノ酸に加えてこれらアミノ酸以外のアミノ酸を含んでいてもよく、遺伝子コードによって定義される２０アミノ酸以外のアミノ酸で構成されていてもよい。特に、本発明の状況におけるペプチド、ポリペプチド又はタンパク質は、等しく、当業者に周知の天然プロセス（例えば、翻訳後成熟プロセス又は化学的プロセス）によって修飾されたアミノ酸で構成されていてよい。かかる修飾は、文献に詳細に説明されている。これら修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸鎖、又は更にはカルボキシ末端若しくはアミノ末端等、ポリペプチドの何処に存在していてもよい。特に、ペプチド又はポリペプチドは、ユビキチン化後に分岐してもよく、分岐

のある又は分岐のない環状であってもよい。この種の修飾は、当業者に周知の天然又は合成翻訳後プロセスの結果であり得る。また、本発明の状況における用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」は、特に、修飾ペプチド、ポリペプチド及びタンパク質を含む。例えば、ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質の修飾は、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性固定、脂質又は脂質誘導体の共有結合性固定、ホスファチジルイノシトールの共有結合性固定、共有結合性又は非共有結合性の架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、ペグ化を含むグリコシル化、ヒドロキシル化、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、セレニル化（ｓｅｎｅｌｏｙｌａｔｉｏｎ）、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。かかる修飾は、文献に詳細に説明されている（Ｐｒｏｔｅｉｎｓ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ（１９９３）２ｎｄ Ｅｄ．，Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；Ｐｏｓｔ－ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｃｏｖａｌｅｎｔ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ（１９８３）Ｂ．Ｃ．Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；Ｓｅｉｆｔｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ａｎａｌｙｓｉｓ ｆｏｒ ｐｒｏｔｅｉｎ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ａｎｄ ｎｏｎｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｆａｃｔｏｒｓ，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８２：６２６－６４６、及びＲａｔｔａｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ｐｏｓｔ－ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ａｇｉｎｇ，Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ，６６３：４８－６２）。したがって、用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」は、好ましくは、例えば、リポペプチド、リポタンパク質、糖ペプチド、糖タンパク質等を含む。

【００４０】

しかし、特に好ましい実施形態では、本発明に従って使用するための複合体は、「古典的な」ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質であり、「古典的な」ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質は、典型的には、正常ペプチド結合によって互いに結合している、遺伝子コードによって定義される２０アミノ酸から選択されるアミノ酸で構成されている。

【００４１】

本発明に従って使用するための複合体がポリペプチド又はタンパク質である場合、少なくとも５０アミノ酸残基、少なくとも６０アミノ酸残基、少なくとも７０アミノ酸残基、好ましくは少なくとも８０アミノ酸残基、少なくとも９０アミノ酸残基、より好ましくは少なくとも１００アミノ酸残基、少なくとも１１０アミノ酸残基、更により好ましくは少なくとも１２０アミノ酸残基、少なくとも１３０アミノ酸残基、特に好ましくは少なくとも１４０アミノ酸残基、又は最も好ましくは少なくとも１５０アミノ酸残基を含むことが好ましい。

【００４２】

成分ａ）－細胞透過性ペプチド

ＣＰＰによって、特に少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを抗原提示細胞（ＡＰＣ）、特に、樹状細胞（ＤＣ）、延いては樹状細胞の抗原プロセシング機構に効率的に送達、即ち、輸送及びロードすることができる。

【００４３】

用語「細胞透過性ペプチド」（「ＣＰＰ」）は、一般的に、原形質膜を横断して様々な種類のカーゴ分子を輸送し、それによって、様々な分子カーゴ（ナノサイズの粒子から小さな化学分子及び大きなＤＮＡ断片まで）の細胞内取り込みを促進することができる短いペプチドを示すために用いられる。細胞透過性ペプチドに結合しているカーゴ分子の「細胞内部移行」とは、一般的に、原形質膜を横断するカーゴ分子の輸送と、それによるカーゴ分子の細胞への侵入を意味する。具体的な場合に応じて、カーゴ分子は、次いで、細胞質に放出され、細胞内オルガネラに誘導されるか又は細胞表面に更に提示され得る。本発

明に係る細胞透過性ペプチド又は前記細胞透過性ペプチドを含む複合体の細胞透過能若しくは内部移行は、生細胞及び固定細胞のフローサイトメトリー又は蛍光顕微鏡法、前記ペプチド又は複合体を形質導入した細胞の免疫組織化学法、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認することができる。

【００４４】

細胞透過性ペプチドは、典型的には、正に荷電したアミノ酸（例えば、リジン又はアルギニン）を比較的大量に含有しているか又は極性／荷電アミノ酸及び非極性疎水性アミノ酸を交互に含有する配列を有するアミノ酸組成を有する。これら２種類の構造は、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は、異なるサイズ、アミノ酸配列、及び電荷を有するが、全てのＣＰＰは、原形質膜を転位させ、様々な分子カーゴの細胞質又は細胞のオルガネラへの送達を促進する能力である共通の特徴を有する。現在、ＣＰＰ転位の理論では、３つの主な侵入機序が識別されている：膜における直接透過、エンドサイトーシスを介した侵入、及び一時的構造体の形成を通じた転位。ＣＰＰの形質導入は、現在進行中の研究領域である。細胞透過性ペプチドは、癌及びウイルス阻害剤を含む様々な疾患の治療における薬物送達剤として、並びに細胞を標識及び画像化するためのコントラスト剤として、医学分野において多数の用途が見出されている。

【００４５】

典型的には、細胞透過性ペプチド（ＣＰＰ）は、細胞膜を横断し、殆どの細胞型に侵入する能力を有する８残基～５０残基のペプチドである。或いは、天然タンパク質中に存在したときの起源を反映してタンパク質形質導入ドメイン（ＰＴＤ）とも呼ばれる。Ｆｒａｎｋｅｌ及びＰａｂｏは、Ｇｒｅｅｎ及びＬｏｗｅｎｓｔｅｉｎと同時に、ヒト免疫不全ウイルス１のトランス活性化転写活性化因子（ＨＩＶ－ＴＡＴ）の細胞に透過する能力について報告した（Ｆｒａｎｋｅｌ，Ａ．Ｄ．ａｎｄ Ｃ．Ｏ．Ｐａｂｏ，Ｃｅｌｌｕｌａｒ ｕｐｔａｋｅ ｏｆ ｔｈｅ ｔａｔ ｐｒｏｔｅｉｎ ｆｒｏｍ ｈｕｍａｎ ｉｍｍｕｎｏｄｅｆｉｃｉｅｎｃｙ ｖｉｒｕｓ．Ｃｅｌｌ，１９８８．５５（６）：ｐ．１１８９－９３）。１９９１年に、キイロショウジョウバエ（Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ ｍｅｌａｎｏｇａｓｔｅｒ）由来のアンテナペディアホメオドメイン（ＤＮＡ結合ドメイン）の神経細胞への形質導入が報告された（Ｊｏｌｉｏｔ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｅｎｎａｐｅｄｉａ ｈｏｍｅｏｂｏｘ ｐｅｐｔｉｄｅ ｒｅｇｕｌａｔｅｓ ｎｅｕｒａｌ ｍｏｒｐｈｏｇｅｎｅｓｉｓ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ，１９９１．８８（５）：ｐ．１８６４－８）。１９９４年には、アミノ酸配列ＲＱＩＫＩＹＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ（配列番号１）を有するペネトラチンと呼ばれる最初の１６ｍｅｒペプチドＣＰＰが、アンテナペディアのホメオドメインの３番目のヘリックスから特徴付けられ（Ｄｅｒｏｓｓｉ，Ｄ．，ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ ｔｈｉｒｄ ｈｅｌｉｘ ｏｆ ｔｈｅ Ａｎｔｅｎｎａｐｅｄｉａ ｈｏｍｅｏｄｏｍａｉｎ ｔｒａｎｓｌｏｃａｔｅｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｍｅｍｂｒａｎｅｓ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，１９９４．２６９（１４）：ｐ．１０４４４－５０）、続いて、１９９８年には、タンパク質の形質導入に必要なアミノ酸配列ＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ（配列番号２）を有するＴＡＴの最小ドメインが同定された（Ｖｉｖｅｓ，Ｅ．，Ｐ．Ｂｒｏｄｉｎ，ａｎｄ Ｂ．Ｌｅｂｌｅｕ，Ａ ｔｒｕｎｃａｔｅｄ ＨＩＶ－１ Ｔａｔ ｐｒｏｔｅｉｎ ｂａｓｉｃ ｄｏｍａｉｎ ｒａｐｉｄｌｙ ｔｒａｎｓｌｏｃａｔｅｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ｔｈｅ ｐｌａｓｍａ ｍｅｍｂｒａｎｅ ａｎｄ ａｃｃｕｍｕｌａｔｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ｃｅｌｌ ｎｕｃｌｅｕｓ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，１９９７．２７２（２５）：ｐ．１６０１０－７）。過去２０年間に亘って、ウイルスタンパク質、例えば、ＶＰ２２（Ｅｌｌｉｏｔｔ，Ｇ．ａｎｄ Ｐ．Ｏ’Ｈａｒｅ，Ｉｎｔｅｒｃｅｌｌｕｌａｒ ｔｒａｆｆｉｃｋｉｎｇ ａｎｄ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｂｙ ａ ｈｅｒｐｅｓｖｉｒｕｓ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ．Ｃｅｌｌ，１９９７．８８（２）：ｐ．２２３－３３）及びＺＥＢＲＡ（Ｒｏｔｈｅ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒ ｖｉｒｕｓ

ＺＥＢＲＡ ｔｒａｎｓ－ａｃｔｉｖａｔｏｒ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２０１０．２８５（２６）：ｐ．２０２２４－３３）、又は毒液、例えば、メリチン（Ｄｅｍｐｓｅｙ，Ｃ．Ｅ．，Ｔｈｅ ａｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ｍｅｌｉｔｔｉｎ ｏｎ ｍｅｍｂｒａｎｅｓ．Ｂｉｏｃｈｉｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ａｃｔａ，１９９０．１０３１（２）：ｐ．１４３－６１）、マストポラン（ｍａｓｔｏｐｏｒａｎ）（Ｋｏｎｎｏ，Ｋ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ａｃｔｉｖｉｔｉｅｓ ｏｆ ｅｕｍｅｎｉｎｅ ｍａｓｔｏｐａｒａｎ－ＡＦ（ＥＭＰ－ＡＦ），ａ ｎｅｗ ｍａｓｔ ｃｅｌｌ ｄｅｇｒａｎｕｌａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅ ｉｎ ｔｈｅ ｖｅｎｏｍ ｏｆ ｔｈｅ ｓｏｌｉｔａｒｙ ｗａｓｐ（Ａｎｔｅｒｈｙｎｃｈｉｕｍ ｆｌａｖｏｍａｒｇｉｎａｔｕｍ ｍｉｃａｄｏ）．Ｔｏｘｉｃｏｎ，２０００．３８（１１）：ｐ．１５０５－１５）、マウロカルシン（Ｅｓｔｅｖｅ，Ｅ．，ｅｔ ａｌ．，Ｔｒａｎｓｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｓｃｏｒｐｉｏｎ ｔｏｘｉｎ ｍａｕｒｏｃａｌｃｉｎｅ ｉｎｔｏ ｃｅｌｌｓ．Ｅｖｉｄｅｎｃｅ ｔｈａｔ ｔｈｅ ｔｏｘｉｎ ｃｒｏｓｓｅｓ ｔｈｅ ｐｌａｓｍａ ｍｅｍｂｒａｎｅ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２００５．２８０（１３）：ｐ．１２８３３－９）、クロタミン（Ｎａｓｃｉｍｅｎｔｏ，Ｆ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｏｔａｍｉｎｅ ｍｅｄｉａｔｅｓ ｇｅｎｅ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｉｎｔｏ ｃｅｌｌｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ｔｈｅ ｂｉｎｄｉｎｇ ｔｏ ｈｅｐａｒａｎ ｓｕｌｆａｔｅ ｐｒｏｔｅｏｇｌｙｃａｎｓ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２００７．２８２（２９）：ｐ．２１３４９－６０）、若しくはブフォリン（ｂｕｆｏｒｉｎ）（Ｋｏｂａｙａｓｈｉ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｍｂｒａｎｅ ｔｒａｎｓｌｏｃａｔｉｏｎ ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｏｆ ｔｈｅ ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ ｐｅｐｔｉｄｅ ｂｕｆｏｒｉｎ ２．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００４．４３（４９）：ｐ．１５６１０－６）を含む様々な起源由来の数十のペプチドが報告されている。また、ポリアルギニン（Ｒ８、Ｒ９、Ｒ１０、及びＲ１２）（Ｆｕｔａｋｉ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｒｇｉｎｉｎｅ－ｒｉｃｈ ｐｅｐｔｉｄｅｓ．Ａｎ ａｂｕｎｄａｎｔ ｓｏｕｒｃｅ ｏｆ ｍｅｍｂｒａｎｅ－ｐｅｒｍｅａｂｌｅ ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｈａｖｉｎｇ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ａｓ ｃａｒｒｉｅｒｓ ｆｏｒ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｅｌｉｖｅｒｙ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２００１．２７６（８）：ｐ．５８３６－４０）又はトランスポータン（Ｐｏｏｇａ，Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ ｐｅｎｅｔｒａｔｉｏｎ ｂｙ ｔｒａｎｓｐｏｒｔａｎ．ＦＡＳＥＢ Ｊ，１９９８．１２（１）：ｐ．６７－７７）を含む合成ＣＰＰも設計された。本発明に従って使用するための複合体において、上記ＣＰＰのいずれを細胞透過性ペプチド、即ち、成分ａ）として用いてもよい。特に、本発明に従って使用するための複合体における成分ａ）、即ち、ＣＰＰは、アミノ酸配列ＹＧＲＫＫＲＲＱＲＲＲ（配列番号２）を有するＴＡＴの最小ドメインを含んでいてよい。特に、本発明に従って使用するための複合体における成分ａ）、即ち、ＣＰＰは、アミノ酸配列ＲＱＩＫＩＹＦＱＮＲＲＭＫＷＫＫ（配列番号１）を有するペネトラチンを含んでいてよい。

【００４６】

また、本発明に従って使用するための複合体において細胞透過性ペプチド、即ち、成分ａ）として用いることができる様々なＣＰＰは、以下の総説にも開示されている：Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２。言い換えれば、Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，２０１２，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０に開示されているＣＰＰを、本発明に従って使用するための複合体において細胞透過性ペプチド、即ち、成分ａ）として用いることができる。これは、特に、カチオン性ＣＰＰ、両親媒性ＣＰＰ、及び疎水性ＣＰＰ、並びにヘパラン－、ＲＮＡ－、及びＤＮＡ－結合タンパク質由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅ

ｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表１を参照）、シグナルペプチド由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表２を参照）、抗微生物性ペプチド由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表３を参照）、ウイルスタンパク質由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表４を参照）、様々な天然タンパク質由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表５を参照）、並びに設計されたＣＰＰ及びペプチドライブラリ由来のＣＰＰ（Ｍｉｌｌｅｔｔｉ，Ｆ．，Ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｃｌａｓｓｅｓ，ｏｒｉｇｉｎ，ａｎｄ ｃｕｒｒｅｎｔ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ Ｔｏｄａｙ １７（１５－１６）：８５０－６０，２０１２の表６を参照）を含む。

【００４７】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる細胞透過性ペプチドは、

ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは合計１５アミノ酸～４５アミノ酸の、前記ペプチドのアミノ酸配列長を有する、及び／又は

ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片であって、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の残基１７０～残基２２０に延在（ｅｘｔｅｎｄｉｎｇ）し、任意で、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている断片、又はかかる断片の配列変異体を含むアミノ酸配列を有する。

【００４８】

したがって、本発明に従って使用するための複合体に含まれる細胞透過性ペプチドは、

ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは合計１５アミノ酸～４５アミノ酸の、前記ペプチドのアミノ酸配列長を有する、及び／又は

ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片であって、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の残基１７０～残基２２０に延在し、任意で、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている断片、又はかかる断片の配列変異体を含むアミノ酸配列を有することが好ましい。

【００４９】

かかる好ましいＣＰＰは、国際公開第２０１４／０４１５０５号に開示されている。

【００５０】

用語「ＺＥＢＲＡ」（Ｚｔａ、Ｚ、ＥＢ１、又はＢＺＬＦ１としても知られている）は、一般的に、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）転写活性化因子を意味する。細胞透過特性を示すＺＥＢＲＡの最小ドメインは、ＺＥＢＲＡの残基１７０～残基２２０に及ぶと同定された。ＺＥＢＲＡのアミノ酸配列は、ＮＣＢＩアクセッション番号ＹＰ＿４０１６７３として開示されており、配列番号３に表される２４５アミノ酸を含む。

【表１】

MMDPNSTSEDVKFTPDPYQVPFVQAFDQATRVYQDLGGPSQAPLPCVLWPVLPEPLPQGQL
TAYHVSTAPTGSWFSAPQPAPENAYQAYAAPQLFPVSDITQNQQTNQAGGEAPQPGDNST
VQTAAAVVFACPGANQGQQLADIGVPQPAPVAAPARRTRKPQQPESLEECDSELEIKRYKNR
VASRKCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLNF
(SEQ ID NO: 3 - ZEBRA アミノ酸配列（エプスタイン・バーウイルス（EBV）由来の天然配列）(YP_401673))

【００５１】

近年、ウイルスタンパク質ＺＥＢＲＡ由来のＣＰＰが、（ｉ）直接転位及び（ｉｉ）脂質ラフト媒介性エンドサイトーシスの両方によって、生物学的膜を横断してタンパク質カーゴを形質導入すると報告された（Ｒｏｔｈｅ Ｒ，Ｌｉｇｕｏｒｉ Ｌ，Ｖｉｌｌｅｇａｓ－Ｍｅｎｄｅｚ Ａ，Ｍａｒｑｕｅｓ Ｂ，Ｇｒｕｎｗａｌｄ Ｄ，Ｄｒｏｕｅｔ Ｅ，ｅｔ ａｌ．Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｃｅｌｌ－ｐｅｎｅｔｒａｔｉｎｇ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒ ｖｉｒｕｓ ＺＥＢＲＡ ｔｒａｎｓ－ａｃｔｉｖａｔｏｒ．Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２０１０；２８５（２６）：２０２４－３３）。本発明者らは、それぞれ、これら２つの侵入機序が、カーゴ抗原のＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞へのＭＨＣクラスＩ及びＩＩ拘束性提示の両方を促進するはずであると推測する。したがって、かかるＣＰＰは、マルチエピトープペプチドを樹状細胞（ＤＣ）に送達し、続いて、ＣＴＬ及びＴｈ細胞の活性化並びに抗腫瘍機能を促進することができる。したがって、かかるＣＰＰは、本発明に従って使用するための複合体を抗原提示細胞（ＡＰＣ）に効率的に送達し、マルチエピトープＭＨＣクラスＩ及びＩＩ拘束性提示を導くことができる。

【００５２】

本発明の状況において、用語「ＭＨＣクラスＩ」とは、主要組織適合複合体分子の２つの主なクラスのうちの一方を意味する。ＭＨＣクラスＩ（「ＭＨＣ Ｉ」とも呼ばれる）分子は、身体の全ての有核細胞でみられる。ＭＨＣクラスＩの機能は、エピトープを細胞傷害性細胞（ＣＴＬ）に提示することである。ヒトでは、ＭＨＣクラスＩ分子は、２本のポリペプチド鎖α－及びβ２－マイクログロブリン（ｂ２ｍ）からなる。α鎖のみが、多形性であり、ＨＬＡ遺伝子によってコードされており、一方、ｂ２ｍサブユニットは、多形性ではなく、ベーター２マイクログロブリン遺伝子によってコードされている。本発明の状況において、用語「ＭＨＣクラスＩＩ」とは、主要組織適合複合体分子の他方の主なクラスを意味する。ＭＨＣクラスＩＩ（「ＭＨＣ ＩＩ」とも呼ばれる）分子は、マクロファージ、樹状細胞、及びＢ細胞（これらは全て専用の抗原提示細胞（ＡＰＣ）である）を含む幾つかの特殊な細胞型でしかみられない。

【００５３】

好ましくは、上記ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片の配列変異体は、細胞透過性ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに、上記ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片と、特に全長に亘って、少なくとも７０％、少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％のアミノ酸配列同一性を共有する。特に、上に定義したＺＥＢＲＡの最小ドメインの「断片」は、好ましくは、ネイティブ配列のアミノ酸配列と比べてＮ末端、Ｃ末端、及び／又は配列内で切断されている、その切断型配列、即ち、アミノ酸配列であると理解される。更に、かかるＺＥＢＲＡの最小ドメインの「断片」は、好ましくは、合計５アミノ酸長～５０アミノ酸長、好ましくは、合計１０アミノ酸長～４５アミノ酸長、より好ましくは、合計１５アミノ酸長～４５アミノ酸長である。

【００５４】

したがって、用語「配列変異体」は、本発明の状況において使用するとき、即ち、本願

全体を通して、レファレンス配列における任意の改変を指す。用語「配列変異体」は、ヌクレオチド配列変異体及びアミノ酸配列変異体を含む。好ましくは、レファレンス配列は、「配列及び配列番号の表」（配列表）に列挙されている配列のいずれか、即ち、配列番号１～配列番号９４である。好ましくは、配列変異体は、特に配列の全長に亘って、レファレンス配列と少なくとも７０％、少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％のアミノ酸配列同一性を共有し、この配列同一性は、下記の通り計算される。特に、配列変異体は、レファレンス配列の特定の機能を維持している。配列同一性は、下記の通り計算される。特に、アミノ酸配列変異体は、レファレンス配列におけるアミノ酸のうちの１以上が欠失若しくは置換されているか又はレファレンスアミノ酸配列の配列に１以上のアミノ酸が挿入されている改変配列を有する。改変の結果、アミノ酸配列変異体は、レファレンス配列と少なくとも７０％、少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も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％同一である変異体配列は、レファレンス配列のアミノ酸１００個当たり１０個以下の改変、即ち、欠失、挿入、又は置換の任意の組合せを有する。

【００５５】

本発明の状況において、本発明のクエリーアミノ酸配列に対して例えば少なくとも９５％の「配列同一性を共有している」アミノ酸配列は、サブジェクトアミノ酸配列がクエリーアミノ酸配列のアミノ酸各１００個当たり５個以下のアミノ酸改変を含み得ることを除いて、サブジェクトアミノ酸配列の配列がクエリー配列と同一であることを意味することを意図する。言い換えれば、クエリーアミノ酸配列に対して少なくとも９５％同一である配列を有するアミノ酸配列を得るためには、好ましくは変異体又は断片の上記定義内で、サブジェクト配列におけるアミノ酸残基の５％以下（１００個のうちの５個）を挿入してもよく、別のアミノ酸で置換してもよく、欠失させてもよい。これは、無論、核酸配列にも同様に適用される。

【００５６】

正確には一致していない（アミノ酸又は核酸）配列について、第１の配列の「同一性％」は、第２の配列に対して決定してよい。一般的には、これら比較される２つの配列を、配列間の相関が最大になるようにアラインメントする。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んでいてよい。次いで、比較される各配列の全長に亘って（所謂グローバルアラインメント）（これは、特に同じ又は類似の長さの配列に特に好適である）又はより短い規定の長さに亘って（所謂ローカルアラインメント）（これは、等しくない長さの配列により好適である）同一性％を決定してよい。

【００５７】

２以上の配列の同一性及び相同性を比較する方法は、当技術分野において周知である。２つの配列が同一である割合は、例えば、数学的アルゴリズムを用いて決定することができる。用いることができる数学的アルゴリズムの好ましいが非限定的な例は、Ｋａｒｌｉｎ ｅｔ ａｌ．（１９９３），ＰＮＡＳ ＵＳＡ，９０：５８７３－５８７７のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、ＮＣＢＩのホームページ（ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ）を通してアクセス可能な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又はＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．（１９９７），Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ，２５：３３８９－３４０２も参照）、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。ある程度他の配列と同一である配列は、これらプログラムによって同定する

ことができる。更に、Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，バージョン９．１（Ｄｅｖｅｒｅｕｘ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３８７－３９５）において利用可能なプログラム、例えば、ＢＥＳＴＦＩＴ及びＧＡＰプログラムを用いて、２つのポリヌクレオチド間の同一性％及び２つのポリペプチド配列間の同一性％及び相同性又は同一性％を決定することができる。ＢＥＳＴＦＩＴは、（Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ（１９８１），Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１４７，１９５－１９７．）の「ローカルホモロジー」アルゴリズムを使用し、２つの配列間で類似性が最も高い単一領域を見出す。

【００５８】

より好ましくは、本発明に係る細胞透過性ペプチドの断片又は上記その変異体は、更に、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩ分子において、抗原提示細胞等の細胞の表面に抗原又は抗原エピトープ等のカーゴ分子を提示する前記ペプチドの能力を保持する。これらエピトープに特異的なＮＨＣ拘束性ＣＤ４$^{+}$又はＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の増殖及び／又は機能を刺激する能力を含む、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩ分子において細胞の表面に抗原又は抗原エピトープ等のカーゴ分子を提示する細胞透過性ペプチド又は前記細胞透過性ペプチドを含む複合体の能力は、当業者に公知の標準的な方法によって確認することができる。

【００５９】

ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは合計１５アミノ酸～４５アミノ酸の、前記ペプチドのアミノ酸配列長を有する、及び／又は

ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片であって、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の残基１７０～残基２２０に延在し、任意で、ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている断片、又はかかる断片の変異体を含むアミノ酸配列を有する好ましい細胞透過性ペプチドは、

好ましくは、レファレンス配列と比べて少なくとも１つの保存的に置換されているアミノ酸配列を有するアミノ酸配列を含む、即ち、所与のアミノ酸残基が類似の生理化学的特徴を有する残基によって置換されている。

【００６０】

一般的に、レファレンスアミノ酸配列中に存在する１以上のアミノ酸の置換は、保存的に行わなければならない。保存的置換の例としては、ある脂肪族残基を別の脂肪族残基で置換する、例えば、Ｉｌｅ、ＶａＩ、Ｌｅｕ、若しくはＡｌａを互いに置換するか、又はある極性残基を別の極性残基で置換する、例えば、Ｌｙｓ及びＡｒｇ；Ｇｌｕ及びＡｓｐ；又はＧｌｎ及びＡｓｎ間で置換することが挙げられる。他のかかる保存的置換、例えば、類似の疎水性を有する領域全体の置換は周知である（Ｋｙｔｅ ａｎｄ Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ，１９８２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７（１）：１０５－１３２）。１以上のＤアミノ酸による１以上のＬアミノ酸の置換は、本発明の状況において保存的置換であるとみなすべきである。例示的なアミノ酸置換を以下の表１に示す。

【表２】

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）

【００６１】
特に好ましくは、細胞透過性ペプチドであって、
ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは合計１５アミノ酸～４５アミノ酸の、前記ペプチドのアミノ酸配列長を有する、及び／又は
ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片であって、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の残基１７０～残基２２０に延在し、任意で、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている断片、又はかかる断片の変異体を含むアミノ酸配列を有する好ましい細胞透過性ペプチドは、
配列番号３のＺＥＢＲＡアミノ酸配列に対して、１８９位と等価な位置にＳｅｒ（Ｓ）に置換されたＣｙｓ（Ｃ）を含む。
【００６２】
したがって、かかる好ましい細胞透過性ペプチドは、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに、０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が、置換、欠失、及び／又は付加されている、以下の一般式（Ｉ）：
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}SX_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_1$

7
（式中、
X_1は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_1は、Ｋ又はＲであり；
X_2は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_2は、Ｒ又はＫであり；
X_3は、Ｙ、Ｗ、又はＦであり、好ましくは、X_3は、Ｙ、Ｗ、又はＦであり；
X_4は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_4は、Ｋ又はＲであり；
X_5は、Ｎ又はＱであり；
X_6は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_6は、Ｒ又はＫであり；
X_7は、Ｖ、Ｉ、Ｍ、Ｌ、Ｆ、又はＡであり、好ましくは、X_7は、Ｖ、Ｉ、Ｍ、又はＬであり；
X_8は、Ａ、Ｖ、Ｌ、Ｉ、又はＧであり、好ましくは、X_8は、Ａ又はＧであり；
X_9は、Ｓ又はＴであり；
X_{10}は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_{10}は、Ｒ又はＫであり；
X_{11}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{11}は、Ｋ又はＲであり；
X_{13}は、Ｒ、Ｋ、又はＨであり、好ましくは、X_{13}は、Ｒ又はＫであり；
X_{14}は、Ａ、Ｖ、Ｌ、Ｉ、又はＧであり、好ましくは、X_{14}は、Ａ又はＧであり；
X_{15}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{15}は、Ｋ又はＲであり；
X_{16}は、Ｆ、Ｌ、Ｖ、Ｉ、Ｙ、Ｗ、又はＭであり、好ましくは、X_{16}は、Ｆ、Ｙ、又はＷであり；
X_{17}は、Ｋ、Ｒ、又はＨであり、好ましくは、X_{17}は、Ｋ又はＲである）
に係る配列を含むアミノ酸配列を有することが好ましい。

【００６３】

好ましくは、かかるペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質は、（完全に）Ｌアミノ酸又は（完全に）Ｄアミノ酸で構成され、それによって、「レトロ－インベルソペプチド配列」を形成する。用語「レトロ－インベルソ（ペプチド）配列」は、配列の方向が逆であり且つ各アミノ酸残基のキラリティが逆である直鎖状ペプチド配列の異性体を指す（例えば、Ｊａｍｅｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６８，７４４－７４６（１９９４）；Ｂｒａｄｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６８，６９２－６９３（１９９４）を参照）。

【００６４】

特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_1がＫである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_2がＲである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_3がＹである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_4がＫである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_5がＮである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_6がＲである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_7がＶである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_8がＡである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_9がＳである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{10}がＲである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。

特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{11}がＫである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{13}がＲである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{14}がＡである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{15}がＫである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{16}がＦである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、X_{17}がＫである一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。
特定の実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、一般式（Ｉ）に対して１２位と等価な位置のアミノ酸がＳｅｒ（Ｓ）である一般式（Ｉ）によって上に一般的に定義されている。

【００６５】

また、細胞透過性ペプチドであって、
ｉ）合計５アミノ酸～５０アミノ酸、好ましくは合計１０アミノ酸～４５アミノ酸、より好ましくは合計１５アミノ酸～４５アミノ酸の、前記ペプチドのアミノ酸配列長を有する、及び／又は
ｉｉ）ＺＥＢＲＡの最小ドメインの断片であって、前記最小ドメインが、配列番号３に係るＺＥＢＲＡアミノ酸配列の残基１７０～残基２２０に延在し、任意で、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている断片、又はかかる断片の変異体を含むアミノ酸配列を有する好ましい細胞透過性ペプチドは、
配列番号４～１３に係るアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないその配列変異体、好ましくは、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている配列変異体を含むか又はからなることが特に好ましい。

【表３】

CPP1 (Z11):
KRYKNRVASRKCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMC
(SEQ ID NO: 4)

CPP2 (Z12):
KRYKNRVASRKCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLK
(SEQ ID NO: 5)

CPP3 (Z13):
KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLK
(SEQ ID NO: 6)

CPP4 (Z14):
KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK
(SEQ ID NO: 7)

CPP5 (Z15):
KRYKNRVASRKSRAKFK
(SEQ ID NO: 8)

CPP6 (Z16):
QHYREVAAAKSSEND
(SEQ ID NO: 9)

CPP7 (Z17):
QLLQHYREVAAAK
(SEQ ID NO: 10)

CPP8 (Z18):
REVAAAKSS END RLRLLLK
(SEQ ID NO: 11)

CPP9 (Z19):
KRYKNRVA
(SEQ ID NO: 12)

CPP10 (Z20):
VASRKSRAKFK
(SEQ ID NO: 13)

【００６６】

したがって、細胞透過性ペプチドであって、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）、配列番号７（ＣＰＰ４／Ｚ１４）、配列番号８（ＣＰＰ５／Ｚ１５）、若しくは配列番号１１（ＣＰＰ８／Ｚ１８）に係るアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないそ

の配列変異体、好ましくは、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている配列変異体を含むか若しくはからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチドが特に好ましい。更に、細胞透過性ペプチドであって、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）若しくは配列番号７（ＣＰＰ４／Ｚ１４）に係るアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないその配列変異体、好ましくは、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている配列変異体を含むか若しくはからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチドがより好ましい。

【００６７】

更に、細胞透過性ペプチドであって、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）に係るアミノ酸配列、又は前記ペプチドの細胞透過能を抑制しないその配列変異体、好ましくは、前記ペプチドの細胞透過能を抑制することなしに０個、１個、２個、３個、４個、又は５個のアミノ酸が置換、欠失、及び／又は付加されている配列変異体を含むか若しくはからなるアミノ酸配列を有する細胞透過性ペプチドが最も好ましい。したがって、細胞透過性ペプチドは、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性、好ましくは少なくとも７５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも８０％の配列同一性、更により好ましくは少なくとも８５％の配列同一性、更により好ましくは少なくとも９０％の配列同一性、特に好ましくは少なくとも９５％の配列同一性、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含むか若しくはからなることが最も好ましい。この状況において、「機能的配列変異体」は、前記ペプチドの細胞透過能が維持されている配列変異体である。

【００６８】

１つの好ましい実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）を含むか又はからなるアミノ酸配列を有する。

別の好ましい実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、配列番号７（ＣＰＰ４／Ｚ１４）を含むか又はからなるアミノ酸配列を有する。

別の好ましい実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、配列番号８（ＣＰＰ５／Ｚ１５）を含むか又はからなるアミノ酸配列を有する。

別の好ましい実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、配列番号１１（ＣＰＰ８／Ｚ１８）を含むか又はからなるアミノ酸配列を有する。

【００６９】

本発明の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しに、例えば、グリコシル化又はリン酸化等、更に翻訳後修飾されてもよいことが当業者には理解される。

【００７０】

更なる実施形態では、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、上記アミノ酸配列に加えて、

（ｉ）核局在化シグナル（ＮＬＳ）（かかるシグナルは、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）

（ｉｉ）例えば、Ｋａｐｏｏｒ ｅｔ ａｌ．（２０１２，ＰＬｏＳ ＯＮＥ ７（４）：ｅ３５１８７）に記載されているもの及びｈｔｔｐ：／／ｃｒｄｄ．ｏｓｄｄ．ｎｅｔ／ｒａｇｈａｖａ／ｔｕｍｏｒｈｏｐｅ／ｇｅｎｅｒａｌ．ｐｈｐ？に列挙されているもの等、腫瘍ホーミングペプチドを含むターゲティングペプチド

のいずれか１つ又は任意の組合せを更に含んでいてもよい。

【００７１】

好ましくは、本発明に係る細胞透過性ペプチドは、抗原又は抗原エピトープに結合し、前記抗原又は抗原エピトープの細胞内部移行を促進する。

【００７２】

本発明に従って使用するための複合体は、１つの細胞透過性ペプチドを含んでいてもよく、１超の細胞透過性ペプチドを含んでいてもよい。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、５つ以下の細胞透過性ペプチドを含み、より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、４つ以下の細胞透過性ペプチドを含み、更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、３つ以下の細胞透過性ペプチドを含み、特に好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、２つ以下の細胞透過性ペプチドを含み、最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１つの細胞透過性ペプチドを含む。

【００７３】

成分ｂ）－抗原／抗原エピトープ

本発明に従って使用するための複合体は、成分ｂ）として少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含む。

【００７４】

本明細書で使用するとき、「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。また、「抗原決定基」としても知られている「エピトープ」は、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つのエピトープを有する、即ち、単一の抗原が、１以上のエピトープを有する。本発明の状況において、用語「エピトープ」は、主にＴ細胞エピトープを意味するために用いられ、前記Ｔ細胞エピトープは、抗原提示細胞の表面に提示され、そこで、主要組織適合複合体（ＭＨＣ）に結合する。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、８アミノ酸長～１１アミノ酸長のペプチドであるが、これに限定されず、一方、ＭＨＣクラスＩＩ分子は、一般的に１２アミノ酸長～２５アミノ酸長であるが、これに限定されない、より長いペプチドを提示する。

【００７５】

好ましくは、本明細書に従って使用するための複合体では、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、（ｉ）ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質、（ｉｉ）多糖、（ｉｉｉ）脂質、（ｉｖ）リポタンパク質又はリポペプチド、（ｖ）糖脂質、（ｖｉ）核酸、及び（ｖｉｉ）低分子医薬又は毒素からなる群から選択される。したがって、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、ペプチド、タンパク質、多糖、脂質、リポタンパク質及び糖脂質を含むこれらの組合せ、核酸（例えば、ＤＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、アンチセンスオリゴヌクレオチド、デコイＤＮＡ、プラスミド）、若しくは低分子医薬（例えば、シクロスポリンＡ、パクリタキセル、ドキソルビシン、メトトレキサート、５－アミノレブリン酸）、又は特に、１超の抗原若しくは抗原エピトープが本発明の複合体に含まれている場合、これらの任意の組合せであってよい。

【００７６】

少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、例えば、互いに及び／又は少なくとも１つ、即ち、１以上の核酸（例えば、それぞれが１つのペプチド又はポリペプチドをコードしている）と結合している少なくとも１つ、即ち、１以上のペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質を含んでいてよいことが理解される。また、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、リポタンパク質及び糖脂質を含む、タンパク質、脂質、及び／又は多糖の組合せであってもよい。したがって、特に本発明に従って使用するための複合体が１超の抗原又は抗原エピトープを含む場合、１超のペプチド、ポリペプチド、若しくはタンパク質、１超の多糖、１超の脂質、１超のリポタンパク質、１超の糖脂質、１超の核酸、１超の低分子医薬若しくは毒素、又はこれらの組合せを含んでいてよい。

【００７７】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、癌／腫瘍関連抗原、癌／腫瘍特異的抗原、及び／又は病原体由来の抗原タンパク質（ウイルス、細菌、真菌、原生動物、及び多細胞寄生虫の抗原タンパク質を含む）由来の１以上のエピトープを含む少なくとも

１つの抗原又は抗原エピトープを含む。
【００７８】
より好ましくは、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、（ｉ）少なくとも１つの病原体エピトープ、及び／又は（ｉｉ）少なくとも１つの癌／腫瘍エピトープ、特に少なくとも１つの腫瘍エピトープを含むか又はからなる。最も好ましくは、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、少なくとも１つの癌／腫瘍エピトープ、特に、少なくとも１つの腫瘍エピトープを含むか又はからなる。
【００７９】
本発明に従って使用するための複合体は、かかる抗原又は抗原エピトープ（癌／腫瘍関連抗原、癌／腫瘍特異的抗原、及び／又は癌／腫瘍エピトープ、特に、腫瘍関連抗原、腫瘍特異的抗原、及び／又は腫瘍エピトープ）のみを含む。
【００８０】
本明細書で使用するとき、「癌エピトープ」は、癌関連抗原又は癌特異的抗原由来のエピトープを意味する。したがって、「腫瘍エピトープ」は、腫瘍関連抗原又は腫瘍特異的抗原由来のエピトープを意味する。かかるエピトープは、典型的には、特定の種類の癌／腫瘍に特異的である（又は関連している）。特に、癌／腫瘍関連（癌／腫瘍関係ともいう）抗原は、癌／腫瘍細胞及び正常細胞の両方で発現する抗原である。したがって、これら抗原は、生後（又はそれ以前でさえも）普通に存在する。したがって、免疫系がこれら抗原に対して自己寛容を発現する可能性がある。対照的に、癌／腫瘍特異的抗原は、癌／腫瘍細胞で特異的に発現するが、正常細胞では発現しない抗原である。癌／腫瘍特異的抗原は、特に、ネオ抗原を含む。一般的に、ネオ抗原は、それ以前には存在しなかった抗原であり、したがって、免疫系にとっては「新規」である。ネオ抗原は、典型的には、体細胞突然変異によって生じる。癌／腫瘍において、癌／腫瘍特異的ネオ抗原は、典型的には、癌／腫瘍の発現前には存在しておらず、癌／腫瘍特異的ネオ抗原は、通常、癌性細胞／腫瘍細胞における体細胞遺伝子突然変異によってコードされている。ネオ抗原は、免疫系にとって新規であるので、これら抗原の自己寛容のリスクは、癌／腫瘍関連抗原と比べて著しく低い。しかし、全ての癌の腫瘍特異的突然変異のセットは固有のものであると考えられる。したがって、本発明の状況において、かかる癌／腫瘍特異的抗原、特に、ネオ抗原は、当業者に公知の方法、例えば、癌ゲノムシーケンシングによって、結腸直腸癌であると診断された被験体において同定されることが好ましい。同定後、それぞれの癌／腫瘍特異的ネオ抗原及び／又は癌／腫瘍特異的ネオ抗原エピトープは、本発明に従って使用するための複合体において用いられる。
【００８１】
好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１以上の癌／腫瘍関連エピトープ及び／又は１以上の癌／腫瘍関連抗原を含む（が、好ましくは、癌／腫瘍特異的エピトープは含まない）。また、本発明に従って使用するための複合体は、１以上の癌／腫瘍特異的エピトープ及び／又は１以上の癌／腫瘍特異的抗原を含む（が、好ましくは、癌／腫瘍特異的エピトープは含まない）ことが好ましい。また、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、（ｉ）１以上の癌／腫瘍関連エピトープ及び／又は１以上の癌／腫瘍関連抗原、並びに（ｉｉ）１以上の癌／腫瘍特異的エピトープ及び／又は１以上の癌／腫瘍特異的抗原の両方を含んでいてよい。
【００８２】
特に、抗原若しくは抗原エピトープが関連しているか又は抗原若しくは抗原エピトープが特異的である癌／腫瘍は、本明細書に記載する結腸直腸癌である。したがって、抗原は、好ましくは、ＣＲＣ関連又はＣＲＣ特異的抗原であり、エピトープは、好ましくは、ＣＲＣ関連又はＣＲＣ特異的エピトープである。
【００８３】
好適な癌／腫瘍エピトープは、癌／腫瘍エピトープデータベース、例えば、ＣＤ４＋又はＣＤ８＋Ｔ細胞によって認識されるヒト腫瘍抗原がその発現パターンに基づいて４つの主なグループに分類されているｖａｎ　ｄｅｒ　Ｂｒｕｇｇｅｎ　Ｐ，Ｓｔｒｏｏｂａｎ

ｔ Ｖ，Ｖｉｇｎｅｒｏｎ Ｎ，Ｖａｎ ｄｅｎ Ｅｙｎｄｅ Ｂ．Ｐｅｐｔｉｄｅ ｄａｔａｂａｓｅ：Ｔ ｃｅｌｌ－ｄｅｆｉｎｅｄ ｔｕｍｏｒ ａｎｔｉｇｅｎｓ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎ ２０１３；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒｉｍｍｕｎｉｔｙ．ｏｒｇ／ｐｅｐｔｉｄｅ／、又はデータベース「Ｔａｎｔｉｇｅｎ」（ＴＡＮＴＩＧＥＮバージョン１．０、２００９年１２月１日；Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ｃｏｒｅ ａｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｖａｃｃｉｎｅ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｄａｎａ－Ｆａｒｂｅｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅによって開発；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｃｖｃ．ｄｆｃｉ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ｔａｄｂ／）から検索することができる。癌／腫瘍エピトープの例としては、例えば、ＴＲＰ２由来エピトープ、糖タンパク質１００（ｇｐ１００）メラノーマ抗原由来エピトープ、糖タンパク質７０（ｇｐ７０）抗原由来エピトープ、サバイビンエピトープ、ＩＥａエピトープ、ＩＬ１３ｒα２、Ｅｐｈａ２（エフリンＡ型受容体２）、これらの免疫原性断片、並びにかかる抗原及び／又は断片の融合体が挙げられる。更に、癌／腫瘍エピトープの例としては、ネオ抗原、例えば、Ｙａｄａｖ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０１４ Ｎｏｖ ２７；５１５（７５２８）：５７２－６に記載のＭＣ－３８腫瘍細胞株由来のネオ抗原のエピトープが挙げられる。上記の通り、ネオ抗原は、正常ヒトゲノムには全く存在しない抗原である。非突然変異型自己抗原と比べて、ネオ抗原は、腫瘍管理に適しているが、その理由は、これら抗原が利用可能なＴ細胞プールの品質が中枢性Ｔ細胞寛容によって影響を受けないためである。特に、ネオ抗原は、個々の腫瘍ゲノムに基づいていてよい。潜在的ネオ抗原は、当業者に公知の方法、例えば、癌ゲノムシーケンシング又は（癌）ゲノムのタンパク質をコードしている部分内の突然変異を同定するディープシーケンシング技術によって予測することができる。

【００８４】

本発明に従って使用するための複合体において有用な癌／腫瘍関連、特に、腫瘍関連又は組織特異的抗原の具体例としては、以下の抗原が挙げられるが、これらに限定されない：Ｈｅｒ－２／ｎｅｕ、ＳＰＡＳ－１、ＴＲＰ－２、チロシナーゼ、Ｍｅｌａｎ Ａ／Ｍａｒｔ－１、ｇｐｌＯＯ、ＢＡＧＥ、ＧＡＧＥ、ＧＭ２ガングリオシド、カイネシン２、ＴＡＴＡエレメント調節因子１、腫瘍タンパク質Ｄ５２、ＭＡＧＥ Ｄ、ＩＮＧ２、ＨＩＰ－５５、ＴＧＦ－１抗アポトーシス因子、ＨＯＭ－Ｍｅｌ－４０／ＳＳＸ２、上皮抗原（ＬＥＡ １３５）、ＤＦ３１ＭＵＣ１抗原（Ａｐｏｓｔｏｌｏｐｏｕｌｏｓ ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．７４：４５７－４６４；Ｐａｎｄｅｙ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５５：４０００－４００３）、ＭＡＧＥ－１、ＨＯＭ－Ｍｅｌ－４０／ＳＳＸ２、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＥＧＦＲ、ＣＥＡ、Ｅｐｈａ２、Ｅｐｈａ４、ＰＣＤＧＦ、ＨＡＡＨ、メソテリン；ＥＰＣＡＭ；ＮＹ－ＥＳＯ－１、糖タンパク質ＭＵＣ１及びＮＩＵＣ１０ムチンｐ５（特に突然変異バージョン）、ＥＧＦＲ、癌関連血清抗原（ＣＡＳＡ）及び癌抗原１２５（ＣＡ １２５）（Ｋｉｅｒｋｅｇａａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｇｙｎｅｃｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．５９：２５１－２５４）、上皮糖タンパク質４０（ＥＧＰ４０）（Ｋｉｅｖｉｔ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ７１：２３７－２４５）、扁平上皮癌抗原（ＳＣＣ）（Ｌｏｚｚａ ｅｔ ａｌ．，１９９７ Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１７：５２５－５２９）、カテプシン Ｅ（Ｍｏｔａ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ａｍ．Ｊ Ｐａｔｈｏｌ．１５０：１２２３－１２２９）、メラノーマにおけるチロシナーゼ（Ｆｉｓｈｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９７ Ｃａｎｃｅｒ ７９：１４６１－１４６４）、大脳海綿腫の細胞核抗原（ＰＣＮＡ）（Ｎｏｔｅｌｅｔ ｅｔ ａｌ．，１９９７ Ｓｕｒｇ．Ｎｅｕｒｏｌ．４７：３６４－３７０）、甲状腺乳頭癌における３５ｋＤ腫瘍関連自己抗原（Ｌｕｃａｓ ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１６：２４９３－２４９６）、ＣＤＣ２７（タンパク質の突然変異型を含む）、抗原トリオースリン酸イソメラーゼ、７０７－ＡＰ、Ａ６０ミコバクテリア抗原（Ｍａｃｓ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．１２２：２９６－３００）、アネキシンＩＩ、ＡＦＰ、ＡＲＴ－４、ＢＡＧＥ、β－カテニン／ｍ、ＢＣＬ－２、ｂｃｒ－ａｂｌ、ｂｃｒ－ａｂｌ ｐ１９０、ｂｃｒ－ａｂｌ ｐ２１０、ＢＲＣＡ－１

、ＢＲＣＡ－２、ＣＡ １９－９（Ｔｏｌｌｉｖｅｒ ａｎｄ Ｏ’Ｂｒｉｅｎ，１９９７，Ｓｏｕｔｈ Ｍｅｄ．Ｊ．９０：８９－９０；Ｔｓｕｒｕｔａ ａｔ ａｌ．，１９９７ Ｕｒｏｌ．Ｉｎｔ．５８：２０－２４）、ＣＡＭＥＬ、ＣＡＰ－１、ＣＡＳＰ－８、ＣＤＣ２７／ｍ、ＣＤＫ－４／ｍ、ＣＥＡ（Ｈｕａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐｅｒ Ｒｅｖ．Ｖａｃｃｉｎｅｓ（２００２）１：４９－６３）、ＣＴ９、ＣＴ１０、Ｃｙｐ－Ｂ、Ｄｅｋ－ｃａｉｎ、ＤＡＭ－６（ＭＡＧＥ－Ｂ２）、ＤＡＭ－１０（ＭＡＧＥ－Ｂ１）、ＥｐｈＡ２（Ｚａｎｔｅｋ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｄｉｆｆｅｒ．（１９９９）１０：６２９－３８；Ｃａｒｌｅｓ－Ｋｉｎｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００２）６２：２８４０－７）、ＥｐｈＡ４（Ｃｈｅｎｇ ａｔ ａｌ．，２００２，Ｃｙｔｏｋｉｎｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｖ．１３：７５－８５）、腫瘍関連Ｔｈｏｍｓｅｎ－Ｆｒｉｅｄｅｎｒｅｉｃｈ抗原（Ｄａｈｌｅｎｂｏｒｇ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｉｎｔ．Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ７０：６３－７１）、ＥＬＦ２Ｍ、ＥＴＶ６－ＡＭＬ１、Ｇ２５０、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ＧＡＧＥ－３、ＧＡＧＥ－４、ＧＡＧＥ－５、ＧＡＧＥ－６、ＧＡＧＥ－７Ｂ、ＧＡＧＥ－８、ＧｎＴ－Ｖ、ｇｐ１００（Ｚａｊａｃ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｉｎｔ．Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ７１：４９１－４９６）、ＨＡＧＥ、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ＨＬＡ－Ａ＊０２０１－Ｒ１７０Ｉ、ＨＰＶ－Ｅ７、ＨＳＰ７０－２Ｍ、ＨＳＴ－２、ｈＴＥＲＴ、ｈＴＲＴ、ｉＣＥ、アポトーシスの阻害剤（例えば、サバイビン）、ＫＨ－１腺癌抗原（Ｄｅｓｈｐａｎｄｅ ａｎｄ Ｄａｎｉｓｈｅｆｓｋｙ，１９９７，Ｎａｔｕｒｅ ３８７：１６４－１６６）、ＫＩＡＡ０２０５、Ｋ－ｒａｓ、ＬＡＧＥ、ＬＡＧＥ－１、ＬＤＬＲ／ＦＵＴ、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－２、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ－６、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＭＡＧＥ－Ａ２、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＭＡＧＥ－Ａ４、ＭＡＧＥ－Ａ６、ＭＡＧＥ－Ａ１０、ＭＡＧＥ－Ａ１２、ＭＡＧＥ－Ｂ５、ＭＡＧＥ－Ｂ６、ＭＡＧＥ－Ｃ２、ＭＡＧＥ－Ｃ３、ＭＡＧＥ－Ｄ、ＭＡＲＴ－１、ＭＡＲＴ－１／Ｍｅｌａｎ－Ａ（Ｋａｗａｋａｍｉ ａｎｄ Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ，１９９７，Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４：１７３－１９２）、ＭＣ１Ｒ、ＭＤＭ－２、Ｍｙｏｓｉｎ／ｍ、ＭＵＣ１、ＭＵＣ２、ＭＵＭ－１、ＭＵＭ－２、ＭＵＭ－３、ネオ－ポリＡポリメラーゼ、ＮＡ８８－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＮＹ－ＥＳＯ－１ａ（ＣＡＧ－３）、ＰＡＧＥ－４、ＰＡＰ、プロテイナーゼ３（Ｍｏｌｌｄｒｅｍ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ（１９９６）８８：２４５０－７；Ｍｏｌｌｄｒｅｍ ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ（１９９７）９０：２５２９－３４）、Ｐ１５、ｐ１９０、Ｐｍ１／ＲＡＲα、ＰＲＡＭＥ、ＰＳＡ、ＰＳＭ、ＰＳＭＡ、ＲＡＧＥ、ＲＡＳ、ＲＣＡＳ１、ＲＵ１、ＲＵ２、ＳＡＧＥ、ＳＡＲＴ－１、ＳＡＲＴ－２、ＳＡＲＴ－３、ＳＰ１７、ＳＰＡＳ－１、ＴＥＬ／ＡＭＬ１、ＴＰＩ／ｍ、チロシナーゼ、ＴＡＲＰ、ＴＲＰ－１（ｇｐ７５）、ＴＲＰ－２、ＴＲＰ－２／ＩＮＴ２、ＷＴ－１、並びにＮＹ－ＥＳＯ－１及びＬＡＧＥ－１遺伝子に由来するオルタナティブに翻訳されたＮＹ－ＥＳＯ－ＯＲＦ２及びＣＡＭＥＬタンパク質。更に、本発明に従って使用するための複合体において有用な癌／腫瘍関連、特に腫瘍関連、又は組織特異的抗原の別の具体例は、抗原ＡＳＣＬ２（Ａｃｈａｅｔｅ－ｓｃｕｔｅホモログ２）である。多数の他の癌抗原が当技術分野において周知である。

【００８５】

好ましくは、癌／腫瘍抗原又は癌／腫瘍エピトープは、組み換え癌／腫瘍抗原又は組み換え癌／腫瘍エピトープである。かかる組み換え癌／腫瘍抗原又は組み換え癌／腫瘍エピトープは、ネイティブな癌／腫瘍抗原又はネイティブな癌／腫瘍エピトープのアミノ酸配列全体において特定のアミノ酸を変化させる（付加、欠失、又は置換）突然変異を導入することによって設計することができる。突然変異の導入は、哺乳類の被験体、好ましくは、ヒト又はイヌの被験体にまたがって普遍的に適用することができないほどは癌／腫瘍抗原又は癌／腫瘍エピトープを変化させないが、免疫応答を生じさせるために、得られるアミノ酸が寛容を破壊するか又は外来抗原とみなされるのに十分な程度変化させる。別の方法は、その対応するネイティブな癌／腫瘍抗原又はネイティブな癌／腫瘍エピトープに対して少なくとも８５％且つ９９％以下のアミノ酸配列同一性、好ましくは少なくとも９０

％且つ９８％以下の配列同一性、より好ましくは少なくとも９３％且つ９８％以下の配列同一性、又は更により好ましくは少なくとも９５％且つ９８％以下の配列同一性を有するコンセンサス組み換え癌／腫瘍抗原又は癌／腫瘍エピトープを作製することであり得る。幾つかの例では、組み換え癌／腫瘍抗原又は組み換え癌／腫瘍エピトープは、その対応するネイティブな癌／腫瘍抗原又は癌／腫瘍エピトープに対して９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％のアミノ酸配列同一性を有する。ネイティブな癌／腫瘍抗原は、特定の癌又は癌腫瘍に正常に結合する抗原である。癌／腫瘍抗原に依存して、癌／腫瘍抗原のコンセンサス配列は、哺乳類種にまたがって存在していてもよく、種の亜型内に存在していてもよく、ウイルス株又は血清型にまたがって存在していてもよい。幾つかの癌／腫瘍抗原は、癌／腫瘍抗原の野生型アミノ酸配列と大きくは異ならない。最終的な組み換え癌／腫瘍抗原又は癌／腫瘍エピトープが上述のネイティブな癌抗原のアミノ酸配列と類似性パーセントを有するように、前述のアプローチを組み合わせてもよい。しかし、好ましくは、本明細書に記載する癌／腫瘍抗原のエピトープのアミノ酸配列は、突然変異しておらず、したがって、レファレンスエピトープ配列と同一である。

【００８６】

本明細書で使用するとき、「病原体エピトープ」は、ウイルス、細菌、真菌、原生動物、及び多細胞寄生虫を含む病原体由来の抗原タンパク質、抗原多糖、抗原液体、抗原リポタンパク質、又は抗原糖脂質由来のエピトープを意味する。本明細書では、病原体由来の抗原タンパク質、多糖、脂質、リポタンパク質、又は糖脂質としては、それぞれ、例えば、アメーバ症、炭疽病、ブルーリ潰瘍（マイコバクテリウム・ウルセランス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｕｌｃｅｒａｎｓ））、カリシウイルス関連下痢、カンピロバクター下痢、子宮頸癌（ヒトパピローマウイルス）、クラミジア・トラコマチス（Ｃｈｌａｍｙｄｉａ　ｔｒａｃｈｏｍａｔｉｓ）関連生殖器疾患、コレラ、クリミア・コンゴ出血熱、デング熱、ジフテリア、エボラ出血熱、毒素原性大腸菌（ＥＴＥＣ）下痢、胃癌（ヘリコバクター・ピロリ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ　ｐｙｌｏｒｉ））、淋病、Ａ群レンサ球菌関連疾患、Ｂ群レンサ球菌関連疾患、ヘモフィルス・インフルエンゼ（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ　ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）Ｂ肺炎及び侵襲性疾患、Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｅ型肝炎下痢、２型単純ヘルペス外陰部潰瘍、ＨＩＶ／ＡＩＤＳ、鉤虫症、インフルエンザ、日本脳炎、ラッサ熱、リーシュマニア症、レプトスピラ症、肝癌（Ｂ型肝炎）、肝癌（Ｃ型肝炎）、ライム病、マラリア、マールブルグ病、はしか、おたふくかぜ、鼻咽頭癌（エプスタイン・バーウイルス）、ナイセリア・メニンギティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）髄膜炎、パラインフルエンザ関連肺炎、百日咳、ペスト、小児まひ、狂犬病、ＲＳウイルス（ＲＳＶ）肺炎、リフトバレー熱、ロタウイルス下痢、風疹、住血吸虫症、重症急性呼吸器症候群（ＳＡＲＳ）、細菌性赤痢、天然痘、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）関連疾患、胃癌（ヘリコバクター・ピロリ）、肺炎球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）及び侵襲性疾患、破傷風、だに媒介脳炎、トラコーマ、結核、野兎病、腸チフス、ウエストナイルウイルス関連疾患、黄熱病を含むワクチン接種の標的となり得る疾患の原因となる病原体に由来するタンパク質、多糖、脂質、リポタンパク質、及び糖脂質が挙げられる。

【００８７】

好ましくは、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩ、及び／又はＣＤ１において細胞表面に提示され、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩにおいて細胞表面に提示されることが好ましい。語句「ＭＨＣクラスＩにおけるエピトープ提示」は、特に、細胞の表面におけるＭＨＣクラスＩ分子の溝に存在するＣＤ８$^{+}$エピトープを指す。語句「ＭＨＣクラスＩＩにおけるエピトープ提示」は、特に、細胞の表面におけるＭＨＣクラスＩＩ分子の溝に存在するＣＤ４$^{+}$エピトープを指す。語句「ＣＤ１におけるエピトープ提示」は、特に、細胞の表面における分化抗原群１分子の溝に存在する脂質性エピトープを指す。

【００８８】

有利には、本発明に従って使用するための複合体は、細胞透過性ペプチドと少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープとを含み、ＭＨＣクラスＩ及びＭＨＣクラスＩＩにおいて前記エピトープの輸送及び抗原提示細胞の細胞表面における提示を可能にするので、ワクチン接種及び免疫療法において有用である。

【００８９】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つのＣＤ４$^+$エピトープ及び／又は少なくとも１つのＣＤ８$^+$エピトープである、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含む。

【００９０】

用語「ＣＤ４$^+$エピトープ」又は「ＣＤ４$^+$拘束性エピトープ」は、本明細書で使用するとき、ＣＤ４$^+$Ｔ細胞によって認識されるエピトープを意味し、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。本発明に従って使用するための複合体に含まれる単一のＣＤ４$^+$エピトープは、好ましくは、約１２アミノ酸～約２５アミノ酸からなる。また、それは、例えば、約８アミノ酸～約２５アミノ酸又は約６アミノ酸～約１００アミノ酸からなり得る。

【００９１】

用語「ＣＤ８$^+$エピトープ」又は「ＣＤ８$^+$拘束性エピトープ」は、本明細書で使用するとき、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞によって認識されるエピトープを意味し、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。本発明に従って使用するための複合体に含まれる単一のＣＤ８$^+$エピトープは、好ましくは、約８アミノ酸～約１１アミノ酸からなる。また、それは、例えば、約８アミノ酸～約１５アミノ酸又は約６アミノ酸～約１００アミノ酸からなり得る。

【００９２】

好ましくは、少なくとも１つの抗原は、癌／腫瘍関連抗原、癌／腫瘍特異的抗原、又は病原体に由来する抗原タンパク質の抗原決定基に対応するＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープを含んでいてよく、或いは、少なくとも１つの抗原エピトープは、前記ＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープからなっていてよい。より好ましくは、少なくとも１つの抗原は、癌／腫瘍関連抗原又は癌／腫瘍特異的抗原の抗原決定基に対応するＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープを含んでいてよく、或いは、少なくとも１つの抗原エピトープは、前記ＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープからなっていてよい。最も好ましくは、少なくとも１つの抗原は、腫瘍関連抗原又は腫瘍特異的抗原の抗原決定基に対応するＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープを含んでいてよく、或いは、少なくとも１つの抗原エピトープは、前記ＣＤ４$^+$エピトープ及び／又はＣＤ８$^+$エピトープからなっていてよい。

【００９３】

また、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープを含み、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、ＣＤ４$^+$エピトープを含むか又はからなり、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、ＣＤ８$^+$エピトープを含むか又はからなることが好ましい。T_h細胞（ＣＤ４$^+$）は、腫瘍部位におけるＤＣライセンシング並びにＣＴＬ（ＣＤ８$^+$）の動員及び維持の両方において、抗腫瘍免疫応答で中心的な役割を果たしていることが現在立証されている。したがって、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープがＣＤ４$^+$エピトープを含むか又はからなり、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープがＣＤ８$^+$エピトープを含むか又はからなる少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープを含む本発明に従って使用するための複合体は、ＣＴＬ及びT_h細胞の同時初回免疫が可能な統合型免疫応答を提供し、したがって、ＣＤ８$^+$エピトープ１つだけ又はＣＤ４$^+$エピトープ１つだけに対する免疫が好ましい。例えば、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、Ｅａｌｐｈａ－ＣＤ４$^+$エピトープ及びｇｐ１００－ＣＤ８$^+$エピトープを含んでいてよい。

【００９４】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも２つの抗原又は抗原

エピトープを含み、前記少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープは、少なくとも２、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９又はそれ以上のＣＤ４$^{+}$エピトープ及び／又は少なくとも２、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９又はそれ以上のＣＤ８$^{+}$エピトープを含むか又はからなる。したがって、少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープは、好ましくは、異なる抗原又は抗原エピトープであり、より好ましくは、少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープは、互いに異なるが同種の腫瘍に関連している。マルチ抗原ワクチンは、（ｉ）抗原欠損変異体の増殖を回避し、（ｉｉ）不均質な腫瘍塊内で異なる腫瘍細胞を標的とし、（ｉｉｉ）患者間の腫瘍の多様性に対処する。したがって、本発明に従って使用するための複合体は、特に好ましくは、少なくとも４つの抗原又は抗原エピトープ、特に、少なくとも２つのＣＤ８$^{+}$エピトープ及び少なくとも２つのＣＤ４$^{+}$エピトープを含む。本発明に従って使用するためのかかる複合体は、相乗的に機能して腫瘍細胞に対抗し、効率的な抗腫瘍免疫を促進するように、マルチエピトープＣＤ８　ＣＴＬ及びＣＤ４　Ｔ$_{h}$細胞を誘導する。また、Ｔ$_{h}$細胞は、ワクチン接種後にモニタリングした持続性の細胞免疫の維持に関与していた。本発明に従って使用するためのかかる複合体は、ポリクローナルなマルチエピトープ性免疫応答並びに多機能性ＣＤ８$^{+}$及び／又はＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞を誘導し、延いては、効率的な抗腫瘍活性を誘導する。

【００９５】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも２つの抗原又は抗原エピトープを含み、より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも３つの抗原又は抗原エピトープを含み、更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも４つの抗原又は抗原エピトープを含み、特に好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも５つの抗原又は抗原エピトープを含み、最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも６つの抗原又は抗原エピトープを含む。本発明に従って使用するための複合体に含まれる抗原又は抗原エピトープは、同じであっても異なっていてもよく、好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる抗原又は抗原エピトープは、互いに異なる。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つのＣＤ４$^{+}$エピトープ及び少なくとも１つのＣＤ８$^{+}$エピトープを含む。

【００９６】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１超のＣＤ４$^{+}$エピトープ、例えば、同じ抗原又は異なる抗原由来の２以上のＣＤ４$^{+}$エピトープを含み、好ましくは、ＣＤ８$^{+}$エピトープを含まない。また、本発明に従って使用するための複合体は、同じ抗原又は異なる抗原由来の１超のＣＤ８$^{+}$エピトープ、例えば、２以上のＣＤ８$^{+}$エピトープを含み、好ましくは、ＣＤ４$^{+}$エピトープを含まないことも好ましい。しかし、最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、（ｉ）同じ抗原又は異なる抗原由来の少なくとも１つのＣＤ４$^{+}$エピトープ、例えば、２以上のＣＤ４$^{+}$エピトープ、及び（ｉｉ）同じ抗原又は異なる抗原由来の少なくとも１つのＣＤ８$^{+}$エピトープ、例えば、２以上のＣＤ８$^{+}$エピトープを含む。

【００９７】

例えば、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、ｇｐ１００－ＣＤ８$^{+}$エピトープ、Ｅａｌｐｈａ－ＣＤ４$^{+}$エピトープ、並びに更なるＣＤ４$^{+}$エピトープ及び更なるＣＤ８$^{+}$エピトープを含んでいてよい。更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、ｇｐ１００－ＣＤ８$^{+}$エピトープ及びＥａｌｐｈａ－ＣＤ４$^{+}$エピトープを含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。例えば、本発明に従って使用するための複合体に含まれるかかるポリペプチド又はタンパク質は、配列番号１４に係るアミノ酸配列又は上に定義したその配列変異体を含むか又はからなる。

【表４】

ESLKIS QAVHAAHAEI NEAGREVVGV GALKVPRNQD WLGVPRFAKF ASFEAQGALA NIAVDKANLD VEQLESIINF EKLTEWTGS

SEQ ID NO: 14 (OVA-CD4+, gp100-CD8+, Ealpha-CD4'，及び OVA-CD8+ エピトープを含むMAD5−カーゴ）

【００９８】

例えば、本発明に従って使用するための複合体は、ｇ７０－ＣＤ８＋エピトープ及び／又はｇ７０－ＣＤ４＋エピトープを含んでいてもよい。特に、本発明に従って使用するための複合体は、ｇ７０－ＣＤ８＋エピトープ及び／又はｇ７０－ＣＤ４＋エピトープを含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。例えば、本発明に従って使用するための複合体に含まれるかかるポリペプチド又はタンパク質は、配列番号４３に係るアミノ酸配列又は上に定義したその配列変異体を含むか又はからなる。

【表５】

VTYHSPSYAYHQFERRAILNRLVQFIKDRI

SEQ ID NO: 43 (gp70-CD8+ 及び gp70-CD4+ エピトープを含むMad8−カーゴ）

【００９９】

例えば、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、少なくとも１つのサバイビンエピトープ、例えば、サバイビンＣＤ８＋エピトープ及び／又はサバイビンＣＤ４＋エピトープを含んでいてよい。より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、サバイビンＣＤ８＋エピトープ及び／又はサバイビンＣＤ４＋エピトープを含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１超のサバイビンＣＤ８＋エピトープ及び／又は１超のサバイビンＣＤ４＋エピトープ、例えば、２つの異なるＣＤ８＋エピトープを含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。例えば、本発明に従って使用するための複合体に含まれるかかるポリペプチド又はタンパク質は、配列番号４４に係るアミノ酸配列又は上に定義したその配列変異体を含むか又はからなる。

【表６】

NYRIATFKNWPFLEDCAMEELTVSEFLKLDRQR

SEQ ID NO: 44 (サバイビンCD8+エピトープ１及びサバイビンCD8+エピトープ2を含むMad11−カーゴ）

【０１００】

例えば、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、ネオ抗原由来のエピトープを含んでいてよい。更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、ネオ抗原、例えば、Ｙａｄａｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０１４　Ｎｏｖ　２７；５１５（７５２８）：５７２－６によって同定されたＭＣ－３８腫瘍細胞株由来のネオ抗原に由来するエピトープを含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。例えば、本発明に従って使用するための複合体に含まれるかかるポリペプチド又はタンパク質は、配列番号４２に係るアミノ酸配列又は上に定義したその配列変異体を含むか又はからなる。

【表７】

HLELASMTNMELMSSIV

SEQ ID NO: 42（Yadav et al. Nature. 2014 Nov 27;515(7528):572-6に記載のネオ抗原由来のエピトープを含むMad9-カーゴ）

【０１０１】

例えば、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、ネオ抗原由来の１超、例えば、２つ又は３つのエピトープを含んでいてよい。更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、ネオ抗原、例えば、Ｙａｄａｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０１４　Ｎｏｖ　２７；５１５（７５２８）：５７２－６によって同定されたＭＣ－３８腫瘍細胞株由来のネオ抗原に由来するエピトープを１超、例えば、２つ又は３つ含むポリペプチド又はタンパク質を含んでいてよい。例えば、本発明に従って使用するための複合体に含まれるかかるポリペプチド又はタンパク質は、配列番号６３に係るアミノ酸配列又は上に定義したその配列変異体を含むか又はからなる。

【表８】

LFRAAQLANDVVLQIMEHLELASMTNMELMSSIVVISASIIVFNLLELEG

SEQ ID NO: 63（Yadav et al. Nature. 2014 Nov 27;515(7528):572-6に記載のネオ抗原由来のエピトープを含むMad12-カーゴ）

【０１０２】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である。本発明において有用なペプチド、ポリペプチド又はタンパク質の性質の抗原又は抗原エピトープの例としては、癌／腫瘍抗原若しくはその抗原エピトープ、アレルギー抗原若しくはその抗原エピトープ、自己免疫自己抗原若しくはその抗原エピトープ、病原体抗原若しくはその抗原エピトープ、及びウイルス（好ましくは、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、オルソポックスウイルス属天然痘ウイルス（ｏｒｔｈｏｐｏｘ　ｖａｒｉｏｌａ　ｖｉｒｕｓ）、オルソポックス属牛痘ウイルス（ｏｒｔｈｏｐｏｘ　ａｌａｓｔｒｉｍ　ｖｉｒｕｓ）、パラポックスウイルス属羊痘ウイルス（ｐａｒａｐｏｘ　ｏｖｉｓ　ｖｉｒｕｓ）、伝染性軟属腫ウイルス、単純ヘルペスウイルス１型、単純ヘルペスウイルス２型、ヘルペスＢウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、ヒトサイトメガリウイルス（ｈｕｍａｎ　ｃｙｔｏｍｅｇａｌｙ　ｖｉｒｕｓ）、ヒトヘルペスウイルス６型、ヒトヘルペスウイルス７型、エプスタイン・バーウイルス、ヒトヘルペスウイルス８型、Ｂ型肝炎ウイルス、チクングニアウイルス、オニョンニョンウイルス、ルビウイルス、Ｃ型肝炎ウイルス、ＧＢウイルスＣ、ウエストナイルウイルス、デングウイルス、黄熱病ウイルス、跳躍病ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、Ｂ型日本脳炎ウイルス、ポワッサンウイルス、ＦＳＭＥウイルス、ＳＡＲＳ、ＳＡＲＳ関連コロナウイルス、ヒトコロナウイルス２２９Ｅ、ヒトコロナウイルスＯｃ４３、トロウイルス、ヒトＴ細胞リンホトロピックウイルスＩ型、ヒトＴ細胞リンホトロピックウイルスＩＩ型、ＨＩＶ（ＡＩＤＳ）、即ち、ヒト免疫不全ウイルス１型又はヒト免疫不全ウイルス２型、インフルエンザウイルス、ラッサウイルス、リンパ性脈絡髄膜炎ウイルス、タカリベウイルス、フニンウイルス、マチュポウイルス、ボルナ病ウイルス、ブニヤムウェラウイルス、カリフォルニア脳炎ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、サシチョウバエ熱ウイルス、トスカーナウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ハザーラウイルス、ハサンウイルス、ハンタンウイルス、ソウルウイルス、プロスペクトヒルイルス、プーマラウイルス、ドブラバ・ベルグレドウイルス、ツラウイルス、シンノンブルウイルス、ビクトリア湖マールブルグウイルス、ザイールエボラウイルス、スーダンエボラウイルス、アイボリコーストエボラウイルス、インフルエンザウイルスＡ型、インフルエンザウイルスＢ型、インフルエンザウイルスＣ型、パライン

フルエンザウイルス、マラリア原虫（熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫、四日熱マラリア原虫、二日熱マラリア原虫）、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、おたふく風邪ウイルス、ＲＳウイルス、ヒトメタニューモウイルス、水疱性口内炎インディアナウイルス、狂犬病ウイルス、モコラウイルス、デュベンヘイジウイルス、ヨーロッパコウモリリッサウイルス１＋２、オーストラリアコウモリリッサウイルス、アデノウイルスＡ型～Ｆ型、ヒトパピローマウイルス、コンジロームウイルス６型、コンジロームウイルス１１型、ポリオーマウイルス、アデノ随伴ウイルス２型、ロタウイルス、オルビウイルス、水痘帯状疱疹等を含む水痘）に由来する抗原若しくは抗原エピトープ、又はリーシュマニア、トリパノソーマ、アメーバ（ａｍｉｂｅｓ）、細菌等に由来する抗原若しくは抗原エピトープが挙げられ、或いはエピトープ又は上記抗原若しくは抗原エピトープの変異体から選択してもよい。好ましくは、上に定義した抗原のエピトープ及び変異体は、上に示したか又は記載した抗原又は抗原配列のうちの１つに対して約１０％、特に少なくとも１０％、約２０％、特に少なくとも２０％、約３０％、特に少なくとも３０％、約４０％、特に少なくとも４０％、約５０％、特に少なくとも５０％、約６０％、特に少なくとも６０％、約７０％、特に少なくとも７０％、約８０％、特に少なくとも８０％、約９０％、特に少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は少なくとも９８％の配列相同性又は同一性を示す。この状況において、定義したのと同様のエピトープ及び変異体の定義が適用される。

【０１０３】

ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質のカテゴリにおける抗原又は抗原エピトープの例としては、Ｎｏｖｅｌｌｉｎｏ ｅｔ ａｌ．（２００５，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ，５４（３）：１８７－２０７）、Ｖｉｇｎｅｒｏｎ ｅｔ ａｌ．（２０１３，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎ．１３：１５）に記載されているもの等の複数のグリオーマエピトープの組合せが挙げられる。しかし、本発明に従って使用するための１つの複合体は、あるサブセットのみ、即ち、全ての前記グリオーマエピトープのうちの１以上を含んでいてもよい。かかる場合、好ましくは、本発明に係る異なる複合体は、全ての前記グリオーマエピトープのうちの異なるサブセットを含み、その結果、例えば、本発明に係るかかる異なる複合体を含む本発明に係るワクチンは、前記グリオーマエピトープの全てを含むが、様々な複合体に分布している。

【０１０４】

更に、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含んでいてもよく、前記抗原又は抗原エピトープは、多糖、脂質、リポタンパク質、及び／又は糖脂質、特に、例えば本明細書に定義した通りの病原体エピトープであってよい多糖、脂質、リポタンパク質、及び／又は糖脂質のエピトープである。

【０１０５】

特に、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含んでいてよく、前記抗原又は抗原エピトープは、ウイルス、細菌、真菌、原生動物、及び多細胞寄生虫の抗原又は抗原エピトープを含む、多糖、脂質、リポタンパク質、及び／又は糖脂質である。

【０１０６】

好ましくは、前記エピトープは、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩにおいて細胞表面に提示される。

【０１０７】

好ましくは、前記脂質エピトープは、ＣＤ１（分化抗原群１分子）において細胞表面に提示される。

【０１０８】

また、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含んでいてもよく、前記抗原又は抗原エピトープは、低分子医薬又は毒素である。

【０１０９】

本発明において有用な低分子医薬又は毒素のカテゴリ内のカーゴ分子の例としては、シ

クロスポリンＡ、パクリタキセル、ドキソルビシン、メトトレキサート、５－アミノレブリン酸、ジフテリア毒素、スニチニブ、及びＤｅ ｗｉｔ Ａｍｅｒ（２０１０，Ｎｅｕｒｏ Ｏｎｃｏｌ，１２（３）：３０４－１６）に概説されている分子が挙げられる。

【０１１０】

本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含み、好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１超の抗原又は抗原エピトープ、特に、２、３、４、５、６、７、８、９、１０又はそれ以上の抗原又は抗原エピトープを含み、より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、（少なくとも）２つ又は３つの抗原又は抗原エピトープを含み、更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、（少なくとも）４つ又は５つの抗原又は抗原エピトープを含む。

【０１１１】

本発明に従って使用するための複合体に１超の抗原又は抗原エピトープが含まれている場合、前記抗原又は抗原エピトープは、特に、本発明に従って使用するための複合体において、例えば、別の抗原若しくは抗原エピトープ、及び／又は成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチド、及び／又は成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニストにも共有結合していることが理解される。

【０１１２】

本発明に従って使用するための複合体に含まれている様々な抗原又は抗原エピトープは、同じであっても異なっていてもよい。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる様々な抗原又は抗原エピトープは、互いに異なっており、したがって、マルチ抗原及び／又はマルチエピトープ性の複合体が得られる。

【０１１３】

更に、１超の抗原又は抗原エピトープ、特に、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上の抗原又は抗原エピトープが、本発明に従って使用するための複合体において連続して位置することが好ましい。これは、特に、複合体に含まれている全ての抗原及び／又は抗原エピトープが、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチドも成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニストも介在することなしに一続きに位置することを意味する。むしろ、成分ａ）及び成分ｃ）は、複合体において、かかる一続きの全ての抗原及び／又は抗原エピトープの前又は後に位置する。しかし、このように連続して位置する抗原及び／又は抗原エピトープは、例えば、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチドも成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニストでもない下記スペーサ又はリンカーによって互いに結合していてよい。

【０１１４】

更に、本発明に従って使用するための複合体は、また、抗原の１以上のエピトープを含むことが好ましい。したがって、複合体は、好ましくは、１以上の抗原の１以上のエピトープを含む。例えば、複合体は、第一の抗原の１以上のエピトープ及び第二の抗原の１以上のエピトープを含んでよく；或いは、複合体は、第一の抗原の１以上のエピトープ、第二の抗原の１以上のエピトープ、及び第三の抗原の１以上のエピトープを含んでよく；或いは、複合体は、第一の抗原の１以上のエピトープ、第二の抗原の１以上のエピトープ、第三の抗原の１以上のエピトープ、及び第四の抗原の１以上のエピトープを含んでよい、などである。好ましい実施形態では、複合体は、１以上の抗原の１超のエピトープを含み、より好ましくは、同一抗原の抗原エピトープが、本発明に従って使用するために複合体中に連続的に（又は重複して）位置する。これは、特に、複合体に含まれる同一抗原の全ての抗原エピトープが一続きに配置され、それが、成分ａ）（即ち、細胞透過性ペプチド）にも、成分ｃ）（即ち、ＴＬＲペプチドアゴニスト）にも、その他の任意の抗原エピトープ（即ち、他の抗原由来のエピトープ）によっても中断されないことを意味する。

【０１１５】

しかし、様々な抗原及び／又は抗原エピトープは、本発明に従って使用するための複合体において任意の他の方式で位置していてもよく、例えば、２以上の抗原及び／又は抗原エピトープ間に成分ａ）及び／又は成分ｃ）が位置する、即ち、成分ａ）と成分ｃ）との

間に１以上の抗原及び／又は抗原エピトープが位置し（逆も同様である）、そして、任意で、成分ａ）及び／又は成分ｃ）のそれぞれの他端に１以上の抗原及び／又は抗原エピトープが位置していてもよい。

【０１１６】

有利なことには、結腸直腸癌に関連する多数の異なる抗原又は抗原エピトープが、本発明に従って使用するための単一の複合体に含まれていてよいことが理解される。或いは、結腸直腸癌に関連する多数の異なる抗原又は抗原エピトープが、本発明に係る様々な複合体に含まれる異なる抗原又は抗原エピトープのサブセット、特に、結腸直腸癌の状況において互いに補完的なサブセットに分布していてもよく、それによって、有利なことに、様々なサブセットを含むかかる様々な複合体を、例えば単一のワクチンで、それを必要としている被験体に同時に投与することができる。

【０１１７】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの腫瘍エピトープを含み、これは、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープである。より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの腫瘍エピトープを含み、これは、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープである。これら抗原は、結腸直腸癌の状況において特に有用である。また、本発明に従って使用するための複合体は、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される少なくとも１つの腫瘍抗原、又はこれらの断片、又は腫瘍抗原の配列変異体若しくはその断片の配列変異体を含むことも好ましい。本発明に従って使用するための複合体は、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される少なくとも１つの腫瘍抗原、又はこれらの断片、又は腫瘍抗原の配列変異体若しくはその断片の配列変異体を含むことも好ましい。本明細書で使用するとき、抗原の「断片」は、抗原の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくは、抗原の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくは、抗原の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくは、抗原の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくは、抗原の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含む。「配列変異体」とは、上に定義した通りである、即ち、配列変異体は、レファレンス配列と少なくとも７０％、好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％同一の（アミノ酸）配列を有する。「機能的」配列変異体とは、抗原／抗原断片／エピトープに関連して、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ることもなく消失することもないことを意味する。しかし、好ましくは、例えば、本明細書に記載する癌／腫瘍抗原（断片）に含まれるエピトープのアミノ酸配列は、突然変異していない、即ち、レファレンスエピトープ配列と同一である。

【０１１８】

上記の通り、抗原の好適な癌／腫瘍エピトープは、文献から公知であるか、又は癌／腫瘍エピトープデータベース、例えば、ＣＤ４＋又はＣＤ８＋Ｔ細胞によって認識されるヒト腫瘍抗原が発現パターンに基づいて４つの主なグループに分類されているｖａｎ　ｄｅｒ　Ｂｒｕｇｇｅｎ　Ｐ，Ｓｔｒｏｏｂａｎｔ　Ｖ，Ｖｉｇｎｅｒｏｎ　Ｎ，Ｖａｎ　ｄ

ｅｎ Ｅｙｎｄｅ Ｂ．Ｐｅｐｔｉｄｅ ｄａｔａｂａｓｅ：Ｔ ｃｅｌｌ－ｄｅｆｉｎｅｄ ｔｕｍｏｒ ａｎｔｉｇｅｎｓ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎ ２０１３；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒｉｍｍｕｎｉｔｙ．ｏｒｇ／ｐｅｐｔｉｄｅ／、若しくはデータベース「Ｔａｎｔｉｇｅｎ」（ＴＡＮＴＩＧＥＮバージョン１．０、２００９年１２月１日；Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ｃｏｒｅ ａｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｖａｃｃｉｎｅ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｄａｎａ－Ｆａｒｂｅｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅによって開発；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｃｖｃ．ｄｆｃｉ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ｔａｄｂ／）によって同定することができる。

【０１１９】

ＥｐＣＡＭ

Ｅｐ－Ｃａｍは、細胞接着を媒介する糖タンパク質である。ＥｐＣＡＭのアミノ酸配列を以下に示す：

【表９】

MAPPQVLAFGLLLAAATATFAAAQEECVCENYKLAVNCFVNNNRQCQCTSVGAQNTVICSKL
AAKCLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDESGLFKAKQCNGTSMCWCVNT
AGVRRTDKDTEITCSERVRTYWIIIELKHKAREKPYDSKSLRTALQKEITTRYQLDPKFITSILYENN
VITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVAYYFEKDVKGESLFHSKKMDLTVNGEQLDLDPGQTLIYYV
DEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAVVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
[SEQ ID NO: 47]

【０１２０】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号４７に係るアミノ酸配列又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１２１】

ＥｐＣＡＭの幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＥｐＣＡＭエピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＥｐＣＡＭ配列の断片であり、上記ＥｐＣＡＭ配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表１０】

GLKAGVIAV

[SEQ ID NO: 48]

【０１２２】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号４８に係るアミノ酸配列、又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１２３】

ＨＥＲ－２／ｎｅｕ

Ｈｅｒ－２は、ＥＧＦＲ（上皮成長因子受容体）ファミリーに属する。多くのＨＬＡ－Ａエピトープは、当業者に公知である。ＨＥＲ２のアミノ酸配列を以下に示す：

【表１１】

MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLE
LTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLN
NTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNR
SRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKH
SDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTL
VCPLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAF
LPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAY
SLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDEC
VGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCH
PECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQP
CPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQQKIRKYTMRRLL
QETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLR
ENTSPKANKEILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVRENRGRLGS
QDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEYHAD
GGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQ
PPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPLDSTFYRSL
LEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEE
APRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGAAKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLT
CSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPE
YLTPQGGAAPQPHPPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV
[SEQ ID NO: 70]

【０１２４】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号７０に係るアミノ酸配列又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。上記の通り、Ｈｅｒ－２の好適な癌／腫瘍エピトープは、文献から公知であるか、又は癌／腫瘍エピトープデータベース、例えば、ＣＤ４＋又はＣＤ８＋Ｔ細胞によって認識されるヒト腫瘍抗原が発現パターンに基づいて４つの主なグループに分類されているｖａｎ　ｄｅｒ　Ｂｒｕｇｇｅｎ　Ｐ，Ｓｔｒｏｏｂａｎｔ　Ｖ，Ｖｉｇｎｅｒｏｎ　Ｎ，Ｖａｎ　ｄｅｎ　Ｅｙｎｄｅ　Ｂ．Ｐｅｐｔｉｄｅ　ｄａｔａｂａｓｅ：Ｔ　ｃｅｌｌ－ｄｅｆｉｎｅｄ　ｔｕｍｏｒ　ａｎｔｉｇｅｎｓ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｍｍｕｎ　２０１３；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒｉｍｍｕｎｉｔｙ．ｏｒｇ／ｐｅｐｔｉｄｅ／、若しくはデータベース「Ｔａｎｔｉｇｅｎ」（ＴＡＮＴＩＧＥＮバージョン１．０、２００９年１２月１日；Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ　Ｃｏｒｅ　ａｔ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｖａｃｃｉｎｅ　Ｃｅｎｔｅｒ，Ｄａｎａ－Ｆａｒｂｅｒ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅによって開発；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｃｖｃ．ｄｆｃｉ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ｔａｄｂ／）によって同定することができる。

【０１２５】

Ｍｕｃｉｎ－１（ＭＵＣ－１）

ＭＵＣ－１は、細胞接着に作用するヒト上皮ムチンである。ＭＵＣ－１のアミノ酸配列を以下に示す。：

【表１２】

MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAVSMTSSVLSSHSP
GSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAP
GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGST
APPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPP
AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAH
GVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVT
SAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAP
DTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTR
PAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP
GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGST
APPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPP
AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAH
GVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVT
SAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAP
DTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNR
PALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHNGTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTK
TDASSTHHSSVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFL
QIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVS
DVPFPFSAQSGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHP
MSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSANL

[SEQ ID NO: 49]

【０１２６】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号４９に係るアミノ酸配列、又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１２７】

ＭＵＣ－１の幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＭＵＣ－１エピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＭＵＣ－１配列の断片であり、上記ＭＵＣ－１配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、それぞれ、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表１３】

GSTAPPVHN

[SEQ ID NO: 50]

TAPPAHGVTS

[SEQ ID NO: 51]

【０１２８】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５０に係るアミノ酸配列及び／又は配列番号５１に係るアミノ酸配列を含む。

【０１２９】

ＴＯＭＭ３４

ＴＯＭＭ３４は、前駆体タンパク質のミトコンドリアへの輸送に関与している。その多くのエピトープが当業者に公知である。

【０１３０】

ＲＮＦ－４３

ＲＮＦ４３は、ＲＩＮＧ型Ｅ３ユビキチンリガーゼであり、膜貫通ドメイン、プロテアーゼ関連ドメイン、エクトドメイン、及び細胞質ＲＩＮＧドメインを含有すると予測される。ＲＮＦ４３は、Ｗｎｔシグナル伝達を負に制御すると考えられ、ＲＮＦ４３の発現によってフリズド受容体のユビキチン化が増大し、その細胞内分布が変化して、これら受容体の表面レベルが低下する。その多くのエピトープが当業者に公知である。

【０１３１】

ＫＯＣ１

インスリン様成長因子２ｍＲＮＡ結合タンパク質３（ＩＧＦ２ＢＰ３）としても知られているＫＯＣ１は、ｍＲＮＡ結合タンパク質である。しかし、入手可能な発現データは存在しない。

【０１３２】

血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）／血管内皮成長因子受容体（ＶＥＧＦＲ）

元々血管透過性因子（ＶＰＦ）として知られていた血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）は、血管発生及び血管新生を刺激する細胞によって産生されるシグナルタンパク質である。それは、血液循環が不十分であるとき、組織への酸素供給を回復させる系の一部である。ＶＥＧＦの正常な機能は、胚発生中に新たな血管を作製し、傷害後に新たな血管を作製し、運動後に筋肉を作製し、閉塞した血管をバイパスするための新たな血管（側副循環）を作製することである。ＶＥＧＦの受容体（ＶＥＧＦＲ）には３つの主なサブタイプ、即ち、ＶＥＧＦＲ１、ＶＥＧＦＲ２、及びＶＥＧＦＲ３が存在する。

【０１３３】

ヒト絨毛性ゴナドトロピンのベータサブユニット（βｈＣＧ）

ヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）は、移植後の胚によって産生されるホルモンである。一部の癌性腫瘍はこのホルモンを産生するので、患者が妊娠していないときに測定される高レベルは、癌の診断につながり得る。ｈＣＧは、黄体形成ホルモン（ＬＨ）、卵胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）と同一のα（アルファ）サブユニット、及びｈＣＧ独自のβ（ベータ）サブユニットを有するヘテロダイマーである。ｈＣＧゴナドトロピンのβサブユニット（ベーターｈＣＧ）は、１４５アミノ酸を含有し、６つの高度に相同な遺伝子によってコードされている。

【０１３４】

サバイビン

バキュロウイルスアポトーシス阻害剤反復配列含有タンパク質５又はＢＩＲＣ５とも呼ばれるサバイビンは、アポトーシス阻害剤（ＩＡＰ）ファミリーのメンバーである。サバイビンタンパク質は、カスパーゼの活性化を阻害し、それによって、アポトーシス又はプログラム細胞死の負の制御が引き起こされる。サバイビンのアミノ酸配列を以下に示す：

【表１４】

MGAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGCACTPERMAEAGFIHCPTENEPDLAQCFFCFKEL

EGWEPDDDPIEEHKKHSSGCAFLSVKKQFEELTLGEFLKLDRERAKNKIAKETNNKKKEFEETAKK

VRRAIEQLAAMD

[SEQ ID NO: 52]

【０１３５】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５２に係るアミノ酸配列又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１３６】

サバイビンの幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って

使用するための複合体に含まれる好ましいサバイビンエピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記サバイビン配列の断片であり、上記サバイビン配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表１５】

RISTFKNWPF

[SEQ ID NO: 53]

【０１３７】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５３に係るアミノ酸配列を含む。

【０１３８】

したがって、本発明に従って使用するための複合体は、サバイビンのエピトープを含むことが好ましい。より好ましくは、複合体は、配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号５３に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む。最も好ましくは、複合体は、配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能配列変異体を含む。

【０１３９】

癌胎児抗原（ＣＥＡ）

ＣＥＡは、細胞内接着糖タンパク質である。ＣＥＡは、通常、胎児発生中に胃腸組織において産生されるが、この産生は誕生前に停止する。したがって、ＣＥＡは、通常、健常成人の血液中に非常に低レベルでしか存在しない。ＣＥＡのアミノ酸配列を以下に示す：

【表１６】

MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLLVHNLPQHLFGY

SWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIYPNASLLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLV

NEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLS

NGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSC

HAASNPPAQYSWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEP

PKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNDNRTLTLLSVTRN

DVGPYECGIQNKLSVDHSDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYYRPGVNLSLSCHAASNPPAQYSW

LIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTITVSAELPKPSISSNNSKPVED

KDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNS

VSANRSDPVTLDVLYGPDTPIISPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSPQYSWRINGIPQQHTQVL

FIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVAL

[SEQ ID NO: 54]

【０１４０】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５４に係るア

ミノ酸配列、又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１４１】

ＣＥＡの幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＣＥＡエピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＣＥＡ配列の断片であり、上記ＣＥＡ配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、それぞれ、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表１７】

YLSGANLNLS

[SEQ ID NO: 55]

SWRINGIPQQ

[SEQ ID NO: 56]

【０１４２】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５５に係るアミノ酸配列及び／又は配列番号５６に係るアミノ酸配列を含む。

【０１４３】

したがって、本発明に従って使用するための複合体は、ＣＥＡのエピトープを含むことが好ましい。より好ましくは、複合体は、配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号５５に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号５６に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む。最も好ましくは、複合体は、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能配列変異体を含む。

【０１４４】

トランスフォーミング成長因子ベータ受容体２（ＴＧＦβＲ２）

ＴＧＦβ受容体は、１回膜貫通型セリン／スレオニンキナーゼ受容体である。これは、幾つかの異なるアイソフォームで存在する。ＴＧＦβＲ２は、プロテインキナーゼドメインを有し、別の受容体タンパク質とヘテロダイマー複合体を形成し、ＴＧＦ－βと結合する膜貫通タンパク質である。この受容体／リガンド複合体は、タンパク質をリン酸化し、次いで、核に入り、細胞増殖に関連する遺伝子のサブセットの転写を制御する。

【０１４５】

Ｐ５３

Ｐ５３は、ゲノムの突然変異を防ぐ役割を有する腫瘍抑制因子タンパク質である。Ｐ５３は、多くの機序の抗癌機能を有し、アポトーシス、ゲノム安定性、及び血管新生の阻害において役割を果たす。その抗癌の役割において、ｐ５３は、幾つかの機序を介して機能する：ＤＮＡが持続性の損傷を有するとき、ＤＮＡ修復タンパク質を活性化することができ；ＤＮＡの損傷を認識したら、Ｇ１／Ｓ制御点で細胞周期を保持することによって成長を停止させることができ；そして、アポトーシスを開始させることができる。

【０１４６】

カーステンＲａｓ（ＫＲａｓ）

ＧＴＰａｓｅであるＫＲａｓは、Ｖ－Ｋｉ－ｒａｓ２カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ及びＫＲＡＳとしても知られており、正常組織シグナル伝達において必須の機能を果たし、ＫＲＡＳ遺伝子の突然変異は、多くの癌の発現において必須の工程である。ｒａｓサブファミリーの他のメンバーと同様に、ＫＲＡＳタンパク質は、ＧＴＰａｓｅであり、多くのシグナル伝達経路の早い段階で機能する。ＫＲＡＳは、通常、そのＣ末端におけるイソプレン基の存在により細胞膜に固定される。ＫＲａｓのアミノ酸配列を以下に示す：

【表１８】

MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEEY

SAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSEDVPMVLVGNKCDLPSRTVD

TKQAQDLARSYGIPFIETSAKTRQRVEDAFYTLVREIRQYRLKKISKEEKTPGCVKIKKCIIM

[SEQ ID NO: 57]

【０１４７】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５７に係るアミノ酸配列、又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。

【０１４８】

カーステンＲａｓの幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいカーステンＲａｓエピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記カーステンＲａｓ配列の断片であり、上記カーステンＲａｓ配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、それぞれ、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表１９】

VVVGAGGVG

[SEQ ID NO: 58]

【０１４９】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５８に係るアミノ酸配列を含む。

【０１５０】

Ｏ結合型Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｕＮＡｃ）トランスフェラーゼ（ＯＧＴ）

ＯＧＴ（Ｏ結合型Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｕＮＡｃ）トランスフェラーゼ、Ｏ－ＧｌｃＮＡｃトランスフェラーゼ、ＯＧＴａｓｅ、Ｏ結合型Ｎ－アセチルグルコサミルトランスフェラーゼ、ウリジンジホスホ－Ｎ－アセチルグルコサミン：ポリペプチドベータ－Ｎ－アセチルグルコサミルトランスフェラーゼ、タンパク質Ｏ結合型ベータ－Ｎ－アセチルグルコサミントランスフェラーゼ）は、システム名ＵＤＰ－Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミン：タンパク質－Ｏ－ベータ－Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミルトランスフェラーゼ）を有する酵素であり、システム名「ＵＤＰ－Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミン：タンパク質－Ｏ－ベータ－Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミルトランスフェラーゼ」を有する酵素である。ＯＧＴは、Ｏ－グリコシド結合における１つのＮ－アセチルグルコサミンを細胞内タンパク質のセリン又はスレオニン残基に付加するのを触媒する。ＯＧＴは、ヒトの体内における生物学的機能のホストの一部である。ＯＧＴは、ＡＫＴ１のスレオニン３０８のリン酸化を阻害し、（セリン３０７及びセリン６３２／６３５における）ＩＲＳ１のリン酸化速度を増大させ、インスリンシグナル伝達を低減し、インスリンシグナルの成分をグリコシル化することにより、筋肉細胞及び脂肪細胞におけるインスリン抵抗性に関与している。更に、ＯＧＴは、Ｎ－アセチルグルコサミンの付加と共に、セリン及びスレオニン残基の細胞内グリコシル化を触媒する。ＯＧＴのアレルは胚発生に極めて重要であり、ＯＧＴは、細胞内グリコシル化及び胚幹細胞の生存に必須であることが研究によって

示されている。また、ＯＧＴは、転写因子及びＲＮＡポリメラーゼＩＩを調節する翻訳後修飾も触媒するが、この修飾の具体的な機能は殆ど知られていない。

【０１５１】

カスパーゼ５（ＣＡＳＰ５）

カスパーゼ５は、アスパラギン酸残基において他のタンパク質をタンパク質分解的に切断する酵素であり、システインプロテアーゼと呼ばれるカスパーゼのファミリーに属する。それは、カスパーゼ１、カスパーゼ４、及びマウスカスパーゼ４ホモログカスパーゼ１１と共に炎症性カスパーゼであり、免疫系において役割を有する。

【０１５２】

結腸直腸腫瘍関連抗原－１（ＣＯＡ－１）

ＣＯＡ－１は、Ｍａｃｃａｌｌｉ ｅｔ ａｌ．（Ｍａｃｃａｌｌｉ，Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｔｕｍｏｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ａｎｔｉｇｅｎ（ＣＯＡ－１）ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ ｂｙ ＣＤ４（＋）Ｔ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，２００３．６３（２０）：ｐ．６７３５－４３）によって２００３年に結腸直腸細胞及びメラノーマ細胞で強く発現すると同定された（データ入手不可）。その突然変異は、腫瘍及び正常細胞の分別認識に干渉し得る。

【０１５３】

メラノーマ関連抗原（ＭＡＧＥ）

ＭＡＧＥ（メラノーマ関連抗原）遺伝子ファミリーの哺乳類メンバーは、元々、男性の生殖細胞及び一部については胎盤を除いて、正常成人組織では完全にサイレントであると報告されている。対照的に、これら遺伝子は、様々な種類の腫瘍で発現していた。したがって、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、ＭＡＧＥファミリーの抗原（「ＭＡＧＥ」抗原）又はそのエピトープを含む。ＭＡＧＥファミリーの中でも特に、ＭＡＧＥ－Ａ３及びＭＡＧＥ－Ｄ４が好ましく、ＭＡＧＥ－Ａ３が特に好ましい。健常細胞におけるＭＡＧＥ－Ａ３の正常機能は知られていない。ＭＡＧＥ－Ａ３は、腫瘍特異的タンパク質であり、多くの腫瘍において同定されている。ＭＡＧＥ－Ａ３のアミノ酸配列を以下に示す：

【表２０】

MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQS

PQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREP

VTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKAFSSLQLVFGIELMEVDPIGHLYIFATCLGLSYDGLLGDN

QIMPKAGLLIIVLAIIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQ

VPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVKVLHHMVKISGGPHIS YPPLHEWVLREGEE

[SEQ ID NO: 59]

【０１５４】

したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号５９に係るアミノ酸配列を含む。

【０１５５】

ＭＡＧＥ－Ａ３の幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＭＡＧＥ－Ａ３エピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＭＡＧＥ－Ａ３配列の断片であり、上記ＭＡＧＥ－Ａ３配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：

【表２１】

KVAELVHFL

[SEQ ID NO: 60]

【０１５６】
したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号６０に係るアミノ酸配列を含む。
【０１５７】
Ｔ細胞によって認識される扁平上皮癌抗原（ＳＡＲＴ）
ＳＡＲＴファミリー内では、ＳＡＲＴ－３が最も好ましい。したがって、本発明に従って使用するための複合体は、好ましくは、ＳＡＲＴファミリーの抗原（「ＳＡＲＴ」抗原）又はそのエピトープを含み、本発明に従って使用するための複合体は、より好ましくは、ＳＡＲＴ－３又はそのエピトープを含む。Ｔ細胞によって認識される扁平上皮癌抗原３は、癌患者においてＨＬＡ－Ａ２４拘束性且つ腫瘍特異的細胞傷害性Ｔリンパ球を誘導することができる腫瘍エピトープを有する。ＳＡＲＴ－３は、ｍＲＮＡスプライシングの制御に関与していると考えられる。
【０１５８】
ＩＬ１３Ｒアルファ２
ＩＬ１３Ｒアルファ２は、非常に高い親和性でインターロイキン１３（ＩＬ－１３）に結合する（したがって、それを隔離することができる）が、ＩＬ－４に結合することはできない。それは、ＩＬ－１３及びＩＬ－４の両方の負の制御因子として作用するが、その機序については未だ解明されていない。ＩＬ１３アルファ２のアミノ酸配列を以下に示す：
【表２２】
MAFVCLAIGCLYTFLISTTFGCTSSSDTEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYLYLQWQPPLSLDHFKECT
VEYELKYRNIGSETWKTIITKNLHYKDGFDLNKGIEAKIHTLLPWQCTNGSEVQSSWAETTYWIS
PQGIPETKVQDMDCVYYNWQYLLCSWKPGIGVLLDTNYNLFYWYEGLDHALQCVDYIKAD
GQNIGCRFPYLEASDYKDFYICVNGSSENKPIRSSYFTFQLQNIVKPLPPVYLTFTRESSCEIKLKW
SIPLGPIPARCFDYEIEIREDDTTLVTATVENETYTLKTTNETRQLCFVVRSKVNIYCSDDGIWSEW
SDKQCWEGEDLSKKTLLRFWLPFGFILILVIFVTG LLLRKPNTYPKMIPEFFCDT
[SEQ ID NO: 61]
【０１５９】
したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号６１に係るアミノ酸配列又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。
【０１６０】
ＩＬ１３Ｒアルファ２の幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＩＬ１３Ｒアルファ２エピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＩＬ１３Ｒアルファ２配列の断片であり、上記ＩＬ１３Ｒアルファ２配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：
【表２３】
LPFGFIL
[SEQ ID NO: 62]
【０１６１】
したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号６２に係るアミノ酸配列を含む。
【０１６２】
ＡＳＣＬ２（Ａｃｈａｅｔｅ－ｓｃｕｔｅホモログ２）
ＡＳＣＬ２は、胎盤発生中の増殖性栄養芽層の維持に不可欠な塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックス転写因子である。ＡＳＣＬ２は、腸新生物において過剰発現される推定増

殖制御因子であることが見出された。ＡＳＣＬ２のアミノ酸配列を以下に示す。
【表２４】
MDGGTLPRSAPPAPPVPVGCAARRRPASPELLRCSRRRRPATAETGGGAAAVARRNERERNRV
KLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVR
PSAPRGPPGTTPVAASPSRASSSPGRGGSSEPGSPRSAYSSDDSGCEGALSPAERELLDFSSWLG
GY
[SEQ ID NO: 92]

【０１６３】
したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号９２に係るアミノ酸配列又は本明細書に記載するその断片若しくは変異体を含む。
【０１６４】
ＡＳＣＬ２の幾つかのエピトープは、当業者に公知である。好ましくは本発明に従って使用するための複合体に含まれる好ましいＡＳＣＬ２エピトープは、以下のエピトープを含む（以下に示すエピトープ配列は、上記ＡＳＣＬ２配列の断片であり、上記ＡＳＣＬ２配列に下線で示す；以下のエピトープ配列は、それぞれ１つのエピトープ又は１超の（重複）エピトープを指し得る）：
【表２５】
SAVEYIRALQ
[SEQ ID NO: 93]

【表２６】
ERELLDFSSW
[SEQ ID NO: 94]

【０１６５】
したがって、本発明に従って使用するための好ましい複合体は、配列番号９３に係るアミノ酸配列及び／又は配列番号９４に係るアミノ酸配列を含む。
【０１６６】
したがって、本発明に従って使用するための複合体は、ＡＳＣＬ２のエピトープを含むことが好ましい。より好ましくは、複合体は、配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号９３に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号９４に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む。最も好ましくは、複合体は、配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能配列変異体を含む。
【０１６７】
好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの腫瘍エピトープを含み、これは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、ＭＡＧＥ

－Ａ３、及びＩＬ１３Ｒアルファ２からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、５６、５８、６０、及び６２のいずれかに係るエピトープであり；好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つの腫瘍エピトープを含み、これは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＩＬ１３Ｒアルファ２、及びＡＳＣＬ２からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、５６、５８、６０、６２、９３、及び９４のいずれかに係るエピトープであり；より好ましくは、少なくとも１つの腫瘍エピトープは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、及びＭＡＧＥ－Ａ３からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、５６、５８、及び６０のいずれかに係るエピトープであり；より好ましくは、少なくとも１つの腫瘍エピトープは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、ＫＲａｓ、ＭＡＧＥ－Ａ３、及びＡＳＣＬ２からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、５６、５８、６０、９３、及び９４のいずれかに係るエピトープであり；更により好ましくは、前記少なくとも１つの腫瘍エピトープは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、及びＣＥＡからなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、及び５６のいずれかに係るエピトープであり；更により好ましくは、少なくとも１つの腫瘍エピトープは、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、サバイビン、ＣＥＡ、及びＡＳＣＬ２からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５０、５１、５３、５５、５６、９３、及び９４のいずれかに係るエピトープであり；最も好ましくは、少なくとも１つの腫瘍エピトープは、ＥｐＣＡＭ、サバイビン、ＣＥＡ、及びＡＳＣＬ２からなる群から選択される抗原のエピトープ、例えば、配列番号４８、５３、５５、５６、９３、及び９４のいずれかに係るエピトープである。

【０１６８】

また、本発明に従って使用するための複合体は、

ｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｉｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｉｖ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｖ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び／又は

ｖｉ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体

を含むことが好ましい。

【０１６９】

また、本発明に従って使用するための複合体は、

ｖｉｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｖｉｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｉｘ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｘ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｘｉ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｘｉｉ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｘｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが好ましい。

【０１７０】

上記の通り、（例示されているエピトープに加えて）これら抗原の更なるエピトープは、癌／腫瘍エピトープデータベース、例えば、ｖａｎ ｄｅｒ Ｂｒｕｇｇｅｎ Ｐ，Ｓｔｒｏｏｂａｎｔ Ｖ，Ｖｉｇｎｅｒｏｎ Ｎ，Ｖａｎ ｄｅｎ Ｅｙｎｄｅ Ｂ．Ｐｅｐｔｉｄｅ ｄａｔａｂａｓｅ：Ｔ ｃｅｌｌ－ｄｅｆｉｎｅｄ ｔｕｍｏｒ ａｎｔｉｇｅｎｓ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎ ２０１３；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒｉｍｍｕｎｉｔｙ．ｏｒｇ／ｐｅｐｔｉｄｅ／、又はデータベース「Ｔａｎｔｉｇｅｎ」（ＴＡＮＴＩＧＥＮバージョン１．０、２００９年１２月１日；Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ｃｏｒｅ ａｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｖａｃｃｉｎｅ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｄａｎａ－Ｆａｒｂｅｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅによって開発；ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｃｖｃ．ｄｆｃｉ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ｔａｄｂ／）から容易に検索することができる。

【０１７１】

「配列変異体」は、上に定義した通りである、即ち、配列変異体は、レファレンス配列と少なくとも７０％、少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％同一の（アミノ酸）配列を有する。「機能的」配列変異体は、エピトープに関連して、エピトープとしての機能が損なわれることもなく消失することもないことを意味する。しかし、好ましくは、本明細書に記載する癌／腫瘍抗原のエピトープのアミノ酸配列は、突然変異していない、即ち、レファレンスエピトープ配列と同一である。

【０１７２】

また、本発明に従って使用するための複合体は、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＥｐＣＡＭの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＵＣ－１の断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むサバイビンの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＣＥＡの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＫＲａｓの断片、及び／又は
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＡＧＥ－Ａ３の断片
を含むことが好ましい。

【０１７３】

また、本発明に従って使用するための複合体は、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＥｐＣＡＭの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＵＣ－１の断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むサバイビンの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＣＥＡの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＫＲａｓの断片、
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＭＡＧＥ－Ａ３の断片、及び／又は
－　１以上のエピトープ又はその機能的配列変異体を含むＡＳＣＬ２の断片、
を含むことが好ましい。

【０１７４】

本明細書で使用するとき、抗原の「断片」は、抗原の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくは抗原の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくは抗原の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくは抗原の少なくとも２５個の連続

するアミノ酸、最も好ましくは抗原の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含む。したがって、ＥｐＣＡＭの断片は、ＥｐＣＡＭ（配列番号４７）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＥｐＣＡＭ（配列番号４７）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＥｐＣＡＭ（配列番号４７）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＥｐＣＡＭ（配列番号４７）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＥｐＣＡＭ（配列番号４７）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含み；ＭＵＣ－１の断片は、ＭＵＣ－１（配列番号４９）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＭＵＣ－１（配列番号４９）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＭＵＣ－１（配列番号４９）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＭＵＣ－１（配列番号４９）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＭＵＣ－１（配列番号４９）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含み；サバイビンの断片は、サバイビン（配列番号５２）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはサバイビン（配列番号５２）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはサバイビン（配列番号５２）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはサバイビン（配列番号５２）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはサバイビン（配列番号５２）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含み；ＣＥＡの断片は、ＣＥＡ（配列番号５４）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＣＥＡ（配列番号５４）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＣＥＡ（配列番号５４）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＣＥＡ（配列番号５４）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＣＥＡ（配列番号５４）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含み；ＫＲａｓの断片は、ＫＲａｓ（配列番号５７）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＫＲａｓ（配列番号５７）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＫＲａｓ（配列番号５７）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＫＲａｓ（配列番号５７）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＫＲａｓ（配列番号５７）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含み；ＭＡＧＥ－Ａ３の断片は、ＭＡＧＥ－Ａ３（配列番号５９）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＭＡＧＥ－Ａ３（配列番号５９）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＭＡＧＥ－Ａ３（配列番号５９）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＭＡＧＥ－Ａ３（配列番号５９）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＭＡＧＥ－Ａ３（配列番号５９）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含む。更に、ＡＳＣＬ２の断片は、ＡＳＣＬ２（配列番号９２）の少なくとも１０個の連続するアミノ酸、好ましくはＡＳＣＬ２（配列番号９２）の少なくとも１５個の連続するアミノ酸、より好ましくはＡＳＣＬ２（配列番号９２）の少なくとも２０個の連続するアミノ酸、更により好ましくはＡＳＣＬ２（配列番号９２）の少なくとも２５個の連続するアミノ酸、最も好ましくはＡＳＣＬ２（配列番号９２）の少なくとも３０個の連続するアミノ酸を含む。

【０１７５】

かかる断片の機能的配列変異体は、レファレンス配列に対して少なくとも７０％、少なくとも７５％、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％同一の（アミノ酸）配列を有し、断片に含まれる少なくとも１つ、好ましくは全てのエピトープの機能が維持される。

【０１７６】

好ましくは、かかる複合体は、

ｘｉｖ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｘｖ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び

ｘｖｉ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトー

プ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１７７】
また、かかる複合体は、
ｘｖｉｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｖｉｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｉｘ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｘｘ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１７８】
また、かかる複合体は、
ｘｘｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｉｉｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｘｘｉｖ）ＫＲａｓの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１７９】
また、かかる複合体は、
ｘｘｖ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｖｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ

）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｖｉｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｘｘｖｉｉｉ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８０】
また、かかる複合体は、
ｘｘｉｘ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｘｘｘｉ）ＭＡＧＥ－Ａ３の１以上のエピトープ（例えば、配列番号６０に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８１】
より好ましくは、かかる複合体は、
ｘｘｘｉｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘｉｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘｉｖ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｘｘｘｖ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８２】
より好ましくは、かかる複合体は、
ｘｘｘｖｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトー

プ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘｖｉｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘｖｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｘｘｉｘ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｘｌ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８３】
より好ましくは、かかる複合体は、
ｘｌｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｌｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｌｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び／又は
ｘｌｉｖ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８４】
特に好ましくは、かかる複合体は、
ｘｌｖ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｌｖｉ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｘｌｖｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｘｌｖｉｉｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。
かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８５】
また、かかる複合体は、
ｘｌｉｘ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；

ｌ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｌｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｌｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８６】

また、かかる複合体は、
ｌｉｉｉ）ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｌｉｖ）ＭＵＣ－１の１以上のエピトープ（例えば、配列番号５０に係るエピトープ及び／又は配列番号５１に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｌｖ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８７】

また、かかる複合体は、
ｌｖｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
ｌｖｉｉ）サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
ｌｖｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８８】

更により好ましくは、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、
－　ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；
－　サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、

ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１８９】

更により好ましくは、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、

ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；

ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；及び

ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸（好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸、更により好ましくは少なくとも２５個のアミノ酸、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸）の長さを有するその断片、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体

を含む。

かかる複合体は、好ましくは、更なる抗原を含まず、ＣＥＡ、サバイビン、及びＡＳＣＬ２以外の抗原の更なるエピトープも含まず、かかる複合体は、より好ましくは、他の（腫瘍）エピトープを含まない。

【０１９０】

好ましくは、かかる複合体において、（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されており、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されている。

【０１９１】

更により好ましくは、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、

ｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；

ｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；及び

ｉｉｉ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の

配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体
を含む。
かかる複合体は、好ましくは、更なる抗原を含まず、ＣＥＡ、サバイビン、及びＡＳＣＬ２以外の抗原の更なるエピトープも含まず、かかる複合体は、より好ましくは、他の（腫瘍）エピトープを含まない。
【０１９２】
好ましくは、かかる複合体において、（ｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその変異体のＣ末端が、（ｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその変異体のＮ末端に直接結合されており、（ｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその変異体のＣ末端が、（ｉｉｉ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド又はその変異体のＮ末端に直接結合されている。
【０１９３】
最も好ましくは、複合体は、配列番号９８に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含む。かかる複合体は、好ましくは、更なる抗原を含まず、ＣＥＡ、サバイビン、及びＡＳＣＬ２以外の抗原の更なるエピトープも含まず、かかる複合体は、より好ましくは、他の（腫瘍）エピトープを含まない。
【０１９４】
また、かかる複合体は、
－　ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。
【０１９５】
また、かかる複合体は、
－　ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＣＥＡ、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。
【０１９６】
また、かかる複合体は、
－　ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／

又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１９７】

また、かかる複合体は、
－　サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＥｐＣＡＭ、ＣＥＡ、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１９８】

また、かかる複合体は、
－　サバイビンの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５３に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体；及び
－　ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＥｐＣＡＭ、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０１９９】

また、かかる複合体は、
－　ＥｐＣＡＭの１以上のエピトープ（例えば、配列番号４８に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＣＥＡ、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０２００】

また、かかる複合体は、
－　ＣＥＡの１以上のエピトープ（例えば、配列番号５５に係るエピトープ及び／又は配列番号５６に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体
を含むことが特に好ましい。
かかる複合体は、好ましくは、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルフ

ァ２のいずれのエピトープも含まない。かかる複合体は、より好ましくは、ＡＳＣＬ２、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０２０１】

また、かかる複合体は、

－　ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ（例えば、配列番号９３に係るエピトープ及び／又は配列番号９４に係るエピトープ）又はその機能的配列変異体

を含むことが特に好ましい。

かかる複合体は、好ましくは、ＥｐＣＡＭ、ＨＥＲ－２、ＭＵＣ－１、ＣＥＡ、ＴＯＭＭ３４、ＲＮＦ４３、ＫＯＣ１、ＶＥＧＦＲ、βｈＣＧ、サバイビン、ＴＧＦβＲ２、ｐ５３、ＫＲａｓ、ＯＧＴ、ＣＡＳＰ５、ＣＯＡ－１、ＭＡＧＥ、ＳＡＲＴ、又はＩＬ１３Ｒアルファ２のいずれのエピトープも含まない。

【０２０２】

成分ｃ）－ＴＬＲペプチドアゴニスト

本発明に従って使用するための複合体では、ＴＬＲペプチドアゴニストによって、自己アジュバント活性と共に、樹状細胞に対するワクチンのターゲティング能を増大させることができる。本発明に従って使用するための複合体におけるＴＬＲペプチドアゴニストの本発明に係るＣＰＰ及び少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープへの物理的結合によって、抗原を内部移行させ、代謝し、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が強化される。

【０２０３】

本発明の状況において使用するとき、「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、即ち、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、上に定義した通りのペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である。好ましくは、ＴＬＲペプチドアゴニストは、１０アミノ酸～１５０アミノ酸、より好ましくは、１５アミノ酸～１３０アミノ酸、更により好ましくは、２０アミノ酸～１２０アミノ酸、特に好ましくは、２５アミノ酸～１１０アミノ酸、最も好ましくは、３０アミノ酸～１００アミノ酸を含む。

【０２０４】

Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）は、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞基質ドメインを特徴とする膜貫通タンパク質である。蹄鉄形状のロイシンリッチリピート（ＬＲＲ）を含有する細胞外ドメインは、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している。Ｔｏｌｌ様受容体としては、ＴＬＲ１～ＴＬＲ１０が挙げられる。ＴＬＲ受容体並びにその改変体及び誘導体を活性化することができる化合物は、当技術分野において明確に文書化されている。ＴＬＲ１は、細菌のリポタンパク質及びそのアセチル化型によって活性化され得、ＴＬＲ２は、更に、グラム陽性菌の糖脂質、ＬＰＳ、ＬＰＡ、ＬＴＡ、采、外膜タンパク質、病原菌又は宿主由来の熱ショックタンパク質、並びにマイコバクテリアのリポアラビノマンナンによって活性化され得る。ＴＬＲ３は、特にウイルス起源のｄｓＲＮＡによって、又は化学化合物ポリ（ＬＣ）によって活性化され得る。ＴＬＲ４は、グラム陰性菌ＬＰＳ、ＬＴＡ、宿主又は細菌起源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、オリゴ糖及びフィブロネクチンを含有するヒアルロナンによって活性化され得る。ＴＬＲ５は、細菌の鞭毛又はフラジェリンによって活性化され得る。ＴＬＲ６は、マイコバクテリアのリポタンパク質及びＢ群レンサ球菌易熱性可溶性因子（ＧＢＳ－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。ＴＬＲ７は、イミダゾキノリンによって活性化され得る。ＴＬＲ９は、非メチル化ＣｐＧ　ＤＮＡ又はクロマチン－ＩｇＧ複合体によって活性化され得る。

【０２０５】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれるＴＬＲペプチドアゴニストは、ＴＬＲ１、２、４、５、６及び／又は１０のアゴニストである。ＴＬＲは、細胞表面（ＴＬＲ１、２、４、５、６、及び１０）又はエンドソーム等の細胞内オルガネラの膜（ＴＬＲ３、４、７、８、及び９）のいずれかで発現する。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分かっている（ＴＬＲ４を除いて）。細胞表面で発現するＴＬＲ１、２、４、５、６、及び１０は、細胞外病原菌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）。ＴＬＲは、幾つかの細胞型で発現するが、実質的に全てのＴＬＲがＤＣで発現して、この特殊な細胞が可能な限りあらゆる病原体及び危険シグナルを感知できるようにする。

【０２０６】

しかし、ＴＬＲ２、４、及び５は、ＤＣの表面で構成的に発現する。したがって、本発明に従って使用するための複合体に含まれるＴＬＲペプチドアゴニストは、より好ましくは、ＴＬＲ２、ＴＬＲ４、及び／又はＴＬＲ５のペプチドアゴニストである。更により好ましくは、ＴＬＲペプチドアゴニストは、ＴＬＲ２ペプチドアゴニスト及び／又はＴＬＲ４ペプチドアゴニストである。特に好ましくは、ＴＬＲペプチドアゴニストは、ＴＬＲ４ペプチドアゴニストである。最も好ましくは、ＴＬＲペプチドアゴニストは、ＴＬＲ２及びＴＬＲ４アゴニストの両方である１つのＴＬＲペプチドアゴニストである。ＴＬＲ２は、細菌、ウイルス、寄生虫、及び真菌に由来する広範なリガンドを検出することができる。リガンドの特異性は、多くの場合、ＴＬＲ２と他のＴＬＲ、例えば、ＴＬＲ１、６、若しくは１０、又は非ＴＬＲ分子、例えば、デクチン－１、ＣＤ１４、若しくはＣＤ３６との相互作用によって決定される。ＴＬＲ１とヘテロダイマーを形成することによって、ＴＬＲ２は、Ｐａｍ３ＣＳＫ４及びペプチドグリカン等の（マイコ）バクテリア起源のトリアシルリポタンパク質又はリポペプチドを特定することができるようになる（ＰＧＡ；Ｇａｙ，Ｎ．Ｊ．，ａｎｄ Ｇａｎｇｌｏｆｆ，Ｍ．（２００７）：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｔｏｌｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｌｉｇａｎｄｓ．Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．７６，１４１－１６５；Ｓｐｏｈｎ，Ｒ．，Ｂｕｗｉｔｔ－Ｂｅｃｋｍａｎｎ，Ｕ．，ｅｔ ａｌ．（２００４）：Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ ｌｉｐｏｐｅｐｔｉｄｅ ａｄｊｕｖａｎｔｓ ａｎｄ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ－ａｃｔｉｖｉｔｙ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ．Ｖａｃｃｉｎｅ ２２（１９），２４９４－２４９９）。ＴＬＲ２及び６のヘテロダイマー化によって、ジアシルリポペプチド及びザイモサンを検出することができるようになる。リポ多糖（ＬＰＳ）及びその誘導体は、ＴＬＲ４のリガンドであり、ＴＬＲ５についてはフラジェリンである（Ｂｒｙａｎｔ，Ｃ．Ｅ．，Ｓｐｒｉｎｇ，Ｄ．Ｒ．，ｅｔ ａｌ．（２０１０）．Ｔｈｅ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂａｓｉｓ ｏｆ ｔｈｅ ｈｏｓｔ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ ｌｉｐｏｐｏｌｙｓａｃｃｈａｒｉｄｅ．Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．８（１），８－１４）。

【０２０７】

ＴＬＲ２は、病原体及び真菌が発現する分子を含む、広い範囲の構造的に多様なリガンドと相互作用する。天然及び合成リポペプチド（例えば、マイコプラズマ・ファーメンタンス（Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ ｆｅｒｍｅｎｔａｓ）のマクロファージ活性化リポペプチド（ＭＡＬＰ－２））、ペプチドグリカン（黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）由来のもの等のＰＧ）、様々な細菌株由来のリポ多糖（ＬＰＳ）、多糖（例えば、ザイモサン）、グラム陽性菌由来のグリコシルホスファチジルイノシトール固定構造（例えば、リポテイコ酸（ＬＴＡ）及びマイコバクテリア由来のリポアラビノマンナン及び結核菌（Ｍ．ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）由来のリポマンナン）を含む複数のＴＬＲ２アゴニストが同定されている。特定のウイルス決定基は、ＴＬＲ２を介して惹起することもできる（Ｂａｒｂａｌａｔ Ｒ，Ｌａｕ Ｌ，Ｌｏｃｋｓｌｅｙ ＲＭ，Ｂａｒｔｏｎ ＧＭ．Ｔｏｌｌ

－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２ ｏｎ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｍｏｎｏｃｙｔｅｓ ｉｎｄｕｃｅｓ ｔｙｐｅ Ｉ ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ ｉｎ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ ｖｉｒａｌ ｂｕｔ ｎｏｔ ｂａｃｔｅｒｉａｌ ｌｉｇａｎｄｓ．Ｎａｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００９：１０（１１）：１２００－７）。細菌リポペプチドは、細胞壁の構造的成分である。これは、システイン残基を介してペプチドがコンジュゲートすることができるアセチル化ｓ－グリセリルシステイン部分からなる。細菌リポペプチドであるＴＬＲ２アゴニストの例としては、ＭＡＬＰ－２及びその合成アナログであるジ－パルミトイル－Ｓ－グリセリルシステイン（Pam_2Cys）又はトリ－パルミトイル－Ｓ－グリセリルシステイン（Pam_3Cys）が挙げられる。

【０２０８】

サルモネラ・ミネソタ（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｍｉｎｎｅｓｏｔａ）Ｒ５９５（ＭＰＬＡ）由来のモノホスホリルリピドＡ、リポ多糖（ＬＰＳ）、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）、ウイルスエンベロープタンパク質（ＲＳＶ及びＭＭＴＶ）、並びにフィブロネクチ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、ＴＬＲ４と相互作用する。かかるＴＬＲ４のアゴニストは、例えば、Ａｋｉｒａ Ｓ，Ｕｅｍａｔｓｕ Ｓ，Ｔａｋｅｕｃｈｉ Ｏ．Ｐａｔｈｏｇｅｎ ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ａｎｄ ｉｎｎａｔｅ ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｃｅｌｌ．Ｆｅｂ ２４；２００６：１２４（４）：７８３－８０１又はＫｕｍａｒ Ｈ，Ｋａｗａｉ Ｔ，Ａｋｉｒａ Ｓ．Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ａｎｄ ｉｎｎａｔｅ ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ．Ｏｃｔ ３０；２００９ ３８８（４）：６２１－５に記載されている。グラム陰性菌の外膜でみられるＬＰＳは、最も広く研究されているＴＬＲ４リガンドである。好適なＬＰＳ由来のＴＬＲ４アゴニストペプチドは、例えば、国際公開第２０１３／１２００７３（Ａ１）号に記載されている。

【０２０９】

ＴＬＲ５は、殆ど全ての運動性細菌が発現するフラジェリン分子の領域によって誘導される。したがって、フラジェリン、又はフラジェリンに由来するペプチド若しくはタンパク質、及び／又はフラジェリンの変異体若しくは断片も、本発明に従って使用するための複合体に含まれるＴＬＲペプチドアゴニストとして好適である。

【０２１０】

したがって、ＴＬＲペプチドアゴニストの例としては、ＴＬＲ２リポペプチドアゴニストであるＭＡＬＰ－２、Pam_2Cys、及びPam_3Cys、又はこれらの改変体、ＴＬＲ４アゴニストであるＬＰＳの様々な形態、例えば、髄膜炎菌（Ｎ．ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）野生型Ｌ３－ＬＰＳ及び突然変異型ペンタアシル化ＬｐｘＬ１－ＬＰＳ、及びＴＬＲ５アゴニストであるフラジェリンが挙げられる。

【０２１１】

しかし、本発明に従って使用するための複合体に含まれるＴＬＲペプチドアゴニストは、リポペプチドでもリポタンパク質でもなく、糖ペプチドでも糖タンパク質でもないことが好ましく、より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれるＴＬＲペプチドアゴニストは、本明細書に定義する古典的なペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である。

【０２１２】

好ましいＴＬＲ２ペプチドアゴニストは、アネキシンＩＩ又はその免疫調節性断片であり、これは、国際公開第２０１２／０４８１９０（Ａ１）号及び米国特許出願公開第１３／０３３１５４６号に詳細に記載されており、特に、国際公開第２０１２／０４８１９０（Ａ１）号の配列番号４又は配列番号７に係るアミノ酸配列を含むＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、又はその断片若しくは変異体が好ましい。

【０２１３】

それによって、配列番号１５に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなるＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、又は上記のその配列変異体が、本発明に従って使用するための複合体

に含まれる成分ｃ）として、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとして特に好ましい。

【表２７】

STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 15 (TLR2 ペプチドアゴニスト Anaxa)

【０２１４】

配列番号１５に係るＴＬＲペプチドアゴニストの特に好ましい機能的配列変異体は、配列番号７１に係るＴＬＲペプチドアゴニストである。

【表２８】

STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 71

【０２１５】

したがって、配列番号７１に係るアミノ酸配列、又は前記その配列変異体を含むか又はからなるＴＬＲ２ペプチドアゴニストは、複合体に含まれる成分ｃ）として（即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとして）特に好ましい。換言すれば、複合体におけるＴＬＲペプチドアゴニストは、最も好ましくは、配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含むか若しくはからなる。

【０２１６】

ＴＬＲ４に関して、特に、ＴＬＲ４に結合するモチーフ、特に、（ｉ）天然のＬＰＳリガンドを模倣するペプチド（ＲＳ０１：Ｇｌｎ－Ｇｌｕ－Ｉｌｅ－Ａｓｎ－Ｓｅｒ－Ｓｅｒ－Ｔｙｒ及びＲＳ０９：Ａｌａ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｈｉｓ－Ａｌａ－Ｌｅｕ－Ｓｅｒ）及び（ｉｉ）フィブロネクチン由来のペプチドに対応するＴＬＲペプチドアゴニストが特に好ましい。細胞の糖タンパク質であるフィブロネクチン（ＦＮ）は、３つのエクソンのオルタナティブスプライシングによって１つの遺伝子から生じる複数のアイソフォームを有する。これらアイソフォームのうちの１つは、エキストラドメインＡ（ＥＤＡ）であり、これは、ＴＬＲ４と相互作用する。

【０２１７】

更に好適なＴＬＲペプチドアゴニストは、フィブロネクチンＥＤＡドメイン又はその断片若しくは変異体を含む。かかる好適なフィブロネクチンＥＤＡドメイン又はその断片若しくは変異体は、欧州特許第１９１３９５４（Ｂ１）号、欧州特許出願公開第２４７６４４０（Ａ１）号、米国特許出願公開第２００９／０２２０５３２（Ａ１）号、及び国際公開第２０１１／１０１３３２（Ａ１）号に開示されている。それによって、配列番号４５に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなるＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、又は上記のその配列変異体が、本発明に従って使用するための複合体に含まれる成分ｃ）として、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとして特に好ましい。

【表２９】

NIDRPKGLAFTDVDVDSIKIAWESPQGQVSRYRVTYSSPEDGIRELFPAPDGEDDTAELQGLRP

GSEYTVSVVALHDDMESQPLIGIQST

SEQ ID NO: 45 (TLR4 ペプチドアゴニスト EDA)

【０２１８】

更に、高移動群ボックス１タンパク質（ＨＭＧＢ１）及びそのペプチド断片は、ＴＬＲ４アゴニストであると推測される。かかるＨＭＧＢ１由来ペプチドは、例えば、米国特許出願公開第２０１１／０２３６４０６（Ａ１）号に開示されている。

【０２１９】

更に、配列番号１５に係るＴＬＲアゴニスト及び配列番号７１に係るＴＬＲアゴニストもまた、ＴＬＲ４アゴニストとして作用し得る。したがって、配列番号１５又は７１に係るアミノ酸配列又はその機能的配列変異体を含むか又はからなるＴＬＲ４ペプチドアゴニストが、複合体に含まれる成分ｃ）として（即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとして）特に好ましい。

【０２２０】

本発明に従って使用するための複合体は、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを含み、好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、１超のＴＬＲペプチドアゴニスト、特に、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、又はそれ以上のＴＬＲペプチドアゴニストを含み、より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、（少なくとも）２つ又は３つのＴＬＲペプチドアゴニストを含み、更により好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、（少なくとも）４つ又は５つのＴＬＲペプチドアゴニストを含む。１超のＴＬＲペプチドアゴニストが本発明に従って使用するための複合体に含まれている場合、前記ＴＬＲペプチドアゴニストは、特に、本発明に従って使用するための複合体において、例えば、別のＴＬＲペプチドアゴニスト及び／又は成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチド、及び／又は成分ｂ）、即ち、抗原又は抗原エピトープと共有結合していると理解される。

【０２２１】

特に好ましい実施形態では、本発明に従って使用するための複合体は、１つのＴＬＲペプチドアゴニストを含む。特に、この特に好ましい実施形態では、本発明に従って使用するための複合体は、１つのＴＬＲペプチドアゴニストを含み、記載されている前記１つのＴＬＲペプチドアゴニストを除いてＴＬＲアゴニスト特性を有する更なる成分を含まない。

【０２２２】

本発明に従って使用するための複合体に含まれる様々なＴＬＲペプチドアゴニストは、同じであっても異なっていてもよい。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる様々なＴＬＲペプチドアゴニストは、互いに異なる。

【０２２３】

更に、１超の抗原又は抗原エピトープ、特に、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個の抗原又は抗原エピトープ、又はより多くのＴＬＲペプチドアゴニスト、特に、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個のＴＬＲアゴニストは、本発明に従って使用するための複合体において連続して位置することが好ましい。これは、特に、複合体に含まれている全てのＴＬＲアゴニストが、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチドも成分ｂ）、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープも介在することなしに一続きに位置することを意味する。むしろ、成分ａ）及び成分ｂ）は、複合体において、例えば、かかる一続きの全てのＴＬＲペプチドアゴニストの前又は後に位置する。しかし、このように連続して位置するＴＬＲアゴニストは、例えば、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチドも成分ｂ）、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープでもない下記スペーサ又はリンカーによって互いに結合していてよい。

【０２２４】

しかし、様々なＴＬＲペプチドアゴニストは、本発明に従って使用するための複合体において任意の他の方式で位置していてもよく、例えば、２以上のＴＬＲペプチドアゴニスト間に成分ａ）及び／又は成分ｂ）が位置する、即ち、成分ａ）と成分ｂ）との間に１以上のＴＬＲペプチドアゴニストが位置し（逆も同様である）、そして、任意で、成分ａ）及び／又は成分ｂ）のそれぞれの他端に１以上のＴＬＲペプチドアゴニストが位置していてもよい。

【０２２５】

有利なことに、同じ又は異なるＴＬＲ受容体を活性化する多数の異なるＴＬＲペプチドアゴニストが、本発明に従って使用するための単一の複合体に含まれていてよいことが理解される。或いは、同じ又は異なるＴＬＲ受容体を活性化する多数の異なるＴＬＲペプチ

ドアゴニストが、本発明に係る異なる複合体に含まれる同じ又は異なるＴＬＲ受容体を活性化する異なるＴＬＲペプチドアゴニストのサブセットに分布していてもよく、それによって、有利なことに、異なるサブセットを含むかかる異なる複合体を、例えば単一のワクチンで、それを必要としている被験体に同時に投与することができる。

【０２２６】

本発明に従って使用するための複合体における成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の結合

本発明に従って使用するための複合体において、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、共有結合している、即ち、本発明に従って使用するための複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つの間の結合は、共有結合である。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つは、互いに共有結合しており（即ち、「第１」及び「第２」の成分）、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの第３の成分は、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの第１の成分又は３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの第２の成分のいずれかと共有結合している。それによって、好ましくは、直鎖状分子が形成される。しかし、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）はそれぞれ、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの他の両成分に共有結合しているとも考えられる。

【０２２７】

「共有結合」（共有連結ともいう）は、本発明の状況において使用するとき、原子間で電子対を共有することを必要とする化学結合を指す。「共有結合」（共有連結ともいう）は、特に、電子を共有するときに原子間の引力及び斥力の安定なバランスを必要とする。多くの分子について、電子を共有することにより、各原子が、安定な電子配位に対応する完全外殻の等価物を得ることができるようになる。共有結合としては、例えば、σ結合、π結合、金属間結合、アゴスチック相互作用、及び三中心二電子結合を含む多くの種類の相互作用が挙げられる。したがって、本発明に従って使用するための複合体は、「化合物」と称する場合もあり、特に、「分子」と称することもある。

【０２２８】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体では、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、当技術分野において公知の任意の好適な方法、例えば、架橋法において化学カップリングによって共有結合している。しかし、多くの公知の化学的架橋法は非特異的である、即ち、カップリング点を成分ａ）、ｂ）、及びｃ）における任意の特定の部位にすることができないという事実が注目を集めている。したがって、非特異的架橋剤の使用によって、機能的部位が攻撃されたり、活性部位が立体的にブロックされたりすることがあり、その結果、本発明に従って使用するための複合体の融合成分が生物学的に不活性になる。適切な保護基を用いることによって潜在的反応性基をブロックするという当業者の知見を参照する。或いは、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の架橋に適用可能な化学選択的実体である強力且つ汎用的なオキシム及びヒドラゾンライゲーション技術を使用してもよい。この結合技術は、例えば、Ｒｏｓｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４），ＪＡＣＳ　１１６，３０に記載されている。

【０２２９】

成分ａ）、ｂ）、及び／又はｃ）において１回だけ又は数回みられ、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの別の成分に架橋するはずの官能基に対する直接化学カップリングによってカップリング特異性を増大させることができる。一例として、本発明に従って使用するための複合体の特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）中にシステイン残基が１つだけ存在する場合、システインチオール基を用いてよい。また、例えば、特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）がリジン残基を含有しない場合、一級アミンに特異的な架橋試薬は、それぞれの成分のアミノ末端に対して選択的になる。或いは、架橋は、その側鎖を通してアミド結合が生成され得るように、ペプチドのＮ末端に位置するグルタミン酸残基の側鎖を介して実施してもよい。したがって、特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）のＮ末端にグルタミン酸残基を結合させることが有利であり得る。しかし、システイン残基を特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）に導入する場合、そのＮ末端若しくはＣ末端に又はこれらの近傍に導入することが

好ましい。１以上の追加のアミノ酸、例えば、特にシステイン残基を転位配列に付加するか又はそれぞれの成分に含まれる転位配列の少なくとも１つの残基を置換することによる特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）の改変に基づいてかかるアミノ酸配列を変更するために従来の方法を利用可能である。システイン側鎖をカップリング目的のために用いる場合、特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）は、好ましくは、１つのシステイン残基を有する。好ましくは、任意の第２のシステイン残基を避けるべきであり、本発明に従って使用するための複合体に含まれるそれぞれの成分に第２のシステイン残基が存在しているとき、任意で置換してもよい。特定の成分ａ）、ｂ）、又はｃ）のオリジナル配列におけるシステイン残基を置換するとき、典型的には、それぞれの成分のペプチドの折り畳みにおける変化を最小化することが望ましい。置換物が化学的且つ立体的にシステインと類似しているとき、折り畳みにおける変化が最小化される。したがって、システインの置換物としてはセリンが好ましい。

【０２３０】

３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つのカップリングは、ＨＯＢｔ、ＨＢＴＵ、ＤＩＣＩ、ＴＢＴＵ等の標準的なペプチド合成カップリング試薬を含むカップリング剤又はコンジュゲート剤を介して実施することができる。幾つかの分子間架橋剤を利用することもできる。例えば、Ｍｅａｎｓ ａｎｄ Ｆｅｅｎｅｙ，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｈｏｌｄｅｎ－Ｄａｙ，１９７４，ｐｐ．３９－４３を参照。中でも、これら試薬は、例えば、Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）若しくはＮ，Ｎ’－（１，３－フェニレン）ビスマレイミド；Ｎ，Ｎ’－エチレン－ビス－（ヨードアセトアミド）、又は６個～１１個の炭素メチレン架橋を有する他のかかる試薬；並びに１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼンである。この目的のために有用な他の架橋剤としては、ｐ，ｐ’－ジフルオロ－ｍ，ｍ’－ジニトロジフェニルスルホン；ジメチルアジピミデート；フェノール－１，４－ジスルホニルクロリド；ヘキサメチレンジイソシアネート若しくはジイソチオシアネート、又はアゾフェニル－ｐ－ジイソシアネート；グルタルアルデヒド及びジスジアゾベンジジンが挙げられる。架橋剤は、ホモ二官能性であってよい、即ち、同じ反応を受ける２つの官能基を有していてよい。好ましいホモ二官能性架橋剤は、ビスマレイミドヘキサン（ＢＭＨ）である。ＢＭＨは、２つのマレイミド官能基を含有し、これらは穏やかな条件（ｐＨ６．５～７．７）下でスルフヒドリル含有化合物と特異的に反応する。２つのマレイミド基は、炭化水素鎖によって接続される。したがって、ＢＭＨは、システイン残基を含有するタンパク質（又はポリペプチド）の不可逆的架橋にとって有用である。架橋剤は、ヘテロ二官能性であってもよい。ヘテロ二官能性架橋剤は、２つの異なる官能基、例えば、それぞれ遊離アミン及びチオールを有する２つのタンパク質を架橋するアミン反応性基及びチオール反応性基を有する。ヘテロ二官能性架橋剤の例は、スクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＭＢＳ）、及びスクシンイミド－４－（ｐ－マレイミドフェニル）ブチレート（ＳＭＰＢ）、ＭＢＳの伸長鎖アナログである。これら架橋剤のスクシンイミジル基は、一級アミンと反応し、チオール反応性マレイミドは、システイン残基のチオールと共有結合を形成する。架橋剤は、水に対する可溶性が低いことが多いので、スルホネート基等の親水性部分を架橋剤に付加して水溶性を改善してもよい。スルホ－ＭＢＳ及びスルホ－ＳＭＣＣは、水溶性について改変された架橋剤の例である。多くの架橋剤によって、細胞条件下で本質的に切断不可能なコンジュゲートが得られる。したがって、一部の架橋剤は、細胞条件下で切断可能な共有結合、例えば、ジスルフィドを含有する。例えば、トラウト試薬、ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）（ＤＳＰ）、及びＮ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）は、周知の切断可能な架橋剤である。切断可能な架橋剤の使用によって、本発明に従って使用するための複合体に含まれる細胞透過性ペプチド、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ、及び少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを、標的細胞への送達後に互いに分離させることができる。この目的のため

に、直接ジスルフィド結合も有用であり得る。化学的架橋は、スペーサアームの使用を含んでいてもよい。スペーサアームは、分子内可撓性を提供するか又はコンジュゲートされる分子間の分子内距離を調整して、生物学的活性の維持を支援し得る。スペーサアームは、スペーサアミノ酸、例えば、プロリンを含むタンパク質（又はポリペプチド）部分の形態であってよい。或いは、スペーサアームは、例えば、「長鎖ＳＰＤＰ」（Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍ．Ｃｏ．，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉｌｌ．，カタログ番号２１６５１ Ｈ）等において架橋剤の一部であってよい。上で論じたものを含む多数の架橋剤は、市販されている。それを使用するための詳細な説明書は、商業的供給元から容易に入手可能である。本発明に従って使用するための複合体に含まれる成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の結合の状況において有用なタンパク質の架橋及びコンジュゲートの調製に関するより詳細な情報は、Ｗｏｎｇ，Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｃｒｏｓｓ－Ｌｉｎｋｉｎｇ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ（１９９１）から検索することができる。

【０２３１】

ペプチド又はタンパク質を架橋させるための架橋剤としては、例えば、（ｉ）アミン－アミン間架橋剤、例えば、短い、長い、切断可能な、不可逆的な、膜透過性の、及び多様な細胞表面で利用可能な、一級アミンを選択的にコンジュゲートさせるためのＮＨＳエステル及びイミドエステル反応性基に基づくホモ二官能性アミン特異的タンパク質架橋剤；（ｉｉ）スルフヒドリル－炭化水素間架橋剤、例えば、コンジュゲート及び共有結合性架橋の形成のためのマレイミド及びヒドジド反応性基に基づく架橋剤；（ｉｉｉ）スルフヒドリル－スルフヒドリル間架橋剤、例えば、安定なチオエステル結合を形成するためのタンパク質とペプチドチオール（還元システイン）との選択的共有結合性コンジュゲートのためのマレイミド又はピリジルジチオール反応性基に基づくホモ二官能性スルフヒドリル特異的架橋試薬；（ｉｖ）光反応性架橋剤、例えば、二段階の活性化を介して受容体－リガンド相互作用複合体に含まれるタンパク質、核酸、及び他の分子構造をコンジュゲートさせるための、アリールアジド、ジアジリン、及び他の光反応性（光活性化）化学的ヘテロ二官能性架橋試薬；（ｖ）アミン－スルフヒドリル間架橋剤、例えば、様々な長さ及び種類のスペーサーアームで利用可能な、タンパク質及び他の分子の一級アミン（リジン）基とスルフヒドリル（システイン）基との間をコンジュゲートさせるためのヘテロ二官能性タンパク質架橋試薬；並びに（ｖｉ）アミン－アミン間架橋剤、例えば、カルボキシル－アミン間架橋剤、例えば、カルボキシル基（グルタミン酸、アスパラギン酸、Ｃ末端）を一級アミン（リジン、Ｎ末端）にコンジュゲートさせるためのカルボジイミド架橋試薬、ＤＣＣ、及びＥＤＣ（ＥＤＡＣ）、また、アミン－コンジュゲーションのためにカルボキシレートを安定に活性化させるためのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）が挙げられる。

【０２３２】

一般的に、本発明に従って使用するための複合体において用いることができる架橋剤の例としては、Ｎ－（α－マレイミドアセトキシ）－スクシンイミドエステル、Ｎ－５－アジド－２－ニトロベンジルオキシ－スクシンイミド、１，４－ビス－マレイミドブタン、１，４－ビス－マレイミジル－２，３－ジヒドロキシ－ブタン、ビス－マレイミドヘキサン、ビス－マレイミドエタン、Ｎ－（β－マレイミドプロピオン酸）ヒドラジド＊ＴＦＡ、Ｎ－（β－マレイミドプロピルオキシ）スクシンイミドエステル、１，８－ビス－マレイミドジエチレン－グリコール、１，１１－ビス－マレイミドトリエチレングリコール、ビス（スルホスクシンイミジル）スベレート、ビス（スルホスクシンイミジル）グルタレート－ｄ０、ビス（スルホスクシンイミジル）２，２，４，４－グルタレート－ｄ４、ビス（スルホスクシンイミジル）スベレート－ｄ０、ビス（スルホスクシンイミジル）２，２，７，７－スベレート－ｄ４、ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ５、ビス（ＮＨＳ）ＰＥＧ９、ビス（２－［スクシンイミドキシカルボニルオキシ］エチル）スルホン、Ｎ，Ｎ－ジシクロヘキシルカルボジイミド、１－５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン、ジメチルアジピミデート＊２ＨＣＩ、ジメチルピメリミデータ＊２ＨＣＩ、ジメチルスベリミデート

＊２ＨＣｌ、ジスクシンイミジルグルタレート、ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）（ローマント試薬）、ジスクシンイミジルスベレート、ジスクシンイミジルタータレート、ジメチル３，３’－ジチオビスプロピオンイミデート＊２ＨＣＩ、ジチオビス－マレイミドエタン、３，３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオネート）、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドヒドロクロリド、エチレングリコールビス（スクシンイミジルスクシネート）、Ｎ－ε－マレイミドカプロン酸、Ｎ－（ε－マレイミドカプロン酸）ヒドラジド、Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スクシンイミドエステル、Ｎ－（γ－マレイミドブチリルオキシ）スクシンイミドエステル、Ｎ－（κ－マレイミドウンデカン酸）ヒドラジド、ＮＨＳ－ＬＣ－ジアジリン、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシ－（６－アミドカプロエート、スクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサノエート、Ｌ－フォトロイシン、Ｌ－フォトメチオニン、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）－酪酸ヒドラジド＊ＨＣＩ、２－［Ｎ２－（４－アジド－２，３，５，６－テトラフルオロベンゾイル）－Ｎ６－（６－ビオチンアミドカプロイル）－Ｌ－リジニル］エチルメタンチオスルフェート、２－｛Ｎ２－［Ｎ６－（４－アジド－２，３，５，６－テトラフルオロベンゾイル）－Ｎ６－（６－ビオチンアミドカプロイル）－Ｌ－リジニル］｝エチルメタンチオスルフェート、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステルエタンアジド、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステルテトラオキサペンタデカンアジド、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステルドデカオキサノナトリアコンタンアジド、ＮＨＳ－ホスフィン、３－（２－ピリジルジチオ）プロピオニルヒドラジド、２－ピリジルジチオール－テトラオキサテトラデカン－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、２－ピリジルジチオール－テトラオキサオクタトリアコンタン－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、Ｎ－（ｐ－マレイミドフェニル）イソシアネート、スクシンイミジル３－（ブロモアセトアミド）プロピオネート、ＮＨＳ－ジアジリン、ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン、Ｎ－スクシンイミジルヨードアセテート、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨードアセチル）アミノベンゾエート、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミド－メチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート、ＮＨＳ－ＰＥＧ２－マリエミド、ＮＨＳ－ＰＥＧ４－マリエミド、ＮＨＳ－ＰＥＧ６－マレイミド、ＮＨＳ－ＰＥＧ８－マリエミド、ＮＨＳ－ＰＥＧ１２－マリエミド、ＮＨＳ－ＰＥＧ２４－マレイミド、スクシンイミジル４－（ｐ－マレイミド－フェニル）ブチレート、スクシンイミジル－６－（β－マレイミドプロピオンアミド）ヘキサノエート、４－スクシンイミジルオキシカルボニル－メチル－α－（２－ピリジルジチオ）トルエン、スクシンイミジル－（４－プソラレン－８－イルオキシ）ブチレート、Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート、エチレングリコールビス（スルホ－スクシンイミジルスクシネート）、Ｎ－（ε－マレイミドカプロイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル、Ｎ－（γ－マレイミドブチルオキシ）スルホスクシンイミドエステル、Ｎ－（κ－マレイミドウンデカノイルオキシ）スルホスクシンイミドエステル、スルホ－ＮＨＳ－ＬＣ－ジアジリン、スルホスクシンイミジル６－（３’－［２－ピリジルジチオ］プロピオンアミド）ヘキサノエート、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、スルホ－ＮＨＳ－ホスフィン、スルホスクシンイミジル６－（４’－アジド－２’－ニトロフェニルアミノ）ヘキサノエート、スルホ－ＮＨＳ－（２－６－［ビオチンアミド］－２－（ｐ－アジドベンズアミド）、スルホ－ＮＨＳ－ジアジリン、スルホ－ＮＨＳ－ＳＳ－ジアジリン、スルホスクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート、スルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート、スルホスクシンイミジル４－（ｐ－マレイミドフェニル）ブチレート、トリス－（２－マレイミドエチル）アミン（三官能性）、及びトリス－（スクシンイミジルアミノトリアセテート）（三官能性）が挙げられる。

【０２３３】

本発明に従って使用するための複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つ

間の結合は、直接であっても間接的であってもよく、即ち、２つの成分が直接隣接していてもよく、又は例えば、スペーサ又はリンカー等の複合体の更なる成分によって結合されてもよい。

【０２３４】

結合する成分が反応性アミノ又はカルボキシ基を有する場合、直接結合は、好ましくは、アミド架橋によって実現し得る。より具体的には、結合する成分がペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である場合、ペプチド結合が好ましい。かかるペプチド結合は、結合される両成分（一方の成分のＮ末端及び他方の成分のＣ末端）を含む化学合成を用いて形成してもよく、両成分のペプチド配列全体のタンパク質合成を介して直接形成してもよく、この場合、両（タンパク質又はペプチド）成分は、好ましくは、一工程で合成される。かかるタンパク質合成法としては、例えば、これらに限定するものではないが、液相ペプチド合成法又は固体ペプチド合成法、例えば、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄによる固体ペプチド合成法、ｔ－Ｂｏｃ固相ペプチド合成、Ｆｍｏｃ固相ペプチド合成、ＢＯＰ（ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート）に基づく固相ペプチド合成等が挙げられる。或いは、エステル又はエーテル結合が好ましい。

【０２３５】

更に、特に結合される成分がペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である場合、結合は、例えばジスルフィド架橋によって、側鎖を介して生じ得る。他の化学的性質の更なる成分、例えば、ペプチド性ではない場合の少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、同様に、ペプチド性の成分、例えば、細胞透過性ペプチド、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト、及びペプチド性である場合の少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープに結合し得る。側鎖を介する結合は、好ましくは、例えば、アミド又はエステル又はエーテル結合を介する、側鎖アミノ、チオール、又はヒドロキシル基に基づく。また、ペプチド性主鎖と別の成分のペプチド性側鎖との結合は、イソペプチド結合を介していてもよい。イソペプチド結合は、タンパク質の主鎖には存在しないアミド結合である。あるペプチド又はタンパク質のカルボキシル末端と別の（標的）ペプチド又はタンパク質におけるリジン残基のアミノ基との間に結合が形成される。

【０２３６】

本発明に従って使用するための複合体は、非免疫原性部分であり、好ましくは切断可能であり、且つ成分ａ）とｂ）、及び／又は成分ａ）とｃ）、及び／又は成分ｂ）とｃ）、及び／又は連続する抗原若しくは抗原エピトープ、及び／又は連続するＴＬＲペプチドアゴニスト、及び／又は連続する細胞透過性ペプチドを結合させ、及び／又は成分ｂ）及び／又はｃ）のＣ末端部分に位置し得るスペーサ又はリンカーを任意で含んでいてもよい。リンカー又はスペーサは、好ましくは、成分を結合させ、好ましくは、切断可能であり、より好ましくは、例えば酵素的切断によって標的細胞内部で自然に切断可能であることに加えて、更なる機能を提供することができる。しかし、かかる更なる機能は、特に、免疫機能を全く含まない。特に融合タンパク質におけるリンカーに関して、更なる機能の例は、Ｃｈｅｎ Ｘ．ｅｔ ａｌ．，２０１３：Ｆｕｓｉｏｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｌｉｎｋｅｒｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｙ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｔｙ．Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．６５（１０）：１３５７－１３６９に見出すことができ、ここには、例えば、インビボで切断可能なリンカーも開示されている。更に、Ｃｈｅｎ Ｘ．ｅｔ ａｌ．，２０１３：Ｆｕｓｉｏｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｌｉｎｋｅｒｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｙ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｔｙ．Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．６５（１０）：１３５７－１３６９には、様々なリンカー、例えば、可撓性リンカー及び剛性リンカー、並びに本発明に従って使用するための複合体において有用であり得るか又は本発明に従って使用するための複合体において用いられるリンカーを設計するために有用であり得るリンカー設計ツール及びデータベースも開示されている。

【０２３７】

前記スペーサは、ペプチドであっても非ペプチドであってもよく、好ましくは、スペーサは、ペプチドである。好ましくは、ペプチドスペーサは、約１アミノ酸、約２アミノ酸、約３アミノ酸、約４アミノ酸、約５アミノ酸、約６アミノ酸、約７アミノ酸、約８アミノ酸、約９アミノ酸、又は約１０アミノ酸からなり、より好ましくは、約１アミノ酸、約２アミノ酸、約３アミノ酸、約４アミノ酸、又は約５アミノ酸からなる。ペプチドスペーサのアミノ酸配列は、成分ａ）、ｂ）、又はｃ）のいずれかのＮ末端又はＣ末端の隣接領域のアミノ酸配列と同一であってよい。或いは、ペプチドスペーサは、前記天然隣接領域、又はエンテロキナーゼ標的部位（アミノ酸配列：ＤＤＤＫ、配列番号１６）、第Ｘａ因子標的部位（アミノ酸配列：ＩＥＤＧＲ、配列番号１７）、トロンビン標的部位（アミノ酸配列：ＬＶＰＲＧＳ、配列番号１８）、プロテアーゼＴＥＶ標的部位（アミノ酸配列：ＥＮＬＹＦＱＧ、配列番号１９）、プレシジョンプロテアーゼ標的部位（アミノ酸配列ＬＥＶＬＦＱＧＰ、配列番号２０）、ポリカチオン性アミノ酸、例えば、ポリＫ、フリン標的部位（アミノ酸配列ＲＸ（Ｒ／Ｋ）Ｒ、配列番号２１）等のプロテアーゼの公知の切断部位の配列の保存的アミノ酸置換から得られるアミノ酸配列等の非天然アミノ酸配列からなっていてもよい。特定の実施形態では、ペプチドスペーサは、Ｃｙｓ（Ｃ）残基を全く含有しない。好ましい実施形態では、リンカー配列は、少なくとも２０％、より好ましくは少なくとも４０％、更により好ましくは少なくとも５０％のＧｌｙ又はβ－アラニン残基、例えば、ＧｌｙＧｌｙＧｌｙＧｌｙＧｌｙ（配列番号２２）、ＧｌｙＧｌｙＧｌｙＧｌｙ（配列番号２３）、ＧｌｙＧｌｙＧｌｙ、ＣｙｓＧｌｙＧｌｙ、又はＧｌｙＧｌｙＣｙｓ等を含有する。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することができる。前記リンカー配列は、Ｄ及び／又はＬアミノ酸で構成され得る。ペプチドスペーサの更なる例としては、アミノ酸配列ＥＱＬＥ（配列番号２４）若しくはＴＥＷＴ（配列番号２５）又はこれらの任意の保存的置換が挙げられる。

【０２３８】

非ペプチドスペーサは、エステル、チオエステル、及びジスルフィドを含んでいてもよく、又はこれらであってもよい。

【０２３９】

特に、本発明に従って使用するための複合体は、成分ａ）とｂ）、及び／又は成分ａ）とｃ）、及び／又は成分ｂ）とｃ）との間に位置するスペーサ又はリンカー、特に、ペプチドスペーサを含んでいてよい。当業者であれば、細胞透過性ペプチド及びカーゴ分子を含む複合体が内部に移行したら、細胞機構によって切断され得るように、ペプチドスペーサを選択することができる。

【０２４０】

複合体が幾つかの抗原又は抗原エピトープを含むとき又は複合体が幾つかのＴＬＲペプチドアゴニストを含むとき、本発明の複合体に含まれる各抗原若しくは抗原エピトープ及び／又は各ＴＬＲペプチドアゴニストは、互いに直接結合していてもよく、又は例えば、幾つかのアミノ酸からなるペプチドスペーサ等のスペーサ又はリンカーを介して結合していてもよいことが当業者は明らかである。或いは、本発明に従って使用するための複合体が幾つかの抗原若しくは抗原エピトープを含むとき又は複合体が幾つかのＴＬＲペプチドアゴニストを含むとき、本発明の複合体に含まれる幾つかの抗原若しくは抗原エピトープ及び／又は幾つかのＴＬＲペプチドアゴニストが互いに直接結合しており、幾つかの他の抗原若しくは抗原エピトープ及び／又は幾つかの他のＴＬＲペプチドアゴニストが幾つかのアミノ酸からなるペプチドスペーサ等のスペーサ又はリンカーを介して結合していることも可能である。

【０２４１】

例えば、本発明の複合体に含まれる２つの連続する抗原若しくは抗原エピトープ又は２つの連続するＴＬＲペプチドアゴニストは、それぞれ前記抗原若しくは抗原エピトープ又は前記ＴＬＲペプチドアゴニストの天然隣接領域からなるスペーサによって互いに結合している。例えば、第１の抗原／抗原エピトープ又は第１のＴＬＲペプチドアゴニストを、それぞれ第２の抗原／抗原エピトープ又は第２のＴＬＲペプチドアゴニストに結合させる

ために用いられるスペーサは、第１の抗原／抗原エピトープ又は第１のＴＬＲペプチドアゴニストのＮ末端又はＣ末端の隣接領域の約４個以下のアミノ酸と、それに続く、第２の抗原／抗原エピトープ又は第２のＴＬＲペプチドアゴニストのＮ末端又はＣ末端の隣接領域の約４個以下のアミノ酸とに対応する約８個以下のアミノ酸からなり得る。本発明の実例では、第１の抗原／抗原エピトープ又は第１のＴＬＲペプチドアゴニスト（「抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１」）を第２のエピトープ（「抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２」）に結合させるために用いられるスペーサは、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の０個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の８個の隣接アミノ酸から、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の８個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の０個の隣接アミノ酸に及ぶ任意の可能な組合せ（即ち、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の１個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の７個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の２個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の６個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の３個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の５個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の４個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の４個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の５個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の３個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の６個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の２個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の７個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の１個の隣接アミノ酸、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１の８個の隣接アミノ酸及び抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２の０個の隣接アミノ酸を含む）に対応する約８個のアミノ酸からなる。２つの連続する抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニストを結合するスペーサを構成する合計８個のアミノ酸は、絶対的な値ではなく、スペーサは、例えば、合計で３個のアミノ酸、４個のアミノ酸、５個のアミノ酸、６個のアミノ酸、７個のアミノ酸、９個のアミノ酸、又は１０個のアミノ酸で構成されていてもよいことが理解される。同様に、上述の等価な組合せも、スペーサが８個未満又は８個超のアミノ酸を有する状況における本発明の実例である。

【０２４２】

本発明の別の特定の実例では、第１の抗原／抗原エピトープ又は第１のＴＬＲペプチドアゴニスト（「抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１」）をそれぞれ第２の抗原／抗原エピトープ又は第２のＴＬＲペプチドアゴニスト（「抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２」）に結合させるために用いられるスペーサは、例えば、１個のアミノ酸、２個のアミノ酸、３個のアミノ酸、４個のアミノ酸、又は５個のアミノ酸からなる。より具体的には、前記スペーサのアミノ酸配列は、抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト１又は抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニスト２のＮ末端又はＣ末端隣接領域の４個のアミノ酸に対応し得る。上記スペーサは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる最後の抗原／エピトープ／ＴＬＲペプチドアゴニストのＣ末端部分に位置していてもよい。

【０２４３】

３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つを結合させる技術は、文献に明確に文書化されており、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの性質に依存し得る。例えば、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つの間の結合は、段階的固相全合成又は液相若しくは固相断片カップリング、安定なアミド、チアゾリジン、オキシム、及びヒドラジン結合、ジスルフィド結合、安定なチオマレイミド結合、ペプチド結合（融合タンパク質のアミノ酸間のペプチド結合を含む）、又は静電的若しくは疎水性相互作用を通して切断可能なジスルフィド結合を介して行ってよい。

【０２４４】

好ましくは、本発明に従って使用するための複合体に含まれる少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ、及び本発明に従って使用するための複合体に含まれる任意のスペーサ又はリンカーは、ペプチド性である。より好ましくは、本発明に従って使用するための複合体の全ての成分、例えば、細胞透過性ペプチド、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ（ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質である）、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト、及び任意のペプチドリンカー又はスペーサは、本発明に従って使用するための複合体においてペプチド結合によって結合している。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、したがって、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質（例えば、組み換え融合タンパク質等の融合タンパク質）である。

【０２４５】

この状況では、配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、配列番号６９、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、若しくは配列番号８７に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、配列番号６９、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、若しくは配列番号８７のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体が好ましい。更に、配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、配列番号６９、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、配列番号８７、配列番号８８、配列番号８９、配列番号９０、若しくは配列番号９１に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、配列番号６９、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、配列番号８７、配列番号８８、配列番号８９、配列番号９０、若しくは配列番号９１のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体が好ましい。更に、配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４６、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３７、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２７、

配列番号２８、配列番号３３、配列番号３７、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２７、配列番号２８、配列番号３３、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。更に、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、若しくは配列番号８７に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、若しくは配列番号８７のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。更に、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、配列番号８７、配列番号８８、配列番号８９、配列番号９０、若しくは配列番号９１に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、配列番号８７、配列番号８８、配列番号８９、配列番号９０、若しくは配列番号９１のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体がより好ましい。配列番号２８、配列番号３７、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２８、配列番号３７、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体が更により好ましい。配列番号２８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を

含むか若しくはからなる複合体が更により好ましい。配列番号２８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体、又は配列番号２８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、若しくは配列番号６９のいずれかと少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる複合体が特に好ましい。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７２に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７２と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７３に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７３と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７４に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７４と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７５に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７５と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７６に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７６と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７７に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７７と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７８に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７８と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号７９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号７９と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８０に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８０と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８１に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８１と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少

なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８２に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８２と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８３に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８３と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８４に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８４と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８５に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８５と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８６に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８６と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８７に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８７と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８８に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８８と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８９に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号８９と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号９０に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号９０と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号９１に係るアミノ酸配列を含むか若しくはからなる、又は配列番号９１と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列を含むか若しくはからなる。

【０２４６】

特に好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、配列番号８９に係るアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか若しくはからなる、又は少なくとも５０％の配列同一性（好ましくは少なくとも６０％、より好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは

少なくとも７５％、更により好ましくは少なくとも８０％、更により好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９８％又は９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含むか若しくはからなる。

【表３０－１】

SEQ ID NO: 26:

MHHHHHHNID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGEDDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKSSE NDRLRLLLKE SLKISQAVHA AHAEINEAGR EVVGVGALKV PRNQDWLGVP RFAKFASFEA QGALANIAVD KANLDVEQLE SIINFEKLTE WTGS

SEQ ID NO: 27:

MHHHHHHSTV HEILCKLSLE GDHSTPPSAY GSVKPYTNFD AEKRYKNRVA SRKSRAKFKQ LLQHYREVAA AKSSENDRLR LLLKESLKIS QAVHAAHAEI NEAGREVVGV GALKVPRNQD WLGVPRFAKF ASFEAQGALA NIAVDKANLD VEQLESIINF EKLTEWTGS

SEQ ID NO: 28:

MHHHHHHKRYKNRVA SRKSRAKFKQ LLQHYREVAA AKSSENDRLR LLLKESLKIS QAVHAAHAEI NEAGREVVGV GALKVPRNQD WLGVPRFAKF ASFEAQGALA NIAVDKANLD VEQLESIINF EKLTEWTGSS TVHEILCKLS LEGDHSTPPS AYGSVKPYTN FDAE

SEQ ID NO: 33:

MHHHHHHHKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKESL KISQAVHAAH AEINEAGREV VGVGALKVPR NQDWLGVPRF AKFASFEAQG ALANIAVDKA NLDVEQLESI INFEKLTEWT GSSTVHEILC KLSLEGDHST PPSAYGSVKP YTNFDAE

SEQ ID NO: 34:

MHHHHHHHREV AAAKSSENDR LRLLLKESLK ISQAVHAAHA EINEAGREVV GVGALKVPRN QDWLGVPRFA KFASFEAQGA LANIAVDKAN LDVEQLESII NFEKLTEWTG SSTVHEILCK LSLEGDHSTP PSAYGSVKPY TNFDAE

SEQ ID NO: 37:

MHHHHHHHNID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGE DDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKESL KISQAVHAAH AEINEAGREV VGVGALKVPR NQDWLGVPRF AKFASFEAQG ALANIAVDKA NLDVEQLESI INFEKLTEWT GS

【表３０－２】

SEQ ID NO: 38:

MHHHHHHNID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGE DDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTREV AAAKSSENDR LRLLLKESLK ISQAVHAAHA EINEAGREVV GVGALKVPRN QDWLGVPRFA KFASFEAQGA LANIAVDKAN LDVEQLESII NFEKLTEWTG S

SEQ ID NO: 39:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKVTYHSPSYAYHQFERRAILNRLV QFIKDRISVVQALVLTSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTN FDAE

SEQ ID NO: 40:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNYRIATFKNWPFLEDCAMEELT VSEFLKLDRQRSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 41:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKHLELASMTNMELMSSIVSTVHEI LCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 46:

RKKRRQRRRRVKRISQAVHAAHAEINEAGRRVKRKVPRNQDWLRVKRASFEAQGALANIAVD KARVKRSIINFEKLRVKRSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 69:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKLFRAAQLANDVVLQIMEHLELA SMTNMELMSSIVVISASIIVFNLLELEGSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

【表３０－３】

SEQ ID NO: 72:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEK
APEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 73:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALILGDPKKLLTQHFVQENYLE
YRQVPGSDPASYEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAPP
QVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVK
PYTNFDAE

SEQ ID NO: 74:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSLGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPASYEFLWG

【表３０－４】

PRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAPPQVLAFGLLLAAATAYVD
EKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 75:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSLGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPASYEFLWG
PRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAPPQVLAFGLLLAAATAYVD
EKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGS
TAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 76:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEEL
TLGEFLKLDRERAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVAPGSTAPPAHG
VTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAY
GSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 77:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSEYKLVVVGAVGVGKSALTAPPQVLAFGLLLAAATAYV
DEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPAL
GSTAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 78:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEEL
TLGEFLKLDRERAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVLGDPKKLLTQH

【表３０－５】

FVQENYLEYRQVPGSDPASYEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEM
LGSVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 79:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA
VIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEIL
CKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 80:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA
VIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 81:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKLGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQ
VPGSDPASYEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAPTLPP
AWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEFLKLDRERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRP
APGSTAPPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNF
DAE

SEQ ID NO: 82:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN
SVSANRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACF
VSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 83:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALIAPGSTAPPAHGVT

【表３０－６】

SAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDE
KAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 84:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA
HGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA
VIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 85:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA
HGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA
VIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 86:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGST
APPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLE
GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 87:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPALGST
APPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILSKLSLE
GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

【表３０－７】

SEQ ID NO: 88:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVAA
VARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRN
ALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYG
SVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 89:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLR
SAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSSWLGGYST
VHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 90:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAKNKIAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSK
VETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSSWLG
GYSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

SEQ ID NO: 91:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAKNKIAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSK
VETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPPGTTPVAASPSRASSSPGR

【表３０－８】

GGSSEPGSPRSAYSSDDSGSEGALSPAERELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGS
VKPYTNFDAE

【０２４７】

最も好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、以下の成分を含む（又はからなる）。

（ｉ）配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８

０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；
（ｉｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；
（ｉｖ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；及び
（ｖ）配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体。好ましくは、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に成分（ｉ）～（ｖ）（前記の通り）を含む。しかし、以下に説明するように、これらの成分は、異なる態様で配置されてもよい。

【０２４８】
更なる態様において、本発明はまた、
細胞透過性ペプチド；
少なくとも３つの抗原エピトープ；及び
少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを含む複合体であって、
成分ａ）～ｃ）は共有結合しており、
前記少なくとも３つの抗原エピトープは、（ｉ）サバイビンの１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体、（ｉｉ）ＣＥＡの１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体、及び（ｉｉｉ）ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又は（ａ）その機能的配列変異体を含む複合体を提供する。

【０２４９】
本発明に係るそのような複合体の好ましい実施形態は、前記した本発明に従って使用するための複合体の好ましい実施形態に対応する。

【０２５０】
例えば、本発明に係る複合体は、好ましくは、配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。より好ましくは、複合体は、配列番号５３に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。

【０２５１】
例えば、本発明に係る複合体は、好ましくは、配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。より好ましくは、配列番号５５に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号５６に係るアミノ酸配

列を有するペプチドを含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。

【０２５２】

例えば、本発明に係る複合体は、好ましくは、配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。より好ましくは、配列番号９３に係るアミノ酸配列を有するペプチド及び／又は配列番号９４に係るアミノ酸配列を有するペプチドを含む。更により好ましくは、複合体は、配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。

【０２５３】

また、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、

ＣＥＡの１以上のエピトープ又は前記その機能的配列変異体；

サバイビンの１以上のエピトープ又は前記その機能的配列変異体；及び

ＡＳＣＬ２の１以上のエピトープ又は前記その機能的配列変異体

を含むことが好ましい。

【０２５４】

より好ましくは、複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、

－　配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；

－　配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び

－　配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも１０個のアミノ酸の長さを有するその断片若しくは少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体

を含む。

【０２５５】

更により好ましくは、（ｉ）配列番号５４に係るアミノ酸配列を有するペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されており、（ｉｉ）配列番号５２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＣ末端が、（ｉｉｉ）配列番号９２に係るアミノ酸配列を有するペプチド又は前記その断片若しくは変異体のＮ末端に直接結合されている。

【０２５６】

また、複合体は、配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体；及び配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含むことが好ましい。

【０２５７】

最も好ましくは、複合体は、配列番号９８に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は前記少なくとも７０％の配列同一性を有するその機能的配列変異体を含む。

【０２５８】

好ましくは、複合体は、前記した通り、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質である。

【０２５９】

更に、本発明に係る複合体の細胞透過性ペプチドは、好ましくは、前記した本発明に従

って使用するための複合体の細胞透過性ペプチドに対応する。このことは、特に、細胞透過性ペプチドの好ましい実施形態に適用される。

【０２６０】

更に、本発明に係る複合体のＴＬＲペプチドアゴニストは、好ましくは、前記した本発明に従って使用するための複合体のＴＬＲペプチドアゴニストに対応する。このことは、特に、ＴＬＲペプチドアゴニストの好ましい実施形態に適用される。

【０２６１】

例えば、本発明に係る複合体は、Ｎ末端からＣ末端方向に、前記した以下の成分を含む。

（ｉ）配列番号６（ＣＰＰ３／Ｚ１３）に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；

（ｉｉ）配列番号９６に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；

（ｉｉｉ）配列番号９５に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；

（ｉｖ）配列番号９７に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体；及び

（ｖ）配列番号７１に係るアミノ酸配列を有するペプチド、又は少なくとも７０％の配列同一性（好ましくは少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、更に好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体（成分（ｉ）～（ｖ）は、リンカー又はスペーサによって結合されていてもよい）。

【０２６２】

最も好ましくは、複合体は、配列番号８９に係るアミノ酸配列を有するポリペプチド、又は少なくとも５０％の配列同一性（好ましくは少なくとも６０％、より好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは少なくとも７５％、更により好ましくは少なくとも８０％、更により好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９８％又は９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体を含むか若しくはからなる。

【０２６３】

好ましくは、本発明に係る複合体は、本明細書に記載するように、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において用いることができる。

【０２６４】

本発明に従って使用するための複合体における成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の配置

成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、本発明に従って使用するための複合体において如何様に配置されてもよい。

【０２６５】

特に、１超の細胞透過性ペプチド及び／又は１超の抗原若しくは抗原エピトープ及び／

又は１超のＴＬＲペプチドアゴニストが本発明に従って使用するための複合体に含まれている場合、１超の細胞透過性ペプチドを非連続的に配置してもよい、即ち、少なくとも１つの抗原若しくは抗原エピトープ（成分ｂ））及び／又は少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト（成分ｃ））が、連続して配置されている一続きの細胞透過性ペプチドに介在していてもよい、及び／又は細胞透過性ペプチドが、成分ｂ）及び／又は成分ｃ）と交互に配置されていてもよい。同様に、１超の抗原若しくは抗原エピトープを非連続的に配置してもよい、即ち、少なくとも１つの細胞透過性ペプチド（成分ａ））及び／又は少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト（成分ｃ））が、連続して配置されている一続きの抗原若しくは抗原エピトープに介在していてもよい、及び／又は抗原若しくは抗原エピトープが、成分ａ）及び／又は成分ｃ）と交互に配置されていてもよい。同様に、１超のＴＬＲペプチドアゴニストを非連続的に配置してもよい、即ち、少なくとも１つの細胞透過性ペプチド（成分ａ））及び／又は少なくとも１つの抗原若しくは抗原エピトープ（成分ｂ））が、連続して配置されている一続きのＴＬＲペプチドアゴニストに介在してもよく、及び／又はＴＬＲペプチドアゴニストは、成分ａ）及び／又は成分ｂ）と交互に配置されていてもよい。

【０２６６】

しかし、本発明に従って使用するための複合体において１超の細胞透過性ペプチドが連続して配置される、及び／又は本発明に従って使用するための複合体において１超の抗原若しくは抗原エピトープが連続して配置される、及び／又は本発明に従って使用するための複合体において１超のＴＬＲペプチドアゴニストが連続して配置されることが好ましい。これは、特に、特定の成分の全ての単一単位、即ち、前記複合体に含まれる全ての細胞透過性ペプチド、全ての抗原若しくは抗原エピトープ、又は全てのＴＬＲペプチドアゴニストが、他の２つの成分のいずれも介在せずに一続きに配置されることを意味する。むしろ、他の２つの成分は、前記複合体において、例えば、かかる一続きの前記特定の成分の全ての単一単位の前又は後に配置される。しかし、このように連続して配置される前記特定の成分の単一単位は、例えば、他の２つの成分ではない、本明細書に記載するスペーサ又はリンカーによって互いに結合され得る。

【０２６７】

成分ａ）、ｂ）、及びｃ）がそれぞれ連続して配置されることが特に好ましい。

【０２６８】

構造的に、各成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、典型的には、１本の主鎖及び少なくとも１本の側鎖を含む。用語「主鎖」（「骨格鎖」ともいう）は、本発明の状況において用いられるとき、分子における共有結合原子の主な連続する鎖を指す。例えば、ペプチド、ポリペプチド、及びタンパク質では、主鎖（骨格）は、典型的には、ペプチド結合によって結合している構成アミノ酸のアルファ炭素原子及び窒素原子を含む。骨格は、側鎖を含まない。用語「側鎖」（「ペンダント鎖」ともいう）は、本発明の状況において使用するとき、「主鎖」又は骨格と呼ばれる分子のコア部分に結合している化学基を指す。例えば、ペプチド、ポリペプチド、及びタンパク質では、側鎖は、典型的には、骨格のアルファ炭素原子に結合している、構成アミノ酸の（主な）部分を表す。

【０２６９】

本発明に従って使用するための複合体では、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、本明細書に記載するリンカー又はスペーサを介して共有結合していてもよく、直接共有結合していてもよい。スペーサ又はリンカーが共有結合に用いられるか否かとは関係なく、原則として、本発明に従って使用するための複合体において３つの成分のうちの２つが互いに結合する方法には４つの選択肢が存在する：

（ｉ）　主鎖／主鎖結合を介する、

（ｉｉ）　主鎖／側鎖結合を介する、

（ｉｉｉ）　側鎖／主鎖結合を介する、又は

（ｉｖ）　側鎖／側鎖結合を介する。

【０２７０】

好ましくは、３つ全ての成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、主鎖／主鎖結合を介して結合し、その結果、特に、１つ以上の細胞透過性ペプチドの主鎖、１つ以上の抗原若しくは抗原エピトープの主鎖、及び１つ以上のＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖を含む、本発明に従って使用するための複合体の主鎖が得られる。言い換えれば、１以上の細胞透過性ペプチドの主鎖、１以上の抗原若しくは抗原エピトープの主鎖、及び１以上のＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖が、任意で更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）と共に、本発明に従って使用するための複合体の主鎖を構成する。したがって、特に少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープがペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質である場合、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の以下の配置が好ましく、この好ましい配置を、複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向で以下に示す。３つ全ての成分ａ）、ｂ）、及びｃ）は、主鎖／主鎖結合を介して結合しており、任意で、リンカー、スペーサ、又は別の追加成分によって結合していてもよい：

（α）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）；

（β）　成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）；

（γ）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）；

（δ）　成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）；

（ε）　成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）；又は

（ζ）　成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－成分ｃ）（少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニスト）－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）。

【０２７１】

特に、３つ全ての成分ａ）、ｂ）、及びｃ）が主鎖／主鎖結合を介して結合する場合、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープが細胞透過性ペプチドのＣ末端に配置されることが好ましく、細胞透過性ペプチド及び少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、任意で更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）によって又は少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストによって結合される。したがって、これは、上記配置のうちの配置（α）、（β）、及び（γ）に対応する、即ち、上記配置のうち配置（α）、（β）、及び（γ）がより好ましい。

【０２７２】

更により好ましくは、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは細胞透過性ペプチドのＣ末端に配置され、細胞透過性ペプチド及び少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープは、任意で更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）によって結合されるが、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストによっては結合されない。したがって、これは、上記配置のうちの配置（α）及び（β）に対応する、即ち、上記配置のうち配置（α）及び（β）が更により好ましい。特に好ましくは、本発明に従って使用するための複合体は、組み換えポリペプチド又は組み換えタンパク質であり、成分ａ）～ｃ）は、以下の順序で、前記複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向に配置される：

（α）　成分ａ）－成分ｂ）－成分ｃ）；又は

（β）　成分ｃ）－成分ａ）－成分ｂ）、

ここで、前記成分は、更なる成分、特に、リンカー又はスペーサによって結合され得る。

【０２７３】

例えば、下記のような、少なくとも１つのＴＬＲアゴニストが少なくとも１つのＴＬＲ２アゴニストを含むか又はからなる配置（α）が特に好ましい：

（α１）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト；

（α２）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト；
（α３）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト；又は
（α４）　成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト。

【０２７４】

或いは、ＴＬＲ２ペプチドアゴニストを含むかかる配置では、例えば、下記のように、複合体の他の位置に追加のＴＬＲペプチドアゴニストを配置してもよい：
（α５）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト；
（α６）　１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト；又は
（α７）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト。

【０２７５】

例えば、下記のような、少なくとも１つのＴＬＲアゴニストが少なくとも１つのＴＬＲ４アゴニストを含むか又はからなる配置（β）が特に好ましい：
（β１）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）；
（β２）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）；
（β３）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）；又は
（β４）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若

しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）。

【０２７６】

或いは、ＴＬＲ４ペプチドアゴニストを含むかかる配置では、例えば、下記のように、複合体の他の位置に追加のＴＬＲペプチドアゴニストを配置してもよい：

（β５）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト；

（β６）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト；又は

（β７）　１以上のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ４ペプチドアゴニスト－成分ａ）（細胞透過性ペプチド）－成分ｂ）（少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ）－１以上のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ２ペプチドアゴニスト、及び１以上のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト、例えば、１個、２個、３個、４個、若しくは５個のＴＬＲ５ペプチドアゴニスト。

【０２７７】

或いは、本発明に従って使用するための複合体において、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つだけが主鎖／主鎖結合を介して結合される。

【０２７８】

例えば、成分ａ）及びｂ）は、主鎖／主鎖結合を介して結合され、その結果、複合体において成分ａ）及びｂ）は以下の通り配置される（前記複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向に示す）。成分ａ）及びｂ）は、任意で、更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）によって結合され得る：

（１）　細胞透過性ペプチド（ａ）－抗原／抗原エピトープ（ｂ）；又は

（２）　抗原／抗原エピトープ（ｂ）－細胞透過性ペプチド（ａ）。

【０２７９】

かかる場合、次いで、成分ｃ）、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを、主鎖／側鎖結合を介して、側鎖／主鎖結合を介して、又は側鎖／側鎖結合を介して、細胞透過性ペプチド（ａ）若しくは抗原／抗原エピトープ（ｂ）に、又は存在する場合、例えば細胞透過性ペプチド（ａ）と抗原／抗原エピトープ（ｂ）との間に配置され得るスペーサ若しくはリンカー等の追加成分に配置してよい。この配置としては、以下が挙げられる：

（ｉ）　成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの側鎖に共有結合する；

（ｉｉ）　成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの主鎖に共有結合する；

（ｉｉｉ）　成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの側鎖に共有結合する；

（ｉｖ）　成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの

側鎖に共有結合する；
（ｖ） 成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの主鎖に共有結合する；
（ｖｉ） 成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖に共有結合する；
（ｖｉｉ） 成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する；
（ｖｉｉｉ） 成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサの主鎖に共有結合する；又は
（ｉｘ） 成分ｃ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｂ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する。

【０２８０】
例えば、成分ｂ）及びｃ）は、主鎖／主鎖結合を介して結合され、その結果、複合体において成分ｂ）及びｃ）は以下の通り配置される（前記複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向に示す）。成分ｂ）及びｃ）は、任意で、更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）によって結合され得る：
（３） 抗原／抗原エピトープ（ｂ）－ＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）；又は
（４） ＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）－抗原／抗原エピトープ（ｂ）。

【０２８１】
かかる場合、次いで、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチドを、主鎖／側鎖結合を介して、側鎖／主鎖結合を介して、又は側鎖／側鎖結合を介して、抗原／抗原エピトープ（ｂ）若しくはＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）に、又は存在する場合、例えば抗原／抗原エピトープ（ｂ）とＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）の間に配置され得るスペーサ若しくはリンカー等の追加成分に配置してよい。この配置としては、以下が挙げられる：
（ｘ） 成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖に共有結合する；
（ｘｉ） 成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの主鎖に共有結合する；
（ｘｉｉ） 成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖に共有結合する；
（ｘｉｉｉ） 成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖に共有結合する；

（ｘｉｖ）　成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖に共有結合する；

（ｘｖ）　成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖に共有結合する；

（ｘｖｉ）　成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する；

（ｘｖｉｉ）　成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの主鎖に共有結合する；又は

（ｘｖｉｉｉ）　成分ａ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、細胞透過性ペプチドの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ｂ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する。

【０２８２】

例えば、成分ａ）及びｃ）は、主鎖／主鎖結合を介して結合され、その結果、複合体において成分ａ）及びｂ）は以下の通り配置される（前記複合体の主鎖のＮ末端→Ｃ末端方向に示す）。成分ａ）及びｃ）は、任意で、更なる成分（例えば、リンカー、スペーサ等）によって結合され得る：

（５）　細胞透過性ペプチド（ａ）－ＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）；又は

（６）　ＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）－細胞透過性ペプチド（ａ）。

【０２８３】

かかる場合、次いで、成分ｂ）、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを、主鎖／側鎖結合を介して、側鎖／主鎖結合を介して、又は側鎖／側鎖結合を介して、細胞透過性ペプチド（ａ）若しくはＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）に、又は存在する場合、例えば細胞透過性ペプチド（ａ）とＴＬＲペプチドアゴニスト（ｃ）の間に配置され得るスペーサ若しくはリンカー等の追加成分に配置してよい。この配置としては、以下が挙げられる：

（ｘｉｘ）　成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの側鎖に共有結合する；

（ｘｘ）　成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの主鎖に共有結合する；

（ｘｘｉ）　成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ａ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－細胞透過性ペプチドの側鎖に共有結合する；

（ｘｘｉｉ）　成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖に共有結合する；

（ｘｘｉｉｉ）　成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの主鎖に共有結合する；

（ｘｘｉｖ） 成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ｃ）に結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストの側鎖に共有結合する；

（ｘｘｖ） 成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－主鎖／側鎖結合を介して成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの主鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する；

（ｘｘｖｉ） 成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／主鎖結合を介して成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの主鎖に共有結合する；又は

（ｘｘｖｉｉ） 成分ｂ）は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－側鎖／側鎖結合を介して成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサに結合し得る、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープの側鎖は、－任意でスペーサ又はリンカーを介して－成分ａ）と成分ｃ）との間に位置するリンカー又はスペーサの側鎖に共有結合する。

【０２８４】

或いは、本発明に従って使用するための複合体において、３つ全ての成分ａ）、ｂ）、及びｃ）を、任意で例えばスペーサ又はリンカー等の追加成分を介して、主鎖／側鎖結合を介して、側鎖／主鎖結合を介して、又は側鎖／側鎖結合を介して配置することも考えられる。

【０２８５】

結腸直腸癌

本発明は、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための上記複合体を提供する。

【０２８６】

結腸直腸癌（ＣＲＣ、「腸癌」としても知られている）は、結腸癌及び直腸癌（ＣＣ）を含む癌である。個々の両癌は、癌の出発点を除いて多くの共通の特徴を有する。Ｓｉｅｇｅｌ，Ｒ．，Ｃ．Ｄｅｓａｎｔｉｓ，ａｎｄ Ａ．Ｊｅｍａｌ，ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ，２０１４．ＣＡ Ｃａｎｃｅｒ Ｊ Ｃｌｉｎ，２０１４．６４（２）：ｐ．１０４－１７によれば、２００６年～２０１０年の米国では、腫瘍部位毎の発生率は、近位結腸（結腸の上部及び中部）においてわずかに高い。１００，０００人当たり約１９症例であり、これは、症例の４２％を表す。この次が、症例の２８％を占める直腸癌であり、遠位結腸（結腸の下部）の発生率は１００，０００人に対して１０症例である。

【０２８７】

解剖学的に、用語「結腸直腸癌」は、（ｉ）結腸の癌、例えば、盲腸の癌（回盲弁の癌を含む）、虫垂、上行結腸、右結腸曲、横行結腸、脾湾曲部、下行結腸、Ｓ状結腸（Ｓ状結腸（湾曲）の癌を含む）、及び結腸の重複部位の癌；（ｉｉ）直腸Ｓ状結腸移行部の癌、例えば、結腸及び直腸の癌、並びに直腸Ｓ状部の癌；並びに（ｉｉｉ）直腸の癌、例えば、直腸膨大部の癌を含む。

【０２８８】

好ましくは、結腸直腸癌は、結腸の癌、例えば、盲腸の癌（回盲弁の癌を含む）、虫垂の癌、上行結腸の癌、右結腸曲の癌、横行結腸の癌、脾湾曲部の癌、下行結腸の癌、Ｓ状結腸の癌（Ｓ状結腸（湾曲）の癌を含む）、又はこれらの組合せである。

【０２８９】

また、結腸直腸癌は、例えば、（ｉ）結腸及び直腸の癌又は（ｉｉ）直腸Ｓ状部の癌等

、直腸Ｓ状結腸移行部の癌である。
【０２９０】
更に、結腸直腸癌は、直腸膨大部の癌等、直腸の癌であることも好ましい。
【０２９１】
細胞型に関しては、結腸直腸癌は、結腸直腸腺癌、結腸直腸間質腫瘍、原発性結腸直腸リンパ腫、結腸直腸平滑筋肉腫、結腸直腸黒色腫、結腸直腸扁平上皮癌、及び結腸直腸カルチノイド腫瘍、例えば、盲腸、虫垂、上行結腸、横行結腸、下行結腸、Ｓ状結腸、及び／又は直腸のカルチノイド腫瘍を含む。したがって、結腸直腸癌の好ましい種類としては、結腸直腸腺癌、結腸直腸間質腫瘍、原発性結腸直腸リンパ腫、結腸直腸平滑筋肉腫、結腸直腸黒色腫、結腸直腸扁平上皮癌、及び結腸直腸カルチノイド腫瘍、例えば、盲腸、虫垂、上行結腸、横行結腸、下行結腸、Ｓ状結腸、及び／又は直腸のカルチノイド腫瘍が挙げられる。より好ましくは、結腸直腸癌は、結腸直腸腺癌又は結腸直腸カルチノイド癌である。更により好ましくは、結腸直腸癌は、結腸直腸腺癌である。
【０２９２】
ＣＲＣの９５％超が腺癌である。結腸直腸腺癌は、典型的には、結腸又は直腸を潤滑させるために粘液を生成する腺細胞から出発する。ＣＲＣは、典型的には、最内層で出発し、他の層の一部又は全てを通して成長し得る。稀に、ＣＲＣは、その出発領域の壁への成長を促進するポリープを形成し得る。進行期（ステージＩＩＩ及びＩＶ）では、癌は、近くのリンパ節に又は血管を通じて身体の遠くの部位に移動する。
【０２９３】
例えば、結腸直腸癌では、ＴＮＭ病期分類システムは、原発性腫瘍については以下のステージを含む（「Ｔ」ステージ）：ＴＸ－原発腫瘍の評価が不可能、Ｔ０－原発腫瘍を認めない、Ｔａ－乳頭状非浸潤癌、Ｔｉｓ－上皮内癌：上皮内又は粘膜固有層に浸潤、Ｔ１－粘膜下層に浸潤する腫瘍、Ｔ２－固有筋層に浸潤する腫瘍、Ｔ３－固有筋層を超えて結腸直腸の周囲組織に浸潤する腫瘍、Ｔ４ａ－臓側腹膜の表面を貫通する腫瘍、及びＴ４ｂ－他の臓器又は組織に直接浸潤又は癒着する腫瘍；リンパ節については以下のステージを含む（「Ｎ」ステージ）：ＮＸ－所属リンパ節の評価が不可能、Ｎ０－所属リンパ節転移なし、Ｎ１－１個～３個の所属リンパ節転移（Ｎ１ａ－１個の所属リンパ節転移、Ｎ１ｂ－２個～３個の所属リンパ節転移、及びＮ１ｃ－漿膜下層、腸間膜又は腹膜被覆のない結腸或いは直腸の周囲軟部組織内に腫瘍デポジット）、Ｎ２－４個以上の所属リンパ節転移（Ｎ２ａ－４個～６個の所属リンパ節転移及びＮ２ｂ－７個以上の所属リンパ節転移）；そして、遠隔転移については以下のステージを含む（「Ｍ」ステージ）：Ｍ０－遠隔転移なし及びＭ１－遠隔転移あり（Ｍ１ａ－１臓器（肝臓、肺、卵巣、所属リンパ節以外のリンパ節）に限局する転移及びＭ１ｂ－１臓器超、又は腹膜転移）。このステージは、結腸直腸癌の以下の数値の病期分類に組み込むことができる：ステージ０：Ｔｉｓ、Ｎ０、Ｍ０；ステージＩ：Ｔ１、Ｎ０、Ｍ０、又はＴ２、Ｎ０、Ｍ０；ステージＩＩＡ：Ｔ３、Ｎ０、Ｍ０；ステージＩＩＢ：Ｔ４ａ、Ｎ０、Ｍ０；ステージＩＩＣ：Ｔ４ｂ、Ｎ０、Ｍ０；ステージＩＩＩＡ：Ｔ１－Ｔ２、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ１、Ｎ２ａ、Ｍ０；ステージＩＩＩＢ：Ｔ３－Ｔ４ａ、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ２－Ｔ３、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ１－Ｔ２、Ｎ２ｂ、Ｍ０；ステージＩＩＩＣ：Ｔ４ａ、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ３－Ｔ４ａ、Ｎ２ｂ、Ｍ０、又はＴ４ｂ、Ｎ１－Ｎ２、Ｍ０；ステージＩＶＡ：任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ａ、並びにステージＩＶＢ：任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ｂ。簡潔に述べると、ステージ０では、癌は、結腸又は直腸の内層を超えて成長しておらず；ステージＩでは、癌が粘膜から筋層に広がっており；ステージＩＩでは、癌が筋層を超えて近傍の臓器の漿膜に広がっており；ステージＩＩＩでは、癌が近傍のリンパ節に広がっているか又は癌がリンパ節の近傍の組織に広がっており；ステージＩＶでは、癌が血液及びリンパ節を超えて身体の他の部分に広がっている。
【０２９４】
「癌」という用語にもかかわらず、結腸直腸癌は、上記全ての数値分類を含み、したがって、結腸直腸癌の好ましいステージは、ステージ０（Ｔｉｓ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージ

Ｉ（Ｔ１、Ｎ０、Ｍ０、又はＴ２、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＡ（Ｔ３、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＢ（Ｔ４ａ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＣ（Ｔ４ｂ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＩＡ（Ｔ１－Ｔ２、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ１、Ｎ２ａ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＢ（Ｔ３－Ｔ４ａ、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ２－Ｔ３、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ１－Ｔ２、Ｎ２ｂ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＣ（Ｔ４ａ、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ３－Ｔ４ａ、Ｎ２ｂ、Ｍ０、又はＴ４ｂ、Ｎ１－Ｎ２、Ｍ０）、ステージＩＶＡ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ａ）、及びステージＩＶＢ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ｂ）からなる群から選択してよい。より好ましくは、結腸直腸癌は、ステージＩ（Ｔ１、Ｎ０、Ｍ０、又はＴ２、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＡ（Ｔ３、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＢ（Ｔ４ａ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＣ（Ｔ４ｂ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＩＡ（Ｔ１－Ｔ２、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ１、Ｎ２ａ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＢ（Ｔ３－Ｔ４ａ、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ２－Ｔ３、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ１－Ｔ２、Ｎ２ｂ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＣ（Ｔ４ａ、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ３－Ｔ４ａ、Ｎ２ｂ、Ｍ０、又はＴ４ｂ、Ｎ１－Ｎ２、Ｍ０）、ステージＩＶＡ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ａ）、及びステージＩＶＢ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ｂ）からなる群から選択される。更により好ましくは、結腸直腸癌は、ステージＩＩＡ（Ｔ３、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＢ（Ｔ４ａ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＣ（Ｔ４ｂ、Ｎ０、Ｍ０）、ステージＩＩＩＡ（Ｔ１－Ｔ２、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ１、Ｎ２ａ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＢ（Ｔ３－Ｔ４ａ、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ２－Ｔ３、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ１－Ｔ２、Ｎ２ｂ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＣ（Ｔ４ａ、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ３－Ｔ４ａ、Ｎ２ｂ、Ｍ０、又はＴ４ｂ、Ｎ１－Ｎ２、Ｍ０）、ステージＩＶＡ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ａ）、及びステージＩＶＢ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ｂ）からなる群から選択される。最も好ましくは、結腸直腸癌は、（ｉ）ステージＩＩＩの結腸直腸癌、例えば、ステージＩＩＩＡ（Ｔ１－Ｔ２、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ１、Ｎ２ａ、Ｍ０）、ステージＩＩＩＢ（Ｔ３－Ｔ４ａ、Ｎ１／Ｎ１ｃ、Ｍ０、又はＴ２－Ｔ３、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ１－Ｔ２、Ｎ２ｂ、Ｍ０）、又はステージＩＩＩＣ（Ｔ４ａ、Ｎ２ａ、Ｍ０、又はＴ３－Ｔ４ａ、Ｎ２ｂ、Ｍ０、又はＴ４ｂ、Ｎ１－Ｎ２、Ｍ０）、又は（ｉｉ）ステージＩＶの結腸直腸癌、例えば、ステージＩＶＡ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ａ）、及びステージＩＶＢ（任意のＴ、任意のＮ、Ｍ１ｂ）である。

【０２９５】

ペプチド及びタンパク質複合体をコードしている核酸

別の態様では、本発明は、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための本明細書に記載する複合体をコードしている核酸、特に核酸分子であって、前記複合体が、ポリペプチド又はタンパク質である核酸を提供する。特に、本発明は、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するためのポリヌクレオチドであって、上に定義した複合体をコードしているポリヌクレオチドを提供する。換言すれば、本発明は、特に、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための、ポリヌクレオチドを含む核酸、特に核酸分子を提供し、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載の複合体をコードし、複合体は、ポリペプチド又はタンパク質である。

【０２９６】

また、本発明は、本明細書に記載の本発明に係る複合体をコードする核酸、特に核酸分子を提供し、複合体は、ポリペプチド又はタンパク質である。特に、本発明は、上に定義した複合体をコードするポリヌクレオチドを提供する。換言すれば、本発明は、特に、ポリヌクレオチドを含む核酸、特に核酸分子を提供し、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載の本発明に係る複合体をコードし、複合体は、ポリペプチド又はタンパク質である。かかる核酸は、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用することができる。

【０２９７】

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、及びこ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なる好ましい例として、例えば、前記したような、組み換えポリヌクレオチド、ベクター、オリゴヌクレオチド、ｒＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、又はｔＲＮＡなどのＲＮＡ分子、又は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分子であることが好ましく、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／又はプロモータを含む又は含まないＲＮＡ及び／又はＤＮＡ配列；ベクター；及びそれらの組合せから選択されることが好ましい。

【０２９８】

好ましくは、本発明は、本発明に従って使用するための核酸であって、複合体（特にポリペプチド又はタンパク質である）をコードしており、前記複合体が、細胞透過性ペプチドと、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ（ポリペプチド又はタンパク質である）と、少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストとを含み、前記細胞透過性ペプチド、前記少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ、及び前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストが、任意で本明細書に記載するペプチドスペーサ又はリンカーを用いて共有結合している核酸に関する。１超の抗原又は抗原エピトープ（ポリペプチド又はタンパク質である）が前記複合体に含まれている場合、前記１超の抗原又は抗原エピトープも、任意で本明細書に記載するペプチドスペーサ又はリンカーを用いて共有結合している。同様に、１超のＴＬＲペプチドアゴニストが前記複合体に含まれている場合、前記１超のＴＬＲペプチドアゴニストも、任意で本明細書に記載するペプチドスペーサ又はリンカーを用いて共有結合している。

【０２９９】

特に好ましくは、本発明に従って使用するための核酸は、（ａ）上記細胞透過性ペプチドと、（ｂ）好ましくは上記の通り連続して配置される、少なくとも１つ、好ましくは少なくとも２つ、より好ましくは少なくとも３つ、更により好ましくは少なくとも４つ、特に好ましくは少なくとも５つ、最も好ましくは少なくとも６つの上記抗原又は抗原エピトープと、（ｃ）少なくとも１つの上記ＴＬＲアゴニストとを含む（組み換え）融合タンパク質である複合体をコードしている。

【０３００】

最も好ましくは、核酸（分子）は、本明細書に記載の例示された複合体又はその機能的配列変異体をコードする。したがって、核酸（分子）は、最も好ましくは、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７のいずれかに係るアミノ酸配列、又は配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～８７と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。特に、核酸（分子）は、最も好ましくは、配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１のいずれかに係るアミノ酸配列、又は配列番号２６～２８、３３～３４、３７～４１、４６、６９、若しくは７２～９１と少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、若しくは少なくとも９８％の配列同一性を共有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。

【０３０１】

特に好ましくは、本発明に係る核酸（分子）は、配列番号８９に係るアミノ酸配列、又は少なくとも５０％の配列同一性（好ましくは少なくとも６０％、より好ましくは少なくとも７０％、より好ましくは少なくとも７５％、更により好ましくは少なくとも８０％、更により好ましくは少なくとも８５％、更により好ましくは少なくとも９０％、特に好ましくは少なくとも９５％、最も好ましくは少なくとも９８％又は９９％の配列同一性）を有するその機能的配列変異体をコードするポリヌクレオチドを含む。

【０３０２】
複合体の生成及び精製
更なる態様によれば、本発明は、上記核酸を含む、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するためのベクター、特に、組み換えベクターを提供する。
【０３０３】
用語「ベクター」は、本発明の状況において使用するとき、核酸分子、好ましくは、人工核酸分子、即ち、自然界には存在しない核酸分子を指す。本発明の状況におけるベクターは、所望の核酸配列を組み込むか又は保有するのに好適である。かかるベクターは、ストレージベクター、発現ベクター、クローニングベクター、トランスファーベクター等であってよい。ストレージベクターは、核酸分子を便利に保存することができるベクターである。したがって、ベクターは、例えば、本発明に係る所望の複合体に対応する配列を含んでいてよい。発現ベクターは、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）、又はペプチド、ポリペプチド、若しくはタンパク質等の発現産物を生成するために用いることができる。例えば、発現ベクターは、ベクターの一続きの配列、例えば、プロモータ配列の転写に必要な配列を含んでいてよい。クローニングベクターは、典型的には、核酸配列をベクターに組み込むために用いることができるクローニングサイトを含有するベクターである。クローニングベクターは、例えば、プラスミドベクター又はバクテリオファージベクターであってよい。トランスファーベクターは、細胞又は生物、例えば、ウイルスベクターに核酸分子を導入するのに好適なベクターであってよい。本発明の状況におけるベクターは、例えば、ＲＮＡベクター又はＤＮＡベクターであってよい。好ましくは、ベクターは、ＤＮＡ分子である。例えば、本願の意味におけるベクターは、クローニングサイト、選択マーカー（例えば、抗生物質耐性因子）、及びベクターの増殖に好適な配列（例えば、複製開始点）を含む。好ましくは、本願の意味におけるベクターは、プラスミドベクターである。好ましくは、本願の意味におけるベクターは、発現ベクターである。
【０３０４】
好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための上記ベクターで形質転換された細胞も本発明の範囲内に含まれる。かかる細胞の例としては、細菌細胞（例えば、大腸菌細胞）及び真核細胞（例えば、酵母細胞、動物細胞、又は植物細胞）が挙げられるが、これらに限定されない。１つの実施形態では、細胞は、哺乳類細胞、例えば、ヒト、ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３Ｔ、ＰＥＲ．Ｃ６、ＮＳ０、骨髄腫、又はハイブリドーマ細胞である。したがって、本発明は、また、本発明に係る（に従って使用するための）複合体を発現するか又は本発明に係る（に従って使用するための）ベクターを含む細胞に関する。
【０３０５】
特に、細胞に上記ベクター、好ましくは、発現ベクターをトランスフェクトしてよい。用語「トランスフェクション」とは、細胞、好ましくは、真核細胞への核酸分子、例えば、ＤＮＡ又はＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）分子の導入を指す。本発明の状況において、用語「トランスフェクション」は、細胞、好ましくは真核細胞、例えば哺乳類細胞に核酸分子を導入するための当業者に公知の任意の方法を含む。かかる方法は、例えば、エレクトロポレーション、例えば、カチオン性脂質及び／又はリポソームに基づくリポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、ナノ粒子に基づくトランスフェクション、ウイルスベースのトランスフェクション、又はカチオン性ポリマー（例えば、ＤＥＡＥ－デキストラン又はポリエチレンイミン）に基づくトランスフェクション等を含む。好ましくは、非ウイルス的に導入される。
【０３０６】
染色体、エピソーム、及び派生ウイルスが挙げられるが、これらに限定されない多数の発現系を用いることができる。より具体的には、上記ベクター、特に、用いられる組み換えベクターは、細菌プラスミド、トランスポゾン、酵母エピソーム、挿入因子、酵母染色体エレメント、ウイルス（例えば、バキュロウイルス、ＳＶ４０等のパピローマウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、キツネポックスウイルス、仮性狂犬病ウイルス

、レトロウイルス）に由来していてよい。
【０３０７】
例えば、かかるベクター、特に、組み換えベクターは、等しく、コスミド又はファージミド誘導体であってよい。ヌクレオチド配列、特に、本発明に係る核酸は、例えば、ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＣＬＯＮＩＮＧ：Ａ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ　ＭＡＮＵＡＬ，Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，４ｔｈ　Ｅｄ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，２００１に記載されているもの等、当業者に周知の方法によって組み換え発現ベクターに挿入してよい。
【０３０８】
ベクター、特に、組み換えベクターは、特に本発明に係る（に従って使用するための）核酸の発現の制御をコントロールするヌクレオチド配列に加えて、特に本発明に係る（に従って使用するための）核酸の発現、転写、及び翻訳を可能にするヌクレオチド配列を含んでいてよい。典型的には、これら配列は、用いられる宿主細胞に従って選択される。
【０３０９】
したがって、例えば、適切な分泌シグナルを、本発明に従って使用するためのベクター、特に、組み換えベクターに組み込むことができ、その結果、本発明に係る（に従って使用するための）核酸によってコードされているポリペプチド又はタンパク質が、例えば、小胞体の内腔、細胞周辺腔、膜上、又は細胞外環境に導かれる。適切な分泌シグナルを選択することによって、その後のタンパク質精製を容易にすることができる。
【０３１０】
更に別の態様では、本発明は、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための宿主細胞であって、本明細書に記載するベクター、特に、組み換えベクターを含む宿主細胞を提供する。
【０３１１】
ベクター、特に、組み換えベクターの宿主細胞への導入は、当業者に周知の方法、例えば、リン酸カルシウム、ＤＥＡＥデキストラン、若しくはカチオン性脂質による上記トランスフェクション、マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、形質導入、又は感染を含む、ＢＡＳＩＣ　ＭＥＴＨＯＤＳ　ＩＮ　ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＢＩＯＬＯＧＹ，Ｄａｖｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，２ｎｄ　ｅｄ．，ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ　Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，１９９５及びＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＣＬＯＮＩＮＧ：Ａ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ　ＭＡＮＵＡＬ（上掲）に記載されているものに従って実施してよい。
【０３１２】
宿主細胞は、例えば、細菌細胞（例えば、大腸菌）、真菌の細胞（例えば、酵母細胞及びアスペルギルス属の細胞）、ストレプトミセス属の細胞、昆虫細胞、及び／又は任意の細胞株（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）、Ｃ１２７マウス細胞株、シリアンハムスター細胞のＢＨＫ細胞株、ヒト胎児由来腎臓２９３（ＨＥＫ２９３）細胞）であってよい。好ましくは、本発明に係る（に従って使用するための）宿主細胞は、哺乳類、例えば、ヒト、ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３Ｔ、ＰＥＲ．Ｃ６、ＮＳ０、骨髄腫、又はハイブリドーマ細胞である。樹状細胞及び樹状細胞株が、宿主細胞として特に好ましい。典型的には、培養培地の選択は、特に細胞型及び／又は細胞株の選択に依存し、当業者は、選択された細胞型及び／又は細胞株に適した好適な培養培地について承知している。
【０３１３】
宿主細胞は、例えば、本明細書に記載するベクター及び／又は核酸に基づいて、ポリペプチド又はタンパク質、特に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体を発現させるために用いることができる。標準的な方法によって精製した後、発現したポリペプチド又はタンパク質、特に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体を、本明細書に記載の通り使用することができる。
【０３１４】

したがって、本発明は、また、本明細書に定義する複合体を調製する方法であって、特に、前記複合体がポリペプチド又はタンパク質である方法を提供する。前記方法は、
（ｉ） 上記宿主細胞を培養培地で培養する工程と、
（ｉｉ） 前記培養培地から本明細書に定義する複合体を分離するか、又は宿主細胞を溶解させた後に宿主細胞溶解物から本明細書に定義する複合体を分離する工程と
を含む。

【０３１５】

したがって、本発明に係る方法によって得られる複合体は、好ましくは、本明細書に記載する通り本発明に係る（に従って使用するための）複合体である。

【０３１６】

タンパク質抽出については、市販のキット及び／又は試薬、例えば、Ｎｏｖａｇｅｎ製のＢｕｇＢｕｓｔｅｒ（商標）を用いてよい。

【０３１７】

好ましくは、本明細書に定義する複合体を調製する方法は、
（ｉｉｉ） 例えば、尿素又は塩酸グアニジン（ＧｕＨＣｌ）を含有する溶液に再懸濁させることによって、本明細書に定義する複合体を可溶化する工程
を更に含み、工程（ｉｉｉ）は、上記工程（ｉｉ）の後に行われる。

【０３１８】

更に、本明細書に定義する複合体を調製する前記方法は、
（ｉｖ） 好ましくは一段階アフィニティクロマトグラフィによって、本明細書に定義する複合体を精製する工程
を更に含むことが好ましく、工程（ｉｖ）は、上記工程（ｉｉ）、又は存在する場合は工程（ｉｉｉ）の後に行われる。

【０３１９】

更に、本明細書に定義する複合体は、合成化学法、例えば、固相ペプチド合成によって調製することもできる。

【０３２０】

これらペプチド又はタンパク質の精製は、タンパク質／ペプチドの精製について当技術分野において公知の任意の技術を用いて実施してよい。例示的な技術としては、イオン交換クロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、及びイムノアフィニティ法が挙げられる。

【０３２１】

したがって、本発明は、また、本明細書に定義する複合体を調製する方法であって、
（ｉ） 前記複合体を化学的に合成する工程と、
（ｉｉ） 前記複合体を精製する工程と
を含む方法を提供する。

【０３２２】

好ましくは、本明細書に定義する複合体を調製する方法では、工程（ｉ）において化学的に合成され、工程（ｉｉ）で精製された前記複合体は、細胞透過性ペプチドについて本明細書に記載するアミノ酸配列と、ＴＬＲペプチドアゴニストについて本明細書に記載するアミノ酸配列と、任意で、少なくとも１つの抗原及び／又は抗原エピトープがペプチド又はタンパク質である場合、抗原又は抗原エピトープについて本明細書に記載するアミノ酸配列とを含む。

【０３２３】

或いは、本発明は、また、本明細書に定義する複合体を調製する方法であって、
（ｉ） 細胞透過性ペプチド、少なくとも１つの抗原若しくは抗原断片、及び／又は少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを別々に合成し、
（ｉｉ） 任意で、前記細胞透過性ペプチド、前記少なくとも１つの抗原若しくは抗原断片、及び／又は前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを精製し、
（ｉｉｉ） 前記細胞透過性ペプチド、前記少なくとも１つの抗原若しくは抗原断片、

及び／又は前記少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストを、任意でスペーサ若しくはリンカーによって又は上記架橋剤によって、上記の通り共有結合させる
方法を提供する。

【０３２４】

本発明に係る複合体をロードした細胞

更に別の態様では、本発明は、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための本明細書に定義する複合体をロードした細胞に関する。例えば、本明細書に定義する複合体をロードした細胞は、治療される被験体由来の細胞、特に、治療される被験体由来の単離細胞、即ち、治療される被験体から単離された細胞である。

【０３２５】

本発明の状況において使用するとき、用語「被験体」は、特に哺乳類を指す。例えば、本発明が企図する哺乳類としては、ヒト、霊長類、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウシ）、研究用げっ歯類等が挙げられる。より好ましくは、用語「被験体」は、ヒト被験体を指す。

【０３２６】

本発明の状況において使用するとき、「治療」及び「治療する」等は、一般的に、所望の薬理学的及び生理学的効果を得ることを意味する。この効果は、疾患、その症状若しくは病態を防ぐか若しくは部分的に防ぐという点で予防的であってもよく、及び／又は疾患、病態、症状、若しくは疾患に起因すると考えられる有害作用を部分的に若しくは完全に治癒するという点で治療的であってもよい。用語「治療」は、本明細書で使用するとき、哺乳類、特にヒトの疾患の治療全てを網羅し、例えば、（ａ）疾患に罹りやすい可能性があるが、未だ前記疾患を発症していない及び／又は未だ前記疾患であると診断されていない被験体における疾患の発症を防ぐ、例えば、予防的早期無症候期介入；（ｂ）疾患を阻害する、即ち、その発現を停止させるか若しくは減速する；又は（ｃ）疾患を緩和する、即ち、疾患及び／又はその症状若しくは病態のうちの少なくとも１つを少なくとも部分的に逆行させる、例えば、改善若しくは損傷を修復することを含む。特に、本発明に係る方法、使用、製剤、及び組成物は、癌若しくは感染性疾患の治療、及び／又は早期癌の被験体における癌の進行期若しくは転移期への進行を予防して、癌の病期分類を改善するのに有用である。癌に適用されるとき、疾患又は障害の予防は、例えば、個体の親類の群において前記癌が過去に発生していることから前記癌を発現するリスクがあると判定された個体における癌の発生又は発現の予防、並びに例えば、エプスタイン・バーウイルス（ＥＢＶ）、ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）、ヒトヘルペスウイルス８型（ＨＨＶ８）、ヒトＴ細胞白血病ウイルス１型（ＨＴＬＶ－１）、メルケル細胞ポリオーマウイルス（ＭＣＶ）、及びヘリコバクター・ピロリ等の腫瘍促進病原体の感染の予防を含む。また、癌の「予防／治療」という用語は、個体において既に診断されている癌の安定化又は進行遅延も網羅する。「安定化」とは、早期癌の被験体において癌が進行期又は転移期に進行するのを防ぐことを意味する。

【０３２７】

好ましくは、本明細書に定義する複合体をロードする細胞は、抗原提示細胞（ＡＰＣ）である。好ましくは、抗原提示細胞は、樹状細胞（ＤＣ）、マクロファージ、及びＢ細胞からなる群から選択される。樹状細胞、特に、治療される被験体から単離された樹状細胞（従来の及び／又は形質細胞様）がより好ましい。

【０３２８】

被験体から抗原提示細胞、特に樹状細胞を単離する方法は、当業者に公知である。これらは、骨髄、臍帯血、又は末梢血から単球又は造血幹細胞を収集することを含む。また、前記方法は、胚幹（ＥＳ）細胞及び誘導多能性幹細胞（ｉＰＳ）を使用することを含む。抗原提示細胞、特に、樹状細胞又はその前駆体は、ＣＤ１４$^{+}$前駆体細胞を濃縮することを含み得る、水簸及び磁気ビーズに基づく分離を含む方法によって濃縮することができる。

【０３２９】

本明細書に定義する複合体を細胞、好ましくは、上述の抗原提示細胞、より好ましくは、樹状細胞にロードし、更に、被験体に投与する前にかかる細胞を調製する方法は、当業者に公知である。例えば、樹状細胞の調製は、その培養又は例えば、ＧＭ－ＣＳＦ及びＩＬ－４を含み得るサイトカインを用いる分化を含み得る。樹状細胞株を使用してもよい。本発明の複合体の細胞、好ましくはＡＰＣ、より好ましくは樹状細胞へのロードは、本明細書に定義する複合体に含まれる細胞透過性ペプチドの内在特性（即ち、内部移行能）を利用して、本発明の複合体を培地中で細胞とコインキュベートすることを含み得る。効率的な成熟を誘導するためにこのようにロードした細胞、例えば、樹状細胞の更なる培養は、ＩＬ－１β、ＩＬ－６、ＴＮＦα、ＰＧＥ２、ＩＦＮαを含むサイトカイン、並びにポリ－ＩＣ、ポリ－ＩＣＬＣ（即ち、カルボキシメチルセルロース、ポリイノシン酸－ポリシチジル酸、及びポリ－Ｌ－リジン二本鎖ＲＮＡの合成複合体）、並びに更なるＴＬＲアゴニスト及びＮＬＲ（ヌクレオチド結合オリゴマー化ドメイン様受容体）アゴニストを含む得るアジュバントの添加を含み得る。

【０３３０】

本明細書に定義する複合体をロードした細胞、特に抗原提示細胞を調製する方法は、

（ｉ）　前記細胞に本発明の複合体を形質導入又はトランスフェクトする工程と、

（ｉｉ）　培養培地中で前記細胞を培養する工程と、

（ｉｉｉ）　前記培養培地から前記細胞を分離する工程と

を含んでいてよい。

【０３３１】

好ましくは、細胞に本明細書に定義する複合体（ポリペプチド又はタンパク質である）をロードし、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において用いる。

【０３３２】

好ましくは、本明細書に定義の通り複合体がロードされた、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において用いられる細胞は、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩにおいて、前記複合体に含まれる少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを細胞表面に提示する。

【０３３３】

本発明に係る組成物及びキット

別の態様によれば、本発明は、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための組成物であって、

（ｉ）　上記複合体、

（ｉｉ）　上記核酸、

（ｉｉｉ）　上記ベクター、

（ｉｖ）　上記宿主細胞、及び

（ｖ）　上記本明細書に定義する複合体をロードした細胞

から選択される少なくとも１つの成分を含む組成物を提供する。

好ましくは、本発明に係る組成物は、本明細書に定義する複合体を含む。

【０３３４】

また、本発明に係る（に従って使用するための）組成物は、上記成分（ｉ）～（ｖ）のうちの１超を含んでいてよい。例えば、本発明に係る（に従って使用するための）組成物は、（ｉ）においては少なくとも２つの異なる複合体、（ｉｉ）においては少なくとも２つの異なる核酸、（ｉｉｉ）においては少なくとも２つの異なるベクター、（ｉｖ）においては少なくとも２つの異なる宿主細胞、及び／又は（ｖ）においては少なくとも２つの異なる細胞を含んでいてよい。例えば、本発明に係る（に従って使用するための）組成物は、少なくとも２つの異なる複合体（ｉ）及び／又は少なくとも２つの異なる核酸（ｉｉ）を含んでいてよい。

【０３３５】

例えば、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチド、成分ｂ）、即ち、抗原若しくは抗原エピトープ、又は１超の抗原若しくは抗原エ

ピトープのサブセット、或いは成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニスト、又は１超のＴＬＲペプチドアゴニストのサブセットのいずれかが異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つが異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）全てが異なっていてもよい。したがって、上記組成物に含まれる異なる核酸（ｉｉ）は、かかる異なる複合体をコードしている点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なるベクター（ｉｉｉ）は、かかる異なる核酸を含む点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なる宿主細胞（ｉｖ）は、かかる異なるベクターを含む点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる複合体をロードした異なる細胞（ｖ）は、かかる異なる複合体をロードした点で異なっていてもよい。

【０３３６】

また、本発明は、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するためのワクチンであって、

（ｉ）　上記複合体、

（ｉｉ）　上記核酸、

（ｉｉｉ）　上記ベクター、

（ｉｖ）　上記宿主細胞、及び

（ｖ）　上記複合体をロードした細胞

から選択される少なくとも１つの成分を含むワクチンを提供する。

好ましくは、本発明に係る（に従って使用するための）ワクチンは、本明細書に定義する複合体を含む。

【０３３７】

したがって、本発明に係る（に従って使用するための）組成物について、成分（ｉ）～（ｖ）のうちの１超に関して記載した上記詳細な説明を、本発明に係る（に従って使用するための）ワクチンにも適用する。

【０３３８】

本発明の状況において使用するとき、用語「ワクチン」は、典型的には、特定の疾患、好ましくは癌に対する自然免疫及び／又は適応免疫を提供する生物学的製剤を指す。したがって、ワクチンは、特に、治療される被験体の免疫系の自然及び／又は適応免疫応答を支援する。例えば、本明細書に定義する複合体の抗原又は抗原エピトープは、典型的には、治療される患者における適応免疫応答を導くか又は支援し、本明細書に定義する複合体のＴＬＲペプチドアゴニストは、自然免疫応答を導くか又は支援し得る。

【０３３９】

本発明の組成物、特に、本発明のワクチンは、本発明の医薬組成物について以下に定義する薬学的に許容し得る担体、アジュバント、及び／又はビヒクルも含み得る。本発明の組成物、特に本発明のワクチンの特定の状況では、薬学的に許容し得る担体の選択は、原則として、本発明の組成物、特に本発明のワクチンを投与する方法によって決定される。本発明の組成物、特に本発明のワクチンは、例えば、全身又は局所投与してよい。全身投与のための経路としては、一般的に、例えば、経皮経路、経口経路、非経口経路（皮下、静脈内、筋肉内、動脈内、皮内、及び腹腔内注射、及び／又は鼻腔内投与経路を含む）が挙げられる。局所投与のための経路としては、一般的に、例えば、局部投与経路だけでなく、皮内、経皮、皮下、若しくは筋肉内注射、又は病巣内、頭蓋内、肺内、心臓内、節内、及び舌下注射も挙げられる。より好ましくは、本発明の組成物、特にワクチンは、皮内、皮下、節内、又は筋肉内経路によって投与してよい。更により好ましくは、本発明の組成物、特にワクチンは、皮下、節内、又は筋肉内経路によって投与してよい。特に好ましくは、本発明の組成物、特にワクチンは、皮下又は節内経路によって投与してよい。最も好ましくは、本発明の組成物、特にワクチンは、皮下経路によって投与してよい。したがって、本発明の組成物、特に本発明のワクチンは、好ましくは、液体（又は時には固体）形態に製剤化される。

【０３４０】

投与される本発明の組成物、特に本発明のワクチンの好適な量は、動物モデルを用いたルーチンな実験によって決定することができる。かかるモデルとしては、全く限定するものではないが、ウサギ、ヒツジ、マウス、ラット、イヌ、及び非ヒト霊長類のモデルが挙げられる。注射用の好ましい単位剤形は、水、生理学的食塩水、又はこれらの混合物の滅菌溶液を含む。かかる溶液のｐＨは、約７．４に調整しなければならない。注射に好適な担体としては、ヒドロゲル、制御又は遅延放出用装置、ポリ乳酸、及びコラーゲンマトリクスが挙げられる。局所的に塗布するための好適な薬学的に許容し得る担体としては、ローション、クリーム、ゲル等において使用するのに好適なものが挙げられる。本発明の組成物、特に本発明のワクチンを経口投与する場合、錠剤、カプセル剤等が好ましい単位剤形である。経口投与のために用いることができる単位剤形を調製するための薬学的に許容し得る担体は、関連技術において周知である。その選択は、本発明の目的にとってそれほど重要ではない味、コスト、及び貯蔵性等の副次的検討事項に依存し、当業者であれば容易に行うことができる。

【０３４１】

本発明の組成物、特に本発明のワクチンは、その免疫原性を更に増大させるために、１以上の補助物質を更に含有していてもよい。それによって、好ましくは、上に定義した本発明の複合体と、任意で上記本発明のワクチンに含有され得る補助物質との相乗作用が得られる。様々な種類の補助物質に応じて、これに関する様々な機序を考慮することができる。例えば、樹状細胞（ＤＣ）を成熟させる化合物、例えば、リポ多糖、ＴＮＦ－アルファ、又はＣＤ４０リガンドが、好適な補助物質の第１の分類を形成する。一般的に、本発明に従って免疫刺激アジュバントによって生じる免疫応答を標的として強化する及び／又は影響を与えることができる、「危険シグナル」（ＬＰＳ、ＧＰ９６等）又はサイトカイン、例えば、ＧＭ－ＣＳＦのように免疫系に影響を与える任意の剤を補助物質として使用することができる。特に好ましい補助物質は、自然免疫応答を更に促進するサイトカイン、例えば、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。

【０３４２】

本発明のワクチンに含まれ得る更なる添加剤は、乳化剤、例えば、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）；湿潤剤、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム；着色剤；味付与剤；医薬担体；錠剤成形剤；安定剤；酸化防止剤；保存剤である。

【０３４３】

本発明の組成物、特に本発明のワクチンは、任意の更なる化合物を更に含んでいてもよく、これは、ヒトＴｏｌｌ様受容体ＴＬＲ１、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＬＲ５、ＴＬＲ６、ＴＬＲ７、ＴＬＲ８、ＴＬＲ９、ＴＬＲ１０に対する（リガンドとしての）結合親和性に起因して、又はマウスＴｏｌｌ様受容体ＴＬＲ１、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＬＲ５、ＴＬＲ６、ＴＬＲ７、ＴＬＲ８、ＴＬＲ９、ＴＬＲ１０、ＴＬＲ１１、ＴＬＲ１２、若しくはＴＬＲ１３に対する（リガンドとしての）結合親和性に起因して、免疫刺激性であることが知られている。

【０３４４】

この状況において本発明の組成物、特に本発明のワクチンに添加し得る化合物の別の分類は、ＣｐＧ核酸、特に、ＣｐＧ－ＲＮＡ又はＣｐＧ－ＤＮＡであってよい。ＣｐＧ－ＲＮＡ又はＣｐＧ－ＤＮＡは、一本鎖ＣｐＧ－ＤＮＡ（ｓｓＣｐＧ－ＤＮＡ）、二本鎖ＣｐＧ－ＤＮＡ（ｄｓＤＮＡ）、一本鎖ＣｐＧ－ＲＮＡ（ｓｓＣｐＧ－ＲＮＡ）、又は二本鎖ＣｐＧ－ＲＮＡ（ｄｓＣｐＧ－ＲＮＡ）であってよい。ＣｐＧ核酸は、好ましくは、Ｃｐ

Ｇ－ＲＮＡの形態、より好ましくは、一本鎖ＣｐＧ－ＲＮＡ（ｓｓＣｐＧ－ＲＮＡ）の形態である。ＣｐＧ核酸は、好ましくは、少なくとも１以上の（分裂促進的）シトシン／グアニンジヌクレオチド配列（ＣｐＧモチーフ）を含有する。第１の好ましい変形例によれば、これら配列に含有される少なくとも１つのＣｐＧモチーフ、特に、ＣｐＧモチーフのＣ（シトシン）及びＧ（グアニン）は、メチル化されていない。任意でこれら配列に含有される全ての更なるシトシン又はグアニンは、メチル化されていてもよく、メチル化されていなくてもよい。しかし、更に好ましい変形例によれば、ＣｐＧモチーフのＣ（シトシン）及びＧ（グアニン）は、メチル化形態で存在していてもよい。

【０３４５】

また、本発明は、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための医薬組成物、特に、上記ワクチン組成物、並びに結腸直腸癌に罹患している被験体、好ましくは哺乳類被験体、最も好ましくはヒト被験体を治療する方法を提供する。

【０３４６】

特に、本発明は、本明細書に定義する少なくとも１つの複合体又は本明細書に定義する複合体をロードした少なくとも１つの細胞と、任意で、薬学的に許容し得る担体及び／又はビヒクル、又は任意の賦形剤、バッファ、安定剤、若しくは当業者に周知の他の物質とを含む、結腸直腸癌の予防及び／又は治療における（において使用するための）医薬組成物、特に、本明細書に定義する少なくとも１つの複合体又は本明細書に定義する複合体をロードした少なくとも１つの細胞と、薬学的に許容し得る担体とを含む医薬組成物を提供する。

【０３４７】

更なる成分として、本発明の医薬組成物は、特に、薬学的に許容し得る担体及び／又はビヒクルを含んでいてよい。本発明の状況では、薬学的に許容し得る担体は、典型的には、本発明の医薬組成物の液体又は非液体基剤を含む。本発明の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、パイロジェンフリー水；等張生理食塩水又は緩衝（水性）溶液、例えば、リン酸、クエン酸等の緩衝溶液である。特に本発明の医薬組成物を注射する場合、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、及び任意でカリウム塩、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バッファ、より好ましくは水性バッファを使用してよい。好ましい実施形態によれば、ナトリウム塩、カルシウム塩、及び任意でカリウム塩は、ハロゲン化物、例えば、塩化物、ヨウ化物、又は臭化物の形態、水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩、又は硫酸塩等の形態で存在し得る。以下に限定されるものではないが、ナトリウム塩の例としては、例えば、ＮａＣｌ、ＮａＩ、ＮａＢｒ、Na_2CO_3、$NaHCO_3$、Na_2SO_4が挙げられ、任意のカリウム塩の例としては、例えば、ＫＣｌ、ＫＩ、ＫＢｒ、K_2CO_3、$KHCO_3$、K_2SO_4が挙げられ、カルシウム塩の例としては、例えば、$CaCl_2$、CaI_2、$CaBr_2$、$CaCO_3$、$CaSO_4$、$Ca(OH)_2$が挙げられる。更に、前述のカチオンの有機アニオンがバッファに含有されていてもよい。より好ましい実施形態によれば、上に定義した注射目的に好適なバッファは、塩化ナトリウム（ＮａＣｌ）、塩化カルシウム（$CaCl_2$）、及び任意で塩化カリウム（ＫＣｌ）から選択される塩を含有していてよく、塩化物に加えて更なるアニオンが存在していてもよい。また、$CaCl_2$をＫＣｌ等の別の塩によって置換してもよい。典型的には、注射用バッファ中の塩は、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（$CaCl_2$）の濃度で存在する。注射用バッファは、特定のレファレンス媒体に対して高張、等張、又は低張であってよい、即ち、バッファは、特定のレファレンス媒体よりも高い、同一の、又は低い塩含量を有していてよく、好ましくは、浸透圧又は他の濃度効果に起因して細胞を損傷させることのないかかる濃度の前述の塩を用いてよい。レファレンス媒体は、例えば「インビボ」法で得られる液体、例えば、血液、リンパ、サイトゾル液、若しくは他の体液、又は例えば、「インビトロ」法においてレファレンス媒体として用いることができる液体、例えば、一般的なバッファ若しくは液体で

ある。かかる一般的なバッファ又は液体は、当業者に公知である。生理食塩水（０．９％ＮａＣｌ）及び乳酸加リンゲル液が液体基剤として特に好ましい。

【０３４８】

好ましくは、本明細書に記載の複合体を含む前記（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。

【０３４９】

しかし、１以上の相溶性固体若しくは液体の充填剤又は希釈剤又は封入成分を、治療される被験体に投与するのに好適な本発明の医薬組成物に更に使用してよい。用語「相溶性」とは、本明細書で使用するとき、典型的な使用条件下で本発明の医薬組成物の薬学的有効性を実質的に低減する相互作用が生じないように、本発明の医薬組成物のこれら構成成分を上に定義した複合体と混合できることを意味する。薬学的に許容し得る担体、充填剤、及び希釈剤は、無論、治療される被験体に投与するのに好適である程度に十分に高い純度及び十分に低い毒性を有していなければならない。薬学的に許容し得る担体、充填剤、又はこれらの構成成分として用いることができる化合物の幾つかの例は、糖、例えば、ラクトース、グルコース、及びスクロース；デンプン、例えば、コーンスターチ又はバレイショデンプン；セルロース及びその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、酢酸セルロース；粉末トラガカント；モルト；ゼラチン；タロー；固体滑剤、例えば、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム；硫酸カルシウム；植物油、例えば、落花生油、綿実油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、及びカカオ植物の油；ポリオール、例えば、ポリプロピレングリコール、グリセロール、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコール；アルギン酸である。

【０３５０】

本発明の医薬組成物は、経口的に、非経口的に、吸入スプレーによって、局所的に、直腸内に、鼻腔内に、口腔内に、膣内に、又は移植されたリザーバを介して投与してよい。非経口という用語は、本明細書で使用するとき、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、関節滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、肝臓内、病巣内、頭蓋内、経皮、皮内、肺内、腹腔内、心臓内、動脈内、節内、及び舌下注射、又は点滴技術が挙げられる。好ましくは、本発明の医薬組成物は、皮内、筋肉内、節内、又は皮下に投与してよい。より好ましくは、本発明の医薬組成物は、筋肉内、節内、又は皮下に投与してよい。更により好ましくは、本発明の医薬組成物は、節内又は皮下に投与してよい。最も好ましくは、本発明の医薬組成物は、皮下に投与してよい。また、特に好ましくは、本発明の医薬組成物は、皮下又は皮内に投与してよい。

【０３５１】

好ましくは、本発明の医薬組成物は、非経口注射によって、より好ましくは、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、関節滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、肝臓内、病巣内、頭蓋内、経皮、皮内、肺内、腹腔内、心臓内、動脈内、節内、及び舌下注射によって、又は点滴技術を介して投与してよい。本発明の医薬組成物の滅菌注射用形態は、水性又は油性の懸濁液であってよい。これら懸濁液は、好適な分散剤又は湿潤剤、及び懸濁剤を用いて当技術分野において公知の技術に従って製剤化してよい。滅菌注射用製剤は、例えば、１．３－ブタンジオール溶液として、非毒性の非経口的に許容し得る希釈剤又は溶媒の滅菌注射用溶液又は懸濁液であってもよい。特に、使用することができる許容し得るビヒクル及び溶媒は、水、リンゲル液、及び等張塩化ナトリウム溶液である。更に、滅菌した固定油が溶媒又は懸濁媒体として従来使用されている。この目的のために、合成モノ－又はジ－グリセリドを含む任意の銘柄の固定油を使用してよい。オレイン酸及びそのグリセリド誘導体等の脂肪酸が注射剤の調製において有用であるが、その理由は、天然の薬学的に許容し得る油、例えば、特にポリオキシエチル化されたオリーブ油又はヒマシ油であるためである。これら油溶液又は懸濁液は、長鎖アルコール希釈剤又は分散剤、例えば、エマルション及び懸濁液を含む薬学的に許容し得る剤形の製剤化において一般的に用いられるカルボキシメチルセルロース又は類似の分散剤等を含有していてもよい。他の一般的に用いられる界面活性剤、例えば、Ｔｗｅｅｎ、Ｓｐａｎ、及び他の乳化剤、又は薬学的に許容し得る固体

、液体、若しくは他の剤形の製造において一般的に用いられるバイオアベイラビリティ増強剤を、本発明の医薬組成物の製剤化の目的のために用いてもよい。

【０３５２】

静脈内、皮膚、若しくは皮下注射、又は患部における注射の場合、活性成分は、好ましくは、パイロジェンフリーであり且つ好適なｐＨ、等張性、及び安定性を有する非経口的に許容し得る水溶液の形態である。当業者は、例えば、等張ビヒクル、例えば、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、乳酸加リンゲル注射液を用いて好適な溶液を調製することが十分可能である。必要に応じて、保存剤、安定剤、バッファ、酸化防止剤、及び／又は他の添加剤を含んでいてもよい。それがポリペプチド、ペプチド、又は核酸分子、個体に投与される本発明に係る他の薬学的に有用な化合物であろうとなかろうと、好ましくは、「予防的に有効な量」又は「治療的に有効な量」（場合によって）が投与され、これは、個体に対して効果を示すのに十分である。投与される実際の量、並びに投与の速度及び経時変化は、治療されるものの性質及び重篤度に依存する。

【０３５３】

上に定義した本発明の医薬組成物は、カプセル剤、錠剤、水性懸濁剤又は液剤を含むが、これらに限定されない任意の経口的に許容し得る剤形で経口投与してもよい。経口的に使用するための錠剤の場合、一般的に用いられる担体としては、ラクトース及びコーンスターチが挙げられる。潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウムも典型的に添加される。カプセル形態で経口投与する場合、有用な希釈剤としては、ラクトース及び乾燥コーンスターチが挙げられる。経口的に使用するために水性懸濁剤が必要な場合、活性成分、即ち、上に定義した本発明の輸送体カーゴコンジュゲート分子を乳化剤及び懸濁化剤と合わせる。必要に応じて、特定の甘味剤、着香剤、又は着色剤を添加してもよい。

【０３５４】

特に、治療の標的が、例えば皮膚又は任意の他のアクセス可能な上皮組織の疾患を含む、局所塗布によって容易にアクセス可能な領域又は器官を含むとき、本発明の医薬組成物を局所的に投与してもよい。これら領域又は器官のそれぞれに好適な局所製剤が容易に調製される。局所塗布の場合、本発明の医薬組成物は、１以上の担体に懸濁又は溶解している本発明の免疫刺激組成物、特に、上に定義したその成分を含有する好適な軟膏剤に製剤化してよい。局所投与のための担体としては、鉱油、流動ワセリン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化蝋、及び水が挙げられるが、これらに限定されない。或いは、本発明の医薬組成物は、好適なローション剤又はクリーム剤に製剤化してもよい。本発明の状況では、好適な担体としては、鉱油、モノステアリン酸ソルビタン、ポリソルベート６０、セチルエステルワックス、セテアリールアルコール、２－オクチルドデカノール、ベンジルアルコール、及び水が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３５５】

この状況では、上記医薬組成物を用いるときの治療法の処方、例えば、判断及び投薬量等は、典型的には、一般医及び他の医師の責任の範囲内であり、典型的には、治療する疾患、個々の患者の状態、送達部位、投与方法、及び一般医に公知の他の要因を考慮する。上述の技術及びプロトコルの例は、ＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ ＳＣＩＥＮＣＥＳ，１６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．（ｅｄ），１９８０に見出すことができる。

【０３５６】

したがって、本発明の医薬組成物は、典型的には、「安全且つ有効な量」の本発明の医薬組成物の成分、特に、本明細書に定義する複合体、及び／又は前記複合体をロードした細胞を含む。本明細書で使用するとき、「安全且つ有効な量」は、疾患又は障害の正の調節を著しく誘導するのに十分な本明細書に定義する複合体の量、即ち、求められている組織、系、動物、又はヒトにおける生物学的応答又は医学的応答を惹起する本明細書に定義する複合体又は前記複合体をロードした細胞の量を意味する。有効な量は、治療される疾患の症状又は病態を緩和するための「治療的に有効な量」及び／又は予防される疾患の症

状又は病態を予防するための「予防的に有効な量」であってよい。この用語は、疾患の進行を低減し、特に、腫瘍成長又は感染を低減又は阻害して、求められている応答、特に、複合体に含まれる抗原又は抗原エピトープに対する免疫応答であり得る応答を惹起するのに十分な活性複合体の量（即ち、「阻害有効量」）も含む。しかし、同時に、「安全且つ有効な量」は、重篤な副作用を回避する、即ち、利益とリスクとの間の合理的な関係を可能にするのに十分な程度少ない。これらの限度の決定は、典型的には、賢明な医学的判断の範囲内である。本発明の医薬組成物の成分、特に、上に定義した本明細書に定義する複合体の「安全且つ有効な量」は、更に、治療される特定の病態、また、治療される患者の年齢及び身体状態、体重、全身健康、性別、食事、投与時間、排出速度、合剤、上に定義した本明細書に定義する複合体の具体的な成分ａ）、ｂ）、及びｃ）の活性、病態の重篤度、治療期間、併用療法の性質、用いられる具体的な薬学的に許容し得る担体、及び類似の要因に関連して、主治医の知識及び経験の範囲内で変動する。本発明の医薬組成物は、ヒトの医療目的、また、獣医学的目的のために用いてよく、好ましくは、ヒトの医療目的のために、広くは医薬組成物又はワクチンとして用いてよい。

【０３５７】

本発明に係る医薬組成物、特にワクチン組成物、又は製剤は、本明細書に記載する任意の形態の本明細書に定義する複合体を含有し得る医薬製剤として投与してよい。

【０３５８】

用語「医薬製剤」及び「医薬組成物」は、本発明の状況において使用するとき、特に、活性成分の生物学的活性が明確に有効になるような形態であり且つ前記製剤が投与される被験体にとって毒性である追加成分を含有しない調製品を指す。

【０３５９】

本発明の状況では、治療の「有効性」は、本発明に係る使用又は方法に応答する疾患の経過の変化に基づいて測定することができる。例えば、癌の治療の有効性は、腫瘍体積の低減、及び／又は無増悪生存期間の延長、及び／又は原発性癌については摘出後の再発のリスクの減少によって測定することができる。より具体的には、免疫療法によって治療される癌の場合、有効性の評価は、Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ （ＲＥＣＩＳＴ）及びＷｏｒｌｄ Ｈｅａｌｔｈ Ｏｒｇａｎｉｚａｔｉｏｎ （ＷＨＯ）ｃｒｉｔｅｒｉａ（Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．２０１０，１０２（１８）：１３８８－１３９７）を改変した新規免疫関連応答基準（ｉｒＲＣ）を通して免疫療法剤についての抗腫瘍応答の臨床パターンのスペクトルによって行うことができる。感染性疾患の予防の有効性は、最終的に、血清中の中和抗体の力価及び多機能性病原体特異的Ｔ細胞応答の誘導と相関していることが多い、ヒト集団における疫学的研究によって評価される。前臨床評価は、感染性病原体で刺激した後の感染に対する抵抗性を含んでいてよい。感染性疾患の治療は、病原体特異的抗体及び／又はＴ細胞免疫応答と相関する、病原体の成長の阻害又は病原体の排除（延いては、病原体が検出されないこと）によって測定することができる。

【０３６０】

本発明に係る医薬組成物、特にワクチン組成物、又は製剤は、本明細書に記載する任意の形態の本発明に係る複合体をロードした抗原提示細胞を含有し得る医薬製剤として投与してもよい。

【０３６１】

本発明に係る（に従って使用するための）ワクチン及び／又は組成物は、特に、従来使用されているアジュバント、免疫調節物質、担体、希釈剤、又は上記若しくは下記賦形剤と共に、医薬組成物及びその単位剤形として製剤化してもよく、かかる形態では、錠剤若しくは充填カプセル剤等の固体として、又は液剤、懸濁剤、乳剤、エリキシル剤等の液体として、又はそれを充填したカプセル剤として（これらは全て経口用）、或いは注射又は持続点滴による非経口（皮下及び皮内を含む）用の滅菌注射用溶液の形態で使用してよい。

【０３６２】

本発明の状況において、特に、本発明に係る医薬組成物及びワクチンの状況において、注射用組成物は、典型的には、注射用滅菌生理食塩水若しくはリン酸緩衝生理食塩水、又は当技術分野において公知の他の注射用担体に基づく。かかる医薬組成物及びその単位剤形は、追加の活性化合物又は原理を用いて又は用いずに、従来の比率で成分を含んでいてよく、また、かかる単位剤形は、使用される意図する日用量範囲と同等の任意の好適な有効量の活性成分を含有し得る。

【０３６３】

本発明の状況において好適なアジュバント及び／又は免疫調節物質の例としては、ＭＰＬ（登録商標）（Ｃｏｒｉｘａ）、アルミニウム化合物（一般的にＡｌｕｍと呼ばれる）を含むアルミニウム系鉱物、ＡＳＯ１－４、ＭＦ５９、リン酸カルシウム、リポソーム、イスコム、安定型ポリ－ＩＣＬＣ（ヒルトノール）を含むポリイノシン酸：ポリシチジル酸（ｐｏｌｙＩＣ）、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、シャボンノキサポニン（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含む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）、線維芽細胞刺激リポペプチド（ＦＳＬ１）、及び抗ＣＤ４０抗体が挙げられる。

【０３６４】

本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に、医薬組成物及びワクチンは、水性又は油性の懸濁剤、液剤、乳剤、シロップ剤、及びエリキシル剤が挙げられるが、これらに限定されない液体製剤であってよい。組成物は、また、使用前に水又は他の好適なビヒクルで再構成するための乾燥製品として製剤化してもよい。かかる液体調製品は、懸濁剤、乳化剤、非水性ビヒクル、及び保存剤が挙げられるが、これらに限定されない添加剤を含有していてよい。懸濁剤としては、ソルビトールシロップ、メチルセルロース、グルコース／糖シロップ、ゼラチン、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸アルミニウムゲル、及び水素添加された食用脂が挙げられるが、これらに限定されない。乳化剤としては、レシチン、モノオレイン酸ソルビタン、及びアラビアゴムが挙げられるが、これらに限定されない。保存剤としては、ｐ－ヒドロキシ安息香酸メチル又はプロピル、及びソルビン酸が挙げられるが、これらに限定されない。分散剤又は湿潤剤としては、ポリ（エチレングリコール）、グリセロール、ウシ血清アルブミン、Ｔｗｅｅｎ（登録商標）、Ｓｐａｎ（登録商標）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３６５】

本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に医薬組成物及びワクチンは、移植又は筋肉内注射によって投与し得るデポー製剤として製剤化してもよい。

【０３６６】

本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に医薬組成物及びワクチンは、従来通り製剤化された錠剤又はロゼンジ剤の形態であり得る固体組成物であってもよい。例えば、経口投与するための錠剤及びカプセル剤は、結合剤、充填剤、滑沢剤、崩壊剤、及び湿潤剤が挙げられるが、これらに限定されない従来の賦形剤を含有していてよい。結合剤としては、シロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、デンプン糊、及びポリビニルピロリドンが挙げられるが、これらに限定されない。充填剤としては、ラクトース、糖、微結晶性セルロース、コーンスターチ、リン酸カルシウム、及びソルビトールが挙げられるが、これらに限定されない。滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ポリエチレングリコール、及びシリカが挙げられるが、これらに限定されない。崩壊剤としては、バレイショデンプン及びデンプングリコール酸ナトリウムが挙げられるが、これらに限定されない。湿潤剤としては、ラウリル硫酸ナトリウムが挙げられるが、これらに限定されない。錠剤は、当技術分野において周知の方法に従ってコーティングしてよい。

【０３６７】
本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に医薬組成物及びワクチンは、持続放出形態又は持続放出薬物送達系で投与してもよい。
【０３６８】
更に、本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に医薬組成物及びワクチンは、反復投与による送達に適応させてもよい。
【０３６９】
本発明に係る（に従って使用するための）組成物、特に医薬組成物及びワクチンの状況において、又はその調製の状況において有用な更なる材料及び製剤加工技術等は、“Ｐａｒｔ ５ ｏｆ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ “Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ”, ２２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ, ２０１２, Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｉｎ Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ, Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ”に記載されている。
【０３７０】
更なる態様では、本発明は、また、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するためのキットオブパーツであって、
（ｉ） 上記複合体、
（ｉｉ） 上記核酸、
（ｉｉｉ） 上記ベクター、
（ｉｖ） 上記宿主細胞、及び
（ｖ） 上記複合体をロードした細胞
のうちの少なくとも１つを含むキットオブパーツに関する。
特に、本発明のキットオブパーツは、１超の成分（ｉ）～（ｖ）を含んでいてよい。例えば、本発明に係るキットオブパーツは、（ｉ）においては少なくとも２つの異なる複合体、（ｉｉ）においては少なくとも２つの異なる核酸、（ｉｉｉ）においては少なくとも２つの異なるベクター、（ｉｖ）においては少なくとも２つの異なる宿主細胞、及び／又は（ｖ）においては少なくとも２つの異なる細胞を含んでいてよい。例えば、本発明のキットオブパーツは、少なくとも２つの異なる複合体（ｉ）及び／又は少なくとも２つの異なる核酸（ｉｉ）を含んでいてよい。
【０３７１】
例えば、上記キットオブパーツに含まれる異なる複合体（ｉ）は、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチド、成分ｂ）、即ち、抗原若しくは抗原エピトープ、又は１超の抗原若しくは抗原エピトープのサブセット、或いは成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニスト、又は１超のＴＬＲペプチドアゴニストのサブセットのいずれかが異なっていてもよく、上記キットオブパーツに含まれる異なる複合体（ｉ）は、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つが異なっていてもよく、上記キットオブパーツに含まれる異なる複合体（ｉ）は、複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）全てが異なっていてもよい。したがって、上記キットオブパーツに含まれる異なる核酸（ｉｉ）は、かかる異なる複合体をコードしている点で異なっていてもよく、上記キットオブパーツに含まれる異なるベクター（ｉｉ）は、かかる異なる核酸を含む点で異なっていてもよく、上記キットオブパーツに含まれる異なる宿主細胞（ｉｖ）は、かかる異なるベクターを含む点で異なっていてもよく、上記キットオブパーツに含まれる複合体をロードした異なる細胞（ｖ）は、かかる異なる複合体をロードした点で異なっていてもよい。
【０３７２】
キットオブパーツの様々な成分は、１以上の容器に包装してよい。上記成分は、凍結乾燥形態又は乾燥形態で提供されてもよく、好適なバッファに溶解していてもよい。また、キットは、例えば、保存剤、成長培地、及び／又は上記成分の保存用及び／又は再構成用のバッファ、洗浄溶液等を含む追加の試薬を含んでいてよい。更に、本発明に係るキットオブパーツは、任意で、使用説明書を含んでいてよい。
【０３７３】

更に、本発明は、また、結腸直腸癌を治療、予防、及び／又は安定化するためのワクチン接種キットであって、本明細書に記載する医薬組成物又は本明細書に記載するワクチンと、結腸直腸癌の予防及び／又は治療において前記医薬組成物又は前記ワクチンを使用するための説明書とを含むキットを提供する。

【０３７４】

したがって、本発明は、また、本明細書に記載する複合体、本明細書に記載する細胞、本明細書に記載する組成物、本明細書に記載するワクチン、及び／又は本明細書に記載する医薬組成物を含むキットを提供する。

【０３７５】

好ましくは、かかるキットは、更に、本明細書に記載する本明細書に係る（に従って使用するための）複合体、本明細書に記載する細胞、本明細書に記載する組成物、本明細書に記載するワクチン、及び／又は本明細書に記載する医薬組成物を用いることによって結腸直腸癌を治療するための指示を含む添付文書又は指示リーフレットを含む。

【０３７６】

上記成分（ｉ）～（ｖ）に加えて、キットは、本明細書に記載の使用のための組合せの文脈において本明細書に記載される化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤を含むことも好ましい。

【０３７７】

本発明に係る使用及び方法

別の態様では、本発明は、結腸直腸癌の予防、治療、又は安定化のための（医薬を調製するための）（ｉ）本明細書に記載する複合体及び／又は（ｉｉ）本明細書に記載する複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞のいずれか１つの使用を提供する。したがって、本発明は、結腸直腸癌の予防、治療、又は安定化において使用するための（ｉ）本明細書に記載する複合体及び／又は（ｉｉ）本明細書に記載する複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞のいずれか１つを提供する。

【０３７８】

本発明は、また、ワクチン接種及び／又は免疫療法において使用するための、ＭＨＣクラスＩ及び／又はＭＨＣクラスＩＩの状況において、複合体に含まれる少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを輸送し、抗原提示細胞の細胞表面に提示できるようにする、本発明に従って使用するための複合体を提供する。

【０３７９】

別の態様によれば、本発明は、結腸直腸癌を予防、治療、又は抑制する方法であって、（ｉ）本発明の複合体、（ｉｉ）本発明の複合体をロードした細胞（例えば、抗原提示細胞）、又は（ｉｉｉ）（ｉ）～（ｉｉ）の医薬製剤のうちのいずれか１つを前記被験体に投与することを含む方法を提供する。

【０３８０】

更に、本発明は、被験体において、ＣＤ４$^{+}$ヘルパーＴ細胞及び／又はＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔ細胞に依存する１つ又は複数のエピトープに対する免疫応答を惹起又は改善する方法であって、（ｉ）本発明に従って使用するための複合体及び／又は（ｉｉ）前記複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞、又は（ｉｉｉ）（ｉ）～（ｉｉ）の医薬製剤のうちのいずれか１つを前記被験体に投与することを含む方法を提供する。

【０３８１】

ＣＤ４$^{+}$及び／又はＣＤ８$^{+}$応答に依存する免疫応答は、本発明の化合物の投与前のレベルと比べた炎症応答、炎症促進性サイトカイン応答（ＩＦＮ－ガンマ、ＴＮＦ－α、及びＩＬ－２のｍＲＮＡ又はタンパク質のうちの１以上の発現増加を含む）を評価することによって決定することができる。また、ＨＬＡ－ペプチドマルチマー染色、ＥＬＩＳＰＯＴアッセイ、及び遅延型過敏試験によって測定される、本発明の化合物の投与後の抗原特異性Ｔ細胞の割合又は絶対数の増加によって測定することもできる。また、抗原特異的ヘルパーＴ細胞に依存する抗原特異的血清抗体の増加によって間接的に測定することもできる。

【０３８２】
本発明は、また、被験体において、複数のＭＨＣクラスＩ分子及び／又は複数のＭＨＣクラスＩＩ分子に拘束される１つ又は複数の抗原又は抗原エピトープに対する免疫応答を惹起又は改善する方法であって、（ｉ）本発明に従って使用するための複合体及び／又は（ｉｉ）前記複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞、又は（ｉｉｉ）（ｉ）～（ｉｉ）の医薬製剤のうちのいずれか１つを前記被験体に投与することを含む方法を提供する。
【０３８３】
被験体において、複数のＭＨＣクラスＩ分子及び／又は複数のＭＨＣクラスＩＩ分子に拘束される本明細書に記載する複数のエピトープに対する免疫応答を惹起又は改善する方法は、抗原提示細胞における別個のＭＨＣクラスＩ及びクラスＩＩの分子に結合する個々のエピトープでＴ細胞をインビトロ刺激した後、本発明の化合物の投与前のレベルと比べたＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、及びＩＬ－２のｍＲＮＡ又はタンパク質のうちの１つ以上の発現の増加を含む、サイトカイン応答を評価することによって決定することができる。異なるＭＨＣ分子への拘束は、異なるＭＨＣ分子を発現する抗原提示細胞を用いることによって、又はＭＨＣ遮断抗体を用いることによって検証することもできる。また、別個のＭＨＣ分子を用いて構築されるマルチマーを使用するＨＬＡ－ペプチドマルチマー染色によって測定される、本発明の化合物の投与後の抗原特異性Ｔ細胞の割合又は絶対数の増加によって測定することもできる。
【０３８４】
好ましくは、本発明に係る１つ又は複数の抗原又は抗原エピトープに対する免疫応答を惹起又は改善する方法では、前記免疫応答は、例えば、本明細書に記載するエピトープの組合せとしての腫瘍関連抗原又は腫瘍特異的抗原の１つ又は複数のエピトープに対するものである。
【０３８５】
それに代えて又はそれに加えて、免疫応答は、病原体由来の抗原タンパク質の複数のエピトープに対するものであってよい。
【０３８６】
本明細書に記載する本発明に係る方法は、被験体において、ＭＨＣクラスＩ分子及び／又はＭＨＣクラスＩＩ分子に拘束される１つ又は複数のエピトープに対する免疫応答を惹起又は改善するためのものであってよい。
【０３８７】
したがって、特に、本発明は、結腸直腸癌を予防及び／又は治療するか、或いはそれを必要としている被験体における抗腫瘍応答を開始、強化、又は延長する方法であって、
細胞透過性ペプチドと、
少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープと、
少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストと
を含み、
前記成分ａ）～ｃ）が共有結合している複合体を前記被験体に投与することを含む方法を提供する。
【０３８８】
かかる方法では、本明細書に記載する本発明に係る（に従って使用するための）複合体、本明細書に記載する核酸、本明細書に記載する細胞、本明細書に記載する組成物、本明細書に記載するワクチン、及び／又は本明細書に記載する医薬組成物を前記被験体に投与することが好ましい。
【０３８９】
好ましくは、前記被験体は、結腸直腸癌を有する及び／又は結腸直腸癌と診断されている。別の態様では、本発明は、結腸直腸癌（の診断）の状況において画像化技術用の画像化組成物を調製するため、又は結腸直腸癌を診断するための診断組成物（「診断用組成物」）を調製するための、（ｉ）本明細書に記載する複合体、及び／又は（ｉｉ）本明細書

に記載する複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞のいずれか１つの使用を提供する。本発明に係る結腸直腸癌を診断するための診断組成物は、

（ｉ）　上記複合体、
（ｉｉ）　上記核酸、
（ｉｉｉ）　上記ベクター、
（ｉｖ）　上記宿主細胞、及び
（ｖ）　上記複合体をロードした細胞

から選択される少なくとも１つの成分を含む。

好ましくは、本発明に係る診断組成物は、上記複合体を含む。

【０３９０】

特に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体、本明細書に記載する核酸、本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞、本発明の組成物、本発明の医薬組成物、若しくは本発明のワクチン、又は最も好ましくは本発明の診断組成物は、結腸直腸癌を検出、予測、診断、又はモニタリングするために、診断ツールとして診断において、例えば、（インビボ又はインビトロ）アッセイにおいて、例えば、イムノアッセイにおいて利用することができる。

【０３９１】

一例として、（インビトロ）アッセイは、本発明に係る（に従って使用するための）複合体、本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞、本発明の組成物、本発明の医薬組成物、若しくは本発明のワクチン、又は最も好ましくは本発明の診断組成物を、典型的には、例えば、培養動物細胞、ヒト細胞、若しくは微生物から選択される標的細胞に送達して、典型的には当業者に公知の生物物理学的方法によって細胞応答をモニタリングすることによって実施してよい。本明細書において典型的に使用される標的細胞は、培養細胞（インビトロ）、例えば、ヒト又は動物の身体から単離された細胞、例えば、ヒト又は動物の身体から単離された血液細胞、或いは生存動物若しくはヒトの器官若しくは組織、又は生存動物若しくはヒトにおいてみられる微生物を構成する細胞であってよい。この状況では、本発明に従って使用するための、特に、本発明に係る診断組成物において使用するための複合体に含有され得る、所謂マーカー又は標識が特に好ましい。

【０３９２】

更なる態様によれば、本発明は、被験体における結腸直腸癌を診断する方法であって、（ｉ）本発明の複合体、（ｉｉ）本発明の複合体をロードした細胞（例えば、抗原提示細胞）、又は（ｉｉｉ）（ｉ）～（ｉｉ）の医薬製剤のうちのいずれか１つを、エクスビボで前記被験体又は前記被験体のサンプルに投与することを含む方法を提供する。

【０３９３】

好ましくは、本発明に係る使用及び方法は、本発明に係る（に従って使用するための）複合体の投与を含む。

【０３９４】

更に、本発明に係る使用及び方法は、本発明に係る１超の複合体、細胞、又は医薬製剤を投与することを含む。例えば、本発明に係る使用及び方法では、少なくとも２つの異なる複合体を使用又は投与し、各複合体は、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープを含み、前記抗原若しくは抗原エピトープ又は（１超の抗原又は抗原エピトープが前記複合体に含まれる場合）抗原若しくは抗原エピトープの前記サブセットは、２つの複合体間で異なる。

【０３９５】

例えば、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、成分ａ）、即ち、細胞透過性ペプチド、成分ｂ）、即ち、抗原若しくは抗原エピトープ、又は１超の抗原若しくは抗原エピトープのサブセット、或いは成分ｃ）、即ち、ＴＬＲペプチドアゴニスト、又は１超のＴＬＲペプチドアゴニストのサブセットのいずれかが異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）のうちの２つが異なっ

ていてもよく、上記組成物に含まれる異なる複合体（ｉ）は、複合体の３つの成分ａ）、ｂ）、及びｃ）全てが異なっていてもよい。したがって、上記組成物に含まれる異なる核酸（ｉｉ）は、かかる異なる複合体をコードしている点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なるベクター（ｉｉｉ）は、かかる異なる核酸を含む点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる異なる宿主細胞（ｉｖ）は、かかる異なるベクターを含む点で異なっていてもよく、上記組成物に含まれる複合体をロードした異なる細胞（ｖ）は、かかる異なる複合体をロードした点で異なっていてもよい。

【０３９６】

更に、本発明に係る使用及び方法において、本発明に係る細胞は、抗原提示細胞、特に樹状細胞、より好ましくは、治療される被験体由来の樹状細胞であってよい。

【０３９７】

投与モード

本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、経腸的に（例えば、経口的又は直腸内）及び非経口的に（例えば、静脈内）又はこれらの組合せを含む、上記の任意の方法で投与してよい。非経口投与としては、静脈内、動脈内、腹腔内、皮下、皮内、及び筋肉内が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、本発明に従って使用するための複合体；本発明に従って使用するための複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、経口、舌下、及び直腸内等の経腸的投与経路を介して投与される。本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、好ましくは、局所、腫瘍内、皮内、皮下、筋肉内、鼻腔内、又は節内経路を介して投与してもよい。また、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、組成物の緩徐放出及び緩徐制御静脈内点滴を可能にする、インプラントの形態で投与してもよい。例えば、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、皮下又は皮内投与してもよい。

【０３９８】

本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンの投与は、複数回の連続注射／投与を必要とする場合がある。したがって、投与は、例えば、一次免疫注射／投与として１回、及びその後に追加免疫注射／投与として１回の少なくとも２回繰り返してよい。

【０３９９】

特に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、繰り返し又は連続的に投与してよい。本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、少なくとも１週間、２週間、３週間、若しくは４週間、２ヶ月間、３ヶ月間、４ヶ月間、５ヶ月間、６ヶ月間、８ヶ月間、１０ヶ月間、若しくは１２ヶ月間、又は２年間、３年間、４年間、若しくは５年間の期間に亘って繰り返し又は

連続的に投与してよい。例えば、本発明に係る（に従って使用するための）複合体は、１日間ごとに２回、１日間ごとに１回、２日間ごとに１回、３日間ごとに１回、１週間ごとに１回、２週間ごとに１回、３週間ごとに１回、１ヶ月間ごとに１回、又は２ヶ月間ごとに１回投与することができる。好ましくは、本発明に係る（に従って使用するための）複合体は、例えば、１週間ごとに１回又は２週間ごとに（１回）繰り返し投与することができる。

【０４００】

更に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体を構成する細胞透過性ペプチド、成分ａ）、ｂ）、及びｃ）、即ち、少なくとも１つの抗原又は抗原エピトープ及び少なくとも１つのＴＬＲペプチドアゴニストは、投与直前に混合されるか又はそれを必要としている被験体に同時に投与される別個の組成物に含有されていてもよい。

【０４０１】

１つのアプローチによれば、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、特に医薬組成物について上に記載した投与経路を用いて、患者に直接投与してよい。或いは、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンは、エクスビボアプローチを用いて、例えば、任意で処理前の細胞を保存及び／又は培養した後、医薬組成物、ワクチン、又は上に定義した本発明の輸送体カーゴコンジュゲート分子を、細胞、好ましくは自己細胞、即ち、治療される患者に由来する細胞に導入し、治療される患者の部位にこれら細胞を移植することによって、患者に投与してよい。

【０４０２】

個体に単回用量又は複数回用量として投与される投薬量は、薬物動態特性、被験体の状態及び特徴（性別、年齢、体重、健康、身長）、症状の程度、併用療法、治療の頻度、及び望ましい効果を含む様々な要因に依存して変動する。

【０４０３】

典型的には、癌治療の場合、本発明に係る（に従って使用するための）複合体の治療的に有効な用量は、注射１回当たり約０．０１ｍｇ～約５ｍｇ、特に、注射１回当たり約０．１ｍｇ～約２ｍｇ、又は注射１回当たり約０．０１ｎｍｏｌ～１ｍｍｏｌ、特に、注射１回当たり１ｎｍｏｌ～１ｍｍｏｌ、好ましくは、注射１回当たり１μｍｏｌ～１ｍｍｏｌである。

【０４０４】

典型的には、癌治療の場合、本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした抗原提示細胞の治療的に有効な用量は、注射１回当たり約２０万細胞～約２００万細胞である。

【０４０５】

併用療法

本発明に係る方法及び使用における本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンの投与は、単独で行ってもよく、結腸直腸癌の治療及び／又は安定化に有用な助剤と組み合わせて行ってもよい。

【０４０６】

例えば、結腸直腸癌の治療、予防、又は安定化の場合、本発明に係る方法及び使用における医薬組成物の投与は、固形結腸直腸腫瘍に対する従来の化学療法で用いられ、転移の定着を管理するための物質、又はプログラム細胞死を誘発することによって作用する任意の他の分子、例えば、Ｆａｓリガンド及び腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）関連アポトーシス誘導

（ＴＲＡＩＬ）リガンドが挙げられるが、これらに限定されない腫瘍壊死ファミリーのメンバーから選択される助剤と組み合わせて行ってもよい。更なる実施形態によれば、本発明に係る方法及び使用における本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンの投与は、放射線療法と並行して行ってよい。

【０４０７】

本発明は、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）核酸；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物、又は本発明のワクチンの投与であって、結腸直腸癌の治療及び／又は安定化、及び／又は結腸直腸癌の再発の予防（例えば、複数回薬物レジメン）に有用な他の治療レジメン又は助剤の前、同時、又は後に治療的に有効な量を被験体に投与することを包含する。前記助剤と同時に投与される前記複合体、細胞、組成物、ワクチン、又は医薬組成物は、同じ又は異なる組成物で、同じ又は異なる投与経路によって投与してよい。

【０４０８】

前記他の治療レジメン又は助剤は、放射線療法、化学療法、外科手術、標的療法（低分子、ペプチド、及びモノクローナル抗体を含む）、及び抗血管新生療法からなる群から選択してよい。抗血管新生療法は、本明細書では、腫瘍関連血管構造を直接又は間接的に標的とする剤の投与として定義される。

【０４０９】

したがって、本発明は、また、好ましくは結腸直腸癌の予防及び／又は治療において使用するための、

（ｉ）本明細書に定義する複合体と、

（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤と

の組合せを提供する。

【０４１０】

従来の化学療法剤は、細胞傷害性である、即ち、大部分の癌細胞の主な特性のうちの１つである、急速に分裂する細胞を殺傷することによって作用する。本明細書に定義する複合体と組み合わせるのに好ましい化学療法剤は、結腸直腸癌の治療について当業者に公知の化学療法剤である。組み合わせるのに好ましい化学療法剤としては、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、カペシタビン（Ｘｅｌｏｄａ（登録商標））、イリノテカン（Ｃａｍｐｔｏｓａｒ（登録商標））、及びオキサリプラチン（Ｅｌｏｘａｔｉｎ（登録商標））が挙げられる。また、本明細書に定義する複合体は、好ましくは（ｉ）ＦＯＬＦＯＸ（５－ＦＵ、ロイコボリン、及びオキサリプラチン）、（ｉｉ）ＣａｐｅＯｘ（カペシタビン及びオキサリプラチン）、（ｉｉｉ）５－ＦＵ及びロイコボリン、（ｉｖ）ＦＯＬＦＯＸＩＲＩ（ロイコボリン、５－ＦＵ、オキサリプラチン、及びイリノテカン）、及び（ｖ）ＦＯＬＦＩＲＩ（５－ＦＵ、ロイコボリン、及びイリノテカン）から選択される併用化学療法と組み合わせることが好ましい。拡がっていない癌では、（ｉ）ＦＯＬＦＯＸ（５－ＦＵ、ロイコボリン、及びオキサリプラチン）；（ｉｉ）ＣａｐｅＯｘ（カペシタビン及びオキサリプラチン）；又は（ｉｉｉ）５－ＦＵ及びロイコボリンの組合せが好ましい。既に拡がっている癌では、（ｉｖ）ＦＯＬＦＯＸＩＲＩ（ロイコボリン、５－ＦＵ、オキサリプラチン、及びイリノテカン）；（ｉ）ＦＯＬＦＯＸ（５－ＦＵ、ロイコボリン、及びオキサリプラチン）；又は（ｖ）ＦＯＬＦＩＲＩ（５－ＦＵ、ロイコボリン、及びイリノテカン）の組合せが好ましい。

【０４１１】

結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせる標的薬としては、ＶＥＧＦ標的薬及びＥＧＦＲ標的薬が挙げられる。ＶＥＧＦ標的薬の好ましい例としては、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標））、ラムシルマブ（Ｃｙｒａｍｚａ（登

録商標））、又はｚｉｖ－アフリベルセプト（Ｚａｌｔｒａｐ（登録商標））が挙げられる。ＥＧＦＲ標的薬の好ましい例としては、セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ（登録商標））、パニツムマブ（Ｖｅｃｔｉｂｉｘ（登録商標））、又はレゴラフェニブ（Ｓｔｉｖａｒｇａ（登録商標））が挙げられる。

【０４１２】

結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせる免疫療法剤としては、ワクチン、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、チェックポイント調節剤、及び腫瘍溶解性ウイルス療法が挙げられる。

【０４１３】

結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるための好ましいワクチンとしては、ＴｒｏＶａｘ、ＯｎｃｏＶａｘ、ＩＭＡ９１０、ＥＴＢＸ－０１１、ＭｉｃＯｒｙｘ、ＥＰ－２１０１、ＭＫＣ１１０６－ＰＰ、ＣＤＸ－１３０７、Ｖ９３４／Ｖ９３５、ＭｅｌＣａｎｃｅｒＶａｃ、Ｉｍｐｒｉｍｅ　ＰＧＧ、ＦＡＮＧ、Ｔｅｃｅｍｏｔｉｄｅ、ＡｌｌｏＳｔｉｍ、ＤＣＶａｘ、ＧＩ－６３０１、ＡＶＸ７０１、ＯＣＶ－Ｃ０２が挙げられる。

【０４１４】

人工Ｔ細胞受容体（キメラＴ細胞受容体、キメラ免疫受容体、キメラ免疫受容体（ＣＡＲ）としても知られている）は、免疫エフェクタ細胞に任意の特異性を移植する、操作された受容体である。人工Ｔ細胞受容体（ＣＡＲ）は、養子細胞移入の状況において好ましい。この目的のために、Ｔ細胞を患者から取り出し、結腸直腸癌に対して特異的な受容体を発現するように改変する。次いで、癌細胞を認識し、殺傷することができるＴ細胞を患者に再導入する。

【０４１５】

本明細書で使用するとき、用語「免疫チェックポイント調節剤」（「チェックポイント調節剤」とも呼ばれる）は、１以上のチェックポイント分子の機能を調節（例えば、完全に若しくは部分的に低減、阻害、干渉、活性化、刺激、増大、強化、又は支援）する分子又は化合物を指す。したがって、免疫チェックポイント調節剤は、「免疫チェックポイント阻害剤」（「チェックポイント阻害剤」又は「阻害剤」とも呼ばれる）又は「免疫チェックポイント活性化剤」（チェックポイント活性化剤）又は「活性化剤」とも呼ばれる）であってもよい。「免疫チェックポイント阻害剤」（「チェックポイント阻害剤」又は「阻害剤」とも呼ばれる）は、１以上のチェックポイント分子の機能を完全に若しくは部分的に低減、阻害、干渉、又は負に調節する。「免疫チェックポイント活性化剤」（チェックポイント活性化剤）又は「活性化剤」とも呼ばれる）は、１以上のチェックポイント分子の機能を完全に若しくは部分的に活性化、刺激、増大、強化、支援、又は正に調節する。免疫チェックポイント調節剤は、典型的には、（ｉ）自己寛容、及び／又は（ｉｉ）免疫応答の大きさ及び／又は期間を調節することができる。好ましくは、本発明に従って用いられる免疫チェックポイント調節剤は、１以上のヒトチェックポイント分子の機能を調節するので、「ヒトチェックポイント阻害剤」である。

【０４１６】

チェックポイント分子は、タンパク質等の分子であり、典型的には、免疫経路に関与し、例えば、Ｔ細胞の活性化、Ｔ細胞の増殖、及び／又はＴ細胞の機能を制御する。したがって、チェックポイント調節剤によって調節（例えば、完全に若しくは部分的に低減、阻害、干渉、活性化、刺激、増大、強化、又は支援）されるチェックポイント分子の機能は、典型的には、Ｔ細胞の活性化、Ｔ細胞の増殖、及び／又はＴ細胞の機能（の制御）である。したがって、免疫チェックポイント分子は、自己寛容、並びに生理学的免疫応答の期間及び大きさを制御及び維持する。免疫チェックポイント分子の多くは、Ｂ７：ＣＤ２８ファミリー又は腫瘍壊死因子受容体（ＴＮＦＲ）スーパーファミリーに属し、特異的リガンドの結合によって、細胞質ドメインに動員されるシグナル伝達分子を活性化する（Ｓｕｓｕｍｕ　Ｓｕｚｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，２０１６：Ｃｕｒｒｅｎｔ　ｓｔａｔｕｓ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ．Ｊａｐａｎｅｓｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｌｉｎ

ｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，２０１６：ｄｏｉ：１０．１０９３／ｊｊｃｏ／ｈｙｖ２０１［印刷物に先駆けたオンライン出版］；特に、表１を参照）。

【０４１７】

好ましくは、結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるための免疫チェックポイント調節剤は、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ４０、ＣＤ１２２、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＩＣＯＳ、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ４０、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＰＤ－１、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、ＣＥＡＣＡＭ１、ＧＡＲＰ、ＰＳ、ＣＳＦ１Ｒ、ＣＤ９４／ＮＫＧ２Ａ、ＴＤＯ、ＧＩＴＲ、ＴＮＦＲ、及び／又はＦａｓＲ／ＤｃＲ３から選択される１以上の免疫チェックポイント分子の活性化剤又は阻害剤；或いはこれらの１以上のリガンドの活性化剤又は阻害剤である。

【０４１８】

より好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、（共）刺激性チェックポイント分子の活性化剤若しくは阻害性チェックポイント分子の阻害剤又はこれらの組合せである。したがって、免疫チェックポイント調節剤は、より好ましくは、（ｉ）ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ４０、ＣＤ１２２、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、及び／又はＩＣＯＳの活性化剤、又は（ｉｉ）Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＤ４０、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＰＤ－１、ＰＤＬ－１、ＰＤ－Ｌ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、ＣＥＡＣＡＭ１、ＧＡＲＰ、ＰＳ、ＣＳＦ１Ｒ、ＣＤ９４／ＮＫＧ２Ａ、ＴＤＯ、ＴＮＦＲ、及び／又はＦａｓＲ／ＤｃＲ３の阻害剤である。

【０４１９】

更により好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、阻害性チェックポイント分子の阻害剤である（が、好ましくは、刺激性チェックポイント分子の阻害剤ではない）。したがって、免疫チェックポイント調節剤は、更により好ましくは、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＣＴＬＡ－４、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＰＤ－１、ＰＤＬ－１、ＰＤ－Ｌ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、ＣＥＡＣＡＭ１、ＧＡＲＰ、ＰＳ、ＣＳＦ１Ｒ、ＣＤ９４／ＮＫＧ２Ａ、ＴＤＯ、ＴＮＦＲ、及び／又はＤｃＲ３の阻害剤であるか、又はこれらのリガンドである。

【０４２０】

また、免疫チェックポイント調節剤は、刺激性又は共刺激性のチェックポイント分子の活性化剤である（が、好ましくは、阻害性チェックポイント分子の活性化剤ではない）。したがって、免疫チェックポイント調節剤は、より好ましくは、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ４０、ＣＤ１２２、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、及び／又はＩＣＯＳの活性化剤であるか、又はこれらのリガンドである。

【０４２１】

免疫チェックポイント調節剤は、ＣＤ４０経路、ＩＤＯ経路、ＣＴＬＡ－４経路、及び／又はＰＤ－１経路の調節剤であることが更により好ましい。特に、免疫チェックポイント調節剤は、好ましくは、ＣＤ４０、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、及び／又はＩＤＯの調節剤であり、より好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、及び／又はＩＤＯの阻害剤、又はＣＤ４０の活性化剤であり、更により好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－１、及び／又はＩＤＯの阻害剤であり、最も好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４及び／又はＰＤ－１の阻害剤である。

【０４２２】

免疫チェックポイント調節剤は、ＣＤ４０経路、ＩＤＯ経路、ＬＡＧ３経路、ＣＴＬＡ－４経路、及び／又はＰＤ－１経路の調節剤であることが更により好ましい。特に、免疫チェックポイント調節剤は、好ましくは、ＣＤ４０、ＬＡＧ３、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、及び／又はＩＤＯの調節剤であり、より好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＰＤ－１、ＬＡＧ３、及び／又はＩＤＯの阻害剤、又はＣＤ４０の活性化剤であり、更により好ましくは、免

疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－１、ＬＡＧ３、及び／又はＩＤＯの阻害剤であり、更により好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＬＡＧ３、ＣＴＬＡ－４、及び／又はＰＤ－１の阻害剤であり、最も好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＴＬＡ－４及び／又はＰＤ－１の阻害剤である。

【０４２３】

したがって、結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるためのチェックポイント調節剤は、ＣＤ４０経路、ＣＴＬＡ－４経路、又はＰＤ－１経路の公知の調節剤から選択してよい。好ましくは、結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるためのチェックポイント調節剤は、ＣＤ４０経路、ＬＡＧ３経路、ＣＴＬＡ－４経路、又はＰＤ－１経路の公知の調節剤から選択することができる。特に好ましくは、チェックポイント調節剤は、ＰＤ－１阻害剤である。ＣＴＬＡ－４経路及びＰＤ－１経路の好ましい阻害剤としては、モノクローナル抗体Ｙｅｒｖｏｙ（登録商標）（イピリムマブ；Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）及びトレメリムマブ（Ｐｆｉｚｅｒ／ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、並びにＯｐｄｉｖｏ（登録商標）（ニボルマブ；Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、Ｋｅｙｔｒｕｄａ（登録商標）（ペンブロリズマブ；Ｍｅｒｃｋ）、デュルバルマブ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ／ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＭＥＤＩ４７３６（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ；国際公開第２０１１／０６６３８９Ａ１号を参照）、ＭＰＤＬ３２８０Ａ（Ｒｏｃｈｅ／Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ；米国特許第８，２１７，１４９（Ｂ２）号を参照）、ピディリズマブ（ＣＴ－０１１；ＣｕｒｅＴｅｃｈ）、ＭＥＤＩ０６８０（ＡＭＰ－５１４；ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＭＳＢ－００１０７１８Ｃ（Ｍｅｒｃｋ）、ＭＩＨ１（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ）、及びランブロリズマブ（例えば、国際公開第２００８／１５６７１２号；Ｈａｍｉｄ　ｅｔ　ａｌ．，２０１３；Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３６９：１３４－１４４にｈＰＤ１０９Ａ、並びにそのヒト化誘導体ｈ４０９Ａｌｌ、ｈ４０９Ａ１６及びｈ４０９Ａ１７として開示）が挙げられる。より好ましいチェックポイント阻害剤としては、ＣＴＬＡ－４阻害剤Ｙｅｒｖｏｙ（登録商標）（イピリムマブ；Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）及びトレメリムマブ（Ｐｆｉｚｅｒ／ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）、並びにＰＤ－１阻害剤Ｏｐｄｉｖｏ（登録商標）（ニボルマブ；Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、Ｋｅｙｔｒｕｄａ（登録商標）（ペンブロリズマブ；Ｍｅｒｃｋ）、ピディリズマブ（ＣＴ－０１１；ＣｕｒｅＴｅｃｈ）、ＭＥＤＩ０６８０（ＡＭＰ－５１４；ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＡＭＰ－２２４、及びランブロリズマブ（例えば、国際公開第２００８／１５６７１２号；Ｈａｍｉｄ　ｅｔ　ａｌ．，２０１３；Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３６９：１３４－１４４にｈＰＤ１０９Ａ並びにそのヒト化誘導体ｈ４０９Ａｌｌ、ｈ４０９Ａ１６及びｈ４０９Ａ１７として開示）が挙げられる。上記のように、ＬＡＧ３阻害剤の好ましい例は、抗ＬＡＧ３モノクローナル抗体ＢＭＳ－９８６０１６（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）である。ＬＡＧ３阻害剤の他の好ましい例としては、ＷＯ２００９／０４４２７３　Ａ２及びＢｒｉｇｏｎら、２００９、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．１５：６２２５～６２３１に開示のＬＡＧ５２５（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＩＭＰ３２１（Ｉｍｍｕｔｅｐ）、及びＬＡＧ３－Ｉｇ、並びにヒトＬＡＧ３をブロックするマウス若しくはヒト化抗体（例えば、ＷＯ２００８／１３２６０１　Ａ１に記載のＩＭＰ７０１）、又はヒトＬＡＧ３をブロックする完全ヒト抗体（例えば、ＥＰ２３２０９４０　Ａ２に開示）が挙げられる。

【０４２４】

好ましくは、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＤ４０の調節剤ではない。特に、免疫チェックポイント調節剤は、ＣＤ４０リガンドではないことが好ましい。また、免疫チェックポイント調節剤は、抗ＣＤ４０抗体ではないことが好ましい。

【０４２５】

また、結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるための免疫チェックポイント調節剤は、ペンブロリズマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＭＥＤＩ４７３６、トレメリムマブ、アベルマブ、ＰＤＲ００１、ＬＡＧ５

２５、ＩＮＣＢ２４３６０、バルリルマブ、ウレルマブ、ＡＭＰ－２２４、及びＣＭ－２４からなる群から選択することが好ましい。

【０４２６】

腫瘍溶解性ウイルスは、腫瘍内で複製され、それによって、抗腫瘍免疫応答を活性化することによって細胞溶解を引き起こすように操作されている。結腸直腸癌を治療するために本明細書に定義する複合体と組み合わせるための腫瘍溶解性ウイルス療法は、好ましくは、ＪＸ５９４（チミジンキナーゼ不活化ワクシニアウイルス）、ＣｏｌｏＡｄ１（アデノウイルス）、ＮＶ１０２０（ＨＳＶ由来）、ＡＤＸＳ１１－００１（弱毒性リステリアウイルス）、Ｒｅｏｌｙｓｉｎ（登録商標）（ヒトレオウイルスの特殊製剤）、ＰＡＮＶＡＣ（組み換えワクシニアウイルスＣＥＡ－ＭＵＣ－１－ＴＲＩＣＯＭ）、Ａｄ５－ｈＧＣＣ－ＰＡＤＲＥ（組み換えアデノウイルスワクチン）、及びｖｖＤＤ－ＣＤＳＲ（ワクシニアウイルス）からなる群から選択される。

【０４２７】

好ましくは、（ｉ）複合体、並びに（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤は、略同時に投与される。

【０４２８】

「略同時に」とは、本明細書で使用するとき、特に、同時に投与する、又は（ｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤の投与直後に（ｉｉ）複合体を投与するか、又は（ｉ）複合体の投与直後に（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤を投与することを意味する。当業者は、「直後」が、２回目の投与の準備を行うのに必要な時間、特に、２回目の投与のための部位を露出させ、消毒することに加えて、「投与装置」（例えば、シリンジ、ポンプ等）を適切に準備するのに必要な時間を含むことを理解する。また、同時投与は、（ｉ）複合体と（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤との投与期間が重なっている場合、或いは例えば、一方の成分が長時間、例えば、３０分間、１時間、２時間、又は更にはそれ以上に亘って、例えば点滴によって投与され、他方の成分がかかる長時間の間に数回投与される場合も含む。（ｉ）複合体と（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とを略同時に投与することは、特に、異なる投与経路及び／又は異なる投与部位を用いる場合に好ましい。

【０４２９】

また、（ｉ）複合体と（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とを連続して投与することも好ましい。これは、（ｉ）複合体が（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤の前又は後に投与されることを意味する。連続投与では、第１の成分の投与と第２の成分の投与との間の期間が、好ましくは１週間以下、より好ましくは３日間以下、更により好ましくは２日間以下、最も好ましくは２４時間以下である。（ｉ）複合体と（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤とを、第１の成分（複合体のチェックポイント調節剤）の投与と第２の成分（チェックポイント調節剤及び複合体の他方）の投与との間の期間が好ましくは６時間以下、より好ましくは３時間以下、更により好ましくは２時間以下、最も好ましくは１時間以下になるように同日に投与することが特に好ましい。

【０４３０】

好ましくは、（ｉ）複合体並びに（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤は、同じ投与経路を介して投与される。また、（ｉ）複合体並びに（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤を、異なる投与経路を介して投与することも好ましい。

【０４３１】

更に、（ｉ）複合体並びに（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤は、好ましくは、別々の組成物で提供される。或いは、

（ｉ）複合体並びに（ｉｉ）化学療法剤、標的薬、及び／又は免疫療法剤、例えば、免疫チェックポイント調節剤は、好ましくは、同じ組成物で提供される。

【０４３２】

したがって、本発明は、癌の治療及び／又は安定化、及び／又は結腸直腸癌の再発の予防に有用な少なくとも１つの助剤、並びに少なくとも１つの薬学的に許容し得る担体と組み合わせた、本発明に係る（に従って使用するための）複合体、又は本発明に係る（に従って使用するための）細胞、特に、本発明に係る（に従って使用するための）抗原提示細胞を含む医薬製剤を提供する。

【０４３３】

更に、本発明に係る（に従って使用するための）複合体；本発明に係る（に従って使用するための）複合体をロードした細胞、例えば、抗原提示細胞；本発明の組成物；本発明の医薬組成物；又は本発明のワクチンは、再発及び／又は転移に対する予防法として、固形腫瘍を除去した手術後に投与してもよい。

【０４３４】

更に、本発明に係る方法及び使用における画像化又は診断用組成物の投与は、単独で、又は結腸直腸癌の画像化及び／又は診断に有用な助剤と組み合わせて実施してよい。

【０４３５】

被験体

本発明は、結腸直腸癌に罹患しているか又は結腸直腸癌を発現するリスクのある任意の被験体に適用することができる。特に、前記複合体の治療効果は、前記抗原又は抗原エピトープに対する免疫応答、特に、ＣＤ４$^{+}$ヘルパーＴ細胞及び／又はＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔ細胞に依存する、及び／又はＭＨＣクラスＩ分子及び／又はＭＨＣクラスＩＩ分子に拘束される応答を惹起することであり得る。

【０４３６】

また、本発明に係る被験体は、腫瘍が外科的に切除されていることも好ましい。

【０４３７】

本発明は、本明細書に記載する特定の実施形態によって範囲を限定されるものではない。実際、本明細書に記載するものに加えて本発明の様々な変形例が前述の記載及び添付図面から当業者に明らかになるであろう。かかる変形例は、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【０４３８】

本明細書に引用する全ての参照文献は、参照によって本明細書に援用される。

【０４３９】

特に定義しない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野の当業者に一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書に記載するものと類似又は等価な方法及び材料を本発明の実施又は試験で用いることができるが、好適な方法及び材料を以下に記載する。本明細書に記載する全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参照文献は、その全体が参照によって援用される。矛盾する場合、定義を含む本明細書が優先する。更に、材料、方法、及び実施例は、単なる例示であり、限定を意図するものではない。

【実施例】

【０４４０】

以下に、本発明の様々な実施形態及び態様を説明する具体例を提示する。しかし、本発明は、本明細書に記載する特定の実施形態によって範囲が限定されるものではない。以下の調製及び実施例は、当業者が本発明をより明確に理解し、実施することができるように与えられるものである。しかし、本発明は、例示される実施形態によって範囲が限定されるものではなく、前記実施形態は、本発明の１つの態様を説明することのみを意図し、機能的に等価な方法は、本発明の範囲内である。実際、本明細書に記載するものに加えて本発明の様々な変形例は、前述の記載、添付図面、及び以下の実施例から当業者に容易に明らかになる。全てのかかる変形例は、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【０４４１】

実施例１：インビトロにおけるヒト樹状細胞の成熟

この試験の目的は、本発明に従って使用するための複合体が樹状細胞の成熟を誘導する能力について調べることであった。本試験では、本発明に従って使用するための複合体は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」と、様々な抗原由来の異なるＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」と、ＴＬＲ４ペプチドアゴニスト「ＥＤＡ」とを含む融合タンパク質である。したがって、Ｎ末端位置にＥＤＡペプチドを有する融合タンパク質と、Ｚ１３若しくはＥＤＡ又は両方を有しない様々なコントロールコンジュゲートタンパク質とを設計した。

【０４４２】

即ち、以下のコンストラクトを設計した。アミノ酸配列において、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」を下線付きで示し、ＴＬＲペプチドアゴニスト「ＥＤＡ」をイタリック体で示す。

【０４４３】

ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５

配列：

【表３１】

MHHHHHH*NID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGEDDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQST*KRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKSSE NDRLRLLLKE SLKISQAVHA AHAEINEAGR EVVGVGALKV PRNQDWLGVP RFAKFASFEA QGALANIAVD KANLDVEQLE SIINFEKLTE WTGS

[SEQ ID NO: 26]

分子量：２５’０５７Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、

－　ＥＤＡ　ＴＬＲアゴニストを含有する（Ｌａｓａｒｔｅ，Ｊ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｈｅ　ｅｘｔｒａ　ｄｏｍａｉｎ　Ａ　ｆｒｏｍ　ｆｉｂｒｏｎｅｃｔｉｎ　ｔａｒｇｅｔｓ　ａｎｔｉｇｅｎｓ　ｔｏ　ＴＬＲ４－ｅｘｐｒｅｓｓｉｎｇ　ｃｅｌｌｓ　ａｎｄ　ｉｎｄｕｃｅｓ　ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ　Ｔ　ｃｅｌｌ　ｒｅｓｐｏｎｓｅｓ　ｉｎ　ｖｉｖｏ．Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００７．１７８（２）：ｐ．７４８－５６）、

－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、１Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８

－　エンドトキシンレベル：＜０．０１ＥＵ／ｕｇ。

【０４４４】

Ｚ１３Ｍａｄ５

配列：

【表３２】

MHHHHHHKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKSSE NDRLRLLLKE SLKISQAVHA AHAEINEAGR EVVGVGALKV PRNQDWLGVP RFAKFASFEA QGALANIAVD KANLDVEQLE SIINFEKLTE WTGS

[SEQ ID NO: 29]

分子量：１５’１９６Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、

－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、１Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ９、
－　エンドトキシンレベル：
○　バッチ１：０．３２ＥＵ／ｍｇ
○　バッチ２：０．４４ＥＵ／ｍｇ。

【０４４５】

Ｍａｄ５

配列：

【表３３】

MHHHHHHE SLKISQAVHA AHAEINEAGR EVVGVGALKV PRNQDWLGVP RFAKFASFEA QGALANIAVD KANLDVEQLE SIINFEKLTE WTGS

[SEQ ID NO: 30]

分子量：１０’１５４．６Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５は、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、
－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、０．５Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８、
－　エンドトキシンレベル：０．０６９ＥＵ／ｍｇ。

【０４４６】

ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５、及びＭａｄ５タンパク質を、ヒト樹状細胞（ＤＣ）の成熟を誘導する能力について調べた。３００ｎＭのタンパク質と共に４８時間インキュベートした後、ＦＡＣＳによってヒトＤＣにおける活性化マーカーの発現（ＣＤ８６、ＣＤ４０、ＣＤ８３、及びＨＬＡ－ＤＲ）を評価した（図１～４）。各タンパク質の特定のバッファをネガティブコントロールとして用いた。

【０４４７】

図１にＣＤ４０、図２にＣＤ８６、図３にＨＬＡＤＲ、及び図４にＣＤ８３の結果を示す。ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５はＣＤ８６、ＨＬＡＤＲ、及びＣＤ８３のアップレギュレーションによって示されるヒトＤＣの成熟を誘導したが、Ｚ１３Ｍａｄ５及びＭａｄ５タンパク質はヒトＤＣを活性化することはできなかった。これら結果は、タンパク質のＥＤＡ部分がヒトＤＣにおける活性化マーカーのアップレギュレーションの原因であることを示す。

【０４４８】

実施例２：インビトロにおけるエピトープ提示（ＭＨＣ　Ｉ）

この試験の目的は、様々なＴＣＲトランスジェニックマウス由来の骨髄由来樹状細胞（ＢＭＤＣ）及び脾細胞を用いて、インビトロ系におけるマウスの機能的ＭＨＣクラスＩ拘束性交差提示を評価することであった。この目的のために、コンストラクトＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５及びＭａｄ５（実施例１に上記）及びコンストラクトＥＤＡＭａｄ５を用いた。

【０４４９】

ＥＤＡＭａｄ５

配列

【表３４】

MHHHHHH*NID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGEDDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTE* SLKISQAVHA AHAEINEAGR EVVGVGALKV PRNQDWLGVP RFAKFASFEA QGALANIAVD KANLDVEQLE SIINFEKLTE WTGS

[SEQ ID NO: 31]

分子量：２０’０１７Ｄａ
特徴：
－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、
－　ＥＤＡ　ＴＬＲアゴニストを含有する、
－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、０．５Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８、
－　エンドトキシンレベル：１．８ＥＵ／ｍｇ。
【０４５０】
ＯＶＡＣＤ８、ＯＶＡＣＤ４、及びｇｐ１００エピトープを含有するＥＤＡＭａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、及びＭａｄ５タンパク質　３００ｎＭを一晩ＢＭＤＣにロードした。それぞれＯＴ－１　Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）トランスジェニックマウス由来のナイーブ$OVA_{257-264}$特異的$CD8^+$Ｔ細胞及びＰ－ｍｅｌ　Ｔ細胞ＴＣＲトランスジェニックマウス由来のｇｐ－１００特異的$CD8^+$Ｔ細胞のインビトロ増殖を測定することによって、これらＭＨＣ　Ｉ拘束性ＯＶＡＣＤ８及びｇｐ１００エピトープのプロセシング及び提示をモニタリングした。したがって、それぞれＣＦＳＥで標識したＯＴ１細胞及びＰ－Ｍｅｌ細胞と共に４日間後、ＯＶＡＣＤ８エピトープ及びｇｐ１００エピトープの効率的なＭＨＣ　Ｉ拘束性提示をモニタリングした。ＯＴ－２　Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）トランスジェニックマウス由来のナイーブ$OVA_{323-339}$特異的$CD4^+$Ｔ細胞のインビトロ増殖を測定することによって、ＭＨＣ　ＩＩ拘束性ＯＶＡＣＤ４エピトープのプロセシング及び提示をモニタリングした。したがって、ＣＦＳＥで標識したＯＴ２細胞と共に４日間後、ＯＶＡＣＤ４エピトープの効率的なＭＨＣクラスＩＩ拘束性提示をモニタリングした。コントロールとして、ＢＭＤＣを５μＭのペプチドで１時間パルスした（２回の独立な実験のうち代表的な実験１回）。
【０４５１】
結果を図５に示す。全ての評価したＭａｄ５に基づくタンパク質について類似の交差提示及びプロセシング能が観察された。
【０４５２】
実施例３：ＣＤ８　Ｔ細胞の免疫応答
ポリクローナル$CD8^+$Ｔ細胞応答の誘導におけるＥＤＡコンジュゲートタンパク質の有効性を調べるために、２ｎｍｏｌ又は１０ｎｍｏｌのコンストラクトＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５又はＥＤＡＭａｄ５（実施例１及び２に記載）のいずれかを皮下注射することによって、Ｃ５７ＢＬ６マウスに２回ワクチン接種した（Ｗｋ０及びＷｋ２）。ポジティブコントロール群には、Ｍａｄ５及びＴＬＲ４アゴニストＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）をワクチン接種した。２ｎｍｏｌのコンストラクト（図６）及び１０ｎｍｏｌのコンストラクト（図７）の２つの用量を評価した。１群当たり３頭～４頭のマウスを用いた。
【０４５３】
最後のワクチン接種の７日間後、マウスから採血し、血液中のＯＶＡ特異的免疫応答をモニタリングするためにペンタマー染色を実施した。図８に、試験した全ての群及び両用量についてのペンタマー陽性ＣＤ８＋Ｔ細胞の百分率を示す。
【０４５４】
これらデータは、興味深いことに、２ｎｍｏｌと比較して１０ｎｍｏｌにおいて免疫応答が低いことを示す。２ｎｍｏｌ及び１０ｎｍｏｌの両用量において、ＥＤＡＭａｄ５群と比べてＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５群において一貫性の高いワクチン媒介免疫応答が観察された。更に、ＴＬＲ４アゴニストがワクチンとコンジュゲートしているときに免疫応答が増大する。
【０４５５】
実施例４：ベンチマークＥＧ．７－ＯＶＡ腫瘍モデルにおける腫瘍成長に対するワクチンの有効性
腫瘍成長の管理に対するＥＤＡコンストラクトタンパク質の効果を評価するために、Ｅ

Ｇ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞のｓ．ｃ．モデルを選択した。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した。腫瘍移植後、５日目及び１３日目に、１０ｎｍｏｌの以下のコンストラクト（コンストラクトの説明については実施例１及び２を参照）：ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、Ｍａｄ５、又はＭａｄ５及びＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）のうちの１つをマウスの右側腹部にｓ．ｃ．ワクチン接種した。腫瘍サイズをノギスで測定した。

【０４５６】

図９は、１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長（平均±ＳＥＭ）を示す；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（二要因分散検定）。図１０は、個々の腫瘍成長曲線（１群当たり７頭の個々のマウス）を示す。図１１Ａは、１群当たり７頭のマウスの生存曲線を示す；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（ログランク検定）。図１１Ｂは、１群当たり７頭のマウスの腫瘍無増悪曲線を示す；＊、ｐ＜０．０５　ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５対コントロール群（ログランク検定）。

【０４５７】

結果は、治療設定において、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５が、コントロール群に比べて腫瘍成長を有意に管理し、有意に優れた腫瘍無増悪曲線及び生存曲線を有する唯一のタンパク質ワクチンであったことを示す。

【０４５８】

したがって、結果は、コンストラクトタンパク質ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５が治療設定において腫瘍成長を管理するための非常に強力なワクチンであることを示唆する。

【０４５９】

実施例５：メラノーマ転移モデルにおける腫瘍成長に対するワクチンの有効性

半治療設定においてＢ１６－ＯＶＡ腫瘍細胞を用いて肺転移モデルにおける有効性を評価するために、様々なコンストラクトタンパク質を用いた：ＥＤＡＭａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（コンストラクトの設計については実施例１及び２を参照）、及びＭＰＬＡのみ。Ｃ５７ＢＬ／６マウスに１×１０^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、同時に（ｄ０）、２ｎｍｏｌのワクチン（ＥＤＡＭａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ、ＭＰＬＡのみ）を右側腹部に皮下注射することによって投与した。９日間後、マウスに同用量で２回目のワクチン接種を行った。更に、コントロール群に、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及びＴＬＲ４アゴニストＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）又はＭＰＬＡのみをワクチン接種した。１３日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとに転移病巣の数を計数した。結果を図１２に示す。

【０４６０】

結果は、コンジュゲートＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５が、肺における腫瘍転移の阻害についてＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡと同程度強力であることを示す。更に、ＥＤＡ－Ｍａｄ５は、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５ほど強力ではなく、これはワクチンの有効性におけるＺ１３の重要な役割を示す。

【０４６１】

実施例６：メラノーマ転移モデルにおける腫瘍成長に対するワクチンの有効性－予防設定

更に、様々なコンストラクトタンパク質ＥＤＡＭａｄ５、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、及びＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（コンストラクトの設計については実施例１及び２を参照）の有効性を、予防設定の肺転移モデルにおいて評価した。腫瘍細胞を移植する２１日間及び７日間前（ｄ－２１及びｄ－７）に、２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＭａｄ５、又はＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）を右側腹部に皮下注射することによってＣ５７ＢＬ／６マウスにワクチン接種した。０日目に、１×１０^{5}個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をマウスにｉ．ｖ．移植した。１４日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。結果を図１３に示す。

【０４６２】

実施例７：ＴＬＲ２ペプチドアゴニストを含む更なるコンストラクトの設計

この実施例においても、本発明に従って使用するための複合体は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」、様々な抗原由来の異なるＣＤ８＋及びＣＤ４＋エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」、及びＴＬＲ２ペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」を含む融合タンパク質である。したがって、Ｃ末端又はＮ末端位置にＡｎａｘａペプチドを有する融合タンパク質を設計した。

【０４６３】

即ち、以下のコンストラクトを設計した。アミノ酸配列において、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」を下線付きで示し、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」をイタリック体で示す。

【０４６４】

ＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５

配列：

【表３５】

MHHHHHH*STV HEILCKLSLE GDHSTPPSAY GSVKPYTNFD AE*KRYKNRVA SRKSRAKFKQ

LLQHYREVAA AKSSENDRLR LLLKESLKIS QAVHAAHAEI NEAGREVVGV GALKVPRNQD

WLGVPRFAKF ASFEAQGALA NIAVDKANLD VEQLESIINF EKLTEWTGS

[SEQ ID NO: 27]

分子量：１８，９７３Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、

－　Ａｎｎｅｘｉｎの３５ｍｅｒペプチドを含有する、

－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、０．５Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８

－　エンドトキシンレベル：５．１７ＥＵ／ｍｇ。

【０４６５】

Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ

配列：

【表３６】

MHHHHHHKRYKNRVA SRKSRAKFKQ LLQHYREVAA AKSSENDRLR LLLKESLKIS

QAVHAAHAEI NEAGREVVGV GALKVPRNQD WLGVPRFAKF ASFEAQGALA

NIAVDKANLD VEQLESIINF EKLTEWTGS*S TVHEILCKLS LEGDHSTPPS AYGSVKPYTN FDAE*

[SEQ ID NO: 28]

分子量：１８，９７３Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、

－　Ａｎｎｅｘｉｎの３５ｍｅｒペプチドを含有する、

－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、０．５Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８、

－　エンドトキシンレベル：３．１ＥＵ／ｍｇ。

【０４６６】

実施例８：ＴＬＲ２の結合（ＨＥＫ－ｈＴＬＲ２細胞株）

この試験の目的は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５コンストラクトタンパク質（これらコンストラクトタンパク質の設計については実施例７を参照）がアゴニストとしてＴＬＲ２に結合できるかどうかを評価することであった。ＨＥＫ－Ｂｌｕｅ（商標）ｈＴＬＲ２を平底９６ウェルプレートの培養培地に播種し、０．３μＭ、

１μＭ、又は３μＭのＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５又はＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。５００ｎｇ／ｍＬのＰａｍ３ＣＳＫ４（ＴＬＲ２アゴニスト）をポジティブコントロールに用いた。

【０４６７】

ＮＦ－κＢ／ＡＰ１の活性化をモニタリングするために、２０マイクロリットルの上清をＱｕａｎｔｉＢｌｕｅ（登録商標）検出培地に添加し、３７℃で１時間インキュベートした後、ＯＤ（６２０ｎｍ）を読み出した。結果を図１４Ａに示す。

【０４６８】

上清中のＩＬ－８の分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。結果を図１４Ｂに示す。

【０４６９】

結果（図１４Ａ、Ｂ）は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５が、同様に、用量依存的にＴＬＲ２に結合できることを示した。

【０４７０】

実施例９：インビボにおける特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の誘導

ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞応答の誘導における実施例７のＡｎａｘａコンジュゲートタンパク質の有効性を調べるために、２ｎｍｏｌのＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを皮下注射することによってＣ５７ＢＬ／６マウスに２回（Ｗｋ０及びＷｋ２）ワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後、マウスから採血し、血液中のＯＶＡ特異的免疫応答をモニタリングするために、ペンタマー染色を実施した（１群当たり４頭のマウスを用いた実験１回）。結果を図１５及び１６に示す。

【０４７１】

これらデータは、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチン及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５コンストラクトの両方が強い免疫応答を惹起することを示す。

【０４７２】

実施例１０：腫瘍成長に対する治療効果

腫瘍成長の管理に対する実施例７で設計したＡｎａｘａコンジュゲートタンパク質の効果を調べるために、ベンチマーク腫瘍モデル、即ち、ＥＧ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞のｓ．ｃ．移植を用いた。

【０４７３】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞を移植した。腫瘍移植後、５日目及び１３日目に、７頭のマウス３群のそれぞれの右側腹部に１０ｎｍｏｌのＡｎａｘＺ１３Ｍａｄ５（群１）、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（群２）、又はＺ１３Ｍａｄ５及びＰａｍ３ＣＳＫ４（Ａｎａｘａと等モル、群３）を皮下注射することによって、ｓ．ｃ．ワクチン接種した。外部アジュバントと混合したタンパク質と効果を比較するために、コントロール群にＺ１３Ｍａｄ５及びＰａｍ３ＣＳＫ４（Ａｎａｘａと等モル）をワクチン接種した。腫瘍サイズをノギスで測定した。結果を図１７～１９に示す。

【０４７４】

治療スケジュールにおいて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５は、コントロール群に比べて腫瘍成長を管理するためのより優れたタンパク質ワクチンである、即ち、Ｚ１３Ｍａｄ５及びＰａｍ３ＣＳＫの同時注射は、有意に優れた生存曲線を示す。特に、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５は、Ｐａｍ３ＣＳＫ４とは別々に投与したＺ１３Ｍａｄ５よりも有意に高い有効性を示す。したがって、結果は、コンストラクトタンパク質Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＡｎａｘａＺ１３Ｍａｄ５が治療設定において腫瘍成長を管理するための有望なコンジュゲートワクチンであることを示唆する。

【０４７５】

実施例１１：腫瘍成長に対する治療効果－様々なＴＬＲアゴニストを含むコンストラクトの比較

この試験の目的は、様々なＴＬＲアゴニストにコンジュゲートした様々なコンストラク

トタンパク質ワクチン、即ち、実施例１及び７のＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５及びＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの腫瘍成長の管理に対する有効性を比較することであった。この目的のために、実施例１０で既に記載した通り、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞をｓ．ｃ．移植した。５日目及び１３日目に、２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）の同時注射によって、マウス（１群当たり７頭の個々のマウス）の右側腹部にｓ．ｃ．ワクチン接種した。

【０４７６】

結果を図２０、２１、及び２２に示す。この実験設定では、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、及びＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡは、同様に、腫瘍成長を有意に管理することができた。更に、これらデータは、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが腫瘍成長を有意に管理する最も優れたコンストラクトであり、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５は、この実験設定においてＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡよりも僅かに優れていたことを示す。

【０４７７】

実施例１２：腫瘍成長の管理に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの用量効果

コンジュゲートワクチンの最適用量を特定するために、３つの異なる用量（０．５ｎｍｏｌ、２ｎｍｏｌ、及び１０ｎｍｏｌ）のＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）を、その腫瘍成長を管理する能力について評価した。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａコンストラクトの用量効果を、実施例１０に既に記載したＥＧ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞のｓ．ｃ．モデルにおいて評価した。腫瘍移植後、０．５ｎｍｏｌ、２ｎｍｏｌ、又は１０ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを治療設定においてマウスに２回（腫瘍移植後５日目及び１３日目）ワクチン接種した。

【０４７８】

Ｃ５７ＢＬ／６の左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、０．５ｎｍｏｌ、２ｎｍｏｌ、又は１０ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを右側腹部に皮下注射することによって、２回（ｄ５及びｄ１３）ワクチン接種した。腫瘍細胞をノギスで測定した。

【０４７９】

１群当たり７頭のマウスの腫瘍成長を図２３に示す。これらデータは、０．５ｎｍｏｌ及び２ｎｍｏｌの用量が、腫瘍成長の管理について１０ｎｍｏｌと少なくとも同等の有効性を有することを示す。

【０４８０】

実施例１３：様々な投与経路のＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの効果

この試験は、特異的免疫応答を惹起することができ、上に示した皮下腫瘍モデルＥＧ７において腫瘍成長を管理するのに有効であるというＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａコンジュゲートワクチンの有効性を示した上記実施例に基づいていた（実施例７を参照）。

【０４８１】

皮下、筋肉内、及び皮内の投与経路の効果を調べるために、皮下、筋肉内、及び皮内注射によって惹起される免疫応答を比較した。皮内注射は、Ｐａｎｔｅｃ　Ｂｉｏｓｏｌｕｔｉｏｎｓ製のＰＬＥＡＳＥ（登録商標）装置を用いて実施した。

【０４８２】

０．５ｎｍｏｌ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを２週間毎に３回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４）マウスにワクチン接種した（実施例７を参照）。幾つかのリンパ節を標的とするために、１回目及び３回目のワクチン接種は右側腹部に実施したが、２回目は左側腹部に行った。２回目及び３回目のワクチン接種の１週間後に血液中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞応答を分析した。図２４は、０．５ｎｍｏｌ（図２４Ａ）又は２ｎｍｏｌ（図２４Ｂ）のＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４）ｓ．ｃ．、ｉ．ｄ．、又はｉ．ｍ．ワクチン接種したＣ５７ＢＬ／６マウスの血液中において検出された、各ワクチン接種後のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８Ｔ細胞応答を示す。２回目及び３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染

色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【０４８３】

結果は、評価した２つの用量（０．５ｎｍｏｌ及び２ｎｍｏｌ）において、（ｉ）試験した全ての投与経路でＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８免疫応答が惹起され、（ｉｉ）皮下ワクチン接種が最も強くＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８免疫応答を惹起したことを示す。皮下投与については、３回目のワクチン接種の後に最大応答に達し、３回目のワクチン接種後にも維持された。皮内及び筋肉内ワクチン接種によって惹起された２回目のワクチン接種後のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８免疫応答は、皮下ワクチン接種よりも低く、３回目のワクチン接種後には強化されない。

【０４８４】

次に、それぞれＫＬＲＧ１（キラー細胞レクチン様受容体サブファミリーＧメンバー１）及びＰＤ－１を分析することによって、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８Ｔ細胞のエフェクタ機能及び消耗状態を評価した。

【０４８５】

この目的のために、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４）ｓ．ｃ．、ｉ．ｄ．、又はｉ．ｍ．ワクチン接種した（実施例７を参照）。２回目及び３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ＦＡＣＳ染色を実施した。マルチマー陽性ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＫＬＲＧ１及びＰＤ－１発現を分析した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。結果を図２５に示す。

【０４８６】

これらデータは、皮下ワクチン接種後にＫＬＲＧ１の発現がＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞において強く増加することを示す。ｉ．ｄ．又はｉ．ｍ．ワクチン接種後、観察された効果は低かった。ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞のうちのＫＬＲＧ１陽性細胞の百分率も、ｓ．ｃ．ワクチン接種後に強化された（データ不図示）。

【０４８７】

ＫＬＲＧ１とは対照的に、ＰＤ－１発現は、皮下及び筋肉内ワクチン接種経路について、時間及びワクチン接種と共に減少する。これは、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞が消耗しないことを示唆する。ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞のうちのＰＤ－１陽性細胞の百分率もｓ．ｃ．及びｉ．ｍ．ワクチン接種後に減少する（データ不図示）。マウスに皮下ワクチン接種したとき、２回目のワクチン接種後のＰＤ－１発現がより高いことに留意することが重要であり、これは、特異的Ｔ細胞の早期活性化状態を反映している（Ｋｅｉｒ，Ｍ．Ｅ．，ｅｔ　ａｌ．，ＰＤ－１　ａｎｄ　ｉｔｓ　ｌｉｇａｎｄｓ　ｉｎ　ｔｏｌｅｒａｎｃｅ　ａｎｄ　ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００８．２６：ｐ．６７７－７０４）。

【０４８８】

後期消耗マーカーＴｉｍ－３の発現も分析した。全ての群について非常に低い発現が観察された。

【０４８９】

まとめると、結果は、皮下ワクチン接種が筋肉内又は皮内注射に比べて最も優れた特異的ＣＤ８免疫応答を惹起することを示す。

【０４９０】

実施例１４：節内投与経路

上記実験（実施例１３）に基づいて、節内投与経路について更に調べた。この目的のために、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）の節内注射によって惹起される免疫応答について調べた。

【０４９１】

この目的のために、例えば、Ｊｅｗｅｌｌ，Ｃ．Ｍ．，Ｓ．Ｃ．Ｌｏｐｅｚ，ａｎｄ　Ｄ．Ｊ．Ｉｒｖｉｎｅ，Ｉｎ　ｓｉｔｕ　ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　ｏｆ　ｔｈｅ　ｌｙｍｐｈ　ｎｏｄｅ　ｍｉｃｒｏｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔ　ｖｉａ　ｉｎｔｒａｎｏｄａｌ　ｉｎｊｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ　ａｄｊｕｖａｎｔ－ｒｅｌｅａｓｉｎｇ　ｐｏｌｙｍｅｒ

ｐａｒｔｉｃｌｅｓ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳ Ａ，２０１１．１０８（３８）：ｐ．１５７４５－５０に記載の通り、注射するリンパ節を容易に可視化し、侵襲性手術なしに節内に注射できるようにするために、先ずマウスにエバンスブルーを皮下注射した。

【０４９２】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）を２週間毎に２回（Ｗｋ０及びＷｋ２）節内にワクチン接種した。１回目のワクチン接種は右鼠径リンパ節に実施したが、２回目のワクチン接種は、左鼠径リンパ節に行った。２回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス３頭）。言い換えれば、２回目のワクチン接種の１週間後に血液中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を分析した。図２６は、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８Ｔ細胞応答を示す。これらデータは、節内注射もＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を惹起できたことを示す。

【０４９３】

実施例１５：ワクチン接種スケジュール

上記と同じＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａコンストラクト（実施例７を参照）を用いて３回目のワクチン接種の影響を特定することを目的として、ワクチン接種スケジュール評価作業を開始した。既に結果が得られている皮下経路を選択した。

【０４９４】

この実験では、最初の２回のワクチン接種をｗｋ０及びｗｋ２に実施し、３回目のワクチン接種は、ｗｋ４（図２７Ａ）又はｗｋ８（図２７Ｂ）のいずれかに実施した。したがって、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回（図２７Ａ及びＣ：Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ４、並びに図２７Ｂ及びＤ：Ｗｋ０、Ｗｋ２、及びＷｋ８）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。最後のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、ペンタマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。したがって、２回目及び３回目のワクチン接種の１週間後にＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を分析した（図２７Ａ及びＢ）。更に、特異的ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＫＬＲＧ１の発現を分析することによって、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的Ｔ細胞のエフェクタ機能を評価した（図２７Ｃ及びＤ）。

【０４９５】

データは、コントロールに比べて、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の百分率が、試験した全ての時点（Ｖａｃ２及びＶａｃ３）において、また、両ワクチン接種スケジュールにおいて有意に増加したことを示す（図２７Ａ及びＢ）。

【０４９６】

興味深いことに、Ｗｋ４における３回目のワクチン接種は、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の百分率を最も顕著に増加させることができた（図２７Ａ）。また、同細胞は、より高いＫＬＲＧ１発現を介して改善されたエフェクタ機能を示す（図２７Ｃ）。対照的に、Ｗｋ８に実施した３回目のワクチン接種では、２回目のワクチン接種から３回目のワクチン接種までにＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的免疫応答及びＫＬＲＧ１発現において改善がみられなかった。

【０４９７】

まとめると、これら結果は、２回目のワクチン接種と３回目のワクチン接種との間の期間を短くすることによってＣＤ８免疫応答を増加させ得ることを示す。

【０４９８】

３回目のワクチン接種が早いと免疫応答が増加すると仮定して、次の試験では、２つの短いスケジュールのワクチン接種について調べた：

ｉ）　０日目、３日目、及び７日目に３回ワクチン接種、並びに

ｉｉ）　０日目、７日目、及び１４日目に３回ワクチン接種。

【０４９９】

ここでも同様に、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを用い、０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎ

ａｘａ（実施例７を参照）をｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目及び３回目のワクチン接種の１週間後に得られた血液サンプルにおいてマルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【０５００】

したがって、２回目及び３回目のワクチン接種の１週間後にＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８＋Ｔ細胞応答を分析した（図２８Ａ及びＤ）。更に、特異的ＣＤ８　Ｔ細胞におけるＫＬＲＧ１の発現を分析することによってＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的Ｔ細胞のエフェクタ機能を評価し（図２８Ｂ及び２８Ｅ）、特異的Ｔ細胞のＰＤ－１発現を分析することによって消耗状態を評価した（図２８Ｃ及び２８Ｆ）。

【０５０１】

データは、上記ワクチン接種スケジュールに関する最初の実験と同様に、コントロールに比べて、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の百分率が、試験した全ての時点（Ｖａｃ２及びＶａｃ３）において、また、両ワクチン接種スケジュールにおいて増加したことを示す（図２８Ａ及びＢ）。

【０５０２】

しかし、スケジュールｗｋ０－ｗｋ２－ｗｋ４と比べて、０日目、３日目、及び７日目にワクチン接種したスケジュールは、それほど高いＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答を惹起しなかった。０日目、７日目、及び１４日目にワクチン接種するスケジュールに関しては、惹起されるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答は、上述のスケジュール（ｄ０－ｄ３－ｄ７）に比べて優れているが、３回目のワクチン接種後には維持されない。

【０５０３】

まとめると、ワクチン接種スケジュールデータセットは、Ｗｋ０－Ｗｋ２－Ｗｋ４ワクチン接種スケジュールが、高いエフェクタ機能と共に強力なＯＶＡ特異的ＣＤ８免疫応答を誘導するのに最良のワクチン接種スケジュールであることを示す。

【０５０４】

実施例１６：マウス抗原提示細胞（ＡＰＣ）を活性化するＴＬＲアゴニスト－ＣＰＰコンジュゲートコンストラクトの能力

本発明に従って使用するための複合体におけるＣＰＰ成分及びＴＬＲアゴニスト成分の両方の効果を調べるために、上記融合タンパク質（実施例１、２、及び７を参照）を再度使用した。

【０５０５】

更に、更なる「コントロールペプチド」を設計した。これも融合タンパク質であり、様々な抗原由来の異なるＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」とＴＬＲ２ペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とを含む（即ち、細胞透過性ペプチドを含まない）。したがって、以下のコントロールコンストラクトを更に設計した。

【０５０６】

Ｍａｄ５Ａｎａｘａ

配列：

【表３７】

MHHHHHHESL KISQAVHAAH AEINEAGREV VGVGALKVPR NQDWLGVPRF AKFASFEAQG ALANIAVDKA NLDVEQLESI INFEKLTEWT GSSTVHEILC KLSLEGDHST PPSAYGSVKP YTNFDAE

[SEQ ID NO: 32]

分子量：１３，９３３Ｄａ

特徴：

－　Ｍａｄ５カーゴは、ＯＶＡＣＤ４、ｇｐ１００ＣＤ８、ＥａｌｐｈａＣＤ４、及びＯＶＡＣＤ８エピトープを含有する、

－　Ｃ末端位置にＡｎｎｅｘｉｎの３５ｍｅｒペプチドを含有する、

－　ストレージバッファ：５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１０％グリセロール、２ｍＭ　ＤＴＴ、０．５Ｍ　Ｌ－アルギニン、ｐＨ８、
－　エンドトキシンレベル：バッチ１－１２．１５ＥＵ／ｍｇ。

【０５０７】

この試験の目的は、細胞透過性ペプチド成分Ｚ１３（Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、上記を参照；ＥＤＡＭａｄ５、実施例２を参照）又はＴＬＲアゴニスト（Ｚ１３Ｍａｄ５、実施例１を参照）のいずれかを有しないレファレンス複合体と比べて、本発明に係る２つの例示的な複合体、即ち、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）及びＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）の抗原提示細胞の活性化を促進する能力について評価することであった。

【０５０８】

この目的のために、ＴＬＲ７を除く全てのＴＬＲを発現する骨髄由来樹状細胞（ＢＭＤＣ）において上述のコンストラクトが抗原提示細胞（ＡＰＣ）の活性化を促進する能力を評価した。

【０５０９】

ＢＭＤＣを９６ウェルプレートの培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（上記を参照）、Ｚ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）、又はＥＤＡＭａｄ５（実施例２を参照）で刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。

【０５１０】

ＢＭＤＣの培養上清におけるＩＬ－６の分泌をモニタリングすることによって、ＡＰＣの活性化について調べた。上清中のＩＬ－６の分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。

【０５１１】

結果を図２９に示す。これらデータは、Ｚ１３Ｍａｄ５ＡｎａｘａはＢＭＤＣを活性化することができたが、細胞をＺ１３Ｍａｄ５又はＭａｄ５Ａｎａｘａの存在下で培養した場合、かかる活性化は観察されなかったことを明確に示す。これは、ＴＬＲアゴニスト（Ａｎａｘａ又はＥＤＡ）がマクロファージ及び樹状細胞の活性化にとって極めて重要であるだけでなく、ＣＰＰも必要であることを示唆する。また、ＴＬＲアゴニストを有さずにＣＰＰが存在するだけでは十分ではなく、実際には、ＣＰＰ及びＴＬＲアゴニストの両方がマクロファージ及び樹状細胞の活性化にとって極めて重要である。

【０５１２】

これら結果は、別の細胞株を用いることによって、即ち、ＴＬＲ５を除く全てのＴＬＲを発現するＲａｗ２６４．７マウスマクロファージ細胞株において確認された（Ａｐｐｌｅｑｕｉｓｔ，Ｓ．Ｅ．，Ｒ．Ｐ．Ｗａｌｌｉｎ，ａｎｄ Ｈ．Ｇ．Ｌｊｕｎｇｇｒｅｎ，Ｖａｒｉａｂｌｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｉｎ ｍｕｒｉｎｅ ｉｎｎａｔｅ ａｎｄ ａｄａｐｔｉｖｅ ｉｍｍｕｎｅ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅｓ．Ｉｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００２．１４（９）：ｐ．１０６５－７４）。

【０５１３】

Ｒａｗ２６４．７細胞を平底９６ウェルプレートの培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（上記を参照）、又はＺ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）のいずれかで刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。

【０５１４】

Ｒａｗ２６４．７細胞において、Ｒａｗ２６４．７の培養上清中のＴＮＦ－αの分泌をモニタリングすることによってＡＰＣの活性化を調べた。上清中のＴＮＦ－α分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。結果を図３０に示す。

【０５１５】

ＣＰＰは、分子の細胞への侵入を促進し得るので、細胞内ＴＬＲのより優れたターゲティングを可能にすると考えられる。

【０５１６】
まとめると、データによって、ＡＰＣを活性化するためには、コンジュゲートコンストラクト内のＣＰＰ及びＴＬＲアゴニストの両方が極めて重要な役割を果たすことが明らかになった。この効果は、コンストラクトの細胞への侵入を支援することによって、細胞内ＴＬＲの最適なターゲティングが得られることに起因する。
【０５１７】
実施例１７：コンジュゲートコンストラクトのヒトＴＬＲ４に結合する能力
最近、Ａｎａｘａペプチドが、ＴＬＲ２を介するシグナル伝達によってアジュバント活性を有することが示され（国際公開第２０１２／０４８１９０（Ａ１）号）、一方、ＥＤＡペプチドは、ＴＬＲ４の天然リガンドである（Ｏｋａｍｕｒａ，Ｙ．，ｅｔ ａｌ．，Ｔｈｅ ｅｘｔｒａ ｄｏｍａｉｎ Ａ ｏｆ ｆｉｂｒｏｎｅｃｔｉｎ ａｃｔｉｖａｔｅｓ Ｔｏｌｌ－ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ４．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２００１．２７６（１３）：ｐ．１０２２９－３３）。
【０５１８】
更に、実施例８及び図１４において上に示した通り、ＴＬＲアゴニストとしてＡｎａｘａペプチドを含む本発明に従って使用するための複合体、例えば、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａは、ヒトＴＬＲ２に結合することができ、ＨＥＫ－ｈＴＬＲ２細胞によるＩＬ－８の分泌を促進することができる（実施例８、図１４を参照）。
【０５１９】
本試験では、ＴＬＲアゴニストとしてＡｎａｘａペプチドを含むか又はＴＬＲアゴニストとしてＥＤＡペプチドを含む本発明に係る複合体のヒトＴＬＲ４に結合する能力を評価した。この目的のために、ヒトＴＬＲ４をトランスフェクトしたＨＥＫ細胞（ＨＥＫ－ｈＴＬＲ４）を平底９６ウェルプレートの培養培地に播種し、１μＭのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（上記を参照）、Ｚ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）、又はＥＤＡＭａｄ５（実施例２を参照）のいずれかで刺激し、３７℃で２４時間インキュベートした。上清中のＩＬ－８分泌をＥＬＩＳＡによって定量した。
【０５２０】
結果を図３１に示す。予想通り、ＨＥＫ－ｈＴＬＲ４をＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５と共にインキュベートすることによってＩＬ－８が著しく分泌され、これは、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５のＴＬＲ４への結合を示す。実施例１６で得られた結果と一致して、ＥＤＡＭａｄ５（ＣＰＰを有しない）のＩＬ－８分泌は、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５と比べて顕著に低く、これは、ＣＰＰの存在の効果を示すものである。ＴＬＲアゴニストを含まないＺ１３Ｍａｄ５コンストラクトは、ＩＬ－８の分泌を示さず、これは、予想通り、ＴＬＲ４に結合しないことを示す。
【０５２１】
興味深いことに、ＨＥＫ－ｈＴＬＲ４をコンストラクトＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａと共にインキュベートすることによって最も顕著にＩＬ－８が分泌され、これは、Ｚ１３Ｍａｄ５ＡｎａｘａのＴＬＲ４への結合を示す。これまでＡｎａｘａはＴＬＲ２アゴニストであると仮定されていたので、この結果は驚くべきものである。同様に、ＣＰＰを含まないことを除いて同じコンストラクト（Ｍａｄ５Ａｎａｘａ）でもＩＬ－８分泌は顕著に低く、これは、実施例１６で得られた結果を裏付けるものである。
【０５２２】
まとめると、これらデータは、（ｉ）実施例１６で得られた結果を裏付けるものであり、（ｉｉ）ＥＤＡが実際にＴＬＲ４アゴニストであることを裏付けるものであり、（ｉｉｉ）驚くべきことに、Ａｎａｘａペプチドも ＴＬＲ４アゴニストであることを示す（ＴＬＲ２アゴニストであることに加えて、実施例８及び図１４を参照）。
【０５２３】
実施例１８：肺転移モデルにおける腫瘍成長に対するワクチンの有効性－半治療設定：ＴＬＲアゴニストＥＤＡ

この試験は、予防設定のメラノーマ肺転移モデルにおける、本発明に従って使用するための複合体、即ち、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５の有効性を示す実施例６に基づいている（図１３を参照）。

【０５２４】

本試験では、同じ肺転移モデル、並びにコンストラクトタンパク質ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５及びＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（コンストラクトの設計については実施例１及び２を参照）を用いた。しかし、半治療設定では、腫瘍細胞を移植する（ｄ０）と同時にＣ５７ＢＬ／６マウスにワクチン接種し、２回目は、移植の９日間後（ｄ９）に行った。右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）、又はＭＰＬＡを皮下注射することによってワクチン接種を実施した。０日目に、1×10^5個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をマウスにｉ．ｖ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、Ｚ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡ（ＥＤＡと等モル）、又はＭＰＬＡのみを皮下注射することによって、２回（ｄ０及びｄ９）ワクチン接種した。１３日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。結果を図３２に示す。

【０５２５】

結果は、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５がメラノーマ転移の成長の阻害についてＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡよりも僅かに強力であることを示す。更に、ＭＰＬＡのみを注射したマウスではアジュバント効果が観察されなかった。

【０５２６】

ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５及びＺ１３Ｍａｄ５＋ＭＰＬＡはいずれも、予防及び半治療設定において、肺におけるメラノーマ転移の成長を有意に阻害する。

【０５２７】

実施例１９：肺転移モデルにおける腫瘍成長に対するワクチンの有効性－半治療設定：ＴＬＲアゴニストＡｎａｘａ

この試験は、同じモデル（半治療設定）及び実験スケジュールを用いる実施例１８に基づいている。しかし、実施例１８におけるＥＤＡ　ＴＬＲペプチドの代わりに、ＴＬＲアゴニストとして「Ａｎａｘａ」ペプチドを含む本発明に係る複合体の効果を調べた。

【０５２８】

この目的のために、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに1×10^5個のＢ１６－ＯＶＡメラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４（Ａｎａｘａと等モル）を皮下注射することによって２回（ｄ０及びｄ９）ワクチン接種した。２１日目にマウスを安楽死させ、肺を摘出した。各肺ごとに転移病巣の数を計数した。結果を図３３に示す。

【０５２９】

結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが、メラノーマ転移の成長の阻害についてＺ１３Ｍａｄ５＋Ｐａｍ３ＣＳＫ４よりもかなり強力であることを示す。対照的に、Ｍａｄ５Ａｎａｘａは、肺における転移成長を管理することはできず、これもＣＰＰの重要性を強調するものである。

【０５３０】

要するに、Ｂ１６－ＯＶＡ肺転移実験は、肺におけるメラノーマ転移の成長の阻害においてＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが高度に有効であることを示した。

【０５３１】

実施例２０：神経膠芽腫モデルにおけるワクチンの有効性

この試験では、別の癌モデル、即ち、神経膠芽腫モデルを用いた。神経膠腫は、成人における原発性脳腫瘍の最も頻度の高い形態であり、多形性神経膠芽腫（ＧＢＭ）が最も致死性が高い。この腫瘍は、高度に浸潤性且つ攻撃性の挙動を示すことで有名である。現在、ＧＢＭに対する最良の治療は、手術、化学療法、及び放射線療法の組合せを含むレジメンであるが、生存期間中央値は僅か１４．６ヶ月間である。神経膠腫患者の予後を改善する新規治療法が医学的に切実に必要とされているが、未だ満たされていない。Ｔ細胞介在性免疫療法は、神経膠腫、特に高浸潤性ＧＢＭについての既存の治療法と併用するための

、概念的に魅力的な治療選択肢である。

【０５３２】

Ｇｌ２６１神経膠腫は、発癌物質誘導性マウス神経膠腫モデルである。このモデルは、ヒトＧＢＭと類似の成長特性を有する、免疫適格性動物で発現する非常に稀な脳腫瘍モデルの１つを表す（Ｎｅｗｃｏｍｂ，Ｅ．ａｎｄ Ｄ．Ｚａｇｚａｇ，Ｔｈｅ ｍｕｒｉｎｅ ＧＬ２６１ ｇｌｉｏｍａ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｍｏｄｅｌ ｔｏ ａｓｓｅｓｓ ｎｏｖｅｌ ｂｒａｉｎ ｔｕｍｏｒ ｔｒｅａｔｍｅｎｔｓ，ｉｎ ＣＮＳ Ｃａｎｃｅｒ Ｍｏｄｅｌｓ，Ｍａｒｋｅｒｓ，Ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ，Ｆａｃｔｏｒｓ，Ｔａｒｇｅｔｓ，ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ，Ｅ．Ｇ．Ｖａｎ Ｍｅｉｒ，Ｅｄｉｔｏｒ．２００９，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ：Ａｔｌａｎｔａ．ｐ．２２７－２４１；Ｊａｃｏｂｓ，Ｖ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ ｒｅｖｉｅｗ ｏｆ ｉｎ ｖｉｖｏ ＧＢＭ ｒｏｄｅｎｔ ｍｏｄｅｌｓ：ｅｍｐｈａｓｉｓ ｏｎ ｔｈｅ ＣＮＳ－１ ｔｕｍｏｕｒ ｍｏｄｅｌ．ＡＳＮ Ｎｅｕｒｏ，２０１１．３（３）：ｐ．ｅ００００６３）。脳内に移植した少数のＧｌ２６１細胞がＣ５７ＢＬ／６マウスにおいて脳内腫瘍を形成した（Ｚｈｕ，Ｘ．，ｅｔ ａｌ．，Ｐｏｌｙ－／ＣＬＣ ｐｒｏｍｏｔｅｓ ｔｈｅ ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｅｆｆｅｃｔｏｒ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎｔｏ ｉｎｔｒａｃｒａｎｉａｌ ｇｌｉｏｍａｓ ｖｉａ ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ＣＸＣＬ１０ ｉｎ ＩＦＮ－ａｌｐｈａ ａｎｄ ＩＦＮ－ｇａｍｍａ ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｍａｎｎｅｒｓ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ，２０１０．５９（９）：ｐ．１４０１－９；Ｚｈｕ，Ｘ．，ｅｔ ａｌ．，Ｔｏｌｌ ｌｉｋｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ－３ ｌｉｇａｎｄ ｐｏｌｙ－／ＣＬＣ ｐｒｏｍｏｔｅｓ ｔｈｅ ｅｆｆｉｃａｃｙ ｏｆ ｐｅｒｉｐｈｅｒａｌ ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎｓ ｗｉｔｈ ｔｕｍｏｒ ａｎｔｉｇｅｎ－ｄｅｒｉｖｅｄ ｐｅｐｔｉｄｅ ｅｐｉｔｏｐｅｓ ｉｎ ｍｕｒｉｎｅ ＣＮＳ ｔｕｍｏｒ ｍｏｄｅｌｓ．Ｊ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ，２００７．５：ｐ．１０）。細胞は、中等度に免疫原性であり、腫瘍部位において腫瘍特異的免疫応答を惹起することができる。しかし、腫瘍特異的免疫細胞は、腫瘍を完全に排除することはできない。

【０５３３】

最近、Ｍ．Ｏｌｌｉｎは、Ｈ－２ｂクラスＩ又はＩＩ分子：ヒトｇｐ１００$_{25-33}$、トリＯＶＡ$_{257-264}$、トリＯＶＡ$_{323-339}$、及びマウスＩ－Ｅα$_{52-68}$によって提示される４つのペプチドを発現する「Ｑｕａｄ Ｃａｓｓｅｔｔｅ」をＧｌ２６１細胞株にトランスフェクトすることによって、新規Ｇｌ２６１モデルを作製した（Ｏｈｌｆｅｓｔ，Ｊ．Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ｖａｃｃｉｎｅ ｉｎｊｅｃｔｉｏｎ ｓｉｔｅ ｍａｔｔｅｒｓ：ｑｕａｌｉｔａｔｉｖｅ ａｎｄ ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｖｅ ｄｅｆｅｃｔｓ ｉｎ ＣＤＢ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｐｒｉｍｅｄ ａｓ ａ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｘｉｍｉｔｙ ｔｏ ｔｈｅ ｔｕｍｏｒ ｉｎ ａ ｍｕｒｉｎｅ ｇｌｉｏｍａ ｍｏｄｅｌ．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ，２０１３．１９０（２）：ｐ．６１３－２０）。また、Ｑｕａｄ－Ｇｌ２６１細胞株は、ルシフェラーゼを安定して発現し、これによって、生物発光による腫瘍成長の追跡が可能になる。

【０５３４】

この試験の目的は、Ｑｕａｄ－Ｇｌ２６１神経膠芽腫モデルにおいて本発明に従って使用するための複合体の有効性を評価することであった。

【０５３５】

本発明に従って使用するための複合体、即ち、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）の効果を、上記神経膠芽腫モデルにおいて評価した。したがって、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチンを２回（Ｗｋ１及びＷｋ３）接種したＧｌ２６１－Ｑｕａｄ担腫瘍マウスにおいて、腫瘍部位におけるＴ細胞ホーミングを分析した。別々に投与したＺ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａ（Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａと等モル）をワクチン接種した群をコントロールとして用いた。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５×１０^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．（脳内）移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎ

ａｘａ（群１）又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａ（群２）をｓ．ｃ．注射することによって２回（移植後ｄ７及びｄ２１）ワクチン接種した。Ｗｋ４に血液及び脳浸潤性リンパ球（ＢＩＬ）を分析し、マルチマー染色によってｄ２８における血液及びＢＩＬ中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量した（１群当たりマウス５頭～８頭）。結果を図３４に示す。

【０５３６】

一般的に、血液中では低頻度のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞が定量された。しかし、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチン接種マウスの血液中では、より高い割合のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞が観察された。全ての群において、ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞はＢＩＬ中にかなり多く蓄積された。

【０５３７】

Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを２回ワクチン接種した後、ＢＩＬ中におけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的細胞ＣＤ８＋Ｔ細胞の頻度は、Ｚ１３Ｍａｄ５＋Ａｎａｘａ（１２％）よりも２倍高かった（２４％）。

【０５３８】

次に、サイトカイン分泌を評価した。この目的のために、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５×10^5個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回（ｄ７及びｄ２１）ワクチン接種した。ＢＩＬを単離し、ブレフェルジンＡの存在下でＳｌｌＮＦＥＫＬペプチドをロードした又はロードしなかった成熟ＢＭＤＣと共に６時間培養した後、サイトカインの細胞内染色を行った。結果を図３５に示す。

【０５３９】

異種であるにもかかわらず、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウス由来の脳浸潤性ＣＤ８　Ｔ細胞において高レベルのサイトカイン分泌が観察された。これら結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチンが、強力なエフェクタ機能を用いて担腫瘍マウスの脳においてより強いＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答を惹起できたことを示す。

【０５４０】

得られた結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが高脳浸潤性ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８免疫応答を惹起するのに有効であることを示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａは、脳における抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞によるサイトカインの分泌を促進することができる。

【０５４１】

実施例２１：Ｇｌ２６１－Ｑｕａｄ神経膠芽腫モデルにおける生存に対するワクチンの有効性

独立な実験において、コントロール及びＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチン接種マウスの生存をモニタリングした。治療設定では、ｉ．ｃ．腫瘍移植後７日目、２１日目、及び３５日目に２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを３回連続してワクチン接種した。

【０５４２】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５×10^5個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって３回（ｄ７、ｄ２１、及びｄ３５）ワクチン接種した。マウスを毎日計量し、体重減少が１５％超に達したとき安楽死させた。結果を図３６に示す。

【０５４３】

結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ治療ワクチンがコントロール群よりも有効であり、生存期間中央値が１０日間延長されたことを示す。

【０５４４】

実施例２２：皮下腫瘍モデルにおけるワクチンの有効性－予防設定

この試験は、図１７～１９に示す実施例１０で得られた結果に基づいている。

【０５４５】

腫瘍成長の管理に対する実施例７で設計したＡｎａｘａコンジュゲートコンストラクトタンパク質の効果を評価するために、ベンチマーク腫瘍モデル、即ち、ＥＧ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞のｓ．ｃ．移植を用いた。５日目及び１３日目にワクチン接種を実施した実施例１０とは対照的に、本試験では、腫瘍移植の２１日間前及び７日間前にマウスにワクチン接種する予防設定を評価した。

【０５４６】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスの右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって、２回（ｄ－２１及びｄ－７）ワクチン接種し、次いで、０日目に、左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した。腫瘍サイズをノギスで測定した。

【０５４７】

結果を図３７に示す：腫瘍体積（図３７Ａ）及び生存率（図３７Ｂ）。データは、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの予防的ワクチン接種が腫瘍成長の管理及び生存率に対して非常に有効であることを示す。腫瘍の体積は、コントロールマウスに比べてＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで処理したマウスでは高度に有意に減少する。生存率は、コントロールマウスに比べて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで処理したマウスでは高度に有意に増大する。

【０５４８】

実施例２３：皮下腫瘍モデルにおけるワクチンの有効性－定着腫瘍の治療設定

この試験は、図１７～１９に示す実施例１０で得られた結果及び図３７に示す実施例２２で得られた結果に基づいている。この試験の目的は、定着腫瘍に対するＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）の効果を評価することであった。

【０５４９】

この目的のために、Ｂ１６－ＯＶＡメラノーマ細胞のｓ．ｃ．モデルを用いた。このモデルでは、腫瘍細胞がゆっくりと拡がっているので、ワクチン接種時間域を大きくすることができる。

【０５５０】

腫瘍が定着し、目に見えるようになったら、即ち、腫瘍細胞移植の１４日間後に、低用量の０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの１回目のワクチン接種を実施した。２回目のワクチン接種は、２１日目に行った。

【０５５１】

したがって、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に1×10^{5}個のＢ１６－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回（ｄ１４及びｄ２１）ワクチン接種した。腫瘍成長及び生存曲線をモニタリングした。結果を図３８に示す。

【０５５２】

結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが定着可視腫瘍の成長を有効に管理することを示す。更に、定着可視腫瘍であるにもかかわらず、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで処理したマウスにおける生存率はコントロールに比べて増大した。

【０５５３】

実施例２４：皮下腫瘍モデルにおけるワクチンの有効性－治療設定：ＣＰＰの効果

この試験のプロトコルは、更なる群「Ｍａｄ５Ａｎａｘａ」（実施例１６を参照）を評価したことを除いて、実施例１０に記載の試験に対応する。

【０５５４】

簡潔に述べると、ベンチマーク腫瘍モデル、即ち、ＥＧ．７－ＯＶＡ胸腺腫細胞のｓ．ｃ．移植を用いた。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に3×10^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した。腫瘍移植後、５日目及び１３日目に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（群１）又はＭａｄ５Ａｎａｘａ（群２）を皮下注射することによって、７頭のマウスの群のそれぞれの右側腹部にｓ．ｃ．ワクチン接種し、コントロール群と比較した。腫瘍サイズをノギスで測定した。結果を図３９に示す。

【０５５５】

結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａで処理したマウスが、コントロールマウス及びＭａｄ５Ａｎａｘａ、即ち、ＣＰＰを有しないコンストラクトで処理したマウスの両方に比べて、腫瘍体積の有意な減少及び生存率の有意な増大を示す。これら結果は、ＣＰＰの存在によって腫瘍体積が有意に減少し、生存率が有意に増大する、即ち、ワクチン接種の効率が増大することを示す。したがって、結果は、実施例１０で得られた結果と共に、ＣＰＰ及びＴＬＲアゴニストの存在が腫瘍成長及び生存率に対して相乗効果を発揮することを示す。

【０５５６】

実施例２５：様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体の免疫応答の動態の比較

本発明に従って使用するための複合体における様々なＣＰＰの効果を調べるために、上記融合タンパク質Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）を用いた。

【０５５７】

更に、Ｚ１３以外のＣＰＰを含む更なる融合タンパク質、即ち、Ｚ１４（配列番号７）又はＺ１８（配列番号１１）を設計した。融合タンパク質は、様々な抗原由来の異なるＣＤ８$^+$及びＣＤ４$^+$エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」と、ＴＬＲ２ペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とも含む。したがって、以下のコンストラクトを更に設計した。

【０５５８】

Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ

配列：

【表３８】

MHHHHHHKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY REVAAAKESL KISQAVHAAH AEINEAGREV VGVGALKVPR NQDWLGVPRF AKFASFEAQG ALANIAVDKA NLDVEQLESI INFEKLTEWT GSSTVHEILC KLSLEGDHST PPSAYGSVKP YTNFDAE

(SEQ ID NO: 33)

【０５５９】

Ｚ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａ

配列：

【表３９】

MHHHHHHREV AAAKSSENDR LRLLLKESLK ISQAVHAAHA EINEAGREVV GVGALKVPRN QDWLGVPRFA KFASFEAQGA LANIAVDKAN LDVEQLESII NFEKLTEWTG SSTVHEILCK LSLEGDHSTP PSAYGSVKPY TNFDAE

(SEQ ID NO: 34)

【０５６０】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスを８つの異なる群（１群当たりマウス４頭）に割り付けた：２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａのいずれかを投与した３つの群、及びそれぞれのコントロール、０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａのいずれかを投与した３つの群、及びそれぞれのコントロール。マウスに５回（０週目、２週目、４週目、６週目、及び８週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目、３回目、４回目、及び５回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【０５６１】

結果を図４０に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種した全ての群は、コントロール群と比べてマルチマー陽性細胞の百分率の増大を示した（Ｚ１８Ｍａｄ５Ａｎａｘａの２回目のワクチン接種を除いて）。これら結果は、様々な細胞透過性ペプチドを有する本発明に係る複合体が、様々な用量で免疫応答を惹起できることを示す。

【０５６２】
実施例２６：様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体のＴ細胞免疫応答の比較
より詳細にＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答を調べるために、Ｃ５７ＢＬ／６マウスを３つの異なる群に割り付けた（１群当たりマウス３頭～４頭）：ナイーブ、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ。
【０５６３】
Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ群及びＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ群のＣ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照）又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例２５を参照）を５回（０週目、２週目、４週目、６週目、及び８週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。５回目のワクチン接種の９日間後、マウスを安楽死させ、器官を摘出し、マルチマー染色を実施して、脾臓、骨髄、及び排出リンパ節（鼠径及び腋窩）におけるＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の百分率を特定した。
【０５６４】
結果を図４１に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、マルチマー陽性細胞、特に、脾臓及び骨髄において同様の増加を示すと共に、排出リンパ節において僅かな増加を示す。
【０５６５】
上記マウスの同じ群において様々なＣＰＰを有する複合体をワクチン接種した後のＣＤ８　Ｔ細胞エフェクタ機能を更に調べるために、ＩＦＮ－γ産生細胞を定量するために５回目のワクチン接種の９日間後にＳＩＩＮＦＥＫＬ　ＯＶＡＣＤ８ペプチド（配列番号３５）で刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。
【０５６６】
結果を図４２Ａに示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブマウスに比べてＩＦＮ－γ産生細胞の有意な増加を示した。また、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスも、ナイーブマウスに比べてＩＦＮ－γ産生細胞の増加を示したが、この増加は有意ではなかった。これは、マウスの数が少ないことに起因している可能性がある（Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ群はマウス３頭）。
【０５６７】
上記マウスの同じ群において様々なＣＰＰを有する複合体をワクチン接種した後のＣＤ４　Ｔ細胞の応答について調べるために、ＩＦＮ－γ産生細胞を定量するために５回目のワクチン接種の９日間後にＯＶＡＣＤ４ペプチド（配列番号３６）で刺激した脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。
【０５６８】
結果を図４２Ｂに示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブマウスに比べてＩＦＮ－γ産生細胞の高度に有意な増加を示した。また、Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスも、ナイーブマウスに比べてＩＦＮ－γ産生細胞の増加を示したが、この増加は有意ではなかった。これは、マウスの数が少ないことに起因している可能性がある（Ｚ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ群はマウス３頭）。
【０５６９】
更に、マウスの上記群において、ＳＩＩＮＦＥＫＬ　ＯＶＡＣＤ８ペプチド（配列番号３５）で刺激した脾細胞に対して細胞内染色を実施して、ＣＤ１０７ａ$^{+}$ＩＦＮ－γ^{+}ＴＮＦ－α^{+}細胞を同定した。結果を図４３に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ＣＤ１０７ａ$^{+}$ＩＦＮ－γ^{+}ＴＮＦ－α^{+}細胞において同様の増加を示した。
【０５７０】
実施例２７：ＥＧ．７－ＯＶＡ　ｓ．ｃ．モデルにおける腫瘍成長及び生存に対する様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体の効果の比較
腫瘍成長及び生存に対する様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体の効果を調べるために、ＥＧ．７－ＯＶＡ　ｓ．ｃ．モデルを用いた。ｄ０に、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、３つの異なる群に割

り付けた（ナイーブ、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ、及びＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａ）。マウスの右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって、腫瘍移植後ｄ５及びｄ１３に２回ワクチン接種した。

【０５７１】

結果を図４４に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａのワクチン接種によって、コントロールマウスに比べて腫瘍体積が有意に減少する（図４４Ａ）と共に、コントロールマウスに比べて生存率が有意に増加した（図４４Ｂ）。これら結果は、両複合体Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ及びＺ１４Ｍａｄ５Ａｎａｘａが、腫瘍体積を有意に減少させ且つ生存期間を有意に延長することができることを示す。

【０５７２】

実施例２８：様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体をワクチン接種した後の免疫応答の比較

この実験では、ＴＬＲアゴニスト「ＥＤＡ」を有する複合体を用いることによって、本発明に従って使用するための複合体における様々なＣＰＰの効果を調べた。したがって、上記融合タンパク質ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例１を参照）を用いた。

【０５７３】

更に、Ｚ１３以外のＣＰＰを含む更なる融合タンパク質、即ち、Ｚ１４（配列番号７）又はＺ１８（配列番号１１）を設計した。これら融合タンパク質は、様々な抗原由来の異なるＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」及びＴＬＲ４ペプチドアゴニスト「ＥＤＡ」も含む。したがって、以下のコンストラクトを更に設計した。

【０５７４】

ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５

配列：

【表４０】

MHHHHHHNID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGE
DDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTKRY KNRVASRKSR AKFKQLLQHY
REVAAAKESL KISQAVHAAH AEINEAGREV VGVGALKVPR NQDWLGVPRF AKFASFEAQG
ALANIAVDKA NLDVEQLESI INFEKLTEWT GS

(SEQ ID NO: 37)

【０５７５】

ＥＤＡＺ１８Ｍａｄ５

配列：

【表４１】

MHHHHHHNID RPKGLAFTDV DVDSIKIAWE SPQGQVSRYR VTYSSPEDGI RELFPAPDGE
DDTAELQGLR PGSEYTVSVV ALHDDMESQP LIGIQSTREV AAAKSSENDR LRLLLKESLK
ISQAVHAAHA EINEAGREVV GVGALKVPRN QDWLGVPRFA KFASFEAQGA LANIAVDKAN
LDVEQLESII NFEKLTEWTG S

(SEQ ID NO: 38)

【０５７６】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスを８つの異なる群に割り付けた（１群当たりマウス４頭）：２ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５、又はＥＤＡＺ１８Ｍａｄ５のいずれかを投与した３つの群にびそれぞれのコントロール、０．５ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５、又はＥＤＡＺ１８Ｍａｄ５のいずれかを投与した３つの群及びそれぞれのコントロール群。マウスに３回（０週目、２週目、及び４週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目及び３回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し

、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス４頭を用いて実験１回）。

【０５７７】

結果を図４５に示す。ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５、又はＥＤＡＺ１８Ｍａｄ５をワクチン接種した全ての群が、コントロール群に比べてマルチマー陽性細胞の割合の増加を示した。これら結果は、様々な細胞透過性ペプチドを有する本発明に係る複合体が様々な用量で免疫応答を惹起することができることを示す。

【０５７８】

実施例２９：ＥＧ．７－ＯＶＡ　ｓ．ｃ．モデルにおける腫瘍成長及び生存に対するＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５の効果

腫瘍成長及び生存に対するＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５の効果を調べるために、ＥＧ．７－ＯＶＡ　ｓ．ｃ．モデルを用いた（同モデルにおけるＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５の効果については実施例４及び図９～１１を参照）。

【０５７９】

ｄ０に、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に３×１０^{5}個のＥＧ７－ＯＶＡ腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、２つの異なる群に割り付けた（ナイーブ及びＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５）。マウスの右側腹部に０．５ｎｍｏｌのＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５をｓ．ｃ．注射することによって、腫瘍移植後ｄ５及びｄ１３に２回ワクチン接種した。

【０５８０】

結果を図４６に示す。ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例４、図９～１１を参照）と同様に、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５のワクチン接種によって、コントロールマウスに比べて腫瘍体積が有意に減少する（図４６Ａ）と共に、コントロールマウスに比べて生存率が著しく増加した（図４６Ｂ）。これら結果は、ＥＤＡＺ１４Ｍａｄ５が、ＥＤＡＺ１３Ｍａｄ５（実施例４、図９～１１を参照）と同様に、腫瘍体積を有意に減少させ且つ生存期間を著しく延長することができることを示す。

【０５８１】

実施例３０：神経膠芽腫モデルにおけるＺ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａよりも優れたＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ融合コンストラクトの有効性

本発明に係る複合体の有効性について調べるために、神経膠芽腫モデルを選択した（実施例２０を参照）。即ち、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照；配列番号２８）をマウスのある群に投与し、一方、Ｚ１３Ｍａｄ５（配列番号２９）及びＡｎａｘａ（配列番号１５）を（両方一緒に）マウスの別の群に投与した。

【０５８２】

２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチンを２回（即ち、腫瘍移植（０日目）後７日目及び２１日目に）ワクチン接種したＧｌ２６１－Ｑｕａｄ担腫瘍マウス（１群当たりマウス７頭～１６頭）において、腫瘍部位におけるＴ細胞ホーミングを分析した。Ｚ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａ（Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａと等モル）の両方をワクチン接種した群をコントロールとして用いた。簡潔に述べると、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５×１０^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．（脳内）移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（群１）又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａ（群２）をｓ．ｃ．注射することによって２回（移植後ｄ７及びｄ２１）ワクチン接種した。２８日目に、血液及び脳浸潤性リンパ球（ＢＩＬ）を分析し、マルチマー染色によってｄ２８における血液及びＢＩＬ中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量した（１群当たり７頭～１６頭のマウス）。

【０５８３】

結果を図４７に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａの両方をワクチン接種したマウスに比べて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスの血液中では有意に高い割合のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞が観察された（図４７Ａ）。同様に、Ｚ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａを別々にワクチン接種したマウスに比べて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスのＢＩＬ中ではＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞のより多い蓄積が観察された（図４７Ｂ、ｐ＝０．０５３９）。

【０５８４】
次に、サイトカイン分泌を評価した。この目的のために、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに５×１０^{5}個のＧｌ２６１－Ｑｕａｄ腫瘍細胞をｉ．ｃ．移植し、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａをｓ．ｃ．注射することによって２回（ｄ７及びｄ２１）ワクチン接種した。ＢＩＬを単離し、ブレフェルジンＡの存在下でＳｌｌＮＦＥＫＬペプチド（配列番号３５）をロードした又はロードしなかった成熟ＢＭＤＣと共に６時間培養した後、サイトカインの細胞内染色を行った。
【０５８５】
結果を図４８に示す。一般的に、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウス由来の脳浸潤性ＣＤ８　Ｔ細胞において高レベルのサイトカイン分泌が観察された。特に、Ｚ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａを別々にワクチン接種したマウスに比べて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウス由来の脳浸潤性ＣＤ８　Ｔ細胞では、総ＩＦＮ－γとＩＦＮ－γ及びＴＮＦ－αとの有意に多い分泌が観察された。
【０５８６】
まとめると、これら結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチンが（別々に投与されたＺ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａと比べて）、強力なエフェクタ機能を用いて担腫瘍マウスの脳においてより強いＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答を惹起することができたことを示す。
【０５８７】
得られた結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａが高脳浸潤性ＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８免疫応答を惹起するのに有効であることを示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａは、脳における抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞によるサイトカインの分泌を促進することができる。
【０５８８】
実施例３１：本発明に係る複合体における別の抗原カーゴの効果
異なる抗原カーゴ（「Ｍａｄ８」）の効果について調べるために、細胞透過性ペプチド、様々な抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む別の複合体を設計した（「Ｚ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａ」）。Ｚ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａは、抗原カーゴにおけるＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７に記載）とは異なる。特に「Ｚ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａ」は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」と、糖タンパク質７０のＣＤ８及びＣＤ４エピトープを含む抗原カーゴ「ＭＡＤ８」と、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とを含む融合タンパク質である。以下にＺ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａのアミノ酸配列を示し、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」を下線付きで示し、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」をイタリック体で示す。
【表４２】
KRYKNRVASR KSRAKFKQLL QHYREVAAAK SSENDRLRLLLK VTYHSPSYAY HQFERRAILN RLVQFIKDRI SVVQALVLT*S TVHEILCKLS LEGDHSTPPS AYGSVKPYTN FDAE*
(SEQ ID NO: 39)
【０５８９】
ナイーブＢａｌｂ／ｃマウス（１群当たりマウス４頭）に２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａを４回（０週目、２週目、４週目、及び６週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。
【０５９０】
ワクチン接種後のＣＤ４　Ｔ細胞の応答について調べるために、ＩＦＮ－γ産生エピトープ特異的ＣＤ４及びＣＤ８　Ｔ細胞を定量するために、４回目のワクチン接種の１週間後にマウスを安楽死させ、器官を摘出し、ｇｐ７０ＣＤ４ペプチド（配列番号６４）又はｇｐ７０ＣＤ８ペプチド（配列番号６５）で刺激した脾細胞に対してエクスビボＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。
【０５９１】
結果を図４９に示す。Ｚ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイー

ブマウスに比べてＩＦＮ－γ産生細胞の有意な増加を示した。これらデータは、Ｚ１３Ｍａｄ８Ａｎａｘａワクチンが強力なエピトープ特異的ＣＤ８及びＣＤ４　Ｔ細胞免疫応答を惹起することができ、したがって、本発明に係る複合体が自己抗原免疫応答を惹起することができることを示す。

【０５９２】

実施例３２：本発明に係る複合体における別の抗原カーゴの効果

更なる異なる抗原カーゴ（「Ｍａｄ１１」）の効果について調べるために、細胞透過性ペプチドと、様々な抗原と、ＴＬＲペプチドアゴニストとを含む別の複合体を設計した（「Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａ」）。Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａは、抗原カーゴがＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７に記載）とは異なる。特に「Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａ」は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」と、Ｄｅｒｏｕａｚｉ Ｍ，Ｗａｎｇ Ｙ，Ｍａｒｌｕ Ｒ，ｅｔ ａｌ．Ｏｐｔｉｍａｌ ｅｐｉｔｏｐｅ ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ ａｆｔｅｒ ａｎｔｉｇｅｎ ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ ｕｓｉｎｇ ａ ｌｉｖｅ ｂａｃｔｅｒｉａｌ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｖｅｃｔｏｒ：Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ ｔｏ ＴＲＰ－２．Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ Ｂｕｇｓ．２０１０；１（１）：５１－６０．ｄｏｉ：１０．４１６１／ｂｂｕｇ．１．１．９４８２に記載されるサバイビンの２つのＣＤ８エピトープを含む抗原カーゴ「ＭＡＤ１１」と、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とを含む融合タンパク質である。以下にＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａのアミノ酸配列を示す。

【表４３】

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNYRIATFKNWPFLEDCAMEELT

VSEFLKLDRQRSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

(SEQ ID NO: 40)

【０５９３】

ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウス（１群当たりマウス５頭）に1×10^{5}個のＢ１６メラノーマ腫瘍細胞をｉ．ｖ．移植し、１ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａを皮下注射することによって２回（ｄ０及びｄ１０）ワクチン接種した。

【０５９４】

１８日目にマウスを安楽死させ、器官を摘出し、ＩＦＮ－γ産生サバイビン特異的Ｔ細胞を定量するために、サバイビンペプチドであるサバイビン２０－２８（配列番号６７）及びサバイビン９７－１０４（配列番号６８）で刺激した脾細胞に対してエクスビボＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【０５９５】

結果を図５０に示す。Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブマウスに比べて少ない転移を示した（図５０Ａ）。更に、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスの脾臓では、有意に多い数のＩＦＮ－γ産生サバイビン特異的Ｔ細胞が観察された（図４９Ｂ）。

【０５９６】

得られた結果は、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａが転移数の減少に有効であり、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａが脾臓における抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞によるサイトカイン分泌を促進できることを示す。

【０５９７】

実施例３３：本発明に係る複合体における別の抗原カーゴの効果

更なる異なる抗原カーゴ（「Ｍａｄ９」）の効果について調べるために、細胞透過性ペプチドと、様々な抗原と、ＴＬＲペプチドアゴニストとを含む別の複合体を設計した（「Ｚ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａ」）。Ｚ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａは、抗原カーゴがＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７に記載）とは異なる。特に「Ｚ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａ」は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」と、ＭＣ－３８腫瘍細胞株由来のＹａｄａｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０１４　Ｎｏｖ　２７；５１５（７５２８）：５７２－６によって同

定されたネオ抗原を含む抗原カーゴ「ＭＡＤ９」と、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とを含む融合タンパク質である。以下にＺ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａのアミノ酸配列を示し、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」を下線付きで示し、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」をイタリック体で示す。

【表４４】

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKHLELASMTNMELMSSIVSTVHEI

LCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

(SEQ ID NO: 41)

【０５９８】

ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウス（１群当たりマウス４頭）に２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａを４回（０週目、２週目、４週目、及び６週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。ワクチン接種後のＣＤ８　Ｔ細胞応答を調べるために、４回目のワクチン接種の１週間後にマウスを安楽死させ、器官を摘出し、ＩＦＮ－γ産生エピトープ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量するために、ａｄｐｇｋペプチド（配列番号６６）によって７日間インビトロで再刺激した後、脾細胞に対してＥｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【０５９９】

結果を図５１に示す。Ｚ１３Ｍａｄ９Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブマウスに比べてエフェクタネオ抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の有意な増加を示した。

【０６００】

実施例３４：様々な細胞透過性ペプチドを有する複合体をワクチン接種した後の免疫応答の比較

この実験では、ＴＬＲアゴニスト「Ａｎａｘａ」を有する複合体を用いることによって、本発明に係る複合体における更なる異なるＣＰＰの効果を調べた。したがって、上記融合タンパク質Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照、配列番号２８）を用いた。

【０６０１】

更に、Ｌｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｕｌｔｉｅｐｉｔｏｐｅ　ｔｒｏｊａｎ　ａｎｔｉｇｅｎ　ｐｅｐｔｉｄｅ　ｖａｃｃｉｎｅｓ　ｆｏｒ　ｔｈｅ　ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ　ｏｆ　ａｎｔｉｔｕｍｏｒ　ＣＴＬ　ａｎｄ　Ｔｈ　ｉｍｍｕｎｅ　ｒｅｓｐｏｎｓｅｓ　Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１７２（２００４），ｐｐ．４５７５－４５８２に記載の通りフリンリンカーに結合されたＴＡＴ　ＣＰＰを含む更なる融合タンパク質を設計した。その融合タンパク質は、様々な抗原由来の異なるＣＤ８$^{+}$及びＣＤ４$^{+}$エピトープからなるタンパク質「ＭＡＤ５」及びＴＬＲ４ペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」も含む。したがって、以下のコンストラクトを更に設計した。

【０６０２】

ＴａｔＦＭａｄ５Ａｎａｘａ

配列：

【表４５】

RKKRRQRRRRVKRISQAVHAAHAEINEAGRRVKRKVPRNQDWLRVKRASFEAQGALANIAVD

KARVKRSIINFEKLRVKRSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

(SEQ ID NO: 46)

【０６０３】

Ｃ５７ＢＬ／６マウスを３つの異なる群に割り付けた（１群当たりマウス８頭）：２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａを投与した１つの群、２ｎｍｏｌのＴａｔＦＭａｄ５Ａｎａｘａを投与した１つの群、及びそれぞれのコントロール。マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又は２ｎｍｏｌのＴａｔＦＭａｄ５Ａｎａｘａのいずれかを２回

（０週目及び２週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。２回目のワクチン接種の７日間後にマウスから採血し、マルチマー染色を実施した（１群当たりマウス８頭）。

【０６０４】

結果を図５２に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ又はＴａｔＦＭａｄ５Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、コントロール群に比べてマルチマー陽性細胞の割合の増加を示した。これら結果は、様々な細胞透過性ペプチドを有する本発明に係る複合体が様々な経路で免疫応答を惹起することができることを示す。しかし、ＺＥＢＲＡ（Ｚ１３）に由来するＣＰＰは、ＴＡＴ　ＣＰＰよりも優れていた。

【０６０５】

実施例３５：ナイーブマウスにおけるＺ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａよりも優れたＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ融合コンストラクトの有効性

次に、本発明に係る複合体の有効性をナイーブマウスで調べた。即ち、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７を参照；配列番号２８）をマウスのある群に投与し、一方、Ｚ１３Ｍａｄ５（配列番号２９）及びＡｎａｘａ（配列番号１５）を（両方一緒に）マウスの別の群に投与した。

【０６０６】

Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ群及びＺ１３Ｍａｄ５＋Ａｎａｘａ群のＣ５７ＢＬ／６マウスに２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（群１）又は２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５及び２ｎｍｏｌのＡｎａｘａ（群２）をｓ．ｃ．注射することによって１回（０週目）ワクチン接種した。１４日目に、血液を分析し、マルチマー染色によって血液中のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞を定量した（１群当たりマウス４頭～８頭）。

【０６０７】

結果を図５３に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａを別々にワクチン接種したマウスに比べて、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチン接種マウスの血液中では有意に高い割合のＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞が観察された（図５３）。

【０６０８】

まとめると、これら結果は、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチンは、（別々に投与されたＺ１３Ｍａｄ５及びＡｎａｘａと比べて）末梢においてより強いＳＩＩＮＦＥＫＬ特異的ＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答を惹起することができたことを示す。

【０６０９】

実施例３６：本発明に係る複合体における別の抗原カーゴの効果

更なる異なる抗原カーゴ（「Ｍａｄ１２」）の効果について調べるために、細胞透過性ペプチドと、様々な抗原と、ＴＬＲペプチドアゴニストとを含む別の複合体を設計した（「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」）。Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａは、抗原カーゴがＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（実施例７に記載）とは異なる。特に「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」と、ＭＣ－３８腫瘍細胞株由来のＹａｄａｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０１４　Ｎｏｖ　２７；５１５（７５２８）：５７２－６によって同定された３つのネオ抗原を含む抗原カーゴ「ＭＡＤ１２」と、ＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」とを含む融合タンパク質である。以下にＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａのアミノ酸配列を示す。

【表４６】

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKLFRAAQLANDVVLQIMEHLELA

SMTNMELMSSIVVISASIIVFNLLELEGSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

(SEQ ID NO: 69)

【０６１０】

ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウス（１群当たりマウス４頭）に２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａを２回（０週目、２週目）ｓ．ｃ．ワクチン接種した。ワクチン接種後のＣＤ８　Ｔ細胞応答を調べるために、２回目のワクチン接種の１週間後に血液を分析し、

血液中のネオ抗原ｒｅｐｓ１特異的ＣＤ８　Ｔ細胞をマルチマー染色によって定量した（１群当たりマウス４頭）。

【０６１１】

結果を図５４に示す。Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブマウスに比べてエフェクタネオ抗原特異的ＣＤ８　Ｔ細胞の有意な増加を示した。

【０６１２】

実施例３７：インビトロにおけるヒト樹状細胞の成熟

この試験の目的は、ＴＬＲペプチドアゴニストを有しない複合体（「Ｚ１３Ｍａｄ５」、配列番号２９、実施例１を参照）と比較した、本発明に従って使用するための複合体（「Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ」、配列番号２８、実施例７を参照）の樹状細胞の成熟を誘導する能力について調べた。

【０６１３】

Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａポリペプチド及びＺ１３Ｍａｄ５ポリペプチドのヒト樹状細胞（ＤＣ）の成熟を誘導する能力について調べた。３００ｎＭのタンパク質と共に一晩インキュベートした後、ＦＡＣＳによってヒトＤＣにおける活性化マーカーの発現（ＣＤ８６、ＣＤ８０、ＣＤ８３、及びＨＬＡ－ＤＲ）を評価した（図５５）。各タンパク質と同じ体積のバッファをネガティブコントロールとして用いた。

【０６１４】

結果を図５５に示す。Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａは、ＣＤ８６、ＨＬＡＤＲ、及びＣＤ８３のアップレギュレーションによって示されるヒトＤＣの成熟を誘導したが、Ｚ１３Ｍａｄ５はヒトＤＣを活性化することができなかった。これら結果は、タンパク質のＡｎａｘａ部分がヒトＤＣにおける活性化マーカーのアップレギュレーションの原因であることを示す。

【０６１５】

実施例３８：反復ワクチン接種の過程におけるＣＤ８　Ｔ細胞免疫応答

エフェクタＴ細胞のプールが数ヶ月に亘って維持され得るかどうかを調べるために、反復ワクチン接種を実施した。即ち、Ｃ５７ＢＬ／６マウスに、２ｎｍｏｌのコンストラクトＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（配列番号２８）を６回皮下にワクチン接種した（０、２、４、８、１２、１６週）。各ワクチン接種の７日後（及びワクチン接種前）にマウスから採血し、ペンタマー染色を行って血液中のＯＶＡ特異的免疫応答をモニターした（１群当たり４頭のマウスで２回の実験）。図５６に、ペンタマー陽性ＣＤ８＋Ｔ細胞の割合を、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａワクチン接種マウス及びコントロールマウスについて示す。

【０６１６】

これらのデータは、６回のワクチン接種で４ヶ月間（１７週間）に亘ってエフェクタＴ細胞のプールが維持され得ることを示す。

【０６１７】

実施例３９：マウスＭＣ３８結腸直腸癌モデルにおける本発明に係る複合体の評価

マウス結腸直腸癌モデルにおける本発明に係る複合体の効果を評価するために、マウスＭＣ３８結腸直腸癌モデルを選択した。ＭＣ３８は、結腸癌細胞株である。

【０６１８】

ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウスの左側腹部に、2×10^{5}個のＭＣ３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植し、右側腹部に２ｎｍｏｌのコンストラクトＺ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａ（実施例３２参照、配列番号４０）を皮下注射することにより２回（腫瘍移植前の－ｄ２１及び－ｄ７）ワクチン接種した。「Ｍａｄ１１」抗原カーゴは、マウスＭＣ３８結腸直腸モデルによって発現される２つのサバイビンエピトープを含む。

【０６１９】

結果を、図５７に示す。Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは、ナイーブなマウスと比較して有意に小さい腫瘍体積を示した（図５７Ａ）。更に、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスは有意に高い生存率を示した（図５７Ｂ）。

【０６２０】
得られた結果は、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａがコントロールと比較して腫瘍成長を有意に減少させ且つ遅延させることができたことを示す。更に、Ｚ１３Ｍａｄ１１Ａｎａｘａをワクチン接種したマウスの生存率が上昇した。
【０６２１】
実施例４０：マウスにおける予備的毒性試験
マウスにおける本発明に係る複合体の毒性を評価するために、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（配列番号２８）を２ｎｍｏｌ、ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウスにｓ．ｃ．及びｉ．ｖ．注射した。投与後０．５、１．５、及び３時間で採血を行った。市販のマルチプレックスキット（Ｌｕｍｉｎｅｘ）を血中サイトカインの検出及び定量に使用し、４頭のマウスを各時点でサンプリングした。しかし、いずれの炎症誘発性サイトカインの発現も検出することができなかった。マルチプレックスキットを古典的なＥＬＩＳＡと比較して同様の結果が得られたことに留意すべきである（データは示さず）。
【０６２２】
次に、Ｚ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａ（配列番号２８）の投与量を１０ｎｍｏｌに増やした。しかし、再度、ｓ．ｃ．投与後にサイトカインは検出されなかった。ｓ．ｃ．投与とは対照的に、ｉ．ｖ．投与後１．５時間で、ＩＬ－６及びＴＮＦαの一時的な上昇が観察された。しかし、この僅か上昇は、３時間後に消失した（図５８）。マウスにおける１０ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ５Ａｎａｘａの皮下注射は、処置後６時間までサイトカイン放出を誘起しなかった（データは示さず）。
【０６２３】
実施例４１：ＭＣ－３８腫瘍部位へのＴ細胞のホーミングに対する、細胞透過性ペプチド、異なる抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む複合体の効果
Ｔ細胞の腫瘍部位へのホーミングに対する、細胞透過性ペプチド、異なる抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む複合体の効果を評価するために、マウスに、ＭＣ－３８腫瘍モデルにおける細胞透過性ペプチド、異なる抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストをワクチン接種した。２７日目に、マウスを安楽死させ、ＦＡＣＳ染色を行って、ＴＩＬ（腫瘍浸潤リンパ球）中のネオ抗原特異的免疫応答をモニターした。
【０６２４】
Ｃ５７ＢＬ／６マウス（１群当たり４頭のマウス、雌、７週齢）の左側腹部に、2×10^{5}個のＭＣ－３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した（０日目）。腫瘍移植後、３、１０、及び１７日目に、「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群のマウスの尾部に、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ（実施例３６参照、配列番号６９）を皮下にワクチン接種した。
【０６２５】
図５９、６０、及び６１に示すように、ネオ抗原特異的Ｔ細胞は、ワクチン接種マウスの腫瘍部位に蓄積する。マルチマー陽性細胞の割合は、Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａワクチン接種マウスにおいて有意に上昇した。最も低い割合のマルチマー陽性細胞が、コントロールマウスに見られた。
【０６２６】
実施例４２：ヒトコンストラクトによるヒト樹状細胞活性化
この研究の目的は、異なるヒト抗原カーゴを含む本発明に係る異なる複合体の、ヒト樹状細胞の成熟を誘起する能力を調べることであった。この目的のために、コンストラクトＡＴＰ１１０（配列番号７２）、ＡＴＰ１１２（配列番号７４）、ＡＴＰ１１５（配列番号７７）、ＡＴＰ１１７（配列番号７９）、ＡＴＰ１１８（配列番号８０）、ＡＴＰ１１９（配列番号８１）、ＡＴＰ１２０（配列番号８２）、ＡＴＰ１２２（配列番号８４）、ＡＴＰ１２３（配列番号８５）、及びＡＴＰ１２５（配列番号８７）のそれぞれを試験した。ＤＣ活性化の評価に使用する生物学的指標は、４種の膜抗原：ＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８０、ＣＤ８３、及びＣＤ８６の発現強度に基づく活性化の割合を示す活性化指数とした。
【０６２７】
前記コンストラクト（ＡＴＰ１１０（配列番号７２）、ＡＴＰ１１２（配列番号７４）

、ＡＴＰ１１５（配列番号７７）、ＡＴＰ１１７（配列番号７９）、ＡＴＰ１１８（配列番号８０）、ＡＴＰ１１９（配列番号８１）、ＡＴＰ１２０（配列番号８２）、ＡＴＰ１２２（配列番号８４）、ＡＴＰ１２３（配列番号８５）、及びＡＴＰ１２５（配列番号８７））のそれぞれの３００ｎＭ又は６００ｎＭと共に一晩インキュベートした後、活性化マーカー発現（ＣＤ８６、ＣＤ８０、ＣＤ８３、及びＨＬＡ－ＤＲ）を、ＦＡＣＳによってヒト樹状細胞上において評価した（図６２～７１）。各コンストラクトの同一バッファ量をネガティブコントロールとして使用した。

【０６２８】

結果を、図６２～７１に示す。被験コンストラクトはいずれも、ＣＤ８６、ＨＬＡＤＲ、及びＣＤ８３のアップレギュレーションによって示される樹状細胞成熟を示す。

【０６２９】

実施例４３：大腸癌モデルにおける腫瘍成長及び生存率に対する、ＰＤ１阻害剤と、細胞透過性ペプチド、異なる抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む複合体との組合せの効果

結腸直腸癌の治療における、ＰＤ１阻害剤と、細胞透過性ペプチド、異なる抗原、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む複合体との組合せの効果を評価するために、ＭＣ－３８腫瘍モデルを使用した。ＭＣ－３８は、結腸癌細胞株である。

【０６３０】

この目的のために、Ｃ５７ＢＬ／６マウス（１群当たり１３～１４頭のマウス、雌、７週齢）の左側腹部に、2×10^{5}個のＭＣ－３８腫瘍細胞をｓ．ｃ．移植した（０日目）。腫瘍移植後、３、１０、及び１７日目に、「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスの尾部に、２ｎｍｏｌのＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ（実施例３６参照、配列番号６９）を皮下にワクチン接種した。６、１０、１３、１７、２０、２４、及び２７日目のそれぞれで、「抗ＰＤ１」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋抗ＰＤ１」群のマウスに、２００μｇの抗ＰＤ１抗体ＲＭＰ１－１４（ＢｉｏＸｃｅｌｌ、ウェストレバノン、ＮＨ、ＵＳＡ）をｉ．ｐ．投与した。１０日目及び１７日目に、Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａと抗体の両方を投与する場合、Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａのｓ．ｃ．投与の直後に抗体をｉ．ｐ．投与した。腫瘍サイズをノギスで測定した。

【０６３１】

図７２及び７３に示されるように、ＰＤ１阻害剤単独又はＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ単独による処置は、コントロール群と比較して、有意に減少した腫瘍体積（図７２Ａ）及び上昇した生存率（図７２Ｂ）をもたらした。しかし、ＰＤ１阻害剤とＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａの両方の組合せは、最も顕著な改善、即ち、腫瘍体積の大幅な減少と生存率の大幅な上昇をもたらした。注目すべきことに、「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋ａＰＤ１」群では、３頭のマウスのみが腫瘍を発症したが（１０頭のマウスは無腫瘍のままであった）、一方で、「ａＰＤ１」群及び「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群では、それぞれ８頭及び１０頭のマウスが腫瘍を発症した。コントロール群では、全てのマウスが腫瘍を発症した。これらのデータは、抗ＰＤ１療法及びＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａワクチン接種との組合せが、抗ＰＤ１療法単独又はＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａワクチン接種単独よりも効率的であることを示す。

【０６３２】

図７３に示すように、「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ＋ａＰＤ１」群における無腫瘍マウスの数（１３頭のマウス中１０頭のマウス）は、「ａＰＤ１」群における無腫瘍マウスの数（１４頭のマウス中６頭のマウス）と「Ｚ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａ」群における無腫瘍マウスの数（１３頭のマウス中３頭のマウス）の合計よりも多い。したがって、これらの結果は、抗ＰＤ１療法とＺ１３Ｍａｄ１２Ａｎａｘａワクチン接種の相乗効果を示す。

【０６３３】

実施例４４：ＡＴＰ１２８のワクチン接種後にマウスにおいて誘発された免疫応答

細胞透過性ペプチド、３つの抗原（サバイビン、ＣＥＡ、及びＡＳＣＬ２）のエピトープ、及びＴＬＲペプチドアゴニストを含む別のヒトコンストラクトＡＴＰ１２８（配列番号８９）を設計した。具体的には、「ＡＴＰ１２８」（配列番号８９）は、細胞透過性ペプチド「Ｚ１３」（配列番号６）、３つの抗原、サバイビン、ＣＥＡ、及びＡＳＣＬ２のエピトープ、並びにＴＬＲペプチドアゴニスト「Ａｎａｘａ」（即ち、配列番号７１に係るＴＬＲペプチドアゴニスト）を含む融合タンパク質である。以下に、ＡＴＰ１２８のアミノ酸配列を示す。

【表４７】

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQ
NSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNN
GTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSA
VKKQFEELTLGEFLKLDRERAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLR
SAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSSWLGGYST
VHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

(SEQ ID NO: 89)

【０６３４】

ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウス（１群当たり５頭のマウス、雌、７週齢）に、４ｎｍｏｌのＡＴＰ１２８（配列番号８９）の皮下注射によってワクチン接種した。コントロールマウスには、ビヒクル（ワクチンバッファ）を投与した。処置の７日後に、マウスから採血し、ＩＦＮ－γ産生ワクチン特異的Ｔ細胞を定量するために、ＡＴＰ１２８をロードしたマウス樹状細胞で刺激した血液細胞に対してｅｘ　ｖｉｖｏ　Ｅｌｉｓｐｏｔアッセイを実施した。

【０６３５】

結果を図７４に示す。ＡＴＰ１２８でワクチン接種したマウスは、ナイーブなマウスと比較してより高いＡＴＰ１２８特異的免疫応答を示した。

【０６３６】

得られた結果は、ＡＴＰ１２８が、マウスにおいて免疫応答を誘発するのに有効であることを示す。

【０６３７】

実施例４５：ＡＴＰ１２８コンストラクトによるヒト樹状細胞活性化

この研究の目的は、ヒト抗原カーゴを含むＡＴＰ１２８（配列番号８９）の、ヒト樹状細胞（ヒトＤＣ）の成熟を誘起する能力を調べることであった。この目的のために、ＡＴＰ１２８（配列番号８９）を試験した。ＤＣ活性化の評価に使用する生物学的指標は、４種の膜抗原：ＨＬＡ－ＤＲ、ＣＤ８０、ＣＤ８３、及びＣＤ８６の発現強度に基づく活性化の割合を示す活性化指数（図７５）とした。

【０６３８】

ＡＴＰ１２８（配列番号８９）の３００ｎＭと共に一晩インキュベートした後、活性化マーカー発現（ＣＤ８６、ＣＤ８０、ＣＤ８３、及びＨＬＡ－ＤＲ）を、ＦＡＣＳによってヒト樹状細胞上において評価した（図７５）。同一バッファ量をネガティブコントロールとして、ＭＰＬＡをポジティブコントロールとして使用した。

【０６３９】

結果を、図７５に示す。結果は、ＡＴＰ１２８が、ヒトＤＣを強力に活性化できることを示す。

【０６４０】

実施例４６：ＡＴＰ１２８コンストラクトによるヒト樹状細胞活性化

ヒト細胞がＡＴＰ１２８（配列番号８９）に含まれるエピトープペプチドを処理し提示することができることを確認するために、２体の異なるドナー（ドナー「９」及び「１０」と命名）に由来するヒト樹状細胞（ヒトＤＣ）にＡＴＰ１２８を一晩ロードし、ＨＬＡ

クラスＩ及びクラスＩＩ／提示ペプチド精製、ペプチド溶出、及び質量分析による特性評価のために処理した。簡潔に述べると、衝撃凍結させたヒトＤＣ試料由来のペプチドプールを、ＨＬＡ特異的抗体を用いた免疫沈降、酸処理、及び限外濾過によって得た。ＨＬＡペプチドプールを逆相クロマトグラフィーによりそれらの疎水性に従って分離し、溶出したペプチドを質量分析計（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で分析した。次いで、データを収集し、断片化されていないペプチドの質量シグナル及びペプチド配列情報を含む断片スペクトルを分析することによって自動処理した。誤検出率（ＦＤＲ）は、パーコレータアルゴリズム（Ｋａｌｌ　Ｌ，　Ｃａｎｔｅｒｂｕｒｙ　ＪＤ，　Ｗｅｓｔｏｎ　Ｊ，　Ｎｏｂｌｅ　ＷＳ，　ＭａｃＣｏｓｓ　ＭＪ　（２００７）Ｓｅｍｉ－ｓｕｐｅｒｖｉｓｅｄ　ｌｅａｒｎｉｎｇ　ｆｏｒ　ｐｅｐｔｉｄｅ　ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｆｒｏｍ　ｓｈｏｔｇｕｎ　ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ　ｄａｔａｓｅｔｓ．　Ｎａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　４（１１）：９２３－９２５）により、シャッフルされたターゲットデータベースからなるデコイデータベースに対する処理に基づき決定した。ＨＬＡクラスＩでは、ペプチド長を８～１２ａａの長さに制限した。ＨＬＡクラスＩＩでは、ペプチド長を１２～２５ａａの長さに制限した。ＨＬＡアノテーションは、ＳＹＦＰＥＩＴＨＩ（ｗｗｗ．ｓｙｆｐｅｉｔｈｉ．ｄｅ）を使用して実施した。

【０６４１】

データから、ＡＴＰ１２８をロードしたヒトＤＣが、マルチ抗原ドメインに由来するクラスＩ及びクラスＩＩエピトープペプチドの両方を処理及び提示することができることが示された（図７６）。全ての抗原に由来するペプチドが、クラスＩプールにおいて同定された。より多くのクラスＩＩ結合ペプチドが、ワクチンの全ての抗原部分から同定された。

【表４８－１】

配列及び配列番号の表(配列表):

配列番号	配列	注釈
SEQ ID NO: 1	RQIKIYFQNRRMKWKK	CPP: ﾍﾟﾈﾄﾗﾁﾝ
SEQ ID NO: 2	YGRKKRRQRRR	CPP: TAT 最小
SEQ ID NO: 3	MMDPNSTSEDVKFTPDPYQVPFVQAFDQATRV YQDLGGPSQAPLPCVLWPVLPEPLPQGQLTAY HVSTAPTGSWFSAPQPAPENAYQAYAAPQLFP VSDITQNQQTNQAGGEAPQPGDNSTVQTAA AVVFACPGANQGQQLADIGVPQPAPVAAPAR RTRKPQQPESLEECDSELEIKRYKNRVASRKCRAK FKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSL DVDSIIPRTPDVLHEDLLNF	ZEBRA アミノ酸配列(ｴﾌﾟｽﾀｲﾝ・ﾊﾞｰｳｲﾙｽ(EBV)由来の天然配列) (YP_401673)
SEQ ID NO: 4	KRYKNRVASRKCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSE NDRLRLLLKQMC	CPP1 (Z11)
SEQ ID NO: 5	KRYKNRVASRKCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSE NDRLRLLLK	CPP2 (Z12)
SEQ ID NO: 6	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSE NDRLRLLLK	CPP3 (Z13)
SEQ ID NO: 7	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK	CPP4 (Z14)
SEQ ID NO: 8	KRYKNRVASRKSRAKFK	CPP5 (Z15)
SEQ ID NO: 9	QHYREVAAAKSSEND	CPP6 (Z16)
SEQ ID NO: 10	QLLQHYREVAAAK	CPP7 (Z17)
SEQ ID NO: 11	REVAAAKSSENDRLRLLLK	CPP8 (Z18)
SEQ ID NO: 12	KRYKNRVA	CPP9 (Z19)
SEQ ID NO: 13	VASRKSRAKFK	CPP10 (Z20)
SEQ ID NO: 14	ESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGAL KVPRNQDWLGVPRFAKFASFEAQGALA NIAVDKANLDVEQLESIINFEKLTEWTGS	MAD5 ｶｰｺﾞ
SEQ ID NO: 15	STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	TLR2 ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞｱｺﾞﾆｽﾄ Anaxa
SEQ ID NO: 16	DDDK	ｴﾝﾃﾛｷﾅｰｾﾞ標的部位
SEQ ID NO: 17	IEDGR	第Xa因子標的部位
SEQ ID NO: 18	LVPRGS	ﾄﾛﾝﾋﾞﾝ標的部位
SEQ ID NO: 19	ENLYFQG	ﾌﾟﾛﾃｱｰｾﾞTEV標的部位
SEQ ID NO: 20	LEVLFQGP	ﾌﾟﾚｼｼﾞｮﾝﾌﾟﾛﾃｱｰｾﾞ標的
SEQ ID NO: 21	RX(R/K)R	ﾌﾘﾝ標的部位
SEQ ID NO: 22	GGGGG	ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾘﾝｶｰ

【表４８－２】

SEQ ID NO: 23	GGGG	ペプチドリンカー
SEQ ID NO: 24	EQLE	ペプチドリンカー
SEQ ID NO: 25	TEWT	ペプチドリンカー
SEQ ID NO: 26	MHHHHHHNIDRPKGLAFTDVDVDSIKIA WESPQGQVSRYRVTYSSPEDGIRELFPAP DGEDDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDD MESQPLIGIQSTKRYKNRVASRKSRAKFKQ LLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKESLKISQ AVHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRN QDWLGVPRFAKFASFEAQGALANIAVDK ANLDVEQLESIINFEKLTEWTGS	EDAZ13Mad5
SEQ ID NO: 27	MHHHHHHSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSA YGSVKPYTNFDAEKRYKNRVASRKSRAKF KQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKESLKI SQAVHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPR NQDWLGVPRFAKFASFEAQGALANIAVD KANLDVEQLESIINFEKLTEWTGS	AnaxaZ13Mad5
SEQ ID NO: 28	MHHHHHHKRYKNRVASRKSRAKFKQLL QHYREVAAAKSSENDRLRLLLKESLKISQA VHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQD WLGVPRFAKFASFEAQGALANIAVDKANL DVEQLESIINFEKLTEWTGSSTVHEILCKLSL EGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Z13Mad5Anaxa
SEQ ID NO: 29	MHHHHHHKRYKNRVASRKSRAKFKQLL QHYREVAAAKSSENDRLRLLLKESLKISQAV HAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQD WLGVPRFAKFASFEAQGALANIAVDKANL DVEQLESIINFEKLTEWTGS	Z13Mad5
SEQ ID NO: 30	MHHHHHHESLKISQAVHAAHAEINEAGREV VGVGALKVPRNQDWLGVPRFAKFASFEAQ GALANIAVDKANLDVEQLESIINFEKLTEWTG S	Mad5
SEQ ID NO: 31	MHHHHHHNIDRPKGLAFTDVDVDSIKIA WESPQGQVSRYRVTYSSPEDGIRELFPAP DGEDDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDD MESQPLIGIQSTESLKISQAVHAAHAEINE AGREVVGVGALKVPRNQDWLGVPRFAK FASFEAQGALANIAVDKANLDVEQLESIIN FEKLTEWTGS	EdaMad5

【表４８－３】

SEQ ID NO: 32	MHHHHHHESLKISQAVHAAHAEINEAG REVVGVGALKVPRNQDWLGVPRFAKFAS FEAQGALANIAVDKANLDVEQLESIINFEK LTEWTGSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAY GSVKPYTNFDAE	Mad5Anaxa
SEQ ID NO: 33	MHHHHHHKRYKNRVASRKSRAKFKQLL QHYREVAAAKESLKISQAVHAAHAEINE AGREVVGVGALKVPRNQDWLGVPRFA KFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQLESI INFEKLTEWTGSSTVHEILCKLSLEGDHST PPSAYGSVKPYTNFDAE	Z14 Mad5Anaxa
SEQ ID NO: 34	MHHHHHHREVAAAKSSENDRLRLLLKES LKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGALKV PRNQDWLGVPRFAKFASFEAQGALANIA VDKANLDVEQLESIINFEKLTEWTGSSTVH EILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDA E	Z18 Mad5Anaxa
SEQ ID NO: 35	SIINFEKL	SIINFEKL OVACD8
SEQ ID NO: 36	ISQAVHAAHAEINEAGR	OVACD4 ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ
SEQ ID NO: 37	MHHHHHHHNIDRPKGLAFTDVDVDSIKIA WESPQGQVSRYRVTYSSPEDGIRELFPAP DGEDDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDD MESQPLIGIQSTKRYKNRVASRKSRAKFKQ LLQHYREVAAAKESLKISQAVHAAHAEIN EAGREVVGVGALKVPRNQDWLGVPRFA KFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQLESII NFEKLTEWTGS	EDAZ14Mad5
SEQ ID NO: 38	MHHHHHHHNIDRPKGLAFTDVDVDSIKIA WESPQGQVSRYRVTYSSPEDGIRELFPAP DGEDDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDD MESQPLIGIQSTREVAAAKSSENDRLRLLL KESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGA LKVPRNQDWLGVPRFAKFASFEAQGALA NIAVDKANLDVEQLESIINFEKLTEWTGS	EDAZ18Mad5
SEQ ID NO: 39	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAA KSSENDRLRLLLKVTYHSPSYAYHQFERRA ILNRLVQFIKDRISVVQALVLTSTVHEILCK LSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTN FDAE	Z13Mad8Anaxa
SEQ ID NO: 40	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAA KSSENDRLRLLLKNYRIATFKNWPFLEDCA MEELTVSEFLKLDRQRSTVHEILCKLSLEGD HSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Z13Mad11Anaxa

【表４８－４】

SEQ ID NO: 41	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKHLELASMTNMELMSSIVSTVHEILCKLS LEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Z13Mad9Anaxa
SEQ ID NO: 42	HLELASMTNMELMSSIV	Mad9
SEQ ID NO: 43	VTYHSPSYAYHQFERRAILN	Mad8
SEQ ID NO: 44	NYRIATFKNWPFLEDCAMEELTVSEFLKLD	Mad11
SEQ ID NO: 45	NIDRPKGLAFTDVDVDSIKIAWESPQGQVSRYR VTYSSPEDGIRELFPAPDGEDDTAELQGLRPGSEY TVSVVALHDDMESQPLIGIQST	EDA
SEQ ID NO: 46	RKKRRQRRRRVKRISQAVHAAHAEINEAGRRVK RKVPRNQDWLRVKRASFEAQGALANIAVDKAR VKRSIINFEKLRVKRSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSA YGSVKPYTNFDAE	TatFMad5Anaxa
SEQ ID NO: 47	MAPPQVLAFGLLLAAATATFAAAQEECVCENYK LAVNCFVNNNRQCQCTSVGAQNTVICSKLAAK CLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYD PDCDESGLFKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRT DKDTEITCSERVRTYWIIIELKHKAREKPYDSKSLR TALQKEITTRYQLDPKFITSILYENNVITIDLVQNS SQKTQNDVDIADVAYYFEKDVKGESLFHSKKM DLTVNGEQLDLDPGQTLIYYVDEKAPEFSMQGL KAGVIAVIVVVVIAVVAGIVVLVISRKKRMAKYEK AEIKEMGEMHRELNA	EpCAM
SEQ ID NO: 48	GLKAGVIAV	EpCAM ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ

【表４８－５】

SEQ ID NO: 49	MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGE KETSATQRSSVPSSTEKNAVSMTSSVLSSHSPGSG SSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSV PVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSA PDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGS ASTLVHNGTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPT TLASHSTKTDASSTHHSSVPPLTSSNHSTSPQLST GVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDIS EMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFR EGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVS DVPFPFSAQSGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAIV YLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYP TYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYT NPAVAATSANL	MUC-1
SEQ ID NO: 50	GSTAPPVHN	MUC-1 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 51	TAPPAHGVTS	MUC-1 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 52	MGAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGCAC TPERMAEAGFIHCPTENEPDLAQCFFCFKELEGW EPDDDPIEEHKKHSSGCAFLSVKKQFEELTLGEFL KLDRERAKNKIAKETNNKKKEFEETAKKVRRAIEQ LAAMD	ｻﾊﾞｲﾋﾞﾝ

【表４８－６】

SEQ ID NO: 53	RISTFKNWPF	ｻﾊﾞｲﾋﾞﾝｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 54	MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTTA KLTIESTPFNVAEGKEVLLLVHNLPQHLFGYSWY KGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIY PNASLLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEEATG QFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPET QDATYLWWVNNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLF NVTRNDTASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYG PDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYS WFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAH NSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNSNPVED EDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSPRLQ LSNDNRTLTLLSVTRNDVGPYECGIQNKLSVDH SDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYYRPGVNLSLSCH AASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNS GLYTCQANNSASGHSRTTVKTITVSAELPKPSISS NNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNG QSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVC GIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPIISPPDSSYL SGANLNLSCHSASNPSPQYSWRINGIPQQHTQ VLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSIT VSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVAL	CEA
SEQ ID NO: 55	YLSGANLNLS	CEA ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 56	SWRINGIPQQ	CEA ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 57	MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYD PTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAGQEEYSAM RDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIK RVKDSEDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQDL ARSYGIPFIETSAKTRQRVEDAFYTLVREIRQYRLK KISKEEKTPGCVKIKKCIIM	Kirsten Ras
SEQ ID NO: 58	VVVGAGGVG	Kirsten Ras ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 59	MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPAT EEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGA SSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLES EFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGS VVGNWQYFFPVIFSKAFSSLQLVFGIELMEVDPIG HLYIFATCLGLSYDGLLGDNQIMPKAGLLIIVLAII AREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKK LLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPRA LVETSYVKVLHHMVKISGGPHIS YPPLHEWVLREGEE	MAGE-A3
SEQ ID NO: 60	KVAELVHFL	MAGE-A3 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ

【表４８－７】

SEQ ID NO: 61	MAFVCLAIGCLYTFLISTTFGCTSSSDTEIKVNPPQ DFEIVDPGYLGYLYLQWQPPLSLDHFKECTVEYE LKYRNIGSETWKTIITKNLHYKDGFDLNKGIEAKI HTLLPWQCTNGSEVQSSWAETTYWISPQGIPET KVQDMDCVYYNWQYLLCSWKPGIGVLLDTNY NLFYWYEGLDHALQCVDYIKADGQNIGCRFPY LEASDYKDFYICVNGSSENKPIRSSYFTFQLQNIV KPLPPVYLTFTRESSCEIKLKWSIPLGPIPARCFDYEI EIREDDTTLVTATVENETYTLKTTNETRQLCFVVR SKVNIYCSDDGIWSEWSDKQCWEGEDLSKKTLL RFWLPFGFILILVIFVTGLLLRKPNTYPKMIPEFFCD T	IL13Rｱﾙﾌｧ2
SEQ ID NO: 62	LPFGFIL	IL13Rｱﾙﾌｧ2 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 63	LFRAAQLANDVVLQIMEHLELASMTNMELMSSI VVISASIIVFNLLELEG	Mad12
SEQ ID NO: 64	LVQFIKDRISVVQA	gp70CD4 ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ
SEQ ID NO: 65	SPSYVYHQF	gp70CD8 ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ
SEQ ID NO: 66	ASMTNMELM	adpgk ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ
SEQ ID NO: 67	ATKNWPFL	ｻﾊﾞｲﾋﾞﾝ20-28
SEQ ID NO: 68	TVSEFLKL	ｻﾊﾞｲﾋﾞﾝ97-104
SEQ ID NO: 69	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKLFRAAQLANDVVLQIMEHLELASMTN MELMSSIVVISASIIVFNLLELEGSTVHEILCKLSLEG DHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Z13Mad12Anaxa

【表４８－８】

SEQ ID NO: 70	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKL RLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLP TNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRL RIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGA SPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTI LWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCK GSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCARCKGPLPT DCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICE LHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTA CPYNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQRC EKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFA GCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQV FETLEEITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRI LHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIH HNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPE DECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCS QFLRGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHP ECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPPFCV ARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINC THSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVV VLGVVFGILIKRRQQKIRKYTMRRLLQETELVEPL TPSGAMPNQAQMRILKETELRKVKVLGSGAFGT VYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANKEIL DEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLM PYGCLLDHVRENRGRLGSQDLLNWCMQIAKG MSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNHVKITDFG LARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFT HQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREIP DLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECR PRFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQNEDLGPASPL DSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCP DPAPGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEP SEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGAAKGL QSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDGYVAPLT CSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGA TLERPKTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTP QGGAAPQPHPPPAFSPAFDNLYYWDQDPPER GAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV	Her2/neu

【表４８－９】

SEQ ID NO: 71	STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	TLRﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞｱｺﾞﾆｽﾄ 「Anaxa」配列変異体
SEQ ID NO: 72	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFS MQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPS AYGSVKPYTNFDAE	ATP110

【表４８－１０】

SEQ ID NO: 73	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVG VALILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPAS YEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELVHFLLLKY RAREPVTKAEMLGSVVAPPQVLAFGLLLAAATAY VDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSL EGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP111
SEQ ID NO: 74	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSLGDPKKLLTQHFVQ ENYLEYRQVPGSDPASYEFLWGPRALVETSYVKV ALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAP PQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVI AVIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYT NFDAE	ATP112
SEQ ID NO: 75	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSLGDPKKLLTQHFVQ ENYLEYRQVPGSDPASYEFLWGPRALVETSYVKV ALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAP PQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVI AVIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA HGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEILCKL SLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP113
SEQ ID NO: 76	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPTLPPAWQPFLKD HRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEFLKLDRE RAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLK AGVIAVIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGST APPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEI LCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP114

【表４８－１１】

SEQ ID NO: 77	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSEYKLVVVGAVGVG KSALTAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQ GLKAGVIAVIVVAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSST VHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP115
SEQ ID NO: 78	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPTLPPAWQPFLKD HRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEFLKLDRE RAPPQVLAFGLLLAAATAYVDEKAPEFSMQGLK AGVIAVIVVLGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVP GSDPASYEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELV HFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVSTVHEILCKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP116
SEQ ID NO: 79	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPPQVLAFGLLLAA ATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVAPGSTAP PAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPA LGSTAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSA YGSVKPYTNFDAE	ATP117
SEQ ID NO: 80	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSAPPQVLAFGLLLAA ATAYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEIL CKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP118
SEQ ID NO: 81	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKLGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGS DPASYEFLWGPRALVETSYVKVALSRKVAELVHF LLLKYRAREPVTKAEMLGSVVAPTLPPAWQPFLK DHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEFLKLDR ERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHG VTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSSTVHEILCKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP119

【表４８－１２】

SEQ ID NO: 82	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTPDSSYLSGANLNLSSHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSSTVHEILCKLSLEGD HSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP120
SEQ ID NO: 83	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSSHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMI GVLVGVALIAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGST APPAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQV LAFGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIA VIVVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTN FDAE	ATP121
SEQ ID NO: 84	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSSHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPGSTAPP AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPAL GSTAPPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYV DEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP122
SEQ ID NO: 85	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPGSTAPP AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDRPAL GSTAPPVHNVTSAPPQVLAFGLLLAAATALIYYV DEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVSTVHEILCKLSLE GDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP123
SEQ ID NO: 86	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAP PAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQVLA FGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVI VVSTVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFD AE	ATP124

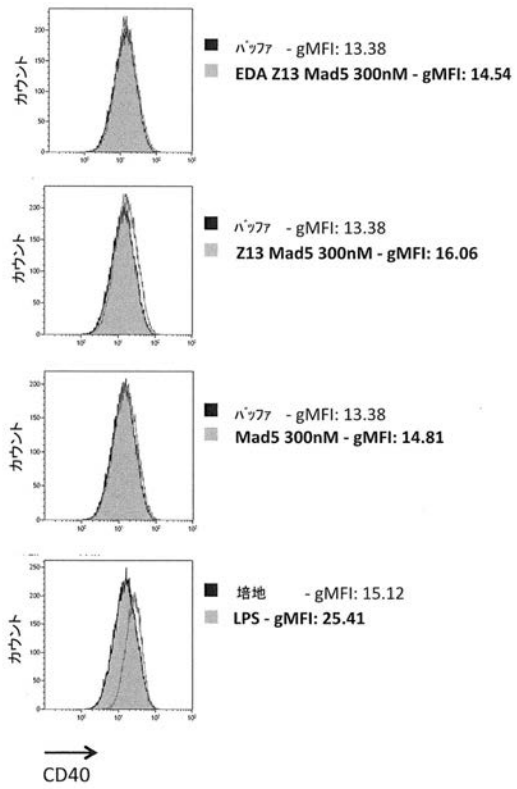
【表４８－１３】

SEQ ID NO: 87	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAP PAHGVTSAPDRPALGSTAPPVHNVTSAPPQVLA FGLLLAAATALIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVI VVSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFD AE	ATP125
SEQ ID NO: 88	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAPPQVLAFGLLLAAATALIYYVDEKAPE FSMQGLKAGVIAVIVVAAVARRNERERNRVKLV NLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIR ALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGP SEGALSPAERELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEG DHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP127
SEQ ID NO: 89	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQ HVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEH DAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAE RELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSA YGSVKPYTNFDAE	ATP128
SEQ ID NO: 90	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAKNKIAAVARRNERERNRVKLVNLGF QALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQR LLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGA LSPAERELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEGDHST PPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP129

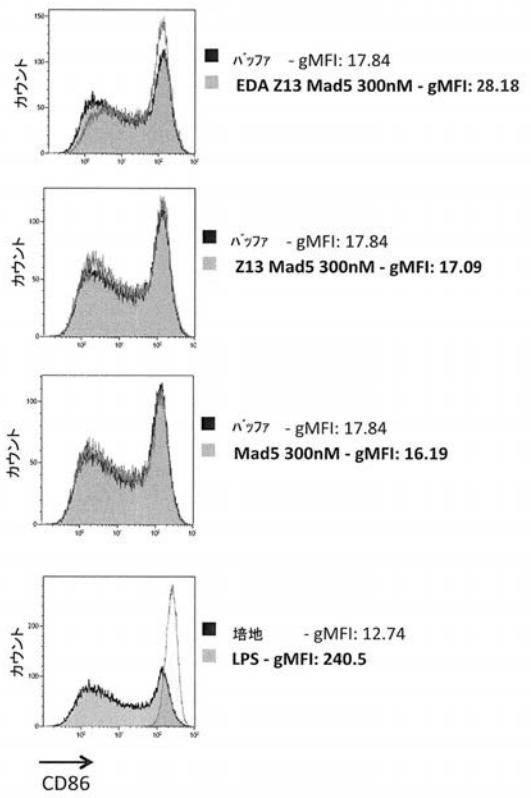
【表４８－１４】

SEQ ID NO: 91	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVS ANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQY SWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAW QPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEF LKLDRERAKNKIAAVARRNERERNRVKLVNLGF QALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQR LLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPPGTT PVAASPSRASSSPGRGGSSEPGSPRSAYSSDDSGS EGALSPAERELLDFSSWLGGYSTVHEILSKLSLEG DHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	ATP130
SEQ ID NO: 92	MDGGTLPRSAPPAPPVPVGCAARRRPASPELLRC SRRRRPATAETGGGAAAVARRNERERNRVKLVN LGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRA LQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPP GTTPVAASPSRASSSPGRGGSSEPGSPRSAYSSDD SGCEGALSPAERELLDFSSWLGGY	ASCL2
SEQ ID NO: 93	SAVEYIRALQ	ASCL2 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 94	ERELLDFSSW	ASCL2 ｴﾋﾟﾄｰﾌﾟ
SEQ ID NO: 95	APTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSAVKK QFEELTLGEFLKLDRER	ｻﾊﾞｲﾋﾞﾝ断片
SEQ ID NO: 96	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPV TLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGI PQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRN NSIVKSITVSASGTSPGLSA	CEA 断片
SEQ ID NO: 97	AAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGG ASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNAL AGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSS WLGGY	ASCL2 断片
SEQ ID NO: 98	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPV TLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGI PQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRN NSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDH RISTFKNWPFLEGSAVKKQFEELTLGEFLKLDRER AAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGG ASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNAL AGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLDFSS WLGGY	ATP128の抗原ｶｰｺﾞ

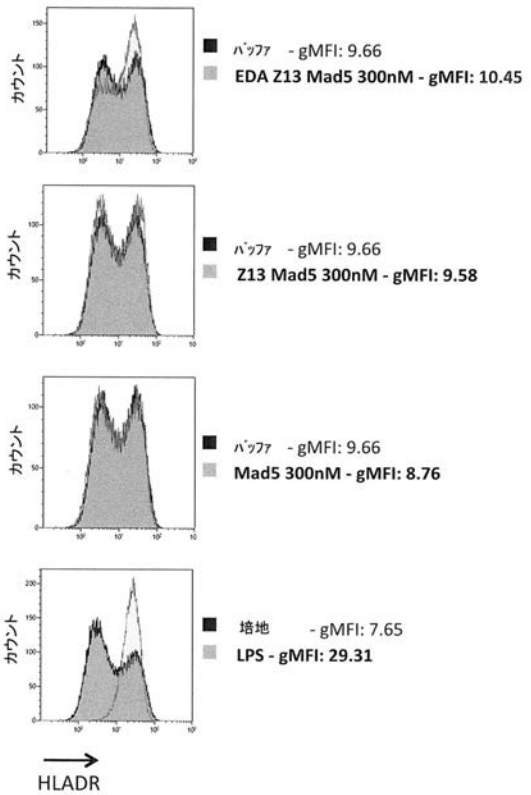
【図１】


カウント
バッファ - gMFI: 13.38
EDA Z13 Mad5 300nM - gMFI: 14.54
バッファ - gMFI: 13.38
Z13 Mad5 300nM - gMFI: 16.06
バッファ - gMFI: 13.38
Mad5 300nM - gMFI: 14.81
培地 - gMFI: 15.12
LPS - gMFI: 25.41
CD40

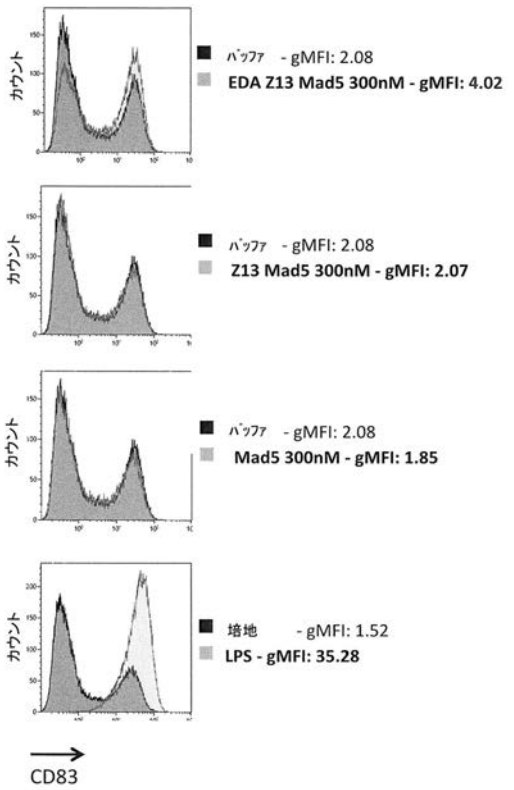
【図２】


カウント
バッファ - gMFI: 17.84
EDA Z13 Mad5 300nM - gMFI: 28.18
バッファ - gMFI: 17.84
Z13 Mad5 300nM - gMFI: 17.09
バッファ - gMFI: 17.84
Mad5 300nM - gMFI: 16.19
培地 - gMFI: 12.74
LPS - gMFI: 240.5
CD86

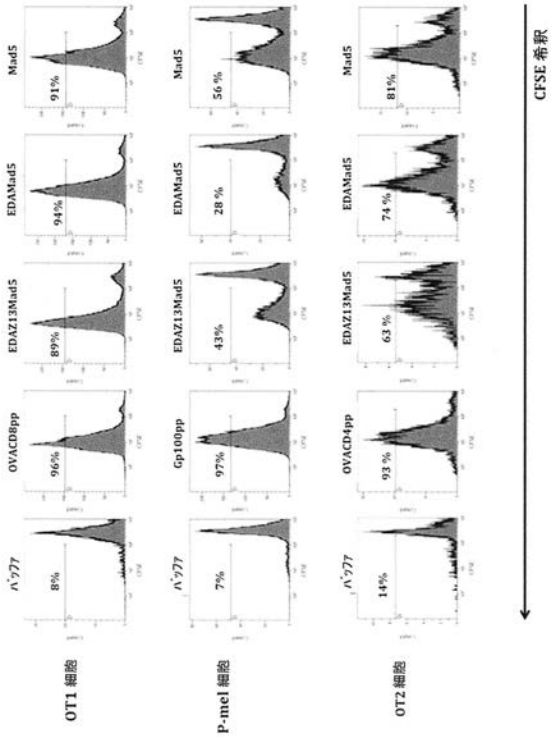
【図３】


カウント
バッファ - gMFI: 9.66
EDA Z13 Mad5 300nM - gMFI: 10.45
バッファ - gMFI: 9.66
Z13 Mad5 300nM - gMFI: 9.58
バッファ - gMFI: 9.66
Mad5 300nM - gMFI: 8.76
培地 - gMFI: 7.65
LPS - gMFI: 29.31
HLADR

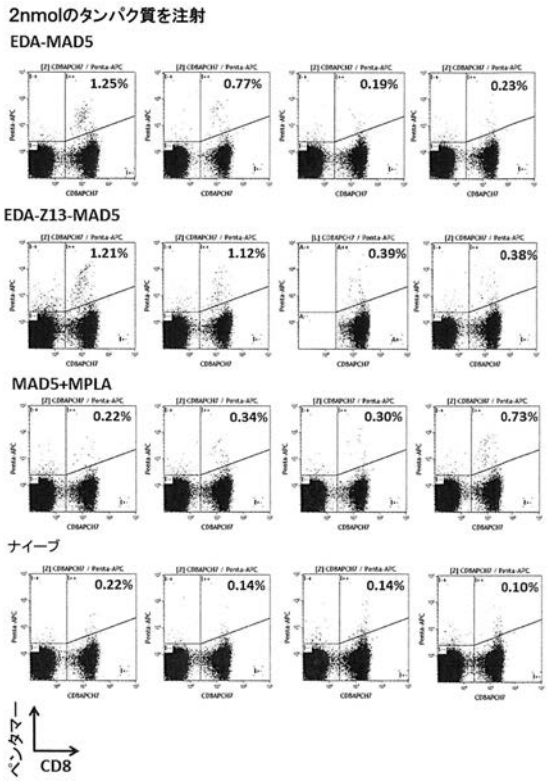
【図４】


カウント
バッファ - gMFI: 2.08
EDA Z13 Mad5 300nM - gMFI: 4.02
バッファ - gMFI: 2.08
Z13 Mad5 300nM - gMFI: 2.07
バッファ - gMFI: 2.08
Mad5 300nM - gMFI: 1.85
培地 - gMFI: 1.52
LPS - gMFI: 35.28
CD83

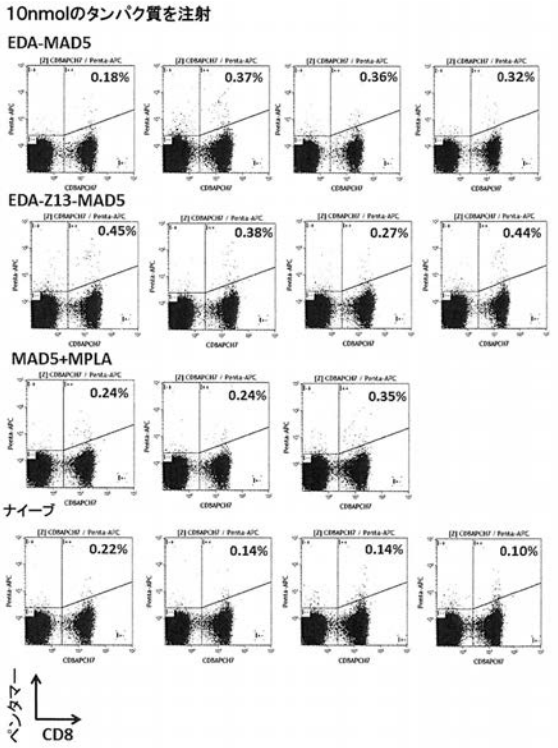
【図５】


Mad5
91%
56 %
81%
EDAMad5
94%
28 %
74 %
EDAZ13Mad5
89%
43%
63 %
OVACD8pp
96%
Gp100pp
97%
OVACD4pp
93 %
バッファ
8%
7%
14%
CFSE 希釈
OT1 細胞
P-mel 細胞
OT2 細胞

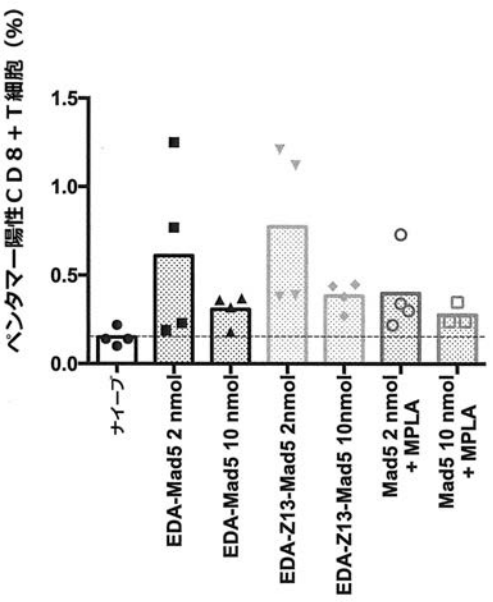
【図６】


2nmolのタンパク質を注射
EDA-MAD5
1.25%
0.77%
0.19%
0.23%
EDA-Z13-MAD5
1.21%
1.12%
0.39%
0.38%
MAD5+MPLA
0.22%
0.34%
0.30%
0.73%
ナイーブ
0.22%
0.14%
0.14%
0.10%
ペンタマー
CD8

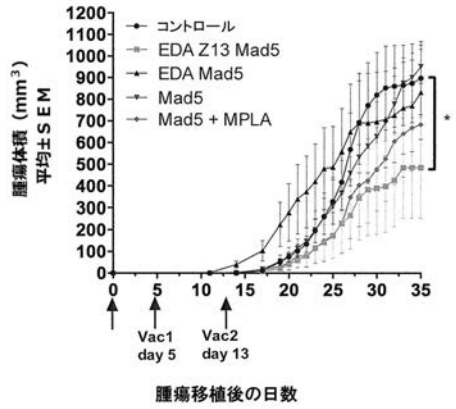
【図７】


10nmolのタンパク質を注射
EDA-MAD5
0.18%
0.37%
0.36%
0.32%
EDA-Z13-MAD5
0.45%
0.38%
0.27%
0.44%
MAD5+MPLA
0.24%
0.24%
0.35%
ナイーブ
0.22%
0.14%
0.14%
0.10%
ペンタマー
CD8

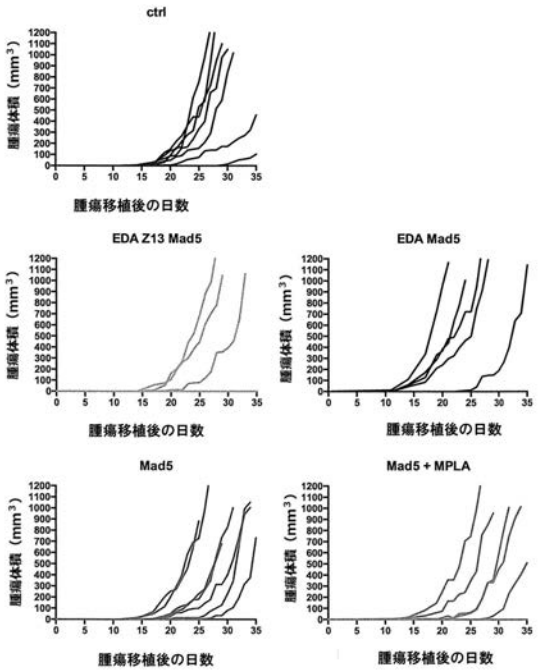
【図８】


ペンタマー陽性ＣＤ８＋Ｔ細胞（%）
1.5
1.0
0.5
0.0
ナイーブ
EDA-Mad5 2 nmol
EDA-Mad5 10 nmol
EDA-Z13-Mad5 2nmol
EDA-Z13-Mad5 10nmol
Mad5 2 nmol + MPLA
Mad5 10 nmol + MPLA

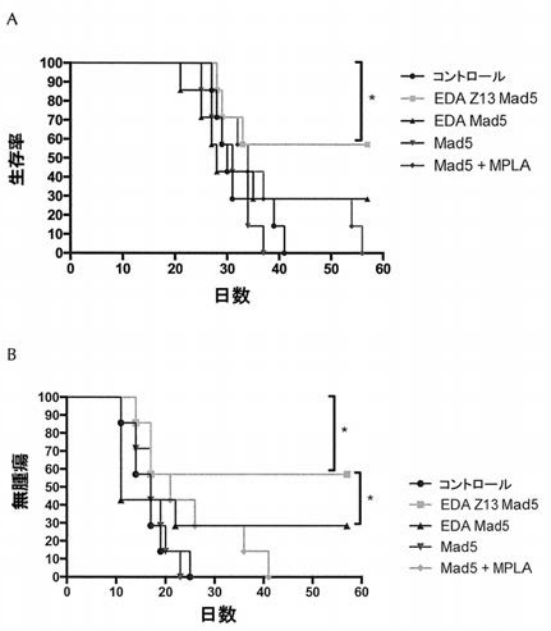
【図９】



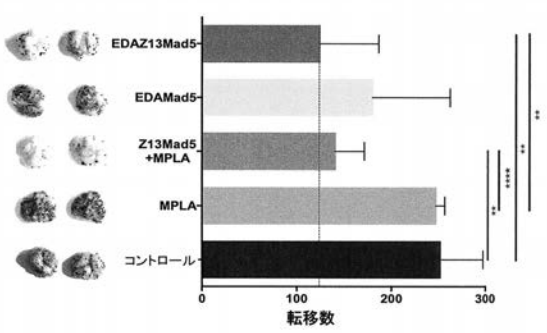
【図１０】



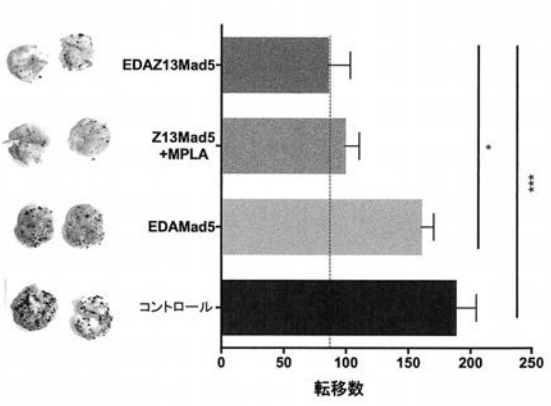
【図１１】



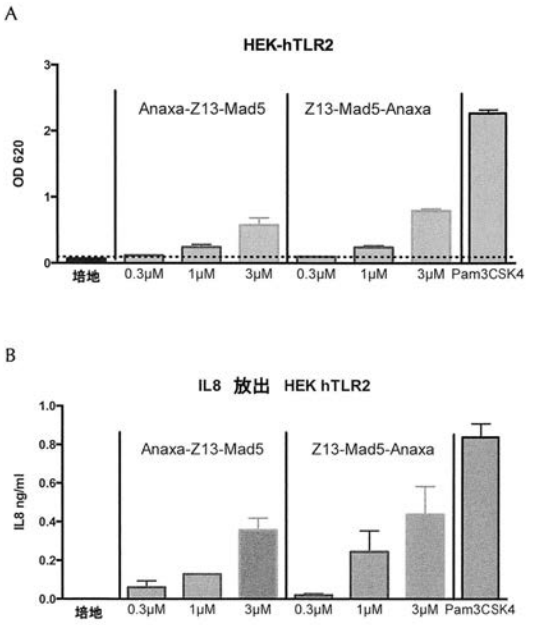
【図１２】



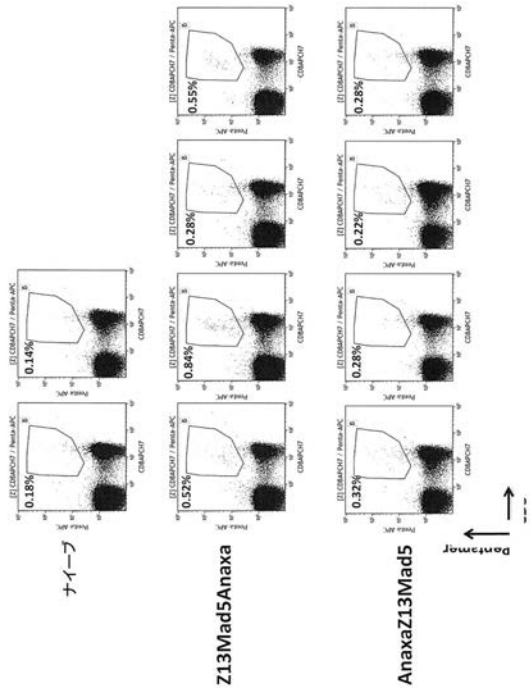
【図１３】



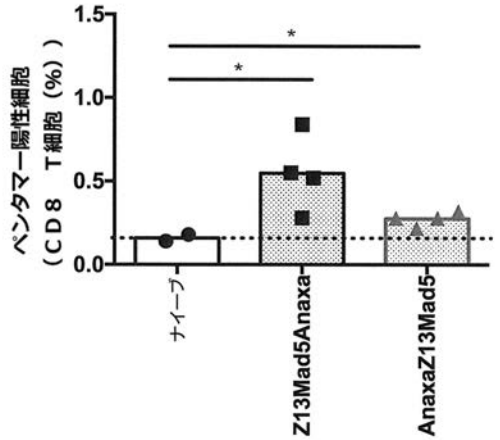
【図１４】



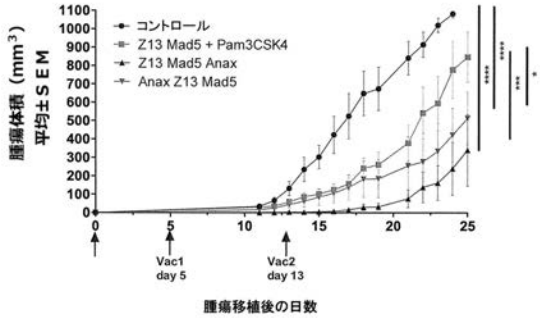
【図１５】



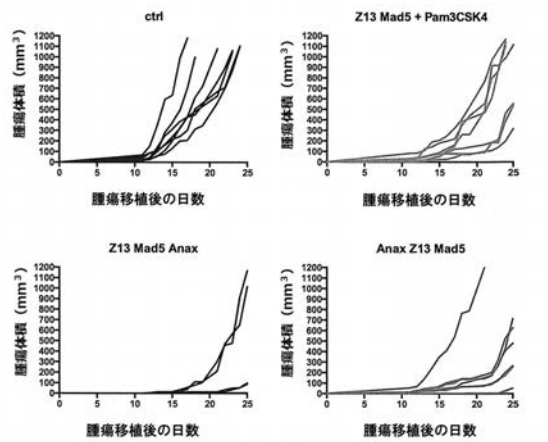
【図１６】



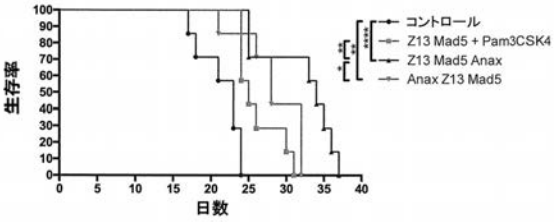
【図１７】



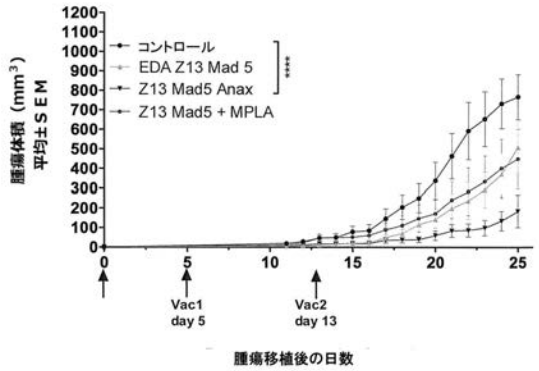
【図１８】



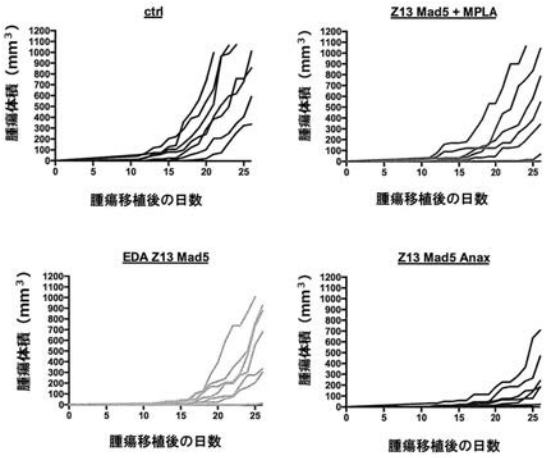
【図１９】



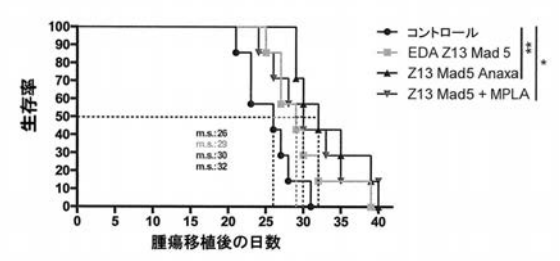
【図２０】



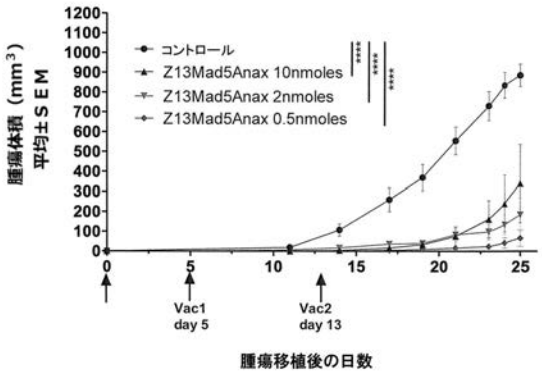
【図２１】



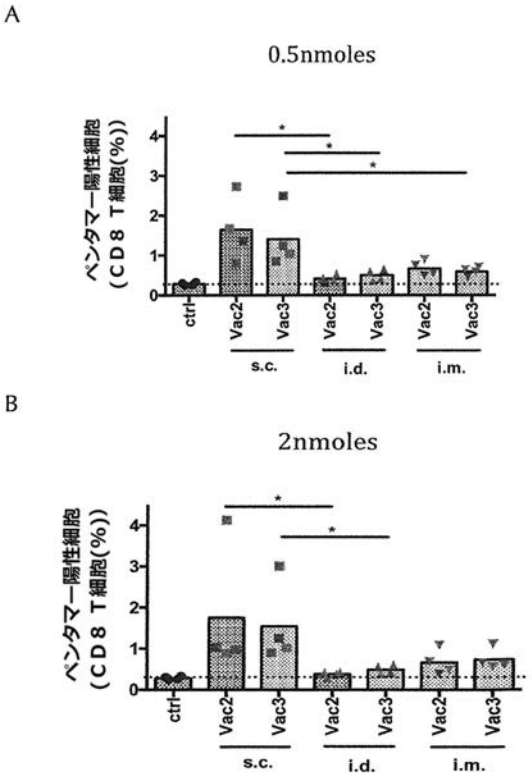
【図２２】



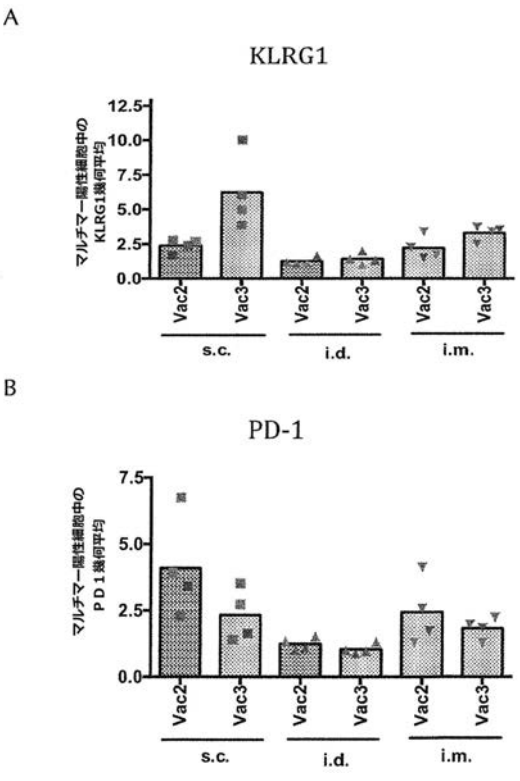
【図２３】



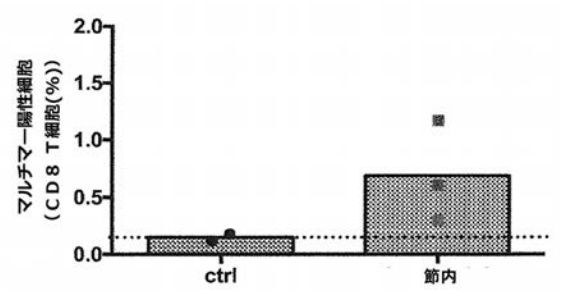
【図２４】



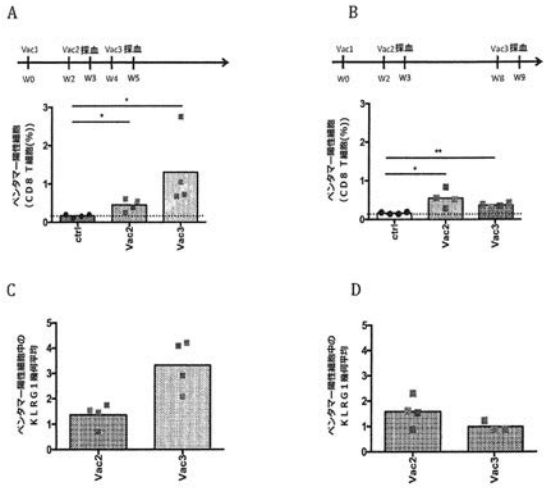
【図２５】



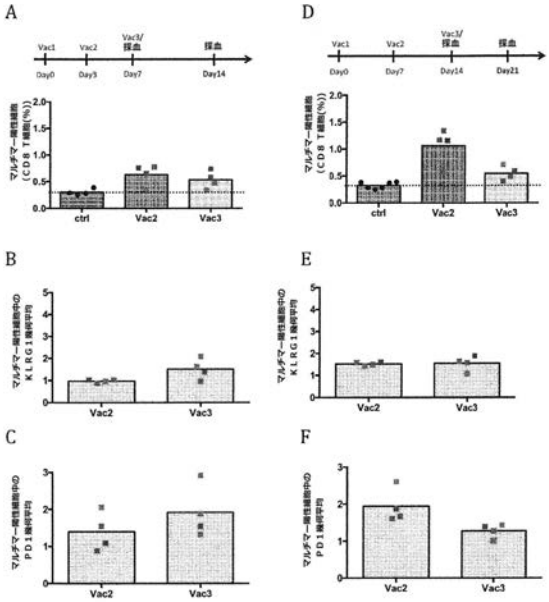
【図２６】



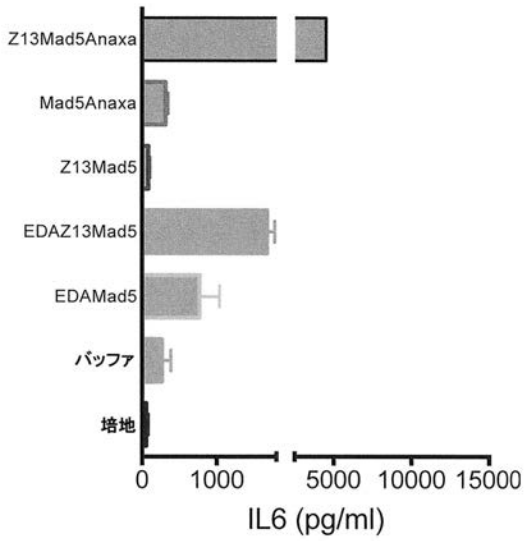
【図２７】



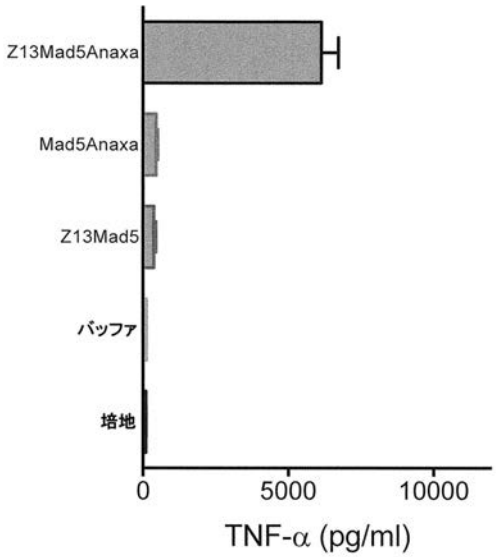
【図２８】



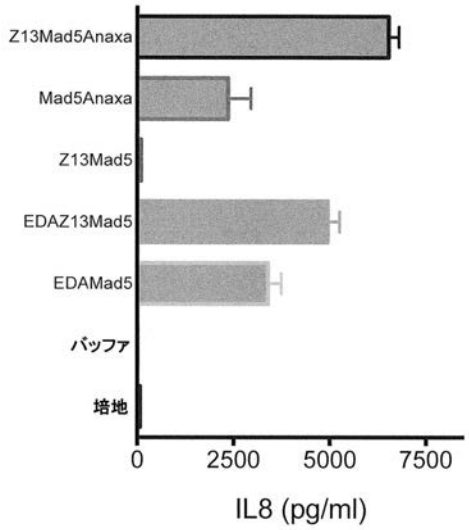
【図２９】



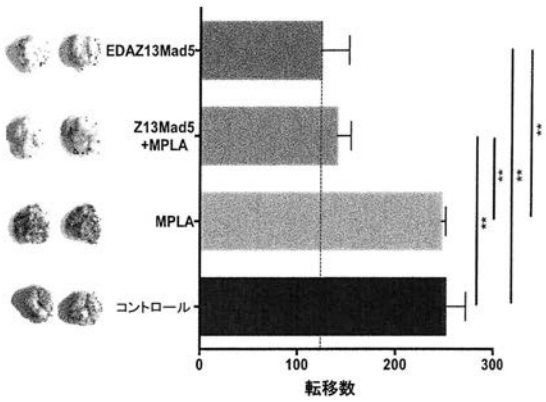
【図３０】



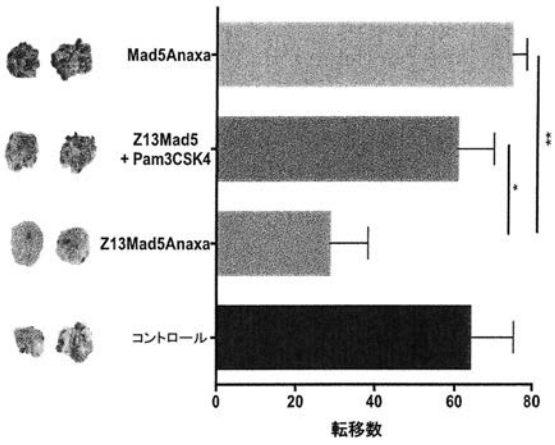
【図３１】



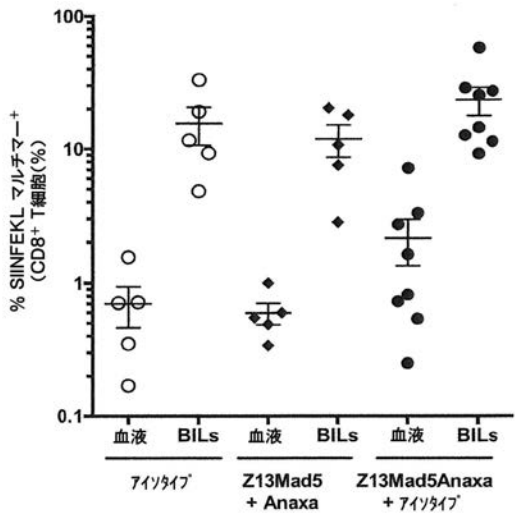
【図３２】



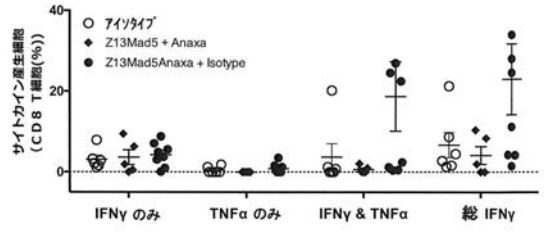
【図３３】



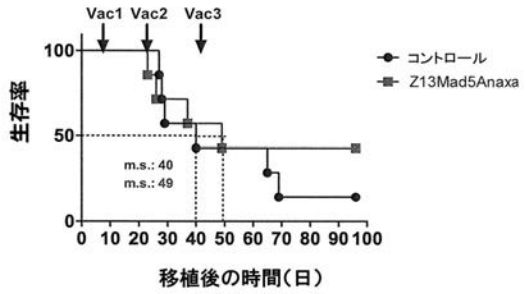
【図３４】



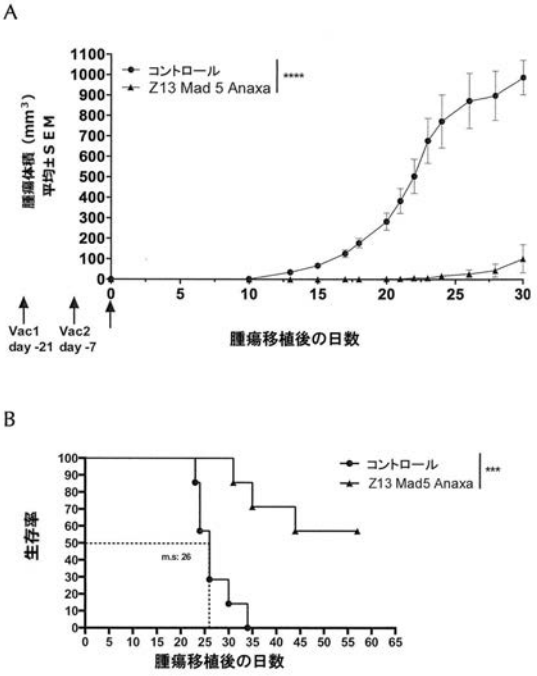
【図３５】



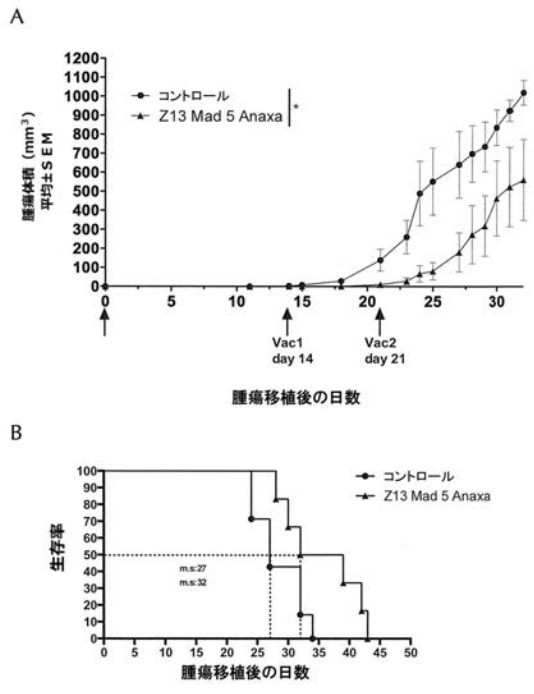
【図３６】



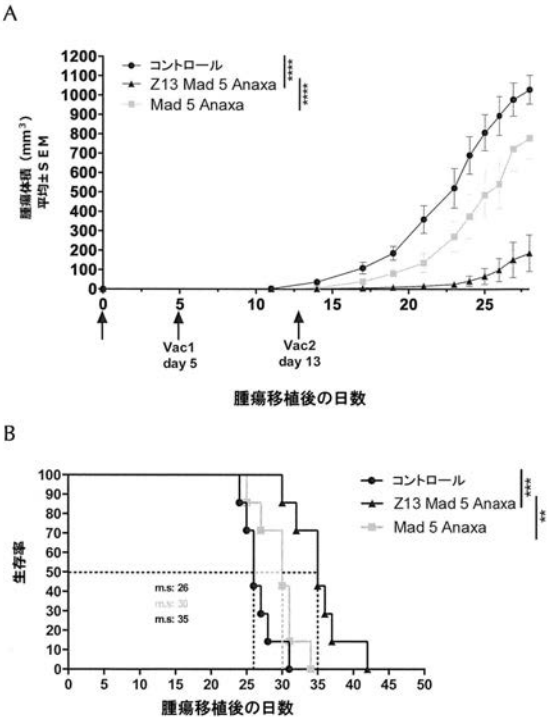
【図３７】



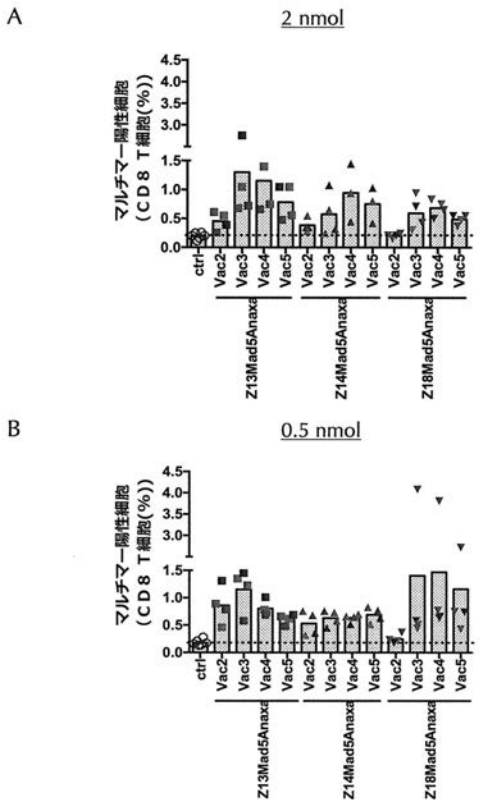
【図３８】



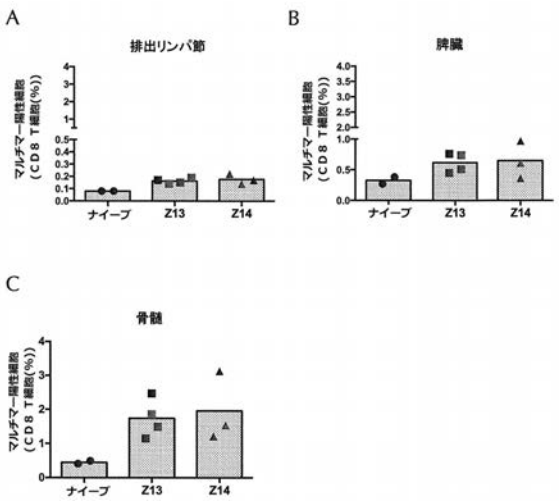
【図３９】



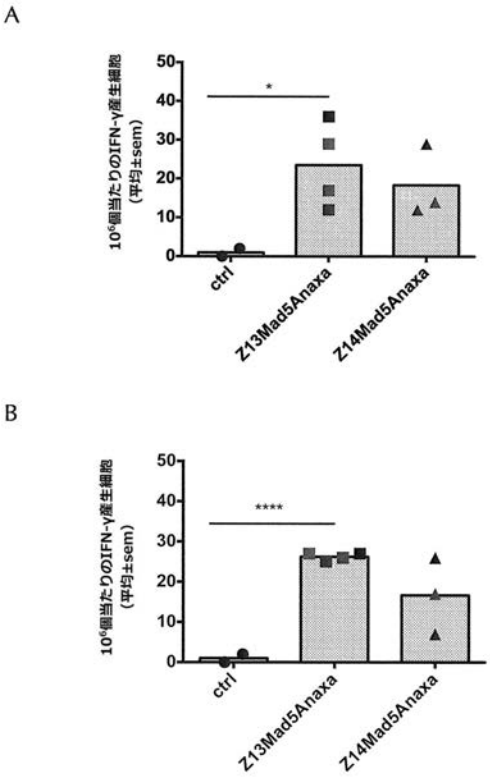
【図４０】



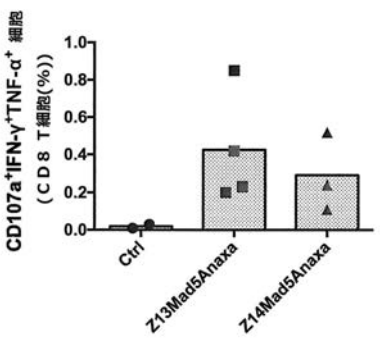
【図４１】



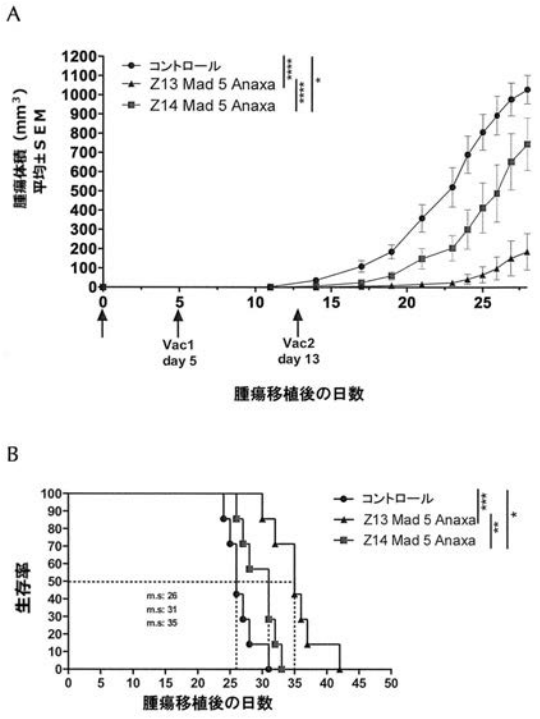
【図４２】



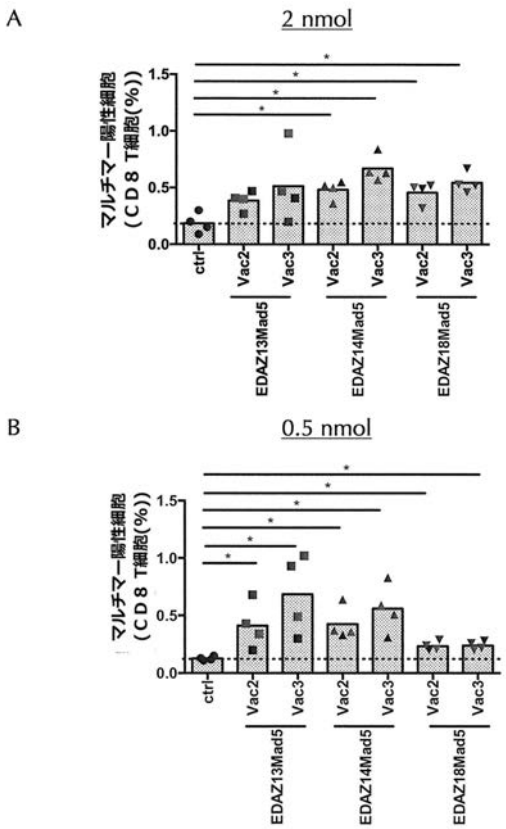
【図４３】



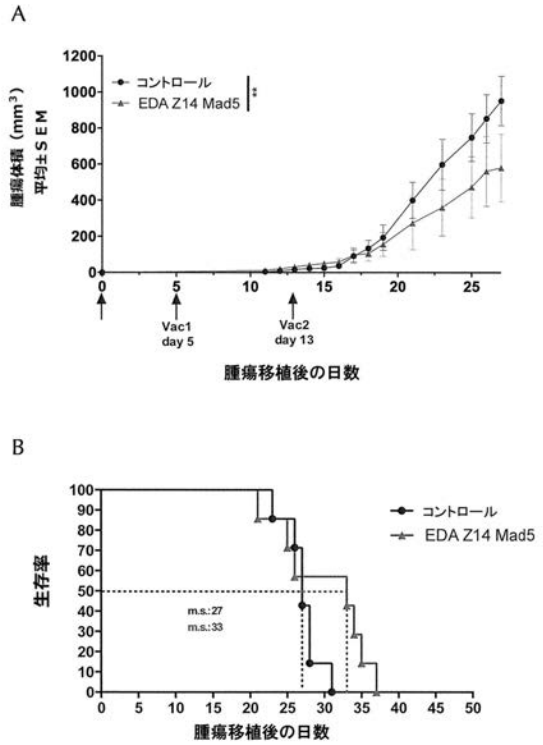
【図４４】



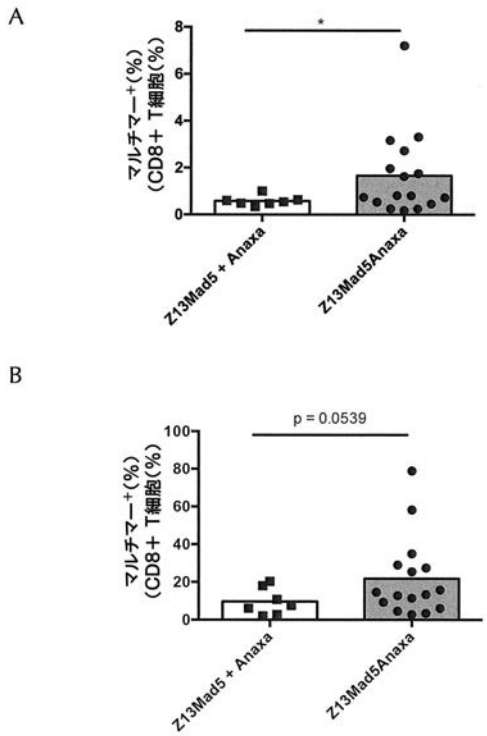
【図４５】



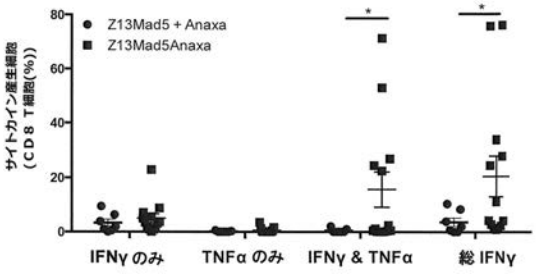
【図４６】



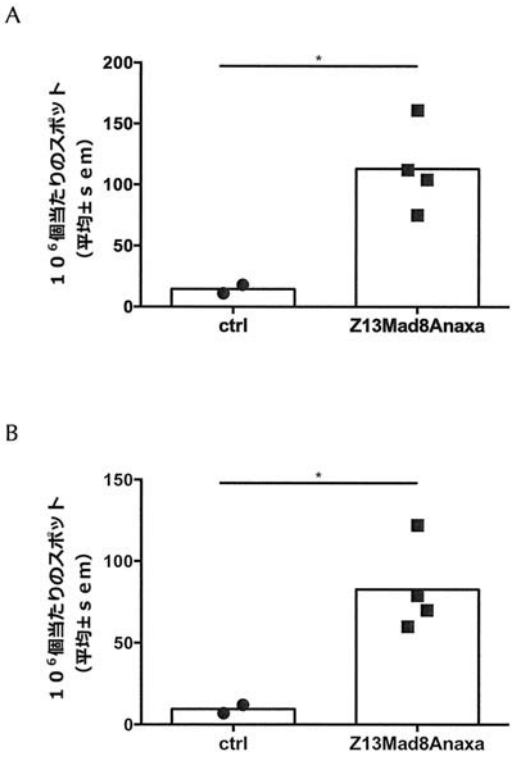
【図４７】



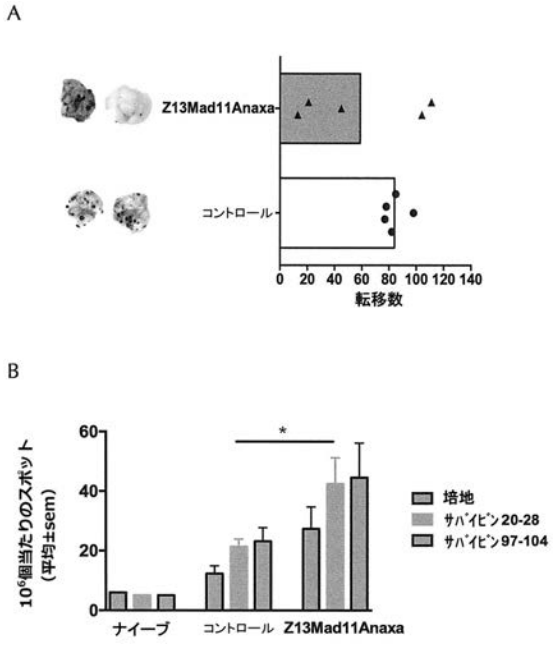
【図４８】



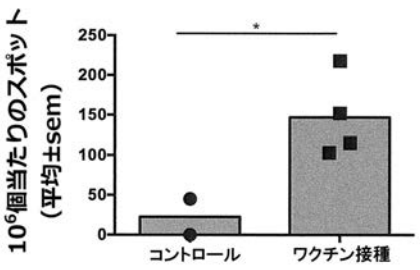
【図４９】



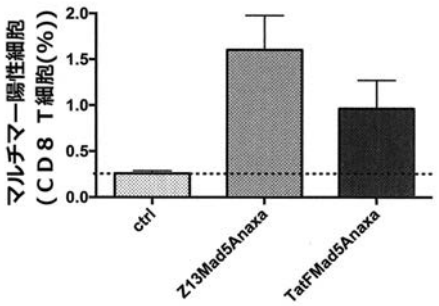
【図５０】



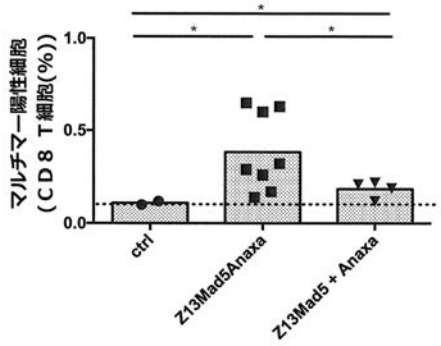
【図５１】



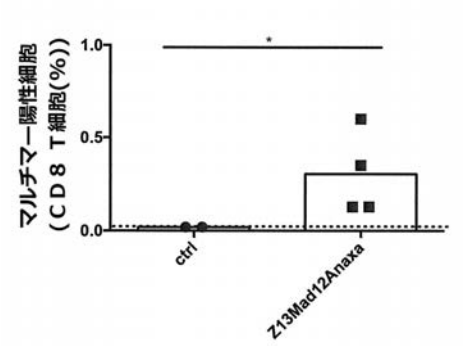
【図５２】



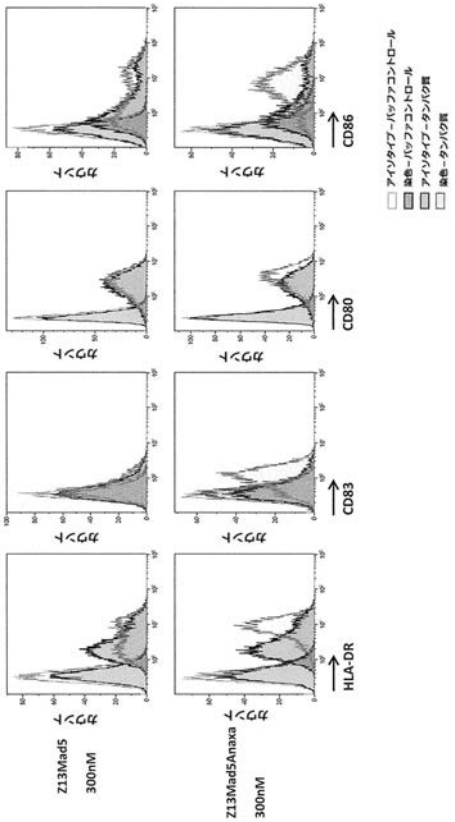
【図５３】



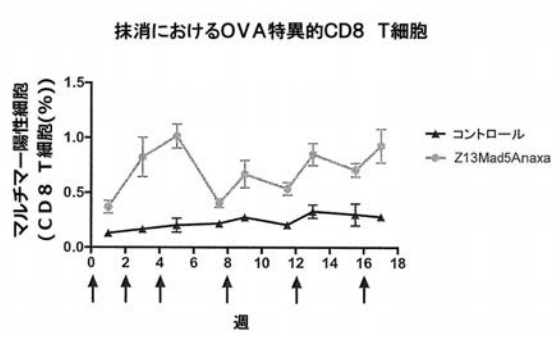
【図５４】



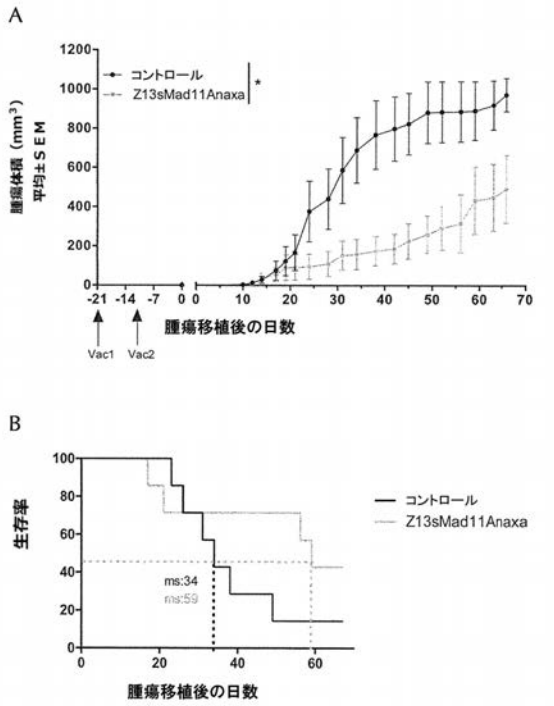
【図５５】



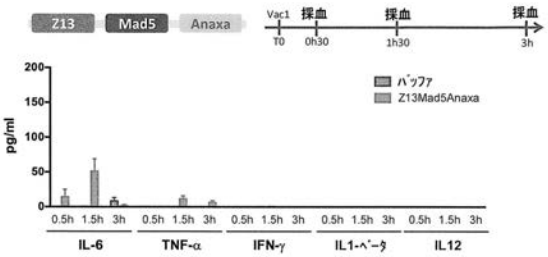
【図５６】



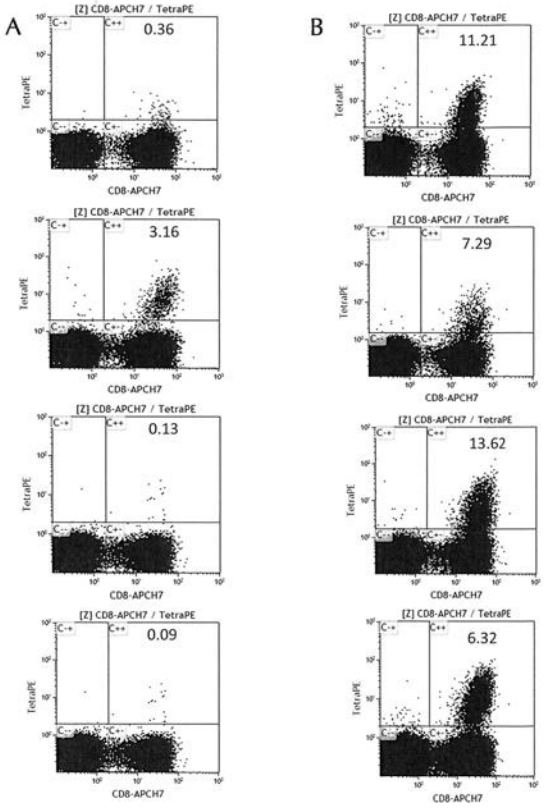
【図５７】



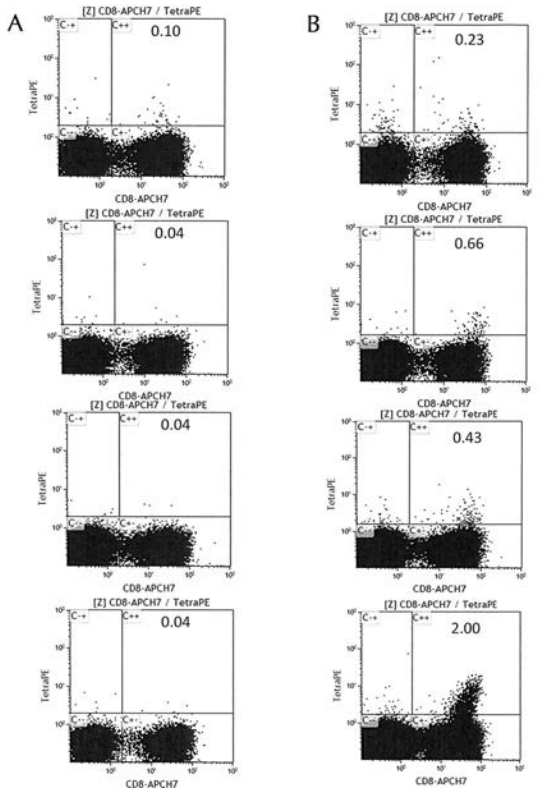
【図５８】



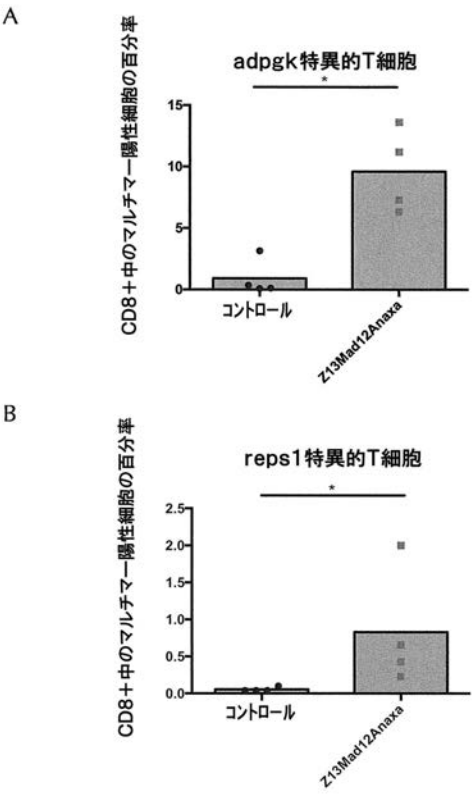
【図５９】



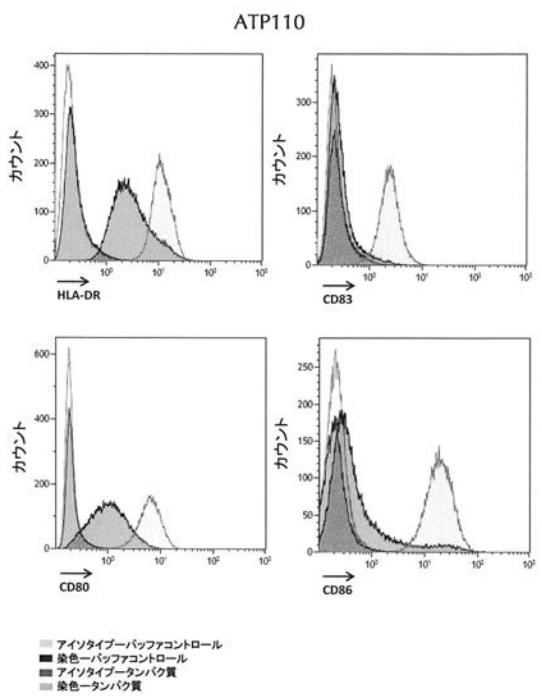
【図６０】



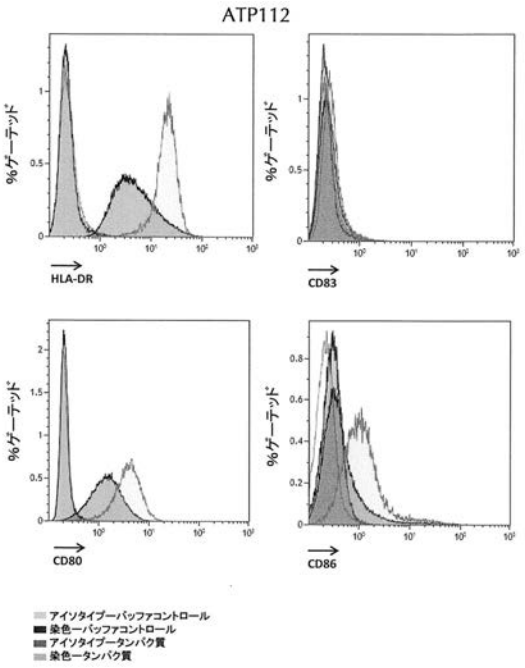
【図６１】



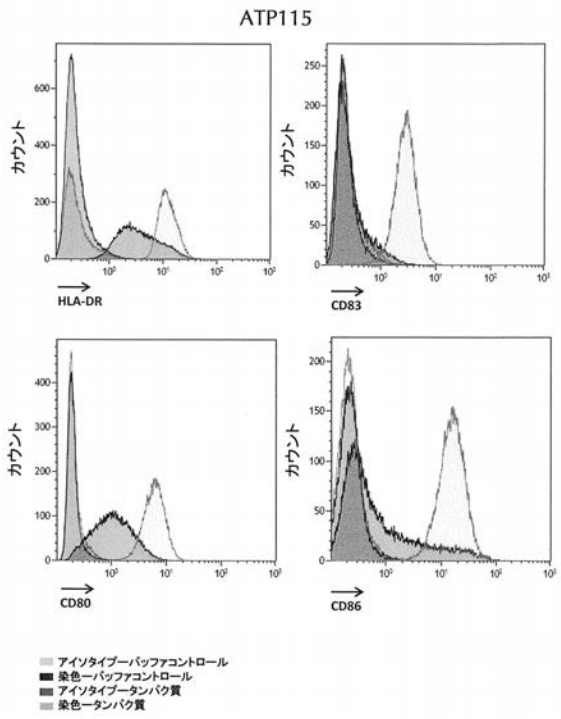
【図６２】



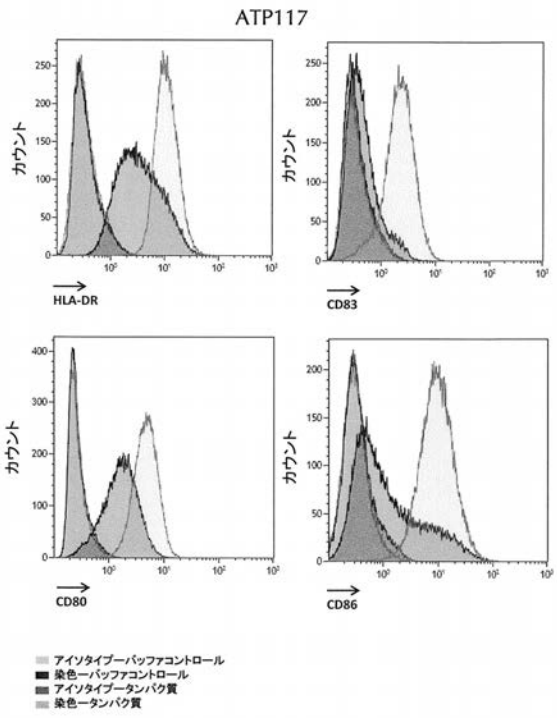
【図６３】



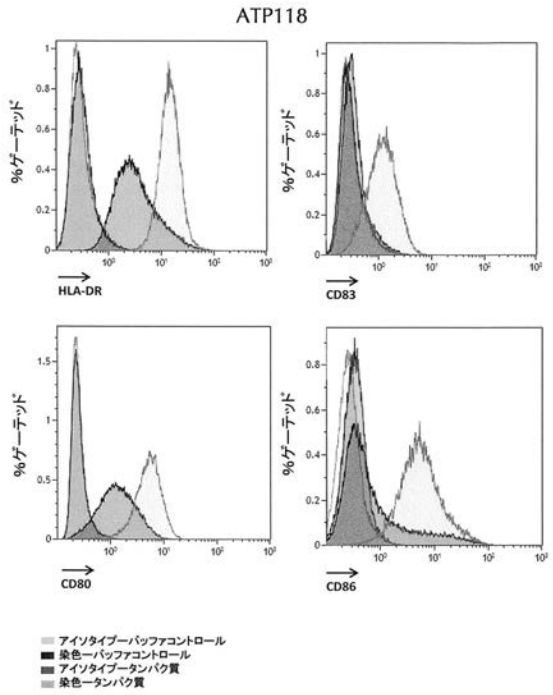
【図６４】



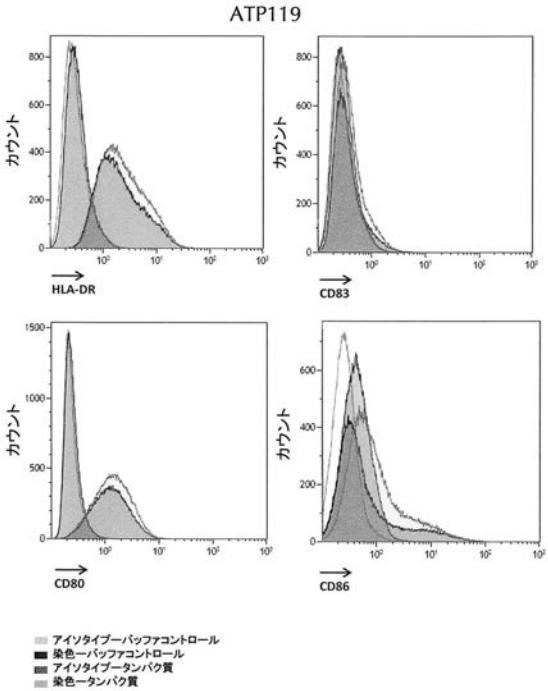
【図６５】



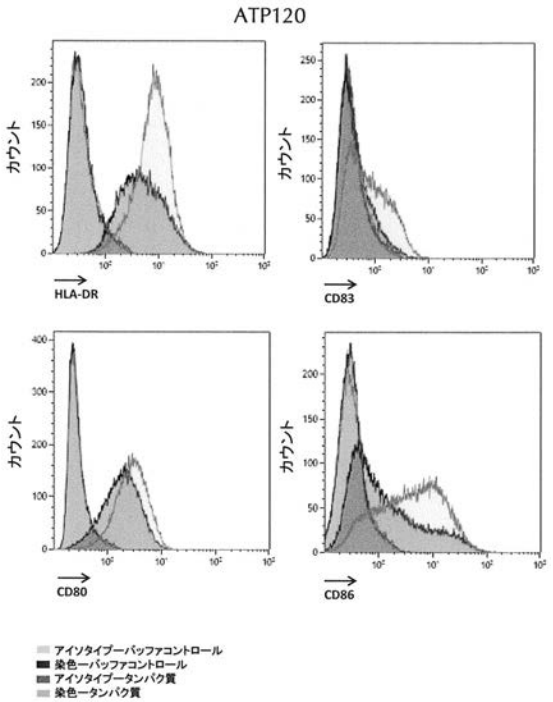
【図６６】



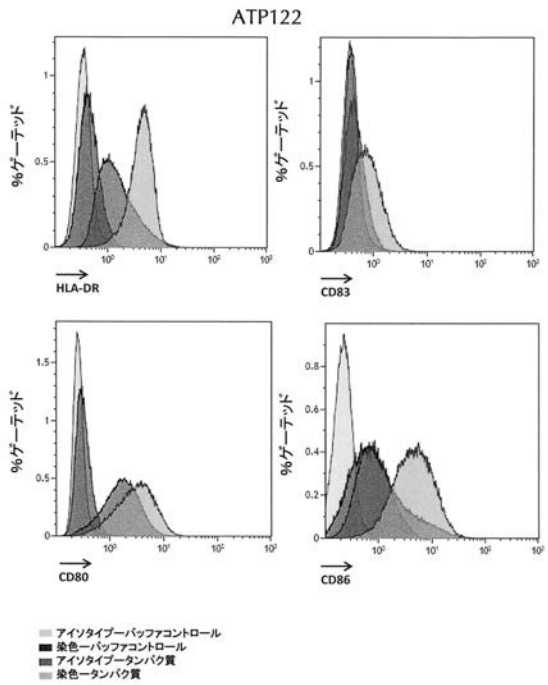
【図６７】



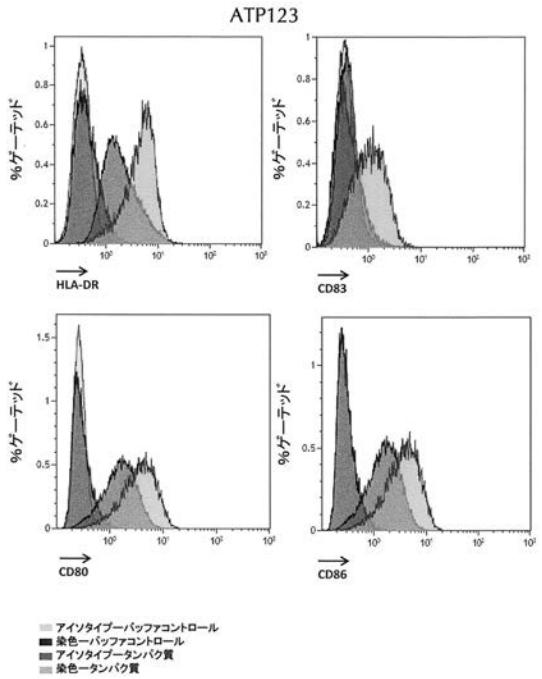
【図６８】



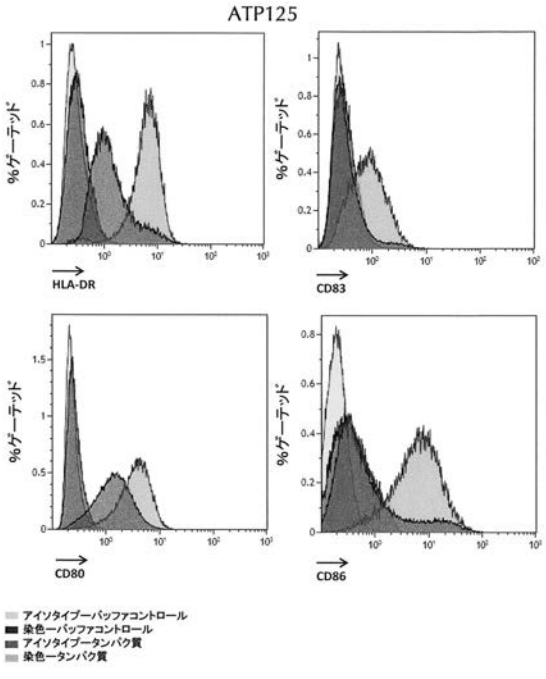
【図６９】



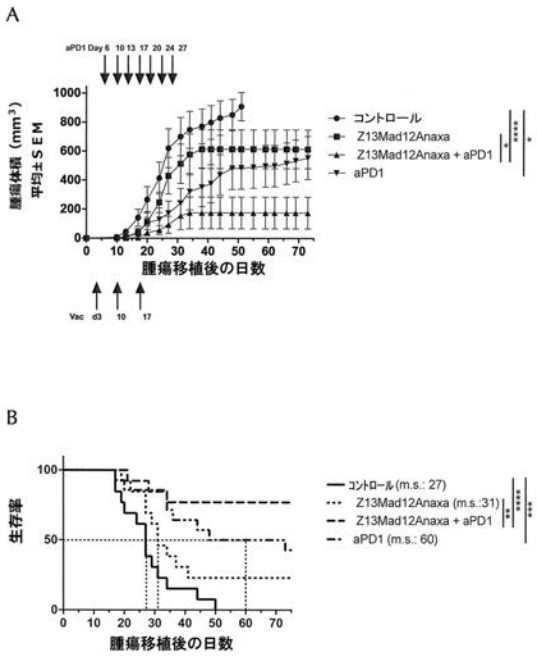
【図７０】



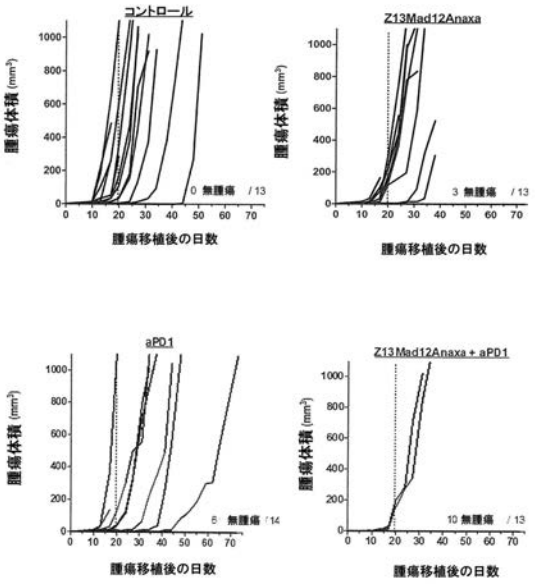
【図７１】



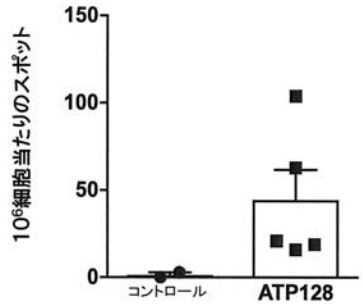
【図７２】



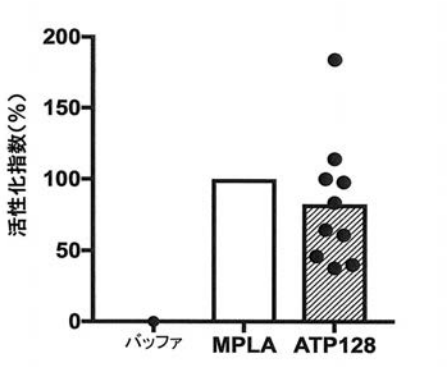
【図７３】



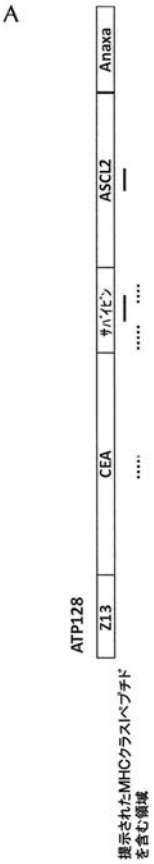
【図７４】



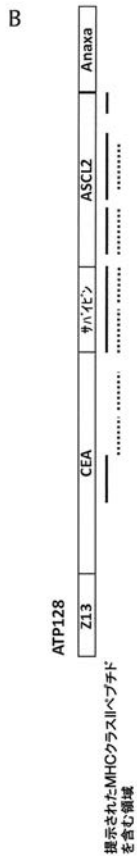
【図７５】



【図７６Ａ】



【図７６Ｂ】



【図７６Ｃ】

C

ドナー	HLA class I ハプロタイプ	CEA	サバイビン	ASCL2
9	A*02:01, A*29:02 B*07:02, B*55:01	0	1	2
10	A*02:01, A*31:01 B*35, B*40:05	1	1	0

ドナー	HLA class II ハプロタイプ	CEA	サバイビン	ASCL2
9	DRB1*14, DRB1*15 DQB1*05:03, DQB1*06:03	6	40	66
10	DRB1*08:02, DRB1*14:02 DQB1*03:01, DQB1*03:01	2	8	27

【配列表】
2019528693000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/073954

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. 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)
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, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2012/231030 A1 (DEROUAZI MADIHA SABIHA [CH] ET AL) 13 September 2012 (2012-09-13) paragraph [0117]; claims 1,20; examples 10,11	1-117
X	DEROUAZI MADIHA ET AL: "Novel Cell-Penetrating Peptide-Based Vaccine Induces Robust CD4(+) and CD8(+) T Cell-Mediated Antitumor Immunity", CANCER RESEARCH, vol. 75, no. 15, August 2015 (2015-08), pages 3020-3031, XP55227770, ISSN: 0008-5472 page 3021, left-hand column, paragraph top figure 7A	1-117

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] 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	Date of mailing of the international search report
15 December 2017	22/12/2017

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Mata Vicente, Teresa

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/073954

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 2 476 440 A1 (PROYECTO BIOMEDICINA CIMA SL [ES]) 18 July 2012 (2012-07-18) claim 10; example 4 paragraph [0088] paragraph [0098]	1-117
A	WO 2015/073632 A1 (UNIV MINNESOTA [US]) 21 May 2015 (2015-05-21) sequence 1 example 4	1-117
X,P	WO 2016/146260 A1 (AMAL THERAPEUTICS SA [CH]) 22 September 2016 (2016-09-22) the whole document claim 1; examples 1,7	1-117

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2017/073954

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2012231030 A1	13-09-2012	US 2012231030 A1	13-09-2012
		US 2016031946 A1	04-02-2016
EP 2476440 A1	18-07-2012	EP 2476440 A1	18-07-2012
		JP 5964233 B2	03-08-2016
		JP 2013504314 A	07-02-2013
		US 2012237535 A1	20-09-2012
		WO 2011029980 A1	17-03-2011
WO 2015073632 A1	21-05-2015	AU 2014348645 A1	02-06-2016
		CA 2930567 A1	21-05-2015
		EP 3068428 A1	21-09-2016
		US 2016279212 A1	29-09-2016
		WO 2015073632 A1	21-05-2015
WO 2016146260 A1	22-09-2016	AU 2016232656 A1	10-08-2017
		AU 2016232657 A1	10-08-2017
		AU 2016232659 A1	10-08-2017
		CA 2973747 A1	22-09-2016
		CA 2973757 A1	22-09-2016
		CA 2973770 A1	22-09-2016
		CN 107428845 A	01-12-2017
		WO 2016146143 A1	22-09-2016
		WO 2016146259 A1	22-09-2016
		WO 2016146260 A1	22-09-2016
		WO 2016146261 A1	22-09-2016
		WO 2016146262 A1	22-09-2016

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	4C085
A61K	*47/64*	*(2017.01)*	A61K	45/00		4C086
A61K	*48/00*	*(2006.01)*	A61K	47/64		4C087
A61K	*35/15*	*(2015.01)*	A61K	48/00		4H045
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61K	35/15	A	
A61K	*49/00*	*(2006.01)*	A61K	35/15	Z	
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61K	49/00		
A61P	*1/00*	*(2006.01)*	A61P	37/04		
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
C07K	*14/00*	*(2006.01)*	A61P	1/00		
C07K	*7/08*	*(2006.01)*	C07K	19/00	ZNA	
C07K	*7/06*	*(2006.01)*	C07K	14/00		
C07K	*14/715*	*(2006.01)*	C07K	7/08		
C07K	*14/71*	*(2006.01)*	C07K	7/06		
C07K	*14/59*	*(2006.01)*	C07K	14/715		
C12N	*9/10*	*(2006.01)*	C07K	14/71		
C07K	*14/82*	*(2006.01)*	C07K	14/59		
C12N	*15/12*	*(2006.01)*	C12N	9/10		
C12N	*15/54*	*(2006.01)*	C07K	14/82		
C12N	*15/113*	*(2010.01)*	C12N	15/12		
C12N	*15/63*	*(2006.01)*	C12N	15/54		
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	15/113	110Z	
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	15/113	140Z	
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	15/113	130Z	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z	
C12N	*5/0784*	*(2010.01)*	C12N	1/15		
C12P	*21/02*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
			C12N	1/21		
			C12N	5/10		
			C12N	5/0784		
			C12P	21/02	C	

(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

(72)発明者　エロディ・ベルヌー
スイス連邦　１２０８　ジュネーヴ　プティット－ボワシエール　３６

Ｆターム(参考) 4B050 CC07 DD11 KK18 KK20 LL01
4B064 AG20 AG31 CA02 CA05 CA06 CA08 CA10 CA19 CC24 DA01 DA05
4B065 AA01X AA57X AA72X AA83X AA90X AA90Y AA93Y AA94X AB01 AC14

	BA02	CA24	CA44	CA45						
4C076	BB11	BB12	CC06	CC16	CC27	CC41	EE41N	EE59N	FF34	FF68
4C084	AA13	AA19	MA13	MA16	MA31	MA52	MA55	MA59	MA63	MA66
	NA05	NA11	ZA661	ZA662	ZB091	ZB092	ZB261	ZB262	ZC412	ZC751
4C085	AA03	BB01	BB23	CC08	EE01	EE03	KB82	KB92	LL18	
4C086	AA01	AA02	AA03	EA16	MA01	MA02	MA04	NA05	NA11	ZA66
	ZB09	ZB26	ZC75							
4C087	AA01	AA02	BB37	BB64	BB65	BC83	CA12	CA20	MA02	NA05
	NA11	ZA66	ZB09	ZB26	ZC75					
4H045	AA10	AA20	AA30	BA10	BA41	CA40	DA50	DA51	DA86	DA89
	EA20	EA31	FA72	FA74						